

第 28 回 研究発表会
要 旨 集

平成 22 年 3 月 5 日

宮城県保健環境センター

第 28 回保健環境センター研究発表会 プログラム

日 時 平成 22 年 3 月 5 日 (金) 9 : 0 0 ~ 1 6 : 2 0

場 所 保健環境センター (大会議室, 環境情報センター環境学習室, 他)

日 程

- 1 . 開 会 9 : 0 0
- 2 . 開会あいさつ 保健環境センター所長
- 3 . 研究発表
 - 演題 (口頭発表) 1 ~ 1 1 9 : 1 0 ~ 1 1 : 5 5
 - 昼食・休憩 1 1 : 5 5 ~ 1 2 : 4 0
 - 演題 (ポスターコアタイム) 1 2 ~ 1 9 1 2 : 4 0 ~ 1 3 : 4 0
 - 休憩 1 3 : 4 0 ~ 1 3 : 4 5
 - 演題 (口頭発表) 2 0 ~ 2 9 1 3 : 4 5 ~ 1 6 : 1 5
- 4 . 閉会あいさつ 保健環境センター副所長 (研究管理担当)
- 5 . 閉 会 1 6 : 2 0

.....

発表方法

- ・口頭発表 セッション ~セッション
場所：大会議室
時間：発表 10 分, 質疑 5 分, 計 15 分
- ・ポスター発表 コアタイム：12 : 40 ~ 13 : 40
場所：環境情報センター環境学習室 他 (保健, 環境に分けて同時開催)
ポスター：B1 パネル 2 枚以内

=== 研究発表 ===

発表者

セッション **座長：菊地秀夫** 9:10 ~ 10:10

1. 「新型インフルエンザ」発生からこれまでの検査の実際
微生物部 佐藤由紀 高橋由理 阿部美和 植木洋 菅原優子 沖村容子 御代田恭子
2. Google マップを用いた「インフルエンザ様疾患による学校の措置状況地図」について
微生物部 後藤郁男 佐藤由紀 御代田恭子
3. 東北地方で発生した腸炎ピブリオ O3:K6 の PFGE 解析
微生物部 有田富和 宮崎麻由 高橋恵美 後藤郁男 加藤浩之 那須務 渡邊節
御代田恭子
大崎広域水道事務所 小林妙子
食肉衛生検査所 谷津壽郎
4. 生食用鮮魚介類等におけるヒスタミン産生菌に関する調査
微生物部 宮崎麻由 有田富和 加藤浩之 那須務 渡邊節 沖村容子 御代田恭子

セッション **座長：沖村容子** 10:10 ~ 11:10

5. 牛にみられた悪性黒色腫
食肉衛生検査所 中田聡 加美山勇一 谷津壽郎
仙南保健福祉事務所 井上奈奈
動物愛護センター 佐々木隆一
6. 大規模食鳥処理場におけるとたい等の細菌汚染状況
食肉衛生検査所 坂上亜希恵 川村健太郎 八島由美子 橋本直美 福田健二
石川政彦 谷津壽郎
大崎広域水道事務所 小林妙子
微生物部 木村葉子 高橋恵美 渡邊節 畠山敬 御代田恭子
7. アレルギー物質を含む食品の検査について
生活化学部 清野陽子 山口友美 濱名徹
8. 高タンパク質食品における食用酸性タール色素の抽出法の検討
生活化学部 平本都香 山口友美 柳茂 齋藤善則 濱名徹

セッション **座長：渡部正弘** 11:10 ~ 11:55

9. 魚介類中の残留農薬一斉分析法の検討
生活化学部 氏家愛子 千葉美子 大熊紀子 吉田直人 濱名徹

10. うなぎ中のマラカイトグリーン検査における分析法の検討

生活化学部 大熊紀子 吉田直人 千葉美子 氏家愛子 濱名徹

11. 動物用医薬品検査における分析法の検討

生活化学部 吉田直人 大熊紀子 千葉美子 氏家愛子 濱名徹

=== 昼食・休憩 ===

11:55 ~ 12:40

ポスターセッション（コアタイム）

12:40 ~ 13:40

A会場

12. カキを用いたサポウイルスの環境調査

微生物部 植木洋 高橋由理 阿部美和 佐藤由紀 菅原優子 沖村容子 御代田恭子
仙南保健福祉事務所 庄司美加
国立感染症研究所 岡智一郎 片山和彦
国立医薬品食品衛生研究所 野田衛

13. 不良食品からの酵母様真菌類の分離と同定

微生物部 有田富和 宮崎麻由 植木洋 加藤浩之 那須務 渡邊節 沖村容子
御代田恭子

14. 宮城県の臨床検査機関で検出された病原細菌の検出状況について（平成20年度）

仙台市衛生研究所 太田博 勝見正道 関根雅夫 大山文 小黒美舎子

15. 天然着色料の分析

生活化学部 千葉美子 平本都香 山口友美 柳 茂 齋藤善則 濱名徹

B会場

16. AOD試験を用いた環境水のモニタリングについて

水環境部 赤崎千香子 郷右近順子 阿部郁子 小山孝昭

17. 位相差および分散顕微鏡によるアスベスト分析の問題点（2）

仙台市衛生研究所 庄司岳志 梶直貴 菅野猛 菊池正行

18. 放射性ストロンチウム分析の際の硫黄分の影響について

原子力センター 伊藤節男 木村昭裕 島影裕徳 長山美穂 石川陽一 三浦英美

19. 空間ガンマ線線量率上昇と大気中ラドン濃度の関係について

原子力センター 長山美穂 島影裕徳 木村昭裕 伊藤節男 石川陽一 三浦英美

=== 休憩 ===

13:40 ~ 13:45

セッション 座長：氏家愛子

13:45 ~ 14:45

20. 冬季降水の pH 変動に関する一考察

大気環境部 仁平明 高橋誠幸 中村栄一 木戸一博

21. 国設笹岳局における降水中の鉛安定同位体比(2)

大気環境部 北村洋子 佐久間隆 小泉俊一 木戸一博
(独)国立環境研究所 向井人史 田中敦

22. 石巻地区における大気中多環芳香族炭化水素類調査(2)

大気環境部 佐久間隆 小川武 小泉俊一 北村洋子 木戸一博
水環境部 菱沼早樹子

23. 防衛施設の飛行場周辺における WECPL と L_{50} の関係

大気環境部 菊地英男 星川大介 木戸一博

セッション 座長：小泉俊一

14:45 ~ 15:30

24. 畜舎由来医薬品の環境汚染への取り組み

水環境部 郷右近順子 赤崎千香子 福地信一 小山孝昭
微生物部 畠山敬
保健環境センター 佐々木久雄

25. 畜舎排水等における薬剤耐性菌の動態

微生物部 畠山敬 木村葉子 矢崎知子 高橋恵美 渡邊節 御代田恭子
保健環境センター 佐々木久雄
仙南・仙塩広域水道事務所 佐々木美江

26. 包括的水環境診断を目指した *in vitro* バイオアッセイの結果について

水環境部 阿部郁子 郷右近順子 赤崎千香子 福地信一 菱沼早樹子 小山孝昭

セッション 座長：菊地英男

15:30 ~ 16:15

27. 温泉排水中のぼう素・ふっ素濃度実態調査結果

水環境部 福地信一 清野茂 小山孝昭
環境対策課 各保健福祉事務所環境公害関係担当職員

28. 廃棄物分析情報管理システムの構築について

水環境部 秋野正造 鍵谷真男 小山孝昭

29. 産業廃棄物に関するデータベースの構築について

水環境部 鍵谷真男 佐々木ひとえ 小山孝昭
東部保健福祉事務所 藤原成明

1 「新型インフルエンザ」発生からこれまでの検査の実際

微生物部 佐藤由紀 高橋由理 阿部美和 植木洋 菅原優子
沖村容子 御代田恭子

1 はじめに

2009年4月24日「メキシコで新型インフルエンザ発生」のニュースが世界中に流れ、翌日厚生労働省が「メキシコ及び米国におけるインフルエンザ様疾患の発生状況について」を発表し、宮城県においても相談窓口設置など「新型インフルエンザ」対策が始まった。

2 検査体制

新型インフルエンザ対応として準備していた試薬、検査マニュアルの再確認を実施し、今回の新型に関する情報を待っていたところ、国立感染症研究所（感染研）から新型インフルエンザ(AH1pdm)用の試薬、検査法マニュアル、陽性コントロールが配布され、即日リアルタイム RT-PCR 検査を実施し良好な結果を得られることを確認した。また、細かい動作確認、器具器材の確認等シミュレーションを行い、担当全員が迅速、正確、安全に検査できるよう体制を整えた。配布された以外の必要な試薬の準備、また保健所へ配布する検体輸送培地の作製と、感染性物質輸送容器の手配、感染研への検体輸送体制など多方面の準備に追われた。さらに、メールや電話の受付を一本化し、関係者の間で情報が共有できるよう努めた。

3 検査方法

リアルタイム RT-PCR 法とコンベンショナル RT-PCR を併用した。リアルタイム RT-PCR 法では A 型と新型を対象とし、コンベンショナル RT-PCR 法では A 型と季節性の A ソ連型、A 香港型を対象とした。

4 サーベイランスの変化

発生初期から7月23日までは発熱外来での疑い症例患者の検査を行い、新型の有無にかかわらず結果のすべてを国へ報告しなければならない全数報告が実施されていた。その後地域における感染拡大の早期探知のためのクラスター（集団発生）サーベイランスが始まり、8月24日までは、2名以上の集団で疑い患者が出た場合1名についての検査を実施していた。続いて、福祉施設等の集団サーベイランスと入院患者すべてを検査する入院サーベイランスが12月20日まで行われ、その後は入院患者の中でも重篤な場合に限ったの検査に変わった。これらとは別にウイルスサーベイランスも7月24日から行われ、県内5か所あるインフルエンザ病原体定点からインフルエンザ様疾患を疑うすべての検体を目標数150件まで検査することとなり、これは目標数達成の11月半ばまで続いた。現在は重篤な入院患者のサーベイランスと季節性インフルエンザへの移行などの監視のために新たなウイルスサーベイランスを全保健所管内で行っている。

5 サーベイランスの結果

初期の発熱外来では不安を感じて受診した症例が多く、また、まだ例年季節性インフルエンザの感染が残っている時期であることから、A ソ連型や A 香港型ウイルスが検出されていた。6月22日に宮城県初の新型インフルエンザ感染が米国からの帰国者で確認された後は、集団サーベイランスの21件すべてが、また入院サーベイランスでは300件中、遺伝子が検出された259件すべてが新型インフルエンザであった。入院サーベイランスの検査件数は、感染症発生動向調査の週報での定点当り患者報告数と同じような傾向を示し、10月末から大きく増加した。年齢別でみると、乳幼児から中学生までが圧倒的に多く、年齢が高くなるほど検出率が低くなっている。

これらサーベイランスの検体について、医療機関での迅速診断簡易キットの結果と当センターでのリアルタイム RT-PCR の結果を比較した。332検体中、キット、遺伝子検査ともに陽性検体は289件、ともに陰性検体は13件、キット A 陽性で遺伝子検査陰性が8件、キット不明で遺伝子検査陰性が18件、キット A,B 両方陽性で遺伝子検査陰性が2件、キット A 陰性で遺伝子検査陽性が2件あった。キット A 陽性で遺伝子が検出されなかった原因の一つとして、キット診断から検体採取までの数日間に投薬がなされウイルス量が減少したと考えられた。また共通することは高齢者の検体であり、検体の状況から口腔細菌による高濃度汚染も考えられた。キット A, B ともに陽性を示し遺伝子検査陰性だった例は、2種類同時感染事例はまれでありキットの種類もしくは判定法に問題があると考えられた。キット陰性で遺伝子検査陽性の2件はどちらも医師が強く新型インフルエンザを疑ったもので遺伝子検査の方がキットより感度が高いことで検出されたのではと考える。

6 まとめ

これまで様々なサーベイランスにより、500件余りの検体でウイルス検査を実施し、そのほとんどが新型インフルエンザだった。今後はどこまで流行が続くのか、季節性インフルエンザの流行に移動するのか監視を続け、またタミフル耐性ウイルスの出現監視も行っていかなければならない。さらに、今回の新型は辛い毒性の強いものではなかったが強毒性鳥インフルエンザも無くなったわけではなく、新たなパンデミックを起こす可能性のある新型インフルエンザに関心を持ち続け、今後の検査体制を整えていかなければならないと考える。

2 Google マップを用いた「インフルエンザ様疾患による学校の措置状況地図」について

微生物部 後藤郁男 佐藤由紀 御代田恭子

1 はじめに

保健環境センター微生物部内に設置されている宮城県結核・感染症情報センター（以下情報センター）ではこれまで、感染症発生動向調査週報と月報を中心に、感染症の流行情報を提供してきた。特に毎年流行するインフルエンザについては、患者情報に病原体情報を加えて詳細な情報提供を行ってきたが、昨年「新型インフルエンザ」の流行が始まってからは、その監視を強め、また県民に向けてさらなる情報発信を行う必要性が生じた。そこで今回新たに、教育庁スポーツ健康課で集約している「インフルエンザ様疾患による学校の措置状況（以下措置状況）」の情報に着目し、その情報を「Google マップ」を用いて宮城県地図上に表示する新手法を開発した。そしてこの手法を用いて「インフルエンザ様疾患による措置状況地図（以下措置状況地図）」を作成して公開を行った。またインフルエンザの流行と措置状況の関連性について検討したのでその概要を報告する。

2 方法

(1) 措置状況情報の入手

新たに教育庁スポーツ健康課と連携をとり、措置状況を記入したリストをメールで受信しデータとした。

(2) Google マップ API の利用

Google のアカウントと Google マップ API キーを取得し、API キーを保健環境センターのサーバーに設置することで Google マップを無料で利用可能にした。

(3) 措置状況地図を表示するプログラムの開発

Google マップ上にマーカーを表示させるプログラムを JavaScript で作成した。このプログラムの一部には、慶応義塾大学政策・メディア研究科、蔵教授の承諾のもと、同研究室が開発したツールを使用した。また、JavaScript にデータを流し込むデータシートをエクセルで作成した。措置状況地図は情報センターの HP に掲載し、一般公開を行った。

(4) オンラインアンケートフォームの設置

措置状況地図のあり方を問うために、無料のオンラインアンケートフォームを設置して意見を求めた。

(5) 措置状況と患者報告数に関する検討

措置状況の情報がサーベイランスのデータとして活用できるか、措置をとった学校数、学校での欠席者数、罹患者数、欠席率について、それぞれ患者報告数との関連性を簡易に解析した。

3 結果

(1) 措置状況地図の公開

新たに開発したプログラムで、措置の報告があった 2009 年第 35 週より 1 週間単位でまとめて地図を作成し、2009 年 10 月 13 日より一般公開した。現在も最新情報に更新しながら継続して公開している（図 1）。



図 1 措置状況地図の表示例（2009 年第 43 週）

(1) オンラインアンケートの結果

オンラインアンケートで 41 件の回答（回答率 11.5%）を得た。その結果、措置状況地図の利用者は教育機関関係者が 56.5%と最も多く、次いで一般市民・県民が 25%であった。措置状況地図の感想は、「良い・やや良い」を合わせると 65.7%が良いとなったが、「やや悪い・悪い」が合わせて 14.2%あり、表示法の改善を求める声があった。措置状況地図の利用意向については、94.9%が「今後も利用する」という結果になった。

(2) 措置状況のデータ解析

学校における措置状況と患者報告数の関連性について解析を行ったところ、各報告週の 1 定点あたりの患者報告数と対応する週に措置をとった学校数、欠席者数、罹患者数の間には相関が認められた。しかし、欠席率との間に相関は認められなかった。

4 考察

措置状況を地図上に表示する際に「Google マップ API」を利用することで、無償でプログラムを開発し、公開することができた点は有益と思われた。また、措置状況は各週における患者報告数の推移とよく連動し、措置をとった学校数・患者数・罹患者数と患者報告数との間にそれぞれ相関がみられたことから、措置状況の情報を今後のインフルエンザ流行予測データの一部として活用できる事が示された。

今回、情報センターとして新手法を用いて新たな情報発信を行ったが、オンラインアンケートの結果、措置状況地図の利用意向が高いことが判明し、この手法による情報提供に一定の関心が得られたと思われる。一方で、地図の表示に対する不満やさらなる情報提供を求める意見や要望があったことから、今後利便性を向上させ、情報を追加するなど、プログラムの改良を重ねる必要があると考えられた。

措置状況地図の URL

<http://www.ihe.pref.miyagi.jp/~kansan-center/flumap/public.html>

3 東北地方で発生した腸炎ビブリオ 03:K6 の PFGE 解析 パンデミッククローンの動向と新たな血清型の解析について

微生物部 有田富和 宮崎麻由 高橋恵美 後藤郁男 加藤浩之
那須務 渡邊節 御代田恭子
大崎広域水道事務所 小林妙子
食肉衛生検査所 谷津壽郎

1 はじめに

1996 年以降に発生した腸炎ビブリオ食中毒は、腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) 血清型 O3:K6 によるものが多くを占めるようになった。これらの株は遺伝的に極めて類似しており、単一菌に由来するクローンと考えられ、また遺伝子レベルで他の血清型の株（以前に分離された O3:K6 株を含む）とは明確に異なっていた。この株はその後欧米を含む全世界に拡散し、パンデミック株と呼ばれ、公衆衛生上大きな問題となっている。

今回東北地方における腸炎ビブリオパンデミック株の侵淫状況を網羅的に解析するため、東北各県で分離された O3:K6 株についてパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による解析を実施し、さらに一部の株については毒素遺伝子領域の塩基配列による型別を試みたので報告する。また簡便な DNA タイピング手法であるランダム増幅多型 DNA (RAPD) 法の導入についても検討したのであわせて報告する。

2 材料と方法

2006 年度から 2008 年度にかけて当センターを含む東北地方の各衛生研究所及び宮城県医師会健康センターで分離された O3:K6 計 70 株について分子遺伝学的解析を実施した。

PFGE 法は定法に従い制限酵素 *NotI* 及び *SfiI* を用いて実施した。PFGE パターンの解析には FingerprintingII ソフトウェアを用いた。

毒素遺伝子領域の塩基配列はダイレクトシーケンス法で決定した。配列の解析には BioLign ソフトウェアを用いた。

RAPD 法は各菌株から Isoplant で抽出・精製した DNA を鋳型として 13 種のプライマーで実施した。RAPD パターンの解析は PFGE と同じ方法を用いた。

3 結果と考察

PFGE の結果、各菌株は特徴的なバンドの有無などから 9 種類のパターンに分類されたが、相互に極めて類似しており、すべてパンデミック株であると考えられた。

これらの株がパンデミック株そのものであることを確認するため、一部の株について毒素遺伝子 *toxR*・*toxS* 領域の塩基配列を決定し、パンデミッ

ク株及び 1995 年以前の株の塩基配列データと比較解析した。その結果すべての株がパンデミッククローンに共通の遺伝子変異をもっており、これらの株がパンデミッククローンであることが遺伝子配列レベルでも確認された。

なお各菌株の PFGE パターンに地域的・時間的な偏りは認められず、出現から十数年経過した現在でも遺伝的類似度が依然として高く、PFGE 法でパンデミック株同士の比較をおこなうことは困難であると考えられた。

興味深いことに比較対象として解析に加えた血清型不明の腸炎ビブリオ株も PFGE パターン及び塩基配列からパンデミッククローンであることが判明した。この株について改めて複数回の血清型別試験を実施して再確認したところ、血清型 O1:K36 であることが判明した。

近年ではパンデミッククローンの内部から血清型が変異した株 (O1:KUT, O4K68, O1:K25 など) が派生してきており、この株もそうした中で出現したのと考えられる。また非パンデミック型の腸炎ビブリオにおいてもパンデミック株の毒素遺伝子を取り込んだ“次のパンデミック候補株”が出現し始めており、今後は多様な血清型・PFGE パターンの腸炎ビブリオ食中毒が出現して来ることが予想される。このような事態に対処するため、腸炎ビブリオの PFGE 法によるデータの蓄積がますます重要になるものと考えられた。

PFGE 法の最大の欠点は検査に時間がかかることである。そこで迅速な DNA タイピング手法である RAPD 法の導入を試みた。その結果、残念ながら解像度の点で PFGE 法には及ばず、またクラスター解析の結果も PFGE 法とは必ずしも一致しなかった。そのため RAPD 法を腸炎ビブリオの標準的な解析手法として使用するには、特に解像度の向上についてさらに多くの検体を用いた検討が必要であると思われた。

謝 辞

菌株を分与していただいた各地方衛生研究所及び宮城県医師会健康センターの皆様、PFGE 及び RAPD 解析に協力いただいた産業技術総合センター微生物・バイオ応用班の皆様へ感謝いたします。

4 生食用鮮魚介類等におけるヒスタミン産生菌に関する調査

微生物部 宮崎麻由 有田富和 加藤浩之 那須務 渡邊節
沖村容子 御代田恭子

1 はじめに

ヒスタミンは、赤身魚に多く含まれるヒスチジンがヒスタミン産生菌によって脱炭酸されることによって生成され、しばしばアレルギー性食中毒の原因として問題となる。ヒスタミンによる食中毒は、全国で年間十数件程度発生しており、宮城県では平成21年に2件の発生があった。魚介類やその加工品の製造が盛んな宮城県においては、より厳重な衛生管理によるヒスタミンの制御が求められる。今回、生食用鮮魚介類等についてヒスタミン産生菌の検出を実施し、若干の知見を得たので報告する。

2 材料と方法

・対象材料

平成21年6月から9月までに搬入された収去検査用検体で、赤身魚42件、白身魚10件、その他(ほたて・ほや・甘えび等)9件およびゆでだこ17件の計78検体を調査対象とした。

・試料液の調整

試料液A：検体10gにPBS90mlを加えてストマッキングしたもの

試料液B：検体10gを25で24時間培養後、Histidine Broth90mlを加えてストマッキングし、さらに25で24時間培養したもの(検体の虐待試験)

(1) 一般細菌数測定

試料液Aを用いて、 10^2 から 10^4 までの10倍段階希釈液1mlを1%食塩加味標準寒天培地に混釈し、25で24時間培養して一般細菌数を求めた。

(2) ヒスタミン産生菌MPN

試料Aを用いて、 10^1 から 10^4 までの10倍段階希釈液1mlをHistidine Broth10ml各3本にそれぞれ接種し、25で24時間培養した。発育を示したものについてPCRによりヒスチジン脱炭酸酵素遺伝子の有無を確認しヒスタミン産生菌MPN値を求めた(ヒスチジン脱炭酸酵素遺伝子PCR MPN)。

(3) PCRによるヒスチジン脱炭酸酵素の検出

試料液Bを用いてヒスチジン脱炭酸酵素を標的遺伝子として、試料中のヒスタミン産生菌の有無を検査した。

(4) ヒスタミン産生菌の分離および同定

PCR陽性であった検体についてBTB培地に塗抹し、25で48時間培養した。乳糖分解菌、非分解菌をそれぞれ30菌株ずつ釣菌し、分離菌株について再度PCRによりヒスチジン脱炭酸酵素遺伝子を有する菌株を特定した。陽性菌株について、それぞれ1%の食塩を加えたTSI寒天、LIM培地、SIM培地、VP半流加部地、尿素部地、シモンスのクエン酸部地に接種し、25で48時間培養して生化学性状を検査した。併せて、簡易同定キット(BBLクリスタル：日本ペクソン・ディッキンソン株式会社)を用いて菌種の同定を行った。

3 結果

(1) 一般細菌数測定およびヒスタミン産生菌MPN

PCR陽性となった検体22件の一般細菌数については $5.0 \times 10^2 \sim 3.9 \times 10^6$ cfu/mlの間で推移しており、 10^2 オーダーが2件、 10^3 オーダーが5件、 10^4 オーダーが7件、 10^5 オーダーが7件、 10^6 オーダーが1件であった。また、ヒスタミン産生菌MPNは、 <3.0 /mlが11件(50.0%)、 3.6 /mlが7件(31.9%)、 6.2 /mlが2件(9.1%)、 7.4 /mlが1件(4.5%)、 15 /mlが1件(4.5%)であった。

(2) PCRによるヒスチジン脱炭酸酵素の検出およびヒスタミン産生菌の分離・同定

虐待試験検体のうち、22件がPCR陽性となった。さらに、これら22件から106株のヒスチジン脱炭酸酵素陽性菌株を分離した。陽性検体のうちわけは、赤身魚が11検体(50.0%)、白身魚が5検体(22.7%)、その他の魚介類が6検体(27.3%)であった。同定したヒスタミン産生菌は *Morganella morganii* 73株、*Klebsiella oxytoca* 14株、*Pantoea agglomerans* 5株、*Providencia rettgeri* 4株、*Proteus vulgaris* 2株、*Enterobacter gergoviae* 2株、*Klebsiella pneumoniae*、*Serratia plymuthica*、*Ewingella americana*、*Flaviamonas oryzae*、*Enterobacter cloacae*、*Kluyvera ascorbata*各1株ずつであった。

4 考察

今回、虐待試験を実施した78検体のうち、22件からヒスチジン脱炭酸酵素遺伝子が検出された。ヒスチジン含有量の多い赤身魚の他、白身魚、ゆでだこ、ほたて、ほや、甘えびからも検出され、魚種に関わらずヒスタミン産生菌の存在が確認された。また、これらから分離された106菌株のうち73株(68.9%)はヒスタミン産生菌として最も代表的な *Morganella morganii* であった。分離菌はその他、*Klebsiella*、*Providencia*や *Serratia*等の腸内細菌科であった。多くが環境常在菌であることから、取扱いまたは流通過程で二次汚染があったことが考えられた。一般細菌数は $10^2 \sim 10^6$ cfu/mlと多かったのに対し、ヒスタミン産生菌量はヒスチジン脱炭酸酵素遺伝子PCRのMPN値で $<3.0 \sim 15$ /mlと低く、全体に占めるヒスタミン産生菌の割合は非常に少なかったが、条件を整えば菌が増殖してヒスタミンを産生する可能性のあることが示唆された。ヒスタミンの制御は衛生的取扱いと温度管理が重要であり、一度産生されたヒスタミンは加熱によっても減少しないことから、一般消費者を含めた鮮魚介類の取扱いについての周知徹底が必要であると思われる。

今後はPCR陽性検体について生化学検査によるヒスタミン産生量の測定等さらなる調査を加え、ヒスタミンによる食中毒防止の一助としていきたい。

5 牛にみられた悪性黒色腫

食肉衛生検査所 中田 聡 加美山勇一 谷津壽郎
仙南保健福祉事務所 井上奈奈
動物愛護センター 佐々木隆一

1 はじめに

と畜検査において腫瘍病変に遭遇し検索をする機会は少なくない。一般に、腫瘍の転移巣では原発腫瘍と同一の性質をもつ細胞によって病変が形成される。その中で今回、体表に黒色腫瘍を形成し、多臓器に白色腫瘍が認められた症例に遭遇した。詳細に病理組織学的検索を実施した結果、この症例を転移巣でメラニン産生の乏しい悪性黒色腫と診断し、興味ある所見が得られたので、その概要を報告する。

2 材料及び方法

(1) 材 料

当該畜は 16 才の黒毛和種の繁殖用雌牛。脂肪壊死症の診断書にて病畜として起立位で搬入された。生体検査において一般症状に著変なく、左腰部に膨隆した腫瘍が認められた。

(2) 方 法

解体検査実施後、主要臓器および病変部を採材し 10%中性緩衝ホルマリン液で固定。これらをパラフィン包埋し組織切片を作製した。鏡検に際し、組織学的検索としてヘマトキシリン・イオン(HE)染色、フォンタ・マツシ染色、過マンガン酸カリウム・シュウ酸による漂白法、シュモール反応を実施。免疫組織化学的検索では抗ヒト S-100 抗体(ホリクローナル抗体(DAKO)、抗ヒト HMB45 マウスモノクローナル抗体(ニフイ)を使用した。

3 成 績

(1) 肉眼所見

腰部の皮膚に形成された腫瘍は、鶏卵大で表皮に覆われ、断面は黒色充実性で硬結感があった(図1)。この黒色腫瘍直下の腸骨下リンパ節は小児頭大(図2)および内側腸骨リンパ節、腎リンパ節も拳大に腫大し、それぞれの断面は白色充実性で僅かに黒色部分が認められた。また、肺実質内に小豆大の境界明瞭な白色腫瘍が散在、



図1: 腰部皮膚の黒色腫瘍

肺リンパ節・前気管支リンパ節・気管支リンパ節も腫大し、断面は共に白色充実性で一部に黒色部分が認められた。肝臓は胆管結石および胆管肥厚を認め、肝リンパ節が腫大し、断面は同様に白色充実性で僅かに黒色部分が認められた。



図2: 腸骨下リンパ節の白色腫瘍

(2) 組織所見

皮膚の腫瘍は、真皮内に腫瘍細胞がびまん性に増殖し、シート状に配列、深層では波状、渦状に結合組織を伴って増殖していた。腫瘍細胞は楕円形から多角形、紡錘形と多彩な形状を示し、その多くは細胞質内に茶褐色の顆粒を含み、核分裂像も散見された。

肺の腫瘍は正常組織と結合組織により区画されるが、正常組織内にも腫瘍細胞の浸潤が認められた。また、腫瘍細胞の増殖形態は皮膚腫瘍と同様であった。腫瘍細胞は、皮膚腫瘍と同様に多形性であるが、褐色顆粒を含有しない細胞が多く認められた。

左腸骨下リンパ節、肺の各リンパ節、内側腸骨リンパ節および腎リンパ節では、腫瘍細胞の増殖態度や形状は皮膚や肺の腫瘍と同様であり、リンパ節の固有構造は消失していた。肝リンパ節は固有構造が残存したが、他の腫瘍と同様の腫瘍細胞が浸潤していた。

皮膚腫瘍のフォンタマツシ染色で腫瘍細胞内の顆粒は黒褐色を呈した。肺の腫瘍および腸骨下リンパ節のフォンタマツシ染色では顆粒をもたない腫瘍細胞が広範に分布した。これらの組織を過マンガン酸カリウム・シュウ酸法で漂白したところ、茶褐色顆粒は1時間で漂白され、またシュモール反応では青緑色を呈した。また、腫瘍細胞は S-100 蛋白抗体陽性であった。なお、HMB45 抗体において陽性所見は得られなかった。

4 考 察

悪性黒色腫は、通常メラノサイトが存在する「皮膚」や「脳軟膜」等を原発として、血行性、リンパ行性に転移する。本症例においても、腰部に形成された皮膚腫瘍よりリンパ行性に、領域を支配する腸骨下リンパ節、および全身に転移したと推測した。概して「悪性黒色腫」は、黒色の腫瘍や墨汁を散布したような病変を形成するが、今回の症例では転移巣において白色腫瘍を形成した。

悪性黒色腫には、メラニン色素が微量あるいは欠如しているために、腫瘍が白色、灰白色を呈する「無メラニン色素性黒色腫」があり、悪性度の高い腫瘍として知られている。本症例の転移巣でも、メラニン色素をもたない悪性度の高い細胞が多数認められた。このことから原発腫瘍よりメラニン産生能を欠如した未分化な腫瘍細胞が主に転移し各臓器に白色腫瘍を形成したものと推測する。

免疫組織化学検索で使用した HMB45 抗体は、ヒトの悪性黒色腫で特異的マーカーとして使用されており、「無メラニン色素性黒色腫」の診断にも有効とされている。既に豚の悪性黒色腫で有用との報告があるが、今回の牛の症例での陽性所見は得られなかった。

6 大規模食鳥処理場におけるとたい等の細菌汚染状況

食肉衛生検査所 坂上亜希恵 川村健太郎 八島由美子 橋本直美
福田健二 石川政彦 谷津壽郎
大崎広域水道事務所 小林妙子
微生物部 木村葉子 高橋恵美 渡邊 節 畠山 敬 御代田恭子

1 はじめに

平成 18 年度から食鳥処理場における全国的な微生物汚染実態調査が開始された。当検査所でも、所管する A 食鳥処理場において同調査を実施している。今年度は同一とたいを追跡した拭き取り調査と、新たに従事者の手指・施設の拭き取り調査を行った。また、調査中に食鳥処理ラインが改修されたので、施設改修前後の比較を行った。

2 材料と方法

平成 21 年 4 月から平成 22 年 2 月にかけて、食鳥処理施設及び食肉処理施設(以下カット室)において、拭き取り調査を実施した。処理工程ごとのとたい胸部・腹腔、従事者手指、胸肉製品及び胸肉ラインのコンベアを対象とした。調査方法は、「食鳥処理場における HACCP 方式による衛生管理指針;モニタリング方法及び細菌検査法の解説」に準じた。

細菌検査は一般生菌数、大腸菌群数、カンピロバクター及びサルモネラについて行い、方法は「食品衛生検査指針(微生物編)」に準じた。カンピロバクターとサルモネラは分離・同定後、血清学的検査とパルスフィールドゲル電気泳動(以下、PFGE)による分子疫学解析を行った。

3 結果

(1) 細菌汚染状況

食鳥処理施設でのとたいの菌数は工程が進むに従い減少し、チラー後は顕著であった。カンピロバクターは、脱羽後のとたい胸部で 80 %から検出され、その後もチラー前までの全ての工程で検出された。腹腔ではチラー後も菌が検出された。サルモネラは、内臓摘出後のとたい腹腔で検出率が最も高く、チラー後では検出されなかった。とたいからカンピロバクターやサルモネラが検出された調査日では、従事者手指からも検出され、カンピロバクターは手洗い後にも検出された。

カット室においては、カンピロバクターは、製品皮で 42.9 %、コンベアでは 50.0 %と高率に検出された。サルモネラは、製品では検出されなかったが、コンベアでは 35.7 %から検出された。

(2) 改修前後の比較

処理工程ごとの一般生菌数および大腸菌群数の有意差はなかった。チラー前までのとたいでのカンピロバクター検出率は 80 %前後、サルモネラ検出率は 40 %前後と改修前後も同様であった。カット室での検出率は改修後では減少傾向であった。

(3) 細菌分離結果

1) カンピロバクター:カンピロバクターは 108 株分離され、すべて *C. jejuni* と同定された。このうち 14 株の血清型は、A 群が 10 株、J 群・K 群・Z4 群・分

類不能が各 1 株であった。

2) サルモネラ:サルモネラは 39 株分離され、O7 群が大半を占めた。H 血清型別を行ったところ、すべて *S. Infantis* であった。

3) 養鶏場の比較:15 養鶏場について調査を行い、カンピロバクターは 9 養鶏場、サルモネラは 5 養鶏場から分離された。細菌の分離率は養鶏場ごとに差がみられ、中でも A1 養鶏場ではチラー前とたいのカンピロバクター検出率が 78.5 %、サルモネラ検出率が 67.8 %といずれも高率であった。

(4) 分子疫学解析

C. jejuni は PFGE により 8 つのクラスターに分類された。血清型が A 群の株はすべて相同性 80 %以上を示す近縁の株で、多くが A1 養鶏場と E 養鶏場由来であった。また、*S. Infantis* はすべて相同性 80 %以上を示す近縁の株で、A1 養鶏場由来株は高い相同性を示した。サルモネラは 2008 年 A 食鳥処理場由来株及び 2007 年の患者株と PFGE パターンが一致した。

4 考察

とたいの細菌汚染調査では、一般生菌数及び大腸菌群数はチラー前後に明らかな差がみられた。カンピロバクターやサルモネラについても同様の傾向がみられた。これらのことより、とたいの細菌汚染低減にはチラーが有効であり、チラーの殺菌効果を維持することが重要であるといえる。しかし、チラー後の処理工程であるカット室でコンベアや従事者手指から、カンピロバクターやサルモネラが検出され、特にコンベアの汚染が高く、施設環境からの交差汚染の可能性が示唆された。なお、改修前にコンベアへの次亜塩素酸 Na (100 ppm)でのシャワーリングが開始され、検出率は減少傾向を示した。これについては引き続き調査していくとともに、手洗いとコンベアの洗浄・消毒の徹底を指導していく必要がある。

カンピロバクターは、異なる調査日と異なる採材箇所由来の菌株が同一の PFGE パターンを示した。これらより、とたいと施設及び従事者間での伝播が示唆された。

サルモネラはすべて近縁であり、異なる養鶏場由来株で同一の PFGE パターンを示したのは、直前に A1 養鶏場のロットが処理されていることから、A1 養鶏場由来株による施設の汚染が考えられた。

今回の調査で、特定の養鶏場がカンピロバクターやサルモネラで高率に汚染されていることが判明した。より効果的に微生物制御を行うためには、汚染群の A1 及び E 養鶏場の処理を最後にすることで交差汚染を防止し、これら養鶏場に対する衛生管理の指導が必要であると思われる。

7 アレルギー物質を含む食品の検査について

生活化学部 清野陽子 山口友美 濱名 徹

1 はじめに

食物アレルギーによる健康被害の発生を防止する観点から、現在、「卵・乳・小麦・そば・落花生・えび・かに」の7品目が発症数・重篤度により特定原材料として定められ、特定原材料を含む加工食品に対して表示が義務付けられている。また表示義務品目に準ずる18品目については、表示が推奨されている。

宮城県は平成16年度に、卵及びそばについてアレルギー物質を含む食品の検査を開始し、現在えび・かにを除く5品目について検査を実施している。定量検査は厚生労働省通知に示された条件を満たしている2種のELISA法検査キットを用いて実施しているが、「公開された統一標準品」を入手できず、検査精度の確認が困難な状況となっている。そこで「模擬試料」及び「陽性コントロール」を作製し、精度の確認について検討したので報告する。

2 方法

2.1 試薬

(1) ELISA法

単一抗原認識抗体を用いたモリナガ FASPEK 測定キット(Mキット)及び複合抗原認識抗体を用いた日本ハム FASTKIT エライザ Ver. (Nキット)を使用した。

(2) 2-D Quant Kit (たんぱく濃度測定キット)

GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社製を使用した。

2.2 試料

(1) 標準物質

卵：全卵を凍結乾燥したもの、乳：市販脱脂粉乳、小麦：市販薄力粉、そば：市販そば粉、落花生：市販粉末落花生を用いた。

(2) 模擬試料

標準物質を製品表示又は食品成分表示のたんぱく濃度をもとにたんぱく濃度約10µg/gとなるようコーンフラワー等で希釈し模擬試料を調製した。加熱試料、未加熱試料を調製したが、加熱条件は乳・小麦・落花生：150 20分、そば：95 10分とした。加熱卵については卵を含む市販ビスケットを標準とし、製造業者に製造方法等を照会し、卵の量(卵たんぱく約2.5mg/g)加熱条件(約100 7分)の情報を得た。

(3) 陽性コントロール試料

乾燥全卵 200mg、脱脂粉乳 300mg、薄力粉 1000mg、そば粉 1000mg、落花生粉末 500mg それぞれに ELISA 法検査キットの検体抽出液 20mL を加え、室温で一晩振盪抽出した。抽出液を 10,000 × g で 30 分間遠心分離後、上清を 0.8 µm のマイクロフィルターでろ過し標準原液とした。標準原液を PBS で 10 倍に希釈し試料溶液(想定たんぱく濃度 0.5mg/mL)とし、2-D Quant Kit でたんぱく量を測定した。測定結果に基づき小麦はたんぱく濃度 200 µg/mL に、卵・乳・そば・落花生は 320 µg/mL に PBS で希釈した。希釈液を混合しさらに 0.2%BSA

を含む PBS で希釈し、小麦は 0.5 µg/mL、その他は 0.8 µg/mL となるよう調製し、陽性コントロール試料とした。

2.3 定量検査 (ELISA 法)

模擬試料 1g に検体抽出液 19mL を加え、室温で一晩振盪抽出した。この抽出試料を 3,000 × g で 20 分間遠心分離後、上清をろ紙でろ過して試料溶液とし、各キットで測定した。

陽性コントロール試料は、標準品希釈液で 20 倍に希釈して試料溶液とし、各キットで測定した。

3 結果及び考察

3.1 模擬試料

表1に模擬試料回収試験結果を示した。卵・乳・落花生においては回収率は「未加熱試料 > 加熱試料」だった。これに対しそばは「未加熱試料 < 加熱試料」であり、また小麦は「未加熱試料 加熱試料」だった。Mキット、Nキット間では、卵・乳・そば・落花生は「Mキット < Nキット」、小麦は「Mキット > Nキット」だった。

定量検査法キットの規格として、回収率 50%以上、150%以下が示されているが、今回作製した未加熱試料の回収率はおおむねこの規格に適合し、ELISA 法検査キットの性能、試験者の技術の確認等の目安として使用可能であると考えられる。

表1 模擬試料回収試験結果

	加熱試料回収率(%)		未加熱試料回収率(%)	
	Mキット	Nキット	Mキット	Nキット
卵	21.6	34.5	52.5	71.0
乳	41.0	43.8	105.0	75.8
小麦	173.3	140.6	168.8	140.4
そば	103.8	157.6	83.6	138.4
落花生	35.8	47.8	47.4	60.8

3.2 陽性コントロール試料

表2に陽性コントロール回収試験結果を示した。卵・そば・落花生は Mキット、Nキット共に cnt.08、cnt.09 間に大きな差はなかった。乳は Mキット、Nキット共に「cnt.08 > cnt.09」だったが、小麦は傾向が分かれた。コントロールの活用については、今後さらにデータを集積していきたい。

表2 陽性コントロール回収試験結果

	Mキット回収率(%)		Nキット回収率(%)	
	cnt.08	cnt.09	cnt.08	cnt.09
卵	70.8	76.8	75.5	70.4
乳	133.7	84.8	138.5	106.0
小麦	146.5	119.9	111.0	145.3
そば	67.7	74.4	114.8	101.8
落花生	65.1	58.4	34.8	33.2

cnt.08：2008年度調製、cnt.09：2009年度調製

8 高タンパク質食品における食用酸性タール色素の抽出法の検討

生活化学部 平本都香 山口友美 柳茂 齋藤善則 濱名徹

1 はじめに

食品中の食用酸性タール色素の検査において、当所では、ポリアミド固相カラム精製を用いていたが、キサンテン系色素の赤色 3 号(以下 R3), 赤色 104 号(以下 R104), 赤色 105 号(以下 R105) が検出されにくいという問題が生じていた。そこで昨年度、パイオミキサーまたは超音波処理後に振とう抽出後、限外ろ過精製する方法を検討し¹⁾, 検査法を変更した。その結果、和菓子等ではこれらの色素が検出可能となったが、かまぼこやたらこ等の高タンパク質食品では、依然として検出されない事例が散見された。そこで、今年度は高タンパク質食品における抽出法について検討したので報告する。

2 方法

2.1 試料

試料は、かまぼこ、たらこ(以上は色素使用表示のあるもの)、色素使用表示のないもの、なると、飛魚卵(以上は色素使用表示のあるもの)を用いた。

2.2 標準品

標準品は食品着色料検査試薬用対照試液 A セット(東京化成工業株)を用いた。この全 12 色を混合したものを混合標準液とした。

2.3 装置および測定条件

高速液体クロマトグラフィー(以下 HPLC)は、フォトダイオードアレイ検出器付き(株)島津製作所製 Prominence シリーズ、分析カラムは TOSOH TSKgel ODS-80Ts(4.6×150mm)(東ソー株)を用いた。カラム温度は 40℃, 移動相は 0.01mol/L 酢酸アンモニウム溶液とアセトニトリルのグラジエント溶出(95:5 から 50:50 までの直線濃度勾配を 30 分間、その後 5 分間保持)とした。モニタリングは 420nm(黄色系), 520nm(赤色系), 610nm(緑・青色系)の 3 波長で行った。

2.4 検討内容

色素使用表示のない試料は添加回収試験に用いた。試料 5g を分取し、混合標準液を試料換算 10ppm となるように添加して一晩静置した後、色素の抽出を行った。色素使用表示のある試料は 10g 分取し、そのまま用いた。試料液の調製方法は図 1 に示した。色素の抽出は、パイオミキサーを用いた抽出溶媒中での粉碎抽出(法)及び超音波処理後振とう抽出(法)を行った。抽出回数を 2 回とし、1 回目と 2 回目の抽出で得られた試料液をそれぞれ分析し、検出される色素の量を比較した。色素の精製は、遠心式ろ過ユニットのアミコンウルトラ-15(NMWL:100K)(日本ミリポア株)を用い、限外ろ過を行った。

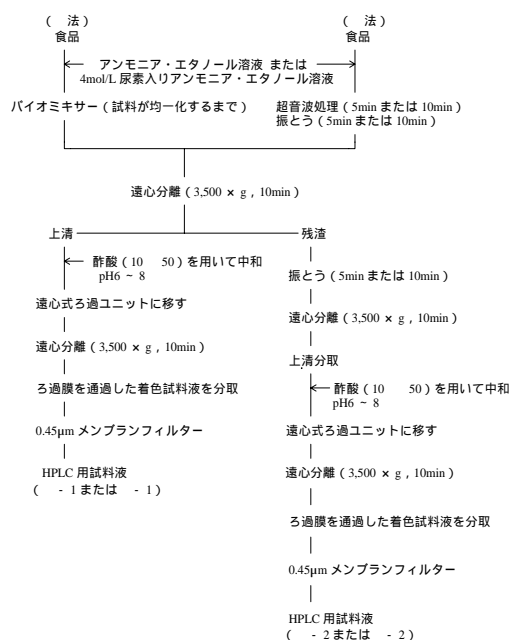


図 1 試料液の調製方法

3 結果および考察

添加回収試験の結果、かまぼこ、たらこ共に全色素が定性された。1 回目抽出液(-1 または -1)では、キサンテン系色素の R3, R104, R105 の回収率が非常に低かったが、2 回目抽出液(-2 または -2)では、これらの回収率が向上する傾向がみられた。しかし、たらこでは 2 回目抽出液においてもこれらの回収率が非常に低く、特に 法で低かった。そこで、たらこの抽出には 法を用いることとし、4mol/L 尿素入りアンモニア・エタノール溶液で抽出を行ったところ、若干の回収率向上がみられた。

色素使用表示のある試料においても、1 回目抽出液では赤色 102 号や赤色 106 号等が多く検出され、R3, R104, R105 は検出されないか、検出されてもクロマトグラム上のピーク面積は小さくなる傾向がみられたが、2 回目抽出液では検出され、1 回目よりもピーク面積が大きくなっていた。これらのことから、かまぼこ、たらこ等の高タンパク質食品において、キサンテン系色素の R3, R104, R105 の検出を向上させるためには、2 回目の抽出が有効であると考えられた。

参考文献

1) 林都香, 千葉美子, 柳茂, 山口友美, 氏家愛子, 濱名徹: 食用酸性タール色素の抽出および精製法の検討, 宮城県保健環境センター年報, No.27, 97-99 (2009)

9 魚介類中の残留農薬一斉分析法の検討

生活化学部 ○氏家愛子 千葉美子 大熊紀子 吉田直人 濱名 徹

1 はじめに

畜水産物の残留農薬一斉分析法については、厚生労働省の通知法では、ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)による脂質等の除去とミニカラム精製を組み合わせた方法を採用している。この方法はGPC精製用機器を必要とするほか、多検体を同時に処理できないためGPC精製にかかる処理時間が長い。このため、簡便で迅速な一斉分析方法の検討を行い、知見が得られたので報告する。

2 方法

- (1) 試料：養殖銀鮭、うなぎ蒲焼き、活アサリをホモジナイズし冷凍保存したものを用いた。
- (2) 装置：GC/MS/MS；Varian社製1200, GC/MS；Agilent社製6890/5973inert, 6890/5973A, LC/MS/MS；AppliedBioSystems社製API3000
- (3) 精製用ミニカラム：RomerLabs社製多機能カラムMultisep PR, ジーエルサイエンス社製GL-PAK Carbograph(500mg)及びCarbograph/PSA(1g/1g), Varian社製BondElut SAX/PSA(500mg/500mg)及びPSA(500mg), Waters社製Sep-Pak C18(360mg)
- (4) 試料液調整方法：均一化した試料10g(標準品添加量：試料換算0.02ppm)に硫酸マグネシウム2.5g及びアセトン/ヘキサン(1/1)25mlを加え、ポリトロンで1分間抽出後、2500rpmで5分遠心分離をする。溶媒層をろ過分取して、残さにアセトン/ヘキサン(1/1)15mlを加え、10分間振とう後、2500rpmで5分遠心分離をする。溶媒層をろ過し先の溶媒層と合わせて50mlに定容する。20mlを採り濃縮乾固後、アセトニトリル(以下CH₃CNとする)飽和ヘキサン5mlで溶解し、ヘキサン飽和CH₃CN 10mlを加えて5分振とうする。CH₃CN層を採り、同操作を更に2回繰り返す。CH₃CN層を合わせ約5mlに濃縮してMultisepPRに負荷する。流出液を採取しCH₃CN 5ml, CH₃CN/トルエン(3/1)5ml及びメタノール5mlで溶出したのち、濃縮乾固後、アセトン1mlで溶解してGC/MS/MS用試料液とした。LC/MS/MS用試験液は窒素パージによりメタノールに転用(5倍希釈)して調製した。
- (5) 測定条件：既報¹⁾に準じた。

3 結果

(1) 精製用ミニカラムの検討：当所の野菜・果実の分析SOPに規定するGL-PAK CarbographとBondElut SAX/PSA及び多機能カラムMultisep PR、脂質等の除去に有効と考えられるSep-Pak C18を用い、銀鮭を対象にCH₃CN抽出による添加回収試験を実施した。各精製法での試料溶液についてGC/MS-SCAN分析によるトータルイオンクロマトグラム(図1)を比較した結果、Multisep PRが脂肪酸等の夾雑ピークの除去に有効であると考えられた。

(2) Multisep PR精製溶媒検討：アセトン/ヘキサン系による負荷・溶出を検討した結果、脂肪酸等の夾雑成分がカラムに保持されず流出してMultisep PRカラムの特性

が発揮できないため、高極性溶媒での検討を行った。この結果、CH₃CN、CH₃CN/トルエン(3/1)及びメタノールを用いそれぞれの分画での溶出液を合わせることで、良好な結果が得られた。

(3) 脱脂：畜水産物等脂肪含有量が多い品目は、野菜・果実等とは異なり、CH₃CN抽出に代わり脂肪を溶解するアセトン/ヘキサン系での抽出をすることとなっている。検討に用いた銀鮭、うなぎ蒲焼きはアセトン/ヘキサン(1/1)抽出液中の脂質が約13~14%であり、Multisep PRでの精製を有効に行うためには、精製前にCH₃CN飽和ヘキサンによる脱脂操作が必要であった。

(4) 実試料への添加回収試験：GC/MS/MS対象252農薬、LC/MS/MS対象80農薬、計332農薬を対象に、銀鮭、うなぎ蒲焼き及びアサリへの添加回収試験(試料換算:0.02ppm, 添加後30分放置し試験)を実施した。この結果、回収率70%~120%及びRSD15%未満であった農薬は銀鮭で203農薬、うなぎ蒲焼きで262農薬、アサリで91農薬であった。加工品のうなぎでは加熱により代謝酵素が失活しているため、対象農薬の8割に良好な回収率が得られたが、生きたままホモジナイズをして凍結保存したアサリは、代謝酵素の活性により添加した農薬が代謝分解されてしまい、対象農薬の1/4程度だけに良好な回収率が得られた。この傾向は有機リン系農薬、ピレスロイド系農薬、DDTなどに顕著であった。

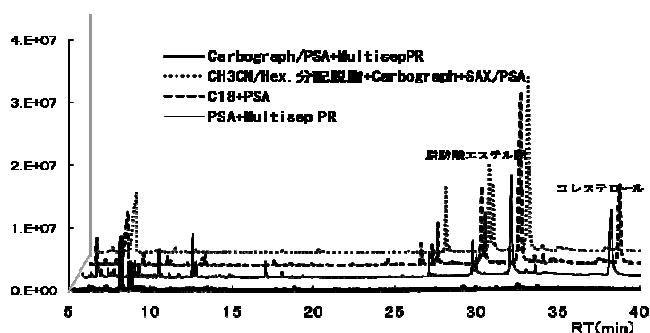


表1. 添加回収試験結果 (n=3)

	GC/MS/MS (検討農薬252)		LC/MS/MS (検討農薬80)	
	回収率70%~120%の農薬数	回収率60%~140%の農薬数	回収率70%~120%の農薬数	回収率60%~140%の農薬数
銀鮭	195 (20)	223 (30)	38 (10)	50 (16)
うなぎ蒲焼	218 (7)	227 (8)	53 (2)	65 (2)
あさり	110 (51)	136 (71)	47 (15)	57 (22)

() 内数字は、各農薬数のうちRSDが15%以上の農薬数

1) 氏家愛子ほか：宮城県保健環境センター年報，26，57-62(2008)。

10 うなぎ中のマラカイトグリーン検査における 分析法の検討

生活化学部

大熊紀子 吉田直人 千葉美子 氏家愛子 濱名徹

1 はじめに

マラカイトグリーン(以下 MG という。)は、食品衛生法上、食品において不検出とされている合成抗菌剤であり、告示試験法¹⁾では代謝物であるロイコマラカイトグリーン(以下 LMG という。)も分析対象とされている。うなぎを試験に供する場合においては安定同位元素標識標準品(以下サロゲートという。)を用いた内標準法又は標準添加法により回収率等の補正を行うこととされており²⁾、当県においても告示試験法に準じ、サロゲートを用いて回収率を補正してうなぎの MG の検査を行っているところである。

しかし、今年度検査において LMG 及びそのサロゲートが同じ挙動を示さず、また LMG のサロゲートの回収率は 40%未満であった。ガイドライン³⁾ではサロゲートを使用する場合はサロゲートの回収率が 40%以上であることを確認することとなっている。これらのことから、サロゲートを用いた回収率の補正ができないことから、サロゲートを使わずに MG 及び LMG の絶対的な回収率が 70~120%の範囲となるような分析法について検討した。

2 方法

(1) 試料:平成 21 年度買上検査検体のうなぎ(蒲焼き)をホモジナイズし凍結保存したものを使用した。

(2) 標準品:マラカイトグリーンしゅう酸塩及びロイコマラカイトグリーン(林純薬工業株)を用いた。

(3) 装置及び LC/MS 条件:LC/MS は Agilent 社製 1100 シリーズ LC/MSD、分析カラムは Agilent 社製 ZORBAX Eclipse XDB-C18(2.1×150mm、粒子径 5µm)を用いた。カラム温度は 40℃、移動相は 10mM ギ酸アンモニウム溶液とアセトニトリルのグラジエント溶出(90:10 から 0:100までの直線濃度勾配を 10 分間、その後 8 分間保持)とした。定量イオンとして MG は m/z 329、LMG は m/z 331 を使用した。

(4) 精製用ミニカラム:Sep-Pak C18(360mg)(Waters 社製)及び BondElut SCX(500mg)(Varian 社製)

(5) 試料溶液調整方法:均一化した試料 5g(標準添加量:MG、LMG 各 20ng)にクエン酸・リン酸緩衝液(pH3.0)10ml を加えて 1 分間ホモジナイズし、アセトニトリル 15ml を加えて 5 分間振とう後 3000rpm で 5 分間遠心分離する。分取したアセトニトリル層を予めメタノール 10ml 及びアセトニトリル 10ml でコンディショニングした Sep-Pak C18 に負荷し、流出液をとる。残渣にアセトニトリル 15ml を加えて 5 分間振とう後 3000rpm で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル/水層を Sep-Pak C18 に負荷、流出液を先の流出液と合わせる。これに塩化ナトリウム 3g 及びジクロロメタン 10ml を加えて 5 分間振とう後、2500rpm で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル - ジクロロメタン層を分取する。これに無水硫酸ナトリウム 20g を加えて脱水後ろ過し、ろ液を予めアセトニトリル 10ml でコンディショニングした BondElut SCX

に負荷し、流出液は捨てる。アセトニトリル 10ml で洗浄後、アセトニトリル/アンモニア水(9/1)10ml で溶出する。溶出液を濃縮乾固(40℃以下)後、0.2%ギ酸/メタノール 1ml に溶解し、0.2µm のフィルターでろ過して LC/MS 用試験溶液とする。

3 結果

(1) ヘキサン層への移行確認:山形県の報告では、にじますについて告示試験法による検査を行ったところ、脂質除去に使用したヘキサン層に LMG が 16~19%移行したという知見が得られている⁴⁾。そこで脂質除去に使用したヘキサン層からヘキサン飽和アセトニトリルによる再抽出を検討したところ、MG 及び LMG の回収率は 37%、17%となり、MG 及び LMG が脱脂工程でヘキサン層に移行していることが確認された。

(2) 脱脂方法の検討:脂質除去に使用したヘキサン層からヘキサン飽和アセトニトリルによる再抽出を行うと、脂質の除去が不十分となること、また LC/MS 測定において MG 及び LMG の保持時間が遅れることが確認された。MG と LMG の置換が起こり得ることから、試験操作は迅速に行うこととされている²⁾が、ヘキサン層からのヘキサン飽和アセトニトリルによる再抽出操作は煩雑であり、時間を要する。そこで、操作時間が短く簡便な Sep-Pak C18 による脱脂を検討したところ、MG、LMG の平均回収率及び RSD は 70%、3.2%(n=5)及び 70%、6.2%(n=5)となった。

(3) 溶解溶媒の検討:告示試験法では LC/MS 用試験溶液としてアセトニトリルに溶解することとなっている。しかし、アセトニトリルで MG のみを希釈し LC/MS 測定を行ったところ、MG の代謝物である LMG のピークが検出された。一方 LMG のみを希釈した場合は LMG のピークのみが検出された。アセトニトリルに溶解することで MG が LMG に置換すると考えられたことから、アセトニトリル、メタノール、0.2%ギ酸/メタノールの 3 種類の溶解溶媒を検討した。その結果、0.2%ギ酸/メタノールを溶解溶媒とすることで MG から LMG への置換が抑えられた。しかしアセトニトリル及びメタノールに溶解した場合と比較して LMG のアバンドランスの低下が見られた。

- 1) 食品、添加物等の規格基準(昭和 34 年厚生省告示第 370 号)
- 2) 平成 18 年 11 月 30 日食安発第 1130001 号厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知
- 3) 食品に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて(平成 19 年 11 月 15 日食安発第 1115001 号)
- 4) 平成 20 年度地方衛生研究所北海道・東北・新潟ブロック専門家会議資料

1 1 動物用医薬品検査における分析法の検討

生活化学部 吉田直人 大熊紀子 千葉美子 氏家愛子 濱名徹

1 目的

平成 18 年度からポジティブリスト制度が施行され、迅速に多くの動物用医薬品(以下医薬品という)を検査するため、当部においては昨年度までオンライン固相抽出-LC/MS/MS 分析を導入することで対応してきた。

しかし、この方法は通常の試料注入によるピークとは異なり、プレカラム(精製カラム)で分離されたまま時間幅を持って分析カラムに導入されるため、ピークが非常にブロードになる医薬品が多い。ブロードピークのトップ割れが生ずる医薬品がある場合、物質の同定が困難であり、マトリクス由来のピークが重なっている場合には更に同定が難しい。また、この方法では精製以降の操作を標準液にも適用して検量線を作成しているため、操作による回収率補正が検量線に加わる。このため、実質回収率が数十%以下の医薬品でも、回収率補正がなされた値が得られるため、見かけ上高い回収率になるという分析真度上の問題点がある。以上のことを考慮し、回収率 50~150%をスクリーニング範囲としてオフライン固相抽出による医薬品分析法の検討を行ったので報告する。

2 方法

試料は宮城県内で市販されている輸入牛肉を用い、分析対象の医薬品は現行 106 種とした。また、試料溶液調製方法の詳細を図 1 に示した。

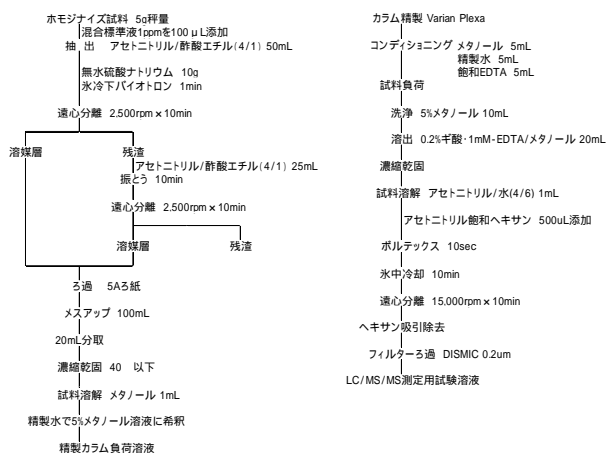


図 1 試料溶液調製方法

LC は Agilent 社製 Agilent1100 シリーズを用い、分析カラムには Agilent Zorbax SB-Aq(2.1 × 100mm, 1.8μm)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た。MS/MS は Applied Biosystems 社製 API3000 を用いた。イオン化は ESI によるポジティブモードならびにネガティブモードで行い multiple reaction monitoring 測定により定量した。

3 結果

(1) 抽出溶媒の検討

試料 5g に混合標準溶液 1μg/mL を 100μL 添加し、抽出溶媒を変えて(アセトン、アセトニトリル、アセトニトリル/酢酸エチル(4/1))、添加回収試験を実施した。その結果、アセトニトリル/酢酸(4/1)を用いた回収率が最も良好であった。

(2) カラム精製洗浄液の検討

精製カラムに混合標準溶液 50ng/mL を 5mL 負荷し、メタノール水溶液(5, 10, 15, 20%)5mL で順次洗浄し医薬品濃度を測定した結果、95%以上保持された医薬品数はそれぞれ 104, 99, 97, 90 であった。また、マトリクス存在下では保持力が低下することが懸念されることから、5%メタノールを洗浄液とした。

(3) 溶出液量の検討

精製カラムに混合標準溶液 50ng/mL を 5mL 負荷し、0.2%ギ酸/メタノール 5mL で 4 回溶出し、各分画ごとに医薬品濃度を測定した。その結果、溶出液 20mL で 95%以上の医薬品が溶出されることが確認された。

(4) 溶出液の検討

牛肉抽出液に混合標準溶液を 5ng/mL になるように添加し精製カラムに 4mL 負荷し、カラム精製以降の回収率を測定した。メタノールと水によるコンディショニング操作に飽和 EDTA 溶液を追加した結果、回収率 50~150%を満たす医薬品数が増加した。さらに、溶出液を 0.2%ギ酸/メタノールから 0.2%ギ酸・1mM-EDTA/メタノールとすることで回収率 50~150%を満たす医薬品数が増加した。特に、EDTA の効果はサルファ剤及びキノロン剤で顕著であった。

(5) 精製カラムの検討

ポリマー逆相系ミニカラムの HLB(OASIS 社製)と Plexa(Varian 社製)をそれぞれ精製カラムとして用いて添加回収試験を実施したところ、Plexa で回収率 50~150%を満足させる医薬品数が増加した。

4 結論・今後の課題

オフラインによる最適分析条件の検討によりオンラインでは同定が困難であった医薬品でもシャープなピークが得られる等、当初の目的であった物質同定上の問題は改善された。

一方、脱脂操作によりヘキササン層へ 50%以上移行する医薬品数が 9 種確認された。また、ドリップ(組織滲出液)が流出した試料では分析可能な医薬品数が減少する等、新たな問題点が浮き彫りとなった。

今後、これらの問題点を改善し分析可能な医薬品数を増加させるためには、医薬品の物性ごとの一斉分析法を視野にいたれた検討が必要であると考えられる。

1 2 カキを用いたサポウイルスの環境調査

微生物部

仙南保健福祉事務所

国立感染症研究所

国立医薬品食品衛生研究所

植木 洋

菅原優子

庄司美加

岡智一郎

野田 衛

高橋由理 阿部美和 佐藤由紀

沖村容子 御代田恭子

片山和彦

1 はじめに

近年、サポウイルス(SaV)を原因とする食中毒が増加している。SaV 感染者はノロウイルス感染者と同様にウイルス粒子を糞便中に排泄するため、SaV の環境や食品への混入が危惧される。SaV の環境や食品への混入の状況を調べることは SaV による食中毒の予防対策を講ずる上で重要である。そこで、カキを用いた環境中のサポウイルス調査を行い、疫学的解析への応用を試みた。

2 目的

環境水中の SaV の挙動の把握を目的とし、ろ過性生物であるカキを用いて SaV 遺伝子の検出検査を行った。

3 材料と方法

カキは県内の下水処理場の処理水受容河川に吊したカキを垂下カキとし、2007 年シーズンは 10 月下旬に垂下開始し同年 12 月に採取したカキ 16 個体、2008 年シーズンは 11 月初旬から垂下し 12 月と 2009 年 1 月に採取したカキ合計 67 個体、2009 年シーズンは 10 月初旬から垂下し 10 月、11 月、12 月および 2010 年 1 月に採取したカキ合計 65 個体を対象に SaV 遺伝子検出検査を行った。

この下水処理場の処理区内人口は約 64 万人で処理は標準活性汚泥法で行われており処理水量は 21 万 t/日であった。

さらに 2007 年と 2008 年の 12 月に県内で市販されていた県内産食用カキ(市販カキ)それぞれ 16 パックについても調査を行った。なお市販カキは 1 パックにつき任意に 3 個体取り出し 1 個体ずつ個別に検査した。

垂下カキ、市販カキともに検査室に搬入後直ちに中腸腺を無菌的に取り出し、細胞破碎法でウイルスの抽出を行った。ウイルス RNA は QIAmp Viral RNA mini kit を用いて抽出・精製し DNase 処理後、Random プライマーを用いた逆転写反応より cDNA を作成した。SaV 遺伝子検出用の PCR は、Okada ら(Arch Virol, 2006, 151:2503-2509)の方法に従った。すなわち、SV-F13/SV-R13, SV-F14/SV-R14 プライマーを用いて 1st PCR を行い、その後 SV-F22/SV-R2 プライマーを用いて nested PCR を行った。PCR 産物はアガロースゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色し紫外

線照射下で確認を行った。

増幅産物はカラム精製後シーケンス用 PCR を行い ABI310 でシーケンスを行った。塩基配列決定後、Blast で検索し Clustal X で分子疫学的解析を行った。

4 結果

2007 年シーズンは垂下カキ 16 個体中 3 個体(18.8%)、市販カキ 48 個体中 1 個体(2.1%)から SaV 遺伝子が検出された。2008 年シーズンは市販カキからは SaV 遺伝子は検出されなかったが、垂下カキからは 67 個体中 2 件(3.0%)から遺伝子が検出された。一方、2009 年シーズンは垂下カキから SaV 遺伝子は検出されなかった。

また、検出された SaV 遺伝子の capsid をコードしている領域の一部の遺伝子の 321nt について塩基配列を決定し分子疫学的に解析した結果、2007 年シーズンに市販カキから検出された SaV 遺伝子と同様に垂下カキから検出された SaV 遺伝子はすべて G /1 のクラスターに分類された。検出された G /1 近縁株は、株間で 99.7%以上の相同性が確認された。

一方、2008 年シーズンに垂下カキから検出された 2 件はそれぞれ G /1 と G /3 近縁株であった。

5 考察

これまで市販国内産シジミ(Hansman ら Emerge Infect Dis., 13, 620-622, 2007)やカキが原因食品と推定される食中毒事例(Nakagawa ら Jpn. J. Infect. Dis., 62, 63-66, 2009)の報告はあるが、市販カキから SaV 遺伝子を検出した報告は国内外で初めての例である。

特に 2007 年は県内で発生した SaV が原因と考えられる感染性胃腸炎事例においても、患者から G /1 近縁株を検出した。このヒト由来株は同年に垂下カキや市販カキから検出された G /1 近縁株の capsid 領域の一部の塩基配列と比較すると、相同性が 100%一致する例も確認され(第 56 回日本ウイルス学会発表)、ヒト糞便に由来する SaV が環境水などを通してカキ取り込まれていることが強く示唆された。

今回の結果より SaV のヒトでの流行を把握するために、ろ過性生物であるカキを用いた SaV のモニタリングは有効であると考えられた。

1 3 不良食品からの酵母様真菌類の分離と同定 非パン酵母による食品汚染について

微生物部 有田富和 宮崎麻由 植木洋 加藤浩之 那須務 渡邊節
沖村容子 御代田恭子

1 はじめに

食品を変敗させる微生物には様々なものがあるが、特にアルコールやシンナーのような臭い(酢酸エチル臭)を伴う場合は酵母菌の関与が疑われる。今回酢酸エチル臭がするとの苦情があった食パンから原因と思われる酵母用真菌類の分離と同定を試みたので報告する。

2 材料と方法

消費者から苦情のあった食パン(開封済み及び未開封各1個)を材料とし、一般細菌数及び酵母菌数の測定は収去検査に準拠して実施した。また液体培地での性状確認はYPD培地を用いて静置培養法で実施した。

ランダム増幅DNA多型(RAPD)法による解析及びPCR法は定法に従い実施した。

PCR産物の塩基配列はダイレクトシーケンス法を用いて決定し、真菌類の塩基配列データと比較することで菌種を同定した。

3 結果と考察

はじめに一般細菌数と酵母菌数を測定した。比較対象とした市販のパン2種では両者とも一般細菌数は3,000個以下であったのに対して、開封済みの検体からは一般細菌数41万個・酵母菌数2,400万個、未開封の検体からは一般細菌数3万個・酵母菌数3万個と多数の菌が検出されこの検体が多数の微生物で汚染されていることが分かった。

培地に発育した集落から20個のコロニーを分離してグラム染色・鏡検したところ、すべてが出芽酵母であった。このことから異臭の原因は酵母菌による異常発酵と推定された。

この異臭酵母の種を同定するため、液体培地中での発育を市販のパン酵母2種(*Saccharomyces cerevisiae* 選抜株)と比較した。パン酵母は静置培養では沈殿するのに対して異臭酵母は培地表面に浮遊するなど、パン酵母とは異なる性状を示した。

次にRAPD法による分析をおこなった。その結果分離した異臭酵母はすべて同一種であること、パン酵母とは遺伝子レベルで異なることが示唆された。

異臭酵母の菌種を同定するため、まず異臭酵母のrDNA領域をPCR法で増幅したところ、増幅産物のサイズは比較対象とした市販酵母とは明確に異なっ

ていた。PCR産物の塩基配列を決定して真菌類の塩基配列データと比較したところ、異臭酵母はハンゼヌラ酵母(*Hansenula anomala*)であることが判明した。ハンゼヌラ酵母はエタノールから酢酸エチルを産生することで知られている、食品衛生上有害な酵母である。

なお製造業者が仕込みに使用していた酵母ダネが天然酵母と称する製品であったことから、当該酵母ダネを入手して解析したところ、野生のパン酵母であることが確認された。

今回の食パンからは多数のハンゼヌラ酵母が検出された反面、仕込みに用いていたパン酵母は全く検出されなかった。このことから製造時の加熱行程は充分であったと考えられる。そのため今回の事例は加熱後の放冷中にハンゼヌラ酵母が付着し、包装後に増殖して酢酸エチルを産生したものと推定された。

酵母菌は食品・環境中に広く存在している。予備的な調査を実施したところ市販の果物からは高率に酵母菌が分離された。酵母菌による不良食品を防ぐためには、製造場の清掃と外部からの気流の制御が重要であることは言うまでもないが、同じ場所で傷んだフルーツや素性不明の野生酵母を使用していないかについても注意が必要であろう。

4 今後の検討課題

酵母菌を含む真菌類のなかには孢子を作る種が多く、その取り扱いには実験室汚染の危険がつきまとう。特に培養検査は危険度が高く、培養器や実験室が汚染された場合には、長期間にわたって通常の微生物検査業務に深刻な影響を及ぼす。真菌類による不良食品事件は今後の発生が予想されることから、培養なしに直接遺伝子レベルで検査する方法の導入について検討を行う必要性を感じた。また製造施設の真菌類汚染状況についても興味を持たれるところである。

謝辞

試料を提供していただいた石巻保健所食品薬事班の皆様、酵母菌の検査について協力いただいた産業技術総合センター微生物・バイオ応用班の皆様にご感謝いたします。

1 4 宮城県の臨床検査機関で検出された病原細菌の 検出状況について（平成 20 年度）

仙台市衛生研究所 太田博 勝見正道 関根雅夫 大山文 小黒美舎子

1 はじめに

日本の食品由来感染症の発生報告数は、食品衛生法に基づいて食中毒として保健所を通して届けられる事例及び感染症法に基づいて定点医療機関から届けられる症例である。しかし、散発事例の多くは上記報告に含まれないことをはじめ、食品に起因する感染症、下痢症等の被害実態が把握できていないとされている。そこで、宮城県における下痢症患者からの食品由来感染症の原因病原体検出の実態を把握することを目的として調査を行った。

なお、この調査は、平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全・安全確保推進研究事業）「食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究」における分担研究「宮城県における積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに急性下痢症患者の実被害者数推定（微生物に起因する原因不明食中毒の実態調査に関する研究）」の一環として行った。

2 調査方法

(1) 調査期間

平成 20 年 4 月 1 日～平成 21 年 3 月 31 日

(2) 調査内容

宮城県内で医療機関が便検査を依頼している 2 検査機関に協力を依頼し、検出病原体データの収集、解析を行った。

(3) 協力検査機関

宮城県医師会健康センター
宮城県塩釜医師会臨床検査センター

3 調査結果

(1) 平成 20 年度の病原細菌の検出状況

平成 20 年度に実施した検便検査件数は 8,327 件であった。O 血清型大腸菌を含めた何らかの病原性がある細菌（病原細菌）の検出状況は 14 種・属、4,401 件で検査件数に対して 53% の割合（検出率）で検出された。検出された病原細菌のうち、下痢症の原因となる細菌（下痢原性細菌）は、10 種・属、4,213 件、検出率 51% であった。昨年度と比較し、検査件数は 85% に減少したが、病原細菌検出率、下痢原性細菌検出率はほぼ同じ値であった。

菌種別では、O 血清型大腸菌が 3,544 件で下痢原性細菌の 84% を占めた。以下、カンピロバクター属菌が 466 件（11%）、黄色ブドウ球菌が 88 件（2.1%）、サルモネラ属菌が 52 件（1.2%）、エルシニア属菌が 31 件（0.7%）、エロモナス菌が 15 件（0.3%）、腸炎ピブリオが 8 件（0.2%）、エドワージエラ・タルダが 5 件（0.1%）、赤痢菌が 3 件（0.07%）、ピブリオ・フルビアリスが 1 件（0.02%）検出された。

最も検出件数の多い O 血清型大腸菌は、毎月 300 件前後検出され、そのうち、腸管出血性大腸菌の検出件数は年間 19 件で、検出された O 血清型大腸菌の 0.5% であった。腸管出血性大腸菌の検出件数は、昨年度の 46% に減少した。検出された O 血清型大腸菌に占める割合も昨年度の 1/2 となっている。

(2) カンピロバクター属菌、サルモネラ属菌、腸炎ピブリオの検出数、検出率の年度推移

カンピロバクター属菌の検出数は平成 18 年度以降減少しているが、検出率は平成 18 年度を除きほぼ同じ値である。サルモネラ属菌は平成 17 年度以降横ならびの傾向にある。腸炎ピブリオは減少している。

(3) 医療圏ごとの検出状況

人口が最も多い仙台医療圏（仙台市）が検体数 4,363 件（52%）と過半数を占め、以下、仙南、大崎、塩釜、登米、岩沼、気仙沼、栗原、黒川、石巻各医療圏の順に検体数が多かった。医療圏別の病原細菌の検出率は、21%（塩釜）～65%（気仙沼・登米）の範囲であった。

各医療圏における検出状況をみると、石巻医療圏を除いて、どの地域も O 血清型大腸菌の検出数が最も多く、ついでカンピロバクター属菌の検出数が多かった。カンピロバクター属菌の総検出数に占める割合には医療圏ごとに若干の違いがあり、たとえば塩釜医療圏では 36% と高く昨年度同様県内で最も高い値であった。石巻医療圏では今年度は検出されなかった。

石巻医療圏では昨年同様黄色ブドウ球菌の占める割合が 44% と高い値であった。

4 考 察

O 血清型大腸菌は、病原性が確定された腸管出血性大腸菌 19 件以外は病原因子が特定されておらず、病原性が不明であり、O 血清型別されただけで、病原性がない株も存在すると考えられる。

黄色ブドウ球菌は腸管常在菌の可能性も考えられ、検出菌のうち何割が下痢症の原因となっているのか推測するのは困難であった。

医療圏ごとの検出菌の違いについては、塩釜医療圏でカンピロバクター属菌の割合が県内一高い、石巻医療圏で黄色ブドウ球菌の割合が高いなど昨年度と同様の傾向が見受けられるものもあったが、各医療圏ごとの検査検体数、検査を依頼する医療機関数にはかなりの差異があり、医療圏ごとの違いを類推するのは困難であると思われた。

15 天然着色料の分析

生活化学部

千葉美子 平本都香 山口友美 柳 茂 齋藤善則 濱名 徹

1 はじめに

天然着色料は、消費者の“食の安全”に対する意識の高まりにより、近年、使用量が大幅に伸びている。天然着色料の種類は100品目を超えるため、食品への添加の有無を検査するには、多項目を同時に分析できる手法が必要とされる。そこで今回、汎用性の高い色素の中から、アレルギー誘発の疑いがある色素やADIが設定されている色素および既存添加物名簿から削除されたアカネ色素の分析法を検討した。

2 方法

2.1 試料

天然着色料の使用表示があった市販菓子類

2.2 試薬

(1)色素標準品

アナトー、モナスカス色素、グレープスキン色素は、和光純薬工業(株)食品添加物試験用、クチナシ黄色素、ラック色素、ベニバナ黄色素は、関東化学(株)食品分析用、コチニールは、関東化学(株)特級、クルクミン、アリザリンは、和光純薬工業(株)特級、ガーデニアブルーは、東洋インキ製造(株)を使用した。

(2)前処理用カートリッジ

Oasis HLB cartridge 200mg, 500mg を用いた。

(3)その他の試薬

ギ酸は、和光純薬工業(株)LC/MS用を、その他の試薬類は、関東化学(株)高速液体クロマトグラフィー用を用いた。

3 測定装置

Agilent 1100Series LC/MSD

4 試料溶液の調製

試料 3~5g を遠沈管に量り、精製水を加えて超音波処理し色素を溶解させた。この溶液を遠心分離し、上清を Oasis HLB cartridge に全量負荷した。精製水で洗浄後、メタノールを用いて色素を完全に溶出させた。溶出液を減圧濃縮乾固し、残渣を50%メタノールに溶解、0.20 μ mのフィルターでろ過して試料溶液とした。

5 結果および考察

5.1 分析法の検討

定量検査は行わず、スクリーニング的な定性検査法の検討を行った。

(1)抽出溶媒の検討

ブドウ果皮は、水より0.1%ギ酸水溶液で抽出率が向上したが、アナトーやモナスカスなど他の色素の回収率が低下した。今回用いた試料からの抽出には、水だけの抽出の方が全体の回収率が良好であった。

(2)試験溶液の精製

前処理用カートリッジとして、4種類の固相カラムを比較検討した結果、Oasis HLBの回収率が最も良好であった。

(3)HPLCおよびMS条件

移動相の溶媒とその溶液濃度について、ピークの分離とグラジエント条件を検討した結果、1%ギ酸とアセトニトリルを使用することとした。MS条件は、標準品から得たマススペクトルをもとに検討を行い、感度良く検出することができた。

5.2 添加回収試験

ガス抜きを行った無色透明の炭酸飲料10mlに、今回対象とした天然色素10種をそれぞれ25ppm(試料換算)となるように添加して、本法により分析を行った。いずれの色素もほぼ50%を上回る回収率を確保でき、定性試験には十分な結果であった。

表 色素の添加回収率 (n=4)

色素	指標成分	回収率 (%)	変動係数 (%)
クチナシ青	genipin	70	3.1
	geniposide	79	2.1
クチナシ黄	crocin	79	0.8
ベニバナ黄	safflomin A	75	3.4
	safflomin B	68	1.4
ブドウ果皮	Mal-3-gluconide	80	1.5
	pt-3-gluconide	67	1.7
	laccic acid A	49	12.1
ラック	laccic acid B	96	2.0
	laccic acid C	78	2.4
	carminic acid	96	2.4
コチニール	demethoxycurcumin	53	3.5
ウコン	curcumin	89	4.6
	alizarin	86	3.7
アカネ	ankaflavin	40	0.5
モナスカス	monascidin	83	2.3
アナトー	norbixin	87	0.6

6 市販食品の分析

本法を用いた市販食品の分析では、クチナシ、紅花黄、紅麴と表示された飴からクチナシ黄色素、ベニバナ黄色素、モナスカス色素を、アントシアニンと表示されたガムからブドウ果皮色素を、クチナシ、紅花黄、フラボノイドと表示されたチョコレートからクチナシ青色素、ベニバナ黄色素を検出した。

7 まとめ

LC/MSを用いて、食品中の天然着色料の定性試験法を検討した。飴、ガム、チョコレート類からの抽出は、水を用いた超音波処理で行い、Oasis HLBカートリッジによる精製後、分析を行ったところ、対象とした10色素すべてにおいて回収率50%以上で定性が可能となった。本法を用いて、市販食品の色素を分析したところ、良好な結果が得られたことから、実用的な方法と考えられる。

16 AOD 試験を用いた環境水のモニタリングについて

水環境部 赤崎千香子 郷右近順子 阿部郁子 小山孝昭

1 はじめに

生物を使った試験は、バイオアッセイといわれ、各物質の個別分析では測定できないような、多種多様な物質の影響を総合的に評価できる手法として注目されている。

保健環境センターでは生物を使った試験としては、東北大学農学部で考案された魚類を用いた濃縮毒性試験¹⁾(以下「AOD 試験」(Aquatic Organisms environment Diagnostics))を約30年前から魚類へい死事故時の原因調査方法として用いている。

竹の内地区産業廃棄物最終処分場では、処分場からの放流水に含まれる複数の物質による周辺環境(荒川)への影響を確認するため、魚類を用いたモニタリングを実施するよう要望があり、AOD 試験を平成21年度から活用することとなった。

従来は魚のへい死があった場合の、河川水の一時的な状況を判断する方法として用いられてきたが、それを定期的に河川をモニタリングするべく試みた。その調査結果についてまとめたので報告する。

2 方法

(1)荒川調査

調査地点：放流水が周辺環境に及ぼす影響を調べるため、最も近い河川(荒川)に放流水が流れ込む地点の上流「荒川上流」と下流「荒川下流」で行った。

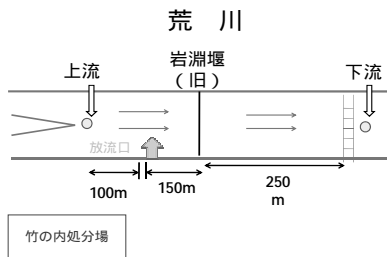


図1 調査地点

調査日：年4回(H21.6, H21.8, H21.11, H22.2)

分析方法：試料を凍結濃縮し、180,320,560,1000%溶液を作成した。100%を含めたそれぞれの溶液100mlをシャーレに移し、試験魚アカヒレ(*Tanichthys albonubes*)を7尾入れ、20℃の恒温槽で48時間飼育した。48時間後の半数致死濃度(LC₅₀)を求めAOD値を算出した。

(2)回収率の確認

凍結濃縮の添加回収試験については、既に行われている²⁾ので、実試料(11月)について10倍濃縮液を作成し、回収率を求めた。NO₃-N, NO₂-N, NH₄-N, PO₄-P, T-N, T-Pはオートアナライザー(TRACCS800, BRAN+LUEBBE), Cl⁻, SO₄²⁻はイオンクロマトグラフにより測定を行った。

(3)標準系列のAOD試験の導入

購入する時期や状況が異なるアカヒレの体調変化等による感度変動を把握するため、毎回使用するアカヒレの感度確認が必要と思われた。既報³⁾を参考とし、蒸留水にNH₄-N, 無機体炭素(以下「IC」)を添加しpH7.0に調整後、AOD値が400%となるような濃度を求めた。この濃度を基にし、100,180,320,560,1000%液を作成し標準液とした。2月から実試料に併せてAOD濃度を求めた。

3 結果及び考察

(1)6月及び8月に実施した結果を表1に示す。有害物質の量が少ない場合、河川水を著しく濃縮しなければ生物は死亡しない。よってAOD試験で得られた値が大きいほど毒性は小さいことになる。

荒川上流と下流の結果を比較すると、6月、8月共にほぼ同じ値となり、処分場放流水が荒川に及ぼしている影響は認められないと考えられる。

表1 荒川調査結果

	6月	8月
荒川上流(%)	750	300
荒川下流(%)	750	430

(2)荒川下流のNH₄-Nについての回収率が52%とやや低い値になった以外は65%~129%と良好な結果を得た。

(3)約半数のアカヒレが死亡する濃度はNH₄-N 30ppm, IC 15ppmとなり、標準系列のAOD値は設定した400%に近い420%となった。

4 まとめ

定期調査の結果、AOD値がその都度異なる値となった。化学分析の結果も含めて考察したが、その明確な要因は見当たらなかった。なお、回収率についてはほぼ良好な結果を得ている。

生物を使った試験であるため、アカヒレの感度変化が想定された。モニタリングの性質上、毎回の感度確認が必要であるとし、確認のため2月の調査からはNH₄-N, ICにより濃度調整した試料を標準液として試料に併せて測定することとした。今後同時再現性試験を行い、データの再現性についても確認したい。

AOD試験を用いて環境水をモニタリングする試みは始まったばかりであり、今後モニタリングを続けデータ収集をしながら、その変動の幅や要因について調査していきたい。

参考文献

- 1)日本水産資源保護協会編(1980):新編水質汚濁調査指針
- 2)宮城県(1979):宮城県公害技術センター報告第8号
- 3)宮城県(1981):宮城県公害技術センター報告第10号

1 7 位相差および分散顕微鏡によるアスベスト分析の問題点(2)

仙台市衛生研究所 庄司岳志 梶直貴 菅野猛 菊池正行

1 はじめに

昨年、我々は、分散染色法が位相差顕微鏡法の定性能力を補完できる可能性があること、一方、発色の難しさや類似の分散色を示す物質に注意が必要な難しい分析方法であることを指摘した。

2008年に、トレモライト等のアスベストも国内で使用されていたことが確認されたことを受けて、今まで検査対象をクリソタイル、アモサイト、クロシドライトとしていたJIS A 1481が改正され、トレモライト、アクチノライト、アンソフィライトも検査対象として加えられ、分散染色法による定性分析はさらに重要性を増すこととなった。

特にこの「建材製品中のアスベスト含有率測定方法」JIS A 1481では1次検査として、粉碎した建材を用いて、分散染色法とX線回折装置による定性分析を行うことになっている。しかし、含有の判断は、分散染色法の結果を優先しており、X線回折スペクトルによりアスベストの含有が示されなくとも、分散染色法でアスベストが確認できれば、含有と判断することとなっている。

電子顕微鏡等の新たな機器整備が難しい現状では、光学顕微鏡類を駆使して分析を行うことが一般的であり、その中でも分散染色法は、定性と計数を同時に行える有用な方法であると考えている。

今回は、建材中に含まれている固着剤成分によって検査対象繊維が覆われていて分散染色法では定性が難しい事例について若干の検討を行ったので報告する。

2 分散染色法における固着剤の影響

吹付け材料等には、固着剤としてセメント等が入っている。これらの成分には石膏やケイ酸塩類、天然鉱物材料等が含まれており、繊維がこれらに覆われてしまうと図-1に示したように、本来の分散色を示さないことや付着物の示す分散色の影響で目的とした繊維の発色がわからないことがある。特にJIS A 1481の1次検査では、粉碎しふるいを通しただけの試料で行うため固着剤の影響を直接受けることになる。

JIS法ではアスベスト含有と判断した試料に対してX線回折装置により定量分析を行うこととしているが、この際、試料は20%ギ酸で処理されている。

X線回折分析にあっては、このような酸処理は、マトリックスの除去と濃縮の意味を持っているが、分散染色法においても固着剤等の除去が期待できると考えられる。

そこで、JIS法に記載されている二次分析試料の作成方法に基づき、ギ酸処理を行ったところ、未処理のものと比較して繊維全体が固着剤に覆われるような繊維は見られなくなっており、酸処理が有効であることがわかった。ギ酸処理に加えて超音波処理も行ったが、

その効果に大きな変化はなかった。

3 偏光顕微鏡観察における固着剤の影響

酸処理により一定の効果はあったものの、固着剤を繊維から完全に剥離することはできなかったため、偏光顕微鏡での観察を試みたところ、繊維に付着する固着剤成分にほとんど影響を受けずに、光学的特性を観察することができた。

図-2に分散染色による写真を示した。この繊維では、一部分が固着剤の覆いより露出しているため、この部分の分散色からアモサイトであることが示唆されるが、この繊維は、繊維の表面全体を固着剤が覆っており、分散色からだけでは繊維の定性が難しい。

しかし、図-3に示した偏光顕微鏡による消光角と図-4の正の伸長性からアモサイトと判別できた。

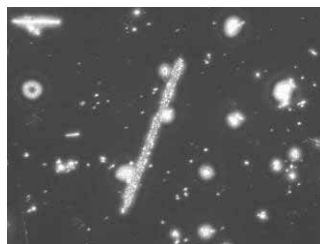


図 - 1

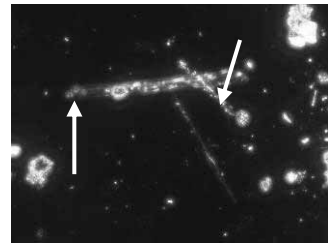


図 - 2

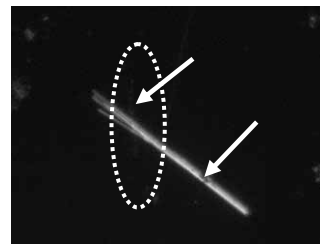


図 - 3

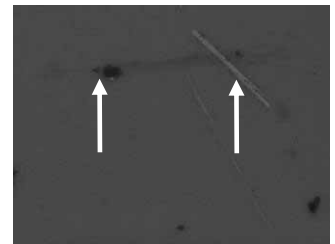


図 - 4

4 まとめ

分散染色法では、試料を酸処理することで、固着剤の影響を軽減できることがわかった。

偏光顕微鏡は、繊維に付着している固着剤にほとんど影響を受けずに繊維の光学的な性質を観察することができることがわかった。

今年度も、国内使用されたバーミキュライトにウインチャイトとリヒテライトが不純物として含まれていたことが明らかとなった。今後も同様に新たなアスベストの定性を求められる可能性が考えられる。

我々は、分散染色法をアスベストの定性に十分に活用するために、対症療法的ではあるが、このような小さな検討を続けて、知見を積み上げていくことが必要であると考えている。

18 放射性ストロンチウム分析の際の硫黄分の影響について

原子力センター 伊藤節男 木村昭裕 島影裕徳 長山美穂
石川陽一 三浦英美

1 はじめに

当原子力センターでは、女川原子力発電所周辺で採取した種々の試料について、放射化学分析を行っている。今回、試料中に共存する元素によってストロンチウム(Sr)の酸抽出が阻害され、結果に影響を及ぼす現象が起きたので、その実例と対策を報告する。

2 分析方法

(1) 分析行程の概要

⁹⁰Sr の分析には、約3週間の時間を要する。その分析行程は大まかに灰化、酸抽出、Srの分離精製、娘核種(⁹⁰Y)の生成及び分離、線の測定、試料中の安定Sr濃度の分析、上記の課程でのSr回収率の補正、となっている。

このうち、灰化と酸抽出は一般の環境分析と共通するものである。これまでに数多くの研究がなされ、対象となる金属と酸の組み合わせの適否等が報告されている。

(2) 元素分析の方法

元素分析は原子吸光度法(フレーム法)及び蛍光X線分析法により行った。使用した試薬は、すべて特級試薬を使用した。

3 現象の概要

牡鹿半島周辺海域で採取したアラメについて放射性⁹⁰Srの分析を行ったところ、Srの回収率が通常50~60%以上のところ、このときは30%台と異常に低下した。再分析したが同様の結果となった。分析行程での損失を疑い分析行程の各段階ごとに確認したところ、酸抽出の段階にある疑いが強まった。アラメの灰化試料の分析における上記分析行程では、6M塩酸を加え加熱・冷却・濾過・再灰化を繰り返しても目視で確認できる量の残渣が生ずる。従来は、あまり考慮せずに廃棄していたが、今回蛍光X線分析を行ったところ、ほとんどSrとSのみ検出された(図1)。この分析法ではネオンより原子番号の小さい元素は検出できない。その重量比率と処理条件(乾式灰化の繰り返し)等から、水に難溶性のSrSO₄が生成していることが判明した。

アラメ等の褐藻類は、硫酸と多糖類が結合したフコイダンというヌメリ成分を多く含む。灰試料の蛍光X線分析の結果を表及び図2に示すが、灰化処理によって残留する硫酸成分がSrと結合しSrSO₄が生成することが予想され、分析結果と矛盾しない。なお、同時に生成が予想されるCaSO₄は幾分水に対する溶解度

が大きいことなどから残渣中に残留しないものと考えられる。

4 対策

今回の回収率低下の主要原因がSrSO₄の生成にあると考えられることから、SrSO₄を溶解しSr回収率を高める方法を検討した。文部科学省が制定したマニュアルには、硫酸イオンを多く含む土壌試料からSrを溶出する場合、炭酸ナトリウム水溶液(30%~ほぼ飽和)を加え数時間攪拌した後濾過し、塩酸でSrを溶出する方法(以下炭酸塩処理と略)が記載されているが、これをアラメ灰試料の酸抽出残渣に適用した。

予備実験としてSrCl₂と(NH₄)₂SO₄からSrSO₄を生成させ炭酸塩処理を行ったところ、90%以上が溶解した。実試料に炭酸塩処理を適用したところ、80~90%の回収率が得られ、改善効果が認められた。

なお、ホヤについても酸抽出残渣が認められたが、分析したところケイ素が多く検出され、SiO₂として存在しているものと推定された。今回、放射性Srの分析行程でこのような現象に直面したが、他の一般的な環境分析でも、試料に含まれる陰イオンと陽イオンの種類と量の組み合わせによっては難溶性塩を生成する可能性があると思われる。

今後は、分析条件の設定に留意したい。

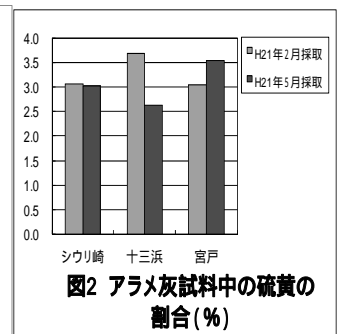
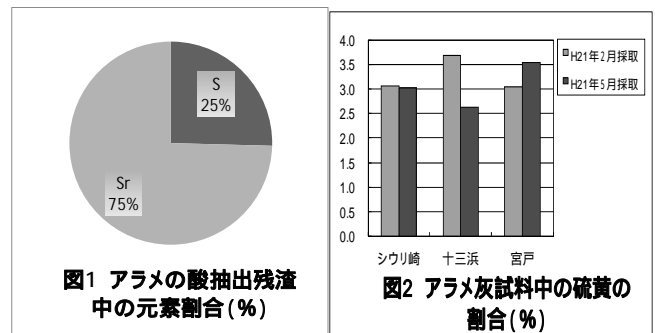


表 アラメ灰試料の蛍光X線分析の結果

重量の比率が1%以上の元素とSrのみ表示した。

試料名	アラメ	アラメ	アラメ	アラメ	アラメ	アラメ
灰	灰	灰	灰	灰	灰	灰
	シウリ崎	十三浜	宮戸	シウリ崎	十三浜	宮戸
採取日	H21.2.10	H21.2.12	H21.2.12	H21.5.12	H21.5.19	H21.5.19
元素	重量%	重量%	重量%	重量%	重量%	重量%
Na	7.770	10.430	9.160	6.150	11.740	6.450
Mg	1.460	1.330	1.020	1.440	2.090	1.060
P					1.200	
S	3.070	3.670	3.030	3.240	4.890	3.160
Cl	44.820	44.820	45.550	43.900	40.580	44.440
K	37.330	33.160	35.350	37.180	30.980	37.130
Ca	2.860	2.860	2.330	3.420	4.580	2.740
Sr	0.336	0.361	0.360	0.430	0.511	0.392
I	1.330	2.010	2.000	3.010	2.620	3.530

19 空間ガンマ線線量率上昇と大気中ラドン濃度の関係について

原子力センター 長山美穂 島影裕徳 木村昭裕 伊藤節男
石川陽一 三浦英美

1 はじめに

本センターでは女川原子力発電所周辺の環境放射線の監視を行うために、発電所周辺に設置したモニタリングステーションにおいて空間ガンマ線線量率の連続測定を行っている。線量率の値は、通常自然放射線により一定の値を示すが、気象等の環境条件の影響を受けて変動する。変動要因の一つとして大気中ラドンの影響がある。ラドン(^{222}Rn)は、土壌中に含まれるウラン(^{238}U)由来の天然放射性同位体で、不活性ガスであるため土壌から大気中へ湧出する。その子孫核種(^{214}Pb , ^{214}Bi)がガンマ線を放出するため、環境の空間ガンマ線線量率は影響を受けて上昇する場合がある。しかし、大気中ラドン濃度は地質、地形的要因及び気象的要因等に左右されて変動し、不明な点も多い。

今回、空間ガンマ線線量率に対する大気中ラドンの影響について興味深い現象が観測されたので事例を報告する。

2 調査方法

大気中ラドン濃度は、モニタリングステーション(女川局、飯子浜局及び小積局の3局)の屋上に設置したラドンモニター(GENITRON(現 SAPHYMO)社製 AlphaGUARD2000 PRO 他)で1時間毎に測定した。ガンマ線線量率は、全モニタリングステーション(7局)の屋上に設置した NaI(Tl)シンチレーション検出器(アロカ社製 3"×3"円筒形、下方2鉛遮蔽付)により10分毎に測定した。降水量、風速については、同じく各モニタリングステーション屋上に設置した気象測器計(いずれも小笠原計器社製)により10分毎に測定した。

3 結果及び考察

2009年8月20日~25日の各モニタリングステーションにおけるガンマ線線量率の推移を図1に示す。線量率は8月21日11時の降雨時に上昇した後、降雨のない8月22日0時~24日12時頃に再上昇している。全てのモニタリングステーションで同じ傾向を示しており、何らかの変動要因があると考えられた。

8月20日~25日の女川局におけるガンマ線線量率と大気中ラドン濃度の推移を図2に示す。8月22日~24日の線量率再上昇時にラドン濃度も増加していることがわかる。このことから、線量率上昇の原因は大気中ラドン濃度の増加にあると推定された。このような傾向は大気中ラドン濃度測定を行っている飯子浜局及び小積局でも同様に見られた。また、降雨後の空間ガンマ線線量率再上昇時の空間ガンマ線スペクトルを解析したところ、降雨前と比べて ^{214}Pb 及び ^{214}Bi 由来のピークの上昇が観察された。このことから、線量率上昇の原因は大気中ラドン濃度の増加に起因することが確認された。

降雨後に大気中ラドン濃度が増加した原因については、その時の気象条件が影響していると考えられる。このことを調べるため、宮城県保健環境センター逆転層測定局(仙台港)の地上160mと地上12mの気温デ

ータを解析した。通常は高度が大きい地上160mの気温が低かったが、大気中ラドン濃度が増加した8月21日~24日には地上12mの気温の方が低くなっている時間が多く、接地逆転層形成が推測された。また、この期間は降雨もなく風速も低い状態であった。

以上のことから、逆転層が形成されたことにより、周辺の土壌から発生したラドンは上方への拡散がされにくくなって地表近くで滞留し、また、風速も低かったために水平方向の移流も少なく、結果として、大気中ラドン濃度が増加し、線量率が上昇したと考えられた。

4 結語

これまでにも、大気中ラドン濃度の増加が原因と考えられる空間ガンマ線線量率の上昇は観測されていたが、今回のように全てのモニタリングステーションで約3日間という長期間観測されたのは稀なケースであった。

今回のケースでは逆転層の形成と低い風速によるラドンの滞留が濃度増加の原因と考えられた。また、ラドンは空気に比べて重いことも滞留する一因となっていると考えられる。

今後も事例検討を重ねることにより大気中ラドン濃度の影響を解明していくことが必要である。

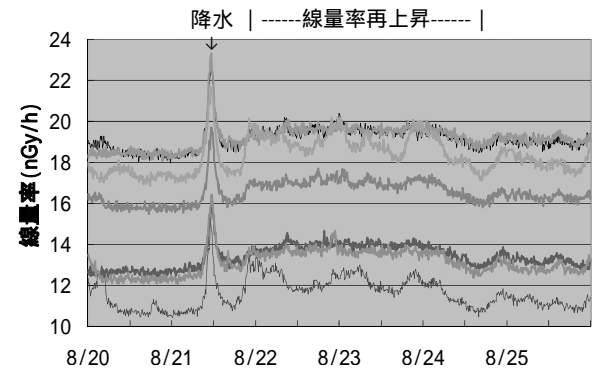


図1 モニタリングステーションにおける空間ガンマ線線量率の推移(2009年8月20~25日)

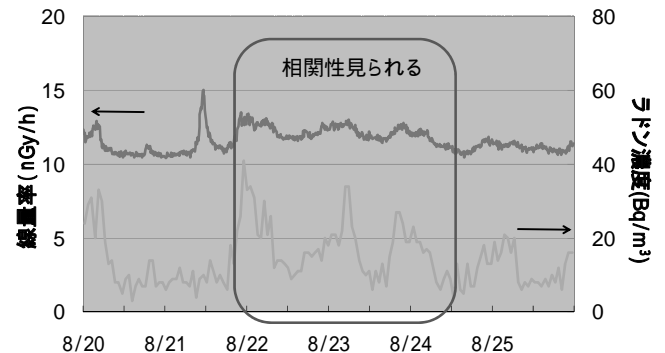


図2 女川局における空間ガンマ線線量率と大気中ラドン濃度の推移(2009年8月20~25日)

20 冬季降水の pH 変動に関する一考察

大気環境部

仁平明 高橋誠幸 中村栄一 木戸一博

1 はじめに

これまで報告してきた酸性雨自動測定結果では、西高東低の気圧配置のときに日本海上で発生した雪雲が太平洋側の宮城県に流れ込んだ降水の pH は高いものであった。一般的には日本海側における降水の pH は冬季に低い傾向があり、北西季節風による大陸由来の汚染物質流入の影響といわれるが、一方で日本海側冬季降水中の SO_4^{2-} 、 NO_3^- 濃度は周辺地域の排出量区分と一致するとの記述もあり、総観規模で考えるとこれらは矛盾しているようにみえる。

それぞれの観測事実を合理的に解釈するには、冬季の酸性化現象について更に詳細な解析が求められる。特に、通常の酸性雨モニタリングは2週間とか1カ月の長期間サンプリングのため、降水個々についての考察は不可能である。そこで、時間分解能を高めるものとして1日単位のサンプリングを行っている環境省酸性雨対策調査データを活用し、酸性化と気象状況に着目した解析を行った。

2 解析データ

環境省平成18年度酸性雨対策調査データ：新潟巻及び佐渡関岬における2007年1月分のデータを酸性雨研究センターから入手。降水採取の間隔は当日9:00～翌日9:00の1日毎。

気象データ：気象庁 (<http://www.jma.go.jp/jp/g3>) 及び国際気象海洋株 (<http://www.imocwx.com/wxfax.htm>) ホームページから引用。

CFORS (化学天気予報システム) データ：国立環境

研究所ホームページ (<http://www-cfors.nies.go.jp/~cfors/index-j.html>) から引用。

3 結果と考察

2007年1月の新潟巻における降水量、pH及びnss-ss別の SO_4^{2-} と NO_3^- 当量濃度を図1に上から順に示す。また、下段はCFORSから読み取った新潟市上空の大気中 SO_4^{2-} 予測濃度、背景の縦縞は西高東低の気圧配置のときを表す。

解析した期間は西高東低の気圧配置が続くことが少なかった。1日平均のpHはほとんどが4.5以下である。2006年度の平均pHが4.62であることから、この時期のpHは平均的に低だけでなく、個々の降水が全体的に低めに推移しているようである。ただし、pH3台の低pHの多くは西高東低の気圧配置以外のときに出現しており、その降水中のnss- SO_4^{2-} は増加している。そして、CFORSにおいては降水中nss- SO_4^{2-} 増加の直前に大気中 SO_4^{2-} 濃度の増大がみられる。

CFORSは予測値でありどの程度実状を表現できているかの課題はあろうが、仮に実力が良好であるとすれば、大陸由来の大気中 SO_4^{2-} 濃度が増大した後の降水はnss- SO_4^{2-} が増加し、pHは低下する関連性がみられる。また、西高東低の気圧配置に関してはむしろ大気を浄化している場合が多く、pH低下の要因にはなっていないようである。

なお、新潟巻と佐渡関岬を比べると、両者の降水量が同程度のときは新潟巻の方が佐渡関岬よりnss- SO_4^{2-} 、 NO_3^- 濃度が高く、地域汚染の影響が加わっていると考えられた。

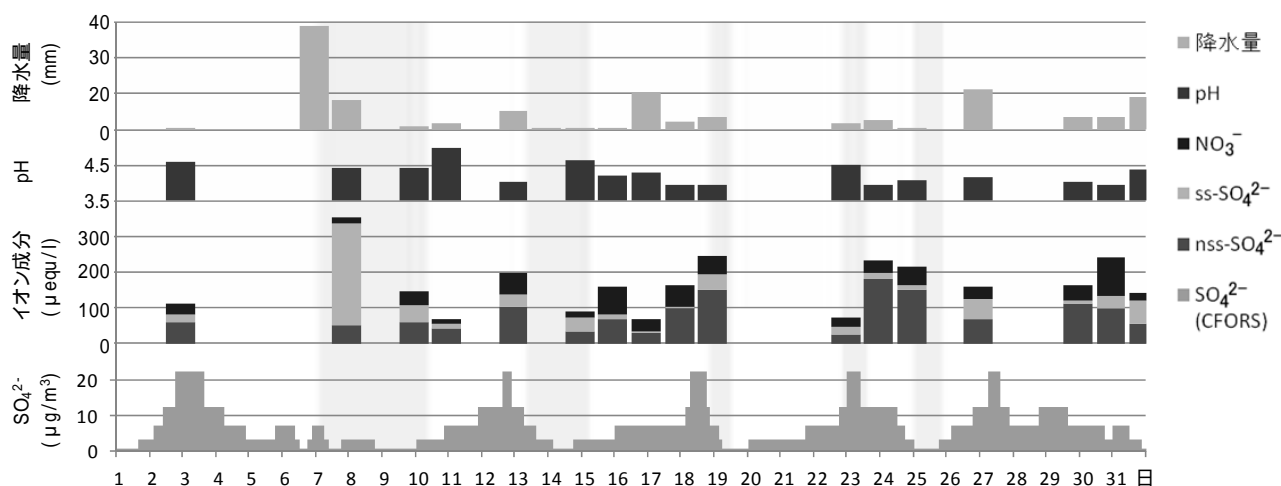


図1 日降水中イオン成分とCFORSによる SO_4^{2-} 濃度変化 (2007年1月、新潟巻)
図背景縦縞の期間は西高東低の気圧配置

2 1 国設笹岳局における降水中の鉛安定同位体比 (2)

大気環境部 北村洋子 佐久間隆 小泉俊一 木戸一博
 (独)国立環境研究所 向井人史 田中 敦

1 はじめに

宮城県は東アジア大陸からの汚染物質の影響が少ないとされている東北北部の太平洋側に位置しているが、依然として酸性雨が観測されており、その起源について解明する必要がある。宮城県では環境省の酸性雨対策調査の一環として国設笹岳局で平成 10 年度から現在に至るまで降水試料自動捕集装置により 1 日毎の降水試料を採取し測定を行ってきた。当地には周辺に大きな発生源がないことから、発生地域に固有の値をとるとされている鉛安定同位体比を用いて降水中の汚染質の起源の推定を試みた。

2 国設笹岳局について

当測定局は宮城県遠田郡涌谷町笹岳山(222m)中腹の標高 165m、周辺 10km 以内には大規模発生源はない。

3 調査方法

3.1 採取装置及び方法

局舎屋上に設置してある小笠原計器製作所製降水試料自動捕集装置 US-420 型(分離型)を使用し、9:00 を起点とする 1 日ごとの降水試料を自動採取し、局舎内の冷蔵庫内のポリ容器に保存

3.2 分析装置および標準試料

平成 20 年度の試料および平成 19 年度の一部の試料について国環研の ICP/MS を借用し測定を実施した。

- ・分析装置: Agilent 7500 Series ICP/MS, ASX-500 Series ICP/MS Autosampler
- ・鉛安定同位体比測定用標準試料: NIST (National Institute of Standards and Technology, 米国) の SRM981

3.3 分析条件

鉛濃度及び鉛安定同位体比測定: 積分 2sec x 10 回、装置内で 5 回繰返し測定とした。

3.4 測定試料

鉛濃度測定及び鉛安定同位体比測定: 平成 20 年度に捕集した降水試料と 19 年度に捕集した一部の試料について「湿性沈着モニタリング手引き書(第 2 版)」に従い通常項目を測定した後、ポリ瓶中で冷蔵保存したものについて、鉛濃度および鉛安定同位体比の測定用に 2%硝酸酸性雨試料を調整。平成 20 年度及び平成 19 年度分の計 128 試料について鉛濃度測定及び鉛安定同位体比測定を実施した。

3.5 解析方法

後方流跡線解析: 国環研 CGER-METEX 等

4 測定結果

4.1 鉛濃度について

128 試料中の鉛濃度の分布を図 1 に示す。鉛濃度の最高値は 15.8ppb で H20.7.22 の試料であった。春季お

よび夏季に高い鉛濃度を示している試料が多く見られた。

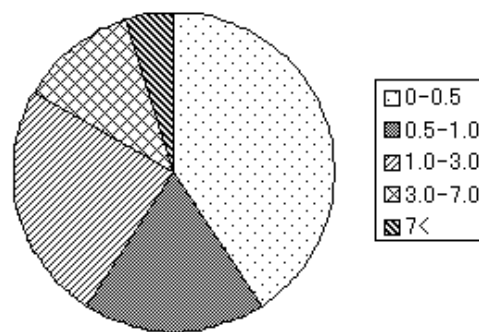


図 1 鉛濃度の分布

4.2 鉛安定同位体比測定結果

鉛安定同位体比測定時の標準偏差と鉛濃度との関係を図 2 に示す。

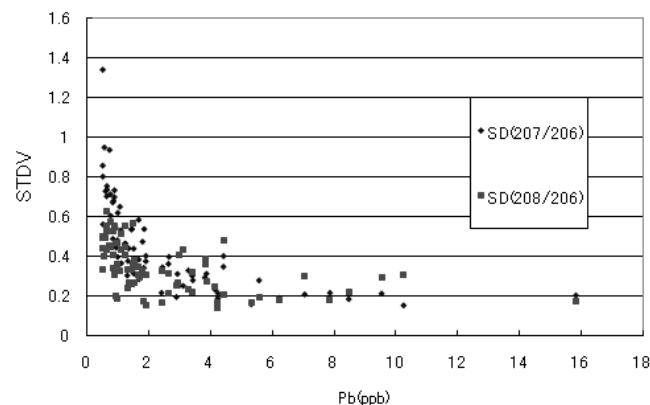


図 2 鉛濃度と標準偏差

これより、鉛濃度 0.5ppb 以上について、鉛安定同位体比の分布を図 3 に示す。

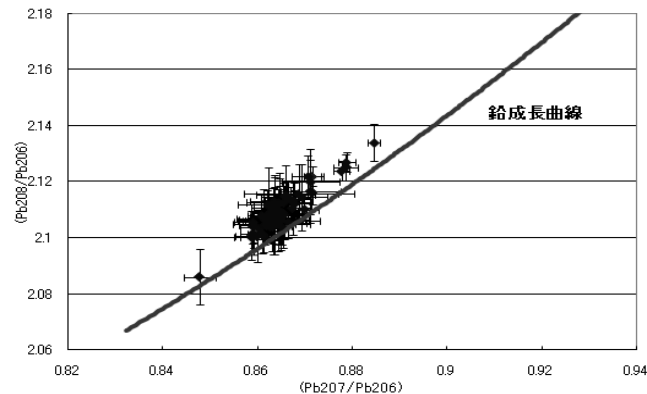


図 3 鉛安定同位体比の分布

なお、バックトラジェクトリー等による汚染質の起源については当日発表予定。

2 2 石巻地区における大気中多環芳香族炭化水素類調査 (2)

大気環境部
水環境部

佐久間隆 小川武 小泉俊一 北村洋子 木戸一博
菱沼早樹子

1 はじめに

宮城県におけるこれまでの多環芳香族炭化水素類 (以下、PAHs) の調査は、沿道環境中などの粒子状物質に含まれる PAHs を測定した調査がほとんどであった。しかし、近年大阪市内の調査ではガス状で存在する PAHs が総 PAHs の 9 割を占めることや東京都内の調査で微小粒子中 PAHs の約 40% が植物などバイオマス炭素の燃焼に由来することなどが明らかになってきた。

そこで、ガス状のものを含めた大気中 PAHs の全体像を把握することや、バイオマス燃焼施設の PAHs 汚染実態を把握することなどを目的に、大型バイオマス発電施設を含む多種類の工場が立地している石巻地区を対象として、PAHs 調査を行ったので報告する。

2 方法

環境試料の採取地点は、大型バイオマス発電施設の近傍 (K 高校)、沿道、比較対照地点 (S 高校) の 3 地点において、一週間連続サンプリングを実施した。環境試料の採取・分析方法については、石英繊維ろ紙 (QFF) の後方にポリウレタンフォーム (PUF)、さらにバックアップ吸着材として活性炭素繊維フェルト (ACF) 1 枚を取り付け、ハイボリュームエアサンブラにより流速 100 / 分で捕集した。抽出は高速溶媒抽出装置を用い、シリカゲルカラムクロマトグラフィによるクリーンアップ後、GC/MS で PAHs 17 種の

濃度測定を行った。また、固定発生源 1 事業所の排出ガス中の試料採取方法は、JISK0311「排ガス中のダイオキシン類の測定方法」に準じ JIS 形装置で試料採取を行い、環境試料と同様 PAHs 17 種の濃度測定を行った。

3 結果と考察

各地点における総 PAHs の測定結果を図 1 に示した。沿道で最も濃度が高く、次いでバイオマス発電施設近傍 (K 高校)、比較対照地点 (S 高校) の順であった。捕集材別の PAHs 濃度測定結果を図 2 に示した。QFF は各地点で環数が 2 環から 6 環のものが捕集され、PUF は 3 環の濃度が最も高かった。ACF では 2 環の Naphthalene が高濃度に検出された。固定発生源のバイオマス発電施設の排ガス中 PAHs 濃度測定結果を図 3 に示した。PUF と ACF で捕集された 2 環、3 環の PAHs の濃度が高く、吸収液で捕集される粒子状 PAHs の濃度は低い結果であった。これは、排ガス処理施設のバグフィルターによる煤塵除去効果によるものと考えられた。また、環境試料では高濃度に検出された 2 環 Naphthalene について、今回測定した施設では濃度が低かったことから、他の発生源の存在が疑われ、継続して地区の固定発生源調査等を行っていく必要があると考えられた。

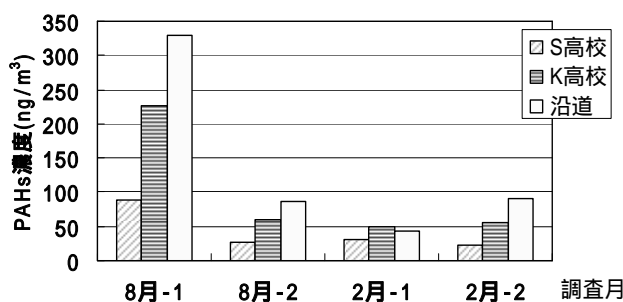


図 1 各地点の PAHs 濃度

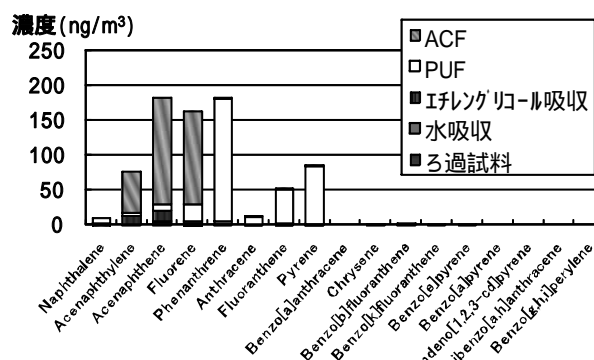


図 3 排出ガス中 PAHs 濃度 (A/B バイオマス発電施設)

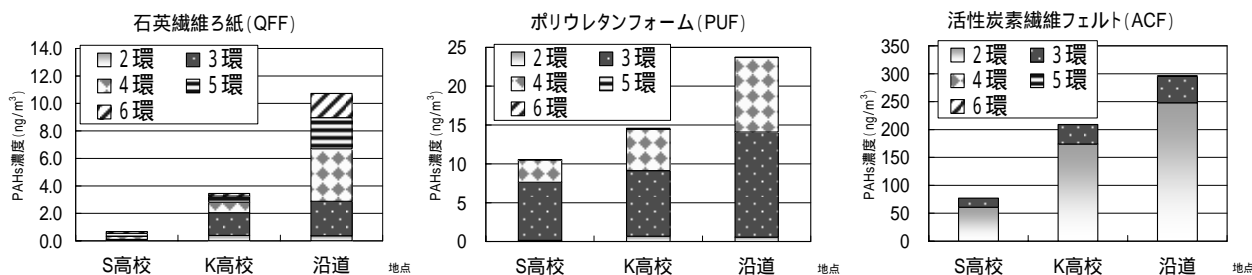


図 2 捕集材別の PAHs 濃度測定結果 (8月-1)

2 3 防衛施設の飛行場周辺における $WECPNL$ と L_{den} の関係

大気環境部

菊地英男 星川大介 木戸一博

1 はじめに

航空機騒音に係る環境基準の一部が改正（平成 19 年 12 月 17 日環告第 114 号）され、平成 25 年 4 月 1 日から施行されることになった。この改正において、騒音の評価指標が $WECPNL$ （以下「 W 値」と言う。）から時間帯補正等価騒音レベル（ L_{den} ）に改正された。

また、従来から使用されてきた W 値と L_{den} の関係が比較検討され、その差が 13 であることが明らかとなったことから、基準値はこの値をもって変更された。

しかし、この差は飛行場の運行形態や周辺地域の環境条件によって異なることが考えられるため、今回は単発騒音レベル（ L_{AE} ）推計式の理論的検討と L_{den} と W 値の関係について検討した結果を報告する。

2 調査項目等

今回は、戦闘機等の訓練が主体の防衛施設である松島飛行場を対象とした。

使用したデータは、通年測定 4 地点及び実測 5 地点であり、航空機 1 機ごとに発生時刻、最大騒音レベル（ $L_{A,Smax}$ ）、継続時間（最大騒音レベル - 10dB）、 L_{AE} 、暗騒音（ $L_{90,10min}$ ）の 5 項目であり、これらの結果を用いて 1 日単位の L_{den} 及び W 値を算出した。

3 L_{AE} 推計式の検討

L_{AE} を $L_{A,Smax}$ と継続時間を用いて算出する方法について、騒音レベルの時間変化を三角近似と仮定して検討した。継続時間を 5 ~ 80sec に設定し、 $L_{A,Smax}$ が継続時間中一定のレベルであるとした場合の総エネルギー量と三角近似したエネルギー量の比を求めた結果を図に示す。この図から、実用的には継続時間が 10sec 以上であればエネルギー比を 0.39 とほぼ一定に見なすことができることが判明したことから、このエネルギー比を用いて下式の L_{AE} 換算式が得られ、推計精度を確認したところ良い関係が得られた。

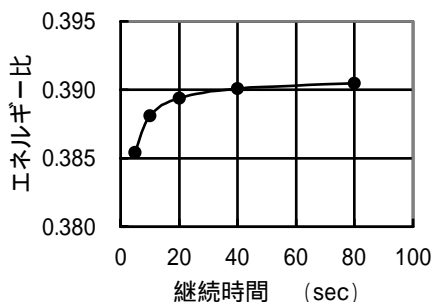


図 継続時間に対するエネルギー比

$$\begin{aligned}
 L_{AE} &= 10 \log(10^{(L_{A,Smax}/10)} \times T_{dur} \times 0.39) \\
 &= L_{A,Smax} + 10 \log(T_{dur}) - 4.09
 \end{aligned}$$

4 $WECPNL$ と L_{den} の関係

解析対象とした 9 地点の W 値と L_{den} の関係はいずれの地点でも相関係数は 0.98 以上と強い相関があることから、それぞれの地点に最小二乗法を適用して回帰式を作成して得られた W 値と L_{den} の差を集計した結果を表に示す。この表から、航空機騒音に係る環境基準である 70 ~ 75 W の範囲にあつては、 W 値と L_{den} の差はほぼ 15 であり、特に、離陸の影響が大きい D 地点の差が最も大きかった。

また、離着陸コース下で飛行場に近いほど W 値が小さい場合でも L_{den} との差が大きくなっている。一方、飛行場から遠く離れている地点は、 W 値が小さいほど L_{den} との差も小さくなる傾向があつた。

表 $WECPNL$ に対する L_{den} のレベル差

地点	$WECPNL$ と L_{den} の差 (dB)					N
	50 W	60 W	70 W	75 W	80 W	
A	14.5	14.6	14.6	14.6	14.6	255
B	13.6	13.9	14.4	14.6	14.8	211
C	13.3	13.8	14.3	14.5	14.7	262
D	15.0	15.1	15.2	15.3	15.3	265
他	12.6	13.6	14.5	15.0	15.5	29

注：表中の単位は dB である。

5 まとめ

今回の調査結果から、 L_{AE} の推計式を作成しその有効性を確認するとともに、防衛施設飛行場周辺においては環境基準の範囲である 70 ~ 75 W と L_{den} の関係は $WECPNL = L_{den} + 15$ であることが判明した。この関係は W 値が大きいほど右辺第 2 項の定数が大きくなる傾向にあり、航空機騒音の継続時間が短い飛行場、すなわち防衛施設の飛行場のうち戦闘機を中心に飛行しているような空港に近接する地域では W 値と L_{den} の差が大きくなり、反対に継続時間の長いヘリコプタ - を中心に飛行している空港や飛行場から遠く離れている地域ではその差が小さくなることが想定される。

従って、飛行場の形態や使用機材等によって W 値と L_{den} の差が異なることが想定されることから、新たな環境基準に係る類型指定を行う場合には、飛行場周辺地域における航空機騒音の実態を適切に把握し、実情に合わせた類型あてはめを行う必要があるものと思われる。

2.4 畜舎由来医薬品の環境汚染への取り組み

水環境部 ○郷右近順子 赤崎千香子 福地信一 小山孝昭
微生物部 畠山敬
保健環境センター 佐々木久雄

1 はじめに

近年、医薬品や身体ケア用品等の環境リスクが注目され河川などの水環境中からの検出がされ報告されている。特に抗生物質や合成抗菌剤は化学物質として環境汚染のみでなく、薬剤耐性菌の発生を引き起こす可能性があり人を含む生態系への影響が懸念される。抗菌剤は畜産業でも使用しており、畜産が盛んな本県においても家畜用抗菌剤の使用量は莫大であると推定され畜舎由来抗菌剤及び薬剤耐性菌の環境動態は最も注目すべき事項である。そこで、使用量と種類が明確な畜舎について排水処理工程とその周辺環境における抗菌剤及び薬剤耐性菌の拡散実態を調査したところ排水処理施設以降においても検出することを報告している^{1) 2)}。また、処理に伴い発生する汚泥の多くは発酵堆肥化され土壌還元されることから堆肥中に残存する抗菌剤を調査し、排水処理と汚泥発酵堆肥化処理による環境保全効果を検証した。さらに水環境部で保有する *In vitro* バイオアッセイ法を一部周辺環境水に適用したので報告する。

2 方法

2.1 調査対象 活性汚泥処理施設(畜舎 A)及びラグーンでの排水処理施設(畜舎 B)の場内水と、両畜舎が共同で利用する排水処理施設(以下共用施設)の各箇所から採水した。(図1)

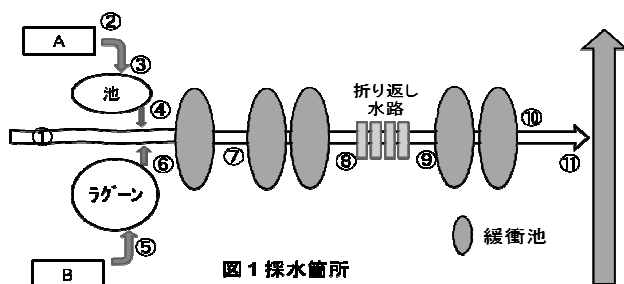


図1 採水箇所

2.2 水質調査 処理施設の季節・気候的変動との関連を把握するため2008年5月(春)・8月(夏)・10月(秋)及び2009年1月(冬)の4回、工場排水水質調査項目に加えて各工程・水路での水量を測定した。対象とした抗菌剤は常時使用する、リンコマイシン(LCM)及びキシロキサリクソン(OTC)とした〔測定値は参考文献1)より引用〕。また、共用施設の一部及び周辺環境水で発光細菌毒性試験(P.B.test)を実施した。

2.3 汚泥調査 2009年10月に畜舎Aと共用施設の一部について、水処理工程と排水処理施設から発生するスクリーン残さ、引抜汚泥、脱水汚泥及び発酵堆肥中のLCM及びOTCを測定した。

3 結果と考察

3.1 水質調査 日常的に多量に使用する LCM 及び OTC の排水処理施設での除去率は冬季を除き両畜舎ともに95%以上であった。BOD除去率はいずれの調査時においても98%以上であったが、冬季にやや悪化傾向がみられ抗菌剤の減少率が低下した時期と重なった。冬季の LCM 除去率は両畜舎とも70%以下であったが、OTC除去率はA畜舎で90%弱であるのに対し、B畜舎は67%と乖離していた。冬季のB畜舎は排水処理施設への流入するOTC濃度が他の季節と比較して極端に低濃度であることからOTCの除去率低下の原因は不明である。P.B.testを実施した中で共用施設の一部において一般毒性がみとめられた地点があった。

3.2 汚泥調査 LCMとOTCについて排水処理施設での挙動を調査したところ、スクリーン残さを含めた排水処理施設への負荷のうち、LCMは99.7%、OTCは98.3%が除去されていた。スクリーン残さ及び引抜汚泥として分離されたものはLCMが0.7%、OTCが62%であった。このことからLCMの除去は活性汚泥での分解、OTCは汚泥分離による低減が主体であると思われる。発酵堆肥の土壌還元による拡散が危惧されるため、スクリーン残さ、引抜汚泥、脱水汚泥、発酵堆肥中の抗菌剤量を調査したところ、LCMは発酵堆肥化後も残存するのに対し、OTCは激減していた(図2)。

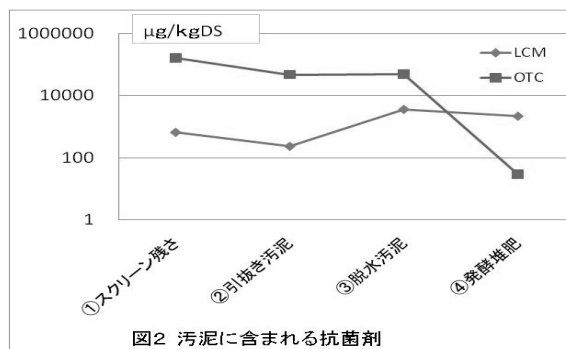


図2 汚泥に含まれる抗菌剤

4 まとめ

LCM及びOTCは排水処理により低減可能であるが、LCMは共用施設以降の周辺環境水においても検出した。また、OTCは発酵堆肥化処理で低減化する。謝辞

医薬品化学分析にご協力いただいた生活化学部に感謝いたします。

参考文献

- 1) 遠藤美砂子ら:宮城県保健環境センター年報(2009)
- 2) 畠山敬ら:宮城県保健環境センター年報(2009)

2 5 畜舎排水等における薬剤耐性菌の動態

微生物部

畠山敬 木村葉子 矢崎知子 高橋恵美

渡邊節 御代田恭子

保健環境センター

佐々木久雄

仙南・仙塩広域水道事務所

佐々木美江

1 はじめに

抗生剤の使用による薬剤耐性菌の出現は医療現場にとどまらず、近年では環境水や下水処理場放流水中からも同様の菌の検出報告が後を絶たない。過去の我々の調査でも、県内の河川から多くの薬剤耐性菌が分離されており、畜産地帯の河川や大河川の下流域で薬剤耐性菌の出現率が高くなることを報告した。

家畜用抗生剤の国内使用量はヒト用抗生剤の約2倍といわれており、畜産県である宮城県も、家畜伝染病予防の観点から継続的かつ大量に抗生剤を使用しているものと考えられる。

そこで、2養豚場を抗生剤使用施設のモデルとして施設排水中に存在する菌の薬剤耐性化の実態を調査し、薬剤耐性菌の公共用水域への拡散の可能性を明らかにすることを本研究の目的とした。

2 材料と方法

施設(A, B)は、それぞれ異なる水処理工程を持っており、A施設は曝気処理、B施設は凝集沈殿およびラグーン処理を採用している。さらに、両排水は共用で使用している酸化池等(野外共用施設)を経た後に公共用河川に放出される。このことから、各水路に調査定点(A: ~, B: ~, 野外共用施設: ~, 公共用水路: ~)を設定し、環境変化による影響を把握するため、季節ごとに採水を実施した。

施設の事前調査では、両施設ともにLCM(リンコマイシン), TS(タイロシン), OTC(オキシテトラサイクリン)を常時使用しており、NFLX(ノルフロキサシン)を冬季節だけ使用していたことから、薬剤感受性試験の対象菌を球菌と腸内細菌とし、供試する抗菌剤は球菌ではTS, LCM, OTCとNFLX, 腸内細菌ではOTCとNFLXとした。

3 結果

3.1 一般細菌数と球菌, 腸内細菌の分離状況

一般細菌数はA施設では初期菌数が $10^7 \sim 10^8$ CFU/mlを示したが、最終沈殿水では $10^4 \sim 10^5$ CFU/mlと最大で1/1000程度に菌数が減少した。B施設でも、 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mlであったものがラグーン処理後には $10^3 \sim 10^5$ CFU/mlと減少した。季節的には、両施設とも1月の調査時に除菌効率が低下したが、B施設での能力の低下が顕著であった。さらに、野外共用施設では菌数が徐々に減少し、施設最末端放流口では一般細菌数1700~8400 CFU/ml、大腸菌群数もMPN法で548~6200/100mlと施設排水基準を大きく下回った。

薬剤感受性試験のための対象菌の検出状況も一般細菌数と同様であり、A施設での分離は容易であったもののB施設では比較的困難であった。野外共用施設では菌がさらに減少し、特に球菌の減少が顕著であった。

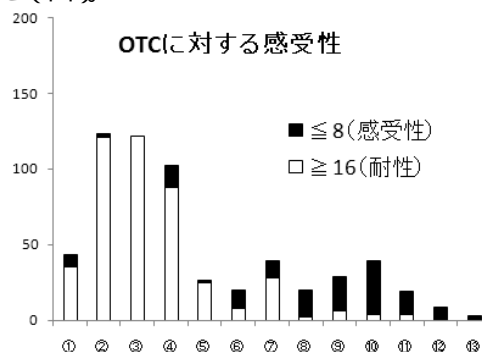
3.2 薬剤感受性試験の結果及び多剤耐性化

球菌では、TS, LCM及びOTCに $32 \mu\text{g/ml}$ を示す株が最も多く検出され、その全分離菌株中の割合はTS63.5%, LCM80.2%, OTC73.4%であった。NFLXでは $1 \mu\text{g/ml}$ が最も多く40.9%であった。腸内細菌では、OTC $32 \mu\text{g/ml}$ が53.0%で、NFLX $0/06 \mu\text{g/ml}$ が42.2%を占めた。そこで、文献等の値を参考に球菌全体に占める薬剤耐性菌の割合を調べたところTSが69.2%, LCM97.3%, OTC74.6%, NFLX91.0%で、腸内細菌では、OTC54.5%, NFLX65.9%であった。

具体的には、A施設の球菌ではTS87.9%, LCM98.9%, OTC95.4%, NFLX91.5%で、腸内細菌がOTC90.7%, NFLX63.3%であり、B施設では球菌がTS47.8%, LCM97.8%, OTC71.7%, NFLX84.8%, 腸内細菌がOTC72.1%, NFLX64.4%であった。一方、野外共用施設では、球菌はTS56.4%, LCM97.5%, OTC71.8%, NFLXで100%が耐性であり、腸内細菌ではOTC46.6%, NFLX42.9%であった。施設最末端の放流口下流では、球菌がTS6.6%, LCM83.3%, OTC20.7%, NFLX90%, 腸内細菌でOTC30.1%, NFLX58.4%であった。

また、複数の抗生剤に対して耐性を示す菌の存在が疑われたことから、球菌の多剤耐性化を調べたところ、耐性菌の58.0%が4薬剤に耐性を持つ株であった。3剤耐性菌が16.7%, 2剤耐性菌が23.1%であり、LCM耐性菌の98.9%, NFLX耐性菌の91.9%が他のいずれかの抗生剤にも耐性であった。

以上の結果から、この施設排水には特にLCMとNFLXに耐性化した球菌の割合が高いことが明らかとなった。そこで、例として各採水ポイントにおけるLCMとOTCに対するMICの変化を比較してみると、LCMでは下流の採水ポイントでもMICの比較的高い耐性菌($8 \sim 16 \mu\text{g/ml}$)が90%以上残存するのに対し、OTC耐性菌は以降急激に減少し、ほとんどの菌がMIC $1 \mu\text{g/ml}$ 以下の薬剤感受性菌に置き換わっていることが判明した(図)。



2 6 包括的水環境診断を目指した *In vitro* バイオアッセイの結果について

水環境部

阿部郁子 郷右近順子 赤崎千香子 福地信一
菱沼早樹子 小山孝昭

1 はじめに

当センターでは化学物質の影響を総合的に評価するスクリーニング手法として、比較的迅速かつ簡便に行える複数の *In vitro* バイオアッセイ手法を導入し、河川水や事業場排水など環境水に適用し、環境ホルモン活性物質の探索に有効であることを確認している。従来から水環境部においては、ヒト及びメダカのエストロゲン受容体 酵母アッセイ (hER Y.A.及び medER Y.A.)、ヒト・レチノイン酸受容体 酵母アッセイ (RAR Y.A.)、ヒト・アリルヒドロカーボン受容体酵母アッセイ (AhR Y.A.) による受容体結合活性を指標として水環境調査を行ってきたが、今年度から、一般毒性の指標である発光細菌毒性試験 (Photobacterium Toxicity test : P.B.test) も導入し、*In vitro* バイオアッセイによる各種環境水の包括的暴露調査を行ったので報告する。

2 方法

調査した河川水は、昨年、一昨年同様に阿武隈川水系、北上川水系の2流域6地点を平成21年9月に、今年度より新たな調査地点として大郷大橋 (吉田川流域) を平成21年4月から平成22年1月の間に8回採水した。また一級河川の鳴瀬川4地点 (事業場共同排水口も含む) 及び吉田川水系、砂押川、増田川、伊豆沼を平成21年5月から平成22年1月に採水した。事業場排水としては3事業所の協力により平成21年11月に採水を行った。前処理法及び酵母アッセイ法は平成18年度宮城県保健環境センター年報に報告した方法に準じて行った。P.B.testは、海洋性の発光細菌の発光強度が暴露した化学物質の毒性により弱まることを利用した毒性試験であり、実験手技は酵母アッセイ法とほぼ同様の操作を行うものである。毒性の評価は発光強度を50%減少させる水試料の濃縮倍率 (IC₅₀) を算定し、その逆数を毒性の指標として行った。

3 結果と考察

(1) 県内河川水の調査

表1に平成19年から21年の3カ年の県内河川水の受容体結合活性値を示した。hERY.A.の結果は3カ年を通じて全国河川水平均値¹⁾(以下、全国平均値)と同程度かそれ以下であった。一方、medERY.A.においては燃焼、加熱工程を有する事業場排水に起因する活性²⁾が久保橋(鉛川)で過去と同様に認められ、平成21年度の結果は3.1ppt(E2換算)と全国平均値の約5倍の値が認められ、原因物質が継続的に排出されていることが示唆された。RAR Y.A.においては全国平均値と比較し、特に高値の地点は認められなかった。AhR Y.A.においては平成21年度に久保橋(鉛川)で430ppt (b-NF換算)と特異的に高い値を示した。平成19年度、平成20年度も同様に高値で推移し、全国平均値と比較しても明らかに高く、久保橋付近あるいは上流域

に活性をもたらす要因があると推察された。また一般毒性の指標であるP.B.testでも久保橋で全国平均値より高い毒性が認められており、高いAhR結合活性と共に毒性の要因の検索も検討課題である。

(2) 事業場排水の調査結果

河川調査の結果(全国平均値)と比較しmedER Y.A.においては10倍以上、AhR Y.A.においては30倍以上の活性がみられる事業場排水があった。また一般毒性の指標であるP.B.testではすべての事業場排水から河川水よりも強い毒性が検出された。今後、分画等により受容体結合活性や発光細菌毒性を示す原因物質を検索するとともに排水処理工程による原因物質の挙動の調査も行いたい。

表1 県内河川 *in vitro* バイオアッセイ結果(H19~H21)

河川名	橋名	hERY.A.(ppt as E2)			medERY.A.(ppt as E2)			RAR.Y.A.(ppt as at-RA)			AhR.Y.A.(ppt as b-NF)		
		H19	H20	H21	H19	H20	H21	H19	H20	H21	H19	H20	H21
鉛川	久保橋	ND	ND	0.4	6.2	3.8	3.1	4.8	1.5	2.4	233	212	430
道川	若柳大橋	ND	ND	0.1	ND	ND	ND	0.9	ND	ND	28	20	36
北上川	神前橋	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	29	18	32
菊川	並瀬橋	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.6	ND	ND	28	30	33
白川	増田大橋	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.9	ND	ND	15	21	26
阿武隈川	江戸橋	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	ND	ND	27	38	53
鳴瀬川	鳴瀬橋	ND	ND	0.1	ND	ND	ND		2.7	5.6		32	18
	井戸橋	ND	ND	0.2	ND	ND	ND		0.7	ND		52	24
	三本木橋	ND	ND	ND	ND	ND	ND		1.8	1.7		37	13
	感徳橋	ND	ND	0.1	ND	ND	ND		1.9	ND		46	16
吉田川	二子屋橋			0.2			0.4			4.0			31
	大郷大橋			0.1			0.5			3.1			35
奥田川	増田橋			0.4			0.7			5.2			31
砂押川	念徳橋			0.6			0.4			1.3			34
増田川	小川橋			ND			ND			9.8			28
伊豆沼	出口	0.4	ND	0.1	ND	ND	ND		2.5	ND	14	14	ND
県内河川水平均値		-	-	0.16	-	-	0.39	-	-	2.5	-	-	47
全国河川水平均値 ¹⁾		0.54	0.32	0.22	1.6	0.67	0.75	3.1	2.6	1.4	40	38	28

E2: 17- β -estradiol at-RA: all trans-retinoic acid b-NF: -naphthofluorene

4 まとめ

宮城県内の水環境調査において、機器分析手法では把握できない化学物質の包括的な曝露評価に有効とされる *In vitro* バイオアッセイを適用したところ、比較的強いエストロゲン活性や AhR 結合活性が認められる環境水の存在が明らかとなった。また、環境水の一般毒性を迅速に評価できる P.B.test は、事業場排水の環境モニタリング手法の一つとして有効であることが示唆された。

謝辞

供試菌株の提供及び多くの技術指導・助言をいただきました国立環境研究所白石不二雄氏に感謝いたします。

参考文献

- 1) 白石不二雄ら(2009): 第18回環境化学討論会講演要旨集 P119
- 2) 赤崎千香子ら(2009): 第18回環境化学討論会講演要旨集 2A-10

2 7 温泉排水中のほう素・ふっ素濃度実態調査結果

水環境部 福地信一 清野 茂 小山孝昭
環境対策課 各保健福祉事務所環境公害関係担当職員

1 はじめに

ほう素・ふっ素については、平成 13 年 7 月に水質汚濁防止法に定める有害物質項目に追加され、一律排水基準（ほう素 10mg/、ふっ素 8mg/）が設定されたものの、直ちに達成させることが困難な業種については暫定排水基準（ほう素 500mg/、ふっ素（排水量 50 m³未満 50mg/、50 m³以上 15mg/））が設定された。

その後、暫定排水基準の見直しが平成 16 年 7 月及び平成 19 年 7 月に行われたが、排水実態や処理技術等の現状を踏まえ温泉旅館を含む 21 業種については 3 年間の期限付きで暫定排水基準が延長されており、次期見直しは平成 22 年 7 月に予定されている。

宮城県内は温泉旅館数が多く、排水中には自然由来のほう素・ふっ素が含まれ、排出実態も未解明な部分が多いことから、部門別業務検討研修会の共同研究テーマとして取り上げ、温泉排水中のほう素、ふっ素濃度実態調査を行ったものである。

2 調査内容

(1) 調査対象事業場

仙台市を除く県内の温泉旅館及び公衆浴場の源泉分析表において、ほう素、ふっ素が含まれている施設を調査対象とした。なお、仙南及び大崎保健所管内は施設数が多いため、一律排水基準を超える源泉を有する施設に限定し、総計 38 施設について調査を行った。（ただし源泉で一律排水基準を超過しているのはほう素のみである。）

(2) 調査期間

平成 21 年 6 月から 11 月まで。

(3) 調査方法

採水は最終排水口で実施し、排水中のほう素、ふっ素濃度を測定した。

なお、仙南及び大崎保健所管内の調査は、環境対策課、各保健所、センター職員が合同で一斉調査を実施した。

3 調査結果

(1) ほう素、ふっ素ともに全施設が暫定排水基準を満足していた。

(2) ほう素濃度は 0.1～38mg/ の範囲で、全施設中 16 施設が一律排水基準 10mg/ を超過していた。

地区別では鎌先、川崎、鳴子、宮崎地区において超過事例が多いことが分かった。

(3) ふっ素濃度は 0～3.5mg/ の範囲であり、全ての施設で一律排水基準 8mg/ を満足していた。

表 水質測定結果

No	地区名	管轄保健所	水温()	pH	ほう素(mg/l)	ふっ素(mg/l)
1	鎌先	仙南	35	7.1	16.5	3.5
2	鎌先	仙南	32	8.0	10.8	2.3
3	鎌先	仙南	42	8.3	5.5	2.1
4	白石	仙南	31	7.6	1.3	0.2
5	遠刈田	仙南	21	7.4	0.1	0.0
6	遠刈田	仙南	23	7.7	1.9	1.0
7	黄金川	仙南	38	7.5	23.0	1.8
8	金山	仙南	31	8.1	22.5	2.4
9	川崎	仙南	19	7.4	2.2	0.3
10	川崎	仙南	31	7.6	2.2	0.2
11	川崎	仙南	25	7.8	19.2	1.5
12	川崎	仙南	18	7.8	13.5	1.0
13	川崎	仙南	19	7.7	10.2	0.7
14	川崎	仙南	20	8.3	20.8	1.5
15	鳴子	大崎	32	8.7	18.4	2.3
16	鳴子	大崎	44	8.6	6.8	1.0
17	鳴子	大崎	>50	8.3	18.2	2.1
18	鳴子	大崎	>50	8.6	9.2	0.3
19	鳴子	大崎	>50	8.3	28.5	2.7
20	鳴子	大崎	35	8.2	8.6	1.2
21	鳴子	大崎	40	7.8	5.9	0.8
22	鳴子	大崎	36	8.6	10.6	0.2
23	鳴子	大崎	>50	8.5	35.5	2.3
24	鳴子	大崎	32	8.0	20.3	1.7
25	鳴子	大崎	45	8.0	9.5	0.3
26	中山平	大崎	28	7.4	4.9	1.2
27	鬼首	大崎	34	7.6	3.7	0.9
28	鬼首	大崎	>50	8.9	4.4	1.1
29	宮崎	大崎	41	7.5	13.6	0.9
30	宮崎	大崎	41	7.7	38.0	1.6
31	小野田	大崎	27	7.7	6.9	0.3
32	涌谷	大崎	34	7.7	0.5	0.1
33	田尻	大崎	34	7.9	0.6	0.2
34	金成	大崎	24	9.0	0.8	3.3
35	女川	石巻	24	6.9	1.3	0.0
36	石巻	石巻	29	7.3	0.3	0.1
37	南方	石巻	13	6.9	0.2	0.1
38	志津川	気仙沼	29	7.4	0.1	0.1

太数字は一律排水基準超過

4 おわりに

ほう素、ふっ素に係る排水対策促進検討会報告書（平成 21 年 3 月）によると「温泉排水については、今なお技術的・コスト的に直ちに適用可能と考えられる技術が存在するとは言い難い。」とされている。

温泉排水の除去施設は、特に低コスト、省スペースが求められており、低濃度レベルのほう素に関する除去技術は現在開発途上にある。

暫定基準の見直し如何によっては、既存の温泉排水を地域で処理する総合排水対策の検討も必要になると考えられる。

2 8 廃棄物分析情報管理システムの構築について

水環境部 秋野 正造 鍵谷 真男 小山 孝昭

1 はじめに

最終処分場や不法投棄現場等に関する水質分析データ等は、現在文書綴りや台帳に記載されて保管されており、不法投棄・不適正処理の申し立てや最終処分場設置者の指導等の際の過去の履歴調べに必要なデータ等を探し出すのに膨大な時間を要する。

行政上のみならず処分場等の調査研究及び分析値の確認を行う上でも迅速なデータ収集は必要なことであるので、そのため過去 10 年間のデータの電子化を行い活用できる状態にしたので報告する。

2 整理したデータ

- (1) 最終処分場、不法投棄等の検査結果 (H10～H20)
- (2) 写真 (H17～H19 及び H21)
- (3) 地図(採水地点緯度経度) (H21)

3 検討点

- (1) データ単位(細分化)
- (2) 検索プログラム
- (3) ファイル名の記載事項(記載文字数も含む)

4 結果及び留意点

(1) 水質データはエクセルファイルに統一

検索者が検索後のデータのグラフ化等によって解析しやすくするため、調査年月日毎、最終処分場毎の水質、画像又は地図データを1ファイルにした。

図1 水質データ検索状況(Excel)

(2) 検索プログラム

メンテナンスのし易さから新たなソフトを導入しなくとも対応できるものを探した結果、本県の庶務業務支援システムで使用しているパソコンに標準で装備されている Windows の検索コンパニオンを使用し、ファイルを検索することを検討した。



図2 現地写真(JPEG)

半角スペースで区切ることにより、検索文字列も 1 個だけでなく、アンド検索で複数のキーワードで検索できることが分かった。

ただし、全角スペースではアンド検索はできなかった。また、検索はエクセル、ワード、一太郎、画像ソフトの JPEG 等のどれにでも使え、特定のソフトでの再入力が必要がなく、使用者の使い勝手の良さが確保される。



図3 現地地図(web 国土地理院へリンク)

(3) 検索のスピードアップ

検索については、「ファイル名検索」と「全文検索」の方法があるが、検討した結果、前者がスピードがあり、急な要求に十分対応可能であることが分かった。

所要時間 PC 動作周波数 2.1GHz RAM 2.0GB HDD75GB

検索対象	ファイル名検索	全文検索
PC ハードディスク	5～20 秒	40 秒～2 分 30 秒(自動停止)
MO	2～6 秒	17 秒～1 分 50 秒
操作性		～ ×

表1 検索時間の計測結果

(4) ファイル名

・文字数 半角 260 文字
 ・検索項目 検査年度、検査の種類、処分場名、不法投棄等原因者名、市町村(地名)、放流水、地下水等の調査区分、検出項目及び基準超過項目。ひらがな付記(検索もれ対策)。

5 まとめ

- (1) 新たなデータベース検索ソフトを使用しないで、Windows の検索で十分であった。
- (2) 既存の電子データファイルを活用するので、データの再入力の必要がない。
- (3) Windows の検索コンパニオンを使用し「ファイル名検索」でソフトの種類によらず、数秒で検索ができた。
- (4) 過去 10 年間の水質情報等が容易に呼び出せるので不法投棄事案の解決や水質検査の効率的実施及びデータの確認並びに調査研究にも活用できる。

謝辞 本センター佐藤所長、中村技術主査には、貴重なアドバイスを頂き深謝致します。

2 9 産業廃棄物に関するデータベースの構築について

水環境部 鍵谷真男 佐々木ひとえ 小山孝昭
東部保健福祉事務所 藤原成明

1 はじめに

産業廃棄物の適正な処理が強く求められているなかで、不法投棄等の不適正処理事案が発生した際の排出業種、排出者の推定は重要な課題である。これには、廃棄物排出者毎の各種廃棄物や再生品の有機肥料成分データの事前把握が重要で、排出業種及び個々の排出源毎の「廃棄物成分データベース」を構築することが必要であると考えられた。従ってこのような「廃棄物成分データベース」は実際の不法投棄事案等に活用されて初めて意味のあるものとなる。

本研究では、廃棄物排出事業者や廃棄物処理業者等への立ち入り時に採取した、汚泥、焼却灰、廃石膏ボード等の金属、陰イオンの分析を行っており、42件のデータが得られた。そのデータに基づいて「廃棄物成分データベース」の活用について考察を加えたので報告する。

2 方法

廃棄物試料については、超臨界法により有機物の分解前処理を行った。得られた検液を用いて、金属についてはICP-AES法、陰イオンについてはイオンクロマトグラフ法により検液中の濃度を測定した。

測定データを解析するに当たり、今回は、各廃棄物の含水率や分解前処理後の残渣の量、pH、有機物量等を測定していないことから、各成分の構成比率を比較することとした。

測定した成分は、金属について、Zn, Fe, Ca, Al, Mg, Na, Mn, K, Ni, Pb, Cr, Cu, Cd, Co, Baの15種類、陰イオンについてF⁻, Cl⁻, Br⁻, SO₄²⁻の4種類の計19種類である。得られた各成分の濃度を、各廃棄物の1kgあたりの質量に換算した後、原子量(分子量)で割ってモル数を算出した。

これらの測定値間の関係を把握するために視覚化することを試みた。一般にデータがn個の変数で構成されている場合に、その構成比は独立したn-1個の変数からなるので、その位置を図上に表すにはn-1次元空間を用いなければならない。しかしながら我々は3次元空間に存在しているため、同時に表示できるのは4要素までが限界であり、更に視覚的に容易に表示できるのは平面上に表せる3要素までである。従って今回のデータのように19個の変数からなるデータを一度に表示することはできない。そこで、データを構成する19個の値から3個の値を選び出し、その構成比を三角図にプロットすることとした。しかし、19要素から任意に3要素を選ぶとするとその組み合わせの数は969通りもあるので、選択する要素の数を減らすこととした。比較的検出量の

多い構成要素はFe, Ca, Al, Mg, Na, K, Cl⁻, SO₄²⁻の8種類であったので、これらを要素とすると3要素の組み合わせの数は56通りである。

3 結果

廃石膏ボードは組成がわかっておりほぼ期待通りの結果となっている。

汚泥の方が焼却灰より値のばらつきが多い。汚泥は水分の含有量が多く、金属等の含有量が少ないことも関係しているかもしれない。

陰イオンについて汚泥にはSO₄²⁻が、焼却灰にはCl⁻が多く含まれる傾向がある。

汚泥と焼却灰を区別するのは困難である。

4 まとめと考察

本研究は、廃棄物の不法投棄等が行われたときに迅速に投棄者を特定することを目的とした廃棄物のデータベースを構築するために行われたものであるが、今のところ下記の問題点があると思われる。

- (1) 不法投棄される廃棄物は多種多様であるがそれらを統一的に扱える簡便で容易な前処理法や分析法がない。例えば、不法投棄されることが最も多い建設系廃棄物を扱うことができない。
- (2) あらかじめあらゆる廃棄物についてデータを収集しておくことは事業所の数や成分の多さから考えても容易でなく、コストパフォーマンスが悪い。さらに、不法投棄される廃棄物は県外から持ち込まれたものであることも多く、県内の事業所からのデータだけでは特定は困難である。また、地中に埋められていた場合など、廃棄物以外のものの混入もある。
- (3) 今回の方法では有機汚泥の主要な構成物である有機物に関するデータを得ることができず、データベースとして不完全である。
- (4) 廃棄物はその性状や成分が管理されておらず一定でない。
- (5) 現場の状況や目撃情報以上の情報を得ることが難しい。

謝辞

超臨界法による分解前処理の実施に当たり、産業技術総合センターの職員の方々には大変お世話になった。この場を借りてお礼申し上げます。