

宮城県の河川等における薬剤耐性菌

Detection of drug resistance bacteria in environmental water such as rivers in Miyagi.

佐々木美江 矢崎 知子 後藤 郁男
 畠山 敬 渡邊 節 谷津 壽郎
 齋藤 紀行*¹

Mie SASAKI, Tomoko YAZAKI, Ikuo GOTO
 Takashi HATAKEYAMA, Setsu WATANABE, Juro YATSU
 Noriyuki SAITO

県内の河川から薬剤耐性菌の検出を試みたところ、アンピシリン（ABPC）、クロラムフェニコール（CP）、カナマイシン（KM）、オキシテトラサイクリン（OTC）耐性菌がそれぞれ検出された。検出された菌はABPC耐性菌が最も多く、採水地点によっては耐性菌出現率が100%に達した。CP、KM、OTC耐性菌も検出されたが、いずれも15%未満であった。また、腸内細菌ではABPC耐性菌、腸球菌ではKM耐性菌の出現率が高いことを確認した。緑膿菌は河川ごとに耐性を示す薬剤の種類が異なり、河川流域の影響を受けたものと推察された。

キーワード：薬剤耐性菌；抗菌剤；河川

Key words : drug resistance bacteria ; antibacterial agent ; river

1 はじめに

薬剤耐性菌とは、抗菌剤などの化学療法剤に対する薬剤感受性が低下し、比較的高い濃度の薬剤存在下でも増殖可能となった細菌である。これら薬剤耐性菌は、感染症の治療薬としては不可欠な抗菌剤を継続的に使用することより選択されるため、医療現場においては難治性の感染症を引き起こし大きな問題となっている。また、抗菌剤は、畜産・水産業などの生物生産の場において家畜・養殖魚の感染症予防あるいは成長促進を目的として大量投与され、その年間使用量は医療用の約2.5倍（約1,300トン）にも及ぶとされている¹⁾。

2007年12月、河川から生活排水・畜産・医療・下水由来の医薬品類を検出したとの報告²⁾があり、社会問題として大きく報じられた。しかし、ヨーロッパなどの諸外国に比べ、国内河川における知見は乏しい。

そこで、生活排水、畜産等の影響があると思われる大規模河川を対象として、河川環境中に存在する薬剤耐性菌の分布と高濃度薬剤に対する耐性化の実態を調査したので報告する。

2 方法

2.1 採水時期と採水地点

2007年10月から12月にかけて県北部の鳴瀬川水系と県南部の白石川水系を対象にそれぞれ2回の調査を実施した。初回調査は河川全域の実態を把握し、2回目の調査は耐性菌が比較的多く検出された地点を絞って詳しく調べた。

鳴瀬川水系では、初回調査（11月16日）に上流N1、

3から下流N2、4、5の5カ所、2回目調査（12月16日）ではN6-N9の4カ所から採水した（図1）。

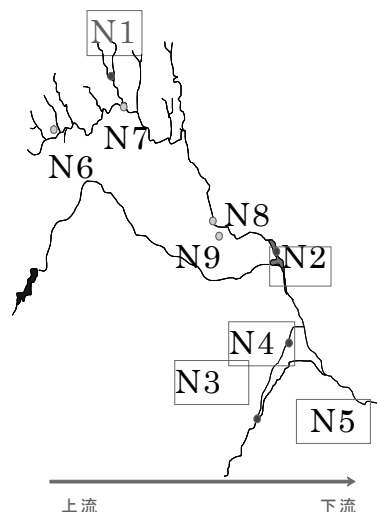


図1 鳴瀬川水系の採水地点

白石川水系では、初回調査（10月9日）に白石川の起点となるS1、ダム上流S3から下流S4、S6、S8と支流S2、S5、S7の8ヶ所、2回目調査（12月4日）にS9-S12の4カ所から採水した（図2）。

2.2 対象菌と供試薬剤

薬剤耐性菌の分布では、ミューラーヒントン寒天培地を用いて一般細菌数を求めた。また、病原性の腸内細菌、緑膿菌、腸球菌を対象として、それぞれマッコンキー寒天培地、EF培地、セトリミド培地を用い薬剤耐性菌の分離を試みた。なお、腸内細菌とはグラム陰性桿菌、オ

* 1 現 東北生活文化大学

キシダーゼ陰性の乳糖分解菌とした。

供試薬剤には、残留抗生物質簡易検査法³⁾で対象としている ABPC, CP, KM, OTC の4 薬剤を用いた。

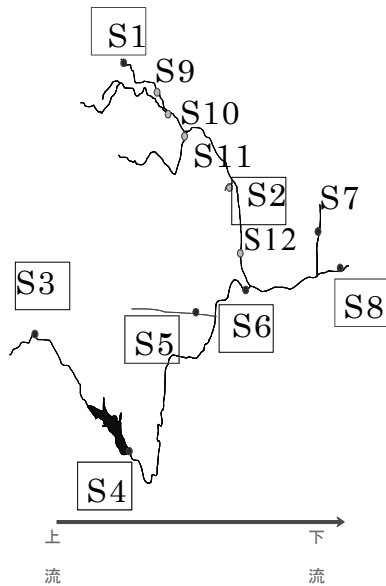


図2 白石川水系の採水地点

2.3 培地の作成

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) に基づき中間耐性濃度を ABPC 16 μ g/ml, CP 16 μ g/ml, KM 32 μ g/ml, OTC 8 μ g/ml とし、ABPC 含有培地、CP 含有培地、KM 含有培地、OTC 含有培地の4 種類の培地 (含薬培地) と薬剤を含まない培地 (対照平板) を作成した。

2.4 薬剤耐性菌の検出と耐性菌出現率

河川水は、100・10 倍濃縮液、原液、10・100 希釈系列を試料とし、含薬平板と対照平板に接種後 35 $^{\circ}$ C、48 時間培養した。耐性菌出現率は含薬平板で発育したコロニー数を対照平板の発育コロニー数で除して求めた。更に、河川の状況を確認するために、コリラート「アスカ」QT トレイを用いて河川の大腸菌群、大腸菌の MPN 値を測定した。

2.5 分離菌株の耐性頻度

分離した菌株は、寒天平板希釈法に準じて ABPC, CP では 16-512 μ g/ml, KM では 32-1,024 μ g/ml, OTC では 8-256 μ g/ml の2 倍希釈系列を作成し、薬剤ごとに6 濃度の含薬培地を用いた。分離菌株は BHI 培地で増菌後、その培養液 3 μ l をそれぞれの含薬培地に滴下し 37 $^{\circ}$ C、18-20 時間培養し、最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。また、得られた菌株は簡易キットを用いて同定した。

3 結果

3.1 河川の薬剤耐性菌生息状況

河川、採水地点別の一般細菌数、薬剤別の耐性菌出現率を示した (表1)。

表1 各河川の薬剤耐性菌生息状況

採水河川	採水日	採水地点	一般菌数 (CFU/ml)	耐性菌出現率 (%)			
				ABPC	CP	KM	OTC
鳴瀬川	2007/11/16	N1	230	26.1	4.3	2.2	2.6
		N2	2,380	7.2	0.9	13.9	0.8
		N3	107	26.2	8.4	1.9	7.5
		N4	306	31.7	2.3	3.3	2.0
		N5	1,360	22.1	0.4	7.6	1.8
	2007/12/16	N6	211	100.0	4.7	2.4	0.0
		N7	400	100.0	3.8	8.0	0.0
		N8	2,360	100.0	4.5	4.2	0.5
		N9	15,450	88.3	9.1	2.7	0.4
白石川	2007/10/9	S1	23	4.3	4.3	0.0	0.0
		S2	1,080	3.1	1.9	6.8	1.9
		S3	1,500	18.7	0.5	0.7	6.6
		S4	208	59.1	4.3	9.1	0.5
		S5	680	36.8	3.7	12.4	1.2
		S6	1,090	24.8	1.3	14.7	1.9
		S7	5,400	26.9	0.2	8.0	0.5
		S8	2,470	32.4	0.8	12.6	0.7
	2007/12/4	S9	5	40.0	0.0	0.0	0.0
		S10	109	21.1	0.9	1.8	0.0
		S11	715	21.5	0.8	3.5	0.7
		S12	590	40.7	2.0	4.7	1.0

3.1.1 鳴瀬川水系

初回調査で最上流 N1 から 230CFU/ml の菌を検出し、河川全域としては上流 N1, N3 から下流 N2, N4 に向かって菌数が増える傾向がみられ、最下流 N5 では 1,360CFU/ml と N1 より 5 倍多い菌数が検出された。N1 での耐性菌出現率は ABPC が最も高く 26.1%、次いで CP が 4.3%、OTC が 2.6%、KM が 2.2% であった。N3, N4, N5 も N1 と同様に ABPC の出現率が高く、いずれも 20% 程度であったが、N2 は他の採水地点とは異なり KM 13.9% と高く、次いで ABPC 7.2%、CP、OTC 1% 未満となった。更に、2 回目調査では上流 N6 の 211CFU/ml と下流 N9 の 15,450CFU/ml とは約 7 倍の差があった。この地点での耐性菌出現率も ABPC 耐性が高く N6, N7, N8 では 100%、N9 でも約 90%、他の 3 薬剤 CP, KM, OTC 耐性菌では 10% 未満であった。

3.1.2 白石川水系

初回調査では上流 S1 S3 から下流 S8 にかけて菌数は増加した。この間、流入している支流 S2 から 1,080 CFU/ml, S5 から 680CFU/ml, S7 から 5,400CFU/ml の菌が検出された。耐性菌出現率は鳴瀬川と同様に ABPC 耐性菌が高くなった。また、2 回目調査で S9-S12 間では S11 が 705CFU/ml, S12 が 590CFU/ml と S11 が多くなった。耐性菌出現率は、4 薬剤中 ABPC 耐性が最も高く、CP, KM, OTC 耐性菌出現率では 15% 未満であった。

3.2 薬剤耐性の病原性細菌

3.2.1 鳴瀬川水系

腸内細菌は N1-N9 までの全ての採水地点で分離された。ABPC 耐性菌出現率は、下流の N5, N8, N9 で最も高く 40% 以上であった。緑膿菌は N8 と N9、腸球菌は N7 から N9 で分離された。緑膿菌は N8 で KM 耐性菌が 41.8%、N9 で CP 耐性菌が 98.6%、ABPC 耐性菌が 76.7% と高い割合で分離された。腸球菌は N8 で KM 耐

表2 鳴瀬川の薬剤耐性菌

対象菌	採水日	採水地点	菌数 (CFU/ml)	耐性菌出現率(%)			
				APBC	CP	KM	OTC
腸内細菌	2007/11/16	N1	24	12.5	0.0	0.0	4.2
		N2	96	21.9	0.0	2.1	1.0
		N3	11	27.3	0.0	0.0	0.0
		N4	23	13.0	0.0	0.0	4.3
		N5	164	39.8	0.0	0.6	3.0
	2007/12/16	N6	370	23.8	0.0	0.0	0.3
		N7	620	24.8	0.0	0.3	0.6
		N8	2,600	51.9	5.8	1.9	0.6
		N9	27,300	40.7	0.4	0.6	0.0
緑膿菌	2007/12/16	N8	474	19.2	7.4	41.8	5.3
		N9	365	76.7	98.6	10.7	5.8
腸球菌	2007/12/16	N7	12	0.0	0.0	8.3	0.0
		N8	18	1.0	0.0	83.3	16.7
		N9	62	1.6	1.6	1.6	4.8

表3 白石川の薬剤耐性菌

対象菌	採水日	採水地点	菌数 (CFU/ml)	耐性菌出現率(%)			
				APBC	CP	KM	OTC
腸内細菌	2007/10/9	S1	0	0.0	0.0	0.0	0.0
		S2	660	38.6	0.0	1.2	0.6
		S3	0	0.0	0.0	0.0	0.0
		S4	0	0.0	0.0	0.0	0.0
		S5	266	48.1	0.0	0.0	0.0
		S6	0	0.0	0.0	0.0	0.0
		S7	2,210	53.4	0.0	2.7	2.3
		S8	0	0.0	0.0	0.0	0.0
緑膿菌	2007/12/4	S9	0	0.0	0.0	0.0	0.0
		S10	85	43.5	0.0	0.0	0.0
		S11	2,280	50.4	0.0	0.1	0.9
		S12	3,850	4.2	0.5	0.3	0.9
緑膿菌	2007/10/9	S7	23	87.0	0.0	0.0	69.6
		S11	15	40.0	0.0	13.3	53.3
腸球菌	2007/12/4	S12	135	53.3	2.2	25.2	100.0
		S12	10	0.0	0.0	40.0	10.0

性菌出現率が83%を示した(表2)。

3.2.2 白石川水系

腸内細菌は12ヶ所の採水地点のうち半数の6ヶ所(S2, S5, S7, S10, S11, S12)から分離され、ABPC耐性菌出現率の低いS12では4.2%、高いS7, S11では53.4%、50.4%であった。緑膿菌はABPC、OTC耐性菌ともに高い出現率を示しS7ではABPC耐性菌87.0%、OTC耐性菌69.6%、S11では40.0%、53.3%、S12では53.3%、100%となった。腸球菌はKM耐性菌が高く40%であった(表3)。

3.3 分離菌株の耐性頻度

寒天平板希釈法に準じて求めた結果を耐性頻度として示した。

MIC値の高いところでの耐性頻度は、腸内細菌では、ABPC 512 μ g/mlで44.0%(111株)、CP 512 μ g/mlで14.0%(6株)、KM 1024 μ g/mlで21.2%(14株)、OTC 256 μ g/mlで11.0%(33株)であった(図3)。緑膿菌も腸内細菌と同様にABPC 512 μ g/mlでの頻度が多く77.0%(114株)、他の薬剤ではCP 256 μ g/mlで3.4%(2株)、KM 128 μ g/mlで57.0%(4株)、OTC 128 μ g/ml

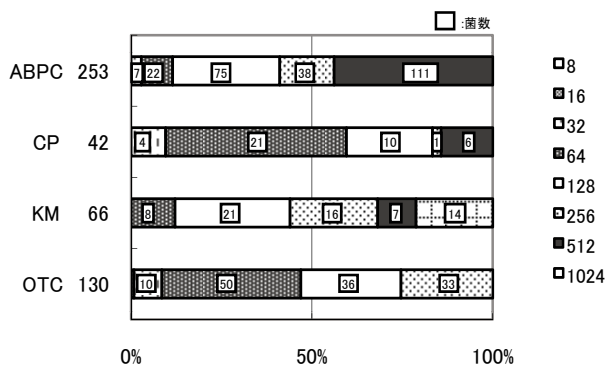


図3 腸内細菌の耐性頻度

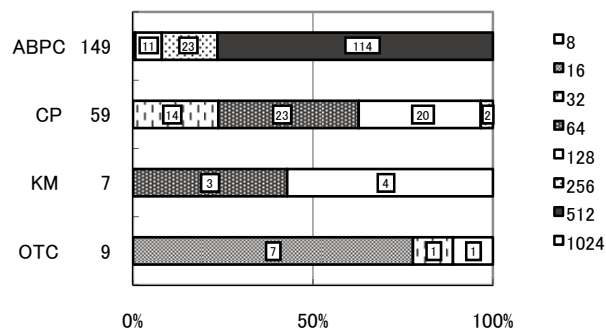


図4 緑膿菌の耐性頻度

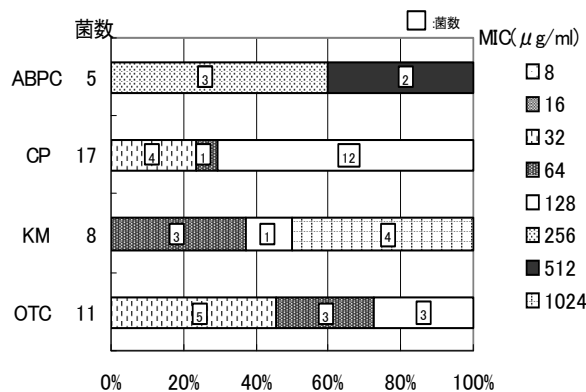


図5 腸球菌の耐性頻度

mlで25.0%(1株)となった(図4)。また、腸球菌ではABPC 512 μ g/mlで40.0%(2株)、CP 128 μ g/mlで71.0%(12株)、KM 1,024 μ g/mlで50.0%(4株)、OTC 128 μ g/mlで27.0%(3株)であった(図5)。

4 考察

鳴瀬川水系では初回の調査では、最上流N1-N5までのすべての採水地点から薬剤耐性菌が分離され、ABPC耐性菌の出現率が高い傾向が見られた。N1の上流では牧草の肥料として鶏糞を使用しており、N3の上流には畜産団地が存在していた。鶏糞等から薬剤耐性菌が検出

されたとの報告^{4) 5)}もあることから、この採水地点が汚染された一因として、これらの農地から耐性菌が河川に流入した可能性が推察された。更に2回目調査の結果でも下流に向かって菌が増加したことから、N6, N8付近の畜産団地が影響したものと考えられた。また、N1ではABPC耐性菌、N2ではKM耐性菌の出現率が高い傾向を示したが、N2についてはダムから流れこむ支流との合流地点であることから、ダム支流の影響を受けたものと推察された。以上のことから、鳴瀬川水系は畜産団地からの排水と支流の影響により薬剤耐性菌が広範囲に散在していたものと考えられた。

一方、白石川水系の最上流S1では、KMとOTC耐性菌は検出されなかったが、ABPCとCP耐性菌が約4%認められた。本論文では示していないが、S1は大腸菌・大腸菌群は不検出であったことから、人家や家畜ふん等の影響はなかったものと思われた。このS1から検出されたABPCとCP耐性菌は、河川流域から流入したのではなく、周辺の土壤中に生息している抗菌物質耐性能を獲得した細菌¹⁾を検出したものと考えられ、自然界での存在率を示すものと思われた。白石川水系は初回、2回目調査とも鳴瀬川水系と同様に上流から下流にかけて菌が増加傾向にあったが、白石川水系の特徴としてS2, S5, S7, S11を境に一般細菌数が増加し、腸内細菌、緑膿菌、腸球菌の出現率が高くなった。菌数の増加したこれらの地点は白石川の支流であり、流域に点在する養魚場や畜産団地の排水が流入した可能性が示唆された。

両河川から分離した菌はABPC 512 μ g/ml, CP 512 μ g/ml, KM 1,024 μ g/ml, OTC 256 μ g/mlなど、高濃度でも発育可能であったが、腸内細菌はABPCに、緑膿菌はCP, ABPCに、腸球菌はKMに自然抵抗性を持つ菌の存在が知られている⁶⁾。そのため今回検出した菌の高度耐性化はこのような機序による可能性が否めない。しかし、これら高度耐性菌の多くは、選択のために用いられた薬剤以外にも抵抗性を持つことから、多剤耐性化の傾向を示していることも明らかとなった。一般に細菌の薬剤耐性能の獲得には、薬剤が使用される環境に対する細菌の順応、あるいは同種・異種間での薬剤耐性

遺伝子の伝播⁷⁾などが考えられるが、今回は高度耐性菌の出現の機序を明らかにすることはできなかった。しかし、耐性菌が多く検出された河川からはABPC耐性に関連するToho-1遺伝子が検出されていること⁸⁾からも、高度耐性化に遺伝子が関与していると思われた。

今後は、耐性菌の発生源と思われる畜産団地等の排水の抗菌剤濃度と薬剤耐性菌出現との関連性および薬剤耐性化と遺伝子の関与について明らかにする必要があると思われる。

5 まとめ

薬剤耐性菌による鳴瀬川水系および白石川水系の汚染は、流域の汚染および汚染支流の流入によって起こることが明らかとなり、高度耐性菌も認められた。

今後は畜水産現場における薬剤耐性菌の出現状況を調査するとともに耐性獲得機序、伝達因子等の解明を行い、環境中の薬剤耐性菌の低減にむけた検討が必要である。

参考文献

- 1) 西尾道徳：環境保全型農業レポート，16（2005）。
- 2) 厚生労働省健康局水道課：“水道水源等における生理活性物質の測定と制御に関する研究・平成18年度環境保全成果集”，6（2007）。
- 3) 厚生省生活衛生局長通知：“畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法（改定）”平成6年7月1日，衛乳第107号（1994）
- 4) 農林水産省：平成19年抗菌剤感受性調査，http://www.maff.go.jp/nval/tyosa_kenkyu/taiseiki/kanjyu_tyousa_19/index.html。
- 5) 齋藤紀行，伊藤友美，御代田恭子，白石廣行：宮城県保健環境センター年報，17，p56（1999）
- 6) 小栗豊子：“臨床微生物検査ハンドブック”，p213（2000）。
- 7) 平松啓一：“耐性菌感染症の理論と実践”，第4版，（2006），（医薬ジャーナル社）
- 8) 宮城県保健環境センター：プロジェクト研究中間報告（2008）未発表資料

平成 19 年度の腸管出血性大腸菌感染症事例

Cases of Enterohemorrhagic *E.coli* Infection in 2007

矢崎 知子 佐々木美江 後藤 郁男
畠山 敬 渡邊 節 谷津 壽郎
齋藤 紀行*¹

Tomoko YAZAKI, Mie SASAKI, Ikuo GOTO
Takashi HATAKEYAMA, Setsu WATANABE, Juro YATSU
Noriyuki SAITO

宮城県（仙台市を除く）では、平成 19 年度に腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症が多発し、集団事例も 5 件発生した。従来から報告のある保育施設内での蔓延事例に加え、本県では初めての食品を原因とする大規模な EHEC 感染症事例や簡易水道水源の汚染が原因と推定された事例などを経験した。

キーワード：腸管出血性大腸菌；集団発生

Key words : Enterohemorrhagic *E.coli* ; Mass outbreak

1 はじめに

腸管出血性大腸菌（以下 EHEC）は、少菌量で感染が成立することに加え、下痢や血便等の典型的な症状を示さない無症状病原体保有者も多く存在するため、症例の多くは感染原因の特定が困難である。さらに、EHEC が産生するベロ毒素が乳幼児等に重篤な溶血性尿毒症候群（HUS）を引き起こすため、公衆衛生上重要な感染症である。

EHEC は他の病原性大腸菌に比べて検出数も多く、全国の患者および無症状病原体保有者からの分離報告数は年間 3,500 件程度であるが、平成 19 年には 4,606 件と例年を大きく上回った¹⁾。宮城県（仙台市を除く）でも全国と同様の傾向を示し、平成 19 年 9 月には、宮城県で初めて食品を原因とする大規模な EHEC 感染症事例が発生した。

そこで我々は、疫学調査と分離株の遺伝子解析の結果を基に、平成 19 年度に本県で発生した EHEC 感染症について、集団発生 5 事例を中心に検証を行ったので報告する。

2 材料および方法

2.1 材料

医療機関から分与された患者由来の EHEC 株、疫学調査により採取した患者家族や接触者の便、食材、水、および関連施設のふき取り検体を検査材料とした。

2.2 方法

2.2.1 EHEC 分離同定

便からの EHEC の分離は選択培地（DHL、各種糖を添加した CT-Mac、クロモアガー O157TAM、RX26 等の酵素基質培地）を使用し、増菌培養については mEC ブイヨンを用いた。食材については等量の mEC ブイヨ

ン等で 1 分間ホモジナイズした 2 倍乳剤を、水については検水を濾過した 0.22 μ m のフィルターを直接選択培地に塗布して 37 $^{\circ}$ C 18 ~ 20 時間培養するとともに、mEC ブイヨンに接種した。増菌液は直接あるいは必要に応じて免疫磁気ビーズで集菌処理し各選択培地に塗布し培養した。

選択培地上に発育した疑わしいコロニーは TSI、LIM 培地に接種し生化学性状確認を行った。大腸菌が分離された場合は血清型別試験を行いベロ毒素の有無を確認した。

2.2.2 ベロ毒素の確認

ベロ毒素（VT1、VT2）の有無は、PCR（polymerase chain reaction）法による毒素遺伝子（VT 遺伝子）の検出もしくは逆受身ラテックス凝集反応（RPLA）による毒素産生の確認で行った。毒素遺伝子検出には TaKaRa 社製のプライマー（EVT、EVS）または Pollard ら²⁾ のプライマーを使用した。

2.2.3 菌株の遺伝子解析

遺伝子型比較のため、分離した EHEC 菌株全てに制限酵素 *Xba* I を用いたパルスフィールドゲル電気泳動（Pulsed-Field Gel Electrophoresis : PFGE）法を実施した。電気泳動には BIO-RAD 社製 Chef Mapper を使用した（パルスタイム 2.2 ~ 54.2 秒、泳動 19 時間）。PFGE の解析は Fingerprinting II（Dice）を用いて行った。

3 結果

3.1 平成 19 年度の件数と傾向

平成 19 年度の宮城県内の EHEC 感染症は、集団発生 5 事例（表 1）を含む 34 件で感染者数は 113 名にのぼり、ここ数年間では平成 16 年度に次ぐ発生数であった（図 1）。血清型別内訳は O157 が 18 事例 77 名、O26 が 10 事例 23 名、O121 が 4 事例 7 名であり、他に O111、O145 が 1 事例ずつ発生した。

* 1 現 東北生活文化大学

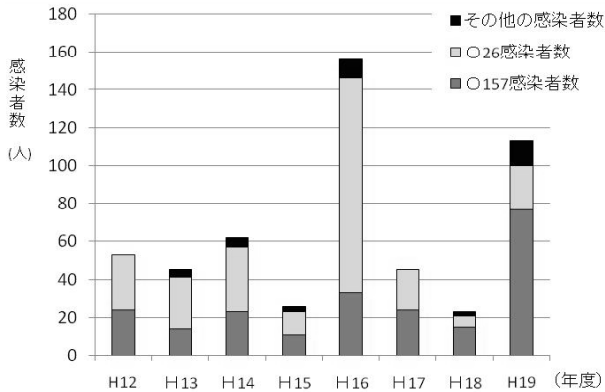


図1 EHEC感染者数の年度別推移 (宮城県)

3.2 集団発生事例

3.2.1 水系感染が疑われた事例 (事例1)

同一の簡易水道を利用している仙南保健所管内の集落で7月にO121:H19 VT2による感染症が発生し、1ヶ月間で3名の感染が判明した(表1)。この地域ではO121事例発生以降にも感染原因不明のO157事例が発生しており、EHEC多発地域として調査を行った。O121感染者(B)宅の家庭水を調査した結果、家庭水から当初疑われていたO121ではなくベロ毒素VT2を有する大腸菌O150:HNMが検出された(図2)。その後の調査で簡易水道の水源からも同一菌が確認されたため、保健所はこの簡易水道の使用停止を指導し給水中止となった。簡易水道水についての検査結果を(表2)に示した。初回の原水調査ではVT2遺伝子のみの検出であったが、2回目の採水で原水直近にあるオーバーフロー水からO150 VT2が分離され、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)解析でも、患者B宅の家庭水から検出されたO150と遺伝子パターンが一致した。このことから、集落で使用していた簡易水道が原水付近でEHECに汚染されていたことが確認された。なお、簡易水道から検出

されたEHECはO血清型の決定が出来ず、国立感染症研究所の精査でO150と判明した。



図2 事例1の集落でのEHEC発生状況

表2 事例1での水の検査結果

採水場所	採水日	検水	結果
A宅家庭水	7月31日	2.2L	検出せず
B宅家庭水	8月1日	5L	O150VT2 検出
簡易水道水源	8月3日	2L	増菌PCRにて VT2 (+)
簡易水道水源	8月27日	4L オーバーフロー水	O150VT2 検出
		2L 貯水槽上清	検出せず
		10L 掃除用排水パイプ経由の水	検出せず

3.2.2 仕出し弁当によるO157食中毒事例(事例2)

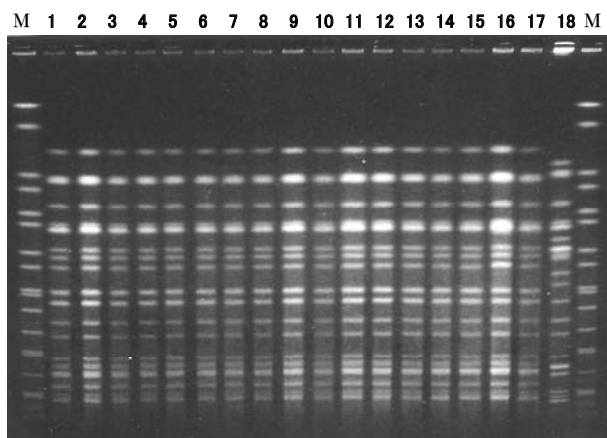
9月末~10月にかけて、塩釜保健所管内の飲食店で製造した仕出し弁当を喫食した人の多くから、ほぼ同時期にO157が検出され、保健所は仕出し弁当を原因とするO157大規模食中毒と断定した³⁾。当該弁当を喫食し、調査対象となった人数は、最初に発生のあった秋田市と、仙台市・宮城県を合わせると4,243名、うち発症者は314名であった。当センターでは弁当86件、食材・

表1 EHEC集団発生事例(平成19年度宮城県)

事例	感染経路	原因	発生場所	発生期間	対象集団	EHEC検出患者数	検出EHEC血清型別	ベロ毒素
水系感染が疑われた事例	事例1	食品媒介 (推定)	水源のEHEC汚染 (推定)	同一給水区域 (簡易水道)	7.5~8.5	80	住民3名	O121:H19 VT2
仕出し弁当によるO157食中毒事例	事例2	食品媒介 ヒト→ヒト感染	弁当のEHEC汚染 病原体保菌者	弁当喫食者	9.21~10.8	4,243	弁当喫食者49名 弁当非喫食者3名 (家族2名・従業員1名)	O157:H7 VT1,2
保育施設での発生事例	事例3	ヒト→ヒト感染	病原体保菌者	保育所	8.22~8.31	181	乳幼児5名 家族2名	O157:H7 VT2
	事例4	ヒト→ヒト感染	病原体保菌者	託児所	10.11~10.14	89	乳幼児4名 家族5名	O26:H11 VT1
	事例5	ヒト→ヒト感染	病原体保菌者	保育所	11.12~11.17	30	乳幼児3名 家族2名 保育士1名	O26:H11 VT1

ふき取り等 82 件、飲食店従業員 78 名、弁当喫食者 115 名の検査を行った結果、弁当 1 件（9 月 25 日製造）と従業員 12 名、喫食者 38 名から O157:H7 VT1, 2 を検出した⁴⁾。O157 の検出された飲食店従業員の内訳は調理従事者 6 名、配達従事者 4 名、事務職員 2 名であり、うち 11 名は当該弁当を喫食していた。また接触者調査として O157 陽性者の家族等 151 名の検査を行い 2 名から O157 を確認した。

これらの菌株のうち 17 株（従業員由来の 12 株と弁当喫食者由来の 2 株、患者の家族で弁当非喫食者由来の 2 株、弁当由来の 1 株）の PFGE を図 3 に示した。最終的に、本事例で検出した O157 全 53 株（弁当由来 1 株、従業員由来 12 株、喫食者由来 38 株、O157 陽性者の家族 2 株）の相同性は 85% 以上であった。



Lane 1-9, 11-12 飲食店従業員(弁当喫食)
 Lane 10 飲食店従業員(弁当非喫食)
 Lane 13 仕出し弁当
 Lane 14-15 弁当喫食者
 Lane 16-17 感染者(弁当喫食者)の家族
 Lane 18 別事例のO157感染症患者株
 M : *S. Braenderup*

図 3 事例 2 における分離株の PFGE パターン

3.2.3 保育施設で発生した事例（事例 3, 4, 5）

保育所・託児所等保育施設で起こった集団感染事例は 3 例であった（表 1）。

事例 3 は仙南保健所管内の保育園で発生した O157 事例で、兄弟二組を含む保育園児 5 名とその家族 2 名から O157:H7 VT2 が検出された。感染者から分離された 7 株のうち 6 株が PFGE で 90% 以上の相同性を示した。やや相同性が低かった 1 株は無症状の園児から検出された株であり、感染時期は不明であった。保育園の食事についても検査を行ったが EHEC は検出されず、初発患者からの感染によるものと考えられた。

事例 4 は登米保健所管内の託児所で発生した O26 事例で、園児 4 名とその家族 5 名から O26:H11 VT1 が検出された。陽性者のうち有症者は初発の園児を含め 3 名

であったが、無症状であった園児 1 名とその家族 5 名からも O26 が検出された。この事例の PFGE 解析結果では、初発・続発の園児とその家族で 90% 以上の相同性が見られた（図 4）。食材等から菌は分離されなかったことから、託児施設と家庭内での感染と思われた。

事例 5 は仙南保健所管内の保育園で発生した O26 事例で、園児 3 名とその家族 2 名、保育園職員 1 名から O26:H11 VT1 が検出された。園児 2 名は下痢等の症状があったが家族は無症状であった。

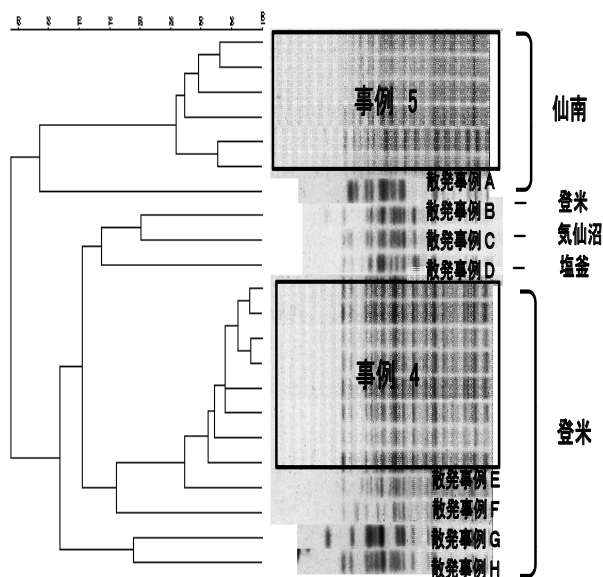


図 4 O26 事例で検出した菌株のデンドログラム

4 考察

宮城県における EHEC 感染症は、山口ら⁵⁾ によって O26 による発生が多いことが特徴的であると報告されているが、平成 19 年度は O157 による発生が事例数・感染者数ともに突出した。これは仕出し弁当による食中毒事例（事例 2）、仙南の保育園事例（事例 3）において O157 感染者が多数発生し、散発事例も 16 事例と例年より多かったことが要因である。

平成 19 年度の集団発生のうち、事例 1 では感染者から分離された株（O121）と簡易水道水から分離された株（O150）は血清型が異なっているため、水を直接の感染原因として結びつけることはできなかった。しかし、感染者 3 名から検出された O121 は PFGE 解析で 97% の相同性を持ち疫学調査での唯一の共通点は簡易水道水であること、また、集落では同時期に感染原因不明の O157 患者が発生しており、簡易水道水源および家庭水から同一の O150 が検出されていることなどから、複数種の EHEC により簡易水道が汚染されていた可能性が示唆された。

一方、事例 2 は原因を確定することができた集団発生

であった。患者・調理従事者の便および共通食品である仕出し弁当から EHEC O157 が検出され、PFGE により遺伝子パターンが同一であることが確認され、原因が仕出し弁当と確定された。保健所の調査によると、当該飲食店は調理器具の使い分けや消毒が徹底されておらず、調理後の弁当は温度管理のなされていない場所で最大 4 時間保管され、さらに保冷能力のない運搬車での配達に最大 3 時間以上の時間を費やしていたことが判明した。このことから、何らかの原因で弁当が O157 で汚染され、保管・運搬中に増殖し、大規模な食中毒に至ったものと推測された。さらに弁当を喫食していない患者家族や飲食店従業員は、各々共用するトイレ等を介して家庭や職場内で感染したものと考えられた。

また、従来から報告のある保育施設での集団感染では、給食等を介した事例は認められず、初発患者或いは無症状保菌者との接触を介して園児、保育士、または家族間へ広がったものと思われた。保育施設の集団感染事例 4、5 を含め、平成 19 年度に検出した O26 感染症由来 22 株の遺伝子解析を行った。集団発生事例株はいずれも 85% 以上の相同性で単一のクラスターを形成していた。また、散発事例 E のように、同じ地域内で起こった事例 4 の集団発生株との相同性が比較的高い傾向も認められた (図 4)。

EHEC 事例の PFGE 解析では、宮城県での仕出し弁当の事例が他県に見られない新しいパターンであったことや、県内の散発 O157 事例で分離された株が、多くの都道府県で分離されたものと同一の PFGE パターンを持つ広域流行株であったこと等も判明している⁶⁾。以上のように PFGE による遺伝子解析は菌株の相同性を示すことで各集団事例の原因究明に有功であることが再認識された。

5 まとめ

平成 19 年度は宮城県で EHEC 感染症事例が多発した。集団発生 5 事例のうち、県内初の O157 大規模食中毒感染症事例や、水系感染が原因と考えられる事例など、感染様式の多様化がみられた。これら 2 つの集団発生事例は、複数の個別の事例の検査を進めていくうち関連が判

明していったものであった。

EHEC は微量の菌で感染が成立するため、ヒトからヒトへの伝播が容易に起こり、少数の菌で汚染された食品・生活用具が感染源になりうる。今回経験した仕出し弁当の事例のように広域に流通する食品が感染原因である場合、一時期に広範囲で感染者が発生するだけでなく、感染者からのヒト・ヒト感染による二次的、三次的な感染拡大が起こる可能性がある。また、保育施設での事例では、無症状保菌者が感染を拡大する可能性を再確認した。EHEC 感染症においては、患者との接触者を調べるのが必須であり、無症状保菌者の早期発見が感染症蔓延の防止に重要である。

謝 辞

本報告を行うにあたり、ご協力を頂いた仙台市・秋田市の関係者の方々、仙南・塩釜・登米保健所の方々に感謝いたします。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所・厚生労働省健康局結核感染症課：病原微生物検出情報，29，117 (2008)
- 2) D.R.Pollard, W.M.Johnson, H.Lior, S.D.Tyler, K.R.Rozze : *J.Clin.Microbiol.*, 28, 540 (1990)
- 3) 宮城県環境生活部食と暮らしの安全推進課：宮城県食中毒事件録 平成 19 年
- 4) 矢崎知子, 高橋恵美, 佐々木美江, 後藤郁男, 佐々木ひとえ, 加藤浩之, 小林妙子, 畠山敬, 渡邊節, 菅原優子, 谷津壽郎, 齋藤紀行: 仕出し弁当が原因となった腸管出血性大腸菌 O157 大規模食中毒事例 - 宮城県, 病原微生物検出情報, 29, 122 (2008)
- 5) 山口友美, 田村広子, 佐々木美江, 畠山敬, 御代田恭子, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症の発生とその傾向, 宮城県保健環境センター年報, 22, 42 (2004)
- 6) 寺嶋淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 石原朋子, 渡辺治雄: 2007 年に広域において見出された同一 PFGE タイプを示す腸管出血性大腸菌 O157 について, 病原微生物検出情報, 29, 119 (2008)

ブタからのインフルエンザウイルスの分離 — 第2報 —

Isolation of Influenza Virus in Swine

佐藤 由紀 庄司 美加 後藤 郁男
 佐藤千鶴子*¹ 植木 洋 上村 弘
 沖村 容子 齋藤 紀行*²
 Yuki SATO, Mika SHOJI, Ikuo GOTO
 Chizuko SATO, Yo UEKI, Hiroshi UEMURA
 Yoko OKIMURA, Noriyuki SAITO

厚生労働省は「感染症流行予測調査」の中で、2005年度から新型インフルエンザウイルスの出現監視を目的とした、ブタの鼻腔拭い液からのウイルス分離による感染源調査を開始した。本県も2006年度からこの事業に参加し2年間で200検体について調査を実施した。このうち5検体からインフルエンザウイルスAH3N2亜型を分離した。併せて各シーズンにブタ飼育施設がある地域のヒトから当センターで分離したAH3N2亜型ウイルスとの関連性を、血清学的及び分子疫学的に検討、解析した結果、少なくとも2007年度にブタから分離したウイルスに関してはヒトのインフルエンザウイルスに極めて近いことが明らかとなった。

キーワード：インフルエンザウイルス；ブタ；HI；遺伝子解析

Key words : Influenza Virus ; swine ; hemagglutinin inhibition test ; Gene Analysis

1 はじめに

インフルエンザウイルス(A型)は、ヒトをはじめ水鳥、家禽、ブタなど多くの動物に感染するため、最近では人獣共通感染症として認められつつある。特にブタの呼吸器上皮細胞は、トリ由来及びヒト由来のどちらのウイルスにも結合するレセプターを持っているため、ブタがトリ、ヒト両方のウイルスに同時に感染した場合、ブタの感染細胞内で遺伝子再集合が起こり全く新しいインフルエンザウイルスができる可能性がある。このようなことから、厚生労働省は「感染症流行予測調査事業」¹⁾の中で2005年度から新型ウイルスの出現監視を目的としたブタの鼻腔拭い液からのウイルス分離による感染源調査を開始した。本県もこの事業に2006年度から参加し2年間で200検体について調査を実施した結果、2006年度は3検体、2007年度は2検体からインフルエンザウイルスを分離した。そこでこの5株のウイルス株の関連性を精査し、併せてブタ飼育施設のある地域のヒトから分離したウイルス株との関連性についても検討したので報告する。

2.2 検査方法

ウイルスの分離方法は「感染症流行予測調査事業術式」²⁾に準じた。すなわちMDC K細胞を用いてマイクロプレート法で、細胞変性効果(cytopathic effect : CPE)の有無にかかわらず2代目まで細胞培養を行い、培養上清について0.5%七面鳥血球で赤血球凝集反応を実施した³⁾。CPEが認められ、赤血球凝集反応陽性を示した検体については、国立感染症研究所から指定された抗血清3種A/Hiroshima(ヒト)/52/2005(H3N2)、A/swine(ブタ)/Saitama/27/2003(H1N2)、A/duck(アヒル)/Ukraine/1/63と2006-2007シーズンに配布されたヒトAH1亜型A/NewCaledonia/20/99及び昨シーズン以前のヒトAH3亜型抗血清4種A/NewYork/55/2004、A/Wyoming/03/2003、A/Panama/2007/99、A/Sydney/5/97を用い、赤血球凝集抑制試験(hemagglutinin inhibition test : HI)を行った。はじめに0.5%七面鳥血球と0.75%モルモット血球でHIを比較したところほぼ同じHI価を示したので、以後ヒト

2 方法

2.1 検体採取時期と件数

対象は県内A地域で飼育された6ヶ月齢のブタの鼻腔拭い液で、表1に示したとおり、6月から10月までに毎月1回計5回、1回につき15件から25件、各年100件体ずつ合計200検体について調査した。

表1 検体数

2006年度			2007年度		
検体採取日	検体数		検体採取日	検体数	
7月	10日	25件	6月	29日	20件
7月	24日	15件	7月	26日	20件
8月	7日	20件	8月	6日	20件
9月	11日	20件	9月	30日	19件
10月	2日	20件	10月	1日	21件
合 計	100件		合 計	100件	

* 1 現 拓桃医療療育センター

* 2 現 東北生活文化大学

の抗血清を用いての HI 価は 0.75%モルモット血球を使用して測定した。さらに HA (hemagglutinin) の亜型及び NA (neuraminidase) の亜型については HA⁴⁾ と NA⁵⁾ それぞれをコードするウイルス遺伝子の一部を RT-PCR で増幅し、PCR 産物の塩基配列をダイレクトシーケンシングにより決定して確認した。

3 結果および考察

2006 年 9 月に採取した 3 検体と 2007 年 7 月と 9 月に採取したそれぞれ 1 検体に CPE が認められ、この培養上清について赤血球凝集反応で凝集を確認した。この 5 株 (A/swine/Miyagi/1/06, 2/06, 3/06, 1/07, 2/07) について HI 試験を行った結果を表 2 に示した。国立感染症研究所から配布されたブタ (A/swine/Saitama/27/2003 (H1N2)) 及びトリ (A/duck/Ukraine/1/63 (H3N8)) 抗血清に対する HI 価と 2006-2007 シーズンのヒト AH1 亜型に対する HI 価はいずれも 1:10 未満だった。また 2007-2008 シーズンの AH3 亜型とそれ以前に配布されたヒト AH3 亜型 4 種について HI 価を測定した結果、5 株とも 2003 年以前の AH3 亜型に対しては全て 1:10 未満だった。しかし、A/Hiroshima/52/2005 に対しては 1:10 から 1:160、A/NewYork/55/2004 に対しては 1:40 から 1:160 の HI 価を示した (表 2)。このことより、ブタから分離した 5 株の抗原性はヒト由来インフルエンザ株に近く、中でも 2004 年以降に流行した株に近縁であることが推測された。一方、亜型を確認する目的で RT-PCR を行った結果、2007 年度に分離した 2 株も共に H3N2 亜型であることが明らかとなり、この 2 株の HA 領域 354bp の塩基配列の相同性は 100%を示した。また、この 2 株と 2006 年度にブタから分離した 3 株について同様に解析した結果、アミノ酸配列の相同性は 95.8%であった。さらにヒト由来インフルエンザウイルスとの関連性をみるために、ヒト CDC レファレンス株とワクチン株、および 2003 年以降に当センターで分離したブタ飼育施設のある地域とその近隣地域のヒトインフルエンザウイルス株についての AH3 領域アミノ酸残基 114 個の配列を図 1 に示した。当センターで分離したヒトのイ

ンフルエンザウイルスについては、ブタの調査期間に近い時期であるシーズン後半 1 月以降の検体について扱った。ブタからウイルスを分離した 2006 年と 2007 年のアミノ酸配列を比較すると、2006 年のヒトとブタでは 7 から 8 ヶ所のアミノ酸の違いがあり、2006 年と 2007 年のヒト同士では 3 から 4 ヶ所、2006 年と 2007 年のブタ同士では 7 ヶ所、2007 年のヒトとブタでは 1 ヶ所の違いがあった。また 2006 年のヒトと 2007 年のブタの間では 3 ヶ所、2006 年のブタと 2007 年のヒトの間では 7 ヶ所の違いがあった。この HA 領域の一部のアミノ酸配列に基づく系統樹を図 2 に示した。系統解析の結果、2006 年と 2007 年にブタから分離したインフルエンザウイルスは、互いに異なったクラスターを形成していた。ヒトのレファレンス株とワクチン株は 1997 年から経年的に分岐しており、今回我々が分離したヒトインフルエンザウイルスも同じような分岐パターンを確認した。その中に入る形でブタから分離したウイルスがクラスターを形成していた。この結果は、今回 HI 試験において 2004 年以降のヒト型株に抗原性が類似していた結果を分子疫学に支持する結果といえる。また、2007 年度の結果だけを見ると、2007 年はヒトとブタのアミノ酸の配列が 1 ヶ所しか変わらないこと、ヒトの流行が 1 月から 3 月と冬場で、ブタのウイルス分離がその後の 7 月から 9 月と夏場であること、また HI の結果も考え合わせると、先のシーズンのヒトインフルエンザウイルスが何らかの方法でブタに移った可能性も考えられる。しかし、2006 年度と合わせて考えた場合、アミノ酸配列で 7 から 8 ヶ所の違いがあること、またヒトからブタへの感染経路について、あるいはブタの感染メカニズムについてなど、まだ不明点が多い。今後もウイルス株精査と調査を継続し、ブタのウイルス感染を監視していくと共にヒトインフルエンザウイルスとの関連性を検討していく必要がある。

謝 辞

本調査にご協力頂きました食肉衛生検査所、登米家畜保健衛生所、栗原保健所の方々に深謝いたします。

表 2 HI 試験結果

抗血清	検体No.	2006年			2007年	
		A/swin/Miyagi/1/06	A/swin/Miyagi/2/06	A/swin/Miyagi/3/06	A/swin/Miyagi/1/07	A/swin/Miyagi/2/07
A/swine/saitama/27/2003	(H1N2)	<10	<10	<10	<10	<10
A/duck/Ukraine/1/63	(H3N8)	<10	<10	<10	<10	<10
A/NewCaledonia/20/99	(H1N1)	<10	<10	<10	<10	<10
A/Hiroshima/52/2005	(H3N2)	40(1280)	10(1280)	20(1280)	160(1280)	80(1280)
A/NewYork/55/2004	(H3N2)	160(1280)	160(1280)	80(1280)	160(1280)	40(1280)
A/Wyoming/03/2003	(H3N2)	<10	<10	<10	<10	<10
A/Panama/2007/99	(H3N2)	<10	<10	<10	<10	<10
A/Sydney/5/97	(H3N2)	<10	<10	<10	<10	<10

*()内数値はホモ価を表示

参考文献

- 1) 平成19年度感染症流行予測調査実施要領（厚生労働省健康局，結核感染症課）
- 2) 感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）
- 3) 佐藤由紀他：宮城県保健環境センター年報，25，P117～119

- 4) 高尾信一：広島県保健環境センター研究報告 No.2 p.9 (1994)
- 5) K.E.WRIGHT Journal of Clinical Microbiology May, p.1180 (1995)

A/Cydney/5/97	D Y A S L R S L V A S S G T L E F N N E S F N W T G V A Q N G T S Y A C K R S S I K S F F S R L N W L H Q L K Y K
A/Panama/2007/99 R . N N
A/Fujian/411/02 T S R . N T H
A/Wyoming/3/03 A . T S R . N K T H
A/NewYork/55/04 T S S R . N N T H . F
A/Hiroshima/52/05 T S R . N N T R . F
A/Miyagi/61/03 T S R . K T H
A/Miyagi/93/05 T S . R . R . N N T H . F
A/Miyagi/97/05 I T S R . N Q T H . F
A/Miyagi/43/06 T S R . N N T H . F
A/Miyagi/45/06 T S R . N N T H . F
A/swine/Miyagi/1/06 I T S K . N S T H . R F
A/swine/Miyagi/1/07 I T S G . G N T H . F
A/Miyagi/20/07 I T S G . D N T H . F

A/Cydney/5/97	Y P A L N V T M P N N D K F D K L Y I W G V H H P S T D S D Q T S I Y A Q A S G R V T V S T K R S Q Q T V I P N I
A/Panama/2007/99 E
A/Fujian/411/02 E G I . L I
A/Wyoming/3/03 E V I . L I
A/NewYork/55/04 E V . N I R L I
A/Hiroshima/52/05 E G . N I F L I
A/Miyagi/61/03 E G . N I . L I
A/Miyagi/93/05 E G . N I . L I
A/Miyagi/97/05 E G . N I . L P . I
A/Miyagi/43/06 K E G . N I F L I
A/Miyagi/45/06 E G . N I F L I
A/swine/Miyagi/1/06 E E G . Y N I I
A/swine/Miyagi/1/07 E G . N I F L I
A/Miyagi/20/07 E G . N I F L I

図1 HA領域のアミノ酸配列

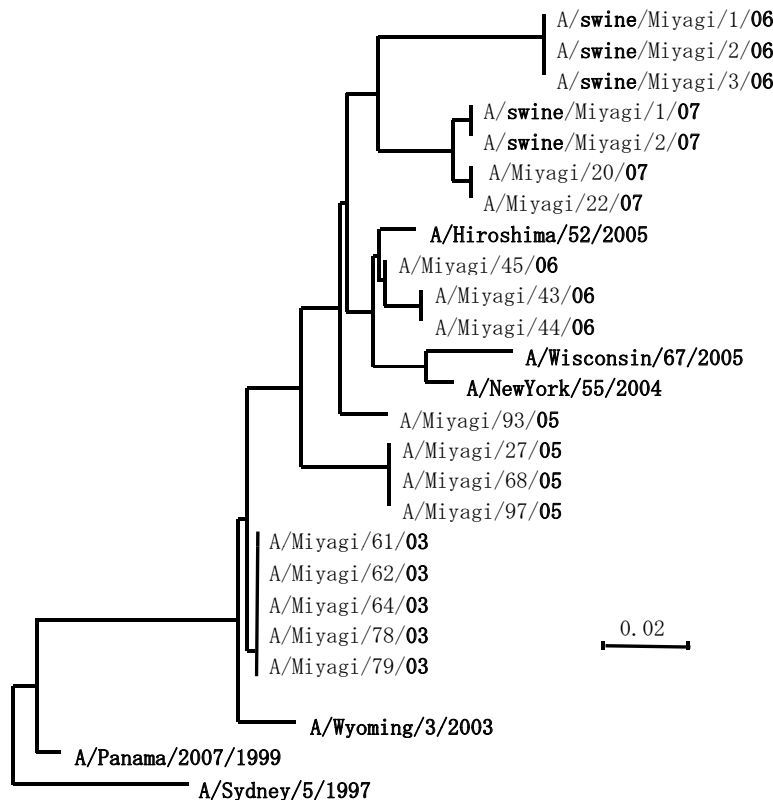


図2 HA領域のアミノ酸配列に基づく系統樹

アミラーゼを用いたカキからのノロウイルス濃縮法の検討

A New method using Amylase to recover Norovirus from Oysters

庄司 美加 植木 洋 佐藤千鶴子*¹
佐藤 由紀 沖村 容子 上村 弘
齋藤 紀行*²

Mika SHOJI, Yo UEKI, Chizuko SATO
Yuki SATO, Yoko OKIMURA, Hiroshi UEMURA
Noriyuki SAITO

カキからの Norovirus (NoV) 抽出法である破碎法に、前処理としてアミラーゼ (AM) 処理を加え、NoV の抽出効果についてカキ 1g 当たりの copy 数の平均値や検定を用いて検討した。その結果、抽出された NoV 遺伝子数は AM 処理群が非処理群と比較して数値が高かった。さらに、Mann-Whitney の *U* 検定を用いた統計的解析でも 2 群間に有意差が認められ、AM 法がカキからのウイルス濃縮法として有効であることが明らかとなった。

キーワード： α -アミラーゼ；カキ；ノロウイルス

Key words : α -amylase ; oysters ; Norovirus

1 はじめに

カキ生産県である本県では、安全なカキを提供するため NoV について様々な対策が取られている。その一つとしてカキからの迅速で高感度な NoV 検出法の開発に取り組んでいる。

カキからの NoV 遺伝子の検出法は、ウイルスの濃縮の工程と、濃縮したウイルスから遺伝子を抽出し、増幅する工程に大きく分けられる。後者の工程については定量 PCR 法など方法が確立されているのに対し、前者は多くの方法が報告されている。特に養殖カキを対象とした NoV 遺伝子検査では、カキに取り込まれているウイルス量は少量であることが多いため検出に困難を要する。

一方 NoV は、10 個～100 個程度でヒトに対して感染が成立することが報告されており¹⁾、少量のウイルスを確実に検出することは重要である。

これまでに我々は、カキからの NoV 濃縮法の一つとして細胞破碎法²⁾を開発した。この方法は公定法である超遠心法³⁾と比較すると、短時間で多検体の処理が可能であり、濃縮効果も高いことを確認している。今回、さらに濃縮効果の向上を目的に、細胞破碎法に野田⁴⁾らが開発した AM 処理を加え、カキからのウイルス濃縮法について検討したので報告する。

2 方法

2.1 対象材料

2007 年 10 月下旬より、下水処理施設が処理水を放流している県内 S 川にカキを垂下し、2007 年 11 月、12 月

にそれぞれ 1 回、2008 年 1 月に 2 回、計 4 回、合計 77 個体をサンプリングした。

2.2 NoV の濃縮

カキは採取後、ただちに 1 個体ずつ中腸腺を摘出し、中腸腺を ϕ 3.2mm ステンレスビーズ入りの 5ml アシストチューブに入れ、AM 処理群は 1 個体に対し α -アミラーゼ (枯草菌由来、和光純薬) 2.5mg/ml 加 DW を作製し 1ml 加えた。また対照 (AM 非処理群) は DW のみ 1ml 加えたものとした。その後、AM 処理群、非処理群とも 37℃ 2 時間静置し、細胞破碎装置 Micro SmashTM (TOMY) を用いて 4,500rpm60 秒間破碎後、9,200 × g 10 分間遠心し、上清をウイルス濃縮液とした。

2.3 ウイルス抽出・定量

ウイルス濃縮液 140 μ l を QIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN) により RNA を抽出し、DNase I (Invitrogen) で処理後、Super Script II (Invitrogen) を用いて逆転写反応を行った。その後、cDNA は、影山ら⁵⁾の方法で PRISM7900 (Applied Biosystems) を用いて定量 PCR 法を実施した。

3 結果および考察

3.1 AM 処理の有無による平均値の比較

AM 処理と非処理について、サンプリング毎の中腸腺 1g 当たりの NoV 遺伝子数の平均値を図 1 に示す。AM 処理群と非処理群の平均値は、11 月は処理群 (n=5) 832 copies, 非処理群 (n=4) 514copies, 12 月は処理群 (n=8) 4,454copies, 非処理群 (n=8) 856copies, 1 月 1 回目は処理群 (n=18) 6,807copies, 非処理群 (n=18) 5,362copies, 1 月 2 回目は処理群 (n=8) 5,616copies, 非処理群 (n=8) 4,831copies であった。各月とも AM 処理群が非処理群と比較して、高い値が確認された。

* 1 現 拓桃医療療育センター

* 2 現 東北生活文化大学

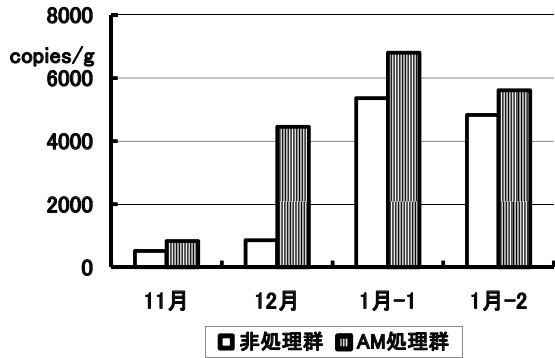


図1 サンプルング毎のAM処理の有無によるNoV遺伝子数の比較

次に、AM処理群 (n=38)、非処理群 (n=39) 全体の場合について検討した。その結果を図2に示す。AM処理の有無による中腸腺1g当たりのNoV遺伝子数の平均値はAM処理群で5,432copies、非処理群は3,707copiesでありAM処理群の方が高い値を示した。

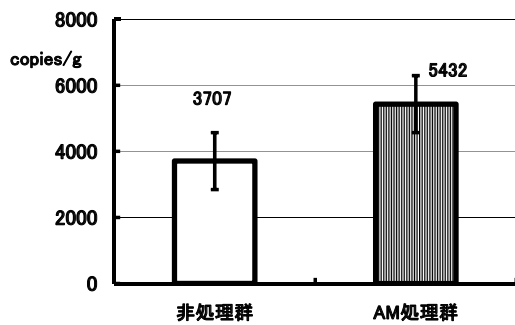


図2 サンプル全体でのAM処理の有無によるNoV遺伝子数の比較

さらに遺伝子群別にAM処理効果について調べた結果を図3に示す。同様にGI群ではAM処理群で中腸腺1gあたり4,519copies、非処理群で3,195copies、GII群ではAM処理群で913copies、非処理群で512copiesであった。平均値で比較すると全体ではAM処理群が非処理群に対し、1.5倍の値であった。遺伝子群別で見るとGI群で約1.4倍、GII群で約1.8倍の値だった。

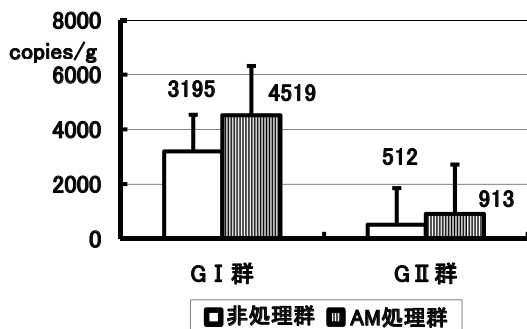


図3 遺伝子型別でのAM処理の有無によるNoV遺伝子数の比較

3.2 Mann-WhitneyのU検定

AM処理の有効性をMann-WhitneyのU検定を用いて検討した。AM処理効果について帰無仮説： H_0 AM処理と非処理ではカキからのNoV遺伝子の濃縮に差がないと仮定した。その結果、 $p=0.055$ で帰無仮説 H_0 は棄却され、対立仮説が採択された。すなわちAM処理は有効であることが確認された。遺伝子群別にみるとGI群では $p=0.10$ で差が認められなかったが、GII群では $p<0.01$ でAM処理は有効と確認された。GI群についてAM処理効果が確認されなかったが、野田らによると公定法であるポリエチレングリコール法によるウイルス濃縮法との併用ではGI群、GII群ともにAM処理が有効であったと報告している⁴⁾。

一般に、カキを対象としたNoV遺伝子検出検査においてはグリコーゲンを多く含む白色部分に含まれた中腸腺をハサミで取り出すことが多い。グリコーゲンは定量PCR法に負の影響があると言われているが白色部分を完全に除去することは不可能である。グリコーゲンは多数の α -D-グルコース分子がグリコシド結合した高分子であるが、アミラーゼ処理をすることで α -1,4-結合を切断し加水分解させ、白色部分を除去することが可能である。この化学的処理が我々の実験でも有効であることが確認された。今回はAM処理を2時間と設定したが、今後は反応時間の短縮、適正な温度やpHの問題も含めて検討していく必要がある。

4 まとめ

今回、我々が用いている簡易で迅速性に優れている破碎法にAM処理を加えることで、濃縮効率が高くなることが確認された。今後、AM処理の設定について追加実験をしていくことで、カキからのNoV濃縮効果が高まることが期待されると考える。

参考文献

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Norwalk-like viruses. Public health consequences and outbreak management. 2001. Morb. Mortal. Wkly. Rep.50 (RR09) : 1-18
- Yo UEKI, Daisuke S, Toru W, Kazuo A, Tatsuo O. : Norovirus pathway in water environment estimated by genetic analysis of strains from patients of gastroenteritis, sewage, treated wastewater, river water and oysters. Water Reserch 39 4721-4280(2005)
- 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知 “ノロウイルスの検出法について” 平成15年11月5日, 食安監発 1105001号 (2003)
- 野田衛, 西尾治, 山本美和子, 伊藤文明, 池田義文, 松本勝, 萩野武雄: 混合カキ検体からのノロウイルス濃縮操作におけるアミラーゼ処理の有用性: 広島市衛研年報 25 35-43 (2006)
- kageyama.S, Kojima.M, Shinohara.K, Uchida.S, Fukushi.F, B.Hoshino, N.Takeda, K.Katayama : Journal of Clinical Microbiology, 41, 1548 (2003)

宮城県内で分離されたヒト由来サルモネラの血清型 および薬剤感受性 (2005 ~ 2007)

Serovars and Drug Susceptibility of *Salmonella* strain Isolated from Human in Miyagi (2005 ~ 2007)

小林 妙子 高橋 恵美 谷津 壽郎
齋藤 紀行*¹

Taeko KOBAYASHI, Emi TAKAHASHI, Juro YATSU
Noriyuki SAITO

2005年から2007年までに、宮城県内で分離された散発下痢症由来サルモネラ148株および食中毒由来サルモネラ38株について血清型別および薬剤感受性試験を実施した。散発下痢症由来株の血清型は32種類に型別され、血清型別では *Salmonella* Enteritidis (以下 *S. E*) 22株 (14.9%), *S. Typhimurium* 19株 (12.8%), *S. Istanbul* 9株 (12.8%) で全体の約40%を占めた。薬剤感受性試験の結果、薬剤別ではテトラサイクリンの耐性率が高かった。散発下痢症由来株の耐性株は31株確認され、うち *S. Typhimurium* 6株中1株は3剤耐性を示した。感染性胃腸炎の治療に有効なホスホマイシンに対する耐性株が2株確認された。また分離した *S. E* のパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による遺伝子解析の結果、2007年食中毒分離株と2005年、2006年散発下痢症由来株に同一パターンが認められた。

キーワード：サルモネラ；散発下痢症；血清型；薬剤感受性

Key words : *Salmonella* ; Sporadic Diarrhea ; Serovars ; Drug Susceptibility

1 はじめに

サルモネラは代表的な食中毒原因菌の一つである。2000年以降サルモネラ食中毒発生件数は減少傾向を示しているが、2006年の厚生労働省「食中毒統計」では患者数で第1位を占めている^{1), 2)}。ここ数年は大規模食中毒は減少しているものの、学校、福祉施設、病院等での発生が多くみられる。

宮城県では、2005年に介護老人保健施設のグリーンサラダによる *S. Montevideo* 食中毒³⁾ が、2007年には仕出し弁当が原因の *S. E* 食中毒が発生している。また近年、分離されるサルモネラの血清型が多様化傾向にあることや薬剤耐性菌の増加が社会問題となっている。特に欧米では多剤耐性を獲得した *Salmonella* Typhimurium ファージ型 DT104 による食中毒の発生が注目され、その予防対策が課題となっている⁴⁾。

そこで、県内で発生した散発下痢症患者の実態を把握するとともに疫学調査の資料とするため、宮城県医師会健康センターの協力を得て、サルモネラ分離株の血清型および薬剤感受性試験を実施した。さらに分離した *S. E* については遺伝子解析を行い関連性を検討した。

2 材料および方法

2.1 供試菌株

2005年5月から2007年3月までに、宮城県医師会健康センターより分与された散発下痢症由来サルモネラ148株 (2005年度61株, 2006年度41株, 2007年度46

株) および食中毒由来サルモネラ38株を供試菌株とした。また病原微生物検出情報によるサルモネラ検出状況で第一位を占める²⁾ *S. E* 27株についてパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による解析を実施し遺伝子パターンを比較した。

2.2 血清型別試験

市販のサルモネラ診断用免疫血清 (デンカ生研) を用い、スライド凝集反応により O 抗原を、試験管凝集法により H 抗原を決定した。

2.3 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、NCCLS法の規格⁵⁾ に準拠した一濃度ディスク法 (KB ディスク: 栄研化学) によって行った。使用薬剤は、アンピシリン (ABP), セフトラジウム (CAZ), セファロチン (CET), セフェピム (CFP), セフォキシチン (CFX), セフォタキシム (CTX), ホスホマイシン (FOM), イミペネム (IPM), カナマイシン (KM), ノルフロキサシン (NFX), テトラサイクリン (TC) の11薬剤について実施した。

2.4 PFGE による遺伝子解析

HI ブイヨンで一夜培養し Ribot ら⁴⁾ の方法に準じてプラグを作成した。 *Bln I* および *Xba I* で 37°C, 2時間処理した。電気泳動は、1%アガロースゲルを用い泳動時間21時間で CHEF Mapper (BIO-RAD) を用いて行った。泳動後エチジウムブロマイドで染色しバンドパターンを比較した。

3 結果

3.1 分離株の血清型と分離株数

各年度のサルモネラ血清型および分離株数を表1-1,

* 1 現 東北生活文化大学

表1-2に示した。散発下痢症由来株148株のO群別分離株数は、O3, 10群7株, O4群45株, O7群37株, O8群33株, O9群25株, O13群1株であった。血清型は32種類に型別され、*S. Enteritidis* (22株, 14.9%) が最も多く、次いで*S. Typhimurium* (19株, 12.8%), *S. Istanbul* (19株, 12.8%) であった。*S. London*, *S. Typhimurium*, *S. Saintpaul*, *S. Infantis*, *S. Virchow*, *S. Tompson*, *S. E* の7血清型はいずれの年度にも分離されたが、その他は年度によって違いがみられた。

また既知の血清表にない血清型 (O4:d:-, O4:i:-, O7:e, h:-等) が7株分離された。食中毒2事例からは、2005年に*S. Montevideo* 28株, 2007年に*S. E* 8株が分離された。

3.2 分離株の薬剤感受性試験

散発下痢症由来株の血清型別による薬剤耐性パターンと耐性株数を表2-1に示した。

表 1-1 年度別散発下痢症由来株の血清型および分離株数

O抗原	血清型	分離株数 (%)	年度別		
			2005	2006	2007
O3, 10	London	5 (3.4)	3	1	1
	Zanzibar	1 (0.7)			1
	Welterveden	1 (0.7)			1
O4	Typhimurium	19 (12.8)	6	5	8
	Agona	6 (4.1)	3	3	
	Saintpaul	10 (6.8)	4	2	4
	Stanley	2 (1.4)		2	
	Heidelberg	2 (1.4)		1	1
	Schwarzengrund	1 (0.7)	1		
	Schleissheim	1 (0.7)			1
	UT	4 (2.7)	1	2	1
O7	Infantis	10 (6.8)	1	4	5
	Virchow	5 (3.4)	2	2	1
	Tompson	4 (2.7)	1	1	2
	Isangi	1 (0.7)		1	
	Braenderup	4 (2.7)	3		1
	Montevideo	5 (3.4)	3		2
	Postsdam	1 (0.7)	1		
	Bonn	1 (0.7)	1		
	Bareilly	4 (2.7)	1		3
	Livingstone	1 (0.7)			1
	UT	1 (0.7)	1		
	O8	Istanbul	19 (12.8)	12	
Pakistan		3 (2.0)	2	1	
Hindmarsh		2 (1.4)	2		
Korbol		1 (0.7)	1		
Chomedey		1 (0.7)	1		
Bardo		1 (0.7)		1	
Nagoya		1 (0.7)		1	
Hadar		4 (2.7)			4
UT		1 (0.7)		1	
O9		Enteritidis	22 (14.9)	11	9
	Goettingen	1 (0.7)		1	
	Gallinarm	1 (0.7)		1	
	UT	1 (0.7)		1	
O13	Poona/Farmsen	1 (0.7)		1	
計		148	61	41	46

分離した148株のうち、使用した11薬剤のいずれかに耐性を示したのは31株で、耐性率は20.9%であった。血清型別耐性率では、*S. Istanbul* 9株中7株(36.8%), *S. Typhimurium* 19株中6株(31.6%), *S. Saintpaul* 10株中3株(30.0%), *S. Infantis* 10株中3株(30.0%) などであった。耐性株31株のうち単剤耐性は22株(71.0%), 2剤耐性は8株(25.8%), 3剤耐性は1株(3.2%) で、薬剤耐性パターンは6種類認められ、*S. Hadar*, *S. Isangi* は分離された菌株すべてが耐性を示した。*S. Agona* 2株は感染性胃腸炎の治療に使用されるFOMに対する耐性であった。

食中毒由来株の薬剤耐性パターンと耐性株数を表2-2に示した。

2007年の*S. E* 8株のうち1株がFOM, CET, CAZ, CFX, KMの5剤耐性を示した。薬剤別の耐性率を表3に示した。使用した11薬剤のうちTCが18.9%と最も高い耐性率を示し、次いでABP(4.7%), KM(2.7%)

表 1-2 年度別食中毒由来株の血清型および分離株数

O抗原	血清型	分離株数	年度別		
			2005	2006	2007
O7	Montevideo	28	28		
O9	Enteritidis	8			8
計		36	28	0	8

表 2-1 散発下痢症由来分離株の薬剤耐性パターンと耐性株数

血清型	分離株数	耐性株 (%)	耐性パターン			耐性株数
			1剤	2剤	3剤	
Enteritidis	22	1 (4.5)	ABP			1
Typhimurium	19	6(31.6)	TC			4
				ABP,TC		1
					ABP,KM,TC	1
Istanbul	19	7(36.8)	TC			7
Saintpaul	10	3(30.0)	TC			3
Infantis	10	3(30.0)	TC			1
				KM,TC		2
Agona	6	2(33.3)	FOM			2
Hadar	4	4(100)	TC			4
Heidelberg	2	1(50.0)		ABP,TC		1
Isangi	1	1(100)		KM,TC		1
O4:i:-	3	3(100)		ABP,TC		3
計	96					31

表 2-2 食中毒由来分離株の薬剤耐性パターンと耐性株数

血清型	分離株数	耐性株 (%)	耐性パターン
			5剤
Montevideo	28	0	
Enteritidis	8	1(12.5)	FOM,CET,CAZ,CFX,KM

であった。3年間の耐性株の推移をみると、2005年に4株、2006年に9株が確認され2007年には28株確認された。

3.3 PFGE 解析結果

散発下痢症由来株および食中毒由来株の *S. E* 27 株について PFGE 解析を行い、*Bln I* によるバンドパターンを比較した。

分離した *S. E* の代表的泳動パターンを図1に示した。

2005年および2006年の散発下痢症由来4株(レーン4, 5, 6, 7)と2007年食中毒由来7株(レーン9~15)は同一パターンを示した。またバンドが1本違う類似したパターンを示した、2005年散発下痢症由来の2株(レーン1, 2), さらに2006年の2株(レーン3, 8)はそれぞれ同一パターンを示したが、その他はすべて異なるパターンであった。しかし、同一パターンを示した散発下痢症由来と食中毒由来の関係は不明である。

表3 散発下痢症由来株の各薬剤における耐性率

薬剤	耐性株数	年度別			耐性率 (%)
		2005	2006	2007	
ABP	7	1	3	3	4.7
CAZ	0				0
CET	0				0
CFP	0				0
CFX	0				0
CTX	0				0
FOM	2	1	1	0	1.4
IPM	0				0
KM	4	1	1	2	2.7
NFX	0				0
TC	28	1	4	23	18.2
計	41	4	9	28	

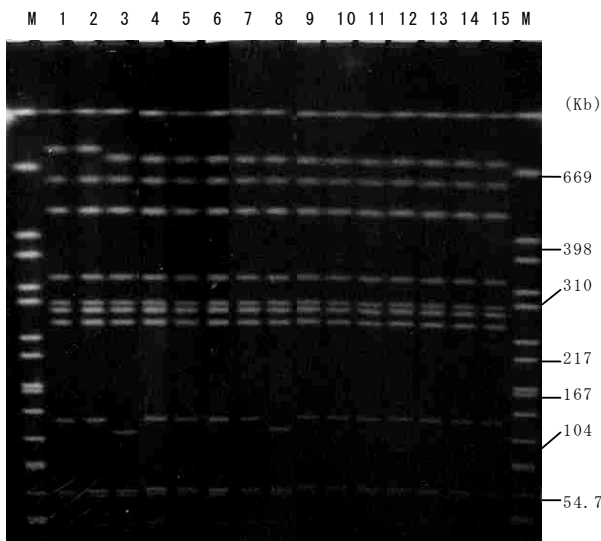


図1 *Salmonella Enteritidis* の PFGE パターン(*Bln I*処理)

レーン 1, 2: 散発下痢症由来株 (2005)
 レーン 3, 8: 散発下痢症由来株 (2006)
 レーン 4: 散発下痢症由来株 (2005)
 レーン 5, 6, 7: 散発下痢症由来株 (2006)
 レーン 9~15: 食中毒患者由来株 (2007)
 M: DNA マーカー Braendrup

4 考察

サルモネラの発生件数は減少傾向にあるが、7, 8月の夏季を中心に発生しており、食中毒事例では洋菓子など鶏卵を原因とする事例⁶⁾も多く、器具等を介した二次汚染による事例⁷⁾も依然として報告されている。

薬剤耐性パターンは血清型によって特徴的であり、竹田ら⁸⁾の報告等で60~76%の耐性を示している *S. E* は、今回の分離株では耐性率4.5%と低い値を示していた。感染性胃腸炎の治療に有効とされる FOM 耐性株は *S. Agona* 2株に認められたが、CTX 耐性株やニューキノロン系薬剤 NFX 耐性株は認められなかった。

また、多剤耐性株として注目されている *S. Typhimurium* ファージ型 DT104 (ABP, CP, SM, TC, Su の5剤耐性) について、さらに薬剤を追加確認する必要があると考えている。

同じ食中毒事例において1株のみが耐性を示し、その他の株はすべて感受性を示したことは興味深い。

近年、国内でも報告されている、*S. Typhimurium* の monophasic variant とされる *Salmonella* 04:i:-株が宮城県内でも3株分離された。この分離株はすべて ABP, TC に耐性であったことから、今後も血清型の分布や耐性菌の動向に注目したい^{9), 10)}。

サルモネラの薬剤耐性率は ABP に20~30%, FOM に10%未満、ニューキノロン系薬剤の耐性はほとんどみられないとされているが、2000年以降フルオロキノロン系耐性株の報告もあり注意する必要がある¹¹⁾。今回、感染性胃腸炎の治療に有効な FOM に耐性を示した株が2株認められたことから、さらに耐性遺伝子の解析やファージ型別について確認する必要があると考えている。

今後も検査機関と連携を取りながら、継続的に散発下痢症患者の実態を把握するとともに、食中毒予防対策に努めていきたい。

5 まとめ

- 1) 2005年5月から2007年3月までの散発下痢症患者から分離されたサルモネラは、*S. E*, *S. Typhimurium*, *S. Saintpaul*, *S. Infantis*が高率に分離された。*S. Infantis*の台頭は特徴的であった。
- 2) 2005年に *S. Montevideo* と2007年に *S. E* による食中毒事件があった。
- 3) 散発下痢症由来148株のうち、31株(20.9%)がいずれかの薬剤耐性を示し、血清型によってバラツキがあり薬剤耐性パターンも特徴的であった。
- 4) 薬剤耐性株数は年々増加傾向にあった。
- 5) *S. E* の PFGE 遺伝子解析では、2007年の食中毒由来株と2005年、2006年の散発下痢症由来4株が同一パターンを示した。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所, 厚生労働省食品安全部監視安全課:病原微生物検出情報「食中毒統計」, 27, 169 (2006)
- 2) 国立感染症研究所:病原微生物検出情報, 27, 191-192 (2006)
- 3) 渡邊節, 菅原直子, 小林妙子, 山田わか, 齋藤紀行, 谷津壽郎, 廣重憲生:保健環境センター年報, 24, 121-125 (2006)
- 4) Original Article:N Engl J Med, 341, 1420-5 (1999)
- 5) The National Committee for Clinical Laboratory Standards:Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Test, Approved Standard 7th ed, 20(1), NCCLS, Wayne (2000)
- 6) 国立感染症研究所:病原微生物検出情報, 25, 79 (2004)
- 7) 国立感染症研究所:病原微生物検出情報, 24, 267 (2003)
- 8) 竹田義弘, 東久保靖, 小川博美:広島県保健環境センター研究報告, 10, 19-27 (2002)
- 9) 山田万希子, 原信行, 白木豊, 松川洋子, 野田伸司:岐阜県保健環境研究所報, 14, 23-28 (2006)
- 10) 国立感染症研究所:病原微生物検出情報, 24, 179-180 (2003)
- 11) 大阪府立公衆衛生研究所:病原微生物検出情報, 25, 99-100 (2004)

イカ塩辛による腸炎ビブリオ食中毒事例

An Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning on Squid guts pickled in salt

加藤 浩之 高橋 恵美 佐々木ひとえ
小林 妙子 菅原 優子 谷津 壽郎
齋藤 紀行*¹

Hiroyuki KATO, Emi TAKAHASHI, Hitoe SASAKI
Taeko KOBAYASHI, Yuko SUGAWARA, Juro YATSU
Noriyuki SAITO

平成 19 年に宮城県で製造されたイカ塩辛を原因食品とした大規模食中毒事件が発生し、患者総数は 620 名で 1 都 8 県に及んだ。食中毒患者便からは従来法で、原因食品からは PCR と K6 免疫磁気ビーズと増菌法を組み合わせた方法で腸炎ビブリオ O3 : K6 耐熱性溶血毒 (TDH) 陽性が検出された。

キーワード：腸炎ビブリオ O3 : K6 ; TDH ; K6 免疫磁気ビーズ

Key words : *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 ; Thermostable Direct Hemolysin ; K6 Immunomagnetic Particles

1 はじめに

平成 19 年度に宮城県（仙台市を除く）において発生した食中毒事件数は 16 件であった。病因物質別ではノロウイルスによるものが 5 件と最も多く、細菌性の食中毒ではカンピロバクター 4 件、ついで腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus* 以下 V.p) 2 件であった。V.p は 1950 年、大阪で発生したシラス大規模食中毒事件の原因菌で藤野により、初めて発見されて以来、小規模な食中毒事件が繰り返された^{1) 2)}。塩釜市内で製造されたイカ塩辛を原因食品とする、本県としては初めて経験した V.p による大規模食中毒事件であった。

2 食中毒事件の概要

平成 19 年 9 月 8 日から 15 日にかけて横浜市、横須賀市、茨城県において V.p による広域食中毒事件が 6 件発生した。いずれの事件でも患者らの共通食が同一施設で製造されたイカ塩辛のみであること。また、患者の便およびイカ塩辛より V.p O3 : K6 を検出したことから、当該原因施設が製造したイカ塩辛を原因食品とする食中毒と断定された。この事例は 1 都 8 県で広域的に発生し、イカ塩辛を食べた 2,050 名中 620 名が、下痢、腹痛、嘔吐などの症状を呈し入院を必要とした (表 1)。

保健所の調査で、汚染経路の特定には至らなかったものの、以下の事実が明らかになった。

- ①温度管理がなされていない製造室で長時間の作業を行っていた。
- ②充填・包装室の空調設備が、8 月中旬から 9 月中旬まで故障していた。
- ③製品の温度管理がなされていなかった。
- ④原料 (イカ耳, イカ腑), イカ洗浄に使用する殺菌海水、

- 製品等に関する定期的な自主検査を実施していなかった。
- ⑤作業手順書, 施設管理に関する記録に不備があった。
- ⑥製造および品質管理体制も構築が不十分であった。

3 材料および方法

3.1 材料

発症者便 3 件, 食品 26 件 (塩辛製品 16 件, 塩辛残品 1 件, イカ耳 1 件, イカ腑 8 件), 拭き取り 11 件およびイカ洗浄に使用する殺菌海水 1 件を検査材料とした。

3.2 培地等

増菌用培地：アルカリペプトン水 (以下 APW ; 栄研化学) 食塩ポリミキシンブイヨン (以下 SPB ; 日水製薬) 分離用培地：TCBS 培地 (日水製薬), クロモアガービブリオ (以下 CV 培地 ; 関東化学)

生化学性状培地：1% NaCl 加 TSI (栄研化学), 1% NaCl 加 LIM (日水製薬), 0, 3, 8, 10% NaCl 加ブイヨン (関東化学)

血清型別試験：腸炎ビブリオ型別用免疫血清 (デンカ生研)

免疫磁気ビーズ：Dynabeads M-280 sheep anti-rabbit IgG (Dynal 社) 免疫磁気ビーズで、これに腸炎ビブリオ免疫血清を混合吸着させたもの

PCR 用プライマー：耐熱性溶血毒遺伝子 (以下 VPD-1.2; Takara 社)

表 1 食中毒事件の概要

発生年月日	2007/9/8
摂食者数	2,050名
患者数	620名
原因食品	イカ塩辛
原因物質	腸炎ビブリオ O3 : K6
原因施設	塩釜市内の魚介類加工業施設

* 1 現 東北生活文化大学

耐熱性溶血毒産生試験：逆受身ラテックス凝集反応（以下 KAP-RPLA；デンカ生研）

3.3 方法

便および拭き取り検査は微生物検査必携の方法³⁾に従い、直接塗抹培養および増菌培養で食中毒菌の検索を行った。食品以外の検体を用いた V.p の検査手順を示した（図1）。海水については V.p 最確数法（以下 V.p MPN）を実施した。

食品からの V.p 検出法 A 法から E 法を示した（図2）。

直接法（以下 A 法）：食品 100g に PBS100ml を加えたものをストマッカー処理後、その 25 μ l を TCBS 培地および CV 培地に直接塗抹し、37 $^{\circ}$ C 18 時間培養後検出する。

増菌法（以下 B 法）：食品 100g に PBS100ml を加えたものをストマッカー処理後、その 1ml を APW に加え 37 $^{\circ}$ C 18 時間増菌培養後 25 μ l を TCBS 培地および CV 培地に塗抹し、37 $^{\circ}$ C 18 時間培養後検出する。

2段階増菌法（以下 C 法）：食品 25g に APW225ml を加え 37 $^{\circ}$ C 6 時間培養後、その 1ml を SPB に加え 37 $^{\circ}$ C 18 時間培養後 25 μ l を TCBS 培地および CV 培地に塗抹し、37 $^{\circ}$ C 18 時間培養後検出する⁴⁾。

PCR+K6 免疫磁気ビーズ法（以下 D 法）：食品 25g に APW225ml を加え 37 $^{\circ}$ C 6 時間培養後その培養液 1ml について PCR を行い、TDH 陽性のものを K6 免疫磁気ビーズに吸着させ、その 25 μ l を TCBS 培地および CV 培地に塗抹し、37 $^{\circ}$ C 18 時間培養後検出する⁵⁾。

PCR+K6 免疫磁気ビーズ増菌法（以下 E 法）：食品 25g に APW225ml を加え 37 $^{\circ}$ C 6 時間培養後、その培養液 1ml について PCR を行い、TDH 陽性のものを K6 免疫磁気ビーズで吸着させ、その 25 μ l に APW1ml を加え 37 $^{\circ}$ C 18 時間増菌培養後 TCBS 培地および CV 培地に塗抹し、37 $^{\circ}$ C 18 時間培養後検出する。

PCR：各菌株を滅菌蒸留水に懸濁後、96 $^{\circ}$ C 6 分加熱し、10,000rpm で遠心した上清をテンプレートとした。Primer は VPD-1, 2 を用い電気泳動後、耐熱性溶血毒（以下 TDH）を確認した。

使用殺菌海水：原液、10 倍、100 倍希釈液について各 3 本を MPN 管で培養した。各 MPN 管から TCBS 培地および CV 培地で V.p を分離し、菌株の生化学的性状確認を行い 100ml 当たりの MPN 値を算出し菌数とした。

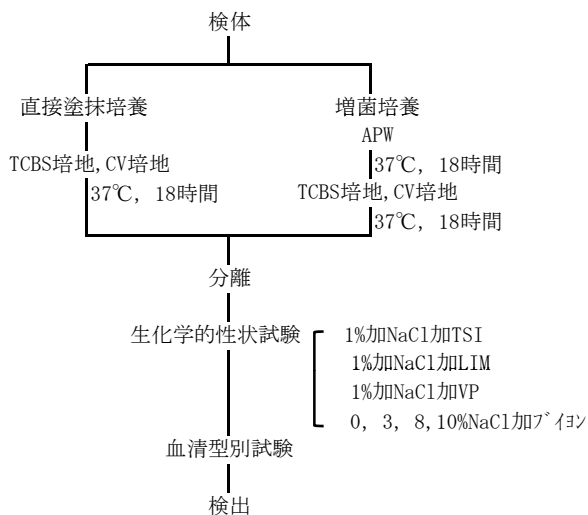


図1 腸炎ビブリオの検出手順

表2 腸炎ビブリオの検出状況

検体の種類	便	食品	拭き取り
検体数	3	26	11
菌検出数	2	1	0

直接法 (A法) 増菌法 (B法) 2段階増菌法 (C法) PCR+K6免疫磁気ビーズ法 (D法) PCR+K6免疫磁気ビーズ増菌法 (E法)

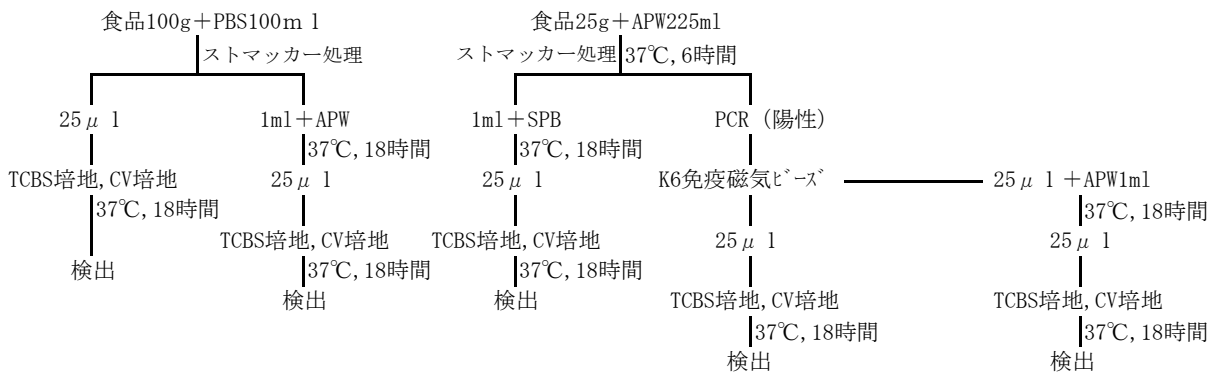


図2 食品からの腸炎ビブリオ検出法

4 結果

患者便3名分について菌検索を行った結果、2名よりV.p O3:K6 TDH陽性を検出した。拭き取りからは検出されなかった(表2)。

使用殺菌海水のV.p MPNは0.3未満/mlで海水からV.pは検出されなかった。

食品(塩辛製品16件、塩辛残品1件、イカ脷8件、イカ耳1件)26件についてA～E法により菌検索を行った結果、A～D法では検出されず、E法のみで塩辛製品1件からV.p O3:K6 TDH陽性を検出した。

5 考察

V.p食中毒事例において、食品からTDH陽性V.pが検出されず原因食品の特定が困難であることから、食中毒予防対策上の大きな問題とされてきた。今回、26品目の食品のうち1件からE法によりV.p O3:K6 TDH陽性を検出した。A～D法では検出できなかったがPCRとK6免疫磁気ビーズと増菌を組み合わせたE法で分離することができた。そのE法でも検出されたのは26件中1件であった。

横須賀市が実施した患者便30件および回収されたイカ塩辛8件(ロット不明)合計38件のV.p検出菌株は、すべて血清型がO3:K6 TDH陽性であり、パルスフィールドゲル電気泳動法でも同一の泳動パターンを示し、菌株の由来が同じである可能性が示された。

保健所の調査では、当該イカ塩辛の原料の受け入れから製品の包装出荷までの何れかの過程でV.pに汚染され、製品は不適切に保管されたうえ、長期間にわたり出荷・流通させたことにより、被害を拡大させたものと考えられた。

当該製品の塩分濃度はV.pの至適塩分濃度である4%

前後、仕込み期間は1日から4日であり、調味腑などによる、いわゆる和え物風のイカ塩辛であった。塩分濃度が約10%を超える、伝統的な長期熟成による保存食としてのイカの塩辛とは異なり、保存性が悪い製品であった。

このような製品については、製造から摂食まで、一貫して徹底した低温管理を行う必要があると思われた。

6 まとめ

- ①患者便3名分について菌検索を行い、2名よりV.p O3:K6 TDH陽性を検出した。拭き取り、使用殺菌海水からは検出されなかった。
- ②食品26件について原因菌検索を行ったところ「イカ塩辛」製品1件からV.p O3:K6 TDH陽性を検出した。

7 謝辞

検体採取及び助言を頂きました食と暮らしの安全推進課、塩釜保健所及び大崎保健所の食品薬事班の方々に感謝いたします。

参考文献

- 1) 秋山昭一：腸炎ビブリオ物語，第1版，1(2004)，(医学書院)
- 2) 三輪谷俊夫：腸炎ビブリオ第Ⅲ集，第1版，2(1990)，(近代出版)
- 3) 厚生省監修微生物検査必携細菌・真菌検査，第3版，D-72(1987)，(日本公衆衛生協会)
- 4) 野池道子，佐々木美江，山口友美，有田富和，畠山敬，齋藤紀行，白石廣行：宮城県保健環境センター年報，19，59-61(2001)
- 5) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針微生物編，第1版，208(2004)，(社団法人日本食品衛生協会)

宮城県の水環境に分布する医薬品類の分析

Analysis of Drugs in Aquatic Environments in Miyagi Prefecture

遠藤美砂子 中村 朋之
畠山 敬 川向 和雄

Misako TAGIRI-ENDO, Tomoyuki NAKAMURA
Takashi HATAKEYAMA, Kazuo KAWAMUKAI

環境水中の医薬品を分析する方法を検討するとともに、宮城県内で採取した下水処理水、畜舎場内水、河川水中の医薬品を分析した。下水処理水からは10種の医薬品が検出された。畜舎場内水からは使用している医薬品が検出されたが、場外に排出されるまでに大幅に減少する傾向がみられた。河川水は、91種の医薬品をスクリーニングし8種の医薬品を検出したが、いずれの医薬品も濃度は3 ppt 以下であった。

キーワード：医薬品；水環境；LC/MS；環境水分分析

Key words : Drugs ; Aquatic environment ; LC/MS ; Water analysis

1 はじめに

近年、新たな水環境汚染物質として医薬品や身体ケア用品が目ざされている。なかでも医薬品は、生理作用をもつものが多く、生体からの排出や未使用医薬品の処理などにより、環境へ放出されることが考えられる。特に抗生物質や合成抗菌剤の環境中への放出は、薬剤耐性菌の発生を引き起こすことが懸念される。環境中の医薬品の存在は、欧米でいち早く調査され、国内では下水処理場水¹⁾や東京都・神奈川県を中心とした地域において河川水²⁾からの医薬品の検出事例が報告されている。本県は畜産業が盛んなこともあり、畜産業由来の医薬品について、その環境中への排出状況を把握しておくことが重要と考えられる。

そこで、県内の下水処理水、畜舎場内水、河川水を採取し、動物用抗菌剤を中心とした医薬品類の分析方法を検討するとともに、それら医薬品の分布状況について調査したので報告する。

2 方法

2.1 分析対象物質

LC/MS分析では、下水処理場水は表1に示すマクロライド系抗生物質5物質を、畜舎場内水は表2に示す4物質を分析対象とした。LC/MS/MS分析では、下水処理水および河川水について動物用医薬品を中心とした表3に示す110物質を分析対象とした。

2.2 調査試料

2.2.1 下水処理水

県内のA下水処理場の処理場流入水および最終沈殿水の2カ所から採水した。

2.2.2 畜舎場内水

県内のB畜舎のラグーン処理水、緩衝池出口、場外排水路、河川流入直後4カ所から採水した。

2.2.3 河川水

宮城県蔵王町松川の図1に示す5カ所から採水した。

2.3 装置および測定条件

2.3.1 LC/MS 測定条件

LCはAgilent 1100シリーズLC/MSDを用い、分析カラムにはAgilent社製ZORBAX SB-Aq(2.1×150 mm, 3.5μm)を用いた。試料注入量は5μl、カラム温度は40℃、移動相は0.1%ギ酸とアセトニトリルのグラジエント溶出とし、流速は0.2 ml/minとした。グラジエント条件は表4(1)に示した。イオン化はESIのポジティブモードで行い、SIM測定により定量した。化合物毎の測定条件は表1および表2に示した。測定中固定した条件は、Nebulizer 圧力:40psi, Drying gas:10L/min;350℃:Capillary Voltage 4500Vに設定した。試料中濃度は標準添加法で、回収率は絶対検量線法で算出した。

2.3.2 LC/MS/MS 測定条件

LCはLC/MSと同様の条件で行い、グラジエント条件は表4(2)に示した。MS/MSはApplied Biosystems API3000を用いた。イオン化はエレクトロスプレー(ESI)によるポジティブモード(POS)ならびにネガティブモード(NEG)で行い、multiple reaction monitoring(MRM)測定により定量した。化合物毎のMRM測定条件は表3に示した。イオンスプレー電圧は5500V(POS);-3500V(NEG)、イオン源温度は450℃、ネブライザーガスは13,カーテングスは11(POS):9(NEG)、コリジョンガスは5に設定した。なお、dwell timeの制限から、LC/MS/MS分析は3系列(POS 2系列, NEG 1系列)で行った。試料中濃度は標準添加法で、回収率は絶対検量線法で算出した。

2.4 固相抽出による試料前処理

2.4.1 マクロライド系抗生物質分析の試料前処理

試料水(下水処理水)にEDTA(200mg/l)を加え、

添加試料についてはさらに1000pptとなるように標準溶液を加えた。濾紙 (glass microfiber filter, Whatman) で吸引濾過後、試料水をコンデショニングした OASIS HLB Plus (Waters) に10ml/分で10分通水した。その後、水10mlで洗浄してから、20分乾燥後、メタノール15mlで溶出し、エバポレータで濃縮乾固した。再度、クロロホルム3mlに溶解し、ディスクフィルターで濾過後濃縮した。200 μ lのメタノールに再溶解し、ディスクフィルターで濾過後、LC/MSに供した。

2.4.2 医薬品一斉分析の試料前処理

試料水にEDTA (200mg/l)を加え、添加試料についてはさらに下水処理水の場合は100ppt、畜産場内水の場合は1000ppt、河川水の場合は10pptとなるように標準溶液を加えた。濾紙で吸引濾過後、試料水を OASIS HLB Plus に10ml/分で通水した (下水処理水および畜産場内水:10分、河川水:30分)。その後、水10mlで洗浄してから、20分乾燥後、メタノール15mlで溶出し、エバポレータで濃縮乾固した。畜産場内水は1mlの水、下水処理水は10ml、河川水は300 μ lのメタノールに再溶解し濾過後、必要であればさらに希釈してLC/MSまたはLC/MS/MSに供した。

3 結果と考察

3.1 分析条件の検討

畜産物の残留動物用医薬品モニタリング検査の条件³⁻⁵⁾を参考として、動物用医薬品の他にクラリスロマイシンやロキシスロマイシンなどの人用抗生物質を追加して検討した。検討した条件は表1~表4に示した。

3.2 前処理法の検討

3.2.1 固相抽出

環境水分析でよく利用される Oasis HLB⁶⁾、Oasis MCX⁷⁾、Autoprep PS@LiqHQ等を用いて検討した結果、Oasis HLBを用いた場合、多くの医薬品を分析することができた。Oasis MCXは塩基性化合物の分析に有効と思われたが、タイロシンなどの分析ができなかった。Oasis HLBは試料夾雑物の精製は十分ではないが、たとえば畜舎で使用されている4医薬品を同時に精製でき、100pptオーダーの濃度であればLC/MSでも分析することが可能であった。

3.2.1 マクロライド系抗生物質の分析

夾雑物の多い下水処理場流入水などの場合、Oasis HLBの精製だけでは、LC/MSでの分析が困難であった。しかし、Oasis HLBメタノール溶出画分を各種の溶媒に再転溶した結果、水やクロロホルムを転溶液にすることで、多くの試料夾雑物を取り除くことができた。マクロライド系抗生物質はクロロホルムへの溶解性が高く⁸⁾、下水から高濃度で検出されるクラリスロマイシン¹¹⁾などがマクロライドであることから、下水処理場流入水を2.4.1の方法により精製し、マクロライド系抗生物質を分析したところ、表1に示す5物質をLC/MSで分析す

ることが可能であった。

3.3 添加回収

絶対検量線法により求めた下水処理水、畜舎場内水、河川水の添加回収率をそれぞれ表5、表6、表7に示した。下水処理水 (表5) は検出された医薬品の回収率のみ示した。LC/MS/MS (前処理は2.4.2)により110の医薬品を分析したところ、下水処理水では78物質、河川水では91物質が本分析法で測定可能であった。回収率が20%以下の場合でも、S/Nが十分に大きければ測定可能と判断した。また、検出下限値 (S/N=3)は下水処理水では10~500ppt、畜産場内水では20~100ppt、河川水では0.3~10pptであった。

3.4 定量および同定

絶対検量線法により求めた回収率からも明らかのように、試料毎に回収率が大きく異なっていた。これは固相抽出における回収量の他に、質量分析におけるイオン促進/抑制によるものと思われ、絶対検量線法では正確な定量値が得られないと考えられる。そこで試料の定量値は標準添加法で算出することとした。また、夾雑物の影響による誤検出を避けるため、検出された物質については、LC/MS/MS分析によって定量用イオンの他に確認用イオンを測定し、そのイオン強度比 (確認用イオンの面積/定量用イオンの面積)を標準溶液と比較して同定した^{3, 8)}。

3.5 実試料の分析

3.5.1 下水処理水の分析

下水処理水からは10種の医薬品が検出された (表8)。そのうち、クラリスロマイシンが最も高濃度 (処理場流入水:1400ppt、最終沈殿水:900ppt)で検出され、他の下水処理場の結果¹⁾と一致した。また、処理場流入水から最終沈殿水の間で濃度が減少する傾向がみられた。下水処理水は最終的に塩素処理⁹⁾され、海へ排出されることから、高濃度の医薬品が河川へ排出される可能性は高くないと考えられる。

3.5.2 畜舎場内水の分析

B畜舎で使用されている医薬品の場内水における残留量を調査した (表9)。ラグーン処理水では、3物質で700ppt以上検出されたものの、場外排水路以降で検出されたのはリンコマイシンのみであった。リンコマイシンも河川流入直後には、大幅に減少 (180ppt)していた。このことから、B畜舎からの医薬品の排出量はあまり多くないと思われる。

3.5.3 河川水の分析

91種類の医薬品をスクリーニングしたが、検出される医薬品は少なく (表10)、濃度も低かった (3ppt以下)。上流付近よりも下流付近の方がやや高い濃度で検出され、種類も多い傾向にあった。採水した河川は、畜舎が多く存在する場所であるが、畜産由来医薬品の河川への流出はあまり多くはないと考えられる。他の地域の河川水からは、スルファメトキサゾール、オキシテトラサイ

クリンなどが100 ppt以上検出された例²⁾があり、この例と比較しても排出されている医薬品は少ないと思われる。

4 まとめ

環境水中の医薬品を分析する方法を検討するとともに、宮城県内で採取した下水処理水、畜舎場内水、河川水中の医薬品を分析した。下水処理水からは10種の医薬品が検出された。そのうち、クラリスロマイシンが最も高濃度に存在した。畜舎場内水からは使用している医薬品が検出されたが、場外に排出されるまでに大幅に減少する傾向がみられた。河川水は、91種の医薬品をスクリーニングし8種の医薬品を検出したが、いずれの医薬品も濃度は3ppt以下であった。採水した河川は、畜舎が多く存在する場所であるが、畜産由来医薬品の河川への流出はあまり多くはないと考えられる。他の地域の河川水と比較しても排出されている医薬品は少ないと思われる。

表1 マクロライド系抗生物質のMS分析条件

医薬品名	モニター時間(分)	SIMイオン(m/z)	Fragmentor(V)
チルミコシン	13-18	435.4	140
エリスロマイシン	13-18	734.5	160
クラリスロマイシン	18-25	748.5	160
ロキシスロマイシン	18-25	837.5	160
タイロシン	18-25	916.5	160

参考文献

- 1) 八十島誠, 山下尚之, 中田典秀, 小森行也, 鈴木穰, 田中宏明: 水環境学会誌, 27, 707 (2004).
- 2) 清野敦子, 古荘早苗, 益永茂樹: 水環境学会誌, 27, 685 (2004).
- 3) 遠藤美砂子, 柳田則明: 分析化学, 56, 317 (2007).
- 4) 遠藤美砂子, 山内一成, 氏家愛子, 柳田則明: 宮城県保健環境センター年報, 24, 63 (2006).
- 5) 遠藤美砂子, 柳田則明: 宮城県保健環境センター年報, 25, 62 (2007).
- 6) M.E.Lindsey, M.Meyer, E.M.Thurman: *Anal. Chem.*, 73, 4640 (2001).
- 7) D.Calamari, E.Zuccato, S.Castiglioni, R.Bagnati, R.Fanelli: *Environ. Sci. Technol.*, 37, 1241 (2003).
- 8) Official Journal of the European Communities: 2002/657/EC, L 221/16 (2002).
- 9) 久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 徳永裕司, 西村哲治: 第44回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 151 (2007).

表2 畜舎場内水分析のMS分析条件

医薬品名	モニター時間(分)	SIMイオン(m/z)	Fragmentor(V)
リンコマイシン	5-12.5	407.2	160
チルミコシン	12.5-18	435.4	140
タイロシン	18-22	916.5	160
バルネムリン	22-25	565.4	140

表4 グラジェント条件

(1) LC/MS			(2) LC/MS/MS		
時間(分)	0.2%ギ酸(%)	アセトニトリル(%)	時間(分)	0.2%ギ酸(%)	アセトニトリル(%)
0	100	0	0	100	0
5	70	30	1	70	30
10	70	30	5	70	30
25	50	50	15	0	100
26	0	100	19	0	100
31	0	100	20	100	0
32	100	0	30	100	0

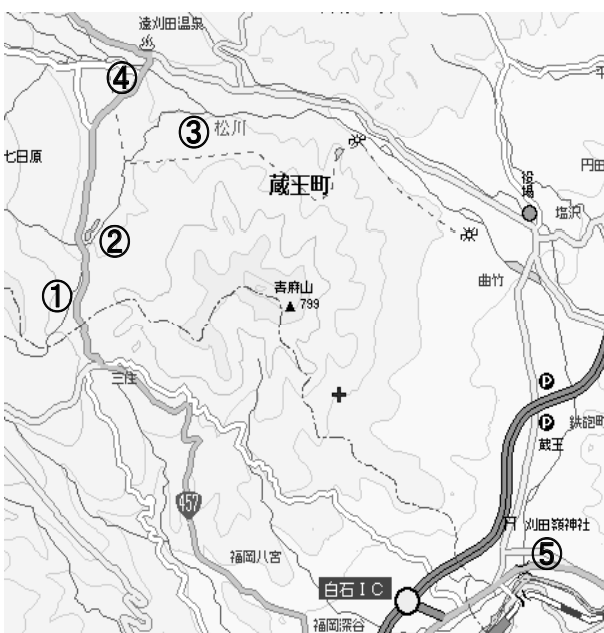


図1 河川水(蔵王町松川)の採水場所

表5 下水処理場水試料における医薬品の添加回収率

医薬品名	分析法	添加濃度(ppt)	回収率(%)	
			処理場流入水	最終沈殿水
エリスロマイシン	LC/MS	1000	50	18
クラリスロマイシン	LC/MS	1000	49	35
ロキシスロマイシン	LC/MS	1000	59	40
オフロキサシン	LC/MS/MS	100	15	57
スルファジアジン	LC/MS/MS	100	45	38
スルファメトキサゾール	LC/MS/MS	100	31	31
スルファピリジン	LC/MS/MS	100	59	31
トリメプリーム	LC/MS/MS	100	44	51
クロラムフェニコール	LC/MS/MS	100	-	130
チアベンダゾール	LC/MS/MS	100	52	53

-:測定不能

* n=3

表3 医薬品のLC/MS/MS一斉分析のMS/MS条件

医薬品名	メソッド名	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Dwell time (ms)	Declustering potential	Focusing potential	Collision energy	Collision cell exit potential
2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	NEG	185.93	138.90	10	-31	-130	-18	-9
クロルスロン	NEG	379.88	343.80	50	-51	-200	-16	-11
クロラムフェニコール	NEG	321.06	152.00	200	-41	-150	-24	-7
クロキサシリン	NEG	434.05	292.90	10	-31	-110	-18	-9
ジクラズリル	NEG	405.06	333.90	10	-46	-190	-26	-11
ジフルベンスロン	NEG	308.96	156.00	150	-36	-130	-14	-13
エトバベイト	NEG	235.89	191.90	10	-46	-170	-30	-15
フロルフェニコール	NEG	355.78	335.80	50	-61	-120	-14	-9
モネシリン	NEG	669.49	87.10	100	-61	-270	-78	-7
ナイカルバジン	NEG	300.88	136.90	10	-31	-120	-16	-9
ニフルステレン酸ナトリウム	NEG	257.92	183.80	50	-41	-160	-18	-13
ナラシリン	NEG	763.53	255.10	10	-41	-160	-46	-15
ベンジルペニシリン	NEG	332.88	192.00	100	-31	-120	-16	-13
フェノキシメチルペニシリン	NEG	349.04	207.90	10	-36	-170	-14	-11
サリノマイシン	NEG	749.51	241.09	10	-66	-290	-48	-13
スルファメトラン	NEG	334.05	136.40	50	-61	-250	-40	-7
トルフェナム酸	NEG	260.01	215.90	50	-46	-170	-22	-11
チアンフェニコール	NEG	353.78	185.00	100	-51	-190	-30	-9
パージニアマイシン	NEG	524.25	245.08	10	-41	-180	-46	-15
アルベンダゾール代謝物	POSA	240.01	198.10	10	61	280	24	14
アンピシリン	POSA	350.06	106.00	20	36	170	29	18
アザペロン	POSA	328.20	165.00	10	46	90	33	10
クロビドール	POSA	191.99	101.10	20	56	240	39	18
シフロフロキサシン	POSA	332.13	288.10	20	66	340	25	18
クロルテトラサイクリン	POSA	479.15	444.10	50	41	180	29	14
ジアベリジン	POSA	261.11	123.20	10	46	270	33	8
ジブチルサキシネート	POSA	231.23	101.08	10	21	130	19	18
ジフロキサシン	POSA	400.23	356.20	10	41	180	29	10
ダノフロキサシン	POSA	358.11	314.20	50	51	230	27	20
ダイアジノン	POSA	305.13	169.13	10	41	180	27	12
エンロフロキサシン	POSA	360.00	316.20	10	46	200	29	18
フルアズロン	POSA	506.10	158.15	10	46	220	29	10
イソメタジウム	POSA	460.21	298.10	100	41	170	33	16
キタサマイシン	POSA	772.61	109.20	10	51	210	61	8
レバミゾール	POSA	204.79	178.20	20	41	200	31	12
マルボフロキサシン	POSA	363.19	320.10	10	46	180	23	20
モランデル	POSA	220.87	123.20	20	46	200	49	8
メロキシカム	POSA	352.08	115.11	10	36	150	31	20
ノルフロキサシン	POSA	320.18	276.10	10	56	240	27	18
ネオスピラマイシン	POSA	699.28	174.20	30	51	240	41	12
オフロキサシン	POSA	362.12	318.20	10	41	180	27	20
オルビフロキサシン	POSA	396.14	352.20	10	46	210	27	10
オルメトプリム	POSA	274.89	123.20	10	41	190	33	22
オキシテトラサイクリン	POSA	461.16	426.10	20	41	180	27	14
フロキサスル	POSA	210.17	111.05	10	21	210	21	20
ピベロニルプトキシド	POSA	356.29	177.17	10	26	130	17	10
ピラントール	POSA	207.01	150.20	50	46	210	39	10
フロベタンホス	POSA	282.12	138.03	30	16	120	25	10
ピリメタミン	POSA	248.77	177.10	10	41	190	41	12
スルファセタミド	POSA	215.07	156.00	10	21	100	15	10
スルファジメトキシ	POSA	311.04	156.10	10	51	240	29	10
スルファドキシ	POSA	311.04	156.10	10	51	240	29	10
スルファジアジン	POSA	251.11	156.00	20	31	140	23	10
スルファグアニジン	POSA	215.10	92.20	30	31	140	35	16
スルファモノメトキシ	POSA	281.08	156.00	50	41	180	25	10
スルファメトキシピリダジン	POSA	281.00	156.00	50	41	180	25	10
スルファメトキサゾール	POSA	254.07	92.20	20	36	180	35	16
スルファピリジン	POSA	250.09	156.00	10	36	160	23	12
スピラマイシン	POSA	843.34	174.30	30	61	300	51	12
サラフロキサシン	POSA	386.03	342.10	10	46	200	27	12
スルファチアゾール	POSA	256.03	156.00	20	31	150	21	10
5-ヒドロキシチアベンダゾール	POSA	201.81	175.00	10	86	260	35	12
チアベンダゾール	POSA	217.90	191.00	20	51	290	37	14
テトラサイクリン	POSA	445.20	410.10	50	41	140	27	12
トリクロルホン	POSA	257.01	127.10	50	31	130	25	22
トリメトプリム	POSA	290.88	230.10	20	51	210	33	16
トリベレナミン	POSA	256.25	211.10	10	36	100	23	20
キシラジン	POSA	221.09	90.20	10	61	180	31	16
アルベンダゾール	POSB	266.01	234.00	10	51	270	29	14
クラリスロマイシン	POSB	748.55	158.24	10	46	180	47	30
ジフラゾン	POSB	361.07	222.10	20	66	290	25	14
ドキシサイクリン	POSB	445.20	98.20	200	46	160	61	18
デキサメタゾン	POSB	435.16	415.10	10	31	140	13	24
エブリノメクチン	POSB	914.54	186.20	20	31	140	23	12
エリスロマイシン	POSB	734.47	158.20	10	51	200	43	12
エトキシキン	POSB	218.26	148.15	10	36	170	33	14
フェノブカルブ	POSB	208.10	95.20	10	31	150	21	16
フルベンダゾール	POSB	313.92	282.00	10	61	290	31	18
ファムフル	POSB	326.05	93.10	10	36	150	41	16
フルメキン	POSB	262.10	202.20	10	36	170	45	14
フルニキシン	POSB	297.11	264.00	10	46	190	47	18
ヒドロコルチゾン	POSB	405.21	327.20	50	46	190	25	10
リンコマイシン	POSB	407.20	82.20	50	31	130	111	16
ロイコマライトグリーン	POSB	331.26	239.30	10	51	210	45	16
メベンダゾール	POSB	296.10	264.10	10	46	200	31	18
マラカイトグリーン	POSB	329.27	208.27	10	41	180	51	20
モキシデガチン	POSB	640.37	528.30	20	26	110	13	18
ナリジクス酸	POSB	232.88	187.20	10	31	170	35	12
ノロピオシン	POSB	613.26	189.20	10	46	200	39	14
オキシベンダゾール	POSB	250.17	218.10	10	46	200	27	14
オキシリン酸	POSB	262.09	216.00	50	31	140	41	14
オキサシリン	POSB	402.03	160.00	50	31	150	19	12
ピロミド酸	POSB	289.14	243.00	10	31	170	41	16
ホキシム	POSB	299.11	129.10	10	26	110	21	20
ロベニジン	POSB	334.09	155.10	10	26	120	31	10
リファキシミン	POSB	786.44	754.40	10	51	240	33	26
ロキシスロマイシン	POSB	837.51	158.25	30	56	290	47	26
ロキサソロン	POSB	264.01	91.05	50	41	170	31	16
スルファベンズアミド	POSB	277.09	156.00	10	26	110	19	10
スルファクロルピリダジン	POSB	285.00	156.00	20	41	200	21	10
スルファジミジン	POSB	279.00	186.00	10	41	200	25	12
スルフィゾール	POSB	240.13	156.04	10	36	150	21	10
スルファメラジン	POSB	265.09	92.20	10	41	210	41	16
スルファメチゾール	POSB	271.07	156.10	10	36	160	23	26
スルファキノキサリン	POSB	301.03	156.00	10	36	170	25	10
チアムリン	POSB	494.29	192.20	10	46	180	29	14
チルミコシン	POSB	869.42	174.30	100	61	320	59	12
テメホス	POSB	467.02	419.10	10	56	240	29	14
タイロシン	POSB	916.52	174.20	10	51	230	55	12
バルナムリン	POSB	565.37	263.10	30	31	140	25	18

表7 河川水（蔵王町松川）試料における医薬品の添加回収率

医薬品名	回収率(%)				
	①大日向橋付近	②秋山沢橋付近	③別荘地奥	④さんさ亭付近	⑤宮大橋付近
2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	94	87	73	86	94
クロルスロン	70	58	54	60	66
クロラムフェニコール	120	100	93	110	110
クロキシサリン	—	—	—	—	—
ジクラズリル	54	46	51	62	52
ジフルベンズロン	63	55	59	79	60
エトバベイト	120	110	69	79	110
フロルフェニコール	74	82	73	84	69
モネンシン	52	61	48	33	44
ナイカルバジン	34	25	25	31	35
ニフルステレン酸ナトリウム	14	—	13	14	25
ナラシン	30	49	30	15	25
ベンジルペニシリン	—	—	—	—	—
フェノキシメチルペニシリン	—	—	—	—	—
サリノマイシン	34	53	35	17	28
スルファニトラン	47	43	48	35	45
トルフェナム酸	69	56	63	90	62
チアンフェニコール	78	71	54	66	70
パーシニアマイシン	66	40	42	—	54
アルベンダゾール代謝物	44	50	51	69	44
アンピシリン	—	—	—	—	—
アザペロン	—	—	—	—	—
クロビドール	67	81	76	36	75
シフロフロキサシン	27	40	45	34	20
クロルテトラサイクリン	54	75	50	93	62
ジアベリジン	25	19	30	30	24
ジフチルサキシネート	—	—	—	—	—
ジフロキサシン	15	34	29	26	21
ダノフロキサシン	—	—	—	—	—
ダイアジノン	10	15	8.8	6.0	12
エンロフロキサシン	12	25	20	18	17
フルアズロン	13	4.2	12	4.6	12
イソメタジウム	—	—	—	—	—
キタサマイシン	28	15	17	9.1	22
レバミゾール	35	21	32	26	29
マルボフロキサシン	6.1	14	12	16	9.8
モランテル	30	25	33	33	31
メロキシカム	38	28	38	41	39
ノルフロキサシン	—	—	—	—	—
ネオスピラマイシン	—	—	—	—	—
オフロキサシン	12	21	19	14	16
オルビフロキサシン	43	65	56	52	69
オルメトプリム	31	25	37	35	28
オキシテトラサイクリン	73	100	86	130	91
プロボキスル	62	44	47	22	71
ピベロニルプトキシド	37	—	24	21	37
ピランテル	29	17	27	27	24
プロベタンホス	43	52	36	27	43
ピリメタミン	26	23	24	31	24
スルファセタミド	36	25	28	37	27
スルファジメトキシ	45	17	18	26	38
スルファドキシ	32	18	17	35	26
スルファジアジン	32	23	25	33	24
スルファグアニジン	54	53	50	32	44
スルファモノメトキシ	54	37	25	44	45
スルファメトキシピリダジン	33	25	20	30	27
スルファメトキサゾール	39	25	19	40	39
スルファピリジン	33	21	20	42	31
スピラマイシン	—	—	—	—	—
サラフロキサシン	20	40	24	32	28
スルファチアゾール	38	28	24	43	31
5-ヒドロキシチアベンダゾール	68	66	75	49	58
チアベンダゾール	72	73	83	54	71
テトラサイクリン	61	84	71	120	67
トリクロルホン	45	44	50	57	70
トリメトプリム	36	26	33	35	35
トリベレナミン	—	—	—	—	—
キシラジン	29	19	31	32	27
アルベンダゾール	42	36	28	22	47
クラリスロマイシン	42	30	30	20	41
シフラゾン	30	24	13	15	38
ドキシサイクリン	—	—	—	—	—
デキサメタゾン	53	55	48	44	51
エブリノメクチン	13	3.9	14	12	12
エリスロマイシン	52	39	32	62	50
エトキシキン	—	—	—	—	—
フェノプロカルブ	50	52	42	26	48
フルベンダゾール	120	74	88	61	100
ファムフル	89	85	72	72	79
フルメキン	42	37	43	27	39
フルニキシ	59	60	61	53	66
ヒドロコルチゾン	52	45	49	42	46
リンコマイシン	48	34	44	42	47
ロイコマラカイトグリーン	—	—	2	—	—
メベンダゾール	159	88	95	85	146
マラカイトグリーン	14	12	14	12	20
モキシデグチン	13	10	13	4	8
ナリジクス酸	117	75	103	42	101
ノビヒオシン	25	18	22	8	15
オキシベンダゾール	63	56	54	49	57
オキシリン酸	115	61	72	79	114
オキサリリン	—	—	—	—	—
ピロミド酸	47	32	45	35	38
ホキシム	—	—	—	—	—
ロベニジン	14	19	12	21	24
リファキシミン	51	38	43	27	47
ロキシスロマイシン	22	20	16	16	19
ロキサソロン	—	—	—	—	—
スルファベンズアミド	140	46	65	82	120
スルファクロルピリダジン	78	49	41	47	73
スルファジミジン	57	43	20	32	42
スルファイソゾール	160	140	99	160	130
スルファメラジン	48	32	32	45	39
スルファメチゾール	41	35	18	34	34
スルファキノキサリン	68	35	32	41	67
チアムリン	19	12	19	25	19
チルミコシン	9.4	14	12	5.5	18
テメホス	—	—	—	—	—
タイロシン	44	33	34	23	42
バルネムリン	28	20	16	10	26

—:測定不能

* LC/MS/MSIによる結果, 10ppt添加, n=3

表 6 畜舎場内水試料における医薬品の添加回収率

医薬品名	回収率(%)			
	ラグーン 処理水	緩衝池出 口	場外排水 路	河川流入 直後
リンコマイシン	79	95	110	120
チルミコシン	43	18	33	-
タイロシン	52	43	60	34
バルネムリン	23	10	32	-

-:測定不能
* LC/MSによる結果, 1000ppt添加, n=3

表 8 下水処理場水中の医薬品

医薬品名	分析法	採水場所における 濃度 (ppt)	
		処理場流 入水	最終沈殿 水
エリスロマイシン	LC/MS	110	ND
クラリスロマイシン	LC/MS	1,400	900
ロキシスロマイシン	LC/MS	110	98
オフロキサシン* ¹	LC/MS/MS	340	260
スルファジアジン	LC/MS/MS	35	18
スルファメトキサゾール	LC/MS/MS	58	47
スルファピリジン	LC/MS/MS	370	340
トリメプリーム	LC/MS/MS	28	23
クロラムフェニコール	LC/MS/MS	-	11
チアベンダゾール	LC/MS/MS	31	44

-:測定不能
ND: 検出下限値未満
*¹ オフロキサシンまたはレボフロキサシン

表 9 畜舎場内水中の医薬品

医薬品名	採水場所における濃度 (ppt)			
	ラグーン 処理水	緩衝池出 口	場外排水 路	河川流入 直後
リンコマイシン	2,300	1,500	770	180
チルミコシン	780	ND	ND	-
タイロシン	790	ND	ND	ND
バルネムリン	ND	ND	ND	-

-:測定不能
ND: 検出下限値未満
* LC/MSによる結果

表 10 河川水（蔵王町松川）中の医薬品

医薬品名	採水場所における濃度 (ppt)				
	①大日向 橋付近	②秋山沢 橋付近	③別荘 地奥	④さんさ 亭付近	⑤宮大 橋付近
クロピドール	ND	ND	ND	ND	0.94
クロラムフェニコール	ND	0.37	ND	ND	ND
スルファモノメキシム	ND	ND	0.41	ND	ND
スルファピリジン	ND	ND	ND	0.82	1.8
フルニキシム	ND	ND	0.51	ND	ND
チアベンダゾール	ND	ND	ND	ND	0.87
プロポキスル	ND	2.8	ND	ND	3.0
ダイアジノン	ND	ND	ND	ND	1.1

ND: 検出下限値未満
* LC/MS/MSによる結果

GC/MS/MSによる残留農薬の一斉分析

Simultaneous Determination of Multiresidue Pesticide using GC/MS/MS

氏家 愛子 長谷部 洋 佐藤 勤
Aiko UJIIE, Hiroshi HASEBE, Tsutomu SATO

各試験機関において残留農薬等を通知で定める試験法以外の方法で試験をする場合に、その試験法が通知法と同等な試験法として妥当かどうかを評価するガイドラインが平成19年11月に制定された。当所では、現在、農薬検査をGC/MS-SCAN, GC/MS-SIM およびLC/MS/MS-MRMによる一斉分析法で実施している。GC/MS測定においては、試験溶液中の夾雑物により定量妨害が生じる場合が多いため、この妨害を低減し、ガイドラインの基準に適合する農薬数を増大することを目的としてGC/MS/MS-MRMによる一斉分析法を検討した。この結果、GC/MS/MSを使用することで夾雑物による妨害を除去することができ、しゅんぎく等夾雑物による定量妨害が大きい試料溶液において有効であることが確認できた。また、試料溶液の定量下限値をGC/MSの1/5である20ng/mLにできるため、試料溶液調製の精製操作において負荷する抽出量を現行法の1/5にすることができ精製効果の向上が期待できた。

キーワード：残留農薬；一斉分析法；GC/MS/MS；GC/MS

Key words：Multiresidue Pesticide；Simultaneous Analysis Method；GC/MS/MS；GC/MS

1 はじめに

ポジティブリスト制度の施行により、平成20年4月現在、800種類を超える農薬等に残留基準が設定されている。当所では平成16年から「緊急時における畜水産食品中の新たな残留物質に関する検査法迅速作成ガイドライン」に準じ、漸次分析対象農薬数の拡大を図って来た。平成19年度には、野菜・果実20品目について329農薬（異性体等含356）を対象に検査を実施し、標準添加回収率が60%～140%（添加量：試料換算0.01ppm）の範囲であった276～314農薬¹⁾の定量を行った。

一方、昨年11月には、各試験機関において、残留農薬等を通知で定める試験法（以下通知法）以外の方法で試験をする場合に、その試験法が通知法と同等な試験法として妥当かどうかを評価するガイドライン²⁾が制定された。ガイドラインのそれぞれの基準を満足する試験法が、通知法と同等な試験法とみなされる。当所のGC/MS-SCAN, GC/MS-SIM およびLC/MS/MS-MRMによる一斉分析法（以下現行法³⁻⁵⁾）では、回収率を60%～140%としているため、ガイドラインによる回収率70%～120%を適用した場合、野菜・果実の定量可能農薬数は大幅に減少する。現行法では、調製した試料溶液についてGC/MSおよびLC/MS/MSにより定量を行っているが、GC/MS測定では試料溶液中に残る夾雑物のピークが目的農薬ピークに重なるなど定量を妨害することが多い。そこで、現在GC/MS測定において、試験溶液中のマトリックスにより生じる妨害を最小限にし、分析精度を上げることを目的としてGC/MS/MS-MRM（Multiple Reaction Monitoring）による一斉分析定量法を検討した。

2 実験方法

2.1 試料

H19年度に行政検査を実施した野菜・果実のうち、しゅんぎく、りんご、レタス、日本なしおよびほうれんそうを使用した。

2.2 装置

- ・GC/MS：Agilent社製6890/5973 inert
- ・GC/MS/MS：Varian社製1200, 8400 Autosampler
- ・LC/MS/MS：Applied Bio Systems社製, API3000

2.3 GC/MS/MS測定条件

- ・GC条件：カラム；DB-5MS (0.25mm i.d. × 30m, 膜厚0.25μm), オープン温度；70℃ (2分) → 25℃ / 分 → 150℃ (0分) → 3℃ / 分 → 200℃ (0分) → 8℃ / 分 → 280℃ (10分), 流速；1.5mL/min, 注入口温度；180℃, パルスドスプリットレス注入；40psi, 注入量；2μL
- ・MS/MS条件：GC/MS測定対象260農薬（異性体等含）のGC/MS/MS-MRM分析条件を最適化してプリカーサーイオン、プロダクトイオン、コリジョンエネルギーを決定し、定量イオン、確認イオンをそれぞれ設定した。Dwell Timeにより1セグメントの農薬数が制限されるため2分析メソッドを作成した。MS/MS条件を表1に示した。

2.4 試料溶液調製

GC/MS測定用試料溶液は、試料20gに各農薬が200ngになるように混合標準溶液を添加し現行法の試料溶液調製法で調製を行った。すなわち、野菜試料はアセトニトリル50mLを加えバイオミキサーで2分間抽出をした後、食塩6gを加えて5分間振とう塩析をし、2500rpmで5分間遠心分離を行う。アセトニトリル層を分取した後、残さにアセトニトリルを25mL加え5分間振とう後遠心分離を行い、アセトニトリル層を合わせて

表1 GC/MS/MS-MRM 測定条件, 検出下限値, 定量下限値および標準添加回収試験結果 (冷凍餃子)

添加量: 試料換算0.01ppm									
メソッド1					メソッド2				
農薬名	定量イオン, 確認イオン () 内数字: コリジ ョンエラー	3S	10S	冷凍餃子 回収率 (%)	農薬名	定量イオン, 確認イオン () 内数字: コリジ ョンエラー	3S	10S	冷凍餃子 回収率 (%)
ジクロロホス	185>109 (15), 185>93 (30)	3	9	63±7.4	イマブ スルフロ	154>98 (25), 154>57 (20)	3	12	63±6.5
EPTC	128>86 (10), 128>43 (10)	3	11	59±8.8	ブ ロバ モカルブ	143>99 (15), 143>71 (20)	5	15	89±140
メヒ ヲフホス	192>127 (5), 192>164 (5)	2	8	89±2.4	アセフェート	136>94 (15), 136>42 (25)	2	7	16±24
エトリン アゾール	211>183 (10), 211>140 (20)	3	9	76±6.7	メタクリホス	208>180 (10), 208>93 (15)	2	6	76±3.5
クロネブ	191>141 (15), 191>113 (15)	3	10	78±2.2	オルトフェニルフェノール	170>115 (30), 170>141 (25)	2	8	81±3.0
イソブ ロカルブ	121>103 (15), 121>77 (20)	2	8	89±3.0	モリネート	187>126 (10), 187>98 (20)	1	4	74±6.2
XMC	122>107 (10), 122>77 (25)	2	7	91±1.7	テラフェン	261>203 (15), 261>231 (10)	1	5	72±5.7
ブ ロバ クロル	176>120 (20), 176>92 (20)	3	9	82±2.4	ブ ロホ キスル	152>110 (10), 110>64 (20)	1	5	81±3.2
ジ フェニルアミン	169>66 (20), 169>168 (15)	3	8	87±2.6	エトブ ロホス	242>158 (10), 242>127 (15)	2	7	87±3.2
ナレド	145>109 (15), 145>113 (15)	1	5	0.0	クロルブ ロファム	127>65 (25), 127>92 (25)	2	6	83±3.2
トリフルアリン	306>264 (10), 264>160 (25)	2	7	89±1.5	ベン フルアリン	292>264 (10), 292>160 (20)	2	5	85±5.5
モノクロトホス	223>97 (10), 223>127 (25)	3	9	120±4.2	カズ サホス	159>97 (25), 159>131 (15)	2	6	83±4.7
ホレート	260>75 (15), 121>93 (6)	3	9	82±1.1	α-BHC	183>147 (20), 183>109 (20)	2	8	77±1.4
ヘキサクロヘンゼン	284>249 (20), 284>214 (25)	4	15	38±5.2	チオマトン	125>47 (20), 125>93 (20)	2	5	66±4.5
ジ クロラン	206>176 (15), 206>124 (25)	3	10	84±3.6	ジ メエート	125>79 (15), 125>47 (25)	3	11	88±4.3
カルホ フラン	149>103 (15), 149>121 (10)	2	7	89±4.1	ブ ロマトン	225>183 (10), 225>168 (15)	1	5	85±1.7
シマジン	201>173 (5), 201>138 (10)	3	10	88±2.7	スウェップ	219>187 (10), 219>174 (15)	2	8	84±2.3
β-BHC	181>145 (15), 181>109 (30)	3	10	89±2.8	アトジン	200>105 (10), 200>132 (15)	1	3	87±3.7
ジ メチリン	124>76 (10), 118>58 (10)	4	12	98±4.2	キントゼン	295>237 (10), 295>265 (15)	2	8	75±3.7
クロマリン	125>89 (15), 125>99 (15)	2	8	89±3.9	クロタロコ	266>168 (30), 266>133 (45)	25	83	82±88
γ-BHC	181>145 (15), 181>109 (30)	3	10	86±1.2	ブ ロバ ジン	214>172 (10), 214>105 (15)	2	7	85±4.7
ブ ロバ タンホス	138>64 (15), 138>110 (10)	2	6	94±5.1	シアホス	243>109 (15), 243>79 (25)	1	4	80±3.4
ホノホス	246>137 (10), 246>109 (20)	3	10	90±2.3	ブ ロヒ ギミド	254>226 (10), 254>191 (15)	3	9	85±4.8
ダ イジ ノン	304>179 (25), 179>122 (25)	3	12	94±2.9	ヒ ロキロン	173>130 (20), 173>144 (25)	2	7	89±3.5
ビ リメタル	198>118 (30), 198>183 (25)	2	8	90±2.6	イサリ ホス	257>162 (25), 257>119 (25)	3	10	83±5.2
ジ スルホト	142>109 (10), 142>81 (15)	2	8	75±5.0	ターバ シル	161>144 (20), 161>88 (25)	3	9	89±0.4
エトリムホス	292>153 (20), 292>181 (10)	3	10	90±3.9	テラトリン	177>127 (15), 177>137 (15)	2	7	82±1.4
トリアレート	268>184 (15), 268>226 (15)	3	10	83±3.2	δ-BHC	217>181 (10), 217>145 (20)	3	10	73±2.5
イブ ロベンホス	204>91 (10), 204>121 (25)	2	7	92±1.7	ヘ ノキサコル	259>120 (15), 259>176 (10)	1	5	84±2.8
チキサ トリニル	103>76 (15), 103>50 (15)	9	29	72±6.5	ホスファミン	264>127 (15), 264>193 (10)	2	7	85±2.7
ジ メナミド	230>154 (15), 230>111 (25)	3	9	95±2.5	ベン フレセート	256>163 (15), 256>121 (20)	1	5	85±1.7
ブ ロバ シル	217>161 (15), 217>57 (20)	2	8	96±1.0	ブ ロモブ チト	232>114 (10), 232>82 (20)	2	5	84±3.5
アセトクロル	223>132 (20), 223>147 (10)	4	13	90±4.1	クロルヒ リホスメチル	286>93 (25), 286>208 (15)	2	6	81±3.8
メトリン ジン	198>82 (20), 198>110 (10)	3	12	92±3.6	トルクロホスメチル	265>250 (15), 265>93 (25)	2	7	84±2.9
ビ ンクロリン	285>212 (15), 285>241 (5)	4	13	89±8.1	シメコナゾール	211>195 (10), 211>121 (15)	2	8	89±6.5
バ ラチオンメチル	263>109 (10), 263>127 (10)	3	11	93±2.8	ヘブ タクロル	272>237 (15), 272>141 (30)	2	7	80±4.4
アラクロル	160>132 (10), 160>145 (20)	2	8	94±2.3	メタラキシル	249>190 (10), 249>146 (20)	2	6	87±6.0
シメトリン	213>155 (15), 213>139 (20)	3	11	90±3.0	フェンクローホス	285>240 (25), 285>93 (25)	3	9	79±3.3
アメトリン	227>170 (15), 227>212 (15)	2	6	92±3.7	ブ ロマリリン	226>184 (10), 226>94 (20)	2	7	84±4.0
シメチリン	123>81 (15), 274>111 (15)	2	6	110±5.1	ヒ リホスメチル	305>125 (5), 305>151 (20)	1	4	85±2.2
ジ チオピル	354>306 (10), 354>286 (20)	2	7	91±1.8	エトフェート	286>207 (15), 286>161 (15)	2	6	85±5.1
フェートロチオン	277>260 (10), 277>109 (15)	2	8	94±2.2	ブ ロマシル	205>132 (30), 205>188 (30)	2	7	86±5.5
テラブ トリン	226>96 (15), 226>136 (10)	3	12	92±3.2	ジ クロフルアト	123>77 (20), 123>122 (10)	3	9	0.0
ブ ロバ ナゾール	159>130 (5), 159>90 (25)	3	9	0.0	エスブ ロカルブ	222>91 (15), 222>151 (10)	2	5	84±4.4
マラチオン	173>99 (15), 173>127 (10)	3	9	87±1.5	キノクラミン	207>172 (15), 207>154 (25)	2	5	79±3.3
メトラクロル	238>162 (20), 238>133 (25)	2	8	91±2.0	クロルヒ リホス	314>258 (20), 314>286 (10)	2	5	82±3.6
アルド リン	263>193 (25), 263>228 (30)	4	13	80±3.4	クロルタールジ メチル	301>223 (20), 301>273 (15)	3	9	80±4.1
チオベン カルブ	257>100 (10), 257>72 (20)	3	9	92±1.8	フェンブ ロビ モルブ	128>70 (15), 128>110 (10)	2	7	85±4.4
ジ メチルピ ンホス (E)	295>109 (20), 295>280 (20)	2	6	95±2.3	バ ラチオン	291>109 (20), 291>137 (10)	1	4	86±7.0
フェンチオン	278>109 (20), 278>125 (25)	3	9	90±2.7	ジ コホール	139>111 (15), 139>75 (30)	1	5	84±2.3
トリアジ メホ	208>181 (10), 208>127 (20)	1	4	93±3.1	フアライト	243>215 (20), 243>177 (20)	2	5	81±3.0
テトラコナゾール	336>204 (30), 336>156 (30)	2	6	92±5.8	ブ ロモホスメチル	331>316 (10), 331>286 (20)	3	8	76±5.0
カルバ タミド	119>64 (20), 119>91 (15)	3	9	110±1.9	ジ フェナミド	239>167 (25), 239>152 (25)	2	6	80±4.6
ニトロタルイソブ ロピ ル	236>194 (10), 236>148 (15)	2	8	93±3.4	ベン ティ メタリン	252>162 (10), 252>191 (10)	1	5	86±4.2
ホスチアレート	195>103 (10), 195>139 (10)	4	12	98±3.2	ヘブ タクロルエホ キシト	353>263 (30), 353>282 (15)	2	7	84±2.2
α-クロルフェンピ ンホス	267>159 (30), 267>203 (15)	3	9	93±3.8	ヘン コナゾール	248>157 (30), 248>192 (20)	2	8	87±5.5
フィブ ロル	367>213 (25), 367>255 (25)	3	9	93±5.1	トリフルアト	238>137 (20), 238>110 (30)	1	5	11±7.2
ジ メタメリン	212>122 (15), 212>94 (30)	2	8	88±2.6	イソフェホス	213>121 (20), 213>185 (10)	2	7	87±2.3
ビ リフェックス (E)	262>91 (15), 262>192 (25)	2	5	86±2.1	チアベン タゾール	201>174 (15), 201>130 (25)	2	6	27±15
β-クロルフェンピ ンホス	267>159 (30), 267>203 (15)	3	10	*	メカルバム	131>74 (15), 131>86 (15)	3	10	88±4.4
アレスリン	123>95 (10), 123>81 (10)	2	8	80±2.6	キャブ タン	149>105 (10), 149>79 (10)	5	18	0.0
エチロピレート	165>111 (25), 165>102 (15)	2	7	83±6.1	フェントエート	274>125 (20), 274>93 (20)	2	7	88±6.6
キナルホス	298>156 (10), 298>190 (20)	2	6	89±5.4	ジ メヒ へレート	145>112 (10), 145>69 (15)	2	6	86±4.4
トリアジ メノール	168>70 (10), 168>112 (10)	2	5	95±3.4	trans-メチド	283>96 (20), 283>255 (15)	1	3	90±4.3
ホルベ ット	260>130 (20), 260>232 (10)	4	14	46±63	trans-クロルデン	375>266 (20), 375>301 (15)	2	8	79±4.3
クロルベン ジド	270>125 (15), 270>127 (20)	3	9	84±1.8	メチチ チオン	145>85 (15), 145>58 (20)	1	3	85±2.9
ブ ロバ ホス	304>140 (30), 304>220 (15)	3	8	88±3.1	ビ リフェックス (Z)	262>192 (20), 262>200 (20)	2	8	85±4.4
テトラクロルピ ンホス	331>109 (20), 331>316 (25)	2	8	90±4.7	メトブ レン	153>111 (5), 153>107 (5)	4	13	25±55

表1 GC/MS/MS-MRM測定条件, 検出下限値, 定量下限値および標準添加回収試験結果(続き)

メソッド1					メソッド2						
農薬名	定量イオン, 確認イオン () 内数字: コリジ ョンエラー		3S	10S	冷凍餃子 回収率(%)	農薬名	定量イオン, 確認イオン () 内数字: コリジ ョンエラー		3S	10S	冷凍餃子 回収率(%)
	添加量: 試料換算0.01ppm										
β-エンドスルファン	241>206(15), 241>170(25)		3	11	88±2.3	パクロトリン	236>125(25), 236>167(15)	2	6	91±4.3	
フルトリアール	219>123(10), 219>95(25)		2	6	85±2.4	グリスケロリン	375>266(20), 375>301(15)	2	7	82±5.7	
ナブロン	271>172(10), 271>128(10)		2	7	89±4.4	ブタクロール	237>160(15), 237>188(15)	2	6	84±3.8	
クロルフェンソール	302>111(20), 302>175(10)		2	8	89±3.5	フェニチン	160>72(10), 160>106(10)	2	6	86±4.6	
プロチオホス	309>239(15), 309>281(10)		3	10	84±2.6	プロチオホス	286>202(15), 286>258(10)	2	7	92±6.9	
フルトリアール	281>173(25), 281>145(25)		1	5	90±3.2	フェニチン	303>260(15), 303>243(15)	3	10	84±5.2	
メトミノストロビン(E)	191>160(20), 191>133(20)		2	8	90±3.2	ヘキサコナゾール	175>111(15), 175>147(15)	2	5	86±4.1	
プロチオホス	262>202(15), 262>174(20)		2	7	90±3.0	トリクラリン	189>161(30), 189>135(15)	1	2	86±5.4	
p,p'-DDE	339>269(15), 339>311(10)		3	9	86±2.2	イマザリル	173>145(25), 173>109(25)	2	7	84±2.9	
プロチオホス	246>176(25), 246>211(15)		2	7	75±3.3	フルジロキニル	248>127(25), 248>154(25)	4	14	80±3.9	
フルシリン	249>106(25), 249>193(15)		4	14	91±4.9	イソプロピル	290>118(15), 290>204(10)	2	7	86±5.9	
フルシリン	233>152(15), 233>165(10)		3	10	89±1.9	イソキサチオン	254>146(10), 254>128(20)	4	14	76±8.4	
カルボキシ	235>143(10), 235>87(20)		1	5	33±4.2	デイルリン	263>193(25), 263>228(25)	4	12	84±8.4	
プロチオホス	316>208(10), 208>164(25)		2	7	93±3.0	ニコチン	234>137(20), 234>165(15)	1	5	89±7.1	
オキシフルフェン	252>146(30), 252>170(30)		4	14	97±3.8	トリプロ	169>57(10), 169>113(10)	2	5	82±3.4	
アザナゾール	173>145(15), 173>109(25)		2	8	93±2.9	オキサジン	344>175(20), 344>302(10)	2	7	85±7.5	
イマザリル	245>144(20), 245>176(10)		3	8	100±3.7	フラムロップ	276>105(10), 276>77(25)	1	4	82±5.3	
シロコナゾール	222>125(20), 222>117(15)		1	5	93±3.0	クロロピ	179>125(10), 179>152(10)	2	7	88±4.9	
クロルフェニル	247>200(30), 247>227(30)		3	11	91±5.8	メトミノストロビン(Z)	238>210(15), 238>195(30)	4	12	89±6.7	
イソキサチオン	313>177(10), 313>130(20)		2	7	98±1.6	クレスチン	116>89(15), 116>63(25)	2	6	85±3.4	
ニコチン	283>162(25), 282>253(15)		3	9	89±3.6	エンドリン	263>193(25), 263>228(25)	3	11	82±4.7	
α-エンドスルファン	241>206(15), 241>170(30)		2	7	86±2.1	フェニチン	293>155(25), 293>198(15)	3	9	84±2.3	
オキサジン	163>132(10), 163>117(25)		2	7	91±1.9	クロロピ	251>139(25), 251>111(25)	2	7	85±4.4	
p,p'-DDD	235>165(20), 235>199(25)		2	6	83±2.1	ヒミノハ	302>256(20), 302>230(15)	2	8	88±4.5	
o,p'-DDT	235>165(20), 235>199(25)		2	6	83±2.1	フェニルホチオン	293>97(25), 293>125(15)	3	9	89±6.4	
フルアクリリム	352>188(10), 352>320(15)		5	18	88±3.5	エチオン	231>129(30), 231>185(15)	2	8	86±3.9	
メロ	119>91(20), 119>65(25)		1	4	99±2.6	スルプロホス	322>156(10), 322>139(15)	1	5	85±5.1	
ベナキシル	148>77(25), 148>105(15)		2	8	91±5.9	トリプロ	161>134(10), 161>106(15)	2	6	90±2.5	
カルボキシ	342>157(20), 342>171(20)		1	4	86±3.1	ヒレトリン	123>81(5), 123>57(15)	5	16	19±4.1	
カルボキシ	312>151(20), 312>195(20)		2	7	91±5.9	クロロピ	317>287(10), 317>236(10)	3	10	86±5.9	
エトフェンホス	310>109(25), 310>173(15)		2	6	95±3.9	シアノフェンホス	169>141(15), 169>77(20)	2	8	87±5.4	
キノキシリン	237>208(25), 237>182(25)		2	7	81±2.7	フルトラリン	145>75(30), 145>95(30)	3	11	85±7.7	
p,p'-DDT	235>165(30), 235>199(20)		3	10	85±2.6	プロチオホス	259>191(10), 259>69(25)	2	7	81±4.3	
ヒラフルフェン	412>349(10), 412>307(25)		1	3	89±1.6	トリプロ	222>130(15), 222>162(10)	3	10	87±4.3	
ヘキサジン	171>71(20), 171>85(20)		1	4	87±2.9	レナリン	153>82(15), 153>135(20)	2	8	88±6.5	
プロチオホス	250>125(20), 250>70(15)		2	7	89±4.6	ヒミノハ	302>256(25), 302>230(20)	3	9	91±5.3	
ジクロロピ	253>162(15), 253>184(15)		2	7	84±4.4	テニルコリン	288>141(20), 288>174(15)	2	8	88±5.3	
ヒメロニル	176>131(15), 176>117(20)		2	5	93±3.5	プロハル	350>201(10), 350>173(15)	3	11	92±4.9	
ヒメロニル	340>199(20), 340>204(10)		2	7	89±2.1	ジフル	266>218(20), 266>238(20)	2	8	120±2.1	
ホス	160>133(15), 160>77(15)		1	4	87±3.2	ヒメロニル	165>108(15), 165>93(25)	2	8	86±5.2	
EPN	157>110(11), 157>139(11)		2	8	95±2.1	クロロピ	313>266(15), 313>268(15)	4	12	91±6.9	
ヒメロニル	320>122(10), 140>98(10)		2	5	87±2.5	プロチオホス	341>183(25), 341>185(15)	3	11	81±5.5	
フェニチン	255>186(10), 255>129(25)		9	30	88±8.3	ヒメロニル	181>166(10), 181>153(10)	2	7	81±2.5	
フェン	265>210(10), 265>89(30)		1	5	88±1.7	メトキシ	227>169(25), 227>184(20)	1	5	84±3.6	
イン	310>139(10), 310>171(20)		2	7	90±2.6	エトキサ	204>176(20), 204>161(20)	4	13	84±6.7	
プロ	333>171(20), 333>276(10)		2	5	84±2.7	ヒメロニル	341>281(15), 341>310(15)	4	13	81±5.7	
フェ	183>168(10), 183>153(15)		2	6	83±4.4	フラメ	298>123(20), 298>176(25)	4	12	88±4.7	
フラ	163>135(10), 163>107(20)		1	4	84±3.3	テ	356>159(15), 356>229(10)	3	10	77±5.8	
サ	182>111(20), 182>102(20)		1	4	89±3.1	ベ	285>70(10), 285>186(30)	2	6	79±3.5	
フラ	296>278(10), 296>263(25)		1	4	72±9.7	ヒ	226>186(20), 226>77(30)	2	6	83±1.7	
ア	293>162(10), 162>132(30)		1	4	58±7.1	シ	208>181(15), 208>152(25)	6	19	82±3.1	
フェ	251>139(20), 251>111(25)		1	3	89±2.9	メ	192>136(20), 192>109(25)	3	9	85±4.9	
ベ	164>107(25), 164>135(20)		2	8	23±6.8	シ	357>256(10), 357>120(20)	3	11	81±3.4	
フェ	361>288(10), 361>261(10)		2	5	88±1.9	ヒ	373>265(10), 373>232(10)	3	9	84±6.1	
フェ	198>129(10), 198>102(25)		1	4	85±2.1	ア	208>181(15), 208>153(20)	2	7	74±5.8	
シ	163>127(7), 163>91(9)		2	8	97±2.2	ヒ	360>194(10), 360>139(20)	3	9	87±3.5	
シ	163>127(7), 163>91(9)		2	7	75±6.5	ベ	163>127(10), 163>91(15)	3	9	76±2.6	
フル	199>107(25), 199>157(10)		2	5	92±1.9	ヒ	147>117(25), 147>132(15)	3	11	84±2.4	
フェ	225>119(15), 225>147(15)		4	12	91±3.5	カ	188>119(25), 188>82(20)	3	11	80±4.1	
フル	250>200(20), 225>208(25)		2	7	85±7.0	ハ	263>129(25), 263>117(20)	3	11	80±4.8	
デ	253>93(25), 253>172(10)		3	9	89±4.3	フル	354>326(10), 354>176(15)	3	9	84±4.4	
ブ					フル						
3S: 検出下限値 (ng/mL), 10S: 定量下限値 (ng/mL), S: 標準偏差 (n=6)					フル						
回収率: 平均値±標準偏差 (n=5)					フル						

無水硫酸ナトリウムで脱水を行う。果実試料は、0.1mol/L 炭酸水素ナトリウム溶液および精製水で pH を中性付近に調製後⁴⁾、野菜試料と同様に抽出（食塩は 12g 添加）して脱水を行う。その後、40℃ 以下で濃縮乾固後、アセトニトリル/トルエン（3/1）3mL で溶解する。直列につないだ Carbograph（上）と SAX/PSA（下）に負荷し、さらにアセトニトリル/トルエン（3/1）2mL でフラスコ内を洗浄して負荷する。アセトニトリル/トルエン（3/1）15mL で溶出後、40℃ 以下で濃縮乾固してアセトン 2mL で溶解し GC/MS 測定用試料溶液とした。また、GC/MS/MS 測定用試料溶液はこの GC/MS 測定用試料溶液をアセトンで 5 倍に希釈調製した。冷凍餃子については、抽出操作を GC/MS 測定用試料溶液調製と同様に行い、抽出溶液を 100mL に定容した後、20mL（現行法の 1/5）を分取して濃縮乾固した。精製以降は現行法と同じに行った。

3 結果

3.1 検量線および定量下限値

GC/MS/MS-MRM 測定の検量線は、農薬を含まない測定対象品目の試料溶液をアセトンで 2 倍に希釈し、この溶液で表 1 に示した農薬混合標準溶液 0ng/mL, 10ng/mL, 20ng/mL, 50ng/mL, 100ng/mL を調製して作成し定量を行った。検量線は二次曲線を用いた。

残留農薬が検出されなかったしゅんぎくの試料溶液で調製した 20ng/mL の混合標準溶液について 6 回繰り返し測定を行い、その標準偏差 (S) から検出下限値 (3S) および定量下限値 (10S) を求め表 1 に示した。TPN, オキサベトリニルおよびフェノキシカルブを除く全ての農薬で検出下限値は 10ng/mL, 定量下限値は 20ng/mL 以下であった。メトプレンおよび TPN は最適化で求めた条件のいずれを使用してもピークが消失して定量ができなかった。しかし、オキサベトリニルおよびフェノキ

シカルブの 20ng/mL のクロマトグラムについては S/N 値 10 以上を十分確保することができるため、メトプレンおよび TPN を除く全ての農薬の定量下限値を試料溶液濃度として 20ng/mL とした。現行法での GC/MS 測定では定量下限値は 100ng/mL（試料換算 0.01ppm）である。

3.2 GC/MS による測定値と GC/MS/MS による測定値との比較

現行法による試料溶液の GC/MS-SCAN, GC/MS-SIM 測定において夾雑物による妨害ピークが大きく検出されたしゅんぎくのトータルイオンクロマトグラム (TIC) を図 1 に示した。また、GC/MS/MS-MRM による測定値と GC/MS-SCAN, GC/MS-SIM による測定値との差を併せて図 2 に示した。TIC において保持時間が夾雑物による妨害ピークと重なる農薬において、GC/MS/MS と GC/MS の測定値の差が大きいたことが判明した。そこで、測定対象全農薬の GC/MS 測定値と GC/MS/MS による測定値との関係について図 2 に示した。しゅんぎくの試験全体(a)においては、GC/MS 測定による回収率が 70%未満または 120%を超える農薬は 53 農薬であったが、GC/MS/MS 測定ではこれらの 53 農薬のうち 33 農薬について回収率 70%~120%を確保することができた。一方、GC/MS 測定値が回収率 70%~120%であった 5 農薬において GC/MS/MS 測定値がこの範囲を逸脱した。そのうちのプロパモカルブについては GC/MS で 86%, GC/MS/MS で 35%でその差が 51%と大きく GC/MS 測定でのマトリックス由来の加算が示唆された。また、GC/MS 測定において夾雑物による妨害ピークと保持時間が重なる農薬を抽出(b)してみると、15~19分, 21分~25分, 29.5~32分の保持時間には 106 農薬が検出されており、そのうち、GC/MS 測定による回収率が 70%未満または 120%を超える農薬は 37 農薬であった。GC/MS/MS 測定ではこれらの 37 農薬のうち 24 農

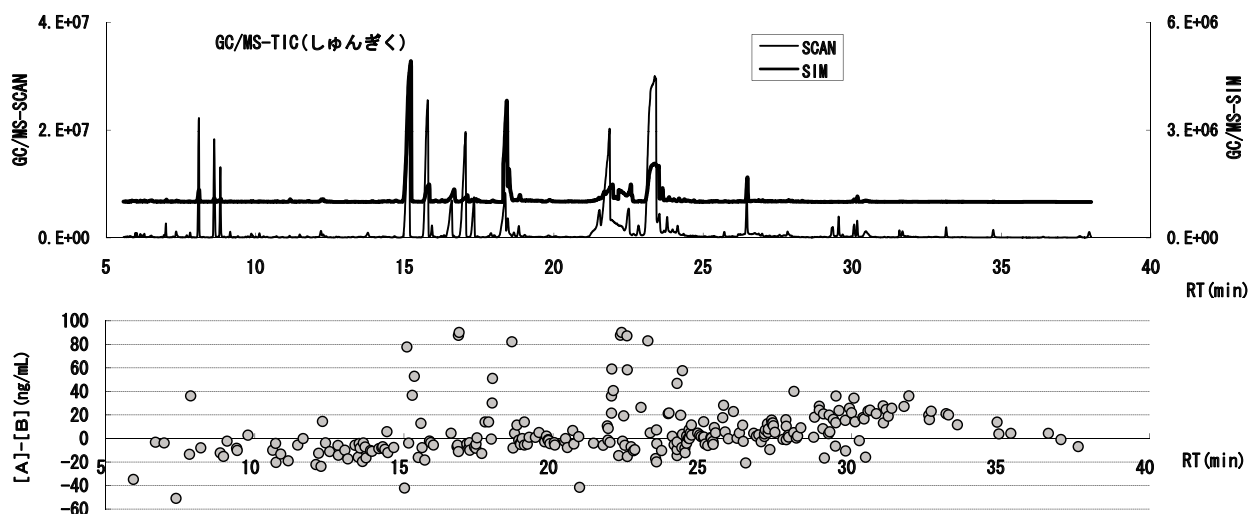


図 1 添加回収試験における GC/MS-TIC と GC/MS/MS および GC/MS による測定値の差
[A] : GC/MS/MS-MRM による測定値, [B] : GC/MS-SCAN, GC/MS-SIM による測定値

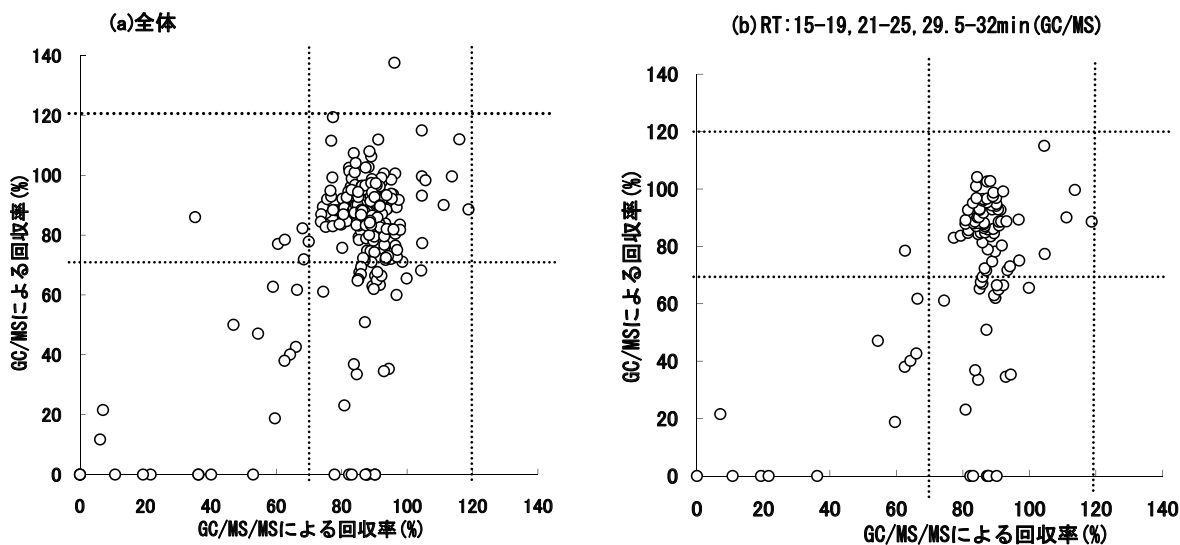


図2 添加回収試験における GC/MS/MS による測定値と GC/MS による測定値の関係 (しゅんぎく)

表2 標準添加回収試験における回収率70%～120%の農薬数

添加量：試料換算0.01ppm

品目	GC/MS測定対象農薬		LC/MS/MS 測定対象農薬
	GC/MS/MS	GC/MS	
レタス	221	223	70
日本なし	227	222	70
しゅんぎく	223	195	69
りんご	230	223	70
ほうれんそう	215	218	68

注1) LC/MS/MSによる定量数は、同時抽出液を従来法により試験を行い回収率70%～120%であった農薬数を参考に示したものである。

薬について回収率70%～120%を確保することができた。これら24農薬は、しゅんぎく全体(33農薬)での73%にあたり、GC/MS/MS-MRM測定が夾雑物による定量妨害を除去するために有効であることが確認された。

しゅんぎく、りんご、レタス、日本なしおよびほうれんそうについて、回収率70%～120%を確保できた定量可能農薬数をGC/MS測定およびGC/MS/MS測定とで比較を行った(表2)。この結果、GC/MS/MS-MRM測定を採用して試料溶液中の夾雑物の影響を除くことにより、5品目の定量可能農薬数は215～230農薬とすることができた。表中LC/MS/MSによる定量数は、同時抽出液を従来法により試験を行い回収率70%～120%であった農薬数を参考に示したものである。

3.3 冷凍餃子中の残留農薬検査への適用

平成20年1月に兵庫県および千葉県で発生した健康被害を発端として、中国産餃子中の高濃度の残留農薬汚染が社会問題化した。当県でも有症苦情が起きたことを受け、本法での冷凍餃子の一斉分析について添加回収試験(添加量:試料換算0.01ppm)を行い検査を実施した。回収試験結果を表1に示した。

冷凍餃子においては、GC/MS/MS測定により226農薬について回収率70%～120%、RSD25%未満を確保することができた。また、同抽出液を用いて検査を行っ

たLC/MS/MSによる測定では56農薬について回収率70%～120%、RSD20%未満を確保することができ、冷凍餃子中の282農薬を検査をすることができた。

有症苦情で検査を行った冷凍食品は餃子やロールキャベツ等5種類であったが、餃子1検体にプロシミドンが0.03ppm検出されたほか全ての検体で検出下限値0.005ppm未満であった。プロシミドンに係る野菜の残留基準値は、にら、にんにくおよびねぎが5ppm、キャベツが2ppm、はくさいが0.5ppm、豚肉筋肉が0.05ppm、しょうがが0.02ppm、小麦粉(小麦として)が0.02ppmであることから、材料比率が不明であるものの、具材として使用された野菜中の残留農薬由来のものと考えられた。

4 まとめ

農薬一斉分析法についてGC/MS測定農薬を対象としたGC/MS/MS-MRM一斉分析の検討を行った。GC/MS/MSを使用することにより夾雑物による妨害を除去することができ、試料溶液の夾雑物による定量妨害の大きいしゅんぎく等で有効であった。また、試料溶液の定量下限値が全ての農薬でGC/MSの1/5である20ng/mLを確保するため、試料溶液調製の精製操作において負荷する抽出液量を1/5にすることができ精製効果の向上が期待できた。

参考文献

- 1) 生活化学部“平成19年度生活化学部検査結果”，宮城県保健環境センター年報，26，107（2008）.
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知“食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当評価ガイドラインについて”平成19年11月15日，食安発第1115001号（2007）.
- 3) 氏家愛子，佐藤信俊：宮城県保健環境センター年報，23，55（2005）.
- 4) 氏家愛子，柳田則明：宮城県保健環境センター年報，24，58（2006）.
- 5) 氏家愛子，長谷部洋，柳田則明：宮城県保健環境センター年報，25，58（2007）.

宮城県内環境試料における PCB の分布と特性

Distribution and characterization of Polychlorinated Biphenyl in Environmental Samples Collected from Miyagi Prefecture

中村 朋之 鈴木 滋*¹ 菱沼早樹子
岩澤 理奈 佐久間 隆 斎藤 善則

Tomoyuki NAKAMURA, Shigeru SUZUKI, Sakiko HISHINUMA
Rina IWASAWA, Takashi SAKUMA, Yoshinori SAITO

一連の研究で確立した全 PCB 異性体分析方法を用い、過去に採取し粗抽出液を保存していた県内大気及び水質試料を対象として、測定を実施した。この結果、県内の PCB 濃度は全国のレベルと比較して同程度であった。環境大気試料では、低塩素化体の濃度が夏季と冬季で逆転し、大気試料採取方法の妥当性について再評価を行ったところ、従来の石英繊維ろ紙及びポリウレタンフォームを用いた方法では夏季において低塩素化体が十分に捕集できていないことが判明した。水環境試料では、3～6 塩素化体の異性体が総濃度に占める割合が高く、カネクロール 300～600 を同じ比率で調製した標準溶液の同族体組成と類似していた。個々の発生源に特有の異性体を選定しクラスター分析を行った結果、試料の類型化が可能であることを改めて確認した。発生源推定手法を実施する前の統計処理として特徴的な異性体を基にした多変量解析による試料の類型化は有効なことが示唆された。

キーワード：ポリ塩化ビフェニル；全異性体分析；環境大気試料；水環境試料

Key words : Polychlorinated biphenyl ; congener-specific analysis ; ambient air sample ; aqueous environmental sample

1 はじめに

我々は平成 14 年度からダイオキシン類のうち、PCDD/DF 類について 4 塩素化体以上の化合物を対象に全異性体分析を行ってきた。一方で PCB は Co-PCB 類と呼ばれる 14 種類の異性体のみ測定を実施してきたが、発生源解明のためには PCDD/DF 類と同様、全異性体分析の実施が必要であると考え、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (HRGC/HRMS) を用いて 209 種類の PCB 全異性体を精確に回収、定量することを目的とした分析手法を確立した¹⁾。

本報では確立した手法を用いて、県内の環境大気及び環境水試料、排ガス試料、PCB 製品 (カネクロール) を対象に分析を実施し、試料中の異性体パターンを明らかにした。得られた異性体組成からは、発生源固有の異性体情報を整理した上で、多変量解析の一つであるクラスター分析を実施し、試料の類型化を試みたので報告する。

2 試料と方法

2.1 試料

2.1.1 環境大気試料

平成 15 から 18 年にかけて、夏季及び冬季に図 1 に示した県内 5 地点 (大河原町、大崎市、塩竈市、東松島市、石巻市) で採取した。試料の採取及び抽出操作は、ダイオキシン類大気環境試料調査マニュアル²⁾に従った。捕集剤は、石英繊維ろ紙 (QFF) 及びポリウレタンフォーム (PUF) を用い、吸引流量 100mL/min で 1 週間サンプリングを行った。

2.1.2 環境大気破過試験確認試料

平成 19 年夏季及び平成 20 年冬季にセンター敷地内にて全 PCB 分析用クリーンアップスパイクをろ紙に添加し、破過試験を実施した。捕集剤は QFF 及び PUF に加え PUF の後段に活性炭フェルト (AF) を加え、吸引流量 100mL/min で 1 週間サンプリングを行った。

2.1.3 水環境試料

平成 17 年の夏季及び冬季に図 2 に示した県内 7 地点 (迫川：西前橋、出来川：小牛田橋、定川：定川大橋、鶴田川：下志田橋、砂押川：多賀城堰、増田川：毘沙門橋、伊豆沼：伊豆沼出口) において 1 試料あたり約 20L 採水した。試料の採取及び抽出は、JIS K 0312 工業用水・工場排水中のダイオキシン類の測定方法³⁾に従った。

2.2 方法

2.2.1 試料の分析方法

分析は既報に従って実施した¹⁾。すなわち、粗抽出液に¹³C でラベル化された PCB の内標準物質 (関東化



図 1 大気試料採取地点



図 2 水質試料採取地点

* 1 現 東北緑化環境保全株式会社

学(株製)を添加し、多層シリカゲルクロマト(和光純薬工業(株製)及びアルミナカラムクロマト(ICN社製)により精製並びに分画を行った。精製後の最終溶液に内標準物質(関東化学(株製)を添加・濃縮後、HT-8 PCB(関東化学(株製)GCカラムを装着したHRGC/HRMS(MAT95XL, Thermo Fisher Scientific社製)により分解能>10,000でPCBを測定した。測定対象の異性体はGCカラム上で分離可能な全ての異性体とした。

2.2.2 統計処理

既報の文献値及びバネクロール(KC)の測定値⁴⁻⁶⁾から発生源に特有の異性体を表1のとおり抽出した。この結果を基に表2に示す異性体及び同族体によってクラスター分析を行った。なお、クラスター分析には、早狩が作成したアドインソフト⁷⁾を使用し、非類似度計算法にはユークリッド平方距離、クラスター結合手法にはウォード法を使用した。

3 結果および考察

3.1 環境大気試料

全平均及び夏季と冬季の各同族体毎の測定結果を表3に示した。比較対象として、環境省が全国を対象として実施しているPOPsモニタリング調査があり、この調査

では幾何平均値による評価を行っている。今回の分析結果による幾何平均値は、夏季211 pg/m³、冬季67 pg/m³であり、平成15年度から実施している温暖期(夏季)170~260 pg/m³、寒冷期(冬季)66~130 pg/m³の環境省の結果⁸⁻¹¹⁾と比較して、同程度の濃度であった。各同族体の分布を観察すると、冬季の1塩素化体の濃度が夏季と比較して高い結果となった。また、冬季は夏季と比較して1~4塩素化体の占める割合が高かった。PCBの大気中濃度が温度に依存することを考慮すると¹²⁾、こうした傾向が観察された原因として、試料採取における捕集剤からの破過が推察された。

個々の発生源に特徴的な異性体を選定して実施したクラスター分析は、夏季及び冬季ともに試料が保存されていた3地点(大河原町、大崎市、石巻市)について実施した(図3)。この結果、季節が分類の要因として抽出された。さらに、石巻地区の夏季の結果が別のクラスターとして分類されたため、異性体組成を観察すると、図4に示したように5塩素化体のPCBが他の地点と比較して高濃度であることが判明した。当該地点は、環境大気中のダイオキシン類濃度の測定を開始した平成13年度からCo-PCB類の濃度が他地点と比較して高く、固定発生源の存在が疑われている¹³⁾。

表1 各種発生源指標異性体

発生源	指標異性体
KC300	#5/#8, #18, #17, #32, #16, #31, #28, #20/33, #22, #44, #70
KC400	#18, #31, #52/69, #43/49, #44, #64/72, #74, #70, #66, #56/60
KC500	#101, #110, #118, #138
KC600	#139/149, #153, #182/187, #174, #180
燃焼系	#2, #3, #11, #12/13, #14, #38, #61, #77, #128/162, #169, #170, #189, #194, #206, #209
CNP	#52/69, #70, #103, #118, #139/149, #138
PCP	#35, #194, #209

表2 解析対象異性体及び同族体

同族体	解析異性体
MoCBs	#2, #3, other ΣMoCBs
DiCBs	#5/#8, #11, #12/13, #14, other ΣDiCBs
TrCBs	#16, #17, #18, #20/#33, #22, #28, #31, #32, #35, #38, other ΣTrCBs
TeCBs	#43/49, #44, #52/69, #56/60, #61, #64/72, #66, #70, #74, #77, other ΣTeCBs
PeCBs	#101, #103, #110, #118, other ΣPeCBs
HxCBs	#128/#162, #138, #139/#149, #153, #169, other ΣHxCBs
HpCBs	#170, #174, #180, #182/#187, #189, other ΣHpCBs
OcCBs	#194, other ΣOcCBs
NoCBs	#206, other ΣNoCBs
DeCB	#209

表3 大気試料分析結果

	全平均	SD	最大	最小	夏平均	SD	冬平均	SD
MoCBs	5.3	4.2	15	0.50	1.8	1.6	8.2	2.2
DiCBs	31	36	208	10	42	49	19	7.6
TrCBs	52	42	185	11	80	43	24	13
TeCBs	40	48	224	4.9	67	56	14	9.7
PeCBs	31	61	291	2.4	55	80	6.8	6.6
HxCBs	8.0	15	72	0.81	14	19	1.9	1.3
HpCBs	1.3	2.1	10	0.19	2.2	2.7	0.35	0.22
OcCBs	0.24	0.41	1.8	0.023	0.41	0.54	0.069	0.051
NoCBs	0.042	0.033	0.15	0.0036	0.057	0.039	0.025	0.017
DeCB	0.032	0.013	0.067	0.014	0.030	0.012	0.033	0.014
T-PCBs	169	175	791	34	264	206	74	39

SD: 標準偏差

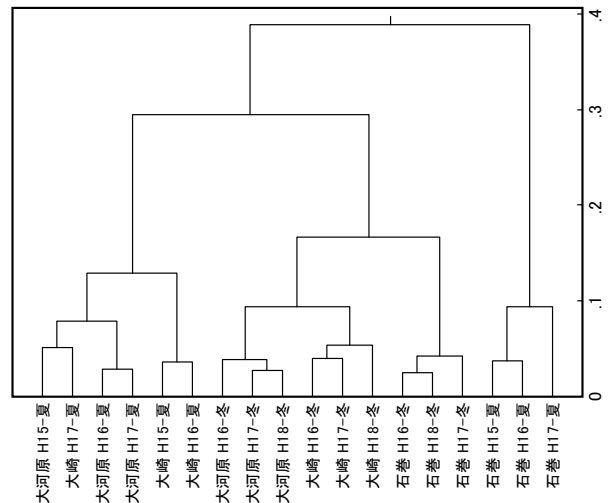


図3 大気試料のクラスター分析結果

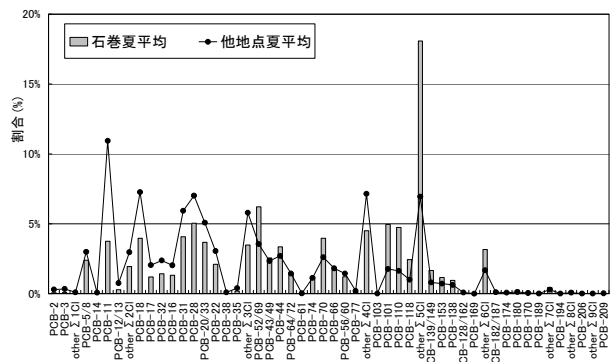


図4 石巻と他地点との組成比較

3.2 環境大気試料の破過試験

3.1で試料採取における捕集剤からの破過が推察されたため、捕集材として大気中のダイオキシン類採取に用いられるQFFとPUFに加え、AFを用いて夏季（採取時平均気温27.9℃）及び冬季（同2.0℃）において内部標準物質の添加回収実験を行った。この結果、図5に示したように低塩素化体がQFF、PUFを破過し、AFで捕集されていたことが判明し、この現象は特に夏季で顕著であった。この結果として夏季における1塩素化体の濃度が低くなったものと推察された。

3.3 水環境試料

全平均及び夏季と冬季の各同族体毎の測定結果を表4に示した。全試料の幾何平均値は、241 pg/Lであった。調査地点が大幅に変更となった平成14年度以降の環境省の水質調査では、幾何平均値は240～630 pg/Lの範囲にあり^{8-11, 14}、今回得られた結果は、過去の結果と比較して同程度であった。

水質環境試料では、今回測定した河川及び湖沼では3～6塩素化体の異性体が総濃度に占める割合が高く、KC300～600を同じ比率で調製した標準溶液の同族体組成と類似していた。この傾向は、これまでに測定された特定の発生源を有さない一般レベルの水環境試料における結果と同様の結果であり^{5, 8-11, 14, 15}、過去に使用され

たPCBによる汚染の実態を反映したものである。いえる。

ダイオキシン類濃度はSSと高い相関があることは報告されているが¹⁶、今回分析したPCB濃度はSSとの相関は $r = 0.53$ であり、ダイオキシン類の $r = 0.89$ と比較して低かった。これは、物理化学的性質の相違に由来するものと推定された。

クラスター分析の結果では、夏季に採取した毘沙門橋が特徴的な結果として分類された（図6）。異性体組成を観察した結果、燃焼系の組成と類似していたことが判明し（図7）、特定の発生源からの影響が推察されたが、冬季に測定した結果は、前述した傾向は観察されず、継続的な汚染ではないことが示唆された。同一地点における採取時期の違いによる分類は、大気環境試料に見られたような季節による明確な分類は観察されなかった。伊豆沼などの冬季における沼水の巻き上がりが観察される地域では、水環境の変化による同族体組成の変化に伴い異なるクラスターへの分類が観察された。

4 まとめ

大気及び水環境中のPCB分析の結果から、県内のPCB濃度は全国のレベルと比較して同程度であった。大気環境試料の分析結果から、ダイオキシン類の分析方法で用いられている採取方法では試料の破過が確認され、

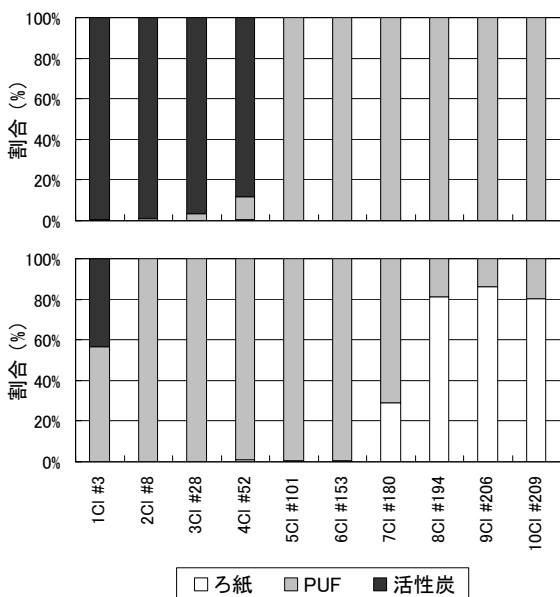


図5 各捕集剤における捕集効率

表4 水質試料分析結果

	全平均	SD	最大	最小	夏平均	SD	冬平均	SD
MoCBs	1.9	0.86	4.2	1.0	1.6	0.61	2.1	1.0
DiCBs	46	59	246	19	68	80	23	4.7
TriCBs	63	49	205	16	80	59	45	30
TeCBs	71	51	181	19	84	59	57	42
PeCBs	57	37	159	24	67	46	46	24
HxCBs	34	22	95	14	39	27	29	17
HpCBs	10	8.5	31	4.2	11	9.3	9.6	8.4
OcCBs	2.3	2.3	8.4	0.75	2.3	1.9	2.3	2.7
NonCBs	0.51	0.44	1.5	0.15	0.53	0.43	0.49	0.49
DeCB	0.47	0.40	1.6	0.15	0.52	0.47	0.42	0.33
T-PCBs	285	196	777	108	355	243	216	114

SD: 標準偏差

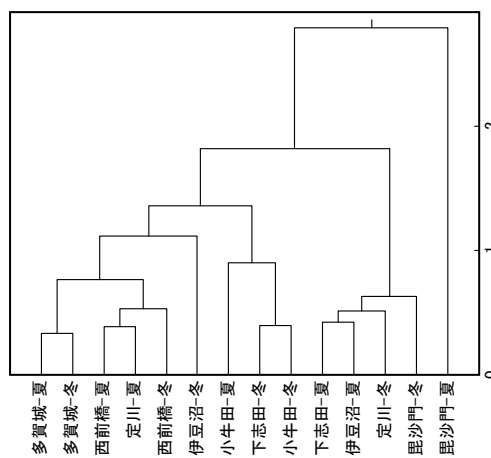


図6 水質試料のクラスター分析結果

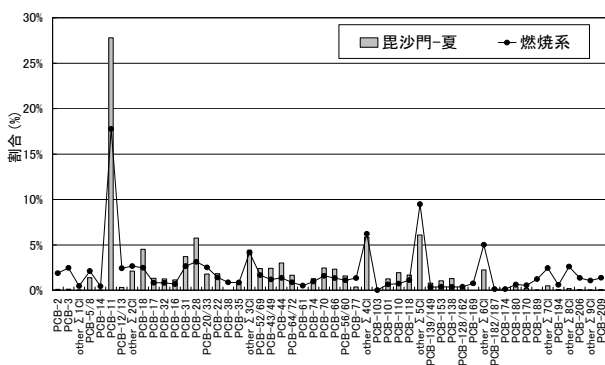


図7 毘沙門橋と燃焼系発生源との組成比較

PCBの採取方法の妥当性について今後検討しなくてはならないことが判明した。各発生源が有する特徴的な異性体を用いてクラスター分析を実施した結果、試料データの類型化が可能となり、各試料が有する異性体組成を反映した結果が導かれた。この結果から、発生源推定手法を適用する際の前処理方法として、多変量解析による試料情報の整理が有効であることが改めて再確認できた。

参考文献

- 1) 鈴木滋, 菱沼早樹子, 中村朋之, 岩澤理奈, 斎藤善則: 宮城県保健環境センター年報, 25, 142 (2007)
- 2) 環境省水・大気環境局: ダイオキシン類に係る大気環境調査マニュアル (2001)
- 3) 日本規格協会: 工業用水・工場排水中のダイオキシン類の測定方法 (2005)
- 4) 橋本俊次, 伊藤裕康: ダイオキシン類による地域環境汚染の実態とその原因解明に関する研究 (H14-16), 環境省環境保全研究成果集 (2005)
- 5) Kyoung Soo Kim, Yusuke Hirai, Mika Kato, Kouhei Urano, Shigeki Masunaga: Chemosphere, 55, 539 (2004)
- 6) 姉崎克典, 山口勝透, 藁庄輔, 岩田理樹, 橋本俊次: 分析化学, 56, 639 (2007)
- 7) エクセルアドイン工房, <http://www.jomon.ne.jp/~hayakari/Statistics.htm> #クラスター分析 (2006.8.25)
- 8) 環境省: 化学物質と環境 (2005)
- 9) 環境省: 化学物質と環境 (2006)
- 10) 環境省: 化学物質と環境 (2007)
- 11) 環境省: 化学物質と環境 (2008)
- 12) 佐々木啓行, 山本央, 阿部圭恵, 吉岡秀俊, 飯村文成, 橋本俊次, 柏木宣久, 佐々木裕子: 環境化学, 17, 27 (2007)
- 13) 加藤謙一, 中村朋之, 菱沼早樹子, 鈴木滋, 斎藤善則, 橋本俊次, 柏木宣久: 全国環境研会誌, 30, 215 (2005)
- 14) 環境省: 化学物質と環境 (2004)
- 15) 二宮勝幸, 倉林輝世, 柏木宣久: 横浜市環境科学研究所報, 29, 70 (2005)
- 16) 加藤謙一, 中村朋之, 清野陽子, 鈴木滋: 宮城県保健環境センター年報, 19, 190 (2001)

酸性雨自動測定に基づく事例解析 (3)

The Case Study based on the Acid Rain Monitoring (3)

仁平 明 高橋 誠幸 中村 栄一
木戸 一博

Akira NIDAIRA, Seiko TAKAHASHI, Eiichi NAKAMURA
Kazuhiro KIDO

既報に引き続き酸性雨自動測定結果について事例解析を行った。やませが吹いたときなどの霧雨は ECp, rH がともに大きく酸性物質による汚染が顕著で、低雲効果が働いていると考えられた。一方、日本海側地域で pH が低下する冬型の気圧配置に関しては、当地域が風下に位置するにもかかわらず降水の rH が小さく pH は低下しない。このとき硫酸塩エアロゾル化学天気図によれば北日本では大陸からの硫酸塩エアロゾル輸送は認められず、太平洋側やませとの気象的共通性から類推して、日本海側地域における pH 低下の原因は低雲効果による地域汚染であるとの仮説が考えられた。また、海塩粒子の影響形態としては、既報告の海上から搬送され大気中に浮遊する海塩粒子が雨水に捕捉されて降雨強度が弱まったときに高濃度化するほかに、寒冷前線通過の際の降雨強度が大きいときにも海塩粒子の影響を受ける場合があることを確認した。

キーワード：汚染導電率；水素イオン比；やませ；冬型気圧配置；海塩粒子

Key words : electric conductivity by pollutants ; relative hydrogen ; YAMASE ; wintry atmospheric pressure distribution ; sea salt particle

1 はじめに

0.5mm 降水毎に pH, EC を連続測定する pH 型酸性雨自動測定機は、信頼性に課題が残るものの時間分解能の高い測定が可能であるため、酸性雨の動的状態を把握する上で有用である。測定結果の評価に関しては、汚染及び酸性化の観点から降水事象を解釈するための指標として、汚染導電率 ECp と水素イオン比 rH を考案^{1) 2)}した。ECp は汚染度、rH は中和度の指標であり、ともに pH, EC から算出できる。更に、これらの指標を用いて大気常時監視データ等と関連付けた事例解析を行ってきたところである^{3) 4)}。ここでは引き続き事例解析を行うとともに、事例解析によって得た知見をもとに、当地域で ECp, rH がともに大きく酸性物質による汚染が顕著なやませ等のとき、日本海側地域における冬型の気圧配置のときの pH 低下に関する気象の共通性について考察する。また、海塩粒子の影響に関する2つの形態を述べる。

2 方法

2.1 解析対象データ等

平成 19 年度酸性雨自動測定結果を対象とした。なお、大気常時監視及び気象の参照データ、並びに酸性雨自動測定地点は既報³⁾と同じである。加えて国環研がホームページで公開している硫酸塩エアロゾル化学天気図 (<http://www-cfors.nies.go.jp/~cfors/index-j.html>) を参考にした。

2.2 ECp と rH

降水の性状に関して、その汚染度及び中和度を推定評価するための指標 ECp と rH については既報^{1)~3)}に記載したとおりである。

3 結果および考察

3.1 温暖前線前面の低雲による低 pH 出現

2007 年 7 月 2 日に梅雨前線上の低気圧が近畿地方から関東南岸へ進んだときの降水で、1.0mm 目に pH3.96 を記録した。そのときの状況として図 1 に 9 時の地上天気図を、図 2 及び図 3 には保健環境センター局（以下「センター局」という。）における pH-EC 図及び pH, EC 等の経時変化を示す。pH 最小値が現れた降水初期は降雨強度の小さい霧雨であった。このときセンター局に近い鶴谷大気常時測定局（以下「鶴谷局」という。）では NO₂ が 8 時前の降り始めと同時に増加し、更に降雨強度が強まった 15 時から再び増加していた。SPM も降り始めは NO₂ と同様に増加し降雨強度の小さい期間は相対的に高い濃度を維持していたが、降雨強度が強まると減少に転じ NO₂ とは異なっていた。rH は図 2, 図 3 のとおり降り始めから次第に増大しており中和が働いていた。しかし、中和が最も大きかった降り始めの 0.5mm 目でも rH は 0.1 であり著しくはなかった。このため ECp が最大となった 1.0mm 目に最小 pH が現れたものである。

図 4 の気象衛星画像によれば、当時は温暖前線前面の三陸から関東沿岸にかけて低い雲が形成されており、前報⁴⁾のやませのときと同じような状態であった。センター局における 2007 年 7~9 月の酸性雨自動測定結果について、1 降雨毎の最小 pH を仙台上空の降水期間中最大硫酸塩エアロゾル濃度と対比すると図 5 のようになる。なお、硫酸塩エアロゾル濃度は 3 時間毎の化学天気図から目的の地点を挟む等値線の間値を読み取り、最小等値線 2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の外側は 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ とした。

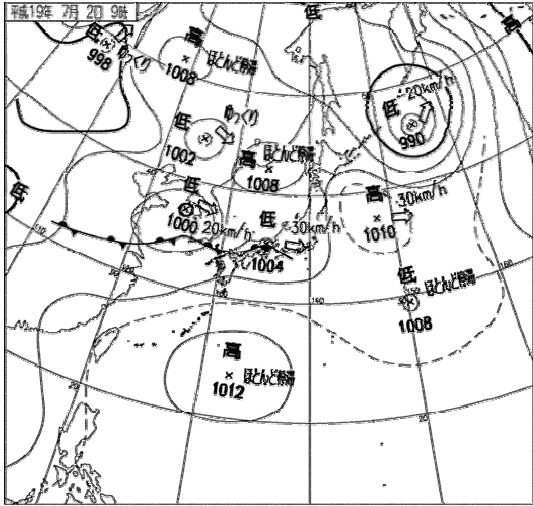


図1 地上天気図 (2007年7月2日9時) 気象庁HPから引用

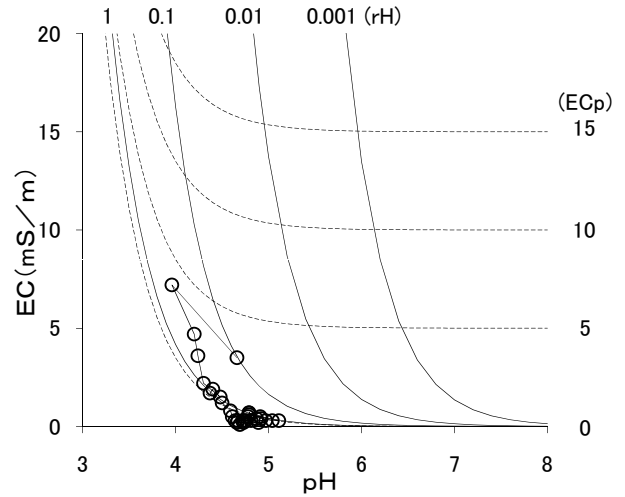


図2 pH-EC図 (センター局, 2007年7月2~3日)

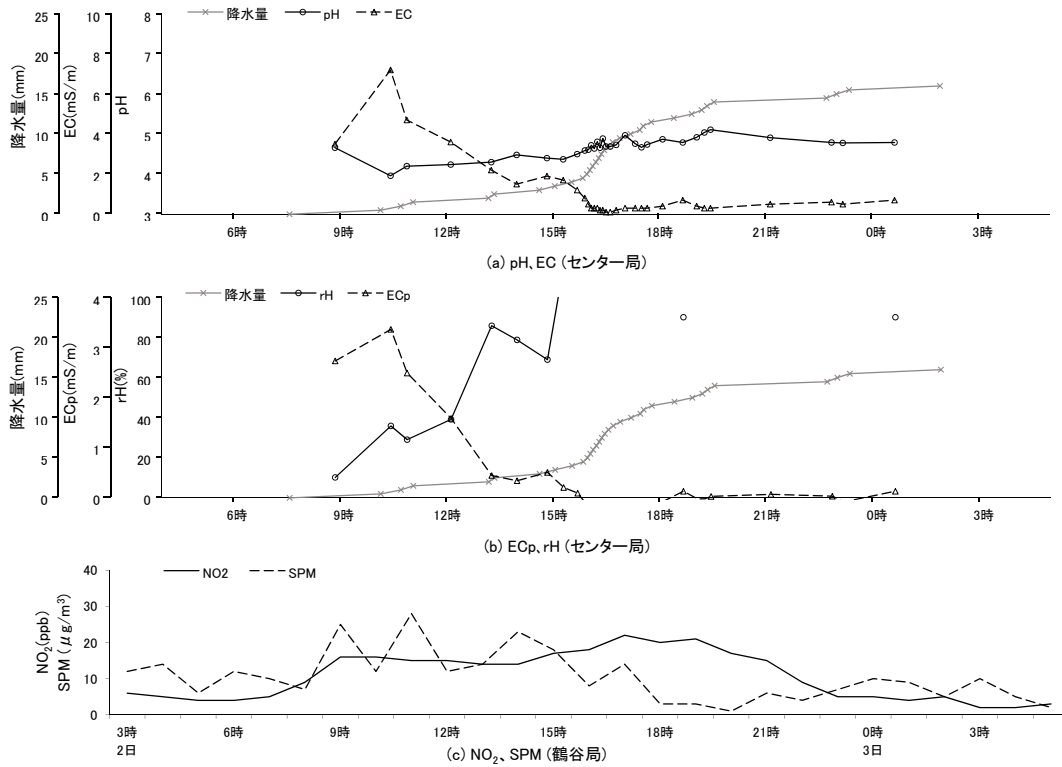
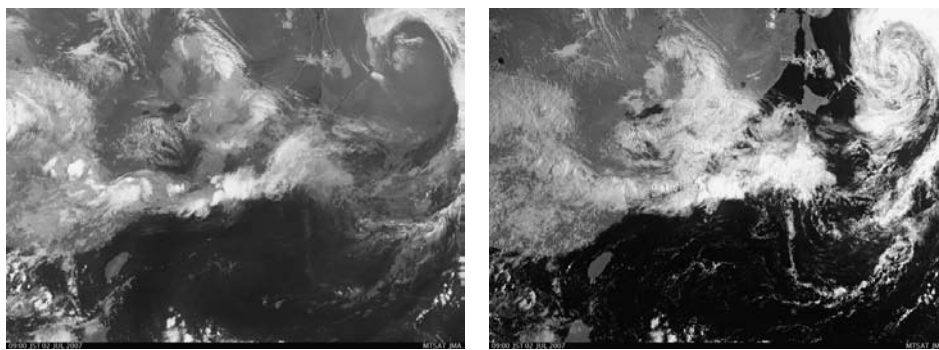


図3 経時変化図 (2007年7月2~3日)



(a) 赤外画像

(b) 可視画像

図4 気象衛星画像 (2007年7月2日9時) 気象庁HPから引用

図5では●印のやませによる降水は○印の他の降水に比べ酸性化がより進んでいる。やませはオホーツク海高気圧から大気の下層に流れ込んだ冷たく湿った風であり、東北地方の太平洋沿岸海上に奥羽山脈を越えられない低い雲ができる。▲印の降水は本事例のように温暖前線前面に雲頂高度の低い雲ができたときで、やませ同様に酸性化が進んでいる。低い高度に雲ができる場合は、地域から排出された汚染物質が拡散の進む前の比較的濃度の高い状態で雲水に影響し、酸性化を促進させることが推測される。これを「低雲効果」と呼ぶことにする。

なお、鶴谷局のNO₂が降り始めと同時に増加していたことは、雲底下の大気が安定な状態で汚染物質の濃度が高まり、SO₂や大気汚染性のエアロゾルは雲粒に取り込まれて雨水の酸性化に寄与したのに対し、NO₂は雨水に取り込まれず大気中に残存した⁵⁾もので、低雲効果の一つの証と考えることができる。

3.2 冬型の気圧配置による降水と日本海側地域のpH低下に関する考察

日本海側でpHが低下する西高東低の気圧配置⁶⁾のとき、日本海側で発生した雪雲が風下の当地域に流入しているにもかかわらず、降水のrHは小さくpHは低下しないことを既に報告⁴⁾した。平成19年度も2007年11月21～22日と2008年2月23～24日に冬型の気圧配置によるみぞれ又は降雪があったが、先行事例と同様rHは小さくpHは高かった。

ところで、典型的な冬型の気圧配置による天気は、図6に示したようにシベリアからの寒気の吹き出しによって日本海上に奥羽山脈を越えられない低い雪雲が形成され、日本海側は雪、太平洋側は晴である。図6の場合に注目したいのは、化学天気図において北日本のNW季節風が卓越する領域では硫酸塩エアロゾル濃度が最小等値線未満ということである。このことを長期的に確認するために、2008年1月について海岸部の新潟地方気象台及び内陸の山形地方気象台における時間降水量と、3時間毎の硫酸塩エアロゾル化学天気図から読み取ったそれぞれの気象台上空の硫酸塩エアロゾル濃度の時系列を図7に示した。エアロゾル濃度の読み取り方は前項と同じである。図7で西高東低欄の灰色の帯は冬型の気圧配置のときで、硫酸塩エアロゾル濃度はほとんどが最小等値線未満である。5～12日のように大陸起源と思われる硫酸塩エアロゾルの濃度が増加したときの降水もあるが、冬型の気圧配置に関しては硫酸塩エアロゾル濃度が低いのが一般的のようであり、大陸の影響というpH低下の根拠は成立していない。

大塚⁷⁾は宮城県側の山形県境で1日単位のサンプリングを行い、奥羽山脈鞍部の宮城県内陸では冬型の気圧配置のときに日本海側から雪雲が流入するため降雪中のイオン成分は日本海側と類似し、SO₄²⁻濃度が高くpHは低いことを示している。図7の事実を踏まえれば、一般的にいわれているようなSO₄²⁻の起源を大陸に求めるこ

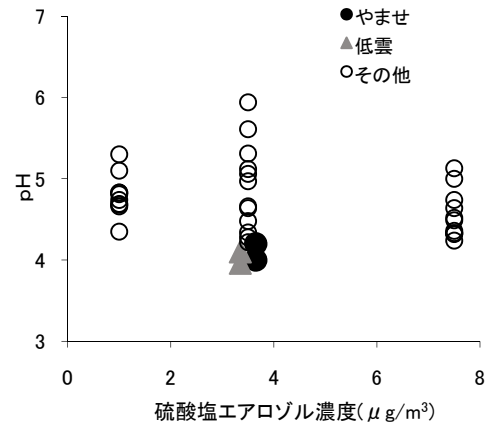


図5 1降水当たりの最小pHと化学天気図による硫酸塩エアロゾル最大濃度との関係(センター局, 2007年7～9月) 総降水量0.5mmのやませ, 低雲を除く

とは困難である。このことを説明するには新しい考え方が必要となる。

先に述べたように、太平洋側地域ではやませのときなどに奥羽山脈を越えられない低い雲ができ、低雲効果によって低pH高ECが出現するとの推論を行った。日本海側の冬期には図6のように、冬型の気圧配置のときに日本海上に奥羽山脈を越えられない低い雪雲が形成され、このときにpHが低下している。この意味において太平洋側のやませと気象的条件が共通しており、仮説として日本海側では冬型の気圧配置のときに低雲効果が働いて地域汚染によりpHが低下し、奥羽山脈鞍部から宮城県内陸に流入する下層の雪雲は低雲効果が働いたものであるため日本海側と類似の性状を示すが、奥羽山脈を越えて太平洋沿岸に流入する雪雲にまでは低雲効果が及ばずpHは低下しないことが考えられた。

3.3 海塩粒子の影響事例

図8に2008年3月14日21時の地上天気図を示した。日本海中部を北東に進む低気圧からのびる前線が東北地方を通過したときで、センター局では14日11時半頃から24時前の間に6.5mmの降水があった。図9のpH-EC図において、この雨でECpが増加した時のpHはほぼ一定であり、海塩粒子が影響していたとみられる。

図10はセンター局におけるpH、EC及び風の経時変化である。本降水では終始pHが高かったためECpはECと同じとみなしてよい。ECは降り始めの3.0mmは小さかったが、降雨強度が大きくなった21時過ぎに急激に増大し、その後減少しながら降水は終わっている。なお、このときは降水中のEC急増に伴うSPMの増加はみられなかった。

センター局の風は、EC急増前はS寄り、降水終了後はNW寄りに転じており、降水終期の降雨強度が大きくなったときに風向きが変わっていた。図11の風分布によれば、降雨強度が大きくECが増加した期間の22時は破線で示した線状の地域でSSWの風が吹き、その

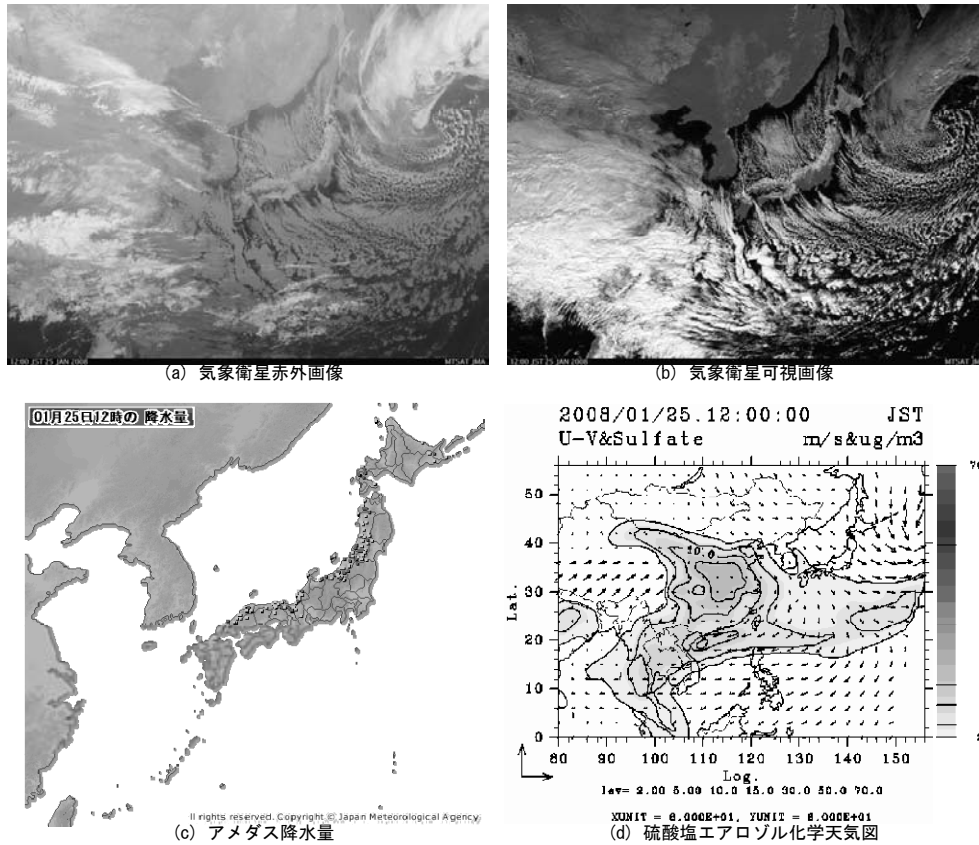
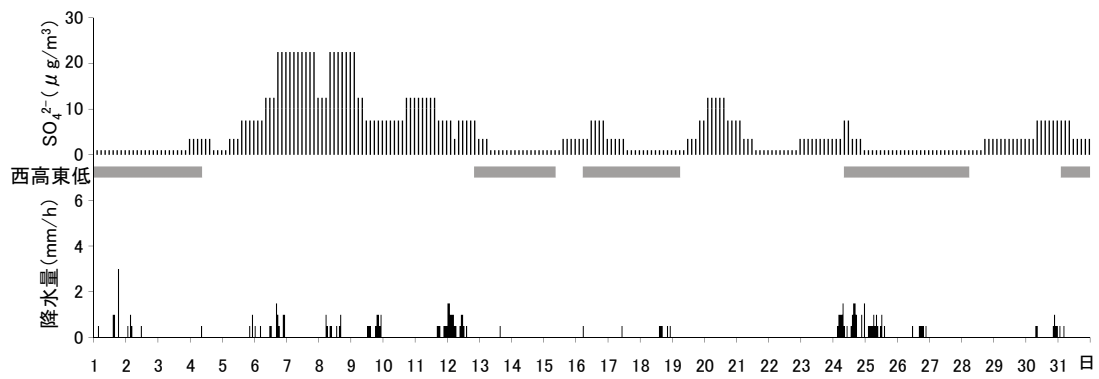
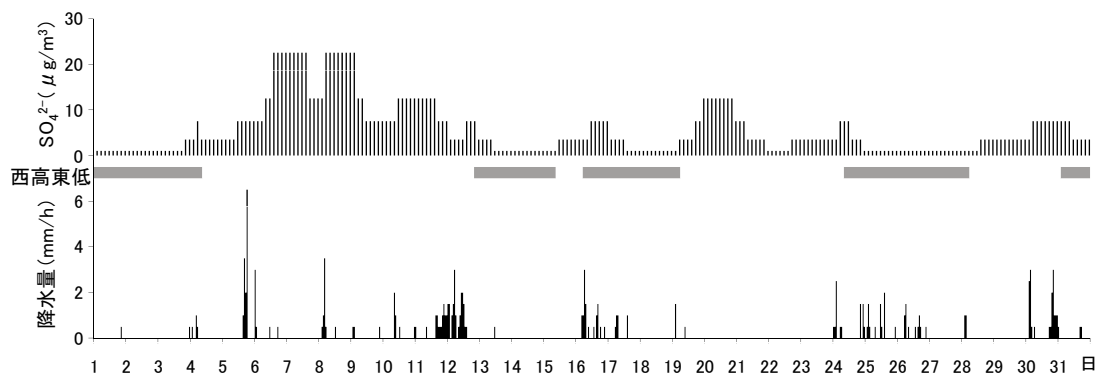


図6 冬型気圧配置における気象状況(2008年1月25日12時) 気象庁HP及び国環研HPから引用



(a) 山形地方気象台



(b) 新潟地方気象台

図7 冬型気圧配置と降水量, SO_4^{2-} エアロゾル濃度の関係(2008年1月)

西側はNW風、東側はSE風となっている。破線が寒冷前線で東西から風が吹き込むため、時系列的には寒冷前線の東進により風向きが変わったのである。

これまで報告した海塩粒子影響事例は海上から搬送された海塩粒子が雨水に捕捉され、降雨強度が弱まったときに雨水中で高濃度化してEC_pが増大するとともに、大気中においてもSPMとして検出される形態であった³⁾。本事例の場合は寒冷前線通過時の降雨強度が大きくなったときに降水中のECは急増したが、大気中のSPMは増加していない。活発な前線活動により南方海上で雲粒に取り込まれた海塩粒子が寒冷前線面をSSW風によって当地域に輸送されたもので、そのために大気中SPM濃度の増加は伴わなかったと解釈される。海塩粒子の影響はウォッシュアウトとレインアウトの異なる2つの形態で起きている。

4 まとめ

既報に引き続き、pH型酸性雨自動測定結果について汚染度及び中和度の指標であるEC_p及びrHを導入して事例解析を行ったところ、次の結果を得た。

- (1) 当地域では、やませが吹いたときや温暖前線の前面で低い雲が形成されたときは、EC_p、rHがともに大きく酸性物質による汚染が顕著な霧雨が降る。その原因として、低い高度に雲ができる場合は、地域から排出された汚染物質が拡散の進む前の比較的濃度の高い状態で雲水に影響し、酸性化を促進させることが推測された。これを「低雲効果」と呼ぶことにする。
- (2) 日本海側地域でpHが低下する冬型の気圧配置のとき、奥羽山脈鞍部の宮城県内陸では日本海側から雪雲が流入するため降雪中のイオン成分は日本海側と類似し、pHは低下するが、同じ風下でも太平洋沿岸地域では日本海側で発生した雪雲が流れ込んでいるにもか

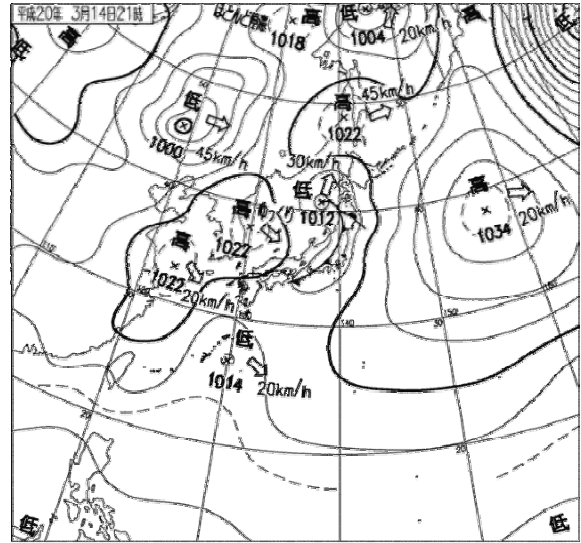


図8 地上天気図(2008年3月14日21時) 気象庁HPから引用

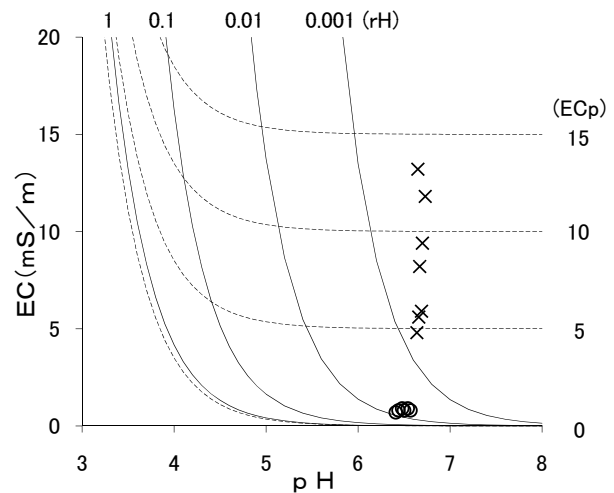


図9 pH-EC図(2008年3月14日)

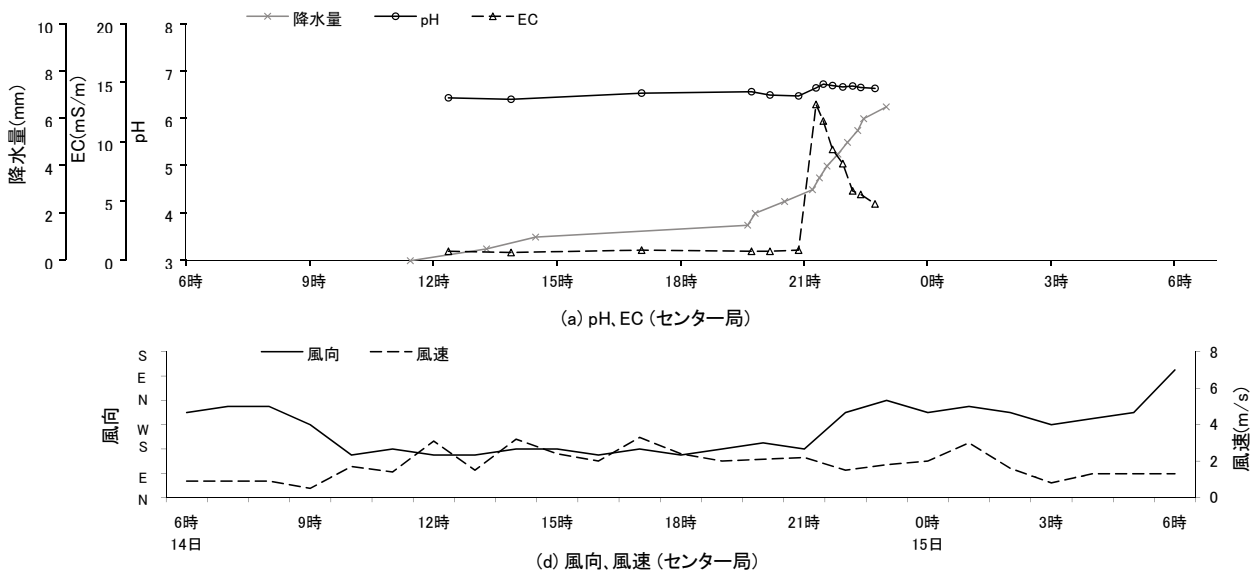


図10 経時変化図(2008年3月14~15日)

かわらず，降水の rH は小さく pH は低下しない。硫酸塩エアロゾル化学天気図によれば，大陸起源と思われる硫酸塩エアロゾルの濃度が増加した期間中の降水もあるが，日本海側で pH が低下する冬型の気圧配置のときは大陸からの硫酸塩エアロゾル輸送は認められず，大陸の影響という pH 低下の根拠は成立していない。太平洋側やませとの気象的共通性から類推して，pH 低下の原因は低雲効果による地域汚染であるとの仮説が考えられた。

- (3) 海塩粒子の影響形態としては，海上から搬送された海塩粒子が雨水に捕捉され降雨強度が弱まったときに高濃度化して EC_p が増大し，大気中においても SPM として検出されることが多いことを既に報告している。もう一つの形態として，寒冷前線通過時の降雨強度が大きくなったときに降水中の EC_p が急増する事例を確認した。この場合は大気中 SPM 濃度の増加は伴っていなかった。活発な前線活動により南方海上で雲粒に取り込まれた海塩粒子が寒冷前線面を SSW 風によって当地域に輸送され，降水として降下したものと考えられた。海塩粒子の影響はレインアウトとウォッシュアウトの異なる2つの形態で起きている。

参考文献

- 1) 百川和子，小島秀行，仁平明，氏家愛子，斉藤達夫：宮城県保健環境センター年報，9，81 (1991)
- 2) 仁平明，榎野光永，中村栄一，佐久間隆，木戸一博，須藤構造：宮城県保健環境センター年報，16，68 (1998)

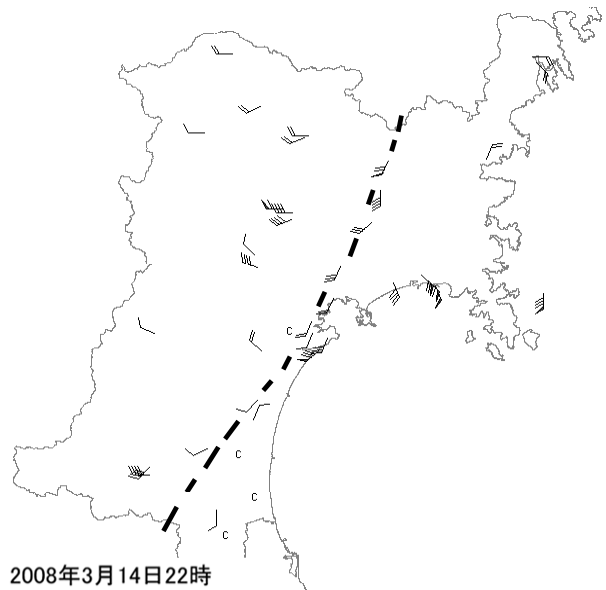


図 11 風分布

- 3) 仁平明，高橋正人，中村栄一，北村洋子，加賀谷秀樹：宮城県保健環境センター年報，24，84 (2006)
- 4) 仁平明，木立博，高橋誠幸，加賀谷秀樹：宮城県保健環境センター年報，25，72 (2007)
- 5) 鶴田治雄，草野一，加藤善徳，大田正雄，平野耕一郎：酸性雨に関する調査研究報告書（横浜市環境科学研究所），1993，119
- 6) 全国環境研協議会：全国環境研会誌，32，3，78 (2007)
- 7) 大塚由香里：東北大学大学院環境科学研究科修士論文 (2007)

大気汚染測定局における浮遊粒子状物質濃度の長期変動

Trend of Suspended Particulate Matter Density by Air-Pollution Monitor

高橋 誠幸 木立 博 仁平 明
加賀谷秀樹*¹

Seiko TAKAHASHI, Hiroshi KIDACHI, Akira NIDAIRA
Hideki KAGAYA

本県の大気環境は概ね良好な状態であるが、 O_x と SPM 及び NO_2 については、一部地域でなお改善を要する状況にある。そこで、大気汚染測定局に β 線吸収法の SPM 計が導入された昭和 59 年度から平成 17 年度までの 22 年間の測定結果から、SPM について環境基準の達成状況等を整理し本県の現状と傾向を検討した。SPM の環境基準達成率の経年変化は短期的評価が大まかには上昇傾向にあり、長期的評価は自排局で変動が大きく、環境局では殆どの年度で 90% 以上達成していたが黄砂の飛来により 30% と極端に低下した年度もあった。仙台の地点での黄砂の観測は 22 年間のうち 11 年あり延べ 30 日であり、うち、2 日と 3 日連続が計 8 回で延べ 17 日あり、長期的評価の非達成へ影響したものは 1 事例だけであった。黄砂の飛来による影響が大きく報道され、ともすると地域汚染が陰に隠れがちであるが、非達成への影響は 6 割に止まり、要因解析が重要である。

キーワード：浮遊粒子状物質；大気汚染測定局；長期変動；黄砂
Key words：SPM；Air-Pollution Monitor；Trend；Dust and Sandstorm

1 SPM 濃度及び環境基準の達成率の経年変化

環境局及び自排局における SPM 濃度の 22 年間の経年変化は、全局平均値で緩やかな減少傾向にある。環境基準の達成率の経年変化は、短期的評価（1 時間値または 1 時間値の 1 日平均値で評価）が環境局・自排局ともに大まかには上昇傾向にある（図 1）。長期的評価（年度単位の評価）は自排局で変動が大きく、環境局では殆どの年度で 90% 以上達成していた（図 2）。

しかし、平成 10 年度は 80% とやや低下し、平成 14 年度は 30% と極端に低下していた。平成 14 年度は仙台管区気象台の黄砂観測日の濃度ピークによる非達成であり、黄砂の影響が原因であった。

対象年度・対象局のベースにすると、22 年間で環境局は述べ 553 局・年であり、自排局は 124 局・年である。うち、長期的評価の非達成は環境局が 37 局・年で 7% であり自排局は 39 局・年で 31% であった。

SPM 環境基準の長期的評価は 2 つの基準に照合して達成／非達成を判定する。この 2 つの基準のうち、どちらか一方でも満足できない場合、対象年度・対象局は非達成と判定される。すなわち、環境基準非達成と判定されるのは 3 タイプがある。

環境局について非達成の内容は (1) 2% 除外値のみ非達成は無く (2) 2 日以上連続のみ非達成は 36 局・年 (7%) であり、内訳は 21 局・年 (4%) が平成 14 年 4 月 10～11 日の黄砂の影響であり、7 局・年 (1%) が平成 10 年 4 月 20～22 日の高濃度により、8 局・年 (1%) は単年度で 1 局ずつであった。また、(3) 2% 除外値と 2 日以上

連続の両方で非達成は 1 局・年だけであった。環境局について非達成の時期は 3 月下旬～4 月下旬が 30 局・年 (5%) と 7 月中旬～9 月中旬が 7 局・年 (1%) の 2 タイプに分かれ、前者は 77% が黄砂の影響であった。

次に、自排局について非達成の内容は (1) 2% 除外値のみ非達成は 1 局・年だけであり (2) 2 日以上連続のみ非達成は 18 局・年 (15%) であり、内訳は 7 局・年 (6%)

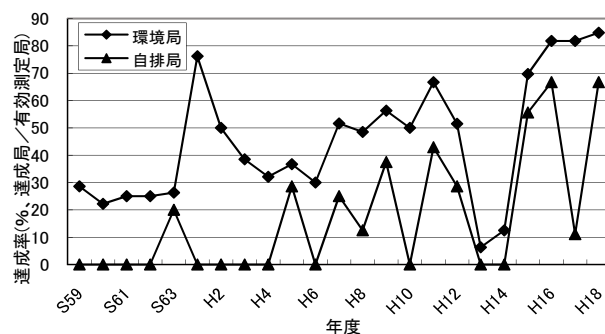


図 1 短期的評価による達成率の経年変化

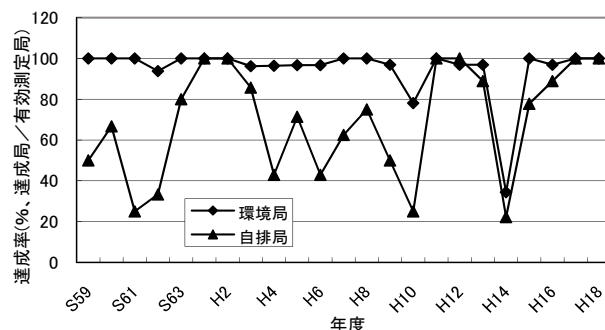


図 2 長期的評価による達成率の経年変化

* 1 現 原子力安全対策室

が平成14年4月10～11日の黄砂の影響であり、5局・年(4%)が平成10年4月20～23日の濃度ピークによるものであった。また、(3)2%除外値と2日以上連続の両方で非達成は20局・年(16%)であった。自排局について非達成の時期は1月を除く各月にわたっていて、7月中旬～9月上旬は週5日ほどで他の月と比べて多くなっていた。

環境局と自排局がともに7月中旬～9月中旬近辺で長期的評価の非達成が多くなっていた。これは自然起源の海風により飛散する海塩粒子の影響が考えられるが、一般的に海風の高さは500～700mの場合が多く、海風のおよぶ範囲は陸上10kmといわれ、粒子径は10 μ m付近を中心に分布している。しかし、環境局で非達成であった7月中旬～9月中旬の7局・年について、同じ年月日に自排局でも非達成であるといった同時性の事例は少なく、海風により飛散する海塩粒子の影響は小さいものと思われた。

2 環境局における長期的評価の非達成の事例

2.1 平成14年4月10～11日の黄砂の事例

平成14年度は、日本国内の気象官署で観測された黄砂日数が過去最高となった年である。特に4月8日から11日まで観測された大規模黄砂は、日本国内における平成14年度環境基準達成率を約40%低下させていた¹⁾。県内においても表1と表2に示すとおり、SPM濃度は日平均値が年平均値の5～7倍ほどと高く、その影響は県内全域に及んでいて21局が長期的評価の非達成となっていた。

2.2 平成10年4月20～23日の非達成の事例

全国的には4月20日～21日に黄砂が観測されたが仙台管区気象台では黄砂の観測は無かった。2日以上連続するSPM高濃度日による非達成は、東北6県と新潟県のうちでは宮城県だけであった。高濃度は県内全域における広域性・同時性が見られ、また、SO₂濃度とNO_x濃度の変動パターンと連動する局が半数ほどあることから、都市域における地域汚染と思われる7局が長期的評価の非達成となっていた。

2.3 単年度で1局ずつ非達成の事例

単年度で1局ずつ非達成の事例は8局・年(1%)であった。内訳は3月に2局・年と、7～9月に6局・年であった。3月の事例はともに、2日連続する高濃度日のうち

の1日は黄砂観測日であった。7～9月の事例は3局・年は県内全域における広域性・同時性が見られ、残りの3局・年は県内で1局だけが高濃度となっていた。

2.3.1 県内で1局だけが非達成の事例

①平成5年8月7日(土)～8日(日)七郷局

7日はNO濃度が0.150ppm～0.400ppmと自排局の1時間値の年間最高値に近く、また休憩時間に当たる12時と15時にSPMとNO及びSO₂の濃度が下がっていた。大気汚染測定局が設置されている校庭で、工事関係の車両からの排ガスが直近にあったための影響と推定される。8日はNO濃度が通常の値でありSPM高濃度の原因は不明であった。

②平成6年7月27日(水)～28日(木)柴田局

深夜から早朝まで1時間値が0.1mg/m³超の高濃度が2日間連続したものであった。7月における同様の事例は平成3年度と平成4年度及び平成8年度で2日間連続が1例ずつあったが、平成6年度は1ヶ月の間に延べ15日間と極端に多かった。原因は不明であった。

③平成16年9月3日(金)～4日(土)

及び9月17日(金)～18日(土)泉局
4日間とも8時～18時の昼間だけSPM濃度が高く、一方NO_xは高くなっていなかった。近隣に固定の発生源は見あたらなかった。校庭に大気汚染測定局が設置されている七北田小学校は、人口の増加と共に生徒が増えたために校庭に仮設校舎を建ててしのいでいたが、平成16年4月1日には市名坂小学校が分離開校した経緯がある。校庭にある仮設校舎の解体作業に係る作業車や運搬車からの排ガスの影響と推定される。

3 仙台管区気象台における仙台の地点での黄砂の観測

仙台の地点での黄砂の観測は22年間のうち11年あり延べ30日であった。うち、2日連続と3日連続が計8回で延べ17日あり、環境局における長期的評価の非達成へ影響したものは平成14年4月10～11日の1例だけであった。日本へ輸送される黄砂の粒径は概ね100 μ m以下で、粒径の分布は4 μ m付近にピークを持つといわれており、一方SPMは粒径10 μ m以下を測定する。仙台管区気象台の直近に榴岡環境局があるので黄砂観測日のSPM濃度を検討した。概ね、1時間値の最高

表1 黄砂観測日が2日以上連続した場合における榴岡局のSPM濃度の比

黄砂観測日	日平均/年平均	年平均値 mg/m ³
S63.4.20～21	1.6	0.028
H3.5.10～11	2.0	0.030
H14.4.10～11	4.5	0.023
H17.4.5～6	1.3	0.021
H17.4.21～23	0.9	0.021
H17.4.30～5.1	1.0	0.021

表2 H14.4.10～11の黄砂観測日における県内の各局のSPM濃度の比

局名	日平均/年平均	年平均値 mg/m ³
気仙沼	6.0	0.027
石巻Ⅱ	7.1	0.026
迫	5.8	0.019
古川Ⅱ	5.8	0.034
柴田	5.8	0.031

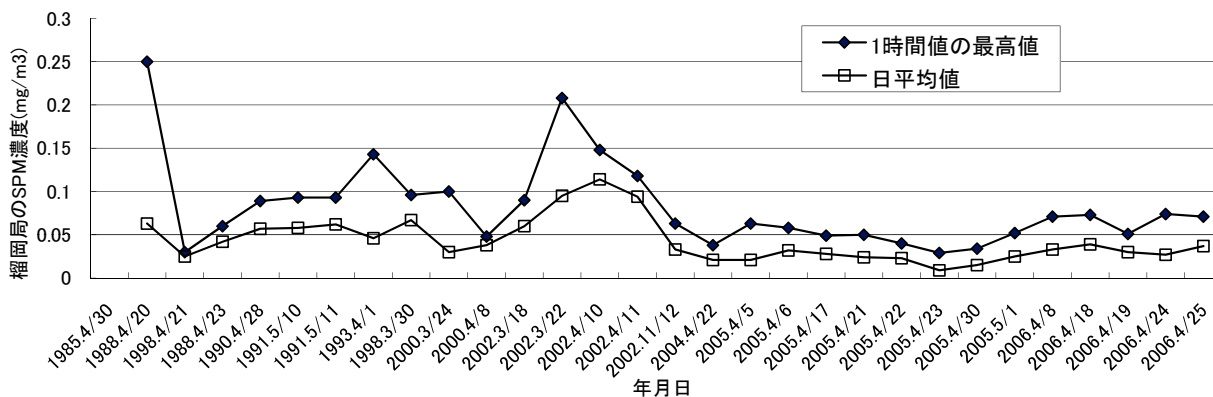


図3 仙台管区気象台における黄砂観測日と榴岡局のSPM濃度 (mg/m³)

値は年間のその半分程度の濃度であり、日平均値は年平均値の2倍程度の濃度であり、年間の2%除外値の6割程度の濃度であった。

4 まとめ

4.1 SPM濃度及び環境基準の達成率の経年変化

環境局及び自排局におけるSPM濃度は緩やかな減少傾向にあり、環境基準の達成率の経年変化は短期的評価が大まかには上昇傾向にあり、長期的評価は自排局で変動が大きく、環境局では殆どの年度で90%以上達成していた。そこで長期的評価の非達成の事例が少ない環境局に着目し、その非達成の内容の詳細を検討したところ6割が黄砂の影響である一方、海風により飛散する海塩粒子の影響は小さいものと思われた。

4.2 環境局における長期的評価の非達成の事例

平成14年4月は日本国内で大規模黄砂が観測され、県内においても32局中21局が非達成となり日平均値が年平均値の5~7倍ほどと高かった。平成10年4月の7局が非達成の事例は、東北地方で黄砂観測が無く、変動パターンがSO₂濃度とNO_x濃度のそれと連動する等から都市域における地域汚染と思われた。単年度で1局ずつ非達成の事例は、2日連続する高濃度日のうちの1日は黄砂観測日であったものが2事例あり、県内における広域性・同時性が見られたものが3事例、また県内で1局だけの局所汚染が3事例となっていた。

4.3 仙台管区気象台における黄砂の観測

仙台の地点での黄砂の観測は22年間のうち11年あり延べ30日であった。うち、2日連続と3日連続が計8回で延べ17日あり、環境局における長期的評価の非達成へ影響したものは平成14年4月10~11日の1例だけであった。仙台管区気象台の直近に榴岡環境局があるので黄砂観測日のSPM濃度を検討した。概ね、1時間値の最高値は年間のその半分程度の濃度であった。日平均値は年平均値の2倍程度であり、年間の2%除外値(年間の日平均値の最高値に類する値)の6割程度の濃度であった。

4.4 黄砂の飛来による影響と地域汚染

近年、黄砂の飛来とその影響が大きく報道されている。SPMに係る環境基準の非達成要因が国内の汚染物質起源か黄砂のような大陸起源かを判定することは重要であり、ちなみに(独)国立環境研究所では小型ライダーを開発して、高度約15kmまでの対流圏のエアロゾルと雲の高度分布を昼夜、天候によらず継続的に観測している。大気汚染による硫酸エアロゾルのような液相のエアロゾルは球形であるが、鉱物粒子の黄砂は非球形なため、小型ライダーで偏光消度(散乱体が非球形である度合いの指標)を測定し、黄砂を感度よく判別することが出来るものである。2008年現在、環境省が黄砂観測のためのライダーモニタリングシステムとして富山県と鳥根県等の5か所にライダーを設置し、これに加え、(独)国立環境研究所等の研究機関が札幌市と仙台市等の7か所にライダーを設置して、これら12基により国内におけるライダーモニタリングネットワークを構築し、その観測結果を公表している。

平成19年4月にも中国及び日本各地で最大規模の黄砂飛来があったことが報道されており、ともすると地域汚染が陰に隠れがちである。しかし、昭和59年度から平成17年度までの22年間の測定結果によると、県内の環境局におけるSPM環境基準の長期的評価で、黄砂の影響により非達成となった事例は6割ほどに止まり、要因解析が重要である。

参考文献

- 1) 早崎将光, 菅田誠治, 大原利真, 若松伸司, 宮下七重: 1992-2004年度のSPM環境基準達成率に対する黄砂現象の影響, 大気環境学会誌, 42, P. 188 (2007)
- 2) 宮城県: 公害資料(昭和59年度~平成17年度)

ADMER を用いた大気中ベンゼン濃度推定について

Estimation of Benzene Concentration using PRTR data and ADMER model

小室 健一 佐久間 隆 木戸 一博
加賀谷秀樹*¹

Kenichi KOMURO, Takashi SAKUMA, Kazuhiro KIDO
Hideki KAGAYA

PRTR データを基に、暴露・リスク評価大気拡散モデル (AIST-ADMER Ver. 2) のサブグリッド機能を用いて、ベンゼンの年平均値の分布を 100m メッシュの解像度で推定したところ、計算値 (バックグラウンド濃度 $0.5\mu\text{g}/\text{m}^3$ を加算：清浄地域の観測値から設定) の観測値に対する再現性は良好であり、ベンゼンの環境濃度の推定及び対策の必要性を判断する上で有効な手段と判断された。

キーワード：ベンゼン；PRTR；ADMER；推定

Key words：Benzene；PRTR；ADMER；Estimate

1 はじめに

宮城県では、「有害大気汚染物質モニタリング事業」として 4 箇所の定点で測定を実施している。しかし、定点測定は限られた範囲の状況を把握しているにすぎず、全ての地域の濃度を把握するには現実的に困難であることから、広範囲の地域における環境濃度を推定することが望まれている。そこで、PRTR データを基に大気拡散モデルを利用してベンゼンの環境濃度を推定し、実測データとの比較・モデルの実用性の検討を行った。

また、当地域のリスクについても評価を試みた。

2 対象地域

シミュレーション対象エリアとして、ベンゼンの環境濃度が測定されている地点 (宮城県 4, 仙台市 4, 国 2)、及びベンゼンの排出量が多いと思われる 12 地域を選定した。

3 解析方法

独立行政法人産業技術総合研究所で開発された暴露・リスク評価大気拡散モデル (AIST-ADMER Ver. 2) のサブグリッド機能を用いて、ベンゼンの年平均値の分布を 100m メッシュの解像度で推定した。発生源データは平成 17 年度 PRTR 調査結果、気象データは平成 17 年アメダス年報を用いた。

なお、PRTR の排出量データのうち、届出事業所以外の非点源排出量については宮城県全体での排出量として公表されているので、各種配分指標データを作成することにより、100m サブグリッド単位のベンゼン排出量を求め、ADMER モデルへの入力データとした。但し、自動車からの排出量の幹線道路・細街路への配分は、全国の THC 排出量比⁴⁾を用いた。

3.1 配分指標

交通量及び細街路面積については、数値地図 25000 空間データ基盤の道路中心線ファイルを用いて平成 17 年度交通センサス路線及び細街路路線 (幅員 3m 未満を除く) を作成し、100m サブグリッド内の路線長を計算、観測交通量及び幅員を乗じて、幹線道路交通量 (台 $\text{km}/\text{日}$) 及び細街路面積を求めた。

世帯数及び全産業事業所数・従業員数については、平成 17 年国勢調査小地域集計 (町丁・字) データ、平成 13 年事業所企業統計調査区別集計データを、国土数値情報の 100m 土地利用メッシュ (L03-09M-04-01.0.zip) のうち、河川・湖沼・海域等の建物用地にならない地区及び Pasco-Digital-map の緑被帯データにより補正し、面積按分により求めた。

その他、平成 16 年商業統計 1km メッシュデータ、国



図 1 対象地域

* 1 現 宮城県生活環境部原子力安全対策室

土数値情報100m土地利用メッシュ、空間データ基盤データ鉄道中心線ファイル及びPasco-Digital-mapにより、燃料小売業事業所数、田・畑・森林面積、鉄道路線長、空港・港湾面積の配分指標データを作成した。

3.2 サブグリッド排出量

排出源毎に、3.1で求めたサブグリッド配分指標値の県合計値に対する比率を、公表排出量に乗じて算出した。届出事業所を含めた全排出量の分布を図5に示す。

3.3 ADMERによる濃度推定

コールドスタート時（冷始動時）には、処理装置に触媒が活性状態にないこと、また、運転性確保の観点から燃料を増量して濃い混合気を供給していることから、ベンゼンの排出量が増加する³⁾といわれており、PRTRの公表データを見るとかなり大きいものである。

拡散計算は、自動車のコールドスタート時増分を、3ケース（case_1：全量を車の所在地に、case_2：1/2を車の所在地・1/2を道路に、case_3：全量を道路に配分）について、ADMERで拡散計算・濃度推定を行った。

なお、表1に記した配分指標はcase_1の場合のものである。

3.4 リスク評価

配分指標（世帯数）と同様の方法により推定した100mサブグリッド人口と、ADMERによる推定環境濃度により、ベンゼンの大気ユニットリスクを用いて対象とした地域の発ガンリスクを推定した。

4 結果と考察

4.1 環境濃度推定

図8に示すように、計算値（バックグラウンド濃度 $0.5\mu\text{g}/\text{m}^3$ を加算：清浄地域の観測値から設定）の観測値に対する再現性は良好であり、ベンゼンの環境濃度の推定及び対策の必要性を判断する上で有効な手段と判断

された。特に、case_3において、極めて良好な再現性を得た。なお、観測濃度が高い3地点は交通センサス観測路線に面した自排局で、最も低い濃度は国が観測している清浄地域と考えられる箕岳局である。

なお、今回の計算では、対象地域（仙台市を除く）において、環境基準値 $3\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える地域はなかったが、大河原町～柴田町の国道4号線沿い等、主要幹線道路沿線、及び一部事業所周辺で環境基準値に近い地域があることが予想された。但し、事業所については、詳細な排出位置や排出条件が不明であるため、一律な仮想条件で計算を行ったので、今後検討を要する。

4.2 リスク評価

また、対象地域（仙台市を除く）は、100mサブグリッド数約6万4千、人口約59万人であり、一般環境大気の吸入暴露によるベンゼンの生涯発ガンリスクは、 5×10^{-6} （ケース3）～ 6×10^{-6} （ケース1）と計算された。

参考文献

- 1) 東野晴行 他：曝露・リスク評価大気拡散モデル（ADMER）の開発、大気環境学会 Vol. 38, No. 2, 2003
- 2) 東野晴行 他：ADMERサブグリッドモジュールを用いたベンゼンの暴露人口推定、第48回大気環境学会年会講演要旨集、2007
- 3) 経済産業製造産業局化学物質管理課・環境省環境保健部環境安全課：平成17年度PRTR届出外排出量の推計方法等の概要、(2007)
- 4) 経済産業製造産業局化学物質管理課・環境省環境保健部環境安全課：平成17年度PRTR届出外排出量の推計方法の詳細、(2007). <http://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/past_todokedegai_siryoh17.html> (2007年10月1日)

表1 PRTR公表データと配分指標

対象	対象_細区分	PRTR排出量_宮城県_kg/年	配分指標	資料_配分指標作成	
対象事業所		12,703	届出値	PRTR届出値	
掘切り事業所		3,217	燃料小売業事業所数	H16_商業統計	
汎用エンジン	XI弘機とチェーンソー	13,436	森林面積	H9_国土数値情報	
たばこの煙		1,548	世帯数	H17_国勢調査	
自動車	ホットスタート_幹線	7車種区分	54,587	幹線道路走行台数km	H17_交通センサス
	ホットスタート_細街路	軽乗用～特殊車	29,831	細街路道路面積	空間データ基盤
	コールドスタート_民生	軽乗用・乗用	99,726	世帯数	H17_国勢調査
	コールドスタート_業務	バス～特殊	32,050	全産業事業所数	H13_事業所企業統計
	燃料ガス_民生	軽乗用～乗用	4,867	世帯数	H17_国勢調査
	燃料ガス_業務	バス～特殊	793	全産業事業所数	H13_事業所企業統計
二輪車	ホットスタート		8,473	全道路面積	空間データ基盤
	コールドスタート		376	世帯数	H17_国勢調査
	燃料蒸発ガス		784	世帯数	H17_国勢調査
特殊自動車	特殊_農業	農業機械	1,561	田の面積	H9_国土数値情報
	特殊_産業	産業機械	7,634	全産業従業者数	H13_事業所企業統計
船舶	貨物船・旅客等	特定重要港湾	857	入港船総トン数	宮城県統計課資料
鉄道	エンジン		352	路線長	空間データ基盤
空港	第2種_仙台空港		459	空港面積	Pasco-Digital-map
計算対象_合計			273,255		

注：H17_宮城県_公表排出量295,365kg/年であり、そのうち排出量273,255kg/年(93%)を計算対象とした。

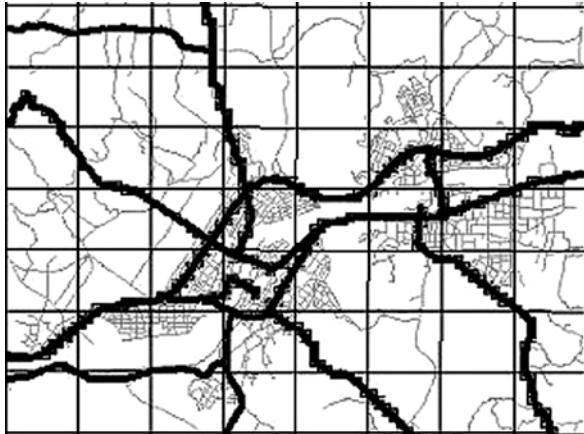


図2 配分指標作成_交通量及び細街路面積
注：格子は1kmメッシュ

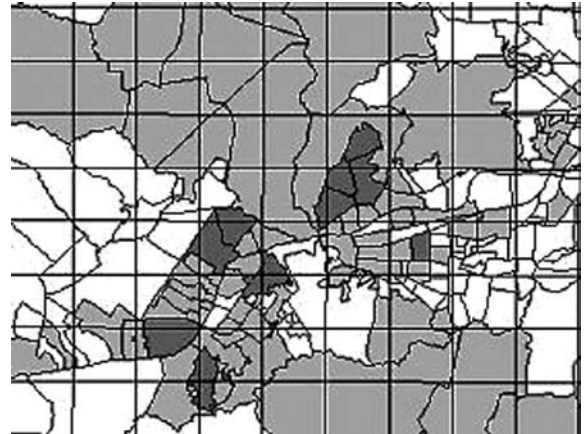


図3 配分指標作成_世帯数
注：格子は1kmメッシュ



図4 届出事業所位置



図5 100mサブグリッド排出量図_宮城県
注：格子は5kmメッシュ

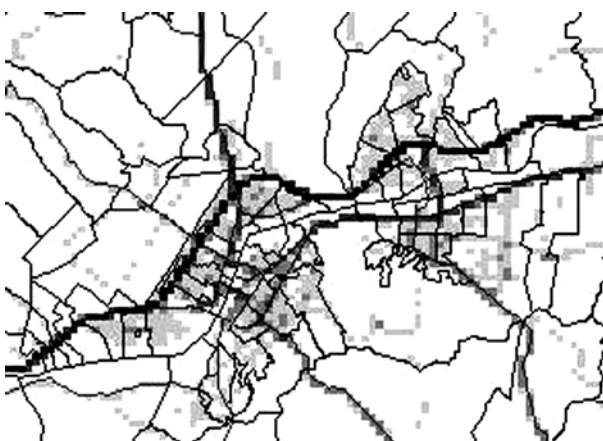


図6 100mサブグリッド_排出量_大河原地区



図7 100mサブグリッド_推定濃度_大河原地区

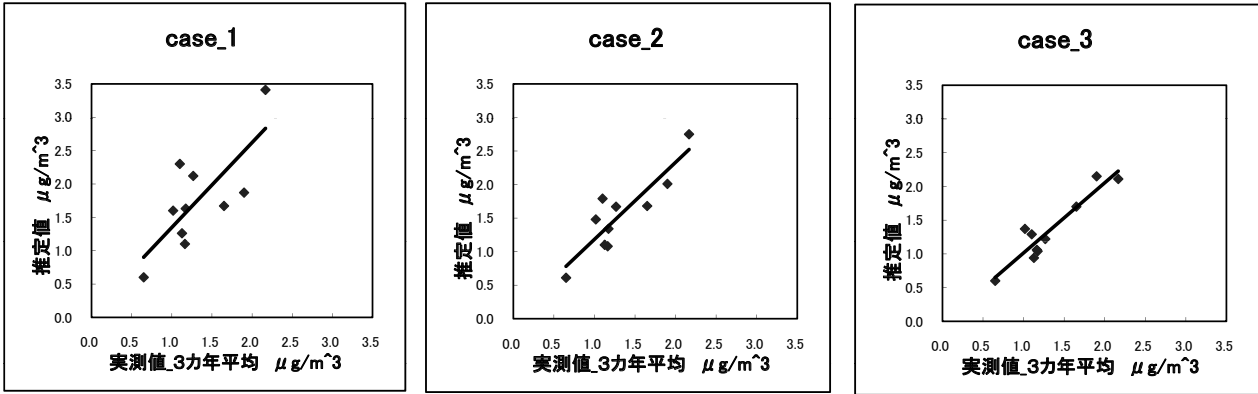


図8 実測値と推定環境濃度との比較

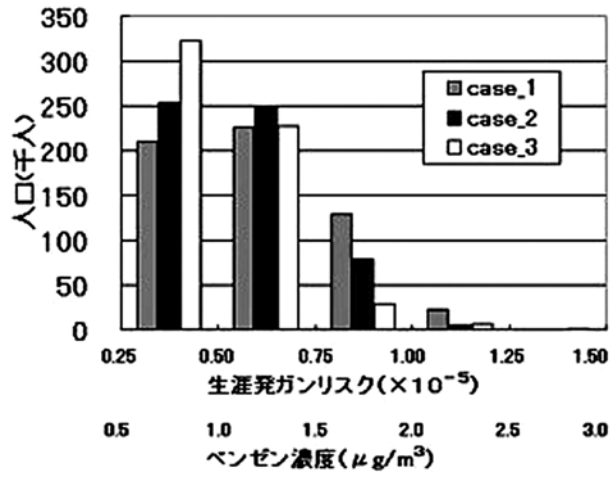


図9 暴露人口とリスク

宮城県環境騒音評価システムに関する検証結果

Verification Result Concerning the Environmental Noise Evaluation System of Miyagi

菊地 英男 高橋 誠幸 加賀谷秀樹*¹

Hideo KIKUCHI, Seikou TAKAHASHI, Hideki KAGAYA

平成10年9月に改定された「騒音に係る環境基準」について、平成12年4月に環境省から示された技術的助言に基づき、本県においては平成13年度にGISを活用した環境騒音評価システムを構築した。環境基準の類型あてはめが行われている307評価区間（仙台市を除く）について道路構造条件、交通量条件等により騒音レベルがほぼ一定と見なせるように類型化し、道路に面する地域における環境基準の達成状況等を把握している。今回は、交通量、立地密度の異なる4評価区間を選定し、当該評価システムの予測精度について検証した結果、実測値を反映する予測式のパラメータは、地表面を「その他の路面」、沿道建物等は直近の現況とし、道路端の騒音レベルは障害物の影響が少ない基準点のデータを使用することで、実測値と推定値の相関係数が0.9以上と良い結果を得ることが出来た。

キーワード：道路交通騒音；評価システム；予測；検証

Key words：road traffic noise；evaluation system；calculation；verification effect

1 はじめに

平成10年9月に改定された「騒音に係る環境基準」については、平成12年4月に環境省から示された技術的助言である「騒音に係る環境基準の評価マニュアルⅠ、Ⅱ」（以下「評価マニュアル」という。）に基づき測定・評価を行うこととなっている。

一方、本県では平成9年3月に「宮城県自動車交通公害防止計画」を策定し、道路構造対策、発生交通量の低減対策、交通流対策等各種施策を推進しているところである。この計画では、自動車交通騒音の環境目標値を「道路に面する地域の環境基準」と定めていることから、「道路に面する地域」に係る面的評価を行うために、平成13年度にGISを活用した環境騒音評価システムを構築した。このシステムで得られた評価値が地域の騒音レベルの現況を反映したものでなければ、適切な評価が行われないことから当該システムの予測精度等について検討した。

2 環境騒音評価システムの構築

2.1 評価対象道路及び評価区間の設定

評価対象道路については、道路交通センサスの対象道路と同じ道路とした。

一般に、道路構造、車線数等が一定であれば交通量に応じて騒音レベルが決定されることから、交通量がおおむね一定と見なされる区間に分割している道路交通センサスの調査単位区間を基本として評価区間を設定した。

しかし、道路交通センサスの調査単位区間内、道路構造条件、交通流条件等の音響特性が大きく変わる条件を勘案し、307評価区間に分割した。

2.2 評価区間の類型化

評価マニュアルでは、評価区間を道路構造条件、交通条件、沿道条件等で類型化することとしているが、ここでは道路構造、車線数、指定最高速度、昼間12時間換算交通量、夜間12時間換算交通量を基本とし、必要に応じて地域性を考慮して図1に示す手順に従って類型化を行い、307評価区間を36分類した。

2.3 建物毎の距離帯別騒音レベルの推定

建物毎の距離帯別騒音レベルを推定するためには、対象住居等の騒音の影響を受けやすい面を評価すべき点（以下「評価点」という。）として定める必要がある。しかし、評価対象住宅等のすべてについて、個々に評価点を設定することは現実的には非常に困難を伴う。そこで、騒音の影響を受けやすい面を評価対象道路に最も近い側

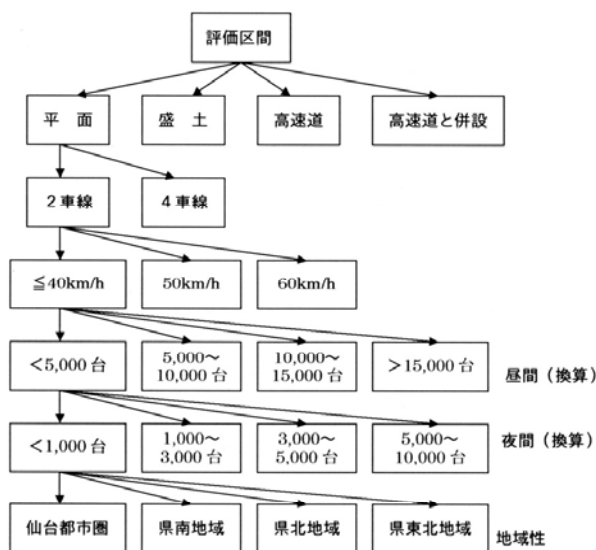


図1 評価区間類型化の手順

* 1 現 原子力安全対策室

に設定し、評価点はその面の中心とした。

また、建物減衰補正量の算出方法については評価マニュアルに従い、各距離帯の対象道路からの騒音レベル推定式は以下のとおりである。

$$L_{road} = L_{obs} - \Delta L_r - \Delta L_{build}$$

$$L_{zone} = 10 \cdot \log_{10} (10^{L_{road}/10} + 10^{L_{resid}/10})$$

L zone：建物毎の距離帯別騒音レベル (dB)
 L road：対象道路からの騒音レベル (dB)
 L obs：基準点（道路端）での騒音レベル (dB)
 Δ Lr：距離減衰量 (dB)
 Δ L build：建物群による減衰量 (dB)
 L resid：地域の残留騒音 (dB)

ここに、Δ L build は、建物の立地状況に応じて以下に示すとおりである。

- ① 背後建物から近接建物列の間隙を通して道路が見通せる場合（立地密度が疎の場合）

$$\Delta L_{build} = -10 \cdot \log_{10} (\theta / \theta_0) \dots\dots (I \text{ 式})$$

θ：道路からの見通し角 (°)
 θ₀：180°

- ② 背後建物から近接建物列の間隙を通して道路が見通せる場合（立地密度が密の場合）

$$\Delta L_{build} = -10 \cdot \log_{10} (A) \dots\dots (II \text{ 式})$$

A：簡便化した近接建物列の間隙率
 $A = 1 - \sqrt{B}$
 B：建物のある街区全体の建物群立地密度

- ③ 背後建物から近接建物列の間隙を通して道路が見通せない場合

$$\Delta L_{build} = -10 \cdot \log_{10} A + 0.775 \{B / (1 - B)\}^{0.630} \times (d - w)^{0.859} \dots\dots (III \text{ 式})$$

A：簡略化した近接建物列の間隙率
 $A = 1 - \sqrt{B}$
 B：建物のある街区全体の建物群立地密度
 d：近接建物列道路側壁面位置から評価点までの距離 [m]（壁面位置 道路端の場合は道路端から評価区間の代表点までの距離）
 w：近接建物列の平均奥行（15 mとした）

本県では、これら I～III 式を評価区間内の建物立地状況によって使い分けし、建物毎の距離帯別減衰補正量を算出した。ただし、評価マニュアルで建物減衰補正値が判断し難いと思われた部分については、以下のとおり建物減衰補正式を選択した。

- 建物の立地密度が「疎」の場合で、道路が十分見通せる場合 (B < 0.1) は I 式を用いることとされている。しかし、見通し角 θ < 20° の場合は前述のとおり I 式が利用できないため、建物減衰補正量 9.5 (I 式による θ = 20° の補正值) を採用した。

- 建物立地密度が「密」の場合で、2 列目以降から θ < 20° で道路が見通せる場合は、建物減衰補正量の小さくなる II 式を選択した。

従って、建物減衰補正量は、建物立地状況から定まる建物減衰補正パラメータ (θ 及び B) を全ての建物について算出し、最も建物減衰補正量が小さくなるように式 I～III を選択した。

3 環境騒音評価システムの検証

3.1 調査方法

調査は、評価区間の道路条件や立地密度を勘案して表 1 に示す 4 区間を選定し、その中を代表する街区を対象として、各住宅の庭先における等価騒音レベル (L Aeq) を 10 分間隔で 24 時間連続測定した。測定は、積分型騒音計 (リオン(株)製 NL-06) を三脚に取付け、民家の庭に高さ約 1.5m で設置し、24 時間後に回収した。このとき騒音計の設定は、動特性を Fast、周波数補正は A 特性とした。

3.2 測定結果と考察

測定は天候の安定している 11 月から 12 月上旬にかけて行い、各評価区間について時間区分毎に集計した結果は表 2 のとおりである。各評価区間について時間区分毎のレベル差を見ると、立地密度が大きくなるとその差も大きくなり、おおよそ立地密度と関連があることが読み取れる。なお、No 4 については沿道の測定点にブロック塀があり、道路が見通せないような状況であった。

データの全体を見るために、道路端から測定点までの距離による L Aeq の減衰量を時間区分毎にプロットして図 2 に示す。道路から測定点までは間に弊害物がある場合や直接見とおせる場合もあり渾然一体となっている状況であるが、道路から離れるほど L Aeq が低下する傾向があり、回帰直線の傾きから減衰量は倍距離 3～4dB (A) と推定された。

次に、測定点からの道路見通し角と L Aeq の関係を時間区分毎にプロットして図 3 に示す。道路の見通し角は住宅等建物が密集している場合は、道路沿い以外には開放状況に無く道路から離れるほど見通し角が小さくなる。しかし、建物がまばらな場合は、道路から離

表 1 調査対象区間の状況

No	道路状況			24 時間 交通量	建物立 地密度	対象 住居数
	道路名	速度 km/h	車線			
1	国道 4 号	60	4	32,654	0.190	8
2	国道 113 号	50	2	5,679	0.003	4
3	国道 108 号	40	2	20,333	0.330	10
4	主地泉塩釜線	40	2	10,542	0.376	5

表 2 評価区間毎、区間区分毎の等価騒音レベル等

No	昼 間 (dB(A))		夜 間 (dB(A))		測定 戸数	備 考
	L Aeq レンジ	レベル差	L Aeq レンジ	レベル差		
1	55.2～70.6	15.4	53.7～70.0	16.2	8	
2	48.7～61.5	12.8	39.6～54.9	15.3	4	塀 有
3	47.4～70.4	23.0	43.1～67.1	24.0	10	
4	47.4～57.7	10.3	42.1～51.8	9.7	5	塀 有

れても見通し角が大きく開放状態となる。見通し角が大きくなるほどL Aeqが上昇し、回帰直線の傾きから見通し角が1°増加するとL Aeqが1dB (A)程度上昇している。

3.3 予測式による検討結果

3.3.1 評価システムによる予測

当該システムは、評価マニュアルに基づき類型毎の基準点のレベルを使用して、評価区間内における距離帯ごとに各住宅の騒音レベルを算出している。

初めに、基準点の騒音レベルは実測値を使用して、評価区間内の住宅におけるL Aeq実測値とL Aeq予測値について時間区分毎に比較した結果を表3に示す。L Aeqのレベル差の平均値は昼間、夜間とも予測値の方が1.8dB高く、標準偏差は約6dBとバラツキが大きかった。また、相関係数は昼間0.577、夜間0.659であった。相関があまり良くない理由としては、地表面の種類や建物等が現況と異なるためと思われたことから、以後現況を考慮した予測値の検討を行った。

3.3.2 現況を考慮した予測

現在の状況は、かならずしもシステム構築時と同じではなく、住宅が存在しない場合等現況が異なっていることから、見通し角、立地密度等を現況に合わせて、かつ地表面をアスファルトとその他の2種類として、種々の組み合わせにより測定地点における時間区分毎のL Aeqを予測し、実測値と比較した結果を表4に示す。

- ケース1：評価システムで予測した条件の内、地表面の状況をアスファルト等とその他に2区分し、予測は測定点までの実際の距離とした。
- ケース2：ケース1に加え、建物等による減衰量を減衰式により計算し予測した。
- ケース3：ケース2に加え、更に測定点からの見通し角、及び対象街区の立地密度について現況を考慮して予測した。
- ケース4：ケース3の条件の内、道路端での騒音レベルに実測値を用いて予測した。

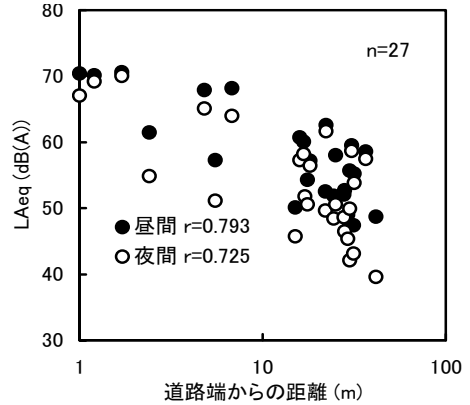


図2 L Aeqの距離減衰

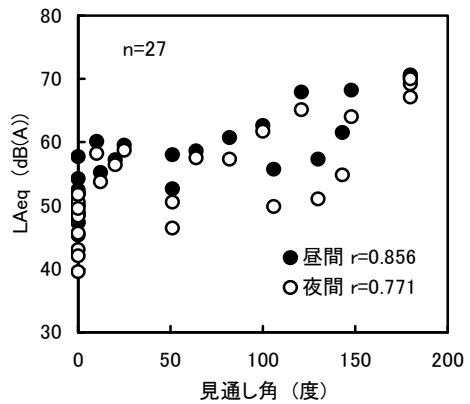


図3 見通し角とL Aeqの関係

表3 実測値と予測値のL Aeqのレベル差

項目	時間区分(実測-予測)	
	昼間	夜間
平均値	-1.8 dB	-1.8 dB
標準偏差	5.92 dB	6.28 dB
相関係数	0.577	0.659
データ数	27	

表4 現状を考慮した予測値と実測値のレベル差の比較

区分	分類	地表面の状況「その他」			データ数	道路端の騒音レベル	住宅等の立地状況等			予測点
		平均値 dB(A)	標準偏差 dB(A)	相関係数			見通し角	立地密度	減衰量	
昼間	ケース1	2.6	4.12	0.826	27	基準点	システム値	システム値	システム値	距離毎
	ケース2	1.6	3.53	0.871	27	基準点	システム値	システム値	計算値	距離毎
	ケース3	1.3	3.00	0.916	27	基準点	現況	現況	計算値	距離毎
	ケース4	0.4	3.58	0.618	21	実測値	現況	現況	計算値	距離毎
	ケース5	1.1	3.15	0.905	27	基準点	現況	現況	計算値	距離帯
夜間	ケース1	2.7	4.40	0.858	27	基準点	システム値	システム値	システム値	距離毎
	ケース2	1.6	3.69	0.899	27	基準点	システム値	システム値	計算値	距離毎
	ケース3	1.3	3.13	0.932	27	基準点	現況	現況	計算値	距離毎
	ケース4	0.4	5.13	0.744	21	実測値	現況	現況	計算値	距離毎
	ケース5	1.0	3.28	0.926	27	基準点	現況	現況	計算値	距離帯

ケース5：ケース3の測定点における予測値を距離帯毎に予測した。

全体的に見ると、地表面については「その他」の方がアスファルト等の場合より実測値と予測値のレベル差、標準偏差とも小さく、相関係数が大きいことから実測値を良く表現しているため、ここでは地表面を「その他」として考察する。

今回検討した5ケースについて、平均値が最も小さかったのはケース4の昼間、夜間とも0.4dB(A)であり、次いでケース5の昼間1.1dB(A)、夜間1.0dB(A)、ケース3の昼間、夜間とも1.3dB(A)の順でいずれも予測値の方に偏った結果となっている。

また、標準偏差は昼間・夜間ともケース3が最も小さく、次いでケース5、ケース2の順であった。

相関係数についても昼間・夜間ともケース3が最も大きく、次いでケース5、ケース2の順であった。図4に最も相関係数が大きいケース3について、昼間と夜間の実測値と予測値の関係を示す。

これらの結果を総合するとケース3及びケース5が地点の騒音レベルを良く予測していることがうかがえる。

ただし、ケース3は各測定点から道路端までの距離から減衰量を予測しているのに対し、ケース5は道路端から測定地点の含まれる距離帯(10m間隔)の中央での距離減衰量を同一距離帯における測定点での減衰量としている。

なお、道路端の騒音レベルを対象街区における沿道住宅での実測値としたケース4の場合に測定点の予測値が測定値を良く再現出来なかったのは、沿道に最も近い測定点が遮蔽物等の影響により、かならずしもその街区の沿道騒音を代表するものではなかったためと思われる。反対に、基準点のデータを使用した場合に測定値をよく再現できたのは、基準点における沿道の騒音レベルは官民境界において測定者が通日監視しながら調査しており、沿道の自動車交通騒音を適切に計測出来ているためと思われる。

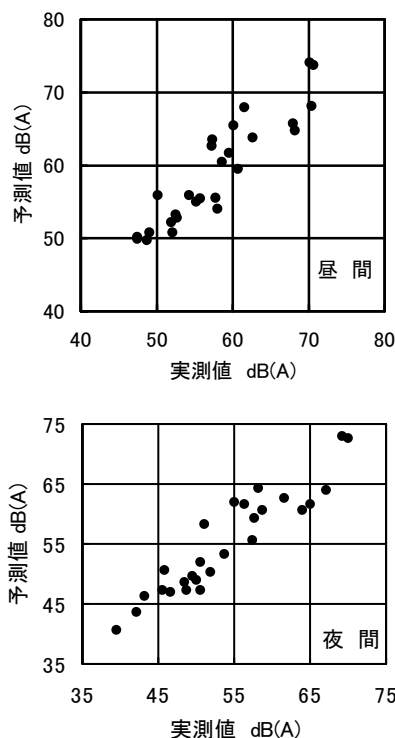


図4 ケース3の実測値と予測値の関係

4 まとめ

本県においては、道路交通センサス区間のうち環境基準の類型あてはめが行われている307評価区間(仙台市を除く)について、評価マニュアルに基づき道路構造条件、交通量条件等により36類型に分類し、GISを活用した環境騒音評価システムにより、道路に面する地域における環境基準の達成状況等を把握している。

また、構築した当該システムの予測精度について、交通量、立地密度の異なる4評価区間を選定して検証した結果、実測値を反映する予測式のパラメータは、地表面を「その他」とし、かつ最新の沿道建物等立地状況を反映させ、道路端の騒音レベルは障害物の影響が少ない基準点のデータを使用することで、実測値と推定値の相関係数が0.9以上と非常に良い結果が得られた。

残留騒音測定における除外音処理方法の検討

Examination of the Exclusion Sound Processing Method in the Residual Noise Measurement

菊地 英男 加賀谷秀樹*¹
Hideo KIKUCHI, Hideki KAGAYA

平成 10 年 9 月に改訂された「騒音に係る環境基準」について、本県では平成 12 年度から面的評価管理システムを運用し環境基準の達成率を評価している。沿道周辺の騒音レベルを個別住宅毎に予測するためには、沿道の騒音レベルと残留騒音のデータが必要であることから、道路端及び周辺の残留騒音を代表する地点を選定して、24 時間連続した騒音測定を行っている。測定データの信頼性を確保するため、道路端の測定結果では道路交通に伴う騒音以外の音を除外する必要があるため、平成 15 年に除外処理基準を設定し現在活用している状況にある。しかし、残留騒音については検討がなされていなかったため、本来その地域に存在する残留騒音を測定するために除外する必要がある騒音とそれらの除外処理方法について検討し、除外処理基準を設定したものである。

キーワード：環境騒音；残留騒音；除外音処理方法

Key words : total noise ; residual noise ; exclusion sound processing method

1 目的

平成 10 年 9 月に「騒音に係る環境基準」が改訂され、評価量が中央値 (L_{50}) から等価騒音レベル (L_{Aeq}) に変更になった。また、平成 12 年 4 月には「騒音に係る環境基準の評価マニュアル」が環境庁（現環境省）から示され、このマニュアルに基づき環境騒音の測定・評価を行うこととなった。当所においては、平成 11 年度から平成 14 年度にかけて、道路に面する地域における環境騒音の測定時期、測定時間及び除外すべき音の処理方法等について検討し、実態調査時に活用しているところである。

しかし、面的評価管理システムで地域の環境騒音を評価する場合に、道路沿道の騒音レベルと地域の残留騒音が必要であるにも関わらず、これまで残留騒音に係る特定騒音の除外処理方法について検討していない状況にあることから、今回既に測定したデータを活用して検討した。

2 調査測定方法

2-1 測定地点

対象道路からの自動車交通騒音が直接影響せず、かつ周辺の環境騒音を把握できる住宅の庭等 10 地点を測定対象とした。

2-2 測定機器

騒音計は JISC1502 に定める積分形普通騒音計（リオン(株)製 NL-06）で、計量法第 71 条の条件に合致した特定計量器を使用した。

レベルレコーダは JISC1512 に定める高速度レベルレコーダ（リオン(株)製 LR-04）を用いた。

2-3 測定方法

騒音の測定は、マイクロホンの高さを地上 1.2m に設

置し、騒音計の周波数重み特性を A 特性、時間重み特性を Fast として騒音レベルを 0.2 秒間隔で積分形普通騒音計の内部メモリーに 24 時間連続して取り込んだ。

また、同一の騒音計からの出力をペーパースピード 1mm/s、時間重み特性を Fast に設定してレベルレコーダに 24 時間連続記録し、音源が特定できた騒音（特定騒音）の種類を全て記録紙上に記載した。

データ処理は、騒音計の内部メモリーに取り込んだ全ての騒音（総合騒音）を対象として 10 分間隔で L_{Aeq} 、 L_{Amax} 等を計算し実測値とした。また、騒音計の波形とレベルレコーダの波形を突合せ、特定できた騒音を全て除外した騒音（以下「残留騒音」と言う。）を真値として集計した。

2-4 特定騒音の分類

現場において、発生源が特定できた騒音の種類を 10 分類して表 1 に示す。

3 測定地点の概要

測定は、面的評価対象道路の影響を直接受けない地点を選定し、平成 15 年度及び 16 年度の 2 ヶ年で合計 10 地点について測定を実施したものであり、その概要を

表 1 特定騒音の分類と音源の種類

特定騒音の分類	音源の種類
1 他で評価する騒音	航空機騒音、列車騒音
2 建設作業騒音	建設工事、道路工事等
3 平常でない自然音	鳥の声、虫の声など
4 突発音	救急車、バイク等の爆音、宣伝カー等
5 測定による付加音	測定者が発する音や話しかけ等
6 車の音等	自動車等の通常走行音
7 犬の声等	犬やペットの鳴き声
8 家庭音	家庭から発生する音
9 人声	通行中の人の話し声等
10 その他	自転車走行音等上記に分類できない音

* 1 現 原子力安全対策室

表2に示す。対象とした道路は、面的評価の対象道路であり、県道7路線及び国道3路線である。対象道路の車線数は2車線が8路線、4車線が2路線、速度制限は40km/hが6路線、50km/hが4路線であった。

また、都市計画法に基づく用途地域は住居系が9地点、工業系が1地点であった。

4 特定騒音の発生回数と騒音レベルの最大値

地点毎に特定騒音を集計した結果を表3に示す。特定騒音の発生回数は車に関連する音（突発音を除く）が1,923回と最も多く、次いで鳥の声などの自然音（1,607回）、犬の鳴き声（1,042回）の順となっている。

また、騒音レベルの最大値の平均値は、他の方法で評価する音（航空機騒音や列車騒音）が64.4dB(A)と最も高く、次いで犬の鳴き声（61.9dB(A)）、救急車や爆音等の突発音（61.3dB(A)）の順であった。なお、最も騒音レベル平均値が低いのは、測定による付加的な音の53.2dB(A)であり、次いで低いのは家庭音の55.7dB(A)であった。

5 騒音発生要因

特定騒音が占める時間割合について検討した結果は以

下のとおりである。

地点毎の特定騒音の割合を図1に示す。特定騒音の割合は、地点により異なっているが三本木町の2.6%から利府町の19.1%の範囲にあり、平均では11.8%であった。

また、地点毎の特定騒音の構成割合を図2に示すが、測定地点の周辺環境によって構成が大きく異なっており、築館町では犬の声、河南町、迫町及び名取市では測定点付近を走行する自動車やバイクの音、石巻市門脇、石巻市蛇田では航空機騒音、三本木町では建設作業騒音、利府町及び鳴瀬町では自然音（鳥の声）、小牛田町では鉄道騒音やその他（ラジオの音）の影響が大きい結果となっている。

6 除外音処理方法の検討

特定騒音の発生割合を時間区分ごと、地点ごとに見ると、その発生割合が同一ではないが、特定騒音の最大値を勘案して表4示す条件を設定し、最も良い除外音の処理方法を検討する。

測定データから特定騒音を除外した場合、除外しない場合それぞれの10分間隔 L_{Aeq} ($L_{Aeq, 10min}$)を算出し、特定騒音を全て除外した残留騒音のみのデータを真値とし、種々の除外処理条件に合致する場合の $L_{Aeq, 10min}$ の

表2 測定地点の概要

No.	調査地点	対象道路	車線	速度	用途地域
1	利府町	仙台松島線	4	50	2種住専
2	鳴瀬町	鳴瀬南郷線	2	40	2種住専
3	名取市	塩釜亘理線	2	40	1種住居
4	石巻市門脇	国道398号	2	40	準工
5	小牛田町	涌谷三本木線	2	40	1種住専
6	石巻市蛇田	石巻鹿島台大衡線	4	50	1種住居
7	築館町	国道4号	2	50	1種住専
8	迫町	古川佐沼線	2	50	1種住居
9	三本木町	涌谷三本木線	2	40	1種住居
10	河南町	国道108号	2	40	2種住居

表3 特定騒音の発生回数と騒音レベルの最大値

特定騒音の分類	騒音レベルの最大値 (dB(A))			発生回数
	平均値	最小値	最大値	
1 他で評価する騒音	64.4	57.7	69.8	411
2 建設作業騒音	59.0	55.9	70.1	474
3 平常でない自然音	58.7	54.1	61.2	1,607
4 突発音	61.3	57.8	67.7	138
5 測定による付加音	53.2	53.1	53.1	1
6 車の音等	57.5	55.3	61.3	1,923
7 犬の声等	61.9	54.1	67.6	1,042
8 家庭音	55.7	52.5	61.6	80
9 人声	57.4	53.6	62.1	108
10 その他	58.1	54.4	62.6	322

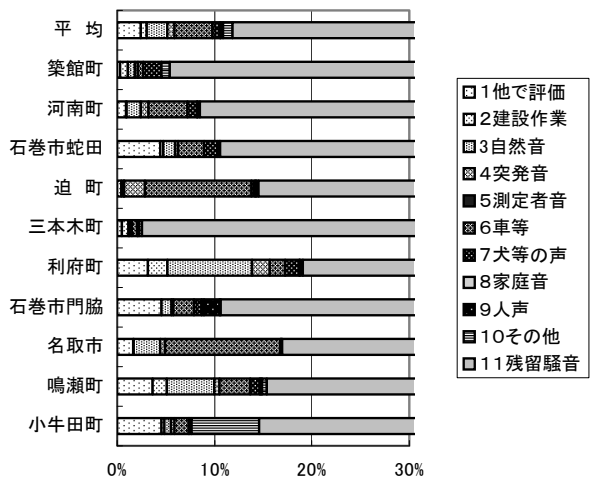


図1 地点毎の特定騒音の発生割合

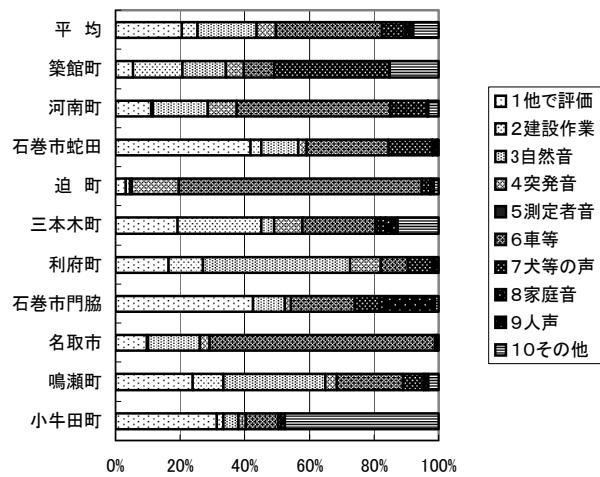


図2 地点毎の特定騒音の構成割合

データを除外して1時間の L_{Aeq} ($L_{Aeq, 1h}$)を算出し、残留騒音のみの $L_{Aeq, 1h}$ と比較した結果を表5に示す。 $L_{Aeq, 10min}$ に対して、標準偏差 (1.65σ 及び 1.28σ)だけを用いて除外した場合に比べ L_{Amax} が65dB(A)以上又は70dB(A)以上の条件を付加した場合は、相関係数が若干改善されている。

標準偏差と L_{Amax} を組み合わせた場合について見ると、同一標準偏差であって L_{Amax} が75dB以上を除外した場合よりも65dB以上を除外した場合に相関係数が若干改善される傾向にある。

また、除外処理前のデータを除外処理条件に基づき $L_{Aeq, 10min}$ を除外した個数を表6に示す。標準偏差のみを用いた場合は、 1.65σ で平均10.5個、 1.28σ の場合は平均16.5個であった。それぞれの標準偏差に付加して $L_{Amax, 10min}$ が65dB又は70dB以上のデータを除外した場合については、標準偏差だけの場合に比べて除外個数がかなり多くなるが、 $L_{Amax, 10min}$ の除外レベルが上がるほど、当然ながら除外個数は少なくなる。

以上、真値に対する除外処理後の $L_{Aeq, 1h}$ との相関係数からは、相関係数は高いほど信頼性が向上するが、除外処理前のデータに対する $L_{Aeq, 10min}$ の除外処理個数からは除外個数をあまりにも多くすると $L_{Aeq, 1h}$ 値の欠落が増加するため、地域の騒音レベルを適切に評価できない可能性が出てくることから、総合的に判断した残留騒音

音の除外処理基準として以下に示す方法を提案する。

$$L_{Aeq, 10min} > 1.28\sigma \text{ 及び } L_{Amax, 10min} > 70dB$$

ここで、対象とするデータは10分間隔で24時間連続したデータであり、 $L_{Aeq, 10min} > 1.28\sigma$ については時間区分毎の σ (標準偏差)、 $L_{Amax, 10min} > 70dB$ については24時間全てのデータに適用する。

今回提案した除外処理基準に基づいて、調査対象とした10地点全ての $L_{Aeq, 1h}$ を算出したデータと特定騒音を全て除外した真値との相関を見たのが、図3である。真値と処理前データ(○)の相関係数は0.740、処理後(●)は0.899となっている。騒音レベルの低いところで真値と処理後のレベルの乖離が大きくなっているが、これは小牛田町で得られたデータが影響しているが原因は不明である。ただし、環境基準の評価は基準時間帯毎に得られた全てのデータを平均することから特に問題になることはないと思われる。

7 まとめ

当所ではこれまでに、道路に面する地域における騒音レベルの測定のうち、沿道周辺における騒音レベルの測定時期、実測時間及び自動車交通騒音以外の騒音に対する除外処理方法等について検討を行い、実態調査時に活用してきている。しかし、対象とする道路交通騒音が影響しないような地域における残留騒音については検討を

表4 除外処理の条件

条件1	時間区分毎 $L_{Aeq, 10min}$ の90%レンジ (標準偏差(σ)の 1.65σ の範囲)の上位5%
条件2	時間区分毎 $L_{Aeq, 10min}$ の80%レンジ (標準偏差(σ)の 1.28σ の範囲)の上位10%
条件3	騒音レベルの L_{Amax} が65dB(A)以上 (条件1及び条件2との組合せ)
条件4	騒音レベルの L_{Amax} が70dB(A)以上 (条件1及び条件2との組合せ)

表5 真値に対する除外処理後の $L_{Aeq, 1h}$ の相関係数

地点名	$L_{Aeq, 10min}$		$L_{Aeq, 10min}$ が 1.65σ 以上の L_{Amax}		$L_{Aeq, 10min}$ が 1.28σ 以上の L_{Amax}	
	1.65σ	1.28σ	>65dB	>70dB	>65dB	>70dB
名取市	0.682	0.698	0.700	0.675	0.723	0.669
利府町	0.795	0.811	0.870	0.843	0.870	0.851
石巻市門脇	0.837	0.788	0.891	0.845	0.827	0.871
鳴瀬町	0.930	0.928	0.894	0.939	0.906	0.944
小牛田町	0.688	0.737	0.707	0.709	0.706	0.836
三本木町	0.898	0.928	0.985	0.962	0.985	0.959
石巻市蛇田	0.942	0.949	0.980	0.969	0.979	0.976
迫町	0.933	0.947	0.932	0.935	0.942	0.945
河南町	0.957	0.949	0.962	0.967	0.962	0.968
築館町	0.875	0.839	0.916	0.870	0.897	0.854

表6 地点毎の $L_{Aeq, 10min}$ の除外個数

地点名	$L_{Aeq, 10min}$		$L_{Aeq, 10min}$ が 1.65σ 以上の L_{Amax}		$L_{Aeq, 10min}$ が 1.28σ 以上の L_{Amax}	
	1.65σ	1.28σ	>65dB	>70dB	>65dB	>70dB
名取市	9	13	39	13	43	20
利府町	13	17	47	33	47	35
石巻市門脇	10	22	46	37	50	42
鳴瀬町	21	16	64	35	65	36
小牛田町	4	20	38	11	40	22
三本木町	9	13	27	16	29	18
石巻市蛇田	13	23	54	32	55	35
迫町	7	15	32	15	35	19
河南町	6	10	57	30	58	32
築館町	13	16	37	17	39	20
平均	10.5	16.5	44.1	23.9	46.1	27.9

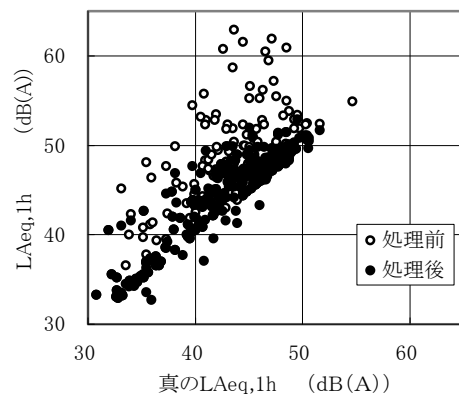


図3 除外処理前後における $L_{Aeq, 1h}$ の関係

行ってこなかったことから、今回残留騒音の除外処理方法について検討を行ったものである。

対象とする道路からの自動車交通騒音が直接影響しない場所において、環境騒音を0.2秒間隔で積分形普通騒音計の内部メモリーに24時間連続測定とともに、レベルレコーダを24時間稼働し聴取できた特定騒音を全て記録したデータをもとに種々の検討を行った。

始めに特定騒音の発生回数では、生活道路を移動する自動車やバイクに関する音が最も多く、次いで鳥の声等の自然音、犬の鳴き声となっていた。また、騒音レベルのピーク平均値では、航空機騒音や鉄道騒音のような他の方法で評価する騒音が64.4dB(A)と最も高く、次いで犬の鳴き声の61.9dB(A)、救急車や宣伝カーのような突発音の61.3dB(A)順であった。

次に、全体的な特定騒音の発生割合を見ると、三本木町の2.6%から利府町の19.1%の範囲にあった。

最後に、残留騒音を適切に評価する方法について、広く県内の市町村でも活用できる方法として統計的手法を用いて検討した。 $L_{Aeq, 10min}$ から求めた標準偏差(σ)のうち特定騒音の発生割合にほぼ相当する80パーセントレンジの上位10%である 1.28σ と90パーセントレンジの上位5%である 1.65σ を用い、又 $L_{Amax, 10min}$ は65dB以上及び70dB以上を除外処理対象として検討した結果、以下の除外処理方法が適切であると判断した。

$$L_{Aeq, 10min} > 1.28\sigma \text{ 及び } L_{Amax, 10min} > 70\text{dB}$$

ここで、 $L_{Aeq, 10min} > 1.28\sigma$ については、時間区分毎の σ (標準偏差)、 $L_{Amax, 10min} > 70\text{dB}$ については、24時間の全データに適用する。

畜舎排水処理施設の周辺環境調査と機能検査について

The livestock barn waste water treatment facilities about an environmental in surrounding investigation and the performance inspection

赤崎千香子 郷右近順子 阿部 郁子
大金 仁一 佐々木久雄

Chikako AKASAKI, Junko GOUKON, Ikuko ABE
Jin-ichi OGANE, Hisao SASAKI

平成2年に事業を開始した畜産業のA事業所は、長年にわたり周辺住民から苦情が寄せられ、平成19年3月に糞尿の不適正処理により水質汚濁防止法に基づく行政処分を受けた。その後も事業所排水の基準超過が疑われたため、該当事業所の周辺環境調査と排水処理施設の機能検査を行った。

周辺環境の調査結果から、この地域の標準的な沢水の水質と比較すると、事業所排水は調査地点の最下流域にまで影響を及ぼしていることが確認された。また、降雨時調査からは一時的な水質の変動は確認できなかったが、河川水量の増加を考慮すると、事業所排水が周辺環境へ及ぼす影響は晴天時よりもさらに大きいことが推測された。

A事業所の排水処理施設機能検査の結果からは、二次処理施設である中空糸膜処理施設の過負荷が危惧され、特定施設の設置届出における原単位の設定にも甘さが認められた。これらの調査結果を基に、事業者に対し改善に関する提案を行った。

キーワード：畜舎排水；水処理；機能検査；環境調査

Key words : livestock barn drain ; water disposal ; performance inspection ; environmental investigation

1 はじめに

水質汚濁防止において排水処理施設の管理責任は各個別の事業所と定められている。畜産農業施設については、『家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律』が施行され、家畜排泄物の適正処理と堆肥化による利用促進が図られている。平成2年に事業を開始したA事業所は、平成5年から周辺住民により悪臭と水質汚濁に係る苦情の申立てをされていたが、平成19年3月には糞尿の不適正処理により、廃棄物処理法に基づいて警察から摘発されている。

このような状況から、事業所排水の基準超過が疑われたため、事業所を管轄する保健所から、該当事業所排水処理施設の機能検査及び周辺環境調査に係る技術支援要請が保健環境センターに行われたので、その調査事例について報告する。

2 方法

2.1 周辺環境調査

(1)調査地点

A事業所の排水が周辺環境にどのように影響を及ぼしているかを調査するため、事業所の上流、下流合せて8地点を選定した(図1)。この事業所は敷地内を沢が通過している。A事業所から最下流にある調査地点No7までは約1.5km離れている。

(2)調査時期

採水調査 平成19年6月20日(晴天時)
平成19年7月30日(降雨時)

調査地点 周辺環境8地点(沢水と事業所排水)

調査項目 pH, BOD, ATU-BOD, SS, 全窒素, アンモニア性窒素, 亜硝酸性窒素, 硝酸性窒素, 全りん, りん酸態りん, 塩素イオン, 大腸菌群数

2.2 機能検査

調査時期 事前調査 平成19年6月14日

採水調査 平成19年6月20日

調査地点 水処理施設11箇所

調査項目 pH, BOD, SS, 全窒素, アンモニア性窒素, 亜硝酸性窒素, 硝酸性窒素, 全りん, りん酸態りん, 塩素イオン, SV, MLSS, MLVSS, 強熱減量

2.2.1 事前調査

事業所の概要と排水処理施設の維持管理状況を把握す

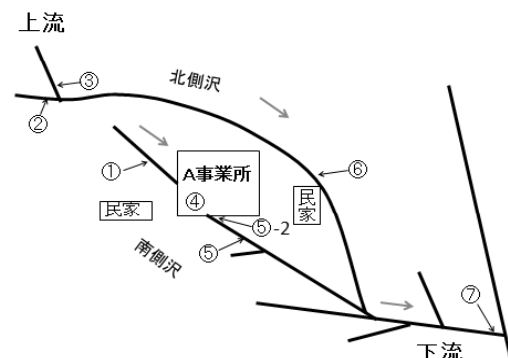


図1 環境調査地点

るために事前調査を行った。また、水質汚濁防止法上の届出内容を図2に示す。事前調査により明らかになった排水処理フローを図3に示す。固液分離装置、水処理施設、汚泥処理施設は整備されているが、施設機能の特徴を生かした運転管理が行われていないため、排水処理システムとして円滑に機能していないことが推測された。

2.2.2 採水調査

事前調査の結果から以下の内容を把握することを目的に機能検査の採水ポイント11箇所(p-1からp-11)を決定した(図3)。

- ①前曝気槽までの前処理段階での固形物除去状況
- ②二次処理である生物処理の状況
- ③三次処理である中空糸膜処理施設の状況
- ④水処理施設の適正規模について
- ⑤汚泥処理状況

また、測定項目は排水基準の水質分析のほか、水処理施設が適正に運転管理されているかを確認するため、負荷計算の根拠となるものを選定した。活性汚泥については汚泥性状を調べるための項目も合わせて測定した。

3 結果及び考察

3.1 周辺環境調査結果

晴天時6月20日は、当日を含め前5日間は降雨は

A 事業所	
・施設の種類	1-2 畜産農業, イ豚房施設
・豚房面積	4, 064 m ²
・飼育頭数	2, 050 頭
・排出水量	36.29 m ³ /日
・糞尿の処理方法	固形分(糞)は強制発酵施設で堆肥化, 尿は活性汚泥法により処理

図2 水質汚濁防止法上の届出内容

なかった。降雨時7月30日は当日6mm/日、前日は10mm/日の降水量であった。

晴天時6月20日の調査結果を表1に、降雨時の7月30日の調査結果を表2に示す。なお、No2北側沢は、晴天時には流量がないため、降雨時7月30日のみの採水となった。

調査結果を事業所の上流側、下流側に分け、主に窒素、りんの数値について考察した。

<事業所上流側>

事業所の上流側に位置するNo1南側沢、No2北側沢(降雨時のみ採取)、No3取水沢の結果を比較したものを図4、図5に示す。晴天時、降雨時共にNo3地点に比べ、No1地点、No2地点の窒素関連項目の数値が高い。過去にA事業所がNo1地点とNo2地点の上流の中間点あたりに糞尿を不適正処理したという事実を併せて考えると、No1地点だけでなく、No2地点の沢にも糞尿がしみでていることが新たに推測された。No3地点はこの地域の標準的な沢水の水質と考えられる。A事業所はNo3地点から豚の飲用水を取水している。

<事業所下流側>

図6に全窒素に対してのアンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素の割合をレーダーチャートで表したものを示す。なお、チャートの大きさは全窒素の量を示している。

アンモニア性窒素として排出された事業所排水はNo7

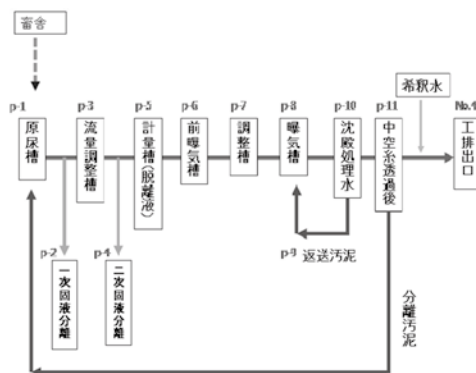


図3 排水処理フローと採水地点

表1 晴天時6月20日の調査結果

検体No.		No.1	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7
採水場所		南側沢	取水沢	工排出口	敷地境界出口	橋の下	南・北沢合流後
項目							
pH		6.9	7	8.2	7.7	7.5	7.5
BOD	mg/L	2.2	<0.5	7.6	42	2.8	1.4
ATU-BOD	mg/L	-	-	-	2	-	-
SS	mg/L	55	3	3	6	22	2
窒素類	全窒素	3.8	0.66	49	12	2.6	5.2
	アンモニア性窒素	0.27	0.02	36	6.3	0.62	0.48
	亜硝酸性窒素	0.56	0.005	11	0.39	0.12	0.092
	硝酸性窒素	2.1	0.14	2	3.9	1.1	4.2
りん類	全りん	0.67	0.059	5.6	1.8	0.97	0.52
	りん酸態りん	0.24	0.029	5.6	1.6	0.9	0.52
塩素イオン	mg/L	6.5	1.9	34	12	4	7
大腸菌群数	MPN/100ml	2,400	220	1,100	2,800	4,900	950

地点に至るまでに自然界中に存在する硝化細菌等により、環境中で酸化され、安定した状態の硝酸性窒素となっている。しかし、この間で河川中の溶存酸素を消費しており、周辺環境へ与える影響を考えれば、事業所排水は排水処理施設により、硝酸性窒素の形態まで安定させた上で排出されることが望ましいと思われる。

＜事業所上流側と下流側の比較＞

事業所の上流で、汚染源の影響がないと思われるNo3取水沢を対象地点として、南側沢と北側沢が合流し、調査地点の最も下流に位置するNo7地点の窒素及びりんの項目について比較したものを図7に示す。No3地点に比べNo7地点の窒素、りんの値が高くなっている。

＜環境基準との比較＞

事業所の最も下流にあるNo7地点で環境基準との比

較を行った(表3)。この河川はA類型にあてはめられており、大腸菌群数に係る環境基準は1000以下であるが、測定結果は950と基準ぎりぎりの値となっている。また、No3地点に比べNo7地点の窒素、りんの値が高くなっていることと併せて考えると(図7)、事業所排水は約1.5km下流にあるNo7地点の水質にまで影響を及ぼしている可能性があるといえる。

＜晴天時と降雨時の比較＞

事業所排水の影響を大きく受けると推定されるNo5地点について、晴天時と降雨時の結果を比較したものを図8に示す。降雨で希釈されているにも関わらず、BODを除く水質濃度はほぼ同じ値を示している。

降雨時には水量が多くなっていることを考えると、負荷量は増加しており、降雨時の事業所排水が周辺環境へ

表2 降雨時7月30日の調査結果

検体No.	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.5-2	No.6	No.7	
採水場所	南側沢	北側沢	取水沢	工排出口	敷地境界出口	敷地境界排出口(追加)	橋の下	南・北沢合流後	
項目									
pH	7.2	7	7.4	8.3	7.8	7.7	7.5	7.7	
BOD	1	<0.5	<0.5	8	11	11	2	0.9	
ATU-BOD	—	—	—	—	1.9	1.4	—	—	
SS	3	1	1	3	6	5	8	2	
窒素類	全窒素	2.8	5.7	0.33	27	13	13	4.1	3.7
	アンモニア性窒素	0.19	0.12	0.02	22	6.3	7.3	0.46	0.09
	亜硝酸性窒素	0.056	0.015	0.005	0.31	0.17	0.18	0.084	0.089
	硝酸性窒素	1.8	5.6	0.24	1.3	3.7	4.1	2.7	3.3
りん類	全りん	0.14	0.039	0.018	2	0.83	0.83	0.33	0.18
	りん酸態りん	0.069	0.028	0.014	1.6	0.62	0.72	0.16	0.16
大腸菌群数	MPN/100ml	18,000	3,300	4,900	160,000	92,000	28,000	24,000	4,600

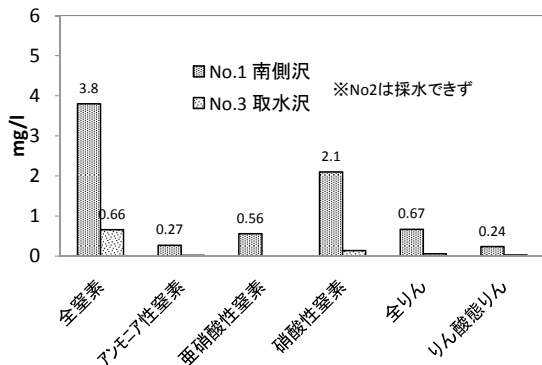


図4 晴天時の事業所の上流側の水質

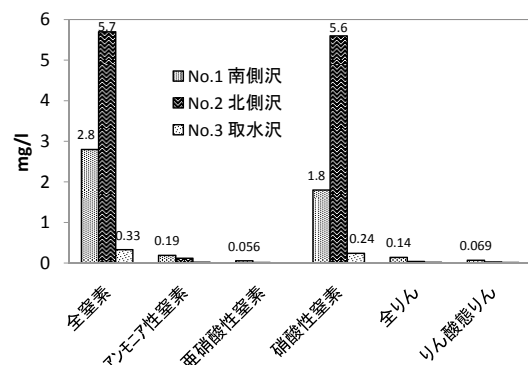


図5 降雨時の事業所の上流側の水質

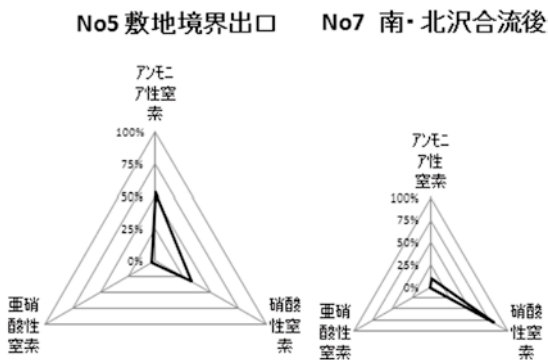


図6 晴天時の窒素バランスの変化

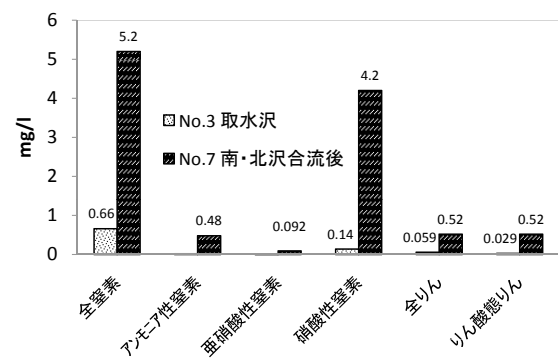


図7 晴天時事業所上流と下流の水質

与える影響は晴天時よりも大きいと考えられる。なお、降雨時にBODの値のみが低くなった原因については、考察したが不明であった。

＜晴天時と降雨時の大腸菌群数＞

晴天時、降雨時の大腸菌群数を比較したものを図9に示す。全体的に降雨時は晴天時に比べおおむね1桁程度の増加となった。しかし、晴天時といえども事業所の最も下流にある調査地点のNo7地点で、環境基準1000に対し測定結果は950と基準ぎりぎりの値を示しており、晴天時、降雨時に限らず、この河川の水を水道水源に利用する場合には十分な注意が必要である。

3.2 機能検査調査結果

採水調査の結果は表4、5のとおりであり、処理水は排水基準に適合していた。

＜水処理状況全体について＞

生物処理である活性汚泥法としては沈殿処理後のpHが高いこと、アンモニア性窒素の比率が高いことから水処理は完了していないと思われる。

水質検査結果から、最終的に排水基準は満たすものの、この施設の水処理は中空糸膜が頼みの綱となっていることが判明した。設計書の中では中空糸膜処理は補助的なものと位置づけされており、過負荷となることが心配された。

＜BODについて＞

曝気槽の散気管が外されているため、酸素の溶解効率が低下し、溶存酸素が不足している。生物処理後の沈殿処理水のBODが540mg/Lであり、曝気槽でのBOD除去率が悪いことがわかった。

生物処理の対象となるBODについては、表6に示す文献値¹⁾と比較しても設計書の原単位は低く設定されていた。

また設計上の基本となる原尿槽の濃度は、BODでは実測値が37,000mg/Lであり、設計値20,000mg/Lの1.8倍であった。

実測値から求めたBOD除去率は75.4%と良くないが、実測値を基に計算したBOD容積負荷は0.12と十分に小

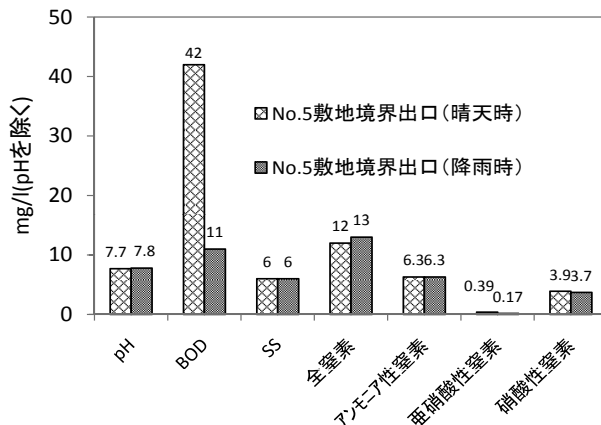


図8 No5地点の晴天時と降雨時の水質の比較

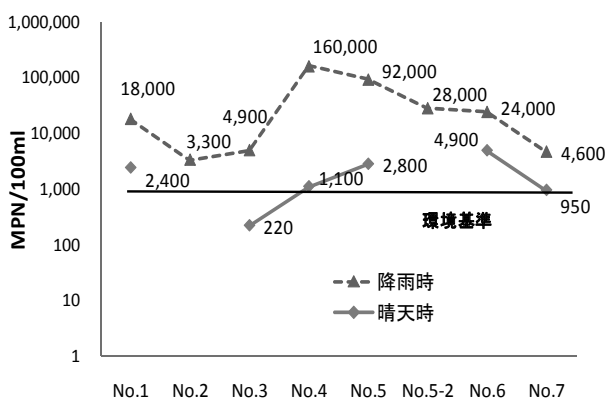


図9 晴天時・降雨時の大腸菌群数

表3 No7地点と環境基準との比較

検体No		No7 晴天時	環境基準
採水場所		南・北沢合流後	河川A類型
pH		7.5	6.5~8.5
BOD	mg/L	1.4	2以下
SS	mg/L	2	25以下
大腸菌群数	MPN/100mL	950	1,000以下

表4 水質調査結果

検体No		p-1	p-6	p-7	p-8	p-10	p-11	
採水地点		原尿層	前曝気槽	調整槽	曝気槽	沈殿処理後	中空糸膜透過後	排水基準
pH			8.5		8.4	8.4	8.3	5.8~8.6
DO	mg/L				測定不能		7.9	
BOD	mg/L	37,000		2,200		540	23	160
SS	mg/L	28,000	1,500	3,600		360	4	200
MLSS	mg/L				5,200			
窒素類	全窒素	mg/L				1,200	750	
	アンモニア性窒素	mg/L				470	470	
	亜硝酸性窒素	mg/L				140	140	
	硝酸性窒素	mg/L				26	26	
りん類	全りん	mg/L				81	81	
	りん酸態りん	mg/L				50	81	
	塩素イオン	mg/L				590	590	

さいため(表7), 曝気槽の容量に問題はないと思われる。

<SSについて>

前曝気槽までの固形物除去については, 一次固液分離のSS除去率は設計書の30%対して, 測定結果は6%と低く, 固液分離装置の能力が発揮されていない。これに比べると二次固液分離は汚泥の含水率は74%と良好で, SS除去率も99%と大変良い状況だった。

原尿槽のSSが, 設計書は20,000mg/Lで設計されているのに対し, 実測値は1.4倍の28,000mg/Lであり, 固液分離ができないことが危惧されたが, 表7からも分かるように一次固液分離の能力不足を二次固液分離が十分に補って処理していた。

調整槽のSSが前曝気槽よりも増加しており, SSの物質収支が合わなかった。これは調整槽の中で汚泥が沈降して滞留しているか, または流入負荷の変動が激しいことが推定された。

曝気槽のMLSS濃度とと返送汚泥のSS濃度を比較すると, 返送汚泥の濃度が低く, 沈殿槽が機能していないことが判明した。

現地調査時においては, 曝気槽の汚泥の沈降性が悪いため, 2時間程度の調査時間ではSVの測定はできなかった。

これより, 運転管理の工夫により, 汚泥の沈降性を改善する必要がある。

設計値と実測値を比較すると(表7), BODとSSの両方とも実測値の方が高く, 設計書の原単位の設定は実測値と比べても甘いことがわかる。

<改善に向けた提案>

これより, 曝気槽での効果的な生物処理を目的として, 以下のことを提案した。

- 1 当面は曝気槽と中空糸膜槽で生物処理を行う。
- 2 散気管を取替えて溶存酸素濃度を上げる。
- 3 曝気槽が正常に機能するまでは, 沈殿槽を使用しない。

採水調査の結果, 現状においては中空糸膜処理施設が水処理の要となっている状況から, 曝気槽の溶存酸素濃度を上げ, 良好な活性汚泥を育成することで, 水処理の主体を曝気槽に戻すこと, 沈殿槽の使用については活性汚泥の回復を待って開始すること, また施設の管理については処理対象汚水量が不明であることから物質収支を明らかにできる運転管理記録を作成することが望まれた。

この水処理施設は, 2つの業者に分割して発注・整備されているため, 維持管理についてもそれぞれの業者が受託・管理しており, 運転管理に一貫性が認められなかった。このためこのような状況に陥ったことも考えられるので, 実践対応のレベルでの総合的な維持管理マニュアルを作成することを提案している。

4 まとめ

周辺環境の調査結果から, 事業所の南側にある沢(No1 南側沢)のみならず, 北側にある沢(No2 北側沢)も汚染源の影響を受けていること, 敷地境界出口からア

表5 汚泥調査結果

検体No		p-1	p-2	p-4	p-5	p-6	p-7	p-8	p-9
採水地点		原尿層	一次固液分離汚泥	二次固液分離汚泥	計量槽(脱離液)	前曝気槽	調整槽	曝気槽	返送汚泥
SS	mg/L	28,000			390	1,500	3,600	5,200	3,700
MLVSS	%					81		77	
強熱減量	%	74	86	76					
含水率	%	96	80	74					

表6 文献値と設計値の原単位の比較

項目	単位	豚ふん尿混合文献値	設計計算書
排出量	kg/日	5.4	5.9
BOD濃度	mg/L	24,000	20,000
SS濃度	mg/L	80,000	20,000

表7 設計計算書と実測値の比較

項目	設計計算書	実測値
処理対象汚水	汚水量 31.4m ³ ・日 BOD 20,000mg/L SS 20,000mg/L	(系列農場からの移送あり) BOD 37,000mg/L SS 28,000mg/L
一次固液分離	SS除去率 30%	SS除去率 6%
二次固液分離	SS除去率 95%	SS除去率 99%
曝気槽	MLSS 3,500 BOD容積負荷 0.402 BOD除去率 98.5%	MLSS 5,200 BOD容積負荷 0.12 BOD除去率 75.4%

ンモニア性窒素として排出された窒素は, 安定した硝酸性窒素になるまでに河川中の溶存酸素を消費していること, No3 取水沢はこの地域の標準的な沢水の水質であり, これと比較すると事業所排水は調査地点の最下流域にまで影響を及ぼしていること, 降雨時の水量の増加を考慮すると, 事業所排水が周辺環境へ及ぼす影響は晴天時よりもさらに大きいことが推測された。

排水処理施設機能検査の結果から, 水処理については前曝気槽までの前半と調整槽以降の後半で固形物収支が合っておらず, 曝気槽のBOD除去率が悪く, 沈殿槽が十分に機能していないことが判明した。これより補助的なものと位置づけされている中空糸膜処理施設の過負荷が危惧された。また, 届出の際の原単位の設定も甘かった。

このような状況になった原因としては, 処理対象汚水量と排出汚泥量が十分に把握されておらず, 水処理施設の維持管理について2つの設備業者がそれぞれの設備を管理していることが挙げられた。

周辺環境調査, 畜舎排水の機能検査共に, 現状を把握したうえで採水したので機能検査から排水処理施設の維持管理への提案が可能であり, 行政指導への支援が実効性のあるものとなったと考える。

参考文献

- 1) 畜産環境対策大辞典, 第2版, 農文協編, p18
- 2) 社団法人日本下水道協会: 下水道維持管理指針, (1979)