

B 調 查 研 究

I 論 文

「新型インフルエンザ」発生からの検査の実際

Testing system for New Influenza Virus(A/H1N1pdm)

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

Yuki SATO, Yuri TAKAHASHI, Miwa ABE, Yo UEKI
Yuko SUGAWARA, Yoko OKIMURA, Yasuko MIYOTA

2009年4月メキシコで発生した「新型インフルエンザ」は全世界に流行をもたらした。当センターでもリアルタイム RT-PCR 法とコンベンショナル RT-PCR 法を併用して行い、迅速、正確、安全に検査できる体制のもと6月に1例目を確認して以来、様々なサーベイランスを行い557件中491件の新型インフルエンザを確認した。また、薬剤耐性検査では63件中1件がオセルタミビル耐性株であることを確認した。

キーワード：新型インフルエンザ；サーベイランス；リアルタイム RT-PCR 法；遺伝子解析

Key words : New Influenza(AH1N1pdm) ; Surveillance ; Real-time RT-PCR ; Gene Analysis

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。発生からこれまでの検査体制について、また、様々なサーベイランスによる検査結果についてまとめたので報告する。

2 検査体制

今回の新型インフルエンザ（ブタ由来）に関する情報を待つ期間に、新型インフルエンザ対応（鳥インフルエンザ対象）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た。数日後、国立感染症研究所（感染研）から新型インフルエンザ(AH1N1pdm)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、良好な結果が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、担当者全員が迅速、正確、安全に検査できるよう体制を整えた。試薬の準備、保健所へ配布する検体輸送培地の作製、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、膨大なメールや電話の受け付けを一本化し、関係者間で情報を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 法を併用した¹⁾²⁾。リアルタイム RT-PCR 法では A 型と新型(AH1N1pdm)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(AH1N1)、A 香港型(AH3N2)を対象とした。ウイルスサーベイランスの検体については9月から細胞培養も行い、分離できたウイルスについて赤血球凝集抑制試験(HI :

hemagglutinin inhibition test)と、一部は薬剤耐性についてシーケンスにより遺伝子解析を行った。

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、地域における流行拡大の早期探知のためクラスター（集団）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ての検査に変わった。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、目標数達成の11月半ばまで続いた。1月からは、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

5月12日に新型インフルエンザ疑いで検体を受付け以来、2010年3月24日までに合計557件の検体を受付け、491件の新型インフルエンザを確認した(表1)。迅速な結果報告のためすべて遺伝子検査を行った。さらに、ウイルスサーベイランスの検体218件について細胞培養を行い108件のウイルスを分離し、103件については血清学的な抗原検査(HI試験)でも新型インフルエンザであることを確認した。ウイルス分離率が低いのは遺伝子検査を優先したことによる。すなわち、臨床検体を凍結保存しておき、ある程度まとめて細胞培養を行った

ことと、数が多かったため1代目のCPE(細胞変性効果)で判定したことによると推測された。

疑い症例から発熱外来、集団サーベイランス、入院サーベイランスの件数と結果を図1に示した。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(第26週)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てからは、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(折れ線グラフ)と同じような傾向を示し、10月末から大きく増加し、11月から12月にピークを迎えた。第32週から34週の集団サーベイランス患者が多いのは、小規模な集団発生が多かったのではと考える。これら検体数を年齢群別で図2に示した。年齢群別でみると、乳幼児から中学生までが圧倒的に多く、また、年齢が高くなるほど検出率が低くなっていた。

発熱外来以降入院サーベイランスまでの検体について、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(表2)。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。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、当センターで行ったキット検査ではすべて陰性であった。A、B二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検査より感度が高いことで検出されたのではと考える。

ウイルスサーベイランスの月別検体数と検査結果を図3に示した。8月から3月までに218検体について検査し207件の新型インフルエンザを確認した。未検出11件中3件はB型を疑った検体だったが、これについては図3に示した。8月から3月までに218検体について検査し207件の新型インフルエンザを確認した。未検出11件中3件はB型を疑った検体だったが、これについてはA型もB型も確認されなかった。

オセルタミビル(タミフル)薬剤耐性については、当センターで新型インフルエンザと確認された最初の4検体について7月に臨床検体から遺伝子解析を行い薬剤耐性でないことを確認した。その後、ウイルス(病原体定

表1 サーベイランス結果

	検体受付日	受付検体数	AH1pdm	AH1(ソ連型)	AH3(香港型)	未検出
新型インフルエンザ疑い	5/12-5/18	7	0	4	1	2
発熱外来	5/21-7/1	11	4	0	4	3
集団(クラスター)サーベイランス	7/22-8/26	21	21	0	0	0
入院サーベイランス	8/28-12/30	300	259	0	0	41
ウイルス(病原体定点)サーベイランス	8/17-11/10 1/13-3/24	218	207	0	0	11
合計		557	491	4	5	57

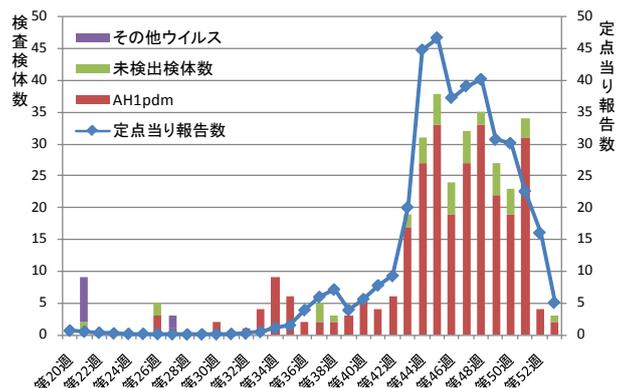


図1 週別検査検体数と定点当り報告数

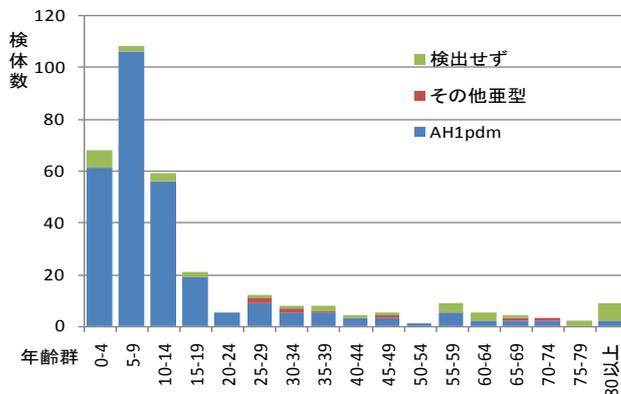


図2 年齢群別検体数

表2 簡易キットとPCR検査結果の比較

迅速簡易診断キット	リアルタイムRT-PCR		件数
	A	AH1pdm	
A(+)	+	+	289
A(+)	-	-	8
A(-)	-	-	13
不明	-	-	18
A(+)/B(+)	-	-	2
A(-)	+	+	2

点)サーベイランスで分離された108件の中から無作為に抽出した59件について薬剤耐性検査を行った。結果1件から耐性株である遺伝子変異を確認し、感染研で感受

性試験を行った結果、耐性株であることが判明した。この事例はリレンザ服用で回復しており、周辺への耐性株による感染拡大は確認されなかった。

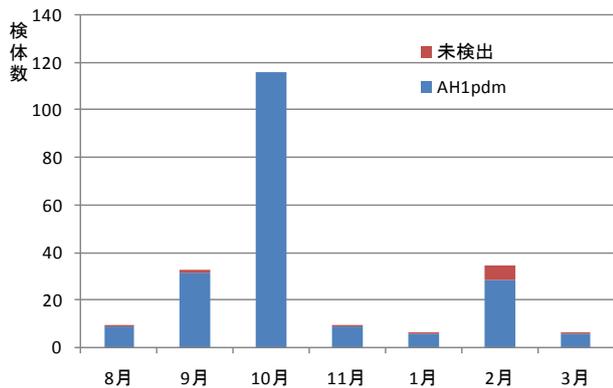


図3 月別検体数

6 まとめ

これまで様々なサーベイランスにより、557件のウイルス検査を実施し、491件から新型インフルエンザを確認した。薬剤耐性について検査を行った結果63件中1

件の耐性株を確認した。今シーズン(2009-2010シーズン)は少なくとも3月までは新型インフルエンザのみの流行だった。今後は一旦落ち着いた状態がこのまま持続するのか、来シーズンの流行が早期に始まるのか、また、季節性インフルエンザの流行に移動するのかなどウイルスサーベイランスにより監視を続け、また、オセルタミビル(タミフル)耐性ウイルス出現の拡大監視も引き続き行っていかなければならない。さらに、今回の新型は幸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。

7 参考文献

- 1) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ,1,(2009)
- 2) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ,2,(2009)

カキを用いたサポウイルスの環境調査

Environmental survey of Sapovirus employing oyster

植木 洋 高橋 由理 阿部 美和
佐藤 由紀 菅原 優子 沖村 容子
岡智 一郎*1 片山 和彦*1 野田 衛*2
真砂 佳史*3 大村 達夫*3

You UEKI, Yuri TAKAHASHI, Miwa ABE
Yuki SATO, Yuko SUGAWARA, Yoko OKIMURA
Tomoichiro OKA, Kazuhiko KATAYAMA, Mamoru NODA
Yoshihumi MASAGO, Tatsuo OMURA

過去3ヶ年の冬季に県内の下水処理場処理水受容河川にカキを吊しサポウイルス(SaV)の検出調査を行った結果、2007年シーズンは16個体中3個体(18.8%)、2008年シーズンは67個体中2個体(3.0%)からSaV遺伝子が検出されたが2009年シーズンは検出されなかった。一方2007年シーズンと2008年シーズンに県内産生食用市販カキを対象とした調査では、19年度に48個体中1個体からSaV遺伝子が検出された。さらに、今回検出されたSaV株と胃腸炎事例で患者から検出された株を分子疫学的に解析した結果、100%一致する例が確認された。

キーワード：サポウイルス(SaV)；市販カキ；垂下カキ；系統解析

Key words : human sapovirus ; commercial oyster ; dipped oyster ; phylogenetic analysis

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、ろ過性生物であるカキを用いて環境水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 対象および検査方法

2.1 材料

宮城県内の下水処理場の処理水受容河川にカキを吊し(以下垂下カキ)、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月及び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約21万m³/日であった。さらに、2007年、2008年及び2009年

の12月に県内で市販されていた県内産生食用カキ(以下市販カキ)それぞれ16パックについても同様に調査を行った。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。

2.2 方法

2.2.1 カキからのSaV遺伝子検出

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、細胞破砕法¹⁾でウイルスの抽出を行った。ウイルスRNAはQIAamp 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RT-PCRはOkadaらの方法²⁾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。

2.2.2 SaV遺伝子解析

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を用いて木村の2パラメータ法によりアライメントを行い、NJ法により分子系統樹を作製した。boot strap法によって信頼性を検証した。

* 1 現 国立感染症研究所

* 2 現 国立医薬品食品衛生研究所

* 3 現 東北大学大学院工学研究科

表1 カキからの SaV 遺伝子検出結果

	垂下カキ			市販カキ		
	2007年シーズン	2008年シーズン	2009年シーズン	2007年シーズン	2008年シーズン	2009年シーズン
陽性数/検体数	3/16	2/67	0/65	1/48	0/48	0/48
検出率(%)	18.8	3.0	0.0	2.1	0.0	0.0

3 結果

表1にカキからの SaV 遺伝子検出結果を示す。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 個体(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と市販カキから SaV 遺伝子は検出されなかった。また，SaV 遺伝子の capsid 領域アミノ末端側 321 残基の塩基配列を対象とした分子系統解析の結果を，図1に示す。2007年シーズンに市販カキと垂下カキから検出された SaV 遺伝子と同年に胃腸炎患者から検出された SaV 株はすべて GIV/1 のクラスターに分類され，株間で 99.7%以上の相同性が認められ，中には 100%塩基配列が一致する例も確認された。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 GI/1 と GI/3 近縁株であった。

4 考察

これまで市販国内産シジミ³⁾やカキが原因食品と推定される食中毒事例⁴⁾からの SaV 遺伝子の検出報告はあるが，市販カキから SaV 遺伝子を検出した事例は国内外で初めてである。

2007年とは県内で発生した SaV が原因と考えられる感染性胃腸炎事例で，患者から検出した GIV/1 近縁株と同年に垂下カキや市販カキから検出された GIV/1 近縁株の capsid 領域アミノ末端側 321 残基の塩基配列が，100%一致する例も確認され⁵⁾，ヒト糞便に由来する SaV が環境水などを經由してカキに取り込まれていることが示唆された。

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。

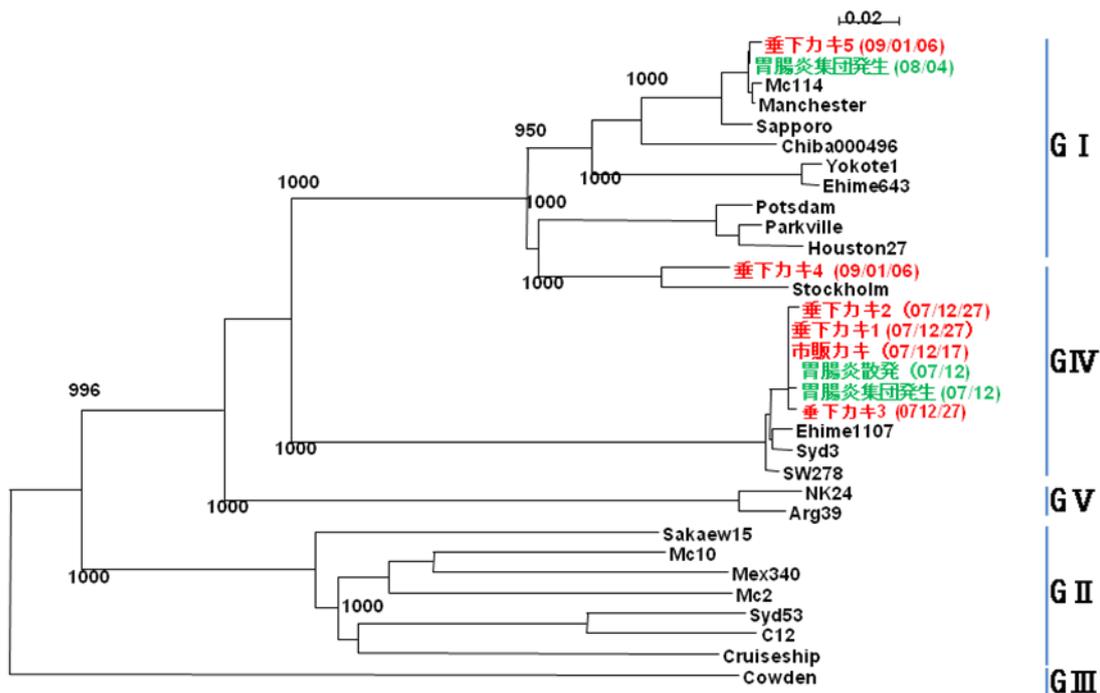


図1 SaV 遺伝子の capsid 領域アミノ末端側 321 残基の塩基配列に基づく系統樹 (NJ法)

5 参考文献

- 1) Ueki Y., Sano D., Watanabe T., Akiyama K., Omura T: *Water Res*, **39(18)**, 4271–4280(2005)
- 2) Okada M., Yamashita Y., Oseto M., Shinozaki K: *Arch Virol*, **151(12)**, 2503–2509(2006)
- 3) Hansman G.S., Sano D., Ueki Y., Imai T., Oka T., Katayama K., Takeda N., Omura T: *Emerg Infect Dis*, **13(1)**, 133–135(2007)
- 4) Nakagawa-Okamoto R., Arita-Nishida T., Toda S., Kato H., Iwata H., Akiyama M., Nishio O., Kimura H., Noda M., Takeda N., Oka T: *Jpn J Infect Dis*, **62**, 63–66(2009)
- 5) 植木 洋, 庄司美加, 山本美和子, 阿部勝彦, 伊藤文明, 池田義文, 西尾 治, 岡 智一郎, 片山和彦, 武田直和, 野田 衛: カキを用いたサポウイルスの環境調査 第56回日本ウイルス学会学術集会抄録, 281(2008)

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

Publication of school clouser because of influenza using Google Maps
in Miyagi Prefecture

後藤 郁男 佐藤 由紀 沖村 容子 御代田恭子
Ikuo GOTO, Yuki SATO, Yoko OKIMURA, Yasuko MIYOTA

2009年の新型インフルエンザパンデミックを機に、県教育庁と連携して県内（仙台市を除く）の公立の保育園、小学校、中学校、高等学校そして特別支援学校における「インフルエンザ様疾患による学校の措置状況」を地図上に表示するプログラムを開発し、宮城県結核・感染症情報センターのホームページを通じて県民に提供した。プログラムの制作過程で“Google Maps API”を導入することで、新たな地図表示プログラムの開発が不要となり、さらに、無償かつ短時間で情報提供することができた。また、学校における措置の状況と感染症発生動向調査で収集されるインフルエンザ患者報告数との関連を検討したところ、患者報告数と対応する週に措置をとった学校数・患者数・罹患患者数との間にそれぞれ強い相関がみられ、学校の措置状況をインフルエンザサーベイランスの情報源として活用することの妥当性が示された。

キーワード：インフルエンザ；Google マップ；学校閉鎖；Google Maps API
Key words：Influenza；Google Maps；School clouser；Google Maps API

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より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」の流行が始まって以来、その監視を強め、また、県民に向けてさらに迅速かつ付加価値のある情報提供を行う必要性が生じた。そこで今回、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）」の情報を入手し、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）」を作成し情報センターのホームページで公開した。本論文では新プログラムの制作過程と、今回着目した措置状況とインフルエンザ流行状況との関連性について検討した結果を報告する。

2 対象および方法

2.1 措置状況情報の入手

新たに県教育庁スポーツ健康課と連携をとり、仙台市を除く宮城県内の公立の保育園、小学校、中学校、高等学校そして特別支援学校の合わせて686校(分校を含む)を調査対象とした。

2.2 Google Maps API の利用

Google のアカウントと Google Maps 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 マップを無料で表示可能にした¹⁾。

2.3 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、齋教授の承諾のもと、同研究室が開発したツールを使用した²⁾。また、JavaScript にデータを流し込むデータシートをエクセルのマクロ機能を用いて作成した。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。

2.4 措置状況と患者報告数に関する検討

措置状況の情報がインフルエンザサーベイランスのデータとして活用できるか検討するため、措置をとった教育施設の学校数、欠席者数、罹患患者数、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。

2.5 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。

3 結果

3.1 措置状況地図の公開

新たに開発したプログラムで、措置報告があった2009年第35週より1週間ごとに地図を作成し、2009年10月13日より一般に公開した。地図のマーカーを色分け

し、黄色は授業短縮、オレンジは学級閉鎖、ピンクは学年閉鎖、赤は学校閉鎖になった学校とし、視覚に訴える形で措置状況を示した(図1)。また、Google マップの機能を導入することで、地図を拡大して表示したり、地図を衛星写真に切替えることも可能にした。さらに、マーカーをクリックするとふき出しが表示され、その中に学校名と措置を表示させた(図2)。



図1 措置状況地図の表示例(2009年第43週)



図2 措置状況地図の拡大表示例(2009年第43週)

3.2 措置状況のデータ解析

学校における措置状況と患者数の関連性について解析を行ったところ、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 ($R=0.972$)、欠席者数

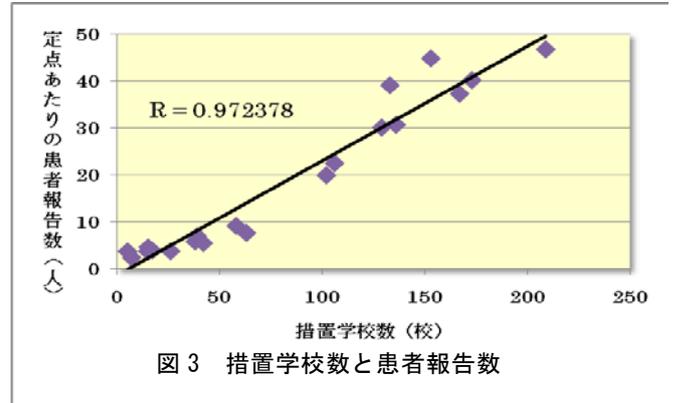


図3 措置学校数と患者報告数

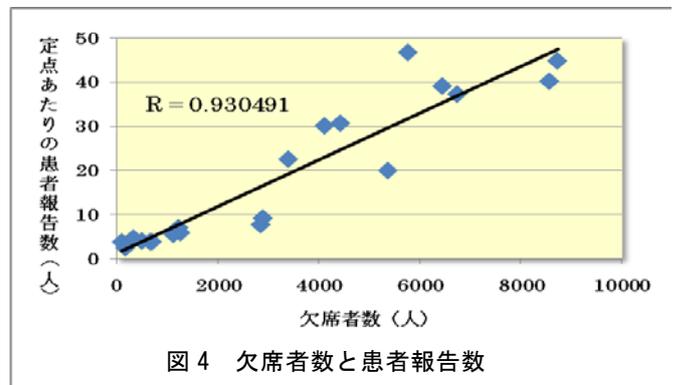


図4 欠席者数と患者報告数

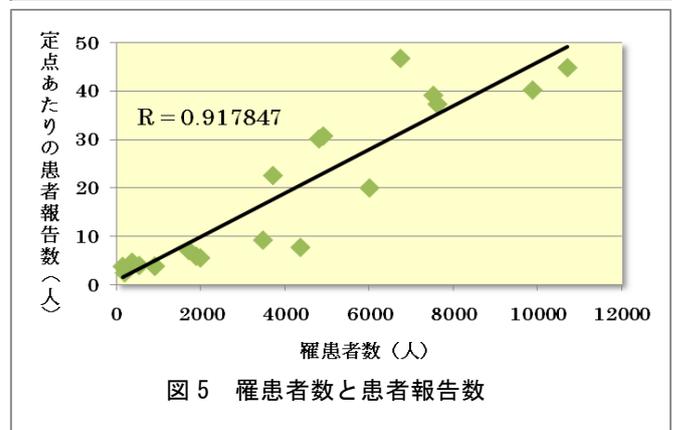


図5 罹患者数と患者報告数

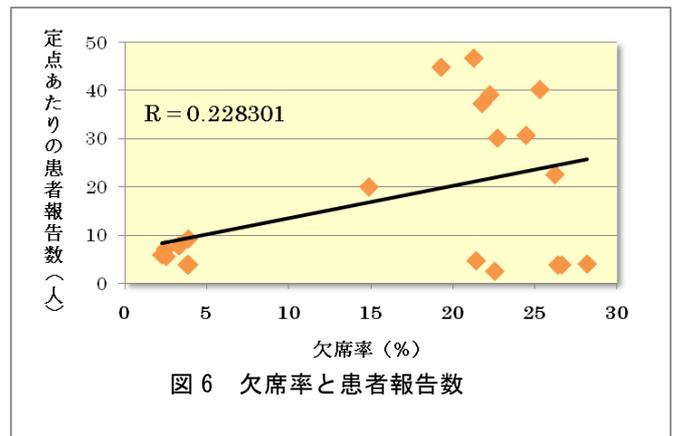


図6 欠席率と患者報告数

($R=0.930$), 罹患患者数($R=0.918$)の間には強い相関が認められた。しかし、欠席率との間に相関は認められなかった($R=0.223$) (図3から図6)。

3.3 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25.0%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65.2%が良いとなったが、「やや悪い・悪い」が合わせて13.5%あり、表示法の改善を求める声があった(図7)。措置状況地図の利用意向については、94.2%が「今後も利用する」という結果になった(図8)。

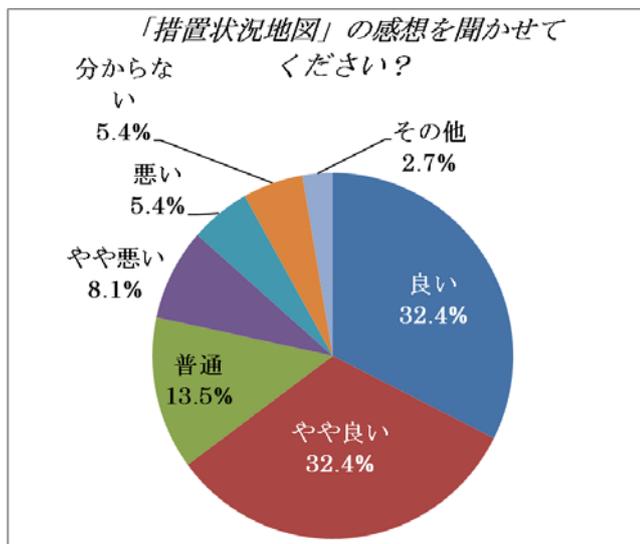


図7 オンラインアンケートの結果1

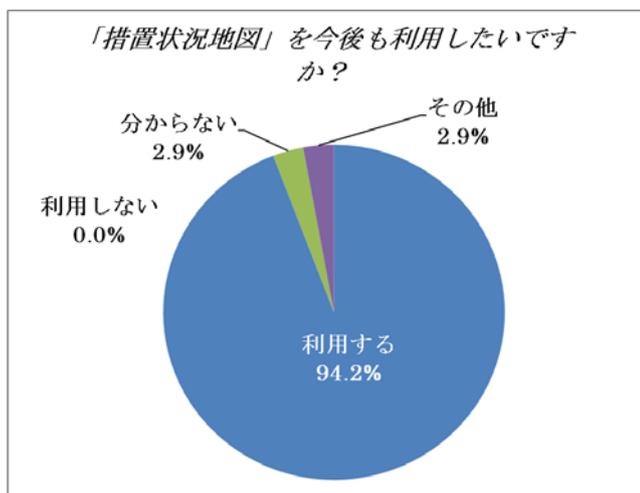


図8 オンラインアンケートの結果2

4 考察

県内における新型インフルエンザのアウトブレイクに合わせるため、急遽プログラムの開発を行ったが、当初一番困難と思われた地図表示機能にGoogle Maps APIを利用することで、迅速かつ無償で開発が可能となった。さらに、リアルタイムで公開することができた点は特に有益と考えられる。

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。太田ら³⁾は学校欠席率と感染症発生動向調査インフルエンザ定点観測値との間に強い正の相関を見出し「小学校欠席率の地理的分布状況地図」を作成している⁴⁾が、今回我々の結果においては欠席率と患者報告の間に相関は認められなかった。これは仙台市は規模や年齢構成が類似した市内の小学校の欠席率を指標にしているが、我々は規模や年齢構成が著しく異なる保育園から特別支援学校を調査対象として欠席率を算出しているため、欠席率が多様化し、患者報告数との相関が認められなかったものと推察された。

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。

5 まとめ

県教育庁で集約している「インフルエンザ様疾患による学校の措置状況」をインフルエンザサーベイランス情報として活用するため、Google Maps APIを用いて地図を作成するプログラムを開発して県民に向けて公開した。その結果、表示方法などに検討の余地があるものの、利用者から一定の関心と支持が得られた。また「インフルエンザ様疾患による学校の措置状況」と感染症発生動向調査における患者報告数との間に関連性を見出し、新たなインフルエンザサーベイランスの情報源として活用できることを示した。

措置状況地図の URL

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

6 参考文献

- 1) Google Maps API
<http://code.google.com/intl/ja/apis/maps/>
- 2) 慶応義塾大学 政策・メディア研究科
<http://www.sfc.keio.ac.jp/academics/graduate/>
- 3) 太田博, 酒井克朗, 島崎順子, 阿部幸史, 岩崎恵美子, 稲垣俊一: 第27回宮城県保健環境センター研究発表会
- 4) 小学校児童欠席率の地理的分布状況
<https://www.city.sendai.jp/kenkou/eisei-ken/hygiene/pdf/bunpu.pdf>

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

Study of histamine producing bacteria in fresh seafoods to eat raw

宮崎 麻由 平本 都香 山口 友美
有田 富和 加藤 浩之 那須 務
渡邊 節 沖村 容子 御代田恭子

Mayu MIYAZAKI, Kunika HIRAMOTO, Yumi YAMAGUCHI
Tomikazu ARITA, Hiroyuki KATO, Tsutomu NASU
Setsu WATANABE, Yoko OKIMURA, Yasuko MIYOTA

宮城県内に流通する生食用鮮魚介類及びゆでだこ 78 検体について 25℃・48 時間培養の虐待試験を実施し、遺伝子検査によるヒスタミン産生菌の有無を調査したところ、22 検体が陽性となった。この陽性検体からは、*Morganella morganii* 他 12 菌種が分離同定された。また、MPN 法を用いてヒスタミン産生菌を定量的に測定したところ、<3.0～15/ml であった。さらに、PCR 陽性であった虐待試験検体からは高濃度のヒスタミンが検出され、ヒスタミン産生菌によるヒスタミンの産生が確認された。これらのことから、生食用鮮魚介類等であっても取扱状況によりヒスタミン産生の可能性があることが示唆された。

キーワード：ヒスタミン；ヒスタミン産生菌；鮮魚介類

Key words : Histamine ; Histamine producing bacteria ; Fresh seafoods

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のもつヒスタミン脱炭酸酵素によって生成され、しばしばアレルギー性食中毒の原因として問題となる。現在我が国において、食品中のヒスタミン量には規制はないが、ヒスタミン食中毒発症濃度はおよそ 100mg/100g 以上と言われている¹⁾²⁾。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³⁾、宮城県では平成 21 年に 2 件の発生があった⁴⁾。平成 17 年から 5 年間の全国と宮城県のヒスタミン食中毒発生件数を図 1 に示した。今回、県内に流通する生食用鮮魚介類及び生食用魚介類加工品についてヒスタミン産生菌の検出及びヒスタミン産生量の測定を実施し、若干の知見を得たので報告する。

2 対象及び検査方法

2.1 対象

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 件及びゆでだこ 17 件の計 78 検体を調査対象とした。

2.1.1 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）

2.2 方法

2.2.1 一般細菌数測定

試料液 A を用いて、 10^2 から 10^4 まで 10 倍段階希釈した希釈液各 1ml を 1%食塩加標準寒天培地で混釈し、25℃で 48 時間培養して一般細菌数を求めた。

2.2.2 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 1 ml 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）。

2.2.3 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。

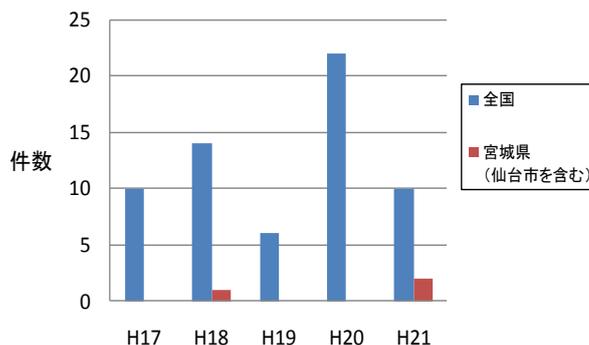


図 1 ヒスタミン食中毒事件

表1 一般細菌数

種類	検体数	細菌数 (cfu/ml)				
		$\times 10^2$	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$
赤身魚	11	1	3	5	2	
白身魚	5		1	1	2	1
ゆでだこ	3				3	
ほたて・ほや ・甘えび	各1	1	1	1		
計	22	2	5	7	7	1

表2 ヒスタミン産生菌 MPN 値 (PCR)

種類	検体数	ヒスタミン産生菌 MPN (/ml)				
		<3.0	3.6	6.2	7.4	15.0
赤身魚	11	7	2	1	1	
白身魚	5	2	1	1		1
ゆでだこ	3		3			
ほたて・ほや ・甘えび	各1	2	1			
計	22	11	7	2	1	1

2.2.4 ヒスタミン産生菌の分離及び同定

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 によりヒスタミ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 半流動培地、尿素培地、シモンズのクエン酸塩培地に接種し、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: 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) を用いて菌種の同定を行った。

2.2.5 ヒスタミン量の測定

試料液 B について、ヒスタミン簡易測定キットであるチェックカラー Histamine (キッコーマン) を用いて、ヒスタミン産生量を測定した。

3 結果及び考察

3.1 一般細菌数測定及びヒスタミン産生菌 MPN

魚種別の PCR によるヒスタミン脱炭酸酵素遺伝子の検出状況を図 2 に示した。PCR 陽性となった検体 22 件の一般細菌数は、 $5.0 \times 10^2 \sim 3.9 \times 10^6$ cfu/ml の間で推移して、 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 (表 1)。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 (表 2)。

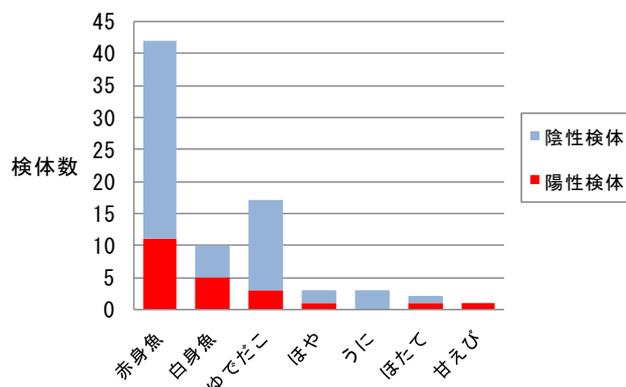


図2 魚種別ヒスタミン脱炭酸酵素遺伝子検出状況

3.2 PCRによるヒスタミン脱炭酸酵素の検出及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 株のヒスタミン脱炭酸酵素陽性菌株を分離した (表 3)。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* 72 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 oryzihabitans*, *Enterobacter cloacae*, *Kluyvera ascorbata*, *Bergeyella zoohelcum* 各 1 株ずつであった。

3.3 ヒスタミン産生量

虐待試験検体のうち、PCR 陽性であった 22 件のヒスタミン量は、194~5,003mg/L であった。また、そのほとんどが 3,000mg/L 前後であり、ヒスタミン含有量が多いとされている赤身魚に限らず白身魚、その他の魚介類からも高濃度に検出された (表 4)。

4 まとめ

今回、虐待試験を実施した 78 検体のうち、22 件 (28%) からヒスタミン脱炭酸酵素遺伝子が検出された。ヒスタミ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 72 株 (68.0%) 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タミン脱炭酸酵素遺伝子 PCR の MPN 値で <3.0~15/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。しかし、PCR によりヒスタミン脱炭酸酵素陽性となった虐待試験検体からは、高濃度のヒスタミンが検出され

表 3 魚種によるヒスタミン産生菌分離状況

種類	ヒスチジン 脱炭酸酵素 陽性コロ ニ一数	<i>Morganella morganii</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Serratia plymuthica</i>	<i>Ewingella americana</i>	<i>Flavimonas oryzae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Kluyvera ascorbata</i>	<i>Bergeyella zoohelcum</i>
赤身魚	68	55	4	2		2	1		1		1	1		1
白身魚	23	12	1	3	4			1		1			1	
ゆでだこ	5	3	2											
ほたて・ほや 甘えび	10	2	7				1							
計	106	72	14	5	4	2	2	1	1	1	1	1	1	1
割合(%)		68.0	13.3	4.8	3.8	1.9	1.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9

た。このことは、生食用魚介類に付着していたヒスタミン産生菌のヒスタミン産生能を裏付ける結果であると考えられる。鮮魚中のヒスタミン産生菌及びヒスタミン量は加工品に比べて少ないことが報告されているが⁵⁾⁶⁾、本調査でヒスタミン産生菌が被検体の28%から検出され、そのすべてからヒスタミンが検出されたことから、生食用鮮魚介類であっても水揚げから流通までの間にヒスタミン産生菌による汚染があれば、取り扱いの不備や作業温度、取り扱い時間などによって菌が増殖して、ヒスタミンが産生されることが示唆された。また、ヒスタミン産生菌量が少量であっても、菌の増殖に伴いヒスタミンが産生されることが推察された。

表 4 虐待試験検体のヒスタミン産生量
(チェックカラーHistamine法)

検体	魚種	ヒスタミン量(mg/L)
赤身魚	赤身魚 1	4,551
	赤身魚 2	3,960
	赤身魚 3	2,185
	赤身魚 4	3,900
	赤身魚 5	4,030
	赤身魚 6	4,581
	赤身魚 7	3,820
	赤身魚 8	2,887
	赤身魚 9	4,792
	赤身魚 10	3,409
	赤身魚 11	3,880
白身魚	白身魚 1	2,456
	白身魚 2	5,003
	白身魚 3	2,316
	白身魚 4	2,797
	白身魚 5	3,429
ゆでだこ	ゆでだこ 1	2,707
	ゆでだこ 2	2,657
	ゆでだこ 3	194
その他	ほや	852
	甘えび	2,857
	ほたて	3,639

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。過去5年間において、全国的にも白身魚による食中毒事例はみられない。しかし、今回の調査で白身魚やその他の魚介類からもヒスタミン産生菌が検出されており、主としてヒスタミンによる食中毒の原因となる赤身魚だけではなく、白身魚やその他の魚介類においてもヒスタミン産生菌による汚染が認められたことから、その取扱いによっては二次汚染源となる可能性も考えられた。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。

今後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 参考文献

- 1) 観公子, 牛山博文, 新藤哲也, 斉藤和夫: 東京衛研年報, **52**, 163-166 (2001)
- 2) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 2005, 180-181 (2005)
- 3) 平成 21 年食中毒発生状況: 厚生労働省食中毒統計
- 4) 宮城県環境生活部食と暮らしの安全推進課: 平成 21 年宮城県食中毒事件録, 20-21 (2010)
- 5) 観公子, 牛山博文, 新藤哲也, 斉藤和夫: 食衛誌, **46**, 127-132 (2005)
- 6) 新井輝義, 池内容子, 岸本泰子, 石崎直人, 柴田幹良, 観公子, 下井俊子, 牛山博文, 立田真弓, 白石典太, 甲斐明美, 矢野一好: 東京都健康安全研究センター研究年報, **58**, 別冊 (2007)

東北地方で発生した腸炎ビブリオ O3:K6 の PFGE 解析

Pulse-Field Gel Electrophoresis Analysis of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 Strains Isolated from Tohoku region of Japan.

有田 富和 宮崎 麻由 高橋 恵美
後藤 郁男 加藤 浩之 那須 務
小林 妙子 渡邊 節 沖村 容子
谷津 壽郎 御代田 恭子

Tomikazu ARITA, Mayu MIYAZAKI, Emi TAKAHASHI
Ikuro GOTO, Hiroyuki KATO, Tsutomu NASU
Taeko KOBAYASHI, Setsu WATANABE, Yoko OKIMURA
Juro YATSU, Yasuko MIYOTA

2006年度から2008年度までの3年間に東北地方で分離された腸炎ビブリオ(*Vibrio parahaemolyticus*)血清型 O3:K6 株についてパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法等による解析を実施した。その結果合計9種類のパターンが得られたが各パターンは類似しており、地域的な偏りなどは確認されなかった。シーケンス解析などの結果、これらの株は全てパンデミック株であった。また、血清型不明株1株について同様に解析をおこなったところ、この株もパンデミック株であることが確認された。この株の血清型を再確認したところ、O1:K36型であった。PFGEの代替法としてランダム増幅多型DNA(RAPD)法を検討したが、良好な結果は得られなかった。

キーワード: 腸炎ビブリオ; パルスフィールドゲル電気泳動; 血清型; O3:K6; O1:K36; RAPD

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; PFGE; serotype; O3:K6; O1:K36; RAPD

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(1995年以前に分離された 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浸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 対象及び検査方法

2.1 対象

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 株及び比較対照として血清型の

異なる株 2 株と血清型不明株 1 株を用いた。

2.2 方法

2.2.1 PFGE 法

PFGE 法は定法に従い実施した。泳動は CHEF MAPPER (BioRad) でおこない、Fingerprinting II (BioRad) で解析した。制限酵素は *NotI* 及び *SfiI* を用いた。

2.2.2 Group Specific-PCR 及び毒素遺伝子の PCR

パンデミック株を特異的に検出する Group

Specific-PCR (GS-PCR) 法、及び毒素遺伝子領域の増幅のための PCR に用いた鋳型 DNA の調整は、Isoplant (日本ジーン) を使用した。パンデミック株特異的 GS-PCR 及び毒素遺伝子 (*toxRS*) 領域の PCR は Matsumoto らの方法¹⁾を用いた。それぞれの PCR 反応には GS-VP.1 (5'-TAATGAGGTAGAACA-3') 及び GS-VP.2 (5'-ACGTAACGGGCCTACA-3') のプライマーセット並びに *toxRS.1* (5'-TATCTCCCATGCGCAAACGTA-3') 及び *toxRS.2* (ACAGTACCGTAGAACCGTGAT-3') のプライマーセットを用いた。

2.2.3 塩基配列解析

toxRS 領域の PCR 産物を ABI310 でダイレクトシーケンスを実施して塩基配列を決定した。シーケンス反応は *toxRS* 領域の増幅に用いたプライマーを使用した。BioLine ソフトウェアで Genbank の配列データと比較した。

2.2.4 血清型別

血清型別は血清型別用免疫血清（デンカ生研）を用いて実施した。

2.2.5 RAPD 法による解析

RAPD 法による解析には、AKopyanz らのプライマー²⁾10 種 (1247 5'-AAGAGCCCGT-3' 1254

5'-CCGCAGCCAA-3'1281

5'-AACGCGCAAC-3'1283

5'-GCGATCCCA-3'1290

5'-GTGGATGCGA-3'D14307

5'-GGTTGGGTGAGAATTGCACG-3'D11344

5'-AGTGAATTCGCGGTGAGATGCCA-3'D8635

5'-GAGCGGCCAAAGGGAGCAGAC-3'D9355

5'-CCGATCCGTGATGCGGTGCG-3'D14126

5'-NNNAACAGCTATGACCATG-3') 及び Bilung らのプライマー³⁾3 種 (Gen15003

5'-CTTGAGTGGA-3'Gen15004

5'-TCCTCAAGAC-3'Gen15008

5'-GAGATGACGA-3') を用いた。反応は各文献の条件で実施した。

3 結果及び考察

PFGE の結果, 各菌株は特徴的なバンドの有無から A, B2 つのグループに大別された (図 1)。

全ての菌株は 9 種類のパターンに帰属されたが (図 2), 多くのバンドがほぼ全ての株で共通であり, 全体として相互に極めて類似していることから, 全ての株がパンデ

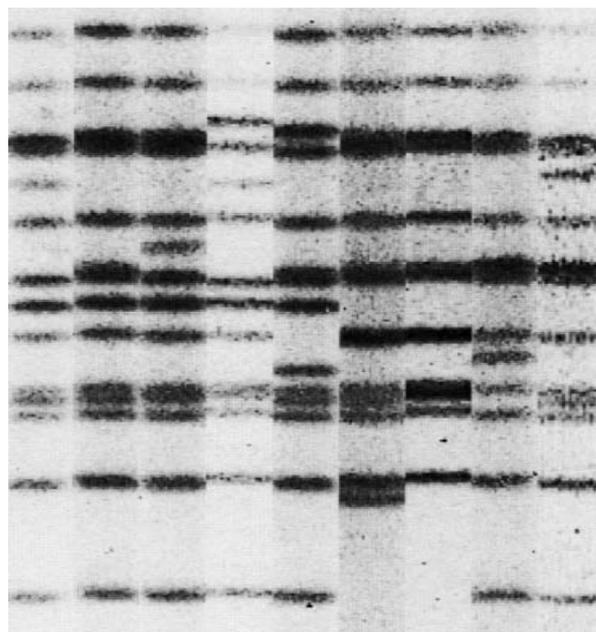


図 2 検出された 9 種の PFGE パターン

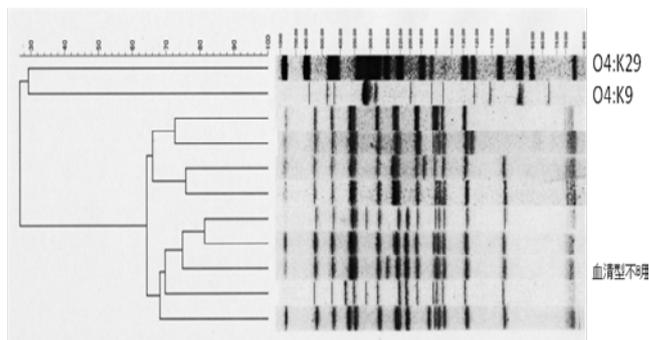


図 3 代表的パターンによる系統樹

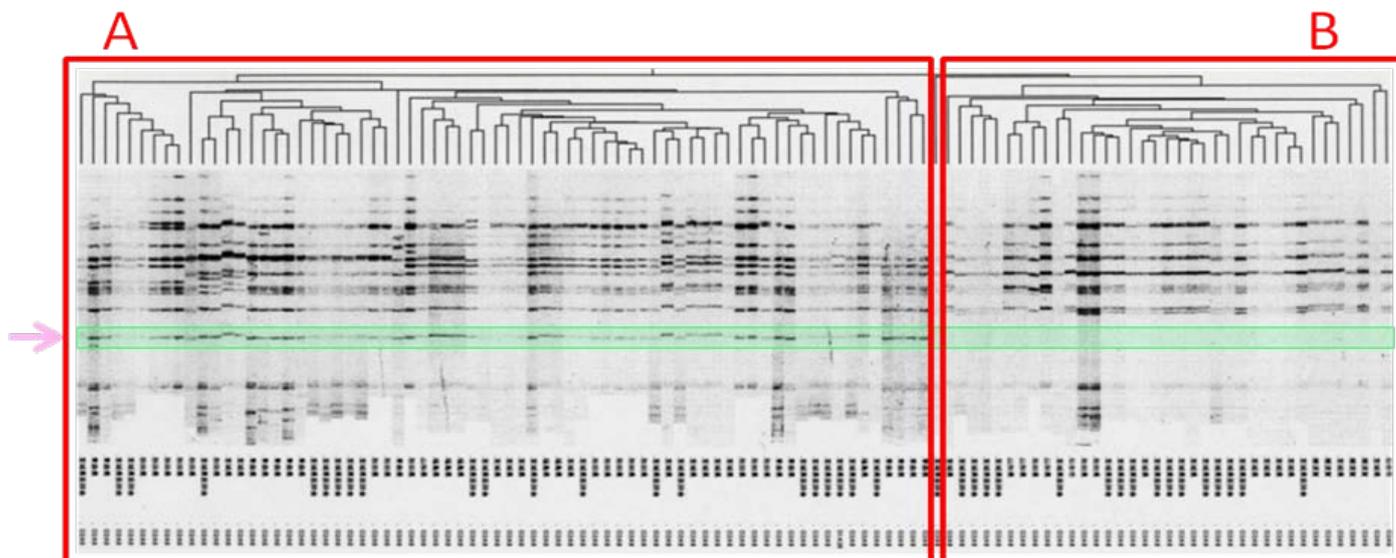


図 1 NotI 処理による PFGE パターン

ミック株であると考えられた。

興味深いことに、比較対照として用いた株のうち血清型不明の株1株もパンデミック株のパターンを示し、この株もパンデミック株である可能性が示唆された(図3)。

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、一部の株についてパンデミック株特異的検出法であるGS-PCRを実施した(図4)。その結果、全てのO3:K6株及び血清型不明株(図4赤字)でパンデミック株特有の増幅産物が得られた。

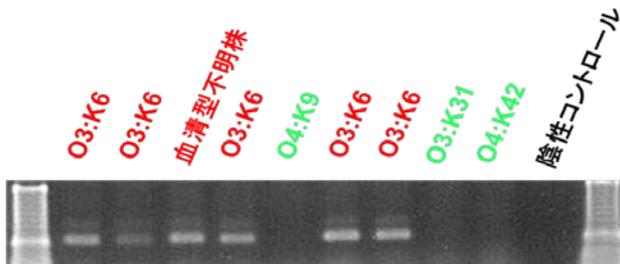


図4 GS-PCR法の結果

さらに、これらの株の毒素遺伝子 *toxRS* 領域の塩基配列を決定してパンデミック株及び非パンデミック株の塩基配列データと比較解析した結果、全て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確認された(図5)。

	1196	1214	1244
旧型株	GATACCGTAGG	CGTCGAGTGAA	TACCTGCCGAA
パンデミック	GATAC <u>T</u> GTAGG	CGTCG <u>T</u> GTGAA	TACCT <u>A</u> CCGAA
O3:K6	GATAC <u>T</u> GTAGG	CGTCG <u>T</u> GTGAA	TACCT <u>A</u> CCGAA
O3:K6	GATAC <u>T</u> GTAGG	CGTCG <u>T</u> GTGAA	TACCT <u>A</u> CCGAA
O3:K6	GATAC <u>T</u> GTAGG	CGTCG <u>T</u> GTGAA	TACCT <u>A</u> CCGAA
血清型不明	GATAC <u>T</u> GTAGG	CGTCG <u>T</u> GTGAA	TACCT <u>A</u> CCGAA

図5 遺伝子配列解析の結果

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現時点で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ものと考えられる。

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「新たな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面で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。

4 まとめ

東北地方で発生した腸炎ビブリオO3:K6株のPFGE等による解析を実施した。その結果、それらは全てパンデミック株であり、PFGEパターンは相互に類似していたものの、9種類に分類することが可能であった。また、パンデミッククローンでありながら血清型がO1:K36に変異した株を新たに見いだした。これらのことから、今後は、徐々にパンデミッククローンの遺伝的多様性が拡大するとともに、非O3:K6型のパンデミッククローンの出現が増加すると考えられた。

5 参考文献

- 1) Matsumoto C., Okuda J., Ishibashi M., Iwanaga M., Garg P., Rammamurthy T., Wong H-C., Depaola A., Kim Y.B., Albert M.J., Nishibuchi M., J. Clin. Microbiol., **38**:578-585(2000)
- 2) Akopyanz N., Bukanov O.N., Westblom T.U., Kresovich S., Berg D.E., **20**, 5137-5142(1992)
- 3) Bilung L.M., Radu S., Bahaman A.R., Rahim R.A., Napis S., Kqueen C.Y., Murugaiah C., Hadi Y.A., Robin T., Nishibuchi M., *Anadara granosa*, American J. Immunol., **1**, 31-36(2005)

不良食品からの酵母様真菌類の分離と同定

Isolation and Identification of Yeast-like Fungi Associated with Deterioration of Foods

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

Tomikazu ARITA, Mayu MIYAZAKI, Yo UEKI
Hiroyuki KATO, Tsutomu NASU, Setsu WATANABE
Yoko OKIMURA, Yasuko MIYOTA

シンナー臭を主訴とする食品苦情のあった食パンについて細菌学的検査を実施したところ、多数の酵母様真菌類が分離された。それらの菌は全て産膜酵母の性状を示し、ランダム増幅多型 DNA (RAPD) 法による分析から、分離された菌は全て同一種・同一株であることが示唆された。ITS 領域の塩基配列を調べた結果全てハンゼヌラ酵母であった。検体からは仕込みに用いたパン酵母は検出されなかったことから、加熱後にハンゼヌラ酵母による汚染が生じたものと考えられた。

キーワード：酵母様真菌類；変敗；パン；ハンゼヌラ

Key words : yeast-like fungi ; deterioration ; bread ; *Hansenula*

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、特にアルコール臭やシンナー臭（酢酸エチル臭）を伴う場合には酵母菌や酵母様真菌類の関与が疑われる。

今回、異臭（シンナー臭）がするとの苦情があった食パンから、異臭を発生させた原因と思われる酵母様真菌類の分離と同定を試みたので報告する。

2 対象及び検査方法

2.1 対象材料

県内の業者が製造し、県外の消費者から異臭苦情のあった食パン（開封済み 1 件及び未開封 1 件）を試料とした。

2.2 細菌学的検査

一般細菌数の測定は、当センターで実施している食品収去検査の標準作業書記載の方法で実施した。検体を PBS で段階希釈し、一般細菌数は標準寒天培地（栄研化学）を用いた混積平板培養法で出現集落数を計測した。

酵母菌数は同様に NaCl, クロラムフェニコール及びプロピオン酸を加えたポテトデキストロース培地（メルク）を用いた混積平板培養法で集落数を計測した。

液体培地上での発育性状は、自家調整した Yeast-Extract Polypeptone Dextrose (YPD) 培地を用い、静置培養法で実施した。

比較対照として市販のドライイースト（パン酵母）2 種を使用した。

2.3 分子生物学的解析

DNA の抽出には Isoplant（日本ジーン）を用いた。RAPD 法による解析は Akopyanz らのプライマー¹⁾

(1247 5'-AAGAGCCCGT—3' 1254
5'-CCGCAGCCAA—3'1281
5'-AACGCGCAAC—3'1283
5'-GCGATCCCCA—3'1290
5'-GTGGATGCGA—3'D14307
5'-GGTTGGGTGAGAATTGCACG—3'D11344
5'-AGTGAATTTCGCGGTGAGATGCCA—3'D8635
5'-GAGCGGCCAAAGGGAGCAGAC—3'D9355
5'-CCGGATCCGTGATGCGGTGCG—3'D14126
5'-NNNAACAGCTATGACCATG—3') を用いて実施した。

ITS 領域の PCR は White らのプライマー²⁾ (ITS1
5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' ITS2
5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3' ITS3
5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3' ITS4
5'-GCATATCAATAAGCGGAGGA-3') で実施した。

ITS 領域の塩基配列は、PCR 産物のダイレクトシーケンス法で決定し、Genbank に登録された真菌類のデータと比較した。

3 結果

3.1 一般細菌数と酵母菌数

はじめに、開封済み、未開封それぞれの検体について一般細菌数と酵母菌数の計測をおこなった。開封済みの検体からは 1g あたり一般細菌数 41 万個・酵母菌数 2,400 万個が、未開封の検体からは同じく一般細菌数 3 万個・酵母菌数 3 万個と多数の菌が検出された。一般的な食パンの汚染状況と比較するため市販の食パン 2 種について同様の検査を実施したところ、両者とも一般細菌数は

3,000 個以下であった。

つぎに標準寒天培地及びポテト・デキストロース培地に発育した集落 20 個を分離してグラム染色・鏡検した。その結果、全てパン酵母よりやや小型の出芽酵母様形態を示す酵母様真菌類であった (図 1)。

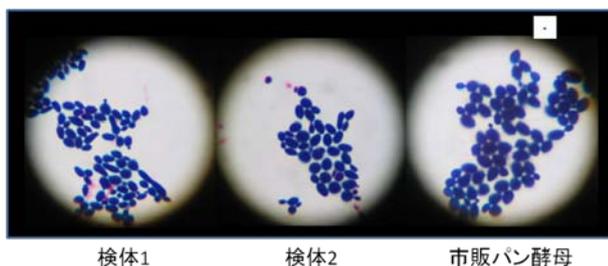


図 1 検体から分離された菌のグラム染色像

この酵母様真菌類 (異臭酵母) の種を推定するため、液体培地中での発育性状を市販のパン酵母

(*Saccharomyces cerevisiae*) 2 種と比較した。市販パン酵母はどちらも静置培養では沈殿したが、異臭酵母は培地表面に膜状に浮遊して発育した。

3.2 分子生物学的解析

RAPD 法による分析をおこなった結果、分離した異臭酵母は全て類似のパターンを示した。また、パン酵母とはバンドの数、サイズとも大きく異なっていた (図 2)。

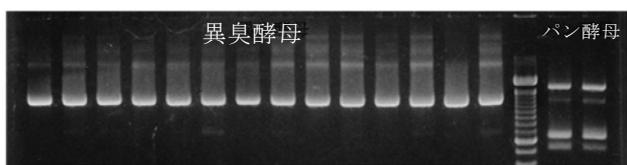


図 2 RAPD 解析の結果

また、異臭酵母の rRNA 遺伝子の間に存在する ITS 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パン酵母とは明確に異なっていた (図 3)。

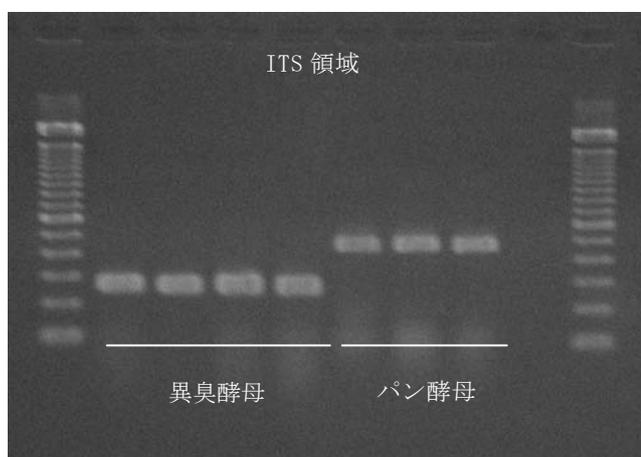


図 3 ITS 領域の PCR

この ITS 領域 PCR 産物の塩基配列を決定し、DNA 配列データベース (Genbank) に登録されている真菌類の

塩基配列データと比較したところ、ハンゼヌラ酵母として知られる *Wickerhamomyces anomalus* (別名 *Hansenula anomala*, *Pichia anomala*) と完全に一致した³⁾。

4 考察

今回の食パンからは多数の酵母様真菌類が検出された。これらの菌は全てグラム染色陽性の出芽酵母様の形態を示した。その大きさは市販のパン酵母よりやや小さかった。また、液体培地を用いた静置培養試験でこの菌は培地表面に膜状に発育するという、いわゆる産膜酵母の性状を示した。これらのことから異臭酵母は、パン酵母とは異なる種であることが強く示唆された。さらに、RAPD 解析でも異臭酵母とパン酵母では大きくパターンが異なっており、このことから異臭酵母がパン酵母とは異なる菌種であることを裏付けられた。また、RAPD 解析に用いた異臭酵母全てでそのパターンがほぼ一致していたことから、比較的少数の菌が食品に付着し、その後、クローン的に増殖したものであることが推定された。さらに、ITS 領域を PCR 法で増幅した結果、そのサイズからこの菌はパン酵母とは別種であることが確実となった。この PCR 産物のダイレクトシーケンスの結果から、この菌はいわゆるハンゼヌラ酵母であると同定された。

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性質があり、シンナー臭を呈する食品苦情の原因として代表的な微生物である。

今回の食パンから検出された酵母様真菌は全てハンゼヌラ菌であり、仕込みに用いたパン酵母は全く検出されなかった。このことは製造時の加熱が充分であったことを示している。これらのことから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 (輸送中) に増殖して酢酸エチルを産生したものと考えられた。

ハンゼヌラ菌を含む酵母様真菌類は、環境中に広く存在している。今回の事件での発生源を推定する参考として、市販果物からの酵母様真菌類の検出を試みた。その結果約半数から酵母菌が分離された。このように酵母様真菌類は果実などの食品表面にも存在していることから、汚染源を根絶することは極めて困難である。そのため、酵母様真菌類の製造現場への侵入を防ぐためには、製造場の清掃と外部からの気流の制御だけでなく、同じ場所で傷んだ果実や素性不明の天然酵母などを使用しないなどの対策も必要であると思われた。また、ハンゼヌラ酵母はアルコールがなければ酢酸エチルを生成しないため、殺菌・消毒目的での食品へのアルコール噴霧などを中止することも短期的対策としては有効であるといわれている⁴⁾。

酵母菌を含む真菌類のなかには胞子を作る種が多く、その取り扱いには実験室汚染の危険が付きまとう。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

刻な影響を及ぼす可能性がある。真菌類による不良食品事件は今後も発生すること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等、非培養的検出方法の導入についても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。

5 まとめ

シンナー臭をとまなう食パンについて細菌学的解析を実施した結果、多数の酵母様真菌類が検出された。液体培地での発育性状や RAPD 解析、ITS 領域のサイズと遺伝子配列解析の結果から、この菌はいわゆるハンゼヌラ酵母であることが判明した。仕込みに用いたパン酵母は分離されなかったことから、加熱行程は充分であり、加

熱後の放冷から袋詰めまで間に附着し、輸送中に増殖してシンナー臭を発生したものと考えられた。

6 参考文献

- 1) Akopyanz N., Bukanov N.O., Westblom T.U., Kresovich S. and Berg D.E., *Nucleic Acids Res.*, **20**, 5137-5142 (1992).
- 2) White T.J., Bruns T., Lee S., and Taylor J., *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, Calif., 315-322 (1990).
- 3) Kurtzman C.P., Robnett C.J., Basehoar-Powers E., *FEMS Yeast Res.*, **6**, 939-954 (2008)
- 4) 内藤茂三 酵母による食品の変敗と防止技術
<http://www.mac.or.jp/mail/090201/03.shtml>

GC/MS/MS 及び LC/MS/MS による魚介類の残留農薬一斉分析

Multiresidue Pesticide Analysis of Seafoods with GC/MS/MS and LC/MS/MS

氏家 愛子 千葉 美子 大熊 紀子 吉田 直人 濱名 徹
Aiko UJIIE, Yoshiko CHIBA, Noriko OKUMA, Naoto YOSHIDA, Toru HAMANA

脂質含量が多い畜水産物中の残留農薬一斉分析の試料液調製法について、アセトン/ヘキサン(1/1)による抽出液をアセトニトリル/アセトニトリル飽和ヘキサン分配による脱脂後、多機能カラム Multisep PR を用いた精製を検討した。Multisep PR 精製については、アセトニトリル溶液 5ml で負荷しアセトニトリル 5ml、アセトニトリル/トルエン(3/1)5ml 及びメタノール 5ml で溶出することにより、脂肪酸エステル類を効果的に除去することができた。この方法により 332 農薬を対象とした銀鮭等魚介類での添加回収試験(試料換算:0.02ppm)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 198 農薬、うなぎ蒲焼きでは 262 農薬及び活あさりでは 92 農薬であり、加熱処理による試料の代謝活性が低下したうなぎ蒲焼きでは良好な結果を得ることができた。

キーワード：魚介類；残留農薬；一斉分析法；Multisep PR；GC/MS/MS；LC/MS/MS

Key words：Seafood；Pesticide residue；Simultaneous analysis；
MultisepPR；GC/MS/MS；LC/MS/MS

1 はじめに

近年、中国産ぎょうごの残留農薬やメラミン混入など食の安全性に係わる問題が多発しており、当所での県民からの苦情食品検査も増加している。このような状況下、当所での残留農薬検査では、野菜・果実等の一斉分析法を検討し、独自法としてバリデーションを行い¹⁾²⁾行政検査を実施しているが、魚介類の残留農薬検査は実施していない。畜水産物中の残留農薬一斉分析については、厚生労働省の通知法³⁾においてゲル浸透クロマトグラフィー(以下 GPC と略す)及びエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルカラム精製による方法が示されている。しかし、GPC 精製を行うためには、GPC 用機器を必要とするほか、多検体を同時に処理することができないことから、試料液調製に時間が長くかかる。苦情食品検査においては検査結果の迅速性が求められるため、魚介類について簡便で迅速な残留農薬一斉分析方法の検討を行ったので報告する。

2 方法

2.1 試料

養殖銀鮭の可食部、うなぎ蒲焼き、活あさりの剥き身をフードカッターで細切均一化し、冷凍保存したものをを用いた。

2.2 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

2.3 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
BondElutSAX/PSA(500mg/500mg)及び
PSA(500mg),Waters 社製 Sep-PakC 18 (360mg)

2.4 添加回収試験の試料液調製方法

均一化した試料 10g に検討対象 332 農薬混合標準溶液 1 μ g/ml を 200 μ l 添加(試料換算 0.02ppm)して 30 分置く。これ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、ポリトロンミキサーで 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 層をとり、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、メタノール 5ml の順で溶出したのち、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 用試験液は窒素ページによりメタノールに転溶(5 倍希釈)して調製した。

2.5 測定条件

既報⁴⁾⁵⁾に準じた。

3 結果及び考察

3.1 精製用ミニカラムの検討

2.3 精製用ミニカラムの項に示したミニカラムを使用し、銀鮭を対象に CH₃CN 抽出による添加回収試験(添加量：試料換算 0.01ppm)を実施した。

①法はCarbograph/PSA(CPとする)及びMultisep PR使用
②法はCH₃CN/CH₃CN飽和ヘキサン分配による脱脂後 GL-PAK Carbograph(上)とBondElutSAX/PSA(下)を直列接続使用、③法はSep-Pak C 18及びPSA使用、④法はPSA(上)とMultisep PR(下)を直列接続使用の4通りで精製の効果を検討した。銀鮭からのCH₃CN抽出液を濃縮乾固後、①法はCH₃CN/トルエン(3/1)2ml、④法はアセトン/ヘキサン(3/7)2mlで溶解し、カラム(①法はCPカラムのみ)に負荷後、①法はCH₃CN/トルエン(3/1)15ml、④法はアセトン/ヘキサン(7/3)15mlで溶出した。①法はさらに溶出液を濃縮乾固後CH₃CN 10mlに溶解しMultisep PRに負荷溶出をした。②法はCH₃CN抽出液20mlに、CH₃CN飽和ヘキサン10mlを加え5分振とうしてヘキサン層を取り、これにヘキサン飽和CH₃CN10mlを加え5分振とう後、CH₃CN層を先のCH₃CN層と合わせ濃縮乾固した。これをCH₃CN/トルエン(3/1)2mlで溶解し精製カラムに負荷後、CH₃CN/トルエン(3/1)15mlで溶出した。③法はCH₃CN抽出液20mlをC

18に通し、3mlのCH₃CNでカラムを洗浄しこれを採取して溶出液と合わせ、濃縮乾固後④法と同じ溶媒を使用してPSAによる精製を行った。各溶出液は濃縮乾固後、アセトン1mlに溶解し試料溶液とした。

各精製法での試料溶液についてGC/MS/MS分析及びGC/MS-SCAN分析を行った。GC/MS-SCAN-TICを図1に示す。回収率70%~120%, RSD25%未満であった農薬数(GC/MS/MS分析対象のみ)は、①法では152, ②では221, ③法では218及び④法では191であったが、各TICを比較した結果、①法が脂肪酸エステル等の夾雑ピークを効率よく除去しており、次いで④法の効果が高かった。これらは共通してMultisep PRを使用していたことから、このカラムの効果が大きいと考え、精製用にMultisep PRの単独使用を検討した結果、①のTICをほぼ同じクロマトグラムが得られた。

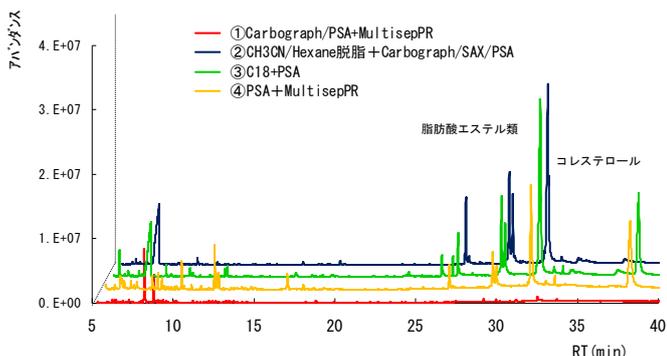


図1 各精製法でのTIC(銀鮭)

3.2 Multisep PR 精製溶媒の検討

添加回収試験において、MultisepPRによる精製が試料中の夾雑物の除去に有効ではあったが、回収率70%~120%, RSD25%未満であった農薬数は他の精製法に比較して少なかった。そこで、分析可能農薬数を拡大するため、MultisepPRの標準的使用方法、すなわちカラムに溶媒が満たされている状況下で負荷流出液を一定量採取する方法ではなく、溶出溶媒を全量採取する方法で最適溶媒の検討を行った。銀鮭 CH₃CN 抽出液 20ml(銀鮭 2g 相当)に農薬混合標準溶液 1 μg/ml を 50 μl 添加して濃縮乾固後、検討溶媒でそれぞれ溶解し負荷溶液を調製した。はじめにアセトン/ヘキサン系による負荷・溶出を検討したが、脂肪酸エステル等の夾雑成分がカラムに保持されず流出してしまい Multisep PR カラムの特性が発揮できなかった。そこで、酢酸エチル、CH₃CN 及び CH₃CN/トルエン(3/1)を用いて検討を行った。この結果、CH₃CN 及び CH₃CN/トルエン(3/1)が酢酸エチルより良好な結果を得たが、それぞれ異なる農薬に低回収傾向が認められたほか、共通してトリアジン系、トリゾール系などの有機窒素系 27 農薬や有機リン系 10 農薬で低回収率を示した(表 1)。そこで、さらにメタノールで追加溶出をしたところ、これらの農薬の回収率向上が認められた(図 2)。

表 1 MultisepPR 精製における CH₃CN 及び CH₃CN/トルエン(3/1)溶出での低回収農薬

農薬系	農薬名
有機窒素系農薬	ウニコナゾール、バクロプロラゾール、トリシクラゾール、トリアジメノール、アザコナゾール、テトラコナゾール、テフコナゾール、シプロコナゾール、プロビコナゾール、ペンコナゾール、シメコナゾール、フルシラゾール、チアベンダゾール、フルトリアホル、フルジオキソニル、ミクロフタニル、アミトラズ、シメトリン、シマジン、エチクロゼート、プロマシル、フェナリモル、カルベタミド、イマゾスルフロン、ターバシル、カルボキシニ、イマザメタベンズスルフロン(27種類)
有機リン系農薬	アセフェート、エディフェンホス、ホスファミドン、プロフェノホス、メピンホス、DDVP、CVP、モノクロトホス、イツキサチオンオキソン、ホスチアゼート(10種類)
その他	プロモプロピレート、クロロベンジレート、オルトフェニルフェノール(3種類)

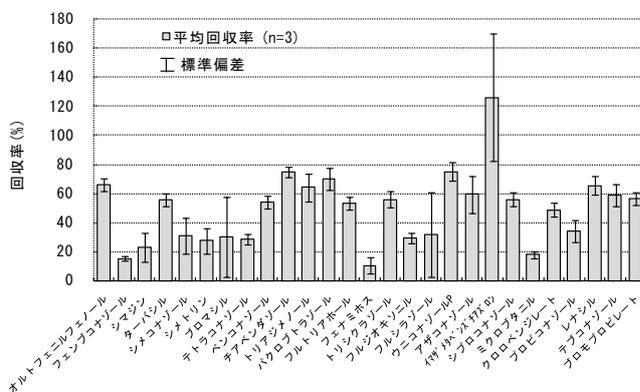


図2 MultisepPR 精製での CH₃CN 及び CH₃CN/トルエン(3/1) 溶出後に実施したメタノール分画の回収率

3.3 脱脂

畜水産物等脂肪含有量が多い品目から残留農薬を抽出する場合、野菜・果実等でのCH₃CN抽出とは異なり、試料親和性の良いアセトン/ヘキサン系での抽出をする必要がある。3.1及び3.2の検討においてはCH₃CN抽出液を対象に実施したため脱脂を必要としなかった。しかし、銀鮭及びうなぎ蒲焼きをアセトン/ヘキサン(1/1)抽出した場合、抽出液中の脂質は約13~14%(試料換算)であり、銀鮭からの抽出液を脱脂せずMultisep PRで精製した場合、CH₃CNを負荷・溶出溶媒とした精製では脱脂率が平均87%(n=3)、CH₃CN/トルエン(3/1)を負荷・溶出溶媒とした精製では脱脂率が平均59%(n=3)であった。これをGC/MS/MSで分析した場合、注入口やカラムの汚れを惹起するだけでなくイオン化促進/抑制などにより正確な測定ができないことから、Multisep PRによる精製を有効に行うためには脱脂が必要であった。そこで、Multisep PRによる精製前に、多検体同時に実施可能なCH₃CN/CH₃CN飽和ヘキサン分配による脱脂操作を行うこととした。この操作を加えることにより銀鮭及びうなぎ蒲焼きでのMultisep PR精製後の脱脂率は97%であった。

Multisep PR 精製では、抽出液をCH₃CN/CH₃CN飽和ヘキサン分配による脱脂後、CH₃CN5mlに濃縮して負荷しCH₃CN5ml、CH₃CN/トルエン(3/1)5ml、メタノール5mlの順で溶出することとした。

3.4 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、うなぎ蒲焼き及びあさりへの添加回収試験(試料換算:0.02ppm、添加後30分放置し試験)を実施した(表3)。この結果、回収率70%~120%及びRSD15%未満であった農薬は銀鮭で198農薬、うなぎ蒲焼きで261農薬、あさりで92農薬であった。加工品のうなぎでは加熱により代謝活性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、特に活あさりでは、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。この傾向は表2、図3及び図4に示すように有機リン系農薬、ピレスロイド系農薬、DDTなどに顕著であった。

4 まとめ

魚介類中の残留農薬一斉分析法について、CH₃CN/CH₃CN飽和ヘキサン分配による脱脂後、Multisep PRカラムによる精製法を検討した。

- 1) Multisep PRカラム精製では、負荷溶媒にCH₃CN5ml、溶出溶媒にCH₃CN5ml、CH₃CN/トルエン(3/1)5ml、メタノール5mlの順で使用することで脂肪酸エステル等の夾雑物を効果的に除去することができた。
- 2) 銀鮭及びうなぎ蒲焼きを分析対象としたアセトン/ヘキサン(1/1)抽出では、抽出液中の脂質は約13%~14%

であったが、本法により約97%の脱脂をすることができた。

3) 本法による添加回収試験では、加熱処理により代謝活性が低下したうなぎ蒲焼きでは約260種類の農薬を分析することが可能であった。一方、生鮮魚介類は代謝活性により添加した農薬が代謝分解されてしまう現象が認められ、この現象は特に活あさりで顕著であった。

表2 DDT及びその代謝物の添加回収率 (活あさり、各添加量; 試料換算0.02ppm)

	銀鮭		うなぎ蒲焼き		活あさり	
	平均回収率(%)	RSD(%)	平均回収率(%)	RSD(%)	平均回収率(%)	RSD(%)
p, p'-DDD	70	7.6	88	6.9	23	66
p, p'-DDE	85	8.5	84	8.6	110	12
o, p'-DDT	80	9.2	88	6.7	0.0	0.0
p, p'-DDT	75	17	84	5.0	5.7	87

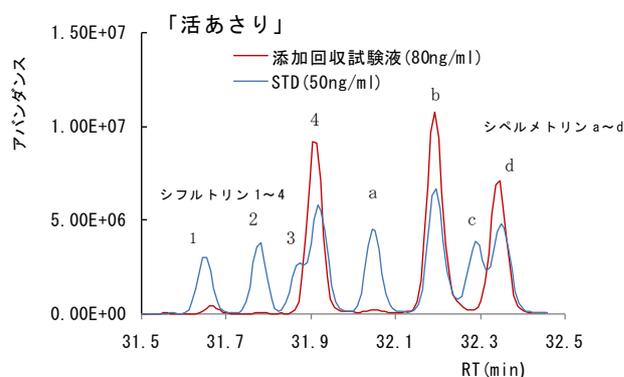


図3 添加回収試験でのシフルトリン及びシペルメトリンのIC (m/z 163>127)

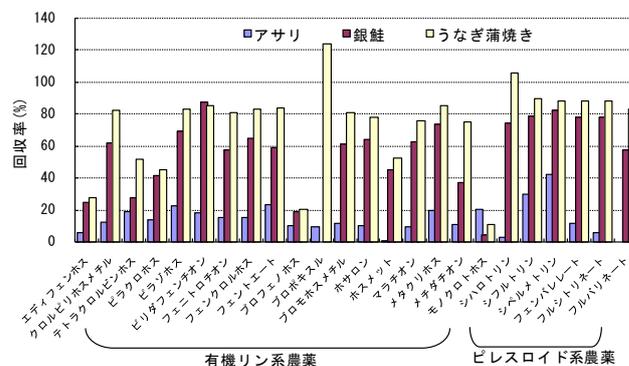


図4 添加回収試験での有機リン系農薬及びピレスロイド系農薬の回収率

5 参考文献

- 1) 氏家愛子, 佐藤信俊: 宮城県保健環境センター年報, 23, 55-59(2005).
- 2) 氏家愛子, 長谷部洋, 福原郁子, 濱名徹: 宮城県保健環境センター年報, 27, 107-112(2009).
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 “食品に残留する農薬, 飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について” 平成17年1月24日, 食安発第0124001号(2005).
- 4) 氏家愛子, 柳田則明: 宮城県保健環境センター年報, 24, 58-62(2006).
- 5) 氏家愛子, 長谷部洋, 柳田則明: 宮城県保健環境センター年報, 25, 58-61(2005)

表3 添加回収試験結果（銀鮭，うなぎ蒲焼き及び活あさり）

添加量：試料換算 0.02ppm, n=3

NO.	農薬名	銀鮭		うなぎ蒲焼き		活あさり		NO.	農薬名	銀鮭		うなぎ蒲焼き		活あさり	
		平均回収率 (%)	RSD (%)	平均回収率 (%)	RSD (%)	平均回収率 (%)	RSD (%)			平均回収率 (%)	RSD (%)	平均回収率 (%)	RSD (%)	平均回収率 (%)	RSD (%)
1	BHC	77	13	88	6.2	13	38	84	ジチオトル	88	5.9	92	5.3	70	26
2	DDT	77	8.6	86	6.5	47	31	85	シロトリン	74	11	110	13	3.2	110
3	EPN	80	17	86	6.6	20	81	86	シロホップブチル	100	10	79	19	0.0	-
4	EPTC	64	8.4	64	17	15	3.7	87	ジメチル	77	13	94	3.9	88	3.9
5	XMC	73	12	87	5.6	14	140	88	ジフェニルアミン	75	2.8	78	3.6	56	18
6	アクリナトリン	34	26	67	5.6	52	24	89	シロトリン	79	9.1	89	6.1	30	15
7	アザコナゾール	88	13	82	4.3	96	18	90	ジフルエニル	89	4.5	95	3.3	77	21
8	アセトクロール	91	6.3	91	5.7	60	38	91	ジプロパノール	69	5.9	81	5.4	41	7.5
9	アセフェート	66	32	0	-	0	-	92	シベキトリン	82	8.4	88	6.3	82	16
10	アトラジン	88	3.1	100	4.8	85	7.5	93	ジマジン	88	7.4	110	13	90	1.8
11	アミトラス	0	-	15	170	0	-	94	ジメチル	80	6.5	80	3.2	79	1.2
12	アマトリン	88	4.3	91	3.7	86	5.9	95	ジメチル	94	1.9	89	4.1	80	12
13	アケロール	85	7.8	93	8.9	57	42	96	ジメチル	88	20	84	5.6	23	51
14	アルドリ	67	11	68	4.2	50	24	97	ジメチル	38	36	53	11	29	20
15	アルスリン	99	2.0	88	12	73	22	98	ジメチル	94	2.7	90	5.4	71	22
16	イザゾホス	94	8.2	92	4.2	70	20	99	ジメチル	69	6.6	81	6.9	39	32
17	イキサチオン	71	30	85	12	31	61	100	シロトリン	83	6.3	89	4.1	96	0.6
18	イソフェンホス	77	4.2	92	1.7	78	19	101	ジメチル	83	4.2	91	3.4	79	20
19	イブ ロカルブ	77	11	88	5.1	0	-	102	シロトリン	92	12	75	14	63	19
20	イブ ロチオン	87	1.9	93	3.2	84	12	103	メタリック (MCC)	81	6.8	87	6.0	67	22
21	イブ ロベンホス	85	1.5	91	5.3	82	8.5	104	スルホ	61	9.4	80	2.4	52	29
22	イザゾメタベンズメチルエステル	84	12	77	4.2	45	43	105	チロ	68	6.9	60	5.1	95	19
23	イザゾリル	84	1.4	89	4.0	83	11	106	イソ	83	7.0	91	7.1	68	23
24	イザゾスルホ	63	6.3	47	15	69	34	107	チロ	73	21	71	0.4	94	26
25	イソナフア	99	3.9	91	4.4	71	32	108	チロ	98	6.7	89	4.5	80	16
26	ウニコナゾールP	67	3.4	80	2.6	77	0	109	チロ	69	10	79	4.7	35	32
27	エス ロカルブ	83	4.9	91	3.8	75	21	110	チロ	53	8.4	48	91	48	7.5
28	エンタルリン	84	8.3	81	7.8	56	20	111	チロ	80	10	94	2.4	72	21
29	エチオン	76	21	90	7.0	43	43	112	チロ	80	8.3	88	7.9	34	55
30	エチロピート	74	8.6	75	7.3	56	8.8	113	チロ	27	90	52	14	19	60
31	エチロフェンホス	25	28	28	16	5.8	27	114	チロ	95	9.1	89	4.5	86	0.5
32	エチロチロ	84	5.7	89	0.7	77	19	115	チロ	85	1.2	91	3.7	69	32
33	エトメセト	85	1.8	90	4.5	85	11	116	チロ	86	3.8	89	3.8	50	52
34	エトピロホス	87	1.9	86	5.1	65	14	117	チロ	82	6.1	80	4.6	79	5.0
35	エトリゾアゾール	79	9.1	74	9.3	13	61	118	チロ	89	4.2	86	7.5	45	140
36	エトリムホス	79	18	89	9.1	43	36	119	チロ	81	8.0	94	3.6	76	24
37	エホコチロ	77	10	77	16	79	13	120	チロ	57	17	78	11	49	49
38	エンドスルホ	85	5.9	89	5.6	63	37	121	チロ	88	2.5	85	5.3	82	11
39	エンドリン	83	4.5	96	3.3	73	27	122	チロ	67	4.9	78	5.7	79	10
40	オキサジン	84	3.5	97	2.8	78	22	123	チロ	91	4.4	91	6.7	85	7.3
41	オキサジキシル	91	25	86	6.0	110	23	124	チロ	73	20	86	7.0	30	50
42	オキサトリニル	76	8.5	5.9	24	3.1	140	125	チロ	79	6.7	85	4.0	65	28
43	オキシメチル	88	6.5	92	4.8	81	19	126	チロ	71	19	71	2.5	100	29
44	オルトフェニル	71	1.3	76	9.3	56	3	127	チロ	63	5.7	68	6.2	70	22
45	オキサホス	82	5.4	89	4.3	67	21	128	チロ	56	5.6	57	6.6	21	110
46	カフェンストロ	77	8.1	84	3.7	6.6	140	129	チロ	91	8.7	90	4.1	60	38
47	カメフエントラジエチル	90	4.9	89	6.8	35	76	130	チロ	87	1.3	92	1.9	82	14
48	カルベタミド	79	12	81	8.8	46	46	131	チロ	3.1	58	21	24	49	3.8
49	カルベキシン	32	23	45	14	35	6.1	132	チロ	74	17	92	7.2	45	34
50	カルベフェノチオン	77	20	93	10	47	42	133	チロ	77	2.8	82	3.6	0.0	-
51	カルベフラン	67	17	93	5.3	26	120	134	チロ	91	1.6	92	5.8	88	8.0
52	キルホス	82	18	89	10	52	32	135	チロ	87	5.2	91	4.3	72	31
53	キノキサフェン	92	6.5	88	5.5	80	17	136	チロ	93	6.1	88	6.0	81	19
54	キノキサリン	71	13	85	4.6	0.0	-	137	チロ	82	15	89	2.8	96	12
55	キントベン	78	8.7	86	8.4	0.0	-	138	チロ	76	6.8	83	1.8	80	6.0
56	クロキシル	83	0.8	99	1.3	75	15	139	チロ	17	33	38	3.5	0.0	-
57	クロマジン	96	1.6	89	5.2	78	7.5	140	チロ	78	11	87	6.5	50	33
58	クロメキシニル (X-52)	86	3.2	91	0.6	81	14	141	チロ	74	19	87	8.0	44	37
59	クロリダジン	71	21	51	19	45	47	142	チロ	78	8.7	88	4.4	65	35
60	クロルメチル	84	6.0	96	2.3	73	23	143	チロ	81	1.0	93	0.4	64	40
61	クロルピ	74	5.5	91	1.5	72	38	144	チロ	80	8.2	90	3.2	75	23
62	クロルニトロフェン (CNP)	85	4.9	89	2.2	78	22	145	チロ	95	7.2	91	5.0	80	19
63	クロルピ	80	14	92	3.3	47	34	146	チロ	84	15	90	6.2	59	31
64	クロルピ	62	27	82	11	12	58	147	チロ	42	22	45	11	14	57
65	クロルフェニル	72	18	82	12	49	57	148	チロ	69	19	83	7.8	22	62
66	クロルフェン	92	4.3	85	7.7	56	6.8	149	チロ	93	1.6	90	5.1	80	13
67	クロルフェン	78	6.9	83	5.6	66	17	150	チロ	87	2.0	85	11	18	67
68	クロルピ	81	3.9	82	7.1	50	29	151	チロ	81	3.6	88	1.6	73	25
69	クロルピ	84	5.3	91	4.7	75	21	152	チロ	78	5.4	87	2.4	83	7.8
70	クロルピ	77	4.5	86	2.6	74	19	153	チロ	86	4.1	90	3.0	80	20
71	クロルピ	0.0	-	22	170	0.0	-	154	チロ	82	6.2	89	4.8	83	15
72	クロルピ	91	3.2	85	5.9	42	27	155	チロ	90	4.5	93	2.1	89	3.1
73	クロルピ	64	6.0	65	5.4	58	11	156	チロ	76	15	93	5.3	53	29
74	ジナジン	75	6.0	85	10	68	11	157	チロ	83	5.6	91	5.6	84	9.3
75	ジメチル	76	9.0	92	5.9	51	33	158	チロ	48	87	86	8.1	50	25
76	ジメチル	70	27	83	13	21	44	159	チロ	92	15	88	2.8	100	20
77	ジメチル	78	9.4	65	9.8	68	12	160	チロ	89	5.9	88	4.6	67	27
78	ジメチル	0.0	-	0.0	-	8.5	170	161	チロ	36	47	89	11	15	98
79	ジメチル	95	6.1	90	5.1	76	17	162	チロ	66	12	87	10	70	5.5
80	ジメチル	88	2.3	87	4.6	86	11	163	チロ	61	15	76	4.8	79	7.7
81	ジメチル	10	16	9	19	3.1	10	164	チロ	84	6.6	83	4.6	88	0.9
82	ジメチル	83	3.9	82	7.3	80	18	165	チロ	57	41	81	13	15	110
83	ジメチル	70	3.6	84	2.4	51	29	166	チロ	86	1.5	95	0.7	76	19

注) GC/MS 分析対象農薬：NO. 1~NO. 252， LC/MS/MS 分析対象農薬：NO. 253~NO. 332

表3 続き

NO.	農産名	銀鮭		うなぎ蒲焼き		活あさり		NO.	農産名	銀鮭		うなぎ蒲焼き		活あさり	
		平均回収率(%)	RSD(%)	平均回収率(%)	RSD(%)	平均回収率(%)	RSD(%)			平均回収率(%)	RSD(%)	平均回収率(%)	RSD(%)	平均回収率(%)	RSD(%)
167	フェノキサブ' ロップ' エチル	84	2.5	85	5.8	63	39	250	モノクロト素	4.7	170	11	12	20	17
168	フェノキカルブ	88	4.4	92	6.1	75	0.5	251	モノネート	78	4.6	82	8.7	38	30
169	フェノキカルブ	86	1.2	91	3.9	82	14	252	レナル	65	8.5	72	2.6	86	18
170	フェノトリソ	88	8.2	90	1.3	78	26	253	アセチン' リド'	79	21	69	0.5	92	15
171	フェノクロト素	65	30	83	11	15	51	254	アセチン' カルブ'	54	13	69	2.9	58	11
172	フェノスルホキサリン	78	19	88	4.3	47	10	255	アセチン' カルブ'	77	11	68	8.6	82	10
173	フェノチオン	71	18	84	5.7	38	38	256	アセチン' カルブ' スルホキソン'	91	33	55	1.6	77	18
174	フェノトエート	59	41	84	11	23	53	257	アセチン' カルブ' スルホキソン'	20	32	6.7	6.5	36	100
175	フェノバ' レート	78	13	88	5.9	12	140	258	アセチン' カルブ'	90	6.4	110	5.7	86	15
176	フェノア' コナゾ' ル	84	14	82	4.4	91	5	259	アセチン' ホス' マチル'	57	13	140	4.9	65	11
177	フェノア' ロバ' トリン	98	8.2	89	4.5	47	76	260	アセチン' キスト' ロビ' ン	86	9.0	84	6.7	92	8.5
178	フェノア' ロビ' モルブ'	55	7.2	57	1.7	63	25	261	ベン' ジ' イカルブ'	72	39	98	5.5	42	110
179	アサリ' ム'	64	10	79	2.6	6.8	35	262	ベン' シ' リド'	90	5.0	82	11	75	7.4
180	ア' タクロー' ル	81	11	92	3.3	58	42	263	ベン' ジ' フェナ' ップ'	64	5.1	95	3.8	66	23
181	ア' タミ' ス	86	5.2	93	3.1	67	29	264	ビ' チル' ター' ル	65	5.6	82	8.4	67	3.6
182	ア' チ' レート	61	12	61	9.4	16	27	265	ア' タエ' タシ' ル	67	26	80	2.0	65	33
183	ア' ビ' リ' マート	92	2.5	89	4.6	85	15	266	カ' マ' リ' ル	61	29	74	3.2	32	140
184	ア' ブ' ロ' フェ' ジ' ン	89	6.6	90	5.6	81	21	267	カ' ロ' カ' ル' ア' ス' ロ' ン	37	21	61	4.0	31	33
185	ア' マ' タ' カ' ル' ブ'	79	7.5	81	5.1	26	110	268	カ' ロ' マ' フェ' ジ' ン' ド'	88	8.0	73	12	120	7.4
186	ア' マ' ム' ロ' ッ' プ' メ' チ' ル	87	0.8	90	5.3	84	10	269	カ' ロ' フェ' ジ' ン	25	66	87	5.6	0.0	-
187	ア' マ' ト' ビ' ル	86	12	89	1.3	97	11	270	カ' ロ' マ' ム' ロ' ッ' プ'	47	28	81	10	71	17
188	カ' マ' ア' リ' ビ' リ' ム	94	6.5	92	4.6	79	17	271	カ' ロ' キ' ム' セ' ッ' ト' 1-メ' チ' ル' ヘ' キ' ル' エ' ス' テ' ル	84	20	97	7.3	93	19
189	カ' マ' ジ' オ' キ' ソ' ニ' ル	86	6.0	85	1.7	73	1.7	272	カ' マ' ル' ロ' ン	82	2.7	78	3.3	86	5.9
190	カ' マ' ト' リ' ネ' ト	78	9.7	88	6.5	6.2	140	273	シ' カ' ル' マ' ナ' ミ' ト'	57	11	89	5.9	68	19
191	カ' マ' ラ' ッ' プ' ル	85	4.5	85	5.7	81	7.9	274	シ' モ' キ' ム' ニ' ル	0.0	-	0.0	-	0.0	-
192	カ' マ' ト' ニ' ル	94	3.9	91	4.8	84	7.6	275	シ' ム' ロ' ジ' ニ' ル	80	4.5	86	4.6	79	13
193	カ' マ' ト' リ' ア' ケ' ル	76	19	74	4.4	90	27	276	テ' ス' タ' イ' フ' ア' ム	12	110	38	6.3	0.0	-
194	カ' マ' リ' ネ' ト	58	34	83	11	0.0	-	277	シ' ト' エ' ッ' プ' カ' ル' ブ'	83	5.6	78	6.2	83	10
195	カ' マ' ト' キ' サ' ジ' ン	78	14	74	2.9	43	37	278	シ' ム' ノ' コ' ナ' ゴ' ル	72	5.0	78	1.4	78	4.8
196	カ' マ' ミ' ク' ロ' マ' ッ' ク' ケ' ム' ン' チ' ル	77	4.2	71	3.2	39	55	279	シ' ム' フ' ル' ベ' ン' ス' ロ' ン	59	8.4	66	5.9	53	11
197	ア' レ' チ' ク' ロ' ル	85	10	89	6.3	50	59	280	シ' ム' ト' モ' ル' フ'	82	16	77	6.2	96	13
198	ア' ロ' ミ' ト' ン	85	2.5	91	6.4	80	17	281	シ' ム' ジ' ム' ロ' ン	100	9.3	98	6.2	100	6.2
199	ア' ロ' チ' オ' ル' ス	76	17	86	7.8	51	38	282	ダ' イ' ム' ロ' ン	100	6.9	94	5.1	97	9.2
200	ア' ロ' バ' ク' ロ' ル	92	2.2	85	6.6	53	31	283	エ' オ' フェ' ン' カ' ル' ブ'	58	27	88	18	46	58
201	ア' ロ' バ' ジ' ン	96	2.8	99	5.1	83	12	284	エ' ト' フェ' ン' ム' ロ' ッ' ク' ス	54	13	91	5.5	88	34
202	ア' ロ' バ' ニ' ル	92	7.4	93	4.5	91	2.9	285	エ' チ' ム' ロ' ル	130	20	85	9.5	100	14
203	ア' ロ' バ' キ' ス	67	3.7	81	2.9	68	10	286	エ' ト' ベ' ン' ザ' ニ' ド'	54	9.5	78	4.8	71	11
204	ア' ロ' バ' ル' キ' ッ' ト	92	12	87	5.3	57	38	287	ア' マ' モ' タ' ド' ン	72	3.5	100	5.5	80	4.0
205	ア' ロ' ビ' コ' ナ' ゴ' ル	84	1.4	88	1.3	83	6.0	288	ア' マ' ト' カ' ル' ブ'	87	3.9	85	3.0	78	13
206	ア' ロ' ビ' ザ' ミ' ド'	87	4.0	93	5.7	81	15	289	ア' マ' ビ' ロ' キ' シ' マ' ト'	51	19	86	3.0	63	22
207	ア' ロ' ヴ' ェ' ル' ス	19	12	21	8.8	10	42	290	ア' マ' リ' ム' ジ' ン	61	3.7	68	2.8	72	8.7
208	ア' ロ' ヴ' タ' ン' ス	91	6.5	92	5.5	52	51	291	ア' マ' リ' ム' ナ' ム	87	0.4	91	1.8	79	18
209	ア' ロ' ヴ' キ' ス' ル	0.0	-	120	98	10	140	292	ア' マ' リ' ム' ノ' ク' ス' ロ' ン	77	11	70	8.0	49	12
210	ア' ロ' ヴ' シ' ル	90	25	63	3.8	92	2.6	293	ア' マ' リ' ム' ノ' コ' ナ' ゴ' ル	52	22	74	5.6	48	52
211	ア' ロ' ト' リ' ソ	84	0.9	90	4.5	82	14	294	ア' マ' リ' ム' ド' ン	82	4.6	80	3.9	88	2.2
212	ア' ロ' ト' ソ' ン	98	4.5	91	3.2	90	0.5	295	ア' マ' リ' ム' ノ' ク' ス' ロ' ン	37	16	57	7.6	32	39
213	ア' ロ' ヴ' ム' プ' ト'	87	3.6	90	4.8	74	24	296	ア' マ' リ' ム' ノ' ク' ス' ロ' ン	42	26	86	6.7	76	25
214	ア' ロ' ヴ' ム' プ' ロ' ビ' レ' ート	65	7.2	69	1.3	61	11	297	イ' ス' ベ' ン' コ' ナ' ゴ' ル	52	22	81	0.8	77	14
215	ア' ロ' ヴ' ム' ス' エ' チ' ル	71	9.0	81	8.1	65	15	298	イ' ス' ベ' ン' ク' ロ' ム' リ' ド'	77	28	67	7.1	94	28
216	ア' ロ' ヴ' ム' ス' マ' チ' ル	61	36	81	17	12	60	299	イ' ス' ベ' ン' フ' ィ' ッ' ト'	80	9.5	62	4.1	62	21
217	ア' キ' ム' カ' ロ' ベ' ン' セ' ン	55	12	58	5.2	36	28	300	イ' ス' ベ' ン' キ' ム' カ' ル' ブ'	73	7.7	85	7.0	83	6.5
218	ア' キ' ム' コ' ナ' ゴ' ル	87	4.4	91	2.0	78	20	301	イ' ム' ロ' ジ' オ' ン	38	17	53	5.7	53	4.4
219	ア' キ' ム' ジ' ン	95	29	83	4.5	112	27	302	イ' ム' ロ' バ' リ' カ' ル' ブ'	96	14	87	6.5	110	10
220	ア' ナ' ラ' キ' シ' ル	94	1.8	91	5.8	87	2.1	303	イ' ム' ロ' ト' エ' ン	70	9.4	98	3.9	78	17
221	ア' ナ' ノ' キ' ム' ニ' ル	88	5.5	91	3.2	41	54	304	イ' ム' ロ' ニ' ム' ロ' ン	85	7.1	79	2.4	82	10
222	ア' ナ' タ' ク' ロ' ル' (ア' ナ' タ' ク' ロ' ル' エ' ル' キ' ム' ト' 倉)	77	6.1	88	2.9	64	25	305	イ' ム' ロ' ス' ロ' ン	70	12	75	5.7	71	7.0
223	ア' ナ' ト' リ' ソ	82	6.1	87	3.6	76	23	306	イ' ム' ベ' ン' ス' タ' イ' フ' ア' ム' ロ' ン	110	16	120	25	110	3.9
224	ア' ナ' ノ' コ' ナ' ゴ' ル	89	4.3	88	2.7	82	6.6	307	イ' ム' ミ' ト' ス' エ' ル	0.0	-	0.0	-	17	130
225	ア' ナ' テ' イ' マ' リ' ソ	83	6.6	89	3.1	73	25	308	イ' ム' オ' カ' ル' ブ'	0.0	-	0.0	-	0.0	-
226	ア' ナ' ト' キ' サ' ジ' ン	82	4.2	84	5.6	59	39	309	イ' ム' ミ' ル	100	18	130	3.0	150	17
227	ア' ナ' フ' ラ' カ' ル' ブ'	74	6.4	79	6.4	23	120	310	イ' ム' キ' ム' フェ' ジ' ン' ド'	72	2.7	71	2.8	78	11
228	ア' ナ' フ' ル' マ' リ' ソ	81	6.2	91	3.8	61	39	311	イ' ム' ロ' ア' ニ' リ' ド'	59	8.3	76	6.6	76	17
229	ア' ナ' フ' レ' セ' ート	87	2.4	92	3.6	84	8.1	312	イ' ム' ト' エ' ート	6	47	2.6	4.0	15	120
230	イ' タ' ク' ロ' ン	64	34	78	18	10	86	313	イ' ム' サ' リ' ン	100	10	32	1.2	27	140
231	イ' タ' ク' ア' ビ' ート	44	12	50	7.0	52	17	314	イ' ム' サ' シ' ル	100	46	74	3.7	85	16
232	イ' タ' フ' ア' ミ' ド' ン	19	59	35	10	31	25	315	イ' ム' ノ' ク' ロ' ン	68	12	88	2.8	86	13
233	イ' タ' ス' マ' ッ' ト	45	29	53	26	0.9	140	316	イ' ム' ノ' コ' ナ' ゴ' ル' イ' フ' ア' ム	14	88	42	7.3	0.0	-
234	イ' タ' ス' エ' ル	87	4.9	90	3.7	65	24	317	イ' ム' ト' ル' ム	65	13	78	8.0	68	17
235	イ' タ' ス' エ' ル' ート	84	6.9	85	4.1	53	31	318	イ' ム' リ' ミ' カ' ル' ブ'	73	3.2	78	1.4	76	3.7
236	イ' タ' ク' オ' ン	63	34	76	14	9	80	319	イ' ム' ト' ロ' ジ' ン	110	34	24	2.9	76	22
237	イ' タ' ク' ロ' タ' ニ' ル	88	7.0	91	1.3	90	0.2	320	イ' ム' ム' ラ' ム' キ' ム' フェ' ン	67	4.4	81	2.5	75	4.8
238	イ' タ' カ' ル' ハ' ム	63	6.8	84	6.1	41	65	321	イ' ム' リ' ム' タ' リ' ド'	69	2.8	73	6.0	73	11
239	イ' タ' ク' リ' ス' エ' ル	74	11	85	20	19	35	322	イ' ム' リ' ミ' ジ' ム' フェ' ン	49	36	81	2.5	57	5.8
240	イ' タ' ク' シ' ル	79	5.3	91	3.7	96	7.8	323	イ' ム' サ' ロ' ム' ム' プ' エ' チ' ル	61	13	97	7.7	73	12
241	イ' タ' ク' ア' オ' ン	37	81	75	21	11	69	324	イ' ム' フ' ル' オ' フェ' ン	31	12	96	9.1	110	36
242	イ' タ' キ' ム' ク' ロ' ル	84	4.9	91	1.8	37	65	325	イ' ム' ノ' ム' ド'	77	3.1	81	2.2	78	10
243	イ' タ' ミ' ス' ト' ロ' ビ' ン	92	11	91	3.0	190	7.1	326	イ' ム' ム' フェ' ジ' ン' ド'	78	4.0	83	4.7	81	11
244	イ' タ' ラ' ク' ロ' ル	87	1.7	91	4.9	73	24	327	イ' ム' フ' ル' ベ' ン' ス' ロ' ン	42	29	66	7.1	46	21
245	イ' タ' リ' ム' ジ' ン	95	4.6	86	2.2	75	12	328	イ' ム' ル' ム' ス' エ' ル	66	22	90	6.2	63	20
246	イ' タ' フ' オ' ス	33	30	27	6.5	30	42	329	イ' ム' ク' ロ' ム' リ' ド'	46	8.8	47	7.0	66	13
247	イ' タ' フ' オ' セ' ッ' ト	84	3.3	89	2.2	73	8.8	330	イ' ム' ト' キ' ム' ナ' ム	76	27	59	31	98	18
248	イ' タ' フェ' ン' ビ' ル' ジ' エ' チ' ル	74	13	87	9.7	75	5.9	331	イ' タ' ジ' カ' ル' ブ'	0.0	-	0.0	-	0.0	-
249	イ' タ' フ' ロ' ニ' ル	87	1.1	88	4.5	82	11	332	イ' ム' ベ' ン' ス' ロ' ン' メ' チ' ル	94	21	69	9.4	85	19

天然着色料の分析

Studies on Qualitative Analysis of Natural Food Colors in Foods

千葉 美子 山口 友美 平本 都香
柳 茂 齋藤 善則 濱名 徹

Yoshiko CHIBA, Yumi YAMAGUCHI, Kunika HIRAMOTO
Shigeru YANAGI, Yoshinori SAITO, Toru HAMANA

食品中の 10 種類の天然着色料を定性的に分析する試験法の確立を目的として、固相抽出法による精製後、LC/MS による分析法を検討した。試料に水を加えて超音波処理することにより試料中の色素を抽出し、Oasis HLB カートリッジに負荷した。次いでカートリッジを水で洗浄し、メタノールで色素を溶出した後、その溶出液を減圧下で濃縮乾固し、50%メタノールに溶解後、適宜希釈して LC/MS により定性を行った。清涼飲料を用いた添加回収試験では、対象とした 10 色素すべて 50%以上の回収率であった。本法を用いて市販食品中の天然着色料を分析したところ、良好な結果が得られたことから本法は実用的な方法と考えられる。

キーワード：既存添加物；天然着色料；高速液体クロマトグラフィー／質量分析法

Key words : existing food additives ; natural food colors ;

HPLC/mass spectrometry (LC/MS)

1 はじめに

着色料は、食品添加物の一つとして今や欠かせないものとなっている。このうち天然着色料は、消費者の“食の安全”に対する意識の高まりにより、多様な食品に高頻度で使用される傾向にあり、近年は使用量が大幅に伸びている。

天然着色料は、天然物由来で長年使用されてきた実績があるものとして既存添加物名簿に記載され、添加物として使用が認められている。しかし、化学的に合成された指定添加物とは異なり、毒性検査等に時間を要しているものもあることから、すべての天然着色料の安全性が科学的に確認されているわけではなく、ラック色素やコチニール色素など一部の色素では、アレルギー発症事例も報告¹⁾されている。

厚生労働省は、既存添加物について順次、食品健康影響評価を進めており、平成 16 年 7 月には幅広い食品群に対して使用されていた「アカネ色素」が、動物実験で高い発がん性が認められたため名簿から削除された²⁾。また、平成 19 年 3 月には、通知³⁾によりクチナシ色素等の一部の既存添加物にも規格を設定し、「第 8 版食品添加物公定書」にそれらの規格基準が収載された。

天然着色料は複数の色素成分から成り、不安定で分解しやすいものが多いうえ、原料の産地によりその成分組成が異なる。これらの色素の分析についてはこれまで種々の報告^{4)~10)}があるが、その大半が 1 ないし数種類の色素の定量を中心とした方法で、測定に使用する分析機器も多岐にわたっている。

そこで、10 種の天然着色料を定性的に簡便に分析することを目的とし、分析方法を検討したので、その

結果について報告する。

2 方法

2.1 分析対象色素

市販食品において使用頻度の高い天然着色料のうち、ADI（一日摂取許容量）が設定されているクチナシ青色素、クチナシ黄色素、ベニバナ黄色素、ウコン色素、ブドウ果皮色素、モナスカス（紅麴）色素、アナトー色素、カラメルⅢ色素、カラメルⅣ色素、アレルギー誘発の原因として疑いの持たれている、コチニール色素、ラック色素、既存添加物より消除されたアカネ色素について検討を行った。

2.2 試料

市販されていた食品のうち、天然着色料の使用表示があった漬物 3 件、飴 5 件、ガム 4 件、チョコレート 1 件、ゼリー 2 件、清涼飲料水 11 件を用いた。

2.3 標準品

アナトー色素、モナスカス色素、グレープスキニン色素（ブドウ果皮色素）は、和光純薬工業(株)製食品添加物試験用、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)製食品分析用、カラメルⅢ色素、カラメルⅣ色素、コチニール色素は、関東化学(株)製特級、クルクミン（ウコン色素）、アリザリン（アカネ色素）は、和光純薬工業(株)製特級、ガーデニアブルー（クチナシ青色素）は、東洋インキ製造(株)製を使用した。

2.4 試薬

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

2.5 装置及び測定条件

LC及びMS条件を表1及び表2に、また、その条件により得られた標準溶液のLC/MSクロマトグラムを図1、図2、図3、図4に示した。

表1 LC測定条件

Agilent 1100 Series LC/MSD	
カラム:	Symmetry C18 (Waters) 3.5µm(150×2.1mm)
移動相:	A:1%ギ酸・B:アセトニトリル、グラジエント
流速:	0.2mL/min
カラム温度:	40°C
注入量:	5µL

表2 MS測定条件

分析条件	移動相グラジエント条件	MS条件	色素	指標成分	モニターイオン(m/z)
①	A/B 90/10 (0min) ↓ 50/50 (10min) ↓ 25/75 (20min)	イオン化法 ESI, Negative フラグメンター電圧 160V ネブライザーガス N ₂ , 40psi 乾燥ガス N ₂ , 12.0L/min 乾燥ガス温度 350°C キャピラリー電圧 4,500V	クチナシ青 クチナシ黄 ベニバナ黄	geniposide genipin geniposide genipin crocin safflomin A safflomin B	433[M-H+HCOOH] ⁻ 225[M-H] ⁻ 433[M-H+HCOOH] ⁻ 225[M-H] ⁻ 975[M-H] ⁻ 611[M-H] ⁻ 1043[M-H·H ₂ O] ⁻
	A/B 90/10 (0min) ↓ 50/50 (10min) ↓ 25/75 (20min) ↓ 25/75 (25min)	イオン化法 ESI, Negative フラグメンター電圧 100V ネブライザーガス N ₂ , 40psi 乾燥ガス N ₂ , 12.0L/min 乾燥ガス温度 350°C キャピラリー電圧 4,000V	コチニール ラック ウコン アカネ	carminic acid laccaic acid A laccaic acid B laccaic acid C curcumin demethoxycurcumin alizarin	491[M-H] ⁻ 536[M-H] ⁻ 538[M-H] ⁻ 495[M-H] ⁻ 367[M-H] ⁻ 337[M-H] ⁻ 239[M-H] ⁻
	A/B 90/10 (0min) ↓ 50/50 (10min) ↓ 25/75 (20min)	イオン化法 ESI, Positive フラグメンター電圧 60V ネブライザーガス N ₂ , 40psi 乾燥ガス N ₂ , 12.0L/min 乾燥ガス温度 350°C キャピラリー電圧 4,000V	ブドウ果皮 クチナシ黄	malvidin-3-Glu peonidin-3-Glu petunidin-3-Glu crocin	493[M+H] ⁺ 463[M+H] ⁺ 479[M+H] ⁺ 999[M+Na] ⁺
④	A/B 75/25 (0min) ↓ 50/50 (10min) ↓ 15/85 (20min) ↓ 15/85 (25min)	イオン化法 ESI, Positive フラグメンター電圧 140V ネブライザーガス N ₂ , 40psi 乾燥ガス N ₂ , 12.0L/min 乾燥ガス温度 350°C キャピラリー電圧 4,500V	アナトー モナスカス	norbixin rubropunctatin monascin monascorubrin ankaflavin	381[M+H] ⁺ 357[M+H] ⁺ 359[M+H] ⁺ 385[M+H] ⁺ 386[M+H] ⁺

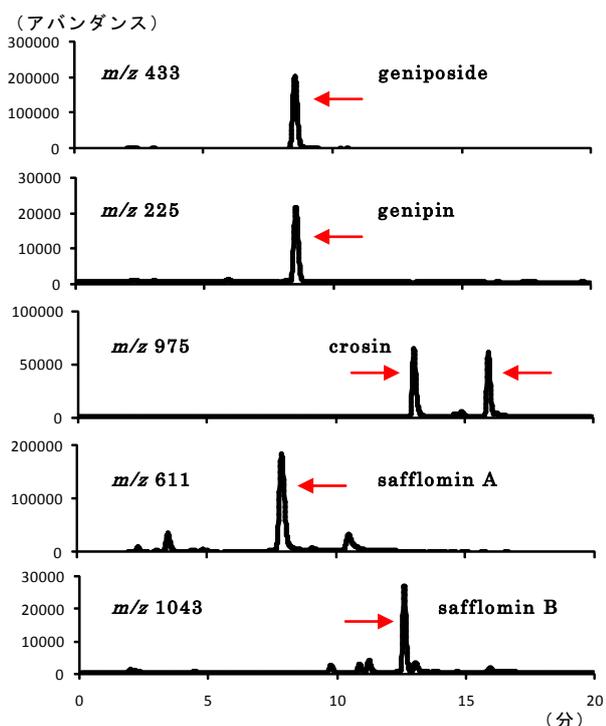


図1 分析条件①における標準溶液のクロマトグラム

2.6 試料溶液の調整

試料（飴は粉碎後、その他の試料は均一化したもの）3～5gを遠沈管に量り、精製水10～20mlを加えて超音波処理し、色素を抽出・溶解させた。この溶液を遠心分離（2,500rpm, 10min）し、上清をOasis HLBカートリッジに全量負荷した。カートリッジを精製水20mlで洗浄後、メタノール30mlを用いて色素を完全に溶出させた。溶出液を50°C以下で減圧濃縮乾固し、残渣を50%メタノールに溶解し、0.20µmのメンブランフィルターでろ過、適宜希釈して試料溶液とした。

3 結果及び考察

3.1 分析法の検討

3.1.1 抽出溶媒の検討

分析対象とした天然着色料の多くが酸性下で安定であったことから、抽出溶媒として0.1%ギ酸及び水を用いて検討を行った。アントシアニン系のブドウ果皮色素では水より0.1%ギ酸水溶液で抽出率が向上したが、アナトー色素やモナスカス色素など他の色素の抽出率が低下した。今回用いた試料からの抽出には、水のみ抽出の方が全体の抽出率が良好であった。

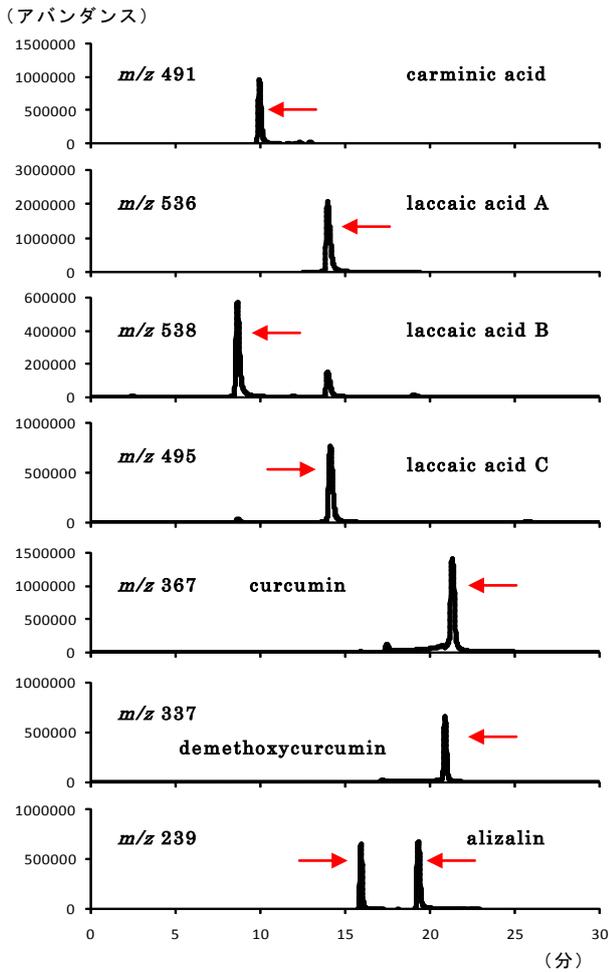


図2 分析条件②における標準溶液のクロマトグラム

3.1.2 精製法の検討

精製法は、操作の簡易性及び迅速性を考慮して固相抽出法を採用することとし、精製用カートリッジとして、Waters社製 Sep-Pak Vac C8(200mg), Sep-Pak Plus Short C18(360mg), Oasis HLB(200mg, 500mg), Oasis MAX(150mg)を使用前にメタノール 10ml 及び精製水 10ml でコンディショニングしたものをを用いて検討を行った。その結果 C8 では保持力が弱く、また MAX ではカラムに吸着したまま溶出できない色素があった。C18 及び HLB は共に回収率が 50%を超え、ほぼ同等の結果が得られたが、比較的少量の溶媒で溶出が可能なポリマー系の HLB カートリッジを用いることとした。また、HLB カートリッジの充填量による差は認められなかった。

3.1.3 LC/MS 測定条件の検討

安定した分析条件を保つため移動相は酸性とし、ピーク形状や感度を考慮してギ酸を用いることにした。

次にアセトニトリルとのグラジエント溶出とするため、その溶液濃度について検討した。A液：0.1%ギ酸、B液：0.1%ギ酸-アセトニトリルでのグラジエント溶出では、検出が困難なピークがあり、A液：0.2%ギ酸、

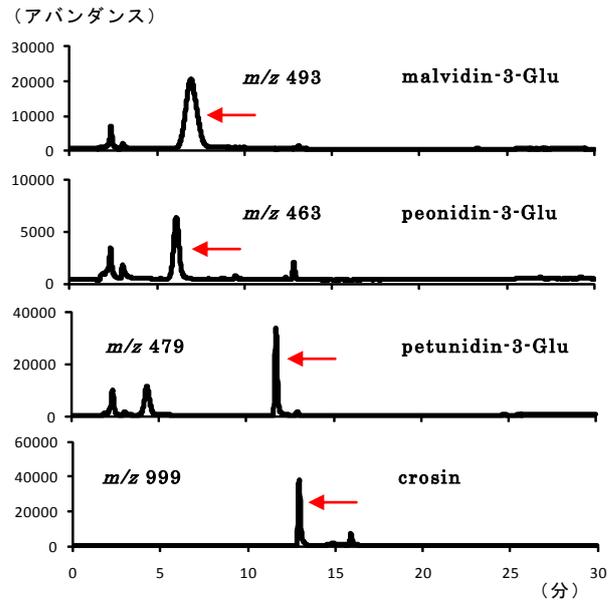


図3 分析条件③における標準溶液のクロマトグラム

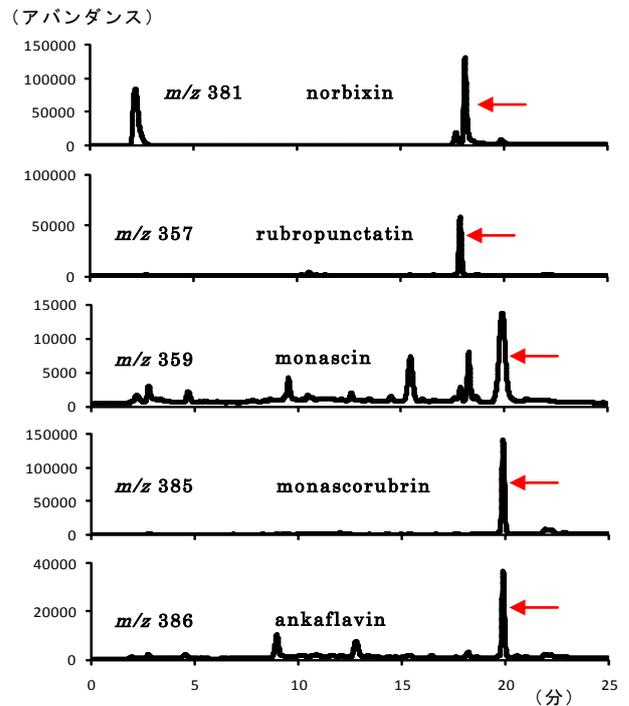


図4 分析条件④における標準溶液のクロマトグラム

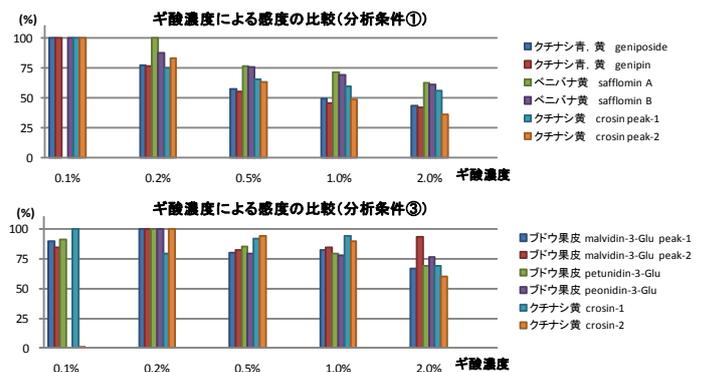


図5 移動相(ギ酸)濃度による感度の比較

B液：0.5%ギ酸-アセトニトリル以上は濃度が上昇

するにつれピークの分離は良くなったが感度の低下が見られた(図5)。グラジェント溶出の移動相B液にアセトニトリルを用いるため、分析条件④でモナスカ色素の指標成分ピークが出現する20分まで、移動相のギ酸濃度を0.2%付近に保てるよう、移動相A液のギ酸濃度を1%とし、アセトニトリルとのグラジェント分析とした。

また、ベニバナ黄色素は、サフロミンA (safflomin A) 及びサフロミンB (safflomin B) を指標成分とした。コチニール色素は、カルミン酸 (carminic acid) を、ラック色素は、ラッカイン酸A (laccaic acid A) , ラッカイン酸B (laccaic acid B) 及びラッカイン酸C (laccaic acid C) を、ウコン色素は、クルクミン (curcumin) 及びデメトキシクルクミン (demethoxycurcumin) を、アカネ色素はアリザリン (alizarin) を指標成分とした。ブドウ果皮色素は、マルビジン-3-グルコシド (malvidin-3-Glu) , ペオニジン-3-グルコシド (peonidin-3-Glu) 及びペツニジン-3-グルコシド (petunidin-3-Glu) を指標成分とした。アナトー色素は、ノルビキシン (norbixin) を、モナスカ色素は、ルブロパンクタチン (rubropunctatin) , モナスシン (monascin) , モナスコルブリン (monascorubrin) 及びアンカフラビン (ankaflavin) を指標成分として、それぞれの色素でMSの最適測定条件の検討を行った。しかし、構造式、分子量共に不明であるカラメル色素については、指標成分のターゲットイオンを確定できなかったため、カラメル色素を除く10色素の定性分析条件を決定した。

3.2 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、対象とした色素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。対象色素とその指標成分について、回収率及び変動係数を表3に示した。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3 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	crosin	79	0.8
	safflomin A	75	3.4
ベニバナ黄	safflomin B	68	1.4
	malvidin-3-Glu	80	1.5
ブドウ果皮	petunidin-3-Glu	67	1.7
	laccaic acid A	49	12.1
ラック	laccaic acid B	96	2.0
	laccaic acid C	78	2.4
	carminic acid	96	2.4
コチニール	carminic acid	96	2.4
ウコン	demethoxycurcumin	53	3.5
	curcumin	89	4.6
アカネ	alizarin	86	3.7
モナスカ	ankaflavin	40	0.5
	monascin	83	2.3
アナトー	norbixin	87	0.6

3.3 市販食品の分析

市販食品26件(表示:クチナシ14件,ベニバナ8件,ウコン3件,紅麹2件,コチニール1件,アントシアニン7件,フラボノイド2件)について、本法を用いて定性分析を実施したところ、アントシアニン表示の7件中3件からブドウ果皮色素を、フラボノイド表示の2件中1件からベニバナ黄色素を、他の1件からブドウ果皮色素を検出した。その他の表示のものからは表示通りの色素を検出した。飴から検出したベニバナ黄色素とクチナシ黄色素の検出例を図6に示す。用いて定性分析を実施したところ、アントシアニン表示の7件中3件からブドウ果皮色素を、フラボノイド表示の2件中1件からベニバナ黄色素を、他の1件からブドウ果皮色素を検出した。その他の表示のものからは表示通りの色素を検出した。飴から検出したベニバナ黄色素とクチナシ黄色素の検出例を図6に示す。

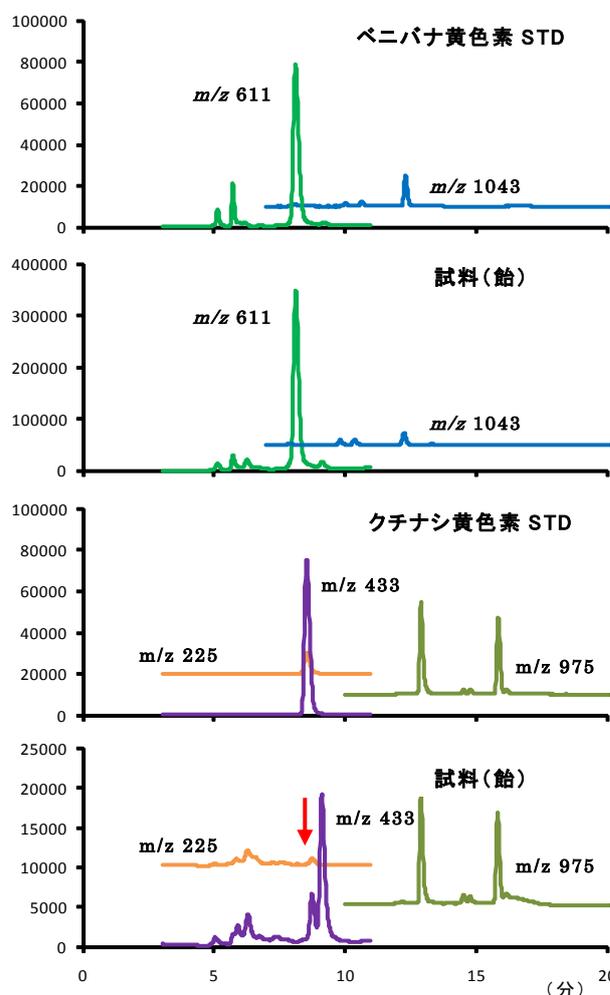


図6 標準液及び試料のLC/MSクロマトグラム

4 まとめ

LC/MSを用いて、食品中の天然着色料（クチナシ青色素、クチナシ黄色素、ベニバナ黄色素、ウコン色素、ブドウ果皮色素、モナスカス（紅麴）色素、アナトー色素、コチニール色素、ラック色素、アカネ色素）の定性試験法を検討した。食品から色素を抽出する溶媒に精製水を用いて超音波処理により抽出を行い、Oasis HLBカートリッジによる精製後、LC/MSにより定性を行う分析法を確立した。清涼飲料を用いた添加回収試験では、対象とした10色素すべてにおいて回収率50%以上を確保でき、定性分析が可能であるとし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、本法は実用的な方法と考えられる。

5 参考文献

- 1) 山川有子, 西村百合香, 掛水夏恵, 相原道子, 山川正, 大砂博之, 池澤善郎: コチニールによる即時型アレルギー, アレルギー, Vol.53, No.8, 903 (2004)
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知“既存添加物名簿の一部を改正する件について”平成16年7月9日, 食安発第0709001号 (2004)
- 3) “食品, 添加物等の規格基準の一部を改正する件について”平成19年3月30日, 食安発第0330001号 (2007)
- 4) 伊藤誉志男, 中澤裕之, 岡尚男, 岸弘子, 笹尾忠由, 扇間昌規, 中村幹雄, 浜野孝, 堀江正一, 堀伸二郎, 山崎勝弘: 日本食品化学研究振興財団 特定研究 食品中の食品添加物分析法の開発及び改良に関する研究, 平成13年度研究報告書, 138-152, 157-163 (2002)
- 5) 伊藤誉志男, 中澤裕之, 岡尚男, 岸弘子, 扇間昌規, 中村幹雄, 浜野孝, 堀江正一, 堀伸二郎, 山崎勝弘: 日本食品化学研究振興財団 特定研究 食究, 平成14年度研究報告書, 133-142 (2003)
- 6) 清水孝重, 川原章弘, 中村幹雄, 加藤喜昭, 合田幸広, 米谷民雄: 食品中からのアントシアニン系色素の分析法, 日本食品化学学会誌, Vol.3, No.1, 10-20 (1996)
- 7) 川原章弘, 加藤喜昭, 香田隆俊, 中村幹雄, 清水孝重: 食品中からのアカダイコン色素の分析法, 日本食品化学学会誌, Vol.5, No.1, 79-84 (1998)
- 8) 西沢信, 長南隆夫, 赤城幾代, 杉井孝雄: 天然着色料の分析法に関する研究 (第1報) 食品及び色素製剤中のアナトー色素, クチナシ黄色素の分析, 北海道立衛生研究所報, 33, 28-34 (1983)
- 9) 西沢信, 長南隆夫, 堀義宏: 天然着色料の分析法に関する研究 (第3報) 食品および色素製剤中のコチニール色素, ラック色素の分析, 北海道立衛生研究所報, 35, 7-11 (1985)
- 10) 長南隆夫, 堀義宏, 西沢信, 杉井孝雄: 市販食品中の天然色素の使用実態調査, 北海道立衛生研究所報, 35, 34-39 (1985)

冬季降水の pH 変動に関する一考察

A Study on the pH-fluctuation of Precipitation in Winter season

仁平 明 高橋 誠幸 中村 栄一
木戸 一博

Akira NIDAIRA, Seiko TAKAHASHI, Eiichi NAKAMURA
Kazuhiro KIDO

これまで報告してきた県内の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側から流れ込んだ雪雲による降水の pH は低くはなかった。日本海側における冬季降水の pH 変動を詳細に解釈するため、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て時間分解能を高めた解析を行ったところ、調査地点上空で大陸由来の大気中 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、大陸からの汚染物質輸送は SO_2 排出量が多い中国中部から直接の場合と迂回する場合があります、西高東低の気圧配置が続くときはむしろ大気を浄化させ pH 低下の要因にはなっていない。また、寒気の流入により日本海側に雲頂高度の低い雲が発生する気象条件下では地域汚染の影響を受け降水中 nss-SO_4^{2-} 濃度、pH に地域差が生じると考えられた。

キーワード：酸性雨；pH；日本海側；冬季

Key words : Acid rain ; pH ; Sea of Japan side ; Winter season

1 はじめに

これまで報告してきた pH 型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 は低くはなかった¹⁾。長期間サンプリングによる酸性雨調査では日本海側における降水の pH は冬季に低く、西高東低の気圧配置時の北西季節風により大陸由来の大気汚染物質が流入するためと推論されている²⁾。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²⁾、総観規模で考えるとこれらは矛盾しているように思える。

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

2.1 環境省平成18年度酸性雨対策調査データ

酸性雨研究センターから入手

調査地点：新潟巻及び佐渡関岬（図1）

解析期間：2007年1月

採取間隔：当日9:00～翌日9:00の1日毎

2.2 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

2.3 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 結果及び考察

3.1 冬型気圧配置と降水 pH、イオン成分濃度

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2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。なお、CFORSの SO_4^{2-} 濃度図には2, 5, 10, 15, 30, 50及び $70\mu\text{g}/\text{m}^3$ の等値線が示されている。読み取りは目的の地点を挟む等値線の間中値を採用し、最小等値線 $2\mu\text{g}/\text{m}^3$ の外側は $1\mu\text{g}/\text{m}^3$ とした。

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、個々の降水も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では降水中 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るが、仮にその実力が良好であるとすれば、

大気中 SO_4^{2-} 濃度が増大



図1 環境省酸性雨対策調査地点（新潟県内）

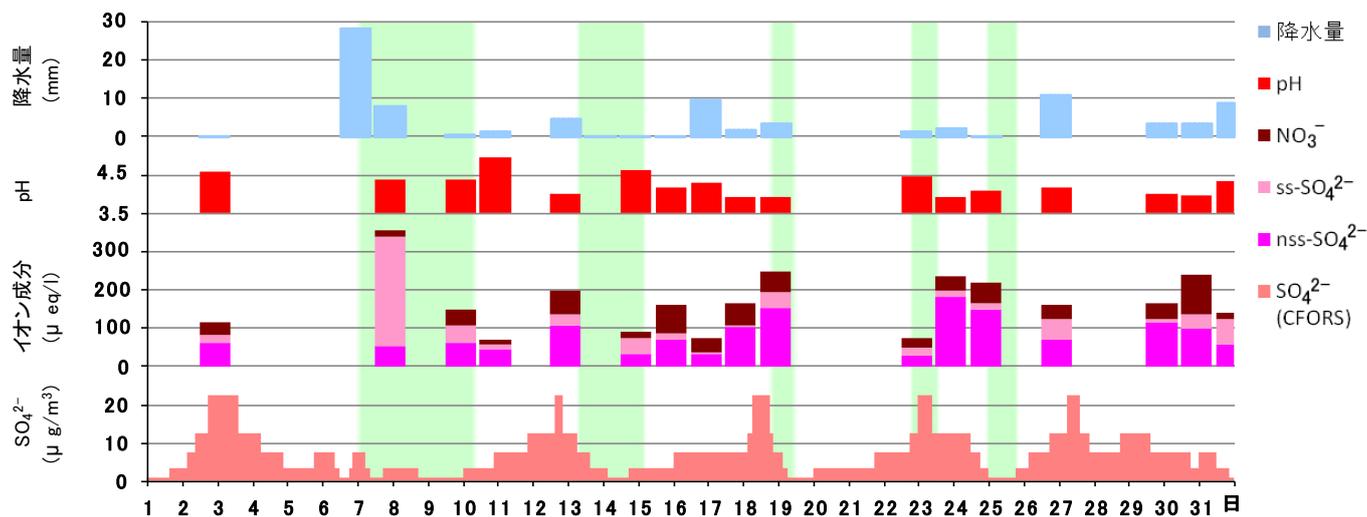


図2 日降水中イオン成分とCFORSによるSO₄²⁻濃度変化 (2007年1月、新潟巻)
 図背景縦縞の期間は西高東低の気圧配置

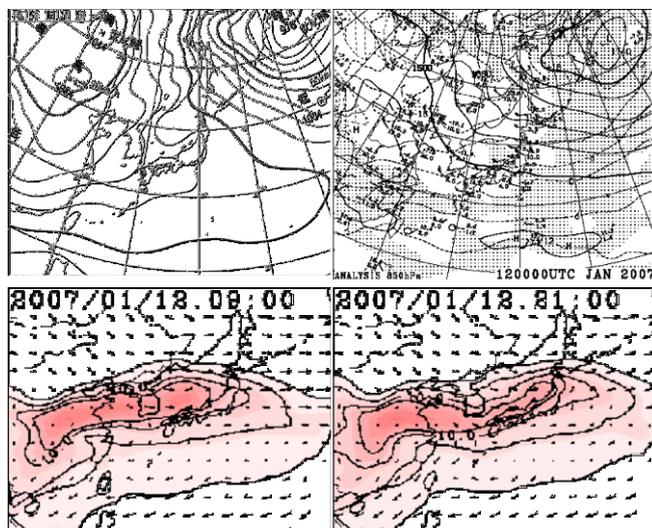


図3 pH低下事例 (2007年1月12日)

上段左: 地上天気図 (9時)、右: 850hPa高層天気図 (9時)
 下段: CFORSによるSO₄²⁻濃度分布 (9、21時)、等値線は本文参照

した後の降水は nss-SO₄²⁻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のときは大気中 SO₄²⁻濃度が減少する 경우가多く、その際の降水 pH も特に低下する様子はない。北西季節風はむしろ大気を浄化し、pH 低下の要因にはなっていないようである。

3.2 pH 低下事例

1 月 12 日は西高東低の気圧配置が緩み西から次第に高気圧に覆われたときで 5.0mm の降水があり、日平均 pH は 4.03 と低かった。9 時の地上及び 850hPa 高層天気図、9 時と 21 時の SO₄²⁻予測図をそれぞれ図 3 に示す。CFORS では SO₄²⁻高濃度域が中国中部から三東半島を経て東に延び本州に達している。850 h Pa 高層天気図の等高線は日本付近でほぼ東西に走っている。この地衡風が東方への輸送力になっていると考えられ、本事例は大陸起源の汚染物質流入により酸性化が進んだものと解釈される。

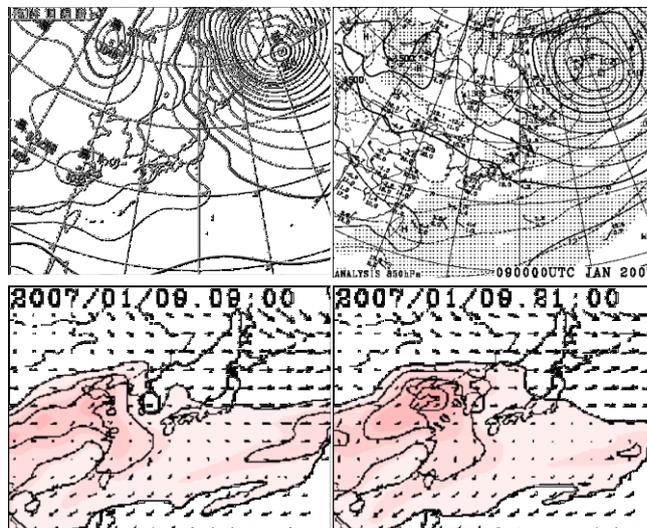


図4 西高東低の気圧配置でpHが低下しない事例 (2007年1月9日)、図の配置は図3と同じ

3.3 西高東低の気圧配置で pH が低下しない事例

図 3 同様の天気図等を図 4 に示す。前々日から西高東低の気圧配置が続いた 1 月 9 日は 0.8mm の降水があり、日平均 pH は 4.41 で前事例ほど低下せず、nss-SO₄²⁻濃度も低かった。850hPa 高層天気図は東谷で北西風が卓越する気象場である。CFORS においては 9 時、21 時とも東北地方上空の SO₄²⁻濃度は最小等値線外であり、大陸からの寄与はなかったとみられる。

3.4 西高東低の気圧配置で pH が低下した事例

図 2 で 18 日は他の西高東低の気圧配置のときと異なり、降水中の pH は低く nss-SO₄²⁻は増加しており、先行して大気中 SO₄²⁻濃度の増大があった。図 5 は 17 日～19 日における図 3 同様の天気図等である。17 日に本州南岸を低気圧が東進した後、18 日午後から 19 日朝にかけて一時的に西高東低の気圧配置となったが、19 日日中は早くも大陸の高気圧が本州上空に張り出している。850hPa 高層天気図では 17 日に本州の西にあった気圧の谷が 19 日には東に移っている。大気中 SO₄²⁻濃度は、

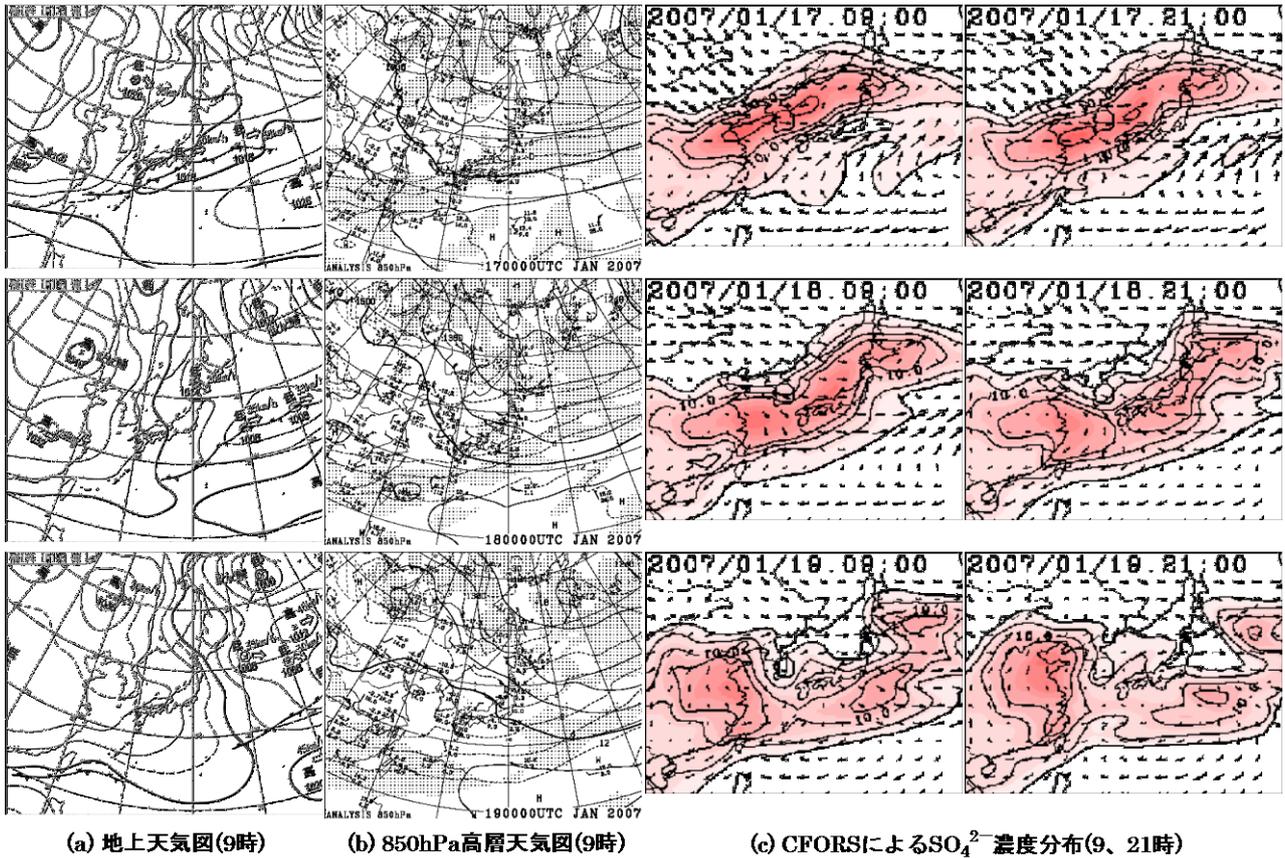


図5 西高東低の気圧配置でpHが低下した事例(2007年1月17日~19日)

14日午前が高気圧下の中国山東半島付近で発生した高濃度気塊が17日午前にかけて北東に進み日本海上にあった。850hPa高層天気図で気圧の谷が本州から東に移った18, 19日は地衡風に対応して高濃度気塊は低気圧の後部を南東に移動しながら本州を通過している。特に東谷となった19日は高濃度気塊が太平洋上に抜け、SO₄²⁻濃度は減少すると予測されている。

本事例は西高東低の気圧配置になる前に日本海北部に山東半島付近から汚染物質の輸送があり、これが北西季節風によって日本上空に運ばれ、降水の酸性化に寄与したと考えられる。前の2事例を含めて考察すると、SO₂排出量が多い中国中部 (<http://www-gis5.nies.go.jp/eastasia/AerialPollMap1.php>) を通過した空気塊が12日の事例のように直接又は18日の事例のように迂回して流入した場合は大陸の影響が顕著であるが、9日の事例のように東谷の状態が続く通常の西高東低の気圧配置の場合は汚染物質の供給がなくpHの低下は生じないようである。

3.5 新潟巻と佐渡関岬の降水成分比較

新潟巻と佐渡関岬における降水成分を比較するため、H⁺、nss-SO₄²⁻及びNO₃⁻について新潟巻の佐渡関岬に対する濃度差を図6に示した。図6で濃度差が正のときは新潟巻の濃度が高く、負は佐渡関岬の濃度が高いことを表す。全体的には新潟巻の方が濃度は高い場合が多いが、中には佐渡関岬の濃度が高いときもある。ただし、降水中成分濃度は一般的には降水の継続とともに減少し、特に降水初期は減少が大きい性質がある^{3) 4)}ので、降

水量を加味して評価する必要がある。22日のnss-SO₄²⁻とNO₃⁻及び23日のNO₃⁻は佐渡関岬の濃度が新潟巻より高かったが、両日の日降水量は新潟巻がそれぞれ1.5mm, 2.5mm, 佐渡関岬は0.5mm, 1.0mmと少なかった。佐渡関岬は初期降水に相当し降水量依存性で濃度が高くなりやすい可能性が残っているため、単純に濃度を比較することはできない。29, 30日の降水量は新潟巻がともに3.5mm, 佐渡関岬は2.6mm, 5.0mmと22, 23日より多かった。このときはnss-SO₄²⁻濃度差が大きい。H⁺濃度も新潟巻の方が高く、図2のとおりpH4.0を記録している。両地点の降水量はほぼ同程度とみなせ、特に29日は新潟巻の降水量が佐渡関岬より多かったにもかかわらず正の濃度差が生じていることから、地域汚染の影響が示唆された。

3.6 新潟巻のpHが佐渡関岬より低い事例

新潟巻と佐渡関岬の濃度差が大きかった29日と30日について、それぞれのサンプリングが終了する翌日9時の気象衛星赤外面像と可視画像及びCFORSによる大気中SO₄²⁻濃度分布図を図7に示した。CFORSにおいては新潟巻と佐渡関岬上空での濃度差はない。気象衛星可視画像によれば、30, 31日とも新潟を含む日本海沿岸に雲が写っている。赤外面像ではこの雲は薄く雲頂高度の低い雲が日本海側に発生していた。太平洋側ではやませのときにこのような状況が生じる。両者とも寒気の流入により海面から蒸発した水分が生成する地表付近の雲であることが共通しており、やませについては拡散が進行する前の地域汚染物質を雲水に取り込むことによって

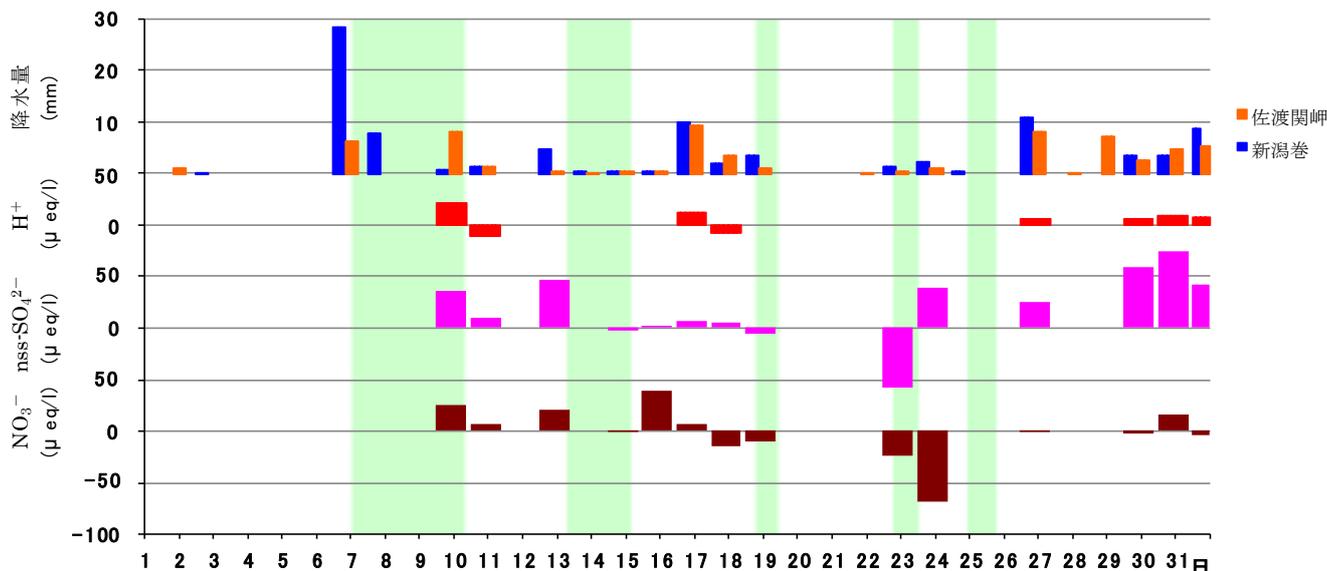


図6 新潟巻の佐渡関岬に対する降水中イオン成分濃度差（2007年1月）
図背景縦縞の期間は西高東低の気圧配置

低 pH が出現するとの推測を行っている⁵⁾。新潟巻と佐渡関岬において、降水量はほぼ同程度とみなせ、また、CFORS の濃度差もなく、これらの要因で地域差を説明するのは難しい。本事例については、やませと同様に地域汚染の影響を受けやすい気象状況が形成されたことにより、新潟巻で pH が低下するとともに佐渡関岬との濃度差が生じたのではないかと考えられる。

4 まとめ

2007年1月の新潟巻及び佐渡関岬における環境省酸性雨対策調査データを解析したところ、

- (1) 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た。
- (2) 大陸からの汚染物質供給は、直接の場合と北東部に移動した後に北西季節風により輸送される場合があった。
- (3) 西高東低の気圧配置は後者の場合に関与するが、通常はむしろ大気を浄化させており、pH 低下の要因にはならない。
- (4) 寒気の流入により日本海側に雲頂高度の低い雲が発生する気象条件下では、地域汚染の影響によって新潟巻の方が佐渡関岬より nss-SO_4^{2-} 濃度が高く、pH は低下すると考えられた。

5 参考文献

- 1) 仁平明, 木立博, 高橋誠幸, 加賀谷秀樹: 宮城県保健環境センター年報, **25**, 72 (2007)
- 2) 全国環境研協議会: 全国環境研会誌, **31**, 3, (2006)
- 3) 村田雄二, 古谷登志, 辻潔, 吉川邦夫: 第 38 回大気

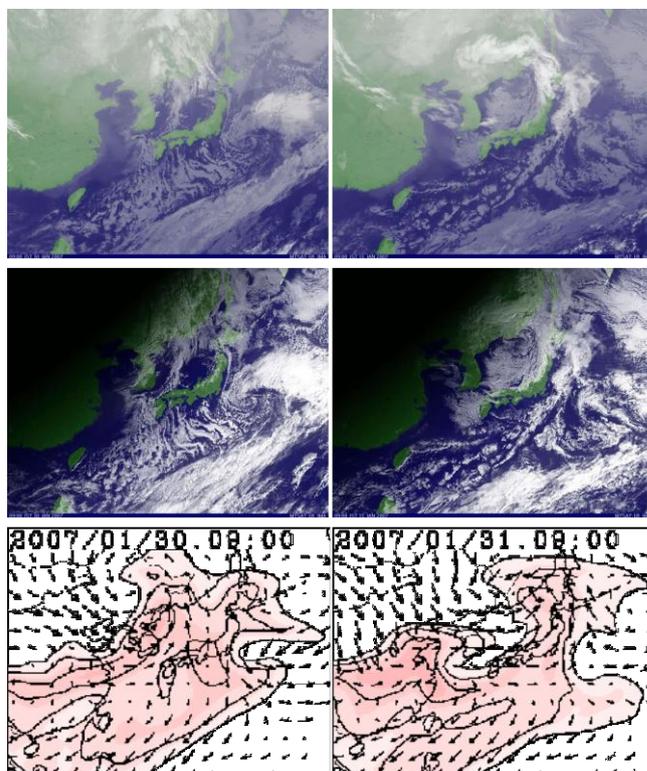


図7 新潟巻のpHが佐渡関岬より低い事例
2007年1月30日(左列)、31日(右列)、時刻は9時
上段: 気象衛星赤外画像、中段: 同可視画像、下段: SO_4^{2-} 濃度分布

環境学会年会講演要旨集, 275 (1997)

- 4) 仁平明, 樫野光永, 中村栄一, 佐久間隆, 木戸一博, 沢田和夫: 宮城県保健環境センター年報, **17**, 90 (1999)
- 5) 仁平明, 高橋誠幸, 中村栄一, 木戸一博: 宮城県保健環境センター年報, **26**, 67 (2008)

有害大気汚染物質発生源調査及び周辺環境調査

Survey of Generation Source of Hazardous Air Pollutant and the Surrounding Environment

小川 武 佐久間 隆 小泉 俊一
小室 健一 北村 洋子 木戸 一博

Takeshi OGAWA, Takashi SAKUMA, Shun-ichi KOIZUMI
Ken-ichi KOMURO, Yoko KITAMURA, Kazuhiro KIDO

有害大気汚染物質のジクロロメタンを測定対象として、その発生源である工場からの排出口出口、工場敷地境界及び周辺環境でのジクロロメタンの濃度を測定した。それらのデータから求められた排出量は、PRTR データの取扱量に比して少ないものであった。また、拡散計算により環境濃度の推定をしたところ、概ね良好な結果が得られ、今後の調査等に有用であると考えられた。

キーワード：有害大気汚染物質；ジクロロメタン；揮発性有機化合物（VOC）；PRTR；METI-LIS

Key words：hazardous air pollutant；dichloro methane；

volatile organic compound(VOC)；PRTR；METI-LIS

1 はじめに

今後の大気汚染防止の一層の推進を図るためには、有害大気汚染物質取扱い施設からの排出実態や周辺環境に及ぼす影響を的確に把握することが必要である。本調査は、ジクロロメタンの発生源と考えられる工場・事業場について、排出実態、敷地境界における濃度、排出抑制対策及び排出抑制効果等について把握し、今後の大気汚染防止の推進に資することを目的とした。

なお、本調査は平成 21 年度環境省委託事業として実施したものである。

2 方法

2.1 調査対象

測定対象物質にジクロロメタンを選び、発生源の測定対象として O 市にある建材関連製品の製造を行っている Y 事業所を選定した。また、周辺環境として事業所敷地境界と事業所の近隣地点を調査した。

2.1.2 調査日時

調査は 2 回行い、第 1 回目は排出口濃度測定を平成 21 年 10 月 1 日、事業所の敷地境界、周辺環境濃度測定を平成 21 年 10 月 1 日～2 日にかけて実施した。第 2 回目は、排出口濃度測定を平成 21 年 11 月 4 日、敷地境界、周辺環境濃度測定を平成 21 年 11 月 4 日～5 日にかけて実施した。

2.2 調査方法

2.2.1 調査箇所

1) 排出口

対象事業所ではジクロロメタンは断熱材注入機ノズルの洗浄、製品用接着剤の溶剤として用いられている。図 1 にジクロロメタンの発生源(△)を示した。発生源測定箇所として、断熱材注入ライン(以下、A ライン)に

付設する排気管の出口 1 ヶ所(排出口高さ 4m)、ラミネート材接着ライン(以下、B ライン)に付設する塗布工程排気管の出口 1 ヶ所(排出口高さ 12 m)と乾燥工程排気管の出口 1 ヶ所(排出口高さ 5.1m)を選定した。他に断熱材注入ラインが 2 ヶ所あったが、一つは排気口がなく開放系のため、もう一つは調査時に休止中のため測定しなかった。また、A 及び B ラインからのジクロロメタンの大気への排出量は当該工場における施設全体からの排出量の約 9 割を占めている。

2) 敷地境界

各測定地点(○)の位置を図 1 に示した。地点名の距離は主煙源である B ラインからのおよその距離を表す。第 1 回調査時は対象工場の 4 方位に敷地境界 4 地点(敷地 1～敷地 4)で濃度測定を実施した。第 2 回調査時は過去の気象データから北西風の頻度が多かったことから、主発生源である B ラインからのジクロロメタンをとらえ

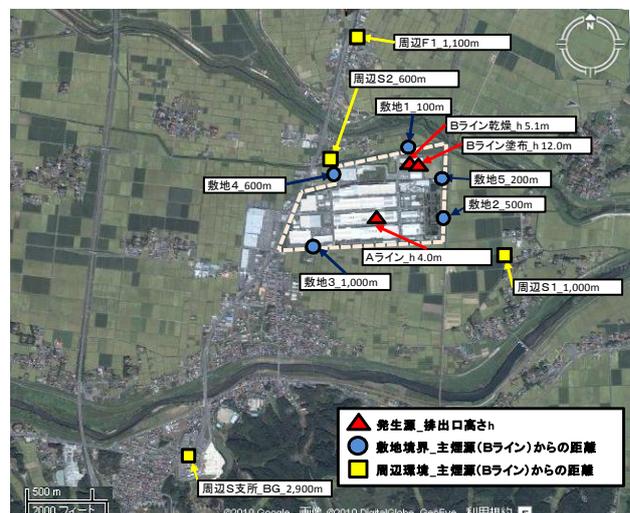


図 1 発生源及び敷地境界、周辺環境濃度測定地点

るため、東側敷地境界に1地点(敷地5)を追加し測定を行った。

3) 周辺環境

各測定地点(□)を図1に示した。事業所の近隣民家3地点とバックグラウンド地点として事業所から南南西へ約3km離れたO市役所S支所を選定した。

2.2.2 試料採取方法及び分析方法

1) 排出口測定

試料採取は「排出ガス中の指定物質の測定方法マニュアル」¹⁾によるバック採取法で行った。アクリル製の吸引ケースの中に容量5Lのポリフッ化ビニル製バッグをつなぎ、密閉した後、さらに、吸引ポンプによりケース内の空気を吸引することにより試料を排出口からバッグ内に採取した。採取試料は実験室に持ち帰り、試料100mlを約2分間で炭素系吸着剤(ORBO91)に吸着させ、2mlの二硫化炭素により抽出後、ガスクロマトグラフ質量分析法(GC/MS法)により分析した。

2) 敷地境界及び周辺環境測定

試料採取は「有害大気汚染物質測定方法マニュアル」¹⁾による容器採取法で行った。容積6Lのキャニスター容器を用い、約24時間試料を採取した。キャニスター容器に採取した試料は、大気試料濃縮導入装置に導入した後、GC/MS法により分析を行った。

3 結果及び考察

3.1 第1回調査測定結果

3.1.1 排出口測定

測定結果を表1に示した。各測定箇所において、それぞれ3回ずつ測定を実施した。Aラインの排出口の濃度は1.6~3.6 g/Nm³の範囲であり、平均濃度は2.6 g/Nm³であった。排出量(g/時)については、一工程の実稼働時間10分間のうちジクロロメタンの使用が数秒であり濃度にバラツキが出るため、以下のとおり計算した。一工程の試料採取時間3分間の排出ガス量(Nm³/3分間)を求め、次に一時間に行われる6工程を掛け一時間あたりの排ガス量(Nm³/時)を求めた。さらに、この値に平

表1 排出口濃度測定結果

発生源 測定箇所	採取時刻	濃度 (g/Nm ³)	排出 ガス量 (Nm ³ /h)	排出量 (g/h)
Aライン	①11:51	① 1.6	580	1500
	②14:39	② 3.6		
	③15:31	③ 2.7 平均 2.6		
Bライン 乾燥工程	①13:22	① 0.016	190	2300
	②16:08	② 12		
	③16:20	③ 0.17 平均 4.1		
Bライン 塗布工程	①13:45	① 2.0	2000	3600
	②16:00	② 1.6		
	③16:25	③ 0.15 平均 1.2		

注；採取日:平成21年10月1日，試料採取時間:約3分

均濃度(g/Nm³)を乗じて排出量(g/時)とした。Bライン乾燥工程の濃度は0.016~12.0 g/Nm³の範囲であり、1回目、3回目が低濃度であった。1回目についてはサンプリング時の不具合があったと考えられた。また、3回目は加熱工程が終了した段階での試料であったため低濃度であった。排出量(g/時)は2回目の測定値を用い、濃度(g/Nm³)×排出ガス量(Nm³/時)で算出した。一方、Bライン塗布工程の濃度は0.15~2.0 g/Nm³の範囲であり、3回目は塗布工程が終了した段階での試料であり低濃度であった。排出量(g/時)の算出には1回目、2回目の測定結果の平均濃度(g/Nm³)×排出ガス量(Nm³/時)で算出した。

3.1.2 敷地境界及び周辺環境測定

敷地境界における測定結果を表2に示した。濃度範囲は0.68~54 µg/m³であり、北側及び西側敷地境界で比較的高濃度のジクロロメタンが検出された。一方、周辺環境における測定結果を表3に示した。濃度範囲は0.38~8.7 µg/m³であった。また、周辺環境濃度測定時の気象状況について、工場の北北西方向約7.5 kmにあるF気象観測所における10月1日~2日の風配図を図2に示した。最多出現風向はSSE(19.4%)で、平均風速は1.9 m/sであった。

表2 敷地境界濃度測定結果

(単位: µg/m³)

測定地点	採取時間	濃度	発生源周辺 全国平均 ²⁾ (最小・最大)
敷地1_北側	10/1 11:07-10/2 10:45	54	3.6 (0.43-110)
敷地2_東側	10/1 10:50-10/2 10:30	1.6	
敷地3_南側	10/1 11:25-10/2 11:00	0.68	
敷地4_西側	10/1 11:19-10/2 10:55	24	

表3 周辺環境濃度測定結果

(単位: µg/m³)

測定地点	採取時間	濃度	一般環境 全国平均 ²⁾ (最小・最大)	FII局
S支所	10/1 9:45-10/2 9:35	0.38	1.9 (0.27-11)	1.5
S1	10/1 10:05-10/2 9:50	0.66		
S2	10/1 12:20-10/2 10:02	8.7		
F1	10/1 12:25-10/2 10:10	2.0		

注：FII局は宮城県の一般環境測定地点(発生源から北東方向約3km)であり、数値は平成20年度モニタリング調査結果である。

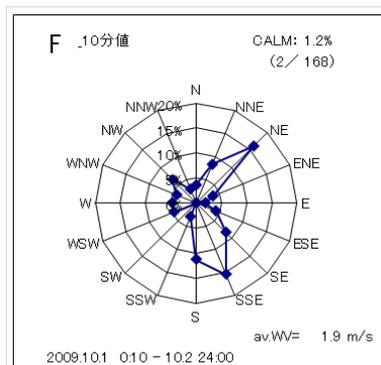


図2 調査期間の風配図(F気象観測所)

3.2 第2回調査測定結果

3.2.1 排出口測定

測定結果を表4に示した。Aラインの排出口の濃度は1.6~3.2 g/Nm³の範囲であり、平均濃度は2.3 g/Nm³であった。Bライン乾燥工程の濃度は7.9~12 g/Nm³の範囲であり、平均濃度は9.8 g/Nm³であった。塗布工程の濃度は0.62~0.86 g/Nm³の範囲であり、平均濃度は0.78 g/Nm³であった。排出量(g/時)について、Aラインは10月と同様の計算で、Bラインは平均濃度(g/Nm³)×排出ガス量(Nm³/時)の計算で求めた。Bライン塗布工程では第1回目と比較し低濃度であった。日変動の要因は、多種類の製品を取り扱っているため、製品によって接着面積等が異なり接着剤の使用量が変動するためと考えられた。

3.2.2 敷地境界及び周辺環境測定

敷地境界における測定結果を表5に示した。濃度範囲は1.9~48 µg/m³であった。北側敷地境界では第1回目と同様比較的高濃度のジクロロメタンが検出された。周辺環境における結果を表6に示した。周辺環境のジクロロメタン24時間平均濃度は0.98~2.1µg/m³であった。

表4 排出口濃度測定結果

発生源測定箇所	採取時刻	濃度 (g/Nm ³)	排出ガス量 (Nm ³ /h)	排出量 (g/h)
Aライン	①10:31	① 3.2	580	1300
	②11:48	② 2.0		
	③13:54	③ 1.6		
		平均 2.3		
Bライン乾燥工程	①10:47	① 7.9	190	1900
	②11:58	② 9.5		
	③14:06	③ 12		
		平均 9.8		
Bライン塗布工程	①11:05	① 0.85	2000	1600
	②13:19	② 0.86		
	③14:19	③ 0.62		
		平均 0.78		

注；採取日:平成21年11月4日，試料採取時間:約3分

表5 敷地境界濃度測定結果 (単位: µg/m³)

測定地点	採取時間	濃度	発生源周辺全国平均 ²⁾ (最小-最大)
敷地1_北側	11/4 11:39-11/5 10:55	48	
敷地2_東側	11/4 11:17-11/5 10:40	7.3	
敷地3_南側	11/4 12:03-11/5 11:11	1.9	
敷地4_西側	11/4 11:52-11/5 11:06	8.6	
敷地5_東側	11/4 11:27-11/5 10:47	7.4	

表6 周辺環境濃度測定結果 (単位: µg/m³)

測定地点	採取時間	濃度	一般環境全国平均 ²⁾ (最小-最大)	FII局
S支所	11/4 9:45-11/5 9:52	0.98	1.9 (0.27-11)	1.5
S1	11/4 10:13-11/5 10:06	2.0		
S2	11/4 10:31-11/5 10:17	2.1		
F1	11/4 10:41-11/5 10:25	1.0		

注：FII局は，表3と同様

また，11月4日と5日のF気象観測所における風配図を図5上に示した。F気象観測所の最多出現風向はW(12.8%)で，平均風速は1.5 m/sであった。また，第2回目調査時は4日9時から5日11時まで工場敷地内の北東角に簡易風向風速計を設置し，その風配図を図5下に示した。簡易風向風速計の最多出現風向はSSE(20.8%)で，平均風速は1.0m/sであった。

3.3 発生源の周辺環境への影響等の考察

発生源周辺環境の濃度レベルについては，敷地境界濃度は0.68µg/m³~54µg/m³の濃度範囲であり，参考まで環境基準と比較すると，150µg/m³を下回っていた。しかし，平成20年度全国調査の発生源周辺における平均値3.6µg/m³を超える地点も見られた。10月は南南東寄りの風，北東寄りの風が多く北側，西側敷地境界の濃度が高く，11月は南南東寄りの風が多く北側敷地境界の濃度が高かった。このことから敷地境界の濃度については，風向による発生源からの影響が大きいことが推察された。また，周辺環境濃度測定では，敷地境界と同様に各地点の濃度は環境基準以下であった。全国調査平均値1.9µg/m³と比較し10月の濃度が8.7µg/m³と高い地点が見られたが，工場直近で北側に位置しており，調査時の南南東寄りの風を考慮すれば発生源の影響があったと推察された。

3.3 拡散計算による環境濃度の推定

第2回目の調査結果に基づき，METI-LIS(経済産業省-低煙源工場拡散モデル)を用いて，環境濃度を推定しその適合性を検討した。事業所のジクロロメタン排出量を表7に示したが，ジクロロメタンから他の溶剤に転

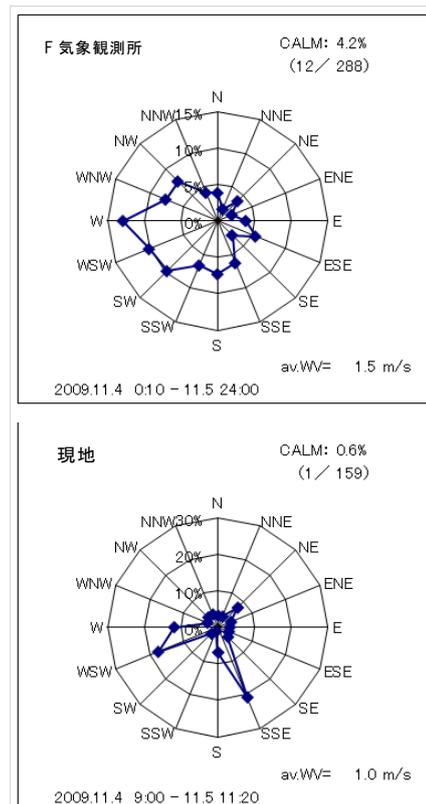


図5 調査機関の風配図 (F気象観測所及び現地)

表7 ジクロロメタン排出量

単位:kg/年

	PRTR 届出排出量			Y 事業所推定	実測排出量
	2006 年度	2007 年度	2008 年度	2009/11 時点	2009/11 /4~5
大気排出量	65000	43000	36000	23000	7000

注1: 値は有効数字2桁に丸めてある。

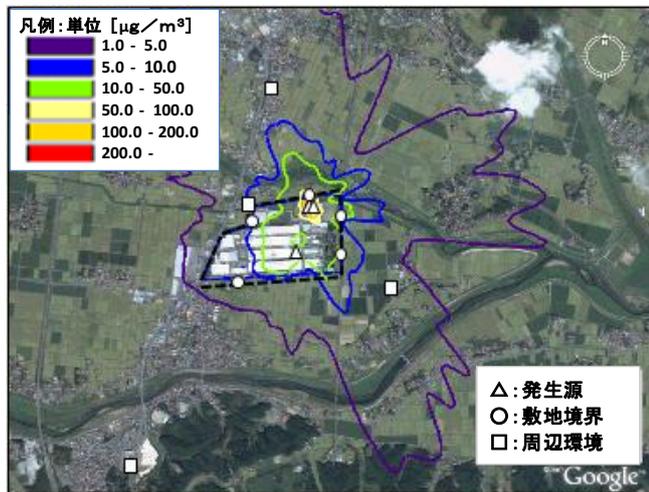


図8 環境濃度推定図

換中であり、排出量は年々減少傾向にある。なお、PRTR届出排出量及び事業所推定大気排出量は、ジクロロメタン取扱量から廃棄物として外部処理委託した量を差し引いた量である。

実態調査による排出量は、事業所が推定した排出量に比し、かなり小さいものであった。その要因としては、①排出されるジクロロメタンは、局所排気装置（フードをつけたファンで吸引）により煙突から排出されるが、その排気装置に吸引されなかったジクロロメタンについて測定しなかったこと。②製造製品の種類がその都度異なる（溶剤の使用量が異なる）とともに、施設の実稼働時間（操業時間16時間中約7時間稼働）も、不規則かつ断続的なものであったこと。③排ガス及び流速測定のためのサンプリング口がなく、煙突先端で行ったことの3点が考えられた。以上のことから、計算は次の3ケースについて行った。

Case1: 実測排出量による

Case2: 実測排出量の2倍の排出量による

Case3: 事業所推定排出量による

拡散計算の気象データは、事業所敷地の東北角で計測した風向風速（10分値）とアメダスF観測所の気温・日照時間を用いた。事業所敷地での10分値気象データに基づく推定結果として、図8に推定濃度分布を、図9に環境濃度実測値との関係を示す。なお、図9においては、計算結果にバックグラウンド値として $0.27\mu\text{g}/\text{m}^3$ （平成20年度の有害大気汚染物質モニタリング調査結果²⁾における全国で最小の観測値）を加算している。また、実測排出量の2倍の排出量（実態調査による排出量と事

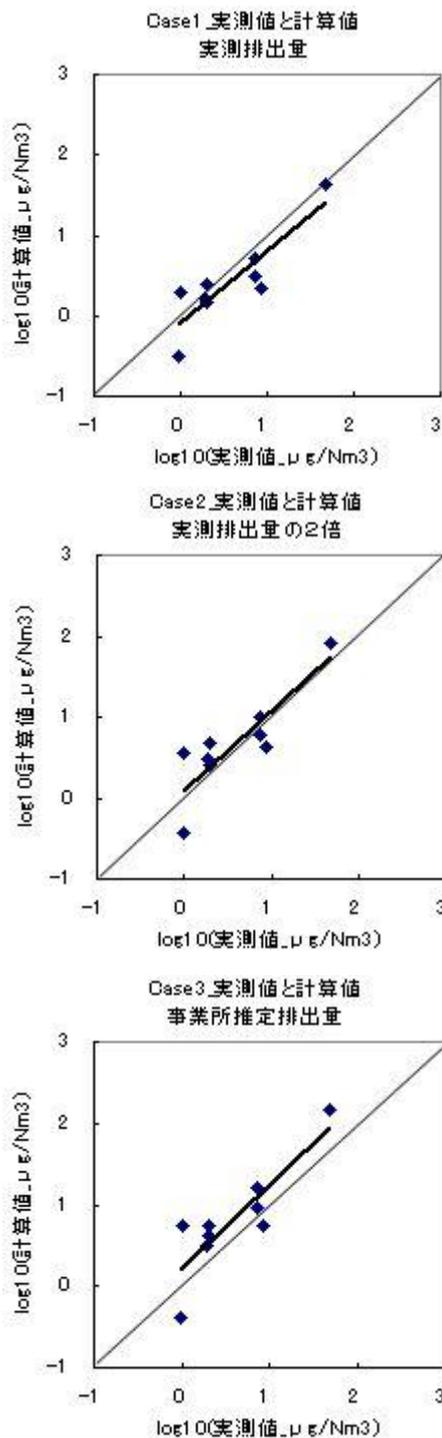


図9 実測値と推定値との関係

業所推定排出量の概ね中間の排出量)においては、回帰線がほぼ図の対角線に近いものであった。

3.4 年間排出量の比較

今回の調査結果から算出したAライン、Bラインのジクロロメタン排出量を表8に示した。実測値による年間排出量(b)は、1時間あたりの排出量(a)×1日あたりの実稼働時間×年間稼働日数で算出した。実測値による年間排出量(b)は2008年PRTRデータの年間大気排出量(c)に対し、Aラインで10月が45%、11月が40%、Bラインで10月が27%、11月が20%であった。また、工場側からの聞き取りから2009年の取扱量は2008年取扱量に比較し約70%であるとの情報が得られたので、

表8 実測値による年間排出量及びPRTR データからの年間排出量

調査時期	製造ライン	測定結果に基づく排出量 (g/h) (連続1時間稼働した場合の排出量) (a)		実測値による年間排出量 (kg/年) 稼働時間は注に記載 (b)	PRTR 報告値_2008年 大気放出量 (kg/年) (c)	比率： 実測値による排出量 / PRTR 届出値による排出量 (d)=(b)/(c)	2009年_事業所 所推定排出量 2008年(c)に比して70% (kg/年) (e)=(c)×0.7	比率： 実測値による排出量 / 2009年事業所 所推定排出量 (f)=(b)/(e)	
10月	Aライン	1500		1300	2800	0.45	2000	0.64	
	Bライン	乾燥	2300	5900	7800	29000	0.27	21000	0.38
		塗布	3600						
合計	7400		9100	32000	0.28	23000	0.40		
11月	Aライン	1300		1100	2800	0.40	2000	0.57	
	Bライン	乾燥	1900	3400	6000	29000	0.20	21000	0.29
		塗布	1600						
合計	4800		7100	32000	0.22	23000	0.31		

注1：値はPRTR報告値も含め有効数字2桁に丸めてある。

(計算値は四捨五入前の値を用いているため、表の値で計算した計算値と必ずしも一致しない)

注2：稼働日数は年間244日で計算した。

注3：10月の施設稼働時間は、Aライン：3時間25分、Bライン：5時間28分で計算した。

注4：11月の施設稼働時間は、Aライン：3時間25分、Bライン：7時間08分で計算した。

2009年のジクロロメタン取扱推定量(e)に対する比率を求めたところ、断熱注入ラインで10月が64%、11月が57%、木質ラミネートラインで10月が38%、11月が29%であった。

4 まとめ

工場に排ガス処理施設はなく、対象物質は排出口から直接大気中に放出される。排出口濃度測定(施設稼働時)の結果、Aラインでは2回調査の平均濃度に大きな差がなく日変動が少なかった。一方、Bライン塗布工程では11月測定の平均濃度が低く日変動が見られた。また、実測値から当該工場のジクロロメタン年間排出量を推定したところ、Bラインが6.9t/年(平均)、Aラインが1.2t/年(平均)であった。いずれのラインでもPRTRデータと比較し、少ない年間排出量であった。施設によってはジクロロメタンから他の化学物質に切り替えを行っていること、製品の種類によって日変動があることなども

実測値による推定排出量が少ない要因と考えられたが、製造工程が完全な密閉状態でないことなどから工場内に揮発拡散する量も多いと考えられ、排出口のみの濃度測定で大気排出量を推定しPRTR届出値と比較することが難しいこともわかった。さらに、拡散計算による環境濃度の推定では短期間の調査であったが、概ね良好な結果が得られ今後の有害大気汚染物質の調査等に有用であると考えられた。

5 参考文献

- 1) 環境省水・大気環境局大気環境課：有害大気汚染物質測定方法マニュアル・排出ガス中の指定物質の測定方法マニュアル、平成20年10月
- 2) 環境省水・大気環境局大気環境課：平成20年度地方公共団体等における有害大気汚染物質モニタリング調査結果、平成21年12月

航空機騒音の L_{AE} 算出方法及び $WECPNL$ と L_{den} の関係について

A L_{AE} Calculation Method of the Aircraft Noise and Relations of $WECPNL$ and L_{den}

菊地 英男 星川 大介 木戸 一博

Hideo KIKUCHI, Daisuke HOSHIKAWA, Kazuhiro KIDO

新たな航空機騒音に係る環境基準が平成 25 年 4 月から施行されるにあたり、環境基準の類型指定見直しのための新たな評価指標である時間帯補正等価騒音レベル (L_{den}) による実態把握と、これまで常時監視により蓄積された膨大なデータの継続性を確保する必要が生じた。そこで、防衛施設の飛行場周辺地域を対象として、 L_{den} を算出するために必要な航空機 1 機ごとの単発騒音暴露レベル (L_{AE}) を、既存の測定で得られている航空機騒音の最大騒音レベル ($L_{A,Smax}$) と継続時間を用いて推計式を作成し、その有効性を確認した。また、航空機騒音に係る環境基準の範囲である $WECPNL$ 70~75 と L_{den} の関係は、 $WECPNL \div L_{den} + 15$ であることが判明した。この関係は、飛行場の形態や使用機材等によって異なることが示唆されることから、新たな環境基準に係る類型指定を行う場合には、航空機騒音の実態を調査し、実情に合わせた類型あてはめを行う必要がある。

キーワード：航空機騒音；環境基準；加重等価継続感覚騒音レベル；時間帯補正等価騒音レベル；
単発騒音暴露レベル

Key words : Aircraft Noise ; Environmental Quality Standards ; $WECPNL$; L_{den} ; L_{AE}

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。この改正においては、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、新たな評価指標に改正するあたり、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改定された。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 L_{AE} に対する積分範囲の影響及び L_{AE} 推計式について理論的考察を行い、防衛施設の飛行場を対象に L_{AE} 推定式の有効性と L_{den} と W 値の関係について検討を行った結果を報告する。

2 測定地点等

今回対象とした飛行場は、戦闘機等の訓練が主体の防衛施設であり、飛行場周辺の状況と測定地点を図 1 に示す。A から D 地点までは通年測定地点であり、環境騒音観測装置（リオン製 NA-36）に航空機騒音処理プログラムカードを装備し航空機騒音の常時監視を行っている。航空機騒音として識別するための設定条件は、プリセットレベルを 70dB~76dB、継続時間を 3 秒として、周波数重み特性を A、時間重み特性を S（緩）に設定し、航空機 1 機ごとに発生時刻、最大騒音レベル（以下「 $L_{A,Smax}$ 」と言う。）、継続時間（最大騒音レベル-10dB）、単発騒音暴露レベル（サンプル周期 0.1sec、以下「 L_{AE} 」と言う。）、暗騒音 ($L_{90,10min}$) の 5 項目を測定してい

る。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。

また、今回実測調査を行った No.1~No.5 地点は、普通騒音計等（リオン製 NL-21, 32）を用い、周波数重み特性及び時間重み特性は通年測定地点と同じ設定にし、4~7 日間の騒音レベルを 0.1sec 間隔でメモリーに連続記録し、後日ソフトを用いて航空機 1 機ごとに発生時刻、 $L_{A,Smax}$ 、継続時間、 L_{AE} を求め、更に 1 日単位の L_{den} 及び W 値を算出した。

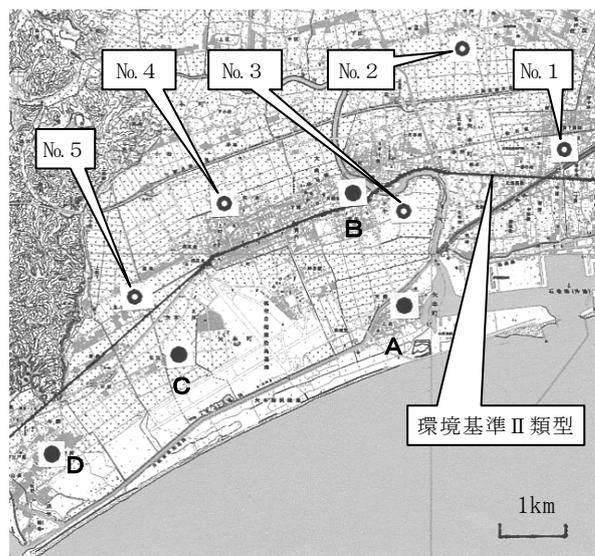


図 1 飛行場周辺の状況と測定地点の配置

3 L_{AE} に対する積分範囲の影響

初めに、航空機 1 機毎の L_{AE} を求めるには航空機騒音が暗騒音から 10dB を超えている時間全てについて積分を行う必要がある。

しかし、この値とほぼ同じ L_{AE} を算出できれば、積分の対象とする時間を短縮することが出来ることから、 $L_{A,Smax}$ からの積分範囲を変化させた場合に L_{AE} に与える影響について検討した。検討にあたり、航空機騒音レベルの時間変化を三角近似と仮定し、影響を受ける積分区間を -100dB までと仮定した総エネルギー量を基準として、継続時間を 5, 10, 20sec の 3 パターン、 $L_{A,Smax}$ からの積分範囲のレベル差を $-5\sim-60\text{dB}$ まで変化させて、それぞれの総エネルギー量を算出し、エネルギー比をレベル換算した結果を図 2 に示す。

この図より、 L_{AE} に対する影響は、積分区間が同じであれば継続時間の変化による影響は小さいが、 $L_{A,Smax}$ からの積分区間が広がるほど L_{AE} に対する影響が増大し、積分区間が $L_{A,Smax}$ から -5dB の場合は $1.5\sim 1.6\text{dB}$ 、 -10dB の場合で約 0.5dB 、 -20dB 以上では 0.1dB 以下であった。この結果、 -10dB の積分範囲で 0.5dB の影響があることは、既往の調査¹⁾と等しい結果であった。

これらのことから、 $L_{A,Smax}$ から -10dB の区間を積分範囲とすれば実用的には充分であると思われる。

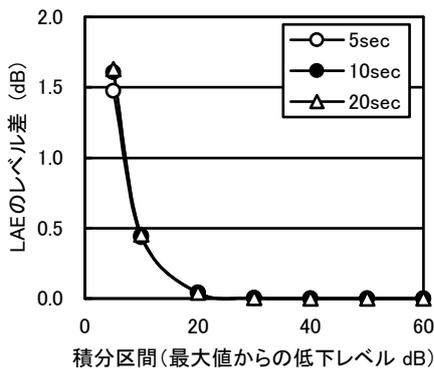


図 2 積分区間が L_{AE} に与える影響

4 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は、騒音レベルの時間変化を三角近似できると仮定した以下の推計式が導かれ、実測値との差が -0.7dB であった¹⁾としている。

$$L_{AE} = L_{A,Smax} + 10\log(T_{dur}/2) = L_{A,Smax} + 10\log(T_{dur}/20) + 10 \dots \dots \dots (1)$$

T_{dur} : 航空機騒音の継続時間 ($L_{A,Smax} - 10\text{dB}$)

この結果によると、航空機騒音を実際よりも低く推計することになるため、より実態に近づくような推計式について、音圧を対数変換したレベル波形、いわゆるレベルレコーダに記録される波形を三角近似に仮定して検討した。継続時間を $5\sim 80\text{sec}$ に設定し、 $L_{A,Smax}$ が継続時間中一定であるとした場合の総エネルギー量に対する、三角近似したレベル変化を 0.1sec 間隔でエネルギーに変換して算出したエネルギー量の比を求めた結果を図 3

に示す。

この図から、継続時間が長くなるほどエネルギー比が大きくなり、継続時間 5sec で 0.385、20sec で 0.389、80sec で 0.391 であることが判明した。このことから、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。

このことから、既往の調査と同じように L_{AE} の推定式を作成した結果 2 式が得られた。

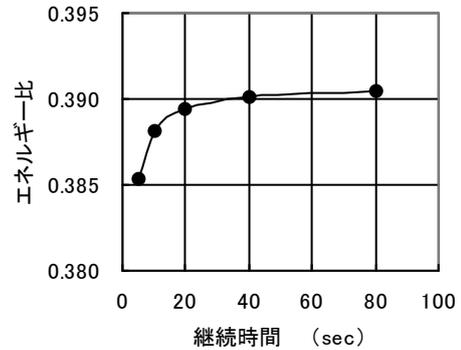


図 3 継続時間に対するエネルギー比

$$L_{AE} = 10\log(10^{(L_{A,Smax}/10)} \times 0.39 \times T_{dur}) = L_{A,Smax} + 10\log(T_{dur}) - 4.09 \dots \dots \dots (2)$$

一方、1 式を更に展開すると 3 式が得られる。

$$L_{AE} = L_{A,Smax} + 10\log(T_{dur}) - 3.01 \dots \dots \dots (3)$$

2 式と 3 式の定数項の差が約 1dB となっているのは、推定式を作成時に 1 式は騒音の音圧波形そのものから導いた L_{AE} であるためにエネルギーそのものの比率として 0.5 (50%) を使い、2 式は前述したようにレベル波形のエネルギー比から算出した 0.39 (39%) を用いて推定式を作成したことに由来しているものと推察される。

ここで、A~D 地点について L_{AE} の実測値と 1 式及び 2 式から推定した L_{AE} を比較した結果を表 1 に示す。

平均値の欄の実測は A~D 地点における 1 年間に飛行した航空機 1 機毎の L_{AE} を算術平均したものである。1 式及び 2 式はそれぞれの推計式から算出した航空機 1 機

表 1 L_{AE} の実測値に対する推定値の差

項目		A	B	C	D
平均値	実測	90.3	90.1	94.6	93.0
	1 式	+0.6	+1.0	+0.9	+0.6
	2 式	-0.4	±0.0	-0.1	-0.3
σ	実測	8.6	5.4	6.7	8.1
	1 式	±0.0	+0.1	+0.1	-0.1
	2 式	±0.0	+0.1	+0.1	-0.1
n		11,924	5,292	11,967	9,078

注 1: 平均値及び σ (標準偏差) の単位は dB である。
注 2: 1 式, 2 式の欄は実測値からのレベル差を表す。

毎の L_{AE} と実測値との差の平均値を示している。これによると、実測値と平均値の差は、1式で $0.6 \sim 1.0\text{dB}$ 高く、2式は $0.0 \sim 0.4\text{dB}$ 低い結果であった。1式よりも2式の差が小さいのは、測定機器（リオン(株)NA-36）がレベル波形からサンプリング方式により L_{AE} を算出しているためであり、このような場合には2式が有効と思われる。

5 WECPNL と L_{den} の関係

測定地点 A～D 及び No.1～5（以下「実測 5 地点」と言う。）の計 9 地点において測定した結果の例示として、D 地点における W 値と L_{den} 実測値の関係を図 4 に示す。これらの関係は各地点（実測 5 地点はデータ数が少ないため一括処理）とも同じで、相関係数は 0.98 以上と強い相関があることから、各地点について最小二乗法により回帰式を作成し、 W 値に対する L_{den} の差を集計した結果を表 2 に示す。 W 値と L_{den} の関係を見ると、航空機騒音に係る環境基準である $70 \sim 75 W$ の範囲にあつては、 W 値と L_{den} の関係はほぼ 15 の差であり、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、この差については、A～D 地点では W 値が大きい地域、すなわち離着陸コース下で飛行場に近いほど 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} との差が小さ

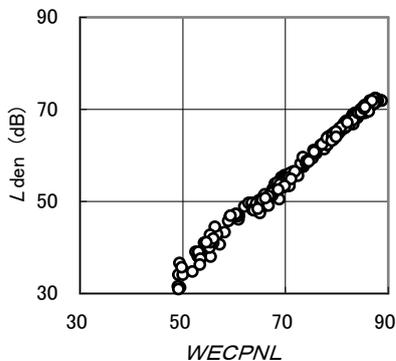


図 4 WECPNL と L_{den} の関係 (D 地点)

表 2 WECPNL に対する L_{den} のレベル差

地点	$WECPNL$ と L_{den} の差 (dB)					n
	50	60	70	75	80	
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。

くなる傾向がある。

なお、 W 値と L_{den} の差が大きくなる原因について考察すると、継続時間に対する W 値と L_{den} の差を図 5-1 及び 5-2 に例示するが、継続時間が長くなるにつれて両者の差も小さくなり、継続時間が 20 秒程度であれば、その差もほぼ 13 になることが読み取れる。今回対象とした飛行場は戦闘機の訓練が主体であることから継続時間が短い場合が多く、そのために W 値と L_{den} の差が大きくなったものと考えられる。

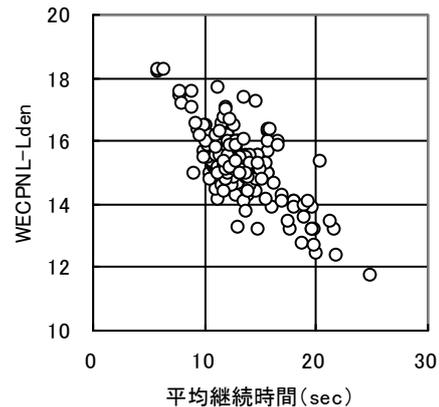


図 5-1 平均継続時間と $WECPNL-L_{den}$ の関係 (D 地点)

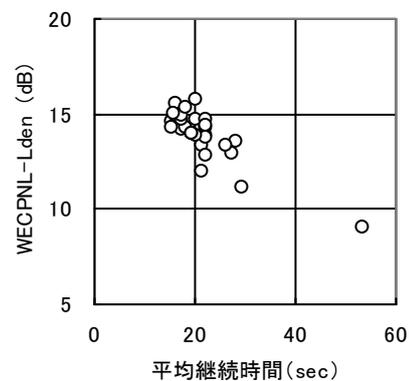


図 5-2 平均継続時間と $WECPNL-L_{den}$ の関係 (実測 5 地点)

6 まとめ

新たな航空機騒音に係る環境基準が平成 25 年 4 月から施行されるにあたり、評価指標である L_{den} による環境基準の類型指定見直しのための実態把握と、これまで常時監視により蓄積された膨大なデータの継続性を確保する必要が生じる。このため、既存のデータを用いた新しい L_{AE} の推計式を作成し、その有効性を確認した。これにより、航空機 1 機ごとの $L_{A,Smax}$ と継続時間を用いて L_{AE} を推定することにより、更に精度の良い L_{den} を算出することが可能になった。

また、今回の調査では航空機騒音に係る環境基準の範囲である $70 \sim 75 W$ と L_{den} の関係は

$$WECPNL \cong L_{den} + 15$$

であることが判明した。しかし、この関係は W 値が大きいほど第2項の定数が大きくなる傾向にあった。

この差については、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飛行場については 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ーを中心に飛行している場合や飛行場から遠く離れている地点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示唆されることから、新たな環境基準に係る類型指定を行う場合には、航空機騒音の実態を調査し、実情に

合わせた類型あてはめを行う必要があると思われる。

7 謝 辞

本検討を行うにあたり、通年測定地点の常時監視データの提供を受けた東松島市に対し、ここに感謝の意を表します。

8 参考文献

- 1) 環境省：“平成17年度航空機騒音に関する評価方法検討業務報告書”平成18年2月

新しい「騒音の目安」調査について

A Publication of the New “Index of the Noise”

菊地 英男 木戸 一博
Hideo KIKUCHI, Kazuhiro KIDO

全国環境研協議会騒音調査小委員会では、等価騒音レベルを用いた「騒音の目安」作成調査を平成19年度と平成20年度の2カ年で行った。新たに作成された「騒音の目安」は、一般住民が日常生活の場で遭遇する騒音レベルのデータベースであり、騒音行政や環境学習における貴重な資料になるとともに、騒音暴露量推計等への活用が期待できる。

キーワード：騒音の目安；等価騒音レベル；騒音暴露量

Key words : Index of the Noise ; $L_{Aeq,T}$; Noise Exposure

1 はじめに

騒音の苦情は、騒音規制法施行状況調査結果によると年々増加しており、騒音問題が従来の都市化した地域の問題から、全国的な広がりを持った環境課題であることを示している。このような騒音苦情においては、一般住民が遭遇する騒音がいかなる程度のものであるかをわかり易く、「騒音の目安」という視覚に訴える形で提供することが有効な手法と考えられる。この種の調査は、大都市部で実施された例はあるが、全国レベルで作成された例がないことから、全国環境研協議会に騒音調査小委員会を設置し、平成19年度から2カ年にわたり全国24の地方環境研究機関の協力により調査した。先行実施した東京都環境科学研究所のデータを含めると2,383件のぼる調査データが得られ、これらのデータを基に作成した「騒音の目安」について報告する。

2 調査方法

現在、書籍等で一般的に使用されている「騒音の目安」は、測定方法や評価指標が明確にされていないことから、騒音調査小委員会では、評価指標を物理的に明確なエネルギーベースの等価騒音レベル ($L_{Aeq,T}$) とし、全国的に統一した測定手法にするために「騒音の目安作成のための測定マニュアル」を作成した。

測定は、住民が日常生活で暴露されている施設等の騒音や住民にとって特徴的な場所と認識される騒音について、観測時間を1時間(実測時間は原則10分間)とし、マイクロホンは屋外では地上1.2m~1.5m、屋内及び車内では床面から1.2mの高さで、三脚設置方式、手持ち方式、持ち歩き方式等適切な方法により、積分型騒音計を用い周波数重み特性をA、時間重み特性をF(速)として L_{Aeq} , L_{AE} , L_{AFmax} , L_{A10} , L_{A50} , L_{A90} 等の測定を行った。

なお、道路沿道及び鉄道周辺における騒音については、既存の測定結果を収集し、道路沿道は時間区分毎の L_{Aeq} 、鉄道沿線は列車毎の単発騒音暴露レベルと列車本数から

時間区分毎の L_{Aeq} を算出した。

測定データの集計については、等価騒音レベルの平均はパワー平均が原則であるが、この調査においては各測定値から全国で観測される平均的な値を求めることが目的であるため算術平均を採用した。なお、測定状況等から調査対象と判断できなかったデータについては、集計の対象から除外した。

3 調査結果

「騒音の目安作成のための測定マニュアル」に基づいて行った7調査区分における調査結果を表1に示す。

一般地域(屋外)では、戸建住宅地域と高層住宅地域に分けて測定すると共に、商店街、繁華街、地下街等の街路においては持ち歩き方式で測定を行った。全体的には安定した結果であったが、工場周辺地域では特にバラツキが大きかった。

交通機関の周辺地域における測定は、原則として地方公共団体で実施している常時監視結果を活用して昼間と夜間の時間区分ごとに騒音レベルを整理した。道路周辺については車線による分類、鉄道については軌道の種類ごとに分類して検討した。道路周辺については、全体的に昼間よりも夜間のバラツキが大きくなっていったが、鉄道周辺については、夜間のデータが少ないため比較はできなかった。

人の集まる施設等(屋外)では、観光地、都市公園やお祭りなどを測定した。都市公園や霊園は安定した結果であったが、観光地やお祭りなどはバラツキが大きかった。

自然地域(屋外)では、田畑、自然が多い地域、海浜などにおいて測定した。自然の多い一般地域や別荘地、海浜、川辺ではバラツキが大きい結果であった。

交通機関の車内は、データ数が多かったため細分類して検討した。地下鉄ではトンネルの小さなミニ地下鉄の騒音レベルが大きかった。また、鉄道ではグリーン車の騒音レベルが有意に低いなど、分類した項目により差が

有ることが明らかとなったが、交通機関の車内は他の調査区分と比較して全体的にバラツキが小さく安定した結果が得られた。

一般の建物内では、人々が出入する店舗などを中心に幅広く測定を行った。全体的に見ると、博物館や一般の

レストランを除きかなり安定した結果であった。

また、遊戯施設やガード下、駅の改札口、建設作業現場等については「特別な場所における測定」としてとりまとめた。

表1 騒音の目安作成調査結果

調査区分及び調査項目			調査数 (件)	騒音レベル (dB)	標準 偏差	調査区分及び調査項目			調査数 (件)	騒音レベル (dB)	標準 偏差	
一般の 地域 (屋外)	戸建て住宅地域 における測定	都心部	昼間	108	44	2.9	交通機関の 車内 (屋内)	地下鉄車内にお ける測定	一般地下鉄	114	76	2.5
			夜間	25	38	3.4			ミニ地下鉄	18	80	2.4
		近郊部	昼間	41	43	2.8		鉄道車内にお ける測定	都心・近郊線	128	73	3.0
			夜間	25	38	3.1			民鉄都心・近郊線	132	72	3.1
		地方 都市部	昼間	24	45	3.9			ローカル線	48	73	2.6
			夜間	9	39	2.8			小規模線	20	73	2.6
	農村部	昼間	11	43	3.6	新幹線			35	69	2.9	
		夜間	5	38	2.0	特急電車			23	69	3.0	
	山間部	昼間	18	38	5.4	グリーン車		7	65	2.7		
		夜間	8	30	4.8	軌道鉄道車内における測定		20	73	3.4		
	高層住宅地域に おける測定	都心部	昼間	40	49	2.5		新交通車内における測定	13	70	1.2	
			夜間	18	43	3.6		モルレル車内における測定	13	68	1.8	
		近郊部	昼間	17	45	2.4		バス車内におけ る測定	一般乗合バス	75	69	2.0
			夜間	5	42	2.8		高速バス		3	64	2.8
	商業地域における測定	昼間	2	62	—	自道車内におけ る測定		高速道路	39	70	3.5	
工場周辺地域における測定	昼間	14	63	10.0	一般道路	41	64	3.4				
商店街における測定	昼間	38	66	3.7	タクシー車内における測定	9	60	1.8				
繁華街における測定	昼間	13	71	4.8	航空機内における測定	8	77	2.5				
飲食店街における測定	夜間	11	66	3.2	フェリー船内における測定	9	60	4.7				
地下街等における測定		12	69	2.1	会議室内における測定	6	63	4.5				
交通施設 の周辺 地域 (屋外)	道路周辺地域に おける測定	2車線 以下	昼間	602	68	3.7	一般の建物内 (屋内)	ホテル内にお ける測定	ファーストフード店	43	66	3.2
			夜間		63	6.0			コーヒーショップ	94	66	3.3
		4車線 以下	昼間	332	71	3.1		飲食店にお ける 測定	喫茶店	102	62	4.7
			夜間		67	4.6			居酒屋	17	75	3.8
		6車線 以下	昼間	41	72	3.1			ファミリーレストラン	91	63	4.3
			夜間		69	4.2			一般レストラン	7	68	6.4
	7車線 以上	昼間	16	72	2.4	図書館内にお ける測定			25	43	3.2	
		夜間		70	2.9	美術館内にお ける測定		13	47	1.6		
	鉄道周辺地域に おける測定 (近郊線)	平坦軌道	昼間	31	65	4.7		博物館内にお ける測定	24	60	6.6	
			夜間	8	59	5.6		公共施設等(市役所窓口等)にお ける測定	20	55	4.5	
		掘割軌道	昼間	14	61	5.4		病院内にお ける測定	13	58	2.2	
			夜間	1	52	—		郵便局内にお ける測定	8	60	3.2	
		盛土軌道	昼間	20	62	4.8		銀行内にお ける測定	16	59	2.3	
			夜間	7	56	4.0		小売舗内にお ける測定(書店)	11	52	3.9	
	高架軌道	昼間	41	58	6.0	デパートにお ける測定		食料品売場	16	70	2.7	
鉄橋	昼間	5	67	6.5	婦人服売場	10	61	2.1				
鉄道周辺地域に おける測定 (新幹線)	平坦軌道	昼間	1	39	—	スーパーマ ーケットにお ける測定	32	66	2.8			
		夜間	1	30	—	コンビニにお ける測定	19	63	1.5			
	掘割軌道	昼間	2	45	—	家電量販店 内にお ける測定	都心・近郊部	10	74	2.8		
		夜間	2	36	—	地方都市部	2	66	—			
	高架軌道	昼間	12	45	2.9	ホームセン ターにお ける測定	5	58	3.5			
		夜間	12	36	2.9	遊戯施設内 にお ける測定	ゲームセン ター	21	82	3.0		
設 人 等 (集 ま る 屋 外)	観光地等にお ける測定	寺社	29	54	6.9	パチンコ店	10	90	3.2			
		霊園	21	46	3.1	ガード下にお ける測定	16	74	10.6			
		上記以外	15	56	9.6	駅改札口にお ける測定	25	69	3.2			
	都市公園にお ける測定	34	51	3.7	建設作業場 周辺 にお ける 測定	解体工事	7	72	8.2			
お祭りにお ける測定	15	75	7.2	建築躯体工 事		6	67	5.1				
田畑にお ける 測定	近郊部	7	43	1.7		杭打ち工 事	5	68	5.5			
	山間部	47	39	3.6		土木工 事	5	71	6.9			
自然地域にお ける 測定	一般地域	15	42	7.1		基礎工 事	1	75	—			
	別荘地	4	33	5.9	路面工 事	2	81	—				
海 濱 に お け る 測 定 (屋 外)	滝	4	69	3.2	道の駅にお ける測定	10	63	2.5				
	海浜にお ける測定	13	61	6								
	川辺にお ける測定	10	59	7.3								
	ハイキング コースにお ける測定	1	52	—								
動物の 声の測定	蝉の 声	10	72	5.2								

※：データ数が少ないので計算値なし

4 「騒音の目安」の作成

「騒音の目安」は、一般の住民等が見て判りやすい形で表示し、全国的に活用できるものが望ましいことから、調査項目に地域性を考慮し、都心・近郊部と地方都市・山村部の2つに分けて作成したものを図1及び図2に示す。

なお、目安として採用する項目は、データの精度を考慮して、測定データ数が10件以上で標準偏差が原則として4.0未満の項目を採用したが、蟬の声については標準偏差が5.2と若干バラツキが大きかったが、子供達にも判り易い項目であることから採用することにした。

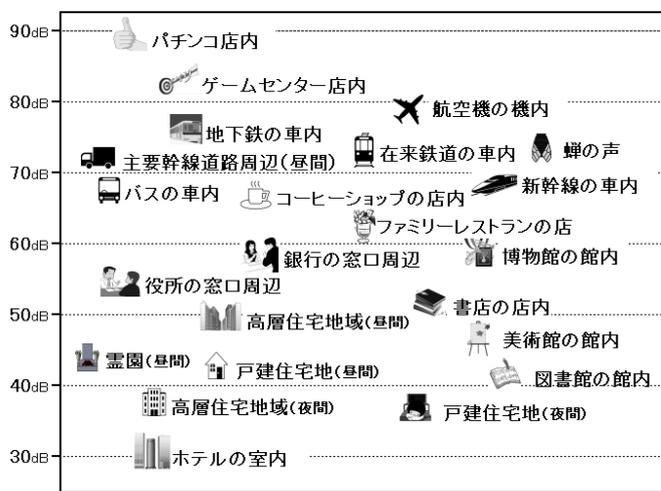


図1 騒音の目安（都心・近郊部用）

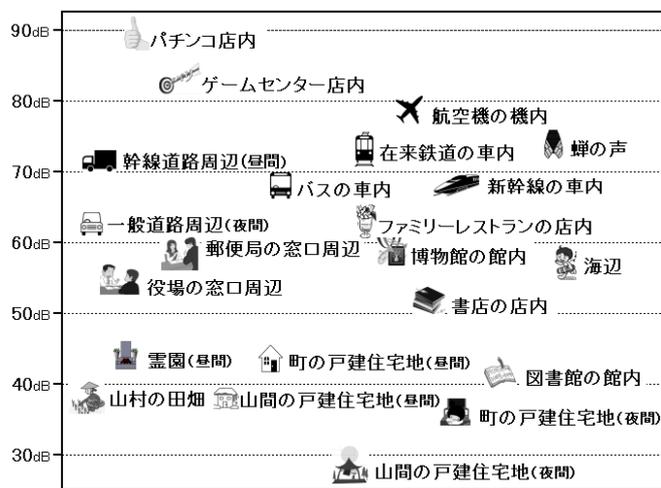


図2 騒音の目安（地方都市・山間部用）

5 「騒音の目安」の活用

騒音行政において、環境基準や規制基準等を説明する際に、日常生活で測定機器を有しない住民等が騒音レベルの大きさを理解するのは難しい。そこで、今回の調査で作成した「騒音の目安」を騒音苦情や環境学習等に活用することにより、身近な音から各種基準値に対する騒音レベルの大きさを判りやすく理解できる資料になると

ともに、騒音公害の未然防止に繋がる資料としての活用が期待できる。

また、WHOでは、騒音の健康に対する悪影響として、人間の器官の機能障害をもたらす器官の形態学的生理学的変化、または更なるストレスに耐える能力の障害、環境上の作用の有害な影響に対する人間の器官の敏感性の増加と定義されている。騒音によるストレスの影響を把握する際に欠かせないのが、日常生活における騒音暴露量である。

今回作成した「騒音の目安」の評価指標は、エネルギーベースの等価騒音レベルであり、更にデータを集積することにより、1日の行動ごとの時間と等価騒音レベルを用いて日常生活における騒音暴露量の推計が可能となる。従って、地域や生活パターンごとに騒音暴露量の比較が容易になり、騒音によるストレスの影響を把握するうえでの有効な資料になるものと考えられる。

6 おわりに

全国環境研協議会に参加している試験研究機関の協力により、様々な場所における騒音レベルを精力的に収集し、貴重なデータベースを作成すると共に地域の住民にとって大変判りやすい形で「騒音の目安」を提供できたことは、大変意義深いものがある。しかし、今回の調査においては対象項目によってデータ数の少ないものがあつたことから、データの的に安定している項目を抽出し「騒音の目安」として示した。今回データ数が少ないなどの理由により目安に反映されなかった項目については、継続的にデータを収集・集積し、精度の向上を図ることにより「騒音の目安」に追加していく必要があるものと思われる。また、この「騒音の目安」は、一般県民へのわかり易い形での情報提供はもとより、環境学習や行政サイドにおいても広く活用できる。また、今回採用した評価指標はエネルギーベースの等価騒音レベルであることから、更なるデータの集積によりデータベースを充実させ個人の騒音暴露量推計など今後の様々な研究への活用が期待できる。

なお、今回作成した「騒音の目安」は時代と共に変化するものと考えられることから、今後は定期的にデータを更新していく必要があると思われる。

最後に、この報告は、全国環境研協議会騒音調査小委員会として取りまとめた結果を基に編集していた。

7 参考文献

- 1) 末岡伸一：騒音制御，32，6，362-367(2009)
- 2) 全国環境研協議会騒音調査小委員会：騒音の目安作成のための測定マニュアル(2009)
- 3) 末岡伸一他：全国環境研会誌，34，4，22-29(2009)

温泉排水中のほう素・ふっ素濃度実態調査結果

Survey result of Boron and Fluorine Concentration in Hot-springs Inn Effluent of Miyagi Prefecture

福地 信一 清野 茂 小山 孝昭
Shin-ichi FUKUCHI, Shigeru SEINO, Takaaki KOYAMA
環境対策課 各保健所環境公害担当職員

平成22年6月に、温泉旅館等のほう素及びその化合物、ふっ素及びその化合物（以下「ほう素・ふっ素」という。）に係る暫定排水基準の見直しが予定されている。

宮城県内は中小規模の温泉旅館が多く、その排水中には自然由来のほう素・ふっ素が含まれている。これらの排出実態は未解明な部分があることから、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。

その結果、ほう素・ふっ素とも調査対象38施設の全てが暫定排水基準を満足していた。一律排水基準については、ふっ素は全施設が基準を満足していたものの、ほう素は16施設が基準を超過していた。

キーワード：ほう素；ふっ素；排水基準；温泉旅館

Key words : boron; fluorine; national effluent standards; hot-springs inn

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、表1に示すとおり一律排水基準（ほう素10mg/l、ふっ素8mg/l）が設定された。ただし、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/l、ふっ素（日排水量50m³未満の旅館業等は50mg/l、50m³以上の旅館業等は15mg/l））が設定された。

表1 旅館業に係るほう素・ふっ素の排水基準

区分	基準 日排水量	ほう素(mg/l)		ふっ素(mg/l)	
		暫定基準	一律基準	暫定基準	一律基準
S49年以前湧出	—	500	230 海域	50	15 海域
S49年以降湧出	50m ³ 未満		10 その他		8 その他
	50m ³ 以上	15			

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、環境公害部門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

2.1 調査対象施設

表2に示すとおり、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、合計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。）

表2 調査施設数

保健所 種類	仙南	大崎	石巻	気仙沼	合計
温泉旅館	13	18	1	1	33
公衆浴場	1	2	2		5
合計	14	20	3	1	38

2.2 調査期間

平成21年6月から11月まで

2.3 調査方法

各事業場の最終排水口で採水し、ほう素については「アズメチンH吸光光度法」、ふっ素については「アルフッソン吸光光度法」により測定した。

なお、仙南及び大崎保健所管内の調査については、温泉旅館が多いため、環境対策課、各保健所、保健環境センター職員が合同で一斉調査を実施したものである。

3 調査結果

表3に水質測定結果を示す。

表3 水質測定結果

No.	地域名	管轄 HC	放流先	採水 年月日	放流形態	水温 (°C)	透視度	pH	ほう素 (mg/l)	ふっ素 (mg/l)
1	鎌先	仙南	湯川	H21.10.20	温泉排水のみ	34.8	>50	7.09	16.50	3.46
2	鎌先	仙南	湯川	H21.10.20	温泉排水+生活排水	32.0	>50	8.02	10.75	2.27
3	鎌先	仙南	児捨川	H21.10.20	温泉排水のみ	41.6	>50	8.32	5.50	2.11
4	白石	仙南	白石川	H21.10.20	温泉排水のみ	30.6	>50	7.57	1.25	0.24
5	遠刈田	仙南	松川	H21.10.20	温泉排水+生活排水	20.5	>50	7.36	0.11	0.04
6	遠刈田	仙南	松川	H21.10.20	温泉排水+生活排水	22.8	>50	7.71	1.85	0.95
7	黄金川	仙南	森小田川	H21.10.20	温泉排水のみ	38.2	19	7.50	23.00	1.76
8	金山	仙南	下水道	H21.10.20	温泉排水のみ	31.2	>50	8.08	22.50	2.43
9	川崎	仙南	下水道	H21.10.20	温泉排水+生活排水	18.5	>50	7.36	2.20	0.28
10	川崎	仙南	太郎川	H21.10.20	温泉排水のみ	31.0	>50	7.56	2.15	0.18
11	川崎	仙南	松川	H21.11.7	温泉排水+生活排水	25.0	35	7.83	19.20	1.51
12	川崎	仙南	松川	H21.11.7	温泉排水+生活排水	18.0	7	7.82	13.50	1.00
13	川崎	仙南	松川	H21.11.7	温泉排水+生活排水	19.0	28	7.66	10.20	0.74
14	川崎	仙南	松川	H21.11.7	温泉排水+生活排水	19.5	>50	8.29	20.80	1.46
15	鳴子	大崎	江合川	H21.8.27	温泉排水のみ	32.0	>50	8.66	18.40	2.30
16	鳴子	大崎	荒雄川	H21.8.27	温泉排水のみ	44.0	>50	8.62	6.80	0.99
17	鳴子	大崎	江合川	H21.8.27	温泉排水のみ	>50	>50	8.31	18.20	2.12
18	鳴子	大崎	江合川	H21.8.27	温泉排水のみ	>50	>50	8.61	9.20	0.28
19	鳴子	大崎	江合川	H21.10.22	温泉排水+生活排水	50.8	>50	8.25	28.50	2.71
20	鳴子	大崎	江合川	H21.10.22	温泉排水のみ	35.3	>50	8.15	8.63	1.21
21	鳴子	大崎	江合川	H21.10.22	温泉排水のみ	39.6	>50	7.81	5.88	0.82
22	鳴子	大崎	江合川	H21.10.22	温泉排水のみ	36.0	>50	8.64	10.60	0.18
23	鳴子	大崎	江合川	H21.10.22	温泉排水のみ	>50	>50	8.49	35.50	2.34
24	鳴子	大崎	江合川	H21.10.22	温泉排水のみ	32.0	>50	8.00	20.25	1.69
25	鳴子	大崎	江合川	H21.10.22	温泉排水のみ	44.6	>50	7.97	9.50	0.31
26	中山平	大崎	大谷川	H21.10.22	温泉排水+生活排水	27.8	>50	7.41	4.85	1.16
27	鬼首	大崎	荒雄川	H21.10.22	温泉排水のみ	33.8	>50	7.55	3.65	0.89
28	鬼首	大崎	荒雄川	H21.10.22	温泉排水+生活排水	58.4	>50	8.93	4.35	1.07
29	宮崎	大崎	澄川	H21.8.4	温泉排水のみ	41.0	>50	7.52	13.60	0.89
30	宮崎	大崎	田沢川	H21.8.4	温泉排水のみ	41.0	>50	7.68	38.00	1.60
31	小野田	大崎	鳴瀬川	H21.6.10	温泉排水+生活排水	27.0	>50	7.66	6.90	0.27
32	涌谷	大崎	江合川	H21.9.7	温泉排水+生活排水	33.5	>50	7.72	0.49	0.09
33	田尻	大崎	田尻川	H21.8.5	温泉排水+生活排水	34.0	>50	7.87	0.55	0.18
34	金成	大崎	金流川	H21.5.20	温泉排水+生活排水	24.0	>50	8.98	0.76	3.26
35	女川	石巻	万石浦	H21.10.14	温泉排水のみ	24.0	21	6.89	1.33	0.03
36	石巻	石巻	北上川	H21.10.14	温泉排水のみ	29.0	20	7.33	0.32	0.05
37	南方	石巻	長沼	H21.11.4	温泉排水のみ	13.0	14	6.88	0.17	0.07
38	志津川	気仙沼	志津川湾	H21.9.8	温泉排水+生活排水	29.0	>50	7.38	0.08	0.08

注) pH, ほう素, ふっ素については, 調査報告のため小数第2位まで表示している。赤字は一律排水基準超過を示す。

3.1 ほう素測定結果

図1は、表3に示したほう素の測定結果を降順に並べ替えたものである。

ほう素濃度は0.08mg/l~38.0mg/lの範囲で、38施設中16施設が一律排水基準(10mg/l)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

例が多かった。平成20年度に環境基準補助点である鳴子ダム流入部の大深沢で、ほう素濃度1.2mg/l(環境基準値1mg/l)を検出したが、上流域に温泉旅館はなく、地質に由来する自然汚濁と考えられる。

なお、暫定排水基準(500mg/l)は全施設が満足していた。

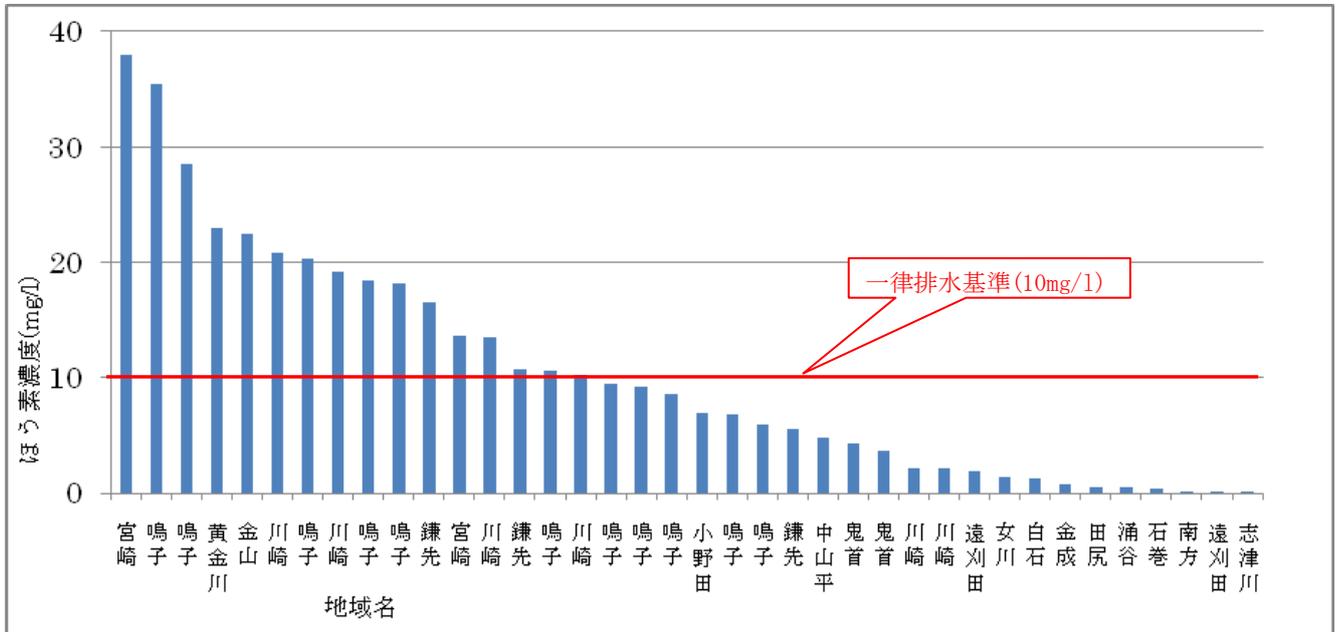


図1 ほう素測定結果

図2に一律排水基準を超過した16施設を放流形態別に示した。ブルーは温泉排水を単独で放流している施設、ピンクは温泉排水と生活排水を混合して放流している施設を示すが、温泉排水を単独で放流している10施設に

ついては、超過値が一律排水基準値の2倍から4倍程度のため、源泉の絞り込みや生活排水との混合希釈により基準を達成できる可能性があるが、既に混合放流している施設は処理対策が必要と考えられる。

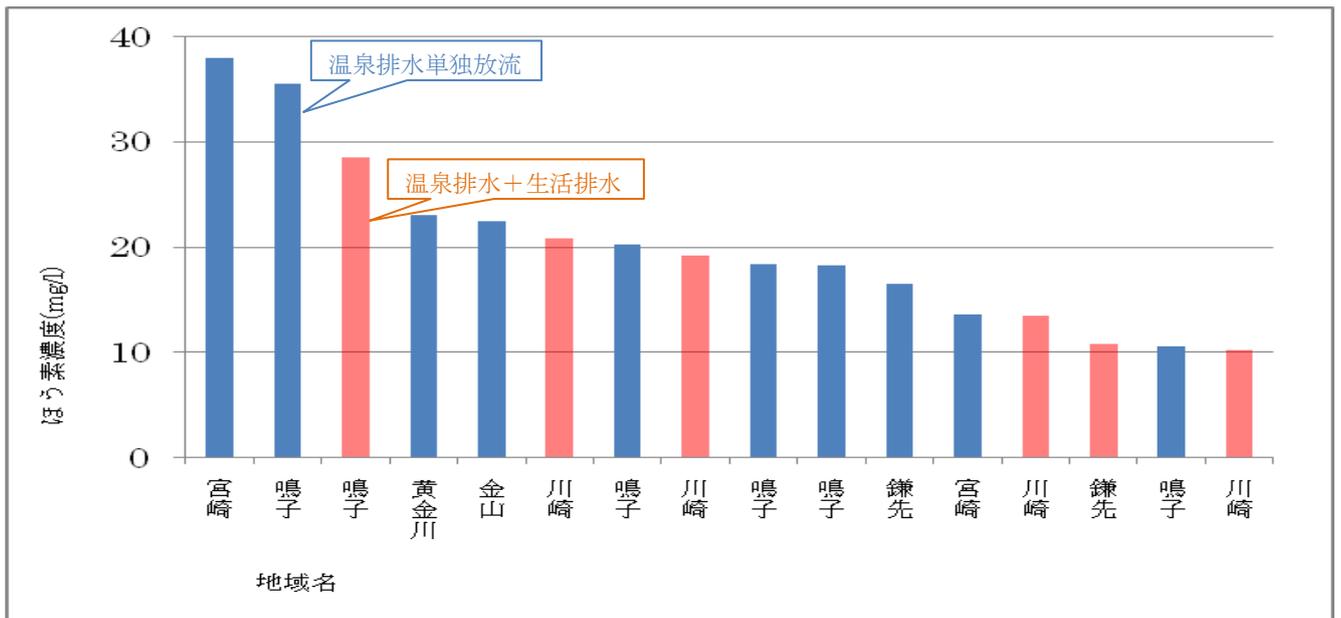


図2 ほう素測定結果 (放流形態別)

3.2 ふっ素測定結果

図3は、表3に示したふっ素の測定結果を降順に並べ替えたものである。

ふっ素濃度は0.03mg/l~3.46mg/lの範囲であり、全

施設で一律排水基準(8mg/l)及び暫定排水基準(日排水量50 m³未満は50mg/l、50 m³以上は15mg/l)を満足していた。

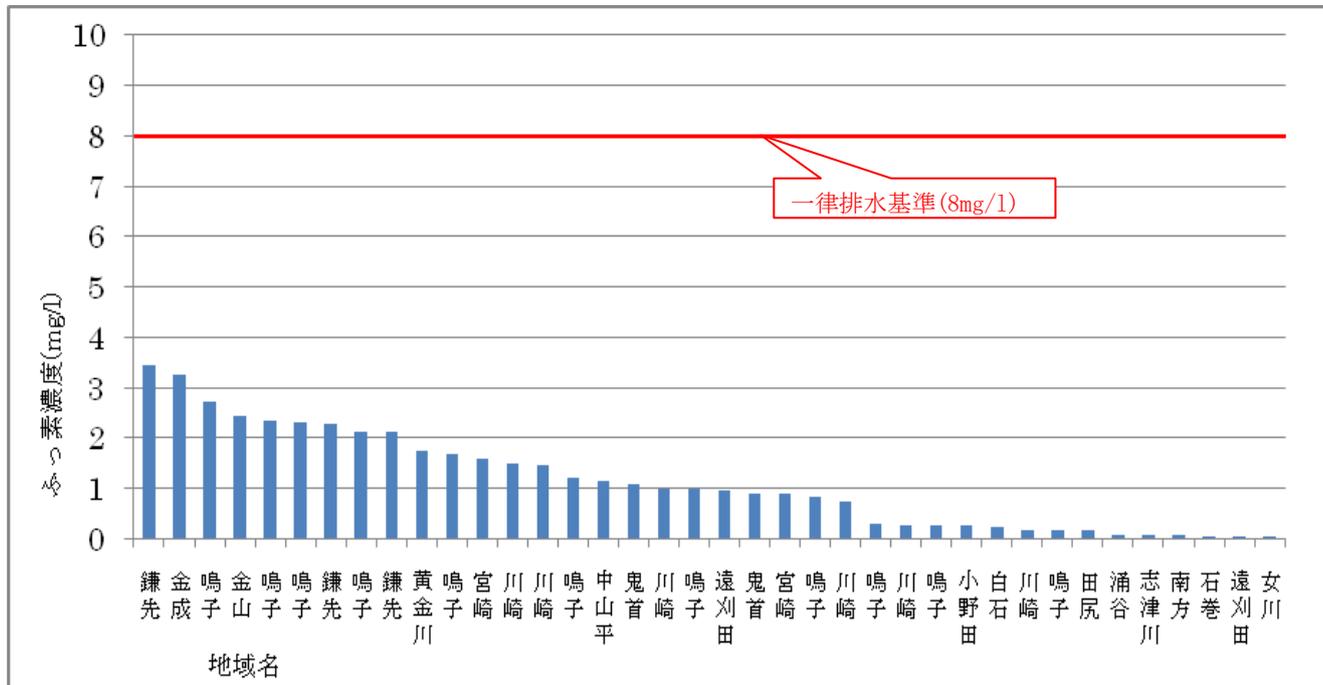


図3 ふっ素測定結果

3.3 排水処理技術

平成20年度環境省委託業務「ほう素・ふっ素排水対策促進技術検討会報告書」によると「温泉排水処理については、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がたい。」とされている。

温泉排水処理施設は、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処理技術は現在開発途上にある。

表4に現在までの排水処理技術を示したが、大手の電気メッキ業や半導体素子製造業では導入実績はあるものの、温泉排水処理では全国的にも導入実績はない。

表4 排水処理技術

種類	ほう素	ふっ素
原理		
凝集沈殿法	<ul style="list-style-type: none"> ・アルミニウム塩と水酸化カルシウムの併用 ・マグネシウム 	<ul style="list-style-type: none"> ・ふっ化カルシウム ・水酸化物共沈 ・汚泥循環式凝集沈殿
吸着法 イオン交換 キレート樹脂	<ul style="list-style-type: none"> ・ほう素選択的吸着樹脂 	<ul style="list-style-type: none"> ・イオン交換樹脂 ・ふっ素選択的吸着樹脂
晶析法+膜ろ過法		<ul style="list-style-type: none"> ・カルシウム塩+MF膜
電気透析法		<ul style="list-style-type: none"> ・電気透析

4 おわりに

温泉旅館にとって死活問題となり得る排水規制の強化を問題視し、環境公害部門業務検討研修会の共同研究テーマとして、環境対策課、各保健所及び保健環境センターが合同で取り組んだ今回の調査は、大変有意義なものであったと考えている。

今後の対策として、

- ①ほう素の超過状況は2~4倍程度なので、源泉量を減らすとともに、生活排水による希釈混合も対策の一つと考えられる。
- ②温泉地域全体で処理する総合排水対策の検討が必要となる。
- ③今後、温泉排水処理技術の開発促進が重要である。
- ④暫定排水基準適用延長の働きかけが必要である。

以上4点ほど考えられるが、その後環境省が所要の検討を行った結果、平成22年7月1日に、排水基準を定める省令の一部を改正する省令の一部を改正する省令が施行され、温泉旅館を含む15業種については、引き続き3年間を期限に暫定排水基準が延長されるに至ったことから、今後の処理技術開発促進に期待したい。