

研 究 報 告 編

1 論 文

原著

福岡県内の愛玩動物に付着したマダニにおけるSFTSウイルス及び 紅斑熱群リケッチアの保有状況調査

芦塚由紀・小林孝行・吉富秀亮・中村麻子・梶原淳睦

近年、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)や日本紅斑熱などのマダニが媒介する感染症が、福岡県内においても報告されている。今回、福岡県内の愛玩動物に付着したマダニについて、SFTSウイルス及び紅斑熱群リケッチアの保有状況を明らかにするために調査を行った。2014-2016年度に愛玩動物から採取された計309匹(135プール検体)のマダニについて検査したところ、SFTSウイルス及び日本紅斑熱リケッチア(*Richettia japonica*)は検出されなかった。*Richettia japonica*以外の紅斑熱群リケッチア近縁の遺伝子が、フタトゲチマダニ9検体、タカサゴキララマダニ1検体から検出されたが、人への感染例が報告されているリケッチアと近縁のものはなかった。本調査において、屋外飼育犬だけでなく室内飼育犬へのマダニの付着が見られたことから、散歩時のマダニ付着に対する防除や駆除への啓発が重要と考えられる。

[キーワード: マダニ、愛玩動物、SFTSウイルス、日本紅斑熱、紅斑熱群リケッチア]

1 はじめに

近年、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)や日本紅斑熱などのマダニが媒介する感染症が、福岡県内においても報告されている。SFTSは2013年に国内で初めて報告され、西日本を中心に毎年患者が報告されている。福岡県内では2015-2016年の間に10名の患者が報告されている¹⁾。日本紅斑熱は近年患者数が増加しており、最近では全国で年間200名を超えている状況である。福岡県内においても、年間数例の患者が報告されている。

マダニは発育や産卵のために動物から吸血し、その際に病原体を媒介する。福岡県内の過去の調査研究において、日本紅斑熱の媒介種であるヤマアラシチマダニやキチマダニ、SFTSウイルスの媒介種であるフタトゲチマダニ(写真1)やタカサゴキララマダニ(写真2)が生息していることが報告されている²⁾。当時の報告では病原体は検出されていないが、近年の患者発生状況を考えると、病原体保有マダニの存在が推測される。

近年、シカやイノシシ、アライグマなどの野生動物の生息域拡大により、マダニが付着した野生動物が人の生活圏に侵入し、そのマダニが人や愛玩動物に付着して病原体を媒介することが危惧されている。このため、福岡県では2014-2016年度の3年間に、人と動物の共通感染症対策の一環として共通感染症発生状況等調査事業を実施した。その中で犬や猫などの愛玩動物に付着したマダニについて、



写真1 フタトゲチマダニ



写真2 タカサゴキララマダニ

SFTSウイルス及び紅斑熱群リケッチアの保有状況を明らかにするために調査を行ったので報告する。

2 方法

2・1 検査材料

福岡県内を4ブロック(福岡、筑後、筑紫、北九州)に分け、各ブロックから1施設以上の検体採取協力動物病院(合計8動物病院)が選定された。2014-2016年度に協力動物病院において、治療、予防接種、または一時預かり等の目的で来院した犬及び猫から採取されたマダニ計309匹を検査材料とした。調査時期は2014年度が9月から12月、2015年度及び2016度が6月から9月であった。

2・2 検査方法

採取されたマダニは種類、発育ステージ毎に鑑別及び分類し、成虫は1匹、若虫及び幼虫は5匹を目安としてプー

表1 遺伝子検査に用いたプライマー及びプローブ

検査法	対象	領域	プライマー及び プローブ名	配列	文献
リアルタイム PCR	SFTS ウイルス	S 分節	S2-237s	GCAACAAGATCGTCAAGGCATCAGG	3)
			S2-400a	TGCTGCAGCACATGTCCAAGTGG	3)
			S2-317MGB	5' FAM-CTGGTTGAGAGGGCA3' MGB	3)
Nested-PCR	紅斑熱群リケッチア	17kDa 抗原	R1	TCAATTCACAACCTTGCCATT	4)
			R2	TTTACAAAATTCTAAAAACC	4)
			Rr17. 61p	GCTCTTGCAACTTCTATGTT	5)
			Rr17. 492n	CATTGTTGTCAGTTGGCG	5)
			Rj5	CGCCATTCTACGTTACTACC	4)
			Rj10	ATTCTAAAAACCATATACTG	4)
	(Richettia japonica)	gltA	RpCS. 877p	GGGACCTGCTCACGGCGG	6), 7)
			RpCS. 1273r	CATAACCAGTGTAAGCTG	6), 7)
			RpCS. 896f	GGCTAATGAAGCGTAATAA	6), 7)
			RpCS. 1258n	ATTGCAAAAAGTACAGTGAAC	6), 7)

ルし1検体とした(計135プール検体)。SFTSウイルスの検査は、国立感染症研究所の“マダニからのSFTSウイルス検出マニュアル”³⁾に準拠して実施した。プールしたマダニはバイオマッシャーIIを用いてすり潰し、Isogen II (ニッポンジーン)を添加してRNA抽出を行い、リアルタイムRT-PCR法によりSFTSウイルスの検査を行った。さらに抽出残渣からISOGENOME (ニッポンジーン)を用いてDNA抽出を行い、“リケッチア感染症診断マニュアル”⁴⁾等に準拠して紅斑熱群リケッチアの遺伝子検査を行った。遺伝子検査に用いたプライマー及びプローブを表1に示す。17kDa蛋白抗原をコードする遺伝子を標的とし、日本紅斑熱リケッチア(*Richettia japonica*)DNAを特異的に検出するためのRj5-Rj10プライマーによるnested-PCRと、紅斑熱群リケッチアDNAを検出するためのR1-R2プライマー及びRr17. 61p-Rr17. 492nプライマーによるnested-PCRを行った。紅斑熱群リケッチアDNAが検出された場合は、さらにクエン酸合成酵素A遺伝子(*gltA*)を標的としたRpCS. 877p-RpCS. 1273rプライマー及びRpCS. 896f-RpCS. 1258nプライマーを用いてnested-PCRを行った。PCR産物は2%アガロースゲル電気泳動でバンドの有無を確認し、バンドが確認された検体については塩基配列を決定し、近隣結合(Neighbor-joining, NJ)法により系統樹解析を行った。解析ソフトウェアは塩基配列解析ソフトウェアMolecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA 5.1)を用い、検定はブートストラップ法(500回サンプリング)により行った。

3 結果及び考察

3・1 マダニを採取した愛玩動物について

表2にマダニを採取した愛玩動物の種類を示す。3年間で74匹の愛玩動物からマダニが採取された。そのうち71匹(97.3%)は犬であった。愛玩動物では犬がワクチン接種等の目的で来院する機会が多いことが要因として考えられる。表3に愛玩動物の飼育場所を示す。74匹中34匹(45.9%)は屋外、19匹(25.6%)は室内飼育であったことから、室内飼育の愛玩動物もマダニ付着が見られることがわかった。

3・2 採取されたマダニの種類

表4に3年間の愛玩動物からのマダニの種類別採取数を示す。3年間で計309匹が採取された。種類は、2属5種のマダニが採取され、その中でフタトゲチマダニが286匹(92.6%)と最も多く、次いでキチマダニが14匹(4.5%)、ヤマアラシチマダニが6匹(1.9%)、その他はタカサゴキラマダニが2匹、オオトゲチマダニ1匹採取された。

図1に月別のマダニ採取割合を示す。6-11月はフタトゲチマダニの割合が多く、特に6-8月は成虫の割合が多かった。8月-10月は若虫の割合が多くなり、11月はほとんどがフタトゲチマダニの幼虫であった。キチマダニは10月から増え、12月に採取されたマダニは3匹であったが、すべてキチマダニであった。タカサゴキラマダニは8月に採取され、オオトゲチマダニは11月に採取された。愛玩動物付着マダニの種類には季節変動が見られ、マダニの動物への嗜好性だけでなく、野外で活動しているマダニの相を反映していることが推察される。

表2 マダニを採取した愛玩動物の種類

年度	犬	猫	不明	計
2014	23	0	2	25
2015	31	1	0	32
2016	17	0	0	17
計	71	1	2	74

表3 愛玩動物の飼育場所

年度	室内	屋外	屋内外	不明	計
2014	4	11	0	10	25
2015	11	17	1	3	32
2016	4	6	0	7	17
計	19	34	1	20	74

表4 3年間の愛玩動物からのマダニの採取数

マダニの種類	発育 ステージ	計
フタトゲチマダニ	成虫♂	9
	成虫♀	65
	若虫	90
	幼虫	122
	小計	286
キチマダニ	成虫♂	7
	成虫♀	6
	若虫	1
	小計	14
ヤマアラシチマダニ	成虫♀	3
	幼虫	3
	小計	6
タカサゴキラマダニ	成虫♀	2
オオトゲチマダニ	若虫	1
合計		309

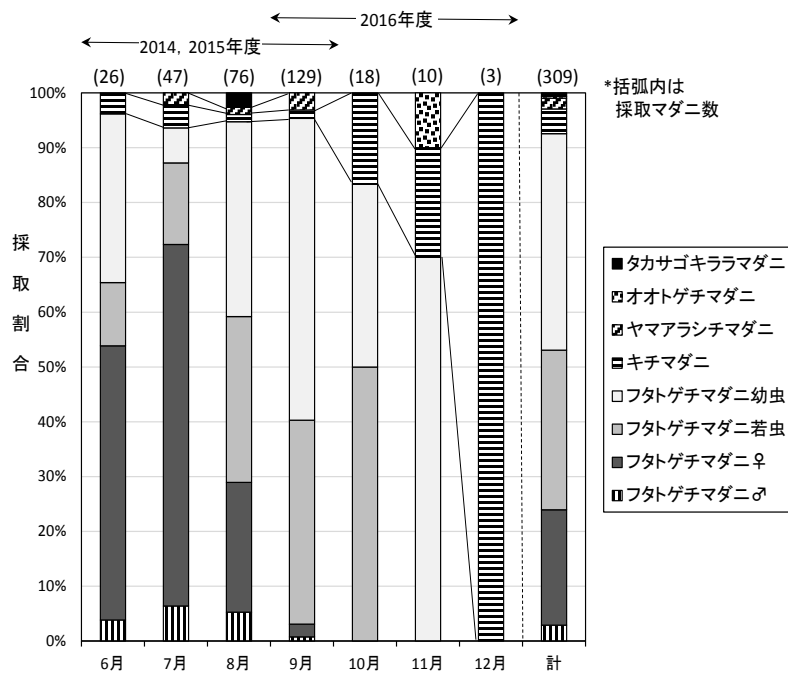


図1 マダニの月別採取割合

3・3 マダニにおける SFTS ウイルス及び紅斑熱群リケッチアの検査結果

採取されたマダニは、種類毎、発育ステージ毎に分類し、3年間で計135プール検体を検査した。その結果をまとめたものを表5に示す。SFTS ウイルス及び *Richettsia japonica* は検出されなかった。*Richettsia japonica* 以外の紅斑熱群リケッチア近縁の遺伝子が、10検体から検出された。図2に紅斑熱群リケッチアの系統樹を示す。フタトゲチマダニから検出された遺伝子には *Richettsia sp.* LON-13 に近縁のものが8検体、*Rickettsia sp.* Hf332 に近縁のものが1検体あった。また、タカサゴキラマダニからは *Candidatus Rickettsia* に近縁の遺伝子が1検体検出された。紅斑熱群リケッチアについては、*Rickettsia heilongjiangensis*、*Rickettsia helvetica*、*Rickettsia tamurae* など、国内で人への感染例が報告されているものがあるが^{8), 9), 10), 11)}、本調査では、人への感染例が報告さ

れているリケッチアと近縁のものは検出されなかった。

4 まとめ

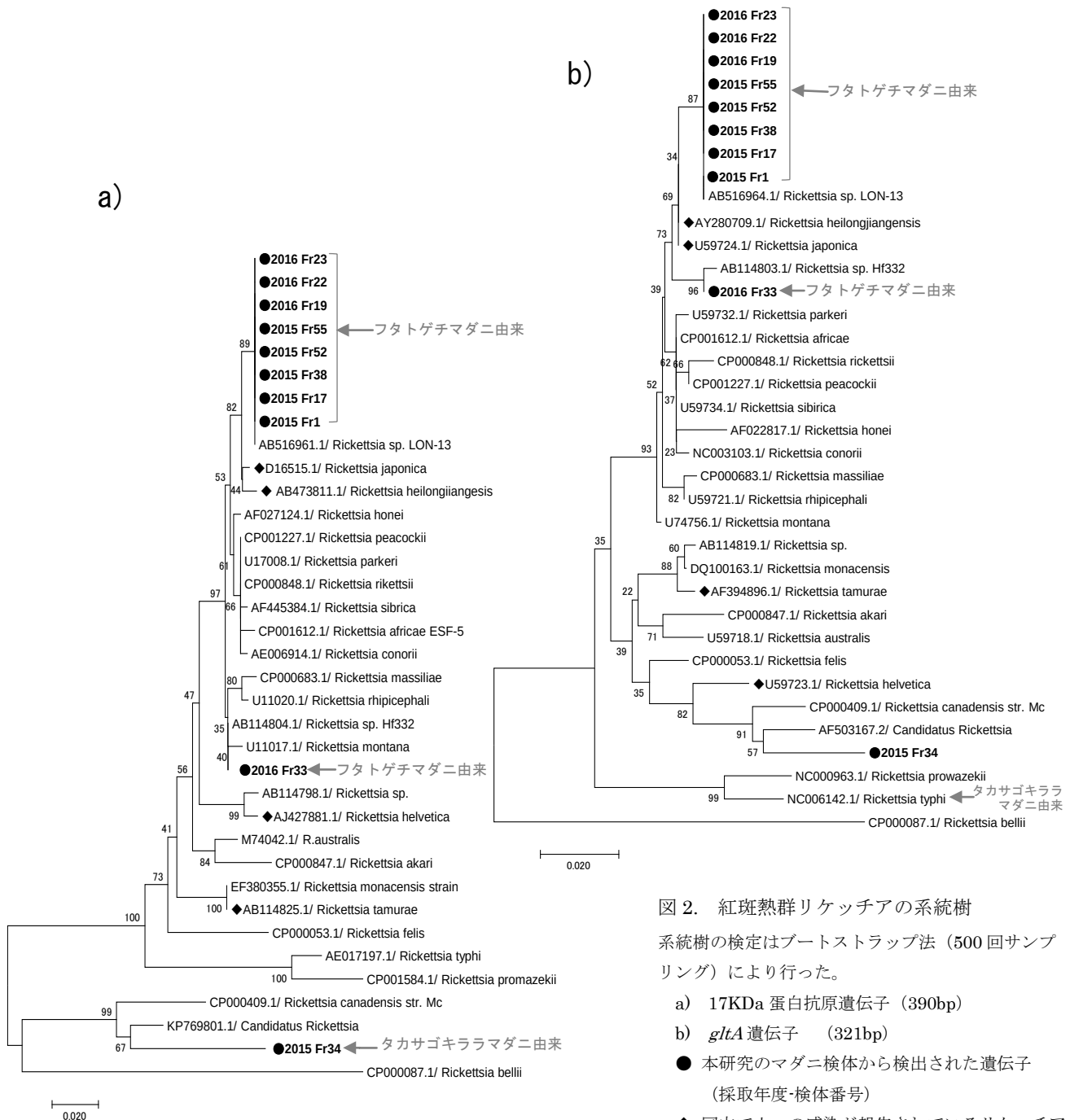
2014-2016年度に福岡県内の計74匹の愛玩動物（犬または猫）から採取されたマダニ計309匹を調査した。マダニの種類は92.6%がフタトゲチマダニ、4.5%がキチマダニであった。その他はヤマアラシチマダニ、タカサゴキラマダニ、オオトゲチマダニであり、マダニの種類には季節変動が見られた。採取されたマダニについて検査したところ、SFTS ウイルス及び *Richettia japonica* は検出されなかった。*Richettia japonica* 以外の紅斑熱群リケッチアについては近縁の遺伝子が、フタトゲチマダニ9検体、タカサゴキラマダニ1検体から検出されたが、人への感染が報告されているリケッチアと近縁のものはなかった。

今回の調査では、採取されたマダニから SFTS ウイルス及び *Richettia japonica* は検出されなかったが、国内で

表5 SFTS ウイルス及び紅斑熱群リケッチアの検査結果

調査年度	採取動物数	採取マダニ数	検体数*	検査結果		
				SFTSV	日本紅斑熱 リケッチア	紅斑熱群リケッチア*
2014	25	117	41	陰性	—	—
2015	32	113	54	陰性	陰性	<i>Richettsia</i> sp. (5) <i>Candidatus Richettsia</i> (1)
2016	17	79	40	陰性	陰性	<i>Richettsia</i> sp. (4)
計	74	309	135			

* 括弧内は紅斑熱群リケッチア近縁遺伝子が検出された検体数



SFTS ウイルスの媒介種とされているフタトゲチマダニが愛玩動物に多く付着していることがわかった。また、*Rickettsia japonica* の媒介種であるヤマアラシチマダニとキチマダニの付着が見られた。これらのマダニは室内飼育犬にも付着が見られたことから、散歩時のマダニ付着に注意する必要がある。さらに、マダニ由来病原体としては、紅斑熱群リケッチアについても分布や病原性など不明な点が多いことから、今後も県内に生息するマダニについて調査が必要と考えられる。

謝辞

本調査は福岡県医師会及び福岡県獣医師会の協力により、福岡県人獣共通感染症発生状況等調査事業の中で実施しました。関係各位に深謝いたします。また、マダニの調査を実施するにあたり、マダニの鑑別方法等について研修を実施していただきました山口大学共同獣医学部の前田健教授、高野愛准教授、馬原アカリ医学研究所の馬原文彦先生、藤田博己先生に深謝いたします。

文献

- 1) 国立感染症研究所：感染症発生動向調査週報 (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/idwr.html>) .
- 2) 石橋哲也ら：福岡県保健環境研究所年報，第36号，85-88，2009.
- 3) 国立感染症研究所：マダニからのSFTSウイルス検出マニュアル.
- 4) 国立感染症研究所：リケッチア感染症診断マニュアル，2000.
- 5) H. Noda *et al.*: AEM, 63, 3926-3932, 1997.
- 6) V. ROUX *et al.*: Int. J. Syst. Bacteriol., 47, 252-261, 1997.
- 7) H. Hiraoka *et al.*: J. Vet. Med. Sci., 67, 1217-1222, 2005.
- 8) 安藤秀二ら：IASR, Vol. 31, 136-137, 2010.
- 9) 岸本寿男ら：日本内科学会雑誌，104巻，2011-2019, 2016.
- 10) 高田伸弘ら：IASR, Vol. 27, 40-41, 2006.
- 11) K. Imaoka *et al.*: Case Rep. Dermatol., 3, 68-73, 2011.

(英文要旨)

Survey of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus and spotted fever group *Rickettsia* in ticks from companion animals in Fukuoka

Yuki ASHIZUKA, Takayuki KOBAYASHI, Hideaki YOSHITOMI, Asako NAKAMURA
and Jumboku KAJIWARA

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

Tick-borne infectious diseases, such as severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) and Japanese spotted fever were reported in Fukuoka recently. In 2014-2016, we collected 309 ticks from companion animals in Fukuoka to investigate the presence of SFTS virus and spotted fever group *Rickettsia*. SFTS virus and *Rickettsia japonica* were not detected. DNA of several spotted fever group *Rickettsia* were detected in samples of *Haemaphysalis longicornis* and *Amblyomma testudinarium*. However, no *Rickettsia* with reported pathogenicity to human were detected. Many ticks were found attached to dogs that lived both outdoors and indoors. Therefore, after walking indoor dogs outside, it is necessary to check for and remove ticks.

[Key words ; Tick, companion animal, SFTS, *Rickettsia japonica*, Japanese spotted fever]

原著

液体クロマトグラフ-飛行時間型質量分析計(LC/Q-TOF/MS)を用いた

危険ドラッグのフラグメンテーション解析

小木曾俊孝・新谷依子・堀就英・梶原淳睦

危険ドラッグに起因する死傷事件・事故が大きな社会問題となって以来、撲滅に向けた様々な取り組みがなされているが、終息していないのが現状である。本研究ではLC/Q-TOF/MSを用いて様々な薬物成分を測定可能な分析法の開発とフラグメントイオン解析による構造推定を行うために、化合物の系統ごとにフラグメンテーションの傾向の解析を行った。その結果、危険ドラッグの分析法として有用な機器分析条件を確立し、精密質量を指標として用いることで同定精度を向上することができた。また、フラグメンテーションの傾向を多数見だし、フラグメントイオン解析による構造推定を行う上で重要な知見が得られた。

[キーワード：危険ドラッグ、LC/Q-TOF/MS、フラグメンテーション]

1 はじめに

危険ドラッグはかつて合法ドラッグなどと呼ばれ、使用の手軽さや入手の容易さから乱用が広まったとされている。日本においては1995年頃から危険ドラッグの販売が確認され、薬物の規制と新たな薬物の出現を繰り返す「イタチごっこ」の状態が続いてきた。特に、ハーブ系の危険ドラッグが出現以降、製品に含有される成分は多様化し、危険ドラッグに起因する死傷事件・事故が大きな社会問題となった。以来、撲滅に向けた様々な取り組みがなされている。政府による「危険ドラッグの乱用の根絶のための緊急対策」¹⁾では、販売店舗の一斉摘発等が行われ、2015年7月にはこれまでに確認されていたすべての販売店舗をなくすことに成功している²⁾。指定薬物の成分に対する法規制では、個別の成分において指定の迅速化がなされ、さらにカチノン類及び合成カンナビノイドに対して合計3回の包括指定がなされた。これにより、2017年7月現在2366種類の化合物が規制対象となっている³⁾。

これらの対策により、危険ドラッグに関連する事件・事故は減少したが、デリバリー販売や密輸などにより検挙者は未だに多いのが現状である⁴⁾。また、ガス状の新たなカテゴリーの薬物の出現や合成キットなど新たな販売手法も確認され、継続的な対応が必要となっている。

危険ドラッグの検査において、質量分析装置を用いた方法は微量の試料かつ複雑な夾雑成分を含んだ状態で分析が可能な方法として広く用いられている。一方で、測定結

果の確定には標準品との照合が必須であり、大部分の標準品が入手困難な危険ドラッグの分析では同定が困難な状況が多々予測され、検査に膨大な時間を要するという課題がある。

福岡県では2014年に「福岡県薬物の濫用防止に関する条例」を制定し、県内に流通するドラッグ製品の調査を行うとともに、分析・解析法の開発を行っている。本研究ではLC/Q-TOF/MSを用いた危険ドラッグの測定条件の開発を行った。また、標準品を所有していない化合物や未知化合物の構造をLC/Q-TOF/MSで測定した精密質量とマススペクトルから推定するための基礎的な知見として、現在所有している標準品を測定し、5種類の系統の危険ドラッグについてフラグメンテーションの傾向を解析したので報告する。

2 研究方法

2・1 標準品及び試薬

危険ドラッグの標準品は全てCayman製を使用し、指定薬物及びその類似物質を含め合計411種類を用いた。標準品はメタノールに溶解し、1 µg/mLに調製したものを測定に用いた。メタノール(LC-MS用)、アセトニトリル(LC-MS用)、蒸留水(LC-MS用)は関東化学製を用いた。1.0 Mギ酸アンモニウム溶液(高速液体クロマトグラフ用)、ギ酸(LC-MS用)は和光純薬製を用いた。

2・2 装置及び測定条件

測定装置はAgilent 6540 Accurate-Mass Q-TOF/Agilent

表1 LC/Q-TOF/MS の分析条件

カラム	: Atlantis T3, 3 μ m, 2.1 $\times$ 75 mm (Waters 製)		
カラム温度	: 40 $^{\circ}$ C		
移動相	A : 10 mM 酢酸アンモニウム溶液(pH 3) B : アセトニトリル		
グラジエント	時間(min)	A (%)	B (%)
	0	95	5
	2.5	95	5
	20	0	100
	22.5	0	100
流量	: 0.2 mL/min		
注入量	: 1 μ L		
イオン化法	: ESI 法(ポジティブモード)		
乾燥ガス温度	: 300 $^{\circ}$ C		
乾燥ガス流量	: 10 L/min		
ネブライザガス	: 50 psig		
シースガス温度	: 400 $^{\circ}$ C		
シースガス流量	: 12 L/min		
キャピラリー電圧	: 4000 V		

1290 Infinity LCを使用し、表1の条件で測定を行った。

2・3 フラグメンテーションの傾向解析

LC/Q-TOF/MSを用いて測定した指定薬物及びその類似物質411種類の中から5系統(カチノン類: 94化合物、合成カンナビノイド: 211化合物、トリプタミン類: 20化合物、フェネチルアミン類: 32化合物、フェンタニル類: 13化合物)に分類される化合物について、系統ごとにフラグメンテーションの傾向を解析した。

3 結果及び考察

3・1 LC/Q-TOF/MSを用いた分析法の開発及び精密質量を用いた化合物の識別

調製した各種標準溶液を用いて、UPLC カラム、グラジエント条件等を検討し表1に示す条件を設定した。この条件を用いて物性・構造等が異なる様々な化合物(合計 411種類)を測定した結果、全ての化合物についてテーリングなどは見られず良好に検出可能であり、危険ドラッグの分析法として有用であると考えられた。図1には代表的な合成カンナビノイドである AB-FUBINACA の分析例を示した。付表1には本分析法で測定した 411 物質の化合物名、保持時間、精密質量等の測定結果を示した。(付表1は当所 HP に掲載)

LC/Q-TOF/MS を用いる分析上の利点として化合物の精密質量を測定可能であることが挙げられる。指定薬物の物質数は包括指定等により増加し、分子量の差がきわめて小さい化合物の組み合わせが多数存在し同定を困難とする要因となっている。この課題に対して、精密質量を指標とする分析が有効な手段となるか確認を行った。各標準品を測定した結果、理論値と測定値の誤差は一部の化合物を除いて概ね 10 ppm 未満であった。この結果は、図2に示す

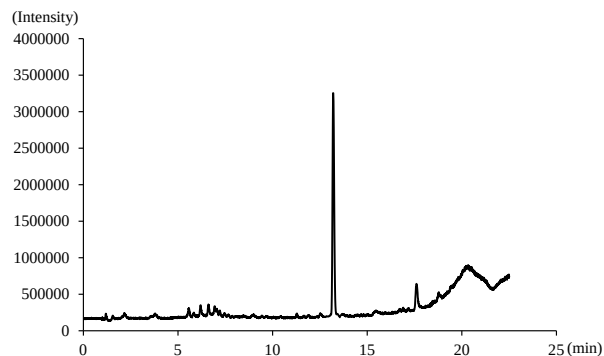


図1 AB-FUBINACA のクロマトグラム(TIC)

ような分子量の差が小さい薬物成分同士であっても、標準品と照合することなく、LC/Q-TOF/MS で測定するのみで候補を絞ることが可能であることを示しており、危険ドラッグ分析にきわめて有効な方法と考えられた。

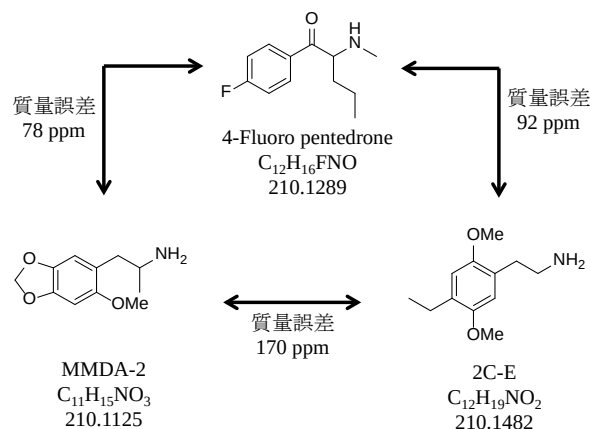


図2 精密質量による化合物の識別例

3・2 フラグメンテーションの傾向解析

3・2・1 カチノン類のフラグメンテーション解析

カチノン類は指定薬物の物質数の 50%以上を占める主要な化合物群である。94 種類のカチノン類についてフラグメンテーションを解析した結果、図3に示すカルボニル基の α 位及び、窒素原子の α 位で開裂した 3 種類のフラグメントイオン(Fragment 1~3)が強い強度で検出されやすいことが分かった。また、構造にピロリジン環を含む化合物の場合には、コリジョン電圧を上げるに従ってピロリジン環に相当する Fragment 4 が検出され、Fragment 2 の構造を推定する上で重要な所見と考えられた。

図4には測定・解析の例として 4-methoxy PV9 の結果を示した。マススペクトルがこれまでに見いだしたフラグメンテーションの傾向と一致しており(図5)、検出されたフラグメントイオンの精密質量も理論値と高い精度で一致した(表2)。また、Fragment D の強度変化を図6に示した。

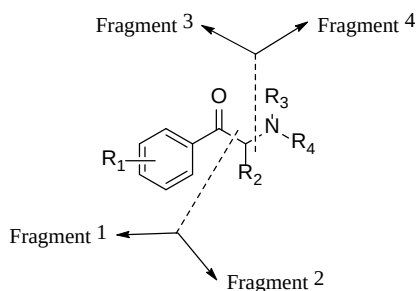


図 3 カチノン類のフラグメンテーション

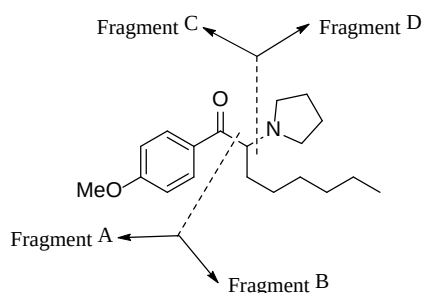


図 4 4-methoxy PV9 のフラグメンテーション解析

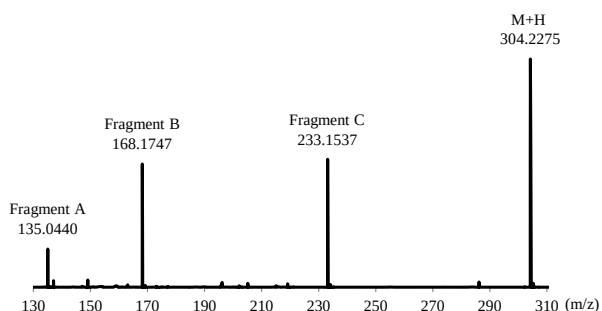


図 5 4-methoxy PV9 のマススペクトル

表 2 4-methoxy PV9 のフラグメントイオンの精密質量

	組成式	精密質量	
		理論値	測定値
M+H	[C19H29NO2]+H	304.2271	304.2275
Fragment A	C8H7O2	135.0446	135.0440
Fragment B	C11H22N	168.1752	168.1747
Fragment C	C15H21O2	233.1542	233.1537
Fragment D	C4H8N	70.0657	70.0653

3・2・2 合成カンナビノイドのフラグメンテーション

指定薬物に指定されている合成カンナビノイドはインドール誘導体、カルボニル基、ナフタレン誘導体の 3 つのセグメント(分子内の部分的構造)からなる化合物が主要な

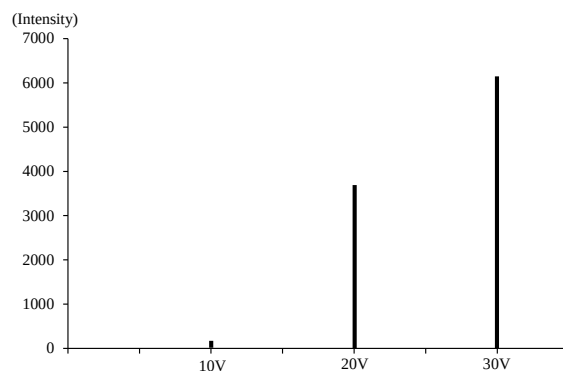


図 6 コリジョン電圧変化による Fragment D(ピロリジン環)由来のフラグメントイオンの強度変化

ものである。これらの化合物についてフラグメンテーションを解析した結果、カルボニル基の両端の α 位で開裂が起こり、Fragment 5~7 が検出されやすいことが明らかとなった(図 7)。

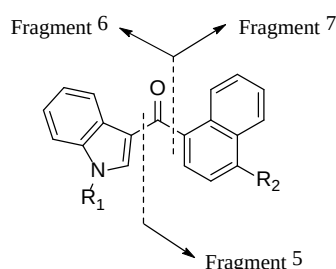


図 7 カンナビノイド類のフラグメンテーション①

一方で、図 8-A のようにセグメントとしてインダゾール誘導体を含む化合物は Fragment 8、フェニル基誘導体を含む化合物(図 8-B)は Fragment 9、ベンジル基誘導体を含む化合物(図 8-C)は Fragment 10 及び 11、アダマンチル基を含む化合物(図 8-D)は Fragment 12 がそれぞれ検出されやすいことが明らかとなった。これらの結果から、セグメントの違いにより開裂しやすい部位及び検出されやすいフラグメントイオンに異なる傾向が見られた。

また、インドール骨格及びインダゾール骨格の窒素原子に結合する置換基が図 9 に示すフルオロベンジル、N-メチルピペリジン、モルホリン、N-メチルアゼパンの場合は特に開裂しやすく、窒素原子の α 位で開裂したフラグメントイオンが検出されやすいことがわかった。

図 10 には測定・解析例として FUB-JWH-018 の結果を示した。検出されたマススペクトルのフラグメンテーションの傾向(図 11)、フラグメントイオンの精密質量共に高い精度で一致することが確認できた(表 3)。また、インドール置換基由来のフラグメントイオンも強い強度で検出された。

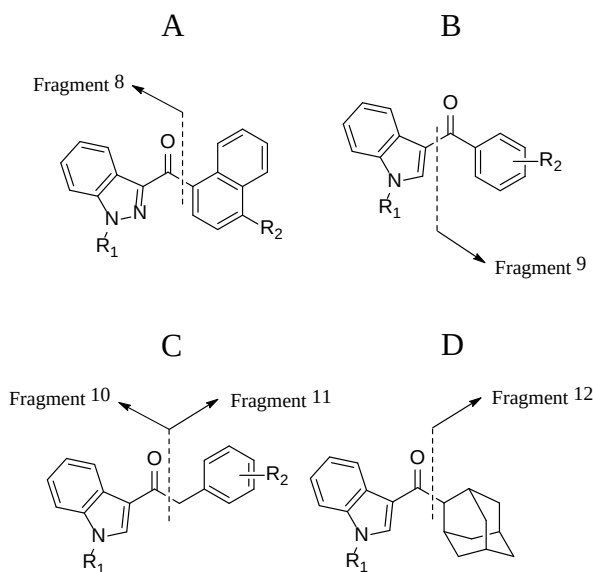


図 8 カンナビノイド類のフラグメンテーション②

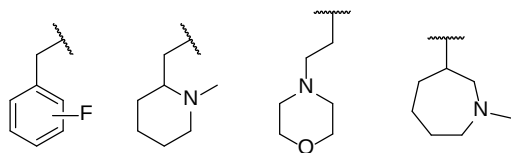


図 9 フラグメントイオンが検出されやすいインドール及びピインダゾール置換基

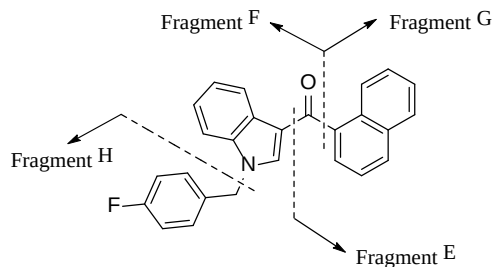


図 10 FUB-JWH-018 のフラグメンテーション解析

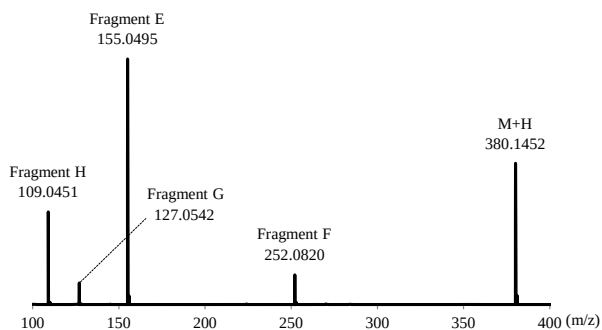


図 11 FUB-JWH-018 のマスペクトル

表 3 FUB-JWH-018 のフラグメントイオンの精密質量

組成式		精密質量	
		理論値	測定値
M+H	[C26H18FNO]+H	380.1445	380.1452
Fragment E	C11H7O	155.0497	155.0495
Fragment F	C16H11FNO	252.0825	252.0820
Fragment G	C10H7	127.0548	127.0542
Fragment H	C7H6F	109.0454	109.0451

3・2・3 トリプタミン類のフラグメンテーション

トリプタミン類のフラグメンテーションを解析した結果、窒素原子の α 位及び β 位で開裂し Fragment 13 及び 14 が検出されやすいことがわかった(図 12)。また、インドール骨格の 4 位または 5 位に置換基として水酸基、メトキシ基、アセチル基が置換してもフラグメンテーションの傾向に違いは見られなかった。

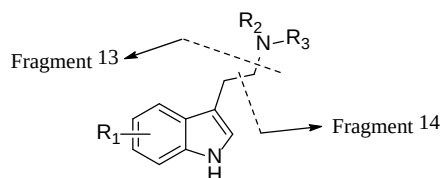


図 12 トリプタミン類のフラグメンテーション

図 13、図 14 及び表 4 には測定・解析例として 4-hydroxy MiPT の結果を示した。

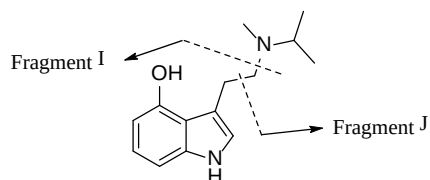


図 13 4-hydroxy MiPT のフラグメンテーション解析

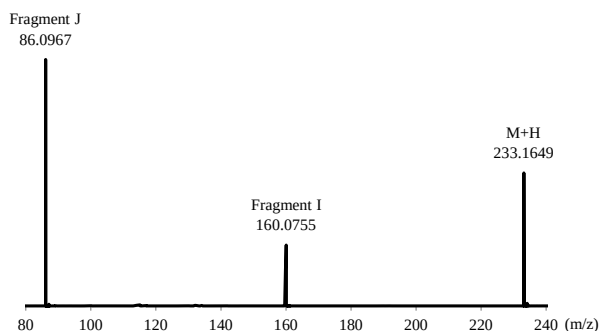


図 14 4-hydroxy MiPT のマスペクトル

表 4 4-hydroxy MiPT のフラグメントイオンの精密質量

	組成式	精密質量	
		理論値	測定値
M+H	C ₁₄ H ₂₀ N ₂ O	233.1648	233.1649
Fragment I	C ₁₀ H ₁₀ NO	160.0762	160.0755
Fragment J	C ₅ H ₁₂ N	86.0970	86.0967

3・2・4 フェネチルアミン類のフラグメンテーション解析

フェネチルアミン類は図 15 に示すように大きく 2 種類の構造が存在する。フラグメンテーション解析を行った結果、どちらの構造においても窒素原子の α 位で開裂し、Fragment 15 及び 16 または Fragment 17 が検出されやすいことがわかった。

図 16、図 17 及び表 5 には測定・解析例として 25E-NBOMe の結果を示した。

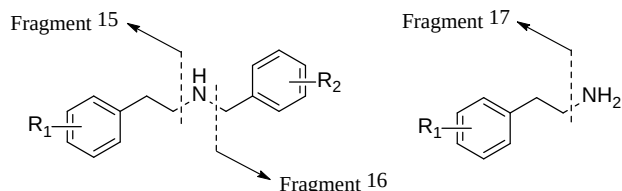


図 15 フェネチルアミン類のフラグメンテーション

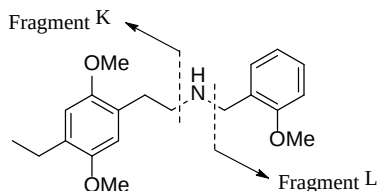


図 16 25E-NBOMe のフラグメンテーション解析

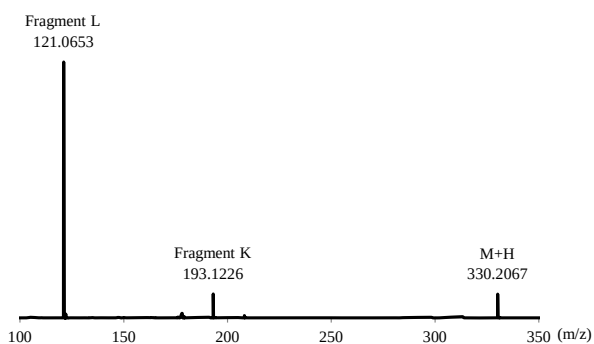


図 17 25E-NBOMe のマスペクトル

3・2・5 フェンタニル類のフラグメンテーション解析

フェンタニル類は図 18 に示す構造をしており、分子内

表 5 25E-NBOMe のフラグメントイオンの精密質量

	組成式	精密質量	
		理論値	測定値
M+H	[C ₂₀ H ₂₇ NO ₃]+H	330.2064	330.2067
Fragment K	C ₁₂ H ₁₇ O ₂	193.1229	193.1226
Fragment L	C ₈ H ₉ O	121.0653	121.0653

にフェネチルピペリジン骨格を含んでいる。フラグメンテーションを解析した結果、二つ存在する窒素原子のそれぞれの α 位で開裂し、フェネチルピペリジン骨格に由来する Fragment 18 及び 19 が検出されやすいことがわかった。

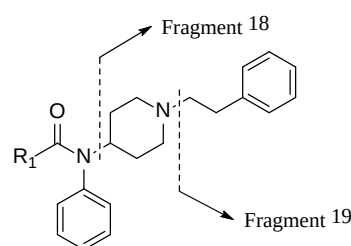


図 18 フェンタニル類のフラグメンテーション

図 19、図 20 及び表 6 には測定・解析例として Ocfentanil の結果を示した。

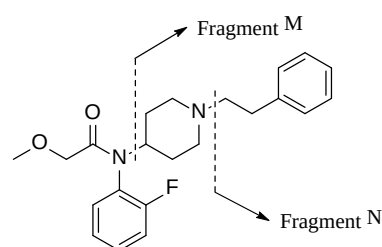


図 19 Ocfentanil のフラグメンテーション解析

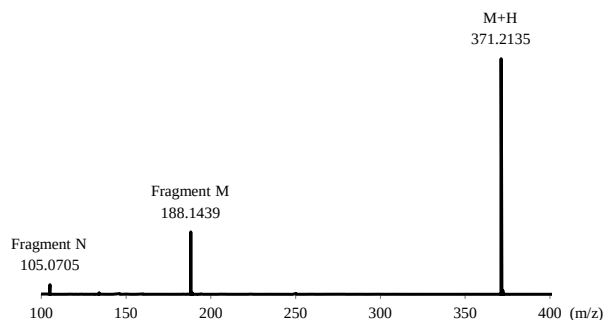


図 20 Ocfentanil のマスペクトル

4 まとめ

本研究では LC/Q-TOF/MS を用いた分析法の開発及び危

表6 Ocfentanilのフラグメントイオンの精密質量

組成式		精密質量	
		理論値	測定値
M+H	[C22H27FN2O2]+H	371.2129	371.2135
Fragment M	C13H18N	188.1439	188.1439
Fragment N	C8H9	105.0704	105.0705

陰ドラッグの系統ごとにフラグメンテーションの傾向について解析を行った。分析法の開発では、様々な性質の化合物を測定可能な機器分析条件を設定し、実際の危険ドラッグ分析に適用可能な分析法を確立した。また、精密質量を用いることで同定精度を大幅に向上することができた。フラグメンテーションの傾向解析では5種類(カチノン類、合成カンナビノイド、トリプタミン類、フェネチルアミン類、フェンタニル類)の化合物群について検討した。その結果、化合物の系統ごとに開裂しやすい部位や検出されやすいフラグメントイオンに関して多くの知見を得た。これらの知見は、マスマススペクトルから構造推定を行う上で重要な基礎情報になると考えられた。一方で、特に位置異性体の構造推定については保持時間、フラグメンテーションに

違いがほとんど無く、質量分析装置のみによる同定は非常に困難であると考えられた。このため、信頼性の高い分析結果とするためにはNMRなどの分光分析装置の併用が必須であると考えられた。今後もさらなるデータの蓄積を行うことで精度の高い分析及び構造推定が可能となると考えられた。

文献

- 1) 厚生労働省：薬物乱用対策，
(http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/iyakuhin/yakubutsuranyou_taisaku/index.html)
- 2) 厚生労働省：危険ドラッグ販売店舗数の推移，
(http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/iyakuhin/yakubuturanyou/oshirase/20150819-1-03.html)
- 3) 厚生労働省：薬物乱用防止に関する情報，
(http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/iyakuhin/yakubuturanyou/index.html)
- 4) 警察庁刑事局組織犯罪対策部 薬物銃器対策課：平成28年度上半期における薬物・銃器情勢 暫定値

(英文要旨)

Development of high-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry (LC/Q-TOF/MS) screening method for illegal drugs

Toshitaka KOGISO, Yoriko SHINTANI, Tsuguhide HORI and Jumboku KAJIWARA

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,

Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

Serious accidents caused by illegal drug use have become a major social problem. Consequently, various efforts to eradicate their use have been made, but their use is still prevalent. In this study, we developed a high-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry(LC/Q-TOF/MS) method for screening illegal drugs, and investigated structure estimation by fragment ion analysis. The method was useful for drug screening, and the exact mass could be used to improve the identification accuracy. Fragmentation patterns were identified and could be used to estimate a structure.

[Key words ; Illegal drug , LC/Q-TOF/MS , Fragmentation]

原著

福岡県内河川におけるネオニコチノイド系農薬及びフィプロニルの動態

志水信弘・柏原学・古閑豊和

ネオニコチノイド系農薬（NNCs）7種とフィプロニルの県内河川における動態を明らかにし、出荷量や物性情報から検出要因を考察した。県内河川における検出率（n=210）は、ジノテフラン（91.4 %）、イミダクロプリド（70.0 %）、チアメトキサム（59.5 %）、クロチアニジン（51.0 %）、フィプロニル（28.1 %）、アセタミプリド（9.0 %）の順で高く、チアクロプリド及びニテンピラムはほとんど検出されなかった。また、ジノテフランやフィプロニルの最大濃度は、地域や季節によって特徴的な変化を示し、ジノテフラン、アセタミプリド、イミダクロプリド及びフィプロニルの検出状況は、出荷量、物性及び使用状況が影響したと考えられた。さらにNNCsとフィプロニルの最大濃度は、水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の1/50以下であり、生態系への影響は低いと考えられた。

[キーワード：ネオニコチノイド、フィプロニル、LCMS、農薬登録保留基準]

1 はじめに

ネオニコチノイド系農薬（以下 NNCs とする。）は、稲への浸透移行性と殺虫効果を持ち、1990 年代から水稲用農薬などとして普及した^{1), 2), 3)}。一方、国内ではこれらの農薬の普及とトンボ類の減少の時期が一致するとの報告があり、(独) 国立環境研究所では平成 26 年度からトンボ類の生息状況と NNCs の残留状況を調査しているが、因果関係は不明である^{4), 5)}。この調査の中で、広島県、佐賀県の河川において検出される NNCs（フェニルピラゾール系農薬のフィプロニルを含む。）の濃度が比較的高く、その種類も多いことが報告されている^{4), 5)}。前記の県は福岡県とも近く、本県も同様な状況が考えられ、水生昆虫等の生態系保全の観点からこれら農薬について注意が必要と考えられた。

そこで、本研究では NNCs 7 種とフィプロニルを対象として県内河川における動態を明らかにし、県内出荷量や物性情報から NNCs の検出要因を考察した。

2 研究方法

2・1 試薬及び分析方法

農薬は、NNCs としてジノテフラン、ニテンピラム、チアメトキサム、クロチアニジン、イミダクロプリド、アセタミプリド及びチアクロプリドを、フェニルピラゾール系農薬としてフィプロニルを対象とした。NNCs は、ネオニコチノイド系農薬混合標準溶液（和光純薬工業(株)製、10 mg/L）を標準物質としてメタノールで適宜希釈し、使用した。またフィプロニルは、残留農薬試験用フィプロニル標

準品（和光純薬工業(株)製）10 mg をメタノール 10 ml に溶かしたものを標準原液（1000 mg/L）とし、適宜メタノールで希釈し、使用した。

水は、LCMS 用試薬（関東化学(株)製）を使用した。メタノール及びアセトニトリルは、LCMS 用試薬（和光純薬工業(株)製）を使用した。

分析は、固相抽出-質量分析法により次のとおり行った。試料水をポリプロピレン製容器に採取して、実験室に持ち帰り、即日前処理を行った。固相抽出カートリッジは、InertSep mini RP-1（GL サイエンス(株)製）を使用した。カートリッジをメタノール 10 ml 及び水 10 ml でコンディショニングし、試料水 50 ml を通水後、水 10 ml で洗浄した。このカートリッジから間隙水を抜いた後、メタノール 3.5 ml で溶出し、水で 5 ml に定容し、分析用試料とした。

2・2 使用機器

各農薬の測定には、液体クロマトグラフ質量分析計（以降 LCMS とする。）を用い、日本ウォーターズ(株)製の Acquity UPLC system 及び Xevo TQ-S を使用した。

3 結果及び考察

3・1 分析法の検討

NNCs 及びフィプロニルの LCMS 測定条件を小林らの方法⁶⁾を参考として検討した。LC 条件及び MS 条件をそれぞれ表 1 及び表 2 に示す。ジノテフランのプロダクトイオンは、m/z 129 に妨害ピークが存在したため、m/z 113 に変更した。また、NNCs とフィプロニルを同時分析した際に

表 1 LC 条件

Column	InertSustain C18(2 μm, 2.1 mm i.d.×100 mm)
Mobile phase	A: 0.1 % Formic acid, 5mM Ammoniumacetate B: Acetonitrile for Neonicotinoid
Gradient program	A:B=95:5 (0 min)→95:5 (1 min) →10:90 (8 min)→10:90 (11 min) →95:5 (11.01 min)→95:5 (15 min) for Fipronil
Flow rate	0.2 ml/min
Column temp.	40 °C
Injection vol.	5 μl

表 2 MS 条件

Compound	ESI +/-	Capillary Voltage (kV)	Cone Voltage (kV)	Collision Energy (eV)	SRM Transition
Dinotefuran	+	3	15	12	203 > 113
Nitenpyram	+	3	30	28	271 > 126
Thiamethoxam	+	3	25	13	292 > 211
Clothianidin	+	3	25	12	250 > 169
Imidacloprid	+	3	30	20	256 > 175
Acetamiprid	+	3	30	23	223 > 126
Thiacloprid	+	3	30	23	253 > 126
Fipronil	-	3	50	17	435 > 330

表 3 IDL、MDL、MQL 及び回収率

Pesticide	MDL* (ng/L)	MQL** (ng/L)	Recovery (%)
Dinotefuran	1.9	5.0	110
Nitenpyram	1.7	4.4	91.8
Thiamethoxam	0.88	2.2	102
Clothianidin	2.6	6.7	102
Imidacloprid	1.1	2.9	99.6
Acetamiprid	1.2	3.1	90.7
Thiacloprid	2.3	5.9	85.1
Fipronil	1.3	3.3	94.7

* : Method Detection Limit

** : Method Quantification Limit

フィプロニルのキャリアオーバーが発生したため、フィプロニルの LC 条件を検討し、NNCs とは別に測定することとした。

50～5000 ng/L の濃度範囲で 70%メタノール混合標準溶液 (NNCs7 種及びフィプロニルを含む。以下混合標準液とする。) を 7 点調製し、5 μl を LCMS に注入し、注入濃度とピーク面積の関係から検量線を作成した。各農薬の相関係数 (r) は、0.9993 以上と良好であった。

化学物質環境実態調査実施の手引き (平成 27 年度版)⁷⁾に基づき、分析方法の検出下限値 (以下 MDL とする。) 及び定量下限値 (以下 MQL とする。)⁷⁾を算出した。その結果を表 3 に示す。各農薬の MDL は 0.88～2.6 ng/L、MQL は 2.2～6.7 ng/L であり、以後の分析では MDL の値を検出下限値とした。また、この時の各農薬の回収率は、85.1～110 % と良好であった。

3・2 県内河川水中の NNCs 及びフィプロニルの濃度

県内の河川水中における NNCs 及びフィプロニルの動態を明らかにするため、福岡県が測定している河川の環境基準点 (豊前海流入河川 (21 地点)、遠賀川水系河川 (6 地点)、筑前海流入河川 (15 地点)、博多湾流入河川 (4 地点)、筑後川水系河川 (7 地点)、矢部川水系河川 (8 地点)、大牟田市内河川 (9 地点)、合計 70 地点) を対象として調査した。NNCs 及びフィプロニルの河川水中の予測濃度の検討^{8)～15)}によると、アセタミプリドを除いて水稻用農薬による河川への流出が予想されている。そこで調査時期を水稻作付後の 2016 年 7 月、収穫期の 10 月及び農閑期の 2017 年 1 月に行った。農薬、地域及び調査時期毎に最小値、最大値及び検出率を算出し、その結果を表 4 に示した。

県内河川における検出率 (n=210) は、ジノテフラン (91.4 %)、イミダクロプリド (70.0 %)、チアメトキサム (59.5 %)、クロチアニジン (51.0 %)、フィプロニル (28.1 %)、アセタミプリド (9.0 %) の順で高く、チアクロプリド (1.4 %) 及びニテンピラム (0 %) はほとんど検出されなかった。

ジノテフランの検出率は、豊前海流入河川の 1 月を除き 83～100 % と最も高く、1 年を通じて検出された。また最大濃度は、大牟田市内河川の 610 ng/L であり、他の農薬の値 (4.3～62 ng/L) に比し 1 桁高い濃度であった。最大濃度の季節変化を見ると、豊前海流入河川、遠賀川水系河川、博多湾流入河川、筑前海流入河川、大牟田市内河川では、7 月が最も高く、その後 10 月、1 月と順に低くなっている。筑後川水系河川では、年間を通し 190 ng/L 以上の濃度を示すが、10 月に 250 ng/L と最も高い値を示した。矢部川水系では、筑後川水系河川と同様に 10 月が最も高い値を示すなど地域によって推移のパターンが異なっていた。

イミダクロプリドも 2 番目に検出率が高く、70.0%の試料で検出されたが、最大濃度は 14 ng/L と検出下限値 (1.1 ng/L) の 10 倍程度であった。

チアメトキサム、クロチアニジンは、地域や時期によって検出率が 0～100 % と一定しておらず、最大濃度 (チアメトキサム : 62 ng/L、クロチアニジン : 36 ng/L) は検出下限値 (チアメトキサム : 0.88 ng/L、クロチアニジン : 2.6 ng/L) の 14～70 倍程度であった。

フィプロニルは、筑前海流入河川と大牟田市内河川を除き 7 月に特異的に高い検出率 (50～93 %) を示した。また最大濃度は、27 ng/L と検出下限値 (1.3 ng/L) の 20 倍程度であった。

アセタミプリドの検出率は、矢部川水系を除くと 30%未満もしくは検出されないことが多く、最大濃度は 26 ng/L と検出下限値 (1.2 ng/L) の 20 倍程度であった。

表 4 NNCs 及びフィプロニルの福岡県内の河川水中濃度の概要

Area	Month	Dinotefuran			Nitenpyram			Thiamethoxam			Clothianidin		
		Min.	Max.	Detection Rate	Min.	Max.	Detection Rate	Min.	Max.	Detection Rate	Min.	Max.	Detection Rate
		(ng/L)	(ng/L)	(%)	(ng/L)	(ng/L)	(%)	(ng/L)	(ng/L)	(%)	(ng/L)	(ng/L)	(%)
豊前海流入河川	July.2016	<1.9	170	95.2	<1.7	<1.7	0	<0.88	3.8	61.9	<2.6	7.6	42.9
	Oct.2016	<1.9	10	95.2	<1.7	<1.7	0	<0.88	16	52.4	<2.6	6.1	23.8
	Jan.2017	<1.9	7.8	61.9	<1.7	<1.7	0	<0.88	4.0	19.0	<2.6	3.8	4.8
遠賀川水系河川	July.2016	<1.9	540	83.3	<1.7	<1.7	0	<0.88	2	33.3	<2.6	32	83.3
	Oct.2016	3.5	15	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	1.2	83.3	<2.6	5.4	33.3
	Jan.2017	<1.9	9.0	83.3	<1.7	<1.7	0	<0.88	<0.88	0	<2.6	10	66.7
博多湾流入河川	July.2016	5.5	87	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	5.3	50.0	<2.6	3.1	50.0
	Oct.2016	7.4	27	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	<0.88	0	<2.6	<2.6	0.0
	Jan.2017	2.2	10	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	<0.88	0	<2.6	<2.6	0.0
筑前海流入河川	July.2016	<1.9	52	86.7	<1.7	<1.7	0	<0.88	4.9	60.0	<2.6	26	80.0
	Oct.2016	<1.9	34	86.7	<1.7	<1.7	0	<0.88	7.0	93.3	<2.6	10	80.0
	Jan.2017	<1.9	24	86.7	<1.7	<1.7	0	<0.88	15	53.3	<2.6	14	66.7
筑後川水系河川	July.2016	12	190	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	14	71.4	<2.6	13	71.4
	Oct.2016	11	250	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	7.0	71.4	2.8	11	100
	Jan.2017	8.0	200	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	6.8	71.4	<2.6	8.5	42.9
矢部川水系河川	July.2016	3.2	47	100	<1.7	<1.7	0	1.0	62	100	<2.6	25	37.5
	Oct.2016	10	200	100	<1.7	<1.7	0	1.7	4.0	100	<2.6	14	37.5
	Jan.2017	6.5	28	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	3.2	62.5	<2.6	5.2	12.5
大牟田市内河川	July.2016	7.4	610	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	2.3	77.8	<2.6	36	77.8
	Oct.2016	16	290	100	<1.7	<1.7	0	1.0	18	100	4.0	18	100
	Jan.2017	8.4	410	100	<1.7	<1.7	0	<0.88	2.5	55.6	<2.6	10	77.8
福岡県		<1.9	610	91.4	<1.7	<1.7	0	<0.88	62	59.5	<2.6	36	51.0

Area	Month	Imidacloprid			Acetamiprid			Thiacloprid			Fipronil		
		Min.	Max.	Detection Rate	Min.	Max.	Detection Rate	Min.	Max.	Detection Rate	Min.	Max.	Detection Rate
		(ng/L)	(ng/L)	(%)	(ng/L)	(ng/L)	(%)	(ng/L)	(ng/L)	(%)	(ng/L)	(ng/L)	(%)
豊前海流入河川	July.2016	<1.1	3.9	81.0	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	12.0	71.4
	Oct.2016	1.3	3.6	100	<1.2	1.6	4.8	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
	Jan.2017	<1.1	<1.1	0	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
遠賀川水系河川	July.2016	<1.1	5.0	66.7	<1.2	26	16.7	<2.3	<2.3	0	<1.3	20	83.3
	Oct.2016	1.3	1.7	100	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
	Jan.2017	<1.1	<1.1	0	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
博多湾流入河川	July.2016	1.8	2.8	100	<1.2	4.2	25.0	<2.3	<2.3	0	<1.3	7	50.0
	Oct.2016	1.4	1.9	100	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
	Jan.2017	<1.1	3.4	25.0	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
筑前海流入河川	July.2016	<1.1	14	80.0	<1.2	9.1	20.0	<2.3	<2.3	0	<1.3	27	93.3
	Oct.2016	1.3	4.8	100	<1.2	<1.2	0	<2.3	3.6	6.7	<1.3	6.8	20.0
	Jan.2017	<1.1	7.2	46.7	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	2.1	6.7
筑後川水系河川	July.2016	<1.1	9.2	57.1	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	4.4	71.4
	Oct.2016	1.3	3.6	100	<1.2	2.7	28.6	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
	Jan.2017	<1.1	7.8	42.9	<1.2	2.9	14.3	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
矢部川水系河川	July.2016	1.1	3.8	100	<1.2	3.8	62.5	<2.3	2.3	12.5	<1.3	5.4	62.5
	Oct.2016	2.0	3.5	100	<1.2	1.9	50.0	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
	Jan.2017	<1.1	3.5	37.5	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
大牟田市内河川	July.2016	<1.1	5.1	88.9	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	3.6	77.8
	Oct.2016	1.7	14	100	<1.2	1.2	11.1	<2.3	4.3	11.1	<1.3	12	22.2
	Jan.2017	<1.1	1.9	66.7	<1.2	<1.2	0	<2.3	<2.3	0	<1.3	<1.3	0
福岡県		<1.1	14	70.0	<1.2	26	9.0	<2.3	4.3	1.4	<1.3	27	28.1

3・3 NNCs の検出状況と出荷量、物性及び使用状況による考察

NNCs 及びフィプロニルの検出状況の要因を検討するため、福岡県内の出荷量⁸⁾（以下出荷量とする。）及び物性（オクタノール水分配係数（以下 LogPow とする。）、土壌吸着係数、自然水中における光分解半減期（以下半減期とする。))を表 5 に示す。出荷量は、出典の最新データであ

る 2014 年度の数値を引用した。また使用状況は、福岡県内の JA が公開している稲作ごよみ^{17)~19)}を参考にした。

ジノテフランの出荷量（表 5、5.99 t 又は kL）は最も多く、他の NNCs の 2.8~37 倍であり実際の使用量も最も多いと推定される。また、LogPow は、-0.549（表 5）と低い

ため水溶性が高く、水とともに移動するため河川に流出しやすいと考えられる。調査結果では、ジノテフランがほぼ

表 5 NNCs 及びフィプロニルの出荷量及び物性情報

Pesticide	Shipment in Fukuoka pref.(2014) (t or kL)	logPow	Soil adsorption equilibrium constant	Half life by photodegradation in natural water
Dinotefuran	5.99	-0.549(25°C)	-	3.8h
Nitenpyram	0.161	-0.66(25°C)	44.6-348	24-36.2min
Thiamethoxam	0.541	-0.13(25°C)	16-32	4.3h
Clothianidin	0.573	0.7(25°C)	90-250	46-58min
Imidacloprid	0.978	0.57(21°C)	175.0-376.2	61min
Acetamiprid	2.142	0.80(25°C)	120-270	20.1days
Thiacloprid	0.521	1.26(20°C)	230-660	42.5-79.7days
Fipronil	0.574	4.00(20°C)	550-7800	61h

全ての河川で検出され、最大濃度も高かった。その要因の一つとして前記の使用量の多さ及び水溶性の高さが影響したものと考えられた。また、稲作ごよみ^{17)~19)}によるとジノテフランの使用時期は、カメムシ及びウンカの防除のため 8~9 月であった。一方、調査結果のジノテフランの最大濃度は、地域毎に 7 月が最も高いものや年間を通じて高いもの等があり、使用時期と一致せず、その要因は不明であった。

アセタミプリドは、ジノテフランに次いで出荷量(表 5、2.142 t 又は kL)が多く、使用量も多いと推定されるが、調査結果では検出率等が低かった。これは、NNCs の中でアセタミプリドにのみ適用作物に水稻が含まれず、畑地の野菜等へ使用される¹²⁾ことが要因の一つと考えられる。一般的に畑地は、水田と比較して農薬の表面流出が少ないとされ²⁰⁾、そのためアセタミプリドも流出しにくかったと考えられる。さらにアセタミプリドは、他の NNCs と比較してやや疎水的(表 5、LogPow : 0.80)であり、土壌吸着係数(表 5、120-270)も中位の値であることから土壌への吸着等も影響し、河川への流出が少なかったと考えられる。

出荷量(表 5、0.978 t 又は kL)が 3 番目に多いイミダクロプリドは、物性(表 5、LogPow : 0.57、土壌吸着係数 : 175.0-376.2)がアセタミプリドと類似している。しかし、調査結果では検出率(70.0 %)が高く、アセタミプリドの低い検出率と異なっていた。この要因の一つは、イミダクロプリドの適用作物に水稻が含まれており、田面水を通じた河川への流出機会が多かったためと考えられる。

フィプロニルの出荷量は 4 番目に多く(表 5)、調査結果では 7 月に検出される傾向があった。稲作ごよみ^{17)~19)}によるとフィプロニルは田植時の箱施薬としてその使用時期が集中していた。そのため、田植後の 7 月に検出されたものと考えられる。また、LogPow(表 5、4.00)や土壌吸着係数(表 5、550-7800)も高く、土壌等に吸着されやすいため河川水中濃度は速やかに低下すると考えられ、このことも要因となって 7 月にのみ検出されたものと考えられる。

河川調査の結果で検出されなかったニテンピラムは、出荷量(表 5、0.16 t 又は kL)が最も少なく、半減期も 30 分程度と短いため使用量が少なく、河川に流出しても分解されて検出されなかったと考えられる。

クロチアニジン、チアメトキサム及びチアクロプリドについては、引用したデータに顕著な特徴が見られず、調査結果との考察はできなかった。

3・4 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準との比較

今回の調査結果から水生昆虫等への生態影響を考察するため、水産動植物(魚類、甲殻類、藻類)への毒性を考慮して設けられている水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準(以下基準とする。)²¹⁾と比較した。NNCs 及びフィプロニルの河川調査の最大濃度は、全て基準の 1/50 以下であった。従って今回の調査結果では、県内河川の NNCs 及びフィプロニルによる生態系への影響は低いと考えられた。

表 6 NNCs 及びフィプロニルの河川水中最大濃度と水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準

Pesticide	Max. conc. in river water (ng/L)	Standard* (µg/L)
Dinotefuran	610	24000
Nitenpyram	<1.7	9900
Thiamethoxam	62	3.5
Clothianidin	36	2.8
Imidacloprid	14	8500
Acetamiprid	26	5.7
Thiacloprid	4.3	840
Fipronil	27	19

*:Registration withholding standard of pesticide for aquatic animals and plants

4 まとめ

- ① NNCs 及びフィプロニルの MDL 及び MQL は、0.88~2.6 ng/L 及び 2.2~6.7 ng/L であった。また回収率は、

- ② 85.1～110 %と良好であった。
- ③ 県内河川の検出率は、ジノテフラン (91.4 %)、イミダクロプリド (70.0 %)、チアメトキサム (59.5 %)、クロチアニジン (51.0 %)、フィプロニル (28.1 %)、アセタミプリド (9.0 %) の順で高く、チアクロプリド及びニテンピラムはほとんど検出されなかった。
- ④ ジノテフランやフィプロニルの最大濃度は、地域や季節によって特徴的な変化を示した。
- ⑤ ジノテフラン、アセタミプリド、イミダクロプリド及びフィプロニルの検出状況は、出荷量、物性及び使用状況が影響したと考えられた。
- ⑥ NNCs及びフィプロニルの河川中最大濃度は、水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準より50倍以上低く、生態系への影響は低いと考えられた。

文献

- 1) 満井順：農薬時代, 197, 23-25, 2016.
- 2) 塩川ら：日本農薬学会誌, 19, S209-S217, 1994.
- 3) 脇田ら：日本農薬学会誌, 30(2), 133-138, 2005.
- 4) (独) 国立環境研究所：平成 26 年度農薬の環境影響調査業務報告, 2015.
- 5) (独) 国立環境研究所：平成 27 年度農薬の環境影響調査業務報告, 2016.
- 6) 小林ら：環境科学会誌, 27(1), 3-19, 2014.
- 7) 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）, 2015.
- 8) (独) 国立環境研究所：Webkis-plus（農薬データベース）, http://www.nies.go.jp/kis-plus/index_3.html

- 9) 環境省：水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料（ジノテフラン）, 2008.
- 10) 環境省：水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料（ニテンピラム）, 2008.
- 11) 環境省：水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料（チアメトキサム）, 2016.
- 12) 環境省：水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料（クロチアニジン）, 2016.
- 13) 環境省：水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料（イミダクロプリド）, 2008.
- 14) 環境省：水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料（アセタミプリド）, 2012.
- 15) 環境省：水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料（チアクロプリド）, 2012.
- 16) 環境省：水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料（フィプロニル）, 2011.
- 17) JA 粕屋：平成 29 年度稲作ごよみ, http://www.ja-kasuya.or.jp/?page_id=488
- 18) JA 筑前あさくら：稲作ごよみ, <http://www.asakura-flk-jp.or.jp/inasaku/>
- 19) JA 福岡京築：稲作ごよみ, <http://www.ja-kei.or.jp/support.html>
- 20) (財) 日本植物調節剤研究協会：平成 20 年度農薬流出防止技術評価事業調査結果報告書
- 21) 西嶋英樹：水環境学会誌, 35(A), 230-234, 2012.

(英文要旨)

Behavior of Neonicotinoids and Fipronil in River Water in Fukuoka Prefecture

Nobuhiro SHIMIZU, Manabu KASHIWABARA and Toyokazu KOGA

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

We investigated the behavior of neonicotinoids (NNCs) and fipronil in river water in Fukuoka Prefecture, and evaluated how the detection of each pesticides was related to shipping amounts and physical properties. The detection rates in Fukuoka Prefecture were high for dinotefuran (91.4 %), imidacloprid (70.0 %), thiamethoxam (59.5 %), clothianidin (51.0 %), fipronil (28.1 %), and acetamiprid (9.0 %). Thiacloprid and nitenpyram were not detected in most of the samples. Characteristic changes in the maximum concentrations of dinotefuran and fipronil were observed with the area and season. Detection of dinotefuran, acetamiprid, imidacloprid, and fipronil was affected by the shipping amounts, physical properties and applications of each pesticides. The maximum concentrations of the NNCs and fipronil were more than 50 times lower than the registration withholding standards for pesticides for protection of aquatic animals and plants. These results suggest that NNCs and fipronil will have little effects on ecosystems.

[Key words; neonicotinoids, fipronil, LCMS, seasonal change]

短報

飲料中の指定外甘味料ズルチンのHPLCによる定量試験法及び

LC-qTOF/MSによる簡便かつ迅速な確認試験法の検討

佐藤環・小木曾俊孝・新谷依子・堀就英・梶原淳睦

赤ワインを試料として、飲料中の指定外甘味料ズルチンの定量及び確認試験法の検討を行った。定量試験法は、イオンペア試薬を用いない、より簡便な分析法を検討し性能評価を行った。その結果、定量下限付近の濃度 (0.02 g/kg) における真度及び再現性は、平均回収率が98.6%、相対標準偏差が6.3%であり良好な結果であった。また、LC-qTOF/MSを用いて確認試験法の検討を行ったところ、試料の前処理操作を必要とせず希釈のみで定性が可能であった。以上のことから、本試験法は飲料中のズルチンの定量及び確認試験法として有用であると考えられた。

[キーワード：指定外甘味料、ズルチン、HPLC、LC-qTOF/MS]

1 はじめに

食品添加物は保存料、甘味料、着色料、香料など、食品の製造過程や食品の加工・保存の目的で使用される化学物質である。これらは様々な食品に使用されており、消費者の食品添加物に対する関心は高い。これら化学物質の試験法を簡便で迅速なものに改良することは、検査の効率性向上に繋がり、県民の“食の安全性確保”に資するものである。

また、分析法の簡便・迅速化は健康危機管理の観点からも重要である。食品による健康被害が生じた場合、拡大防止のために正確かつ迅速な対応が求められる。地方衛生研究所においては、既存の機材・施設で対応可能な分析手法の準備と定期的な見直しが推奨されている¹⁾。そのため当所においても、様々な化学物質を健康被害の原因として想定し試験法の整備を図っている。

今回、対象物質として選んだ指定外甘味料ズルチン(図1)は、過去に食中毒事例²⁾が報告されている食品添加物の一つである。

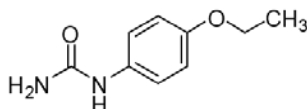


図1 ズルチンの構造式 (分子量：180.21)

ズルチンの一般的な定量試験法^{3) 4)}は、試料を透析後、固相カラム精製を行いHPLCにより分析する方法であるが、イオンペア試薬を用いるやや煩雑なものとなっている。また、ズルチンを分析対象とした食品中の食品添加物の確

認試験法は、液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS/MS)により分析する方法が報告されている^{3), 5) -7)}。しかし、LC-MS/MSを用いた分析では、試料由来のマトリックスの影響により分析が困難な場合がある⁸⁾。一方、液体クロマトグラフ四重極飛行時間型質量分析計(LC-qTOF/MS)は高い分解能を有しており、マトリックスの影響を受けずに目的物質の分析が可能になると考えられる。このことから、LC-qTOF/MSを用いた分析法は確認試験法として非常に有用であると考えられる。しかし、これまでに、食品中の食品添加物についてLC-qTOF/MSを用いて分析した報告はない。

そこで本研究ではまず、イオンペア試薬を用いない、より簡便なズルチンの定量試験法を検討し分析法の性能評価を行った。さらに、LC-qTOF/MSを用いてズルチンの簡便かつ迅速な確認試験法の検討を行った結果について報告する。

2 方法

2・1 試料

予めズルチンを含まないことを確認した赤ワインを試料として検討に用いた。

2・2 標準物質

ズルチン標準物質(食品分析用)は関東化学社製を用いた。ズルチン標準物質20 mgを精秤後、メタノールで20 mLに定容し標準原液(1000 µg/mL)とした。この標準原液をメタノール：水(1：1)混液で適宜希釈し、試料への標準物質の添加及び検量線の作成に用いた。

2・3 試薬

メタノール (LC/MS 用)、蒸留水 (LC/MS 用)、アセトニトリル (LC/MS 用)、りん酸水素二ナトリウム (特級)、りん酸二水素ナトリウム (特級) は関東化学社製を用いた。1 mol/L 塩酸、塩化ナトリウム (特級)、1 mol/L ギ酸アンモニウム溶液 (高速液体クロマトグラフ用) は和光純薬社製を用いた。Sep-Pak C18 (充填量 1 g) 固相カートリッジカラムは Waters 社製、透析膜 (分画分子量 12000~14000) は Thermo Fisher Scientific 社製、フィルター (孔径 0.45 μm) 付きバイアルは GE ヘルスケア社製を用いた。

2・4 HPLC による定量試験法

2・4・1 装置及び分析条件

HPLC 条件は表 1 に示した。

表 1 HPLC 条件

LC装置	: LC-10ADvp (SHIMADZU)
UV検出器	: SPD-10AV (SHIMADZU)
分析カラム	: Inertsil ODS-2 (GL Sciences, 4.6 $\times$ 250 mm, 5 μm)
カラム温度	: 40 $^{\circ}\text{C}$
移動相	: 25%メタノール (アイソクラティック)
移動相流量	: 1.0 mL/min
注入量	: 10 μL
検出波長	: 230 nm

2・4・2 試験溶液の調製

試料 20 g を量り取り、約 20 mL の透析内液 (10%塩化ナトリウム含有 0.01 mol/L 塩酸) とともに透析膜に充てんした。これを 200 mL のメスシリンダーに入れ、透析外液 (0.01 mol/L 塩酸) で全量を 200 mL とし、ときどき揺り動かしながら室温で約 18~20 時間透析した。透析外液 10 mL を分取し、0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH5.0) で 20 mL に定容した。よく混和した後、C18 (1 g) 固相カートリッジカラムに 10 mL を負荷し、流出液は捨てた。蒸留水 30 mL、メタノール : 水 (1 : 9) 混液 5 mL で順次洗浄した後、メタノール : 水 (1 : 1) 混液 10 mL で溶出し、10 mL に定容した。溶出液を 0.45 μm のフィルターでろ過したものを HPLC 試験溶液とした。

2・4・3 定量

HPLC の検量線用標準溶液は、メタノール : 水 (1 : 1) 混液を用いて、0.5~10 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で調製した。標準溶液濃度及びピーク面積から検量線を作成し、絶対検量線法により定量を行った。定量下限は、検量線の最低濃度を試料中濃度に換算した 0.01 g/kg とした。

2・4・4 添加回収試験

採取した試料 20 g に、試料中濃度として 0.02 g/kg となるように標準溶液を添加後、上記 2・4・2 に従い試験溶液を調製し定量を行った。試験溶液の調製は 5 併行で実施した。

2・4・5 試料マトリックスの測定値への影響の確認

採取した試料 20 g に、試料中濃度として 0.025 g/kg となるように標準溶液を添加後、上記 2・4・2 に従い試験溶液を調製し定量を行った。試験溶液の調製は 3 併行で実施した。続いて、0.5~10 $\mu\text{g/mL}$ の範囲でマトリックス標準溶液を調製し、マトリックス検量線による定量を行った。得られた定量結果を溶媒検量線による定量結果と比較した。マトリックス標準溶液は以下に示す方法により調製した。まず、濃度 50、100、200、500 及び 1000 $\mu\text{g/mL}$ のズルチン標準溶液をメタノールで調製した。続いて、標準品未添加の赤ワインから調製した試験溶液 1 mL ずつを 5 本の試験管に分取し、各濃度の標準溶液を 10 μL ずつ添加して 0.5、1、2、5 及び 10 $\mu\text{g/mL}$ のマトリックス標準溶液とした。

2・5 LC-qTOF/MS による確認試験法

2・5・1 装置及び分析条件

LC-qTOF/MS 条件は表 2 に示した。

2・5・2 試験溶液の調製

試料 10 mL (10 g) に、試料中濃度として 0.02 g/kg となるように標準溶液を添加した。この試料をメタノール : 水 (1 : 1) 混液で 200 倍に希釈したものを試験溶液とした。

2・5・3 定性

同位体分布計算ツールソフトウェア (Agilent 解析ソフトウェア Mass Hunter) を用いて、ズルチンの $[\text{M}+\text{H}]^+$ の精密質量を計算しプレカーサーイオン (m/z 181.0972) を決定した。 m/z 181.0972 のプロダクトイオンスキャンにより得られた試験溶液のマスペクトルを標準溶液 (0.1 $\mu\text{g/mL}$) のマスペクトルと比較した。

3 結果及び考察

3・1 HPLC による定量試験法の検討

3・1・1 イオンペア試薬の使用について

衛生試験法・注解 2015³⁾ のズルチンの試験法はイオンペア試薬として、HPLC 測定時は水酸化テトラ-*n*-プロピルアンモニウムを、C18 固相カラム精製時は臭化テトラ-*n*-ブチルアンモニウムを用いている。イオンペア試薬は、カラムに保持しにくい解離性の物質を分析する際に非常に

有効である。一方で、カラムの平衡化に時間を要する、機器を汚染しやすいといった欠点もある。そこで、イオンペア試薬を用いずにズルチン分析が可能であるか検討した。HPLC 測定においてイオンペア試薬を含まない移動相（25%メタノール）を用いて、標準溶液（0.5 $\mu\text{g/mL}$ ）を5回繰り返し測定したところ、ピーク面積の相対標準偏差（RSD）は4.0%であり、良好な再現性が得られた。また、C18 固相カラム精製において、イオンペア試薬を用いた場合と用いない場合を比較したところ、測定値に差が見られなかったことから、イオンペア試薬を用いずに分析可能であると考えられた。そこで、以下の検討ではイオンペア試薬を用いないこととした。

3・1・2 クロマトグラム及び検量線

ズルチン標準溶液（5 $\mu\text{g/mL}$ ）及びマトリックス標準溶液（5 $\mu\text{g/mL}$ ）をHPLCで測定した際のズルチンのクロマトグラムを図2に示した。保持時間はほぼ一致しており、試料マトリックス共存下においても測定が十分に可能であった。

また、検量線は図3に示したように0.5–10 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で良好な直線性が得られた。

3・1・3 添加回収試験結果

分析法の真度及び再現性を評価するため、5併行で添加回収試験を実施した結果、ズルチンの平均回収率は $98.6\pm 6.2\%$ （RSD=6.3%）であり、目標値である70%–120%⁹⁾を満足した。精度はHorwitzの修正式から算出した併行精度の許容範囲¹⁰⁾内（RSD<6.7%）であった。

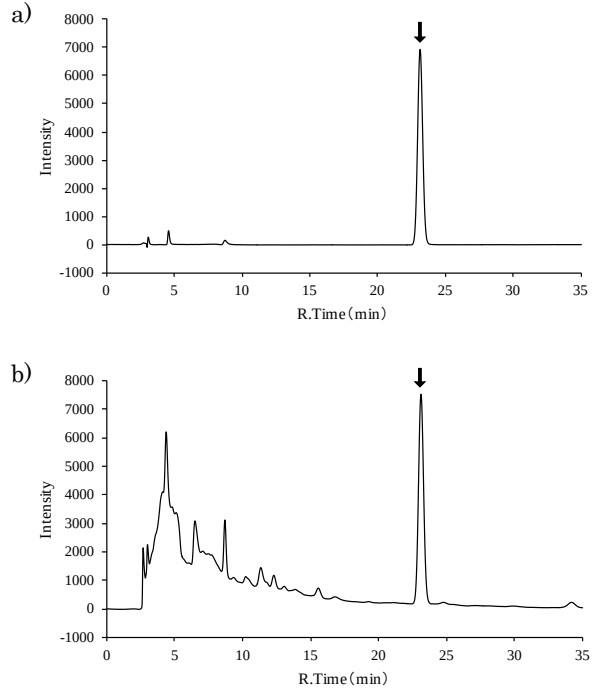


図2 ズルチンのHPLCクロマトグラム

a) 標準溶液（5 $\mu\text{g/mL}$ ）

b) マトリックス標準溶液（5 $\mu\text{g/mL}$ ）

3・1・4 試料マトリックスの測定値への影響

試験溶液中の試料マトリックスが、測定値に影響しているかを確認するため同じ試験溶液について、溶媒検量線及びマトリックス検量線を用いて定量し測定値を比較した。その結果、溶媒検量線における試料中濃度の平均値は

表2 LC-qTOF/MS 条件

LC装置	: LC1290 Infinity(Agilent Technologies)
qTOF/MS装置	: 6540 UHD Accurate-Mass-Q-TOF LC/MS(Agilent Technologies)
分析カラム	: Atlantis T3 (Waters、2.1×75 mm,3 μm)
カラム温度	: 40℃
移動相	: A液(10 mM ギ酸アンモニウム溶液(pH3)) B液(アセトニトリル)
グラジエント条件	: A/B 95/5(2.5min)–17.5min–0/100(2.5min)
移動相流量	: 0.2 mL/min
注入量	: 1 μL
イオン化法	: ESI法(ポジティブモード)
乾燥ガス温度	: 300℃
乾燥ガス流量	: 12 L/min
ネブライザガス圧	: 50 psig
シースガス温度	: 400℃
キャピラリー電圧	: 4000 V
コリジョン電圧	: 20 eV
プレカーサーイオン	: m/z 181.0972
測定モード	: プロダクトイオンスキャン

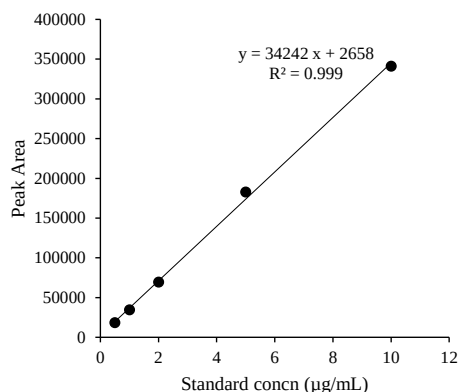


図 3 ズルチンの検量線

0.023 g/kg、マトリックス検量線における試料中濃度の平均値は 0.024 g/kg であり、ほぼ同等の結果であった。このことから、試料マトリックスは測定値に影響しないと考えられた。

3・2 LC-qTOF/MS による確認試験法の検討

健康被害発生時においては、原因物質の損失を防ぐため試料の前処理を行わない分析法が望ましい。そこで、試料の希釈のみでズルチンを分析可能であるか検討した。

プロダクトイオンスキャンによるズルチンの標準溶液及び試験溶液中のマススペクトルを図 4 に示した。試験溶液中のプロダクトイオン同士の強度比は標準溶液と比較してほぼ同等であり、マススペクトルの一致度は高かった。本試験法は試料の前処理操作を必要とせず、希釈のみで定量下限付近のズルチンの定性が可能であった。

4 まとめ

飲料中の食品添加物の正確、簡便かつ迅速な試験法の整備を目的とし、赤ワインをモデル試料として飲料中のズルチンの定量及び確認試験法の検討を行った。イオンペア試薬を用いない、より簡便な定量試験法を検討し分析法の性能評価を行った。定量下限の 2 倍濃度 (0.02 g/kg) における真度及び再現性は、平均回収率が 98.6%、RSD が 6.3% であり良好な結果であった。また、LC-qTOF/MS を用いてズルチンの確認試験法の検討を行ったところ、試料の前処理操作を必要とせず、希釈のみで定性が可能であった。

以上のことから、今回検討した試験法は飲料中のズルチンの定量及び確認試験法として有用であると考えられた。今後は、赤ワイン以外の飲料及びズルチン以外の食品添加物について検討し、適用範囲を確認する必要がある。

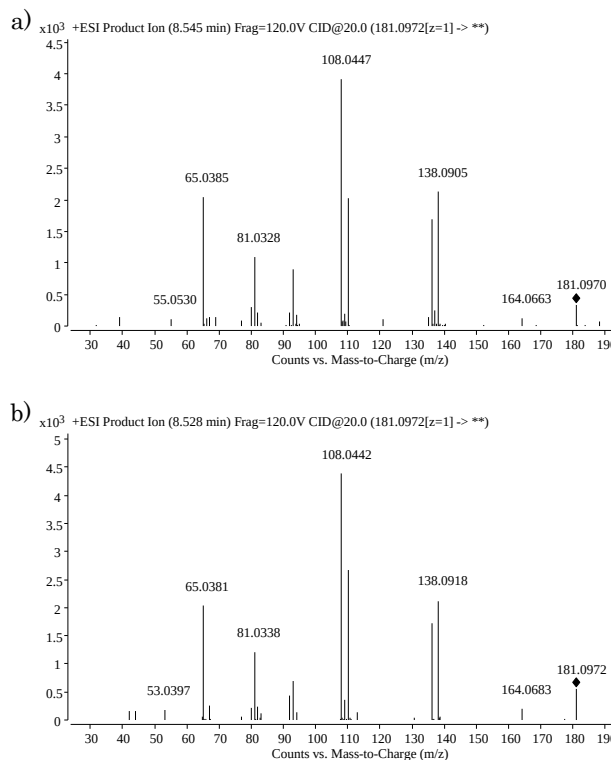


図 4 ズルチンのマススペクトル

a) 標準溶液 (0.1 µg/mL)

b) 試験溶液

文献

- 1) 厚生労働省：地域における健康危機管理について～地域健康危機管理ガイドライン～，<http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/kenkou/guideline/index.html>，平成 29 年 4 月 3 日
- 2) 斎藤孝一：食品衛生学雑誌，10 (2)，112-113，1969
- 3) 衛生試験法・注解 2015，(日本薬学会)，p.375，2015 (金原出版、東京)
- 4) 小林千種ら：食品衛生学雑誌，40 (2)，166-171，1999
- 5) 小山政道ら：食品衛生学雑誌，46 (3)，72-78，2005
- 6) 松本ひろ子ら：東京都健康安全研究センター年報，59，129-135，2008
- 7) 鶴田小百合ら：食品衛生学雑誌，54 (3)，204-212，2013
- 8) 望月直樹：YAKUGAKU ZASSHI，131 (7)，1019-1025，2011
- 9) 厚生省生活衛生局食品保健課長通知：衛食第 117 号，平成 9 年 4 月 1 日，1997
- 10) Codex Alimentarius Commission：CODEX STAN (193-1995)，1995

(英文要旨)

Development of a Quantitative HPLC Method and a Simple and Rapid Qualitative Method Using LC-qTOF/MS for Dulcin in Beverages

Tamaki SATO, Toshitaka KOGISO, Yoriko SHINTANI, Tsuguhide HORI and Jumboku KAJIWARA

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,

Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

We studied quantitative and qualitative analytical methods for dulcin, an unspecified sweetener that previously caused food-poisoning case, in beverages using red wine as a representative sample. A simple quantitative method without ion-pair reagents at the purification and measurement was developed and evaluated. The recovery rate with a dulcin concentration of 0.02 g/kg was 98.6% with satisfactory repeatability. We also developed a qualitative method using LC-qTOF/MS. As a result, the only sample preparation step required was dilution in this method. The methods developed in this study will be useful for quantitative and qualitative analysis of dulcin in beverages.

[Key words ; unspecified sweeteners, dulcin, HPLC, LC-qTOF/MS]

短報

ムレミカズキモ (*Pseudokirchneriella subcapitata*) を用いた複合影響試験の検討

古閑豊和・柏原学・志水信弘・石橋融子

ムレミカズキモ (*Pseudokirchneriella subcapitata*) を用いて塩化亜鉛とドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(DBS)の単独ばく露試験及び複合影響試験を実施した。単独ばく露試験の結果、塩化亜鉛の72h-EC₅₀は0.083 mg/L (亜鉛換算)、DBSの72h-EC₅₀は120 mg/Lとなった。等効果線法による複合影響試験の結果、塩化亜鉛とDBSの混合物は相加効果の可能性が示唆された。しかし、水環境中の亜鉛とDBS濃度は低いいため藻類に対して相加的影響をもたらす可能性は低いと考えられる。

[キーワード: *Pseudokirchneriella subcapitata*、複合影響、全排水毒性]

1 はじめに

多くの化学物質は人間活動にとってかかせないが、その全ての化学物質を分析し、リスクを管理することは困難である。そのため欧米では魚類や甲殻類、藻類による生物応答を活用した指標によって化学物質を含む事業場排水等の規制を行っている。生物応答を活用した指標の利点は、従来の機器分析では把握できない複数の化学物質による影響を評価できることである。

また、生物応答を用いた排水試験法(検討案)¹⁾によると藻類試験は試験期間が72時間であり、ミジンコ繁殖試験(最長8日間)や、胚・仔魚期を用いる魚類短期毒性試験(ゼブラフィッシュ、8~10日間)と比較して短い。さらに、藻類試験はミジンコ急性遊泳阻害試験(48時間)や魚類急性毒性試験(96時間)のような試験期間が短い急性毒性試験と比較しても、試験生物を維持するコストや労力がかからない利点がある。そのため、本研究では藻類を用いて複数の化学物質の複合影響について検討した。

2 実験方法

2・1 被験物質

モデルとなる被験物質として亜鉛及び直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム(以下、LAS)を選択した。この2物質は近年、水生生物保全環境基準項目に設定され^{2,3)}、単独ばく露による毒性試験が報告されており、データの比較が可能である^{4,8)}。ただし、亜鉛は塩化亜鉛(和光純薬工業製、純度98%)を使用し、LASについてはドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(以下、DBS)(関東化学工業製、純度90%)を使用した。

2・2 藻類生長阻害試験(単独ばく露試験)

複合影響試験を実施するにあたり、被験物質のEC₅₀値を参考にばく露濃度を決定するため、本研究所の藻類培養条件における被験物質の単独ばく露試験を実施した。

用いた藻類は国立環境研究所微生物系統保存施設から入手したムレミカズキモ (*Pseudokirchneriella subcapitata* (NIES-35))を用いた。これらをC培地により継代培養し、試験にはOECD培地に接種してから約3日後の細胞密度が $0.5 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^6$ cells/mLに達したものを使用した。

単独ばく露試験の条件は平成15年11月21日薬食発第11210002号、平成15・11・13製局第2号、環保企発第031121002号通知の別添の方法に従い実施した。試験期間は72時間とした。水温は $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光強度は $100 \pm 15 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (連続照射)の条件下で維持した。培地は市販のOECD培地濃縮液(和光純薬工業製)を超純水で希釈して使用した。

塩化亜鉛の濃度区はコントロール試験+6濃度区(設定濃度: 0.010~0.32 mg/L、公比2)とし、DBSはコントロール試験+6濃度区(設定濃度: 6.3~200 mg/L、公比2)で実施した。対照区は6連、その他濃度区は3連で実施した。

生物量は24時間毎に試験液を0.1~1 mL採取し粒子計測装置(CDA-1000、シスメックス社製)にて細胞数を測定した。なお、試験終了時に各試験で試験成立条件⁹⁾を満たしていることを確認した。

2・3 藻類生長阻害試験(複合影響試験)

複合影響試験は千坂ら¹⁰⁾、朴ら¹¹⁾、鏑迫ら¹²⁾の方法を参考に等効果線法(Isobole design)試験で実施した。単独ばく露試験で得られた試験開始後72時間の生長阻害半数影響濃度(以下72h-EC₅₀)を参考に複合影響試験のばく露濃度を設定した。背景物質としてDBSを選択し、主物質として塩化亜鉛を選択した。ばく露濃度については表1に示すように試験No.1~6まで設定した。試験の設定上、試験No.1と

No.6は塩化亜鉛とDBSの単独ばく露試験となっている。

なお、ばく露条件等は上記の2・2単独ばく露試験と同様に実施した。

2・4 被験物質分析方法

単独ばく露試験及び複合影響試験の被験物質濃度を試験前及び試験終了後に測定した。塩化亜鉛は亜鉛としてJISK 0102、53・4、ICP質量分析法にて測定した。DBSは平成15年厚生労働省告示第261号の陰イオン界面活性剤、別表第28号に定める方法にて測定した。各被験物質の試験開始前と試験終了後の測定濃度を幾何平均値として算出し、実測濃度として結果の解析を実施した。

2・5 統計解析方法

各試験のエンドポイント（成長速度）について最大無影響濃度NOEC(No observed effect concentration)及びx%阻害濃度IC_x(x% inhibition concentration)を統計解析ソフトR¹³⁾を用いて算出した。統計処理の手法に関しては生物応答を用いた排水試験法（検討案）¹⁾に従った。Rの計算に用いる関数等は渡部¹⁴⁾の方法を参考にした。

3 結果及び考察

3・1 単独ばく露試験結果

塩化亜鉛とDBSの単独ばく露試験における細胞密度の経時変化と生長阻害率をそれぞれ図1と図2に示す。また各試験から求めた72h-EC₅₀、72h-EC₁₀、72h-EC₅、NOECを表2に示す。塩化亜鉛（亜鉛換算）の72h-EC₅₀は0.087 mg/L、DBSの72h-EC₅₀は130 mg/Lであった。DBSのNOECについて今回、最低試験濃度でも対照区と比較して有意差(p>0.05%)がついたため算出できなかった。

単独ばく露試験で得られた72h-EC₅₀を文献⁴⁻⁸⁾から得られた値と比較すると、塩化亜鉛（亜鉛換算）の72h-EC₅₀は0.061-0.11 mg/Lであり、今回の結果はその範囲内であった。また、DBSの72h-EC₅₀は83-103 mg/Lの範囲であり、今回の結果は文献値よりも高い値であったが、大きく値を外れておらず、結果に問題はないものと考えた。これら単独ばく露試験で得られた72h-EC₅₀を基に複合影響試験を実施した。

表2 単独ばく露試験結果

Chemical	Test concentration						72-h EC ₅₀ (95% confidence limit)	72-h EC ₁₀ (95% confidence limit)	72-h EC ₅ (95% confidence limit)	NOEC
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
Zn (mg/L)	Nominal concentration (mg/L)	0.0048	0.01	0.019	0.038	0.077	0.15			
	Actual concentration (mg/L)	0.005	0.009	0.016	0.029	0.063	0.11	0.083 (0.079-0.087)	0.042 (0.037-0.048)	0.033 (0.028-0.039)
DBS (mg/L)	Nominal concentration (mg/L)	6.2	12	25	50	100	200			
	Actual concentration (mg/L)	6.1	12	25	53	110	210	120 (110-140)	9.5 (6.4-12)	3.9 (2.2-5.6)

表1 複合影響試験のばく露濃度設定表

(Background substance) DBS (mg/L)		(Main substance) ZnCl ₂ (mg/L)		
No.1	0	0.08	0.16	0.32
No.2	10	0.08	0.16	0.32
No.3	40	0.08	0.16	0.32
No.4	80	0.08	0.16	0.32
No.5	120	0.08	0.16	0.32
Single exposure test No.6 DBS(mg/L)		0		
	50 100 200			

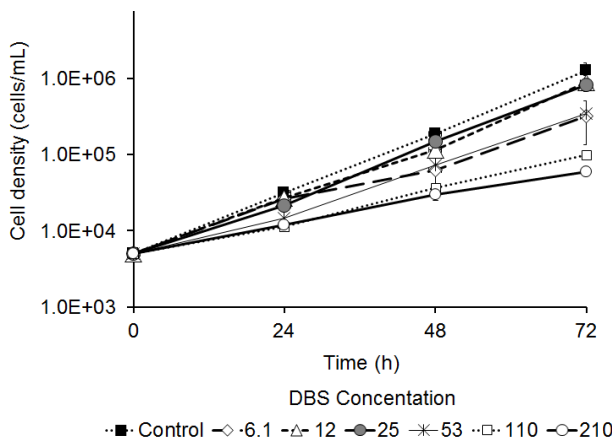
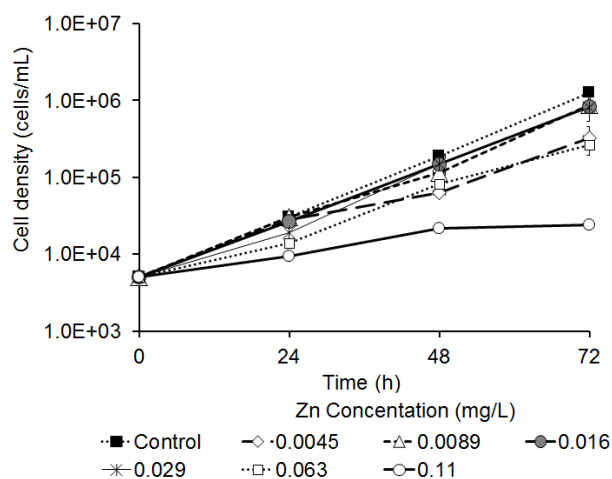


図1 細胞密度の経時変化（単独ばく露試験）

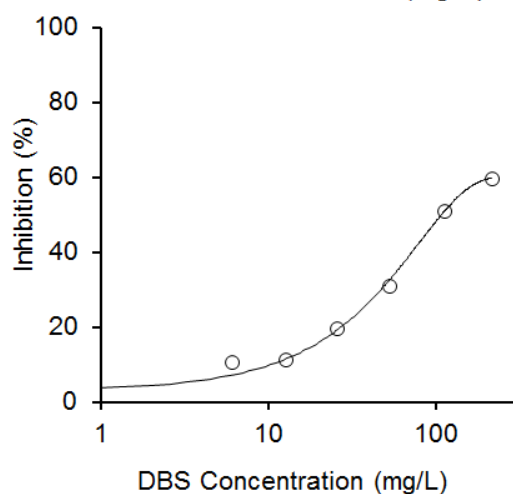
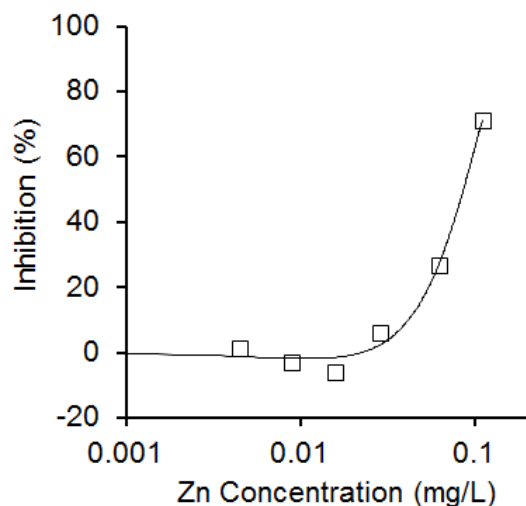


図2 生長阻害率（単独ばく露試験）

表3 複合影響試験結果（TU）

	TU (Zn)	TU (DBS)
No.1	1.00	0
No.2	1.03	0.0617
No.3	0.701	0.247
No.4	0.471	0.494
No.5	0.374	0.741
No.6	0	1.00

3・2 複合影響試験結果

試験①～⑥で得られた結果はToxic Unit (TU)に変換した。背景物質であるDBSのTUは（式1）から求められる。試験①～⑤におけるDBS濃度を（式1）の【1】に代入し、試験⑥で得られた単独ばく露試験の72h-EC₅₀を式1の【2】に代入する。

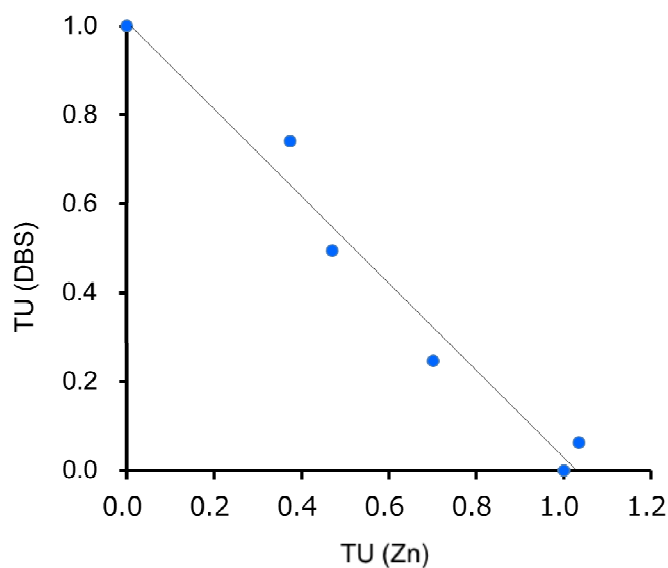


図3 塩化亜鉛とDBSの等効果線法試験結果

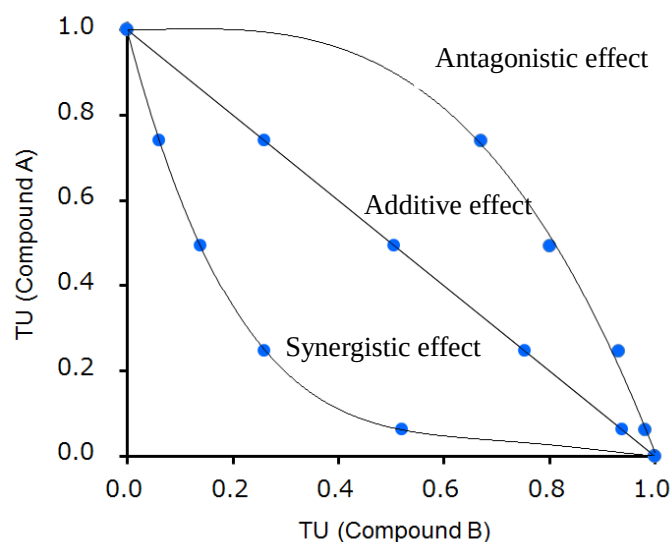


図4 等効果線法試験による相互作用の概念図

$$\text{【DBS】} \\ \text{TU}_{(\text{No.1}\sim\text{6})} = \frac{\text{【1】Conc.}_{(\text{DBS, No.1}\sim\text{6})}}{\text{【2】EC}_{50(\text{No.6})}} \quad (\text{式1})$$

$$\text{【Zn】} \\ \text{TU}_{(\text{No.1}\sim\text{6})} = \frac{\text{【1】EC}_{50(\text{Zn, No.1}\sim\text{6})}}{\text{【2】EC}_{50(\text{No.1})}} \quad (\text{式2})$$

また、主物質である塩化亜鉛のTUは（式2）から求められる。試験No.1～5における塩化亜鉛（亜鉛換算）の72h-EC₅₀を（式2）の【1】に代入し、試験①で得られた単独ばく露試験の72h-EC₅₀を（式2）の【2】に代入する。

なお（式1）と（式2）における【2】に用いるEC₅₀は単独ばく露試験として設定した試験No.1及びNo.6の値を

用いるため試験No.1及びNo.6のZnとDBSのTU値は0もしくは1となる。

各試験のTU値及び等効果線法試験結果をそれぞれ表3と図3に示す。千坂ら¹⁰⁾、朴ら¹¹⁾、鑓迫ら¹²⁾の報告を元に等効果線法試験結果における拮抗作用、相加作用、相乗作用の概念図を図4に示す。

図3と図4を比較すると相加作用を示す直線とほぼ同じ場所に結果がプロットでき、塩化亜鉛(亜鉛)とDBS(LAS)の混合物は相加作用を持つ可能性が考えられた。

また、環境水中の亜鉛とDBS濃度が藻類に与える複合影響を比較するため、平成27年度の福岡県内の河川水(類型指定河川)の亜鉛濃度とDBS(LASとして)濃度を文献調査した¹⁵⁾。その結果、亜鉛の平均値は0.001~0.005 mg/L、LASの平均値は<0.0006~0.0008 mg/Lであった。今回の研究で得られた亜鉛及びDBSのNOECや72h-EC₅₀は、環境水中濃度より高い。そのため、福岡県内河川水中において藻類に対して相加的影響により生長阻害をもたらす可能性は低いと考えられる。

4 まとめ

ムレミカズキモを利用した単独ばく露試験及び複合影響試験を検討した。単独ばく露試験で得られた72h-EC₅₀を基にばく露濃度を決定した結果、塩化亜鉛とDBSは相加作用を持つことが示唆された。また、水環境中の亜鉛とDBS(LASとして)濃度は低いため藻類に対して相加的影響をもたらす可能性は低いと考えられる。

文献

- 1) 排水(環境水)管理のバイオアッセイ技術検討分科会:生物応答を用いた排水試験法(検討案), 2014.
- 2) 環境省, 環境省通知環水企発031105001号・環水管発031105001号, 2003.
- 3) 環境省:環境省通知環水大水1303272号, 2013.
- 4) Pascal Radix *et al.*: *Ecotox. Environ. Safe.*, 47, 186-194 2000.
- 5) Michael A. Lewis: *Wat. Res.*, 25, 101-113, 1991.
- 6) Natasha M. Franklin: *Environ. Sci. Technol.*, 41, 8484-8490, 2007.
- 7) 浦野紘平ら:水環境学会誌, 39, 121-125, 2016.
- 8) 環境省, 化学物質の環境リスク評価, <https://www.env.go.jp/chemi/report/h19-03/pdf/chpt1/1-2-3-01.pdf>
- 9) 厚生労働省・経済産業省・環境省, 薬食発第11210002号、平成15・11・13製局第2号、環保企発第031121002号, 2003.
- 10) 千坂英雄:雑草研究, 31, 91-95, 1986.
- 11) 朴 明玉ら:環境毒性学会誌, 3, 23-32, 2000.
- 12) 鑓迫典久:平成25年度化学物質の複合影響評価に関するシンポジウム資料, 2014.
- 13) R development core team: R:Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, <http://www.R-project.org>
- 14) 渡部春奈ら:環境化学, 25, 43-55, 2015.
- 15) 環境省, 平成27年度公共用水域水質測定結果, <http://www.env.go.jp/press/files/jp/104390.pdf>

(英文要旨)

Interaction of Chemicals in *Pseudokirchneriella subcapitata* Toyokazu KOGA, Manabu KASHIWABARA, Nobuhiro SHIMIZU and Yuko ISHIBASHI

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

We investigated exposure of *Pseudokirchneriella subcapitata* to zinc chloride and sodium dodecylbenzenesulfonate (DBS), both in single exposure tests and with exposure to both chemicals at the same time. In the single exposure tests, the half maximal effective concentration of zinc chloride at 72h was 0.083 mg/L (as Zn) and that of DBS was 120 mg/L. The results of the isobole method suggested that a mixture of zinc and DBS had an additive effect. However, based on the low concentrations of Zn (0.001-0.005 mg/L) and LAS (<0.0006-0.0008 mg/L) in river water in Fukuoka Prefecture in 2015. There is no possibility of a mixture of zinc and DBS having this additive effect on algae in the environment.

[Key words ; *Pseudokirchneriella subcapitata*, Interactive effect, whole effluent toxicity]

短報

福岡県内河川における*m*-ニトロトルエンの実態調査

柏原学・志水信弘

環境省が要調査項目として選定し、化学物質排出管理促進法の第二種指定化学物質である*m*-ニトロトルエンのGC/MSを用いた分析方法の検討を行った。分析方法の検討を行ったところ、IDLは0.12 ng/mL、MDLは2.4 ng/L、MQLは6.0 ng/Lであった。また、福岡県内河川での分布状況を把握するため、2016年8月に福岡県内河川70地点で調査した。その結果、1地点で2.9 µg/Lの*m*-ニトロトルエンが検出された。2017年2月に検出された河川及びその河川が流入する海域の調査を行ったところ、*m*-ニトロトルエンは上流から検出下限値未満、1.9 µg/L、0.22 µg/Lであった。また、海域については、検出された河川の河口では0.16 µg/L検出されたが、沖合では検出下限値未満であった。

[キーワード：*m*-ニトロトルエン、GC/MS、河川]

1 はじめに

ニトロトルエン類は、環境省の要調査項目に選定されており、水環境中での検出状況や複合影響の観点からみて水環境リスクに関する知見の集積が必要な物質とされている。

ニトロトルエン類には、ニトロトルエン、ジニトロトルエン等が含まれる。ニトロトルエンには、*o*-ニトロトルエン、*m*-ニトロトルエン及び*p*-ニトロトルエンの異性体があり、*o*-ニトロトルエン及び*m*-ニトロトルエンは“特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律”（化管法）で第一種及び第二種化学物質に指定されている。*o*-ニトロトルエンは、1991年に全国の公共用水域で調査されており、全て0.2 µg/L未満であったと報告されている¹⁾。一方、*m*-ニトロトルエンは、（図1）は、染料の中間体として利用される等、有機合成過程で使用されている物質であるが、公共用水域での検出状況について詳細に調査した報告はない。そこで、今回、福岡県内河川における*m*-ニトロトルエンの実態調査を行ったので報告する。

2 調査方法

2・1 調査地点概要

2・1・1 調査対象河川

調査地点は、福岡県内河川（70地点）を対象とした。図2に調査地点を示す。調査は、2016年8月及び2017年2月に実施した。検体はバケツで河川水の表層より採取した。感潮域は全て干潮時に採水した。

2・1・2 追加調査

m-ニトロトルエンが検出された河川について、さらに詳

細に調査するため、2017年2月に、検出地点、検出地点の上流及び下流のそれぞれ1地点及び検出された河川が流入する海域2地点（河口（St.4）及びその沖合（St.5））の表層を採取し、分析した。追加調査地点を図3に示す。検出地点（St.1）及び検出地点の下流の地点（St.3）は感潮域で、検出地点より上流の地点（St.2）は非感潮域である。河川の採水は干潮時に行った。

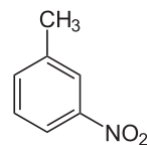


図1 *m*-ニトロトルエンの構造式

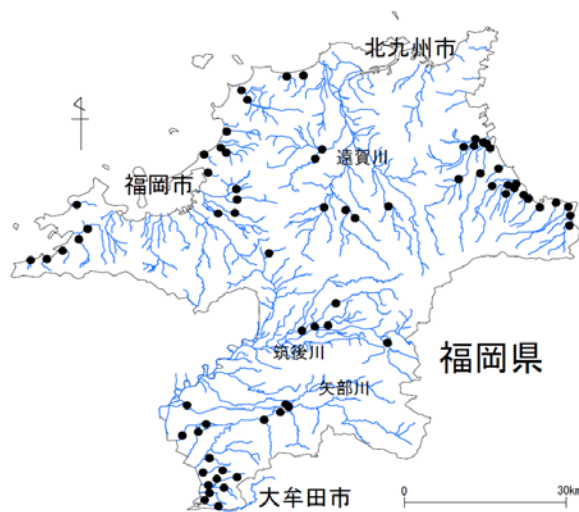


図2 福岡県内河川調査地点

2・2 分析方法

2・2・1 使用試薬等

内標準物質としてニトロベンゼン- d_5 は Cambridge Isotope Laboratories, Inc 製の標準品を用いた。 m -ニトロトルエンは東京化成工業株式会社製の標準品を用いた。

アセトン及びヘキサンは和光純薬工業株式会社製の残留農薬・PCB 用を用いた。塩酸は和光純薬工業株式会社製特級を用いた。固相カートリッジは Waters 製 Oasis HLB PLUS を用いた。シリカカートリッジは SUPELCO 製 Supelclean LC-Si (500 mg/6 mL) Glass SPE Tube を用いた。

2・2・2 内標準液、標準液及び検量線用標準液の調製

内標準品をヘキサンで希釈して、10.0 $\mu\text{g/mL}$ の内標準液を調製した。 m -ニトロトルエン標準品をヘキサンで希釈して、1.00 ～ 200 ng/mL とした後、内標準液を 50.0 ng/mL となるように添加した溶液を検量線用標準液とした。

検量線用標準液 1 μL を GC/MS に注入し、対象物質の濃度と内標準物質の濃度の比と得られた対象物質のピーク面積と内標準物質のピーク面積の比から検量線を作成した。測定結果の解析は、検量線を 1.00 ng/mL ～ 5.00 ng/mL の低濃度用と 5.00 ng/mL ～ 200 ng/mL の高濃度用の 2 種類に分けて行った。

2・2・3 試料の前処理方法

試料 200 mL に塩酸(1+11)を加えて pH 3.5 前後に調整後、予めアセトン 10 mL、精製水 10 mL でコンディショニングした固相カートリッジに 10 mL/min で通水させた。通水後、固相カートリッジに精製水 10 mL を通して洗浄し、注射筒 (10 mL) を用いて固相カートリッジ内の水分を除き、その後、窒素ガスを通気 (約 1 L/min、1 hr) して脱水した。脱水後、カートリッジをヘキサン 1 mL/min (5 min) で目盛付試験管に溶出した。窒素タスを緩やかに吹き付け 1 mL まで濃縮したものを試料前処理液とした。

試料前処理液を予めヘキサン 10 mL でコンディショニングしたシリカカートリッジに通液した。1 mL 程度のヘキサンで目盛付試験管を洗浄し、洗浄液をシリカカートリッジにさらに通液し、これを 2 回繰り返した。初めの 5 mL の液は捨て、その後、抽出液が 10 mL になるまでシリカカートリッジにヘキサンを通液した。その後、窒素ガス気流下で緩やかに濃縮して 1 mL に定容後、内標準液 (10.0 $\mu\text{g/mL}$) 5 μL を添加して、試験液とした。フローを図 4 に示す。

2・2・4 測定機器条件

測定条件は、“化学物質分析法開発調査報告書” (平成 27 年度) ²⁾ に記載されている方法を参考に、アセトンによる溶出及びヘキサン転溶の操作をヘキサンによる溶出のみに変更して行った。測定機器及び測定条件を表 1 に示す。

2・2・5 添加回収試験

試料に m -ニトロトルエンを 15 ng 添加し、フロー図

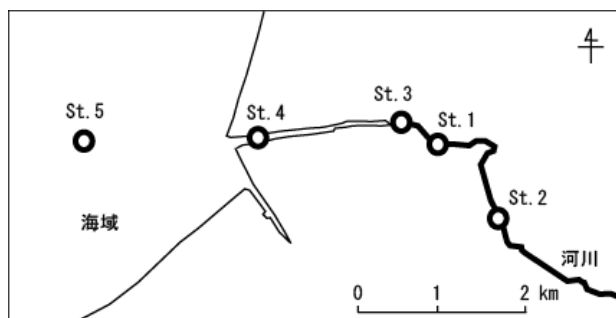


図3 追加調査地点

St.1：検出地点、St.2：検出地点より上流、
St.3：検出地点より下流、St.4：河口、St.5：沖合

表 1 測定機器及び測定条件

測定機器	
GC	GC-2010(島津製作所)
MS	GCMS-QP2010 plus(島津製作所)
測定条件	
分析カラム	SPB-5 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)
注入法	スプリットレス (バージ開始 1 分後)
注入口温度	270 $^{\circ}\text{C}$
キャリアーガス	He 1.0 mL/min
昇温条件	40 $^{\circ}\text{C}$ (2 min) $\rightarrow$ 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min} \rightarrow$ 140 $^{\circ}\text{C}$ (0 min) $\rightarrow$ 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min} \rightarrow$ 280 $^{\circ}\text{C}$ (2 min)
インターフェイス温度	270 $^{\circ}\text{C}$
イオン源温度	230 $^{\circ}\text{C}$
イオン化電圧	70V
検出器電圧	1.2kV
検出モード	SIM
モニタイオン	m -ニトロトルエン : 137.0 (定量用)、91.0 (確認用) ニトロベンゼン d_5 : 128.0 (定量用)、82.0 (確認用)

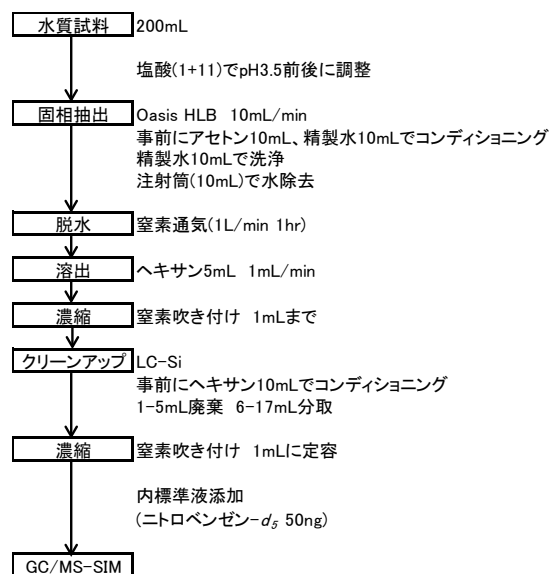


図4 フロー図 (前処理)

(図4) に従い前処理を行った試料 (以下、添加回収用試料) について、同様に測定を行った。

3 結果

3・1 分析方法の検討

m-ニトロトルエン検量線用標準液を表 1 に示す測定条件で測定した結果、良好な直線性が得られた。

装置の検出下限値(IDL)、分析方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)を“化学物質環境実態調査実施の手引き”(平成 27 年度版)³⁾に従って算出した。IDL は 0.12 ng/mL、MDL は 2.4 ng/L、MQL は 6.0 ng/L であった。

添加回収用試料を測定した結果、80～88%の回収率であり、分析方法が妥当であることを確認した。

3・2 河川調査結果

福岡県内河川70地点における*m*-ニトロトルエンを測定した結果、1地点で2016年8月に2.9 µg/L、同地点で2017年2月に1.9 µg/L検出され、他は全て定量下限値(6.0 ng/L)以下であった。

3・3 追加調査結果

m-ニトロトルエンが検出された地点について、追加調査を行った結果を表2に示す。最も上流に位置するSt.2では、定量下限値以下であった。St.1が最も濃度が高く、次いでSt.3、St.4の濃度が高かった。沖合のSt.5は定量下限値以下であった。

4 考察

m-ニトロトルエンは比較的安定な化合物であり、トルエンのニトロ化の際の活性化エネルギーから推測すると自然界で容易に生成するとは考えにくく⁴⁾、人為的に発生していると推測される。追加調査結果から、*m*-ニトロトルエンの排出源は、St.1からSt.2の間にあることが示唆された。また、沖合のSt.5で定量下限値以下であったことから、海域には広く高い濃度では検出されないことがわかった。

ここで、PRTR法に基づき届出が義務づけられている化学物質に*m*-ニトロトルエンは含まれていないため、排出源と考えられる事業場の存在を確認することは困難である。しかし、類縁体の*o*-ニトロトルエン及びジニトロトルエンは第一種指定化学物質であり、PRTRデータが存在する。*o*-ニトロトルエン及びジニトロトルエンは、染料や火薬の合成原料として利用されている。これらの化合物の工業的製法はトルエンのニトロ化であり、その際に*o*-ニトロトルエンの異性体である*m*-ニトロトルエンが副生成物として生成する⁵⁾。そこで、PRTR法に基づき*o*-ニトロトルエン及びジニトロトルエンの届出がなされている事業場を確認したところ、*m*-ニトロトルエンが検出された河川の流域に、該当する事業場が存在することが判明した。このことから、排出源として、*o*-ニトロトルエン及びジニトロトルエンを使用している事業場が*m*-ニトロトルエンを排出している可能性が示唆された。

また、表2の結果より、今回検出された*m*-ニトロトルエンの濃度は、メダカ及びミジンコにおける半数致死濃度

表2 追加調査測定結果

地点	濃度 (µg/L)
St.1	0.98
St.2	<0.006
St.3	0.22
St.4	0.16
St.5	<0.006

(LC₅₀) 71000及び17600 µg/L⁶⁾の約6000分の1以下であった。従って、今回*m*-ニトロトルエンが検出された河川流域において、当該化学物質による生態系への影響は少ないと考えられる。

4 まとめ

- 1) 福岡県内河川における*m*-ニトロトルエンの実態調査を実施したところ、70地点中1地点で0.98～2.9 µg/L検出された。他の地点は全て定量下限値(6.0 ng/L)以下であった。
- 2) *m*-ニトロトルエンが検出された地点から河口に向かって徐々に濃度が低下し、沖合では定量下限値以下であった。
- 3) PRTR法に基づき届出された*m*-ニトロトルエンの類縁体である*o*-ニトロトルエン及びジニトロトルエンを使用している事業場が*m*-ニトロトルエンが検出された河川流域に存在していることから、この事業場より副生成物として*m*-ニトロトルエンが排出されている可能性が示唆された。

文献

- 1) 化学物質の環境リスク評価 第6巻 [14] *o*-ニトロトルエン
(<https://www.env.go.jp/chemi/report/h19-03/pdf/chpt1/1-2-2-14.pdf>).
- 2) 化学物質分析法開発調査報告書(平成27年度)
(<http://www.nies.go.jp/emdb/ManualList.php?bunID=6>に掲載予定).
- 3) 化学物質環境実態調査実施の手引き(平成27年度版)
(<https://www.env.go.jp/chemi/kurohon/tebiki/mat01.pdf>).
- 4) 峰岸順二ら: 工業化学雑誌, 66(9), 1249-1253, 1963.
- 5) 竹中慎司ら: 特開平5-170706.
- 6) TOXNET databases, 3-NITROTOLUENE
(<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+99-08-1>).

(英文要旨)

Environmental Survey of *meta*-Nitrotoluene in River Water in Fukuoka Prefecture

Manabu KASHIWABARA and Nobuhiro SHIMIZU

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,

Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

[Key words ; *m*-nitrotoluene , GC/MS , River water]

meta-Nitrotoluene is a “Class II Designated Chemical Substance” in “Act on Confirmation, etc. of Release Amounts of Specific Chemical Substances in the Environment and Promotion of Improvements to the Management Thereof”, and has been selected as the main survey chemical by the Ministry of the Environment in Japan. In this study, we developed a gas chromatography mass spectrometry method for a survey of *m*-nitrotoluene concentrations in publically-accessible waterbodies in Fukuoka Prefecture. For the analytical method, Instrumental Detection Limit was 0.12 ng/mL, Method Detection Limit was 2.4 ng/L, and Method Quantification Limit was 6.0 ng/L. Samples were collected at 70 locations in rivers in Fukuoka Prefecture in October 2016. At one location, the concentration of *m*-nitrotoluene was 2.9 µg/L. In February 2017, further samples were analyzed from this location and from the coast where this river entered the sea. The concentrations of *m*-nitrotoluene in the upper river were not detected, 1.9 µg/L and 0.22 µg/L. In the sea, the concentration of *m*-nitrotoluene was 0.16 µg/L in an estuary at the river mouth, but it was not detected at an offshore sampling location.

短報

高速液体クロマトグラフを用いたホルムアルデヒド迅速分析法の

環境水への適用可能性検討

秦弘一郎・古閑豊和

既存の分析法に比べてより迅速な環境水のホルムアルデヒド測定法の確立を目的として、水道水質検査方法に追加された高速液体クロマトグラフ法を適用した。その結果、既存の分析法に比べて時間を短縮できることが確認された。本法の検出下限値及び定量下限値は河川水に対してはそれぞれ1.55 µg/L、3.99 µg/Lであり、海水に対しては0.351 µg/L、0.903 µg/Lであった。この値は、本法が河川及び湖沼における生物特Aの指針値である1000 µg/L及び海域における生物特Aの指針値である30 µg/Lを十分に評価できることを示している。また、河川水及び海水におけるホルムアルデヒドの添加回収試験の結果、回収率は105%及び95.2%となり、当該分析法の環境水への適用が可能であることが確認された。本法を福岡県の大牟田市内で採取した河川水及び有明海で採取した海水に適用したところ、全ての試料においてホルムアルデヒドは検出されなかった。

〔キーワード：ホルムアルデヒド、水生生物の保全に係る要監視項目、高速液体クロマトグラフ〕

1 はじめに

ホルムアルデヒドは接着剤や防腐剤の成分として広く用いられている物質で、シックハウス症候群の原因物質や、国際がん研究機関によりヒトに対する発がん性が認められるとされるグループ1に分類されている。そのため、公共用水域に排出されることにより人の健康や生活環境に被害を生ずるおそれがある物質として水質汚濁防止法の指定物質に定められ、水道法においても第4条の規定に基づき水質基準が定められている。

ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）を用いるホルムアルデヒド測定の公定法¹⁾は前処理に約3時間を要し、また、GC/MSでの測定に1検体あたり30分程度を要する。そのため、利根川水系ホルムアルデヒド水質事故のような緊急事態に備えて、より迅速な分析方法が求められている²⁾。

一方で、平成28年3月30日に改正された水道水質の検査方法では高速液体クロマトグラフ分析計（HPLC）を用いる分析法が示されている³⁾。この方法は、前処理にかかる時間が30分程度、1検体あたりのHPLCにおける分析時間が20分程度と、従来の測定法と比べて短い。

本報は、環境水中のホルムアルデヒドの迅速な分析法としてHPLCを適用し、さらに水生生物の保全に係る要監視項目の中で最も厳しい生物特Aの指針値(河川：1000 µg/L、海域：30 µg/L)まで測定できることを目標とした。以下に

その詳細を報告する。

2 実験方法

2・1 試薬及び試料

精製水はLC/MS用（関東化学株式会社）を使用し、クロマトグラム中にホルムアルデヒドに由来するピークがないことを確認した（図1-a）。アセトンとヘキサンは残留農薬・PCB試験用（和光純薬工業株式会社）を用い、アセトニトリルはLC/MS用（和光純薬工業株式会社）を用いた。リン酸は特級（関東化学株式会社）、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（DNPH）は特級試薬（和光純薬工業株式会社）を用いた。ホルムアルデヒドの標準原液は、化学分析用（1000 mg/L メタノール溶液、関東化学株式会社）を用い、メタノールはPrimepure(M, Org)規格（関東化学株式会社）のものをを用いた。

定量下限値及び検出下限値の算出並びに添加回収試験に用いた環境水は、河川水については平成29年4月に福岡県保健環境研究所近傍の御笠川水系大佐野川で採取した試料を用い、海水については平成29年4月に有明海(大牟田沖)で採取した試料を用いた。河川水、海水のそれぞれの試料について、クロマトグラム中にホルムアルデヒドに由来するピークがないことを確認した（図1-b, c）。

また、実試料の測定には県内で採取された5河川(大牟田川、諏訪川、堂面川、白銀川、隈川)、9検体及び1海域(有明海)、10検体を用いた。

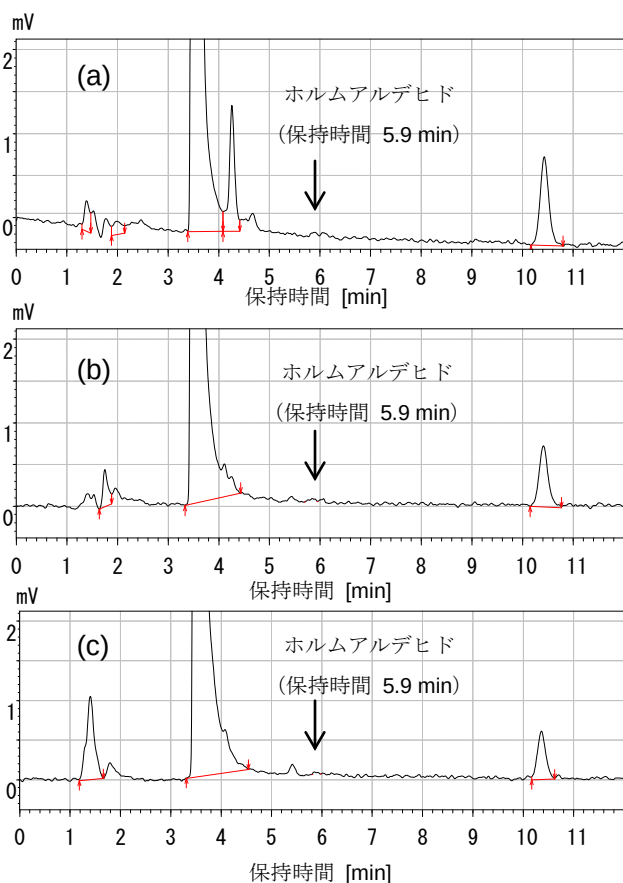


図1 精製水(a)、河川水(b)及び海水(c)試料のHPLCクロマトグラム

2・2 装置

分析は高速液体クロマトグラフ分析装置(株式会社島津製作所、LC-10AD)を用いて行った。測定の条件を表1に示す。

表1 測定条件

カラム	Inert Sustain C18 (3 μ m, 4.6 $\times$ 150 mm)
移動相	精製水/アセトニトリル = 50/50 (v/v%)
流量	1 mL/min
検出器	UV検出器 (360 nm)
オープン温度	40 $^{\circ}$ C

2・3 操作

アセトン及びヘキサンで洗浄し自然乾燥したスピッツ管に検水10 mLを分取し、リン酸水溶液(1+4)を0.2 mL加えて攪拌した。その後、アセトニトリルで1 g/Lに調製したDNPH溶液0.5 mLを加えて攪拌し、誘導体化を行った。20分間静置したのち、HPLC用バイアルに封入し分析に供した。

3 結果と考察

3・1 検量線

2・1の標準原液を10 mg/Lとなるようにメタノールで希釈した後、ホルムアルデヒド濃度が3、5、10、20、50、100、200、500 μ g/Lとなるように精製水で希釈し、標準試料とした。

河川水測定用の検量線は、10 μ g/Lから500 μ g/Lまでの濃度範囲の標準試料を用いた。また、海水測定用の検量線は、3 μ g/Lから100 μ g/Lまでの濃度範囲の標準試料を用いた。それぞれの検量線を図2に示す。それぞれの検量線について、設定した濃度範囲において決定係数 $R^2 = 0.995$ 以上で良好な直線性が得られた。

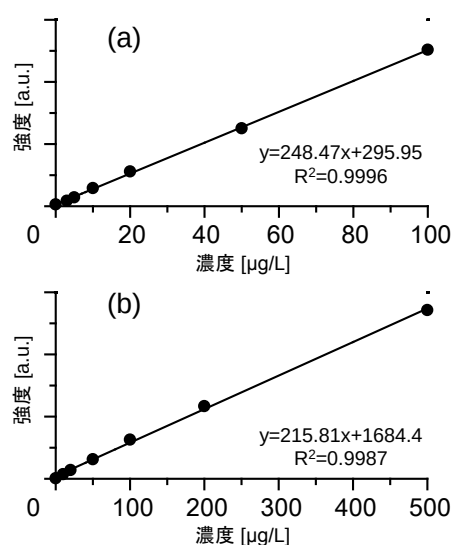


図2 検量線

(a) : 低濃度用、(b) : 高濃度用

3・2 検出下限値と定量下限値

化学物質環境実態調査の手引き(平成27年度版)⁴⁾に基づいて当該分析方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)を算出した。

精製水に対して10 μ g/Lとなるようにホルムアルデヒド標準液を添加した試料のクロマトグラムを図3に示す。クロマトグラムには測定の妨害となるようなピークは見られなかった。

河川水及び海水試料のMDL及びMQLを算出するために、10 mLの河川水及び海水試料に、それぞれS/N比が10程度となるようにホルムアルデヒドを100 ng及び30 ng添加して分析を行った。結果について表2に示す。河川水試料に対するMDLは1.55 μ g/L、海水試料に対するMDLは0.351 μ g/Lと算出された。また、河川水試料に対するMQLは3.99 μ g/L、海水試料に対するMQLは0.903 μ g/Lとなった。このことから、本法は河川の及び湖沼の生物特Aの指針値である1000 μ g/L及び海域における生物特Aの指針値である30 μ g/Lを十分に評価できる方法であることが確認された。

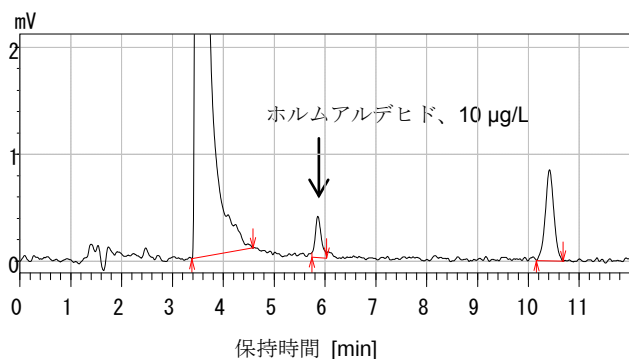


図3 ホルムアルデヒド添加精製水(10 µg/L)のHPLCクロマトグラム

表2 検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)

試料	河川水	海水
試料量(mL)	10	10
注入液量(mL)	0.01	0.01
結果(µg/L)		
1	10.9	3.22
2	10.2	3.11
3	9.96	3.05
4	9.84	3.14
5	9.71	3.11
6	9.92	3.21
7	10.2	3.32
平均値(µg/L)	10.1	3.17
標準偏差	0.399	0.0903
変動係数(%)	3.95	2.85
MDL(µg/L)	1.55	0.351
MQL(µg/L)	3.99	0.903

3・3 添加回収試験

化学物質環境実態調査の手引き（平成27年度版）⁴⁾に基づいてMDLの30倍程度の濃度での添加回収試験を行った。10 mLの河川水試料及び海水試料に、ホルムアルデヒドをそれぞれ0.5 µg及び0.1 µg添加した試料（n=7）を作成し、分析に供した。結果を表3に示す。河川水及び海水の回収率はそれぞれ105及び95.2%となり、当該分析法の環境水への適用が可能であることが確認された。

表3 添加回収試験結果

試料	試料量(mL)	添加量(µg)	試験数	検出濃度(µg/L)	回収率(%)	標準偏差
河川水	10	0.5	7	52.6	105	1.67
海水	10	0.1	7	9.52	95.2	0.96

3・4 県内河川・海域のホルムアルデヒド測定

県内で採取された河川の9検体及び海域の10検体を本法により分析した。すべての検体でホルムアルデヒドは検出下限値未満であった。

4 まとめ

HPLCを用いたホルムアルデヒドの迅速分析法について検討した結果、河川水試料及び海水試料に対するMDLはそれぞれ1.55 µg/L及び0.351 µg/L、MQLはそれぞれ3.99 µg/L及び0.903 µg/Lと算出され、本法が河川及び海域における生物特Aの指針値を十分に評価できる方法であることが確認された。添加回収試験の結果、河川水及び海水の回収率は105及び95.2%となり、当該分析法の環境水への適用が可能であることが確認された。

文献

- 1) 環境省：水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件の施行等について 付表2, 環境省通知環水企発031105001号, 環水管発031105001号, 平成15年11月5日。
- 2) 金見拓：利根川水系ホルムアルデヒド水質事故の概要と提起された課題, 日本リスク研究学会, 23(2), 57-64, 2013.
- 3) 厚生労働省：水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法 別表19の2, 厚生労働省告示第261号, 平成15年7月22日。
- 4) 環境省：化学物質実態調査の手引き(平成27年度版), 平成28年3月。

(英文要旨)

Rapid analysis of formaldehyde in environmental water using high performance liquid chromatography

Koichiro HATA and Toyokazu KOGA

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

High performance liquid chromatography was applied to rapid analysis of formaldehyde in environmental water. The pretreatment time for this method was several tens of minutes, which was much shorter than that for a conventional method. The method detection limit and method quantification limit for river water were 1.55 µg/L and 3.99 µg/L, respectively. The corresponding figures for seawater were 0.351 µg/L and, 0.903 µg/L, respectively. Recoveries of formaldehyde from spiked river and seawater samples were 105% and 95.2%, respectively. The method was applied to river water from Omuta city and seawater from the Ariake Sea, both in Fukuoka Prefecture, and formaldehyde was not detected.

[Key words ; Formaldehyde, HPLC]

短報

福岡県内公共用水域におけるノニルフェノールの実態調査について

藤川和浩・永島聡子・志水信弘・石橋融子

ノニルフェノール（以下、NP と略す）は、水生生物保全水質環境基準項目として、平成 24 年 8 月に告示、施行された。このことから、福岡県内の公共用水域の環境基準点 122 地点において、平成 25 年度から NP の実態調査を行った。その結果、平成 25 年度の NP 濃度は $<0.06\sim0.25\text{ }\mu\text{g/L}$ ($n=122$)、26 年度は $<0.06\sim1.7\text{ }\mu\text{g/L}$ ($n=488$)、27 年度は $<0.06\sim0.23\text{ }\mu\text{g/L}$ ($n=488$)、28 年度は $<0.06\sim0.28\text{ }\mu\text{g/L}$ ($n=488$) であった。本調査における、報告下限値 $0.06\text{ }\mu\text{g/L}$ 以上の地点の割合は、平成 25 年度は 25%、26 年度は 19%、27 年度は 4%、28 年度は 8% であった。次に、ダム及び海域について、NP 濃度の鉛直分布を検討したところ、ダムの底層の濃度が表層に比べて、高い傾向が見られた。また、NP は、13 異性体の混合物であることから、公共用水域の異性体の組成比について検討したところ、河川水と比べて、ダム、海域で異なる組成比であることが分かった。

[キーワード：ノニルフェノール（NP）、ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）、固相抽出、水生生物保全水質環境基準]

1 はじめに

水生生物保全水質環境基準とは、水生生物の保全を目的にした水質環境基準である。従来の水質環境基準は、人の健康の保護や富栄養化など、「生活環境の保全」に支障となるおそれのある物質について設定されたものであった。しかし、水生生物の減少や生物多様性の減少が各地で見られるようになるにつれ、「健全な生態系の維持・再生」、「良好な水環境の保全」のためには、水生生物への影響も考慮した基準が必要であると認識されるようになった。このことから、環境省では、水生生物への影響が大きいと考えられる全亜鉛を平成 15 年に、ノニルフェノール（NP）及び直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（LAS）を平成 24 年度に水生生物保全水質環境基準項目とし、各類型における基準値を設定している。このことから、福岡県では、基準項目の測定を順次行っているところであり、全亜鉛^{1,2)}及び LAS³⁾の調査結果については、一部、報告している。今回、福岡県内公共用水域での NP の実態調査結果についてまとめたので報告する。

5月（春季）、7月（夏季）、10月または11月（秋季）、1月（冬季）の季節毎に行った。ダム及び海域については、表層と底層を採水した。

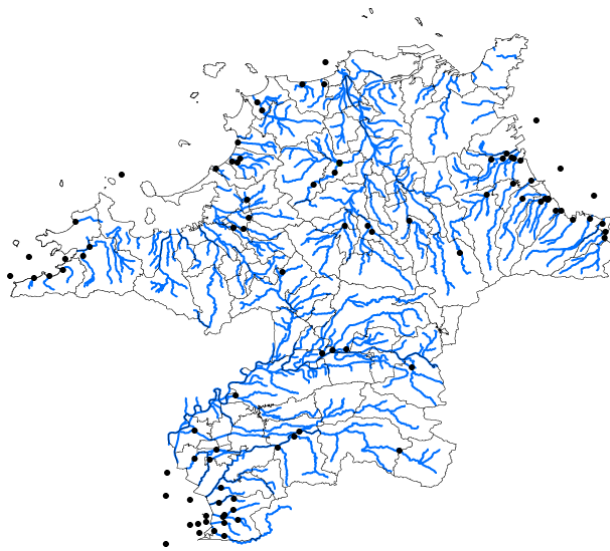


図1 採水地点

2 分析方法

2・1 採水地点及び調査期間

採水地点を図1に示す。調査は、福岡県内の河川（70地点）、ダム（3地点）及び海域（19地点）を対象とし、平成 25 年度の8月または9月（夏季）と平成26年度から28年度は

2・2 NP分析の試薬及び各種溶液調製

NP 標準試薬は、シグマアルドリッチ製の4-NP標準試薬を用いて、サロゲート試薬として、CIL社製の4-(1,4-ジメチル-1-エチルペンチル)フェノール($^{13}\text{C}_6$)を用いた。また、内部標準試薬として、関東化学製の4-n-NP-2,3,5,6- d_4 を用いた。アセトン及びジクロロメタンは、和光純薬製の残留

福岡県保健環境研究所（〒818-0135 太宰府市大字向佐野 39）

農薬・PCB測定用を用いた。

4-NP標準液は、4-NP標準試薬(1000 µg/mLアセトン溶液)をジクロロメタンで1000倍希釈し、調製した。サロゲート溶液は、4-(1,4-ジメチル-1-エチルペンチル)フェノール(¹³C₆) (100 µg/mLメタノール溶液)をアセトンで20倍希釈し、調製した。内標準原液は、4-n-NP-2,3,5,6-d₄ 10 mgを全量フラスコ10 mLに採り、アセトンを標線まで加えて調製した。内標準液は、内部標準原液をジクロロメタンで500倍に希釈し、調製した。検量線標準液は、4-NP標準液を5～500 µLの範囲で段階的に希釈し、これらにサロゲート溶液10 µL及び内標準液10 µLを加え、ジクロロメタンで約0.5 mLに調製した。

2・3 NP分析の器具及び装置

カートリッジ型固相カラムは、Waters製 Oasis HLB plus LP Extraction Cartridgeを抽出用に、Waters製 Sep-Pak Dry Cartridgeを脱水用に用いた。固相抽出は、Waters製 CHRATEC Sep-Pak Concentrator SPC10-Pを用いて、脱水及び乾燥には、久保田製作所製のユニバーサル冷却遠心機 KUBOTA 5800及びエムエス機器製 DRI-BLOCK DB-3Lを用いた。分析には、島津製作所製のガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) GC/MS-QP 2010 ultraを用いた。

2・4 NPのGC/MS分析条件

GC/MS分析は、公定法⁴⁾に準じて行い、その条件を表1に示す。

表1 GC/MS分析条件

GC条件	キャピラリーカラム	HP-5ms (アジレント・テクノロジー製) 長さ30m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 µm
	キャリアガス流量	He, 1.2 mL/min Constant flow
MS条件	カラム昇温プログラム	50°C(1 min) → 8°C/min → 280°C(5min)
	気化室温度、注入量	250°C、2 µL(splitless)
MS条件	イオン化電圧	70 eV
	イオン源温度	200°C
	インターフェース温度	280°C

2・5 NPの前処理方法

NPの前処理は、公定法⁴⁾及び藤川らの検討した方法⁵⁾に従った。

2・6 回収率及び定量下限値

NPの回収率は、サロゲートの回収率とし、定量下限値(MQL)は、化学物質環境実態調査実施の手引き(平成20年度版)⁶⁾を参考に、標準試料の測定結果(n = 7)の標準偏差の10倍とした。標準溶液(濃度 0.05 µg/L)を調製し、2・5の方法で処理した。その試験液における回収率及びMQLを表2に示す。試験液の回収率は、95～98%で良好であり、NPの13異性体毎のMQLは、0.0005～0.0018 µg/Lであった。

表2 標準試験液のNPの回収率及びMQL値

n	1	2	3	4	5	6	7	MQL
#	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)
NP1	0.0025	0.0025	0.0026	0.0025	0.0027	0.0025	0.0024	0.0008
NP2	0.0070	0.0071	0.0067	0.0069	0.0069	0.0070	0.0069	0.0012
NP3	0.0088	0.0088	0.0086	0.0087	0.0085	0.0086	0.0088	0.0013
NP4	0.0032	0.0033	0.0033	0.0033	0.0034	0.0033	0.0033	0.0005
NP5	0.0038	0.0039	0.0041	0.0041	0.0040	0.0039	0.0041	0.0011
NP6	0.0042	0.0041	0.0038	0.0041	0.0040	0.0040	0.0041	0.0015
NP7	0.0029	0.0032	0.0032	0.0033	0.0033	0.0032	0.0035	0.0018
NP8	0.0019	0.0017	0.0020	0.0019	0.0020	0.0020	0.0020	0.0011
NP9	0.0039	0.0043	0.0041	0.0041	0.0041	0.0041	0.0040	0.0011
NP10	0.0019	0.0020	0.0023	0.0020	0.0020	0.0021	0.0020	0.0012
NP11	0.0063	0.0065	0.0065	0.0064	0.0067	0.0067	0.0065	0.0013
NP12	0.0021	0.0023	0.0024	0.0024	0.0023	0.0022	0.0024	0.0012
NP13	0.0029	0.0027	0.0028	0.0027	0.0029	0.0028	0.0028	0.0007
合計	0.052	0.052	0.052	0.052	0.053	0.052	0.053	(µg/L)
回収率	96%	98%	97%	97%	95%	98%	97%	—

3 結果と考察

3・1 環境水試料の回収率

環境水試料は、懸濁物質(SS)による固相カラムの目詰まり等によって、回収率が低下する可能性がある。今回、測定を行った環境試料中の回収率を表3に示す。回収率は、全体で50～119%(平均73%)であり、河川では、50～119%(平均77%)、ダムでは、53～119%(平均79%)、海域では、50～99%(平均65%)であった。公定法⁴⁾では、試料に添加したサロゲート物質の回収率が、50～120%であることを確認することとなっている。今回、分析した試料では、すべてこの範囲内であり、分析条件を満たしていたが、海水の回収率が他の検体に比べて低い傾向が見られた。この要因については、今後の検討課題である。

表3 環境水のNPの年度毎の回収率

採水年度		平成25年度	平成26年度	平成27年度	平成28年度	全期間
区分		(夏のみ)	(年4回)	(年4回)	(年4回)	(13回)
全域 n = 122	最大	119%	118%	101%	98%	119%
	最小	54%	50%	50%	50%	50%
	平均	85%	73%	69%	74%	73%
河川 n = 70	最大	119%	118%	101%	97%	119%
	最小	64%	50%	53%	50%	50%
	平均	89%	77%	73%	77%	77%
ダム n = 9	最大	119%	112%	90%	98%	119%
	最小	81%	61%	53%	60%	53%
	平均	101%	84%	73%	76%	79%
海域 n = 43	最大	99%	92%	83%	97%	99%
	最小	54%	50%	50%	50%	50%
	平均	75%	63%	61%	69%	65%

3・2 環境水中のNP濃度

年度毎のNPの濃度は、平成25年度は、<0.06～0.25 µg/L(n = 122地点)、26年度は、<0.06～1.7 µg/L(n = 488地点)、27年度は、<0.06～0.23 µg/L(n = 488地点)、28年度は、<0.06～0.28 µg/L(n = 488地点)の範囲であった。年度毎のNPの濃度分布を表4に示す。表4より報告下限値(0.06 µg/L)以上の割合は、平成25年度は、24.6%、26年度は、2.5～36.1%(平均18.6%)、27年度は、1.6～4.9%(平均3.5%)、28年度は、5.7～13.1%(平均8.2%)であった。このように、県内の環境水中のNPは、約8割以上の地点で報告下限値以下であったが、平成26年度の秋季及び冬季に、それぞれ1.3 µg/L、1.4 µg/L、1.6 µg/L及び1.7 µg/Lを検出し、最も厳しい類型(淡水域・生物特A)の基準値の0.6 µg/Lを超えていた。その原因として、これらの

検体は、SS が 4800 mg/L、50 mg/L、290 mg/L 及び 320 mg/L と非常に高く、NP の環境中の分布について、土壤中に約 8 割分布するという予測結果⁷⁾があり、また、疎水性で、粒子に吸着され易いことから⁸⁾、SS 由来と考えられる。

表 4 NP の濃度分布

採水時期	濃度(μg/L)	春季	夏季	秋季	冬季	年間平均
平成25年度 検体数 n = 122	～0.06	—	75.4%	—	—	—
	0.06～0.12	—	18.0%	—	—	—
	0.12～0.24	—	4.9%	—	—	—
	0.24～0.48	—	1.6%	—	—	—
	0.48～0.60	—	0.0%	—	—	—
平成26年度 検体数 n = 488	～0.06	63.9%	71.3%	97.5%	92.6%	81.4%
	0.06～0.12	22.1%	27.0%	0.8%	4.9%	13.7%
	0.12～0.24	10.7%	1.6%	0.0%	0.0%	3.1%
	0.24～0.48	3.3%	0.0%	0.8%	0.0%	1.0%
	0.48～0.60	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
平成27年度 検体数 n = 488	～0.06	96.7%	98.4%	95.9%	95.1%	96.5%
	0.06～0.12	1.6%	1.6%	4.1%	3.3%	2.7%
	0.12～0.24	1.6%	0.0%	0.0%	1.6%	0.8%
	0.24～0.48	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	0.48～0.60	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
平成28年度 検体数 n = 488	～0.06	94.3%	86.9%	94.3%	91.8%	91.8%
	0.06～0.12	4.9%	13.1%	4.9%	7.4%	7.6%
	0.12～0.24	0.8%	0.0%	0.8%	0.0%	0.4%
	0.24～0.48	0.0%	0.0%	0.0%	0.8%	0.2%
	0.48～0.60	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%

3・3 ダム及び海域でのNP濃度の鉛直分布

ダム及び海域は、表層及び底層を採取し、ダムの採取水深差は、20～53 m、海域は、0.5～16 mであった。そこで、ダム及び海域のNP濃度の鉛直分布を検討した。表層より底層のNPの値が高かった割合は、それぞれのダムの平均値で、61.5～76.9%であった。この理由は、ダムでは、比較的对流が穏やかで、粒子が底層へと沈降するため、表層から底層へNPの移送が起こったためと考えられる。海域については、表層及び底層でほとんどNP濃度は変わらなかった。海域の水深による差が見られなかった理由として、ダムに比べて、水深の差が小さく、浪や干満により粒子の沈降が抑えられている可能性が考えられる。

3・4 NP の異性体の存在割合

NP は 13 異性体の混合物⁴⁾であることから、環境水中の異性体の組成比の割合を検討した。NP の 13 異性体の物質名を表 5 に示す。

表 5 NP の異性体の物質名

異性体番号	物質名
#1	4-(2, 4-ジメチルヘプタン-4-イル)フェノール
#2	4-(2, 4-ジメチルヘプタン-2-イル)フェノール
#3	4-(3, 6-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール
#4	4-(3, 5-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール
#5	4-(2, 5-ジメチルヘプタン-2-イル)フェノール
#6	4-(3, 5-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール
#7	4-(3-エチル-2-メチルヘキサ-2-イル)フェノール
#8	4-(3, 4-ジメチルヘプタン-4-イル)フェノール
#9	4-(3, 4-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール
#10	4-(3, 4-ジメチルヘプタン-4-イル)フェノール
#11	4-(2, 3-ジメチルヘプタン-2-イル)フェノール
#12	4-(3-メチルオクタ-3-イル)フェノール
#13	4-(3, 4-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール

※ 異性体番号#4と#6、#8と#10、#9と#13はそれぞれ立体異性体

全データを、調査地点区分（河川、ダム(表層、底層)、海域(表層、底層))に分けて、異性体の組成比の平均値を算出した。河川、ダム及び海域の組成比のグラフを図2、図3及び図4に示す。図3より、ダムの表層と底層は組成比が異なっていた。図2と図3より、河川とダムを比較すると、ダムの表層は、異性体の #3、12が少なく、#4、6が多く、ダムの底層では、#1、9、12が少なく、#4、11、13が多かった。また、図4より、海域の表層と底層は、ほぼ同様の組成比であった。図2と図4より、河川水と比べて、海水は、異性体の #1、8、9の割合が少なく、#6、11、12が多くなっていた。

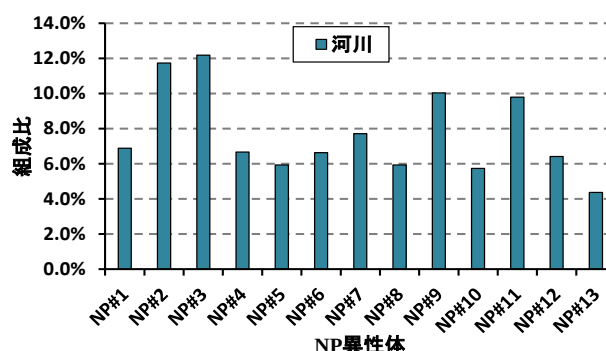


図 2 NP の異性体毎の河川の組成比

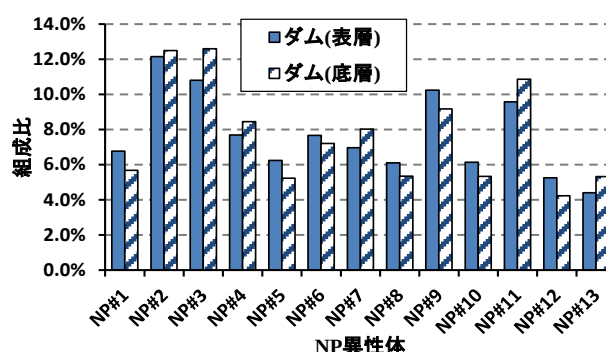


図 3 NP の異性体毎のダム（表層・底層）の組成比

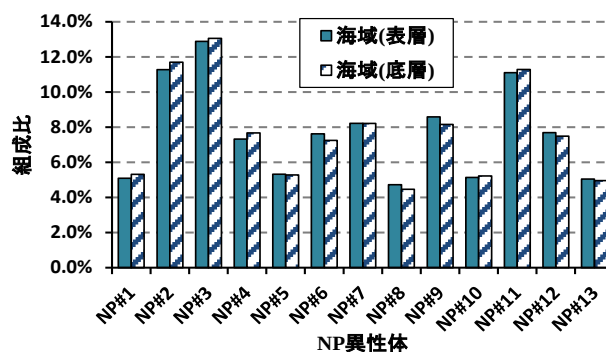


図 4 NP の異性体毎の海域（表層・底層）の組成比

このように、ダムと海域は、河川の組成比とはパターンが異なっていた。これは、河川より組成比が多い異性体は、

SS に付着しやすく、少ない異性体は、微生物等による分解⁹⁾などの可能性が考えられる。

4 まとめ

NPを平成25年度から28年度まで分析した結果、以下のことが分かった。

- 1) 報告下限値 (0.06 µg/L) 以上の地点の割合は、平成25年度は25%、26年度は19%、27年度は4%、28年度は8%であり、水生生物保全のための最も厳しい基準値 0.6 µg/Lを超えた地点が4件検出された。
- 2) ダムと海域で、NP濃度の鉛直分布を検討した結果、海域では、ほとんど差がなかったが、ダムの底層が表層よりNPの値が高かった。これは、NPが懸濁物質に吸着しやすく、表層から底層への移送が起こっている可能性が考えられる。深層付近で生育する生物は、表層付近で生息する生物に比べて、NPによる生態への影響が大きい可能性が考えられる。
- 3) 分析値の13異性体毎の組成比を検討した結果、ダム及び海域は、河川とは、パターンが異なっており、ダムでは、表層と底層の組成比に違いが見られた。しかし、海域は表層と底層の組成比は、ほぼ同様であった。湖沼などの対流が穏やかな水中では、NPの13異性体の構造の違いにより、挙動が異なっていると考えられる。

(英文要旨)

Survey on nonylphenol in public water area (rivers,dams and the sea) in Fukuoka Prefecture

Kazuhiro FUJIKAWA, Satoko NAGASHIMA, Nobuhiro SHIMIZU, Yuko ISHIBASHI

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

To protect aquatic creatures, nonylphenol (NP) was added to water quality standards on August 22, 2012. In the present study, we surveyed the NP concentrations at 122 locations in public water area in Fukuoka Prefecture using samples collected from 2013 to 2016. The NP concentrations were < 0.06–0.25 µg/L ($n = 122$) in 2013, < 0.06–1.7 µg/L ($n = 488$) in 2014, < 0.06–0.23 µg/L ($n = 488$) in 2015, and < 0.06–0.28 µg/L ($n = 488$) in 2016. Compared with the limit of 0.06 µg/L from the water quality standard, the proportion of samples higher than the limit was 25% in 2013, 19% in 2014, 4% in 2015, and 8% in 2016. Next, we examined differences in NP concentrations between the surface layer and the bottom layer in a dam and the sea. The concentration of NP in the dam bottom layer tended to be higher than that in the surface layer. NP is a mixture of 13 isomers, and we found that the isomeric compositions in the water samples varied depending on whether the sample was from a river, dam, or the sea.

[Key words ; Nonylphenol(NP) , Gas Chromatography Mass Spectrometry(GC/MS) , Solid phase extraction ,
Water Quality Standard to protect Aquatic Creatures]

参考文献

- 1) 松尾宏ら：福岡県保健環境研究所年報第 35 号, 98-101, 2008.
- 2) 鳥羽峰樹ら：福岡県保健環境研究所年報第 36 号, 89-92, 2009.
- 3) 志水信弘ら：福岡県保健環境研究所第 43 号, 99-103, 2016.
- 4) 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, 環境省告示第 127 号付表 11, 2015.
- 5) 藤川和浩ら：福岡県保健環境研究所年報第 41 号, 97-100, 2014.
- 6) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：化学物質環境実態調査実施の手引き（平成 20 年度版）
- 7) [13] ノニルフェノール：化学物質の環境リスク評価 第 2 巻, 環境省, 2003.
- 8) 佐来栄治ら：三重県北部河川のアルキルフェノール類とビスフェノール A について（第 2 報）, 三重県保健環境研究所（環境部門）年報第 1 号（通巻第 20 号）, 2000.
- 9) 藤井克彦ら：ノニルフェノール分解微生物, Journal of Tokyo University of Fisheries, Vol.87, 1-12, 2001.

短報

福岡県内公共用水域における4-t-オクチルフェノールの実態調査について

藤川和浩・永島聡子・志水信弘・石橋融子

福岡県内の公共用水域の環境基準点を対象として、4-t-オクチルフェノール（以下、4-t-OP と略す）の実態調査を行った。その結果は、調査地点 122 地点において、平成 26 年度の 4-t-OP 濃度は $<0.0004 \sim 0.15 \mu\text{g/L}$ ($n=488$)、27 年度は $<0.0004 \sim 0.027 \mu\text{g/L}$ ($n=488$)、28 年度は $<0.0004 \sim 0.18 \mu\text{g/L}$ ($n=488$) であり、水生生物保全のための指針値 $0.4 \mu\text{g/L}$ を超える地点はなかった。本調査における検出地点の割合は、平成 26 年度は 74%、27 年度は 76%、28 年度は 75% であった。次に、ダム及び海域について、4-t-OP 濃度の鉛直分布を検討したところ、ダムの底層の濃度が表層に比べて、高い傾向が見られた。また、4-t-OP と懸濁物質（SS）との関係を検討したところ、ダムにおいて、SS への 4-t-OP の吸着の影響が示唆された。

[キーワード：4-t-オクチルフェノール（4-t-OP）、ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）、固相抽出、水生生物保全水質環境基準]

1 はじめに

4-t-オクチルフェノール（4-t-OP）は、4-t-オクチルフェノールエトキシレートが分解して生成する副生成物であり、化学物質排出把握管理促進法（化管法）の第一種指定化学物質である p-オクチルフェノールの異性体の一つである。P-オクチルフェノールは、主に、接着剤、印刷インクやワニスに用いられる油性フェノール樹脂の原料、工業用の界面活性剤として用いられるポリ（オキシエチレン）オクチルフェニルエーテルの原料に使われており、これまで、環境省が実施した内分泌攪乱化学物質環境実態調査結果等で検出事例が報告されている¹⁾。また、化学物質の環境リスク評価も行われており、これによれば環境中の 4-t-OP の分布は、底質に 99%以上分布していると予測されている²⁾。

水生生物保全水質環境基準は、生活環境を構成する水生生物及びその餌生物並びにそれらの生息又は生育環境の保全を目的として設定された。我が国に生息する魚介類及びその餌生物に係る化学物質の毒性等に関する知見、公共用水域等における検出状況等から判断し、随時、追加されている。この他に、検出状況等からみて、環境基準とせず、引き続き知見の集積に努めるべきと判断された物質を要監視項目としている。4-t-OP は、要監視項目の一つで指針値が設定され、継続的な水質測定と推移の把握が求められている。今回、福岡県内公共用水域での 4-t-OP の実態把握を目的として調査を実施したので報告する。

福岡県保健環境研究所（〒818-0135 太宰府市大字向佐野 39）

2 分析方法

2・1 採水地点及び調査期間

採水地点を図1に示す。調査は、福岡県内の河川（70地点）、ダム（3地点）及び海域（19地点）を対象とし、平成 26 年度から 28 年度に実施した。採水は、5 月（春季）、7 月（夏季）、10 月または 11 月（秋季）、1 月（冬季）の季節毎に行い、ダム及び海域については、表層と底層を採水した。

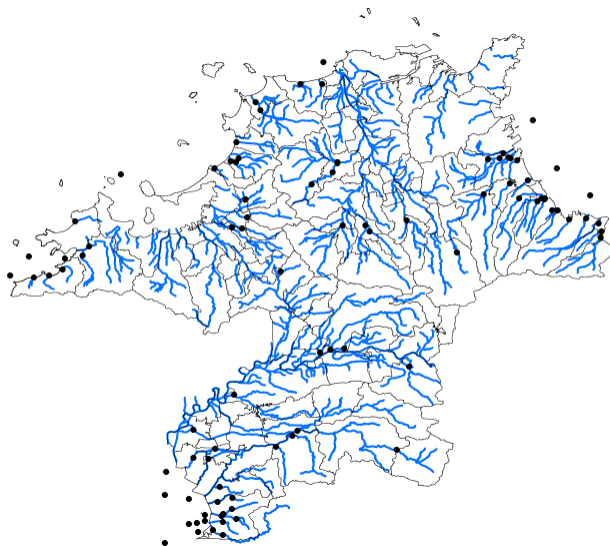


図1 採水地点

2・2 4-t-OP分析の試薬及び各種溶液調製

4-t-OP 標準試薬は、和光純薬製の p-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールを用いて、サロゲート試薬として、

TRC社製の4-t-オクチルフェノール(¹³C₆)を用いた。また、内部標準試薬として、関東化学製の4-n-NP-2,3,5,6-d₄を用いた。アセトン及びジクロロメタンは、和光純薬製の残留農薬・PCB測定用を用いた。

4-t-OP標準液は、p-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノール1 mgを全量フラスコ20 mLに採り、アセトンを標線まで加え、この溶液を、ジクロロメタンで100倍希釈し、調製した。サロゲート溶液は、4-t-オクチルフェノール(¹³C₆) 1 mgを全量フラスコ20 mLに採り、アセトンを標線まで加え、この溶液を、アセトンで10倍希釈し、調製した。内標準原液は、4-n-NP-2,3,5,6-d₄ 10 mgを全量フラスコ10 mLに採り、アセトンを標線まで加えて調製した。内標準液は、内部標準原液をジクロロメタンで500倍に希釈し調製した。検量線標準液は、4-t-OP標準液を2.5～250 µLの範囲で段階的に希釈し、これらにサロゲート溶液10 µL及び内標準液10 µLを加え、ジクロロメタンで約0.5 mLに調製した。

2・3 4-t-OP分析の器具及び装置

カートリッジ型固相カラムは、Waters製 Oasis HLB plus LP Extraction Cartridgeを抽出用に、Waters製 Sep-Pak Dry Cartridgeを脱水用に用いた。固相抽出は、Waters製 CHRATEC Sep-Pak Concentrator SPC10-Pを用いて、脱水及び乾燥には、久保田製作所製のユニバーサル冷却遠心機 KUBOTA 5800及びエムエス機器製 DRI-BLOCK DB-3Lを用いた。分析には、島津製作所製のガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) GC/MS-QP 2010 ultraを用いた。

2・4 4-t-OPのGC/MSの分析条件

GC/MS分析は、公定法³⁾ に準じて行い、その条件を表1に示す。

表1 GC/MS分析条件

GC条件	キャピラリーカラム	HP-5ms (アジレント・テクノロジー製) 長さ30m、内径 0.25 mm、膜厚0.25 µm
	キャリアガス流量	He, 1.2 mL/min Constant flow
	カラム昇温プログラム	50°C(1 min) → 8°C/min → 280°C(5min)
	気化室温度、注入量	250°C、2 µL(splitless)
MS条件	イオン化電圧	70 eV
	イオン源温度	200°C
	インターフェース温度	280°C

2・5 4-t-OPの前処理方法

4-t-OPの前処理は、公定法³⁾ 及び藤川らの検討した方法⁴⁾ に従った。

2・6 回収率及び定量下限値

4-t-OPの回収率は、サロゲートの回収率とし、定量下限値 (MQL) は、化学物質環境実態調査実施の手引き (平成20年度版)⁵⁾ を参考に、標準試料の測定結果 (n = 7) の標準偏差の10倍とした。標準溶液 (濃度0.005 µg/L) を調

製し、2・5の方法で処理した試験液の回収率は、82～ 85 % で良好であり、4-t-OPのMQLは、0.0004 µg/Lであった。

3 結果と考察

3・1 環境水試料の回収率

環境試料水に添加したサロゲートの回収率の結果を表2に示す。全域の全平均は50～119 % (平均76%) で、河川では、50～119% (平均78%)、ダムでは、50～100% (平均76%)、海域では、50～114% (平均74%) であった。公定法³⁾ では、試料に添加したサロゲート物質の回収率が、50～120%であることを確認することとなっている。今回、分析した試料では、すべてこの範囲内であり、分析条件を満たしていた。

表2 環境水の 4-t-OP の年度毎の回収率

区分	年度	平成26年度	平成27年度	平成28年度	全期間
		(年4回)	(年4回)	(年4回)	(12回)
全域 n = 122	最大	117%	119%	108%	119%
	最小	50%	50%	50%	50%
	平均	77%	76%	76%	76%
河川 n = 70	最大	117%	119%	100%	119%
	最小	50%	50%	50%	50%
	平均	80%	79%	75%	78%
ダム n = 9	最大	100%	91%	90%	100%
	最小	53%	61%	50%	50%
	平均	79%	76%	71%	76%
海域 n = 43	最大	114%	86%	108%	114%
	最小	50%	55%	57%	50%
	平均	72%	72%	78%	74%

3・2 環境水中の 4-t-OP 濃度

年度毎の 4-t-OP の濃度は、平成 26 年度は、< 0.0004～0.15 µg/L (n = 488 地点)、27 年度は、< 0.0004～0.027 µg/L (n = 488 地点)、28 年度は、< 0.0004～0.18 µg/L (n = 488 地点) の範囲であった。年度毎の濃度分布を表 3 に示す。

表3 4-t-OP の濃度分布

採水時期	濃度(µg/L)	春季	夏季	秋季	冬季	年間平均
平成26年度 検体数 n = 488	～0.0004	21.3%	31.1%	29.5%	23.8%	26.4%
	0.0004～0.001	27.0%	25.4%	31.1%	23.0%	26.6%
	0.001～0.005	49.2%	38.5%	38.5%	47.5%	43.4%
	0.005～0.010	1.6%	2.5%	0.0%	3.3%	1.8%
	0.010～0.040	0.8%	1.6%	0.0%	2.5%	1.2%
	0.040～	0.0%	0.8%	0.8%	0.0%	0.4%
平成27年度 検体数 n = 488	～0.0004	27.0%	17.2%	39.3%	13.1%	24.2%
	0.0004～0.001	22.1%	23.8%	21.3%	14.8%	20.5%
	0.001～0.005	43.4%	39.3%	32.0%	64.8%	44.9%
	0.005～0.010	5.7%	13.9%	5.7%	5.7%	7.8%
	0.010～0.040	1.6%	5.7%	1.6%	1.6%	2.7%
	0.040～	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
平成28年度 検体数 n = 488	～0.0004	23.8%	22.1%	27.9%	26.2%	25.0%
	0.0004～0.001	28.7%	25.4%	35.2%	23.8%	28.3%
	0.001～0.005	41.8%	46.7%	28.7%	43.4%	40.2%
	0.005～0.010	4.9%	5.7%	6.6%	5.7%	5.7%
	0.010～0.040	0.0%	0.0%	1.6%	0.8%	0.6%
	0.040～	0.8%	0.0%	0.0%	0.0%	0.2%

表3より定量下限値 (0.0004 µg/L) 以上の割合は、平成 26 年度は、68.9～78.7% (平均 73.6%)、27 年度は、60.7～86.9% (平均 75.8%)、28 年度は、72.1～77.9% (平均 75.0%) であった。県内の環境水中の 4-t-OP 濃度は、最も厳しい類型 (淡水域・生物特 A) の指針値の 0.4 µg/L を超えた検体はなかったが、平成 26 年度の夏季と秋季及び 28

年度の春季に、それぞれ 0.15 µg/L、0.09 µg/L 及び 0.18 µg/L と報告下限値の 0.04 µg/L 以上を検出した。これらの検体の特徴として、懸濁物質 (SS) が 730 mg/L、4800 mg/L 及び 130 mg/L と非常に高い傾向が見られ、SS 由来⁶⁾の可能性が考えられる。

3・3 ダム及び海域での 4-t-OP 濃度の鉛直分布

ダム及び海域は、表層及び底層を採取し、ダムの採取水深差は、20～53 m、海域は、0.5～16 m であった。そこで、ダム及び海域の 4-t-OP 濃度の鉛直分布を検討した。表層より底層の 4-t-OP の値が高かった割合は、それぞれのダムの平均で 75.0～83.3% であった。この割合より、ダムでは水深が深くなるにつれ、底層側の方に 4-t-OP が多く含まれていると考えられた。これは、表層付近の 4-t-OP が光分解⁷⁾されているか、もしくは、4-t-OP は疎水性で、SS に多く含まれることから、ダムは、比較的对流が穏やかで、粒子が沈降するため、表層から底層への移送が起きている⁶⁾と考えられる。海域は、水深による差がほとんどなかった。これは、海域の試料が、ダムに比べて、水深の差が小さく、浪や干満により粒子の沈降が抑えられている可能性が考えられる。

3・4 4-t-OP と懸濁物質 (SS) の関係

4-t-OP は、SS に多く含まれている⁶⁾と考えられるため、4-t-OP と SS 濃度について、河川、ダム及び海域の表層、底層でどの程度、差があるのか比較検討した。全データを、調査地点区分 (河川、ダム (表層、底層)、海域 (表層、底層)) に分けて、4-t-OP と SS の平均濃度を表 4 に示す。表 4 の全期間平均値より、ダムは、4-t-OP 濃度が表層より底層が 3 倍以上高く、SS 濃度も 2 倍以上高くなっていることから、4-t-OP が SS に吸着し底層側へ沈降していると考えられる。また、海域は、表層と底層で、4-t-OP と SS 濃度はあまり変化がなく、明確な違いは見られなかった。

表 4 区分毎の表層及び底層の 4-t-OP 及び SS 平均濃度

分析項目	区分	河川	ダム(表層)	ダム(底層)	海域(表層)	海域(底層)
	検体数	n = 620	n = 17	n = 32	n = 173	n = 192
4-t-OP (µg/L)	平成26年度	0.0034	0.0014	0.0016	0.0022	0.0022
	平成27年度	0.0021	0.0007	0.0050	0.0044	0.0036
	平成28年度	0.0027	0.0009	0.0041	0.0023	0.0024
	全期間平均	0.0027	0.0010	0.0036	0.0030	0.0027
SS (mg/L)	平成26年度	46.9	1.9	11.3	9.9	10.2
	平成27年度	15.8	2.8	6.2	9.6	9.4
	平成28年度	11.7	4.7	5.9	14.0	14.0
	全期間平均	24.8	3.2	7.8	11.2	11.2

次に各年度の季節毎に、河川、ダム、海域の調査地点区分に分けて、4-t-OP と SS の関係について検討した。年度毎の季節別の 4-t-OP の平均濃度を SS 平均濃度で除したグラフを図 2～4 に示す。また、調査地点区分に分けた、年度毎の季節別の SS 平均濃度を表 5 に示す。図 2～4 から、

ダムの 4-t-OP 濃度/SS 濃度の値が、河川と海域に比べて高くなっている。表 5 よりダムの SS 平均濃度は、河川や海域の 3～5 割程度であるため、図 2～4 から分かるようにダムの 4-t-OP 濃度/SS 濃度の平均値は、河川や海域の 3 倍～4 倍の値であった。このことから、河川や海域に比べて、ダムでは、SS に 4-t-OP が多く吸着していると考えられる。また、図 2～4 から 4-t-OP 濃度/SS 濃度の季節変化は、ダムは、夏季に低く、海域は、夏季に高い傾向が見られたが、河川では、平成 26 年度の秋季及び 28 年度の春季を除くと、ほぼ同程度で、季節変動は見られなかった。これらの要因については、今後の検討課題である。

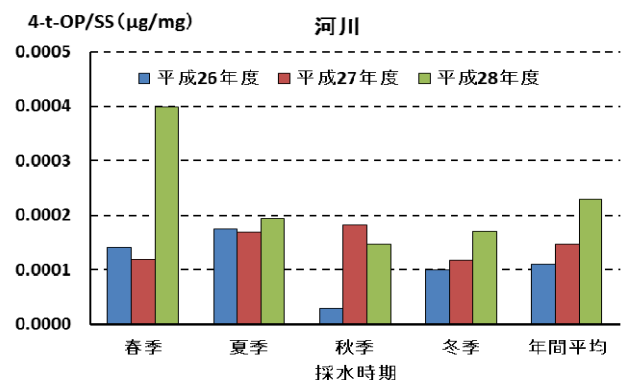


図 2 季節毎の 4-t-OP と SS の濃度比 (河川)

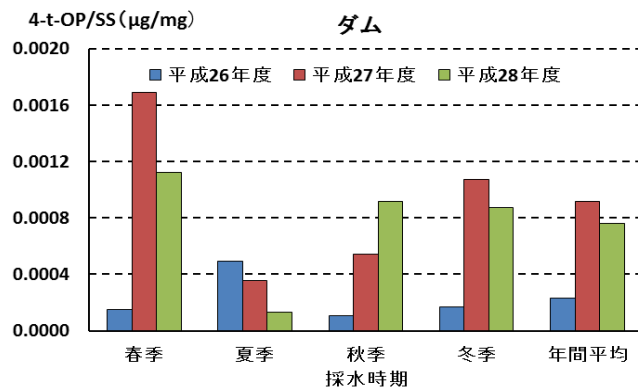


図 3 季節毎の 4-t-OP と SS の濃度比 (ダム)

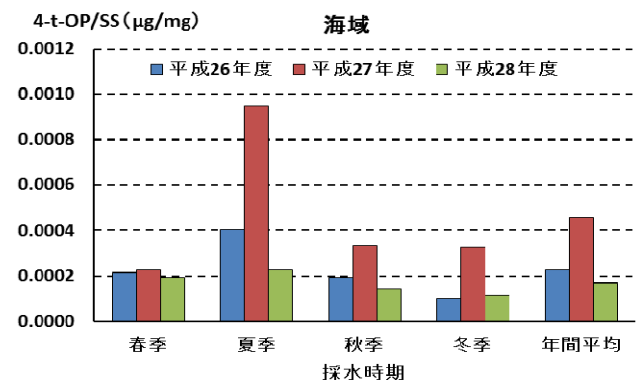


図 4 季節毎の 4-t-OP と SS の濃度比 (海域)

表5 年度毎の季節別のSS平均濃度

採水年度	時期	春季	夏季	秋季	冬季	年間平均
	検体数	n = 85	n = 85	n = 85	n = 85	n = 340
平成26年度	河川	12.6	30.6	128.5	32.9	51.1
平成27年度	SS濃度	18.9	11.6	10.6	19.4	15.1
平成28年度	(mg/L)	13.6	9.4	12.0	11.9	11.7
平成26年度	ダム	13.8	4.1	4.2	5.4	6.9
平成27年度	SS濃度	1.8	6.8	6.9	5.2	5.2
平成28年度	(mg/L)	2.9	11.2	5.0	3.7	5.7
平成26年度	海域	9.8	8.0	8.8	16.0	10.6
平成27年度	SS濃度	12.5	6.6	11.5	8.0	9.6
平成28年度	(mg/L)	14.3	11.0	14.8	16.1	14.0

4 まとめ

4-t-OPを平成26年度から28年度まで季節毎に分析した結果、以下のことが分かった。

- 1) 定量下限値 (0.0004 µg/L) 以上の地点の割合は、平成26年度は74%、27年度は76%、28年度は75%であり、水生生物保全のための最も厳しい指針値 0.4 µg/L を超えた地点はなかった。
- 2) ダムと海域で、4-t-OP濃度の鉛直分布を検討した結果、海域では、ほとんど差がなかったが、ダムでは、表層より底層の4-t-OPの値が高くなっていた。これは、4-t-OPがSSに吸着しており、ダムでは、対流が穏やかなため、表層から底層への移送が起こっていると考えられる。

- 3) 河川、ダム、海域の調査地点区分に分けて、4-t-OPとSSとの関係について検討した結果、ダムでは、SSにより多くの4-t-OPが吸着していると考えられた。また、4-t-OP濃度/SS濃度の季節変化は、ダムでは夏季に低く、海域では夏季に高い傾向が見られた。

参考文献

- 1) 74. p-オクチルフェノール：化学物質ファクトシート，環境省，2012.
- 2) [6] 4-t-オクチルフェノール：化学物質の環境リスク評価 第2巻，環境省，2003.
- 3) 水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件の施行等について：平成25年3月，環水大発第1303272号付表1，2015.
- 4) 藤川和浩ら：福岡県保健環境研究所年報第41号，97-100，2014.
- 5) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：化学物質環境実態調査実施の手引き（平成20年度版）
- 6) 佐来栄治ら：三重県北部河川のアルキルフェノール類とビスフェノールAについて(第2報)，三重県保健環境研究所年報第1号，2000.
- 7) PHENOL, 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) : OECD SIDS, Initial Assessment Report, 1995.

(英文要旨)

Survey on 4-tert-octylphenol in public water area (rivers, dams and the sea) in Fukuoka Prefecture

Kazuhiro FUJIKAWA, Satoko NAGASHIMA, Nobuhiro SHIMIZU, Yuko ISHIBASHI

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

We surveyed the 4-tert-octylphenol (4-t-OP) concentrations in public water area in Fukuoka Prefecture. The 4-t-OP concentrations measured at 122 locations were < 0.0004–0.15 µg/L ($n = 488$) in 2014, < 0.0004–0.027 µg/L ($n = 488$) in 2015, and < 0.0004–0.18 µg/L ($n = 488$) in 2016. None of the samples exceeded the guidance level of 0.4 µg/L for the protection of aquatic creatures. The proportion of samples that 4-t-OP was detected in was 74% in 2014, 76% in 2015, and 75% in 2016. We examined the distribution of 4-t-OP among different water layers in a dam and the sea, and found that the concentrations in the dam bottom layer were higher than those in the surface layer. We also examined the relationship between 4-t-OP and suspended solids, and found that 4-t-OP adsorbed on suspended solids in the dam.

[Key words ; 4-tert-Octylphenol(4-t-OP) , Gas Chromatography Mass Spectrometry(GC/MS) , Solid phase extraction , Water Quality Standard to protect Aquatic Creatures]

資料

平成28年度感染症細菌検査概要

濱崎光宏・カール由起・重村洋明・岡元冬樹・西田雅博・世良暢之

平成28年度に実施した感染症細菌検査は、①劇症型溶血性レンサ球菌感染症、②A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、③レプトスピラ症、④ジフテリア、⑤百日咳、⑥パラチフス、⑦細菌性赤痢、⑧侵襲性肺炎球菌感染症、⑨侵襲性インフルエンザ菌感染症、⑩腸管出血性大腸菌感染症であった。これらの検査結果について、その概要を報告する。

[キーワード：①劇症型溶血性レンサ球菌感染症、②A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、③レプトスピラ症、④ジフテリア、⑤百日咳、⑥パラチフス、⑦細菌性赤痢、⑧侵襲性肺炎球菌感染症、⑨侵襲性インフルエンザ菌感染症、⑩腸管出血性大腸菌感染症]

1 はじめに

当所では県内で発生した感染症に対して検査を実施している。近年、細菌性赤痢やパラチフス等は国外からの感染事例が多い傾向が見られる。本報では、平成28年度に実施した感染症細菌検査結果についてその概要を報告する。

2 方法

①劇症型溶血性レンサ球菌感染症 9 事例、②A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎 3 事例、③レプトスピラ症 1 事例、④ジフテリア 1 事例、⑤百日咳 1 事例、⑥パラチフス 4 事例、⑦細菌性赤痢 2 事例の計 21 事例及び⑧侵襲性肺炎球菌感染症 37 株、⑨侵襲性インフルエンザ菌感染症 6 株、⑩腸管出血性大腸菌感染症 98 株（保健福祉（環境）事務所別の菌株数は、南筑後が 60 株、嘉穂・鞍手が 10 株、筑紫が 7 株、糸島が 6 株、宗像・遠賀が 5 株、粕屋が 5 株、田川が 4 株及び北筑後が 1 株）について検査を実施した。

①劇症型溶血性レンサ球菌感染症事例で搬入された菌株について、生化学性状試験及びAPI ストレップ 20 による同定を実施し一部型別を行った。溶血性レンサ球菌であることを確認した後、衛生微生物協議会溶血性レンサ球菌九州地区リファレンスセンターである大分県環境衛生研究センターを通じて、国立感染症研究所に当該菌株の検査を依頼した。

②A群溶血性レンサ球菌咽頭炎事例で搬入された検体は、コロニビアCNA5%ヒツジ血液寒天培地で分離培養を行った。分離されたコロニーに対して生化学性状試験を実施した。

③レプトスピラ症については、国立感染症研究所に検体を送付し抗体検査を依頼した。

④ジフテリアについては、搬入された検体についてPCRを実施した。

⑤百日咳事例で搬入された検体は、ボルデテラCFDN寒天培地、CEX-BG寒天培地及びBG寒天培地を用いて分離培養を実施した。分離されたコロニーに対してはPCRを実施した。

⑥パラチフス事例で搬入された検体は、パラチフスA菌の同定を実施し、国立感染症研究所に菌株を送付してファージ型別検査等を依頼した。

⑦細菌性赤痢事例で搬入された検体は、赤痢菌の同定を実施し、国立感染症研究所に菌株を送付して遺伝子型別検査等を依頼した。

⑧侵襲性肺炎球菌感染症事例で搬入された菌株について、生化学性状試験による同定を実施した後、国立感染症研究所に送付した。

⑨侵襲性インフルエンザ菌感染症事例で搬入された菌株について、HN-20 ラピッド「ニッスイ」を用いた生化学性状試験等による同定を実施した後、国立感染症研究所に送付した。

⑩腸管出血性大腸菌感染症事例で搬入された98株については、生化学性状試験、血清型別及び毒素型別検査を実施した後、国立感染症研究所に送付した。

3 結果

腸管出血性大腸菌感染症、侵襲性肺炎球菌感染症及び侵襲性インフルエンザ菌感染症を除く感染症細菌検査結果を表1に示す。①劇症型溶血性レンサ球菌感染症で搬入された菌株のうち、6株はG群溶血性レンサ球菌（遺伝子型

はstG6792.3 型、StG245.0 型、遺伝子型不明)、2株はA群溶血性レンサ球菌(遺伝子型はemm1.95 型、emm1.0 型)であり、1株はB群溶血性レンサ球菌(血清型はIb型)と判明した。②A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、③レプトスピラ症、④ジフテリア及び⑤百日咳で搬入された検体は、全て陰性であった。⑥パラチフスで搬入された菌株は全てパラチフスA菌であり、国立感染症研究所で実施されたファージ型別は型別不明であった。⑦細菌性赤痢で搬入された検体は全てソネネ赤痢菌であり、遺伝子型はSsV16-051型及びSsV16-052型であった。

⑧侵襲性肺炎球菌感染症及び⑨侵襲性インフルエンザ菌感染症の検査結果を表2に示す。⑧侵襲性肺炎球菌感染症事例で搬入された菌株の血清型は、Type3が6株、Type6Aが7株、Type6Cが4株、Type10Aが5株、Type11A/Eが1株、Type12Fが1株、Type15Aが1株、Type15Bが1株、Type18Aが1株、Type19Aが4株、Type19Fが1株、Type22Aが1株、Type22Fが1株、Type23Fが2株、Type34が1株であり血清型Type6A、Type3、Type10A、Type19A、Type6Cの順に多かった。また、⑨侵襲性インフルエンザ菌感染症事例で搬入された菌株は、全て血清型別不能株(non-typable)であった。

⑩腸管出血性大腸菌感染症で搬入された菌株のO群血清型別の内訳はO26が57株(H血清型は全て11型であり、毒素型は全てStx1)、O157が29株(H血清型7が13株、非運動性(H-)が16株であり、毒素型は、Stx1及びStx2産生株が13株、Stx1単独産生株が7株、Stx2単独産生株が9株)、O91が5株(H血清型は全て14型、毒素型は全てStx1単独産生株)、O111が4株(H血清型は2株が14型、2株はH-、毒素型は全てStx1単独産生株)、O115が1株(H血清型は10型、毒素型はStx1単独産生株)、O5が1株(H血清型はH-、毒素型はStx1単独産生株)及びO174(H血清型は21型、毒素型はStx2単独産生株)が1株であった(表3)。

4 考察

感染症発生動向調査事業年報¹⁾による平成25年から平成27年までの3年間に全国で報告された⑤パラチフスの患者報告数98人のうち国内感染は2名、国外感染は98名(96.9%)、感染地域不明は1名でありほとんどが国外感染者であった。当所で確認されたパラチフス患者の推定感染地域はインドであり、その患者からの二次感染が確認された。同様に⑦細菌性赤痢の全国での患者報告数は457人、国内感染者は148人、国外感染者は307人(67.2%)、感染地域不明は2名であり国外感染者が多い傾向が認められた。当所で確認された細菌性赤痢患者の推定感染地域はいずれもインドネシアであった。国際交流が盛んになり渡

航者が増えているため、これらの輸入感染症に留意する必要があると示唆された。

⑧侵襲性肺炎球菌感染症の重篤化を予防する為、複数の血清型を含むワクチンが2010年から使用されている。現在使用されているワクチンには、13価の肺炎球菌結合型ワクチン(PCV13:血清型Type1、3、4、5、6A、6B、7F、9V、14、18C、19A、19F、23Fを含む)及び23価ポリサッカライド肺炎球菌ワクチン(PPSV23:PCV13から血清型Type6Aを除き、血清型Type2、8、9N、10A、11A、12F、15B、17F、20、22F、33Fを含む)があるが、搬入された肺炎球菌株の中には、これらワクチンに含まれる血清型を示す株が認められた。米国では、ワクチン導入に伴い流行している肺炎球菌株の血清型に変化が見られることが報告されている³⁾。また、⑨侵襲性インフルエンザ菌感染症の重篤化を予防する為、2008年よりワクチン(Hib:血清型Typebのみを含む)が使用されている。搬入されたインフルエンザ菌株は、ワクチンに含まれる血清型Typebを示す菌株はなく、全て型別不能株であった。Hib導入により流行しているインフルエンザ菌株の血清型は、型別不能株が増加することが知られており⁴⁾、当所で確認された株も同様な傾向が確認された。ワクチンで予防可能な疾患である⑧侵襲性肺炎球菌感染症及び⑨侵襲性インフルエンザ菌感染症のワクチンの効果等を評価するため、引き続き血清型の動向を調査していく必要があると考えられる。

⑩腸管出血性大腸菌感染症については、当所への搬入菌株数が平成28年度は98株であり平成27年度の67株に比べ増加した。これは、A保育所でO26の集団感染事例が発生したためである。O26による集団感染事例は、無症状病原体保有者が50%程度と多いことが知られており²⁾、本事例もO26が検出された56人のうち患者は18人、無症状病原体保有者は38名(67.9%)であり、半数以上が無症状病原体保有者であった⁵⁾。無症状病原体保有者が多いと2次感染が発生しやすく感染拡大を防止することが困難になると考えられることから、疫学調査及び健康診断による無症状病原体保有者の把握が必要と考えられる。

文献

- 1) 感染症発生動向調査事業年報 (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/2270-idwr/nenpou/6980-idwr-nenpo2015.html>) , 2017. 7. 21.
- 2) 坂上和弘ら: 病原微生物検出情報 37:92-93, 2016
- 3) Hicks LA, et al., J Infect Dis 196: 1346-1354, 2007
- 4) Kastrin T, et al., Eur J Clin Microbiol Infect Dis 29: 661-668, 2010
- 5) 上野誌歩子ら: 病原微生物検出情報 38:148-149, 2017

表1 平成28年度に実施した感染症細菌検査一覧

番号	搬入日	管轄保健福祉 (環境) 事務所	検査対象	検査材料	結果
1	H28.4.7	筑紫	劇症型溶血性レンサ球菌型別	菌株	A群溶血性レンサ球菌 <i>emm1.95</i> 型
2	H28.5.9	田川	百日咳検査	咽頭ぬぐい液(鼻汁)	陰性
3	H28.7.21	嘉穂・鞍手	劇症型溶血性レンサ球菌型別	菌株	G群溶血性レンサ球菌 <i>stG6792.3</i> 型
4	H28.7.22	宗像・遠賀	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎検査	咽頭ぬぐい液	陰性
5	H28.7.26	田川	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎検査	咽頭ぬぐい液	陰性
6	H28.7.26	南筑後	ジフテリア検査	菌株	陰性
7	H28.8.16	筑紫	パラチフス検査	菌株	パラチフスA菌 フェージ型別不明 推定感染地域：インド
8	H28.8.19	嘉穂・鞍手	劇症型溶血性レンサ球菌型別	菌株	G群溶血性レンサ球菌
9	H28.8.30	筑紫	レプトスピラ症検査	血清	陰性
10	H28.9.1	嘉穂・鞍手	劇症型溶血性レンサ球菌型別	菌株	G群溶血性レンサ球菌 <i>stG245.0</i> 型
11	H28.9.9	筑紫	パラチフス検査	菌株	パラチフスA菌 フェージ型別不明 事例7の兄弟 推定感染地域：国内
12	H28.10.14	筑紫	パラチフス検査	菌株	パラチフスA菌 フェージ型別不明 事例7と同一人物
13	H28.11.1	筑紫	パラチフス検査	菌株	パラチフスA菌 フェージ型別不明 事例11と同一人物
14	H28.11.29	筑紫	細菌性赤痢検査	菌株	ソネネ赤痢菌 SsV16-051型 推定感染地域：インドネシア
15	H28.11.24	筑紫	細菌性赤痢検査	菌株	ソネネ赤痢菌 SsV16-052型 推定感染地域：インドネシア
16	H28.12.2	嘉穂・鞍手	劇症型溶血性レンサ球菌型別	菌株	B群溶血性レンサ球菌 血清型1b型
17	H29.1.19	嘉穂・鞍手	劇症型溶血性レンサ球菌型別	菌株	G群溶血性レンサ球菌 <i>stG6792.3</i> 型
18	H29.1.24	筑紫	劇症型溶血性レンサ球菌型別	菌株	G群溶血性レンサ球菌 <i>stG6792.3</i> 型
19	H29.2.22	嘉穂・鞍手	劇症型溶血性レンサ球菌型別	菌株	G群溶血性レンサ球菌 <i>stG6792.3</i> 型
20	H29.2.22	嘉穂・鞍手	劇症型溶血性レンサ球菌型別	菌株	A群溶血性レンサ球菌 <i>emm1.0</i> 型
21	H29.3.9	宗像・遠賀	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎検査	咽頭ぬぐい液	陰性

表2 平成28年度に実施した侵襲性肺炎球菌感染症及び侵襲性インフルエンザ菌感染症の検査一覧

番号	搬入日	管轄保健福祉 (環境) 事務所	疾患名	検査材料	結果
1	H28.4.21	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type3
2	H28.4.27	筑紫	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type19A
3	H28.4.27	筑紫	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type19A
4	H28.6.3	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type15A
5	H28.6.20	筑紫	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type3
6	H28.8.5	南筑後	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type6C
7	H28.8.25	筑紫	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液、髄液由来)	肺炎球菌 血清型 Type10A
8	H28.8.26	南筑後	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type3
9	H28.9.26	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type22F
10	H28.10.6	筑紫	侵襲性インフルエンザ菌感染症	菌株 (血液由来)	インフルエンザ菌 血清型 non-typable
11	H28.10.14	筑紫	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type3
12	H28.10.27	南筑後	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type6A
13	H28.11.24	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type10A
14	H28.11.29	筑紫	侵襲性インフルエンザ菌感染症	菌株 (血液由来)	インフルエンザ菌 血清型 non-typable
15	H28.12.26	嘉穂・鞍手	侵襲性インフルエンザ菌感染症	菌株 (血液由来)	インフルエンザ菌 血清型 non-typable
16	H29.1.6	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type12F
17	H29.1.11	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type6C
18	H29.1.6	南筑後	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type19A
19	H29.1.11	筑紫	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液、髄液由来)	肺炎球菌 血清型 Type23F
20	H29.1.16	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type19F
21	H29.1.16	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type3
22	H29.1.27	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type15B
23	H29.1.27	嘉穂・鞍手	侵襲性インフルエンザ菌感染症	菌株 (血液由来)	インフルエンザ菌 血清型 non-typable
24	H29.1.27	南筑後	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type18A
25	H29.2.15	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type10A
26	H29.2.15	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type6C
27	H29.2.15	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type 11A/E
28	H29.2.22	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (髄液由来)	肺炎球菌 血清型 Type10A
29	H29.3.3	京築	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (痰、血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type6A
30	H29.3.3	筑紫	侵襲性インフルエンザ菌感染症	菌株 (血液由来)	インフルエンザ菌 血清型 non-typable
31	H29.3.3	筑紫	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type22A
32	H29.3.17	嘉穂・鞍手	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type34
33	H29.3.31	嘉穂・鞍手	侵襲性インフルエンザ菌感染症	菌株 (血液由来)	インフルエンザ菌 血清型 non-typable
34	H29.4.6	粕屋	侵襲性肺炎球菌感染症	菌株 (血液由来)	肺炎球菌 血清型 Type19A

表3 平成28年度に搬入された腸管出血性大腸菌のMLVA*解析結果

0群血清型	菌株名	症状の有無	管轄保健福祉(環境)事務所	発症年月日	H血清型	毒素型	MLVA型	MLVA.comp	備考
026	16E028	無	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219	A保育所集団感染
	16E029	無	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219	A保育所集団感染
	16E030	有	南筑後		H11	Stx1	16m2159	16c219	A保育所集団感染
	16E031	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E032	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E033	有	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219	A保育所集団感染
	16E034	有	南筑後		H11	Stx1	16m2159	16c219	A保育所集団感染
	16E035	無	南筑後		H11	Stx1	16m2164	16c219	A保育所集団感染
	16E036	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E037	無	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219	A保育所集団感染
	16E038	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E039	有	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E040	有	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E041	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E042	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E043	有	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E044	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E045	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E046	無	南筑後		H11	Stx1	16m2165	16c219	A保育所集団感染
	16E047	無	南筑後		H11	Stx1	16m2159	16c219	A保育所集団感染
	16E048	有	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E049	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E050	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E051	有	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E052	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E053	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E054	無	南筑後		H11	Stx1	16m2166	16c219	A保育所集団感染
	16E055	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E056	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E057	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E058	無	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219p	A保育所集団感染
	16E059	無	南筑後		H11	Stx1	16m2183	16c219	A保育所集団感染
	16E060	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E061	有	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E062	有	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E063	無	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219p	A保育所集団感染
	16E064	無	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219p	A保育所集団感染
	16E065	無	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219p	A保育所集団感染
	16E066	無	南筑後		H11	Stx1	16m2159	16c219q	A保育所集団感染
	16E067	無	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219p	A保育所集団感染
	16E068	無	南筑後		H11	Stx1	16m2158	16c219p	A保育所集団感染
	16E069	無	南筑後		H11	Stx1	16m2159	16c219q	A保育所集団感染
	16E070	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E071	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E072	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E073	有	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E074	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E075	無	南筑後		H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E076	無	南筑後		H11	Stx1	16m2184	16c219	A保育所集団感染
	16E077	無	南筑後		H11	Stx1	16m2159	16c219q	A保育所集団感染
	16E078	有	南筑後	H28. 8. 15	H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E079	有	南筑後	H28. 8. 17	H11	Stx1	16m2158	16c219p	A保育所集団感染
	16E080	有	南筑後	H28. 8. 22	H11	Stx1	16m2154	16c219	A保育所集団感染
	16E082	有	南筑後	H28. 8. 30	H11	Stx1	16m2159	16c219q	A保育所集団感染
	16E083	有	南筑後	H28. 9. 1	H11	Stx1	16m2159	16c219q	A保育所集団感染
	16E084	無	南筑後		H11	Stx1	13m2015	16c211	
	16E085	有	南筑後	H28. 9. 14	H11	Stx1	13m2015	16c211	
0157	16E001	有	田川	H28. 4. 3	H7	Stx1 + Stx2	16m0073		
	16E003	有	筑紫	H28. 4. 29	H-	Stx1 + Stx2	16m0022		
	16E004	無	筑紫	H28. 4. 27	H-	Stx1 + Stx2	16m0022		
	16E008	無	宗像・遠賀		H-	Stx2	16m0075		
	16E009	有	宗像・遠賀	H28. 5. 20	H7	Stx2	16m0075		
	16E010	有	糸島	H28. 6. 15	H-	Stx1	16m0074		
	16E011	無	糸島		H-	Stx1	16m0074		
	16E012	無	糸島		H-	Stx1	16m0074		
	16E013	有	宗像・遠賀	H28. 6. 14	H7	Stx1 + Stx2	16m0066	16c013	
	16E014	有	糸島		H-	Stx1	16m0074		
	16E015	無	糸島	H28. 6. 29	H-	Stx1	16m0074		
	16E016	無	嘉穂・鞍手		H-	Stx1 + Stx2	16m0447		
	16E017	有	嘉穂・鞍手	H28. 6. 28	H-	Stx1 + Stx2	16m0447		
	16E018	無	嘉穂・鞍手		H-	Stx1 + Stx2	16m0447		
	16E019	有	粕屋	H28. 7. 8	H-	Stx1	13m0242	16c076	
	16E020	無	嘉穂・鞍手		H7	Stx2	16m0446		
	16E021	無	嘉穂・鞍手		H7	Stx2	16m0446		
	16E022	無	嘉穂・鞍手		H7	Stx2	16m0446		
	16E024	有	嘉穂・鞍手	H28. 6. 29	H-	Stx1 + Stx2	16m0447		
	16E025	有	筑紫	H28. 8. 11	H-	Stx1 + Stx2	13m0242	16c076	
	16E026	有	嘉穂・鞍手	H28. 7. 13	H7	Stx2	16m0446		
	16E027	有	嘉穂・鞍手	H28. 7. 13	H7	Stx2	16m0446		
	16E081	有	南筑後		H-	Stx1 + Stx2	13m0242	16c076	
	16E086	有	北筑後	H28. 9. 11	H7	Stx2	16m0499		
	16E087	有	嘉穂・鞍手	H28. 8. 24	H-	Stx1	16m0447		
	16E090	有	宗像・遠賀	H28. 11. 12	H7	Stx1 + Stx2	16m0500		
091	16E091	有	筑紫	H28. 12. 7	H7	Stx2	16m0501		
	16E092	有	糸島	H28. 12. 24	H7	Stx1 + Stx2	17m0001	16c080	
	16E093	無	筑紫		H7	Stx1 + Stx2	17m0001	16c080	
	16E002	無	田川		H14	Stx1			
	16E089	無	粕屋	H28. 11. 1	H14	Stx1			
	16E095	無	南筑後		H14	Stx1			
	16E096	無	田川		H14	Stx1			
	16E098	無	田川		H14	Stx1			
	16E005	有	粕屋	H28. 5. 2	H8	Stx1	16m3007		
	16E006	無	粕屋		H8	Stx1	16m3007		
0111	16E023	有	宗像・遠賀	H28. 7. 15	H-	Stx1	16m3023		
	16E094	有	筑紫	H29. 1. 16	H-	Stx1	17m3003		
	0115	16E097	無	粕屋		H10	Stx1		
05	16E088	有	筑紫	H28.10.16	H-	Stx1			
0174	16E007	無	南筑後		H21	Stx2			

*MLVA : Multiple-locus variable number of tandem repeat analysis

資料

平成 28 年度食品の食中毒菌汚染実態調査

岡元冬樹・カール由起・重村洋明・西田雅博・濱崎光宏・世良暢之

食中毒発生の未然防止対策及び流通食品の細菌汚染実態を把握するために、県内で市販されている生食用等野菜、浅漬、肉類等の計 54 検体を対象に調査を行った。検査項目ごとの検体数は、大腸菌が生食用等野菜 20 検体、浅漬 12 検体、肉類（生食用鶏肉等）12 検体の計 44 検体、サルモネラ属菌が生食用等野菜 20 検体、浅漬 12 検体、肉類（ミンチ肉、角切りステーキ肉及び生食用鶏肉等）22 検体の計 54 検体、腸管出血性大腸菌（O26、O103、O111、O121、O145 及び O157）（以下「腸管出血性大腸菌」という。）が生食用等野菜 20 検体、浅漬 12 検体、肉類（ミンチ肉、角切りステーキ肉及び生食用鶏肉等）22 検体の計 54 検体、カンピロバクター・ジェジュニ／コリが肉類（生食用鶏肉等）12 検体であった。検査の結果、大腸菌が 6 検体から検出された。腸管出血性大腸菌はすべての検体が陰性であったが、角切りステーキ肉 1 検体からベロ毒素（VT2）遺伝子が検出され、浅漬 1 検体からは VT2 遺伝子陽性の O 血清群型別不能株が検出された。サルモネラ属菌は 3 検体から検出され、角切りステーキ肉及び成型肉から血清型 Schwarzengrund、鶏たたきからは血清型 Agona が検出された。カンピロバクター・ジェジュニ／コリはいずれの検体からも検出されなかった。

[キーワード : 食品検査、食中毒菌、汚染実態調査、浅漬]

1 はじめに

本調査は、汚染食品の排除等、食中毒発生の未然防止対策を図るため、流通食品の細菌汚染実態を把握することを目的として、福岡県内で流通している市販食品を対象に毎年実施しているものである。

なお、岩手県、山形県、埼玉県、さいたま市、千葉県、東京都、神奈川県、川崎市、富山県、福井県、長野県、岐阜県、静岡県、岡山県、山口県、愛媛県、北九州市、福岡市、宮崎県及び沖縄県の各自治体においても同様の調査を実施した。

2 方法

2・1 検体

平成 28 年 11 月に福岡県内 9 保健福祉（環境）事務所で購入上げた食品等を対象とした。事務所別の検体数を表 1 に示す。

2・2 検査項目

大腸菌は生食用等野菜 20 検体、浅漬 12 検体、肉類（生食用鶏肉等）12 検体の計 44 検体を対象に、サルモネラ属菌は生食用等野菜 20 検体、浅漬 12 検体、肉類（ミンチ肉、角切りステーキ肉及び生食用鶏肉等）22 検体の計 54 検体を対象に、腸管出血性大腸菌は生食用等野菜 20

検体、浅漬 12 検体、肉類（ミンチ肉、角切りステーキ肉及び生食用鶏肉等）22 検体の計 54 検体を対象に、カンピロバクター・ジェジュニ／コリは肉類（生食用鶏肉等）12 検体を対象に検査を行った。

2・3 検査方法

大腸菌、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌、カンピロバクター・ジェジュニ／コリの検査は、平成 28 年 5 月 20 日付生食発第 0520 第 1 号厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部長通知別添「平成 28 年度食品の食中毒菌汚染実態調査実施要領」に従い実施した。大腸菌の検査は、検体 25g に buffered peptone water (BPW) を 225mL 加え、ストマッキングした後、 $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ で 22 ± 2 時間前培養した。この培養液 1mL をダーラム管入り *Escherichia coli* broth に接種し、 $44.5\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ で 24 ± 2 時間培養した。本調査における大腸菌の判定は、分離培養後、大腸菌群と視認される集落について実施した IMViC 試験（インドール産生能試験、メチルレッド反応試験、Voges-Proskauer（VP）反応、クエン酸塩利用性）により行った。IMViC 試験には、インドール産生能試験、メチルレッド反応試験、VP 反応試験及びクエン酸塩利用性試験に対応する 4 種の培地をそれぞれ長軸方向に 300 μL ずつ分注した 96 穴ディープウェルプレート・チューブ（旭硝子（株）社製バイオチューブシステム シリーズ F-T101、12 連）を用いた。これに被検菌を短

軸方向に 4 穴ずつ接種した。接種後、プレートに付属の蓋を被せて、蓋と本体の間隙をビニールテープにて密着させ培養した。各生化学性状の判定は、インドール産生能試験を 24 時間後に、メチルレッド反応試験及び VP 反応試験を 48 時間後に、クエン酸塩利用能試験を 72 時間後に以下の方法により行った。インドール産生能試験及びメチルレッド反応試験は、12 チャンネルマイクロピペットを用いて、クロロホルム及びコバックの試薬並びにメチルレッド試薬をそれぞれ 50 μ L 分注し、呈色の有無により判定した。同様に、VP 反応試験は、VP 試薬 1 150 μ L、VP 試薬 2 60 μ L を分注し、室温放置後、呈色の有無により判定した。クエン酸塩利用能試験は、培地色の青変の有無により判定した。

腸管出血性大腸菌の検査は、検体 25 g に mEC 培地を 225 mL 加え、ストマッカー処理した。増菌培養後、アルカリ熱抽出法にて DNA を抽出し、リアルタイム PCR によりベロ毒素遺伝子の増幅及び検出を行った。ベロ毒素遺伝子が検出された場合には、通知法で指定されている DNA 抽出キットにより抽出した DNA を用いて、リアルタイム PCR により O 抗原遺伝子 (O26、O103、O111、O121、O145 及び O157) の増幅及び検出を行った。O 抗原遺伝子が検出された場合には、当該 O 抗原遺伝子に対応する血清群の免疫磁気ビーズにより培養液を濃縮した。得られた免疫磁気ビーズ濃縮液は、当該血清群に応じた分離培地に画線塗抹した。すなわち、分離培養には DHL 寒天培地及びクロモアガー STEC 寒天培地を使用するとともに、O26 免疫磁気ビーズ濃縮液には CT-RMAC 寒天培地、O111 免疫磁気ビーズ濃縮液には CT-SBMAC 寒天培地、それ以外の血清群の免疫磁気ビーズ濃縮液には CT-SMAC を使用した。

サルモネラ属菌の検査は、検体 25g に BPW 225 mL を加えてストマッキングし、37℃で 22 $\pm$ 2 時間前増菌培養した。その後、その培養液の 0.1mL 及び 1 mL をそれぞれ Rappaport - Vassiliadis 培地及びペトラチオン酸塩培地 10mL に接種し、42℃で 22 $\pm$ 2 時間選択増菌培養した。それぞれの培地をよく混和後、1 白金耳量を DHL 寒天培地及び Chromagar Salmonella 培地に画線塗抹し、37℃で 22 $\pm$ 2 時間培養した。培養後、各分離培地に発育した定型的コロニーを 3 個ずつ釣菌して、TSI 寒天培地及び LIM 寒天培地等に接種し、37℃で 22 $\pm$ 2 時間培養した。培養後、生化学性状を確認し、血清型別試験、必要に応じてその他の細菌学的検査を行い同定した。

カンピロバクター・ジェジュニ／コリの検査は、検体 25 g にカンピロバクター選択増菌培地（プレストン組成）を 100 mL 加えストマッキングし、42 $\pm$ 1℃で 48 時間、微好気条件下で増菌培養した。24 時間後と 48 時間

後の培養液 1 白金耳量をスキロー培地及び mCCDA 培地に画線塗抹し、42 $\pm$ 1℃で 48 時間、微好気培養した。培養後、各分離平板培地に発育した定型的コロニーを 3-4 個ずつ釣菌し、生化学性状を確認して同定した。

3 結果及び考察

検査結果を表 2 に示す。大腸菌は 44 検体中 6 検体 (13.6%) から検出された。サルモネラ属菌は、54 検体中 3 検体から検出され、角切りステーキ肉及び成型肉から血清型 Schwarzenrund、鶏たたきからは血清型 Agona が検出された。腸管出血性大腸菌は 54 検体すべてが陰性であったが、角切りステーキ肉から VT2 遺伝子が検出された（検査対象血清群以外についても病原体は不検出）。また、浅漬（白菜）1 検体から VT2 遺伝子が検出され、O 血清群型別不能の分離株が得られた。カンピロバクター・ジェジュニ／コリは 12 検体すべてが陰性であった。

大腸菌は、糞便あるいは腸管系病原細菌の汚染指標として、最も一般的に使用されている。本調査での生食用等野菜の大腸菌陽性検体数は、もやし 1 検体中 1 件 (100%)、トマト 7 検体中 1 件 (14.3%)、水菜 4 検体中 1 件 (25%) であった。結果からは、これまでと同様にもやしの大腸菌汚染率が高く、これら生食用等野菜の調理に際しては、衛生的な取扱いや適切な調理方法の選択等の注意が必要であると考えられた。

また、今回の調査では、VT2 遺伝子をもつ O 血清群型別不能の腸管出血性大腸菌が浅漬 1 検体から検出され、角切りステーキ肉 1 検体からは腸管出血性大腸菌は検出されなかったが、VT2 遺伝子が検出された。

なお、漬物に関しては、2012 年に札幌市等で発生した浅漬による腸管出血性大腸菌 O157 の食中毒事件¹⁾を踏まえて、漬物の衛生規範（平成 24 年 10 月 12 日付け食安監発 1012 第 1 号厚生労働省医薬品食品局食品安全部監視安全課長通知）が改正され、この中で漬物製品の微生物学的要件が示された。本調査での浅漬の大腸菌陽性検体数は 12 検体中 1 件 (8.3%) であった。違う検体からは O 血清群型別不能の腸管出血性大腸菌が検出された。浅漬の製造施設等については、同規範の遵守による衛生管理が求められる。

食中毒の発生予防のためには、引き続き、調理時の衛生管理や適切な調理等の周知並びにリスクコミュニケーション等による平素からの消費者への啓発が重要と考えられた。

文献

- 1) 坂本裕子ら: IASR, 34(5), 126, 2013

表 1 各保健福祉(環境)事務所の搬入検体数

搬入日	搬入事務所									総計
	筑紫	粕屋	糸島	宗像・遠賀	嘉穂・鞍手	田川	北筑後	南筑後	京築	
2016/11/14	6	6		6	6					24
2016/11/28			6			6	6	6	6	30
総計	6	6	6	6	6	6	6	6	6	54

表 2 検体種別ごと検査項目別の陽性検体数及び検査対象検体数

検体の種類と種別		検体数	陽性検体数 / 検査対象検体数				
			大腸菌	サルモネラ属菌	カンピロバクター・ ジェジュニ／コリ	腸管出血性大腸菌 ^{*1}	その他の 腸管出血性大腸菌
生食用等野菜	カイワレ	2	0/2	-	-	-	-
	レタス	1	0/1	-	-	-	-
	みつば	1	0/1	-	-	-	-
	もやし	1	1/1	-	-	-	-
	キュウリ	1	0/8	-	-	-	-
	トマト	1	1/7	-	-	-	-
	水菜	1	1/4	-	-	-	-
浅漬	カット野菜	12	0/12	0/12	-	0/12	0/12
	浅漬	12	1/12	0/12	-	0/12	1/12
	ミンチ肉（牛ミンチ肉）	2	-	0/2	-	0/2	0/2
	角切りステーキ	8	-	2/8	-	0/8	0/8 ^{*2}
	（生食用の食肉等）生食用鶏肉（たたき等）	7	3/7	1/7	0/7	0/7	0/7
	馬刺	5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
計		54	6/44	3/54	0/12	0/54	0/54

^{*1} 6血清群（O26、O103、O111、O121、O145、O157）を対象とした

^{*2} 1検体からベロ毒素（2型）遺伝子を検出

資料

平成 28 年度収去食品の細菌学的検査及び残留抗生物質モニタリング検査

西田雅博・重村洋明・カール由起・岡元冬樹・濱崎光宏・世良暢之

福岡県食品衛生監視指導計画及び食品検査実施計画に基づき、保健福祉(環境)事務所等から搬入された食品について、食中毒の予防、流通食品の汚染実態の把握等を目的とした収去検査を行った。鶏肉、豚肉、牛肉、生食用牛肉、生食用馬肉、生食用鮮魚介類、生食用かき、液卵（殺菌及び未殺菌）の合計 89 検体について検査を実施した（延べ 718 項目）。生食用かき 4 検体及び生食用牛肉 2 検体を除く 83 検体について、汚染指標菌及び食中毒菌の検査を行った結果、大腸菌群が 65 検体、サルモネラ属菌が 15 検体、黄色ブドウ球菌が 4 検体、カンピロバクター・ジェジュニ／コリが 10 検体及びウェルシュ菌が 10 検体から検出された。また、50 検体については、残留抗生物質モニタリング検査も併せて行ったが、いずれの検体からも残留抗生物質は検出されなかった。

〔キーワード：収去検査、食品検査、食中毒菌、残留抗生物質〕

1 はじめに

厚生労働省食中毒統計資料によると、平成 28 年の食中毒は 1,139 事例発生しており、細菌性食中毒は 480 事例（42.1%）であった。細菌性食中毒のうち、カンピロバクター・ジェジュニ／コリによるものは 339 事例（70.6%）、黄色ブドウ球菌によるものは 36 事例（7.5%）、サルモネラ属菌によるものは 31 事例（6.5%）、ウェルシュ菌によるものは 31 事例（6.5%）、腸管出血性大腸菌によるものも 14 事例（2.9%）であった。これらの食中毒細菌は、調理又は加工を行う前の食品や原材料（食肉、野菜など）等に存在している。そのため、不適切な調理（加熱不足、調理器具の汚染など）や、温度管理あるいは食肉の生食などが行われると、食品等に付着またはそこで増殖した食中毒細菌を食品とともに経口摂取することとなり、これが食中毒を引き起こす原因となる。

当所では、収去された食品について、主に大規模食中毒発生の未然防止を目的とした食中毒菌の汚染実態調査並びに規格基準等の検査を行った。また、鶏肉、豚肉、牛肉、生食用鮮魚介類については、残留抗生物質のモニタリング検査を併せて行った。

2 方法

2・1 検体

平成 28 年 5 月 9 日から平成 28 年 12 月 5 日の間に、県内 9 保健福祉（環境）事務所及び食肉衛生検査所から搬入された鶏肉 31 検体、豚肉 20 検体、牛肉 15 検体、生食用牛肉 2 検体、生食用馬肉 5 検体、生食用鮮魚介類 10 検体、生食用かき 4 検体及び液卵 2 検体（殺菌及び未殺菌各 1）の合計 89 検体を対象とした。

2・2 検査項目

検査項目は、汚染指標細菌（一般細菌数、大腸菌群〔馬肉は糞便系大腸菌群〕、推定嫌気性菌数）及び食中毒細菌（黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌 O26、O103、O111、O121、O145 及び O157（以下「腸管出血性大腸菌」という。）、カンピロバクター・ジェジュニ／コリ、エルシニア・エンテロコリチカ、ウェルシュ菌、セレウス菌、腸炎ビブリオ、ナグビブリオ、ビブリオ・ミミカス及びビブリオ・フルビアリス）の 19 項目について検査した。このうち、エルシニア・エンテロコリチカについては豚肉 20 検体を検査した。生食用鮮魚介類については、上記の項目に加え、腸炎ビブリオ最確数検査を行った。そのほか、生食用牛肉 2 検体については腸内細菌科菌群を、また、生食用かき 4 検体については、細菌数、大腸菌最確数及び腸炎ビブリオ最確数の検査を行った。また、50 検体（鶏肉 15 検体、豚肉 12 検体、牛肉 13 検体、生食用鮮魚介類 10 検体）については、残留抗生物質（ペニシリン系、アミノグリコシド系、マクロライド系及びテトラサイクリン系）のモニタリン

グ検査を併せて行った。

2・3 細菌検査

各項目の検査は、成分規格が設定されている食品については、食品、添加物等の規格基準に示された方法に従い、それ以外の食品については、食品衛生検査指針¹⁾及び平成26年11月20日付食安監発1120第1号厚生労働省医薬食品局食品安全全部監視安全課長通知による「腸管出血性大腸菌 O26、O103、O111、O121、O145 及び O157 の検査法について」に従って実施した。具体的方法は、黄色ブドウ球菌、エルシニア・エンテロコリチカ、セレウス菌、腸炎ビブリオ、ナグビブリオ、ビブリオ・ミミカス及びビブリオ・フルビアリスの検査方法は、検体25gに滅菌リン酸緩衝生理食塩水225mLを加えストマッカー処理し、7.0%塩化ナトリウム加トリプトンソーヤブイオン、ITC エルシニア増菌培地、食塩ポリミキシンプイオン及びアルカリペプトン水で増菌培養した後、食塩卵寒天培地、クロモアガーエルシニア(寒天培地)、NGKG 寒天培地、TCBS 寒天培地及びビブリオ寒天培地で分離培養を行った。当該菌が疑われるコロニーから生化学性状等の確認試験を行った。カンピロバクター・ジェジュニ／コリについては、検体25gにカンピロバクター選択増菌培地(プレストン組成)を100mL加え、ストマッカー処理し、10mLを滅菌中試験管に移した。微好気条件で培養した後、スキロー改良培地、mCCDA 寒天培地で分離培養を行った。当該菌が疑われるコロニーについて、TSI 寒天培地等を用い生化学性状等の確認試験を行った。必要に応じて、血清型別試験やその他の細菌学的検査を行い同定した。腸管出血性大腸菌の検査は、mEC 培地で増菌後、アルカリ熱抽出法にて菌体DNAを抽出し、リアルタイムPCRにてベロ毒素産生遺伝子の検出を行い、ベロ毒素遺伝子陽性であった検体については、O抗原遺伝子検査を行った。さらにO抗原遺伝子陽性であった検体については、免疫磁気ビーズにより当該O血清群の腸管出血性大腸菌を集菌し、CT-クロモアガーSTEC 寒天培地(全6種のO血清群分離用)、のほか、CT-SMAC 寒天培地(O103、O121、O145 及び O157 分離用)、CT-RMAC 寒天培地(O26 分離用)、CT-SBMAC 寒天培地(O111 分離用)を用いて分離培養した。当該菌が疑われるコロニーについては、TSI 寒天培地、LIM 寒天培地及びC-LIG 培地を用いて生化学性状等の確認試験を行った。その他必要に応じて、血清型別試験やベロ毒素確認試験を行い同定した。サルモネラ属菌の検査は、検体25gに緩衝ペプトン水を225mL加え、ストマッキングし培養した後、この一部をRappaport-Vassiliadis 増菌培地及びテトラチオン酸塩培地で培養し、クロモアガーサルモネラ寒天培地及びDHL 寒天培地で分離培養した。

なお、成分規格が設定されていない食品についてはDHL 寒天培地に替えてXLT4 寒天培地を用いた。当該菌が疑われるコロニーについては、TSI 寒天培地、SIM 寒天培地、リジン脱炭酸試験用培地及びシモンズクエン酸塩培地を用いて、生化学性状等の確認試験を行った後、血清型別試験、必要に応じて、その他の細菌学的検査を行い同定した。

2・4 畜水産食品中の残留抗生物質検査

残留抗生物質検査は、平成6年7月1日衛乳第107号厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知別添“畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(改訂)”に従い、残留抗生物質(ペニシリン系、アミノグリコシド系、マクロライド系及びテトラサイクリン系)を検査した。

3 結果

3・1 細菌検査結果

一般細菌数の検査結果の一部を図1に示した。各食品の一般細菌数は、鶏肉では 10^3 から 10^7 /g、豚肉では 10^2 から 10^6 /g、牛肉では 10^2 から 10^7 /g、生食用馬肉では300/g以下のものから 10^4 /g、生食用鮮魚介類では 10^2 から 10^6 /gの範囲であった。液卵と生食用かきの細菌数は、300/g以下あるいは600/gであり、ともに定められた成分規格を満たしていた。

汚染指標菌である大腸菌群及び食中毒菌の細菌検査結果を表1に示した。大腸菌群は65検体が陽性を示した。食中毒菌の結果については以下のとおりであった。サルモネラ属菌は鶏肉15検体から検出された。内訳はSalmonella 血清型 Schwarzengrund が8検体、血清型 Manhattan が3検体、血清型 Infantis が2検体、血清型 Corvallis が1検体、血清型 Heidelberg が1検体、そのほか前出の血清型 Infantis が検出された1検体からは血清型不明のサルモネラ属菌も検出された。黄色ブドウ球菌は鶏肉1検体及び生食用鮮魚介類3検体の合計4検体から検出された。カンピロバクター・ジェジュニ／コリについては、カンピロバクター・ジェジュニが鶏肉9検体から、また、カンピロバクター・コリが鶏肉1検体から検出された。ウェルシュ菌は鶏肉10検体から検出された。腸管出血性大腸菌、エルシニア・エンテロコリチカ、セレウス菌、腸炎ビブリオ、ナグビブリオ、ビブリオ・ミミカス及びビブリオ・フルビアリスはいずれの検体からも検出されなかった。生食用牛肉2検体、生食用馬肉5検体及び生食用かき4検体については、規格基準に違反する検体はなかった。

3・2 畜水産食品中の残留抗生物質検査結果

検査した50検体については、いずれの検体からも残留抗生物質(ペニシリン系、アミノグリコシド系、マク

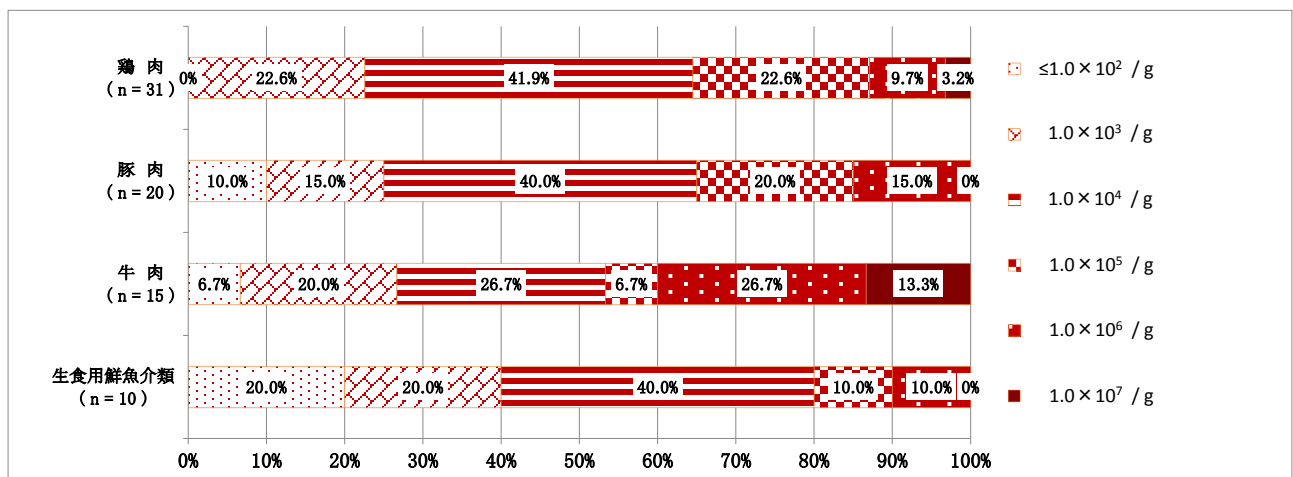


図1 食品別一般細菌数指数階級別構成比率（生食用食肉、液卵及び生食用かきを除く）

ロライド系及びテトラサイクリン系）は検出されなかった。

4 考察

食品ごとの大腸菌群の検出率を検査件数が10件以上のものでも比較すると、食肉では鶏肉が100%（31検体）と最も高く、次いで豚肉及び生食用鮮魚介類が67%（16検体/15検体及び8検体/10検体）、牛肉が50%（10検体/20検体）であった。また、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ、サルモネラ属菌、ウェルシュ菌については、鶏肉からのみ検出された。以上の結果から、鶏肉

は他の食品に比べて、サルモネラ属菌、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ、ウェルシュ菌など食中毒菌の汚染率が高いことから、その取り扱いや調理に際しては衛生の確保が重要であると考えられた。

文献

- 1) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針・微生物編, 116-328, 東京, 日本食品衛生協会, 2004.

表1 汚染指標菌または食中毒菌の陽性検体数

食品種別	検体数	検査項目別の陽性検体数										
		大腸菌群	糞便系大腸菌群	腸内細菌科菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	腸管出血性大腸菌	カンピロバクター・ジェジュニ/コリ	エルシニア・エンテロコリチカ	ウェルシュ菌	セレウス菌	腸炎ビブリオ
鶏肉	31	31	-*	-	1	11	0	10	-	10	0	-
豚肉	20	16	-	-	0	0	0	0	0	0	0	-
牛肉	15	10	-	-	0	0	0**	0	-	0	0	-
生食用牛肉	2	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
生食用馬肉	5	-	0	-	0	0	0	0	-	0	0	-
生食用鮮魚介類	10	8	-	-	3	0	0	0	-	0	0	0***
生食用かき	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
殺菌液卵(鶏卵)	1	0	-	-	0	0	0	0	-	0	0	-
未殺菌液卵(鶏卵)	1	0	-	-	0	0	0	0	-	0	0	-
計	89	65	0	2	4	11	0	10	0	10	0	0

* -：検査対象外

** 腸管出血性大腸菌ベロ毒素遺伝子が1検体から検出されたが分離培養は陰性

*** 腸炎ビブリオ定性試験及び腸炎ビブリオ最確数は陰性並びに3/g未満であった。

資料

平成28年度の細菌性・ウイルス性食中毒（疑い）事例について

江藤良樹・岡元冬樹・西田雅博・カール由起・重村洋明・
濱崎光宏・小林孝行・中村麻子・吉富秀亮・芦塚由紀・世良暢之

福岡県において平成28年度に発生した細菌性・ウイルス性食中毒（疑い）事例は31事例であり、当所病理細菌課とウイルス課にて検査した検体は延べ345検体であった。平成28年度に検出された食中毒細菌は、カンピロバクター・ジェジュニ、カンピロバクター・コリ、ウェルシュ菌であった。ウイルスではノロウイルスが検出された。病因物質が検出された、若しくは特定された事例は31事例中27事例（87%）であった。

[キーワード：食中毒細菌、ノロウイルス、カンピロバクター、ウェルシュ菌]

1 はじめに

厚生労働省の統計によると、全国の食中毒発生事件数は平成10年の3,010件をピークに減少し、平成19年に1,400件を下回って以降、横ばい状態である¹⁾。福岡県における過去5年間の年間食中毒（疑い）事例での検査依頼数は平成23年が47件、平成24年度が36件、平成25年が28件、平成26年度が25件、平成27年度が38件と推移している。今回、福岡県における食中毒予防対策に資することを目的とし、平成28年度に福岡県内で発生、または、県民が他の都道府県で罹患し当所に依頼のあった食中毒（疑い）事例について、主として病因物質の観点から資料としてまとめた。

2 細菌性・ウイルス性食中毒発生時の検査方法

平成28年度は、31事例、347検体（患者便、従事者便、食品残品、拭き取り、菌株など）について、食中毒細菌検査・寄生虫及びウイルス検査を実施した。検体の検査対象数は、細菌・寄生虫検査のみ実施したもの151検体、ウイルス検査のみ実施したもの80検体、いずれも実施したもの116検体であった。

患者の症状などから細菌性食中毒が疑われる場合は、まず搬入された検体から食中毒細菌を検出するため、SS寒天培地、TCBS寒天培地、食塩卵寒天培地、スキロー改良寒天培地、クロモアガーサルモネラ寒天培地などで直接分離培養するとともに、アルカリペプトン水、7.0%塩化ナトリウム加トリプチンソイブイヨン、カンピロバクター選択増菌培地（プレストン組成）、ラパポート・バシリアディス培地などを用いて増菌培養し、直接培養と同様な培地で分離培養した。寒天平板培地に

疑わしい集落が発育した場合は、釣菌して、TSI、LIM寒天培地などを用いた生化学性状試験、血清型別、毒素型別、PCRを用いた病原遺伝子の検出などの試験検査を実施して、食中毒細菌の同定を行なった。また、寄生虫が疑われる場合には、平成28年4月27日付け生食監発0427第3号”*Kudoa septempunctata*の検査法について”及び平成28年4月27日付け生食監発0427第4号”*Sarcocystis fayeri*の検査法について”に基づき検査を行った。

一方、ウイルス性食中毒が疑われる場合は、ウイルス検査を実施した。ウイルス検査は糞便（数グラム程度）をリン酸緩衝液（pH7.5）で約10%乳剤とし、10,000rpmで20分間遠心した。この上清からRNAを抽出し、逆転写酵素を用いて相補的なDNAを合成した。さらに、ノロウイルス等の遺伝子に特異的なプライマーを用いてPCRで増幅し、増幅産物を電気泳動で確認した。増幅産物が確認された検体については、さらにシーケンスを行ない、その増幅産物の塩基配列を決定し、ノロウイルス等の最終確認及び遺伝子型の決定を行なった。

3 結果及び考察

平成28年度の食中毒（疑い）事例において原因物質として疑われる病原微生物が検出された事例、若しくは原因物質が特定された事例は31事例中27事例（87%）であった（表1）。今年度の特徴は、平成28年6月から平成28年11月にカンピロバクターの事例が多く発生したと、平成28年9月から平成29年3月の期間にノロウイルスによる食中毒（疑い）事例が多く発生したことであった。また、平成28年6月と平成29年3月にはウェルシュ菌による食中毒事例が発生している。

病因物質別では、ノロウイルスによるものが 16 事例（全事例の 52%）、カンピロバクターによるものが 9 事例（全事例の 29%）、ウェルシュ菌によるものが 2 事例（全事例の 6%）であった。

ノロウイルスが検出された事例では、16 事例中 GⅡ.2 が 6 事例（38%）、GⅡ.4、GⅡ.6 及び GⅡ.17 がそれぞれ 2 事例、GⅠ.5 が 1 事例から検出された。また、3 事例からは複数の遺伝型が検出され、GⅠ.4 及び GⅡ.17、GⅡ.2 及び GⅡ.17、GⅠ 型別不明及び GⅡ 型別不明の組み合わせで、それぞれ 1 事例から検出された。

今年度の県域のノロウイルスによる食中毒（疑い）事例では、GⅡ.2 が最も多く検出され、平成 27 年度に最も多く検出された GⅡ.17（36%）²⁾は減少した。これは国内の流行状況と同様の傾向であった。また、今年度は 1 事例から GⅠ.5 が検出された。全国の感染症発生動向調査では過去 10 年間におけるノロウイルスの型別数 11,814 件に対して、GⅠ.5 は 9 件³⁾しか検出されておらず、報告数の少ない遺伝子型であった。本事例における発症率は 68%と高く、これは GⅠ.5 の抗原性や、免疫を

持たない人が多いことが要因として考えられる。よって今後の動向に注意が必要である。

原因物質が検出、若しくは、特定されなかった事例は 31 事例中 4 事例（13%）だった。このうち 1 事例では生食用生鮮食品の喫食歴があり、また、ヒラメ残品及びタイ残品の搬入があったことから、通知法に基づき寄生虫の検査を実施したところ、ヒラメから 7.0×10^9 copies/g の高コピー数の遺伝子が検出されたが、顕微鏡検査では *K. septempunctata* は確認されなかった。このような結果の不一致は、顕微鏡で極囊が観察できる成熟した胞子が少なく、未熟な胞子が多かった為ではないかと推察された。

文献

- 1) 厚生労働省, <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html>
- 2) 前田詠里子ら：福岡県保健環境研究所年報, 第 43 号, 143-145, 2016
- 3) 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所 (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr.html>)

表1 平成28年度食中毒（疑い）事例

番号	所轄保健福祉 （環境）事務所	初回検体 搬入日	細菌等検査分						ウイルス検査分				検査結果	
			喫食者便	従事者便	ふき取り	食品	水	菌株	計	喫食者便	従事者便	食品		計
1	筑紫、宗像・遠賀	5月11日	4						4				0	不明
2	宗像・遠賀	5月13日	3	4	4	11			22				0	不明
3	南筑後	6月2日	1						1				0	カンピロバクター・ジェジュニ
4	嘉穂・鞍手、粕屋、 筑紫、北筑後	6月15日	5						5	3			3	カンピロバクター・コリ
5	嘉穂・鞍手	6月23日	12	6	4				22	4			4	カンピロバクター・ジェジュニ、 カンピロバクター・コリ
6	南筑後	6月30日	5						5				0	ウェルシュ菌
7	宗像・遠賀、北筑後	7月2日	2						2				0	カンピロバクター・ジェジュニ
8	南筑後	9月2日	3	2	3			2	10				0	カンピロバクター・ジェジュニ
9	北筑後	9月24日	7	3	6				16	7	3		10	ノロウイルスGⅡ. 4
10	宗像・遠賀	9月29日	2						2				0	カンピロバクター・コリ
11	宗像・遠賀	10月5日	5	4	4	2		3	18				0	カンピロバクター・ジェジュニ
12	宗像・遠賀、糸島	10月19日							0	1	11		12	ノロウイルスGⅡ. 6
13	筑紫	10月27日							0	1			1	不明
14	宗像・遠賀	11月3日	5	8	3				16	7	14		21	ノロウイルスGⅡ. 6
15	南筑後	11月19日						1	1				0	カンピロバクター・ジェジュニ
16	田川	12月16日							0	4	9		13	ノロウイルスGⅡ. 4
17	筑紫	1月11日	9	6	6				21	13	8		21	ノロウイルスGⅡ. 2
18	筑紫、北筑後、粕屋	1月21日	9	3	5		1		18	9	4		13	ノロウイルスGⅡ. 2
19	筑紫	2月2日	2	4	4				10	9	14		23	ノロウイルスGⅠ. 5
20	嘉穂・鞍手	2月17日							0	4	1		5	ノロウイルスGⅡ. 2
21	嘉穂・鞍手	2月18日	1						1	1			1	ノロウイルスGⅠ. 4、 ノロウイルスGⅡ. 1 7
22	宗像・遠賀	2月20日	9	4	9	2			24	11	4		15	ノロウイルスGⅡ. 1 7
23	宗像・遠賀、糸島、 南筑後、京築	3月1日	4						4				0	ウェルシュ菌
24	宗像・遠賀	3月8日							0	3	4	1	8	ノロウイルスGⅡ. 2 ノロウイルスGⅡ. 1 7
25	嘉穂・鞍手、田川	3月15日	5	4	5	3			17	5	6		11	ノロウイルスGⅡ. 2
26	筑紫	3月17日	4	4	3				11	5	6		11	ノロウイルスGⅡ. 1 7
27	嘉穂・鞍手、 宗像・遠賀	3月24日	7	6	7				20	7	6		13	ノロウイルスGⅠ、 ノロウイルスGⅡ
28	宗像・遠賀	3月24日	1					1	2				0	カンピロバクター・ジェジュニ
29	嘉穂・鞍手	3月25日	1						1	1			1	ノロウイルスGⅡ. 2
30	北筑後	3月30日	4	4	6				14	4	4		8	不明
31	南筑後、筑紫	3月30日							0	2			2	ノロウイルスGⅡ. 2
合計			110	62	69	18	1	7	267	101	94	1	196	

資料

共通感染症発生状況等調査事業 第 3 報（平成 28 年度調査分）

重村洋明・岡元冬樹・カール由起・西田雅博・濱崎光宏・世良暢之

芦塚由紀・小林孝行・中村麻子・吉富秀亮・梶原淳睦

県内における人獣共通感染症起因病原体の保有状況を把握するため、平成 28 年度福岡県共通感染症発生状況等調査事業実施要領に基づき、県内の 8 協力動物病院から得られた愛玩動物（イヌ及びネコ）由来検体（媒介生物を含む）について、24 種食中毒細菌遺伝子検査（スクリーニング）（糞便 41 検体）、パストレラ属菌分離同定試験（口腔粘液 43 検体）、トキソプラズマ抗体価測定（血清 22 検体）、バルトネラ・ヘンセラ抗体価測定（血清 22 検体）、重症熱性血小板減少症候群ウイルス（Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus、以下 SFTSV）及び日本紅斑熱リケッチア（*Rickettsia japonica*、以下 Rj）の遺伝子検査（イヌ又はネコの付着マダニ 54 検体）を行った。また、協力医療機関 96 施設及び協力動物病院 33 施設を対象に皮膚糸状菌症アンケートを実施した。検査の結果、24 種食中毒細菌遺伝子については 8 検体から何らかの食中毒細菌遺伝子が検出された。パストレラ属菌は 24 検体から分離され、トキソプラズマ及びバルトネラ・ヘンセラの抗体価はそれぞれ 50 倍未満及び 64 倍未満であった。SFTSV 及び Rj については、いずれの検体からも特異的遺伝子は検出されなかった。皮膚糸状菌症アンケートの集計結果においては、人及び動物間で皮膚糸状菌が感染することについて、「知らなかった」と回答する患者及び動物飼育者が半数以上を占めた。

[キーワード：人獣共通感染症、病原体保有状況、皮膚糸状菌症アンケート]

1 はじめに

本調査は、動物における病原体保有状況を把握し、その結果を医療及び獣医療関係者並びに行政が共有し、人に感染した場合の迅速な診断につなげる等の共通感染症対策に資することを目的に平成 26 年度から平成 28 年度に実施したものである。

本年度は、昨年度に引き続き 24 種食中毒細菌遺伝子検査（スクリーニング）、パストレラ属菌分離同定試験、トキソプラズマ抗体価及びバルトネラ・ヘンセラ抗体価の測定並びに SFTSV 及び Rj の遺伝子検査を行った。

また、昨年度に引き続き、動物病院に来院した飼い主を対象に皮膚糸状菌症に関するアンケート調査を実施した。そのアンケートに加え、新たに医療機関の医師及び患者を対象とするアンケート調査を実施した。

2 方法

2・1 検体及び検査項目

平成 28 年 6 月から平成 28 年 9 月の間に福岡県内 8 協力動物病院から搬入された検体を対象とした。検査項目別の検体数は表 1 に示した。

2・2 検査方法

2・2・1 24 種食中毒細菌遺伝子検査（スクリーニング）

24 種食中毒細菌遺伝子検査は次のとおりである。イヌ又はネコの糞便約 200mg から QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit（キアゲン）により抽出した DNA を用いて、Kawase ら¹⁾の方法に従い、Multiplex Real-Time SYBR Green PCR により 24 種食中毒細菌遺伝子の検出を行った。

2・2・2 パストレラ属菌分離同定試験

表1 検査項目、検査材料、調査頭数及び検体数並びに動物種別内訳

検査項目	検査材料	調査頭数	検体数	動物種別	
				イヌ	ネコ
24種食中毒細菌遺伝子検査	糞便（イヌ又はネコ）	41	41	20	21
パストレラ属菌分離同定試験	口腔粘液（イヌ又はネコ）	43	43	17	26
ネコトキソプラズマ抗体価	血清（ネコ）	22	22		22
バルトネラ・ヘンセラ抗体価	血清（ネコ）	22	22		22
SFTSVの遺伝子検査	イヌ又はネコに付着したマダニ	17	40*	17	
Rjの遺伝子検査	イヌ又はネコに付着したマダニ	17	40*	17	

*採取状況に応じ、5匹以内のマダニをプールして1検体とした。

パスツレラ属菌は、*Pasteurella multocida*、*P. canis*、*P. dagmatis* 及び *P. stomatis* の4菌種を対象として分離同定試験を以下のように行った。トランスワブ (IWAKI) に採取されたイヌ又はネコの口腔粘液を、5%ヒツジ血液加コロンビア血液寒天培地 (SBA)、SBA にバンコマイシン (終濃度 4μg/mL) 及びアンホテリシン B (終濃度 4μg/mL) を加えたもの、SBA にクリンダマイシン (終濃度 2μg/mL)、バンコマイシン (終濃度 4μg/mL) 及びアンホテリシン B (終濃度 4μg/mL) を加えたもの及びチョコレート寒天培地の4種の培地に画線塗抹して 5%CO₂ 下で 37℃、18-22 時間、分離培養した。分離培養後、各培地からパスツレラ属菌と疑われる集落を釣菌し、SBA にて同一条件で純培養した。その後、グラム染色、カタラーゼ及びオキシダーゼの性状を確認するとともに ID テスト HN-20 ラピッド (日水製薬) を用いて同定を行った。得られたプロファイルコードが上記4菌種であった株については、Król ら²⁾の方法による当該菌種特異的プライマーを用いた PCR を行い、菌種特異的 DNA の増幅を確認した。なお、ID テスト HN-20 ラピッドから得られたプロファイルコードと PCR の結果が一致しなかった株については、*sod* 又は 16S rDNA のシークエンス解析並びに常法による生化学性状の確認試験を行い同定した。*sod* のシークエンス解析は既報³⁾に従い行った。

2・2・3 トキソプラズマ抗体価及びバルトネラ・ヘンセラ抗体価

トキソプラズマ抗体価及びバルトネラ・ヘンセラ抗体価は外部委託により行った。

2・2・4 SFTSV 及び Rj の遺伝子検査

SFTSV 及び Rj の遺伝子検査は、犬 17 頭に付着していたマダニ 40 検体 (計 79 匹) について遺伝子検査を実施した。

2・3 皮膚糸状菌アンケート調査

皮膚糸状菌に関する周知状況や認知状況に関するアンケート調査を協力医療機関 96 施設及び協力動物病院 33 施設で実施した。医療機関の医師 (91 名) 及び皮膚糸状菌症患者 (76 名：皮膚糸状菌症疑い患者含む) 並びに協

力動物病院 33 施設へ来院した皮膚糸状菌症動物 (皮膚糸状菌症疑い動物) の飼い主 (98 名) から計 265 件の回答を得た。

3 結果及び考察

検査結果を表 2 に示した。24 種の食中毒細菌遺伝子のうち何らかの食中毒細菌遺伝子が検出されたのは、イヌ 4 検体 (20.0%)、ネコ 4 検体 (19.0%) であり、検出された遺伝子は、腸管凝集性大腸菌耐熱性毒素遺伝子 (*astA*) 5 件、腸管病原性大腸菌インチミン遺伝子 (*eae*) 1 件、ウェルシュ菌毒素産生遺伝子 (*cpe*) 2 件、サルモネラ侵入性因子関連遺伝子 (*invA*) 1 件であった。パスツレラ属菌については、対象 4 菌種のいずれかが分離されたのは、イヌ 6 検体 (35.2%)、ネコ 18 検体 (69.2%) であった。最も多く検体から検出された菌種は、イヌでは *P. canis* (5 検体)、ネコでは *P. multocida* (18 検体) であった。パスツレラ属菌の保菌率はイヌ、ネコともに総じて高いことから、これら動物が愛玩動物飼育者等への感染源になり得ると考えられた。トキソプラズマ抗体価及びバルトネラ・ヘンセラ抗体価については、それぞれに関して全ての検体で 50 倍未満及び 64 倍未満となった。そのほか調査対象とした愛玩動物の SFTSV 及び Rj の保有に関しては、調査対象に付着した媒介生物での PCR 陽性例は確認されなかった。このことから、現時点では当該病原体の感染の可能性は低いものと推察された。

アンケート集計の結果、人及び動物間で皮膚糸状菌が感染することについて、「知らなかった」と回答する患者及び動物飼育者が半数以上にいたことから、今後、皮膚糸状菌症が人獣共通感染症であること等について啓発を行う必要があると考えられた。

文献

- 1) Kawase J *et al.*: Jpn J Infect Dis, 69 (3):191-201, 2016.
- 2) J Król *et al.*: J Vet Diagn Invest., 23:532-537, 2011.
- 3) A-L Gautier *et al.*: J Clin Microbiol., 43:2307-2314, 2005.

表2 検査項目別、動物種別の検体数及び陽性数 (%)

検査項目	イヌ		ネコ	
	検体数	陽性数 (%)	検体数	陽性数 (%)
24種食中毒細菌遺伝子検査	20	4 (20.0)	21	4 (19.0)
パスツレラ属菌分離同定試験	17	6 (35.2)	26	18 (69.2)
トキソプラズマ抗体価	—	—	22	0 (0)
バルトネラ・ヘンセラ抗体価	—	—	22	0 (0)
SFTSVの遺伝子検査	40*	0 (0)	0	0 (0)
Rjの遺伝子検査	40*	0 (0)	0	0 (0)

*採取状況に応じ、5匹以内のマダニをプールして1検体とした。

資料

平成28年度性器クラミジア・淋菌感染症抗原検査結果概要

カール由起・重村洋明・岡元冬樹・西田雅博・濱崎光宏・世良暢之

平成28年度に当所に検査依頼された性器クラミジア・淋菌感染症抗原検査検体の数はそれぞれ 813 件（男性 538 名、女性 271 名、性別不明 4 名）及び 814 件（男性 538 名、女性 272 名、性別不明 4 名）であった。そのうち、クラミジア抗原陽性者は 53 名（男性 27 名、女性 26 名）で、陽性率は 6.5% であった。一方、淋菌抗原陽性者は 6 名（男性 1 名、女性 5 名）で、陽性率は 0.7% であった。

[キーワード：性器クラミジア、淋菌、抗原検査]

1 はじめに

クラミジアおよび淋菌感染症は、性感染症の中で罹患患者数が多い疾患である。いずれも平成14年をピークに減少傾向にあるが、平成28年の感染症発生动向調査では性器クラミジア感染症として 24,396 名、淋菌感染症として 8,298 名が報告されている¹⁾。患者数が多い原因のひとつとして無症候性の感染者の存在が指摘されている。本人が感染していることに気づかないまま性交渉を行い相手に感染させ、新たな感染者も感染に気がつかずに、さらに感染を拡大させるという“無症候性感染の連鎖”によって、若者の間で感染が拡大することが懸念されている^{2,3)}。

福岡県では性感染症予防対策の一環として、平成 16 年 3 月から性器クラミジア感染症について抗体検査を実施してきた。平成 25 年 4 月からは、尿を検体とした抗原検査に変更し、性器クラミジア感染症に加えて、淋菌感染症についても検査を実施している。福岡県では、県内の保健福祉（環境）事務所において性感染症の相談を実施しており、性器クラミジア感染症及び淋菌感染症検査の希望者に対して採尿を行っている。当所では、保健福祉（環境）事務所で採取された検体について抗原検査を実施している。本稿では、平成 28 年度に実施した検査の概要について報告する。

2 方法

2・1 検体

検体は平成 28 年 4 月から平成 29 年 3 月にかけて、週に一度、県内 9 保健福祉（環境）事務所で採取された尿を用いた（クラミジア検査 813 件；男性 538 名、女性 271 名、性別不明 4 名、淋菌検査 814 件；男性 538 名、女性 272 名、性別不明 4 名）。試験にはカップに採取し

た初尿（20-30 mL）から 2 mL を尿搬送チューブに入れてチューブ内の尿搬送液と混和させたものを用いた。

2・2 検査項目

初尿中のクラミジア抗原及び淋菌抗原について検査を実施した。

2・3 試薬及び機器

クラミジア及び淋菌抗原検査には、ホロジックジャパン株式会社製のキット、アプティマ Combo2 クラミジア/ゴノレアを、機器は As-1000 増幅検出機/Ps-1000 分離機（富士レビオ株式会社）をそれぞれ用いた。

2・4 検査方法

テンチューブユニット(TTU)に RNA 抽出液を 100 μ L 分注した後、陽性コントロール（クラミジア、淋菌）、又は、尿検体 400 μ L を加え、緩やかに攪拌した。Ps-1000 分離機に TTU をセットし、ターゲットキャプチャー法によりクラミジア及び淋菌の RNA を精製した。次いで、TTU を As-1000 増幅検出機にセットし、Transcription mediated amplification (TMA) 法による RNA 増幅後、発光特性の異なるプローブを用いたハイブリダイゼーションによりクラミジア、淋菌の検出を行った。

3 結果

平成 28 年度の性器クラミジア、淋菌抗原検査結果を表 1 に示した。検体搬入数は男性では 20 歳代が 176 名と最も多く、次いで 30 歳代が 152 名であった。女性においても、20 歳代が 134 名と最も多く、次いで 30 歳代が 70 名であった。クラミジア抗原陽性は 53 名（男性 27 名、女性 26 名）、淋菌抗原陽性は 6 名（男性 1 名、女性 5 名）であった。クラミジア抗原陽性率は全体で 6.5%（男性 5.0%、女性 9.6%）であり、陽性率は男性より女性

の方が有意に高かった（ $p<0.05$, chi-square test）。

4 考察

厚生労働省の性感染症報告数による全国の性器クラミジア感染症、淋菌感染症の定点当たりの報告数は、平成 14 年のそれぞれ 47.73、23.91 をピークに平成 28 年はそれぞれ 24.77、8.42 と減少傾向にある¹⁾。一方、福岡県結核・感染症発生動向調査事業による性器クラミジア感染症、淋菌感染症の定点当たりの報告数は、平成 11 年のそれぞれ 98.3、80.1 をピークに、平成 28 年はそれぞれ 28.6、12.3 と減少傾向にあるものの全国平均よりも高い⁴⁾。また、福岡県結核・感染症発生動向調査事業による性器クラミジア感染症の報告では、平成28年の男性患者数は 604 名、女性患者数は 455 名と男性の方が多かったが、本事業の結

果においては女性の陽性率の方が高かった。このことは、クラミジアの感染により症状が出やすい男性は病院を受診する一方で、症状の出にくい女性では感染に気がついていない状況を反映しているものと考えられる。感染拡大を防ぐために多くの方に検査を受診するよう促す必要がある。

文献

- 1) 厚生労働省：性感染症報告数
(<http://www.mhlw.go.jp/topics/2005/04/tp0411-1.html>).
- 2) 小野寺昭一：Urology View 2009 ; 7 : 10—17.
- 3) 熊本悦明, 川名 尚:医事新報 2008;4388:65-68,85-91.
- 4) 福岡県結核・感染症発生動向調査事業資料集平成29年3月

表1 年齢区分別検体搬入数及び抗原陽性数（陽性率）*

性別	年齢区分	クラミジア		淋菌	
		検体数	陽性数(陽性率)	検体数	陽性数(陽性率)
男性	～19歳	14	2 (14.3%)	14	1 (7.1%)
	20～29歳	176	13 (7.4%)	176	0 (0.0%)
	30～39歳	152	6 (3.9%)	152	0 (0.0%)
	40～49歳	102	4 (3.9%)	102	0 (0.0%)
	50～59歳	38	1 (2.6%)	38	0 (0.0%)
	60歳～	51	1 (2.0%)	51	0 (0.0%)
	不明	5	0 (0.0%)	5	0 (0.0%)
	小計	538	27 (5.0%)	538	1 (0.2%)
女性	～19歳	12	1 (8.3%)	12	1 (8.3%)
	20～29歳	134	17 (12.7%)	134	4 (3.0%)
	30～39歳	69	6 (8.7%)	70	0 (0.0%)
	40～49歳	37	1 (2.7%)	37	0 (0.0%)
	50～59歳	8	1 (12.5%)	8	0 (0.0%)
	60歳～	9	0 (0.0%)	9	0 (0.0%)
	不明	2	0 (0.0%)	2	0 (0.0%)
	小計	271	26 (9.6%)	272	5 (1.8%)
不明		4	0 (0.0%)	4	0 (0.0%)
計		813	53 (6.5%)	814	6 (0.7%)

*年齢等は自己申告による

資料

平成28年の福岡県感染症発生動向調査におけるウイルス検出状況

芦塚由紀・中村麻子・吉富秀亮・小林孝行・梶原淳睦

平成28年に感染症発生動向調査事業において採取された検体は、9疾病526件であった。疾病別の検体数はインフルエンザが最も多く、次いで感染性胃腸炎が多かった。採取された526件のうち、ウイルスが検出された検体は321件であった。インフルエンザの検体からはインフルエンザウイルスA/H1pdm09亜型が、感染性胃腸炎の検体からはノロウイルスGⅡ.4及びGⅡ.6が多く検出された。

[キーワード：感染症発生動向調査、インフルエンザウイルス、ノロウイルス]

1 はじめに

福岡県における感染症発生動向調査事業は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）に基づき「感染症発生動向調査事業実施要綱」に従い実施されている。当所が担当する定点医療機関は、インフルエンザ定点が3定点、小児科定点が7定点、眼科定点が1定点、基幹定点が11定点である。当所はこれらの定点医療機関から搬入された検体についてウイルス検査を行っている。今回は平成28年のウイルス検出状況について概要を報告する。

2 検体及び病原体の分離・検出方法

平成28年に福岡県（福岡市及び北九州市を除く）で採取された検体は9疾病526件であり、検体数は平成27年の490件と比べて増加した。

疾病別及び検体種別検体数を表1に示す。平成28年、27年のいずれも疾病別の検体数はインフルエンザが最も多く、次いで感染性胃腸炎が多かった。検体種別では咽頭ぬぐい液が最も多く、次いで糞便が多かった。平成28年は27年と比べて、手足口病の検体は減少し、咽頭結膜熱、感染性胃腸炎、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎の検体が増加した。

病原体検出方法は主に国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに準拠し、各種細胞（FL、HEp-2、MDCK、RD18s、RDA、VeroE6、A549等）を用いたウイルス分離及び各種ウイルスを対象としたPCR法による特異遺伝子の検出により行った。

3 疾病別病原体検出状況

平成28年に採取された526件について、ウイルス検出を行った結果を表2に示す。ウイルスが検出された検体は321件であった。このうち、複数のウイルスが検出された検体は11件であった。

福岡県保健環境研究所（〒818-0315 太宰府市大字向佐野 39）

表1 疾病別及び検体種別検体数

疾病名	平成27年 検体数	平成28年						
		検体数	検体種別					
			FC	NP	SF	ES	UR	EX
インフルエンザ	190	195		194				1
咽頭結膜熱	43	65	4	59		1	1	
感染性胃腸炎	124	151	150	1				
手足口病	81	33	2	28				3
ヘルパンギーナ	25	36		36				
流行性耳下腺炎	3	3		2				1
急性脳炎	0	0						
無菌性髄膜炎	11	22		2	19			1
流行性角結膜炎	3	4				4		
その他の疾患	10	17	2	12	3			
計	490	526	158	334	22	5	1	6

*FC: 糞便, NP: 咽頭ぬぐい液, SF: 髄液, ES: 結膜ぬぐい液, UR: 尿, EX: 水疱内容液

インフルエンザはA/H1pdm09亜型が92件、A/H3亜型が43件、B/ビクトリア系統が19件、B/山形系統が10件、B型（亜型不明）が4件、A型（亜型不明）が3件検出され、平成28年1月-3月はA/H1pdm09亜型が、10-12月はA/H3型が主に検出され、流行亜型が変化した。

感染性胃腸炎は、ノロウイルス(NV)GⅡ.4が16件（混合感染も含む）と最も多く検出され、次いで、NVGⅡ.6が13件（混合感染も含む）検出された。手足口病は、前年と同様にコクサッキーウイルスA(CA)6型が12件と最も多く、次いでCA10型が3件検出された。ヘルパンギーナは、CA4型、CA10型がそれぞれ7件検出され、その他コクサッキーウイルスB(CB)5型、CA5型等が検出された。無菌性髄膜炎は、前年はエコーウイルス18型が検出されたが、本年はCB5型が多く、4件検出された。流行性角結膜炎は、アデノウイルス54型が2件検出された。

文献

福岡県結核・感染症発生動向調査事業資料集平成28年、

平成 29 年 3 月.

表 2 平成 28 年における福岡県*の感染症発生動向調査結果

疾 病 名	採取月	検出ウイルス	検出数	(検体種**検出数)		
インフルエンザ	1～5, 8～12月	インフルエンザウイルスA/H1pdm09型	92 件	(NP91,EX1)		
		インフルエンザウイルスA/H3型	43 件	(NP43)		
		インフルエンザウイルスB/ビクトリア系統	19 件	(NP19)		
		インフルエンザウイルスB/山形系統	10 件	(NP10)		
		インフルエンザウイルスB型	4 件	(NP4)		
		インフルエンザウイルスA型	3 件	(NP3)		
		インフルエンザウイルスA/H1pdm09型+B/山形系統	1 件	(NP1)		
咽 頭 結 膜 熱	1～12月	アデノウイルス3型	22 件	(NP20,FC1,ES1)		
		アデノウイルス2型	7 件	(NP7)		
		コクサッキーウイルスB5型	2 件	(NP2)		
		アデノウイルス4型	1 件	(NP1)		
		コクサッキーウイルスA2型	1 件	(NP1)		
		コクサッキーウイルスA4型	1 件	(NP1)		
		コクサッキーウイルスB4型	1 件	(NP1)		
		アデノウイルス1型+エコーウイルス9型	1 件	(NP1)		
		アデノウイルス2型+コクサッキーウイルスA4型	1 件	(NP1)		
		アデノウイルス3型+コクサッキーウイルスA4型	1 件	(FC1)		
		感 染 性 胃 腸 炎	1～12月	ノロウイルスGⅡ.4	13 件	(FC13)
ノロウイルスGⅡ.6	11 件			(FC11)		
アデノウイルス41型	6 件			(FC6)		
コクサッキーウイルスA4型	6 件			(FC6)		
コクサッキーウイルスB5型	5 件			(FC5)		
ノロウイルスGⅡ.2	2 件			(FC2)		
サボウイルス	2 件			(FC2)		
C群ロタウイルス	1 件			(FC1)		
アデノウイルス1型	1 件			(FC1)		
アデノウイルス2型	1 件			(FC1)		
アデノウイルス3型	1 件			(FC1)		
アデノウイルス31型	1 件			(FC1)		
コクサッキーウイルスA2型	1 件			(FC1)		
エコーウイルス9型	1 件			(FC1)		
ノロウイルスGⅡ.4+アストロウイルス	1 件			(FC1)		
ノロウイルスGⅡ.4+アデノウイルス3型	1 件			(FC1)		
ノロウイルスGⅡ.4+エコーウイルス6型	1 件			(FC1)		
ノロウイルスGⅡ.6+コクサッキーウイルスA5型	1 件			(FC1)		
ノロウイルスGⅡ.6+コクサッキーウイルスB4型	1 件			(FC1)		
アデノウイルス2型+コクサッキーウイルスB5型	1 件			(FC1)		
手 足 口 病	3, 5～7, 9～12月			コクサッキーウイルスA6型	12 件	(NP9,FC2,EX1)
				コクサッキーウイルスA10型	3 件	(NP3)
				コクサッキーウイルスA4型	1 件	(NP1)
		コクサッキーウイルスA16型	1 件	(NP1)		
		エコーウイルス9型	1 件	(NP1)		
		エンテロウイルス71型	1 件	(NP1)		
ヘルパンギーナ	1～3, 5～7, 9～12月	コクサッキーウイルスA4型	7 件	(NP7)		
		コクサッキーウイルスA10型	7 件	(NP7)		
		コクサッキーウイルスB5型	3 件	(NP3)		
		コクサッキーウイルスA5型	2 件	(NP2)		
		コクサッキーウイルスA6型	1 件	(NP1)		
		ライノウイルス	1 件	(NP1)		
流行性耳下腺炎	3, 4, 6月	ムンプスウイルス	1 件	(NP1)		
無 菌 性 髄 膜 炎	4-12月	コクサッキーウイルスB5型	4 件	(SF3,NP1)		
		コクサッキーウイルスB2型	1 件	(SF1)		
		エコーウイルス30型	1 件	(SF1)		
流行性角結膜炎	2, 4, 5, 11月	アデノウイルス54型	2 件	(ES2)		
そ の 他 の 疾 患	2,6-12月	パレコウイルス3型	1 件	(FC1)		
		RSウイルス	1 件	(NP1)		
		コクサッキーウイルスA6型	1 件	(NP1)		
		アデノウイルス3型+コクサッキーウイルスA5型	1 件	(NP1)		
			陽性検体数	321 件		

*福岡市及び北九州市を除いた福岡県内の市町村

**FC: 糞便, NP: 咽頭ぬぐい液, SF: 髄液, ES: 結膜ぬぐい液, UR: 尿, EX: 水疱内容液

資料

平成28年度感染症流行予測調査（日本脳炎、麻疹、風疹）の結果

吉富秀亮・小林孝行・中村麻子・芦塚由紀・梶原淳睦

平成28年度の感染症流行予測調査事業において、7月上旬から8月下旬にかけて採血された1回10頭、合計80頭の県内産ブタ（7ヶ月齢）血清を対象に日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況の調査を行った結果、8月上旬に抗体保有率が上昇し、8月中旬に100%に達した。また、県内住民の9年齢区分369件の麻疹ウイルス及び風疹ウイルスの抗体検査を行った。その結果、麻疹ウイルスに対する抗体保有率は92.7%、風疹ウイルスに対する抗体保有率は87.5%であった。

[キーワード：日本脳炎、麻疹、風疹、感染症流行予測調査]

1 はじめに

感染症流行予測調査事業は厚生労働省が主体となり、国立感染症研究所、都道府県及び都道府県衛生研究所が全国規模で毎年実施している。その目的は集団免疫の現状把握及び病原体の検索等の調査を行い、各種疫学資料と併せて検討し、予防接種事業の効果的な運用を図り、さらに長期的視野に立ち総合的に疾病の流行を予測することである。

本事業における福岡県の調査実施項目は、県内産ブタ血清を対象とした日本脳炎ウイルスに対する抗体調査、及び住民の麻疹と風疹ウイルスに対する抗体調査である。平成28年度の調査結果について報告する。

2 方法

2・1 検体

日本脳炎ウイルスに対する抗体検査は、平成28年7月上旬から8月下旬にかけて採血された毎週10頭、合計80頭の県内産のブタ（7ヶ月齢、県南部産）血清を対象に検査を行った。

麻疹及び風疹ウイルスに対する抗体検査は、平成28年6月から9月に田川保健福祉事務所、嘉穂・鞍手保健福祉環境事務所及び京築保健福祉環境事務所管内の医療機関等で採血された9年齢区分369件の血清を用いた。検体の内訳は、0-1歳18件、2-3歳21件、4-9歳41件、10-14歳20件、15-19歳33件、20-24歳40件、25-29歳49件、30-34歳34件、35-39歳36件、40歳以上77件であった。

2・2 検査方法

検査方法は感染症流行予測調査事業検査術式¹⁾に従った。

日本脳炎ウイルスの抗体検査は、冷アセトン処理、非働化を行った血清に、ガチョウ赤血球を用いた赤血球凝集抑制（HI）試験で行った。また、初期感染の指標となる2-

メルカプトエタノール感受性抗体（2ME抗体）についても測定した。判定は、HI抗体価10倍以上を抗体陽性とした。2ME処理したブタ血清のHI抗体価を測定し、このHI抗体価が2ME非処理の方法で測定したHI抗体価よりも8倍以上減少した場合、2ME抗体陽性とした。

麻疹の抗体検査は市販キット（富士レリオ社、セロディア麻疹）によるゼラチン粒子凝集反応（PA法）試験で行った。16倍未満を抗体陰性とした。

風疹の抗体検査はHI試験で行った。8倍未満を抗体陰性とした。また、HA抗原は風疹ウイルスHI試薬「生研」（デンカ生研）を使用した。

3 結果及び考察

3・1 日本脳炎

日本脳炎の検査結果を図1に示す。7月11日に採血された1頭の血清から初めてHI抗体が検出され、8月8日に抗体保有率が50%を超えた。翌週の8月16日に抗体保有率は100%となった。前年度までの検査結果と比較すると、抗体保有率が100%となった時期は概ね同じであった²⁾。平成28年度、福岡県において日本脳炎患者は発生していないが³⁾、日本脳炎ウイルスが蔓延していることが明らかとなった。

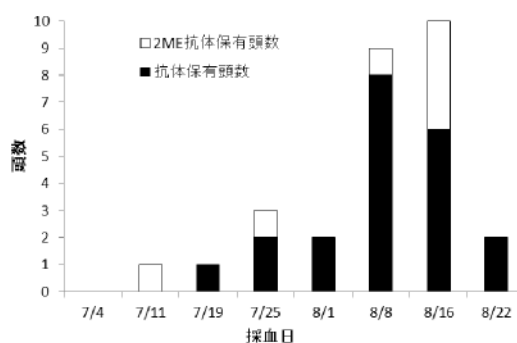


図1 平成28年度 ブタの日本脳炎抗体保有状況

3・2 麻疹

麻疹の検査結果を表1に示す。調査対象者全体（369名）の抗体保有率（1:16 以上）は92.7%であった。

年齢別の抗体保有率は、0-1歳が50.0%、2-3歳が100%、4-9歳が100%、10-14歳が85.0%、15-19歳が87.9%、20-24歳が92.5%、25-29歳が93.9%、30-39歳が97.1%、そして40歳以上が96.1%であった。修飾麻疹を含めた発症予防可能レベルと考えられる抗体価1:128以上の抗体価の保有者は、調査対象者全体の79.4%であった。年齢別では0-1歳が50.0%、2-3歳が100%、4-9歳が80.5%、10-14歳が55.0%、15-19歳が72.7%、20-24歳が77.5%、25-29歳が83.7%、30-39歳が84.3%、そして40歳以上が83.1%であった。

接種歴不明(152名)を除く1 回以上の接種歴がある者は、調査対象者全体の84.3% (217名中183名)であった。接種歴不明及び0-1歳を除くワクチン接種率は85.9% (199名中171名) であり、国の目標とする95%より低かった。接種回数が1回のみの接種者及び抗体陰性者はワクチンを受けることが勧められる。

予防接種歴別の抗体保有率は接種歴なし群が70.6%、接種歴あり群が96.2%、接種歴不明群が93.4%であった。また、抗体価1:128以上の割合は、接種歴なし群が61.8%、接種歴あり群が82.5%、接種歴不明群が79.6%であった。

抗体保有者の幾何平均抗体価は348であった。予防接種歴別では、接種歴なし群が443、接種歴あり群が315、接種歴不明群が378であった。

3・3 風疹

風疹の検査結果を表2に示す。調査対象者全体(369名)の抗体保有率(1:8 以上)は87.5%であった。

先天性風疹症候群を予防の基準とされるHI抗体価1:32以上⁴⁾を保持している15歳以上の女性の割合は77.4%(124名中96名)であった。接種歴不明(152名)を除くワクチン接種率は男性が78.6% (98名中77名)、女性が86.6% (119名中103名)、男女合計では82.9% (217名中180名) であった。接種歴のある群において抗体価1:32以上であった割合は66.7% (180中120名) であった。風疹は麻疹と比べると感染力が低く、発症しても麻疹ほどの重症感はない。しかし、妊娠初期の妊婦が感染するとウイルスが胎児におよび、先天性心疾患、難聴、白内障などのいわゆる先天性風疹症候群と呼ばれる障害を持った子供が生まれる場合がある。風疹の流行及び先天性風疹症候群の発生を予防するためには、今後も（追加）ワクチン接種により抗体価を高く維持する必要がある。

年齢区分別では、0-3歳児の抗体保有率（39名中24名、61.5%）が最も低かった。0-3歳児を除く4歳以上の抗体保有率は90.6% (330名中299名)であった。抗体価1:32 以上の

割合は全体で69.1%であり、年齢区分別では0-3歳が33.3%、4-9歳が65.9%、10-14歳が45.0%、15-19歳が54.5%、20-24歳が72.5%、25-29歳が69.4%、30-34歳が76.5%、35-39歳が91.7%、そして40歳以上が85.7%であった。

性別にみると抗体保有率は男性が84.3%、女性が91.3%であった。0-3歳児を除く4歳以上では、男性が87.6%、女性が94.1%であった。抗体価1:32 以上の年齢別抗体保有率は男性では、0-3歳が21.1%、4-9歳が59.1%、10-14歳が54.5%、15-19歳が65.0%、20-24歳が66.7%、25-29歳が63.3%、30-34歳が76.5%、35-39歳が94.4%、そして40歳以上が85.7%であった。一方、女性では0-3歳が45.0%、4-9歳が73.7%、10-14歳が33.3%、15-19歳が38.5%、20-24歳が77.3%、25-29歳が78.9%、30-34歳が76.5%、35-39歳が88.9%、そして40歳以上が85.7%であった。

接種歴不明(152名)を除く1 回以上のワクチン接種率は全体の82.9%(217名中180名)であった。性別では男性が78.6% (98名中77名)、女性が86.6% (119名中103名) であった。予防接種歴別にみると抗体保有率は接種歴なし群が78.4%、接種歴あり群が85.6%、接種歴不明群が92.1%であった。抗体価1:32以上の割合は接種歴なし群が62.2%、接種歴あり群が66.7%、接種歴不明群が73.7%であった。

抗体陽性者全員の幾何平均抗体価は51であった。予防接種歴別にみると、接種歴なし群が57、接種歴あり群が48、接種歴不明群が52であった。風疹の検査結果を表2に示した。年齢別では0-3歳児の抗体保有率（1:8以上）が68.8%で最も低く、15-19歳で100%と最も高い結果となった。

文献

- 1) 感染症流行予測調査事業検査術式,平成14年6月
- 2) 福岡県保健環境研究所年報,第43号,159-161,2016.
- 3) 福岡県結核・感染症発生動向調査事業資料集,平成28年,平成29年3月.
- 4) 厚生労働省：予防接種が推奨される風しん抗体価について（HI法,EIA法）（http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/kenkou/kekkaku-kansenshou/rubella/dl/140425_1.pdf）

表1 平成28年度 筑豊・京築地区における麻疹ウイルスに対する年齢別PA抗体保有状況

年齢区分 (歳)	検体数	PA抗体価 <16	抗体保有率 (≥16)	PA抗体価										幾何平均 抗体価	ワクチン 接種率*1 (ワクチン接種者数/対象者数)
				16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	≥ 8192		
0-1	18	9	50.0				1	4	4					323	66.7 (12/18)
2-3	21	0	100.0					7	8	5	1			512	100.0 (20/20)
4-9	41	0	100.0	1	4	3	10	8	6	7	1	1		235	100.0 (40/40)
10-14	20	3	85.0		1	5	3	6	1	1				151	100.0 (19/19)
15-19	33	4	87.9		1	4	3	14	2	3		2		269	78.6 (11/14)
20-24	40	3	92.5	1		5	2	12	10	4	2	1		321	88.2 (15/17)
25-29	49	3	93.9	1	2	2	7	10	11	9	3	1		351	90.9 (20/22)
30-39	70	2	97.1		3	6	11	14	12	10	9	3		381	86.5 (32/37)
40-	77	3	96.1		2	8	8	8	19	12	11	4	2	502	46.7 (14/30)
合 計	369	27	92.7	3	13	33	45	83	73	51	27	12	2	348	84.3 (183/217)

*1: 接種歴不明者を除く

表2 平成28年度 筑豊・京築地区における風疹ウイルスに対するワクチン接種歴別HI抗体保有状況

年齢区分 (歳)	検体数	HI抗体価 ＜8	抗体保有率 (≥8)	HI抗体価									平均抗体価	ワクチン 接種率＊1
				8	16	32	64	128	256	512	≥ 1024	(ワクチン接種者数／対象者数)		
0～3	19 (男)	9	52.6	2	4	1	1	2				26	84.2 (16／ 19)	
	20 (女)	6	70.0		5	5	2		2			37	78.9 (15／ 19)	
4～9	22 (男)	4	81.8	1	4	8	4		1			33	100.0 (21／ 21)	
	19 (女)	1	95		4	8	6					35	100.0 (19／ 19)	
10～14	11 (男)	1	90.9	1	3	2	4					30	100.0 (11／ 11)	
	9 (女)	4	55.6		2	2	1					28	100.0 (9／ 9)	
15～19	20 (男)	1	95	1	5	7	3	3				34	71.4 (5／ 7)	
	13 (女)	1	92		7	3	2					24	83.3 (5／ 6)	
20～24	18 (男)	2	89		4	4	6	2				41	50.0 (2／ 4)	
	22 (女)	0	100.0	1	4	6	7	4				42	100.0 (11／ 11)	
25～29	30 (男)	5	83.3	1	5	7	10	2				39	66.7 (6／ 9)	
	19 (女)	1	94.7	1	2	4	6	4	1			53	83.3 (10／ 12)	
30～34	17 (男)	2	88.2		2	1	4	4	4			88	80.0 (0／ 1)	
	17 (女)	2	88		2	2	5	2	4			77	93.3 (14／ 15)	
35～39	18 (男)	1	94.4			3	4	6	3	1		104	66.7 (4／ 6)	
	18 (女)	0	100	1	1	8	3	5				47	81.8 (9／ 11)	
40～	42 (男)	6	85.7			5	12	10	7		2	108	50.0 (0／ 3)	
	35 (女)	0	100.0	2	3	7	11	5	5	2		67	64.7 (11／ 17)	
男女別計	197 (男)	31	84.3	6	27	38	48	29	15	1	2	54	78.6 (77／ 98)	
	172 (女)	15	91.3	5	30	45	43	20	12	2		47	86.6 (103／119)	
合 計	369	46	87.5	11	57	83	91	49	27	3	2	51	82.9 (180／217)	

*1: 接種歴不明者を除く

資料

福岡県における食品中残留農薬等の摂取量調査ー平成28年度ー

佐藤環・小木曾俊孝・中西加奈子・古閑彩・新谷依子・安武大輔・平川博仙・堀就英・梶原淳睦

厚生労働省は、地域ごとの食品摂取量を考慮したマーケットバスケット方式による食品中残留農薬等の一日摂取量調査を実施している。今回、平成28年度の当該調査における北部九州地域を分担し、14農薬15成分を対象として分析法の検討及び摂取量の推定を行った。摂取量推定に用いた全ての分析法の定量下限は目標とする感度を十分に満たしていた。また、全食品群における全成分の添加回収率は18-195%であった。摂取量調査の結果、シアゾファミドを除く全ての農薬が検出された。算出した一日摂取量の対ADI比はいずれも1%未満であり、健康に影響を及ぼす量ではないと考えられた。

[キーワード：残留農薬、摂取量調査、マーケットバスケット方式]

1 はじめに

厚生労働省は、“国民健康・栄養調査”をもとに地域ごとの食品摂取量を考慮したマーケットバスケット方式による食品中残留農薬の一日摂取量調査を実施している。本調査の目的は、人が日常の食事を介して食品中に残留する農薬等をどの程度摂取しているかを把握し、食品衛生法に基づく農薬等の残留基準の妥当性確認等に役立てることである。今回、平成28年度の当該調査における北部九州地域を分担し、14農薬15成分を対象として、分析法の検討及び摂取量の推定を行ったので報告する。

2 方法

2・1 調査対象試料

“国民健康・栄養調査”に基づき分類したI-XIIIの食品群に飲料水（XIV群）を加えた全14群のマーケットバスケット試料を調査対象とした。平成23-25年の“国民健康・栄養調査”を集計して得られた北部九州地域の食品群別摂取量に基づき、食品の構成及び重量を定めた。偏りのないように適宜選んだ食品（計167種類）から、必要量を分別し、必要に応じ調理し、食品群ごとに均一に混合して試料を調製した（表1）。

2・2 調査対象農薬

自治体及び検疫所等におけるモニタリング検査において検出事例のある農薬等のうち、比較的検出頻度の高い14農薬15成分を調査対象とした。対象農薬の種類及び一日摂取許容量（ADI）（ $\mu\text{g/kg/day}$ ）¹⁾を表2に示した。平成27年度の調査項目²⁾にチアベンダゾール（チアベンダ

ゾール、5-ヒドロキシチアベンダゾール）及びルフェスロンが追加された。

表1 調査対象試料

食品群	食品分類	北部九州地域の食品群別摂取量	混合食品数
I	米・米加工品	344.7 g	6
II	その他穀類・いも類・種実類	162.6 g	19
III	砂糖・菓子類	32.8 g	12
IV	油脂類	9.5 g	5
V	豆・豆加工品	59.2 g	11
VI	果実類	96.7 g	15
VII	緑黄色野菜	89.1 g	13
VIII	その他の野菜・キノコ類・藻類	191.7 g	19
IX	嗜好飲料類	678.8 g	10
X	魚介類	71.1 g	21
XI	肉類・卵類	126.9 g	9
XII	乳・乳製品	113.0 g	9
XIII	調味料類	89.0 g	17
XIV	飲料水	600 mL	1

表2 測定対象農薬の種類及びADI

農薬名	種類	ADI ¹⁾ ($\mu\text{g/kg/day}$)
アセタミプリド	ネオニコチノイド系殺虫剤	70
アゾキシストロビン	ストロビルリン系殺菌剤	180
イマザリル	イミダゾール系殺菌剤	25
イミダクロプリド	ネオニコチノイド系殺虫剤	57
クロチアニジン	ネオニコチノイド系殺虫剤	97
シアゾファミド	シアノイミダゾール系殺菌剤	170
シプロジニル	アミノピリミジン系殺菌剤	30
チアクロプリド	ネオニコチノイド系殺虫剤	10
チアベンダゾール	ベンゾイミダゾール系殺菌剤	100
チアトキサム	ネオニコチノイド系殺虫剤	26
ピラクロストロビン	ストロビルリン系殺菌剤	30
フルフェノクスロン	ベンゾイルフェニル尿素系殺虫剤	38
ボスカリド	アニリド系殺菌剤	40
ルフェスロン	ベンゾイルフェニル尿素系殺虫剤	15

2・3 標準品

各農薬の標準品（残留農薬試験用）は以下に示すものを用いた。アセタミプリド標準物質、アゾキシストロビン標準物質、イマザリル標準物質、イミダクロプリド標準品、クロチアニジン標準物質、シプロジニル標準物質、チアクロプリド標準物質、5-ヒドロキシチアベンダゾール標準品、チアベンダゾール標準物質、チアメトキサム標準物質、ピラクロストロビン標準品、フルフェノクスロン標準物質、ボスカリド標準品、ルフエヌロン標準物質は和光純薬工業社製、シアゾファミド標準品は Dr.Ehrenstofer 社製を用いた。

各標準物質 10 mg を精秤後、メタノールで 100 mL に定容し標準原液（100 µg/mL）とした。この標準原液をメタノールで適宜混合希釈し、標準物質の添加及び検量線の作成に用いた。

2・4 試薬

アセトニトリル（残留農薬・PCB 試験用）、塩化ナトリウム（残留農薬・PCB 試験用）、蒸留水（LC/MS 用）、蒸留水（ヘキサン洗浄品、残留農薬・PCB 試験用）、トルエン（ダイオキシン分析用）、ヘキサン（ダイオキシン分析用）、メタノール（LC/MS 用）、硫酸ナトリウム（無水）（残留農薬・PCB 試験用）、りん酸水素二カリウム（特級）、りん酸二水素カリウム（特級）は関東化学社製を用いた。1 mol/L 塩酸、1 mol/L 酢酸アンモニウム水溶液は和光純薬工業社製を用いた。

Bond Elut C18（1 g）固相カラムはAgilent社製、Envi-carb/NH₂（500 mg/500 mg）固相カラム、Envi-carb II/PSA（500 mg/500 mg）固相カラムはSPELCO社製、Oasis HLB（60 mg）固相カラムはWaters社製、フィルター付きバイアル（PTFE、0.45 µm）はGEヘルスケア社製を用いた。

2・5 装置及び測定条件

LC-MS/MS装置及び最適化した測定条件を表3に示した。また、各農薬成分の保持時間及びMRM条件は表4に示した。

表3 LC-MS/MS 装置及び測定条件

HPLC装置：	Acquity（Waters社製）
MS装置：	Xevo TQ MS (Waters社製)
分析カラム：	InertSustainC18 (GL Sciences、2.1×150mm,5µm)
移動相：	A：5mM 酢酸アンモニウム水溶液 B：メタノール
カラム温度：	40℃
グラジエント条件：	A/B (%)：85/15-(1min)-60/40-(4min) -50/50-(1min)-30/70-(5min)-5/95(4min)
流速：	0.2mL/min
注入量：	5µL
イオン化法：	ESI(+)/(－)
脱溶媒ガス温度：	400℃
キャピラリー電圧：	0.5kV
測定モード：	MRM

2・6 分析法

各食品群1試行で行い、農薬等が定量下限を超えて検出された群については3試行で再度実施した。定量は溶媒検量線を用いた絶対検量線法により行った。

2・6・1 I-XIII群分析法（チアベンダゾールを除く13農薬）

チアベンダゾール（チアベンダゾール及び5-ヒドロキシチアベンダゾール）を除く13農薬は既報の分析法²⁾に従い、試験溶液を調製した。

2・6・2 I-XIII群分析法（チアベンダゾール）

試料3 gを50 mL遠沈管に採取し、アセトニトリル：水（95：5）混液30 mLおよびアセトニトリル飽和ヘキサン10mLを順次加え、2分間ホモジナイズした。3000 rpmで15分間遠心分離した後、アセトニトリル：水（95：5）層5 mL

表4 農薬成分の保持時間及びMRM条件

農薬名（成分名）	保持時間 (min)	イオン化 (ESI) モード (+/-)	CV ^{a)} (V)	定量イオン (m/z)	CE ^{b)} (eV)	確認イオン (m/z)	CE ^{b)} (eV)
アセタミプリド	5.5	+	23	223 > 126	20	223 > 56	15
アゾキシストロビン	9.7	+	20	404 > 372	16	404 > 344	26
イマザリル	11.2	+	20	297 > 159	18	297 > 255	23
イミダクロプリド	4.8	+	22	256 > 209	23	256 > 175	23
クロチアニジン	5.0	+	16	250 > 169	10	250 > 132	10
シアゾファミド	10.8	+	16	325 > 108	10	325 > 261	11
シプロジニル	11.9	+	45	226 > 108	25	226 > 93	35
チアクロプリド	6.4	+	28	253 > 126	23	253 > 90	35
チアベンダゾール（チアベンダゾール）	8.0	+	25	202 > 175	25	202 > 131	20
チアベンダゾール（5-ヒドロキシチアベンダゾール）	5.2	+	44	218 > 191	26	218 > 147	34
チアメトキサム	4.0	+	22	292 > 211	11	292 > 181	23
ピラクロストロビン	11.6	+	20	388 > 163	25	388 > 105	45
フルフェノクスロン	12.9	+	28	489 > 158	15	489 > 141	35
ボスカリド	9.9	+	30	343 > 307	23	343 > 140	20
ルフエヌロン	12.5	—	22	509 > 326	15	509 > 202	15

a) コーン電圧、b) コリジョンエネルギー

を分取し、減圧濃縮した。窒素気流下で濃縮乾固後、メタノール5 mLに溶解し試験溶液とした。

2・6・3 XIV群分析法

試料20 mLを採取後、1 mol/L塩酸を20 μ L添加しpHを4.0に調整した。続いて、Oasis HLB (60 mg) 固相カラムをメタノール2 mL、蒸留水2 mLを用いて順次コンディショニングした後、流速約10 mL/minで試料全量をカラムに負荷し、流出液は捨てた。蒸留水0.5 mLでカラムを洗浄し、5分間乾燥した。最後に、メタノール4 mLで溶出し定容したものをメタノールで5倍希釈し試験溶液とした。

2・7 定量下限の推定

各分析法の定量下限は、以下の方法により推定した。目的とする農薬等に由来するピークの近傍（ピークの半値幅の10倍の範囲）のノイズを計測し、その幅（最大値と最小値の差）の5分の2をノイズの標準偏差とした。ノイズの標準偏差の10倍に等しいピーク高さに相当する農薬等の試料中濃度を定量下限 (μ g/g) とした。

2・8 添加回収試験

採取した各群試料に、試料中濃度として0.01 μ g/gとなるように混合標準溶液を添加後、上記に従い試験溶液の調製を行い、LC-MS/MS測定した。試行数は1とし、VII群、XI群およびXIV群については3試行で実施した。添加濃度 (μ g/g) に対する試料中濃度 (μ g/g) を回収率として算出した。試料から検出された場合は、試料中濃度を差し引いた後に算出した。

2・9 試料マトリックスの測定値への影響の確認

調製した各群試料の試験溶液を正確に分取後、試料中濃度として0.01 μ g/gとなるように混合標準溶液を添加した（マトリックス標準溶液）。調製したマトリックス標準溶液をLC-MS/MS測定し、マトリックス標準溶液の測定値 (μ g/g) を算出した。試料から検出された場合は、試料中濃度を差し引いた。試料中濃度として0.01 μ g/gに相当する標準溶液の測定値 (μ g/g) に対するマトリックス標準溶液の測定値 (μ g/g) の比率を算出し、回収率のマトリックス補正に用いた。

2・10 摂取量の推定

算出した試料中濃度 (μ g/g) から、各農薬の一日摂取量を推定した。また、推定した一日摂取量 (μ g/kg/day) のADI (μ g/kg/day) に占める割合（対ADI比）を算出した。

3 結果及び考察

3・1 MS条件の検討

平成28年度は、新たにチアベンダゾール（チアベンダゾール及び5-ヒドロキシチアベンダゾール）、ルフェヌロンの2農薬3成分が調査項目として追加された。そこで、この2農薬を含む14農薬15成分一斉分析時の最適なMS条件を検討した。

脱溶媒温度300℃及び400℃の設定値に対して、キャピラリー電圧を0.5 kV、1.5 kV、2.5 kV及び3.5 kVに設定したのべ8条件で混合標準溶液0.01 μ g/mLを測定し、感度の比較を行った。脱溶媒温度は400℃設定時がより高感度であった。また、キャピラリー電圧は、設定値が低いほど感度が上昇する傾向が見られた。一方で、フルフェノクスロン及びルフェヌロンは、MS条件の違いによる顕著な感度の変化はみられなかった。以上のことから、脱溶媒温度400℃、キャピラリー電圧0.5 kVを最適条件とし、以下の検討に用いた。

3・2 定量下限の推定

推定した定量下限を表6に示した。全ての分析法及び成分において、定量下限は目標とする感度（0.01 μ g/g）を十分に満たしていた。

3・3 添加回収試験結果

各食品群について行った添加回収試験結果を表5のaに示した。

I-XIII群のチアベンダゾールを除く13農薬について、全食品群における全成分の回収率は18-195%であった。特に、フルフェノクスロンの回収率は低く（18-85%）、ルフェヌロンの回収率は高い（113-195%）傾向を示した。

また、既報のI-XIII群の分析法²⁾では、チアベンダゾールの代謝物である5-ヒドロキシチアベンダゾールのピークが認められなかった。5-ヒドロキシチアベンダゾールは水溶性が高いため、塩析操作を行っても回収できなかったと推測された。久保らは動物用医薬品等の一斉分析法を検討しており、水含有のアセトニトリルによる抽出とヘキサンによる脱脂を同時に行い、タンパク質及び脂質を多く含む畜水産物中からチアベンダゾール及び5-ヒドロキシチアベンダゾールを良好に回収している³⁾。この方法を一部改変し、試験（2・6・2）に用いたところ、I-XIII群の回収率はチアベンダゾールにおいて35-89%、5-ヒドロキシチアベンダゾールにおいて48-87%であった。いずれの成分もV群において回収率が最も低かった。

同様に、既報のXIV群の分析法²⁾の工程中には塩析操作が含まれていることから、5-ヒドロキシチアベンダゾールが回収できないことが考えられた。一方で、厚生労働省

表5 添加回収試験結果及び試料マトリックスの測定値への影響の確認

農薬名（成分名）		食品群													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
アセタミプリド	a	109	100	88	114	98	106	87	55	86	102	108	117	70	114
	b	104	102	95	110	96	104	102	105	102	105	105	113	101	99
	c	1.04	0.98	0.93	1.03	1.02	1.01	0.86	0.53	0.85	0.97	1.03	1.03	0.69	1.15
アゾキシストロビン	a	107	107	107	115	113	104	107	103	110	107	106	119	99	103
	b	99	105	101	110	101	109	100	102	105	110	103	111	108	88
	c	1.08	1.02	1.06	1.05	1.12	0.95	1.07	1.01	1.05	0.97	1.03	1.07	0.91	1.17
イマザリル	a	92	97	99	79	97	87	88	80	105	93	92	115	83	105
	b	86	104	97	84	93	97	87	83	101	99	98	112	103	90
	c	1.08	0.94	1.01	0.93	1.05	0.90	1.01	0.97	1.04	0.94	0.94	1.03	0.81	1.17
イミダクロプリド	a	110	98	97	95	103	102	92	90	74	103	105	117	62	114
	b	103	103	95	110	97	104	103	100	99	107	103	109	101	103
	c	1.06	0.96	1.02	0.87	1.06	0.98	0.89	0.90	0.75	0.96	1.02	1.07	0.62	1.11
クロチアニジン	a	114	55	79	113	94	98	98	91	66	92	105	116	51	119
	b	102	98	97	105	96	104	101	105	102	101	101	107	106	104
	c	1.12	0.56	0.81	1.07	0.98	0.95	0.97	0.86	0.65	0.91	1.04	1.08	0.48	1.15
シアゾファミド	a	87	97	85	56	80	88	83	87	107	69	62	113	64	99
	b	94	111	109	130	100	107	114	105	110	118	116	129	109	88
	c	0.93	0.88	0.78	0.43	0.80	0.82	0.72	0.83	0.97	0.58	0.54	0.88	0.58	1.13
シプロジニル	a	104	90	78	92	79	92	87	85	94	58	70	100	122	101
	b	110	101	89	105	91	103	102	105	96	79	89	110	99	87
	c	0.94	0.89	0.87	0.87	0.87	0.89	0.85	0.81	0.98	0.73	0.79	0.91	1.23	1.16
チアクロプリド	a	112	105	100	120	106	110	88	105	91	104	111	120	90	113
	b	104	103	96	111	97	104	103	102	100	105	105	113	106	103
	c	1.07	1.01	1.04	1.09	1.10	1.06	0.85	1.03	0.91	0.99	1.05	1.06	0.84	1.10
チアベンダゾール （チアベンダゾール）	a	83	85	82	83	35	68	81	86	85	89	87	84	78	115
	b	73	80	77	81	84	74	85	85	89	80	84	80	82	108
	c	1.14	1.07	1.07	1.03	0.42	0.92	0.96	1.01	0.96	1.10	1.04	1.06	0.95	1.07
チアベンダゾール （5-ヒドロキシチアベンダゾール）	a	78	82	72	79	48	82	66	82	84	87	68	81	78	109
	b	70	75	68	78	90	85	69	81	82	79	65	82	81	96
	c	1.12	1.10	1.06	1.02	0.53	0.96	0.96	1.00	1.02	1.11	1.05	0.99	0.95	1.13
チアメトキサム	a	102	88	63	113	100	105	96	101	67	71	56	108	50	116
	b	99	100	96	111	97	105	101	102	94	101	91	106	103	106
	c	1.03	0.88	0.66	1.01	1.03	1.00	0.94	0.99	0.72	0.70	0.61	1.01	0.49	1.09
ピラクロストロビン	a	104	92	95	91	91	99	86	101	108	87	72	114	83	92
	b	97	105	94	118	96	100	99	105	102	108	103	116	100	86
	c	1.06	0.88	1.01	0.77	0.94	0.99	0.87	0.96	1.06	0.81	0.70	0.99	0.83	1.07
フルフェノクスロン	a	49	67	35	28	40	47	85	39	55	24	18	51	61	68
	b	74	107	84	141	107	114	60	116	111	115	59	128	99	63
	c	0.66	0.63	0.42	0.20	0.37	0.42	1.41	0.33	0.50	0.21	0.31	0.40	0.62	1.08
ボスカリド	a	113	95	80	52	76	86	75	78	92	43	51	116	57	109
	b	108	111	101	109	90	100	101	104	98	101	99	125	106	118
	c	1.04	0.86	0.79	0.48	0.84	0.85	0.74	0.75	0.93	0.43	0.52	0.92	0.53	0.92
ルフェヌロン	a	113	178	142	178	170	195	173	187	157	164	154	176	123	88
	b	63	94	74	99	87	106	97	104	108	123	102	111	94	83
	c	1.80	1.89	1.93	1.80	1.96	1.84	1.79	1.80	1.46	1.33	1.51	1.58	1.31	1.06

a) 添加回収率（%）、b) 添加回収率（マトリックス補正後）（%）（=a/c）、c) マトリックス標準溶液の測定値/溶媒標準溶液の測定値

：添加回収率の目標値の範囲外の項目

：マトリックス補正により目標値の範囲内に収まった項目

通知の水道水の水質管理目標設定項目の検査方法⁴⁾において農薬類の試験法が示されており、固相抽出法が広く採用されている。そこで、HLB 固相カラムを用いた固相抽出法による14農薬15成分の一斉分析法を検討した(2・6・3)。その結果、回収率は68%－119%であり、ガイドラインの目標値(70－120%)⁵⁾を概ね満足した。

3・4 試料マトリックスの測定値への影響の確認

食品試料中の目的物質をLC-MS/MSを用いて分析する際には、精製を行っても取り除けない試料由来のマトリックスの影響を受け、イオン化効率が変化する場合がある⁶⁾。試料マトリックスの影響は異常な測定値の一因となるため、その確認が不可欠である。マトリックスの影響を補正

表6 定量下限

農薬名 (成分名)	定量下限 (μg/g)						
	I	II	III	IV	V-XII	XIII	XIV
アセタミプリド	0.0000075	0.0000077	0.0000085	0.0000077	0.0000089	0.000028	0.000019
アゾキシストロビン	0.000038	0.000039	0.000043	0.000075	0.000046	0.000098	0.000086
イマザリル	0.000080	0.000082	0.000091	0.000031	0.000095	0.000049	0.00014
イミダクロプリド	0.000010	0.000010	0.000011	0.000047	0.000012	0.000025	0.000053
クロチアニジン	0.000010	0.000010	0.000012	0.000025	0.000012	0.000016	0.000054
シアゾファミド	0.000012	0.000013	0.000014	0.000012	0.000015	0.000020	0.000053
シプロジニル	0.000051	0.000052	0.000057	0.000040	0.000060	0.000087	0.000044
チアクロプリド	0.000013	0.000013	0.000014	0.0000059	0.000015	0.000022	0.0000032
チアベンダゾール (チアベンダゾール)	0.0000060	0.0000062	0.0000068	0.0000072	0.0000072	0.0000072	0.0000029
チアベンダゾール (5-ヒドロキシチアベンダゾール)	0.00014	0.00014	0.00016	0.00016	0.00016	0.00016	0.000022
チアメトキサム	0.0000084	0.0000086	0.0000095	0.000027	0.000010	0.000047	0.000022
ピラクロストロビン	0.000089	0.000091	0.00010	0.000013	0.000011	0.000093	0.000024
フルフェノクスロン	0.000015	0.000016	0.000017	0.000028	0.000018	0.000035	0.000017
ボスカリド	0.000031	0.000032	0.000035	0.000014	0.000037	0.000092	0.000033
ルフエスロン	0.000051	0.000052	0.000057	0.000043	0.000061	0.000037	0.000029

表7 対象農薬の推定一日摂取量及び対 ADI 比

農薬名	成分名	検出された食品群	推定一日摂取量 ^{a)} (μg/kg/day)	対ADI比 (%)
アセタミプリド	アセタミプリド	III、VI、VII、VIII、XII、XIII	0.016	0.02
アゾキシストロビン	アゾキシストロビン	III、VI、VII、IX、XIII	0.013	0.007
イマザリル	イマザリル	VI	0.027	0.1
イミダクロプリド	イミダクロプリド	II、III、VI、VII、VIII	0.0038	0.007
クロチアニジン	クロチアニジン	VI、VII、VIII	0.0025	0.003
シアゾファミド	シアゾファミド	—	0	0
シプロジニル	シプロジニル	III、VI	0.0033	0.01
チアクロプリド	チアクロプリド	VI	0.0069	0.07
チアベンダゾール	チアベンダゾール及び 5-ヒドロキシチアベンダゾール	VI	0.019	0.02
チアメトキサム	チアメトキサム	III、VI、VII、VIII	0.0024	0.009
ピラクロストロビン	ピラクロストロビン	III、VI、VII	0.00094	0.003
フルフェノクスロン	フルフェノクスロン	III、IV、VII、VIII、XII	0.036	0.1
ボスカリド	ボスカリド	III、IV、VI、VII、VIII、IX	0.017	0.04
ルフエスロン	ルフエスロン	IV、VII、VIII	0.011	0.07

a) 体重55.2 kgとして算出

した回収率 (マトリックス補正後の回収率) を表5のb)に示した。表5のa)において、回収率がガイドラインの目標値を満たさなかった食品群及び成分の組み合わせ、のべ49項目についてマトリックス補正後の回収率を確認したところ、約8割の項目が目標値の範囲内に収まった。このことから、測定時の試料マトリックスの影響が目標値を満たさなかった主な原因であると考えられた。

3・5 摂取量の推定

対象とした農薬の推定一日摂取量および対 ADI 比を表7に示した。今回、シアゾファミドを除く全ての農薬が検出された。II 群からイミダクロプリド、III 群からアセタミプリド、アゾキシストロビン、イミダクロプリド、シプロジニル、チアメトキサム、ピラクロストロビン、フルフェノクスロン及びボスカリド、IV 群からフルフェノクスロン、ボスカリド及びルフエスロン、VI 群からアセタミプリド、アゾキシストロビン、イマザリル、イミダクロプリド、クロチアニジン、シプロジニル、チアクロプリド、チアベン

ダゾール、チアメトキサム、ピラクロストロビン及びボスカリド、VII 群からアセタミプリド、アゾキシストロビン、イミダクロプリド、クロチアニジン、チアメトキサム、ピラクロストロビン、フルフェノクスロン、ボスカリド及びルフエスロン、VIII 群からアセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、チアメトキサム、フルフェノクスロン、ボスカリド及びルフエスロン、IX 群からアゾキシストロビン及びボスカリド、XII 群からアセタミプリド及びフルフェノクスロン、XIII 群からアセタミプリド及びアゾキシストロビンが検出された。生鮮食品以外の III 群、IX 群及び XIII 群の加工食品を多く含む食品群からも農薬が検出されていた。各農薬の対 ADI 比は 0.003-0.1%であった。この結果は、添加回収試験結果を考慮しても十分に低い値であり、健康に影響を及ぼす量ではないと考えられた。

4 まとめ

マーケットバスケット方式による食品中残留農薬の一

日摂取量調査を実施した。平成 28 年度は、14 農薬 15 成分の農薬等を対象として分析法の検討を行い、北部九州地域における摂取量の推定を行った。分析法を検討した結果、摂取量推定に用いた全ての分析法の定量下限は目標とする感度を十分に満たしていた。また、全食品群における全成分の添加回収率は 18－195%であった。摂取量調査の結果、シアゾファミドを除く全ての農薬が検出された。算出した一日摂取量の対 ADI 比はいずれも 1%未満であり、健康に影響を及ぼす量ではないと考えられた。人が日常の食事を介して食品中に残留する農薬等をどの程度摂取しているかを把握し、食の安全の確保に寄与するため、今後も継続的な調査が必要である。

文献

- 1) J A Turner, A World Compendium The Pesticide Manual Seventeenth Edition、2015
- 2) 小木曾俊孝ら, 福岡県保健環境研究所年報, 43, 168-173, 2016
- 3) 久保記久子ら, 福岡市保健環境研究所報, 35, 110-115, 2009
- 4) 厚生労働省通知, 健水発第1010001号, 平成15年10月10日
- 5) 厚生労働省通知, 食安発1224第1号, 平成22年12月24日
- 6) 望月直樹ら, YAKUGAKU ZASSHI, 131 (7), 1019-1025, 2011

資料

ミネラルウォーター類中の亜鉛・カドミウム・クロム・セレン・銅・鉛・ヒ素・マンガン・ホウ素・バリウム分析法の妥当性評価

平川周作・柏原学・石橋融子・堀就英

ミネラルウォーター類中の亜鉛・カドミウム・クロム・セレン・銅・鉛・ヒ素・マンガン・ホウ素・バリウムについて、誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）及び誘導結合プラズマ発光分析装置（ICP-AES）を用いた分析法の妥当性評価を行った。その結果、真度（%）は 96～105、併行精度（RSD%）は 0.30～1.6、室内精度（RSD%）は 0.31～6.3 であり、「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」に示された基準を満たすことが確認された。

[キーワード：ミネラルウォーター類、妥当性評価]

1 はじめに

平成 26 年 12 月 22 日、食品、添加物等の規格基準の一部が改正され¹⁾²⁾、ミネラルウォーター類について成分規格が規定された。また、同時に告示に規定された試験法以外の試験法が通知された³⁾。そこで、「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」⁴⁾に従い、ミネラルウォーター類中の亜鉛・カドミウム・クロム・セレン・銅・鉛・ヒ素・マンガン・ホウ素・バリウムの分析法について妥当性評価を行ったので報告する。

2 実験方法

2・1 試料

市販のミネラルウォーターを添加回収試料とした。なお、当該試料は、分析対象物質について成分規格の上限値の 1/10 未満であることを確認し、本妥当性評価に影響しないことを確認した。

2・2 標準原液

和光純薬工業製の亜鉛標準液（100 mg/L）、カドミウム標準液（100 mg/L）、クロム標準液（100 mg/L）、セレン標準液（100 mg/L）、銅標準液（100 mg/L）、鉛標準液（100 mg/L）、ヒ素標準液（100 mg/L）、マンガン標準液（100 mg/L）、ホウ素標準液（1000 mg/L）及びバリウム標準液（1000 mg/L）を標準原液として用いた。また、和光純薬工業製のインジウム標準液（1000 mg/L）及びイットリウム標準液（1000 mg/L）を内標準原液として用いた。

2・3 検量線用標準溶液

誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）用混合標準

溶液として、亜鉛・カドミウム・クロム・セレン・銅・鉛・ヒ素・マンガンの標準原液を混合後、ADVANTEC 製 RFU665DA で製造した超純水（比抵抗：18.2 MΩ・cm、TOC: ≤ 1 ppb）を用いて希釈し、超高純度濃硝酸（硝酸 1.38 Ultrapur、関東化学）を 2 % になるように添加して 0.1 mg/L の混合標準溶液を作製した。また、ICP-MS 用内標準溶液として、インジウム標準原液を超純水で希釈し、超高純度濃硝酸が 2 % になるように添加した 0.01 mg/L の内標準溶液を作製した。

誘導結合プラズマ発光分析装置（ICP-AES）用混合標準溶液として、ホウ素・バリウムの標準原液を混合後、超純水で希釈し、超高純度濃硝酸を 2 % になるように添加して 50 mg/L の混合標準溶液を作製した。また、ICP-AES 用内標準溶液として、イットリウム標準原液を超純水で希釈し、超高純度濃硝酸が 2 % になるように添加した 10 mg/L の内標準溶液を作製した。

2・4 測定装置及び測定条件

ICP-MS は、Agilent 7900（Agilent Technologies）を用いた。測定条件は、高周波出力：1.4 kW、キャリアーガス流量：Ar 1.0 L/min、補助ガス流量：Ar 0.8 L/min、コリジョンガス：Heガス、コリジョンガス流量：7.5 mL/min、測定質量：亜鉛（66）・カドミウム（111）・クロム（52）・セレン（78）・銅（65）・鉛（208）・ヒ素（75）・マンガン（55）・インジウム（115）とした。

ICP-AES は、Agilent 720-ES（Agilent Technologies）を用いた。測定条件は、高周波出力：1.2 kW、プラズマガス流量：Ar 15 L/min、補助ガス：1.5 L/min、測定波長：ホウ素（249.772 nm）・バリウム（233.527 nm）・イットリウム

(371.029 nm) とした。

2・5 試料の前処理及び測定溶液の調製

添加回収試料にミネラルウォーター類（殺菌・除菌有）に係る成分規格の上限値の 1/2 濃度になるように分析対象物質を添加し、ICP-MS 測定試料（亜鉛・カドミウム・クロム・セレン・銅・鉛・ヒ素・マンガン）と ICP-AES 測定試料（バリウム・ホウ素）を作製した。ミネラルウォーター類（殺菌・除菌有）の成分規格は、亜鉛：5 mg/L 以下、カドミウム：0.003 mg/L 以下、六価クロム：0.05 mg/L 以下、セレン：0.01 mg/L 以下、銅：1 mg/L 以下、鉛：0.05 mg/L 以下、ヒ素：0.05 mg/L 以下、マンガン：2 mg/L 以下、ホウ素：30 mg/L 以下（ホウ酸として）、バリウム：1 mg/L 以下である¹⁾。

ICP-MS 試料、ICP-AES 試料ともに、必要に応じ試験溶液を超純水で正確に希釈して、10 mL に定容後、超高純度濃硝酸 0.2 mL および内標準溶液 1 mL を混合した。その後、沸騰水浴中で 1 時間加熱分解し、室温に冷却した溶液を測定溶液とした。

2・6 定量

段階的に調製した標準溶液の各濃度における測定対象元素と内部標準元素の指示値の比から検量線を作成し、試験溶液中の対象元素の濃度を求めた。なお、成分規格の上限値の 1/10 を定量下限とした。

2・7 妥当性評価試験

「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」⁴⁾に従い、分析者 1 名が試料各 2 個を 5 日間分析する方法で妥当性評価試験を実施した。当該ガイドラインにおける元素成分の目標値は、真度（%）：90～110、併行精度（RSD%）：室内精度の目標値以下、室内精度（RSD%）：15 未満である。

3 結果

ミネラルウォーター類中の亜鉛・カドミウム・クロム・セレン・銅・鉛・ヒ素・マンガン・ホウ素・バリウムについて実施した妥当性評価試験の結果を表 1 に示す。真度

表 1 妥当性評価試験結果

元素	測定装置	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
Zn	ICP-MS	102	1.0	3.0
Cd	ICP-MS	103	1.3	3.3
Cr	ICP-MS	98	1.3	6.3
Se	ICP-MS	102	1.6	4.8
Cu	ICP-MS	97	0.77	0.77
Pb	ICP-MS	96	0.69	4.4
As	ICP-MS	99	0.47	2.0
Mn	ICP-MS	98	0.79	4.3
B	ICP-AES	105	0.41	0.51
Ba	ICP-AES	100	0.30	0.31

(%) は 95～105、併行精度 (RSD%) は 0.30～1.6、室内精度 (RSD%) は 0.31～6.3 であり、ガイドラインの目標値を満たしていた。

4 まとめ

ミネラルウォーター類中の亜鉛・カドミウム・クロム・セレン・銅・鉛・ヒ素・マンガン・ホウ素・バリウムについて、ICP-MS 及び ICP-AES による分析法の妥当性評価を実施した。本分析法の性能は、「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」⁴⁾の目標値を満たしており、分析法の妥当性が確認された。

文献

- 1) 昭和 34 年 12 月 28 日厚生省告示第 370 号「食品、添加物等の規格基準」（最終改正平成 26 年 12 月 22 日厚生労働省告示第 482 号）
- 2) 平成 26 年 12 月 22 日食安発 1222 第 1 号「乳及び乳製品成分規格等に関する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について」
- 3) 平成 26 年 12 月 22 日食安発 1222 第 4 号「清涼飲料水等の規格基準の一部改正に係る試験法について」
- 4) 平成 26 年 12 月 22 日食安発 1222 第 7 号「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」

資料

清涼飲料水中のヒ素・鉛・スズの分析法の妥当性評価

柏原学・平川周作・石橋融子・堀就英

清涼飲料水中のヒ素・鉛・スズについて、誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）及び誘導結合プラズマ発光分析装置（ICP-AES）を用いた分析法の妥当性評価を行った。その結果、真度（%）は 95～97、併行精度（RSD%）は 1.3～6.6、室内精度（RSD%）は 3.4～6.9であり、「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」に示された基準を満たすことが確認された。

[キーワード：清涼飲料水、妥当性評価]

1 はじめに

平成 26 年 12 月 22 日、食品、添加物等の規格基準の一部が改正され¹⁾²⁾、清涼飲料水の成分規格の一般規格に金属製容器包装入りのものはスズの含有量が 150 ppm 以下、ミネラルウォーター類以外の清涼飲料水の個別規格にはヒ素及び鉛は検出してはならないと定められた。また、ヒ素及び鉛については、同時に告示に規定された試験法以外の試験法（誘導結合プラズマ質量分析（以下、ICP-MS））が追加された³⁾。そこで、「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」⁴⁾に従い、清涼飲料水中のヒ素・鉛についてはICP-MS、また、スズについては誘導結合プラズマ発光分析（以下、ICP-AES）を用いた分析法の妥当性評価を行ったので報告する。

2 実験方法

2・1 試料

金属製容器包装入りのコーヒーを添加回収試料とした。なお、当該試料は、スズは 15 mg/L 未満、ヒ素は 0.2 mg/L 未満、鉛は 0.4 mg/L 未満であることを確認し、本妥当性評価に影響しないことを確認した。

2・2 標準原液

和光純薬工業製のヒ素標準液（100 mg/L）、鉛標準液（100 mg/L）及びスズ標準液（100 mg/L）を標準原液として用いた。和光純薬工業製のインジウム標準液（1000 mg/L）及びイットリウム標準液（1000 mg/L）を内標準原液として用いた。

2・3 試薬

湿式分解には、和光純薬工業製の有害金属測定用濃硫酸及び有害金属測定用濃硝酸を用いた。

ICP-MS 用の超高純度濃硝酸には、関東化学製の硝酸

1.38 Ultrapur を用いた。ICP-AES 用の濃塩酸には、和光純薬工業製の有害金属測定用濃塩酸を用いた。超純水には、ADVANTEC 製 RFU665DA で製造した水（比抵抗：18.2 MΩ・cm、TOC：≤ 1 ppb）を用いた。

2・4 検量線用標準溶液

ICP-MS 用混合標準溶液として、ヒ素標準原液 100 mg/L、鉛標準原液 100 mg/L を混合後、超純水で希釈し、超高純度濃硝酸を 2%になるように添加して、0.1 mg/L の混合標準溶液を作製した。また、ICP-MS 用内標準溶液として、インジウム標準原液 1000 mg/L を超純水で希釈し、超高純度濃硝酸を 2%になるように添加して、0.01 mg/L の内標準溶液を作製した。

ICP-AES 用スズ標準溶液として、スズ標準原液 100 mg/L を超純水で希釈し、有害金属測定用濃塩酸を 10%になるように添加して、50 mg/L のスズ標準溶液を作製した。また、ICP-AES 用内標準溶液として、イットリウム標準原液 1000 mg/L を超純水で希釈し、有害金属測定用濃塩酸を 10%になるように添加して、10 mg/L の内標準溶液を作製した。

2・5 測定装置及び測定条件

ICP-MS は、Agilent 7900（Agilent Technologies）を用いた。高周波出力：1.4 kW、キャリアーガス流量：Ar 1.0 L/min、補助ガス流量：Ar 0.8 L/min、コリジョンガス：He ガス、コリジョンガス流量：7.5 mL/min、測定質量：ヒ素（75）・鉛（208）・インジウム（115）とした。

ICP-AES は、Agilent 720-ES（Agilent Technologies）を用いた。測定波長：スズ（189.925 nm）イットリウム（371.029 nm）、高周波出力：1.2 kW、プラズマガス流量：Ar 15 L/min、補助ガス：1.5 L/minとした。

2・6 試料の前処理及び測定溶液の調製

ICP-MS用測定溶液の前処理として、検体 20 mLを 300 mL トールビーカーに採り、有害金属測定用濃硫酸 2 mL 及び有害金属測定用濃硝酸 2.5 mL を加えて、加熱しながら有害金属測定用濃硝酸 5 mL を適宜加え、溶液がほとんど無色又は淡黄色となるまで加熱した。分解が完了したら、硫酸白煙が発生するまで加熱濃縮した。放冷後、溶液に超高純度濃硝酸 0.4 mL を加え、20 mL メスフラスコに移し、超純水を加えてメスアップして試験溶液とした。別に、検体の代わりに超純水を用いて検体と同様に操作して得られた溶液を空試験溶液とした。必要に応じ、試験溶液を超純水で正確に希釈して、10 mL に定容後、超高純度濃硝酸 0.2 mL 及び 0.01 mg/L の ICP-MS 用内標準溶液 1 mL を混合して、測定溶液とした。

ICP-AES 用測定溶液の前処理として、検体 20 mL を 300 mL トールビーカーに採り、有害金属測定用濃硫酸 2 mL 及び有害金属測定用濃硝酸 2.5 mL を加えて、加熱しながら有害金属測定用濃硝酸 5 mL を適宜加え、溶液がほとんど無色又は淡黄色となるまで加熱した。分解が完了したら、硫酸白煙が発生するまで加熱濃縮した。放冷後、溶液に有害金属測定用濃塩酸 2 mL を加え、20 mL メスフラスコに移し、超純水を加えてメスアップして試験溶液とした。別に、検体の代わりに超純水を用いて検体と同様に操作して得られた溶液を空試験溶液とした。必要に応じ、試験溶液を精製水で正確に希釈して、10 mL に定容後、有害金属測定用濃塩酸 1 mL 及び 10 mg/L の ICP-AES 用内標準溶液 1 mL を混合して、測定溶液とした。

2・7 定量

段階的に調製した標準溶液の各濃度における測定元素と内部標準元素の指示値の比から検量線を作成し、試験溶液中のヒ素、鉛及びスズの濃度を求めた。

2・8 妥当性評価試験

「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」⁴⁾に従い、試料にヒ素が 0.2 mg/L、鉛が 0.4 mg/L、スズが 100 mg/L となるように添加し、分析者 1 名が試料各 2 個を 5 日間分析する方法 (n=10) で

妥当性評価試験を実施した。当該ガイドラインにおける元素成分の目標値は、真度 (%) : 90~110、併行精度 (RSD%) : 室内精度の目標以下、室内精度 (RSD%) : 15 未満である。

3 結果

清涼飲料水中のヒ素・鉛・スズについて実施した妥当性評価試験の結果を表 1 に示す。真度 (%) は 95~97、併行精度 (RSD%) は 1.3~6.6、室内精度 (RSD%) は 3.4~6.9 であり、ガイドラインの目標値を満たしていた。

表 1 妥当性評価試験結果

元素	測定装置	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
As	ICP-MS	95	1.3	3.4
Pb	ICP-MS	97	6.6	6.9
Sn	ICP-AES	96	3.3	4.0

4 まとめ

清涼飲料水中のヒ素・鉛・スズについて、ICP-MS 及び ICP-AES による分析法の妥当性評価試験を実施した。本分析法の性能は、「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」⁴⁾の目標値を満たしており、分析法の妥当性が確認された。

文献

- 1) 昭和 34 年 12 月 28 日厚生省告示第 370 号「食品、添加物等の規格基準」(最終改正平成 26 年 12 月 22 日厚生労働省告示第 482 号)
- 2) 平成 26 年 12 月 22 日食安発 1222 第 1 号「乳及び乳製品成分規格等に関する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部変更について」
- 3) 平成 26 年 12 月 22 日食安発 1222 第 4 号「清涼飲料水等の規格基準の一部改正に係る試験法について」
- 4) 平成 26 年 12 月 22 日食安発 1222 第 7 号「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性評価ガイドラインについて」

資料

生物応答を利用した排水水質評価手法の導入に向けた精度管理（比較）について

古閑豊和・柏原学・志水信弘・石橋融子

日本版WETの導入を目指し、ムレミカズキモを用いた藻類成長阻害試験及び胚・仔魚期のゼブラフィッシュを用いた魚類短期毒性試験法について検討を行った。藻類の培養や魚類飼育を円滑に進めるために培養チャンバーと魚類集合水槽を作成した。当所における標準物質を用いた感受性試験の結果を文献値と比較した結果、本研究所の試験体制で問題ないことを確認した。

[キーワード：全排水毒性、ムレミカズキモ、ゼブラフィッシュ]

1 はじめに

洗剤・農薬・医薬品類など人間活動に必要な化学物質の数は年々増加し、アメリカ化学会の Chemical Abstract Service(CAS)に登録されている化学物質は 1 億 2900 万種（2017 年 2 月現在）を超えている¹⁾。これら化学物質の多くは大気環境や水環境中に排出されるが、その全ての化学物質を分析し、リスクを管理することは困難である。そのため欧米では魚類や甲殻類、藻類による生物応答を活用した指標によって事業場排水の規制（全排水毒性、通称；WET）を行っている。我が国においても平成 21 年度より生物応答を用いた排水試験法（以下；日本版 WET）について技術面と制度面で検討され、事業者へ自主管理制度として法制化の動きがある。しかしながら、日本版 WET の導入にあたっては環境調査を含めた科学的知見が不足していることが指摘されている^{2,3)}。福岡県内についても日本版 WET による水質評価の事例は無い。

そのため、本研究では日本版WETによる水質改善への活用方法を検討するため試験体制の確立を目的とし、当所における感受性試験結果と文献値との比較を行った。

2 検討内容

2・1 試験生物

『生物応答を用いた排水試験法（検討案）』⁴⁾（以下、試験法（案））によると、藻類、甲殻類、魚類の 3 種の水生生物を用いて排水評価を行う。また推奨生物は、藻類がムレミカズキモ（*Pseudokirchneriella subcapitata*）、魚類がゼブラフィッシュ（*Danio rerio*）、甲殻類がニセネコゼミジンコ（*Ceriodaphnia dubia*）である。本研究所では藻類や魚類試験に関連する研究事例があることから^{5,6)}、藻類と魚類の試験体制を確立することとした。試験生物種は国立環境研究所から分譲されたムレミカズキモ（NIES-351、図 1）及びゼブラフィッシュ（NIES 系統、図 2）を用いた。

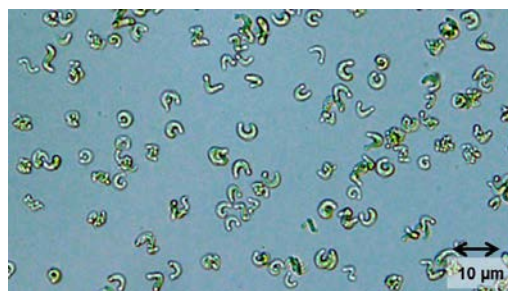


図 1 ムレミカズキモ



図 2 ゼブラフィッシュ

2・2 藻類培養方法

① 藻類の継代培養

藻類保存株の継代培養はC培地のスラント⁷⁾を用いた。スラントはガラス容器に液体C培地500 mLにつき7.5 gの寒天を加えオートクレーブ後、試験管に分注し、傾けて作製した。作製したスラントは使用するまで冷蔵庫（4℃）にて保存した。藻類の継代は生育状態の良い保存株を選び、1つのスラントから3つの新しいスラントへ接種した。接種等の操作はクリーンベンチ内で無菌的に実施した。継代した保存株の維持は温度勾配恒温器（MTI-201、東京理化学器械株式会社製）で行った。維持温度は23±1℃、光強度は80～100 μmol/m²/sとして、十分に増殖させたのち、光強度を弱くして2～3週間維持するものと冷蔵庫（4℃）にて維持するものに分け継代保存した。なお、用いたガラス容器等は乾熱滅菌（160℃、3時間程度）もしくはオートクレー

ブ処理後使用した。

② 試験株の培養

試験法（案）では藻類生長阻害試験の条件は温度21～24℃の範囲内を維持（変動幅 $\pm 2^\circ\text{C}$ 以内）すること、さらに光強度は $60\sim 120\ \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ とし、100 rpmで振とう培養することとなっている。今回この条件を満たすため図3に示すように恒温室内に藻類培養チャンバーを制作した。チャンバー内の温度管理のため小型ファン（アクアクールファン、GEX製）6個と専用サーモスタット（FE-101、GEX）をとりつけた。さらに温度変化を確認するため防水温度ロガー（ティドビット v2、CLIMATEC社）にて温度を測定した。測定結果を図4に示す。チャンバー内の温度変化範囲は $23\sim 24^\circ\text{C}$ であった。

また、照明装置として白色蛍光灯T5HO（Sunbaster）を取り付けチャンバー内の光強度は $100\pm 15\ \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ となるように調整した。振とう機はオービタルシェイカー（AS-MOR、As One製）を使用した。

藻類生長阻害試験に使用する試験株の培養にはOECD培地⁴⁾を使用した。ただし、保存状態から試験条件に移すと順調に増殖を開始するまでに遅延が生じる恐れがあるため⁸⁾試験に用いるまで以下【1】～【4】に示すように前々培養及び前培養を実施した。

【1】 スラントから液体C培地へ接種

300mLフラスコに100 mLのC培地を分注しスラントから接種し、96時間培養した。96時間培養後、粒子計測装置CDA-1000（シスメック社）で細胞濃度を測定した。

【2】 前々培養

300 mLフラスコに100 mLのOECD培地を分注し、増殖の良好な【1】の培養液を $5\times 10^3\ \text{cells}/\text{mL}$ となるように添加し72時間培養後、粒子計測装置CDA-1000（シスメック社）で細胞濃度を測定した。

【3】 前培養

前述【2】と同様に300 mLフラスコに100 mLのOECD培地を分注し、増殖の良好な【2】の培養液を $5\times 10^3\ \text{cells}/\text{mL}$ となるように添加し48～72時間培養後、細胞濃度を測定した。

【4】 本試験

300 mLフラスコに100 mLのOECD培地を分注し、増殖の良好な【3】の培養液を $5\times 10^3\ \text{cells}/\text{mL}$ となるように添加し試験に用いた。当研究所の培養条件における藻類の成長速度を図5に生物量の変化を図6に示す。細胞倍加時間は約10.2時間であった。



図3 藻類培養チャンバー

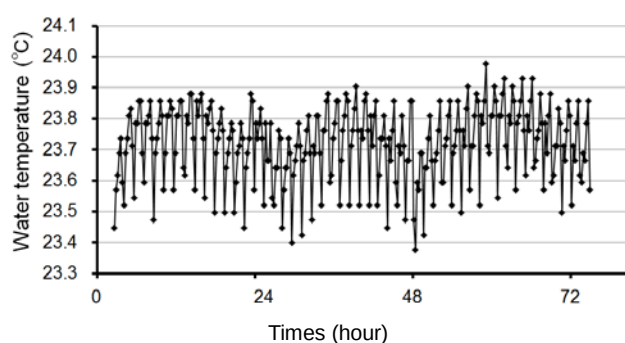


図4 チャンバー内の温度変化

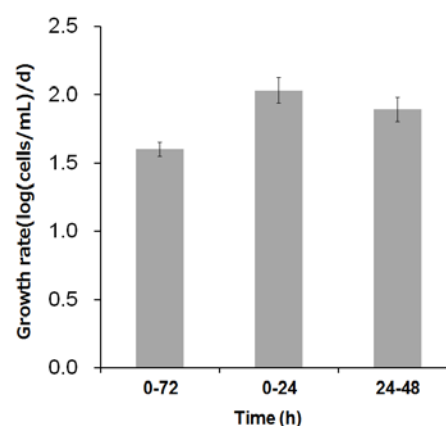


図5 ムレミカズキモの成長速度

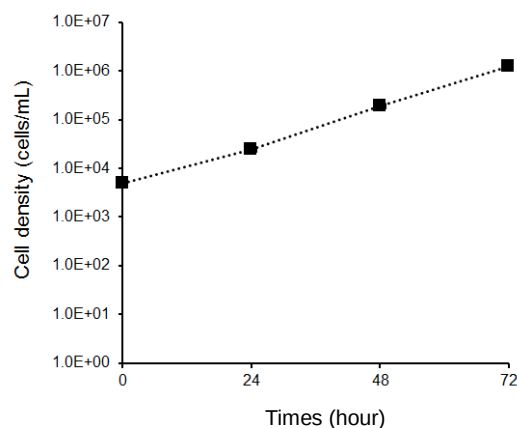


図6 ムレミカズキモの細胞数の変化

2・3 ゼブラフィッシュ飼育条件

ゼブラフィッシュの飼育条件は試験法（案）に従った。水温は $26\pm1^{\circ}\text{C}$ で照明16時間/8時間（明/暗）とした。飼料はふ化直後のアルテミアを1日につき2回（午前9時と午後16時）給餌した。

飼育当初はアクリル製水槽（幅60cm）で親魚を飼育していた（止水式）。しかし、換水など飼育管理が煩雑となるために集合飼育装置（半止水式）を制作した。飼育装置の製作にあたっては、名古屋市環境科学調査センター⁹⁾や国立環境研究所環境リスク・健康研究センターの流水式飼育装置を参考とした。飼育装置の外観図を図7に示す。配管は可能な限りテフロン製を使用し、循環ろ過槽等はステンレス製を用いた。また配管の途中に殺菌のため紫外線照射装置（ターボツイストZ、カミハタ）を取り付けた。飼育用のガラス水槽は、接着剤等を使用していない一体成形のガラス水槽（8Lと14L）を使用した。

また、飼育水は活性炭通水ろ過後の水道水を投げ込み式の紫外線ランプとエアープンプで通気しているステンレス貯水槽に貯めておき、一日で飼育装置の半分程度の水が替わるように循環ろ過槽に通水させた。

なお、温度管理はチタンヒーター（SHI型、IWAKI）とサーモコントローラー（TC-101、IWAKI）にて実施し、市販の熱帯魚用ヒーターを補助的に使用した。

試験に使用する受精卵は受精率が高い雌（4ヶ月齢以上）が産卵したものをを用いた。雌はガラス水槽に2～3匹ずつ分けて飼育した。

受精卵は採卵前日に直系2cm程度のガラスビーズを敷き詰めたガラス水槽（14L）にメス2～3匹を入れておき、採卵日の朝にオス6～9匹を投入し産卵させ採取した。その後、双眼実体顕微鏡（ST-302、As One）で受精卵の選定し、卵割が正常に進んでいる受精卵のみ試験に使用した。

なお、常に状態の良い受精卵を得るために採卵は試験の実施に関係無く約7日間おきに実施する必要がある。

3 感受性試験

3・1 藻類生長阻害試験

標準物質として試験法（案）で推奨されている重クロム酸カリウム($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 、和光純薬工業、純度99.5%)を用いて感受性試験を実施した。濃度区は公比2で6濃度区設定した（濃度範囲：0.08～2.56 mg/L）。試験条件等は試験法（案）に従った。試験のエンドポイント（成長速度）については最大無影響濃度NOEC(No observed effect concentration)及びx%阻害濃度 IC_x (x% inhibition concentration)を統計解析ソフト $\text{R}^{10)}$ を用いて算出した。表1に結果を示す。得られた IC_{25} の値は0.87 mg/Lであり、文献値¹¹⁾0.45～1.01 mg/Lの範囲内となった。よって、本研究所の培養条件等で問題な

いことを確認した。

3・2 胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験

標準物質に試験法（案）で推奨されている塩化ナトリウム（NaCl、和光純薬工業、水質試験用、純度99.5%）を用いて感受性試験を実施した。濃度区は公比2で5濃度区設定した（濃度範囲：312.5～5000 mg/L）。試験条件等は試験法（案）のとおりとした。試験のエンドポイント（ふ化率、ふ化後生存率、生存率、生存指標）については無影響

表1 藻類成長阻害試験結果

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (mg/L)	成長速度
NOEC	0.16
IC_{10}	0.53
IC_{25}	0.87
IC_{50}	1.42
$\text{IC}_{25}^{\text{a)}$	0.45-1.01

a) Data were obtained from reference ¹⁰⁾

表2 胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験結果

NaCl (g/L)	H	P	S	T
NOEC	1.25	1.25	1.25	1.25
IC_{10}	0.81	2.00	1.34	1.34
IC_{25}	1.65	3.50	1.93	1.89
IC_{50}	3.37	5.92	2.76	2.68
$\text{IC}_{25}^{\text{a)}$	1.21-8.29	1.55-5.95	0.67-5.02	0.72-4.10

H: Hatchability, P: Post-hatch survival, S: Survival, T: Total index

a) Data were obtained from reference ¹⁰⁾



図7 集合飼育装置

濃度NOEC(No observed effect concentration)及びx%阻害濃度IC_x(x% inhibition concentration)をフリーの統計解析ソフトR¹⁰⁾を用いて算出した。表2に結果を示す。文献値¹¹⁾との比較の結果、全てのエンドポイントで文献値の範囲内であり、本研究の飼育条件等で試験が実施できることを確認した。

4 まとめ

藻類成長阻害試験及び胚・仔魚期の魚類を用いた短期毒性試験法について検討を行った。藻類の培養や魚類飼育を円滑に進めるために培養チャンバーと魚類集合水槽を作成し、生物応答試験を実施する体制を確立した。また、標準物質を用いた感受性試験を行い、他機関の結果と比較した結果、当所の試験条件は妥当であった。今後、排水や河川水等を用いた生物応答試験を実施する予定である。

文献

- 1) Chemical Abstracts Service, <http://www.cas.org/>
- 2) 環境省：生物応答を利用した排水管理手法の活用について（検討会報告書）。
- 3) 一般社団法人日本経済団体連合会ホームページ，
<http://www.keidanren.or.jp/policy/2016/007.html>
- 4) 排水（環境水）管理のバイオアッセイ技術検討文科会：生物応答を用いた排水試験法（検討案），2014.
- 5) 田中義人ら：福岡県保健環境研究所年報第42号，74-79，2015.
- 6) 馬場義輝：福岡県保健環境研究所年報第39号，104-106,2012.
- 7) 国立環境研究所ホームページ，
<http://mcc.nies.go.jp/02medium.html>
- 8) 国立環境研究所：藻類成長阻害試験（平成18年11月版）。
- 9) 長谷川絵里ら：名古屋市環境科学調査センター年報，64-66，2014.
- 10) R development core team: R:Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing,
<http://www.R-project.org>
- 11) 渡部春奈ら：環境化学，25，43-55，2015.

資料

2016年度における生物（動物関係）に関する問い合わせ状況

中島淳・石間妙子・金子洋平・須田隆一

当所で窓口依頼検査以外で回答した動物に関連する問い合わせの内容について概要をまとめた。2016年度は電話や持ち込み、電子メールによる質問が55件であった。問い合わせは県庁各課・保健福祉環境事務所等の県機関からのものが34件、市町村からのものが8件、一般県民からのものが9件、民間業者からのものが4件であった。これらのうち特定外来生物であるゴケグモ類疑い種の同定依頼は18件、同じく特定外来生物であるツマアカスズメバチ疑い種の同定依頼が6件と多かった。また、レッドコロソマ、クロコダイル属の一種など、県内でこれまでに報告がない外来種に関する同定依頼もみられた。

[キーワード：衛生害虫、ペストコントロール、ハチ、クモ、外来種]

1 はじめに

当所では窓口依頼検査として生物同定試験を実施しているが、それ以外にも日常的に電話や持ち込み等による生物に関する問い合わせに答えることが多い。本報では2016年度に寄せられた質問のうち、動物に関連するものについてその内容をまとめた。

2 方法

動物に関連する各問い合わせについて、依頼元を県、市町村、民間業者、一般県民、その他の5つに区分した。また、質問内容については一般的な不明種に関する同定依頼、ゴケグモ類疑い種の同定依頼、マダニ類疑い種の同定依頼、ツマアカスズメバチ疑い種の同定依頼、生物多様性・外来種に関する一般的な質問、その他、の6つに区分して整理した。

表1に2016年度の月ごとの問い合わせ件数を示す。全体で55件の問い合わせがあり、最も問い合わせが多かったのは10月の16件で、次いで8月が10件、9月が6件であった。一方で、11月から3月にかけての問い合わせはいずれも0-2件と少なかった。全体の問い合わせ件数は2010年度が24件、2011年度が24件、2012年度が57件、2013年度が68件、2014年度が52件、2015年度が51件であり¹⁾、問い合わせ件数は前年度と同程度であった。

図1に問い合わせの依頼元と件数を示す。問い合わせは県機関からのものが最も多く、県機関では保健福祉環境事務所からの問い合わせが多かったが、ほぼすべての場合において所管市町村または県民からの質問の仲介であった。市町村からの依頼も同様に一般市町村民からの質問の仲介であった。依頼元の傾向は過去の状況と比較して、大きな違いはなかった。

3 結果及び考察

表1 各月における内容別の問い合わせ件数

質問内容	月												計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
不明種同定依頼	5	2	3	3	5	2	5	1		1	1	1	29
ゴケグモ類疑い		2			3	4	7	1				1	18
マダニ類疑い													0
ツマアカスズメバチ疑い			1		2		3						6
生物多様性・外来種			1										1
その他							1						1
計	5	4	5	3	10	6	16	2	0	1	1	2	55

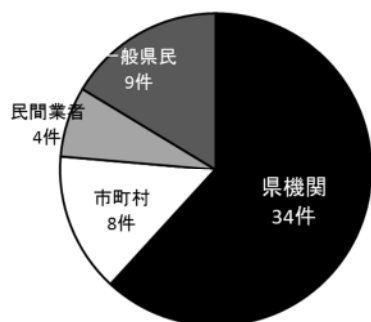


図1 2016年度における問い合わせ元の件数

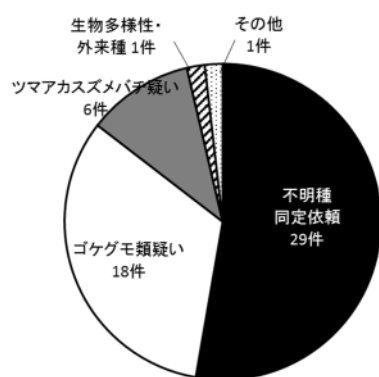


図2 2016年度における内容別の問い合わせ件数

問い合わせの具体的内容は、不明種に関する同定依頼が29件と最も多く、次いでゴケグモ類疑い（18件）が多かった（図2）。ゴケグモ類疑い種として問い合わせがあった18件のうち、セアカゴケグモであったのは5件で、その他はマダラヒメグモ（2件）、キシノウエトタテグモ（1件）、クロガケジグモ（1件）、ハンゲツオスナキグモ（1件）、コゲチャオニグモ（1件）、ジョロウグモ（1件）、サラグモ属（1件）、タカラダニ類が付着したザトウムシ類（1件）、ヨコヅナサシガメ（1件）、破損が著しく同定不可能であったクモ類不明種（3件）であった。また、ツマアカスズメバチ疑い種として問い合わせがあった6件は、ヒメスズメバチ（2件）、コガタスズメバチ（2件）、オオスズメバチ（1件）、セグロアシナガバチ（1件）であった。

その他の不明種同定依頼において種まで同定できたのは、イエシロアリ、ヒメカツオブシムシ、タバコシバンムシ、アカイエカ、ヒメアリ、ヤネホソバ、オオクビキレガイ、カワムツ、オイカワ、ウグイ、マハゼ、レッドコロソマ、アオダイショウ（アルビノ）、ヤマカガシ、ソウシチョウ、ブンチョウ、ハヤブサ、チョウゲンボウ、アナグマ、イノシシで、いずれも1件ずつであった。また、例年問い合わせが多いマダニ類疑いに関する同定依頼は本年度は0件であった。

本年度同定依頼が寄せられた種のうち、外来種であるレ

ッドコロソマとクロコダイル属の一種についてはこれまで県内での記録がないため、ここに採集状況を付記しておきたい。レッドコロソマは2016年10月11日に筑後川の筑後大堰付近において一般市民により釣り上げられ、久留米市環境保全課に持ち込まれたものである。体長約30cmの成魚であった（図3）。また、クロコダイル属の一種は2016年7月15日に糸島市内の農業用水路で一般市民により発見され、警察により捕獲された後、糸島保健福祉事務所に持ち込まれたものである。全長約70cmの幼体であった（図4）。これらはいずれも現在、当所で冷凍保存している。



図3 筑後川で捕獲されたレッドコロソマ

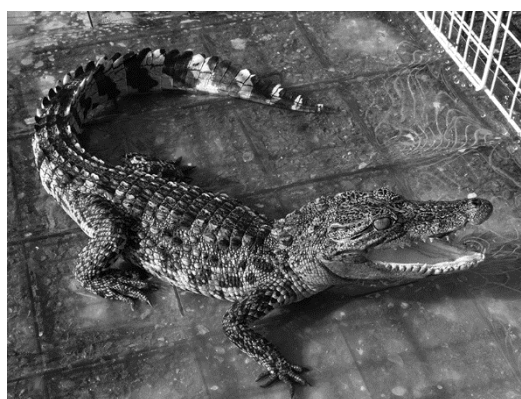


図4 糸島市で捕獲されたクロコダイル属の一種

本報をまとめるにあたり、クモ類の同定に際してご教示いただいた馬場友希博士（国立研究開発法人農業環境技術研究所）、爬虫類の同定についてご教示いただいた田原義太慶氏、クロコダイル属の一種の採集状況等ご教示いただいた福岡県糸島保健福祉事務所にこの場を借りてお礼し上げる。

文献

- 1) 中島淳ら：2015年度における生物（動物関係）に関する問い合わせ状況，福岡県保健環境研究所年報，43，185-186，2016.

資料

2016年度における生物同定試験の結果

石間妙子・中島淳・須田隆一

当所で窓口依頼検査として行っている生物同定試験について、2016年度の結果概要をまとめた。依頼件数は77件で、依頼内容別にみると、食品中異物が49件、家屋内発生が2件、事業所内発生が6件、皮膚掻痒症原因が17件、その他（由来不明）が3件であった。1件につき複数の分類群が検出されたものが15件あり、動物類が何も検出されないものが1件であった。検出回数はダニ目が最も多く、次いでハエ目、チャタテムシ目、コウチュウ目が多かった。種まで同定できたものは50件60検体で、ダニ目5種のほか、クロゴキブリとヤケヤスデは各2回検出された。同定依頼は6月が最も多かった。

[キーワード：衛生害虫、ペストコントロール、食品中異物]

1 はじめに

当所では、窓口依頼検査として生物同定試験を実施している。本試験は、主に衛生害虫を対象として持ち込まれた虫体（昆虫綱以外も含む）について、種の同定を行いその結果について成績書の発行を行うものである。本試験の依頼内容は、衛生害虫に関する社会的関心の変化によって年変動がある。そこで本報では、2016年度における生物同定試験の結果をまとめ、その傾向について考察を行った。

2 検査の方法

持ち込まれた検体は、発生状況についての聞き取りを行い、その経緯から食品中（食品中から発見されたもの）、家屋内（一般住居から発見されたもの）、事業所内（工場や会社事務所等で発見されたもの）、皮膚掻痒（皮膚掻痒症原因ダニ類の検査）、その他（研究機関依頼、由来不明など）の5つに区分して記録した。

持ち込まれた検体のうち、皮膚掻痒症原因ダニ類の検査として持ち込まれた検体（室内塵）については、室内塵を

篩別後、2.0-0.074 mmの室内塵を対象にダーリング液懸濁遠沈法¹⁾を用いて抽出し、実体顕微鏡を用いて直接鏡検、またはプレパラート標本にした後に生物顕微鏡で鏡検して同定した。

皮膚掻痒以外の検体については、実体顕微鏡下で直接鏡検し同定した。このうち乾燥している検体は、10%水酸化カリウム溶液に数時間浸潤し、軟化させた後に鏡検した。また、粘着テープなどに付着している検体は、2-プロパノール液に24時間程度浸潤して粘着物を剥がした後に鏡検した。

3 結果及び考察

2016年度における生物同定試験の依頼件数は計77件であった。過去20年間の依頼件数は年間40-70件程度であり²⁻⁴⁾、例年と比較して件数に大きな違いはみられなかった。77件の依頼理由の内訳を図1に示す。食品中が全体の64%にあたる49件で最も多く、残り28件のうち17件は、皮膚掻痒症原因ダニ類の検査であった。2011年度までの本試験の結果においても、食品中の異物を由来とする検査依頼が近年増加していると指摘されており³⁾、本年度も同様の傾向であるといえる。

月別の依頼件数と依頼理由の内訳を図2に示す。依頼件数が最も多かったのは6月で、次いで8月、10月であった。過去20年間においても、夏季を中心に依頼件数が多く²⁻⁴⁾、2016年度も例年と同様の傾向であった。

表1に、77件の検体から検出された虫体について、目レベルの分類群数の内訳を月別に示す。77件のうち、食品中の1件については虫体（節足動物類）が何も検出されなかった。残り76件のうち15件では、1件あたり2-7分類群が検出され、検出された分類群数は計119検体とな

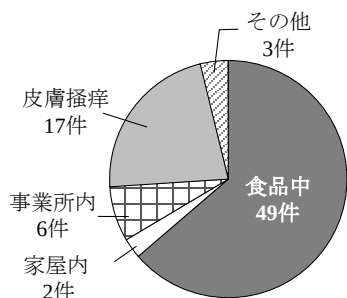


図1 2016年度における生物同定検査の依頼理由

った。119 検体のうち、目まで同定できたものは 117 検体で、分類群としてはダニ目が最も多く、次いでハエ目、チャタテムシ目、コウチュウ目であった。

ダニ目は 6 科 44 検体が持ち込まれ、そのうち 59%にあたる 26 検体がチリダニ科であった。ハエ目は 9 科 22 検体が持ち込まれ、そのうち 5 検体がクロバネキノコバエ科で、3 検体がチョウバエ科であった。これらの科は、土壌中の腐食物や排水溝等に発生する衛生害虫としてよく知られる分類群である。チャタテムシ目は 13 検体が持ち込まれたが、検体の破損等により、科以下の同定はできなかった。コウチュウ目は 6 科 11 検体が持ち込まれ、そのうち 3 検体がオサムシ科、2 検体がガミキリムシ科であった。

持ち込まれた検体のうち、種まで同定できた検体の内訳を表 2 に示す。計 26 種 60 検体が種まで同定され、そのうち 38 検体は皮膚搔痒、14 検体は食品中、5 検体が事業所内であった。ダニ目は 6 種が同定され、そのうち 5 種は複数の室内塵から抽出された。そのほかに、ゴキブリ目のクロゴキブリとオビヤスデ目のヤケヤスデについても、各 2 回検出された。検出数が多かったチリダニ科のコナヒョウヒダニ及びヤケヒョウヒダニは、家屋内で見られるダニ類として最も代表的な種で¹⁾⁵⁾、吸入性アレルギー疾患の原因となることが知られている⁶⁾。表 2 に示す種のほとんどは、古い時代から食品混入や家屋内害虫、不快害虫として問題視されている節足動物類で、継続して一定の問題を起こしていることがわかる。

文献

- 1) 宮本句子，大内忠行：新築家屋，一般家屋での室内塵ダニ類の季節変動について，衛生動物，27，251-259，1976.
- 2) 緒方 健，山崎正敏，杉 泰昭：生物同定試験検査結果（平成13年分），福岡県保健環境研究所年報，29，154-159，2002.
- 3) 中島 淳ら：過去10年間（平成14-23年度）における生物同定試験検査結果，福岡県保健環境研究所年報，39，113-114，2012.
- 4) 石間妙子，中島 淳，須田隆一：2015年度における生物同定試験の結果，福岡県保健環境研究所年報，43，187-188，2016.
- 5) 高岡正敏，服部昭二，田村文子：埼玉県下における家屋内ダニ類の生態学的研究，埼玉県衛生研究所報，19，55-63，1985.
- 6) 石井 明：日本におけるヒョウヒダニ類とアレルギーの研究，衛生動物，26，173-179，1975.

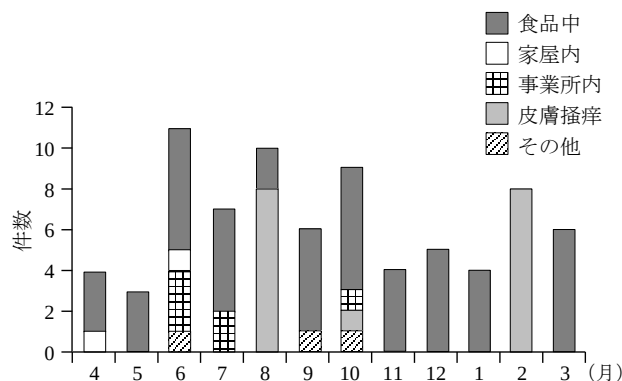


図2 2016年度における月別の依頼件数と内訳

表1 各月における目別の検出数

綱	目	月												計
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
昆虫	ハエ	1	6	3	2	2	2	2	1	2		1		22
	コウチュウ		2	4	1		1	2	1					11
	チョウ				2	1		2						5
	チャタテムシ					5		1				7		13
	ハチ	1					1						2	4
	ゴキブリ	1			1	1	1	2		1				7
	カメムシ										2			2
	ハサミムシ	1												1
	目不明												2	2
	エビ									1			1	2
クモ	ダニ					19		1				24		44
	クモ							1		1	1			3
ヤスデ	オビヤスデ			2										2
腹足	新腹足									1				1
計		4	3	12	7	28	6	10	4	5	4	31	6	119
動物不検出			1											1

表2 種まで同定できた 60 検体の種名と発生状況

目	種名	検体の発生状況
ハエ	ヒラタアブ	食品中（かき揚げ）
ハエ	アメリカミズアブ	事業所内（食品工場）
コウチュウ	アカマダラケシキスイ	食品中（カットねぎ）
コウチュウ	ケウスゴモクムシ	事業所内（雨合羽）
コウチュウ	コナナガシクイ	事業所内（工場）
コウチュウ	ノコギリヒラタムシ	食品中（パン）
コウチュウ	マルクビケマダラカミキリ	事業所内（アッシュ材）
コウチュウ	ムネアカカメゴモクムシ	食品中（弁当）
コウチュウ	ヨツボシモンシデムシ	食品中（詳細不明）
チョウ	スジマダラメイガ	食品中（ねぎ）
チョウ	チャドクガ	食品中（ぶどう）
チョウ	ノシメマダラメイガ	食品中（クリームパスタ）
チョウ	ヤネホソバ	事業所内（学校内のプール）
ハチ	テラニシシリアゲアリ	家屋内
ハチ	ルリアリ	食品中（いかなごくぎ煮）
ゴキブリ	クロゴキブリ	食品中（納豆）
ゴキブリ	クロゴキブリ	その他（由来不明）
ハサミムシ	コバネハサミムシ	食品中（ふき）
ダニ	イエササラダニ	皮膚搔痒（室内塵） 5件
ダニ	カザリヒワダニ	皮膚搔痒（室内塵） 5件
ダニ	ケナガコナダニ	皮膚搔痒（室内塵） 3件
ダニ	コナヒョウヒダニ	皮膚搔痒（室内塵） 14件
ダニ	シワチリダニ	皮膚搔痒（室内塵） 1件
ダニ	ヤケヒョウヒダニ	皮膚搔痒（室内塵） 10件
クモ	イエオニグモ	その他（由来不明）
クモ	ヤサアリグモ	食品中（ちくわぶ）
オビヤスデ	ヤケヤスデ	食品中（青ねぎ）
オビヤスデ	ヤケヤスデ	食品中（明太子）

福岡県保健環境研究所年報投稿規定

1 投稿資格

本誌への投稿者は、福岡県保健環境研究所に所属する職員（職員であった者及び職員と共同研究を行った者を含む）に限る。

2 原稿の種類

投稿原稿は総説、原著、短報、及び資料とする。

- (1) 総説：保健・環境分野の既発表の研究成果・今日の問題点・将来の展望を文献などにより総括し、解析したものをいう。
- (2) 原著：独創的な内容で、保健・環境分野に関する価値ある結論及び新事実並びに新技術を含むものをいう。
- (3) 短報：断片的あるいは萌芽的研究であるが、独創的な内容で保健・環境分野に関する価値ある結論及び新事実並びに新技術を含むものをいう。
- (4) 資料：調査、試験検査の結果または統計等をまとめたものとし、原著や短報のような独創性を重視するのではなく、調査結果自体の有用性を重んじた内容のものをいう。

3 原稿の書き方

- (1) 原稿はできるだけ簡潔に、わかり易く作成し、印刷ページにして（図、表を含め）、総説及び原著は6頁以内、短報及び資料は4頁以内を原則とする。
- (2) 原稿は「年報原稿作成要領」に従って作成する。ただし、資料については英文の要旨は省くものとする。
- (3) ヒトを対象とした研究で、倫理的配慮を必要とする場合は、必ず「方法」の項に研究対象者に対する倫理的配慮を記載する。

4 原稿の提出、査読及び掲載の可否

- (1) 原稿は「調査・研究発表伺い」により決裁を受けた後、編集委員会に提出する。その形式は別に定める「年報原稿作成要領」に従うこと。
- (2) 編集委員会は、複数の査読員に査読を依頼する。ただし、資料についての査読は行わない。編集委員会は査読員の意見を著者に伝え、必要に応じ修正を求める。
- (3) 修正を求められた著者は、2週間以内に修正原稿を再提出する。この期間に修正原稿の提出がなく、かつ編集委員会まで連絡がない場合は撤回したものとする。
- (4) 編集委員会は、査読結果に基づき掲載の可否及び掲載区分を決定する。

5 校正

印刷時の著者校正は、1回とする。

校正は、誤植のみとし、校正時の文字、文章、図表等の追加、添削及び変更は原則として認めない。

6 その他

その他編集上必要な事項は、編集委員会で協議する。

附 則

この規定は昭和54年4月10日より施行する。

平成16年5月10日一部改正

平成19年10月1日一部改正

平成25年4月1日一部改正

2 論文・学会等への発表

(1) 論文等発表一覧

論 文 名	執 筆 者	掲 載 誌	抄録掲載頁
A High Accuracy and Simple Analytical Method for Microcystins Using 15N-labeled Microcystins	Tomoharu Sano ^{*1} , Yoshito Tanaka, Kazuhiro Tobiishi, Yasuishi Arahori ^{*2} , Akira Shimizu ^{*3} , Chizuko Sato ^{*4} , and Kunimitsu Kaya ^{*1} *1 National Institute for Environmental Studies, *2 Nara Prefecture Landscape Environmental Center *3 Chiba Prefectural Environmental Research Center *4 Miyagi Prefectural Institute of Public Health and Environment	Japanese Journal of Water Treatment Biology Vol.52, No.1, 31-34, 2016.	P146
Efficient production of recombinant PP2A at a low temperature using a baculovirus expression system.	Tsuyoshi Ikehara ^{*1} , Shihoko Nakashima ^{*2} , Junichi Nakashima, Tsubasa Kinoshita ^{*1} , Takeshi Yasumoto ^{*3} *1 National Fisheries University *2 Fukuoka University *3 Japan Food Research Laboratories	Biotechnology Reports 11, 86-89, 2016.	P146
Effects of Eating Fast and Eating Before Bedtime on the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease	Takumi Nishi, Akira Babazono [*] , Toshiki Maeda [*] , (他2名) * Kyushu University	Population Health Management, 19:279-283, 2016.	P146
Investigation into the causes of indwelling urethral catheter implementation and its effects on clinical outcomes and health care resources among dementia patients with pneumonia: A retrospective cohort study.	Toshiki Maeda [*] , Akira Babazono [*] , Takumi Nishi, (他2名) * Kyushu University	Medicine, 95(35):e4694, 2016.	P146
Investigation of the Existence of Supplier-Induced Demand in use of Gastrostomy Among Older Adults: A Retrospective Cohort Study.	Toshiki Maeda [*] , Akira Babazono [*] , Takumi Nishi, (他2名) * Kyushu University	Medicine, 95(5),e2519, 2016.	P147
GC/MSデータベースを用いるPM2.5中の多環芳香族炭化水素の多検体迅速分析の開発と起源解析に関する考察	宮脇崇, 山本重一 [*] , 古閑彩, 酒谷圭一, 竹中重幸 *福岡県環境部環境政策課	福岡県保健環境研究所年報第43号, 59-64, 2016.	P147
終末処理場の流入水を利用したポリオウイルス環境水サーベイランス	濱崎光宏, 吉富秀亮, 芦塚由紀, 中村麻子, 世良暢之, 吉田弘 [*] *国立感染症研究所	福岡県保健環境研究所年報第43号, 65-69, 2016.	P147
平成27年度ポリオ環境水サーベイランス(感染症流行予測調査事業及び調査研究)にて検出されたエンテロウイルスについて	吉田弘 [*] (他21名), 濱崎光宏(17番目), 吉富秀亮(18番目) * 国立感染症研究所	病原微生物検出情報, 37, 208-209, 2016.	P147
エンテロウイルスのウイルス学的検査診断ー血清診断・培養からPCR・次世代シーケンスまで	濱崎光宏, 吉田弘 [*] * 国立感染症研究所	小児科, 57, 949-956, 2016.	P148

論文名	執筆者	掲載誌	抄録掲載頁
First isolation of a new type of human adenovirus (genotype 79), species Human mastadenovirus B (B2) from sewage water in Japan.	Hideaki Yoshitomi, Nobuyuki Sera, Gabriel Gonzalez ^{*1} , Nozomu Hanaoka ^{*2} , Tsuguto Fujimoto ^{*2} ^{*1} Hokkaido University ^{*2} National Institute of Infectious Diseases	J Med Virol. 89(7): 1192-1200, 2017.	P148
2015年2月の市販カキから検出されたノロウイルスGII.17の分子疫学解析	吉富秀亮, 芦塚由紀, 野田衛 [*] [*] 国立医薬品食品衛生研究所	福岡県保健環境研究所年報第43号, 114-117, 2016.	P148
飲用水からノロウイルスGI.6が検出された食中毒事例—福岡県	吉富秀亮, 芦塚由紀, 中村麻子, 小林孝行, 濱崎光宏, 世良暢之, 梶原淳睦, 清水良平 ^{*1} , 岡本健太郎 ^{*1} , 友枝哲宏 ^{*1} , 森一也 ^{*2} , 松尾寿子 ^{*2} ^{*1} 保健医療介護部保健衛生課 ^{*2} 南筑後保健福祉環境事務所	病原微生物検出情報 (IASR) Vol.37, 159-160, 2016.	P148
福岡県で2015/16シーズンに検出されたインフルエンザウイルスについて	芦塚由紀, 吉富秀亮, 中村麻子, 濱崎光宏, 世良暢之	福岡県保健環境研究所年報第43号, 110-113, 2016.	P149
LC-MS/MS を用いた野菜及び果実中の残留農薬迅速一斉試験法の妥当性確認	佐藤環, 宮本伊織 [*] , 上村聖子 [*] , 仲谷正 [*] , 角谷直哉 [*] , 山野哲夫 [*] [*] 大阪市立環境科学研究所	食品衛生学雑誌, 57(4), 107-115, 2016.	P149
果実中防かび剤の分析法開発及び妥当性評価	小木曾俊孝, 中西加奈子, 新谷依子, 永島聡子, 高橋浩司, 平川博仙, 堀就英, 梶原淳睦	福岡県保健環境研究所年報第43号, 76-81, 2016.	P149
BOD植種希釈水の微生物活性の安定化方法	土田大輔, 森山紗好, 志水信弘	福岡県保健環境研究所年報第43号, 82-86, 2016.	P149
微極性カラムを用いた鉱物油および動植物油脂のGC/MS定性分析	土田大輔, 志水信弘	福岡県保健環境研究所年報第43号, 87-92, 2016.	P149
常時監視測定局データによる福岡県のPM2.5濃度の実態把握	力寿雄, 山本重一, 梶原佑介, 山村由貴, 中川修平, 新谷俊二, 高尾佳子, 濱村研吾	福岡県保健環境研究所年報第43号, 118-122, 2016.	P149
福岡県における微小粒子状物質 (PM2.5) 濃度の実態把握	山村由貴, 山本重一, 力寿雄, 梶原佑介	福岡県保健環境研究所年報第43号, 93-98, 2016.	P150
福岡県内河川における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩 (LAS) の濃度	志水信弘, 柏原学, 古閑豊和, 森山紗好, 土田大輔, 藤川和浩, 熊谷博史, 石橋融子, 松本源生, 田中義人	福岡県保健環境研究所年報第43号, 90-103, 2016.	P150
数値シミュレーションによる河川流量計算法の検討	松本源生, 古閑豊和, 土田大輔, 石橋融子	全国環境研会誌, 41(4), 19-25, 2016.	P150
ダム湖におけるノニルフェノールエトキシレート実態調査	古閑豊和, 志水信弘, 藤川和浩	福岡県保健環境研究所年報第43号, 104-109, 2016.	P150
圧力容器法を用いた底質中のヒ素・セレン・アンチモンの分析法の検討	柏原学, 土田大輔, 石橋融子	福岡県保健環境研究所年報第43号, 123-127, 2016.	P150
Monitoring of ground-dwelling beetle community and forest floor environment in 22 temperate forests over Japan	Shigeru Niwa [*] (他31名), Yohei Kaneko (13番目) [*] Japan Wildlife Research Center	Ecological Research, 31, 607-608, 2016.	P151

論 文 名	執 筆 者	掲 載 誌	抄録掲載頁
First record of the exotic terrestrial isopod <i>Porcellio scaber</i> (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) from the Kyushu mainland, western Japan, with color variation and DNA information for species identification	Shigetaka Karasawa ^{*1} , Tomoki Iwasaki ^{*2} , Jun Nakajima *1 University of Teacher Education Fukuoka *2 Sawara-ku, Fukuoka City	Journal of Field Science, 15, 29-33, 2017.	P151
Phylogeography of <i>Opsariichthys platypus</i> in Japan based on mitochondrial DNA sequences	Shigeru Kitanishi ^{*1} , Akari Hayakawa ^{*1} , Kenzi Takamura ^{*2} , Jun Nakajima, Yoichi Kawaguchi ^{*3} , Norio Onikura ^{*3} , Takahiko Mukai ^{*1} *1 Gifu University *2 National Institute for Environmental Studies *3 Kyushu University	Ichthyological Research, 63, 506-518, 2017.	P151
英彦山地絶滅危惧植物の種子発芽特性 (1)	金子洋平, 須田隆一	福岡県保健環境研究所年報第43号, 128-131, 2016.	P151
日本のドジョウ 形態・生態・文化と図鑑	中島淳, 内山りゅう* * ネイチャーフォトグラファー	山と溪谷社, 東京, 2017.	P151
圃場整備済み水田における魚類保全を目指した江の創出手法の検討	石間妙子, 村上比奈子 ^{*1} , 高橋能彦 ^{*2} , 岩本嗣 ^{*2,*4} , 高野瀬洋一郎 ^{*3} , 関島恒夫 ^{*1} *1 新潟大学大学院自然科学研究科 *2 新潟大学農学部 *3 新潟大学超域研究機構 *4 神奈川工科大学応用バイオ科学科	応用生態工学 19(1): 21-35, 2016.	P152
英彦山・犬ヶ岳地域におけるシカ対策	石間妙子	福岡県環境教育学会ニュースレター 54:4-5, 2017.	P152
福津市でみられるドジョウ類	中島淳	文化福津, 12, 22-23, 2017.	P152
日本産スジシマドジョウ類の現状とその保全の展望	中島淳	魚 類 学 雑 誌, 65, 69-76, 2017.	P152
計 (論文等発表一覧)	32件		

(2) 発表論文抄録

1 A High Accuracy and Simple Analytical Method for Microcystins Using ¹⁵N-labeled Microcystins.

Tomoharu Sano^{*1}, Yoshito Tanaka, Kazuhiro Tobiishi, Yasuishi Arahori^{*2}, Akira Shimizu^{*3}, Chizuko Sato^{*4}, and Kunimitsu Kaya^{*1}

Japanese Journal of Water Treatment Biology Vol.52, No.1, 31-34, 2016.

藍藻類の中には、肝臓毒として知られるミクロシスチン (MCs) を生産するものがある。MCs の分析には従来、質量分析で有用な同位体がなく、制度に問題が指摘されていた。本報告では、¹⁵Nで標識したMCsを作製し、LC/MS/MSを用いた迅速且つ簡易な分析手法を開発した。また、開発した手法を用いて、我が国におけるMCsの実態調査を実施した。その結果、一部の湖沼、ため池から複数のMCsが検出された。

*1 National Institute for Environmental Studies

*2 Nara Prefecture Landscape Environmental Center

*3 Chiba Prefectural Environmental Research Center

*4 Miyagi Prefectural Institute of Public Health and Environment

2 Efficient production of recombinant PP2A at a low temperature using a baculovirus expression system.

Tsuyoshi Ikehara^{*1}, Shihoko Nakashima^{*2}, Junichi Nakashima, Tsubasa Kinoshita^{*1}, Takeshi Yasumoto^{*3}: Biotechnology Reports 11, 86-89, 2016.

プロテインホスファターゼ2A (PP2A) は、オカダ酸とミクロシスチン等の天然毒の検出に有用な酵素である。今回、従来の27℃よりも低温の、19℃の温度条件下で培養したHigh Five (HF) 昆虫細胞内で、組換えヒトPP2A触媒サブユニット (rhPP2Ac) の産生が顕著に増加することを見出した。この方法により、rhPP2Acの収量は4倍、純度は3倍に上昇した。この低温培養法による収量・純度の向上は、プロテインホスファターゼ2Bにも認められたが、2Cαでは変化がなかった。今回観察された各酵素間での反応の違いは、触媒サブユニットの過剰発現に繋がる酵素特異的なメカニズムが関与していることを示唆している。本報告は、HF昆虫細胞を用いたバキュロウィルスによる発現システムを、従来用いられてきた温度条件 (27℃) よりも低温条件下で利用し、rhPP2Acを産生した初の報告である。

*1 National Fisheries University

*2 Fukuoka University

*3 Japan Food Research Laboratories

3 Effects of Eating Fast and Eating Before Bedtime on the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease.

Takumi Nishi, Akira Babazono^{*}, Toshiki Maeda^{*}, (他2名): Population Health Management, 19:279-283, 2016.

本研究では特定健診情報に含まれる項目から脂肪肝の代理指標であるFatty Liver Indexを算出し、早食いや夜間の食事が非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) 発症に与える影響を評価した。2つの健保組合のレセプトデータと特定健診情報から、2009年に特定健診を受診し、飲酒習慣がなく、FLIが30未満である加入者2,254名を対象とし、3年間追跡した。3年間の追跡期間で52名がNAFLDを発症し、夜間に食事を摂る習慣のみがある群で2.15倍、両方の不健康な食習慣がある群で2.48倍、NAFLD発症リスクが有意に高かった。これらの食習慣を有する加入者に対して早期介入を行うことはNAFLD予防のために有用であると考えられた。

* Kyushu University

4 Investigation into the causes of indwelling urethral catheter implementation and its effects on clinical outcomes and health care resources among dementia patients with pneumonia: A retrospective cohort study.

Toshiki Maeda^{*}, Akira Babazono^{*}, Takumi Nishi, (他2名): Medicine, 95(35):e4694, 2016.

本研究は認知症を有する高齢者に関連した文脈要因を調査し、さらにそのカテーテルの留置が患者の死亡、在院日数、医療費に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。75歳以上で認知症を有し、かつ主傷病が肺炎で入院し抗菌薬投与がなされた患者4501名を対象とした。アウトカムは患者の死亡、在院日数と総医療費とした。尿道留置カテーテル使用群で死亡の増加、在院日数の延長、総医療費の増加と有意な関連を認めた。尿道留置カテーテル使用において医療施設内で使用パターンが類似していた。医師密度は有意に留置カテーテル使用と関連を示していたが、その関係性は線形ではなく、U字関係であった。本研究により、認知症を有する高齢者において施設間で尿道カテーテル留置においてかなりのばらつきが存在し、尿道カテーテル留置と予後不良の有意な関連が明らかになった。日本の高齢者に対する医療の質を測定し、報告し、改善を促進するような枠組みの構築が急務であると考えられた。

* Kyushu University

5 Investigation of the Existence of Supplier-Induced Demand in use of Gastrostomy Among Older Adults: A Retrospective Cohort Study.
Toshiki Maeda *, Akira Babazono *, Takumi Nishi, 他2名: Medicine, 95(5), e2519, 2016.

本研究の目的は胃瘻造設術施行において、供給者誘発需要(SID)の存在を明らかにするために、人口あたり病院医師数で説明される地域内格差が存在するかを明らかにすることである。研究デザインは2010年度から2013年度の福岡県後期高齢者医療レセプトデータを用いた後方視的コホート研究である。研究対象者は嚥下困難の傷病名が付された51,785名である。胃瘻造設を事象発生と定義し、多変量ロジスティック解析によってSIDの存在を調査した。患者要因を調整後、胃瘻造設術施行における有意な地域内のばらつきを見出した(MOR:1.72[1.37-2.51])。人口あたり病院医師数は胃瘻造設術施行の増加と有意に関連していた(AOR:1.75[1.25-2.45])。地域内のばらつきは人口あたり病院医師数投入後に大きく減少した。胃瘻造設術施行において、人口あたり病院医師数で説明される地域内格差が存在することを明らかにした。供給者誘発需要(SID)の存在が示唆された。

* Kyushu University

6 GC/MSデータベースを用いるPM2.5中の多環芳香族炭化水素の多検体迅速分析の開発と起源解析に関する考察

宮脇崇, 山本重一*, 古閑彩, 酒谷圭一, 竹中重幸: 福岡県保健環境研究所年報第43号, 59-64, 2016.

GC/MSデータベースを用いて、微小粒子状物質(PM2.5)中の多環芳香族炭化水素(PAHs)の迅速分析を開発した。16種のPAHs標準物質による添加回収試験を行った結果、2環のNaphthaleneでは2%であったが、3環から回収率が向上し、4~6環PAHsの回収率は92~108%であった。この結果から、本法の適用範囲は、2環を除く、3環以上のPAHsであることが示された。また、福岡県内で採取したPM2.5試料計45検体を用いて、公定法との実測濃度比較をした結果、両者の間に高い相関性(R2=0.98)が認められた。さらに、本法によって得られたPAHsの濃度や組成比をもとにその起源解析を行った結果、冬季ではPAHs濃度が高くなり、大陸を起源とするバイオマス及び石炭燃焼由来であることが推定された。

*福岡県環境部環境政策課

7 終末処理場の流入水を利用したポリオウイルス環境水サーベイランス

濱崎光宏, 吉富秀亮, 芦塚由起, 中村麻子, 世良暢之, 吉田弘*: 福岡県保健環境研究所年報第43号, 65-69, 2016.

2012年9月、経口生ポリオワクチン(OPV)に替わり不活化ポリオワクチン(IPV)が我が国の定期予防接種に加えられた。本研究では、OPVからIPVへの移行期において環境中に存在するポリオウイルス(PV)の消長を追跡するため、終末処理場で採水された流入水を用いてエンテロウイルス特にPVを中心とした環境水サーベイランスを行った。2010年4月から2015年3月までの60か月間で62株のPVが分離された。PVの分離頻度は都市部の終末処理場で高い傾向が認められた。分離されたPVは全てがワクチン株であり、2型が最も多かった。我々の研究からOPVからIPVへの移行期においてOPVワクチン接種者から排出されるポリオウイルスワクチン株を高感度に分離し、ワクチン由来ポリオウイルスや野生株の出現を監視することの重要性が改めて示唆された。

*国立感染症研究所

8 平成27年度ポリオ環境水サーベイランス(感染症流行予測調査事業及び調査研究)にて検出されたエンテロウイルスについて

吉田弘*, 他21名, 濱崎光宏(17番目), 吉富秀亮(18番目): 病原微生物検出情報, 37, 208-209, 2016.

環境水サーベイランスは、環境水(下水、河川水)から、ヒト集団に循環する腸管系ウイルスを、顕性、不顕性にかかわらず検出する高感度なサーベイランス手法である。本法は副次的にエンテロウイルス他、各種腸管系ウイルスも検出される。今回、副次的に検出されたエンテロウイルスにつき各衛研が実施した独自の調査研究として概要を報告する。環境水から比較的多くで検出されたウイルスの内訳はコクサッキーB5(CB5)が18 地域のうち15 か所、エコーウイルス11(E11)が13 か所で検出され、H26 年度と同様に広域流行していた可能性を示唆している。またE3 は12 か所、E25は10 か所検出されH26 年度より検出箇所の増加傾向が認められた。なお2 か月以上検出された血清型は地域内流行の可能性があると考えられる。

* 国立感染症研究所

9 エンテロウイルスのウイルス学的検査診断－血清診断・培養からPCR・次世代シーケンスまで
濱崎光宏, 吉田弘*: 小児科, 57, 949-956, 2016.

エンテロウイルスの血清型は100種類以上あり、様々な疾患を引き起こす。2015年にエンテロウイルスD68型を原因とする急性弛緩麻痺の散発事例が報告された。このような事例において、急性弛緩麻痺を起すポリオウイルスとの鑑別は必要不可欠である。また、数年ごとに流行を繰り返している手足口病では、まれに重篤化することが知られているエンテロウイルス71と他の起因ウイルスを把握することは公衆衛生上必要と考えられる。このようなエンテロウイルスの検査は主に感染症発生動向調査として全国の地方衛生研究所で行われている。本稿では筆者らが実際に行っている検査方法とともに現在では一部の地方衛生研究所でしか実施されていない乳のみマウスを用いたウイルス分離方法や補体結合反応についても紹介した。

* 国立感染症研究所

10 First isolation of a new type of human adenovirus (genotype 79), species Human mastadenovirus B (B2) from sewage water in Japan.
Hideaki Yoshitomi, Nobuyuki Sera, Gabriel Gonzalez^{*1}, Nozomu Hanaoka^{*2}, Tsuguto Fujimoto^{*2}
: J Med Virol. 89(7): 1192-1200, 2017.

2014年4月から2015年3月までの流入水中のアデノウイルスの消長を調査した。流入水24検体から49のアデノウイルス分離株が検出された。アデノウイルスの型別は、多い順に、アデノウイルスA31型 (n=5)、C2型 (n=5)、C5型 (n=4)、C1型 (n=4)、B3型 (n=4)、B11型 (n=2)、B11/34型 (n=2) そしてD56型 (n=1) であった。B11/34型 (T150125株) の全ゲノム配列を次世代シーケンサーで決定し、他のアデノウイルスB種と比較した。その結果、T150125株はヘキソン遺伝子内で組換えが発生し、ヘキソン遺伝子までがB34型、ファイバー遺伝子とE3領域を含む領域はB11型であった。これらのことから、流入水から分離されたT150125株はHAdV-P11/H34 F11と表記される新型であった。また、環境水を調査することは新型を含むアデノウイルスの監視に有用である。

^{*1} Division of Bioinformatics, Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido University, Sapporo, Japan

^{*2} Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan

11 2015年2月の市販カキから検出されたノロウイルスGII.17の分子疫学解析

吉富秀亮, 芦塚由紀, 野田衛*: 福岡県保健環境研究所年報第43号, 114-117, 2016.

2015年2月の市販カキからノロウイルスGII.17の検出を行い、ポリメラーゼ遺伝子およびカプシドVP1遺伝子を解析し、2015年および2013年の食中毒由来GII.17と比較した。遺伝子増幅およびシーケンス解析は独自に設計したGII.17特異的プライマーにより行った。その結果、カキから検出されたGII.17のアミノ酸配列は2015年の食中毒由来GII.17と99%一致した。一方、2013年の食中毒由来GII.17と比較すると、カプシドVP1遺伝子のP2ドメインにアミノ酸変異が認められた。このことから、カキ中のGII.17は2014/15シーズンの市中の流行と関連があり、2015年のGII.17の流行拡大は2013年以降のカプシドVP1領域の変異が一因であることが示唆された。

* 国立医薬品食品衛生研究所

12 飲用水からノロウイルスGI.6が検出された食中毒事例－福岡県

吉富秀亮, 芦塚由紀, 中村麻子, 小林孝行, 濱崎光宏, 世良暢之, 梶原淳睦, 清水良平^{*1}, 岡本健太郎^{*1}, 友枝哲宏^{*1}, 森一也^{*2}, 松尾寿子^{*2}: 病原微生物検出情報(IASR) Vol.37, 159-160, 2016.

2016年2月に、福岡県内の飲食店において、飲用水が原因と疑われるノロウイルスによる食中毒事例が発生したので、その概要について報告する。事例の概要 2016年2月、同一の飲食店を利用した202名のうち174名(発病率86.1%)が嘔吐、下痢、発熱等の症状を呈しているとの報告が管轄保健所にあった。有症者便6検体、従事者便4検体、施設拭き取り5検体、および浄水器を通した井戸水である飲用水1検体のノロウイルスおよび食中毒細菌の検査を実施した。その結果、すべての糞便(10検体)がノロウイルスGI陽性であった。さらに有症者便1検体および従事者便1検体はノロウイルスGII陽性であった。検出されたPCR産物はダイレクトシーケンス法を用いて塩基配列を決定し、参照株と比較した結果、GI.6およびGII.17に分類された。飲用水はまず陰電荷膜吸着誘出法より濃縮した。リアルタイムRT-PCR法により定量した結果、 1.1×10^3 コピー/100mLのノロウイルスGI遺伝子が検出された。また、ノロウイルスGI遺伝子を増幅し、遺伝子型を分類した結果、GI.6に分類された。さらに、糞便および飲用水から検出されたノロウイルスGI.6の塩基配列を比較した結果、比較可能な221塩基は100%一致した。

^{*1} 保健医療介護部保健衛生課

^{*2} 南筑後保健福祉環境事務所

13 福岡県で2015/16シーズンに検出されたインフルエンザウイルスについて

芦塚由紀, 吉富秀亮, 中村麻子, 濱崎光宏, 世良暢之: 福岡県保健環境研究所年報第43号, 110-113, 2016.

福岡県における2015/16シーズンのインフルエンザの流行は2016年の第1週頃から立ち上がり、定点当たりの報告数は2016年の第5週と9週頃がピークであった。流行の亜型はA/H1pdm09亜型が主流であった。A/H1pdm09亜型の分離株について抗原性解析を行った結果、すべてワクチン株類似株であった。A/H1pdm09亜型についての系統樹解析の結果は、分離株はすべて近年の主流であるクレード6Bに属していたが、シーズン前半と後半の分離株では異なるアミノ酸変異を持つグループであった。

14 LC-MS/MSを用いた野菜及び果実中の残留農薬迅速一斉試験法の妥当性確認

佐藤環, 宮本伊織*, 上村聖子*, 仲谷正*, 角谷直哉*, 山野哲夫*: 食品衛生学雑誌, 57(4), 107-115, 2016.

LC-MS/MSを用いた野菜および果実中の残留農薬迅速一斉分析法の妥当性確認を行った。試験溶液の調製には、QuEChERS法と固相抽出法を組み合わせたSTQ法を用いた。抽出溶媒にアセトニトリルを用い、ホモジナイズ抽出を行った後、塩析および脱水を同時に行った。得られたアセトニトリル層をC18 (30mg) /PSA (30mg) 連結ミニ固相カラムおよびC18 (50mg) ミニ固相カラムを用いて精製し、試験溶液とした。厚生労働省通知の妥当性評価ガイドラインに従い、14種類の野菜および果実を対象として、一律基準濃度における残留農薬130成分の一斉分析法の妥当性確認を実施した。その結果、それぞれの野菜および果実において、75~120成分の農薬が対象となる場合に、分析法の性能はガイドラインの目標値(真度: 70~120%、併行精度: 25%未満、室内精度: 30%未満)を満たした。以上のことから、本試験法は残留農薬の迅速一斉分析法として有用であると考えられた。

* 大阪市立環境科学研究所

15 果実中防かび剤の分析法開発及び妥当性評価

小木曾俊孝, 中西加奈子, 新谷依子, 永島聡子, 高橋浩司, 平川博仙, 堀就英, 梶原淳睦: 福岡県保健環境研究所年報第43号, 76-81, 2016.

食品添加物として用いられている7種類の防かび剤について、一斉分析法の開発と妥当性評価を実施した。分析における精製は、InertSep NH2とENVI-Carb Cを併用した方法を開発した。この方法は、色素等の不純物を効果的に除去可能であり、さらに測定妨害となるトルエンを溶離液として使用するこ

となく溶出することが可能であった。2種類の作物を用いて実施した妥当性評価では全ての項目で妥当性評価ガイドラインの目標値に適合する結果を得た。これらの結果から、本試験法は果実中防かび剤の分析法として有用であると考えられた。

16 BOD植種希釈水の微生物活性の安定化方法

土田大輔, 森山紗好, 志水信弘: 福岡県保健環境研究所年報第43号, 82-86, 2016.

BOD試験に用いる植種希釈水について、微生物活性を安定化する方法を検討した。植種希釈水の活性度は、工場排水試験方法(JIS K 0102)に示されているグルコース・グルタミン酸混合標準液(GG標準液)のBOD(220 ± 10 mgO/L)によって評価した。秋期に採取した河川水を植種源に用いた場合、BODは目標範囲内となり、馴化期間18日までは微生物活性を維持できた。GG標準液を用いて河川水植種希釈水の馴化を行ったが、活性の向上効果は認められなかった。植種菌製剤を用いた場合、開封直後のものを使用したときに目標範囲内となった。土壌抽出液については、冬期に採取した真砂土および腐葉土を検討したが目標範囲を満たせなかった。本検討結果から、定期的にGG標準液のBOD測定を行い、植種希釈水の微生物活性を把握することの必要性が示された。

17 微極性カラムを用いた鉱物油および動植物油脂のGC/MS定性分析

土田大輔, 志水信弘: 福岡県保健環境研究所年報第43号, 87-92, 2016.

主要な鉱物油および動植物油脂を対象に、微極性カラムを用いてガスクロマトグラフ質量分析法(GC/MS)により定性分析した。各油脂について、ヘキサンで希釈した試料、および水面上で1日放置した模擬油膜試料の2種類を調製した。ガソリンおよび灯油からは、主に低沸点化合物が検出された。軽油、A重油、B重油、およびC重油のクロマトグラムは互いに類似していた。動植物油脂をメチルエステル(ME)化してGC/MS測定したところ、3~5本のピークが検出され、6種の脂肪酸MEであると判断された。動植物油脂は、油膜状で1日放置した後でも脂肪酸組成の変化は小さかった。本分析結果により、油流出事故時の油種の判別分析を効率化できると考える。

18 常時監視測定局データによる福岡県のPM2.5濃度の実態把握

力寿雄, 山本重一, 梶原佑介, 山村由貴, 中川修平, 新谷俊二, 高尾佳子, 濱村研吾: 福岡県保健環境研究所年報第43号, 118-122, 2016.

2013~2015年度の大気常時監視測定局データを用

いて、福岡県内の微小粒子状物質（以下、PM_{2.5}）濃度の汚染実態把握を行った。2013及び2014年度は、全地点で環境基準超過、2015年度は一部改善を示すものの多くの地点で環境基準を超過する状況が続いている。PM_{2.5}の高濃度現象は、全地点で同日に観測されることが多く、後方流跡線解析の結果と併せ、大陸からの長距離移流の影響が大きいと示唆された。ただし、県内の測定地点においてPM_{2.5}濃度に差が観測されたことから、地域発生源の存在も推測された。

19 福岡県における微小粒子状物質（PM_{2.5}）濃度の実態把握

山村由貴，山本重一，力寿雄，梶原佑介：福岡県保健環境研究所年報第43号，93-98，2016。

2013-2015年度太宰府局において、微小粒子状物質（以下PM_{2.5}と略す）濃度及び季節ごとの成分濃度を測定した。2015年度の春季PM_{2.5}濃度は、2013、2014年度に比べて低減していた。また、石炭燃焼と石油燃焼の指標元素の濃度比から、夏季は石油燃焼、春季、秋季、冬季は石炭燃焼の影響を受けていることが示唆された。さらに、2015年度太宰府、八女、柳川局のPM_{2.5}成分濃度を用い、発生源寄与率を推定した。二次生成硫酸塩と石炭燃焼に加え、春季は土壌、夏季は石油燃焼、冬季は二次生成硝酸塩の寄与率が高かった。また、冬季の高濃度日は二次生成硫酸塩、二次生成硝酸塩共に越境汚染の可能性が示唆された。

20 福岡県内河川における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（LAS）の濃度

志水信弘，柏原学，古閑豊和，森山紗好，土田大輔，藤川和浩，熊谷博史，石橋融子，松本源生，田中義人：福岡県保健環境研究所年報第43号，99-103，2016。

福岡県内河川のLASの測定結果を用いて、県内のLASの動態を考察した。その結果、LAS濃度の年平均値は、平成26年度は68.6%、平成27年度では90.0%の地点において0.02 mg/L未満であった。また、河川のLAS濃度の年平均値が0.05 mg/L以上である地点は、平成26年度では11.4%、平成27年度では1.4%の地点であった。平成26年度については、全ての地域で春季、夏季及び冬季にLAS濃度の最大値、地域平均値が高く、特徴的な季節変動をした。一方、平成27年度は、LAS濃度の季節変動はなかった。また、LAS濃度の平成26年度の季節変動の要因として、降水量及び河川流量の影響が示唆された。

21 数値シミュレーションによる河川流量計算法の検討

松本源生，古閑豊和，土田大輔，石橋融子：全国環境研会誌，41巻，4号，19-25，2016。

時間解像度が高くしかも任意な河川地点の流量を得る手法を確立するため、気象モデル、流出モデル、河川水追跡法を活用して数値シミュレーションを行った。

気象モデルWRFで得られた10分間隔の高解像度な降水量と蒸発散量を、流出モデルTOPMODELに入力した。流域を複数の小流域に分割し、各小流域にTOPMODELを適用しMuskingum-Cunge法で河道水追跡を行うことにより、流域スケールが数百km²であっても流量の評価指標である Nash 指標は良好な数値を示した。

22 ダム湖におけるノニルフェノールエトキシレートの実態調査

古閑豊和，志水信弘，藤川和浩：福岡県保健環境研究所年報第43号，104-109，2016。

福岡県内のダム湖を対象としてノニルフェノールエトキシレート（NPnEO）を測定した。その結果、中層水と底層水ではEO鎖長が6～12（NP6EO～NP12EO）のNPnEOの検出率が100%となった。全てのダム湖の中層水と底層水中のNPnEO濃度が表層水よりも高くなり、水温と降雨の影響が示唆された。また、ダム湖から検出されたNPnEOのEO鎖長パターンを解析した結果、中層水と底層水のEO鎖長パターンは類似しており、ダム湖水の中ではNPnEOの分解が十分に進んでいないことが示唆された。

23 圧力容器法を用いた底質中のヒ素・セレン・アンチモン分析法の検討

柏原学，土田大輔，石橋融子：福岡県保健環境研究所年報第43号，123-127，2016。

底質中のヒ素・セレン・アンチモンの分析への圧力容器法（以下MWと表記）前処理と誘導結合プラズマ質量分析装置（以下ICP-MSと表記）の適用の可能性を明らかにすることを目的として、認証標準海底質および認証標準湖底質を用いて検討を行った。底質中のヒ素は、硝酸・塩酸を用いたMW前処理およびICP-MS測定により、認証値に近い値が得られた。底質中のセレンは、硝酸・塩酸・フッ酸を用いたMW前処理およびICP-MS測定では、認証値より高い値であったが、水素化物発生原子吸光法（以下HG-AASと表記）による測定で、認証値に近い値が得られた。底質中のアンチモンは、硝酸・塩酸または硝酸・塩酸・フッ酸を用いたMW前処理を行い、ICP-MSおよびHG-AASにより測定したが、分析値はいずれも認証値より低い値であった。

24 Monitoring of ground-dwelling beetle community and forest floor environment in 22 temperate forests over Japan

Shigeru Niwa^{*}(他 31 名), Yohei Kaneko(13 番目): Ecological Research, 31, 607-608, 2016.

本研究は、環境省モニタリングサイト 1000 プロジェクトの一部として実施したものであり、全国 22 サイトにおいて、地表徘徊性甲虫及び林床環境のセンサスデータをデータ論文として報告するものである。サイトは、亜高山帯、冷温帯、暖温帯、亜熱帯地域を含む形で設定されており、天然林、二次林、人工林に 1ha プロットが合計 33 個設置されている。2004 年から 2012 年の 9 年間のデータを集計した結果、314 種以上、59,762 個体がピットフォールトラップにより採集された。データセットは、地表徘徊性甲虫やその他の無脊椎動物について、各個体重量の他に、植生被度、落葉層の乾燥重量、炭素及び窒素含量、落葉層と表層土壌中におけるセルロース分解速度のデータが含まれている。これらのデータは、地表徘徊性甲虫の個体重量や個体群構造、群集構造の地理的パターンや年次変動、年内変動及びこれらと林床環境との関係性を明らかにするのに役立つだろう。

^{*} Japan Wildlife Research Center

25 First record of the exotic terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) from the Kyushu mainland, western Japan, with color variation and DNA information for species identification

Shigetaka Karasawa^{*1}, Tomoki Iwasaki^{*2}, Jun Nakajima: Journal of Field Science, 15, 29-33, 2017.

2015 年に福岡市東区みなと 100 年公園及び宗像市赤間北口公園において採集されたワラジムシ類を詳細に調べたところ、形態的・遺伝的特徴からヨーロッパ原産の国外外来種・ワラジムシと同定された。本種はこれまで日本各地から記録があったが、九州本島からは初記録となる。これらの個体の色彩には大きな変異があったが、形態的な違いはなかった。あわせて遺伝的特徴を調査したところ、その特徴は関東地方に定着している集団のものと違いがあった。このことから、当地におけるワラジムシ集団は国内他地域からではなく、海外から移入したものと考えられた。本種の分布拡大は、在来ワラジムシ類へ何らかの悪影響を与える可能性があると考えられる。

^{*1} University of Teacher Education Fukuoka

^{*2} Sawara-ku, Fukuoka City

26 Phylogeography of *Opsariichthys platypus* in Japan based on mitochondrial DNA sequences

Shigeru Kitanishi^{*1}, Akari Hayakawa^{*1}, Kenzi Takamura^{*2}, Jun Nakajima, Yoichi Kawaguchi^{*3}, Norio Onikura^{*3}, Takahiko Mukai^{*1}: Ichthyological Research, 63, 506-518, 2017.

日本国内におけるコイ科魚類オイカワについて、ミトコンドリア DNA の *cytb* 領域を用いた詳細な遺伝的集団構造の解析を行った。その結果、日本国内には大きく分化した 3 つの集団が存在し、それぞれ東日本集団、西日本集団、九州集団と定義された。東日本集団と西日本集団の分布境界は伊吹鈴鹿山脈であり、九州集団は九州島に固有であった。また、遺伝的には九州集団がもっとも特異であった。その一方で人為的な移入による自然分布域外への定着、あるいは自然分布域内における遺伝的攪乱が各地で起こっていることも確認された。

^{*1} Gifu University

^{*2} National Institute for Environmental Studies

^{*3} Kyushu University

27 英彦山地絶滅危惧植物の種子発芽特性 (1)

金子洋平, 須田隆一: 福岡県保健環境研究所年報第 43 号, 128-131, 2016.

英彦山地に生育する絶滅危惧植物 11 種の種子発芽特性を明らかにするために、発芽床への撒きだし及び段階温度法により発芽試験を実施した。種子の前処理条件による発芽率の影響を調べた結果、冷乾処理と冷湿処理では発芽率に大きな差があり、冷湿処理が休眠打破に必要な条件であることが示唆された。また、発芽温度特性を調べた結果、ヒナノウスツボ、モミジハグマは特別な休眠を持たないことが示されたが、タマガワホトトギスは高温条件で休眠が誘導されるため、春発芽に特化した種子であることが明らかになった。イチイやフウリンウメモドキ等は今回の条件で発芽させることができなかったため、前処理条件を変更し再試験する必要があると考えられた。

28 日本のドジョウ 形態・生態・文化と図鑑

中島淳, 内山りゅう^{*}: 山と溪谷社, 東京, 2017.

日本産ドジョウ類全 33 種類について、各種・亜種の形態や生態などをまとめ解説を行った。あわせてドジョウ類の形態解説や、ドジョウ類にまつわる食

文化や祭事などについても紹介した。

* ネイチャーフォトグラファー

29 圃場整備済み水田における魚類保全を目指した江の創出手法の検討

石間妙子, 村上比奈子^{*1}, 高橋能彦^{*2}, 岩本嗣^{*2,*4}, 高野瀬洋一郎^{*3}, 関島恒夫^{*1}: 応用生態工学, 19(1), 21-35, 2016.

本研究は、暗渠排水が導入された圃場整備済み水田において、水生生物の保全に一定の効果があると報告されている江（水田の畦際に併設された土水路状の溝）の創出手法を確立することを目的とする。1 つ目の創出手法として、江の水抜け防止対策としてベントナイトが接着された防水シートの設置を行った。2 つ目の手法は、江の普及に対しては、江の創出による農地の転用面積が少ない方が有利と考えられるが、生物にとっては生息環境が広い方が有効と考えられるため、サイズの異なる江を 3 タイプ創出して費用対効果を検証した。防水シートを設置した江と未設置の江、及びサイズの異なる 3 つの江の間で、水環境（水深・水温・溶存酸素量）と魚類群集（種数、種多様度、総個体数、種別個体数）を比較した。その結果、いずれの項目も、防水シートの設置状況や江のサイズによる差が認められなかった。このことから、防水シートを設置しない小サイズであっても、江は通年湛水が可能であり、かつ魚類の生息地としても有効であることが示唆され、費用対効果の高い保全方法であることが明らかとなった。

*1 新潟大学大学院自然科学研究科

*2 新潟大学農学部

*3 新潟大学超域研究機構

*4 神奈川工科大学応用バイオ科学科

30 英彦山・犬ヶ岳地域におけるシカ対策

石間妙子: 福岡県環境教育学会ニュースレター, 54, 4-5, 2017.

全国的に、野生鳥獣の分布拡大や生息数の増加に伴う、農林水産業や生態系への被害が深刻化しており、福岡県も例外ではない。特にシカとイノシシによる農林業被害は大きく、シカに至っては、絶滅危惧種への食害など生態系への被害も数多く報告されている。県内でも有数の生物多様性を誇る英彦山においても、シカによる林床植生の食害や、過度の食害による裸地化、剥皮害による樹木の枯死、これらの変化による動物相の変化などが生じており、問題が深刻化している。これに対応するため、県では防

護ネットの設置やシカの捕獲事業などを行っており、当研究所において、防護ネットの有効性の検証や、絶滅危惧植物の種子保存及び発芽実験などを実施している。

31 福津市でみられるドジョウ類

中島淳: 文化福津, 12, 22-23, 2017.

福津市内に分布するドジョウ科魚類 3 種、ドジョウ、ヤマトシマドジョウ、カラドジョウについて、その生態や生活史の特徴、希少性について解説した。

32 日本産スジシマドジョウ類の現状とその保全の展望

中島淳: 魚類学雑誌, 65, 69-76, 2017.

全種・亜種が絶滅危惧種になっている日本産スジシマドジョウ類について、各種・亜種の現状と減少要因を整理した。あわせて各地での保全事例を紹介し、河川と農地において具体的にどのような保全方針をとるべきか解説を行った。

(3) 学会等口頭発表一覧

① 国際学会

演 題 名	発 表 者	学会名 (場所), 年月日
Application of compound-specific carbon isotopic analysis to PCB heat-transfer medium used in the deodorization process of Kanemi rice oil	Takashi Miyawaki, Mari Sugihara, Shusaku Hirakawa, Tsuguhide Hori, Jumboku Kajiwara, Susumu Katsuki, Masutaka Furue* * Kyushu University	The 9th International PCB Workshop (Kobe, Japan), October 9-13, 2016.
Determination of polychlorinated biphenyls (PCBs) and hydroxylated PCBs in fish purchased in Kyushu district, Japan	Daisuke Yasutake, Tsuguhide Hori, Koji Takahashi, Jumboku Kajiwara, Takahiro Watanabe* * National Institute of Health Sciences	36th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Firenze, Italia), August 28-September 2, 2016.
Distribution of dioxins in sets of biological samples collected from Japanese pregnant and nursing woman	Tsuguhide Hori, Jumboku Kajiwara, Koji Takahashi, Seiichi Morokuma* ¹ , Yuka Otera* ² , Masutaka Furue* ³ , Kiyomi Tsukimori* ⁴ *1 Kyushu University Hospital *2 National Center for Child Health and Development *3 Kyushu University *4 Fukuoka Children's Hospital	The 9th International PCB Workshop (Kobe, Japan), October 9-13, 2016.
Accumulation properties of polychlorinated biphenyl congeners in Yusho patients and assessment of their cytochrome P450-dependent metabolism by <i>in silico</i> docking simulation	Shusaku Hirakawa, Takashi Miyawaki, Tsuguhide Hori, Jumboku Kajiwara, Susumu Katsuki, Masashi Hirano* ¹ , Hisato Iwata* ¹ , Masutaka Furue* ² *1 Ehime University *2 Kyushu University	The 9th International PCB Workshop (Kobe, Japan), October 9-13, 2016.
計 (国際学会)	4 件	

② 国内学会（全国）

演 題 名	発 表 者	学会名（場所），年月日
大腿骨頸部骨折術後の後期高齢者における地域連携診療計画策定が医療資源利用に与える影響の評価	西巧，前田俊樹*，原野由美*，姜鵬*，村田典子*，馬場園明* * 九州大学	第 54 回日本医療・病院管理学会（東京都文京区），平成 28 年 9 月 17-18 日．
後期高齢者レセプトデータを用いたアトルバスタチン先発・後発医薬品の比較効果研究	西巧，前田俊樹* ¹ ，今任拓也* ² ，馬場園明* ¹ * ¹ 九州大学 * ² 国立医薬品食品衛生研究所	第 27 回日本疫学会（甲府市），平成 29 年 1 月 25-27 日．
LC/MSによる化学物質分析法の基礎的研究(68)	飛石和大，塚谷裕子	第 25 回環境化学討論会（新潟市），平成 28 年 6 月 8-10 日．
テトラメトリン（水質）の分析	塚谷裕子，飛石和大	平成 28 年度化学物質環境実態調査環境科学セミナー（東京都墨田区），平成 29 年 1 月 23 -24 日．
1,2-エポキシ-3-(トリルオキシ)プロパン（水質）の分析	塚谷裕子，飛石和大	平成 28 年度化学物質環境実態調査環境科学セミナー（東京都墨田区），平成 29 年 1 月 23 -24 日．
土壌中有機汚染物質および重金属類の同時スクリーニング法の開発	宮脇崇	第 43 回環境保全・公害防止研究発表会（山形市），平成 28 年 11 月 17-18 日．
Complete genome analysis of new recombinant human adenovirus species B2 isolated from sewage water	吉富秀亮，世良暢之	第 64 回日本ウイルス学会学術集会（札幌市），平成 28 年 10 月 24 日-26 日
飲用水からノロウイルスが検出された食中毒事例	芦塚由紀，吉富秀亮，中村麻子，小林孝行，濱崎光宏，世良暢之，梶原淳睦，清水良平* ¹ ，岡本健太郎* ¹ ，友枝哲宏* ¹ ，森一也* ² ，松尾寿子* ² ，野田衛* ³ * ¹ 福岡県保健医療介護部保健衛生課 * ² 南筑後保健福祉環境事務所 * ³ 国立医薬品食品衛生研究所	第 37 回日本食品微生物学会学術総会（東京都江戸川区），平成 28 年 9 月 15-16 日．
食品中のデクロランプラス類の摂取量調査	安武大輔，堀就英，小木曾俊孝，高橋浩司，梶原淳睦，渡邊敬浩* * 国立医薬品食品衛生研究所	第 25 回環境化学討論会（新潟市），平成 28 年 6 月 8-10 日．
食品中のハロゲン系難燃剤の摂取量推定	安武大輔，小木曾俊孝，堀就英，高橋浩司，梶原淳睦，渡邊敬浩* * 国立医薬品食品衛生研究所	第 112 回日本食品衛生学会学術講演会（函館市），平成 28 年 10 月 27-28 日．
血液中 PCB 濃度分析のクロスチェック	堀就英，平川博仙，新谷依子，宮脇崇，梶原淳睦，香月進，岸玲子* ¹ ，古江増隆* ² * ¹ 北海道大学、* ² 九州大学	第 25 回環境化学討論会（新潟市），平成 28 年 6 月 8-10 日．
福岡県における食品中残留農薬等の摂取量調査(平成 27 年度)	小木曾俊孝，中西加奈子，新谷依子，安武大輔，高橋浩司，平川博仙，梶原淳睦	第 53 回全国衛生化学技術協議年会(青森市)，平成 28 年 11 月 17-18 日．
福岡県における健康食品買上げ検査（平成27年度）	新谷依子，佐藤環，小木曾俊孝，高橋浩司，堀就英，梶原淳睦	第 53 回全国衛生化学技術協議年会（青森市），平成 28 年 11 月 17-18 日．

演 題 名	発 表 者	学会名（場所），年月日
国土数値情報を用いた福岡県内に生息する冷水性魚類分布の推定	熊谷博史，中島淳，米原淳史*，田口靖三* * 福岡県環境部環境保全課	第 51 回日本水環境学会年会（熊本市）， 平成 29 年 3 月 15-18 日．
安定型最終処分場の浸透水における有機物指標の変動と微生物の関係	平川周作，志水信弘，堀就英，黒川陽一，大石興弘，鳥羽峰樹	第 43 回環境保全・公害防止研究発表会（山形市）， 平成 28 年 11 月 17-18 日．
環境試験法 水質試験法 アルデヒド類	西村哲治* ¹ ，鈴木俊成* ² ，川元達彦* ³ ，小林浩* ⁴ ， 高木総吉* ⁵ ，森田久男* ⁶ ，石橋融子，川崎直人* ⁷ ，北村壽朗* ⁸ *1 帝京平成大学 *2 東京都健康安全研究センター *3 兵庫県立健康生活科学研究所 *4 山梨県衛生環境研究所 *5 大阪府立公衆衛生研究所 *6 埼玉県企業局 *7 近畿大学 *8 神奈川県企業庁	日本薬学会第 137 年会（仙台市）， 平成 29 年 3 月 24-27 日．
行政が取り組む外来種対策：福岡県の事例紹介	中島淳	日本魚類学会公開シンポジウム（名古屋市），平成 28 年 8 月 27 日．
福岡県における特定外来生物ブラジルチドメグサの分布拡大とその対策	須田隆一，金子洋平，石間妙子，中島淳	第 19 回自然系調査研究機関連絡会議（静岡市），平成 28 年 10 月 27 日．
福岡県侵略的外来種リスト（仮称）の作成と今後の課題	金子洋平，中島淳，石間妙子，須田隆一	第 32 回全国環境研究所交流シンポジウム（つくば市），平成 29 年 2 月 16-17 日．
都道府県の研究機関から進める生物多様性研究の重要性	中島淳	第 64 回日本生態学会大会（東京都新宿区），平成 29 年 3 月 14-18 日．
計（国内学会（全国））	20 件	

③ 国内学会（地方）

演 題 名	発 表 者	学会名（場所），年月日
福岡県における侵襲性肺炎球菌感染症の発生状況について	市原祥子，川原明子，千々和勝己	第 63 回福岡県公衆衛生学会（福岡市），平成 28 年 5 月 19 日．
地域における在宅医療の評価指標について	川原明子，西巧，櫻井利彦，香月進	第 63 回福岡県公衆衛生学会（福岡市），平成 28 年 5 月 19 日．
カンパチ等に寄生する粘液胞子虫 <i>Unicapsula seriolae</i> の顕微鏡検査方法の検討	丸山浩幸 [*] ，高橋直人 [*] ，古賀舞香 [*] ，松永典久 [*] ，中牟田啓子 [*] ，重村洋明，江藤良樹，世良暢之 [*] 福岡市保健環境研究所	第 42 回九州衛生環境技術協議会．（福岡市），平成 28 年 10 月 13-14 日．
福岡県内の HIV-1 の遺伝子解析	中村麻子，濱崎光宏，芦塚由紀，世良暢之，千々和勝己，南留美 [*] ，山本政弘 [*] [*] 独立行政法人国立病院機構九州医療センター	第 63 回福岡県公衆衛生学会（福岡市），平成 28 年 5 月 19 日．
飲用水からノロウイルス GI.6 が検出された食中毒事例	小林孝行，吉富秀亮，中村麻子，芦塚由紀，濱崎光宏，世良暢之，梶原淳睦，清水良平 ^{*1} ，岡本健太郎 ^{*1} ，友枝哲宏 ^{*1} ，森一也 ^{*2} ，松尾寿子 ^{*2} ^{*1} 福岡県保健医療介護部保健衛生課 ^{*2} 南筑後保健福祉環境事務所	第 42 回九州衛生環境技術協議会（福岡市），平成 28 年 10 月 13-14 日．
特定芳香族アミンを生成するアゾ染料の分析について	高橋浩司，川上義仁，堀就英，梶原淳睦	第 42 回九州衛生環境技術協議会（福岡市），平成 28 年 10 月 13-14 日．
溶出試験法による医薬品品質試験について	堀就英，新谷依子，中西加奈子	第 42 回九州衛生環境技術協議会（福岡市），平成 28 年 10 月 13-14 日．
新しい放射性物質吸着材の開発及びその評価と利用に関する研究	檜崎幸範，鳥羽峰樹，平川周作，大石興弘，田上四郎，和田信一郎 ^{*1} ，百島則幸 ^{*1} ，天野光 ^{*2} ，池田敏彦 ^{*3} ^{*1} 九州大学 ^{*2} 元（公財）日本分析センター ^{*3} （株）高尾産業	第 18 回環境放射能研究会（つくば市），平成 29 年 3 月 14-16 日．
福岡県における微小粒子状物質（PM _{2.5} ）濃度の実態把握	山村由貴，山本重一，力寿雄，梶原佑介	第 42 回九州衛生環境技術協議会（福岡市），平成 28 年 10 月 13-14 日．
油流出事故における分析方法の解析および対応手順の検討	藤川和浩，土田大輔，森山紗好，志水信弘，石橋融子，松本源生，田中義人	瀬戸内海水環境研会議（松山市），平成 28 年 9 月 8 日．
福岡県内河川の LAS 濃度に関する考察	志水信弘，柏原学，古閑豊和，森山紗好，土田大輔，藤川和浩，熊谷博史，石橋融子，松本源生，田中義人	第 42 回九州衛生環境技術協議会（福岡市），平成 28 年 10 月 13 日．
圧力容器法を用いた底質に含まれるヒ素・セレン・アンチモンの分析検討	柏原学，土田大輔，石橋融子	第 42 回九州衛生環境技術協議会（福岡市），平成 28 年 10 月 13 日．
福岡県侵略的外来種リスト作成に向けた侵略性の簡易評価手法の開発	金子洋平，中島淳，石間妙子，須田隆一	三学会合同鹿児島大会（第 61 回日本生態学会九州地区会）（鹿児島市），平成 28 年 5 月 28-29 日．

演 題 名	発 表 者	学会名（場所），年月日
福岡県における水生生物指標を用いた環境教育	中島淳，石間妙子，金子洋平，須田隆一	第 42 回九州衛生環境技術協議会 (福岡市)，平成 28 年 10 月 13 日．
福岡県侵略的外来種リスト作成に向けた外来種定着状況調査	金子洋平，中島淳，石間妙子，須田隆一	第 42 回九州衛生環境技術協議会 (福岡市)，平成 28 年 10 月 13 日．
生物多様性の保全に関する福岡県保健環境研究所の取組	須田隆一	第 42 回九州衛生環境技術協議会 (福岡市)，平成 28 年 10 月 14 日．
計（国内学会（地方））	16 件	

(4) 報告書一覧

委託事業名	報 告 書 名	執 筆 者	発行年月
平成28年度厚生労働科学研究補助金（食品の安全確保推進研究事業）	（食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究 平成28年度総括・分担研究報告書）油症検診データを用いた基礎的解析	香月進，田中義人，新谷俊二，高尾佳子，梶原淳睦	平成29年3月
平成28年度環境省委託事業 化学物質環境実態調査	平成28年度化学物質環境実態調査分析法(LC/MS)開発調査結果報告書	塚谷裕子，宮脇崇，酒谷圭一，高橋浩司，竹中重幸，飛石和大，梅山耕司*，武原次郎* * 福岡県環境部環境保全課	平成29年3月
平成28年度環境省委託事業 化学物質環境実態調査	平成28年度化学物質環境実態調査初期環境調査（水質）結果報告書	塚谷裕子，宮脇崇，酒谷圭一，高橋浩司，竹中重幸，飛石和大，藤川和浩，志水信弘，柏原学，梅山耕司*，武原次郎* * 福岡県環境部環境保全課	平成29年3月
平成28年度環境省委託事業 化学物質環境実態調査	平成28年度化学物質環境実態調査初期環境調査（大気）結果報告書	塚谷裕子，宮脇崇，酒谷圭一，高橋浩司，竹中重幸，梅山耕司*，武原次郎* * 福岡県環境部環境保全課	平成29年3月
平成28年度環境省委託事業 化学物質環境実態調査	平成28年度化学物質環境実態調査詳細環境調査（水質）結果報告書	塚谷裕子，宮脇崇，酒谷圭一，高橋浩司，竹中重幸，飛石和大，藤川和浩，志水信弘，柏原学，梅山耕司*，武原次郎* * 福岡県環境部環境保全課	平成29年3月
平成28年度環境省委託事業 化学物質環境実態調査	平成28年度化学物質環境実態調査モニタリング調査（大気）結果報告書	塚谷裕子，宮脇崇，酒谷圭一，高橋浩司，竹中重幸，梅山耕司*，武原次郎* * 福岡県環境部環境保全課	平成29年3月
厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）分担研究報告書	九州地区における効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究 ― IS型別データベースの運用、EHEC検出状況、精度管理（ISPS、PFGE）及び集団発生事例の解析 ―	世良暢之，岩佐奈津美* ¹ ，有川衣美* ² ，（他 14 名），濱崎光宏，西田雅博，岡元冬樹，重村洋明，カール由起（13-17 番目） * ¹ 福岡市保健環境研究所 * ² 北九州市環境科学研究所	平成29年4月
厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業	「地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究」班 分担研究報告書 感染症発生動向調査におけるエンテロウイルス病原体検査に関わる外部精度管理（EQA）導入の研究	吉田弘*（他 10 名），濱崎光宏，（9 番目） * 国立感染症研究所	平成29年3月
厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業	平成28年度分担研究報告書「地方感染症情報センター・地方衛生研究所における病原体サーベイランスの評価と改善に関する研究」	中村廣志*（他 15 名），中村麻子（9 番目） * 神奈川県衛生研究所	平成29年3月

委託事業名	報 告 書 名	執 筆 者	発行年月
厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接 種政策推進研究事業	平成28年度分担研究報告書 「地方感染症情報センター・地方 衛生研究所の立場からの感染症発 生動向調査の評価と改善」	中村廣志*(他 29 名), 中村麻子 (25 番目) * 神奈川県衛生研究所	平成29年3月
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 平成28 年度総括・研究分担報告書 「流 入水中ノロウイルスの定量および 市販ノロウイルス検出キットの反 応性評価」	小林孝行, 吉富秀亮, 芦塚由紀, 中村麻子, 梶原淳睦, 野田衛* * 国立医薬品食品衛生研究所	平成29年3月
平成28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)	食品を介したダイオキシン類等有 害物質摂取量とその手法開発に関 する研究 総括・分担研究報告書 「各種有害物質の適時及び継続的 な摂取量推定研究・有害物質摂取 量推定の部 ハロゲン系難燃剤摂 取量推定の試行」	安武大輔, 佐藤環, 堀就英, 渡 邊敬浩* * 国立医薬品食品衛生研究所	平成29年3月
計(報告書)	12件		

3 調査研究終了報告書

調査研究終了報告書

研究分野：保健

調 査 研 究 名	危険ドラッグ中指定薬物成分等の迅速構造推定法の検討
研究者名（所属） ※ ○印：研究代表者	○小木曾俊孝、新谷依子、安武大輔(生活化学課)、梶原淳睦(保健科学部長兼ウイルス課長)、堀就英(生活化学課長)
本庁関係部・課	保健医療介護部 薬務課
調 査 研 究 期 間	平成27年度 - 28年度 (2年間)
調 査 研 究 種 目	1. ☒ 行政研究 ☐ 課題研究 ☐ 共同研究（共同機関名： ） ☐ 受託研究（委託機関名： ） 2. ☒ 基礎研究 ☐ 応用研究 ☐ 開発研究 3. ☐ 重点研究 ☐ 推奨研究 ☐ I S O推進研究
福岡県総合計画	大項目：誰もが元気で健康に暮らせること 中項目：生涯を通して健康で過ごせる社会をつくる 小項目：健康被害の防止
福岡県環境総合ビジョン（第三次福岡県環境総合基本計画）※環境関係のみ	柱： テーマ：
キ ー ワ ー ド	①危険ドラッグ ②指定薬物 ③包括指定 ④LC/Q-TOF/MS

研究の概要

1) 調査研究の目的及び必要性

危険ドラッグの使用者による悲惨な事件・事故が大きな社会問題となっており、撲滅に向けた様々な取り組みがなされている。特に、政府による「危険ドラッグの乱用の根絶のための緊急対策」が決定以降、一斉摘発等により平成27年7月にはほぼ全ての販売店がなくなるという成果が得られている。指定薬物の成分に対する法規制ではカチノン類及びカンナビノイド類に対して合計3度の包括指定が行われ、個別の成分においても指定の迅速化がなされた。これにより、平成29年4月現在2362種類の化合物が規制対象となっている。これらの対策により、危険ドラッグに関する摘発等は大きく減少したが、危険ドラッグの使用が原因と疑われる死亡事案や密輸入事犯は未だに続いているのが現状である。また、構造の一部を僅かに変化した新たな薬物の出現は後を絶たず、合成キットという新たな販売手法や亜酸化窒素という新たなカテゴリーの薬物も確認されている。このような指定薬物の現状に対応するためには、多種多様な化合物を迅速に同定可能な方法を開発することが必要不可欠であり、未知成分に対しても対応できる分析法を開発する必要がある。本研究では、様々な薬物成分に対応できる分析法を確立することで危険ドラッグの流通・乱用を防止し、県民の健康と生活の安全を確保することを目的とする。

2) 調査研究の概要

1) 分析法の検討

LC/Q-TOF/MSを用いて薬物成分を分析するための検討を行った。また、1検体あたりに要する分析時間の短縮化について同時に検討した。

2) 保持時間、精密質量及びフラグメンテーションのデータベース化

開発した分析法を用いて保有している標準品を測定し、保持時間、精密質量及びフラグメンテーションについて得られた情報を蓄積し、データベースを作成した。

3) フラグメントイオン解析による構造推定法の検討

質量分析装置内で化合物にエネルギーを与えると、開裂しフラグメントイオンが生じることが知られている。フラグメントイオンは元の構造の一部であるため、どのようなフラグメントイオンが生成したかを解析することで未知化合物についても構造推定が可能か検討した。

4) 標準品の合成検討

入手が困難な標準品について合成法を検討した。

3) 調査研究の達成度及び得られた成果（できるだけ数値化してください。）

1) 分析法の検討

分離カラム、グラジエント、測定条件等の検討を行い、様々なカテゴリーの薬物を分析可能な条件を見出すことができた。1検体あたりに必要な分析時間は従来法では55分であったが、検討した方法では22.5分まで短縮することができ、検査の迅速化が図れた。

2) 保持時間、精密質量及びフラグメンテーションのデータベース化

開発した分析法を用いて、保有している427種類の標準品を測定し、得られた結果をデータベース化した。データベース内の情報と新しい測定結果を照らし合わせることで、登録済みの成分であれば瞬時に同定可能となった。また、LC/Q-TOF/MSを用いることで精密質量が測定可能となったため、従来のLC-MS/MSを用いた測定よりも高い精度で同定が可能となった。

3) フラグメントイオンからの構造推定法の検討

測定した427種類の化合物について、構造とフラグメントイオンの関係について解析を行った。カチノン類、カンナビノイド類、アンフェタミン類、トリプタミン類、フェネチルアミン類及びフェンタニル類の6種類についてフラグメンテーションに関する知見を得た。その結果、完全に構造を推定することは難しいが、部分構造の推定や薬物の系統を把握する上では有用であると思われる。

4) 標準品の合成検討

トリプタミン系化合物である4-AcO-DETの合成検討を行ったところ、5日程度で合成可能であり、市販されている標準品として入手困難な物質を化学合成により得ることができた。様々な系統の合成を行うためには、さらなる技術の蓄積が必要であると考えられる。

4) 県民の健康の保持又は環境の保全への貢献

危険ドラッグ検査の迅速化及び未知化合物への対応の充実が図れたことで、危険ドラッグと疑われる製品を迅速に検査し、速やかな行政対応に移行することが可能となった。検査から行政対応まで速やかに進むことで、危険ドラッグの流通・乱用が効果的に防止できると考えられ、県民の健康と生活の安全の確保に寄与すると考えられる。

5) 調査研究結果の独創性、新規性

LC/Q-TOF/MSを用いた危険ドラッグの測定、データベースの作成、フラグメントイオンからの構造推定、標準品の合成という総合的な危険ドラッグ対策に取り組んでいる研究事例は少なく、新規性があると考えられる。

6) 成果の活用状況（技術移転・活用の可能性）

毎年行っている危険ドラッグの検査に本研究の成果を活用することが可能である。また、危険ドラッグに類似した事例として医薬品又は医薬品類似物質を含有する「いわゆる健康食品」と呼ばれる製品でも、原因物質を特定することが必要不可欠となっている。このような健康食品の検査においても本研究の成果が活用可能である。

本研究で得られた結果を基礎とし、新規研究課題「危険ドラッグ製品等に含まれる薬物成分の分析法開発」を平成29-31年の3年間の予定で実施する。

調査研究終了報告書

研究分野：保健

調 査 研 究 名	残留性有機化学物質（POPs）による食品汚染実態と摂取量把握に関する研究
研究者名（所属） ※ 〇印：研究代表者	○安武大輔（生活化学課）、高橋浩司（計測技術課）、堀 就英、新谷依子、小木曾俊孝、佐藤 環（生活化学課）、堤 智昭、渡邊敬浩（国立医薬品食品衛生研究所）
本庁関係部・課	保健医療介護部保健衛生課
調 査 研 究 期 間	平成26年度 - 28年度（3年間）
調 査 研 究 種 目	1. ☐ 行政研究 ☐ 課題研究 ■共同研究（共同機関名：国立医薬品食品衛生研究所） ☐ 受託研究（委託機関名：） 2. ☐ 基礎研究 ☒ 応用研究 ☐ 開発研究 3. ☐ 重点研究 ☐ 推奨研究 ☐ I S O推進研究
福岡県総合計画	大項目：災害や犯罪、事故がなく、安全で安心して暮らせること 中項目：暮らしの安全・食の安全を守る 小項目：食の安全・安心の確保
福岡県環境総合ビジョン（第三次福岡県環境総合基本計画）※環境関係のみ	柱： テーマ：
キ ー ワ ー ド	①難燃剤 ②一日平均摂取量 ③HBCD ④デクロランプラス ⑤水酸化PCB
研 究 の 概 要	
1）調査研究の目的及び必要性 消費者の食の安全に対する関心は年々高まっている。事故米や冷凍加工食品、輸入食品等の有害化学物質による食品汚染事例を背景に、県民の食に対する不安は解消されていない。人体への影響が懸念されている残留性有機化学物質（Persistent organic pollutants; POPs）として、農薬や臭素系及び塩素系の難燃剤などが注目されている。これらの化学物質は生物濃縮性が高く、主に食品を介して人体に摂取される。これらの化学物質に関する食品の安全性を把握するため、科学的な根拠となるデータが必要となる。当該化学物質の分析法検討、汚染実態調査及び一日摂取量調査を行い、食品の安全・安心確保に貢献することを目的とする。	
2）調査研究の概要 臭素系難燃剤の一つであるヘキサブロモシクロデカン（HBCD）について、魚介類を中心とした個別食品汚染調査及び一日摂取量調査を行う。また、塩素系難燃剤であるデクロランプラス（DP）およびその類縁化物について、分析法を開発し、個別食品（魚介類）汚染調査及び一日摂取量調査を行う。また、PCBの代謝物の一つである水酸化PCB、およびPCBの個別食品（魚類）の汚染調査を行う。	
3）調査研究の達成度及び得られた成果（できるだけ数値化してください。） HBCD：魚介類（20試料）中のHBCDの汚染調査を行い、汚染状況を把握した。また、平成24年度に調製された全国10地域および平成25年度に調製された全国11地域の10群（魚介類）のトータルダイエツト試料（TD試料）中のHBCDの汚染状況を把握し、一日摂取量を推定した。 DP：食品中のDP類の分析法の検討を行い、分析法を確立した。その分析法を用いて魚介類（20試料）中のDP類の汚染調査を行い、汚染状況を調査した。平成26および27年度に福岡県で調製されたTD試料中のDP類の汚染状況を調査し、一日平均摂取量を推定した。 水酸化PCB：食品の水酸化PCBおよびPCBの同時前処理法および機器分析法を検討し、分析法を確立した。その分析法を用いて魚類（40試料）中の水酸化PCBおよびPCBを測定し、それらの蓄積量を把握した。	
4）県民の健康の保持又は環境の保全への貢献 HBCDおよびDP類の食品からの摂取量はリスクレベル（DP類の毒性情報は無い）と比較して極めて低く、これらの化合物による食品への暴露は現状問題ないことが明らかになった。また、魚介中の水酸化PCBは蓄積されているPCB量と比べて非常に低かった。	
5）調査研究結果の独創性、新規性 HBCDの全国的な摂取量調査、DP類の摂取量や食品中の水酸化PCBの蓄積量の事例は少なく、これらの分析法を開発し、それらの汚染状況の把握や摂取量の推定を行ったことは新規性がある。	
6）成果の活用状況（技術移転・活用の可能性） 研究成果については、学会や地方衛生研究所の協議会、論文等で調査結果等を公表し、そのデータは国及び地方の食品衛生担当者に提供され、食の安全に関する行政施策に役立つものと考えられる。また、これらの成果は厚生労働省のホームページ等で公表され、消費者に食品汚染実態に関する正しい知見を提供することができる。	

調査研究終了報告書

研究分野：環境

調 査 研 究 名	最終処分場関連水における有機物指標等の特性と適正管理に関する研究
研究者名（所属） ※ 〇印：研究代表者	〇鳥羽峰樹、古賀智子、櫻井利彦、黒川陽一、大石興弘、飛石和大（廃棄物課）、平川周作、志水信弘（水質課）、堀 就英（生活化学課）
本庁関係部・課	環境部 監視指導課
調 査 研 究 期 間	平成26年度 — 28年度 （3年間）
調 査 研 究 種 目	1. ☒ 行政研究 ☐ 課題研究 ☐ 共同研究（共同機関名： ） ☐ 受託研究（委託機関名： ） 2. ☒ 基礎研究 ☐ 応用研究 ☐ 開発研究 3. ☐ 重点研究 ☐ 推奨研究 ☐ I S O 推進研究
福岡県総合計画	大項目：環境と調和し、快適に暮らせること 中項目：低炭素社会・循環型社会をつくる 小項目：低炭素社会・循環型社会の推進
福岡県環境総合ビジョン（第三次福岡県環境総合基本計画）※環境関係のみ	柱：健康で快適に暮らせる生活環境の確保 テーマ：廃棄物の適正処理や環境保全への各種対策の実施と情報の提供
キ ー ワ ー ド	①最終処分場 ②浸透水 ③ 有機物指標 ④ 硝化細菌 ⑤ 水処理
研 究 の 概 要	
1) 調査研究の目的及び必要性 COD及びBODは、最終処分場の維持管理において基準が規定されている有機物指標である。しかし、BODのみ特異的に高値を示すことがあり、その要因として硝化細菌由来のN-BODによる影響が疑われている。維持管理に用いる測定法ではN-BODを含むBODの値を採用するため、このBODだけでは有機物量の実状と異なる評価をしてしまう可能性がある。そこで、本研究では、最終処分場関連水の水質特性調査、N-BODの変動要因の解明、硝化細菌の影響を迅速に評価する測定方法の検討を行った。本研究は、平成26年度保健環境研究所新規研究課題に関する提案として、環境部監視指導課から挙げられた内容に応じたものであり、最終処分場の管理手法や行政から事業者への指導において有用な情報を提供できると考えている。	
2) 調査研究の概要 1) 最終処分場関連水の水質特性評価 福岡県内の最終処分場関連水を対象として、各種有機物指標を測定し比較解析することにより、それらの特性を調査した。また、水質項目を複合的に解析し、最終処分場関連水の水質特性を評価した。 2) N-BODが高くなる要因の解析 硝化反応による影響が認められた安定型最終処分場の浸透水について、N-BODの経時的な変化を調査し、他の水質項目との関係や環境要因による影響を解析した。硝化反応阻害剤及び硝化反応基質を用いた薬剤添加試験を実施した。 3) 硝化細菌による影響の迅速測定法の検討 硝化細菌によるBODへの影響を迅速かつ正確に評価する方法として、浸透水における硝化細菌由来の遺伝子発現量を利用した測定法を検討した。培養法では1ヶ月以上、N-BODでは5日間かかる検査時間の短縮を試みた。	
3) 調査研究の達成度及び得られた成果（できるだけ数値化してください。） 〇福岡県内の産業廃棄物最終処分場関連水（124検体）を対象として有機物指標を比較し、CODとTOCに良好な直線関係が認められたことから、CODは有機物量を良好に反映していることを明らかにした。一方、BODはTOCとの関係が不明瞭であり、一部の安定型最終処分場の浸透水において硝化細菌の影響が顕在化していることを明らかにした。 〇有機物指標と無機イオン成分の水質測定データを複合的に解析することで、最終処分場関連水を7つのグループに類型化し、レーダーチャートを作製することで視覚的に水質を捉えられる水質特性評価手法を検討・開発した。 〇硝化反応が認められた安定型最終処分場のばっ気処理後の浸透水について、毎月水質検査を実施し、N-BODと他の水質項目の相関解析を実施した。その結果、NH ₄ -Nと有意な正の相関関係が認められた。 〇硝化反応は、NH ₄ -NからNO ₂ -N・NO ₃ -Nに酸化する好気的な反応である。NH ₄ -Nの割合が高い時期ほどN-BODが高くなっていたことから、ばっ気処理によって窒素成分の構成割合が変化し、N-BODに影響していると考えられた。また、NH ₄ -Nと降水量に有意な正の相関関係が認められており、降水量がばっ気処理の効果に影響し、間接的にN-BODに影響を与えていることが推察された。 〇硝化反応の基質となるNH ₄ -Nの添加試験を実施したところ、ばっ気処理前の浸透水では影響が認められなかったが、ばっ気処理後の浸透水ではNH ₄ -N添加によるN-BODの増加影響が認められた。ばっ気処理前後では、硝化細菌の数または硝化細菌の活性が異なっていると考えられる。そのため、NH ₄ -N及び硝化細菌の2つの条件が複合され、N-BODの変動に関与しているものと推察された。	

○浸透水をろ過したろ紙から微生物の遺伝子を抽出し、real-time PCR法による硝化細菌由来の遺伝子発現量の測定法を検討した。その結果、浸透水から遺伝子を抽出することができ、硝化細菌の16S rRNAを測定することができた。アンモニア酸化酵素の測定条件は検討中である。

4) 県民の健康の保持又は環境の保全への貢献

- 福岡県内の最終処分場関連水の包括的な調査をおこなうことで、硝化細菌の影響が疑われる安定型最終処分場を明らかにすることができた。
- 最終処分場関連水の水質の特徴を視覚的に把握する評価手法を提案した。
- 安定型最終処分場の管理において、BODを評価する際はN-BODの影響の有無を判断すべきこと、また、NH₄-Nや降水量に注意が必要であることについて情報提供するものである。

5) 調査研究結果の独創性、新規性

- 有機物指標及び無機イオン成分を用いて最終処分場関連水の水質特性評価手法を検討し、類型化及びレーダーチャートの作製による水質の可視化を行った。
- 本研究により、これまで未解明であった複数の安定型最終処分場で硝化細菌の影響が顕在化していることを明らかにし、水質の相関解析からN-BODの変動要因としてNH₄-N と降水量の関与を示唆することができた。
- 迅速かつ正確に硝化細菌の影響を把握するため、浸透水からの遺伝子抽出と遺伝子発現量の測定を試みたところ、硝化細菌を標的とした遺伝子発現量解析の可能性が示唆された。

6) 成果の活用状況（技術移転・活用の可能性）

- 本研究で検討した水質特性の評価手法は、有機物指標及び無機イオン成分といった一般的な水質項目を利用していることから、他の検査機関や研究機関でも容易に適用可能である。
- 本研究により、安定型最終処分場の浸透水において硝化細菌によるN-BODの影響が存在していることを明らかにした。これは、他地域の安定型最終処分場においても参考情報となり得る。研究成果を発表した際、「最終処分場の検体でCODは低いBODが高くなる事象があり、これまでN-BODに着目していなかったが、今後測定してみたい」とのコメントもいただいた。
- 硝化細菌の遺伝子発現量測定法が確立できれば、これまで5日間かかっていたBOD測定を待たず、即日で硝化細菌の影響を把握することが可能になると考えられる。また、NH₄-Nの測定と併用することにより、正確性を増した活用が可能である。

調査研究終了報告書

研究分野：環境

調 査 研 究 名	有害化学物質の迅速スクリーニング法の開発
研究者名（所属） ※ 〇印：研究代表者	〇宮脇崇、酒谷圭一、塚谷裕子、高橋浩司、竹中重幸（計測技術課）飛石和大（廃棄物課）、柏原学、平川周作、石橋融子（水質課）
本庁関係部・課	環境部 環境保全課
調 査 研 究 期 間	平成 25年度 — 28年度 （4年間）
調 査 研 究 種 目	1. ☐ 行政研究 ☒ 課題研究 ☐ 共同研究（共同機関名： ） ☒ 受託研究（委託機関名：環境省 [環境総合研究推進費]） 2. ☐ 基礎研究 ☐ 応用研究 ☒ 開発研究 3. ☐ 重点研究 ☐ 推奨研究 ☐ ISO推進研究
福岡県総合計画	大項目：環境と調和し、快適に暮らせること 中項目：快適な生活環境をつくる 小項目：快適な生活環境の形成
福岡県環境総合ビジョン（第三次福岡県環境総合基本計画）※環境関係のみ	柱：健康で快適に暮らせる生活環境の確保 テーマ：測定・監視体制の構築と状況の把握、情報の提供
キ ー ワ ー ド	① 危機管理 ②緊急時環境調査 ③スクリーニング ④土壌汚染
研 究 の 概 要	
1）調査研究の目的及び必要性 化学物質による事故や災害時等の緊急時には、直接的な人命被害や物的破壊のみならず、有害物質の拡散や災害廃棄物の発生など、中長期的に人の健康や環境に影響を与える様々な課題が発生し、定常時とは異なる対応が求められる。しかし、現在の環境法体系は定常時を前提として構築されており、非定常時に対応した環境測定技術を準備しなければならない。そこで本研究では、緊急時環境調査にも適用可能な分析法の開発を目的とした。	
2）調査研究の概要 本研究では、以下の内容について分析法開発及び実態調査を行った。 【分析法開発】 ①LC-TOFMSを測定系としたスクリーニング法、②ICP-MSを測定系としたスクリーニング法、③有害化学物質の包括的スクリーニング法（有機・無機物質の同時分析） 【実態調査】 ①東日本大震災のガレキ集積場跡地の土壌汚染調査、②熊本地震の環境水調査	
3）調査研究の達成度及び得られた成果（できるだけ数値化してください。） 本調査研究は、概ね目標値を達成することができた。ただし、一部の環境基準物質では回収率が50%未満であり、今後その改善が必要である。特に成果としてあげられるのは、有機・無機物質のスクリーニング法の開発である。これまでに類似研究がほとんどなく、約1800物質の有無を1～2日間で判別することができる。また、前処理に要する作業時間はで3～4時間であり、従来2～3日間ほど要していた作業を大幅に短縮化することができた。	
4）県民の健康の保持又は環境の保全への貢献 開発した分析法は化学物質を迅速かつ網羅的に計測する手法であり、環境基準物質だけでなく、他の多くの化学物質を検知することができる。事故や災害時等の緊急時においては、定常時には想定されない化学物質による汚染の可能性もあるため、これまでの分析法では対応が困難である。ゆえに測定対象を限定しない本法は、環境保全だけでなく、“安全で安心な県民生活の確保”に大きく貢献できるものと期待される。	
5）調査研究結果の独創性、新規性 開発法は、マイクロ波抽出による迅速前処理とデータベースによる網羅的測定を組み合わせた独自の手法である。その特徴は、 <u>各分析工程で水を使用した点</u> にある。水は、親水性物質を抽出する際は溶媒として働き、マイクロ波抽出の際は熱源となるため、疎水性物質の抽出にも利用できる。また、重金属類の抽出では、塩酸を添加する際にもそのまま溶媒として使うことができる。水を分析に使用することで二相系溶媒による抽出も可能になり、ろ過・脱水・濃縮・溶媒置換等の操作をカットし、作業工数を大幅に削減した。	
6）成果の活用状況（技術移転・活用の可能性） 本分析技術は、東日本大震災後の汚染実態調査（65検体）や熊本地震後の環境調査（32検体）等で活用されている。また、大学機関や他の地方環境研究所では、本技術の一部を導入して環境調査等に適用している例もある。本技術は特許を取得しており、今後の技術移転が見込まれる。	

調査研究終了報告書

研究分野：環境

調 査 研 究 名	福岡県生物多様性戦略推進のための生物多様性指標の開発
研究者名（所属） ※ 〇印：研究代表者	〇中島 淳、石間妙子、須田隆一、金子洋平（環境生物課）
本庁関係部・課	環境部・自然環境課
調 査 研 究 期 間	平成26年度 ～ 28年度 （3年間）
調 査 研 究 種 目	1. ☒ 行政研究 ☐ 課題研究 ☐ 共同研究（共同機関名： ） ☐ 受託研究（委託機関名： ） 2. ☐ 基礎研究 ☒ 応用研究 ☐ 開発研究 3. ☐ 重点研究 ☐ 推奨研究 ☐ I S O推進研究
福岡県総合計画	大項目：環境と調和し、快適に暮らせること 中項目：豊かな自然環境を守る 小項目：自然環境の保全
福岡県環境総合ビジョン（第三次福岡県環境総合基本計画）※環境関係のみ	柱：自然共生社会の構築 テーマ：生物多様性の保全・再生のための総合的な対策の推進
キ ー ワ ー ド	①生物多様性 ②生物多様性評価 ③保全 ④環境健全度評価 ⑤環境教育
研 究 の 概 要	
1）調査研究の目的及び必要性 福岡県では平成24年度に生物多様性地域戦略を策定し、平成25年度からは行動計画の実施に入っている。その中で都市や河川、ため池、水田、森林などの生物多様性の状況がかわる指標を開発し、市町村やNPO等が行う生物多様性評価や取組の進捗状況の把握等を支援し、保全の取組を促進することが明記されている。そこで本研究課題では基礎的データ収集に基づいて、生物多様性評価を行うための新たな生物指標の開発を目的とする。	
2）調査研究の概要 平成26年度～27年度は県内の自然環境の特性と特に指標化が可能な環境や生物種の検討を行い、候補として想定した干潟、ため池、都市、里山、海岸の5つの環境のうち、ため池・水路等の止水性湿地を対象とした指標の作成を決定した。平成27年度後半から最終年度にかけてはため池を中心とした止水性湿地30地点において、水生昆虫類を中心とした生物相の調査を行った。あわせて聞き取り情報により県内31地点の水生昆虫相の情報を得た。これら61地点のため池を中心とした止水性湿地における水生昆虫（コウチュウ目、カメムシ目）の分布データに基づいて、平均スコア法による指標を作成し、その実用性について検討した。	
3）調査研究の達成度及び得られた成果（できるだけ数値化してください。） 種組成のみから簡易に止水性湿地の生物多様性を評価可能な平均スコア法による評価手法を開発することができた。しかしながら、目標としていた学術誌への投稿には至らなかった。引き続きデータ解析を進め早急に論文化を行うとともに、新規研究課題「県民参加型の生物多様性調査マニュアルの開発」に引き継いで実用化を目指していきたい。	
4）県民の健康の保持又は環境の保全への貢献 得られた指標を論文化後、早急に実用化を目指して努力したい。一方、本研究により県内61地点における止水性湿地における水生昆虫相のデータセットを得ることができ、この中には希少種の分布情報も多く含まれる。これらのデータについては、今後、福岡県生物多様性地理情報システムへの登録を行い、実際の生物多様性保全業務に活用予定である。	
5）調査研究結果の独創性、新規性 止水性水生昆虫を用いたスコア法はこれまで類例がないが、学術誌掲載レベルまでにはデータ精度・解析法等課題もある。	
6）成果の活用状況（技術移転・活用の可能性） 止水性湿地における観察会は毎年継続して行われており、本指標が実用レベルまで完成すれば活用は可能である。早急な完成を目指すとともに、新規研究課題に引き継いで観察会用資料作成を進めたい。	

調査研究終了報告書

研究分野：環境

調 査 研 究 名	福岡県における侵略的外来種の定着状況把握とその影響評価
研究者名（所属） ※ ○印：研究代表者	○金子洋平、中島 淳、石間妙子、須田隆一（環境生物課）
本庁関係部・課	環境部・自然環境課
調 査 研 究 期 間	平成 26 年度 － 28 年度 （3年間）
調 査 研 究 種 目	1. ■行政研究 □課題研究 □共同研究（共同機関名： ） □受託研究（委託機関名： ） 2. ■基礎研究 □応用研究 □開発研究 3. □重点研究 □推奨研究 □I S O推進研究
福岡県総合計画	大項目：環境と調和し、快適に暮らせること 中項目：豊かな自然環境を守る 小項目：自然環境の保全
福岡県環境総合ビジョン（第三次福岡県環境総合基本計画）※環境関係のみ	柱 ：自然共生社会の構築 テーマ：生物多様性の保全・再生のための総合的な対策の推進
キ ー ワード	①侵略的外来種 ②外来種対策 ③国内由来の外來種 ④生物多様性 ⑤福岡県

研 究 の 概 要

1) 調査研究の目的及び必要性

外来種による生態系等への影響は、生物多様性にとって重大な脅威の一つとして位置づけられている。このような外来種問題に対応するために、外来生物法が2005年に施行され、特定外来生物（現在、132種類が指定）については運搬・飼養等の原則禁止、防除の推進などの対策が取られている。しかし、特定外来生物には指定されていないが、侵略性が高く生態系等への被害を及ぼす、または及ぼすおそれのある外来種が本県においても多く生息・生育しており、それらの現状把握と影響評価が生物多様性保全の観点から必要となっている。そこで、本研究では、本県の地域性をふまえ、特定外来生物の指定種に加え、法的には規制されていない侵略的外来種を含めた福岡県侵略的外来種リストを作成する。本リストは、抽出された外来種が生態系等に与える影響を評価し、カテゴリー区分することで優先的に対策が必要な種を整理したものであり、多様な主体による計画的な防除等の外来種対策に資するものである。

2) 調査研究の概要

1) 定着状況の把握：江戸時代末期以降（1800年以降と定義）に県内に定着した外来種を対象とし、現地調査及び文献調査により、県内に定着している全外来種を明らかにした。また、一部の特定外来生物等の分布状況を明らかにした。2) 侵略性基準の検討：被害の甚大性及び分布拡散の可能性等をスコア化し、スコア値から侵略的外来種を選定する手法を開発した。3) カテゴリー区分の検討：対策の必要性、優先度及び実行可能性・実効性について評価し、カテゴリー区分することで、対策の優先度を示した。4) 侵略的外来種リストの作成：これまでの調査結果を取りまとめ、本県の侵略的外来種について解説した「福岡県侵略的外来種リスト2017（案）」を作成した。

3) 調査研究の達成度及び得られた成果（できるだけ数値化してください。）

1) 定着状況の把握：県内に定着している全外来種数は、哺乳類2種、鳥類5種、爬虫類1種、両生類1種、魚類21種、昆虫類141種、貝類21種、甲殻類その他29種、クモ形類4種、植物409種の計634種であった。また、注目すべき外来種として16種を選定し、分布図を作成した。2) 侵略性基準の検討：動物、植物、各13項目から侵略性をスコア化する手法を開発した。その結果、福岡県の侵略的外来種として、哺乳類2種、鳥類5種、爬虫類1種、両生類1種、魚類16種、昆虫類47種、貝類12種、甲殻類その他11種、クモ形類2種、植物178種の計275種が選定された。3) カテゴリー区分の検討：対策の必要性、優先度及び実行可能性・実効性を評価し、重点対策外来種20種（動物10種、植物10種）、要対策外来種136種（動物49種、植物87種）、要注意外来種119種（動物38種、植物81種）を選定した。また、今後県内に定着する可能性が高い侵略的外来種として、定着予防外来種28種（動物20種、植物8種）を選定した。4) 侵略的外来種リストの作成：侵略的外来種についての概説及び侵略的外来種リストの作成手順、リスト選定種における解説、一部の特定外来生物等の分布状況、福岡県全外来種の侵略性評価結果及び参考文献等について、総合的に記述するとともに、侵略的外来種の写真を含めた「福岡県侵略的外来種リスト2017（案）」を作成した。

4) 県民の健康の保持又は環境の保全への貢献

本リストは、本県の地域性や実情を踏まえ、対策の必要性や優先度を示した侵略的外来種リストであり、リストが公表された際には、県民の外来種問題への関心や理解を高め、防除意識の向上が図られることが期待される。また、関係機関や各種団体等が防除対策を行う上での基礎資料、また普及啓発資料として効果的な活用が図られることが期待され、結果として外来種対策が推進される。

5) 調査研究結果の独創性、新規性

本リストは、本県に定着している侵略的外来種を明確化した初めてのリストである。リスト選定種に詳細な解説を記述している点においても、全国的に類例が少なく、特筆すべき点である。侵略的外来種の選定に際しては、侵略性をスコア化する評価手法を用いた全国初の事例である。この評価結果は冊子（案）巻末に記載しており、侵略的外来種に選定されなかった種についても、侵略性に係る生態的な情報を提供できるとともに、新たな知見が確認された場合には、評価の見直しが容易にできるという利点がある。

6) 成果の活用状況（技術移転・活用の可能性）

現在（平成29年度）福岡県生物多様性戦略の改訂作業が進められており、外来種対策に係る戦略策定時の資料として活用される。また、各市町村において、生物多様性戦略や外来種防除計画の策定時の資料として活用されることが期待される。

なお、侵略的外来種への対策を推進するにあたり、防除手法が開発されていない種においては、効果的な防除手法の開発が求められている。そのため、本研究成果を踏まえた新規調査研究課題「侵略的外来種の防除手法に関する研究」を平成29年度～31年度の3年間の予定で実施する。

