

# 浜松市保健環境研究所年報

平成26年度版

No. 25 2014



# 目 次

## I 概要

1 沿 革	1
2 施 設	1
3 組 織	1
4 予 算 額	2
5 主要機器の購入・リース状況	3

## II 試験検査業務

1 試験検査実施検体数	4
2 試験検査実施項目数	5
3 微生物検査グループ検査実施数	6
4 食品分析グループ検査実施数	8
5 大気測定グループ検査実施数	9
6 水質測定グループ検査実施数	10
7 微生物検査の概要	12
8 食品分析の概要	19
9 大気測定の概要	24
10 水質測定の概要	27

## III 調査研究業務

1 病原大腸菌O128:H2が検出された集団感染事例について	30
2 鮮魚類における粘液胞子虫寄生状況について	32
3 小児患者から分離された肺炎球菌の血清型について	34
4 魚介類加工品のヒスタミン産生菌定量について	36
5 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(第2報)	38
6 パンソルビン・トラップ法を用いた一般食品からのノロウイルス検出法の検討	40
7 浜松市におけるノロウイルスの検出法	44
8 パンを原因とした集団食中毒事例におけるノロウイルスの遺伝子解析	46
9 「MDクリニックダイエット」の分析について	49
10 野菜中残留農薬定量法の検討について	52
11 加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法の検討	56
12 輸入柑橘類における新規防かび剤の分析について	59
13 イオンクロマトグラフィーによる食品中のスクラロースの分析について	61
14 PM2.5中のイオン成分測定法の検討	64
15 浜松市におけるPM2.5測定結果報告	66
16 佐鳴湖における水草・魚類調査	68
17 懸濁物に含まれる有機物起源の推定方法	71
18 へい死魚の(金属・水銀・シアン)の検討	75
19 「藻類発光阻害試験」を用いた公共用水域等の化学物質による影響について	77

# I 概 要

# I 概要

## 1 沿革

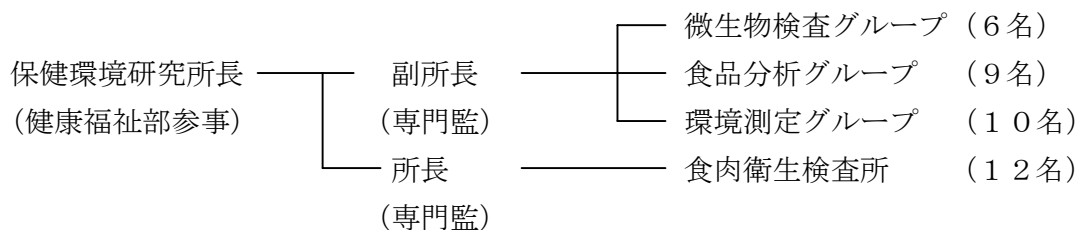
昭和49年 4月	浜松市高町に浜松市保健所試験検査課として発足（職員14名）
昭和50年10月	浜松市鴨江二丁目の浜松市保健所新庁舎に移転
平成2年 4月	試験検査課が衛生試験所に名称変更（職員12名）
平成10年 4月	環境保全課の測定業務を衛生試験所に統合（職員20名）
平成11年 3月	浜松市上西町の新庁舎に移転
平成11年 4月	衛生試験所が保健環境研究所に名称変更（職員23名）
平成21年 4月	食肉衛生検査所を第2種事業所として統合（職員37名）

## 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



(職員40名うち再任用7名)

※平成27年4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 食肉衛生検査所に関すること ※
  - オ 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
- ※別途事務概要作成

#### 4 予算額（当初）

##### (1) 歳入

（単位：円）

節	26年度	27年度
行政財産使用料	9,000	9,000
感染症予防事業費負担金	2,101,000	4,163,000
疾病予防対策事業費等補助金	2,827,000	2,881,000
感染症発生動向調査事業費負担金	1,945,000	2,970,000
新幹線鉄道騒音測定業務委託金	0	0
計	6,882,000	10,023,000

##### (2) 歳出

##### 【保健衛生検査費】

（単位：円）

節	26年度	27年度
旅費	1,410,000	1,410,000
需用費	42,886,000	43,137,000
役務費	5,978,000	6,192,000
委託料	18,689,000	18,631,000
使用料及び賃借料	42,360,000	40,040,000
工事請負費	1,281,000	1,077,000
備品購入費	9,950,000	11,486,000
負担金補助及び交付金	237,000	207,000
計	122,791,000	122,180,000

##### 【環境監視費】

（単位：円）

節	26年度	27年度
報償費	94,000	94,000
旅費	0	0
需用費	17,127,000	17,114,000
役務費	1,610,000	1,610,000
委託料	42,131,000	42,297,000
使用料及び賃借料	6,895,000	6,704,000
備品購入費	0	7,300,000
計	67,857,000	75,119,000

## 5 主要機器の購入・リース状況

購入・リース開始年度	品名	型式	リース期間
H 2 6	マイクロチップ電気泳動装置	島津 MCE-202	
	水銀測定装置	日本インスツルメンツ WA-5A/TC-WA	
	LC-MS/MS	アジレント LC 1290/MS 6460	7年
	イオンクロマトグラフ	メロム 930 コンパクト IC Flex	7年
H 2 5	マイクロウェーブ分解装置	パーキンエルマー Multiwave3000	
	GC-MS	日本電子 JMS-Q1050GC	7年
	GC-MS/MS	ブルカー 456GC / SCIION TQ	7年
H 2 4	ガスクロマトグラフ (ECD)	島津 GC-2010 Plus	7年
H 2 3	ICP-MS	パーキンエルマー NexION 300X	7年
	HPLC	アジレント 1260/1290	7年
	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	7年
	LC-MS	ウォーターズ TQD	7年
H 2 2	自動分注希釈装置	エルメックス DT-cube	

## 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26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	502								502	
血液	4,285								4,285	
食品等	魚介類及びその加工品	20	55						75	
	冷凍食品								0	
	肉卵類及びその加工品	43	97						140	
	乳及び乳製品	21	40						61	
	穀類及びその加工品		23						23	
	豆類及びその加工品	4	12						16	
	果実類		43						43	
	野菜		231						231	
	種実類								0	
	茶及びホップ								0	
	野菜・果実加工品		2						2	
	菓子類	10							10	
	調味料								0	
	飲料	8	16						24	
	油脂食品								0	
	食品添加物								0	
	その他の食品	71	24						95	
	器具及び容器包装		9						9	
	おもちゃ								0	
	洗浄剤								0	
食中毒等		538						538		
その他								0		
栄養関係検査								0		
医薬品等				7				7		
家庭用品			20					20		
環境等	水道原水								0	
	飲用水								0	
	利用水等	82	60				56		198	
	廃棄物関係検査	8				15	2	41	7	73
	環境・公害関係検査	33				163	25	856	355	1,432
	放射能（食品除く）						22			22
温泉泉質検査									0	
その他の検査	15								15	
外部精度管理	5		5				3		13	
計	5,107	598	577	7	178	49	956	362	7,834	
合計		5,705		584		227		1,318	7,834	



## 2 試験検査実施項目数

(平成26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	1,136								1,136	
血液	5,969								5,969	
食 品 等	魚介類及びその加工品	78	314						392	
	冷凍食品								0	
	肉卵類及びその加工品	140	2	1,496					1,638	
	乳及び乳製品	61		520					581	
	穀類及びその加工品			39					39	
	豆類及びその加工品	28		26					54	
	果実類			3,829					3,829	
	野菜			4,602					4,602	
	種実類								0	
	茶及びホップ								0	
	野菜・果実加工品			4					4	
	菓子類	40							40	
	調味料								0	
	飲料	10		109					119	
	油脂食品								0	
	食品添加物								0	
	その他の食品	297		96					393	
	器具及び容器包装			24					24	
	おもちゃ								0	
	洗剤								0	
食中毒等		5,712						5,712		
その他								0		
栄養関係検査								0		
医薬品等				126				126		
家庭用品			40					40		
環 境 等	水道原水							0		
	飲用水							0		
	利用水等	186	72				152	410		
	廃棄物関係検査	8				15	2	1,160	16	1,201
	環境・公害関係検査	34				10,483	202	11,266	1,445	23,430
	放射能（食品除く）						22		22	
温泉泉質検査								0		
その他の検査	75							75		
外部精度管理	5		20				15	40		
計	8,067	5,786	11,119	126	10,498	226	12,593	1,461	49,876	
合計		13,853		11,245		10,724		14,054	49,876	

### 3 微生物検査グループ検査実施数

#### (1) 経常業務

検 査 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 品 び	そ の 肉 の 卵 加 類 工 及 品 び	乳 及 品 び 乳 製 品	そ の 豆 の 類 加 工 品 び	菓 子 類	飲 料	食 品 の 他	利 用 水 等	関 係 業 種 検 査 物	環 境 ・ 公 共 検 査			
検 査 体 数	502	4,285	20	43	21	4	10	8	71	82	8	33	15	5	5,107
一 般 細 菌										21			15	1	37
細 菌 数 ( 標 準 平 板 培 養 法 )			4	3	16	4	10	2	43						82
細 菌 数 ( 直 接 個 体 鏡 頭 法 )					2										2
大 腸 菌 群			6	2	19	4	10	8	34	56			15	1	155
大 腸 菌 群 数											8	31			39
大 腸 菌 ( E.coli )			4	10		4			48	21		3		1	91
乳 酸 菌 数					3										3
糞 便 性 大 腸 菌 群										25					25
腸 内 細 菌 科 菌 群				1											1
腸 球 菌															0
緑 膿 菌															0
赤 痢 菌	7														7
チ フ ス 菌	9														9
パ ラ チ フ ス A 菌															0
サ ル モ ネ ラ			6	42			10		20					1	79
コ レ ラ															0
腸 炎 ビ ブ リ オ			10						13						23
病 原 ビ ブ リ オ															0
病 原 大 腸 菌															0
腸 管 出 血 性 大 腸 菌 O157				7					3	7					17
腸 管 出 血 性 大 腸 菌 ( O157 を 含 む )	156		6	20	7	4			16						209
黄 色 ブ ド ウ 球 菌			6	10	7	4	10		36				15	1	89
カン ピ ロ バ ク タ ー				28					20						48
セ レ ウ ス 菌					7	4			26						37
ウ エ ル シ ユ 菌						4			26						30
ク ロ ス ト リ ジ ウ ム 属 菌															0
リ ス テ リ ア				10											10
百 日 咳 菌															0
細 菌 性 髄 膜 炎															0
溶 血 性 連 鎖 球 菌	14														14
レ ジ オ ネ ラ	21									56					77
カル バ ペ ナ ム 耐 性 腸 内 細 菌 科 細 菌	4														4
多 剤 耐 性 緑 膿 菌	1														1
麻 疹	19														19
風 疹	21														21
重 症 熱 性 血 小 板 減 少 症 候 群 ( SFTS )	3														3
デ ン グ 熱	17														17
チ ク ン グ ニ ヤ 熱	3														3
A 型 肝 炎 ウ イ ル ス	1		8												9
E 型 肝 炎 ウ イ ル ス				7											7
感 染 性 胃 腸 炎 ( ノ ロ ウ イ ル ス を 含 む )	76		8												84
イ ン フ ル エ ン ザ	414														414
無 菌 性 髄 膜 炎	41														41
急 性 脳 炎 ( 日 本 脳 炎 を 除 く )	32														32
咽 頭 結 膜 熱	224														224
手 足 口 病	50														50
ヘルパンギーナ	12														12
RSウイルス	10														10
伝 染 性 紅 斑	1														1
梅 反		873													873
R P H A 法		873													873
HIV 抗 体 検 査		982													982
B 型 肝 炎 H B s 抗 原		864													864
C 型 肝 炎 H C V 抗 体		759													759
H C V R N A		4													4
ク ラ ミ ジ ア I g A		807													807
I g G		807													807
官 能 試 験 変 色 異 臭													15		15
生 物 下 痢 性 貝 毒 試 験			10												10
麻 痺 性 貝 毒 試 験			10												10
ア レ ル ギ ー 物 質 検 査									12						12
恒 温 試 験															0
細 菌 試 験															0
項 目 数 計	1,136	5,969	78	140	61	28	40	10	297	186	8	34	75	5	8,067

## (2) 臨時業務

	食 品	食 中 毒 等	そ の 他	計
検 体 数	0	538	60	598
感染症・食中毒菌等	赤 痢 菌		216	216
	チ フ ス 菌		422	422
	パ ラ チ フ ス A 菌		422	422
	サ ル モ ネ ラ		422	422
	コ レ ラ		322	322
	病 原 ビ ブ リ オ		322	322
	腸 炎 ビ ブ リ オ		322	322
	病 原 大 腸 菌		328	328
	腸管出血性大腸菌0157		434	434
	黄 色 ブ ド ウ 球 菌		322	322
	エ ロ モ ナ ス		322	322
	プ レ シ オ モ ナ ス		322	322
	ウ エ ル シ ュ 菌		322	322
	セ レ ウ ス		322	322
	エ ル シ ニ ア		117	117
	カンピロバクター		344	344
	ノ ロ ウ イ ル ス		409	409
	その他のウイルス		15	15
	粘 液 胞 子 虫		7	7
	そ の 他	2	0	6
一 般 細 菌			3	3
大 腸 菌 群			3	3
レ ジ オ ネ ラ 属 菌			60	60
項目数計	2	5,712	72	5,786

#### 4 食品分析グループ検査実施数

##### (1) 経常業務

	食 品 等 検 査														家 庭 用 品	外 部 精 度 管 理	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 品	菓 子 類	調 味 料	飲 料	そ の 他 の 食 品	容 器 具 包 装 び			
検 体 数	55	0	97	40	23	12	43	231	2	0	0	16	24	9	20	5	577
食品 添 加 物	保 存 料	6		10								18				1	35
	発 色 剤	6		10													16
	漂 白 剤	6					8							4			18
	酸 化 防 止 剤																0
	甘 味 料	6		10	75							30					121
	品 質 保 持 剤					10											10
	合成着色料(許可)															11	11
	防 か び 剤							20									
乳成分規格				25													25
残留動物用医薬品	189		1,353	280												1	1,823
残 留 農 薬			55	110			3,760	4,068								7	8,000
P C B	4			4													8
無機・有機金属	19											32			15		66
水分活性																	0
シアン化合物						8											8
医薬品成分													42				42
カビ毒												4					4
材質試験														10			10
溶出試験														10			10
容器試験																	0
ホルムアルデヒド															10		10
トリレン類・タノール															15		15
放 射 能	73		58	26	29	10	49	534	4			9	54				846
そ の 他	5											16					21
項 目 数 計	314	0	1,496	520	39	26	3,829	4,602	4	0	0	109	96	24	40	20	11,119

##### (2) 臨時業務

	食 品 等 検 査														医 薬 品	家 庭 用 品	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 品	調 味 料	飲 料	そ の 他 の 食 品	容 器 具 包 装 び			
検 体 数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	7
農 薬																	0
動物用医薬品																	0
食品添加物																	0
医薬品成分															126		126
そ の 他																	0
項 目 数 計	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	126

5 大気測定グループ検査実施数

検 体 数	経常業務											臨時業務		調 査 研 究	外 部 精 度 管 理	合 計				
	環境保全関係										その他		小 計				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		30	-	4	-	24		-	17	-	88	15		178		23	26	227		
二 酸 化 硫 黄 等 *1	3,923													3,923				3,923		
浮 遊 粒 子 状 物 質 *2	3,172													3,172				3,172		
微 小 粒 子 状 物 質 *2	2,585													2,585				2,585		
総 水 銀		24												24				24		
ニ ッ ケ ル 化 合 物		24												24				24		
砒 素 及 び そ の 化 合 物		24												24				24		
ベ リ ウ ム 及 び そ の 化 合 物		24												24				24		
マン ガ ン 及 び そ の 化 合 物		24												24				24		
クロ ム 及 び そ の 化 合 物		24												24				24		
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		24												24				24		
ア セ ト アル デ ヒ ド		24												24				24		
酸 化 エ チ レ ン		24												24				24		
エ チ ル ベ ン ゼ ン 等 *3														0		168		168		
C F C 12 等 *4														0		24		24		
4-エ チ ル ト ル エ ン 等 *5														0				0		
ダ イ オ キ シ ン 類		6	6											6				6		
質 量 濃 度				4	4									4				4		
無 機 元 素 *6				116										116		10		126		
イ オ ン 成 分 *7				32	32									32				32		
炭 素 成 分 *8				12	12									12				12		
硫 黄 分						24								24				24		
臭 気 指 数														0				0		
pH											88			88				88		
粉 じ ん														0				0		
騒 音 ・ 振 動								17	11					17				17		
ア ス ベ ス ト											15			15			2	17		
そ の 他														0		22		22		
項 目 数 合 計	9,680	510	(6)	164	(48)	24	0	(0)	17	(11)	88	15	0	10,498	0	32	194	0	10,724	
																			一般大気、委託分除く	979

\*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  
 \*2 浮遊粒子状物質、微小粒子状物質の自動連続測定日数  
 \*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(7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(1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,Se,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

	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	浸放 出流 液水	汚 泥	燃 え 殻	公 共 用 水 域	う ち 委 託 分	事 業 場 排 水	地 下 水	地 下 水 等 委 託 分	水 浴 場	う ち 委 託 分	外 部 精 度 管 理		内 部 精 度 管 理
検 体 数		20	36	21	16	4	666	—	64	97	4	25	—	3		956
pH		20		21	16	4	656	288	49	23		25		3		817
DO							654	288								654
BOD				21			368		46							435
COD(ろ過COD含む)				21			692	288				25		3		741
SS(VSS含む)				21			368		46							435
大腸菌群							20	20								20
全窒素				14			534	168	11					3		562
全リン				14			534	168	8					3		559
亜鉛				14			142	10	39							195
ノニルフェノール							308	140								308
カドミウム				14	16	4	151	10	3	12						200
シアニン				21	16		117	8	12	43						209
鉛				21	16	4	126	10	14	18						199
六価クロム				21	16	4	125	10	23	43						232
ヒ素				21	16	4	113	10	10	18						182
水銀				21	16	4	70	10	3	12						126
アルキル水銀				7			8		2							17
PCB							6	6								6
トリクロロエチレン等 *1				162	176		1,199	110	27	606						2,170
農薬 *2				120			277	30	6	36						439
セレン				35	16	4	106	10	3	12						176
硝酸性窒素および亜硝酸性窒素				7			394	244		24						425
フッ素				7			72	22	25	24						128
ホウ素				13			42		24	41						120
1,4-ジオキサン				20	16	4	16	10	7	18						81
銅				14			103	10	17	17						151
クロム				14			104	10	34	23						175
アンモニア性窒素				13			353	242	39	6						411
亜硝酸性窒素				6			418	266	39	24						487
硝酸性窒素				6			416	266	42	24						488
リン酸態リン							382	264	4							386
塩素イオン				14			493	288								507
クロロフィル *3				7			72	22								79
濁度		20	36				36									92
TOC							3		42					3		48
窒素等 *4				6					39							45
有機機燐				6					4							10
溶解性マンガン				7					3							10
溶解性鉄				14					12							26
ニッケル				7					18	17						42
フェノール				7					6	6						19
環境ホルモン類 *5				7												7
環境生物検査																
ダイオキシン類							6	6			4					10
有機物等		20	36													56
総トリハロメタン		20														20
蒸発残留物																
含水率					16											16
油分量				14	16				23							53
熱しゃく減量				14		4			1							19
その他の項目																
項目数計		80	72	772	352	36	9,484	(3,234)	681	1,047	(4)	50		15		12,593

\*1: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

\*2:シマジン、チウラム、チオベンカルブ 3項目

\*3:クロロフィルa、クロロフィルb、クロロフィルc 3項目

\*4:アンモニア性窒素、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の総和

\*5: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)

委託分除く

9,355

## (2) 臨時業務

	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	浸流出液	汚泥	燃え殻	その他	公共用水域	事業場	地下水	その他			
検 体 数					7				189	3	36	94		33	362
pH					5				40	2	19	17		3	86
DO									24					1	25
BOD					1				8	1		5			15
COD(ろ過COD含む)					1				48	1		8			58
SS(VSS含む)									11	2		5			18
大腸菌群															
全窒素									15	1				1	17
全リン					1				15	1				1	18
亜鉛					1				2			15		13	31
ノニルフェノール															
カドミウム									22		4	17		11	54
シアン											4	2		5	11
鉛									34		14	9		11	68
六価クロム											14	2		6	22
ひ素					6				22		2	9		13	52
水銀									20			2		8	30
アルキル水銀															
PCB												2			2
トリクロロエチレン等*2									33		24	22			79
農薬*3									9		12	6			27
セレン									22			9		11	42
硝酸性窒素および亜硝酸性窒素									6	1	5			3	15
フッ素									3		10	2		4	19
ホウ素									3		15	2		2	22
1,4-ジオキサン															
銅									2		9	20		11	42
クロム									2		9	7		13	31
アンモニア性窒素									10		4			2	16
亜硝酸性窒素									13	1	9	1		5	29
硝酸性窒素									13	1	9	1		7	31
リン酸態リン									7		4			7	18
塩素イオン					1				34		5			2	42
クロロフィル*5									3		4				7
濁度									3						3
TOC												5			5
窒素等*1											4				4
有機機											4	2			6
溶解性マンガ														6	6
溶解性鉄									2			10		6	18
ニッケル									6		9			10	25
フェノール														2	2
環境ホルモン類*4															
環境生物検査									5					12	17
ダイオキシン類														1	1
有機物等															
総トリハロメタン															
蒸発残留物												3			3
含水率												11			11
油分									11						11
熱しゃく減量															
その他の項目									324		4	90		4	422
項目数計					16				772	11	197	284		181	1,461

## 7 微生物検査の概要

保健予防関係および食品衛生関係では、保健予防課から腸管出血性大腸菌、風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) 保健予防関係

##### 1) 感染症検査

##### ① 感染症法に基づく感染症発生届に伴う病原体等の検査（表-1）

284 検体について、腸管出血性大腸菌（EHEC）、赤痢、腸チフス、麻疹及び風疹、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）、デング熱等の検査を行った。その結果、EHEC O157:H7、Rubella virus genotype 1E 等が検出された。

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 感染症	137 (5)	19 (19)		156 (24)	O157:H7, VT1, VT2 産生 (7) O146:H21, VT2 産生 (6) VTEC O103:H- VT1 (4) その他 (7)
細菌性赤痢	6 (2)	1 (1)		7 (3)	<i>Shigella sonnei</i> (3)
腸チフス	8 (0)	1 (1)		9 (1)	<i>Salmonella</i> Typhi (1)
レジオネラ症			6 (1)	6 (1)	<i>Legionella pneumophila</i> 1 群 (1)
劇症型溶血性 レンサ球菌感染症		8 (8)		8 (8)	<i>Streptococcus</i> G (5) <i>Streptococcus</i> A (2) <i>Streptococcus</i> B (1)
カルバペネム耐性 腸内細菌科菌群感染症		4 (1)		4 (1)	<i>Enterobacter aerogenes</i> (1)
薬剤耐性緑膿菌感染症		1 (0)		1 (0)	
麻疹			19 (0)	19 (0)	
風疹			21 (4)	21 (4)	Rubella virus genotype 1E (4)
重症熱性血小板減少 症候群 (SFTS)			3 (0)	3 (0)	
デング熱			17 (2)	17 (2)	Dengue virus 2 (2)
チクングニヤ熱			3 (1)	3 (1)	Chikungunya virus (1)
A型肝炎	1 (1)			1 (1)	Hepatitis A virus (1)



インフルエンザ			6 (3)	6 (3)	Influenza virus AH3 (3)
鳥インフルエンザ (H7N9)			1 (0)	1 (0)	
急性脳炎			11 (2)	11 (2)	Human Herpesvirus 6 (2)
呼吸器感染症			15 (3)	15 (3)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (2) Respiratory syncytial virus (1)

( ) 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（表－２）  
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 117 件検出されたほか、Norovirus、Adenovirus、Rotavirus、Coxsackievirus 等が検出された。

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	126 (117)			126 (117)	Influenza virus AH1pdm09 (1) Influenza virus AH3 (105) Influenza virus B (13) Rhinovirus (1)
感染性胃腸炎		13 (11)		13 (11)	Norovirus G (7) Rotavirus group A (1) Adenovirus 31 (1) Adenovirus 41 (1) Rhinovirus (1)
手足口病	6 (1)	7 (2)	1 (0)	14 (4)	Echovirus 18 (2) Coxsackievirus A4 (1)
ヘルパンギーナ	2 (2)	1 (1)		3 (3)	Coxsackievirus A4 (2) Respiratory syncytial virus (1)
咽頭結膜熱	29 (15)	14 (4)	3 (2)	46 (25)	Adenovirus 2 (2) Adenovirus 41 (1) Coxsackievirus A6 (1) Respiratory syncytial virus (1) Influenza virus AH3 (1) Echovirus 11 (2) Rhinovirus (7) Respiratory syncytial virus (1) Human metapneumovirus (5) Human Herpesvirus 6 (1) Parainfluenza virus 2 (1)
無菌性髄膜炎	5 (1)	7 (2)	3 (1)	15 (4)	Coxsackievirus B4 (2) Enterovirus NT (1) Echovirus 16 (1) Rhinovirus (1)
RS ウイルス感染症	5 (5)			5 (5)	Respiratory syncytial virus (1)

( ) 内は陽性数

2) 血液検査

梅毒検査 873 件、H I V 抗体検査 982 件、クラミジア抗体検査 807 件、C 型肝炎抗体検査 759 件、H B s 抗原検査 864 件を実施した。

(2) 食品衛生関係 (表-3)

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 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	20	43	21	4	10	8	71	177
総菌数			2					2
細菌数	4	3	16	4	10	2	43	82
大腸菌群	6	2	19	4	10	8	34	83
大腸菌	4	10		4			48	66
乳酸菌数			3					3
腸内細菌科菌群		1						1
腸管出血性大腸菌 O157		7					3	10
腸管出血性大腸菌 (O157 を含む)	6	20	7	4			16	53
黄色ブドウ球菌	6	10	7	4	10		36	73
サルモネラ	6	42			10		20	78
腸炎ビブリオ	10						13	23
セレウス菌			7	4			26	37
ウエルシュ菌				4			26	30
カンピロバクター		28					20	48
リステリア		10						10
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		7						7
下痢性貝毒	10							10
麻痺性貝毒	10							10
アレルギー物質検査							12	12

(3) 環境関係 (表-4)

1) 利用水等検査

① プール水の検査

市内の遊泳用プールのプール水 21 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）25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等36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8検体について大腸菌群の検査を行った。

3) 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18検体、および市内の公共用水域の15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）	浴槽水等		事業場排水	公共用水域
検体数	21	25	36	8	18	15
一般細菌	21					
大腸菌群	20		36	8		
大腸菌群数					18	15
糞便性大腸菌群数		25				
大腸菌	21					
腸管出血性大腸菌O157		7				
レジオネラ	20		36			

(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) 食中毒等検査（表-5、6）

平成26年度に検査依頼のあった食中毒・苦情等受付検体数は538件であり、そのうち陽性となったのは、171件であった。なお、食中毒事件となった事例は20件中3件あった。

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	318 (162)	66 (3)	154 (6)	0 (0)	538 (171)
赤痢菌	216 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	216 (0)
チフス菌	216 (0)	57 (0)	149 (0)	0 (0)	422 (0)
パラチフスA菌	216 (0)	57 (0)	149 (0)	0 (0)	422 (0)
サルモネラ	216 (0)	57 (0)	149 (0)	0 (0)	422 (0)
コレラ	117 (0)	57 (0)	148 (0)	0 (0)	322 (0)
病原ビブリオ	117 (0)	57 (0)	148 (0)	0 (0)	322 (0)
腸炎ビブリオ	117 (0)	57 (0)	148 (0)	0 (0)	322 (0)
黄色ブドウ球菌	117 (7)	57 (0)	148 (3)	0 (0)	322 (0)
病原大腸菌	118 (12)	57 (0)	149 (0)	4 (0)	328 (0)
セレウス菌	117 (0)	57 (0)	148 (10)	0 (0)	322 (10)
カンピロバクター	138 (3)	57 (2)	149 (0)	0 (0)	344 (5)
ウエルシュ菌	117 (33)	57 (0)	148 (0)	0 (0)	322 (33)
エロモナス	117 (0)	57 (0)	148 (0)	0 (0)	322 (20)
プレシオモナス	117 (0)	57 (0)	148 (0)	0 (0)	322 (20)
エルシニア	117 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	117 (0)
腸管出血性大腸菌O157	117 (4)	57 (0)	149 (0)	0 (0)	434 (4)
ノロウイルス	269 (119)	50 (1)	90 (2)	3 (1)	409 (122)
その他	19 (2)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	22 (2)

( ) 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 26 年 4 月 12 日	旅館	不明	59 名	ノロウイルス	4 月 12 日から 13 日にかけて当該施設で提供された料理を喫食した、109 人中 59 人が下痢、嘔吐等を発症
平成 26 年 12 月 16 日	販売店	刺身	145 名	ノロウイルス	12 月 15 日に福祉施設で提供された昼食を喫食した、796 人中 145 人が下痢、嘔吐等を発症
平成 27 年 2 月 7 日	飲食店	不明	6 名	ノロウイルス	2 月 6 日に当該施設で提供された宴会料理を喫食した、8 人中 6 人が下痢、嘔吐等を発症

(2) 公衆浴場の臨時検査

利用者からレジオネラ症患者の発生が確認された公衆浴場について、施設の清掃・消毒後の再検査を行った。

	浴槽水	拭き取り	合計
レジオネラ属菌	40 (1)	17 (0)	57 (1)

( ) 内は陽性数

### 7-3 その他

(1) 肺炎球菌の血清型別調査

髄膜炎の起因为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。詳細については、Ⅲ調査研究業務（①小児患者から分離された肺炎球菌の血清型について）に掲載

髄膜炎起因为菌	検体数	同定	血清型別 (莢膜抗原型別)	PCR
肺炎球菌	76	76	67	76

(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・セブテンク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。詳細については、Ⅲ調査研究業務（③鮮魚類における粘液胞子虫寄生状況について）に掲載

検体数	顕微鏡検査	リアルタイム PCR
39	39	4

(3) 食鳥腸管内に存在する大腸菌の、薬剤耐性遺伝子の保有状況調査

市内で流通している食鳥の腸管が、食肉衛生検査所より搬入され、大腸菌と同定後に、薬剤耐性遺伝子検査を行い、薬剤耐性遺伝子の種類を調査した。39 検体中 31 検体で薬剤耐性遺伝子が検出され、検出率は 79.5%であった。また、検出遺伝子は平成 23 年の調査と比較し、TEM および CTX-M1 が増加しており、CTX-M2 および M9 が減少していた。

分離された菌株の保有遺伝子 (%)

検体数	大腸菌同定	PCR	分離された菌株の保有遺伝子 (%)	
			平成 23 年	平成 26 年
39	39	39	CTX-M1 33.3	5.9
			CTX-M2 4.8	0
			CTX-M9 9.5	0
			TEM 38.1	61.8

(4) 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 26 年 4 月～平成 26 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。今回の調査では、ポリオウイルスは検出されなかった。平成 26 年度は、全国 19 ヶ所で調査が行われたが、検出報告がされたのは 1 ヶ所のみであった。

・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
81	97	0	97

【分離ウイルス名】

Coxsackievirus (B3, B4, B5)、Echovirus (11, 19, 30)、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, 2)、Aichivirus

(5) 平成 26 年度調査・研究発表

調査・研究発表については、

- ①パンを原因としたノロウイルス集団食中毒事例について
- ②病原大腸菌 O128:H2 が検出された集団感染事例について
- ③鮮魚類における粘液胞子虫寄生状況について
- ④小児患者から分離された肺炎球菌の血清型について
- ⑤魚介類加工品のヒスタミン産生菌定量について
- ⑥LC 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（第 2 報）
- ⑦パンソルビン・トラップ法を用いた一般食品からのノロウイルス検出法の検討
- ⑧浜松市におけるノロウイルスの検出状況について
- ⑨パンを原因とした集団食中毒事例におけるノロウイルスの遺伝子解析

を行った。

①については、衛生微生物技術協議会第 35 回研究会及び第 35 回日本食品微生物学会学術総会において、②については、第 27 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会及び平成 26 年度所内調査・研究発表会において、⑨については、静岡県公衆衛生研究会（誌上）において発表した。③～⑧については、所内調査・研究発表会において発表した。（①については、日本食品微生物学会雑誌に掲載予定、②～⑨については「Ⅲ調査研究業務」に掲載）

## 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PCB・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、安息香酸、パラオキシ安息香酸エステル類）

魚肉練り製品 6 検体、清涼飲料水 6 検体及び食肉製品 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）

魚肉練り製品 6 検体及び食肉製品 10 検体について検査した結果、全て基準値未満であった。

##### 3) 漂白剤（二酸化硫黄）

魚肉練り製品 6 検体、生あん（白あん）4 検体及び割り箸 5 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) 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
サッカリンナトリウム	10	6	5	5	10
アスパルテーム				5	10
アセスルファムカリウム			5	5	10
スクラロース			5	5	10
不許可 甘味料	サイクラミン酸			5	10
	ズルチン			5	10

##### 5) 品質保持剤（プロピレングリコール）

めん類 10 検体について検査した結果、全て基準値未満であった。

##### 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 2 検体及びレモン 2 検体について検査した結果、全て基準値未満であった。（全て輸入検体）

(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）4 検体及びシアン含有豆（原料のペビーライマ豆）4 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) ヒスタミン

魚介類加工品 5 検体について検査を実施したところ、1 検体からヒスタミンが検出された。

(5) 残留農薬

表－2 のとおり、農産物 42 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
ほうれんそう	浜松市	3	189	クロチアニジン、シアゾファミド、フルフェノクスロン
	県外	2	198	イミダクロプリド、フルフェノクスロン
ばれいしょ	浜松市	4	165	—
みかん	浜松市	10	186	—
キャベツ	浜松市	6	183	—
たまねぎ	浜松市	2	195	—
	静岡県	4	195	—
	県外	1	195	—
いちご	浜松市	5	190	アセタミプリド、アゾキシストロビン、クロキシムメチル、ノバルロン、フルフェノクスロン、ヘキシチアゾクス、メパニピリム
	静岡県	5	190	アセタミプリド、アゾキシストロビン、エトキサゾール、クロキシムメチル、クロルフェナピル、テブフェンピラト、マイクロタニル、メパニピリム
牛乳	浜松市	2	22	—
	静岡県	2	22	—
	県外	1	22	—
牛肉	浜松市	5	11	—



(6) 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	24	23	12	9	7
合成抗菌剤 等	24	23	12	5	7
検体数×項目数	544	525	284	189	280

(7) 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	4	4
総水銀	4	—
有機スズ	4	—

(8) 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。

(9) パツリン

りんごジュース 5 検体について検査した結果、全て定量下限値未満であった。

(10) 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 14 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 2 検体について医薬品成分（シルденаフィル等 7 項目）を検査した結果、全て定量下限値未満であった。

(11) 家庭用品

家庭用エアゾル製品 5 検体についてトリクロロエチレン、テトラクロロエチレン及びメタノールを検査した結果、全て基準値未満であった。

繊維製品 1 2 検体中 7 検体についてホルムアルデヒド、5 検体について有機水銀及び有機スズを検査した結果、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、全て基準に適合していた。

(12) 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	32	3
冷凍食品	0	0
肉卵類及びその加工品	19	4
乳及び乳製品	13	0
穀類及びその加工品	10	3
豆類及びその加工品	2	2
果実類	5	13
野菜	93	116
野菜・果実加工品	2	0
飲料水	3	1
その他の食品	6	14
合 計	185	156

## 8－2 臨時業務

苦情及び突発事例として 1 件（7 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
複数の医薬品を個人輸入し服用していた市民に健康被害が発生した。	医薬品	7	痩身系医薬品 17成分  甲状腺ホルモン	<u>全検体から医薬品成分                      検出</u> 検出医薬品成分 ・クロルフェニラミン、ジブチルホルモキシネット、シブトラミン、ピサコジル、フェンテルミン、フロセミド、フルオキセチン、甲状腺ホルモン

### 8-3 その他

調査研究については、

「MD クリニックダイエット」の分析について

野菜中残留農薬定量法の検討について

加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法の検討

輸入柑橘類における新規防かび剤の分析について

イオンクロマトグラフィーによる食品中のスクラロースの分析について

残留農薬一斉分析法の妥当性評価

残留動物用医薬品の試験法の妥当性評価

を行った。

①については第 51 回静岡県公衆衛生研究会、②③④⑤については平成 26 年度所内研究発表会において、それぞれ発表した（①～⑤「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

大気汚染防止法に基づき、平成 26 年度は一般環境大気測定局 10 ヶ所及び自動車排出ガス測定局 2 ヶ所の計 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、浜松市大気汚染監視システムにより、専用回線にて当研究所の情報処理室へ常時伝送され、データ処理・監視を行っている。

表-1 常時監視測定項目

測定項目	二酸化硫黄	二酸化窒素	一酸化炭素	浮遊粒子状物質	光化学オキシダント	微小粒子状物質	炭化水素	風向風速	気象観測
環境基準	1 時間値の 1 日平均値が 0.04ppm 以下であり、かつ 1 時間値が 0.1ppm 以下であること	1 時間値の 1 日平均値が 0.04～0.06ppm までのゾーン内、またはそれ以下であること	1 時間値の 1 日平均値が 10ppm 以下であり、かつ 1 時間値の 8 時間平均値が 20ppm 以下であること	1 時間値の 1 日平均値が 0.10mg/m <sup>3</sup> 以下であり、かつ 1 時間値が 0.20mg/m <sup>3</sup> 以下であること	1 時間値が 0.06ppm 以下であること	1 年平均値が 15 μg/m <sup>3</sup> 以下であり、かつ 1 日平均値が 35 μg/m <sup>3</sup> 以下であること	—	—	—
測定局									
一般大気測定局	浜松中央								
	東部※1								
	東南部								
	西部								
	北部								
	東北部								
	浜北								
	引佐								
	三ヶ日								
	天竜								
自排局	R-257								
	R-150								
	浜松環状線※2								

1 東部測定局は、再配置計画に基づき、平成 27 年 1 月に測定を終了した。

2 浜松環状線測定局は、再配置計画に基づき、平成 27 年 2 月から測定を開始した。

光化学オキシダントは、年間を通して昼間の 1 時間値が環境基準を上回っていたが、注意報の発令はなかった。微小粒子状物質は、4 月に県内で濃度が高まり、注意喚起情報が発表された。また、4 月から 7 月にかけて 1 日平均値が  $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$  を超えており環境基準を上回っていた。微小粒子状物質の成分分析については、4 季実施した。

#### (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、葵が丘小学校及び伝馬町交差点において毎月 1 回、24 時間採気し、大気中濃度を年間 24 検体測定した。測定した 2 地点では、環境基準値及び指針値を超えたものはなかった。この他、委託によりダイオキシン類の測定を 6 検体実施した。結果、環境基準を下回っていた。

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

	調査項目	環境基準値	指針値
1	塩化メチル		
2	塩化ビニルモノマー		10
3	1, 3-ブタジエン		2.5
4	ジクロロメタン	150	
5	アクリロニトリル		2
6	クロロホルム		18
7	1, 2-ジクロロエタン		1.6
8	ベンゼン	3	
9	トリクロロエチレン	200	
10	トルエン		
11	テトラクロロエチレン	200	
12	ベンゾ[a]ピレン		
13	ホルムアルデヒド		
14	アセトアルデヒド		
15	水銀及びその化合物		0.04
16	ベリリウム		
17	クロム化合物		
18	マンガン		0.14
19	ニッケル		0.025
20	ひ素		
21	酸化エチレン		

#### (3) 酸性雨

当研究所において観測された降雨は 88 降雨あった。測定した降雨全てが酸性雨とされる pH5.6 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、ばい煙発生施設で使用している重油 24 検体の硫黄分を測定した。結果、2 検体が硫黄分の届出値を上回っ

ていた。

#### (5) 騒音及び振動測定

騒音規制法に基づき、自動車騒音について、業者委託により 2 地点での騒音測定と 5 区間の面的評価を行なった。結果、全評価区間内の 37611 戸のうち、87.3%に当たる 32861 戸において昼夜とも環境基準を下回っていた。

また、「航空機騒音に係る環境基準について」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、西区伊左地町及び東区有玉西町（共に地域類型Ⅱ、環境基準 62dB）の 2 地点で測定を行なった。結果、伊左地町は環境基準を下回っていたが、有玉西町は、環境基準を上回っていた。

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」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、南区鶴見町及び西区舞阪町（共に地域類型Ⅰ、騒音環境基準 70dB、振動指針値 70dB）の 2 地点で騒音 4 検体及び振動 2 検体の調査を行った。騒音の測定結果、南区鶴見町は、環境基準を下回っていたが、西区舞阪町は、環境基準を上回っていた。振動の測定結果は、いずれも指針値を下回っていた。

#### (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 15 検体実施した。結果は低いレベルで推移している。

## 9-2 その他

調査研究については、

①PM2.5 中のイオン成分測定法の検討

②浜松市における PM2.5 測定結果報告

を行った。

平成 26 年度所内調査・研究発表会において、それぞれ発表した。（①及び②については、「Ⅲ 調査研究業務」に掲載）

## 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。結果、基準を下回っていた。

##### 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 36 検体について、衛生管理のための水質基準に係る過マンガン酸カリウム消費量及び濁度の測定を行った。結果、1 検体が基準を上回っていた。

#### (2) 環境保全、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 地点の 378 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 地点の 288 検体については、測定を業務委託した。結果、生活環境項目において環境基準を上回った地点があった。

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 3 検体及び河川、湖沼の底質 3 検体の測定を業務委託した。結果、環境基準を下回っていた。

##### 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 64 検体実施した。結果、6 検体が排水基準を上回っていた。

##### 3) 地下水等

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、97 検体の地

下水の測定を実施した。その内訳は、市域を 10 k m 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 85 検体である。環境モニタリングの結果は、環境基準を下回っていた。定点モニタリングの結果は、環境基準を上回っていた。さらに、ダイオキシン類対策特別措置法に基づき、地下水 2 検体及び土壌 2 検体についてダイオキシン類の測定を業者委託した。ダイオキシン類の結果は、環境基準を下回っていた。

#### 4) 水浴場

環境省水・大気環境局水環境課長の「平成 26 年度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 1403253 号、平成 26 年 3 月 25 日）に基づき、市内の海水浴場 4 ヶ所（弁天島、裏弁天村櫛、館山寺、弁天島及び裏弁天）、25 検体について pH、COD の検査を行った。結果、水質判定基準は、適及び可であった。

#### 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 21 検体について pH、COD や有害物質等の測定を行った。結果、2 検体が基準を上回っていた。

#### 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 16 検体、燃え殻 4 検体の溶出試験を行った。結果、汚泥 3 検体が基準を上回っていた。

## 10-2 臨時業務

公共用水域 189 検体、事業場排水 3 検体、地下水 36 検体、廃棄物浸出液 7 検体、その他 127 検体の臨時検査について表-1 のとおり行った。結果、基準を上回っていた検体種類及び項目については、公共用水域は COD、事業場排水は BOD、SS、T-N 及び T-P であった。

水質事故等の発生による検体では、検査結果から原因究明できたものはなかった。

表-1 水質等臨時検査

		検体種類	検査実施項目	検体数	依頼課
環境保全 関係		公共用水域	生活環境項目、健康項目等	189	環境保全課 スポーツ振興課
		事業場排水	BOD、SS、T-N、T-P 等	3	環境保全課
		地下水	pH、Ni、健康項目等	36	環境保全課 スポーツ振興課 公園課 下水道工事課
	その 他	実験、 土壌等	COD、Zn、Cd、着色度等	85	環境保全課 天竜区振興課 産業振興課
		魚	Cd、Pb、As、Se、外観調査等	9	環境保全課



廃棄物関係	廃棄物浸出液	BOD、T-N、T-P、As 等	7	産業廃棄物対策課
その他	調査研究	プランクトン、魚の金属等	33	—
合計			362	

### 10-3 その他

調査研究については、下記①～⑥を実施した。

- ①佐鳴湖の水質について
- ②佐鳴湖における水草・魚類調査
- ③懸濁物に含まれる有機物起源の推定方法
- ④へい死魚の測定方法（金属・水銀・シアン）の検討
- ⑤「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
- ⑥環境測定分析を委託する場合の信頼性確保について

①については、平成 26 年度全国環境研協議会関東甲信静支部水質専門部会において、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（Ⅱ型共同研究）、静岡県公衆衛生研究会及び所内調査・研究発表会において発表した。②から⑥については、所内調査・研究発表会において発表した。

（②～⑤については、「Ⅲ調査研究業務」に掲載）

### Ⅲ 調査研究業務

## 病原大腸菌 O128 : H2 が検出された集団感染事例について

— 第 27 回 地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会 —  
浜松市保健環境研究所  
○日比野竜 佐原篤 疋田都希 加藤和子  
土屋祐司 小粥敏弘 小杉国宏

### 【はじめに】

腸管病原性大腸菌 (EPEC) は、先進国とは異なり開発途上国においては、現在でも乳幼児下痢症の重要な原因菌である。日本においても、発症頻度は高くないが、下痢症患者から散発的に分離されるとともに、EPEC による集団食中毒もみられる。EPEC は、EAF プラスミドを有するものは typical EPEC, EAF プラスミドを欠いているものは atypical EPEC に細分類される。

今回、浜松市において、atypical EPEC と考えられた腸管病原性大腸菌 O128 : H2 を原因とする集団感染事例を経験したので報告する。

### 【事例の概要】

平成 26 年 9 月 16 日、「9 月 13 日 (土)、14 日 (日) に神社で祭りが開催され、当時、露店で提供された食品を喫食した中学校の生徒が下痢、腹痛、発熱等の症状を呈し、16 日現在 10 名が欠席、10 数名が早退している」との連絡が保健所に入った。

保健所の調査の結果、発症者は同中学校の生徒 33 名、祭り参加者 4 名、計 37 名で、下痢 (78.4%)、腹痛 (94.6%)、発熱 (35.1%) 等の症状を呈していた。喫食調査により、当該祭りで提供された食品 A が統計学的にオッズ比 174.22 と高かったため原因食品として強く疑われた。食品 A を喫食してから発症までの平均潜伏期間は 44 時間であった。

### 【材料および方法】

患者便 15 件、食品 A を提供した露店の従事者便 1 件、調理器具等の拭き取り 9 件、中学校および祭りが開催された神社の飲料水 4 件、計 29 件について、常法に従い食中毒起因菌の検査を実施した。また、患者便についてはノロウイルス、サポウイルスの検査も実施した。患者から分離された大腸菌 O128 について、PCR 法により大腸菌病原性関連遺伝子 (VT1/2、LT、ST、*invE*、*eae*、*aggR*、*astA*、*bfpA* および EAF 遺伝子) の検査をおこない、さらに病原大腸菌免疫血清を用いて H 血清型別を実施するとともに、制限酵素 *Xba* I を用いたパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) をおこなった。また、薬剤感受性試験として 12 薬剤 (ABPC、CET、CMZ、CTX、IPM、KM、TC、NA、CPFX、CP、FOM、STX) に対する感受性をディスク法で測定した。

### 【検査結果】

患者便 11 件から大腸菌 O128 が、3 件から黄色ブドウ球菌が検出され、拭き取り 2 検体よりセレウス菌が検出された。他の食中毒起因菌およびウイルスは検出されなかった。また従事者便等、他の検体からも検出されなかった (表)。

分離された大腸菌 O128 の 11 株すべてから細胞への接着に関与するインチミン遺伝子 *eae* が検出されたが (図 1)、他の病原性関連遺伝子は検出されなかった。

分離された菌株 11 株の H 血清型は H2 で、PFGE はすべて同一パターンを示した (図 2)。また、11 株すべてが ABPC、CET 耐性を示した。

### 【考察】

以上の結果より、今回の事例は、患者から同一の PFGE 像を示す大腸菌 O128:H2 が優

位に分離され、かつそれらは保有遺伝子が *eaeA*(+)、*bfpA*(-)であることから、LEE (Locus of Enterocyte Effacement) を有するが、集束線毛を有しない atypical EPEC に分類される a-EPEC O128:H2 による集団感染事例と考えられた。

しかし 13、14 両日で食品 A は 178 食を提供されているにもかかわらず、一般参加者の有症の申し出が極端に少ないこと、食品 A を喫食していない人からの発症もあったこと、また、当該食品の検食および残品が無く、患者便からしか大腸菌 O128 が検出されていないこと等から食中毒事件としては断定されなかった。

病原大腸菌は発生の機序により、毒素原生大腸菌 (ETEC)、腸管組織侵入性大腸菌 (EIEC)、腸管病原性大腸菌 (EPEC)、腸管出血性大腸菌 (EHEC)、腸管凝集接着性大腸菌 (EAggEC) の 5 つに大別される。これらの大腸菌による食中毒事件は国内で年間 20 ~ 40 件発生し、その多くは EHEC である。当研究所では平成 23 年に EAggEC O126:H27 による有症苦情事例を経験したが、EPEC による集団感染事例は初めてである。今回のような起因菌の判別に苦慮する EPEC の場合、病原体側のファクターと疫学調査結果を総合的に勘案して起因菌の可能性を考える必要がある。

最後に、病原因子等に関してご助言いただきました、伊藤健一郎先生に深謝致します。

表 検体数および検査結果

検体名	検体数 (件)	陽性検体数 (件)		
		大腸菌 O128	黄色ブドウ球菌	セレウス菌
患者便	15	11	3	0
従事者便	1	0	0	0
拭き取り	9	0	0	2
飲料水	4	0	0	0

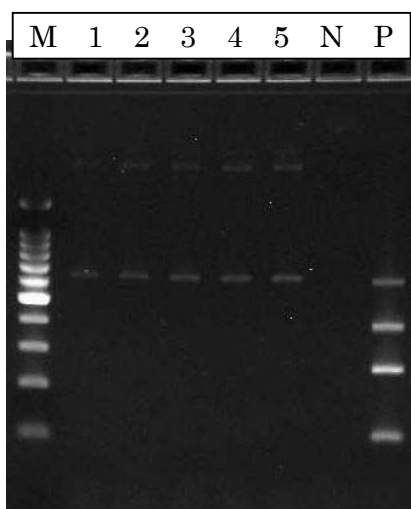


図 1 病原遺伝子 PCR 増幅結果  
 レーン M : マーカー  
 レーン 1~5 : 検体  
 レーン N : N/C  
 レーン P : P/C  
 (上から *eae*、*bfpA*、*aggR*、*astA*)

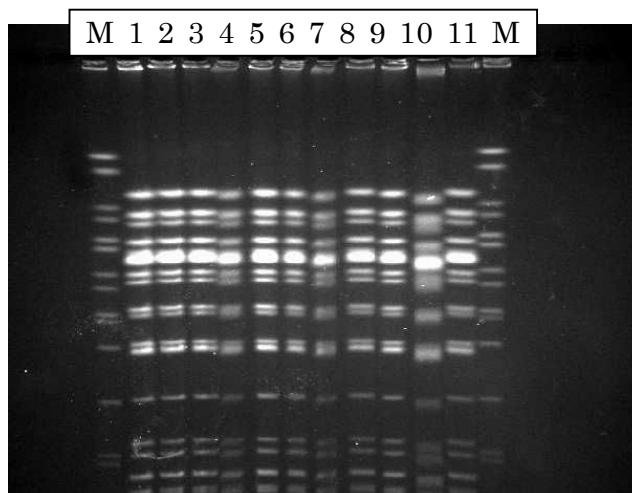


図 2 EPEC O128:H2 の PFGE パターン  
 レーン M : マーカー  
 レーン 1~11 : 検体

## 鮮魚類における粘液胞子虫寄生状況について

微生物検査グループ 土屋祐司

### 【はじめに】

近年、食後数時間程度で一過性の嘔吐や下痢を起し、比較的短時間で軽快する有症事例の発生が各地で相次ぐようになった。その多くの場合、既知の原因物質が検出されず、共通食としてヒラメの刺身などの生鮮魚類、または馬刺しが提供されている事例が見受けられるとの情報が寄せられた。このことにより、厚生労働省は、国立医薬品食品衛生研究所とともに全国調査と原因物質の検索を行った。その結果、2011年6月に、ヒラメ喫食による原因物質不明有症事例については、魚類の寄生虫の一種である粘液胞子虫 *Kudoa septempunctata* が、馬刺しについては、住肉胞子虫 *Sarcocystis fayeri* の関与が強く示唆されるとの結論を得て、自治体宛に当該寄生虫に起因すると考えられる有症事例が報告された場合には、食中毒として取り扱うよう通知を発出した。

浜松市内でも、2011年頃から浜名湖産魚類の刺身を喫食後、同様の症状を呈する事例が発生していた。そこで、2012年7月から、当所に搬入される鮮魚等の検体について、粘液胞子虫保有状況調査を開始した。今回は、2012年7月～2015年1月の調査結果に加え、有症事例における検査状況について報告する。

### 【材料および方法】

#### 1 材料

2012年7月～2015年1月に収去検査等により搬入された鮮魚の検体 26種 102検体  
スズキ（セイゴ、マダカを含む）(17)、ヒラメ(15)、クロダイ（カイズを含む）(13)、アジ(8)、イサキ(8)、キビレ(6)、マダイ(5)、タチウオ(4)、ボラ(4)、コチ(3)、ハマチ(3)、カツオ(2)、アカムツ(1)、アマダイ(1)、イシダイ(1)、イトヒキアジ(1)、カワハギ(1)、カンパチ(1)、サバ(1)、キンメダイ(1)、ニザダイ(1)、ニジマス(1)、ニベ(1)、フェフキダイ(1)、ヘダイ(1)、メジナ(1)

2011～2014年に発生した有症事例におけ

る食品検体 16件 10種 24検体  
スズキ（セイゴ、マダカを含む）(8)、マダカ(6)、カイズ(2)、カンパチ(2)、サーモン(1)、サワラ(1)、シラス(1)、ヒラメ(1)、ブリ(1)、エビ(1)

#### 2 方法

「*Kudoa septempunctata* の検査法について（暫定版）」（2011年7月11日付厚生労働省通知）により実施。

### 【成績】

#### 1 収去検査等により搬入された検体

キビレ1検体、マダカ2検体、カイズ1検体及びヒラメ1検体（いずれも浜名湖産）から、鏡検により粘液胞子虫胞子が観察された（図）。鏡検法による胞子数は  $3.5 \times 10^6 \sim 1.7 \times 10^7$  個/g であった。しかし、いずれもリアルタイム PCR 法で陰性であったため、*K. septempunctata* 陰性と判定された。なお、観察された胞子の形態は4極であった（表）。

#### 2 有症事例

御前崎産カイズ1検体及び浜名湖産マダカ1検体から、鏡検により4極を有する粘液胞子虫胞子が観察された。鏡検法による胞子数はそれぞれ  $5.7 \times 10^6$ 、 $3.5 \times 10^6$  個/g であった。検出された胞子について、カイズ由来は東京大学に、マダカ由来は大阪府公衆衛生研究所に同定を依頼したところ、いずれも *K. iwatai* と同定された。また、サワラ、カンパチ、マダカ及びマダカ各1検体は、リアルタイムPCRにおいて *K. septempunctata* 遺伝子が検出されたが、検量線から算定されたコピー数が暫定基準値である  $10^7$  以下であったため、陰性となった。なお、このうちマダカ由来胞子から抽出した遺伝子について、コンベンショナル PCR により種の同定を行った結果、*K. thyrsites* と同定された。

### 【考察】

今回の調査で、浜名湖産魚類に4極を有するクドア属粘液胞子虫の寄生が認められた。有症

表 クドア属粘液胞子虫の検査状況

検体名	産地	搬入日	鏡検	リアルタイムPCR	胞子数 (リアルタイムPCRはコピー数)	
調査	キビレ	浜名湖	2013/10/16	+(4極)	—	4.0×10 <sup>6</sup> 個/g
	スズキ(マダカ)	浜名湖	2013/10/30	+(4極)	—	3.5×10 <sup>6</sup> 個/g
	クロダイ(カイズ)	浜名湖	2014/5/7	+(4極)	—	1.7×10 <sup>7</sup> 個/g
	ヒラメ	浜名湖	2014/5/7	+(4極)	—	1.5×10 <sup>7</sup> 個/g
	スズキ(マダカ)	浜名湖	2014/5/7	+(4極)	—	5.5×10 <sup>6</sup> 個/g
有症事例	サワラ	不明	2011/8/11	—	—	2.9×10 <sup>4</sup> copy/g(リアルタイムPCR)
	カイズ	御前崎	2011/11/2	+(4極)	—	5.7×10 <sup>6</sup> 個/g <sup>※1</sup>
	カンパチ	不明	2012/6/5	—	—	6.0×10 <sup>5</sup> copy/g(リアルタイムPCR)
	マグロ	不明	2012/6/5	—	—	1.5×10 <sup>5</sup> copy/g(リアルタイムPCR)
	マダカ	不明	2012/7/30	—	—	1.5×10 <sup>4</sup> copy/g(リアルタイムPCR) <sup>※2</sup>
	マダカ	浜名湖	2013/10/30	+(4極)	—	3.5×10 <sup>6</sup> 個/g <sup>※3</sup>

※1: 東京大学での検査により *K.iwatai* と同定

※2: コンベンショナルPCRにより、*K.thyrsites* と同定

※3: 大阪府公衆衛生研究所での検査により、*K.iwatai* と同定

事例において *K. iwatai* と同定されたマダカも浜名湖産であることから、調査検体及び有症事例検体から検出された 4 極のクドア属胞子は *K. iwatai* と推定された。クドア属粘液胞子虫の病原性については、現在 *K. septempunctata* のみ認められ、その他の種類については不明である。しかし、食品からクドア属胞子が検出された 2 件の有症事例とも、他に既知の原因物質が検出されておらず、症状も *K. septempunctata* と類似することなどから、*K. iwatai* が同様の病原性を持つことが示唆された。

また、有症事例 4 件では暫定基準値以下であったため陰性となったが、*K. septempunctata* 遺伝子が検出された。鏡検においても胞子は観察されなかったことから、感染数は少ないものと思われたが、いずれの事例も症状は *K. septempunctata* による食中毒と類似することから、原因物質は *K. septempunctata* であると思われた。しかし、4 件中 1 件は、後のコンベンショナルPCRにて *K. thyrsites* と同定された。厚労省通知のリアルタイム PCR 法は、大阪府公衆衛生研究所の調査により、他のクドア属粘液胞子虫でも陽性となることが報告されている。今回 *K. thyrsites* と同定された検体は国立医薬品食品衛生研究所に送付済みであり、前述の *K. iwatai* の病原性ととも今後の研究成果が待たれる。

この調査により、浜名湖の魚類にもクドア属粘液胞子虫の感染があることが判明した。今後も調査を継続し、好発魚種や季節などのデータを集積・公表することで、食中毒の防止に寄与したい。

最後に、クドア属胞子の同定及び PCR 法のご指導をいただいた、東京大学大学院農学生命科学研究科水圏生物科学専攻魚病学研究室 横山博先生、大阪府立公衆衛生研究所感染症部 細菌課 河合高生先生に深謝致します。



図 クドア属粘液胞子虫 (*K.iwatai*) 胞子

# 小児患者から分離された肺炎球菌の血清型について

微生物検査グループ 佐原篤

## 【はじめに】

肺炎球菌は多くの小児の鼻咽頭に常在し、中耳炎や肺炎の起因菌となる。血液中など無菌部位に侵入することで、侵襲性肺炎球菌感染症（2013年4月に感染症法五類全数把握疾患に追加）を起こすことも知られている。

一方、小児肺炎の予防として行われているワクチンの接種は、2010年11月から7価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV7）による5歳未満の小児に対する接種公費助成が始まった。2013年11月からは、PCV7にさらに6種類の血清型が加わった、13価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV13）の定期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肺炎球菌の血清型を調査し、PCV13接種による検出血清型の変化が見られたので報告する。

## 【材料および検査方法】

2012年2月から2015年1月に市内医療機関小児科を受診した、患者の鼻咽頭拭い液259検体から分離された肺炎球菌239株を用い調査を行った。すべての菌株はDanielらの方法に従い*lytA* 遺伝子の検出、および制限酵素 *BsaA I* 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 Multiplex PCR 法を用いて血清型を決定した。

## 【結果】

当所において同定検査を実施したところ、10株は *lytA* 遺伝子が不検出であったため、以降の検査から除外し、229株（2012年85株・2013年75株・2014年69株）について血清型別を実施した。

## 1 ワクチン含有血清型の分離率

7価ワクチン含有血清型（7VT：4/6B/9V/14/18C/19F/23F）の分離率は、2012年は11.8%であったが、2013年は1.3%、2014年は1.4%と低い水準であった（図1）。

13価ワクチン含有血清型（13VT：7VT+1/3/5/6A/7F/19A）の分離率は、2012年は14.1%、2013年は22.7%となり、2014年には16.7%まで低下した。2013年をピークに山なりを示した。

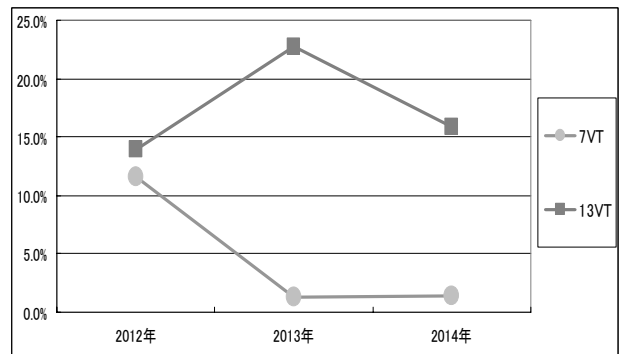


図1 7VT および 13VT の分離率

## 2 ワクチン非含有血清型（n-VT）の分離率

ワクチンに含有されておらず、PCV7 の効果により、相対的に分離率の増加が推測された、6C、15A、15B および 23A の血清型の分離率は、図2のような変化が見られた。15A、15B は、増加しており、全国的な動向とも一致していた。しかし、6C、23A は減少しており、全国的な動向ともずれが生じた。

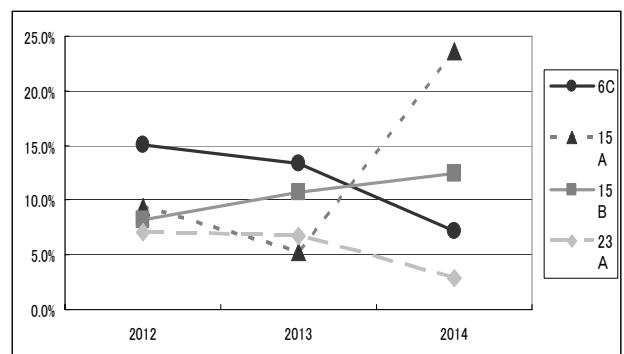


図2 ワクチン非含有血清型の分離率

### 3 PCV13 接種者の分離血清型の変化

2の結果から、分離される時期(年)により、血清型の流行が見られた。2014年6月からの7ヶ月間という短い期間で同定された、47株について、PCV13接種者由来株(18株)とPCV13未接種者由来株(29株)の2群間について、各血清型について分離率の差があるのかを見た。

その結果、13VTの分離率は、接種者は0.0%・未接種者は13.8%となった。また、PCV13非含有血清型(n-13VT)の中で分離率が多いとされる、15Aと23Aの分離率を比較したところ、15Aでは、PCV13接種者は33.3%(6/18)未接種者は17.2%(5/29)、23Aでは、11.1%(2/18)0.0%(0/29)となりワクチン接種者による増加が見られた。

#### 【考察】

今回の調査の結果、2013年および2014年における、7VTの検出率の減少が見られたことで、PCV7の効果十分に表れていると思われる。それに伴い、2013年は、2012年に比べ、7VTに含まれない13VTの相対的な増加が見られた。しかし、2013年11月よりPCV13が導入され、PCV13接種者の結果が反映されはじめた2014年の13VTの検出率は、2013年より減少する傾向となった。これにより、一時的にPCV7により検出率が増加すると思われた、13VTがPCV13の効果により抑えられたと考えられる。

さらにPCV13の効果について着目した結果、PCV13接種者では、13VTの分離がなく、PCV7に見られたワクチンの活性低下は表れなかった。これは、PCV13の接種開始より、現在にいたるまでに1年も経過しておらず、活性低下にいたる患者がいなかったものと考えられる。

肺炎球菌には、90種を超える血清型が存在する。現行のワクチンでは全てをカバーすることは難しいと感じた。今後は、共通の抗原を標的

とした新たなワクチンの開発が期待される。

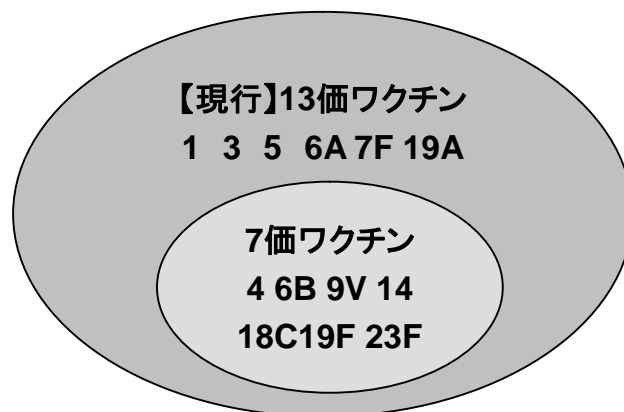


図3 ワクチンに含まれる血清型

表 PCV13 接種者・非接種者の分離血清型

PCV13 接種者			PCV13 未接種者		
血清型	件数		血清型	件数	
7VT	0	0.0%	7VT	0	0.0%
19A	0		19A	4	13.8%
13VT	0	0.0%	13VT	4	13.8%
15A	6	33.3%	15A	5	17.2%
23A	2	11.1%	23A	0	0.0%
10A	1	5.6%	6C	2	6.9%
15B	3	16.7%	10A	1	3.4%
24	1	5.6%	11A	2	6.9%
34	1	5.6%	15B	5	17.2%
cpsA(-)	4	22.2%	24	2	6.9%
			33F	1	3.4%
			35B	1	3.4%
			38	1	3.4%
			UT	2	6.9%
			cpsA(-)	3	10.3%
<b>合計</b>	<b>18</b>		<b>合計</b>	<b>29</b>	



## 魚介類加工品のヒスタミン産生菌定量について

微生物検査グループ 加藤 和子

### 【はじめに】

魚介類、特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。

ヒスタミンによる食中毒は化学性食中毒として扱われ、理化学検査が実施されるが、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。

今回、ヒスチジンプロスを用いた魚介類加工品のヒスタミン産生菌数の定量、および5℃保管でのヒスタミン産生確認と分離菌の同定を実施し、若干の知見を得たので報告する。

### 【材料および方法】

平成26年5月にヒスタミン検査のために搬入された検体のうち「あじの干物」、および「かつおの醤油漬」（両検体ともLC-MS法でヒスタミン量が定量下限値（10mg/Kg）以下）を試験に供した。

検体10gをヒスチジンプロス90mlに入れてストマックしたものを試料原液とし、原液、10倍希釈液、100倍希釈液について3本法で35℃22時間培養したもの（以下培養検体）と、試料原液の残りを分取して5℃で2・4・7日間にわたって保管したもの（以下冷蔵保管検体）についてペーパークロマトグラフ法でヒスタミン産生の有無を確認した。

培養検体についてはヒスタミン産生の有無により、最確数（MPN）法でヒスタミン産生菌数を算定した。また、ヒスタミン陽性試料をNiven培地に塗抹、培養し、色調変化によりヒスチジン分解が推定される菌を分離して、ペーパークロマトグラフ法でヒスタミン産生を確認した後にBBLクリスタル簡易同定キットを用いてヒスタミン産生菌を同定した。

### 【結果】

あじの干物全ての培養検体にヒスタミン産生が認められ、最確数3本法によるヒスタミン産生菌数は1,400個以上/10gであった。また、冷蔵保管検体からも4日目および7日目にヒスタミン産生が確認された。ヒスタミン陽性検体から分離されたヒスタミン産生菌は*Citrobacter*属菌、*Serratia*属菌、*Klebsiella*属菌であった。かつおの醤油漬はいずれの試料もヒスタミン陰性であった。（表1）

表 1. 魚介類加工品の培養検査結果

	培養検体 (35°C22h 培養)				冷蔵保管検体 (5°C)		
	ヒスタミン陽性管数			菌数 (個/10g)	ヒスタミン産生		
	原液	× 10	× 100		2 日	4 日	7 日
あじの干物 (分離菌)	3	3	3	1,400<	—	+	+
	<i>Citrobacter</i> 属			<i>Serratia</i> 属	<i>Klebsiella</i> 属		<i>Serratia</i> 属
かつおの醤油漬	0	0	0	<3	—	—	—

#### 【考察】

アレルギー様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重要であるため、調理・加工施設等における原材料のヒスタミン産生菌汚染状況や、加工・保管時の細菌の消長を把握することは食品の衛生管理に有効な衛生指標となる。

今回、ヒスタミン産生菌の定量試験を試みたところ、あじの干物から最確数で 1,400 個以上/10 g のヒスタミン産生菌が検出された。また、5°C 保管したヒスチジンプロス試料原液から 4 日目と 7 日目の試料にヒスタミンが確認され、供試検体は冷蔵保管中にヒスタミン産生菌が増殖する可能性があることが示唆された。

ヒスタミン産生菌には多種多様な菌種が存在し、増殖至適温度が異なることから、定量試験の際は培養温度についても検討が必要である。また、ヒスタミン確認のために用いたペーパークロマト法は手技が煩雑であるため多数検体の検査が難しく、より簡便な検査法の開発が望まれる。

アレルギー様食中毒発生の際、必要に応じて微生物検査を併せて実施することは施設等の衛生管理指導に有効であるため、今後も検査法の検討を重ねたい。

#### 【謝辞】

検査にあたり、培地作成方法やペーパークロマト法についてご教示いただきました、神奈川県衛生研究所の伊達佳美先生に深謝いたします。

## 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 (第2報)

微生物検査グループ 疋田都希

### 【はじめに】

当所では、浜松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と並行して、液体培養による生菌の選択的増殖と EMA 処理による死菌由来の PCR 増幅抑制を組み合わせたレジオネラ生菌遺伝子検査法である LC EMA-qPCR 法(以下、EMA 法)によるスクリーニング検査を実施している。

昨年、本発表会において、培養法と EMA 法の結果には若干の相関が見られるものの、EMA 法が陽性であるにもかかわらず培養法で菌が分離されない理由として、多量に含まれる死菌が影響しているとの報告を行った。

そこで今回は、検水の濃縮後に ATP (アデノシン三リン酸) 測定により検水中の菌数を推測し、適切な希釈を行うことにより死菌の影響を除外すると同時に、適切な酸処理を行うことにより雑菌による液体培養の阻害を除外等の処理を行い、正確な測定値を得られるか検討した。その結果、若干の知見が得られたので報告する。

### 【材料及び方法】

平成 26 年度にレジオネラ属菌の検査を依頼された浴槽水等 84 検を検体とした。

これらの検体について、遠心濃縮を行い 100 倍濃縮液と 1,000 倍濃縮液を調整した。EMA 処理時に使用する試薬キットである Viable Legionella Selection Kit for LC EMA -qPCR (タカラバイオ株) のプロトコールに準じ、ルミテスター PD-10 (キッコーマンバイオケミファ株) を用いた ATP 測

定を行い、測定値に応じて、酸処理条件を変更した。ATP 測定値が 5,000 RLU 未満の検体は通常通り 1,000 倍濃縮液を使用し、5 分の酸処理を行い、5,000 RLU 以上の検体は 1,000 倍及び 100 倍濃縮液を使用し、20 分酸処理を行った。その後、液体培養、EMA 処理、Cycleave PCR Legionella (16S rRNA) Detection Kit (タカラバイオ株) を使用してリアルタイム PCR 法にて菌数を測定した。

また、平成 26 年度希少感染症診断技術研修会において、WYO 寒天培地に菌を塗布する際、菌液を延ばす程度(以下、ソフトタッチ)に塗布するのが良いとの説明があったことから、ソフトタッチ塗布と菌液をすり込むように(以下、ハードタッチ)塗布した培地とで、培養法における発育状況を比較した。

### 【結果】

#### 1. 培養法、EMA 法、ATP の結果

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: 10 CFU/100mL)とされている。今回、培養法で陽性となったのは 84 検のうち 3 検であった。一方、遺伝子増幅が確認された(PCR 陽性)のは 14 検であり、PCR 陰性、培養法で陽性となった検体は無かった。

ATP 測定値が 5,000 RLU を超えたものは 2 検あり、リアルタイム PCR の結果は、それぞれ 1,000 倍濃縮・100 倍濃縮ともに 0 CFU/100mL、1,000 倍濃縮が 70.1 CFU/100mL、100 倍濃縮が 62.4 CFU/100mL であったが、いずれも培養法は陰性であっ

た(表 1)。

## 2. 菌塗布方法の違いによる発育状況

寒天培地に菌の濃度を変えて、ハードタッチ塗布とソフトタッチ塗布をした結果、すべてにおいてソフトタッチ塗布のほうが発育状況が良好であった(表 2)。

表 1 ATP、EMA 法 (リアルタイム PCR 法)、培養法の結果比較

培養法 (CFU/100mL)	EMA法 1000倍濃縮液 (CFU/100mL)	EMA法 100倍濃縮液 (CFU/100mL)	ATP (RLU/mL)
30	62.80		121
30	106.00		156
10	106.00		314
<10	17.80		6
<10	13.80		62
<10	1.05		104
<10	18.00		113
<10	6.58		128
<10	1.01		179
<10	5.48		231
<10	1,240.00		331
<10	6.18		710
<10	0.13		2,535
<10	0.00	0.00	5,425
<10	70.10	62.40	40,973

※84 検中、PCR 陽性検体、ATP 5,000 RLU 以上の検体を抜粋

表 2 菌塗布方法の違いによる発育状況の変化

	ソフトタッチ(CFU)	ハードタッチ(CFU)
1	404	113
1×10	66	21
1×100	5	2

### 【考察】

今回の調査で ATP 5,000 RLU 未満でリアルタイム PCR が 60 CFU/100mL 以上の場合、ほぼ培養法で陽性となった。このことから ATP を測定し、リアルタイム PCR の結果と組み合わせて判断したほうが、信頼性が高い結果とすることができる。しかし ATP 5,000 RLU 以上の場合、雑菌が多いことや汚れがひどいことが予測されたため、マニュアルに従い、希釈し酸処理時間を長くすることにより、雑菌や死菌の影響を低減し、リアルタイム PCR の値と培養法の値が相

関することを期待したが、検体数が少なかったこともあり、期待した結果は得られなかった。今回 ATP が高値であった検水はすべて残留塩素濃度が 0.1mg/L 以下であり、雑菌が多いことが ATP 高値に繋がっていることが推定された。

今後は、引き続き ATP 測定を続けデータを集積すると同時に、採水状況、残留塩素濃度、ATP 測定値、リアルタイム PCR の結果など、総合的に判断することでよりスクリーニング検査機能を高めていきたい。

また、菌塗布方法をソフトタッチにすることで発育状況が良いことが分かった。今後も積極的に研修会に参加したり、文献を調べたりするなどして、検出率を上げていきたい。

## 【はじめに】

平成 25 年の食中毒統計によると、全国で 1 年間に 931 例の食中毒事例が発生し、そのうち約 35% に相当する 328 例がノロウイルス（以下 NoV）によって引き起こされている（病因物質の第 1 位）。また、患者数においても全食中毒患者 20,802 名の過半数に相当する 12,672 名が NoV の感染によるものである。このように、食中毒の大部分を占める病因物質が NoV であることが判明しているにもかかわらず、二枚貝（カキ等）以外の一般的な食品からウイルスを検出できた例は少ない。

平成 25 年 10 月、通知法（平成 15 年 11 月 5 日付け食安監発第 1105001 号「ノロウイルスの検出法について」）の一部改正により、一般食品からのウイルス濃縮法として、パンソルビン・トラップ法（以下 パントラ法）が追記された。パントラ法の基本原理は、食品乳剤中に NoV に特異的な抗体を添加して抗原抗体複合体を形成させ、さらにそれを黄色ブドウ球菌表面のプロテイン A に吸着させて、菌体とともに NoV を沈殿・回収することである。

今回、パントラ法を用いた一般食品からの NoV 検出法についてリアルタイム PCR 法における各反応段階の至適化を図り、各種食品を用いて実用化に向けた検証を行ったので報告する。

## 【方法と材料】

### 1 各反応段階の至適化

パントラ法は性質上抽出された RNA には大量の黄色ブドウ球菌由来の遺伝子が混入するため、NoV 遺伝子の検出に影響を及ぼすことが懸念される。そこで、黄色ブドウ球菌加工試薬の遺伝子抽出物（以下 パンソルビン抽出物）の存在下でも、高感度かつ特異的にウイルス遺伝子が検出できることを要点として、リアルタイム PCR 法における以下の検討を行った。なお、リアルタイム PCR 機器は Bio-Rad 社製 CFX96、サーマルサイクラーは Bio-Rad 社製 C1000 を使用した。

#### (1) リアルタイム PCR 試薬

リアルタイム PCR 用 NoV コントロール DNA をパンソルビン抽出物及び蒸留水で希釈したものを検体として、5 種類のリアルタイム PCR 試薬を比較検討した。

#### (2) 逆転写反応条件

糞便上清より抽出した NoV-G II RNA をパンソルビン抽出物で希釈したものを検体として、逆転写酵素（2 種類）・プライマー（Random Primer、PANR-G II）・反応温度（42℃～58℃）について条件検討を行った。

#### (3) DNase 処理法

DNase 処理に一般に用いられる酵素 DNase I は、反応後の失活に 75℃・5 分の加熱を必要とすることから、ウイルス RNA が分解・減少してしまうことが難点とされていた。

そこで、糞便上清より抽出した NoV-G II RNA を検体として、処理方法に伴う RNA 量の変化を比較検討した。

### 2 回収試験

試験に供する食品として、市販されている 7 種類の一般食品（表 1）を用いた。また、検

出対象となるウイルスとして NoV-G II /4 を含む糞便上清を用いた。ウイルスを汚染させた食品（約  $3.0 \times 10^4$  copies/g）を用いて、パントラ法（図 1）にて濃縮、RNA 抽出を行い、1 において至適化した条件にて定量的検出を実施した。なお、ウイルス捕捉用抗体には 5% ガンマグロブリン製剤を使用した。

## 【結果と考察】

### 1 各反応段階の至適化

#### (1) リアルタイム PCR 試薬

結果を図 2 に示した。比較した 5 種類のリアルタイム PCR 試薬のうち、Roche 社製の Eagle Taq Master Mix（矢印）が、Ct 値、実測値及び検量線の直線性において、NoV-G I・G II 反応系ともに最も優れていた。

#### (2) 逆転写反応条件

結果を図 3 に示した。逆転写酵素は invitrogen 社製の Super Script III、プライマーは Random Primer、反応温度は 42°C の組み合わせで検出感度が最も良かった。

#### (3) DNase 処理法

結果を図 4 に示した。従来の DNase 処理（加熱）に比べ、RNA 抽出工程に DNase 処理を組み入れた方法（非加熱）（図 5）ではウイルス RNA の減少はほとんど認められなかった。

### 2 回収試験

回収試験の結果を表 2 に示した。すべての食品において回収率が評価の Moderate（適度）以上であり、特に食パン、マグロ刺身では比較的高い回収率を得ることができた。

以上の結果から、濃縮法としてパントラ法を用いた当該リアルタイム PCR 検出系は、多種・多様な食品から NoV を感度良く検出できる検査法として実用性が高いことが示唆された。

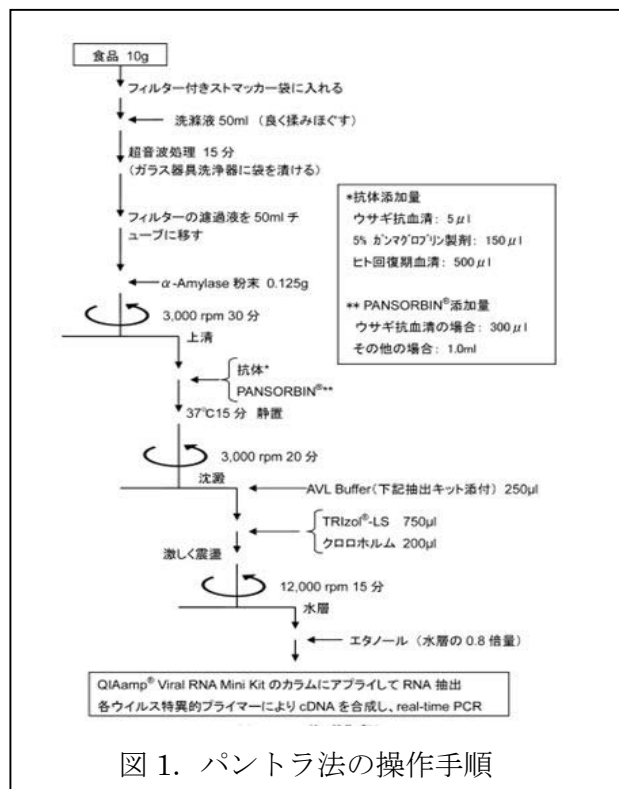
近年の NoV 食中毒は調理従事者からの二次汚染を受けた食品を原因とする事例が多くを占めており、また NoV は 10~100 個程度でヒトに対して感染が成立することが報告されている。したがって、今後とも検出感度の向上に更なる検討が必要である。また、検体に供した食品検体部分にウイルスが付着していなければ陰性となるため、サンプリングプランやスケールアップ方法についても併せて検討する必要がある。

## （謝辞）

ご指導いただきました国立医薬品食品衛生研究所 野田衛先生、秋田県健康環境センター 斎藤博之先生に心より感謝申し上げます。

表 1 試験に供した一般食品

区分	食品名
穀類	食パン おにぎり
魚介類	マグロ刺身
菓子類	桜もち
複合調理食品	焼きそば ごぼうサラダ 白和え



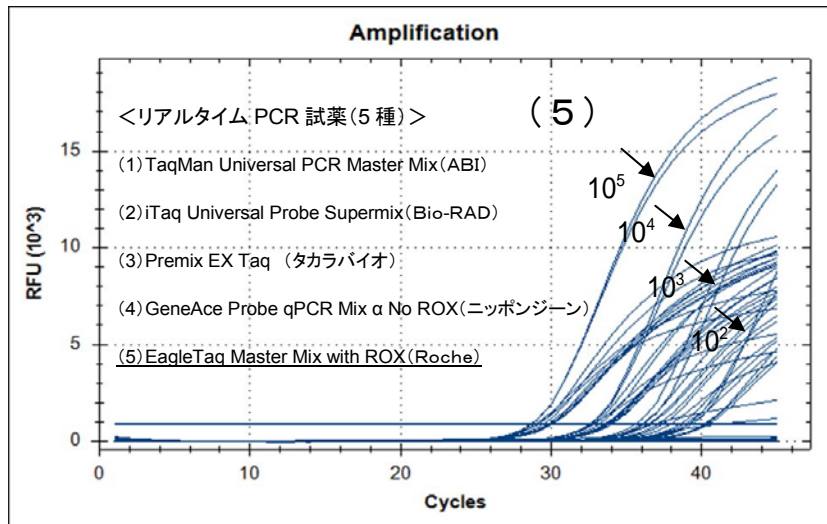


図 2. リアタイム PCR 試薬の比較 (増幅曲線)

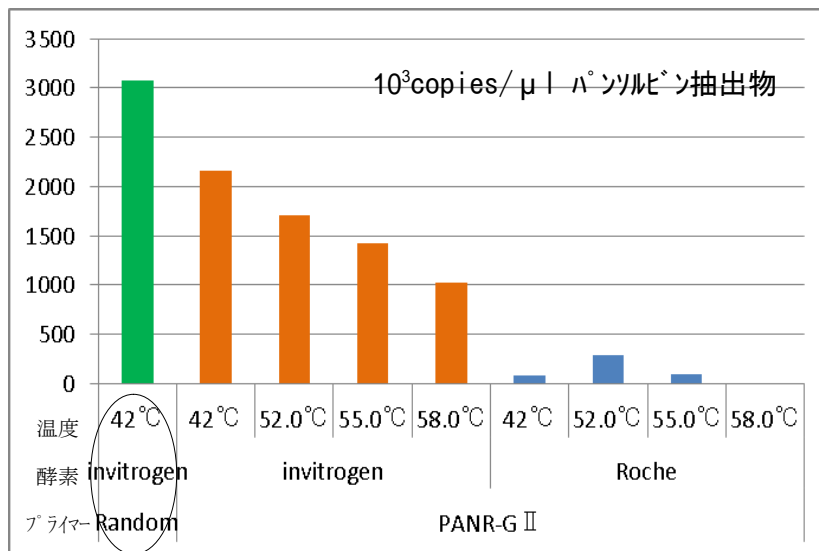


図 3. 逆転写反応条件の比較 (実測値)

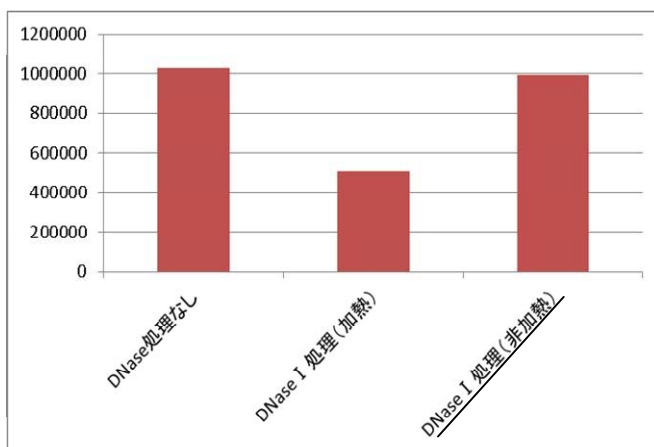


図 4. DNase 処理法の比較 (実測値)

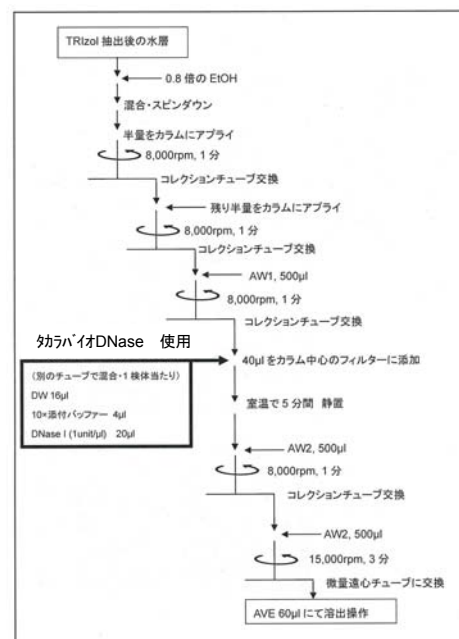


図 5. DNase I 処理 (非加熱) 操作手順

表 2. 回収試験の結果

食品名	回収率 (%)	評価※	コピー数	
			1g 当たり	実測値
食パン	10.4	High	3,106	1,294
おにぎり	9.4	Moderate	2,806	1,169
マグロ刺身	13.3	High	3,984	1,660
桜もち	6.2	Moderate	1,870	779
焼きそば	9.1	Moderate	2,717	1,132
ごぼうサラダ	6.6	Moderate	1,982	826
白和え	5.4	Moderate	1,622	676

※回収率評価

回収率	評価
<0.1%	Very low
0.1-1%	Low
1-10%	Moderate
10-70%	High
>70%	Very high

(国際カリシウイルス会議より)

(参考文献)

- ・厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業「食品中の病原ウイルスの検出法に関する研究」平成 25 年度総括・研究分担報告書
- ・厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業「食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究」平成 24 年度総括・研究分担報告書



# 浜松市におけるノロウイルスの検出状況

微生物検査グループ 中野 哲志

## 【はじめに】

ノロウイルス（以下 NoV）は感染性胃腸炎の起因ウイルスの 1 つであり、食中毒事件においては主たる病因物質となっている。

今回、平成 26 年度（平成 27 年 2 月まで）における NoV の検査状況及び遺伝子解析の結果について報告する。

## 【方法】

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 12 検体（以下、サーベイ検体）及び食中毒の検査依頼により搬入された 386 検体（以下、食中毒検体）を試料とし、通知法に従いリアルタイム PCR 法による遺伝子検出を行った。

前述の検査により陽性となった検体から抽出した 34 検体について、コンベンショナル PCR 法で N/S 領域の遺伝子を増幅し、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定、BLAST を利用した相同性解析及び MEGA5 を用いた分子系統樹解析を行った。

## 【結果】

### 1. NoV 検査状況（表 1）

リアルタイム PCR 法の結果、サーベイ 7 検体

及び食中毒等 108 検体より NoV 遺伝子が検出された。内訳は GI が 5 検体、GII が 110 検体であり、食材（1 検体）やふき取り（2 検体）からも検出された。

また、4 月と 11 月以降に高確率で検出された。

### 2. NoV 遺伝子解析結果（表 2）

#### (1) サーベイ検体

解析できた 6 検体中 GII. 4 が 4 検体と最多であり、うち GII. 4/2006b が 3 検体、GII. 4/Sydney\_2012 が 1 検体であった。その他は GII. 3 及び GII. 6 であった。

#### (2) 食中毒（事件）検体

NoV による食中毒事件 3 件中 GI. 4 が 1 件、GII. 4/Sydney\_2012 が 2 件であった。

GII による食中毒事件 2 件については、それぞれ、患者便、従事者便及びふきとりは同一型であり、また、施設間等による相違もなかった（図）。

#### (3) 食中毒（非事件・市外）検体

有症苦情事例 2 件及び市外からの依頼による 5 件について、GII. 4/Sydney\_2012 が 4 件と

表 1 NoV 検査状況

年月	サーベイ	食中毒 等								計	(再掲)			
		【依頼数】	患者便	従事者便	食材	ふき取り等	計	【GI】	【GII】					
2014.4	2	(2)	【2】	4	(4)	21	(2)		16	(0)	43	(8)	2	6
5	1	(0)	【2】	3	(0)						4			
6														
7	2	(0)	【1】	1	(1)						3	(1)	1	
8	1	(0)	【2】	5	(0)						6			
9			【2】	17	(0)						17			
10			【1】	24	(0)						24			
11			【1】	1	(1)						1	(1)		1
12	1	(1)	【3】	74	(70)	79	(15)	45	(1)	55	(1)	254	(88)	1 87
2015.1	3	(3)									3	(3)		3
2	2	(1)	【3】	10	(10)	7	(2)	5	(0)	19	(1)	43	(14)	1 13
計	12	(7)	【17】	139	(86)	107	(19)	50	(1)	90	(2)	398	(115)	5 110

※( )は陽性数

表2 NoV 遺伝子解析結果

年月	サーベイ		食中毒(事件)		食中毒(非事件・市外)		
	陽性数	型	陽性数	型	場所	陽性数	型
2014.4	2※	GII.6 (1)	従事者便(2)	GI.4	市外	患者便(4)	GII.4/Sydney
7					市外	患者便(1)	GI.12
11					市外	患者便(1)	GII.4/Sydney
12	1	GII.4/2006b	患者便(54) 従事者便(15) ふき取り(1)※	GII.4/Sydney	市内	患者便(13)	GII.3
					市外	食材(1)	GII.11
					市外	患者便(3)	GII.4/Sydney
2015.1	3	GII.4/Sydney (1) GII.4/2006b (2)					
2	1	GII.3	患者便(6) 従事者便(3) ふき取り(1)	GII.4/Sydney	市外	患者便(1)	GI.4
					市内	患者便(3)	GII.4/Sydney

※ コンベンショナル PCR で遺伝子が増幅されなかった検体

最多であり、その他は GI.4、GI.12 及び GII.3 であった。

GII.3 の事例について、食材からも検出されたが、GII.11 と患者便の型とは異なっていた。

【まとめ】

当所において、当該期間中 398 検体についてリアルタイム PCR 法を実施し、115 検体から NoV 遺伝子が検出された。

遺伝子解析の結果、GII 陽性検体について、散発事例であるサーベイ検体では GII.4/2006b が主であったが、集団発生事例である食中毒検体では GII.4/Sydney\_2012 が大勢を占めていた。

また、GII による食中毒事件 2 件について、分子系統樹解析により、それぞれ、患者便、従事者便及びふきとりは同一型であり、また、施設間等による相違もないことが判明し、単一暴露であることを裏付ける結果であった。

一方、有症苦情事例について、食材と患者便が異なる型であったことが判明し、遺伝子解析の必要性を実感した。

今後も継続して NoV 遺伝子の詳細な解析を行い、流行と遺伝子型の動向を注視していきたい。

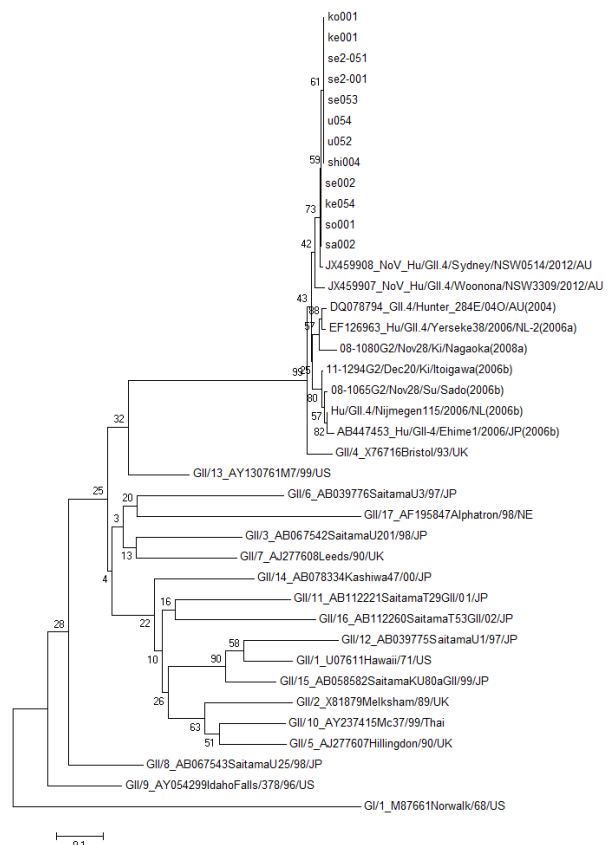


図 分子系統樹 (食中毒事件 2014.12)

## パンを原因とした集団食中毒事例におけるノロウイルスの遺伝子解析

— 第 51 回静岡県公衆衛生研究会発表（誌上発表） —

浜松市保健環境研究所 ○中野 哲志、神保 達也、土屋 祐司、  
小粥 敏弘、小杉 国宏

### 【はじめに】

平成 26 年 1 月、浜松市内の小学校等において、学校給食用食パンを原因としたノロウイルスの集団食中毒事例が発生した。そこで、本件における検査の状況及び検出されたノロウイルスについて遺伝子解析及び系統樹解析を行ったので、その結果を報告する。

### 【材料及び方法】

本件において搬入された患者便 139 検体、製造施設等従事者便 93 検体、食材 154 検体及び施設ふき取り検体等 49 検体の計 435 検体を材料とした。検体の種類に応じ表 1 のとおり前処理を行い、QIAmp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用い RNA を抽出、リアルタイム RT-PCR 法による遺伝子検出を行い判定した。

次に、リアルタイム RT-PCR 法により陽性となった検体のうちカテゴリー別に抽出した検体について、RT-PCR 法で N/S 領域の遺伝子を増幅し、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定、BLAST を利用した相同性解析及び MEGA5 を用いた分子系統樹解析を行った。

表 1. 前処理の方法

検体の種類	前処理方法
患者便、従事者便 食材（検食）	10%乳剤を調製し、12,000rpm で 20 分間遠心した上清
食パン	パンソルビン・トラップ法による濃縮
共通食材（牛乳等）	超遠心法による濃縮
学校別食材	PEG 法による濃縮 ※静岡県環境衛生科学研究所に依頼
施設ふき取り検体等	ふきふきチェック®II（栄研化学）の希釈液

### 【結果】

#### ①リアルタイム RT-PCR 法による遺伝子検出

リアルタイム RT-PCR 法による検査の結果、患者便、従事者便、食パン、製造施設のふきとり及び製造施設従事者の作業着（計 137 検体）からノロウイルス GII が、別検体の食パン及び学校給食室のふきとりからノロウイルス GI が検出された（表 2）。なお、食パンから検出されたノロウイルス量は、2,400、3,333 copy/g (GII)、54 copy/g (GI) であった。

表 2. 搬入された検体数及びリアルタイム RT-PCR による陽性数

	患者便	従事者便		食材	ふき取り		その他	合計
		製造施設	学校		製造施設	学校		
検体数	139	23	70	154	10	36	3	435
陽性数	G			1		1		2
	G	121	4	8	2	1	1	137

## ②塩基配列解析

リアルタイム RT-PCR 法により陽性となった計 62 検体を抽出し、RT-PCR 法により遺伝子の増幅に成功した計 57 検体についてダイレクトシーケンス法を行い、計 48 検体の塩基配列を決定することができた。BLAST を利用した相同性解析の結果、患者便、従事者便、食パン及び製造施設のふきとり（計 46 検体）については G II. 4、学校給食従事者便の 1 つについては G II. 13、学校給食室のふきとりについては G I. 14 であった（表 3）。

また、MEGA5 を用いた分子系統樹解析の結果、G II. 4 と判明した 46 検体すべてが G II. 4/Sydney\_2012/ であった（図）。

表 3. 遺伝子解析実施数

	患者便	従事者便		食材	ふき取り		その他	合計
		製造施設	学校		製造施設	学校		
実施数	44	4	8	3	1	1	1	62
増幅成功	42	3	8	2	1	1		57
シーケンス	37	3	4	2	1	1		48
遺伝子型	G .4	G .4	G .4 G .13	G .4	G .4	G .14		

### 【考察】

本件において、計 435 検体についてリアルタイム RT-PCR を実施し、137 検体からノロウイルス G II が、2 検体からノロウイルス G I が検出された。そのうち、食パンについては、パンソルビン・トラップ法による濃縮を行うことにより検出したものであった。

遺伝子解析の結果、患者便、従事者便、食パン及び製造施設のふきとりは同一型であり、これが本件の原因の型であることが判明した。さらに、学校間等による相違もなく、単一暴露であることを裏付ける結果であった。

一方、学校給食従事者便や学校給食室のふきとりから本件の原因の型とは違う型も検出されており、環境中や不顕性感染者の存在に留意する必要があることが示唆された。

### 【最後に】

本件の検査についてご指導いただきました国立医薬品食品衛生研究所 野田 衛 先生、及び、検体検査にご協力いただきました静岡県環境衛生科学研究所 微生物部の皆様に深謝いたします。

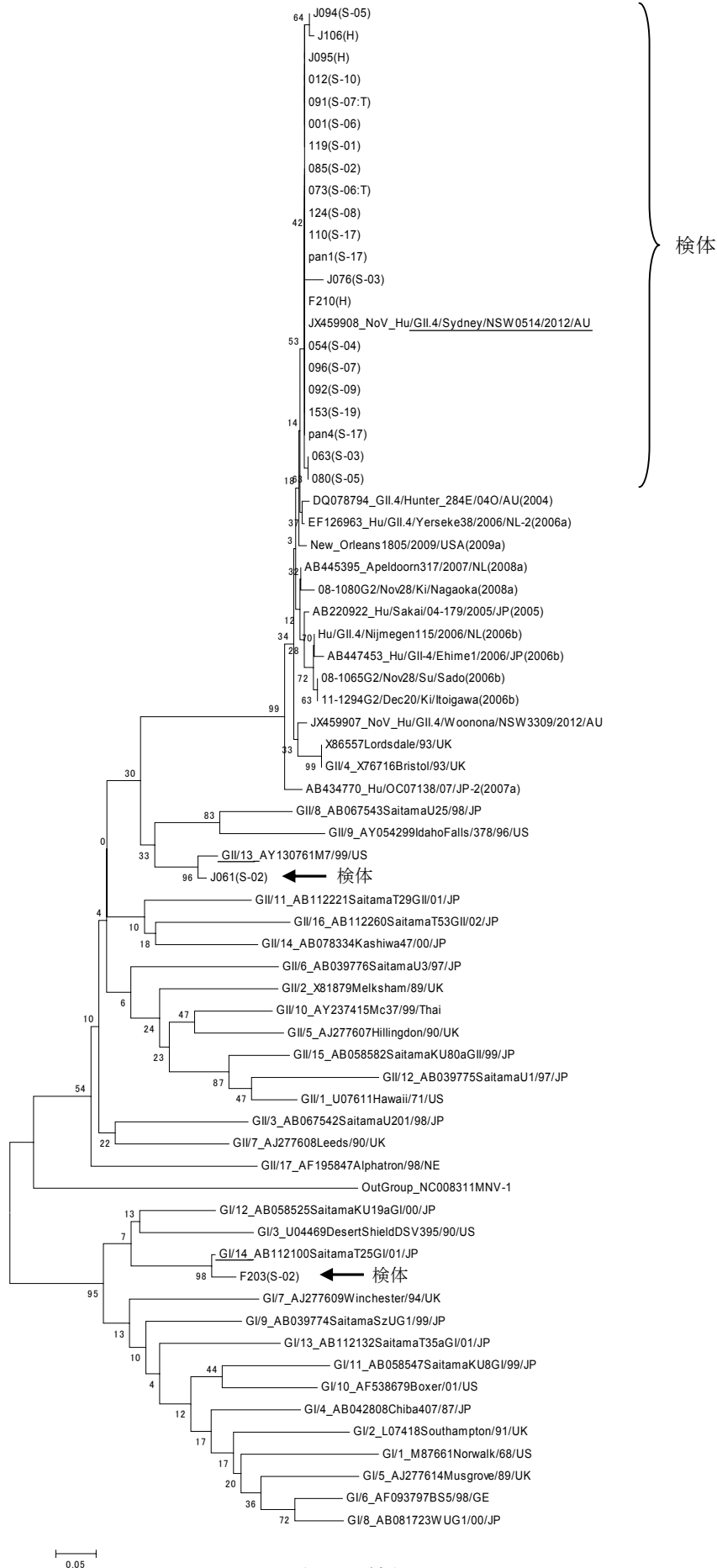


図. 分子系統樹

# 「MD クリニックダイエット」の分析について

—第 51 回静岡県公衆衛生研究会発表—

浜松市健康福祉部保健環境研究所

○山本 典由、神谷 隆史、鈴木 寿枝、木俣 智香子、  
山本 安子、小粥 敏弘、小杉 国宏

## 【序論】

いわゆるダイエット用健康食品については、死亡例を含む多くの健康被害が報告されており、厚生労働省は平成 14 年 10 月 4 日付けで「健康食品・無承認無許可医薬品健康被害防止対応要領」を策定した。しかし、その後も健康被害の報告は跡を絶たず、厚生労働省から「MD クリニックダイエット」、「ホスピタルダイエット」などと称されるタイ製のやせ薬に対する注意喚起(平成 23 年 7 月 7 日薬食監麻発 0707 第 1 号)が発出されるなど、多くの商品及び医薬品に関して様々な注意喚起がされている。

平成 26 年 8 月、医薬品成分が原因であると疑われる健康被害発生情報が浜松市保健所に寄せられた。保健所の調査により、体調不良者は海外から個人輸入した「MD クリニックダイエット」と称される商品を痩身目的で服用していたことが判明した。この「MD クリニックダイエット」による健康被害は他の自治体においても発生しており、食欲抑制剤や利尿薬等の医薬品成分に加え、日本では使用が承認されていない医薬品成分も含まれていることが知られている。そこで、保健所からの依頼に基づき、「MD クリニックダイエット」に含まれる医薬品成分について、LC/MS/MS を用いて分析を実施したので報告する。

## 【方法】

### 1. 試料

保健所から搬入された「MD クリニックダイエット」と称される製品(7 種)を用いた。

### 2. 標準品・試薬等

#### 2.1. 標準品

##### 2.1.1. 痩身系医薬品成分

ヒドロクロロチアジド、フェンテルミン塩酸塩、(±)-クロルフェニラミンマレイン酸塩、フロセミド、ビスアコジル、ジオクチルスルホサクシネート、マジンドール、フェノバルビタールナトリウム及びジアゼパムはシグマアルドリッチジャパン社製、(±)-フェンフルラミン塩酸塩、(±)-フルオキセチン塩酸塩、シブトラミン塩酸塩一水和物、フェノールフタレイン、クロルプロパミド、トルブタミド、グリベングラミド及びN-ニトロソフェンフルラミンは和光純薬工業社製を使用した。

##### 2.1.2. 甲状腺ホルモン

3,3',5'-トリヨード-L-チロニンナトリウム一水和物、3,3',5'-トリヨードチロニン及びL-チロキシナトリウム五水和物はシグマアルドリッチジャパン社製を使用した。

### 2.2. 検量線用混合標準液

各標準品をメタノールで溶解して標準原

液を作製し、各標準原液を等量ずつ混合し、  
 痩身系医薬品成分にあつてはメタノールで  
 希釈して 0.05~1 $\mu$ g/mL を定量範囲とし、甲  
 状腺ホルモンにあつては移動相で希釈して  
 0.1~10 $\mu$ g/mL を定量範囲とし、それぞれ 5  
 点の検量線標準溶液を調製した。なお、本法  
 による定量下限値は、痩身系医薬品成分にあ  
 つては 0.01mg/g、甲状腺ホルモンにあつては、  
 チログロブリン結合型は 0.007mg/g、遊離型  
 は 0.0004mg/g である。

### 3. 試験溶液の調製

#### 3.1. 痩身系医薬品成分

均一とした試料 50mg をメタノールで溶解  
 して 10mL とし、超音波を 15 分かけたのち  
 遠心分離し、上清を 0.2 $\mu$ m メンブレンフィル  
 ターでろ過したものを試験溶液とした。

#### 3.2. 甲状腺ホルモン

##### 3.2.1. チログロブリン結合型

均一とした試料 100mg にタンパク分解酵  
 素液 5mL を加え、37°C の水浴中で 28 時間  
 振とうしながら加水分解した。反応停止液  
 2mL を加えて遠心分離し、上清 2mL に酢酸  
 緩衝液 20mL を加え、酢酸エチル 20mL で 2  
 回抽出した。酢酸エチル層を濃縮乾固したの

ち移動相 2mL に溶解し、0.2 $\mu$ m メンブレン  
 フィルターでろ過したものを試験溶液とし  
 た。

##### 3.2.2. 遊離型

均一とした試料 500mg にトリスアミノメ  
 タン緩衝液 5mL 及び酢酸エチル 20mL を加  
 え、5 分間振とうしたのち遠心分離し、酢酸  
 エチル層を分取した。水層に酢酸エチル  
 20mL を加えて再度遠心分離し、酢酸エチル  
 層を合わせて濃縮乾固したのち移動相 2mL  
 に溶解し、0.2 $\mu$ m メンブレンフィルターでろ  
 過したものを試験溶液とした。

### 4. 測定条件

#### 4.1. 測定機器

Agilent 6460 Triple Quad LC/MS

#### 4.2. LC 条件

##### 4.2.1. 痩身用医薬品成分

カラム : Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18  
 (2.1mm $\times$ 100mm, 1.8 $\mu$ m)

移動相 : 5mM ギ酸アンモニウム : アセトニ  
 トリル(いずれも 0.05% ギ酸を含む) = 90 :  
 10(0min) 90 : 10(0.5min) 10 : 90(10min)  
 10 : 90(15min)

Analytes	Precursor ion (m/z)	Fragmentor voltage (V)	Product ion (m/z)	Collision energy (eV)	Polarity
Hydrochlorothiazide	295.9	200	268.8	17	Negative
Phentermine	150.1	80	91.1	28	Positive
Mazindol	285.1	140	129.9	37	Positive
Chlorpheniramine	275.1	110	229.9	13	Positive
Phenobarbital	233.1	80	146.7	17	Positive
Fenfluramine	232.1	110	187.0	9	Positive
Furosemide	329.0	110	284.9	13	Negative
Phenolphthalein	319.1	170	224.9	17	Positive
Fluoxetine	310.1	110	148.0	5	Positive
Chlorpropamide	275.0	110	189.9	13	Negative
Sibutramine	280.2	110	125.0	25	Positive
Tolbutamide	271.1	110	91.1	37	Positive
Diazepam	285.1	170	193.0	33	Positive
Bisacodyl	362.1	170	184.0	25	Positive
Glibenclamide	494.2	110	369.0	9	Positive
N-Nitroso-fenfluramine	261.1	110	159.0	21	Positive
Dioctyl sulfosuccinate	422.2	110	81.1	37	Negative
3,3',5'-Triiodo-L-thyronine	651.8	140	605.9	20	Positive
3,3',5'-Triiodo-L-thyronine	651.8	170	605.7	25	Positive
L-Tyroxine	777.7	170	731.5	25	Positive

Table 1 MS/MS における MRM 条件




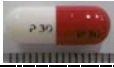




外観	刻印等	検出成分及び含有量(1錠(1カプセル)あたり)
		フロセミド 45mg
	DUROMINE 30	フルオキセチン 0.31mg、シブトラミン 0.034mg
	P30	フルオキセチン 0.52mg、シブトラミン 0.10mg、フェンテルミン 0.0014mg
		トリヨードチロニン 0.0048mg、チロキシシン 0.033mg
		クロルフェニラミン 3.5mg
		フルオキセチン 16mg
	CHINTA	ジオクチルスルホサクシネート 17mg、ピサコジル 6.9mg

Table 2 分析結果

流速：0.2mL/min

注入量：5μL

#### 4.2.2. 甲状腺ホルモン

カラム：Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18  
(2.1mm×100mm, 1.8μm)

移動相：0.1%酢酸：アセトニトリル＝70：  
30(アイソクラティック)

流速：0.3mL/min

注入量：5μL

#### 4.3. MS/MS 条件

イオン化法：ESI

乾燥ガス流量：11L/min(痩身系医薬品成分)、  
10L/min(甲状腺ホルモン)

乾燥ガス温度：300°C

キャピラリー電圧：2500V

MRM 条件：Table 1 参照

#### 【結果】

試料の形状、刻印及び検出された医薬品成分を Table 2 に示した。

また、試料と標準品をそれぞれプロダクト

スキャンモード及びブスキャンモードにより測定したところ、検出されたそれぞれの成分について類似性の高いマススペクトルが得られた。

#### 【考察】

分析対象成分としては、当研究所で過去に分析経験のある医薬品成分に加え、MD クリニックダイエットに関連する他の自治体等の検出事例から予想される医薬品成分について分析を実施した。そのため、迅速な分析と結果報告をすることができた。

MD クリニックダイエットは数種類のサプリメントから成り、体重や目標等の状況に応じて数多くの組み合わせが存在することから、分析対象成分に該当しない未知成分が含まれていることが想定される。すでに報告されている成分に加え、それら未知成分についても分析を実施していく必要がある。日頃から医薬品等に関する情報収集に努め、未知のサプリメント等による健康被害発生等、突発事例に迅速な対応ができる体制を常に整えておくことが重要である。



## 野菜中残留農薬定量法の検討について

食品分析グループ 神谷隆史

### 【はじめに】

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) を用いた残留農薬測定において、試料由来成分等の夾雑物 (マトリックス) の影響により、標準品を溶媒で希釈して作成したマトリックスを含まない検量線による定量値が真値と乖離することが知られている (マトリックス効果)。そこで、GC-MS による定量の際には、検量線に何らかのマトリックスを添加することでその影響を補正する方法が一般的に用いられる。このマトリックス効果は、野菜・果実ごとに定量値に与える影響が異なるため、検体と検量線が同じマトリックスを含むことが理想的である。しかしながら、収去検査時に毎回検体に合わせたマトリックスを用意するためには、その分検体数を増やさなくてはならないため、大量の検体を処理しなくてはならない場合には大きな負担となる。そこで今回、より簡易に検量線を補正する方法として、検量線に擬似マトリックスとしてポリエチレングリコール (PEG) や、多様なマトリックスを含むと考えられる野菜ジュース抽出物を添加し、これらの検量線が野菜・果実ごとに定量値にどれだけの補正を与えるかについて検討したため報告する。

### 【方法】

#### 1 検量線の作成

各マトリックス添加検量線による補正能力を比較するため、以下のとおり溶媒検量線、PEG 添加検量線、野菜ジュース検量線を作成した。なお、PEG 添加検量線については、PEG の添加濃度による影響を調べるため、100 ppm と 250 ppm の 2 濃度について作成し、野菜ジュース検量線については製品による差異を調べるために 2 つの製品について作成した。

##### ①溶媒検量線

10 ppm 農薬混合標準溶液 (GC-MS 測定対象農薬 201 項目) を 10%アセトン・ヘキサンで希釈した 25 ppb、50 ppb、100 ppb、200 ppb の 4 点で作成した。

##### ②PEG 100 ppm 添加検量線

PEG300 (和光純薬工業製) を 10%アセトン・ヘキサンで希釈して 100 ppm の溶液を調製した。この溶液を微量瓶に 100  $\mu$ L 採取し、窒素乾固させた後同量の 25 ppb、50 ppb、100 ppb、200 ppb 農薬混合標準溶液をそれぞれ添加して作成した。

##### ③PEG 250 ppm 添加検量線

PEG 濃度を 250 ppm として②と同様に作成した。

#### 検体 20 g

↓アセトニトリル 50 mL

ホモジナイズ

遠心分離 (3000 rpm、5 分)

ろ過 (ろ紙 5A)

アセトニトリルで 100 mL に定容

50 mL 分取

NaCl 15 g

50 mM リン酸バッファー 50 mL

振とう (10 min)

有機層分取、脱水、濃縮

精製 (Envi-carb/NH<sub>2</sub> (1 g/0.5 g))

25%トルエン・アセトニトリル 40 mL

濃縮

↓アセトン 5 mL

濃縮

↓アセトン 5 mL

濃縮

↓アセトン 5 mL

濃縮・乾固

10%アセトン・ヘキサン

2 mL に定容 (試験液)

図 1 抽出フロー

#### ④野菜ジュース A 検量線

野菜ジュース A を図 1 の方法で抽出して試験液を得た。この試験液を微量瓶に 100  $\mu$ L 採取し、窒素乾固した後同量の 25 ppb、50 ppb、100 ppb、200 ppb 農薬混合標準溶液を添加して作成した。

#### ⑤野菜ジュース B 検量線

野菜ジュース A 検量線と同様の方法により作成した。

### 2 試料の調製と測定

トマト、みかん、キャベツ、セロリ、小松菜、ほうれんそうをそれぞれ図 1 の方法により抽出して試験液を得た。50 ppb 農薬混合標準液 100  $\mu$ L を微量瓶に注入し、窒素乾固させた後にこれら試験液 100  $\mu$ L を注入することで、それぞれのマトリックスを含有した 50 ppb 模擬試験液を作成した。この模擬試験液と上記の検量線を同時に GC-MS により測定し、定量した。

### 3 補正能力の評価

検量線に添加したマトリックスの補正能力を算出するために、期待される理論値 (50 ppb) と実際の定量値の割合を百分率で表した (定量率)。この定量率は、100%に近いほど真値に近くなるため補正能力が高く、模擬試験液の濃度を理論値よりも高く定量してしまった場合には 100%を超える値となり、理論値よりも低く定量してしまった場合は 100%よりも小さい値となる。この定量率を測定 201 項目について算出し、集計した。

### 4 使用機器

BRUKER 社製 GC-MS/MS TQD

## 【結果】

各検量線を用いて算出した定量率の分布を表 1～5 に示した。なお、検量線が  $r>0.990$  を満たさなかった項目については、データから削除した。

#### 1 溶媒検量線

溶媒検量線による定量では、いずれの検体においてもほとんどの項目が 150%以上、つまり 50 ppb よりはるかに大きな値として定量された。

表 1 定量率分布表 (溶媒検量線)

	50% 未満	50～ 60%	60～ 70%	70～ 80%	80～ 90%	90～ 100%	100～ 110%	110～ 120%	120～ 130%	130～ 140%	140～ 150%	150% 以上
トマト	0	0	0	0	2	0	0	0	0	6	2	191
みかん	0	0	0	0	1	0	1	2	3	9	18	167
キャベツ	0	0	0	1	0	0	1	0	2	7	5	185
セロリ	1	0	2	2	0	1	0	0	0	3	4	188
小松菜	1	0	1	0	0	0	0	0	0	3	4	192
ほうれんそう	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	6	192

## 2 PEG 100 ppm 添加

溶媒検量線に比べ、定量率は幅広い分布となった。トマト、みかん、キャベツでは70～120%の項目が多く見られた。セロリ、小松菜、ほうれんそうでは半数以上の項目が120%以上となった。

表2 定量率分布表 (PEG 100 ppm 添加検量線)

	50% 未満	50～ 60%	60～ 70%	70～ 80%	80～ 90%	90～ 100%	100～ 110%	110～ 120%	120～ 130%	130～ 140%	140～ 150%	150% 以上
トマト	7	5	6	12	7	19	43	44	29	14	4	11
みかん	12	11	7	12	26	29	27	36	23	10	2	6
キャベツ	10	7	7	13	11	24	55	42	12	9	5	6
セロリ	12	1	1	2	4	9	22	28	41	30	22	29
小松菜	4	0	0	2	0	4	16	29	20	30	31	65
ほうれんそう	6	1	2	1	1	4	11	15	26	26	22	86

## 3 PEG 250 ppm 添加

PEG 100 ppm 添加検量線に近い挙動となったが、定量率はより低い値となった。

表3 定量率分布表 (PEG 250 ppm 添加検量線)

	50% 未満	50～ 60%	60～ 70%	70～ 80%	80～ 90%	90～ 100%	100～ 110%	110～ 120%	120～ 130%	130～ 140%	140～ 150%	150% 以上
トマト	10	8	6	11	16	27	38	34	29	12	4	5
みかん	20	6	10	21	29	25	25	32	19	5	3	5
キャベツ	14	8	9	15	15	37	41	30	15	11	1	4
セロリ	4	3	4	7	10	18	23	30	40	24	15	22
小松菜	0	0	0	1	6	15	17	28	35	30	24	44
ほうれんそう	0	1	1	2	6	10	15	24	24	24	24	69

## 4 野菜ジュース A

トマト、みかん、キャベツでは70～120%、セロリ、小松菜、ほうれんそうでは90～130%に含まれる項目が多く見られた。しかし、小松菜、ほうれんそうでは150%以上となる項目も多く見られた。

表4 定量率分布表 (野菜ジュース A)

	50% 未満	50～ 60%	60～ 70%	70～ 80%	80～ 90%	90～ 100%	100～ 110%	110～ 120%	120～ 130%	130～ 140%	140～ 150%	150% 以上
トマト	1	0	2	12	59	90	31	4	1	1	0	0
みかん	1	6	22	46	45	55	18	7	1	0	0	0
キャベツ	2	1	5	23	83	49	32	4	0	1	1	0
セロリ	5	1	1	1	3	36	64	45	29	5	6	5
小松菜	1	2	0	0	2	20	37	50	30	18	14	27
ほうれんそう	1	1	3	0	2	11	45	56	20	21	8	33

## 5 野菜ジュース B

野菜ジュース A と似た傾向を示したが、定量率はやや低めに算出される傾向が見られた。

表 5 定量率分布表 (野菜ジュース B)

	50% 未満	50~ 60%	60~ 70%	70~ 80%	80~ 90%	90~ 100%	100~ 110%	110~ 120%	120~ 130%	130~ 140%	140~ 150%	150% 以上
トマト	0	13	25	70	58	30	2	3	0	0	0	0
みかん	12	27	38	54	58	8	2	1	0	0	0	1
キャベツ	6	14	32	75	40	28	4	1	0	0	0	1
セロリ	6	1	2	12	48	47	56	23	1	1	1	3
小松菜	3	0	0	0	18	68	71	27	10	1	1	2
ほうれんそう	3	1	0	1	16	74	54	31	10	7	1	3

以上の結果をもとに、各検量線について全項目の中で理想的な定量率 (70~120%) となった項目の割合を表 6 に示した。トマト、みかん、キャベツについては野菜ジュース A 検量線が最も割合が高くなり、セロリ、小松菜、ほうれんそうについては野菜ジュース B 検量線が最も割合が多くなった。

表 6 定量率 70~120%に入る割合 (%)

	溶媒検量線	PEG 100 ppm	PEG 250 ppm	野菜ジュース A	野菜ジュース B
トマト	1.0	62.2	63.0	97.5	81.1
みかん	2.0	64.7	66.0	85.1	61.2
キャベツ	1.0	72.1	69.0	95.0	73.6
セロリ	1.5	32.3	44.0	74.1	92.5
小松菜	0.0	25.4	33.5	54.2	91.5
ほうれんそう	1.0	15.9	28.5	56.7	87.6

### 【考察】

今回検討した検量線への添加物は、いずれも溶媒検量線と比較して一定の補正能力があることが示された。特に、野菜ジュースを添加物として用いた場合、多くの項目で定量率が理想的な値に収束した。ただし、野菜ジュースは製品によって含有マトリックスが異なるため、どの野菜・果実にどの野菜ジュースが最適なマトリックスとなるかは事前に検討が必要であり、そのために抽出もしなくてはならない。一方、PEG 添加検量線では、溶媒検量線に比べて一定の補正効果は見られたものの、このままでは定量に用いるのは難しいと考えられる。しかしながら、PEG を検量線添加物として用いる方法は、抽出が不要である点や、管理に気を使わなくて良い点で有用である。下記参考資料にある高取らの報告では、内部標準物質を用いることで PEG 添加検量線においても顕著な補正効果を持たせられることが示されており、今後検討する価値はあると考えられる。

### 【参考資料】

高取ら (大阪府立公衆衛生研究所)、第 51 回全国衛生科学技術協議会年回要旨集 p74-75 (2014)

# 加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法の検討

食品分析グループ 木俣智香子

## 【はじめに】

平成 20 年に中国産冷凍餃子に含まれる農薬メタミドホスを中心とする健康被害事件が発生した。それ以降、加工食品中の残留農薬等の試験法の検討が進められ、平成 25 年 3 月 26 日付け事務連絡「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」において、3 つの試験法が示された。

そこで今回、LC-MS/MS を用い上記事務連絡に示された迅速検出法 I の検討及び性能評価を行ったので報告する。

## 【方法】

### 1. 試料

ワイン、レトルトカレー、冷凍ほうれんそう及び冷凍餃子を用いた。

### 2. 対象農薬

迅速検出法 I の対象化合物の中から当所で標準品を所有している 66 農薬 (表 4) を対象とした。

### 3. 試験溶液の調製

細切均質化した試料 10 g をとり、酢酸エチル 75 mL 及び無水硫酸ナトリウム 75 g を加えホモジナイズした。吸引ろ過後、酢酸エチル 20 mL を用いる紙及び残留物を洗浄する操作を 3 回繰り返し、この洗液をろ液と合わせ、減圧濃縮後酢酸エチルで 10 mL に定容した。この溶液を 0.5 mL とり窒素を吹き付け溶媒を除去した後、水及びメタノール (1 : 9) を 1 mL 加え 10 分間混和した。その後ヘキサンを 5 mL 加え、遠心分離 (3000 rpm、5 min) し、得られた水及びメタノール (1 : 9) 層を試験溶液とした。

### 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 C18 (2.1 mm i. d. × 100 mm、1.7 μm)

移動相 : 100 mM 酢酸アンモニウム (A) / 水 (B) / メタノール (C)

グラジエント条件 : 表 1 (1 サイクル 20 min)

注入量 : 2 μL

流量 : 0.3 mL/min

表 1 グラジエント条件

時間 (min)	流量 (mL/min)	%A	%B	%C
0	0.3	5	85	10
2	0.3	5	47.5	47.5
11	0.3	5	15	80
14	0.3	5	15	80
17.5	0.3	5	5	90

### 6. MS 測定条件

イオン化法 : ESI Positive

ソースブロック温度 : 150 °C

脱溶媒温度 : 400 °C

キャピラリー電圧 : 3 kV

コーンガス流量 (N<sub>2</sub>) : 50 L/h

脱溶媒ガス流量 (N<sub>2</sub>) : 1000 L/h

コリジョンガス流量 (Ar) : 0.18 mL/min

MRM 条件 : 表 4

### 7. 性能評価方法

各対象農薬を添加した試料について、迅速検出法 I に従って試験溶液を調製する。評価濃度は 0.1 mg/kg とする。試験は 5 併行で行い、回収率 (%) 及び併行精度 (RSD%) を算出する。また選択性及び評価濃度の確認を行う。各性能パラメータの目標値を表 2 に示す。

表 2 性能パラメータの目標値

選択性	回収率 (%)	併行精度 (RSD%)	評価濃度の確認
添加濃度 <sup>1</sup> - 7 面積の 1/3 未満	50 ~ 200	30 >	S/N 比 ≥ 10

## 【結果及び考察】

### 1. 測定条件の検討

#### (1) 移動相条件の検討

移動相は当所が行っている農薬分析に合わせ、酢酸アンモニウム-メタノール系を用いた。保持時間が遅いピレスロイド系農薬も溶出するように検討を行い、20分以内にすべての対象農薬が測定可能な条件を決定した。

#### (2) MRM 条件の検討

対象農薬のうち、当所でGC-MSを用いて測定を行っている農薬46項目について、MRM条件の検討を行った。各標準液の注入を行いイオン化モード及び測定イオンを決定した(表4)。

### 2. 試料溶液調製の検討

迅速検出法Iに準じて検討を行ったところ、回収率が20%に満たない農薬が数多くみられた。これは抽出溶液0.5mL(酢酸エチル溶液)に水及びメタノール(1:9)とヘキサンを入れ振とうする際に、農薬がヘキサン層に移行していると考えられた。そのため抽出溶液0.5mL(酢酸エチル溶液)に窒素を吹き付け溶媒を除去した後、水及びメタノール(1:9)を1mL加え10分間混和し、その後ヘキサン5mLを積層し遠心分離を行い水及びメタノール(1:9)層を試験溶液としたところ、回収率の向上がみられた。しかし今回試料とした加工食品より脂肪分の多い検体では酢酸エチル層を除去した際に脂肪が固まり、その後メタノールを加え振とうを行っても極性の高いメタノールに農薬が移行しないことが予想される。脂肪分の多い加工食品の抽出については再度検討が必要である。

### 3. 性能評価

#### (1) 選択性

各試料について分析を行い、定量を妨害するピークの有無を確認したところ、全対象農薬において目標値である添加濃度に相当するピークの面積の1/3未満であった。

表3 性能評価の適合項目数

	ワイン	トトカレー	冷凍 ほうれんそう	冷凍餃子
選択性	66	66	66	66
回収率	51	46	59	51
併行精度	63	60	63	60
定量限界	65	66	66	65
総合結果	51	46	59	49

#### (2) 回収率及び併行精度

各試料中の対象農薬濃度が0.1mg/kgとなるように標準品を添加し、n=5で添加回収試験を行った。回収率及び併行精度の結果を表4に示す。各試料において70~90%の農薬が目標値を満たしていた。また併行精度を求めたところ、各試料において90%以上の農薬が目標値を満たしていた。

#### (3) 評価濃度の確認

各試料について回収率の評価で得られた対象化合物のピークのS/N比を確認した。ワインのエチオフェンカルブ及び冷凍餃子のイミダクロプリドについてはS/N比が10未満となったが、その他は目標値を満たした。

## 【まとめ】

今回、加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法の検討及び性能評価を行った。性能評価の結果から、加工食品中の農薬迅速検出法として一定の有用性が示された。しかし加工食品は今回検討した試料以外にも様々なものがあるため、脱脂や精製方法等について更に検討が必要である。

今回66農薬をLC-MS/MSを用いて分析することが可能となったが、様々な事態に対応できるようGC-MS/MS及びGC-FPDも組み合わせた緊急時の検査法を整備したい。

## 【参考文献】

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検査法について」(平成25年3月26日事務連絡)

表4 対象農薬のMRM条件及び性能評価結果(回収率及び併行精度)

	Q1	Q3	Cone (V)	Coll (eV)	ワイン		トルカロー		冷凍ほうれんそう		冷凍餃子	
					回収率 (%)	併行精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)
					アザメチホス	325.0	183.0	40	15	100.5	5.8	96.4
アジンホスメチル	318.1	132.1	20	15	80.5	3.2	69.1	2.7	89.3	2.5	82.1	3.0
アセタミプリド	223.1	125.9	34	20	0	-	4.2	294.0	10.1	74.2	11.1	84.2
アゾキシストロビン	404.2	372.2	40	15	91.4	2.1	86.1	3.1	92.9	2.1	95.0	3.0
アニロホス	368.5	199.0	22	16	69.4	3.5	39.0	7.8	75.1	4.6	53.2	4.3
アルジカルブ	208.1	116.1	10	7	0.1	2747.3	52.2	12.7	59.0	4.6	69.7	8.3
イサゾホス	314.6	162.1	28	16	73.8	1.8	26.6	11.2	84.1	1.9	36.5	2.7
イソフェンホス	346.1	245.0	10	16	53.3	5.1	54.1	12.4	65.8	5.7	63.3	8.2
イソプロカルブ	194.1	137.1	16	10	85.0	2.1	81.4	1.1	89.2	1.5	89.2	1.5
イプロバリカルブ1	321.3	203.2	30	10	85.5	1.6	58.8	3.6	89.5	3.4	66.0	3.9
イプロバリカルブ2	321.3	203.2	30	10	80.6	1.6	55.6	3.8	84.3	2.8	65.6	4.9
イプロベンホス	289.1	205.1	10	10	66.1	2.4	70.1	11.1	80.5	2.5	70.8	7.1
イミダクロプリド	256.8	176.0	46	16	36.5	19.3	30.8	29.7	25.5	68.4	21.8	80.3
インドキサカルブ	528.2	203.1	40	40	52.0	9.6	51.3	15.2	58.8	10.3	59.1	9.4
エスプロカルブ	266.2	91.0	28	22	52.6	3.3	56.4	18.0	58.0	6.2	54.5	9.6
エチオフェンカルブ	226.2	107.0	22	16	0	-	5.7	15.6	14.5	32.1	23.7	5.2
エチオン	385.2	199.0	10	10	53.9	4.7	56.7	13.6	54.1	6.4	50.2	11.0
エディフェンホス(EDDP)	311.1	283.0	28	16	65.0	3.3	68.3	9.2	71.5	3.0	71.6	8.8
エトプロホス	243.1	173.0	16	16	71.7	1.7	73.6	5.0	84.3	2.6	79.2	3.7
エトリムホス	293.1	265.1	10	16	68.4	3.8	74.0	15.5	82.8	8.0	78.3	6.1
カズサホス	271.1	159.0	28	16	54.1	4.2	61.0	13.0	67.7	4.0	66.6	9.3
カルバリル	201.9	145.1	22	10	86.4	2.3	74.5	2.6	90.3	1.8	91.8	3.2
キナルホス	299.1	163.1	16	10	65.2	5.2	64.5	8.4	75.4	1.9	67.2	4.6
クロルピリホス	351.9	200.0	28	16	64.2	4.8	59.7	10.5	78.0	2.8	55.7	9.7
クロルプロファミ	214.9	173.0	16	10	80.4	3.1	91.0	12.6	91.8	9.1	67.7	28.1
ジエトフェンカルブ	268.2	226.1	22	10	85.5	2.0	81.7	2.0	90.1	2.0	87.5	2.6
ジメチルピホスZ	332.9	127.0	22	10	74.5	3.9	8.4	6.7	84.8	1.2	19.7	3.5
ジメチルピホスE	332.9	127.0	22	10	69.5	3.2	67.5	4.2	81.3	3.0	77.0	5.0
ジメトエート	230.0	199.0	28	10	10.4	72.1	18.2	69.4	21.5	29.1	22.9	47.4
ダイアジノン	305.1	169.1	22	22	66.2	3.3	63.3	7.3	76.0	4.7	77.8	4.4
チアクロプリド	253.5	127.0	46	22	29.5	29.4	37.6	35.7	55.0	11.1	61.8	20.1
チオベンカルブ	258.4	125.0	22	16	59.9	5.5	55.5	9.7	75.6	3.6	55.9	7.4
テトラクロルピホス(CVMP)	366.9	127.0	34	16	66.2	2.3	65.9	7.3	75.6	4.5	61.8	5.9
テブフェノジド	353.3	133.1	20	20	81.0	5.7	73.9	6.5	81.5	4.9	83.7	4.5
テブフェンピラド	334.9	145.1	46	28	23.8	19.0	26.2	39.7	-87.5	-6.9	25.5	10.7
トリアジメノール	297.2	70.1	22	16	70.0	5.7	58.2	8.2	73.9	6.5	68.6	7.9
トリアゾホス	314.1	162.1	40	22	78.6	1.5	27.9	3.5	85.6	1.6	35.8	2.5
トリアレート	306.0	86.0	22	16	59.4	10.4	63.7	9.9	83.5	2.6	62.2	4.3
トリブホス	315.1	169.0	10	16	59.0	4.0	60.0	9.9	67.6	2.4	63.2	6.4
ビベロホス	354.1	171.0	10	22	54.0	8.1	59.2	16.6	60.0	7.6	63.3	11.2
ビラクロストロビン	388.5	194.0	22	10	66.0	6.4	65.6	9.5	65.6	8.9	68.5	10.2
ビラクロホス	361.7	258.1	40	22	55.7	6.1	40.5	19.2	62.3	12.3	62.4	7.2
ビリダベン	365.5	309.1	16	16	53.5	2.6	51.9	8.3	58.0	7.5	52.8	7.4
ビリブチカルブ	331.2	181.1	16	16	36.6	3.6	43.2	21.2	51.2	7.1	39.7	12.5
ビリミカルブ	239.0	182.2	22	16	37.3	35.6	72.0	20.5	90.8	3.9	43.0	34.5
ビリミホスメチル	306.1	164.2	22	22	59.7	7.3	71.3	12.9	82.4	1.0	54.7	28.5
フェノブカルブ	207.9	95.0	22	16	89.2	0.4	82.1	1.8	92.3	2.6	91.9	2.0
フェンスルホチオン	309.1	281.1	50	16	86.5	1.0	85.4	2.0	90.5	1.8	89.3	2.6
フェンチオン	279.1	169.1	16	16	11.4	16.1	55.7	5.7	68.1	6.3	59.8	5.2
フェントエート(PAP)	321.1	163.1	16	10	68.2	6.6	70.8	11.3	79.8	3.2	70.1	5.5
フェンピロキシメートZ	422.3	366.2	30	15	41.9	9.6	42.6	22.7	0	-	50.1	11.0
フェンピロキシメートE	422.3	366.2	30	15	57.4	2.5	51.3	7.8	21.6	15.7	58.7	6.1
フェンプロパトリン	350.2	125.1	34	10	56.6	2.1	53.9	9.6	57.9	9.4	51.3	6.4
フェンプロピモルフ	304.3	147.2	10	28	59.4	13.9	34.8	53.5	86.3	2.8	25.5	30.8
ブタミホス	333.1	180.1	10	10	50.6	6.9	31.8	36.3	66.3	6.3	58.2	8.9
フルバリネート	504.4	208.2	28	16	30.8	10.2	27.1	10.1	51.7	6.3	33.8	6.9
プロバホス	305.1	221.0	34	16	7.1	22.7	56.1	9.7	62.3	3.7	63.2	4.4
プロピコナゾール1	343.6	161.0	34	34	68.4	4.9	62.7	14.1	78.2	10.4	62.3	10.2
プロピコナゾール2	343.6	161.0	34	34	80.4	23.1	71.0	28.6	68.5	14.2	70.4	47.6
ペナラキシル	326.2	148.1	10	22	63.7	2.4	43.4	11.0	73.0	3.8	64.6	6.2
ベンダイオカルブ	223.9	167.1	22	10	77.4	3.6	72.2	5.2	86.3	2.7	88.9	3.3
ホサロン	368.4	182.0	28	16	44.4	3.4	33.8	15.2	62.3	6.7	40.7	14.9
ホスチアゼート	284.0	228.0	34	10	89.6	1.5	85.2	1.6	92.4	1.0	94.4	2.8
ホスマット	318.0	160.1	16	16	2371.1	1.7	2254.3	2.6	126.8	3.3	283.3	2.4
マラチオン	331.1	127.1	22	10	78.8	3.0	78.6	4.3	86.7	1.7	83.5	3.0
メカルバム	330.1	227.0	22	10	82.2	2.4	83.2	7.0	81.8	1.3	80.2	5.4
メチオカルブ	242.8	226.2	16	10	78.5	1.8	74.8	1.8	90.7	2.1	82.7	3.6
メチダチオン	303.0	145.0	16	10	78.5	4.6	78.6	2.9	88.3	3.3	80.5	2.9
メトキシフェノジド	369.3	149.1	22	15	91.7	2.7	79.8	3.6	90.2	2.4	91.4	4.2
メピンホスZ	225.1	193	22	10	34.6	23.7	42.2	26.9	39.6	13.0	45.9	22.1
メピンホスE	225.1	193.0	22	10	61.5	11.1	67.0	11.6	72.6	6.4	73.6	10.2

# 輸入柑橘類における新規防かび剤の分析について

食品分析グループ 鈴木寿枝

## 【はじめに】

当所では、食品添加物として長年使用が認められている防かび剤 4 種類について検査を実施してきた。近年新たにフルジオキソニル(F1)、アゾキシストロビン(Az)、ピリメタニル(Py)が指定され、これら3種類の分析法については、個別に「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」(平成17年1月24日付け食安発第0124001号)(以下、通知法)を参照することになっている。

当所ではF1、Az及びPyについて、通知法の一部を変更した「浜松市保健環境研究所改良スクリーニング分析法」(以下、一斉法)により残留農薬として検査している。今回、この一斉法を基に防かび剤試験法を検討し妥当性評価を実施したので報告する。

## 【方法】

### 1. 試料

市内で販売されていた柑橘類3品目(オレンジ、グレープフルーツ、レモン)のうち防かび剤不使用のものを用いた。

### 2. 標準品・試薬等

#### 1) 標準品

アゾキシストロビンは関東化学(株)、ピリメタニルは林純薬(株)、フルジオキソニルは和光純薬工業(株)製を用いた。

#### 2) 標準原液

各標準品をそれぞれアセトンで溶解して1000 µg/mLとした。

#### 3) 検量線混合標準溶液

各標準原液を等量ずつ混合し、10%アセトン・ヘキサン溶液で希釈し0.05~1.0 µg/mLを定量範囲とし5点の絶対検量線標準溶液を調製した。定量限界

は基準値(0.010g/kg:3品目共通)の1/10である0.001g/kg(最終溶液濃度で0.5 µg/mL)とした。

#### 4) 添加用標準溶液

各標準原液を量ずつ混合し、10%アセトン・ヘキサン溶液で希釈し100 µg/mLとした。その他の試薬は

#### 5) その他の試薬

LC-MS用、残留農薬試験用又は試薬特級を用いた。

### 3. 試料溶液の調製

一斉法を基に、試料採取量20gを10gに、最終試験溶液量2mLを100mLに変更し実施した(図-1)。試料は、果実全体を均一化して作製した。

<b>試料 10g</b>	<b>Envi-carb/NH<sub>2</sub>(1g/0.5g)</b>
↓アセトニトリル 60mL	↓25%トルエン・アセトニトリル 40mL
ホモジナイズ*	↓溶出
↓	濃縮
遠心分離	↓アセトン 5mL
↓	濃縮
ろ過	↓アセトン 5mL
↓アセトニトリル	濃縮
100mLメスアップ*	↓アセトン 5mL
<b>buffer 50mL*</b>	濃縮
↓NaCl 15g	↓10%アセトン・ヘキサン
振とう 10mL	<b>100mLメスアップ*</b> → 乾固
↓	↓
アセトニトリル層	GC-MS/MS      ↓メタノール LC-MS/MS
脱水・濃縮	
↓	*0.5mol/Lリン酸緩衝液

図-1 試料溶液の調製法

### 4. 測定機器条件

通知法に従い機器を選択し、一斉法の条件を用いた。



1)GC-MS/MS (Fl、Py)

Bruker 社製 SCIION TQ

カラム：Agilent VF-5MS

(0.25mm i.d. × 30m、0.25 μm)

注入量：2 μL

2)LC-MS/MS (Az)

Agilent 社製 6460

カラム：Agilent ZORBAX Eclipse Plus

C18 (2.1mm i.d. × 100mm、1.8 μm)

移動相：5mM 酢酸アンモニウム/メタノール

注入量：0.3 μL

流量：0.3mL/min

5. 妥当性評価方法

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」(H22.12.24 食安発 1224 第1号) (以下、ガイドライン) に従い、基準値 (10 μg/mL) での添加回収試験を、実施者2名が2併行で3日間実施し、ガイドラインに従い選択性、真度、併行精度、室内精度を評価した。

【結果及び考察】

1. 妥当性評価結果 (表-1)

1) 選択性

ブランク試料を試験法に従って試験し、妨害ピークが基準値に相当するピーク面積の 1/10 未満であることが確認された。

2) 真度

添加試料を試験法に従って試験して得られた回収率の平均値は、70~120%の範囲内となった。3品目の中でオレンジの回収率が最も低くなった。塩析後エマルジョンを形成するものが多く、目的成分が水層に残留したことが考えられた。

3) 精度

添加試料の試験を繰り返し、得られた試験結果の標準偏差及び相対標準偏差を求め、併行精度及び室内精度を評価した。添加濃度が高いためガイドラインでは厳しい精度を要求されるが、目標値を達成した。

【まとめ】

かんきつ類3品目において、近年食品添加物として指定された防かび剤3種の検査法を、一斉法の一部を変更し妥当性を評価した。

添加濃度が高いため精度の目標値が厳しく、また希釈操作の影響でばらつきが予想されたが、不適合となる項目は無かった。

今後は SOP を作成し、検査体制を整えていく。

表-1 妥当性評価結果

目標値	真度 (回収率%)			併行精度 (RSD%)			室内精度 (RSD%)		
	70~120			10>			15>		
	Az	Fl	Py	Az	Fl	Py	Az	Fl	Py
オレンジ	78.1	83.6	83.9	4.2	7.7	6.2	10.1	11.9	9.5
グレープフルーツ	94.4	86.6	87.7	5.7	3.8	6.5	14.1	7.5	3.2
レモン	90.5	86.3	86.6	8.8	7.4	8.0	11.0	10.8	7.3

# イオンクロマトグラフィーによる食品中のスクラロースの分析について

食品分析グループ 山本 典由

## 【序論】

スクラロース (Sucralose) はスクロースの 3 つの水酸基を選択的に塩素に置換した合成甘味料で、ノンカロリー甘味料としてアスパルテームやアセスルファムカリウムと並んで様々な食品に幅広く使用されている。

我が国では、スクラロースは 1999 年に食品添加物に指定され、食品に対する使用基準が定められた。その分析法については公定法として定められてはいないが、衛生試験法(日本薬学会編)において示差屈折率検出器付き高速液体クロマトグラフィー

(HPLC-RI) やパルスドアンペロメトリー検出器付きイオンクロマトグラフィー(IC-PAD)を用いた分析法が示されており、これらが公定法に準じる方法とされている。

今回、当研究所に新たに導入した IC-PAD を用いて食品中のスクラロースの分析法を検討したので報告する。

## 【方法】

### 1. 試料

スクラロースの使用基準が定められている食品群のうち、当研究所において分析実績がある菓子、清涼飲料水及び漬物を選択し、これを試料とした。

### 2. 標準品・試薬等

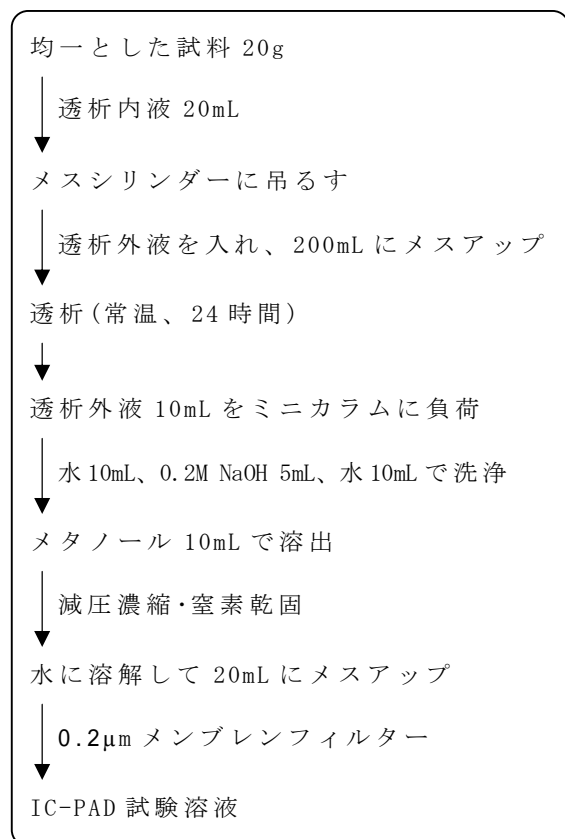
#### 2.1. 標準品

和光純薬工業社製のスクラロース標準品(HPLC用)を用いた。

#### 2.2. 試薬等

- ①透析内液：NaCl 20g を 0.01M HCl に溶解して 200mL としたもの。
- ②透析外液：0.01M HCl
- ③透析膜：透析用セルロースチューブ(透析膜 36/32：エーディア社製)
- ④前処理用カートリッジカラム：スチレンジビニルベンゼンポリマーミニカラム(InertSep<sup>®</sup> PLS-2 (270mg/20mL)：ジーエルサイエン

表1 検査法フローチャート



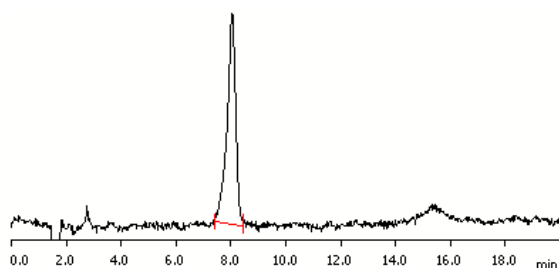


図1 スクラロース標準液(0.5ppm)のIC-PADクロマトグラム

ス社製)をメタノール 5mL 及び水 10mL でコンディショニングしたもの。

## 2.2. 検量線用標準溶液

標準品を水で溶解して標準原液を作製し、標準原液を水で希釈して0.5~50 $\mu$ g/mLを定量範囲とする4点の検量線用標準溶液を調製した。

なお、本法による定量下限値は0.01g/kgである。

## 3. 試験溶液の調製

### 3.1. 透析

均一とした試料 20g をとり、20mL の透析内液と共に透析膜に充填した。これをメスシリンダーの中に入れ、透析外液で全量を 200mL とし、時々揺り動かしながら常温で 24 時間透析した。

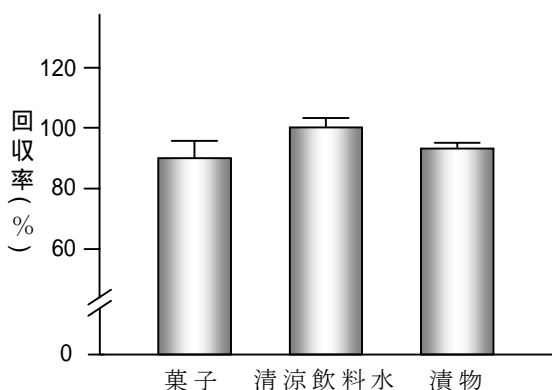


図2 食品ごとの回収率 (Mean $\pm$ S. D., n=3)

### 3.2. クリーンアップ

透析外液 10mL を前処理用カートリッジカラムに負荷し、水 10mL、0.2M NaOH 5mL、水 10mL で順次洗浄後、メタノール 10mL で溶出した。溶出液を減圧濃縮・窒素乾固し、水で溶解して 20mL に定容した後、0.2 $\mu$ m メンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とした(表1)。

## 4. 測定条件

### 4.1. 測定機器

- ・ IC : Metrohm 930 Compact IC Flex
- ・ PAD : Metrohm 945 Professional Detector Vario

### 4.2. IC 条件

- ・ ガードカラム : Dionex CarboPac<sup>TM</sup> PA1 (4 $\times$ 50mm)
- ・ 分析カラム : Dionex CarboPac<sup>TM</sup> PA1 (4 $\times$ 250mm)
- ・ 移動相 : 100mM 水酸化ナトリウム・150mM 酢酸ナトリウム混液
- ・ カラム温度 : 40 $^{\circ}$ C
- ・ 流速 : 1.0mL/min
- ・ 注入量 : 10 $\mu$ L

### 4.3. PAD 条件

- ・ 作用電極 : Au
- ・ 参照電極 : Pt
- ・ 検出器温度 : 40 $^{\circ}$ C
- ・ パルス電位 : 0.00s(+0.05V)  $\rightarrow$  0.41s(+0.75V) 0.61s(-0.25V) 1.00s(-0.25V)
- ・ 測定時間 : 0.20~0.40s(+0.05V)

## 【結果】

### 1. 検量線

定量範囲において検量線は  $r >$

0.999 の直線性を示し、定量下限値相当の濃度においても  $S/N \geq 10$  の良好なピークを得た(図1)。

## 2. 添加回収試験

3 種類の検体それぞれについて、スクラロースが含まれていない検体に一定量の標準品を添加して分析を行い、回収率を算出したところ、菓子、清涼飲料水及び漬物においてそれぞれ  $89.9 \pm 6.6$ 、 $100.4 \pm 1.8$  及び  $93.2 \pm 0.5\%$  (Mean  $\pm$  S. D.,  $n=3$ ) であった(図2)。なお、いずれの検体においても定量の妨害ピークは検出されなかった(図3)。

## 3. LC-MS 法との比較

スクラロースが含まれている検体(清涼飲料水)について、今回の IC-PAD による分析に加えて、当研究所で既に分析法を確立している LC-MS による分析(SOP No. HL-07-C1-33)を実施した。定量値は IC-PAD 法及び LC-MS 法においてそれぞれ  $58.2 \pm 0.6$  及び  $58.0 \pm 1.8 \text{ mg/kg}$  (Mean  $\pm$  S. D.,  $n=3$ ) であり、両法でほぼ一致した。

## 【総括】

今回の検討では、定量範囲において  $r > 0.999$  の直線性を示す検量線が得られ、定量下限値相当の濃度においても  $S/N \geq 10$  のピークが得られた。また、定量を妨害する夾雑物はミニカラムを用いた固相抽出による精製工程により効果的に除去され、カラムに保持されないその他の夾雑成分との分離条件も適切であった。加えて、回収率はいずれも約 90~100%であった。さらに、定量値においては、当研究所で検査法を既に確立している LC-MS 法との整合性も確認された。

以上のことから、今回の検討法は十分実用に耐え得るものであり、信頼性の高い検査法を確立することができたと考える。

## 【参考文献】

- ・衛生試験法・注解 2010(日本薬学会編)
- ・小林千種ら、HPLC による食品中のスクラロースの分析法(食品衛生学雑誌, Vol. 42(2001), No. 2, 139-143)

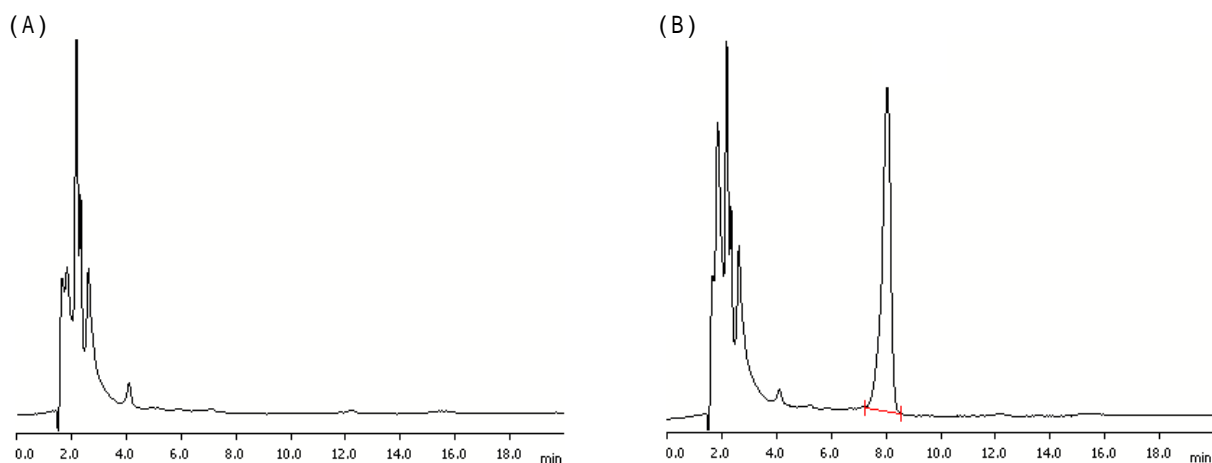


図3 検体抽出液中のスクラロースの IC-PAD クロマトグラム  
(A)菓子(コントロール) (B)菓子(スクラロース 200 $\mu\text{g/g}$  添加)

# PM2.5 中のイオン成分測定法の検討

大気測定グループ 鈴木大介

## 【はじめに】

平成 24 年 4 月の「大気中微小粒子状物質 (PM2.5) 成分測定マニュアル (以下成分測定マニュアル) (環境省)」の策定を受けて、本市では H25 年度から PM2.5 の無機元素・イオン・炭素成分の成分分析を行っている。イオン・炭素成分については分析を委託しているが、イオン成分については、H26 年度の IC の更新により成分分析マニュアル記載の全 8 成分の測定が可能になり、H27 年度から実施予定である。今回、測定定点で捕集した検体を用いて抽出方法の検討と精度管理を行った。また、定量下限について他の自治体との比較を行った。

## 【方法】

- 測定機器：Metrohm 社 930 Compact IC Flex
- 測定条件：
  - 陰イオン：
    - カラム Metrosep A Supp 5-250/4.0
    - 移動相 3.2mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/1mM NaHCO<sub>3</sub>
    - 流速 0.7mL/min
  - 陽イオン：
    - カラム Metrosep C4-150/4.0
    - 移動相 1.7mM HNO<sub>3</sub>/0.7mM ジピコリン酸
    - 流速 0.9mL/min
- 試料：PM2.5 フィルター (PTFE) 試料  
採取場所：北部測定局 (葵が丘小学校)
- 測定方法：成分測定マニュアルに準拠

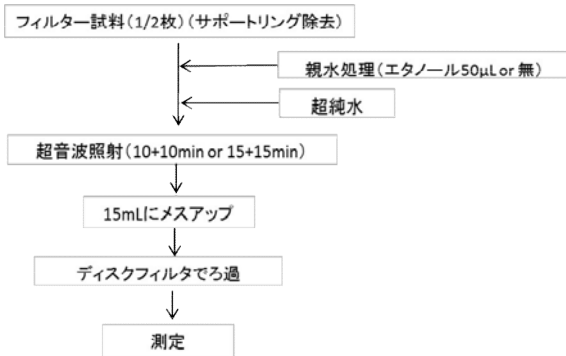


図 1 フロー

- 測定対象イオン成分：
  - 陰イオン 3 成分 (Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)
  - 陽イオン 5 成分 (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>)

## 6 抽出条件の検討

成分測定マニュアルのイオン成分測定法では PTFE ろ紙の親水処理のためにエタノールの添加を実施することとなっているが添加によって WSOC 測定との検体の共用は不可能になる。また、超音波の照射時間は時間を確認することとなっている。今回、検体の WSOC 測定への利用も考慮し、1 枚の試料を 2 等分して以下の条件の検討を行った。

- 抽出時の親水処理の有無
- 抽出時の超音波を照射する時間 (10+10min, 15+15min)
  - 2 回の超音波抽出の間に振とうを行った。

## 7 精度管理

- リテンションタイムのずれ
- 検量線の決定係数
- 定量下限値
  - 装置定量下限値：検量線の最低濃度の測定値の標準偏差(n=5)から算出
  - 方法定量下限値：操作ブランクの測定値の標準偏差(n=5)から算出。
  - 装置定量下限値と方法定量下限値を比較して高い方を定量下限値とした。

## 【結果】

(1)抽出時の親水処理の有無  
親水処理をしたものとしていないもので測定値を比較した結果を表 1 に示す。超音波照射時間は 10+10min とした。すべての成分で両者の差は成分測定マニュアル記載されている 2 重測定の信頼性の目安である 30%以内となった。親水処理したものとしていないもので明確な増減の傾向は認められなかった。

表 1 抽出時のエタノールの有無による影響

検体	親水処理	単位:濃度(μg/m <sup>3</sup> ) 差(%)							
		Cl <sup>-</sup>		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		Na <sup>+</sup>	
		濃度	差	濃度	差	濃度	差	濃度	差
1	有	0.142	12.7	0.278	22.0	1.478	18.0	0.242	9.0
	無	0.125	-	0.223	-	1.234	-	0.221	-
2	有	-	-	0.173	6.0	2.312	-2.8	0.151	8.8
	無	-	-	0.163	-	2.377	-	0.138	-
3	有	-	-	0.095	-	4.120	-9.5	0.130	-8.5
	無	-	-	0.088	-	4.530	-	0.141	-
検体	親水処理	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		K <sup>+</sup>		Ca <sup>2+</sup>		Mg <sup>2+</sup>	
		濃度	差	濃度	差	濃度	差	濃度	差
1	有	0.418	18.0	0.055	26.0	-	-	0.032	25.9
	無	0.349	-	0.043	-	-	-	0.024	-
2	有	0.840	7.0	0.034	-8.8	-	-	0.019	-
	無	0.784	-	0.037	-	-	-	-	-
3	有	1.504	-8.3	0.068	-27.5	-	-	0.020	5.9
	無	1.634	-	0.090	-	-	-	0.018	-

※濃度欄の「-」は測定値が定量下限未満

※差は正の値は浸水処理有りの方が高いこと、負の値は浸水処理無しの方が高いことを示す。

(2) 抽出時の超音波を照射する時間

親水処理は行わず、10+10min、15+15min と超音波をかける時間を変えた結果を表 2 に示す。すべての成分、検体で差は 30%以内であり大きな差は認められなかったがほとんどの項目で 15+15min 抽出の検体の方が高い値となった。

表 2 抽出時間の違いによる測定値の差

単位:濃度(μg/m<sup>3</sup>)、差(%)

検体	超音波	Cl <sup>-</sup>		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		Na <sup>+</sup>	
		濃度	差	濃度	差	濃度	差	濃度	差
1	10+10min	-	-	0.160	-	4.234	6.5	0.124	9.4
	15+15min	0.009	-	-	-	4.518	-	0.136	-
2	10+10min	0.010	14.5	0.183	12.8	2.476	18.7	0.176	17.1
	15+15min	0.012	-	0.208	-	2.987	-	0.209	-
3	10+10min	-	-	-	-	3.595	1.3	0.130	1.7
	15+15min	-	-	-	-	3.643	-	0.132	-
検体	超音波	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		K <sup>+</sup>		Ca <sup>2+</sup>		Mg <sup>2+</sup>	
		濃度	差	濃度	差	濃度	差	濃度	差
1	10+10min	1.483	7.1	0.082	9.3	0.045	10.1	-	-
	15+15min	1.592	-	0.090	-	0.050	-	-	-
2	10+10min	0.824	18.4	0.060	17.8	ND	-	0.025	22.8
	15+15min	0.991	-	0.071	-	ND	-	0.032	-
3	10+10min	1.314	0.8	0.060	6.3	ND	-	-	-
	15+15min	1.325	-	0.063	-	ND	-	-	-

※「-」は測定値が定量下限未満

※差について正の値は15+15minの方が高いこと、負の値は10+10minの方が高いことを示す。

また、抽出の確認を行うため、15+15minでの抽出後の検体について同じ条件で2回目の抽出を行った結果を表3に示す。SO<sub>4</sub>以外の成分は定量下限値未満だった。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>については定量下限以上出ているが1回目の1%未満であり1回で十分に抽出されたと考えられる。

表 3 2回目抽出での測定値

2回目抽出の濃度(μg/m <sup>3</sup> )								
検体	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
4	-	-	0.026	-	-	-	-	-
5	-	-	0.017	-	-	-	-	-
6	-	-	0.029	-	-	-	-	-

※「-」は定量下限値未満

【精度管理】

(1)リテンションタイムのずれ

検体を挟んだ確認用 Std (0.025ppm) と検量線用 Std(0.025ppm)の間でのリテンションタイムのずれは1%未満であり良好だった。

(2)検量線の決定係数

すべての項目で決定係数は 0.990 以上であり、良好だった。

(3)定量下限値

定量下限値を表 4 に示す。すべての成分の定量下限値は他の自治体<sup>(1)</sup>の範囲内の値であった。

表 4 定量下限値の比較

単位:濃度(μg/m<sup>3</sup>)

イオン成分	今回	他の自治体
Cl <sup>-</sup>	0.0084	0.0010-0.25
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.15	0.0010-0.45
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.014	0.0050-0.50
Na <sup>+</sup>	0.0063	0.0029-0.18
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.034	0.005-0.14
K <sup>+</sup>	0.026	0.0020-0.099
Ca <sup>2+</sup>	0.033	0.0045-0.30
Mg <sup>2+</sup>	0.024	0.0010-0.057

【まとめ】

- ・親水処理はしなくても十分な抽出ができたと考えられる。
- ・超音波の照射時間は 15+15min で十分な抽出ができたと考えられる。

参考文献:

- (1) 平成 24 年度浮遊粒子状物質合同調査報告書

# 浜松市における PM2.5 測定結果報告

大気測定グループ 米澤真梨子

## 【はじめに】

微小粒子状物質（以下、PM2.5）は、平成 21 年に環境基準が制定されたことを受け、常時監視項目として監視を行っている。

常時監視の内容としては、大別して自動測定器による質量濃度の監視と、成分分析によるものがあり、本市では、平成 24 年度から自動測定機による監視を、平成 25 年度から成分分析体制を整え、監視を行ってきた。

平成 26 年度は、成分分析を開始して 2 年目にあたるため、昨年度との比較を交えて結果を報告する。

## 【方法】

### 1 大気汚染常時監視

考察に用いた測定局を下記に示す。また、期間は H25 年度、H26 年度それぞれ 4/1～12/31 の期間とした。

表 測定局一覧

測定局名	H25	H26	所在地
浜松中央測定局	○	○	浜松市立西部中学校
東南部測定局		○	浜松市立南陽中学校
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
浜北測定局		○	浜松市立北浜小学校
三ヶ日測定局	○	○	三ヶ日協働センター
(自)R150測定局	○	○	相生公園

### 2 成分測定

#### (1) 質量濃度

16.7L/min で 24 時間捕集を行ったフィルターを、21.5±1.5℃、相対湿度 35±5% で 24 時間コンディショニングを行ったのち、ウルトラミクロ天秤 (sartorius MSA2.7S-000-DF) で秤量した。

#### (2) イオン成分

超純水 10ml を加え、20 分の超音波抽出を行ったのち、イオンクロマトグラフ (Metrom IC 850) で測定した。

#### (3) 無機元素成分

硝酸 5ml、フッ化水素酸 2ml、過酸化水素 1ml

を加えたのち、圧力容器法にて分解し、ICP-MS (PerkinElmer NexION 300X) で測定した。

#### (4) 炭素成分

ろ紙を 1cm<sup>2</sup> にくりぬいたものを、サーマルオプティカル・リフレクタンス法 (Sunset Laboratory CAA-202M-D) を用いて、測定した。

## 【結果】

### 1 大気汚染常時監視結果

H25 年度の結果を図 1 に、H26 年度の結果を図 2 に示す。概ねすべての測定局で似た挙動を示し、目立って異なる挙動を示す測定局はない。

PM2.5 の一部はガス状物質から光化学反応により生成されるため、日射量が多く、風が弱いなど、光化学反応が進む条件下では濃度が高くなる傾向がある。H25 年度は、7 月から 9 月の夏の時期に PM2.5 濃度が高くなる傾向がみられたが、H26 年度はその特徴は見られなかった。この原因として、H26 年度の夏季はぐずついた天気が多く、特に 8 月の日照時間が H25 年度の半分以下ときわめて少なかったことが挙げられる。

また、H26 年度は夏季における高濃度事象は観測されなかったが、6 月に高い値を示した。これは、5/26～6/2 にかけて全国的に黄砂が観測された時期であり、名古屋でも黄砂が観測されているため、大陸からの黄砂によるものと思われる。

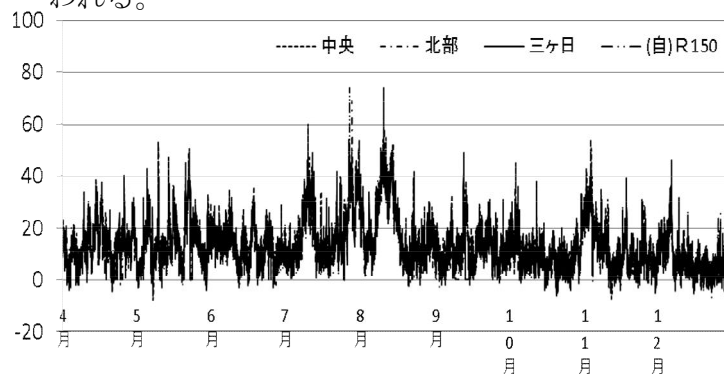


図 1 H25 年度 PM2.5 濃度 (単位:  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

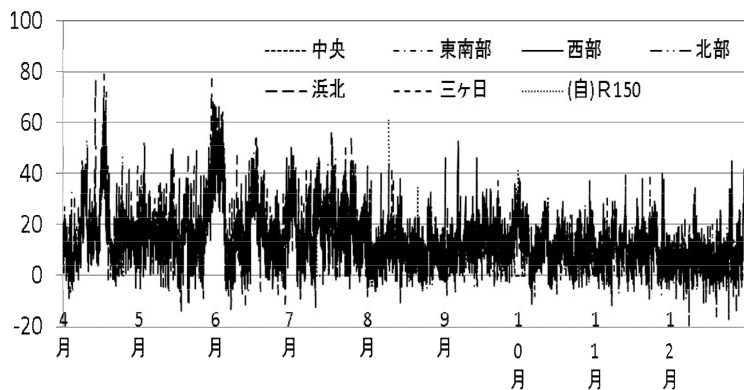


図2 H26年度PM2.5濃度（単位： $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）

## 2 成分分析測定結果

比較には、春季、夏季、秋季の3季の結果を用いた。

### (1) 質量濃度

成分分析試料捕集期間中の質量濃度の年間最高値は、H25年度が $36.0\mu\text{g}/\text{m}^3$ であったが、H26年度は $24.9\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、H25年度の最高値を $11.1\mu\text{g}/\text{m}^3$ 下回った。平均値でも、前年度を $4.8\mu\text{g}/\text{m}^3$ 下回った。

### (2) イオン成分

$\text{SO}_4^{2-}$ については、年間最高値がH25年度は $17\mu\text{g}/\text{m}^3$ であったのに対し、H26年度は $9.5\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。平均値もH25年度が $6.0\mu\text{g}/\text{m}^3$ であったのに対し、H26年度が $2.8\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、前年度よりも大きく減少した。

$\text{NO}_3^-$ の年間最高値は、H25年度が $1.2\mu\text{g}/\text{m}^3$ であったのに対し、H26年度は $0.71\mu\text{g}/\text{m}^3$ と減少し、平均値においても $0.20\mu\text{g}/\text{m}^3$ から $0.13\mu\text{g}/\text{m}^3$ と若干減少した。

イオン成分の質量濃度に対する割合も、H25年度の53.6%からH26年度は37.7%と減少した。

### (3) 無機元素成分

無機元素成分は、最高値がH25年度が $2.8\mu\text{g}/\text{m}^3$ であったのに対し、H26年度は $0.93\mu\text{g}/\text{m}^3$ と大きく減少した。平均値もH25年度が $0.61\mu\text{g}/\text{m}^3$ であったのに対し、H26年度が $0.31\mu\text{g}/\text{m}^3$ と約1/2の値になった。

### (4) 炭素成分

イオン成分及び無機元素成分が質量濃度の低下に伴い、減少したのに対し、炭素成分のうち、OCについては、H25年度、H26年度ともに

$2.6\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、差がなかった。ECの平均値は、H25年度が $0.93\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、H26年度は $0.69\mu\text{g}/\text{m}^3$ と若干減少した。

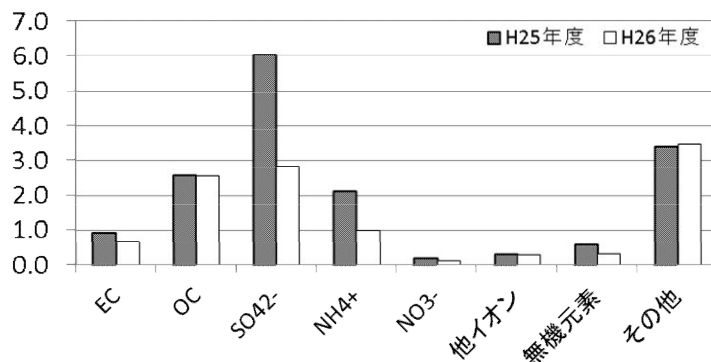


図3 H26年度、H25年度の平均値の比較（単位： $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）

## 【まとめ】

- ・H26年度の質量濃度は、H25年度と比較して最高値、平均値ともに低かった。
- ・H26年度とH25年度では、質量濃度の減少に伴い、主に $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NH}_4^+$ が減少したが、炭素成分のうち、OCは目立った減少がなかった。上記のことから、質量濃度の増減には、イオン成分の増減が最も影響していると思われる。
- ・無機元素成分も、1/2程度に減少したが、PM2.5の割合ではイオン成分が大部分を占め、無機元素成分は4~3%程度と割合が少ないことから、無機元素成分の減少はあまり影響がないと考えられる。



# 佐鳴湖における水草・魚類調査

水質測定グループ 萩原 彩華

## 【はじめに】

湖沼の保全や管理は、これまで水質に着目して実施されてきたが、生物多様性や生態系に配慮した保全が求められており、その評価手法の開発が必要になっている。浜松市は、全国の湖沼の生物多様性評価・湖沼間比較を行うことを目的とした、地方公共団体環境研究機関及び国立環境研究所との共同研究に参画し、水草の分布や遷移調査及び魚類調査を実施している。今回、佐鳴湖における過去の文献調査及び現地調査の結果を報告する。

## 【方法】

### 1. 文献調査

(1)水草：沈水植物、浮葉植物及び抽水植物における文献調査を実施した。

(2)魚類：佐鳴湖地域協議会で年に4回実施している、佐鳴湖新指標水質調査における平成20年度からの魚類調査データ及び、その他文献調査を実施した。

### 2. 現地調査

#### (1)水草

調査日：2014年8月28日(木)

調査地点：佐鳴湖西岸、新川御茶屋橋付近、段子川河口付近

同定方法：水草図鑑<sup>(6)</sup>を参考に水生植物を同定し、標本を作製した。

#### (2)魚類

調査日：2014年11月15日(土)

調査地点：漕艇場、入野漁協船着場、接触酸化施設、佐鳴八景歌碑、西岸時計塔前

調査方法：佐鳴湖新指標水質調査に参加し、ペットボトルによるしかけ及びタモ網を使用し採取した魚類の同定を試みた。

## 【結果と考察】

### 1-1. 文献調査(水草)

表1に、1957年から1999年までの水草の文献調査結果を示した。

表1 水草文献調査結果(1957~1999年)

	文献(1)	文献(2)	文献(3)	文献(4)	文献(5)
	フサモ				
	エビモ				
沈水植物	クロモ				
	セキショウモ				
	ミズオオバコ				
	ヤナギモ				
浮葉植物	アオウキクサ				
	サンショウモ				
	ヨシ				
	マコモ				
	ガマ				
抽水植物	ヒメガマ				
	ヒトモトススキ				
	フトイ				
	ウキヤガラ				

エビモやクロモ、セキショウモ等の沈水植物が多くの文献で確認されている。また、ヨシやマコモ等の抽水植物においても数種類確認されている。浮葉植物においては、沈水植物や抽水植物と比較すると数が少なく、文献調査で確認できた種はアオウキクサ、サンショウモの2種のみであった。

## 1-2. 文献調査結果（魚類）

表2に、2008～2014年度の佐鳴湖新指標水質調査結果における魚類データを示した。また、魚類の中でも特に絶滅リスクの高い、純淡水魚のデータを抜粋した。

表2 佐鳴湖新指標水質調査結果(純淡水魚抜粋)

科	名称	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
コイ科	オイカワ		○		○	○	○	○
-	コイ科稚魚		○	○				
ドジョウ科	ドジョウ						○	
コイ科	フナ			○			○	
メダカ科	メダカ	○	○	○	○	○	○	○

主に、オイカワやメダカがほぼ毎年観察されている。フナやドジョウが観察された年も見られた。また、表3にその他文献による、純淡水魚調査結果を示した。

表3 その他文献による魚類調査結果(純淡水魚抜粋)

科	和名	文献(7) (1957-1999)	文献(7) (2000-2008)	文献(8) (2001)
	オイカワ	○	○	
	カワムツ	○	○	
	コイ	○	○	○
コイ科	ギンブナ		○	○
	タモロコ	○	○	
	フナ類(ゲンゴロウブナ以外)	○	○	
	モツゴ	○	○	○
	ウグイ			○
	シマドジョウ	○	○	
ドジョウ科	ドジョウ	○	○	
	ホトケドジョウ	○	○	
ナマズ科	ナマズ	○	○	
メダカ科	メダカ	○	○	

文献7及び文献8より、オイカワ、カワムツ、コイなどのコイ科が多く確認されている。しかし、文献によって調査地点や調査方法が異なるので、データ比較がし難い。文献7のデータを、1999年以

前と2000年以降に分けたところ、2000年以降にギンブナが確認されていないが、その他は同様の結果となっている。2001年の文献8の結果にてギンブナが確認できていることから、魚類においては1999年以前からほぼ変化がないと考察される。

## 2. 現地調査結果

### (1) 水草



水草採集器

水中の沈水植物を捕集するため、熊手を3本束ねてロープで固定した水草採集器を作成した。各々の地点にて

水草採集器を投げ入れたが、沈水植物は捕集できなかった。

また、調査地点全域において、浮葉植物も見られず、確認された水生植物は全て抽水植物だった。表4に確認された抽水植物を示す。

表4 平成26年度水草現地調査結果

出現種	分類	地点
ヒメガマ	ガマ科ガマ属	佐鳴湖西岸、段子川河口
マコモ	イネ科マコモ属	調査地点全域
ヨシ	イネ科ヨシ属	佐鳴湖西岸、段子川河口

表1における抽水植物のデータと比較すると、7種類から3種類にまで減少し、沈水植物や浮葉植物だけでなく、抽水植物においても減少傾向にあることが分かった。1957年からすでに水質は悪化していたといわれ、1979年には、佐鳴湖周辺及び流入河川流域の宅地開発が急激に進んだことで、水質がさらに悪化した。あわせて、水生植物が減少したと考えられている<sup>(3)</sup>。

## (2) 魚類

佐鳴湖新指標調査に出向き、調査地点において、ペットボトルの仕掛けやタモ網による小型生物の捕獲が可能であることが確認できた。当日観察された純淡水魚は、オイカワ、メダカである。本調査は、予算をかけずに検査員数名で実施することができ、継続的に魚類をモニタリングする手法として有効である。

### 【今後の課題】

地方公共団体環境研究機関及び国立環境研究所との共同研究は、平成24年度から3年計画のもので、今年度で終了する。しかし、佐鳴湖における水草及び魚類調査は今後も継続して実施する予定である。これまで公的なモニタリングは実施されていないことに加え、生物情報は各都道府県の報告書や研究者個人などに離散的に存在するのみであった。また、佐鳴湖においても水草・魚類に関するいくつかの文献が存在するが、調査地点や調査方法が異なっていた。本共同研究は全23機関が参加しており、各機関の湖沼において、同一手法によるモニタリングを実施する予定である。よって、佐鳴湖における水草・魚類調査結果の経年変化評価だけでなく、湖沼間比較を可能にすることで、各自治体が管理する湖沼生態系評価に適用し、自然再生事業などに活用できることが期待される。

### 【参考文献】

- (1) 佐鳴湖の自然
- (2) 昭和43年度静岡県小・中・高等学校理科研究発表論文集
- (3) 佐鳴湖環境調査会(1987) 佐鳴湖の歴史と生態系

## (4) 静岡県水産試験場浜名湖分場時報

- (5) 第2回自然環境保全基礎調査湖沼調査報告書
- (6) 角野康郎(1994) 日本水草図鑑
- (7) 静岡県産業部振興局研究調整室(2008) 静岡県戦略課題研究「快適空間『佐鳴湖』の創造」研究報告書
- (8) 平成23年度二級河川佐鳴湖(新川)統合河川環境整備事業(地域自主戦略)に伴う浄化効果追跡調査業務委託(2011) 静岡県土木事務所

### 【謝辞】

調査に同行して頂いた、静岡県環境衛生科学研究所の後藤裕康氏、内山道春氏に深謝いたします。

## 懸濁物に含まれる分子指標による有機物起源の推定方法

—佐鳴湖の懸濁物中の *n*-アルカンを例にして—

水質測定グループ 野末 泰宏

### 【はじめに】

佐鳴湖において、化学的酸素要求量 (COD) や懸濁物 (SS) といった環境基準値が達成されていないことや透明度が低いということが課題となっている。さらに、近年、COD は改善されつつあるものの、透明度は改善傾向が見られないということが指摘されている。

SS の起源は、河川からの流入や逆流、湖内での有機物の生産や分解に加えて、湖の特性上、水深が浅く、風や潮汐による逆流等による底泥からの巻き上げなどが考えられる。そこで、本研究では、SS に含まれる有機化合物、すなわち、分子指標に着目し、有機物起源を推定する方法を検討した。概要としては、SS を有機分析化学的手法で分析し、分子指標に基づいて定性的な観点から有機物起源を推定した。なお、このような手法は、基礎研究段階での内容であり、実用段階で一般化されたものではない。

### 【方法】

佐鳴湖漕艇場にて、5、7、8 及び 11 月に採水した。ガラス繊維ろ紙 (Advantec 製 GS-25、孔径 1  $\mu\text{m}$ 、直径 90mm) により、湖水 2~4L をろ過し、ろ紙上に SS を付着させることで捕集した。ろ紙を有機溶媒 (ジクロロメタン/メタノール (6 : 4)) に浸して、SS 中の有機化合物の超音波抽出を行った。抽出物をメタノール転用したものを 10ml アンプル管に入れ、水酸化カリウムを用いて、ケン化 (100°C、2 時間) させた。ケン化後のアルカリ溶液から、ヘキサン/ジエチルエーテル (9 : 1) を用いた液々分離により、中性成分を抽出した。中性成分をヘキサン、ヘキサン/ジエチルエーテル (1 : 1) の順で、シリカゲルクロマトグラフ (シグマアルドリッチ製 粒径 150~250  $\mu\text{m}$ ) を充填したカラムクロマトグラフ管 (内径約 5 mm、長さ約 20 mm) により妨害物質を除去した。ヘキサンとヘキサン/ジエチルエーテル (1 : 1) により、それぞれ脂肪族炭化水素分画 (N1 分画) とアルコール・ステロール分画 (N2 分画) が溶離される。

ガスクロマトグラフ質量分析計 (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  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$   $\times$  30 m) を使用した。N1 分画について、GC-MS 分析の条件は、スプリットレス方式で注入し、注入口温度は 280 °C、インターフェイス温度は 300 °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 20 °C/分で 120 °C まで昇温させ、次に 5 °C/分で 300°C まで昇温させ、300 °C で 15 分間定温に保った。MS 分析については、まず、スキャンモードにてトータルイオンクロマトグラム (TIC) を得た。次に、選択イオンを  $m/z$ 85 として、*n*-アルカンを目標とした解析を行った。

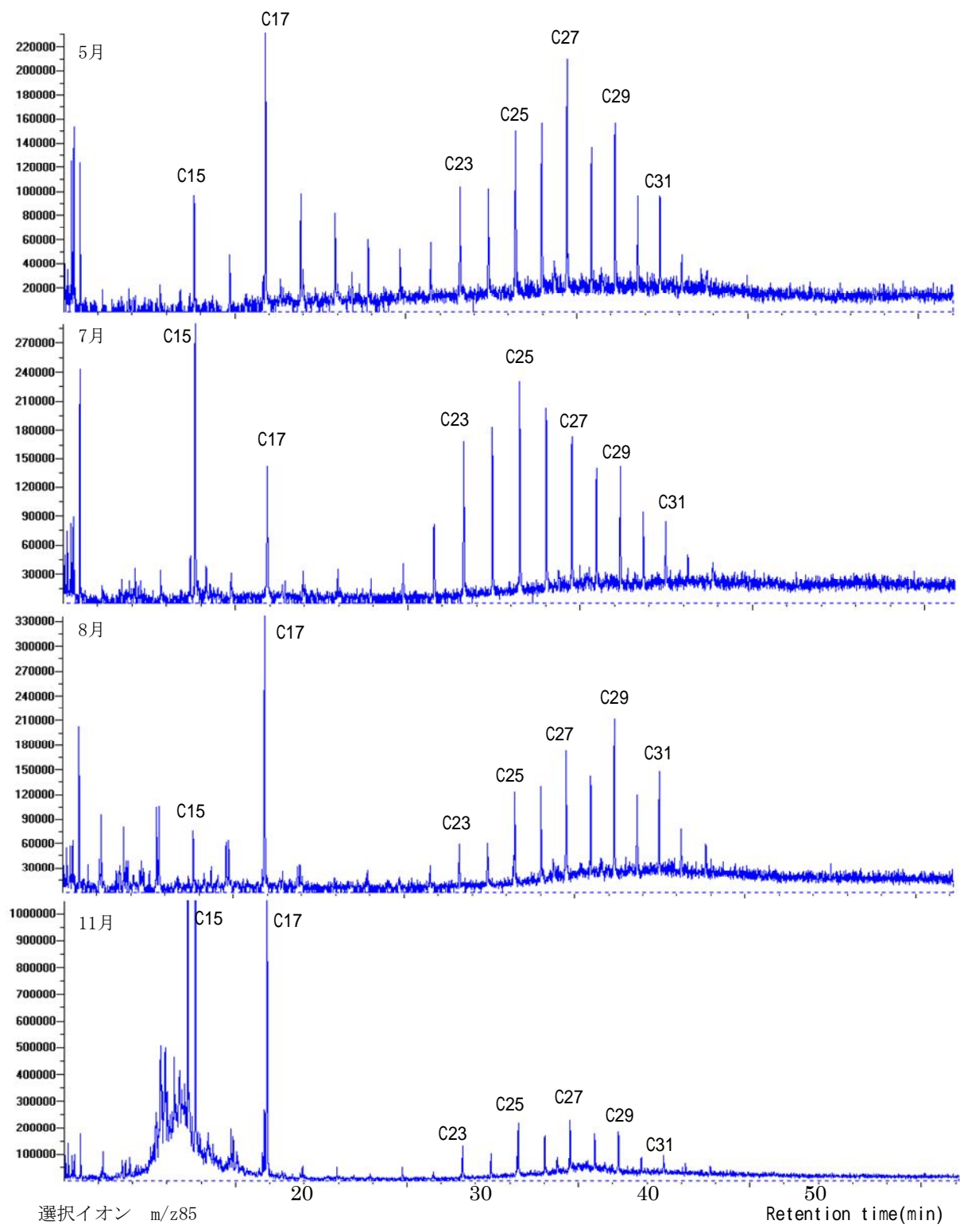


図1 佐鳴湖水（5、7、8及び11月）のSSのN1分画をGC-MS分析し、選択イオンをm/z85として、解析したときのクロマトグラム。

## 【結果】

GC-MS 分析により、SS の N1 分画をスキャンモードにて分析し、さらに、選択イオンを  $m/z$ 85 とし解析した (図 1)。これらの解析により、炭素数 15 から 31 (炭素数 18 から 22 を除く) までの  $n$ -アルカンが検出された。また、炭素数が偶数の  $n$ -アルカンよりも奇数のものがやや優位する傾向があった。そこで、炭素数が奇数の  $n$ -アルカンについて、短鎖 (炭素数 15、17)、中鎖 (炭素数 23、25)、及び長鎖 (炭素数 27、29、31) と分類した (表 1)。

佐鳴湖水の SS に含まれている  $n$ -アルカン組成が、定性的ではあるが時期によってやや異なることが分かった。例えば、時期によって、短鎖の  $n$ -アルカンは炭素数 15 と 17 の存在比が異なっており、中・長鎖の  $n$ -アルカンにおいても優位するものが異なっていた。

表 1  $n$ -アルカンの分類。

炭素数	組成式	略称	主な起源 (暫定)
C <sub>15</sub> C <sub>17</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	短鎖の $n$ -アルカン	植物プランクトン
C <sub>19</sub> C <sub>21</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>		
C <sub>23</sub> C <sub>25</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub> C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	中鎖の $n$ -アルカン	大型水生植物
C <sub>27</sub> C <sub>29</sub> C <sub>31</sub>	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> C <sub>29</sub> H <sub>60</sub> C <sub>31</sub> H <sub>64</sub>	長鎖の $n$ -アルカン	陸上高等植物

## 【考察】

生物種によって、例外や示された範囲を逸脱する場合もあるが、 $n$ -アルカン組成は特徴的な傾向を示すことが知られており、生物種を示す分子指標として利用できる (石渡・山本、2004)。生物体では、炭素数が偶数の  $n$ -アルカンよりも奇数のものが優位する傾向がある。また、植物プランクトンは短鎖、大型水生植物は中鎖、及び陸上高等植物は長鎖の  $n$ -アルカンを優位に含むことが知られている (石渡・山本、2004; Ficken et al., 2000)。そこで、短鎖、中鎖、及び長鎖の  $n$ -アルカンについて、それぞれ植物プランクトン、大型水生植物、及び陸上高等植物が主な起源であると暫定的に考えた (表 1)。

佐鳴湖の  $n$ -アルカン組成の特徴としては、短鎖の  $n$ -アルカンが優位する傾向があるものの、中・長鎖のものもある程度含まれていた。したがって、SS に含まれる有機物を植物プランクトン起源と考えるだけでなく、大型水生植物や湖外から供給される陸上高等植物を起源とするものについても調査の対象とすることが必要であると考えられる。

### 【今後の課題】

本報告は、GC-MS 分析に基づく定性解析のみであったが、定量することによって、*n*-アルカン組成を数値化することができる。また、SS 量 (mg/L) や TOC (mg/L) により規格化することによって、採水地点や時期による変動を示すことができる。そこで、*n*-アルカンの標準品を用いて、定量化できるような方法を確立したいと考えている。

N2 分画は、アルコール・ステロールが溶離されるような前処理をしているが、GC-MS 解析を行っていなかった。アルコールについても生物種によって、特徴的な傾向を示すことが知られている。また、ステロールについても、植物プランクトン、動物プランクトン、又は陸上高等植物起源を示す指標などが提案されている。より具体的な有機物起源を示すことができる可能性があるため、N2 分画の分析方法を確立したいと考えている。

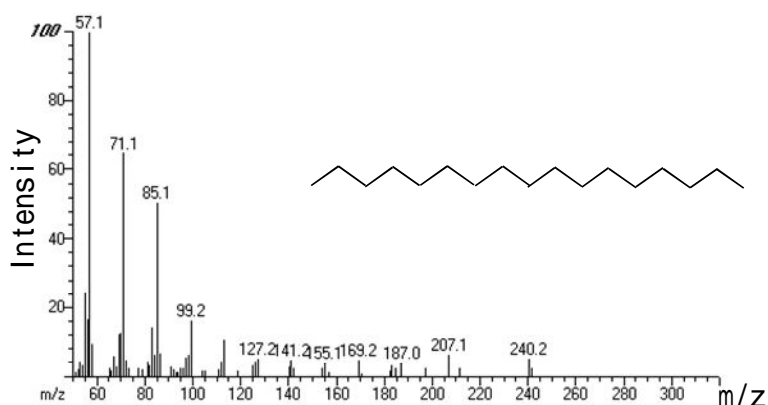
湖水の SS だけではなく、流出入する河川の SS や底泥、水生植物などの分析もする必要がある。それらの組成と比較することによって、湖水の SS に含まれる有機物起源を推定することができると思う。

### 【引用文献】

Ficken, K. J., Li, B., Swain, D. L. and Eglinton, G. (2000) An *n*-alkane proxy for the sedimentary input of submerged/floating freshwater aquatic macrophytes. *Org. Geochem.* **31**, 745-749.

石渡良志・山本正伸 (2004) 地球化学講座 4 有機地球化学. 日本地球化学会監修, 培風館, 東京, 290p.

### 【補足】



炭素数 17 の *n*-アルカン (C<sub>17</sub>H<sub>36</sub> : 分子量 240)

# へい死魚の測定方法（金属・水銀・シアン）の検討

水質測定グループ 佐藤葉留佳

## 【はじめに】

浜松市内における魚へい死事故件数は、平成 25 年度に 15 件、26 年度に 12 件報告されている。昨年度までは水質検査のみを行っていたが、詳細な原因究明を行うためにへい死魚の分析を行うこととなった。なお、項目は金属(Zn、Cd、Pb、As、T-Cr、Cu)、総水銀、シアン、農薬である。今回は農薬を除く項目について、測定方法の検討及び結果について報告を行う。

## 【測定方法】

### 1. 試料

へい死魚の全量をすりつぶしたもの、またはフードプロセッサ粉砕したものを試料とした。なお、へい死魚が小さく、粉砕の必要がない場合には全量を用いた。また、ブランクとして試料と同量の超純水を測定した。

### 2. 金属及び総水銀の測定方法

測定方法は、図 1 に従って行った。

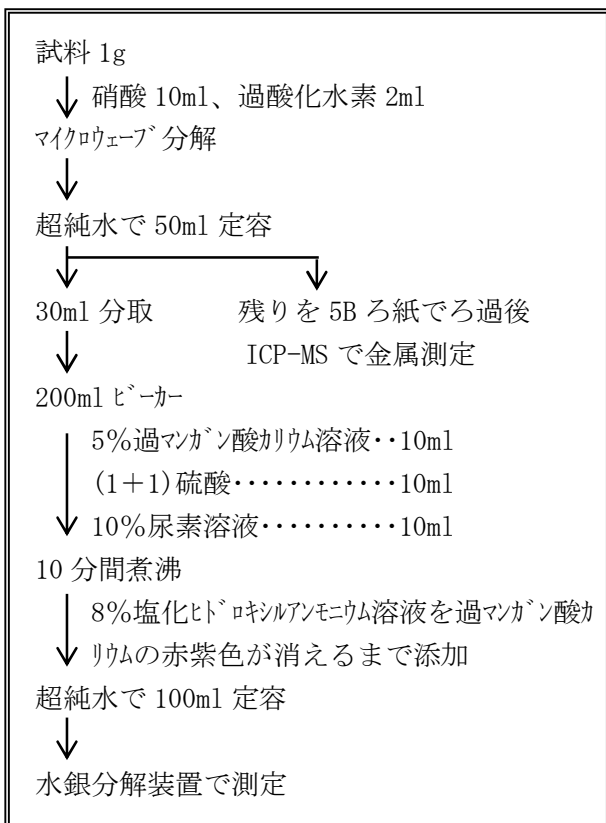


図 1 金属及び総水銀の測定方法

### 3. シアンの測定方法

測定方法は、図 2 に従って行った。

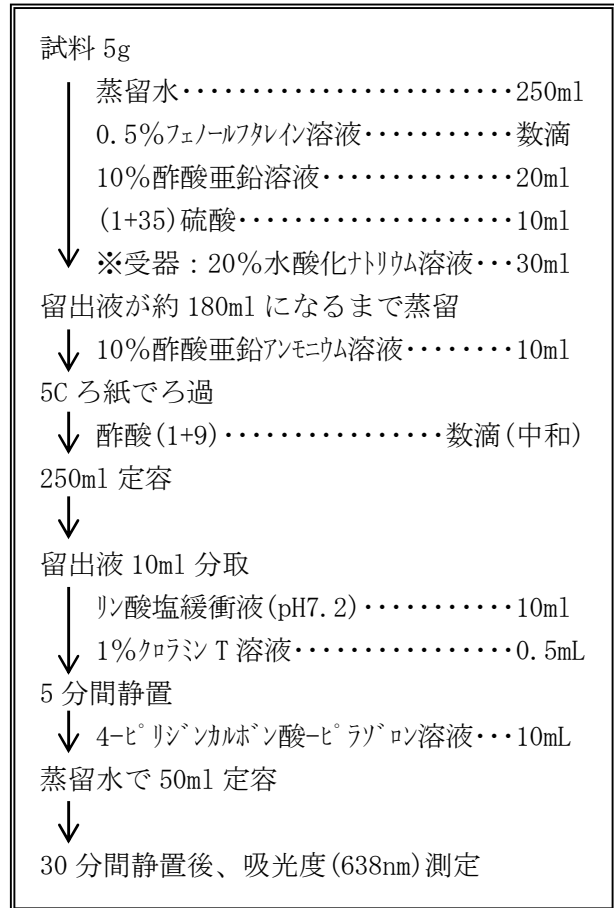


図 2 シアンの測定方法

### 4. 装置

金属前処理装置(マイクロウェーブ分解装置)は Perkin Elmer 製 MW3000 を、ICP-MS は Perkin Elmer 製 NexIon 300x を使用した。また、水銀分解装置は日本インスツルマンツ(株)RA-2 を、分光光度計は島津製 UV-2450 を使用した。

### 5. 試薬

硝酸及び硫酸は有害金属測定用を、金属の標準原液は SPEX 社 XSTC-622 を使用した。それ以外の試薬は試薬特級のものを使用した。

### 6. 添加回収試験

金属は試料中濃度が 5 μg/g、水銀は 0.05 μg/g、シアンは 25 μg/5g となるように添加した。



## 【結果及び考察】

### 1. 金属の添加回収試験

金属の添加回収試験結果を表1に示した。

表1 金属の添加回収試験結果(%)

	ドジヨウ	ナ	アユ
添加量(μg)	5	10	5
Zn	608	480	179
Cd	92.6	88.1	93.4
Pb	94.3	93.3	87.7
As	99.3	95.8	91.7
Se	82.0	73.1	89.6
Cu	85.1	69.6	70.4
T-Cr	87.7	93.3	89.9

Zn以外の金属については、約70~100%の良好な回収率を得ることができた。Znについては添加量の増加を試みても回収率の改善がみられなかった。これはへい死魚に含まれているZnの量が多く、誤差を生じやすいためだと考えた。

またアユについては総水銀及び金属標準溶液を同時に添加し分解したが、金属標準溶液のみを添加したドジヨウやナと同様の回収率を得ることができた。

### 2. 水銀の添加回収試験

水銀の添加回収試験結果を表2に示した。

表2 水銀の添加回収試験結果(%)

	ナ	ドジヨウ	アユ
添加量(μg)	0.04	0.05	0.05
Hg	57.7	113	91.1

添加量0.04μgでは回収率が低かったため添加量を0.05μgにし、固体の過マンガン酸カリウムを液体の5%過マンガン酸カリウム溶液に変更したところ113%と良好な回収率を得ることができた。

またアユは金属及び総水銀標準溶液を同時に添加し分解したが、総水銀標準溶液のみを添加したドジヨウと同様の回収率を得た。表1及び表2の結果から、金属及び総水銀標準溶液の同時添加をすることが可能であるということが示された。

### 3. シアンの添加回収試験

へい死魚のシアンの測定には一般的に底質調査法が用いられるが手順が煩雑であるため、ナ及びアユについては土壌含有量測定法で、ドジヨウについては底質調査法で行い、比較を行うこととした。シアンの添加回収試験結果を表3に示した。

表3 シアン添加回収試験結果(%)

	ナ	ドジヨウ	アユ
添加量(μg)	25	25	25
シアン	94.1	92.0	85.0

土壌含有量測定法及び底質調査法どちらにおいても良好な回収率を得ることができた。そのため今後は、より簡便な方法である土壌含有量測定法を採用する。しかし、シアンは硫酸イオンによって負の影響を受けるので、土壌含有量測定法に、10%酢酸亜鉛アンモニウム溶液を加えて硫酸イオンを除去する過程を追加して行うこととする。

### 4. へい死魚の測定結果

今年度搬入されたへい死魚の検体数は12検体(依頼されていない検体も含む)だった。

金属7項目のうち、Cd、Pbは検出されなかった。Zn、As、Se、Cu、T-Crは検出されたが、突出して高い値は検出されなかった。総水銀は検出されたが、魚介類食品の暫定基準値である0.4μg/gを上回る検体はなかった。シアンは全ての検体で検出されなかった。また、へい死魚と採取した場所に生息していた生魚の結果を比較したところ、Se、Cu、Hgの3項目でへい死魚の結果が生魚の結果1.5~6倍程度上回った。しかしながら現場で採水した水試料からは検出されなかったことから因果関係は判明しなかった。

### 6. 総括

今回の検討では、金属、総水銀、シアン測定方法について確立することができた。またZn以外の添加回収試験では、70~120%の良好な回収率を得ることができた。Znについては添加量を増やし、原子吸光法を使用することも検討していきたい。来年度は、今年度依頼されている金属に加え総水銀及びシアンの検査も可能となった。今後は、農薬の検討を行っていく必要がある。

【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り組みに「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(以下、国環研)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(藻類発光阻害試験法)を確立した浜松ホトニクス(株)(以下、HPK)と共同研究を行い、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保全を目指すことを目的として、公共用水域等の化学物質による生態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。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。

【方法】

- (1) 凍結藻類試験キット (HPK 製)  
TG201 標準種 (*P. subcapitata*)
- (2) 培地 (HPK 製)  
OECD 培地 (TG201 準拠)

- (3) 試料溶液  
浜松市内の事業場排水、公共用水域の水
- (4) 装置 等  
高感度ルミノメータ (HPK 製)  
測定解析用ソフトウェア (HPK 製)
- (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 9.6mL を分注し、解凍した藻類 400 μL 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) 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 時間後の遅延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 10、50%となる試料濃度 EC<sub>10, 50</sub> (曝露 1-24 時間後) を算出した (図 1)。

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。

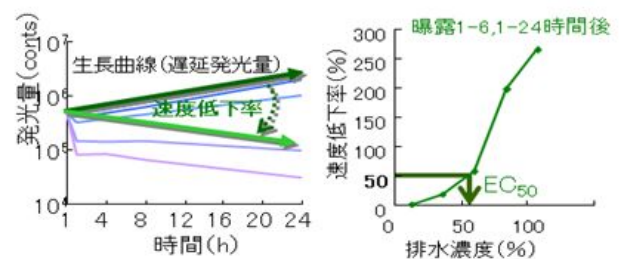


図 1 評価方法

【結果と考察】

1. 各種試料の EC<sub>10, 50</sub> (%) の結果

浜松市内の事業場排水および公共用水域における水の藻類発光阻害試験を行い、試料濃度毎 (0、5、

10、20、40、80%) の発光量を測定し、速度低下率 (曝露 1-24 時間後) を求めた。また、速度低下率と排水濃度から各試料の EC<sub>10</sub> および EC<sub>50</sub> を算出した (図 2、3)。

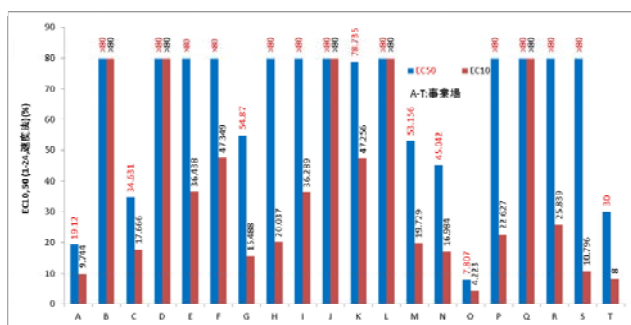


図 2 事業場排水における EC<sub>10</sub>、50

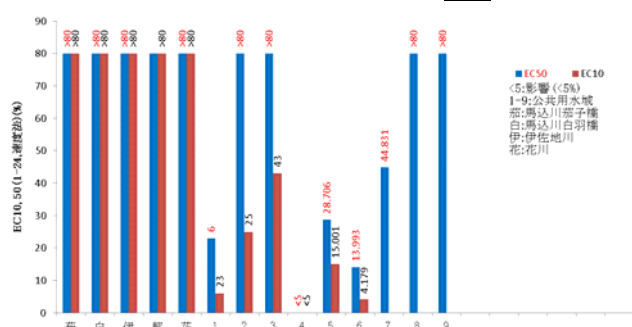


図 3 公共用水域における EC<sub>10</sub>、50

図 3 から、河川においては EC<sub>10</sub> や EC<sub>50</sub> が算出されていないことから、化学物質が藻類の遅延発光に影響を及ぼす濃度まで含有していなかったと考えられる。一方、検体 A や C、検体 2 や 3 などといった事業場排水または事業場排水が流れ込む排水路 (事業場排水が着水した地点より 5m 下流で採水) 中では、EC<sub>10</sub> や EC<sub>50</sub> が算出された (図 2、3) ことから、排水中には藻類の遅延発光に影響を及ぼす濃度よりも高濃度で化学物質が含有していた可能性があると考えられる。これは、河川は、排水路に比べ幅が広く、かつ、水量が多いため、流れ込んだ事業場排水などの希釈割合が増し、含有する化学物質が藻類の遅延発光に影響を及ぼす濃度よりも薄まるためであると推測される。また、同一試料を希釈して藻類発光阻害試験を行ったところ (検体 4 と 6)、希釈することで藻類への化学物質の影響が弱まる結果も確認されているため、この考察が正しいものであると推察される。今回、事業場排水だけでなく、公共用水域へ流れ出た排水で急性毒性の指標である EC<sub>50</sub>、慢性毒性の指標である EC<sub>10</sub> でも藻類発光阻害試験の評価が可能で、この試験

法の有用性を示唆することができた。

### 【今後とまとめ】

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。現在、当所で採取した公共用水域の水を国環研に送り、従来法の測定を行っていただき、当所で行う藻類微弱発光阻害試験を並行して行うことで、化学物質の影響をより詳細に調査していきたいと考えている (図 4)。

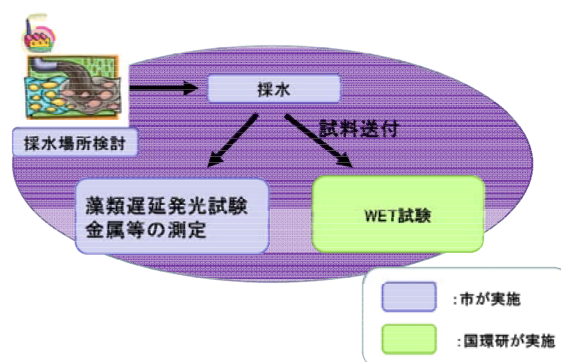


図 4 排水調査の実施構想

また浜松市内では、毎年魚類へい死事故が起きている。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する一環として、魚類へい死が起こった際に事故時の水を採取し、藻類微弱発光阻害試験を行うことで、24 時間以内に水の生体リスク影響を評価していきたいとも考えている。

今後も引き続き、新しい評価手法の一つとしてより検討を重ねていきたい。

### 【謝辞】

本研究を進めるにあたって協力して頂いた浜松ホトニクス株式会社、検査法等につきましてご指導・ご鞭撻頂いた同社勝又政和氏並びに佐藤由紀子氏に深謝いたします。

また、本研究を始めるにあたって特別なお計らいを頂いた独立行政法人国立環境研究所の鏑迫典久氏に深謝いたします。

---

---

浜松市保健環境研究所年報

第 2 5 号

平成 2 7 年 1 0 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)

---

---