

## 6 研究発表抄録

## 下水処理施設を經由して水環境中へ排出される有機フッ素化合物の実態把握

○岩淵勝己<sup>1</sup>, 永洞真一郎<sup>2</sup>, 田原るり子<sup>2</sup>, 折原智明<sup>3</sup>, 鈴木俊也<sup>4</sup>, 小杉有希<sup>4</sup>, 飯田春香<sup>4</sup>, 渡邊喜美代<sup>4</sup>, 小西浩之<sup>4</sup>, 高木総吉<sup>5</sup>, 安達史恵<sup>5</sup>, 宮脇崇<sup>6</sup>, 門上希和夫<sup>7</sup>

<sup>1</sup>岩手県環境保健研究センター, <sup>2</sup>(地独)北海道立総合研究機構, <sup>3</sup>札幌市衛生研究所, <sup>4</sup>東京都健康安全研究センター, <sup>5</sup>(地独)大阪健康安全基盤研究所, <sup>6</sup>福岡県保健環境研究所, <sup>7</sup>北九州市立大学

第 27 回環境化学討論会 (平成 30 年 5 月 22 日～25 日 那覇市)

### 【はじめに】

有機フッ素化合物 (PFAA) は、天然には存在しないにもかかわらず環境中や野生生物から検出される、化学的に安定な物質である。事業場や家庭等の発生源から排水として下水道などを通じ、河川や海へと広がっていくのが環境中への主要な拡散ルートの 1 つであるため、PFAA の発生源や発生量、原単位等を把握することは環境汚染対策には必須である。そこで本研究では、日本各地の下水処理場 (STP) を対象とし、流入水の PFAA 濃度から発生原単位を、放流水の PFAA 濃度から排出原単位を把握して、下水処理工程における各 PFAA の減少率や、特徴的な傾向を示した STP の差異等について検討した。

### 【方法】

対象の STP として、北海道、東北、関東、関西、九州地区から合計 8 か所 (A～H 処理場) を選定した。2017 年 7 月～8 月に 1 回採水し、流入水及び放流水の 24 時間コンポジットを調製し試料水とした。試料水をコンセンレーターで固相カートリッジ (Waters Oasis WAX Plus) に濃縮し、アンモニア含有メタノールで抽出後、濃縮、遠心分離し、上清を LC-MS/MS (Agilent 6490) で測定した。対象 PFAA は 15 物質とした (以下、対象 PFAA の略称を、カルボン酸系 (PFCA) は CXA (X は炭素数)、スルホン酸系 (PFSA) は CXS と表記した)。

### 【結果】

各 STP から検出された流入水及び放流水の PFAA 濃度は Table 1 のとおりである。STP 毎の差が大きく、特に D 及び G 処理場では、流入水において 15 物質中 D 処理場では 7 物質、G 処理場で 8 物質が、他の STP よりも有意 (5%水準) に高濃度であった。放流水でも同様に、D 処理場では 9 物質、G 処理場で 6 物質が、有意 (5%水準) に高濃度であった。流入水と放流水の濃度を比較すると、ほぼすべての施設において C5A～C9A は放流水のほうが高濃度であったが、C10A～C12A については放流水のほうが低濃度であった。一方 PFSA は、不検出だった C10S を除いて、ほぼすべての施設において放流水のほうが低濃度であった。下水処理工程における C5A～C9A の各 STP の平均の減少率は、-10 %～-71 %であり、下水処理工程中で増加している傾向が見られた。一方、C10A～C12A では 15 %～70 %、C4S～C8S では 4 %～79 %

Table 1 PFAA concentrations in influent and effluent

	influent										effluent									
	A	B	C	D	E	F	G	H	mean±SD	A	B	C	D	E	F	G	H	mean±SD		
PFCA	C5A	2.1	1.2	1.3	6.7	4.1	5.5	7.4	1.9	3.8±2.5	4.3	2.4	1.5	7.8	5.4	7.0	9.6	2.8	5.1±2.9	
	C6A	3.8	2.3	1.2	18	5.3	10	28	2.0	8.7±9.4	6.5	4.0	2.6	19	9.4	11	25	5.4	10±7.7	
	C7A	1.4	0.80	1.5	5.9	4.6	5.2	9.0	1.8	3.8±2.9	1.3	1.4	1.1	6.2	5.4	4.9	7.8	2.5	3.8±2.6	
	C8A	4.1	1.2	1.7	9.2	5.9	8.5	43	3.8	9.7±14	6.4	3.0	4.2	12	10	12	46	6.5	13±14	
	C9A	7.6	4.0	3.0	18	7.0	6.0	15	5.9	8.2±5.2	14	4.4	4.0	36	8.2	6.5	11	6.5	11±10	
	C10A	1.8	n.d.	n.d.	1.7	1.6	1.4	4.2	1.3	1.5±1.3	2.5	0.74	0.72	1.6	1.2	1.3	1.9	0.71	1.3±0.65	
	C11A	1.9	0.53	0.71	3.6	0.86	1.1	3.6	1.1	1.7±1.2	1.6	0.40	0.40	2.0	0.59	0.53	1.4	0.27	0.90±0.66	
	C12A	0.71	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.61	1.1	n.d.	0.30±0.44	0.57	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	n.d.	0.08±0.20	
	C13A	n.d.	0	0.16	n.d.	0.02±0.06														
	C14A	n.d.	0	0.16	n.d.	0.02±0.06														
	PFSA	C4S	7.1	0.96	14	11	16	6.7	3.5	5.6	8.1±5.1	0.21	0.42	0.69	6.1	2.7	4.3	9.4	1.1	3.1±3.3
		C6S	n.d.	1.3	0.59	55	3.8	25	6.3	4.1	12±19	0.29	1.0	0.90	39	2.9	25	5.5	2.9	9.8±14
C7S		1.9	3.2	1.3	15	1.9	2.5	1.1	1.1	3.6±4.9	n.d.	0.13	n.d.	5.1	0.22	0.89	0.63	0.32	0.91±1.7	
C8S		5.1	12	6.0	150	10	24	25	13	31±50	9.0	12	2.8	100	10	25	20	12	24±33	
C10S		n.d.	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0								
PFAA total	37	28	31	300	61	96	147	41	92±86	47	30	19	240	56	98	138	41	83±69		

であり、下水処理中に減少している傾向が見られた。

処理人口 1000 人当たりの原単位は、Table 2 のとおりである。D 及び G 処理場では、発生原単位が 15 物質中 D 処理場では 9 物質、G 処理場では 8 物質が他の STP よりも有意 (5%水準) に高かった。排出原単位は、D 処理場は 10 物質、G 処理場は 6 物質が他の STP よりも有意 (5%水準) に高かった。D と G 以外の STP では全ての PFAA で有意差はなかった。

各 PFAA の発生、排出原単位から国内における年間の発生量と下水道を通じて環境中へ排出される量を算出したところ、代表的な PFAA である C8A と C8S について、C8A は発生量が約 92 kg、排出量が約 150 kg、C8S は発生量が約 260 kg、排出量が約 240 kg と推定された。

#### 【考察】

今回のデータでは、D と G 処理場が他の STP と比較して特徴的であった。D 処理場の処理区域から発生する PFSA 量は、他の STP の処理区域よりも有意に多かった。この処理区域はほぼ市街地であり、オフィスビルなどが多く立ち並んでいるエリアである。大きな工場等はあまりないため、そこからの排水量は多くはないと考えられる。また、B や C 処理場と比較すると、処理人口が 2 倍程度であるにもかかわらず発生原単位が約 20 倍になっていることは、家庭雑排水が影響しているものではないと考えられる。このことから、オフィスビル等からの排水や区域内への降水などが PFSA の供給源となっているか、高濃度の PFSA を含む排水を排出している事業場が存在している可能性がある。G 処理場は D 処理場と異なり、PFCA だけが有意に高かった。発生原単位は、検出された C5A~C12A の全てで他の STP よりも有意に高く、特に C8A は、発生、排出原単位とも同程度の処理人口の B、C、H 処理場と比較して数倍から数十倍であった。このことから、G 処理場に流入する C8A の発生源は、家庭雑排水ではなく工場等からの排水又は区域内への降水などが影響していることが考えられる。これら D 及び G 処理場の発生源解析には、処理区域内の工場やオフィス等を含めた事業場の立地状況の詳細な調査が必要である。下水処理工程中における C5A~C9A の減少率は、ほぼ全ての STP で負となっており、工程中に増加している傾向が見られた。これは先行研究と同様の結果であるが、C5A~C9A の全てが先行研究で示しているようなフルオロテロマーアルコール等の前駆体の生分解によって生成されたものであるかを確認するには、今後さらなる研究が必要である。

【謝辞】 本研究は、JSPS 科研費 JP16H02964 の助成を受けて実施した。

【参考文献】 1) Schultz *et al*, *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 289-295 (2006).

Table 2 PFAA generation and discharge load per unit

	generation load per unit (influent)									discharge load per unit (effluent)									
	A	B	C	D	E	F	G	H	mean±SD	A	B	C	D	E	F	G	H	mean±SD	
C5A	0.80	0.51	0.57	5.5	1.6	2.1	4.4	0.88	2.0±1.9	1.6	1.0	0.75	6.2	2.2	2.7	5.7	1.1	2.7±2.1	
C6A	1.5	1.0	0.51	15	2.0	3.8	16	0.91	5.1±6.5	2.5	1.7	1.3	15	3.8	4.1	15	2.2	5.6±5.7	
C7A	0.52	0.34	0.63	4.9	1.8	2.0	5.3	0.83	2.0±2.0	0.50	0.59	0.54	4.9	2.2	1.9	4.6	1.0	2.0±1.8	
C8A	1.6	0.53	0.75	7.5	2.2	3.3	26	1.7	5.4±8.5	2.5	1.3	2.1	9.4	4.0	4.7	27	2.7	6.7±8.6	
PFCA	C9A	2.9	1.7	1.3	14	2.7	2.3	8.8	2.7	4.6±4.6	5.3	1.9	2.0	28	3.3	2.5	6.2	2.7	6.5±8.9
	C10A	0.69	n.d.	n.d.	1.4	0.60	0.52	2.5	0.58	0.78±0.81	1.0	0.32	0.36	1.2	0.49	0.50	1.1	0.29	0.66±0.39
	C11A	0.74	0.23	0.31	2.9	0.33	0.41	2.1	0.49	0.95±1.0	0.62	0.17	0.20	1.6	0.24	0.21	0.83	0.11	0.49±0.50
	C12A	0.27	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.24	0.65	n.d.	0.15±0.24	0.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.06	n.d.	0.03±0.08
	C13A	n.d.	0	0.06	n.d.	0.01±0.02													
	C14A	n.d.	0	0.06	n.d.	0.01±0.02													
	C4S	2.7	0.41	6.1	8.8	6.0	2.6	2.1	2.6	3.9±2.8	0.08	0.18	0.34	4.8	1.1	1.6	5.5	0.44	1.8±2.2
	C6S	0	0.57	0.26	45	1.4	10	3.7	1.9	7.8±15	0.11	0.45	0.45	31	1.2	10	3.3	1.2	5.9±11
PFSA	C7S	0.73	1.4	0.56	13	0.71	1.0	0.67	0.52	2.3±4.2	n.d.	0.06	n.d.	4.0	0.09	0.34	0.37	0.13	0.63±1.4
	C8S	2.0	5.2	2.6	130	3.9	9.3	15	5.9	21±43	3.5	5.2	1.4	83	4.1	9.5	12	5.0	15±27
	C10S	n.d.	0	n.d.	0														
	PFAA total	14	12	14	240	23	37	87	19	56±80	18	13	9.4	190	23	38	81	17	48±61

LC/MS による化学物質分析法の基礎的研究(71)

○折原智明<sup>1</sup>, ○伊藤朋子<sup>2</sup>, ○山本道方<sup>3</sup>, 長谷川瞳<sup>4</sup>, 平生進吾<sup>4</sup>, 吉野共  
 広<sup>5</sup>, 八木正博<sup>5</sup>, 浦山豊弘<sup>6</sup>, 飛石和夫<sup>7</sup>, 上田守男<sup>8</sup>, 鈴木茂<sup>9</sup>

<sup>1</sup>札幌市衛研, <sup>2</sup>岩手県環境セ, <sup>3</sup>和歌山県環衛研セ, <sup>4</sup>名古屋市環科セ, <sup>5</sup>神戸  
 市環境研, <sup>6</sup>岡山県環境セ, <sup>7</sup>福岡県環境研, <sup>8</sup>九環協, <sup>9</sup>中部大

第 27 回環境化学討論会 (平成 30 年 5 月 22 日~25 日 那覇市)

【はじめに】

GC/MS では測定困難な環境中化学物質について、LC/MS の適用可能性を検討した。本報は、環境省委  
 託化学物質分析法開発 (LC/MS) における検討等で得られた主な知見を取りまとめたものである。

【方法】

LC/MS/MS による水質試料中の(1) アジルサルタン、(2) アルベンダゾール、(3) ヒドロクロロチア  
 ジドの分析法を検討した。

【結果と考察】

(2) 水質試料中のアルベンダゾールの分析 (岩手県環境保健センター)

[概要] 環境水中に存在するアルベンダゾール (ABZ) と主要な代謝物 3 種 (5-プロピルスルホニル-1H-  
 ベンズイミダゾール-2-アミン (ABZ-m)、アルベンダゾールスルホキシド (ABZ-sulfoxide) 及びアルベ  
 ンダゾールスルホン (ABZ-sulfone)) について、LC/MS/MS で定量する方法を検討した。

[方法]水質試料 100 mL にサロゲート物質(ABZ-d<sub>3</sub>)を添加後、固相カートリッジ (Sep-Pak Plus PS-2)に通  
 水しメタノールで溶出する。溶出液を精製水で 10 mL に定容したものを試験液とし、LC/MS/MS-SRM  
 で測定する。分析条件を Table 2、分析時のクロマトグラムを Fig. 2 に示す。

[結果]本法の検出下限値 (MDL) は、ABZ 0.75 ng/L、ABZ-m 10 ng/L、ABZ-sulfoxide 4.9 ng/L、ABZ-sulfone  
 11 ng/L で、水質試料 (河川水、海水) に ABZ 5 ng/L、その他 50 ng/L 相当となるように各物質を添加  
 して行った添加回収試験の回収率は 93~110 % の範囲であった。

Table 2 Analytical conditions

Instrument	Agilent 1200LC/ 6460MS
Column	COSMOSIL PBr (150 mm×2.0 mm, 5 μm)
Mobile phase	A : 0.1 % HCOOH/H <sub>2</sub> O, B: 0.1 % HCOOH/CH <sub>3</sub> CN 0 → 4 min (B 20 %) → 9 min (B 20 → 90 %) → 11 min (B 90 %) → 11.01 min (B 90 → 20 %) → 17 min (B 20 %)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temp.	40 °C
Injection volume	2 μL
Capillary voltage	3500 V
Ionization mode	SRM
Mode	ESI-Positive (Agilent Jet Stream)
Monitoring ion	ABZ: m/z 266.1 > 234.1, m/z 266.1 > 191.1 ABZ-d <sub>3</sub> : m/z 269.2 > 234.1 ABZ-m: m/z 240.1 > 133.0, m/z 240.1 > 198.1 ABZ-sulfoxide: m/z 282.1 > 208.1, m/z 282.1 > 240.1 ABZ-sulfone: m/z 298.1 > 224.1, m/z 298.1 > 159.0
Fragmentor voltage	120V
Collision energy	ABZ (25 eV), ABZ-d <sub>3</sub> (15 eV), ABZ-m, ABZ-sulfoxide, ABZ-sulfone (20 eV)

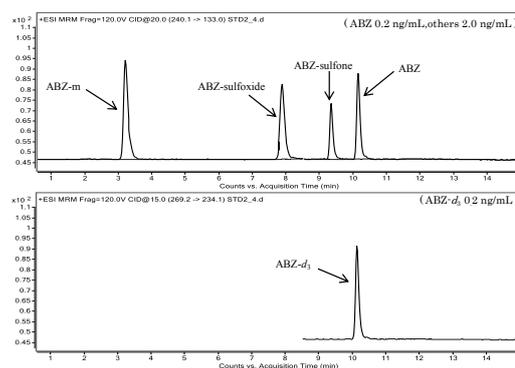


Fig. 2 SRM chromatogram of standard solution

## 北奥羽地域におけるツキノワグマ若齢メス個体の季節移動と

### 夏季の環境利用の解析

Seasonal movements and habitat use in summer of females Asiatic black bear  
in the North Ou Mountains

○鞍懸重和<sup>1</sup>, 山内貴義<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩手県環境保健研究センター,<sup>2</sup>岩手大学農学部森林科学科  
日本哺乳類学会 2018 年度大会 (平成 30 年 9 月 8 日 泉佐野市)

北奥羽地域個体群のツキノワグマの季節移動および夏季の環境利用を把握するため、2017 年 6～7 月に岩手大学御明神演習林内にて、若齢雌 3 個体に GPS テレメトリー首輪 (Followit 社製 TellusGPS) を装着し、放獣した。測位間隔については、5～8 月は 1 時間に 1 点、9～11 月は 2 時間に 1 点、12～翌年 4 月は 24 時間に 1 点とした。得られた GPS テレメトリーデータから可変カーネル法により 6～11 月の行動圏とコアエリアを算出した。またコアエリア内の測位点の空間分布と 1/25000 植生図 (第 3 回自然環境保全基礎調査植生調査報告書) から算出した土地利用割合を比較した。その結果、夏季は 3 個体ともに捕獲地点周辺の低標高に位置するコナラ - ミズナラ群落をコアエリアとしていたが、9 月上旬には 3 個体全てが岩手・秋田県県境付近の高標高に位置するブナ - チシマザサ群落に移動し、9 月下旬には捕獲地点付近のコアエリアへ回帰する季節移動を示した。夏季のコアエリア内を解析した結果、3 個体ともにコナラ群落の利用頻度が高く、耕作地や市街地、牧草地は低かった。また 2 個体についてはアカマツ植林地及びスギ・ヒノキ・サワラ植林地の利用頻度が高かった。つまり夏季では人を警戒しつつ広葉樹林と針葉樹人工林の両環境を積極的に利用し、秋季にはブナを利用する傾向がみられた。今後も継続して調査を行い、年齢や性別、年による環境の利用形態を明らかにし、大量出没の行動様式を解明する一助としたい。

## 産業廃棄物不法投棄現場内地下水の水銀分析について

○本村華子<sup>1</sup>、佐々木 和明<sup>1</sup>、吉田 敬幸<sup>2</sup>、佐々木 秀幸<sup>2</sup>、川村 裕二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岩手県環境保健研究センター、<sup>2</sup>岩手県環境生活部廃棄物特別対策室

平成 30 年度全国環境研協議会廃棄物資源循環学会併設研究発表会

(平成 30 年 9 月 13 日 名古屋市)

### 1. はじめに

岩手県内の産業廃棄物不法投棄現場付近の地下水において、水銀が環境基準を超えて検出(0.0008～ 0.0058 mg/L)している事例が認められている。

この水銀の検出原因については、現在、地質由来等について調査中である。調査を進めるにあたって、水溶液中の水銀濃度の減衰に関する先行研究がある\*<sup>1</sup>ことから、水銀が検出されている地下水中の水銀の保存性について検討したので、その結果を報告する。

### 2. 実験方法

採取した地下水を「環境省水銀分析マニュアル」(平成 16 年 3 月)\*<sup>2</sup>に従い、試料を孔径 0.45 μm メンブランフィルターでろ過後、ガラス瓶及びポリプロピレン瓶に入れて冷暗所(0℃)で保存し、それぞれの容器内試料に硝酸を添加(1 v/v %)したものと添加しないものについての水銀保存性を比較した。また、同マニュアルには全水を試料とする場合も簡便法として記載されていることから、ろ過しない場合の保存性についても検討するため、水銀の分析方法は、「水質汚濁に係る環境基準について」昭和 46 年 12 月環境庁告示第 59 号付表 1 に準拠し、水銀分析装置は、還元気化水銀測定装置 NIC RA 3A を用いた。また、1 試料につき 3 回の平行試験を実施した。

### 3. 実験結果

#### (1) 定量分析

検量線の範囲は 0.00025～0.001mg/L で良好な直線性を示し、環境省化学物質環境実態調査実施の手引き(平成 27 年度版)に従い測定(n=5)した検出下限は 0.000034mg/L であった。

#### (2) 地下水中の水銀の保存性

孔径 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過した試料については、硝酸を添加した試料では 3 週間で減少しなかったが、硝酸を添加しなかった試料は水銀濃度が 2 週間で 40～50% 程度減少した。併せて実施したろ過しない試料については、3 か月経過後も水銀濃度は減少しなかった。

### 4. 考察

今回用いた分析方法の検出下限(0.000034mg/L)は、環境基準の 10 分の 1 以下であり、本調査を行うのに十分な感度を得ることができた。

試料の保存性については、試料採取後に孔径 0.45 μm メンブランフィルターでろ過した試料については、水銀濃度は 1 週間一定であり、硝酸を添加した試料については、3 週間経過後も水銀濃度は減少しなかった。このことから、環境試料をろ過した場合は、特に早く試料を分析する必要があると思料された。また、今回の地下水試料では、硝酸添加の保存処理を行うことが有効であった。一方、試料をメンブランフィルターでろ過しない場合の水銀の保存性を確認したところ、3 か月経過後も水銀濃度の減少は認められなかった。このことは、試料中の浮遊物質に水銀が吸着し、容器内壁への吸着が少なくなったためであると思料された。

### 5. まとめ

地下水中の水銀については、ろ過しない場合は 3 か月間保存できるが、前処理としてメンブランフィルターでろ過した場合は、直ちに分析をする必要があることが判明した。また、短期間であれば、試料の保存処理として硝酸添加を行うことが有効であることも判明した。これらの検討結果は、地質コアからの水銀の溶出調査を実施する上で有用であることから、今後これらの結果を踏まえて調査を継続していきたい。

## 高圧処理を用いたノロウイルス不活化の検討

○高橋知子<sup>1</sup>, 白澤彰<sup>2</sup>, 加賀克昌<sup>3</sup>, 高橋雅輝<sup>1</sup>, 佐藤卓<sup>1</sup>, 梶田弘子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岩手県環境保健研究センター, <sup>2</sup>県南広域振興局, <sup>3</sup>岩手県水産技術センター

第 39 回日本食品微生物学会学術総会 (平成 30 年 9 月 27 日~30 日 大阪市)

【背景と目的】ヒトノロウイルス(以下、「NoV」)の感染制御において、カキ等の二枚貝に蓄積した NoV を不活化するには、十分な加熱が確実である。一方で、NoV のリスクのない生食用カキの流通は、生産者、食品取扱業者、消費者に強く望まれている。今回我々は、食品における微生物制御法としての効果が期待されている高圧処理<sup>1)2)</sup>を用い、NoV 不活化の効果を調査した。

【方法】(1) 試料：カキ中腸腺をペースト状にしたもの(約 1.5g)に、予めリアルタイム PCR 法でコピー数を確認した NoV 感染者の糞便乳剤(2.26×10<sup>6</sup> コピー/mL)を添加し試料とした。糞便乳剤の添加量により低濃度試験区(2.26×10<sup>4</sup> コピー数 NoV 添加)と高濃度試験区(2.26×10<sup>6</sup> コピー数 NoV 添加)を作製した。(2) 高圧処理：装置は「Dr. CHEF」(神戸製鋼)を使用した。圧力 0、300、400MPa、加圧保持時間 5 分、10 分、5 分 2 回の条件で、いずれも 4℃に保持し実験を行った。(3) NoV のコピー数測定：各試料を、α-アミラーゼ溶液によるグリコーゲン消化後、ポリエチレングリコール沈殿で濃縮し、感染性推定遺伝子検出法<sup>3)</sup>(破壊されたカプシドから露出した RNA を RNase 処理で消化し、カプシドが正常でも損傷した RNA はオリゴdT プライマーを用いた逆転写により排除する方法(以下、推定法))で RNA 抽出及び逆転写を行った後、リアルタイム PCR 法で NoV コピー数を測定した。(4) データ解析：R version 3.4.3 を使用し分

散分析及び多重比較を行った。

【結果と考察】NoV の減少量(対数減少値)は、両試験区ともに圧力 400MPa 保持時間 10 分で最も大きく、約 2 オーダー減少した。低濃度試験区において、5 分、10 分、5 分 2 回のいずれの保持時間でも 300MPa と 400MPa の間で有意な差がみられた。また、低濃度試験区の 300MPa 5 分と 10 分、400MPa 5 分と 10 分の間でも有意な差がみられた。高濃度試験区においても、同じ保持時間では圧力が高い方が、同じ圧力では保持時間 5 分よりも 10 分もしくは 5 分 2 回の方が NoV の対数減少値が大きい傾向がみられた。また、両試験区で、加圧時間 10 分と 5 分 2 回では 10 分の方の対数減少値が大きく、圧力を連続でかけた方が不活化の効果が高くなることが示唆された。以上から、NoV を添加したカキ中腸腺に対する高圧処理は、NoV の減少に有効であり、その効果は圧力と保持時間に影響を受けると考えられた。

1) Renduelesa, E., et al. Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing. LWT-Food Sci. Technol. 2011

2) Kingsley, D. H., et al. Inactivation of a norovirus by high-pressure processing. Appl. Environ. Microbiol. 2007

3) 野田衛. 食品のウイルス汚染のリスクを評価のための遺伝子検査法の開発と応用に関する研究. 内閣府食品安全委員会食品健康影響評価技術研究 (2014)

## 腸管毒素原性大腸菌の食品での試験法のコラボレイティブ スタディによる評価(1)

○岩渕香織<sup>1</sup>, 土屋彰彦<sup>2</sup>, 大塚佳代子<sup>3</sup>, 小西典子<sup>4</sup>, 山崎匠子<sup>5</sup>, 和田裕久<sup>6</sup>, 木全恵子<sup>7</sup>, 永井佑樹<sup>8</sup>, 吉田孝子<sup>9</sup>, 平塚貴大<sup>10</sup>, 森哲也<sup>11</sup>, 稲垣俊一<sup>12</sup>, 白石祥吾<sup>13</sup>, 甲斐明美<sup>14</sup>, 寺嶋淳<sup>15</sup>, 工藤由起子<sup>15</sup>

<sup>1</sup>岩手県環境研セ,<sup>2</sup>さいたま市健科研,<sup>3</sup>埼玉衛研,<sup>4</sup>東京都健安研,<sup>5</sup>杉並衛セ,<sup>6</sup>静岡市環境研,<sup>7</sup>富山衛研,<sup>8</sup>三重保環研,<sup>9</sup>奈良保研セ,<sup>10</sup>広島総研保環セ,<sup>11</sup>(一財)東京顕微鏡院,<sup>12</sup>横浜検疫所,<sup>13</sup>神戸検疫所,<sup>14</sup>(公社)日食協,<sup>15</sup>国立衛研

第39回日本食品微生物学会学術総会(平成30年9月27日~30日 大阪市)

【目的】腸管毒素原性大腸菌(ETEC)06、025、027、0148、0153、0159および0169の7血清群を対象とした食品での検査法を確立するため、先行研究にて検討された増菌培養法、免疫磁気ビーズ法、分離培養法、遺伝子検出法を組み合わせた試験法を13試験検査機関によるコラボレイティブスタディを実施して評価した。試験法の評価は、7血清群のうち0148および0159を対象として試験を行った。なお、実施結果については、本学術総会演題「腸管毒素原性大腸菌の食品での試験法のコラボレイティブスタディによる評価(2)」(吉田孝子ら発表)にて報告する。

【方法】検体: コラボレイティブスタディは、血清群ごとに実施した(第1回: 0159 STh遺伝子保有、第2回: 0148 STpおよびLT遺伝子保有)。供試した食品検体は、1試験検査機関につきキュウリ9検体、長ネギ9検体(それぞれ高菌数接種3検体、低菌数接種3検体、非接種3検体)および陽性対照用長ネギ1検体の計19検体とした。検体調製: キュウリおよび長ネギは市販品を購入した。ストマッカー袋に1検体あたり25 gを採り、低菌数で5 cfu、高菌数で25 cfuとなるように菌液を接種した。なお、実接種菌数(cfu)は、血清群0159で、低菌数平均7.4、高菌数平均37、血清群0148で、低菌数平均4.1、高菌数平均20.5であった。ストマッカー袋上部をヒートシールし、小型温度記録計とともにバイオセーフティー対応容器に入

れ包装基準に従い、冷蔵にて各機関に送付した。なお、送付時の温度は0℃から8℃であった。試験方法: 検体入りのストマッカー袋に、あらかじめ室温に温めたmEC培地225 mlを加え、1分間ストマッカー処理を行い、42±1℃で22±2時間培養した。この培養液から、①ST・LT遺伝子検出リアルタイムPCR法、②直接分離培養法、③対象血清群の免疫磁気ビーズ法(本学術総会にて尾畑浩魅ら発表)による分離培養法の3方法にて、ETECの検出を行った。リアルタイムPCR法では、食品培養液からのアルカリ熱抽出物を供試し、ABI7500にてFrydendahlら(STp遺伝子)、小西ら(STh遺伝子)、Westら(LT遺伝子)、USDA(16SrRNA遺伝子: インターナル・コントロール)の方法を組み合わせ構築したマルチプレックス反応系により行った。また、対象血清群の免疫磁気ビーズ法による分離培養法では、分離培地として抗生物質加SMACおよび抗生物質加クロモアガーSTECを各2枚、直接法では、さらにSMAC、クロモアガーSTEC各2枚を追加し、画線後に37℃で18~24時間培養した。培地上に生育した各血清群の定型集落を普通寒天培地等に単離し、0159および0148免疫血清にて各血清群の凝集を確認した。全試験検査機関の結果を集計し、Outlier機関及び検出方法の有意差検定(一元配置分散分析およびTukey-Kramer法)を行った。

## 岩手県における特定健診等から見たメタボリックシンドロームと生活習慣について

○三浦紀恵、菊池圭、梶田弘子

岩手県環境保健研究センター

第 77 回日本公衆衛生学会（平成 30 年 10 月 24 日 福島県郡山市）

【目的】岩手県の特定健診メタボリックシンドローム（以下メタボ）群割合は、特定健診開始以来全国平均より高く推移し、肥満割合も全国平均より高い。また、学校保健統計調査でも岩手県の肥満傾向児出現率は、すべての学年で全国平均を上回り、多くの学年で都道府県別ワースト 10 位内に位置している。特定健診と児童・生徒アンケートデータから肥満と生活習慣の関連性を把握し、肥満予防対策の一助とする。

【方法】岩手県で運用している「いわて健康データウェアハウス」（健診・生活習慣データ、人口動態統計等の集積システム）を用い、平成 27 年度特定健診のメタボ群及び非メタボ群（男性 99,390 人、女性 99,786 人）と生活習慣のクロス集計を行った。また、岩手県で実施している小 1・4 年、中 1・3 年、高 3 年対象の平成 29 年度学校アンケート（男子 13,961 人、女子 13,102 人）から、肥満と生活習慣の項目（朝食摂取、間食、偏食、運動習慣）についての変数を投入し、ロジスティック回帰分析を行った。

【結果】特定健診データでは、非メタボ群よりメタボ群が高いのは、男性の「運動習慣なし」、男女の「夕食後の間食あり」と「20 歳から 10kg 体重増加あり」であった。学校アンケートで肥満と関連があったのは、「1 回 30 分以上の汗をかく運動を週 2 日以上、1 年以上実施なし」が中 1 男子でオッズ比 1.62 (95%CI1.25-2.10)、中 3 男子 1.79 (1.36-2.35)、中 3 女子 1.34 (1.03-1.75)、「間食 1 日 2 回以上」が小 4 男子 1.30 (1.02-1.67)、中 3 男子 0.47 (0.35-0.65)、中 3 女子 0.63 (0.44-0.91)、高 3 女子 0.52 (0.39-0.70)、「朝食を週 2 日以上食べない日がある」が小 4 女子 2.03 (1.15-3.57)、中 1 女子 1.81 (1.23-2.67)、高 3 女子 1.37 (1.00-1.88)、「偏食あり」が中 1 女子 1.42 (1.05-1.93)、中 3 男子 1.40 (1.04-1.87)、高 3 女子 1.33 (1.00-1.77) であった。

【結論】肥満と関連ありと示唆されるのは、特定健診データと学校アンケートの「運動習慣なし」、「間食状況」と学校アンケートの女子 3 学年「朝食欠食あり」、中学生以上「偏食あり」であった。小 1 は関連ありと示唆される項目が認められないことから、学年が上がるに従い個々の生活習慣が強く影響してくると考えられる。小児期の肥満の多くは成人の肥満に移行すると考えられていることから、低学年から運動習慣と望ましい食事摂取（量、質、時間）の定着が必要である。

## 2016年に岩手県で分離されたC型インフルエンザウイルスの性状解析

○高橋 雅輝<sup>1,4</sup>, 松崎 葉子<sup>2</sup>, 佐々木 裕<sup>3</sup>, 梁 明秀<sup>4</sup>, 木村 博一<sup>4,5</sup>,  
村木 靖<sup>3</sup>

<sup>1</sup>岩手県環境保健研究センター,<sup>2</sup>山形大学医学部,<sup>3</sup>岩手医科大学医学  
部,<sup>4</sup>横浜市立大学大学院医学研究科,<sup>5</sup>群馬パース大学保健科学部

第66回日本ウイルス学会学術集会（平成30年10月28日～30日 京都市）

### 【目的】

岩手県環境保健研究センターでは2013年4月から呼吸器ウイルスの調査・研究を行っており、これまでにライノ、RS、パラインフルエンザ、ヒトメタニューモウイルスの4つのウイルスが検体の約60%を占めた。2015年1月からC型インフルエンザウイルス（C型ウイルス）の検出を開始したところ陽性2検体が得られたので、抗原解析および遺伝子解析を目的に検体からのC型ウイルス分離を行った。

### 【方法】

2015年1月から2018年2月までに、主に小児の肺炎・気管支炎症例から採取して上記の主要な4つのウイルスが検出されなかった141検体を対象にリアルタイムPCR法でC型ウイルスNP遺伝子の検出を試みた。陽性と判定した咽頭ぬぐい液を、MDCK細胞および発育鶏卵羊膜腔に接種・継代し、C型ウイルスを分離した。分離ウイルスは次のように解析した。(1)HEF糖蛋白に対する単クローン抗体を用いた赤血球凝集阻止試験。(2)ダイレクトシーケンス法による7つの遺伝子分節の全塩基配列の決定と最尤法による系統樹作成。

### 【結果】

2016年3月と5月に各1株が分離され、C/岩手/1/2016およびC/岩手/2/2016と命名した。2株の抗原性は、2005年以降に国内で流行しているC/サンパウロ（SP）系統株に類似していた。系統樹解析では、HEF遺伝子はC/SP系統に属していた。C型ウイルスの6つの内部遺伝子は、各々、C/山形（Y）系統またはC/ミシシッピ（M）系統に分けられる。C/岩手/1/2016のPB2、PB1、P3、NP、M、NS遺伝子は、それぞれY、Y、M、M、Y、Y系統であった。一方、C/岩手/2/2016はM、Y、M、Y、Y、Y系統であった。

### 【考察】

岩手県で初めてC型ウイルスを分離した。2株のHEF遺伝子はC/SP系統に属していたが、内部遺伝子の組成は異なっていた。日本国内では、C/岩手/2/2016と同じ組成をもつC/SP系統株が2005～2012年にかけて流行したが、2013年以降の報告はなかった。2014年にはC/岩手/1/2016と同じ組成をもつC/SP系統株が国内に出現して置き換わったことが示唆された。しかし今回、岩手県で分離された2株の解析により、内部遺伝子の組成が異なる2種類のC/SP系統が国内で共存し続けていたことが強く示唆された。

### 【謝辞】

米沢俊一先生（もりおかこども病院、現子どもは未来もりおかこどもクリニック）

### Discharge scenario of perfluoroalkyl acids into the environment via sewage treatment plants

K. Iwabuchi: Iwate Prefectural Research Institute for Environmental Sciences and Public Health

S. Nagahora, R. Tahara: Hokkaido Research Organization, Institute for Environmental Science, Hokkaido, Japan

T. Orihara: Sapporo City Institute of Public Health

H. Iida, T. Suzuki, Y. Kosugi, K. Watanabe, H. Konishi: Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, Tokyo, Japan

S. Takagi, F. Adachi : Osaka Institute of Public Health

T. Miyawaki : Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

K. Kadokami : The University of Kitakyushu

SETAC North America 39<sup>th</sup> Annual Meeting (2018.11.4~8 Sacramento,USA)

Perfluoroalkyl acids (PFAAs) are detected throughout the world, and thus some of them have been designated as persistent organic pollutants. Although understanding their emission loads and sources are essential to establish measures against their environmental impacts, they are yet to be clarified. PFAAs are used in various commercial products, and therefore small amounts are usually found in wastewater discharged from factories and households, which are typically treated in sewage treatment plants (STPs). Almost the entire volume of wastewater generated due to human activities in urban areas of Japan is treated by STPs. Therefore, we examined PFAAs in STPs located in major cities to determine the amount of PFAAs generated due to human activities. We selected eight STPs (designated as STP A-H) in Japan. Influent and effluent were collected three or four times during the period from February 2017 to February 2018. PFAAs in a 24-h composite sample were extracted by solid-phase extraction, and then measured by LC-MS/MS. The target compounds were 15 different PFAAs (hereinafter, CXA means carboxylic acid type, CXS means sulfonic acid type, and X signifies the carbon number).

There were remarkable differences in PFAA concentrations among the STPs examined; PFAA concentrations in the influent and effluent of STP D and those in the effluent from STP G were significantly higher than those of other STPs. The concentrations of PFAA in the influents and effluents were compared. Concentrations of C5A to C9A in effluents were higher than in influents of almost all STPs, while those of C10A to C13A in effluents were lower than in influents. However, perfluoroalkyl sulfonic acid (PFSA) concentrations in effluents were lower than those in influents for all the STPs, except STP G. During water treatment processes, C10A to C13A, and some PFSA seemed to be removed through adsorption on activated sludge, while C5A to C9A were formed from their parent substances. The loads of PFAA, emitted due to human activities and discharged from the STPs, were calculated using the detected concentrations, volume of wastewater, and population served by the sewer. Based on the median calculated amounts, the amount of PFAA released in Japan was calculated to be 800 kg/y (amount of C8S released was the highest: 210 kg/y), and amount of PFAA discharged from STPs in Japan was calculated to be 810 kg/y (C8S was discharged in the highest quantity: 190 kg/y).

## 腸管出血性大腸菌O111集団感染事例の検査を通じて示された 便検体より分離したO111集落に関する考察

○山中拓哉、太田美香子、高橋幸子、上山昭  
岩手県環境保健研究センター 検査部

第22回腸管出血性大腸菌感染症研究会（平成30年11月8日～9日 東京都）

【目的】腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症の確定診断には通常、糞便からの菌分離が必要である。便検体に含まれるEHECは腸内細菌叢や投薬状況等の影響により純培養した菌株とは異なった所見を示す可能性がある。我々は、平成29年に岩手県内で発生したO111集団感染事例の検査を通じて、同じ集団内であり遺伝的には同一であると考えられるO111の各便検体における所見について調査した。その結果、EHEC選択剤として使われるセフィキシム及び亜テルル酸カリウム（CT）に対する感受性について、検体間での違いを示唆するデータが得られたのでこれについての報告を行う。また、O111用選択分離培地の検討も行ったので、これについての報告も併せて行う。

【材料・方法】平成29年10月～11月にかけて岩手県内で発生したO111VT1による集団感染事例においてO111が検出された糞便33検体を研究対象とした。これらの便検体をCT-ソルボスマックコンキー寒天培地（CT-SBMAC）及びクロモアガーO157TAM培地（関東化学）に塗抹・培養し、培地上の集落を観察した。

クロモアガーO157TAM培地は元来O157分離用の培地であり、 $\beta$ -グルクロニダーゼ陰性の大腸菌であるO157は藤色の集落を呈し、大腸菌群及び $\beta$ -グルクロニダーゼ陽性の大腸菌は青色の集落を呈する。我々は当センターで保管している59株のO111菌株を用いて本培地でO111を培養した時の所見について検討した。その結果、全ての菌株で藤色の集落を呈したため、本培地をO111用選択分離培地としても使用できると判断しこれを検査に用いている。

【結果・考察】O111が検出された糞便33検体についてO111陽性集落が2種の選択分離培地のどちらから分離できたかを調査した。20検体については両方の培地から分離され、6検体についてはCTを含有するCT-SBMACのみから分離された。残り7検体についてはCTを含有しないクロモアガーO157TAM培地のみで分離されたが、これは分離されたO111菌株がCT耐性を示すことと相反する結果となった。

この結果を示した理由としては、便検体中のO111が損傷を受けており、CT耐性が弱まっている可能性が考えられる。これより、便検体中における生理状態の違いによっては、EHECがCTに対して感受性となる等、選択分離培地上でコロニーの発育に影響を及ぼす可能性があることが示唆された。以上の結果から便検体のEHEC分離培養においてはCT含有及びCT不含の選択分離培地を併用することが有効であることが示された。

## 特定原材料検査におけるもち米加工品の均質化操作に関する検討

○昆野智恵子、阿久津千寿子、沼野聡、宮手公輔、関村照吉、中南真理子、五日市恵里  
岩手県環境保健研究センター

第 55 回 全国衛生化学技術協議会年会（平成 30 年 11 月 29～30 日 横浜市）

### [目的]

アレルギー疾患をもつ国民の割合は年々増加しているといわれ<sup>1)</sup>、その一つである食物アレルギーについては、学校給食の誤食事例などが毎年のように発生している。

岩手県においても、県が定める収去計画に基づき、平成 15 年度から継続して特定原材料検査を行っている。検査項目は、特定原材料の中でも比較的発症事例の多い「小麦」と、県北地域で多く生産され重篤なアレルギー症状が出やすいといわれる「そば」の 2 項目である。

検査方法は、消費者庁通知<sup>2)</sup>に基づき実施しているが、今般、ELISA 法による定量検査において 2 回目の検査を実施する指標である 8-12  $\mu\text{g/g}$  を超える小麦の検体があり、通知に基づき 2 回目の検査を行ったところ、1 回目と測定値が大きく異なる結果となった。このばらつきは、試料の調製方法に由来していると考えられたことから、均質化操作に関する検討を行ったので報告する。

### [方法]

#### 1 材料

粒あんをもちで包んだもち米加工品（いわゆる「大福もち」）

#### 2 ELISA キット

ELISA による定量検査は、次の 2 つのキットを使用して測定を行った。

- (1) FASPEK エライザ II 小麦用（モリナガ製。以下、M キット）
- (2) FASTKIT エライザ Ver. III（日本ハム

製。以下、N キット）

#### 3 均質化装置

試料の均質化操作には、オスターブレンダーミキサー 16speed（オスター社製）を用いた。

#### 4 均質化操作

表 1 ①から③の 3 通りで行った。

#### 5 抽出、測定方法

通知のとおり行った。

### [結果と考察]

通知に基づき検体をミキサーにかけたが、もちの粘度が高いために均質化及び 1 g 採取は困難な状態であった。そこで、表 1 ①の方法により均質化を行い測定した結果を表 2 に示す。なお、3 ウェルそれぞれの測定値を平均した値を平均値とした。

操作①による測定の結果は、いずれのキットでも 1 回目と 2 回目の測定値にばらつきが見られ、測定値全体の CV 値は 25% を超えた。この原因として、試料中のもちとあんの割合が違うためではないかと考えられたことから、もちの部分とあんの部分をそれぞれ測定した。その結果、もちは 13.6  $\mu\text{g/g}$ 、あんは定量下限値以下であった。よって、試料を採取する際に 1 g 中のもちの重量割合が多いか少ないかで測定値にばらつきが生じていたことがわかった。

通知には、「単純な粉砕による均質化が困難な場合は、試料と同重量の水を加えミキサー等により均質化を行う。その後凍結乾燥処理を行い、再度均質化を行う。」のように記載されて

いるが、当センターは凍結乾燥装置を所有していないため実施することができない。そこで、同重量の水を加え均質化する操作のみで、どの程度ばらつきを小さくできるのかを検討することとした。

今回は特に、もちに含まれている小麦を均質化する必要があるが、目視でそれを確認することはできない。十分に均質化されていれば、もちとあんの重量割合が試料本来の割合とほぼ同じになるはずであると考え、表1②及び③の操作を行い測定した結果を表3に示す。なお、検査は①の測定においてより大きなCV値を示したMキットを用いて行い、3ウェルそれぞれの測定値を平均した値を平均値とした。

②及び③による測定の結果、ばらつきはどちらの方法も小さく、測定値全体のCV値はいずれも5%以下であったことから、同重量の水を加えることにより、もちのように粘度の高い食品でも十分に均質化できることがわかった。一方、均質化操作の違いにより測定値には有意差が見られた。十分な均質化が行われていれば、②も③も同様の値が出ると考えられたが、実際はもちとあん別々に水を加えて混合した方③の測定値が低いという結果であった。

検体を収去した保健所が確認した結果、当該製品と小麦加工品は同じ包あん機を使用して製造されていることが分かった。よって、小麦加工品製造直後の製品にはより多くの小麦が混入するが、その量は製造を重ねるにつれ減少していくと考えられ、その製造段階の違いにより、今回のような差が生じた可能性がある。

#### [まとめ]

特定原材料検査における均質化操作を検討した結果、もち米加工品のように粘度が高く、通常の方法での均質化が難しい試料でも、同重量の水を加える操作のみで十分な均質化を行うことができた。しかし、操作方法の違いによ

って測定結果に有意差が見られた。

特定原材料検査に供される加工食品の形態は様々であり、アレルギー物質の混入状態も同様であることから、今回検討した均質化操作を凍結乾燥操作の代わりに取り入れるためには、さらに検討を重ねる必要がある。

#### [参考文献]

- 1) 「アレルギー疾患の現状等」(平成28年2月3日厚生労働省健康局 がん・疾病対策課資料)
- 2) 消費者庁次長通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」(平成22年9月10日消食表第286号)

表1 各均質化操作の方法

番号	操作の方法
①	包丁により細切し1g採取
②	同重量の滅菌水を加え、ミキサーで30秒間×3回混合し2g採取
③	もちとあん別々に同重量の滅菌水を加え②と同様に混合し、もちが試料中の平均的な重量割合であった62%になるよう採取

表2 均質化操作①による測定結果 (μg/g)

	Mキット	Nキット
1回目平均	11.5	8.4
2回目平均	5.2	5.1
全体平均±標準偏差	8.3±3.45	6.7±1.78
CV(%)	41.57	26.57

注：n=3

表3 均質化操作②及び③による測定結果 (Mキット) (μg/g)

	操作②	操作③
1回目平均	8.4	6.6
2回目平均	7.9	6.3
全体平均±標準偏差	8.2±0.33	6.5±0.21
CV(%)	4.02	3.23

注：n=3

(p<0.001 : T-test)

## 有機フッ素化合物の環境中への排出と環境中からの検出

岩渕勝己

岩手県環境保健研究センター

環境化学討論会北海道・東北地区部会（平成 30 年 12 月 10 日 福島市）

有機フッ素化合物 (PFAAs) は、残留性有機汚染物質 (POPs) としての特徴を持つため、世界中に拡散してあらゆる場所や野生動物、ヒト等から検出されており、また、生体への悪影響も懸念されている。このような背景のもと当方で進めてきた研究について、今回は有機フッ素化合物の環境中への排出実態、及び環境中から検出される有機フッ素化合物の特徴などに関し、これまでに得られた知見を発表する。

水環境中への PFAA の拡散は、発生源が事業場や家庭であることから、主要なルートの 1 つとして下水処理場 (STP) がある。全国から 8 か所の STP を選定し、流入水と放流水の PFAA 濃度を測定したところ、STP による大きな差があること、比較的短鎖のカルボン酸系 PFAA は STP の処理工程中で濃度が増加し、生成されている可能性があることなどが明らかとなった。また、環境中には STP を通じて年間トータルで 800kg 程度排出されていると推計された。

環境中に存在する PFAA を調べるため、日本各地からメダカ及び生息地点の環境水と底質を採取し、各サンプルの PFAA 濃度を分析した。その結果、各地点の環境水、底質、メダカともに、検出される濃度に差はあるものの組成比は類似していること、環境水及びメダカから検出される PFAA 濃度は、強熱減量当たりの底質中 PFAA 濃度と相関が見られること、メダカ等への生物濃縮係数とオクタノール/水 分配係数の間には一定の相関が認められること、などが明らかとなった。

一部の PFAA は製造や使用がすでに禁止されているが、未だに環境中からは多くの PFAA が検出される。今後も環境中における挙動や生体影響を確認していくことは、非常に重要である。

## 食中毒菌検査における食品検体について

～ウエルシュ菌食中毒の検査事例から～

○高橋幸子 太田美香子 山中拓哉 上山昭

環境保健研究センター 検査部

平成 30 年度食の安全安心担当業務研究発表会（平成 31 年 1 月 25 日 盛岡市）

### 1 はじめに

本年度、ウエルシュ菌食中毒が疑われる有症事例が 2 件発生した。両事例も患者便検体からは高確率でウエルシュ菌が検出されたにも関わらず、事例 1 では食品検体からウエルシュ菌が検出されず、事例 2 では食品検体から検出されたウエルシュ菌が、食中毒が発生すると考えられる菌量に満たなかった。その原因について検討したので報告する。

### 2 ウエルシュ菌の特徴

ウエルシュ菌は、偏性嫌気性の芽胞形成菌である。ヒトや動物の大腸内常在菌であり、土壌や下水、河川、海など自然界にも広く分布し、食肉、魚介類、あるいは野菜など多くの食品が本菌に汚染されている。食中毒の原因となるものは主に耐熱性芽胞形成ウエルシュ菌である。本菌は耐熱性芽胞を形成するため加熱処理によっても完全に死滅せず生き残る。また、加熱により食品の中心部は酸素の無い状態になり、嫌気性菌のウエルシュ菌にとって好ましい状態になるため、食品の温度が発育に適した温度まで下がると発芽して急速に増殖を始める。ウエルシュ菌による食中毒のほとんどは、本菌が大量に増殖した食品を喫食することにより、腸管内で増殖して、芽胞を形成する際に産生・放出されるエンテロトキシンにより発症する感染型食中毒である。高齢者福祉施設や病院では院内感染の原因菌になることがある。なお、自然環境中に広く分布しているウエルシュ菌の多くはエンテロトキシンを産生しない。

### 3 事例紹介

#### (1) 事例 1

提供食数 50 食 摂食者数 50 人 患者数 20 人 原因 不明

ウエルシュ菌陽性検体数/検便検体数 20/20 検体

調理済み食品（検食）からウエルシュ菌は検出されなかった。

#### (2) 事例 2

提供食数 300 食 摂食者数 300 人以上 患者数 約 200 人 原因食品 仕出し料理

ウエルシュ菌陽性検体数/検便検体数 7/7 検体

ウエルシュ菌が検出された食品 ホタテ煮、ムール貝煮、エビ煮、煮しめ（さつま揚げ、ちくわ、こんにゃく、ごぼう、人参、豆腐）

検体は、検食として上記食品が一つの袋にまとめられた状態で搬入されたため、1 検体として検査した。

菌量 100 CFU/g（定量下限値）未満※

※直接培養（検体を培地に直接塗抹し培養）にてウエルシュ菌を検出したが、定量検査（検体を均質化して段階希釈したものを培地に塗抹し培養）ではウエルシュ菌を検出できなかった。

#### 4 全国の食中毒事件における食品検体からの原因菌検出状況

食中毒関連情報共有システム(NESFD)の食中毒事件詳細に掲載された全国の食中毒事件について、発症菌量が多いとされるウエルシュ菌、黄色ブドウ球菌、セレウス菌の食品検体からの原因菌検出状況を表1にまとめてみた。すべての食中毒事件を抽出していないこと、また、原因菌を検出した検体種が異なっているので一概に比較できない面はあるが、食品検体からのウエルシュ菌の検出が難しいことがうかがえた。

表1 食品検体からの原因菌検出状況

原因菌	詳細掲載事件数	左記件数のうち食品検体の検査実施件数	原因菌検出件数	原因菌を検出した検体種
ウエルシュ菌	19件 (2017年～2018年)	14件	3件	検食
黄色ブドウ球菌	6件 (2017年～2018年)	6件	4件	残品、参考食品、 検食
セレウス菌	4件 (2015年～2018年)	3件	3件	参考食品、残品

#### 5 検討事項及び結果

##### (1) 検食採取方法

厚生労働省で示した大量調理施設衛生管理マニュアルでは、調理済み食品は配膳後の状態で保存することと定められている。この「配膳後の状態」とは、保存用の検食も配膳するまで同じ条件下に置いたものを凍結保存するという意味であるが、実際には検食採取のタイミング及びその後の保存条件によって提供された食品と検食では菌量に差がでる可能性がある。保存されている検食が配膳後の状態といい難い場合、食べ残し等の残品や容器に付着した煮汁等の検査を検討に入れることで原因の究明に役立つ場合がある。

##### (2) 検食採取箇所

ウエルシュ菌はその特徴から、鍋表層部より下層部においてより良く増殖する傾向が確認されている(注1)。特に大鍋で調理され、煮崩れを防ぐために十分なかき混ぜがなされないおでんや煮物などでは、鍋表層部より、鍋下層部において嫌気的条件となり、熱に強い耐熱性芽胞形成ウエルシュ菌が生き残り、大鍋のため放熱に時間を要し至適温度が長時間保たれることで増殖する。したがって、検食が鍋表層部から採取された場合、実際に喫食された食品よりも菌量が少ないことが考えられる。

#### 6 まとめ

検食の採取は、食中毒事件及びその疑いが発生した場合、発生原因の究明のために行うものである。目的を果たすためにも、回収した検食がマニュアル通り配膳後の状態で保存されたものかを確認し、場合によっては、食べ残し等の残品や容器に付着した煮汁等の検査の検討、そして、検食の採取状況を検査結果の考察に加える必要があると考える。

#### 引用文献

(注1) 平成30年全国食品衛生監視員研修会研究発表等抄録 堺市保健所 東田周作 他

## 腸管出血性大腸菌の MLVA 解析について

○岩渕香織, 藤森亜紀子, 川上修央, 高橋雅輝, 高橋知子, 梶田弘子  
環境保健研究センター

平成 30 年度食の安全安心担当業務研究発表会 (平成 31 年 1 月 25 日 盛岡市)

### はじめに

平成 30 年 6 月 29 日付厚労省健康局結核感染症課等事務連絡「腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について」により、事案の早期探知、関係部門の連携及び共有等を目的として、腸管出血性大腸菌 0157, 026, 0111 の遺伝子検査手法については、反復配列多型解析法 (Multiple-Locus Variable-number tandem repeat Analysis 以下「MLVA 法」という。) による検査を実施することとなった。また、本県では独自に調査シートを活用し疫学情報に感染症サーベイランスシステムにて付与された番号 (NESID ID) を付して管理し、分析結果を一覧化して県庁担当課、保健所、当センターの関係者が情報共有を行っている。

今回、MLVA 法によるデータ解釈方法の理解と関係者の情報共有を図るため、平成 30 年に環境保健研究センターに確保された菌株の MLVA 法解析結果について報告する。

### MLVA 法について

MLVA 法は、分子疫学解析法の一つである。分子疫学解析法とは病原体の染色体の構成成分である DNA 配列の多様性を利用し、菌株間の差を検知する方法である。菌株間の異同や類縁性を調べ、事例間の関連性を明らかにすることができるので、広域に流行する散发事例株の探知に有効である。現在、腸管出血性大腸菌では、主にパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法、IS-printing 法、MLVA 法の 3 つの方法が利用されている。

細菌ゲノムには、塩基配列も塩基数も異なる単一配列が、タンデムにリピートする領域が複数存在し、かつ比較的頻繁にリピート数が変化することが知られている。MLVA 法とはこれらのリピート数の違いを基に菌株を型別する方法である。

なお、MLVA 法の結果は、17 個の数字で示され(表 1)、この 17 個の数字が一致したものを同じ MLVA 型と呼んでいる。この数字は、ゲノム上の 17 か所それぞれの領域の反復配列数 (リピート数) を示している。異同の判別は、17 領域のリピート数が一致するかどうかである。ただし、集団発生事例や家族内感染においても一致しない例もあり、そのほとんどは 17 領域のうち、1 領域のコピー数が異なるものである。これは single-locus variant (SLV) と呼び、類似する株とする。

### MLVA 法の実施

当センターに確保された腸管出血性大腸菌 0157, 026, 0111 について、MLVA 検査を実施し、一致もしくは類似した株の情報を腸管出血性大腸菌感染症対応 (試行) 実施要領により「情報共有エクセルファイル」に入力するとともに医療政策室に報告している。また、国立感染症研究所へ菌株を送付し、全国的な広域株と推定される事例について報告されている。

結果は、菌株送付後約 1 週間で還元され、全国の他自治体と一致もしくは類似したデータについても、県内のデータと同様に「情報共有エクセルファイル」に入力するとともに医療政策室に報告している。

情報共有エクセルファイル中にある、18m2037 といった MLVA Type と、18c206 といった Complex は国立感染症研究所で付している番号で、MLVA Type は菌株に、Complex は SLV など近縁の型どうしをまとめたものである。

表 1 MLVA 法検査結果

地研菌株	O:H	感染研	VT1	VT2	EH111-1	EH111-14	EH111-8	EH157-13	EH26-7	EHC-1	EHC-2	EHC-5	EHC-6	O157-3	O157-34	O157-9	O157-25	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37
18002	O157:H-		+	+	2	-2	1	4	-2	7	5	-2	-2	13	10	16	2	7	7	4	9
18003	O157:H7		+	+	2	-2	1	1	-2	6	6	7	-2	-2	9	11	4	3	5	5	6
18005	O157:H7		+	+	2	-2	1	4	-2	6	4	7	15	10	12	8	5	6	6	6	7
18006	O26:H11		+	-	2	1	1	2	4	9	7	2	11	-2	1	10	2	-2	1	-2	7

### 平成 30 年解析結果

MLVA データは単なる数値の配列（表 1）であるため、minimum spanning tree（以下 MST）と呼ばれるグラフで報告する。

※MST:円は各遺伝子型を表わし、その遺伝子型を持つ菌株数が多いほど円は大きくなる。辺の長さは遺伝子間の不一致領域数を表わす。一致する領域数が多いほど辺は短くなり近縁遺伝子はグラフ上で近くに配置され、近縁遺伝子でない辺は点線となる。

岩手県内の腸管出血性大腸菌 O157（図 1）は 17 株、O26（図 2）は 35 株確保され、県内および他自治体と一致あるいは類似する遺伝子型が検出されたが、関連性が見つかった事例はなかった。

### 終わりに

腸管出血性大腸菌感染症は、届出の時点では食中毒か感染症かはわからないため、食品担当および感染症担当が協力し疫学調査を実施している。平成 30 年にはモスバーガーによる広域食中毒事例や、東京ドームホテルに係る広域食中毒事例が発生している。MLVA 型が一致する事案においても最終的には疫学調査が重要であり、迅速な疫学情報の収集が必要である。

#### 参考文献

- 1) 腸管出血性大腸菌 MLVA ハンドブック（O157、O26、O111 編）
- 2) 獣医公衆衛生研究 20-2（2018.3）
- 3) IASR Vol. 35 p. 129-130: 2014 年 5 月号: 腸管出血性大腸菌の分子型別

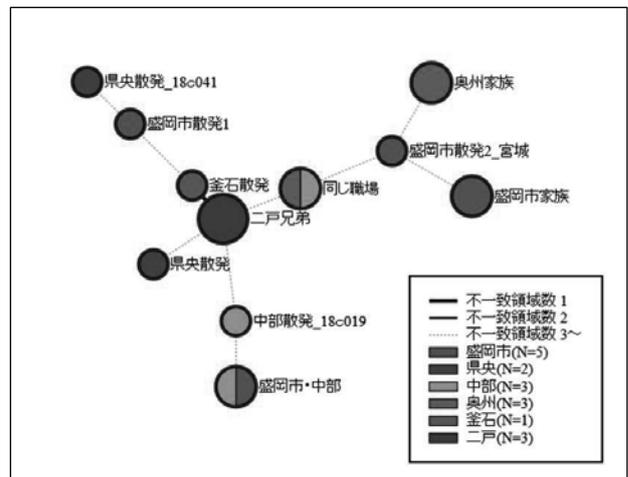


図 1 平成 30 年 腸管出血性大腸菌 O157 解析結果

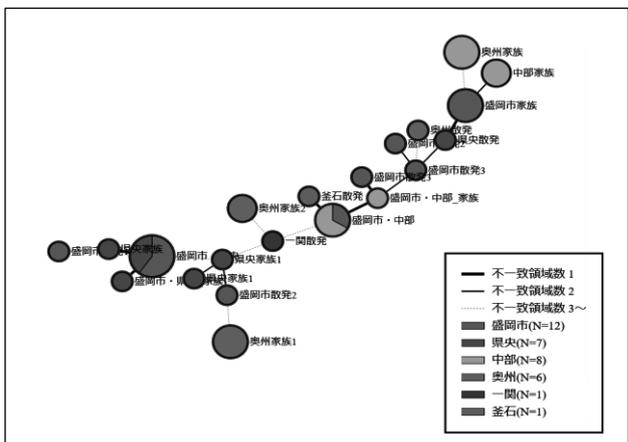


図 2 平成 30 年 腸管出血性大腸菌 O26 解析結果

## 岩手県におけるノロウイルス集団発生事例の動向と 不顕性感染者の実態について

高橋知子

岩手県環境保健研究センター

厚生労働科学研究「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」班  
研究成果検討会議（平成31年2月8日 神奈川県）

平成30年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」研究分担報告

研究分担者	上間 匡	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	高橋 知子	岩手県環境保健研究センター
研究協力者	川上 修央	岩手県環境保健研究センター
研究協力者	藤森 亜紀子	岩手県環境保健研究センター
研究協力者	佐藤 卓	岩手県環境保健研究センター
研究協力者	高橋 雅輝	岩手県環境保健研究センター
研究協力者	岩渕 香織	岩手県環境保健研究センター
研究協力者	梶田 弘子	岩手県環境保健研究センター

### 【研究要旨】

ノロウイルスの集団発生事例において不顕性感染者の存在は問題となる。2013/14～2017/18 シーズンの岩手県内のノロウイルスによる集団事例において、無症状の調理従事者（事例発生時）の約10.8%からノロウイルスが検出された。2015年1月～2018年5月のノロウイルスが検出された集団発生事例（114事例）の感染者（525名）のうち、不顕性感染者を含む事例（20事例）の感染者（135名）を症状の有無別で便中のノロウイルスコピー数を比較した場合、顕性感染者は不顕性感染者より有意に高いことが分かった。遺伝子型別の比較では、ウイルスコピー数に有意な差は認められなかった。しかしながら、不顕性感染者の排泄するウイルスコピー数もまた、十分に感染を拡大させる量であり、集団発生等における感染源となる可能性が示唆された。このことから、不顕性感染者の存在と感染拡大の可能性を認識し、家庭や、集団生活を行う様々な施設におけるノロウイルス等の感染症の拡大防止策を図ることが重要である。

## 地下水重金属類測定における給水管及び給水用具の影響

伊藤 朋子

岩手県環境保健研究センター環境科学部

平成30年度 衛生・環境業務研究発表会（平成 31年1月31日 盛岡市）

### 1. はじめに

岩手県では、地下水質常時監視実施細目に基づき、概況調査で報告下限値（NOx-N のみ地下水環境基準）を超える項目があった地点において、汚染範囲の推定や汚染原因の究明に資するため、汚染井戸周辺地区調査を実施している。

金属類については、鉛の検出率が高く、毎年数件周辺調査を実施しているが、近隣に鉛の汚染源となる工場・事業場が存在せず、自然由来で観察されるような周辺井戸における濃度の均一性もない等の理由で、汚染原因が不明となる事例が大半を占めている。

一方、水道分野では、鉛の水道水質基準強化に伴い、鉛管などの給水用具由来の鉛濃度の実態調査や鉛管の布設替え等の対策が取られており、また、過去の地下水質常時監視においても、鉛管由来と考えられる検出事例があった。

このことから、本調査では地下水質測定結果に対する給水用具からの鉛の溶出影響を把握するため、検討を行った。

### 2. 調査方法

#### 2-1 鉛その他金属の測定

金属類の測定は ICP/MS で行い、前処理、機器測定の詳細は JIS K 0102 の各項に準じた。

#### 2-2 試料

地下水試料は平成 30 年度地下水質測定計画の地点とし、次のとおり調査を行った。

**概況調査地点：**開栓直後の配管滞留水を含む水質（初流）と滞留水を十分排出した後の水質（通常試料）について、鉛濃度の比較を行ったほか、初流については鉛に加え給水用具に由来する金属（銅、アンチモン及び鉄）を測定した。

**継続監視調査地点：**例年より鉛が高値を示した地点（一関市大東町渋民）について、開栓直後から 0,2,5,10,20,40,60,80 及び 100L 排出時の連続採水を行い、給水用具由来金属の濃度推移を観察した。

**汚染井戸周辺地区調査地点：**鉛が報告下限値を超えて検出された地点（奥州市水沢山崎町）の周辺井戸において、給水用具由来金属濃度を測定した。

### 3. 結果と考察

#### 3-1 概況調査地点における初流と通常試料の鉛濃度比較

初流の鉛濃度を横軸、通常試料の鉛濃度を縦軸として、各地点の濃度を散布図としたものと、初流の鉛濃度と、初流と通常試料の鉛濃度の差（ $\Delta Pb$ ）を散布図としたものを図 1 に示す。

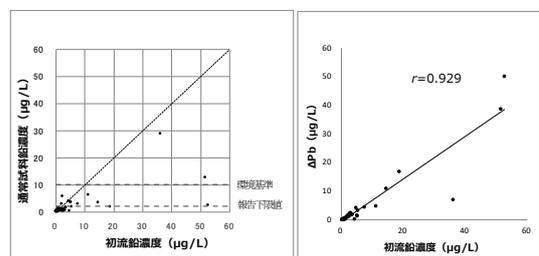


図 1 初流と通常試料の鉛濃度比較（左図）、初流の鉛濃度と  $\Delta Pb$  の相関（右図）(n=62)

通常試料の鉛濃度は初流より有意に低い値\*を示し、また、初流と  $\Delta Pb$  が  $r=0.929$  と強い正の相関を示した。このことから、調査地点の多くで給水用具の溶出影響を受ける可能性があることが示唆された。

\* Wilcoxon 符号順位検定, 両側,  $p<0.05$

#### 3-2 継続監視地点における給水用具由来金属の経時的濃度推移

今年度、継続監視調査で鉛濃度が例年と比較し、10 倍程高値となった地点があった。この地下水試料は外觀が淡黄色で、水酸化鉄(III)と思われる褐色の沈殿が生じており、鉛が高値となった原因として、老朽化した給水用具からの溶出が疑われた。

鉛溶出に関連する給水用具は、鉛管（純鉛、鉛・アンチモン合金）、銅製給水バルブ、継手（銅・亜鉛（または錫）・鉛合金）等が知られている<sup>2)</sup>。当該地点における給水用具の溶出影響を検討するため、開栓直後から 100L まで、連続的なサンプリングを行い、鉛、銅、アンチモン及び鉄について、濃度推移を観察した。結果を図 2 に示す。

測定したすべての金属が 0~10L まで高濃度となり、20L 以降に濃度が一定となった。

排出量に連動して金属の濃度が減衰していることから、これらの金属が高値となった部分は、給水用具からの溶出が原因であると考えられた。

しかし、滞留水が十分排出されたと推定される 20L 排出以降も鉛が地下水環境基準を超過しており、この部分の汚染原因については、今回の調査では解明できなかった。

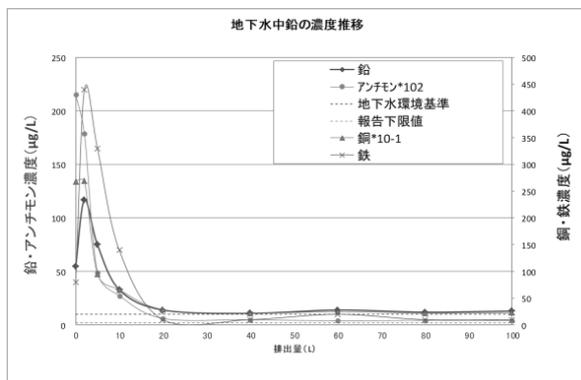


図2 継続監視調査地点の経時的金属濃度推移

(グラフを見やすくするため、アンチモンは10<sup>2</sup>倍、銅は10<sup>1</sup>倍で示している)

### 3-3 初流中の給水用具由来金属濃度

3-2の結果から、鉛だけでなく、銅、アンチモン及び鉄が給水用具から溶出することが確認された。これらの金属のうち、鉛の溶出影響の指標として利用できるものがないか検討するため、初流中の濃度を測定し、鉛との相関を確認した。結果を図3に示す。

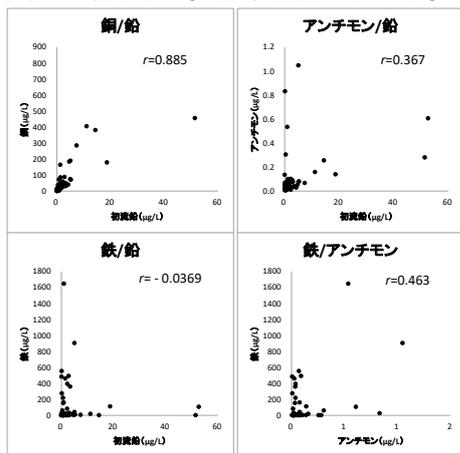


図3 初流中の給水用具由来金属の相関(n=62)

検討の結果、鉛と銅に強い相関があり、銅を指標として利用できる可能性が示された。アンチモンは相関が弱く、鉛管以外の発生源があることが推測された。鉄についてはどの金属とも相関が弱い結果となった。

溶出指標としての銅の閾値を求めるため、初流の測定結果を鉛濃度で4つにクラスタリングし、分散分析と多重比較によりクラスタ間の銅濃度を比較した。結果を表1に示す。

表1 鉛濃度クラスタによる銅濃度の分散分析結果\*

クラスタ	鉛**	銅**	n
1	52.0(±0.8)	641(±185)	2
2	14.7(±3.8)	321(±71)	3
3	3.6(±0.4)	79(±17)	17
4	0.66(±0.08)	22(±4.7)	40

\* クラスタ分析：k-mean法、分散分析：Welch法

\*\*mean±SE

銅濃度は全てのクラスタ間で有意に差があり (Tukeyの多重比較)、鉛濃度が最も低いクラスタ4で

は、銅濃度も低い結果となった。クラスタ4を給水用具の溶出影響がほぼ無視できる群と仮定し、その銅平均値の95%信頼区間上限(32μg/L)が「溶出影響が疑われる」指標閾値として適用可能であると思料された。

### 3-4 汚染井戸周辺地区調査における検討

奥州市水沢区山崎町の周辺調査において、給水用具由来金属濃度を測定し、3-3で検討した銅の閾値が指標として適用可能か検証を行った。

調査地点は半径80m以内の狭い範囲から選定され、電気伝導度にはほぼ差がないことから、同一帯水層の地下水であると考えられるが、金属類の濃度にはばらつきがあった。

表2 汚染井戸周辺地区調査結果

地点名	鉛(μg/L)	銅(μg/L)	EC(μS/cm)
No.1*	5.1(3.8)	189	160
No.2	0.9	30	170
No.3	1.9	33	160
No.4	0.8	24	160
No.5	2.2	90	130
No.6	1.8	58	170
No.7	0.3	30	140
No.8	9.3	233	100
No.9	0.6	15	170
No.10	0.7	24	170

\*印の地点(概況)は初流の値(カッコ内のみ通常試料の値)

なお、他の地点については通常試料の値を記載している

多くの地点で鉛が2μg/L以下であったことから、地下水本来の鉛濃度は報告下限値未満であると考えられる(対応する銅濃度は30μg/L程度)。鉛を2μg/L以上検出した地点では、銅濃度も溶出指標とした32μg/Lを上回る結果となった。鉛検出を給水器具の溶出影響と断定するには、より詳細な調査が必要ではあるが、この地区で鉛を検出した地点は給水用具の溶出影響が疑われ、銅指標による推定は一定程度有効であると推測される。

## 4. まとめ

地下水の鉛測定結果に対する給水用具の溶出影響を把握するため、検討を行った。調査地点の多くが溶出影響を受ける可能性があることが判明するとともに、銅濃度を給水用具の溶出指標として利用できる可能性が示唆された。なお、今回の調査で、滞留水を十分に排出してから採水することの重要性が改めて確認されたが、その一方で、滞留水を十分に排出したと思われる時点でも、地下水環境基準を超過する地点があったことから、このような場合、また違うアプローチで汚染原因の探索が必要であろうと考えている。

### 謝辞

本調査を実施するにあたり、採水にご協力いただいた公害防止担当職員の皆様並びに統計解析をご指導頂いた佐藤主任専門研究員にお礼申し上げます。

### 参考文献

- 菅原ら. 平成24年度地下水常時監視追跡調査
- 厚生労働省. 給水管及び給水用具の性能基準の解説

## 北海道・東北・新潟ブロック腸管出血性大腸菌 MLVA 技術研修会

岩渕香織

岩手県環境保健研究センター

厚生労働科学研究「食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」班会議（平成 31 年 2 月 8 日 東京都）

北海道・東北・新潟ブロックの腸管出血性大腸菌株解析及び精度管理に関する研究として、ブロック内の地方衛生研究所における腸管出血性大腸菌の分子疫学解析法（MLVA）の構築のため、MLVA 技術研修会を開催した。平成 30 年 6 月 29 日付事務連絡「腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について」により、遺伝子検査手法は MLVA 法に統一化し迅速な対応が求められている。なお、MLVA 法導入について現時点は過渡期であり、ブロック内で実施している地方衛生研究所は 11 機関中 3 機関であるが、今後の導入の有無にかかわらず MLVA 法の知識を深めるため、原理、検査方法、解析方法、解析結果の解釈について研修を行った。併せて、行政担当者間との円滑な情報共有の方法を探るため、各地方衛生研究所における分子疫学解析データの行政等への運用状況について情報交換を行い、問題点及び今後の課題を共有した。

今後の課題として、①MLVA 法の検査の手技及び GeneMapper による解析の精度を高めるため精度管理が必要であること、②広域発生事例の早期探知のため、腸管出血性大腸菌の分離（届出）から収集までの時間の短縮が必要であること、③疫学情報収集のため、行政担当者に「MLVA 法」を理解してもらう必要があることが挙げられた。

## non-0157/026腸管出血性大腸菌の糞便検体における検査法の構築

○山中拓哉、太田美香子、高橋幸子、上山昭

環境保健研究センター 検査部

平成30年度第31回岩手県保健福祉環境行政セミナー（平成31年2月8日 盛岡市）

### I はじめに

腸管出血性大腸菌（EHEC）は下痢原性大腸菌のうちベロ毒素（VT）を産生するものである。EHEC感染症は小児や高齢者を中心に重症化・死亡のリスクがあるため迅速な検査が求められる。当所では、本症の感染者の早期発見・治療により感染拡大を防ぐため、保健所からの依頼により患者家族等接触者の検便検査を年間数百件実施している。

本症の確定診断は、通常、便からの菌分離が必要である。EHECの分離は各O血清群に特徴的な生化学的性状を指標に行われるが、0157、026以外（non-0157/026）のマイナーな血清型については、生化学的性状に関する情報が充分でないため効率的な検査ができないという問題があった。このため我々は、当所で保管しているnon-0157/026 EHECに関して、菌株や糞便検体の選択分離培地上における所見や生化学的性状に関するデータを解析し、より効率的な検査法を開発することを目指した。本発表では解析結果並びに、これらに基づくEHEC検査法の構築についての報告を行う。

### II 概要

#### （1）当所に保管されているEHEC菌株の解析

2002～2019年に分離され当所に保存しているEHEC菌株のうち0157、026以外の176菌株（表）について、選択分離培地での集落の所見、確認培地等を用いた生化学的性状試験、EHT寒天培地での溶血の有無、血清型別試験（O抗原、H抗原）、VT型別試験の結果および画像データを記録し、これらを整理した表を作成した。一部の血清型についてはこの結果を基に検査において有効な選択分離培地等を見出した。

表 解析を実施したEHEC176菌株の血清型別内訳\*

血清型	菌株数	血清型	菌株数
O111	59	O74	1
O103	35	O91	1
O121	26	O114	1
O145	14	O115	1
O63	4	O126	1
O165	3	O128	1
O1	1	O136	1
O55	1	O169	1
O8	1	OUT	24

\*平成31年1月18日現在

#### （2）EHECを含む糞便検体を用いた解析

2017～2019年に当所に依頼があったEHEC検査の糞便検体のうちEHECが分離されたものを対象に、選択分離培地での所見を中心に性状に関するデータを記録した。これにより血清型O111、O103、O145については（1）の解析により見出された検査法が糞便検体においても有効であることを確認した。また、糞便検体の状態がEHECに影響を与える可能性があることを示した<sup>†</sup>。

### III まとめ

本研究により十分なデータ数が得られた血清型（O111、O103、O121、O145）については血清型毎の検査マニュアルを作成し、より効率的な検査法を提示する予定である。また、データ数が少ない血清型、データがない血清型および血清型別不能（OUT）EHECについては、得られた知見を基に検査の方向性を示す手順書を作成する予定である。

本研究により、EHEC検査におけるより迅速な対応が可能になった。今後の業務においても検査データを蓄積し、検査法の改善に努めていくことが重要であると考えられる。

<sup>†</sup> 山中ら、平成29年度保健福祉環境行政セミナー

## 飲用水試験における塩素酸の水質基準超過の状況について

○久根崎菜穂子、小泉英誉、村上翔子、吉田敏裕、上山昭  
岩手県環境保健研究センター検査部

平成30年度第31回岩手県保健福祉環境行政セミナー（平成31年2月8日 盛岡市）

### 1 はじめに

水道水の水質基準項目で消毒副生成物である「塩素酸(基準値 0.6 mg/L)」は、飲用水試験のうち一般検査の測定項目であるが、簡易検査の測定項目ではない。

しかし、簡易検査において、塩化物イオン、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素を測定する場合、塩素酸の応答値も測定されることから、簡易検査の検体についても塩素酸の濃度を推定することができる。

昨年度の業務研究発表会・行政セミナーにおいて、簡易検査の検体の中に「塩素酸」の基準を超過する事案があったことを探知し、そのほとんどが食品営業者からの検体で、塩素酸の基準超過の理由として、井戸水の水質の悪化、塩素消毒剤である次亜塩素酸ナトリウムの過剰添加と劣化が推測されたことを報告した。

今般、今年度の飲用水試験における、塩素酸の基準超過の状況を整理し、改めて原因・対応について考察を加えたので報告する。

### 2 H30年度からの対応

簡易検査の検体であっても、塩素酸の応答値が基準値に相当する応答値を超えた場合には、飲用水による健康危機の未然防止及び原因究明の一助となるために、県民くらしの安全課に情報提供することとした。

### 3 飲用水試験における塩素酸超過(おそれ含む)の状況

年 度		H 3 0	H 2 9
塩素酸超過(おそれを含む)件数		1 6	1 2
用途内訳	食品営業用	1 4 (23/200)	9
	幼稚園プール用	1 (0.65/0.05)	1
	その他	1 (0.59/3.5)	2
残留塩素濃度	1 mg/L 以下	8 (3.4/0.5)	5
	1 mg/L 超	8 (23/200)	7

※ ([検出された塩素酸最大濃度(mg/L)]/[その検体の残留塩素濃度(mg/L)])

### 4 まとめ

飲用水試験における塩素酸の基準超過(おそれを含む)事案は、大部分が食品営業用の井戸水であった。

また、残留塩素濃度が高濃度だった場合だけでなく、通常の残留塩素濃度レベル(1 mg/L 以下)においても、基準を超過する事案があることから、井戸水の水質把握・管理はもとより、次亜塩素酸ナトリウムの適量添加と併せ適正な取扱いについても強く注意喚起する必要がある。

そのためには、食品営業者に対し、生活衛生の担当者と食品衛生監視員が協力して指導する体制が必要と考える。

#### 【参考1】飲料水における残塩濃度の基準等

- ・水道法施行規則：給水栓における水が、遊離残留塩素を 0.1(mg/L)以上
- ・水質管理目標設定項目の目標値：1 (mg/L)以下
- ・WHO の飲料水水質ガイドライン値：5 (mg/L)以下

#### 【参考2】塩素消毒剤(次亜塩素酸ナトリウム)の取り扱い上の注意

- ・初期塩素酸濃度の低い次亜塩素酸ナトリウムを購入（成分表等で確認する）
- ・有効塩素濃度 6%の製品が望ましい(12%でも低温管理するのであれば大丈夫)
- ・メーカーから直接購入することが望ましい
- ・保管温度 低温（20℃程度を保持）
- ・保管期間の短縮（少量購入）
- ・貯蔵タンクへの少量補充と清掃（タンクは小型が望ましく、清潔を保つこと。）

## 環境残留医薬品等（PPCPs）の環境実態に関する共同研究（概要）

日本	兵庫県環境研究センター	○松村 千里、羽賀 雄紀、吉識 亮介
	岩手県環境保健研究センター	○岩渕 勝己、川村 裕二
	国立環境研究所	山本 裕史
韓国	釜山大学校	○OH Jeong-Eun
	国立環境科学院	PARK Kyung-hwa、 KIM Kyung-tae、 LEE Byeong-woo

### 第18回日韓共同研究シンポジウム（平成31年2月20日 福岡市）

#### 【目的】

これまで環境中で検出されている環境中に残留する医薬品およびパーソナルケア製品（PPCPs）について、分析法の開発及び改良を目的として、兵庫県環境研究センターでは主にパーソナルケア製品を、岩手県環境保健研究センターでは主に医薬品を担当し、分析条件等の検討及び環境試料の分析を行った。釜山大学校では、パーソナルケア製品の溶剤等に使用されている揮発性メチルシロキサンの環境試料の分析を行った。

#### （岩手県環境保健研究センター分の抜粋）

#### （岩手県環境保健研究センター）

#### 【方法】

岩手県環境保健研究センターでは、Diclofenac、Sertraline、Paroxetine の3つの薬品（Fig. 1）について分析方法の検討を行い、確立した条件を環境サンプルへ適用することを試みた。調査対象としたのは下水道放流水の流入する河川で、サンプルは、下水道放流水の入る地点の前後の全3地点で採水し、これらの測定を行った。

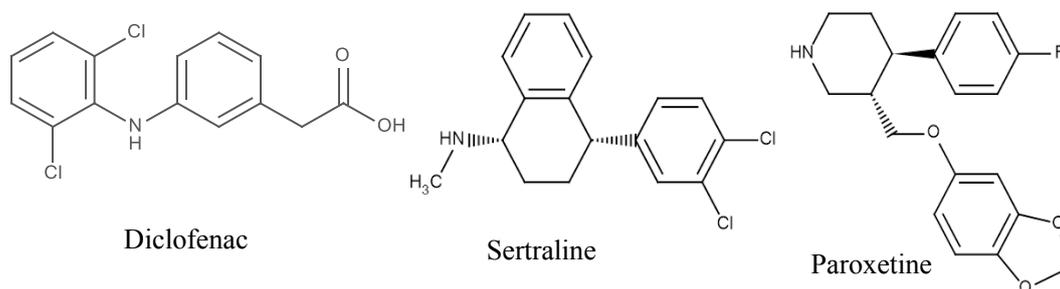


Fig. 1. 岩手県の対象物質

#### 【結果と考察】

##### (1) 分析条件の検討

分析法の高感度化を再検討し、今回使用した分析機器（LC-MS/MS）に合わせたグラジエント条件、ガス温度トランジションの組み合わせ、コリジョンエネルギー等について、既存の分析方法よりも高感度で分析できる条件を決定した。また、装置由来で Diclofenac

に重なってしまうピークが出現したため、インジェクタ前のラインに retention-gap column を常時装着することとした。

## (2) 分析前処理方法の改良

分析対象物質は、ガラス部分への吸着が起りやすいことが判明したため、分析方法を改良し、ほぼ PP 製の器具類のみで前処理操作が可能なマニホールドを使用した分析方法に変更した。

## (3) 精度管理

検量線は、0.05～5 µg/L、5～50 µg/L の 2 つの濃度範囲で作成し、Diclofenac、Sertraline、Paroxetine とともに決定係数は 0.999 以上であり、良好な直線性が得られることを確認した。装置検出下限 (IDL) は、従来の方法よりも装置への導入量として Diclofenac で 3.5 倍、Sertraline で 3 倍、Paroxetine で 27 倍程度、分析方法の検出下限 (MDL) については、装置への導入量として Diclofenac で 15 倍、Sertraline で 48 倍、Paroxetine で 390 倍程度、感度の向上が確認された。

## (4) 環境試料への適用

検討した分析方法を環境試料に適用した。サンプルには河川水を使用し、下水道放流水の入る前後で採水して比較した。採水地点は以下のとおりである。

- ・地点①：下水道放流水の入る地点の約 2 km 上流
- ・地点②：下水道放流水の入る地点の約 400 m 上流
- ・地点③：下水道放流水の入った地点の約 20 m 下流 (河川水と十分に混和した地点)

## (5) 分析結果

Diclofenac は、地点①で 6.8 ng/L、地点②で 5.1 ng/L 検出され、Sertraline、Paroxetine は地点①、②とも不検出であった。下水道放流水が流入した後の地点③ではすべての薬品が検出され、各薬品の濃度は、Diclofenac 150 ng/L、Sertraline 10 ng/L、Paroxetine 6.5 ng/L であった。本分析結果より、これら 3 つの医薬品は主に下水道放流水から環境中に供給されていると考えられた。今後は下水道放流水がこれらの 3 つの医薬品、または PPCPs を含む他の多くの化学物質の供給源であるかどうかを明らかにするため、他の河川や下水道放流水をさらに調査していく必要がある。

## 生息域外保全を目的にしたチョウセンキバナアツモリソウの苗生産

— H27 年環境省採種・新宿御苑保存種子の発芽 —

○小山田智彰<sup>1</sup>, 鞍懸重和<sup>1</sup>, 千葉文也<sup>1</sup>, 佐藤香菜<sup>1</sup>, 長谷川啓一<sup>2</sup>, 古澤輝雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩手県環境保健研究センター,<sup>2</sup>(株)福山コンサルタント

第 19 回自然環境復元学会研究発表会 (平成 31 年 2 月 19 日～21 日 東京都)

### I はじめに

チョウセンキバナアツモリソウ (以下、「本種」) は、平成 15 年 8 月に「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律」の国内希少野生動植物種に指定されている<sup>1)</sup>。平成 16 年 7 月には農林水産省・環境省共管で「保護増殖事業計画」を策定し、生育状況の調査・盗掘防止の巡視・生育環境の改善のための植生管理等を実施している。しかし、国内の自生地は 1 カ所であり、保護措置による個体数の増加が見られないことなどから、生息域内保全を補完するための生息域外保全<sup>2)</sup>が急務になっている。東北地方環境事務所の要請を受け、新宿御苑管理事務所 (以下、「新宿御苑」) に保存されていた種子の提供を受けて発芽に取り組んだので報告する。

### II 材料

平成 27 年に自生地で採種され、新宿御苑で保存されていた種子 4 サンプル (ID : 1689, 1690, 1691, 1692) を使用した (表 1)。

表 1 自生地の開花・結実とさく果回収の一覧

調査年	開花数	結実数	さく果回収
H16	9	0	-
H17	11	4	-
H18	21	2	-
H19	17	2	-
H20	17	2	-
H21	1	1	-
H22	8	3	-
H23	1	1	-
H24	5	1	-
H25	2	1	-
H26	6	1	1 <sup>z</sup>
H27	13	5	4 <sup>z</sup>
H28	10	1	1 <sup>y</sup>
H29	5	0	-
H30	6	1	1 <sup>x</sup>

<sup>z</sup> H26年とH27年の種子は本試験に使用

<sup>y</sup> H28年回収のさく果には種子形成なし

<sup>x</sup> H30年は人工交配を実施 (国内初の実施)

### III 試験方法

種子数および胚の状態を顕微鏡下で調査したのち、小山田培養液：特許第 3330365 号 (以下、「培養液」) および小山田培地：特許第 3706085 号 (以下、「培地」)<sup>3,4,5)</sup> に播種した。播種後は、インキュベーター内で発芽および苗の成長を進めた (図 1)。

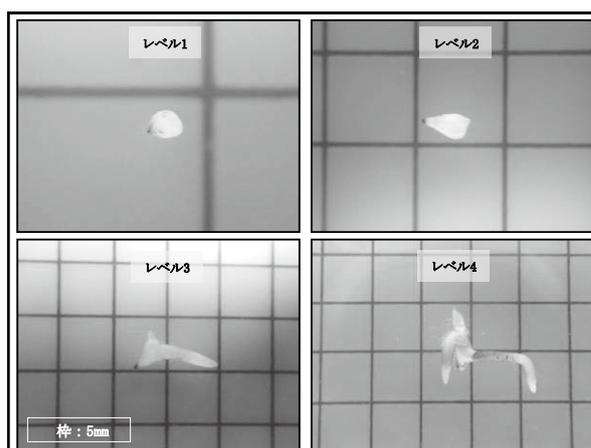


図 1 無菌播種を用いて発芽させたチョウセンキバナアツモリソウ培養苗の生育レベル (4 区分)

### IV 結果

#### 1 H26 年種子の発芽と育苗

##### (1) 無菌播種

H26 年種子 (ID : 1638) は、栽培地の種子数と比較して 290 粒と少なく、胚形成率は 67.2%であった。種子を観察したところ、乾燥処理の影響と推察される折れや縮みが見られたため、復元させるために培養液に浸水させて培地に無菌播種を行ったが全ての培地に汚染が発生した。そこで、次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (有効塩素 3.0%) を入れた遠沈管に移して振動殺菌を 20 分間行い、さらに種子 (胚) の白色化を目視観察しながら 3 分前後ハンドシェイクに

よる攪拌を行った後に、クリーンベンチに搬入した。殺菌剤濃度が 1/10 になるように培養液を入れたビーカーに移して 30 分間静置した後、培地に播種した。播種後、培養液を滴下して種子を培地表面に広げた。培養環境は 18°C・暗所に設定し、発芽試験を開始した結果、6 個が発芽した。発芽率は、有胚種子 195 粒当たり 3.1% だった。生育レベル 1 から 2 の生存 5 個を育成用培地に継代し、2000lux×16 時間の明所条件下で育成培養を開始した結果、培養 180 日まで生存を続けた 2 個体が生育レベル 4 に成長した<sup>6)</sup>。

## (2) H26 年種子の苗の育苗 (野外栽培試験)

鉢上げ後から野外管理を続け、休眠を確認した後に越冬処置を施した。2018 年春の出芽時に芽の数を確認したところ、培養終了時の越冬芽数と合致しており、順調に生育したことを確認した (写真 1, 2)。

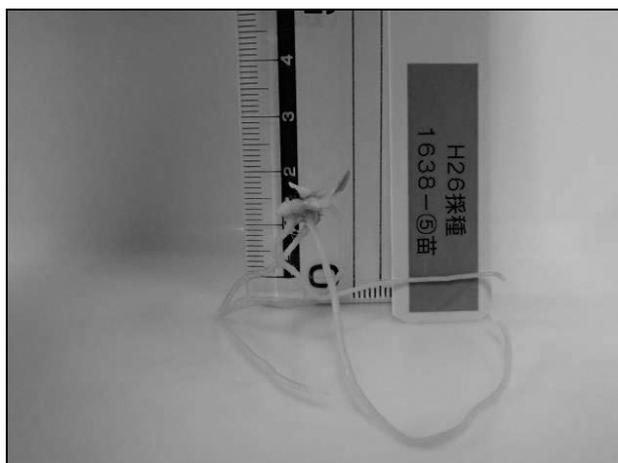


写真 1 培養終了時の様子 (越冬芽数 3)  
(2017 年 10 月 24 日)



写真 2 翌春の出芽で同数の芽が生育 (1 芽・3 芽)  
(2018 年 6 月 15 日)

## 2 H27 年種子の発芽試験

新宿御苑より H27 年種子 4 サンプルを 2 回に分けて受け取った。種子の状況を調査した結果、H26 年種子よりも多くの種子が保存されていることが判明した。種子には折れや縮みが見られたため、復元させるために培養液に浸水させた後、H26 年種子と同じ方法で種子殺菌を行ったが、培地汚染が発生したため、直ちに再殺菌を施した。次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (有効塩素 3.0%) を入れた遠沈管に移して振動殺菌を 10 分間行った後に種子 (胚) を目視観察しながら 3 分前後ハンドシェイクによる攪拌を行った。さらに、遠心分離器 (2500 回転/分×3 分) を用いて殺菌と集積を行い、クリーンベンチに搬入して殺菌剤濃度が 1/10 の濃度になるように培養液を入れたビーカーに移して 30 分間静置した。浮遊している種子はピンセットで培地に播種し、ビーカーの底に集積した種子は、培養液を廃棄した後に培地上に流し込んだ。以上の方法で 1 回目受け取り種子を 2017 年 11 月 29 日に、2 回目受け取り種子を 2017 年 12 月 21 日に播種した。尚、培養液と培地は、自生地の土壌分析結果 (表 2) を参考に成分調整を行って使用した。

培養環境は、18°C・暗所に設定して発芽試験を開始した。1 回目に播種した ID1691①に発芽はじめを確認以降、96 個が発芽した (表 3, 写真 3)。発芽から 30 日後の生育レベル 1 から 2 に達した生存 90 個を育成用培地に継代し、明所条件による培養を継続しており、現在 48 個が順化可能な生育レベル 4 に成長している (表 4, 写真 4)。

表 2 チョウセンキバナアツモリソウ自生地の土壌分析結果

分析項目	サンプル①	サンプル②	サンプル③	変動	標準偏差	サンプル④	サンプル⑤	サンプル⑥	変動	標準偏差
アンモニア態窒素 (mg/100g)	1.6	1.7	1.2	1.6	0.3	1.8	1.8	1.0	1.6	0.6
硝酸態窒素 (mg/100g)	1.0	1.2	1.5	1.2	0.3	0.9	1.3	0.7	1.0	0.3
可溶性リン酸 (mg/100g)	1.0	2.1	2.0	1.7	0.6	3.0	2.2	1.3	2.2	0.9
交換性カリウム (mg/100g)	44.0	66.0	36.0	46.7	18.1	40.0	35.0	38.0	37.7	2.5
交換性カルシウム (mg/100g)	160.0	112.0	157.0	143.0	26.9	102.0	88.0	94.0	95.0	7.5
交換性マグネシウム (mg/100g)	40.0	17.0	82.0	46.3	33.0	43.0	98.0	9.0	60.0	44.9
可溶性鉄 (ppm)	4.0	60.0	53.0	39.0	30.6	6.0	42.0	16.0	21.3	18.6
交換性マンガン (ppm)	6.0	16.0	11.0	11.0	6.0	6.0	4.0	9.0	6.3	2.6
塩分 (%)	0.006	0.006	0.03	0.0	0.0	0.008	0.059	0.07	0.0	0.0
pH	6.06	6.66	6.71	6.8	0.3	6.87	6.8	6.91	6.9	0.1
EC (μS/cm)	4	6	4	4.3	0.6	10	6	11	6.7	3.2

サンプル①～③: 上の自生地、④～⑥: 下の自生地

・モルガン法: アンモニア態窒素, 硝酸態窒素, 可溶性鉄, 交換性マンガン  
・トルオ法: 可溶性リン酸  
・ショールンベルガー法: 交換性塩基 (K2O, CaO, MgO)  
・pH, EC: 測定器 (HANNA社, HI98129) を使用

\* 土壌採取: 小山田・古澤・長谷川・足利。  
\* 分析: 小山田・鞍懸・千葉・佐藤。

表3 発芽総数と育成培養に移行した苗の数量

H27年保存種子	種子数(粒)	無菌播種(実施日)	発芽総数	育成培養に移行した苗数
ID1689	①773	11月29日	2	2
	②361	12月21日	11 (1) <sup>*</sup>	11
ID1690	①614	11月29日	5	5
	②354	12月21日	10	10
ID1691	①2460	11月29日	13	13
	②604	12月21日	7 (5)	7
ID1692	①1113	11月29日	2	2
	②986	12月21日	40	40
計			96(6)	92

<sup>\*</sup> 発芽後に黒変死した苗

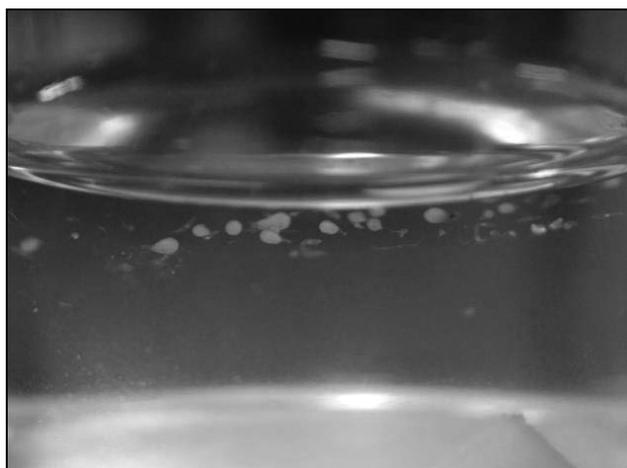


写真3 ID1692②の発芽  
(2018年4月23日)

表4 育成用培地継代後の状況(2019年1月10日)

H27年保存種子	レベル1	レベル2	レベル3	レベル4
ID1689	1 (6) <sup>*</sup>	0 (1)	0	5
ID1690	3	0	0	12
ID1691	3 (4)	0	0 (1)	12
ID1692	0 (10)	0 (6)	0 (4)	19 (3)
計: 90	7 (20)	0 (7)	0 (5)	48 (3)

<sup>\*</sup> 育成培養中に黒変死した苗



写真4 生育レベル4に達したID1692の培養苗  
(2019年1月10日)

## V まとめ

### (1) H26年種子から発芽させた苗の育苗

H26年種子から発芽させた苗は、トロ箱で1年間の育苗を行った。引き続き栽培管理を行い、生育状況を判断して2019年春の露地定植を行う。

### (2) H27年種子の無菌播種による発芽傾向

発芽総数は96個となり、ID1692の発芽が多かった。黒変死のない90個体を育成用培地に継代した結果、発芽総数の48個が生育レベル4に達した。

保存種子の発芽傾向を知るために、栽培試験地の種子(「保存処理なしの種子」)の発芽試験を行って比較した。その結果、保存種子は、保存処理なしの種子と比較して有意に発芽開始日数が長期間・断続的に発芽する傾向が見られた。発芽率の比較では、保存種子が1.0%となり、保存処理をしていない栽培株の種子34.7%と比較して有意に低いことが明らかになった(図2, 表5)。

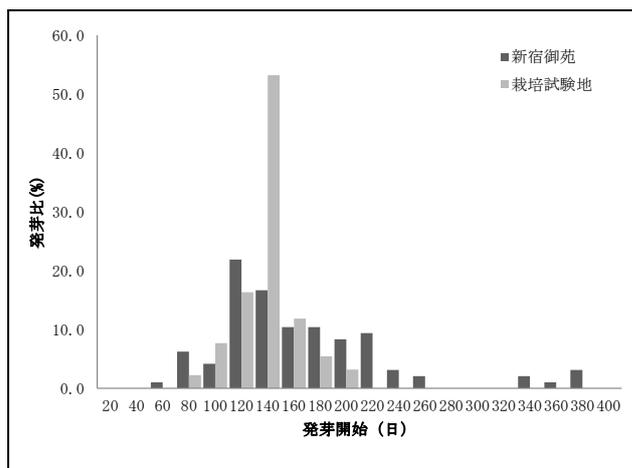


図2 新宿御苑と栽培試験地の種子の発芽開始日の分布

- \* 新宿御苑=H26保存種子とH27保存種子.
- \* 栽培試験地=保存処理なしの種子.

表5 新宿御苑保存種子と栽培試験地種子の平均発芽開始日数と発芽率の比較

	発芽開始日数	発芽率
新宿御苑(保存種子)	156.8 ± 68.7 (96) <sup>2</sup>	1.0 (95/17)
栽培試験地(保存なし)	126.3 ± 22.7 (312)	34.7 (900)
有意性	** <sup>3</sup>	** <sup>x</sup>

<sup>2</sup> 平均±標準偏差(供試数)

<sup>3</sup> マンホイットニーのU検定により、\*は5%、\*\*は1%水準で有意差があることを示す。

<sup>x</sup> フィッシャーの正確確率検定により、\*は5%、\*\*は1%水準で有意差があることを示す。

### (3) 新宿御苑保存種子の評価

本種の保存種子<sup>7)</sup>は、以下の工夫点を行うことで発芽させることができる。

- ・採種状況や保存処理の状況を聞き取り、種子の検鏡観察を行って種子の破損状態や胚の有無を確認する。
- ・発芽促進に効果がある培養液に液浸させて、発芽能がある種子を活性させる。
- ・無菌播種に用いる際は、十分な種子殺菌を行い、培養の初期段階で培地汚染が確認された時は、直ちに殺菌再培養を試みる。
- ・発芽に適した培地を使用する。さらに、培地上に培養液を添加し、十分な湿潤環境を維持する。

以上、保存種子を発芽させるためには、通常の播種法に用いない対処法を必要とするが、本研究で取り組んだ技術を用いることで生息域内保全に必要な苗生産が可能となる（写真5）。



写真5 栽培技術の確保（盛岡市内）

（2018年5月18日）

- \* 小山田培養液・同培地で発芽。
- \* 栽培株から採種・発芽させた培養苗30個体を栽培試験地に定植して増殖。2018年の開花数239（前年の開花数158）。

## VI おわりに

本研究で発芽させた苗は、栽培試験地で育苗を進める。また、新たな取り組みとして2018年6月5日に自生地で国内初となる人工交配を行い、種子確保に成功している（写真6）。今後は、苗の維持と増殖に取り組んで、本種の生息域外保全を成功に導きたい。

本試験は、環境省東北地方環境事務所より依頼を受け、同省の保護増殖事業の一環として取り組んでいる。生息域内保全を担当している環境省秋田自然保護官事務所、種子保存を担当している環境省新宿御苑管理事務所、本種の保護増殖事業を主幹している環境省東北地方環境事務所の各担当者より協力をいただいた。ここに記して感謝を申し上げる。



写真6 野生株の人工交配後の結実診断

（2018年7月11日）

## 引用文献

- 1) 環境省自然環境局野生生物課（2018）絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律改訂法の施行リーフレット。
- 2) 環境省自然環境局野生生物課（2011）絶滅する前にできること。
- 3) 小山田智彰・菊池純（2002）アツモリソウ属植物用培養液. 日本国特許庁特許公報. 2002-3330365.
- 4) 小山田智彰・菊池純（2005）アツモリソウ属植物用培地. 日本国特許庁特許公報. 2005-3706085.
- 5) 小山田智彰・平塚明・鞍懸重和（2011）ロールペーパーとバーミキュライトを培地支持材に用いた絶滅危惧植物アツモリソウの苗生産に関する研究. 園芸学研究. 10（3）：315-320.
- 6) 小山田智彰・鞍懸重和・千葉文也（2018）チョウセンキバナアツモリソウの生育域外保全, H26年環境省採種・新宿御苑保存種子の発芽. 自然環境復元学会全国大会研究発表・講演要旨集. 18：29-32.
- 7) 環境省自然環境局（2009）絶滅危惧植物の収集・保存に関するマニュアル。

## LC-MS/MS を用いた自然毒分析について

沼野 聡

岩手県環境保健研究センター, 東北大学大学院農学研究科

日本薬学会東北支部第7回物理・分析系若手研究者セミナー(平成31年2月23日 仙台市)

岩手県は、奥羽山脈や北上高地などの山岳丘陵地帯と、隆起海岸やリアス式海岸などの特徴的な海岸線を有している。そのため、豊かな自然環境に恵まれており、農畜産業や漁業が盛んである。また、内陸部と沿岸部で気候が異なるため、県内で採取可能な山菜やキノコ、魚や貝類は多種多様である。

しかし、これらの食品を喫食した際に、含有する自然毒によって食中毒症状を引き起こすことがある。当センターは、県内で食中毒事案が発生した際の原因究明を担っているが、限られた時間の中で迅速かつ精確な検査結果を出す手法の一つとして、LC-MS/MS を用いて定性および定量を行っている。

さらに、近年、我が国において、麻痺性貝毒 (Paralytic shellfish toxins, PSTs) の発生が話題となっているが、毒化や代謝の全容は十分に解明されていない。これは、マウス毒性試験が公定法として採用されており、PSTs の上昇期および減衰期における各縁体の詳細な経時変化に関する報告例が少ないことに起因している。演者らは、毒化予測や減衰予測を目指し、LC-MS/MS を用いて、PSTs の主要毒に加えて代謝物も含めた分析に取り組んでいる。

本講演では、近年県内で発生した食中毒事例と、これまでの麻痺性貝毒研究の成果について紹介する。

## 1. 自然毒による食中毒事例

今回、植物性自然毒としてジャガイモを、動物性自然毒としてフグの事例について紹介する。

ジャガイモによる食中毒は、小学生13名が吐き気や頭痛などの症状を呈したものである。当センターで分析した結果、ジャガイモの皮や身からグリコアルカロイドの  $\alpha$ -solanine (Fig.1)、 $\alpha$ -chaconine が検出された。同様の集団食中毒の事例は毎年のように全国で報告されており、各自治体は注意喚起を促している。

フグによる食中毒は、スーパーで購入したイカに混入していた小魚によるものである。分析の結果、小魚から Tetrodotoxin (Fig.2) が検出された。フグ毒の公定法は、マウス毒性試験であるが、原因究明として LC-MS/MS 分析を用いることで、迅速に結果が得られた。これまで当県では、フグは一般的に流通していなかったが、震災後に干物などが商品化されており、今後注視が必要である。

食中毒の分析は、迅速かつ精確なデータを得ることが要求される。そこで、全国の発生状況について情報収集し、多種の毒成分について測定条件の検討を随時行っているところである。

## 2. 麻痺性貝毒 (PSTs)

PSTs は、Saxitoxin (Fig.3) を中心に、強毒成分 Gonyautoxin (GTX) 類や弱毒成分 Ctoxin 類、またはそれらの代謝物 (Mtoxin) が知られている。LC-MS/MS を用いた PSTs の分析法は、2005 年に初めて報告された<sup>1)</sup>。当手法は、従来のマウス毒性試験<sup>2)</sup>や蛍光 HPLC 法<sup>3)</sup>よりも、個々の化合物情報が得られるため、各研究機関で検討が進んでいる。演者らは、まず主要な毒成分について、市販の標準品を用いて LC-MS/MS の最適測定条件を検討した<sup>4)</sup>。代謝物については、標準品が未発売のため、高分解能 LC-TOF-MS を用い、精密質量などのデータから同定することとした。

県内で試験用に養殖されたホタテガイを毎週サンプリングし、LC-MS/MS で分析した結果、PSTs の上昇期および減衰期における濃度変化は、C トキシン類よりも GTX 類の方が大きいことが分かった。また、Mtoxin 類と推定した成分は、PSTs の上昇期より複数検出された。今後は、未同定の Mtoxin について検討を重ねると共に、各 Mtoxin の経時変化から代謝経路や速度を明らかにしていく。

## References

<sup>1)</sup> Dell' Aversano, C. *et al.*, *J. Chromatogr. A* 2005, 1081, 190-201., <sup>2)</sup> 食品衛生検査指針-理化学編, 2015, 827-835.

<sup>3)</sup> Oshima Y, *JAOAC Int* 1995, 78, <sup>4)</sup> 沼野 聡, 佐々木 和明, 加賀 克昌, 日本食品衛生学会 第113回大会 要旨 2017, 97

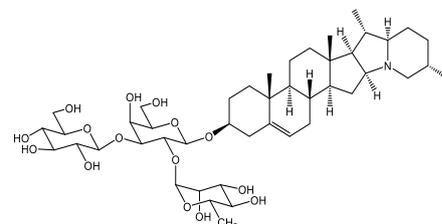
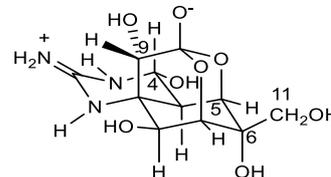
Fig.1  $\alpha$ -solanine

Fig.2 Tetrodotoxin

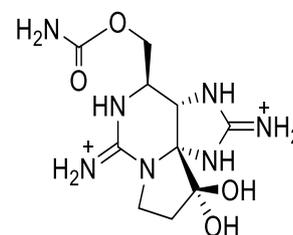


Fig.3 Saxitoxin

## 環境水中のアルベンダゾール及びその代謝物分析法の検討

○伊藤朋子、川村裕二、佐々木和明  
岩手県環境保健研究センター

第 53 回日本水環境学会年会（平成 31 年 3 月 6 日～9 日 甲府市）

### 1. はじめに

Albendazole (ABZ)は寄生虫駆除剤に使用される化学物質で、国内ではヒトの包虫症治療薬として承認されている。国外では動物用医薬品としても利用されるため、食品のポジティブリスト制度導入に伴い、ABZ の代謝物である 5-Propylsulfonyl-1H-benzimidazol-2-amine (ABZm)について、残留基準が設定されている。このため、食品中の ABZm や ABZ の測定法等については多くの検討事例<sup>1)</sup>があるが、環境水中の ABZ については報告例が少なく、化学物質の環境リスク初期評価を実施する上で暴露情報が不足している物質である。

本稿では、環境水中の ABZ 及びその主要な代謝物について、固相抽出と LC/MS/MS による微量分析法を検討したのでその結果を報告する。

### 2. 分析法

#### (1) 対象物質

測定対象物質は既報<sup>2)</sup>を参考とし、ABZ 並びに生体内での主要な代謝物である ABZm、Albendazole sulfoxide、Albendazole sulfone とした。このうち、ABZ の測定については、重水素ラベル化したサロゲート物質 ABZ-d<sub>3</sub>を用いた。それぞれの構造式と代謝経路を Fig.1 に示す。

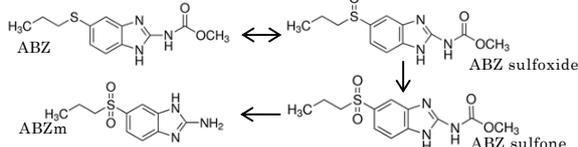


Fig.1 測定対象物質の構造式と生体内の代謝経路

#### (2) 試料

分析法の検出下限 (MDL) と添加回収試験には、河川水及び海水を使用した。

#### (3) 前処理・測定方法

水質試料 100mL にサロゲート(ABZ-d<sub>3</sub> 2.0ng)を添加後、あらかじめコンディショニングを行った固相カートリッジ(Sep-Pak Plus PS-2)に通水した。精製水 20 mL で容器の洗い込みと固相の洗浄を行い、メタノール 5 mL で溶出後、精製水で 10 mL に定容し測定用試料とした。LC/MS/MS による装置測定条件を Table 1 に示す。

Table 1 装置測定条件

装置	条件
LC	Agilent 1200
Column	COSMOSIL PBr(150mm×2.0mm×5μm)
Mobile phase	0→4min(B:20%)→9min(B:20→90%)→11min(B:90%)→11.01min(B:90→20%)→17min(B:20%)
Flow rate	0.2 mL/min
Injection volume	2μL
MS	Agilent 6460
Capillary voltage	3500V
Ionization mode	ESI-Positive
Mode	SRM
Monitoring ion	ABZ(266.1>234.1,266.1>191.1),ABZ-d3(269.2>234.1) ABZm(240.1>133.0,240.1>198.1) ABZsulfoxide(282.1>208.1,282.1>240.1) ABZsulfone(298.1>224.1,298.1>159.0)
Fragmentor voltage	120V
Collision energy	ABZ(25eV),ABZ-d3(15eV), ABZm, ABZsulfoxide, ABZsulfone(20eV)

### 3. 結果及び考察

#### (1) 検量線範囲と標準物質のクロマトグラム

検量線は、ABZ は 0.01～10 ng/mL、それ以外の代謝物

は 0.1～100 ng/mL の範囲で良好な直線性(R<sup>2</sup>>0.999)を示した。Fig.2 に標準試料のクロマトグラムを示す。

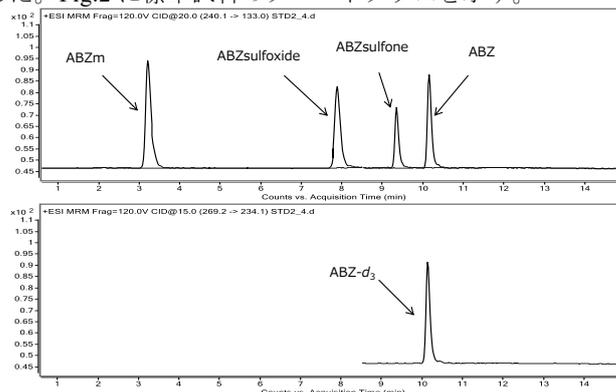


Fig.2 標準試料のクロマトグラム

#### (2) 装置検出下限 (IDL) 並びに MDL

装置の検出下限並びに分析法の検出下限を Table 2 に示す。なお、それぞれの算出方法は環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従った。

Table 2 IDL、MDL の算出結果

物質名	IDL(pg)	MDL(μg/L)
ABZ	0.0078	0.0010*
ABZm	0.13	0.010
ABZsulfoxide	0.12	0.0049
ABZsulfone	0.23	0.011

\*魚類への有害性に基づく ABZ の要求感度は 0.022μg/L である。

#### (3) 添加回収試験

水質試料 100mL に標準物質を添加し、添加回収試験を行った結果を Table 3 に示す。それぞれの回収率は 94～110%となった。

Table 3 添加回収試験結果(n=5～7)

試料名		添加量 (ng)	検出濃度 (μg/L)	回収率 (%) <sup>*</sup>	CV (%)
ABZ	河川水	0.5	0.0049	99(99)	3.9
	海水	2.5	0.023	94(114)	0.8
ABZm	河川水	5.0	0.050	99	5.4
	海水	2.5	0.28	110	2.6
ABZsulfoxide	河川水	5.0	0.051	101	2.5
	海水	25	0.24	96	2.4
ABZsulfone	河川水	5.0	0.047	94	6.2
	海水	25	0.24	97	1.8

\*ABZ のみサロゲート補正後の値。カッコ内はサロゲート回収率。

### 4. まとめ

環境水中の ABZ 及びその代謝物の分析法を検討し、分析法の検出下限が ABZ は 0.0010μg/L それ以外の代謝物は 0.0049～0.011μg/L レベルで測定できる分析法を確立した。

#### 【謝辞】

本研究の一部は、環境省「化学物質環境実態調査」の委託を受けて行ったものです。

#### 参考文献

- 1) 内山賢二,中村正規,2012.LC-MS/MS による畜水産物中の動物用医薬品等の一斉試験法 (V),福岡市保健環境研究所報,37,95-99.
- 2) 厚生労働省, 2016.薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会報告について.

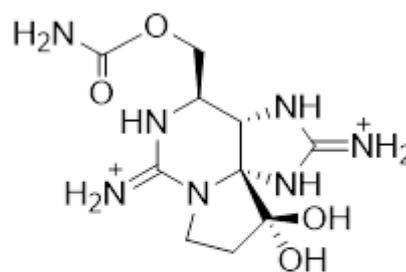
## 東日本で養殖したホタテガイ中の LC-MS/MS による麻痺性貝毒分析

○沼野 聡

岩手県環境保健研究センター

日本農芸化学会 2019 年度大会 (平成 31 年 3 月 25 日～27 日 東京都)

[背景] 麻痺性貝毒 (paralytic shellfish toxins, PSTs) は、電位依存性ナトリウムイオンチャネルを特異的に阻害する強力な神経毒である。サキトキシン (STX, 1) を代表として、ゴニオトキシン (GTX) 類や C トキシン類など 50 種以上の類縁体が知られている。近年、日本近海において、貝類の高毒化や毒蓄積の長期化が問題となっている。しかし、現在、我が国の公定法はマウス毒性試験法であり、PSTs の上昇期および減衰期における各類縁体の詳細な経時変化は報告例が少ない。そこで、これまでに報告された PSTs の LC-MS/MS 法を改良し、PSTs の主要毒に加えて、PSTs の代謝物とされる M トキシン類も数種含めて分析することを目指した。本研究は、試験用に養殖されたホタテガイを用い、中腸腺の毒成分の経時的な組成比変化について知見を得ることを目的とした。



Saxitoxin (1)

[方法] PSTs 生産渦鞭毛藻 (Alexandrium 属) が発生する東日本の海域で養殖されたホタテガイを、定期的に採集した。検体から中腸腺のみを切り出し、希塩酸中加熱抽出した毒成分を、HILIC-MS/MS で定性および定量分析した。一部の類縁体は、高分解能 LC-TOF-MS で測定し、同定した。

[結果・考察] 養殖ホタテガイに蓄積した毒成分の組成比は、これまで報告されているように GTX 類が全体の 8 割以上、C トキシン類や STX 類が 2 割程度で構成されていた。PSTs の上昇期および減衰期における濃度変化は、C トキシン類よりも GTX 類の方が大きいことが分かった。また、M トキシン類と推定した成分は、PSTs の上昇期より複数観察された。解析の結果、これらのピークは、C トキシン類の代謝物と考えられる。一方で、他の毒成分は、含有量が少ないことから、今後更に検証が必要と考えられた。

### [References]

1. Dell' Aversano, C. *et al.*, *J. Chromatogr. A.* **2005**, 1081, 190-201.
2. Turner, A. D. *et al.*, *J. AOAC. Int.* **2015**, 98, 609-621.
3. Ding, D. *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **2017**, 65, 5494-5502.