

ISSN 1346-0501

# 浜松市保健環境研究所年報

平成25年度

No. 24 2013



# 目 次

## I 概要

1	沿 革	1
2	施 設	1
3	組 織	1
4	予 算 額	2
5	主要機器の保有状況	3
6	機器のリース状況	4

## II 試験検査業務

1	試験検査実施検体数	5
2	試験検査実施項目数	6
3	微生物検査グループ検査実施数	7
4	食品分析グループ検査実施数	9
5	大気測定グループ検査実施数	10
6	水質測定グループ検査実施数	11
7	微生物検査の概要	13
8	食品分析の概要	20
9	大気測定の概要	25
10	水質測定の概要	29

## III 調査研究業務

1	市中肺炎患者から分離された肺炎球菌の血清型について	32
2	ヒスタミン産生菌培養検査法の検討	34
3	LC-EMA-qPCR法によるレジオネラ属菌スクリーニング検査の検討	35
4	環境下水における細菌検出状況	36
5	A群ロタウイルスのRT-PCR検査について	37
6	浜松市におけるデングウイルス検出事例	39
7	環境水を試料としたポリオウイルス等の調査について	41
8	LC-MS/MSを用いた不揮発性アミンの一斉分析法の検討	44
9	ICP-MSを用いた清涼飲料水中の金属の分析法の検討	46
10	ICP-MSを用いた清涼飲料水中のスズの分析法の検討	48
11	$\alpha$ -ソラニン及び $\alpha$ -チャコニンの分析法の検討	50
12	酸価、過酸化物価測定法の検討	53
13	着色料一斉分析法の検討	55
14	環境学習プログラムへ参画するにあたっての留意事項	59
15	佐鳴湖における植物プランクトンの季節変動	62
16	「藻類微弱発光阻害試験」を用いた公共水域の化学物質による影響について	66
17	浜松市内の事業場排水を用いた「藻類微弱発光阻害試験」	68
18	ノニルフェノールの分析方法	70
19	塩化物イオン測定業務の改善について	75

20	平成25年度光化学オキシダント監視強化期間の結果について .....	77
21	平成25年度微小粒子状物質成分分析結果報告 .....	79

# I 概 要

# I 概要

## 1 沿革

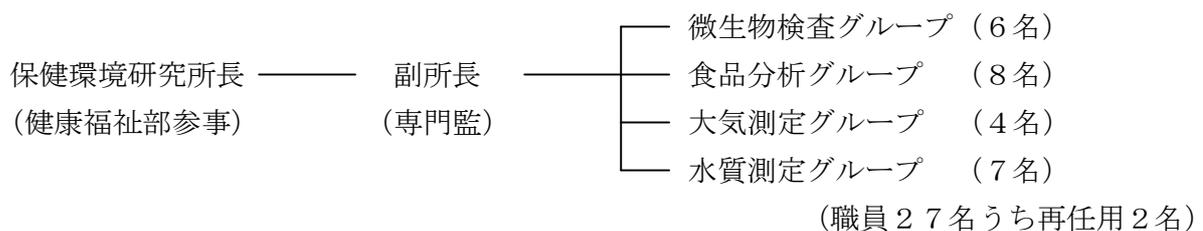
昭和49年 4月	浜松市高町に浜松市保健所試験検査課として発足（職員14名）
昭和50年10月	浜松市鴨江二丁目の浜松市保健所新庁舎に移転
平成 2年 4月	試験検査課が衛生試験所に名称変更（職員12名）
平成10年 4月	環境保全課の測定業務を衛生試験所に統合（職員20名）
平成11年 3月	浜松市上西町の新庁舎に移転
平成11年 4月	衛生試験所が保健環境研究所に名称変更（職員23名）

## 2 施設

(1) 所在地	浜松市東区上西町939番地の2
(2) 建物構造	鉄筋コンクリート4階建
(3) 敷地面積	2,999㎡
(4) 本体建築面積	866㎡
(5) 本体延床面積	3,220㎡
(6) 竣工	平成11年2月（平成18年7月増築）

## 3 組織

### (1) 組織



※平成26年7月1日現在

### (2) 所掌事務

- ア 感染症及び食中毒に係る微生物検査及び寄生虫検査に関すること
- イ 食品、飲料水等に係る微生物検査及び化学物質検査に関すること
- ウ 大気汚染、水質汚濁、悪臭、騒音、振動、廃棄物等に係る測定及び検査に関すること
- エ その他生活衛生及び環境対策上必要な検査及び調査研究に関すること

#### 4 予算額（当初）

(1) 歳入 (単位：円)

節	25年度	26年度
行政財産使用料	9,000	9,000
感染症予防事業費負担金	848,000	2,101,000
疾病予防対策事業費等補助金	2,705,000	2,827,000
感染症発生動向調査事業費負担金	1,376,000	1,945,000
新幹線鉄道騒音測定業務委託金	0	0
計	4,938,000	6,882,000

(2) 歳出

【保健衛生検査費】 (単位：円)

節	25年度	26年度
旅費	1,410,000	1,410,000
需用費	44,241,000	42,886,000
役務費	6,763,000	5,978,000
委託料	18,701,000	18,689,000
使用料及び賃借料	36,509,000	42,360,000
工事請負費	800,000	1,281,000
備品購入費	9,500,000	9,950,000
負担金補助及び交付金	250,000	237,000
計	118,174,000	122,791,000

【環境監視費】 (単位：円)

節	25年度	26年度
報償費	100,000	94,000
旅費	0	0
需用費	15,668,000	17,127,000
役務費	1,990,000	1,610,000
委託料	45,005,000	42,131,000
使用料及び賃借料	6,704,000	6,895,000
備品購入費	5,000,000	0
計	74,467,000	67,857,000

## 5 主要機器の保有状況

### (1) 微生物検査グループ

購入年度	品名	型式	台数
H 2 2	自動分注希釈装置	エルメックス DT-cube	1
H 2 1	遺伝子抽出装置	キアゲン 9001292	1
	遺伝子増幅装置	タカラバイオ TP600	1
	遺伝子増幅定量装置	バイオ・ラット CFX96	1
	DNA シークエンサー	ベックマン・コールター GenomeLab GeXP	1
H 2 0	遺伝子増幅装置	ABI GeneAmp PCR システム 9700	1
	振とう器	富士ビオ AutoBlot3000	1
H 1 5	遺伝子増幅定量装置	ABI PRISM 7000	1
	電気泳動パターン解析装置	バイオ・ラット GelDoc XR	1
H 1 2	位相差・微分干渉顕微鏡	カルツァイス Axiophot2	1
H 1 1	透過型電子顕微鏡	日立 H7550	1

### (2) 食品分析グループ

購入年度	品名	型式	台数
H 2 1	GC/FID	島津 GC-2014	1
H 2 0	GC/FPD	アジレント 7890	1
H 1 8	GPC	島津 LC-20	1
H 1 3	高速冷却遠心機	日立 CR21G	1
H 1 1	GC/NPD	アジレント 6890	1
H 1 0	HPLC	ジャスコ GULIVER	1
H 8	HPLC	島津 LC-10A ポストカラムシステム	1
H 7	水分活性測定装置	アクセル TH-200	2
H 6	GC/ECD	島津 GC-17A	2
H 4	GMサーベイメーター	ALOKA GS-121	1

## (3) 大気測定グループ

購入年度	品名	型式	台数
H 2 5	マイクロウェーブ分解装置	パーキンエルマー Multiwave3000	1
H 1 9	キャニスター自動洗浄装置	GLサイエンス CCS-3Au	1
H 1 4	マイクロウェーブ分解装置	O・I・Analytical 7295	1
H 1 1	水銀測定装置	日本インスツルメンツ WA-3	1
H 1 1	環境騒音測定システム	リオン XT-10S	2
H 1 0	酸性雨測定装置	DKK DRM-200E	1
H 7	顕微鏡	オリンパス 50-33-PHD	1
	燃焼式硫黄分試験器	堀場 SLFA-1800H	1

## (4) 水質測定グループ

購入年度	品名	型式	台数
H 1 9	分光光度計	島津 UV-2450	1
H 1 2	中分解能質量分析計	日本電子 JMS-GCmate II	1
H 1 1	定温乾燥機	VOS-451SD	1
	超純水製造装置	日本ミホア EQG (VOC) -3S	1
	固相抽出装置	GLサイエンス ASPE-599	1
H 1 0	GC/MS	HP 6890/5973 MSD	1
	イオンクロマトグラフ	ダイネクス DX-500	1
H 9	全有機炭素計	島津 TOC-5000A	1
H 6	水銀分解装置	日本インスツルメンツ RA-2	1

## 6 機器のリース状況

開始年度	品名	型式	台数
H 2 5	GC/MS	日本電子 JMS-Q1050GC	1
	GC/MS/MS	バルカー 456GC / SCIION TQ	1
H 2 4	ガスクロマトグラフ(ECD)	島津 GC-2010 Plus	2
H 2 3	ICP-MS	パーキンエルマー NexION 300X	1
	HPLC	アジレント 1260/1290	2
	ゲルマニウム半導体検出器付 核種分析装置	キャンベラ GC2020	1
	LC/MS	ウォーターズ TQD	1
H 2 1	UPLC	ウォーターズ ACQUITY	1
	HPLC	ウォーターズ alliance	1
H 2 0	大気濃縮導入装置付GC/MS	Entech 7100A / アジレント 5975C	1
H 1 9	LC/MS/MS	サーモ Quantum Access	1

## Ⅱ 試験検査業務

## II 試験検査業務

### 1 試験検査実施検体数

(平成25年度)

検体区分	微生物検査		食品分析		大気測定		水質測定		合計	
	経常業務	臨時業務	経常業務	臨時業務	経常業務	臨時業務	経常業務	臨時業務		
感染症	425								425	
血液	4,032								4,032	
食品等	魚介類及びその加工品	22	8	59	3				92	
	冷凍食品			1					1	
	肉卵類及びその加工品	50	2	83					135	
	乳及び乳製品	21		32					53	
	穀類及びその加工品			9					9	
	豆類及びその加工品	9		15					24	
	果実類			32					32	
	野菜			234					234	
	種実類								0	
	茶及びホップ								0	
	野菜・果実加工品								0	
	菓子類	10		10					20	
	調味料			2					2	
	飲料	10		19					29	
	油脂食品								0	
	食品添加物								0	
	その他の食品	64		24	1				89	
	器具及び容器包装			9					9	
	おもちゃ								0	
	洗浄剤								0	
食中毒等		872						872		
その他								0		
栄養関係検査								0		
医薬品等								0		
家庭用品			18					18		
環境等	水道原水								0	
	飲用水								0	
	利用水等	101					55	2	158	
	廃棄物関係検査	14				18	55	8	95	
	環境・公害関係検査	27				318	29	900	428	1,702
	放射能（食品除く）								0	
温泉泉質検査								0		
その他の検査	15	6						33	54	
外部精度管理	3		4				2	12	21	
計	4,803	888	551	4	336	29	1,012	483	8,106	
合計		5,691		555		365		1,495	8,106	

## 2 試験検査実施項目数

(平成25年度)

項目区分	微生物検査		食品分析		大気測定		水質測定		合計	
	経常業務	臨時業務	経常業務	臨時業務	経常業務	臨時業務	経常業務	臨時業務		
感染症	1,341								1,341	
血液	5,723								5,723	
食品等	魚介類及びその加工品	98	24	427	6				555	
	冷凍食品			3					3	
	肉卵類及びその加工品	155	2	1,194					1,351	
	乳及び乳製品	61		547					608	
	穀類及びその加工品			35					35	
	豆類及びその加工品	63		41					104	
	果実類			2,041					2,041	
	野菜			7,724					7,724	
	種実類								0	
	茶及びホップ								0	
	野菜・果実加工品								0	
	菓子類	40		80					120	
	調味料			14					14	
	飲料	10		145					155	
	油脂食品								0	
	食品添加物								0	
	その他の食品	291		108	3				402	
	器具及び容器包装			24					24	
	おもちゃ								0	
	洗浄剤								0	
食中毒等		10,590						10,590		
その他								0		
栄養関係検査								0		
医薬品等								0		
家庭用品			38					38		
環境等	水道原水								0	
	飲用水								0	
	利用水等	216					150	4	370	
	廃棄物関係検査	14				18	1,004	14	1,050	
	環境・公害関係検査	27				8,460	773	10,906	1,473	21,639
	放射能（食品除く）								0	
温泉泉質検査								0		
その他の検査	75	15						117	207	
外部精度管理	3		19				5	12	39	
計	8,117	10,631	12,440	9	8,478	773	12,065	1,620	54,133	
合計		18,748		12,449		9,251		13,685	54,133	

### 3 微生物検査グループ検査実施数

#### (1) 経常業務

検 体 数	感 染 症	血 液	食 品 等 検 査							環 境 等 検 査			そ の 他 の 検 査	外 部 精 度 管 理	計
			そ の 魚 の 介 加 類 工 及 び 品	そ の 肉 の 卵 加 類 工 及 び 品	乳 及 品 乳 製 品	そ の 豆 の 類 及 工 品 及 び 品	菓 子 類	飲 料	食 料	そ の 他 の 品	利 用 水 等	閑 廃 係 検 査 物			
検 体 数	425	4,032	22	50	21	9	10	10	64	101	14	27	15	3	4,803
一 般 細 菌										20			15	1	36
細 菌 数 ( 標 準 平 板 培 養 法 )			8		16	9	10		29						72
細 菌 数 ( 直 接 個 体 鏡 顕 法 )					2										2
大 腸 菌 群 数			10	2	19	9	10	10	26	58			15	1	160
大 腸 菌 群 ( E.coli )			4	10		9			37	20	14	27			80
乳 酸 菌 数					3										3
糞 便 性 大 腸 菌 群										37					37
腸 内 細 菌 科 菌 群				7											7
腸 球 菌															0
緑 膿 菌															0
赤 痢 菌															0
チ フ ス 菌	3														3
パ ラ チ フ ス A 菌															0
サ ル モ ネ ラ			10	42			10		24						86
コ レ ラ															0
腸 炎 ビ ブ リ オ			14						10						24
病 原 ビ ブ リ オ															0
病 原 大 腸 菌															0
腸 管 出 血 性 大 腸 菌 O157									3	37					40
腸 管 出 血 性 大 腸 菌 ( O157 を 含 む )	20		10	31	7	9			34						111
黄 色 ブ ド ウ 球 菌			10	10	7	9	10		24				15	1	86
カ ン ビ ロ バ ク タ ー				38					24						62
セ レ ウ ス 菌					7	9			24						40
ウ ェ ル シ ュ 菌						9			24						33
ク ロ ス ト リ ジ ウ ム 属 菌															0
リ ス テ リ ア				10											10
百 日 咳 菌	21														21
細 菌 性 髄 膜 炎															0
溶 血 性 連 鎖 球 菌	1														1
レ ジ オ ネ ラ										44					44
麻 疹	35														35
風 疹															0
A 型 肝 炎 ウ イ ル ス			8												8
E 型 肝 炎 ウ イ ル ス				5											5
感 染 性 胃 腸 炎 ( ノ ロ ウ イ ル ス を 含 む )	320		8												328
イ ン フ ル エ ン ザ	573														573
無 菌 性 髄 膜 炎	88														88
急 性 脳 炎 ( 日 本 脳 炎 を 除 く )	30														30
咽 頭 結 膜 熱	134														134
手 足 口 病	34														34
ヘ ル パ ン ギ ー ナ	60														60
流 行 性 耳 下 腺 炎															0
R S ウ イ ル ス	6														6
ウ イ ル ス そ の 他	16														16
梅 反		848													848
R P R テ ス ト		848													848
HIV 抗 体 検 査		992													992
B 型 肝 炎		857													857
C 型 肝 炎		559													559
H C V 抗 体		61													61
H C V R N A		779													779
ク ラ ミ ジ ア		779													779
I g A		779													779
I g G		779													779
官 能 試 験													15		15
変 色 異 臭													15		15
生 物 試 験			8												8
下 痢 性 貝 毒 試 験			8												8
麻 痺 性 貝 毒 試 験			8												8
組 換 え DNA 技 術 応 用 食 品 検 査															0
ア レ ル ギ ー 物 質 検 査									12						12
恒 温 試 験									10						10
細 菌 試 験									10						10
項 目 数 計	1,341	5,723	98	155	61	63	40	10	291	216	14	27	75	3	8,117

## (2) 臨時業務

		食 品	食 中 毒 等	そ の 他	計
検 体 数		10	872	6	888
感 染 症 ・ 食 中 毒 菌 等	赤 痢 菌		382		382
	チ フ ス 菌		817		817
	パ ラ チ フ ス A 菌		817		817
	サ ル モ ネ ラ		817		817
	コ レ ラ		603		603
	病 原 ビ ブ リ オ		603		603
	腸 炎 ビ ブ リ オ		603		603
	病 原 大 腸 菌		603		603
	腸管出血性大腸菌0157		817		817
	黄 色 ブ ド ウ 球 菌		603		603
	エ ロ モ ナ ス		603		603
	プ レ シ オ モ ナ ス		603		603
	ウ エ ル シ ュ 菌		603		603
	セ レ ウ ス		603		603
	エ ル シ ニ ア		168		168
	カンピロバクター		610		610
	ノ ロ ウ イ ル ス		708		708
	そ の 他 の ウ イ ル ス		0		0
	粘 液 胞 子 虫		27		27
そ の 他	26	0	15	41	
項 目 数 計		26	10,590	15	10,631

#### 4 食品分析グループ検査実施数

##### (1) 経常業務

	食 品 等 検 査															計	
	そ 魚 の 介 加 類 工 及 品 び	冷 凍 食 品	そ 肉 の 卵 加 類 工 及 品 び	乳 及 び 乳 製 品	そ 穀 の 類 加 工 品 び	そ 豆 の 類 加 工 品 び	果 実 類	野 菜	加 野 菜 工 ・ 果 実 類	菓 子 類	調 味 料	飲 料	そ の 他 の 食 品	容 器 具 包 装 び	家 庭 用 品		外 部 精 度 管 理
検 体 数	59	1	83	32	9	15	32	234	0	10	2	19	24	9	18	4	551
食品添加物	保 存 料	30		10		1				4	1	34				1	81
	発 色 剤			10													10
	漂 白 剤	10												4			17
	酸 化 防 止 剤					4				16	4	16					40
	甘 味 料	10		10	24	6				60	6	60					176
	品 質 保 持 剤																0
	合 成 着 色 料 (許 可)															11	11
	防 か び 剤							20									20
乳 成 分 規 格				32													32
残 留 動 物 用 医 薬 品	235		1,045	336												1	1,617
残 留 農 薬			65	115			1,970	7,130							5	6	9,291
P C B	5			4													9
無 機 ・ 有 機 金 属	20																20
水 分 活 性																	0
シ ア ン 化 合 物						6											6
医 薬 品 成 分													51				51
カ ビ 毒						20											20
材 質 試 験														10			10
溶 出 試 験														10			10
容 器 試 験															25		25
ホ ル ム ア ル デ ヒ ド															8		8
ト リ ク レ ン 類 ・ マ ノ ール																	0
放 射 能	117	3	54	36	24	12	51	594			3	15	57				966
そ の 他												20					20
項 目 数 計	427	3	1,194	547	35	41	2,041	7,724	0	80	14	145	108	24	38	19	12,440

##### (2) 臨時業務

	食 品 等 検 査															計	
	そ 魚 の 介 加 類 工 及 品 び	冷 凍 食 品	そ 肉 の 卵 加 類 工 及 品 び	乳 及 び 乳 製 品	そ 穀 の 類 加 工 品 び	そ 豆 の 類 加 工 品 び	果 実 類	野 菜	茶 及 び ホ ッ プ	加 野 菜 工 ・ 果 実 類	調 味 料	飲 料	そ の 他 の 食 品	容 器 具 包 装 び	そ の 他		家 庭 用 品
検 体 数	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4
農 薬																	0
動 物 用 医 薬 品																	0
食 品 添 加 物	3																3
医 薬 品 成 分																	0
そ の 他													6				6
項 目 数 計	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	9

5 大気測定グループ検査実施数

検 体 数	経常業務													小 計	臨時業務		調 査 研 究	外 部 精 度 管 理	合 計	
	環境保全課関係										その他				騒 音 ・ 振 動	そ の 他				
	※ 一 般 大 気	有 害 大 気	う ち 委 託 分	微 小 粒 子 状 物 質	う ち 委 託 分	ば い 煙	臭 気	う ち 委 託 分	騒 音 ・ 振 動	う ち 委 託 分	酸 性 雨	ア ス ベ ス ト	大 気 環 境							
検 体 数	144	30	-	4	-	34	1	-	27	-	78	18		336			29		365	
二 酸 化 硫 黄 等 *1	4,235													4,235					4,235	
浮 遊 粒 子 状 物 質 *2	3,551													3,551					3,551	
総 水 銀		4												4					4	
ニ ッ ケ ル 化 合 物		8												8					8	
砒 素 及 び そ の 化 合 物		8												8					8	
ベ リ ウ ム 及 び そ の 化 合 物		8												8					8	
マ ン ガ ン 及 び そ の 化 合 物		8												8					8	
ク ロ ム 及 び そ の 化 合 物		8												8					8	
テ ト ラ ク ロ ロ エ チ レ ン		24												24					24	
ト リ ク ロ ロ エ チ レ ン		24												24					24	
ベ ン ゼ ン		24												24					24	
ジ ク ロ ロ メ タ ン		24												24					24	
塩 化 ビ ニ ル モ ノ マ ー		24												24					24	
1,3- ブ タ ジ エ ン		24												24					24	
ア ク リ ロ ニ ト リ ル		24												24					24	
ク ロ ロ ホ ル ム		24												24					24	
1,2- ジ ク ロ ロ エ タ ン		24												24					24	
塩 化 メ チ ル		24												24					24	
ト ル エ ン		24												24					24	
ベ ン ゾ [a] ビ レ ン		24												24					24	
ホ ル ム ア ル デ ヒ ド		12												12					12	
ア セ ト ア ル デ ヒ ド		12												12					12	
酸 化 エ チ レ ン		8												8					8	
エ チ ル ベ ン ゼ ン 等 *3														0			384		384	
C F C 12 等 *4														0			192		192	
4-エチルトルエン等*5														0			192		192	
ダ イ オ キ シ ン 類		6	6											6					6	
質 量 濃 度				4	4									4					4	
無 機 元 素 *5				116										116					116	
イ オ ン 成 分 *6				32	32									32					32	
炭 素 成 分 *8				12	12									12					12	
硫 黄 分						34								34					34	
臭 気 指 数							1	1						1					1	
pH											78			78					78	
粉 じ ん														0					0	
騒 音 ・ 振 動									27	21				27					27	
ア ス ベ ス ト												18		18					23	
項 目 数 合 計	7,786	370	(6)	164	(48)	34	1	(1)	27	(21)	78	18	0	8,478	0	0	773	0	9,251	
																			一般大気、委託分除く	1,389

※ 一般大気検体数については、測定局数×測定月数を計上  
 \*1 二酸化硫黄、二酸化窒素、オキシダント、一酸化炭素等のうち最大自動連続測定日数(合計には含めず)  
 \*2 浮遊粒子状物質の自動連続測定日数(合計には含めず)  
 \*3 有害大気汚染物質(優先取組物質を除く。)のうち、当所で分析可能な物質(16項目)  
 \*4 主にPRTR法の第一種指定化学物質に該当する物質のうち、当所で分析可能な物質(8項目)  
 \*5 上記以外の揮発性有機化合物(8項目)  
 \*6 29項目(Na,Al,K,Ca,Sc,Ti,V,Cr,Mn,Fe,Co,Ni,Cu,Zn,As,Se,Rb,Mo,Sb,Cs,Ba,La,Ce,Sm,Hf,Ta,W,Pb,Th)  
 \*7 8項目(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>,Cl<sup>-</sup>,Na<sup>+</sup>,Mg<sup>2+</sup>,K<sup>+</sup>,Ca<sup>2+</sup>,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)  
 \*8 3項目(有機炭素、元素状炭素、炭素補正值)

6 水質測定グループ検査実施数

(1) 経常業務

検体数	飲用水・利用水等 (生活衛生課)			廃棄物関係検査 (産業廃棄物対策課)			環境・公害関係検査 (環境保全課)					その他		合計	
	飲用水等	プール水	浴槽水	浸流出液	汚泥	燃え殻	公共用水域	うち委託分	事業場排水	地下水	うち委託分	水浴場	うち委託分		外部精度管理
検体数	20	35	35	15	5	663	—	66	134	—	37	—	2		1,012
pH	20		35	15	5	657	288	54	24		37	5			847
BOD			35			369		50							454
COD(ろ過COD含む)			35			693	288	2			37	5			767
TOC								35							35
SS(VSS含む)			35			369		50							454
DO						653	288								653
有機物等	20	35													55
濁度	20	35				36									91
蒸発残留物含水率					15										15
油分量					15			5							20
熱しゃく減量															
シアン素			14	15		118	8	8	57						212
全窒素			14			533	168	13							560
硝酸性窒素			14		5	418	266	24	12						473
亜硝酸性窒素			14			418	266	24	12						468
硝酸性窒素および亜硝酸性窒素						418	266	1	12						431
アンモニア性窒素			14			384	264	24							422
窒素等*1			14					23							37
フッ素			14			42		16	12						84
全リン			14			533	168	9							556
リン酸態リン						390	270	4							394
有機燐															
塩素イオン			35			489	282	2	6						532
ひ素			14	15		116	10	3	18				2		168
セレン			14	15	5	116	10	1	12						163
ホウ素			14		5	42		14	36						111
亜鉛			14			144	10	30					1		189
カドミウム			14	15	5	124	10		12				1		171
水銀			14	15	5	70	10	4	12						120
アルキル水銀															
鉛			14	15	5	132	10	4	18				1		189
クロム			14			106	10	27	24						171
六価クロム			14	15	5	126	10	20	65						245
溶解性マンガ			14					1							15
溶解性鉄			14					2							16
ニッケル								11	24						35
銅			14			106	10	14	24						158
フェノール			14												14
トリクロロエチレン等*2			154	120		1309	110	2	766						2,351
総トリハロメタン		20													20
農薬*3			42			156	30		36						234
環境ホルモン類*4						6									6
クロロフィル*5						36									36
環境生物検査															
PCB						6	6								6
1,4-ジオキサソ			14	15		16	10		12						57
ダイオキシン類						8	8		2	2					10
大腸菌群						20	20								20
その他の項目															
項目数計	80	70	679	285	40	9,159	(3,096)	477	1,196	(2)	74	(10)	5		12,065
													委託分除く		8,957

\*1:アンモニア性窒素、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の総和

\*2:ジクロロメタン、四塩化炭素、1,2-ジクロロエタン、1,1-ジクロロエチレン、シス-1,2-ジクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタン、1,1,2-トリクロロエタン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,3-ジクロロプロペン、ベンゼン

\*3:シマジン、チウラム、チオベンカルブ 3項目

\*4:環境ホルモン類 29項目(フェノール類10、フタル酸エステル類9、PCB10)

\*5:クロロフィルa、クロロフィルb、クロロフィルc 3項目

## (2) 臨時業務

検 体 数	飲用水・利用水等				廃棄物関係検査				環境・公害関係検査				その 他の 検査	調 査 ・ 研 究	合 計
	飲 用 水 等	プ ール 水	浴 槽 水	そ の 他	浸 放 出 流 液 水	汚 泥	燃 え 殻	そ の 他	公 共 用 水 域	事 業 場	地 下 水	そ の 他			
			2		6	2			289	5	25	109	33	12	483
pH									258	5	2	9			274
BOCOD					6				30	3					39
COD(ろ過COD含む)					6				38	3					47
TOC															
SS(VSS含む)									41	3		9			53
DO									136	2					138
有機物等			2												2
濁度			2												2
蒸発残留物含水率													4		4
油分						2			13						15
熱しゃく減量															
シアレン									1		4				5
全窒素									38						38
硝酸性窒素									1		4				5
亜硝酸性窒素									1		5				6
硝酸性窒素および亜硝酸性窒素									1		5				6
アンモニア性窒素									6		1				7
窒素等*1															
フッ素									1		8		4		13
全リン									38						38
リン酸態リン									1						1
有機機燐															
塩素イオン									2						2
ヒ素									12		6		4		22
セレン									8		4		4		16
ホウ素									1		10		4		15
亜鉛									2			9			11
カドミウム									12		6	8	4		30
水銀									7		6		4		17
アルキル水銀															
鉛									21		22	1	6		50
クロム									5		2				7
六価クロム									1		8		4		13
溶解性マンガン									1						1
溶解性鉄									1						1
ニッケル											2				2
銅									2		2	8			12
フェノール															
トリクロロエチレン等*2									224		93				317
総トリハロメタン															
農薬*3									14		12				26
環境ホルモン類*4															
クロロフィル*5															
環境生物検査														12	12
PCB												4			4
1,4-ジオキサン												2			2
ダイオキシン類															
大腸菌群															
その他の項目									85	4	2	197	79		367
項目数計			4		12	2			1,002	20	210	241	117	12	1,620

\*1:アンモニア性窒素、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の総和

\*2:ジクロロメタン、四塩化炭素、1,2-ジクロロエタン、1,1-ジクロロエチレン、シス-1,2-ジクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタン、1,1,2-トリクロロエタン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,3-ジクロロプロペン、ベンゼン

\*3:シマジン、チウラム、チオベンカルブ 3項目

\*4:環境ホルモン類 29項目(フェノール類10、フタル酸エステル類9、PCB10)

\*5:クロロフィルa、クロロフィルb、クロロフィルc 3項目

## 7 微生物検査の概要

衛生関係では、保健予防課から腸管出血性大腸菌、麻疹等の感染症病原体検査のほか、健康相談等における梅毒反応検査やエイズ相談事業によるH I V抗体検査依頼がある。また、感染症発生動向調査に係わるインフルエンザ、感染性胃腸炎等の検査依頼がある。生活衛生課から浴槽水、プール水などの細菌学的水質検査、食中毒に係わる細菌やウイルス検査のほか、市内食品業者の製造する食品を中心とした細菌学的検査依頼がある。

環境関係では、環境保全課から公共用水域や水浴場、事業場排水の細菌学的水質検査依頼があり、産業廃棄物対策課から産業廃棄物処理場の浸出液の細菌学的水質検査依頼がある。

### 7-1 経常業務

#### (1) 保健予防課関係

##### 1) 感染症

①感染症法に基づく感染症発生届に伴う病原体等 143 検体について、腸管出血性大腸菌 (EHEC)、腸チフス、溶血性レンサ球菌、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)、麻疹及び風疹等の検査を行った。その結果、EHEC O157:H7、Measles virus genotype H1 等が検出された (表-1)。

表-1 感染症発生届に伴う病原体等の検査結果

検査項目	検査検体			計	検出病原体等
	生便	菌株	その他		
腸管出血性大腸菌 (EHEC)	14 (1)	6 (5)		20 (6)	O157:H7, VT1, VT2 産生 (4) O146:H21, VT1 産生 (2)
腸チフス	3 (0)			3 (0)	
溶血性レンサ球菌		1 (1)		1 (1)	<i>Streptococcus pyogenes</i> T型別 (B3264) (1)
重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)			11 (0)	11 (0)	
デング熱			2 (2)	2 (2)	Dengue virus 3 (2)
麻疹			29 (1)	29 (1)	Measles virus genotype H1 (1)
風疹			13 (0)	13 (0)	
感染性胃腸炎	64 (48)		4 (0)	68 (48)	Norovirus genogroup II (42) Sapovirus genogroup I (6)
インフルエンザ			9 (6)	9 (6)	Influenza virus AH3 (4) Influenza virus AH1pdm09 (2)
鳥インフルエンザ (H7N9)			5 (0)	5 (0)	

( ) 内は陽性数

②感染症発生動向調査事業に基づく病原体定点等から搬入された検体の検査

浜松市の感染症発生動向調査事業に基づいて病原体定点等から搬入された鼻咽頭拭い液、生便等の検体について、インフルエンザ、感染性胃腸炎、手足口病、咽頭結膜熱等のウイルス検索を行った。その結果、Influenza virus が 164 件検出されたほか、Norovirus、Adenovirus、Rotavirus、Coxsackievirus 等が検出された（表－2）。

表－2 病原体定点等から搬入された検体の検査結果

検査項目	検査検体			計	検出病原体等
	鼻咽頭	生便	その他		
インフルエンザ	167 (163)		1 (1)	168 (164)	Influenza virus AH1pdm09 (62) Influenza virus AH3 (45) Influenza virus B (53) Human metapneumovirus (2) Rhinovirus (2)
感染性胃腸炎		26 (14)	3 (0)	29 (14)	Norovirus GII (6) Rotavirus group A (3) Astrovirus (1) Adenovirus 2 (1) Adenovirus 41 (1) Rhinovirus (3) Echovirus 18 (1) Enterovirus 68 (1)
急性脳炎	2 (0)	3 (1)	3 (0)	8 (1)	Coxsackievirus A8 (1)
手足口病	6 (4)	2 (0)		8 (4)	Coxsackievirus A6 (1) Coxsackievirus A16 (1) Adenovirus 5 (1) Rhinovirus (2)
ヘルパンギーナ	9 (4)			9 (4)	Coxsackievirus A6 (1) Human metapneumovirus (2) Parainfluenza virus 3 (1) Rhinovirus (1)
咽頭結膜熱	26 (22)	7 (3)		33 (25)	Adenovirus 1 (1) Adenovirus 3 (1) Coxsackievirus A6 (1) Coxsackievirus A9 (2) Enterovirus 68 (1) Rhinovirus (14) Respiratory syncytial virus (1) Human metapneumovirus (3) Parainfluenza virus 1 (1) Parainfluenza virus 3 (2)
無菌性髄膜炎	8 (5)	4 (1)	6 (2)	18 (8)	Coxsackievirus A6 (1) Coxsackievirus A9 (1) Echovirus 18 (3) Adenovirus 2 (1) Rhinovirus (2)
RS ウイルス感染症	6 (6)			6 (6)	Respiratory syncytial virus (6)
百日咳	3 (1)			3 (1)	

( ) 内は陽性数

2) 血液

梅毒検査 848 件、H I V抗体検査 992 件、クラミジア抗体検査 779 件、C型肝炎抗体検査 559 件、H B s 抗原検査 857 件を実施した。

(2) 食品等検査

食品衛生法に基づく食品の規格検査等

浜松市食品衛生監視指導計画に基づき、収去食品の規格検査や、食肉由来食中毒防止対策のための検査等を行った（表-3）。

表-3 食品の規格検査等の検査数

	魚介類	肉卵類	乳・乳製品	豆類加工品	菓子類	飲料水	その他の食品	計
検体数	22	50	21	9	10	10	64	186
総菌数			2					2
細菌数	8		16	9	10		29	72
大腸菌群	10	2	19	9	10	10	26	86
大腸菌	4	10		9			37	60
乳酸菌数			3					3
腸管出血性大腸菌O157							3	3
腸管出血性大腸菌（O157を含む）	10	31	7	9			34	91
黄色ブドウ球菌	10	10	7	9	10		24	70
サルモネラ	10	42			10		24	86
腸炎ビブリオ	14						10	24
セレウス菌			7	9			24	40
ウエルシュ菌				9			24	33
カンピロバクター		38					24	62
リステリア		10						10
クロストリジウム属菌								0
腸球菌								0
緑膿菌								0
ノロウイルス	8							8
A型肝炎ウイルス	8							8
E型肝炎ウイルス		5						5
下痢性貝毒	8							8
麻痺性貝毒	8							8
アレルギー物質検査							12	12
恒温試験							10	10
細菌試験							10	10

(3) 環境等検査（表－４）

1) 利用水等

① プール水の検査

市内の遊泳用プールのプール水 20 件について、細菌学的検査を行った。

② 水浴場の検査

市内の水浴場、海 32 件 河川 5 件について糞便性大腸菌群および腸管出血性大腸菌 O157 の検査を行った。

③ 浴槽水の検査

市内の公衆浴場の浴槽水 44 件について、細菌学的検査を行った。

2) 廃棄物関係検査

産業廃棄物（管理型）最終処分場における浸出液 14 検体について大腸菌群数の検査を行った。

3) 環境・公害関係検査（事業場排水および公共用水域の検査）

水質関係立入検査における事業場排水 15 検体、および市内の公共用水域の 12 検体について、大腸菌群数の検査を行った。

表－４ 環境等の検査数

	利用水等				廃棄物 関係	環境・公害関係	
	プ ー ル 水	水 浴 場 （ 海 ）	水 浴 場 （ 河 川 ）	浴 槽 水	浸 出 液	事 業 場 排 水	公 共 用 水 域
検体数	20	32	5	44	14	15	12
一般細菌	20						
大腸菌群	20			38			
大腸菌群数					14	15	12
糞便性大腸菌群数		32	5				
大腸菌	20						
腸管出血性大腸菌 O157		32	5				
レジオネラ				44			

(4) その他の検査

おしぼりの衛生検査

飲食店等で提供されるおしぼりの衛生面での実態を把握するために、貸しおしぼり 15 件について、一般細菌数、大腸菌群、黄色ブドウ球菌の検査および官能検査を行った。

## 7-2 臨時業務

### (1) 食中毒等

平成25年度に検査依頼のあった食中毒・苦情等受付件数は21件であり、そのうち食中毒事件となった事例が3件あった(表-5、6)。

表-5 食中毒等の検査結果

	検査検体								計	
	便・吐物		食品・水		ふきとり		その他			
検体数	416	(179)	217	(14)	234	(18)	5	(3)	872	(214)
赤痢菌	382	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	382	(0)
チフス菌	382	(0)	216	(0)	219	(0)	0	(0)	817	(0)
パラチフスA菌	382	(0)	216	(0)	219	(0)	0	(0)	817	(0)
サルモネラ	382	(0)	216	(0)	219	(0)	0	(0)	817	(0)
コレラ	168	(0)	216	(0)	219	(0)	0	(0)	603	(0)
病原ビブリオ	168	(0)	216	(0)	219	(0)	0	(0)	603	(0)
腸炎ビブリオ	168	(0)	216	(0)	219	(0)	0	(0)	603	(0)
黄色ブドウ球菌	168	(6)	216	(0)	219	(1)	0	(0)	603	(7)
病原大腸菌	168	(6)	216	(0)	219	(0)	0	(0)	603	(6)
セレウス菌	168	(1)	216	(8)	219	(11)	0	(0)	603	(20)
カンピロバクター	173	(9)	216	(2)	219	(2)	2	(2)	610	(15)
ウエルシュ菌	168	(3)	216	(0)	219	(1)	0	(0)	603	(4)
エロモナス	168	(0)	216	(0)	219	(1)	0	(0)	603	(1)
プレシオモナス	168	(0)	216	(0)	219	(0)	0	(0)	603	(0)
エルシニア	168	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	168	(0)
腸管出血性大腸菌O157	382	(0)	216	(0)	219	(0)	0	(0)	817	(0)
ノロウイルス	372	(169)	180	(3)	153	(6)	3	(1)	708	(179)
その他	23	(0)	4	(1)	0	(0)	0	(0)	27	(1)

( ) 内は陽性数

表－6 食中毒事件の概要

発生日	原因施設	原因食品	患者数	原因物質	概要
平成 25 年 4 月 14 日	すし屋	寿司	27 名	ノロウイルス	4 月 13 日から 14 日にかけて製造された料理を喫食した 36 人中 27 人が下痢、嘔吐等を発症
平成 25 年 5 月 27 日	食堂	会食料理	4 名	カンピロバクター・ジェジュニ	5 月 24 日に調理された食事を喫食した 10 人が下痢、発熱等を発症
平成 26 年 1 月 15 日	菓子製造業	食パン	1,271 名	ノロウイルス	1 月 13 日に製造され、翌 14 日に学校給食で提供された食パンを喫食した 8,027 名中 1,271 名が嘔吐、下痢等を発症

### 7-3 その他

#### (1) 肺炎球菌の血清型別調査

髄膜炎の起因菌である肺炎球菌の感染実態の把握目的で、小児呼吸器疾患の患者より分離された菌について市内医療機関より菌株の提供を受け、莢膜抗原の型や遺伝子検査を行い、両菌の性状を調査した。

髄膜炎起因菌	検体数	同定	血清型別 (莢膜抗原型別)	PCR
肺炎球菌	77	77	70	70

#### (2) 魚介類におけるクドア属粘液胞子虫保有状況調査

平成 23 年 6 月新たに食中毒の病因物質として追加されたクドア・セプテンクンクタータを含むクドア属粘液胞子虫の魚介類における保有状況を調査した。

検体数	顕微鏡検査	リアルタイム PCR
47	47	47

#### (3) 環境水（下水）を試料としたポリオウイルス等の調査

国立感染症研究所の協力依頼に基づき、平成 25 年 5 月～平成 25 年 12 月の期間において、市内下水処理施設において流入下水を採取し、ポリオウイルス等の調査を実施した。

・ポリオウイルス（分離培養・同定）

検体数	ウイルス分離数	ポリオウイルス	非ポリオウイルス
72	130	0	130

【分離ウイルス名】

Coxsackievirus B 3, B 4, B 5、Echovirus 3, 6, 7, 11, 19、Adenovirus 1

- ・その他のウイルス（抗原検出、遺伝子検出）

【検出ウイルス名】

Enterovirus、Rhinovirus、Adenovirus、Norovirus G I・G II、Sapovirus、Astrovirus（1～4）、Aichivirus、Hepatitis A virus

(4) インフルエンザウイルスの抗インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス

国立感染症研究所の協力依頼に基づき、平成 25 年 9 月～平成 26 年 3 月の期間において、Influenza virus AH1pdm09 分離株を用いて抗インフルエンザ薬剤耐性株の調査を実施した。

検体数	耐性株	感受性株	不検出
59	0	57	2※

※不検出 2 株について、国立感染症研究所における詳細な解析の結果、2 株とも耐性遺伝子は検出されなかった。

(5) 平成 25 年度調査・研究発表一覧

細菌検査関係	発表・掲載等
市内小学校等における集団食中毒事件の検査対応について	平成 25 年度静岡県保健所細菌検査担当者技術研修会
市中肺炎患者から分離された肺炎球菌の血清型について	第 26 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会
ヒスタミン産生菌培養検査法の検討	所内研究発表会
LC EMA-qPCR 法によるレジオネラ菌スクリーニング検査の検討	所内研究発表会
環境下水における細菌検出状況	所内研究発表会

ウイルス検査関係	発表・掲載等
A 群ロタウイルスの RT-PCR 検査について	所内研究発表会
浜松市におけるデングウイルス検出事例	所内研究発表会
環境水を試料としたポリオウイルス等の調査について	所内研究発表会 静岡県公衆衛生研究会（誌上発表）

## 8 食品分析の概要

食品関係では、農産物・畜産物中の残留農薬や鮮魚介類・食肉中の動物用医薬品、加工食品中の食品添加物及び魚介類のP C B・水銀等の有害汚染物質の検査を実施している。また、最近検出事例が増加している健康食品中の医薬品成分の検査も実施している。

家庭用品関係では、衣類中のホルムアルデヒドや家庭用洗剤等の検査を実施している。

これらの試験検査や調査研究を通して、食の安心・安全と家庭用品の安全確保に努めている。

### 8-1 経常業務

#### (1) 食品添加物

##### 1) 保存料（ソルビン酸）

魚肉練り製品 10 検体、清涼飲料水 10 検体、食肉製品 10 検体及び輸入食品 10 検体について検査した結果、全て基準値未満であった。

##### 2) 発色剤（亜硝酸根）

食肉製品 10 検体について検査した結果、表示のない食肉製品 1 検体から定量下限値を超えて検出された。

##### 3) 漂白剤（二酸化硫黄）

魚肉練り製品 10 検体、生あん（白あん）3 検体及び割り箸 4 検体について検査した結果、全て基準値未満であった。（割り箸は全て輸入検体）

##### 4) 酸化防止剤（BHA、BHT、TBHQ、没食子酸プロピル）

輸入食品 10 検体について検査した結果、全て適正であった。

##### 5) 甘味料

表-1 のとおり検査した結果、全て基準値未満であった。

表-1 甘味料の検体数

	食肉製品	魚肉練り製品	乳飲料発酵乳	清涼飲料水	アイスクリーム類・氷菓	輸入食品
サッカリンナトリウム	10	10	5	6	9	10
アスパルテーム	—	—	5	—	9	10
アセスルファムカリウム	—	—	5	6	9	10
スクラロース	—	—	5	6	9	10
不許可甘味料	サイクラミン酸	—	—	—	9	10
	ズルチン	—	—	—	9	10

##### 6) 防かび剤（イマザリル、オルトフェニルフェノール、ジフェニル、チアベンダゾール）

オレンジ 1 検体、グレープフルーツ 1 検体及びレモン 1 検体について検査した結果、全て基準値未満であった。（全て輸入食品）

(2) 牛乳等規格検査

生乳 2 検体、牛乳 4 検体、加工乳 1 検体及び発酵乳 3 検体について比重、酸度、乳脂肪及び無脂乳固形分の各規格基準設定項目を検査した結果、全て基準に適合していた。

(3) シアン化合物

生あん（白あん）3 検体及びシアン含有豆（原料のペビーライマ豆等）3 検体について検査した結果、全て基準値未満であった。（シアン含有豆は全て輸入検体）

(4) 残留農薬

表－2 のとおり、農産物 46 検体及び畜産物 10 検体について検査した結果、すべて基準値未満であった。

表－2 残留農薬の検体数、項目数及び検出農薬

検体名	産地	検体数	項目数	検出農薬	
こまつな	浜松市	4	198	クロチアジソン、シペルメトリン	
きゅうり	浜松市	1	199	—	
	静岡県	1	199	—	
	県外	4	199	クロルフェナピル、クロロタロニル、チアメトキサム、ブプロフェジソン、プロシメトソン、ホスカリド	
ばれいしょ	浜松市	6	197	—	
かぼちゃ	浜松市	4	198	—	
	県外	2	198	アセタミプリド	
すいか	浜松市	2	197	—	
	県外	2	197	—	
とうがん	浜松市	10	198	—	
みかん	浜松市	10	197	—	
牛乳	浜松市	1	23	—	
	静岡県	2	23	—	
	県外	2	23	—	
食肉	牛肉	浜松市	5	13	—

(5) 残留動物用医薬品（抗生物質、合成抗菌剤等）

表－3 のとおり検査した結果、全て基準値未満であった。

表－3 動物用医薬品の検体数

	牛肉	豚肉	鶏肉	魚介類	牛乳等
オキシテトラサイクリン類	20	20	10	10	7
合成抗菌剤 等	20	20	10	5	7
検体数×項目数	420	420	210	230	308

(6) PCB・水銀・有機スズ

表－4 のとおり PCB 及び総水銀を検査した結果、暫定的規制値を超える検体はなかった。また、有機スズ化合物の検査も行った。

表－4 PCB・総水銀・有機スズの検体数

	鮮魚	生乳・牛乳
PCB	5	4
総水銀	5	—
有機スズ	5	—

(7) 重金属類（カドミウム、鉛）

容器・包装 5 検体について溶出試験及び材質試験（カドミウム、鉛）を行った結果、全て定量下限値未満であった。

(8) 健康食品

ダイエット効果を標榜する健康食品 2 検体について医薬品成分（向精神薬等 13 項目）を検査した結果、全て定量下限値未満であった。

強壮効果を標榜する健康食品 3 検体について医薬品成分（シルденаフィル及び類似成分 7 項目）を検査した結果、全て定量下限値未満であった。

(9) 家庭用品

家庭用洗剤 5 検体について漏水試験、落下試験、圧縮変形試験、耐アルカリ性試験及び酸消費量を検査した結果、全て基準に適合した。

繊維製品 12 検体のうち、7 検体についてホルムアルデヒド、5 検体についてディルドリンの検査を行った結果、全て定量下限値未満であった。

接着剤 3 検体についてホルムアルデヒドを検査した結果、全て基準に適合した。

(10) 放射能（放射性ヨウ素 I-131、放射性セシウム Cs-134, 137）

食品中の放射能検査を表－５のとおり実施した結果、すべて基準値未満であった。

表－５ 放射能の検体数

名 称	流通食品	給食食材
魚介類及びその加工品	38	1
冷凍食品	0	1
肉卵類及びその加工品	17	1
乳及び乳製品	12	0
穀類及びその加工品	7	1
豆類及びその加工品	3	1
果実類	7	10
野菜	87	111
調味料	1	0
飲料水	3	2
その他の食品	3	16
合 計	178	144

## 8－2 臨時業務

苦情及び突発事例として 2 件（4 検体）の臨時検査を行った。結果は表－6 下線部に示した。

表－6 苦情内容と検査項目

苦情・突発事例概要	検体名	検体数	検査項目	結果
生しいたけ中の放射性物質が基準値を超過している可能性がある。	生しいたけ	1	放射性ヨウ素 I-131、セシウム Cs-134, 137	<u>検出限界値未満</u> 検出限界値 I-131:4.3Bq Cs-134:4.6Bq Cs-137:5.2Bq
給食用食材のカツオを油で揚げたが、赤色に変色しているものがある。	給食用食材カツオの揚げ物	3	ヒスタミン 亜硝酸根	<u>定量下限値未満</u>

### 8-3 その他

調査研究については、

- ① LC/MS/MS を用いた不揮発性アミンの一斉分析法の検討
- ② ICP-MS を用いた清涼飲料水中の金属の分析法の検討
- ③ ICP-MS を用いた清涼飲料水中のスズの分析法の検討
- ④  $\alpha$ -ソラニン及び $\alpha$ -チャコニンの分析法の検討
- ⑤ 酸価、過酸化価測定法の検討
- ⑥ 着色料一斉分析法の検討
- ⑦ 残留農薬一斉分析法の妥当性評価
- ⑧ 残留動物用医薬品の試験法の妥当性評価

を行った。

①②については第 50 回静岡県公衆衛生研究会、③④⑤⑥については平成 25 年度所内研究発表会において、それぞれ発表した（①～⑥「Ⅲ調査研究業務」に掲載）。

## 9 大気測定の概要

環境保全関係では、大気環境の常時監視及び有害大気汚染物質、微小粒子状物質、酸性雨、ばい煙（重油中の硫黄分）、悪臭（臭気指数）、騒音等の測定を実施している。

廃棄物関係では、産業廃棄物処分場周辺の繊維状物質濃度の測定を実施している。

### 9-1 経常業務

#### (1) 大気環境の常時監視

大気汚染防止法第 20 条（自動車排出ガスの濃度測定）及び第 22 条（大気汚染状況の常時監視）に基づき、平成 25 年度は 10 ヶ所の一般環境大気測定局及び 2 ヶ所の自動車排出ガス測定局の計 12 ヶ所の測定局で、大気自動測定機により表-1 に示す項目の測定を行っている。

各測定局の測定データは、専用回線にて当研究所の情報処理室へ常時伝送され、コンピュータでデータ処理・監視を行っている（浜松市大気汚染監視システム）。

表-1 常時監視測定項目

設置場所	測定項目								
	二酸化硫黄	浮遊粒子状物質	光化学オキシダント	窒素酸化物	一酸化炭素	微小粒子状物質	炭化水素	風向風速	気象観測
中央測定局	○	○	○	○	○	○	○	○	○
東部測定局		○	○					○	
東南部測定局	○	○	○	○		○	○	○	
西部測定局	○	○	○	○		○	○	○	
北部測定局	○	○	○	○		○	○	○	
東北部測定局			○	○				○	
浜北測定局	○	○	○	○		○		○	
引佐測定局			○					○	
三ヶ日測定局		○	○	○		○		○	
天竜測定局			○					○	
R-257 測定局		○		○	○		○		
R-150 測定局		○		○	○	○	○		

平成 25 年度の環境基準達成状況は、長期的評価において二酸化硫黄、二酸化窒素、一酸化炭素、浮遊粒子状物質は達成することができたが、光化学オキシダントについては達成することができなかった。また、5 月から 9 月にかけて光化学オキシダント監視強化体制を執ったが、注意報の発令はなかった。

(2) 有害大気汚染物質測定

「有害大気汚染物質」に該当する可能性のある物質 248 種類のうち、優先取組物質として 23 種類がリストアップされている。当研究所では、大気汚染防止法第 22 条及び有害大気汚染物質モニタリング指針に基づき、優先取組物質のうち表-2 に示す 21 物質について、毎月 1 回（ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドについては年 6 回；水銀及びその化合物については年 2 回；重金属、酸化エチレンは年 4 回）、市内 2 ヶ所において 24 時間採気し、大気中濃度を測定している。

表-2 有害大気汚染物質測定結果 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

No.	調査項目	伝馬町交差点	葵が丘小学校	基準値
1	塩化メチル	1.8 ~ 2.9	1.7 ~ 3.6	—
2	塩化ビニルモノマー	0.0065 ~ 0.032	0.0065 ~ 0.033	10 ※1
3	1, 3-ブタジエン	0.14 ~ 0.43	0.0060 ~ 0.16	2.5 ※1
4	ジクロロメタン	0.88 ~ 3.5	1.0 ~ 8.4	150
5	アクリロニトリル	0.035 ~ 0.16	0.026 ~ 0.10	2 ※1
6	クロロホルム	0.090 ~ 0.26	0.080 ~ 0.30	18 ※1
7	1, 2-ジクロロエタン	0.013 ~ 0.25	0.013 ~ 0.24	1.6 ※1
8	ベンゼン	0.85 ~ 2.9	0.28 ~ 1.8	3
9	トリクロロエチレン	0.011 ~ 1.3	0.010 ~ 0.14	200
10	トルエン	4.8 ~ 13	2.8 ~ 11	260 ※2
11	テトラクロロエチレン	0.020 ~ 0.14	0.020 ~ 1.6	200
12	ベンゾ[a]ピレン	0.000027 ~ 0.00029	0.000014 ~ 0.00023	0.00011 ※3
13	ホルムアルデヒド	1.9 ~ 5.5	1.5 ~ 7.0	0.8 ※2
14	アセトアルデヒド	2.0 ~ 4.7	1.5 ~ 3.7	5 ※2
15	水銀及びその化合物 *	0.0012 ~ 0.0020	0.0014 ~ 0.0025	0.04 ※1
16	ベリリウム	0.000010 ~ 0.000030	0.0000067 ~ 0.000037	0.004 ※2
17	クロム化合物	0.0016 ~ 0.014	0.0018 ~ 0.0075	0.0008 ※2, 4
18	マンガン	0.0053 ~ 0.031	0.0075 ~ 0.041	0.15 ※3
19	ニッケル	0.0023 ~ 0.014	0.0016 ~ 0.012	0.025 ※1
20	ひ素	0.00028 ~ 0.0033	0.00025 ~ 0.0037	0.002 ※2
21	酸化エチレン	0.016 ~ 0.049	0.0064 ~ 0.044	—

基準値 : ※1 指針値 : ※2 EPA 発がん性  $10^{-5}$  リスク濃度  
 : ※3 WHO 欧州事務局ガイドライン濃度 : ※4 六価クロムの基準値

自動車排出ガス測定局（伝馬町交差点）及び一般環境大気測定局（葵が丘小学校）とも、年間を通じて、塩化メチル、ベンゼン、トルエン、ジクロロメタン、アルデヒド類の値が高かった。また、自動車排ガスの影響度の強いベンゼン、1, 3-ブタジエン、ベンゾ[a]ピレンでは年間を通じ、伝馬町交差点の方が、葵が丘小学校より高い傾向にあった。

またジクロロメタンは、排出源が近くにある葵が丘で高くなる傾向に見られた。

### (3) 酸性雨

当研究所危険物庫屋上において平成 25 年度に観測された降雨は 78 降雨あった。そのうち、初期降雨の pH 測定結果を表 3 に示す。

表 3 酸性雨の測定結果 (pH)

月	測定回数	pH ≤ 3.5	3.5 < pH < 5.6	pH ≥ 5.6	最小値
4	9	0	9	0	3.8
5	4	0	4	0	4.1
6	9	0	9	0	4.0
7	6	0	6	0	3.8
8	6	0	6	0	4.2
9	7	0	7	0	4.5
10	10	0	10	0	3.9
11	5	0	5	0	3.9
12	4	0	4	0	4.8
1	3	0	3	0	4.0
2	4	0	4	0	3.9
3	11	0	11	0	3.8
合計	78	0	78	0	3.8

測定した 78 降雨全てが酸性雨である pH 5.6 未満の降雨であった。なお、人体被害が生じるおそれのある pH 3.5 以下の降雨については、観測されなかった。

### (4) 重油中の硫黄分測定

大気汚染防止法及び静岡県生活環境の保全等に関する条例に基づき、ばい煙発生事業場が使用している重油 34 検体の硫黄分を測定した。

### (5) 騒音測定

騒音規制法(昭和 43 年法律第 98 号)に基づき、自動車騒音について、30 区間の面的評価を業者委託により行なった。その結果、全市評価区間内の 37521 戸のうち、86.7%に当たる 32536 戸において昼夜とも環境基準を満足する評価となった。

また、「航空機騒音に係る環境基準について(平成 19 年環境庁告示第 114 号)」に基づき、航空自衛隊浜松基地周辺の航空機による騒音の実態を把握するために、業者委託により、西区佐浜町(地域類型 II、環境基準 62dB)及び東区小池町(地域類型 II、環境基準 57dB)の 2 地点で年 2 回の測定及び評価(L<sub>den</sub>)を行なった。

西区佐浜町における測定結果は 52.4dB、東区小池町では 55.7dB であり、両地点共に環境基準値を下回った。

新幹線鉄道騒音及び振動について、「新幹線鉄道騒音に係る環境基準について(平成 12 年環境庁告示第 78 号)」及び振動対策に係る指針の達成状況を把握するために、年 1 回、共に環境基準が 70dB(地域類型 I)である南区鶴見町及び南区篠原町の 2 地点で騒音調査

を行った。騒音測定の結果、鶴見町では 72dB、篠原町では 75dB で基準を超過した。

#### (6) 大気環境中の繊維状物質濃度測定

アスベストモニタリングマニュアル（第 3 版）に基づき、産業廃棄物処分場周辺における大気環境中の繊維状物質濃度の測定を 18 検体実施した。

### 9-2 その他

調査研究については、

- ①平成 25 年度微小粒子状物質成分分析結果について
- ②浜松市南区鶴見町における新幹線鉄道騒音の変化について
- ③平成 25 年度微小粒子状物質成分分析結果報告
- ④平成 25 年度光化学オキシダント監視強化期間の結果について

を行った。

①については、平成 25 年度しずおか環境調査研究推進連絡会議で、②については、平成 25 年度全国環境研協議会関東甲信静支部騒音振動専門部会で、③④については平成 25 年度所内調査・研究発表会において、それぞれ発表した。

また、③及び④については、「Ⅲ調査研究業務」に掲載する。

## 10 水質測定の概要

生活衛生関係では、プール水や浴槽水の水質測定を実施している。

環境保全関係では、市内を流れる主要河川や佐鳴湖等の公共用水域、事業場排水、地下水及び浜名湖等の水浴場の水質測定を実施している。

廃棄物関係では、汚泥・燃え殻等の産業廃棄物の溶出試験や埋立地浸出水等の測定を実施している。

### 10-1 経常業務

#### (1) 生活衛生関係

##### 1) プール水

浜松市遊泳用プール衛生管理指導要綱に基づき、公営及び民営のプール水 20 検体について、衛生管理のための水質基準に係る pH、過マンガン酸カリウム消費量、濁度及び総トリハロメタンの測定を行った。

##### 2) 浴槽水

浜松市公衆浴場法施行条例に基づき、公衆浴場の浴槽水 35 検体について、衛生管理のための水質基準に係る有機物等（過マンガン酸カリウム消費量）及び濁度の測定を行った。

#### (2) 環境、廃棄物関係

##### 1) 公共用水域

公共用水域の水質を監視するために、静岡県公共用水域水質測定計画等に基づき、河川・湖沼として、浜名湖水域 40 地点、馬込川水域 11 地点、天竜川水域 11 地点（うち環境基準点 6 地点）の 375 検体について、生活環境項目、健康項目等の測定を行った。一方、海域である浜名湖 7 地点、遠州灘 2 地点（全て環境基準点）の 288 検体については、測定を業務委託した。

また、ダイオキシン類対策特別措置法に基づき、水質のダイオキシン類による汚染の状況を監視するため、河川、湖沼 4 検体及び河川、湖沼の底質 4 検体の測定を業務委託した。

##### 2) 事業場排水

事業場排水の測定は、水質汚濁防止法及び静岡県生活環境の保全等に関する条例に基づく特定事業場に対して、環境保全課職員と共に立入検査を行い、当研究所にて測定を行った。平成 25 年度は 66 検体実施した。

##### 3) 地下水

六価クロム等の重金属類やトリクロロエチレン等の揮発性有機塩素化合物（VOC）による地下水の水質の状況を監視するために、静岡県地下水の水質測定計画等に基づいて、134 検体の地下水の測定を実施した。その内訳は、市域を 10 km のメッシュに区切り、毎年数箇所ずつを選定して調査する環境モニタリング 12 検体、及び、過去に地下水の水質汚濁に係る環境基準を超過した地域で、継続的に水質の状況を把握する定点モニタリング等 122 検体である。

さらに、ダイオキシン類対策特別措置法に基づき、2 検体の地下水についてダイオキシン類の測定を業務委託により行った。

#### 4) 水浴場

環境省水・大気環境局水環境課長の「水浴に供される公共用水域の水質調査結果の報告について」（環水大水発第 1303155 号、平成 25 年 3 月 18 日）に基づき、市内の海水浴場 4 ヶ所（村楠、館山寺、弁天島及び裏弁天）、32 検体について pH、COD の検査を行った。河川については遊泳等許可区域（都田川、大千瀬川、気田川及び阿多古川）、5 検体の測定を業務委託により行った。

#### 5) 浸出液・放流水

廃棄物の処理及び清掃に関する法律に基づき、産業廃棄物最終処分場における浸出液及び放流水 35 検体について pH、COD や有害物質等の測定を行った。

#### 6) 汚泥・燃え殻

廃棄物の処理及び清掃に関する法律に基づき、汚泥 15 検体、燃え殻 5 検体の溶出試験を行った。

## 10-2 臨時業務

浴槽水 2 検体、公共用水域等 398 検体、事業場排水 5 検体、地下水 25 検体、廃棄物関係 8 検体、その他 45 検体の臨時検査を実施した。水質測定グループが受けた臨時検査については、表-1 を参照。

表-1 水質等臨時検査

	検体種類	依頼内容	検査実施項目	検体数	依頼課
生活衛生関係	浴槽水	浴槽水	濁度、 $\text{kMnO}_4$ 消費量	2	生活衛生課
環境関係	公共用水域	八幡川水質調査	pH、DO 等 15 項目、健康項目 21 項目	239	環境保全課
		芳川水質調査	pH、SS、着色度	9	環境保全課
		翁川水質調査	鉛	9	水窪協働センター
		土井戸沢調査	pH、金属 9 項目	1	環境保全課
		魚へい死事故調査	pH、DO、金属 6 項目、農薬スクリーニング	12	環境保全課
		その他水質事故調査	n-Hex、Fe、VOC25 項目、油分	15	環境保全課
	水浴場放射能調査	放射能	4	環境保全課	
事業場	排水等調査	pH、DO、BOD、COD、SS、着色度	5	環境保全課	

	地下水	地下水調査	鉛	2	春野協働センター
		地下水調査	鉛	6	水窪協働センター
		地下水調査	pH、健康項目 13 項目	13	環境保全課
		地下水調査	健康項目 31 項目	4	道路課
	その他	河川調査	着色度、金属 9 項目	98	環境保全課
		排水処理実験	pH、着色度	3	環境保全課
		鉱山廃水調査	pH、金属 3 項目	8	天竜区振興課
廃棄物関係	浸出液	浸出液調査	BOD、COD	6	産業廃棄物対策課
	汚泥	産廃汚泥調査	油分	2	産業廃棄物対策課
その他		溶融スラグ調査	健康項目 8 項目、含水率	7	廃棄物処理施設管理課
		放射能	空間線量、放射能	26	公園課
		調査研究	プランクトン	12	—

### 10-3 その他

調査研究については、

- ①環境学習プログラムへ参画するにあたっての留意事項
- ②水生植物・魚類・外来種調査について
- ③佐鳴湖における水質と植物プランクトンの季節変化
- ④佐鳴湖における植物プランクトンの季節変動
- ⑤「藻類微弱発光阻害試験」を用いた公共用水域の化学物質影響評価
- ⑥浜松市内の事業場排水を用いた「藻類微弱発光阻害試験」
- ⑦ノニルフェノールの分析方法
- ⑧塩化物イオン測定業務の改善について

を行った。

①については、平成 25 年度全国環境研協議会関東甲信静支部水質専門部会及び静岡県公衆衛生研究会において、②については、湖沼の生物多様性・生態系評価のための情報ネットワーク構築についての会議において、③については、浜名湖をめぐる研究者の会において、④～⑧については、平成 25 年度所内研究発表会において、それぞれ発表した。

また、①及び④～⑧については、「Ⅲ調査研究業務」に掲載した。

### Ⅲ 調査研究業務

## 市中肺炎患者から分離された肺炎球菌の血清型について

—第 26 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会発表—  
浜松市保健環境研究所  
○土屋祐司 加藤和子 小粥敏弘 小杉国宏

### 【はじめに】

肺炎球菌は多くの小児の鼻咽頭に常在し、時に中耳炎や肺炎の起因菌となる。また、成人の市中肺炎患者の 20～40%からも分離されている。これらの肺炎球菌は、血液中に侵入することで、小児や高齢者に侵襲製肺炎球菌感染症 (IPD) を起こすことも知られている。

一方、肺炎球菌ワクチンに関しては、1988 年に薬事承認された 23 価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン (PPV23) と、2009 年 10 月に承認された 7 価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV7) が使用されており、PPV23 は高齢者における肺炎球菌性肺炎の予防として、PCV7 は小児肺炎の予防として接種が行われており、2010 年 11 月から 5 歳未満の小児に対する接種公費助成が実施されている。さらに、2013 年 11 月からは、PCV7 に変わり 13 価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV13) の接種が始まっている。

今回、浜松市内の医療機関から提供された小児肺炎患者から分離された肺炎球菌の血清型を調査し、ワクチン接種の影響を検討したので報告する。

### 【材料および方法】

供試株は、2012 年 2 月から 2013 年 10 月に市内医療機関小児科を受診した、肺炎等を主徴とする患者の鼻咽頭拭い液 155 検体から分離された肺炎球菌 155 株、および IPD と診断された患者の血液 2 検体から分離された 2 株、計 157 株を用いた。すべての菌株は生化学的性状を確認後、スライデックス・ニューモキット (シスメックス・バイオメリュー) による凝集反応、さらに Daniel らの方法<sup>1)</sup>に従い *lytA* 遺伝子の検出、および制限酵素 BsaAI による切断の有無を確認することにより肺炎球菌と同定した。

同定された菌株は、肺炎球菌莢膜型別用免疫血清 (デンカ生研) および CDC ホームページに掲載されている Multiplex PCR 法を用いて血清型を決定した。

### 【成績】

当所において確認検査を実施したところ、鼻咽頭から分離された 8 株は *lytA* 遺伝子が検出されなかったため以降の検査から除外し、149 株について血清型別を実施した。

#### 1. PCV7 接種状況

肺炎球菌が分離された患者 149 人のうち、PCV7 の接種を受けていた患者は 124 人 (83.2%) で、ワクチン未接種の患者は 25 人 (16.8%) であった。124 人の PCV7 接種状況は表 1 の通りであった。なお、IPD 患者 2 人はいずれも 2～6 ヶ月から接種を開始し、3 回目の接種を完了していた。

表1 PCV7接種状況

接種開始年齢	2～6ヶ月	7～11ヶ月	1～2歳	2～5歳	計
1回	9	0	6	12	27 (21.8%)
2回	9	1	7	—	17 (13.7%)
3回	51	—	—	—	51 (41.1%)
追加	25	4	—	—	29 (23.4%)
計	94 (75.8%)	5 (4.0%)	13 (10.5%)	12 (9.7%)	124 (100.0%)

## 2. 分離株の血清型

最も多く分離されたのは6C/Dで23株(15.4%)、次いで19Aが18株(12.1%)、15Bが13株(8.7%)、15Aが12株(8.1%)、23Aが11株(7.4%)であった。また、MultiplexPCR法により *cpsA* 遺伝子が検出されなかった株が15株(10.1%)存在した。分離株のうち、PCV7に含まれる血清型は9V、14、19Fおよび23Fの11株(7.4%)であった。IPD患者株は、いずれも19Aであった。

### 【考察】

病原体検出情報によると、PCV7接種公費助成後、小児IPD患者から分離されたPCV7含有血清型の絶対数が減少し、それに相対してPCV7非含有血清型が絶対数も増加しており、血清型交代が起きていると思われる。今回の調査の結果、PCV7含有血清型の割合は7.4%と低く、ワクチン接種の効果は十分表れていると思われた。しかしながら、19Fおよび23Fについては、ワクチン接種済みの患者からも分離された。19Fが分離された患者は、8人中7人がワクチン接種済み(3回5人、2回1人、1回1人)であり、23Fが分離された患者も3回のワクチン接種を完了していた。これは血清型19F、23Fに対する患者の血中オプソニン活性の低下が考えられた。

一方、現在接種が行われているPCV13に含まれる血清型は43株(28.9%)分離された。特に19Aの分離数が多く、全国的な傾向と一致していた。しかし、今後PCV13の接種が広がっていく中で、これらの血清型は減少していくと予想される。それに対し、PCV13にも含まれない6C/D、15A、15B、23Aなどの血清型は相対的に増加していくと思われるが、15Aや23Aはペニシリン耐性株(PRSP)の割合が多いという報告もあることから、今後の分離動向に注視していく必要を感じた。今後は、分離菌株の薬剤耐性化状況も実施し、継続して調査していきたい。

最後に、*lytA* 遺伝子の検出による肺炎球菌同定や Multiplex PCR 法による血清型別に関してお助言いただきました、国立感染症研究所 常彬先生に深謝致します。

表2 分離株の血清型

血清型	株数	ワクチン 接種率	
9V	1	0.7%	0.0%
14	1	0.7%	0.0%
19F	8	5.4%	87.5%
23F	1	0.7%	100.0%
<b>PCV7</b>	<b>11</b>	<b>7.4%</b>	<b>72.7%</b>
3	9	6.0%	77.8%
6A/B	5	3.4%	60.0%
19A	18	12.1%	94.4%
<b>PCV13</b>	<b>43</b>	<b>28.9%</b>	<b>81.4%</b>
6C/D	23	15.4%	87.0%
34	1	0.7%	100.0%
10A	8	5.4%	87.5%
11A	5	3.4%	80.0%
15A	12	8.1%	91.7%
15B	13	8.7%	84.6%
22F	9	6.0%	88.9%
23A	11	7.4%	72.7%
35B	8	5.4%	87.5%
UT	1	0.7%	100.0%
<i>cpsA</i> (-)	15	10.1%	73.3%
<b>計</b>	<b>149</b>		<b>75.8%</b>

## ヒスタミン産生菌培養検査法の検討

微生物検査グループ 加藤 和子

### 【はじめに】

赤身魚に含まれるヒスチジンは一部の細菌がもつ脱炭酸酵素によってヒスタミンに分解され、しばしばアレルギー様食中毒の原因となる。

行政的には化学性食中毒として扱われ、当所では食品分析グループが対応しているが、食中毒発生防止には原因微生物の増殖を制御することが必要となる。

そこで今回、非加熱の推定原因食品が検体として搬入された場合を想定して、当所で微生物培養検査が可能か、培地および検査方法を検討した。

### 【目的】

ヒスタミン産生菌の培養と、分離を行うために必要な試薬、器具、手技を検討する。

### 【材料および方法】

ヒスタミン産生菌陽性対照としてモルガン菌 (*Morganella morganii*) を、陰性対照として大腸菌 (*Escherichia coli*) を用い、ヒスチジンプロス (Poly Pepton 10 g, Yeast extract 3g, D(+)Glucose 5g, L-histidin·HCl·H<sub>2</sub>O 4.57g, 人工海水 500ml, 蒸留水 500ml, PH 5.0 に調整) で培養後、ペーパークロマトグラフ法 (展開液:10%アンモニア・ブタノール 1:1 液、発色液 A:0.5%スルファニル酸 /0.1 NHCl & 1%NaNO<sub>2</sub> 1:1 液、発色液B:飽和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) でヒスタミン産生を確認した。

さらに両菌の培養液をそれぞれ Niven 培地 (Bacto Pepton 5g, Yeast extract 5g, L-histidin·HCl·H<sub>2</sub>O 29.54g, CaCO<sub>3</sub> 1g, 0.4% プロモルゾー

ルパ<sup>®</sup>-ブル 15ml, 人工海水 500ml, 滅菌 Bact Age r液 20g/ 500ml DW) [人工海水(NaCl 17.55g, KCl 0.75g, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.285g, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 5.1g, 無水 CaCl<sub>2</sub> 0.145g, or CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.1928g, DW (メスアップ<sup>®</sup>) 1000ml)] に接種して、ヒスタミン産生による集落周囲の培地の色調変化を確認した。

### 【結果】

ペーパークロマトグラフ法で培養液のヒスタミン産生を確認することができた。

また、培養液を接種した Niven 培地上のモルガン菌は発育集落周辺が紫色に変化し、ヒスタミン産生を培地上で推定することができた。

### 【考察】

今回の結果から、細菌によるヒスタミン産生を培養検査で確認できることがわかった。また、Niven 培地上で周辺が紫色に変化した集落からヒスタミン産生菌を分離することが可能である。

ヒスタミン産生菌の培地は塩類を多く含むため調整が難しく、また、ペーパークロマトを用いるなど専門的な手技が求められるため、今後、詳細な検査マニュアルを作成するとともに、食品への添加試験を実施して、ヒスタミン産生菌陽性の判定をヒスタミンの有無で行うことによって、「最確数法」を用いた食品中のヒスタミン産生菌数の定量が実施できるよう、検討していきたい。

## LC EMA-qPCR 法によるレジオネラ属菌スクリーニング検査の検討

微生物検査グループ 鈴木幸恵

### 【はじめに】

当所では、市内の公衆浴場の浴槽水について、培養法によるレジオネラ属菌の検査を実施している。レジオネラ属菌によって引き起こされるレジオネラ症は感染症法の四類感染症に指定されており、レジオネラ肺炎によって亡くなる人も少なくはない。そのため、患者発生時には迅速な対応が必要とされるが、培養法では結果を得るまでに最低でも7日間必要である。そこで今回、レジオネラ生菌遺伝子検査法であるLC EMA-qPCR法によるレジオネラ属菌スクリーニング検査の導入について検討し若干の知見が得られたので報告する。

### 【方法】

平成25年度にレジオネラ属菌の検査を依頼された浴槽水38件について、LC EMA-qPCR法を実施し培養法の結果と比較した。

EMA-PCR法は、選択的に膜損傷菌を透過する色素(EMA: ethidium monoazide)を利用して、死菌由来DNAの検出を抑制する方法である。LC EMA-qPCR法はEMA-PCR法と液体培養(LC: Liquid Culture)による生菌の選択的な増殖を組み合わせた手法であり、2日間で結果を得ることができる。

### 【結果】

浜松市公衆浴場法施行細則により、レジオネラ属菌は検出されないこと(定量下限値: 10CFU/100mL)とされている。今回、培養陽性となったのは38件のうち1件であった。一方、遺伝子増幅が確認された

(PCR陽性)のは7件であった。PCR陰性で培養陽性となった検体は無かった(表)。

表 LC EMA-qPCR法と培養法の結果比較

LC EMA-qPCR法	培養法
775	150
131	<10
73.2	<10
48.7	<10
43.6	<10
27.5	<10
2.30	<10

(CFU/100mL)

### 【考察】

PCR陰性の場合には培養陰性、PCR陽性の場合には培養陽性の可能性有りと考えられ、LC EMA-qPCR法はレジオネラ属菌スクリーニング検査として有用であるといえる。導入により、公衆衛生行政の迅速な対応が期待できる。

培養陰性検体でPCR陽性となった原因の一つとして死菌の影響が考えられる。LC EMA-qPCR法の場合EMA処理で抑制できるのは1反応あたり $4 \times 10^4$ 個程度の菌由来DNAであるため、それ以上の死菌は生菌として検出されてしまう。

今後は、EMA処理を実施しないPCR法を並行して行うなど死菌の影響を検討し、実際の業務に導入できるよう整備したい。

## 環境下水における細菌検出状況

微生物検査グループ 佐原篤

### 【はじめに】

当グループでは、平成 25 年度より環境水（下水）を試料としたポリオウイルス等の調査を実施している。今回、当該試料を利用し環境中に存在する病原菌の分布状況を効率よく把握することを目的に、下水中の病原菌の検出を試みたので報告する。

### 【材料と方法】

平成 25 年 10 月から平成 25 年 12 月まで、月に 1 度、市内下水処理施設において流入下水を採取した。

下水試料を 5000rpm, 30 分遠心した後の沈渣を検体とした。検体一白金耳を選択増菌培地および直接分離培地にそれぞれ接種し、分離同定した。検査項目は食中毒や感染症の起因菌である、サルモネラ属菌、チフス菌、パラチフス菌、赤痢菌、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌、病原性大腸菌、エルシニア、腸炎ビブリオ、病原ビブリオ、コレラ菌、エロモナス、プレシオモナスについて実施した。

### 【結果】

表 1 に示すように、サルモネラ属菌である、*Salmonella* Bareilly (07:y:5) *Salmonella* Saintpaul (04:e,h:2) や、病原性を示す可能性のある *Klebsiella oxytoca* が検出された。

表 1 月別検出病原菌

10 月	<i>Salmonella</i> Bareilly
11 月	<i>Klebsiella oxytoca</i>
12 月	<i>Salmonella</i> Saintpaul

### 【考察】

今回の調査では、チフス、パラチフスやコレラ菌などの感染症法に指定される病原菌は検出されなかったが、*Salmonella* Bareilly や *Salmonella* Saintpaul といった食中毒起因菌が検出された。

サルモネラ属菌は、直接分離培地に接種した検体からは検出されず、増菌操作をおこなった検体のみから検出された。

下水には多種多様な細菌が相当数存在し、培養後の培地上に目的菌とは異なる集落が多数発育してくることから、菌の競合が生じていることが推察された。また、下水の水質によっては分離が困難な菌もあるため、全ての目的菌を同様の精度で分離するのは容易ではないが、今回の調査でサルモネラ属菌が検出されたことで、当該菌は環境負荷に強いことが示唆された。

調査期間が短いため、今後も調査を継続し、環境中に存在する病原菌の分布状況の把握に努めていきたい。

## A群ロタウイルスの RT-PCR 検査について

微生物検査グループ 中野 哲志

### 【はじめに】

ロタウイルスは、特に乳幼児の重症急性胃腸炎をもたらす感染性が極めて高いウイルスである。

このウイルスは、抗原性によりA～Gの7群に分類されており、ヒトへの感染は主としてAとC群である。また、血清型はGタイプとPタイプがあり、それぞれ27, 35種類報告されている。

感染症サーベイランスシステムの病原体検出情報システムについて、A群ロタウイルスの報告はGタイプまで求められているが、現在、当所ではELISA法での検出を行っているため、血清型不明(Rotavirus group A - not typed)として報告している。

そこで、より詳細な発生動向を把握するため、RT-PCR法による検査及び遺伝子解析の導入を検討したので、その進捗状況を報告する。

### 【方法】

#### 1) RT-PCR法による検査の検討

2011～2013年度の感染症発生動向調査事業に基づき感染性胃腸炎として搬入された検体(以下「供試検体」という。)のうち、ELISA法により陽性となった検体の便乳剤からQIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いてRNAを抽出し、DNase処理後、逆転写反応を行いcDNAを調製した。

ウイルス性下痢症診断マニュアル(第3版)によると、VP7領域を標的としたPCRを行った後、その反応液を使用して6種類の血清型別プライマーを用いてnested PCRを行うとされている。しかし、計7種類のプライマーを準備しなければいけないこと、及び、非特異バンドが検出されやすいという欠点がある。そこで、増幅したVP7領域遺伝子をダイレクトシーケンスする方法を採用した。なお、条件検討を行い、反応組成及び反応条件は表1のとおりとした。

また、決定した塩基配列は、BLASTを利用した相同性解析及び解析サイト RotaC(<http://rotac.regatools.be/>)を利用した解析を行うこととした。

表1 PCR法の反応組成と反応温度条件

DDW	33.75 μl		
10x Ex Taq Buffer	5.0 μl		
dNTP Mixture (2.5mM each)	4.0 μl	94°C	2min.
Primer C1 (20μM)	1.0 μl		↓
Primer C2 (20μM)	1.0 μl	94°C	30sec.
TaKaRa Ex Taq <sup>(R)</sup> HS (5U/μl)	0.25 μl	53°C	30sec.
cDNA template	5.0 μl	72°C	1min.
			} 45cycles
total	50.0 μl		↓
Primer C1 : GGTCACATCATACAATTCTAATCTAAG		72°C	5min.
Primer C2 : GGCTTTAAAAGAGAGAATTTCCGTCCTGG			

## 2) ELISA 法との検出感度の比較検討

一般的に ELISA 法は PCR 法に比べて検出感度が低いが、A 群ロタウイルスに関しては市販 ELISA キットの性能が良く遜色ないとされている。そこで、今回検討した PCR 検査の反応条件において ELISA 法と検出感度の有意差があるかを、供試検体のうち ELISA 法でロタウイルス陰性となった検体（他のウイルスが検出されたものを除く。）を用いて調査した。

### 【結果】

- 1) 当該 7 検体について PCR 検査を実施したところ、5 検体で該当する遺伝子が増幅された。この増幅した遺伝子をダイレクトシーケンスした結果、平均 550bp (415 ~ 676bp) の塩基配列を決定することができた。解析の結果、5 検体すべてが血清型 G 1 であることが判明した。
- 2) 当該 34 検体について PCR 検査を実施したが、陽性に転じたものはなかった。

表 2 ELISA 法と PCR 法の検出比較

		PCR	
		positive	negative
ELISA	positive	5	2
	negative	0	34



図 電気泳動写真

Lane1:DNA Marker,

Lane2:13-163, Lane3:13-164

### 【考察】

今回、ロタウイルスの VP7 領域を標的とした RT-PCR 法により特定遺伝子を増幅させ、ダイレクトシーケンスすることにより塩基配列を決定し、遺伝子解析を行うことができるようになった。

しかし、今回検討した PCR 検査の反応条件では、ELISA 法と比べて検出感度に優位性はなかった。よって、当所の検査体制は、今後も ELISA 法によるスクリーニングの後、陽性検体について RT-PCR 法を実施し遺伝子解析を行うこととなる。この件については、追加調査及び反応条件の見直しを行う必要があると考える。

ロタウイルスについて、ワクチン導入の影響を確認するべく、2013 年 10 月 14 日よりサーベイランスが強化された。当所においても、より詳細な発生動向を把握することは必要であり、遺伝子解析の実施がその一助となると考える。

## 浜松市におけるデングウイルス検出事例

微生物検査グループ 中野 哲志

### 【はじめに】

デング熱はネッタイシマカやヒトスジシマカによって媒介されるデングウイルスの感染症であり、近年、輸入感染症として持ち込まれる症例が増えている。今回、当所において、海外渡航歴のある患者の血液からはじめてデングウイルスを検出したので報告する。

### 【概要】

11月28日A病院に受診した患者（72歳、男性）について麻疹を疑う症状を呈していたため、検体として咽頭拭い液及び血液が搬入された。しかし、両検体からは麻疹及び風疹ウイルスは検出されなかった。その後、担当医師は患者が発症直前に海外渡航歴があることからデング熱を疑ったため、血液についてデングウイルスの検査を実施した。

### 【方法】

検体は QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いて RNA を抽出し、「デングウイルス感染症診断マニュアル」に基づき RT-PCR 法を実施した。

### 【結果】

当該検体について、共通プライマーを使用した RT-PCR の結果、511bp 付近に増幅産物が認められたため、デングウイルス陽性であると判定した。次に、血清型別プライマーを使用した RT-PCR の結果、3型プライマーのそれにおいて 320bp 付近に増幅産物が認められたため、血清型3型であると決定した。さらに、検出された2種類の増幅産物について、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、BLAST を利用した相同性解析を行ったところ、2種類ともデングウイルス3型であることが確認された。

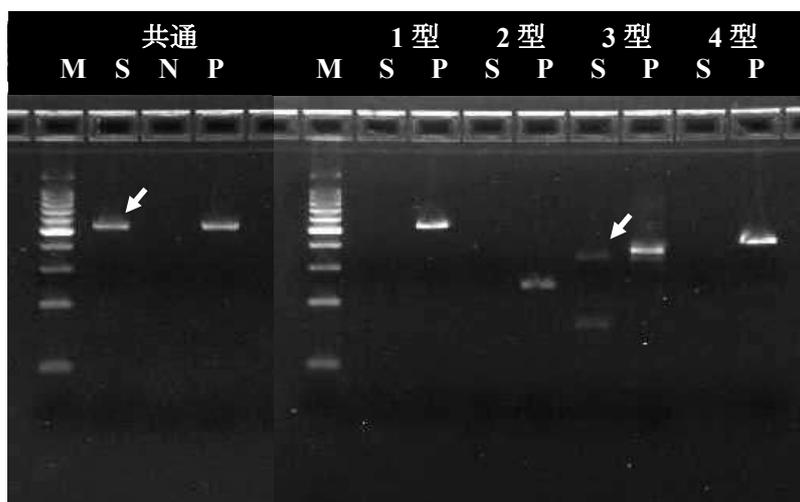


図 RT-PCR 法による遺伝子の検出結果

M: マーカー、S: 検体、N: 陰性コントロール、P: 陽性コントロール

### 【考察】

当所では、平成23年3月にRT-PCR法によるデングウイルス検査法を配備していたが、今回、はじめてデングウイルス遺伝子を検出した。

グローバル化により輸入感染症は増加する傾向にあり、2013年、デング熱患者は249人報告され、デングウイルスは全国の地方衛生研究所で57件検出されている。

検査依頼は稀であると思われるが、それでも迅速かつ正確な検査できる体制（試薬、検査技術など）を維持しておく必要があると実感した。

## 環境水を試料としたポリオウイルス等の調査について

—第 50 回静岡県公衆衛生研究会（誌上発表）—

微生物検査グループ 神保達也

### 【はじめに】

環境由来の水試料からウイルス等の検出を試みる環境水サーベイランスは、顕性、不顕性感染に係らず、流行しているウイルス等の状況を把握することが可能であり、従来からの患者を対象とした病原体サーベイランスを補完する役割が期待されている。

そこで、今回、この環境水サーベイランスの手法を活用し、浜松市域の流入下水を試料としてポリオウイルス等の調査を実施したので報告する。

### 【目的】

ポリオウイルスを原因とする「急性灰白髄炎」は、感染症法における二類感染症であり、その予防には 2012 年 9 月より生ワクチン（OPV）に代わり不活化ワクチン（IPV）が導入された。IPV 切り替え後、乳幼児の接種率、抗体保有率が 9 割を超えるまでには一定の時間が必要であるため、今後は、海外から侵入する可能性のあるポリオウイルス（ワクチン株、VDPV（ワクチン変異株）、野生株）の早期探知が重要である。

浜松市は外国人労働者が比較的多く、輸入によるポリオウイルスの侵入リスクが高いことから、国立感染症研究所からの協力依頼に基づき、浜松市域の環境中におけるポリオウイルス等の分布状況について実態把握を行うことを目的とした。

### 【材料及び方法】

平成 25 年 5 月から平成 25 年 12 月まで、月 1 回、市内下水処理施設において流入下水 500ml を採取し、試料とした。

試料は、平成 25 年度感染症流行予測事業実施要領に記載のポリオ感染源調査「環境水からのポリオウイルス分離・同定」に準拠した方法（図 1）で 100 倍濃縮液に調整した。なお、ウイルスの回収率を上げるため 2 回溶出を行った。

#### (1) ポリオウイルス（分離培養・同定）

濃縮液を、ポリオウイルスに感受性のある 3 種類の培養細胞（RD-A、HEp-2、Vero）に、第 1 溶出液は 6 検体に、第 2 溶出液は 3 検体に分け、それぞれ 200  $\mu$ l ずつ接種し、7 日間 2 継代観察を行った。細胞変性効果（CPE）が出現した検体については培養液を回収し、L20 B 細胞に 200  $\mu$ l 再接種、7 日間 2 継代観察を行った。

L20B 細胞に CPE が出現した場合には、培養液を回収し、ポリオウイルス中和用抗血清を用いた中和試験により同定を行った。

#### (2) その他のウイルス（抗原検出、遺伝子検出）

濃縮液を試料として、ELISA キットにより A 群ロタウイルスの抗原検出を行った。

また、濃縮液から RNA 等を抽出し、RT-PCR 法等により、エンテロウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、ノロウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、A 型肝炎ウイルスの遺伝子検出を行った。

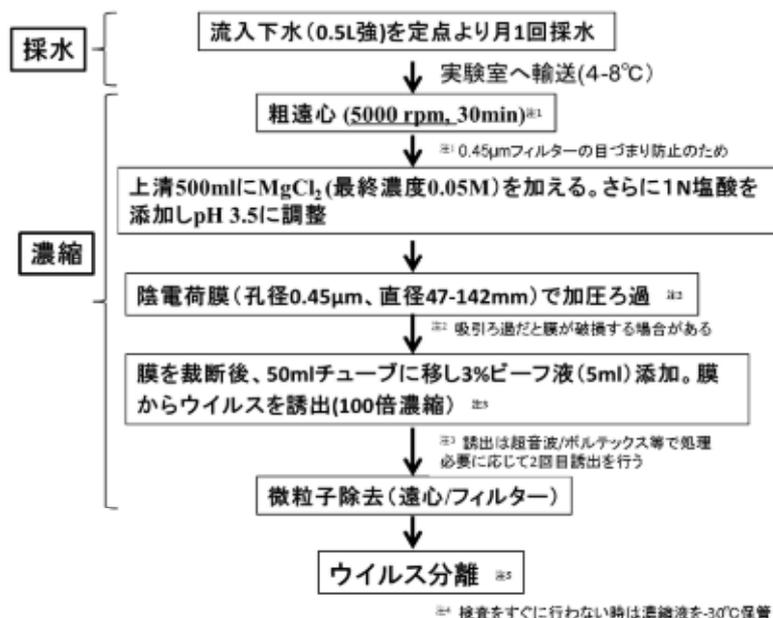


図1. 陰電荷膜を用いた流入下水濃縮法

## 【結果】

### (1) ポリオウイルス (分離培養・同定)

結果を表1に示した。すべての検体において、3種類の培養細胞 (RD-A、HEp-2、Vero)のうち少なくとも1種類からウイルスが分離された。再接種したL20B細胞にCPEが出現した7月の2検体、及び11月の1検体については、中和試験を実施した結果、ポリオウイルス陰性 (非ポリオウイルス) と判定した。これら以外の検体については、L20B細胞においてCPEが確認されなかったため、ポリオウイルス陰性 (非ポリオウイルス) と判定した。

さらに、いくつかの分離培養液からRNAを抽出し、RT-PCR法によるエンテロウイルスの遺伝子検出及び増幅産物の遺伝子配列の決定、BLASTによる相同性解析を実施した結果、コクサッキーウイルスB3・B4・B5、エコーウイルス3・6・7・11が検出された。

### (2) その他のウイルス (抗原検出、遺伝子検出)

結果を表2に示した。エンテロウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、ノロウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、A型肝炎ウイルスの遺伝子が検出された。アストロウイルスについてはPCR法による血清型別を実施した結果、血清型が1~4型のアストロウイルスが検出された。

## 【考察】

今回の調査においては、ポリオウイルスは検出されなかったことから、少なくとも当該下水処理施設の管轄地域にはポリオウイルスは分布していないと考えられた。

下水試料からは、病原体サーベイランスでは検出されていない下痢症ウイルス等様々なウイルスが検出された。よって、環境水サーベイランスは、糞便中に含まれるウイルス等による感染症の地域流行を効率的に把握できる可能性があることが示唆された。しかし、あくまでも下水処理場が設置されている地域内のみの情報であり、検出困難なウイルス等もあることや下水から検出されても感染源を特定することが困難であるといった短所もある。したがって、今後も調査を継続的に実施し、情報を収集するとともに、病原体サーベイランスにおける検出状況と比較しながら補完的に活用していきたい。

表1 ポリオウイラスの分離培養・同定結果

採水月	溶出 No.	検体 No.	分離培養												中和試験		
			RD-A		HEp-2		Vero		L20B								
			継代1	継代2	継代1	継代2	継代1	継代2	RD-A由来		HEp-2由来		Vero由来				
継代1	継代2	継代1	継代2	継代1	継代2	継代1	継代2	継代1	継代2	継代1	継代2	継代1	継代2				
5月	1	A	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		B	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		C	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		D	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		F	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5月	2	A	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6月	1	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		E	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		F	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6月	2	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7月	1	A	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		E	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		F	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
7月	2	A	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	
		B	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8月	1	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		E	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		F	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8月	2	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9月	1	A	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		E	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		F	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9月	2	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10月	1	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		E	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		F	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10月	2	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11月	1	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		E	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		F	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11月	2	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12月	1	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		E	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		F	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12月	2	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

表2 抗原検出・遺伝子検出結果

採水月	溶出 No.	抗原検出				遺伝子検査						
		Rota	Entero	Rhino	Adeno	Norovirus		Sapo	Astrovirus		HAV	
						GI	GIII		共通	型別		
5月	1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	1	-
	2	-	-	-	-	+	+	+	+	+	1	-
6月	1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	1,2,3	-
	2	-	+	-	+	+	+	+	+	+	1,2,3	-
7月	1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	1,4	-
	2	-	+	-	+	+	+	+	+	+	1,4	-
8月	1	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	2	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
9月	1	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	2	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
10月	1	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
	2	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
11月	1	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
	2	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+
12月	1	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	2	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-

# LC-MS/MS を用いた不揮発性アミンの一斉分析法の検討

— 第 50 回静岡県公衆衛生研究会発表 —

浜松市保健環境研究所

○木俣智香子、神谷隆史、古橋忍、鈴木寿枝  
日比野竜、大村雅一、小粥敏弘、小杉国宏

## 【はじめに】

ヒスタミンはアレルギー様食中毒の原因物質の一つであり、マグロ、サバ、アジ等のアミノ酸を多く含む食品の不適切な保管により発生し食中毒を引き起こす。

ヒスタミンを含む不揮発性アミンは、腐敗に伴う脱炭酸酵素生成菌の増殖によりアミノ酸が脱炭酸されて生成する。またヒスタミン以外の複数の不揮発性アミンが同時に存在する場合、食中毒の症状が持続・増強されるといわれている。

当所においても、高速液体クロマトグラフ (HPLC) による蛍光誘導体化法を用いて検査を行ってきたが、迅速性に欠けていることが課題となっている。そこで今回、高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) による不揮発性アミン 5 物質の一斉分析法の検討を行ったので報告する。

## 【方法】

### 1. 試料

水産物試料 6 種類 (マグロ、カツオ、サバ、アジの開き、サバのみりん干し、カツオの油漬缶詰) を用いた。

### 2. 標準品・試薬等

- 1) 標準品：チラミン塩酸塩、ヒスタミン二塩酸塩、カダベリン二塩酸塩、プトレシン二塩酸塩、スペルミジンは和光純薬工業 (株) 製を用いた。
- 2) 標準原液：各標準品をそれぞれ 0.1mol/L 塩酸溶液で溶解して 1000 $\mu$ g/mL とした。
- 3) 検量線混合標準液：各標準原液を等量ずつ混合し、水で希釈し 0.1~2.5 $\mu$ g/mL を定量範囲とし 5 点の検量線標準溶液を調製した。

その他の試薬は LC-MS 用又は試薬特級を用いた。

### 3. 試料溶液の調製

細切均質化した試料 5g をとり、水 50mL 及び 10% トリクロロ酢酸 10mL を加えホモジナイズし、遠心分離 (3000rpm, 3min) 後、水で 200mL に定容する。この抽出溶液を水で 10 倍に希釈して試料溶液とした。

### 4. 測定機器

LC-MS/MS : Waters 社製 TQD

### 5. HPLC 条件

カラム : Waters 社製 ACQUITY UPLC BEH HILIC (2.1mm i. d.  $\times$  100mm, 1.7  $\mu$ m)  
移動相 : 100mM ギ酸アンモニウム (A) / アセトニトリル (B)  
グラジエント条件 : 表 1 (1 サイクル 12min)  
注入量 : 5 $\mu$ L  
流量 : 0.4mL/min

表 1 グラジエント条件

時間 (min)	%A	%B
0	5	95
0.5	5	95
7	70	30
7.1	90	10
9.5	90	10

### 6. MS 測定条件

イオン化法 : ESI Positive  
ソースブロック温度 : 150 $^{\circ}$ C  
脱溶媒温度 : 400 $^{\circ}$ C  
キャピラリー電圧 : 3kV  
コーンガス流量 (N<sub>2</sub>) : 50L/h  
脱溶媒ガス流量 (N<sub>2</sub>) : 1000L/h  
コリジョンガス流量 (Ar) : 0.18mL/min  
MRM 条件 : 表 2

表 2 対象物質の MRM 条件

	Q1	Q3	Cone (V)	Coll (eV)
チラミン	138.1	121	16	10
ヒスタミン	112.1	95	28	16
プトレシン	72	72	40	1
カダベリン	103.2	86	16	10
スペルミジン	146.1	72	28	16

表3 添加回収試験結果

	回収率(平均±S.D) (%)					
	マグロ	カツオ	サバ	アジの開き	サバのみりん干	カツオ油漬缶詰
チラミン	78.0±3.6	75.2±2.7	82.6±4.1	87.9±2.3	84.2±2.8	76.2±1.8
ヒスタミン	74.8±2.0	72.9±0.8	75.3±5.4	77.5±2.2	75.9±4.2	73.8±3.3
プトレシン	79.4±1.3	81.7±2.3	78.4±3.7	86.8±3.0	78.8±2.5	77.5±2.9
カダベリン	78.1±1.5	86.3±3.5	73.2±5.9	86.4±0.6	80.1±4.6	76.9±1.8
スペルミジン	88.2±5.8	88.0±2.4	88.9±3.8	88.8±0.9	92.2±2.4	94.0±3.4

【結果及び考察】

1. 測定条件の検討

(1) 移動相条件の検討

不揮発性アミンは親水性が強く、通常の ODS カラムでは全く保持されない。そのため HILIC カラムを用いることで、対象不揮発性アミンの保持が可能となった。移動相にはギ酸アンモニウム-アセトニトリル系を用いたところ、ピーク形状も良好であった。

(2) 試料溶液調製の検討

従来当所ではトリクロロ酢酸で除タンパクを行い定容し蛍光誘導体化後、HPLC 試験溶液としていた。今回は LC-MS/MS を用いるため、蛍光誘導体化を行わず、定容した溶液を希釈し LC-MS/MS 溶液とした。

(3) 検量線及び定量下限値

5 種類の不揮発性アミンについて、0.1~2.5  $\mu\text{g/mL}$  の濃度範囲で検量線を作成したところ、すべて相関係数  $r=0.997$  以上の良好な直線性を示した。本法による定量下限値は  $4\text{mg}/100\text{g}$  (40ppm) である。これはヒスタミン食

中毒を生じる可能性があるとして、10mg/100g、食中毒量とされている 100mg/100g に対して十分満足するものである。

2. 添加回収試験

6 種類の水産物試料 5g に、試料中濃度が  $0.25\mu\text{g/mL}$  となるように各不揮発性アミンを添加した結果を表3に示した (n=3)。回収率は 73~94%、標準偏差もすべて 6%以内と良好な結果であった。

【まとめ】

今回 LC-MS/MS を用いて 5 種類の不揮発性アミンの一斉分析が可能となった。ヒスタミンだけでなく、複数の不揮発性アミンが同時に存在すると食中毒の増感作用があると言われていたことから、一斉分析はより有用な手法である。

また LC-MS/MS を用いることで蛍光誘導体化の必要がなくなり簡便で迅速な分析が可能となった。今後の検査に導入していきたい。

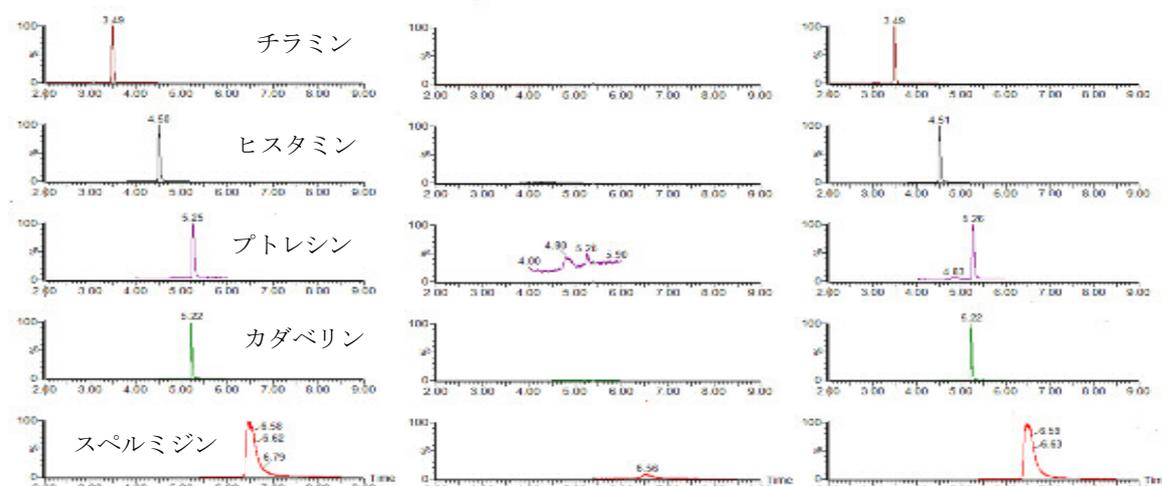


図1 LC-MS/MS によるクロマトグラム

(左：標準溶液 0.25ppm 中：マグロ抽出液 右：マグロ添加抽出液)

# ICP-MS を用いた清涼飲料水中の金属の分析法の検討

浜松市保健環境研究所

— 第 50 回静岡県公衆衛生研究会発表 —  
○神谷隆史 古橋忍 鈴木寿枝 木俣智香子  
日比野竜 大村雅一 小粥敏弘 小杉国宏

## 【はじめに】

食品衛生法により、清涼飲料水には、ヒ素、鉛及びカドミウムについて、検出するものであってはならないと成分規格が定められている。当所では、これまで清涼飲料水中の金属を、誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-OES)により測定してきた。今回、より高感度な分析が可能な誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)を新たに導入したため、分析法を検討したので報告する。

## 【方法】

### (1)試料

清涼飲料水を、含有するマトリックス等の性状により 5 つに分類し、測定対象とする試料を選定した。各試料の詳細は表 1 に示す。

表 1 試料の種類

分類	試料
水	ミネラルウォーター
茶系飲料	緑茶
果汁飲料	オレンジジュース
炭酸飲料	サイダー
豆乳飲料	調整豆乳

### (2)器具・装置類

- ①超純水製造装置:MILLIPORE 社製 Direct-Q UV
- ②ICP-MS:PerkinElmer 社製 NexION300X
- ③ホットプレート:アドバンテック東洋株式会社製
- ④テフロン製ビーカー
- ⑤テフロン製時計皿

### (3)試薬等

- ①ICP 汎用混合液(35 元素、各 10 mg/L):SPEX 社
- ③硝酸(有害金属測定用):関東化学株式会社
- ④イットリウム標準液(1000 mg/L):和光純薬工業株式会社
- ⑤インジウム標準液(1000 mg/L):和光純薬工

業株式会社

⑥タリウム標準液(1000 mg/L):和光純薬工業株式会社

### (4)試料の分解方法

清涼飲料水には、糖分等の有機物を多量に含有するものも多く、機器の汚染や測定値のばらつき等の影響を与えることが予想される。そのため、前処理によって有機物を分解する必要がある。今回、有機物の分解は、硝酸を添加してホットプレートで加温する方法を採用した。試料の前処理の流れを図 1 に示す。

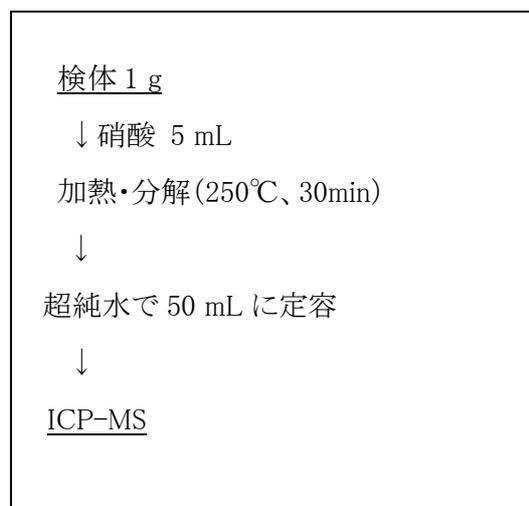


図 1 試料の前処理

### (5) ICP-MS 条件

各元素の測定質量数と内部標準元素を表 2 に示す。ICP-MS では、サンプルマトリックスやプラズマ(アルゴンガス)に起因する多原子イオンにより、特有のスペクトル干渉が起きることが知られている。今回測定対象とした元素の中では、特にヒ素(分子量約 75)における ArCl(分子量約 75)等による干渉が考えられた。よって、ヒ素についてはヘリウムをコリジョンガスとして用いる KED モードにより測定した。その他の元素については、コリジョンガスを使用しない標準モードにて測定した。それぞれの装置条件を表 3 に示す。

表2 測定元素と内部標準元素

測定元素	質量数	内部標準元素	質量数
As	75	Y	89
Cd	111	In	115
Pb	208	Tl	205

表3 ICP-MS 装置条件

	標準モード	KED モード
プラズマ出力	1600 W	1600 W
プラズマガス(Ar)	17.00 L/min	17.00 L/min
補助ガス(Ar)	1.20 L/min	1.20 L/min
ネブライザーガス(Ar)	1.02 L/min	1.02 L/min
コリジョンガス(He)	なし	3.00 L/min

### (6) 性能評価と妥当性評価

本分析法の性能は、食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン(平成 20 年食安発第 0926001 号)に基づき評価した。この方法では、ブランク及び添加試料を 1 日 2 併行で 5 日間分析し、得られた分析値を妥当性評価ガイドラインの目標値と比較する。定量下限値は 0.05 mg/kg に設定した。各試料について、分析対象元素が含まれていないことを確認したものをブランク試料とし、上記の定量下限値相当濃度となるよう標準液を添加して、添加試料を作成した。この添加濃度に対する妥当性評価ガイドラインの目標値は表 4 のとおりである。

表4 真度及び精度の目標値

目標濃度 (mg/kg)	試行 回数	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.01 < ~ ≤ 0.1	5	80~ 120	15 >	20 >

### 【結果・考察】

検討の結果、全ての試料で、全項目において、真度、室内精度、併行精度が妥当性評価ガイドラインの目標値を満たした。各項目の詳細を表 5~表 7 に示す。なお、調整豆乳については、目標値をクリアしたものの、測定した全ての項目で真度が 110% 近いやや高めの値となった。これは、調整豆乳中に含まれるマトリックス等の影響が原因と考え

られる。今後は、より正確な値が得られる前処理法の検討をしていくと同時に、コーヒー飲料等含有マトリックスが今回検討した試料とは異なるものについて妥当性評価を実施していきたい。また、今回検討した項目の他に成分規格が定められている項目としてスズがあるが、基準値(150 ppm 以下)が高いために今回は検討できなかった。今後の課題として、スズの分析法も検討していきたい。

表5 真度

	As (%)	Cd (%)	Pb (%)
ミネラルウォーター	101.0	103.7	104.8
緑茶	97.0	105.0	106.0
オレンジジュース	103.0	105.2	105.0
サイダー	99.6	102.3	104.5
調整豆乳	108.1	112.7	108.1

表6 室内精度

	As (RSD%)	Cd (RSD%)	Pb (RSD%)
ミネラルウォーター	5.0	4.5	3.8
緑茶	5.5	3.9	3.0
オレンジジュース	3.8	3.7	2.6
サイダー	5.0	4.7	1.7
調整豆乳	6.5	4.1	3.3

表7 併行精度

	As (RSD%)	Cd (RSD%)	Pb (RSD%)
ミネラルウォーター	3.9	1.3	5.9
緑茶	3.9	1.5	3.3
オレンジジュース	3.1	1.3	3.4
サイダー	2.7	1.0	2.6
調整豆乳	3.7	2.1	6.2

### 【参考文献】

- 1) 岩佐泰恵、他(福岡市保健環境研究所) 第 49 回全国衛生化学技術協議会年会講演集、90-91(2012)

# ICP-MS を用いた清涼飲料水中のスズの分析法の検討

食品分析グループ 神谷隆史

## 【はじめに】

食品衛生法により、清涼飲料水にはヒ素、鉛、カドミウム及びスズについて成分規格が定められている（表 1）。当グループでは、これまで清涼飲料水中の金属元素を誘導結合プラズマ発光分光分析計（ICP-OES）を用いて測定してきたが、より高感度な分析が可能な誘導結合プラズマ質量分析計（ICP-MS）の導入に伴い、新たに分析法の検討が必要となった。現在までに、ヒ素、カドミウム、鉛については検討が完了しており、良好な結果を得たが、スズについてはこれらの元素との同時測定ができなかったため、未検討であった。そこで今回、スズについて検討を行ったので報告する。

表 1 清涼飲料水の成分規格（金属類）

元素	規格
As	検出されてはならない
Pb	検出されてはならない
Cd	検出されてはならない
Sn	150 mg/kg 未満

## 【方法】

### (1) 試料

清涼飲料水は、種類によって含有する成分（糖分等の有機物や酸等）が著しく異なるため、検討にあたってはそれらの性質による影響を受けずに測定できる方法が求められる。そこで、本検討では清涼飲料水を含有する成分等の性状により 5 つに分類し、測定対象とする試料を選定し、それぞれについて検討を行った（表 2）。

表 2 試料の種類

分類	試料
水	ミネラルウォーター
茶系飲料	緑茶
果汁飲料	オレンジジュース
炭酸飲料	サイダー
豆乳飲料	調整豆乳

### (2) 器具・装置類

- ①超純水製造装置：MILLIPORE 社製 Direct-Q UV
- ②ICP-MS：パーキンエルマー社製 NexION 300X
- ③有機物分解用ホットプレート：アドバンテック東洋株式会社製
- ④テフロン製ビーカー
- ⑤テフロン製時計皿

### (3) 試薬等

- ①スズ標準液（1000 mg/L）：関東化学株式会社
- ②硝酸（有害金属測定用）：関東化学株式会社
- ③インジウム標準液（1000 mg/L）：和光純薬工業株式会社

### (4) 検体中の有機物の分解方法

検体中に含まれる有機物の分解は、硝酸を添加してホットプレートで加温する方法を採用した。試料の前処理の流れを図 1 に示す。

検体 1.0 g

↓

超純水で 50 mL に定容

↓

0.5 mL 分取

↓

超純水 10 mL、硝酸 1.5 mL  
加熱・分解（250℃、10min）

↓

超純水で 15 mL に定容（※）

↓

ICP-MS

※試料に濁りや沈澱がある場合はろ紙 5B でろ過

図 1 試料の前処理

(5) ICP-MS 条件

本検討において測定したスズの質量数と内部標準元素を表 3、使用した装置の設定条件を表 4 に示す。

表 3 測定元素と内部標準元素

測定元素	質量数	内部標準元素	質量数
Sn	118	In	115

表 4 ICP-MS 装置条件

	設定値
プラズマ出力	1600 W
プラズマガス (Ar)	17.00 L/min
補助ガス (Ar)	1.20 L/min
ネブライザーガス (Ar)	1.02 L/min

(6) 性能評価と妥当性評価

本分析法の性能は、食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン（平成 20 年食安発第 0926001 号）に基づき評価した。この方法では、ブランク及びブランク試料に既知濃度のスズ標準液を添加した試料を 1 日 2 併行で 5 日間分析し、得られた分析値を妥当性評価ガイドラインの目標値と比較する。評価項目は真度（回収率）、併行精度、室内精度の 3 項目で、この添加濃度に対する妥当性評価ガイドラインの目標値は表 5 のとおりである。なお、妥当性評価では、各試料についてスズの濃度が定量下限値相当濃度の 1/10 以下であることを確認したものをブランク試料とする。定量下限値は 15 mg/kg に設定した。

表 5 真度及び精度の目標値

濃度 (mg/kg)	試行回数	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
10 < ~ ≤100	5	90 ~ 110	10 >	15 >

【結果・考察】

検討の結果、全ての試料において真度、室内精度、併行精度が妥当性評価ガイドラインの目

標値を満たした（表 6~8）。このことから、今回検討した検査法は妥当性を確保できていると考えられる。しかしながら、今回の検討に用いた試料は検査の頻度が高いもの、性状が特徴的なものを選定したもので、これにより全ての清涼飲料水が検査可能になるとは言えない。よって、今後は今回検討した試料とは含有成分が大きく異なるものについても妥当性評価を実施していきたい。

表 6 真度（回収率）

	真度 (%)
ミネラルウォーター	91.6
緑茶	93.8
オレンジジュース	90.6
サイダー	101.4
調整豆乳	93.0

表 7 併行精度

	精度 (RSD%)
ミネラルウォーター	4.8
緑茶	2.2
オレンジジュース	3.2
サイダー	2.0
調整豆乳	2.1

表 8 室内精度

	精度 (RSD%)
ミネラルウォーター	10.6
緑茶	4.7
オレンジジュース	7.1
サイダー	3.7
調整豆乳	2.9

【参考文献】

- 1) 岩佐泰恵、他（福岡市保健環境研究所） 第 49 回全国衛生化学技術協議会年会講演集、90-91（2012）

# α-ソラニン及びα-チャコニンの分析法の検討

食品分析グループ 日比野竜

## 【はじめに】

ジャガイモは下痢、嘔吐、発熱、痙攣などの食中毒起因物質であるα-ソラニン及びα-チャコニンなどに代表されるグリコアルカロイドを含んでおり、集団食中毒事例も報告されている。

今回、高速液体クロマトグラフ (HPLC)、高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS/MS) を用いた分析法を検討したので報告する。

## 【方法】

### 1. 試料

市販のジャガイモ 2 種類 (メークイン、キタアカリ)

### 2. 試薬

α-ソラニン及びα-チャコニン標準品は和光純薬製を使用した。標準原液はそれぞれ 2mg をアセトニトリル/メタノール(1:1)で溶解し、20mL としたものを使用。精製カラムは Sep Pak Vac 6cc (500mg) (Waters 社製) を使用した。その他の試薬は HPLC 用、LC/MS 用を用いた。

### 3. 装置

超音波発生装置：アズワン(株) US-4R

HPLC：Agilent 社製 HPLC1260

LC/MS/MS：Waters 社製 LC/MS TQD

### 4. 試料の調製方法

試料 2g を 5%酢酸水で抽出し、C18 カラムで精製したものを試験溶液とした (図 1)。

表-1 HPLC 測定条件

移動相	アセトニトリル:20mM リン酸緩衝液 = 80:20
カラム	Waters XBridge Amide (3.0 mm×100 mm、3.5 μm)
流速	0.7 mL/min
注入量	40 μL
検出器	UV205 nm

### 検体 2g

↓ 5% 酢酸 100mL

超音波 75min

↓

ろ過 (ガラス繊維ろ紙)

↓

ろ液 50mL

↓

精製 Sep Pak Vac 6cc (500mg)

↓ メタノール 10mL、DW 10mL、5% 酢酸 5mL で

↓ ろ液負荷

前処理

↓ 水 10mL で洗浄 (5mL×2 回)

↓ 30%メタノール 5mL で洗浄

メタノール 10mL で溶出

↓

減圧乾固

↓ メタノール/アセトニトリル(1:1) 2mL

0.2 μm フィルター処理

↓

HPLC

↓ メタノール/アセトニトリル(1:1) で 100 倍希釈

LCMSMS

図 1 試験溶液の調製方法フローシート

### 5. 分析条件

HPLC、LC/MS/MS の分析条件は表-1、表-2 のとおりである。

## 【結果及び考察】

### 1. HPLC 測定条件の検討

α-ソラニン及びα-チャコニンはステロイド系アルカロイドであるソラニジンにグルコースやガラクトース、ラムノースが結合している配糖体である。その極性から HPLC 分析においてはアミノプロピル化学結合シリカゲルが汎用されている。今回、カラムはアミドカラムを使用し、移動相にはアセトニトリル及び 20mM リン酸緩衝液を用いることで、良好なクロマトグラムが得られた (図 2)。

## 2. LC/MS/MS 測定条件の検討

MS/MS 条件については、 $\alpha$ -ソラニン及び $\alpha$ -チャコニン、それぞれ 500ng/mL の標準溶液を作成し、フローインジェクション分析により MRM 測定の最適化をおこなった。

LC 条件については HPLC 条件を参考にし、カラム及び移動相溶媒条件等を検討した。

この結果（表-2）を用いて $\alpha$ -ソラニン及び $\alpha$ -チャコニン混合標準溶液と試験溶液の測定を行ったところ、妨害なくシャープなクロマトグラムを得ることができた。図3はそれぞれのクロマトグラムである。

## 3. 前処理法の検討

名古屋市衛生研究所で実施している方法を参考におこなったところ（図1）、HPLCにおいて、ジャガイモに添加した $\alpha$ -ソラニン及び $\alpha$ -チャコニンの回収率は90%以上と良好であった。また、同様にレトルトカレー及び市販のそうざい（コロッケ・ポテトサラダ）について添加回収試験をおこなったところ、 $\alpha$ -ソラニンについては77~88%、 $\alpha$ -チャコニンについては66~77%の回収率がとれた。クロマトグラムは図4に示すとおりである。

また、LC/MS/MS においては、コロッケに添加した $\alpha$ -チャコニンの回収率が58.3%と低かったが、他はすべて70%以上であった。

### 【まとめ】

$\alpha$ -ソラニン及び $\alpha$ -チャコニンについて HPLC、LC/MS/MS を用いて分析をおこなったところ、良好な結果を得ることができた。レトルトカレー等の妨害物質の多い試料でも有用な方法であることが確認でき、食中毒、苦情等に対応可能な検査法であると考えられる。

表-2 LC/MS/MS 測定条件

移動相	アセトリル:0.1%ギ酸 = 80:20
カラム	Waters ACQUITY BEH Amide (2.1 mm×50 mm、1.7 $\mu$ m)
流速	0.3 mL/min
注入量	5 $\mu$ L
イオン化法	ESI(+)
イオン化電圧	3.00 kV
$\alpha$ -ソラニン	イオン電圧 95V コリジョンエナジー - 80eV フレカサイオン m/z 869.59 プロダクトイオン m/z 98.00
$\alpha$ -チャコニン	イオン電圧 110V コリジョンエナジー - 100eV フレカサイオン m/z 853.60 プロダクトイオン m/z 98.01

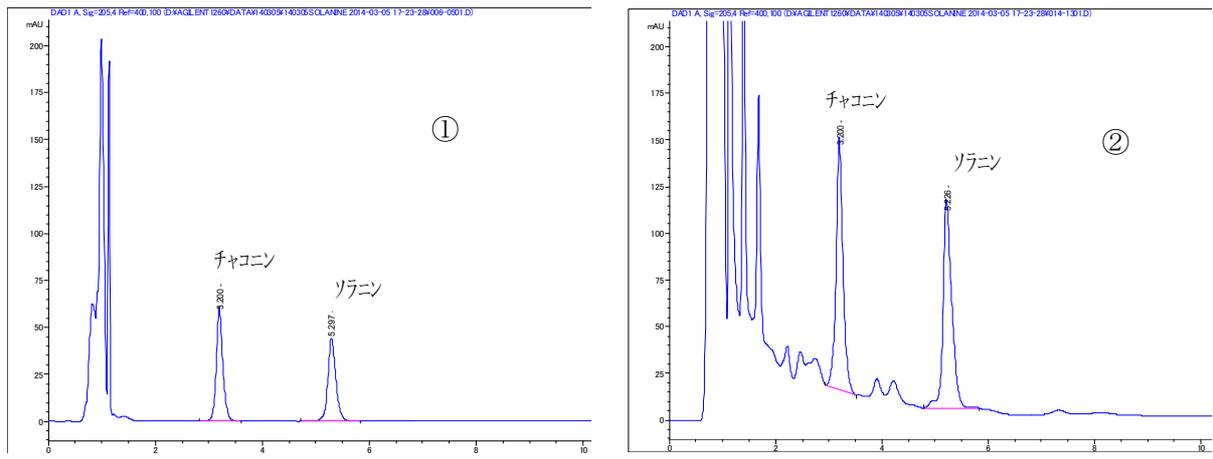


図2 HPLC クロマトグラム

①混合標準液 50 µg/mL ②ジャガイモサンプル

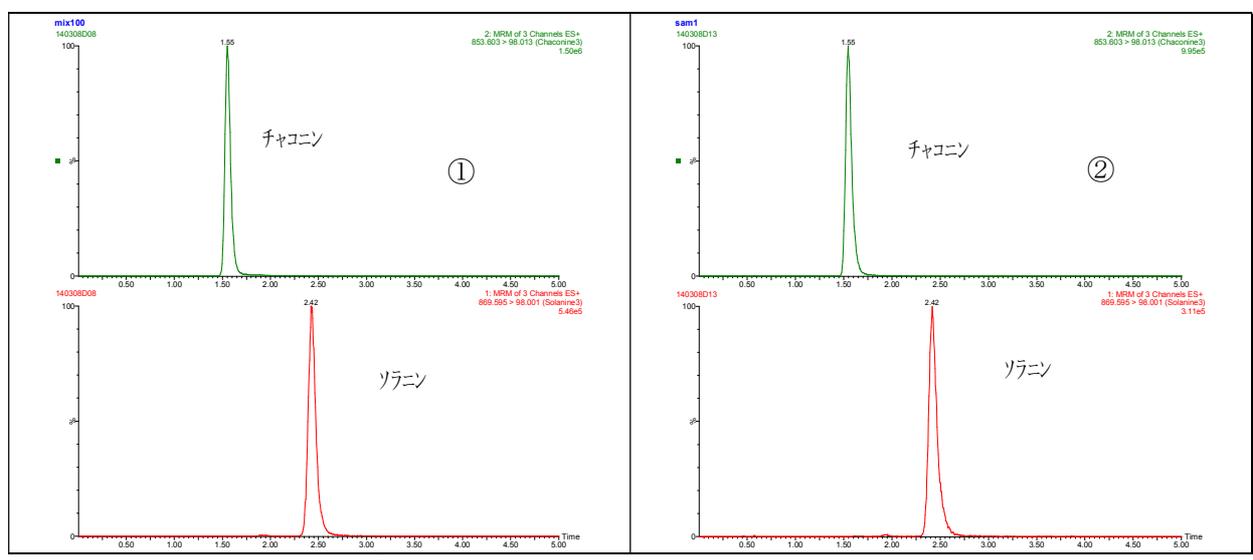


図3 LC/MS/MS クロマトグラム

①混合標準液 100 ng/mL ②ジャガイモサンプル

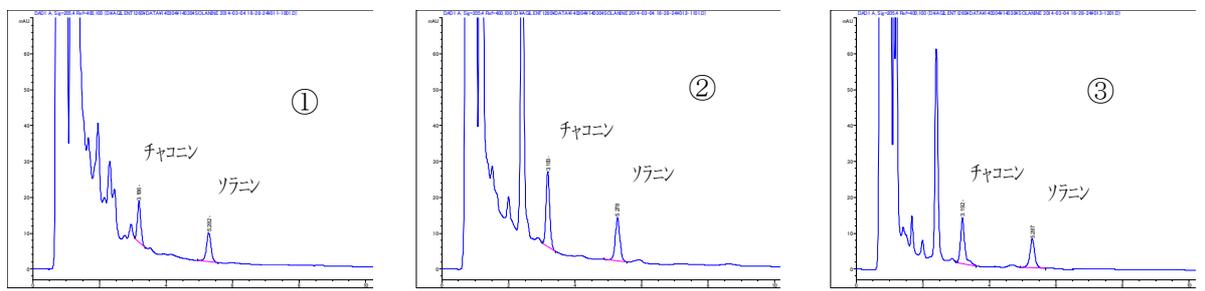


図4 HPLC クロマトグラム

①レトルトカレーに標準品を添加したもの ②コロッケに標準品を添加したもの ③ポテトサラダに標準品を添加したもの

【はじめに】

油脂は熱、光などの作用により劣化しやすく、風味の悪化や不快臭、有害物質の生成がおこる。油脂を含む食品の劣化度を判断する基準としては、加水分解により生成する遊離脂肪酸の量を示す酸価、油脂の二重結合に付加した酸素の量を示す過酸化物質価などがあり、基準値（表－1）が定められている。当所では即席めん類について、平成12年度まで告示試験法により測定を行っていた。

平成23年3月28日付で、即席めん、洋菓子、弁当及びそうざい、菓子を対象とし、有害試験の使用低減を観点に新たに「酸価及び過酸化物質価の測定法」が通知された（以下、通知法）。今回は通知法を整備し、即席めん、油菓子等について、測定に必要な油脂（30g）を抽出できる検体量を求めた。

表－1 酸価、過酸化物質価の基準値

	酸価(mg/g)	過酸化物質価(meq/kg)
・食品、添加物等の規格基準(即席めん類) ・洋生菓子の衛生規範	3以下	30以下
・弁当及びそうざいの衛生規範	1以下	10以下
油脂(原材料)	2.5以下	
油脂による揚げ処理	5以下	50以下
・菓子指導要領	酸価が3を超え、かつ過酸化物質価が30を越えるものではない	

【方法】

1. 検体

浜松市内で市販されていた、即席めん、油菓子、洋生菓子等を検体とした。

2. 試験方法

通知法を用いた。(図1、2、3)。告示試験法は下線部※1が「ジエチルエーテル」、※2が「放置、室温、暗所、2時間」、※3が「クロロホルム・酢酸混液」であったが、変更された。

試料を粉砕、採取（10メッシュを通過しないもの） ↓ ← <u>石油エーテル※1</u> （試料が浸る程度） 振とう（室温、暗所、2時間）※2 ↓ ろ過→残渣 ↓ ↓ ← 石油エーテル（半量） ろ液←ろ過 ↓ ← 水（ろ液の半量） 振とう（2回繰り返す） ↓ 石油エーテル層 ↓ ← 無水硫酸ナトリウム（脱水） 減圧濃縮（40℃）窒素（エーテル除去） ↓ 油脂試料 ↓ 酸価、過酸化物質価測定
--

図－1 油脂試料抽出法

油脂試料（10g） ↓ ← エタノール・エーテル混液 100mL 溶解 ↓ ← フェノールフタレイン溶液（数滴） 滴定（0.1mol/L カリウムエタノール溶液）
---

図－2 酸価測定法

油脂試料（5g） ↓ ← <u>イソオクタン・酢酸混液※3</u> 35mL 溶解 ↓ ← 窒素で置換 ↓ ← 飽和ヨウ化カリウム溶液 1mL 振とう（1分） ↓ 静置（室温、暗所、5分） ↓ ← 水 75mL 激しく振とう（1分） ↓ ← テンソロン溶液 1mL 滴定（0.01mol/L 亜硫酸ナトリウム溶液）
--

図－3 過酸化物質価測定法

## 【結果、考察】

### 1. 検体採取

通知法では、検体を破碎後、試験用ふるい 8 メッシュ（目開き 2.38mm）を通過し、10 メッシュ（目開き 2.00mm）は通過しないものを試料としている。しかし、8 メッシュを通過する検体のほとんどが 10 メッシュを通過してしまった。検体を 2.00～2.38mm の均一な状態に破碎するのは困難であるため、木槌等で検体を約 5mm～ 1cm まで破碎し、10 メッシュを通過しないもののみ採取した。

### 2. 油脂抽出量

酸価は 10g、過酸化価では 5g の油脂試料について、それぞれ 2 回滴定し平均値を求めるため、1 検体につき 30g 以上の油脂を抽出する必要がある。各検体 300g から抽出した油脂量は表 2 のとおりとなった。ロールケーキ及び乾パンを除くすべての検体で、30g 以上の油脂が抽出できた。

### 3. 抽出効率と検体必要量

油脂抽出量と栄養表示の脂質量を比較すると、石油エーテルの浸透しやすい食品では 53～92%、浸透しにくいバターピーナツでは 32%、脂質量の少ない乾パンでは 38% の抽出効率となった。

検体の一部は、10 メッシュを通過したり、振とう操作でエマルジョンとともに廃棄されることがある。それらを考慮し、油脂 40g を抽出できる量を、検体必要量の目安とした。

今回検討を行わなかった食品の検体必要量は、食品の形態と栄養表示を参考に求めることができると考えられる。

表 2 油脂抽出量、栄養表示、検体必要量、測定結果

検体	油脂抽出量(g)	栄養表示脂質 (g)※	抽出効率 (%)	検体必要量 (g)	酸価 (mg/kg)	過酸化価 (mg/kg)
即席めん	44.0	47	92	273	0.284	3.168
ドーナツ	49.0	58	85	250	0.860	1.770
ポテチップス	98.4	108	91	123	0.277	1.633
かりんとう	46.7	64	72	257	1.903	3.210
芋かりんとう	32.7	62	53	367	0.527	7.650
バターピーナツ	49.0	152	32	246	0.394	17.236
ロールケーキ	19.0	30	63	631	—	—
乾パン	6.9	18	38	1764	—	—

※栄養表示の脂質を、300g 当りに換算したもの。

### 4. 測定結果

30g 以上の油脂試料を抽出できた検体について、酸価及び過酸化価を測定したところ、全て基準値以内となった。

## 【まとめ】

1. 検体採取は、10 メッシュを通過しないものを対象とした。
2. 検査に必要な検体量は、即席めんが 273g、油菓子が 123g～367g、ロールケーキが 631g、乾パンが 1764g となった。
3. 栄養表示に対する油脂の抽出効率は 32～92% と幅があったが、検体必要量を求める際の一助となる。

## 【参考文献】

平成 23 年 3 月 28 日付厚生労働省通知食安発 0328 第 1 号「食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について」

# 着色料一斉分析法の検討

食品分析グループ 古橋 忍

## 【はじめに】

食品市場では輸入食品の占める割合が増大し、それらの食品中に海外で許可されていてわが国で許可されていない色素（指定外色素）が検出される事例がしばしば報告されている。わが国では合成着色料として12種類のタール系色素（許可着色料）が許可されており、当所で行っている許可着色料の検査に併せて指定外色素14種についても検査を行えるか検討したので、報告する。

## 【方法】

### 1 装置

LC：日本ウォーターズ製 UPLC  
LC/MS/MS：日本ウォーターズ製 TQD

### 2 試薬

各標準品：和光純薬工業製 等

### 3 試験溶液の調製方法

当所 SOP に従って行った（図-1）。

### 4 LC 及び LC/MS 条件

#### ①UPLC 条件

カラム：ACQUITY UPLC HSS T3 1.8 $\mu$ m  
(100mm $\times$ 2.1mm i.d. 日本ウォーターズ製)  
移動相：0.01mol/L 酢酸アンモニウム溶液/アセトニトリル  
=95:5 $\rightarrow$ 20:80 グラジエント

注入量：2 $\mu$ L  
流速：0.6mL/min  
検出器：UV 及び PDA(300~700nm)

#### ②LC/MS/MS 条件

カラム：ACQUITY UPLC HSS T3 1.8 $\mu$ m  
(100mm $\times$ 2.1mm i.d. 日本ウォーターズ製)  
移動相：0.01mol/L 酢酸アンモニウム溶液/アセトニトリル  
=95:5 $\rightarrow$ 10:90 グラジエント

注入量：2 $\mu$ L  
流速：0.4mL/min  
測定モード：MRM  
イオン化：ESI  
キャピラリー電圧：3kV  
ソース温度：150 $^{\circ}$ C、デソルベーション温度：400 $^{\circ}$ C  
キャリアガス流量：50L/hr  
デソルベーションガス流量：1000L/hr  
コリジョンガス流量：0.18mL/min

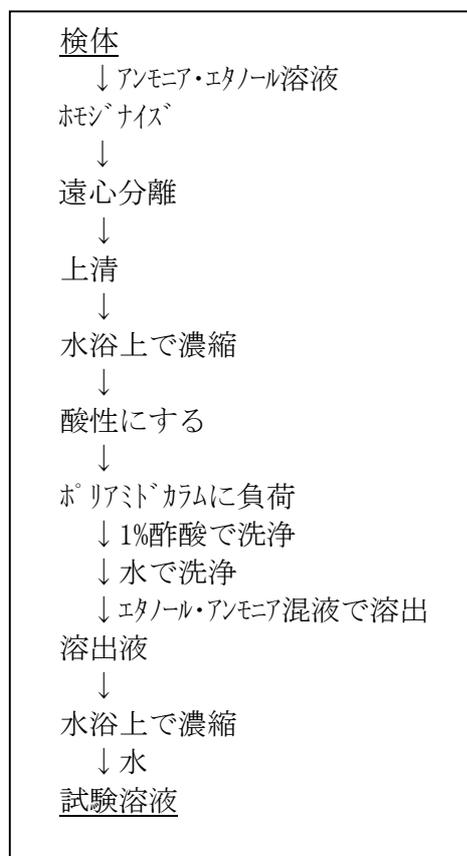


図-1 試験法

## 【結果・考察】

### 1 LC 条件

各標準品を水に溶解し、1000ppm 標準溶液を調製した。さらに水で希釈し、SOP に記載の条件に従って UPLC で測定したところ、4 分付近で多くの色素が溶出した。指定外色素を2つのグループに分け、グラジエント条件を変更し、分離できる条件を検討した。

### 2 MS 条件

各標準溶液の最適なモニターイオンを検索したところ、ポジティブイオンの方が感度良く測定できた。ほとんどの色素で Na が脱離し、プロトン付加したイオンを親イオンとして設定した。指定外色素のナフトールイエローはポジティブモードでピークを確認できなかったため、ネガティブイオンを設定した（表-1）。

表－1 許可着色料及び指定外色素の分析条件

	名称	分子式	分子量	LC 条件		LC/MS/MS 条件						
				吸収極大波長 (nm)	R. T	+/-	parent	product	CV	CE	R. T	
許可着色料	R2	食用赤色 2 号	C20H11N2Na3O10S3	604.47	522	0.993	+	539.0	347.85	50	34	1.93
	R102	食用赤色 102 号	C20H11N2Na3O10S3	604.47	507	1.561	+	539.0	222.88	50	34	3.13
	R3	食用赤色 3 号	C20H6I4Na2O5	879.86	529	6.295	+	836.7	582.52	50	46	6.12
	R104	食用赤色 104 号	C20H2Br4C14Na2O5	829.63	544	7.463	+	786.5	742.28	22	46	6.95
	R105	食用赤色 105 号	C20H2C14I4Na2O5	1017.64	553	8.161	+	974.5	720.80	46	46	7.50
	R106	食用赤色 106 号	C27H29N2NaO7S2	580.65	563	7.193	+	559.2	515.01	34	50	6.81
	R40	食用赤色 40 号	C18H14N2Na2O8S2	496.42	507	2.227	+	453.0	216.87	40	22	3.97
	Y4	食用黄色 4 号	C16H9N4Na3O9S2	534.36	426	0.757	+	469.0	450.82	50	16	1.05
	Y5	食用黄色 5 号	C16H10N2Na2O7S2	452.37	483	1.807	+	409.1	173.06	46	22	3.47
	G3	食用緑色 3 号	C37H34N2Na2O10S3	808.85	623	5.228	+	765.2	170.98	50	50	5.28
	B1	食用青色 1 号	C37H34N2Na2O9S3	792.85	627	5.574	+	749.2	170.87	50	50	5.47
B2	食用青色 2 号	C16H8N2Na2O8S2	466.35	612	1.147	+	422.9	341.80	46	34	2.50	
指定外色素	Azo Rubine S	C20H12N2Na2O7S2	502.43	520	3.428	+	459.0	222.85	50	28	4.95	
	Eosin Y	C20H6Br4Na2O5	691.85	520	4.961	+	648.7	416.08	50	50	5.40	
	Ponceau 2R	C18H14N2Na2O7S2	480.42	507	3.425	+	437.0	120.96	50	22	5.05	
	Ponceau 3R	C19H16N2Na2O7S2	494.45	510	4.844	+	451.0	134.94	50	22	5.49	
	Ponceau SX	C18H14N2Na2O7S2	480.42	502	3.975	+	437.0	200.95	50	28	5.18	
	Rhodamine B	C28H31C1N2O3	479.01	550	9.404	+	443.3	399.05	40	46	9.26	
	Naphthol Yellow S	C10H4N2Na2O8S	358.19	431、391	1.781	-	313.0	233.04	40	22	3.40	
	Quinoline Yellow	C18H10NNaO5S	375.33	411	4.522	+	354.0	272.06	50	22	5.53	
					4.775			105.04	50	34	5.61	
		C18H9NNa2O8S2	477.38	415	1.585	+	434.0	351.65	46	22	3.67	
					1.978			4.06				
	Orange II	C16H11N2NaO4S	350.32	486	6.714	+	329.0	128.02	40	34	6.67	
	Orange I	C16H11N2NaO4S	350.32	473	4.528	+	329.0	156.91	46	22	5.53	
	Orange G	C16H10N2Na2O7S2	452.37	478	1.989	+	409.0	92.11	40	28	3.71	
	Acid Violet	C39H40N3NaO6S2	734.88	592	7.381	+	712.3	526.01	50	50	7.70	
8.471												
Patent Blue	C27H31N2NaO6S2	566.66	596	3.142	+	545.2	163.94	46	40	6.50		
				6.771								
Brilliant Black BN	C28H17N5Na4O14S4	867.68	573	1.719	+	780.0	405.81	46	34	3.30		

### 3 添加回収

指定外色素が含有した検体は入手できなかったため、各標準溶液を添加したホットケーキを作成し、図-1に示す試験法で抽出し、試験溶液をUPLC及びLC/MS/MSで測定した。

指定外色素のうち、ローダミンはポリアミドに保持せず精製できなかった。また、ブリリアントブラックは検出されなかったため、抽出できなかったと思われる。

### 4 フィルター処理の影響

添加回収試験で、許可着色料のR3、R104及びR105が定性できなかった。標準溶液を0.2µmおよび0.45µmフィルターで処理した液を測定したところ、R3及びR105では2割程度、R104は6割程度の面積値となり、フィルターへの吸着が疑われた。また、指定外色素についても、エオシン、オレンジII、ローダミン及びアシッドバイオレットにおいてフィルターへの吸着が疑われた(表-2)。その他の色素についてはフィルターによる影響はなかった。試験溶液をLCに注入する際、不溶物等を除去するため通常0.2µm又は0.45µmのフィルターを通すが、遠心分離を行った方が良いと思われる。

### 5 試料溶液の溶媒の検討

4の結果を踏まえ、試験溶液調製後に遠心分離を行いUPLCで測定を行ったが、やはり検出されない色素があった。試料溶液を遠心分離した際、沈殿物の色が濃く、色素が溶解していない可能性があったため、試験溶液の溶媒の検討を行った(表-3及び表-4)。溶媒に有機溶媒を加えることによって検出されるようになる色素が多く存在した。SOPでは、試験溶液は水で調製することになっているが、有機溶媒で希釈することによって定性感度が上がると思われる。

### 【まとめ】

今回検討した指定外色素のうち、ローダミン及びブリリアントブラックを除く色素に関しては、分析可能と思われる。また、許可着色料について、LC/MSでの測定が可能だったことより、検出した際の確認試験として利用できる。

### 【参考文献】

- 1) 宮武ノリエら：TLCとHPLCの併用による食品中合成着色料の一斉分析法、東京都健康安全研究センター年報(2005)
- 2) 関戸晴子ら：高速液体クロマトグラフィー/質量分析法を用いた食品中の合成着色料の分析、神奈川県衛生研究所短報(2008)

表-2 フィルターの影響

	0.2 µm フィルター	0.45 µm フィルター
R3	0.15	0.27
R104	0.62	0.58
R105	0.18	0.12
エオシン	0.23	0.56
オレンジII	0.71	○
ローダミン	0	○
アシッドバイオレット	0.63	○

面積比(フィルター処理したもの/フィルター処理なし)

○：フィルターの影響なし。

表-3 溶媒の検討(許可着色料)

	水溶液	アセトニトリル/ 水(1:1)	メタノール/ 水(1:1)	エタノール/ 水(1:1)
R2	○	○	◎	○
R102	○	◎	◎	◎
R3	×	○	○	○
R104	×	○	○	○
R105	×	○	○	○
R106	○	○	○	○
R40	○	◎	◎	◎
Y4	○	○	○	○
Y5	○	○	○	○
G3	○	◎	◎	◎
B1	○	◎	◎	◎
B2	×	×	×	×

×：ピーク不検出、○：ピーク検出、

◎：水溶液と比較して面積値が2倍以上検出

表-4 溶媒の検討 (指定外着色料)

	水溶液	アセトニトリル/水 (1:1)	メタノール/水 (1:1)	エタノール/水 (1:1)
アゾルビン	○	◎	◎	◎
エオジン	○	◎	◎	◎
ホソソ-2R	×	○	○	○
ホソソ-3R	○	◎	◎	◎
ホソソ-SX	○	◎	◎	◎
ナフトールイエロー	○	○	○	○
キノリンイエロー	○	◎	◎	◎
オレンジ II	○	◎	◎	◎
オレンジ I	×	○	○	○
オレンジ G	○	○	○	○
アシッドバイオレット	×	○	○	○
パテントブルー	○	○	○	○
ブリアントブラック	×	×	×	×

× : ピーク不検出、 ○ : ピーク検出、 ◎ : 水溶液と比較して面積値が 2 倍以上検出

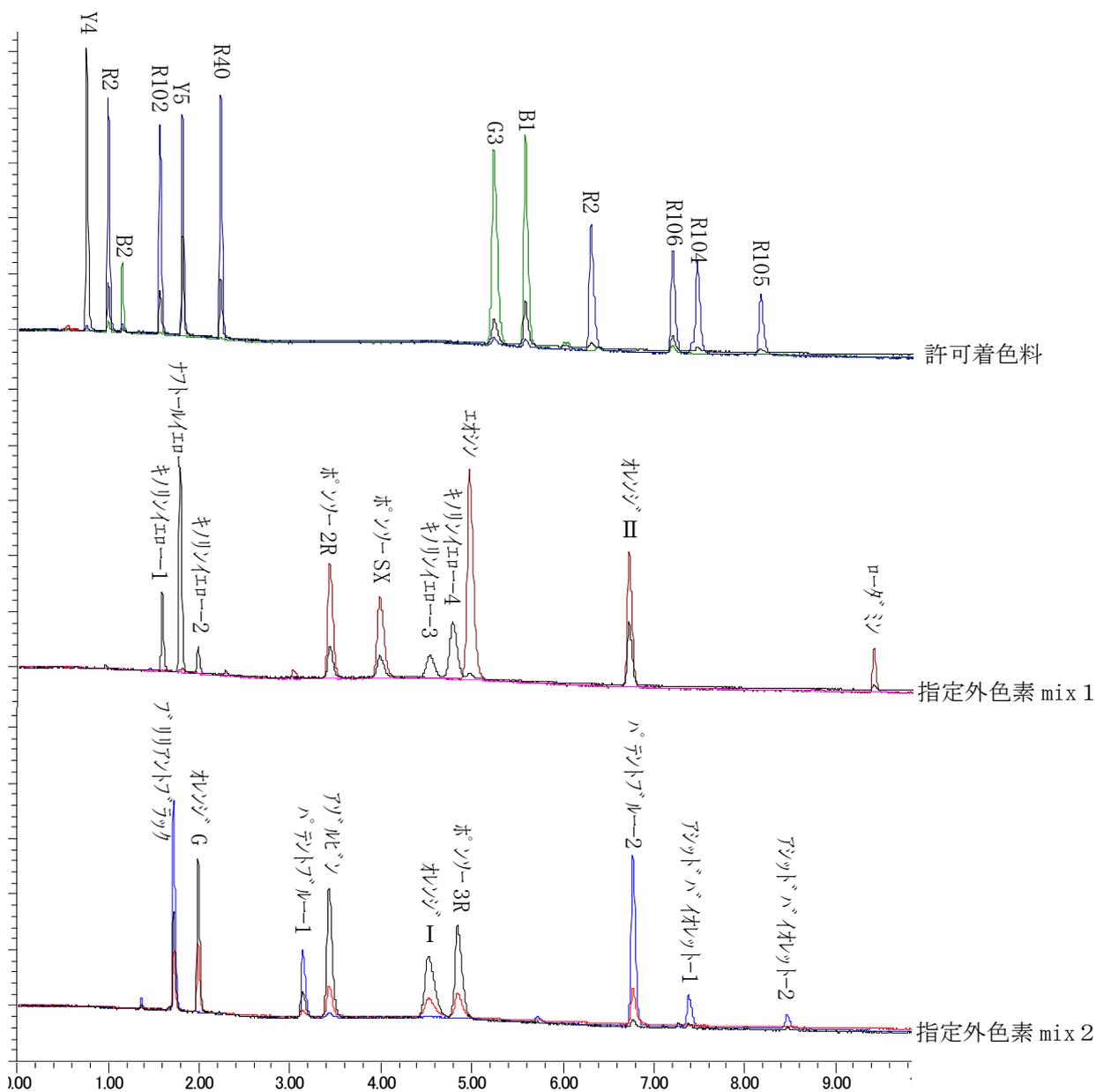


図-2 標準溶液のUPLCクロマトグラム (PDA 400nm、510nm、600nmの重ね書き)

## 環境学習プログラムへ参画するにあたっての留意事項

—平成 25 年度全国環境研協議会関東甲信静支部水質専門部会発表—  
—第 50 回静岡県公衆衛生研究会発表—  
水質測定グループ 野末泰宏

### 【はじめに】

本研究所では、平成 23 年度から「環境実験教室」という名称で、小学校へ講師を派遣した出前講座を独自に開講している。この教室は、小学生を対象にして、受講者自らが環境を素材とした実験を体験することで、自然科学への興味をもってもらおうという趣旨から開講したものである。

その一方で、浜松市環境部が主体となって、平成 24 年 3 月に「浜松市環境教育推進プラン」(※1) を策定し、その具体的施策の一つとして、「E スイッチプログラム」(※2、※3)という名称の浜松版環境学習プログラムを運用している。そのような中で、本研究所の講座についても、E スイッチプログラムへ参画することを具体的に検討した。本発表では、水質測定グループが提案するプログラムについて、研究所の独自性を維持しつつ、E スイッチプログラムに参画するにあたっての留意事項について考察する。

### 【プログラムの概要】

環境実験教室では、「身近な川の水を分析してみよう！」という内容で実施していたが、募集時に具体的な内容は掲載していなかった。しかし、E スイッチプログラムに参画するに当たり、ガイドブックにプログラムの内容が掲載される。このガイドブックは、市内の幼稚園、保育園、小・中学校、協働センター等に配布されるものである。記載内容は、ねらい、実施内容、事前準備、使用する材料・道具、講座活用のワンポイントアドバイス、プログラムの展開例等である。本研究所水質測定グループは、「水を読む」というテーマで、「河川水」、「湖水」、及び「沢の水」の 3 つのコースを用意した。これらコースの概要は、表 1 のとおりである。

全体的なねらいとしては、「科学実験をとおして、自然科学への興味をもってもらい、環境に対する意識を高める。」である。また、プログラムでは、測定内容、採水のアドバイス、あるいは考察できる事象を暗示している。主に小学生を対象としたプログラムであることから、水質の測定には、市販されている簡易測定器具を用いることとした。これらの器具による分析方法としては、呈色反応を利用したもので、視覚的に分かりやすいものを選定している。

### 【考察】

環境実験教室は、実験という体験をとおして、自然科学に対する興味をもってもらおうという目的で開講している。その一方で、E スイッチプログラムは、環境学習を目的としている。したがって、目的はやや異なると考えられたが、「科学実験をとおして、自然科学への興味をもってもらい、環境に対する意識を高める。」ということをも「ねらい」とすることで、E スイッチプログラムへの参画することは可能であると考えた。そこで、研究所の独自性を維持することに留意しつつ、E スイッチプログラムへ参画することを具体的に検討した。

#### (1)河川水

河川水に含まれている界面活性剤を簡易測定することで、河川水が人為的影響を受けていることについて考えることを目的としている。界面活性剤は、洗剤に含まれている成分の一つであり、河川水に対する人為的影響を示す指標とみなすことができる。ここで留意した点は、界面活性剤を「汚れ」の指標ではなく、「人為的影響」の指標と位置付けたことである。界面活性剤は人為的影響の指標とみなすことについては提示するが、界面活性剤が検出されたことを「汚れ」というか否かについては、受講者に考えさせたいからである。

表1 浜松市保健環境研究所水質測定グループが提案するEスイッチプログラムにおける各コースの概要。

コース	河川水	湖水	沢の水
ねらい	<p>【全コース共通】 科学実験をとおして、自然科学への興味をもってもらい、環境に対する意識を高める。</p>		
実施内容	<ul style="list-style-type: none"> <li>・簡易測定セットを用いて、身近な河川水に含まれる界面活性剤を受講者自らが測定する。</li> <li>・河川水に含まれる界面活性剤を簡易測定することで、河川水が人為的影響を受けていることについて考える。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・簡易測定セットを用いて、身近な湖水の栄養塩濃度など(リン酸性リンや硝酸性窒素といった栄養塩濃度、及び有機物量の指標である化学的酸素要求量)を受講者自らが測定する。</li> <li>・湖水の栄養塩濃度などを簡易測定することによって、湖の栄養状態などの季節変動を考える。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・簡易測定セットを用いて、身近な山から流れ出る沢の水の硬度(カルシウムイオン濃度とマグネシウムイオン濃度を基にして算定される指標)を受講者自らが測定する。</li> <li>・水の硬度を簡易測定することで、沢によって水質の違いがあることについて考える。</li> </ul>
受講者の事前準備事項	<ul style="list-style-type: none"> <li>・河川水</li> <li>・採水地点や日時を示した地図</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・湖水</li> <li>・採水地点や日時を示した地図</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・沢の水</li> <li>・採水地点や日時を示した地図</li> </ul>
簡易検査器具(予定)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・陰イオン界面活性剤：(株)共立理化学研究所製の陰イオン界面活性剤測定セット(測定範囲：0.05以下-2 mg/l)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・硝酸性窒素：(株)共立理化学研究所製の簡易水質検査器具(測定範囲：0.2-10 mg/l)</li> <li>・リン酸性リン：(株)共立理化学研究所製の簡易水質検査器具(測定範囲：0.02-1 mg/l)</li> <li>・COD：柴田科学(株)製の簡易水質検査キット(測定範囲：0-10 mg/l)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・全硬度：(株)共立理化学研究所製の簡易滴定分析法(測定範囲：5-500 mg/l)</li> </ul>
受講者への採水のアドバイス	<ul style="list-style-type: none"> <li>・上流・中流・下流の3地点で採水する。</li> <li>・同じ採水地点で、朝、昼、夕と時間帯をかえて採水する。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・季節変動を見るためには、定点で数ヶ月以上にわたり月1回のペースで採水することが望ましい。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・異なる山から流れ出る沢から採水することが望ましい。</li> </ul>
発展例	<p>【全コース共通】</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・実験結果を基にして考察する。</li> <li>・実験で分かったことや考えたことをレポートにまとめる。</li> </ul>		

受講者が水試料を事前に準備することとしたが、受講者に全てを任せると、目的に合わなかったり、考察に結びつかなかったりする可能性がある。そこで、採水のアドバイスによって、考察につながるような水試料を準備させることに留意した。例えば、河川水コースでは、採水地点や時間帯をかえて、採水することを受講者へのアドバイスとした。さらに、実験の発展例として、実験の目的、方法、結果、及び考察に分けて、レポートを書くことを勧めることとした。

## (2)湖水

湖の水コースは、湖や池といった止水域を対象としており、特定の富栄養湖を対象とした講座ではないが、湖の水質特性を考慮して、フィールドを決定することに留意する必要がある。簡易検査器具による測定範囲は、硝酸性窒素は 0.2-10 mg/l、リン酸性リンは 0.02-1 mg/l、COD は 0-10 mg/l である。佐鳴湖の場合、簡易検査器具を使用した水質測定であっても、十分に季節変動を読み取ることができるので、佐鳴湖のような富栄養湖は、季節変動を調べるためには、最適なフィールドであると考えられる。その一方で、浜名湖についても検討したが、季節変動を簡易検査器具によって見出すことは難しかった。以上のことから、簡易検査器具によって、十分に季節変動が読み取れると考えられる湖や池をフィールドとして選択することに留意する必要がある。

また、河川水コースにおける考え方と同様に、富栄養化についても直接的に問うのではなく、栄養塩類等の季節変動を理解させることに主眼を置くことに留意している。COD は、湖の有機物による汚れを表す代表的な指標として用いられる。しかしながら、人為的な影響を直接的に問うことを避けるという意味から、COD の説明としては、有機物量を示す指標という表現に留めることとした。

## (3)沢の水

浜松市は、自動車やオートバイ、楽器、光技術などの産業が集積する都市部、都市近郊型農業が盛んな平野部、広大な森林を擁する中山間部、さらには、漁業が営まれる沿岸部までと、全国に類を見ない地域の多様性を有している。河川水や湖水コースは、主に都市部や平野部、又は沿岸部をフィールドとしたものである。そこで、地域の多様性ということに留意し、中山間部をフィールドとしたコースも提案している。

中山間部においては、人為的影響を示す物質に着目するよりも、自然の影響を示す物質に着目することに留意した。そこで、山から流れ出る沢の水を対象とし、地質などの自然条件によって決定される水の硬度を測定するというコースを提案した。硬度の測定は、呈色試薬によって、試料を赤紫色に呈色させた後、滴定剤を滴下し、青色に呈色したところを終点とする簡易測定法である。これは、簡易ながらも滴定分析法が用いられており、分析化学の原理を学ぶことができる。

※1 浜松市環境教育推進プラン：市民、市民団体、事業者、市などすべての主体が、環境教育に取り組む時の共通の目標や取組の方向性、それぞれの担うべき役割を明らかにするとともに、浜松市の環境教育施策を総合的・体系的に推進していくことを目的としたプラン。

※2 E スイッチ：“Enjoy Environmental Education for Eco-life”のそれぞれの頭文字「E」と、浜松市の自然環境や社会特性を生かした環境教育を通して、環境意識を高め、環境に配慮したライフスタイル・ビジネススタイルに「スイッチ」(転換)していこうという考えをあわせもつ標語。

※3 E スイッチプログラム：浜名湖や天竜の森林など多様な自然環境を有し、全国トップクラスの日照時間を誇るなどの「浜松市の地域特性」を取り入れ、「みどり」「水」「廃棄物」「大気」「エネルギー」「食」の6つの分野で構成された浜松版環境学習プログラム。

# 佐鳴湖における植物プランクトンの季節変動

水質測定グループ 萩原 彩華

## 【はじめに】

浜松市西部に位置する佐鳴湖は、年間を通じ多種の植物プランクトンが出現する。植物プランクトンをはじめとした水生生物は、水質、地質などの環境の影響を受け環境に適応した群集を形成する。そこで今回、植物プランクトンの実態を把握することで環境要因をより累積的に評価することを目的とし、佐鳴湖に生息する植物プランクトンの季節的な挙動の把握を試みた。毎月の植物プランクトンの優占種と総細胞体積量の調査及び水質と絡めた季節変化について報告する。

## 【調査地点及び調査頻度】

佐鳴湖湖心・月1回

## 【調査方法】

表層水 1L を 25% グルタルアルデヒド溶液 30mL で固定し、40 倍濃縮したものを用いた。この試料を光学顕微鏡を用いて観察し、同定及び計数を行った。

## 【結果と考察】

### 1. 出現種

平成 20 年 4 月から平成 25 年 11 月までに観察された優占種を表-1 に示す。季節により優占種となる植物プランクトンが変化している。春先はキクロテラ、ニッチアのような珪藻綱が優占種となり、夏にはクロオコカスやマイクロスティスに代表される藍藻綱が多く発生した。秋から冬にかけては珪藻綱及びヘテロカプサやギムノディニウムなどの鞭毛藻綱が優占種となった。

### 2. 経年変化

顕微鏡による計数の実測値及び文献値を参考に、プランクトン種別に平均細胞体積の近似値を導き出し、プランクトン細胞体積からの現存量を求めた。平成 22~24 年度までのプランクトン総細胞体積量の経年変化を図-1 に示す。平成 22 年度から徐々に体積量が減少しており、平成 24 年度には藍藻綱やハプト藻綱がほぼ観察されなくなっている。何らかの水質変化によるものと考えられる。次に、平成 22 年度の結果を基準とした透明度、SS、クロロフィル a、COD、T-N、

T-P の経年変化（年度別平均値）のグラフを図-2 に示す。SS、クロロフィル a、T-N がプランクトン総細胞体積量と同じような挙動を示しており、平成 22~24 年度にかけて減少傾向にある。よって、プランクトン総細胞体積量の減少は、SS、クロロフィル a、T-N と因果関係があると推測される。

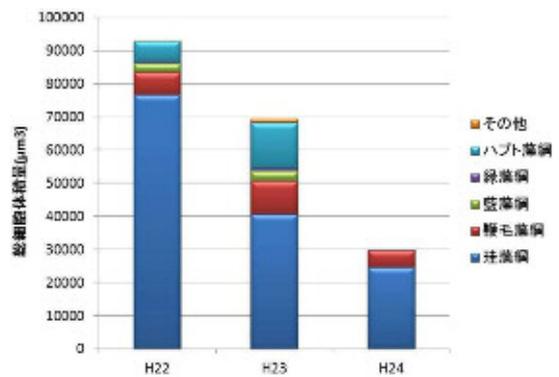


図-1 総細胞体積量の経年変化

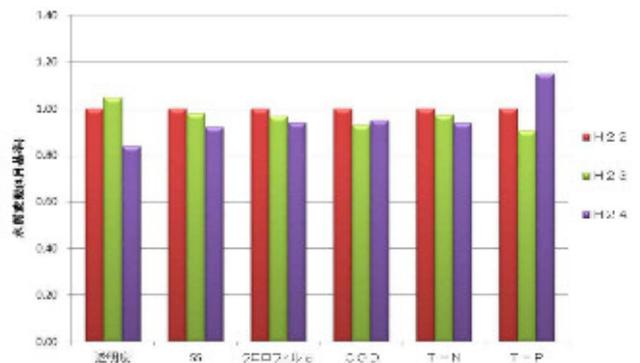


図-2 年度別水質変動 (4月基準)

### 3. 経月変化

各年度別のプランクトン総細胞体積量と透明度、SS、クロロフィル a、COD の経月変化を図-3 に示す。年度によって総細胞体積量の経月変化は様々であるが、いずれも 12 月から 7 月にかけて大きな値を示した。平成 22 年度の結果を見ると、総細胞体積量の大きい 4 月から 7 月にかけて、SS が高い値を示しており、総細胞体積量が少ない 8 月から 11 月にかけての SS は低い値を

示している。植物プランクトンが持つ葉緑素が要因であるクロロフィル a も、ほぼ同様の挙動を示しており、相関性があるといえる。また、H23～H25年度の結果においても、SSとクロロフィル a に関しては、例外的月はあるものの、総細胞体積量とほぼ同様の挙動を示している。透明度は、前月との増減が総細胞体積量と一致している場合が多くみられた。

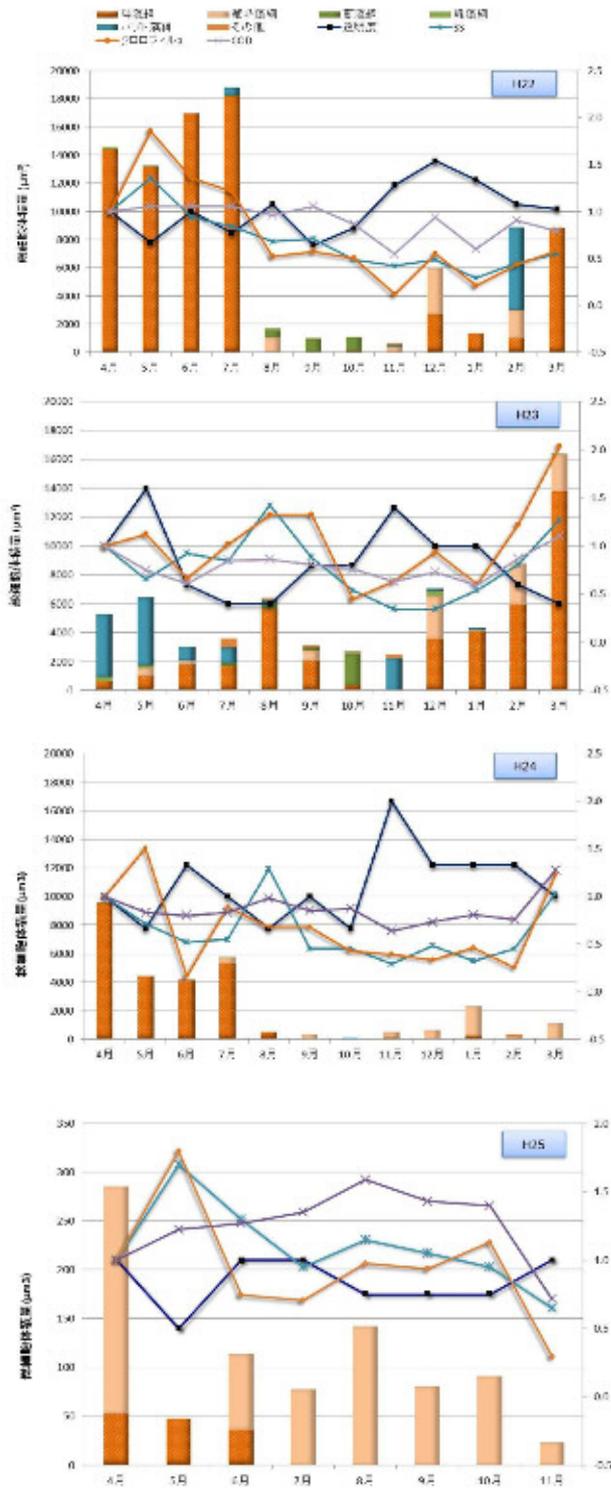


図-3 プラントン総細胞体積量と水質変動

CODについては相関がないように見えるが、懸濁態CODで見ると相関が認められた(図-4)。このことから植物プランクトンは懸濁態COD(懸濁体CODをP-COD、溶存態CODをD-CODとする)と相関があることが示された。また、P-CODは、そのほとんどがCODの5割以上の値を示していることから、佐鳴湖のCODは、植物プランクトンをはじめとした浮遊物質による影響が大きい事が示唆される。

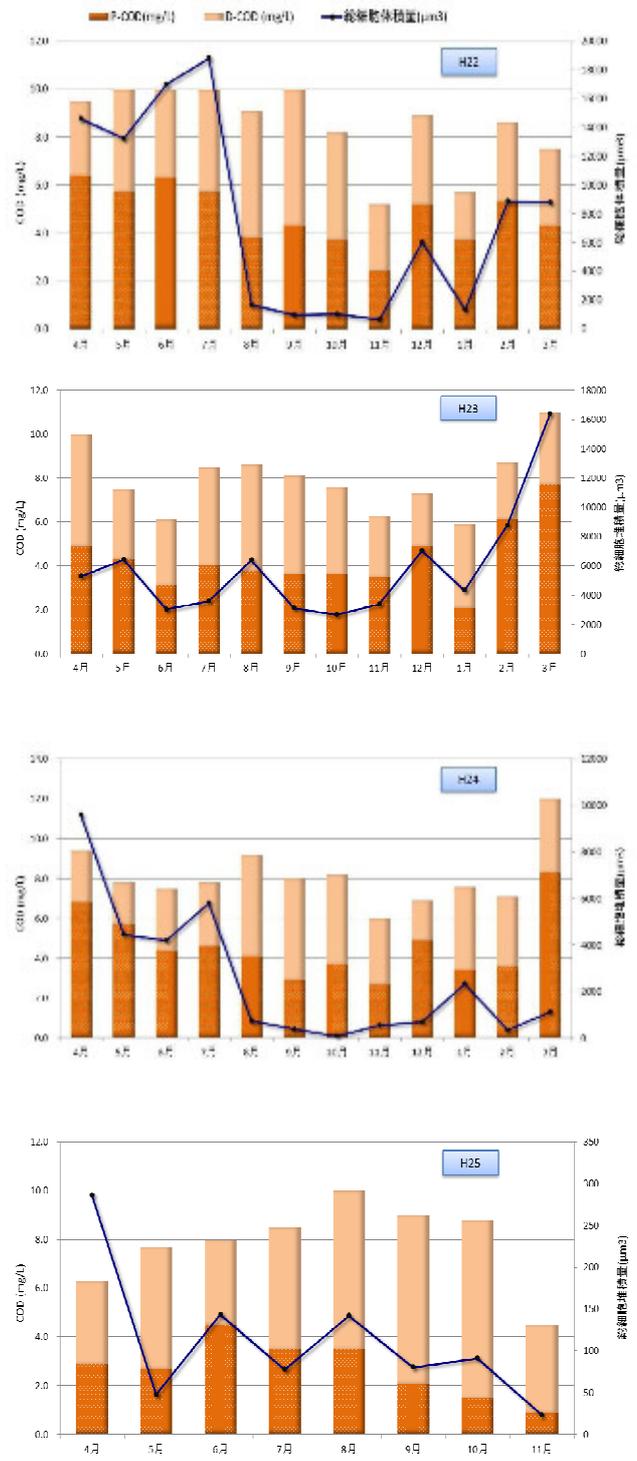


図-4 プラントン総体積量とCODの経月変化

次に、T-N、T-Pの年度別経月変化を図-5に示す。T-Nを経月で見ると、4月から11月まではほぼ横ばい、12月から3月にかけては値が上昇している。T-Pは、夏場に堆積物の還元化により磷酸の溶出量が増加する。平成22～23年度は、12月から3月にかけて総細胞体積量が増加しており、夏場には藍藻類が出現していることから、植物プランクトンが窒素及び磷を栄養源とし繁殖したと考えられる。しかし近年は、植物プランクトンが減少し、夏場には藍藻類が見られなくなっている。この事に関しては、窒素、磷以外の制限因子が働いていると考えられる。

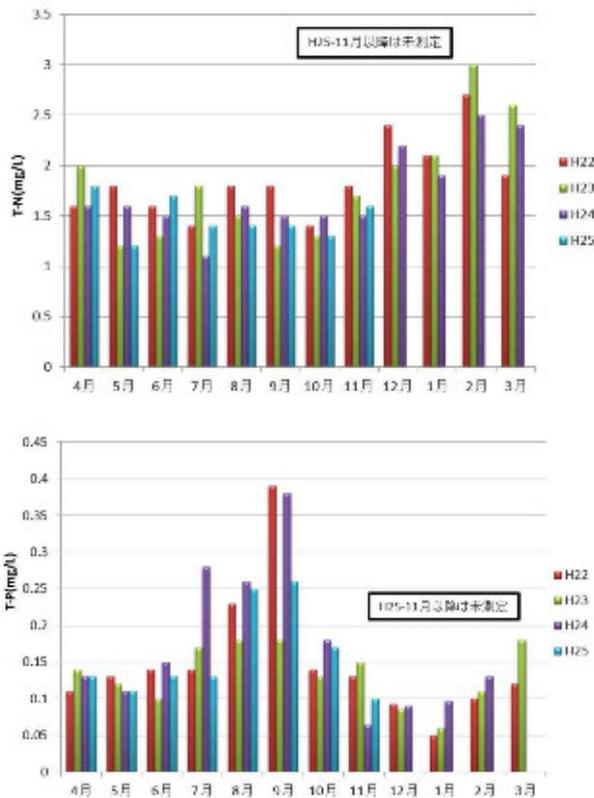


図-5 T-N、T-Pの年度別経月変化

#### 4. 塩化物イオンの影響

佐鳴湖は汽水湖であり、潮汐の関係で浜名湖の水質の影響を受ける。図-6に佐鳴湖の塩化物イオン濃度(年度平均)の経年変化を示す。平成22年度から徐々に値が上昇している。また、経月変化を図-7に示す。特に夏場が大きな値になっていることが分かる。本来夏場になると藍藻綱が大量に発生するが、近年でその傾向が見られないのは、塩化物イオン濃度の上昇による環境変化から、プランクトン(特に藍藻綱)が出現しなかった可能性が考えられる。

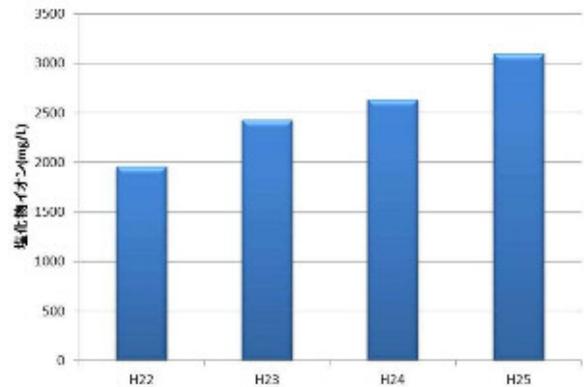


図-6 塩化物イオン濃度の経年変化

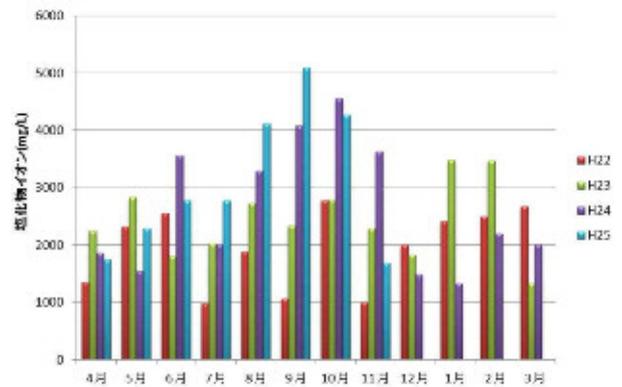


図-7 年度別塩化物イオン濃度の経月変化

#### 【まとめ】

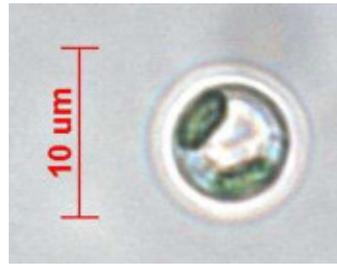
植物プランクトンの変動要因は、季節・気象条件・プランクトン間の競争・湖水中の栄養塩濃度などが挙げられ、多くの要因が複合された結果である。今回、例外の月はあったものの、透明度、P-COD、クロロフィルaにおいて比較的相関が認められた。

また、これまで植物プランクトンは年間を通して様々な種類のものが多くみられたが、近年は出現種や、プランクトン総細胞体積量が減少傾向にある。植物プランクトンは、窒素及び磷を栄養源として繁殖するが、窒素及び磷の推移をみると、近年の総細胞体積量減少に繋がるような動向が見られない。その他の原因として考えられるのは、佐鳴湖の塩化物イオン濃度の上昇によるものである。プランクトンは、淡水性のものと海洋性のものがあることから、佐鳴湖の塩化物イオン濃度上昇が、プランクトン、特に藍藻綱の減少に繋がったのではないかと推測される。

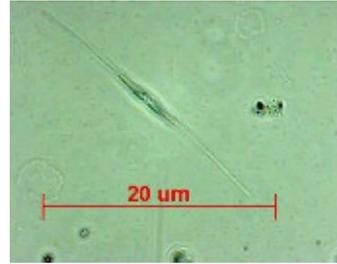
今後は、塩化物イオンが植物プランクトンに与える影響の調査、及び更なるデータ蓄積のため、毎月のプランクトン調査を継続していきたい。

表-1 プランクトン優占種と細胞数

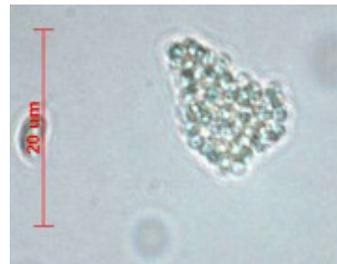
測定年度	測定月	第一優占種	第二優占種	第三優占種
H20	4	ギムノディニウム	オエキステイス	キクロテラ
	5	メロシラ	クロオコカス	キクロテラ
	6	クロオコカス	タルケイソウ	キクロテラ
	7	クロオコカス	キクロテラ	ギムノディニウム
	8	クロオコカス	ギムノディニウム	ニッチア
	9	クロオコカス	ニッチア	ギムノディニウム
	10	クロオコカス	ニッチア	ギムノディニウム
	11	クロオコカス	クリプトモナス	キートセロス
	12	クロオコカス	ヘテロカプサ	クリプトモナス
	1	キートセロス	ヘテロカプサ	ギムノディニウム
	2	ゲフィロカプサ	ヘテロカプサ	ユーグレナ
	H21	4	ハネケイソウ	モノラフィディウム
5		キクロテラ	-	-
6		キクロテラ	クロオコカス	ゲフィロカプサ
7		キクロテラ	クロオコカス	ゲフィロカプサ
8		クロオコカス	ハネケイソウ	ゲフィロカプサ
9		ハネケイソウ	ゲフィロカプサ	プリムネシウム
10		ゲフィロカプサ	ツツミモ	プリムネシウム
11		ゲフィロカプサ	プリムネシウム	ナンノクロリス
12		ゲフィロカプサ	ヘテロカプサ	クリプトモナス
1		ゲフィロカプサ	キクロテラ	ギムノディニウム
2		クリプトモナス	ゲフィロカプサ	キクロテラ
3		キクロテラ	ヘテロカプサ	ニッチア
H22	4	キクロテラ	ニッチア	モノラフィディウム
	5	キクロテラ	クロオコカス	-
	6	キクロテラ	ニッチア	-
	7	キクロテラ	クロオコカス	ゲフィロカプサ
	8	ミクロキステイス	クロオコカス	プリムネシウム
	9	ミクロキステイス	プリムネシウム	ピラミモナス
	10	ミクロキステイス	クロオコカス	モノラフィディウム
	11	ミクロキステイス	ゲフィロカプサ	クリプトモナス
	12	メロシラ	ヘテロカプサ	-
	1	メロシラ	-	-
	2	ゲフィロカプサ	ニッチア	ヘテロカプサ
	3	ニッチア	-	-
H23	4	ゲフィロカプサ	スフェロキステイス	メロシラ
	5	ゲフィロカプサ	スフェロキステイス	キートセロス
	6	メロシラ	ミクロキステイス	ゲフィロカプサ
	7	ミクロキステイス	メロシラ	ゲフィロカプサ
	8	ミクロキステイス	キクロテラ	クロオコカス
	9	ミクロキステイス	キクロテラ	クロオコカス
	10	クロオコカス	ミクロキステイス	キクロテラ
	11	ゲフィロカプサ	クロオモナス	ユーグレナ
	12	ニッチア	キクロテラ	ヘテロカプサ
	1	キートセロス	メロシラ	ゲフィロカプサ
	2	キートセロス	クリプトモナス	ニッチア
	3	キートセロス	不明	ニッチア
H24	4	ニッチア	キートセロス	メロシラ
	5	キクロテラ	-	-
	6	キクロテラ	クリプトモナス	-
	7	キクロテラ	クロオコカス	クリプトモナス
	8	キクロテラ	ヘテロカプサ	-
	9	クリプトモナス	キクロテラ	-
	10	クロオコカス	クラミドモナス	キクロテラ
	11	ヘテロカプサ	キクロテラ	-
	12	ヘテロカプサ	-	-
	1	ヘテロカプサ	キクロテラ	クリプトモナス
	2	不明	ヘテロカプサ	ユーグレナ
3	キートセロス	不明	ニッチア	
H25	4	クリプトモナス	キクロテラ	-
	5	キクロテラ	-	-
	6	キクロテラ	クリプトモナス	クラミドモナス
	7	クリプトモナス	-	-
	8	クリプトモナス	ヘテロカプサ	-
	9	ヘテロカプサ	-	-
	10	ヘテロカプサ	クリプトモナス	-
	11	ギムノディニウム	-	-



キクロテラ *Cyclotella* sp. 珪藻綱



ハリケイソウ (シネドラ) *Synedra* sp. 珪藻綱



ミクロキステイス *Microcystis* sp. 藍藻綱



ヘテロカプサ *Heterocapsa rotundata*. 鞭毛藻綱

【参考文献】

日本の淡水プランクトン 一瀬諭氏  
 日本淡水産動植物プランクトン図鑑  
 静岡県県戦略課題研究「快適空間『佐鳴湖』の創造」  
 淡水藻類写真集ガイドブック

## 【序論】

国内で使用される化学物質は年々増えており、個別に管理することが困難になってきている。このため環境水や排水の生態影響の大きさを、生物を用いて直接測定し、市民が安心して暮らせる環境づくりを目指す動きが進められている。環境省ではこの新しい取組みに「生物応答を利用した排水管理手法 (WET)」などの有効性について検討を行っており、これら生態リスク評価には主に藻類、ミジンコ類、魚類を用いた影響試験が実施されている。このうち藻類では OECD テストガイドライン (TG201) で、試験方法が示されているが、その方法では、無菌的に 72 時間の成長阻害を評価するため、長い試験時間と生物の管理が必要となる。

(独) 国立環境研究所では、迅速、簡便、低コストの手法である藻類の「遅延発光」を利用した生物影響評価手法を確立した浜松ホトニクス (株) (以下、HPK) と共同調査を行い、TG201 との整合性について調査を行っている。

今回、上記の手法を活用して、市内の公共用水域の保全や事業場排水等の環境影響を評価し、より安全な水環境の確立を目指すことを目的として、公共用水域の化学物質の影響を調査するものである。

## 【原理】

遅延発光とは、光合成の逆反応により発生する微弱な蛍光であり、化学物質の影響によって光合成阻害を受けることで変化をする。

## 【方法】

### (1) 藻類キット (HPK 製)

TG201 標準種

*Pseudokirchneriella subcapitata*

### (2) 培地 (HPK 製)

OECD 培地 (TG201 準拠)

### (3) 試料溶液

#### ① 浜松市内の環境基準点 4 検体

(伊佐地川中之谷橋、都田川落合橋、馬込川茄子橋、馬込川白羽橋)

静岡県の補完点 1 検体

(花川花川橋)

#### ② 金属標準液 (Zn 0.3mg/L、Ni 0.4mg/L、Cu 0.2mg/L、Cr (VI) 2mg/L)

### (4) 装置 等

超高感度ルミノメータ (HPK 製)

測定解析用ソフトウェア AllutoxDB

### (5) 試験方法

- ①  $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結した藻類キットを解凍する。チューブに OECD 培地 9.5mL を分注し、解凍した藻類 500  $\mu\text{L}$  をチューブに移し、ピペッティングする。
- ② ① で作製した試料を 1 時間回復培養する。
- ③ チューブに各濃度の検体溶液 (全量 10mL) を調製 (表 1 参照) する。

表1 検体溶液の調製方法

	対照	5	10	20	40	80 (%)
培地	9.5	9	8.5	7.5	5.5	1.5(mL)
試料	0	0.5	1	2	4	8(mL)
藻類	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5(mL)

- ④ 曝露 1、24 時間後の発光をルミノメータを用いて測定する。

- ⑤ 発光量の増加速度の低下率 (以下、速度低下率) を算出し、速度低下率が 50% となる試料濃度 EC50 (曝露 1-24 時間後) を算出した。

また、ろ過後の試料を用いて JIS K 0102 の方法を用いて金属等の測定を行った。

## 【結果と考察】

### 1. 公共用水域の結果

市内の環境基準点と県補完点（伊佐地川、都田川、茄子橋、白羽橋、花川）の曝露後の試料濃度 0% と 80%の遅延発光の増加速度を比較した（図 1）。

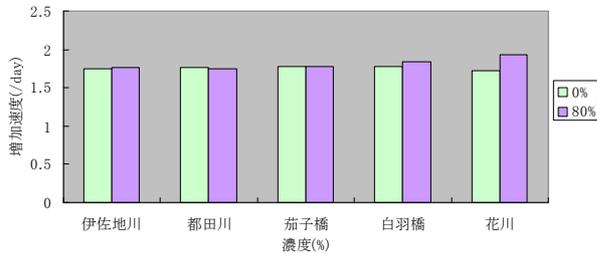


図 1 曝露後の各河川の増加速度の比較

各河川の検体濃度 0% と 80%の間で遅延発光の増加速度を比較したところ、いずれの河川も増加速度の差は見られず、EC50 は算出されなかった。このことから、今回調査した河川においては化学物質が藻類に対する生長に影響を及ぼす濃度ではないと考えられる。

### 2. EC50 を指標とした金属による *P. subcapitata* の影響評価

浜松市が行っている河川や事業場排水の測定項目から検出する多くは Zn や Ni、Cu といった金属である。今回は、金属（Zn 0.3mg/L、Ni 0.4 mg/L、Cu 0.2mg/L、Cr (VI) 2mg/L）による *P. subcapitata* の影響に着目し、評価を行った（図 2）。

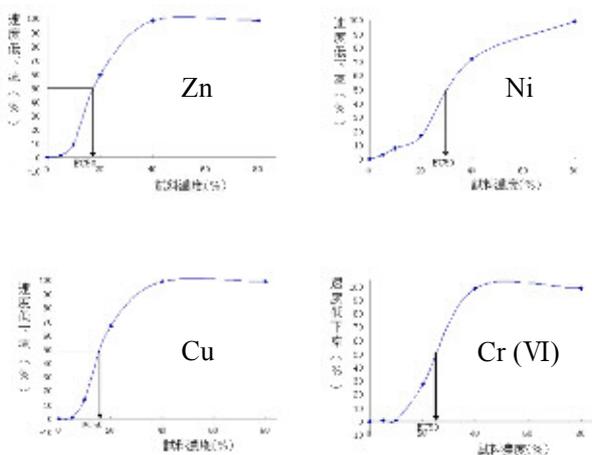


図 2 Zn,Ni,Cu,Cr(VI)の速度低下率

各金属（Zn、Ni、Cu、Cr (VI)）の速度低下率から EC50 を求めると、それぞれ 0.052、0.11、0.032、0.45 mg/L となった。これらの EC50 を従来の排水毒性評価法の EC50 と比較した。本検査で得られた EC50 のうち Ni と Cu、Cr (VI) に関しては、従来の EC50 と比較して近似値を得たが、Zn に関しては、大きく従来値より下回り、藻類に対しての毒性がより顕著に現れた（表 2）。

表 2 従来法との EC50 比較

	EC50(%)	換算 EC50(mg/L)	従来法 EC50(mg/L)
Zn	17.247	0.052	0.237
Ni	27.745	0.11	0.15
Cu	16.044	0.032	0.033
Cr (VI)	22.916	0.45	0.51

従来の EC50 は、Ecotox を参照して求めた。

### 【今後の課題、まとめ】

今回の評価では、金属の単独曝露のみを評価した。今後は、Zn と Cu、Zn と Ni といった金属の複合曝露や金属以外の農薬などの化学物質の曝露では、*P. subcapitata* に対してどのような影響を及ぼすのかなどを評価していく必要がある。

本検査で用いた「遅延発光」を利用した生物影響評価手法は、迅速、簡便かつ低コストの手法であるため、TG201 の検査手法と並行して用いることで、早期のスクリーニング手法として有用な検査方法であると考えられる。当所でも金属の EC50 を指標とした藻類の影響を評価することが出来たため、新しい評価手法の一つとして今後より検討を重ねていきたい。

### 【謝辞】

独立行政法人国立環境研究所本研究所鑑迫典久氏には、浜松ホトニクス（株）製の研究機材等の貸与、また、本研究を始めるにあたって特別なお詫らいを頂きました。また、浜松ホトニクス株式会社又政和氏及び佐藤由紀子氏には、検査法等について、ご助言頂きました。この場をかりて深謝いたします。

# 浜松市内の事業場排水を用いた「藻類微弱発光阻害試験」

水質測定グループ 鈴木大介 岩井利晃

## 【序論】

国内で使用される化学物質は年々増えており、個別に管理することが困難になってきている。このため環境水や排水の生態影響の大きさを、生物を用いて直接測定し、市民が安心して暮らせる環境づくりを目指す動きが進められている。環境省ではこの新しい取組みに「生物応答を利用した排水管理手法（WET）」などの有効性について検討を行っており、これら生態リスク評価には主に藻類、ミジンコ類、魚類を用いた影響試験が実施されている。このうち藻類ではOECDテストガイドライン（TG201）で、試験方法が示されているが、その方法では、無菌的に72時間の成長阻害を評価するため、長い試験時間と生物の管理が必要となる。

（独）国立環境研究所では、迅速、簡便、低コストの手法である藻類の「遅延発光」を利用した生物影響評価手法を確立した浜松ホトニクス（株）（以下 HPK）と共同調査を行い、TG201との整合性について調査を行っている。

今回、上記の手法を活用して、事業場排水等の環境影響を評価し、より安全な水環境の確立を目指すことを目的として事業場排水の化学物質の影響の調査を行うものである。

## 【方法】

本調査では、金属成分が排水に検出されやすい種別の特定施設を設置している事業場の排水を試料溶液とし、さらにそれらに含まれやすい金属として、特に亜鉛とニッケルについて着目し検討を行った。

- (1) 藻類(*P. subcapitata*)キット (HPK 製)
- (2) OECD 培地 (TG201 準拠、HPK 製)
- (3) 試料溶液

浜松市内事業場排水※ 6 検体 (検体 A-F)

※「電気メッキ施設」又は「酸またはアルカリによる表面処理施設」の少なくともどちらか一方の特定施設を設置している事業場から公共用水域に排出された水

金属標準液(ニッケル 0.4mg/L, 亜鉛 0.3mg/L)

- (4) 装置等

超高感度ルミノメータ (HPK 製)

測定解析用ソフトウェア AlltoxDB

## (5) 試験方法

- ① -80℃で凍結した藻類キットを解凍する。チューブに OECD 培地 9.5mL を分注し、藻類キット 500μL をチューブに移し、ピペッティングする。
- ② ①で作製した試料を 1 時間回復培養する。
- ③ 検体溶液(表 1 参照) を調製する。

表 1 検体溶液の調製方法

	0(対照)	5	10	20	40	80 (%)
培地	9.5	9	8.5	7.5	5.5	1.5(mL)
試料	0	0.5	1	2	4	8(mL)
藻類	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5(mL)

- ④ 曝露 1 時間後の発光をルミノメータを用いて測定(60 秒間)する (同様に、6、24 時間後にも発光計測を行う)。
- ⑤ 発光量の増加速度の低下率(以下 速度低下率)を算出し、速度低下率が 50%となる試料濃度 EC50 (曝露 1-24 時間後) を算出した。また、ろ過後の試料溶液を用いて JIS K 0102 の方法を用いて金属等を測定した。

## 【結果】

### 1. EC50 (%) の算出と金属等の測定結果

試料濃度毎の速度低下率を図 1 に示す。(1% 以下は 1%、99%以上は 99%とした。)

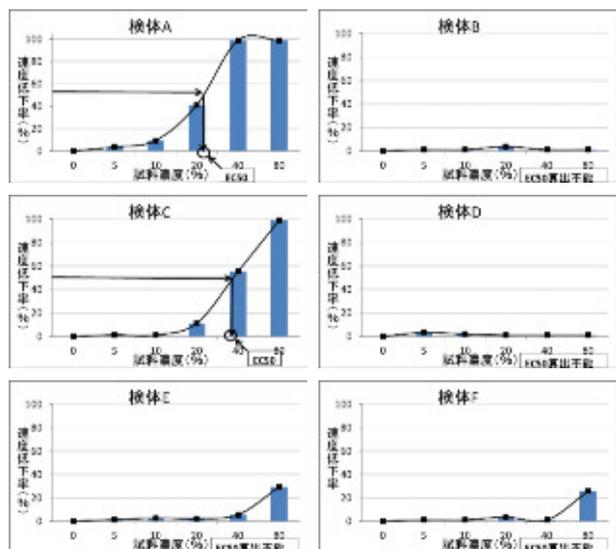


図 1 濃度毎の速度低下率 (曝露 1-24 時間後)

検体 A, C では濃い試料濃度で速度低下率が 99%を超えた。また、検体 E, F は試料濃度 80% において速度低下率が約 30%であった。

速度低下率が 50%以上を超えた検体 A, C から EC50 (%) が算出された。

EC50 (%) と金属等の測定結果を表 2 に示す。

表 2 EC50 (%) と金属等の測定結果 (検体 A-F)

検体名	検体 A	検体 B	検体 C	検体 D	検体 E	検体 F	単位
EC50(1-24h)	19.1	-	34.6	-	-	-	%
電気伝導率	43	120	150	41	49	100	mS/m
がまみ	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	mg/L
鉛	<0.005	0.009	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	mg/L
六価クロム	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	mg/L
ひ素	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	mg/L
フ素	<0.8	<0.8	<0.8	<0.8	<0.8	<0.8	mg/L
セシ	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	mg/L
硝酸性窒素	15	<1	3	3	4	5	mg/L
亜硝酸性窒素	<1	<1	<1	<1	<1	<1	mg/L
リン酸態リン	<0.1	10	<0.1	0.1	<0.1	<0.1	mg/L
銅	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	mg/L
亜鉛	0.40	0.019	0.16	0.009	0.031	0.021	mg/L
溶解性マンガ	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	mg/L
カド	<0.02	0.08	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	mg/L
ニッケル	0.08	0.24	<0.1	<0.01	0.12	0.12	mg/L

また、表 3 に金属標準液から算出された亜鉛とニッケルの EC50 (mg/L) を示す。

表 3 金属の EC50 (mg/L)

金属	EC50(mg/L)
亜鉛	0.052
ニッケル	0.11

表 2, 3 を比較すると、検体 A, C では亜鉛が、検体 B ではニッケルが、EC50 (mg/L) をそれぞれ大きく超えている。また、検体 E, F ではニッケルの EC50 (mg/L) とほぼ同量である。

## 2. 測定中の発光量の変化 (減衰曲線)

曝露 1 時間後の検体 A, C と亜鉛, ニッケルの発光量の減衰曲線を図 2 に示す。

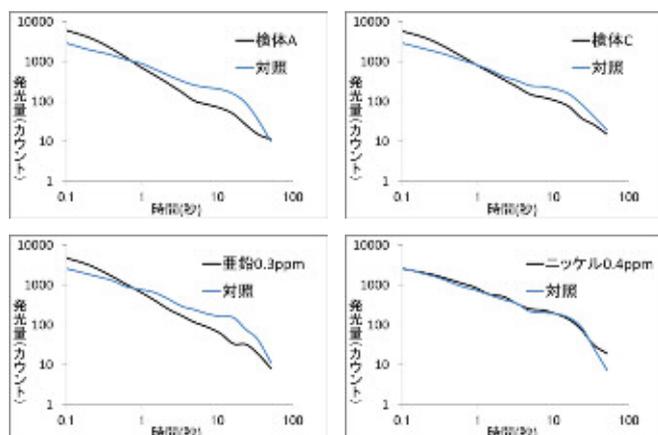


図 2 減衰曲線 (曝露 1 時間後、試料濃度 80%)

検体 A, C と亜鉛の減衰曲線はいずれも初期の発光量が対照 (試料濃度 0%) と比較して高く、その後は対照と比較して発光量が低くなるパ

ターンを示した。

また、ニッケルの減衰曲線は、対照と同じパターンを示し、検体 A, B とは異なっていた。

### 【考察】

EC50 (%) が算出された検体 A, C はいずれも検体の濃度が高くなるほど、速度低下率が増加している。また、亜鉛の EC50 (0.052mg/L) を超えており、亜鉛の曝露 1 時間後の減衰曲線が似たパターンを示していることから、主に亜鉛の影響によって生長障害が起こっているのではないかと推測される。

これらの結果により、事業場排水において遅延発光を用いることで、金属によっては、より簡便に藻類の生長に与える影響を評価できる可能性が示唆された。

### 【今後の課題】

検体 E, F は、試料濃度 80% では速度低下率が約 30%まで増加した。一方、検体 B では検体 E, F と比べニッケルがより多く含まれているにも関わらず、いずれの濃度でも、速度低下率の増加は認められなかった。これについては、今後、他の物質の影響を調べていきたい。

また、今後は、今回用いた急性毒性の指標の EC50 だけではなく、慢性毒性の指標である EC10 等も調べていきたい。

### 【遅延発光】

遅延発光とは、光合成の逆反応により発生する微弱な蛍光であり、化学物質の影響によって光合成障害を受けることで変化をする。この発光量は、測定時間の経過に従い、発光強度が減衰し、影響する物質により特徴的な曲線を示す。

### 【謝辞】

独立行政法人国立環境研究所本研究所鑑迫典久氏には、浜松ホトニクス (株) 製の研究機材等の貸与、また、本研究を始めるにあたって特別なお計らいを頂きました。また、浜松ホトニクス株式会社又政和氏及び佐藤由紀子氏には、検査法等について、ご助言頂きました。この場をかりて深謝いたします。

# ノニルフェノールの分析方法

水質測定グループ 野末泰宏

## 【はじめに】

ノニルフェノール(PRTR 政令番号 1-320)は、 $C_{15}H_{24}O$  で表される有機化合物(補足)であり、ノニル基の分岐や置換位置の違いにより、数多くの構造異性体が存在する(環境省、2012a)。ノニルフェノールの環境基準値は、「水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件」(平成 24 年 8 月 22 日付環境省告示第 127 号)により設定され、測定方法(以下、告示法)が示されている(環境省、2012b)。

水生生物保全環境基準が適用される公共用水域は水生生物の生息状況の適応性によって類型指定される。浜松市では、佐鳴湖拓希橋が湖沼生物 B、また、新川志都呂橋、伊佐地川中之谷橋、都田川落合橋、馬込川茄子橋及び馬込川白羽橋が生物 B に指定されており、これら 1 湖沼 4 河川についてノニルフェノールの水質環境基準が適用されることとなった。

松下(2013)は、ノニルフェノールの測定条件について検討し、報告しているところであるが、その一方で多くの検討事項が残されていた。しかし、平成 25 年度から測定を開始する体制が整ったことから、それまでの検討事項について報告する。

## 【方法】

ノニルフェノールの分析方法は、告示法及び JIS K0450-60-10(2014)に示されているが、検討により得られた知見を適宜反映した。本報告では、使用した試薬、装置、又は機器等の具体的態様、カラムクロマトグラフ管による妨害物質の除去方法、及び解析方法について特記する。また、定量下限値の設定については、「環境基本法に基づく環境基準の水域類型の指定及び水質汚濁防止法に基づく常時監視等の処理基準について」(平成 13 年 5 月 31 日付環水企第 92 号)に従った(環境省、2013)。なお、対象としたノニルフェノールの異性体は 13 種であり、各異性体を NP1 から NP13 と記載した(表 1)。

ノニルフェノール標準品は 4-ノニルフェノール(和光純薬工業株)、サロゲート物質は  $^{13}C$  ラベル 4-(3, 6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノール(和光純薬工業株)、内部標準物質は 4-*n*-ノニルフェノール- $d_4$ (和光純薬工業株)を使用した。

ノニルフェノール標準原液の組成比(以下、寄与率)は、水素炎イオン検出器(以下、FID)を備えたガスクロマトグラフ(以下、GC)により求めた。FID を備えた GC は、GC-2014(株島津製作所)、GC カラムは、DB-5MS(0.25 mm×0.25  $\mu$ m×30 m)を使用した。

水試料 500 ml を塩酸(1 mol/L)で pH 約 3 に調整し、サロゲート溶液(0.5  $\mu$ g/ml)を 0.5 ml、塩化ナトリウムを 30 g 加えた後、ジクロロメタンを 50 ml 加え、10 分間振とう抽出した。ジクロロメタンによる振とう抽出を 2 回繰り返し、ジクロロメタン層を合わせた溶液を無水硫酸ナトリウムにより脱水した後、約 1 ml まで濃縮した。

粒径 150~250  $\mu$ m のシリカゲル(シグマアルドリッチ)を充填したカラムクロマトグラフ管(内径約 10 mm、長さ約 280 mm)により妨害物質を除去した。シリカゲルは、約 130  $^{\circ}C$  で 15 時間以上加熱後、シリカゲル 95 g に対して、水 5 ml を含むように調製した。カラム管の底部にガラスウールを詰め、シリカゲル約 5 g をヘキサンにより流し込み充填させた。

カラムクロマトグラフ管に濃縮液を流し込み、パストゥール管を用いて、流速約 1 ml/分でジクロロメタン/ヘキサン混合液(3:7) 10 ml を流下させ、その溶出液を廃棄した。次に、円筒形滴下漏斗を用いて、ジクロロメタン/ヘキサン混合液(3:2)70 ml を溶離液として、流速約 1 ml/分で流下させ、溶出液を捕集した。

内部標準物質(0.5 μg/ml)を 0.5 ml 加え、溶出液を約 0.5 ml まで濃縮した。インサートガラスを装填したバイアル瓶に濃縮液を入れ、GC-MS による分析を行った。ガスクロマトグラフ質量分析計(以下、GC/MS)の GC 部は Agilent6890(Agilent)、MS 部は JMS-GCmate II(日本電子株)を使用した。なお、GC カラムは、DB-5MS(0.25 mm×0.25 μm×30 m)を使用した。

GC/MS 分析の測定条件は、スプリットレス方式で注入し、注入口温度は 270 °C、インターフェイス温度は 280 °C、イオン源温度は 270 °C であった。カラムの昇温条件は、50 °C で 2 分間定温に保った後、まず 120 °C まで 20 °C/分で昇温させ、次に 265°C まで 5 °C/分で昇温させ、最後に 300°C まで 20 °C/分で昇温させ、300 °C で 2 分間定温に保った。MS 分析において、選択イオン検出法(以下、SIM 法)により 13 物質を同定し、検量線法により定量した(表 1)。

表 1 ノニルフェノール標準液の各異性体、サロゲート物質、及び内部標準物質の定量イオンと確認イオン。ノニルフェノールの各異性体の定量下限値。

略称	異性体名	定量イオン m/z	確認イオン m/z	定量下限値 (μg/L)
NP1	4- (2, 4-ジメチルヘプタン-4-イル) フェノール	121	163	0.003
NP2	4- (2, 4-ジメチルヘプタン-2-イル) フェノール	135	220	0.005
NP3	4- (3, 6-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	135	107	0.005
NP4	4- (3, 5-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	149	191	0.004
NP5	4- (2, 5-ジメチルヘプタン-2-イル) フェノール	163	135	0.001
NP6	4- (3, 5-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	149	191	0.005
NP7	4- (3-エチル-2-メチルヘキサン-2-イル) フェノール	135	220	0.002
NP8	4- (3, 4-ジメチルヘプタン-4-イル) フェノール	163	121	0.003
NP9	4- (3, 4-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	149	107	0.004
NP10	4- (3, 4-ジメチルヘプタン-4-イル) フェノール	163	121	0.002
NP11	4- (2, 3-ジメチルヘプタン-2-イル) フェノール	135	220	0.006
NP12	4- (3-メチルオクタン-3-イル) フェノール	191	163	0.001
NP13	4- (3, 4-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	149	107	0.004
サロゲート物質	<sup>13</sup> Cラベル4- (3, 6-ジメチル-3-ヘプチル) フェノール	155	113	
内部標準物質	4-n-ノニルフェノール-d <sub>4</sub>	111	224	

表 2 平成 25 年度水質環境の監視における測定値。

環境基準点	水域類型	環境基準値 (μg/L)	報告下限値 (μg/L)	測定結果 12月 (μg/L)	サロゲート 回収率 (%)
佐鳴湖拓希橋	湖沼生物B	0.002	0.00006	<0.00006	84
新川志都呂橋	生物B	0.002	0.00006	<0.00006	51
伊佐地川中之谷橋	生物B	0.002	0.00006	0.00006	51
都田川落合橋	生物B	0.002	0.00006	<0.00006	67
馬込川茄子橋	生物B	0.002	0.00006	<0.00006	70
馬込川白羽橋	生物B	0.002	0.00006	<0.00006	74

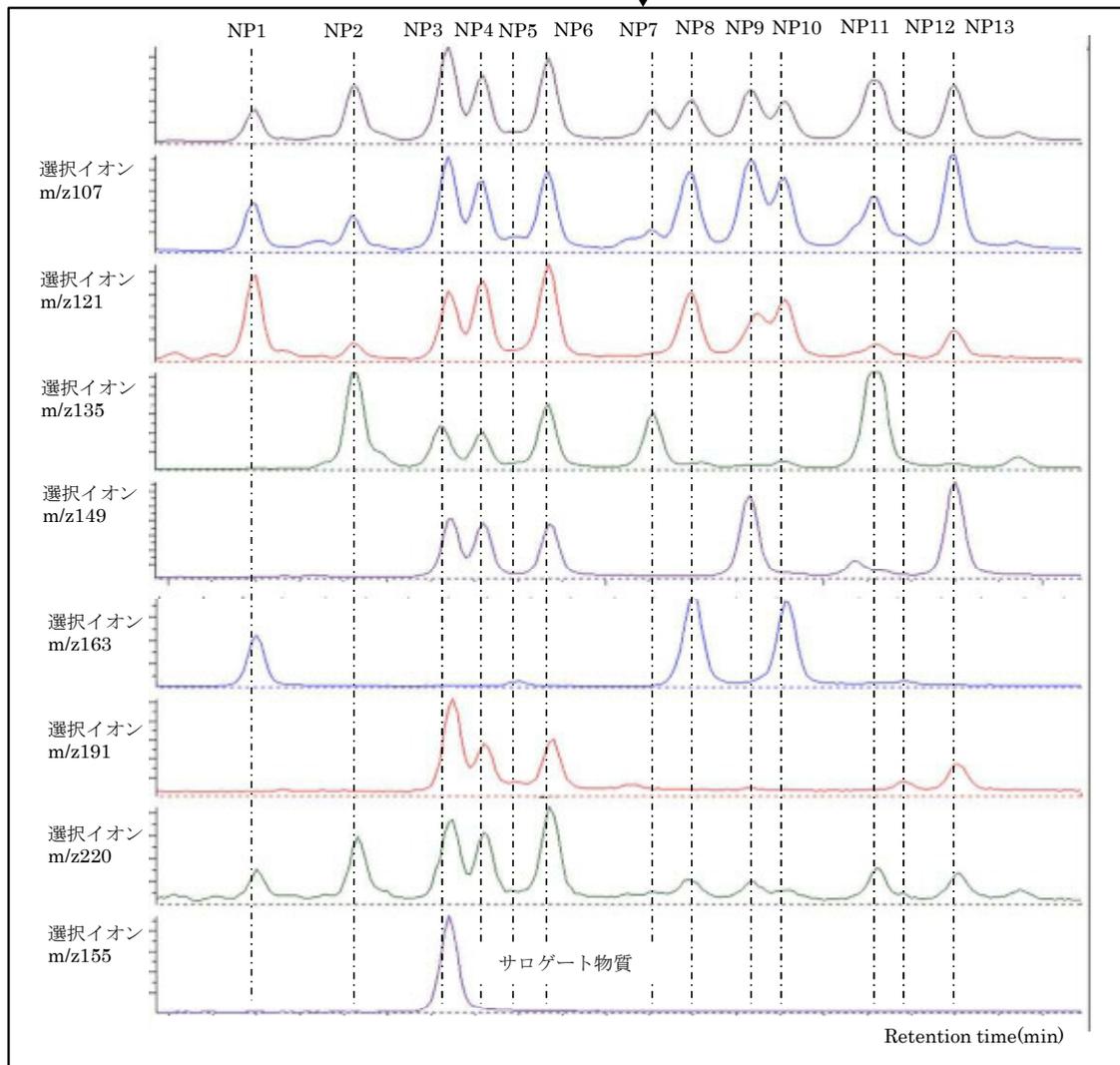
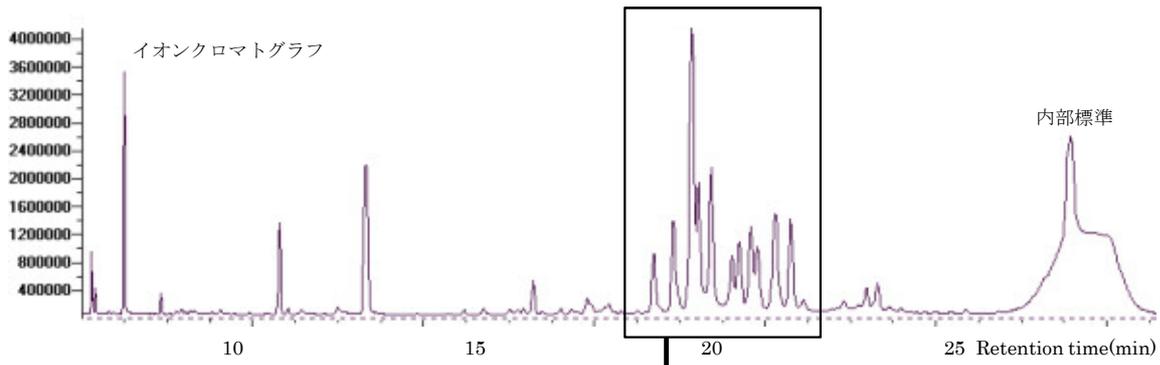


図1 ノニルフェノール標準液をGC/MS分析した場合のクロマトグラフ。

## 【結果】

ノニルフェノール標準液を SIM 法により GC/MS 分析したところ、定量イオン又は確認イオンにより、13 物質のピークがあることを確認した(図 1)。

ノニルフェノール標準液の濃度が 40 から 2,000  $\mu\text{g/L}$  になるように調整し、各対象物質の定量イオンとサロゲート物質の定量イオンとのピーク面積比から各物質の検量線を作成した。例えば、NP2 の寄与率は 11.0 %、標準物質のファクターは 0.949 であったので、NP2 の検量線の濃度幅は、4.17 から 208  $\mu\text{g/L}$  となった(図 2)。

12 月における各環境基準点における測定結果は表 2 のとおりであった。なお、環境基準値が複数物質の濃度の和とされている環境基準項目については、それぞれの定量下限値を設定した上で、当該物質それぞれの定量下限値を合計して得た値を報告下限値とし、当該物質がいずれも、それぞれの定量下限値未満の場合には、報告下限値未満とすることが規定されている。(環境省、2013)。

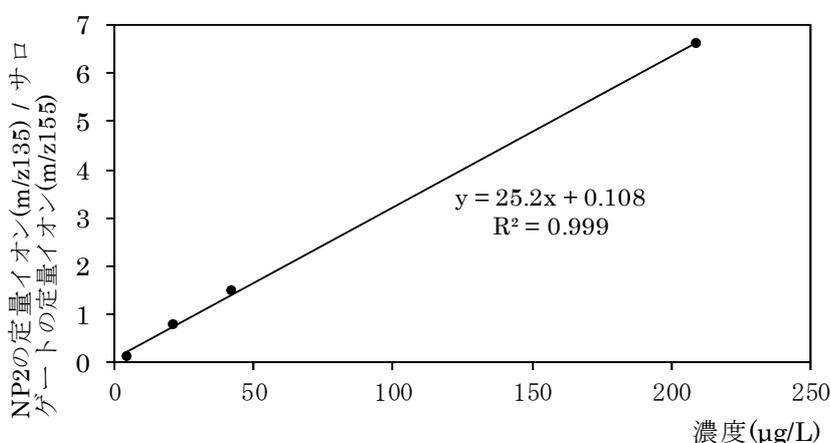


図 2 ノニルフェノール異性体(NP2)の検量線。なお、NP2 の濃度は、標準液の濃度、寄与率及びファクターにより計算した。

## 【考察】

ノニルフェノールを定量するにあたっては、異性体ごとの濃度を定量し、それらの濃度を合計する必要がある。そのため、新たに標準品から標準原液を作製する場合には、FID を備えた GC により、各異性体の寄与率を算定した。

本方法による定量下限値は、以下のとおり算出した。例えば、NP2 については、水試料は 1,000 倍濃縮(試料 500 ml を 0.5 ml に濃縮)しているので、検量線の最小濃度 4.17  $\mu\text{g/L}$  を 1,000 で除した値である 0.00417  $\mu\text{g/L}$  から定量下限値を 0.005  $\mu\text{g/L}$  とした。このようにして、NP1 から NP13 までの定量下限値を算定し(表 1)、それらの合計である 0.045  $\mu\text{g/L}$  をノニルフェノールの定量下限値とした。したがって、本方法による定量下限値は、告示法に示された定量下限値である 0.06  $\mu\text{g/L}$  を満足する。

ノニルフェノール標準液を SIM 法により GC/MS 分析し、定量イオン又は確認イオンのイオンによって 13 物質のピークがあることは確認された(図 1)。告示法では、NP5 の定量イオンは m/z135、確認イオンは m/z163 としているが、m/z135 のイオンのピークは明瞭ではなく、検量線の精度が確保されなかった。しかし、m/z163 のイオンのピークは明瞭であり、このイオンにより作成された検量線は、十分な精度であった。そこで、本方法では、NP5 の定量イオンを m/z163、確認イオンを m/z135 とした。

事前に既知量の標準物質を添加したものをを用いて、各対象物質の溶出パターンを確認し、カラムクロマトグラム操作に必要なジクロロメタン/ヘキサン混合液(3:7)とジクロロメタン/ヘキサン混合液(3:2)の量を求めておくことが告示法で示されている(環境省、2012b)。また、カラムクロマトグラフ管に充填するシリカゲル量は、約 15 g となっている。このことは、カラムクロマトグラフ管による妨害物質の除去過程については、各分析機関で最適化を検討する必要があることを示している。そこで、これらについて検討したところ、本方法で示したシリカゲル量や溶離液の流下量が概ね適当であることを確認している。

試料中の各対象物質の濃度を算出するときは、内部標準物質により試料に添加したサロゲート物質の回収率を算出し、回収率を確認する(環境省、2012b)。今回の測定では、サロゲートの回収率は 50~80%であったことから、条件の最適化をより一層図る必要がある。検討段階において、カラムクロマトグラフ管による妨害物質の除去過程でサロゲートの回収率が大きく低下することが示唆されたことから、充填するシリカゲルの量、又は溶媒の混合比率や流下量等をさらに検討する必要がある。

### 【謝辞】

ノニルフェノールの分析法の検討にあたり、さいたま市健康科学研究センターの職員の皆様には多くの有益なご助言を頂いたことについて、厚くお礼申し上げます。

### 【引用文献】

JIS K0450-60-10(2014) : 工業用水・工場排水中の 4-ノニルフェノールの異性体別試験方法。

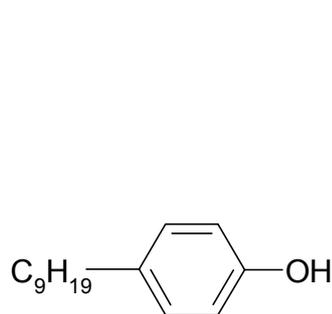
環境省(2012a) : 化学物質ファクトシート 2012 年度版, pp. 902-905.

環境省(2012b) : 水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件(平成 24 年 8 月 22 日付環境省告示第 127 号)。

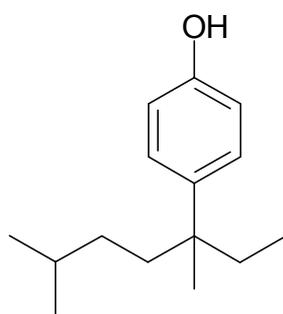
環境省(2013) : 環境基本法に基づく環境基準の水域類型の指定及び水質汚濁防止法に基づく常時監視等の処理基準について(平成 13 年 5 月 31 日付環水企第 92 号)。

松下佳代(2013) : ノニルフェノールの測定条件の検討, 浜松市保健環境研究所年報, 23, 72-74.

### 【補足】



4-ノニルフェノール



NP3:4-(3,6-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール

# 塩化物イオン測定業務の改善について

水質測定グループ 太田辰也

## 【はじめに】

塩化物イオンは、水質汚濁に係る環境基準項目ではないものの、下水、家庭排水、工場排水、海水等の混入により検出され、水質汚濁の指標の一つとなっている。

当所では、公共用水域の水質測定計画に基づき、塩化物イオン測定を33地点で実施している。測定方法は、イオンクロマトグラフ法とモール法（滴定法）を併用しており、モール法では、海水の影響を受ける佐鳴湖等の検体を測定している。

今回、導電率と塩化物イオンの関係に着目して、モール法測定業務の改善（効率化）について検討したので報告する。

## 【モール法の概要】

クロム酸カリウム水溶液を指示薬として、硝酸銀水溶液で滴定する。反応式は、下記のとおりである。

塩化物イオン + 銀イオン → 塩化銀

クロム酸イオン + 銀イオン → クロム酸銀

クロム酸銀の赤褐色沈殿ができた時、溶液が微橙色を呈し、終点の判定ができる。

滴定後の検体は、六価クロムを含有するため、特定管理産業廃棄物として処理する必要がある。

## 【改善前のフロー】

検水採取 適量 = 前年度同一検体の検水量

↓

↓ クロム酸カリウム水溶液 0.5ml

↓

0.01N硝酸銀水溶液で滴定

↓

滴定量が3ml未満 ⇒ 再滴定

滴定量が3～10mlの範囲 ⇒ 終了

滴定量が10ml超過 ⇒ 再滴定

検体の塩化物イオン濃度が予想できないため、海水の影響を受ける佐鳴湖等の検体について

では、滴定が一回では終わらない場合が非常に多く、また、それに伴い有害な産業廃棄物が増加するといった問題点が生じていた。

## 【導電率と塩化物イオンの関係】

平成25年12月3日の水質環境検体（感潮域検体N=8）について、塩化物イオン濃度を測定した後、導電率を測定した。結果を表-1に示す。

表-1 導電率測定結果

No.	検体名	導電率 (mS/m)	CL (mg/L)
1	佐鳴湖湖心	579	1,577
2	佐鳴湖拓希橋	807	2,212
3	新川志都呂橋	2,110	6,540
4	都田川落合橋	338	769
5	堀留川水門	662	1,921
6	境川前田橋	342	879
7	九領川九領橋	389	985
8	よし本川よし本橋	1,104	3,374

上記表-1の値をプロットした結果を図-1に示す。決定係数は $R^2=0.9909$ 、回帰直線は $Y=3.0004X$ となった。

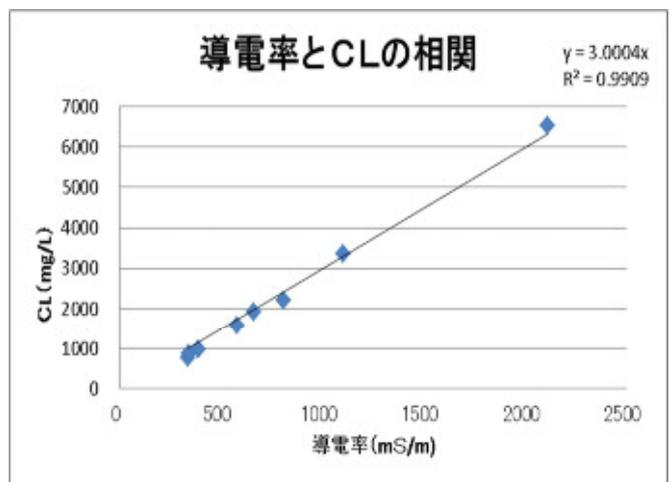


図-1 導電率と塩化物イオンの相関

### 【改善後のフロー】

検水の導電率測定  
 ↓  
 予想塩化物イオン濃度の算出、検水量の算出  
 ↓  
 検水採取  
 ↓  
 ↓クロム酸カリウム水溶液 0.5ml  
 ↓  
 0.01N硝酸銀水溶液で滴定  
 ↓  
 滴定量が3～10mlの範囲⇒終了

### 【水質環境検体での実験】

平成26年1月8日の水質環境検体（感潮域検体N=5）について、改善後のフローにて実験を行った。

検水の導電率測定、予想塩化物イオン濃度及び検水量の算出結果を表-2に示す。

表-2 検水量等の算出結果

No.	検体名	導電率 (mS/m)	予想CL (mg/L)	検水量 (mL)
1	佐鳴湖湖心	982	2,946	0.7
2	佐鳴湖拓希橋	997	2,991	0.7
3	新川志都呂橋	1,124	3,372	0.6
4	都田川落合橋	355	1,065	2.0
5	釣橋川三代橋	2,750	8,250	0.25

検体の導電率を測定した後、導電率の値を3倍して予想塩化物イオン濃度を算出した。次に、ブランク抜きで滴定量が6mlになるような検水量を下記計算式で算出した。

$$\text{検水量} = (6 \times 1,000 \times 0.3545) / \text{予想CL}$$

算出した検水量を採取し、100mlに定容した後、滴定した。結果を表-3に示す。

表-3 滴定結果

No.	検体名	滴定量 (mL)	CL (mg/L)	予想CL/CL (%)
1	佐鳴湖湖心	6.97	3,033	97
2	佐鳴湖拓希橋	7.08	3,089	97
3	新川志都呂橋	6.91	3,503	96
4	都田川落合橋	6.75	1,022	104
5	釣橋川三代橋	7.69	9,514	87
-	ブランク	0.98		

5検体とも、滴定量が6～8mlの範囲であり、一回で滴定を終了することができた。

検体No. 1～No. 4の予想塩化物イオン濃度は、滴定で求めた塩化物イオン濃度に対して95～105%の範囲内に入っており、導電率による予想が有効であることを示している。

また、検体No. 5の予想塩化物イオン濃度は、回帰直線の範囲外であったため、滴定で求めた塩化物イオン濃度に対して低めの87%であったが、滴定量の増加は1ml以内に抑えることができた。

### 【まとめ】

導電率を事前に測定することにより塩化物イオンの予想が可能となり、モール法の滴定が一回で終了するとともに、感潮域の検体では有害な産業廃棄物をほぼ半減することができた。

今後、事前に導電率を測定することでデータを集積していけば、水系ごとや地点ごとの回帰直線ができ、予想の精度も一段と向上するものと思われる。

# 平成 25 年度光化学オキシダント監視強化期間の結果について

大気測定グループ 米澤真梨子

## 【はじめに】

光化学オキシダント（以下、オキシダント）は、窒素酸化物や硫黄酸化物を前駆物質として、光化学反応により生成される物質である。高濃度になると、喉や目の痛みを引き起こすことから、日射が強くなる 5 月～9 月を光化学オキシダント監視強化期間として、警報の発令等により、住民へ注意喚起を行っている。

今回は、平成 25 年度のオキシダント監視強化期間の結果についてまとめたので、報告する。

## 【方法】

浜松市大気汚染監視システムを用い、表 1 の 10 測定局において測定されたオキシダント濃度、窒素酸化物(以下、NO<sub>x</sub>)濃度、風向及び風速の一時間値を測定した。データを用いた期間は、光化学オキシダント監視強化期間である平成 25 年 5 月 1 日～9 月 30 日である。なお、校正、強制欠測等は除く。

表 1 測定局一覧

局名	設置場所	測定項目				
		O <sub>x</sub>	NO <sub>x</sub>	PM2.5	風向	風速
中央測定局	浜松市立西部中学校	○	○	○	○	○
東部測定局	浜松市立蒲小学校	○			○	○
東南部測定局	浜松市立南陽中学校	○	○		○	○
西南部測定局	浜松市立篠原中学校	○	○		○	○
西部測定局	浜松市立神久呂小学校	○	○		○	○
北部測定局	浜松市立葵が丘小学校	○	○	○	○	○
東北部測定局	浜松市立大瀬小学校	○	○		○	○
浜北測定局	浜松市立北浜小学校	○	○		○	○
引佐測定局	引佐協働センター	○			○	○
三ヶ日測定局	三ヶ日協働センター	○	○	○	○	○

## 【結果】

### 1 光化学オキシダント濃度階級予測のまとめ

毎年 5 月～9 月を光化学オキシダント監視強化期間としている。その期間中は、県から日中のオキシダント濃度を予測した光化学オキシダント濃度階級予測が発表される。(表 2)

表 2 光化学オキシダント濃度階級予測

光化学オキシダント濃度が	
A	: 高くなる (120ppb以上)
B	: 高くなりやすい(100ppb以上、120ppb未満)
C	: 低い (100ppb未満)

表 3 光化学オキシダント濃度階級予測 (西部地区)

予測	H25年度						H23年度	H24年度
	5月	6月	7月	8月	9月	計		
A	0	0	0	0	0	0	0	0
B	3	0	8	8	2	21	12	5
C	28	30	23	23	28	132	141	148
計	31	30	31	31	30	153	153	153

平成 25 年度の静岡県西部地区の予測を表 3 に示す。

A ランクの予測は過去 2 年間と同様、0 日であったが、B ランク予測日数は計 21 日と、平成 24 年度及び平成 23 年度の B ランク予測日数を大きく上回った。

その理由として、今年は 7 月 8 日に例年より 10 日以上早い梅雨明けを迎え、図 1 に示したとおり、梅雨明け後からオキシダント濃度が急激に上昇したことが挙げられる。三ヶ日測定局に至っては、7 月 11 日及び 12 日に 100ppb を超える濃度が観測された。

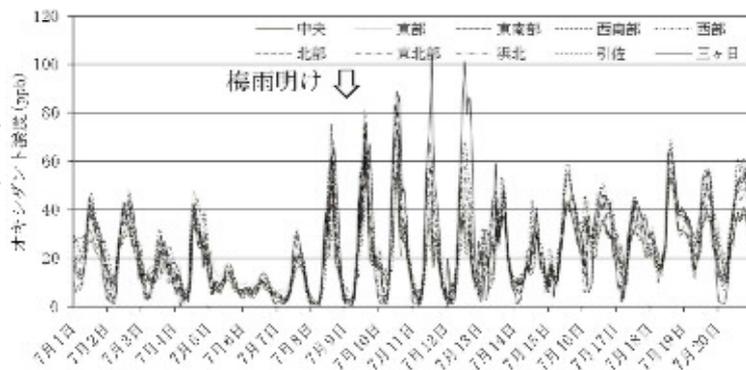


図 1 オキシダント濃度(7月 1 日～20 日)

また、オキシダント濃度が高い値を示した 7 月 8 日～12 日の各測定局における NO<sub>x</sub> の最大値は 22～59ppb であり、オキシダントの前駆物質である NO<sub>x</sub> が高濃度であったこともオキシダント濃度を引き上げた要因であったと考えられる。

### 2 三ヶ日測定局の高濃度事例について

今年度から測定を開始した三ヶ日測定局では、度々 100ppb を超える値が観測された。

8 月にオキシダント濃度が高い値を示した 7 日～10 日の事例について着目し、考察を行った。

オキシダントの前駆物質である、NO<sub>x</sub> との濃度の関係を調べたところ、一般的に知られて

いるように、オキシダント濃度が上がるにつれ、NO<sub>x</sub>濃度は下がる傾向が認められた。(図2)

風向と風速を調べたところ、7日および8日は日中、主に南から弱い風が吹いており、9日及び10日については、北～西の方角からの風が卓越していたことが分かった。このことから、9日及び10日においては、西からの汚染物質の移流があったのではないかと考えられる。

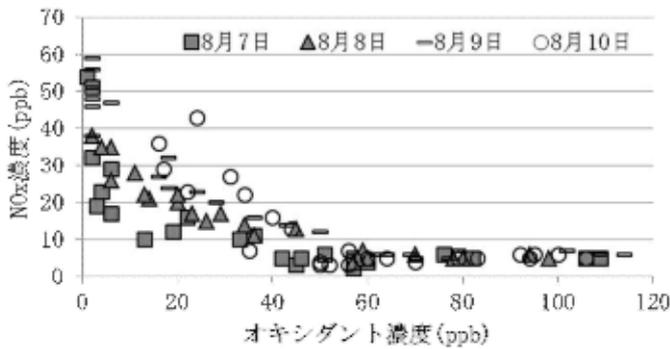


図2 オキシダント濃度とNO<sub>x</sub>濃度の関係

また、オキシダント濃度が日照のピークを追いかけてピークをとり、夕方には値が下がっていることから、オキシダントとしての移流だけでなく、NO<sub>x</sub>等の前駆物質の供給があったものと考えられる。

### 3 オキシダント濃度における測定局間の関係

光化学オキシダント監視強化期間中のオキシダント濃度について、各測定局間で相関をとった結果を表4に示す。

相関係数のもっとも高かった組合せに着目したところ、3つのグループに分類できた。

表4 オキシダント濃度における各測定局間での相関

group1	中央	1									
	東部	0.950	1								
	東南部	0.904	0.913	1							
	西南部	0.946	0.937	0.880	1						
group2	西部	0.929	0.936	0.902	0.937	1					
	北部	0.925	0.927	0.881	0.899	0.942	1				
	東北部	0.930	0.963	0.896	0.914	0.944	0.952	1			
	浜北	0.924	0.926	0.870	0.874	0.904	0.933	0.967	1		
group3	引佐	0.863	0.895	0.842	0.865	0.910	0.905	0.928	0.925	1	
	三ヶ日	0.825	0.860	0.840	0.840	0.904	0.872	0.894	0.879	0.946	1
	中央										

### 4 微小粒子状物質とオキシダントの関係

微小粒子状物質(以下、PM2.5)は、平成21年度に環境基準が制定された。環境基準の制定を受け、本市においてもPM2.5の自動測定機

を設置し、監視を行っている。

PM2.5については、粒子状物質として発生源から直接排出されるものと、オキシダントと同様、光化学反応により生成されるものがある。

オキシダント濃度が60ppbを超えた際の三ヶ日測定局におけるオキシダント濃度とPM2.5の関係を下图に示す。

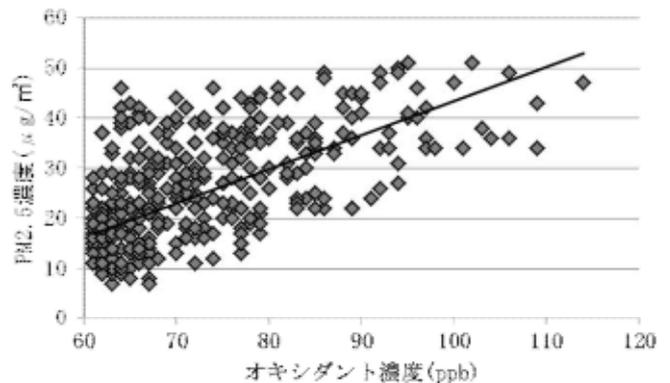


図3 オキシダント濃度とPM2.5濃度の関係

オキシダント濃度の上昇とともに、PM2.5濃度も上昇することが見て取れ、オキシダント濃度が60ppb以上になるような気象条件下で、PM2.5についても光化学反応による二次生成が進み、濃度が上昇したと考えられる。

### 【まとめ】

- ・平成25年度のオキシダント濃度階級予測は、Aランクはなかったものの、Bランクの予測が過去2年よりも増加した。

- ・三ヶ日測定局は、今年度から追加された測定局であるが、度々高濃度事例が発生しており、その背景には西からの前駆物質の供給を受けている可能性が示唆される。

- ・測定局間でオキシダント濃度の相関をとったところ、地域別に3つのグループに分けることができた。

- ・オキシダントとPM2.5の関係は、オキシダント濃度が60ppbを超えるような気象条件において比例関係にあることが確認できた。PM2.5の監視体制は、今年2月より午後の高濃度事例にも対応できるよう、強化されたばかりであり、このような解析を進めることで、オキシダント濃度から光化学反応によるPM2.5の濃度上昇をある程度予測できるかもしれない。

# 平成 25 年度微小粒子状物質成分分析結果報告

大気測定グループ 佐藤葉留佳

## 【はじめに】

微小粒子状物質（以下 PM2.5）は、粒径が小さく呼吸器の奥深くまで入り込みやすいことから、人への健康影響が懸念されている。そのため、平成 21 年 9 月に PM2.5 の 1 年平均値が  $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$  以下であり、かつ 1 日平均値が  $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$  以下であることという大気環境基準が定められた。これを受け、大気汚染防止法に基づき地方公共団体による大気汚染状況の常時監視が必要となったことから、環境省は平成 22 年 3 月、PM2.5 を地方公共団体による常時監視の対象に追加した。その際、環境基準達成状況を把握するための質量濃度だけでなく、効果的な PM2.5 対策の検討のために成分分析の実施も追加された。成分分析項目は、イオン成分、炭素成分、無機元素成分である。浜松市では、今年度よりイオン成分と炭素成分を委託で、無機元素成分を直営で測定している。

今回は平成 25 年度の結果について報告する。

## 【測定方法】

### 1 試料採取期間

測定期間は、環境省の統一試料捕集期間に合わせ、下記の日程で行った。

春季：平成 25 年 5 月 8 日～22 日

夏季：平成 25 年 7 月 24 日～8 月 7 日

秋季：平成 25 年 10 月 23 日～11 月 6 日

冬季：平成 26 年 1 月 22 日～2 月 5 日

### 2 試料採取地点

試料採取は、北部測定局（浜松市立葵が丘小学校）にて行った。北部測定局は、東名高速道路の南側に位置し、周囲には公園や住宅地があるが、東側を中心に金属加工の工場が多く存在するため、有機溶剤の濃度が高い傾向にある。常時監視項目は、二酸化硫黄、浮遊粒子状物質、窒素酸化物、オキシダント、非メタン炭化水素、微小粒子状物質、風向及び風速で、その他に一般大気環境のモニタリングとして、ダイオキシンを含む有害大気 22 物質の測定も行っている。

### 3 測定項目及び方法

測定項目及び方法は、表 1 の通りである。

表 1 測定項目及び方法

測定項目	測定方法
質量濃度 (1項目)	フィルタによる微小粒子状物質質量濃度測定法
イオン成分 (9項目)	イオンクロマトグラフ法
炭素成分 (2項目)	サーマルオプティカル・リフレクタンス法
無機元素成分 (29項目)	酸分解/ICP-MS法

なお、無機元素成分は直営にて行ったため、測定フローを図 1 に示す。

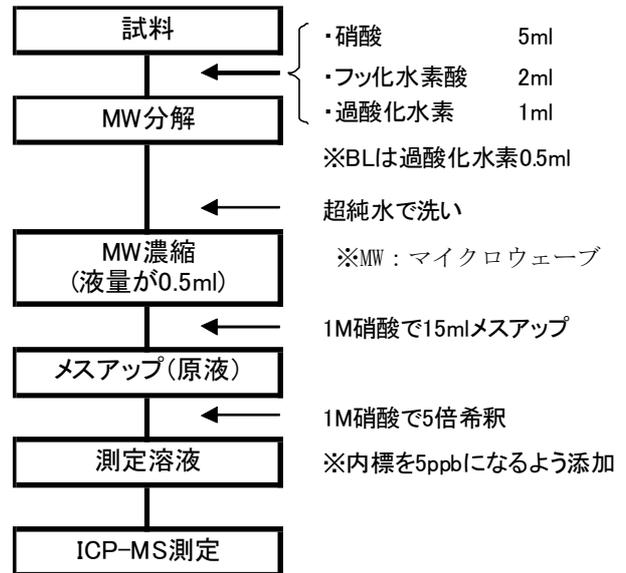


図1 前処理から分析までのフロー図

また無機元素成分の測定には、標準物質として SPEX 社製 XSTC-1668 及び XSTC-1667 を用いた。また、内標準は和光純薬工業(株)製 Li 標準液、Y 標準液、In 標準液を用いた。硝酸は関東化学(株)製のものを、過酸化水素及びフッ化水素酸は、和光純薬工業(株)製のものをを用いた。

### 【結果及び考察】

春季、夏季、秋季、冬季の成分分析結果をそれぞれ図 2、図 3、図 4、図 5 に示す。また、汚染起源の指標となる Pb/Zn を算出した。一般的に Pb/Zn が 0.5～0.6 の範囲で大陸起源の汚染、0.2～0.3 の範囲で国内起源と言われている。

1年を通じて、質量濃度が日平均値の環境基準値である  $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$  を超過したのは、夏季の2日間のみであった。また、成分組成の季節変動は少なく、PM2.5の質量濃度の60~100%を炭素成分、無機元素成分、イオン成分が占めていた。残りは多環芳香族等の未測定物質及び水分や結合酸素と考えられる。

また各成分の特徴として、炭素成分は、自然起源と考えられる有機炭素成分(OC)が人為起源と考えられる元素状炭素成分(EC)を、すべての調査日で上回る結果となった。

無機イオン成分は、質量濃度の最も主要な成分であり、中でも硫酸イオンとアンモニウムイオンの濃度が突出していた。また、その生成比から、硫酸アンモニウムの形成が示唆された。無機元素成分は、質量濃度に占める重量としては小さく、濃度としては、ナトリウム、アルミニウム、カリウム、カルシウムの濃度が高い傾向に見られた。

全体を見ると、質量濃度が高い日は、イオン成分の濃度が増加する傾向にあった。

また、Pb/Zn に関しては、最高でも0.45であり、浜松市は大陸起源の汚染を多く受けているとは言い難い。

今年度は調査1年目ということもあり、上記に挙げた傾向だけでは議論できない。そのため今後も調査を継続し、傾向を掴んでいきたいと思う。

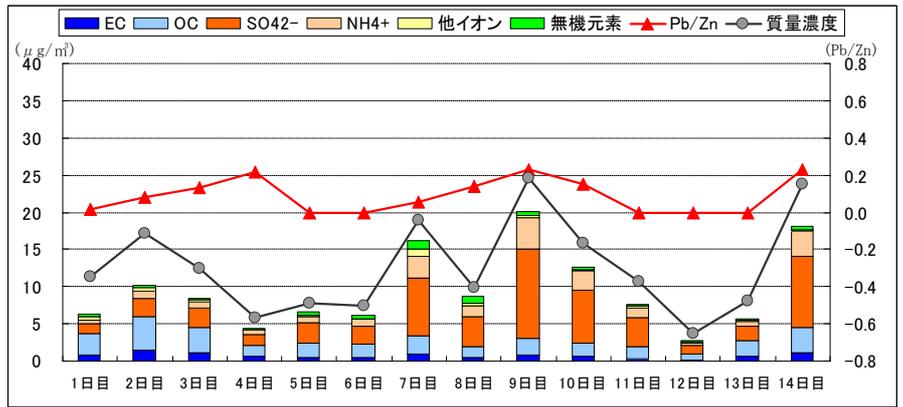


図2 春季測定結果

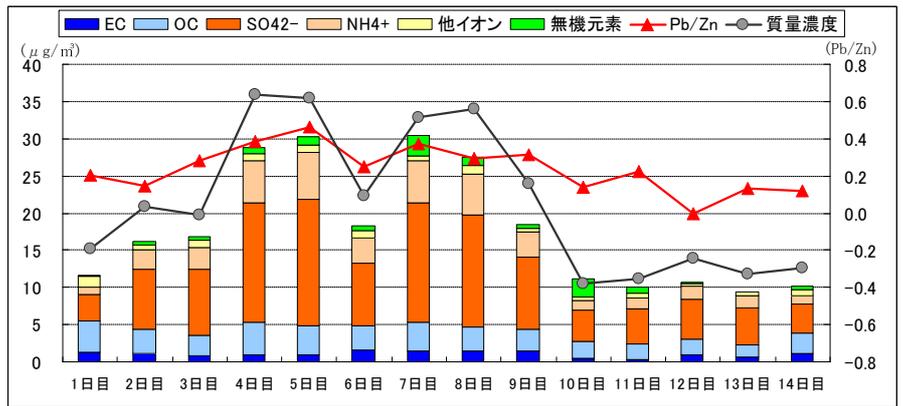


図3 夏季測定結果

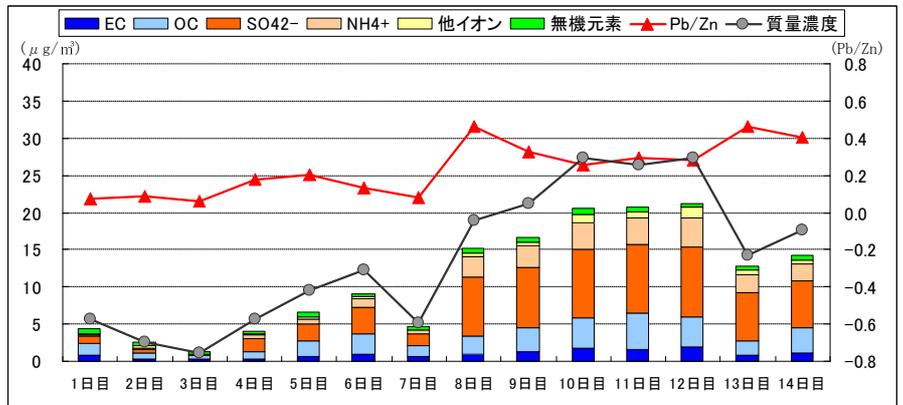


図4 秋季測定結果

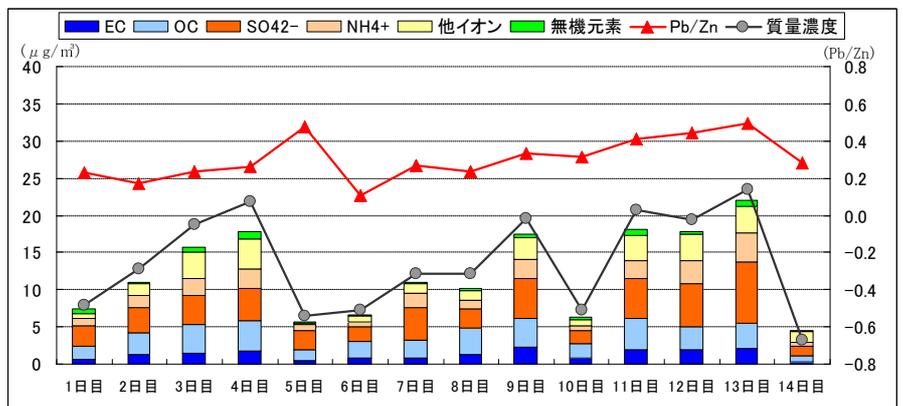


図5 冬季測定結果

---

---

浜松市保健環境研究所年報

第 2 4 号

平成 2 6 年 1 1 月発行

編集発行

浜松市保健環境研究所

〒435-8642 静岡県浜松市東区上西町939-2

TEL 053-411-1311

FAX 053-411-1313

E-mail [hokanken@city.hamamatsu.shizuoka.jp](mailto:hokanken@city.hamamatsu.shizuoka.jp)

---

---