

Shizuoka-Ken Kankyō Eisei Kagaku
Kenkyūsho Hōkoku 62(2019)
ISSN 1343-246X

静岡県環境衛生科学研究所報告

令和元年度

Bulletin
of
Shizuoka
Environment and Hygiene Institute

No.62 2019

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でき、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」に満ち溢れた「環境の理想郷“ふじのくに”」の実現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、生物多様性の喪失等が地球規模で進行しているほか、国境を超え拡散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、令和元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。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。

令和2年 10 月

静岡県環境衛生科学研究所長 神山 正之

目 次

論 文

環境科学部

1 未規制化学物質の分析法に関する研究

長島由佳, 小郷沙矢香, 瀧井美樹----- 1

微生物部

2 静岡県におけるマダニの日本紅斑熱リケッチア保有状況について

大石沙織, 原 稔美, 酒井悠希子, 阿部冬樹, 神田 隆----- 6

3 MLVA を利用した *Legionella pneumophila* の汚染源の推定

水本嗣郎, 大越 魁, 鈴木香菜, 小川 紋, 森主博貴
長岡宏美, 神田 隆----- 11

4 食肉を主原料とするそうざい半製品の重要管理点に関する研究

森主博貴, 大越 魁, 鈴木香奈, 小川 紋, 水本嗣郎
長岡宏美, 神田 隆----- 14

医薬食品部

5 迅速かつ簡便な前処理法による農産食品中の残留農薬一斉分析法の検討 (第2報)

小林千恵, 柴田紘希, 山本 幸, 高橋 真----- 20

6 ワサビのイソチオシアネート類の分析におけるヘリウムガス供給不足への対応

山本 幸, 柴田紘希, 小林千恵, 高橋 真
農林技術研究所伊豆農業研究センター 久松 奨 ----- 25

7 機能性成分等に関する調査—健康食品等を上手に利用するために—

沓間理江, 小笠原理映, 辻むつみ, 高橋 真----- 29

8 飲料に含まれるカフェインに関する調査

辻むつみ, 沓間理江, 高橋 真----- 35

大気水質部

9 西駿河湾海域における水質汚濁状況について

田村隆志, 石川裕子, 山本佳奈恵, 菅谷則子, 山内 悟 ----- 42

10 大気汚染常時監視テレメータシステムに関する調査研究 (第1報)

前田友幸, 山口智久, 結城 茜, 矢嶋 雅, 田村克浩----- 47

11 大気汚染常時監視テレメータシステムに関する調査研究（第2報）	
前田友幸, 山口智久, 結城 茜, 矢嶋 雅, 田村克浩	53
他誌に発表した論文	59
学会・研究会報告	59
表彰等	62

CONTENTS

PAPERS

• Department of Environmental Science

- 1 Study on the Analytical Method of Non-regulated Chemicals
Yuka NAGASHIMA, Sayaka OGO and Miki TAKII ----- 1

• Department of Microbiology

- 2 Surveillance of *Rickettsia japonica* in Tick of Shizuoka Prefecture
Saori OISHI, Toshimi HARA, Yukiko SAKAI,
Fuyuki ABE and Takashi KANDA----- 6
- 3 Source Estimation of Contamination of *Legionella pneumophila* using MLVA
Shiro MIZUMOTO, Kai OKOSHI, Kana SUZUKI
Aya OGAWA, Hirotaka MORINUSHI, Hiromi NAGAOKA
and Takashi KANDA----- 11
- 4 Study on Critical Control Points for Semi-finished Food Prepared Mainly from Meat
Hirotaka MORINUSHI, Kai OKOSHI, Kana SUZUKI,
Aya OGAWA, Siro MIZUMOTO, Hiromi NAGAOKA,
and Takashi KANDA----- 14

• Department of Pharmaceutical and Food Science

- 5 Study of the Simultaneous Analytical Method for Pesticide Residues in Agricultural Products by
Fast and Easy Preparation (2nd Report)
Chie KOBAYASHI, Hiroki SHIBATA, Miyuki YAMAMOTO
and Makoto TAKAHASHI----- 20
- 6 Countermeasure to Heliumgas Short Supply in the Analysis of Isothiocyanates in Wasabi
Miyuki YAMAMOTO, Hiroki SHIBATA, Chie KOBAYASHI,
Makoto TAKAHASHI and Susumu HISAMATU----- 25
- 7 Investigation of Functional Ingredients – To make good use of Health Foods–
Rie KUTSUMA, Rie OGASAWARA, Mutsumi TSUJI
and Makoto TAKAHASHI----- 29
- 8 Investigation of Caffeine in Drinks
Mutsumi TSUJI, Rie KUTSUMA and Makoto TAKAHASHI----- 35

• Department of Pollution Control

9 Research on Causes of Water Pollution in the Nishi-Suruga Bay Coastal Area
Takashi TAMURA, Yuko ISHIKAWA, Kanae YAMAMOTO
Noriko SUGAYA and Satoru YAMAUCHI----- 42

10 Analysis and Improvement of Designing a New Telemetry System for Air Quality Monitoring (1st Report)
Tomoyuki MAEDA, Tomohisa YAMAGUCHI, Akane YUKI
Masashi YAJIMA and Katsuhiko TAMURA----- 47

11 Analysis and Improvement of Designing a New Telemetry System for Air Quality Monitoring (2nd Report)
Tomoyuki MAEDA, Tomohisa YAMAGUCHI, Akane YUKI
Masashi YAJIMA and Katsuhiko TAMURA----- 53

SUMMARIES OF PAPERS IN OTHER PUBLICATIONS ----- 59

PRESENTATIONS AT CONFERENCES AND/OR SOCIETY MEETINGS ----- 59

COMMENDATION ----- 62

未規制化学物質の分析法に関する研究

環境科学部 環境科学班 長島由佳, 小郷沙矢香*, 瀧井美樹

Study on the Analytical Method of Non-regulated Chemicals

Yuka NAGASHIMA, Sayaka OGO* and Miki TAKII

Chemical Abstract Service の登録物質は 2 億種類を突破しており, 現在も新たな化学物質が増え続けている。これらの中には, 人や生態系に対して有害な物質もあり, 過去の四大公害病をはじめ, 化学物質を原因とする様々な環境汚染問題を踏まえると, 環境中における化学物質の実態を適切に把握する必要がある。このためには, 調査の対象範囲を広げるとともに, 優先すべき物質を選定することが重要である。また, 未規制化学物質には, 分析法の無いものや, 分析法が示されていても個別に行わなければならないものが多いことから, 新たな分析法の開発及び効率化が求められる。

そこで, 要監視項目として定められている物質等を中心に, 対象とする物質を絞り込み, 14 種類の多成分一斉分析法を確立したので, 結果を報告する。

Key words: 未規制化学物質, 河川水, 要監視項目, 一斉分析, GC/MS

non-regulated chemicals, river water, monitoring-required water quality parameters, simultaneous analysis, GC/MS

はじめに

国内外において新規に製造・使用される化学物質の種類は, 今も増え続けている状況で, 米国化学会 Chemical Abstract Service には, 2 億種類以上が登録されている¹⁾。現在の私たちの周囲では, 実に様々な種類の化学物質が使用されており, 日々の生活は化学物質の恩恵に支えられている。しかし, 中島²⁾によると, カネミ油症事件や水俣病をはじめとする公害病や健康被害, 環境汚染も数多く報告されてきた。人の健康や生態系に有害な影響を及ぼす恐れのある化学物質は, 化学物質排出把握管理促進法の PRTR 制度の中で 462 種類が指定され, 事業所等から環境中へ排出される量が把握されている³⁾。しかし, ここに指定されていない物質の中にも, 人や生態系に有害な影響を及ぼすと考えられる物質が存在しており, 化学物質の環境実態の全容を明らかにしていくためには, モニタリングする物質を広げていく必要がある。

そこで, 近年県内での排出量が多い化学物質, 要監視項目として定められている物質及び全国の地環研で注視している物質等の中から, 今後, 本県として実態把握が

必要と考えられる物質を選定し, 水質試料を対象としたガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC/MS) による一斉分析法を開発したので報告する。

方法

1 GC/MS による一斉分析法検討対象物質の選定

一斉分析の対象として, 以下 1) 本県で優先的に調査すべき物質に加え, 2) 要監視項目, 3) 全国の地方環境研究所で注視している物質の中から GC/MS で分析可能と考えられる物質を選定した。

1) 本県で優先的に調査すべき物質

本県における 2015 年度の PRTR 排出量⁴⁾を基に, 県内 1 級河川の本流 6, その支流 3, 2 級河川の 21 (静岡市浜松市を除く), 計 30 河川を対象に, 解析モデル AIST-SHANEL Ver.3.0 (国立研究開発法人産業技術総合研究所)を用いて, 河川中濃度 (PEC) を計算し, 予測無影響濃度 (PNEC) との比を求め, 県内でリスクが大きいと考えられる化学物質を選定した^{5), 6)}。

① 静岡県内河川における AIST-SHANEL による計算結果の妥当性評価

まず初めに, AIST-SHANEL の静岡県内河川においての計算精度を確認するため, 環境基準項目で実測値のある直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 (LAS) を用いて, PEC の計算値と実測値を比較し妥当性を検討した。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒426-0083, 藤枝市谷稲葉 232-1)

Shizuoka Environment and Hygiene Institute

(232-1, Yainaba, Fujieda, 426-0083, Japan)

* : 原子力安全対策課

② 水生生物に対するリスク評価

PRTR 第一種指定化学物質 462 種類のうち、静岡県内の公共用水域に排出の届出がある化学物質 (2015 年度) で、環境基準が定められていない有機化学物質の 43 種類について、AIST-SHANEL Ver3.0 を用いて 31 河川の PEC を推定した。次いで、各物質の PNEC を用いて、PEC/PNEC 比を求めた。この比は、生態リスク評価⁷⁾に基づき、0.1 以上のものは情報収集に努める必要があり、1 以上の物質は詳細な評価を行う候補と考えられることから、比が 0.1 以上となった物質の中で検討対象となる候補を選定した。

2) 要監視項目の物質

要監視項目とは、「公共用水域における検出状況等からみて、直ちに環境基準とはせず、引き続き知見の集積に努めるべきもの」と定義され⁸⁾、環境省が指針値を定めている物質を指す。このうち、GC/MS で一斉分析可能と考えられる物質を選定した。

3) 全国の地方環境研究所で注視している物質

2016～2018 年度に行われた環境研究総合推進費の研究である「多種・新規化学物質の網羅的モニタリングと地域ネットワークを活用した統合的評価・管理手法の開発」⁹⁾を参考にした。この研究は、5 都市分 (東京、大阪、兵庫、名古屋、福岡) の環境試料を分析し、定量的構造活性相関 (QSAR)¹⁰⁾から得た毒性データを元に、都市部において優先的に調査すべき物質を特定したものである。示された物質のうち、GC/MS で一斉分析可能と考えられる物質を選定した。

2 GC/MS による一斉分析法

分析法開発を効率的に進めるため、まず機器の測定条件を検討した。次に、その測定条件で検出できる物質について、前処理法を添加回収試験及び定量下限値を算出して検討した。

1) 機器の測定条件

① 装置

JMS-Q1000GC K9 (日本電子製) を使用した。

② GC 条件

カラム(検討): DB-17HT, DB-5MS

30 m×0.25 mm×0.25 μm (Agilent 製)

キャリアガス: ヘリウム (1.2 mL/min)

注入口: 250 °C

カラム昇温: 40 °C (2 min) → 8 °C/min → 320 °C (5 min)

注入量: 1 μL

注入方法: スプリットレス

トランスファーライン: 280 °C

③ MS 条件

イオン源温度: 230 °C

イオン化エネルギー: 70 eV

イオン化法: EI

分析モード: SIM

2) 試薬

各標準試薬には、和光純薬製もしくは関東化学製を用い、グレードが特級以上のジクロロメタンもしくはアセトンで溶解し、100 mg/L に調製し保存用液とした。測定用溶液は、保存用液を適宜希釈し、使用時に調製した。

内部標準試薬には、内部混合標準溶液 II (林純薬) をアセトンで希釈したものを用い、サロゲート内部標準溶液として使用した。また、アントラセン-*d*10 (林純薬) をアセトンで希釈したものを用い、シリンジスパイク内部標準溶液として使用した。

3) 前処理法

固相カラムは逆相系の 3 種類を比較検討した。内訳は、シリカゲル系の充填剤 Sep-Pak C18、スチレン-ジベンジルベンゼンの充填剤 Sep-Pak PS-2 plus、ピロリジンを導入した親水性スチレン-ジベンジルベンゼン共重合体の充填剤 Oasis HLB plus である。

また、疎水性が大きい物質については、相互作用が強すぎて、溶出しない可能性が考えられた。このような物質の固相抽出に関しては、Nakamura ら¹¹⁾が試料水にメタノールを 40% 混合することで、固相抽出カラムに対する疎水性の高い物質の吸着性を抑制し、溶出効率を高めることができると報告している。このため、試料水へのメタノール添加の有無を検討した。

以下に、前処理法の具体的な手順、添加回収試験法及び定量下限値算出法を示す。

なお、要監視項目の公定法である環水規 121 号¹²⁾に準ずる形で行ったが、公定法と今回検討する前処理法の具体的な手順を図 1 に示す。

① 前処理手順

試料水 200 mL に対して、最終的な試料溶液が 40% となるように 133 mL のメタノールとサロゲート内部標準溶液を添加し、吸引ろ過で浮遊物を取り除いた。ろ過した試料水に 1mol/L の塩酸を添加し、pH2 以下となるように調製した。あらかじめジクロロメタン 5mL、アセトン 5mL 及び超純水 5mL でコンディショニングした固相抽出カラムに、調製した試料水を負荷し、超純水 15 mL で洗浄した。固相抽出カラムは、3,000 rpm にて 10 分間遠心分離した後、窒素パージにより、固相を乾燥させた。

なお、より溶出効率を上げるために、乾燥させた固相抽出カラムに、アセトン 5mL だけでなくジクロロメタン 5mL を負荷し、溶出液は全て採取した。窒素パージによ

り、約 1mL に濃縮した後、シリンジスパイク内部標準溶液を添加して、正確にアセトンで 1mL になるように調製し、これを試験溶液とした。

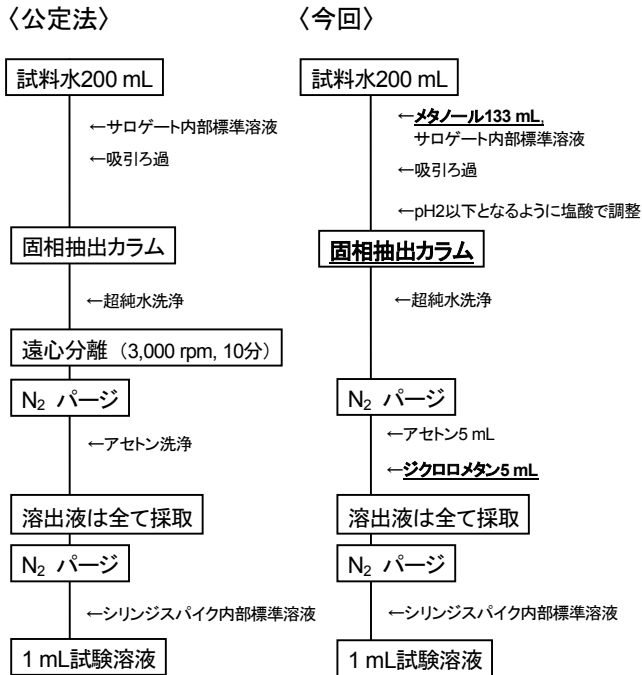


図 1 公定法と本法の違い

② 添加回収試験
水域類型 B である朝比奈川（藤枝市）の河川水を試料とし、各標準試薬が 50 ng/mL となるように添加し、十分に混合して均一化させた後、前処理を行った。試験は繰り返し 3 回行い、添加回収率を算出した。

③ 定量下限値
添加回収試験で、目標回収率である 70%～120% の範囲内となった物質について、朝比奈川の河川水に、各標準試薬を 10 ng/mL もしくは 50 ng/mL となるように添加し、十分に混合して均一化させた後、前処理を行った。試験は繰り返し 7 回行い、次式により定量下限値を算出した¹³⁾。

$$\text{定量下限値} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1, M} \times 20$$

$t(n-1, 0.05)$: 危険率 5%, 自由度 $n-1$ の t 値 (片側), $n=7$ の場合は 1.9432
 $\sigma_{n-1, M}$: 測定値の標準偏差

結果および考察

1 GC/MS による一斉分析法検討対象物質の選定

1) 本県で優先的に調査すべき物質
① 静岡県内河川における AIST-SHANEL による計算結果の妥当性評価

LAS を用いて、PEC の計算値と実測値を比較し、評価を行った。この評価は、石川ら⁶⁾の評価である Factor を用いて、推定値と観測値の評価を行った。

Factor1 は推定値と観測値が等しいことを示し、Factor n は推定値と観測値との比率が $1/n \sim n$ であることを示す。この結果、57 地点 85 データに対して 52% が Factor2, 67% が Factor3 の範囲内に入り、推定精度は良好であった。また、全データが Factor10 の範囲内に入り、計算値は概ね妥当であると考えられた。

表 1 検討対象物質

項目	物質名	用途
1) 県内で優先すべき物質	2,2-ジブプロモ-2-シアノアセトアミド	防腐剤
	ピリジン	合成原料
	アクリル酸	樹脂原料
	2-アミノエタノール	界面活性剤
	ベタナフトール	
	ナフタレン	
	メタアミノフェノール	合成原料
	N,N-ジシクロヘキシルアミン	
	イソキサチオン	
	ダイアジノン	
2) 要監視項目	フェニトロチオン	
	イソプロチオラン	
	クロロタロニル	
	プロピザミド	農薬
	EPN	
	ジクロルボス	
	フェノバルブ	
	イプロベンホス	
	クロロニトロフェン	
	フェノール	プラスチック原料
3) 全国の地環研で注視している物質	アニリン	合成原料
	4-t-オクチルフェノール	接着剤
	2,4-ジクロロフェノール	農薬
	2-ヒドロキシベンゾチアゾール	
	2-メチルチオベンゾチアゾール	香料
	ベンゾチアゾール	
	2-メトキシフェノール	
	2,6-ジ-t-ブチル-4-メチルフェノール	酸化防止剤
	カフェイン	精神神経用薬
	トリクロサン	殺菌剤
4) 内部標準物質	ナフタレン-d8	
	アセナフテン-d10	
	フェナントレン-d10	サロゲート
	フルオランテン-d10	
	クリセン-d12	

② 水生生物に対するリスク評価

詳細な評価を行う必要がある、もしくは情報収集に努める必要がある、と考えられる物質は25種類であった。この中で、GC/MSで分析可能と考えられる8種類を選定した。

2) 要監視項目及び全国の地方環境研究所で注視している物質

GC/MSで一斉分析可能かどうかを考慮し、要監視項目から15種類、全国の地方環境研究所で注視している物質から7種類を選定した。また、選定物質を考慮し、内部標準試薬には、サロゲート内部標準として5種類、シリジンスパイク内部標準として1種類用意した(表1)。

2 GC/MSによる一斉分析法

1) 機器の測定条件

定量イオンは、10ng/mLもしくは50ng/mLを測定した時に、m/zが90以上で、最も高い感度が得られるものを選択し、定性イオンは感度が良く、他の物質と重なる可能性の低いものを選択した。各物質のGC/MSでの定量イオン、定性イオン及びLog Powを表2に示す。

表2 定量・定性イオン及びLog Pow

項目	物質名	定量イオン 確認イオン	Log Pow	
1)	ベタナフトール	144, 115	2.7	
	ナフタレン	128, 127	3.5	
	N,N-ジシクロヘキシルアミン	138, 181	3.5	
	イソキサチオン	105, 177	3.7	
	ダイアジノン	179, 137	3.4	
	フェニトロチオン	277, 125	3.4	
	イソプロチオラン	162, 189	2.8	
	プロピザミド	173, 175	3.0	
	2)	EPN	157, 169	5.0
		ジクロロボス	109, 185	1.4
フェノブカルブ		121, 150	2.6	
イプロベンホス		91, 204	3.4	
クロロニトロフェン		317, 319	3.7	
フェノール		94, 66	1.5	
アニリン		93, 66	0.9	
2-メチルチオベンゾチアゾール		181, 148	情報なし	
ベンゾチアゾール		135, 108	2.0	
3)		2,6-ジ- <i>t</i> -ブチル-4-メチルフェノール	205, 220	5.1
	カフェイン	194, 109	-0.07	
4)	ナフタレン- <i>d</i> 8	136, 137	3.3	
	アセナフテン- <i>d</i> 10	162, 164	3.9	
	フェナントレン- <i>d</i> 10	188, 189	4.5	
	フルオランテン- <i>d</i> 10	212, 213	6.1	
	クリセン- <i>d</i> 12	240, 236	5.8	
	アントラセン- <i>d</i> 10	188, 189	4.5	

また、分離カラムは、1%ビニル 15%フェニルメチルポリシロキサン(DB-5MS(Agilent製))と、50%フェニル 50%メチルポリシロキサンのDB-17HT(Agilent製)を用いて測定した。双方のカラムを、選択イオンモニタリ

ング(SIM)上でピーク形状を確認したところ、Log Powが2よりも大きい物質では、どちらのカラムでも良好なピークを得られた。しかし、Log Powが2より小さい5種類では、DB-17HTがDB-5MSより良好なピーク形状を示した。これはDB-17HTのカラム極性の方が若干大きい中極性であり、より多くの物質に高感度を示したためと考えられる。そこで、分離カラムはDB-17HTを採用することとし、ピーク形状と感度が良好な結果だった19種類を測定対象とすることとした。

2) 前処理法

① 添加回収試験

各固相抽出カラムにおける添加回収試験の結果を表3に示す。

Sep-pak C18は、他のカラムに比べて回収率が不良となった。Sep-pak PS-2とOasis HLB Plusの回収率の結果に大きな差はなく、どちらの固相を用いても良いことが分かり、目標回収率70%~120%の範囲内となった物質は、14種類であった。

表3 添加回収試験 (%)

項目	物質名	Sep-pak C18	Sep-pak PS-2	Oasis HLB plus
1)	ベタナフトール	8	78	103
	ナフタレン	139	107	107
	N,N-ジシクロヘキシルアミン	24	14	11
2)	イソキサチオン	111	116	111
	ダイアジノン	38	84	102
	フェニトロチオン	28	109	110
	イソプロチオラン	30	104	116
	プロピザミド	14	86	107
	EPN	106	113	117
	ジクロロボス	2	5	6
	フェノブカルブ	23	103	98
	イプロベンホス	57	92	113
	クロロニトロフェン	111	108	116
3)	フェノール	172	35	46
	アニリン	3	1	1
	2-メチルチオベンゾチアゾール	23	103	107
	ベンゾチアゾール	72	72	80
	2,6-ジ- <i>t</i> -ブチル-4-メチルフェノール	160	98	109
	カフェイン	2	5	6

また、メタノールを40%添加して抽出したところ、疎水性の高い農薬や内部標準物質は、いずれの固相抽出カラムでも全て目標回収率の範囲内となったため、本手法を採用することとした。

目標回収率に届かなかった5種類のうち、ジクロロボスは蒸気圧が高く、前処理過程で揮発してしまったと考えられる。

また、フェノールとカフェインは、メタノールを添加したことで固相抽出カラムへの吸着不良になったと考え

られ、アニリンと N,N-ジシクロヘキシルアミンは、pH を酸性にしたことで回収率が不良となったと推察した。

② 定量下限値

Oasis HLB Plus カラムにおける定量下限値の結果を表 4 に示す。目標定量下限値は、要監視項目の指針値又は PNEC の 10 分の 1 とした。本実験の定量下限値は、目標定量下限値を全てクリアした。

また、指針値や PNEC が定められていない 2 種類についても、他の物質と同程度の定量下限値が得られたことから、定量に支障は無いと判断した。

表 4 定量下限値 (ng/mL)

項目	物質名	指針値 or PNEC	目標定量 下限値	定量 下限値
1)	ベタナフトール	4	0.4	0.38
	ナフタレン	1.6	0.16	0.14
	イソキサチオン	8	0.8	0.19
	ダイアジノン	5	0.5	0.11
	フェニトロチオン	3	0.3	0.06
	イソプロチオラン	40	4	0.09
2)	プロピザミド	8	0.8	0.09
	EPN	6	0.6	0.13
	フェノバルブ	8	0.8	0.05
	イプロベンホス	8	0.8	0.08
	クロロニトロフェン	-	-	0.07
3)	2-メチルチオベンゾチアゾール	-	-	0.06
	ベンゾチアゾール	15	0.15	0.10
	2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール	5.3	0.53	0.18

まとめ

県内の 1 級・2 級河川における未規制化学物質の存在状況を効率的に把握するために、GC/MS による一斉分析法について検討した。

分析機器である GC/MS の測定条件については、分離カラムは DB-5MS よりも DB-17HT を用いた方が測定できる物質が多いことが分かった。

試料水の前処理については、固相抽出カラムに Oasis HLB Plus もしくは Sep-pak PS-2 を用い、試料水にメタノールを 40% 混合したものを使用し、溶出にジクロロメタンを追加することで、より多くの物質で添加回収試験や定量下限値の結果が目標をクリアできた。

本分析法により、本県で優先的に調査すべき物質から 2 種類、要監視項目から 9 種類、全国の地環研で注目している物質から 3 種類の合計 14 種類について、GC/MS による一斉分析が可能であることが分かった。これにより、環境実態を効率的に把握でき、県民の健康被害の未然防止や生活環境の保全に寄与することができる。

文 献

- 1) CAS RN®正しく活用するためには？ (JAICI), (2017) <https://www.jaici.or.jp/casproducts/m/casm2017.pdf>
- 2) 中島大介:環境問題の変遷と環境研究, 表面科学, **36**, 91-93 (2015)
- 3) PRTR データを読み解くための市民ガイドブック (環境省), 8 (2019)
- 4) 平成 27 年度静岡県公共用水域及び地下水の水質測定結果, www.pref.shizuoka.jp/kankyoku/ka-050/sui/suisitukekka/h27/h27_aohon.html
- 5) 小郷沙矢香他: PRTR 情報を用いた AIST-SHANEL による静岡県内河川のリスク評価, 第 53 回日本水環境学会年会, 444 (2019)
- 6) 石川百合子他: 国内の任意水系を対象にした化学物質リスク評価のための産総研-水系暴露モデル (AIST-SHANEL) Ver.3.0, 水環境学会誌, **40**, No.5, 199-208 (2017)
- 7) 化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン (環境省)
- 8) 要監視項目 (環境省), www.env.go.jp/water/impure/kanshi.html
- 9) 西野貴裕他: 国内都市域の水環境中における生活由来化学物質の環境実態解明及び生態リスク評価, 環境化学, **30**, 37-56 (2020)
- 10) 構造活性相関 QSAR (独立行政法人製品評価技術基盤機構), <http://www.nite.go.jp/chem/qsar/qsartop.html>
- 11) Nakamura, M. et al. : Analyst, **121**, 469 (1996)
- 12) 水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について, 環水規 121 号, (1993)
- 13) 化学物質環境実態調査実施の手引き (平成 27 年度版), www.env.go.jp/chemi/kurohon/tebiki/mat01.pdf

静岡県におけるマダニの日本紅斑熱リケッチア保有状況について

微生物部 ウイルス班 大石沙織, 原稔美, 酒井悠希子,
阿部冬樹, 神田隆

Surveillance of *Rickettsia japonica* in Tick of Shizuoka Prefecture

Saori OISHI, Toshimi HARA, Yukiko SAKAI,
Fuyuki ABE and Takashi KANDA

2017年4月から2019年12月にかけて, 県内138地点の植生マダニ3,299匹を採取し形態学的に分類した結果, 4属11種で, フタトゲチマダニが最も多く, ついでキチマダニであった. 成ダニ, 若ダニは1匹ずつを, 幼ダニは1~5匹を1プールとし得られた897検体についてDNA抽出を行い, 151検体から紅斑熱群リケッチア(SFGR)の*gltA*遺伝子が検出され, うち1検体が日本紅斑熱リケッチア(*Rickettsia japonica*)と確認された.

2017年4月から2019年12月末までに, 日本紅斑熱を含むマダニ媒介性感染症が疑われた69症例について*R. japonica*遺伝子検査を実施し, 16症例から遺伝子を検出した.

Key words: 日本紅斑熱, 日本紅斑熱リケッチア, マダニ, ヤマアラシチマダニ

Japanese spotted fever, *Rickettsia japonica*, Ticks, *Haemaphysalis hystricis*

はじめに

日本紅斑熱は, SFGRの一種である*Rickettsia japonica*(以下R.j)を保有するマダニに刺されることで感染するマダニ媒介性感染症である. 1984年に徳島県で初めて報告され, 患者の数は年々増加し, 近年の全国の患者数は年間300人前後で, 死亡例も報告されている¹⁾. 西日本に患者が多いが, 東日本でも患者の報告があり, 感染地域は拡大している.

静岡県では, 2000年に初めて患者の発生があり, その後は2013年に1人, 2015年に2人, 2016年に2人, 2017年に7人, 2018年に2人, 2019年は最多の10人が報告されており, うち5人が亡くなっている. 推定感染地域は2015年までは香貫山を中心とする沼津アルプス周辺であったが, 2016年から東伊豆で発生がみられるようになり, 2019年には今まで発生がなかった西部地域でも発生し, 県内での発生地域は拡大している.

当所では, 1989年以降旗ざり法によりマダニの調査を行っており, 西日本でR.j検出報告が多数あるヤマアラシチマダニは, 2008年は沼津アルプス周辺でのみ採取さ

れたが, 2010年以降, 西部地域の浜名湖西岸でも採取され始め, さらに2015年には東伊豆地域で採取され, 分布地域の拡大が認められた. また, 患者の推定感染地近辺ではヤマアラシチマダニが採取されており, 両者の関係性が注目された. これらのことから, 県内各地域での日本紅斑熱発生の可能性を知る目的で, マダニ類の生息状況とR.jの保有状況を調査したので報告する.

材料および方法

1 マダニの生息状況調査

2017年4月から2019年12月にかけて, 県内138地点において旗ざり法(flagging法)により植生上のマダニの採取を行った. 採取したマダニは, 実体顕微鏡下で形態学的特徴からマダニ種, 発育段階(成ダニ, 若ダニ, 幼ダニ)および性別(成ダニのみ)を同定した.

2 マダニのR.j保有状況調査

成ダニ, 若ダニは1匹を1検体とし, 幼ダニは1から5匹を1プールとし1検体とし(897検体), DNAを抽出した. DNA抽出方法は, ブレードを使いマダニの腹部周囲に切れ込みをいれるか, マダニを粉碎したものにPBS10 μ lを加え, QIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN), InrtaGene Matrix(BIO RAD)またはGenCheck DNA Extraction Reagent(FASMAC)を用いてDNAを抽出し,

PCR用のテンプレートとした。

SFGR検出用PCRは、*gltA* 遺伝子を増幅し、特異的なバンドが認められたものを陽性とし、*Rsa I* による制限酵素処理を行い *R.j* と同じ切断パターンであったものについて、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を解析し、*R.j* の同定を試みた。

3 ヒトの日本紅斑熱検査

2017年4月～2019年12月末までにマダニ媒介性感染症が疑われ感染症発生動向調査の届出がされた69症例について、遺伝子検査を行った。患者血液またはバフィーコート、マダニの刺し口（痂皮）、発疹部皮膚から、QIAamp DNA Mini Kitにより抽出したDNAについて川森らのreal-time PCR法²⁾によりSFGRとつつが虫病リケッチアの遺伝子検査を行い、SFGR陽性または判定保留の検体に対し古屋らのNested PCR法³⁾で*R.j* 特異的遺伝子の検査を行った。

血液検体からSFGRもしくは*R.j* 遺伝子が検出された血液検体について*R.j* 分離を試みた。血液100 μ lをVero9013細胞に接種し、牛胎児血清1%加イーグルMEM培地「ニッスイ」③を用い、30～34°C1日後に培養液を交換し、10～14日間培養した後、培養細胞を接種材料とし、盲継代を繰り返した。細胞に変化が現れた培養細胞

から上記のreal-time PCR法によりSFGR遺伝子を確認し、陽性の場合、ダイレクトシーケンス法により得られた塩基配列により*R.j* かを確認した。

結 果

1 マダニの生息状況調査

採取したマダニは4属11種3,299匹で、優占種はフタトゲチマダニ (*Haemaphysalis longicornis*) であり1,267匹 (38.4%) が採取され、次いでキチマダニ (*H. flava*) 894匹 (27.0%) であった。県内ではまだ採取報告のなかったツノチマダニ (*H. coenigera*) が採取された (表1)。

東部、中部、西部で比較すると、優占種は東部がフタトゲチマダニ、中部、西部はキチマダニであった。中部では、タイワンカクマダニ (*Deemacenter taiwanensis*) は採取されず、ツノチマダニは中部、西部地域では採取されなかった (表2)。

過去の調査と比較して、南方系マダニの採取地点が増加傾向にあり、中でもヤマアラシチマダニの採取地点は増加した (図1～3)。

2 マダニの*R.j* 保有状況調査

採取したマダニ911匹から得られた897検体の遺伝子検査の結果は、*gltA* 遺伝子陽性151検体、そのうち*R.j*

表1 採取マダニ数

種類	成ダニ		若ダニ	幼ダニ	合計 (%)
	♀	♂			
フタトゲチマダニ(H.l)	122	81	925	139	1,267 (38.4)
キチマダニ(H.fl)	114	119	643	18	894 (27.1)
タカサゴチマダニ(H.fo)	20	27	195	33	275 (8.3)
ヤマアラシチマダニ(H.h)	37	16	163	6	222 (6.7)
ヒゲナガチマダニ (H.k)	131	83	0	0	214 (6.5)
オオトゲチマダニ (H.m)	17	16	38	2	73 (2.2)
ツノチマダニ(H.cor)	1	3	1	0	5 (0.2)
タカサゴキラマダニ(A.t)	2	3	98	56	159 (4.8)
タイワンカクマダニ(D.t)	2	3	0	2	7 (0.2)
ヤマトマダニ (I.o)	39	22	0	0	61 (1.8)
アカコッコマダニ (I.tu)	10	0	51	61	122 (3.7)
合計	495	373	2,114	317	3,299

表 2 地域別マダニ採取数

種類	東部	中部	西部
H.l	951	181	135
H.fl	368	262	264
H.fo	201	62	12
H.h	156	19	47
H.k	191	7	16
H.m	66	6	1
H.cor	5	0	0
A.t	95	19	47
D.t	6	0	1
I.o	11	21	29
I.tu	78	11	33
合計	2128	617	554

遺伝子が検出された検体は 1 検体であった。

マダニ種による *gltA* 遺伝子陽性率は、フタトゲチマダニ (39.0%)、ヤマアラシチマダニ (*H. hystricis*) (26.8%)、タカサゴキラマダニ (*Amblyomma testudinarium*) (15.9%)、オオトゲチマダニ (*H. megaspinosa*) (19.4%)、タカサゴチマダニ (*H. fromosensis*) (10.8%)、キチマダニ (6.7%)、6 匹しか採取されなかったタイワンカクマダニ (50.0%) であり、R.j 遺伝子が検出されたのはヤマアラシチマダニの幼ダニからであった (表 3)。

表 3 マダニ種別紅斑熱群リケッチア陽性率

種類	検体数	<i>gltA</i> 陽性数 (%)	R.j 陽性数
H.l	141	55 (39.0)	0
H.fl	210	14 (6.7)	0
H.fo	65	7 (10.8)	0
H.h	190	51 (26.8)	1
H.k	132	4 (3.0)	0
H.m	36	7 (19.4)	0
H.cor	5	0	0
A.t	63	10 (15.9)	0
D.t	6	3 (50.0)	0
I.o	42	0	0
I.tu	7	0	0
合計	897	151 (16.8)	1

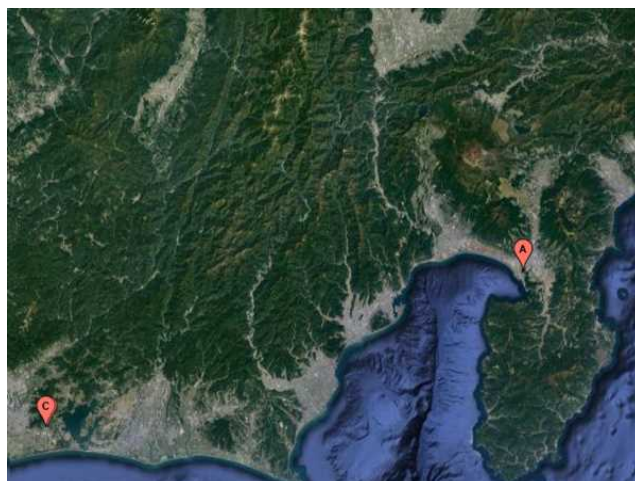


図 1 ヤマアラシチマダニ採取地点 (2008-2010)

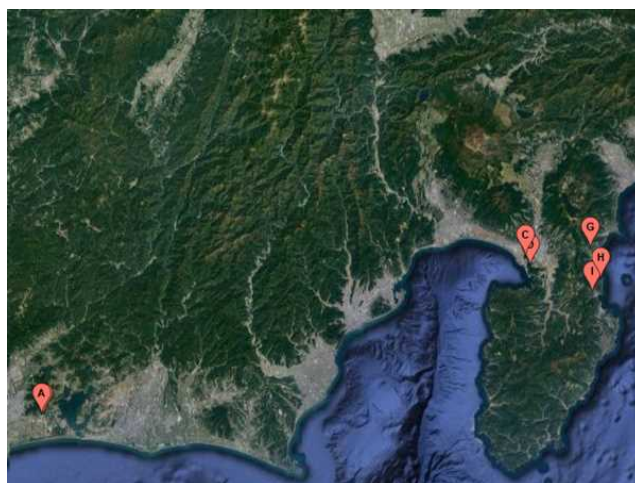


図 2 ヤマアラシチマダニ採取地点 (2013-2015)

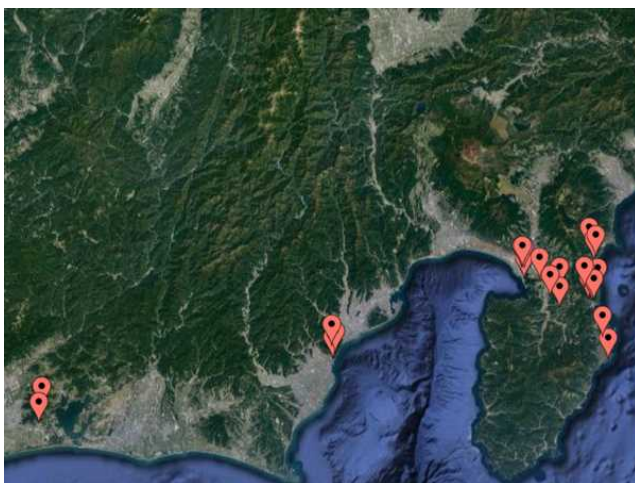


図 3 ヤマアラシチマダニ採取地点 (2017-2019)

3 ヒトの日本紅斑熱検査

マダニ媒介性感染症が疑われ、全血あるいは皮膚（痂皮、発疹部皮膚）の提供を受けたヒト 69 症例のうち 16 症例から、R.j 遺伝子が検出された。R.j 遺伝子陽性症例の検体の内訳は、血液 16 検体中 6 検体、発疹部皮膚 6

検体中 5 検体, 痲皮 8 検体中 8 検体であった. SFGR 陽性であったが, DNA 抽出液が不足し Nested PCR 法が実施できなかった 1 症例の血液から R.j が細胞分離された.

考 察

当所では, 1989 年~1991 年⁴⁾, 2008 年~2010 年^{5) 6)}, 2013 年~2015 年⁷⁾そして今回 2017 年~2019 年に, 県内全域のマダニ調査を行ってきた. 1989 年~1991 年の調査は 31 地点で 2 属 9 種が, 2008 年~2010 年は, 110 地点で 4 属 13 種採取され, この時から南方系マダニであるタカサゴチマダニ, ヤマアラシチマダニ, タカサゴキラマダニ, タイワンカクマダニが採取されるようになり, 2013 年~2015 年は 4 属 13 種, 今回は 4 属 11 種が採取され, 南方系マダニの全体に占めるその割合は, 2008 年~2010 年 4.9%, 2013 年~2015 年 6.8%, 今回は 20%と増加している. 以前の調査で採取され, 今回採取されなかったマダニは 4 種類あり, ヤマトチマダニ (*H japonica*), タネガタマダニ (*Ixodes nipponensis*), ヒトツトゲマダニ (*I monospinosus*), シュルツマダニ (*I persulcatus*) であり, 県内では標高の高いところで採取されていた種類である. 今回は R.j を保有するマダニの調査であったため, 日本紅斑熱の発生しやすい海沿いの地域で採取を行ったため採取されなかったと考える. 今回, 初めて旗ざり方でツノチマダニが採取された. ツノチマダニは, 高田⁸⁾によると県内の鳥類に寄生していた例があることから, ツノチマダニが生息する房総半島, もしくは三重県から鳥により運ばれ, 東伊豆地域に生息し始めたと推測される. 以前の調査と比較し, 採取される地点が増加したマダニにタカサゴチマダニとヤマアラシチマダニがあり, タカサゴチマダニは 2008 年~2010 年が 3 地点 (東部, 西部) 2013 年~2015 年は 11 地点で採取され, 今回中部の隣接しない地域を含む 29 地点で採取された. ヤマアラシチマダニも同じような採取地点の増加をたどっている.

マダニの SFGR 陽性率は, 地域により異なり, 東部 18.8%, 中部 8.6%, 西部 14.6%であり, 東部の中でも患者の発生のある香貫山周辺は 25.6%, 東伊豆は 22.7%とほかの地域に比べ高い陽性率であった. このことから, 他の地域に比べ, 香貫山周辺と東伊豆では日本紅斑熱以外の紅斑熱にも注意が必要である.

2008 年~2010 年の調査で R.j がタイワンカクマダニとヤマアラシチマダニの成ダニから分離された. 今回, タイワンカクマダニから R.j 遺伝子は検出されなかったが, タイワンカクマダニは旗ざり法で採取されにくいため検

体数が少なかったためと思われた. 一方, ヤマアラシチマダニからは R.j 遺伝子が検出された. 採取場所は, 東伊豆地域で同居家族が, 2018 年 8 月末と 10 月上旬に日本紅斑熱を発症し, その推定感染場所であった 2 人の自宅敷地内で, 2019 年 5 月に採取した幼ダニであった. 2 人の自宅は周囲を山に囲まれ, 野生動物やネコが敷地内を自由に出入りできる環境であり, R.j を保有するヤマアラシチマダニの生活環が成り立っていると考えられ, この周辺では今後も日本紅斑熱の発生に注意が必要である. これらのことから, 県内の媒介マダニはヤマアラシチマダニが中心であると考えられ, 今後, ヤマアラシチマダニの分布域拡大により日本紅斑熱患者の発生地域も拡大する可能性がある. 2015 年に, ヤマアラシチマダニが採取された東伊豆地域では 2016 年に患者が発生し, 2010 年の調査からヤマアラシチマダニが採取されていた西部地域では, 約 10 年後の 2019 年に患者が発生した. 今回の調査でヤマアラシチマダニが採取され始めた中部地域も日本紅斑熱の発生に注意していく必要がある. また, 新たに県内で採取されたツノチマダニは, 前述の 2 人の患者自宅敷地内で採取され, 他県では R.j 遺伝子が検出されているため⁹⁾, 県内での日本紅斑熱媒介マダニになる可能性が高いため, 今後はこの地域のツノチマダニに注視していく必要がある.

県内の日本紅斑熱は現在までに 25 人が発生し, 患者の発生時期は 5 月から 11 月で, 9 月が最も多かった. 2019 年は, 5 月中旬に東伊豆で 2 人の患者が相次いで発生し, 11 月中旬に西部地域で発生があったことから, 温暖な気候の静岡県では他県に比べ患者の発生時期が長いことから, 5 月から 11 月の間はマダニ対策に留意すべきである.

2019 年は, 過去に患者の発生がなかった西部地域 2 か所での発生, 東伊豆地域では北東方向への拡大がみられた. 患者発生区域の拡大には野生動物がかかわっていると考察されるため, 関係機関とも情報の共有を行っていききたい. また, 県内は日本紅斑熱の致命率が 20%と, 他県に比べ高いことから, 県民や医療機関に対し, また, 隣県に対しても, 患者発生地域やマダニの分布域, SFGR 保有率など情報提供を行い, 早期の受診, 治療を啓発し, 死者数の減少につなげていきたい.

文 献

- 1) 国立感染症研究所: 発生動向調査週報
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/idwr.html>
- 2) Kawamori F, Shimazu Y, Sato H, et al.: Jpn J Infect Dis. 2018 Jun 24;71(4):267-273.doi:10.7883/yoken.JJID.2017.447.

- 3) Furuya Y, Katayama T, Yoshida Y, et al.; J Clin. Microbiol, 1995, 33: 487-489.
- 4) 川森文彦: マダニの採取・同定法および静岡県における採取状況. 技術情報, 10, 1-4 1992.
- 5) 川森文彦他: 静岡県東部におけるマダニの分布状況ならびにマダニ, 野ネズミからの紅斑熱群リケッチアの検出. 静岡県環境衛生科学研究所報告, No52, 1-6 2009.
- 6) 川森文彦他: 静岡県中西部におけるマダニの分布状況ならびに紅斑熱群リケッチア浸淫状況. 静岡県環境衛生科学研究所報告, No53, 41-44 2010.
- 7) 池ヶ谷朝香他: 静岡県における重症熱性血小板減少症候群ウイルスの浸淫実体および媒介マダニに関する研究. 静岡県環境衛生科学研究所報告, No58, 35-38 2015.
- 8) 高田歩: 静岡県の野生動物におけるマダニ類. 東海自然誌 (10) : 1-13 2017年3月31日発行
- 9) 安藤秀二他: 国内における紅斑熱群リケッチア症を媒介するマダニ類と病原体の多様な関係. Med. Entomol. Zool, Vol. 64 No. 1 p. 5-7 2013.

MLVA を利用した *Legionella pneumophila* の汚染源の推定

微生物部 細菌班 水本嗣郎, 大越魁, 鈴木香菜,
小川紋, 森主博貴, 長岡宏美, 神田隆

Source Estimation of Contamination of *Legionella pneumophila* using MLVA

Shiro MIZUMOTO, Kai OKOSHI, Kana SUZUKI
Aya OGAWA, Hirotaka MORINUSHI, Hiromi NAGAOKA and Takashi KANDA

静岡県内の2施設において、浴槽水や空調設備の冷却塔水など複数の箇所から *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) が検出された。各施設の複数の箇所から分離された *L. pneumophila* について、分子疫学解析手法の1つである反復配列多型解析法(Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis ; MLVA)により遺伝子型を比較した。その結果、施設におけるレジオネラ属菌の汚染源の推定(絞り込み)が可能となることが示唆された。今後 MLVA を利用した汚染源の推定を行うことで、より効率的な衛生管理の実施が期待される。

Key words : レジオネラニューモフィラ, 反復配列多型解析法

Legionella pneumophila, Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA)

はじめに

レジオネラ属菌は河川や土壌など自然界に生息している細菌であり、感染すると発熱、咳、重症化すると肺炎等を呈する。本菌に汚染されたエアロゾル(水から発生する細かい霧やしぶき)を吸引することで感染することから、旅館や公衆浴場の浴槽水やプール、空調設備で使用される冷却塔水は菌の発生防止が重要であり、そのために様々な対策がとられている。しかしながら、このような水等を利用する施設では往々にしてレジオネラ属菌が検出されるため、菌が検出された場合は、施設の中で菌が検出された箇所の清掃および消毒が実施されている。

これらの施設は、複雑な配管が多い事や、水の循環設備などが配置されるケースがあり、そのような箇所はレジオネラ属菌の生息場所となるバイオフィルムの形成が起りやすい。このため、バイオフィルム等レジオネラ属菌の生息場所を推定することは、レジオネラ属菌の除去を目指した的確な清掃および消毒を行うために重要である。

本研究では、遺伝子検査を応用した効率的な衛生管理手法の有用性を検討するため、複数の箇所(設備)から *L. pneumophila* が検出された水等を利用する2施設において、検出された当該菌についてMLVAを用いて遺伝子型を比較した。その比較により、汚染箇所が推定(絞り込み)され、MLVAを用いた検査を組み込むことにより、効率的な衛生管理が可能となることが示唆されたので、その事例について報告する。

事例の概要

1 事例1(施設A)

施設Aは温泉を利用した浴場施設で、原湯から頻りにレジオネラ属菌が検出していた。そのため、原湯は貯湯槽内でモノクロミンにより消毒され、配管を經由して各浴槽(循環式浴槽および利用者毎完全換水式浴槽)へ配水されていた。また、循環式浴槽については、循環配管においてもモノクロミンによる消毒を実施していた(図1)。

施設Aでは、レジオネラ属菌の発生防止対策の一助として、定期的に原湯、貯湯槽、循環式浴槽の浴槽水および利用者毎完全換水式浴槽の吐水口(浴槽に入る直前)の温泉水のレジオネラ属菌の検査を実施していた。

貯湯槽および循環配管の消毒が安定的に行われている

状況下において、貯湯槽で濃度が 3.0ppm 以上のモノクロロミン消毒を実施していたにもかかわらず、原湯、貯湯槽、循環式浴槽の浴槽水および利用者毎完全換水式浴槽の吐水口の温泉水のレジオネラ属菌の検査を実施した結果、消毒未実施の原湯（採水箇所 1）以外に、2 箇所の利用者毎完全換水式浴槽吐水口（採水箇所 4）からレジオネラ属菌が検出された。

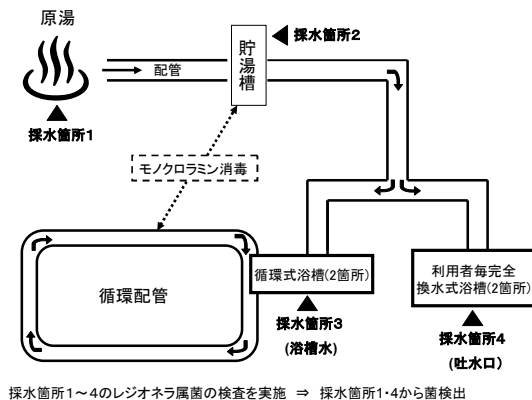


図1 施設Aの概要

2 事例 2(施設B)

施設Bは屋上に空調設備に利用される複数の冷却塔を設置している。冷却塔水には雨水を利用しており、地下に設置したタンクに雨水を貯めて共通の配管にて屋上にくみ上げ、分岐する配管を通して各冷却塔に配水されていた。冷却塔水は一部蒸発する分を継ぎ足しながら各冷却塔内で循環させており、配管の清掃は行われていなかった(図2)。

当該施設においてレジオネラ症の患者が発生し、冷却塔の近くに空調の吸い込み口が位置していたことから、冷却塔水のレジオネラ属菌の汚染を疑い、各冷却塔水の検査を実施したところ、採水した 5 箇所全ての冷却塔水からレジオネラ属菌が検出された。

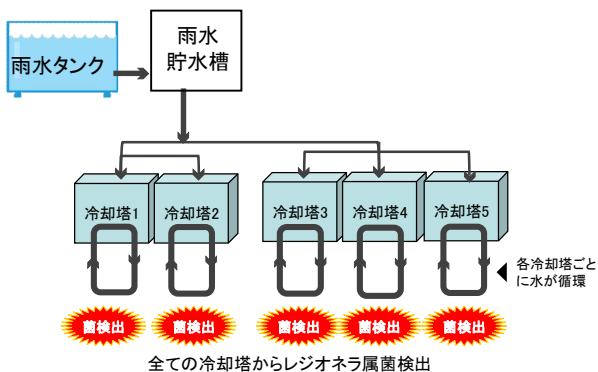


図2 施設Bの概要

材料および方法

事例 1 では、原湯および 2 箇所の利用者毎完全換水式浴槽吐水口の温泉水計 3 箇所から分離された *L.pneumophila* 血清群 5(SG5) の 3 株の遺伝子型を比較した。また、事例 2 では冷却塔 1 および 3 の冷却塔水から分離された *L.pneumophila* 血清群 1(SG1) の 2 株、冷却塔 1,2,3 および 5 の冷却塔水から分離された *L.pneumophila* 血清群 7(SG7) の 4 株の遺伝子型を比較した。

遺伝子型の比較には、Sobral ら¹⁾によって報告された 12 領域 (Lpms01, Lpms03, Lpms13, Lpms19, Lpms31, Lpms33, Lpms34, Lpms35, Lpms38, Lpms39, Lpms40, Lpms44) を用いて MLVA をおこなった。

前川ら²⁾の方法に従い、蛍光標識したプライマーを用いて、4 領域を 1 セットとした 3 種類の multiplex PCR-A (Lpms01, Lpms31, Lpms33, Lpms35), PCR-B (Lpms03, Lpms13, Lpms19, Lpms34), PCR-C (Lpms38, Lpms39, Lpms40, Lpms44) とした。PCR 反応は、QIAGEN Multiplex を用いた。PCR 条件は、95°C15 分後に 95°C30 秒、60°C1 分、72°C70 秒を 35 サイクル行った。50 倍希釈した PCR 産物 1 μl をサイズマーカー 0.25 μl (GeneScan 1200 LIZ Size Standard (PCR-A および PCR-B), GeneScan 600 LIZ Size Standard (PCR-C) および Hi-Di Formamide (ABI) 10 μl に混合し、95°C で 3 分加熱後、氷中条件で 2 分間急冷した。その後、AB3500 Genetic Analyzer にてフラグメント解析を行った。得られたデータは GeneMapper (Applied Biosystems) を用いて、リピート数を測定した。

結果および考察

1 事例 1(施設A)

原湯および 2 箇所の浴槽吐水口から分離された計 3 株の *L.pneumophila* SG5 の MLVA はそれぞれ 3 領域以上でリピート数が異なり、遺伝子型のパターンは一致しなかった(表 1)。

この結果より、原湯のレジオネラ属菌が消毒されずに浴槽まで到達したのではなく、清掃および消毒が不十分であったと考えられる貯湯槽から利用者毎完全換水式浴槽までの配管内に菌が残存していたと考えられた。

利用者毎に換水する浴槽形態の場合、利用者の使用頻度が低くなると、貯湯槽から浴槽までの配水が止まる頻度が多くなるため、途中の配管に水が滞留しやすい状態になり、その結果、配管内でバイオフィームが形成され、そこでレジオネラ属菌が発生している可能性が考えられた。

このため、当該施設の管理者が貯湯槽から浴槽までの配管の清掃および消毒を徹底した結果、レジオネラ属菌

まとめ

今回、2 事例において MLVA により *L.pneumophila* の遺伝子型別を行うことで菌の汚染源を推定することが可能となり、効果的なレジオネラ属菌の防止対策へとつながった。

通常、公衆浴場や旅館等において浴槽水からレジオネラ属菌が検出された場合、菌が検出された浴槽を中心に清掃および消毒を実施し、汚染源は不明なままとなる場合が多く、根本的なレジオネラ属菌防止対策が不十分となる場合がある。

MLVA を導入することでレジオネラ属菌の遺伝子型別から汚染源を推定し、施設の消毒ポイントが明確化されることは、効果的な衛生管理を可能にすると期待される。

さらに、MLVA は結果が数値化されたデータであるため、パルスフィールドゲル電気泳動法のような画像診断による分子疫学解析手法と異なり、施設管理者への説明に有用であるとともに、過去データとの比較が容易となるため、施設のレジオネラ属菌の定着性を調べる方法として有用であると思われる。

今後も MLVA を活用し、効果的なレジオネラ属菌発生防止の一助となるよう、さらなる検証を図っていきたい。

文献

- 1) Sobral,D. et al. : High-Throughput Typing Method To Identify a Non-Outbreak-Involved *Legionella pneumophila* Strain Colonizing the Entire Water Supply System in the Town of Rennes, France, *Appl Environ Microbiol.*, 77,6899-6907(2011)
- 2) 前川純子他:MLVA 法における *Legionella pneumophila* の遺伝学的特徴, 平成 28-30 年度厚生労働科学研究費補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業) 公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究 平成 30 年度総括・分担研究報告書, 37-46(2019)

表1 事例1のMLVAのリポート数

	Lpms 31	Lpms 01	Lpms 35	Lpms 33	Lpms 34	Lpms 13	Lpms 19	Lpms 03	Lpms 40	Lpms 38	Lpms 39	Lpms 44
原湯	14	8	13	2	3	8	6	8	4	0	0	9
吐水口1	3	8	14	2	3	8	6	8	4	0	11	9
吐水口2	14	8	15	2	3	8	6	8	4	19	14	9

の検査において、貯湯槽、循環式浴槽の浴槽水および利用者毎完全換水式浴槽の吐水口から菌は検出されなかった。

2 事例2(施設B)

冷却塔 1 および 3 の冷却塔水から分離された *L.pneumophila* SG1 の 2 株, 冷却塔 1, 2, 3 および 5 の冷却塔水から分離された *L.pneumophila* SG7 の 4 株の MLVA は血清群ごとに全ての領域でリポート数が一致しており、同一由来であることが示唆された(表 2)。

冷却塔水は、雨水タンクから共通の配管を通して各冷却塔に運ばれ各冷却塔内で循環している。今回、異なる冷却塔水に由来する菌株間において MLVA のリポート数の一致が確認されたことから、それぞれの冷却塔が個々にレジオネラ属菌に汚染されたのではなく、雨水に混入していたレジオネラ属菌が雨水タンクや共通配管内で増殖し、各冷却塔に運ばれ冷却塔内で循環している可能性が高いことが示唆された。

調査結果を踏まえ、施設に対して冷却塔使用水を雨水から上水へ切り替えること、雨水タンクおよび配管の洗浄および消毒を助言し、施設管理者が対応したところ、冷却塔水の検査においてレジオネラ属菌は検出されなかった。

表2 事例2のMLVAのリポート数

	Lpms 31	Lpms 01	Lpms 35	Lpms 33	Lpms 34	Lpms 13	Lpms 19	Lpms 03	Lpms 40	Lpms 38	Lpms 39	Lpms 44
冷却塔1 SG1	10	7	17	4	2	10	4	7	5	3	14	7
冷却塔3 SG1	10	7	17	4	2	10	4	7	5	3	14	7
冷却塔1 SG7	10	7	17	4	2	10	4	7	5	0	14	7
冷却塔2 SG7	10	7	17	4	2	10	4	7	5	0	14	7
冷却塔3 SG7	10	7	17	4	2	10	4	7	5	0	14	7
冷却塔5 SG7	10	7	17	4	2	10	4	7	5	0	14	7

食肉を主原料とするそうざい半製品の重要管理点に関する研究

微生物部 細菌班 森主博貴, 大越 魁, 鈴木香奈,
小川 紋, 水本嗣郎, 長岡宏美,
神田 隆

Study on Critical Control Points for
Semi-finished Food Prepared Mainly from Meat

Hiroataka MORINUSHI, Kai OKOSHI, Kana SUZUKI,
Aya OGAWA, Siro MIZUMOTO, Hiromi NAGAOKA,
and Takashi KANDA

2016年、県内で製造されたメンチカツを原因食品とした腸管出血性大腸菌（EHEC）0157による食中毒が発生した。この原因食品は微生物学的な規格基準がないそうざい半製品で、最終的には消費者の十分な加熱調理により衛生が確保される食品である。このようなそうざい半製品の中でも食肉を主原料とするものはEHECなどの微生物による汚染のリスクが高い。そこで、本研究ではこのような食肉を主原料とするそうざい半製品による食中毒を防止するため、そうざい半製品の微生物汚染の実態を把握するとともに、安全に喫食するための調理における重要管理点について検討を行った。その結果、市販されているそうざい半製品から3種類の食中毒起因菌が検出された。また、保存温度および加熱温度と時間による菌の動態を調べたところ、製品が汚染されていた場合は製品に記載されている調理方法に従っても、加熱不足により喫食時に細菌が残存してしまう可能性があることが示唆された。

Key words: 腸管出血性大腸菌, そうざい半製品

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), Sozai Semi-finished Food

はじめに

そうざい半製品はメンチカツ、コロケ、餃子など消費者が焼いたり揚げたりひと手間を加えて完成する商品である。販売店では冷凍食品のコーナーに陳列されていることが多いが、冷凍食品との違いを認識している消費者は少ない。

冷凍食品は食品衛生法で製品の規格基準が定められているが、そうざい半製品には国が定めた規格基準がなく、そうざいのように指導指針となる規範も定められていない。そうざい半製品には様々な種類があるが、メンチカツのように食肉を主原料とするそうざい半製品は挽肉を使

用している場合が多い。挽肉を使った製品は、その製造工程で混ぜる作業があり、その際に表面に付着していた菌が全体に広がり、外側に熱が入っていても中心部まで火を通さないと殺菌できない危険性がある。2016年に発生した静岡県内で製造された冷凍メンチカツを原因食品とする腸管出血性大腸菌 0157 による食中毒も主原料が挽肉であった。

今回、細菌に汚染されるリスクが高い食肉を主原料とするそうざい半製品の重要管理点を明確化することを目的とし、本研究を実施した。食品は生産から加工、調理、喫食まで管理すべき点は多岐に渡るが、本研究では消費者が行う最後の工程に重点を置き、家庭における製品の安全な取り扱い（調理）条件を検討した。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒426-0083, 藤枝市谷稲葉 232-1)

Shizuoka Environment and Hygiene Institute

(232-1, Yainaba, Fujieda, 426-0083, Japan)

材料および方法

1 そうざい半製品の汚染状況の把握

1) 市販流通品

食肉を主原料とする冷凍市販品 9 品（冷凍食品 5 品およびそうざい半製品 4 品）を購入し、汚染実態調査を行った。食品 10g を滅菌リン酸緩衝液 PBS(-)90mL でストマッキング後、溶出液 1 mL を BHI10mL およびプレストン 15mL に接種し BHI は 37°C、プレストンは 42°C で 24 時間増菌培養した。増菌培養液から QIAGEN MINI KIT を用いて DNA を抽出した後、Iida らの方法¹⁾に従い、リアルタイム PCR で表 1 に示す 16 種類の食中毒起因菌について遺伝子保有の有無を調べた。遺伝子保有が確認された食品については、静岡県食中毒検査マニュアル²⁾に従い菌分離を試みた。

2) 食中毒原因食品

2016 年の食中毒事件の際、収去されたそうざい半製品を衣部分と肉部分に分離した。各部位 10g に PBS(-)90mL を加えて混和したものを原液とし、さらに 10 倍希釈液を作成した。原液 1mL (A) および 10 倍希釈液 1mL (B) ならびに 0.1mL (C) を mEC 培地 9mL に接種し 42°C で 24 時間培養後、A~C それぞれのグループで何本の試験管に菌が発育するか確認した。

2 製品からの毒素検出方法の検討

1) 検査方法

2016 年の食中毒事件における食品由来 O157 保存菌株を用いた。普通寒天培地に発育したコロニー白金耳分を mEC10mL に接種し 42°C 24 時間増菌培養後、増菌液からアルカリ法にて DNA を抽出した。これを原液とし 10 の 7 乗まで段階希釈したのち、コンベンショナル PCR キット 2 種 (TaKaRa EVC, TaKaRa EVS) とリアルタイム PCR で検出限界を確認した。

2) 抽出方法

上記の増菌液から加熱処理、アルカリ処理、上記市販

キットを使用した 3 つの方法で DNA を抽出後、リアルタイム PCR で CT 値を比較した。加熱処理は 99°C 10 分間加熱後、4°C で 20,000g × 5 分間遠心し、得られた上清を DNA 抽出液とした。アルカリ処理は普通寒天培地上に発育した 1mm 程度のコロニーを 50 μL の 25mM NaOH 水溶液に懸濁し加熱後、4 μL の 1M Tris-HCl (pH7.5) を加えて中和した。中和後 4°C で 20,000g × 5 分間遠心し、上清を DNA 抽出液とした。キットについては添付書類の記載条件に従い実施した。

また、増菌液を食品に添加したもので同様の操作を行い、食品の影響を検討した。

3 保存温度と時間による菌の増殖状況

普通寒天培地に発育した O157 を PBS に懸濁させた菌液 (2.65 × 10³ CFU/mL) を常温・冷蔵・冷凍の条件下で 18 日間保存した。保存期間中、3 日ごとに寒天平板混釈法を用いて菌数を計測し保存温度による増殖状況を比較した。

4 加熱温度と調理時間による菌の死滅条件の検討

厚さ 20mm の冷凍メンチカツ 1 個を深さ 25mm および 50mm の深さの油で調理した際の油の温度と中心温度の変化を温度ロガー (CUSTOM CT-621BT) を用いて記録した。その後、55°C、65°C、75°C の中心温度で O157 がどの程度生存できるのかを確認するため 10⁸ CFU/mL の菌液をそれぞれ加温した時の菌量を寒天平板混釈法を用いて計測した。

5 重要管理点の明確化

これまでの結果から、食肉を主原料とするそうざい半製品の重要管理点を明確化し、家庭における製品の安全な取り扱い条件を検討した。

表 1 食中毒起因菌遺伝子検出結果

対象菌 標的遺伝子	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	<i>cpe</i>	<i>hly</i>	<i>specific DNA</i>	<i>stx2</i>	<i>eaeA</i>	<i>virA</i>	<i>ces</i>	<i>lt</i>	<i>tdh</i>	<i>st</i>	<i>femB</i>	<i>yadA</i>	<i>astA</i>	<i>stx1</i>	<i>invA</i>	<i>nheB</i>
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1: ウェルシュ菌	5: 腸管病原性大腸菌	9: 耐熱性溶血毒産生腸炎ビブリオ	13: 腸管凝集接着性大腸菌
2: リステリア菌	6: 赤痢菌・細胞侵入性大腸菌	10: 毒素産生大腸菌 (耐熱性)	14: 腸管出血性大腸菌 (VT1)
3: カンピロバクター・ジェジュニ	7: 嘔吐毒産生セレウス菌	11: 黄色ブドウ球菌	15: サルモネラ菌
4: 腸管出血性大腸菌 (VT2)	8: 毒素産生大腸菌 (易熱性)	12: エルシニア菌	16: 下痢毒産生セレウス菌

結果

1 そうざい半製品の汚染状況の把握

1) 市販流通品

表1に示すとおり市販品9品中4品から食中毒起因菌遺伝子が検出された。このうち製品Aは冷凍食品、C・D・Gはそうざい半製品として販売されていた。

検出されたのは黄色ブドウ球菌、腸管凝集接着性大腸菌、サルモネラ菌、下痢毒産生セレウス菌の標的遺伝子だった。選択培地を用いて遺伝子が検出された食品からの菌分離を試みたところ、それぞれの菌と同じ性状を示す集落が分離された。

2) 食中毒原因食品

発育状況を表2に示す。食品100gあたりの菌数は可食部全体で140CFU、中心部で110CFUだった。

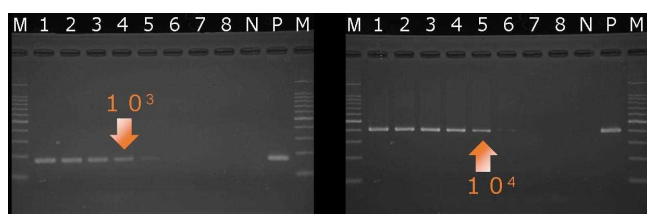
表2 食中毒原因食品の汚染実態調査結果

供試部	陽性菅数			係数	菌数 (CFU/100g)
	A	B	C		
製品全体	3	2	0	14	140
肉部分のみ	3	1	0	11	110

2 製品からの毒素検出方法の検討

1) 検査方法

コンベンショナルPCRの結果を図1、リアルタイムPCRの結果を図2に示す。



1	原液	5	10 ⁴ 希釈液	N	陰性コントロール
2	10 ¹ 希釈液	6	10 ⁵ 希釈液	P	陽性コントロール
3	10 ² 希釈液	7	10 ⁶ 希釈液	M	DNA サイズマーカー
4	10 ³ 希釈液	8	10 ⁷ 希釈液		

図1 VTの定量的コンベンショナルPCR

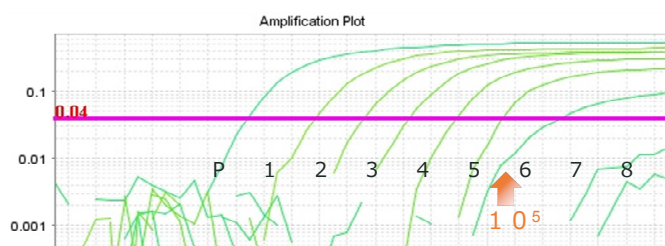


図2 VTのリアルタイムPCR

検出キット EVC は 10³ 倍希釈液、検出キット EVS は 10⁴ 倍希釈液まで検出可能だった。一方、リアルタイムPCR では 10⁵ 倍希釈液まで検出可能であり、比較した中では最も優れていた。

2) 抽出方法

菌液で比較でした場合の増幅曲線を図3に示す。各CT値は加熱法 23.0145、アルカリ法 23.8487、キット 23.1861 であり、抽出方法による有意な差は認められなかった。

一方、食品からの抽出で比較した場合を図4に示す。加熱法 27.7149、アルカリ法 23.491、キット 24.1263 で、アルカリ法およびキットを用いて抽出した場合は加熱法の10倍~100倍のDNAが得られた。コストを含めて総合的に判断するとアルカリ法が最も優れていた。

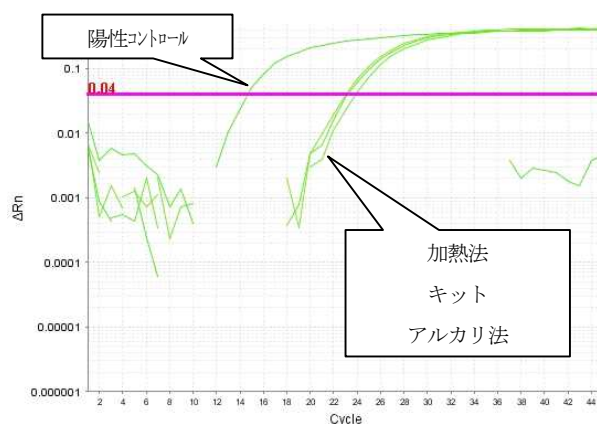


図3 リアルタイムPCR法による菌液からの抽出法別DNA量の比較

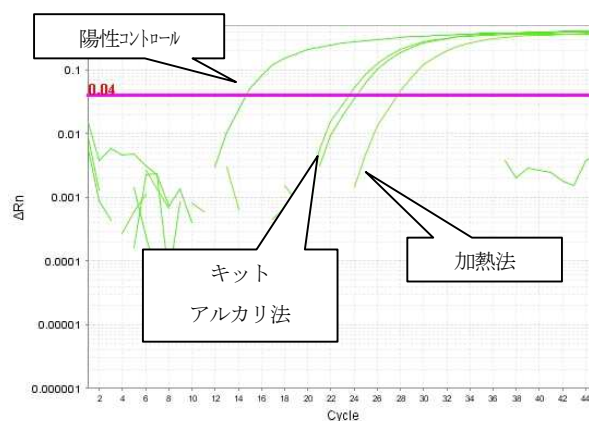


図4 リアルタイムPCR法による食品からの抽出法別DNA量の比較

3 保存温度と時間による菌の増殖状況

保存温度別の菌数変化を図5に示す。培養3日目までに常温(20℃)は増加、冷凍(-20℃)は減少したが、それ以降はほとんど変化しなかった。そこで菌数が変化し

た3日以内について、さらに時間を細かく分けて計測したところ、常温では24時間から72時間の間に菌数が約100倍に増加した。冷凍では3時間で菌数は約100分の1に減少した。

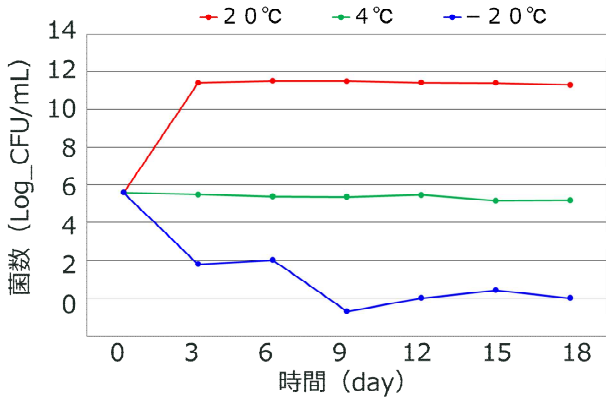


図5 保存温度による菌数の変化

4 加熱温度と調理時間による菌の死滅条件の検討

調理中の油の温度変化を図6に示す。対象とした被検製品の調理方法は、170~180°C、6分間加熱と表示されていた。油の温度が170~180°Cまで上昇したところで製品を投入したところ、油深25mmでは最大25°C、50mmでは最大10°C油温が低下した。その後、記載時間の6分では元の温度帯に戻らなかった。

図7に食品の中心温度の変化を示した。中心温度は調理時間6分後には油深25mmでは56°C、50mmでは86°Cまで上昇した。

菌液を加温した際の菌数変化を図8に示す。55°Cでは30分後に99.7%が死滅したが、0.3%の菌は残存した。65°Cでは15分後、75°Cでは3分後に100%死滅した。

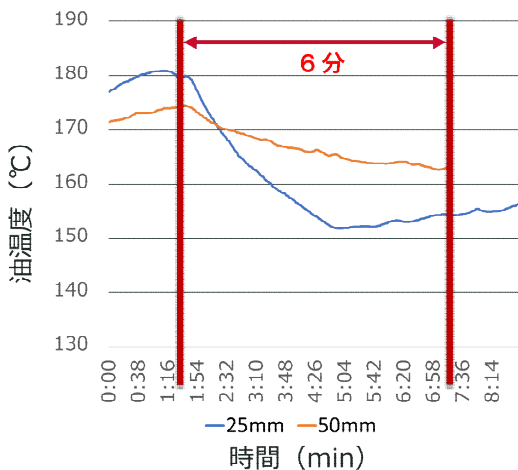


図6 調理中の油の温度変化

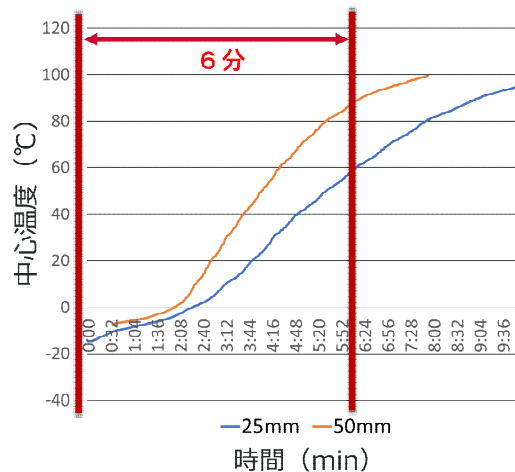
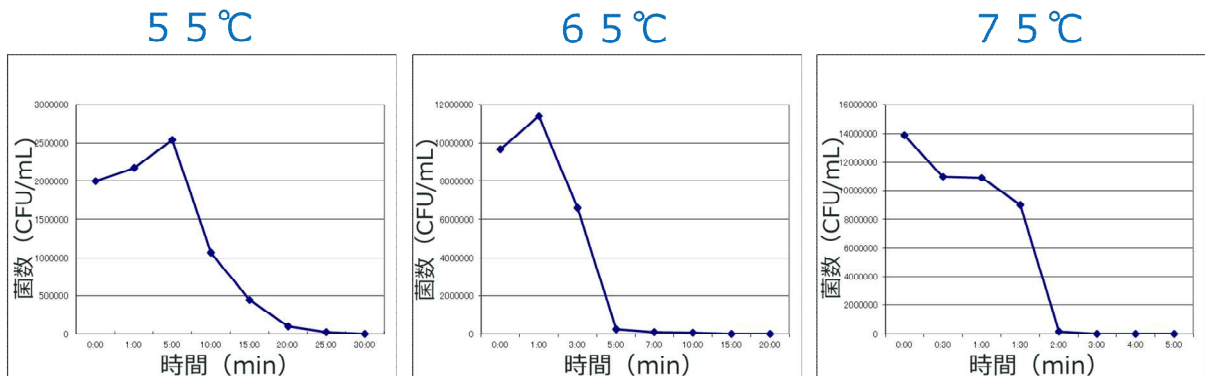


図7 保存温度調理中の中心温度変化



10分後に46.5%死滅
20分後に94.8%死滅
30分後に99.7%死滅

5分後に97.3%死滅
10分後に99.4%死滅
15分後に100%死滅

1分後に21.6%死滅
2分後に98.8%死滅
3分後に100%死滅

図8 加熱温度による菌数の変化

5 重要管理点の明確化

O157 菌液を 75℃の条件下においた際の中心温度と菌数の変化を図9に示した。加温とともに、中心温度は徐々に上昇し、60℃を超えるあたりで菌の減少は一気に加速して、65℃程度で100%死滅した。加熱温度に関しては65℃でも相当な菌の低減効果が期待できることが報告されている³⁾。重要管理点は食品の中心温度であり、一般に公表されている75℃1分の指標は、もともとの食品の汚染がかなり高い場合でも対応できる、十分な安全性を考慮した設定だと考えられる。

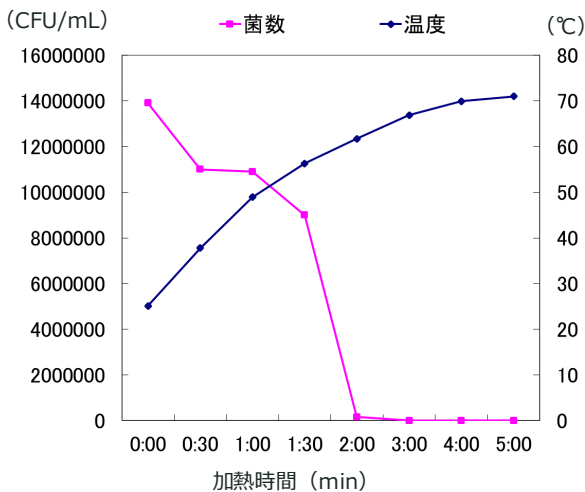


図9 加熱時間による中心温度と菌数の変化

考 察

汚染実態調査の結果、遺伝子検査が陽性となった製品については、すべての製品から菌が分離された。そうざい半製品として流通している食品の一部には食中毒起因菌の汚染があることが明らかとなった。すなわち、冷凍流通の環境下でも細菌が生存していることが示唆された。

販売店の冷凍コーナーで製品を購入する場合は、それが冷凍食品かそうざい半製品であるか否かを判断することは、食中毒リスクを考慮するうえで非常に重要である。しかし、陳列品目が多岐にわたる場合、一般の消費者にはその違いがわかりにくい。特に製品によっては文字が小さいことも一因であると考えられる。このため、販売の段階から、消費者に対して冷凍食品とそうざい半製品の違い等に関する情報を提供することが重要であるとともに、ゆくゆくはそうざい半製品にも冷凍食品と同様に規格基準を設定することが望ましいと思われる。製品が細菌により汚染されていた場合、冷凍庫での保管が長期に及んでも、菌は減少するものの一部は残存している可能性がある。

また、食中毒の原因食品となった食肉を主原料とするそうざい半製品は、表面だけでなく中心部まで汚染されていたことから、調理の際には中心部分まで熱が届く十分な加熱が必要であることが改めて示された。調理時の加熱により菌は減少していくが、残存した菌が食中毒を引き起こすか否かは細菌の種類や喫食者の状態などにより違いがあると考えられる。今回、食中毒の原因菌となった EHEC-0157 は 100 個程度の少ない菌量でも感染が成立することが報告されている⁴⁾ ことから、完全に死滅させておかなければならない。これらを踏まえ、家庭でも何らかの対策が必要になってくると考えられる。

そうざい半製品に記載されている調理法に関して、油の量を変更して比較したところ、中心温度の上昇に差がみられた。冷凍庫から出した食品の中心温度は-15℃付近まで低下しているため、投入することで油の温度は低下する。それに伴い中心温度の上昇が鈍くなり、調理時間内に菌の死滅温度まで到達できない場合がある。製品に記載されているとおりの調理法でも菌が残存してしまう場合があることが確認できた。特に、油の量が少ない時や複数調理では製品投入時の温度低下が激しいため、中心温度の上昇が鈍くなった。油の温度変化は数や量によって変化することから、個々の調理状況により残存する菌数に差が出てくる。これが食中毒の発症の有無に繋がったと考えられる。

中心温度の維持に最も重要な因子は油の量である。「揚げ焼き」と称する油を少なくして調理する方法では、加熱温度 145℃～195℃で6分間調理しても、中心温度は30℃～50℃までしか上昇しなかったことが報告されている⁵⁾。従って、調理温度および時間だけでなく油の深さなどの目安となる項目を表示するのが望ましいが、これらは表示されていないことが多い。十分な量の調理油を用い、製品に記載されている上限の温度と時間で調理することで製品投入時の温度低下を緩和させることができる。一般家庭で中心温度を測ることは難しいので、製品の外見でなく浮き上がりによって加熱時間の目安を判断する方が、的確に中心温度を反映できると思われる。今後は提案課と連携し、食品の適切な取り扱い方や調理の際の留意点について消費者へ啓発していくことが重要である。

文 献

- 1) 飯田奈都子他：リアルタイム PCR 法による食中毒起因菌の一斉迅速スクリーニング法の検討，静岡県環境衛生科学研究所報告，53,19-24(2010)

- 2) 食中毒起因菌等の検査マニュアル（第二版），静岡県健康福祉部生活衛生総室食品衛生室，13-51(2007)
- 3) 森哲也他：挽肉製品による腸管出血性大腸菌食中毒の発生予防，食衛誌 Vol. 56 p.209-213 (2015)
- 4) 腸管出血性大腸菌感染症 2019 年 3 月現在，IASR Vol. 40 p.71-74 (2019)
- 5) 冷凍メンチカツの加熱調理による腸管出血性大腸菌の殺菌条件の検討，食品衛生研究 Vol.67p.7-13(2017)

迅速かつ簡便な前処理法による農産食品中の残留農薬 一斉分析法の検討 (第2報)

医薬食品部 食品班 小林千恵, 柴田紘希, 山本幸,
高橋真

Study of the Simultaneous Analytical Method for Pesticide Residues
in Agricultural Products by Fast and Easy Preparation (2nd Report)

Chie KOBAYASHI, Hiroki SHIBATA, Miyuki YAMAMOTO
and Makoto TAKAHASHI

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

さといも、にんじんを試料として、日常 LC-MS/MS を用いて分析を行っている 66 項目の農薬を対象に添加回収試験をしたところ、従来法の妥当性評価適合項目数と同等以上の項目数が妥当性評価ガイドラインの真度と併行精度の目標値を満たす良好な結果を得た。

このことから、QuEChERS 法を前処理に取り入れた一斉分析法は、LC-MS/MS 測定項目において従来法と同等以上の項目が妥当性評価に適合となる可能性が示唆された。また、GC-MS/MS 測定項目においても良好な結果を得ていることから本前処理法を用いた一斉分析法は、農産食品中の残留農薬の検査に有用と考えられた。

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

QuEChERS, pesticide residue, simultaneous analysis, method validation

はじめに

2006年5月に食品中の残留農薬等の規格基準にポジティブリスト制度が導入されて以来、当研究所では厚生労働省から通知された方法¹⁾をもとに農産食品中の残留農薬の一斉分析法を開発し、現在、GC-MS/MS および LC-MS/MS を用い、約 350 項目の残留農薬分析が可能である。また、2010年12月には厚生労働省から「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」²⁾ (以下、妥当性評価ガイドライン)が通知されたため、当研究所では、検査対象の農産食品ごとに、妥当性評価ガイドラインに準拠した方法で試験法の妥当性評価を実施し、当該ガイドラインが示す目標値に適合した項目を検査対象項目として収去検査を実施している。

一方、残留農薬分析の前処理法として Anastassiades ら

が開発した³⁾ QuEChERS 法は、その優れた点である Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe の頭文字を集めた迅速かつ簡便な方法であり、欧州や米国のほか日本国内においても QuEChERS 法を活用した残留農薬一斉分析法が検討されている⁴⁻⁹⁾。当研究所においても、QuEChERS 法のアセトニトリルへの農薬の抽出、塩析、脱水を同時に行う迅速、簡便な工程に、従来法で用いている固相抽出カラムによる精製工程を取り入れた前処理法の検討を行っている¹⁰⁻¹²⁾。本前処理法によりさといも、にんじんを試料として GC-MS/MS を用いて分析を行っている 301 項目の農薬を検討した結果、従来法の妥当性評価適合項目数よりも多くの項目が妥当性評価ガイドラインの真度と併行精度の目標値を満たす良好な結果を得た¹²⁾。

そこで、本前処理方法を日常の試験検査に適用することを目的に、現在 LC-MS/MS を用いて分析を行っている 66 項目の農薬についても本前処理方法を検討し、従来法による妥当性評価の結果と比較をしたので報告する。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒426-0083, 藤枝市谷稲葉 232-1)

Shizuoka Environment and Hygiene Institute

(232-1, Yainaba, Fujieda, 426-0083, Japan)

試料および方法

1 試料

検討対象とする 66 項目の農薬が検出されていないことを確認したさいも、にんじんを用いた。

2 試薬等

1) 標準品等

標準品は、富士フィルム和光純薬㈱製の農薬標準品を用いた。混合標準液は、各標準品をメタノールに溶解して調製した 1,000 μ g/mL の標準原液および市販混合標準品を用い、これらをメタノールで希釈し 1 μ g/mL 混合標準液を調製後、適宜メタノールで希釈したものを検量線の作成に用いた。

マトリックス検量線を作成する場合は、試料の前処理により得た試料溶液を乾固した容器に、検量線作成用に適宜メタノールで希釈した混合標準液を各々溶解して調製した。

2) その他試薬等

LC/MS 用、残留農薬分析用または特級を用いた。

固相抽出カラムは、Supelco 社製の ENVI-Carb/LC-NH₂ SPE (500mg/500mg)を用いた。

3 方法

1) 検討対象項目

収去検査において、LC-MS/MS を用いて分析を行っている 66 項目の農薬を対象とし、表 1 に保持時間の早いものから順に示した。

2) QuEChERS 法を取り入れた前処理

既報¹⁰⁻¹²⁾の方法を用いて行った。粉碎均一化した試料 10g を 50mL のポリプロピレン製遠心管に採取し、アセトニトリル 10mL を正確に加え、1 分間ホモジナイズした。これに、塩化ナトリウム 1g、無水硫酸マグネシウム 4g、クエン酸水素二ナトリウム 1.5 水和物 0.5g、およびクエン酸三ナトリウム 2 水和物 1g を加え、1 分間手で振とうした。その後、遠心分離 (2,500rpm, 10 分間) し、得られたアセトニトリル層から 4mL を正確に分取し、アセトニトリル:トルエン混液 (3:1) 10mL でコンデューションングした固相カラムに負荷後、アセトニトリル:トルエン混液 (3:1) 30mL で溶出した。溶出液は 1mL 以下になるまで 40 $^{\circ}$ C 以下で減圧濃縮後、アセトン 10mL を加え 1mL 以下になるまで 40 $^{\circ}$ C 以下で減圧濃縮し、さらにアセトン 5mL を加え同様に減圧濃縮した。完全に乾固させた後、メタノール 2mL に溶解し、試料溶液とした。現在の検査に適用している前処理方法 (従来法) との比較を図 1 に示した。

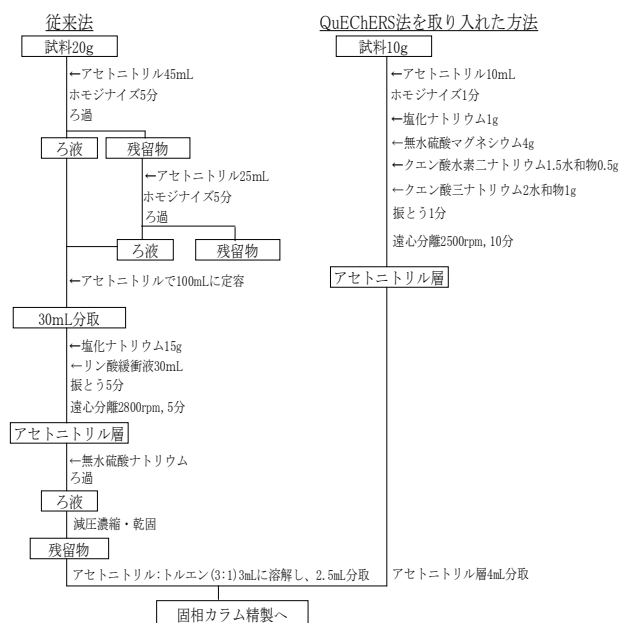


図 1 前処理方法の比較

3) 添加回収試験

粉碎均一化した試料に各農薬が 0.01ppm, 0.1ppm となるように添加し、30 分間放置後に前処理を行った。試験は 5 回繰り返して行い、真度 (%) と併行精度 (RSD%) を算出した。

4) LC-MS/MS の分析条件

① 装置

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: ACQUITY UPLC HSS T3 (Waters 社製)
(2.1mm \times 100mm, 粒径 1.8 μ m)

カラム温度: 50 $^{\circ}$ C

流速: 0.333mL/分

注入量: 2 μ L

移動相: A) 水 B) メタノール C) 100mM 酢酸アンモニウム溶液とし、グラジエント条件は表 2 に示した。

表 2 グラジエント条件

時間(分)	A (%)	B (%)	C (%)
0.0	80	15	5
0.4	55	40	5
1.4	55	40	5
2.4	45	50	5
3.2	40	55	5
7.0	0	95	5
12.0	80	15	5
17.0	80	15	5

③ MS 条件

イオン化モード：ESI positive, ESI negative
分析モード：Multiple Reaction Monitoring (MRM)
ソース温度：150℃
脱溶媒温度：500℃
コーンガス流量：50L/hr
脱溶媒ガス流量：1,000L/hr

結果

現在、検査に適用している従来法を前処理に用いた場合、妥当性評価適合項目数は、さといも 61 項目、にんじん 56 項目である（表 1）。今回、QuEChERS 法を取り入れた前処理法を用いて添加回収試験を実施し、得られた真度（%）と併行精度（RSD%）を妥当性評価ガイドラインが示す目標値（添加濃度 0.01ppm:真度 70~120%、併行精度 25%）、添加濃度 0.1ppm:真度 70~120%、併行精度 15%）と比較した。

その結果、添加濃度 0.01ppm、0.1ppm の両濃度における真度と併行精度の目標値に全て適合したのは、さといも、にんじん両者ともに 60 項目であった（表 1）。これらの適合項目のうち、さといも 3 項目、にんじん 8 項目は、従来法では妥当性評価不適合の項目であった。

一方、従来法では妥当性評価に適合しているが、今回検討した前処理法では、両添加濃度における真度と併行精度の各目標値に対していずれかが不適合となり、全てが適合とならなかった項目数は、さといも、にんじん両者ともに 4 項目であった。

考察

迅速かつ簡便な QuEChERS 法を前処理に取り入れた残留農薬一斉分析法を検討したところ、LC-MS/MS 測定項目である 66 項目の添加回収試験の結果から、にんじんと試料とした場合、従来法を用いると妥当性評価不適合であったオリザリン、エトベンザミド等 8 項目が本前処理法では良好な結果となった。また、添加濃度 0.01ppm、0.1ppm ともに妥当性評価ガイドラインの真度と併行精度の目標値に全て適合した項目数は、従来法の妥当性評価適合項目数よりも 4 項目多くなった。

さといもを試料とした場合、本前処理法を用いたところ、妥当性評価ガイドラインの真度と併行精度の目標値に全て適合した項目数は、従来法の妥当性評価適合項目数よりも 1 項目少なかった。しかし、従来法を用いると妥当性評価に適合し、本前処理法では目標値全てに適合とならなかった 4 項目のうち、チアメトキサムとピラゾリネートについて、マトリックス標準溶液を用いて定量したところ、日常から使用しているメタノールに溶解し

た標準溶液による定量よりも真度が高くなり、添加濃度 0.01ppm では、チアメトキサムは 71%、ピラゾリネートは 70%、添加濃度 0.1ppm では、チアメトキサムは 75%、ピラゾリネートは 92%となった。そのため、本前処理法を用いると試料中のマトリックスによりイオン化が抑制された可能性があると考えられた。当該 2 項目は、マトリックス検量線を用いた定量により、添加濃度 0.01ppm、0.1ppm ともに真度の目標値である 70~120%を満したため、さといもは全ての目標値に適合する項目数は合計で 62 項目となり、従来法による妥当性評価適合項目数よりも 1 項目多くなった。

従来法では、メタノールに溶解した標準溶液により妥当性評価を実施し、適否の判定を行ってきた。しかしながら、本前処理法を用いると、対象とする食品によって試料中のマトリックスが定量に影響を与える項目があることが示唆されたため、本前処理法を用いる際にはマトリックス標準溶液を用い、マトリックスの影響を考慮して定量する必要があると考えられた。

一方、本前処理法を用いた結果、にんじん、さといも両者ともに真度と併行精度の目標値全てに適合とならなかったクロフェンテジンは、併行精度の結果は良好であったが、にんじんでは添加濃度 0.1ppm、さといもでは添加濃度 0.01ppm の真度が目標値よりも低くなった。また、従来法においてもにんじんは、妥当性評価不適合であったため、試料や前処理方法の違いよりも温度や pH の上昇により加水分解が促進される¹³⁾クロフェンテジンの物性が真度に影響を与えたと推察された。

今回のさといも、にんじんと試料とした LC-MS/MS 測定項目における本前処理法の検討により、従来法の妥当性評価適合項目数と同等以上の項目数が、妥当性評価ガイドラインの真度と併行精度の目標値を満した。また、GC-MS/MS 測定項目においても従来法と同等以上の項目数が妥当性評価に適合となる可能性が高いことが既報¹²⁾により示唆されていることから、本前処理法は残留農薬検査に有用であると考えられた。今後は、本前処理法の収去検査への導入を目指して、GC-MS/MS および LC-MS/MS の全ての測定項目について妥当性評価を実施し、検査に適用する項目を決定する予定である。

また、さらに対象とする農産食品を拡大し、試料マトリックスの特性も考慮しながら検査対象項目がより多数になるように必要に応じて本前処理法の改良についても検討し、より効率的かつ効果的な一斉分析法を確立することで、県内に流通する農産食品の安全性を確保していきたいと考える。

まとめ

迅速かつ簡便な残留農薬の前処理法である QuEChERS 法を検査に取り入れることについて、LC-MS/MS 測定項目である 66 項目の農薬において、さといも、にんじんを試料として検討した結果、以下のことが明らかとなった。

- 1 にんじんを試料とした添加回収試験の結果から、真度と併行精度において、従来法の妥当性評価適合項目数より多くの項目が、妥当性評価ガイドラインの目標値に適合する良好な結果を得た。
- 2 さといもを試料とした場合、試料中のマトリックスにより定量に影響を与える項目があったため、マトリックス検量線を用いた定量により、従来法の妥当性評価適合項目数よりも多くの項目数が、真度と併行精度の目標値に適合した。
- 3 今回検討した迅速かつ簡便な前処理法を取り入れた一斉分析法は、上記1, 2よりLC-MS/MS測定項目において有用であることが示唆された。また、既報¹²⁾よりGC-MS/MS測定項目においても従来法と同等以上の項目が妥当性評価に適合となる可能性があることが示唆されていることから、農産食品中の残留農薬の検査に有用であると考えられた。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全全部長通知:食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について(一部改正),平成18年10月3日,食安発第1003001号
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全全部長通知:食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について,平成22年12月24日,食安発1224第1号
- 3) Anastassiades, M. et al. : Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce, J. AOAC Int. , **86**, 412-431 (2003)
- 4) Lehotay, S. J. : Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate:collaborative study, J. AOAC Int. , **90**, 485-520 (2007)
- 5) European Committee for Standardization : Food of plant origin-Determination of pesticide residues using GC-MS and /or LC-MS/MS following acetonitrile extraction / partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method

<https://www.cen.eu>

- 6) Lehotay, S. J et al. : Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables, J. Chromatography A, **1217**, 2548-2560 (2010)
- 7) 岩越景子他: LC-MS/MS を用いた農産物中残留農薬の迅速試験法に関する検討, 食衛誌, **55**, 254-260 (2014)
- 8) 山口玲子: QuEChERS 法による農産物の残留農薬一斉分析法の基礎的検討, 千葉県環境保健研究所年報, **20**, 53-58 (2013)
- 9) 平井知里他: LC/MS/MS による農産物中残留農薬一斉試験法の妥当性評価, 福井県衛生環境研究センター年報, **12**, 108-117 (2013)
- 10) 小林千恵他: 農産食品中の残留農薬一斉分析法に関する検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **55**, 45-49 (2012)
- 11) 小林千恵他: 農産食品中の残留農薬一斉分析法に関する検討(第2報), 静岡県環境衛生科学研究所報告, **56**, 57-61 (2013)
- 12) 小林千恵他: 迅速かつ簡便な前処理法による農産食品中の残留農薬一斉分析法の検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **61**, 24-31 (2018)
- 13) 食品安全委員会食品安全総合情報システム
<http://www.fsc.go.jp/fsciis/>

表1 検討対象項目および従来法の妥当性評価適合項目との比較

No.	項目名	さといも					にんじん						
		添加濃度0.01ppm		添加濃度0.1ppm		全て目標値に適合した項目 ¹⁾	添加濃度0.01ppm		添加濃度0.1ppm		全て目標値に適合した項目 ¹⁾	従来法による妥当性評価適合項目 ²⁾	
		真度(%)	併行精度(%)	真度(%)	併行精度(%)		真度(%)	併行精度(%)	真度(%)	併行精度(%)			
1	オキミル	82	2.2	87	1.0	○	○	85	1.9	83	2.1	○	○
2	チアトキシム	29	8.3	39	6.5	×	○	84	3.0	90	2.8	○	○
3	クロチアジン	79	3.0	86	1.4	○	○	80	2.2	84	2.9	○	○
4	アセチアミド	91	2.3	91	1.5	○	○	89	1.9	91	2.4	○	○
5	クロチアジン	88	2.1	90	1.4	○	○	90	2.0	91	2.4	○	○
6	チアロアミド	88	2.5	92	1.7	○	○	91	1.5	96	2.8	○	○
7	トリシクザール	87	1.8	90	1.1	○	○	92	2.7	93	1.6	○	○
8	アルジカルブ	94	4.1	89	3.1	○	○	73	2.5	81	2.6	○	○
9	チアベンダゾール	74	1.4	79	0.8	○	○	46	3.1	54	1.0	×	○
10	イシアホス	92	1.5	90	1.1	○	×	89	1.9	92	2.0	○	○
11	アチマホス	70	4.9	101	1.7	○	○	52	3.8	91	2.2	×	○
12	ベンタイオカルブ	88	2.2	86	1.1	○	○	84	0.9	88	2.2	○	○
13	カルハリル	88	1.7	86	1.4	○	○	88	1.8	92	1.8	○	○
14	エチアフェカルブ	86	2.2	86	1.7	○	×	61	5.1	66	1.7	×	×
15	シマチアモール	88	1.1	87	1.4	○	○	89	1.5	91	2.4	○	×
16	アベンゾラール-メチル	88	1.2	88	1.0	○	○	83	2.1	90	2.3	○	○
17	メタベンゾチアズロン	93	1.3	92	1.6	○	○	97	3.0	98	1.9	○	○
18	ビリミコフ	88	1.6	86	1.2	○	○	89	0.7	90	1.9	○	○
19	フラトビル	88	1.6	89	1.1	○	○	81	1.7	79	2.2	○	○
20	イキチアモール	61	1.5	76	6.9	×	○	72	3.8	73	3.1	○	○
21	アジノホスチル	92	2.0	90	2.8	○	○	84	3.9	88	2.2	○	○
22	ビリチアミド	88	1.4	88	1.8	○	○	92	1.3	93	2.0	○	○
23	フェノチア	83	4.1	82	2.1	○	○	84	1.3	90	1.8	○	○
24	アジキストロビン	89	1.6	88	1.1	○	○	91	1.5	93	2.5	○	○
25	フェリムリン	85	2.1	87	0.6	○	○	82	2.1	89	2.4	○	○
26	グイムロン	92	1.3	91	1.6	○	○	92	1.1	94	2.2	○	○
27	チキチアジド	100	3.2	94	1.0	○	○	83	3.4	88	2.6	○	○
28	クミロン	89	0.5	91	1.5	○	○	92	2.4	91	1.5	○	○
29	オリチリン	83	5.3	90	3.7	○	○	85	4.2	93	3.2	○	×
30	アチアチン	91	2.6	89	1.2	○	○	95	3.3	98	3.2	○	○
31	シメチア	92	3.6	92	1.3	○	○	91	1.3	95	2.1	○	○
32	クロチアジド	93	2.2	91	2.1	○	○	95	4.3	97	1.8	○	○
33	イロチア	90	1.7	90	0.9	○	○	92	1.7	93	1.8	○	○
34	シアチア	86	1.0	97	1.7	○	○	85	3.0	91	2.1	○	○
35	ジチアチン	78	1.1	80	1.9	○	○	84	1.8	85	2.0	○	○
36	インチア	78	2.0	80	2.5	○	○	85	3.1	85	1.6	○	○
37	フルチア	83	3.1	85	1.6	○	○	82	3.6	84	2.6	○	○
38	フェチア	86	1.4	87	1.6	○	○	84	1.3	86	2.4	○	○
39	チアチア	85	1.9	87	1.9	○	○	83	1.2	82	2.2	○	○
40	チアチア	93	5.9	88	3.8	○	○	90	3.2	95	4.1	○	○
41	アチア	86	2.6	85	1.9	○	○	89	1.4	90	2.6	○	○
42	シチア	87	2.5	85	1.9	○	○	87	1.5	88	1.8	○	○
43	エチアチン	59	6.8	54	3.4	×	×	76	4.2	77	4.4	○	×
44	ビチア	83	5.2	84	4.9	○	○	87	2.4	86	1.3	○	○
45	シチアチン	85	4.6	85	3.5	○	○	86	4.2	84	3.3	○	×
46	クロチアチン	61	5.4	73	3.0	×	○	71	7.6	64	3.7	×	×
47	ベンチア	84	3.2	83	3.8	○	○	87	1.4	88	1.6	○	○
48	ビチアチン	64	5.2	80	5.7	×	○	72	1.9	88	2.0	○	○
49	インチア	83	4.0	84	4.5	○	○	89	5.6	91	1.5	○	○
50	ヘチアチン	87	5.5	86	4.2	○	○	94	5.0	109	3.1	○	○
51	ベンチア	89	2.6	86	3.4	○	○	90	4.0	88	2.2	○	○
52	ベンチア	87	6.7	83	3.4	○	○	79	4.9	74	5.5	○	×
53	チチアチン	81	4.6	84	2.5	○	○	75	4.7	55	3.9	×	○
54	フラチア	88	3.6	86	3.5	○	○	88	2.0	89	1.2	○	○
55	ルチア	85	4.7	81	4.0	○	○	85	8.2	71	1.0	○	×
56	クロチアチン	91	2.3	87	2.7	○	○	93	2.3	93	1.7	○	○
57	フェチア	90	3.2	89	1.9	○	○	89	2.7	89	2.0	○	○
58	ビチアチン	84	1.8	77	2.2	○	×	87	3.7	83	2.0	○	×
59	フルチア	86	2.3	86	2.2	○	○	84	2.4	83	1.9	○	○
60	ヘチアチン	85	3.3	86	1.9	○	○	85	2.8	83	2.3	○	○
61	エチアチン	90	1.0	89	1.5	○	○	89	1.4	91	2.0	○	○
62	クロチアチン	89	4.4	85	4.0	○	○	91	6.0	88	2.0	○	×
63	フェチア	85	3.4	83	2.5	○	○	83	2.0	79	2.8	○	×
64	アチアチン	92	4.9	88	5.4	○	○	90	4.8	82	5.6	○	○
65	エチアチン	84	2.7	86	1.8	○	○	79	2.0	61	17.1	×	○
66	シチアチン	91	2.5	74	18.0	×	×	81	2.8	83	3.5	○	○

60項目適合

61項目適合

60項目適合

56項目適合

○ : 1) 添加濃度 0.01ppm および 0.1ppm の真度, 併行精度の各目標値に全て適合した項目, 2) 従来法による妥当性評価適合項目

× : 1) 添加濃度 0.01ppm および 0.1ppm の真度, 併行精度の各目標値に対していずれかが不適合の項目, 2) 従来法による妥当性評価不適合項目

ワサビのイソチオシアネート類の分析における ヘリウムガス供給不足への対応

医薬食品部 食品班 山本幸, 柴田紘希, 小林千恵,
高橋真
農林技術研究所伊豆農業研究センター 久松奨

Countermeasure to Heliumgas Short Supply in the Analysis of Isothiocyanates in Wasabi

Miyuki YAMAMOTO, Hiroki SHIBATA, Chie KOBAYASHI,
Makoto TAKAHASHI and Susumu HISAMATU

新成長戦略研究「健康長寿静岡の新たな機能性食品産業の創出」(2016年度~2018年度)において、静岡県の重要な特産品であるワサビの機能性成分イソチオシアネート(ITC)類のうち、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による定量分析を可能とした。しかし、近年のヘリウムガスの供給ひっ迫により、ヘリウムガスをキャリアガスとして使用するGC/MSでの分析が困難になったことから、ヘリウムガスを使用しない分析方法の検討が必要となった。そのため、窒素ガスをキャリアガスとして用いるガスクロマトグラフ-水素炎イオン化検出器(GC-FID)において、試料注入法やカラム昇温条件等の分析条件を検討し、GC-FIDによる分析法がAITCおよび6-MSITCの定量に十分な性能があることを確認した。

Key words : ワサビ, イソチオシアネート類, ガスクロマトグラフ-水素炎イオン化検出器
wasabi, isothiocyanates, GC-FID

はじめに

ワサビは、日本古来の香辛料として利用されており、静岡県では、安倍川上流部、伊豆半島天城山系などの産地で栽培されている。静岡県は水ワサビの生産額、栽培面積ともに日本一であり、2018年3月には「静岡水わさびの伝統栽培」が世界農業遺産に認定される¹⁾など、水ワサビは本県を代表する重要な特産品に位置づけられている。

2015年4月に機能性表示食品制度が導入されたことを受け、静岡県では新成長戦略研究「健康長寿静岡の新たな機能性食品の創出」(2016年度~2018年度)において、本県の特色ある多様な農林水産物の機能性データベースの構築、機能性表示食品制度を活用した新商品の開発を目指した研究が行われた。本研究において、ワサビの機能性成分であるITC類のうちAITCおよび6-MSITCに着目し、ワサビの品種・系統別、部位別および季節変動による含有量の調査を静岡県農林技術研究所伊豆農業研究センターと共同で行った。

ワサビのAITCおよび6-MSITCの定量分析は、これまで

に竹下ら²⁾が報告したGC/MSによる分析方法を用いてきたが、近年の国際情勢により、ヘリウムガスの供給がひっ迫する状況となり、ヘリウムガスをキャリアガスとして用いたGC/MSでの分析が困難となった。ワサビの成分分析は2019年度から開始される新成長戦略研究「世界農業遺産「静岡水わさびの伝統栽培」を発展させる種苗産業と新栽培体系の確立」においても引き続き実施していく計画であり、早急な分析法の再検討の必要性が生じた。

そこで、ヘリウムガスを使用しない定量分析法を検討し、窒素ガスをキャリアガスとして用いたガスクロマトグラフ-水素炎イオン化検出器(GC-FID)による分析法を確立したので報告する。

試料および方法

1 試料

ワサビは、静岡県伊豆市湯ヶ島で栽培された水ワサビを用いた。検体は竹下ら²⁾が報告した前処理方法の4倍量スケールで調製した。凍結粉碎した検体を2.0g採取し、37°C 10min インキュベート後、氷冷し、酢酸エチル約20mLおよび無水硫酸ナトリウム適量を加え30sec 激しく振とうした。遠心分離(2,800rpm, 10min)後、上澄液を採取した。残渣に酢酸エチル約20mLを加え、激しく振とう後、同様に遠

心分離した。上澄液をあわせ、酢酸エチルで 40 mL にメスアップし試料溶液とした。

2 試薬等

AITC 標準品は Sigma-Aldrich 社製、6-MSITC 標準品は LKT Laboratories 社製、その他試薬は、富士フイルム和光純薬株式会社製を用いた。

3 標準溶液の調製

AITC は標準品 50 mg を正確に量り取り、アセトンで全量を 25 mL とし、2,000 µg/mL の AITC 標準溶液とした。6-MSITC は標準品 25 mg を正確に量り取り、アセトンで全量を 25 mL とし、1,000 µg/mL の 6-MSITC 標準溶液とした。これら標準溶液を適宜酢酸エチルで希釈した。

4 方法

1) 装置

揮発性の ITC 類が分析可能な装置で、ヘリウムガスを用いず分析できる機器、島津 GC-2014(FID) を用いた。

2) 分析条件

カラム:DB-1ms (長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 µm, Agilent 社製)

キャリアガス:窒素 (線速度制御)

線速度:15.0cm/sec

注入量:2µl

気化室温度:250°C

検出器温度:250°C

その他の GC-FID による分析条件について、以下のとおり検討した。

3) 試料注入法

① 低濃度におけるピークの検出

これまでの GC/MS による定量結果によると、ワサビの AITC および 6-MSITC 含有量は根茎に多く、葉・葉柄に少ない傾向にあるが定量値にばらつきがあるため(表 1)、低濃度での定量も可能とする必要がある。そのため、低濃度混合標準溶液 (AITC 1 µg/mL, 6-MSITC 0.5 µg/mL) を用いて、表 2 に示した No.1 の昇温条件にて、スプリット注入法 (スプリット比 1:20 および 1:10)、スプリットレス注入法(サンプリング時間 1min)の 3 つの試料注入法により、ピークの検出に違いが現れるか比較した。

表 1 ワサビの AITC, 6-MSITC 含有濃度(µg/mL)

部位		AITC	6-MSITC
根茎 (n=538)	平均	160.6	32.5
	最大	297.6	116.7
	最小	34.6	3.8
葉 (n=397)	平均	43.3	15.2
	最大	127.3	80.5
	最小	2.5	0.9

② 高濃度におけるピークの検出

高濃度混合標準溶液 (AITC 300 µg/mL, 6-MSITC 150 µg/mL) を用いて、表 2 に示した No.1 の昇温条件により、スプリット注入法(スプリット比 1:20)とスプリットレス注入法(サンプリング時間 1min)のピーク検出感度を比較した。

4) カラム昇温条件

表 2 に示す 3 つの条件で検討した。

① カラム初期温度

高濃度混合標準溶液 (AITC 300 µg/mL, 6-MSITC 150 µg/mL) を用いて、カラム初期温度のピーク形状への影響を検討するため、カラム初期温度が 60°C の場合(No.1)と 50°C の場合 (No.2) においてピーク形状に違いが現れるか比較した。

② 昇温速度

高濃度混合標準溶液 (AITC 300 µg/mL, 6-MSITC 150 µg/mL) を用いて、昇温速度のピーク検出時間への影響を検討するため、昇温速度 4°C/min (No.2) と 8°C/min (No.3) においてピーク検出時間を比較した。

表 2 カラム昇温条件

No.	カラムオープン温度	分析時間
1	60°C (10 min) - 4°C/min - 160°C- 10°C/min - 250°C (15 min)	59.0min
2	50°C (10 min) - 4°C/min - 160°C- 10°C/min - 250°C (15 min)	61.5min
3	50°C (10 min) - 8°C/min - 160°C- 10°C/min - 250°C (15 min)	47.75min

上記における検討により確立した分析条件について、以下のとおり分析法の評価を行った。

5) 検量線の直線性

AITC は 1 µg/mL から 300 µg/mL で 7 濃度、6-MSITC は 0.5 µg/mL から 150 µg/mL で 7 濃度の標準溶液を調製し、ピーク面積と濃度における回帰直線を求め、相関係数により直線性を確認した。

6) 特異性、再現性および真度

ワサビ (品種:伊づま) の根茎および葉を試料とし、調製した溶液を繰り返し 3 回、3 日間測定し、特異性および再現性を以下のパラメータにより確認した。また、試料溶液を GC/MS にて測定した濃度の平均値を真値と仮定し、真度を算出した。

① 特異性の評価パラメータ

i) ピークの形状: シンメトリー係数 (S)
理論段数(N)

ii) ピークの分離度: 分離度(Rs)

② 再現性の評価パラメータ

i) 併行精度(RSD%)

ii) 室内精度(RSD%)

③ 真度の評価パラメータ

i) 真度(%)

結果および考察

1 試料注入法の検討

1) 低濃度におけるピークの検出

スプリット注入法 (スプリット比 1:20 および 1:10)、スプリットレス注入法を比較したところ、AITC のピーク面積はスプリット注入法(1:20)、スプリット注入法(1:10)、スプリットレス注入法の順で大きくなった。一方、6-MSITC のピークはスプリット注入法(1:20)およびスプリット注入法(1:10)では確認できず、スプリットレス注入法でのみピークが検出された。検討の結果から、試料注入法はスプリットレス注入法が最適であると考えた。

2) 高濃度におけるピークの検出

スプリット注入法 (1:20) とスプリットレス注入法を比較したところ、ピーク面積は AITC、6-MSITC ともにスプリットレス注入法のほうが大きくなり、AITC では 2.3 倍、6-MSITC では 15 倍の検出感度が得られた (図 1)。しかし、図 1 に示すように、AITC のピーク形状はスプリットレス注入法でブロード化した。

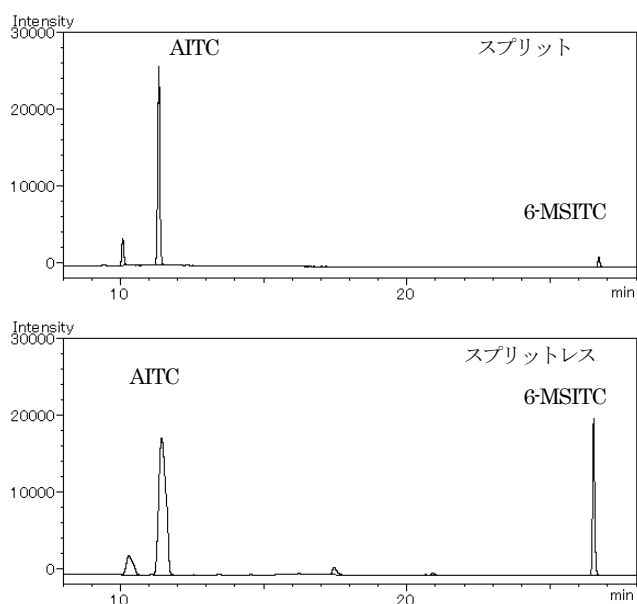


図 1 試料注入法の比較

2 カラム昇温条件の検討

1) カラム初期温度の検討

スプリットレス注入法では検出感度は良好だったが、ピーク形状がブロード化したことから、試料注入時のカラム温度を 60°C から 50°C に変更しピーク形状を確認したところ、表 2 の No.1 の昇温条件 (カラム初期温度 60°C) に比べ、No.2 の昇温条件 (カラム初期温度 50°C) のほうがピーク形状はシャープとなった (図 2)。これはカラム初期温度を溶媒の沸点 (酢酸エチルの沸点: 77.1°C) より下げることによりカラム先端で溶媒が濃縮されバンド幅が小さくなる効果が

より低温で大きく作用したためであると考えられる。カラム初期温度を下げたことによりピーク形状は改善されたが、保持時間が初期温度 60°C の場合よりも 3min 長くなったため、分析時間が 61.5min と長くなった。

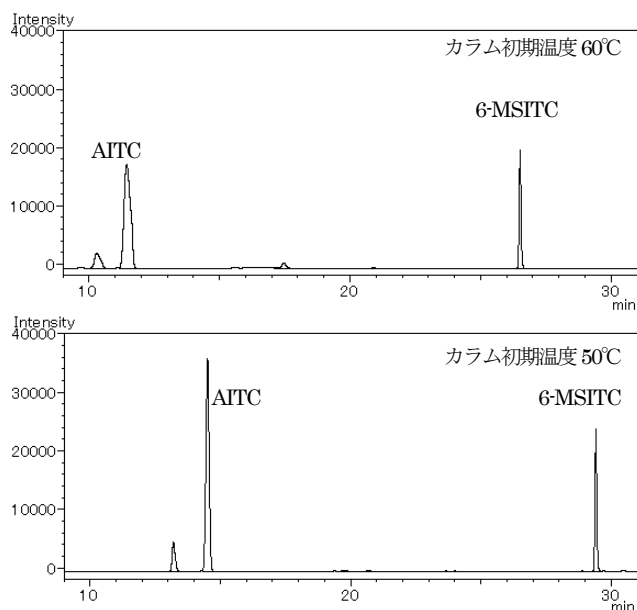


図 2 カラム初期温度の比較

2) 昇温速度の検討

表 2 の No.2 の昇温条件は、分析時間が 61.5 min と長いいため、昇温速度を 4°C/min から 8°C/min に変更した昇温条件 (No.3) にて、分析を行ったところ、良好なピーク形状、分離が得られ (図 3)、分析時間は 47.75min に短縮できた。

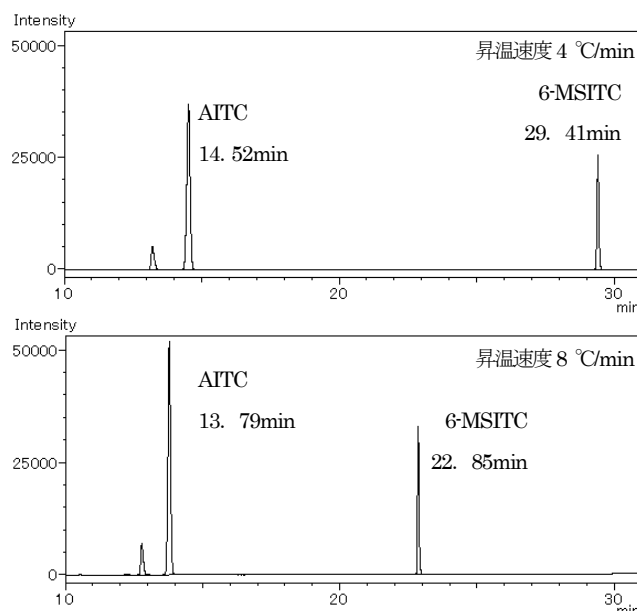


図 3 昇温速度による比較

昇温条件 (No.3) は、AITC と 6-MSITC が検出される 8°C/min の昇温時間が RT10.00min から 23.75min までであり、昇温終点時間と 6-MSITC の検出時間が近接している。そのため昇温終了温度を 160°C から 170°C に変更し、8°C/min の昇温時

間が RT10.00min から 25min となるよう条件を変更し、分析条件を確立した。

3 検量線の直線性の評価

分析条件の検討結果から GC-FID の分析条件を表 3 のとおりとした。この分析条件を用いて、AITC は 1 µg/mL から 300 µg/mL の濃度範囲で、6-MSITC は 0.5 µg/mL から 150 µg/mL の濃度範囲で、7 濃度の標準溶液を測定し、ピーク面積と濃度の回帰直線における相関係数を求めたところ、AITC、6-MSITC いずれも相関係数 0.99 以上となり、直線性が確認された。

表 3 GC-FID の分析条件

カラム: DB-1ms (長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 µm)
キャリアガス: N ₂
線速度: 15.0 cm/sec (線速度制御モード)
気化室温度: 250°C
注入モード: スプリットレス
サンプリング時間: 1min
カラム温度: 50°C (10 min) - 8°C/min - 170°C - 10°C/min - 250°C (15 min)
検出器温度: 250°C
注入量: 2µl

4 試料を用いた特異性、再現性および真度の評価

1) 特異性の評価

シンメトリー係数 (S), 理論段数(N), 分離度(Rs)の算出結果を表 4 に示した。いずれも良好な結果であり、ワサビ試料中に存在する物質の中で分析対象物を正確に識別することが確認された。

表 4 特異性評価結果

AITC	S	N	Rs
葉	1.2	214,520~239,017	7.7~8.5
根茎	1.0	213,675~224,960	8.3~8.7
6-MSITC	S	N	Rs
葉	1.4	885,387~896,928	26.2~26.7
根茎	1.4	876,848~895,990	26.2~26.5

2) 再現性の評価

① 併行精度(RSD%)

AITC は根茎で 0.2~1.3%, 葉で 0.4~1.8%, 6-MSITC は根茎で 1.0~1.8%, 葉で 2.6~2.8% となり、十分な精度があることを確認した。

② 室内精度(RSD%)

測定日を変えて室内精度を評価したところ、AITC は根茎で 2.1%, 葉で 1.4%, 6-MSITC は根茎で 3.1%, 葉で 4.5% となり、十分な精度があることを確認した。

3) 真度の評価

試料溶液の GC/MS 測定による平均濃度(n=9)は根茎が AITC

145.5 µg/mL, 6-MSITC 26.5 µg/mL, 葉が AITC 45.9 µg/mL, 6-MSITC 18.6 µg/mL であった。これを真値と仮定した場合の GC-FID 測定値の真度は、AITC は根茎で 98~103%, 葉で 97~99%, 6-MSITC では根茎で 92~98%, 葉で 95~104% であり、いずれも良好な結果を得た。

まとめ

- ワサビの ITC 類の分析において、ヘリウムガスの供給ひっ迫により、ヘリウムガスをキャリアガスとして用いる GC/MS での分析が困難となったことから、窒素ガスをキャリアガスとして用いる GC-FID での分析法を確立した。
- GC-FID における分析条件を決定するにあたり、試料注入法およびカラム昇温条件を検討することにより、ピークの検出感度およびピーク形状が改善され、分析時間を短くすることが可能となった。また、ワサビ試料を用いた性能評価により、AITC および 6-MSITC の定量に十分な性能があることを確認した。
- 確立した分析条件により、2018 年度中に約 200 検体のワサビ試料の定量分析を実施した。新成長戦略研究「世界農業遺産「静岡水わさびの伝統栽培」を発展させる種苗産業と新栽培体系の確立」が 2019 年度から開始されている。本研究においても、当研究所のワサビの機能性成分分析技術を活用し、不良環境適応性 F1 品種の育成や高付加価値ワサビの生産技術の開発に役立てていきたい。

参考文献

- 静岡県公式ホームページ：わさびのページ(<https://www.pref.shizuoka.jp/sangyou/sa-360/wasabi/wa01.html>)
- 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)

機能性成分等に関する調査 —健康食品等を上手に利用するために—

医薬食品部 食品班 沓間理江, 小笠原理映, 辻むつみ
高橋真

Investigation of Functional Ingredients
- To make good use of Health Foods-

Rie KUTSUMA, Rie OGASAWARA, Mutsumi TSUJI
and Makoto TAKAHASHI

消費者へ「健康食品」の利用に関する正しい知識の普及・啓発を行うことを目的とし、保健機能食品制度の認知度調査や、 γ -アミノ酪酸（GABA）を機能性関与成分とするサプリメント形状の機能性表示食品制度の届出情報の調査を実施した。また、品質調査として、GABA含有「健康食品」の崩壊試験、含有量測定等を行った。その結果、保健機能食品制度の認知度が低いことや、機能性表示食品は安全性や機能性の評価方法が複数存在し、必ずしも製品自体を評価しているわけではないことが明らかとなった。品質調査では、銘柄ごと崩壊性に差があり、含有量も銘柄により異なる傾向があった。

「健康食品」を利用する際には、医薬品とは品質等が異なることを認識し、日頃からバランスのとれた食生活を心がけ、「健康食品」は、食生活の補足として上手に利用することが望ましいと考えられた。

Key words: γ -アミノ酪酸（GABA）、機能性表示食品、健康食品
 γ -aminobutyric acid(GABA), foods with function claims, health food

はじめに

2017年度に国民生活センターが公表したPIO-NET(全国消費生活情報ネットワークシステム)の危害情報の第1位は「健康食品」であり、過去4年間において常に上位に位置している¹⁾。さらに、食品安全委員会の「いわゆる『健康食品』に関するメッセージ」によると、錠剤やカプセル形態の「健康食品」は外見上医薬品と誤認されることが多いが、医薬品と同等の品質管理がされているものではないことが確認できた²⁾。また、「健康食品」には成分が一定量に調整されておらず、「健康食品」の含有量に大きな差があった事例も報告されている³⁾。

「健康食品」は、保健機能食品といわゆる健康食品(一般食品)に分けられる。保健機能食品制度は、一定の条件を満たした食品について機能性を表示することを認める制度であり、現在は食品表示基準によって規定されて

いる。その内訳は、個別許可型の「特定保健用食品」、表示が栄養成分に限定される「栄養機能食品」、2015年4月1日に新たに追加された「機能性表示食品」の3つに分類されている(図1)。

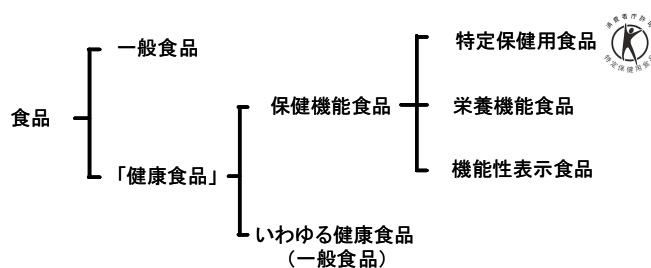


図1 「健康食品」の分類

機能性表示食品は、安全性および機能性に関する一定の科学的根拠に基づき、食品関連事業者の責任において特定の保健の目的が期待できる旨の表示を行うものとして、販売日の60日前までに消費者庁長官へ必要な事項を届ける必要がある。本制度は、全ての食品が対象となっており、「サプリメント形状の加工食品」、「サプリメント

形状の加工食品以外の加工食品（その他加工食品）」および「生鮮食品」の3つに大きく分類される。

「機能性表示食品」は、新しい制度であるが、いくつかの課題が考えられる。まず、消費者が認識不足のため、過剰摂取により健康危害をひきおこすおそれや過度に効能効果を期待する可能性がある。次に、届出に必要な安全性や機能性の評価方法は、複数の項目からいずれかを選択する方式であるため、評価方法が統一されていないことが挙げられる。最後に品質への不安として、機能性表示食品の製造の承認や品質管理は、医薬品と異なるため、製品によっては、品質が一定ではない可能性や含有量の過不足といった問題が考えられる。

そこで、消費者に対して「健康食品」の利用に関する正しい知識の普及・啓発を行うことを目的とし、届出件数が多いγ-アミノ酪酸（以下、「GABA」という。）を関与成分とする機能性表示食品を対象に、届出情報の傾向や品質等について調査したので報告する。

試料および方法

1 テスト対象

静岡市内のドラッグストアおよびインターネット等で購入した形状が錠剤またはハードカプセルのGABA含有食品14銘柄をテスト対象とした。内訳は機能性表示食品9銘柄および保健機能食品以外の健康食品（以下、「いわゆる健康食品」という。）5銘柄とした（表1）。

表1 購入したGABA含有食品

銘柄番号	分類	形状	1日摂取目安量（粒） あたりの GABA表示量（mg）※
K-1		錠剤	100
K-2	機能性表示食品	錠剤	100
K-3		錠剤	100
K-4		錠剤	28
K-5		錠剤	12.3
K-6		錠剤	28
K-7		錠剤	20
K-8		錠剤	100
K-9		ハードカプセル	28
I-1		いわゆる健康食品	錠剤
I-2	錠剤		100
I-3	錠剤		30
I-4	ハードカプセル		200
I-5	ハードカプセル		200

※商品表示値より換算

2 試薬

4-アミノ酪酸（GABA，特級）は富士フイルム和光純薬工業株式会社製を用いた。その他試薬類は有害金属用、試薬特級又はそれ以上のものを用いた。

3 方法

1) 「健康食品」の利用実態調査

県職員および静岡市老人クラブ連合会役員に対して、保健機能食品の認知度や「健康食品」を購入する際に重視する点、情報収集方法等についてアンケート調査を実施した。

2) 機能性表示食品の届出情報検索

GABAを機能性関与成分とするサプリメント形状の機能性表示食品について、消費者庁ウェブサイトにて公開された届出情報を検索し、届出数や安全性の評価および機能性の科学的根拠について調査した。

3) 表示

商品に記載されている1日摂取目安量、成分含有量および栄養成分表示等の表示を調査した。

4) 崩壊試験

「健康食品」は崩壊性に関する基準等がないため、医薬品の試験法を参考に試験を実施した。第十七改正日本薬局方「6.09 崩壊試験法」に準じ、試験液に水を用いて37±2℃で試験器を作動し、規定に従い上下運動を行った後の崩壊の状況を確認した。なお、補助盤はハードカプセルのみに使用した。

5) 錠剤、カプセルの内容量

「健康食品」には製剤均一性に関する基準等がないため、医薬品の試験法を参考に試験を実施した。第十七改正日本薬局方「6.02 製剤均一性試験法」による質量偏差試験に準じて、相対標準偏差を求めた。錠剤は、各銘柄を無作為に10錠選び、個々の質量を量った。ハードカプセルは、各銘柄を無作為に10カプセル選び、個々の質量を量った後、ハードカプセルの内容物を取り出し、個々の試料から空カプセルの質量を差し引き、1カプセル当たりの内容量を算出した。

6) GABAの含有量

① 試料の調製

錠剤は10錠、ハードカプセルは10カプセル中の内容物を取り出した試料10～500mgを正確に測り、0.1N塩酸を加え5分間超音波抽出した。さらに0.1N塩酸を加えて定容し、GABA濃度が1μg/mL以下になるよう0.1N塩酸で適宜希釈した後、0.2μmのメンブランフィルターでろ過し、LC/MS/MS分析用の試験溶液とした。

② 装置および分析条件

装置

LC部：ACQUITY UPLC H-Class（Waters株式会社）

MS部：ACQUITY TQD（Waters株式会社）

カラム：Intrada Amino Acid（3mm×100mm，3μm，Imtakt株式会社製）

カラム温度：35℃

移動相：A液 0.3%ギ酸含有アセトニトリル，

B液 100mMギ酸アンモニウム

グラジエント条件: (A:B) = 70: 30 (0min) → 65:35 (9min)
→ 0:100 (12min) → 70:30 (13min)

流量: 0.4 mL/min

注入量: 3 μL

測定モード: MRM (ESI+)

測定イオン: 103.7 → 87.0

結果および考察

1 「健康食品」の利用実態調査

「健康食品」に関するアンケート調査を実施した結果、1,205 人（県職員 1,097 人，静岡市老人クラブ連合会役員 108 人）から回答を得ることができた。

調査対象者のうち 795 人（66%）が保健機能食品制度を知っていると回答した（図 2）。そのうち 3 つの内訳（特定保健用食品，栄養機能食品，機能性表示食品）を全て聞いたことがあるという人は 290 人（37%）であった（図 3）。一方，内訳の特徴まで知っているという人は 139 人（18%）と少なかった。また，本制度自体を知らない 407 人と 3 つの内訳を全て知らない 28 人，特徴を全て知らない 337 人と合わせて，調査対象者の約 6 割が保健機能食品制度の詳細を知らないということが明らかになった。

消費者が「健康食品」を購入する際に重視する点を調査したところ，「安全性」が最も多く，続いて「機能性表示」，「目的成分の含有量」，「価格」が挙げられた。安全性や機能性を意識する傾向があるにも関わらず，商品選択のための情報収集方法としてはネットの評価やメーカーの広告を参考にしている人が多く，公的機関の情報サイトを活用している割合が低いことが明らかとなった。これらのことから「健康食品」を利用する前に，公的機関が公開している製品や危害等の情報確認の重要性を啓発する必要があると考えられた。

「健康食品」の利用実態については，全体の 55% が「健康食品」を利用していないと回答し，その理由として「必要性を感じない」が大半を占め，続いて「効果が期待できない」，「なんとなく」の回答が多かった。一方，全体の 45% が「健康食品」を利用しているまたは以前は利用していたと回答した。利用を始めた動機は，CM やチラシの広告の影響が大きく，年齢が高いほどその傾向があることがわかった。また，なんとなく始めたという人も多く，10～20 歳代においては約 5 割を占め，若い世代ほど明確な理由なく利用する傾向があることが明らかとなった。

「健康食品」を利用する目的については，「健康維持・改善のために必要であるから」という回答が最も多く，「身体に良さそうだから一応摂っておく」という人も大数いる結果となった。

これらの結果から，消費者が自ら「健康食品」に関する情報収集を行う可能性は低いことが推測された。「健康食品」を利用する前に，消費者庁等の公的機関から製品や危害の情報を確認するよう啓発していくことが大切だと考えられた。

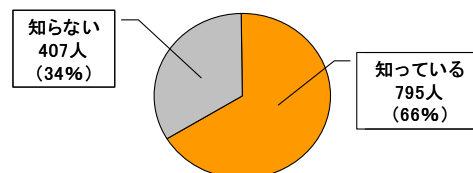


図 2 保健機能食品制度の認知度

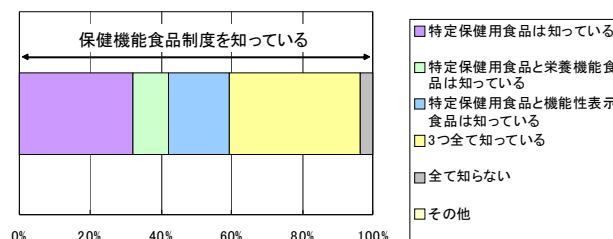


図 3 保健機能食品の内訳の認知度

2 安全性の評価および機能性の科学的根拠に関する調査

機能性表示食品制度では，届出情報が消費者庁ウェブサイトで公開されている⁴⁾。これを用いて 2020 年 1 月 17 日時点の「サプリメント形状の加工食品」の GABA 含有機能性表示食品 91 件（届出撤回件数を除く）の調査を実施した。

機能性表示食品として届出をするためには，安全性を評価する必要がある。その方法は「最終製品の喫食実績」，「既存情報による食経験」，「既存情報による安全性試験結果」，「安全性試験の実施」のいずれかにより評価するとされており，調査対象のうち 9 割以上が「既存情報による安全性試験結果」による評価方法を採用していた。

機能性の科学的根拠は，最終製品を用いたヒト試験が必須である特定保健用食品と違い，「最終製品を用いた臨床試験」，「最終製品に関する研究レビュー」，「機能性関与成分に関する研究レビュー」のいずれかで評価可能であるとされている。対象とした 91 件全てが「機能性関与成分に関する研究レビュー」による評価であった。91 件の科学的根拠として採用された研究レビューを調査したところ，メーカーにより選定された文献はさまざまであり，文献によって人種や摂取期間，摂取量等は大きく異なる場合があるため，その評価は統一されていないと考えられた。

このことから，GABA を含有する機能性表示食品は，安全性・機能性ともに必ずしも最終製品各々を評価しているわけではないことがわかった。消費者がこのような製品情報を，消費者庁ウェブサイトの届出情報等により

十分確認するよう啓発していくことが必要だと考えられた。

3 表示

機能性表示食品 9 銘柄のうち、1 日摂取目安量を守るように書かれたものが 6 銘柄、アレルギーの注意喚起表示があるものが 6 銘柄、さらに、降圧薬または鎮静作用のあるハーブとの併用を注意する表記があるものが 6 銘柄であった。また、GABA 以外の機能性関与成分を含有しているものは 3 銘柄あった。摂取をする上での注意事項等については、メーカーにより表示する内容が異なるため、商品選択の際はより多くの商品の表示を確認し、摂取する食品について自ら情報収集することが重要であると考えられた。

また、届出表示については「GABA には睡眠の質（眠りの深さ、すっきりとした目覚め）の向上に役立つ機能があることが報告されています」、「 γ -アミノ酪酸には血圧が高めの方に適した機能があることが報告されています」等のように 9 銘柄全ての商品において「A（機能性関与成分）には B の機能があることが報告されています」という表現で記載されていた。このことから、機能性の科学的根拠は機能性関与成分に関する研究レビューによって評価されたものであることがわかった。機能性表示食品は機能性の科学的根拠として最終製品を用いた臨床試験により評価した場合は「本品には A（機能性関与成分）が含まれるので、B の機能があります」と断定的な表現となり、最終製品に関する研究レビューで評価されたものであれば「本品には A（機能性関与成分）が含まれ、B の機能があることが報告されています」と表現されるため、このような表示に関する知識を身につけておくことで、より適切な商品選択に役立てることが可能であると考えられた。

いわゆる健康食品 5 銘柄のうち、「健康補助食品」と表示があるものが 2 銘柄、「栄養補助食品」と表示があるものが 1 銘柄あった。また、分類に関する記載のないものが 1 銘柄、ビタミン B₆ を栄養成分とした「栄養機能食品」が 1 銘柄であった。すべての銘柄でアレルギーの注意喚起表示があった。さらに、薬との併用を注意する表記があるものが 4 銘柄あった。

また、いわゆる健康食品の中には栄養成分表示に書かれた内容が 1 日当たりではなく 1 粒当たりの量である場合もあるため、数種類の商品から購入するものを選ぶ場合は、栄養成分表示を見比べることが望ましいと考えられた。いわゆる健康食品は、機能性表示が認められていない一般食品であるため、いわゆる健康食品を購入する際は、より慎重に表示の内容を確認する必要があると考えられた。

4 崩壊試験

各銘柄の崩壊にかかった時間を表 2 に示した。その結果、崩壊に 60 分以上かかったものが 3 銘柄あり、製品によって崩壊性に差がある傾向がみられた。

医薬品と違い「健康食品」の品質管理については統一された規格や基準がない。「健康食品」の品質管理について、厚生労働省より「錠剤、カプセル状等食品の適正な製造に係る基本的考え方について」及び「錠剤、カプセル状等食品の原材料の安全性に関する自主点検ガイドライン」が通知されているが、これは事業者の自主的な取り組みを推奨するものである⁵⁾。「健康食品」を対象に崩壊試験を行った結果、医薬品と同等の規定時間内には崩壊しない事例が報告されており^{6, 7)}、錠剤・カプセル形状等の食品について崩壊試験を義務化する業界団体もみられる⁸⁾ことから、今後「健康食品」の崩壊性について品質の向上が期待される。

表 2 各銘柄の崩壊時間

銘柄番号	形状	補助盤使用	崩壊時間
K-1	錠剤	無	60分以上
K-2	錠剤	無	30分
K-3	錠剤	無	54分
K-4	錠剤	無	43分
K-5	錠剤	無	60分以上
K-6	錠剤	無	30分
K-7	錠剤	無	40分
K-8	錠剤	無	60分以上
K-9	ハードカプセル	有	15分
I-1	錠剤	無	12分
I-2	錠剤	無	58分
I-3	錠剤	無	20分
I-4	ハードカプセル	有	8分
I-5	ハードカプセル	有	14分

5 錠剤、カプセルの内容量

無作為に選んだ 10 錠または 10 カプセルを用いて、1 錠または 1 カプセル当たりの内容量を測定した結果を表 3 に示した。機能性表示食品の相対標準偏差（RSD%）は 0.33~3.41、いわゆる健康食品は 0.68~2.29 であり、14 銘柄全てにおいて大きなばらつきがなく結果は良好であった

表 3 各銘柄の内容量

銘柄番号	表示値 (mg)	秤量値 (mg)	RSD%
K-1	300	310	0.77
K-2	231	230	0.75
K-3	300	308	0.67
K-4	201	200	0.61
K-5	180	183	1.11
K-6	200	205	1.04
K-7	280	279	0.33
K-8	100	105	0.48
K-9	360	362	3.41
I-1	250	249	1.18
I-2	300	300	0.68
I-3	200	210	1.06
I-4	—	407	2.29
I-5	320	317	1.81

6 GABA の含有量

機能性表示食品 (K-1~K-9) およびいわゆる健康食品 (I-1~I-5) について、1 日摂取目安量当たりの GABA 含有量の平均値を図 5 に、表示量に対する測定値の割合を表 4 に示した。表示量に対する測定値の割合は、機能性表示食品で 101.8~159.3%であった。機能性表示食品は、食品表示基準の中で、1 日摂取目安量当たりの機能性関与成分の含有量は、当該一定の値にあっては分析値がこれを下回らないものでなければならないとされている⁹⁾。今回の調査で測定値が表示値を下回るものはなかった。銘柄によって表示量が異なるのは、表示している機能性の内容によって採用文献が異なるためであると考えられた。一方、いわゆる健康食品の表示量に対する測定値は、74.2~89.7%であり、表示量よりも低い傾向であった。

調査した 14 銘柄全てにおいて、1 日摂取目安量当たりの GABA 含有量は 200mg 未満であり、脳代謝促進剤として承認されている GABA 含有医薬品の承認用量である 3,000mg/日の 10 分の 1 未満であった。

GABA は、日本人の食事摂取基準における耐容上限量 (健康障害をもたらすリスクがないとみなされる習慣的な摂取量上限) 等が設定されている成分ではない。しかし、医薬品との併用による健康危害の報告もある¹⁰⁾ことから、医薬品を服用している場合は、GABA 含有健康食品との相互作用により治療のさまたげになる可能性があるため、自己判断で使用せず、医師や薬剤師等に相談するように啓発していくことが大切だと思われた。

GABA は、果物、野菜、漬物、発芽玄米などの様々な食品に含まれ、日常の食生活から摂取することができる¹¹⁻¹⁴⁾。日頃からバランスのとれた食生活を心がけ、「健康食品」は、食生活の補足として上手に利用することが望ましいと考えられた。

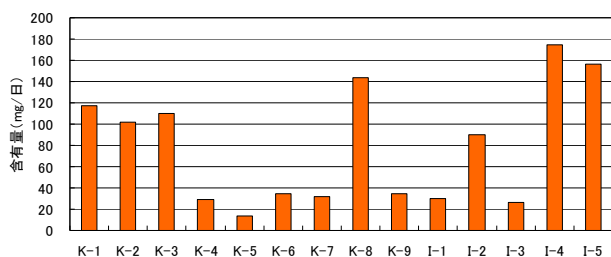


図 4 各銘柄の 1 日摂取目安量当たりの GABA 含有量

表 4 各銘柄の GABA 表示値に対する測定値の割合

銘柄番号	含有割合 (%)
K-1	116.9
K-2	101.8
K-3	109.9
K-4	102.5
K-5	112.6
K-6	123.8
K-7	159.3
K-8	143.9
K-9	124.6
I-1	74.2
I-2	89.7
I-3	86.5
I-4	87.1
I-5	78.2

まとめ

消費者に対して「健康食品」の利用に関する正しい知識の普及・啓発を行うことを目的とし、届出件数が多い GABA を関与成分とする機能性表示食品を対象に、届出情報の傾向や品質等について調査した。その結果、以下のことが明らかとなった。

- 1 「健康食品」の利用実態調査の結果から、調査対象者の約 6 割が保健機能食品制度の詳細を知らないことが明らかとなった。
- 2 GABA の届出情報を検索したところ、機能性表示食品の安全性評価や機能性評価は、製品自体を必ずしも評価しているわけではなく、機能性表示食品の機能性の科学的根拠は、複数存在することがわかった。
- 3 今回、調査対象として購入した GABA 含有機能性表示食品 9 銘柄およびいわゆる健康食品 5 銘柄において、内容量のばらつきに問題があるものはなかった。しかし、機能性表示食品、いわゆる健康食品ともに崩壊性に差がある傾向がみられた。
- 4 今回対象とした銘柄に含まれる GABA 量を測定した結果、銘柄により含有量は大きく異なっていた。表示量に対する含有量は、機能性表示食品は高く、いわゆる健康食品は低い傾向がみられた。

以上から、消費者に対して「健康食品」を利用する前に、消費者庁等の公的機関から製品や危害の情報を確認するよう啓発していくことが大切だと考えられた。

さらに、「健康食品」を利用する際には、医薬品とは品質等が異なることを認識して日頃からバランスのとれた食生活を心がけ、「健康食品」は、食生活の補足として上手に利用することが望ましいと考えられた。

文 献

- 1) 畝山智香子:健康食品は安全なの?, FFI JOURNAL, **224**, 4, 381-387 (2019)
- 2) 食品安全委員会:いわゆる「健康食品」に関するメッセージ, 2015年12月
- 3) 渡辺且之:食品安全委員会からのいわゆる「健康食品」に関する19のメッセージについて, FFI JOURNAL, **224**, 4, 365-372 (2019)
- 4) 消費者庁ホームページ:機能性表示食品の届出情報検索,
<https://www.fld.caa.go.jp/caaks/cssc01/>
- 5) 厚生労働省通知:「錠剤, カプセル状等食品の適正な製造に係る基本的考え方について」及び「錠剤, カプセル状等食品の原材料の安全性に関する自主点検ガイドライン」について, 平成17年2月1日, 食安発第0201003号
- 6) 独立行政法人国民生活センター報道発表資料:錠剤・カプセル状の健康食品の品質等に関する実態調査 - 形状から, 医薬品だと思いませんか?-, 令和元年8月1日
- 7) 川村仁, 他:錠剤・カプセル状の形状を有する食品の崩壊試験~機能性表示食品を対象として~, 日本薬剤師会雑誌, **70**, 12, 1603-1607 (2018)
- 8) 公益財団法人日本健康・栄養食品協会通知:GMP認定工場に対する錠剤・カプセル状等食品の崩壊試験の義務化と有効成分の含量確認の重要性について, 令和元年8月2日, 日健栄第142号
- 9) 消費者庁次長通知:表示基準について, 令和2年1月15日, 消食表第8号
- 10) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所ホームページ:「健康食品」の素材情報データベース,
<https://hfnet.nibiohn.go.jp/contents/detail14.html>
- 11) 佐々木泰弘, 他:ギャバ(GABA)の効能と有効摂取量に関する文献的考察, 美味技術研究会誌, **15**, 32-37 (2010)
- 12) 大野一仁, 他:野菜による γ -アミノ酪酸の蓄積, 愛媛県工業系研究報告, **45**, 29-34 (2007)
- 13) 高田武久:トマトのアミノ酸について, 日本家政学会誌, **63**, 11, 745-749 (2012)
- 14) 大久長範, 他:発芽玄米と粳発芽玄米の γ -アミノ酪酸および遊離アミノ酸含量, 日本食品化学工学会誌, **50**, 7, 316-318 (2003)

飲料に含まれるカフェインに関する調査

医薬食品部 食品班 辻むつみ, 沓間理江, 高橋真

Investigation of Caffeine in Drinks.

Mutsumi TSUJI, Rie KUTSUMA and Makoto TAKAHASHI

消費者にカフェインの適正な摂取を促すことを目的として、カフェイン含有飲料に関するアンケート調査および静岡市内で市販されていた飲料のカフェイン量調査を実施した。

アンケート調査の結果、全体の約 67%の人がカフェインを気にせずに飲料を飲用しており、カフェインを含む飲料を積極的に飲んでしていると回答したのは全体の 29%、カフェインを含む飲料の飲用を避けていると回答した人は全体の 5%であった。

エナジードリンクの製品 1 本あたりのカフェイン含有量は平均で 100mg を超えていた。1 本で 200mg 以上のカフェインを含む銘柄もあることから、消費者がエナジードリンクを飲用する際には、製品の表示からカフェイン含有量を確認することが重要である。コーヒーの製品 1 本当たりのカフェイン含有量もエナジードリンクと同様に平均で 100mg を超えていた。1 本で 200mg 以上のカフェインを含む銘柄もみられたため、妊婦や授乳中の女性等の一日最大摂取量が低く設定されている消費者については市販のコーヒーの飲用には注意が必要である。

Key words: カフェイン, エナジードリンク, コーヒー, 一日最大摂取量
caffeine, energy drink, coffee, maximum daily intake

はじめに

カフェインはコーヒーや茶類, 食品に含まれる性質上, 多くの消費者が意識せずとも日常的に摂取している。一方で, 眠気防止を目的にドリンクなどから積極的にカフェインを摂取する消費者や, 小児や妊婦等カフェイン摂取を避ける消費者も存在する。カフェインは適度な摂取により眠気防止やリフレッシュ感が得られるが, 過剰に摂取すると消化器症状, 循環器症状, 精神症状を引き起こすことがあり, カフェイン中毒による死亡例も報告されている。健康被害をもたらす危険性があるものの, 清涼飲料水や一般食品については, カフェイン含有量の表示義務はなく, 諸外国では一日あたりの悪影響のない最大摂取量が提示されている(表 1)が, 日本においては摂取上限量等は設定されていない。

そこで, 消費者の適正なカフェイン摂取を促すことを目的とし, 飲料のカフェイン含有量の調査を実施したので報告する。

試料および方法

1 調査対象

静岡市内のスーパー, ドラッグストア等で購入した清涼飲料水 159 銘柄を試験対象品とした。

2 アンケート調査

静岡県職員を対象にカフェインを含む飲料に関するアンケート調査を実施した。

3 表示, 価格調査

原材料, 保存方法, 栄養成分等について, 商品表示および購入価格を調査した。

4 カフェイン測定方法

1) 試薬等

メタノール, アセトニトリルは富士フイルム和光純薬工業株式会社製, その他試薬類は試薬特級又はそれ以上のものを使用した。

2) 試料の調製

メタノールで 10 倍希釈した試料を振とう混和後, 3,000rpm で 10 分間遠心分離した。上清を 0.45 μ m のフィルタでろ過し, カフェイン測定用試料とした。

3) 装置および分析条件

装置: Chrom NAV LC-2000 Plus (日本分光株式会社製)

表 1 海外機関のカフェイン摂取量設定状況

一日当りの悪影響のない最大摂取量	飲料換算	機関名
妊婦		世界保健機構(WHO) ¹⁾
300mg/日		
200mg/日	コーヒー マグカップ 2 杯	欧州食品安全機関(EFSA) ^{2,3)}
300mg/日	コーヒー マグカップ 2 杯 (237mL/杯)	カナダ保健省 ⁴⁻⁷⁾
授乳中の女性		欧州食品安全機関(EFSA) ^{2,3)}
200mg/日 注 1)		
健康な子供および青少年		欧州食品安全機関(EFSA) ^{2,3)}
3mg/kg 体重/日		
2.5mg/kg 体重/日	・コーラ 1 缶 (355mL) 当りの カフェイン含有量 36~46mg ・エナジードリンク 1 缶 (250ml) 当たりのカフェイン含有量 約 80mg	カナダ保健省 ⁴⁻⁷⁾
子供 (4~6 歳)	45mg/日	
子供 (7~9 歳)	62.5mg/日	
子供 (10~12 歳)	85mg/日	
13 歳以上の青少年	2.5mg/kg 体重/日	
健康な成人		欧州食品安全機関(EFSA) ^{2,3)}
400mg/日 (3mg/kg 体重/1 回 注 2))		
400mg/日	コーヒー マグカップ 3 杯 (237mL/杯)	カナダ保健省 ⁴⁻⁷⁾

注 1) 乳児に健康リスクは生じない。

注 2) 1 回当たり摂取量 3mg/kg 体重以下 (例: 体重 70kg の成人で、約 200mg 以下) であれば急性毒性の懸念は生じない

カラム: Mightysil RP-18GP (4.6mm×250mm, 5μm, 関東化学株式会社製)

移動相: 0.1M リン酸水素ナトリウム緩衝液 (pH5.8):
アセトニトリル=90:10

カラム温度: 50℃

流量: 1.5mL/min

注入量: 10μL

検出器 (PDA): 270nm

の 42%, 60 歳以上で最小値の 22%を示した。カフェインを含む飲料の飲用を避けていると回答した人は全体の 5%であり、20 代後半から 30 代後半の人の 1 割強、24 歳以下と 40 歳以降の年代で 5%以下であった。

カフェインを含む飲料を積極的に飲む理由として、「リフレッシュできるから」(60%), 「眠気が覚めるから」(45%) といったカフェインの効果を期待している人が比較的多かった (表 2)。また、「カフェイン入り飲料の味が好きだから」と回答した人が 35%で、カフェインの効果に対する期待と味の好みを理由にカフェイン含有飲料を積極的に飲用していることがわかった。

結果および考察

1 アンケート調査結果

静岡県職員を対象にカフェインを含む飲料に関するアンケート調査を実施したところ、1,634 人から回答を得ることができた。

カフェインを含む飲料の飲用状況について、カフェインを気にせずに摂取していると解答した人は全体の 67%で、年齢が高くなるほどその割合が多くなる傾向が見られた (図 1)。カフェインを含む飲料を積極的に飲んでいると回答したのは全体の 29%で、24 歳以下で最大値

表 2 カフェイン含有飲料を積極的に飲む理由

理由	回答者数 (割合)
リフレッシュできるから	281 人 (60%)
眠気が覚めるから	211 人 (45%)
カフェイン入り飲料の味が好きだから	165 人 (35%)
元気になるから	53 人 (11%)
身体によさそうだから	32 人 (7%)
その他	30 人 (6%)

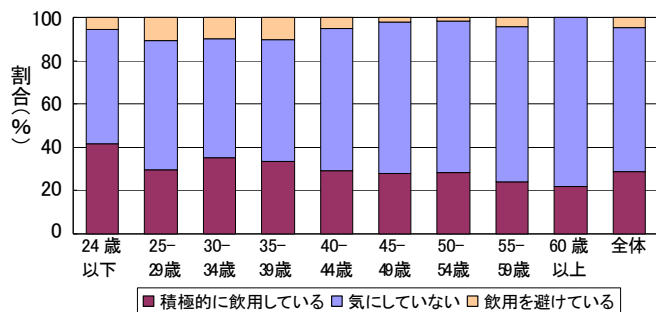


図 1 カフェインを含む飲料の飲用状況について

一方、カフェインを含む飲料を避ける理由として、「眠れなくなるから」(44%), 「胃が痛くなるから」(28%) といったカフェインを過剰摂取した際に現れる症状を挙げた人が多かった (表 3)。また、「身体に悪そうだから」と回答して人が 29%であり、カフェインの過剰症とイメージによってカフェイン含有飲料を避ける人が多いことがわかった。

表3 カフェイン含有飲料を避ける理由

理由	回答者数 (割合)
眠れなくなるから	34人 (44%)
身体に悪そうだから	23人 (29%)
胃が痛くなるから	22人 (28%)
体質等の理由	14人 (18%)
気分が悪くなるから	13人 (17%)
頭が痛くなるから	8人 (10%)
その他	7人 (9%)
カフェイン入り飲料の味が好きではないから	3人 (4%)

カフェイン含有量が多いと思う飲料について尋ねたところ、コーヒー (96%)、エナジードリンク (66%)、緑茶 (57%)、紅茶 (44%)、コーラ類 (24%) の順に回答者が多かった (図2)。烏龍茶 (5%)、ほうじ茶 (1%)、麦茶 (1%) 等その他の茶類については、カフェイン含有量が多いとは認識されていないことがわかった。

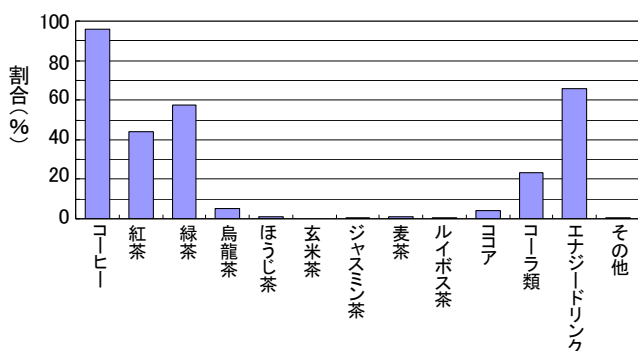


図2 カフェイン含有量が多いと思う飲料

2 表示等調査

調査対象とした清涼飲料水の種別銘柄数、内容量および購入価格を表4に示した。

エナジードリンク (眠気防止を謳った飲料を含む) 36銘柄のうち、ノンカフェイン等のカフェインを含まない旨の表示のない製品 (以下、通常品) は35銘柄、「カフェイン不使用」と表示された銘柄が1銘柄であった。35銘柄中34銘柄の原材料に「カフェイン」、「天然カフェイン」または「カフェイン (抽出物)」の記載が見られ、カフェインが添加物として使用されていた。25銘柄の栄養成分表示にカフェインの記載が見られ、また、エナジードリンクに特徴的な表示として、26銘柄に「この製品には1本あたり100mgのカフェインが含まれています」、「カフェインに敏感な方等は飲用をお控えください」といったカフェイン含有量や体調・体質に関する注意書きが見られた。栄養成分表示または注意書きから、28銘柄において製品に含まれるカフェイン量の確認が可能であった。

ペットボトル入りコーヒー24銘柄のうち、通常品が21銘柄、ノンカフェイン、カフェインレス等のカフェイン

を含まない旨の表示のある製品 (以下、ノンカフェイン等) が3銘柄であった。全ての銘柄の原材料にカフェインの表示は認められず、4銘柄において栄養成分表示から製品に含まれるカフェイン量が確認できた。ノンカフェイン等3銘柄とも「カフェイン97%カット」の表示がなされていたが、カフェイン量は表示されていなかった。

缶コーヒー31銘柄は全て通常品であり、全ての銘柄の原材料および栄養成分表示にカフェインの記載は認められなかった。

緑茶16銘柄はすべて通常品であり、全ての銘柄で原材料にカフェインの記載は見られず、3銘柄の栄養成分表示にカフェインの記載があった。この3銘柄は特定保健用食品または機能性表示食品であり、いずれもカフェインを関与成分または機能性関与成分とした製品ではないものの、カフェイン量の表示がなされていた。

紅茶17銘柄のうち、15銘柄は通常品、2銘柄はノンカフェイン等であった。全ての銘柄の原材料にカフェインの記載は見られず、栄養成分表示にカフェインの記載があった銘柄は、低カフェインと表示された1銘柄と、機能性表示食品1銘柄であった。ノンカフェイン等の2銘柄とも栄養成分表示にカフェイン量は100mL当たり1mgと記載されており、「100mlあたりカフェイン5mg未満のためデカフェと表示しています」との補足が記載されていた。

烏龍茶、ほうじ茶等のその他お茶28銘柄中、12銘柄が通常品、16銘柄がノンカフェイン等であった。全ての銘柄の原材料にカフェインの記載は見られず、栄養成分表示にカフェインの記載があった銘柄は「カフェインすくなくめ」と表示がある1銘柄と、特定保健用食品または機能性表示食品の3銘柄であった。ノンカフェイン等16銘柄はすべての栄養成分表示に「カフェイン0mg」の記載があった。

コーラ類5銘柄は全て通常品であり、全ての銘柄の原材料にカフェインの記載があり、栄養成分表示から製品に含まれるカフェイン量を確認できたのは2銘柄であった。

ココア2銘柄はどちらも通常品であり、いずれの銘柄も原材料にカフェインの記載は見られず、栄養成分表示にもカフェイン量の記載は認められなかった。

3 カフェイン濃度およびカフェイン含有量

表4の各飲料のうち、通常品1本に含まれるカフェイン量の測定結果を図3に示した。原材料に「カフェイン」の記載がない製品からもカフェインが検出されているが、コーヒー豆や紅茶・緑茶・烏龍茶等の茶葉にはカフェインが含まれている⁸⁾ため、原料由来のカフェインが検出されたと考えられる。

表 4 調査対象飲料の種類別銘柄数, 内容量および購入価格

飲料の種類		銘柄数	内容量	購入価格
エナジードリンク (眠気防止用飲料を含む)	通常品	35	50mL~500mL	53 円~1,263 円
	カフェイン不使用	1	190mL	97 円
ペットボトル入り コーヒー	通常品	21	270mL~600mL	84 円~149 円
	ノンカフェイン等	3	500mL~930mL	128 円~192 円
缶コーヒー	通常品	31	185g~400g	72 円~109 円
紅茶	通常品	15	450mL~500mL	84 円~149 円
	ノンカフェイン等	2	500mL	149 円
緑茶	通常品	11	470mL~525mL	50 円~184 円
	通常品 (濃いタイプ) ※	5		
その他お茶	通常品	12	350mL~525mL	50 円~157 円
	ノンカフェイン等	16	350mL~660mL	50 円~194 円
コーラ	通常品	5	470mL~500mL	90 円~162 円
ココア	通常品	2	280mL, 400mL	154 円, 168 円

製品 1 本当たりの平均値でカフェイン含有量が 100mg を超過したのはコーヒーとエナジードリンクであった。この 2 種類の飲料には、欧州食品安全機関で妊婦・授乳婦の一日当たりの悪影響のない最大摂取量とされている 200mg を超えるカフェインを含む銘柄も見られた。緑茶はアンケート調査において、カフェイン含有量が多い飲料としてコーヒー、エナジードリンクに次いで回答者数が多かった (図 2) が、今回の測定結果では緑茶よりも紅茶、烏龍茶、ほうじ茶のカフェイン含有量が多いことがわかった。特に、烏龍茶、ほうじ茶はアンケートの結果によるとカフェイン含有量が多い飲料であるとは認識されておらず、消費者の認識と製品のカフェイン含有量に差があるため、正しい知識の普及が必要である。

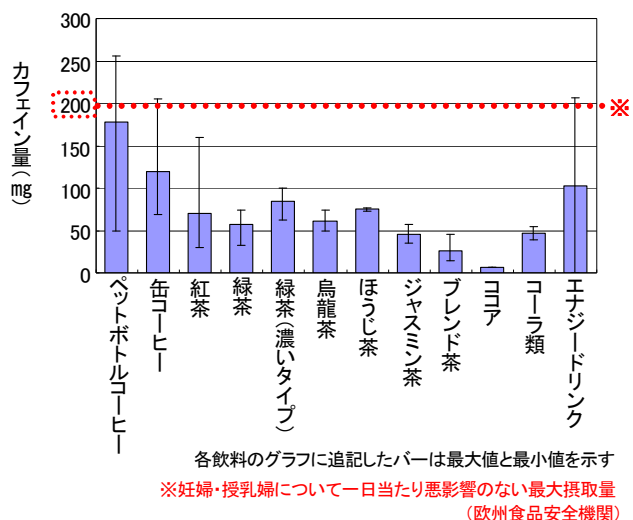


図3 通常品1本当たりのカフェイン含有量 (平均値)

表 4 の各飲料のうち、ノンカフェイン等の製品に含まれるカフェイン量の測定結果を表 5 に示した。エナジードリンク、麦茶、ルイボス茶、そば茶、石榴茶、ブレンド茶、ハーブティーでは、カフェインが不検出であった。

※商品名に「濃」が含まれるものまたは保健機能食品

表 5 カフェインを含まない旨の表示のある飲料 1 本当たりのカフェイン含有量

飲料の種類	銘柄数	内容量	製品 1 本当たりの カフェイン含有量
エナジードリンク	1	190mL	不検出*
コーヒー	3	500~930mL	不検出*~14mg
紅茶	2	500mL	10mg
麦茶	5	500~660mL	不検出*
ルイボス茶	2	500mL	不検出*
そば茶	1	500mL	不検出*
石榴茶	1	500mL	不検出*
ブレンド茶	4	350~630mL	不検出*
ハーブティー	2	500mL	不検出*

*定量下限 (1mg/mL) 未満

一方、コーヒーと紅茶では量は少ないものの、カフェインを含む製品が見られた。コーヒー飲料等にカフェインを含まない旨の表示をするにあたり、カフェイン量としての基準は設定されていない。また、調査対象とした紅茶については、製品に少量のカフェインを含む旨の表示がなされていた。このようにカフェインを含まない旨の表示がなされている製品であっても、銘柄によっては少量のカフェインを含む銘柄があると考えられ、カフェインの摂取を避けている消費者にとっては注意が必要である。

1) エナジードリンクのカフェイン測定結果

調査対象のエナジードリンク 36 銘柄のカフェイン量測定値を図 4 に示した。製品 No. 1~35 は通常品、No. 36 はカフェイン不使用の製品である。No. 21 の製品は通常品であるが、カフェインは不検出 (定量限界 1mg/mL) であった。カフェインが検出された 34 銘柄のうち、製品にカフェイン量の表示が見られたのは 28 銘柄で、1 本あた

りのカフェイン量が100mg以上の製品にはすべてカフェイン量の表示があった。なお、カフェイン量の表示がある製品については、表示量と測定値に大きな差は認められなかった。欧州食品安全機関およびカナダ保健省が設定している成人の一日当たりの悪影響のない最大摂取量は400mgであり、今回調査対象としたエナジードリンクの中には2本飲用すると最大摂取量を超過する銘柄が見られたことから、消費者はエナジードリンクを飲用する際、製品表示からカフェイン量を確認することが薦められる。

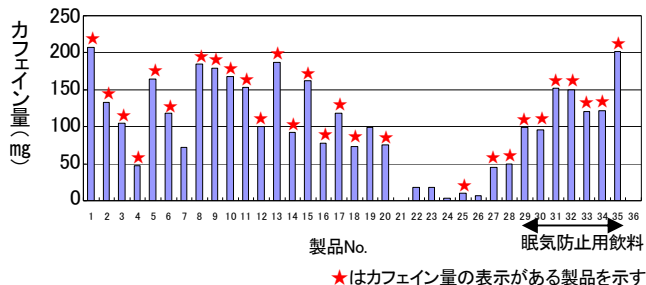


図4 エナジードリンク 1本に含まれるカフェイン量

2) コーヒーのカフェイン測定結果

調査対象のペットボトル入コーヒー24銘柄および缶コーヒー31銘柄のカフェイン量測定値を図5に示した。カフェイン量の表示のある製品は、表示量と測定値に大きな差は見られなかった。ペットボトル入コーヒーのNo.1~21は通常品、No.22~24はノンカフェイン等の製品で、缶コーヒーは全て通常品である。ペットボトル入コーヒーのカフェイン含有量は平均で178mg、缶コーヒーは119mgであった。ペットボトル入コーヒーは缶コーヒーよりもカフェイン含有量が多いが、これは内容量がペットボトル入コーヒーの方が多いためであり、カフェイン濃度で比較すると、缶コーヒーの方がペットボトル入コーヒーよりも高かった。コーヒーを、原材料に牛乳を含まないもの(ブラック)、牛乳を含み商品名に「カフェオレ」、「ラテ」等を含まないもの(微糖等)、牛乳を含み、商品名に「カフェオレ」、「ラテ」等を含むもの(カフェオレ等)に分類し、カフェイン含有量の平均値を比較すると、ペットボトル入コーヒー、缶コーヒー共にブラック>微糖等>カフェオレ等の順にカフェイン量が多かった。

調査対象としたコーヒーの通常品52銘柄のうち、製品にカフェイン量の表示があったのは4銘柄であり、1本あたり200mg以上のカフェインを含む製品であってもカフェイン量の表示がない製品が見られた。エナジードリンクとは異なり、製品からカフェイン含有量を確認することができないため、妊婦・授乳婦のようにカフェインの一日最大摂取量が低い消費者は市販のコーヒーの飲用

には注意が必要である。また、健康な成人についても銘柄によっては2本の飲用で一日最大摂取量を超過してしまうものがあったため、一日2本以上の市販のコーヒーの常用には注意が必要である。

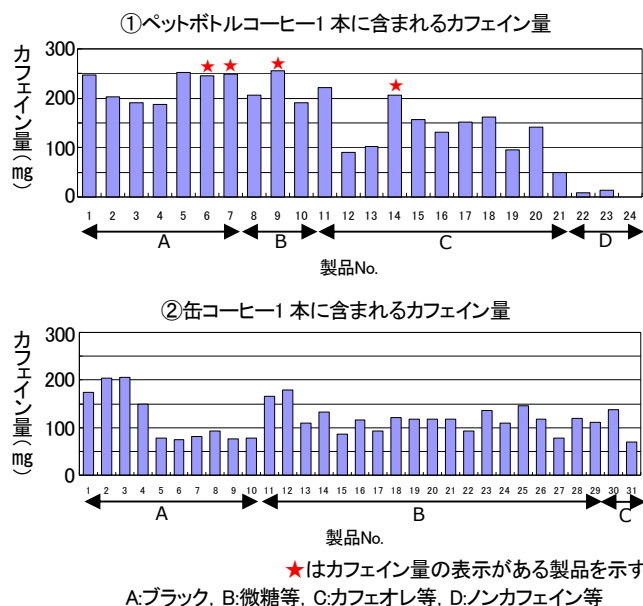


図5 コーヒー1本に含まれるカフェイン量

3) 紅茶のカフェイン測定結果

調査対象の紅茶17銘柄のカフェイン量測定値を図6に示した。製品No.1~15は通常品、No.16,17はノンカフェイン等の製品である。紅茶通常品のカフェイン含有

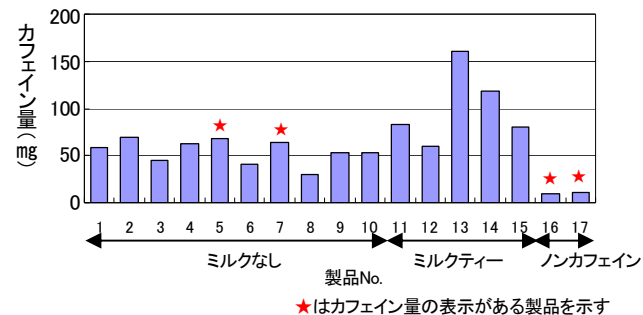


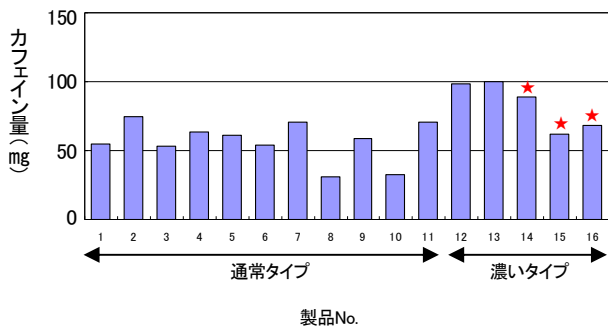
図6 紅茶1本に含まれるカフェイン量

量は平均で70mgであり、カフェイン量の表示がある製品4銘柄の表示値と測定値に大きな差はなかった。いずれの銘柄もカフェイン含有量は妊婦・授乳婦の一日最大摂取量200mg以下であった。ミルクティーは平均で100mgのカフェインを含み、ミルクを含まない紅茶の平均値54mgの2倍程度のカフェインが含まれていた。

4) 緑茶のカフェイン測定結果

調査対象の緑茶16銘柄のカフェイン量測定値を図7に示した。16銘柄全て通常品であり、カフェイン含有量は平均で65mgであった。通常品のうち、商品名に「濃」があるものまたは保健機能食品(特定保健用食品または機能性表示食品)を濃いタイプ、それ以外を通常タイプ

分類すると、濃いタイプのカフェイン含有量は84mg、通常タイプは57mgで濃いタイプのカフェイン量が多かった。製品にカフェイン量の表示があった製品は3銘柄であり、全て保健機能食品であった。なお、カフェイン量の表示がある製品の表示値と測定値に大きな差はなかった。今回調査した緑茶のカフェイン量は最大でも1本当たり100mgであったことから、市販の緑茶については一日最大摂取量の少ない妊婦・授乳婦であっても、飲用を避ける必要がある程のカフェイン量は含まれていないと言える。

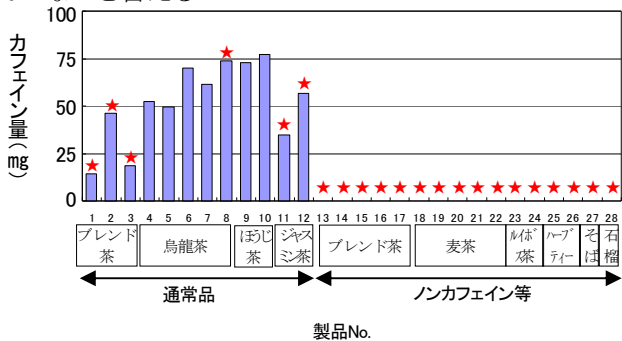


★はカフェイン量の表示がある製品を示す

図7 緑茶 1本に含まれるカフェイン量

5) その他の茶類のカフェイン測定結果

調査対象のブレンド茶、烏龍茶、ほうじ茶等その他の茶類 28銘柄のカフェイン量測定値を図8に示した。12銘柄が通常品、16銘柄がノンカフェイン等であり、通常品のカフェイン含有量は平均で52mg、ノンカフェイン等はすべて定量限界(1mg/mL)未満であった。カフェイン量の表示は通常品の6銘柄とノンカフェイン等の全銘柄に見られ、表示量と測定値に大きな差は見られなかった。今回調査したその他の茶類のカフェイン量は最大でも1本当たり77mgであったことから、市販のその他の茶類については、緑茶と同様に一日最大摂取量の少ない妊婦・授乳婦であっても飲用を避ける程のカフェインは含まれていないと言える。

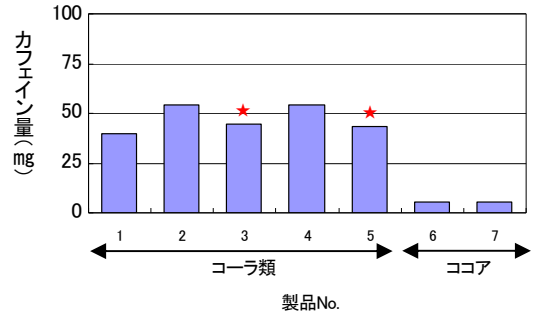


★はカフェイン量の表示がある製品を示す

図8 その他の茶類 1本に含まれるカフェイン量

6) コーラ類、ココアの茶類のカフェイン測定結果

コーラ類 5銘柄およびココア 2銘柄のカフェイン量測定値を図9に示した。コーラ類、ココア共に全て通常品であった。コーラ類 5銘柄のカフェイン含有量は平均47mgで、5銘柄中2銘柄にカフェイン量の表示が見られ、表示値と測定値に大きな差はなかった。ココア 2銘柄のカフェイン含有量はいずれも6mgであり、今回測定した通常品の中ではココアはカフェインが少ない飲料であると言える。



★はカフェイン量の表示がある製品を示す

図9 コーラ類、ココア 1本に含まれるカフェイン量

まとめ

カフェイン含有飲料に関するアンケート調査および静岡市内で市販されていた飲料のカフェイン量調査を実施し、以下のことが明らかとなった。

- 1 アンケート調査の結果、全体の約67%の人がカフェインを気にせず飲料を飲用しており、年齢が高くなるほどその割合が多くなる傾向があることがわかった。カフェインを含む飲料を積極的に飲んでいると回答したのは全体の29%、カフェインを含む飲料の飲用を避けていると回答した人は全体の5%であった。
- 2 飲料のカフェイン含有量について、正しく認識されていないものがあることがわかり、正しい知識の普及が必要である。
- 3 エナジードリンクの製品1本あたりのカフェイン含有量は平均で100mgを超えており、1本で200mg以上のカフェインを含む銘柄もあった。エナジードリンクを飲用する際には製品の表示からカフェイン含有量を確認することが重要である。
- 4 コーヒーの製品1本当たりのカフェイン含有量は平均で100mgを超えており、1本で200mg以上のカフェインを含む銘柄もあることから、妊婦・授乳婦等の一日最大摂取量が低い消費者については市販のコーヒーの飲用には注意が必要である。また、健康な成人についても一日2本以上の市販のコーヒーの常用は避けるべきである。
- 5 ノンカフェイン等の表示のある飲料でも、少量のカフ

エインを含む製品が見られた。

文 献

- 1) 世界保健機関 (WHO) : Restricting caffeine intake during pregnancy (2016),
<http://www.who.int/elena/titles/caffeine-pregnancy/en/>
- 2) 欧州食品安全機関 (EFSA) : Caffeine (2015),
http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/efsaexplainscaffein150527.pdf12)
- 3) 欧州食品安全機関 (EFSA) : Scientific Opinion on the Safety of caffeine (2015),
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2015.4102/abstract>
- 4) カナダ保健省: Caffeine in food (2012),
<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/food-additives/caffeine-foods/foods.html>
- 5) カナダ保健省: Health Canada is advising Canadians about safe levels of caffeine consumption (2017),
<http://healthycanadians.gc.ca/recall-alert-rappel-avis/hc-sc/2017/63362a-eng.php>
- 6) カナダ保健省: Energy Drinks: An Assessment of the Potential Health Risks in the Canadian Context (2015),
<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/reports-publications/food-risk-analysis-publications/energy-drinks-assessment-potential-health-risks-canadian-context.html>
- 7) 国際生命科学研究機構 (ILSI) 北米支部: Systematic review of the potential adverse effects of caffeine consumption in healthy adults, pregnant women, adolescents, and children (2017),
https://ac.els-cdn.com/S0278691517301709/1-s2.0-S0278691517301709-main.pdf?_tid=6f4ee956-d570-11e7-b3dd-0000aabb0f27&acdnat=1512006634_1df21f93511253770950f06c74fcbd48
- 8) 文部科学省: 日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂)

西駿河湾海域における水質汚濁状況について

大気水質部水質環境班

田村隆志, 石川裕子, 山本佳奈恵,
菅谷則子*, 山内 悟

Research on Causes of Water Pollution in the Nishi-Suruga Bay Coastal Area

Takashi TAMURA, Yuko ISHIKAWA, Kanae YAMAMOTO,

Noriko SUGAYA* and Satoru YAMAUCHI

駿河湾内にある焼津市以西の西駿河湾海域において、2011年度以降CODの環境基準超過が頻発する傾向が認められた。そこで、西駿河湾海域および流入する河川における水質調査を行い、その原因について調査を行った。

調査の結果、海域のCOD値を上昇させる要因は高い割合で存在している溶存態有機物であり、その有機物は河川から流入している可能性が考えられた。より詳細な動向を把握するためには、海域だけでなく河川においてもCODの測定する等監視体制の強化が必要であると考えた。

Key words: 西駿河湾, 溶存態有機物, 懸濁態有機物

Nishi-Suruga Bay, dissolves organic matter, suspended organic matter

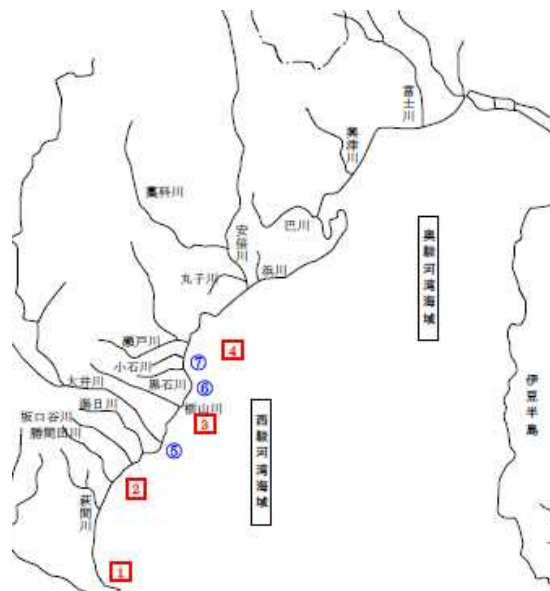
はじめに

駿河湾は静岡県にある湾で富士山の南側に広がる海域で、伊豆半島南端の石廊崎と御前崎を結ぶ湾口は約56km、奥行きは約60km、表面積は約2,300km²の湾である。また、最深部で水深が約2,500mあり、日本一深い湾である¹⁾。

近年COD(化学的酸素要求量)に関する環境基準について湖沼や閉鎖性海域を中心に基準が未達成との報告が多く見られる²⁾。CODが上昇する原因として、①流入河川等からのCODに関する有機物の流入、②植物プランクトン増殖による内部生産の増加③外海のCOD上昇等が考えられている。

駿河湾内にある焼津市以西の西駿河湾海域の測定地点(図1)において、2011年度以降CODの環境基

準超過が頻発する傾向が認められる(図2)³⁾。しかし、駿河湾は閉鎖性海域に指定されていない湾であり、西駿河湾海域に流入する主要河川の常時監視地点で



(海域地点名: 1 御前崎港港中央, 2 勝間田川沖, 3 析山川沖, 4 焼津漁港沖, 5 大井川港港中央, 6 焼津漁港小川地区港中央, 7 焼津漁港焼津地区港中央)

図1 西駿河湾海域の概況

静岡県環境衛生科学研究所

(〒426-0083, 静岡県藤枝市谷稲葉 232-1)

Bulletin of Shizuoka Environ. and Hyg. Institute

(232-1, Yainaba, Fujieda, 426-0083, Japan)

* 静岡県熱海健康福祉センター

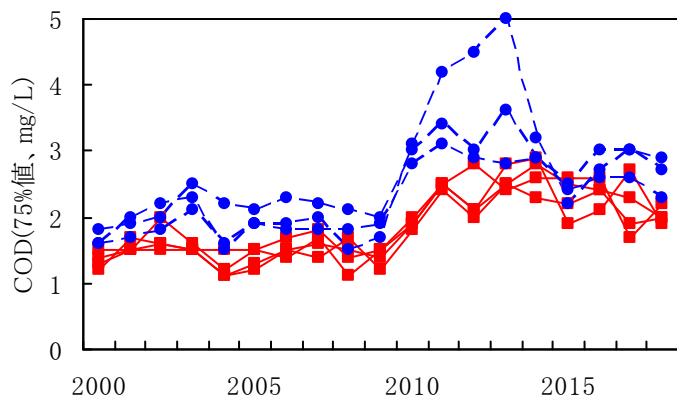


図2 西駿河湾海域における COD75%値の経年変化
 (■ : COD 基準値 2mg/L, ● : COD 基準値 3mg/L)

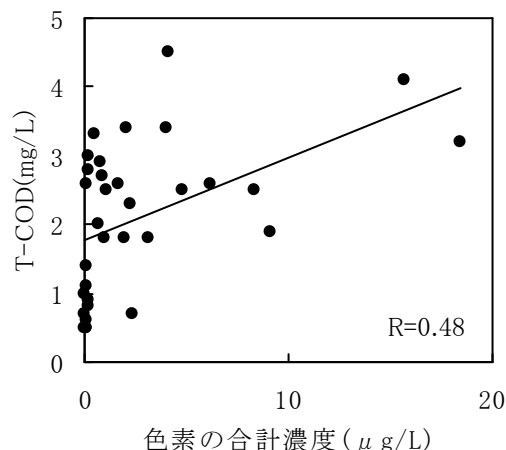


図3 プランクトン由来色素と COD の関係

は BOD (生物学的酸素要求量) の環境基準は達成されており、水質悪化の傾向も見られていない。

そこで、西駿河湾海域の COD 上昇の原因を探るため、過去の調査結果を分析し、海域及び河川において水質調査を実施したので報告する。

調査方法

1 調査地点および採水

海域については、焼津市以西の西駿河湾海域の環境基準点 7 地点で調査を行った。採水は、ステンレス製のロープ付きバケツにより行った。

河川については、西駿河湾海域に流入する河川および隣接する海域の奥駿河湾海域に流入する河川について水質調査を行った。調査地点は萩間川湊橋、勝間田川港橋、坂口谷川寄り橋、湯比川岩留橋、大幡川東臨港橋、大井川太平橋、栃山川一色大橋、黒石川黒石橋、小石川八雲橋、瀬戸川当目大橋、小坂川小坂川橋、丸子川ぺったん橋、安倍川安倍川橋、浜川新橋、巴川港橋、庵原川庵原川橋、興津川浦安橋、由比川末端、富士川富士川橋 (西岸, 東岸) の 19 河川である。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った。これらによる採水が困難な場合、プラスチック製のひしゃくを用いた。大井川の詳細調査についても同様の採水方法を用いた。

2 水質分析項目

pH, COD, BOD, T-P (全磷), T-N (全窒素), $\text{NO}_3\text{-N}$

(硝酸性窒素), $\text{PO}_4\text{-P}$ (磷酸性磷) は JIS K0102 にしたがって分析した。D-COD (溶存態 COD) は $0.45\mu\text{m}$ メンブレンフィルターを用いてろ過し、懸濁物の除去したものを試料とした。P-COD (懸濁態 COD) は T-COD (全 COD) と D-COD の差から算出した。EC (電気伝導率) は EC 計により測定した。

プランクトン由来の色素分析 (Fucoxanthin, Chlorophyll-a, Pheo-a, Pyropheo-a の合計値) はろ紙 (GF/C) で捕集し、海洋観測指針にしたがって分光光度法で測定した。

結果と考察

1 海域における調査

1) プランクトン密度と COD

プランクトンの増殖による COD 上昇の可能性を検討するため、2016 年は 2 回 (9 月, 12 月), 2017 年は 3 回 (7 月, 9 月, 12 月) 表層水を採水し、COD およびプランクトン密度と相関関係がある色素濃度を測定した。その結果、色素濃度と T-COD 間に高い相関性は認められなかった (図 3)。一般的には植物プランクトンと P-COD は正の相関が認められるがあるが今回の調査で高い相関性を示さなかったことから、P-COD より D-COD が大きな割合を占めている可能性が示唆された。

2) D-COD と P-COD の測定

2016~2017 年は各 3 回 (7 月, 9 月, 12 月), 2019 年は 4 回 (5 月, 7 月, 9 月, 12 月) 表層水を採水し、

表 1 西駿河湾海域における COD (mg/L)

地点名(環境基準類型)	T-COD	D-COD	P-COD
焼津港沖(A)	1.8	1.4	0.4
栢山川沖(A)	1.9	1.4	0.5
勝間田川沖(A)	1.6	1.4	0.2
御前崎港中央(A)	1.6	1.4	0.2
焼津漁港焼津地区港中央(B)	2.2	1.8	0.4
焼津漁港小川地区港中央(B)	2.7	2.1	0.6
大井川港中央(B)	2.0	1.8	0.2
7 地点平均	2.0	1.6	0.4

表 2 COD と栄養塩の相関係数 (R)

	T-N	T-P	NO ₃ -N	PO ₄ -P
T-COD	0.32	0.29	-0.06	0.49
D-COD	0.27	0.25	-0.02	0.46
P-COD	0.32	0.27	-0.05	0.39

表 3 河川における水質調査結果

河川名	EC (mS/cm)	T-COD (mg/L)	D-COD (mg/L)	P-COD (mg/L)	BOD (mg/L)	平均流量*1 (m ³ /秒)	有機汚濁量*2 (g/秒)	検体数
萩間川	19.81	4.2	3.4	0.8	1.1	1.52	6.4	6
勝間田川	17.02	3.2	2.6	0.6	0.9	2.23	7.1	6
坂口谷川	4.45	3.8	2.7	1.1	0.8	1.48	5.6	7
湯比川	0.21	2.1	1.4	0.7	0.5	2.46	5.2	7
大幡川	0.29	2.6	1.6	1.0	0.8	2.50	6.5	6
大井川	0.18	2.6	2.0	0.6	1.1	53.91	142.5	12
栢山川	1.00	3.2	2.1	1.1	1.2	3.67	11.7	7
黒石川	0.24	3.5	2.4	1.1	1.7	0.81	2.8	7
小石川	6.80	3.8	2.8	1.0	1.4	0.98	3.7	6
瀬戸川	3.23	3.0	2.4	0.6	1.2	11.04	33.0	12
小坂川	0.89	4.7	4.2	0.5	3.0	1.07	5.0	6
丸子川	0.18	1.4	1.3	0.1	0.7	0.91	1.3	6
安倍川	0.17	1.3	1.0	0.3	0.6	17.74	23.7	11
浜川	0.90	2.1	1.5	0.6	0.8	2.79	5.8	6
巴川	10.88	3.1	2.2	0.9	0.9	14.83	46.1	6
庵原川	0.27	3.1	2.5	0.6	1.1	0.73	2.3	6
興津川	0.21	1.7	1.4	0.3	0.9	4.38	7.3	6
由比川	0.22	2.6	2.0	0.6	1.8	0.66	1.7	6
富士川(西岸)	0.18	2.1	1.6	0.5	0.9			6
富士川(東岸)	0.30	3.9	3.2	0.7	1.5	38.89	116.7 *3	6

*1 2008 年度～2017 年度の平均 (富士川のみ 2001 年度～2005 年度の平均)

*2 T-COD と平均流量を乗じて算出

*3 西岸と東岸の T-COD の平均値に平均流量を乗じて算出

T-COD, D-COD および P-COD の調査を行った(表 1). 焼津市以西の西駿河湾海域において T-COD に占める D-COD の割合は 73.7～90.0%と高いことが明らかとなった. COD 値を上昇させている物質は植物プランクトン由来ではなく, 溶存態有機物である可能性が高いと考えられた.

3) COD と磷・窒素の相関性

2016～2017 年の各 3 回 (7 月, 9 月, 12 月), 調査海域の表層における T-COD, D-COD および P-COD と T-N, T-P, NO₃-N および PO₄-P との相関を調べた結果を表 2 に示した.

いずれの組み合わせにおいても相関係数は低く, COD 上昇と栄養塩との関係性は認められなかった.

2 河川における調査

1) 磷・窒素濃度の経年推移

萩間川から富士川までの河川における T-P および T-N の経年推移を図 4 に示した. 近年の下水道整備等

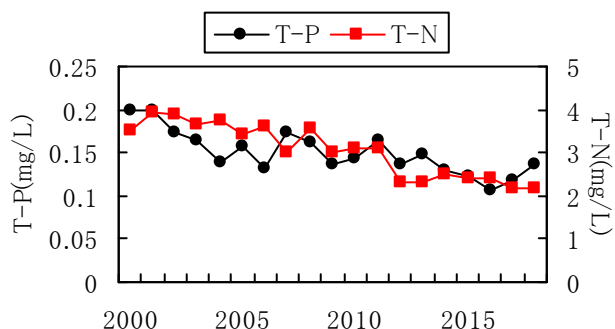


図4 河川におけるT-P, T-Nの経年推移(年平均)

の栄養塩対策により河川の磷・窒素濃度は減少傾向であり、河川からの栄養塩の増加が海域のCOD上昇の要因である可能性は低いと考えられた。

2) D-CODとP-CODの測定

河川において2018年3月～2019年3月に現地調査を行い、各項目の水質測定を行った(表3)。調査河川においてT-CODに占めるD-CODの割合は60.1～90.1%と高いことが明らかとなった。海域、河川ともにD-CODが高い割合を占めていたことから、河川の流入が海域のCODに何らかの影響を与えているものと推測された。

また、T-CODと過去の河川における平均流量を乗じることで各河川の汚濁負荷量を試算したところ、流量の多い河川で高い汚濁負荷量となる傾向が認められた。焼津市以西の西駿河湾海域に直接流入する河川では、汚濁負荷量の大きい大井川が海域CODに影響している可能性があると考えられた。

3) 大井川の詳細調査

大井川の複数地点を調査した結果、島田大橋でCODが高値を示しその下流域で低下することを確認した(図5)。島田大橋上流に日平均排水量130,130 m³/日(水質汚濁防止法の届出値)の大規模事業場があり、その影響を受けているものと考えられた。また、流域にある比較的大規模な事業場(日平均排水量1,000 m³/日以上)の8事業場について、直近10年の水質汚濁防止法の排水基準違反や大規模な施設変更の有無を調査したところ、違反や変更届出はみられなかった。一方、大井川とその流入先である大井川港港中央において、大井川太平橋とのCODに関係性が認められるかを調べた結果、関係性は低かった(図6)。

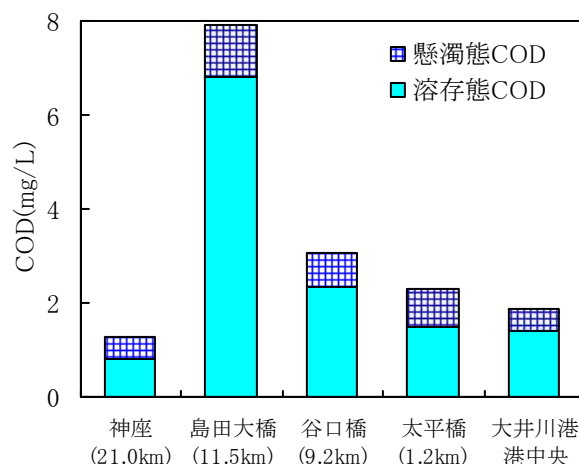


図5 大井川における水質状況
(括弧内は河口からの距離)

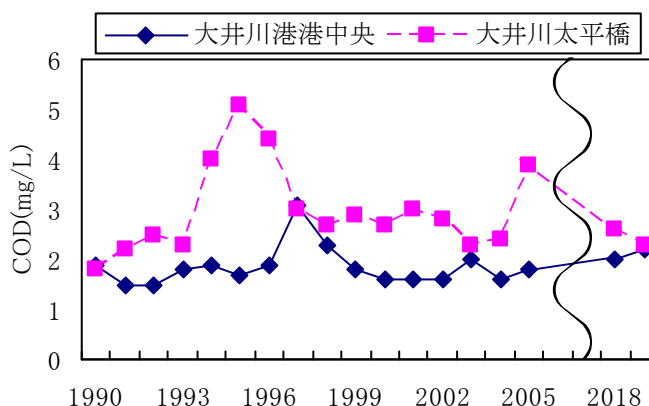


図6 大井川と大井川港 港中央のCODの経年推移

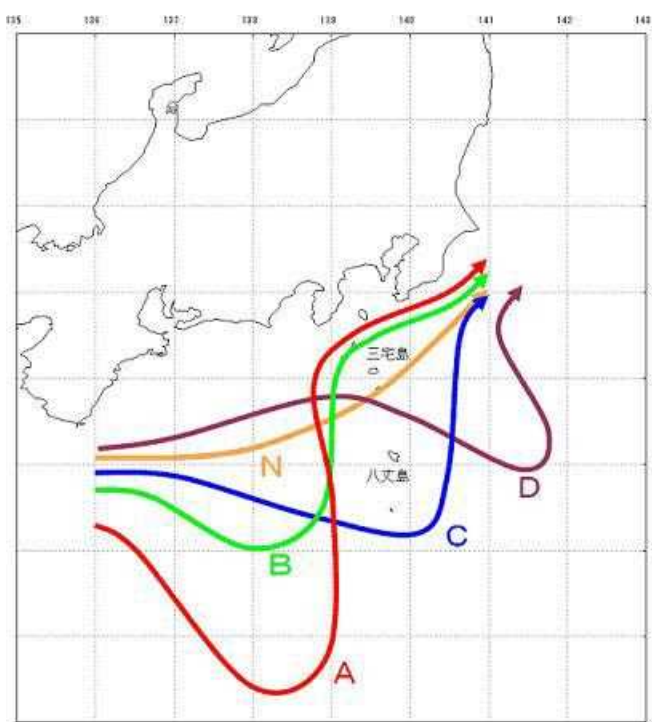


図7 黒潮の流路パターン⁴⁾

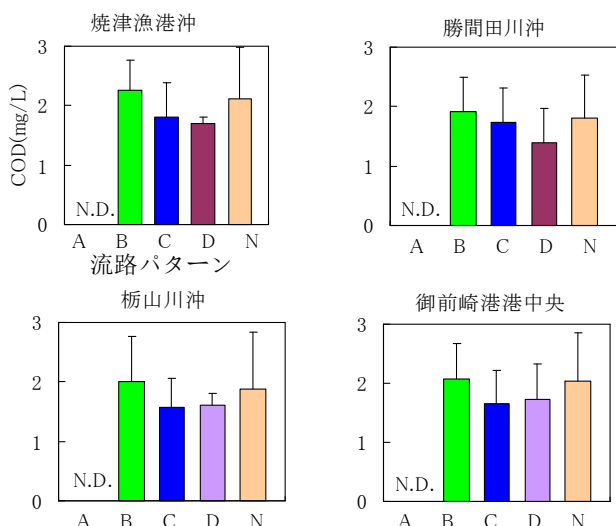


図 8 黒潮の流路パターンと西駿河湾海域の COD
(バーは標準偏差)

3 黒潮流路パターンと COD

本州南岸を流れる黒潮は、その蛇行の形状によりいくつかの型に分類されている (図 7) ^{4), 5)}。黒潮の蛇行の変化により、駿河湾内の海流に影響を与え、その流向が変化すると考えられる。1989~2018 年の流向の記録及び西駿河湾海域の COD 測定結果から黒潮の流路変化が COD 上昇と関係があるのかを調べた。その結果、流路が異なっても COD に大きな差は見られず、関係性を認めることはできなかった (図 8)。

まとめ

西駿河湾海域の水質汚濁の実態について D-COD や P-COD 等に注目して調査を行い、以下の知見を得た。

- ①河川及び海域における磷・窒素などの栄養塩を分析した結果、栄養塩と COD との間に高い相関は見られなかった。
- ②有機物量については海域・河川共に D-COD の割合が 80%前後と高かった。COD 値を上昇させている物質は植物プランクトン由来の COD ではなく、水溶性成分である可能性が高いと考えられた。
- ③COD と平均流量から各河川の汚濁負荷量を算出したところ、大井川の流入が海域 COD に影響している可能性があるとして推測された。さらに、大井川について COD の経年変化を分析したところ、大きな上

昇は認められず、流入先付近にある大井川港中央の COD との関係性は認められなかった。

- ④黒潮流路パターンと COD 上昇について調べたところ、流路パターンの変化と海域の COD 上昇の関係性を認めることはできなかった。

以上の結果から、海域の COD 値を上昇させるのは高い割合で存在している溶存態有機物であり、その有機物は河川から流入している可能性が考えられた。今後さらに詳細な動向を把握するためには、河川における COD 測定等海域だけでなく河川を含めた監視体制の強化が必要であると考えられる。

文献

- 1) 静岡県：駿河湾早わかりガイド、
<http://www.pref.shizuoka.jp/kensetsu/ke-410/surugabay/quickguide.html>
- 2) 中央環境審議会：第 8 次水質総量規制の在り方について (答申) (2015. 12)
- 3) 静岡県：公共用水域および地下水の水質測定結果 (1989-2018)
- 4) 海上保安庁海洋情報部：海洋速報&海流推測図 用語の説明 黒潮の型、
https://www1.kaiho.mlit.go.jp/KANKYO/KAIYO/qboc/exp/kuroshio_type.html
- 5) 静岡県：水産技術研究所事業報告書 (1990-2019)

大気汚染常時監視テレメータシステムに関する調査研究（第1報）

大気水質部 大気騒音環境班 前田友幸, 山口智久, 結城茜,
矢嶋雅, 田村克浩

Analysis and Improvement of Designing a New Telemetry System for Air Quality Monitoring (1st Report)

Tomoyuki MAEDA, Tomohisa YAMAGUCHI, Akane YUKI,
Masashi YAJIMA and Katsuhiko TAMURA

静岡県では、他の都道府県等の自治体と同様に大気汚染物質の常時監視データを遠隔収集するためのテレメータシステム（以下「システム」という。）を導入しているが、老朽化・陳腐化が顕著であり、早期の更新が喫緊の課題となっている。そこで、今回、システム更新の際の仕様検討基礎資料とするため、自治体別のシステム機能に関する現状と今後の予定について調査を行った。

その結果、「システム稼働率の目標値の設定」、「システム堅牢性を確保するためのサーバの設置場所」、「デジタル対応の必要性」等のデータ収集方式に関する各自治体の現状及び今後の考え方を整理することができた。

これらの情報については、システム更新時の改善点として機能面での仕様に活用できることを見出した。

Key words: 大気汚染常時監視テレメータシステム, システム更新, アンケート調査, データ収集方式
telemetry system for air quality monitoring, system update, questionnaire survey, data collection method

はじめに

大気汚染防止法（昭和43年法律第97号。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、都道府県等全国の自治体に大気汚染物質の常時監視が義務付けられている。

常時監視データについては、自治体内各地に点在する大気常時監視測定局（以下「測定局」という。）から通信で遠隔収集するシステムを構築している。

本県の現行システムは、ソフトウェア等2002年度に導入したものであるため、老朽化・陳腐化が顕著である。このため、不具合に修繕で対応できない場合もあり、2020年中にシステムの更新完了を目指している。

システム更新作業で設計を行うにあたり、ソフトウェア機能面で見ると、大きく分けて2つの課題がある。1つ目は、災害・セキュリティ対応及び測定機・通信機能の進化を考慮し、データ収集方式をどのようにしていくかということである。2つ目は、収集データについては真値だけでなく、偽値を含む異常値がしばしば発生するが、

この値の真偽について何らかの自動判定処理ができないかということである。

システムに関して、測定局のデータをサーバに収集するという本質的な機能はどの自治体でも同じであるが、測定データの処理方法は、測定局の数、各拠点とのネットワーク構成、住民向け情報公開機能等自治体の事情によってそれぞれ異なる。

そこで、今回、自治体別のシステム機能調査を行い、システム更新の際の仕様検討について一定の知見を得た。なお、本論では1つ目の課題であるデータ収集方式の観点から報告する。

方法

1 アンケート調査の考え方

各自治体で導入されているシステムについて現状と今後の計画に関する情報を収集することで、今後のシステムにおける適切な機能についてアンケート調査分析を行うこととした。

2 アンケート調査対象

本県を含む47都道府県を対象とした。なお、常時監視については政令指定都市等の自治体も行っているが、今回の調査では基礎自治体とのデータの送受信等一定以上の広域ネットワークを有する部分を重視したため、都

道府県のみを対象とした。

また、調査時点でのシステムに関する前回更新年月の情報については 2018 年までに富山県及び徳島県が行った調査を一部参考とした。

3 アンケート調査方法

2018 年 12 月にアンケート調査票を電子メールにて送付し、上記 2 の全調査対象から完全に適切な形で同調査票を回収した上で分析に適用した。

4 調査結果の仕様書への適用の検討

上記 3 で得られた調査結果を根拠として、適切な機能実装の観点から、システム更新作業時の機能面での仕様への適用性について検討した。

結果および考察

1 アンケート調査結果

アンケート調査結果は下記のとおり（□の中は設問内容、本文及び表・図中の丸数字は設問に付した回答番号）。

各設問において、原則として現行システムの状況に併せて次期システムに更新する場合を想定した回答を求め、比較した。また、調査時点での前回システム更新年月からの経過年数（以下「経過年数」という。）を基準とした分析を適宜行った。なお、基準は全自治体のほぼ中央値となる 4 年を境とし、経過年数 4 年未満及び 4 年以上の母数はそれぞれ 26 自治体及び 21 自治体であった。

1) システム稼働率目標

常時監視データを収集する現行・次期システムのサーバの稼働率目標はどの程度ですか（どの程度を考えていますか）。

なお、ここでいう稼働率は以下で計算するものです。

$$\text{稼働率 (\%)} = (\text{年間総稼働時間} - \text{年間サービス停止時間}) \div \text{年間総稼働時間} \times 100$$

現行・次期の区別を問わずシステムの稼働率の目標・想定は総じて高く、「⑦ 98%未満でも良い」と回答した自治体はなかった（表 1）。「⑧ 目標を定めたり想定する必要がない」と回答した自治体も、その趣旨は「基本的に法上の常時監視項目は、その名前のとおり“常時”監視する必要があるため、100%が当然といった解釈」との回答が大半であった。

なお、稼働率について、明確に契約書、仕様書、Service Level Agreement¹⁾（以下「SLA」という。）等の条件に定めている自治体が複数あり、中には特定非営利法人日本データセンター協会が定める「データセンターファシリティスタンダード」²⁾（以下「FS」という。）において、ティア 4 相当（稼働率 99.99%以上）という高い目標を持つ自治体もあった。本来は 100%の稼働率を達成すること

が理想であるが、完璧なシステムはあり得ないため、常時監視の継続性と経済性のバランスをどのように確保するか、各々の自治体で事前に想定しておくことが重要と思われる。

また、経過年数にかかわらず、選択肢の内訳の傾向は現行・次期の区別を問わず概ね類似していたが、経過年数が 4 年未満の場合は 4 年以上と比較して「① 99.99%以上」の回答が多い傾向にあった。SLA の概念は近年、サービス保証の観点から自治体契約でも注目されており、経過年数が浅い場合、常時監視業務継続性の観点から目標水準を高く、明確に設定していることが考えられた。

2) システムサーバ設置場所

常時監視データを収集する現行・次期システムの主なサーバの設置場所はどこですか（どこを考えていますか）。
<該当項目について複数選択可>また、その設置場所を選択する理由は何ですか。

現行システムのサーバの設置場所は、「① 自治体施設内に単独でサーバを設置」と回答した自治体が約 6 割であった（表 2）。対して、「④ 自治体施設外のデータセンターにサーバ機能を設置」と回答した自治体は約 3 割であった。「② 自治体施設内のデータセンターにサーバ機能を設置」と回答した自治体は 1 割に満たなかった。「③ 自治体施設外に単独でサーバを設置」と回答した自治体はなかった。

この傾向は次期システムでは若干変化し、「① 自治体施設内に単独でサーバを設置」と回答した自治体が約 1 割減少する一方で、「④ 自治体施設外のデータセンターにサーバ機能を設置」と回答した自治体が約 1 割増加した。

また、経過年数が 4 年未満の場合は 4 年以上と比較して、現行・次期の区別を問わず「④ 自治体施設外のデータセンターにサーバ機能を設置」する傾向にあった。

さらに、サーバ設置場所として回答が多かった上位 2 箇所についてその理由を整理した（図 1）。「① 自治体施設内に単独でサーバを設置」する理由は「③ 前回の更新時も同様の設置場所であったから（現行:23/29 自治体、次期:19/24 自治体）」という回答が多数であったが、「④ 自治体施設外のデータセンターにサーバ機能を設置」する理由は「④ 情報セキュリティ面での堅牢性に優れているから（現行:9/14 自治体、次期:12/18 自治体）」・「⑤ 地震・火事等防災面での堅牢性に優れているから（現行:9/14 自治体、次期:11/18 自治体）」という回答が多数であった。

常時監視業務の性質上、原則としてサーバを停止することはできないため、今後は業務継続の管理が容易な自

治体施設外のデータセンター方式にシフトしていく傾向にあることが判明した。この傾向についても、SLA の概念の影響が推定された。

3) システムデジタル対応

現行・次期システムは、平成 26 年 3 月に環境省から公表された大気自動測定機テレメータ取り合いの共通仕様³⁾（以下「共通仕様」という。）に基づくデジタ

ル化（以下「デジタル化」という。）に対応していませんか（しますか）。

〈該当項目について複数選択可〉また、次期システムでデジタル化に対応する予定である場合、その理由は何ですか。

デジタル化に関して、現行システムで「① 対応」と回答した自治体は約 4 割であったが、次期システムで

表 1 システム稼働率目標

稼働率目標	現行システム			次期システム		
	全て	経過年数 4 年未満	経過年数 4 年以上	全て	経過年数 4 年未満	経過年数 4 年以上
① 99.99%以上	16 / 34.0%	10 / 38.5%	6 / 28.6%	15 / 31.9%	10 / 38.5%	5 / 23.8%
② 99.98%以上 99.99%未満	3 / 6.4%	2 / 7.7%	1 / 4.8%	4 / 8.5%	2 / 7.7%	2 / 9.5%
③ 99.75%以上 99.98%未満	7 / 14.9%	5 / 19.2%	2 / 9.5%	5 / 10.6%	3 / 11.5%	2 / 9.5%
④ 99.67%以上 99.75%未満	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%
⑤ 99%以上 99.67%未満	2 / 4.3%	1 / 3.8%	1 / 4.8%	2 / 4.3%	1 / 3.8%	1 / 4.8%
⑥ 98%以上 99%未満	4 / 8.5%	2 / 7.7%	2 / 9.5%	5 / 10.6%	2 / 7.7%	3 / 14.3%
⑦ 98%未満	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%
⑧ 目標を定めたり想定する必要がない	8 / 17.0%	4 / 15.4%	4 / 19.0%	8 / 17.0%	4 / 15.4%	4 / 19.0%
⑨ わからない	7 / 14.9%	2 / 7.7%	5 / 23.8%	8 / 17.0%	4 / 15.4%	4 / 19.0%

※本表の数値は「該当自治体数 / 列の自治体数の合計を母数とした該当自治体数の百分率」を表現

表 2 システムサーバ設置場所

サーバ設置場所	現行システム			次期システム		
	全て	経過年数 4 年未満	経過年数 4 年以上	全て	経過年数 4 年未満	経過年数 4 年以上
① 自治体施設内に単独でサーバを設置	29 / 61.7%	15 / 57.7%	14 / 66.7%	24 / 51.1%	14 / 53.8%	10 / 47.6%
② 自治体施設内のデータセンターにサーバ機能を設置	4 / 8.5%	1 / 3.8%	3 / 14.3%	4 / 8.5%	0 / 0.0%	4 / 19.0%
③ 自治体施設外に単独でサーバを設置	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%
④ 自治体施設外のデータセンターにサーバ機能を設置	14 / 29.8%	10 / 38.5%	4 / 19.0%	18 / 38.3%	12 / 46.2%	6 / 28.6%
⑤ 全くの未検討のため回答できない	0 / 0.0%	0 / 0.0%	0 / 0.0%	1 / 2.1%	0 / 0.0%	1 / 4.8%

※本表の数値は「該当自治体数 / 列の自治体数の合計を母数とした該当自治体数の百分率」を表現

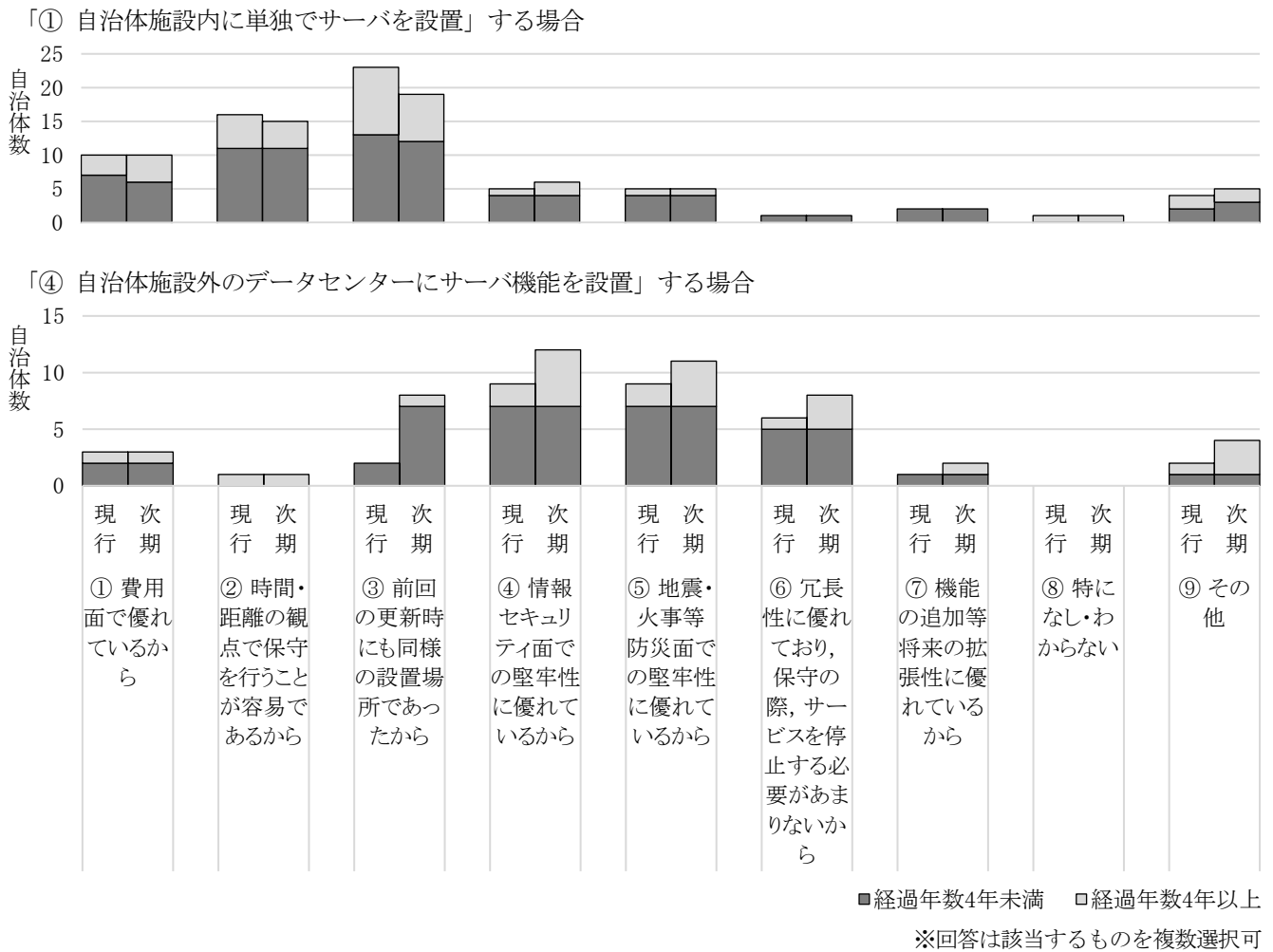


図1 システムサーバ設置場所の理由（上位2箇所）

「① 対応」又は「② 検討中だが対応の見込み」と回答した自治体は約8割であった（表3）。現行システムで「① 対応」と回答した自治体のほとんどが経過年数4年未満であったのは、2014～2015年に共通仕様が具体的に示されたことの寄与があったと推定する。

次期システムにおいてもデジタル対応予定である理由は共通仕様公表を根拠とするものが最も多かったが、各自治体では精度管理情報の取得をはじめとする多数の利点をデジタル方式に見出していることが明らかとなった（図2）。

現時点でデジタル化は法上の義務ではないが、データ収集効率の観点で、今後はこの流れが加速すると考えられる。

4) 次期システムでの1分値・精度管理情報収集

次期システムでは1分値や精度管理情報を常時収集しますか。

〈該当項目について複数選択可〉また、収集する場

合、その理由は何ですか。

「① 収集する（したい）」と回答した自治体は約7割であった（表4）。

図3に示すとおり、次期システムで1分値と精度管理情報を収集する方向である理由として、最も多かったのは「② 収集できる情報が増え、測定局トラブルに対して迅速対応可能となるため（29/33自治体）」であり、「① 収集する（したい）」と回答した自治体の8割以上が挙げていた。次点は、「① 中央監視局で測定局と同様のデータを見ることができるとため（24/33自治体）」であり、同自治体の7割以上が理由として挙げている。多くの自治体で、1分値及び精度管理情報の収集により、従前の測定機における1時間値及び接点出力アラーム（エラー）信号だけでは得られない多数の情報を得ることの利点を考えていることが明らかとなった。

一方で、「② 収集しない（したくない）」と回答した自治体が約1割存在し、その主な理由は「従前の1時間値

表3 システムデジタル対応

デジタル対応	現行システム			次期システム		
	全て	経過年数	経過年数	全て	経過年数	経過年数
		4年未満	4年以上		4年未満	4年以上
① 対応	19 / 40.4%	16 / 61.5%	3 / 14.3%	29 / 61.7%	17 / 65.4%	12 / 57.1%
② 検討中だが対応の見込み	-	-	-	8 / 17.0%	3 / 11.5%	5 / 23.8%
③ 検討中だが対応しない見込み	-	-	-	2 / 4.3%	1 / 3.8%	1 / 4.8%
④ 未対応	28 / 59.6%	10 / 38.5%	18 / 85.7%	1 / 2.1%	0 / 0.0%	1 / 4.8%
⑤ 未定・わからない	-	-	-	7 / 14.9%	5 / 19.2%	2 / 9.5%

※本表の数値は「該当自治体数 / 列の自治体数の合計を母数とした該当自治体数の百分率」を表現

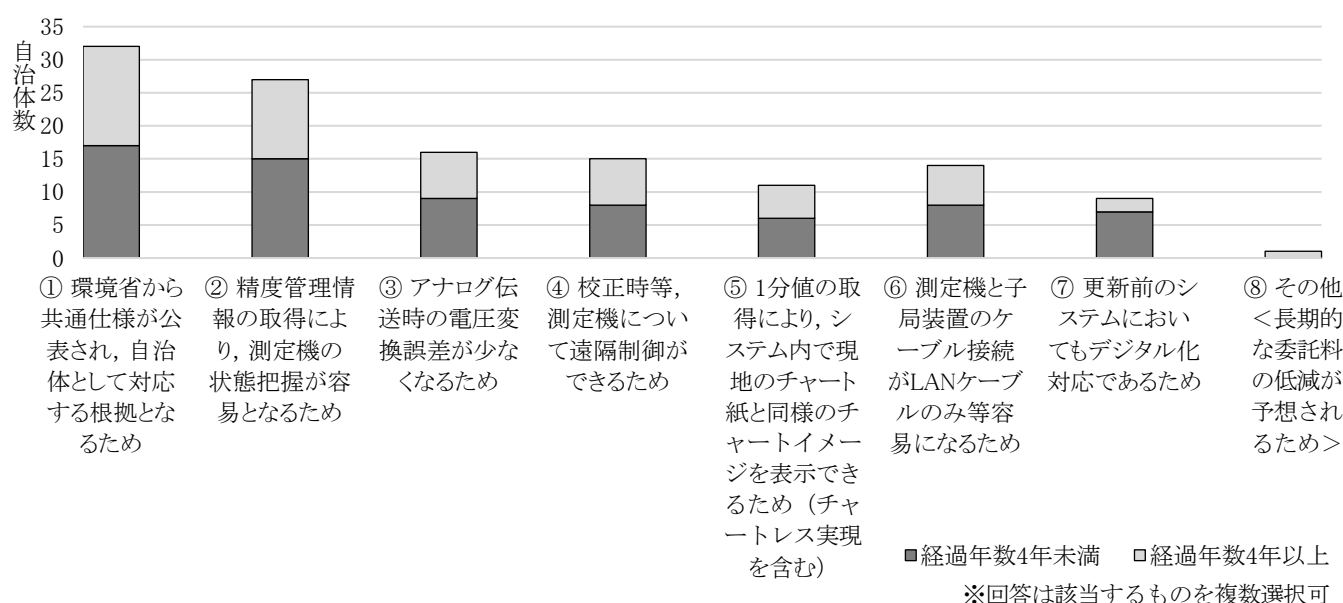


図2 次期システムでデジタル対応予定である理由

表4 次期システムでの1分値・精度管理情報収集

1分値・精度管理情報収集	全て		
	経過年数4年未満	経過年数4年以上	
① 収集する(したい)	18 / 69.2%	15 / 71.4%	33 / 70.2%
② 収集しない(したくない)	2 / 7.7%	2 / 9.5%	4 / 8.5%
③ 未定・わからない	6 / 23.1%	4 / 19.0%	10 / 21.3%

※本表の数値は「該当自治体数 / 列の自治体数の合計を母数とした該当自治体数の百分率」を表現

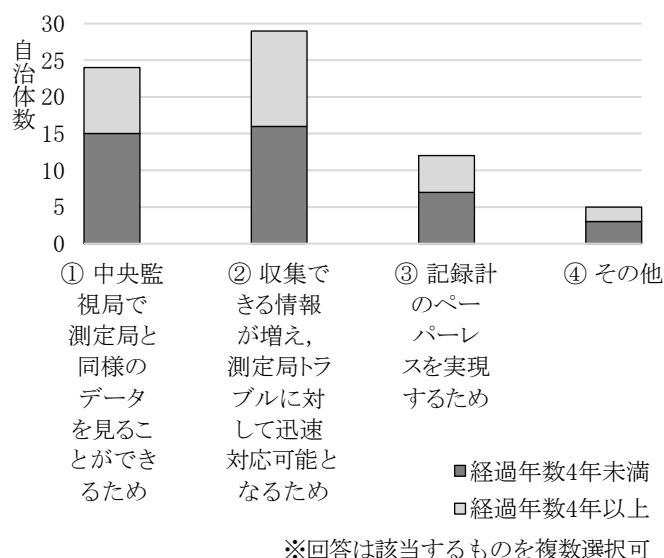


図3 次期システムで1分値・精度管理情報を収集予定である理由

又は 10 分値で業務遂行上十分)、「データ保管量の増加対応の困難さ」、「費用面への不安」といったものであった。

本設問に関して経過年数の差はそれほどなかった。

2 調査結果の仕様書への適用の検討

アンケート調査結果を基礎として、本県システム更新作業時の機能面での仕様の骨子を以下のとおり定めた。

1) システム稼働率目標

SLA の考え方に基づくシステム稼働率目標を 99.98%以上 (FS ティア 3 相当以上) とした。99.99%以上 (FS ティア 4 相当以上) としなかったのは、常時監視の継続性を考えた際にほぼ問題が無いことと経済性のバランスを考慮したためである。

2) システムサーバ設置場所

「自治体施設外のデータセンターにサーバ機能を設置」し、クラウドとすることで、情報セキュリティ面と防災面での堅牢性を確保することとした。FS ティア 3 相当以上のデータセンターであれば、サーバ管理領域への入退出の厳密な管理が行われ、建物構造の耐震性能と電気・通信設備の冗長性の観点から有事の際の業務継続の可能性が自治体独自管理と比較して向上すると考えた。

3) システムデジタル対応

収集効率の観点で、システムについてデジタル方式に対応することとした。測定機の機能向上に伴う収集情報の増加に対応し、データの信頼性を更に確保するためには、システムのデジタル化が必要であると考えた。

4) 次期システムでの 1 分値・精度管理情報収集

測定局トラブル迅速対応の観点で、システムについて 1 分値と精度管理情報を収集することとした。今後、更に双方向通信機能の発展に伴うリモートメンテナンスが実現できれば、業務の効率化が実現でき、長期的には維持管理費用の削減の可能性もあると考える。

まとめ

システム更新に際し、調査・仕様検討から以下の知見を得た。

- 1 システムについて、各自治体の現状と今後を分析した結果、全国的にデジタル対応をはじめとしてデータ収集効率を高めていく方向であることが判明した。
- 2 調査結果を本県仕様に適用することで、業務継続性をはじめとするデータ収集方式の観点から常時監視体制について強化可能であることが判明した。

ただし、更新後のシステムでは従来と比較して収集情報量が多くなる。このため、その適切な利用方法については共通仕様に記載が無いことから、今後、自治体内で独自に検討していくことが求められると考える。

文献

- 1) 総務省：地方公共団体における ASP・SaaS 導入活用ガイドライン，平成 22 年 4 月
- 2) 特定非営利法人日本データセンター協会：データセンターファシリティスタンダード ダイジェスト版，2016 年 11 月
- 3) 環境省水・大気環境局大気環境課：環境大気自動測定機のテレメータ取り合いの共通仕様（改訂），2015 年 3 月

大気汚染常時監視テレメータシステムに関する調査研究（第2報）

大気水質部 大気騒音環境班 前田友幸, 山口智久, 結城茜,
矢嶋雅, 田村克浩

Analysis and Improvement of Designing a New Telemetry System for Air Quality Monitoring (2nd Report)

Tomoyuki MAEDA, Tomohisa YAMAGUCHI, Akane YUKI,
Masashi YAJIMA and Katsuhiko TAMURA

大気汚染物質の常時監視データを遠隔収集するためのテレメータシステム（以下「システム」という。）更新の際の仕様検討基礎資料とするため、測定値の真偽に関するシステム上での異常値の取扱いについて自治体別調査を行った。また、異常値発生傾向について本県の有する過去データを分析した。

その結果、「異常値検出」、「履歴・コメント機能」等の通常範囲外の値が検出された際の対応に関する各自治体の現状及び今後の考え方を整理することができた。併せて、類型別に整理し判定基準を設けることで、最終的に偽値を判断するための異常値について、システム上で適切に検出できることが判明した。

これらの情報については、システム更新時の改善点として機能面での仕様に活用できることを見出した。

Key words: 大気汚染常時監視テレメータシステム, システム更新, アンケート調査, 異常値検出
telemetry system for air quality monitoring, system update, questionnaire survey, abnormal value detection

はじめに

大気汚染防止法（昭和43年法律第97号。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、都道府県等全国の自治体に大気汚染物質の常時監視が義務付けられている。

本県の現行システムは、第1報¹⁾記載のとおり2020年中の更新完了を目指しているが、更新作業で設計を行うにあたり、2つの課題がある。1つ目は、災害・セキュリティ対応及び測定機・通信機能の進化を考慮し、データ収集方式をどのようにしていくかということである。2つ目は、収集データについては真値だけでなく、偽値を含む異常値がしばしば発生するが、この値の真偽について何らかの自動判定処理ができないかということである。

そこで、今回、第1報に引き続き自治体別のシステム機能調査を行い、併せて本県が保有する過去の常時監視データにおける異常値を分析することで、システム更新の際の仕様検討について一定の知見を得た。なお、1つ目の課題であるデータ収集方式に関しては第1報で報告

を行ったため、本論では2つ目の課題である異常値検出の観点から報告する。

方法

1 アンケート調査

アンケート調査手法は第1報の方法1~3と同様とした。

2 異常値の類型整理と関連項目の異常値検出の検討

本論における異常値とは、これまでに蓄積した過去の測定結果等から判断して、極端に高い又は低い、通常のデータ範囲・挙動ではないと考えられる測定値のことと定義する。ただし、それをもって直ちに偽値であるとは言いえないことに留意する必要がある。

今回、2015~2017年度に本県が管理する測定27地点から収集した常時監視データの速報値と確定値を比較することにより、異常値の中から連続6時間以上で偽値（直近で校正エラーが起り採用できないと判断した値を含む。）として判断したデータの傾向を類型整理した。対象項目は法及び県の定めに基づき注意報等緊急時対応の可能性が高いOx及びPM2.5とした（調査時間はそれぞれ延べ499,776時間及び303,936時間）。

加えて、2016年度に発生したPM2.5計の有効測定日数を確保できなかった長期故障1事例について、同じ粒

子状物質であることにより、関連項目として相関を有することが知られている PM2.5 と SPM の濃度比を利用した異常値検出の適用可否について検討した。

なお、速報値及び確定値データは本県保有のデータだけでなく、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」大気環境データを使用した。

3 調査結果の仕様書への適用の検討

上記 1 及び 2 で得られた調査結果を根拠として、適切な機能実装の観点から、システム更新作業時の機能面での仕様への適用性について検討した。

結果および考察

1 アンケート調査結果

アンケート調査結果は下記のとおり（□の中は設問内容、本文及び表・図中の丸数字は設問に付した回答番号）。各設問において、原則として現行システムの状況に併せて次期システムに更新する場合を想定した回答を求め、比較した。また、調査時点での前回システム更新年からの経過年数（以下「経過年数」という。）を基準とした分析を適宜行った。なお、基準は全自治体のほぼ中央値となる 4 年を境とし、経過年数 4 年未満及び 4 年以上の母数はそれぞれ 26 自治体及び 21 自治体であった。

1) システム自動的異常値検出機能対応

常時監視データを収集する現行・次期システムでは、常時監視データの異常値検出に関して、自治体職員等に通知する何らかの自動的な方法に対応していますか（対応しますか（したいですか））。

〈該当項目について複数選択可〉また、その具体的な方法は何か。

現行・次期の区別及び経過年数にかかわらず、9 割以上の自治体で、何らかの異常値通知機能に対応又は対応予定であった（表 1）。これは、異常値通知機能がなければ、常時監視データについて 24 時間 365 日、人が目視確認を行わなければならない、業務遂行が著しく困難となる

ためと考えられた。

当該機能の具体的な方法については、現行・次期の区別及び経過年数にかかわらず、基本的には類似していた（図 1）。通知手法として、最も多かったのは「① メール配信によって担当者に通知（現行：37/43 自治体、次期：39/44 自治体）」であり、次点は「④ システム画面の色分けやメッセージによって担当者に通知（現行：29/43 自治体、次期：30/44 自治体）」であった。検出アルゴリズムとして、最も多かったのは「⑦ 測定項目ごとの上下限値の範囲指定による検出（現行：32/43 自治体、次期：33/44 自治体）」であり、次点は「⑨ アラーム（エラー）信号による検出（現行：22/43 自治体、次期：29/44 自治体）」であった。ただし、現行と比較して次期システムにおいては「⑩ 精度管理情報による検出（現行：2/43 自治体、次期：6/44 自治体）」、「⑪ 関連する測定項目ごとの比較（PM2.5 と SPM の比など）による検出（現行：0/43 自治体、次期：3/44 自治体）」といった設問で若干の増加があり、今後は異常値検出を効率化するための新しい技術採用の進展があるものと思われた。

2) システム履歴・コメント機能対応

常時監視データを収集する現行・次期システムでは、データの修正時や高濃度イベントの発生時等において、システム内に何らかの履歴やコメントを記載できますか（できるようにしますか（したいですか））。

経過年数にかかわらず、現行に比較して次期システムでは履歴・コメント機能を実装する自治体が約 2 割増加する見込みであることが判明した（表 2）。

システムの本質は日時・場所・測定項目・大気汚染濃度の数値を蓄積する関係データベースであるが、履歴・コメント機能がない場合、過去の大気汚染濃度の数値の推移と関連情報（大気汚染濃度の上昇要因、機器のメンテナンス、測定機の保守業者への指示事項等）を結びつけることが極めて困難になる。このため、今後はシステムへの履歴・コメント機能の実装が進むものと考えられ

表 1 システム自動的異常値検出機能対応

自動的異常値検出機能対応	現行システム			次期システム		
	全て	経過年数 4 年未満	経過年数 4 年以上	全て	経過年数 4 年未満	経過年数 4 年以上
① 対応	43 / 91.5%	25 / 96.2%	18 / 85.7%	44 / 93.6%	25 / 96.2%	19 / 90.5%
② 未対応	4 / 8.5%	1 / 3.8%	3 / 14.3%	2 / 4.3%	0 / 0.0%	2 / 9.5%
③ 未定・わからない	-	-	-	1 / 2.1%	1 / 3.8%	0 / 0.0%

※本表の数値は「該当自治体数 / 列の自治体数の合計を母数とした該当自治体数の百分率」を表現

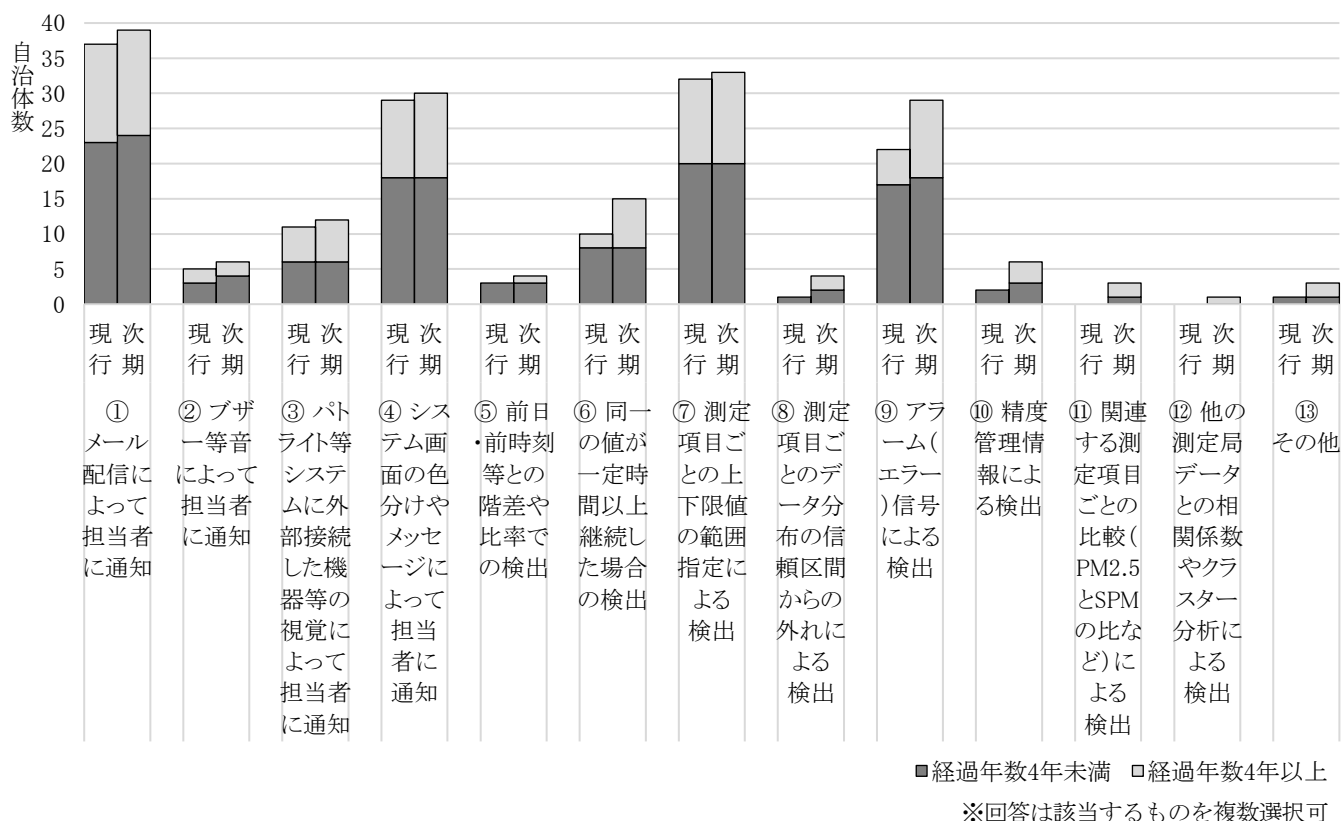


図1 システム自動的異常値検出機能の具体的方法

表2 システム履歴・コメント機能対応

履歴・コメント機能対応	現行システム			次期システム		
	全て	経過年数 4年未満	経過年数 4年以上	全て	経過年数 4年未満	経過年数 4年以上
① 対応	18 / 38.3%	11 / 42.3%	7 / 33.3%	28 / 59.6%	16 / 61.5%	12 / 57.1%
② 未対応	29 / 61.7%	15 / 57.7%	14 / 66.7%	9 / 19.1%	4 / 15.4%	5 / 23.8%
③ 未定・わからない	-	-	-	10 / 21.3%	6 / 23.1%	4 / 19.0%

※本表の数値は「該当自治体数 / 列の自治体数の合計を母数とした該当自治体数の百分率」を表現

た。

3) システム数値修正後生データ確認機能対応

常時監視データを収集する現行・次期システムでは、データの修正後も容易に生データを参照・比較できますか(できるようにしますか(したいですか))。

数値修正後生データ確認機能に関して、現行システムでは約5割であったが、次期システムでは約7割が「①対応」と回答した(表3)。

また、経過年数4年以上の場合、現行システムでは同

機能を実装する自治体が約4割であったが、次期システムでは6割以上に達する見込みであることが判明した。

関係データベースにおいて、数値修正後生データ確認機能がない場合、過去の大気汚染濃度の異常値推移について生データと確定データを比較調査すること及び修正前の生データが正しかった際に数値を戻すことが困難になる。このため、今後はシステムへの数値修正後生データ確認機能の実装が進むものと考えられた。

表3 システム数値修正後生データ確認機能対応

数値修正後生データ 確認機能対応	現行システム			次期システム		
	全て	経過年数 4年未満	経過年数 4年以上	全て	経過年数 4年未満	経過年数 4年以上
① 対応	24 / 51.1%	17 / 70.8%	9 / 39.1%	32 / 68.1%	18 / 69.2%	14 / 66.7%
② 未対応	23 / 48.9%	7 / 29.2%	14 / 60.9%	3 / 6.4%	1 / 3.8%	2 / 9.5%
③ 未定・わからない	-	-	-	12 / 25.5%	7 / 26.9%	5 / 23.8%

※本表の数値は「該当自治体数 / 列の自治体数の合計を母数とした該当自治体数の百分率」を表現

2 異常値の類型整理と関連項目の異常値検出の検討結果

1) 異常値の類型整理

異常値から偽値として判断したデータ(合計はOx:406個, PM2.5:68個)を7種類に類型整理することができた(表4)。

最も多かったのはOxとPM2.5のいずれも「類型II: 通信不良等で速報時欠測であったものを測定機の記録紙からデータ化(Ox:84.5%, PM2.5:61.8%)」であった。次点はOxについては「類型VII: 近隣測定局と比較して値は不自然ではないが校正不良等測定機の状態から欠測(4.9%)」、PM2.5については「類型VI: 類型IとIVの重複<ほぼ同じ値が続く、かつ低値>(16.2%)」であった。類型II, VI及びVIIはそれぞれ欠測の継続, 連続値及び校正エラー等機器のエラーを検出する等すれば, システム上十分異常値検知として対処可能と考えた。その他の類型に関しても, 大半の異常値は判定可能と判断した。

しかし, 「類型IV: 近隣測定局と比較して低い値の推移」については相関分析, 過去のデータ分布を用いた信頼区間の考え方, クラスタ分析を用いる等することで, ある程度の判定は可能と考えるが, 迅速な対応という観点では今後の課題である。ただし, 類型IVの事例は発生した異常値の中で数%以下であること, 又低い値ということもあって注意報等緊急時対応に関与する可能性はほぼないと思われる。

2) 関連項目の異常値検出の検討

本事例は, 2016年10月頃から数か月にわたってPM2.5計検出部であるβ線増幅器が故障したにもかかわらず, 関連する通常のアラームがなかったために初動探知が若干遅延した事例である(図2)。

今回, 「同じ粒子状物質である相関関係から考えてPM2.5/SPM濃度比が通常1.0未満となることが多く, 2.0を超過することは少ないこと^{2,3)}」を利用し, 関連項目の

異常値検出に適用できるか確認した。

10月以降にPM2.5濃度がSPM濃度に比較して急上昇しているが, 今回指標としたPM2.5/SPM濃度比が2.0を超えて複数回検出されており, 通常時との区別ができていないことが判明した。この方法を採用することで, PM2.5濃度とSPM濃度をそれぞれ単体で見ても気づくことが困難な異常について, 比較的容易に検知可能であることが示唆された。

3 調査結果の仕様書への適用の検討

アンケート調査結果及び異常値の類型整理と関連項目の異常値検出の検討結果を基礎として, 本県システム更新作業時の機能面での仕様の骨子を以下のとおり定めた。

1) システム自動的異常値検出機能

従前のシステムにはなかった, 大気汚染濃度レベル別に通知を行えるメール配信機能, パトライトの視覚・音による通知機能を実装することで, 緊急時対応の迅速化を図ると共に, 当該対応の失念がないようにすることを考えた。

また, 新技術としてPM2.5/SPM濃度比を用いた異常値検出項目を設けることとした。これにより, 通常気づくことが難しい事例についても判定可能になると考えた。

その他, 第1報に記載のとおり精度管理情報についても収集することで測定機の様々なパラメータ(例えばセル圧力, 流量)を閲覧可能としたが, その数値の異常値の観点からの利用方法については自治体独自で考えなければならず, 今後の課題である。

2) システム履歴・コメント機能

関係データベースとしての利点を最大限発揮するため, 過去の大気汚染濃度と関連情報を結びつけるシステム履歴・コメント機能を実装することとした。これにより, 過去の異常値の理由を調べることが容易となり, 今後の異常値発生の要因を分析することにも利用できると考え

表 4 異常値の種類とシステム上での対処方針

異常値の種類	類型Ⅰ：ほぼ同じ値が続く	類型Ⅱ：通信不良等で速報時欠測であったものを測定機の記録紙からデータ化する	類型Ⅲ：近隣測定局と比較して高い値の推移	類型Ⅳ：近隣測定局と比較して低い値の推移	類型Ⅴ：類型ⅠとⅢの重複	類型Ⅵ：類型ⅠとⅣの重複	類型Ⅶ：近隣測定局と比較して値は不自然ではないが校正不良等測定機の状態から欠測	合計
Oxの偽値判断数 / 割合	0 個 / 0.0%	343 個 / 84.5%	8 個 / 2.0%	16 個 / 3.9%	0 個 / 0.0%	19 個 / 4.7%	20 個 / 4.9%	406 個
PM2.5の偽値判断数 / 割合	4 個 / 5.9%	42 個 / 61.8%	8 個 / 11.8%	1 個 / 1.5%	2 個 / 2.9%	11 個 / 16.2%	0 個 / 0.0%	68 個
対処方針	○	○	○～△	△～×	○	○	○	-
(判定可能：○, 課題あり：△, 判定困難：×)	連続値を判定	欠測の継続をエラーとして判定	閾値判定. ただし, 該当季節には高めの場合の取扱いには要検討	相関分析機能等を導入すれば良いが, 迅速判定には課題あり	連続値を判定	連続値を判定	原則は校正エラー等機器のエラーを判定すれば良い	

< 類型整理対象期間：2015～2017 年度 >

た.

3) システム数値修正後生データ確認機能

上記 3 2) と同様に関係データベースとしての利点を最大限発揮するため、生データと確定データを比較することを容易にするシステム数値修正後生データ確認機能を実装することとした。これにより、効率的な生データの保全及び過去の異常値の推移調査への活用が可能になると考えた。

まとめ

システム更新に際し、調査・仕様検討から以下の知見を得た。

- 1 システムについて、各自治体の現状と今後を分析した結果、異常値検出に関して若干ではあるものの、精度管理情報・関連する測定項目の利用等新技术の採用が進みつつあることが判明した。また、異常値等の取扱いに関連して、履歴・コメント機能及び数値修正後生データ確認機能についても採用が進んでいく方向であることが判明した。

2 調査結果を本県仕様に適用することで、異常値検出に関する緊急時対応の観点から常時監視体制について強化可能であることが判明した。

大気分野における常時監視データは他の多くの分野の科学実験と異なり、「時系列データであり再測定ができず欠測が簡単に発生し、1地点での測定数が $n=1$ であり標準偏差・変動係数等値の”ばらつき”を計算することができないこと」を前提として異常値の対処を行わなければならない、異常値の中から全ての確実な偽値を発見することは現時点では困難である。

このため、今回の知見を活用することで、更新後のシステムでは従来と比較して熟練した経験がなくても、比較的容易に異常値を検出し、より多くの偽値を発見することが可能になると考える。

文献

- 1) 前田友幸 他：大気汚染常時監視テレメータシステムに関する調査研究(第1報)，静岡県環境衛生科学研究所報告，**62**，47-52 (2019)
- 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) 中村栄一 他：宮城県におけるPM2.5自動測定結果について(2)，宮城県保健環境センター年報，**24**，91-93 (2006)

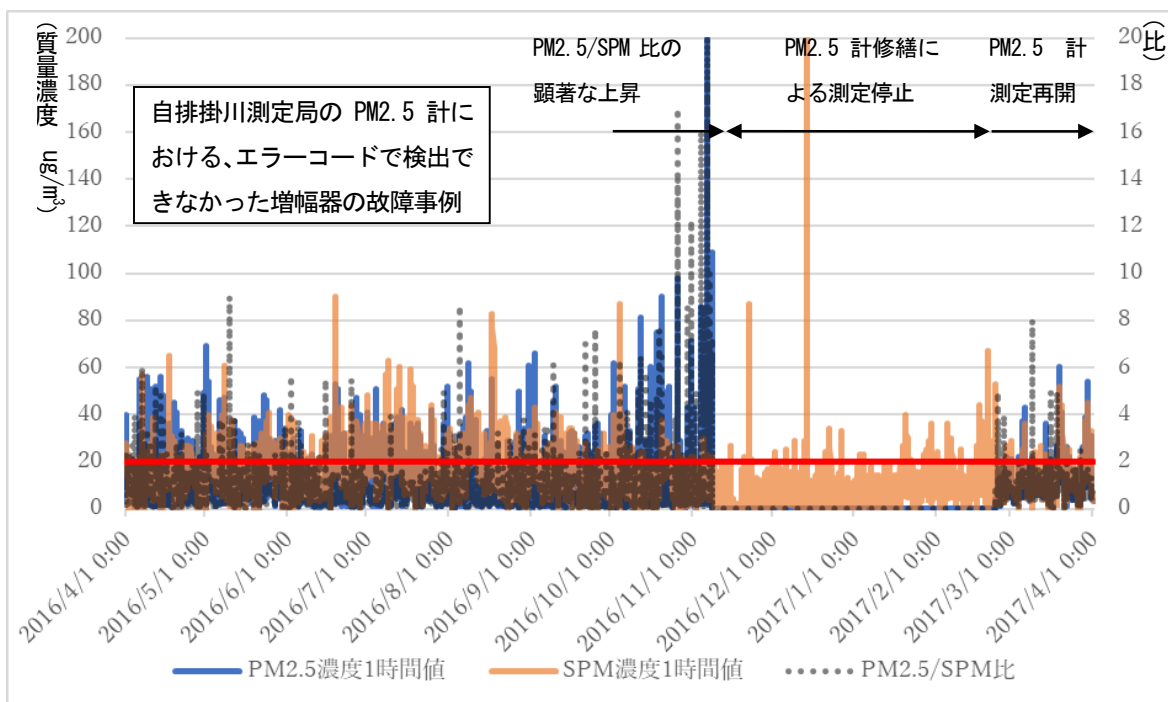


図2 PM2.5/SPM濃度比を用いた異常値の判定例

他誌に発表した論文

微生物部

- 1) 新規蛍光基質を用いた抗インフルエンザ薬耐性株の検出法の検討

酒井悠希子, 阿部冬樹, 神田隆, 紅林佑樹, 高橋忠伸, 鈴木隆

臨床とウイルス, 47(1), 77-82 (2019)

新規蛍光基質 (BTP3-Neu5Ac) にはA型およびB型インフルエンザウイルスのノイラミダーゼ存在部位に強い蛍光を発する活性が報告されており, その原理を応用したインフルエンザウイルスの薬剤耐性株の検出法が報告されている。今回われわれは, 本法を応用して, 一度に多数検体の検査が可能なスクリーニング法を検討した。設定した条件下で供試ウイルス, 抗インフルエンザ薬, BTP3-Neu5Acを反応させ, 紫外線を照射した結果, 蛍光の有無により薬剤耐性株と薬剤感受性株の判別が可能であった。

この方法を用いて, 静岡県内で分離されたインフルエンザウイルス70株について, 薬剤耐性株のスクリーニング検査を行った結果, 67株 (95.7%) については判定可能であった。

以上のことから本法について, 今後さらに検査法を検討することにより, 全国の地方衛生研究所等において薬剤耐性株を検出するためのスクリーニング法として普及することが期待させる。

医薬食品部

- 1) Roles of GalNAc-disialyl lactotetraosyl antigens in renal cancer cells

Akiko Tsuchida, Motohiro Senda, Akihiro Ito, Seiichi Saito, Makoto Kiso, Takayuki Ando, Anne Harduin-Lepers,

Akio Matsuda, Keiko Furukawa, Koichi Furukawa
Scientific Reports **8** (1), 7017 (2018)

GalNAc-disialyl Lc4 (GalNAc-DSLc4) was reported as a novel antigen that associated with malignant features of renal cell cancers (RCCs). To clarify roles of GalNAc-DSLc4 in malignant properties of RCCs, we identified B4GalNAc-T2 as a responsible gene for the synthesis of GalNAc-DSLc4, and prepared stable transfectants of GalNAc-T2 cDNA using VMRC-RCW cells, resulting in the establishment of high expressants of GalNAc-DSLc4. They showed increased proliferation and invasion, and specific adhesion to laminin. In the transfectants, PI3K/Akt signals were highly activated by serum stimulation or adhesion to laminin. GalNAc-DSLc4 was co-localized in lipid rafts with integrin β 1 and caveolin-1 in both immunoblotting of fractionated detergent extracts and immunocytochemical staining, particularly when stimulated with serum. Masking of GalNAc-DSLc4 with antibodies as well as PI3K inhibitor suppressed malignant properties of the transfectants. These results suggested that GalNAc-DSLc4 is involved in malignant properties of

RCCs by forming a molecular complex with integrins in lipid rafts.

大気水質部

- 1) Lake water phosphate reduction with advanced wastewater treatment in watershed, at Lake Hamana, Shizuoka Prefecture, Japan, from 1995 to 2016
Atsushi Kubo, Rin Imaizumi, Satoru Yamauchi
Environmental Science and Pollution Research(2020) 27:2120-2130

Lake Hamana is a semi-enclosed brackish lake amid agricultural and residential land. Monthly vertical profiles of nutrients, total phosphorus (TP), and total nitrogen (TN) at twelve sampling stations in the lake were obtained from 1995 to 2016. Freshwater samples were also obtained from five stations in the river flowing into the lake. Significant decreases were seen in phosphate, TP, and TN concentrations at most lake and all river stations. Decrease in phosphate concentration reflects reduced organic matter and nutrient load into the lake due to increased sewage coverage. Nitrate concentration significantly increased at four stations, whereas ammonium and TN concentrations significantly decreased. This could be due to inefficient nitrification/denitrification of wastewater. At all stations, the nitrogen to phosphate ratio in surface water was higher than 16 and increased significantly. Therefore, phosphate limitation could be strengthened by decrease in phosphate and increase in nitrate concentration in the lake.

学会・研究会の報告

環境科学部

- 1) 駿河湾における富士山からの海底湧出地下水 (VI)
村中康秀, 神谷貴文, 伏見典晃, 岡 智也, 小野昌彦, 丸井敦尚
日本地球惑星科学連合2019年大会
2019.5.28 (千葉)
- 2) Usefulness of strontium isotope composition for determining the geographical origin of wasabi and potato
Takafumi Kamitani, Ki-Cheol Shin, Sachiko Nakamura, Rika Koda, Tomoya Oka, Noriaki Fushimi, Yasuhide Muranaka.
Japan Geoscience Union Meeting 2019
2019.5.28 (Chiba)
- 3) GC/MSデータベース法における定量精度について
長島由佳, 小郷沙矢香, 佐藤克久, 山上 仰
第22回日本水環境学会シンポジウム
2019.9.6 (北海道)
- 4) 静岡県大井川流域における地下水・湧水の水質・温度特性

- 岡 智也, 伊藤 彰, 岡田裕史, 神谷貴文, 村中康秀, 申 基澈
日本地下水学会 2019 秋期講演会
2019. 10. 11 (島根)
- 5) 緊急時における GC/MS データベース法と土壌の前処理の検討
長島由佳, 小郷沙矢香, 佐藤克久, 山上 仰
水環境学会中部支部総会
2019. 11. 16 (静岡)
- 6) 奥駿河湾における海底湧出地下水採取法
村中康秀, 神谷貴文, 伏見典晃, 岡 智也, 小野昌彦, 丸井敦尚
水環境学会中部支部総会
2019. 11. 16 (静岡)
- 7) 地下街における湧水を活用した地下水熱交換システム
村中康秀, 神谷貴文, 岡 智也, 富樫 聡, 内田洋平
日本地熱学会令和元年学術講演会
2019. 11. 20~22 (熊本)
- 8) 静岡県大井川流域における地下水・湧水の水質・同位体特性
岡 智也, 伊藤 彰, 岡田裕史, 神谷貴文, 村中康秀, 申 基澈
第 9 回同位体環境学シンポジウム
2019. 12. 21 (京都)
- 9) 県民及び第一次産業従事者が感じる気候変動影響に関する情報収集
神谷貴文, 岡田裕史, 岡 智也, 瀧井美樹, 長島由佳
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 10) GC/MS 用全自動同定・定量データベースシステムの定量精度の検討
長島由佳, 小郷沙矢香, 佐藤克久, 山上 仰
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 11) 静岡市街地の温度分布状況について
岡田裕史, 神谷貴文, 伊藤 彰, 岡 智也
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 12) 海岸域におけるマイクロプラスチック等の実態調査について
伊藤 彰, 岡田裕史, 岡 智也
第 35 回全国環境研究所交流シンポジウム
2020. 2. 13 (茨城)
- 日本獣医公衆衛生学会 (中部地区)
2019. 8. 25 (長野)
- 2) PCR による A 型肝炎ウイルス検出方法の比較検討と遺伝子解析
原稔美, 酒井悠希子, 大石沙織, 阿部冬樹, 神田隆
第 34 回 地方衛生研究所全国協議会 関東甲信静支部ウイルス研究部会
2019. 9. 26 (栃木)
- 3) 静岡県における 6 年間の薬剤耐性菌検出状況
鈴木香菜, 大越魁, 小川紋, 水本嗣郎, 森主博貴, 長岡宏美, 神田隆
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 4) 県内で分離された腸管出血性大腸菌の MLVA 法による解析-2018
森主博貴, 大越魁, 鈴木香菜, 小川紋, 水本嗣郎, 長岡宏美, 神田隆
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 5) 静岡県における E 型肝炎の発生状況
原稔美, 酒井悠希子, 大石沙織, 阿部冬樹, 神田隆
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 6) 県内広域で分離された VT2 産生腸管出血性大腸菌 026
大越魁, 鈴木香菜, 小川紋, 水本嗣郎, 森主博貴, 岡長宏美, 神田隆
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 7) 日本紅斑熱の患者自宅におけるマダニ調査とリッケア遺伝子検出状況
大石沙織, 原稔美, 酒井悠希子, 阿部冬樹, 神田隆
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 8) 冷却塔水におけるレジオネラ属菌汚染状況の 1 例
小川紋, 大越魁, 鈴木香菜, 水本嗣郎, 森主博貴, 長岡宏美, 神田隆
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 9) 食中毒原因菌 *Escherichia albertii* の検査法の構築と薬剤耐性 *E. albertii* の検出について
大越魁, 鈴木香菜, 小川紋, 水本嗣郎, 森主博貴, 長岡宏美, 神田隆, 村上光一
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 10) 行政による事業者に対する検査支援の新たな取り組み【レジオネラ研修会】
水本嗣郎, 鈴木香菜, 大越魁, 小川紋, 森主博貴, 長岡宏美, 神田隆
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)

微生物部

- 1) ブタのサルモネラ薬剤耐性
水本嗣郎, 大越魁, 鈴木香菜, 小川紋, 久家力也, 村田学博, 森主博貴, 長岡宏美, 村上光一

- 11) 動物由来感染症の一斉迅速診断法の開発と汚染実態調査について
水本嗣郎、鈴木香菜、大越魁、小川紋、森主博貴、長岡宏美、神田隆、村田学博
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 12) 静岡県内の野生動物の狂犬病ウイルスモニタリング調査の試みー静岡県の狂犬病対応マニュアル (仮) 策定に向けてー
阿部冬樹、原稔美、酒井悠希子、大石沙織、神田隆、寺井克哉、小野田伊佐子
2020. 2. 12 (静岡)
- 13) Diffuse outbreak が疑われた VT 産生 O145 による胃腸炎事例
長岡宏美、大越魁、鈴木香菜、小川紋、水本嗣郎、森主博貴、神田隆
第 32 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
2020. 2. 14 (埼玉)
- 14) 静岡県における *Escherichia albertii* 汚染実態とその薬剤耐性
大越魁、鈴木香菜、小川紋、水本嗣郎、森主博貴、長岡宏美、神田隆、村田学博、平井晋一郎、村上光一
第 32 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
2020. 2. 14 (埼玉)

医薬食品部

- 1) LC-MS/MS による畜水産物中の残留動物用医薬品一斉分析法の検討
柴田紘希、渡邊愛子、山本幸、小林千恵、高橋真
第 56 回全国衛生化学技術協議会年会
2019. 12. 5-6 (広島)
- 2) 一般用漢方製剤等の知事承認申請における規格試験法の妥当性評価に関するガイドブックの作成
黒見公一、栗原傑、浜尾俊、岩切靖卓、鈴木喬大、金子亜由美、堀池あずさ、高橋真
第 56 回全国衛生化学技術協議会年会
2019. 12. 5-6 (広島)
- 3) 化合物ライブラリーの管理・運用ー外部機関への提供に当たってー
中村仁、安藤隆幸、高橋真、神山晋太郎、植田勝智、井上謙吾、小郷尚久、浅井章良
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 4) 一般用漢方製剤の知事承認申請における規格試験法の妥当性評価に関するガイドブックの作成
黒見公一、栗原傑、浜尾俊、岩切靖卓、鈴木喬大、金子亜由美、堀池あずさ、高橋真
第 56 回静岡県公衆衛生研究会

2020. 2. 12 (静岡)

- 5) 茶中の残留農薬一斉分析法の検討
柴田紘希、山本幸、小林千恵、高橋真
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)

大気水質部

- 1) 浜名湖の流動と溶存酸素量の状況
山本佳奈恵
Ⅱ型研究「沿岸海域における新水質環境基準としての底層溶存酸素 (貧酸素水塊) と気候変動の及ぼす影響把握に関する研究」
令和元年度全体会議
2019. 6. 25 (東京)
- 2) 浜名湖の溶存酸素量の状況
山本佳奈恵
令和元年度全環研関東甲信静支部水質専門部会
2019. 11. 1 (静岡)
- 3) 常時監視データから探る浜名湖の水環境
山本佳奈恵、牧秀明
令和元年度日本水環境学会中部支部研究発表会
2019. 11. 16 (静岡)
- 4) 大気汚染常時監視テレメータシステムの更新業務に関する全国アンケート調査結果について
前田友幸
全国環境研協議会関東甲信静支部大気専門部会
2019. 11. 29 (滋賀)
- 5) 浜名湖における溶存酸素量の経年推移
山本佳奈恵、牧秀明
第 28 回浜名湖をめぐる研究者の会
2019. 12. 7 (静岡)
- 6) 水質分析に関する精度管理及び研修について
山内 悟
令和元年度しずおか環境調査研究推進連絡会議
2020. 1. 17 (静岡)
- 7) 光化学オキシダントの発生予測に関する研究
結城 茜
令和元年度しずおか環境調査研究推進連絡会議
2020. 1. 17 (静岡)
- 8) 浜名湖における貧酸素水塊と水質の変動
山本佳奈恵、石川 裕子、田村隆志、山内悟、牧秀明
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 9) 現行の問題点を解決した大気環境常時監視テレメータシステムの開発
田村克浩、前田友幸、矢嶋 雅
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)
- 10) 静岡県大気中の有害大気汚染物質の現状について

結城 茜, 山口智久
第 56 回静岡県公衆衛生研究会
2020. 2. 12 (静岡)

- 11) 浜名湖の水環境の 38 年間の変化
山本佳奈恵, 牧秀明
第 54 回日本水環境学会年会
2020. 3. 18 (盛岡)

表彰等

環境科学部

- 1) 日本水環境学会中部支部優秀発表賞
「緊急時における GC/MS データベース法と土壌の前
処理法の検討」
2019. 11. 16
長島由佳

微生物部

- 1) 大同生命厚生事業団 2019 年度「地域保健福祉助成」
(贈呈式)
静岡県におけるマダニの分布相の変化から日本紅斑
熱患者発生地域を予測する研究
2019. 10. 7
大石沙織
- 2) 第 56 回静岡県公衆衛生研究分会第 1 分科会優秀賞
日本紅斑熱の患者自宅におけるマダニ調査とリッチ
ケア遺伝子検出状況
2020. 3. 10
大石沙織
- 3) 第 56 回静岡県公衆衛生研究分会第 1 分科会優秀賞
静岡県内の野生動物の狂犬病ウイルスモニタリング
検査の試みー静岡県内の狂犬病対応マニュアル (仮)
策定に向けてー
2020. 3. 10
阿部冬樹
- 4) 第 56 回静岡県公衆衛生研究分会第 1 分科会優秀賞
食中毒原因菌 *Escherichia albertii* の検査法の構築
と薬剤性 *E. albertii* の検出について
2020. 3. 10
大越魁

医薬食品部

- 1) 地方衛生研究所全国協議会会長表彰
2019. 10. 21
高橋真
- 2) 第 56 回静岡県公衆衛生研究会第 3 分科会 (薬事部門)
優秀賞
「一般用漢方製剤の知事承認申請における規格試験
法の妥当性評価に関するガイドブックの作成」
2020. 2. 12
黒見公一

静岡県環境衛生科学研究所報告
(第 62 号)

令和 2 年 10 月

編集発行 静岡県環境衛生科学研究所
静岡県藤枝市谷稲葉 232- 1
電話 (054) 625-9121

E-mail kanki@pref.shizuoka.lg.jp

