

下水処理施設を経由して環境中に排出される有機フッ素化合物量の推計とその季節変動

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

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

第28回環境科学討論会(令和元年6月12日~14日 さいたま市)

【はじめに】

有機フッ素化合物(PFAAs)は、全世界の環境や野生生物から検出されており、水環境中への拡散は、それらを使用する事業場や家庭等から下水道を通じての排出が主要ルートと考えられる。本研究では、日本各地の下水処理場(STP)を対象とし、流入水及び放流水のPFAAs濃度、水量及び処理人口から発生及び排出原単位を推計し、下水処理工程におけるPFAAsの除去率の把握を試みた。これにより、汚染対策の基礎情報である全国からの排出量の推計や季節変動の有無などが把握できる。

【方法】

調査対象として、全国から処理人口20万人以上のSTP8か所(A~H処理場、活性汚泥法)を選定した。2017年7月~2018年5月にかけて季節毎に4回、最初沈殿池前(流入水)及び最終沈殿池後(放流水)で24時間コンポジットを調製して試料水とした。試料水をコンセントレーターで固相カートリッジ(Waters Oasis WAX Plus)に濃縮し、カートリッジから抽出した後に濃縮、遠心分離し、上清をLC-MS/MS(Agilent 6490)で測定した。対象PFAAs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間で比較したところ、流入水において、有意($p<0.05$)に高濃度なPFAAsはA、B、C及びH処理場にはなかったが、D処理場では対象15物質のうち4物質、E処理場では1物質、F処理場では2物質、G処理場では12物質確認された。放流水については、有意に高濃度だったPFAAはB、C、E、及びH処理場にはなかったが、A処理場では4物質、D処理場では2物質、F処理場では1物質、G処理場では12物質確認された。季節毎のPFAAs濃度から下水処理工程における除去率を算出した(検出下限値未満が多いC12~14AとC10Sは除外)ところ、C11Aを除くPFCAの除去率は、ほぼ年間を通してマイナスとなっていた。夏季に最も除去率が低くなっている物質が多く、冬季の除去率が最も高く、プラスになるものが多かった。PFSAは、C7Sを除き、PFCAほどの季節変動は認められなかった。また、除去率は0付近からプラスのものが多かった。下水道区域からの発生負荷量及び環境中への排出負荷量の季節変動を確認したところ、発生・排出負荷量とも、冬季に少なくなることが明らかとなった。日本全体からの年間負荷量は、発生負荷量約1,200 kg、排出負荷量約1,400 kgと推計された。

【考察】

下水処理工程におけるPFAAs除去率は、PFCAは夏季にマイナスのものも多く、処理工程においてPFCAが増加していることを示している。これは前駆体からの生成と考えられ¹⁾、処理時の水温が生成に影響していると推測される。同様に、冬季は相対的に除去率が高く、低水温で生成が抑えられたことが影響していると考えられる。C11AやPFSAでは除去率が0からプラスとなっているものも多く、季節変動は少なかった。これは、年間を通じて前駆体からの生成と処理工程における除去が拮抗しているか、又は生成も除去もされていないためであろう。PFCAの排出負荷量は、夏季に多く冬季に少ない傾向が見られ、これは除去率が影響しているものと考えられた。今後は、前駆体の分析や反応タンクの温度等との相互作用も含めて、処理工程中のPFAA生成に関して検討する必要がある。

【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) Hamid *et al*, *Ecocycles*, **2**, 43-53 (2016).

LC/MS による化学物質分析法の基礎的研究(76)

○伊藤朋子¹, ○山本浩司², 浦山豊弘², 大月史彦², 折原智明³, 長谷川瞳⁴, 平生進吾⁴, 小野純子⁵, 吉野共広⁶, 八木正博⁶, 飛石和大⁷
¹岩手県環境セ, ²岡山県環境セ, ³札幌市衛研, ⁴名古屋市環科セ, ⁵大阪府環農水研, ⁶神戸市環境研, ⁷福岡県保環研

第 28 回環境科学討論会 (令和元年 6 月 12 日~14 日 さいたま市)

【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 による水質試料中の (1)チアベンダゾール、アゾキシストロビン、ピリメタニル、(2)3-ベンジリデンカンファー、(3)3-クロロ-2-プロペン酸の分析法を検討した。

【結果と考察】

(1) チアベンダゾール、アゾキシストロビン、ピリメタニル (岩手県環境保健研究センター)

[概要] 環境水中に存在するチアベンダゾール(TBZ)、(E)-アゾキシストロビン(Az)及びピリメタニル(Py) (用途: 防カビ剤) を、LC/MS/MS で定量する方法を検討した。なお、Az の光分解物である(Z)-アゾキシストロビン(z-Az)について、Az と同一のトランジションであったことから、カラムによる分離を検討し、同時分析を行った。

[方法]水質試料にサロゲート物質を添加後、固相カートリッジ (Oasis HLB Plus)に通水し、メタノールで溶出する。溶出液を精製水で定容したものを試験液とし、LC/MS/MS-SRM で測定する(Fig.1)。

[結果]本法の検出下限値 (MDL) は、TBZ 0.40 ng/L、Az 0.75 ng/L、z-Az 0.31 ng/L Py 0.17 ng/L であった。また、水質試料 (河川水、海水) を用いた添加回収試験による回収率は、TBZ が 100~108%(サロゲート回収率 94%)、Az が 97~101%(91~95%)、z-Az が 104~105%(91~95%)、Py が 98~102%(89~93%) の範囲であった。MDL 算出時のクロマトグラムを Fig.2 に示す。

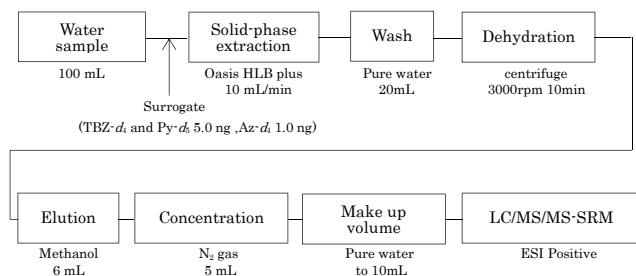


Fig. 1 Flowchart of determination method

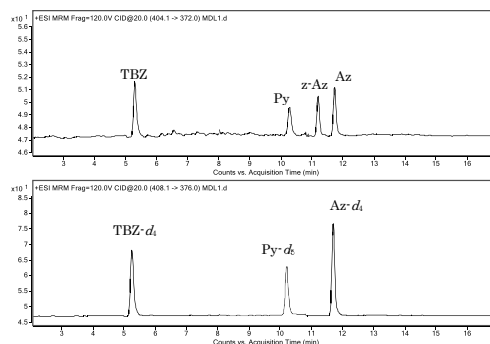


Fig. 2 SRM chromatogram of standard solution

いわて健康データウェアハウスによる「見える化」の取り組み

並岡 亜希子

第 68 回東北公衆衛生学会（令和元年 7 月 26 日 盛岡市）

【はじめに】

岩手県では、生活習慣病予防対策の充実強化に資するため、「健診・生活習慣に係るデータ」「人口動態統計」等のデータを一元的に集約・解析し、解析結果を医療保険者や市町村、教育機関等に還元するシステム「いわて健康データウェアハウス」を運用している。今回は、成人のデータをもとに、システムを活用したデータ分析・情報還元の取り組みについて紹介する。

【システムの概要】

健診・生活習慣に係るデータは、県内市町村、小中高等学校、医療保険者等の協力を得て、ライフステージ別に妊婦、乳幼児、児童生徒、成人のデータを集積している。成人のデータは、医療保険者が実施する特定健診・特定保健指導の法定報告の項目について収集し、得られた情報は、連結不可能匿名化のうえ、集積している。

【データ分析と情報還元】

集積データから、地域や医療保険者等ごとに、性別、年齢階級別の単純集計や経年変化、クロス集計、県平均との比較や標準化該当比による市町村間の比較等の分析を行っている。また、国の「特定健康診査・特定保健指導に関するデータ」や「NDB オープンデータ」等の全国データを用いて、全国平均と県平均の比較や標準化該当比による全国との比較等を行っている。これらの分析から、県内全体や地域ごと等の生活習慣、健康状態の傾向を明らかにし、分析結果は、表やグラフで示すほか、県内市町村の白地図に、算出した標準化該当比を 4 段階に区分して色分けし、地域分布を表す等、分析結果を見える化することにより、医療保険者等の関係機関へのわかりやすい情報還元に取り組んでいる。

【これまでの成果】

特定健診データ（健診結果及び標準的な質問票）の分析により、メタボリックシンドロームや健診検査項目、既往歴、服薬、生活習慣等の傾向を詳細に把握することができ、生活習慣病対策の基礎的な情報として活用されている。また、分析結果を見える化することにより、地域の特徴がより明確になる等の効果も見られている。分析結果からは、本県は全国と比較し、男女ともに血圧高値（収縮期血圧 130mmHg 以上）及び血糖高値（HbA1c5.6%以上）、男性の喫煙、女性のメタボリックシンドローム（該当及び予備群）の者の割合が高いこと等が健康課題として見えてきている。

【今後の方向性】

今後は、集積情報の充実や医療費のデータ等も含めたデータ分析を進めながら、地域の健康状態を把握し、そこから得られる健康課題等について、わかりやすい情報提供を進め、還元内容の一層の充実を図ることで、関係機関の健康課題の共有、効果的な生活習慣病予防対策の取り組みを支援していきたい。

岩手県内における薬剤耐性菌の検出状況について

○岩渕香織、山下裕紀、小泉英誉、藤森重紀子、高橋雅輝、高橋知子
第 68 回東北公衆衛生学会（令和元年 7 月 26 日 盛岡市）

目的：現在、世界では、このまま対策を取らなければ、2050 年には約 1000 万人が薬剤耐性菌によって死亡すると言われている。薬剤耐性菌は、院内感染だけでなく市中感染もみられ、また健康人が県外や海外から県内に持ち込む可能性もある。岩手県内の薬剤耐性菌の検出状況を把握するため、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ（extended-spectrum β -lactamase）産生菌（以降 ESBL）及びカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae、以降 CRE）について解析を行った。

対象と方法：ESBL については、県内 4 カ所の医療機関で、平成 29 年 3 月から平成 31 年 3 月に検出された 133 株を対象とし、ESBL 産生遺伝子の解析を行った。CRE については、患者分離株に加え環境中の汚染状況を確認するため下水道流入水を対象とした。患者分離株は、感染症発生动向調査により平成 30 年に届け出のあった 7 株について、下水道流入水は、平成 30 年 4 月から平成 31 年 3 月まで月 1 回採水した 12 検体について、カルバペネマーゼ遺伝子の解析及び菌種の同定を行った。

結果：ESBL について、提供された 133 株から、CTX-M-1 group が 44 株（33.1%）、CTX-M-2 group が 10 株（7.5%）、CTX-M-8 group が 2 株（1.5%）、CTX-M-9 group が 71 株（53.4%）、SHV が 8 株（0.6%）、TEM が 38 株（28.6%）検出された（表 1 複数遺伝子保有株あり）。CRE について、患者分離株からカルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかったが、下水道流入水から、表 2 のとおりカルバペネマーゼ遺伝子が検出された。

考察：岩手県における ESBL は、CTX-M-9 group が 53.4%を占めていたが、前回調査（平成 29 年度研究報告）の 73.1%から減少し、CTX-M-1 group は前回 22.1%から 33.1%と増加した。また、前回検出されていなかった CTX-M-8 group が検出され、分布状況が変化していた。また、CRE については、下水道流入水から検出され、すでに県内に、持ち込まれている可能性がある。

結論：交通機関の発達に伴い、新しい薬剤耐性菌が出現すると世界規模で広がる。岩手県においても注意が必要である。今後も調査を実施し、情報提供して行く必要がある。

表1 菌種別、耐性遺伝子型別結果

	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumophila</i>	<i>P.mirabilis</i>
CTX-M-1 group	24		
CTX-M-1 group・TEM	15		
CTX-M-1 group・SHV		1	
CTX-M-1 group・TEM・SHV		3	
CTX-M-2 group			8
CTX-M-2 group・TEM			2
CTX-M-8 group	2		
CTX-M-9 group	52		
CTX-M-9 group・TEM	17		
CTX-M-1 group・CTX-M-9 group		1	
SHV	2		
TEM・SHV	1		
※N.D.	5		
	118	5	10

表2 下水から検出されたカルバペネマーゼ遺伝子

採水年月	遺伝子型	菌種
4月	GES型	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	NDM型	<i>Escherichia coli</i>
6月	NDM型	<i>Escherichia coli</i>
	IMP型	<i>Citrobacter freundii</i>
7月	OXA-48型	<i>Escherichia coli</i>
	GES型	<i>Enterobacter cloacae</i>
	GES型	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
2018年 8月	NDM型	<i>Escherichia coli</i>
	GES型	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
9月	IMP型	<i>Citrobacter freundii</i>
	GES型	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
10月	IMP型	<i>Citrobacter freundii</i>
	IMP型	<i>Citrobacter freundii</i>
12月	GES型	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	OXA-48型	<i>Escherichia coli</i>
2019年 1月	NDM型	<i>Escherichia coli</i>
	GES型	<i>Enterobacter cloacae</i>
	GES型	<i>Enterobacter cloacae</i>
3月	GES型	<i>Enterobacter cloacae</i>
	GES型	<i>Enterobacteraylorae</i>

個体識別によるイヌワシの移動分散

前田 琢

日本鳥学会 2019 年度大会（令和元年 9 月 14 日 東京都）

鳥の移動や分散の解明には標識調査が用いられるが、捕獲が容易でないイヌワシでは事例が少なく、ほとんど明らかにされていない。しかし、イヌワシには個体ごとに異なった羽衣の特徴が認められることから、写真による個体識別が可能である。こうした特性を利用し、岩手県とその周辺で観察、撮影された個体から同一個体を見出し、移動分散の事例を収集した。特徴の比較には、風切羽根の脱落や破損、隣り合った羽根との長短のパターン、雨覆の模様や形状、さらに若齢個体では風切白斑の形状も用い、複数の特徴が一致する、確度の高い個体どうしを同一と推定した。2011～19年に記録された個体を検討したところ、成鳥、若鳥、幼鳥を合わせて30以上の事例が明らかになった。成鳥では10kmを超える移動も数多くみられ、最長は営巣地から47km離れた場所までつがいで訪れていた。また、移動先で新たな営巣地を設けていた事例も6例あり、既存の営巣地からの距離は3～21kmであった。若鳥や幼鳥では数10kmから200km超の移動も明らかになり、より広域的に動いていることが示唆された。

北奥羽地域におけるツキノワグマ若齢個体の季節移動と その要因の解析

Analysis of factors of seasonal movements in juvenile Asiatic black bear
in the North Ou Mountains

○鞍懸重和¹, 久門美月², 山内貴義³

¹岩手県環境保健研究センター, ²岩手大学総合科学研究科, ³岩手大学農学部
日本哺乳類学会 2019 年度大会 (令和 2 年 9 月 16 日～18 日 東京都)

北奥羽地域個体群のツキノワグマ (以下、クマ) の季節移動を把握するため、2018 年 5～6 月に岩手大学御明神演習林内にて若齢雄 2 個体及び雌 2 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。また利用餌資源の観点から季節移動の要因を把握するため、クマが連続して滞在した地点について痕跡調査を実施し、季節移動前後の痕跡の種別出現率を比較した。

夏季は 4 個体ともに 400m 未満の低標高帯に滞在していたが、9 月上旬には 4 個体全てが 400m 以上の高標高帯に移動した。また初夏から晩夏の低標高帯における痕跡はヤマグワ、倒木及びクマ剥ぎ (スギ) の出現率が高く、初秋の高標高帯における痕跡は、オニグルミ、ミズキ及びクリの出現率が高かった。これら複数個体の移動時期の同調性と、クマの移動時期と利用餌資源の変化時期の一致から、2018 年度におけるクマ若齢個体の季節移動の要因として、オニグルミやミズキ、クリ等の液果や堅果類が考えられた。

ホタテガイに含有する麻痺性貝毒の代謝物に関する研究

○沼野聡^{1,2}, 加賀克昌³, 工藤雄大^{2,4}, 山下まり²¹岩手県環境保健研究センター、²東北大学大学院農学研究所、³岩手県水産技術センター、⁴東北大学学際科学フロンティア研究所
第115回日本食品衛生学会 学術講演会 (令和元年10月3日~4日 東京都)

【目的】

麻痺性貝毒(PSTs, Paralytic shellfish toxins)は、サキシトキシン(STX)とその類縁体50種類以上の成分群の総称である。岩手県沿岸においては、有毒渦鞭毛藻の*Alexandrium*属が産生した毒を、カキやホタテガイ等の二枚貝中に蓄積することが知られている。近年、貝類に蓄積した毒成分の高毒化や長期化、および出荷規制の地域が拡大する傾向にある。出荷規制の判定には、マウス毒性試験が用いられているが、各毒成分の構成比率や経時的な変化の情報を得ることが出来ない問題を抱える。

そこで、演者らは第113回大会において、LC-MS/MSで主要7成分(C1-2,GTX1-4, dcSTX)を測定可能であることや、毒化したホタテガイの測定について報告した¹⁾。今回、これまで我が国では未報告であったPSTs代謝物(M toxin)について検討したので報告する。

【方法】

本研究の対象とした成分は、2018年1~12月に県内で採取したホタテガイの中腸腺をLC-MS/MSのSRMモード(m/z 396>316, 412>396)で分析した際に、標準品で同定することが出来なかった3成分である(図1, 化合物1~3)。これらは、先行研究²⁾より、弱毒成分であるCトキシンの代謝物と推察されたが、標準品が発売されていない為、同定することが出来なかった。そこで、化合物を単離し、LC-MS/MSやTOF-MS、およ

びNMRで測定を行うことで、同定することにした。LC-MS/MSの測定条件や、試料の前処理方法は、第113回本大会の要旨に記載の通りとした。

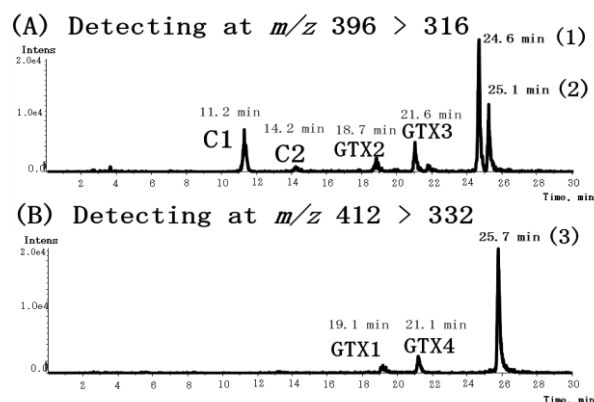


図1. PSTsとMtoxinのクロマトグラム(SRM)

【結果】

図1に記載した化合物(1)と(2)、および(3)について検討した結果、それぞれM1とM5、M3と推定された。また、毒化時期の経時的なモニタリングにおいて、ホタテガイ中のPSTsが最高毒値を迎えた後、今回同定したM1とM3、M5のピークエリア値の合計が最高値となった。

【考察】

本研究において同定した成分は、PSTsの代謝物であり、これまでマウス毒性試験で検出することが出来なかった成分である。今後さらに検討を重ね、出荷規制解除までの予測に繋がる指標としたい。

1) 沼野聡, 第113回 日本食品衛生学会 学術講演会 講演要旨集, 2017, 97

2) Li, A. et al., *Food Addit. Contam.*, 2012, 29, 1455-1464

岩手県における環境水サーベイランスで分離された エンテロウイルスの動向

○高橋 雅輝¹, 吉田 弘²

¹岩手県環境保健研究センター, ²国立感染症研究所
第78回日本公衆衛生学会 (令和元年10月23日~25日 高知市)

【目的】感染症流行予測調査事業の環境水サーベイランスは、不活化ポリオワクチン (IPV) 導入後 2013 年度から実施されており、ポリオウイルスのほか顕性/不顕性を問わずその他のエンテロウイルス (EV) 属を効率的に捕捉できる方法である。岩手県では IPV への切り替え直後の 2012 年 10 月から環境水サーベイランスを開始し、同時に検出される EV についても同定を行っている。今回、2012 年 10 月から 2018 年 5 月の間に、環境水サーベイランスと感染症発生動向調査事業によるウイルスサーベイランスで検出された EV の動向を解析した。

【方法】環境水サーベイランスでは、岩手県内 2 市 2 町を管轄する A 下水処理場への流入水を月 1 回採水し、陰電荷膜フィルター法により濃縮した検体についてウイルス分離・同定を行った。感染症発生動向調査では、定点医療機関から提供された咽頭ぬぐい液、髄液、血液及び糞便検体を用いてウイルス検出を行った。

【結果】調査期間延べ 68 月のうち 46 月で下水流入水より EV が検出され、すべて EV-B 群 (13 血清型) であった。ポリオウイルスは検出されなかった。検出月数別ではエコーウイルス 7 (E7) が最も多く、次いで E6、E3、コクサッキーウイルス B5 (CB5)、E11、CB3、E25、E30、CB4、他 4 血清型の順であった。E7、E6、E11 は数か月連続して検出される傾向にあり、この間の感染症発生動向調査における感染性胃腸炎及び上気道炎検体から同血清型を検出した。しかし、下水からの検出頻度に比べて検出数は少なく、不顕性感染者の存在が示唆された。E25 及び E30 は無菌性髄膜炎患者の動向をよく反映していた。特に 2014 年の E30 は、隣県における無菌性髄膜炎の地域流行後、本県の下水から 3 か月間にわたり検出され、この間に感染性胃腸炎 (集団発生) 患者の 1 例、無菌性髄膜炎 (散発) 患者の 2 例から検出された。

【結論】下水を利用した環境水サーベイランスは、顕性/不顕性感染による EVs を高感度に捕捉できる方法であり、そのデータは感染症発生動向調査ウイルスサーベイランスの一助となるものと考えられる。

【謝辞】本報告は AMED 課題番号 19fk0108066 による支援を受けた。

【学会外協力者】藤森亜紀子、岩渕香織、小泉英誉、山下裕紀、高橋知子 (岩手県環境保健研究センター)

北岩手県におけるヒトスジシマカの分布について (2010-2018)

Distribution of *Aedes albopictus* in Iwate Prefecture located
in the area of the northern limit (2010-2018 Survey)

○大橋 慶太郎, 千崎 則正, 佐藤 卓

第 65 回日本寄生虫学会・衛生動物学会北日本支部合同大会 (令和元年 10 月 26 日 盛岡市)

ヒトスジシマカは、近年、その生息北限が北上している。岩手県内における同蚊の生息分布状況の調査結果および、生息北限地域における生息条件を検討したので報告する。2010 年から 2018 年までに岩手県内の延べ 673 地点で幼虫調査を行い、延べ 2364 発生源に生息している蚊の幼虫及び蛹を採取した。飼育し羽化させた成虫を実体顕微鏡下で形態学的に同定した。

前述の調査結果及び 1km メッシュ気温情報等を基に、統計モデリング手法を用いて岩手県におけるヒトスジシマカ生息条件の解析を試みた。統計計算アプリケーションは R ver. 3.5.1 パッケージ glmmML を用いて、AIC を評価基準とし、一般化線形混合モデルによる解析を行った。その結果、「2 月平均気温」、「人口密度」、「調査年における 1 月 1 日から調査日までの 10.8°C を閾値とする有効積算温度」が有意なパラメータとして選択された。ROC 解析では、AUC=0.81 と本モデルのあてはまりは良好である。

本モデルでは、 q_i を 1km メッシュごとのヒトスジシマカ生息確率としたとき以下の式で算出される。

$$\text{logit}(q_i) = -5.0706542 + [2 \text{ 月平均気温}]_i \times 0.5675356 + [\text{人口密度}]_i \times 0.0006602 + [\text{調査年における 1 月 1 日から調査日までの 10.8°C を閾値とする有効積算温度}]_i \times 0.0019142$$

本モデルにより、岩手県内における季節ごとのヒトスジシマカ生息リスクマップを作成した。

公共用水域の水質検査において大腸菌と誤判定される グラム陽性球菌について

山中拓哉

第 45 回全国環境研協議会北海道東北支部研究連絡会議（令和元年 11 月 1 日 盛岡市）

1 はじめに

当所で実施している公共用水域の大腸菌数検査において、特定酵素基質培地上で大腸菌と誤判定される可能性がある小型のコロニーが発育する事例があった。これらの菌株について、菌種同定並びに性状解析を行ったので報告する。

2 背景

水環境における糞便汚染の有無を確認するための細菌試験法としては、昭和 46 年 12 月 28 日環境庁告示 59 号「水質汚濁に係る環境基準について」において示された BGLB 最確数法による大腸菌群数検査が実施されている。しかしながら、大腸菌群には糞便とは無関係である環境由来の細菌も含まれており、得られた大腸菌群数のデータに関しては糞便汚染の指標性が低いとの問題点が指摘されてきた。

環境省は、このような状況に加え、国際的情勢や検査法の発展も鑑み、大腸菌群数と比較してよりの確に糞便汚染を捉えられる大腸菌数に基準項目を変更する検討を進めている。平成 23 年 3 月 24 日付環水大発第 110324001 号「要測定指標の測定について」において、環境省は各自治体に対し、基準値の検討に使用するデータ収集のために大腸菌数を要測定指標とする旨通知した。これ以降、当所においても大腸菌群数の検査と並行して大腸菌数の検査法の検討ならびにデータ収集を行ってきたところである。

3 大腸菌数の検査法について

大腸菌数の検査は上記通知において示された「特定酵素基質寒天培地によるメンブランフィルター法」により実施した。特定酵素基質寒天培地としてはトリコロール寒天培地（エルメックス）を使用した。検査においては検水並びにその希釈液をポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し、これをトリコロール寒天培地上に貼付し 22 時間、35℃で培養した。培地に含まれる発色酵素基質により大腸菌のコロニーは青色、大腸菌群（大腸菌以外）は赤～紫、その他の腸内細菌は白色を呈する。グラム陽性球菌は培地に含まれるラウリル硫酸ナトリウムの作用により発育が抑制される（ただし、グラム陽性球菌が多量に存在した場合は抑制能力が低下する場合があるとメーカー文書に記載されている）。培養後、青色コロニーをカウントすることにより大腸菌数を計数した。

表 1 衛生指標菌*としての大腸菌群と大腸菌の定義並びに培地上の性状

	グラム陰性無芽胞桿菌であること	乳糖を分解して酸とガスを産生すること	β-グルクロニダーゼ活性を有すること	トリコロール寒天培地上での発色
大腸菌群	○	○	—	赤～紫
大腸菌	○	○	○	青

*衛生指標菌としての大腸菌は生物学上の「大腸菌」と完全には一致しない。

4 トリコロール培地上に生育した大腸菌ではない青色小コロニーについて

当所で開催してきた大腸菌数検査において、青色を呈するもの大腸菌より小型のコロニーが発育する事例が見られた。通知に従うとこのようなコロニーは大腸菌陽性と判定されるが、これらをカウントすると大腸菌群数との整合性が取れなくなる等の理由から、当所の検査においては「大腸菌ではないもの」と判断している。

当所ではこのような菌株を収集し、これらの分離・解析を進めている。本発表ではこれまでに河川水・海域水から分離した菌株についての解析結果を報告する。

5 結果

(1) 菌種同定：分離した菌株についてグラム染色を行ったところ、ほとんどがグラム陽性球菌であった。これらの菌株をブドウ球菌属同定キット SP-18（日水製薬）を用いて同定した結果を表2に示す。これらは表皮や環境中に広く存在する菌種である。

表2 分離菌株の内訳

菌種	株数
<i>Staphylococcus cohnii</i>	5
<i>Staphylococcus warneri</i>	4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2
<i>Staphylococcus xylosus</i>	2
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1
<i>Staphylococcus hominis</i>	1

(2) 菌増殖におけるメンブランフィルターの影響：上記のグラム陽性球菌は、本来であれば増殖が抑制されるトリコロール寒天培地上から分離された。この現象がメンブランフィルターの影響により生じているという仮説を検証するため、表2のうち *S. cohnii* 2株、*S. xylosus* 1株、*S. hominis* 1株について、培地に直接塗抹した場合と培地に貼付したメンブランフィルターの表面上に塗抹した場合の増殖を比較した（表3）。その結果、これら4菌株全てにおいて直接塗抹では増殖が見られなかったのに対し、メンブランフィルター上では増殖が見られた。これに対し大腸菌、大腸菌群に関してはメンブランフィルターの有無は影響せず両者で同程度の増殖が見られた。

表3 トリコロール寒天培地表面へのMF貼付と菌増殖との関係（35℃、22時間培養）

菌株	直接塗抹での培養	培地に貼付したMF上での培養
大腸菌 (026VT(-))	増殖	増殖
大腸菌群 (<i>K. oxytoca</i>)	増殖	増殖
本研究で分離した グラム陽性球菌 (4菌株)	増殖は観察されず	増殖

6 まとめ

メンブランフィルター法による公共用水域の大腸菌数検査時にみられる青い小コロニーはβ-グルクロニダーゼ陽性のグラム陽性球菌であることが示唆された。これらの菌はトリコロール寒天培地において増殖抑制を受けたが、培地に貼付したメンブランフィルター上で培養した場合は増殖した。この原因としては培地に含まれるラウリル硫酸ナトリウムのグラム陽性球菌に対する発育阻害効果がメンブランフィルターによって軽減されていることが考えられる。

グラム陽性球菌が大腸菌と誤判定された場合、大腸菌数を過剰に計数する可能性があることから、今後も解析を進め、結果を環境省並びに他の検査機関と共有する必要があると考える。

地下水常時監視における鉛発生源の検討

○橋本 裕子, 伊藤 朋子

第 45 回全国環境研協議会北海道東北支部研究連絡会議 (令和元年 11 月 1 日 盛岡市)

1. はじめに

岩手県の地下水常時監視では、鉛の検出率が高く、報告下限値を超えて検出した地点について、年に数件程度汚染井戸周辺地区調査を実施している。しかし、周辺調査の結果では鉛の発生源が判明しない事例が多く、原因不明のまま継続監視が行われている。

鉛の発生源を究明するため、これまで鉛管及び給水用具（伸銅製継手、バルブ等）からの溶出影響について検討し、概況調査地点の多くが給水用具の溶出影響を受けていること、鉛が検出された場合、銅濃度を指標として溶出影響の有無を判断できることなどを確認してきた。

一方、岩手県は銅を始めとした金属鉱物資源が豊富な土地柄でもあり、昭和 40 年代まで、各地で鉱山の採掘が行われてきた。これらの休廃止鉱山の影響を受ける河川では、現在も有害金属のモニタリングが続けられており、微量ではあるが、鉛が検出される地点もある。

地下水においても、過去の鉱業活動や地質由来して、鉛や銅が検出される可能性がある。このことから、今回、鉛の同位体比にも着目し、発生源の検討を行ったので報告する。

2. 調査方法

2-1 鉛及び鉛の定量分析

鉛及び銅濃度の測定は ICP/MS (Agilent 7700) で行い、試薬は関東化学社の電子工業用硝酸、重金属類測定用標準液は SPEX 社の XSTC-469 を使用した。前処理を含む測定の詳細は JIS K 0102 の各項目に準じた。

2-2 鉛同位体比の測定

鉛同位体比の測定は、座間味ら¹⁾の方法を参考とし、上記 ICP/MS で積算時間を ²⁰⁶Pb、²⁰⁷Pb は 10 秒、²⁰⁸Pb は 1 秒、スイープ回数 1000 回、繰り返し 10 回で測定した。同位体比の補正は、鉛同位体比測定用標準 NMIJ CRM 3681-a (産総研) を用いて比較標準化法で行い、野々瀬ら²⁾の方法を参考に 4 試料毎に標準試料を測定して、補正係数の校正を行った。なお、測定時の質量差別効果を一定とするため、標準試料及び水質試料の鉛濃度は 1 µg/L±0.1 となるように調製した。本分析の測定精度は、²⁰⁷Pb/²⁰⁶Pb が RSD 0.3~0.8%、²⁰⁸Pb/²⁰⁶Pb が RSD 0.3~1.2%であった。

2-3 試料

次の 3 群の水質試料について、鉛及び銅濃度と鉛の同位体比を測定した。

- ① 概況調査地点の初流地下水：平成 30 年度の地下水概況調査地点のうち、開栓直後の配管滞留水を含む初流地下水と、滞留水を十分排出したのち採水した地下水に、明瞭な鉛の濃度差がある地点(n=12)
- ② 継続監視地点：鉛に係る継続監視が行われている継続監視地点(n=12)
- ③ 鉱山影響河川：休廃止鉱山直下の河川水(n=4)

3. 結果と考察

3-1 継続監視地点と鉱山影響河川の鉛及び銅濃度

継続監視地点及び鉱山影響河川中の鉛と銅の濃度測定結果を表 1、表 2 に示す。

表 1 継続監視地点の鉛及び銅濃度

地点 No.	鉛(µg/L)	銅(µg/L)
1	7.0	74
2	15.3	38
3	5.6	292
4	3.1	46
5	3.5	64
6	13.9	74
7	2.8	64
8	2.1	31
9	1.8	21
10	12.3	175
11	6.3	155
12	7.2	84

水道分野では、伸銅製給水用具から鉛を始めとした金属類が滞留水に溶出することが知られており、「給水装置の構造及び材質の基準に関する省令」(H23.4.1)

表 2 鉱山影響を受ける河川水の鉛及び銅濃度

調査地点	鉛(µg/L)	銅(µg/L)	鉱山と鉱物種
長内川	3.1	56	田老：鉛、亜鉛
小鬼ヶ瀬川	0.8	64	土畑・鷲之巣：銅、鉛
湯之又川	0.3	19	赤石：銅
赤川	3.2	3.3	松尾：硫黄

が施行された。地下水調査においても、昨年度までの検討で給水用具から鉛や銅が溶出することを確認しており、この時の検討で、鉛が報告下限値 (2 µg/L) を超えるとき、共存する銅濃度 32 µg/L を閾値として、溶出影響の判断ができる、という結果を得ている。

今回、汚染原因が不明のまま鉛の継続監視を行っている地点について、鉛に加え、銅濃度も測定したところ、報告下限値を超える 11 地点中 10 地点で銅濃度 32µg/L を超える結果となった。この

ことから、継続監視地点における鉛の汚染原因は、給水用具由来であることが強く疑われた。

一方、鉱山影響河川においても、過去に銅や亜鉛の採掘をしていた鉱山の下流地点では、鉛と銅が検出されていた。このことから、地下水調査においても、過去の銅、亜鉛鉱山の採掘の影響や、地質由来で鉛を検出する可能性も考えられ、銅濃度以外にも、鉛の汚染原因を判断する指標が必要であると考えられた。

3-2 地下水及び鉱山影響河川の鉛同位体比

鉛汚染源の推定において、銅濃度以外に利用可能なものとして、鉛の産地同定に利用される同位体比に着目し、測定を行った。結果を図1に示す。

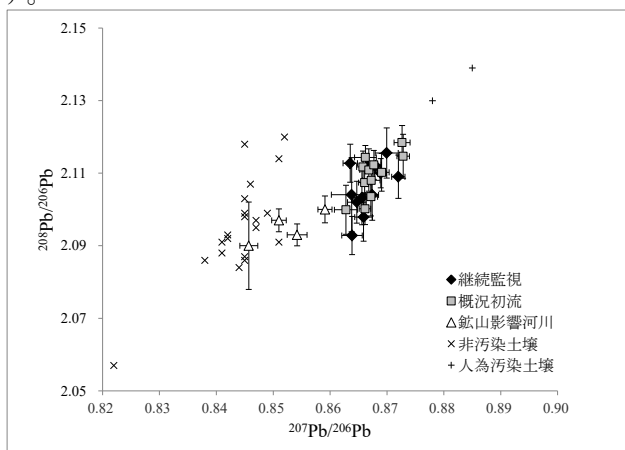


図1 各水質試料の鉛同位体比(mean±SD)

*比較用に日本各地の土壤中鉛同位体比³⁾をプロットした

各水質試料の鉛同位体比は、給水用具の溶出影響を受ける概況調査地点の初流と、継続監視地点ではほぼ同じ範囲に分布し、鉱山影響河川は前者2群とは異なる範囲に分布していた。

鉛の安定同位体は、²⁰⁴Pb、²⁰⁶Pb、²⁰⁷Pb及び²⁰⁸Pbがある。このうち²⁰⁴Pbだけが始めから鉛で、その他はウランやトリウムが壊変し(²³⁸U→²⁰⁶Pb (44.68 億年)、²³⁵U→²⁰⁷Pb (7.038 億年)、²³²Th→²⁰⁸Pb (141 億年)) 生成したものである。

鉛の同位体比は経時的に変化するが、鉛鉱床が形成される際にウランやトリウムから切り離されるため、その時代の同位体比率が固定される。古い時代に鉛鉱床が形成された地域と、新しい時代に鉛鉱床が形成された地域では鉛同位体比が異なり、鉛の産地推定が可能となる。

鉛の同位体比は²⁰⁸Pb/²⁰⁶Pb、²⁰⁷Pb/²⁰⁶Pbをそれぞれ縦軸、横軸にした散布図で示すことが多く、先行研究では、国内の人為的な汚染のない土壤の鉛同位体比はそれぞれ 2.095 ± 0.013 、 0.844 ± 0.006 ³⁾、国内鉱床鉛は 2.093 ± 0.014 、 0.844 ± 0.007 ⁴⁾の範囲に分布するとされている。海外鉱山の鉛は国内のものと同位体比が異なるため、海外産の鉛も使用される工業製品は、鉛同位体比が日本固有のものと異なっている。このため、鉛の同位体比を測定することで、それが日本の鉱山・地質由来の鉛か、工業製品由来の鉛かを判断するこ

とができる。日本の鉱山及び主な海外鉱山の鉛同位体比を図2に示す。

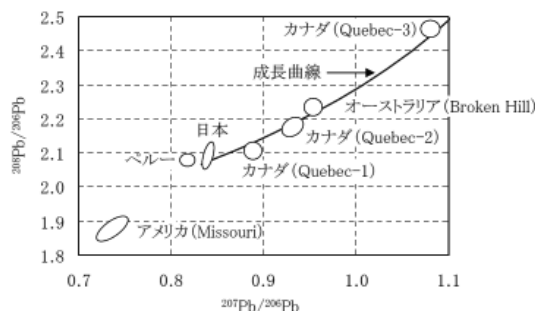


図2 鉛鉱石の主な産出国の同位体比

【出典：加田平賢史,堆積物コア中鉛同位体比を用いた環境鉛汚染の歴史的な由来の識別,生活衛,2010,vol.54,No.3,P197,図4】

今回の検討で、鉱山影響河川の鉛同位体比は先行研究で示されている日本固有の鉛鉱石及び汚染のない土壤中の鉛同位体比とほぼ一致した。

一方、給水用具の影響を受けている概況調査地点の初流地下水と、継続監視地点の地下水の鉛同位体比はこの範囲から外れており、海外産鉛が含まれる工業製品に由来すると考えられた。

今回検討した概況調査地点と継続監視地点について、地下水汚染で鉛が到達するといわれる80m範囲内には、鉛を使用する特定事業場及び廃棄物処分場等はなく、地下水が接触する工業的な鉛製品は給水用具のみであると考えられる。

以上の結果から、これまで不明であった継続監視地点の鉛の発生源は、給水用具として用いられる伸銅製品であると推察された。

4. まとめ

地下水概況調査における鉛の発生源を究明するため、検討を行った。地下水試料中の銅濃度と鉛同位体比を測定することで、給水用具の溶出影響の確認と、検出された鉛が鉱山もしくは地質由来のものであるか、工業製品由来のものであるかが判別可能であり、井戸周辺の人為的な汚染の有無と合わせて考察することで、汚染原因の推定が可能になることが示された。また、今回の検討により、これまで汚染原因が不明であった鉛の継続監視地点では、給水用具が発生源となって鉛が検出されていることが確認できた。

今後はこれらの調査方法を組み合わせ、地下水調査で鉛が検出された際の汚染原因の推定や、井戸所有者への適切な使用方法の指導に活用したいと考えている。

参考文献

- 1) 座間味佳孝,ICP/MSによる地下水中の鉛同位体比分析法の検討,沖縄県衛生環境研究所報,2018,52
- 2) 野々瀬菜穂子,日置昭治,倉橋正保,久保田正明,同位体機積/誘導結合プラズマ質量分析法による金属イオン濃度測定国際比較,分析化学,1998,47(4),239-247
- 3) 丸茂克美,江橋俊臣,氏家亨,日本各地の土壤中の重金属含有量と鉛同位体組成,資源地質,2003,53(2),125-146
- 4) 吉永淳,19~20世紀にわが国で使用された含鉛おしろいに関する研究,コスメトロジー研究所報告,2015,vol.23,173-175

岩手県におけるPM_{2.5} 調査結果について

菊池 一馬

第26回大気環境学会北海道東北支部会（令和元年11月22日 盛岡市）

1 はじめに

大気中に浮遊する微小粒子状物質（以下「PM_{2.5}」という。）はイオン成分、炭素成分及び無機元素成分などの成分から構成されており、その組成を分析することでPM_{2.5}の発生源等を解明する手がかりとなる。大気汚染防止法に基づき、都道府県はPM_{2.5}の成分分析調査を実施することとされており、当センターは2016年度から2018年度までの3年間、滝沢市菓子局（以下、「菓子局」という。）及び奥州市水沢局（以下、「水沢局」という。）の2地点で調査を実施した。ここでは、3年間の調査結果について、成分・季節ごとの2地点の相関等を比較し、各成分の起源等について考察した。

2 方法

(1) 調査地点

調査地点は、岩手県内陸部のPM_{2.5}濃度自動測定器が設置されている常時監視局から選定し、比較的バックグラウンドに近い菓子局と、南北の隣接市に工業地域が存在する水沢局とした。両地点は経度がほぼ等しく、南北に約80km離れている。

(2) 調査期間

2016年度から2018年度までの3年間、四半期毎に1日単位で2週間に亘りPM_{2.5}のサンプリングを行った。両地点有効なサンプルが得られた数は、3年間の合計で、春季が30日、夏季が37日、秋季が29日、冬季が33日であった。

(3) 調査項目

測定項目は質量濃度、イオン成分(Cl⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻、NH₄⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺及びMg²⁺)、無機元素成分(Na、Al、K、Ca、Sc、V、Cr、Mn、Fe、Ni、Zn、As、Sb及びPb)、炭素成分(OC及びEC)とした。

(4) 採取方法

サンプリング機器はいずれの地点もThermo社製FRM2025シリーズを用いた。分析方法等は大気中微

小粒子状物質(PM_{2.5})成分測定マニュアル(環境省)によった。

(5) 成分分析結果解析方法

四半期毎、項目毎の両地点の同日の測定値を散布図にプロットし、両地点の相関等を比較した。なお、極端なはずれ値や検出下限値未満のデータは集計対象から除外した。質量濃度が他方より5µg/m³以上高い日を「水沢高濃度日」又は「菓子高濃度日」と定義し、高濃度日の発生頻度や高濃度日における各成分の濃度に注目した。

(6) トラジェクトリ解析

トラジェクトリ解析は、国立環境研究所地球環境研究センターのMETEXを使用し、過去3日、高度500m、三次元法によった。

3 結果

(1) PM_{2.5} 質量濃度

PM_{2.5}質量濃度はどの季節も両地点の相関が強く、特に春季は非常に相関が強かった。水沢高濃度日は夏季に2日、秋季に5日あり、菓子高濃度日は冬季に1日あった。(図1)

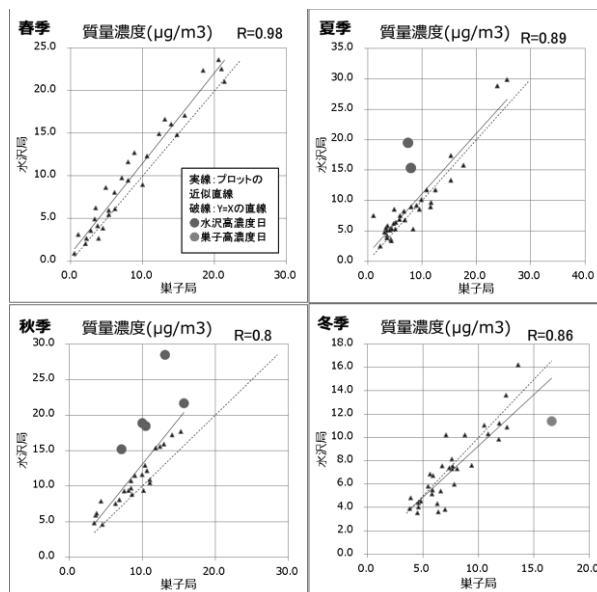


図1 PM_{2.5}質量濃度の相関

(2) 主要成分

PM_{2.5}の組成割合が比較的大きい主要成分 (SO₄²⁻、NO₃⁻、NH₄⁺、OC、EC) は、冬季のOC及びECを除いていずれも両地点の相関が強かった。また、水沢高濃度日においては、主要イオン成分 (SO₄²⁻、NO₃⁻、NH₄⁺) の濃度が高くなりやすい一方で、炭素成分 (OC、EC) の濃度は水沢局と巣子局の濃度が同程度になった。

(3) 無機元素成分

無機元素成分のうち、Pb及びAsはどの季節も両地点の相関が強く、両地点の濃度が同程度になる日が多かった。(図2) 一方、Na、Ca、V、Cr、Ni、Zn、Sbは巣子局よりも水沢局の方が高濃度になる日が多かった。(図3)

石炭燃焼指標とされるPb/Zn比は、大陸起源の浮遊粒子の場合0.5~0.6程度であると推定されており¹⁾、秋季及び冬季の巣子局においてはこの範囲を含んでいた。(図4)

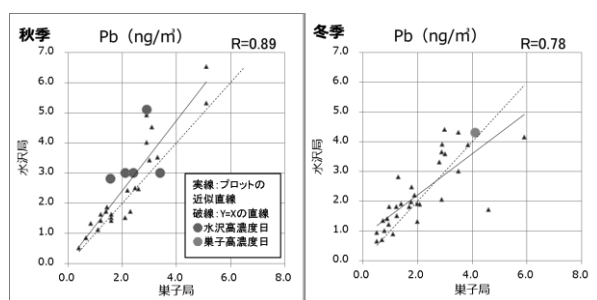


図2 Pbの相関 (秋季・冬季)

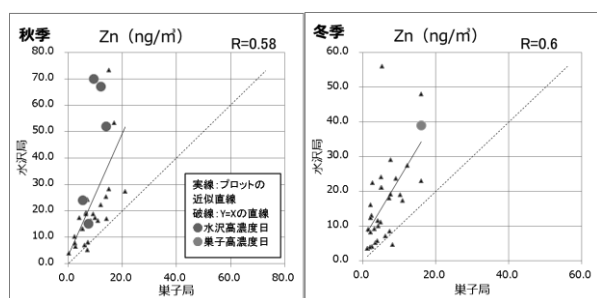


図3 Znの相関 (秋季・冬季)

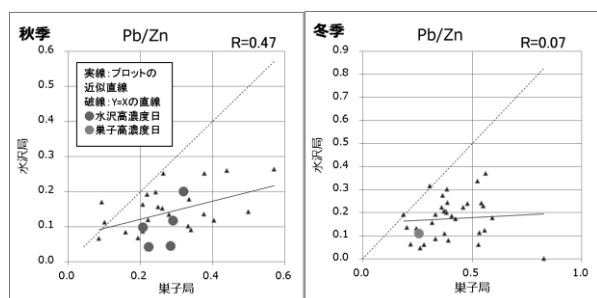


図4 Pb/Zn比の相関 (秋季・冬季)

(4) トラジェクトリ解析

各季節のバックトラジェクトリは、春季は大陸沿岸部付近、夏季は太平洋上、秋季及び冬季は大陸内陸部を起源とする日が多く、両地点のバックトラジェクトリの方向は概ね一致する日が多かった。

4 考察

(1) PM_{2.5}質量濃度変動の要因

PM_{2.5}質量濃度や各主要成分の両地点の相関が強く、濃度も同値に近い日が多いことから、両地点のPM_{2.5}濃度変動の主要因は広域汚染であり、両地点は広域汚染の影響を同等程度受けていると考えられた。一方で、水沢高濃度日においては、イオン成分が高濃度になるが炭素成分は巣子局と同程度であり、広域汚染とは別の汚染等が示唆された。

(2) 無機元素成分の起源

PbやAsは両地点の相関が強く濃度も同値に近い日が多いことから、広域汚染起源と考えられた。

秋季及び冬季の巣子局において、Pb/Zn比が大陸起源と推定される値を含み、バックトラジェクトリも大陸の内陸部を起源としていたことから、巣子局のZnは大陸起源の長距離輸送によるものと考えられた。長距離輸送による汚染は多くの場合広域汚染となるため、大陸起源の長距離輸送によるZnは水沢局にも巣子局と同程度到達していると考えられ、すなわち水沢局と巣子局のZn濃度差の要因は、水沢局におけるローカルな汚染起源と考えられた。また、工業プロセス等から大気中に無機元素成分が放出される場合、複数の元素が同時に放出されることが予想されることから、Na、Ca、V、Cr、Ni、SbについてもZnと同様のローカルな汚染があることが示唆された。

5 まとめ

主要成分 (SO₄²⁻、NH₄⁺、NO₃⁻、OC、EC) やPb等を含む広域汚染は、巣子局と水沢局の両方に到達し同等程度の影響を与えており、両地点のPM_{2.5}濃度変動の主要因となっていると考えられた。

水沢局においては、Zn等の無機元素成分のローカルな汚染が示唆された。

1) 日置正, 紀本岳志, 長谷川就一, 向井人史, 大原利真, 若松伸司: 大気環境学会誌 Vol. 44, No. 2, pp. 91-101, 2009.

高圧処理を用いた殻付きカキにおけるノロウイルス不活化の検討

○高橋知子¹, 山下裕紀¹, 小泉英誉¹, 藤森亜紀子¹, 岩渕香織¹, 加賀克昌³,
高橋雅輝¹, 佐藤卓¹, 梶田弘子²

¹岩手県環境保健研究センター, ²岩手県食肉衛生検査所, ³岩手県水産技術センター
第41回日本食品微生物学会学術総会(令和元年11月28日~29日)

【背景と目的】我々は、カキにおけるヒトノロウイルス(以下、「NoV」)リスク低減化の一手法として、“高圧処理”¹⁾²⁾によるNoVの不活化効果を検討してきた。これまでの中腸腺、むき身における実験に加え、今回、NoV汚染させた殻付きカキに対する高圧処理の効果を調査したので報告する。

【方法】高圧処理装置は、①石川島播磨重工業(株)製「食品加工用特別機」(以下、①機)、②神戸製鋼(株)製「Food Fresher」(以下、②機)を使用した。(1)試料の作成:NoV感染者の糞便乳剤(① 2.26×10^6 コピー/mlを5ml、② 1.03×10^8 コピー/mlを10ml)を添加した海水25Lを入れた容器で生カキ5~6個を蓄養(72時間、水温15°C、給餌(1回/日))した。この殻付きカキを、1個ずつビニール袋に入れシールした。(2)高圧処理:圧力400MPa、保持時間10分、温度約4°Cの条件で実験を行った。(3)NoVコピー数測定:高圧処理後に中腸腺を切り出し、 α -アミラーゼ溶液でグリコーゲン消化を行った後、PEG沈澱法で濃縮、感染性推定遺伝子検査法³⁾でRNA抽出、逆転写反応後、得られたcDNAをリアルタイム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。(5)高圧処理効果の検証:②機での高圧処理後、リアルタイムPCR法でNoVコピー数が検出限界以下となった5検体について、1st PCRで増幅(n=4)後、10

倍希釈したものをリアルタイムPCR法で測定し、ノロウイルスの不活化効果を検証した。

【結果】①機では、未加圧の汚染カキのNoV濃度は 4.1×10^3 コピー数/中腸腺1gで、加圧後、いずれも検出下限値以下となった。この検体(5検体)について、1st PCRで増幅(n=4)後、リアルタイムPCR法で測定したところ、ノロウイルスは検出されなかった。②機では、同濃度は 1.6×10^4 コピー数/中腸腺1gで、加圧後は約2Log減少した。

【考察】高圧処理によりノロウイルスは減少し、高圧処理(400MPa, 10分間)が、殻付きの場合でも、むき身と同様にノロウイルス不活化に有効であることが示唆された。高圧処理はNoVのリスクをゼロにすることは困難であるが、不活化に有効でリスクを低減化できる処理法と考えられた。また、高圧処理前のNoV汚染を低濃度に抑えることが高圧処理によるNoVリスクの低減化をより有効なものにすると考えられた。

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)

岩手県内の河川水における有機性汚濁の傾向について

○久根崎菜穂子, 高橋幸子, 菅原隆志, 佐藤徳行

令和元年度衛生・環境業務研究発表会 (令和2年1月30日 盛岡市)

1 はじめに

水環境の有機汚濁の評価は、生物化学的酸素要求量(以下「BOD」という。)及び化学的酸素要求量(以下「COD」という。)を用いるが、これらの指標は、酸化反応による酸素の消費量から間接的に有機汚濁量を評価する方法であり、有機物の酸化率にばらつきがあり、さらに BOD は植種液の種類によっても測定値が異なる等、様々な短所が指摘されている。

一方、全有機炭素の量(以下「TOC」という。)は、平成15年に有機物等の指標として水道水の水質基準に採用され、有機汚濁物質の構成成分である炭素量を直接測定するため、COD及びBODよりも有機物量を正確に表すことができると言われている。

今般、河川水の TOC 測定を実施し、BOD 及び COD と比較検討した結果、若干の知見を得たので報告する。

2 調査方法

(1) 調査期間及び調査範囲

平成31年4月～令和元年12月までに実施した岩手県の平成31年度公共用水域常時監視計画にある地点の河川水(岩手県測定担当地点)のうち懸濁成分が多い検体を除外した延641検体。

(2) 測定方法

JIS 0102 に規定される方法に従い、TOC についてはオートサンプラー付 TOC-L (島津製作所製) を使用し測定した。

なお、COD 及び BOD については、常時監視において測定対象となっている地点の測定結果を利用した。

3 調査結果及び考察

(1) 県内の TOC の状況

TOC の状況を図1及び図2に示した。これによると AA 類型河川水は概ね 2.0(mg/L)未滿、C 類型河川水は 1.5(mg/L)以上の結果であった。

一方、AA 類型河川水及び A 類型河川水では 0.5～1.0(mg/L)範囲に、C 類型河川水では 1.5～2.0(mg/L)範囲及び 3.0～3.5(mg/L)範囲に最大頻度を示し、測定検体の約 40%が 0.5～1.0(mg/L)範囲であった。

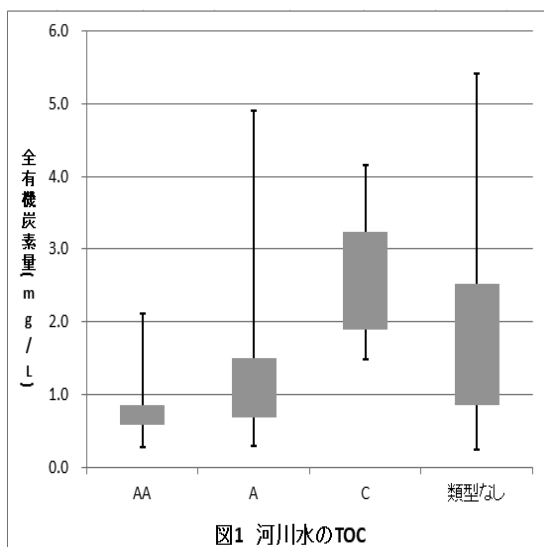


図1 河川水のTOC

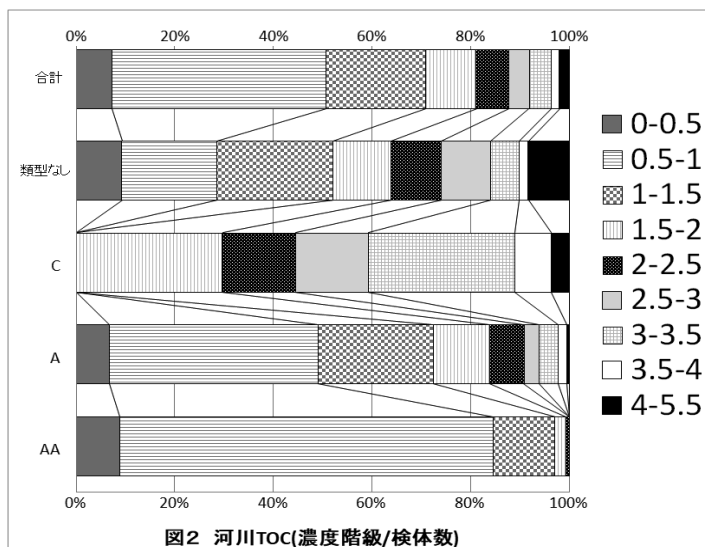


図2 河川TOC(濃度階級/検体数)

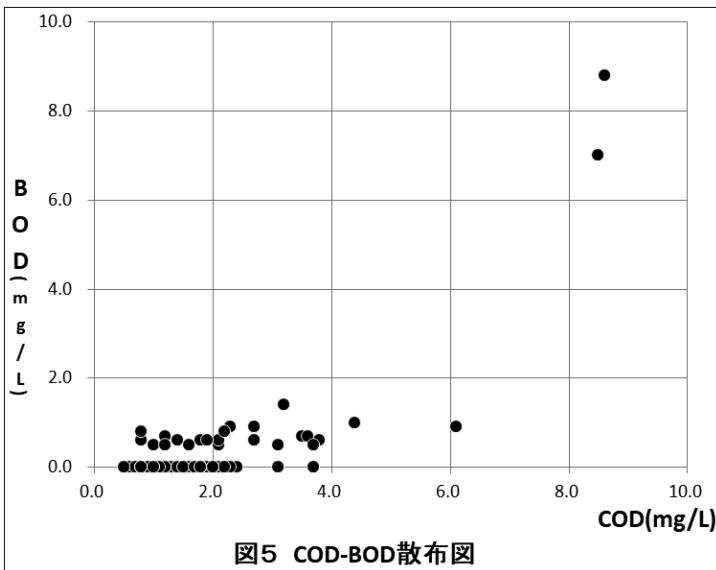
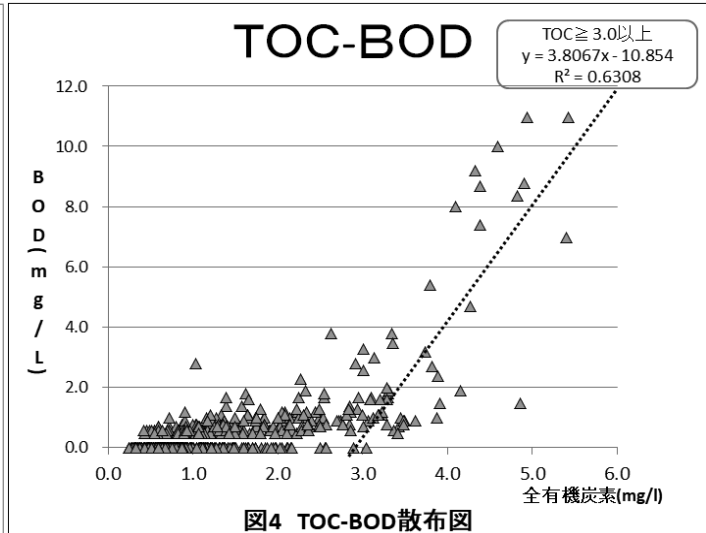
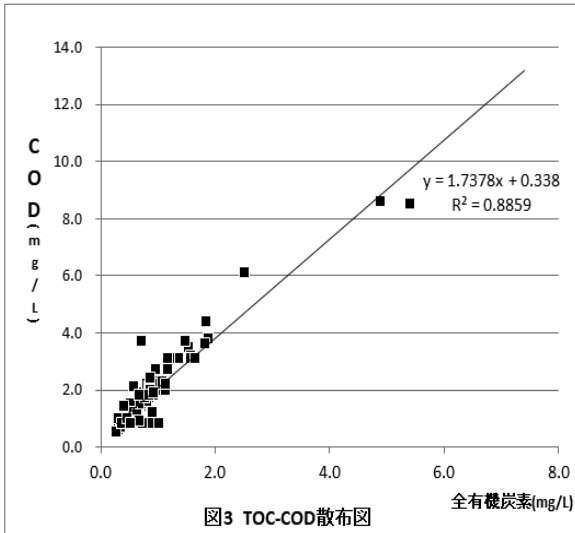
(2) TOC と酸素消費量との関係について

常時監視において BOD または COD が測定対象項目となっている地点の河川水について、TOC との関係を図 3 及び図 4 に示した。これより、TOC は COD との間に直線性関係 ($R^2=0.886$)が見られた、

一方 BOD との間では、BOD が定量下限値未満の検体の 99% で TOC が定量下限値以上の値を示し、TOC が 3.0 を超えたあたりから直線性関係がみられる。

また、同一地点において BOD 及び COD の両方の項目を測定している 106 検体の結果について、COD に対する BOD の関係を図 6 に示した。TOC-BOD の関係と同様に、BOD が定量下限値未満の検体の大部分(76%)で COD が定量下限値以上の値であった。

これにより河川水には、好気性微生物が分解困難な有機物質の存在が推測された。



4 まとめ

本調査から、TOC は COD とは比較的良好な相関があるが、BOD との比較では BOD が定量下限値未満の検体の 99% で TOC が定量されるといった結果が得られた。

これにより、河川水には好気性微生物によって分解困難な有機汚濁物質があることが推測できた。

TOC は、緊急時に多数の検体を処理しなければならない場合には、COD の代用として利用できる可能性があると考えられる。

特定健診・特定保健指導従事者研修会への取組

○笹島尚子, 菊池圭, 並岡亜希子, 高橋知子

令和元年度第32回岩手県保健福祉環境行政セミナー(令和2年2月7日 盛岡市)

I はじめに

当センターでは、平成19年度から特定健診・特定保健指導事業の円滑な推進を目的に「特定健診・特定保健指導従事者研修」を開催し、実務者の育成を図ってきた。

これまでの研修の取組概要の紹介と受講者アンケートから今後の課題について報告する。

II 研修の取組概要

研修の取組概要は表1のとおり。

研修区分 年度	全研修		実務者育成研修(一定の研修)				スキルアップ研修等※				
	回数/延人数	回数/人数	回数/人数	回数/人数	回数/人数	回数/人数	回数/人数				
H19-R1	114	5,634	19	1,193	19	968	14	820	62	2,653	
準備期	H19	22	1,209	9	537	9	404	4	268		
第1期	H20	18	600	2	81	2	77	2	116	12	326
	H21	17	590	1	64	1	58	1	46	14	422
	H22	8	480	1	65	1	47	1	22	5	346
	H23	東日本大震災対応のため開催なし									
第2期	H24	9	508	1	88	1	72	1	77	6	271
	H25	7	427	1	66	1	54	1	47	4	260
	H26	7	356	1	56	1	51	1	57	4	192
	H27	3	219							3	219
	H28	6	452	1	85	1	74	1	69	3	224
	H29	4	213							4	213
第3期	H30	5	330	1	90	1	75	1	68	2	97
現在	R1	5	250	1	61	1	56	1	50	2	83

【受講者所属】一定の研修:市町村 74.5%、健保等 18.7%、保健所 6.8%

【受講者職種】全研修:保健師 68.7%、管理栄養士 15.7%、事務職 7.1%

【研修内容】

- 基礎編:講義を中心とした知識・情報の提供、実技等
- 技術編:講義、演習(ロールプレイ、グループワーク等)
- 計画評価編:講義、演習(データ分析、地区診断等)
- スキルアップ研修等:講義、演習(コミュニケーション技術、事例紹介、受診勧奨資料作成等)、情報交換の機会を提供 ※地域別開催含む

【講師】大学等外部講師(延89名)、県、保健所、当センター職員

【研修評価】受講者の理解度、研修企画の評価を目的にアンケートを実施「できる」から「できない」の4件法、自由記載

III 研修受講者アンケート

【方法】

「一定の研修」アンケート(H30、R1)の設問22項目について「講義の理解」「事業への反映」を分析。また「一定の研修」及び「スキルアップ研修」アンケート(H28-R1)の自由記載はKH Coderを利用し、頻出語を抽出。受講者の関心項目の共起関係を確認した。

【結果】

「一定の研修」アンケート回収数は延383件。受講者所属は市町村が70.2%、職種は保健師66.6%、管理栄養士18.0%、事務職7.0%で、保健衛生業務経験年数(以下経験年数)

は3年未満64.5%、3~10年未満13.3%、10~20年未満12.3%、20年以上5.0%だった。

設問全項目で9割以上が「理解(反映)できる、まあ理解(反映)できる」と回答。「できる」に着目し分析した結果、「理解」に比べ「反映」の割合が低く、特に「組織間連携」「行動変容・アセスメント」「アウトソーシング」「PDCAに沿った事業運営」「計画評価」では15%以上の差があった。(図1)「理解」について経験年数別に着目すると、3年未満群では、3年以上群に比較し、「基礎編」「計画評価編」で「できる」の割合が低かった。

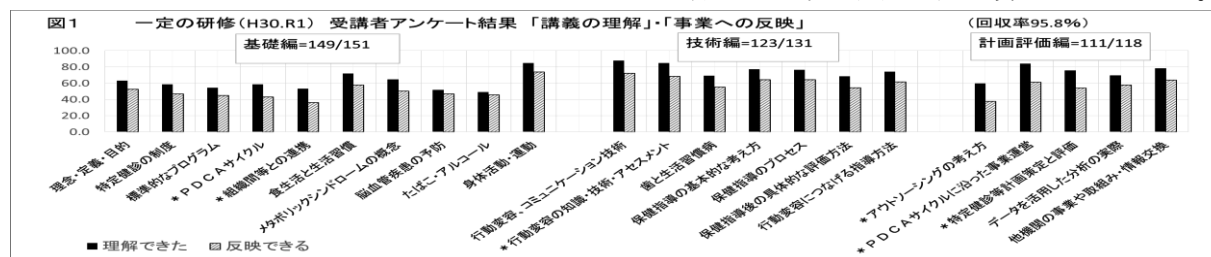
自由記載(602件)から頻出語を経験年数別に分析すると、3年未満・20年以上群では「講義」「内容」「ロールプレイ」「特定保健指導」等、自身の学びに関する語彙が、3~10年未満・10~20年未満群では「対象者」「実践」「コーチング」「活かす」「振り返る」等、事業の推進を意識した語彙を確認。

IV 課題

- ・業務経験の違いや特定健診・特定保健指導事業開始から10年以上が経過したことによる、実務者の潜在する知識や指導力に差が生じており、研修に期待するニーズや関心項目、職責により求められる能力も異なっている。受講者層を考慮し、段階を踏んだ研修内容の企画が必要である。
- ・受講者アンケートから「理解」と「反映」の差が大きかった項目があり、担当業務等の違いで実践の機会が少ないことが関連すると推察。知識、技術の「理解」に留まらず、「事業への反映」に繋がるような研修プログラムとしていくことも必要である。

V 結語

国では平成30年度(第三期)から業務経験年数や職種別等、受講者背景を考慮した研修プログラム例を提示している。それらを踏まえ、今回の受講者アンケートから見えてきた課題も参考に研修企画に努めていきたい。



東北地方における細菌性赤痢の広域散発疑い事例について

○岩渕香織, 山下裕紀, 小泉英誉, 藤森亜紀子, 高橋雅輝, 高橋知子
令和元年度第32回岩手県保健福祉環境行政セミナー (令和2年2月7日 盛岡市)

I はじめに

昨年11月中部保健所から細菌性赤痢の報告が1例あった。患者は、海外渡航歴なし、県外への旅行もなく県内での感染が疑われた。その後、時期を同じくして東北地方で感染経路・感染原因が不明の細菌性赤痢の国内感染散発事例の報告が続発したことから、赤痢菌の遺伝子情報からみた関連性について報告する。

II 細菌性赤痢とは

細菌性赤痢は、感染症法に基づき3類感染症として全数報告されている。

- 発生状況：旧盛岡保健所管内の保育所で集団感染事例が発生した1995年以降減少し、過去10年間では、2009年に3例、2014年に3例、2017年に2例、2019年の1例の報告であった (図)。
- 感染経路：感染経路は経口感染で、少量の菌でも感染することから、食品等を介しての感染と人から人への感染がある。
- 推定感染地域：国内が38%で、国外が62% (東南アジア、南アジアが44%) と、輸入感染症が多い (2014-2018年全国)。

III 岩手県内の事例

患者は40歳の女性で、10月29日に発症、11月4日に *Shigella sonnei* が分離された。患者の子どもにも症状があったが投薬されていたこともあり、接触者検便では、陰性であった。その他、保健所で疫学調査を実施したが、喫食調査から推定される原因食品なく、感染源及び感染経路は不明である。

平成20年10月9日付通知「赤痢菌の菌株の送付について」に基づき、広域散発食中毒の早期探知のため、菌株を国立感染症研究所に送付し、遺伝子型別 (MLVA型別) を実施した。その結果、2018年10月に発生した山梨県の宿坊における食中毒

事例の菌株と一致し、さらに2019年11月に青森県で散発例から分離された菌株とも一致したのである。

IV 東北地方の事例

同時期に、岩手県、青森県の他に、宮城県、山形県、福島県の計5県で、散発例が発生しており、それらの株を感染研で解析した結果、MLVA型はほとんど一致した。この型はこれまで感染研で実施したMLVA型に一致するものはなく、疫学的な関連がなければMLVA型は一致することはないという。しかし、これらの散発例に疫学情報に共通するものがないことから「関連性が疑われる」との感染研の見解であった。

V 終わりに

細菌性赤痢の国内での散発例は疫学的関連の不明なことが多い。海産物の喫食やチェーン店が原因と推定された感染例もみられるが、感染原因不明例が大半を占めている。

宿坊の食中毒でも原因食品は不明で、今回の東北地方の散発事例についても原因が不明であった。さらなる食中毒、感染事例が発生しないことを願う。

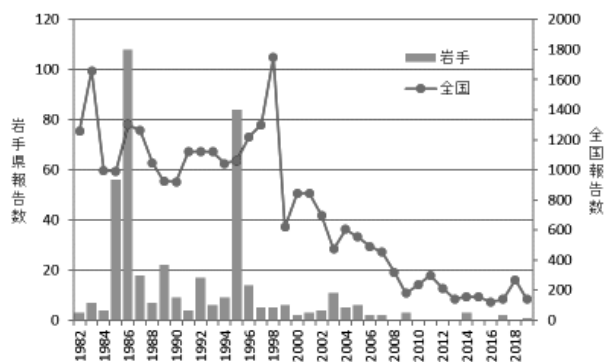


図 年別細菌性赤痢発生状況

腸管出血性大腸菌 O157VT2 による食中毒疑い事例について

○岩渕香織，山下裕紀，小泉英誉，藤森亜紀子，高橋雅輝，高橋知子
令和元年度食の安全安心担当業務研究発表会（令和2年2月13日 盛岡市）

はじめに

2019年11月から12月にかけて発生した、某焼肉チェーン店に関連する広域食中毒疑い事例は、第2回関東信越広域連携協議会において、食中毒判断は困難との結論に至った。岩手県内には当該焼肉チェーン店は盛岡市に1店舗、奥州市に1店舗あり、当該焼肉チェーン店を利用して、腸管出血性大腸菌感染症を発症した患者は、各店舗それぞれ1名あり、計2名から届出があった。腸管出血性大腸菌O157,O26,O111の遺伝子検査手法については、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、反復配列多型解析法（Multiple-Locus Variable-number tandem repeat Analysis 以下「MLVA」という。）による検査を実施することとなっている。当センターは昨年度からMLVAを実施しており、2名の患者から分離された菌株を収集し、国立感染症研究所に送ると同時に当センターでも解析を行った。その結果、2株は、同じMLVA型ではなかったが、いずれも全国で検出されていたMLVAcomplex19c058に分類された。全国でも60株が同じcomplex typeとなっている（2019年12月26日現在）。

この事例で解析されたMLVAの結果について報告するものである。

事件の概要（全国^{1) 2)}）

2019年11月18日、国立感染症研究所より、11月11日以降、全国的に腸管出血性大腸菌O157VT2の感染症の届出が増加しているとの報告があり、各都道府県で調査が開始された。その結果、12月24日時点で、60人の患者発生があり、29都道府県の42名が当該焼肉チェーン店を利用していることが判明した。

また、11月27日、患者利用店舗の共通食材である、牛シマチョウが一部の店舗で保管されていることが判明し、管轄の自治体に腸管出血性大腸菌O157VT2の検査実施が厚生労働省から依頼された。新潟小新店及び府中店に保管されていたシマチョウから腸管出血性大腸菌O157VT2が検出され、MLVA型は、新潟小新店19m0488、府中店19m0487・19m0549であった。さらに郡山市保健所で別ロットのシマチョウから19m0478が分離されている。

11月26日から特定ロットのシマチョウの提供を中止していたが、12月5日以降は、別ロットにより患者が発生したことから、すべてのシマチョウの提供を中止した。

事件の概要（岩手県）

1例目（A）は11月19日県央保健所（盛岡市保健所に回付）に、2例目（B）は11月22日に奥州保健所に届出があり、2例とも当該焼肉チェーン店を利用していた。なお、A、Bとも家族と当該店舗で食事をしてしたが、両家族に症状はなく便検査も陰性であった。ま

た、患者が喫食したシマチョウと同一ロット品は、2店舗とも保管されておらず、食品の検査は実施していない。

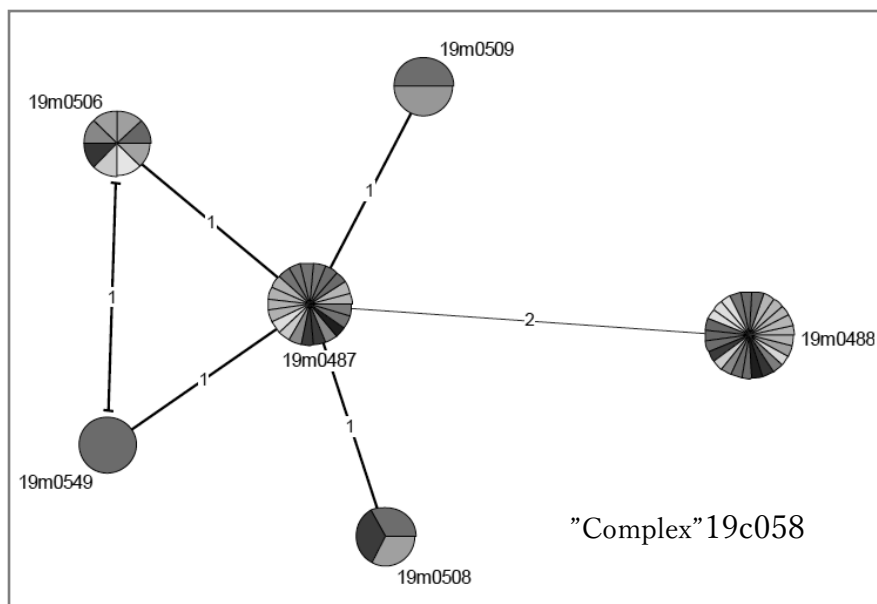
MLVA の結果

MLVA とは、同じ由来かどうかを比較する場合に利用される分子疫学解析法の一つで、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）を求め、17 領域のリピート数が一致するかどうかで異同の判別をする。1 領域のコピー数が異なるものを single locus variant (SLV)、2 領域コピー数が異なるものを Doble locus variant(DLV)と言い、MLVA では、SLV などの関連性が推測される型”Complex”としてまとめる様式をとっている。さらに、3 タイプ以上からなる”Complex”の場合には Minimum Spanning Tree (MST) というグラフにより関連性を表わしている。

通常、集団事例関連株の Minimum Spanning Tree の特徴は、主要な型の周囲にマイナーな型があり、マイナーな型のほとんどは SLV となっている。当該事例の”Complex” 19c058 は、2 つ領域の違う DLV が含まれていることから、関連性を確認するため、全ゲノム配列を用いた解析（SNP 解析）を実施した。結果はすべて同一クローンで、食品由来株も含まれており、食中毒事例と推定された。

終わりに

12 月 25 日、関東信越広域連携協議会が開催され、今回、本事案は食中毒事例にはならなかったが、国立感染症研究所のゲノム解析結果からも分子疫学的には広域食中毒事例と考えられる。今後事例の集積を重ね、広域発生拡大を防止、流通する食品等の早期探知に役立つことを願う。



※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。

参考文献

- 1) 第 2 回関東信越広域連携協議会資料
- 2) NESFD MLVA リスト
- 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

レバーを含む食品の細菌検査で生じる遺伝子増幅阻害を軽減する手法の開発

○山中 拓哉, 太田 美香子, 佐藤 徳行
令和元年度食の安全安心担当業務研究発表会 (令和2年2月13日 盛岡市)

1. はじめに

当センターでは食品における腸管出血性大腸菌の検査については厚労省通知「腸管出血性大腸菌O26、O103、O111、O121、O145及びO157の検査法について(平成26年11月20日食安監発1120第1号)」に記載された、Loop-mediated isothermal amplification (以下LAMP)法による、増菌培養液から抽出したDNA溶液からのベロ毒素遺伝子の検出試験により実施している。

遺伝子検査は迅速性、簡便性、検出感度の点で優れているが、食品検体には非常に多様な成分が含まれることから、遺伝子抽出液中の成分により遺伝子増幅反応が阻害を受ける可能性を考慮する必要がある。このため本検査においては、ベロ毒素遺伝子の検出試験を実施する際に、外因性コントロールによる増幅試験を行っている。外因性コントロールは増菌培養液の遺伝子抽出時に全検体に添加される既知のDNA断片であり、LAMP法による遺伝子増幅が陰性の場合には検体由来物質による反応阻害が生じていると判断され、検査自体が不成立となる。

平成29年度に当センターで実施したレバー加工食品の検査においては、外因性コントロールの増幅が陰性となり検査が不成立となるという事例が発生している。レバー類の検査においてLAMP法による遺伝子増幅反応が阻害を受ける件については一般的に生じている問題とされ、試薬に添付された文書にも明記されている。これらを踏まえ、発表者らはレバーを含む市販食品における外因性コントロールの増幅阻害の有無ならびに阻害の軽減法について検討したのでこれを報告する。

2. レバーを含む市販食品における遺伝子増幅阻害について

市販の生レバーおよびレバー加工食品を対象として、外因性コントロールの遺伝子増幅阻害の発生の有無についての調査を行った。

(1) 材料および試薬

- 盛岡市内のスーパー2店舗より入手した生レバー(鶏、豚)およびレバー加工食品を検体とした。生レバーを電子レンジで加熱したものも併せて検体とした(計10検体、図1, 2)。
- LAMP法による遺伝子増幅には腸管出血性大腸菌検出試薬キット(外因性コントロール入り、栄研化学)を使用した。

(2) 方法

- 増菌: 検体25gをストマッカー袋に入れ、ノボビオシン加mEC培地225mlを加えてストマック1分後、35℃で20時間培養し、増菌培養液を遺伝子抽出に使用した。
- 遺伝子抽出: キット添付のプロトコールに従い、アルカリ熱抽出法により抽出した。外因性コントロールは抽出中に添加されるため全検体に含まれる。
- LAMP反応: キット添付のプロトコールに従い増幅反応を65℃、1時間行った。本キットでは遺伝子が増幅すると反応液の濁度が上昇し、吸光度の上昇として捉えられる。反応、測定および判定はリアルタイム濁度測定装置 LoopampEXIA®(栄研化学)により行った。

(3) 結果

結果を図1に示した。外因性コントロールは全検体に含まれるが、これが増幅し陽性と判定されたの

は 10 検体中 3 検体（検体 7、8、10）のみであり、他は陰性と判定された。以上より、今回解析を行った 10 検体中 7 検体において LAMP 反応の阻害が起こっていることが示唆された。今回の解析では、阻害の有無について鶏肉／豚肉および生肉／加熱品／加工品といった検体種別による明確な差は認められなかった。

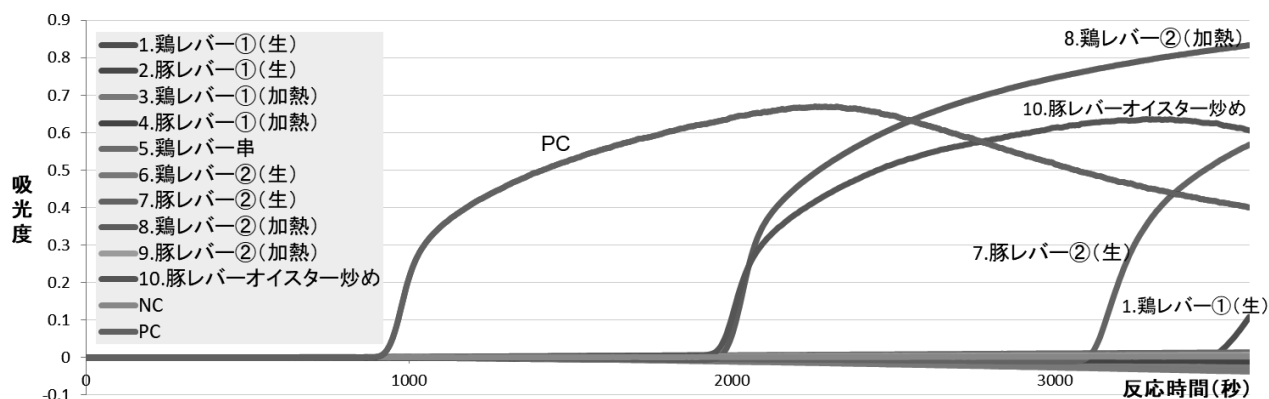


図1 LAMP 反応による外因性コントロールの増幅（通常条件）

3. 鉄イオンの添加による遺伝子増幅阻害の軽減

レバーを含む食品検体における LAMP 反応阻害について、これを回避する方法として栄研化学株式会社が特許「核酸増幅反応における阻害を回避する方法（特開 2008-72904）」を公開している。この特許は LAMP 反応液に鉄イオンを添加することで、遺伝子増幅阻害を回避できるというものである。これに倣い、増幅阻害が起こった抽出液に塩化第二鉄 (FeCl_3) を添加し、阻害の軽減が見られるかを検証した。

(1)材料および試薬：前項 2（1）と同じ

(2)方法：前項 2（2）と同じだが、反応液に FeCl_3 溶液を最終濃度が 0.4mM 上昇するように添加した。

(3)結果

結果を図 2 に示した。外因性コントロールによる増幅試験は 10 検体全て陽性と判定された。通常条件下で陽性となった 3 検体についても FeCl_3 添加により増幅が早くなったことから、通常条件下で生じた阻害が FeCl_3 添加により軽減していることが示唆された。以上より、今回解析を行った食品 10 検体全てにおいて FeCl_3 添加による増幅阻害軽減効果が見られるという結果になった。

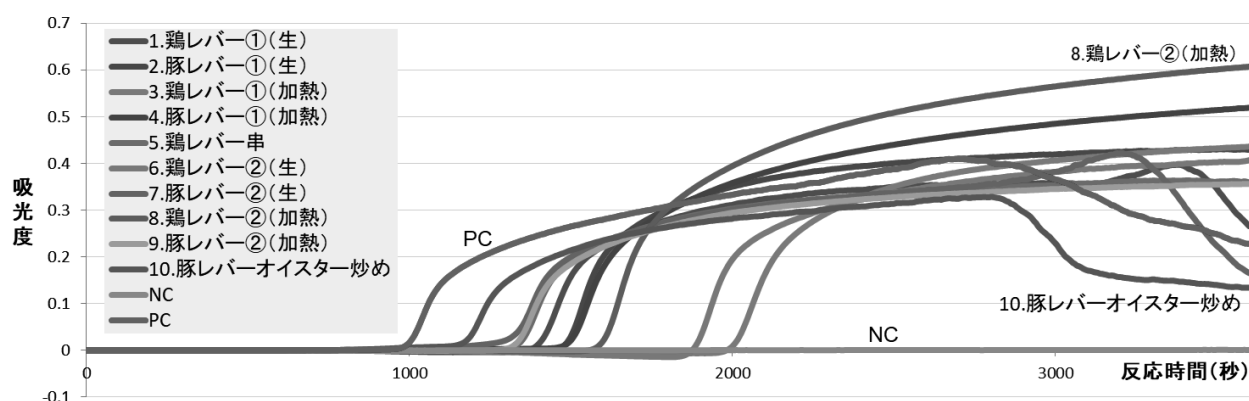


図2 LAMP 反応による外因性コントロールの増幅（0.4mM FeCl_3 添加）

4. まとめ

解析を行ったレバーを含む 10 件の食品検体全てにおいて、①LAMP 法における遺伝子増幅阻害および②0.4mM FeCl_3 添加による阻害の軽減が認められた。この結果より、今回の反応条件を実際の食品検査においても適用できると考えられる。

チョウセンアサガオによる食中毒の分析事例について

○宮手公輔, 沼野聡, 関村照吉, 川村あさひ, 中南真理子, 五日市恵里

令和元年度食の安全安心担当業務研究発表会 (令和2年2月13日 盛岡市)

はじめに

チョウセンアサガオはナス科チョウセンアサガオ属の一年草で日本全国に分布するとともに、園芸用として栽培されているが、根はごぼうと、蕾はオクラやシトウと誤認され食中毒の原因となることが多い¹⁾。当該植物を原因とする食中毒は、平成12年から平成30年までの19年間に全国で32件(患者93名)、本県でも2件(患者4名)発生している²⁾。

令和元年10月18日、宮古保健所から、チョウセンアサガオの誤食による食中毒が疑われる事案に係る喫食残品のアトロピン及びスコポラミン試験依頼があった。試料を細切後メタノールで抽出し、高速液体クロマトグラフ-飛行時間型質量分析計(LC-TOF/MS)及び高速液体クロマトグラフ-トリプル四重極型質量分析計(LC-MS/MS)を用いて分析した結果、鍋の残品及び残存植物片のいずれからもアトロピン及びスコポラミンを検出したのでその概要を報告する。

分析方法

1. 試薬および器具

アトロピン硫酸塩一水和物はナカライテスク製(特級)、スコポラミン臭化水素酸塩三水和物は東京化成工業製、メタノールは関東化学製(LC/MS用)を使用した。アトロピン硫酸塩一水和物 24.0mg、スコポラミン臭化水素酸塩三水和物 25.3mgを秤量し、それぞれメタノールに溶解して20mLに定容したものを標準原液とした。各標準原液100μLを量りとり、混合してメタノールで10mLに定容したものを混合標準原液とした。混合標準原液をメタノールで希釈し、それぞれ5~100ng/mLとしたものを混合標準液とした。また、各標準原液50μLを量りとり、メタノールを加えて2mLとしたものを混合添加用標準液とした。

抽出液の濾過には、Captiva ND Lipids (Agilent製)を用いた。

2. 検体

鍋の内容物(食品残品)

植物根5本(食中毒発生家庭の台所に置かれていたもの)

3. 抽出方法

試料(5g~10g)を50mL PP試験管に採りメタノール20mLを加え、1分間ホモジナイズ(11,000rpm)した後、遠心分離(3,500rpm,4°C,5min)し、上澄を50mLメスフラスコに分取した。残渣にメタノール20mLを加えて抽出操作を繰り返し、上澄を50mLメスフラスコに合わせ入れてメタノールで50mLに定容した。3mLをCaptiva ND Lipidsに採り、遠心ろ過(3,000rpm,4°C,3min)したものを試料溶液とした。

なお、試料溶液は適宜希釈し機器分析を行った。

4. LC-TOF/MS、LC-MS/MS測定条件

機器測定条件をTable 1に示す。

添加回収試験及び定量試験の試料中の濃度は、絶対検量線法で求めた。混合標準液5~100ng/mLの濃度で作成した検量線の r^2 値は、アトロピン0.999、スコポラミン0.999であり良好な直線性が得られた。

分析結果

1. LC-TOF/MSによる定性試験

鍋の内容物は、具(多少の汁を含む)と汁に分け、具はミキサーを用いて粉碎したものを、汁はそのまま試料とした(鍋の内容物として2検体)。

植物根として搬入された検体は5本であったが、そのうち1本は根ではなく木の枝であったため、枝を除いた根4本についてそれぞれ粉碎し試料とした(根として4検体)。

試料を前処理ののち、TOF MS(精密質量)分析及びMRM HR分析し、アトロピン及びスコポラミンの定性を行った。定性試験の比較試薬にはメタノール溶液として冷凍保管しているアトロピン及びスコポラミンの定性用溶液を使用した。なお、LC-TOF/MSによる定性試験におい

Table 1. LC-TOF/MS、LC-MS/MS測定条件

		LC-TOF/MS	LC-MS/MS
機器		AB Sciex 社製 EXionLC AD	Agilent 社製 HP1100
LC	移動相	A液…10mM ギ酸アンモニウム、B液…メタノール	
	グラジエント	0~2min(95:5) → 3min(70:30) → 20min(5:95) → 30~40min(0:100) → 40.1~50min(95:5)	
	流速	0.200mL/min	
	カラム	Imtakt Scherzo SM-C18 (2.0mm×150mm,3μm)	
	カラム温度	40°C	
	注入量	5μL	
質量分析計	機器	AB Sciex 社製 X500R	AB Sciex 社製 API4000
	イオン化方式	ESI(+)	ESI(+)
	Ionspray voltage	5500V	5500V
	Ion source temp	350°C	300°C
	m/z	【TOF MS】 アトロピン 290.175* スコポラミン 304.154* 【MRM HR】 アトロピン 290.1 > 124.110* スコポラミン 304.1 > 138.090*	【MRM】 アトロピン 290.1 > 124.0 スコポラミン 304.0 > 138.0

* width 0.02 Da (±0.010Da)

て検出された場合には、改めて標準品を購入し、標準液を調製して、後日定量することとした。

鍋の内容物（具）及び根の TOF MS クロマトグラムを Fig. 1 に、鍋の内容物（具）、根の検体 1 及び 50ng/mL 混合標準液 MRM HR のクロマトグラムを Fig. 2 に示す。

TOF MS 及び MRM HR の分析結果から、検出した成分がアトロピン及びスコポラミンであると特定した。

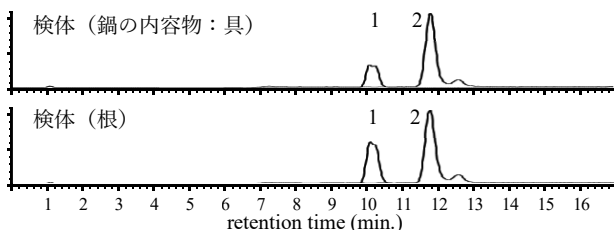


Fig. 1. TOF MS chromatograms (1:scopolamine, 2:atropine)

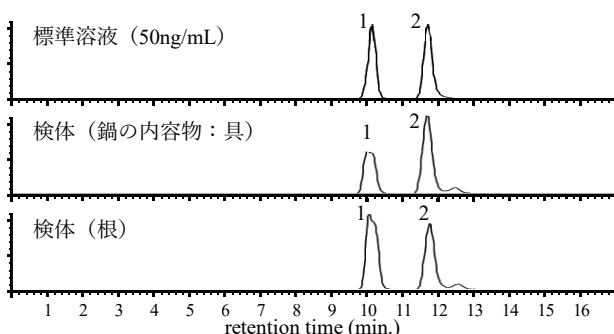


Fig. 2. MRM HR chromatograms (1:scopolamine, 2:atropine)

2. 添加回収試験

添加回収試験用の食材として、ごぼう（市販）及びインスタントとん汁 ごぼう入り（市販）を使用した。

ごぼう及びインスタントとん汁（包装表示量の熱湯を加えたもの）をそれぞれミキサー細切し試料とした。ごぼうは 5g、インスタントとん汁は 10g を分取したものに混合添加用標準液を 100 μ L 加えて 30min 放置したものを標準添加試料とした。（ $n=5$ ・機器測定値として 50ng/mL 設定）

標準添加試料を抽出方法により処理し、LC-MS/MS を用いて定量した。

各試料の回収率及び変動係数を Table 2 に示す。

いずれの試料と成分でも回収率 70~120%、変動係数 10% 以下であり、良好な回収率が得られた。

3. LC-MS/MS による定量試験

検体は、LC-TOF/MS による定性試験と同様に調製し、LC-MS/MS を用いて定量した。検体中のアトロピン及びスコポラミンの定量結果を Table 3 に示す。

鍋の内容物の具と汁では、アトロピン及びスコポラミン濃度にほぼ差が無くアトロピン 35.0~38.5 μ g/g、スコポラミン 25.6~26.3 μ g/g を検出した。また、根からはアトロピン 354~489 μ g/g、スコポラミン 595~689 μ g/g を検出した。

考 察

今回の食中毒の原因と推測された鍋の内容物及び植物根からアトロピン及びスコポラミンを検出したことから、食中毒症状の原因はアトロピン及びスコポラミンであると推定された。

アトロピン及びスコポラミンの最低中毒量は、それぞれ 70 μ g/kg 及び 14 μ g/kg と言われており³⁾、体重 50kg の人であればアトロピン 3,500 μ g、スコポラミン 700 μ g の摂

取で中毒症状を発症する。本事例では、鍋の内容物からはアトロピン 35~38 μ g/g、スコポラミン 26 μ g/g を検出した。

患者は鍋としてお椀 1 杯（約 160g）程度は喫食していると考えられることから、少なくともアトロピン 5,600 μ g、スコポラミン 4,160 μ g 程度、アルカロイド摂取量として約 9.8mg を摂取したと推測される。公益社団法人日本中毒

Table 2. 添加回収試験結果（回収率%（CV%））

	atropine	scopolamine
ごぼう	86.3% (0.65%)	82.3% (2.2%)
とん汁	102.6% (5.2%)	87.9% (3.4%)

Table 3. 試料中アトロピン及びスコポラミン濃度（ μ g/g）

	atropine	scopolamine
具	38.5	26.3
汁	35.0	25.6
根 1	471	689
根 2	489	632
根 3	354	595
根 4	375	610

情報センターの資料⁴⁾によると、成人のアルカロイド摂取量と発現症状は、0.75mg で散瞳、1.25mg で紅潮、頻脈、頻呼吸、4.0mg で不穏、運動失調、4.75mg で口内乾燥、頻脈、9.0mg 以上で昏睡、痙攣、死亡とされている。本事例では、患者は喫食後に嘔吐したこともあり入院治療により快方に向かったものと考えられるが、命を落とす重大な事案となりかねない状況であったと推測する。

以前より当所では自然毒分析を LC-MS/MS を使用して行っているが、成分含有の有無を確定させるためには標準品との比較により各成分の保持時間や MS/MS 分析条件を設定し、各クロマトグラムやスペクトルの解析を行わなければならない。予算の都合上、市販されている標準品全てを購入できず、また自然毒の標準品は試薬メーカーでの販売そのものが無い物質もあることから、当所においてあらゆる標準品を購入・保管できない状況である。

そのような中、今回初めて LC-TOF/MS による定性試験を試みた。IDA 分析結果において得られた TOF MS（精密質量）データを用いてアトロピン及びスコポラミンそれぞれの $[M+H]^+$ により XIC を抽出したところ、アトロピンの m/z 290.175 \pm 0.010Da では保持時間 11.7 分に、スコポラミンの m/z 304.154 \pm 0.010Da では保持時間 10.1 分にピークを確認したため、各成分の含有の可能性を察知することができた。TOF MS 分析のように標準品が無くても化学物質の精密質量さえわかればその精密質量から中毒原因成分の含有可能性のデータを得られることは、事件事故対応において原因を推定する大きな材料となると考えられる。

今回の LC-TOF/MS を用いた精密質量分析ではアトロピン及びスコポラミンを妨害する夾雑成分が無くピークが検出できたため両成分の含有を推定することができたが、他の食品（調理品）、成分においても本手法が原因究明手法のひとつとして利用可能であるかについては今後の検討課題である。

参考文献

- 1) 厚生労働省 HP 自然毒のリスクプロファイル
- 2) 厚生労働省ホームページ食中毒事件一覧
- 3) 横浜市衛生研究所苦情事例集
- 4) 公益財団法人日本中毒情報センター 医師向け中毒情報概要 抗コリン作用植物

チョウセンキバナアツモリソウの自生地と栽培地の土壌分析

○小山田智彰，鞍懸重和

第20回自然環境復元学会研究発表会(令和2年2月14日 東京都)

1. 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14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¹⁾。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²⁾が急務になっている。

岩手県環境保健研究センターは、環境省東北地方環境事務所の依頼を受け、(1)自生地で採取した種子の発芽、培養、栽培に関する技術開発^{3,4)}、(2)自生地の状態の評価や生育域外保全のための必要な土壌分析、(3)本種の保全に必要な助言および現地指導、に取り組んできた。ここでは、土壌分析を中心に報告する。

2. 材料・方法

本種の保全計画に役立てるために土壌分析を行った。土壌分析は、採取位置と採取法が重要である。自生地の土壌採取位置は、環境省秋田自然保護官事務所の示した地点とした。採取は、本種根系の伸長範囲となる深度5cmを目安として、分析者が植物体に損傷を与えないように慎重に採取した。自生地が「上の群落(図1)」と「下の群落」に二分されていることから、各群落より3地点と周辺の土壌を採取した。栽培地の採取位置は、本種の根系を確認し、植物体に傷を付けないよう注意しながら根の付近にある土を採取した。

(1) 自生地の土壌採取

平成30年7月11日に自生地とその周辺から土壌10サンプルを採取した。その内訳は、サンプル1~3

が自生地・上の群落(開花あり)。サンプル4~6が自生地・下の群落(開花なし)。サンプル7が自生地入り口の柵内。サンプル8が崩壊地。サンプル9が自生地柵外の上斜面。サンプル10が森林地とした。

(2) 栽培地の土壌採取

平成30年10月2日に本種の栽培試験に取り組んでいる大学植物園を訪問して、栽培用土(以下、「用土」)を採取した。令和元年5月22日に盛岡市内の栽培試験地において、自生地由来の苗⁴⁾に使用している順化土と、良好な増殖が観察されている露地栽培試験地の用土を採取した。

(3) 分析方法

植物が利用できる部分を評価するため、アンモニア態窒素、硝酸態窒素、可給態リン酸、交換性カリウム、交換性カルシウム、交換性マグネシウム、可給態鉄、交換性マンガン、塩分、pH、ECの11項目を分析した。アンモニア態窒素、硝酸態窒素、可給態鉄、交換性マンガンはモルガンの抽出法で分析した。可給態リン酸はトルオーグ法で分析した。交換性カリウム、交換性カルシウム、交換性マグネシウムはショーレンベルガー法で分析した。pHとECは測定器(HANNA社:H198129)を使用して測定した。

3. 結果・考察

(1) 自生地の土壌分析

分析結果および土壌採取時に行った外見症状(要素欠乏障害)診断は、以下のとおりである(表1)。

①窒素:アンモニア態窒素は、水溶性のものと土壌コロイドに吸着された置換態のものが植物に吸収される。硝酸態窒素は、土壌コロイドには吸着しないため、雨水により流亡しやすい。土壌中の好適な濃度範囲は、アンモニア態窒素が5~15 mg/100 g、硝酸態窒素が5~10 mg/100 gとされているが、これと比較して含量は低かった。これは、

同属のアツモリソウも同様であったが、クマガイソウでは含量が高くなり、明らかに違った(表2, 図2, 3)。窒素は、蛋白および葉緑素の構成成分として植物が成長する上で重要な成分であり、要求量も多い。窒素が不足すると葉が緑色から黄色に変化し、成長量が落ち込む。一方で過剰になると茎葉部が徒長し、組織が軟弱になって病虫害の被害を受けやすくなるが、自生地では、病虫害の被害症状は観察されなかった。

- ②可給態リン酸：自生地のリン酸含量は、低い数値を示した。植物体内でリン酸が欠乏すると茎葉の伸びが悪くなり、開花数が減少する。リン酸は体内の若葉への移動が盛んで古葉から症状が出始め、葉の光沢が悪く暗農緑色になるが、自生地では、リン酸欠乏の症状は観察されなかった。
- ③交換性カリウム：自生地は、いずれも低い値で検出されているが適正範囲に含まれていた。カリが欠乏すると、葉の先端が黄色から褐色に変化して花茎の伸長が押さえられ、種子が形成されなくなる。欠乏は古葉からはじまり次第に植物全体に広がるが、自生地ではこのような症状は観察されなかった。
- ④交換性カルシウム：最も値が高かったのは、「上の群落」のサンプル1で160 mg/100 gとなり、サンプル2と3も高い数値を示した。「下の群落」のサンプル4, 5, 6は「上の群落」より劣った。アツモリソウの自生地(表2)は、平均383.4 mg/100 gと高い数値を示したが、ここは石灰質の土壤が堆積した山である。交換性カルシウムは植物体内の糖の移動に関係し、蛋白の合成に関係する。特に茎葉に多く含まれ、欠乏すると葉に症状が現れる。この時の症状は若葉が黄色化または白色になるが、自生地ではこのような症状は観察されなかった。
- ⑤交換性マグネシウム：低い値で検出されているが適正範囲に含まれていた。苦土はリン酸とともに植物体の成長部位となる成長点や子実に移動するため、欠乏すると葉に症状が出やすい。症状としては、葉脈部に緑色が残り、葉脈の間が黄色化して網目状に見えるが、自生地ではこのような症状は観察されなかった。
- ⑥可給態鉄：鉄は、ケイ酸やアルミナと並んで土壤の三大構成をなしており、土壤には比較的多く含

まれている。植物の成長に係る形態のものは一部に過ぎないことから、本分析では植物が吸収する微量要素として可給態鉄を分析した。一般的に好適な濃度は10ppm以上で、2ppm以下では欠乏状態と評価していることから、自生地は適正な範囲であった。鉄が欠乏すると症状は早い段階で診断できる。症状は、葉緑素の生成が不十分となり、葉脈間が黄色から白色に変化するが、自生地ではこのような症状は観察されなかった。

- ⑦交換性マンガン：一般的に好適な濃度は5ppm前後であることから、自生地は適正な範囲である。
- ⑧塩分：塩素過剰で問題になるのは海水の影響を受けやすい地域になるが、自生地は大きな影響を受けていないと判断した。
- ⑨pH：「上の群落」は平均5.77、「下の群落」は平均5.86となり、弱酸性土壤である。一方、自生地に隣接する「森林地」(オオバクロモジミズナラ群落)は4.22となり、強酸性土壤であった。また、アツモリソウの自生地は平均7.6で弱アルカリ性土壤、クマガイソウの自生地は平均4.7で強酸性土壤であった(表2, 図2, 3)。pHは土壤の化学性を特徴づける基本的な項目であり、pHの違いで土壤中の構成物質や養分の有効性が変わることから、自生地を比較する上で欠かせない指標材料である。
- ⑩EC：分析値は極めて小さかった。ECは、土壤中の水溶性塩類の総量を知る手掛かりとなり、硝酸態窒素との間に正の相関関係を示すことから、土壤分析の必須項目となっている。この分析結果を参考にして自生地や栽培地を診断することができる。

(2) 栽培地の土壤分析

分析結果は、以下のとおりである(表3)。

- ①大学植物園の用土は、アンモニア態窒素と硝酸態窒素の値が自生地より低かった。本種の出芽から開花結実期までに施肥を行うことで問題がないと考えられる。
- ②盛岡市内栽培試験地の用土は、自生地の分析結果に近かった。この栽培試験地は、他植物の除草を定期的に行っている点が自生地と異なる。

4. 結論

次のように整理して環境省に報告した。なお、本

種の自生地や栽培試験地の土壌分析に取り組んだ事例は皆無であるため、今後の保護増殖事業において重要な情報となる。

- ①各分析値を比較すると、「自生地」と「森林地」の土壌は明らかに異なった。これに「崩壊地」(裸地)を加えて区別すると、「自生地」は「崩壊地」と「森林地」の中間的な位置にあり、植生状況から「草原」と判断できる。つまり、自生地とその周辺は、「森林地」:「草原」:「崩壊地」の3タイプに区別できる。
- ②植物の生育に必要な三要素が乏しく、交換性カルシウムが高い傾向にあった。これは、アツモリソウ自生地の分析結果に似ている(表2)。交換性カルシウムは無機養分含量で植物間差が顕著に出るため、栽培学では「好石灰植物」と「嫌石灰植物(好酸性植物)」と区分けする場合がある。これまでに実施してきた分析結果から、アツモリソウは「好石灰植物」に、クマガイソウは「好酸性植物」になると考えている。本種の発芽試験³⁾を行った際、酸性の培地では苗が衰弱・枯死したことから「好石灰植物」に含まれる可能性がある。
- ③「森林地」は、強酸性土壌であった。強い酸性土壌は、アルミナが影響して植物の有害になる場合があり、リン酸と結合して無効化することが知られている。また、通気性や保水性などの物理性で劣る傾向にある。自生地の保護措置に周辺の土壌を使用する場合、「森林地」の利用は避けるべきである。
- ④大学植物園と盛岡市内栽培試験地の用土は自生地に似た傾向を示したが、交換性カルシウムの値が低かった。今後、盛岡市内の栽培試験地でアルカリ資材施用の効果を確認する。

5. おわりに

絶滅危惧植物の保護増殖に取り組むためには、自生地の状況を知ることが重要である。筆者が本種の自生地内で行った観察項目を上げると、「周辺環境と出現位置」、「群落の規模と個体数」、「形質的な特徴」、「生育・開花状況」、「結実・種子形成」、「発芽または栄養繁殖の状況」、「生育障害となる要素の確認」を調べ、この結果を参考に本種の生息域外保全に取り組んでいる。特に人工培養による種子発芽と育苗

試験では、野生復帰をスムーズに進めるため、自生地や試験地に戻した時の適応能力を高めることを意識した栽培管理が必要である。

本試験は、環境省東北地方環境事務所より依頼を受け、チョウセンキバナアツモリソウ保護増殖事業の一環として実施した。自生地の土壌採取位置は、環境省秋田自然保護官事務所の足利直哉氏より示していただいた。土壌採取の作業は、福山コンサルタントの古澤輝雄氏と長谷川啓一氏より協力をいただいた。ここに記して深く御礼を申し上げる。

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) 自然環境研究センター(編)(2011) 絶滅する前にできること。
- 3) 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.
- 4) 小山田智彰・鞍懸重和・千葉文也・佐藤香菜・長谷川啓一・古澤輝雄(2019) 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. 自然環境復元学会全国大会研究発表・講演要旨集. 19: 25-28.



図1. 土壌採取地

表 1. 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	平均	標準偏差	サンプル4	サンプル5	サンプル6	平均	標準偏差	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10
アンモニア態窒素 (mg/100g)	1.6	1.7	1.2	1.5	0.3	1.8	1.8	1.0	1.5	0.5	0.8	1.2	2.3	3.3
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	2.2	4.1	1.8	3.2
可給態リン酸 (mg/100g)	1.0	2.1	2.0	1.7	0.6	3.0	2.2	1.3	2.2	0.9	3.3	1.2	8.3	4.4
交換性カリウム (mg/100g)	44.0	66.0	30.0	46.7	18.1	40.0	35.0	38.0	37.7	2.5	37.0	38.0	132.0	24.0
交換性カルシウム (mg/100g)	160.0	112.0	157.0	143.0	26.9	103.0	88.0	94.0	95.0	7.5	75.0	455.0	583.0	64.0
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	50.0	44.9	63.0	82.0	125.0	6.0
可給態鉄 (ppm)	4.0	60.0	53.0	39.0	30.5	6.0	42.0	16.0	21.3	18.6	21.0	12.0	7.0	68.0
交換性マンガン (ppm)	6.0	16.0	11.0	11.0	5.0	6.0	4.0	9.0	6.3	2.5	4.0	7.0	3.0	3.0
塩分 (%)	0.006	0.006	0.030	0.014	0.014	0.008	0.059	0.070	0.046	0.033	0.042	0.006	0.015	0.010
pH	6.05	5.55	5.71	5.77	0.26	5.87	5.80	5.91	5.86	0.06	5.81	5.62	6.94	4.22
EC (μS/cm)	4	5	4	4.3	0.6	10	5	11	8.7	3.2	3	34	7	53

サンプル1~3: 上の群落, 4~6: 下の群落, 7: 自生地入り口の柵内, 8: 自生地柵外の上の斜面, 9: 崩壊地, 10: 森林地

表 2. アツモリソウとクマガイソウ自生地土壌分析結果

試験項目	アツモリソウ自生地 (1株)		クマガイソウ自生地 (群生)	
	平均	標準誤差	平均	標準誤差
アンモニア態窒素 (mg/100g)	0.3 ± 0.1		15.0 ± 1.7	
硝酸態窒素 (mg/100g)	2.2 ± 1.8		11.3 ± 4.4	
可給態リン酸 (mg/100g)	1.5 ± 0.4		3.7 ± 0.9	
交換性カリウム (mg/100g)	42.5 ± 10.0		96.0 ± 11.6	
交換性カルシウム (mg/100g)	383.4 ± 40.6		41.3 ± 8.2	
交換性マグネシウム (mg/100g)	6.4 ± 3.4		36.0 ± 7.4	
可給態鉄 (ppm)	2.1 ± 0.6		22.7 ± 13.2	
交換性マンガン (ppm)	3.1 ± 1.6		9.7 ± 1.5	
塩分 (%)	0.003 ± 0.002		0.010 ± 0.001	
pH	7.6 ± 0.3		4.7 ± 0.1	
EC (μS/cm)	37.8 ± 23.3		48.3 ± 5.8	



図 2. アツモリソウ自生地 (1株/岩手県)



図 3. クマガイソウ自生地 (群生/岩手県)

表 3. チョウセンキバナアツモリソウ栽培地の土壌分析結果

分析項目	大学植物園 用土A	大学植物園 用土B	平均	盛岡/H26苗 順化土	盛岡/露地 栽培試験地	平均	参考 (自生地 上の群落)
アンモニア態窒素 (mg/100g)	0.6	1.0	0.8	1.2	1.3	1.25	1.5
硝酸態窒素 (mg/100g)	1.0	0.7	0.9	1.0	1.3	1.2	1.2
可給態リン酸 (mg/100g)	2.9	1.4	2.2	1.10	1.0	1.05	1.7
交換性カリウム (mg/100g)	35.0	11.0	23.0	48.0	34.0	41.0	46.7
交換性カルシウム (mg/100g)	41.0	12.0	26.5	30.0	38.0	34.0	143.0
交換性マグネシウム (mg/100g)	7.0	11.0	9.0	14.0	20.0	17.0	46.3
可給態鉄 (ppm)	5.0	3.0	4.0	7.0	11.0	9.0	39.0
交換性マンガン (ppm)	5.0	7.0	6.0	4.0	3.0	3.5	11.0
塩分 (%)	0.005	0.004	0.005	0.006	0.005	0.006	0.014
pH	7.10	6.91	7.01	6.38	6.20	6.29	5.77
EC (μS/cm)	28	8	18.0	31	21	26.0	4.3

◆大学植物園用土A: パーミキュライト使用 (1鉢) ◆大学植物園用土B: パーライト使用 (8鉢)

学校で「性の多様性」について話をすること

○佐藤卓^{1,2}, 對馬絵理³

¹ 岩手県環境保健研究センター, ² いわて思春期研究会, ³ 岩手県男女共同参画センター

第 31 回岩手公衆衛生学会学術集会 (令和 2 年 3 月 7 日 盛岡市)

1 はじめに

近年、マスコミでは「LGBT」という単語が頻繁に用いられ、また、一部自治体では同性パートナーシップ証明制度が施行されるなど、社会においてセクシュアルマイノリティに対する理解が進んでいるようにうかがえる。一方、テレビ等のバラエティ番組では、いわゆるオネエタレントがしばしば出演しているが、テレビタレントとしての特有の振舞いのみが強調され、当事者の悩みや LGBT の正しい情報などが視聴者に適切に伝わっているか疑問である。

岩手県男女共同参画センターでは、県内の学校や団体などからの依頼に応じ、「デート DV 防止講座」などの出前講座を行っているが、講座の内容のうち、2016 年度に新設したテーマである「LGBT」については 2017 年度 8 件 (16%)、2018 年度 5 件 (13%) と、一定のニーズが存在している (図 1)。

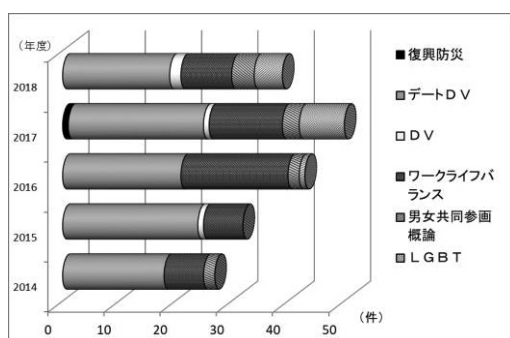


図 1 岩手県男女共同参画センターにおける出前講座実施状況 (2014~2018 年度) 8~2019 年度に合わせて 26 件の出前講座等を行っており、うち 21 件において「性の多様性」について話をしている。今回、「性の多様性」に関する出前講座の概要と、出前講座を受けた生徒等の感想についてとりまとめたので報告する。

2 対象と方法

(1) 出前講座

出前講座の対象は、約 80%が中学生または高校生であった。「性の多様性」については以下の 5 項目の

内容で講義を行った。①性の多様性について:心の性、体の性及び恋愛対象の性の観点から、「性の多様性」について説明すること。また、性別は男・女の 2 極構造ではなくグラデーションが存在し、セクシュアリティは多彩であること。②性の多様性の現状:岩手県高等学校教育研究会学校保健部会等が 2013 年に行った調査結果を基に、本県の高校生では約 10%がセクシュアルマイノリティである可能性があること、また、この割合は「左利き」や「血液型 AB 型」の割合と同程度であること。③セクシュアルマイノリティの生きづらさ:当事者の中には、差別や暴力を避けるために一般的に社会が期待する性別表現に変える人もいること。カミングアウトは簡単にはできないこと。セクシュアルマイノリティの中には自殺念慮が強い人が多く、また、自殺率も高いこと。④性の多様性を認めるということ:性指向や性自認はその人が生まれ持っている個性であり、少数派だからといって排除するものではないこと。人それぞれ違うこと(多様性)を認めることは社会にとって必要であること。⑤あなたたちが今からできること:オカマ、レズなどの差別語を使わないこと。LGBT を笑いのネタにしないこと等、すぐに行動できること。

出前講座で「性の多様性」について話す時間は、全体の講義時間に応じ、15 分から 30 分程度であった。

(2) 講座に参加した生徒等の感想

2019 年度に出前講座を実施した学校から送付され、使用の許諾を得た生徒等の感想文のうち、LGBT に関する記述を含む感想文 (108 人分) について、特徴的な感想を抽出した。また、計量テキスト分析 (KH Coder 3: 共起ネットワーク) により、頻出語句間で相互に関連が強い語句群を抽出した。

3 結果と考察

(1) 生徒等の感想

生徒等の「LGBT」という言葉については、「初めて聞いた」(5 人) から「ある程度内容を理解している」(8 人) まで、様々な段階にあり、セクシュアル

マイノリティに対する認知・理解は、十分とは言えないと思われる。また、ほとんどの生徒が LGBT の人たちを「認めたい」、「受け入れたい」と考えており、差別のない住みやすい社会をつくりたい等、生きづらい当事者を理解し、支えたいとの記述が多かった。一方、少数ではあるがセクシュアルマイノリティについては「全く理解ができず気持ちが悪い」との感想もあり、「性の多様性」の受け取り方もまた多様であった。

(2) 頻出語句相互の関連

頻出語句群の共起ネットワークを図 2 に示す。最も関連度の高い語句群は、「LGBT」を中心に「知る」、「自分」、「性別」、「体」、「心」などを含んだ語句群であり、「LGBT」に関する知識を表すものと考えられた。次に「社会」、「多様性」、「認める」など当事者が住みやすい社会に関する語句群、また、「相手」、「気持ち」、「傷つく」、「聞く」など身近な当事者に対する思いを表す語句群等、7 群に分類された。

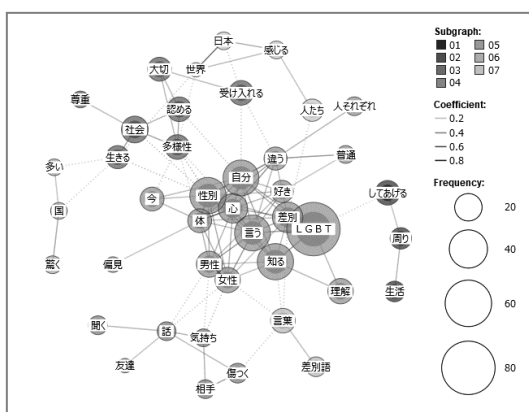


図 2 感想文頻出語の共起ネットワーク

4 まとめ

中学校・高校における「性の多様性」に関する出前講座は、生徒等の「性の多様性」に関する理解を深め、差別のない社会の形成に貢献できるものと考えられた。今後とも、学校等の要請に応じ、積極的に出前講座を行い、生徒ひとりひとりが適切な行動をとれるよう支援していきたい。

環境水中の有機フッ素化合物のパッシブサンプラー（POCIS）による 分析方法の検討

岩淵 勝己

第 54 回日本水環境学会年会併設研究集会（令和 2 年 3 月 16 日～18 日 盛岡市）

1. はじめに

有機フッ素化合物（Perfluoroalkyl acids ; PFAAs）は、人工的に合成された化合物で、化学的に安定な界面活性剤などとして、過去数十年間にわたり工業用から日用品まで様々な分野で使用されてきた。主要な PFAA としては PFOS（Perfluorooctane sulfonate）や PFOA（Perfluorooctanoic acid）などがあり、その構造は、炭素鎖にフッ素が結合した疎水性部分と、スルホン酸やカルボン酸などの親水性部分で構成されている（図 1）。近年、PFAAs は、環境中に広く拡散し、また野生生物やヒトに蓄積されていることが明らかとなってきたことから、環境影響や生体影響が懸念されている。

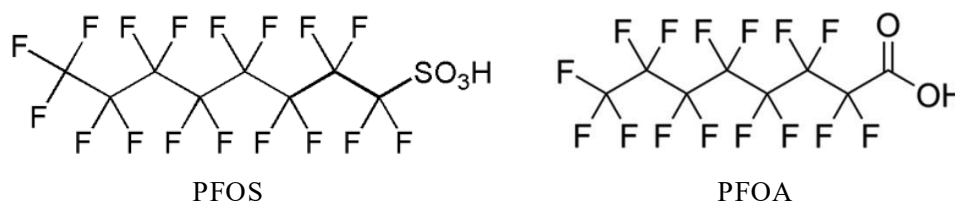


図 1 主要な PFAAs の構造

現在の水環境中の化学物質等のモニタリング手法としては、定期的にスポットで採水して分析し、その 75%値や平均値などから評価を行うことが多い。しかし、常時流量や濃度に変化する水環境において、スポットで得られたサンプルのデータはその瞬間の状況を表しているにすぎず、長期的、平均的な化学物質濃度の変化を把握するには適していない。一方、パッシブサンプラーは、ある一定期間水環境中に浸漬しておくことで、一時的な濃度変化の捕捉や極低濃度の化学物質の捕捉などへの対応も可能であることから、近年注目されているサンプリング機材である。

本研究は、様々あるパッシブサンプラーの中でも、特に水環境に適用可能な POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) を利用し、有機フッ素化合物をターゲットとして、そのサンプリングの条件等を確立することを目的とした。

2. 検討方法

(1) サンプラーに使用するメンブランフィルター、固相に非意図的に含まれる PFAAs の除去の検討

PFAAs は、操作ブランク等バックグラウンドとして検出されやすいため、POCIS に使用する器具類に付着、含有している PFAAs を除去する方法（メタノールによる洗浄方法）を検討した。また併せて、使用するメンブランフィルター（MF）及び固相（SP）の選定も行った。MF は、一般的に使用される 3 種の材質、Polyether Sulfone (PES)、Cellulose Acetate (CA)、Cellulose Ester (CE) について検討した。固相は、PFAAs の分析で使用されることの多い Oasis HLB 及び Oasis WAX について検討した。

(2) PFAAs への適用性の確認

本研究の対象 PFAAs は、環境中から検出されることの多い PFOS 及び PFOA とした。各 100 ng/L となるように水溶液を調製し、(1) で検討した器具類を使用した POCIS を一定期間水溶液中に浸漬して、水溶液濃度及び固相への吸着量の経時変化を確認した。浸漬の期間は 14 日間とし、浸漬開始から 1、3、6、9、14 日後に取り出し、分析を行った。

(3) サンプルングレートの算出

POCIS が PFAAs のサンプルングに適用可能であることを確認した後、(2) で得られたデータから、見かけ上の吸着速度定数であるサンプルングレート (R_s) を算出した。

3. 結果と考察

(1) サンプラーに使用する MF、SP に非意図的に含まれている PFAAs の除去の検討

MF について、メタノール洗浄に係る耐久性や製造段階で非意図的に含まれる PFAAs の除去などを検討した。3 つの材質うち、CA はメタノールによる洗浄で溶解して穴が開くなど、コンタミの除去が不可能であったため、検討から除外した。CE は、製造段階における非意図的混入が比較的少なかったが、メタノール洗浄後に乾燥させるとしわになり、POCIS への装着が困難であった。これらの結果から、使用する MF には PES を選定した。次に、SP について、非意図的に含まれる PFAAs の量及び POCIS への適用可能性について検討した。HLB、WAX とほぼ同様の結果となり、両方とも POCIS に適用が可能であると考えられた。SP については、当方で使用実績のある WAX を選定し、以降使用することとした。

表 1 MF、SP の検討結果

MF 材質	MeOH 洗浄耐性	コンタミの量	コンタミ除去が可能か	POCIS への装着性
Polyether sulfone (PES)	○	△	○	○
Cellulose Acetate (CA)	×	—	—	—
Cellulose Ester (CE)	○	○	○	△

SP 種類	コンタミの量	コンタミ除去が可能か	POCIS に適用可能か
Oasis HLB	△	○	○
Oasis WAX	△	○	○

(2) PFAAs への適用性の確認

POCIS に使用する MF を PES、SP を WAX、SP 量を先行研究¹⁾を参考に 200 mg とし、10 °C の PFAAs 水溶液に浸漬し、水溶液濃度と吸着量の経時変化を確認した (図 2)。経時的に水溶液濃度は低下し吸着量は増加していることから、水溶液中の PFAAs が SP に移行していることが確認された。このことから、今回検討した MF と SP で、PFOS 及び PFOA を捕捉することが可能であると考えられた。

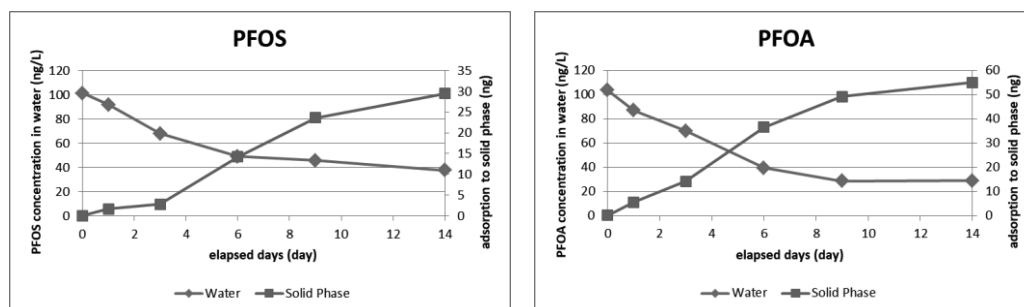


図 2 POCIS への吸着量及び水溶液濃度の経時変化

(3) サンプルングレートの算出

POCISによるサンプルングでは、サンプラーを設置した初期段階においては吸着量が時間経過とともに直線的に増加し、以下の式が一般的に成立する²⁾。

$$N_S = C_w \cdot R_S \cdot t \quad \left[\begin{array}{l} N_S: \text{absorbed amounts (ng)}, C_w: \text{aqueous PFAA concentration (ng/L)}, \\ R_S: \text{sampling rate (L/day)}, t: \text{time (day)} \end{array} \right]$$

$N_S/C_w = CF_t$ と置くと、 CF_t は t の関数であり、実験で得られたデータから CF_t と t で散布図を作成して回帰直線を求めると、その傾きが R_S ということになる。この方法で求めた(2)の R_S は、PFOSで0.040 (L/day)、PFOAで0.088 (L/day)であった(図3)。

R_S は、サンプルングする際の水温に影響されると考えられることから、(2)と同様の方法で20°C、30°Cでも実験を行った。得られたデータから散布図を作成したところ、PFOS、PFOAとも各水温において良好な直線関係が得られ、 R_S は、PFOSで0.092 (20°C)、0.096 (30°C) (L/day)、PFOAで0.166 (20°C)、0.158 (30°C) (L/day)であった(図3)。

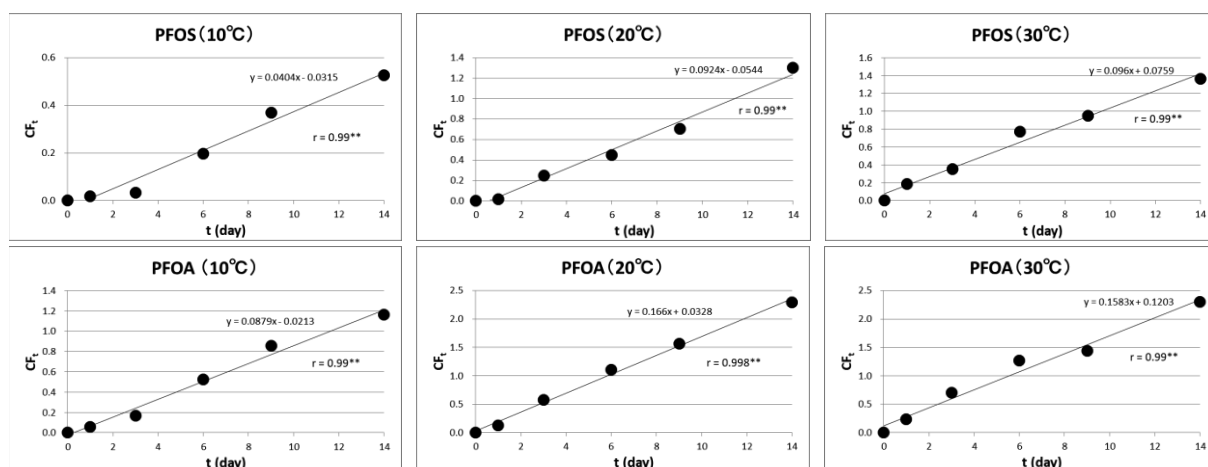


図3 各水温における浸漬時間 t と CF_t の関係

各水温における R_S を比較したところ、水温が高くなるのに従い R_S が大きくなる傾向が見られた(図4)。この関係性から、 R_S はサンプルング時の水温で補正する必要があり、浸漬している期間を通じて水温変化を把握することが重要であると考えられた。また、今回の実験結果は、20°Cと30°Cにおける R_S は同程度の値となっており、相関係数も有意ではなかったことから、水温と R_S の関係性をより詳細に明らかにするため、今後別の水温でデータを補完し、補正の精度を向上させる必要がある。

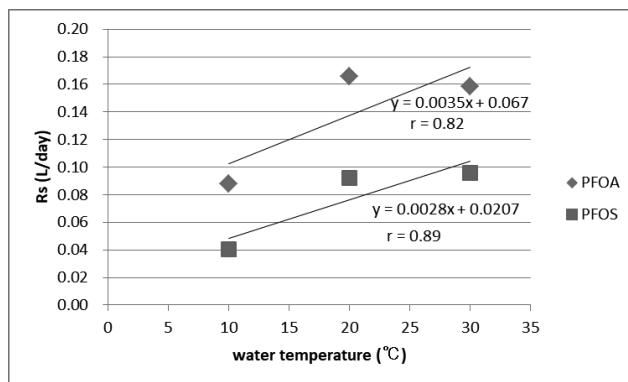


図4 水温と R_S の関係

【参考文献】

- 1) Fedorova, G., Golovko, O., Randak, T., and Grabic, R. (2013): Passive sampling of perfluorinated acids and sulfonates using polar organic chemical integrative samplers. Environ. Sci. Pollut. Res., **20**, 1344-1351.
- 2) Lohmann, R., Booij, K., Smedes, F., and Vrana, B. (2012): Use of passive sampling devices for monitoring and compliance checking of POP concentrations in water. Environ. Sci. Pollut. Res., **19**, 1885-1895.

MF 法による環境水の大腸菌数測定において誤検出の恐れがある グラム陽性球菌について

○山中 拓哉, 太田 美香子, 佐藤 徳行
第 54 回日本水環境学会年会 (令和 2 年 3 月 16 日~18 日 盛岡市)

1. はじめに

公共用水域における糞便汚染の指標となる環境基準項目としては、大腸菌群数（最確数）が用いられているが、環境省はより適切に糞便汚染を捉えられる指標として大腸菌数を導入することを検討しており、平成 23 年に各自治体に対し、基準設定に必要なデータ収集の協力依頼についての通知を发出している。当所でも通知において示された特定酵素基質寒天培地を用いたメンブランフィルター（MF）法による大腸菌数測定を実施している。

本法において大腸菌は β -グルクロニダーゼ活性により青色のコロニーとして検出されるが、検査において青色を呈するもの大腸菌ではないグラム陽性球菌からなる小型のコロニーが検出される事例がしばしば見られた。このようなコロニーの存在は大腸菌数の過剰報告へとつながる恐れがあるため、これらの菌株について、菌種同定や MF 上での性状についての解析を実施したのでその結果を報告する。

2. 実験方法

2017~19 年度に岩手県内の公共用水域（河川、海域、ダム）から採取された検水をポアサイズ 0.45 μ m のセルロース混合エステル MF でろ過し、特定酵素基質寒天培地上に貼付後、35℃で 22 時間培養した。所見より大腸菌でないことが疑われる小型の青色コロニーから菌を分離し、グラム染色、同定キットを用いた菌種同定および MF 上における性状解析を行った。なお、本発表においては特定酵素基質寒天培地としてアガートリコロール(エルメックス)を使用した。他社製の培地においても同様の結果が得られる事を確認している。

3. 結果および考察

(1) 青色小コロニーの出現率

2017 年度に MF 法による大腸菌数検査を実施した河川水 772 検体を調査したところ、約 28% の 215 検体において、所見より大腸菌でないことが疑われる小型の青色コロニーが認められた。

(2) 分離菌株の同定

上記所見を示すコロニーから 15 菌株を分離したところ全てグラム陽性球菌であり、グラム陰性桿菌である大腸菌ではないことが判明した。これらの菌株について同定キットを用いて解析した結果を表 1

に示す。解析した全ての菌株が *Staphylococcus* 属であり、環境中に常在する菌種であることが判明した。

表 1 分離菌株の内訳*

菌種	株数
<i>Staphylococcus cohnii</i>	5
<i>Staphylococcus warneri</i>	4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2
<i>Staphylococcus xylosus</i>	2
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1
<i>Staphylococcus hominis</i>	1

*同定キット (ID32 スタッフアピ、SP-18) による

(3) 菌増殖における MF の影響

分離した菌株の増殖における MF の影響を解析するために、表 1 のうち *S. cohnii* 2 株、*S. xylosus* 1 株、*S. hominis* 1 株の計 4 菌株について、培地に直接塗抹した場合と培地に貼付した MF の表面上に塗抹した場合の増殖を比較した。結果を表 2 に示す。大腸菌および大腸菌群の増殖については MF の影響が無かったのに対し、分離したグラム陽性球菌については 4 菌株全てについて直接塗抹では増殖が見られないのに対し MF 上でのみ増殖が認められるという結果になった。

本現象の原因としては培地に含まれるグラム陽性球菌に対する発育阻害剤であるラウリル硫酸ナトリウムの効果が MF によって軽減されている可能性があると考えられる。

表 2 菌増殖における MF の影響*

菌株	直接塗抹	MF 上
大腸菌 (<i>E. coli</i>)	増殖	増殖
大腸菌群 (<i>K. oxytoca</i>)	増殖	増殖
グラム陽性球菌 (4 菌株)	増殖せず	増殖

*アガートリコロール培地、35℃、22 時間培養

4. 結論

MF 法による公共用水域の大腸菌数検査時に見られる青色小コロニーは β -グルクロニダーゼ陽性グラム陽性球菌であることが明らかになった。今後は MF や培地の種類および培養条件を検討し、本現象を回避できる検査手法を確立する必要があると考える。