

第 3 4 回 研 究 発 表 会  
要 旨 集

平成 3 1 年 3 月 1 日

宮城県保健環境センター

# 第34回保健環境センター研究発表会 プログラム

日 時 平成31年3月1日(金) 10:00から17:00まで

場 所 保健環境センター(大会議室)

日 程

- |   |          |             |             |
|---|----------|-------------|-------------|
| 1 | 開 会      |             | 10:00       |
| 2 | 挨拶       | 保健環境センター所長  |             |
| 3 | 研究発表     |             |             |
|   | セッションI   | 1 ~ 3       | 10:05~11:00 |
|   | セッションII  | 4 ~ 6       | 11:05~12:00 |
|   | 昼食・休憩    |             | 12:00~13:00 |
|   | セッションII  | 7 ~ 8       | 13:00~13:35 |
|   | セッションIII | 9 ~ 14      | 13:40~15:20 |
|   | 休憩       |             | 15:20~15:30 |
|   | セッションIV  | 15 ~ 19     | 15:30~16:55 |
| 4 | 講 評      | 保健環境センター副所長 |             |
| 5 | 閉 会      |             | 17:00       |

=== 研究発表 ===

(○：発表者)

セッションⅠ 座長：佐藤大気環境部長

10:05 ~ 11:00

- 1 伊豆沼・内沼におけるハスの適正管理による水質浄化の検討  
水環境部 ○渡部 正弘 鈴木 ゆみ 藤原 成明 松本 啓
- 2 県内における水銀の水質・底質の状況調査（プロジェクト研究より）  
水環境部 ○赤崎 千香子 後藤 つね子 藤原 成明 松本 啓
- 3 東北地方太平洋沖地震後の宮城県内井戸の水質状況調査により判明した井戸水汚染について  
水環境部 ○加川 綾乃 赤崎 千香子 藤原 成明 松本 啓

セッションⅡ 座長：松本水環境部長

11:05 ~ 12:00

- 4 宮城県における大気中揮発性有機化合物（VOCs）及びアルデヒド類の濃度変化  
大気環境部 ○高橋 美玲 佐久間 隆 佐藤 健一
- 5 宮城県の大気汚染常時監視におけるPM<sub>2.5</sub>の地域特性  
大気環境部 ○太田 耕右 栗野 尚弥 大熊 一也 佐藤 健一
- 6 石巻・名取におけるPM<sub>2.5</sub>のレボグルコサンについて（第2報）  
大気環境部 ○岩田 睦 天野 直哉 佐久間 隆 福原 郁子 佐藤 健一

=== 昼食・休憩 ===

13:00 ~ 13:35

- 7 大気汚染常時監視情報データへの機械学習ライブラリ等の適用について  
産業技術総合センター ○岩沢 正樹
- 8 仙台市における光化学オキシダント生成に係るVOC調査—平成28年度調査結果—  
仙台市衛生研究所 ○遠藤 仁美 石川 千晶 庄司 岳志 佐藤 修一

=== 研究発表 ===

(○：発表者)

セッションⅢ 座長：大槻生活化学部長

13:40 ~ 15:20

- 9 磁気ビーズ法とカラム法を用いたノロウイルスRNA抽出効率の比較  
微生物部 ○神尾 彩楓 大槻 りつ子 坂上 亜希恵 佐々木 美江 植木 洋  
畠山 敬
- 10 非結核性抗酸菌の環境中における分布状況及び豚由来株の分子疫学的解析  
微生物部 ○木村 葉子 渡邊 節 有田 富和 山口 友美 畠山 敬
- 11 *gnd*遺伝子シーケンス解析による大腸菌O抗原同定の試み  
微生物部 ○山口 友美 畠山 敬
- 12 市中における薬剤耐性腸内細菌科細菌の保菌状況調査  
微生物部 ○山口 友美 木村 葉子 渡邊 節 有田 富和 後藤 郁男  
畠山 敬
- 13 腸管出血性大腸菌O157の分子系統解析  
食肉衛生検査所 ○西村 英之
- 14 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者から分離された *Streptococcus pyogenes* の発赤毒素遺伝子保有状況と薬剤感受性  
仙台市衛生研究所 ○勝見 正道 星 俊信 千田 恭子 神鷹 望 山田 香織  
成田 美奈子 森 直子 大下 美穂 橋本 修子 相原 健二

=== 休憩 ===

セッションⅣ 座長：畠山微生物部長

15:30 ~ 16:55

- 15 畜肉を対象とした有機塩素系農薬分析法の検討  
生活化学部 ○戸澤 亜紀 佐々木 多栄子 千葉 美子 大槻 良子
- 16 LC-MS/MS による植物性自然毒の多成分一斉分析法の検討  
生活化学部 ○佐藤 直樹 大内 亜沙子 千葉 美子 大槻 良子
- 17 下痢性貝毒の機器分析法の実用性の検証及びマボヤの下痢性貝毒の毒化・局在性の確認  
生活化学部 ○大内 亜沙子 千葉 美子 佐藤 智子 大槻 良子
- 18 下痢性貝毒によるマボヤの毒化について  
水産技術総合センター気仙沼水産試験場  
○田邊 徹 千葉 美子<sup>※1</sup> 澁谷 和明<sup>※2</sup> 庄子 充広  
※1 保健環境センター生活化学部 ※2 仙台地方振興事務所水産漁港部
- 19 海洋放射能モニタリングにおける指標海産物の検討  
環境放射線監視センター ○小笠原 一孝 高群 富貴<sup>※</sup> 石川 陽一 高橋 正人  
安藤 孝志  
※現 原子力安全対策課

# 発 表 要 旨



# 1 伊豆沼・内沼におけるハスの適正管理による水質浄化の検討

水環境部 ○渡部 正弘 鈴木 ゆみ 藤原 成明 松本 啓

## 1. はじめに

伊豆沼は環境省が公表した「CODが高い水域」において平成28、29年度と2年連続湖沼の全国ワースト1位となっており水質の改善が急務とされている。沼の水質浄化対策として、近年急激に増え沼一面に生えているハスを刈り取ることによる水質への影響の調査を行った。

## 2. 調査方法

平成26年度は伊豆沼の植生調査を行った。

平成28年度から30年度まではハスを刈り取った場合の水質の影響を調べた。平成28、29年度は沼の上流から下流部まで水路状に刈り取られた区域を刈取区とした。平成30年度は上流部に約20haの面的に新たに刈り取られた区域を刈取区とした。

伊豆沼でハスの生育している夏季に、ハスを刈り取った区域(刈取区)とハスの繁茂している区域(繁茂区)に代表的な採水地点をそれぞれ一か所ずつ設定して、表層と下層の採水調査を行った。調査項目はpH、DO(溶存酸素)、COD、窒素・リンである。

## 3. 結果と考察

平成26年8月28、29日に実施した植生調査結果では、平成15年度調査で見られたアサザやガガブタの群落はほとんど姿を消し、大部分をハスが占めていた。

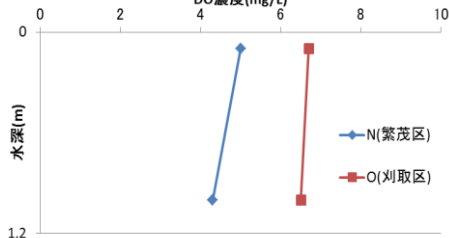


図1 DO濃度(H28.7.19)

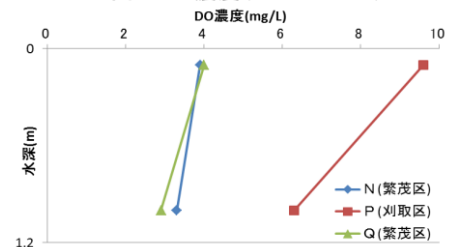


図2 DO濃度(H30.7.17)

水質調査では、ハスが十分繁茂している7月中旬に実施したDO(溶存酸素)の結果を、平成28年は図1、平成30年は図2に示す。DOは刈取区で上層下層とも繁茂区より高くなっている。水路状に刈り取った平成28年より面的に刈り取った平成30年の結果では刈取区で大幅なDOの改善が見られた。

DO以外の項目については刈取区と繁茂区の差はあまりみられなかった。

ハスが沼一面に生えることの問題点は、生物多様性の欠如、水の流れを遮り風による上下循環も妨害すること、茎が固く堆積後分解しにくく浅底化すること、堆積したハスが徐々に分解しCODを上昇させること等があげられる。

多様性の欠如については、ハスは大きい葉で光を遮ること、レンコンの繁殖力が大きいこと、低酸素に強い構造であること、光合成の酸素を水中に出さないこと等により他の植物の生育を甚だしく妨害し独占的となる。

水の流れが悪いと沈降性が高まり、泥が溜まりやすくなり、泥中の有機物が酸素を消費し、波立たないので空中からの酸素が供給されにくく水中は低酸素となる。溶存酸素が少ないと一般の植物は生育できなくなり、貝や魚類も生育できなくなり、そこで、ますますハスが増えるという悪循環となる。

沼の水質浄化及び生物多様性の確保のポイントは、泥が堆積した底質を改善し砂地化を進めることであるが、沼内で繁茂した後に冬に枯れて残ったハス茎の群体が、季節風及び沼水循環を弱めさせ、底泥の巻き上げを阻害し、その結果、底質の改善が進んでいない。

ハスは、湖沼性の他の水生植物と異なり洪水の時に、葉は水没すると窒息して枯れてしまうという欠点がある。しかし、硬い殻の種子は、条件が整えば数千年後でも発芽・生育が可能な生命力の強い植物なので、他の植物等の生育のためには、人間が関与して沼でのハスの植生域をコントロールすることが必要である。

水質改善には合併浄化槽や下水道の整備による家庭排水対策等の流入負荷削減対策が重要であるが、沼内の有機物や底泥を希釈・排出する負荷排出対策も重要である。この負荷排出対策には、希釈効果のある導水対策、強風時の巻き上げを利用し底泥を除去する「巻上除去法」<sup>1)</sup>等がこれまで提案されてきたが、ハスの適正管理もCOD等内部負荷対策としてこれらの対策と共に実施していくことが重要と考えられる。

## 4. まとめ

伊豆沼の植生はハスの単一化が進んでいる。ハス繁茂区では表層までDOが少なくなっている。刈取方法では、水路状刈取より面的刈取でDO改善効果が大きい結果となっている。

水質改善には流入負荷削減対策や導水等の対策とともに観光に配慮したハスの適正管理が重要と考えられる。

## 5. 参考文献

1) 渡部ら(2003), 水環境学会誌, 26(6), 387-392

## 2 県内における水銀の水質・底質の状況調査

### (プロジェクト研究より)

水環境部 ○赤崎 千香子 後藤 つね子 藤原 成明 松本 啓

#### 1 はじめに

近年、アジア地域やアフリカ地域での排出による人為的汚染により大気中の水銀濃度が増大している。世界的な取り組みによる削減・根絶が必要となっているため、2013年10月に水銀に関する水俣条約が採択され、2017年8月に発効された。

水銀に関する世界的な状況を踏まえ、当所では平成30年度から2年間で各部をまたぐプロジェクト研究として、県内における水銀の環境・食品・人体の汚染状況調査を実施している。

今回はその中から水環境部で実施した河川水質、底質の調査結果について報告する。

#### 2 調査概要

2.1 プロジェクト研究 定点4地点で四半期毎の調査

調査時期 2018年6, 8, 11月

調査地点 蛇田新橋(北上運河), 新田大橋(梅田川), 分脈水門(五間堀川), 坂元橋(坂元川)

調査項目 総水銀(測定装置 水銀専用原子吸光装置 マーキュリー RA3110)

2.2 追加調査 プロジェクト研究の定点とは別に県内の状況を把握するため、追加で実施した調査

調査時期 2018年11月

調査地点 プロジェクト研究関連: 中里新橋(北上運河), 大街道新橋(北上運河), きのした橋(五間堀川), 志引橋(五間堀川)

県内状況把握: 花山ダム上流(一迫川), 久保橋(鉛川)

調査項目 総水銀(2.1の測定装置)

#### 3 調査結果

3.1 プロジェクト研究

実施した地点の水質の総水銀濃度については全て定量下限値未満であった。

底質の総水銀測定結果を表1に示す。

表1 底質総水銀測定結果 (mg/kg)

調査地点	6月	8月	11月
蛇田新橋	0.27	0.27	0.26
新田大橋	0.03	0.02	0.03
分脈水門	0.12	0.16	0.13
坂元橋	0.01	0.01	0.01

3.2 追加調査

プロジェクト研究の6月, 8月の測定結果から、蛇田新橋と分脈水門の底質の濃度は水質の暫定除去基準値(25mg/kg)を超過しないが、他の地点よりも高かったことから、11月にそれぞれの地点の

上流と下流で追加調査を実施した。その結果、水質の総水銀濃度については、いずれの地点でも定量下限値(0.0005mg/L)未満であった。

蛇田新橋周辺の底質の総水銀濃度を表2に示す。

表2 蛇田新橋周辺の底質の総水銀濃度等

調査地点	中里新橋(上流)	蛇田新橋	大街道新橋(下流)
底質(mg/kg)	0.26	0.26	0.05
水分含量(%)	71	64	53

上流の中里新橋は同じ濃度だったが、下流の大街道新橋では低い濃度であった。

分脈水門周辺の底質の総水銀濃度を表3に示す。

表3 分脈水門周辺の底質の総水銀濃度等

調査地点	志引橋(上流)	分脈水門	きのした橋(下流)
底質(mg/kg)	0.03	0.13	0.16
水分含量(%)	33	63	61

上流の志引橋では低い濃度であったが、下流のきのした橋では分脈水門よりもやや高い濃度だった。

県内状況を把握するため、人為的汚染が考えにくい花山ダム上流と、PRTRの結果から水域に水銀が排出されている鉛川の久保橋で調査を行った。調査結果を表4に示す。

表4 花山ダム, 久保橋の水質・底質調査結果

調査地点	花山ダム上流	久保橋
水質(mg/L)	<0.0005	<0.0005
底質(mg/Kg)	0.02	0.03
水分含量(%)	23	31

花山ダム上流, 久保橋共に底質の総水銀濃度は低かった。

#### 4 まとめ

(1) 水質の水銀濃度は調査した全ての地点, 全ての時期で定量下限値(0.0005mg/L)未満だった。

(2) 定点4地点の底質の水銀濃度は年間をとおして大きな変動はなかった。

(3) 今回の調査では、水分含量の多い泥状の底質では、総水銀濃度が高い傾向が見られた。



# 3 東北地方太平洋沖地震後の宮城県内井戸の水質状況調査により判明した井戸水汚染について

水環境部 ○加川 綾乃 赤崎 千香子 藤原 成明 松本 啓

## 1 はじめに

平成 23 年 3 月 11 日に発生した東北地方太平洋沖地震（以下「地震」とする。）による宮城県内の井戸水質への影響を把握するため、水質状況調査を実施した。調査結果を基に県内の井戸水質に対する地震の影響を検討する中で、環境基準を上回るなど顕著な事例を確認したので報告する。

## 2 調査概要

地震発生前 10 年間の平成 13 年度から平成 22 年度に、本県では井戸 114 件を対象として地下水質概況調査を実施している。今回、地震前後の井戸水質状況を比較するため、当該井戸を対象とし、地震後の水質状況調査として予備調査と水質分析調査を実施した。調査期間は、平成 28 年 9 月から平成 30 年 9 月までの 2 年間である。

### 2. 1 予備調査

井戸 114 件のうち採水・調査可能な井戸 60 件を対象に、pH と電気伝導度について水質分析を実施し過去の分析値と比較した。また、地震前後での井戸の状況変化等（津波被害の有無を含む）について井戸所有者から聞き取りを行った。

### 2. 2 水質分析調査

予備調査した井戸 60 件のうち井戸所有者から「地震前後での状況変化が見られた」と証言のあった井戸、地震前と比較して pH と電気伝導度で変動があった井戸の計 33 件を対象とし、環境省告示第 10 号等の公定法に準拠した水質分析を実施した。分析項目は、pH、環境基準項目（クロロエチレンを除く 27 項目）、塩化物イオン及び電気伝導度の計 30 項目とした。

## 3 調査結果

### 3. 1 予備調査

井戸 114 件のうち津波被害を受けた井戸は 15 件であり、そのうち採水可能であった 4 件については、津波による海水の浸入で電気伝導度の上昇を予想したが、4 件中 1 件については逆に減少傾向にあり、残り 3 件については顕著な変化はみられなかった。

聞き取りの結果、地震前後で井戸の状況に変化があったとの証言が得られた井戸は 10 件あり、濁りの増加や水量の減少等が多く挙げられた。

### 3. 2 水質分析調査

水質分析調査の結果、33 件中ひ素 1 件（井戸 A）、ふっ素及びほう素各 1 件（井戸 B）で地震前後での変動が確認された。井戸 A のひ素では、地震前

に 0.016 mg/L と環境基準を超過しており、その後 3 年間継続して監視調査していた実績がある。監視調査では最終的に 0.001 mg/L まで低下したものの、今回は 0.011 mg/L と再び上昇し、環境基準を超過した。また、井戸 B では地震前後でふっ素が 0.64 mg/L から 1.9 mg/L と約 3 倍、ほう素が 0.28 mg/L から 3.8 mg/L と約 14 倍高くなり、電気伝導度が 42.0 mS/m から 259 mS/m と約 6 倍高くなった。

## 4 考察

一部の井戸で電気伝導度等の変化が見られたものの、その他の井戸では各項目の顕著な変化は認められなかった。

井戸 A では、対象地域におけるひ素の土壌中バックグラウンドが高いことが知られている<sup>1)</sup>。

また、内陸部の井戸 B においてふっ素とほう素が高値を示したが、地下水においてこれらの値が環境基準値を超過することは数少ない<sup>2)</sup>。ふっ素は自然界に広く分布し<sup>3)</sup>、また、ほう素による地下水の汚染源として火山地帯の地下水や温泉水等が挙げられている<sup>4)</sup>。今回の水質分析結果を踏まえ、井戸 B 管轄保健所の協力の下、井戸 B の半径 5 km 以内にある温泉水（2 源泉）のメタホウ酸とメタホウ酸イオンの濃度をほう素濃度に換算し確認した。井戸 B から直線距離で約 2 km ほど北に位置する C 温泉のほう素濃度はおよそ 31 mg/L、井戸 B から直線距離で約 3.5 km ほど北に位置する D 温泉のほう素濃度はおよそ 4.5 mg/L であり、どちらも環境基準を上回ることが判明した。このように井戸 B 周辺の温泉水からも環境基準を超えるほう素濃度が確認されているため、自然由来の原因により井戸水に何らかの影響を及ぼした可能性が示唆される。

今回の調査では、全般的に地震前後での井戸水質の変化は顕著ではなかったものの、一部の井戸水で自然由来と思われる水質の変化が認められた。また、一部の井戸で地震直後に井戸の濁り等の現象が捉えられていたことから、それらの井戸の水質について地震直後に変化が起きていたことが想定された。

## 5 参考文献

- 1) 土屋範芳ら(2009), 宮城県土壌自然由来重金属等バックグラウンドマップ
- 2) 環境省(2018), 平成 29 年度地下水質測定結果
- 3) 田瀬則雄(2003), 地下水学会誌, 45 (4), 463-468
- 4) 恵藤良弘ら(1999), 用水と廃水, 41(10), 53-5

## 4 宮城県における大気中揮発性有機化合物（VOCs）

### 及びアルデヒド類の濃度変化

大気環境部 ○高橋 美玲 佐久間 隆 佐藤 健一

#### 1 はじめに

平成8年の大気汚染防止法改正に伴い、地方公共団体は有害大気汚染物質による大気汚染状況の把握に努めなければならないと定められ、本県では平成9年10月からモニタリング調査を実施している。

この同調査の中で測定した揮発性有機化合物（VOCs）及びアルデヒド類に関して、過去20年間（平成9年度～28年度）における濃度の経年変化及び全国と比較した本県の特徴等について報告する。

#### 2 方法

##### 2.1 調査地点

- ① 塩釜一般環境大気測定局（H9-H17, H19-毎年）
- ② 仙南保健福祉事務所屋上（H9-H19, H21-隔年）
- ③ 古川Ⅱ一般環境大気測定局（H9-H18, H20-隔年）
- ④ 名取自動車排出ガス測定局（H9-毎年）
- ⑤ 塩釜自動車排出ガス測定局（H16-H20 毎年）
- ⑥ 古川自動車排出ガス測定局（H16-H20 毎年）

##### 2.2 試料採取頻度及び採取時間

月1回24時間試料を採取した。

##### 2.3 調査対象物質

VOCsは優先取組物質11種、アルデヒド類はアセトアルデヒド及びホルムアルデヒドを対象とした。

##### 2.4 試料採取及び測定方法

「有害大気汚染物質測定方法マニュアル」に従って採取及び測定を実施した。

#### 3 結果・考察

##### 3.1 VOCs

環境基準及び環境指針が定められている物質に関しては、ベンゼンを除き、全地点及び全年度において基準値及び指針値を下回った。テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン及び塩化ビニルモノマーは、全地点及び全年度において全国平均値を下回っており、また全国的にも減少傾向にある。アクリロニトリルは、複数の地点で全国平均値よりもわずかに高い傾向にあった。ジクロロメタン、1,2-ジクロロエタン、クロロホルムに関しては、一部地点で全国平均を上回る年度もあったが、近年は減少傾向にある。ベンゼンは、平成10及び11年度の名取自排局において環境基準値を超過した。その後も全国平均値を上回っていたが、全体的には減少傾向にある。1,3-ブタジエンも指針値超過はしていないものの、ベンゼンと似た動向を示した（図1）。両物質の大気中への排出は移動発生源の寄与が大きく、減少傾向の一因としては、排出ガス最新規制適合車の普及や自動車燃料の改善が寄与していることが考えられる。トルエンに関してはいずれの地点においても全国平

均値を上回る傾向にある。塩化メチルに関しては全国平均値を下回っている。

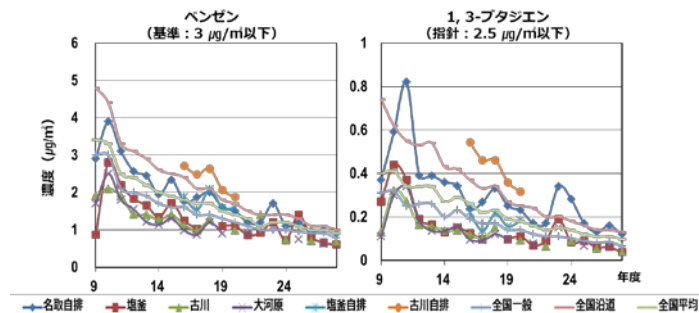


図1 VOCsの経年変化（抜粋）

##### 3.2 アルデヒド類

図2に示すように、アセトアルデヒド及びホルムアルデヒドについては、全国平均値よりも高い地点及び年度が頻発している。名取自排局におけるホルムアルデヒドの濃度は微減増を繰り返しながら僅かに減少傾向にあったが、震災後再び増加傾向に転じた。公表されているPRTRの届出状況等により、ホルムアルデヒドの発生はほぼ移動発生源に寄与していること、ガソリン車よりもディーゼル車からの排出量が多いことが分かっている。更に、増加に転じた時期が震災後であることなどから、名取自排局においては隣接する国道4号線を通る大型トラックからの影響が大きいと考えられた。

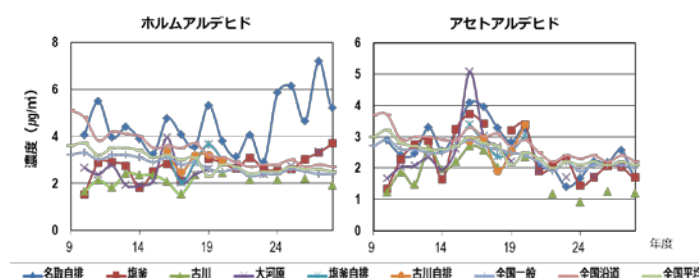


図2 アルデヒド類の経年変化

#### 4 まとめ

一部の優先取組物質において全国平均値を上回っているが、近年環境基準値及び指針値を超過する物質はない。解析の結果、ホルムアルデヒドについては移動発生源の寄与が高いと推測された。

今後、本県の大気汚染の状況をより詳細に把握するためには、測定地点を増やすことも視野に入れながら、測定を継続することが重要であると考えている。

# 5 宮城県の大気汚染常時監視におけるPM<sub>2.5</sub>の地域特性

大気環境部 ○太田 耕右 栗野 尚弥 大熊 一也 佐藤 健一

## 1 はじめに

近年、微小粒子状物質（以下、「PM<sub>2.5</sub>」という）による呼吸器・循環器系への影響が懸念されている。平成22年に、環境省は「常時監視の事務処理基準」を改正し、PM<sub>2.5</sub>を地方公共団体による常時監視の対象に追加した。宮城県内では、平成30年9月現在、計23の測定局においてPM<sub>2.5</sub>の常時監視を行っている。

本検討では、宮城県内の測定局における常時監視データを解析することでPM<sub>2.5</sub>対策を立案するうえで有用な知見を得ることを目的とし、PM<sub>2.5</sub>濃度の地域特性を調査した。

## 2 解析方法

PM<sub>2.5</sub>濃度の地域特性を調べるため、クラスター分析により測定局間のPM<sub>2.5</sub>濃度の類似性を調査し、類似した測定局をグループ分けした。

クラスター分析に用いたデータは、宮城県内の23測定局におけるPM<sub>2.5</sub>濃度の1時間値[μg/m<sup>3</sup>]である。分析対象期間は、比較的濃度の高い2018年4月1日～9月30日とした。クラスター分析で使用する非類似度は、(1)式に示すユークリッド距離dを採用した。クラスタリングは、分類感度が高いとされるWard法を使用し、解析ソフトにはRを用いた。なお、類似した測定局をグループ分けする際、一律にdの値で区切らず、樹上図の形状および測定局の位置関係を考慮した。

$$d = \{(a_1 - b_1)^2 + \dots + (a_n - b_n)^2\}^{0.5} \dots (1)$$

a<sub>k</sub>: 測定局aにおけるk番目の1時間値[μg/m<sup>3</sup>]

b<sub>k</sub>: 測定局bにおけるk番目の1時間値[μg/m<sup>3</sup>]

以上の方法で得られた各グループについて、PM<sub>2.5</sub>濃度(1日における1時間値の最大値)の1週間平均値をプロットし、グループごとの差異を調べた。さらに、差異が生じた理由を調査するため、グループごとに重回帰分析により(2)式のαおよびβを求め、PM<sub>2.5</sub>濃度に影響する因子を考察した。

NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NMHC, O<sub>x</sub>は、二次粒子(大気中の化学反応により生じるPM<sub>2.5</sub>)の原因物質であると考えられていることから<sup>1)</sup>、(2)式のαはPM<sub>2.5</sub>濃度に及ぼすNO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NMHC, O<sub>x</sub>の影響を表し、βはNO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NMHC, O<sub>x</sub>濃度に関わらず発生する一次粒子等による影響を表すと解釈できる。

$$y = \alpha_{NO_2} x_{NO_2} + \alpha_{SO_2} x_{SO_2} + \alpha_{NMHC} x_{NMHC} + \alpha_{O_x} x_{O_x} + \beta \dots (2)$$

α: 偏回帰係数 β: 切片

y: 1日におけるPM<sub>2.5</sub>濃度の最大値[μg/m<sup>3</sup>]

x: 1日におけるNO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NMHC, O<sub>x</sub>濃度の最大値[NMHCのみppmC, それ以外はppb]

## 3 結果と考察

クラスター分析の結果を図1に示す。図1における縦軸は、(1)式に示すユークリッド距離dである。グループ分けの結果、23の測定局を5グループ(都市周辺・西部・北部・都市中心・郊外)に分類した。

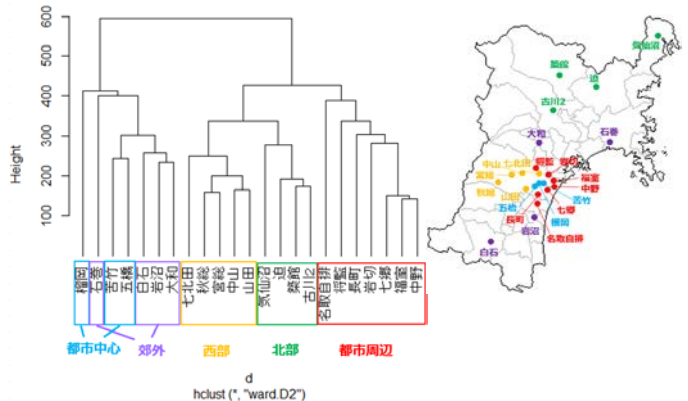


図1 測定局のグループ分け結果

各グループ毎にPM<sub>2.5</sub>濃度を比較した結果、濃度が高い順に、都市中心>郊外≒都市周辺>北部≒西部となった(図2)。

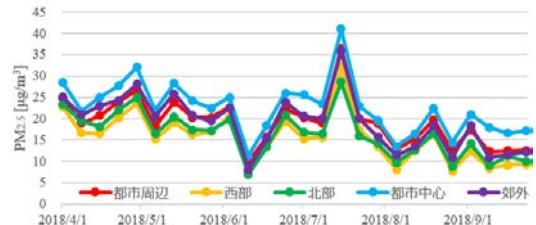


図2 各グループのPM<sub>2.5</sub>濃度

PM<sub>2.5</sub>濃度が高かった3グループ(都市中心, 都市周辺, 郊外)について、重回帰分析を行った結果を表1に示す。表1より、グループ毎に特徴があり、都市中心ではSO<sub>2</sub>, NMHC, 一次粒子等の影響が大きく、都市周辺では一次粒子等、郊外ではNO<sub>2</sub>の影響が大きいことが分かる。従って、これらがPM<sub>2.5</sub>濃度上昇の一因であると推察された。

表1 重回帰分析結果

		都市中心	都市周辺	郊外
α(偏回帰係数)	NO <sub>2</sub>	0.09	0.03	0.57
	SO <sub>2</sub>	2.15	0.91	1.40
	NMHC	4.06	1.41	-0.52
	O <sub>x</sub>	0.29	0.27	0.26
β(切片)	一次粒子等	2.15	2.64	-3.52

参考文献 1) 坂本和彦. 粒子状物質による大気汚染の変遷と現状. 表面科学, 2015, 36(3), p. 141-143.

# 6 石巻・名取におけるPM<sub>2.5</sub>のレボグルコサンについて（第2報）

大気環境部 ○岩田 睦 天野 直哉 佐久間 隆 福原 郁子 佐藤 健一

## 1 はじめに

近年、粒径 2.5 μm 以下の微小粒子状物質（以下PM<sub>2.5</sub>）による健康影響が懸念されている。

宮城県では相次いで火力発電所が開設されており、バイオマス燃料混焼の火力発電所によるPM<sub>2.5</sub>の影響を調査するため、昨年度よりバイオマス燃焼の指標とされるレボグルコサンの分析を開始した。

昨年度は分析手法を確立するとともに、平成 28 年度に名取自動車排出ガス測定局（以下名取）及び石巻一般環境大気測定局（以下石巻）の 2 地点で捕集した試料を分析し、若干の知見が得られた。

今回はそれに加え、平成 29 年度に捕集した試料の結果について、第 2 報として報告する。

## 2 分析方法

### 2.1 調査対象

平成 28 年度及び 29 年度に捕集したPM<sub>2.5</sub>試料（一季 6～7 試料、計 53 試料）を調査対象とした。

### 2.2 測定方法

レボグルコサンの定量分析は、大気中微小粒子状物質（PM<sub>2.5</sub>）成分測定マニュアルの「レボグルコサン測定方法（誘導体化/GC-MS 法）」（以下マニュアル）に準じ、保健環境センター年報第 36 号に掲載した測定法により分析した。検出下限値・定量下限値はマニュアルに従い算出した。検出下限値は 0.3 ng/m<sup>3</sup>、定量下限値は 1.0 ng/m<sup>3</sup>であった。

## 3 結果と考察

図 1 に平成 28 年度、図 2 に平成 29 年度の季節におけるレボグルコサン濃度の経日変化を示す。さらに図 3 に平成 28・29 年度の季節におけるレボグルコサン濃度の平均を示す。

経日変化を見ると、既報のとおり平成 28 年度では秋季（10 月）に両地点の測定値に大きな乖離が見られ、石巻は最高値 408.7 ng/m<sup>3</sup>と顕著に高濃度であった。この事象は、観測地点近隣の発生源の影響を局所的に受けたことによるものと推測された。平成 29 年度では測定値に大きな乖離はなく、局所的な影響はほぼないと推測された。

季節の平均を見ると、レボグルコサンの濃度は、両年とも石巻・名取に共通して、秋季が一番高く、次いで冬季（1 月）の順である。春と夏は低濃度で推移している。

また、同じ季節・年度で比較すると、春・夏季は石巻より名取が、秋・冬季は名取より石巻が高値となる傾向がある。

今回 2 年間のレボグルコサン調査で、以上のような知見が得られたが、今後も継続して調査する予定である。

なお、本研究において石巻局より南の石巻港湾事務所

で測定を行っている他、名取と石巻においては、レボグルコサン以外の成分分析を行っており、平成 31 年度からは有機酸の分析を加え、より詳細に解析することとしている。

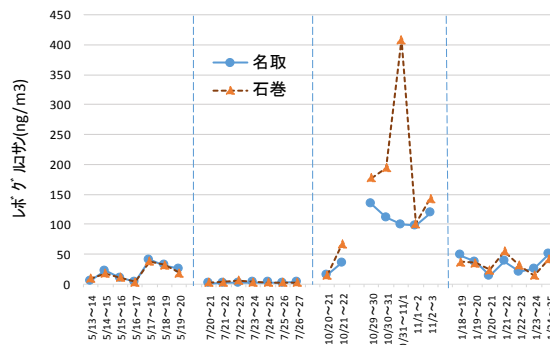


図 1 平成 28 年度季節におけるレボグルコサンの経日変化

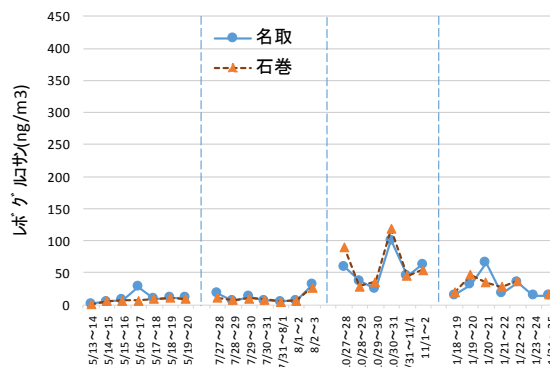


図 2 平成 29 年度季節におけるレボグルコサンの経日変化

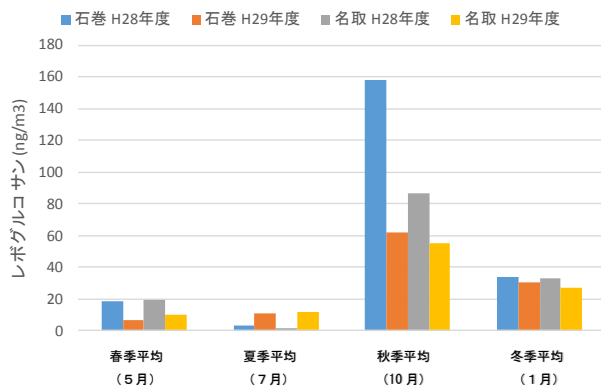


図 3 平成 28・29 年度の季節におけるレボグルコサンの濃度

# 7 大気汚染常時監視情報データへの機械学習

## ライブラリ等の適用について

産業技術総合センター企画・事業推進部 ○岩沢 正樹

### 1 はじめに

近年の様々なデータを取り巻く環境は、大きな変革の中にあり、産業技術総合センター（以下、「産技セ」）でもIoTをテーマに取り組んでいる。

また、産技セを含む公設試験研究機関間では、専門分野の垣根を越えた業際研究活動が叫ばれている。

そこで、本報告では、業際活動への取組を指向し、工業系技術から「機械学習」を取り上げ、産技セ以外の提供データに行った計算事例の報告を行う。

### 2 機械学習ライブラリの適用

#### 2.1 機械学習の概要

今回取り上げる機械学習は、「観測センサーやその他の手段で収集されたデータの中から一貫性のある規則を見つけだそうとする研究」<sup>1</sup>と定義される。

この規則を見つける方法として、「教師あり学習」と「教師なし学習」がある。2つの違いは、規則性を見つける時に、学習するデータ（学習データ）が存在するかしないかの違いとなる。例えば、「教師あり学習」は「分類」などに活用されている。

#### 2.2 計算環境等の概要

具体的に適用するにあたって、Webブラウザで対話的に操作できるJupyter notebook上で、Pythonを用いて、下記ライブラリ等を活用し行った。

- ・Matplotlib（グラフ描画ライブラリ）
- ・Numpy・Pandas（データ処理ライブラリ）
- ・Scikit-learn（機械学習ライブラリ）

計算環境としては、身近な環境での計算を目標としているため、通常、県庁内で使用されている下記PCを利用した。

- ・NEC VersaPro（Windows10 Pro）

#### 2.3 対象データの概要・方法

今回は、保健環境センター大気環境部がWEB上で公開している「大気汚染常時監視情報」<sup>2</sup>を利用した。

- ・期間：2006年4月～2016年3月（拠点：榴岡）
- ・物質：NOx（単位：ppb）
- ・欠損値：0（ゼロ）に置換

#### 2.4 学習データ作成・適用アルゴリズム

上記データに対して、分類問題を時系列に拡張する形で「教師あり学習」を適用し、時系列データの将来予測（学習期間：2007年4月～2014年3月、予測期間：2014年4月～2016年3月）を試みた。

学習データは、過去365日の測定データ(X)から、翌日(N+1)の値(Y)が決まる構成とした。(図1)

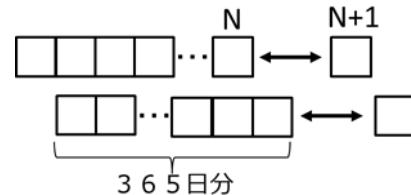


図1 学習データの概要

教師あり学習の様々なアルゴリズムの中から、主要なものから「決定木」「ランダムフォレスト」「サポートベクターマシン（SVM）」を適用した。

### 3 機械学習ライブラリの適用結果

今回の計算結果の一部を、次に示す。(図2)

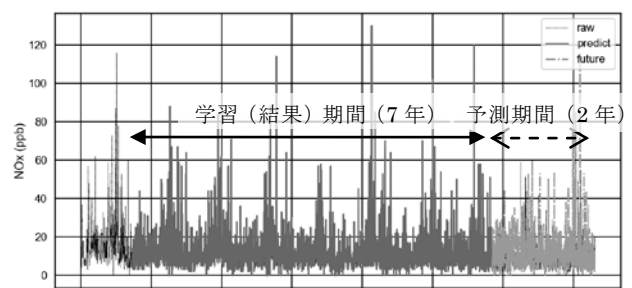


図2 SVMでの計算例(横軸は整数値に振り直し)

予測結果を、二乗平均平方根誤差(RMSE: Root Mean Squared Error)で実測値と比較した。(表1)

表1 各アルゴリズムのRMSE値

アルゴリズム名	RMSE値(10回平均)
決定木	13.56
ランダムフォレスト	9.74
SVM	10.46

### 4 おわりに

本取組は、業際活動への取組を指向し、他公所の提供データを活用した、産技セでの計算事例について報告を行った。今後、モデルの精度向上・他アルゴリズムの適否などの検討も試みたい。

### 謝辞

事業では無い活動に、様々にご配慮頂いた、斎藤副所長兼企画・事業推進部長を始めとした企画・知財班のメンバーに感謝いたします

<sup>1</sup> <https://www.ai-gakkai.or.jp/whatsai/AIresearch.html>

<sup>2</sup> <http://www.ihe.pref.miyagi.jp/telem/index.html>



# 8 仙台市における光化学オキシダント生成に係る VOC 調査

—平成 28 年度調査結果—

仙台市衛生研究所 ○遠藤 仁美 石川 千晶 庄司 岳志 佐藤 修一

## 1 はじめに

光化学オキシダント (Ox) とは、揮発性有機化合物 (VOC) と窒素酸化物 (NOx) の光化学反応によって生じる酸化性物質の総称であり、PM<sub>2.5</sub> の二次生成と原因物質が共通している。Ox 主成分はオゾンであり、効果的な Ox 低減対策を検討するには、実際の VOC 成分および濃度の把握が必要と考えられた。こうした背景から、平成 28 年度より市内 4 地点で優先取組物質を含む 95 成分を定量してきた。今回、平成 28 年度の結果をまとめ、成分の把握と Ox 生成への寄与を検討したので報告する。

## 2 調査方法

調査地点は、表 1 に示した一般局 2 地点 (榴岡局、中野局) および自排局 2 地点 (五橋局、将監局) の市内 4 地点で、環境省が示す「有害大気汚染物質モニタリング測定方法マニュアル」の容器採取-GC/MS 法により、毎月 1 回 24 時間採取で分析を実施した。当所で大気中の VOC 一斉分析に使用している有害大気汚染物質測定用標準ガス HAPs-44 成分、PAMS-58 成分 (重複あり) を用いて、全 95 成分を定量項目とした。なお、構造異性体の m-, p-キシレンは分離定量できないため、合算値とした。

表 1 調査地点

測定局	地点属性	自動測定機の設置状況		
		Ox	NOx	非メタン炭化水素 (NMHC)
榴岡	一般環境	○	○	○
中野	固定発生源周辺	○	○	-
五橋	沿道	-	○	○
将監	沿道	-	○	○

## 3 結果と考察

### 3-1 地点ごとの測定結果

各地点の成分濃度をアルカン、アルケン、芳香族炭化水素、植物起源 (BVOC)、その他に分類して図 2 左に示した。また、各成分濃度に最大オゾン生成能 (Maximum Incremental Reactivity: 以下、MIR 値) を乗じたオゾン生成推計濃度を図 2 右に示した。

成分濃度の主要成分は全地点でアルカンであり、その上位成分はプロパン、n-ブタンであった。8 月には BVOC が大きく増加し、特にイソプレンは高い値で検出された。PRTR 集計結果から大気への排出量の多いトルエン、ヘキサン、キシレンは年間を通じて検出される主要な成分であることが確認できた。一方でオゾン生成推計濃度の主要成分はアルケン、芳香族であり、大気濃度が高く MIR 値も大きいプロピ

レン、トルエンの影響については、今後も継続して調査を行う必要がある。

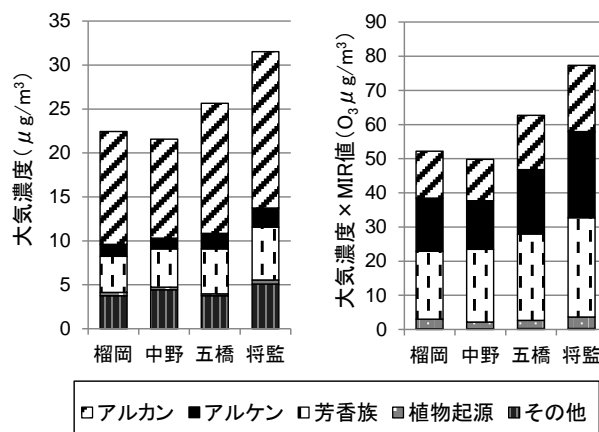


図 2 各地点の成分構成

### 3-2 Ox 濃度との相関

自動測定機の設置状況から榴岡局のデータを用いて、暖候期 (4~9 月) の Ox 濃度と検出した VOC 各成分のオゾン生成推計濃度との相関を確認した。Ox 濃度と相関が見られたのは大気中の寿命が比較的長いベンゼンやクロロメタン等の一部成分であり、Ox 生成寄与の高い多くの成分については相関が確認できなかった。Ox は生成機構が複雑であり、生成に関与した VOC は分解・消失している可能性が高く、検出した濃度と直接的な相関を得ることは難しいものと考えられる。

### 3-3 季節別 Ox 生成寄与成分の比較

3 ヶ月ごとの各成分のオゾン生成推計濃度を平均し、季節による成分組成の変化を確認した。7~9 月 (夏季) には BVOC のイソプレン、ガソリン蒸発ガス成分に多いとされる i-ペンタンが増加し、気温の下がる 1~3 月 (冬季) にプロパンが増加するなど成分構成には季節変動が見られた。一方で、プロピレン、トルエン、1,2,4-トリメチルベンゼンは 1 年を通して Ox 生成の主要成分であると考えられた。

## 4 まとめ

市内 VOC 濃度は、検出成分の 52~58% がアルカンであり、アルケン・芳香族炭化水素は 24~27% であったが、オゾン生成推計濃度で見るとアルケン・芳香族炭化水素が 68~71% と影響が大きい可能性が示唆された。

## 9 磁気ビーズ法とカラム法を用いたノロウイルス RNA 抽出効率の比較

微生物部 ○神尾 彩楓 大槻 りつ子 坂上 亜希恵 佐々木 美江  
植木 洋 畠山 敬

### 1 はじめに

わが国でのノロウイルス (norovirus, 以下 NoV) 遺伝子検査は、「ノロウイルスの検査法について (平成 15 年 11 月 15 日付け食安監発第 115001 号)」(以下, 通知法) に示されており, ウイルス RNA の抽出はカラム精製キットが例示されている。しかし, 食品や下水等の検体からウイルス濃縮を行う際には, 濃縮液に浮遊物質や濁質が残ることが多く, RNA 抽出の過程でカラムのメンブレンフィルターに目詰まりが生じることがあり, RNA 抽出に影響を及ぼしている可能性がある。一方, ISO (International organization for Standardization) では, 食品からの NoV や A 型肝炎ウイルスの核酸抽出には磁気ビーズによる抽出法が示されており EU を中心に広く用いられている。

そこで, カキ, 流入下水, 糞便を対象としてそれぞれのウイルス抽出・濃縮液からカラム法と磁気ビーズ法を用いてウイルス RNA 抽出を行い, リアルタイム PCR 法で得られた実測値から換算値を算出し, 抽出効率を比較した。

### 2 材料・方法

#### 2. 1 材料

対象試料は, NoV で汚染したカキ (以下, 汚染カキ) 10 検体, 下水処理場の流入下水 30 検体, 感染性胃腸炎患者便 20 検体を用いた。

#### 2. 2 方法

##### 2. 2. 1 対象試料からのウイルス抽出・濃縮

カキは, 中腸腺にアミラーゼ溶液を加えて破碎し, 加温処理後遠心した上清をウイルス抽出液とした。流入下水は, ポリエチレングリコール沈殿法で濃縮後の沈渣を滅菌蒸留水で再浮遊した検体をウイルス濃縮液とした。患者便は, 10% 乳剤を遠心した上清をウイルス抽出液とした。

##### 2. 2. 2 ウイルス RNA 抽出

カラム法は, A 社のカラム精製キットを用いて自動核酸抽出装置によりウイルス抽出・濃縮液 140  $\mu$ l から RNA 60  $\mu$ l を抽出した。一方, 磁気ビーズ法は, B 社の磁気ビーズ精製キットと自動核酸抽出装置を用いてウイルス抽出・濃縮液 140  $\mu$ l から RNA 90  $\mu$ l を抽出した。抽出方法はそれぞれのキットと装置に添付されている説明書に従った。

それぞれの方法で抽出したウイルス RNA を用い, 通知法に準じてリアルタイム PCR 法により NoV 遺伝子の定量を行った。通知法では実測値 10 コピー以上が陽性とされているが, 本調査では実測値が 10 コピー以下だった場合も含め, 遺伝子の増幅に伴う特異的蛍光の増加が閾値に達した際のサイクル数 (Threshold cycle, 以下 Ct 値) から得られた実測値をもとに換算値 (コピー/ml) を算出した。その後換算値を Wilcoxon の符号付順位検定により統計学的に解析し, ウイルス RNA の抽出効率を比較した。

### 3 結果

汚染カキでは, カラム法で 10 検体中 9 検体 (90.0%), 磁気ビーズ法で 10 検体全て (100%) で NoV 遺伝子が抽出

された。流入下水では, カラム法で 60 検体中 54 検体 (90.0%), 磁気ビーズ法では 60 検体中 56 検体 (93.3%) で NoV 遺伝子が抽出された。患者便では, カラム法で 20 検体中 19 検体 (95.0%), 磁気ビーズ法では 20 検体中 18 検体 (90.0%) で NoV 遺伝子が抽出された。

換算値を統計学的に解析した結果, 患者便ではカラム法と磁気ビーズ法の間有意差は確認されなかった。一方, 汚染カキ及び流入下水では磁気ビーズ法はカラム法に比べウイルス抽出効率が有意に高かった ( $P < 0.01$ )。

### 4 考察・まとめ

汚染カキ及び流入下水検体では有意差が確認されたことから, 磁気ビーズ法は濁質や浮遊物が多い環境検体からの核酸抽出に有効であると考えられた。一方, 患者便では抽出法の違いによる核酸抽出効率の差はみられなかった。糞便検体の遠心上清には浮遊物や濁質が少なかったことが一因と考えられる。

また, 本調査において同一検体からカラム法で抽出した遺伝子では Ct 値が確認され (Ct 値=42.00), 磁気ビーズ法では Ct 値が認められなかった糞便検体が確認されている。通常リアルタイム PCR 法での Ct 値が 38~40 以上 (実測値が 10 コピー未満) の場合, 検査結果の再現性が低いといわれており, 抽出効率の差異を論じることはできなかった。

以上のようにカラム法と磁気ビーズ法には核酸抽出効率に違いが見られたことから通知法の例示に従って, 各種検体を一律にカラム法で抽出するのではなく, 検体の特性に合わせた抽出法の選択がより効率的な核酸抽出につながる事が今回の調査により明らかとなった。

# 10 非結核性抗酸菌の環境中における分布状況および

## 豚由来株の分子疫学的解析

微生物部 ○木村 葉子 渡邊 節 有田 富和 山口 友美 畠山 敬

### 1 はじめに

非結核性抗酸菌 (nontuberculous mycobacteria : NTM) は、土壌や粉じん、水系、動物の体内等に広く存在する環境常在菌であるが、近年罹患者数が急増している非結核性抗酸菌症 (NTM 症) の原因菌でもある。しかし、NTM 症は感染症法に指定される発生病動向調査の対象とはなっておらず、詳しい実態は明らかになっていないのが現状である。さらに、NTM は豚の NTM 症の原因菌でもあり、これまで豚が直接の感染源となったヒト感染事例は確認されていないものの、動物における NTM 症の実態は不明な点が多い。

そこで、本研究ではヒトの周辺環境中における NTM の動態を把握するため、宮城県内の公衆浴場水や水たまり、下水等の環境水を対象に、NTM 遺伝子の検索を行った。また、豚由来の NTM 株について、分子疫学的解析を実施したので報告する。

### 2 方法

#### 2.1 環境中における NTM 遺伝子の検索

県内で採水した公衆浴場水、アスファルト道路上の水たまり、下水処理場の流入下水計 390 検体について、2 段階 PCR 法により NTM 遺伝子のスクリーニングおよび、ヒトに対して病原性の高い NTM である *M. avium*, *M. intracellulare* 及び *M. kansasii* の主要 3 菌種についての遺伝子検出を行った。

#### 2.2 豚由来 NTM 株の分子疫学的解析

宮城県食肉衛生検査所で分離した豚 NTM 症由来の分離株 29 株について、環境水検体と同様の方法で 2 段階 PCR 法による主要 3 菌種の遺伝子検出を行った。*M. avium* 遺伝子陽性となった株について、既報に従い 16 組のプライマーセットを用いた VNTR (Variable Numbers of Tandem Repeats) 型別を実施し、アリルプロファイルの比較解析を行った。

### 3 結果と考察

#### 3.1 環境水からの NTM 遺伝子検出状況

調査した 390 検体のうち、NTM 遺伝子陽性となったのは、公衆浴場水 264 検体中 79 検体 (29.9%)、水たまり 76 検体中 13 検体 (17.1%)、下水 50 検体中 30 検体 (60.0%) の計 122 検体 (31.3%) であり、今回対象とした 3 種類の水検体全てから NTM 遺伝子が検出され、県内の環境中には NTM が広く分布していることが明らかとなった。NTM 遺伝子陽性となった検体について、主要 3 菌種の遺伝子を検索した結果、公衆浴場水では *M. avium* 遺伝子が 29 検体と高率に検出された他、*M. kansasii* 遺伝子が 8 検体検出された。この原因は不明であるが、温泉利用者によ

る持ち込みの機会に加え、浴槽水が菌の生存に適した環境にある可能性などが要因の一つとして考えられる。人の生活に密接な公衆浴場水における *M. avium* 等の汚染実態が明らかとなったことは、感染症発生対策の上で注目すべきことと思われる。一方、水たまりでは *M. kansasii* 遺伝子陽性が 1 検体のみで、下水からは主要 3 菌種は認められなかった。しかし、水たまりの約 17%、下水の 60% にその他の NTM 遺伝子が存在した。NTM は現在約 150 種類存在することが知られており<sup>1)</sup>、水たまりおよび下水には、より自然環境に近い条件で生息する NTM が高率に存在するものと考えられた。

#### 3.2 公衆浴場水原水の種類による比較

公衆浴場水について、原水の種類による NTM 遺伝子の検出状況を比較したところ、水道水で 107 検体中 46 検体 (43.0%)、温泉水 130 検体中 24 検体 (18.5%)、その他 27 検体中 9 検体 (33.3%) で陽性となり、特に水道水を原水としている公衆浴場水から多く検出されていた。また、*M. avium* および *M. kansasii* 遺伝子陽性検体についても比較を行ったところ、同様に水道水を原水としている公衆浴場水で高率に検出されていた。この原因を解明するためには、施設の利用状況や採水時の状況等、関連情報を収集し分析することが必要であると考えられる。

#### 3.3 豚由来 *M. avium* の VNTR 型別解析結果

調査した 29 株の NTM については、不明の 2 株を除き 5 カ所の農場に由来する豚から分離されており、このうち 28 株が *M. avium* であった。遺伝子増幅が不明瞭であった 2 組のプライマーを除く 14 組のプライマーセットにより VNTR 解析を行い、UPGMA 法により系統樹を作成した結果、豚由来 *M. avium* は系統樹上で大きく 3 つのクラスターに分かれた。クラスター 1 とクラスター 2 はほぼ単一の農場由来株で構成されていたが、クラスター 3 は複数の農場由来株で構成されており、農場内で蔓延する型以外にも、人や家畜、飼料の移動など何らかの過程で外界からの侵入が起きている可能性が考えられた。また、公衆浴場水で *M. avium* 遺伝子陽性であった検体のうち、VNTR 型別が可能であった 2 検体について豚由来株との相同性を確認したところ、相同性は低いものであった。しかし、本研究で解析に使用した公衆浴場水は 2 検体と少なく、人由来の NTM を比較対象に加えられなかったことなど、人・公衆浴場水・豚の関連性を評価するには並行的な解析を改めて行う必要があると考えられる。

### 参考文献

1) 病原微生物検出情報 38 : 245-247, 2017



# 1 1 *gnd* 遺伝子シーケンス解析による大腸菌 O 抗原同定の試み

微生物部 ○山口 友美 畠山 敬

## 1 はじめに

大腸菌の代表的な分類法として O 抗原や H 抗原などの血清型別があり、大腸菌の O 抗原は現在のところ O1 から O188 までが定められている。しかし、検査室で日常的に用いられている大腸菌 O 抗原同定用血清は 50 種類にすぎず、これらの血清で判定できない場合は一律に O 型別不明株として扱われる。食中毒や感染症の疫学調査において、O 抗原は感染源特定のための有用な情報であるため、O 抗原が同定できない場合は対応に苦慮する。

Iguchi らは、O1 から O187 までの O 抗原合成遺伝子群の配列を決定し、マルチプレックス PCR 法による遺伝学的な O 抗原同定手法を開発した。この方法により、血清学的には O 型別不明とされる株についても遺伝学的に O 抗原を同定することが可能となった。しかし、この方法で使用される PCR プライマーは 162 種類、マルチプレックス PCR も 20 種類実施する必要があるため、検査が煩雑である。

一方、Gilmour らは O 抗原合成遺伝子群に存在する *gnd* 遺伝子のシーケンス解析結果から O 抗原を同定するツールをホームページ上で公開しているが、対象菌株は腸管出血性大腸菌とされており、ベロ毒素非産生の大腸菌についてはデータが少ない。

そこで今回、ベロ毒素産生の有無に関わらず大腸菌 O 抗原を同定する試みとして、*gnd* 遺伝子の塩基配列に基づく大腸菌 O 抗原のデータベースを作成し、上述の方法と比較を行ったので報告する。

## 2 材料および方法

### 2.1 材料

血清学的検査で O 型不明株と同定された腸管出血性大腸菌 30 株および薬剤耐性菌調査で分離され、O 型不明株と同定されたベロ毒素非産生大腸菌 43 株を用いた。

### 2.2 独自のデータベース作成

GenBank に登録されている大腸菌の塩基配列データから各 O 抗原における *gnd* 遺伝子の一部 (643bp) を抽出して分類した。

### 2.3 *gnd* 遺伝子のシーケンス解析

Gilmour らが用いた *gnd* 検出用プライマーで PCR 法を実施し、得られた増幅産物を用いてダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。

### 2.4 「E coli O-Typer」による O 抗原の同定

「E coli O-Typer」ホームページ ([https://www.corefacility.ca/ecoli\\_typer/](https://www.corefacility.ca/ecoli_typer/)) で、シーケンス解析により得られた塩基配列データの検索を行った。

### 2.5 独自データベースによる O 抗原の検索 (独自法) および PCR 法による O 抗原の同定

今回作成した独自データベースを用いて、シーケ

ンス解析により得られた塩基配列データの検索を行い、配列が 99.7%~100% 一致する O 抗原を抽出した。さらに、その O 抗原について Iguchi らが開発したプライマーによる PCR 法を実施し、目的の増幅産物の有無を確認した。

## 3 結果

### 3.1 データベースの作成

大腸菌における *gnd* 遺伝子の塩基配列データを分類したところ 514 種類に分けられたが、*gnd* 遺伝子の塩基配列データが複数の O 抗原で 100% 同一であるものも存在した。

### 3.2 腸管出血性大腸菌における O 抗原同定結果の比較

腸管出血性大腸菌 30 株のうち、「E coli O-Typer」と PCR 法による同定結果が一致した株は 18 株 (60%) であり、内訳は O<sub>g</sub>156 (4 株)、O<sub>g</sub>163・O<sub>g</sub>181 (各 3 株)、O<sub>g</sub>69・O<sub>g</sub>113 (各 2 株)、O<sub>g</sub>84・O<sub>g</sub>104・O<sub>g</sub>130・O<sub>g</sub>146 (各 1 株) であった。また、独自法により抽出された O 抗原が、PCR 法による同定結果と一致した株は 25 株 (83%) であり、前述の「E coli O-Typer」で同定された O 抗原に加え、O<sub>g</sub>183 (2 株)、O<sub>g</sub>5・O<sub>g</sub>20/O<sub>g</sub>137 group・O<sub>g</sub>153/O<sub>g</sub>178 group・O<sub>g</sub>123/O<sub>g</sub>186 group・O<sub>g</sub>171 (各 1 株) について同定可能であった。残りの 5 株については、今回使用したプライマーでは O 抗原を同定できなかった。

### 3.3 ベロ毒素非産生大腸菌における O 抗原同定結果の比較

ベロ毒素非産生大腸菌 43 株のうち、5 株については *gnd* 検出用プライマーで目的の増幅産物が得られなかった。

シーケンス解析が可能であった 38 株のうち、「E coli O-Typer」と PCR 法による同定結果が一致した株は 9 株 (21%) であり、内訳は O2/O50 group が 8 株、O17/O44/O73/O77/O106 group が 1 株の 2 種類のみであった。一方、独自法により抽出された O 抗原が、PCR 法による同定結果と一致した株は 38 株 (88%) であり、内訳は O2/O50 group (9 株)、O<sub>g</sub>86 (5 株)、O<sub>g</sub>16・O<sub>g</sub>25・O<sub>g</sub>75 (各 4 株)、O13/O129/O135 group・O<sub>g</sub>89/O<sub>g</sub>101/O<sub>g</sub>162 group・O<sub>g</sub>170 (各 2 株)、O<sub>g</sub>1・O<sub>g</sub>9・O<sub>g</sub>35・O<sub>g</sub>39・O<sub>g</sub>156・O17/O44/O73/O77/O106 group (各 1 株) の 14 種類であった。

## 4 まとめ

O 型不明であった腸管出血性大腸菌の 83%、ベロ毒素非産生大腸菌の 88% で、独自法により O 抗原の同定が可能であった。独自法において O 抗原を同定できた株数、O 抗原の種類は「E coli O-Typer」よりも多く、特にベロ毒素非産生大腸菌でその傾向が顕著であった。

# 1 2 市中における薬剤耐性腸内細菌科細菌の保菌状況調査

微生物部 ○山口 友美 木村 葉子 渡邊 節 有田 富和  
後藤 郁男 畠山 敬

## 1 はじめに

これまで薬剤耐性菌は、主に院内感染において問題視されてきた。これらの細菌は一般に病原性が弱く、健常者にとってはほぼ無害な菌とされていた。しかし近年、世界各地に急激に広がりつつあるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) や院内感染対策サーベイランス (JANIS) において分離率が増加している第3世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌・大腸菌は、主に病原性細菌であり胃腸炎や肺炎、膀胱炎などの直接の原因となりうる。さらに、CRE などが保有する薬剤耐性遺伝子はプラスミド上に存在し、腸内細菌科内で容易に伝達可能であるため、今後我々の身近な環境においても急速な広がりが危惧されている。

そこで、本研究では健常人を対象とした薬剤耐性腸内細菌科細菌の保菌実態を調査したので報告する。

## 2 材料および方法

### 2.1 材料

平成29年4月から平成30年12月までに、腸管出血性大腸菌等の感染者に対する接触者調査で当部へ検査依頼のあった検便検体884件を対象とした。なお、検便の対象者には保健所担当者より本研究について説明した上で、同意の確認を行った。

### 2.2 分離培養

マッコンキー寒天培地にセフトキシム (CTX) を4mg/L となるように添加した培地およびセフトジジム (CAZ) を4mg/L となるように添加した培地を調製し、2分割シャーレを用いて選択分離培地を作製した。この培地に検便検体を塗抹して37℃一晩培養後、発育したコロニーを薬剤感受性検査対象用菌株とした。

### 2.3 菌種の同定

TSI, LIM 培地および簡易同定キットを用いて菌種を同定した。*E. coli* と同定された菌株については、O血清型別を行った。O血清型別によりO型別不能となった株については、*gnd* 遺伝子シーケンス解析によりO-genotypeを推定し、PCR法により決定した。

### 2.4 ディスク法によるβラクタマーゼ産生性の確認

国立感染症研究所が公開している病原体検出マニュアル「CRE検査法」に準じて、各阻害剤 (メルカプト酢酸ナトリウム, ボロン酸, クロキサシリン, クラブラン酸) を用いたスクリーニング検査を実施した。

### 2.5 薬剤感受性試験

ドライプレート DP31 (栄研化学) を用いて、微量液体希釈法により最小発育阻止濃度を求めた。

## 2.6 耐性遺伝子の検出

カルバペネマーゼ遺伝子 (IMP 型, NDM 型, KPC 型, OXA-48 型, VIM 型, GES 型), ESBL 遺伝子 (CTX-M-1 group, CTX-M-2 group, CTX-M-9 group) および AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子 (MOX 型, CIT 型, DHA 型, ACC 型, EBC 型, FOX 型) について、PCR法により実施した。

## 2.7 ESBL 遺伝子の型別

ESBL 遺伝子が検出された菌株については、ESBL 遺伝子全長を決定するためのプライマーを group ごとに設計し、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。

## 3 結果

本研究では、微量液体希釈法による薬剤感受性試験において、CTX または CAZ が耐性と判定された腸内細菌科細菌を薬剤耐性菌とした。

薬剤耐性菌は検便検体120件 (13.6%) から129株が分離された。菌種の内訳は、*E. coli* (105株), *C. freundii* (13株), *E. cloacae* (5株), *K. pneumoniae* (2株), *M. morgani* (2株), *H. alvei* (1株), *Citrobacter* sp. (1株) であった。*E. coli* のO血清型 (または genotype) 別では、O25/Og25 (44株) が最も多く、O86a/Og86 (11株), OgGp7 (9株), O1/Og1 (8株) の順であった。

耐性遺伝子は119株から検出された。内訳は、CTX-M-1 group (8株), CTX-M-2 group (2株), CTX-M-9 group (86株), CIT 型 (16株), DHA 型 (7株), ACC 型 (1株) で、1株は2種類の耐性遺伝子 (CTX-M-9 group, DHA 型) を保有していたが、カルバペネマーゼ遺伝子はいずれの株からも検出されなかった。ESBL 遺伝子は *E. coli* および *K. pneumoniae* のみから検出された。ESBL 遺伝子の型別を行ったところ、CTX-M-1 group は4種類 (CTX-M-3, 15, 23, 55), CTX-M-2 group は1種類 (CTX-M-2), CTX-M-9 group は4種類 (CTX-M-14, 24, 27, 65) が確認された。そのうち、最も多かったのが CTX-M-27 (46株), 次いで CTX-M-14 (37株) であり、他の型はすべて1~3株のみであった。

また、レボフロキサシン耐性株は、AmpC 産生菌では3%であったのに対し、ESBL 産生菌では72%と高率であった。

## 4 謝辞

本研究を行うにあたり、検査に同意していただいた方々および保健所の担当者の方々に深謝いたします。

# 1 3 腸管出血性大腸菌 0157 の分子系統解析

食肉衛生検査所 ○西村英之

## 1 はじめに

腸管出血性大腸菌 (enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, 以下 EHEC) は、特に牛の腸管内に存在し、O 血清群は 0157 による食中毒、感染症の報告が多い。EHEC の分子系統解析法に MLVA 法 (Multi locus variable number tandem repeat analysis) があり、ゲノム上の複数の反復配列領域を検出し、その反復コピー数に基づき系統解析を行う。今回、牛由来 EHEC 0157 を MLVA 法で解析し、ヒト由来株とも比較したので報告する。

## 2 材料および方法

牛由来株は、平成 25 年 5 月から平成 30 年 9 月にかけて牛の直腸便から分離された 16 農場 (A~P 農場) 43 株を試験に供した。ヒト由来株は、仙台市を除く宮城県内の感染症事案で平成 25 年 7 月から平成 30 年 6 月にかけて患者の便から分離された EHEC 0157 株のうち 60 株を用いた。

VNTR (variable number tandem repeat) 遺伝子座は、0157 を対象とした 8 遺伝子座を用いた。

MLVA 法は、基準とする株の各遺伝子座の塩基配列解析を行い、実際のサイズと反復コピー数を確認したのち、他の株についてフラグメント解析の算出サイズから反復コピー数を推定した。

## 3 結果

同一農場内の株比較では、MLVA 型が一致する例が B, C, D, G 農場、1~2 座違いの例が C, D, G 農場、系統が大きく異なる例が A, D, G 農場でみられた。

農場間で MLVA 型が一致しないし 1 遺伝子座違いであった組合せは、3 組確認された。

道県間の株の比較では、特定の道県由来の株の遺伝的偏在傾向はみられなかった。

牛由来とヒト由来の株間で MLVA 型が一致しないし 1 座違いであった組合せは 2 組みられた (表 1)。

## 4 考察

今回の調査では同一農場の牛由来株の MLVA 型が一致する例が複数あり、農場環境中の同一株の蔓延や同居牛間での水平伝播が示唆された。

一方、A 農場の 2 株は同一と畜日牛由来であるが系統が大きく異なり、外部からの侵入などによる別の由来株であることが示唆された。と畜日は異なるが、同様の例が D, G 農場でもみられた。

C, D, G 農場では、MLVA 型が一致しないが、1~2 座違いの組合せがみられ、これらが農場内で

の変異によって生じた同一クローン由来株であることが示唆された。特に C 農場では、複数年にわたり近縁株がみられ、同一クローン由来株が変異を起こしつつ農場に定着し続けていると考えられた。G 農場でも同様の例がみられた。

農場間で比較すると、同一市町村の農場株で分離時期が近い例がみられ、同一クローン由来であることが示唆された。一方で近縁だが地理的、分離時間的に隔たりがある例もあり、これらの関連性は不明であった。

地域間で比較すると、近縁株の地理的な偏在傾向は見られず、同一道県でも遺伝的に遠い株が混在しており、家畜流通の広域化に伴う遠方への伝播および定着が推察された。

ヒト由来株と牛由来株の比較では、農場所在地と患者居住地域が一致した例がみられたものの、当該牛と患者の疫学的関連は不明であった。

今回の分子系統解析により、長期にわたり農場に定着する株系統の存在が示された。全国的に存在する病原体であり、個々の農場における清浄化は困難であると考えられ、農場レベルでは蔓延防止に向けた一般的衛生管理の徹底が求められる。また、同一農場、同一道県で遺伝的に遠い株、地理的に離れた農場で近縁株がみられたことから遠方伝播対策の必要性が示唆された。

今回の研究実施にあたり、多大なるご指導をいただいた石巻専修大学阿部知顕教授、柴田清孝教授、ヒト由来株 DNA の分与にご協力いただいた宮城県保健環境センターの皆様へ深謝します。

表 1 牛由来株とヒト由来株の Cluster

Cluster 1												
由来	株番号	と畜年月日*	農場	農場所在地	遺伝子座(O157-)							
					3	9	17	19	25	34	36	37
牛	30	H29.5.24	G	宮城県	9	11	7	6	5	12	6	6
牛	43	H30.9.10	P	宮城県	9	11	7	6	5	11	6	6
ヒト	103	H25.7.25	—	—	9	11	7	6	5	12	6	6
ヒト	125	H27.7.31	—	—	11	11	7	6	5	12	6	6
ヒト	135	H28.6.30	—	—	9	11	7	6	5	12	8	6
ヒト	149	H29.8.17	—	—	8	11	7	6	5	12	6	6

Cluster 2												
由来	株番号	と畜年月日*	農場	農場所在地	遺伝子座(O157-)							
					3	9	17	19	25	34	36	37
牛	18	H26.6.16	G	宮城県	13	—	2	6	4	8	4	7
牛	19	H26.6.16	G	宮城県	13	—	2	6	4	8	4	7
ヒト	142	H28.10.6	—	—	12	—	2	6	4	8	4	7

※ヒト由来株については保存された年月日

# 1 4 A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者から分離された

## *Streptococcus pyogenes* の発赤毒素遺伝子保有状況と薬剤感受性

仙台市健康福祉局衛生研究所微生物課

○勝見 正道 星 俊信 千田 恭子 神鷹 望 山田 香織  
成田 美奈子 森 直子 大下 美穂 橋本 修子 相原 健二

### 1 はじめに

A 群溶血性レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*, GAS) は、幼児を中心に咽頭炎や扁桃炎等の急性化膿性疾患や劇症型溶血性レンサ球菌感染症、急性糸球体腎炎やリウマチ熱等様々な疾病を引き起こすとされている。今回 2009 年以降、仙台市内の小児科病原体定点で A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎と診断された患者から分離・同定した GAS について、T 型別と発赤毒素 (*spe*) 遺伝子の保有状況、薬剤感受性および薬剤耐性に係る遺伝子の検索を行った。

### 2 材料及び方法

#### (1) 菌株

2009 年～2018 年に仙台市内の小児科病原体定点で A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎と診断された患者から分離・同定した後保存していた GAS 176 株を試験に供した。

#### (2) T 型別

マニュアルに従い、デンカ生研の型別キットを用いた T 型別を行った。

#### (3) *spe* 遺伝子

菌からの DNA 抽出は「シカジーニクス DNA 抽出試薬」(関東化学) を用い標準プロトコールにしたがって行い、Harari らの方法により 9 種類の *spe* 遺伝子 (A, B, C, F, G, H, I, J, *saa*) について保有状況を調査した。

#### (4) 薬剤感受性試験

ドライプレート‘栄研’ (栄研化学) を用い、ペニシリン系、セファロスポリン系、カルバペネム系、マクロライド (M) 系、リンコマイシン (LCM) 系、テトラサイクリン (TC) 系抗生物質、キノロン系合成抗菌薬に対する薬剤感受性試験を実施した。

#### (5) 薬剤耐性に係る遺伝子の検索

薬剤感受性検査の結果、マクロライド系およびテトラサイクリン系抗生物質に耐性を示した菌株が多く見られたことから、Giovannetti らの方法により両薬剤に対する耐性遺伝子の検出を試みた。さらに、検出された耐性遺伝子の一部について、ダイレクトシーケンス法により遺伝子解析を実施した。

### 3 結果および考察

#### (1) T 型別結果

2009 年～2018 年の 10 年間に分離された 176 株の GAS の T 型は T4 が 47 株 (26.7%) と最も多く、次いで T12 が 43 株 (24.4%)、T1 が 25 株 (14.2%) と続き、T25 と TB3264 が 13 株、T3 と T28 が 9 株、T6 型が 7 株、型別不能 10 株であった。年別の T 型別結果では、2010 年 T3、2011 年 T4、2012 年 T1、2013 年 B3264、2014

年 T4、2015 年と 2016 年 T12、2018 年 T1 が一番多く分離され、年によって流行する型が異なっていた。

#### (2) *spe* 遺伝子の保有状況

GAS の *spe* の保有状況調査では、検査した全ての株で、*speF* が検出された。他の *spe* の保有状況は T 型ごとに異なっていたが、分離年により *spe* 遺伝子の保有状況が変化する事象が見られた。

#### (3) 薬剤感受性試験

薬剤感受性検査の結果、M 系抗生物質に耐性を示した株は 116 株 (65.9%) と半数を超え、LCM 系に耐性を示した株が 38 株 (21.6%)、TC 系に耐性を示した株が 37 株 (21.0%) 認められた。また、LCM 系および TC 系に耐性を示した株は M 系に対しても耐性であった。ペニシリン系、セファロスポリン系、カルバペネム系抗生物質、キノロン系合成抗菌薬に対する耐性株は検出されなかった。

#### (4) 薬剤耐性に係る遺伝子の検索

M 系抗生物質に耐性を示した 116 株の耐性遺伝子保有状況調査では、68 株から *mef*(A)、41 株から *erm*(B)、8 株から *erm*(A) の各耐性遺伝子が検出された。このうち、1 株は、*mef*(A) 遺伝子と *erm*(B) 遺伝子の両方を保有していた。一方、TC 系に耐性を示した 37 株の耐性遺伝子保有状況調査では、すべての株から *tet*(M) 遺伝子が検出された。T 型別と各耐性遺伝子の保有状況は相関性が認められ、*mef*(A) 遺伝子が検出された株は T1、T4、T25 であったのに対し、*erm*(A) 遺伝子は B3264、*erm*(B) 遺伝子は T12 と T28 から検出された。また、*tet*(M) 遺伝子が検出された株の大部分は T12 であった。

*mef*(A) 遺伝子が検出された株のうち 45 株について PCR 産物の遺伝子解析実施したところ、44 株の PCR 産物の遺伝子配列は一致したが、1 株だけ配列の異なる株が見られた。

A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎は毎年流行を繰り返しているが、検出される株の T 型、*spe* 遺伝子および薬剤耐性遺伝子保有状況は年次により異なっており、今後も調査を継続する必要があると考える。

#### 参考文献

Harari, B., et al. JCM 46:79-86 (2008)  
Giovannetti, E., et al. AAC 47:2844-2849 (2003)

# 15 畜肉を対象とした有機塩素系農薬分析法の検討

生活化学部 ○戸澤 亜紀 佐々木 多栄子 千葉 美子 大槻 良子

## 1 はじめに

畜産物における残留農薬検査は、厚生労働省から「GC/MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)」<sup>1)</sup>(以下「通知法」)が通知されている。一方で、通知法は前処理に時間を要することから、試料の抽出や精製をより迅速・簡便化する分析方法の検討が報告されている。

今回、畜肉の残留農薬検査において、通知法より迅速な分析方法を確立するため、抽出方法および精製方法を検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 試料

フードプロセッサーにより細切した豚肉(ロース部位)

### 2-2 対象農薬

有機塩素系農薬

(以下の農薬の異性体・代謝物を含む19種)

BHC, DDT, アルドリノ, ディルドリン, エンドスルファン, エンドリン, クロルデン, ジコホル, ヘキサクロロベンゼン, ヘプタクロル

### 2-3 添加回収試験

試料に対象農薬19種標準液をそれぞれ0.01ppmになるように添加後, 30分放置し実施(n=6)した。

## 3 精製方法の検討

### 3-1 試料溶液の調製

抽出方法は通知法の1/2スケールとし, ケイソウ土カラムとSAX/PSAカラムにより精製を行った(図)。

### 3-2 結果および考察

農薬19成分全てにおいて, 回収率70%~120%を満たし良好な結果となった。このことから, ケイソウ土カラムとSAX/PSAカラムによる精製方法は有効であることが示唆された。通知法の精製で用いるゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)処理は, 1度に1検体しか処理出来ず, 1検体あたりの処理時間も約40分かかることから, 多検体を処理する場合は非常に時間を要する。今回, GPC処理をケイソウ土カラムに変更したことで, 同時に多検体の処理が可能になり, 精製処理の効率化が図られた。

## 4 妥当性評価

### 4-1 試料溶液の調製

抽出方法は通知法の1/4スケールとし, 図におけるホモジナイズをバイオトロンからビーズ式細胞・組織破壊装置を使用する方法に変更した。精製方法は, 3で確認した精製方法を用いた。

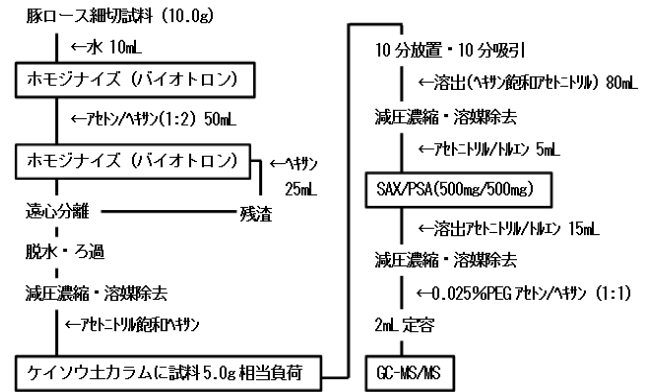


図 調製フロー

表 妥当性評価結果

	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
適合農薬数	19	19	19
ガイドライン目標値 (0.001<~≤0.01ppm)	70~120	25>	30>

### 4-2 枝分かれ試験

分析者3名が1日2回2日間分析した。

### 4-3 結果および考察

妥当性評価結果を表に示す。

全ての農薬で, 真度・精度ともに非常に良好な結果となり, 「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(以下「ガイドライン」)の目標値を満たしていた。

この結果から, ビーズ式細胞・組織破壊装置を用いた抽出方法とケイソウ土カラムおよびSAX/PSAカラムによる精製方法が有効であることが示唆された。ビーズ式細胞・組織破壊装置の導入により, 試料間のコンタミネーションの恐れがなくなり, 抽出操作の迅速・簡便化が図られた。

## 5 まとめ

今回, 豚肉(ロース部位)を対象とした有機塩素系農薬分析法の検討を行い, 妥当性評価を実施した。ガイドラインに示された真度および精度の目標値を満たす結果が得られたことから, 本法は残留農薬検査法として有効であることが示唆された。また, 通知法と比較し, より迅速・簡便化が図られたと考えられる。

## 参考文献

1) 平成17年1月24日食安発第0124001号 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知

# 16 LC-MS/MS による植物性自然毒の多成分一斉分析法の検討

生活化学部 ○佐藤 直樹 大内 亜沙子 千葉 美子 大槻 良子

## 1 はじめに

有毒植物の誤食による食中毒発生件数は全国的に年々増加傾向にある。本県においても、平成 28 年に 3 件（バイケイソウ:2, イヌサフラン:1）発生し、イヌサフランによる食中毒では 1 名死亡している。

自然毒による食中毒の原因特定には、聴き取り調査、植物の鑑定などに加えて、化学分析が不可欠になる場合があるが、宮城県における自然毒による食中毒原因物質の分析体制は未だ確立されていない。そこで本研究においては、LC-MS/MS による植物性自然毒の多成分迅速一斉分析法を検討したので報告する。

## 2 標準品及び精製用固相

### 2.1 対象植物及び分析対象成分

植物（成分） トリカブト（メサコニチン, アコニチン, ヒパコニチン）、バイケイソウ（ベラトラミン, プロトベラトリンA, シクロパミン, ジェルビン）、イヌサフラン（コルヒチン）、チョウセンアサガオ（アトロピン, スコポラミン）、ジャガイモ（ $\alpha$ -ソラニン,  $\alpha$ -チャコニン）、スイセン（ガラントアミン, リコリン）、ヨウシュヤマゴボウ（フィトラッカゲニン） 各標準品はメタノールに溶解し、1000ppm の標準原液とした後、各標準原液を用いて 2ppm 混合標準溶液を調製した。

### 2.2 精製用固相

HLB: Oasis PRiME HLB 6cc/200mg (Waters)

Z-Sep: supel Que Z-Sep 2mL Tube (Sigma-Aldrich)

## 3 方法及び結果

### 3.1 試験溶液の調製

試料 2g  
|  
|—メタノール 18mL  
| ホモジナイズ 1min  
|  
| 遠心分離 (3000rpm, 5min)  
|  
| ろ過 (ガラスフィルター3G, 3.5)  
|  
| メタノールで 20mL 定容  
|  
| 抽出液  
|  
| 精製  
|  
| 試料溶液  
|  
| LC-MS/MS

図 試験溶液の調製方法

### 3.2 精製条件の検討

精製に最適な溶媒濃度及び固相を検討するため、以下の実験を行った。混合標準溶液 (20ppb) のメタノール濃度を 25%, 50%, 75%, 100% とし、それぞれ HLB

及び Z-Sep で精製したものを試料溶液とし分析した。

フィトラッカゲニンを除く各成分の Z-Sep 精製時の回収率はメタノール濃度に関わらず 75%以上であった。また HLB 精製より Z-Sep 精製の回収率が高かった。フィトラッカゲニンについては、25%メタノール溶液を HLB で精製した溶液の回収率が最も高く 77%であった。

### 3.3 マトリックスの影響の検討

マトリックスの影響を確認するため、ほうれんそうを試料として、方法 3.1 により、抽出液の調製を行った。これに混合標準溶液濃度が 25ppb になるように添加し 20mL に定容して抽出液とした。この抽出液を水を用いて希釈し、それぞれメタノール濃度が 25%, 50%, 75%, 100% になるように調製し Z-Sep で精製し分析用試料溶液とした。

メタノール濃度が 25% の場合に最も色素が除去され、そのときのフィトラッカゲニンを除く各成分の回収率は 75%以上であった。

### 3.4 植物からの毒成分の抽出・分析

トリカブト、バイケイソウ、イヌサフラン、ヨウシュヤマゴボウを試料とし、方法 3.1 により抽出液を調製した。メタノール濃度が 25% になるように希釈した後、Z-Sep で精製し、試料溶液は 25%メタノールで 10 倍に希釈して LC-MS/MS で分析した。

トリカブトからメサコニチン、アコニチン、ヒパコニチンが検出され、イヌサフランからコルヒチンが検出されたが、バイケイソウ及びヨウシュヤマゴボウからは毒成分が検出されなかった。

### 3.5 ヘキササン脱脂の検討

分析機器への負担及び夾雑物の影響を低減するため、ほうれんそうを油炒めとして脱脂方法の検討を行った。3.3 と同様に抽出液を調製し、抽出液 3mL にメタノール飽和ヘキササン 3mL を加え、1 分間振とうした後、3000rpm で 5 分間遠心分離した。ヘキササン層を除去した後、メタノール層のメタノール濃度を 25% にし、Z-Sep で精製して試料溶液とした。

$\alpha$ -ソラニン及び  $\alpha$ -チャコニンを除く成分は回収率が 50%以上となった。

## 4 考察

フィトラッカゲニンを除く成分について、標準溶液のメタノール濃度による回収率の差は認められなかったが、ほうれんそうへの添加試験では 25%メタノールで抽出液の色素が最も除去され回収率も 75%以上になった。Z-Sep による精製は HLB による精製と比べ回収率が高く処理時間も短かった。これらの結果から迅速で精製効率が高い一斉分析が可能となった。脱脂による精製と今回検討できなかった有毒植物等をそれらの調理品を含めて今後検討する。



# 17 下痢性貝毒の機器分析法の実用性の検証 及びマボヤの下痢性貝毒の毒化・局在性の確認

生活化学部 ○大内 亜沙子 千葉 美子 佐藤 智子 大槻 良子

## 1 はじめに

下痢性貝毒は、従来、国が定めたマウス毒性試験法により規制値の確認を行ってきたが、平成 27 年に新たな公定法として機器分析法が導入され、下痢原性を持つオカダ酸群（オカダ酸、ジノフィシトキシン-1 及びジノフィシトキシン-2（以下「OA」、 「DTX1」、 「DTX2」））について分析操作例が示された。

当所では既報<sup>1)</sup>において、この分析操作例をもとに、ホタテガイの中腸腺を対象としたオカダ酸群の分析法を確立し、適応性を報告した。

今回、確立した分析法についてムラサキイガイ及びカキへの適応性を検証した。また、マボヤについては適応性の検証に加え、オカダ酸群の器官局在性及び毒力値の経時変化についても調査したので報告する。

## 2 方法

### 2.1 試料

ムラサキイガイ、カキ及びマボヤは、いずれも宮城県沿岸で採取されたものを用いた。ムラサキイガイ及びカキはむき身全体を、マボヤについては、宮城県水産技術総合センター気仙沼水産試験場で解剖し、器官毎（肝臓、筋膜体（生殖巣含む）、腸管、腸内内容物、鰓）に分別したものを試料とした。

### 2.2 試薬等

標準品：NMIJ 製の OA 標準液、DTX1 標準液、NRC 製の CRM-DTX2 を使用した。

精製用固相：Sigma-Aldrich 社製 Supel QuE Z-Sep 2mL Tube（以下「Z-Sep」）を使用した。

### 2.3 使用機器

LC 部は Agilent Technologies 1200 Infinity series, MS/MS 部は AB SCIEX QTRAP4500 を使用した。

### 2.4 試験溶液の調製

均質化した試料 2.0g を分析操作例に従い抽出、加水分解後、ヘキサンによる脱脂を 2 回行った。ヘキサンを完全に留去後、メタノールを加え 2mL に定容した。混和後、1mL を Z-Sep に採取し、1 分間振とう後、毎分 3,500 回転で 10 分間、遠心分離した。上清を適量分取し、メンブレンフィルターによりろ過後、ろ液をメタノールで適宜希釈して試験溶液とした。なお、2mL 定容後の溶液の性状により、Z-Sep による精製が不要と判断した試料にあつては、メンブレンフィルターによるろ過後、メタノールで適宜希釈して試験溶液とした。

### 2.5 性能評価試験

毒化していないムラサキイガイ、カキ、マボヤの各器官の抽出液に、各成分 0.05 mg/kg となるようにオカダ酸群標準液を添加後、90%メタノールで 20mL

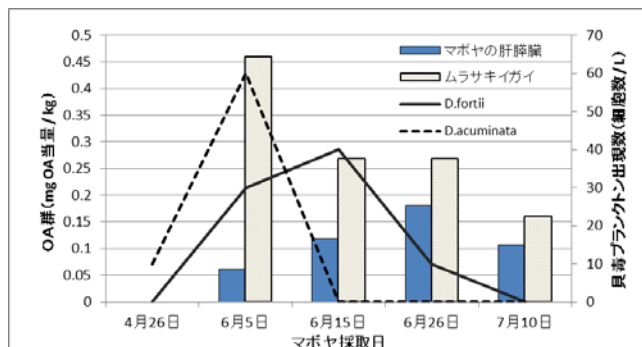


図 毒力値及び貝毒プラクトン出現数の経時変化

に定容した。この溶液 2mL を加水分解、精製して性能評価試験を実施し、適応性の検証を行った。

## 2.6 マボヤにおけるオカダ酸群の器官局在性及び毒力値経時変化の確認

毒化したマボヤの各器官を試料とし、オカダ酸群の器官局在性及び毒力値経時変化を確認した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 性能評価試験

ムラサキイガイ、カキ、マボヤの各器官について、全ての毒素において真度 70~120% 内、併行精度 15% 未満と良好な結果が得られ、定量法としての性能基準を満たした。

### 3.2 マボヤにおけるオカダ酸群の器官局在性及び毒力値経時変化の確認

オカダ酸群は、肝臓から高濃度に検出され、その他の器官からは検出されなかったことから、肝臓に局在していることが示唆された。

マボヤの肝臓における毒力値の経時変化については、毒化指標種であるムラサキイガイの貝毒量及び海中の下痢性貝毒プラクトン (D. fortii 及び D. acuminata) 出現状況との関連性を確認した。その結果、下痢性貝毒プラクトン出現数の上昇に伴い、マボヤの毒力値が増加しており（図参照）、これらの毒化指標はマボヤに対しても適用できる可能性が示唆された。

## 4 謝辞

本研究の実施にあたりご協力いただきました宮城県水産技術総合センター気仙沼水産試験場に深謝いたします。

## 参考文献

1) 佐藤智子, 千葉美子, 佐藤由紀, 高橋剛: 宮城県保健環境センター年報 (第 35 号 2017 p. 55)

## 18 下痢性貝毒によるマボヤの毒化について

宮城県水産技術総合センター気仙沼水産試験場 ○田邊 徹 庄子 充広  
保健環境センター生活化学部 千葉 美子  
仙台地方振興事務所水産漁港部 澁谷 和明

### 緒言

下痢性貝毒は、プランクトンが生産した毒を、このプランクトンを摂餌した二枚貝類が蓄積し、この二枚貝類を喫食することで食中毒が発生する。本県では主に初夏に *Dinophysis* 属プランクトンを原因とする二枚貝類の下痢性貝毒による毒化が発生する。健康被害をもたらす毒の成分はオカダ酸(OA), DTX1, DTX2 で、可食部で 0.16mgOA 当量/kg を超えたものは食品衛生法違反となる。県農林水産部局では、海域を区分し原因プランクトンのモニタリングを行うとともに、生産者団体と協力し、海域の生産物の貝毒検査を行い、基準値を超えた二枚貝類については出荷の自主規制を行うルールを定め、毒化した二枚貝類等の流通を未然に防ぐ取組を行っている。

一部の貝類では、これらの毒性分が中腸腺に偏在することが知られている。県では、ホタテガイで貝毒により出荷自主規制中であっても中腸腺を除去し、貝柱などに加工したものを流通させることができるよう厳格なルールを定め、出荷自主規制中の貝類の流通による産業的な被害の低減を図っている。

マボヤは本県の重要な養殖対象種である。マボヤは原索動物に分類され、二枚貝ではないが、濾過食性のため、貝毒により毒化することが知られている。本種の水揚げが最も盛んな初夏は本県では下痢性貝毒の発生時期であるが、本種の毒化の傾向や、毒性分の偏在などは不明な点も多い。そこで本研究ではマボヤの下痢性貝毒による毒化と期間を通じた組織偏在について検討し、マボヤの毒化状況についての検討を行い、毒化のメカニズムの一端を明らかにすることを目的とした。

### 方法

2017年4月に気仙沼湾口に位置する当試験場試験役に試料となるムラサキイガイ及びマボヤを垂下した。1~4回/月の頻度で、試料をサンプリングするとともに、原因プランクトンの出現状況のモニタリング及び水温等環境状況の調査を行った。サンプリングした試料については、ムラサキイガイは可食部を、マボヤについてはそれぞれの組織に分けた後、LC-MSを用いて公定法により下痢性貝毒成分の分析を行った。ムラサキイガイ及びマボヤの結果を比較するとともに、マボヤの下痢性貝毒の組成について既知の他の貝種での組成と比較した。

### 結果

原因プランクトンの出現状況を図1に示した。*Dinophysis*属プランクトンのうち *D. acuminata* は密度の多少はあるが4月から6月まで確認された。一

方、*D. fortii* は、5月以降に確認され6月の末に最大密度が確認された。ムラサキイガイとマボヤの毒量の推移を図2に示した。ムラサキイガイの毒化は、*D. fortii*を確認した後増加傾向になった5月末以降始まり、その後 *D. fortii*の密度増大とともに毒量が増加し、*D. fortii*が確認されなくなった後減少した。このことから、既報と同様にムラサキイガイは *D. fortii*により毒化したものと考えられた。ムラサキイガイの毒量の増減と、マボヤの毒量の増減は同様の傾向を示し、マボヤとムラサキイガイは同じ要因によって毒化しているものと考えられた。マボヤの毒量は毒の上昇及び下降の何れの時期においても中腸腺でのみ検出され、下痢性貝毒の成分はマボヤの中腸腺に偏在しているものと考えられた。マボヤの毒性分は、他の二枚貝類と異なり、OAの割合が非常に高く、二枚貝類とは異なる何らかの機構が存在するものと推察された。

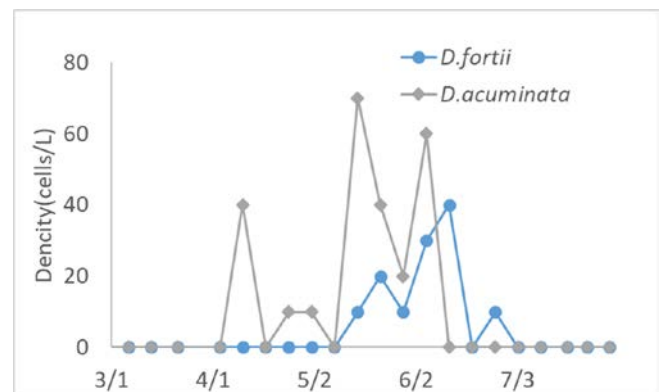


図1 *Dinophysis*属プランクトンの密度の推移

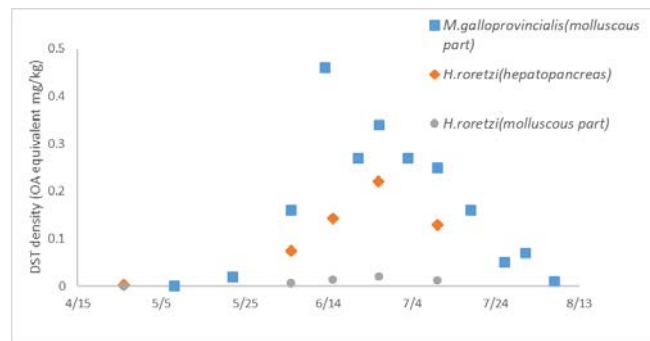


図2 下痢性貝毒(OA 当量 mg/kg)の濃度の推移



# 19 海洋放射能モニタリングにおける指標海産物の検討

環境放射線監視センター ○小笠原 一孝 高群 富貴\* 石川 陽一  
高橋 正人 安藤 孝志

\*現 原子力安全対策課

## 1 はじめに

宮城県（以下、県）及び東北電力(株)では、女川原子力発電所環境放射能及び温排水測定基本計画等に基づき、従来から年4回海藻のアラメを採取し、放射能濃度を測定してきた。原子力発電所周辺の動植物調査は放射能漏洩の有無を判断する上で重要なものである。

しかし、東日本大震災後、いわゆる磯焼けが牡鹿半島においても進行し、アラメが以前ほど生息していない状況にある。このため、現在も採取は出来ているものの、個体は以前よりも痩せており、近い将来採取が困難となることが懸念される。

この状況に鑑み、県及び東北電力(株)では、アラメの放射能測定と並行して、牡鹿半島周辺で広く生息しているホンダワラ属のうち、同定が容易なエゾノネジモクの試験採取及び放射能等測定を行うこととした。

## 2 採取地点等の検討

従来アラメを採取している地点での採取を優先し、生育が認められない場合は他地点で代替することとした。調査の結果、牡鹿半島西側の宮戸では生育が確認できず、小竹浜を代替地点とした。同様に牡鹿半島南側の鮎川清崎でも生育がみられず、鮎川黒崎を代替地点とした。他の4地点では採取が可能であった(図1)。

また、採取時期は生育調査を含めて平成29年7月から四半期毎に実施した。

## 3 測定結果

### 3.1 放射能濃度

平成29年7月～平成30年7月の間に行った6地点の試験測定の結果、ヨウ素131は全ての試料において検出されなかったが、平成30年2月の放水口付近で採取した1試料に僅かなピーク(以下、LTD)が

見られた。また、セシウム137は不検出(以下、ND)～0.56 Bq/kg生の範囲、セシウム134はND～0.081 Bq/kg生の範囲にあり、アラメの測定値範囲と同程度であった。その他のモニタリング対象放射性核種(マンガン54, コバルト58, 鉄59, コバルト60)は全ての試料において検出されなかった(表1)。

表1 放射能濃度測定結果の比較

	エゾノネジモク	アラメ	単位
試料数 n	19	11	
I-131	ND～LTD	ND～LTD	
Cs-137	ND～0.56	ND～0.17	Bq/kg 生
Cs-134	ND～0.081	ND	

### 3.2 濃縮係数

濃縮係数(=海藻の含有濃度/海水の含有濃度)の比較を表2に示す。

放射性核種(セシウム137, カリウム40)の濃縮係数は同程度であった。また、3地点(放水口付近, 牡鹿半島北側, 牡鹿半島西側)のエゾノネジモクとアラメの各1試料について安定元素(ヨウ素, コバルト, マンガン)濃度を測定し、濃縮係数を比較した。ヨウ素について、エゾノネジモクはアラメよりは低いものの、ヒジキやワカメの文献値<sup>1)</sup>よりは高めであった。また、コバルトとマンガンについては、エゾノネジモクはアラメよりも高い濃縮能力を持つことが示唆された。

表2 濃縮係数の比較

	エゾノネジモク	アラメ	単位
Cs-137(人工)	63	30	
K-40(天然)	24	30	
I(安定)	1400～1600	6200～7200	L/kg 生
Co(安定)	4000～20000	3300～6700	
Mn(安定)	2500～11000	1500～1700	

## 4 まとめ

エゾノネジモクの放射能濃度は従来のアラメと同程度であった。また、安定元素の濃縮係数の比較から、他のモニタリング対象放射性核種(ヨウ素131, マンガン54, コバルト58, コバルト60)の漏洩検知にも有用であると考えられる。

以上、エゾノネジモクは海洋放射能モニタリングにおける指標海産物に適していることが示された。

### 参考文献

1) (独)放射線医学総合研究所: 放射性核種生物圏移行評価高度化調査(2012)。

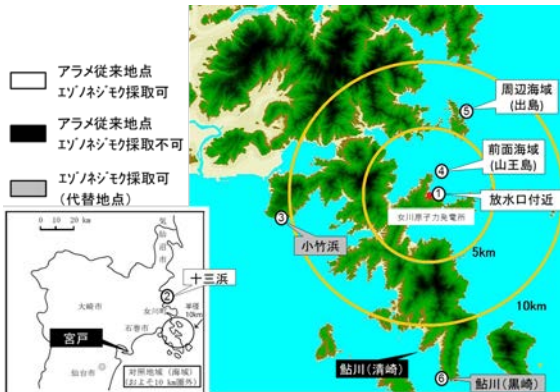


図1 採取地点図