

芽物野菜等の食中毒菌汚染実態調査

Contamination of Bacteria in Sprouts

山田 わか*¹ 菅原 直子*² 佐々木ひとえ
加藤 浩之 小林 妙子 渡邊 節
齋藤 紀行

Waka YAMADA, Naoko SUGAWARA, Hitoe SASAKI
Hiroyuki KATOH, Taeko KOBAYASHI, Setsu WATANABE
Noriyuki SAITO

市販のカイワレ大根等のスプラウトなど生食用野菜類 56 検体について、病原細菌検索および細菌学的汚染実態調査を行った結果、サルモネラ属菌は検出されなかった。大腸菌は 5 検体から 6 菌株分離されたが、病原遺伝子は検出されなかった。一般細菌数は、スプラウトで $10^7 \sim 10^8$ cfu/g、葉物野菜で $10^5 \sim 10^8$ cfu/g と高い菌数であった。またカイワレ大根の流水洗浄による細菌数の比較を行った実験では、1 桁程度の細菌数の減少であった。

キーワード：芽物野菜；一般細菌数；サルモネラ属菌；大腸菌

Key words : sprout ; number of heterotrophic bacteria ; *Salmonella* sp. ; *Escherichia coli*

1 はじめに

平成 17 年度、塩釜保健所管内の介護老人保健施設で *Salmonella* Montevideo (*S. Montevideo*) を原因物質とする食中毒が発生し、その原因食品がカイワレ大根であったことが明らかになった。さらに同時期に調査した市販カイワレ大根からも *S. Montevideo* が検出され、遺伝子解析で同一菌由来であることが確認された¹⁾。

カイワレ大根等の芽物野菜(スプラウト)は、成分の癌予防効果や手軽に摂取できることから、近年需要が増大し多くの種類が市販されている。その一方で、諸外国ではスプラウトを原因とする食中毒事例が多発し、その衛生対策が課題となっている²⁾。また、我が国でも、カイワレ大根が腸管出血性大腸菌 O157 集団食中毒の原因食品と特定されたことがあったが³⁾、スプラウトを含む生食用野菜類の食中毒菌汚染実態についての報告例は少ない^{4, 5, 6)}。そこで、市販のスプラウトを含む生食用野菜類の細菌汚染実態を明らかにし、取扱いの啓発に資するため調査を行った。

2 材料および方法

2.1 調査時期

平成 18 年 5 月から平成 19 年 1 月までの期間

2.2 対象および検査項目

市販の生食用野菜類のうち、芽物野菜等スプラウト(カイワレ大根・ブロッコリー・レッドキャベツ・アルファルファ他 8 品目) 48 検体および葉物野菜(サラダほうれん草他 4 品目) 8 検体、計 56 検体を検査対象とし、一般細菌数、サルモネラ属菌および大腸菌の項目について実施した。

2.3 培地および遺伝子検出用プライマー

増菌用培地として、mEC 培地(栄研化学)、EEM 培地(メルク)および Bufferd Pepton Water(BPW:Oxoid)を用い、サルモネラ二次増菌用として、ラポポート培地(RV:日水製薬)、ハーナのテトラチオネート培地(TT:栄研化学)を、分離用として SS 培地(日水製薬)、DHL 培地(日水製薬)、MLCB 培地(日水製薬)、クロモアガーサルモネラ培地(関東化学)および X-SAL 培地(日水製薬)を用いた。さらに大腸菌、サルモネラ等の確認用として TSI 培地(日水製薬)、LIM 培地(栄研化学)を用いた。

大腸菌血清型別試験は、病原大腸菌免疫血清(デンカ生研)を用いて行った。病原遺伝子検出用プライマーは、TaKaRa 製の、サルモネラ菌エンテロトキシン遺伝子(STN)、サルモネラ菌 invA 遺伝子(SIN)、腸管出血性大腸菌 VT 遺伝子(VT)、毒素原生大腸菌 LT 遺伝子(易熱性エンテロトキシン:LT)、毒素原生大腸菌 ST 遺伝子(耐熱性エンテロトキシン:ST)、腸管付着因子遺伝子(aggR・eaeA:日清紡)および毒素産生性大腸菌 ST 様毒素(EAST:日清紡)を使用した。

2.4 方法

検体 10 ~ 25 g を秤量し、等量の増菌培地(mEC、EEM、BPW)を加え、1 分間手揉みし 2 倍乳剤とした。一般細菌数は、BPW を用い 10 倍段階希釈し、標準寒天平板法で 37℃、48 時間培養後集落数から菌数を算出した。また 2 倍乳剤を、5 種の分離平板培地(SS、DHL、MLCB、クロモアガーサルモネラ、X-SAL)に 1 白金耳塗抹し、37℃、24 時間培養して直接分離を試みた。

一方、増菌培地は、一日培養後それぞれから RV、TT に接種し、37℃、18 時間培養を行った。培養後、RV、TT から同様に 5 種の分離平板培地に 1 白金耳ずつ塗抹し、37℃、24 時間培養を行った。大腸菌、サルモネラ等の疑わしい集落について、TSI、LIM 培地に接種し性状確認を行った。

* 1 現(財)宮城県公衆衛生協会

* 2 現 中南部下水道事務所

同時に mEC 培養液について、PCR 法でそれぞれ目的とする遺伝子のプライマーを用い病原遺伝子の検出を行った。さらに分離した大腸菌については、O 血清型別および, agg R, eaeA, EAST 遺伝子の検出も行った (図 1)。

また、検体のカイワレ大根を用いて、家庭での流水洗浄による細菌数の比較実験についても実施した。

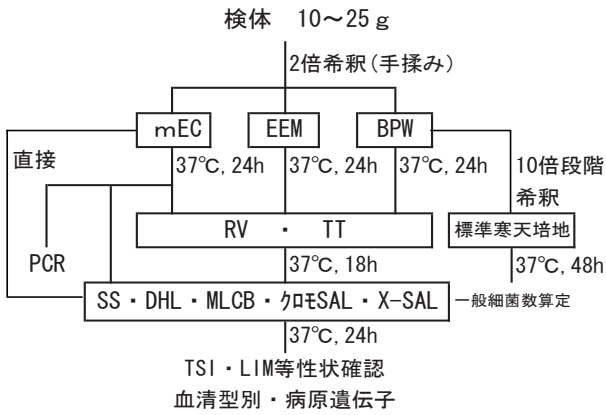


図 1 検査方法

2.5 スプラウト育成工程による一般細菌数測定

スプラウトの製造方法は大きく 2 種類に分けられ、スポンジ状 (綿花など) の床を用いる「ベンチシステム」と、回転式容器中に水を噴霧させながら栽培する「ドラム方式」がある。県内のドラム方式のスプラウト栽培製造所において、ブロッコリースプラウト育成工程別での一般細菌数の推移について調査した。また、菌の分離とそれについての同定も行った。

図 2 に、スプラウト育成工程の概要を示した。

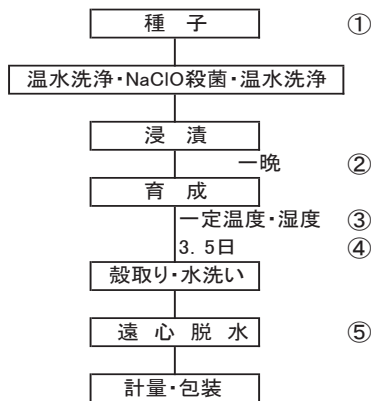


図 2 スプラウト育成工程例

3 結果

3.1 一般細菌数

市販のスプラウト 48 検体および葉物野菜 8 検体、計 56 検体についての一般細菌数汚染状況を表 1 に示した。

全ての検体から一般細菌数は $10^5 \sim 10^8$ cfu/g の範囲で検出さ

れた。カイワレ大根等のスプラウトは、いずれも $10^7 \sim 10^8$ cfu/g と高い値を示し、葉物野菜より 1~2 桁高い傾向が見られた。

表 1 芽物野菜の細菌汚染状況

品名	検体数	一般細菌数 (cfu/g)				
		10^4 以下	10^5	10^6	10^7	10^8 以上
かいわれ大根	15				10	5
ブロッコリー	11				5	6
ブロッコリースプラウト	4				2	2
レッドキャベツ	8				5	3
クレス	4				2	2
マスタード	1					1
そば若菜	1					1
アルファルファ	3				1	2
豆苗	1					1
サラダほうれん草	5			2		3
ベビーみずな	1		1			
サンチュ	1		1			
空心菜	1					1

3.2 カイワレ大根の流水による洗浄効果

流水による洗浄効果を一般細菌数の増減で調べた。すなわち 7 検体のカイワレ大根を流水で 3 回洗浄し、未洗浄との菌数の比較を行い、結果を図 3 に示した。一般細菌数は 1 桁程度の減少がみられただけであった。

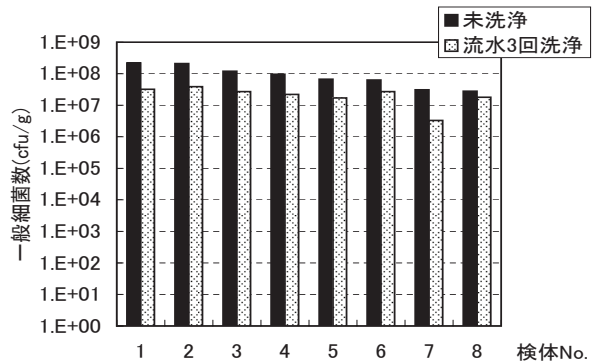


図 3 カイワレ大根の流水による洗浄効果

3.3 サルモネラ属菌

56 検体についてサルモネラ属菌の検索を実施したが、サルモネラ属菌は検出されなかった。

増菌培地 mEC について STN, SIN の PCR を行ったところ、サラダほうれん草など 3 件が STN 陽性を示したが、菌を分離し性状確認の結果, *Citrobacter* sp. であった。なお SIN は全て陰性であった (表 2)。

表 2 病原遺伝子検出状況

品名	検体数	サルモネラ属菌			大腸菌属	
		STN	SIN	VT	LT	ST
かいわれ大根	15	0	0	0	0	0
ブロッコリー	11	0	0	0	0	0
ブロッコリースプラウト	4	1	0	0	0	0
レッドキャベツ	8	0	0	0	0	0
クレス	4	1	0	0	0	0
マスタード	1	0	0	0	0	0
そば若菜	1	0	0	0	0	0
アルファルファ	3	0	0	0	0	0
豆苗	1	0	0	0	0	0
サラダほうれん草	5	1	0	0	0	0
ベビーみずな	1	0	0	0	0	0
サンチュ	1	0	0	0	0	0
空心菜	1	0	0	0	0	0
計	56	3	0	0	0	0

3.4 大腸菌

56検体のうち、カイワレ大根2件、ブロッコリー2件、レッドキャベツ1件から大腸菌6株を分離した。各検体の増菌培地mECについてVT、LT、STのPCRを行ったが、全て陰性であった(表2)。また、分離菌株についてO血清型および病原遺伝子(VT、LT、ST、aggR、eaeA、EAST)について調べた結果、血清型は4株がO18、1株がO114、1株がO136であり、病原遺伝子は全て陰性であった。

3.5 ブロッコリースプラウトの育成行程別細菌数

ブロッコリースプラウト育成工程別の一般細菌数の推移を図4に示した。

材料の乾燥種子の一般細菌数は 10^2 cfu/gで洗浄・浸漬後の種子の菌数変動は小さかったが、育成1日目で 10^7 cfu/gと急激な菌増加が認められた。さらに3日目で 10^8 cfu/gとなったが、製品では、種子の殻を取り洗浄することにより1桁減少した。

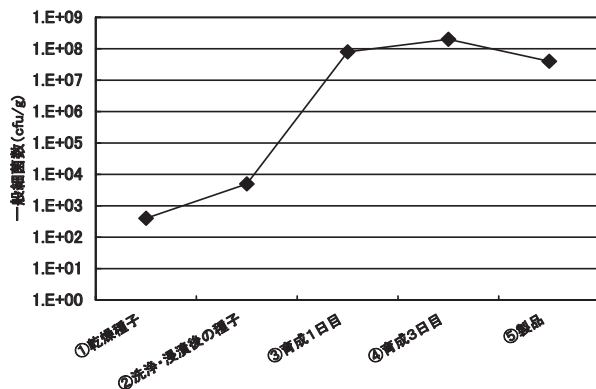


図4 スプラウト育成行程における一般細菌数の推移

3.6 ブロッコリースプラウトからの菌分離と同定

ブロッコリースプラウト乾燥種子、洗浄種子および製品から分離した40菌株について同定を行った結果、*Chryseobacterium* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. など環境中に生息する菌種が分離された。なお、サルモネラ属菌等の病原菌は検出されなかった。

4 考察

平成18年9月に米国で腸管出血性大腸菌O157による大規模な食中毒事件が発生した。感染源は、ある特定の牧草地で栽培された生鮮ほうれん草であったという調査結果が報告されている⁸⁾。このように、外国では生鮮野菜による食中毒事例が多発し、その衛生対策が問題となっている。

昨年の本県におけるサルモネラで汚染されたカイワレ大根を材料としたグリーンサラダによる食中毒事件や、

平成8年堺市のカイワレ大根による腸管出血性大腸菌O157食中毒のように、我が国でも生鮮野菜を原因とする食中毒事件が発生している。

また、厚生労働省が平成15年から17年度に実施した食中毒菌汚染実態調査⁷⁾によれば、平成15年に漬物野菜1件、平成16年にレタス1件、みつば1件、平成17年にキュウリ2件からサルモネラ属菌が検出されている。また、大腸菌はカイワレ、アルファルファを含む野菜類から検出されている。

今回、市販の生食用野菜類56検体について、病原細菌の検索と細菌学的汚染実態調査を行った。その結果、サルモネラ属菌あるいは下痢原生大腸菌などの病原細菌は検出されなかったが、一般細菌数は、スプラウトが $10^7 \sim 10^8$ cfu/g、葉物野菜が $10^5 \sim 10^8$ cfu/gとスプラウトが1~2桁高い菌数を示した。また大腸菌は6菌株が分離されたが、これら大腸菌は病原因子を保有していなかった。

次に、スプラウト製造工程での細菌汚染実験調査を、ブロッコリースプラウトのドラム方式栽培について実施した結果、種子での汚染は少ないが、高温多湿で行うスプラウト製造工程で一般細菌数の増加が認められた。一般に発芽野菜の生産は、高温多湿条件という病原細菌の増殖に最適な環境条件で行われていることから、細菌数の制御は困難であると思われる。また、カイワレ大根の流水による洗浄効果についても実験したが、有効な結果は得られなかった。

近年健康志向等から生鮮野菜の消費が増大している。これらに関する衛生基準等は定められていないが、今回の結果からも、スプラウトに対する衛生管理の徹底が必要と思われる。

参考文献

- 1) 齋藤紀行, 平塚雅之, 菅原直子, 小林妙子, 渡邊節, 山田わか, 谷津壽郎, 秋山和夫, 廣重憲生: 日食微誌, 23 (3), 143 (2006)
- 2) 金子賢一: 食衛誌, 40 (6), 417 (1999)
- 3) 甲斐明美: 日食微誌, 15 (2) 91 (1998)
- 4) 小西典子, 甲斐明美, 松下秀, 野口やよい, 高橋由美, 関口恭子, 新井輝義, 諸角 聖, 小久保弥太郎: 日食微誌, 18 (1), 9 (2001)
- 5) 小沼博隆: 日食微誌, 17 (1), 37 (2000)
- 6) 小沼博隆: 食品衛生研究, 45 (7), 25 (1995)
- 7) 豊福肇, 窪田邦宏, 森川馨: 食品衛生研究, 57 (3), (2007)
- 8) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知 “平成17年度食品の食中毒汚染実態調査の結果について”平成18年3月17日, 食安監発第0317001号(2006)

腸管出血性大腸菌感染症が多発した地域における感染経路の解明

Clarification of Infection Route in the Frequently Outbreak Regions of Enterohemorrhagic *E. coli* Infection Disease in Miyagi Prefecture

三品 道子*¹ 高橋 恵美 佐々木美江
畠山 敬 上村 弘 谷津 壽郎
齋藤 紀行

Michiko MISHINA, Emi TAKAHASHI, Mie SASAKI
Takashi HATAKEYAMA, Hiroshi UEMURA, Juro YATSU
Noriyuki SAITO

本県における2004年の腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症の発生件数は例年の3倍に達した。特徴として、多発した地域があり、その地域で降雨後に環境（河川等）が汚染源と考えられる事例も発生した。そこで、EHECの発生と降雨との関連性を明らかにする目的で、降雨による河川の増水とEHECの挙動との相関性について検討した。その結果、増水した河川がEHEC感染症の多発した地域における感染経路の一つであった可能性が示唆された。

キーワード：腸管出血性大腸菌感染症；降水量

Key words：enterohemorrhagic *E. coli* infection；rainfall

1 はじめに

腸管出血性大腸菌（EHEC:enterohemorrhagic *E. coli*）感染症は、1996年に西日本で発生した集団事例を皮切りに、大規模食中毒の全国的な発生がみられた。その後も夏場を中心に全国で発生しており、毎年約3,500事例前後にのぼる。原因が特定された事例の中には、輸入牛肉による広域な散発事例¹⁾や焼肉店が原因の事例²⁾も多く見受けられる。また、EHECは、牛が常在菌として保有して排菌されていること³⁾、飼育豚の10%前後⁴⁾あるいは、と畜場に搬入された牛の約5%⁵⁾から分離されること、牛糞や畜舎付近では多種類のEHECが検出⁶⁾されることから、畜舎等の環境が汚染・感染源の一つであると考えられている。宮城県においては、2000年に自宅で飼養している子牛が感染源となったEHEC O26感染事例が全国で初めて確認⁷⁾され、牛の保菌率と三類感染症との関連性を指摘した^{8) 9)}。宮城県における平成11～18年度までのEHEC感染事例数および感染者数の年度別推移（図1）において、平成16年度は両者とも突出している。この外的要因を調査した結果、EHEC感染事例と初発患者の発症日の気温および肉用牛の飼養戸数・飼養頭数が高い正の相関^{10) 11)}、降水量とは負の相関^{12) 13)}があることが判明している。しかし、河川の増水も一つの要因であると考えられる事例も5件発生していた。そこで、多発した地域における河川水量の増減とEHECの挙動との相関性を検討し、増水した河川がEHEC感染症の感染経路の一つであった可能性を明らかにすることを目的に調査検討したので報告する。

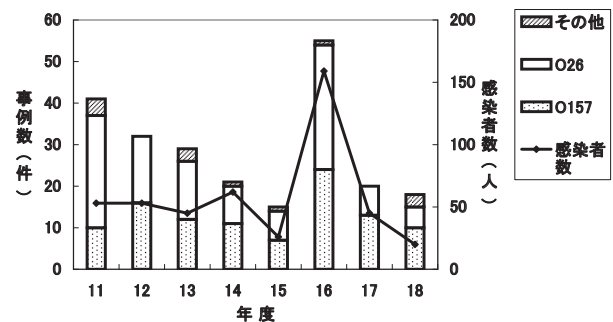


図1 EHEC 感染症事例数および感染者数の年度別推移

2 材料および方法

2.1 降水量

気象庁電子閲覧室の観測定点別のデータを用いた。

2.2 採水定点と採水時期

白石川（白石、大河原、柴田）、鳴瀬川と支流（加美、田川（加美）、花川（色麻））、江合川（古川）、迫川と支流（佐沼、三迫川（金成））を採水定点とし、四季（平成18年5月7日～翌年1月8日、水温4～22℃）を通じて、一日の総雨量が25～94mmであった降雨前後に採水した。

2.3 EHEC 分離同定

mEC 培地に各定点より採水した検水100mlを接種して24時間増菌培養後、SMac（栄研）、RMac（DIFCO）DHL 培地（栄研）にて分離培養を実施し、EHECを疑うコロニーを釣菌して、生化学性状、血清型を確認した。

2.4 EHEC の毒素遺伝子（*stx*）の検出と遺伝子解析

各検水をmECで18～20時間増菌培養し、これについてPCR法による*stx*の検出を行った。*stx*プライマー

* 1 現 宮城県拓桃医療療育センター

は TAKARA を用いた。遺伝子解析はパルスフィールドゲル電気泳動 (pulsed-field gel electrophoresis; PFGE) 法によった。

2.5 *E.coli* MPN (most probable number) の測定

コリラート「アスカ」QT トレイにより検水 100ml 中の最確数 (MPN) を測定した。

2.6 EHEC MPN の測定

最確数法に準じ、各希釈段階 3 本ずつを用いた。培養後 PCR を実施し、*stx* を検出した試験管数を陽性管数とし、検水 100ml 中の EHEC MPN を算出した。

2.7 降水量と EHEC および *E. coli* MPN との相関性

各採水地点における降水量と EHEC および *E. coli* との相関性について、相関係数と回帰直線を求め比較検討した。

2.8 牛の飼養実態と家畜排せつ物施設整備状況

平成 15 - 18 年 2 月 1 日「主要家畜の市町村別飼養戸数・飼養頭羽数」(宮城県畜産課) を基に統計処理を行った。なお、市・郡の区分は平成 17 年度 3 月 31 日現在を用いた。

2.9 分子遺伝学的解析

検出された菌株は、血清型別を行い、さらに PFGE による遺伝子型別を行って、国立感染症研究所で実施されている解析結果¹⁴⁾ と比較検討した。

3 結果および考察

3.1 結果

3.1.1 降水量と *E.coli* MPN との相関性

E.coli MPN と当日降水量は、畜産団地に近い白石川(大河原) (R=0.9153 p<0.01 Y=24.71X+330.79), 白石川(柴田) (R=0.9009 p<0.01 Y=28.25X+269.34), 花川(色麻) (R = 0.8812 p<0.01 Y=39.24X+93.46) で高い正の相関が認められた。一方、数多くの支流が集まる江合川(古川) (R=0.2325) 迫川(佐沼) (R=0.5649) では相関が認められなかった(表 1, 図 2)。しかし、*E.coli* MPN および EHEC MPN の変動を経日的に調べた結果、降雨後にいずれの河川においても、両者とも増加することが判明した(図 3)。

3.1.2 *stx* の検出状況

stx が検出された地点は、白石川(大河原 1/6 回), 鳴瀬川(加美 2/7 回), 田川(加美 1/8 回), 花川(色麻 1/12 回), 江合川(古川 2/12 回), 迫川(佐沼 3/8 回), 三迫川(金成 5/8 回), で、特に迫川, 三迫川の 2 地点では高率に検出された(表 2)。

3.1.3 分離 EHEC

stx が検出された河川について EHEC の検索を行い、O26:H11 VT1 (江合川(古川)), O159:H19 VT2, OUT:HUT VT1,2 (鳴瀬川(加美)) が分離された(表 2)。

3.1.4 PFGE 遺伝子型

河川から分離された EHEC について PFGE 解析を行った結果、過去に県内の患者から分離された菌株と O26:

表 1 降水量と *E.coli* MPN の相関

調査地点	相関係数 (R)	回帰直線
白石川(白石)	0.6830	Y=15.12X+453.49
白石川(大河原)	0.9153**	Y=24.71X+330.79
白石川(柴田)	0.9009**	Y=28.25X+269.34
鳴瀬川(加美)	0.4293	Y=19.08X+194.47
田川(加美)	0.7052**	Y=40.10X+263.08
花川(色麻)	0.8812***	Y=39.24X+93.46
江合川(古川)	0.2325	Y=23.73X+777.78
迫川(佐沼)	0.5649	Y=32.25X+627.47
三迫川(金成)	0.4330	Y=18.46X+337.23

** : p<0.001 *** : p<0.01

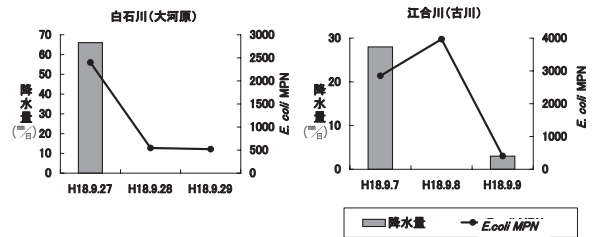


図 2 降水量と *E.coli* MPN の具体例

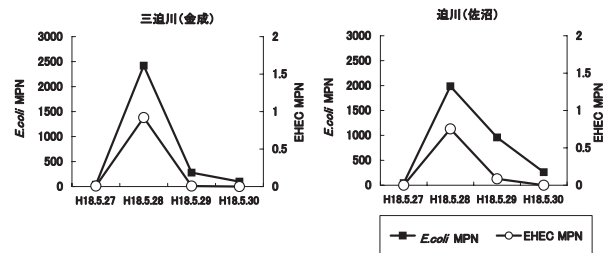


図 3 *E.coli* MPN と EHEC MPN の関係

表 2 *stx* と EHEC の検出状況

採水地点	PCR 結果 (<i>stx</i> 検出回数/採水回数)				
	H18.5	H18.9	H18.10	H18.11	H19.1
白石川(白石)		0/4	0/2		
白石川(大河原)		1/4	0/2		
白石川(柴田)		0/4	0/2		
鳴瀬川(加美)		1/3		0/3	1/1
					* (O159:H19 VT2 OUT:HUT VT1,2)
田川(加美)	1/4	0/3			0/1
花川(色麻)	1/5	0/3		0/3	0/1
江合川(古川)	1/4	0/3		1/4	0/1
					*(O26:H11 VT1)
迫川(佐沼)	2/4	0/3			1/1
三迫川(金成)	3/4	1/3			1/1

* : 分離された菌株

H11 VT1 (江合川(古川)) は約 90% の相同性があったが、他県にはこれと一致あるいは類似した菌株はなかった。なお、O159:H19 および OUT:HUT と同じ血清型による患者の発生はなかったため、PFGE の比較は行わなかった。

表3 EHEC と *E.coli* の存在比率

採水定点	採水日	EHEC MPN(A)	<i>E.coli</i> MPN(B)	(A) : (B)
鳴瀬川(加美)	1/7	0.0148	41	1 : 2,770
田川(加美)	5/28	0.086	816	1 : 9,493
花川(色麻)	5/28	0.48	2,419	1 : 5,040
江合川(古川)	5/28	0.086	1,986	1 : 23,096
迫川(佐沼)	5/28	0.754	1,986	1 : 2,634
	5/29	0.086	959	1 : 11,151
	1/7	0.006	504	1 : 84,000
三迫川(金成)	5/27	0.0072	37	1 : 5,125
	5/28	0.92	2,419	1 : 2,629
	5/29	0.0072	279	1 : 38,750
	1/7	0.186	85	1 : 456

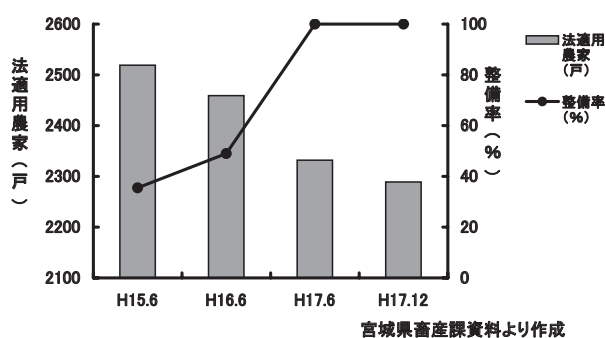


図4 家畜排せつ物法適用農家戸数と整備率

3.1.5 EHEC の存在比率

各定点での大腸菌数に対する EHEC 数の比を MPN 値で求めたところ、花川(色麻)が約 1/5,000、田川(加美)が約 1/10,000 で増水時平均して EHEC が検出されたのに対して、三迫川(金成)、迫川(佐沼)ではそれぞれ約 1/450 ~ 約 1/39,000、約 1/2,600 ~ 約 1/84,000 とバラツキが認められた(表3)。

3.1.6 家畜排せつ物法適用農家戸数と整備率

平成 16 年 11 月は、家畜排せつ物法の措置期間 5 年の最終年月で、施設の整備率は年度当初の 49% から平成 17 年には 100% に達しており、4 - 11 月に県内全域のほぼ半数の畜舎周辺などに糞尿処理施設や堆肥舎が建設された。また、この期間に約 100 戸の肉用牛飼養農家が廃業した(図4)。

3.2 考察

降雨後に *E.coli* MPN および EHEC MPN はいずれの河川でも増加し、降水量と菌数の上昇との相関性は河川毎に特徴のあることが判明した。これは肉用牛飼養農場排水等が測定点に到達するまでの時間の違いによるものであると考えられる。すなわち、①発生源の地形や測定点との位置関係と、②単位時間当たりの降水量や降りはじめからの総雨量に大きく影響され、さらに③検出された大腸菌に占める EHEC の割合が、迫川(佐沼)では高い時期があり、1/450 と取り分け高い時期があった支流の三迫川(金成)には規模の大きい発生源があることが示唆された。

夏季は冬季よりも環境からの大腸菌および *stx* の検出率が高いのは、大腸菌汚染河川には降雨後に大量の EHEC が存在し、環境中で死滅することなく維持されるだけでなく、増殖していることも考えられる。

平成 16 年度は家畜排せつ物法措置期間の最終年で糞尿処理施設等が駆け込みで数多く建設された。旧堆肥舎や野積みの区域が整理整地される際に、多量の大腸菌が雨水や土砂とともに河川に流出し、EHEC は現在とは比較にならないほど多かったことが推測される。

一方、平成 16 年に、我々は河川水から患者菌株と PFGE 遺伝子型の一致した菌を分離している^{10) 11) 12) 13)}。また、今回分離された O26:H11 VT1 株は過去に発生した患者由来株と近似であったことから、河川が EHEC 感染症発生に何らかの関与があった可能性が示唆された。

平成 17 年以降は、河川底質の泥土化、小規模牛飼養農家の減少および家畜排泄物の適正処理等により河川への大腸菌の流出は激減しているものと思われる。これを裏付けるように、県内における河川を感染源とした EHEC 感染症は発生していない。今後、河川底質における EHEC の生残性の調査など、河川の微生物学的監視を継続し、感染予防の観点から地域住民と河川、特に増水後の関わり方について注意を喚起することが重要であると考えられる。

4 まとめ

EHEC 感染症が多発した地域の降雨による河川水量の増減と EHEC の挙動との相関性について調査検討した。その結果、増水した河川が EHEC 感染症の多発した地域における感染経路の一つであった可能性が示唆された。

なお、本研究は「宮城県公衆衛生研究振興基金による研究・助成」により実施したものである。

参考文献

- 1) 川本薫, 河辺充美, 笹本史, 轟いずみ, 高岸哲文, 小山田喬, 戸田秀一, 水谷純男, 平井茂: 散発広域食中毒事件について - 腸管出血性大腸菌 O157 が検出された食肉について -, 食品衛生研究, 52 (11), 73 (2002)
- 2) 丸住美都里, 新屋拓郎, 松岡由美子, 藤井幸三, 植川厚子, 中村 勉: 焼肉店を原因とした腸管出血性大腸菌 O157 集団食中毒事例, 病原微生物検出情報, 26, 149 (2005)
- 3) 中澤宗生, 鮫島俊哉: 牛の腸管出血性大腸菌 O157:H7 の排菌と飼料の関連, 感染症学雑誌, 76, 76 (2002)
- 4) 福山正文, 古畑勝則, 大仲賢二, 八木原怜子, 小泉雄史, 原元宣, 堂ヶ崎知格, 島田時博, 栗林尚志, 中澤宗生, 渡邊忠男: 豚からの Vero 毒素産生性大腸菌 (VTEC) の分離および血清型, 感染症学雑誌, 77, 1032, (2003)

- 5) 坂口浩章, 京塚明美, 児玉実, 佐伯幸三, 山岡弘二: 牛の腸管出血性大腸菌 O157 の保菌状況と分離株, 日本獣医師会雑誌, 56, 745 (2003)
- 6) Beutin L, Geier D, Steinruck H, Zimmermann S, Scheutz F.: Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin) -producing *Esherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals, *J. Clin. Microbil.*, 31, 2483 (1993)
- 7) 齋藤紀行, 伊藤友美, 畠山 敬, 秋山和夫, 白石廣行: 飼育牛からの感染が疑われた腸管出血性大腸菌 O26 感染散发事例, 病原微生物検出情報, 21, 35 (2000)
- 8) 畠山敬, 神尾好是: 家畜の腸管出血性大腸菌 (EHEC) 保有と分離方法の開発, 宮城県獣医師会会報, 57, 138 (2004)
- 9) 山口友美, 田村広子, 佐々木美江, 畠山敬, 御代田恭子, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症 (EHEC) の発生とその傾向, 宮城県保健環境センター年報, 22, 42 (2004)
- 10) 田村広子, 三品道子, 菅原直子, 佐藤由美, 畠山敬, 谷津壽郎, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症の発生要因, 宮城県保健環境センター年報, 23, 47 (2005)
- 11) 谷津壽郎, 田村広子, 三品道子, 佐藤由美, 畠山敬, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症の発生要因, 宮城県獣医師会会報, 59, 20 (2006)
- 12) 田村広子, 佐々木美江, 畠山敬, 川野みち, 谷津壽郎, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症の発生要因と予防対策の検証, 宮城県保健環境センター年報, 24, 50 (2006)
- 13) 谷津壽郎, 田村広子, 佐々木美江, 畠山敬, 三品道子, 齋藤紀行, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌感染症の発生要因と予防対策の検証, 宮城県獣医師会会報, 60, 10 (2007)
- 14) 国立感染症研究所細菌第一部: <特集>腸管出血性大腸菌感染症 2007 年 4 月現在, 病原微生物検出情報, 28, 131 (2007)

レジオネラ属菌の衛生管理に関する研究

Study on the Status of Pollution by *Legionella* Species in Hot Springs.

佐々木美江 高橋 恵美 三品 道子*¹
畠山 敬 上村 弘 谷津 壽郎
齋藤 紀行

Mie SASAKI, Emi TAKAHASHI, Michiko MISHINA
Takashi HATAKEYAMA, Hiroshi UEMURA, Juro YATSU
Noriyuki SAITO

循環系統を持たない掛け流し式温泉 11 施設についてレジオネラ属菌の検索を行い、注湯口 (18%)、浴槽 (32%) から検出され、循環式浴槽施設と同様に汚染されていることが判明した。菌が検出された要因としては源泉温度が 50℃ 前後と低いことが挙げられ、汚染防止対策にはボイラー等による加熱 (60℃ 以上) が必要であると考えられた。また、レジオネラ属菌の迅速測定法であるリアルタイム PCR 法や LAMP 法は、培養法と強い相関を示し、衛生指導における有用な検査法であると思われた。

キーワード：レジオネラ；リアルタイム PCR 法；LAMP 法；温泉

Key words : *Legionella* ; real-time PCR ; LAMP ; hot spring

1 はじめに

浴用施設は、給湯方法により循環式および掛け流し式の 2 つに大分される。循環式浴槽施設は、ろ過器、熱交換器等の循環系統が微生物増殖の場となりやすいため、現在までレジオネラ症集団感染事例が多く報告されている。これを受けて厚生労働省は平成 13 年以降レジオネラ症発生防止対策を通知し、浴用施設における衛生指導の強化を図っている^{1) 2)}。その結果、循環式浴槽施設については、浴槽水の消毒や清掃への意識が高まり、多くの施設でレジオネラ属菌を中心とした病原微生物対策が実施されている。

しかし、循環系統を持たない掛け流し式温泉は、一般に安全であると考えられているために、調査がほとんど実施されておらず、循環式浴槽施設と同様の調査が必要であるとされていた。

また、レジオネラ症感染防止には浴槽水に増殖するレジオネラ属菌の管理が重要であり、浴槽水中のレジオネラ属菌の有無と菌数を把握して排除する必要がある。しかし、現在の検査法である培養法は、結果が得られるまで 7~10 日を要するため、リアルタイムに浴槽水中の菌数を把握することは困難であることから、レジオネラ属菌汚染の有無を短時間で推定する方法の開発が求められている。

そこで、今回、掛け流し式温泉の病原微生物汚染の実態を調査し、さらに汚染の要因を明らかにして、衛生管理方法の検討を行った。

また、遺伝子増幅を利用したレジオネラ属菌の迅速測定法についても検討した。

2 対象および検査方法

2.1 調査期間

平成 18 年 7 月から 11 月に採水した検体で調査を実施した。

2.2 実態調査

循環系統を持たない掛け流し式温泉 11 施設の注湯口および浴槽のそれぞれ 11 件についてレジオネラ属菌、その他の病原微生物 (抗酸菌、アメーバ) および従属栄養細菌の調査を実施した。

レジオネラ属菌の検査方法は検水 200ml を遠心 (6,000G, 10 分間) し 2 ml に濃縮した後に、加温処理した試料 100 μ l を GVPC 培地 (極東) に塗抹培養し、分離された菌を同定した。抗酸菌は 100 倍濃縮後にアルカリ処理した試料 100 μ l を 2% 小川培地に塗布し、8 週間観察した。アメーバはレジオネラ症防止対策マニュアル³⁾ に準じて検査を行い、採水時に水温、残留塩素濃度を測定した。また、施設設備によるレジオネラ属菌検出状況を検討するために、浴槽の材質を調査した。

2.3 掛け流し式温泉における汚染源の推定と衛生管理方法の模索

実態調査で注湯口と浴槽からレジオネラ属菌が検出された 1 施設を対象とし、源泉から浴槽に至るまでの数ヶ所で採水して、レジオネラ属菌の検出を行い汚染箇所の特定を行った。検査方法は実態調査と同様に実施した。

2.4 遺伝子迅速測定法

レジオネラ属菌の遺伝子測定法は、温泉を含む公衆浴場の浴槽水 59 件を対象とし、リアルタイム PCR 法および LAMP 法、培養法を実施して検出菌数を比較した。

リアルタイム PCR 試薬は市販の TAKARA Cycleave PCR Legionella Detection Kit を用い、試薬の専用機器である

* 1 現 宮城県拓桃医療療育センター

Smart Cycler (タカラバイオ) で、5SrRNA 遺伝子配列を標的としレジオネラ属菌の特定遺伝子を増幅した。DNA 濃縮・抽出方法は、リアルタイム PCR 試薬の添付書に従い、検水 200 ml を濃縮・抽出して、TE バッファー 10 μ l で溶解した試液を鋳型とした。

LAMP 法は、Loopamp レジオネラ検出試薬キット E を用い、遺伝子検出を実施した。

3 結果および考察

3.1 実態調査

レジオネラ属菌は 11 施設の注湯口 11 件中 2 件 (18%)、浴槽 11 件中 5 件 (32%) から検出され、アメーバはそれぞれ 1 件 (9%)、4 件 (36%) から分離されたが、抗酸菌は検出されなかった。また、レジオネラ属菌が検出されたすべての注湯口、浴槽からアメーバが分離された。

水温はほとんどの施設で 40 $^{\circ}$ C 前後であり、残留塩素は検出されなかった。浴槽の材質では、タイル、石、檜でレジオネラ属菌が検出された。

従属栄養細菌とレジオネラ属菌の検出菌数を比較した結果、従属栄養細菌が 10⁴cfu/ml 以上のときレジオネラ属菌が検出される傾向がみられた (図 1)。

今回の調査の結果、浴槽からのレジオネラ属菌とアメーバの検出率は、前年、当センターで行った掛け流し式温泉の調査結果 (レジオネラ属菌 27%、アメーバ 35%)⁴⁾ と同様であり、掛け流し式温泉からレジオネラ属菌およびアメーバが約 30% 検出されることが再度確認された。また、アメーバが分離された施設では、すべての施設からレジオネラ属菌が検出された。浴槽内においてレジオネラ属菌やアメーバはバイオフィーム中に生息する⁵⁾ ため、掛け流し式温泉においても同様にレジオネラ属菌とアメーバがバイオフィーム内に生息していたと考えられる。

更に、レジオネラ属菌が注湯口から検出された 2 施設では、浴槽からも菌が分離された。この両施設は源泉温度が 50 $^{\circ}$ C 以下であることから、改善のためには定期的な配管の清掃および源泉の加熱などの措置を講ずる必要があると思われた。

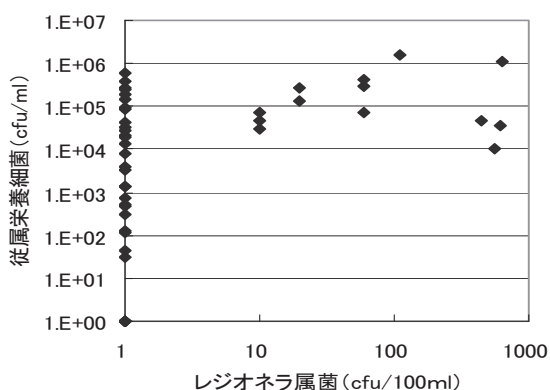


図 1 レジオネラ属菌と従属栄養細菌の相関

3.2 掛け流し式温泉における汚染源の推定と衛生管理方法の模索

調査結果を表 1 に示した。

平成 18 年 7 月の調査では浴槽①よりレジオネラ属菌が、2,120cfu/100ml 検出されたため、その対策として 8 月に高圧洗浄による配管清掃を行った。翌日の検査では浴槽①では 400cfu/100ml まで菌数が減少しており、浴槽②と源泉から貯湯タンクに至るまでのエア抜きタンク 2ヶ所からは菌が検出されなかった。

そこで、配管清掃の約 2 ヶ月後に再度調査を実施すると、源泉からは菌が検出されなかったものの前回の調査で陰性であったエア抜きタンク①から 180cfu/100ml、エア抜きタンク②から 220cfu/100ml、貯湯タンクでは 60cfu/100ml と源泉より施設に至る配管のすべてからレジオネラ属菌が検出され、更に浴槽①、②からもそれぞれ 10cfu/100ml、90cfu/100ml と再度、菌が検出された。

このため、急遽、配管洗浄を行いレジオネラ属菌の再確認を行った結果、浴槽①、②から菌は検出されなかった。

対象施設は源泉温度が 43 $^{\circ}$ C と低く、源泉から浴槽までの配管の長さが約 330 m と長いことに加え、配管の途中には 2 箇所にエア抜きタンクが設置してあるため、源泉から貯湯タンクに引湯する課程での汚染が考えられた。配管洗浄の一時的な効果は認められたが、清掃 2 ヶ月後には、再び源泉を除くエア抜きタンク、貯湯タンク、注湯口、浴槽のすべてからレジオネラ属菌が検出されたことから、これより短い間隔での配管清掃が当該施設には必要であると考えられた。

表 1 レジオネラ属菌の経時変化

検査日	7月25日	8月29日	10月17日
浴槽① (cfu/100ml)	2,120	400	10
浴槽② (cfu/100ml)	ND	<10	90
エア抜きタンク① (cfu/100ml)	ND	<10	180
エア抜きタンク② (cfu/100ml)	ND	<10	220

ND : Not Detect

3.3 遺伝子迅速測定

レジオネラ属菌は、培養法では 68 浴槽中 23 浴槽 (34%)、リアルタイム PCR 法では 26 浴槽 (38%)、LAMP 法では 23 浴槽 (34%) で陽性となり、リアルタイム PCR 法および LAMP 法は培養法と同等かまたは高い陽性率を示した。PCR 法は標的とする遺伝子の種類によっては死菌でも生菌と同じ挙動を示すことが知られており、死菌を同時に検出している可能性があるため、レジオネラ属菌の検査として用いる場合にはこの点を考慮する必要があると考えられた。

一方、菌が検出された浴槽について培養法とリアルタイム PCR 法で換算した菌数を比較し、その結果を図 2

に示した。両者間には強い相関 ($P < 0.01$) が認められたが、培養法の方が高い傾向を示した。

一般的に遺伝子を検出するリアルタイム PCR 法の方が培養法より高くなると考えられるが、今回の調査では、予測していた結果と異なった。これは、温泉水の成分中に PCR の反応を阻害する物質が存在した可能性もあるため、今後、更に泉質等も含めた検討が必要であると思われる。

しかし、一時的な消毒効果を期待して消毒剤を浴槽に投入した直後であっても遺伝子検出は可能なこと、また衛生指導後の陰性確認が短時間で可能なことから、衛生指導においては有用な検査法であると思われる。

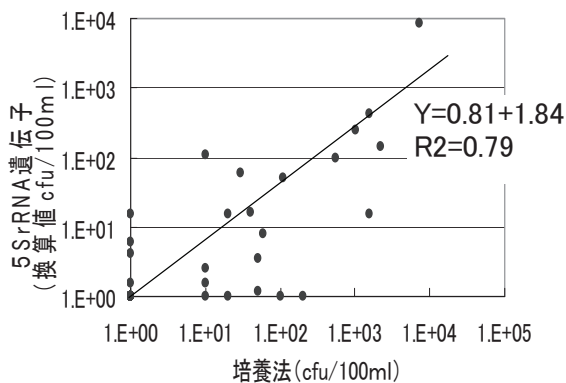


図2 培養法とリアルタイム PCR 法の相関

4 まとめ

循環式浴槽施設を原因としたレジオネラ症集団発生で、循環系統のろ材やタンク水から患者の菌株と同一の遺伝子パターンを示すレジオネラ属菌が検出されたと報告⁶⁾されている。このように浴槽における循環系統はレジオネラ属菌などの病原微生物の生息場所となるため、衛生的に管理するためには適正な消毒とバイオフィームの定期的な除去が重要⁷⁾となる。一方、安全だと思われていた循環系統をもたない掛け流し式温泉からもレジオネラ属菌や抗酸菌、アメーバが分離され⁴⁾、全国249箇所の掛け流し式浴槽の27.3%からレジオネラ属菌が検出されていることから循環式浴槽施設と同様に対策が必要である。掛け流し式温泉は、泉質や湯量が様々なことから塩素消毒を行わないところが多く⁸⁾、今回の

対象施設も塩素による消毒が行われていなかった。

現在までの厚生労働省からの通知では、塩素消毒を用いた管理方法が中心となっているが、塩素管理下では *Legionella pneumophila* 血清群1が浴槽水中で優勢化しているとの報告⁹⁾もあることから、塩素消毒に頼らない管理方法を早期に確立することが必要である。

更に、施設ごとに設備構造が異なり各施設にあった衛生管理を行うことが重要であることから、レジオネラ属菌の迅速測定法により営業者に有用な情報を提供して適切な施設管理が行えるように努めたい。

謝辞

調査に協力いただいた大崎保健所、仙南保健所の関係者の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 厚生労働省健康局生活衛生課長通知“循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアルについて”平成13年9月11日健衛発第95号(2003)
- 2) 厚生労働省告示第264号(2003)“レジオネラ症を予防するために必要な措置に関する技術上の指針”平成15年7月25日
- 3) “新版レジオネラ症防止指針”，厚生省生活衛生課監修，p95(2000)，(財団法人 ビル管理教育センター)
- 4) 佐々木美江：掛け流し式温泉における微生物生息状況，宮城県保健環境センター年報(2006)
- 5) 八木田 健司，泉山 信司，遠藤 卓郎：水環境学会誌，26，(2003)
- 6) 岡田美香：循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例 I 発生状況と環境調査，感染症学雑誌，79，365(2005)
- 7) 小川正晃：“レジオネラ感染症ハンドブック”，齋藤厚編，p231(2007)，(日本医事新報社)
- 8) 井上博雄：厚生労働科学研究費補助金(地域健康危機管理研究事業)掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究 平成17年度～平成18年度 総合研究報告書，2007，7。
- 9) 倉文明：厚生労働科学研究費補助金(健康科学総合研究事業)循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究 平成17年度 総括・分担研究報告書，2006，49。

井戸水を原因とした乳児ボツリヌス症の発生とその疫学的対応

Isolation of *C. botulinum* from a Well Water caused Infant Botulism.

畠山 敬 三品 道子^{*1} 高橋 恵美 佐々木美江
 後藤 郁男 上村 弘 谷津 壽郎 齋藤 紀行
 葛岡 勝悦^{*2} 斎藤 善則 清野 茂 嵯峨 京時^{*3}
 高橋 美保^{*4} 岩松 良弘^{*4} 小泉みどり^{*4} 千葉 文明^{*5}
 大山 英明^{*6} 藤原 公男^{*7} 佐藤 仁一^{*8} 鹿野 和男^{*4}

Takashi HATAKEYAMA, Michiko MISHINA, Emi TAKAHASHI, Mie SASAKI
 Ikuo GOTO, Hiroshi UEMURA, Juro YATSU, Noriyuki SAITO
 Syouetsu KUZUOKA, Yoshinori SAITO, Shigeru SEINO, Kyouji SAGA
 Miho TAKAHASHI, Yoshihiro IWAMATSU, Midori KOIZUMI, Fumiaki CHIBA
 Hideaki OOHAYAMA, Kimio FUJIWARA, Jinichi SATO, Kazuo SHIKANO

平成18年9月に県内で1ヶ月齢の乳児がボツリヌス症に罹患するという事例が発生した。調査の結果、自宅で飲用に使われている井戸水が原因として疑われたことから、新たなボツリヌス菌の分離方法で検査したところ菌を分離することに成功した。以上から、本事例は感染原因が井戸水であるという国内外でも初めての極めて特異的なケースであることが判明した。

キーワード：乳児ボツリヌス症；井戸水

Key words : infant botulism ; well water

1 はじめに

乳児ボツリヌス症は、ボツリヌス菌芽胞を生後1年未満の乳児が経口的に摂取した場合にのみ起こり、乳児の未発達な腸管内で増殖したボツリヌス菌の産生する毒素により引き起こされる重篤な感染症である。国内では1986年の初発例以来、20例が報告されているが、その多くは輸入ハチミツに混入した菌が原因であった¹⁾。

我々は、県内在住の1ヶ月齢の乳児がボツリヌス症に罹患するという事例に遭遇した。発生当初は感染原因が不明であったため、感染症と食中毒の両面から調査を行ったが、原因が白湯や粉ミルクの調製に使用していた井戸水であるという、国内外でも初めての極めて特異的なケースであることが判明した。また、患者宅周辺地域はほぼ全戸が井戸を保有しているため、同一水源の汚染による拡散被害を防止することを目的として周辺井戸からの菌検出と水質検査等を行った。

2 事件の概要とその対応

平成18年9月に、県内の医療機関で治療を受けていた乳児からボツリヌス菌が分離されたとの情報を受け、保健所が患者宅の聞き取り調査を行った結果、患者は母乳、粉ミルクおよび白湯の他に飲食物の摂取歴はなく、粉ミルクの調乳と白湯に自宅井戸水を使用していたことが明らかとなった。そこで、井戸水と患者が使用中の粉ミルクを国立感染症研究所に送付すると同時に、患者宅での実地調査を行い、井戸水、周辺土壌等の採取と調理場内ふき取り検査などを実施した。さらに、患者宅周辺への拡大被害を防止するため、近隣井戸の使用状況調査と井戸水の細菌・水質等の検査を実施し、井戸所有者各戸に対する衛生指導と広報等による啓発を行った。

また、国立感染症研究所の検査で、患者宅の井戸水、および使用中の粉ミルクからボツリヌス菌A型毒素が検出されたことから、厚生労働省食品安全部監視安全課では粉ミルクによる食中毒事件を疑った。しかし、粉ミルクは患者の発症後に開封されたものであり、製造業者から未開封の同一ロット製品等の収去検査を実施した国立食品医薬品衛生研究所の結果では菌および毒素は検出されなかったことから、本事件は患者宅で常に使用している汚染井戸水が感染源であると、粉ミルクは調乳時の二次汚染によるものと断定した。

3 調査結果

3.1 患者宅環境物のボツリヌス菌調査結果

疫学調査の一環として患者宅の井戸水、調理場拭き取り、調理場側溝の泥、里芋畑の土、大根畑の土、2種類

※1 現 拓桃医療療育センター

※2 現 (財)日本冷凍食品検査協会

※3 現 共和コンクリート工業(株)

※4 大崎保健福祉事務所

※5 現 登米保健福祉事務所

※6 現 食と暮らしの安全推進課

※7 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所

※8 現 (財)宮城県生活衛生営業指導センター

の使用済み粉ミルク缶，ハウスダスト，ペット飼育水の計9検体を採取して定法²⁾に準じてボツリヌス菌の検査を行った。すなわち，井戸水は1Lをミリポア社製の0.22 μ mのフィルターでろ過した後にフィルターを8分割し，また，固形材料では等量の生理食塩水で抽出した上清の遠心沈殿(10,000rpm 10分間)を複数本のMERCK社製クックドミート培地にブドウ糖と澱粉を加えた液体培地(10ml)の深層部に接種して各々を非加熱，60 $^{\circ}$ C 15分間過熱，及び80 $^{\circ}$ C 30分間加熱処理した後に30 $^{\circ}$ Cで4日間以上培養した。経時的にそれぞれのクックドミート培地深層部の一部を採取してPCR (primer: BAS-1,2 TaKaRa社製)を行い，陽性の場合には再加熱後に自家調整した卵黄加CW寒天培地に塗抹する方法で菌の分離を試みた。

その結果，井戸水ではPCRにより遺伝子の増幅産物が培養4日目以降から確認され，旧調理場の泥，使用済み粉ミルク缶の一つからも微弱なシグナルが確認された。Applied Biosystem社製ABI PRISM 310 Genetic Analyzerを用いて決定した塩基配列はボツリヌス菌A型神経毒素遺伝子と98%の相同性を持っていたことから，これらの環境物中にはボツリヌス菌毒素遺伝子が存在することが明らかとなった(図1)。

1-TTACAAATCCTGTAAAGAAGGAGATTTAAAT
 CCACCACCAGAAGCAAAACAAGTTCCAGTTT
 CATATTATGATTCAACATATATAAGTACAGA
 TAATGAAAAAGATAATTATTTAAAGGGAGTT
 ACAAATTTATTTGAGAGAATTTATTCAACTG
 ATCTTGGAAGAATGTTGTTAACA-177

図1 井戸水由来の遺伝子の塩基配列

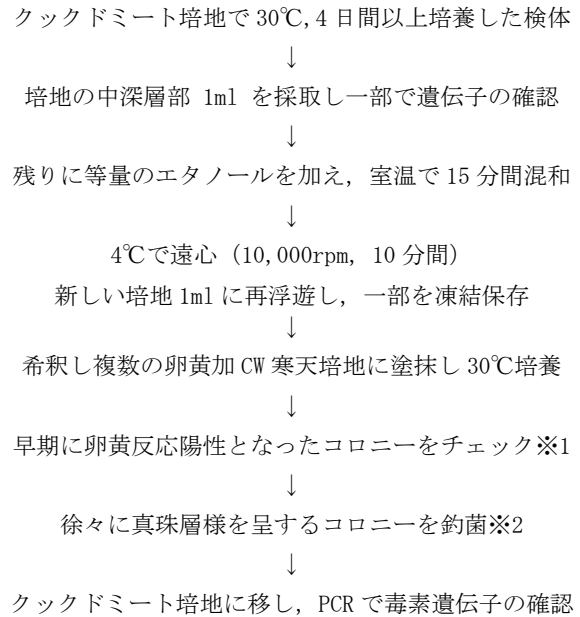
そこで，遺伝子陽性培養液からの菌分離を試みたが，検体中にウエルシュ菌等の雑菌が多量に混在すること，および菌液の80 $^{\circ}$ Cでの再加熱により遺伝子が検出されなくなるなどの理由から前述の方法での菌の単離は不可能であった。そこで，ボツリヌス菌の生物学的性状・芽胞の物理化学的性状等^{3,4)}と，「菌の運動性」，「芽胞形成速度」および「特徴的な卵黄反応」というウエルシュ菌との違いに着目して新しい分離方法を検討した(表1)。

表1 ボツリヌス菌等の性状

性状	菌種	ボツリヌス菌	ウエルシュ菌
運動性		+	-
培地中での存在箇所		中深層※1	深層
培地中での芽胞形成		早い	遅い
(芽胞の)耐熱性		不定(株により異なる)	
(芽胞の)エタノール感受性		低い	
菌の増殖及び卵黄反応		遅い	早い
卵黄反応の特徴		真珠層様	淡い乳白色

※ PCRにより確認

すなわち，遺伝子が確認された増菌培地の中間部から深層部の間を採取してエタノール処理を行い，遠心した後に上清を捨て，沈渣を適度に希釈して卵黄加CW寒天培地に塗抹・培養した。早期に卵黄反応が陽性となったコロニーはウエルシュ様菌とし，その後徐々に真珠層様反応を呈してくるコロニーのみを釣菌するという方法を実施した(図2)。その結果，井戸水からボツリヌス菌の分離に成功した(図3)。



※1・2: 赤丸内はボツリヌス菌。それ以外はウエルシュ様菌

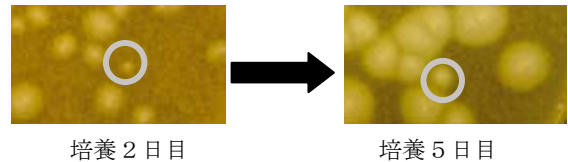


図2 新しい分離プロトコール

分離した菌株について再度A, B, E, F型毒素遺伝子を確認したところ，菌株はA型の他にもB型毒素遺伝子を保有しており，動物実験の結果ではA型毒素のみを産生しB型毒素が検出されなかったことから，本菌株はAb型毒素菌であることが判明した。

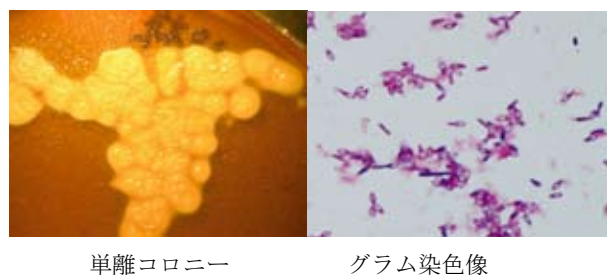


図3 単離したボツリヌス菌

3.2 周辺井戸の調査結果

患者宅近隣の井戸水についてもボツリヌス菌による汚染が危惧されたため、患者宅を含めた15戸の井戸について使用状況を調査すると同時に細菌検査および水質検査（一般細菌、大腸菌、濁度、ボツリヌス菌、食中毒菌）を実施した。その結果、常時飲用、あるいはお茶として飲用している民家が数戸あり、水質検査では、前述の飲用に使っている民家を含む9戸の井戸水が、水道法を準用した場合に飲用基準を満たしていないことが判明した。また、7戸の井戸からウエルシュ菌、10戸からエロモナス菌等の食中毒菌が分離されたが、患者宅井戸水以外からボツリヌス菌は検出されなかった（表2）。

4 事件の周知と地域住民への衛生指導

この事例の発生を受けて、厚生労働省健康局水道課長、食品安全部監視安全課および雇用均等・児童家庭局母子保健課長から12月8日付けで関係自治体に対し「井戸水を原因食品とする乳児ボツリヌス症の報告について」の通知が行われた。また、県および管轄保健所では患者宅に対して「当該井戸の閉鎖」、近隣の井戸所有者には「食品の調理や飲用には既設の上水道を利用し、井戸水を用いないこと」を指導した。さらに、新生児を持つ保護者に対しては管轄市町を通じ検診等の機会を利用して乳児ボツリヌス症予防の啓発を行うとともに、広報誌により広く地域住民に注意を喚起した。

表2 近隣井戸水の調査結果

井戸番号	一般細菌数 (ml)	大腸菌	濁度	食中毒菌			備考
				ウエルシュ菌	Aeromonas 菌	ボツリヌス菌	
①	< 30	-	<0.1	-	-	-	
②	600	陽性	1.6	-	陽性	-	
③	440	-	0.1	陽性	陽性	-	常時飲用
④	151	-	1.1	陽性	陽性	-	飲 用
⑤	370	-	0.1	-	陽性	-	
⑥	270	陽性	1.7	陽性	陽性	陽性	常時飲用 患者宅
⑦	74	-	0.1	-	-	-	飲 用
⑧	37	-	0.1	-	-	-	
⑨	650	-	1.0	陽性	-	-	
⑩	<30	-	0.2	-	陽性	-	
⑪	293	-	0.1	-	陽性	-	
⑫	158	-	>2	陽性	陽性	-	飲 用
⑬	93	-	0.4	陽性	-	-	
⑭	56	-	0.4	陽性	陽性	-	
⑮	107	-	>2	-	陽性	-	

また、患者宅と同一の水源を持つ井戸の分布を調べるため、上記の細菌・水質検査に水質化学分析の結果（本年報 資料 P147～148 参照）を加えて解析を行った。その結果、この地域は大きく3種類の水源に分けられることが明らかとなり、患者宅の井戸と同様の性状を持つ井戸が他にも4戸存在することが判明した（図4）。

5 考 察

国内で発生した乳児ボツリヌス症の多くは輸入ハチミツ等に混入したボツリヌス菌が原因であったが、本事例ではそれらの喫食歴はなく発生当初は感染原因が不明であった。さらに、粉ミルクと井戸水から毒素が検出されたことは、粉ミルクを原因とする食中毒事件を疑うのに十分な状況であったと考えられる。従来、環境物からのボツリヌス菌の分離は成功率が低いと言われており、その多くは感染経路不明として取り扱われることが少なかつた¹⁾。しかし、今回の事例ではPCRを用いての徹底した遺伝子スクリーニングと、新しい分離プロトコルで対処することにより、井戸水からボツリヌス菌を分離し感染原因を特定することに成功した。

また、農業地帯である患者宅周辺はほぼ全戸が井戸を保有しているため、「患者宅のプライバシーを守りつつ当該井戸あるいは同一水源から近隣への拡散汚染を調査する」という難しい状況での疫学対応であった。結果として、周辺井戸からは遺伝子は検出されず菌も分離されなかったが、逆に「なぜ患者宅の井戸からのみボツリヌス菌が分離されたのか」が疑問として残された。患者の母及びその兄弟も乳児の頃から自宅井戸水を使用しており、過去にも家族が感染する機会は患者と同等か、あるいはそれ以上に高かったものと思われる。聞き取りによ

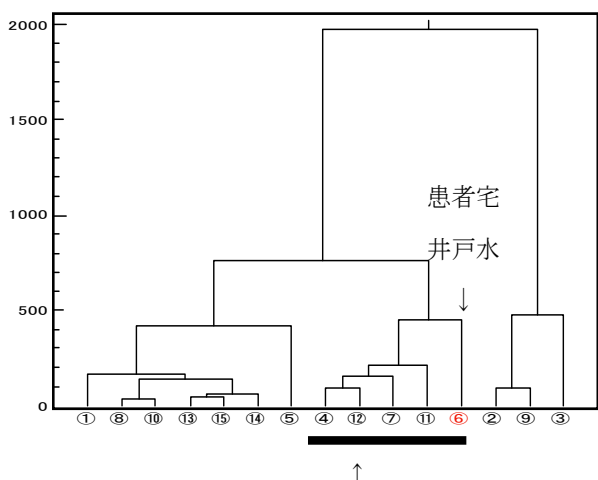


図4 水質化学分析による井戸水の解析

れば、患者宅の井戸は約 10 年前に 17m まで井戸の掘り下げを行っており、周辺の地質状況からは有機物に富む 2 層のスクモ（泥炭）層に挟まれた部分に現井戸の汲水口が存在することが推察される⁵⁾。

また、当該井戸は老朽化が進み壁面に亀裂が入っているなど、井戸周辺土壌からの汚染の可能性も疑われる。しかし、井戸が閉鎖されてしまった現在、貴重な症例の汚染経路に関する詳細な疫学的追求ができなかったことは非常に残念である。

謝 辞

本調査を行うにあたり、ボツリヌス菌の疫学的な知見のご教授、並びに菌の分離方法等に関する詳細なご指導を賜りました国立感染症研究所細菌第二部第三室長の高橋元秀先生をはじめ、見理剛先生、岩城正昭先生、山本

明彦先生に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所 感染症情報センター：病原微生物検出情報（2007）
- 2) 国立感染症研究所 地方衛生研究所全国協議会編：乳児ボツリヌス症、「病原体検査マニュアル」（2003）
- 3) Barrow, G. I. : Cowan and Steel's manual for identification of medical bacteria 3 rd ed., Cambridge University Press (1993)
- 4) Jonston, R. et al: Method to facilitate the isolation of Clostridium botulinum type E., Bacteriol., 88. 1521-1522 (1964)
- 5) 宮城県企画部土地対策課：土地分類基本調査 一古川一，宮城県（1981）

Listeria monocytogenes による ready-to-eat 食品の汚染実態

Isolation of *Listeria monocytogenes* from the ready-to-eat Foods

菅原 直子*¹ 佐々木ひとえ 加藤 浩之
小林 妙子 渡邊 節 山田 わか*²
谷津 壽郎 斎藤 紀行

Naoko SUGAWARA, Hitoe SASAKI, Hiroyuki KATOH
Taeko KOBAYASHI, Setsu WATANABE, Waka YAMADA
Juro YATSU, Noriyuki SAITO

近年, *Listeria monocytogenes* が魚介類加工品や生食用野菜などの ready-to-eat 食品から検出され, 本菌による食中毒集団感染事例のリスクが懸念されている。平成 18 年度宮城県内の流通品について汚染実態調査を行った結果, 辛子明太子および鶏肉から汚染菌量は少ないものの病原遺伝子を保有した菌が検出された。また, LM の迅速検査法を検討し, 発色酵素基質培地, LAMP 法の応用が有効であると思われた。

キーワード: *Listeria monocytogenes*; ready-to-eat 食品; 魚介類加工品; LAMP 法

Key words: *Listeria monocytogenes*; ready-to-eat foods; seafood products; LAMP method

1 はじめに

リステリア属菌は自然界に広く生息する細菌であり, このうちヒトに病原性を示すものは *Listeria monocytogenes* (以下 LM) のみである。リステリア症は人獣共通感染症の一つで, 周産期の流産死や胎児敗血症, 成人の髄膜炎, 敗血症などの症状を示す。一方, 1980 年代に欧米諸国で乳製品や食肉製品などを原因とする集団感染事例が相次いで報告されるようになり, 現在も多くの事例が報告されている¹⁾。

日本でも平成 5 年に乳および乳製品のリステリア菌の汚染防止について, 当時の厚生省から通知が出され²⁾, 食中毒原因菌の一つとして検査法が示された。2001 年には国内産ナチュラルチーズによる国内初の集団感染事例が発生し, 国内でも本菌の食品汚染の実態調査や制御についての議論が進められている。

近年, これまでの乳製品等に加え, 生食用鮮魚介類や魚介類加工品, 生食用野菜・果物など生でそのまま食べる食品“ready-to-eat 食品”の LM 汚染の報告がみられるようになった³⁾。しかし, LM の食品中での挙動や菌数などの詳細については明確にされていない。

このことから, 汚染実態の把握を目的に, 宮城県内に流通する ready-to-eat 食品を中心とした LM 検索を行った。また, 菌検出時における発色酵素基質培地の有効性の検討および分離菌の保有病原因子検索も併せて行った。さらに, LAMP (Loop-Mediated isothermal Amplification) 法による検出感度を標準株を用い検討した。

2 材料

市場に流通している ready-to-eat 食品および食材計 102 検体を検査対象とした。

2.1 ready-to-eat 食品

魚介類加工品 22 検体 (辛子明太子 9 検体, たらこ 9 検体, すじこ 1 検体, 数の子 1 検体, スモークサーモン 2 検体), 生鮮魚介類 11 検体, 乳製品 16 検体 (ナチュラルチーズ 8 検体, アイスクリューム類 8 検体), 生食用芽物野菜 38 検体の計 87 食品

2.2 食材等

生乳 5 検体, 食肉 10 検体 (鶏肉 7 検体, 合鴨肉 3 検体) 計 15 食材

3 方法

3.1 食品, 食材からの菌分離

生乳・乳製品からのリステリア菌の分離は厚生省通知の方法に従って行った。すなわち検体 25g に EB 培地 (Merck) 225ml を加え 10 倍乳剤とし, 30℃ で 48 時間培養後, Oxford 寒天培地 (Merck: 以下 OX), PALCAM 寒天培地 (Merck: 以下 PAL) 及びクロモアガー・リステリア培地 (CHROMagar: 以下 C-Lis) の 3 種の分離培地に 1 白金耳ずつ塗抹し, 35℃ で 48 時間培養した。各培地に発育したリステリア菌の疑わしい集落を釣菌し, 0.6%酵母エキス加トリプチン寒天培地 (自家製: 以下 TSYEA) に接種培養後, 3.2 に示す生化学性状の確認を行って同定した。なお, リステリア属菌同定キット「アピリステリア」(日本ビオメリュー) も併用した。

その他の食品, 食材は, ISO⁴⁾の方法に準じて行った。検体 10g に半濃度フレーザー培地 (Merck) 90ml を加え 10 倍乳剤とし, 30℃ で 24 時間培養後, 100μl を 10ml フ

* 1 現 中南部下水道事務所

* 2 現 (財) 宮城県公衆衛生協会

フレーザー培地に接種した。さらに35℃で48時間培養後、OX, PAL, C-Lisの各培地に1白金耳ずつ塗抹し培養した。以下、生乳・乳製品の方法と同様にして菌の同定を行った。

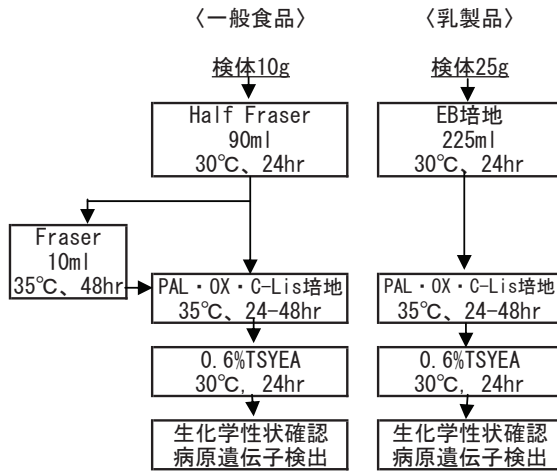


図1 各食品からのLM分離フロー

3.2 分離菌株の確認試験および血清型別

分離菌株について、グラム染色、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験(日本製薬)、CAMP試験、VP試験(栄研化学)および糖分解試験を実施した。グラム陽性短桿菌、カタラーゼ試験陽性、オキシダーゼ試験陰性、SIM確認培地(栄研化学)での運動性(傘状発育)の確認、VP反応陽性、糖分解性(ラムノース分解陽性、キシロース分解陰性、マンニト分解陰性)、CAMPテスト陽性となったものをリステリア属菌とし、同定キットにより菌種を決定した。

血清型別はリステリア型別用免疫血清(デンカ生研)を用いて行った。なお、標準菌株 *L.monocytogenes* ATCC 19112についても各試験を実施した。

3.3 特異遺伝子の検出

リステリアの病原遺伝子の確認を *hly*⁵⁾ および *prfA*⁶⁾ のプライマーを用い、各々276bpおよび467bpを検出することで行った。

3.4 LM菌数の測定

LMの菌数測定はMPN法で行った。すなわち、検体に添加剤を含まない半濃度フレーザー培地を加え10倍希釈液を調製した。滅菌した空試験管3本に10倍希釈液を10mlずつ入れた。さらに半濃度フレーザー培地10mlの入った試験管に10倍希釈液を1mlずつ3本に、0.1mlずつを3本に分注した。これらを35℃で24時間および48時間培養し、それぞれからPAL, C-Lisに1白金耳ずつ塗抹しLMを検出、性状確認した。LMを検出した試験管数と希釈倍率からMPN値を求めた。

3.5 LAMP法によるLM検出

LMの標準株をフレーザー培地で24時間培養後、培養液を原液から10⁹希釈まで10倍段階希釈した。希釈液をそれぞれ50μl採り、2000×g、5分間遠心後上清を除去し、

EXF80μlを加え95℃で5分間アルカリ熱処理した。これに1MのTris-HCl 10μlを添加し2000×gで30秒間遠心した上清を検体とした。それぞれについてLoopamp *L.monocytogenes* 検出キット(栄研化学)を用いて遺伝子を増幅し、Loopampリアルタイム濁度測定装置(RT-160C)で測定を行った。同時に、用いたLM菌数を平板培地を用いた生菌測定法で測定した。

4 結果

4.1 各食品・食材からのLM検出状況

調査した食品・食材を品目別にし、それぞれからのリステリア属菌の分離状況を表1に示した。リステリア属菌は魚介類加工品では辛子明太子9検体中6検体(検出率66.7%)すじこ1検体中1検体(100%)から、肉類では鶏肉7検体中3検体(42.9%)から合計10菌株分離された。生鮮魚介類、乳類・乳製品および芽物野菜からはリステリア属菌は検出されなかった。

4.2 分離リステリア属菌の同定

分離したリステリア属菌10株と標準菌株について、生化学性状の確認試験、血清型別試験および病原遺伝子検査を実施し、その結果を表2に示した。また、LMが検出された検体は菌数をMPN法で求め、これも表2に示した。

辛子明太子から検出された6株のリステリア属菌のうち2株が、鶏肉から検出された3株のリステリア属菌のうち1株がLMであった。血清型は3株とも別々で1/2b, 3bおよび4bであった。LMの病原遺伝子 *hly* および *prfA* を3株とも保有していた。

4.3 発色酵素基質培地での発育性

LMの分離に用いられるOX, PAL培地上でリステリア属菌は灰色~茶褐色の集落を形成するので、種の区別は困難であり、発育集落をLMと特定できない。発色

表1 各食品・食材からのLM検出状況

検体種類	検体数	検出(検出率)
魚介類加工品		
辛子明太子	9	6 (66.7)
たらこ	9	0
すじこ	1	1 (100)
数の子	1	0
スモークサーモン	2	0
生鮮魚介類	11	0
乳類・乳製品		
生乳	5	0
ナチュラルチーズ	8	0
アイスクリーム類	8	0
芽物野菜	38	0
肉類		
鶏肉	7	3 (42.9)
合鴨肉	3	0
計	102	10 (9.8)

酵素基質培地 C-lis を菌分離に用い、その結果を表2に示したように、リステリア属菌は C-lis 培地に発育し青い集落となる。しかも LM には特徴的に白色ハローが認められた。一方、C-lis 培地での発育性を黄色ブドウ球

菌と大腸菌について調べた結果、大腸菌は発育しないが、黄色ブドウ球菌は発育した。しかし黄色ブドウ球菌は培地上でやや淡色の青色集落を形成し、リステリア属菌とは鑑別ができた。

表2 検出菌の性状

検体 No (検体名)	C-Lis		カタラーゼ	溶血性	V P	運動性	糖分解性			病原遺伝子保有状況		菌種・血清型	菌数 (MPN/100g)
	集落の色	ハロー形成					ラムノース	キシロース	マンニット	<i>hly</i>	<i>prfA</i>		
K-2 (辛子明太子)	青	+	+	+	+	傘状	+	-	-	+	+	LM 1/2b	60
K-19 (辛子明太子)	青	+	+	+	+	傘状	+	-	-	+	+	LM 3b	<30
K-8 (辛子明太子)	青	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	<i>L.welshimeri</i>	NT
K-10 (辛子明太子)	青	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	<i>L.welshimeri</i>	NT
K-12 (辛子明太子)	青	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	<i>L.welshimeri</i>	NT
K-18 (すじこ)	青	-	+	-	+	傘状	-	-	-	-	-	<i>L.innocua</i>	NT
K-20 (辛子明太子)	青	-	+	-	+	傘状	+	-	-	-	-	<i>L.innocua</i>	NT
M-2 (鶏肉)	青	+	+	+	+	傘状	+	-	-	+	+	LM 4b	<30
M-1 (鶏肉)	青	-	+	-	+	傘状	+	-	-	-	-	<i>L.innocua</i>	NT
M-7 (鶏肉)	青	-	+	-	+	傘状	+	-	-	-	-	<i>L.innocua</i>	NT
<i>L.monocytogenes</i> (ATCC19112 株)	青	+	+	+	+	傘状	+	-	-	+	+		

+ : 陽性 - : 陰性 NT : 実施せず

4.4 LAMP 法による検出感度

LM の ATCC19112 株を 1 日培養した 1.6×10^8 cfu/ml の菌液を $10^{-1} \sim 10^{-6}$ に希釈し、そのそれぞれを LAMP 法用検体として LM の遺伝子検査を行った結果を表3に示した。 1.6×10^5 cfu/ml 以上の菌量で陽性を示した。

表3 LAMP 法の感度

希釈倍率	原液	$\times 10$	$\times 10^2$	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$
LAMP 法	+	+	+	+	-	-	-
菌数 (cfu/ml)	$\times 10^8$	$\times 10^7$	$\times 10^6$	$\times 10^5$	$\times 10^4$	1600	160

+ : 陽性 - : 陰性

5 考察

宮城県内に流通する ready-to-eat 食品を購入し、リステリア属菌の汚染状況を調べた。その結果、辛子明太子 2 検体および鶏肉 1 検体から LM が、魚介類加工品 5 検体、鶏肉 2 検体から LM 以外のリステリア属菌が検出され、本県の流通品も他の報告⁷⁾と同様の汚染であることが分かった。リステリア菌の血清型別は O 抗原因子と H 抗原因子の組み合わせで 13 種類に分類されるが、今回検出された LM の血清型は辛子明太子が 1/2a および 3a、鶏肉が 4b であった。4b は最も病原性に関する血

清型といわれ、臨床株の 6 割がこの型である³⁾。市販品の鶏肉から 4b が検出され、検出された菌株は全て病原遺伝子 *hly* および *prfA* の病原遺伝子を保有していたが、汚染菌量は、辛子明太子で 30 未満 ~ 60/100g、鶏肉で 30 未満 /100g と少量であったことからリステリア症感染のリスクは低いと考えられた。

今回示したように、食品は *L.innocua* のような LM 以外のリステリア属菌に汚染されていることが多い⁸⁾ことから、LM との鑑別は重要である。LM は OX 及び PAL の分離培地上でエスクリンを分解し灰色から茶褐色で中央部のやや凹んだ集落を形成する。しかし LM 以外のリステリア属菌も OX、PAL 培地上で同じ性状を示すため、これら分離培地での菌の鑑別は困難である。発色酵素基質培地 C-Lis では、リステリア属菌は青い集落を形成し鑑別が容易であった。なお、同じく C-lis 培地上に発育する *Staphylococcus* 属菌は集落の発色がやや異なり区別ができる。さらに LM と *Livanovii* は青い集落周囲に白色ハローを形成するが、それ以外のリステリア属菌はハローを形成せず、種の決定にも発色酵素基質培地が有効であることが確認された。

われわれの今回の結果も含め、一般に食品中の LM 菌数は少量であることから、通常の LM 検出法には 2 段階増菌法が用いられ LM の検出には 4-5 日を要する。そこで、迅速かつ高感度な LM 検出方法の検討の一つと

して LAMP 法について検討した。標準株検体を 1 日増菌培養すると約 1 時間で判定が可能であったことから、LAMP 法は迅速性に優れていると思われた。しかし陽性判断には 10^5 cfu/ml 以上の菌量が必要であることから、食品直接からの検出は困難で、増菌した検体についての応用は有効と考えられる。それでも通常の検査手法より早く判定されることから、LAMP 法による迅速検査法は実用性が高いと思われた。今後多くの食品について LAMP 法による LM の検討法を検討したい。

LM によるリステリア症はヒトに感染すると髄膜炎や敗血症、流産等の重篤な症状を示し、致死率も高いことから、欧米では食品衛生上特にリスク評価を行うべき細菌と位置付けられている。わが国では食品からのリステリア感染事例は不明なことが多く、さらに欧米型の畜産食品中心の食生活ではなかったことから関心が低かった。しかし日本人の食文化に密接に関係する魚介類加工品を中心とした ready-to-eat 食品に病原遺伝子を保有するリステリア汚染が確認されたことから、今後も継続した調査を行い、LM 汚染実態を把握していく必要があると思われる。

参考文献

- 1) 五十君静信：食品衛生研究 Vol.53, No.9 (2003)
- 2) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知 “乳及び乳製品のリステリアの汚染防止等について” 平成 5 年 8 月 2 日, 衛乳第 169 号 (1993)
- 3) 仲真晶子: Jpn. J. Food Microbiol., 23(4), 183-189, (2006)
- 4) (社) 日本食品衛生協会: “食品衛生検査指針微生物編” 256, (2004)
- 5) KARVEN J COORAY, TANAKA NISHIBORI, HUABAO XIONG, TOHEY MATSUYAMA, MASASHI FUJITA and MASAO MITSUYAMA: APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Vol.60, No.8 3023 (1994)
- 6) 宮原美知子, 後藤公吉, 正木宏幸, 齊藤章暢, 金子誠二, 増田高志, 小沼隆博: 日本食品微生物学会雑誌 19 (2) 47 (2002)
- 7) 中村寛海: 生活衛生 Vol.50 No.4 175-184 (2006)
- 8) 真仲晶子: 防菌防黴 Vol.31, No.3 159-168 (2003)

2006/07年シーズンに検出されたノロウイルス遺伝子型についての検討

Norovirus GII/4 variants observed in outbreak of gastroenteritis between November of 2006 and January of 2007 in Miyagi prefecture

庄司 美加 植木 洋 佐藤千鶴子
佐藤 由紀 沖村 容子 谷津 壽郎
齋藤 紀行Mika SHOJI, Yo UEKI, Chizuko SATO
Yuki SATO, Yoko OKIMURA, Juro YATSU
Noriyuki SAITO

2006/07年シーズンの、国内でのノロウイルス（Norovirus:NoV）による感染性胃腸炎患者数は、過去10年間で最も多く、大規模な流行であった。宮城県でも全国と同じ傾向が認められた。流行の原因の解明を目的に、県内で発生した食中毒事例、感染性胃腸炎集団発生事例から検出されたNoV遺伝子の分子疫学的解析を行った結果、他県の食中毒関連事例も含めて、全てGII/4の近縁株であった。これらの株は、過去に県内で検出されたGII/4変異株とは異なったクラスターを形成し、国外での流行が報告されているGII/4の変異株にも属さなかった。

キーワード：ノロウイルス；感染性胃腸炎；分子疫学；GII/4変異株

Key words : Norovirus ; gastroenteritis ; molecular epidemiology; variant of GII/4-type

1 はじめに

感染症発生動向調査によれば、2006/07年シーズンの、全国での感染性胃腸炎の定点医療機関当たりの患者報告数は、過去10年間で最も多かった。県内でも定点医療機関当たりの患者報告数は、2006/07年シーズンは過去3年間で最も多く、例年より早い時期から増加が確認された。特にピーク時の定点医療機関当たりの患者報告数は、2005/06年シーズンが21.51人であったのに対し、2006/07年シーズンは33.74人と昨年度の1.5倍の値であった。また県内の各保健所管内での、感染性胃腸炎による定点医療機関当たりの患者報告数は、第49週から51週にかけて、全ての地域で警報値を超えており、特定の地域ではなく県内全域で流行が確認された。

NoVによる感染性胃腸炎の流行は、近年、アメリカやヨーロッパ、オーストラリア等でも報告されている^{1) 2)}。これらの流行ではGII/4変異株が検出されており、強毒株の出現が危惧される。一方、NoVは培養系が確立されていないことなどから、遺伝子型と病原性の関連については不明な点が多く、その解明には分子疫学的解析が最も有効と考える。そこで、分子疫学的データの蓄積を目的とし、2006/07年シーズンに県内で発生したNoVによる食中毒事例や感染性胃腸炎集団発生事例で患者から検出したNoV遺伝子について、分子疫学的解析を行ったので報告する。

2 方法

2.1 対象材料

2006年11月から2007年1月の期間に、県内で発生した感染性胃腸炎集団発生事例のうち16事例21件、同

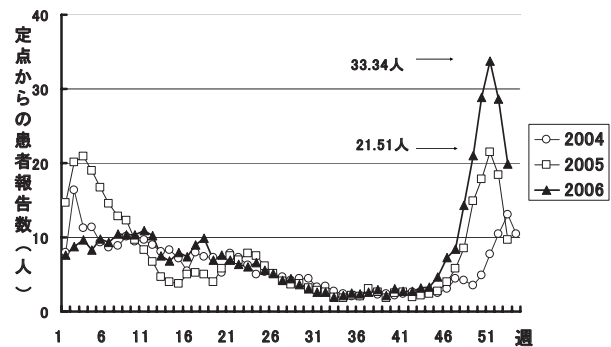


図1 過去3年間の県内の感染性胃腸炎患者報告数

じく食中毒事例のうち3事例13件、他県で発生した食中毒の関連事例である1事例2件、さらに、感染症発生動向調査で採取した感染性胃腸炎患者検体9件を対象材料とした。検体はいずれも糞便とした。

2.2 検体処理及び定量

糞便は、厚生労働省通知³⁾に準じて滅菌蒸留水(和光純薬)で10%乳剤とし、10,000rpm、10分間冷却遠心後、遠心上清140μlをQIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN)により、RNAを抽出した。DNase(Invitrogen)処理後、Super Script II(Invitrogen)で逆転写反応を行い、cDNAを作製した。さらに影山等の方法⁴⁾でPRISM 7900 (Applied Biosystems)を用いて定量PCR法を実施した。

2.3 NoVの分子疫学的解析

定量PCR法でNoVが検出された検体について、Capsid蛋白をコードしている領域増幅用プライマーのCOG2F⁵⁾/G2SKR⁶⁾を用いてRT-PCRを行った。また、RT-PCRで増幅が確認されない検体はG2SKF⁶⁾/G2SKR⁶⁾

のプライマーを用いた nested PCR を実施した。PCR 産物を MicrospinTM S-300HR カラム (GE Healthcare) で精製後、BigDye Terminator Kit (Applied Biosystems) を用いてシーケンス用 PCR を行い、ABI 310 (Applied Biosystems) でダイレクトシーケンスを実施して塩基配列の決定を行った。その後、Clustal X (フリーソフト) を用いてアライメントし、Neighbor-Joining Method⁷⁾ (NJ 法) で系統樹を作成した。

3 結果および考察

今回対象材料とした全ての検体から、定量 PCR 法で NoV 遺伝子が検出された。また、NoV G I 群と G II 群の両方の遺伝子群に陽性であった検体が 1 件検出された以外は全て G II 群を検出した。G II 群が検出されたウイルス遺伝子の、Capsid 蛋白をコードしている領域の一部の 249nt について、塩基配列を決定し系統解析を行った結果を図 2 に示した。検出された NoV の遺伝子型は、全て G II /4 (accession No.X76716 Bristol/93/UK) の近縁株であった。検出された株は一つのクラスターを形成し、クラスター内での相同性は塩基配列のレベルでは 98.8%、アミノ酸レベルでは 97.6% で、同一の遺伝子型と考えられた。これらの株は 2003 年～2005 年に県内の感染性胃腸炎集団発生事例や食中毒事例で検出された G II /4 近縁株とは異なったクラスターであった。また、1995 年～1996 年にアメリカ、ブラジル、カナダ、中国、ドイツ、オランダ、イギリスで流行し、1997 年～2000 年にオーストラリアで流行した G II /4 の変異株 (accession No.AF080549 US95/96) のクラスターにも属さなかった。さらに 2002 年にアメリカとイギリスで流行した G II /4 変異株 (accession No.AY502023 Farmington Hill) や、別の G II /4 変異株 (accession No.AY587985 b4s6) のクラスターにも属さなかった。

今回検出された株がこれらのクラスターに属さなかったことにより、2006/07 年シーズンに県内で流行した NoV は、これまでに報告例のない新たな G II /4 変異株であることが明らかになった。さらに、他県で発生した食中毒の関連事例から検出された株 (0621-4, 0621-5) も、2006/07 年シーズンの県内の流行で検出された G II /4 変異株のクラスターに属していることから、この変異株は、県内はもとより他県での流行に関与している可能性も示唆された。このことは 2006/07 年シーズンの全国的

な大流行を解明する上で重要であり、さらに詳細な分子疫学的解析を行った上で、全国規模での情報交換が必要と考える。

4 まとめ

2006/07 年シーズンに県内の食中毒事例または感染性胃腸炎集団発生事例から検出された NoV 遺伝子は、2003 年～2005 年に県内で検出された株とは異なったクラスターを形成した。さらに近年に国外で流行が報告されている G II /4 変異株にも属さなかった。今後は、宮城県で検出されたこの変異株と全国で流行した株の遺伝子型について他県との情報交換が必要であり、今回の大規模な流行との関係についても検討していく必要があると考える。

参考文献

- 1) EuroSurveillance Weekly 2004 (52) : 23/12/2004
- 2) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課: 病原微生物検出情報, 26, 3 (2005)
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知 “ノロウイルスの検出法について” 平成 15 年 11 月 5 日, 食安監発 1105001 号 (2003)
- 4) T.kageyama,S.Kojima,M.Shinohara,K.Uchida,S.Fukushi,F.B.Hoshino,N.Takeda,K.Katayama : *Journal of Clinical Microbiology*, 41, 1548 (2003)
- 5) Kageyama, T., Kojima, S., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S., Hoshino, F. B., Takeda, N., katayama, K., 2003. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *Journal of clinical Microbiology* 41, 1548-1557
- 6) Kojima, S., Kageyama, T., Fukuda, S., Hoshino, FB., Shinohara, M., Uchida, K, Natori, K., Takeda, N., Kageyama, T., 2002. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J. Virol. Methods* 100, 107-114.
- 7) Saitou N. and Nei M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, vol.4, no.4, pp.406-425

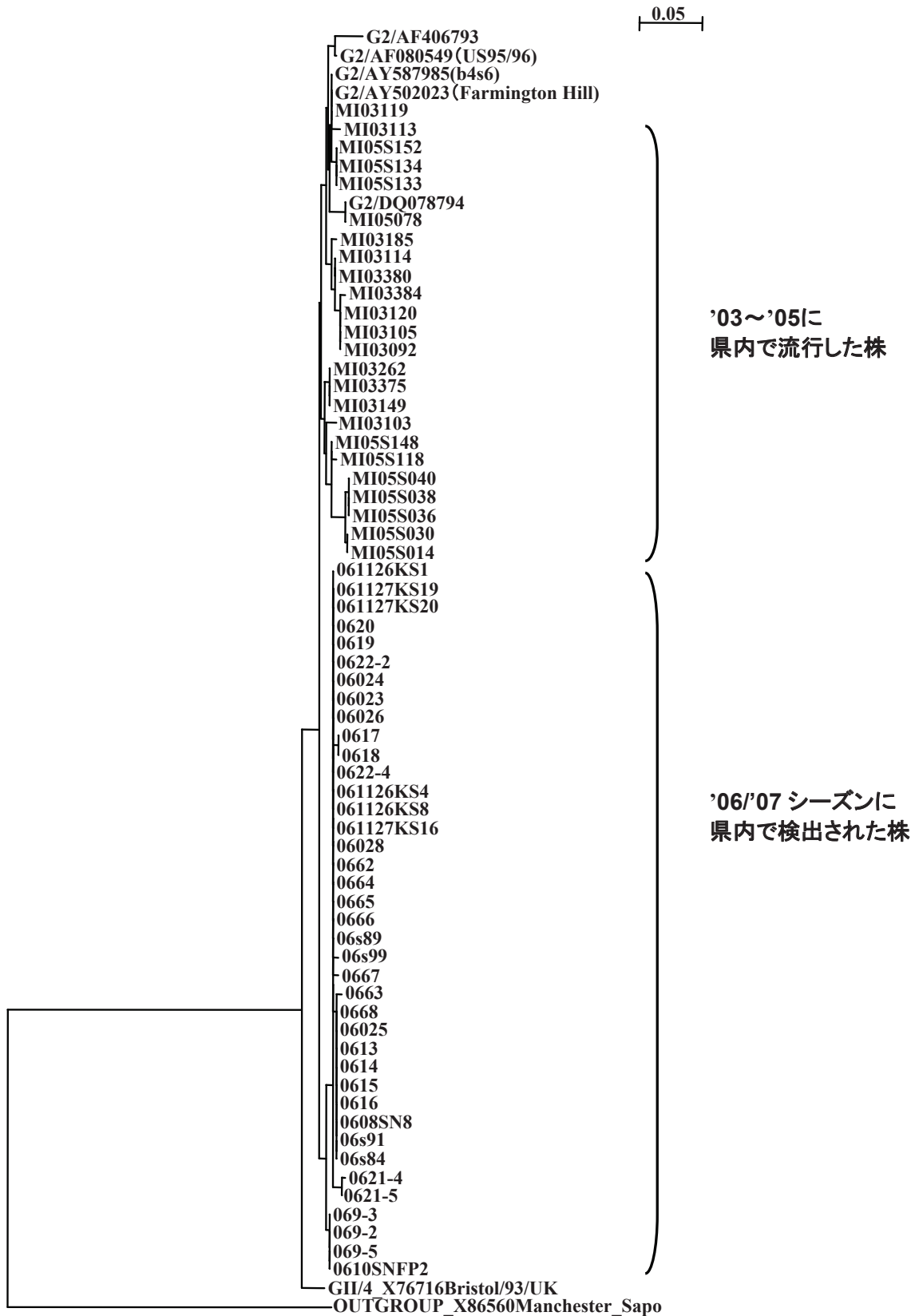


図2 Capsidに基づく NoV G II /4 近縁株の系統樹 (NJ 法)

レプトスピラ症依頼検査について

The Results of Examination of Leptospirosis

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

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

平成 14 年から 18 年度の 5 年間に県外 5 件を含む 23 件のレプトスピラ症検査依頼があり、黄疸出血性レプトスピラ症（ワイル病）2 事例と秋季レプトスピラ症（秋やみ C）1 事例の感染をしめす検査結果を得た。レプトスピラ症は患者発生が希な感染症となったが、県内の野ネズミのレプトスピラ保菌率は患者発生数と相関せず、平成 12～15 年の調査でも 20～40% であり感染の危険はある。4 類感染症となり患者報告が義務づけられた平成 15 年 11 月以降の集計によれば、推定原因では従来からの農作業、土木工事での感染に加えて、レジャー（海外旅行、川遊び、輸入ペットの飼育等）での感染も報告され、感染の機会は増えている。

キーワード：レプトスピラ症；人獣共通感染症；レプトスピラ保菌率

Key words : Leptospirosis ; Zoonosis ; infectious rate of *Leptospira*

1 はじめに

レプトスピラ症は、主にネズミ等のげっ歯類の腎臓に保菌され尿に排泄される病原性レプトスピラ (*Leptospira interrogans*) が皮膚の傷口や汚染された飲食物の摂取により感染する人獣共通感染症である。3～14 日の潜伏期を経て、発熱、黄疸、全身倦怠感、筋肉痛、結膜充血等の多彩な臨床症状を起こす。感染早期には多くの抗生物質が効果的であるが、治療が遅れれば死亡することもある。

レプトスピラはスピロヘータ目レプトスピラ科レプトスピラ属のグラム陰性好気性菌で、菌体は細長いラセン状（直径 0.1 μ m 長さ 6～20 μ m）を呈し、両先端に各 1 本の鞭毛を持つが、その鞭毛で活発、独特なラセン運動を示す。外皮の免疫的性状により、現在、30 余りの血清群 (serogroup)、230 以上の血清型 (serovar) に分類されており¹⁾、血清型によって重症型の黄疸出血性レプトスピラ症（ワイル病）と軽症型の秋季レプトスピラ症（秋やみ A、B、C）、イヌ型レプトスピラ症及びその他に分けられる。近年、遺伝子による分類もなされているが、病原性との関連より従来からの血清型も用いられている。

本疾患は、過去において秋疫、七日熱などと呼ばれ、農作業や土木作業者に多く発生する風土病と考えられていた。宮城県においても昭和 34 年に患者 882 名（死亡者 35 名）におよぶ大流行を記録し²⁾、全国有数の多発地域であった。しかし、農作業の機械化、土地改良事業による乾田化の推進及びワクチン接種を含む予防対策により、昭和 51 年以降は患者数が激減し、現在では発生が希な感染症となった。当センターはレプトスピラの標

準血清型 13 株を継代し、生菌による抗体検査が可能な全国でも数少ない検査機関である。平成 14 年から 18 年度の過去 5 年間に県内外の医療機関等から依頼のあった検体から、3 例のレプトスピラ症感染を示す結果が得られたので報告する。なお、県内の野ネズミのレプトスピラ保有状況と全国のレプトスピラ症発生状況についても併せて考察する。

2 検査材料および方法

2.1 レプトスピラ症の抗原および抗体検査

検査材料は、発熱直後の急性期および 10～14 日経過後の回復期の血清、血液を用いた。抗原検査は、発症直後の血液、血清を検体とし、暗視野顕微鏡下（倍率 100 倍）でのレプトスピラ菌体の検索を行った。病原体分離は、血液 50 μ l 程度をコルトフ培地に接種後、30 $^{\circ}$ C で培養し、7 日おきに 3 ヶ月まで継代した。継代する際には、暗視野顕微鏡下で菌体の検索を行った。PCR 検査は、血液またはバフィーコート等を検体とし、High PureTM PCR Template preparation kit (Roche Diagnostics) を用いて DNA を抽出した。ついで鞭毛遺伝子の一つ *flaB* を対象としたプライマー L-*fla*BF1 と L-*fla*BR1 により増幅し、790bp のバンドを確認した。バンドが確認された場合は、BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit v1.0 (Applied Biosystems) により反応液を調整し、シークエンサー PRISM310 (Applied Biosystems) を用いてダイレクトシークエンスを行い同定した。

抗体検査は、急性期と回復期のペア血清を検体とし、顕微鏡下凝集試験 (Microscopic Agglutination Test) を行った。血清は滅菌 PBS で 10 倍に希釈後、96 穴マ

マイクロプレートを使って2倍連続希釈した。抗原として当センターで保有している各血清型の生菌10～13株を植え継ぎ、4～5日間、30℃で培養したものを使用した。希釈血清に抗原を同量あわせ攪拌後、37℃、3時間反応させた。反応液をスライドグラスに取り、暗視野顕微鏡下(倍率100倍)で観察し、陰性コントロールと比較して、凝集していない菌が50%以下となった場合を陽性とし、その血清希釈倍数の逆数を抗体価とした。いずれの方法も病原体検出マニュアル³⁾に準じた。

2.2 陽性事例の臨床症状等の情報

各医療機関から検査依頼の際に添付された調査票、臨床症状や治療経過等の資料をもとに作成した。

2.3 野ネズミのレプトスピラ保有状況

県内の山林、港湾他に捕そ器を設置し、野ネズミ(アカネズミ、クマネズミ、ドブネズミ他)を捕獲した。ネズミの腎臓抽出液、血液および血清を検体として抗原・抗体検査を行った。

2.4 全国の発生状況

国立感染症研究所・厚生労働省健康局が編集する「病原微生物検出情報」等の文献を参考とした。

3 結果

3.1 検査依頼数

平成14年度から18年度までの検査依頼数を県内、県外別に表1に示した。23件(検体数45件)の検査依頼があり、その内訳は県内からの依頼が18件、県外からが5件であった。また、21件が直接、医療機関から依頼されており、2件が地方衛生研究所を通しての依頼であった。

表1 検査依頼数

年度	件数	県内	県外
平成14年度		4 (13)	3 (5)
平成15年度		2 (2)	
平成16年度		2 (3)	1 (3)
平成17年度		1 (2)	
平成18年度		9 (15)	1 (2)
合計		18 (35)	5 (10)

() 内は検体数

3.2 検査成績

23件について抗原または抗体検査を行い3件よりレプトスピラ症の感染を示す結果を得た。内訳は平成14年度にワイル病1事例、平成16年度は秋季レプトスピラ症(秋やみC)1事例、平成18年度はワイル病1事例であった(表2)。

表2 検査成績

年度	依頼件数	陽性数*
平成14年度	7	1 (ワイル病)
平成15年度	2	
平成16年度	3	1 (秋季レプトスピラ症)
平成17年度	1	
平成18年度	10	1 (ワイル病)
合計	23	3

* 抗体検査で判定

レプトスピラ症陽性の3事例について経過とその症状等を表3に、抗体検査の結果を表4に、また、その概要を以下に示した。

[事例1] 青森県在住の67才女性で感染原因は不明、狭心症で通院中の平成14年8月20日、腰痛、腹痛、全身倦怠感でかかりつけ医を受診し、ウイルス感染と診断された。症状が軽快せず別の医療機関を受診したが、8月23日には下肢の痛み(腓腹筋痛)が強くなり歩行困難となり8月25日、公立病院に入院した。同日、けいれん発作が数回有り、一時、人工呼吸となった。ステロイド剤、抗生物質投与により徐々に回復したが、各種検査にもかかわらず原因病原体が不明であったため平成15年1月に検査依頼があった。検体は8月26日と退院時の11月8日に採血したペア血清で、抗体検査の結果、ワイル病の病原体である *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae に1,280倍、serovar Copenhageni に2,560倍の抗体価上昇を認めた。

[事例2] 愛媛県在住の63才男性で、平成16年8月30日に通過した台風16号によって河川が氾濫し、その水害の後片づけをしていて感染したと推定された。9月6日に発病、9月8日に市立病院を受診した際に、黄疸、出血傾向、腎機能障害等の症状がありワイル病が疑われた。検査の相談を受けた地方衛生研究所より検査依頼があった。9月8日急性期に採血した血清にPCR検査を試みたが陰性であった。そこで9月10日採血の血清と併せて抗体検査を行った結果、秋季レプトスピラ症の病原体である serovar Australis (秋疫C) に640倍の抗体価を示し、秋季レプトスピラ症に感染したと考えられた。しかし、初発症状が重篤のためワイル病感染も考慮して、回復期に再度、採血するように求めた。9月22日採血の回復期血清では1,280倍の抗体価上昇を認め、秋季レプトスピラ症(秋やみC)の感染が確認された。入院後、一時、腎不全となり透析を行ったが、抗生物質投与により治癒した。

[事例3] 県内の67才男性で推定感染日は平成18年11月下旬、海釣りのため立ち寄った倉庫にネズミが出没し、その尿より感染したと推定された。発熱、黄疸症状が続いたため12月4日に公立病院を受診した。下肢の筋肉痛、結膜充血、肝機能障害、腎機能障害等の症状よりワイル病が疑われ、直ちに入院しストレプトマイシン等の抗生剤投与、

腎透析を行い回復した。抗生剤投与前の12月4日と、12月11日に採血した血液について検査依頼があった。12月4日採血検体のバフィーコートにレプトスピラ様物質を認めましたが、PCR検査は陰性であった。そこで、12月4日採血の急性期血清と11日採血の血清について抗体検査を行ったところワイル病の病原体である serovar Copenhageni,

serovar Icterohaemorrhagiae, に各々 640 倍、秋季レプトスピラ症(秋やみB)の病原体 serovar Hebdomadis にも 40 倍の抗体価を示した。血清型を決定するため、再度、採血を依頼し、12月25日の回復期血清では serovar Copenhageni, serovar Icterohaemorrhagiae, に 2,560 倍の抗体価を認めた。

表 3 経過および症状

事例	1	2	3
患者	67才女性 青森県在住	63才男性 愛媛県在住	67才男性 宮城県在住
発病年月日	平成14年8月17日	平成16年9月6日	平成18年11月下旬
自覚症状	腰、腹の痛み、倦怠感 倦怠感	黄疸	発熱 黄疸
受診経過	8月20日内科受診	9月8日市立病院受診	
入院等	8月25日公立病院入院		12月4日公立病院入院
入院時症状			
発熱	38℃代	37.5℃	最高39℃
四肢筋肉痛	有り 全(腓腹筋痛)	有り	有り 下肢
黄疸	有り	有り	有り
結膜充血	不明	有り	有り
出血傾向	有り	有り	血小板減少
肝機能障害	有り	有り	有り ビリルビン上昇著明
腎機能障害	有り	有り 透析中	有り
その他	けいれん発作		
治療開始	8月25日		12月4日
投与抗生物等	カルバペナム系 ステロイド投与	ストレプトマイシン	ストレプトマイシン 腎不全のため透析

表 4 3事例の抗体検査結果

抗原(血清型)	事例1		事例2			事例3		
	急性期	回復期	急性期	回復期	回復期	急性期	回復期	回復期
	8月26日	11月8日	9月8日	9月10日	9月22日	12月4日	12月11日	12月25日
黄疸出血性レプトスピラ症(重症型ワイル病)								
<i>L.interrogans</i> serovar Icterohaemorrhagiae	<10	1,280	<10	<10	<10	<10	640	2,560
<i>L.interrogans</i> serovar Copenhageni	<10	2,560	<10	<10	<10	<10	640	2,560
秋季レプトスピラ症(軽症型)								
<i>L.interrogans</i> serovar Autumnalis	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L.interrogans</i> serovar Hebdomadis	<10	<10	<10	<10	<10	20	40	40
<i>L.interrogans</i> serovar Australis	<10	10	<10	640	1,280	<10	<10	<10
イヌ型レプトスピラ症								
<i>L.interrogans</i> serovar Canicola	<10	40	<10	<10	<10	<10	<10	<10
その他のレプトスピラ症								
<i>L.interrogans</i> serovar Kremastos						<10	<10	<10
<i>L.interrogans</i> serovar Pomona			<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L.interrogans</i> serovar Pyregenes						<10	<10	<10
<i>L.interrogans</i> serovar Rachmati						<10	<10	<10
<i>L.kirschneri</i> serovar Grippotyphosa			<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L.borgpetersenii</i> serovar Javanica			<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L.borgpetersenii</i> serovar Poi						<10	<10	<10

3.3 県内の患者数とネズミのレプトスピラ保菌率

当センターで実施してきた調査を基に、県内の患者報告数²⁾と野ネズミのレプトスピラ保菌率²⁾を図1に示

した。県内の患者報告は昭和34年の882名を最大として減少し、昭和51年から62年までは10名以下の報告が続いた。昭和63年からは11年間報告がなかったが、

平成11年にワイル病による1名の死亡例⁴⁾があり、平成13年にも1例⁵⁾が報告されている。また、野ネズミの捕獲調査は昭和34年からワイル病特別対策事業等で実施されていたが、患者報告数も激減したことから平成6年に中止していた。この間、年度によって幅はあるが野ネズミの保菌率は20～80%であった。また、平成12～15年に調査を再開し、平成13年は40.0% (8/20)⁶⁾、平成15年は21.9% (9/41)⁷⁾との結果を得た。

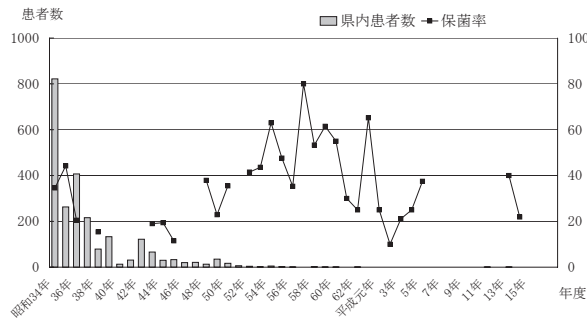


図1 県内の患者数と野ネズミのレプトスピラ保菌率

表5 全国の発生状況

年度	患者数	推定感染原因	推定感染地	血清型
平成15	1	水田農作業	徳島	Hebdomadis
平成16	4	水田農作業	千葉 長崎	Icterohaemorrhagiae Copenhageni
			徳島	Autumnalis Hebdomadis Canicola
	1	下水道工事	東京都	Icterohaemorrhagiae Copenhageni
	1	清掃作業	神奈川県	Canicola
	4	ヘドロ除去	沖縄	Autumnalis Hebdomadis Rachima
	1	台風後の水中作業	愛媛	Australis
	3	山、川での活動	沖縄 九州	Hebdomads
	2	イヌ、ヤギとの接触	沖縄 千葉	Javanica 型不明
	1	海外旅行中	バリ島	Sejroe
	1	海外旅行中	タイ	Australis
平成17	2	ネズミ (尿, 咬傷)	沖縄	Javanica Pyrogenes
	2	アメリカモモンガ飼育	静岡	Grippotyphosa
	1	耐久レース川下り	ボルネオ	Hebdomadis Poi Pyrogenes

3.4 全国の発生状況

レプトスピラ症は届出対象となっていなかったため、正確な発生状況は把握されていなかった。しかし、平成15年11月以降、届出が必要な4類感染症に指定されてからは、徐々に報告が増え発生状況が明らかとなってきた。表5にレプトスピラ症として報告された患者数、推定感染原因、推定感染地、感染血清型について示した^{8)~10)}。平成15年度は1例のみの報告であったが、平成16年度は18例、平成17年度は5例となっている。推定感染原因で最も多いのが水田等農作業の5例で、ついで水源地のヘドロ除去4例であるが、これは集団感染とされている。川に関連したレジャーで4例が報告され、ネズミを含む動物から直接感染したと考えられる例も6例あった。推定感染地では、西日本とくに沖縄県での感染が大半をしめ、東南アジアで感染したと推測される例も3例報告されている。血清型はワイル病の病原体である serovar Icterohaemorrhagiae や Copenhageni, 秋季レプトスピラ症の serovar Autumnalis, Hebdomadis, Australis, イヌ型レプトスピラ症の serovar Canicola に加えて serovar Pyrogenes, servbar Javanica, 海外での流行血清型とされている serovar Sejroe, serovar Grippotyphosa も確認されている。

4 考察

レプトスピラ症、とくにワイル病は症状が重篤で死亡することもあり、また、患者も多発したため宮城県においては昭和40年代、法定伝染病に準じる届出伝染病の扱いであった。環境の変化や積極的な予防対策により患者数は激減し、全国的にも発生が希な感染症となったため、検査に対応できる検査機関は少ない。しかし、当センターでは過去に患者が多発したことや平成11年、13年にもワイル病患者が発生したことから、常にレプトスピラ症の検査体制を確保してきた。平成14年から18年度の5年間に他県からの依頼を含めて23件の検査依頼があり、23件中3件でレプトスピラ症の感染が確認された。3事例は発病時に発熱、黄疸、倦怠感等が有り、入院時には、四肢筋肉痛、黄疸、結膜充血や出血傾向が認められ、典型的なワイル病の症状であった。事例2では軽症型の秋季レプトスピラ症(秋やみC)に感染したにもかかわらず、患者が比較的高齢のため肝機能、腎機能障害も認められ、腎透析を必要とした。また、事例1では既往歴があったこともあるが意識障害で人工呼吸となる等、症状の重篤化が目立った。検査は抗原検査と抗体検査を実施したが、3事例すべてが抗体検査で有意な抗体価の上昇が認められ、感染が

確認された。一般的にレプトスピラ症に感染すると、血液中にレプトスピラが確認されるのは、発症直後の4～5日間で、抗生物質投与により速やかに死滅するため、菌体検索やPCR検査に適した検体は採取時期が限られる。急性期血清が入手できた事例2、3について抗原検査を実施したが陰性となった。これに対して、抗体検査は回復期の血清を必要とするため、確認までに日数がかかるが、重症型か軽症型かの判別が可能となる。事例2、3は臨床症状から担当医師がレプトスピラ症を疑い、抗生物質投与等の処置後、直ちに検査依頼があったため、検査と治療は併行して進み、検果報告の時点で患者は治癒していた。しかし、事例1は2医療機関を受診し、また、公立病院入院時には意識障害もあり長期入院となった。治癒後も特にレプトスピラ症を疑ったわけではなく、原因病原体検索の一環として検査依頼があったため、医療機関受診から感染が確認されるまでに約5ヶ月を要した。このように、典型的な症状があっても既往歴等からレプトスピラ症が疑われないこともあり、早期診断、早期治療が行えるように医療関係者への情報提供が必要である。

ワイル病病原体の地域分布は血清型が serovar Copenhageni のみの地域と、serovar Icterohaemorrhagiae のみの地域、その両方が確認される地域に分かれている¹⁾。県内で平成11年、13年に発生したワイル病事例の血清型や平成9年、10年に新潟県、山形県で発生した事例の血清型も Copenhageni であり、東北地方には、Copenhageni による汚染が広範囲に及んでいると推測されている。事例3では回復期血清で Icterohaemorrhagiae が Copenhageni と同等の抗体価であり、また、serovar Hebdomadis にも抗体価の上昇が認められた。*L.interrogans* の各血清型には交叉性があり、2,560倍という高い抗体であったことから、Icterphaemorrhagiae、Hebdomadis も上昇したと推測された。これらのことから、県内では、ワイル病の病原体としては Copenhageni が主流であると考えられる。一方、県内の野ネズミ調査で分離された株の血清型⁶⁾は13件中9件が serogroup Icterhaemorrhagiae、2件が serogroup Autumnalis と従来からの血清群であるが、いままで日本で報告のない血清群の株も1件分離されている。今後、抗体検査に際しては、従来と異なった血清型を考慮することが必要と考える。

レプトスピラ症が4類感染症に指定され届出が必要となった平成15年以降、全国の発生状況では推定感染原因として、従来からの農作業や土木工事とともに、レジャー、とくに河川に関係した例が増えてきている。また、主な保菌動物であるネズミ以外のイヌ、ヤギとの接触やアメリカモモンガ等の輸入ペットによる新たな感染原因も報告されており、感染の機会は多種となっている。推定感染地は、西日本とくに沖縄や東南アジアの亜熱帯地域での感染が多く、沖縄では平成11年に八重山諸島で、15年には北部地域河川に関連した集団発生が報告されている。報告例の大半が亜熱帯地域で感染し

ていることや、発生が希な感染症であることから、県内での感染の危険は少ないと思われるが、平成12～15年の調査で野ネズミの保菌率が20～40%と過去にワイル病が多発した時代と同様であることが明らかとなった。このことから県内での感染の危険はいまだに存在し、加えて、輸入ペット飼育や海外旅行等の、従来とは異なる感染原因も加わり、以前より、感染の機会は増加していると考えられる。当センターとしては、検査体制の保持と充実を図っていくとともに、得られた情報を医療機関や一般住民に提供し、レプトスピラ症に対する注意を喚起していくことが必要であろう。

5 まとめ

- 1) 平成14年度から18年度に県外の医療機関からの5件を含む23件のレプトスピラ症検査依頼があった。
- 2) 3件が抗体検査によりレプトスピラ症に感染したと確認され、その内訳は、黄疸出血型レプトスピラ症（ワイル病）2事例と秋季レプトスピラ症（秋やみC）1事例であった。
- 3) 野ネズミのレプトスピラ保菌率は、平成12～15年の調査でも20～40%で、患者が多発した時代と同様であった。
- 4) 全国の発生状況から、新たに動物との接触、輸入ペットの飼育、海外旅行等が推定感染原因として挙げられ、感染の機会は多種となってきている。

謝 辞

本研究を行うにあたり、臨床所見等の情報を提供いただいた医療機関の方々、ならびに調査にご協力いただいた厚生労働省科学研究・新興再興感染症研究事業班の方々に感謝いたします。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所：“レプトスピラ感染症パンフレット”（2002）
- 2) 秋山和夫、植木 洋、佐久間隆、新妻澤夫、菱沼早樹子、御代田恭子、山本 仁、佐々木智司：“宮城県におけるワイル病”4（1993）
- 3) 地方衛生研究所全国協議会、国立感染症研究所：“病原体検出マニュアル”，レプトスピラ病（2003）
- 4) 国立感染症研究所・厚生労働省健康局：病原微生物検出情報，21,2（2002）
- 5) 佐藤千鶴子、後藤郁男、植木洋、渡邊節、沖村容子、秋山和夫、白石廣行、林千恵：宮城県保健環境センター年報，20,51（2002）
- 6) 増澤俊幸：“回帰熱、レプトスピラ等の希少輸入細菌感染症の実態調査及び迅速診断法の確立に関する研究・平成12～14年度総合研究報告書”，10（2003）
- 7) 沖村容子、佐藤千鶴子：“平成15年度調査研究終了報告書”（2004）

- 8) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局:IDWR 速報, 7, 13 (2005)
- 9) 国立感染症研究所・厚生労働省健康局: 病原微生物 検出情報, 26, 10 (2005)
- 10) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局: 病原微生物 検出情報, 26, 58 (2005)
- 11) 森守: 第18回レプトスピラシンポジウム抄録 (1987)

残留農薬分析の抽出法に関する基礎的検討

Study on Extraction of Multiresidue Pesticide Analysis in Fruit and Vegetables

氏家 愛子 長谷部 洋 柳田 則明
Aiko UJIIE, Hiroshi Hasebe, Noriaki YANAGITA

H18年5月にポジティブリスト制度が導入されて、規制対象農薬数が約600種類と飛躍的に増大した。このため、迅速・簡便化が要望される一斉分析法の抽出法として、厚生労働省通知法のホモジナイザーによる抽出法に換えて、振とう抽出法の有用性について検討した。現在、濃度既知の食品標準試料がないため、分析法の妥当性評価について、標準添加試料を用いた回収試験で行う方法が一般的に行われている。本検討では、当所で従来から使用している振とう抽出（5分×2回）法の正確な抽出率の把握をするため、試料は農薬が多種類検出された実試料を用いた。また、振とう法と超音波抽出およびバイオミキサーによる抽出の併用も検討した。この結果、一斉分析では、低極性から高極性の幅広い多種類の農薬と多種類の品目を対象とするため、良好な回収率を得るためには、振とう抽出（5分×2回）に加え、試料を液状またはペースト状まで粉碎均一化できるバイオミキサーで1分間抽出する必要がある。

キーワード：残留農薬；一斉分析法；LC/MS/MS-MRM；振とう抽出

Key words : Multiresidue Pesticide ; Simultaneous Analysis Method ; LC/MS/MS-MRM ; Shaking Extraction

1 はじめに

残留農薬分析法の妥当性の評価については、食品中の濃度既知の標準試料がないため、農薬標準液を野菜等試料に添加する回収試験で行う方法が一般的に行われている。現在、当所でバリデーションを行い採用している一斉分析法¹⁾には、従来から使用してきた振とう抽出法を取り入れており、この分析法による添加回収試験結果や外部精度管理の結果は良好であった。しかし、野菜等が生育時に吸収または吸着して含有する農薬について、振とう抽出による実試料からの抽出率は現在のところ把握できていない。振とう抽出法は、環境省の農薬登録保留基準の分析法²⁾にも多く採用され、また、Anastassiades, M.³⁾らの報告など迅速・簡便な一斉分析法に多く採用されているため、振とう抽出法の有用性を評価することは迅速・簡便化の観点から重要である。低濃度ではあるが、多種類の農薬が検出された野菜等の入手により、抽出液を精製せず希釈だけで高感度且つ選択的に分析できるLC/MS/MS-MRM法を用いて、振とう抽出法の有用性について検討した。

2 方法

2.1 試料

H18年度に行政検査を実施した野菜のうち、農薬が数種類以上検出されたきゅうり、日本なしおよび冷凍えだまめを使用した。試料は搬入当日、ミキサーまたはフードカッターにより細切して均一化し、保存袋に入れ即日凍結保存しておいたものを使用した。

2.2 装置及び測定条件

LC/MS/MSはAgilent社製HPLC 1100 SeriesおよびApplied Biosystems社製API3000、超音波発生装置はシャープ(株)製UTB-152、振とう機は(株)ヤヨイ製

8-1-W、遠心分離機は久保田商事(株)製KN-45を用いた。試料の均一化に、National製ミキサーMX-V100およびNational製フードプロセッサーMK-K47を用いた。

LC/MS/MS分析条件を表1および表2に示した。

2.3 試料の調製

抽出法の比較検討には、次に示す方法で試料を調製した。A法：各試料を解凍後20gをはかり取り、当所の従来法¹⁾に準じ、1回目抽出にアセトニトリル30mlと食塩6gを加え5分間振とう後、遠心分離をしてアセトニトリル層を分取した。この残さにアセトニトリル20mlを加え5分間振とう後、遠心分離をしてアセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、全量を50mlに定容した。B法：A法の振とう抽出前に超音波抽出10分を加えて、A法と同様に調製した。C法：A法の振とう抽出前にバイオミキサー抽出1分を加えて、A法と同様に調製した。また、振とう時間の検討には、当所の従来法に準じ抽出時間を5分～60分の範囲で変えて抽出を行った。アセトニトリルは1回目に50ml、2回目に20mlを用い、食塩を5gを添加して振とう抽出を行い、この抽出液を100mlに定容し試料液とした。これらの試料液を0.2 μ m-DISMIC(Millipore社製)でろ過し、LC/MS/MS試験液とした。

表1 LC/MS/MS測定条件

Column:	CAPCELL PAK C18 AQ (S-3 μ m, 2.0mm i.d. × 150mm, Shiseido)
Mobile phase conditions:	A: 1mmol-L-CH ₃ COONH ₄ ・0.01% HCOOH B: CH ₃ CN initial, 100% A → 5min, 0% A → 16min, 0% A → 16.1min, 100% A → 21min, 100% A, Flow rate: 0.2mL/min
Column oven temp.:	40°C, Injection volume: 5 μ L
Positive mode:	Ion source temperature: 500°C, Curtain gas: 10L/min, Ion spray potential(V): 5000V, Collision gas: 8L/min, Nebulizer gas: 12L/min, Auxiliary gas: 6L/min
Negative mode:	Ion source temperature: 450°C, Curtain gas: 10L/min, Ion spray potential(V): -4500V, Collision gas: 6L/min, Nebulizer gas: 15L/min, Auxiliary gas: 6L/min

表2 LC/MS/MS-MRM 測定条件と標準添加回収率

農薬名	測定モード	Precursor ion	Product ion	Collision Energy	Retention Time (min)	冷凍えだまめ(n=3)	
						Recovery (%)	RSD(%)
Imidacloprid	n	254	153	-18	9.56	93	10
Methabenzthiazuron	n	220	163	-14	10.73	79	16
Inabenfide	n	337	122	-26	10.82	89	6.9
Dymron	n	267	106	-50	11.00	85	4.7
Tebufenozide	n	351	149	-30	11.18	87	8.0
Diflubenzuron	n	309	289	-12	11.20	91	4.6
Famoxadone	n	373	282	-28	11.25	93	9.5
Pencycuron	n	327	111	-30	11.55	90	5.2
Hexaflumuron	n	459	439	-14	11.61	87	6.6
Iprodione	n	328	141	-16	11.79	100	1.7
Lufenuron	n	509	326	-24	11.97	85	8.8
Teflubenzuron	n	379	339	-16	12.12	91	8.4
Flufenoxron	n	487	156	-22	12.17	85	16
Chlorfluazuron	n	540	520	-18	12.45	84	1.9
Methamidophos	p	142	94	23	2.30	82	2.2
Acephate	p	184	143	13	2.39	85	14
Omethoate	p	214	183	17	8.14	98	4.8
Aldicarb-sulfoxide	p	207	132	11	8.55	93	1.7
Nitenpyram	p	271	126	35	8.74	83	12
Pymetrozine	p	218	105	41	8.74	81	16
Aldicarb-sulfon	p	223	148	15	8.76	110	8.0
Oxamyl	p	237	72	27	9.00	110	7.9
Methomyl	p	163	88	19	9.18	100	4.2
Ethiofencarb-sulfon	p	258	107	21	9.40	100	5.1
Ethiofencarb-sulfoxide	p	242	107	27	9.44	100	3.0
Methiocarb-sulfoxide	p	242	185	21	9.57	100	1.8
Acetamiprid	p	223	126	27	9.68	99	5.4
Methiocarb-sulfon	p	258	122	23	9.70	97	4.8
Dimethoate	p	230	125	30	9.71	94	7.7
Cymoxanil	p	199	128	13	9.83	110	4.4
Spinosad	p	732	142	39	9.95	97	2.0
Aldicarb	p	208	116	11	10.04	101	1.4
Thiophanate-methyl	p	343	151	39	10.16	92	4.3
Bendiocarb	p	224	167	15	10.21	88	3.0
Carbaryl	p	202	145	13	10.35	100	1.9
Ethiofencarb	p	226	107	23	10.42	82	14
Pirimicarb	p	239	72	31	10.49	98	1.5
Thiophanate	p	371	151	33	10.53	95	2.4
Desmedipham	p	301	182	13	10.57	98	1.7
Fenobucarb	p	208	95	23	10.74	100	5.0
Diethofencarb	p	268	226	15	10.79	89	2.7
Dimethomorph	p	388	301	31	10.87	100	3.0
Methiocarb	p	226	169	15	10.88	96	3.8
Linuron	p	249	160	27	10.93	92	1.1
Cumyluron	p	303	185	21	10.95	96	0.6
Ferimzone	p	255	91	47	10.99	97	1.2
Fipronil	p	435	330	-20	11.06	91	6.4
Bensulide	p	398	158	33	11.08	100	14
Phenthoate	p	321	135	29	11.25	95	4.2
Alanycarb	p	400	238	17	11.27	100	15
Kresoxim-methyl	p	314	116	20	11.30	96	12
Di-lomezine	p	255	141	45	11.33	91	10
Pyrazoxyfen	p	403	91	59	11.35	98	3.2
Ethobenzanid	p	340	121	45	11.36	100	2.9
Bitertanol	p	338	70	43	11.39	89	6.5
Propicanazole	p	342	159	40	11.39	95	1.8
Phoxim	p	299	129	17	11.46	100	10
Difenoconazole	p	406	251	37	11.53	98	5.3
Cyprodinil	p	226	108	35	11.55	95	1.6
Clofentezine	p	303	138	27	11.69	95	5.4
Fluazinam	p	463	416	-28	11.92	97	6.4
Imibenconazole	p	411	125	41	11.93	100	4.7
Terbufos	p	289	103	15	11.95	87	6.9
Hexythiazox	p	353	228	21	12.17	90	2.7
Cycloxydim	p	326	280	21	12.20	92	2.7
Chlorpyrifos	p	352	200	30	12.24	96	2.6
Pyrimidifen	p	378	184	35	12.27	98	0.7
Cypermethrin	p	416	191	17	12.44	83	8.2
Fenpyroximate	p	422	366	25	12.58	98	1.0
Permethrin	p	391	183	28	13.20	92	8.4
Etofenprox	p	394	177	23	13.36	95	7.9
Silafuofen	p	287	168	33	14.40	76	16

p: positive mode ,n: negative mode

3 結果

3.1 従来法による添加回収試験

農薬が検出されなかった冷凍えだまめに、表2に示した72種類の農薬標準液を試料換算で5ng/gとなるよう添加をし、A法により試料溶液を調製した。抽出率だけを評価するため、精製を行わず0.2μmのフィルターによるろ過だけでLC/MS/MS-MRM (Multiple Reaction Monitoring) 分析を行った。72農薬全ての回収率は76%~110% (RSD0.6%~16%, n=3)であり、添加試料からのA法による農薬の回収率は、良好な結果が得られた(表2)。

3.2 抽出法による比較

実試料からの抽出率の把握をするため、均一化状態が異なる試料を用いて検討を行った。試料は、ミキサーまたはフードカッターで細切して均一化するため、試料によっては液状やペースト状まで完全に均一化することはできない。このため、振とう抽出だけでは抽出が不十分であると考えられ、振とう抽出前に補助抽出操作を加える方法も検討した。すなわち、超音波抽出を10分加えたもの(B法)、およびバイオミキサー抽出を1分加えたもの(C法)で比較を行った。図1に示したように、液状に均一化したきゅうり(図2に示す5農薬含有)、ジュース状であるが果皮が不均一に分散した日本なし(同6農薬含有)、およびペースト状であるが鞘が不均一に混合している冷凍えだまめ(同12農薬含有)を用いた。厚生労働省の通知法⁴⁾とほぼ同程度の抽出率であったC法の濃度を基準にして、A、B法の抽出率の比率を図2に示した。なお、対象とした農薬濃度が数ppbと低濃度のものがあつたため、抽出用アセトニトリルは従来法より少ない量(1回目30ml, 2回目20ml)を用いて行った。

きゅうりの場合、5農薬のA/Cは89%~104%, B/Cは96%~101%とA、B、C3法による抽出率は、ほぼ同程度であった。きゅうりのように液状に均一化された試料からの農薬の抽出は、A法でも良好であると推察された。

日本なしの場合、メソミル、イミダクロプリドの抽出率A/Cは80%以上であったが、残る4農薬は、28%~53%であった。B/Cは、シラフルオフェンが58%と低く、これらの低抽出率の農薬は水溶解度が低く、オクタノー

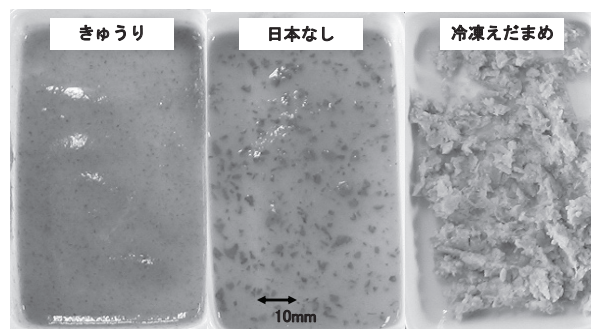


図1 各試料の均一化状態

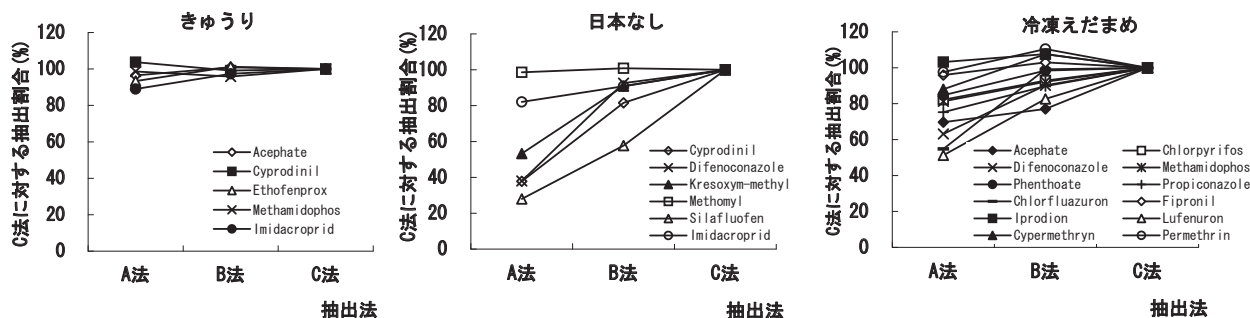


図2 抽出法別抽出率の比較 (n=3)

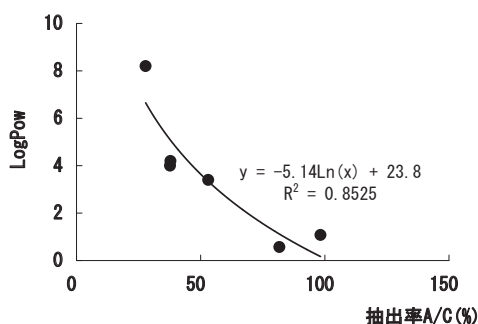


図3 振とう法(5分)の抽出率とLogPow

表3 抽出法別残留農薬濃度(冷凍えだまめ)

抽出法	振とう抽出: 振とう時間(min)				通知法
	5	15	30	60	
農薬名					
Chlorfluzuron	1.2±0.1	1.5±0.3	2.2±0.2	2.8±0.9	2.8±0.3
Fipronil	2.4±0.1	2.5±0.2	2.6±0.1	2.6±0.1	3.0±0.1
Iprodion	4.3±0.1	4.7±0.7	5.7±1.0	6.4±1.6	5.8±0.5
Lufenuron	4.1±0.4	5.3±0.3	5.2±0.6	4.6±0.4	5.0±0.7
Acephate	17±1.7	14±3.1	15±2	15±1.2	16±0.6
Chlorpyrifos	32±0.5	36±0.6	37±0.8	40±0.3	43±4
Cypermethrin	130±6.4	150±11	160±2	190±3	180±13
Difenoconazole	9.6±0.3	12±0.3	10±0.2	11±0.1	15±1.0
Methamidophos	3.3±0.2	3.6±0.3	3.9±0.1	4.6±0.2	4.0±0.2
Phenthoate	9.3±0.5	11±0.3	12±0.1	11±1.0	13±1.0
Propiconazole	11±0.3	13±0.3	12±0.3	14±0.2	17±0.5
Permethrin	99±9	110±12	110±15	140±4	130±11

ル分配係数 (LogPow) が高い農薬であった (図3)。日本なしについて、新目ら⁵⁾ は果皮と果肉中の農薬分布を調査し、果皮中濃度が果肉中濃度の数倍~数十倍高いことを報告しており、果皮に付着した低極性農薬が、振とうまたは超音波による抽出だけでは、極性の高い水/アセトニトリル混合層に移行し難いことが原因と考えられた。日本なしのように、果皮を果肉と全く同様な液状に均一化できない果実等は、A法およびB法では抽出が不十分であると推察された。

また、冷凍えだまめの場合、抽出率 A/C は、LogPow が高い尿素系農薬のクロルフルアズロン及びルフェヌロンが 55%, 51%, トリアゾール系農薬のジフェノコナゾールが 63% であり、A法による抽出では不十分であった。B/C は 77% (アセフェート) ~ 110% であり、超音波抽出を加えることにより抽出率が増大した。えだまめは鞘と豆をホモジナイズして試料とするため、水分含量が少なくペースト状であり、超音波をかけることにより、LogPow が高いクロルフルアズロン、ルフェヌロンおよびジフェノコナゾールが、アセトニトリル層に移行しやすくなったものと考えられた。冷凍えだまめのように、水分含量が少なくペースト状に均一化された試料は、振とう抽出に超音波抽出を 10 分加えることで、良好な抽出率を得ることができた。

従来法の振とう時間 5 分での 2 回抽出をベースに、それぞれ超音波またはバイオミキサーによる操作を追加した 3 抽出法の比較検討の結果、食品全般の抽出法として

は C 法が優れており、振とうの前に、バイオミキサーにより試料を 1 分間ホモジナイズする操作が必要であることがわかった。

3.3 振とう時間と抽出率

約 600 農薬が分析対象となっている現在、一斉分析法でも QuEChERS³⁾ 法に代表されるように迅速簡便化が要求されている。上記バイオミキサーによる操作は、刃の洗浄や交換等、多検体の同時並行分析において煩雑であり、コンタミネーションの懸念もある。振とう操作だけで十分な抽出率を得ることは、分析の迅速・簡便化を図る上で非常に有用である。

そこで、適切な振とう時間の検討に、従来法の振とう時間を 5 分~60 分の範囲で変更し、時間と抽出率について検討した。試料は、農薬 12 種類を含有する冷凍えだまめを用いた。抽出率を比較するため、基準抽出率に厚生労働省の通知法⁴⁾ に準じた抽出を行った。振とう時間と抽出率を表 3 に示した。振とう時間と 12 農薬の抽出率の関係は、振とう時間 5 分で 43%~107%, 15 分で 51%~106%, 30 分で 71%~105%, 60 分で 78%~115% であり、振とう時間の増加に伴い、増大する傾向にあった。一方、揮発性のあるアセフェートは時間が長くなると低下する傾向があった。これらの値は粗抽出での値であり、通常、GC/MS や LC/MS/MS に注入する前に抽出液に精製操作を加える。精製工程での回収損失を考慮すると、回収率として 70% 以上を得るためには、振とう時間に 60 分必要であり、振とう時間だけでも 2

時間を必要とするため、迅速化の観点では、バイオミキサーと振とう法（振とう時間5分×2回）を併用するC法の方が有用と考えられた。

3.4 農薬の物性と抽出率の関係

振とう時間を変更して抽出したそれぞれの濃度平均値と、通知法に準じて抽出した濃度平均値を各農薬のデータとして、農薬間の相関を求め、相関係数の検定を行った結果を表4に示した。検定は、相関係数Rから次式 $t = \sqrt{n-2}R / \sqrt{1-R^2}$ によりt値を求め、危険率（5% or 1%）と自由度（n-2）のt分布表値と比較して大きい場合に、農薬間の抽出率に相関ありと判定した。この結果、LogPowおよび水溶解度が酷似しているクロルフルアズロンとシペルメトリン、分子構造が酷似しているシペルメトリンとペルメトリン、およびプロピコナゾールとジフェノコナゾールに有意水準1%で高い相関が認められた。今回、対象とした品目

表4 抽出濃度間の相関 (t 値)

農薬名	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-											
2	-	-										
3	5.76*	-	-									
4	-	-	-	-								
5	-	-	-	-	-							
6	3.76*	4.93*	-	-	-	-						
7	5.86**	-	4.60*	-	-	4.20*	-					
8	-	5.08*	-	-	-	3.71*	-	-				
9	3.33*	-	6.95**	-	-	-	4.10*	-	-			
10	-	3.69*	-	-	-	3.69*	-	-	-	-		
11	-	5.82*	-	-	-	5.11*	-	13.7**	-	-	-	
12	3.87*	-	-	-	-	3.37*	6.94**	-	-	-	-	-

注) 農薬名: 1; Chlorfluazuron, 2; Fipronil, 3; Iprodion, 4; Lufenuron, 5; Acephate, 6; Chlorpyrifos, 7; Cypermethrin, 8; Difenoconazole, 9; Methamidophos, 10; Phenthoate, 11; Propiconazole, 12; Permethrin.

*: 有意水準 5%で相関あり, **: 有意水準 1%で相関あり, -: 相関なし

に含有する農薬は、のべ18農薬だけであったが、多種類の農薬一斉分析の抽出においては、LogPow、水溶解度、分子構造などが類似している農薬は、同様な挙動を示すことが示唆された。

4 まとめ

農薬一斉分析法の抽出法としての、振とう抽出法の有用性の検討を行った。一斉分析では、低極性から高極性の幅広い多種類の農薬と多種類の品目を対象とすることから、良好な回収率を得るためには、従来法である振とう抽出（5分×2回）に加え、試料を液状またはペースト状まで粉碎均一化できるバイオミキサーで1分間抽出する必要があった。

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 (2005).
- 2) 「今月の農業」編集室編: "農薬登録保留基準ハンドブック, 作物・水質残留基準と試験法", 改訂4版, (2003), (化学工業日報社).
- 3) Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., & Schenck, F.S.: J. AOAC Int., 86, 412-431 (2003).
- 4) 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に成分である物質の試験法について (一部改正)" 平成17年11月29日, 食安発第1129002号 (2005).
- 5) 新目真弓, 菊池秀夫, 氏家愛子, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 9, 176-177 (2001).

カラムスイッチング LC/MS/MS による残留動物用医薬品の一斉分析

Simultaneous Determination of Residual Veterinary Drugs by Column-switching Liquid Chromatography / Tandem Mass Spectrometry

遠藤 美砂子 柳田 則明*¹

Misako TAGIRI-ENDO, Noriaki YANAGITA

畜産物中に含まれる残留動物用医薬品 89 物質をカラムスイッチング-高速液体クロマトグラフィー (LC) / タンデム質量分析計 (MS/MS) により一斉分析する方法を検討した。試料はアセトニトリル/メタノール (4:1, v/v) で抽出した後、0.1%ギ酸移動相によりオンライン固相抽出カラムに注入し、目的とする医薬品を保持するとともに極性夾雑物を取り除いた。次にカラムスイッチングにより溶出液を分析カラムに通し、0.1%ギ酸/アセトニトリルのグラジェントにより目的物質を溶出させ、MS/MS で検出した。一斉分析の評価基準として回収率が 60 ~ 140%, 相対標準偏差が 20%以内であることを条件とした場合、本法により鶏卵中 62, 豚肉中 67, 牛肉中 67 物質の残留動物用医薬品の分析が可能となった。

キーワード：動物用医薬品；残留分析；オンライン固相抽出；カラムスイッチング；高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析

Key words：veterinary drugs；residual analysis；on-line solid phase extraction；column-switching；LC/MS/MS

1 はじめに

国民の健康の保護を図ることを目的とした「食品衛生法等の一部を改正する法律」(平成 15 年 5 月 30 日公布)により、食品中に残留する農薬等に関し、いわゆるポジティブリスト制が施行された。このうち、動物用医薬品については約 240 物質に暫定基準等が設定された。これにより各都道府県では、迅速に多くの物質を検査することが必要になるとともに、多くの物質について定量値を求めることが要求されるようになった。

当部ではこれまでポジティブリスト制に対応すべく、行政モニタリング検査において、平成 16 および 17 年度は HPLC 分析^{1) 2)}による約 18 物質の残留動物用医薬品検査を行い、平成 18 年度に LC/MS 分析に移行することで 33 ~ 36 物質の検査を実施してきた³⁾。また、平成 19 年度からは LC/MS/MS 分析を導入し、さらに検査物質数を増加させるとともに、オンライン固相抽出を採用することで前処理の簡素化を図ることができた⁴⁾。

今回、さらなる検査物質数の増加を図るため、カラムスイッチング LC/MS/MS による同一分析条件で 26 物質を追加できるか検討したので報告する。

2 方法

2.1 試料および試薬

試料は宮城県内で市販されている鶏卵、豚肉および牛肉を用いた。動物用医薬品は、合成抗菌剤 41, 抗生物質 19, 寄生虫駆除剤 15, 寄生虫駆除剤の代謝物 2, 殺虫剤 5, 消炎剤 4, 抗ヒスタミン剤 1, 鎮静剤 2 の計 89 物質を対象とした。厚生労働省通知「HPLC による動物用医薬品等の一斉分析法 I」⁵⁾を参考としてアセトニトリル抽出可能な

物質を選定した。動物用医薬品標準品およびその他の試薬類は、関東化学、林純薬工業、和光純薬工業、Sigma-Aldrich Lab. GmbH, Labor Dr. Ehrenstorfer-Schafers から購入して使用した。各標準品は、その 10mg をメタノールに溶解して正確に 100ml とし、標準原液 (100 μ g/ml) とした。各標準原液を混合してメタノールで希釈し、1000 ng/ml の混合標準溶液を調製した。

2.2 装置および測定条件

LC は Agilent 社製 Agilent1100 シリーズを用い、オンライン固相抽出カラムには Waters 社製 Oasis HLB (2.1 \times 20mm, 25 μ m) を、また分析カラムには Agilent 社製 ZORBAX SB-Aq (2.1 \times 50mm, 3.5 μ m) を用いた。試料注入量は 10 μ l, カラム温度は 40 $^{\circ}$ C, 移動相は 0.1 %ギ酸とアセトニトリルのグラジェント溶出とした。カラムスイッチング LC の構成を図 1 に、グラジェント条件を表 1 に示した。移動相 (A, B) はポンプ (C) により送液し、精製濃縮過程では、インジェクター (D) により注入した試験溶液が、オンライン固相抽出カラム (E) に流れて、目的物質は E に吸着され、夾雑物は六方バルブ (F) から廃液される。次の分離検出過程では、F を切替え、分析カラム (G) に目的物質を流して分離させ、MS/MS で検出する。

MS/MS は Applied Biosystems 社製 API3000 を用いた。イオン化はエレクトロスプレー (ESI) によるポジティブモード (POS) ならびにネガティブモード (NEG) で行い、multiple reaction monitoring (MRM) 測定により定量した。化合物毎の MRM 測定条件は Table2 に示した。イオンスプレー電圧は 5500V (POS) ; -3500V (NEG), イオン源温度は 450 $^{\circ}$ C (POS) ; 500 $^{\circ}$ C (NEG), ネプライザーガスは 13, カーテンガスは 11 (POS) ; 9 (NEG), コリジョンガスは 5 に設定した。なお, dwell time の制限から, LC/MS/MS 分析は 3 系列 (POS2 系列,

* 1 現 石巻保健福祉事務所

NEG1 系列) で行った。

2.3 試験溶液の調製

前報⁴⁾の方法により試験溶液を調製した(図2)。すなわち、細切試料5gを採り、アセトニトリル/メタノール(4:1, v/v) 20ml および無水硫酸ナトリウム 20gを加えて1分ホモジナイズし、2,500rpmで10分遠心分離した後、上清を50mlのメスフラスコに移した。残留物にアセトニトリル/メタノール(4:1, v/v) 20mlを加え、10分振とう抽出した後遠心分離し、上清を先程の50mlメスフラスコに加え、アセトニトリル/メタノール(4:1, v/v)で正確に50mlとした。その5mlを採り、突沸防止のためにn-プロパノール1mlを加えてから、濃縮乾固した。残渣にアセトニトリル/水(1:1, v/v) 1mlを加えて超音波洗浄器を用いて溶解し、4℃、15,000rpmで10分遠心分離した上清10μlをカラムスイッチング LC/MS/MSに供した。

2.4 検量線の作成

鶏卵、豚肉、牛肉それぞれについて、上述した試験溶液の調製法に従い抽出液を得た。この抽出液を50mlに希釈した後、その5mlを5個のメスフラスコにそれぞれ採り、n-プロパノール1mlを加えた後、濃縮乾固した。残渣にアセトニトリル/水(1:1, v/v)で希釈した混合標準溶液0, 2.5, 5.0, 10, 15ng/mlをそれぞれ1ml加えて溶解した後、4℃、15,000rpmで10分遠心分離し

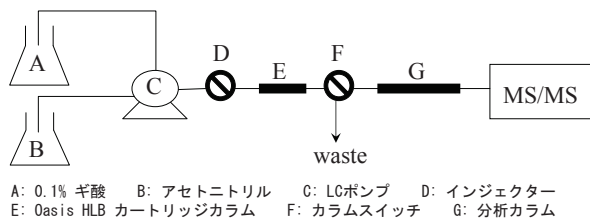


図1 カラムスイッチング HPLC システム

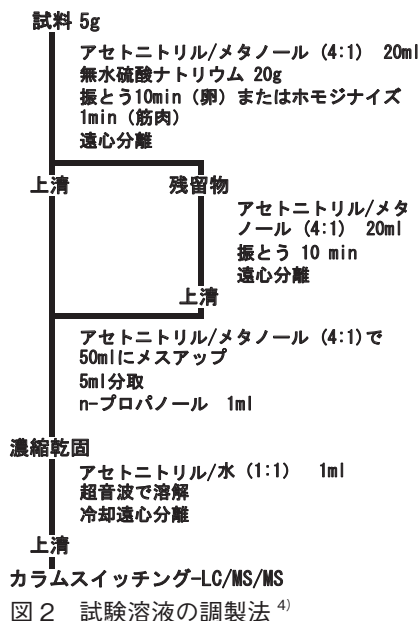


図2 試験溶液の調製法⁴⁾

た上清を検量線用の標準溶液とした。検量線用標準溶液の濃度に対してピーク面積をプロットして検量線を作成し、検量線の傾きを用いて測定濃度を求めた。

3 結果

3.1 MS/MS 条件の検討

前報⁴⁾から追加した物質の最適条件については、インフュージョンポンプを用いて最大感度が得られる条件を求めた(表2)。イオンスプレー電圧やイオン源温度などの測定中固定した条件については、感度の小さい物質を用いてフローインジェクションにより最適条件を設定した。

3.2 検量線および検出下限値

絶対検量線法により定量値を求めた場合、満足する真度と精度を得ることができなかった。しかし、標準添加法は前処理検体数が多くなり、スクリーニング検査にしては操作に手間がかかる。そこで、試料マトリックス由来のイオン化促進/抑制の影響を排除するため、混合標準溶液に試料抽出残渣を加えて検量線を作成したところ、真度および精度が改善された。本法では、抽出液の10分の1量をLC/MS/MS分析に供するため、上述した検量線の作成方法を用いても特に操作量が増えることはない。検量線はほとんどの化合物で、2.5~15ng/mlの範囲で直線性を示し、相関係数は0.99以上であった。

基準値が10ng/g未満の化合物は基準値の1/2を、基準値が10ng/g以上の場合や不検出基準の場合は5ng/g(測定濃度として2.5ng/ml)を検出目標値として設定した。検出目標値に対応する検量線用混合標準溶液のピークと、ブランク溶液のピークを比較し、定量を妨害するピークがないか、もしくは(検出目標値に対応する検量線用混合標準溶液のピーク高さ)/(ブランク溶液のピーク高さ) ≥ 3の場合にその物質の検出目標値を検出下限値とした。追加した26物質のうち、メチルプレドニゾンとオラキンドックスはすべての試料で、5ng/gの検出下限値を満たすことができなかった。また、ハロフジノン・イソメタジウムおよびテトラサイクリンは豚肉と牛肉で、ニフルスチレン酸は鶏卵で、ノルフロキサシンは牛肉で検出下限値は5ng/gを超えていた。

3.3 添加回収試験

追加した26物質のうち、前報⁴⁾で抽出溶媒をアセトニトリルのみからアセトニトリル/メタノール(4:1)に変更したことで回収率が改善されたサルファ剤(スルファメチゾール・スルファトラン)は、回収率が70.0~83.2%と良好であった。一方、厚生労働省通知「HPLCによる動物用医薬品等の一斉分析法I」により定量できる物質とされているクロキサシリン・ハロフジノン・リファキシミン・タイロシンの回収率が低かった。また、テトラサイクリン系は、すべての品目で回収率が悪かった。

コーデックス委員会における分析法としての必要条件⁶⁾に、許容添加回収率70~110%並びに%RSD20%以内でなければならないとある。しかし、本法がスクリーニング

分析である点を考慮し、真度と精度の許容範囲を回収率 60 ~ 140%, % RSD を 20%以内としたとき、本カラムスイッチング-固相抽出/LC/MS/MS 分析により残留動物用医薬品の一斉分析が可能な医薬品は、鶏卵中 62, 豚肉中 67, 牛肉中 67 物質であった。

4 おわりに

開発したカラムスイッチング-固相抽出/LC/MS/MS 分析にて、前報⁴⁾と同じアセトニトリル/メタノール (4:1, v/v) 抽出による方法で、26 物質を追加したところ、テトラサイクリン系を中心とした抗生物質で回収率が低い物質があった。カラムスイッチング-固相抽出/LC/MS/MS は効率的に極性夾雑物を取り除くことができることから、今後は、水を含む抽出溶媒を用いて極性の高い抗生物質の回収率

を良くする必要があると思われる。

参考文献

- 1) 石川潔, 高橋紀世子, 赤間仁, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 19, 171 (2001).
- 2) 赤間仁, 高橋紀世子, 石川潔, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 20, 84 (2002).
- 3) 遠藤美砂子, 山内一成, 氏家愛子, 柳田則明: 宮城県保健環境センター年報, 24, 63 (2006).
- 4) 遠藤美砂子, 柳田則明: 分析化学, 56, 317-326 (2007).
- 5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知別添: 平成 17 年 1 月 24 日, 食安発第 0124001 号 (2005).
- 6) Official Standards of Codex Alimentarius Commission: CAC/GL 19-1993 (1993).

表 1 グラジエント条件

(I) ポジティブモードの1系列

時間 (min)	0	0.90	0.95	1.50	2.00	2.50	3.00
移動相 (%)	A: 100 B: 0	100 0	100 0	5 95	5 95	100 0	100 0
流速 (ml/min)	1.0	1.0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
バルブポジション	Waste	Waste	Waste	Waste	Waste	Waste	MS/MS

時間 (min)	6.00	11.00	12.00	15.00	19.00	19.50	20.00
移動相 (%)	A: 5 B: 95	5 95	100 0	100 0	100 0	100 0	100 0
流速 (ml/min)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	1.0	1.0
バルブポジション	MS/MS	MS/MS	MS/MS	MS/MS	MS/MS	Waste	Waste

(II) ポジティブモードの1系列と、ネガティブモードの1系列

時間 (min)	0	0.90	0.95	1.50	6.00	11.00	12.00
移動相 (%)	A: 100 B: 0	100 0	100 0	5 95	5 95	5 95	100 0
流速 (ml/min)	1.0	1.0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
バルブポジション	Waste	Waste	Waste	Waste	Waste	Waste	MS/MS

時間 (min)	15.00	19.00	19.50	20.00
移動相 (%)	A: 100 B: 0	100 0	100 0	100 0
流速 (ml/min)	0.2	0.2	1.0	1.0
バルブポジション	MS/MS	MS/MS	Waste	Waste

A: 0.1% Formic acid

B: Acetonitrile

表2 物質毎のMS/MS条件(追加分26物質)

医薬品名	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Declustering potential	Focusing potential	Collision energy	Collision cell exit potential
Ampicillin	350	106	36	170	29	18
Azaperone	328	165	46	90	33	10
Clorsulon	380	344	-51	-200	-16	-11
Chlortetracycline	479	444	41	180	29	14
Cloxacillin	434	293	-31	-110	-18	-9
Diclazuril	405	334	-46	-190	-26	-11
Halofuginone	416	138	41	180	27	10
Isometamidium	460	298	41	170	33	16
Marbofloxacin	363	320	46	180	23	20
Monensin	669	87	-61	-270	-78	-7
Methylprednisolone	375	91	31	140	91	16
Nifurstyrenate	258	184	-41	-160	-18	-13
Norfloxacin	320	276	56	240	27	18
Neospiramycin	699	174	51	240	41	12
Oxybendazole	250	218	46	200	27	14
Oleandomycin	688	158	46	180	39	10
Olaquinox	264	143	46	170	45	10
Oxytetracycline	461	426	41	180	27	14
Phenoxymethyl penicillin	349	208	-36	-170	-14	-11
Rifaximin	786	754	51	240	33	26
Sulfamethizole	271	156	36	160	23	26
Sulfanitran	334	136	-61	-250	-40	-7
Spiramycin	843	174	61	300	51	12
Tetracycline	445	410	41	140	27	12
Tilmicosin	869	174	61	320	59	12
Tylosin	917	174	51	230	55	12

表3 添加回収試験結果(追加分26物質)

医薬品名	鶏卵		豚肉		牛肉	
	回収率(%)	%RSD	回収率(%)	%RSD	回収率(%)	%RSD
Ampicillin	11.2	23.1	56.8	8.6	70.8	6.9
Azaperone	84.0	11.9	93.4	6.8	96.4	7.4
Clorsulon	81.6	5.4	99.0	5.8	88.6	6.6
Chlortetracycline	<25	—	22.0	12.0	34.4	18.1
Cloxacillin	<25	—	90.6	17.8	88.2	7.1
Diclazuril	74.2	10.2	108.2	9.5	98.4	12.4
Halofuginone	95.2	4.5	—	—	—	—
Isometamidium	53.8	8.9	—	—	—	—
Marbofloxacin	72.2	16.0	66.4	19.1	74.8	11.2
Monensin	89.8	4.8	94.8	10.0	98.6	11.3
Methylprednisolone	—	—	—	—	—	—
Nifurstyrenate	—	—	45.8	28.8	30.4	33.9
Norfloxacin	46.4	14.7	89.0	6.4	—	—
Neospiramycin	117.4	10.4	66.6	11.2	80.4	11.2
Oxybendazole	79.4	4.0	95.8	4.5	87.2	11.5
Oleandomycin	81.8	1.6	87.4	5.5	91.8	8.7
Olaquinox	—	—	—	—	—	—
Oxytetracycline	<25	—	33.8	13.3	42.8	6.7
Phenoxymethyl penicillin	12.4	33.5	90.0	10.9	76.4	24.0
Rifaximin	168.2	8.2	110.4	3.7	89.0	7.0
Sulfamethizole	70.4	5.1	74.8	7.7	71.4	19.3
Sulfanitran	70.0	15.6	76.6	6.6	89.2	7.1
Spiramycin	95.8	9.0	62.4	9.1	68.2	13.0
Tetracycline	2.6	21.1	—	—	—	—
Tilmicosin	106.4	1.8	102.2	5.8	93.2	4.5
Tylosin	68.8	3.6	59.8	11.9	73.6	10.2

n = 5; 20 ng/gを添加して実施

一般廃棄物最終処分場浸出水及び一般廃棄物焼却灰の塩類調査 (第2報)

The Survey of Inorganic Salts in Seeping Water from Controlled Waste Landfills and Municipal Solid Waste Incineration Ashes (II)

柳 茂 菅原 隆一*¹ 高橋紀世子
葛岡 勝悦*² 岩澤 理奈 斎藤 善則

Shigeru YANAGI, Ryuuiti SUGAWARA, Kiseko TAKAHASHI
Shouetsu KUZUOKA, Rina IWASAWA, Yoshinori SAITO

一般廃棄物焼却灰の発生状況を調査した結果、塩化物イオン発生量はストーカ炉が平均1.5kg/人/年、流動床炉が平均1.0kg/人/年と流動床炉が低い値を示す傾向がみられた。塩化物イオン発生量と飛灰中の消石灰量には、強い相関がみられ、塩化物イオン捕集のための必要量を添加していることが窺えた。最終処分場の浸出水を冷却水として再利用している事業場では塩化物イオン及びナトリウム、カリウムの系内蓄積が確認された。実働中の脱塩処理プラントの種類、規模、諸経費についてデータベース化した。X線回折の結果では、全てのストーカ炉で難溶性のフリーデル氏塩が検出された。

キーワード：一般廃棄物；焼却灰；塩類；最終処分場；浸出水

Key words : municipal solid waste ; incinerated ashes ; inorganic salts ; controlled waste landfills ; seeping water

1 はじめに

全国的に一般廃棄物最終処分場の浸出水中の塩類濃度は上昇傾向にあると言われている。それは昨今の最終処分場の逼迫から、延命化を図る必要があり減容化のため、可燃物はすべて焼却処理して最終処分場に埋め立てられるため、結果として多量の塩類が蓄積するためである。本研究では、一般廃棄物処分場に埋め立てられる焼却灰に焦点を絞り、環境保全及び焼却灰の再生資源の利用促進の基礎資料とするため、一般廃棄物焼却施設による塩類の発生状況とその性状及び脱塩処理施設アンケート調査を実施したので報告する。

2 調査方法

2.1 焼却灰の発生状況及び塩類含有量

調査した10事業場の焼却炉は①～④はストーカ炉、⑤はストーカ炉+灰溶融炉、⑥⑦は流動床炉、⑧は流動床式ガス化溶融炉、⑨⑩はストーカ炉で、最終処分場浸出水を水処理後、焼却炉の冷却水として再利用している施設である。これらの焼却灰発生量と塩類含有量を調査した。調査方法、分析方法は前報¹⁾と同じである。

2.2 脱塩処理施設アンケート調査²⁾

最終処分場に設置されている全国7ヶ所の脱塩処理施設について、管理状況等のアンケート調査を実施した

2.3 脱塩処理施設副生塩の分析

水処理方式の異なる2施設からの副生塩について、融雪剤としての使用の可能性を検討するため、重金属等の分析を行った。

2.4 X線回折による分析

X線回折分析を行い、焼却灰中の塩類の結晶構造を解析した。

3 結果と考察

3.1 焼却灰の発生状況及び塩類含有量

一人年間当たりの焼却灰発生量を図1に示した。①～④では主灰、飛灰、併せて平均48kgであった。⑤では、併せて21kgでスラグが14kgであった。⑥⑦では主灰の発生はなく、がれきと飛灰併せて平均23kgであった。⑧ではがれきと飛灰併せて18kgでスラグが8kgであった。スラグやがれき類を除いた焼却灰発生量はストーカ炉(48kg)、流動床炉(15kg)、ガス化溶融炉(12kg)の順に減少していた。一方、浸出水を再利用しているストーカ炉では⑨は多めで⑩は少なめの発生量であった。

1人年間当たりの塩化物イオン発生量を図2に示した。消石灰を投入しない①を除き、ストーカ炉②～⑤は主灰、

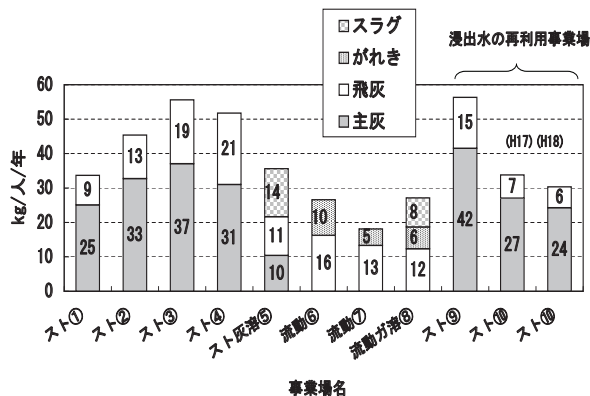


図1 一人年間当たりの焼却灰発生量

* 1 現 宮城県立循環器・呼吸気病センター

* 2 現 (財)日本冷凍食品検査協会

飛灰、併せて平均 1.5kg、流動床炉⑥～⑧は平均 1kgと低い値を示した。浸出水の再利用事業場⑨では主灰、飛灰とも①～⑧に比べて、異常に高い値を示し、リサイクル系内に蓄積されていることが認められた。同様の⑩では、平成 17 年度には主灰と飛灰とに同程度含有していたが、平成 18 年度には主灰 0.3kg、飛灰 1.3kgと飛灰に多く主灰で減少した。割合が変化した理由は調査時には不明であったが、後日ガス冷却室直後の煙道に、多量の塩類堆積が見つかり、このことが原因と思われた。

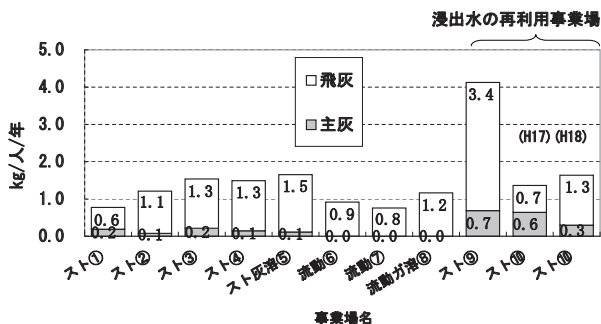


図2 1人年間当たりの塩化物イオン発生量

飛灰中に占める消石灰の割合を図3に示した。施設により0～39%と大きく異なっていたが、一般に流動床炉は低い値を示した。①～⑧で塩化物イオン発生量と消石灰投入量との間に相関係数 0.89 の強い相関がみられた。

一方、金属類の溶出試験結果及び含有量試験結果を表1、2及び図4～7に示した。②と浸出水の再利用事業場⑨を比較すると、⑨では水処理で除去が不可能なナトリウム、カリウムが塩化物イオンと同様に飛灰に多く含

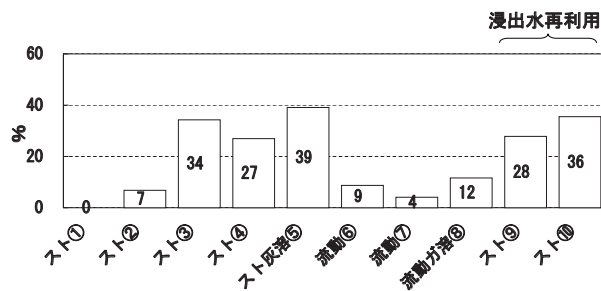


図3 消石灰投入量（飛灰に占める割合）

表1 金属類溶出試験結果

事業場名称	スト②		スト灰溶⑤		流動⑦	スト⑨		H17・スト⑩		H18・スト⑩	
	②主灰	②飛灰	⑤主灰	⑤飛灰	⑦飛灰	⑨主灰	⑨飛灰	⑩主灰	⑩飛灰	⑩主灰	⑩飛灰
種類	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
Ca	190	3,100	860	3,800	1,600	86	2,800	140	4,400	100	3,700
Mg	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Na	330	2,300	430	1,700	1,500	1,000	13,000	1,400	7,200	1,100	11,000
K	110	3,100	110	2,500	800	270	5,000	590	5,900	310	7,000
Fe	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
Mn	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
Cu	0.9	<0.1	<0.1	<0.1	1.2	1.6	<0.1	2.2	<0.1	2.1	<0.1
Zn	0.1	0.4	1.2	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1.3	<0.1	<0.1
Cr ⁶⁺	0.016	0.053	0.03	0.12	0.03	<0.01	<0.01	<0.01	0.04	<0.01	0.60
Cd	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
Pb	0.2	2.0	0.90	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	0.10	0.90	0.39	<0.03
As	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
Se	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
Hg	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005	<0.00005

表2 金属類含有量試験結果

事業場名称	スト②		スト灰溶⑤		流動⑦	スト⑨		H17・スト⑩		H18・スト⑩	
	②主灰	②飛灰	⑤主灰	⑤飛灰	⑦飛灰	⑨主灰	⑨飛灰	⑩主灰	⑩飛灰	⑩主灰	⑩飛灰
種類	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Si	63,000	36,000	88,000	34,000	66,000	96,000	20,000	45,000	14,000	80,000	23,000
Al	20,000	7,000	15,000	5,400	18,000	17,000	4,700	17,000	3,900	16,000	5,200
Ca	58,000	160,000	110,000	250,000	140,000	110,000	120,000	54,000	140,000	120,000	100,000
Mg	8,400	9,000	6,700	6,700	9,200	7,600	4,700	7,000	6,900	6,900	7,600
Na	14,000	26,000	17,000	27,000	32,000	39,000	190,000	73,000	23,000	28,000	210,000
K	5,200	29,000	5,500	28,000	12,000	8,500	76,000	49,000	6,300	7,600	89,000
Fe	6,900	5,100	8,400	3,900	5,000	6,000	1,400	5,500	1,900	3,700	1,800
Mn	530	480	610	390	370	590	130	230	140	410	210
Zn	1,900	4,800	2,100	6,600	3,600	3,000	2,800	1,300	2,800	1,100	2,400
Cu	1,400	370	1,400	<1	2,500	770	<1	820	4.3	330	90
C _r	49	59	37	59	100	53	49	44	40	44	39
Cd	2.9	72	7.0	55	19	16	30	3.6	23	<1	18
Pb	450	920	330	510	1,100	320	520	210	370	240	330
As	2.3	8.5	2.1	11	10	3.3	5.8	2.3	3.8	2.2	6.8
Se	0.01	0.17	0.05	0.14	0.05	0.01	0.09	0.09	0.11	0.06	3.4
Hg	0.001	0.19	<0.001	<0.001	0.004	<0.001	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	0.020

※Si, Alは粉末ブリケット - 蛍光X線分析法により測定

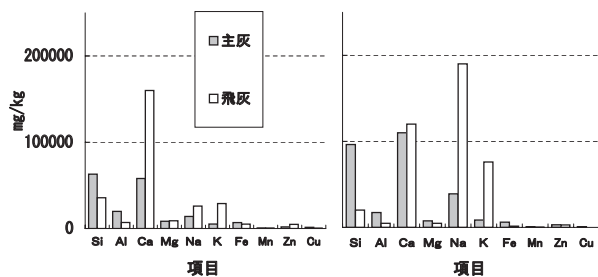


図4 スト②金属含有量 図5 スト⑨金属含有量

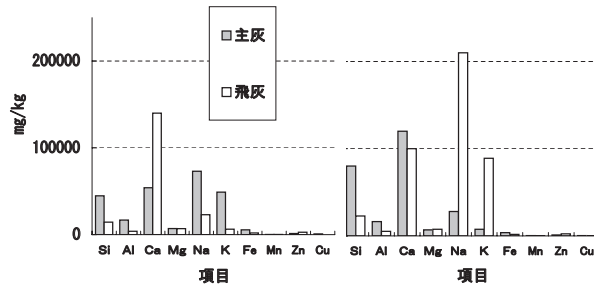


図6 スト⑩金属含有量 (H17) 図7 スト⑩金属含有量 (H18)

有していた。

同様の⑩では平成17年度にはナトリウム、カリウムが主灰に多く含まれていたが、平成18年度には⑨と同様に飛灰に多く含有していた。原因として煙道への塩類堆積により割合が変化することが考えられた。模式的に塩類の高濃度化を図8に示した。

水処理では塩化物イオン、ナトリウム、カリウム等の可溶性塩類は除去できないため、塩類が蓄積し、焼却炉の機能低下をまねくこと、また、埋め立て終了後も浸出水は安定化するまで、同様な管理が必要なこと等により、将来的には脱塩処理や放流等の検討が必要になるものと考えられる。その場合には脱塩した副生塩の有効利用を図る必要がある。

3.2 脱塩処理施設アンケート調査

設置年度が平成9年～15年の全国7事業場の協力を得て維持管理等の調査を行った結果は表3に示した。(1)設置経緯では地元との協議により当初から設置したものが3件で、稲枯れ被害発生後に設置したものが2件、2件が無回答であった。(2)処理方式では電気透析方式が5件、逆浸透膜処理方式が2件で、そのうち1件は薬品溶解などへ処理水を再利用するのが目的で一部を脱塩処理するものであった。(3)機種選定理由では実績、性能比較、維持管理費の面から電気透析方式としたものが3件、水道施設実績、総合比較から逆浸透膜方式としたものが2件、電気透析方式2件では無回答であった。(4)濃縮水の乾燥方法は間接蒸気加熱方式が多かった。(5)イニシャルコストは2億5千万～41億5千万円と規模と設計条件により大きく異なり比較困難であった。m³/日当たりの処理規模単価は6百万～5千2百万円であった。(6)ランニングコストは放流の場合、電気透析方式は2600～6000円/m³と幅があったが、後年になるほど安価の傾向がみられた。また、逆浸透膜方式では1例であるが7400円/m³であった。(7)処理水量規模は40～200m³/日であるが、放流できない場合には、大雨時に場内貯留を余儀なくされる例もあり、十分な容量の調整槽設置等の対策が必要であった。(8)処理目標水質のうち塩化物イオンについては300～500mg/Lであったが、3件が無回答であった。(9)副生塩の利用方法では融雪剤(凍結防止剤)としての利用が最も多く4件で、皮革用なめし塩利用が2件、ボイラー軟水器の樹脂再生塩利用が2件

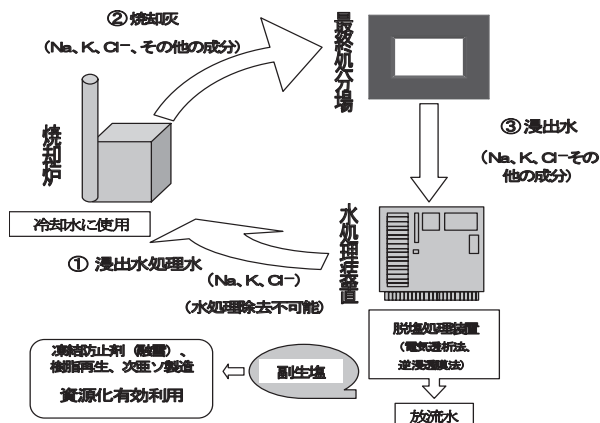


図8 最終処分場浸出水の塩類の蓄積

であった。(10)管理委託業者は殆どがメーカー関連会社であったが、一部地元の業者に委託している例もあった。(11)維持管理上のトラブルについては、浸出水原水TDS(溶解性塩類総量)濃度が計画値を大幅に超過し、結晶固化装置の加熱器を交換した例、蒸発乾燥装置の修繕例、電極液(硝酸)の濃縮水への混入などの報告があった。(12)浸出水処理フローシートは、回答のあった施設では、すべてCa除去、生物脱窒、凝集沈殿砂ろ過(又は凝集UF膜ろ過)、活性炭吸着、キレート処理、脱塩処理の順であった。

3.3 脱塩施設副生塩の分析

分析結果を表4に示した。施設Dと施設Hの水処理フローシートは、図9に示した。

溶液ではどちらもアルカリ性を示したが、施設HではpH10.6を示し、白い沈殿が生じた。中和したところ沈殿物は溶解し、溶解液のカルシウム濃度が上昇したことから沈殿物はカルシウム化合物と判断した。また、施設Hではセレンが検出され、硝酸性窒素が高い値を示した。これは、施設Hでは生物脱窒処理とキレート処理を設置していないためと考えられる。融雪剤として、道路に散布するためには環境保全上の問題が生じない状態で使用する必要がある。

3.4 X線回折による結晶構造の確認

結果を表5、図10～11に示した。焼却灰をセメント原料として再資源化する際に塩化物イオン含有量が問題となり、受け入れは含有量0.1%未満である。文献では

表3 脱塩処理施設アンケート調査結果

施設名称	A	B	C	D	E	F	G
脱塩処理稼働開始	平成9年4月	平成11年4月	平成13年4月	平成14年4月	平成14年10月	平成14年10月	平成15年4月
脱塩方式	電気透析法	逆浸透膜処理	電気透析法	電気透析法	逆浸透膜処理	電気透析法	電気透析法
処理能力	55m ³ /日	65m ³ /日	120m ³ /日	150m ³ /日	200m ³ /日	70m ³ /日	40m ³ /日
目標水質	Cl ⁻ <300mg/l	無回答	無回答	Cl ⁻ <500mg/l	Cl ⁻ 354mg/l	Cl ⁻ 300mg/l	無回答
放流有無	放流	放流	無放流	放流	放流	放流	無放流
経緯	周辺は水田、放流先は農業用水であり、農業被害の未然防止のため設置	一部処理水の再利用のために設置。(薬品溶解、施設床洗浄等)	無回答	平成13年に放流河川流域において、塩害が発生したため脱塩処理を設置	地元と協議し、目標処理水質を設定した。その結果、脱塩処理を設置	旧処分場の放流水で、稲が枯れる塩害が発生したため海まで導水管設置。新処分場は山間部のため脱塩処理を設置	無回答
機種選定理由	無回答	水道事業での実績	機種選定専門委員会	既存の水処理施設に増設したことから実績のある電気透析を採用。	逆浸透膜、電気透析、蒸発濃縮方式について検討、逆浸透を採用。	性能発注。	無回答
濃縮水の乾燥方法	間接蒸気加熱式	なし	ディスクドライヤーで乾燥	ドラムドライヤーで乾燥	結晶固化装置(ボイラー)で乾燥	蒸発乾燥	結晶固化装置(ボイラー)で乾燥
イニシャルコスト	28億7660万円	8億7150万円	41億5300万円	約12億円	21億2392万円	約22億円	2億4900万円
ランニングコスト	5800円/m ³	1460円/m ³	6027円/m ³	不明 円/m ³	7400円/m ³	2584円/m ³	4830円/m ³
年間処理水量	14,000m ³ /年	26,395m ³ /年	17,141.2m ³ /年	30,000m ³ /年	21,583m ³ /年	16,236m ³ /年	13,600m ³ /年
管理委託料	39,282,100	14,700,000	21,934,500	不明	21,000,000	16,797,265	不明(一部委託)
電気料	5,551,548	3,156,000	10,993,367	5,000,000	14,633,000	12,856,604	36,000,000
消耗品費	2,180,626	4,778,000	12,082,598	2,500,000	50,295,000	504,720	10,000,000
修理工費	14,795,780	2,757,000	7,451,521	15,000,000	22,327,000	3,469,557	2,000,000
燃料費	1,237,010	459,000	4,246,232	20,000,000	10,849,000	4,497,120	8,000,000
その他	18,498,121	12,668,000	46,610,986	不明	39,918,000	3,835,335	2,000,000
その他内容	薬品、水道ガス、電話、樹木管理、ブル借上料	分析、運搬、保険料	無回答	無回答	水道、電話、分析、汚泥処理、生成塩委託処理、機械点検整備	水質分析	無回答
補助制度	国庫補助金	有り	無回答	無回答	環境省補助	環境省補助	環境省補助
これまでのトラブル	なし	特になし	無回答	電極液(硝酸)が濃縮水に混入し、生成塩の硝酸性窒素が高い値となった。	浸出水原水TDS濃度が計画値を大幅に超過。処理水の再利用が不可(ボイラー使用水を上水に転換)。結晶固化設備の配管詰まり、堆積等発生(改善後・・・夜間無人運転)対策—結晶固化装置の加熱器交換、部品洗浄を毎日実施。(TDS 30000mg/l)	電気透析装置の定期的オーバーホール。蒸発乾燥装置の修繕。	降水量に対する処理能力不足。処分場内貯留水あり。
水処理フローシート	無回答	浸出水 ↓ 調整槽 ↓ Ca除去 ↓ 生物脱窒処理 ↓ 凝集沈殿 ↓ 砂ろ過 ↓ 活性炭吸着 ↓ 水銀・キレート処理 ↓ 一部脱塩処理 ↓ 消毒放流 ↓ 水再利用	浸出水 ↓ 調整槽 ↓ Ca除去 ↓ 生物脱窒処理 ↓ 凝集UF膜ろ過 ↓ 活性炭吸着 ↓ 脱塩処理 ↓ 貯留槽 ↓ 処理水は処分場に散水。	浸出水 ↓ 調整槽 ↓ Ca除去 ↓ 生物脱窒処理 ↓ 凝集沈殿 ↓ 砂ろ過 ↓ 活性炭吸着 ↓ キレート処理 ↓ 脱塩処理 ↓ 消毒放流 (150m ³ /日)	浸出水 ↓ 調整槽(5000m ³) ↓ Ca除去 ↓ 生物処理 ↓ 凝集沈殿 ↓ 砂ろ過 ↓ 活性炭吸着 ↓ キレート処理 ↓ 脱塩処理 ↓ 消毒放流 (100m ³ /日)	浸出水 ↓ 調整槽 ↓ Ca除去 ↓ 生物脱窒処理 ↓ 凝集UF膜ろ過 ↓ UVオゾン酸化 ↓ 活性炭吸着 ↓ キレート処理 ↓ 脱塩処理 ↓ 消毒放流 (70m ³ /日)	浸出水 ↓ 調整槽 ↓ Ca除去 ↓ 生物脱窒処理 ↓ 凝集UF膜ろ過 ↓ 活性炭吸着 ↓ キレート処理 ↓ 脱塩処理 ↓ 貯留槽 ↓ 焼却施設冷却水利用
脱塩処理フローシート	無回答	キレート処理水 ↓ MF膜処理 ↓ 逆浸透膜処理 ↓ 処理水再利用	活性炭処理水 ↓ 処理水槽 ↓ 電気透析装置 ↓ 消毒槽 ↓ 濃縮水槽 ↓ 乾燥設備	キレート処理水 ↓ 処理槽 ↓ 電気透析装置 ↓ 消毒槽 ↓ 濃縮水槽 ↓ 乾燥設備 (4~8月の利水期間 は脱塩水のみ放流し、 500mg/l以下で管理。 他の期間は管理 基準なし。)	キレート処理水 ↓ MF膜処理 ↓ 前処理槽 ↓ 逆浸透膜処理 ↓ 消毒槽 ↓ ろ液受槽 ↓ 結晶固化装置	キレート処理水 ↓ 処理槽 ↓ 電気透析装置 ↓ 消毒槽 ↓ 濃縮水槽 ↓ 乾燥設備	キレート処理水 ↓ 処理槽 ↓ 電気透析装置 ↓ 貯留槽 ↓ 濃縮水槽 ↓ 乾燥設備
副生塩の利用方法	1 軟水器のイオン交換樹脂再生 2 融雪剤	なし	融雪剤、皮革用なめし塩。	凍結防止剤として販売	委託処理皮革工場	皮革工場にて再利用	試験的に融雪剤として他県に搬出。ボイラー軟水装置再生塩として使用。

0.5%程度の難溶解性塩分の含有が報告された例もあり³⁾、原因と考えられるフリーデル氏塩が今回の全てのストーカ炉の焼却灰から検出した。浸出水の再利用事業場では主灰でのみ検出したが、他では飛灰で多く検出した。また、飛灰固化処理のセメント添加時点で出現しており、コンクリートの水熱反応が関連している可能性が示唆された。X線回折データは、これからの焼却灰の資源化や溶融スラグの有効利用の基礎資料として結晶構造を知る上で有用である。

4 まとめ

- (1)塩化物イオン発生量はストーカ炉が平均 1.5kg/人/年、流動床炉が平均 1.0kg/人/年と流動床炉が低い値を示した。
- (2)塩化物イオン発生量と飛灰中の消石灰量は、強い相関がみられた。
- (3)最終処分場の浸出水を冷却水として再利用している事業場では塩化物イオン及びナトリウム、カリウムの系内蓄積が確認された。埋立終了後も管理を継続しなければならないことを考えれば、脱塩処理や放流等の対

表 4 副生塩分析結果

最終処分場施設名称	D	H
施設区分 (一廃・産廃)	産業廃棄物	一廃産棄物
施設区分 (屋内・屋外管理型)	屋外管理型 (放流)	屋内屋根付き管理型 (無放流)
水処理及び副生塩製造設備内容	カルシウム除去・生物脱窒・凝集沈殿・電気透析・砂ろ過・活性炭処理・キレート処理・乾燥	カルシウム除去凝集沈殿・砂ろ過・活性炭吸着・電気透析・乾燥
分析試料	副生塩 10%水溶液	副生塩 10%水溶液
水素イオン濃度 pH	#9.3	#10.6
窒素化合物 CN (mg/L)	<0.01	<0.01
鉛及びその化合物 Pb (mg/L)	#0.003	0.008
六価クロム化合物 Cr ⁶⁺ (mg/L)	<0.02	<0.02
砒素及びその化合物 As (mg/L)	<0.001	<0.001
総水銀化合物 Hg (mg/L)	<0.0005	<0.0005
アルキル水銀化合物 (mg/L)	検出せず	検出せず
トリクロロエチレン (mg/L)	<0.003	<0.003
テトラクロロエチレン (mg/L)	<0.001	<0.001
ジクロロメタン (mg/L)	<0.002	<0.002
四塩化炭素 (mg/L)	<0.0002	<0.0002
1,2-ジクロロエタン (mg/L)	<0.0004	<0.0004
1,1-ジクロロエタン (mg/L)	<0.002	<0.002
1,1,1-トリクロロエタン (mg/L)	<0.004	<0.004
1,1,1-トリクロロエタン (mg/L)	<0.03	<0.03
1,1,2-トリクロロエタン (mg/L)	<0.0006	<0.0006
1,3-ジクロロベンゼン (mg/L)	<0.0002	<0.0002
ベンゼン (mg/L)	<0.001	<0.001
セレン (mg/L)	<0.002	0.012
ほう素及びその化合物 (mg/L)	#0.48	0.1
ふっ素及びその化合物 (mg/L)	#0.25	#0.25
アモニア性窒素NH ₃ -N (mg/L)	#0.1	#0.1
亜硝酸性窒素NO ₂ -N (mg/L)	#0.05	#0.05
硝酸性窒素NO ₃ -N (mg/L)	4	140
ダイオキシン (TEQ (pg-TEQ/g))	-	PCDD, PCDF, Co-PCB, すべて検出せず

*印は1%水溶液として測定
#印は2%水溶液として測定

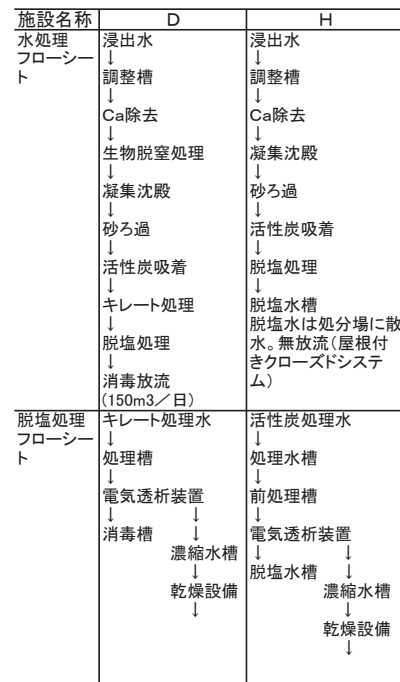


図 9 水処理フローシート

表 5 X線回折解析結果

試料名	化学式	化合物名	試料名	化学式	化合物名
スト②主灰	Ca ₂ Al(OH) ₆ Cl(H ₂ O) ₂	Friedels salt	スト②飛灰(セメント固化物)	Ca ₂ Al(OH) ₆ Cl(H ₂ O) ₂	Friedels salt
	SiO ₂	Cristobalite low	スト②飛灰(固化前)	CaClOH	Sylvite syn
	Ca(CO ₃)	Calcite - synthetic		NaCl	Calcium Chloride Hydroxide Halite
スト灰溶⑤主灰			スト灰溶⑤飛灰(セメント・キレート固化物)	Ca ₂ Al(OH) ₆ Cl(H ₂ O) ₂	Friedels salt
			スト灰溶⑤飛灰(固化前)	CaCO ₃	Calcite
				CaCl ₂ ·Ca(OH) ₂ ·H ₂ O	Calcium Chloride Hydroxide Hydrate
				CaCO ₃	CALCITE
				Ca(SO ₄)	Anhydrite
			Ca(OH) ₂	Portlandite syn	
流動ガ溶⑧スラグ	Al(OH) ₃ ·0.33Al ₂ (Si _{3.67} Al _{0.33} O ₁₀)(OH) ₂	Montmorillonite	流動⑦飛灰(固化物)	NaCl	Sodium Chloride
			流動⑦飛灰(固化前)	NaCl	Sodium Chloride
			流動ガ溶⑧活性炭捕集(セメント・キレート固化物)	KCl	Sylvite syn
			CaClOH	Calcium Chloride Hydroxide	
H17スト⑩主灰	CaCO ₃	CALCITE	スト⑨飛灰(固化物)	NaCl	Halite
	Ca ₂ Al(OH) ₆ Cl(H ₂ O) ₂	Friedels salt	スト⑨飛灰(固化前)	KCl	Sylvite syn
	Ca ₂ Al(OH) ₆ Cl(H ₂ O) ₂	Friedels salt		KCl	Potassium Chloride
H18スト⑩主灰	CaCO ₃	CALCITE	H17スト⑩飛灰(固化物)	NaCl	Sodium Chloride
			H18スト⑩煙道堆積物	KCl	Sylvite syn
			H18スト⑩飛灰(固化物)	NaCl	Sodium Chloride
			KCl	Sylvite	

Friedels salt 塩素化合物(Friedels saltを除く)
その他

策を早急に検討する必要があると思われた。

- (4)国内の実働中の脱塩処理プラントの種類、規模、諸経費についてデータベース化した。
- (5)副生塩を融雪剤として使用するには環境保全上の配慮が必要であり、硝酸性窒素も考慮すべきものと思われた。
- (6)X線回折の結果では、全てのストーカ炉の焼却灰から難溶性のフリーデル氏塩が検出され、再資源化の際配慮が必要である。

最後に調査にご協力頂きました脱塩処理施設事業場の皆様、焼却場・最終処分場管理関係者の皆様及び保健所の皆様に、この場をお借りしまして御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 柳茂, 菅原隆一, 斎藤善則: 宮城県保健環境センター年報, 24, 79 (2006).
- 2) 相良敏正, 三池真一郎, 大澤正明: 最終処分場浸出水の脱塩処理技術の現状と課題, Life and Environment, 47, 10, 44 (2002).
- 3) 秋元耕一郎, 樋口壮太郎, 花嶋正孝, 小櫻義隆, 三角文彦, 永田考: 都市ごみ焼却灰のセメント原料化リサイクル実証実験, 第16回廃棄物学会研究発表会講演論文集, p.604 (2005).

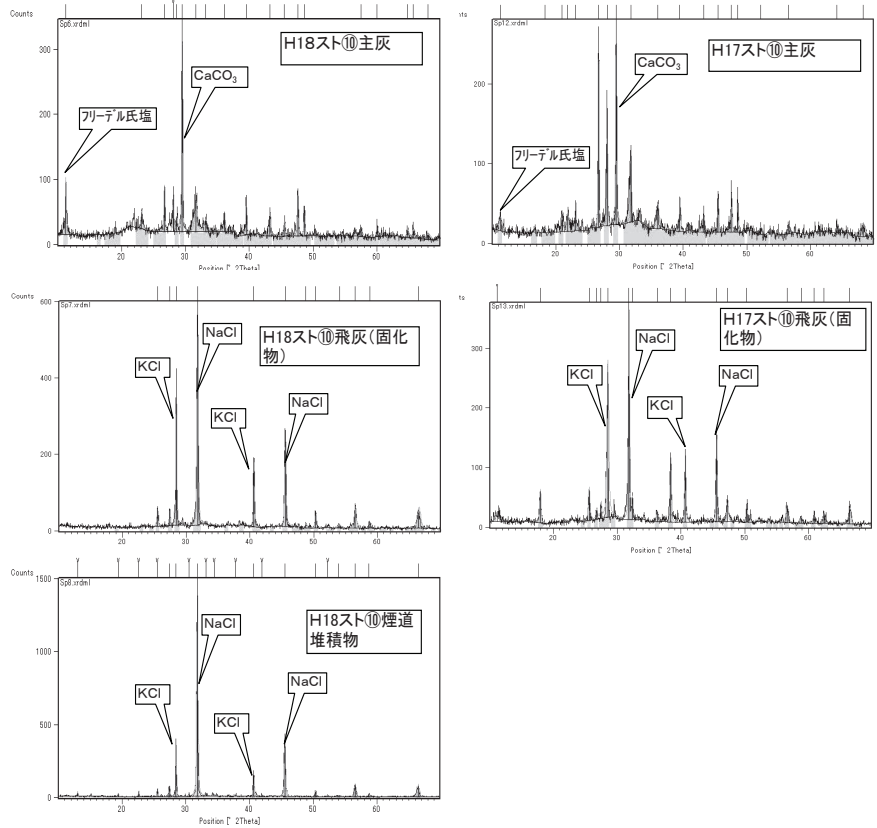


図 10 X線回折チャート(浸出水の再利用事業場スト⑩)

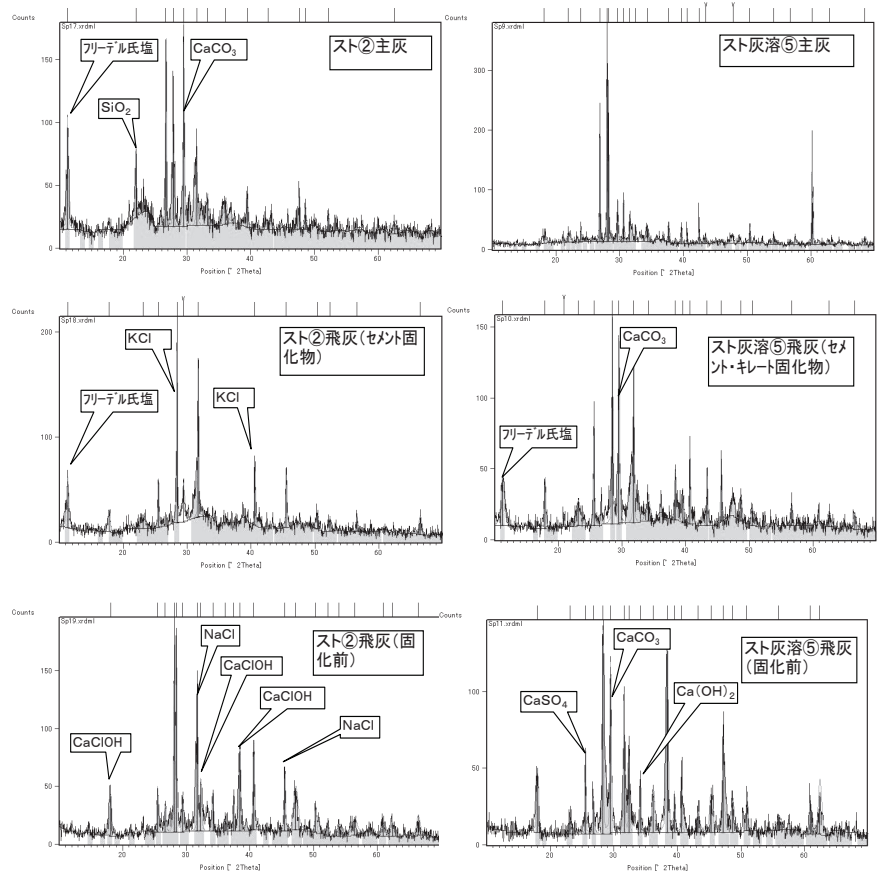


図 11 X線回折チャート(セメント固化前後)

酸性雨自動測定に基づく事例解析 (2)

The Case Study based on the Acid Rain Monitoring (2)

仁平 明 木立 博 高橋 誠幸
加賀谷秀樹

Akira NIDAIRA, Hiroshi KIDACHI, Seiko TAKAHASHI
Hideki KAGAYA

酸性雨自動測定結果について、汚染度及び中和度の指標である EC_p 及び rH を導入して事例解析を行ったところ、①汚染空気が供給され低 pH 化したときは、雲粒に捕集されたエアロゾル、SO₂ を反映した降水中 EC_p と雲粒に取り込まれず大気中に残存する NO₂ の濃度変化は連動していた。②やませのときの低 pH、高 EC 化は雲が低いところにでき地域汚染の影響をより受けやすいために生じると考えられた。③黄砂が飛来したときの降水は多量に取り込んだ黄砂中の Ca²⁺ によって大部分が中和されていた。④西高東低の気圧配置のときに降ったみぞれまたは雪の pH は低下せず日本海側地域の一般的な状況と異なっていた。

キーワード：酸性雨；汚染導電率；水素イオン比

Key words : acid rain ; electric conductivity by pollutants ; relative hydrogen

1 はじめに

0.5mm降水毎に pH, EC を連続測定する酸性雨自動測定結果について、前報¹⁾で降水の汚染度及び中和度を評価するための指標として pH, EC の関数である汚染導電率 EC_p と水素イオン比 rH を導入し、大気常時監視データと関連付けた事例解析を行った。降水継続中に追加的な汚染が生じ低 pH が出現した霧雨の事例では、地表付近の大気中で SO₂ は検出されず、NO₂ は降水中の EC_p と連動した濃度変化を示していた。これは SO₂ がほぼ 100%雲粒に捕集されるのに対し NO₂ は雲粒に取り込まれなかった鶴田ら²⁾の観測事実に整合すると考えられた。また、海塩粒子が海上から輸送され EC_p が特異的に増大した事例では、海塩粒子は降水中に取り込まれると同時に大気中の SPM としても検出されているようであった。本報では前報に引き続き、汚染空気による低 pH 出現事例、黄砂飛来時の降水事例、やませによる低 pH 出現事例及び西高東低の気圧配置による降水事例について解析する。

2 方法

2.1 解析対象データ等

平成 18 年度酸性雨自動測定結果を解析の対象とした。なお、大気常時監視及び気象の参照データ、並びに酸性雨自動測定地点（保健環境センター及び丸森大気常時測定局）は前報¹⁾と同じである。

2.2 EC_p と rH

降水の性状に関してその汚染度及び中和度を推定評価するための指標 EC_p と rH については前報に記載したとおりである。

3 結果と考察

3.1 汚染空気による低 pH 出現事例

丸森局では 2006 年 4 月 11 ~ 12 日の降水で 1.0mm 目に pH 最小値 3.75 を記録した。このとき EC_p は 7.0mS/m、rH は 29% であり、汚染、酸性化が進んでいた。図 1 の降水状況及び NO₂ 変化によれば、11 日 9 時頃に感雨し、時を同じくして NO₂ の増加がみられた。低気圧が対馬付近から日本海へ進んだときの霧を伴う霧雨で、最初の 0.5mm 採取時間は約 13 時間と長かったが、EC_p、rH はともにこの後の 1.0mm 目に最大となり、pH 最小値が現われている。NO₂ は 1.0mm 目を採取した直前の 21、22 時に極大になっていた。

図 2 は丸森局における 2007 年 2 月 9 ~ 10 日の状況である。低気圧が本州南岸から関東沖に東進したときの降水で、pH 最小値は 3.69 であった。この雨は全体的に降雨強度が小さかった。EC_p は降り始めの 0.5mm 目に大きく、1.0 ~ 1.5mm 目も多少減衰したものの 0.5mm 目に近い状態を維持していた。rH は全体を通じて数 10% と大きかった。経時的には増大の傾向で降り始めの中和影響は次第に緩和され 1.5mm 目に pH 最小値が現われている。NO₂ は降雨前から pH 最小値が出現するまでの間 10ppb 前後でほぼ一定であった。その後、降水中の EC_p が減少するのに連動して 5ppb 程度に半減している。SO₂ 及び NO は降雨前及び降雨後に若干の検出があったが、降雨期間中は全く検出されていない。

これらの事例に共通しているのは、降水中 EC_p と大気中 NO₂ の変化傾向が酷似していることであり、前報¹⁾の追加的な汚染による低 pH 出現事例と同様の現象が起きていた。したがって鶴田ら²⁾の立体調査による観測事実、即ち雲粒によるエアロゾル、SO₂ ガスの捕集率がほぼ 100% であるのに対し、NO₂ は雲粒に取り込まれず雲の中の大気中

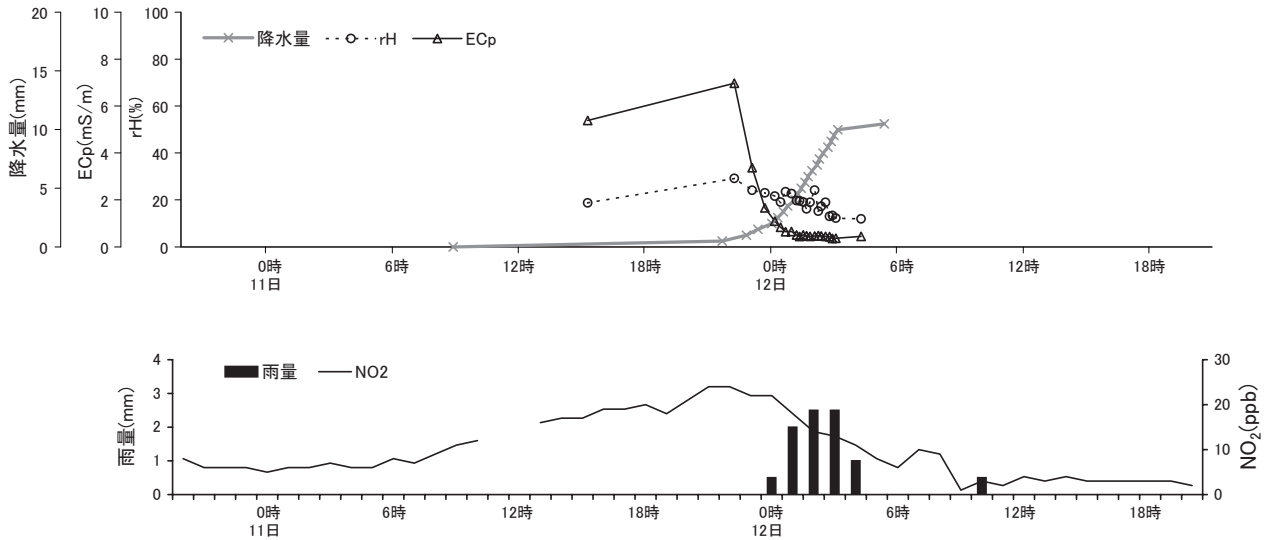


図1 低pH出現時の降水状況（丸森局，2006年4月11日～12日）

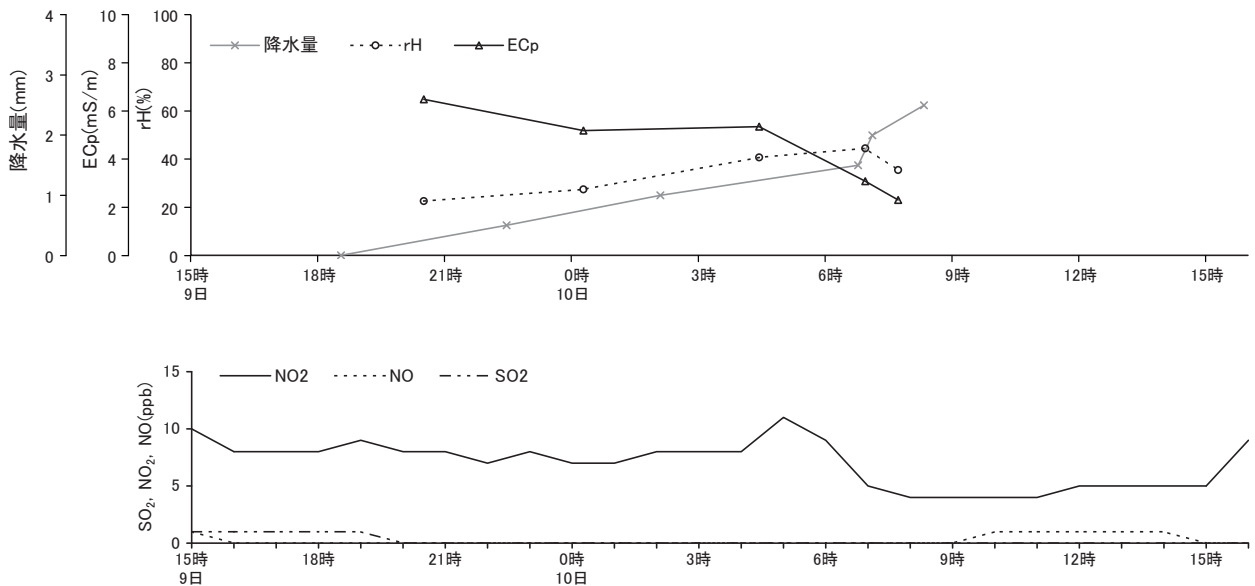


図2 低pH出現時の降水状況（丸森局，2007年2月9～10日）

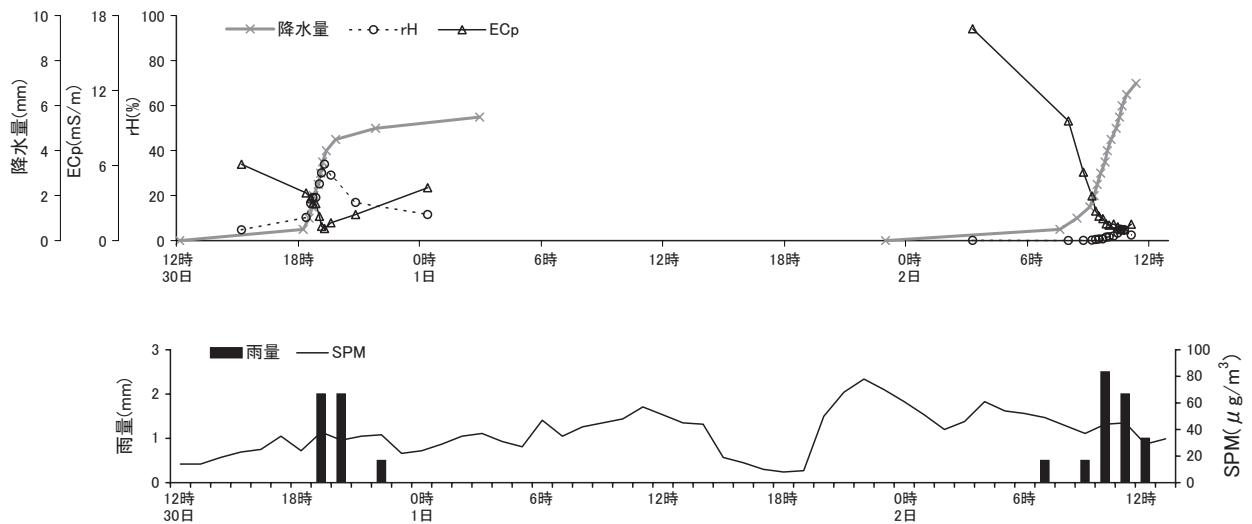


図3 黄砂飛来時の降水状況（丸森局，2006年5月1日）

に存在していることが可能であったことを根拠に推察すれば、汚染空気が供給されたときに雲粒に捕集されたエアロゾル、SO₂ガスは降水中のEC_pに反映し、大気に残ったNO₂と連動した変化を示すと解釈される。

3.2 黄砂飛来時の降水事例

図3は2006年5月1日に黄砂が飛来したときの丸森局における事例である。SPM変化をみると、5月1日15～19時に減少した地表付近のSPMは黄砂の影響により20時から増加し始め、22時に極大となった後、漸減している。酸性雨自動測定ではSPMが極大となった直後の23時頃に感雨し、最初の0.5mmを採取したのは翌2日の7時半過ぎであった。このときのEC_pは17.0mS/mと大きく、rHは0.1%以下でH⁺をほとんど含んでいなかった。これは0.5mmの採取に8時間以上を要するなど降雨強度が極めて小さい状況下で、雲の中または雨水の落下中に黄砂を多量に取り込み、その結果Ca²⁺によって大部分が中和されたものと推定される。その後雨が強まるに従って降水中のEC_pは急激に減少したが、地表付近のSPMは急減していなかった。

なお、丸森局では4月30日12時～5月1日10時の間にも5.5mmの降水があった。図3のようにこの降水のrHは黄砂時のものよりも大きく異質であり、したがって5月1日15時以前のSPMは黄砂の影響によるものではないと思われた。

3.3 やませによる低pH出現事例

丸森局において2006年7月8～10日に降った雨の0.5mm目にpH3.43が出現した。同時にEC_pも9.5mS/mを記録するなど酸化性物質による汚染が顕著であった。図4はそのときの状況で、8日9時過ぎに感雨し約30時間を要して翌9日15時頃に最初の0.5mmを採取している。その後1.5mm目までは降雨強度の小さい状態が続き、9日22時頃から雨が強まっていた。rHは降雨強度が小さかった降り始めから1.5mm目まで30～40%程度と大きく降水初期の中和作用は働いておらず、rHはEC_pと同様に降水の継続とともに減少していた。

当時の気象条件は、前半の降雨強度の小さい雨はオホーツク海の高気圧からの湿った東寄りの風、所謂やませの影響による霧雨であり、後半の強まった雨は東北南部に北上し停滞した梅雨前線の影響によるものである。やませの場合は冷たく湿った風が大気の下層に流れ込むため、図5の気象衛星画像のとおり可視画像で東北地方の太平洋沿岸海上にある雲は、赤外画像では薄っすらとしか写っておらず、雲は低いところできている。

やませの影響が支配的だった期間中の降水は低pH、高ECの状態であった。オホーツク海から汚染空気が流入するとは思えない。低い雲のため地域汚染の影響をより受けやすいことが考えられ、これによって雨水は酸性化したのではないかと推察される。梅雨前線の影響を受け

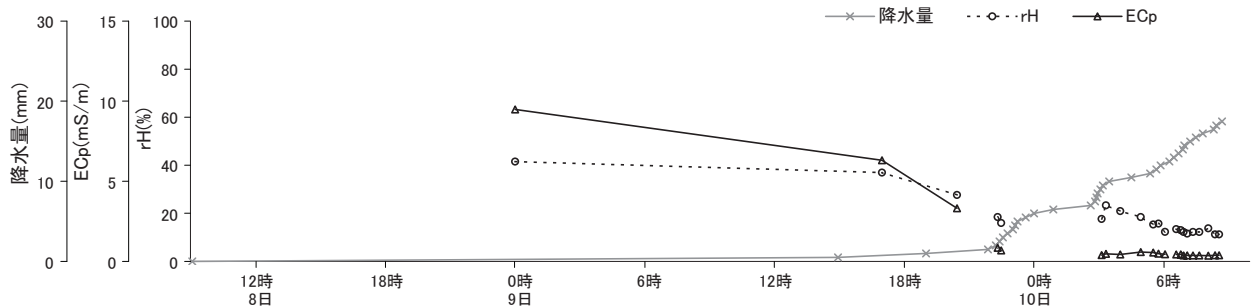
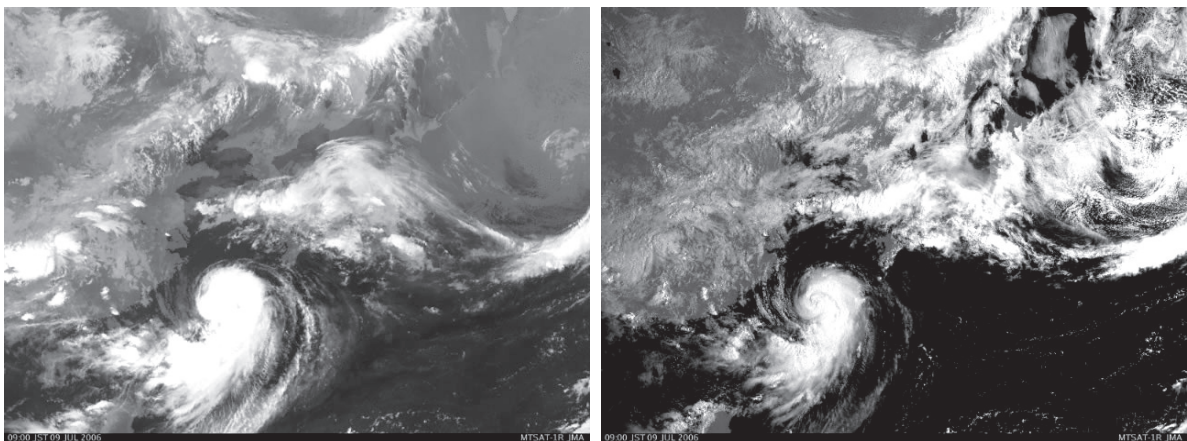


図4 やませによる低pH出現状況(丸森局, 2006年7月8日～10日)



(a) 赤外画像

(b) 可視画像

図5 気象衛星画像(2006年7月9日9時) ※気象庁ホームページから引用した

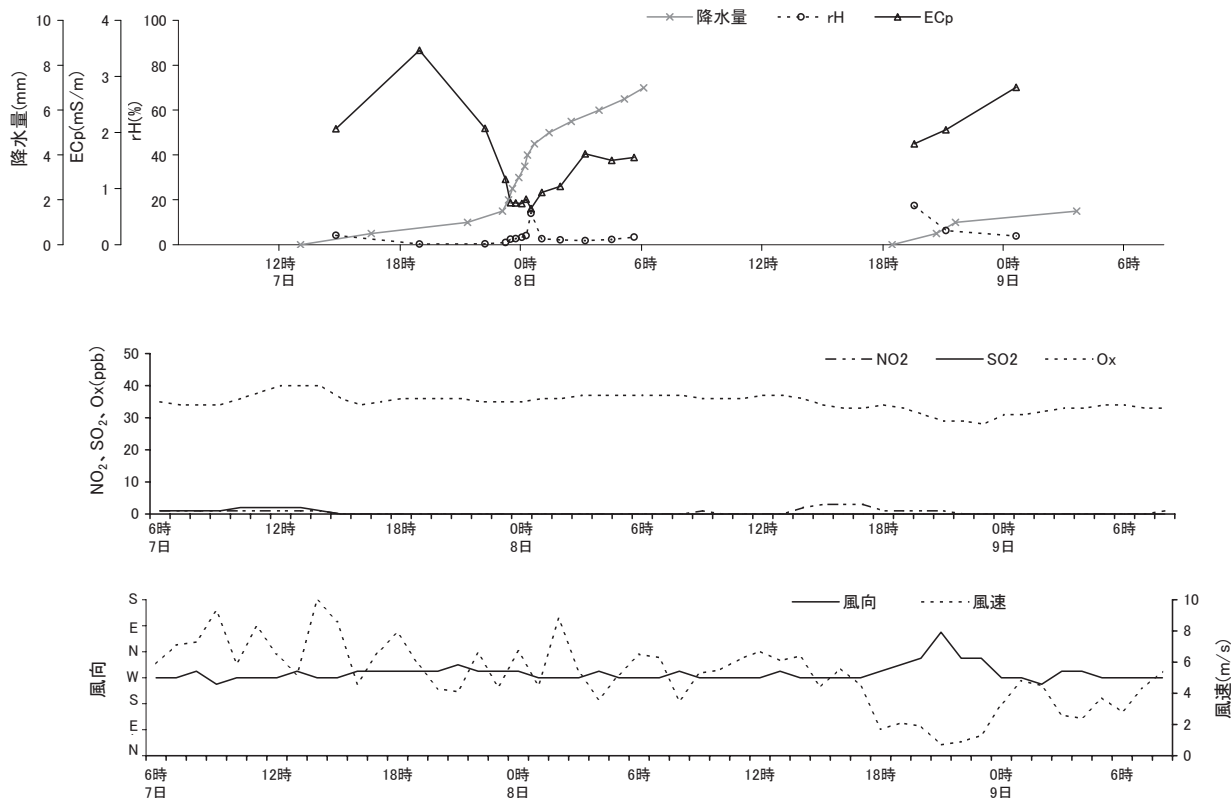


図6 西高東低の気圧配置による降水状況 (丸森局, 2007年1月7~9日)

始めた9日22時以降は、ECは急速に減少し、pHは5.4前後に収束していた。

3.4 西高東低の気圧配置による降水事例

2007年1月7~8日及び8~9日は西高東低の冬型の気圧配置となり、みぞれまたは雪が降った。図6がこのときの丸森局における経時変化図である。8日18時~9日0時にNW~Eの風に弱まった期間以外はW寄りの5m/s前後またはそれ以上の風が持続していた。Oxは35ppb程度でほぼ一定の状態であった。これは大陸のバックグラウンドOxと考えられ、強いW寄りの風によって当地域に大陸の大気が流入していたことを示している。ECpは7~8日の場合は降り始めの1.5mmまでは増加がみられその後減少していた。8~9日の場合も前降水の初期とほぼ同レベルで、このときは降水の継続とともに増大していた。しかしながら、rHは一時的に20%近くまでになったことはあるが、ほとんどは数%以下で中和が著しく、pHは8~9日の降水の0.5mm目に4.59を記録したほかはすべて5.00以上であった。

日本海側の地域では西高東低の気圧配置が卓越する冬季にpHが低下する³⁾といわれるが、少なくとも丸森局では大陸の大気が流入し、また図7のレーダーエコーのとおり日本海側で発生した雪雲が太平洋側に流れ込んでいるにもかかわらず、pHの低下現象は認められなかった。ただし、このときに日本海側でpHが低かったのかについては定かでない。

なお、今冬、西高東低の気圧配置となりみぞれまたは

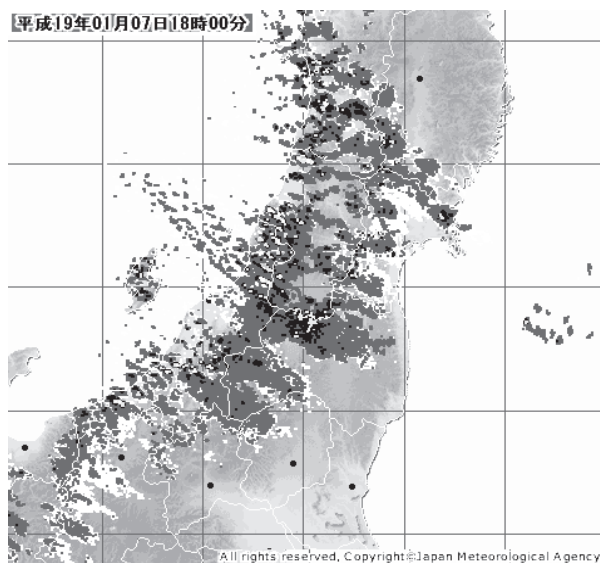


図7 レーダーエコー図 (2007年1月7日18時) ※気象庁ホームページから引用した

雪が降ったのは他に3降水あるが、いずれのpHも8~9日の降水で観測した4.59を下回るものはなかった。

4 まとめ

前報に引き続き、酸性雨自動測定機によるpH、EC測定結果をもとにECp、rHを導入して事例解析を行った。丸森局ではpHが低下したときに降水中ECpと大気中NO₂が酷似した変化傾向を示す場合を改めて確認

した。前報¹⁾の追加的な汚染が生じたときと同様な状況であり、汚染空気が供給されたときに起きる低 pH 化現象と解釈された。また、やませのときは雲が低いところにできるため地域汚染の影響をより受けやすいと思われる、雨水は低 pH、高 EC 化するのでないかと推察された。

次に、黄砂が飛来したときの降水は rH が 0.1% 以下で H⁺ をほとんど含んでいなかった。雲の中または雨水の落下中に黄砂を多量に取り込み Ca²⁺ によって大部分が中和されていたと推定される。更に西高東低の気圧配置のときに降ったみぞれまたは雪の rH はほとんどが数% 以下で pH は低下せず、日本海側地域の一般的な状況³⁾とは異なっていた。

ECp, rH を導入し大気常時監視及び気象のデータと

関連付けて解析することにより、降水酸性化の様子がみえるようになってきた。本報で扱った事例だけでも 4 種類の降水の形があり複雑である。更に事例数を増やし、その中から普遍性や規則性を見出すことによって酸性雨の発生機構を追究していくのが今後の課題である。

参考文献

- 1) 仁平明, 高橋正人, 中村栄一, 北村洋子, 加賀谷秀樹: 宮城県保健環境センター年報, 24, 84 (2006)
- 2) 鶴田治雄, 草野一, 加藤善徳, 大田正雄, 平野耕一郎: 酸性雨に関する調査研究報告書 (横浜市環境科学研究所), 1993, 119
- 3) 全国環境研協議会: 全国環境研会誌, 31, 3, 118 (2006)

自動車排出ガスによる汚染状況と自動車交通量の関連

A Relation between Air-Pollution by Automobile and Traffic Density

高橋 誠幸 木立 博 仁平 明
加賀谷秀樹

Seiko TAKAHASHI, Hiroshi KIDACHI, Akira NIDAIRA
Hideki KAGAYA

継続的に通年測定している自動車排出ガス測定局と、約1ヶ月間の調査を毎年数地点で実施している大気環境測定車の収集データを解析し、道路近傍での自動車排出ガスによる汚染状況と自動車交通量の関連を調べた。その結果、NO₂の環境基準の達成状況は自動車交通量によって明瞭な差異があった。これを踏まえて、道路交通センサスによる自動車類交通量のデータを用い、県内の路線におけるNO₂の環境基準のゾーン下限値0.04ppm達成のスクリーニングを試み、各路線の調査単位区間の汚染状況を3グループに分類してみた。この分類結果を用いることにより、宮城県自動車交通環境負荷低減計画の施策体系における交通流対策のうち、環境基準の達成を目指したバイパス等の整備など道路網整備対策に資することができる。

キーワード：自動車排出ガス；大気汚染；自動車交通量；窒素酸化物（NO_x）；環境基準

Key words : Exhaust ; Air-Pollution ; Traffic Density ; NO_x ; Environmental Standard

1 大気環境測定車の収集データによる Calm（静穏）時の NO_x 濃度と自動車交通量

1.1 方法

本県では県内各地に設置した大気汚染常時測定局を補完するため、大気環境測定車により測定局が無い地区の大気環境調査を行っており、毎年数地点で約1ヶ月間の調査を実施している。道路近傍での自動車排出ガスによる汚染状況は、気象条件による拡散への影響が少ないCalm（風速0.3m/s以下）時に的をしぼると、自動車交通量との関連性があることが考えられる。そこで、道路交通センサスの自動車類12時間交通量データ（昼間、夜間）と、過去7年間の幹線道路周辺におけるCalm時のNO_x濃度（夏期、冬期）の関連を解析した。

1.2 結果および考察

昼夜間各12時間内のCalm時におけるNO_x濃度の平均と12時間交通量の相関係数を表1に示した。冬期の夜間が危険率1%で有意な相関があることがわかり、これは大気安定度と拡散の面から大いに頷ける結果であった。

2 自動車排出ガス測定局における二酸化窒素（NO₂）の環境基準達成状況と自動車交通量

2.1 方法

本県では現在、仙台市設置局（将監局等6局）、県設置局（名取自排局等3局）、石巻市設置局（八幡町交差点局）の計10局で自動車排出ガスによる汚染状況の常時監視を行っている。そこで、沿道におけるNO₂濃度と自動車交通量の関連を解明するため、NO₂の日平均値の年間98%値が環境基準のゾーン下限値0.04ppmを達成しているか、すなわち県の自動車交通環境負荷低減計画の環境目標でもある環境基準のゾーン下限値の達成状況について、昭和60年度から平成17年度までの21年間にわたり自動車排出ガス測定局の測定結果を調べた。

2.2 結果および考察

2.2.1 平日の昼間12時間の自動車交通量

自動車排出ガス測定局直近における自動車交通量は、平成11年度の交通センサスによる平日の昼間12時間の自動車類交通量を調べると、将監局49,600（台/12h）、台原局42,200（台/12h）、名取自排局36,100（台

表1 Calm時の平均濃度と平日12時間の交通量の相関係数

項目	昼夜間	土、日、祝日の扱い	夏期冬期	相関係数	危険率_%で有意	データ数
NO _x	昼間		夏期	0.327		11
	昼間		冬期	0.740		15
	夜間		夏期	0.650		67
	夜間		冬期	0.892	1%	44
	夜間	土、日、祝日を除く	夏期	0.595		47
	夜間	土、日、祝日を除く	冬期	0.905	1%	33
NO	夜間		冬期	0.875	1%	44
	夜間	土、日、祝日を除く	冬期	0.889	1%	33
NO ₂	夜間		冬期	0.570		44

（データ数は、7調査地点の平均データ数であり、約1ヶ月のうち何時間がCalmだったかを示す）

/12h), 東六局・苦竹局 30,500 (台/12h), 八幡町交差点局 23,100 (台/12h), 五橋局 22,700 (台/12h), 長命局 22,200 (台/12h), 塩釜自排局 21,600 (台/12h), 木町局 18,300 (台/12h), 古川自排局 18,000 (台/12h) であった。このうち東六局は平成 11 年度までの測定であり, 将監局は平成 10 年度までは泉-2 局の名称であった。

2.2.2 環境基準のゾーン下限値の達成率

(泉-2 局, 将監局, 台原局, 名取自排局, 東六局, 苦竹局) の自動車交通量が多いグループと, (八幡町交差点局, 五橋局, 長命局, 塩釜自排局, 木町局, 古川自排局) の自動車交通量が少ないグループとでは, 環境基準のゾーン下限値の達成率が 2% (2/87) と 55% (53/97) でありその達成状況は大きく異なっていた (図 1)。なかでも, 平成 12 年度から平成 17 年度までの 6 年間の自動車排出ガス測定局の測定結果は, 自動車交通量が多いグループと少ないグループの達成率が 9% (2/23) と 86% (30/35) であり, 環境基準のゾーン下限値の達成状況には明瞭な差異があった。

2.2.3 自動車交通量の伸び率

平成 6 年度と平成 11 年度及び平成 17 年度の道路交通センサスから, 自動車排出ガス測定局直近における自動車交通量の伸び率を調べたところ, 平日の昼間 12 時間では H11/H6 は 0.99 ~ 1.17 の範囲で平均は 1.08 であり, H17/H11 は 0.75 ~ 1.11 の範囲で平均は 0.95 であった。平日 24 時間も似たような伸び率であった。

2.2.4 環境基準のゾーン下限値の達成率に差異が生じる原因

環境基準のゾーン下限値の達成率に差異が生じた原因を調べたところ, ① NO_x の測定法が平成 9 年度に従来の湿式から新たに乾式に切り替わったことと, ② 国の自動車単体対策 (自動車構造改善対策, 低公害車等普及対策) の効果が考えられた。平成 10 年度末以降, 木町局と古川自排局の更新をかわきりに, 各局で順次乾式に変更され, 現在は計 6 局 (台原局, 名取自排局, 長命局, 塩釜自排局) が乾式となっている。測定機が湿式から乾式に変わった際に, 測定結果が (-0.013 ~ +0.003) ppm の幅で変動し平均は -0.007ppm であった。また, 資料¹⁾によると, 宮城県内の自動車保有台数の推移 (H9 ~ H16) は年々増加

している。一方, 窒素酸化物排出量経年変化 (H11, H14 ~ H17) は年々減少傾向にあり, これは寄与率の最も大きい普通貨物の排出量減少と乗用車についての低公害車普及によるとされている。

2.2.5 環境基準のゾーン下限値達成のスクリーニング

平成 11 年度の道路交通センサスの調査総括表を用いて, 宮城県内 (仙台市内を除く) の道路交通センサスの調査単位区間について, NO₂ の環境基準のゾーン下限値 0.04ppm についての達成状況のスクリーニングを試みた。

平日の昼間 12 時間の自動車類交通量は, 交通量が多いグループは (将監局 49,600 台 ~ 苦竹局 30,500 台) であり, 交通量が少ないグループは (八幡町交差点局 23,100 台 ~ 古川自排局 18,000 台) である。

そこで 2.2.2 の結果を踏まえ, 平日の昼間 12 時間の自動車類交通量が 30,500 台以上の調査単位区間が, NO₂ の環境基準のゾーン下限値 0.04ppm を超過すると推定して道路交通センサスを調べたところ, 仙台市を除く, 一般国道 4 号の 7 区間と一般国道 286 号の 1 区間, 及び主要地方道仙台松島線の 1 区間, 主要地方道仙台塩釜線の 1 区間の合計 10 調査単位区間であった。同様に, 平日の昼間 12 時間の自動車類交通量が (23,200 ~ 30,400) 台の調査単位区間が, NO₂ の環境基準のゾーン下限値 0.04ppm を達成するか不明と推定して道路交通センサスを調べたところ, 仙台市を除く, 東北縦貫自動車道弘前線の 4 区間と一般国道 4 号の 2 区間, 及び一般国道 45 号の 1 区間の合計 7 調査単位区間であった。最後に, 平日の昼間 12 時間の自動車類交通量が 23,100 台以下の 576 調査単位区間は, NO₂ の環境基準のゾーン下限値 0.04ppm を概ね達成すると推定される。

3 まとめ

3.1 大気環境測定車の収集データによる Calm 時の NO_x 濃度と自動車交通量

道路近傍での自動車排出ガスによる汚染状況は, 気象条件による拡散への影響が少ない Calm 時に的をしぼると, 自動車交通量との関連性が考えられる。そこで, 道路交通センサスの自動車交通量データ (昼間, 夜

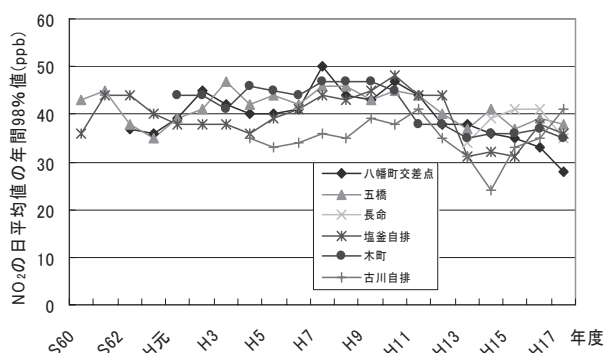
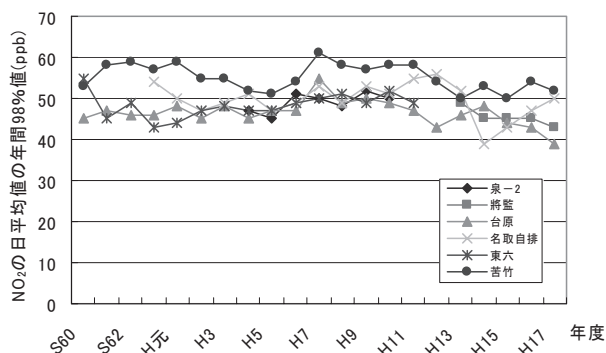


図 1 二酸化窒素 (NO₂) の日平均値の年間 98% 値の経年変化

間) と、過去7年間の幹線道路周辺における Calm 時の NO_x 濃度(夏期, 冬期)の関連を解析した結果, 冬期の夜間が危険率1%で有意な相関があることがわかり, これは大気安定度と拡散の面からも大いに頷ける結果であった。

3.2 自動車排出ガス測定局における二酸化窒素(NO_2)の環境基準達成状況と自動車交通量

沿道における NO_2 濃度と自動車交通量の関連を解明するため, 環境基準のゾーン下限値の達成状況について, 昭和60年度から平成17年度までの21年間にわたる自動車排出ガス測定局の測定結果(NO_2 の日平均値の年間98%値)を解析した。その結果, 平日の昼間12時間の自動車交通量が30,500台以上のグループと, 23,100台以下のグループで達成状況に明瞭な差異があった。このことを踏まえて, 宮城県内(仙台市内を除く)の道路

交通センサスの調査単位区間について, NO_2 の環境基準のゾーン下限値0.04ppmについての達成状況のスクリーニングを試み, 超過・達成の2グループとデータがないため達成するか不明の計3グループに分類してみた。この分類結果を用いることにより, 宮城県自動車交通環境負荷低減計画の施策体系における交通流対策のうち, 環境基準の達成を目指したバイパス等の整備など道路網整備対策に資することができる。

参考文献

- 1) 宮城県: 宮城県自動車交通公害対策推進協議会検討部会(平成18年5月30日に開催)
- 2) 宮城県: 道路交通量調査総括表(平成6年度, 平成11年度, 平成17年度)
- 3) 宮城県: 公害資料(昭和60年度~平成17年度)

浮遊粒子状物質自動測定機のメーカー間の差について

Biased Measurements of Automatic Suspended Particulate Matter Monitor Dependent on Manufacturers

木立 博 高橋 誠幸 仁平 明
加賀谷秀樹

Hiroshi KIDACHI, Seiko TAKAHASHI, Akira NIDAIRA
Hideki KAGAYA

平成 17 年度に県内 5 カ所の測定局で SPM 計を更新した後、測定値が著しく低下した局があった。全測定局の測定値を比較するとメーカーによって測定値に偏りが認められた。PM2.5 濃度を測定している自排局では SPM 計を他メーカーに変更後、PM2.5 / SPM 値が 1 を超過し続けている。過去に分級特性を改良したサイクロンを搭載した機種が他メーカー製に比べ高い測定値を示しており、サイクロンの分級特性の違いがメーカー間の差の原因と考えらる。

キーワード：浮遊粒子状物質；PM2.5；サイクロン

Key words：Suspended particulate matter；PM2.5；cyclon

1 はじめに

宮城県では県内に設置した大気常時測定局において浮遊粒子状物質（以下 SPM と略す）の大気中濃度を連続測定している。SPM 計は県内の 24 測定局（うち自排局 3 局）に設置しており、概ね 10 年程度の間隔で新機種に更新している。平成 17 年度は 5 測定局で測定機を更新したが、更新後に測定値が低下した局があった。全測定局の測定値を比較した結果、メーカー間で差が認められたので報告する。

2 SPM 測定値のメーカー差

2.1 測定機の更新による測定値の変動

県内に設置している SPM 計は全てベータ線吸収法による自動測定機であり、そのメーカーは 4 社（以下、A 社、B 社、C 社、D 社という）である。平成 17 年 9 月下旬に SPM 計を 5 測定局で更新したが、A 社製から B 社製に更新したのが 3 局（名取自排局、石巻Ⅱ局、松島局）、C 社製から B 社製に更新したのが 2 局（築館局、白石局）であった。この 5 局の過去 4 年間の SPM 濃度の月間値の推移を図 1 に示す。測定機更新以前の平成 15 年度から 17 年度 9 月までにおいて、A 社製 SPM 計の測定値は夏期に高く冬季に低い変動傾向を示しているが、更新後は B 社製 SPM 計による測定値は夏期の値が高くなり、季節変動が小さくなっており、測定機により違いが見られる。6 月から 9 月の値を更新前の 17 年度と更新後の 18 年度で比較すると、A 社製から B 社製に更新した 3 局では、月平均値で 12 ~ 31 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 低下していた。すなわち、石巻Ⅱ局では月平均値で 12 ~ 18 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、松島局では 17 ~ 21 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、名取自排局では 24 ~ 31 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 低下しており、低下の程度は測定値が県内で最も高かった名取自排局において著しかった。一方、C 社製から B 社製に更新した 2 局で大きな差が生じなかった。すなわ

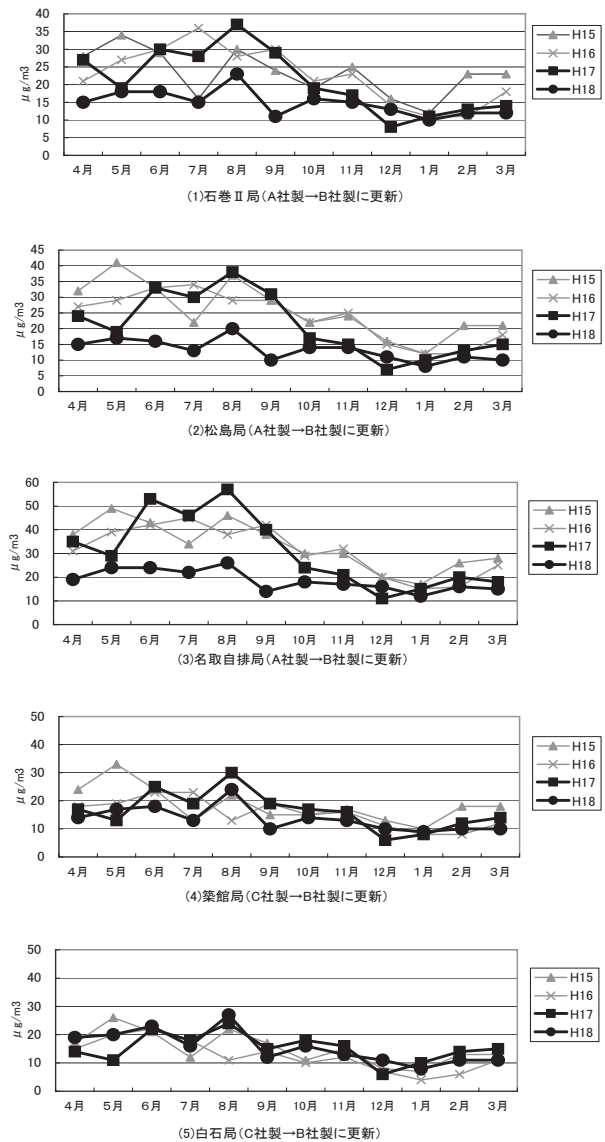


図 1 測定機を更新した測定局における SPM 濃度の変動
(1)~(5)の測定局では平成 17 年 9 月に測定機を更新した。

ち、築館局では月平均値にして6～9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の低下であり、白石局ではほとんど差がなく1～3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 上昇又は2～3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 低下であった。もともとC社製SPM計の測定値は夏期と冬季の変動が小さい傾向を示しており、B社製SPM計と同様の変動傾向を示している。

2.2 メーカー毎の測定値の分布

メーカー毎に測定値比較すると図2のようになる。図2-(1)には平成17年度上半期(4月～9月)の各測定局における1時間値の平均値をメーカー4社に分けてプロットした。図2-(2)には測定機を更新した翌年の平成18年度上半期の平均値をプロットした。図中には平成17年度に測定機を更新した5局の局名を記載した。また、測定機更新がなかった自排局については「自排局」と記載した。

平成17年度は、全般的にはA社製SPM計の値が高く、他3社製の値はA社に比べて低い傾向があった。A社製の値は24.7～43.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、B社製では16.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、C社製では16.5～33.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、D社製では27.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。平成18年度(図2-(2))でもA社製SPM計の値は平成17年度と同様に他3社製の値に比べ高い傾向を示した。A社製の値は20.5～35.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、B社製では15.0～21.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、C社製では11.9～26.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、D社製では22.3～25.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。平成18年度は測定機更新によりB社製のデータが増えたが、B～D社製の中でもB社製の値がC及びD社製に比べやや低い傾向が見られる。

測定機を更新した5局の測定値の変化は、A社製SPM計からB社製に更新した3局で大きく、名取自排局で21.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の低下(43.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3 \rightarrow 21.4\mu\text{g}/\text{m}^3$)、松島局で14.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の低下(29.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3 \rightarrow 15.0\mu\text{g}/\text{m}^3$)、石巻II局で11.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の低下(28.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3 \rightarrow 16.6\mu\text{g}/\text{m}^3$)であった。C社製からB社製に更新した築館局は4.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (20.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3 \rightarrow 16.2\mu\text{g}/\text{m}^3$)低下し、白石局では2.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

(17.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3 \rightarrow 19.4\mu\text{g}/\text{m}^3$)上昇しているが、A社製からB社製への更新に比べると変化は小さかった。このことからA社製SPM計の測定値に比べB社製及びC社製の値が低いことが推測される。

平成17年度(図2-(1))では名取自排局が24局中で最高値であったが、平成18年度では24局中16位の値で、環境局と比較しても下位の部類となった。他社製SPM計が設置されている自排局と比較しても低い値である。名取自排局は平日12時間の自動車交通量が約37,000台の国道4号線沿いに立地し、NO₂濃度年平均値も県内最高値であり自動車交通影響が大きい測定局であることを考慮すると、平成18年度上半期の測定値は他局と比較して異常に低く不自然である。

図2の平成17年度と18年度では県全般に平均値の低下傾向があるので、測定機を更新した5局における変化の程度を評価するために、平成17年度上半期と平成18年度上半期の測定値の相関関係を図3に示す。図中の1点は1測定局を表す。測定機を更新していない測定局ではSPM濃度平均値が平成18年度の方がやや低めであり、全般的に測定値の低下傾向が見られる。これに対し、A社製からB社製に更新した測定局は更新していない局のグループから離れており、相関曲線の傾きも小さい。このことから、A社製からB社製に更新した局では県内全般の低下傾向とは異なった要因で測定値が低下していることがわかる。C社製からB社製に更新した測定局を示す点は更新していない局の相関曲線に近い点が1点あるが、やや離れている点も1点あり、測定値の変化は不明である。

以上から、SPM計の測定値にはメーカー差がみられ、A社製に比べB～D社製が低い傾向がある。平成18年度の測定値からはB～Dの3社中ではB社製の値が低めである。

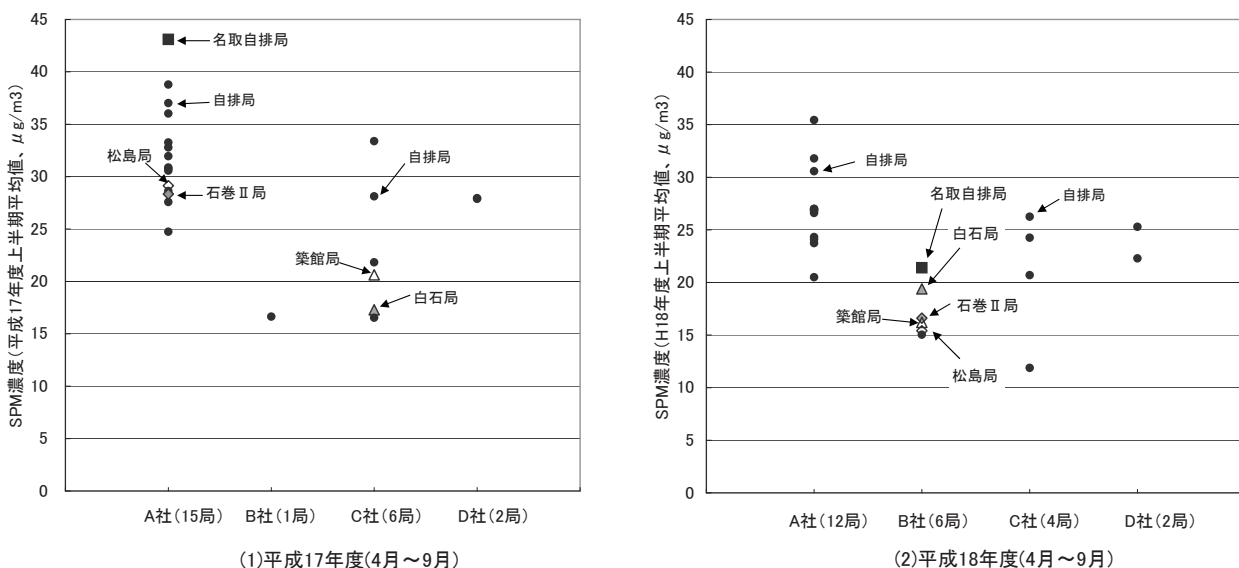


図2 メーカーごとのSPM濃度測定値の比較

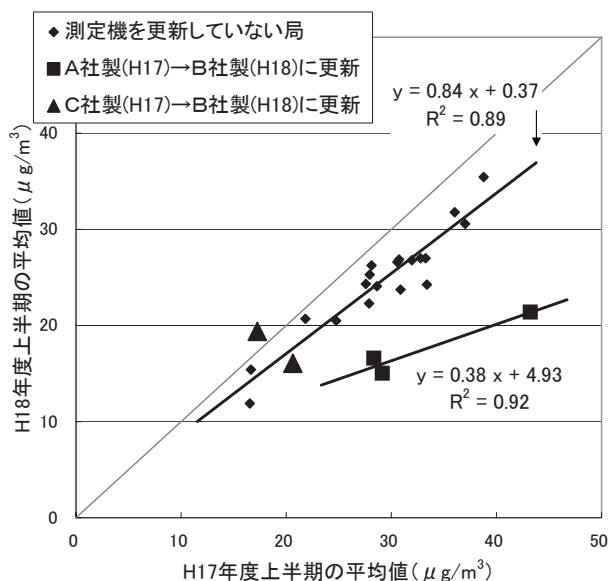


図3 平成17年度と平成18年度のSPM濃度の関係

2.3 名取自排局におけるSPM / PM2.5値の異常

図4に平成15年以降の名取自排局におけるPM2.5濃度とSPM濃度の月平均値、及びPM2.5濃度とSPM濃度の比（以下PM2.5 / SPM値という）の推移を示す。PM2.5計はベータ線吸収法による測定機（柴田科学製BAM1020）である。SPM計とPM2.5計はいずれも名取自排局に設置しているが、設置状況は異なっている。SPM計は測定局舎内に設置しており、試料採取口は測定局の車道側の壁約1.6m程の高さにあり、車道端からは約5mの距離である。PM2.5計は車道から見て測定局舎裏に設置しており、車道端から約11mの距離がある。PM2.5計の試料採取口の高さは約2.7mである。SPM計は平成17年9月の測定機更新以前はA社製であったが、更新以降はB社製である。測定機更新前のPM2.5 / SPM値は中村らが当センター年報で報告しているが¹⁾、平成17年1月の1.03という値を除くと、約4年間、0.52～0.93の間で推移している。他の文献値^{2)～4)}でも同程度の値又は変動

幅が報告されており、名取自排局のPM2.5 / SPM値は正常な値を示している。しかし、測定機更新後、SPM計がB社製となって以降はPM2.5濃度がSPM濃度を超え、PM2.5 / SPM値が1を超過する異常な値が継続している。PM2.5計の設置場所はSPM計よりも発生源である車道から離れているので、PM2.5濃度がSPM濃度より高いのは不自然である。

3 サイクロン改造の過去の経緯とメーカー差の原因

約20年前であるが、冬季にスパイクタイヤ粉じんが含まれる大気試料をβ線吸収法によるSPM自動測定機で測定すると、高濃度域でメーカー差があること、各メーカーのSPM計の値はローボリュームエアサンプラーの値よりも低い値であることが、昭和63年に当センターが実施した測定局における並行測定から示された⁵⁾。また、多段型エアサンプラーの測定値との比較により、粒径が大きい粒子はカットされている（分級特性が悪い）ことが推定された⁵⁾。これらの結果に基づいて、より大きい粒子を採取する（分級特性が良くなる）ように各メーカーが改造したサイクロンを搭載したSPM計を使用して、平成元年に再び並行測定を実施した結果、本稿のA社製及びC社製SPM計はローボリュームエアサンプラーと同程度の値が得られ、相対的に改造前より測定値が高くなったが、本稿のB社製の改造サイクロンでは改造の効果がなかった⁶⁾。（本稿のD社製SPM計は当時製造されていなかった。）これらの並行測定実施以降、現在に至るまで、A社製SPM計は改造サイクロンが取り付けられたものが当県に納入され、当県以外にはメーカー標準品であるサイクロンを搭載したSPM計が納入されている。B社製SPM計が改造サイクロンを搭載しているかどうかは調査中であるが、A社製SPM計測定値ががより高いこと、A社製SPM計が分級特性の良いサイクロンを搭載していることから、SPM計測定値のメーカー差はA社製改造サイクロンの分級特性に起因している可能性が考えられる。また、PM2.5 / SPM値

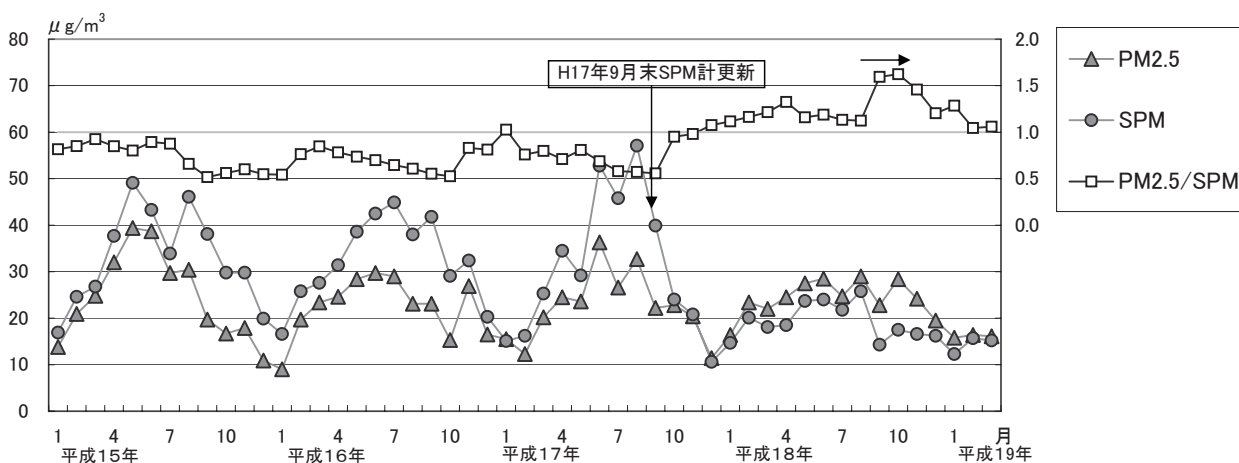


図4 名取自排局におけるPM2.5濃度及びSPM濃度の変動

からすると A 社製 SPM 計の値がより真値に近いように思われるが、断定はできないので今後も調査継続が必要である。名取自排局のように測定機メーカーが変わったことにより測定値が大幅に変動したり、PM2.5 / SPM 値が異常な値となったままでは公害対策上大いに問題がある。

4 まとめ

- (1) SPM 計を A 社製から B 社製に更新した結果、測定値の低下がみられた。
- (2) SPM 計測定値にメーカー差があり、A 社製 SPM 計の値に比べ B ~ D 社製 SPM 計の値が低い。
- (3) 名取自排局に設置した B 社製 SPM 計の測定値が他局に比べ不自然に低い値を示した。
- (4) 名取自排局における SPM / PM2.5 値は A 社製 SPM 計を用いたときは 0.5 ~ 0.9 であったが、B 社製 SPM 計に更新後は 1 超過が継続している。
- (5) SPM 計測定値のメーカー間の差は、サイクロンの

分級特性の違いに起因すると考えられる。

- (6) 当県に納入された A 社製 SPM 計は分級特性を改善したサイクロンが搭載されており、A 社製 SPM 計の測定値がより真値に近いと推測される。

参考文献

- 1) 中村栄一他：宮城県保健環境センター年報，24，P.91 ~ 93 (2006)
- 2) 根津豊彦，坂本和彦：大気環境学会誌，37，P.A1 ~ A12 (2002)
- 3) 山神真紀子他：名古屋市環境科学研究所報，33，P.21 ~ 28 (2003)
- 4) 栗田雅行，瀬戸博：東京都健安七々年報，57，P.339 ~ 343 (2006)
- 5) 氏家愛子他：宮城県保健環境センター年報，7，P.142 ~ 146 (1989)
- 6) 氏家愛子他：宮城県保健環境センター年報，9，P.99 ~ 103 (1991)

パッシブサンプラーによる県内の大気汚染状況

Air pollution concentration measured by passive sampler in Miyagi prefecture

北村 洋子 佐久間 隆 小泉 俊一
木戸 一博 加賀谷秀樹

Yoko KITAMURA, Takashi SAKUMA, Syun-ichi KOIZUMI
Kazuhiro KIDO, Hideki KAGAYA

パッシブサンプラーを使用し山間部や海沿いの地域での窒素酸化物やオゾンの濃度を把握することができた。また、大気汚染測定局常時監視システムでは測定していないアンモニアガス濃度を県内5地点で把握することができた。その結果、アンモニアガス濃度が僅かではあるが都市部で高いことが明らかになった。

キーワード：モニタリング；パッシブサンプラー；大気汚染物質；アンモニア

Key words： monitoring； passive sampler； air pollutant matters； ammonia

1 はじめに

宮城県は昭和57年度から平成12年度までパッシブサンプラーを用いて道路沿道における二酸化窒素、一酸化窒素、窒素酸化物濃度の調査を実施してきた¹⁾。パッシブサンプラーによる大気汚染物質の測定は、電源を必要とせず、取扱いが簡便で安価なため、数多くの任意の場所に設置でき、山間部等での測定も容易であることから、面的かつ広域的な測定・評価が可能である。

本報告は平成15年から全環研共同調査²⁾および全環研北海道・東北ブロック共同調査と歩調を合わせ行っているパッシブサンプラーによる大気汚染物質濃度調査のうち平成17年度までの3カ年分の結果をまとめたものである。

を図1に調査地点および調査地点付近の概況を表1に示す。



図1 調査地点

2 調査方法

- 2.1 調査期間：平成15年4月～平成18年3月
- 2.2 調査方法：小川式パッシブサンプラーを用い約1ヶ月単位で捕集
- 2.3 調査地点：県内5地点で採取。調査地点の位置

表1 調査地点および調査地点付近の概況

調査地点名	サンプラー設置位置	住所	緯度 (度・分・秒)	経度 (度・分・秒)	標高 (m)	土地利用区分	付近の概況
丸森	丸森局地上フェンス	宮城県伊具郡丸森町大内字南平193-6 大内山村広場	38° 51' 22"	140° 49' 10"	50	草地	近くにグラウンドがあり、周辺は草地・雑木林
仙台幸町	保健環境センター前庭地上フェンス	仙台市宮城野区幸町4-7-2	38° 16' 38"	140° 54' 18"	32	市街地	仙台市街地の北東部に位置し、南東側約200mのところにはグラウンドがある
牡鹿	原子力センター寄磯局地上フェンス	石巻市寄磯浜五梅沢24寄磯小学校	38° 23' 26"	141° 31' 23"	50	草地	太平洋に面した崖の上にある小学校の校庭の隅にあり低木の雑木林に囲まれている
鏡岳	国設鏡岳大気環境測定所平屋屋上フェンス	宮城県涌谷町小塚字桜清水2-1-5	38° 33' 13"	141° 10' 19"	165	草地	南東斜面はゴルフ場の芝生、東側は公園の草地、北・西側は雑木林。
宮城大和	内水面水産試験場国旗掲揚ポール	宮城県黒川郡大和町吉田字旗坂地区	38° 27' 36"	140° 40' 55"	533	森林地域	周辺を杉林に囲まれた山間部。

2.4 測定項目および分析方法

①一酸化窒素, 二酸化窒素, 窒素酸化物: プランベール社製オートアナライザー TRAACS800 法 ②オゾン, アンモニア, 二酸化硫黄: 硝酸イオン, アンモニウムイオン, 硫酸イオンとしてイオンクロマトグラフ法

3 調査結果

3.1 平均値

各地点, 各項目毎の3カ年間の平均値を図2に示す。

①二酸化窒素については市街地である仙台幸町が全期間平均で16.9ppbで最も高く, 他地点は4ppb以下であった。宮城大和は1.7ppbと最も低い濃度であった。一酸化窒素では仙台幸町が10.1ppbと最も高い濃度であり, 次いで丸森が2.4ppbであり, 他の3地点は2.0ppb以下の濃度であった。窒素酸化物についてもほぼ同様な傾向であった。

②オゾンについては全期間平均で牡鹿, 籠岳, 宮城大和で27ppb以上であったのに対し, 仙台幸町が20ppb以下と最も低い濃度であった。

③アンモニアについては仙台幸町が1.26ppbで最も濃度が高く, 他地点は1ppb以下であった。

④二酸化硫黄については5地点の中でも仙台幸町が若干高い濃度であったが, 全地点で1ppb以下であった。

3.2 経時変化

①二酸化窒素の経月変化を図3に, 地点間の相関係数を表2に示す。これによると1%の危険率で有意な相関が認められたのは仙台幸町と丸森間だけであった。また丸森は仙台幸町他, 籠岳, 宮城大和との相関が認められた。一方, 一酸化窒素について, 5%までの危険率を

含めると全地点間で有意な相関が認められた(図4, 表3)。窒素酸化物についてはほぼ二酸化窒素と同様の傾向を示している(図5, 表4)。低濃度で推移していた宮城大和を除けば, 夏場に濃度が低く, 冬場に濃度が高くなる傾向が認められた。

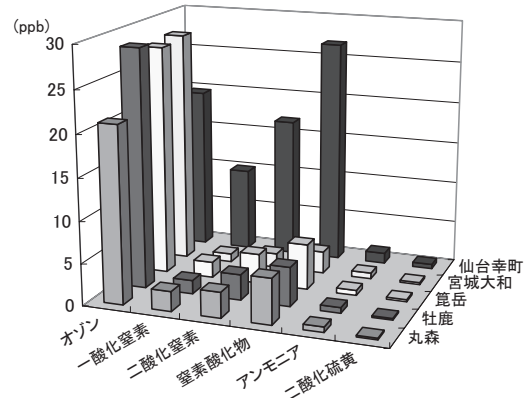


図2 各地点・各項目毎の平均値

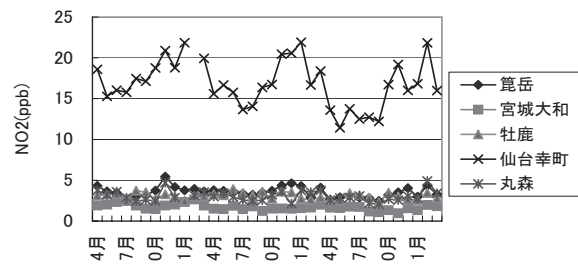


図3 二酸化窒素の経月変化

表2 二酸化窒素の地点間相関係数

	籠岳	宮城大和	牡鹿	仙台幸町	丸森
籠岳	1.00				
宮城大和	0.14	1.00			
牡鹿	0.36*	0.07	1.00		
仙台幸町	0.78**	0.14	0.25	1.00	
丸森	0.59**	0.46**	0.10	0.54**	1.00

(** : 1%の危険率で有意, * : 5%の危険率で有意)

表3 一酸化窒素の地点間相関係数

	籠岳	宮城大和	牡鹿	仙台幸町	丸森
籠岳	1.00				
宮城大和	0.70**	1.00			
牡鹿	0.78**	0.65**	1.00		
仙台幸町	0.55**	0.48**	0.39*	1.00	
丸森	0.78**	0.74**	0.68**	0.58**	1.00

(** : 1%の危険率で有意, * : 5%の危険率で有意)

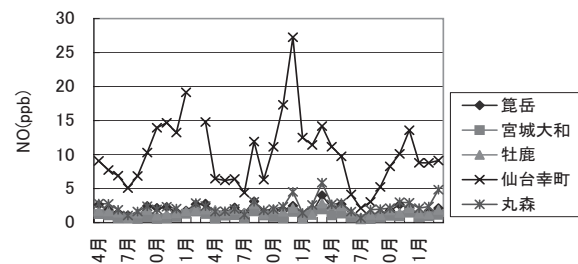


図4 一酸化窒素の経月変化

表4 窒素酸化物の地点間相関係数

	籠岳局	内水面	寄磯局	保健環境	丸森局
籠岳局	1.00				
内水面	0.39*	1.00			
寄磯局	0.54**	0.30	1.00		
保健環境	0.73**	0.22	0.22	1.00	
丸森局	0.75**	0.62**	0.37*	0.55**	1.00

(** : 1%の危険率で有意, * : 5%の危険率で有意)

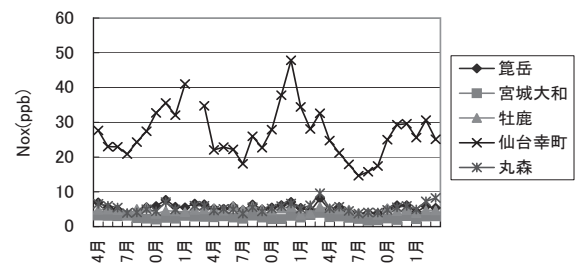


図5 窒素酸化物の経月変化

②オゾンについてはいずれの地点間の相関係数とも0.9前後でかなり良い相関が得られた。オゾン濃度の経月変化を図6、地点間の相関係数を表5に示した。

③アンモニアガスについては仙台幸町を除いた地点間では良い相関を示している。また、仙台幸町を除いた4地点では若干ではあるが、春・夏に高く、冬場に低濃度になるという季節による差が認められた(図7、表6)。

3.3 常時監視局データとの関係について

丸森および籠岳については大気汚染常時監視局データとの関係を調べた。

図8に二酸化窒素濃度についてのパッシブサンプラーと常時監視局の測定値との関係を示す。これによると籠岳、丸森とも1%の危険率で有意な相関関係が得られた。丸森の方で比較的高い相関が得られた。また、両地点とも傾きがほぼ同じであったが、低濃度ではパッシブサンプラーの値が高くなる傾向を示し、全体としてもパッシブ

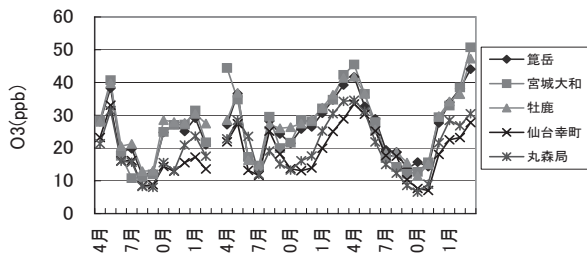


図6 オゾンの経月変化

表5 オゾンの地点間相関係数

	籠岳	宮城大和	牡鹿	仙台幸町	丸森局
籠岳	1.00				
宮城大和	0.94**	1.00			
牡鹿	0.97**	0.93**	1.00		
仙台幸町	0.88**	0.82**	0.84**	1.00	
丸森局	0.90**	0.88**	0.89**	0.90**	1.00

(** : 1%の危険率で有意、* : 5%の危険率で有意)

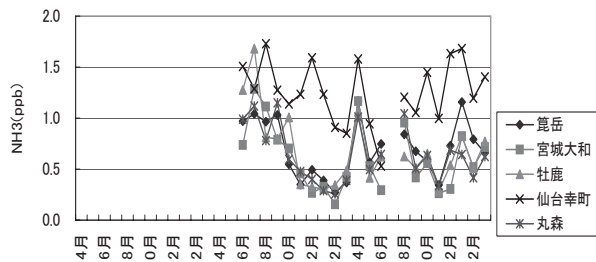


図7 アンモニアの経月変化

表6 アンモニアの地点間相関係数

	籠岳	宮城大和	牡鹿	仙台幸町	丸森
籠岳	1.00				
宮城大和	0.79**	1.00			
牡鹿	0.72**	0.81**	1.00		
仙台幸町	0.50*	0.47*	0.32	1.00	
丸森	0.82**	0.81**	0.78**	0.36	1.00

(** : 1%の危険率で有意、* : 5%の危険率で有意)

サンプラーの方が高い濃度を示していた。

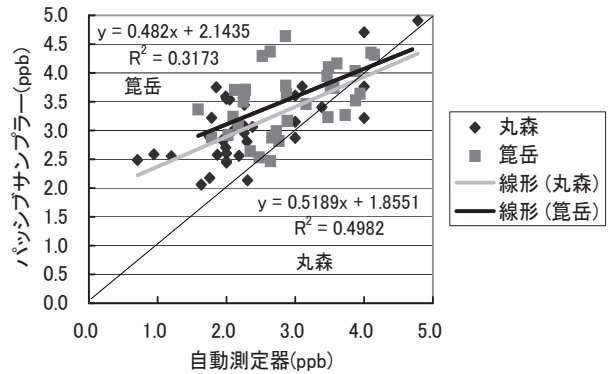


図8 二酸化窒素濃度におけるパッシブサンプラーと自動測定機との関係

図9にオゾン濃度についてのパッシブサンプラーと常時監視測定局での測定値との関係を示す。その結果丸森および籠岳ともに1%の危険率で有意な相関関係が得られた。特に丸森では相関係数が0.9という高い相関があった。両地点ともほぼ同様な傾きと切片を持つ回帰直線であった。全体としては、パッシブサンプラーの値が低めに推移していた。

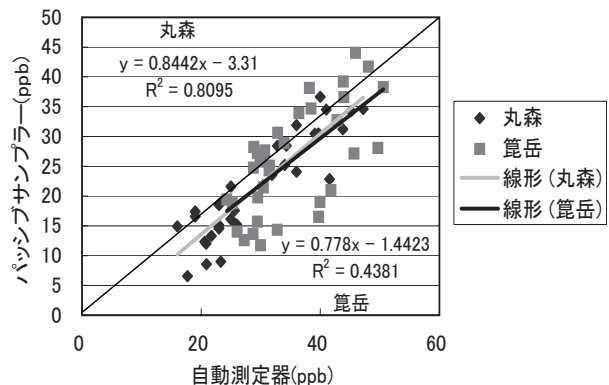


図9 オゾン濃度におけるパッシブサンプラーと自動測定機との関係

4 まとめ

本調査では県内5地点で、パッシブサンプラーを用いた窒素酸化物、オゾン、アンモニア、二酸化硫黄など6項目のガス状物質について濃度を測定し、その実態を明らかにした。パッシブサンプラーは山間部や海岸部など大気汚染常時監視局の設置が困難な地域で、大気汚染物質濃度の継続的なモニターが可能であり、データの蓄積に有効な手段であると思われる。また、常時監視局では測定できないアンモニアガス濃度を把握することができ、僅かではあるが、都市部でアンモニアガス濃度が高いことも明らかになった。

謝 辞

本調査を進めるにあたり、サンプリング等にご協力をいただいた原子力センターおよび内水面水産試験場職員各位に心よりお礼申し上げます。

参考文献

- 1) 宮城県環境生活部：自動車交通影響調査，平成12年度宮城県公害資料〔大気編〕（2000）
- 2) 全国環境研協議会：第4次酸性雨全国調査報告書（平成16年度），全国環境研会誌（2006）

宮城県における有害大気汚染物質調査

Study on Hazardous Air Pollutants in Miyagi Prefecture

佐久間 隆 小泉 俊一 北村 洋子
木戸 一博 加賀谷秀樹

Takashi SAKUMA, Syun-ichi KOIZUMI, Yoko KITAMURA
Kazuhiro KIDO, Hideki KAGAYA

平成10年度から平成17年度までの有害大気汚染物質モニタリング事業の測定結果から、濃度分布、経年変化、地域特性等についてまとめた。環境基準が設定されている物質については、近年はいずれも環境基準を下回っており横ばい傾向または減少傾向が見られた。指針値が設定されている物質については、いずれの物質も指針値を下回っていたが、調査地点によっては全国平均を上回る物質が見られた。指針値が設定されていない物質についても地点によっては米国環境保護庁の 10^{-5} リスク換算値を超える物質も見られた。また、測定項目間の相関関係は、自動車排出ガスの影響が考えられる物質間についてやや強い相関が見られた。

キーワード：有害大気汚染物質；揮発性有機化合物（VOCs）

Key words：hazardous air pollutants；volatile organic compounds；（VOCs）

1 はじめに

平成8年5月の大気汚染防止法の改正に伴い、国及び地方公共団体は有害大気汚染物質による大気汚染状況の把握に努めなければならないと定められ、本県では平成9年10月から県内4地点において有害大気汚染物質のモニタリング調査を開始し、現在環境省が定める「優先取組物質」22物質のうち19物質について測定を実施している。これらの物質のうち、ベンゼン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、ジクロロメタンの4物質については環境基準が設定され、アクリロニトリル、塩化ビニルモノマー、水銀、ニッケル、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、1,3-ブタジエンの7物質については指針値が設定されている。測定開始後2ヶ年間の調査結果から環境基準達成状況や各調査地点における自動車排出ガスの影響等について報告したが¹⁾、今回さらに平成17年度までの調査結果を基に年平均値による濃度分布、経年変化、地域特性等について概要を報告する。

2 方法

2.1 調査地点及び調査期間

調査地点の概要を図1及び表1に示した。県内4地点（一般環境2地点、沿道1地点、発生源周辺1地点）において平成10年4月から平成18年3月までを調査対象期間とした。



図1 調査地点

表1 調査地点の概要

調査地点	地点分類	備考
大河原町	一般環境	仙南保健福祉事務所屋上
名取市	道路沿道	名取自動車排出ガス測定局
塩竈市	発生源周辺	塩釜一般環境大気測定局
大崎市	一般環境	古川II一般環境大気測定局

2.2 試料採取及び分析方法

環境省の「有害大気汚染物質測定方法マニュアル^{2)~4)}」に従い実施した。表2に対象物質の採取方法及び測定方法の概要を示した。

1) 揮発性有機化合物

揮発性有機化合物（以下、VOCs）は真空化した6Lキャニスター容器を用い大気試料を24時間採取、大気試料濃縮装置（Tekmar社AUTOCAN）により試料を導入しガスクロマトグラフ質量分析法（以下GC/MS、HP社製HP6890+日本電子社製JEOLJMS-AMII15）により分析を行った。

2) アルデヒド類

大気試料を0.1 l/minの流速でDNPH捕集管に24時間採取、アセトニトリルで溶出し高速液体クロマトグラフ法（HPLC;Waters, alliance PDAシステム）により分析を行った。

3) ベンゾ[a]ピレン

大気試料をハイボリュームエアースンプラにより石英

表2 試料採取方法及び分析方法の概要

対象物質名	採取方法	分析方法
1. ベンゼン	キャニスター容器	GC/MS
2. トリクロロエチレン	〃	〃
3. テトラクロロエチレン	〃	〃
4. ジクロロメタン	〃	〃
5. アクリロニトリル	〃	〃
6. 塩化ビニルモノマー	〃	〃
7. クロロホルム	〃	〃
8. 1,2-ジクロロエタン	〃	〃
9. 1,3-ブタジエン	〃	〃
10. ホルムアルデヒド	固相捕集	HPLC
11. アセトアルデヒド	〃	〃
12. ベンゾ[a]ピレン	ハイボリュームエアースンプラ	GC/MS
13. クロム	〃	ICP/MS
14. ニッケル	〃	〃
15. ヒ素	〃	〃
16. ベリリウム	〃	〃
17. マンガン	〃	〃
18. 酸化エチレン	固相捕集	GC/MS
19. 水銀	金アマルガム捕集	原子吸光

繊維ろ紙上に700 l/minの流速で24時間採取、ろ紙にジクロロメタンを加え超音波抽出した後アセトニトリルに転溶し、GC/MS(島津, QP2010)により分析を行った。

4) 金属類

ベンゾ[a]ピレンと同様に大気試料を石英繊維ろ紙上に採取、圧力容器を用いて酸分解後、誘導結合プラズマ質量分析法(ICP/MS, 日立 P-5000型)により分析を行った。

5) 酸化エチレン

大気試料を0.7 l/minの流速で捕集管(ORBO 78)に24時間採取、トルエン/アセトニトリル抽出した後、

GC/MS(島津, QP2010)により分析を行った。

6) 水銀

大気試料0.5 l/minの流速で金アマルガム捕集管に24時間採取、加熱気化冷原子吸光法(日本インストルメンツ社, WA-4)により分析を行った。

3 結果と考察

調査結果(年平均値)の概要を表3に示した。年平均値は原則として12回の測定結果を算術平均して算出した。なお、平均値の算出にあたり検出下限値未満の場合

表3 各地点の調査結果概要(年平均値)

調査対象物質	年度	大河原町			名取市			塩竈市			大崎市			環境 基準値	EPA	WHO	
		平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値				
トリクロロエチレン	H10-H17	0.32	0.17	~ 0.43	0.20	0.064	~ 0.51	0.12	0.042	~ 0.23	0.11	0.052	~ 0.17	200		23	
テトラクロロエチレン	H10-H17	0.14	0.072	~ 0.27	0.35	0.14	~ 0.55	0.24	0.087	~ 0.43	0.16	0.061	~ 0.32	200			
ベンゼン	H10-H17	1.4	0.87	~ 2.5	2.5	1.8	~ 3.9	1.7	1.0	~ 2.8	1.4	0.98	~ 2.1	3	1.3-4.5	1.7	
ジクロロメタン	H10-H17	1.3	0.83	~ 1.6	3.4	1.1	~ 7.6	4.8	1.1	~ 13	1.7	0.84	~ 4.0	150		20	
アクリロニトリル	H10-H17	0.050	0.024	~ 0.10	0.11	0.070	~ 0.17	0.26	0.070	~ 0.47	0.16	0.070	~ 0.37		2	0.1	0.5
塩化ビニルモノマー	H10-H17	0.033	0.012	~ 0.070	0.039	0.023	~ 0.10	0.039	0.020	~ 0.10	0.033	0.018	~ 0.090		10	2.3	10
クロホルム	H10-H17	0.17	0.12	~ 0.24	0.40	0.20	~ 0.90	0.32	0.11	~ 0.60	0.36	0.18	~ 0.69		18	0.4	
1,2ジクロロエタン	H10-H17	0.095	0.038	~ 0.22	0.12	0.021	~ 0.30	0.10	0.029	~ 0.26	0.093	0.032	~ 0.22		1.6	0.4	
1,3ブタジエン	H10-H17	0.18	0.091	~ 0.34	0.43	0.24	~ 0.82	0.21	0.097	~ 0.44	0.18	0.10	~ 0.32		2.5	0.3	
アセトアルデヒド	H11-H17	2.7	2.0	~ 5.1	3.2	2.4	~ 4.1	2.9	1.6	~ 3.7	2.3	1.5	~ 2.9			5	
ホルムアルデヒド	H11-H17	2.5	1.9	~ 4.0	4.3	3.2	~ 5.5	2.5	1.8	~ 2.9	2.1	1.6	~ 2.4			0.8	
ベンゾ[a]ピレン	H11-H17	0.30	0.11	~ 0.45	0.39	0.15	~ 0.60	0.27	0.048	~ 0.53	0.25	0.090	~ 0.41				0.11
ニッケル	H15-H17	2.4	2.2	~ 2.6	4.0	3.2	~ 5.0	3.7	2.3	~ 5.4	13	6.3	~ 17		25	40	
ヒ素	H15-H17	0.95	0.69	~ 1.4	1.3	0.89	~ 1.6	1.2	0.72	~ 1.6	1.8	1.1	~ 2.4			2	6.7
ベリリウム	H15-H17	0.23	< 0.40	< 10	0.23	< 0.40	< 10	0.23	< 0.40	< 10	0.23	< 0.40	< 10			4	
マンガン	H15-H17	12	11	~ 13	37	33	~ 45	21	10	~ 30	14	9.7	~ 18				
クロム	H15-H17	3.7	3.3	~ 4.0	5.7	5.3	~ 6.2	5.2	2.2	~ 7.1	4.0	2.7	~ 4.7			0.8	0.25
酸化エチレン	H15-H17	0.26	0.20	~ 0.36	0.46	0.32	~ 0.67	0.27	0.22	~ 0.35	0.27	0.23	~ 0.32				
水銀	H17	1.8	-	-	-	2.0	-	-	1.8	-	-	-	-			40	

注: 平均値の欄は年平均の算術平均値を記載した。検出下限値未満のデータは検出下限の1/2を用いた平均値を算出した。

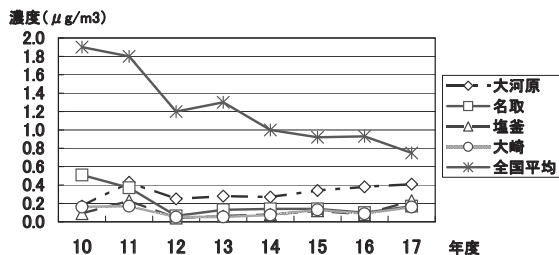


図 2-1 トリクロロエチレン濃度の年平均

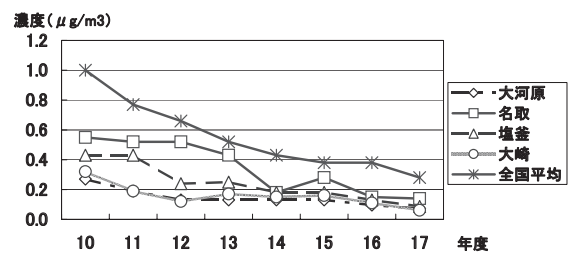


図 2-2 テトラクロロエチレン濃度の年平均値の推移

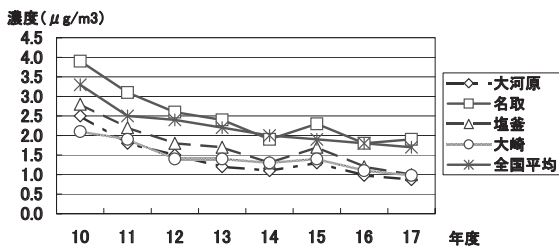


図 2-3 ベンゼン濃度の年平均値の推移

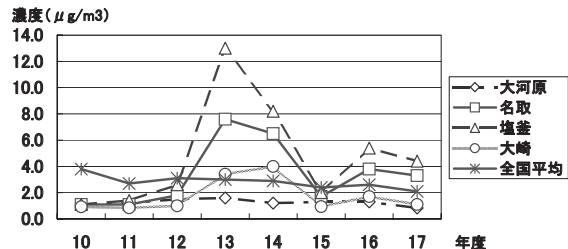


図 2-4 ジクロロメタン濃度の年平均値の推移

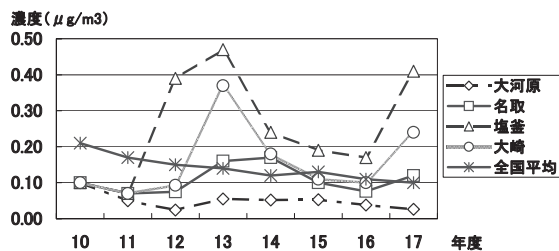


図 2-5 アクリロニトリル濃度の年平均値の推移

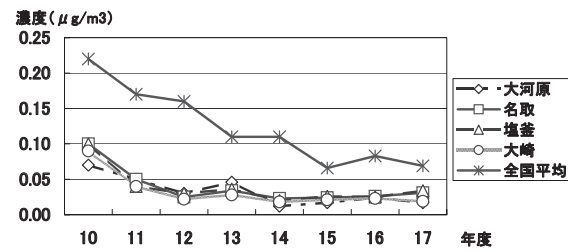


図 2-6 塩化ビニルモノマー濃度の年平均値の推移

は検出下限値の1/2値を用い、検出下限値以上で定量下限値未満の場合は測定値を用いた。

3.1 年平均値の濃度推移

県内4地点における各物質濃度の年平均値と全国の年平均値⁵⁾の推移を図2-1～図2-19に示した。

1) VOCs

トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンについては、環境基準(200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を大きく下回っており全国平均と比較しても低めに推移していた(図2-1, 図2-2)。すべての地点でトリクロロエチレンは横ばい傾向が見られ、テトラクロロエチレンは減少傾向が見られた。ベンゼンについては、平成10年度と11年度に沿道の名取において環境基準(3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を上回ったが、全国平均と同様に各地点とも年々減少傾向が見られた(図2-3)。要因として平成11年7月に移動発生源である自動車のガソリン中ベンゼン含有量を5%以下から1%以下に引き下げる法改正が行われた影響が考えられた。ジクロロメタンについては、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンと同様に環境基準(150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を大きく下回っているが、名取と塩釜で特異的な推移が見られ(図2-4)、近傍に発生源があることなどの要因が推察された。

以下指針値が設定されている物質については、アクリロニトリルが指針値(2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を大きく下回っているが、塩

釜、大崎で特異的な推移をしており全国平均を上回る年度が見られた(図2-5)。塩化ビニルモノマーについても指針値(10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を大きく下回っており、全国平均と同様に減少傾向が見られた(図2-6)。クロロホルムについては、指針値(18 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を下回っているが、大河原を除いた3地点で米国環境保護庁(以下、EPA)が設定したユニットリスクに基づく 10^{-5} リスク換算値0.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えている年度が見られ、特に名取では全国平均と比較しても高めに推移していた(図2-7)。1,2-ジクロロエタンについては、全国平均と同様に減少傾向が見られた(図2-8)。1,3-ブタジエンについては、指針値(2.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を下回っていたが、沿道の名取でEPAのユニットリスクに基づく 10^{-5} リスク換算値0.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えている年度が多く全国平均と比較しても高めに推移していた(図2-9)。

2) アルデヒド類

アセトアルデヒドについては、ほぼ横ばい傾向であり名取、塩釜で全国平均より高い年度が見られた(図2-10)。ホルムアルデヒドについては、同様にほぼ横ばい傾向が見られたが、1,3-ブタジエンと同様にディーゼル車等からの排出ガスの影響が考えられる沿道の名取で他の地点より高めに推移し全国平均も上回っていた(図2-11)。また、全地点でEPAの 10^{-5} リスク換算値0.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えていた。

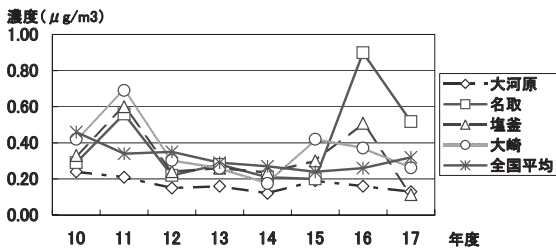


図2-7 クロロホルム濃度の年平均値の推移

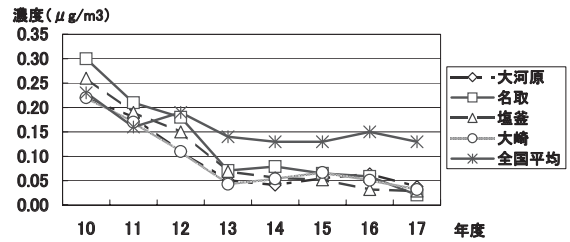


図2-8 1,2-ジクロロエタン濃度の年平均値の推移

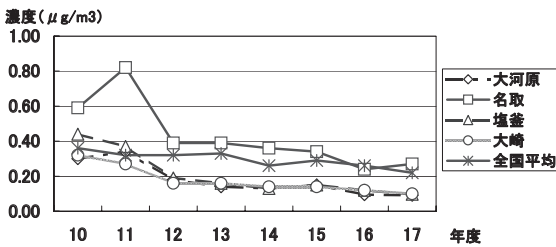


図2-9 1,3-ブタジエン濃度の年平均値の推移

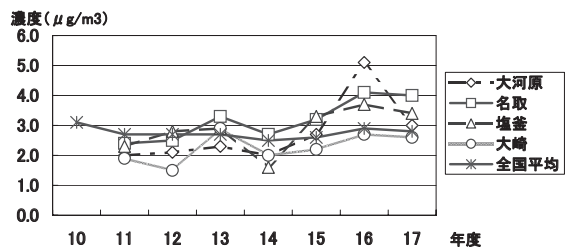


図2-10 アセトアルデヒド濃度の年平均値の推移

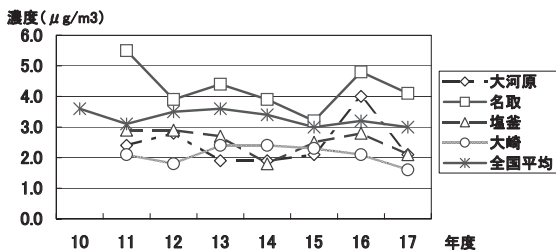


図2-11 ホルムアルデヒド濃度の年平均値の推移

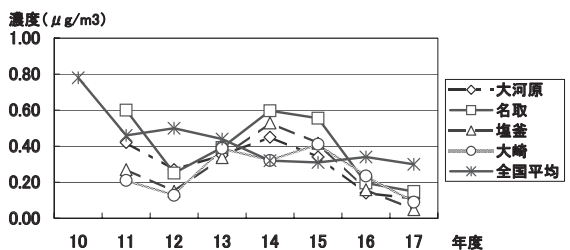


図2-12 ベンゾ[a]ピレン濃度の年平均値の推移

3) ベンゾ [a] ピレン

ベンゾ [a] ピレンについては、全国平均と同様に減少傾向が見られ (図 2-12), 17 年度は WHO 欧州地域事務局のガイドライン値 0.11ng/m³ レベルまで減少している。

4) 金属類

ニッケル, ヒ素, ベリリウム, マンガン, クロムの 5 物質は平成 15 年度から 17 年度までの 3 ヶ年についてまとめた。ニッケルについては、指針値 (25 ng/m³) を下回っているが、大崎において 15 年度, 16 年度に全国平均より濃度が高くなっていった (図 2-13)。これは近傍の石油燃焼施設 (コージェネレーションシステム) の影響が考えられたが、17 年度には減少しており燃料高騰等による使用制限も要因の一つと考えられた。ヒ素については、大崎で全国平均より高い年度もあったが、17 年度

には全地点で全国平均を下回っており (図 2-14), EPA の 10⁻⁵ リスク換算値 2 ng/m³ 以下であった。ベリリウムについては、全国平均より高く示されているが (図 2-15), 測定値はいずれも検出下限値以下であった。質量が軽い元素については ICP/MS の感度が悪く、低い下限値が得られなかったのが原因であった。マンガンについては、沿道の名取が他の 3 地点と比較し高めに推移していた (図 2-16)。クロムについては、いずれの地点においても全国平均以下であったが、EPA の 10⁻⁵ リスク換算値 0.8 ng/m³ より高めに推移していた (図 2-17)。水銀については、17 年度のみであるが、指針値 (40 ng/m³) 及び全国平均以下であった。

5) 酸化エチレン

酸化エチレンについては、いずれの地点においても全国平均よりも高めに推移していた (図 2-19)。原因は明らかでないが、今後近傍における発生源追跡等の必要があると考えられた。

3.2 測定項目間の相関行列

調査地点ごとの特性を把握するため、各測定項目間の相関行列を表 4-1 ~ 表 4-4 に示した⁶⁾。データは 15 年度から 17 年度の 3 ヶ年のものを用い、ベリリウムについてはすべてのデータが検出下限値以下であること、水銀については 17 年度のみのデータであることから対象

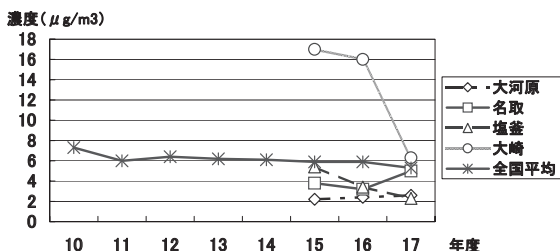


図 2-13 ニッケル濃度の年平均値の推移

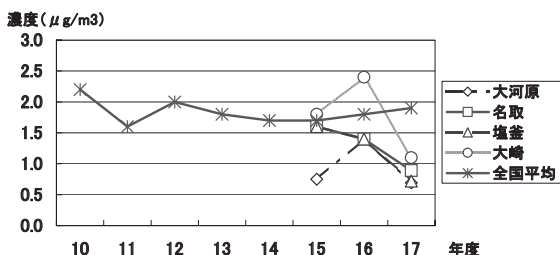


図 2-14 ヒ素濃度の年平均値の推移

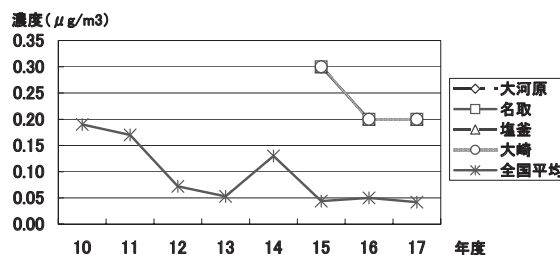


図 2-15 ベリリウム濃度の年平均値の推移

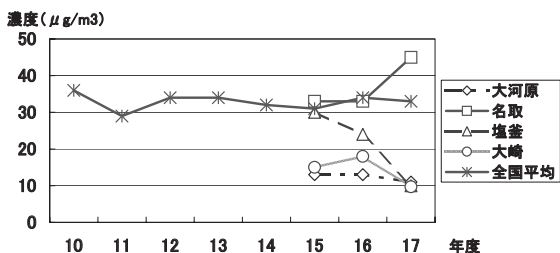


図 2-16 マンガン濃度の年平均値の推移

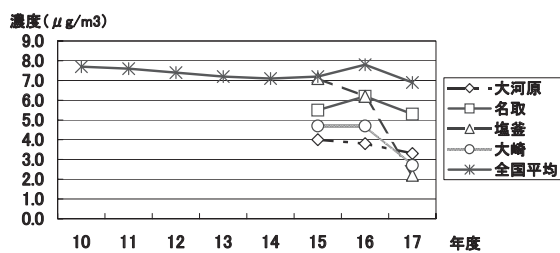


図 2-17 クロム濃度の年平均値の推移

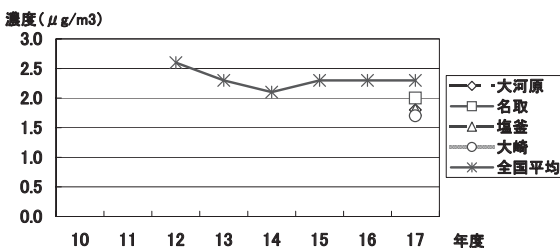


図 2-18 水銀濃度の年平均値の推移

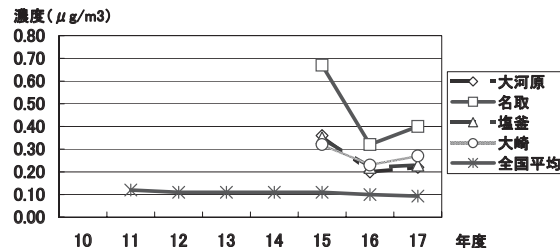


図 2-19 酸化エチレン濃度の年平均値の推移

からはずし解析を行った。大河原においては、アセトアルデヒド、ホルムアルデヒドで強い相関が見られたほか、ベンゼン、1,3-ブタジエン及びベンゾ[a]ピレンの間でやや強い相関があり自動車排出ガスの影響が大きいと考えられた。アルデヒド類については、名取と塩釜においてもやや強い相関が見られたが、大崎においては相関関

係がないことから他の3地点とは異なる発生要因が考えられた。ベンゼン、1,3-ブタジエン及びベンゾ[a]ピレンの関係については、大崎においてもやや強い相関が見られたが、道路及び近傍の石油燃焼施設の影響が考えられた。金属類については、名取と塩釜で金属間の弱い相関が見られた。

表 4-1 測定項目間の相関行列 (大河原)

* : 5%有意(>0.334)
** : 1%有意(>0.430)

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1 トリクロロエチレン	1																
2 テトラクロロエチレン	0.243	1															
3 ベンゼン	0.374*	0.539**	1														
4 シクロメタン	0.503**	0.424*		1													
5 アクリロニトリル	0.176	0.305	0.470**	0.313	1												
6 塩化ビニルモノマー	0.032	0.024	0.365*	-0.143	0.376*	1											
7 クロロホルム	0.019	0.375*	0.222	0.326	0.104	-0.140	1										
8 1,2ジクロロエタン	-0.196	0.246	0.018	0.249	0.308	0.158	0.438**	1									
9 1,3ブタジエン	0.487**	0.354*	0.746**	0.328	0.286	0.046	0.014	-0.275	1								
10 アセトアルデヒド	0.262	0.020	0.015	0.167	-0.005	0.176	0.185	0.097	0.030	1							
11 ホルムアルデヒド	0.213	0.048	-0.062	0.123	-0.141	0.046	0.269	0.119	-0.049	0.918**	1						
12 ベンゾ[a]ピレン	0.392*	0.217	0.554**	0.264	0.441**	0.152	0.043	-0.012	0.762**	-0.064	-0.111	1					
13 ニッケル	0.023	-0.069	-0.147	-0.048	-0.136	-0.067	0.246	0.314	-0.233	0.054	0.040	-0.091	1				
14 ヒ素	0.096	0.056	0.073	-0.025	0.093	0.359*	0.131	0.366*	0.051	0.132	0.046	0.306	0.458**	1			
15 マンガン	0.333	0.087	0.325	0.111	0.355*	0.317	-0.079	0.071	0.317	-0.031	-0.112	0.584**	0.266	0.555**	1		
16 クロム	0.242	0.052	0.214	0.225	0.158	-0.180	0.206	0.219	0.171	0.105	0.050	0.166	0.377*	0.270	0.151	1	
17 酸化エチレン	0.187	0.434**	0.269	0.539**	0.090	-0.081	0.287	0.040	0.254	0.215	0.115	0.110	0.022	-0.005	-0.119	0.179	1

表 4-2 測定項目間の相関行列 (名取)

* : 5%有意(>0.325)
** : 1%有意(>0.418)

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1 トリクロロエチレン	1																
2 テトラクロロエチレン	0.384*	1															
3 ベンゼン	0.587**	0.450**	1														
4 シクロメタン	-0.050	-0.103	-0.041	1													
5 アクリロニトリル	0.133	0.113	0.018	-0.178	1												
6 塩化ビニルモノマー	0.667**	0.108	0.351*	0.024	-0.088	1											
7 クロロホルム	-0.076	-0.044	0.122	0.158	-0.189	-0.215	1										
8 1,2ジクロロエタン	0.000	0.260	0.156	-0.279	0.070	0.027	-0.338*	1									
9 1,3ブタジエン	0.525**	0.442**	0.794**	-0.072	0.090	0.326*	-0.063	0.104	1								
10 アセトアルデヒド	0.483**	0.153	0.419**	-0.117	0.023	0.261	0.011	0.335*	0.366*	1							
11 ホルムアルデヒド	0.255	0.184	0.100	-0.198	0.212	0.016	-0.097	0.320	0.055	0.609**	1						
12 ベンゾ[a]ピレン	0.033	0.286	0.534**	-0.085	-0.016	0.021	-0.164	0.260	0.395*	0.085	-0.192	1					
13 ニッケル	0.199	0.027	0.053	0.353*	0.438**	0.021	-0.210	0.131	0.054	-0.010	-0.056	-0.111	1				
14 ヒ素	0.332*	0.235	0.393*	-0.025	-0.071	0.382*	-0.308	0.441**	0.173	0.366*	0.253	0.440**	0.096	1			
15 マンガン	0.200	-0.034	0.071	0.236	0.127	0.266	-0.273	0.191	-0.026	0.260	-0.076	0.082	0.638**	0.327*	1		
16 クロム	0.066	0.036	0.159	0.038	0.196	-0.125	-0.111	0.504**	-0.037	0.173	0.218	0.031	0.464**	0.413*	0.479**	1	
17 酸化エチレン	0.278	0.295	0.495**	-0.062	0.097	0.040	-0.053	0.080	0.465**	0.280	0.070	0.623**	-0.021	0.340*	-0.036	0.060	1

表 4-3 測定項目間の相関行列 (塩釜)

* : 5%有意(>0.325)
** : 1%有意(>0.418)

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1 トリクロロエチレン	1																
2 テトラクロロエチレン	0.246	1															
3 ベンゼン	0.182	0.681**	1														
4 シクロメタン	-0.194	-0.173	0.025	1													
5 アクリロニトリル	0.651**	-0.151	-0.072	-0.268	1												
6 塩化ビニルモノマー	0.476**	0.225	0.345*	0.010	0.286	1											
7 クロロホルム	-0.082	0.313	0.164	-0.129	-0.228	-0.057	1										
8 1,2ジクロロエタン	0.105	0.485**	0.128	-0.144	0.040	0.184	-0.038	1									
9 1,3ブタジエン	0.255	0.500**	0.745**	-0.030	-0.094	0.517**	0.126	0.094	1								
10 アセトアルデヒド	0.358*	0.420**	0.273	0.019	0.118	0.001	0.134	0.189	0.131	1							
11 ホルムアルデヒド	0.338*	0.431**	0.122	-0.215	0.025	0.001	0.044	0.344*	0.134	0.752**	1						
12 ベンゾ[a]ピレン	-0.031	0.625**	0.485**	-0.091	-0.169	0.104	0.006	0.492**	0.231	0.096	0.097	1					
13 ニッケル	0.124	0.414*	0.109	-0.103	-0.031	-0.157	-0.184	0.090	-0.125	0.204	0.219	0.338*	1				
14 ヒ素	0.041	0.619**	0.278	0.153	-0.247	0.130	0.007	0.506**	0.106	0.329*	0.248	0.552**	0.415*	1			
15 マンガン	-0.001	0.538**	0.114	-0.030	-0.326*	0.017	0.139	0.464**	0.024	0.080	0.250	0.563**	0.361*	0.687**	1		
16 クロム	0.034	0.518**	0.154	-0.201	-0.268	-0.111	0.035	0.197	0.040	0.238	0.300	0.462**	0.691**	0.535**	0.656**	1	
17 酸化エチレン	0.195	0.497**	0.438**	-0.069	0.163	0.012	-0.067	0.278	0.170	0.495**	0.435**	0.253	0.203	0.372*	0.201	0.274	1

表 4-4 測定項目間の相関行列 (大崎)

* : 5%有意(>0.325)
** : 1%有意(>0.418)

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1 トリクロロエチレン	1																
2 テトラクロロエチレン	0.261	1															
3 ベンゼン	0.136	0.265	1														
4 シクロメタン	0.028	0.102	0.421**	1													
5 アクリロニトリル	0.524**	0.004	0.028	0.050	1												
6 塩化ビニルモノマー	-0.051	-0.019	0.313	0.136	-0.099	1											
7 クロロホルム	0.011	0.064	0.354*	-0.023	-0.283	-0.113	1										
8 1,2ジクロロエタン	0.227	0.521**	-0.060	-0.255	-0.100	0.108	-0.027	1									
9 1,3ブタジエン	0.172	0.148	0.737**	0.400*	0.009	0.226	0.315	0.032	1								
10 アセトアルデヒド	0.371*	0.115	0.130	0.322	0.345*	-0.124	0.225	0.024	0.124	1							
11 ホルムアルデヒド	0.169	0.445**	0.239	-0.094	0.130	-0.065	-0.054	0.311	0.139	0.142	1						
12 ベンゾ[a]ピレン	0.066	0.362*	0.702**	0.221	-0.231	0.182	0.296	0.156	0.569**	-0.143	0.143	1					
13 ニッケル	0.184	0.104	0.135	0.209	-0.114	0.096	-0.148	0.190	0.041	-0.057	0.013	0.287	1				
14 ヒ素	0.046	0.182	0.360*	0.325*	0.087	0.195	-0.075	0.045	0.567**	0.011	0.249	0.507**	0.116	1			
15 マンガン	0.033	0.207	0.254	0.053	-0.014	0.410*	-0.035	0.363*	0.229	0.016	0.268	0.394*	0.292	0.432**	1		
16 クロム	0.206	0.233	0.212	-0.105	0.155	-0.069	-0.145	0.230	-0.022	0.127	0.461**	0.172	0.406*	0.069	0.485**	1	
17 酸化エチレン	0.263	0.352*	0.408*	0.123	0.382*	-0.202	0.222	-0.046	0.255	0.329*	0.204	0.164	-0.054	0.139	-0.005	0.162	1

表5 各地点における主成分の固定値，寄与率，累積寄与率

成分	大河原			名取			塩釜			大崎		
	固有値	寄与率(%)	累積寄与率	固有値	寄与率(%)	累積寄与率	固有値	寄与率(%)	累積寄与率	固有値	寄与率(%)	累積寄与率
主成分1	4.19	24.6	24.6	4.34	25.5	25.5	5.03	29.6	29.6	3.98	23.4	23.4
主成分2	2.53	14.9	39.5	2.50	14.7	40.2	2.58	15.2	44.8	2.36	13.9	37.3
主成分3	2.24	13.2	52.7	1.84	10.8	51.0	1.99	11.7	56.5	2.21	13.0	50.3
主成分4	1.76	10.3	63.0	1.68	9.9	60.9	1.47	8.6	65.1	1.56	9.2	59.5
主成分5	1.50	8.8	71.8	1.38	8.1	69.1	1.24	7.3	72.4	1.10	6.5	65.9
主成分6	0.85	5.0	76.8	1.24	7.3	76.3	1.11	6.6	79.0	1.07	6.3	72.2
主成分7	0.79	4.6	81.4	0.83	4.9	81.2	0.89	5.2	84.2	0.93	5.4	77.7
主成分8	0.73	4.3	85.7	0.72	4.2	85.5	0.68	4.0	88.2	0.87	5.1	82.8
主成分9	0.60	3.5	89.2	0.59	3.5	88.9	0.49	2.9	91.1	0.71	4.2	87.0
主成分10	0.46	2.7	91.9	0.49	2.9	91.8				0.60	3.5	90.5

表6 各地点における主成分負荷量

No.	大河原		名取		塩釜		大崎	
	主成分1	主成分2	主成分1	主成分2	主成分1	主成分2	主成分1	主成分2
1 トリクロロエチレン	0.608	0.010	0.701	-0.105	0.278	-0.726	0.345	-0.590
2 テトラクロロエチレン	0.596	-0.128	0.538	-0.231	0.911	-0.072	0.549	-0.314
3 ベンゼン	0.799	0.251	0.792	-0.353	0.595	-0.350	0.800	0.260
4 ジクロロメタン	0.619	-0.261	-0.130	0.207	-0.143	0.177	0.391	0.245
5 アクリロニトリル	0.593	0.180	0.178	0.339	-0.123	-0.687	0.109	-0.645
6 塩化ビニルモノマー	0.258	0.159	0.478	-0.070	0.210	-0.606	0.264	0.429
7 クロロホルム	0.328	-0.592	-0.261	-0.376	0.128	0.048	0.216	0.210
8 1,2-ジクロロエタン	0.205	-0.531	0.469	0.357	0.573	0.014	0.300	-0.274
9 1,3-ジブチレン	0.738	0.401	0.693	-0.405	0.404	-0.484	0.721	0.332
10 アセトアルデヒド	0.200	-0.638	0.636	0.017	0.533	-0.301	0.243	-0.472
11 ホルムアルデヒド	0.099	-0.685	0.354	0.132	0.555	-0.222	0.461	-0.420
12 ベンゾ[a]ピレン	0.737	0.388	0.514	-0.288	0.699	0.226	0.748	0.396
13 ニッケル	0.031	-0.459	0.223	0.725	0.509	0.314	0.326	0.019
14 ヒ素	0.347	-0.202	0.682	0.198	0.761	0.293	0.628	0.232
15 マンガン	0.538	0.247	0.340	0.700	0.680	0.461	0.574	0.068
16 クロム	0.372	-0.302	0.356	0.671	0.676	0.422	0.418	-0.428
17 酸化エチレン	0.433	-0.313	0.576	-0.329	0.588	-0.222	0.435	-0.397

3.3 主成分分析

調査地点ごとの特性を把握するため主成分分析を行い、各地点における固有値，寄与率を表5に、第2主成分までの負荷量を表6に示した⁶⁾。表5をみると第1主成分の寄与率は23.4%（大崎）～29.6%（塩釜）の範囲であり累積寄与率は各地点とも第5主成分までに70%前後に達していた。各主成分が少しずつ影響を与えており測定地点，季節的変動，物質の用途など多くの要因が係わっていると考えられた。次に表6をみると第1成分についてはほとんどの物質が正の符号であり，大河原ではベンゼン，1,3-ブタジエン，ジクロロメタン，トリクロロエチレン，テトラクロロエチレンのVOCsに加えベンゾ[a]ピレンとマンガンの負荷量が高かった。名取ではベンゼン，1,3-ブタジエン，トリクロロエチレン等のVOCsとヒ素の負荷量が高く，塩釜ではテトラクロロエチレン，ベンゾ[a]ピレンのほかに金属類の負荷量が高かった。大崎ではベンゼン，1,3-ブタジエン，ベンゾ[a]ピレンの負荷量が高かった。また第2主成分について，大河原では負の符号でアルデヒド類の負荷量が高く，名取では金属成分の負荷量が高かった。

4 まとめ

宮城県内における平成10年度から平成17年度までの有害大気汚染物質モニタリング事業の測定結果をまとめ、濃度分布，経年変化，地域特性等について概要を把握した。

- (1) 環境基準が設定されている4物質については，調査開始当初名取でベンゼンが環境基準を超える年度もあったが，近年はいずれも環境基準を下回っており横ばい傾向または減少傾向が見られた。
- (2) 指針値が設定されているVOCsについては，いずれの物質も指針値を下回っていたが，塩釜と大崎のアクリロニトリル，名取のクロロホルムで全国平均を上回る年度が見られた。また，地点によってはEPAの10⁻⁵リスク換算値を超える物質も見られた。
- (3) アルデヒド類，ベンゾ[a]ピレンについては，沿道の名取で全国平均を上回る年度が多く自動車排出ガスの影響が考えられた。
- (4) 金属類については，大崎のニッケルで全国平均を上回る年度が見られたが，ほとんどは全国平均以下であった。しかし，クロムのようにすべての地点でEPAの10⁻⁵リスク換算値を超える物質も見られた。
- (5) 酸化エチレンについては，いずれの地点においても全国平均を上回っていた。
- (6) 測定項目間の相関関係は，自動車排出ガスの影響が考えられる物質間についてやや強い相関が見られた。

参考文献

- 1) 木戸一博他：宮城県保健環境センター年報，19，108（2001）
- 2) 環境庁大気保全局大気規制課：有害大気汚染物質測定方法マニュアル，平成9年2月（1997）
- 3) 環境庁大気保全局大気規制課：有害大気汚染物質測定方法マニュアル，平成9年8月（1997）
- 4) 環境庁大気保全局大気規制課：有害大気汚染物質測定方法マニュアル，平成11年3月（1999）
- 5) 環境省：環境省ホームページ，有害大気汚染物質物質モニタリング調査結果，<http://www.env.go.jp/air/osen/monitoring/>
- 6) 早狩進：Excelアドイン工房，<http://www.jomon.ne.jp/~hayakari/>

ディーゼル発電施設排ガス実態調査及び環境影響調査

An Investigation into the Actual Condition of Diesel Dynamo Exhaust and an Environmental Influence Survey

小泉 俊一 佐久間 隆 北村 洋子
 木戸 一博 木立 博 高橋 誠幸
 仁平 明 小室 健一 高橋 正人*¹
 中村 栄一 加賀谷秀樹

Syun-ichi KOIZUMI, Takashi SAKUMA, Yoko KITAMURA
 Kazuhiro KIDO, Hiroshi KITATI, Seikou TAKAHASHI
 Akira NIDAIWA, Kennichi KOMURO, Masato TAKAHASHI
 Eiichi NAKAMURA, Hideki KAGAYA

県内の16のディーゼル発電施設の排ガスを調査したところ窒素酸化物濃度は630から1,200ppmでありボイラ等の燃焼施設に比べ格段に高く、現行の排出基準を超える施設があった。また、3施設の周辺で環境影響調査を実施したところ、煙突高が低い施設では窒素酸化物の局地汚染が発生している事例が確認された。

キーワード：ディーゼル発電；窒素酸化物；環境影響

Key words : Diesel Dynamo ; Nitrogen Oxide ; Environmental Influence

1 はじめに

コージェネレーションシステム等の分散型電源の普及に伴い、自家発電用のディーゼル機関の設置が増えているが、窒素酸化物の排出基準が他のばい煙発生施設に比べ著しく緩く、また排出口が低い位置にあることが多いことから、環境への影響が懸念される。そこで平成16年度から3カ年に亘りディーゼル機関の排出実態及び環境影響調査を実施したのでその結果について報告する。

2 調査方法

(1) 煙道排ガス測定

自家発電用のディーゼル発電施設の排ガスについて煙道測定を実施した。測定方法はJIS Z8808, K0104により排ガス温度、排ガス流量、NO_x濃度、酸素濃度の4項目を測定した。

(2) 環境影響調査

平成16年度はS町のS工場周辺、平成17年度はM町のT会社K工場周辺、平成18年度はK市のK病院周辺で約1ヶ月間連続測定を実施した。ディーゼル発電施設排ガスの環境への影響を把握するため、風下方向に移動測定車及びNO_x計を設置し、二酸化窒素(NO₂)等の環境影響について解析した。

3 調査結果

(1) 煙道排ガス測定結果

16施設の排ガスの状況を調査した結果を表1に示す。NO_x濃度の酸素濃度で補正した値は630から1,200ppm

であり、内5施設は現行の排出基準値である950ppmを超える高濃度の排ガスであった。

排ガス温度は、熱回収を実施しているK病院以外は400度付近に集中し、高熱量排ガスとなっている。また、煙突高は20mを超えるものもあるが、殆どが6m程度であり、ボイラなどの他の燃焼施設に比べ低い施設が多く拡散による希釈効果があまり期待できないことから、気象条件によっては周辺に局地汚染を生じさせるおそれと考えられた。

(2) 環境影響調査結果

イ S町S会社東北工場周辺(平成16年度調査)

S会社東北工場には496Kwの発電施設が2基設置されており、周辺にはこの他にNO_xの大きな発生源はない。平成17年2月に風下方向100m, 200m, 450m地点で、約1ヶ月間NO₂等の環境測定を実施したところ、200m地点ではNO₂の日平均値の最大が0.038ppmに達し、環境基準のゾーン下限値に迫る高い汚染状況が観測された。

表1 煙道排ガス測定結果

	事業所名	規模	温度	排ガス量	煙突高	NO _x (補正值)
		Kw	°C	Nm ³ /H	m	ppm
1	T産業仙台工場	535	410	1000	4.6	800
2	M中核病院	390	400	1800	20.8	880
3	S東北工場	496	340	2000	8	1100
4	L仙台ファクトリー	390	380	3300	4.5	770
5	小牛田工場	537	410	3100	5.7	680
6	T村田工場	1250	410	3700	12	630
7	S製線	536	430	2300	5.6	650
8	T丸森工場	537	370	1100	4.6	930
9	I柴田	300	440	950	5.5	1200
10	S白石	248	420	980	6	990
11	K中央病院	400	240	1600	25.3	770
12	K工業	495	400	980	4.7	720
13	KS大河原工場	499	400	1500	7.9	670
14	Y造船	280	410	1500	5	1000
15	T富谷工場	535	410	2500	4.6	710
16	T水産	250	340	1000	6	1100

* 1 現 原子力センター

□ M町T会社K工場周辺（平成17年度調査）

T会社K工場には537Kwの発電施設が4基設置されており、南側に国道が通じている。測定地点は道路からの影響の少ない地点を選定し、発電施設の影響を観測した。平成18年1月から2月にかけて、風下方向100m、200m、300m地点で約1ヶ月間NO₂等の環境測定を実施したところ、NO₂については、100m地点で日平均値が0.016ppmから0.077ppmの間であり、観測日数25日の内21日間は環境基準のゾーン下限値である0.04ppmを超過し、10日間は上限値である0.06ppmを超過していた。

ハ K市K病院周辺（平成18年度調査）

K病院には400Kwの発電施設が2基設置されており、北側には国道が通じている。平成18年7月から8月にかけて、K病院と国道の間の270m、500m地点で約1ヶ月間NO₂等の環境測定を実施した。

各観測地点とも同様な変動を示し、270m地点が最も濃度が高くNO₂は0～0.03ppmの範囲で変動しNO₂の日平均値の最高は0.013ppmであり、環境基準の下限値である0.04ppmを大きく下回った。これは施設の排出NO_x濃度が730ppmであるにもかかわらず煙突高さが25.3mあることもあり、拡散による希釈効果が十分に働いて周辺に高濃度域を生じさせなかったものと考えられる。

4 高濃度が観測されたM町の事例の考察

平成17年度に実施したM町T会社K工場周辺の環境調査では、発電施設の設置基数が4台と多いこともあり、風下100m地点では環境基準のゾーン上限値を超過するほどの局地汚染が観測された。

(1) 対象工場とモニタリング地点の概要

発生源とモニタリング位置については図1、発電施設の概観については図2に示す。

(2) 調査期間の気象状況

平成18年1月13日から2月22日まで調査を実施した。期間中の風向は図3に示すようにWNW、W、NWが多く発電施設から観測地点方向への風が非常に多い気象状況であった。

(3) 窒素酸化物モニタリング結果

風向別NO_x平均濃度を図4に示すが、W及びWNWの風の時に特異的に高く、発電施設の影響が強く表われている。

次にWNW時の風速別NO_x濃度平均値を図5に、NO_x濃度最大値を図6に、時間帯別NO_x濃度平均値を7に示す。

NO_x濃度は風速7～8m/sec時に平均濃度500ppb、最大濃度850ppb程度であった。時間帯別NO_x濃度は9時～21時頃まで高く夜間はかなり低くなっている。これは発電施設の稼働状況に一致しており昼間のNO_x濃度は500ppb近くまで上昇していた。また、施設がフル稼働している平日（月～金曜日）の9時～17時で、風向WNW、風速6m/sec時の平均濃度を図8に示すが、

100m地点では519ppb、200m地点では165ppb、300m地点では119ppbであった。



図1 発生源とモニタリング位置



図2 発電施設の概観

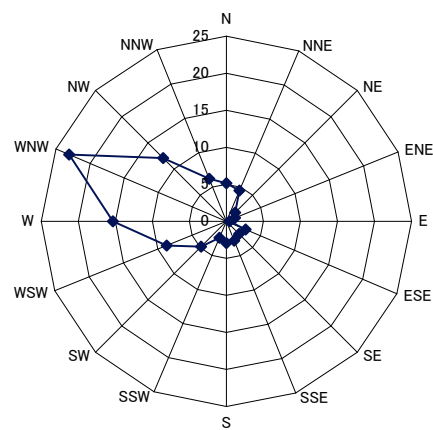


図3 風配図

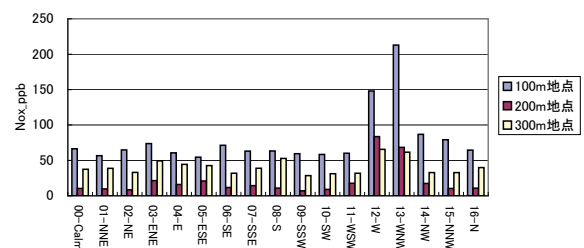


図4 風向別NO_x濃度

(4) 環境における高濃度出現の要因

環境における高濃度出現の要因を解析するため Meti-Lis (経済産業省-低煙源工場拡散モデル) を用いた。風向 NWN, 風速 6m/sec, 防音壁高さ 8m とし, ダウンドラフトを考慮した拡散計算を実施したところ, Nox 濃度は 100m 地点で 500ppb 強, 200m 地点で 200ppb 強, 300m 地点で 100ppb 弱であり図 8 の現象に近い結果が得られた。

そこで全観測期間についてダウンドラフト効果を考慮したモデルの推定値と実測値を比較したところ (図 9), 実測値と推定値が良い対応を示しており, 環境での NO_x 高濃度は防音壁によるダウンドラフト効果によるものと考えられた。また, 冬季に出現する高濃度範囲を推定した結果を

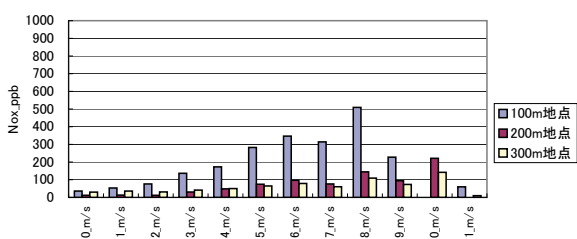


図 5 WNW 時の風速別 Nox 濃度 (平均値)

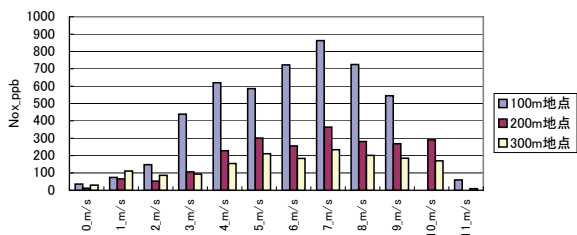


図 6 WNW 時の風速別 Nox 濃度 (最大値)

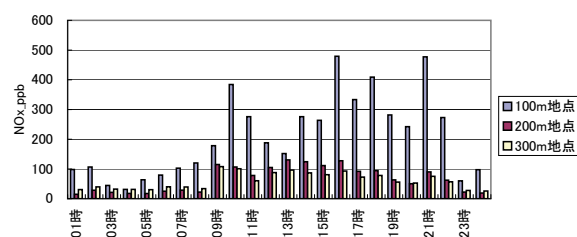


図 7 WNW 時の時間帯別 Nox 濃度 平均値

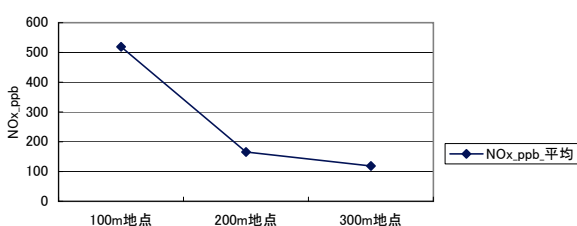


図 8 2006 年冬季 操業時間帯の NOx 濃度 平日 (月~金) の9時~17時, 風向 WNW 時で風速 6m/s

図 10 に示すが高濃度の出現する範囲は風下 400m まで及んでいた。

さらに今回観測した気象データと近くのアメダスの観測結果を比較したところ, ほぼ同様の変動を示していることを確認できたので, アメダスの気象データを用い 1 年間の汚染状況について推定したところ (図 11), 高濃度の出現する範囲は風下 200m となっている。

5 まとめ

(1) 煙道排ガスの状況

平成 18 年度の宮城県環境白書によれば, 平成 17 年度末のディーゼル機関の届け出施設数は 598 施設であり, ボイラに次いで 2 番目に多い施設となっている。今回測定した 16 施設では, 実態把握に十分な数とはいえないが, 発電能力が 248Kw から 1250Kw まで幅広く調査できたものとする。煙道排ガス中の NO_x 濃度は, 630 から 1200ppm であり, ボイラなどの燃焼排ガスでは, 100ppm 台もしくはそれ以下であるのに比し, ディーゼル発電施設排ガスの NO_x 濃度は桁外れに高いといえる。

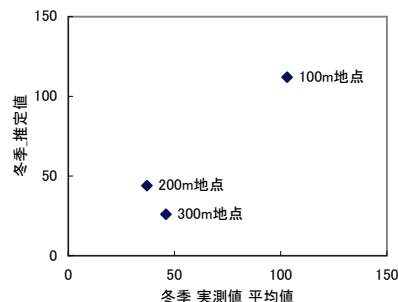


図 9 冬季 実測平均値と推定値

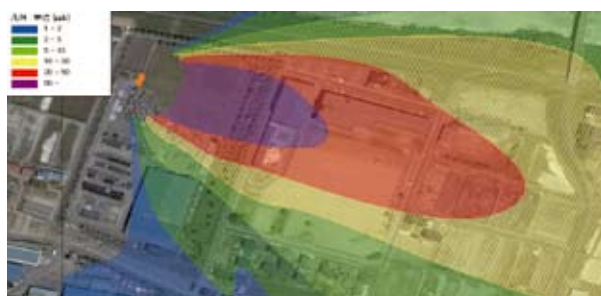


図 10 冬季における NOx 拡散状況の推定

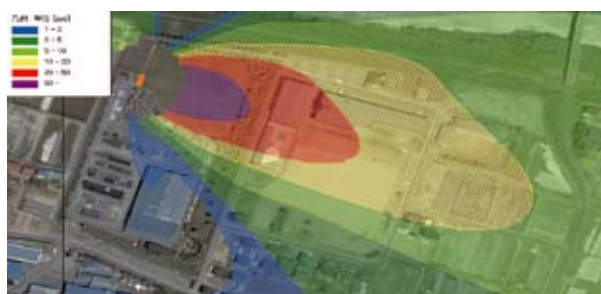


図 11 全年の NOx 拡散状況の推定

(2) 環境影響の状況

煙突高が8m, 6m, 25mの3施設の周辺で環境測定を実施したところ, 8m, 6mの低い煙突の施設周辺では, 高濃度のNO_xが観測された。特にM町のT会社K工場周辺の解析結果では, 防音壁によるダウンドラフト効果に起因すると推定される環境基準のゾーン上限値を超過するほどの局地汚染が観測された。

(3) 環境影響の範囲

Meti-Lis (経済産業省一低煙源工場拡散モデル) を用いNO_xの拡散状況について推定した。M町の例では防音壁によるダウンドラフト効果に起因する特異的な事例ともいえるが, 風下200m若しくは400mまで高濃度域が形成されていた。

発電施設の設置は大型のスーパーなどでよく見られる

ことであり, また, 住宅地付近では防音壁の設置もよくあることではないかと考えられることから, 数100m範囲の高濃度域形成事象は何らかの対応策が必要と考える。

参考文献

- 1) 河内昭紀, 岡林一木, 山本晋, 吉門洋, 小泉正明, 岡本真一, 小林恵三, 小野憲仁: 低煙源工場拡散モデル(METI-LIS Model)の開発, 環境管理(Environmental management), Vol.37, No.12 (2001/12) pp. 1154 ~ 1164, 産業環境管理協会 ISSN:13402552
- 2) 吉門洋; 東野晴行; 高井淳; 米澤義堯: 有害大気汚染物質高排出地域のモデル解析, 大気環境学会誌 41 (3), 164-174, 20060510 (ISSN 13414178) (大気環境学会/社団法人大気環境学会)

バイオアッセイ手法の水環境水への適用と事業場排水調査事例について

Application of Bioassay for Environmental Water and Case Study of Examination Wastewater

阿部 郁子 大金 仁一 阿部 公恵*¹
高橋紀世子 栗野 健 佐々木久雄
嵯峨 京時*²

Ikuko ABE, Jin-ichi OGANE, Kimie ABE
Kiseko TAKAHASHI, Takeshi AWANO, Hisao SASAKI
Kyouji SAGA

異種生物の遺伝子組込酵母を用い、酵母 Two-Hybrid アッセイ法（以下「酵母 Two-Hybrid 法」と略す）を県内河川に適用したところ特異的な反応を示した河川がみられた。詳細調査を行ったところ、原因は流域に立地する事業場排水によることが判明した。このため事業場の協力を得て原因工程究明の調査を行ったところ、エストロゲン様活性の原因は、溶解炉に係わる排脱洗煙廃水及び炉関係廃水による事が判明した。またエストロゲン様活性の低減化を目的に塩素添加実験および活性炭処理実験を行ったところ、この手法が低減化に有効であることが判った。今回の調査研究により酵母 Two-Hybrid 法が内分泌攪乱様物質のスクリーニング手法として有効であることが判った。また内分泌かく乱化学物質を直接使用していない事業場であっても、溶解炉等の燃焼・加熱施設を有する場合には内分泌かく乱様物質が排出される可能性があることが判明した。

キーワード：酵母 Two-Hybrid アッセイ法；内分泌かく乱化学物質；遺伝子組込酵母；エストロゲン様活性

Key words : yeast two-hybrid assay system ; endocrine disrupting chemicals ; gene recombinant yeast ; estrogenic activities

1 はじめに

内分泌かく乱作用を有する化学物質による環境や生物への影響が大きな問題になっているが、その汚染実態や生態系に対する影響等は未解明な部分が多い。近年それらの検索にバイオアッセイを利用して総合的に評価する方法が様々な検討されている。我々はヒト、メダカ、ツチガエルという生物種の異なる受容体遺伝子組込酵母を用い、酵母 Two-Hybrid 法により環境調査および事業場排水調査を行ったので報告する。

2 方法

2.1 試薬

2.1.1 標準試薬

17 β -エストラジオール（以下 E2：和光純薬）、4-ノニルフェノール（同 NP：関東化学）、4-オクチルフェノール（同 OP：関東化学）

2.1.2 使用試薬等

Dimethyl Sulfoxide（同 DMSO：CALBOIOCHEM）、ジクロロメタン（残留農薬・PCB 分析用：和光純薬）、アセトン（残留農薬・PCB 分析用：関東化学）、メタノール（残留農薬・PCB 分析用：関東化学）、酢酸エチル（残留農薬分析用：和光純薬）、次亜塩素酸ナトリウム溶液（鹿 1 級：関東化学）、粉末活性炭（水道用：含水率 50%）、固相カートリッジ（Sep-Pak t C18）

2.2 試料の前処理操作の検討

水試料の環境ホルモン様活性をバイオアッセイで測定するには、前処理操作が必要である。同一水系において環境ホルモン様作用を調査する際は、同時期に採水・処理することが必要であり、複数検体を効率的に処理することが望まれる。我々は白石ら¹⁾の方法を参考に、複数検体を迅速処理すべく検討を行った。固相カートリッジと固相抽出用マニホールドを用いることにより固相の活性化、試料濃縮、乾燥、溶出の一連の操作の半自動化を試み、操作時間の短縮を図った。また環境ホルモン作用の疑われている物質は有機化合物がほとんどであり、対象とされる物質を効率的に抽出すべく、抽出溶媒についても検討を行った。検討した溶媒の抽出条件を表 1 に示す。

表 1 抽出溶媒とコンディショニング方法

溶出溶媒	洗浄・コンディショニング
アセトン	アセトン 5ml, ミリ Q 水 10ml
ジクロロメタン	メタノール 5ml, ジクロロメタン 5ml, メタノール 5ml, ミリ Q 水 10ml
メタノール	メタノール 5ml, ミリ Q 水 10ml
酢酸エチル：メタノール (1：1)	メタノール：酢酸エチル (1+1) 5ml, メタノール 5ml, ミリ Q 水 10ml
酢酸エチル＋アセトン (1＋1)	アセトン 5ml, 酢酸エチル 5ml, メタノール 5ml, ミリ Q 水 10ml

2.3 添加回収試験

今回検討した前処理操作の確認を行うため、DMSO に溶解した E2 (200nM)、NP (200 μ M)、OP (100 μ M) の各標準物質、及びミリ Q 水 500ml に E2 (200nM)、NP (200 μ M)、OP (100 μ M) の溶液をそれぞれ 50 μ l 添加し

* 1 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所

* 2 現 共和コンクリート工業株式会社

表2 抽出溶媒の回収率

	n=3		
	E2 回収率	NP 回収率	OP 回収率
アセトン	89.1	25.9	34.1
ジクロロメタン	90.8	68.6	115.9
メタノール	91.7	43.5	49.6
酢酸エチル：メタノール	81.0	33.5	32.1
酢酸エチル+アセトン	76.1	66.8	63.4

前処理操作を行ったものを酵母 Tow-Hybrid 法で測定をした。各標準物質の抽出溶媒ごとの回収率は表2に示すようにE2で5種すべての有機溶媒において76.1～91.7% (n=3)と良好であった。しかしNP、OPでは抽出溶媒により回収率に差がみられた。E2、NP、OPの3化学物質すべてに良好な回収率が得られたのはジクロロメタンであった。アセトン抽出では水溶性の高い物質についても幅広く溶出されてしまうことや、メタノールを用いる際、抽出後の乾固に時間がかかること等を加味し、今後の操作にはジクロロメタンを用いることとした。今回行った試料の前処理操作法の概略を図1に示す。固相カートリッジと固相抽出用マニホールドを用いることにより試料ごとに行っていた固相の活性化、試料濃縮、乾燥、溶出の一連処理操作を同時に行うことが可能となり、複数検体を効率的に処理し、時間の短縮、処理方法の簡便化が図られた。

2.4 酵母 Tow-Hybrid 法

国立環境研究所の白石ら¹⁾の方法に準じて行った。供試菌株は、2002年度および2004年度に国立環境研究所より分与された生物種(ヒト h ER a, メダカ m ER a, ツチガエル frER a)のエストロゲン受容体 a 遺伝子組込酵母を用いた。活性の判定については、各試料の希釈濃度ごとの化学発光強度(CLN)の平均値(T)とDMSO発光強度の平均(B)から化学発光強度比(T/B)を算定し、濃度に依存した発光比の増加がみられ、最大発光比が4以上を示すものをアゴニスト作用陽性とした。また回帰式からT/Bを10倍誘導する濃度(ECX10値)を求め指

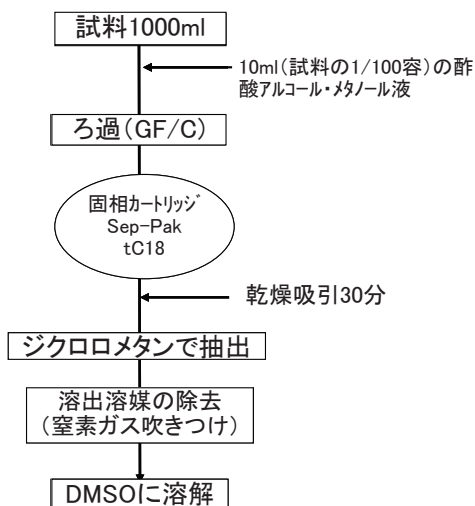


図1 水試料の前処理操作方法

標とした。また試料に含まれる化学物質の酵母への毒性作用を評価するため、酵母 YTOX 株を用いた毒性試験を行った。毒性によるβ-ガラクトシダーゼの抑制が40%以上みられ、量-反応関係が認められる場合を毒性として、試料の50%抑制濃縮率(IC50)を回帰直線式より求め毒性の指標とした。また標準物質のエストロゲン様活性を確認したところ、E2に比べNP、OPともに約1000分の1の活性であり文献値と比較しても大きな差はなく妥当な値が得られた。

2.5 環境調査

2.5.1 調査期間

2003年に宮城県内の中小河川19地点を調査したところ、鉛川においては上流部に生活排水などの流入が少ないにもかかわらずエストロゲン様活性が高い結果が得られている²⁾。そこで鉛川流域に絞り2004年12月から2005年10月に環境調査を行った。

2.5.2 調査地点

河川上流部より地点Aから地点Fの6地点のほか、河川に排出している事業場排水、事業場関連の排水が流入している支川及び対照地点等の計10カ所である(図2)。なお採水にはガラス製ガロン瓶を用いた。

2.6 事業場調査

環境調査の結果より事業場からの影響が想定されたため、2005年12月及び2006年8月には流域に立地する事業場の場内について工程調査を行った。事業場内の排水処理経路の概略を図3に示す。排水系統は大きく分けて6系統で、凝集沈殿および砂ろ過を用いて処理を行っている。今回はエストロゲン様活性の低減化を目指し、

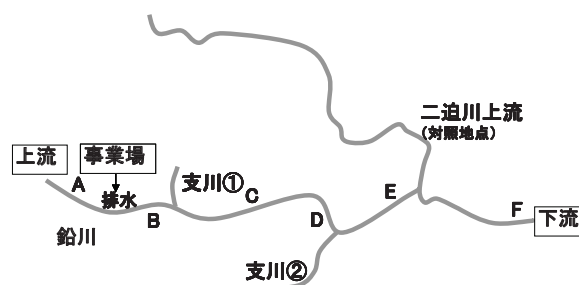


図2 調査地点の概要

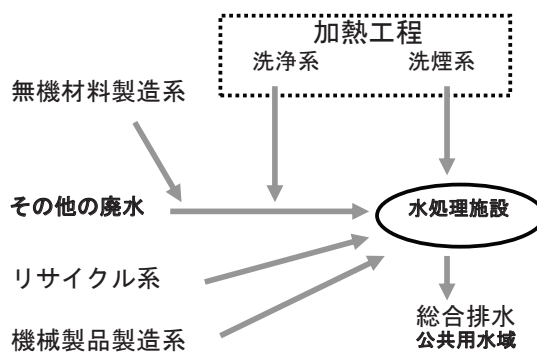


図3 事業場の排水処理系統の概略図

塩素添加実験及び活性炭処理実験を行った。

2.7 エストロゲン様活性の低減化実験

2.7.1 塩素添加実験

凝集沈殿・砂ろ過を用いる一般的な浄水処理においては、エストロゲン様活性の十分な不活性化が望めず、塩素処理を行うことにより活性が低下すると報じられている³⁾。このため採取試料に段階的に次亜塩素酸ナトリウムを添加することで有効塩素濃度を変化させ、エストロゲン様活性の変化を調べた。実験方法を次に示す(図4)。

2.7.2 活性炭処理実験

活性炭処理は活性炭が持つ吸着特性から水道水の異臭味除去を始め農薬等の微量有害物質の除去に広く用いられている。このため今回はエストロゲン様活性を持つ試料を対象に、粉末活性炭懸濁液を段階的に添加して濃度を変化させ、その有効性について調査を行った。実験方法を次に示す(図5)。

3 結果および考察

3.1 環境調査

2004年12月の4地点(地点B, C, D, E)における調査結果を表3に示す。-S9試験で佐野橋(地点B)から久保橋(地点E)の中流域でヒト、メダカのエストロゲン受容体遺伝子組換え酵母を使用した際、全ての地点で活性がみられた。ツチガエルにおいては藤沢橋(地点D)ではN.D.を示したものの、残りの地点では活性が認められた。種別で特に活性が高かったのはメダカで、以下ヒト、ツチガエルの順であった。メダカ試験系はヒト試験系に比べエストラジオール関連物質に対する感受性が

低く、アルキルフェノール類に対しては高い感受性を示すとの報告⁴⁾があり、調査結果より試料中の主たるエストロゲン様活性が工業系化学物質によるものと推測された。活性は上流の佐野橋がもっとも高く、流下に伴い低下したが、久保橋で再び軽度上昇した。佐野橋および久保橋付近あるいはその上流域に活性をもたらす要因があると推察された。また酵母 YTOX 株を用いた毒性試験を行ったところ、-S9試験では毒性は認められなかったが、+S9試験では毒性が認められた。このため見かけ上各地点において+S9試験で活性が低くなっているが、代謝による低下なのか毒性によるものなのかは判断が難しい結果となった。この結果をふまえ、それ以降の環境調査は-S9試験のみとし、メダカのエストロゲン受容体遺伝子組換え酵母を用いることとした。

2005年6月, 8月, 10月の調査結果を表4に示す。この調査からは流域に立地する事業場排水も調査対象に加えた。上流から下流に行くにつれ活性は低下し、事業場に関連する支川(支川②)の流入によりやや上昇が見られた。6月と10月の調査では事業場排水、及び事業場に関連する支川からの影響が示唆される結果となり、2回の調査で同じ傾向を示していた。一方8月の調査では全体的に活性が低い結果となったのは、この調査の前後において事業場の加熱工程が点検のため停止していた事が後日判明した。なお事業場正門前、および柳沢(五輪原橋の上流部に位置する支川)、新橋(対照とした合流河川の上流部)からは活性が認められなかった。このことから鉛川におけるエストロゲン様活性の原因は流域に立地している事業場排水であることが判った。

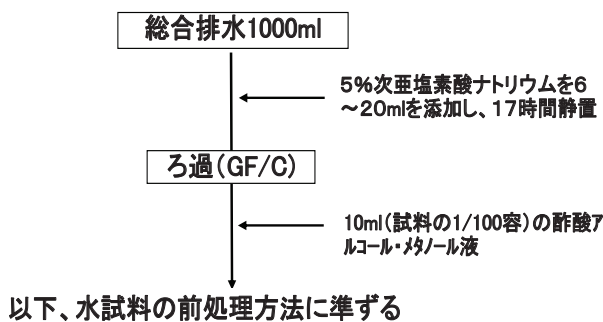


図4 総合排水への塩素添加実験の方法

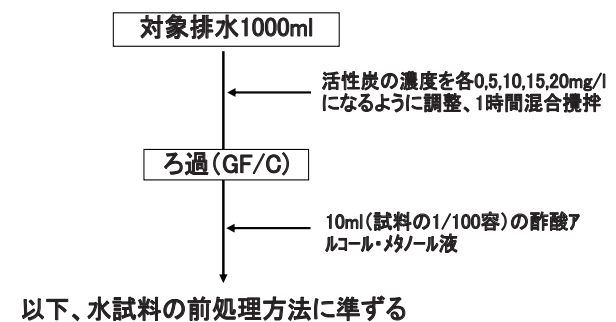


図5 活性炭処理実験の方法

表3 鉛川流域の測定結果(2004年12月)

	hER(-S9)	hER(+S9)	mER(-S9)	mER(+S9)	frER(-S9)	frER(+S9)	YTOX(-S9)	YTOX(+S9)
	ppt	as E2	ppt	as E2	ppt	as E2	IC50(C.R.)	
佐野橋 地点B	0.8	1.0	25	14	0.4	0.7	毒性認めず	8.5
五輪原橋 地点C	0.4	N.D.	9.2	N.D.	0.2	N.D.	毒性認めず	9.2
藤沢橋 地点D	0.3	N.D.	6.0	N.D.	N.D.	N.D.	毒性認めず	10.4
久保橋 地点E	0.6	N.D.	12	3.1	0.4	N.D.	毒性認めず	10.1

表4 鉛川流域の測定結果 (2005年6~10月)

地点	地図上の地点	mER (ppt as E2)		
		2005年6月	2005年8月	2005年10月
事業場正門前	A	N.D.	N.D.	N.D.
事業場総合排水	工場排水	86	3.5	68
佐野橋	B	53	2.7	27
柳沢	支川①	N.D.	N.D.	N.D.
五輪原橋	C	19	N.D.	15
藤沢橋	D	9.9	N.D.	6.3
藤沢捨石堆石場	支川②	27	N.D.	20
久保橋	E	11	N.D.	13
豊後橋	F	-	N.D.	2.4
新橋	対照地点	-	N.D.	N.D.

表5 事業場内系統別エストロゲン様活性の測定結果(2005年12月)

調査地点		hER(-S9)	mER(-S9)
		ppt as E2	ppt as E2
加熱工程	洗浄系	13	270
	洗煙系	15	250
無機材料製造系		N.D.	N.D.
リサイクル系		0.3	7.3
機械製品製造系		N.D.	N.D.
その他		N.D.	N.D.
総合排水		1.6	36

表6 機器分析によるアルキルフェノール類の測定結果

項目	測定地点		魚類への予測無影響濃度 ^{5)~7)}
	単位:ppb		
	洗煙系廃水 2006.8	事業場排水 2006.10	
4-tert-ブチルフェノール	30	0.69	-
4-tert-オクチルフェノール	0.58	0.01	0.992
ニルフェノール	5.2	0.30	0.608
ビスフェノールA	1.3	0.21	24.7、47

また鉛川における事業場排水が占める平均割合を、年4回の流量調査から算出したものを図6に示す。事業場排水の直後の地点である佐野橋(地点B)では流量全体の74%を事業場排水が占めていた。下流に従い河川全体に占める事業場排水の割合は下がるが、調査地点の最下流域の豊後橋(地点F)でも23%と全体の約4分の1を占めており、事業場排水が河川全体に大きく影響していることが判る。

3.2 事業場調査

環境試料の調査結果から事業場排水からの影響が示唆されたため、原因工程を究明すべく、2005年12月に場内の排水系統を系統別に調査した。系統別のエストロゲン様活性の測定結果を表5に示す。E2換算したエストロゲン様活性は加熱工程で高値を示した。他の系統については排水経路内の循環水の影響があるものの、殆ど活性がみられなかった。また総合排水水におけるエストロゲン様活性の推移を図7に示す。2005年8月の値が低いのは加熱工程が停止していた時期と一致しており、系統別の測定結果とも合致する。これらのことからエストロゲン様活性の原因は、溶解炉に係わる排脱洗煙廃水及び炉関係廃水による事が判る。原因物質特定のため、洗煙系廃水及び事業場排水を対象に機器分析を行った結果を表6に示す。事業場排水についてはいずれの項目も

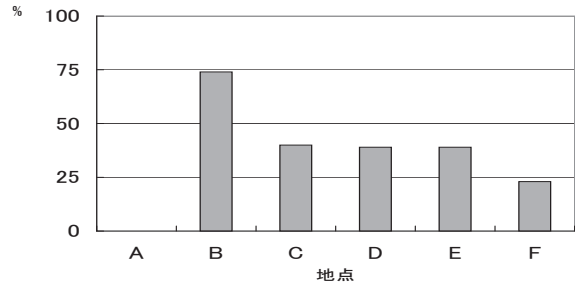


図6 鉛川における事業場排水が占める平均割合

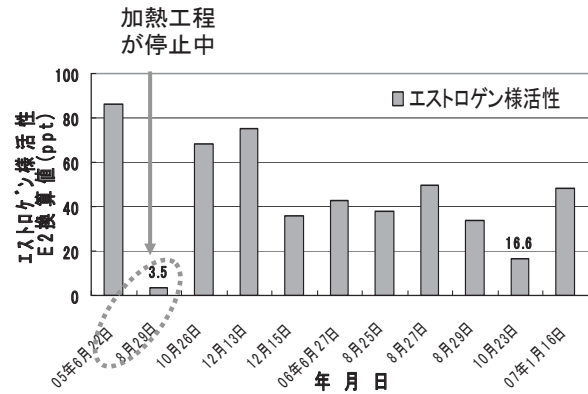


図7 総合排水水におけるエストロゲン様活性の推移

魚類への予測無影響濃度には達しておらず原因物質の特定には至っていない。

3.3 エストロゲン様活性の低減化実験

3.3.1 塩素添加実験

事業場排水に次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加・混合し、17時間静置後にエストロゲン様活性を測定したところ、有効塩素濃度が高い試料ほど活性が低下することが判った。この実験は同一試料について2回行い、その結果を表7に示すと共に、2回の実験結果をまとめて図8に示す。この事から塩素添加がエストロゲン様活性の低減化に有効であることが判った。

3.3.2 活性炭処理実験

酵母ツーハイブリッド法でエストロゲン様活性が認められた事業所の工程水及び総合排水に対し、活性炭濃度が15~20mg/lになるよう粉末活性炭懸濁液を段階的に添加し、スターラーで1時間攪拌・混合した後にガラスフィルター(GF/C)を用いてろ過し、エストロゲン様活性を調べた。その結果を表8及び図9に示す。

洗煙系及び総合排水水ともに活性炭濃度が高くなるほどエストロゲン様活性が低下し、試験液の活性炭濃度が20mg/lにおける除去率は97%程度に至っている。これらの結果をエストロゲン様活性濃度(E2換算)と活性炭添加量として両対数グラフに表すと、ほぼ直線的な除去特性を示した(図10)。この事から活性炭処理がエストロゲン様活性の低減化に有効であることが判った。

表7 総合排水への塩素添加実験の結果

1回目		2回目	
有効塩素濃度 (mg/l)	エストロゲン様活性 (ppt as E2)	有効塩素濃度 (mg/l)	エストロゲン様活性 (ppt as E2)
0	36	0	30
6.1	8	3.66	25
12.2	ND	7.32	ND
		12.2	ND

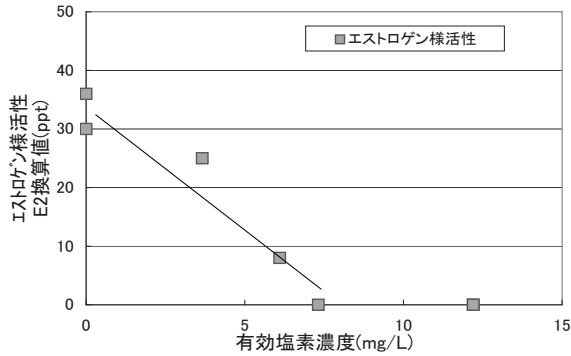


図8 総合排水への塩素添加実験の結果

4 まとめ

酵母ツーハイブリット法が内分泌攪乱様物質のスクリーニング手法として有効であることが判った。また内分泌かく乱化学物質を直接使用していない事業場であっても、溶解炉等の燃焼・加熱施設を有する場合には内分泌かく乱様物質が排出される可能性があることが判明した。今回の事例におけるエストロゲン様活性の低減化には塩素処理および活性炭処理が有効であることが判った。しかしながら鉛川でエストロゲン様活性を示した原因物質の特定には至っておらず、国立環境研究所と共同で物質の特定に取り組んでいる。

参考文献

- 1) 白石不二雄, 白石寛明, 西川淳一, 西原力, 森田昌敏: 環境化学, 10, 57-64 (2000)
- 2) 三沢松子, 名村真由美, 千葉美子, 阿部公恵, 大庭和彦: 宮城県保健環境センター年報, 22, 123-129 (2004)
- 3) 鎌田素之, 眞柄泰基: 用水と廃水, Vol.44 No.1, 28-33 (2002)

表8 活性炭処理実験の結果

単位: ppt as E2

活性炭濃度 (mg/l)	ケース1	ケース2	ケース3	ケース4
	洗煙系	洗煙系を希釈	総合排出水	総合排出水
0	500	140	69	16
5	200	88	44	N.D.
10	110	45	N.D.	N.D.
15	38	23	N.D.	N.D.
20	13	9	N.D.	N.D.

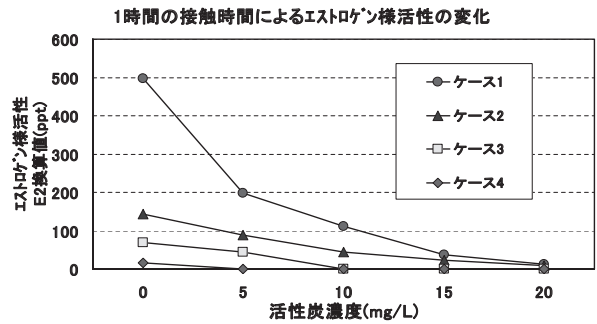


図9 活性炭処理実験の結果

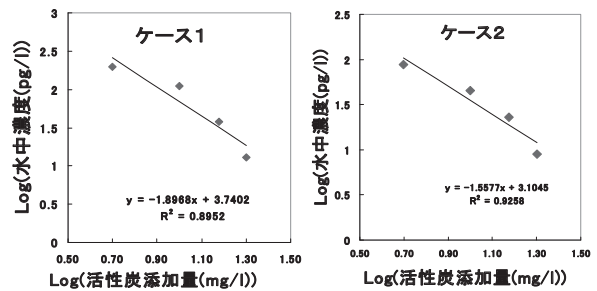


図10 エストロゲン様活性の活性炭による除去特性

- 4) 白石不二雄, 白石寛明, 西川智浩, 西川淳一, 丸尾直子, 森田昌敏: 第12回環境化学討論会, 58-59 (2003)
- 5) 環境省平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会, 資料5 (2002)
- 6) 環境省平成13年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会, 資料2-2 (2001)
- 7) 環境省平成16年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会, 資料5-2 (2004)

伊豆沼・内沼湖畔試験池の水生植物の栄養塩吸収

The Study on Nutrient Absorption by Aquatic Plants in an Experimental Pond nearby Izunuma & Uchinuma

渡部 正弘 大金 仁一 小山 孝昭
栗野 健 佐々木久雄

Masahiro WATANABE, Jin-ichi OGANE, Takaaki KOYAMA
Takeshi AWANO, Hisao SASAKI

県北部に位置する伊豆沼・内沼はラムサール条約の登録湿地になっている。沼の面積は約3.9km²あるが最大水深が約1.4mと浅い。これまで水質浄化対策はいくつか提案されているが、環境省が公表した「CODでみた湖沼の水質下位水域」において平成15、16、17年度連続で全国ワースト2位となっている。そこで新たに湖沼内対策として内部負荷の削減を図るための各種研究を行っている。その一つとして、沼に生息する水生植物の栄養塩吸収能に着目し、伊豆沼湖畔の試験池における底質からの栄養塩の溶出と水生植物ヒシの吸収との関係を調査し、また、ヒシの部位別の吸収特性を室内試験し、その浄化効果について検討を行った。

キーワード：伊豆沼・内沼；湖沼；水生植物；栄養塩吸収；水質浄化

Key words : Izunuma&Uchinuma ; lake&marshes ; aquatic plant ; nutrient absorption ; water pollution control

1 はじめに

伊豆沼・内沼は、ラムサール条約の登録湿地となっており、渡り鳥の飛来地でもあり国内でも極めて価値の高い自然環境を有している水域である。しかし、沼は水田地帯に位置しており、下流の迫川との水位差がほとんどなく、沼の水がなかなか流出せず泥が堆積しやすく、また、浅いため風が吹くと泥が巻き上がりなかなか沈まないという特徴がある。そのため、沼は浅底化と同時に、水質汚濁という事態を招き、好ましくない環境になっている。そこで、県は周辺市町村と共にこの沼を保全するため平成4年度（1993年3月）伊豆沼・内沼環境保全対策基本計画¹⁾を策定した。その水質は環境省が公表した「CODでみた湖沼の水質下位水域」で平成15、16、17年度と3年連続の全国湖沼のワースト2位となっている。これまで下水道整備等の流入負荷削減対策は行われているが、水質に目立った効果は表われてきていない。そこで新たに湖沼内対策を主とした各種浄化研究を行うこととした。この沼はラムサール登録湿地であり浚渫などの手段はとりにくく、生態系に配慮した方法で行う必要がある。沼の底泥が風で巻き上げられることによる濁りやプランクトンの増殖がCODの上昇につながっていると考えられており、濁りを減らし、水中の栄養塩を減らしてプランクトンの増殖を抑制することができればCODが下がると期待される。そこで巻き上がり時に濁りを除去する「巻上除去法」試験²⁾や導水増量のための新導水路調査³⁾や動植物を利用した浄化法を検討してきた。植物を利用する方法については、沼全体に生息している水生植物は利用効率が高いと考え、昨年度試験⁴⁾した結果、沼に生育する浮葉植物のヒシやアサザが水中の栄養塩を良く吸収することが分かった。今年度は特に実を

食用にできるヒシに着目し、伊豆沼湖畔のヒシの繁茂するヒシ試験池の調査と室内試験を行った。試験池を調査したところ、流入水がなくヒシを成長させるための栄養塩の供給は底質からの溶出が大部分を占めるのではないかと推測された。そこで、沼より柱状採取した底質から栄養塩が溶出している水中にヒシを投入し栄養塩の吸収を室内試験した。また、別途ヒシのどの部分で栄養塩を吸収するのか部位別に室内試験し、その浄化効果について検討した。

2 方法

2.1 ヒシ試験池の現地調査

平成17年度と平成18年度にヒシ試験池の栄養塩（溶存態無機窒素）を調査した。溶存態無機窒素（DIN）は硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、アンモニア態窒素の和とした。

試験池の概要：伊豆沼湖畔にある直径約30m水深約0.9mの円形でヒシが繁茂している池（No.8池）

2.2 ヒシによる底質から溶出した栄養塩の吸収試験（室内試験）

伊豆沼より柱状採泥器で採取した筒状容器中の底質の上に蒸留水を乗せ、底質から水中への栄養塩の溶出が十分進み栄養塩濃度が高くなった時点で水生植物ヒシを水中に投入し、水中からの窒素の吸収を調べた。水中の栄養塩がほとんど無くなる頃にヒシを引上げ、再度底質から水中への栄養塩の溶出を測定した。この間、試験装置から定期的に試験水を採取し、溶存態無機窒素（DIN）の濃度を測定した。

①試験期間：平成18年6月から7月まで

溶出試験は約1ヶ月間行い、採水試験は溶出時には概ね2日に1回、吸収試験時には1日に1回行った。

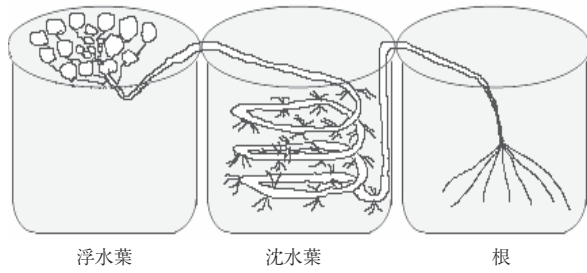


図1 ヒシ部位別栄養塩吸収試験装置

- ②場所：20℃の恒温室
- ③試験植物：ヒシ
ヒシ吸収試験は試験池と面積当たり植物体重量をほぼ同量にして行った。
- ④試験装置：柱状採泥用アクリルパイプ
下部にゴム栓をした直径11cm、長さ50cmのアクリル製透明パイプに柱状採泥した底質を入れたままで用いた。
- ⑤試験水：柱状採泥した底質の上の水を捨て代わりに蒸留水を入れ栄養塩の溶出と吸収を測定した。
- ⑥測定：TRAACS800を用い溶存態無機窒素（DIN）の濃度を測定した。

また、ヒシ試験池での底質からの栄養塩溶出を把握するため、池から柱状採泥器で採取した底質について平成18年10月から11月に約3週間、同様の操作で溶出試験を行った。

2.3 ヒシの部位別栄養塩吸収試験（室内試験）

水生植物ヒシの部位別の水中からの栄養塩吸収を調べるために、試験装置から定期的に試験水を採取し、溶存態無機窒素（DIN）の濃度を測定した。試験終了時に部位別に湿重量を測定し、時間当りの吸収速度を求めた。

- ①試験期間：平成18年8月
約4日間行い、採水試験は概ね1日に2回行った。
- ②場所：20℃の恒温室
- ③部位：ヒシの3部位（浮水葉、沈水葉⁵⁾、根）

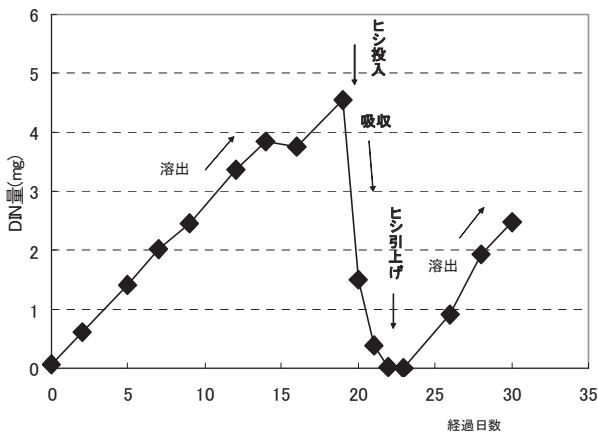


図2 ヒシによる沼底質から溶出した栄養塩の吸収試験

表1 ヒシ試験池の水質

試験池の水質	H18.6.13	H18.8.17	H18.9.28	H18.10.18
透視度	>50	>50	>50	50
pH	7.0	8.2	8.4	8.1
DO	6.7	8.1	9.9	12
COD	7.9	10	8.2	8.2
D-COD	6.7	9.3	6.0	6.4
NO3-N	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
NO2-N	0.001	0.001	0.001	0.001
NH4-N	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

ヒシの浮水葉…放射状に水面に浮いている葉
ヒシの沈水葉…茎の節ごとに羽状に出ている水中にある葉

- ④試験装置：栄養塩の入った2L ビーカーを3個連結し、1本のヒシの浮水葉・沈水葉・根の部分それぞれ別のビーカーに浸け込み試験した。（図1）
- ⑤試験水：栄養塩の窒素源として塩化アンモニウム（N：2mg/L）溶液をビーカーに満水にして用いた。
- ⑥測定：TRAACS800を用い溶存態無機窒素（DIN）の濃度を測定し、試験植物の水中からの吸収を調べた。

3 結果と考察

表1は、平成18年度のヒシ試験池左岸表層水の分析結果である。ヒシが繁茂しているにもかかわらず、栄養塩の溶存態無機窒素（DIN）が少ない結果となっていた。また、伊豆沼・内沼に比べ透視度が良好であった。

この池は流入水がなくヒシを成長させるための栄養塩は底質からの溶出が供給の大部分を占めているのではないかと推測され、沼より柱状採取した底質から栄養塩が溶出している水中にヒシを投入しその栄養塩の吸収の様子を室内試験した。その結果を図2に示す。底質から水中への栄養塩の溶出が十分進み栄養塩濃度が高くなった時に水生植物ヒシを水中に投入し水中からの吸収を調べた。4日ほどで水中の栄養塩がほとんど無くなり、溶出した栄養塩をヒシが直ちに吸収した。面積当たりの植物体重量は池とほぼ同等の条件で試験しており、この試験

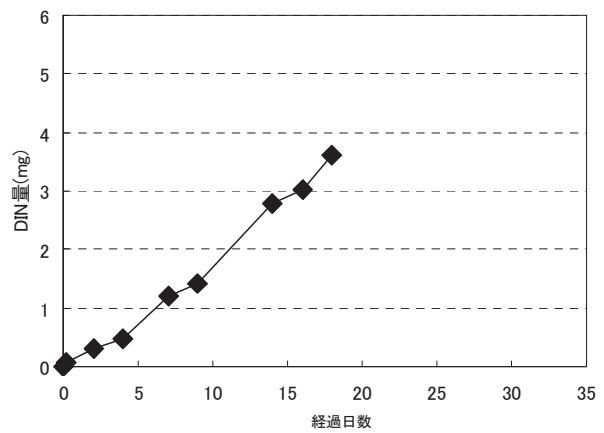


図3 ヒシ試験池底質からの栄養塩の溶出

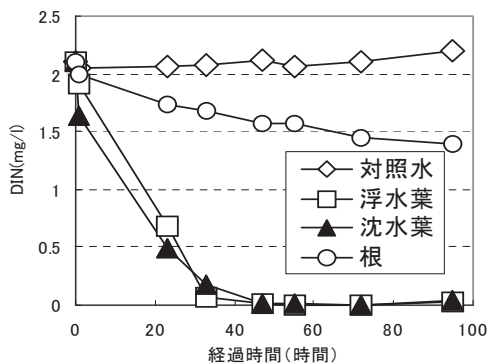


図4 ヒシの部位別栄養塩吸収曲線

では吸収速度が溶出速度を大幅に上回っていたことが分かる。ヒシを引上げた後も再度底質から栄養塩が溶出している。この試験でのヒシの栄養塩吸収速度は昨年度のヒシ室内吸収試験結果⁴⁾と同程度で高い吸収能を有していた。また、図3は秋に試験池の底質からの栄養塩の溶出を試験した結果であり図2の沼の底質からの溶出とほぼ同程度のレベルであった。

陸上の植物は根からのみ栄養塩を吸収するが、浮葉植物ヒシでは水中のどの部分で水中からの窒素を吸収しているのかヒシの部位別（浮水葉、沈水葉、根）に溶存態無機窒素（DIN）の濃度を測定した結果を図4に示す。総吸収量としては、沈水葉だけでなく浮水葉でも同様の高い吸収を示し、根は少ない結果となった。一方、これを5mg/Lに規格化した単位重量当たりでの吸収速度を図5に示す。根が総吸収量では小さいように見えるが、根の総重量に占める割合が小さいからであり、単位重量当たりの吸収量は他の2部位よりやや少ない程度となっている。この試験によりヒシは海藻と同様に植物体全体で栄養塩を吸収していることが分かった。これらのことからヒシ試験池では底質から栄養塩が水中へ次々に溶出してもヒシが直ちに吸収するため水中の溶存態の無機窒素が少ない結果となっていたと考えられる。

伊豆沼・内沼では、沼の大きさに比べて入ってくる川の水の量が少ないので、水の流れが遅く、入ってきた濁りが底に堆積する。その底質が分解して栄養塩が溶出し、プランクトンが発生しやすくなる。また、水深が浅いため風が吹くと泥が巻き上がりその濁りはいつまでも続くことになる。底質の影響が水質汚濁の一因になっている。このような内部負荷のメカニズムによって、流入する川よりも沼の水の濁りや汚れが大きいものとなっており、内部負荷削減を行う湖沼内対策が重要となっている。これまで下水道整備等の流入負荷削減対策は行われているが、水質に目立った効果は表われてきていない。そこで新たに湖沼内対策を主にした各種浄化対策の検討を行うこととした。この沼はラムサール登録湿地であり浚渫などの手段はとりにくく、生態系に配慮した方法で行う必要がある。このプランクトンの増殖や濁りの発生をできるだけ少なくしようとして、着目したのが沼の水

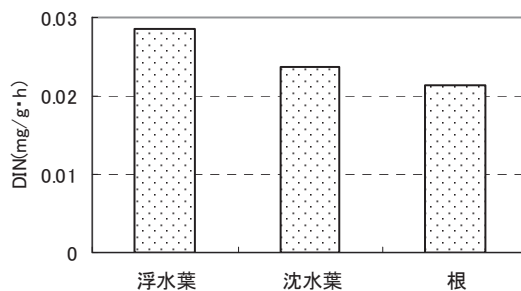


図5 ヒシの部位別栄養塩吸収速度

物である。沼では、春から夏にかけて水生植物が繁茂し、これらによって水中から栄養塩類が効率的に吸収されることが示唆される。春から夏にかけて水生植物は盛んに栄養塩を吸収して成長し、水面にいっぱい葉を広げて光を遮る。水生植物が繁茂すると、プランクトンは増殖するのに必要な水中の栄養分と光が少なくなって、増殖が抑制される。また、水生植物の葉や茎によって少々風が吹いても波立たず泥の巻き上げも防止される。これらのことで水生植物により春から夏にかけてプランクトンや巻き上がり減り、CODが抑制されると考えられる。ヒシ試験池で透視度が良好であったのはこれらの効果によるものと考えられた。

伊豆沼・内沼の水生植物については、ヒシやアサザが水中から栄養塩を良く吸収する⁴⁾ことがわかっている。この沼の最大水深は約1.4mであり、沼のほとんどは1m前後の水深で、抽水植物のヨシやマコモは水深の浅い岸辺でしか生育できないが、広い沼の大部分はヒシ、アサザ等の浮葉植物の生育に適しており、沼全体に生息している水生植物の利用効率が大きいと考えられる。この中でもヒシは茎の長さが3m以上にもなるので、この沼でしばしば起こる増水時の水位変動にも対応できる構造となっている。ヒシは水中に茎や沈水葉を伸ばすので、小動物等の隠れ場所や産卵場所ともなり、その群落の増加は生物多様性にも寄与するものと思われる。図6は伊豆沼・内沼のヒシの実である。ヒシの実は大昔から人々の重要な食料であり、環境負荷の低減の観点からヒシの実の収穫が肝要であり、食材としての活用も期待されている。

ヒシを含めた伊豆沼・内沼の水生植物の特性を良く考察し、その水質浄化の能力を十分発揮できるよう適正に配置する等の取り組みが水環境改善につながっていくものと考えられる。

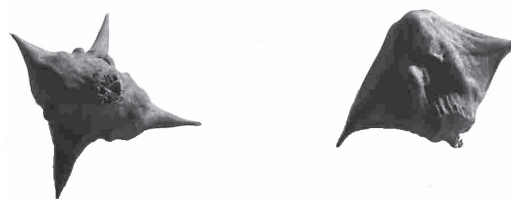


図6 伊豆沼・内沼のヒシの実（オニヒシとヒシ）

伊豆沼・内沼でかつては水底が見えたと言われている。沼の環境保全を進めていく上でテーマを掲げて実施していくことは重要で、「水底の見える伊豆沼・内沼をめざして」というテーマを提案している。(図7)

4 まとめ

新たに伊豆沼・内沼の湖沼内対策を主とした浄化対策の研究の一つとして水生植物の浄化能を利用した方法の検討を行った。

伊豆沼湖畔のヒシの密生するヒシ試験池を調査したところ、水中の栄養塩がほとんど無く透視度が良好であった。

室内試験で底質から栄養塩が溶出している水中にヒシを投入したところ、4日ほどで水中の栄養塩がほとんど無くなり、溶出した栄養塩をヒシが直ちに吸収することが分かった。また、ヒシの部位別（浮水葉、沈水葉、根）の吸収を試験した結果、総吸収量では沈水葉と浮水葉は高い吸収を示し根では少なかったが、単位重量当たりの吸収速度では3部位ともほぼ同程度となっていた。この試験によりヒシは海藻と同様に植物体全体で栄養塩を吸収していることが分かった。これらのことから試験池で

は底質から栄養塩が水中へ次々に溶出してもヒシが直ちに吸収するため水中の溶存態無機窒素（DIN）が少ない結果となっていたと考えられた。また、透視度が良好だったのはヒシの栄養塩吸収によるプランクトン増殖抑制と巻き上がり防止の効果によるものと考えられた。

伊豆沼・内沼では、沼及び沼周辺の水環境を含めて自然環境全体の保全のあり方を考えていかなければ、この貴重な湿地帯のサンクチュアリーは守れない。自然の力、沼の中の水生植物の浄化力を活用して、適度に人間が関わりを持った適正な管理を行うことで、人間と自然が共存でき、良好な水環境が保全されていくことと思われる。

参考文献

- 1) 宮城県：“伊豆沼・内沼環境保全対策基本計画書”，(1993)。
- 2) 渡部正弘ら：水環境学会誌，6，387（2003）。
- 3) 渡部正弘ら：第1回伊豆沼・内沼研究集会要旨集，19（2007）。
- 4) 渡部正弘ら：保健環境センター年報，24，111（2006）。
- 5) 北川政夫ら：“日本の野生植物 草本II 離弁花類”，p. 262（1982），（平凡社）

「水底の見える伊豆沼・内沼をめざして」



図7 伊豆沼・内沼の水生植物（水面に小さな葉が放射状に密集して浮いているのがヒシの浮水葉）

鉛川湧水調査結果 (第3報)

Study on Groundwater in the Namari River (3)

清野 茂 小山 孝昭 須田富士子*¹
 小川 武*² 栗野 健 大庭 和彦*²
 北風 嵐*³ 嵯峨 京時*⁴

Shigeru SEINO, Takaaki KOYAMA, Fujiko SUDA
 Takeshi OGAWA, Takashi AWANO, Kazuhiko OHBA
 Arashi KITAKAZE, Kyouji SAGA

鉛川最下流で環境基準を超過する Pb や Cd が検出される原因は河床湧水であり、その発生機構は①周辺地下水が沖積層中に埋没する鉱石を溶出し表流水に混入、②河川表流水や伏流水に接触する河床堆積物中の脈石からの溶出、③露頭やたい積場などからの浸出と考えられた。鉛川流域の河床堆積物の岩質は砂岩などの堆積岩が全体の約 60%と最も多く、次いで脈石が約 15%で、脈石の割合は荒町橋、向原橋～藤沢橋、二迫川合流点で多かった。脈石の鉱物組成は石英粒を主体としており硫化鉱物では黄鉄鉱が最も多く、次いで方鉛鉱、閃亜鉛鉱そして微量の螢石が認められた。薄片観察及び粉末 X 線回折測定結果と溶出実験結果は良く対応していた。

キーワード：湧水；河床堆積物；重金属；鉛川

Key words : groundwaters ; pebbles ; heavymetals ; the Namari River

1 はじめに

宮城県北西部の鉛川は昭和 62 年に閉山した国内屈指の鉛・亜鉛を産出した細倉鉱山地帯を流れる。鉛川では、鉛などの重金属が環境基準を超過している。その原因は「河床・河岸に高濃度の鉛を含む湧水があるなど地質構造由来の自然汚濁」¹⁾とされている。そこで、県では鉛川調査の一環として重金属の環境基準超過原因の精査のため平成 14 年度から湧水調査を実施している。前々報²⁾では、湧水の湧出機構と水質特性を報告し、前報³⁾では、湧水の水質特性を多変量解析法による検討と河床堆積物の浸漬実験結果を報告した。本報では湧水特性と河床堆積物の関連性を検討したので報告する。

所において、1m 線状法⁴⁾により河床堆積物を採取し、岩質（岩石の種類）の鑑定と構成割合を算出した。



図1 河床堆積物の岩質調査地点図

2 調査方法

2.1 湧水調査

鉛川上流から二迫川との合流点までの区間において延べ 54 地点で実施した³⁾。湧水調査は温度センサー先端部を河床底で移動させ、表流水よりも 2℃以上低い部位を湧水地点と判定し、手動ポンプで採水した。そのほとんどは河岸や河床の砂礫間隙からの湧水だが、護岸ブロックからの流出水、ステンレス製有孔管による河床礫間水も採取した。

2.2 河床堆積物の岩質調査

鉛川上流から二迫川合流点までの区間の 8 地点 11ヶ

2.3 脈石の鉱物組成

向原橋と藤沢橋の 2 地点における脈石について、岩石の構造観察は薄片を用いた反射顕微鏡により行い、構成鉱物を同定は粉末 X 線回折測定 (XRD) と略す。RIGAKU RAD-C 分析条件: Cu target, 35kV, 15mA, scan-speed 1°/min, アングル 3-65) で実施した。藤沢橋における脈石については表面 (赤化部) 及び内部の新鮮な部分 (白色部) についても同様に調べた。

2.4 脈石の溶出実験

試料は硫化鉱物が多い藤沢橋における脈石で、その赤化部及び白色部の 2 種類である。風化部分を除き鉄鉢で粉碎後コランダム乳鉢で粉試料とし、10mg を超純水 50ml と共に共栓付き三角フラスコに入れて、室温 23 ~ 24℃及び水温約 20℃の条件下で、1・3・5・7・24 時間の 5 回溶出実験を実施した。1 回ごとに溶出液を全量回収後ろ過して分析用に供した。分析項目は pH, R- pH, 酸化還元電

* 1 東北大学大学院理学研究科

* 2 栗原保健福祉事務所

* 3 東北大学・東北アジア研究センター

* 4 現共和コンクリート工業(株)

位、電気伝導度、アルカリ度 (0.01M 硫酸滴定法)、陽イオン・陰イオン (イオンクロマトグラフ法)、重金属 (原子吸光光度法)、アルミニウム・ケイ酸 (オートアナライザー法) である。

3 結果及び考察

3.1 湧水の水質特性

16 水質成分が得られた 53 湧水のクラスター分析⁵⁾により、①表流水・伏流水が河床間隙水域 (ハイポレックゾーン、HZ) へ侵入し河川に再流出 (河川水由来の HZ 水と略す) ②周辺の地下水が HZ へ侵入し河川に流出 (地下水由来の HZ 水と略す) そして③露頭地帯からの地下水 (露頭由来の地下水) の 3 種類に分類され、①は Ca・Mg・SO₄・F 高濃度の河川水型、②は Pb・Cd・Zn・SiO₂ 高濃度で低 pH の地下水型そして③は Pb・Cd・Zn・F・Ca・Mg・SO₄ 高濃度の露頭水型に特徴づけられる。②は従来からの原因と考えられている「地質構造由来の自然汚濁」であるといえる。鉛川流域では、HZ 中には鉱山活動後の脈石・ズリ・カラミが普遍的に存在する。また流域の沖積層には鉱山活動前の細倉層に胚胎する鉱脈の岩塊や鉱石の碎屑物などが埋没堆積していると考えられる。そして鉱脈露頭は細倉層の分布と一致し、その東端はあきの橋～佐野橋付近に認められる。

一般に、硫化鉱物中の黄鉄鉱が水と接触すると硫酸酸性水が生成し、この硫酸酸性水が鉱物と反応して鉛や亜鉛などの重金属を溶出すると考えられる。河川流量の増減区間では河川表流水が入り出る HZ が存在し、HZ の中では脈石・ズリ・カラミから重金属が HZ 水に溶出し表流水の出入り (伏流) により河川へ押し出される。一方雨水を起源とする地下水が地下浸透して沖積層に到達すると層中に埋没堆積している鉱石と接触し成分を溶出し河岸堆積物や河床堆積物の間隙へ侵入する。平水時には鉱石からの溶出成分は層中の水みち、河岸や河床の堆積物の間隙中にとどまり更なる接触時間の継続とともに濃度が高まる。降雨により河岸や河床の堆積物の間隙から押し出されて、河川へ流出する。降雨後における護岸ブロックからの流出水は前述の②に分類される水質となる。このように HZ 中の脈石や沖積層の鉱石の存在が Pb などの重金属を高濃度に含有する湧水の水質特性を決定する要因といえる。

3.2 河床堆積物の岩質調査

岩質の種類では砂岩、凝灰岩や礫岩の堆積岩が全体の約 60% と最も多く、次いで脈石が約 15% であった。流域別では砂岩が向原橋から下流で約 80% を占めている (図 2)。向原橋から下流では、デイサイト質の軽石凝灰岩及び凝灰岩、礫、凝灰質の砂及びシルトの弱固結ないし未固結の地層からなる小野田層が分布する地質環境⁶⁾を反映していた。脈石は荒町橋、向原橋～藤沢橋、二迫川合流点で約 20% と多く、一方藤沢橋～二迫川合流点で数% と低く河川改修工事⁷⁾による影響が考えられた。

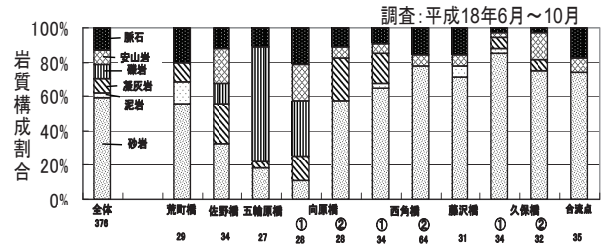


図 2 河床堆積物の岩質調査結果

3.3 脈石の鉱物組成

薄片観察では脈石は粒状の石英とその隙間が不透明鉱物から構成されていることが判明した。次に、研磨薄片の反射顕微鏡観察によると黄鉄鉱 (黄色) が最も多く、次いで方鉛鉱 (灰色)、閃亜鉛鉱 (肌色) そして螢石 (茶色) は稀れに認められた (表 1)。黄鉄鉱は自形結晶でありその中に不規則な形状の方鉛鉱、細粒の閃亜鉛鉱や繊維状のウルツ鉱そして螢石が包含されている状況が確認された (図 3)。さらに検鏡下で観察した鉱物を XRD 分析で確認を行った (図 4)。これらは細倉鉱山の鉱脈を構成する鉱石である。硫化鉱物中の黄鉄鉱が水との接触により硫酸酸性水が生成し、硫酸酸性水が硫化鉱物と反応して Pb や Zn などの重金属そして F を溶出すると考えられる。

表 1 脈石の鉱物組成

	石英 SiO ₂	黄鉄鉱 FeS ₂	方鉛鉱 PbS	閃亜鉛鉱 +ウルツ 鉱ZnS	針鉄鉱 FeOOH	磁鉄鉱 Fe ₃ O ₄	螢石 CaF ₂	緑泥石	粘土鉱物
脈石(向原橋)	◎	△	○	△			*	*	*
脈石(藤沢橋)	◎	○	○	*	△		*		*
表面(赤化部)	○	○		*	○	*	*		
内部(白色部)	◎	*	△	*			*		

注) ◎:非常に多い ○:やや多い △:多い * :少ない ·:稀れ

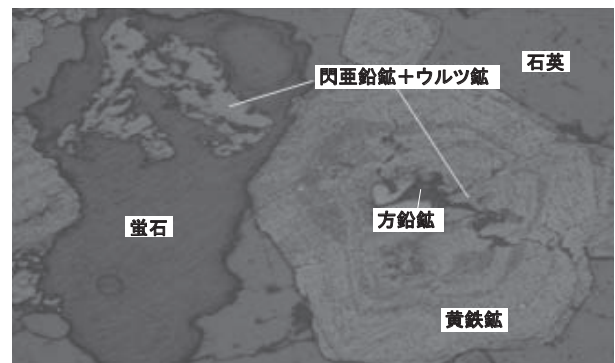


図 3 脈石の反射顕微鏡観察結果

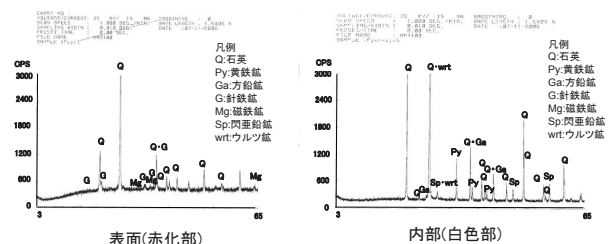


図 4 脈石の粉末 X 線回折測定結果

脈石の赤化部と白色部では、赤化部の方が細粒で硫化鉱物に富んでいた。針鉄鉱は赤化部に、閃亜鉛鉱は白色部にそれぞれ多く観察された。黄鉄鉱を内包する脈石は水中でSO₄イオンを溶出し、Feイオンとの交換または吸着して針鉄鉱が生成したと考えられる。鉛川の河床礫の表面を赤く覆っているのは針鉄鉱であり、その成因は河川水との接触による化学的反応といえる。

3.4 溶出実験結果

溶出濃度は赤化部が白色部よりも多く、成分としてはFeが約70～280倍、SO₄は約20倍、Caは約4～20倍多く溶出した。一方Znは約8～15倍と白色部の方が多く溶出した。しかし、方鉛鉱の主成分のPbや閃亜鉛鉱の副成分のCdは検出されなかった(表2)。赤化部は細粒な硫化鉱物に富むことから針鉄鉱からFeが溶出し、白色部は閃亜鉛鉱からZnが溶出する。これらの溶出結果は前述の鉱物組成と整合的である。溶出実験結果は、薄片観察及び粉末X線回折測定結果と対応していた。

表2 溶出実験結果

脈石の部分 溶出時間(hr)	表面(赤化部)					内部(白色部)				
	1	3	5	7	24	1	3	5	7	24
pH	3.2	3.2	3.1	3.1	3.1	5.2	4.8	4.7	4.7	4.6
Pb (mg/l)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Cd (mg/l)	0.002	0.002	0.002	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002
Zn (mg/l)	0.07	0.04	0.04	0.04	0.04	0.54	0.53	0.54	0.56	0.56
Fe (mg/l)	38.5	41.5	39.0	40.9	42.4	0.14	0.45	0.5	0.43	0.26
Mn (mg/l)	0.03	0.04	0.02	0.02	0.03	0.02	0.03	0.02	0.04	0.05
Na (mg/l)	0.13	0.09	0.09	0.08	0.19	0.06	0.08	0.08	0.08	0.10
K (mg/l)	0.07	0.02	0.01	0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.01	0.02	0.07
NH ₄ (mg/l)	0.05	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Mg (mg/l)	0.09	0.09	0.10	0.08	0.14	0.03	0.03	0.04	0.03	0.05
Ca (mg/l)	0.24	0.23	0.18	0.20	0.38	0.05	0.02	<0.01	<0.01	0.09
Cl (mg/l)	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	<0.01	0.02	0.01	0.01
F (mg/l)	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01
SO ₄ (mg/l)	67.24	77.41	77.98	85.17	85.66	3.52	3.64	3.91	4.02	5.21

4 まとめ

1) 鉛川の湧水は、①河川水由来のHZ水②地下水由来のHZ水そして③露頭由来の地下水の3種類に分類される。①はCa・Mg・SO₄・F高濃度の河川水型、②はPb・Cd・Zn・SiO₂高濃度で低pHの地下水型そして③はPb・Cd・Zn・F・Ca・Mg・SO₄高濃度の露頭

水型に特徴づけられる。②は従来からの原因と考えられている「地質構造由来の自然汚濁」であるといえる。

- 薄片観察では脈石は粒状の石英から構成され、黄鉄鉱が最も多く、方鉛鉱、閃亜鉛鉱などが認められた。黄鉄鉱の中に方鉛鉱、細粒の閃亜鉛鉱や螢石が包含されている状況が確認された。
- 脈石の赤化部と白色部では、針鉄鉱は赤化部に、閃亜鉛鉱は白色部に観察された。鉛川の河床礫の表面を赤く覆っているのは針鉄鉱であり、その成因は河川水との接触による化学的反応といえる。
- 溶出実験結果は、薄片観察及び粉末X線回折測定結果と良く対応していた。

5 おわりに

旧廃止鉱山地帯流域の水環境の解明には、河床堆積物の岩石鉱物学的な検討と共にこれらの溶出実験は有効な手がかりになると考えられる。

参考文献

- 宮城県：宮城県環境白書、(1976～2006)
- 清野茂，小山孝昭，佐藤健一，牧滋，佐藤勤，大庭和彦：鉛川湧水調査結果，35，宮城県保健環境センター年報，88-94 (2005)
- 清野茂，小山孝昭，佐藤健一，牧滋，佐藤勤，大庭和彦，嵯峨京時：鉛川湧水調査結果(第2報)36，宮城県保健環境センター年報，105-110 (2006)
- 新井重三：地学野外調査の方法，94-101 (1984) (築地書館)
- 早狩進：Excelアドイン工房，<http://www.jomon.ne.jp/~hayakari/> (2003)
- 土屋信之，伊藤順一，関陽児，巖谷敏光：地域地質研究報告 5万分の1地質図幅 岩ヶ崎地域の地質 秋田(6)第68号 NJ-54-20-4，地質調査所，96p. (1997)
- 宮城県保健環境部環境管理課：鉛川環境汚染調査，(1990)

松島湾における藻場の生態系調査結果について（第2報）

Ecological Survey on Algal-bed in Matsushima Bay (II)

佐々木久雄 小山 孝昭 久保田龍二*
Hisao SASAKI, Takaaki KOYAMA, Ryuji KUBOTA*

アカモクを中心とする松島湾の藻場の生態系を継続調査し、藻場の生態学的評価を実施した。その結果、アカモク藻場では、ヨコエビ類を主体とした微小な葉上生物が蝟集・生息しており、魚類やその稚仔魚などの餌料となっていた。またアカモク群落は、アラメ藻場、紅藻場などに比べ各季節ともに多くの生物が蝟集しており、松島湾の生態系構成として、中心的な役割を果たし、多様な環境を創出していることが分かった。

キーワード：藻場；生物生産量；アカモク

Key words : algal-bed ; biomass ; *Sargassum horneri*

1 はじめに

松島湾は全国の閉鎖性水域と同様に、高度経済成長期以降、産業の発展・都市化に伴い、湾内の水質が悪化し問題視された。そこで宮城県では湾内の水質を改善するために「松島湾リフレッシュ事業」が策定され、これまで宮城県の各部署が多方面にわたる様々な事業を展開してきた。その一環として平成14年から「海藻活用海水質浄化事業」が実施され、松島湾に自生する褐藻類のアカモクにおける窒素・リンなどの吸収による水質浄化効果が確認されている。そこで本報告ではアカモク藻場の生態系機能に着目し、生態系構成・季節変化等について調査を行った結果、得られた知見を報告する。

2 調査内容

2.1 調査地点

図1に調査地点を示した。

調査地点は、桂島と寒風沢島の2地点を定点とし、在城島付近を補足的な調査地点とした。

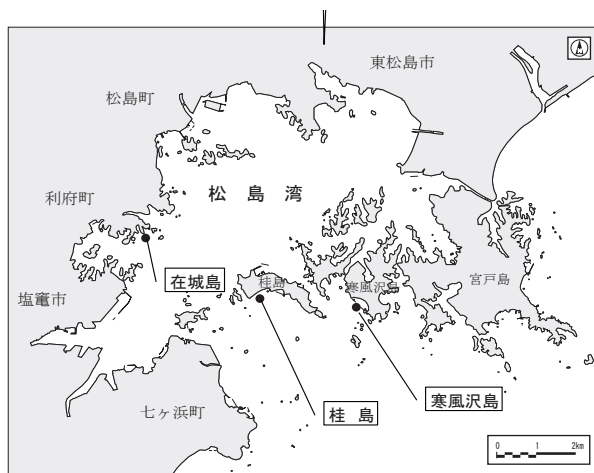


図1 調査地点

2.2 調査時期

調査は平成17年6月～平成19年3月にかけて計9回、アカモクの生育ステージに合わせて、萌出期（11, 12月）、伸長期（1, 2月）、繁藻期（3, 4月）、成熟・衰退期（5, 6月）に実施した。

2.3 調査方法

調査方法は潜水による目視観察および坪刈り採取により行った。

(1)目視観察

アカモクの繁茂している海底に測線ロープを設置し、測線に沿って植物（海藻草類）および動物（底生動物・魚類等）を潜水により目視観察を行った。

測線は延長50m、観察幅は1m（測線の両側0.5m）とし、10mピッチで種別の被度（植物・群体動物）、個体数（動物）の記録および水中写真撮影を行った。

(2)坪刈り採取

調査地点の代表的なアカモク群落、アラメ群落、並びに紅藻類群落を各1箇所（計3箇所）に1m×1mの方形枠（コドラート）を設置し、枠内の海藻草類および葉上動物を坪刈り採取した。なお、葉上動物は可能な限り、逃散させず採取するために方形枠上に大型サバーネットをかぶせ全量採取した。また、アラメ群落、紅藻群落での調査は平成18年6月、12月、平成19年3月の調査のみで実施した。

採取した試料は、持ち帰り、海藻草類については、種の同定、湿重量の計測を行った。併せて葉上動物についても種の同定、種別個体数・湿重量の計測を行った。またアカモクについては、株数、全長、湿重量の計測を行った。

3 調査結果

3.1 藻場生物の季節変化

3.1.1 植物

3.1.1.1 桂島

桂島における植物の出現状況を表1および図2示した。

種類数は、目視・坪刈りの合計で21～33種となっており4月～5月の春季に多くの種数が確認され、分類群

* 三国屋建設コンサルタント株式会社

別では紅藻類が最も多く確認された。なお坪刈りにおける種類数、湿重量の推移は、種類数5～18種、湿重量611.1～14052.6g/m²となっており、湿重量では大型藻類であるアカモクの成長に反映され11月から徐々に増加し、4月をピークに6月にかけて徐々に減少していた。

表1 桂島における植物の出現状況

調査年月		H17.6	H17.11	H18.1	H18.2	H18.4	H18.5
坪刈	種類数	6	11	11	5	14	18
	湿重量(g/m ²)	3195.4	903.2	4232.7	5182.4	14052.6	13530.1
目視	種類数	19	21	22	24	25	26
合計種類数		21	29	29	26	33	32

調査年月		H18.6	H18.12	H19.3
坪刈	種類数	9	12	13
	湿重量(g/m ²)	9445.7	611.1	4603.0
目視	種類数	23	23	22
合計種類数		26	31	31

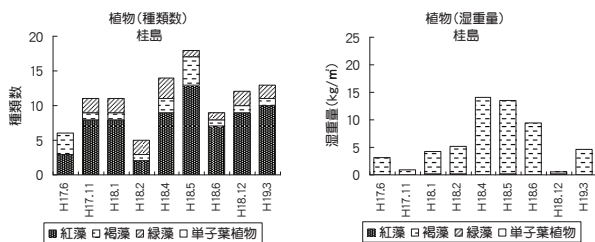


図2 桂島における植物坪刈り調査結果

3.1.1.2 寒風沢島

寒風沢島における植物の出現状況を表2および図3に示した。

種類数は、目視・坪刈りの合計で33～40種となっており、4月の春季に多くの種数が確認され、分類群別では紅藻類が最も多く確認された。なお坪刈りにおける種類数、湿重量の推移は図3に示したとおり種類数9～17種、湿重量1030.5～23128.5g/m²となっており、湿重量では大型藻類であるアカモクの成長に反映され11月から徐々に増加し6月で最も多くなっていた。

3.1.1.3 各地点の比較

坪刈りにおける種類数は各地点での大きな差はみられないが、目視観察においては寒風沢島も方が多くの種が

表2 桂島における植物の出現状況

調査年月		H17.6	H17.11	H18.2	H18.4	H18.5	H18.6
坪刈	種類数	9	14	10	15	13	17
	湿重量(g/m ²)	4945.1	1030.5	4298.7	13214.5	18642.1	23128.5
目視	種類数	30	30	30	32	31	29
合計種類数		34	39	33	40	36	35

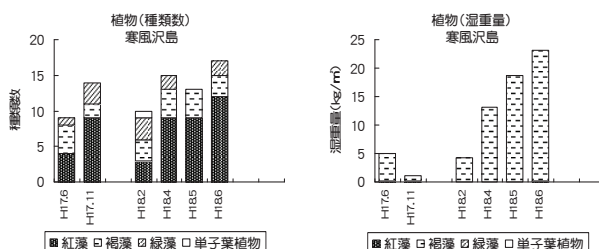


図3 寒風沢島における植物坪刈り調査結果

出現していた。これは桂島は敷石やブロックによる人工的な潜堤であるのに対し、寒風沢島は天然の岩礁で砂地や地形の起伏などもあることから、海底地形や基質の多様性に起因して植物の種数が多くなっているものと考えられる。

また湿重量においても寒風沢島の方が多く、これは大型褐藻類のアカモクの湿重量に左右されているが、桂島は4月をピークに5月、6月と徐々に減少しているのに対し、寒風沢島では5月、6月と更に増加している。これは寒風沢島に比べ桂島は内湾に位置していることから、水温等の環境要因により寒風沢島よりも早く衰退の時期を迎えたと考えられる。

3.1.2 動物

3.1.2.1 桂島

桂島における動物の出現状況を表3および図4に示した。坪刈り採集では、24～39種、256～157,004個体/m²、1.78～398.41g/m²の出現となっていた。

種類数は各季節共に概ね30種前後の出現となっており、種構成では節足動物が優占していた。

個体数は季節により大きな変動があり、特に平成18年1月と平成18年6月では1m²あたり10万個体を超える個体数となっていた。この個体数の変動はヨコエビ類の特定の種による大発生であり、平成18年1月ではaff.アゴナガヨコエビ、平成18年6月ではフトヒゲカマキリヨコエビと別種によるものであった。

目視観察による大型底生動物・魚類等の観察結果では、20～29種が確認されており、各季節共に20種以上の出現種数となっていた。固着性の貝類や棘皮動物などは周年で確認され、水温の上昇する4～6月ではメバル、アイナメ、アサヒアナハゼなどの魚類も多く確認された。また、アイナメは平成17年11月にアカモクの根元に産卵された卵塊が確認された。

表3 桂島における動物の出現状況

調査年月		H17.6	H17.11	H18.1	H18.2	H18.4	H18.5
坪刈	種類数	25	32	37	27	28	26
	個体数(個体/m ²)	18698	256	119489	647	1696	3945
	湿重量(g/m ²)	57.41	4.23	219.92	7.52	29.30	21.96
目視	種類数	22	20	21	21	25	28
合計種類数		46	49	54	44	48	52

調査年月		H18.6	H18.12	H19.3
坪刈	種類数	24	29	39
	個体数(個体/m ²)	157004	680	620
	湿重量(g/m ²)	398.41	1.78	5.06
目視	種類数	29	24	24
合計種類数		49	51	60

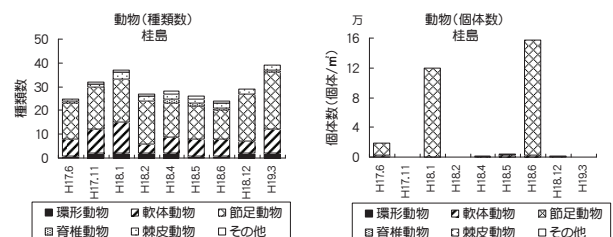


図4 寒風沢島における動物坪刈り調査結果

3.1.2.2 寒風沢島

寒風沢島における動物の出現状況を表4および図5に示した。

坪刈り採集では、17～24種、116～14,216個体/m²、2.96～70.45g/m²の出現となっていた。

種類数は各季節共に概ね20種前後の出現となっており、種構成では節足動物が優占していた。

個体数は季節により変動があり、平成18年6月では1m²あたり14,216個体と最も多く出現していた。この個体数の変動はワレカラ類や微小な貝類の出現によるものであり、優占種は平成17年6月(7,040個体/m²)ではワレカラ類(5,342個体/m²)、平成18年6月(14,216個体/m²)ではタマガイ科(7,005個体/m²)であり、同じ季節(6月)でも年により違いがみられたが、タマガイ科は全般的に各季節ともに優占種となっていた。

目視観察による大型底生動物・魚類等の観察結果では、17～25種が確認されており、各季節共に20種前後の出現種数となっていた。固着性の貝類や棘皮動物などは周年で確認され、水温の上昇する4～6月ではメバル、アイナメ、アサヒアナハゼなどの魚類も多く確認された。

表4 寒風沢島における動物の出現状況

調査年月		H17.6	H17.11	H18.2	H18.4	H18.5	H18.6
坪刈	種類数	21	22	17	24	21	19
	個体数(個体/m ²)	7040	403	116	329	3425	14216
	湿重量(g/m ²)	35.15	2.96	3.56	3.57	3.49	70.45
目視	種類数	17	21	21	25	22	25
	合計種類数	36	43	38	46	42	42

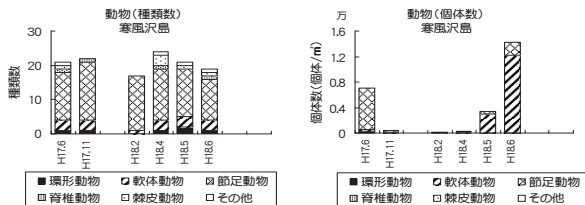


図5 寒風沢島における動物坪刈り調査結果

3.1.2.3 各地点の比較

各地点の動物出現状況の比較を表5に示した。

これによると種類数、個体数、湿重量ともに桂島のほうが多く出現する傾向を示した。出現種のうち多くを占めるものは、アカモクの葉上に蟄集するヨコエビ類などの微小な甲殻類であり、桂島は寒風沢島に比べ内湾に位置していることから、波浪の影響が少なく、比較的静穏な海域であるため、これら微小な葉上動物が流されずに蟄集しやすいものと考えられる。

3.1.2.4 ヨコエビ類の出現状況

坪刈り採集では主にアカモク藻場に蟄集する葉上動物を対象としているが、確認種の中で大発生するなど特徴的な出現を示したヨコエビ類について考察する。表6および図6にアカモク藻場におけるヨコエビ出現状況を示

表5 各地点の動物出現状況の比較

項目\地点	桂島		寒風沢島	
	目視	20～29(24)	17～25(22)	
	坪刈	24～39(30)	17～24(21)	
合計	44～60(50)	36～46(41)		
個体数(個体/m ²)	256～157,004(33,671)		116～14,216(4,255)	
湿重量(g/m ²)	1.78～398.41(83)		2.96～70.45(20)	

注:()は平均値

表6 アカモク藻場におけるヨコエビ出現状況

〔桂島〕						
調査年月	H17.6	H17.11	H18.1	H18.2	H18.4	H18.5
種類数	8	11	8	11	5	5
個体数(個体/m ²)	9,417	103	119,315	512	915	1,275
湿重量(g/m ²)	11.91	0.18	199.80	1.36	3.65	2.04
〔寒風沢島〕						
調査年月	H18.6	H18.12	H19.3			
種類数	4	11	16			
個体数(個体/m ²)	139,675	226	252			
湿重量(g/m ²)	341.70	0.45	0.64			

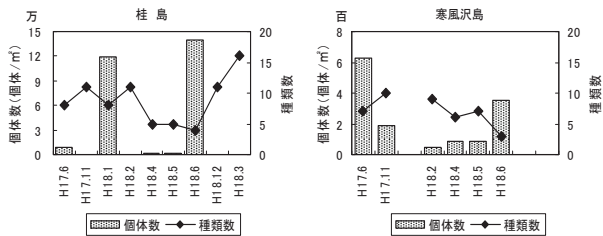


図6 アカモク藻場におけるヨコエビ出現状況

した。

ヨコエビ類は全体で28種確認されており、個体数では寒風沢島は最大で630個体/m²であるのに対し、桂島では季節により大きな変動があり、平成18年1月で119,315個体/m²(199.80g/m²)、平成18年6月で139,675個体/m²(341.70g/m²)と大発生している状況が確認された。

種類数をみると各地点ともに各回10種類前後のヨコエビ類が周年で確認されており、前述したとおり大発生したヨコエビ類は、平成18年1月ではaff.アゴナガヨコエビ (aff. *Pontogeneia rostrata*)、平成18年6月ではフトヒゲカマキリヨコエビ (*Jassa slatteryi*) と別種によるものであった。なお、両種ともに他の季節でも出現していることから、何らかの環境要因により大発生するものと考えられる。

3.2 アカモク生育状況の推移

平成17年11月(萌出期)～平成18年6月(成熟・衰退期)までの坪刈り採集で得られたアカモクの計測結果を表7および図7に示した。

アカモクの成長度合いは、萌出期の11月～2月頃にかけては、緩やかに成長しており、3月以降の水温の上昇とともに急激に成長していた。

アカモクの全長は、5月をピークに最大約5mに達していた。また株により多少のばらつきがあり、各季節ともに数センチから10数センチの幼株や若株が確認され

ており、発芽時期や成長速度に差があることがわかった。このことよりアカモクの成長過程を推察すると、ある程度一斉に発芽するが、遅れて発芽するものもあると考えられ、これは11月に比べ2月に株数が増加していることから示唆される。また、遅く発芽した株は、光の条件などから成長が遅れるものと考えられる。

湿重量では、各地点でやや違う傾向を示した。桂島では4月に14.0kg/m²とピークを示し、その後5月、6月と減少しているのに対し、寒風沢島では6月まで増加しており22.8kg/m²と最大値を示した。谷口ら¹⁾は松島湾のアカモク藻場における最大湿重量を22kg/m²と報告しており、今回の寒風沢島では同様の結果が得られたが、桂島ではやや少ない値となっていた。このことは松島湾内でも場所や環境条件により違いがみられるものと考えられる。

表7 アカモク計測結果

項目 年月	全湿重量(kg/m ²)		最大全長(cm)		最小全長(cm)		株数	
	桂島	寒風沢島	桂島	寒風沢島	桂島	寒風沢島	桂島	寒風沢島
H17.11	0.8	0.4	87	79	5	3	85	27
H18.1	4.1	—	205	—	7	—	125	—
H18.2	5.0	3.7	224	169	10	3	111	51
H18.4	14.0	11.3	377	475	28	71	86	34
H18.5	13.3	18.4	486	492	4	17	97	32
H18.6	9.4	22.8	402	450	43	44	124	49

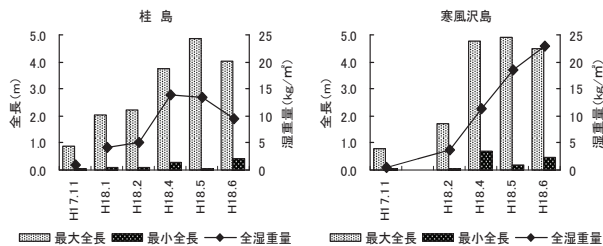


図7 アカモク生育状況の推移

また特筆すべき状況として、湾奥部の在城島周辺では、11月に全長約4mに達するアカモク群落を確認された(図8)。五十嵐²⁾らはこれらを冬季成熟群と報告しているが、これらの群落の成熟・発芽時期や成長過程など不明な点が多く、アカモク生態系を把握する上で、今後解明していく必要のある事項である。

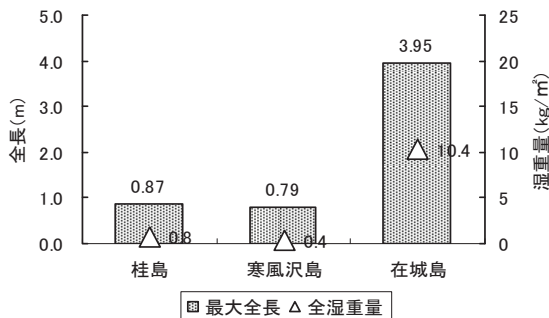


図8 各地点のアカモクの全長 (H17.11)

3.3 群落別葉上動物量の比較

ここでは平成18年6月から平成19年3月にかけてのアカモク群落、アラメ群落、紅藻群落での坪刈り採集結果から葉上動物の出現状況を比較した。表8および図9に各群落の比較を示した。

種類数(平均)はアカモク群落で31種、アラメ群落で19種、紅藻群落で24種とアカモク群落で最も多く、各調査回においても最も多くの種が確認された。

個体数(平均)はアカモク群落で52,768個体/m²、アラメ群落で270個体/m²、紅藻群落で236個体/m²とアカモク群落が最も多く出現していた。これは前述のとお

表8 群落別葉上動物の出現状況

項目	群落	調査期間:平成18年6月~平成19年3月					
		アカモク群落		アラメ群落		紅藻群落	
		季別	平均	季別	平均	季別	平均
種類数	6月	24	31	17	19	15	24
	12月	29		21		26	
	3月	39		19		32	
個体数(個体/m ²)	6月	157,004	52,768	412	270	105	236
	12月	680		218		297	
	3月	620		179		305	
湿重量(g/m ²)	6月	398.41	135	25.89	12	0.17	3
	12月	1.78		6.76		5.10	
	3月	5.06		2.37		2.94	

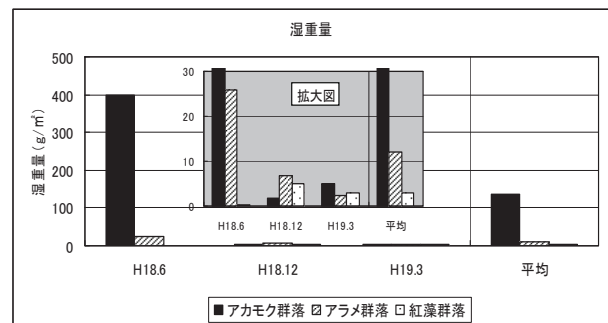
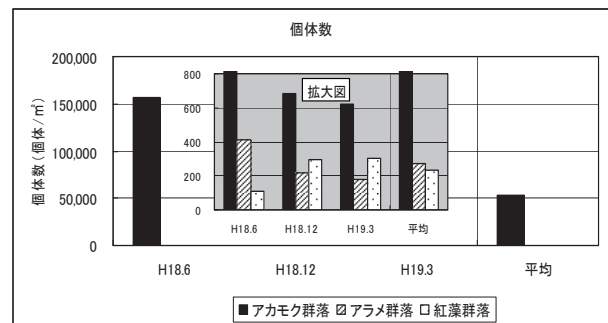
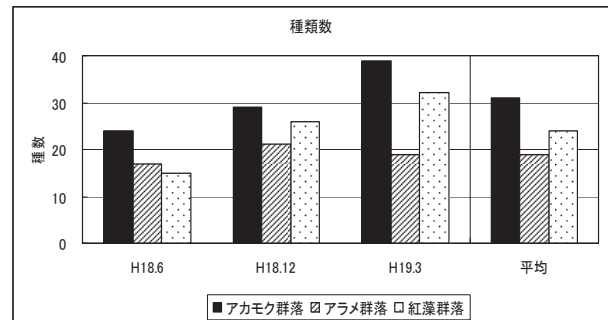


図9 群落別葉上動物の出現状況

り6月のヨコエビ類の大発生によることもあるが、12月、3月においてもアカモク群落では、アラメ群落、紅藻群落に比べ個体数は多く出現していた。

湿重量においても平均ではアカモク群落が最も多いが、12月ではアカモク群落での出現種は微小な種が多く、一方アラメ群落、紅藻群落ではクボガイなどの比較的大きな種が出現しているためアカモク群落よりも湿重量が多くなっていた。

上記のとおりアカモク群落では、他の群落よりも多くの生物量を示した。これはアカモクの茎や葉が作り出す複雑な空間構造により、ヨコエビ類などの微小な生物にとっての棲息空間を提供しているものと考えられる。

4 まとめ

藻場を形成するアカモクは、各季節ともに多様な生態系構成の中心的役割を示している。その象徴的現象は蝸集する生物種の豊富さやヨコエビ類などによって示され、これらは魚類などの餌料生物として食物連鎖の基点となっていることが推察された。さらにアカモク藻場内にて確認されたメバルの稚魚やアイナメの卵塊などからも魚類の産卵・育成の場など生物の成育空間として価値の高い場所となっていることが確認された。今後は、このような生態学的な重要性について定量的に比較・評価できる手法を検討していくことが必要である。

基準等を超えた食品からの細菌の分離と同定

Isolation and Identification of Bacteria from Bacteria-Detected Food

佐々木ひとえ 菅原 直子*¹ 加藤 浩之
 小林 妙子 渡邊 節 山田 わか*²
 谷津 壽郎 齋藤 紀行

Hitoe SASAKI, Naoko SUGAWARA, Hiroyuki KATOH
 Taeko KOBAYASHI, Setsu WATANABE, Waka YAMADA
 Juro YATSU, Noriyuki SAITO

1 はじめに

流通食品の細菌汚染により食中毒あるいは健康危害事件が発生する。これらを防止するためには食品の細菌汚染の実態把握が不可欠である。

食品収去細菌検査は、販売に供される食品が「病原微生物に汚染されていないか」等を検査することにより、健康を損なうおそれのある食品が流通して食中毒等の健康被害を起こさないよう、衛生的取扱指導を行う際の一助となり、食中毒防止につながっている。

宮城県では、平成12年度から17年度まで年間約2,500件の食品収去細菌検査を実施したが、約5%の食品が食品衛生法規格基準等に違反していた。

そこで、平成16年度から18年度まで、違反食品から分離した細菌について菌種の同定を行い、汚染経路の推定を試みた。

2 対象および検査方法

2.1 対象

平成16年4月から平成19年3月まで、県内各保健所から検査依頼のあった食品約5,500件について、検査実施標準作業書に基づき検査し、大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌の検査項目が陽性となった食品について、菌分離と同定を実施した。ただし、平成16・17年度の古川支所検査実施分は含まない。

2.2 方法

食品から分離した菌は、表1に示した手順で同定した。

表1 同定手順

《 大腸菌・大腸菌群 》	《 黄色ブドウ球菌 》
TSI培地・LIM培地 グラム染色 オキシダーゼテスト	カタラーゼテスト グラム染色 コアグラールゼテスト
↓	↓
同定キット O群型別血清 毒素産生等	同定キット エンテロトキシン

同定には、BBLCRYSTAL（日本ベクトン・ディッキンソン）およびエンテオグラム（和光純薬）を使用した。

3 結果

3.1 食品別陽性率

大腸菌群は2,579件の食品を検査し陽性が197件、大腸菌は1,686件検査し陽性が15件、黄色ブドウ球菌は1,784件検査し陽性が8件であった。

大腸菌あるいは大腸菌群が検出された食品の品種別陽性率を図1に示した。

陽性率は、高い順に洋生菓子29.6%(99/334件)、アイスクリーム類17.8%(8/45件)、和生菓子17.1%(48/281件)、豆腐10.9%(26/238件)であった。ほかに陽性となった食品は、氷雪、食肉製品、漬物、冷凍食品、魚肉練り製品、生食用かき、ゆでめん、弁当・そうざい、牛乳であった。

なお、漬物(4/109件)、生食用かき(10/588件)、弁当・そうざい(1/650件)は大腸菌の陽性率を、そのほかの食品については大腸菌群の陽性率を示した。

次に黄色ブドウ球菌が検出された食品の結果を表2に示した。黄色ブドウ球菌は、和生菓子3件、洋生菓子3件、弁当・そうざい2件から検出された。

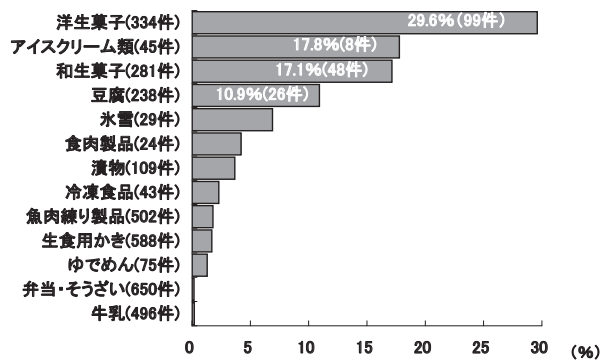


図1 食品別陽性率 (大腸菌・大腸菌群)

表2 黄色ブドウ球菌陽性結果

	検査件数	陽性件数	陽性率(%)
和生菓子	281	3	1.1
洋生菓子	334	3	0.9
弁当・そうざい	655	2	0.3

* 1 現 中南部下水道事務所

* 2 現 (財)宮城県公衆衛生協会

3.2 同定結果

大腸菌群陽性となった183件について菌種の同定を実施し、169菌株について菌種が同定された。結果を図2に示した。*Enterobacter* 属菌が41%、*Klebsiella* 属菌が36%と優位に検出され、この2種類の菌が全体の約80%を占めた。他に *Kluyvera* 属菌、*Citrobacter* 属菌、*Serratia* 属菌、*E. coli* 等が同定された。

さらに、今回陽性率が高かった食品について、食品別に菌種を分類したところ、食品によって検出された菌種の傾向に大きな違いはみられなかった。主な食品についての結果を図3～5に示した。

一方、生食用かきを除き、漬物等から検出された大腸菌について血清型別試験を行ったが、病原血清型に同定されたものはなかった。

また、黄色ブドウ球菌6菌株についてエンテロトキシンの検査を行ったところ、弁当・そうざいから検出された菌は2株ともエンテロトキシンC産生菌であった。残り4株はエンテロトキシン陰性であった。

4 まとめ

平成16年度から18年度まで、大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌の項目で陽性に判定された食品から分離し

た菌株について菌種の同定を行った。

大腸菌および大腸菌群について陽性率の高い食品は、洋生菓子、アイスクリーム類、和生菓子、豆腐であった。大腸菌群陽性183件のうち169件について菌種を同定することができ、腸内細菌科の *Enterobacter* 属菌および *Klebsiella* 属菌が全体の約80%を占めた。これらは、日和見感染症の原因菌であるが、腸管感染症を引き起こすこともある。これらの菌は、ヒトや動物の腸管および自然界の土壌や水に常在し、広く環境から検出されることから、製造現場の器具・機材からの食品への汚染が考えられた。

弁当・そうざいから検出された黄色ブドウ球菌は、エンテロトキシン（腸管毒）産生性の菌であった。黄色ブドウ球菌はヒトの口腔・手指に常在し、食品従事者から食品へ汚染して食中毒の原因となる。県内においても「調理パン」や「ずんだ」などを原因食品とした黄色ブドウ球菌食中毒が度々発生している。

このことから、収去検査で違反となった食品の菌種を同定することで、汚染経路等が推察できることもあり、食品の危害防止あるいは現場の衛生指導に有効に活用できると思われる。

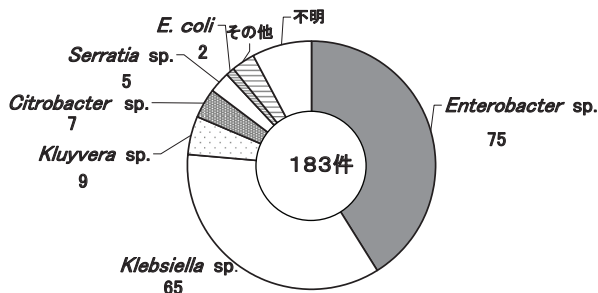


図2 大腸菌群同定結果（全食品）

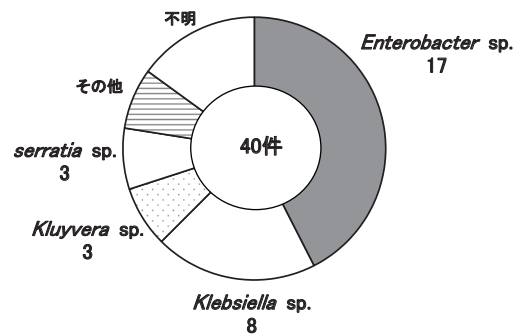


図4 大腸菌群同定結果（和生菓子）

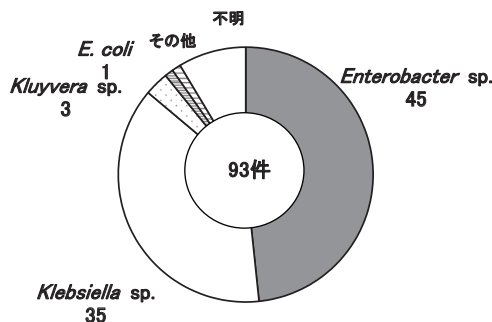


図3 大腸菌群同定結果（洋生菓子）

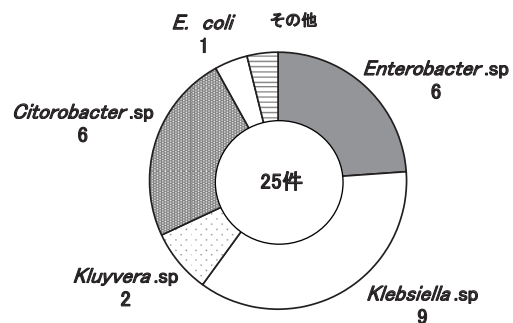


図5 大腸菌群同定結果（豆腐）

ブタからのインフルエンザウイルスの分離

Isolation of Influenza Virus in swine

佐藤 由紀 庄司 美加 後藤 郁男
植木 洋 佐藤千鶴子 沖村 容子
谷津 壽郎 齋藤 紀行
Yuki SATO, Mika SHOJI, Ikuo GOTO
Yo UEKI, Chizuko SATO, Yoko OKIMURA
Juro YATSU, Noriyuki SAITO

キーワード：インフルエンザウイルス；ブタ

Key words : Influenza Virus ; swine

1 はじめに

インフルエンザウイルスは、ヒトをはじめ水鳥、家禽、ブタなどの多くの動物に感染することが知られているが、細胞表面のレセプターの違いにより、ヒトはヒトの、トリはトリのインフルエンザウイルスに感染するとされている。しかし、ブタはヒトとトリのどちらのインフルエンザウイルスにも結合するレセプターを持つため、ヒトとトリのインフルエンザウイルスが同時にブタに感染した場合、インフルエンザウイルス遺伝子の再集合により新型インフルエンザウイルスが出現する可能性が指摘されている。このようなことから、厚生労働省は「感染症流行予測調査事業」の中で平成17年度から新型ウイルスの出現監視を目的としたブタの鼻腔拭い液からのウイルス分離による感染源調査を開始した。本県もこの事業に参加し100検体について調査を実施した結果、3検体からインフルエンザウイルスを分離したので報告する。また合わせて同シーズンのヒトから分離されたウイルスとの関連性も検討したので報告する。

2 方法

2.1 検体採取時期と件数

対象は県内で飼育された6ヶ月齢のブタの鼻腔拭い液で、7月から10月までに5回、1回につき15件から25件で合計100(No.1~100)検体について調査した。

2.2 検査方法

前処理したブタの鼻腔拭い液をMDCK細胞に接種し、6から7日間、細胞変性効果(cytopathic effect:CPE)を観察した。CPEの有無にかかわらず赤血球凝集試験(hemagglutinin test:HA)を行い、凝集が確認されなかった場合は、もう一度MDCK細胞に盲継代し同様の作業を行った(図1)。CPEが認められHA試験で凝集が確認された検体は、インフルエンザウイルス同定キットを使用しA、B型別判定を行った。A型については国立感染症研究所から指定された抗血清(抗A/swine/Saitama/27/2003(H1N2)・抗A/duck/Ukraine/1/63(H3N8)・抗A/Hiroshima/52/2005(H3N2))を用い、赤血球凝集抑制

試験(hemagglutinin inhibition test:HI)により亜型を決定することとした。なお、輸送培地、細胞培養培地組成、検査方法は平成18年度感染症流行予測調査実施要領(厚生労働省健康局、結核感染症課)³⁾および感染症流行予測調査事業検査術式⁴⁾に従った。HA(hemagglutinin)の亜型については高尾らが作成したプライマーを用いて図2の術式で、ノイラミニダーゼ(neuraminidase:NA)の亜型についてはアメリカのライトらが作成したプライマーを用いて図3の術式で、HAおよびNAをコードするウイルス遺伝子の一部をRT-PCRで増幅して確認した。さらに産物についてダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。

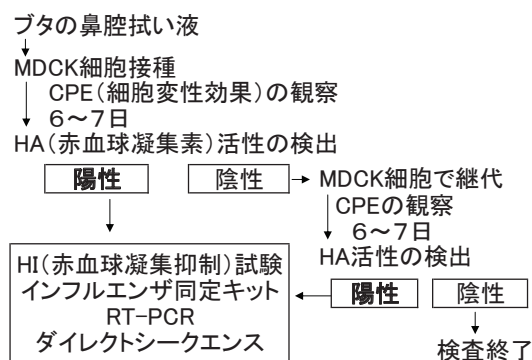


図1 検査方法

3 結果および考察

9月に採取した検体中3件(No.61・66・67)にCPEが認められ、HA試験でも凝集が確認された。インフルエンザ同定キットによる型別判定は3件ともA型を示したが、HI試験を行うに十分な凝集価が得られなかったため実施できず、RT-PCRにより亜型を決定した。引き続きHI試験に必要な凝集価を得るため継代培養を行ったが、ヒトのインフルエンザ流行シーズンに入り、検査室内でのヒトとブタのインフルエンザウイルスのコンタミネーションを懸念して培養を一時、中止した。RT-PCRによる亜型は3件ともH3N2であり、HA領域で塩基配列が決定できた294bpについて相同性を調べた結果100%の一致が認められた。

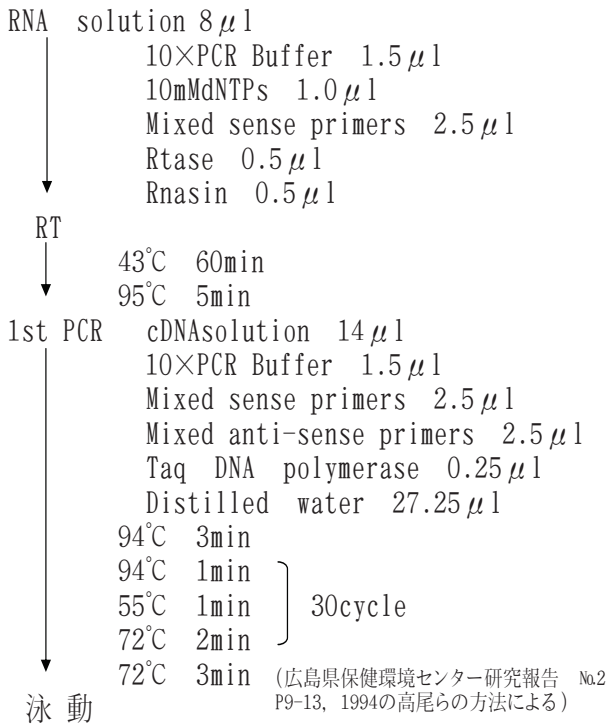


図2 HA領域増幅 RT-PCR

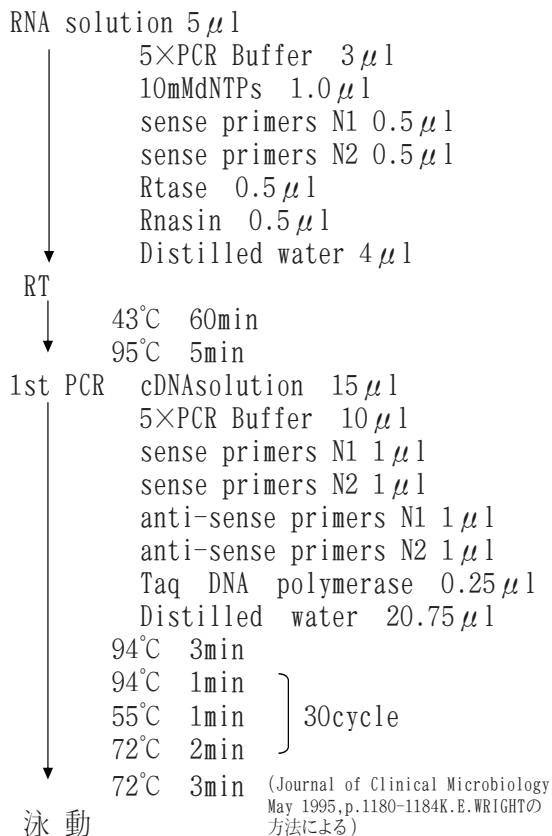


図3 NA領域増幅 RT-PCR

またブタの産地と同じ保健所管内で 2005/2006 シーズン後半の5月にヒトから同重型 H3N2 が3件 (No.9・10・11) 分離されたことから、本調査で分離されたブタのインフルエンザウイルスとの相同性について分子疫学的方法で解析を行った。ヒトとブタから分離されたウイルスについて、HA領域で塩基配列が決定できた294bpについて相同性を調べた結果、ヒトとブタの塩基配列の相同性は96.3%、アミノ酸配列の相同性は92.9%であり、ヒトとブタのウイルスは一致しなかった。次にこの結果をもとにこれまで報告されたヒト及びブタインフルエンザウイルス共に系統解析を行い、図4に系統樹を作成し示した。1997/1998年シーズンのシドニー株からたどると、次の分岐で1999/2000シーズンのパナマ、続いて2001/2002シーズンのフッケン、2003/2004のニューヨーク、2004/2005のウイスコンシンとシーズンを経るごとにいわゆる連続変異の様子が確認された中で、今回のブタ及びヒトのインフルエンザウイルスは2001/2002シーズンのリファレンス株であるフッケン株より分岐し、それぞれ独自のクラスターを形成することが明らかになった。一方、これまで報告されたブタ由来の株はフッケン株より以前に分岐し、全く別の独自のクラスターを形成したことから、今回分離されたブタインフルエンザウイルスはよりヒト型に近縁な株で、大きくはヒトインフルエンザウイルスの系統に含まれると考えられた。しかしながら、同一地域及び同一シーズンのインフルエンザ患者から分離されたウイルスの塩基とアミノ酸の相同性の結果及び系統解析の結果から、少なくとも2005/2006シーズンに同一のウイルスがブタとヒトの間でやり取りされたとは考えにくく、2001/2002シーズン以降、2003/2004シーズン以前にヒト型ウイルスがブタに感染した可能性が示唆された。今回ブタから分離されたウイルスは危惧されるH5型などの新型ウイルスではなかったが、2003/2004シーズンのリファレンス株であるA/New York/55/2004や2004/2005シーズンのA/Wisconsin/67/2005と近縁でヒトインフルエンザウイルスとの関連性も強く示唆されたので、今後ともこの事業に参加し、新型インフルエンザウイルスの出現監視を続けていく必要がある。

謝辞

本調査にご協力頂きました食肉衛生検査所、栗原保健所の方々に深謝致します。

参考文献

- 1) 高尾信一：広島県保健環境センター研究報告No.2 p.9 (1994)
- 2) K.E.WRIGHT Journal of Clinical Microbiology May, p.1180 (1995)
- 3) 平成18年度感染症流行予測調査実施要領 (厚生労働省健康局、結核感染症課)
- 4) 感染症流行予測調査事業検査術式 (平成14年6月)

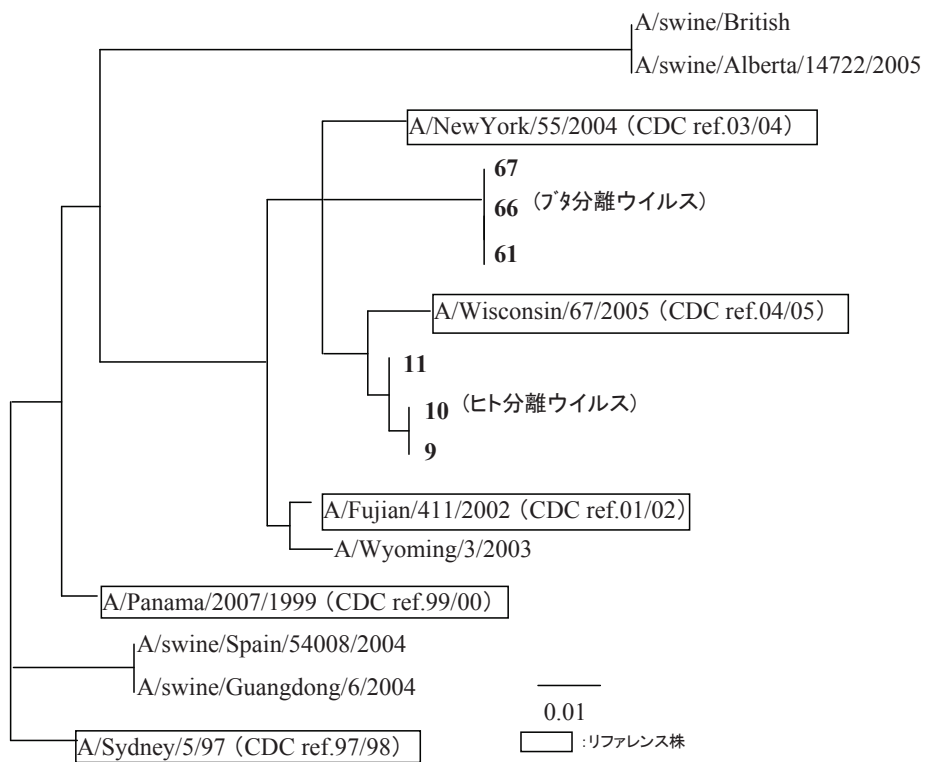


図4 A/H3N2 ウイルスの HA 遺伝子の系統解析