

岡山県環境保健センター年報

第40号

(平成27年度)

Annual Report

of

Okayama Prefectural Institute for Environmental
Science and Public Health

No.40

2016

ま え が き

当センターは、県民の生活環境の保全と健康の保持増進に資するため、昭和51年4月に設置され、環境保全及び保健衛生に関する「試験検査」、「調査研究」、「研修指導」及び「情報の収集・解析・提供」の役割を担う、総合的な試験研究機関として業務を実施しています。

さて、保健衛生の最前線に携わる者として、近年のグローバル化の流れを受けて、新興・再興感染症の脅威がより高まっていることをひしひしと感じています。平成27年度だけでも、韓国において多数の感染者を出した中東呼吸器症候群（MERS）や、オリンピック開催国ブラジルを含む、中南米を中心に感染が拡大したジカウイルス感染症などが大きな社会問題となり、当センターでも国内発生に備え、検査態勢の確認に追われたところでした。

環境分野も含め、このような重大かつ未知の事案に試験研究機関としての使命を果たすためには、常日頃から行う調査研究が大変重要だと感じています。

このたび、平成27年度に実施した調査研究等の成果について取りまとめました。ご高覧いただき忌憚のないご意見をお寄せいただきますとともに、なお一層のご支援、ご鞭撻を賜りますようお願いいたします。

平成29年1月

岡山県環境保健センター

所 長 岸 本 壽 男

目 次

調査研究・資料

環境科学部

大気科

【資 料】

- 1 岡山県下における微小粒子状物質の成分の実態について（第3報）
中野温朗，間野遼太，喜多真帆，野村 茂，信森達也，鷹野 洋 1
- 2 岡山県における平成27年度酸性雨調査結果
間野遼太，喜多真帆，中野温朗，野村 茂，信森達也，鷹野 洋 13

水質科

【調査研究】

- 3 事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究
－ジフェニルジスルフィド類の水質分析法の検討－
浦山豊弘，新 和大，中野拓也，山本浩司，山本 淳 17

【資 料】

- 4 児島湖における水質汚濁メカニズムの解明
－岡山市北区一宮の水田における汚濁負荷量調査－
藤田和男，中野拓也，金子英史，山本 淳 31

放射能科

【調査研究】

- 5 岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査（第4報）
畑 陽介，清水光郎，木下浩行，片岡敏夫，小川 登 39

【資 料】

- 6 岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査－ヨモギ－（第1報）
畑 陽介，清水光郎，木下浩行，片岡敏夫，小川 登 47

細菌科

【調査研究】

- 7 感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査（平成27年度）
 - ① 志賀毒素産生性大腸菌の疫学調査
河合央博，大島律子，檀上博子，中嶋 洋，井上 勝，仲 克巳 51
- 8 感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査（平成27年度）
 - ②岡山県内のレジオネラの疫学調査と小児科受診患者等のエルシニア抗体保有調査について
中嶋 洋，檀上博子，河合央博，大島律子 57

ウイルス科

【調査研究】

- 9 胃腸炎ウイルスの疫学的研究
－岡山県の散发胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況（2014/2015シーズン）－
藤原香代子，藤井理津志，濱野雅子，磯田美穂子，松岡保博，井上 勝，濃野 信，金谷誠久 …………… 63
- 10 岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析（2014～2015年シーズン）
松岡保博，濱野雅子，磯田美穂子，藤原香代子，藤井理津志，筒井みちよ，芦田顕彦 …………… 69

【資 料】

- 11 岡山県におけるマダニの季節的消長と日本紅斑熱リケッチア保有調査
松岡保博，濱野雅子，磯田美穂子，藤原香代子，藤井理津志，木田浩司，芦田顕彦 …………… 73

衛生化学科

【調査研究】

- 12 食品と医薬品等に含まれる有害化学物質等の分析技術の開発に関する研究
－水産物及び穀類等の残留農薬分析法の検討について－
吉岡敏行，難波順子，浅田幸男，赤木正章，北村雅美 …………… 77
- 13 GC-MS/MS及びLC-MS/MSを用いた穀類及び豆類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価（第1報）
難波順子，吉岡敏行，浅田幸男，赤木正章，北村雅美 …………… 85
- 14 納豆を検体とする遺伝子組換え食品検査についての一考察（平成26～27年度）
北村雅美，浅田幸男，赤木正章，難波順子，吉岡敏行 …………… 99

【資 料】

- 15 LC-MS/MSを用いた野菜及び果実中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価（第1報）
赤木正章，浅田幸男，難波順子，北村雅美，吉岡敏行，浦山豊弘 …………… 103
- 16 指定おもちゃに使用される可塑剤の使用実態について（平成27年度）
北村雅美，吉岡敏行，浅田幸男，難波順子，赤木正章，中尾美江 …………… 111
- 17 アレルギー物質を含む食品の試買調査について－平成26～27年度－
浅田幸男，北村雅美，難波順子，赤木正章，吉岡敏行，村上泰之，中尾美江 …………… 119

業務報告 …………… 125

他誌発表論文抄録 …………… 137

単行本 …………… 144

報告書等 …………… 145

学会発表 …………… 154

【資 料】

岡山県下における微小粒子状物質の成分の実態について（第3報）
Component Analysis of PM2.5 in Okayama Prefecture (No.3)

中野温朗, 間野遼太, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋 (大気科)

Atsurou Nakano, Ryouta Mano, Maho Kita, Shigeru Nomura,

Tatsuya Nobumori, Hiroshi Takano (Atmosphere Section)

要 旨

平成25～27年度に実施した環境大気中の微小粒子状物質の成分分析結果をとりまとめた。主要成分の年平均濃度及び構成割合は、全ての調査地点でイオン成分 (5.4～13 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 30～50%), 炭素成分 (3.7～7.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 20～30%), 無機元素成分 (212～356 ng/m^3 , 2～3%) の順に低下した。年間評価では、イオン成分の濃度が県南の地点で県北の地点より15～35%程度高くなった。イオン成分のうち SO_4^{2-} 濃度が15～35%程度、 NO_3 濃度が30～240%程度高くなり、県南と県北の地点間の粒子状物質全体濃度の差に寄与していた。期間評価では、秋季に春・夏・冬季より炭素成分の割合が増加し、イオン成分の割合が減少する傾向がみられた。イオン成分の割合は県南の地点で春・冬季に50%を超過し、県北の地点と最大15%程度差のある年度がみられた。

[キーワード：微小粒子状物質, 質量濃度, 成分分析]

[Key words: PM2.5, Mass Concentration, Component Analysis]

1 はじめに

微小粒子状物質（以下「PM2.5」という。）については人の健康への影響が懸念されるため、平成21年9月環境省告示により大気汚染に係る環境基準が設定された。このことに伴い、環境大気中のPM2.5の質量濃度及び構成成分に係る常時監視体制が整備されることとなり、本県でもPM2.5の実態把握に取り組んでおり、観測結果を報告してきた^{1)～12)}。

本報では平成25～27年度に実施したPM2.5構成成分の分析結果3カ年分をとりまとめたので報告する。

2 調査方法

調査地点は、県南部の長津測定局（早島町）、中南部の総社測定局（総社市）、南西部の茂平測定局（笠岡市）と、県北西部の新見測定局（新見市）、北東部の美作県民局（津山市）とした。総社・新見測定局及び美作県民局は大規模な事業場等の少ない市街地に、茂平測定局は瀬戸内海沿岸の工業地域に近接した田園地帯に位置する。長津測定局は幹線道路沿線に位置する自動車排出ガス測定局であり、美作県民局は環境大気の常時監視を行っていない地点である。図1には調査地点を示す。

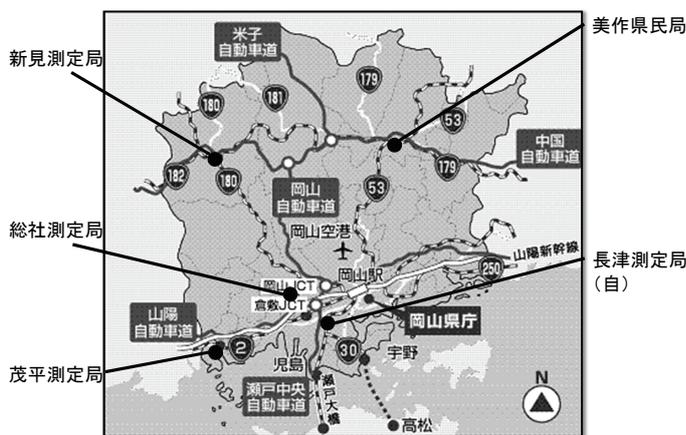


図1 調査地点

「大気中微小粒子状物質成分測定マニュアル（環境省平成24年4月）」（以下「成分測定マニュアル」という。）の捕集法に準じて、サンブラ（Thermo製FRM2000, FRM2025 (i)）でフィルタ（Pall 2500QAT-UP, Tefloメンブレンフィルタ）に環境大気中のPM2.5を捕集した。試料の捕集は1年を4期間（春・夏・秋・冬季）に分けて行い、表1のとおり各期間数日間連続して行った。

成分分析は試料を捕集したフィルタを分割してそれぞれ対象別の成分について行った。分析対象は成分測定マニュアルに示されたPM2.5の主要成分であるイオン成分 (Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-}), 炭素成分 (有機炭素 (OC), 元素状炭素 (EC)) 及び無機元

素成分 (Mn, Cr, Ni, Be, As, Al, Fe, Zn, Cu, V, Pb, Se, Cd) とし、分析方法や検出・定量下限値算出等は同マニュアルに準じた¹¹⁾。

分析結果は有効数字2桁で取り扱い、検出下限値未満の場合は同値の1/2を、定量下限値未満の場合は分析値をそのまま解析に用いた。解析対象は平成25～27年度3カ年分の観測結果とした。平成27年度秋季は調査の一部を実施できなかったため、本報告の解析対象に含めなかった。

3 結果

3.1 年間評価

図2に平成25～27年度のPM2.5質量濃度の年平均濃度

及び構成割合を図示した。調査期間に観測された年平均濃度は16.0～29.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。地点間の濃度差は0.1～5.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ あったが、同一地点でも年平均濃度が地点間の濃度差以上に変動していた(総社測定局の平成25、26年度間の濃度差11 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ など)。各年度で解析対象とした観測結果の数が限定的だったため、日々の濃度変動の影響を受けやすかったことが考えられたものの、年平均濃度は県南の地点(総社・長津・茂平測定局)で県北の地点(美作県民局、新見測定局)より高くなる傾向になった。

主要成分のうち炭素成分は、濃度範囲3.7～7.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、地点間の濃度差0～2.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、同一地点の年度間差0.1～1.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。炭素成分の濃度は長津測定局で最も

表1 解析対象期間

年度	期間	解析対象数				
		総社測定局	長津測定局	美作県民局	新見測定局	茂平測定局
25	春季 H25/5/13(月)～H25/5/21(火)	9	9(8 ^{*1})	9(7 ^{*2})	-	-
	夏季 H25/7/29(火)～H25/8/4(月)	7	7(6 ^{*2})	7	-	-
	秋季 H25/10/24(木)～H25/11/5(火)	13	13	13	-	-
	冬季 H26/1/27(月)～H26/2/2(日)	7(6 ^{*2})	7(4 ^{*2})	7	-	-
26	春季 H26/5/12(月)～H26/5/15(木)	4	4	4	4	-
	夏季 H26/7/28(月)～H26/7/31(木)	4	4	4	4	-
	秋季 H26/10/27(月)～H26/10/30(木)	4	4	4	4	-
	冬季 H27/1/26(月)～H27/1/29(木)	4	4	4	4	-
27	春季 H27/5/11(月)～H27/5/14(木)	4	4	4	4	4
	夏季 H27/7/27(月)～H27/7/30(木)	4	4	4	4	4
	冬季 H28/1/25(月)～H28/1/28(木)	4(3 ^{*2})	4	4	4	4
計		64	64	64	28	12

*1 炭素成分・イオン成分解析対象数
*2 無機元素成分解析対象数
- 捕集なし

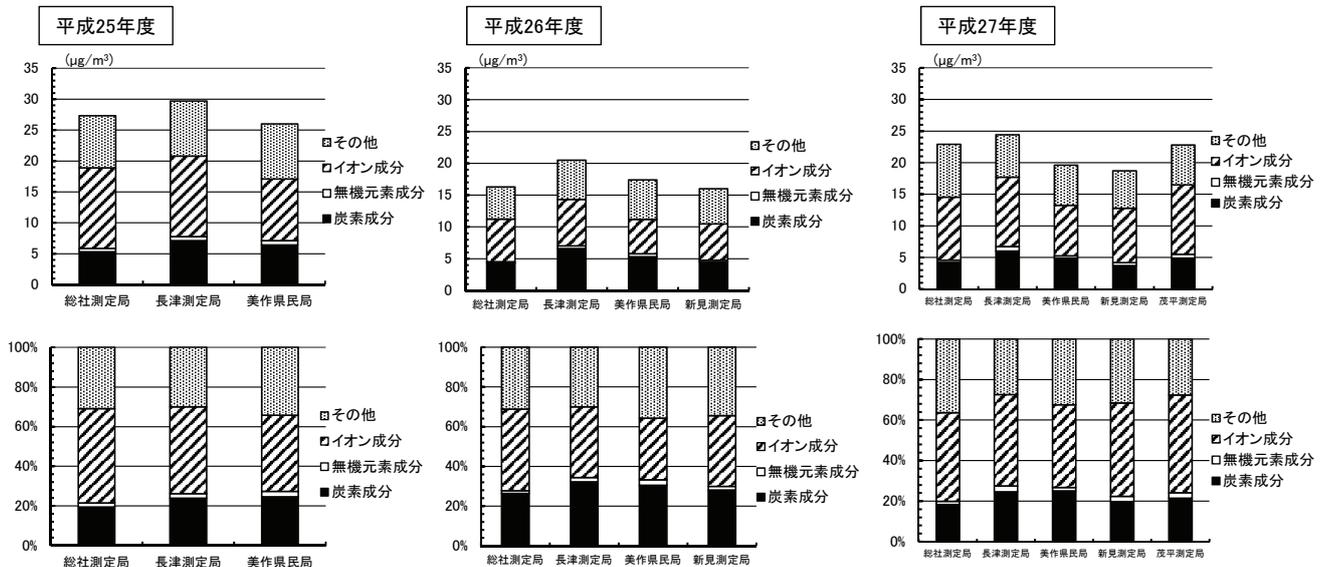


図2 平成25～27年度のPM2.5年平均濃度及び構成割合

高く、次いで美作県民局で高くなった。無機元素成分は濃度範囲219～714ng/m³、地点間の濃度差16～373ng/m³、同一地点の年度間差212～356ng/m³であり、他成分より濃度変動が大きかった。無機元素成分の濃度は長津測定局で他地点より高くなった。イオン成分は濃度範囲5.4～13μg/m³、地点間の濃度差0～3.0μg/m³、同一地点の年度間差2.0～6.3μg/m³であった。イオン成分の濃度は、同一年度で県南の地点で県北の地点より15～35%程度高くなり、県南・県北の地点間のPM2.5質量濃度の差に寄与していた。

PM2.5の構成割合は、炭素成分20～30%程度、無機元素成分2～3%程度、イオン成分30～50%程度になった。炭素成分の割合は長津測定局、美作県民局で他地点より高くなり、イオン成分の割合は美作県民局で他地点より低くなった。県北の地点でも、新見測定局ではイオン成分の割合が美作県民局より高くなった。ただし、地点間の構成割合の差異は数%の範囲であり、最大でも10%程

度の差であった。

次に、図3に平成25～27年度の主要成分ごとの年平均濃度を示した。各成分の濃度は年度間で変動していたが、同一年度では全ての地点でほぼイオン成分、炭素成分、無機元素成分の順に低下した。

炭素成分のOC濃度(2.6～4.8μg/m³)は美作県民局で最も高く、EC濃度(1.1～3.1μg/m³)は長津測定局で最も高くなり、これら2地点の炭素成分濃度を引き上げていた。また、全ての地点でOC濃度はEC濃度より高かった(約1.1～3.4倍)。炭素成分の構成は、市街地の総社測定局、美作県民局、新見測定局でOC70～75%、EC25～30%程度となり、自排局の長津測定局と沿岸部の茂平測定局でECの割合が高くなった(40～50%程度)。

無機元素成分の濃度は、全ての地点でFe、Al、Zn、その他(Mn、Cr、Ni、Be、As、Cu、V、Pb、Se、Cd合計)の順に低下する傾向になった。検出下限値未満になる測定結果等もあり、定量的な評価には留意が必要であると

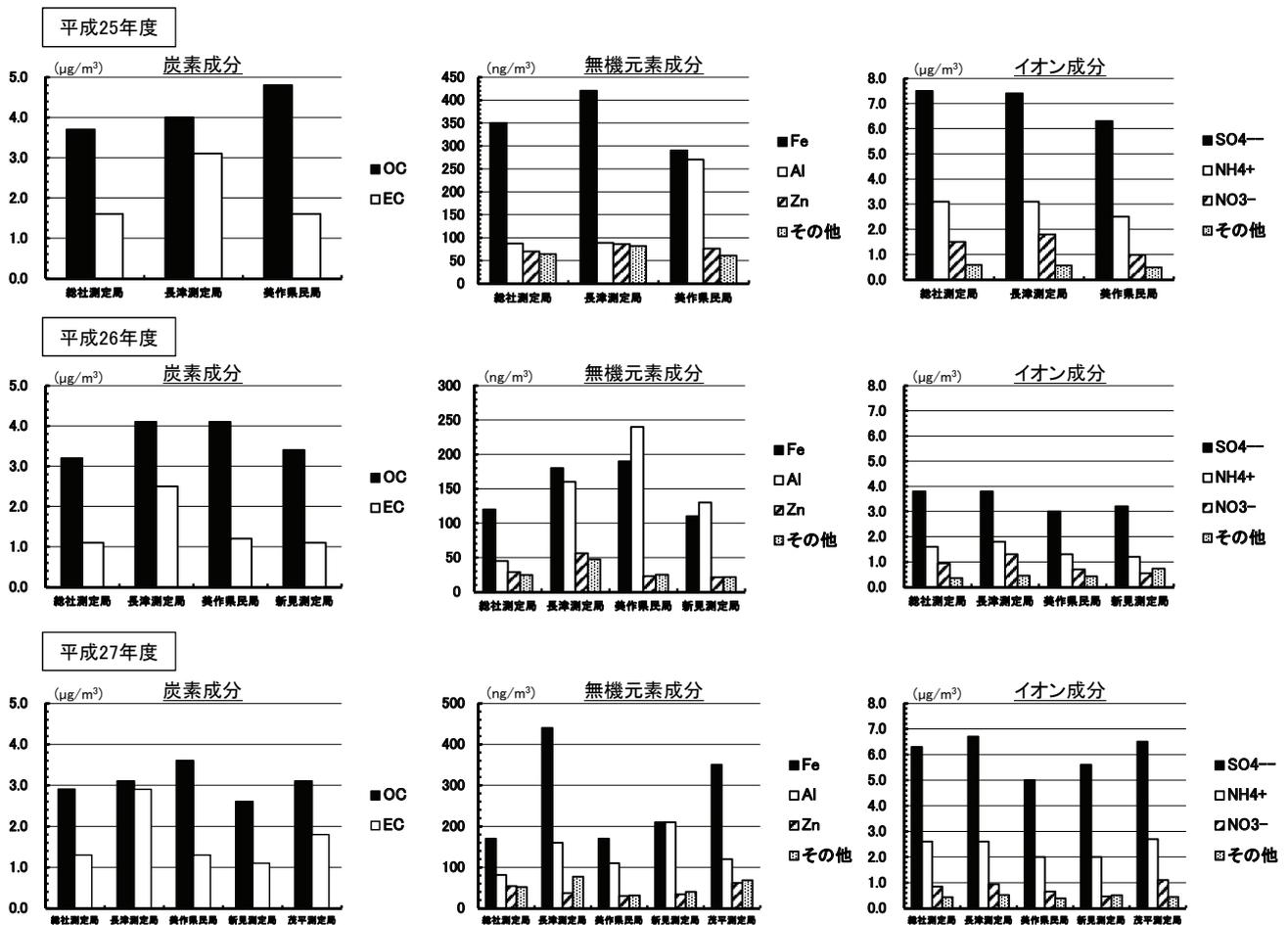


図3 平成25～27年度の主要成分ごとの年平均濃度

考えられる。

イオン成分の濃度は、 SO_4^{2-} ($3.0 \sim 7.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、 NH_4^+ ($1.2 \sim 3.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、 NO_3^- ($0.46 \sim 1.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$) の順に低下した。同一年度では県南の地点で県北の地点より SO_4^{2-} 濃度が15～35%程度、 NO_3^- 濃度が30～240%程度高くなり、各地点の NH_4^+ 濃度は SO_4^{2-} や NO_3^- など負イオンの濃度に連動して増減していた。イオン成分の構成は SO_4^{2-} が50～60%、 NH_4^+ が20～25%、 NO_3^- が10～20%程度であり、県南の地点で NO_3^- がより高く、県北の地点で SO_4^{2-} がより高くなる傾向がみられた。その他のイオン成分は、 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ 、 NO_3^- と比較して濃度は低く (Na^+ $0.085 \sim 0.19 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 K^+ $0.12 \sim 0.26 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 Mg^{2+} $0.010 \sim 0.026 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 Cl^- $0.011 \sim 0.12 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 Ca^{2+} $0.033 \sim 0.44 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、構成

割合も小さかった。新見測定局では Ca^{2+} 、長津測定局と美作県民局では K^+ や Cl^- の濃度が他地点より高くなる結果もみられた。

表2に示した平成25、26年度の全国の測定結果¹³⁾と比較すると、炭素成分のうちOC濃度が長津測定局と美作県民局で $0.9 \sim 1.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、EC濃度が長津測定局で $1.5 \sim 1.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の範囲で高くなり、イオン成分のうち総社・長津測定局で SO_4^{2-} 濃度が $0.2 \sim 2.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 NO_3^- 濃度が $0.08 \sim 0.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の範囲で高くなった。PM2.5の構成割合はすべての成分で数%の範囲の差であり、ECが長津測定局で高く、 SO_4^{2-} が美作県民局で低くなっていた。測定対象に含まれないその他成分の割合は全ての地点で全国平均よりも高く、最大10%程度の差のある地点もあった。

表2 平成25,26年度の主要成分ごとの年平均濃度及び構成割合

平成25年度	濃度($\mu\text{g}/\text{m}^3$)							PM2.5質量濃度
	炭素成分		イオン成分				その他	
	OC	EC	SO_4^{2-}	NH_4^+	NO_3^-	他イオン		
総社測定局	3.7	1.6	7.5	3.1	1.5	0.58	9.02	27.3
長津測定局	4.0	3.1	7.4	3.1	1.8	0.56	9.38	29.7
美作県民局	4.8	1.6	6.3	2.5	0.98	0.49	9.1	26.1
全国平均 (一般環境)	3.1	1.3	5.5	2.4	1.3	0.55	4.2	18.3

全国平均の各成分の濃度はPM2.5質量濃度と各成分の構成割合から算出した

平成26年度	濃度($\mu\text{g}/\text{m}^3$)							PM2.5質量濃度
	炭素成分		イオン成分				その他	
	OC	EC	SO_4^{2-}	NH_4^+	NO_3^-	他イオン		
総社測定局	3.2	1.1	3.8	1.6	0.94	0.36	5.18	16.3
長津測定局	4.1	2.5	3.8	1.8	1.3	0.45	6.26	20.5
美作県民局	4.1	1.2	3.0	1.3	0.70	0.42	6.44	17.4
新見測定局	3.4	1.1	3.2	1.2	0.55	0.73	5.65	16.0
全国平均 (一般環境)	3.1	1.0	3.6	1.4	0.86	0.43	3.9	14.3

全国平均の各成分の濃度はPM2.5質量濃度と各成分の構成割合から算出した

平成25年度	割合						
	炭素成分		イオン成分				その他
	OC	EC	SO_4^{2-}	NH_4^+	NO_3^-	他イオン	
総社測定局	14%	6%	27%	11%	5%	2%	33%
長津測定局	13%	10%	25%	10%	6%	2%	32%
美作県民局	18%	6%	24%	10%	4%	2%	35%
全国平均 (一般環境)	17%	7%	30%	13%	7%	3%	23%

平成26年度	割合						
	炭素成分		イオン成分				その他
	OC	EC	SO_4^{2-}	NH_4^+	NO_3^-	他イオン	
総社測定局	20%	7%	23%	10%	6%	2%	32%
長津測定局	20%	12%	19%	9%	6%	2%	31%
美作県民局	24%	7%	17%	7%	4%	2%	37%
新見測定局	21%	7%	20%	8%	3%	5%	35%
全国平均 (一般環境)	22%	7%	25%	10%	6%	3%	27%

3.2 期間評価

平成25～27年度のPM2.5質量濃度の各期間の平均濃度及び構成割合を表3と図4-1～4-3にまとめた。同じ季節であっても年度間で期間平均濃度・構成割合は変動してお

り、数日間の調査結果から季節や地点の成分傾向を評価するには留意が必要であると考えられた。期間平均濃度には、いずれの季節でも特に高濃度になる期間はみられず、また県南の地点で県北の地点より高くなる傾向になっ

表3 平成25～27年度の各期間のPM2.5平均濃度及び構成割合

平成25年度					平成25年度					
		炭素成分	無機元素成分	イオン成分	濃度(μg/m ³) PM2.5質量濃度			炭素成分	無機元素成分	イオン成分
春季	総社測定局	4.0	0.72	14	26.0	春季	総社測定局	15%	3%	54%
	長津測定局	4.4	0.71	16	29.2		長津測定局	15%	2%	55%
	美作県民局	4.7	0.58	11	23.0		美作県民局	20%	3%	48%
夏季	総社測定局	4.6	0.36	12	25.2	夏季	総社測定局	18%	1%	48%
	長津測定局	6.3	0.64	13	27.2		長津測定局	23%	2%	48%
	美作県民局	4.8	0.52	11	24.1		美作県民局	20%	2%	46%
秋季	総社測定局	5.6	0.32	9.0	22.7	秋季	総社測定局	25%	1%	40%
	長津測定局	8.6	0.38	9.2	27.0		長津測定局	32%	1%	34%
	美作県民局	7.0	0.31	8.0	23.1		美作県民局	30%	1%	35%
冬季	総社測定局	7.0	0.88	14	35.4	冬季	総社測定局	20%	2%	40%
	長津測定局	8.7	0.96	14	35.4		長津測定局	25%	3%	40%
	美作県民局	9.1	1.4	11	34.0		美作県民局	27%	4%	32%
平成26年度					平成26年度					
		炭素成分	無機元素成分	イオン成分	濃度(μg/m ³) PM2.5質量濃度			炭素成分	無機元素成分	イオン成分
春季	総社測定局	4.4	0.26	11	24.3	春季	総社測定局	18%	1%	45%
	長津測定局	6.5	0.80	13	28.4		長津測定局	23%	3%	46%
	美作県民局	5.4	0.45	7.2	23.6		美作県民局	23%	2%	31%
	新見測定局	4.7	0.37	8.0	22.6		新見測定局	21%	2%	35%
夏季	総社測定局	3.7	0.16	5.5	14.0	夏季	総社測定局	26%	1%	39%
	長津測定局	4.6	0.29	5.5	14.3		長津測定局	32%	2%	38%
	美作県民局	4.0	0.41	4.9	12.8		美作県民局	31%	3%	38%
	新見測定局	5.8	0.22	6.4	16.6		新見測定局	35%	1%	39%
秋季	総社測定局	6.2	0.17	3.3	16.0	秋季	総社測定局	39%	1%	21%
	長津測定局	11	0.35	3.7	25.0		長津測定局	44%	1%	15%
	美作県民局	7.6	0.76	3.5	19.9		美作県民局	38%	4%	18%
	新見測定局	4.8	0.29	3.2	13.2		新見測定局	36%	2%	24%
冬季	総社測定局	2.8	0.18	6.8	10.8	冬季	総社測定局	26%	2%	63%
	長津測定局	3.9	0.31	7.3	14.4		長津測定局	27%	2%	51%
	美作県民局	4.2	0.28	6.1	13.2		美作県民局	32%	2%	46%
	新見測定局	2.7	0.24	5.3	11.5		新見測定局	23%	2%	46%
平成27年度					平成27年度					
		炭素成分	無機元素成分	イオン成分	濃度(μg/m ³) PM2.5質量濃度			炭素成分	無機元素成分	イオン成分
春季	総社測定局	2.8	0.28	6.6	15.4	春季	総社測定局	18%	2%	43%
	長津測定局	4.0	0.63	7.4	17.2		長津測定局	23%	4%	43%
	美作県民局	3.4	0.4	6.3	14.7		美作県民局	23%	3%	43%
	新見測定局	2.9	0.36	7.8	16.0		新見測定局	18%	2%	49%
	茂平測定局	4.5	0.74	7.9	20.4		茂平測定局	22%	4%	39%
夏季	総社測定局	5.1	0.38	13	31.3	夏季	総社測定局	16%	1%	42%
	長津測定局	7.4	0.89	13	30.7		長津測定局	24%	3%	42%
	美作県民局	5.0	0.17	8.1	22.2		美作県民局	23%	1%	36%
	新見測定局	4.2	0.28	9.4	22.8		新見測定局	18%	1%	41%
	茂平測定局	4.5	0.44	11	24.2		茂平測定局	19%	2%	45%
冬季	総社測定局	4.8	0.41	11	22.0	冬季	総社測定局	22%	2%	50%
	長津測定局	6.7	0.63	12	25.2		長津測定局	27%	3%	48%
	美作県民局	6.3	0.47	9.4	22.0		美作県民局	29%	2%	43%
	新見測定局	3.8	0.85	8.4	17.3		新見測定局	22%	5%	49%
	茂平測定局	5.7	0.63	13	23.7		茂平測定局	24%	3%	55%

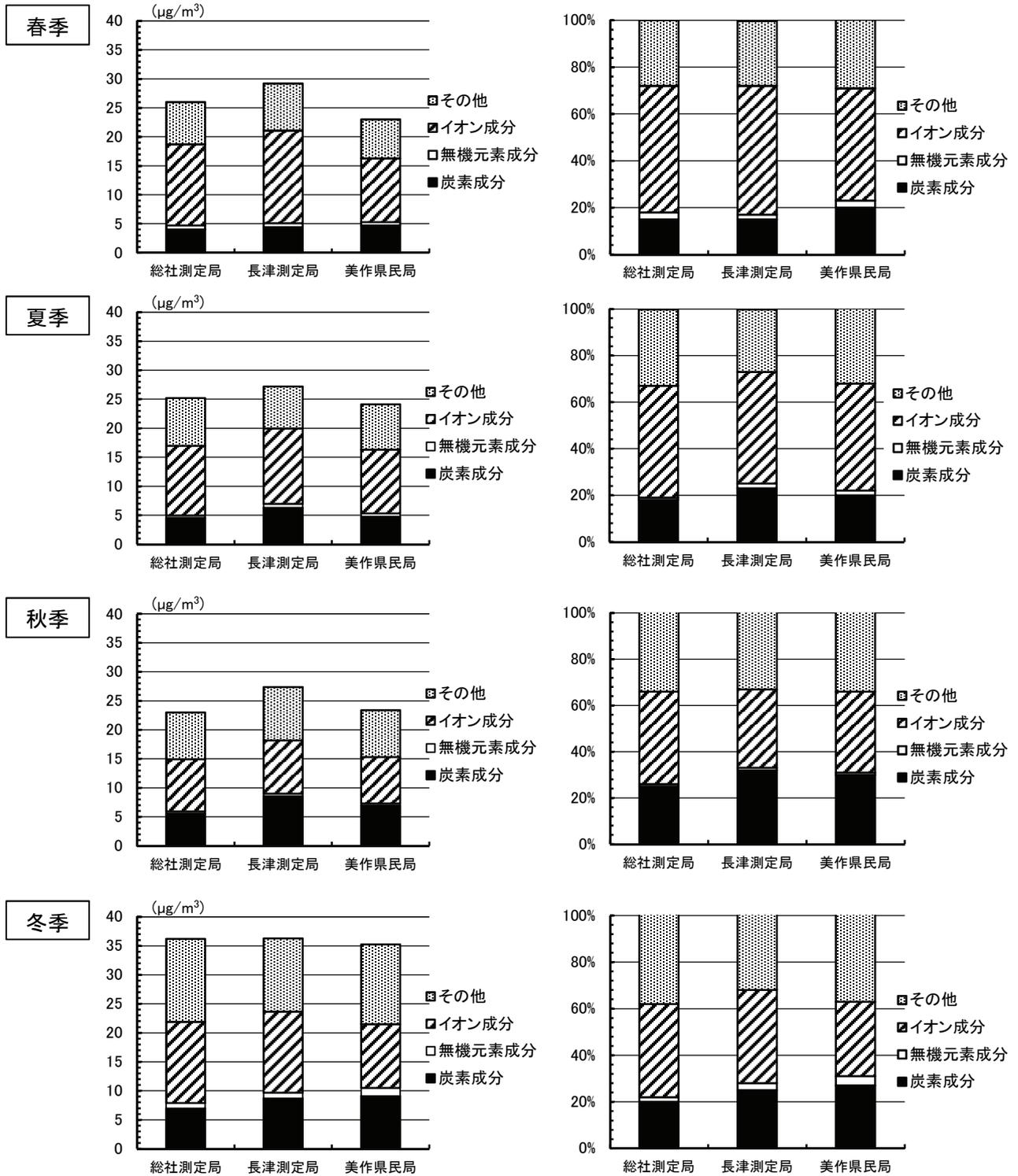


図4-1 平成25年度の各期間のPM2.5平均濃度及び構成割合

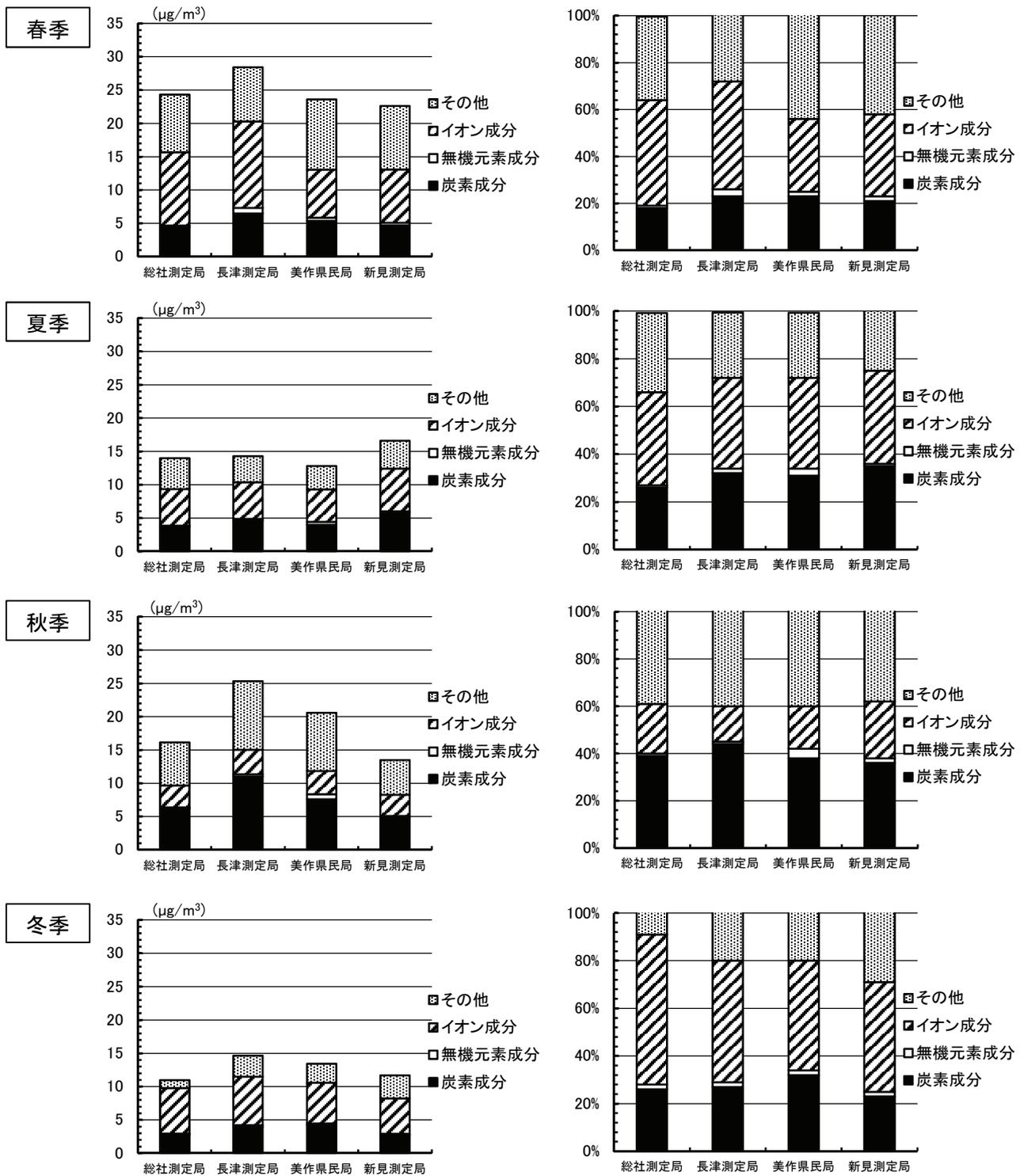


図4-2 平成26年度の各期間のPM2.5平均濃度及び構成割合

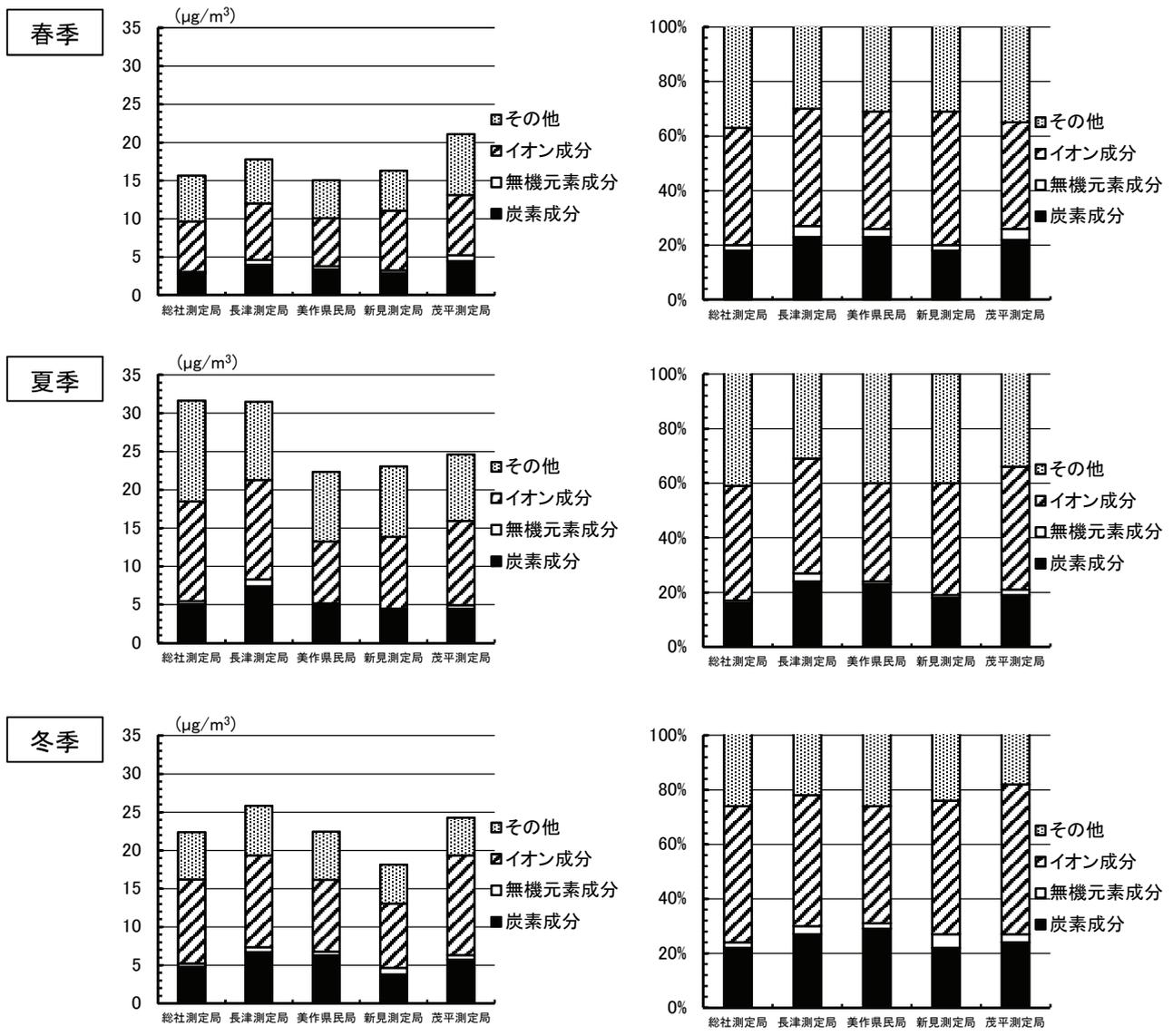


図4-3 平成27年度の各期間のPM2.5平均濃度及び構成割合

た。

炭素成分は秋季に地点間の濃度差 (1.4 ~ 6.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) が他期間 (0.10 ~ 2.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) より大きくなった。炭素成分の濃度が長津測定局で秋季に高くなりやすかったことが地点間の濃度差に寄与していた。無機元素成分の濃度は概ね1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下で推移していた。イオン成分は秋季に地点間の濃度差 (0.1 ~ 1.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) が他期間 (0 ~ 5.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) より小さくなって県南・県北の地点間の濃度差も小さかった。秋季のPM2.5質量濃度は、イオン成分の濃度が減少したものの、炭素成分の濃度が増加したために他期間より低くなることはなかった。

炭素成分の濃度は長津測定局や美作県民局で他地点より高く、イオン成分の濃度は県南の地点で県北の地点より高くなる傾向がみられた。イオン成分の濃度には、県

北の地点の新見測定局でも平成26年度夏季や平成27年度春季のように同等以上に高くなる期間があった。

PM2.5の構成割合は、年平均と同様にイオン成分が最も多くを占め、炭素成分、無機元素成分の順に低下した(なお、平成26年度秋季は各地点で炭素成分がイオン成分より多くを占めた)。成分濃度の増減に応じて、炭素成分の割合が秋季(25 ~ 45%程度)に春・夏・冬季(15 ~ 35%程度)より増加して、イオン成分の割合が秋季 (15 ~ 40%程度)に春・夏・冬季 (30 ~ 65%程度)より減少する傾向がみられた。炭素成分の地点間の割合差は、濃度の場合と異なって秋季に他期間より大きくなることはなかった。イオン成分の割合は、県南の地点で春・冬季に50%を超過して県北の地点と最大15%程度差のある年度があった。無機元素成分の割合は、秋・冬季 (0 ~ 1%)より春・夏季 (0 ~

3%)に増加した。

次に、図5-1～5-3に平成25～27年度の各期間の主要成分ごとの期間平均濃度を示した。炭素成分のうちOC濃度は秋季を除く期間で美作県民局で高くなりやすく、秋季には長津測定局で増加して最も高くなっていた。EC濃度は自排局の長津測定局で最も高く、沿岸部の茂平局でも高くなったが、市街地の総社・新見測定局や美作県民局では同じ程度の濃度で推移していた。過去の調査では、秋

季から冬季のわら焼き作業などの野焼きがPM2.5の濃度増加に關与する可能性があったことやOC濃度が増加した一方でEC濃度には差がみられなかったことを報告している^{6, 10)}。炭素成分の構成は、総社・新見測定局や美作県民局でOCが60～80%、ECが20～40%程度となり冬季にECの割合が増加し、長津測定局でOCが45～70%、ECが30～55%程度となり秋季にOCの割合が増加した。

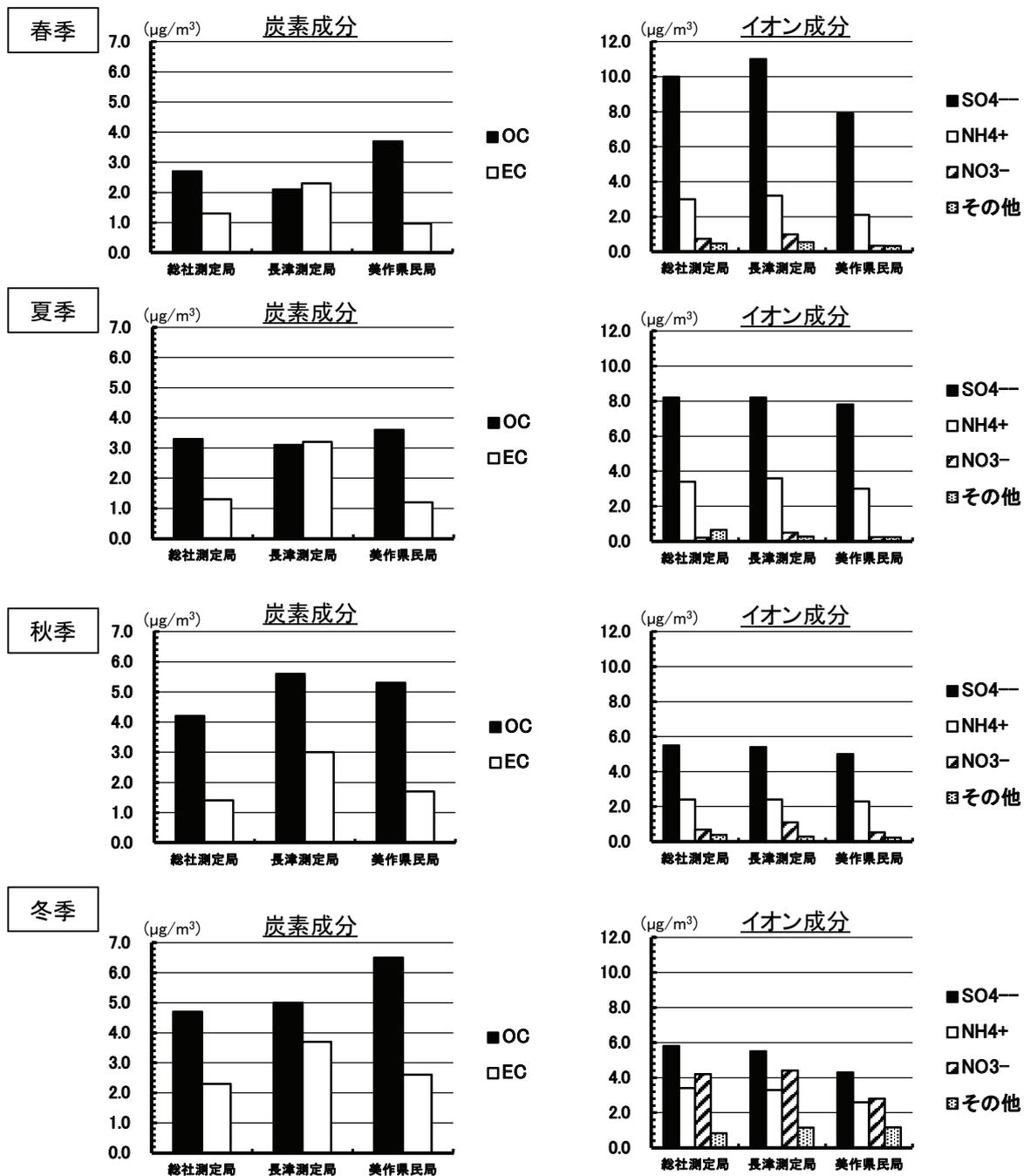


図5-1 平成25年度の各期間の主要成分ごとの期間平均濃度

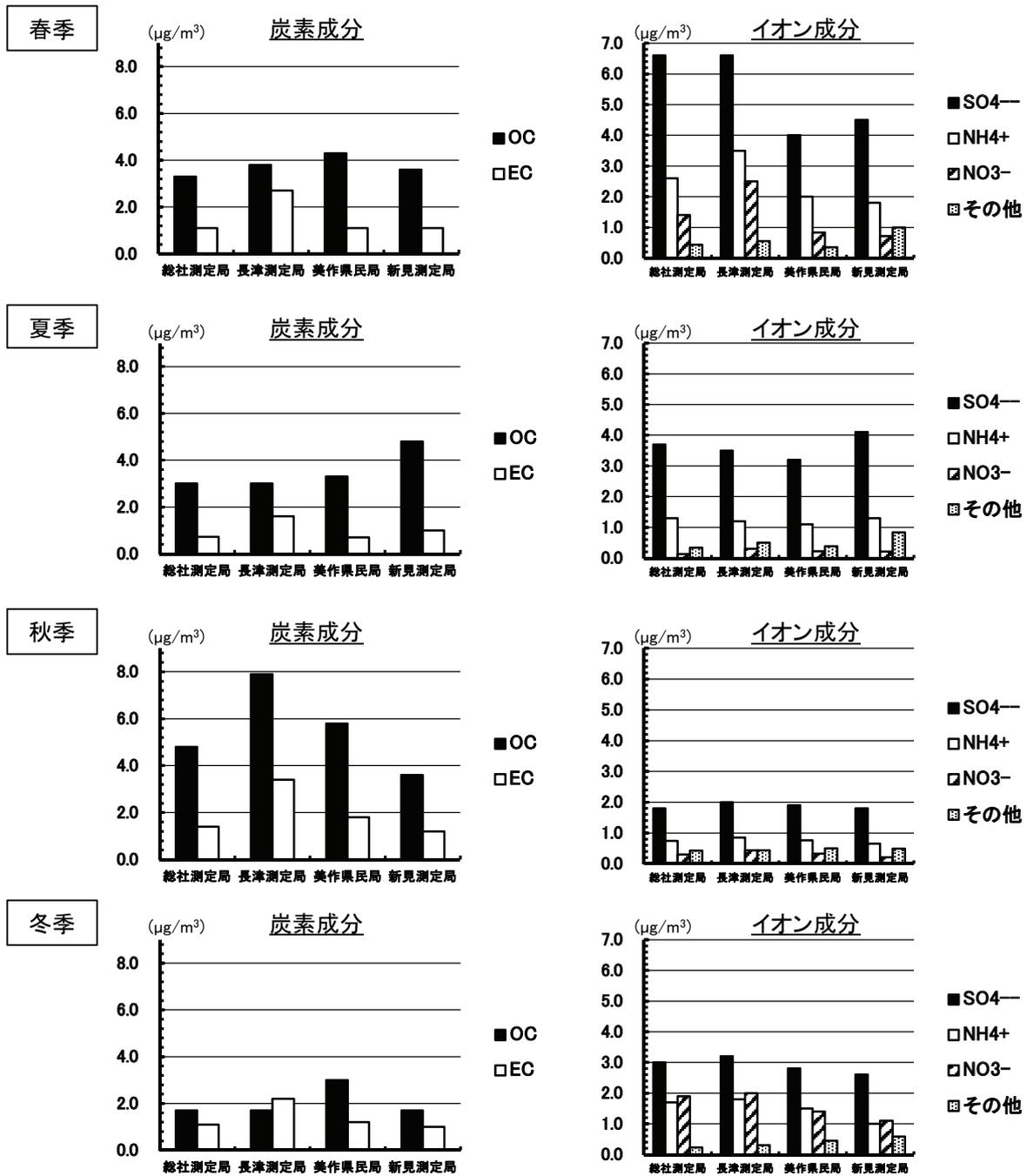


図5-2 平成26年度の各期間の主要成分ごとの期間平均濃度

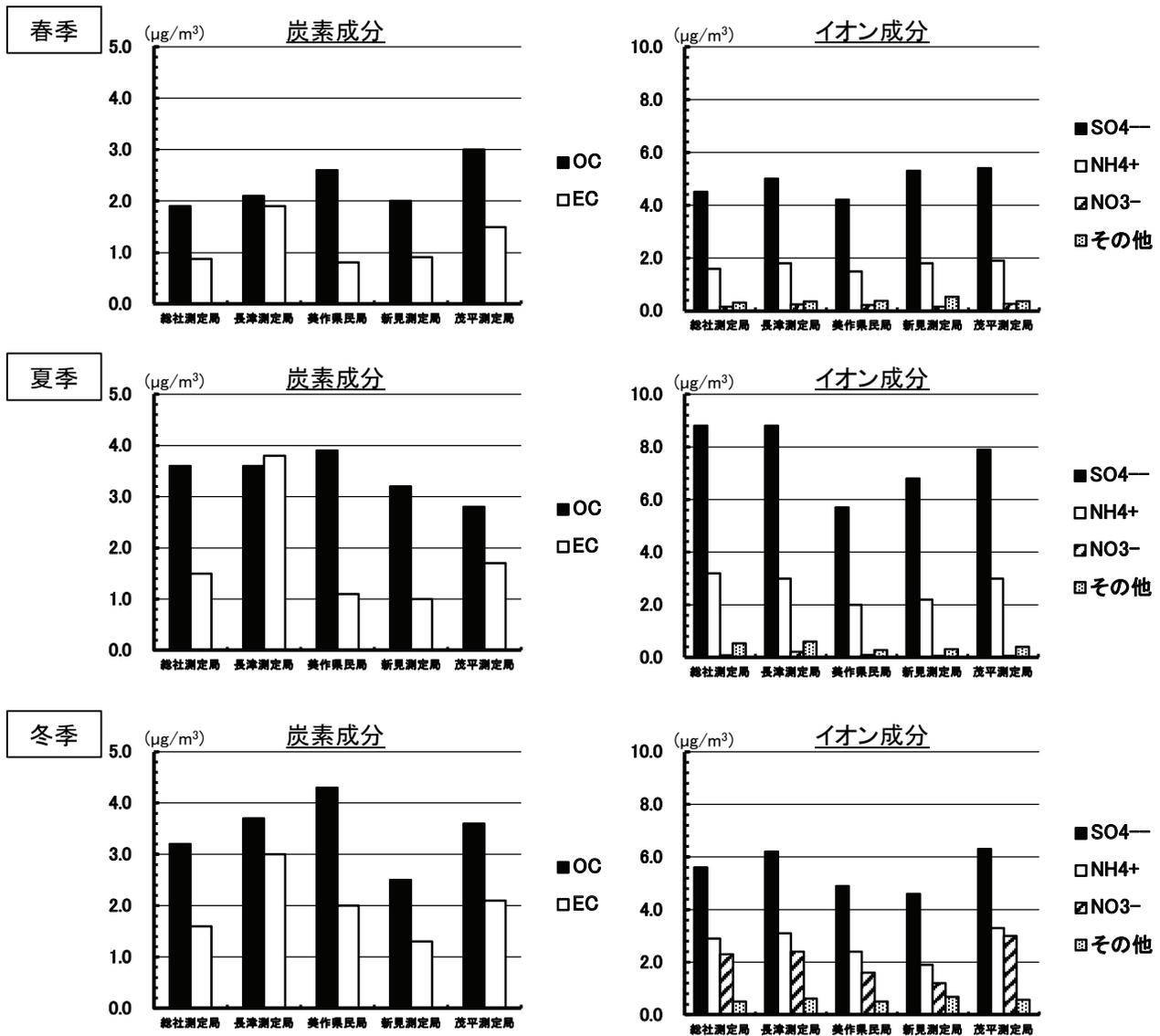


図5-3 平成27年度の各期間の主要成分ごとの期間平均濃度

イオン成分の SO_4^{2-} 濃度は春・夏季に、 NO_3^- 濃度は冬季に他期間より高くなった。この傾向は過去の調査結果と同様であった⁹⁾。 SO_4^{2-} 、 NO_3^- の期間平均濃度は、年平均の場合と同様に県南の地点で県北の地点より高くなる期間が多かった。県北の地点でも、新見測定局では美作県民局より SO_4^{2-} 濃度が春・夏季に高くなって、 NO_3^- 濃度が冬季でも低くなった。 NH_4^+ 濃度は、いずれの季節でも SO_4^{2-} や NO_3^- など負イオンの濃度に連動して増減した。イオン成分の構成は、 SO_4^{2-} が40～70%、 NH_4^+ が20～30%、 NO_3^- が0～30%程度であり、いずれも地点間の割合差は数%程度であった。 SO_4^{2-} の割合は春・夏季に、 NO_3^- の割合は冬季に増加して差があり、 NH_4^+ の割合は両イオンに比較し

て小さい季節間の変動だった。

4 まとめ

平成25～27年度の間、県下5調査地点でPM2.5構成成分の状況を観測した。3カ年分の観測結果をとりまとめたところ、次に示す各地点の主要成分の特徴等を観測できた。

- (1)PM2.5質量濃度は、年間評価及び期間評価で県南の調査地点(総社・長津・茂平測定局)で県北の調査地点(美作県民局, 新見測定局)より高くなる傾向になった。
- (2)主要成分の年平均濃度・構成割合は、全ての地点でイオン成分($5.4 \sim 13\mu\text{g}/\text{m}^3$, 30～50%), 炭素成分(3.7～7.1

- $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 20 ~ 30%), 無機元素成分 (219 ~ 714 ng/m^3 , 2 ~ 3%) の順に低下した。主要成分の濃度・構成割合の高低の傾向は期間評価でも同様であった。
- (3)年間評価では、炭素成分の濃度は県北の美作県民局でOC濃度が高く、長津測定局でEC濃度が高くなり両地点の炭素成分濃度を引き上げていた。炭素成分の構成は、総社測定局、美作県民局、新見測定局でOCが70 ~ 75%, ECが25 ~ 30%程度となり、長津測定局と茂平測定局でECの割合が高くなった (40 ~ 50%程度)。
- (4)年間評価では、イオン成分の濃度は県南の地点で県北の地点より15 ~ 35%程度高くなった。イオン成分のうち SO_4^{2-} 濃度が15 ~ 35%程度、 NO_3^- 濃度が30 ~ 240%程度高くなり、県南・県北の地点間のPM2.5質量濃度の差に寄与していた。イオン成分の構成は SO_4^{2-} が50 ~ 60%, NO_3^- が10 ~ 20%程度であり、県南の地点で NO_3^- がより高く、県北の地点で SO_4^{2-} がより高い割合になる傾向がみられた。
- (5)期間評価では、炭素成分の割合が秋季 (25 ~ 45%程度) に春・夏・冬季 (15 ~ 35%程度) より増加し、イオン成分の割合が秋季 (15 ~ 40%程度) に春・夏・冬季 (30 ~ 65%程度) より減少する傾向がみられた。イオン成分の割合には県南の地点で春・冬季に50%を超過して県北の地点と最大15%程度差のある年度がみられた。
- (6)期間評価では、炭素成分の構成は総社測定局、美作県民局、新見測定局で冬季にECの割合が増加し、長津測定局で秋季にOCの割合が増加した。イオン成分の SO_4^{2-} , NO_3^- 濃度が県南の地点で県北の地点より高くなる期間が多かった。

参考文献

- 1) 喜多真帆, 中野温朗, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋: 自動測定機を用いたPM2.5 とSPM及びその他の物質の相関について, 岡山県環境保健センター年報38, 1-5, 2014
- 2) 中野温朗, 深見武史, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋:岡山県におけるPM2.5に係る平成23年度の観測結果について, 岡山県環境保健センター年報37, 1-8, 2013
- 3) 杉山広和, 信森達也, 野村 茂, 前田 泉: 環境中の大気汚染物質に関する研究 (微小粒子PM2.5による大気汚染) -第2報-, 岡山県環境保健センター年報32, 7-10, 2008
- 4) 杉山広和, 信森達也, 前田 泉: 環境中の大気汚染物質に関する研究 (微小粒子PM2.5による大気汚染) -第3報-, 岡山県環境保健センター年報32, 11-16, 2008
- 5) 杉山広和, 石井尚志, 野村 茂, 門田 実, 前田 泉: 環境中の大気汚染物質に関する研究 (微小粒子状物質PM2.5による大気汚染) -第4報-, 岡山県環境保健センター年報33, 1-5, 2009
- 6) 石井尚志, 野村 茂, 中桐未知代, 山辺真一: 環境中の大気汚染物質に関する研究 (微小粒子PM2.5による大気汚染) -第5報-, 岡山県環境保健センター年報34, 7-10, 2010
- 7) 林 隆義, 中桐未知代, 野村 茂, 小川 登, 片岡敏夫, 中桐基晴: 環境中の大気汚染物質に関する研究 (微小粒子PM2.5による大気汚染) -第6報-, 岡山県環境保健センター年報35, 1-7, 2011
- 8) 中桐未知代, 吉岡敏行, 林 隆義, 野村 茂, 中桐基晴: 環境中の大気汚染物質に関する研究 (微小粒子PM2.5による大気汚染) -第7報-, 岡山県環境保健センター年報35, 9-18, 2011
- 9) 林 隆義, 中桐未知代, 野村 茂, 小川 登, 深見武史, 中桐基晴: 環境中の大気汚染物質に関する研究 (微小粒子状物質PM2.5による大気汚染) -第8報-, 岡山県環境保健センター年報36, 1-8, 2012
- 10) 中桐未知代, 林 隆義, 野村 茂, 小川 登, 深見武史, 中桐基晴: 環境中の大気汚染物質に関する研究 (微小粒子状物質PM2.5による大気汚染) -第9報-, 岡山県環境保健センター年報36, 9-16, 2012
- 11) 中野温朗, 間野遼太, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋:岡山県下における微小粒子状物質の成分の実態について, 岡山県環境保健センター年報39, 1-9, 2015
- 12) 中野温朗, 間野遼太, 喜多真帆, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋:岡山県下における微小粒子状物質の成分の実態について (第2報), 岡山県環境保健センター年報39, 11-19, 2015
- 13) 環境省:大気汚染状況について
<http://www.env.go.jp/air/osen/index.html>

【資 料】

岡山県における平成 27 年度酸性雨調査結果

Acid rain survey result in Okayama Prefecture in 2015

間野遼太, 喜多真帆, 中野温朗, 野村 茂, 信森達也, 鷹野 洋 (大気科)

Ryouta Mano, Maho Kita, Atsurou Nakano, Shigeru Nomura,

Tatsuya Nobumori, Hiroshi Takano (Atmosphere Section)

要 旨

岡山県では平成 2 年度から酸性雨に関する調査を実施しており、平成 27 年度の調査結果をまとめた。平成 27 年度における美作局の pH 年平均値は 4.86 であり、全国平均値と近い値であったが、井笠事務所の pH 年平均値は 5.21 であり、全国平均値よりも高い傾向にあった。また、pH 年平均値は美作局、井笠事務所ともに例年と同程度の値であり、大きな変化は見られなかった。井笠事務所における降水の pH が高い要因の 1 つとして、土壌粒子、道路粉じん及び工場排ガス等に由来する $nss-Ca^{2+}$ 濃度が高いことが考えられ、 $nss-SO_4^{2-}$ が $nss-Ca^{2+}$ の対イオンとなっている可能性が考えられた。

[キーワード：酸性雨, バルク式捕集, イオン成分]

[Key words : Acid Rain, Bulk Sampling, Ion Component]

1 はじめに

酸性雨とは、化石燃料の燃焼等により発生した硫黄酸化物 (SO_x) や窒素酸化物 (NO_x) が大気中で酸化されて硫酸や硝酸となり、これらが溶け込むことによって強い酸性を示す降雨をいい、一般的に pH5.6 以下のものを指す^{1, 2)}。昭和 30 年頃から欧米において酸性雨の影響による湖沼の酸性化及び森林被害が国際問題になり始め、日本では昭和 49 年頃には関東地方に酸性度の強い雨が降り、多くの人に目の痛みなどの健康被害が発生した^{1, 3)}。その後、多くの自治体で酸性雨調査が行われてきた経緯がある¹⁾。

本県においては、酸性雨の実態及び長期的影響を把握することを目的として、平成 2 年度から酸性雨に関する調査を実施しており、平成 23 年度及び平成 26 年度の酸性雨調査結果を既報^{4, 5)}にて報告している。本報では、平成 27 年度に実施した調査結果について報告する。

2 調査方法

2.1 調査地点

調査地点を図 1 に示す。調査地点は 2 地点あり、美作県民局 (以下「美作局」という。) は岡山県北部にある津山盆地の中央付近 (津山市山下 53) に位置し、井笠地域事務所 (以下「井笠事務所」という。) は岡山県南西部の広島県との県境付近 (笠岡市六番町 25) に位置している。また、2 地点とも周辺は商業地域となっている。



図 1 調査地点

2.2 試料採取

美作局及び井笠事務所の屋上に常時開放型ろ過式バルクサンプラー (非冷蔵保存) を設置して、降水 (降雪を含む。) の捕集を行った。常時開放型ろ過式バルクサンプラーに捕集された降水を月に 2 回、約 2 週間ごとに採取した。表 1 に平成 27 年度における採取期間を示す。なお、美作局における 8 月採取分は美作局屋上での防水工事に伴い、降水量以外の項目を欠測、井笠事務所における 10 月前半採取分は鳥のふん混入の可能性が考えられたため、降水量以外の項目を欠測とした。また、10 月後半採取分については 2 地点とも貯水無しであった。

表1 平成27年度における採取期間

月	採取期間			
	美作局		井笠事務所	
	開始日	終了日	開始日	終了日
4	3/19	~ 4/9	3/19	~ 4/9
	4/9	~ 4/23	4/9	~ 4/23
5	4/23	~ 5/7	4/23	~ 5/7
	5/7	~ 5/21	5/7	~ 5/21
6	5/21	~ 6/4	5/21	~ 6/4
	6/4	~ 6/18	6/4	~ 6/18
7	6/18	~ 7/2	6/18	~ 7/2
	7/2	~ 7/16	7/2	~ 7/16
8	※1 7/16	~ 8/6	7/16	~ 8/6
	※1 8/6	~ 8/20	8/6	~ 8/20
9	8/20	~ 9/3	8/20	~ 9/3
	9/3	~ 9/24	9/3	~ 9/17
10	9/24	~ 10/8	※1 9/17	~ 10/8
	※2 10/8	~ 10/22	※2 10/8	~ 10/22
11	10/22	~ 11/5	10/22	~ 11/5
	11/5	~ 11/19	11/5	~ 11/19
12	11/19	~ 12/3	11/19	~ 12/3
	12/3	~ 12/17	12/3	~ 12/17
1	12/17	~ 1/7	12/17	~ 1/7
	1/7	~ 1/21	1/7	~ 1/21
2	1/21	~ 2/4	1/21	~ 2/4
	2/4	~ 2/18	2/4	~ 2/18
3	2/18	~ 3/3	2/18	~ 3/3
	3/3	~ 3/17	3/3	~ 3/17

※1 降水量以外の項目は欠測 ※2 貯水無し

2.3 分析項目及び分析方法

分析項目はpH、電気伝導率（以下「EC」という。）、イオン成分濃度とし、分析方法を表2に示す。pH及びECの測定には採取した試料をそのまま使用したが、イオン成分濃度の測定には採取した試料をメンブレンフィルター（ADVANTEC製13HP045AN、孔径0.45 μm）でろ過したものを使用した。なお、分析項目及び分析方法は環境省の「湿性沈着モニタリング手引き書（第2版）」⁶⁾に準拠した。

表2 分析方法

分析項目	分析方法
pH	ガラス電極法 (pH測定器:堀場製作所製 F-71)
EC	電気伝導率計法 (東亜ディーケーケー製 CM-30R)
イオン成分濃度	イオンクロマトグラフ法 (日本ダイオネクス製 ICS-1600)
Na ⁺	
NH ₄ ⁺	
K ⁺	
Mg ²⁺	
Ca ²⁺	
Cl ⁻	
NO ₃ ⁻	
SO ₄ ²⁻	

3 結果及び考察

平成27年度における各調査地点の調査結果（年間降水量、pH年平均値、EC年平均値及びイオン成分濃度年平均値）を表3に示す。各項目における平均値は、降水量で重み付けした加重平均値として算出した。なお、加重平均値は次式により求めた。

$$\text{pH加重平均値} = -\log \frac{\sum (10^{-\text{pH}_i} \times Q_i)}{\sum Q_i}$$

$$\text{EC加重平均値} = \frac{\sum (EC_i \times Q_i)}{\sum Q_i}$$

$$\text{イオン成分濃度加重平均値} = \frac{\sum (C_i \times Q_i)}{\sum Q_i}$$

* pH_i : 各測定時のpH, EC_i : 各測定時のEC, C_i : 各測定時のイオン成分濃度, Q_i : 各測定時の降水量

また、Ca²⁺及びSO₄²⁻は海塩由来(ss)と非海塩由来(nss)のものが存在する。本報ではNa⁺を全て海塩由来のものとして仮定した上で、海塩中におけるそれぞれのイオンの存在割合⁷⁾から海塩由来及び非海塩由来の濃度を算出し、海塩由来のものにss、非海塩由来のものにnssをつけて結果を示している⁸⁾。

3.1 降水量

平成27年度における各調査地点の降水量の経月変化を図2に示す。図2から、降水量は3、10月以外の月において、井笠事務所よりも美作局の方が多かった。このことが影響し、表3に示した年間降水量は井笠事務所よりも美作局の方が多かった。美作局については7、8、9、11月、井笠事務所については8、9月の降水量が多く、梅雨（平成27年6月2日～7月24日）⁹⁾及び台風（11号（7月）、12号（7月）、15号（8月）、18号（9月））⁹⁾の影響が大きいと考えられる。また、美作局の11月については気圧の谷や寒気、低気圧や前線、湿った空気の影響で雨の日が多く、7、8、9月と同程度の降雨日が観測されたことに加え、50mm以上の日降

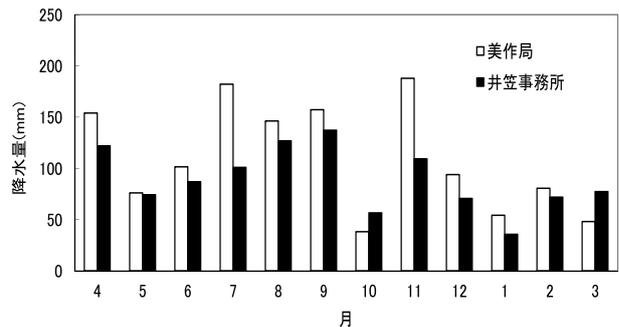


図2 降水量の経月変化

表3 平成27年度調査結果

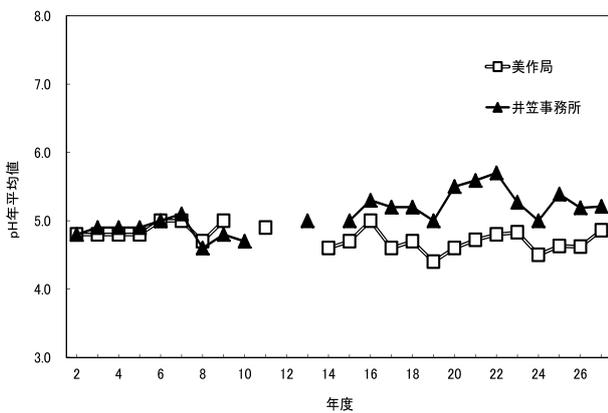
調査地点	年間降水量 (mm)	pH	EC (mS/m)	イオン成分濃度(μeq/L)										
				Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	ss-Ca ²⁺	nss-Ca ²⁺	H ⁺	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	ss-SO ₄ ²⁻	nss-SO ₄ ²⁻
美作局	1320.4	4.86	1.37	16.4	21.1	1.6	4.9	0.7	13.3	13.9	19.3	19.0	2.0	26.6
井笠事務所	1069.9	5.21	1.57	14.7	21.2	1.7	9.4	0.6	48.6	6.1	19.7	28.1	1.8	44.4

水量が観測された日があったことなどが影響したと考えられる⁹⁾。

3.2 pH

表3から、平成27年度における美作局のpH年平均値は4.86であり、環境省酸性雨調査(平成26年度)⁸⁾での全国平均値4.78及び全国環境研協議会全国酸性雨調査(平成25年度)¹⁰⁾での全国平均値4.84と近い値であったが、井笠事務所のpH年平均値は5.21であり、これらよりも高い傾向にあった。

pH年平均値の経年変化を図3に示す。なお、平成10、12、13年度の美作局及び平成11、12、14年度の井笠事務所は測定を実施していない。美作局におけるpH年平均値は、測定を開始した平成2年度から4.7前後で、井笠事務所におけるpH年平均値は平成16年度以降、5.2前後で推移していた。平成27年度の結果も例年と同程度の値であり、大きな変化は見られなかった。



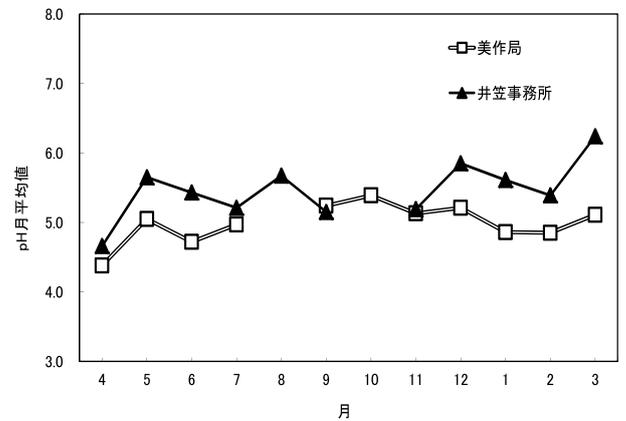
*平成10,12,13年度の美作局及び平成11,12,14年度の井笠事務所は未測定

図3 pH年平均値の経年変化

平成27年度における各調査地点のpH月平均値の経月変化を図4に示す。美作局におけるpH月平均値は4月が低かったが、5月以降はほとんど横ばいであった。井笠事務所も同様に4月が低く、5月以降はほぼ横ばいであったが、3月が高かった。これらの傾向は、既報⁵⁾で報告した平成26年度の調査結果とは異なる傾向であった。

3.3 イオン成分濃度

表3に平成27年度におけるイオン成分濃度の平均値を示したが、井笠事務所のnss-Ca²⁺濃度が美作局と比較して約4倍も高くなっており、既報^{4,5)}で報告した平成23年度及び平成26年度と同様の傾向を示していた。nss-Ca²⁺は土壌粒子、道路粉じん及び工場排ガス等に由来する成分



*8月の美作局及び10月の井笠事務所は欠測

図4 pH月平均値の経月変化

であり、酸性雨を中和する性質がある。よって、平成27年度の井笠事務所における降雨のpHが美作局に比べ、高い要因の1つとして、nss-Ca²⁺濃度が高いことが考えられた。

また、美作局と井笠事務所を比較すると、nss-Ca²⁺濃度以外にもMg²⁺、nss-SO₄²⁻濃度が美作局よりも井笠事務所の方が1.5倍以上高くなっていった。この傾向も平成23年度及び平成26年度と同様であり、井笠事務所におけるMg²⁺については、既報⁵⁾にて非海塩由来のものも含まれている可能性を報告した。井笠事務所におけるnss-SO₄²⁻は、nss-Ca²⁺同様に美作局よりも濃度が高いことから、nss-Ca²⁺の対イオンとなっている可能性が考えられた。

文 献

- 1) 環境庁地球環境部監修：酸性雨－地球環境の行方－，中央法規出版株式会社，東京，1997
- 2) 東アジア酸性雨モニタリングネットワーク：東アジア酸性雨モニタリングネットワークパンフレット
http://www.eanet.asia/jpn/publication/eanet_jpn.pdf
- 3) 環境庁大気保全局大気規制課監修：酸性雨の科学と対策，社団法人日本環境測定分析協会，東京，1994
- 4) 深見武史，小川登，林隆義，野村茂，中桐未知代，中桐基晴：2011年度における酸性雨調査，岡山県環境保健センター年報，36，21-23，2012
- 5) 間野遼太，喜多真帆，中野温朗，野村茂，信森達也，鷹野洋：岡山県における平成26年度酸性雨調査，岡山県環境保健センター年報，39，21-24，2015

- 6) 環境省：湿性沈着モニタリング手引き書（第2版）
http://www.env.go.jp/air/acidrain/man/wet_deposi/index.html
- 7) 日本海洋学会：海洋観測指針，145，1990
- 8) 環境省：平成26年度酸性雨調査結果について
<http://www.env.go.jp/air/acidrain/monitoring/h26/index.html>
- 9) 岡山地方気象台：岡山県の気象年報 平成27年（2015年）
<http://www.jma-net.go.jp/okayama/guide/geppo/nenpo27.pdf>
- 10) 堀江洋佑，岩崎綾，濱村研吾，木戸瑞佳，遠藤朋美ら：
第5次酸性雨全国調査報告書（平成25年度），全国環境研会誌，40，98-142，2015

【調査研究】

事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究

－ジフェニルジスルフィド類の水質分析法の検討－

Study on the development of analysis method of chemical substances at the time of water quality accidents

－Study of water quality analysis method of Diphenyl Disulfides－

浦山豊弘, 新 和大, 中野拓也, 山本浩司, 山本 淳 (水質科)

Toyohiro Urayama, Kazuhiro Atarashi, Takuya Nakano, Koji Yamamoto, Jun Yamamoto
(Water Section)

要 旨

酸化防止剤, 潤滑油極圧添加剤, 触媒などに使用されるジフェニルジスルフィド及びその類似物質 5 物質について, 水質試料の高感度同時分析法を検討した。ヘキサンを用いた溶媒抽出を行い, ガスクロマトグラフ質量分析計で分析することにより, 6 物質について検出下限値が 0.46 ~ 1.1 ng/L の高感度な分析法を開発することができた。河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は, それぞれ 97 ~ 115%, 100 ~ 119%であった。

[キーワード: ジフェニルジスルフィド類, 多成分同時分析, 水質, 酸化防止剤, GC/MS]

[Key words: Diphenyl Disulfides, Simultaneous analysis, Water quality, Antioxidant, GC/MS]

1 はじめに

岡山県では, 水質汚濁防止法に基づく指定物質の緊急時のモニタリングに適応可能な分析方法を検討しているが, 指定物質の中には分解性があり, 直ちに分析しなければならない物質があることも判明している¹⁾。

そこで, 分解性を有する物質の分析方法を検討することとし, 高感度の分析法が存在しない物質の中から, 酸化防止剤, 潤滑油極圧添加剤, 触媒などに使用される有機化合物であり, その用途から酸化されやすく分解性が懸念される物質であるジフェニルジスルフィド及びその類似物質 5 物質を選定した。

今回, 対象物質の試料採取以降の分解を防止する方法を検討するとともに, 高感度同時分析法を開発したので, 報

告する。

2 実験方法

2.1 分析法検討対象物質

分析法検討対象物質を表 1 に示す。

2.2 試薬

ジフェニルジスルフィド: Sigma-Aldrich 製 (純度 99%)

ジフェニルスルフィド: Sigma-Aldrich 製 (純度 99.4%)

ジ-*p*-トリルジスルフィド: Sigma-Aldrich 製 (純度 98%)

ジベンジルジスルフィド: Sigma-Aldrich 製 (純度 98%)

ビス(4-クロロフェニル)ジスルフィド: Sigma-Aldrich 製 (純度 97%)

ビス(4-メトキシフェニル)ジスルフィド: Sigma-Aldrich

表 1 検討対象物質一覧

物質名	英名	分子式	CAS 番号	分子量	モアイト ピク質量
ジフェニルジスルフィド	Diphenyl Disulfide	C ₁₂ H ₁₀ S ₂	882-33-7	218.33	218.0224
ジフェニルスルフィド	Diphenyl Sulfide	C ₁₂ H ₁₀ S	139-66-2	186.27	186.0503
ジ- <i>p</i> -トリルジスルフィド	Di- <i>p</i> -tolyl Disulfide	C ₁₄ H ₁₄ S ₂	103-19-5	246.39	246.0537
ジベンジルジスルフィド	Dibenzyl Disulfide	C ₁₄ H ₁₄ S ₂	150-60-7	246.39	246.0537
ビス(4-クロロフェニル)ジスルフィド	Bis(4-Chlorophenyl) Disulfide	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ S ₂	1142-19-4	287.23	285.9444
ビス(4-メトキシフェニル)ジスルフィド	Bis(4-methoxyphenyl) Disulfide	C ₁₄ H ₁₄ O ₂ S ₂	5335-87-5	278.39	278.0435

製（純度 97%）

フェナントレン- d_{10} : Cambridge Isotope Laboratories 製（純度 98%）

フルオランテン- d_{10} : Cambridge Isotope Laboratories 製（純度 98%）

ヘキサン, ジエチルエーテル: 和光純薬工業製 残留農薬・PCB 試験用（5000 倍濃縮保証品）

塩化ナトリウム, 無水硫酸ナトリウム: 関東化学製 残留農薬・PCB 試験用

LC-Si (1g/ 6 mL): SUPELCO 製 (Glass Tube w/PTFE Frits)

2.3 GC-MS の測定条件

使用機種: GC: Agilent7890A, MS: JMS-Q1000GC Mk II

使用カラム: DB-5MS+DG 30m × 0.25mm, 0.25 μm (Agilent 製)

カラム温度: 50°C (2min) → 20°C /min → 120°C (0 min) → 7°C /min → 310°C (5 min)

注入方法: スプリットレス パージ開始時間 1.5min

注入口温度: 250°C

注入量: 1 μL

キャリアーガス: ヘリウム (1 mL/min)

インターフェース温度: 240°C

イオン源温度: 210°C

イオン化電圧: 70eV

検出モード: SIM

モニターイオン:

ジフェニルジスルフィド: 218 (定量), 109 (確認)

ジフェニルスルフィド: 186 (定量), 109 (確認)

ジ-*p*-トリルジスルフィド: 123 (定量), 246 (確認)

ジベンジルジスルフィド: 91 (定量), 246 (確認)

ビス (4-クロロフェニル) ジスルフィド: 143 (定量), 286 (確認)

ビス (4-メトキシフェニル) ジスルフィド: 139 (定量), 278 (確認)

フェナントレン- d_{10} (内標準): 188

フルオランテン- d_{10} (内標準): 212

2.4 前処理方法

分析法のフローチャートを図1に示す。

試料は、あらかじめヘキサン 100mL を加えた試料採取容器（ねじ口ガラス瓶）に、試料を約 1 L 採取し、手で振とうした後、冷蔵して速やかに実験室へ輸送した。

試料容器中の水試料をヘキサンごとメスシリンダーに移し、ヘキサン層との境界を試料量として記録した。その後 2 L 分液ロートに移して、振とう機で 10 分間振とう抽出した。静置後、水層は採取容器に分取し、ヘキサン層は 200mL トールビーカーに採取した。水層を再び分液ロートに戻し、ヘキサン 50mL で試料採取容器及びメスシリンダーを洗浄し、洗浄液を分液ロートに加え、再度 10 分間振とう抽出を行った。ヘキサン抽出液を合わせた後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ヘキサン 5mL × 3 回で 200mL ナス型フラスコに洗いこみ、ロータリーエバポレータを用いて湯温 35 度で減圧濃縮し、約 1 mL とした。

試料の精製を行う場合は、ヘキサン 10mL でコンディショニングしたシリカゲルカートリッジカラムに受器として 10mL スピッツ型試験管をセットした。約 1 mL まで濃縮した試料抽出液をカラムに負荷し、液面をカラムベッドまで下げてから、ヘキサン 5mL で濃縮容器及びカラム壁面を洗い込みながら溶出させた（溶出液量 6mL）。（その後、ビス (4-メトキシフェニル) ジスルフィドは、さらにエーテル/ヘキサン (5:95) 5mL を加えて溶出させた）。溶出液は、窒素気流下で 1 mL まで濃縮し、内標準液 (2 μg/

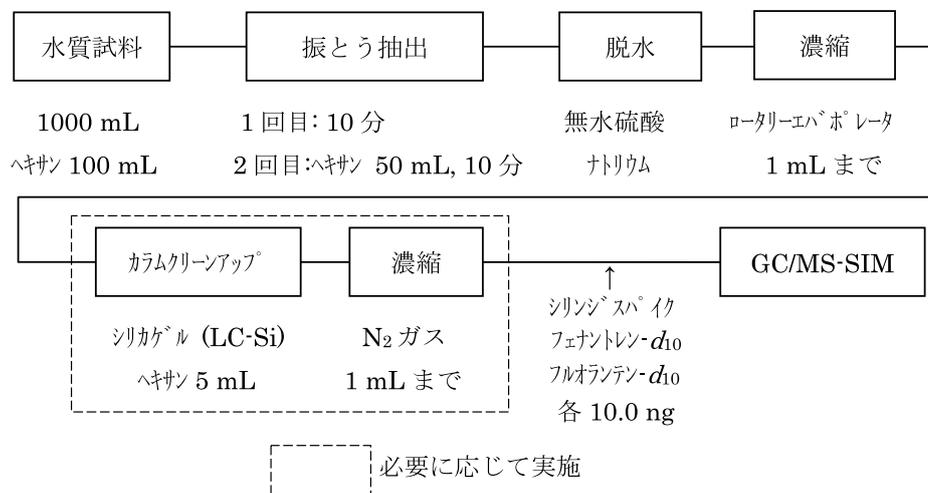


図1 分析法のフローチャート

mL) をマイクロシリンジで5 μ L 添加し、試験液とした。

2.5 分析法の検出下限値と定量下限値

分析方法の検出下限値 (MDL) と定量下限値 (MQL) の測定及び算出は、「化学物質環境汚染実態調査の手引き (平成 20 年度版)」²⁾ に従った。MDL 試験は、倉敷市水島沖の海水にIDL (装置検出下限値：検量線に用いる最低濃度付近の標準液を7回繰り返し測定し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出) の5倍程度の標準物質を添加した試料を7個作成し、図1の分析フローに従い前処理を実施した後、GC-MSで測定し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。

$$MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1, M} \times 2$$

$$MQL = 10 \times \sigma_{n-1, M}$$

$t(n-1, 0.05)$: 危険率5%, 自由度n-1のt値(片側)

$\sigma_{n-1, M}$: MDL算出のための測定値の標本標準偏差

2.6 試料保存性試験

試料採取から抽出操作等の前処理操作を実施するまでに対象物質が分解する可能性について確認するため、「化学

物質環境汚染実態調査の手引き(平成20年度版)」²⁾に従い、試料保存性試験を実施した。

水質試料：新鮮な河川水 (笹ヶ瀬川笹ヶ瀬橋) に標準品を添加し、試料と同じ状態 (試料採取容器に満水) で冷暗所に7日間保存した後抽出操作を行い定量したものを、添加当日に抽出操作を行い定量したものと比較することで残存率を算出した。

3 結果及び考察

3.1 分析機器の検討

ジフェニルジスルフィドは、SS結合が不安定で分解性が懸念されるため、まずLC-MSを用いた分析を試みた。しかし、メタノール溶液をインフュージョン測定してマススペクトルを取得したところ、図2に示すとおり、ESI Negativeで通常検出される $[M - H]^-$ (m/z 217) が検出されず、LC/MS法での分析は困難であると解釈された。

そこで、GC-MSを用いた分析を試みたところ、図3に示すとおり感度良く分析できることが分かったので、GC/MS法での分析を検討することとした。ジフェニルジスルフィド及びその類似物質5物質のクロマトグラムを図4に示す。

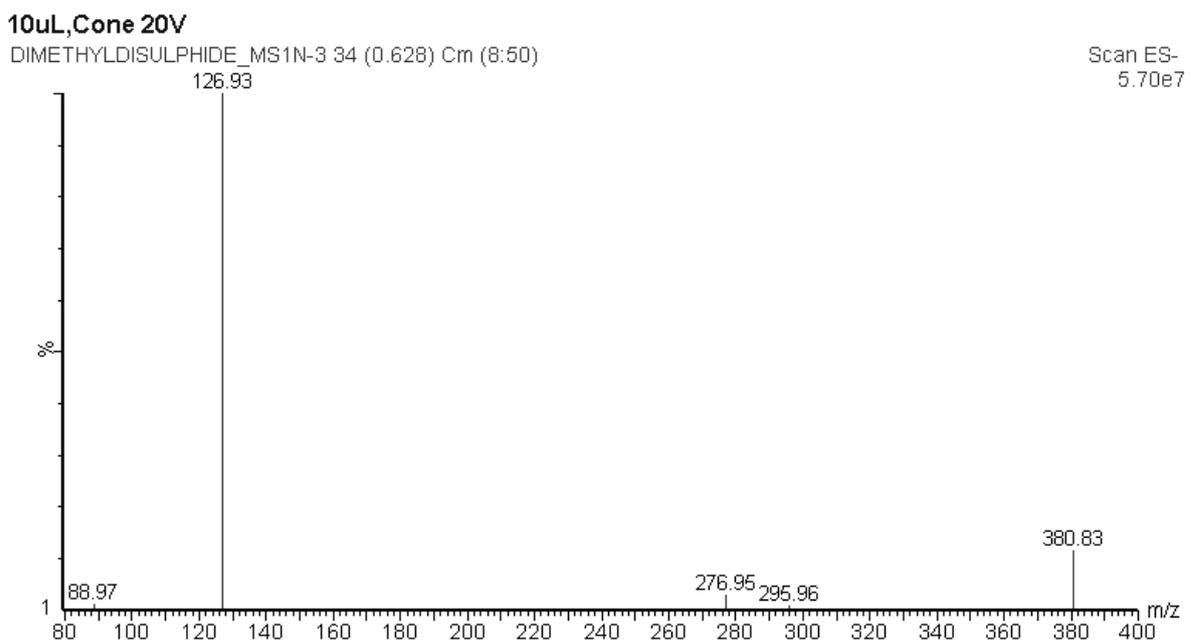


図2 ジフェニルジスルフィドのLC-MSマススペクトル (メタノール溶液をインフュージョン測定)

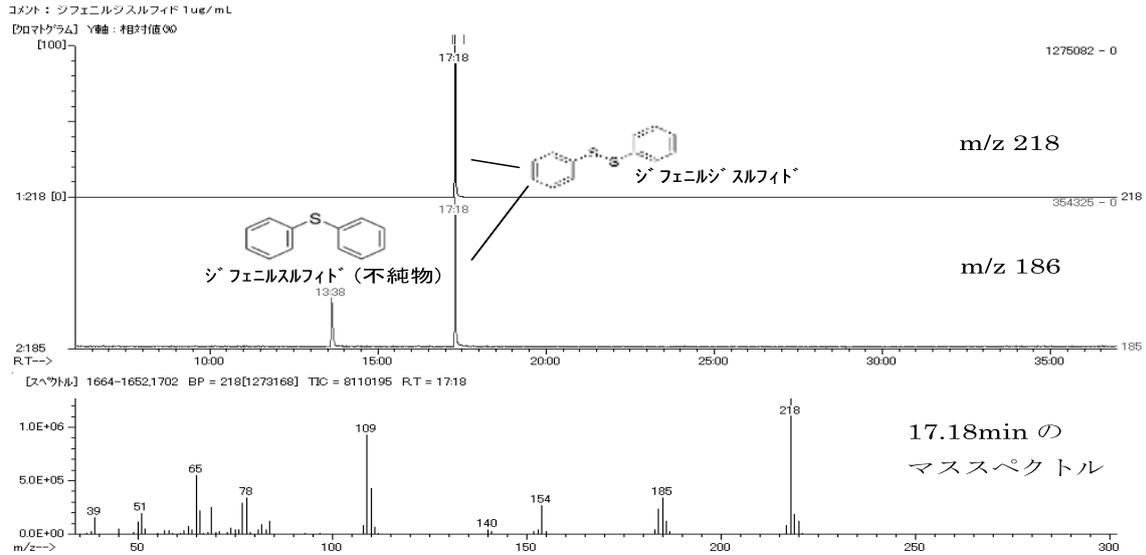


図3 ジフェニルジスルフィドのGC-MSクロマトグラムとマススペクトル

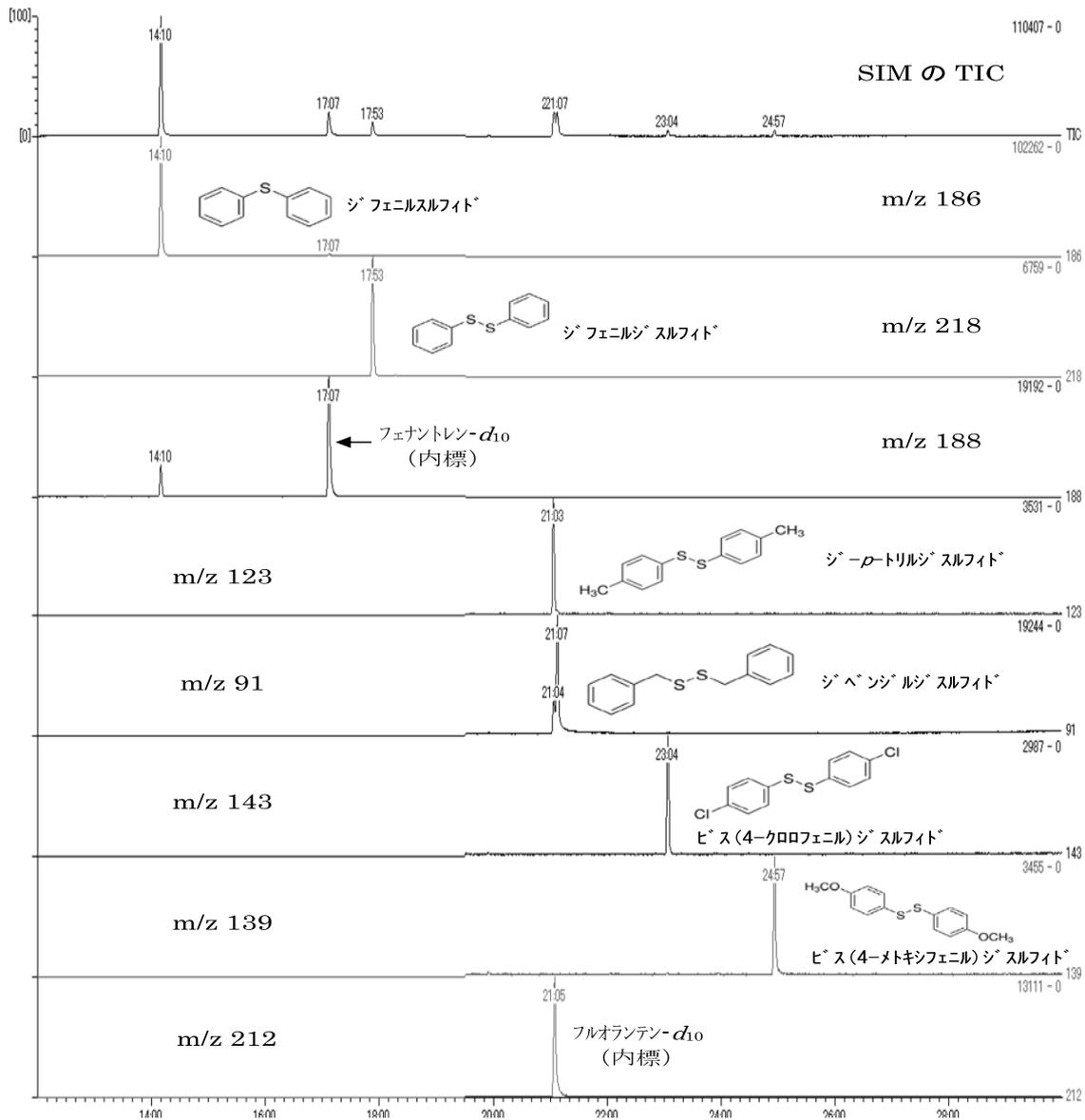


図4 ジフェニルジスルフィド及びその類似物質5物質のクロマトグラム

3.2 抽出用固相カートリッジの検討

水試料からの抽出法として、Sep-Pak plus C18 (Waters 社製)、Oasis HLB Plus LP (Waters 社製)、Sep-Pak plus PS-2 (Waters 社製)、InertSep mini RP-1 (230mg) (GLサイエンス製) の4種類の固相を検討した。

精製水 100mL に標準物質各 50ng を添加し、各固相に 10mL/min で通水、アセトン 5mL で溶出した後、ヘキサン 5mL で溶出した。

結果を表 2 に示す。その結果、多くの物質は固相からアセトン 5mL では溶出しきれず、ヘキサン画分にも残留していた。

次に、4種類の固相の中で回収率が高かった Sep-Pak C18, Sep-Pak PS-2 を用い、アセトンを用いずヘキサンで直接溶出する検討を行った。溶出溶媒の量を増やす検討や、

Sep-Pak C18 ではバックフラッシュも検討した。

精製水 100mL に標準物質各 50ng 添加して通水し、固相を 3000rpm、10 分間遠心分離した後窒素ガスを 10 分間流して乾燥してヘキサンで溶出した。表 3 に示すとおり、Sep-Pak C18 でバックフラッシュした方法の回収率が最も高かったが、十分な回収率ではなかった。

3.3 溶媒抽出の検討

3.2 で示したとおり固相抽出では十分な回収率が得られなかったため、溶媒抽出を検討した。

精製水 1000mL に標準物質各 2.5ng 添加し、ヘキサン 100mL 及び 50mL で、計 2 回振とう抽出した。表 4 に示すとおり、ほぼ 100% の回収率となったため、ヘキサンを用いた溶媒抽出を採用することとした。

表 2 使用固相と回収率 (%)

物質名	アセトン 5 mL				ヘキサン 5 mL				計			
	C18	HLB	PS2	RP1	C18	HLB	PS2	RP1	C18	HLB	PS2	RP1
ジフェニルジスルフィド	51	51	71	50	22	8	10	19	72	59	81	69
ジフェニルスルフィド	41	32	55	36	11	6	5	14	52	38	60	50
ジ- <i>p</i> -トリルジスルフィド	50	49	67	53	22	10	11	18	72	60	78	71
ジベンジルジスルフィド	54	52	71	59	18	5	9	18	71	58	80	77
ビス(4-クロロフェニル)ジスルフィド	60	57	76	64	24	8	12	18	84	65	88	82
ビス(4-メトキシフェニル)ジスルフィド	89	73	97	82	18	0	0	9	106	73	97	91

表 3 溶出溶媒量と回収率 (%)

物質名	Sep-Pak PS2			Sep-Pak C18				Sep-Pak C18 (バックフラッシュ)		
	0~5 mL	5~10 mL	計	0~5 mL	5~10 mL	10~15 mL	計	0~5 mL	5~10 mL	計
ジフェニルジスルフィド	63	14	78	68	5	4	77	77	4	81
ジフェニルスルフィド	55	4	59	56	0	0	56	62	0	62
ジ- <i>p</i> -トリルジスルフィド	55	9	64	57	6	5	68	64	5	69
ジベンジルジスルフィド	46	6	52	54	2	2	58	64	2	65
ビス(4-クロロフェニル)ジスルフィド	60	17	76	59	0	6	65	55	7	61
ビス(4-メトキシフェニル)ジスルフィド	11	24	35	65	0	0	65	79	0	79

表 4 溶媒抽出での回収率 (%)

物質名	回収率
ジフェニルジスルフィド	101
ジフェニルスルフィド	91
ジ- <i>p</i> -トリルジスルフィド	100
ジベンジルジスルフィド	105
ビス(4-クロロフェニル)ジスルフィド	108
ビス(4-メトキシフェニル)ジスルフィド	111

3.4 シリカゲルカートリッジカラムクリーンアップの検討

各 50ng/mL のヘキサン標準液 1mL を市販のシリカゲルカートリッジカラム (LC-Si (1g), SUPELCO 製) に負荷し、ヘキサン 5mL, エーテル/ヘキサン (5:95) 5mL, エーテル/ヘキサン (10:90) 5mL, エーテル/ヘキサン (20:80) 5mL の順に加え、分画を確認した。表5に示すとおり、ビス (4-メトキシフェニル) ジスルフィドを除き、ヘキサン画分に溶出することが分かった。

3.5 ポリエチレングリコール添加の検討

検討物質は、検量線が低濃度領域で2次曲線になり切片がマイナスになる現象や、添加回収率が100%を超える現象が確認されたため、ポリエチレングリコール (PEG) 添加 (検量線用標準液と測定用前処理液の両方に添加) を検討した。

各 5ng/mL の混合標準液 1mL に対し、ポリエチレングリコール 200 (東京化成製) (PEG200) を 10 μ g, 20 μ g, 50 μ g, 100 μ g 添加したものを、ポリエチレングリコール 300 (東京化成製) (PEG300) を 50 μ g 添加したものを、

添加していない標準液を 100 として定量した。

結果を表6に示す。PEGの添加量は十分な効果の得られる最小量が望ましく、ジフェニルスルフィドにおいてPEG200を50 μ g以上添加すると面積値が減少する現象が確認されたため、PEG200の添加量は20 μ gとした。

また、PEG300とPEG200を比較した場合、ジ-p-トリルジスルフィドやビス (4-メトキシフェニル) ジスルフィドにおいてPEG200の方が面積値は大きかったことから、PEG200の添加を検討することとした。

なお、PEGを添加することにより、検量線の切片がマイナスになる現象と低濃度領域で2次曲線になる現象に若干の改善は見られたが、解消するには至らなかった。また、回収率が100%を大きく超える現象を改善できるかどうかをジフェニルジスルフィドについて確認したところ、河川水試料ではPEG添加により回収率が更に大きくなり、むしろ悪化することとなった。

これらの結果から、PEG添加は採用しないこととした。

表5 シリカゲルカートリッジカラムでの分画

物質名	ヘキサン	エーテル/ヘキサ	エーテル/ヘキサ	エーテル/ヘキサ
	5 mL	ン(5:95) 5 mL	ン(10:90) 5 mL	ン(20:80) 5 mL
ジフェニルジスルフィド	80	0	0	0
ジフェニルスルフィド	85	0	0	0
ジ-p-トリルジスルフィド	79	0	0	0
ジベンジルジスルフィド	77	0	0	0
ビス(4-クロロフェニル) ジスルフィド	78	0	0	0
ビス(4-メトキシフェニル) ジスルフィド	0	83	0	0

表6 PEG添加量とピーク面積値

物質名	PEG 添加なし	PEG200				PEG300
		10 μ g	20 μ g	50 μ g	100 μ g	50 μ g
ジフェニルジスルフィド	100	117	120	120	124	118
ジフェニルスルフィド	100	98	96	84	85	100
ジ-p-トリルジスルフィド	100	117	127	135	135	123
ジベンジルジスルフィド	100	94	96	96	96	100
ビス(4-クロロフェニル) ジスルフィド	100	121	122	123	121	117
ビス(4-メトキシフェニル) ジスルフィド	100	128	149	155	149	136

3.6 試料の保存方法の検討

試料の保存性を確認したところ、表7に示すとおり、S-S結合のないジフェニルスルフィドを除き環境試料中では7日後に分解しており、冷暗所（約5℃）でも保存できないことが分かった。

次に、冷暗所（約5℃）で何日保存できるかを確認したところ、表8に示すとおりジフェニルスルフィドを除き1日後には分解していることが分かった。

そこで、酸化防止剤等の添加により7日間の保存ができるか確認した。既報³⁾を参考に河川水1L当たりアルコール酸を1g添加したもの、1L当たりパルミチン酸アルコールを1g添加したもの、1L当たりヘキサンを100mL添加したものをそれぞれ手で十分に振とうした後、冷暗

所で7日間保存した。なお、ジフェニルスルフィドは昭和57年度白本⁴⁾で酸性での分解性が確認されているため、アスコルビン酸のエステルであり海外では抗酸化物質として食品添加物に用いられているパルミチン酸アルコールの添加についても検討したが、水溶性が低いため水試料の保存には向かないと考えられた。

表9に示すとおりヘキサンを加えて振とうすることで、保存が可能であることが分かったことから、既報³⁾と同様に試料採取方法を「予めヘキサンを100mL添加したねじ口瓶に試料を約1L採取し、手で振とうした後、冷蔵して速やかに実験室へ搬送する。」こととした。なお、対象物質はヘキサンを加えて振とうすれば十分な回収率が得られたので、アスコルビン酸は添加しないこととした。

表7 保存性試験結果

物質名	試験対象	試料名	試験数	調整濃度 (ng/L)	検出濃度 (残存率)
					7日後
ジフェニルスルフィド	試料	河川水	2	5.0	<0.5 ng/L (<10 %)
ジフェニルスルフィド	試料	河川水	2	5.0	4.1 ng/L (82 %)
ジ- <i>p</i> -トリルスルフィド	試料	河川水	2	5.0	<0.5 ng/L (<10 %)
ジベンジルジスルフィド	試料	河川水	2	5.0	<0.5 ng/L (<10 %)
ビス(4-クロロフェニル) ジスルフィド	試料	河川水	2	5.0	<0.5 ng/L (<10 %)
ビス(4-メトキシフェニル) ジスルフィド	試料	河川水	2	5.0	<0.5 ng/L (<10 %)

表8 短期間の保存性試験結果

物質名	試験対象	試料名	試験数	調整濃度 (ng/L)	検出濃度(ng/L) (残存率 (%))			
					1日後	2日後	3日後	7日後
ジフェニルスルフィド	試料	河川水	2	10	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)
ジフェニルスルフィド	試料	河川水	2	10	9.7 (97)	9.5 (95)	9.2 (92)	8.2 (82)
ジ- <i>p</i> -トリルスルフィド	試料	河川水	2	10	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)
ジベンジルジスルフィド	試料	河川水	2	10	2.1 (21)	0.6 (6)	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)
ビス(4-クロロフェニル) ジスルフィド	試料	河川水	2	10	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)
ビス(4-メトキシフェニル) ジスルフィド	試料	河川水	2	10	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)	<0.5 (<5)

3.7 ジフェニルジスルフィド標準品から検出される ジフェニルスルフィドについての検証

ジフェニルジスルフィド標準品をGC-MSで測定したところ、図3に示すとおりジフェニルスルフィドのピークも確認されたため、注入口での分解生成物であるかどうかを確認した。

ジフェニルジスルフィド標準液1 μg/mLを注入口の温度を210℃、230℃、250℃、270℃と変えて測定した。注入口での分解生成物である場合は、温度が高くなるにつれジフェニルジスルフィドの割合が減少し、ジフェニルスルフィドの割合が増加するはずであるが、表10に示すとおり注入口温度によって面積比が変わらなかったため、注入口

での分解生成物ではなく、標準物質中の不純物と推測された。

なお、ジフェニルジスルフィド標準品中のジフェニルスルフィドの含有量をジフェニルスルフィドの標準品で定量したところ0.13%であり、標準液を混合して検量線測定用標準液を作成しても問題ないと考えられた。

3.8 検出下限及び定量下限

検出下限(MDL)、定量下限(MQL)を表11に示す。

検出下限(MQL)は0.46(ジフェニルスルフィド)～1.1ng/L(ビス(4-メトキシフェニル)ジスルフィド)であった。

表9 酸化防止剤又は溶媒を添加しての保存性試験結果

物質名	試験対象	試料名	試験数	調整濃度 (ng/L)	検出濃度(ng/L) (残存率(%))		
					7日後		
					アスコルビン酸 添加	パルミチン酸 アスコビル 添加	ヘキササン 添加
ジフェニルジスルフィド	試料	河川水	2	10	8.2 (82)	2.8 (28)	9.8 (98)
ジフェニルスルフィド	試料	河川水	2	10	10.1 (101)	6.6 (66)	9.7 (97)
ジ- <i>p</i> トリルジスルフィド	試料	河川水	2	10	6.0 (60)	5.9 (59)	10.2 (102)
ジベンジルジスルフィド	試料	河川水	2	10	9.7 (97)	9.6 (96)	9.8 (98)
ビス(4-クロロフェニル) ジスルフィド	試料	河川水	2	10	4.5 (45)	2.4 (24)	10.5 (105)
ビス(4-メトキシフェニル) ジスルフィド	試料	河川水	2	10	8.6 (86)	2.7 (27)	10.0 (100)

表10 注入口温度とジフェニルスルフィドの面積値

注入口 温度	ジフェニルスルフィド ^o 面積	ジフェニルジスルフィド ^o 面積	面積比
210℃	15,963	1,590,401	0.010
230℃	17,433	1,545,025	0.011
250℃	16,547	1,485,312	0.011
270℃	15,136	1,404,308	0.011

表11 検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL) の算出結果

対象物質	試料	添加量 (ng)	無添加平均 (ng/L)	平均値 (ng/L)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)	CV (%)
ジフェニルジスルフィド	海水	2.5	ND	2.66	0.57	1.5	5.5
ジフェニルスルフィド	海水	2.5	ND	2.50	0.46	1.2	4.8
ジ- <i>p</i> -トリルジスルフィド	海水	2.5	ND	2.97	0.53	1.4	4.6
ジベンジルジスルフィド	海水	2.5	ND	2.88	1.0	2.6	9.0
ビス(4-クロロフェニル)ジスルフィド	海水	2.5	ND	2.76	0.72	1.9	6.7
ビス(4-メトキシフェニル)ジスルフィド	海水	2.5	ND	2.92	1.1	2.8	9.6

3.9 添加回収試験

添加回収試験結果は、河川水（笹ヶ瀬川笹ヶ瀬橋）への添加で 97～115%、海水（倉敷市水島沖）への添加で 100～119% であり、検討した全ての物質で良好な回収率であった。（表 12、表 13）

環境試料及び添加回収試料のクロマトグラムを図 5～8 に示す。なお、河川試料でジ-*p*-トリルジスルフィドと同じ保持時間にピークが確認されているが、確認イオン（*m/z* 246）にはピークが確認されなかったため、ジ-*p*-トリルジスルフィドではないと判断した。

表12 添加回収試験結果（河川水）

対象物質	試料名	試料量 (mL)	無添加		添加(15 ng)			変動係数 (%)
			試験数	検出濃度 (ng/L)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	
ジフェニルジスルフィド	河川水	1000	2	ND	5	17.3	115	2.1
ジフェニルスルフィド	河川水	1000	2	ND	5	15.0	100	3.3
ジ- <i>p</i> -トリルジスルフィド	河川水	1000	2	ND	5	14.6	97	1.3
ジベンジルジスルフィド	河川水	1000	2	ND	5	14.9	99	0.8
ビス(4-クロロフェニル)ジスルフィド	河川水	1000	2	ND	5	15.5	103	4.9
ビス(4-メトキシフェニル)ジスルフィド	河川水	1000	2	ND	5	17.3	115	3.7

表13 添加回収試験結果（海水）

対象物質	試料名	試料量 (mL)	無添加		添加(2.5 ng)			変動係数 (%)
			試験数	検出濃度 (ng/L)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	
ジフェニルジスルフィド	海水	1000	2	ND	7	2.66	106	5.5
ジフェニルスルフィド	海水	1000	2	ND	7	2.50	100	4.8
ジ- <i>p</i> -トリルジスルフィド	海水	1000	2	ND	7	2.97	119	4.6
ジベンジルジスルフィド	海水	1000	2	ND	7	2.88	115	9.0
ビス(4-クロロフェニル)ジスルフィド	海水	1000	2	ND	7	2.76	111	6.7
ビス(4-メトキシフェニル)ジスルフィド	海水	1000	2	ND	7	2.92	117	9.6

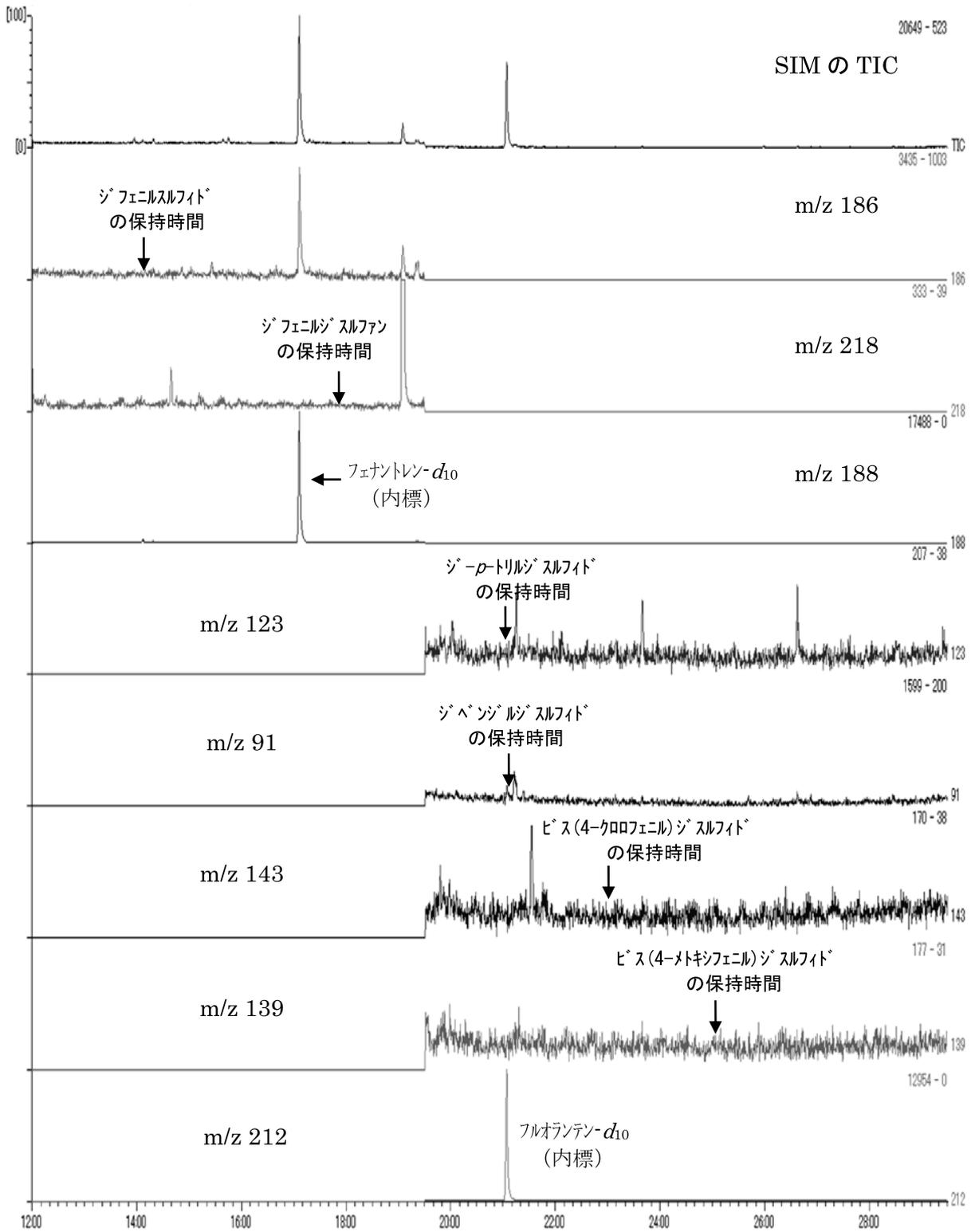


図5 無添加試料（海水・倉敷市水島沖）のクロマトグラム

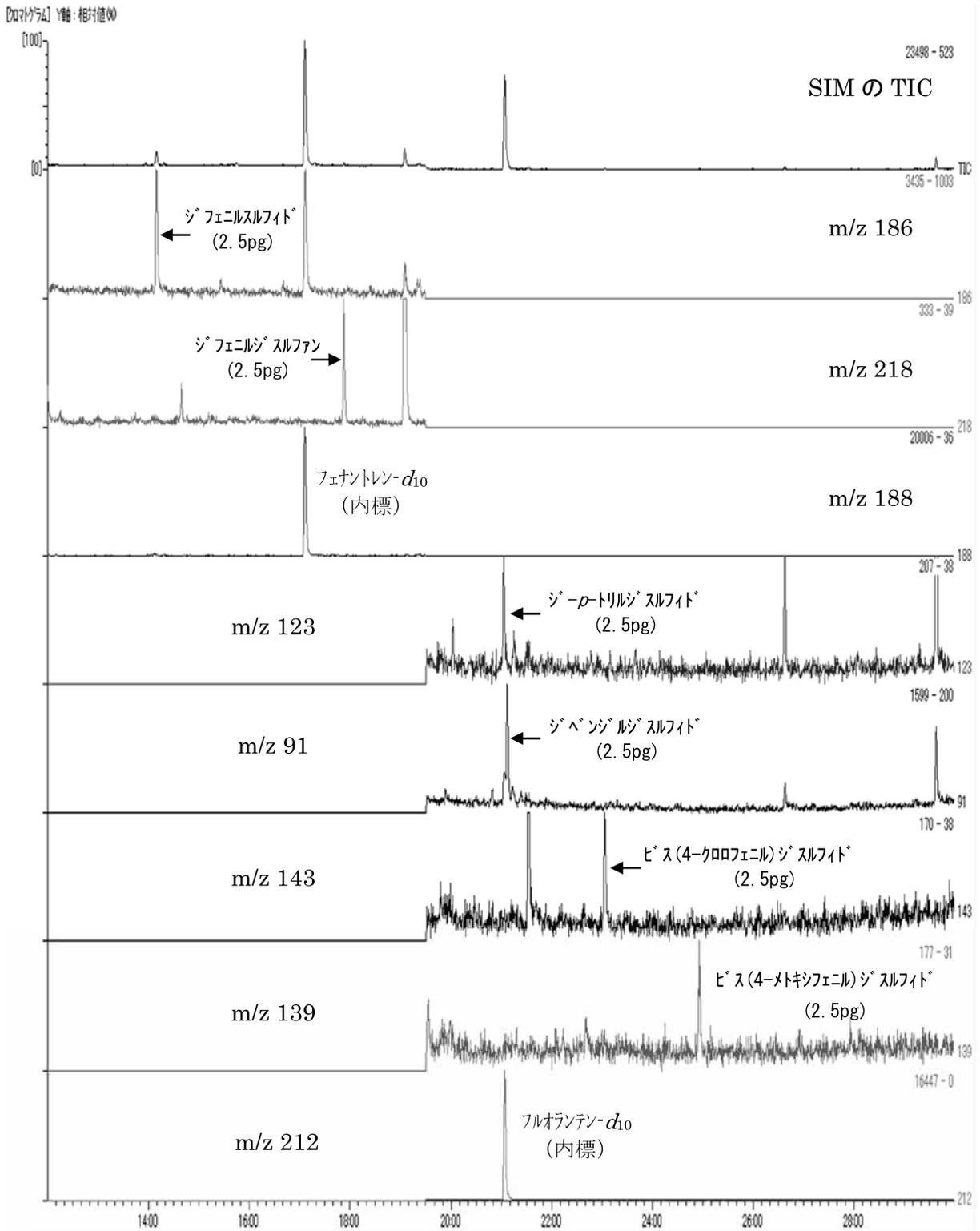


図6 添加試料（海水・倉敷市水島沖）のクロマトグラム

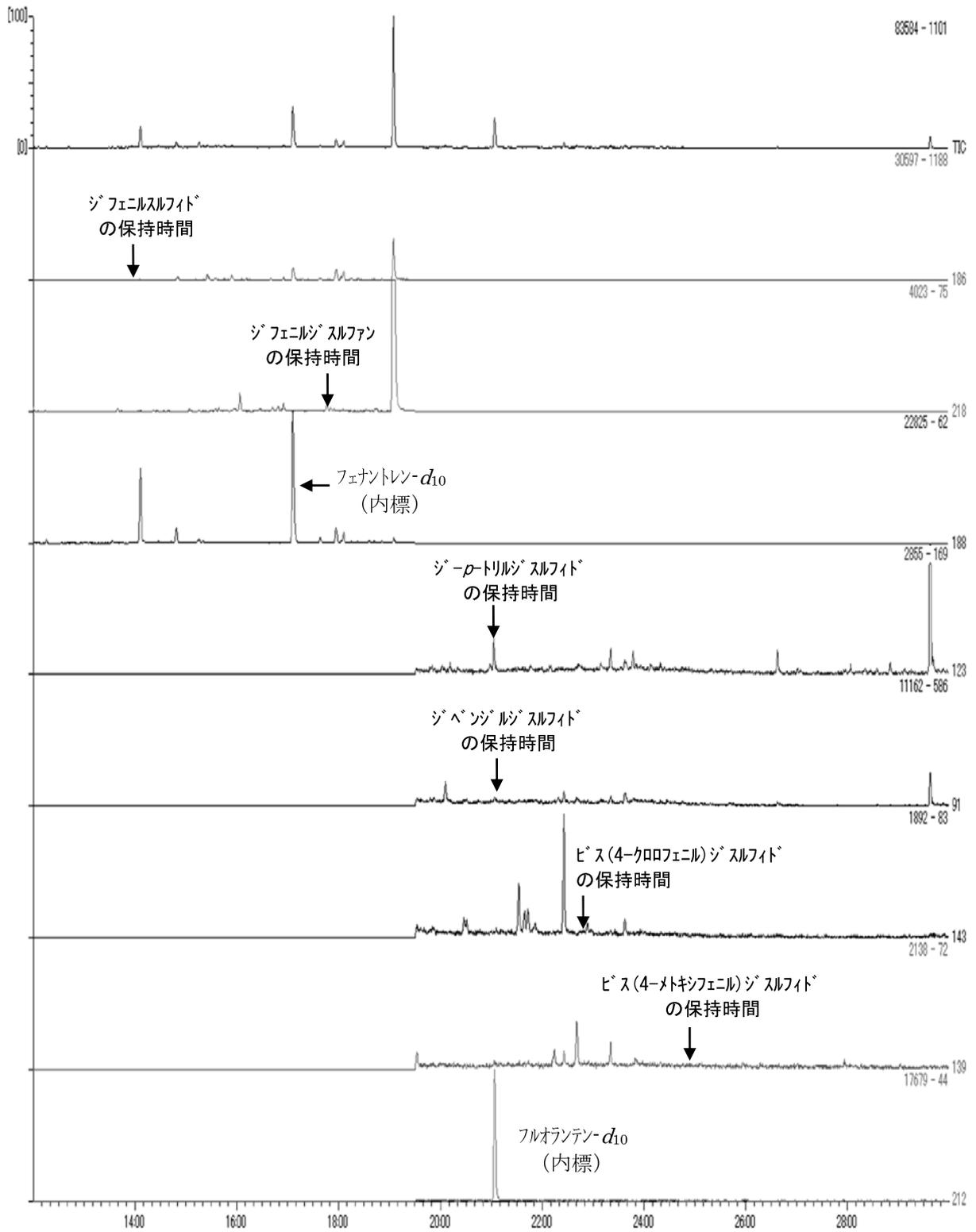


図7 無添加試料(河川水・笹ヶ瀬川笹ヶ瀬橋)のクロマトグラム

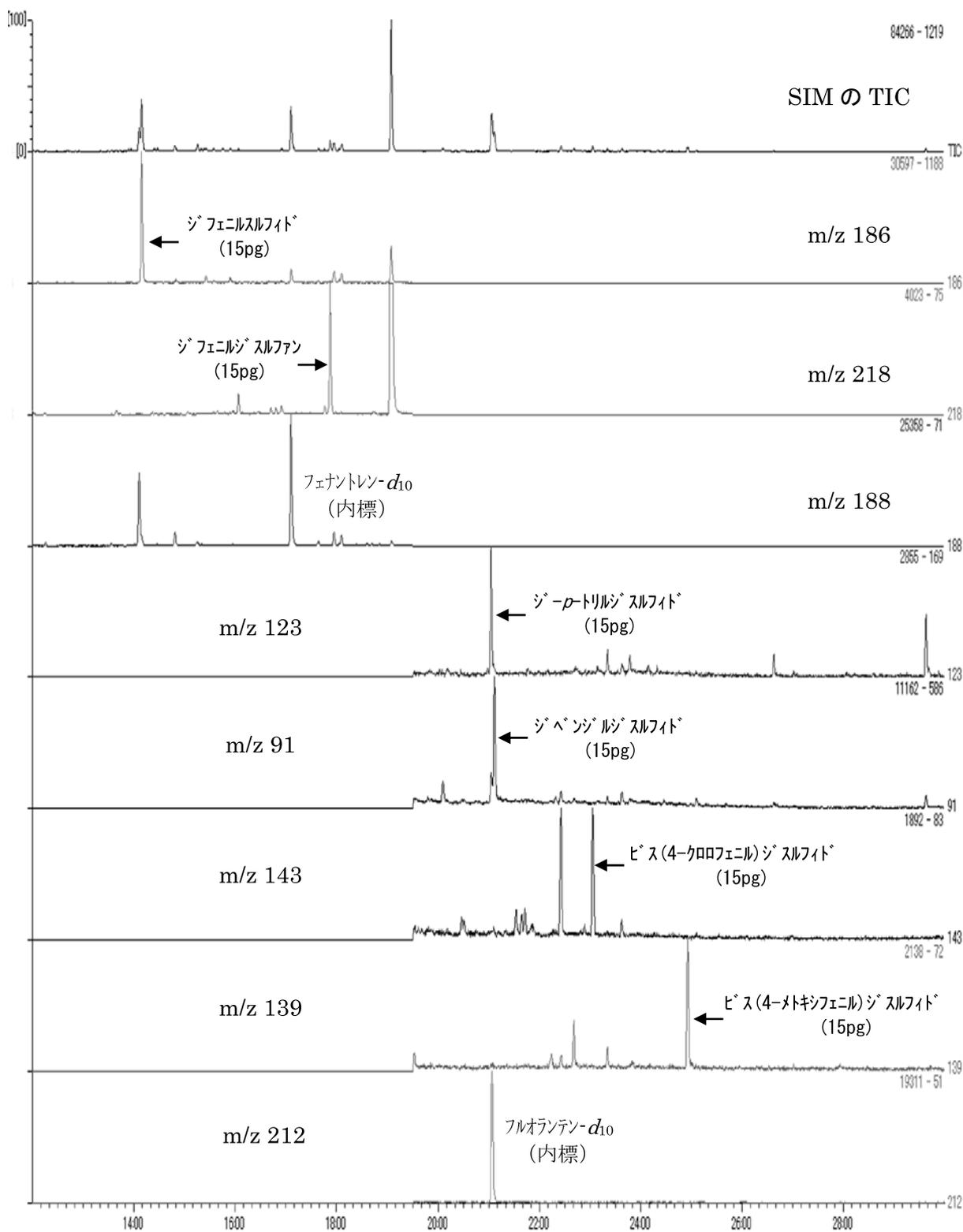


図8 添加試料 (河川水・笹ヶ瀬川笹ヶ瀬橋) のクロマトグラム

4 まとめ

ジフェニルジスルフィド及びその類似物質 5 物質の多成分同時分析法を検討したところ、ヘキサンを用いた溶媒抽出を行い、ガスクロマトグラフ質量分析計で分析することにより、次に示すとおり高感度な分析法が開発できた。

- 1) 対象物質は、ヘキサンによる溶媒抽出により、高い回収率で抽出できることがわかった。
- 2) 固相抽出は、検討した条件ではヘキサンによる溶媒抽出よりも回収率が低かった。
- 3) シリカゲルカートリッジカラムによるクリーンアップでは、ビス (4-メトキシフェニル) ジスルフィドを除き、第 1 フラクシオンのヘキサン画分に溶出した。
- 4) 環境水試料中では S-S 結合のないジフェニルジスルフィドを除き、冷暗所 (約 5℃) でも 1 日後には分解していたが、採水時にヘキサンを加えて振とうすることで、7 日間以上の保存が可能であることが分かった。
- 5) 開発した分析法は、水質試料中のジフェニルジスルフィド及びその類似物質 5 物質の分析に適用でき、検出下限は 0.46 ~ 1.1ng/L であった。
- 6) 河川水及び海水を用いた添加回収試験 (河川水は 15ng/L, 海水は 2.5ng/L 添加) の回収率は、それぞれ 97 ~ 115%, 100 ~ 119% であった。

なお、本研究は環境省委託の平成 26 年度及び平成 27 年度化学物質分析法開発調査 (環境省環境安全課) と連携して実施した。

文 献

- 1) 吉岡敏行, 浦山豊弘, 新 和大, 山本淳: 水質汚濁防止法に規定された指定物質の GC/MS を用いた水質分析法の検討, 全国環境研究会誌, 39 (3), 60-68, 2014
- 2) 環境省総合環境政策局環境保険部環境安全課: 化学物質環境実態調査実施の手引き (平成 20 年度版), 平成 21 年 3 月, 2009
- 3) 吉岡敏行, 山辺真一, 大月史彦, 新 和大: 有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 - GC/MS を用いた水質中脂肪酸メチルエステル (FAME) 等の多成分分析法の検討 -, 岡山県環境保健センター年報, 37, 29-40, 2013
- 4) 環境庁環境保健部環境調査室: 昭和 57 年度化学物質分析法開発調査報告書, 133-137, 1983

【資 料】

児島湖における水質汚濁メカニズムの解明

－岡山市北区一宮の水田における汚濁負荷量調査－

Elucidation of water pollution mechanism in Lake Kojima
－Estimation of Pollution Load from a Paddy field of Ichinomiya,
Kita-ward, Okayama-city－

藤田和男, 中野拓也, 金子英史, 山本 淳 (水質科)

Kazuo Fujita, Takuya Nakano, Hidefumi Kaneko, Jun Yamamoto (Water Section)

要 旨

岡山市北区一宮の水田(面積0.08ha)から流出する汚濁負荷量を調査した。用水のCODは平均10mg/L, 排水のCODは平均18mg/Lであった。T-Nは用水が平均1.9mg/L, 排水が平均1.5mg/Lであった。T-Pは用水が平均0.56mg/L, 排水が平均0.71mg/Lであった。差引き負荷量はCODが154kg/ha/year, T-Nが10kg/ha/year, T-Pが4.0kg/ha/yearであった。

[キーワード: COD, 窒素, リン, 水田, 汚濁負荷量]

[Key words: COD, Nitrogen, Phosphorus, Paddy field, Pollution load]

1 はじめに

児島湖の水質汚濁については、湖沼水質保全計画等に基づき過去25年間にわたり様々な水質保全施策を実施してきたが、いまだに環境基準は達成されていないため、更なる水質改善が課題となっている。

本県では、平成24年3月に「児島湖に係る第6期水質保全計画」を策定し、その中で水質汚濁メカニズムの解明に向けた様々な調査を推進することとしており、その一つとして水田からの汚濁負荷量について推計することとした。

平成19年度から27年度まで、(1)児島湖流域の西・北七区(岡山市南区)の水田群(990ha)¹⁾、(2)都六区(岡山市南区藤田)の水田群(300ha)²⁾及び(3)玉野市八浜町波知の水田(0.10ha)²⁾で汚濁負荷量の流出状況を調査してきた。より多くの水田からの汚濁負荷量を検討するため、新たに児島湖流域の(4)岡山市北区一宮の一筆水田(0.08ha)で調査を行い基礎資料を得たので報告する。

2 調査対象および方法

2.1 調査地点

岡山市北区一宮の水田で作付け期間の2015年6月6日～9月30日に調査を行った(図1)。用水は主にため池から隣接する用排水路を通じて供給される。その後用排水路に排出され、笹ヶ瀬川の支流に流出する。用排水路の水位は地元の管理組合により調節され、用排水路の水位が当該水田の給水口(排水口としても使用)の水口より高くなっ

たとき自然流入により用水が取水され、用排水路の水位が水口より低くなった時に排水される方式で水田の用排水が行われていた。採水は平成27年6月12日から9月21日まで合計31回行い、取水時に水口から流入する水を用水、排水時に水口から流出する水を表面排水(以下、排水という)として採水した。水位計(大起理化工業製DIK-611A-A1)により水深及び水温を連続測定した。用水及び排水採水時の実水位の変動を図2に示す。流入水は用水と降水、流出水は排水、地下浸透水及び蒸発散とし、水量に関する各項目の関係^{3)～5)}は以下で表される。

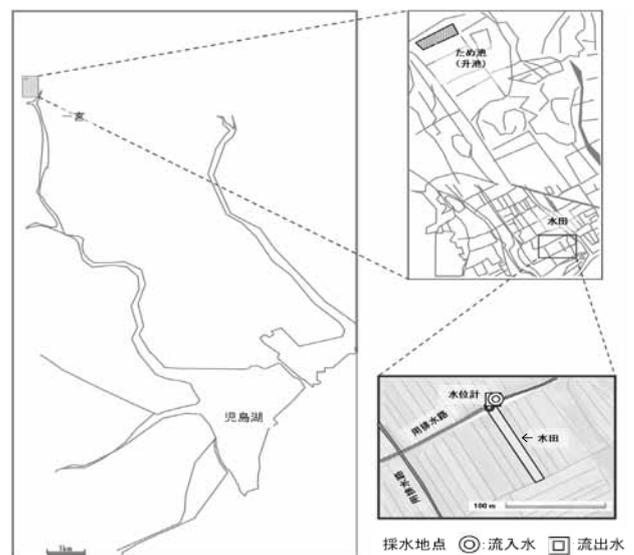


図1 調査地点

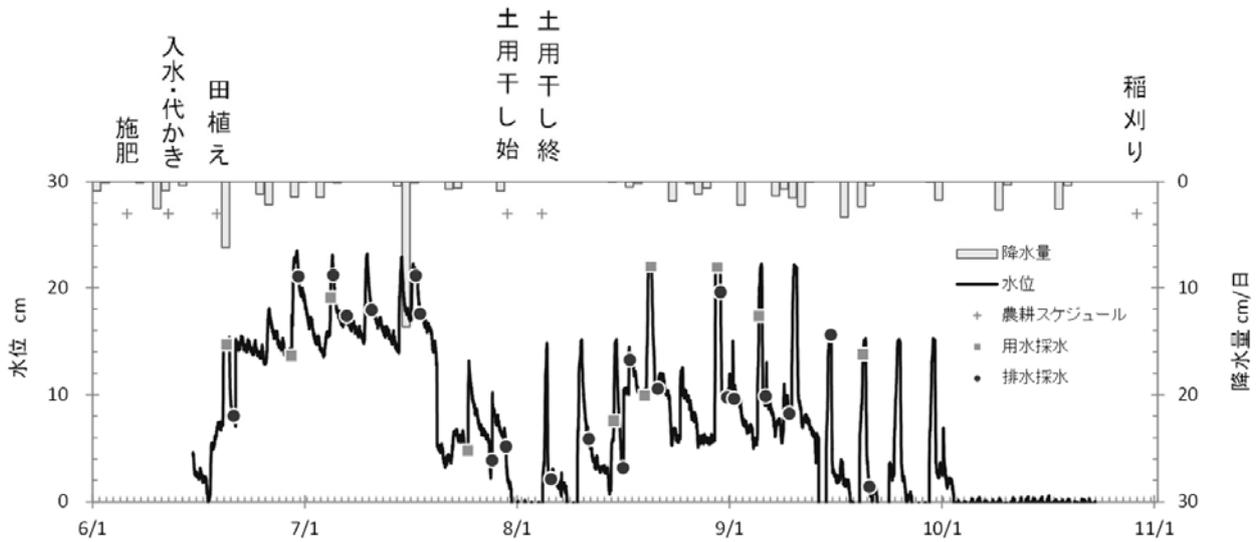


図2 水位、降水量及び農耕スケジュール

流入水量 = 用水量 + 降水量

流出水量 = 排水量 + 地下浸透量 + 蒸発散量

降水量及び水温は当該水田の南東 4.3kmの位置にあるアメダス岡山観測所の測定値、蒸発散量は以下のHamon式^{6,7)}により求めた。

$$E_p = 0.14 \times (D_o / 12)^2 \cdot q_t$$

$$q_t = 5.047 \cdot e^{0.0606 \cdot \text{Temp}}$$

ただし E_p : 蒸発散量 (mm/day), D_o : 岡山市北区一宮での可照時間 (h)⁷⁾, Temp : 気温 (°C) である。

流出水量のうち蒸発散量を除く量(排水量 + 地下浸透量)は水位計の減水深から算定した。用水量は流出水量から降水量を減じて算定^{3,8)}した。

2.2 水質測定

水質について、全窒素(以下「T-N」という。)は全窒素計(アナテック・ヤナコ製 TN-308P)による熱分解法⁹⁾, COD, 全リン(以下「T-P」という。)はJIS K0102⁹⁾に準じて測定した。溶存態窒素(以下「D-N」という。)及び

溶存態リン(以下「D-P」という。)はフィルター(アドバンテック東洋 DISMIC-25CS)でろ過したろ液を測定した。T-N から D-N を差し引いた値を懸濁態窒素(以下「P-N」という。)とした。懸濁態リン(以下「P-P」という。)についても P-N と同様に T-P と D-P との差から求めた。地下浸透水の濃度は本調査では測定していないが、文献^{3,8)}での計算方法と同じく排水濃度と等しいと仮定した。降水の濃度は平成 24 年度の調査結果²⁾を月毎に平均し用いた。負荷量について、水質と水量を掛けて負荷量を求め、以下の定義^{3,10)}により表記した。

正味の排出負荷量 = 排出負荷量 + 浸透負荷量 - 用水負荷量

差引き負荷量 = 排出負荷量 + 浸透負荷量 - 用水負荷量 - 降水負荷量

3 結果および考察

3.1 水量及び水質

当該水田での施肥はL字型肥料(成分: N 20%, P_2O_5 10%, K_2O 10%)を用い、施肥量は 0.08ha あたり 32kg (N

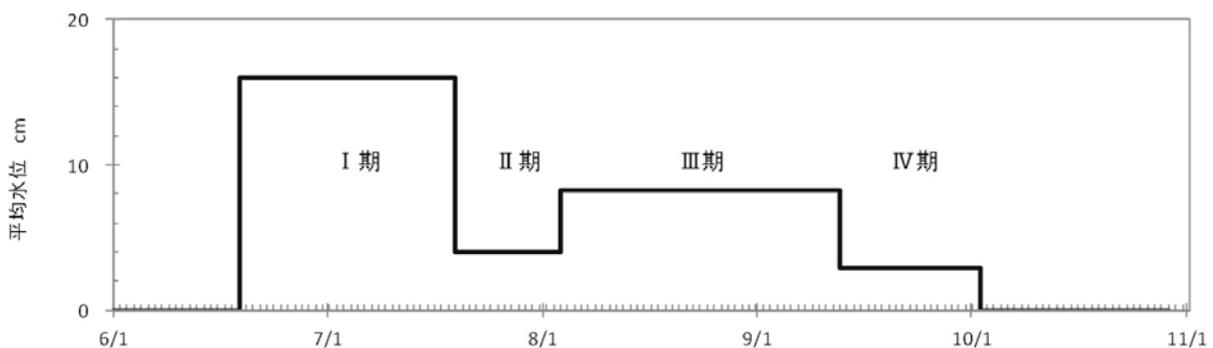


図3 水位

80kg/ha, P₂O₅ 40kg/ha, K₂O 40kg/ha) であり, 入水前の6月6日に1回施肥を行い, 追肥は行っていない。農作業イベントと水位変化の関係は図2に示すとおりである。一般的な水稲栽培のスケジュール(栽培暦)^{6),11),12)}では(1)田植え後に間断かんがいにより水管理が行われ, (2)夏期に土用干しを1~2週間行い, (3)間断かんがいを約2ヶ月行い, (4)落水した後, 収穫する。今回対象とした水田では(1)田植え後から土用干し前の32日間(6月19日~7月20日)は間断かんがいにより水位が高い状態が維持され, この期間の平均水位は16cmであった。(2)土用干し期間の15日間(7月21日~8月4日)は水位が低い状態であり, 平均水位は4cmであった。(3)土用干し後の40日間(8月5日~9月13日)は水位がやや高い状態(平均水位8cm)で維持, 続く20日間(9月14日~10月3日)は水位が低い状態(平均水位3cm)であった。(4)落水(10月3日)から稲刈り(10月30日)までは水の無い状態であった。栽培暦と水位の変化のモデルは図3に示すとおりである。土用干し前の水位の高い時期をI期, 土用干し前後の水位の低い時期をII期, 土用干し後の水位のやや高い時期をIII期, 稲刈り前の水位の低い時期をIV期としている。また流入水と流出水の月毎の水量変動を図4に示す。

用水及び排水の水質を図5に示す。図中に農耕スケジュールを併記する。CODはほぼ全ての期間で排水が用水より高い値であった。用水のCODは平均10mg/L, 排水のCODは平均18mg/Lであり, 水田を流入水が通過す

るときのCODの変化は平均8mg/Lの増加であった。特にI期で排水のCODは平均29mg/Lと高く, 同時期の用水の平均12mg/Lの2.4倍の値であった。

T-Nはほぼ全ての期間で排水が用水より低い値であった。またT-Nの大部分(用水では87%, 排水では88%)がD-Nであり, D-Nもまたほぼ全ての期間で排水が用水より低い値であった。用水のT-Nは平均1.9mg/L, 排水のT-Nは平均1.5mg/Lであり, 水田を流入水が通過するときのT-Nは平均0.4mg/Lの減少であった。懸濁態及び溶存態でみると, 水田を流入水が通過するときのP-Nの変化は平均0.1mg/Lの増加, D-Nの変化は平均0.5mg/Lの減少であった。

T-PはCODと同様にほぼ全ての期間で排水が用水より高い値であった。P-Pは用水では42%, 排水では31%で, P-Nの割合(用水では13%, 排水では12%)と比較して大きかった。用水のT-Pは平均0.56mg/L, 排水のT-Pは平均0.71mg/Lであり, 水田を流入水が通過するときのT-Pは平均0.15mg/Lの増加であった。懸濁態及び溶存態でみると, 水田を流入水が通過するときのP-Pの変化は平均0.01mg/Lの減少, D-Pの変化は平均0.17mg/Lの増加であった。特にI期で用水のT-Pは平均0.58mg/Lであったのに対し排水のT-Pは平均0.98mg/Lと高い値であった。

3.2 負荷量

月毎の用水, 流出水及び差引き負荷量を図6に示す。また調査期間をI~IV期に分けた時の負荷量の変遷を図7に

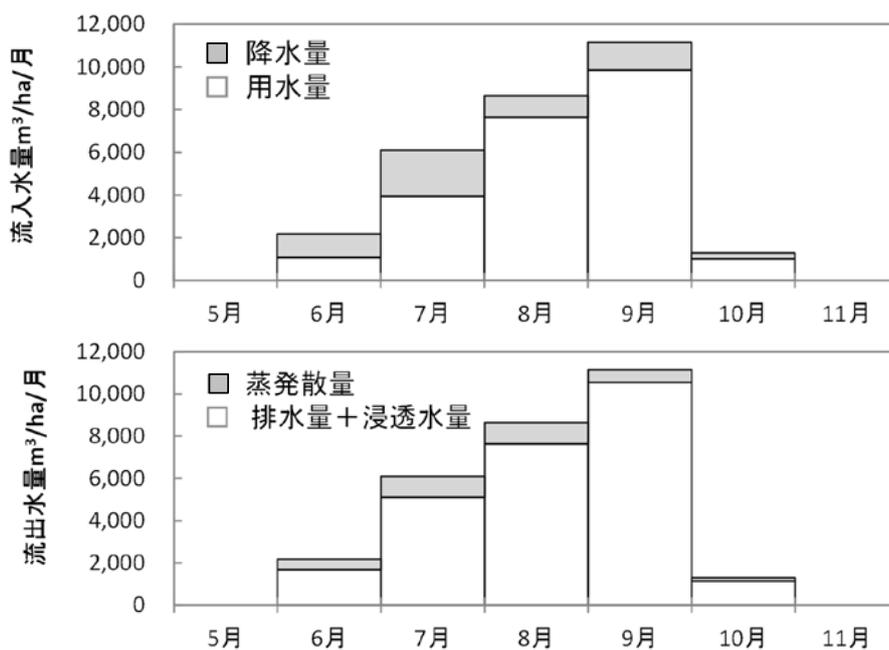


図4 月毎の水量(流入, 流出)変動

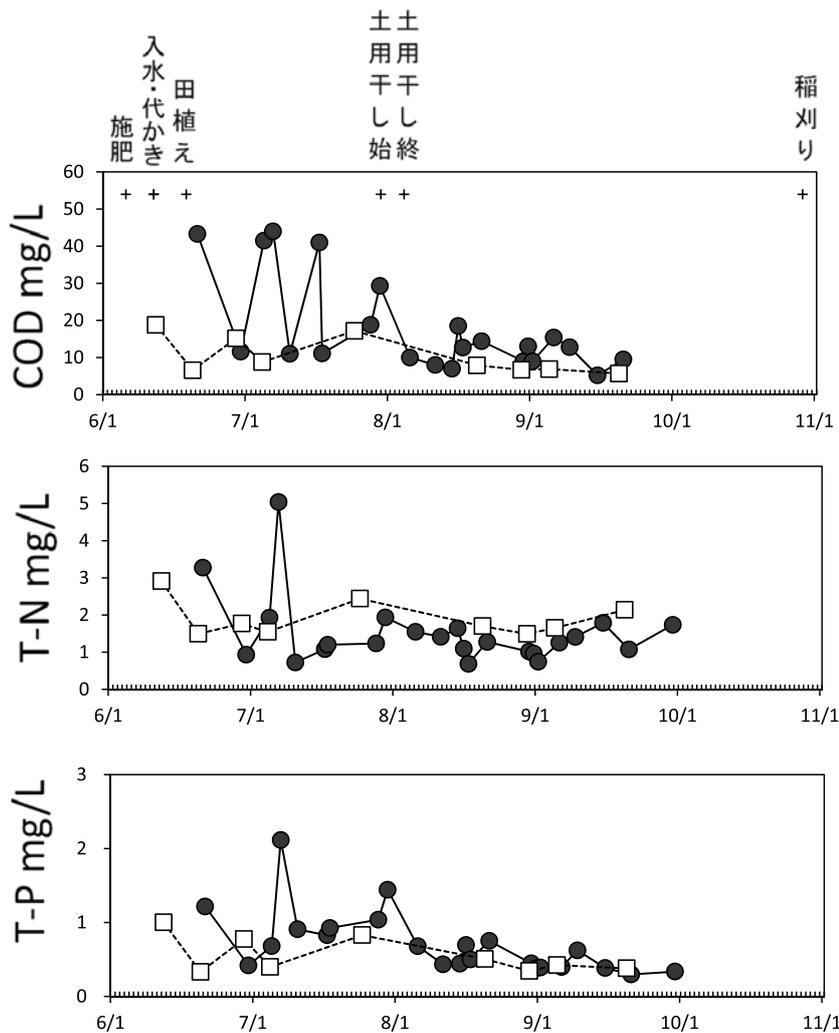


図5 水質の経時変化

—●— 排水 --□-- 用水

示す。用水のCOD負荷量は213kg /ha/year，流出水のCOD負荷量は378kg /ha/yearであり，降水の負荷10kg /ha/yearも考慮した差引き負荷量は155kg /ha/yearであった。水田を流入水が通過するときにCOD負荷量が平均69%増加したと考えられた。水位の変遷パターンと比較するとI期（入水から土用干しまでの間断かんがい期）で差引き負荷量が最も大きかった。

用水のT-N負荷量は46kg /ha/year，流出水のT-N負荷量は39kg /ha/yearであった。降水の負荷3kg /ha/yearも考慮した差引き負荷量は-10kg /ha/yearで負の値であり，水田を流入水が通過するときにT-N負荷量が平均21%減少したと考えられた。T-N負荷量がマイナスの値になる事例は文献等^{4),5),8)}でもみられる。T-N負荷量の収支をP-NとD-Nの成分毎に分けてみると，用水のD-N負荷量の割合は87%，流出水のD-N負荷量の割合は88%で両者の比率はほぼ等しく，全期間において用水及び流出水の窒素の8

割から9割は溶存態と考えられた。用水のD-N負荷量は40kg /ha/year，流出水のD-N負荷量は34kg /ha/yearであり，降水の負荷（3kg /ha/yearとする）も考慮した差引き負荷量は-9.1kg /ha/yearであった。水田を流入水が通過するときにD-N負荷量が平均21%減少したと考えられた。また用水のP-N負荷量は5.8kg /ha/year，流出水のP-N負荷量は4.8kg /ha/year，差引き負荷量は-1.0kg /ha/yearであり，水田を流入水が通過するときにP-N負荷量が平均17%減少したと考えられた。T-Nの差引き-10kg /ha/yearの大部分(91%)がD-Nの減少によるものであった。亀和田ら¹³⁾は9種類の水田および畑土壌で稲ポット栽培試験を行い脱窒速度が20～60kg /ha/yearと推計しているが，本調査水田においても脱窒による可能性が考えられる。

用水のT-P負荷量は12kg /ha/year，流出水のT-P負荷量は16kg /ha/yearであり，これに降水の負荷0.2kg /ha/yearも考慮した差引き負荷量は4.0kg /ha/yearであった。

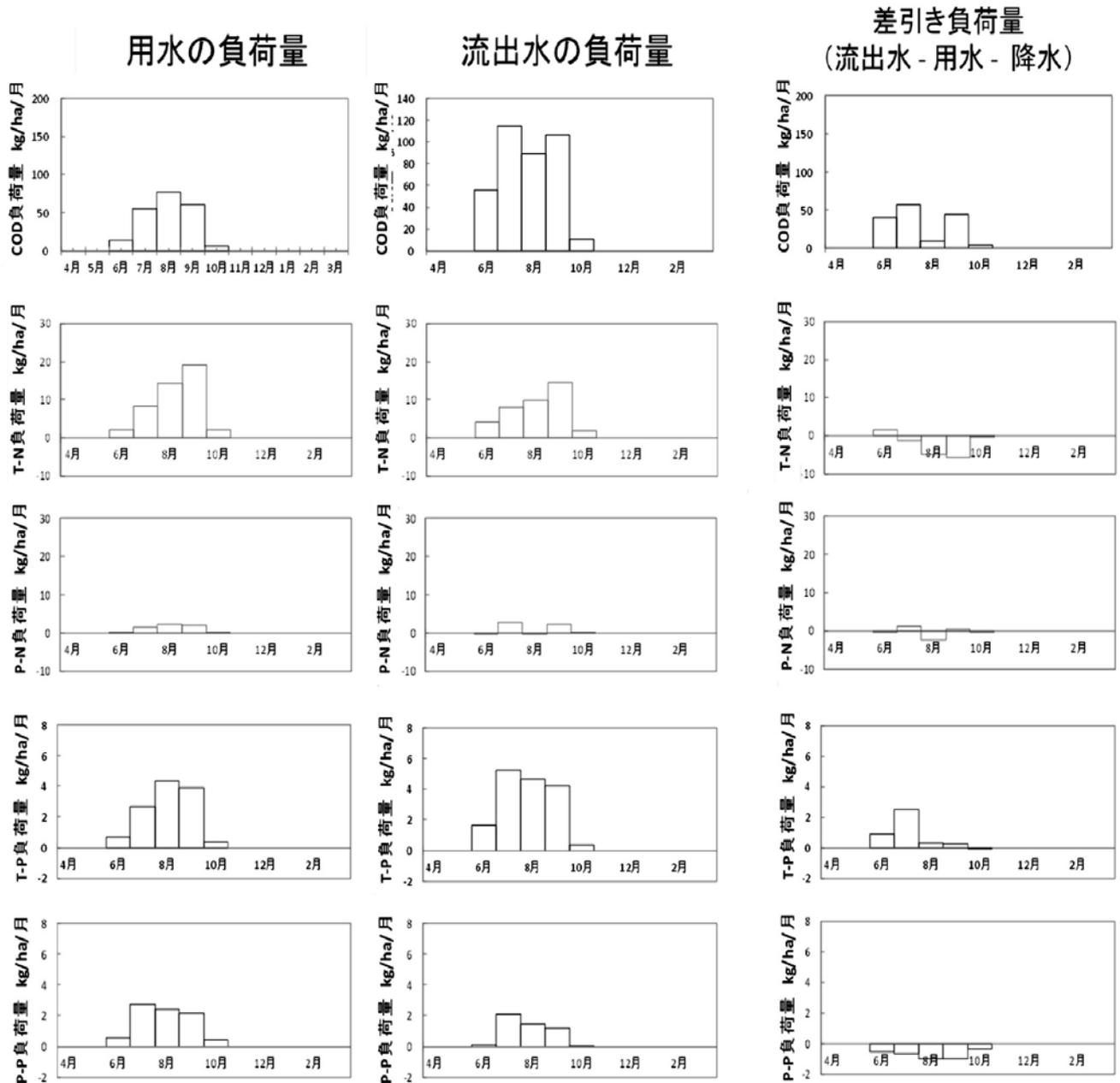


図6 負荷量(月毎)

水田を流入水が通過するときに T-P 負荷量が平均 33% 増加したと考えられた。T-P 負荷量の収支を P-P と D-P の成分毎に分けてみると、用水の P-P 負荷量の割合は 69%、流出水の P-P 負荷量の割合は 30% で、水田を流入水が通過するときに P-P 負荷量が減少し、D-P 負荷量が増加すると考えられた。用水の P-P 負荷量は 8.3kg /ha/year、流出水の P-P 負荷量は 4.9kg /ha/year であり、差引き負荷量は -3.4kg /ha/year で、水田を流入水が通過するときに P-P 負荷量が平均 41% 減少すると考えられた。また用水の D-P 負荷量は 3.7kg /ha/year、流出水の D-P 負荷量は 11kg /ha/year であり、降水の負荷 (0.2kg /ha/year とする) も

考慮した差引き負荷量は 7.4kg /ha/year で、水田を流入水が通過するときに D-P 負荷量が増加すると考えられた。これらのことから水田のリン収支は、用水中の P-P (8.3kg /ha/year) の 4 割 (41%) に相当する量が水田に蓄積される一方で、水田から 7.4kg /ha/year の D-P が流出すると考えられ、懸濁物の沈降と、泥や肥料からの溶存態成分の溶出によるものと思われた。今回の調査は水田の作付け期間に限定した負荷量であり、より精度の高い負荷量の調査を行うには年間を通じての調査や継続したデータの集積が必要であり、また地下浸透水の測定や評価が今後の課題と考えられる。

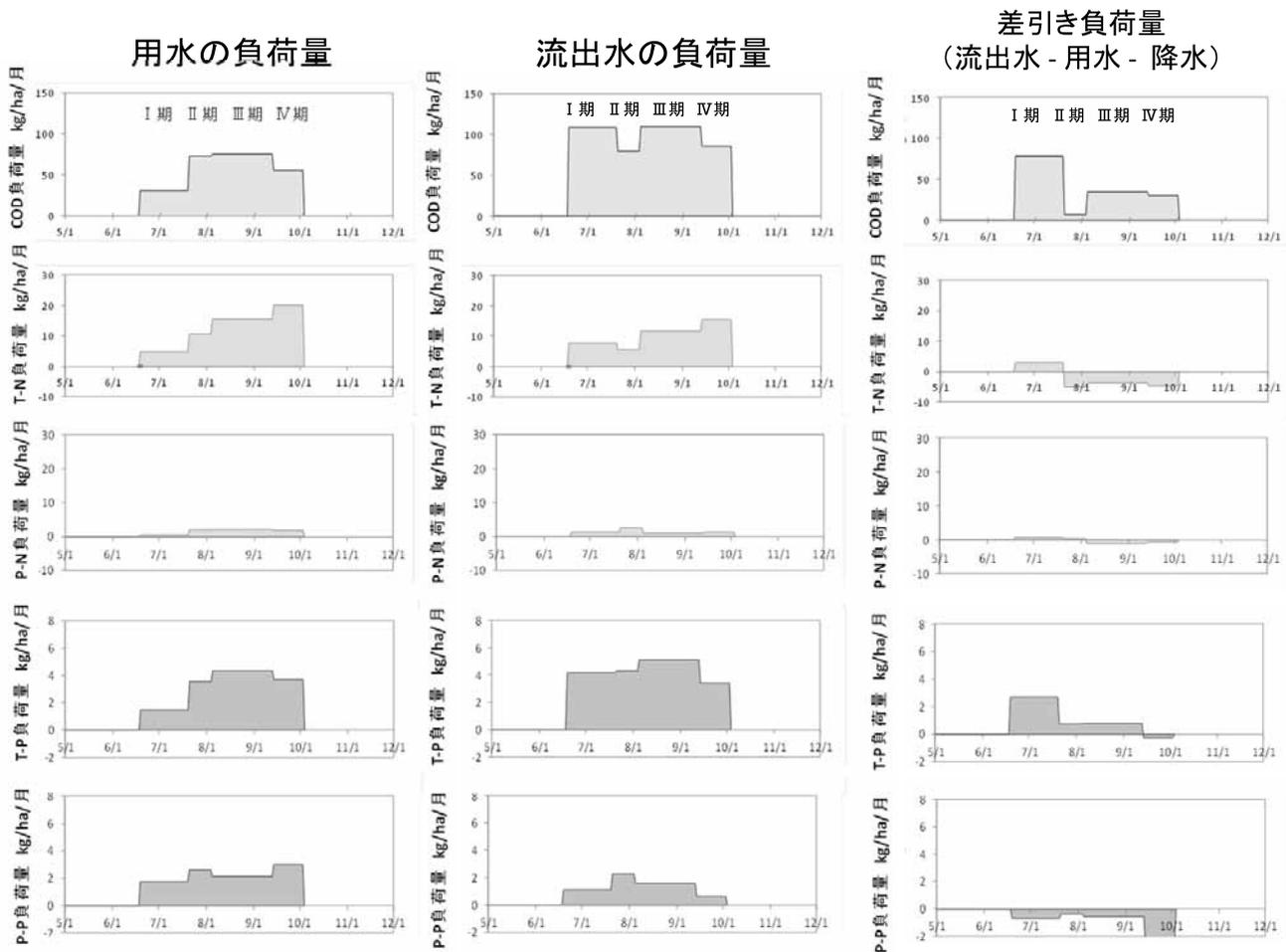


図7 負荷量

4期（I期：田植え～土用干し前の間断かんがい，II期：土用干し前後，III期：土用干し後の間断灌漑，IV期：稲刈り前）に分けて表示。

4 まとめ

岡山市北区一宮の一筆の水田から流出する汚濁負荷量の調査を行った。

水質は、CODは用水が平均10mg/L、排水が平均18mg/Lで平均7.6mg/Lの増加であった。T-Nは、用水が平均1.9mg/L、排水が平均1.5mg/Lで平均0.4mg/Lの減少であった。T-Pは、用水が平均0.56mg/L、排水が平均0.71mg/Lで平均0.15mg/Lの増加であった。

差引き負荷量はCODが154kg/ha/year、T-Nが-10kg/ha/year、T-Pが4.0kg/ha/yearであった。

文 献

- 1) 藤田和男, 難波あゆみ, 河野裕明, 山本淳: 七区における汚濁負荷量調査, 岡山県環境保健センター年報, 37, 41-50, 2013
- 2) 藤田和男, 中野拓也, 金子英史, 山本淳: 児島湖における汚濁メカニズムの解明-都六区の水田群及び八浜町波知の水田における汚濁負荷量調査-, 岡山県環境

保健センター年報, 39, 75-80, 2015

- 3) 大久保卓也, 佐藤祐一, 東善広: 灌漑期における降雨時を含めた水田群からの排出汚濁負荷量, 水環境学会誌, 37(6), 229-237, 2014
- 4) 中国四国農政局農村計画部資源課: 湖沼流域水環境保全手法確立調査(笹ヶ瀬川流域・児島湖直接流域地区)平成18年度調査結果報告書, 2007
- 5) 中国四国農政局農村計画部資源課: 湖沼流域水環境保全手法確立調査(笹ヶ瀬川流域地区・児島湖直接流域地区)平成19年度調査計画と実施状況, 2008
- 6) 岡山県: 平成27年度指定湖沼汚濁負荷量削減状況調査報告書, 2016
- 7) 土木学会: 水理公式集例題集, 37-38, 丸善, 東京, 1976
- 8) 大久保卓也, 佐藤祐一, 東善広: 栄養塩濃度の高い用水を反復利用する水田群での窒素・リンの動態, 水環境学会誌, 37(5), 177-187, 2014
- 9) 島弘志編: 工場排水試験法 JIS-K0102:2013, 日本規

格協会, 東京, 2010

- 10) 武田育郎：よくわかる水環境と水質, 161, オーム社, 東京, 2010
- 11) 国松孝男, 村岡浩爾編：河川汚濁のモデル解析, 64, 技報堂出版, 東京, 1989
- 12) JA 全農岡山県本部：JA 岡山米栽培ごよみ, 2011
- 13) 亀和田國彦：各種土壌の水田条件下での脱窒能力, 栃木県農試研報, 63, 27-34, 2008

【調査研究】

岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査（第4報）

Survey of Environmental Radiation Background Level in Okayama Prefecture (4)

畑 陽介, 清水光郎, 木下浩行, 片岡敏夫, 小川 登 (放射能科)

Yousuke Hata, Mitsuo Shimizu, Hiroyuki Kinoshita, Toshio Kataoka, Noboru Ogawa
(Environmental Radiation Section)

要 旨

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター周辺の環境放射線等測定結果を補完することを目的として、岡山県内の環境放射線等のバックグラウンドレベルを調査した。地質等の自然環境や産業活動の影響により、各エリアの環境放射線等の測定結果にはばらつきがみられたが、同一エリアにおいては調査期間を通して環境放射線等のレベルに大きな変化は確認されなかった。本調査の結果を人形峠環境技術センター周辺の環境放射線等の監視測定結果と比較すると、空間γ線線量率及び河川水のラドン222濃度は同程度であり、土壌及び河川水のウラン238及びラジウム226濃度は低く、ふっ素濃度は高い傾向であった。

[キーワード：環境放射能, バックグラウンド, 空間γ線線量率, ウラン238, ラジウム226, ふっ素]

[Key words : Environmental Radiation, Background, Absorbed dose rate in air, U-238, Ra-226, Fluorine]

1 はじめに

岡山県では国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター（以下「人形峠センター」という。）周辺の環境放射線等監視測定を昭和54年度以降継続して行っている。東京電力（株）福島第一原子力発電所（以下「福島第一原発」という。）事故後、環境放射能水準調査（原子力規制庁委託）におけるモニタリングが強化されているが、岡山県では福島第一原発事故の影響は認められていない。しかしながら、福島第一原発事故を契機として、原子力施設からの放射性物質または放射線による周辺環境への影響の適切な評価に資する観点から、平常時における環境放射線等のレベルを把握しておくことが重要となっている。そこで、人形峠センター周辺の環境放射線等測定結果の評価を補完する一環として、県内の環境放射線等のバックグラウンドレベルを把握するため、平成24～26年度の3年間（一部の試料については平成26, 27年度の2年間）調査を実施したので、その結果を報告する。

2 調査内容

岡山県を図1に示すように16メッシュに区切り、このうち当センターが人形峠センター周辺の環境放射線等監視測定を行っている地域を含めた4つのメッシュを除く、12メッシュを対象とし、表1に示す各メッシュ内の地点において、サンプリング測定を行った。各調査対象メッシュにおける調査地点の選定では、河川水は岡山県が実施してい

る公共用水域の水質測定の環境基準点¹⁾から、その他の項目については長期にわたり周辺環境の変化が比較的少ないと考えられる公共施設から選定した。

測定項目は空間γ線線量率、土壌及び河川水中の放射性核種及びふっ素（以下「F」という。）濃度とした。空間γ線線量率は四半期毎、土壌及び河川水中の放射性核種及びF濃度は年1回の頻度で測定を行った。なお、試料の採取、前処理及び測定等については文部科学省放射能測定法シリーズ²⁾に準拠して行った。

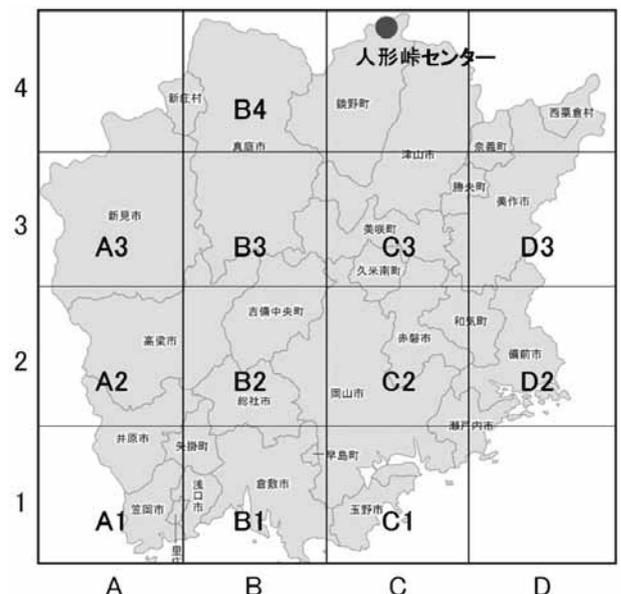


図1 県内メッシュ調査図

表 1 調査地点一覧

測定エリア	空間γ線線量率 土壌調査地点		河川水調査地点	
A1	笠岡市	岡山県井笠地域事務所内	里見川	鴨方川合流点付近
A2	高梁市	岡山県高梁地域事務所内	高梁川中流	中井橋付近
A3	新見市	岡山県新見地域事務所内	高梁川上流	一中橋付近
B1	倉敷市	岡山県備中県民局内	小田川下流	福松橋付近
B2	吉備中央町	岡山県農林水産総合センター生物科学研究所内	宇甘川	箕地橋付近
B3	真庭市	岡山県真庭地域事務所内	新庄川	大久奈橋付近
B4	真庭市	岡山県農林水産総合センター農業研究所高冷地研究室内	旭川上流	野田橋付近
C1	岡山市	岡山県環境保健センター内	倉敷川	倉敷川橋付近
C2	岡山市	岡山県備前県民局内	旭川下流	桜橋付近
C3	津山市	岡山県美作県民局内	吉井川上流	嵯峨堰付近
D2	和気町	岡山県東備地域事務所内	金剛川	宮橋付近
D3	美作市	岡山県勝英地域事務所内	瀧川	三星橋付近

2.1 空間γ線線量率

2.1.1 積算線量計法

地上高1mに蛍光ガラス線量計を各地点に5個ずつ設置して、四半期毎に蛍光ガラス線量計測定装置（AGCテクノグラス製FGD-201）を用いて測定し、5検体測定した平均値を測定値とした。

2.1.2 サーベイメータ法

四半期毎にNaIシンチレーション式サーベイメータ（日立アロカメディカル製TCS-171）を用い、地上高1mで測定した。なお、測定は時定数を30秒とし、設置後90秒待ってから30秒毎に5回指示値を読み取り、平均値を測定値とした。

2.2 放射性核種及びF濃度

河川水及び土壌（表土0～5cm）試料を採取し、それぞれの測定項目に応じて前処理及び試料調製等を行った。

ウラン238（以下「U-238」という。）測定については、土壌はα線波高分析装置（CANBERRA製α-Analyst）を用い、河川水はICP-MS分析装置（サーモフィッシャーサイエンティフィック製iCAPQc）を用いて測定した。

ラジウム226（以下「Ra-226」という。）測定については、2πガスフロー自動測定装置（日立アロカメディカル製LBC-4311-R及びLBC-4311-B）を用いて測定した。

ラドン222（以下「Rn-222」という。）測定については、液体シンチレーションカウンタによるラドンの放射能測定法³⁾に準じて行い、液体シンチレーションカウンタ（日立アロカメディカル製LSC-7400）を用いて測定した。

F測定については、Fイオン電極法（JIS K0101-1979）に準じて行い、Fイオンメーター（サーモエレクトロン製920AQ）を用いて測定した。

セシウム134及びセシウム137（以下「Cs-134」及び「Cs-137」という。）測定については、ゲルマニウム半導体検出器（CANBERRA製GC-1520/GR-3019）を用い、土壌

はU-8容器に、河川水は直接2Lマリネリ容器に詰めてそれぞれ80,000秒測定した。

なお、放射線計測による測定結果については、計数誤差の3倍を超えた場合を有意値とし、それ以下の場合には不検出（ND）とし、計数誤差の3倍に不等号を付して表記した。また、河川水のU-238及びFの測定結果については、それぞれ定量下限値を0.003mBq/cm³及び0.05mg/Lとし、それ未満の場合は定量下限値に不等号を付して表記した。

3 結果

3.1 空間γ線線量率

3.1.1 積算線量計法

積算線量計法の測定結果を表2に示す。平成24～26年度の測定値の範囲は46～109nGy/hであった。また、3年間の測定結果の平均値を地図上に表記したものを図2に示す。

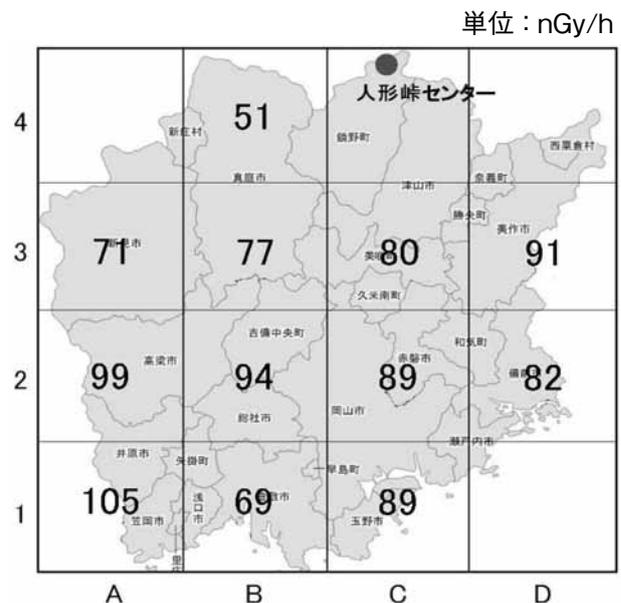


図2 積算線量計法による空間γ線線量率（平均値）

表2 積算線量計法による空間γ線線量率の測定結果

単位:nGy/h

測定エリア	年度	第1四半期	第2四半期	第3四半期	第4四半期	年度平均値	全平均値	測定値の範囲
A1	H24	105	109	106	101	105	105	101 ~ 109
	H25	104	102	107	103	104		
	H26	108	106	102	107	106		
A2	H24	97	103	99	90	97	99	90 ~ 104
	H25	99	96	102	100	99		
	H26	104	102	95	103	101		
A3	H24	69	70	71	68	70	71	68 ~ 77
	H25	70	69	77	71	72		
	H26	75	72	68	74	72		
B1	H24	69	70	69	69	69	69	67 ~ 74
	H25	68	67	70	68	68		
	H26	74	70	67	69	70		
B2	H24	94	95	96	90	94	94	89 ~ 99
	H25	94	93	96	89	93		
	H26	99	98	91	95	96		
B3	H24	78	80	75	75	77	77	74 ~ 82
	H25	77	77	82	78	79		
	H26	78	76	74	77	76		
B4	H24	52	52	52	46	51	51	46 ~ 54
	H25	52	51	53	48	51		
	H26	54	52	49	48	51		
C1	H24	86	89	87	86	87	89	85 ~ 99
	H25	85	86	99	86	89		
	H26	99	90	88	90	92		
C2	H24	89	87	86	85	87	89	82 ~ 96
	H25	86	86	96	82	88		
	H26	94	93	90	90	92		
C3	H24	79	79	76	74	77	80	74 ~ 91
	H25	77	77	91	81	82		
	H26	85	79	77	81	81		
D2	H24	79	80	76	77	78	82	76 ~ 96
	H25	79	78	83	96	84		
	H26	87	84	78	81	83		
D3	H24	90	93	88	87	90	91	78 ~ 98
	H25	78	88	97	92	89		
	H26	98	93	88	95	94		
全体							83	46 ~ 109

表3 サーベイメータ法による空間γ線線量率の測定結果

単位:nGy/h

測定エリア	年度	第1四半期		第2四半期		第3四半期		第4四半期		年度 平均値	全平均値	測定値の範囲
		測定年月日	線量率	測定年月日	線量率	測定年月日	線量率	測定年月日	線量率			
A1	H24	H24.6.28	86	H24.9.19	96	H24.12.20	90	H25.3.12	96	92	94	86 ~ 98
	H25	H25.6.24	92	H25.9.18	96	H25.12.16	96	H26.3.12	94	95		
	H26	H26.6.16	96	H26.9.17	98	H26.12.10	94	H27.3.17	98	97		
A2	H24	H24.6.25	82	H24.9.19	80	H24.12.21	84	H25.3.14	106	88	86	80 ~ 106
	H25	H25.6.25	86	H25.9.19	80	H25.12.19	84	H26.3.13	88	85		
	H26	H26.6.18	86	H26.9.17	86	H26.12.10	80	H27.3.5	88	85		
A3	H24	H24.6.28	44	H24.9.19	50	H24.12.20	50	H25.3.12	50	49	51	44 ~ 58
	H25	H25.6.24	52	H25.9.18	50	H25.12.16	54	H26.3.12	49	51		
	H26	H26.6.16	51	H26.9.25	51	H26.12.17	58	H27.3.18	53	53		
B1	H24	H24.6.28	54	H24.9.19	54	H24.12.20	58	H25.3.12	54	55	58	53 ~ 67
	H25	H25.6.24	56	H25.9.18	60	H25.12.16	60	H26.3.12	67	61		
	H26	H26.6.16	61	H26.9.17	63	H26.12.10	55	H27.3.17	53	58		
B2	H24	H24.6.25	76	H24.9.20	74	H24.12.21	74	H25.3.14	100	81	82	74 ~ 100
	H25	H25.6.25	80	H25.9.19	76	H25.12.19	78	H26.3.13	86	80		
	H26	H26.6.18	82	H26.9.17	84	H26.12.10	88	H27.3.5	84	85		
B3	H24	H24.6.20	66	H24.9.26	68	H24.12.17	69	H25.3.5	92	74	68	61 ~ 92
	H25	H25.6.20	68	H25.9.26	68	H25.12.11	62	H26.3.6	63	65		
	H26	H26.6.12	61	H26.9.25	69	H26.12.15	68	H27.3.17	67	66		
B4	H24	H24.6.25	32	H24.9.20	34	H24.12.21	22	H25.3.14	36	31	35	22 ~ 53
	H25	H25.6.25	30	H25.9.19	36	H25.12.19	36	H26.3.13	53	39		
	H26	H26.6.18	37	H26.9.17	33	H26.12.15	30	H27.3.5	37	34		
C1	H24	H24.6.26	72	H24.9.19	76	H24.12.21	100	H25.3.5	76	81	84	72 ~ 100
	H25	H25.6.25	84	H25.9.17	72	H25.12.9	96	H26.3.11	100	88		
	H26	H26.6.17	86	H26.9.24	84	H26.12.11	78	H27.3.18	78	82		
C2	H24	H24.6.26	78	H24.9.27	76	H24.12.18	84	H25.3.6	70	77	77	70 ~ 90
	H25	H25.6.21	78	H25.9.11	72	H25.12.17	76	H26.3.10	82	77		
	H26	H26.6.17	90	H26.9.18	75	H26.12.11	71	H27.3.6	71	77		
C3	H24	H24.6.20	70	H24.9.27	72	H24.12.17	73	H25.3.6	68	71	70	65 ~ 74
	H25	H25.6.20	74	H25.9.26	70	H25.12.12	74	H26.3.6	65	71		
	H26	H26.6.12	67	H26.9.18	65	H26.12.17	70	H27.3.18	67	67		
D2	H24	H24.6.21	70	H24.9.27	70	H24.12.18	65	H25.3.6	66	68	66	62 ~ 70
	H25	H25.6.20	62	H25.9.12	64	H25.12.17	64	H26.3.10	63	63		
	H26	H26.6.17	69	H26.9.18	67	H26.12.11	64	H27.3.6	63	66		
D3	H24	H24.6.21	72	H24.9.27	78	H24.12.18	71	H25.3.6	80	75	75	66 ~ 80
	H25	H25.6.20	78	H25.9.12	66	H25.12.17	76	H26.3.10	78	75		
	H26	H26.6.12	75	H26.9.17	78	H26.12.11	74	H27.3.6	69	74		
全体											70	22 ~ 106

3.1.2 サーベイメータ法

サーベイメータ法の測定結果を表3に示す。平成24～26年度の測定値の範囲は22～106nGy/hであった。

3.2 放射性核種及びF濃度

3.2.1 土壌

土壌の各種測定項目濃度について、平成24～27年度の測定結果を表4に、測定値の範囲及び平均値を表5に示す。U-238濃度は0.008～0.043Bq/g乾、Ra-226濃度は0.022

～0.090Bq/g乾、F濃度は160～380mg/kg乾であった。Cs-134は全ての検体で検出されず、Cs-137濃度はND～7.4Bq/kg乾であった。なお、B4における当初の土壌採取場所はブナ科植物の林の端に位置しており、メッシュを代表する採取場所として適切でないと考えられたため、平成26～27年度に林から離れた場所の土壌を採取し、測定した⁴⁾。

表4 土壌の放射性核種及びF濃度測定結果（H24～27年度）

測定エリア	採取年月日	U-238 (Bq/g乾)	Ra-226 (Bq/g乾)	F (mg/kg乾)	Cs-134 (Bq/kg乾)	Cs-137 (Bq/kg乾)
A1	H24.8.27	0.028±0.002	0.074±0.009	310	ND (<0.9)	ND (<0.8)
	H25.6.24	0.041±0.003	0.090±0.006	360	ND (<0.8)	ND (<0.8)
	H26.9.17	0.028±0.002	0.084±0.007	310	ND (<0.9)	ND (<0.9)
A2	H24.8.29	0.029±0.002	0.052±0.006	230	ND (<0.9)	2.2±0.3
	H25.6.25	0.029±0.002	0.059±0.005	210	ND (<0.9)	2.1±0.2
	H26.9.17	0.022±0.002	0.061±0.006	170	ND (<0.9)	1.1±0.2
A3	H24.8.27	0.016±0.001	0.034±0.004	180	ND (<1.0)	5.9±0.4
	H25.6.24	0.041±0.003	0.046±0.004	170	ND (<0.8)	2.7±0.2
	H26.9.25	0.016±0.001	0.051±0.005	160	ND (<0.8)	2.1±0.2
B1	H24.8.27	0.009±0.001	0.027±0.004	210	ND (<0.9)	2.6±0.3
	H25.6.24	0.010±0.001	0.030±0.003	220	ND (<0.7)	3.1±0.2
	H26.9.17	0.009±0.001	0.022±0.003	200	ND (<0.7)	2.4±0.2
B2	H24.8.29	0.036±0.002	0.078±0.009	280	ND (<0.9)	ND (<1.0)
	H25.6.25	0.043±0.003	0.058±0.004	180	ND (<1.1)	ND (<1.1)
	H26.9.17	0.029±0.002	0.073±0.006	220	ND (<1.0)	ND (<1.0)
B3	H24.8.29	0.024±0.002	0.044±0.005	290	ND (<0.8)	3.0±0.3
	H25.6.27	0.024±0.002	0.037±0.003	290	ND (<0.8)	2.4±0.2
	H26.8.12	0.023±0.002	0.043±0.005	200	ND (<0.8)	1.6±0.3
B4	H26.8.12	0.018±0.001	0.034±0.003	210	ND (<1.1)	7.4±0.4
	H27.4.21	0.023±0.002	0.030±0.003	250	ND (<1.1)	4.1±0.3
C1	H24.8.28	0.029±0.002	0.056±0.007	300	ND (<1.2)	ND (<1.2)
	H25.6.24	0.033±0.003	0.073±0.005	260	ND (<0.9)	ND (<0.9)
	H26.9.24	0.025±0.002	0.060±0.006	260	ND (<0.9)	ND (<0.9)
C2	H24.8.29	0.017±0.001	0.027±0.004	310	ND (<0.8)	1.9±0.2
	H25.6.27	0.017±0.001	0.026±0.003	300	ND (<0.7)	1.9±0.2
	H26.9.18	0.017±0.001	0.047±0.005	380	ND (<0.8)	ND (<0.8)
C3	H24.8.27	0.013±0.001	0.031±0.004	200	ND (<1.1)	4.8±0.4
	H25.6.27	0.020±0.001	0.033±0.003	230	ND (<0.8)	5.2±0.3
	H26.9.18	0.019±0.001	0.034±0.004	230	ND (<0.9)	4.0±0.3
D2	H24.8.29	0.008±0.001	0.029±0.004	290	ND (<0.7)	1.8±0.2
	H25.6.27	0.011±0.001	0.022±0.003	280	ND (<0.7)	1.1±0.2
	H26.9.18	0.010±0.001	0.035±0.004	310	ND (<0.8)	1.0±0.2
D3	H24.8.28	0.013±0.001	0.036±0.005	200	ND (<0.8)	1.2±0.2
	H25.6.27	0.020±0.002	0.038±0.003	200	ND (<0.8)	2.1±0.2
	H26.9.18	0.016±0.001	0.043±0.005	180	ND (<0.9)	1.2±0.2

表5 土壌の放射性核種及びF濃度測定結果（測定値の範囲及び平均値）

測定エリア	U-238 (Bq/g乾)	Ra-226 (Bq/g乾)	F (mg/kg乾)	Cs-134 (Bq/kg乾)	Cs-137 (Bq/kg乾)
	測定値の範囲	測定値の範囲	測定値の範囲	測定値の範囲	測定値の範囲
	平均値	平均値	平均値	平均値	平均値
A1	0.028～0.041	0.074～0.090	310～360	ND	ND
	0.032	0.083	330	ND	ND
A2	0.022～0.029	0.052～0.061	170～230	ND	1.1～2.2
	0.027	0.057	200	ND	1.8
A3	0.016～0.041	0.034～0.051	160～180	ND	2.1～5.9
	0.024	0.044	170	ND	3.6
B1	0.009～0.010	0.022～0.030	200～220	ND	2.4～3.1
	0.009	0.026	210	ND	2.7
B2	0.029～0.043	0.058～0.078	180～280	ND	ND
	0.036	0.070	230	ND	ND
B3	0.023～0.024	0.037～0.044	200～290	ND	1.6～3.0
	0.024	0.041	260	ND	2.4
B4	0.018～0.023	0.030～0.034	210～250	ND	4.1～7.4
	0.021	0.032	230	ND	5.8
C1	0.025～0.033	0.056～0.073	260～300	ND	ND
	0.029	0.063	270	ND	ND
C2	0.017	0.026～0.047	300～380	ND	ND～1.9
	0.017	0.033	330	ND	<1.9
C3	0.013～0.020	0.031～0.034	200～230	ND	4.0～5.2
	0.017	0.033	220	ND	4.7
D2	0.008～0.011	0.022～0.035	280～310	ND	1.0～1.8
	0.010	0.029	290	ND	1.3
D3	0.013～0.020	0.036～0.043	180～200	ND	1.2～2.1
	0.016	0.039	190	ND	1.5
全体	0.008～0.043	0.022～0.090	160～380	ND	ND～7.4
	0.022	0.046	250	ND	<2.8

3.2.2 河川水

河川水の各種測定項目濃度について、平成 24～26 年度の測定結果を表 6 に、測定値の範囲及び平均値を表 7 に示す。全ての検体で U-238, Ra-226, Cs-134 及び Cs-137 は検出されなかった。F 濃度は <0.05～0.30mg/L, Rn-222 濃度は ND～9.61Bq/L であった。

4 考察

4.1 空間 γ 線線量率

4.1.1 積算線量計法

本調査における岡山県内の積算線量計法による空間 γ 線線量率測定結果は、平成 24～26 年度の人形峠センター周辺の環境放射線等の監視測定結果 (42～104nGy/h)⁵⁾と同程度であった。県南西部の測定結果がやや高い傾向であるが、これは花崗岩地質の影響⁶⁾を受けた自然由来と考えられた。また、B4 エリアで第 4 四半期の測定値が低下しているが、これは積雪により大地からの放射線が遮蔽されたものと考えられた。

空間 γ 線線量率は地質や周辺環境の影響を受けるため、地点によってばらつきがあるものの、同一地点における測定結果は年度による大きな変化は確認されなかった。

4.1.2 サーベイメータ法

本調査におけるサーベイメータ法による空間 γ 線線量率測定結果は、昭和 42～52 年に阿部が行った全国調査における県内の 12 市町の測定結果 (68～112nGy/h)⁷⁾や平成 3～8 年度に当センターの杉山らが調査を行った県内の測定結果 (29.9～167.8nGy/h)⁸⁾と同程度であった。また、福島第一原発事故以前である平成 17～20 年度の環境放射線水準調査における中国・四国地方のサーベイメータ法の測定結果 (20～149nGy/h)⁹⁾とも同程度であった。

人形峠センター周辺の環境放射線等の監視測定ではサーベイメータ法による測定を行っていないが、県南西部の測定結果がやや高い傾向は積算線量計法と同様であり、阿部や杉山らが行った先の調査結果の傾向とも一致していた。

4.2 土壌

前報において、平成 24～26 年度の人形峠センター周辺の環境放射線等の監視測定における未耕土の測定結果は、U-238 濃度が 0.018～0.077Bq/g 乾, Ra-226 濃度が 0.037～0.142Bq/g 乾, F 濃度が 56～200mg/kg 乾であり³⁾、本調査の結果は U-238 及び Ra-226 濃度がやや低く、F 濃度はやや高い傾向であった。人形峠周辺はウラン鉱床の露頭が発見された地域であり、U-238 及びその子孫核種である Ra-226 が土壌中に比較的多く含まれているためと考えられた。

Cs-134 は全ての検体で検出されず、福島第一原発事故

の影響は確認されなかった。また、Cs-137 濃度は ND～7.4Bq/kg 乾であったが、平成 17～21 年度の環境放射線水準調査における中国・四国地方の未耕土の Cs-137 濃度は ND～26.4Bq/kg 乾であり⁹⁾、Cs-134 が検出されていないことから、過去に行われた核実験等のフォールアウトに由来するものと考えられた。

4.3 河川水

4.3.1 河川水

平成 24～26 年度の人形峠センター周辺の環境放射線等の監視測定における河川水の測定結果は、U-238 濃度が ND～0.012mBq/cm³, Ra-226 濃度が ND～0.41×10²mBq/cm³, Rn-222 濃度が ND～9.93Bq/L, F 濃度が <0.05mg/L であり⁵⁾、本調査の結果では U-238 及び Ra-226 濃度は検出されず、Rn-222 濃度は同程度、F 濃度は高い傾向であった。

人形峠センター周辺の河川水において U-238 及び Ra-226 が検出されているのは、この周辺がウラン鉱床の発見された地域であることが要因として考えられた。

Rn-222 濃度は全国の測定結果 (<0.1～14.6Bq/L)¹⁰⁾の範囲内であったが、D2 エリアにおいて県内他地点に比べてやや高い測定値であった。採水地点周辺の調査を行ったところ、約 150 m 上流に湧水が確認され、これが Rn-222 の供給源となっていた¹¹⁾。

F 濃度は全ての地点において公共用水域の環境基準 (0.8mg/L) を下回っており、県内の公共用水域の調査結果¹⁾とほぼ同等の結果であったが、県南部が県北部に比べて高い傾向であった。F は土壌や岩石からの溶出により供給される他、F を含んだ工場排水や生活排水が河川に流入することにより濃度が上昇するとされている¹²⁾。上流域である県北部に比べて、下流域である県南部の方が産業活動も盛んであり人口も多いため、このような傾向を示したと考えられた。

Cs-134 は全ての検体で検出されず、福島第一原発事故の影響は確認されなかった。また、Cs-137 についても全ての検体で検出されなかった。

4.3.2 D2 エリアにおける Rn-222 濃度と河川流量の関係

湧水の影響を受けている D2 エリアの Rn-222 濃度は平成 24～26 年度の測定結果をみると年々低下しているように見える。そこで Rn-222 濃度と河川流量との関係について考察を行った。Rn-222 濃度は本調査の測定結果に加えて、平成 24 年度に行った金剛川水系における河川水中ラドン濃度調査¹¹⁾の同一地点の測定結果等も引用した。河川流量については、採水地点直近の尺所観測所で観測されたデータ¹³⁾を用いた。河川流量と Rn-222 濃度の関係を表 8 と図 3 に示す。河川流量の増加に伴い、Rn-222 濃度が低下する傾向がみられた。湧水量と Rn 濃度はほぼ一定であ

表6 河川水の放射性核種及びF濃度測定結果 (H24～26年度)

測定エリア	採取年月日	U-238 (mBq/cm ³)	Ra-226 (10 ⁻² mBq/cm ³)	F (mg/L)	Rn-222 (Bq/L)	Cs-134 (Bq/L)	Cs-137 (Bq/L)
A1	H24.8.27	<0.003	ND (<0.4)	0.30	0.05±0.01	ND (<0.06)	ND (<0.07)
	H25.7.18	<0.003	ND (<0.3)	0.30	0.13±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.9.8	<0.003	ND (<0.2)	0.24	0.06±0.01	ND (<0.04)	ND (<0.04)
A2	H24.8.29	<0.003	ND (<0.3)	<0.05	ND (<0.03)	ND (<0.04)	ND (<0.05)
	H25.7.18	<0.003	ND (<0.2)	<0.05	0.14±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.9.8	<0.003	ND (<0.2)	0.05	0.05±0.01	ND (<0.05)	ND (<0.05)
A3	H24.8.27	<0.003	ND (<0.3)	0.06	0.14±0.02	ND (<0.06)	ND (<0.06)
	H25.7.18	<0.003	ND (<0.3)	0.05	0.07±0.01	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.9.8	<0.003	ND (<0.2)	0.06	ND (<0.03)	ND (<0.05)	ND (<0.04)
B1	H24.8.27	<0.003	ND (<0.4)	0.27	0.40±0.03	ND (<0.05)	ND (<0.07)
	H25.7.18	<0.003	ND (<0.3)	0.17	0.15±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.9.8	<0.003	ND (<0.2)	0.13	ND (<0.03)	ND (<0.04)	ND (<0.04)
B2	H24.8.29	<0.003	ND (<0.3)	0.27	1.26±0.06	ND (<0.07)	ND (<0.07)
	H25.7.22	<0.003	ND (<0.3)	0.19	0.86±0.05	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.8.21	<0.003	ND (<0.2)	0.16	0.40±0.03	ND (<0.04)	ND (<0.04)
B3	H24.8.27	<0.003	ND (<0.3)	0.07	0.28±0.03	ND (<0.05)	ND (<0.04)
	H25.7.24	<0.003	ND (<0.2)	<0.05	0.37±0.03	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.8.12	<0.003	ND (<0.2)	0.05	0.21±0.02	ND (<0.05)	ND (<0.04)
B4	H24.8.29	<0.003	ND (<0.3)	<0.05	0.25±0.03	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H25.7.24	<0.003	ND (<0.3)	<0.05	0.34±0.03	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.8.12	<0.003	ND (<0.2)	<0.05	0.21±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.05)
C1	H24.8.28	<0.003	ND (<0.5)	0.18	ND (<0.03)	ND (<0.04)	ND (<0.05)
	H25.7.18	<0.003	ND (<0.3)	0.11	0.13±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.8.21	<0.003	ND (<0.2)	0.19	0.08±0.02	ND (<0.05)	ND (<0.04)
C2	H24.8.28	<0.003	ND (<0.3)	0.15	ND (<0.03)	ND (<0.04)	ND (<0.05)
	H25.7.24	<0.003	ND (<0.3)	0.10	0.23±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.8.21	<0.003	ND (<0.2)	0.07	0.19±0.02	ND (<0.05)	ND (<0.04)
C3	H24.8.27	<0.003	ND (<0.4)	<0.05	0.07±0.02	ND (<0.06)	ND (<0.06)
	H25.7.23	<0.003	ND (<0.3)	<0.05	0.16±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.8.21	<0.003	ND (<0.2)	<0.05	0.09±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.04)
D2	H24.8.28	<0.003	ND (<0.3)	0.11	9.61±0.16	ND (<0.06)	ND (<0.09)
	H25.7.30	<0.003	ND (<0.3)	0.09	2.57±0.08	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.8.21	<0.003	ND (<0.2)	0.08	1.06±0.06	ND (<0.06)	ND (<0.06)
D3	H24.8.28	<0.003	ND (<0.3)	0.09	0.19±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.05)
	H25.7.30	<0.003	ND (<0.2)	<0.05	0.20±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.04)
	H26.8.21	<0.003	ND (<0.2)	0.05	0.15±0.02	ND (<0.04)	ND (<0.04)

表7 河川水の放射性核種及びF濃度測定結果 (測定値の範囲及び平均値)

測定エリア	U-238 (mBq/cm ³)	Ra-226 (10 ⁻² mBq/cm ³)	F (mg/L)	Rn-222 (Bq/L)	Cs-134 (Bq/L)	Cs-137 (Bq/L)
	測定値の範囲 平均値	測定値の範囲 平均値	測定値の範囲 平均値	測定値の範囲 平均値	測定値の範囲 平均値	測定値の範囲 平均値
A1	<0.003	ND	0.24~0.30	0.05~0.13	ND	ND
	<0.003	ND	0.28	0.08	ND	ND
A2	<0.003	ND	<0.05~0.05	ND~0.14	ND	ND
	<0.003	ND	<0.05	<0.10	ND	ND
A3	<0.003	ND	0.05~0.06	ND~0.14	ND	ND
	<0.003	ND	0.06	<0.11	ND	ND
B1	<0.003	ND	0.13~0.27	ND~0.40	ND	ND
	<0.003	ND	0.19	<0.28	ND	ND
B2	<0.003	ND	0.16~0.27	0.40~1.26	ND	ND
	<0.003	ND	0.21	0.84	ND	ND
B3	<0.003	ND	<0.05~0.07	0.21~0.37	ND	ND
	<0.003	ND	<0.06	0.29	ND	ND
B4	<0.003	ND	<0.05	0.21~0.34	ND	ND
	<0.003	ND	<0.05	0.27	ND	ND
C1	<0.003	ND	0.11~0.19	ND~0.13	ND	ND
	<0.003	ND	0.16	<0.11	ND	ND
C2	<0.003	ND	0.07~0.15	ND~0.23	ND	ND
	<0.003	ND	0.11	<0.21	ND	ND
C3	<0.003	ND	<0.05	0.07~0.16	ND	ND
	<0.003	ND	<0.05	0.11	ND	ND
D2	<0.003	ND	0.08~0.11	1.06~9.61	ND	ND
	<0.003	ND	0.09	4.41	ND	ND
D3	<0.003	ND	<0.05~0.09	0.15~0.20	ND	ND
	<0.003	ND	<0.07	0.18	ND	ND
全体	<0.003	ND	<0.05~0.30	ND~9.61	ND	ND
	<0.003	ND	<0.15	<0.65	ND	ND

ND: 不検出の略 (U-238: <0.003, F: <0.05, その他: 計数誤差の3倍以下)

表8 採水日における河川流量とRn-222濃度

採取年月日	河川流量 (m ³ /s)	Rn-222 (Bq/L)
H23. 12. 16	0.15	7.00 ※1
H24. 8. 28	欠測	9.61
H24. 11. 14	1.37	3.44 ※1
H24. 11. 30	0.49	4.10 ※1
H24. 12. 26	0.22	2.62 ※1
H25. 7. 30	1.03	2.57
H26. 8. 21	4.21	1.06

※1 「金剛川水系における河川水中ラドン濃度調査」及び付随調査の測定結果

ると考えられることから、河川流量が増減することにより、Rn-222が希釈される割合が変わり、濃度が変動するものと考えられた。

5 まとめ

平成24～27年度に実施した県内における環境放射能バックグラウンド調査結果から、調査期間を通して環境放射線等のレベルに大きな変化がないことを確認し、県内の環境放射線等のバックグラウンドレベルを把握することができた。本調査の結果を人形峠センター周辺の環境放射線等の監視測定結果と比較すると、空間γ線線量率及び河川水のRn-222濃度は同程度であり、土壌及び河川水のU-238及びRa-226濃度は低く、F濃度は高い傾向であった。人形峠センター周辺はウラン鉱床が発見された地域であり、U-238及びその子孫核種であるRa-226が比較的豊富であること、また河川水のF濃度は産業活動が盛んで人口も多い県南部で高くなる傾向があることが要因として考えられた。

文 献

- 1) 岡山県：“公共用水域及び地下水の常時監視”，<http://www.pref.okayama.jp/page/detail-28503.html>
- 2) 文部科学省：放射能測定法シリーズ
http://www.kankyo-hoshano.go.jp/series/pdf_series_index.html
- 3) 野口正安：液体シンチレーションカウンタによるRadonの放射能測定，Radioisotopes, 13, (5), 362-367, 1964
- 4) 畑 陽介，清水光郎，木下浩行，片岡敏夫，小川登：岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査（第3報），岡山県環境保健センター年報，39, 87-92, 2015

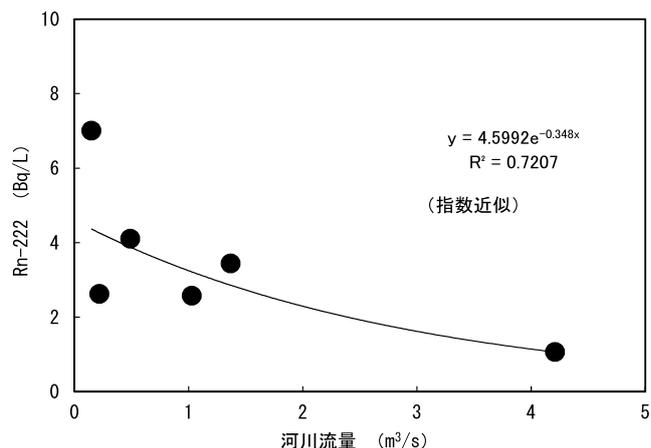


図3 D2エリアにおける河川流量とRn-222濃度の関係

- 5) 岡山県：人形峠周辺の環境放射線等測定報告書，35-37, 2013-2015
- 6) 国立研究開発法人産業技術総合研究所地質調査総合センター：“地質情報データベース”，<https://www.gsj.jp/researches/geodb/index.html>
- 7) 阿部史朗：わが国における自然の空間放射線分布の測定，保健物理，17, 169-193, 1982
- 8) 杉山広和，道広憲秀，清水光郎，片岡敏夫，柚木英二：岡山県における空間γ線量率調査，岡山県環境保健センター年報，20, 49-53, 1996
- 9) 原子力規制庁：“環境放射線データベース”，<http://search.kankyo-hoshano.go.jp/top.jsp>
- 10) 安岡由美，堀内公子：日本における天然水中のラドン濃度，水中ラドンに関する専門研究会活動報告書，5-15, 2004
- 11) 畑 陽介，清水光郎，小川 登，森上嘉亮，片岡敏夫：金剛川水系における河川水中ラドン濃度調査，岡山県環境保健センター年報，37, 73-76, 2013
- 12) 野口喜三雄，後藤達夫：東京都内河川水のフッ素含有量，日本化学雑誌，86, 908-913, 1965
- 13) 国土交通省：“水文水質データベース”，<http://www1.river.go.jp/>

【資 料】

岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査—ヨモギ— (第1報)

Survey of Environmental Radiation Background Level in Okayama Prefecture – Mugwort –

畑 陽介, 清水光郎, 木下浩行, 片岡敏夫, 小川 登 (放射能科)

Yousuke Hata, Mitsuo Shimizu, Hiroyuki Kinoshita, Toshio Kataoka, Noboru Ogawa
(Environmental Radiation Section)

要 旨

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター周辺における環境放射線等の測定結果を補完することを目的として、平成24～26年度に岡山県内の環境放射線等のバックグラウンドレベルを調査した。平成27～29年度は指標生物であるヨモギを対象としてメッシュ調査を行うこととし、平成27年度は夏季に調査を行い、放射性核種及びふっ素濃度のバックグラウンドレベルを把握した。

[キーワード：ヨモギ, 環境放射能, バックグラウンド]

[Key words : Mugwort, Environmental Radiation, Background]

1 はじめに

岡山県では国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター（以下「人形峠センター」という。）周辺において環境放射線等の監視測定を昭和54年度から継続して行っているが、東京電力（株）福島第一原子力発電所（以下「福島第一原発」という。）での事故を契機として、原子力災害発生時の施設からの放射性物質または放射線による周辺環境への影響を適切に評価する観点から、平常時における環境放射線等のレベルを把握しておくことが重要となっている。ちなみに、福島第一原発事故後、環境放射能水準調査（原子力規制庁委託）においてモニタリングが強化されているが、岡山県においては福島第一原発事故の影響は認められていない。

そこで、人形峠センター周辺の環境放射線等測定結果の評価を補完することを目的として、県内の環境放射線等のバックグラウンドレベルを把握するため、平成24～26年度の3年間、空間γ線量率、土壌及び河川水中の放射性核種濃度等についてのバックグラウンド調査を実施してきた^{1)~3)}。平成27年度からは生物質を対象として調査を行うこととし、県内に広域的に分布が認められ、比較的採取が容易な指標生物であるヨモギを対象とした調査を実施したので報告する。

2 調査方法

2.1 調査地点

既報^{1)~3)}と同様に岡山県を図1に示すように16メッシュに区切り、このうち3つのメッシュを除く13メッシュを調査対象エリアとした。各エリアの調査地点を表1に示すが、C4については人形峠センター周辺の3地点、その他のエリアについては平成24年度から調査を行っている河川水の採取地点周辺を調査地点とした。

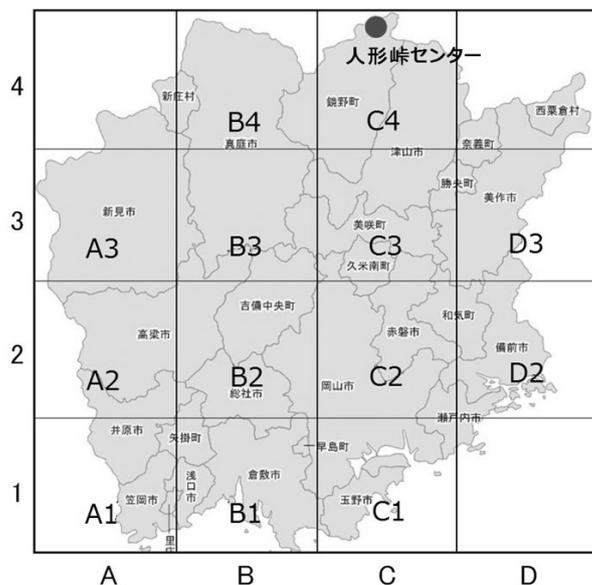


図1 県内メッシュ調査図

表1 調査地点一覧

測定エリア	ヨモギ調査地点
A1	浅口市鴨方町六条院東地内
A2	高梁市中井町西方地内
A3	新見市西方地内
B1	倉敷市真備町箭田地内
B2	岡山市北区御津虎倉地内
B3	真庭市江川地内
B4	真庭市蒜山下長田地内
C1	岡山市南区藤田地内
C2	岡山市中区桜橋地内
C3	津山市中島地内
D2	和気郡和気町尺所地内
D3	美作市栄町地内
C4	天王地区
	赤和瀬地区
	中津河地区

2.2 調査時期

平成 27 ～ 29 年度の調査では季節別の調査を行うこととしており、平成 27 年度は夏季（6 月）に調査を行った。

2.3 調査項目及び測定方法等

測定項目はヨモギに含まれる放射性核種及びふっ素（以下「F」という。）濃度とし、試料の採取、前処理及び測定等については文部科学省放射能測定法シリーズに準拠して行った。

2.4 放射性核種及び F 濃度の測定

採取したヨモギは茎や枯れ葉等を取り除き、葉部を分析対象試料とした。葉部は生重量を測定した後に水洗し、それぞれの測定項目に応じて前処理及び試料調製を行った。

ウラン 238（以下「U-238」という。）測定については、 α 線波高分析装置（CANBERRA 製 α -Analyst）を用いて測定した。

ラジウム 226（以下「Ra-226」という。）測定については、 2π ガスフロー自動測定装置（日立アロカメディカル製 LBC-4311-B）を用いて測定した。

F 測定については、F イオン電極法⁴⁾に準じて行い、F イオンメーター（サーモエレクトロン製 920AQ）を用いて測定した。測定には乾燥試料を用いたが、参考として水分率から生重量あたりの F 濃度への換算を行った。

セシウム 134 及びセシウム 137（以下「Cs-134」及び「Cs-137」という。）測定については、ゲルマニウム半導体検出器（CANBERRA 製 GR-3019）を用い、灰試料を U-8 容器に詰めて 80,000 秒測定した。

なお、放射線計測による測定結果については、計数誤差の 3 倍を超えた場合を有意値とし、それ以下の場合是不検出（ND）とし、計数誤差の 3 倍に不等号を付して表記した。

3 結果及び考察

ヨモギの放射性核種及び F 濃度の測定結果を表 2 に示す。U-238 濃度は 0.006 ～ 0.030Bq/kg 生、Ra-226 濃度は 0.07 ～ 0.77Bq/kg 生、F 濃度は 0.4 ～ 1.6mg/kg 乾、Cs-134 濃度は全地点で ND、Cs-137 濃度は ND ～ 0.63Bq/kg 生であった。

Ra-226 濃度は U-238 濃度及び F 濃度と比較して調査エリアによるばらつきが大きかった。また、U-238 濃度、Ra-226 濃度及び F 濃度は A1、B1、C1 等の県南が高めの傾向であった。

人形峠センター周辺とその他のエリアの測定値の範囲を比較した結果を図 2 に示す。Ra-226 濃度は人形峠センター周辺がやや高め、U-238 濃度と F 濃度は人形峠センター周辺がやや低めの傾向であった。

Ra-226 濃度は U-238 濃度に比べて約 1 桁高い値であったが、人形峠周辺の環境放射線等監視測定においても生物質（樹葉）の測定結果⁵⁾に同程度の違いが見られる。

Cs-137 濃度は福島第一原発事故前である平成 13 ～ 22 年度（平成 22 年度は事故前採取）の他府県（宮城県、福井県、京都府）の測定結果（ND ～ 0.9Bq/kg 生）⁶⁾と同程度であった。

表2 ヨモギの放射性核種及びF濃度測定結果

調査エリア	採取年月日	灰化率 (%)	U-238 (Bq/kg生)	Ra-226 (Bq/kg生)	F (mg/kg)			Cs-134 (Bq/kg生)	Cs-137 (Bq/kg生)	
					乾	生 (換算値)	水分率 (%)			
A1	H27.6.1	2.97	0.023 ± 0.004	0.77 ± 0.07	1.6	0.5	70.5	ND (<0.08)	ND (<0.08)	
A2	H27.6.2	4.00	0.017 ± 0.004	0.09 ± 0.02	1.0	0.3	67.3	ND (<0.10)	0.22 ± 0.03	
A3	H27.6.2	3.97	0.012 ± 0.004	0.07 ± 0.02	0.8	0.3	64.0	ND (<0.09)	0.63 ± 0.03	
B1	H27.6.1	3.11	0.020 ± 0.003	0.70 ± 0.07	1.6	0.5	69.4	ND (<0.08)	ND (<0.08)	
B2	H27.6.8	2.55	0.008 ± 0.002	0.36 ± 0.04	0.7	0.2	77.3	ND (<0.07)	ND (<0.06)	
B3	H27.6.2	3.32	0.006 ± 0.002	0.10 ± 0.03	0.7	0.2	71.0	ND (<0.08)	ND (<0.08)	
B4	H27.6.8	2.93	0.011 ± 0.003	0.24 ± 0.04	0.8	0.2	69.3	ND (<0.08)	0.45 ± 0.03	
C1	H27.6.5	3.67	0.030 ± 0.004	0.26 ± 0.05	1.5	0.5	69.1	ND (<0.10)	ND (<0.09)	
C2	H27.6.1	2.90	0.016 ± 0.003	0.21 ± 0.04	1.6	0.4	73.8	ND (<0.07)	ND (<0.07)	
C3	H27.6.4	3.28	0.014 ± 0.004	0.13 ± 0.02	0.9	0.3	67.9	ND (<0.08)	ND (<0.08)	
D2	H27.6.4	3.00	0.008 ± 0.002	0.17 ± 0.04	0.9	0.3	70.3	ND (<0.08)	ND (<0.08)	
D3	H27.6.4	2.91	0.009 ± 0.003	0.21 ± 0.04	1.0	0.3	71.9	ND (<0.07)	ND (<0.07)	
測定値の範囲			0.006 ~ 0.030	0.07 ~ 0.77	0.7 ~ 1.6	0.2 ~ 0.5		ND	ND ~ 0.63	
平均値			0.015	0.28	1.1	0.3		ND	<0.17	
C4	天王	H27.6.9	3.10	0.007 ± 0.002	0.48 ± 0.06	0.6	0.2	72.2	ND (<0.08)	0.14 ± 0.02
	赤和瀬	H27.6.9	2.34	0.008 ± 0.002	0.43 ± 0.05	0.7	0.2	76.3	ND (<0.06)	0.26 ± 0.02
	中津河	H27.6.9	2.65	0.013 ± 0.003	0.76 ± 0.07	0.4	0.1	73.2	ND (<0.08)	0.61 ± 0.03
	測定値の範囲			0.007 ~ 0.013	0.43 ~ 0.76	0.4 ~ 0.7	0.1 ~ 0.2		ND	0.14 ~ 0.61
	平均値			0.009	0.56	0.6	0.2		ND	0.34

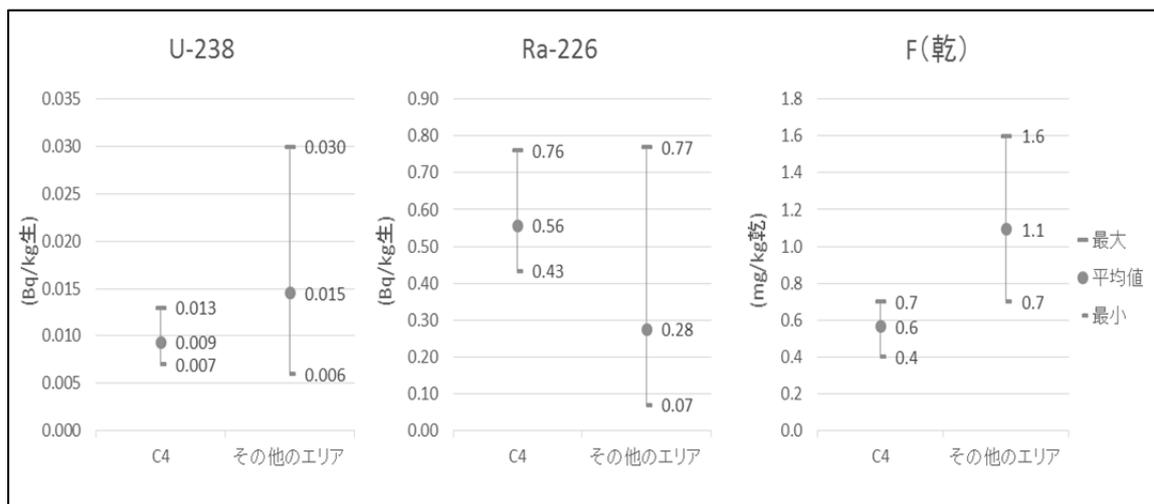


図2 人形峠センター周辺 (C4) とその他エリアの測定値 (U-238,Ra-226,F (乾)) の範囲の比較

4 今後の展開

平成27年度は夏季にあたる6月に採取した試料の調査を行ったが、次年度は引き続き秋季の県内のヨモギの放射能濃度等のバックグラウンドレベルを把握したいと考えている。

文 献

- 1) 森上嘉亮, 畑 陽介, 清水光郎, 片岡敏夫, 小川 登: 岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査, 岡山県環境保健センター年報, 37, 65-68, 2013

- 2) 森上嘉亮, 畑 陽介, 清水光郎, 片岡敏夫, 小川
登：岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査（第2報）, 岡山県環境保健センター年報, 38, 29-33, 2014
- 3) 畑 陽介, 清水光郎, 木下浩行, 片岡敏夫, 小川
登：岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査（第3報）, 岡山県環境保健センター年報, 39, 87-92, 2015
- 4) 柳沢三郎：植物体中の弗化物の測定法の検討, 環境保健レポート, 8, 33-37, 1972
- 5) 岡山県：平成26年度人形峠周辺の環境放射線等測定報告書 第37号, 2015
- 6) 原子力規制庁：“環境放射線データベース”,
<http://search.kankyo-hoshano.go.jp/top.jsp>

【調査研究】

感染予防対策に向けたヒト及び環境等における 感染症起因菌の調査（平成27年度）

① 志賀毒素産生性大腸菌の疫学調査

Investigation of pathogenic bacteria in the human and the environmental samples for prevention of transmission (FY2015)

① Investigation of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*

河合央博, 大島律子, 檀上博子, 中嶋 洋, 井上 勝*, 仲 克巳** (細菌科)

*岡山赤十字病院第一小児科, **くらしき作陽大学食文化学部現代食文化学科

Hisahiro Kawai, Ritsuko Ohata, Hiroko Danzyou, Hiroshi Nakajima, Masaru Inoue*,
Katsumi Naka** (Bacteriology Section)

* Department of Pediatrics, Okayama Red Cross General Hospital

** The Department of Contemporary Food Culture, Kurashiki Sakuyo University

要 旨

志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 感染症の感染源・感染経路の究明と発生予防を目的として、平成27年度に県内でヒトから分離されたSTECの疫学調査を行い、併せて、子牛について保菌調査を実施した。

収集したヒト由来株57株のうち、O血清群157が40株 (70.2%) で最も多かった。また、O血清群157の異なる事例間で、反復配列多型解析法 (multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis) の結果、同一の遺伝子型別に分類される等、関連性が考えられるクラスターが複数見られたが、いずれも疫学的関連性は確認できず、感染源・感染経路の究明には至らなかった。

子牛における調査では、対象22頭中17頭 (77.3%)、ふん便55件中35件 (63.6%) と、STECが高率に分離された。

[キーワード：志賀毒素産生性大腸菌，疫学，血清型，分子疫学]

[Key words : shiga toxin-producing *Escherichia coli*, epidemiology, serotype, molecular epidemiology]

1 はじめに

岡山県下で発生した志賀毒素産生性大腸菌 (以下「STEC」という。) 感染症の感染源・感染経路の究明と発生予防を目的として、疫学調査を継続して実施している。平成27年度は、収集したヒト由来株及び牛から分離した菌株を用いて疫学調査を行ったので報告する。

2 材料及び方法

2.1 菌株及び検体

平成27年度に県内のヒトから分離されたSTEC (以下「ヒト由来STEC」という。) 57株 (患者 (有症者) 由来株38株, 無症状病原体保有者由来株19株) を収集し、解析を行った。また、県内の農家が飼育している生後1年未満の子牛22頭について、月1回、ふん便 (床に排せつされた便の上部。以下「子牛便」という。) を採取し、STECの分離を行った。さらに、子牛便は、同一個体について、可能な範囲で継続して採取し、STEC保菌状況等について調査を行った。

2.2 検査法

2.2.1 ヒト由来 STEC の解析

2.2.1.1 血清型別試験

ヒト由来STECについて、病原性大腸菌免疫血清 (デンカ生研) を用いて血清型別試験を実施し、O血清群 (以下「O」という。) 及びH血清型 (以下「H」という。) を決定した。また、市販血清で同定できなかった菌株の血清型別試験は、国立感染症研究所 (以下「感染研」という。) に依頼して実施した。

2.2.1.2 毒素遺伝子及びインチミン遺伝子検出試験

志賀毒素遺伝子 (以下「*stx*」という。) 及びインチミン遺伝子 (以下「*eae*」という。) の検出は、井口らの報告によるPCR法¹⁾を参考にし、*stx1*、*stx2*及び*eae*の3種類の遺伝子を対象としたマルチプレックスPCR法により実施した。

2.2.1.3 反復配列多型解析法 (multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis 以下「MLVA法」という。) による遺伝子型別解析²⁾

O26, O111 及び O157 株については、MLVA 法による遺伝子型別（以下「MLVA 型」という。）の解析を感染研に依頼して実施した。

2.2.1.4 IS-printing system（以下「IS 法」という。）による遺伝子型別解析

O157 株については、IS-printing System（TOYOBO）を用いて遺伝子型別（以下「IS 型」という。）の解析を実施した。

2.2.2 子牛便からの STEC 分離及び同定

子牛便に 4 倍容の 1/15M PBS（pH7.6 自家製）を加えた懸濁液 1mL をノボピオシン加 m EC 培地（極東製薬工業）9mL に接種し、42℃ で一晩増菌した。前記 PCR 法により *stx* の検出を行い、*stx* 検出陽性の検体について、DHL 寒天培地（日水製薬）、EHT 寒天培地（極東製薬工業）、CT-SMAC 寒天培地（MERCK）及びクロモアガー STEC 寒天培地（関東化学）を用いて 37℃ 18～20 時間 分離培養を行った。培養後、各培地から疑わしい単独コロニー及びコロニー密集部分 20～40 箇所程度をトリプトソーヤ寒天培地（日水製薬）に釣菌し、37℃ 18～20 時間培養後、前記 PCR 法により *stx* 及び *eae* の確認を行った。*stx* を確認したコロニー密集部分は、分離した単独コロニーで *stx* が確認できなかった場合に、さらに DHL 寒天培地等を用いて分離培養後、単独コロニーを釣菌し *stx* 等の確認を行った。

stx を確認した菌株は、TSI 寒天培地（日水製薬）、

CLIG 寒天培地（極東製薬工業）、LIM 培地（日水製薬）及び ID テスト EB-20（日水製薬）を用いて大腸菌の同定を行うとともに、病原性大腸菌免疫血清（デンカ生研）を用いて血清型別試験を行い、O 及び H を決定した。

3 結果及び考察

3.1 岡山県内で分離されたヒト由来 STEC の疫学調査

平成 27 年度のヒト由来 STEC の月別検出状況を、表 1 に示した。

ヒト由来 STEC は、例年と同様に夏季に多く検出される傾向が見られ、特に、8 月は 50.9% と最も多く、平成 27 年度に収集した菌株のうち半数を占めた。

ヒト由来 STEC の血清型、志賀毒素（以下、「Stx」という。）型及び *eae* の有無（以下「血清型等」という。）と症状との関係を、表 2 に示した。

ヒト由来 STEC は、血清型等から 10 種類に分類された。O157 は 40 株（70.2%）、O26 は 9 株（15.8%）であり、例年と同様に、この 2 つの O が全体の 86% を占めた。O157 及び O26 以外では、O8、O103、O111、O121、O130 が検出された。STEC の腸管付着に参与する *eae* は、溶血性尿毒症症候群のリスク因子とされ、STEC の重要な病原因子であり³⁾、O8 及び O130 以外のすべての菌株が保有していた。*eae* を保有する STEC の多くは患者（有症者）からの分離株であり、*eae* を保有していない O8:H49（Stx2）及び O130:H11（Stx2）は無症状病原体保有者からの分離

表1 ヒト由来STEC月別検出状況

月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
患者(有症者)由来株	1	0	5	6	19	6	1	0	0	0	0	0	38
無症状病原体保有者由来株	1	0	2	2	10	3	0	0	0	0	1	0	19
計	2	0	7	8	29	9	1	0	0	0	1	0	57
%	3.5	0.0	12.3	14.0	50.9	15.8	1.8	0.0	0.0	0.0	1.8	0.0	

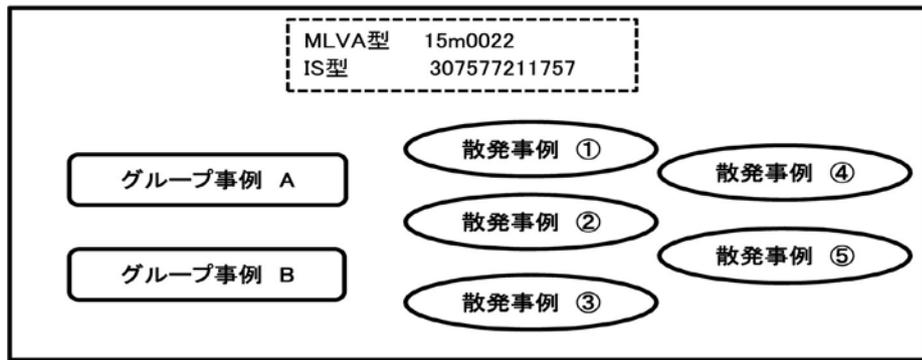
表2 ヒト由来STECの血清型・Stx型・eaeの保有と症状との関係

血清型	Stx型	<i>eae</i>	株数(%)	内訳	
				患者(有症者)	無症状病原体保有者
O8:H49	2	-	1(1.8)	0	1
O26:H11	1	+	9(15.8)	6	3
O103:H2	1	+	1(1.8)	1	0
O103:H11	1,2	+	1(1.8)	0	1
O111:H-	1	+	3(5.3)	2	1
O121:H19	2	+	1(1.8)	0	1
O130:H11	2	-	1(1.8)	0	1
O157:H7	2	+	2(3.5)	2	0
	1,2	+	34(59.6)	25	9
O157:H-	1,2	+	4(7.0)	2	2
計			57	38	19

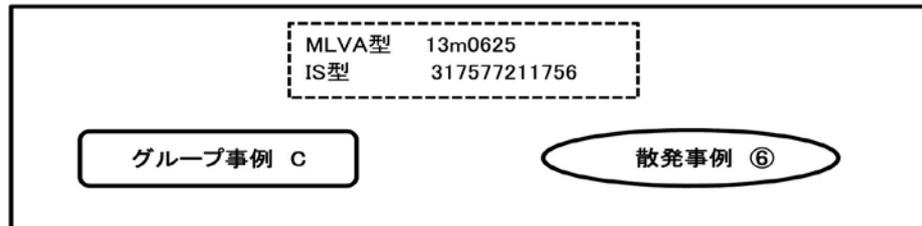
表3 ヒト由来STECのMLVA型及びIS型

血清型	Stx型	株数	MLVA型数	IS型数
O157:H7	2	2	2	2
	1,2	34	10	7
O157:H-	1,2	4	3	3
O26:H11	1	9	6	
O111:H-	1	3	2	

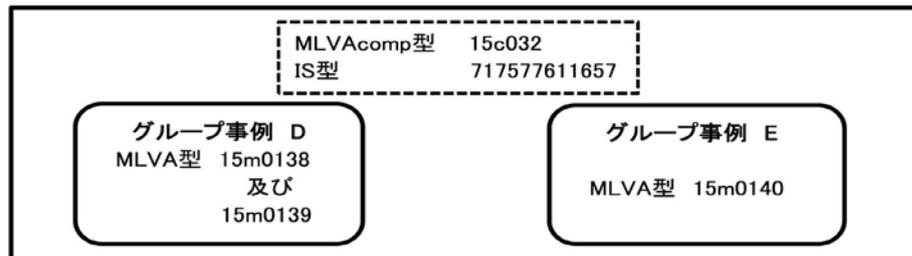
i) 同一のMLVA型及びIS型に分類されたO157:H7(Stx1,2)クラスター(1)



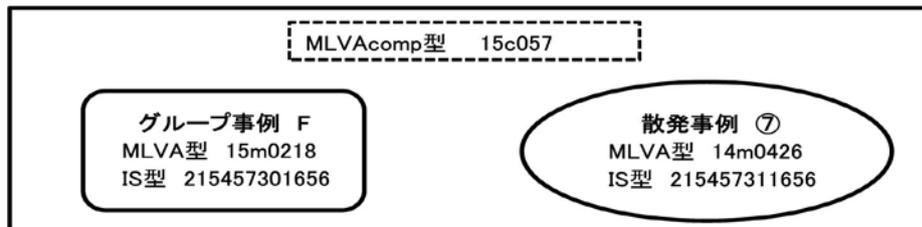
ii) 同一のMLVA型及びIS型に分類されたO157:H7(Stx1,2)クラスター(2)



iii) 同一のMLVAcomp型及びIS型となったO157:H7(Stx1,2)クラスター



iv) 同一のMLVAcomp型に分類されたO157:H-(Stx1,2)クラスター



v) 同一のIS型に分類されたO157:H7(Stx1,2)クラスター

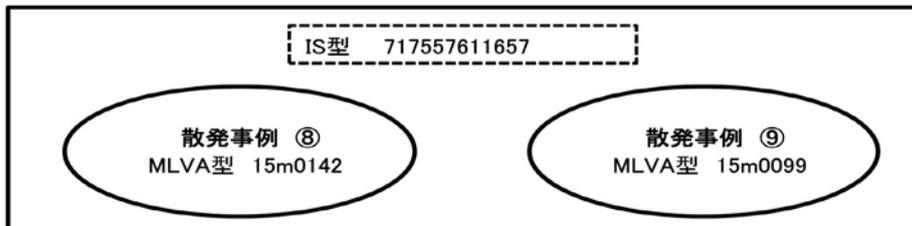


図1 O157株の異なる事例間で同一のMLVA型、MLVAcomp型、IS型に分類されたクラスター

株であった。一方、株数がそれぞれ1株と少ないものの、O103:H11 (Stx1,2) 及び O121:H19 (Stx2) は *eae* を保有しているにも関わらずどちらも無症状病原体保有者からの分離株であったことから、今後さらに多くの菌株について、

病原因子の保有と発症の関係を検討する必要があると思われる。

ヒト由来 STEC の O157 株の MLVA 型及び IS 型、O26 株及び O111 株の MLVA 型について、表 3 に示した。

MLVA 解析では、O157 株は 15 種類、O26 株は 6 種類、O111 株は 2 種類の MLVA 型に分類された。このうち、家族内等同一グループ由来株等の疫学的関連性が高い株間では、おおむね同一の MLVA 型に分類された。また、O157 株については IS 法を行った結果、12 種類の IS 型に分類され、MLVA 解析と同様に、疫学的関連性と IS 型に高い相関が見られた。

平成 27 年度の特徴として、O157 株の異なる事例間で MLVA 型及び IS 型が同一であるか、あるいはリピート数が 1 遺伝子座で異なる single locus variant の MLVA 型(以下、「MLVAcomp 型」という。)に分類されるクラスターが複数見られた(図 1)。その中でも、図 1 の i) に示す O157:H7 (Stx1,2) 株のクループ事例 A 及び B の 2 例、及び散発事例①～⑤の 5 例の計 7 事例は、同一の MLVA 型「15m0022」及び IS 型「307577211757」のクラスターに分類された。これらの発症あるいは分離時期は、3 ヶ月程度の期間に及んだ。保健所からの疫学情報を解析したところ、患者の居住地域はすべて同一地域であったことから何らかの共通した感染源が疑われたが、それ以外に明確な疫学的関連性は確認できず、感染源等の究明には至らなかった。感染研では全国で分離された STEC 株を収集し、O26 株、O111 株、O157 株については MLVA 法による解析を行って、広域発生事例の把握を行っている。その結果、この MLVA 型「15m0022」は、現在のところ、当県外の数地域で分離されているため、今後の発生動向に注意が必要であると考えられた。また、図 1 の ii) ～ v) に示すクラスターについても事例間での関連性を調査したが、明確な疫学的関連性は確認することができなかった。

STEC の主な遺伝子型別解析法には、パルスフィールドゲル電気泳動法 (pulsed-field gel electrophoresis 以下「PFGE 法」という。)、IS 法及び MLVA 法がある。これらの分離能は、PFGE 法と MLVA 法が同等で、IS 法はこれらに比べやや劣ると言われているが^{4),5)}、手技が非常に簡便で迅速に遺伝子解析が行えるといった利点がある。一方、平成 27 年度の遺伝子解析結果では、IS 型は同一であるが MLVA 型の異なるパターン(図 1 の v)) や、逆に MLVA 法では同じ MLVAcomp 型に分類されたが、IS 型が異なるパターン(図 1 の iv)) も確認された。このため、IS 法は迅速スクリーニング法として使用し、MLVA 法あるいは PFGE 法を組み合わせる方が有効であると思われるが、いずれの方法においても、疫学情報に基づいた解析が必要である。

子牛便からの STEC 分離状況を表 4 に、分離された STEC の血清型等を表 5 に、また、子牛毎の STEC 保菌状況を表 6 に示した。

表 4 子牛便からの STEC 分離状況

	件数	陽性数	検出率(%)
検査頭数	22	17	77.3
ふん便検体数	55	35	63.6

表 5 子牛便由来 STEC の血清型・Stx 型・*eae* の有無

血清型	Stx 型	<i>eae</i>	分離菌株数(%)
O1:HUT	2	-	1(2.0)
O8:H7	2	-	3(6.1)
O26:H11	1	+	4(8.2)
O26:H-	1	+	1(2.0)
O55:H12	1	-	1(2.0)
O103:H2	1	+	3(6.1)
O103:H11	1	+	2(4.1)
O103:HUT	1	+	1(2.0)
O111:H-	1	+	4(8.2)
O119:H16	2	-	2(4.1)
O145:H-	1	+	1(2.0)
OUT:H16	2	-	1(2.0)
OUT:H19	2	-	1(2.0)
OUT:H21	2	-	9(18.4)
OUT:HUT	1	+	1(2.0)
OUT:HUT	2	-	8(16.3)
OUT:H-	1	+	4(8.2)
OUT:H-	1	-	1(2.0)
OUT:H-	2	-	1(2.0)
計			49

子牛 22 頭について、月 1 回、可能な範囲で継続して子牛便を採取し、STEC の分離を行った。採取期間は、1 回のみが 6 頭、2 ヶ月継続が 9 頭、3 ヶ月継続が 1 頭、4 ヶ月継続が 2 頭、5 ヶ月継続が 4 頭であった。1 回から複数回子牛便を採取し、そのうち一度でも STEC が分離された子牛は 17 頭 (77.3%) であった。また、子牛便の検体数は延べ 55 検体であり、そのうち 35 検体 (63.6%) から STEC が分離された。子牛便から分離された STEC は、同一個体あるいは同一検体から複数の STEC が分離されたものも含めて 49 株であり、血清型等により 19 種類に分類された。そのうち O 血清群型別不能 (OUT) が 26 株 (53.1%) と半数以上を占めたが、ヒトからの分離頻度が高い O26 が 5 株 (10.2%)、O103 が 6 株 (12.2%) そして、O111 が 4 株 (8.2%) 分離された。*eae* 保有株は 21 株で、O26、O103、O111、O145 及び OUT:HUT (Stx1) のすべての株と OUT:H- (Stx1) 5 株のうち 4 株が含まれた。また、Stx1 が確認された STEC 23 株のうち 21 株 (91.3%) が *eae* を保有し、Stx2 が確認された STEC はすべて *eae* を保有していないといった特色のある結果が得られた。

2 ヶ月以上継続して子牛便を採取できた個体は 16 頭で、このうち、2 ヶ月以上継続して STEC が分離されたのは、子牛 No.3、5、10、11、15、17、18、19、21 及び 22 の 10 頭であった。子牛 No.5 は O103:H11 (Stx1) *eae*+ が、子牛 No.19 では O8:H7 (Stx2) *eae*- が、2 ヶ月継続して分離される状況が見られ、子牛が何らかの経路により感染後、ある程度の間 STEC を保菌していることが示唆された。また、子牛 No.5 からは OUT:H21 (Stx2) *eae*- が、子牛 No.15 からは OUT:HUT (Stx2) *eae*-、そして子牛 No.17

表6 子牛毎の STEC 保菌状況

子牛No.	調査回数	結 果				
		初回	1ヶ月後	2ヶ月後	3ヶ月後	4ヶ月後
1	1回	—				
2	1回	—				
3	4回	O26:H-(Stx1) eae+	O111:H-(Stx1) eae+	—	OUT:HUT(Stx2) eae-	
4	1回	—				
5	4回	OUT:H21(Stx2) eae-	OUT:H21(Stx2) eae-	O103:H11(Stx1) eae+ O119:H16(Stx2) eae-	O103:H11(Stx1) eae+ OUT:H21(Stx2) eae-	
6	1回	O111:H-(Stx1) eae+				
7	1回	—				
8	1回	O111:H-(Stx1) eae+				
9	2回	—	O145:H-(Stx1) eae+			
10	2回	OUT:H21(Stx2) eae-	O26:H11(Stx1) eae+			
11	2回	OUT:H21(Stx2) eae-	OUT:HUT(Stx2) eae-			
12	2回	—	—			
13	2回	—	OUT:HUT(Stx2) eae-			
14	2回	OUT:HUT(Stx2) eae-	—			
15	2回	OUT:HUT(Stx1) eae+ OUT:HUT(Stx2) eae-	O119:H16(Stx2) eae- OUT:HUT(Stx2) eae-			
16	2回	—	OUT:HUT(Stx2) eae-			
17	5回	—	—	O1:HUT(Stx2) eae- O26:H11(Stx1) eae+	O111:H-(Stx1) eae+ OUT:H21(Stx2) eae- OUT:HUT(Stx2) eae-	OUT:H21(Stx2) eae- OUT:H-(Stx1) eae+
18	5回	OUT:H19(Stx2) eae-	OUT:H-(Stx2) eae-	—	—	—
19	3回	O103:HUT(Stx1) eae+	O8:H7(Stx2) eae- OUT:H-(Stx1) eae+	O8:H7(Stx2) eae-		
20	5回	—	—	O103:H2(Stx1) eae+	—	—
21	5回	OUT:H21(Stx2) eae-	O26:H11(Stx1) eae+ OUT:H21(Stx2) eae-	O55:H12(Stx1) eae- OUT:H-(Stx1) eae+	O103:H2(Stx1) eae+	O8:H7(Stx2) eae- OUT:H-(Stx1) eae+ OUT:H-(Stx1) eae-
22	2回	O103:H2(Stx1) eae+	O26:H11(Stx1) eae+ OUT:H16(Stx2) eae-			

からは OUT:H21(Stx2)*eae*- が2ヶ月継続して分離された。これらは、OUTではあるがH, Stx型、及び*eae*の有無が一致するSTEC、あるいは、OUT:HUTであるがStx型及び*eae*の有無が一致するSTECであったが、継続して分離された株が、それぞれ同一菌株である場合は、同様に、一定期間の保菌の可能性が考えられた。さらに、子牛No.5ではOUT:H21(Stx2)*eae*-が、初回、1ヶ月後及び3ヶ月後に、子牛No.21では、OUT:H-(Stx1)*eae*+が2ヶ月及び4ヶ月後と間欠的に分離された。これらもOUTであるが、間欠的に分離された菌株がそれぞれ同一菌株であるとした場合、子牛の保有するSTECの間欠的な排菌によるものか、あるいは再感染によるものかは不明であった。

牛のSTEC感染率は成牛より子牛の方が高いとする報告がある⁶⁾。我々は、数年にわたり牛のふん便からSTECの分離を行い、保菌調査を継続して実施してきた。平成26年度の調査では、成牛を主とした牛直腸便456検体中55検体からSTECが分離され、分離率は12.1%であり⁷⁾、その他の年度の調査でも分離率はおおむね10~20%程度であった。今回、子牛の検査頭数は少なく、かつ排せつ後のふん便という良くない条件にもかかわらず、対象22頭中17頭(77.3%)、ふん便55件中35件(63.6%)とSTECが高率に分離されたことから、他の報告と同様に牛のSTEC保菌率は、成牛より子牛の方が高い可能性が示唆された。また、ヒトからたびたび分離されるO26、O103及びO111が分離されたことや発症に関わると言われる*eae*を保有したSTECが分離されたこと、さらには、子牛との接触が原因と推定される感染事例が数例報告^{8)~10)}されていることから、子牛はヒトのSTEC感染症の重要な感染源の一つとなる可能性が考えられた。

このことから、子牛のSTEC感染予防あるいは従業員等への感染予防に、飼育環境の衛生管理の徹底が重要であると考えられる。

謝 辞

本調査の実施に際して、MLVA型別等をお願いしました国立感染症研究所の泉谷 秀昌先生、伊豫田 淳先生、菌株の分与や検体採取にご協力いただきました関係機関の先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) 井口 純, 秋吉充子, 伊豫田淳, 大西 真:腸管出血性大腸菌の主要なO血清群と病原性遺伝子を判定するOne-shotマルチプレックスPCR法の開発と評価, 日本食品微生物学会雑誌, 32(4), 215-218, 2015
- 2) Hidemasa Izumiya, Yingxin Pei, Jun Terajima,

Makoto Ohnishi, Tetsuya Hayashi et al.:New system for multilocus variable-number tandem-repeat analysis of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups:O157, O26, and O111, Microbiol Immunol, 54, 569-577, 2010

- 3) 仲西寿男, 丸山務監修:食品由来感染症と食品微生物, 281-296, 中央法規, 東京, 2009
- 4) 石原朋子, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 大西 真:腸管出血性大腸菌の分子型別, IASR, 35, 129-130, 2014
- 5) 中嶋 洋, 黒崎守人, 大島律子, 石井 学, 竹田義弘ら:食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究, 平成21年度 総括・分担研究報告書(厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業), 87-93, 2010
- 6) 東京都衛生局生活環境部食品保健課編集:ペロ毒素産生性大腸菌(VTEC)食中毒の感染源について, 平成5年東京都の食中毒概要, 170, 1994
- 7) 河合央博, 大島律子, 檀上博子, 中嶋 洋, 井上 勝ら:感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査(平成26年度)①志賀毒素産生性大腸菌の疫学解析, 岡山県環境保健センター年報, 39, 99-101, 2015
- 8) 齋藤紀行, 伊藤友美, 島山 敬, 秋山和夫, 白石廣行:飼育牛からの感染が疑われた腸管出血性大腸菌O26感染散発事例-宮城県, IASR, 21, 35, 2000
- 9) 矢端順子, 亀山光博, 富永 潔:牛との接触により感染したと推察された非定型性状の腸管出血性大腸菌O26:H11感染症例-山口県, IASR, 33, 194-196, 2012
- 10) 秋山由美, 辻 英高, 二井洋子, 萩田堅一, 三村昌司:飼育牛との接触が感染経路と推定された腸管出血性大腸菌O121感染事例-兵庫県, IASR, 35, 294-295, 2014

【調査研究】

感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査 (平成27年度)

②岡山県内のレジオネラの疫学調査と小児科受診患者等のエルシニア抗体保有調査について

Investigation of pathogenic bacteria in the human and the environmental samples for prevention of transmission (FY2015)

②Epidemiological study of *Legionella* in Okayama prefecture and survey of *Yersinia* antibody in pediatric patients and others

中嶋 洋, 檀上博子, 河合央博, 大島律子 (細菌科)

Hiroshi Nakajima, Hiroko Danjyo, Hisahiro Kawai, Ritsuko Ohata (Bacteriology section)

要 旨

平成27年度に県内で発生したレジオネラ症患者由来株5株の sequence-based typing (SBT) 法による型別を実施した。このうちの1株は、過去にも本県で地域特異的に分離されている *L.pneumophila* (Lp) 血清群 (SG) 1 sequence type (ST) 609であった。環境検体では、37検体中7検体 (18.9%) からレジオネラを検出し、保健所分離株を含めた Lp SG1 と SG3 について分子疫学解析を行って、患者由来株や過去に分離された株と比較したが、地域特異的な患者由来株と同じ ST や PFGE パターンの菌株は、検出されなかった。感染源の究明には、より多様な検体の調査や患者発生時の自宅周辺の調査も、必要であると思われる。一方、エルシニア症の発生実態を把握するため、全国の病院の小児科等を受診した患者で、エルシニア症疑いあるいは川崎病との鑑別が必要な患者の血清について、エルシニア抗体保有調査を実施した。患者100名中37名 (37.0%) が抗体価1:160以上の陽性であり、エルシニア感染が強く疑われた。

[キーワード: レジオネラ, エルシニア, 抗体価, 疫学]

[Keywords: *Legionella*, *Yersinia*, antibody titer, epidemiology]

1 はじめに

岡山県下では、毎年レジオネラ症が発生しており、事例発生時に感染源を究明することは、感染予防対策として重要である。特に、患者由来株の *L.pneumophila* (以下、「Lp」という。)血清群(以下、「SG」という。)1 sequence type(以下、「ST」という。)609や ST1077, Lp SG3 ST93 は本県で地域特異的に検出されているが、これらはすべて散発例であり、感染源究明は困難な状況にある。一方、エルシニア症は過去に本県で集団事例が5例 [*Y.pseudotuberculosis* (以下「Y.ptb」という。)による事例が4回, *Y.enterocolitica* (以下「Y.ent」という。)による事例が1回] 発生した^{1),2)}。しかしながら、患者への抗菌剤等の早期投与により、菌の検出はより難しい状況にあり、散発例の発生状況は不明である。このため、両菌の感染予防対策に資することを目的として、平成13年度より患者及び環境検体におけるレジオネラの調査を、平成11年度より患者血清抗体によるエルシニア症の発生状況の調査を行っている。本報告では、

平成27年度の結果について報告する。

2 材料及び方法

2.1 検体

2.1.1 レジオネラ

県内のレジオネラ症患者株5株と、保健所が浴槽水等から分離したレジオネラ122株を収集し、同定および血清群別を実施した。環境検体は用水22検体、河川水8検体、湧水3検体、湖水1検体、池水1検体、土壌2検体の計37検体を採取し、レジオネラの分離培養を実施した。このうち、Lp SG3と同定された菌株については、過去の調査で収集・分離された菌株と合わせて、計161株の遺伝子解析を行った。

2.1.2 エルシニア

全国の病院の小児科等を受診あるいは入院している患者で、エルシニア症疑いあるいは川崎病との鑑別を必要とする患者の血清について、抗体価を測定した。平成27年度は、

病院 53 施設の同意書が提出された患者 100 名分 220 検体について、抗体価測定依頼を受けて実施した。なお、本調査は、当センターの倫理審査委員会の承認を得て実施した。

2.2 検査法

2.2.1 レジオネラ

ろ過法により検体を 100 倍濃縮後、等量の 0.2M HCl・KCl 緩衝液 (pH2.2) で酸処理を行い、GVPC 寒天培地に塗抹した。36℃で 7 日間培養し、その間に発育したコロニーを斜光法³⁾により観察して、血液寒天培地と BCYE *a* 寒天培地に接種してスクリーニングした後、血清群別 (レジオネラ免疫血清: デンカ生研) 及び PCR 法⁴⁾ (*mip* 遺伝子及び 5S rRNA 遺伝子) を実施し、同定した。菌株の遺伝子解析による比較は、パルスフィールドゲル電気泳動 (以下、「PFGE」という。) 法を用いて、改良プロトコールによる 2 日間の方法⁵⁾ で実施した。また、sequence-based typing (以下、「SBT」という。) 法による ST の型別と、ST を用いた minimum spanning tree (以下、「MST」という。) による解析は、国立感染症研究所に依頼して実施した。Lp SG1 株の病原性との関連が指摘されている *lag-I* の保有は、Kozak らの方法⁶⁾ により、*lag-F* 及び *lag-R* のプライマーを用いて検査した。

2.2.2 エルシニア

患者血清を 56℃、30 分間非働化し、生理食塩水で 10 倍希釈した。これを 2 倍段階希釈して 1:10 ~ 1:160 の希釈系列を、使用する抗原の種類と同数作成した。抗原液は、当センターが保有する Y.ptb (血清群 la, lb, 2a, 2b, 3, 4a, 4b, 5a, 5b, 6) 株と Y.ent (血清群 03, 05, 08, 09) 株を使用した。25℃、2 日間培養した菌を生理食塩水で 2 回洗浄し、生理食塩水でマクファーランド No 0.6 の濃度になるように調製して、抗原液として使用した。抗体価の測定は、抗原ごとに希釈系列の患者血清 0.2ml と抗原液 0.2ml を試験管内で混合し、50℃、1 晩反応後に凝集像を観察した。凝集の見られた最高希釈倍率の値をその検体の抗体価とし、抗体価が 1:160 以上を陽性と判定した。

3 結果及び考察

3.1 レジオネラ

3.1.1 環境検体の検査結果

用水等環境検体 37 検体のレジオネラ検査結果を、表 1 に示した。

用水 22 検体中 7 検体 (31.8%) からレジオネラが検出され、河川水、湧水、湖水、池水及び土壌からは検出されなかった。分離菌は、*L.feeleii* SG1,2, *L.hackeliae* SG1&2 及びレジオ

表 1 環境検体のレジオネラ検査結果

検体名	検体数	検出数	検出率 (%)	検出菌種 *
用水	22	7	31.8	<i>L.feeleii</i> SG1,2, <i>L.hackeliae</i> SG1&2, <i>Legionella</i> spp.
河川水	8	0	0.0	
湧水	3	0	0.0	
湖水	1	0	0.0	
池水	1	0	0.0	
土壌	2	0	0.0	
計	37	7	18.9	

*重複を含む

表 2 保健所等分離レジオネラ株

検体名	菌株数	検出菌種及び血清群
浴槽水	89	Lp SG1(17),3(15),5(16),6(2),8(2),9(6),10(8),UT(22), <i>Legionella</i> spp.(1)
原水	1	Lp SG8
シャワー水	7	Lp SG1(1),3(1),5(2),6(1),UT(1), <i>Legionella</i> spp.(1)
ジャグジー	4	Lp SG1(1),3(2), <i>Legionella</i> spp.(1)
冷却塔水	20	Lp SG1(6),5(1),10(2),13(1),UT(5), <i>L.anisa</i> (2), <i>L.feeleii</i> SG1(1), <i>Legionella</i> spp.(2)
風呂吐水口ふきとり	1	Lp SG1
計	122	

UT: O 血清群別不能, (): 株数, Lp: *L.pneumophila*

ネラ属菌（以下、「*Legionella* spp.」という。）で、Lpは検出されなかった。

3.1.2 保健所分離株の同定結果

収集した保健所分離株の血清群別結果を、表2に示した。

収集した122株は、浴槽水、原水、シャワー水、ジャグジー水、冷却塔水及び風呂吐水口ふきとりから分離された。その菌種と血清群は、浴槽水はLp SG1, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 群別不能（以下、「UT」という。）、*Legionella* spp.であった。原水はLp SG8, シャワー水はLp SG1, 3, 5, 6, UT, *Legionella* spp., ジャグジー水はLp SG1, 3, *Legionella* spp., 冷却塔水はLp SG1, 5, 10, 13, UT, *L. anisa*, *L. feeleii* SG 1, *Legionella* spp., 風呂吐水口ふきとりはLp SG1であった。

3.1.3 収集した患者由来株の疫学解析結果

平成19年度から平成27年度の期間に収集したレジオネラ症患者から分離された38株を、表3に示した。

平成27年度はLp SG1が4株、*L. longbeachae* SG2が2株で、現在までに収集した株数は38株になり、本年度初めてLp以外の*L. longbeachae*が分離された。本年度収集したLpは4株すべてがSG1で、38株中Lp SG1が24株となった。このうち、19株について*lag-1*の保有を検査した結果、16株（84.2%）が保有していた。*lag-1*について

は病原性との関連が指摘されており、調査の結果でも高率に保有していたが、*lag-1*を保有していなかった菌株が分離された患者でも、呼吸困難や意識障害など、その症状が比較的重篤な場合も見られることから、より多くの事例についての検討が必要であると思われる。

患者由来株のSBT法による解析結果は、Lp SG1が多様なSTに型別されたのに対し、Lp SG3は9株すべてが同じST93で、PFGE法による遺伝子パターンも一致した⁷⁾。LpSG1 (ST609, ST1077) 及びLp SG3 (ST93) 株は、国内では本県に地域特異的に分離されており、本年度もLp SG1 ST609が1株分離された。Lp SG1の751株について感染研で実施したMST解析の結果⁸⁾では、患者由来のLp SG 1 (ST609) は、感染源不明の臨床分離株が多いGroup-Uに属した。これまで報告された6株のうち、4株が本県の患者由来株であり、これらの株が分離された症例のうち、温泉での感染が推定された県外の1例を除く5例は、感染源が不明である。

3.1.4 患者及び環境由来 Lp SG3 の遺伝子解析結果

平成13年度から平成27年度の期間に分離あるいは収集したLp SG3について、患者由来9株と環境由来152株のPFGE法を用いた遺伝子解析結果を、表4及び図1に示した。

表3 患者由来レジオネラ株（2007年～2015年）

菌株No	分離年	菌種	血清群	ST	PFGEパターン	年齢	性別	検体	症状					lag-1保有		
									発熱	咳嗽	呼吸困難	意識障害	肺炎		その他	
K9	2007	Lp	1	595	NT	64	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	-	
K11	2007	Lp	1	593	NT	69	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	-	
K105	2008	Lp	1	609	NT	59	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K117	2008	Lp	1	609	NT	79	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K118	2008	Lp	1	594	NT	55	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K090729	2009	Lp	1	550	NT	37	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
O100216	2009	Lp	1	23	NT	54	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K100118	2010	Lp	1	609	NT	58	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K100503	2010	Lp	1	42	NT	69	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K110728	2011	Lp	1	1077	NT	55	女	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K111019	2011	Lp	1	120	NT	78	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
KD111109	2011	Lp	1	120	NT	78	男	不明	●	●	●	●	●	●	NT	
K111117	2011	Lp	1	1077	NT	91	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	NT	
K111213	2011	Lp	1	1077	NT	69	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	NT	
K120214	2012	Lp	1	42	NT	55	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	NT	
K121108	2012	Lp	1	530	NT	71	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	-	
K140624	2014	Lp	1	1847	NT	50	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K140618	2014	Lp	1	1845	NT	53	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K140714	2014	Lp	1	23	NT	68	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K140904	2014	Lp	1	1846	NT	49	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K150622	2015	Lp	1	1	NT	57	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K150925	2015	Lp	1	609	NT	94	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K150823	2015	Lp	1	2126	NT	70	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
K151014	2015	Lp	1	642	NT	61	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	+	
KD110625	2011	Lp	2	354	NT	63	男	不明	●	●	●	●	●	●	NT	
K79	2008	Lp	3	93	同一	66	男	喀痰	●	●	●	●	●	●		
K86	2008	Lp	3	93		58	女	喀痰							胸部異常影、症状無し	
K95	2008	Lp	3	93		79	男	喀痰							胸部異常影、症状無し	
K100423	2010	Lp	3	93		60	女	肺胞洗浄液	●	●	●	●	●	●		
K100712	2010	Lp	3	93		74	男	喀痰	●	●	●	●	●	●		
K110707	2011	Lp	3	93		77	男	喀痰							胸部異常影、症状無し	
K110908	2011	Lp	3	93		59	女	喀痰							胸部異常影、症状無し	
K120831	2012	Lp	3	93		58	女	喀痰							胸部異常影、非定型肺炎疑い	
K130920	2013	Lp	3	93		73	男	喀痰	●	●	●	●	●	●		
K130108	2013	Lp	9	1283		NT	65	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	全身倦怠感
K141112	2014	Lp	9	2094	NT	59	男	気管内吸引痰	●	●	●	●	●	●		
KD120905	2012	Lp	10	1427	NT	74	男	喀痰	●	●	●	●	●	●	ICUに入院	
K151013	2015	L.long	2	-	NT	68	男	喀痰	●	●	●	●	●	●		

Lp: *L. pneumophila*, L.long: *L. longbeachae*, NT: not tested

表4 県内で分離された*L.pneumophila* SG3株のPFGEパターン

由来	菌株数	バンドパターン数
浴槽水	113	63
原湯	4	4
ジャグジー水	9	7
プール水	8	4
プールろ過水	1	1
フロアミル水	9	1
ろ過水	4	1
冷却水	3	3
シャワー水	1	1
患者	9	1
計	161	76

浴槽水等由来株 152 株の PFGE パターンは 75 パターンに分類されたが、患者由来株 (ST93) の遺伝子パターンと一致する株は無かった。昨年度、SBT 法に必要な 7 つの遺伝子のうち、*flaA* だけの塩基配列について実施した MST による解析結果⁸⁾でも、ST93 株は *flaA3* のグループに属していたが、clonal complex は形成しなかった。ST93 株については、患者の住所や感染時期は異なっており、疫

学的な共通性も見られなかったことから、本菌が広範囲かつ継続的に多様な検体を汚染している可能性が危惧された。しかし、図1に示したように、県下の広範囲な地域の施設で採水した多数の検体から分離された *Lp* SG3 株計 152 株について、遺伝子解析を実施したが、患者と同一の株は見つからなかったことから、浴槽水における本菌の汚染は、かなり低いものと思われた。これらの菌株の感染源究明のためには、今まであまり検査をしていない噴水や人工滝などの修景水等についても、積極的な調査が必要と考える。

3.2 エルシニア

3.2.1 エルシニア抗体保有状況

抗体価測定依頼を受けた患者 100 名 (220 検体) のうち、97 名 (213 検体) は *Y.ptb* に対する抗体価を、28 名 (58 検体) は *Y.ent* に対する抗体価を測定した。うち、25 名については、*Y.ptb* と *Y.ent* 両方に対する抗体価を測定した。その結果は、表5に示した。

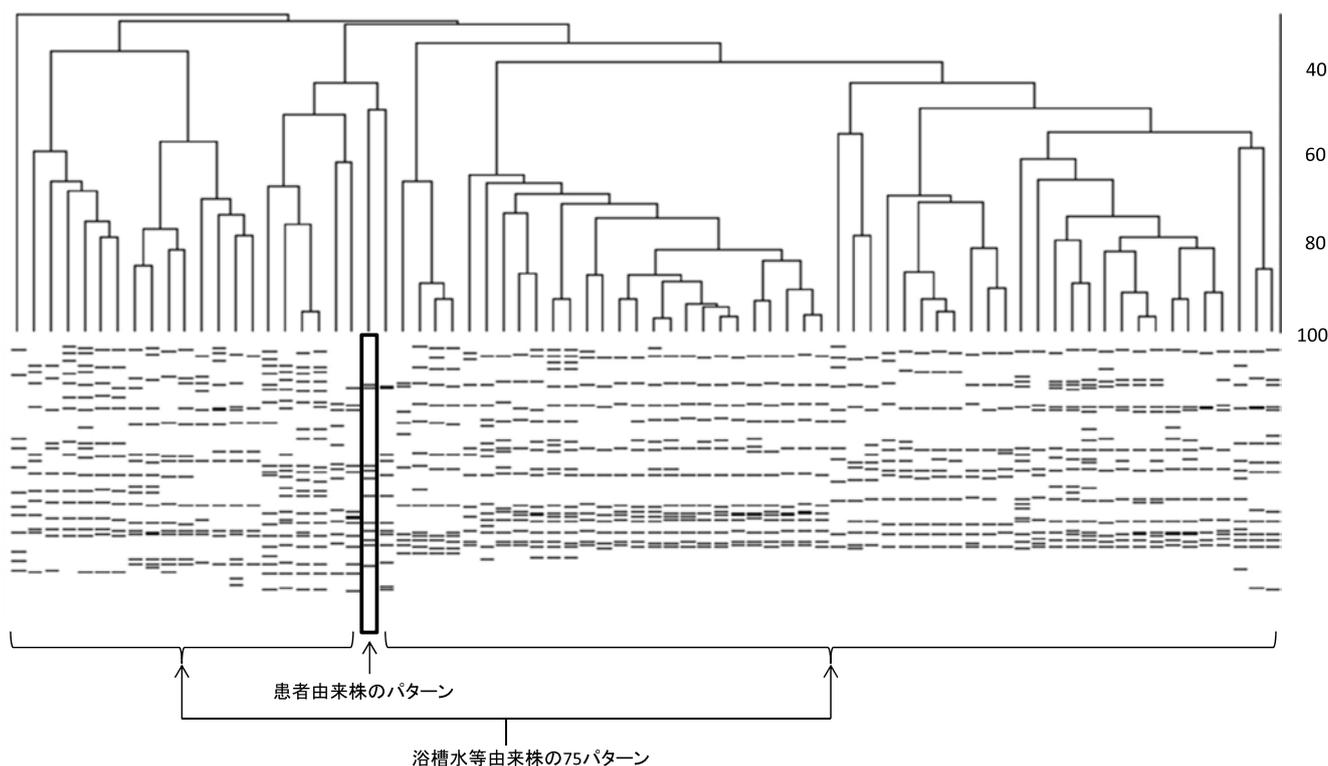


図1 患者及び浴槽水等由来*L.pneumophila* SG3のPFGE解析結果

表5 エルシニア抗体保有状況

抗体価	<i>Y.ptb</i>		<i>Y.ent</i>	
	陽性	陰性	陽性	陰性
人数	34 ^{a)}	63	12 ^{b)}	16
計	97 ^{c)}		28 ^{c)}	

Y.ptb: *Y.pseudotuberculosis*, *Y.ent*: *Y.enterocolitica*

抗体価は1:160以上を陽性, 1:80以下を陰性

a): 5名は2種類の血清群が陽性

b): 4名は2種類以上の血清群が陽性

c): 25名は*Y.ptb*及び*Y.ent*の抗体価を測定

Y.ptb は 97 名中 34 名 (35.1%) が抗体価 1 : 160 以上の陽性であり、5 名 (5.2%) は 2 種類の血清群に対して陽性であった。Y.ent は 28 名中 12 名 (42.9%) が陽性で、4 名 (14.3%) は 2 種類以上の血清群に対して陽性であった。また、Y.ptb 及び Y.ent の両菌に対する抗体価を測定した 25 名中 2 名は、Y.ptb 及び Y.ent の各 1 種類の血清群に対して陽性であった。

3.2.2 疾病グループ別 Y.pseudotuberculosis 抗体保有状況

疾病グループ別の Y.ptb 抗体価測定結果は、表 6 に示した。

表 6 疾病グループ別 Y.pseudotuberculosis 抗体保有状況

疾病グループ	抗体価		計
	陽性	陰性	
エルシニア症疑い	29 (40.3)	43 (59.7)	72
川崎病症状	5 (20.0)	20 (80.0)	25

数字は人数、(): %

抗体価は 1 : 160 以上を陽性、1 : 80 以下を陰性

Y.ptb の抗体価を測定した 97 名中、エルシニア症疑いの患者は 72 名、川崎病症状を呈した患者は 25 名であった。それぞれのグループの 29 名 (40.3%) 及び 5 名 (20.0%) が抗体価 1 : 160 以上の陽性であり、エルシニア感染が疑われるグループの陽性率は、川崎病症状を呈したグループに比べて高かった。一方、川崎病症状を呈した患者の 20% が陽性であったことから、類似した症状を呈する Y.ptb による感染との鑑別に、抗体価測定が有用であると思われる。

謝 辞

本調査にご協力いただきました岡山市保健所、倉敷市保健所および岡山県健康づくり財団の関係者各位、患者株の分与を戴きました倉敷中央病院検査課の藤井 寛之先生、川崎医科大学附属病院検査課の河口 豊先生、多数の患者血清検体をご提供いただきました関係機関の先生方に、深謝いたします。

文 献

- 1) 井上正直, 中嶋 洋, 石田立夫, 坪倉 操: わが国におけるエルシニア症の発生状況, 獣医畜産新報, 796, 12-16, 1987
- 2) 井上正直, 中嶋 洋, 森 忠繁, 田中睦男, 本郷俊治ら: 4. 岡山県におけるエルシニアの生態, メディアサークル, 36, 366-370, 1991
- 3) 森本 洋: 分離集落の特徴を利用したレジオネラ属菌分別法の有用性, 日本環境感染学会誌, 25(1), 8-14, 2010
- 4) 倉 文明, 前川純子, 森本 洋, 杉山寛治, 磯部順子ら: レジオネラ症, 病原体検出マニュアル, Package

insert, EnviroAmp Legionella Kits. Perkin Elmer Corporation, 1993

- 5) 常 彬, 前川 純子, 渡辺 治雄: レジオネラを解析するパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 法の改良. IASR 2008 ; 29 : 333-334.
- 6) Kozak N.A., Benson R.F., Brown E., et al. : Distribution of *lag-1* Alleles and Sequence-Based Types among *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Clinical and Environmental Isolates in the United States. J. Clin.Microbiol. 2009 ; 47 (8) : 2525-2535.
- 7) 西山 明宏, 石田 直, 興梠 陽平, 他: *Legionella pneumophila* serogroup 3 による呼吸器感染症の 4 症例. 感染症誌 2011 ; 85 : 373-379.
- 8) 中嶋 洋, 地域特異的な感染源不明クラスターに関する調査 (平成 25 年度 ~ 27 年度): レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究 平成 25 年度 ~ 27 年度総合研究報告書, 105-113, 2016

【調査研究】

胃腸炎ウイルスの疫学的研究

－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況（2014/2015シーズン）－
Epidemiological Studies on Viruses Causing Non-bacterial Gastroenteritis in Okayama
－Surveillance of Rotavirus A from Sporadic Gastroenteritis in Okayama Prefecture（2014-2015）－

藤原香代子, 藤井理津志, 濱野雅子, 磯田美穂子, 松岡保博, 井上 勝*, 濃野 信**,
金谷誠久***（ウイルス科）

*岡山赤十字病院小児科, **のうの小児科, ***国立病院岡山医療センター小児科
Kayoko Fujiwara, Ritsushi Fujii, Masako Hamano, Mihoko Isoda, Yasuhiro Matsuoka,
Masaru Inoue, Shin Nouno, Tomohisa Kanadani
(Virology Section)

*Department of Pediatrics, Okayama Red-Cross Hospital,

**Nouno Pediatric Clinic,

***Department of Pediatrics, National Hospital Organization Okayama Medical Center

要 旨

2014/2015 シーズン（2014年9月～2015年8月）の散発胃腸炎患者ふん便472件について、イムノクロマト法または酵素抗体法によるロタウイルスAの検索を行い、陽性となった33件について、VP7遺伝子及びVP4遺伝子を標的とした二系統の逆転写PCR法により、ロタウイルスAの遺伝子検索を実施した。その結果、32件でロタウイルスA遺伝子が確認された。検出時期は11月、1月～5月及び7月で、ピークは4月であった。年齢別では、1歳及び2歳が各8件で最も多かった。遺伝子が検出された32件について、G遺伝子型別及びP遺伝子型別を実施したところ、G9P[8]が25件、G1P[8]及びG3P[8]がそれぞれ3件、G2P[4]が1件であった。検体数、ロタウイルスA遺伝子陽性数及びG遺伝子型検出状況を2012/2013シーズン及び2013/2014シーズンと比較した結果、検体数及びロタウイルスA遺伝子陽性数はともに減少し、主流型はG1からG9に入れ替わった。また、G1P[8]の3件について、従来株と遺伝子再集合体由来株との簡易的な鑑別を行った結果、1件が遺伝子再集合体由来株と推定された。

[キーワード：ロタウイルスA, 胃腸炎, 逆転写PCR, 遺伝子再集合体, ワクチン]

[Key words : Rotavirus A, Gastroenteritis, Reverse-transcription PCR, Reassortant, Vaccine]

1 はじめに

ロタウイルスA（以下「RVA」という。）は、レオウイルス科に属する2本鎖RNAをゲノムとして持つウイルスで、外殻糖たん白（VP7）及び外殻スパイクたん白（VP4）をコードする遺伝子に基づき、それぞれG（Glycoproteinの略号）遺伝子型及びP（Protease sensitiveの略号）遺伝子型に分類される¹⁾。現在までに、G遺伝子型についてはG1～G27、P遺伝子型についてはP[1]～P[35]がそれぞれ確認されており²⁾、さらに両者の組み合わせによって多くの遺伝子型が存在しうるが、そのうちヒトから検出される頻度が高いのは、G1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G4P[8]、及びG9P[8]である^{1),3)}。

RVAは小児の急性胃腸炎の病原体としてきわめて重要視されていることから、本ウイルスの感染予防を目的とした生ワクチンが複数メーカーで開発され、その導入が世界

的に進められている⁴⁾。主なものとしては、ヒトRVA株（G1P[8]型）由来の単価ワクチンであるRotarix[®]（グラクソ・スミスクライン社製）及びヒトRVAのG1～G4のVP7遺伝子とP[8]のVP4遺伝子を組み込んだウシRVA遺伝子組み換え株に由来する5価ワクチンであるRotaTeq[®]（メルク社製）が知られている。我が国においてはRotarix[®]が2011年7月に、RotaTeq[®]が2012年1月にそれぞれ製造承認され導入が開始された。

我々は、県内におけるRVA流行状況を継続的に調査し、特定の血清型の流行推移^{5)~7)}や、遺伝子再集合体RVAの県内侵入⁸⁾等を明らかにしてきた。特に2011/2012シーズンに県内侵入が確認された遺伝子再集合体RVAは、異なるゲノグループ間（G1型プロトタイプであるWaゲノグループとG2型プロトタイプであるDS-1ゲノグループ）の遺伝子再集合体に由来する株であった。すなわちこの株は、

VP7 及び VP4 遺伝子型は Wa 株と同じ G1P[8] であるが、VP6, NSP4 及び NSP5/6 遺伝子型が DS-1 株と同一であった。

これまでの結果を踏まえて、2014/2015 シーズンも引き続き散発胃腸炎患者からのウイルス検出と遺伝子型別を行い、県内の RVA 流行状況についてワクチンの影響等を解析した。

2 対象と方法

2.1 対象

2014 年 9 月～2015 年 8 月(毎年 9 月～翌年 8 月を 1 シーズンとする)に県内の 3 医療機関で採取された散発胃腸炎患者(年齢 0 歳～13 歳)ふん便 472 件を用いた。

2.2 方法

市販の RVA 検出キット(イムノクロマト法または酵素抗体法)により RVA のスクリーニングを行い、陽性となった検体について、ふん便乳剤から市販キット(QIAamp Viral RNA mini kit, 株式会社キアゲン)により RNA を抽出した。この RNA を用いて、Gouvea ら⁹⁾の方法による逆転写 PCR(以下「RT-PCR」という。)法で G 遺伝子の検出及び型別を、Wu ら¹⁰⁾の方法による RT-PCR 法で P 遺伝子の検出及び型別を実施した。また検体数、RVA 遺伝子陽性数及び G 遺伝子型の検出状況について、過去 2 シーズン(2012/2013 シーズン及び 2014/2015 シーズン)と比較解析した。さらに G1P[8] と判定された株については、2011/2012 シーズンに県内侵入が確認された異なるゲ

ノグループ間(Wa ゲノグループと DS-1 ゲノグループ)の遺伝子再集合体由来株(VP7 及び VP4 遺伝子型は G1 型プロトタイプの Wa 株と同じ G1P[8] であるが、VP6, NSP4 及び NSP5/6 遺伝子型は G2 型プロトタイプの DS-1 株と同一である株)か否かを簡易的に判別するため、NSP4 遺伝子と NSP5/6 遺伝子を増幅する RT-PCR 法⁸⁾を実施した。電気泳動により産物サイズの比較を行い、NSP4 産物 > NSP5/6 産物の株は従来株、NSP4 産物 < NSP5/6 産物の株は遺伝子再集合体由来株と推定した。

3 結果

3.1 ウイルス検出状況

市販キットによる RVA のスクリーニングを行った患者ふん便 472 件のうち、陽性となった 33 件について RT-PCR 法による遺伝子検索を行ったところ、32 件(総検体数の 6.8%)から RVA 遺伝子が検出された。

月別の検査検体数と RVA 遺伝子の検出率を図 1 に示す。RVA 遺伝子は 11 月、1 月～5 月及び 7 月で検出され、検出率は 4 月が 34.4%(11/32 件)、2 月及び 3 月が各 25.0%(8/32 件)の順で高かった。

RVA 遺伝子は 0 歳～13 歳の患者検体から検出され、1 歳及び 2 歳が各 8 件で最も多く、0 歳及び 4 歳の各 5 件、3 歳の 3 件と続いた。(表 1)

3.2 G 遺伝子型及び P 遺伝子型の解析

RVA 遺伝子が確認された 32 件すべてで、G 遺伝子型及び P 遺伝子型が判定可能であった。各 G 遺伝子型の月別

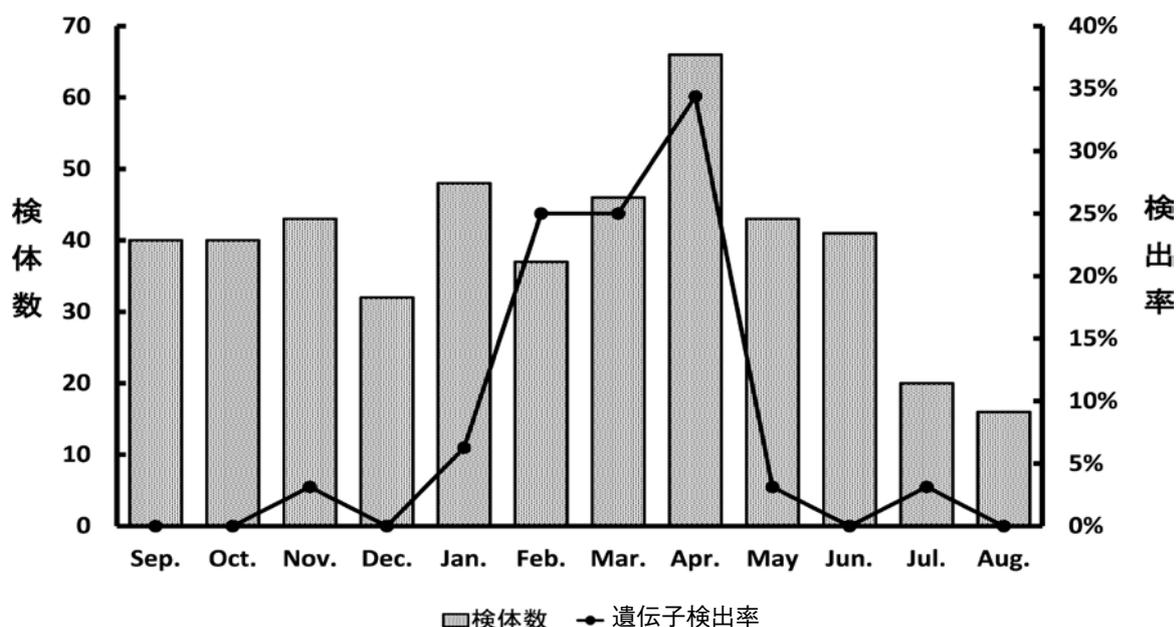


図 1 月別ロタウイルス A 検査状況 (2014/2015 シーズン)

表1 各G遺伝子型の年齢別検出状況

遺伝子型	年齢(歳)														計
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
G1		2							1						3
G2			1												1
G3	1		1	1											3
G9	4	6	6	2	5						1			1	25
計	5	8	8	3	5	0	0	0	1	0	1	0	0	1	32

表2 各G遺伝子型の月別検出状況

遺伝子型	採取年月												計 (%)	
	2014.09	2014.10	2014.11	2014.12	2015.01	2015.02	2015.03	2015.04	2015.05	2015.06	2015.07	2015.08		
G1					1			1			1			3 (9.4)
G2								1						1 (3.1)
G3								3						3 (9.4)
G9			1		1	8	8	6	1					25 (78.1)
計	0	0	1	0	2	8	8	11	1	0	1	0		32

検出状況を表2に示す。G遺伝子型の内訳は、G9が25件(78.1%)と最も多く、次いでG1及びG3が各3件(9.4%)、G2が1件(3.1%)であった。

G9は11月及び1月～5月に検出され、特に2月～4月に集中して検出された。G9以外では、G1の検出は1月、4月及び7月であったのに対し、G2及びG3の検出はともに4月のみであった。

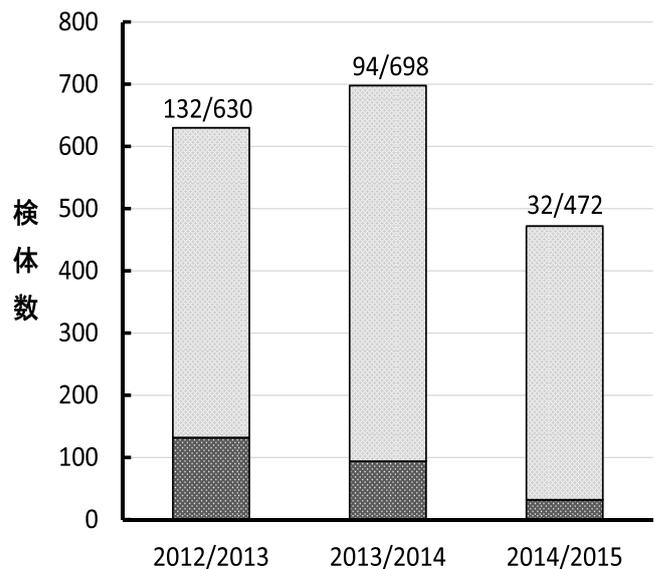
G9の検出年齢は0歳～13歳で、特に0～4歳で多く検出された。G1は1歳及び8歳、G2は2歳、G3は0歳、2歳及び3歳から検出された。(表1)

P遺伝子型の内訳は、P[8]が31件(96.9%)、P[4]が1件(3.1%)であった。G遺伝子型及びP遺伝子型の組み合わせの内訳は、G9P[8]が25件(78.1%)で最も多く、G1P[8]及びG3P[8]が各3件(9.4%)、G2P[4]が1件(3.1%)であった。

3.3 RVA遺伝子検出状況の比較(2012/2013シーズン～2014/2015シーズン)

2012/2013シーズン～2014/2015シーズンの検体数及びRVA遺伝子陽性数の推移を図2に示す。検体数は、2012/2013シーズンが630件、2013/2014シーズンが698件であった^{11),12)}のに対し、2014/2015シーズンは472件と大きく減少した。RVA遺伝子の検出率は、2012/2013

シーズンは20.9%(132/630件)¹¹⁾、2013/2014シーズンは13.5%(94/698件)¹²⁾、2014/15シーズンは6.8%(32/472件)と2シーズン続けて低下した。



グラフ上部に総検体数及び陽性数を示す(陽性数 / 総検体数)
□陰性数 ■陽性数

図2 RVA遺伝子検出状況の比較(2012/13~2014/15シーズン)

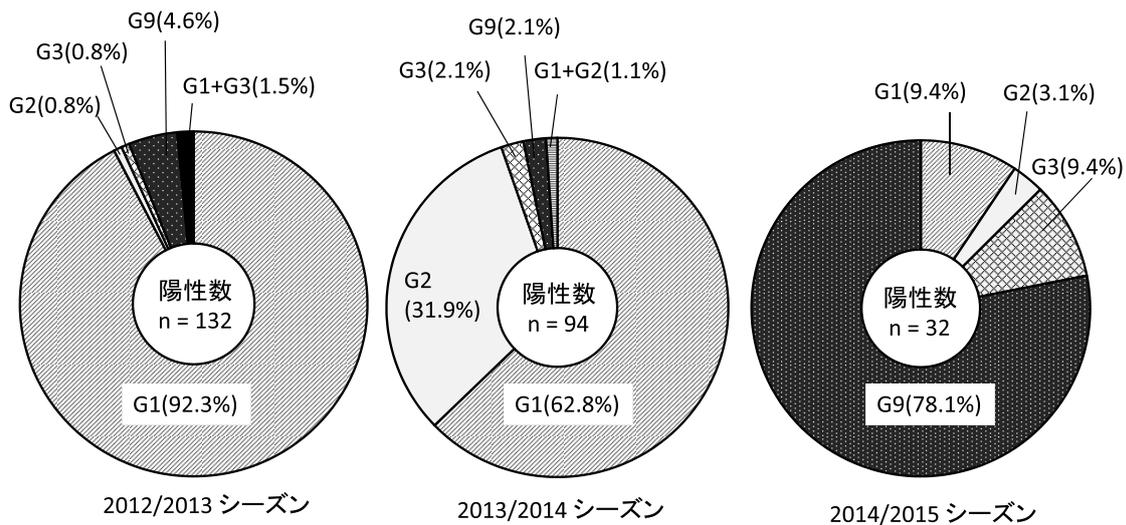


図3 G遺伝子型別検出状況の比較 (2012/13 ~ 2014/15 シーズン)

同期間のG遺伝子型検出状況の比較を図3に示す。2012/2013シーズン及び2013/2014シーズンは主流行型がG1であったのに対し、2014/2015シーズンは主流行型がG9に入れ替わった。

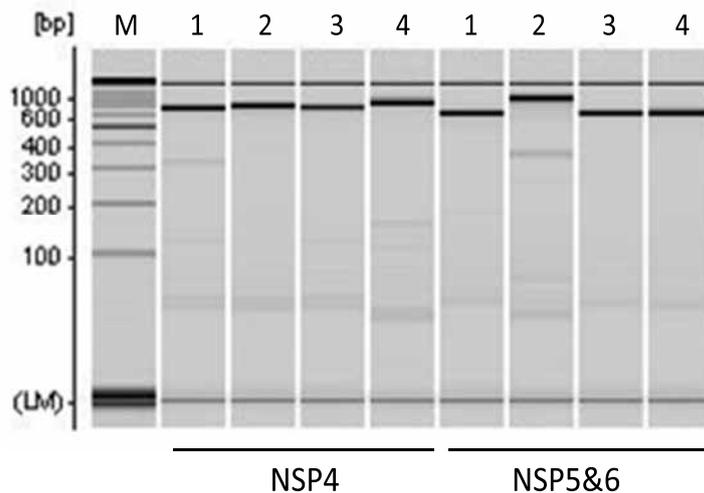
3.4 G1P[8]の遺伝子再集合体由来株解析

G1P[8]と同等された3件について、NSP4及びNSP5/6遺伝子のPCR産物サイズの比較を行ったところ、8歳の患者検体から検出された1件が遺伝子再集合体由来株と推定された(図4)。

4 考察

2014/2015シーズンの岡山県内におけるRVAの流行は、G9P[8]を主流行型とし、検出が2月~4月に集中したものであった。

検体数は、過去2シーズンはそれぞれ630件、698件であったのに対し、2014/2015シーズンは472件と大きく減少した。また、RVA遺伝子検出率は、ワクチン導入前の7シーズン(2004/2005シーズン~2010/2011シーズン)は20.4%~30.1%で変動していた⁶⁾⁷⁾のに対し、ワクチン導入後の3シーズンはそれぞれ20.9%、13.5%、6.8%と2シーズン続けて低下した。これらの検体数の減少及びRVA遺伝子検



M : Marker	
1 : Wa株	3 : Sample 2 (従来株)
2 : Sample 1 (遺伝子再集合体由来株)	4 : Sample 3 (従来株)

図4 G1P[8]における遺伝子再集合体由来株の簡易解析結果

出率の低下は、ともにワクチンによってRVAの流行が抑制された結果である可能性が考えられた。

G遺伝子型検出状況は、2012/2013シーズン及び2013/2014シーズンは主流型がG1であったのに対し、2014/2015シーズンは主流型がG9に入れ替わった。G9はヒトから多く検出される遺伝子型のひとつであり、県内では2001/2002シーズンから存在が確認されている¹³⁾。これまで2001/2002シーズン(28.8%)、2005/2006シーズン(55.4%)及び2007/2008シーズン(72.0%)での主流型であり¹³⁾、2014/2015シーズンは6シーズンぶりの主流型となった。この要因のひとつに、Rotarix[®](グラクソ・スミスクライン社製)がG1、RotaTeq[®](メルク社製)がG1～G4でそれぞれ構成されているため、これらの遺伝子型の流行が抑制され、結果的にG9の検出比率が高まった可能性が考えられた。しかしながら、ワクチンが導入される前にもG9の検出率が高いシーズンが認められるため¹³⁾、2014/2015シーズンのG9の増加は自然変動の範囲内である可能性も否定できない。従って、今回のRVAの主流型の変化がワクチンの影響により生じたものと判断することは、現時点では困難と考える。

G1P[8]の遺伝子再集合体由来株は、2011/2012シーズンに県内で初めて存在が確認された⁸⁾。これまでのシーズンで検出されたG1P[8]のうち、2011/2012シーズンは74.1%(20/27件)⁷⁾、2012/2013シーズンは31.3%(36/115件)¹¹⁾、2013/2014シーズンは100%(58/58件)¹²⁾が遺伝子再集合体由来株と推定され、3シーズン連続の流行がみられた。一方、2014/2015シーズンは、G1P[8]の検出数が3件と低下し、遺伝子再集合体由来株と推定されたのはこのうち1件のみであった。このことから、遺伝子再集合体由来株は、県内で初めて存在が確認された2011/2012シーズン以降の4シーズンで継続して検出されたものの、流行自体は終息に向かっている可能性が考えられた。

RVAの流行に対するワクチンの影響を検証していくため、検体数及びRVA遺伝子の検出率の動向、また遺伝子再集合体由来株を含めたRVA遺伝子型の推移について、今後も中長期にわたるモニタリングが必要と考える。

文 献

- 1) 小林宣道, 浦沢正三: ロタウイルス, ウイルス, 50: 157-172, 2000
- 2) Matthijnssens, J., Ciarlet, M., McDonald, S. M., Attoui, H., Banyai, K. et al.: Uniformity of rotavirus Classification Working Group (RCWG). Arch. Virol., 156: 1397-1413, 2011
- 3) Santos, N. and Hoshino, Y.: Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. Rev Med Virol. 15: 29-56, 2005
- 4) 中込治, 中込とよ子: ワクチンによるロタウイルスの感染制御, ウイルス, 60: 33-48, 2010
- 5) 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 小倉 肇, 金谷誠久ら: 岡山県におけるA群ロタウイルス検出状況と血清型分布の最近の動向, 病原微生物検出情報, 26, 4-6, 2005
- 6) 葛谷光隆, 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 岸本壽男ら: 岡山県におけるA群ロタウイルスの検出状況と血清型分布の最近の動向, 病原微生物検出情報, 32, 71-72, 2011
- 7) 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 岸本壽男, 葛谷光隆ら: 岡山県におけるA群ロタウイルスの検出状況(2010/11～2012/13シーズン), 病原微生物検出情報, 35, 68-69, 2014
- 8) Kuzuya M, Fujii R, Hamano M, Kida K, Mizoguchi Y et al.: Prevalence and molecular characterization of G1P[8] human rotaviruses possessing DS-1-like VP6, NSP4, and NSP5/6 in Japan. Med Virol. 2014 Jun; 86(6): 1056-64. doi: 10. 1002 / jmv. 23746. Epub 2013 Sep 16
- 9) Gouvea V., Glass, R.I., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, H. F. et al.: Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens, J. Clin. Microbiol., 28: 276-282, 1990
- 10) Wu, H., Taniguchi, K., Wakasugi, F., Ukae, S., Chiba, S. et al.: Survey on the distribution of the gene 4 alleles of human rotaviruses by polymerase chain reaction., Epidemiol.Infect., 112: 615-622, 1994
- 11) 濱野雅子, 藤井理津志, 木田浩司, 葛谷光隆, 植原幸二ら: 胃腸炎ウイルスの疫学的研究－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況(2012/2013シーズン), 岡山県環境保健センター年報, 38, 55-58, 2014
- 12) 藤原香代子, 藤井理津志, 濱野雅子, 磯田美穂子, 松岡保博ら: 胃腸炎ウイルスの疫学的研究－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況(2013/2014シーズン), 岡山県環境保健センター年報, 39, 119-123, 2015
- 13) 葛谷光隆, 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 井上勝ら: 胃腸炎ウイルスの研究－岡山県における血清型G9型A群ロタウイルスの流行状況について, 岡山県環境保健センター年報, 34, 85-89, 2010

【調査研究】

岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析 (2014～2015年シーズン)

Epidemiological Analysis of Influenza in Okayama Prefecture during 2014 to 2015 Season

松岡保博, 濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 藤井理津志,
筒井みちよ*, 芦田顕彦** (ウイルス科)

*岡山県感染症情報センター, **保健福祉部健康推進課

Yasuhiro Matsuoka, Masako Hamano, Mihoko Isoda, Kayoko Fujiwara, Ritsushi Fujii,
Michiyo Tsutsui* and Akihiko Ashida**
(Virology Section)

*Okayama Prefectural Infectious Disease Surveillance Center

**Health Promotion Division, Department of Health and Welfare

要 旨

2014～2015年シーズンの岡山県におけるインフルエンザ流行は、岡山県感染症発生動向調査事業における患者発生状況から、2014年12月上旬に始まり、2015年1月中旬～下旬にピークを迎えた。その後、患者報告数は急激に減少したが、再び3月中旬～下旬に小ピークを形成し、5月中旬に終息した。ピーク時の1定点医療機関あたり患者報告数は、過去10年間で最も多かった。患者等から検出されたウイルスは、AH3亜型が87件、B型が10件であった。流行のピークまではAH3亜型のみが検出されていたが、ピーク時からB型が検出され始め、3月中旬以降はB型の検出比率が高くなった。よって、2014～2015年シーズンは、2012～2013年シーズン以来であるAH3亜型を主流行としたB型との混合流行であったと推察された。

[キーワード：インフルエンザウイルス、インフルエンザ集団発生、感染症発生動向調査、疫学解析]

[Key words: Influenza virus, Outbreak of influenza, Infectious disease surveillance, Epidemiological analysis]

1 はじめに

2014～2015年シーズンの岡山県におけるインフルエンザ流行状況を明らかにするため、岡山県感染症発生動向調査事業（以下「発生動向調査」という。）の定点医療機関におけるインフルエンザ患者発生状況及び学校等におけるインフルエンザ集団発生事例の発生状況を解析した。また、患者等から採取された咽頭拭い液からインフルエンザウイルス（以下「Inf.V」という。）の検索を行った。

2 材料及び方法

2.1 インフルエンザ患者発生状況

発生動向調査の週別患者報告に基づき、1定点医療機関あたり（以下「定点あたり」という。）のインフルエンザ患者報告数（1週間に1ヵ所の定点医療機関を受診したインフルエンザ患者報告数の平均値）を算出・集計した。集団発生事例の発生状況については、保健福祉部健康推進課がとりまとめた「インフルエンザとみられる学校等の臨時休業について」をもとに集計した。

2.2 Inf.V 検索材料

2014年9月～2015年5月に、発生動向調査の病原体定点及び積極的疫学調査におけるインフルエンザ患者等101人並びに2014年10月～2015年1月にインフルエンザ集団発生が認められた7施設の患者21人、合計122人から採取した咽頭拭い液を検索材料とした。

2.3 遺伝子検出による Inf.V 検索

遺伝子検出による Inf.V 検索については、国立感染症研究所から示された「インフルエンザ診断マニュアル（第3版）」に従って実施した。すなわち、QIAamp Viral RNA Mini Kit（株式会社キアゲン）を用い、検体からウイルス RNA を抽出後、前記マニュアルに従って逆転写リアルタイム PCR 法を実施した。

3 結果

3.1 患者発生状況

発生動向調査における県全体の定点あたりのインフルエンザ患者報告数の推移を、図1に示した。2014年第36週（9月上旬）に2014～2015年シーズン初めての患者が報告され、

第49週(12月上旬)には、流行開始の指標である定点あたり患者報告数1.00人を超えた(1.24人)。以後、患者報告数は増加を続け、2015年第3週～第4週(1月中旬～下旬)には、シーズンのピークを迎えた(第3週59.21人、第4週58.98人)。その後、患者報告数は急激に減少したが、第11週から再び増加し、第12週～第13週(3月中旬～下旬)に小ピークを

形成した(第12週6.18人、第13週5.67人)。そこから、患者報告数は緩やかに減少を続け、第20週(5月中旬)には定点あたり1.00人を下回り、流行はほぼ終息した。

小ピークが形成された時期を含む第11週～第14週(3月上旬～4月上旬)の県内保健所管轄地域別定点あたり患者報告数の推移を、図2に示した。県西部の倉敷市、備中及

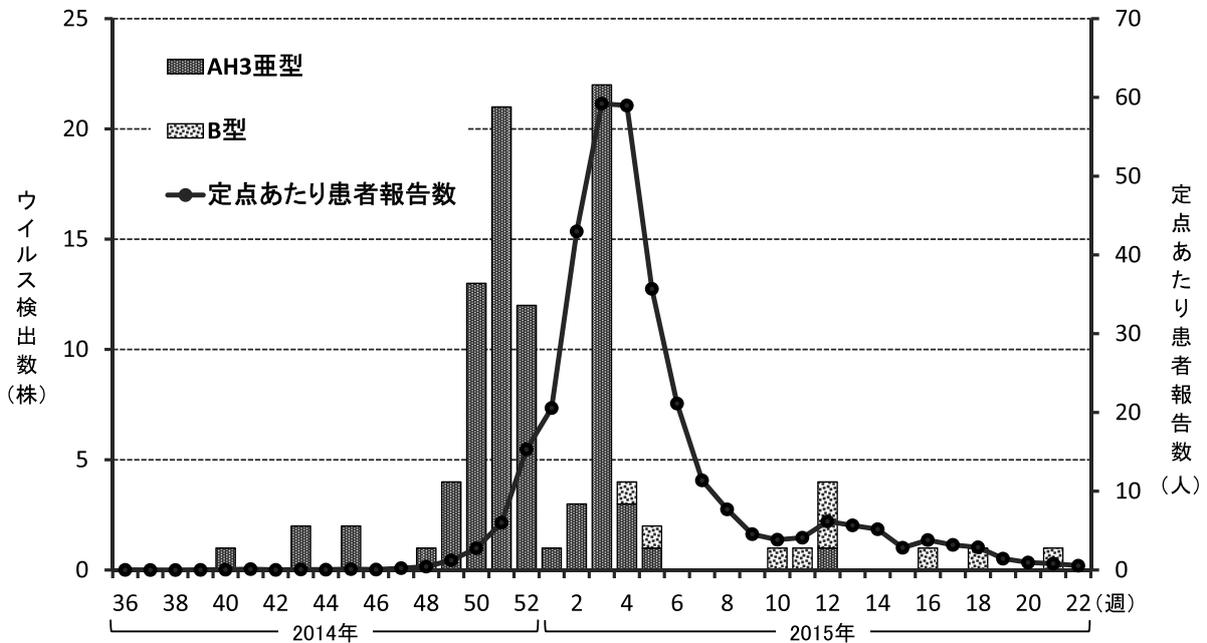


図1 週別の定点あたり患者報告数及びウイルス検出状況

カラムが型別のウイルス検出数を、折れ線が県全体の定点あたり患者報告数を示す。

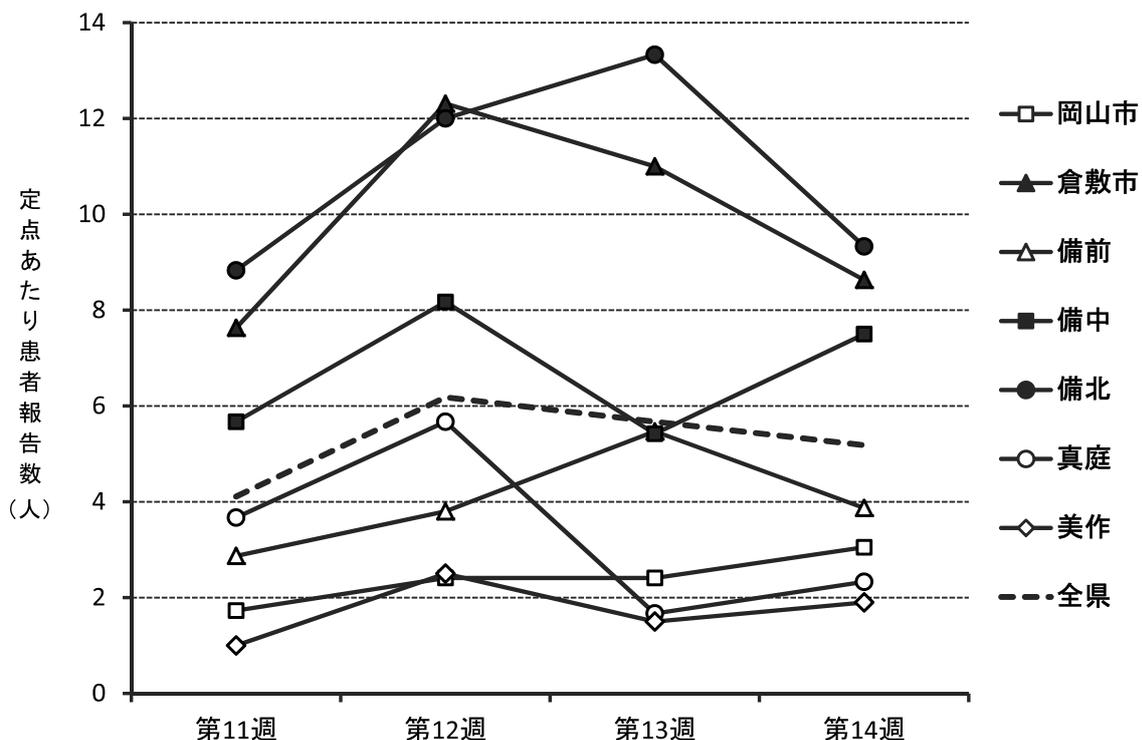


図2 第11週～第14週の県内保健所管轄地域別定点あたり患者報告数

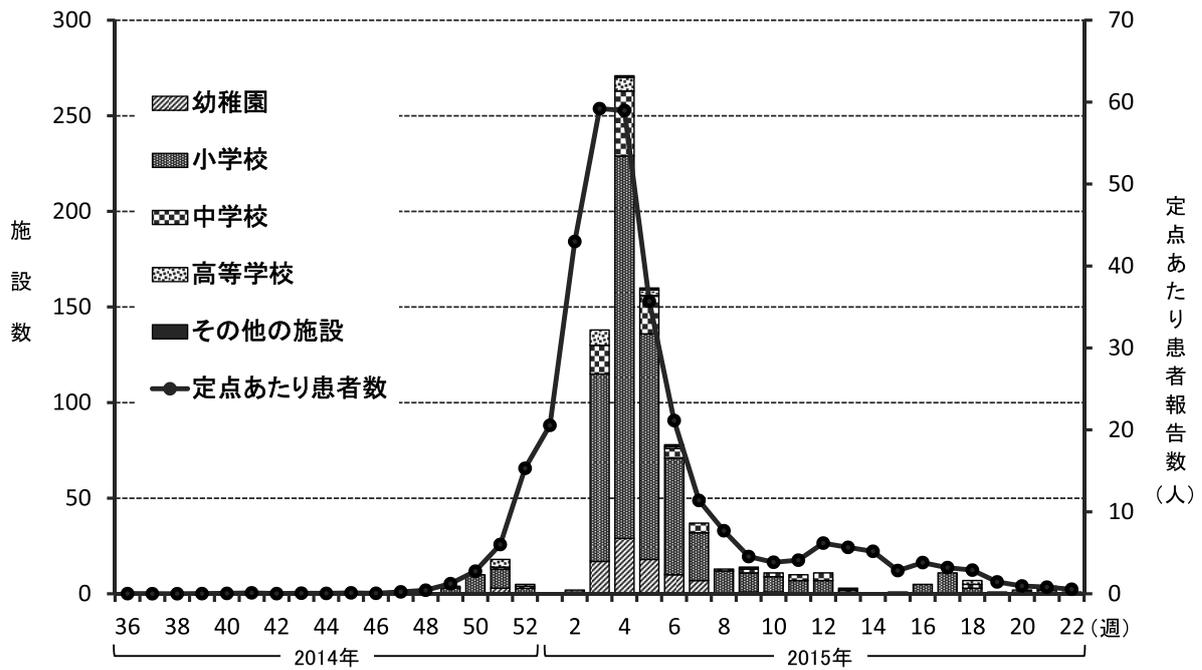


図3 週別のインフルエンザとみられる学校等の臨時休業施設数及び定点あたり患者報告数

カラムが施設別の臨時休業数を、折れ線が県全体の定点あたり患者報告数を示す。

び備北地域では、第13週の備中地域を除いて、全県の定点あたり患者報告数を常に上回って推移していた。一方、その他地域では、全県の定点あたり患者数を常に下回っていた。インフルエンザとみられる学校等の臨時休業施設数及び

県全体の定点あたりのインフルエンザ患者報告数の推移を、図3に示した。2014～2015年シーズンの臨時休業施設数は、818施設であり、内訳は、小学校600施設(73.4%)、中学校99施設(12.1%)、幼稚園86施設(10.5%)、高等

表1 インフルエンザ検査成績

	検体採取状況		ウイルス検出・同定		
			検出*	AH3亜型	
所管保健所名	検体採取年月日			AH3亜型	B型
散発事例	岡山市保健所	2014.9.29～2015.3.16	23/25	17	6
	備中保健所	2014.11.7～2015.5.21	50/72	46	4
	美作保健所	2015.1.19～2015.1.23	3/3	3	
	備前保健所	2015.1.26	1/1	1	
	小計		77/101 (76.2%)	67	10
集団発生事例	施設名	所在地 検体採取年月日			
	A小学校	倉敷市 2014.10.21	2/3	2	
	B小学校	岡山市 2014.12.1～3	2/2	2	
	C小学校	玉野市 2014.12.9	1/1	1	
	D小学校	総社市 2014.12.9	2/2	2	
	E小学校	真庭市 2014.12.16	5/5	5	
	F中学校	赤磐市 2015.1.13	4/4	4	
	G老健施設	高梁市 2015.1.14	4/4	4	
小計		20/21 (95.2%)	20	0	
合計			97/122 (79.5%)	87	10

* 陽性数/検体数

学校 28 施設 (3.4%), その他 5 施設 (0.6%) であった。シーズン初の臨時休業は、2014 年第 43 週 (10 月下旬) に倉敷市内の小学校で発生したが、その後、第 44 週～第 48 週まで (11 月中) 発生が無かった。第 49 週 (12 月上旬) から臨時休業施設数が増え始め、2015 年に入ると急激に増加し、2015 年第 3 週 (1 月中旬) には 138 施設、第 4 週 (1 月下旬) には、シーズン最多となる 271 施設となったが、以後は漸減した。臨時休業施設数の推移は、学校等の休業期間を除くと、シーズンを通して定点あたり患者報告数の動向とよく一致していた。

3.2 Inf.V 検出状況

インフルエンザ患者等からの検体採取状況及びウイルス検出状況を、表 1 に示した。散发例では患者 101 人中 77 人 (76.2%) から Inf.V が検出され、その内訳は AH3 亜型が 67 件、B 型が 10 件であった。一方、インフルエンザ集団発生が認められた 7 施設の患者 21 人中 20 人 (95.2%) から Inf.V が検出され、全て AH3 亜型であった。ウイルス株全体では AH3 亜型が 87 件、B 型が 10 件であった。B 型は全て山形系統で、ビクトリア系統は検出されなかった。

週別のウイルス検出状況 (図 1) では、流行のピークを迎える 1 月中旬までは、AH3 亜型のみが検出されたが、ピーク後半の 1 月下旬には、B 型山形系統が検出され始めた。その後、定点あたり患者報告数の減少に伴って検出数は漸減したが、患者報告数が再び増加した 3 月中旬以降は B 型の検出比率が高くなった。

4 考察

2014～2015 年シーズンの岡山県におけるインフルエンザ流行は、発生動向調査における患者発生状況から、2014 年 12 月上旬に始まり、2015 年 1 月中旬～下旬にピークを迎えた。その後、患者報告数は急激に減少したが、再び 3 月中旬～下旬に小ピークを形成し、5 月中旬に終息した。全国の流行パターンは 2015 年 1 月下旬をピークとする一峰性流行であり¹⁾、ピークの時期は県内とほぼ一致していた。また、県内の 3 月中旬～下旬の小ピークについては、県西部での地域流行を反映したものと考えられた。

Inf.V 検出状況は、流行のピークまでは AH3 亜型のみが検出されていたが、ピーク時から B 型が検出され始め、3 月中旬以降は B 型の検出比率が高くなった。このことから、流行のピーク時の県全体の患者発生は、主として AH3 亜型によるものと推察された。ピーク時の定点あたり患者報告数は、過去 10 年間のピーク時で最も多かった 2004～2005 年シーズン (定点あたり患者報告数 55.46 人)²⁾ を 2 週連続で上回った。これは、AH3 亜型の抗原性が前シーズンまでの流行株から大きく変化しており、ワクチン株の

抗原性とかい離していたこと¹⁾ が要因の一つと考えられた。一方、B 型については、2014～2015 年シーズンは山形系統のみの検出となった。2010～2011 年シーズンはビクトリア系統のみの検出だったが³⁾、その後、シーズン毎に山形系統の検出比率が高くなる傾向が続いており^{4)～6)}、2014～2015 年シーズンもこの傾向が継続していたものと考えられた。この傾向は、全国でも同様であった¹⁾。

以上より、2014～2015 年シーズンの岡山県におけるインフルエンザは、2012～2013 年シーズン以来である AH3 亜型を主流行とした B 型との混合流行であったと推察された。全国の Inf.V 検出状況は、AH3 亜型が 85%、B 型が 14%、AH1pdm09 が 1% であり、AH3 亜型はシーズン前半、B 型はシーズン後半を中心に検出されていた¹⁾。これらのことから、全国も県内同様の混合流行であったと考えられた。

文 献

- 1) 国立感染症研究所 感染症疫学センター：インフルエンザ 2014/15 シーズン、病原微生物検出情報, 36, 199-207, 2015
- 2) 葛谷光隆, 濱野雅子, 西島倫子, 藤井理津志, 山口 弘：岡山県における 2004～2005 年シーズンのインフルエンザ流行について、岡山県環境保健センター年報, 30, 115-119, 2006
- 3) 葛谷光隆, 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 羽原 誠：県内におけるインフルエンザ流行の疫学的解析 (2010～2011 年シーズン)、岡山県環境保健センター年報, 36, 89-94, 2012
- 4) 木田浩司, 葛谷光隆, 溝口嘉範, 濱野雅子, 藤井理津志ら：岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析 (2011～2012 年シーズン)、岡山県環境保健センター年報, 37, 115-119, 2013
- 5) 木田浩司, 溝口嘉範, 磯田美穂子, 濱野雅子, 藤井理津志ら：岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析 (2012～2013 年シーズン)、岡山県環境保健センター年報, 38, 63-66, 2014
- 6) 松岡保博, 濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 藤井理津志ら：岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析 (2013～2014 年シーズン)、岡山県環境保健センター年報, 39, 131-135, 2015

【資料】

岡山県におけるマダニの季節的消長と日本紅斑熱リケッチア保有調査

Seasonal Prevalence and *Rickettsia japonica* Detection of Ticks
in Okayama Prefecture

松岡保博, 濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 藤井理津志, 木田浩司*
芦田顕彦** (ウイルス科)

*美作保健所, **保健福祉部健康推進課

Yasuhiro Matsuoka, Masako Hamano, Mihoko Isoda, Kayoko Fujiwara, Ritsushi Fujii,
Kouji Kida* and Akihiko Ashida**
(Virology Section)

*Mimasaka Public Health Care Center

**Health Promotion Division, Department of Health and Welfare

要 旨

2013年8月～2014年9月の間、県内7定点で月1回、植生マダニを捕獲し、形態学的観察により、*Rickettsia japonica* を媒介する主な5種（フタトゲチマダニ、キチマダニ、オオトゲチマダニ、ヤマアラシチマダニ及びヤマトマダニ）を鑑別集計した。マダニは7定点全てで捕獲され、総数は3,525匹であった。そのうち、*Rickettsia japonica* を媒介する主な5種のマダニは2,879匹であり、キチマダニ及びフタトゲチマダニの割合が高かった。また、これら5種のマダニが県内全域に年間を通して生息していることが明らかとなった。一方で、5種のマダニの季節的消長には地域差が見られた。捕獲マダニのうち、657匹213検体について*Rickettsia japonica* 遺伝子を検索した結果、全て陰性であった。

[キーワード：マダニ, 日本紅斑熱リケッチア, 季節的消長, リアルタイムPCR]

[Key words : Tick, *Rickettsia japonica*, Seasonal prevalence, Real-time PCR]

1 はじめに

日本紅斑熱は、*Rickettsia japonica*（以下「*R.j.*」という。）を保有するマダニに刺さることによって感染するダニ媒介性細菌感染症であり、感染症法では四類感染症に規定されている。発熱及び発しんを主徴とし、治療が遅れると死に至ることもあるため、早期診断は特に重要である。1984年に徳島県で初めて患者が報告^{1), 2)}されて以来、年々患者数が増加しており、近年では、西日本を中心に全国で毎年200名を超える患者が報告されている。本県でも2009年の第1例発生以降、これまでに14名の報告があり、今後も患者発生が危惧されている。

日本紅斑熱の病原体である*R.j.*は、少なくとも3属8種の媒介マダニが保有する³⁾宿主域の広いリケッチアである。しかし、中国四国地方におけるマダニの*R.j.*保有調査では、各県で確認された*R.j.*保有種は1種又は2種のみであり、島根県ではフタトゲチマダニ及びヤマトマダニ⁴⁾、本県、広島県及び愛媛県ではヤマアラシチマダニであった^{5)～7)}。このことは、地域によって*R.j.*媒介マダニ種が異なる可能性を示唆するものである。そのため、日本紅斑熱の感染予

防には、地域ごとの*R.j.*媒介マダニ種を明らかにし、その季節的消長を把握することが重要であると考えられる。

本県ではこれまで、2010年10月～2011年12月に県内全域を対象としたマダニの生息状況調査を実施している⁸⁾。しかし、その調査手法は、調査地点を地理的条件によって多数設定し、それぞれ1回ずつ調査する手法であったため、同一地点におけるマダニの季節的消長は明らかにされていない。そこで、今回我々は、県内全域に7定点を設定し、年間を通して継続的にマダニを捕獲することで、その季節的消長を解析した。また、捕獲マダニの*R.j.*保有状況についても調査した。

2 方法

2.1 マダニの捕獲

県内5保健所管内の7地点を定点（A～G）とし、2013年8月～2014年9月の間、月1回旗振り法により植生マダニを捕獲した。保健所・支所別の定点配置及び調査期間を、表1及び図1に示す。

表1 保健所・支所別の定点配置及び調査期間

保健所	支所	調査定点	調査期間
備前	東備	—	—
		A	2013年9月～2014年9月
		B	2013年8月～2014年9月
備中	井笠	—	—
		C	2013年8月～2014年9月
		D	2013年9月～2014年9月
備北	新見	—	—
		E	2013年10月～2014年9月
真庭		—	—
美作	勝英	F	2013年10月～12月 2014年5月～9月
		—	—
岡山市		G	2013年8月～2014年9月
倉敷市		—	—

表2 プライマー及びプローブ (文献9)

名称	塩基配列(5'→3')
SpRi_ja5'	GAACACGATGATACACCTCTGCA
SpRi_ja3'	GATTAGCCTCTGTCTTCAGTAGTATTTAACT
SpRi_jaMGB	(FAM)-TAGCGTCTATTCTAAGTAAAG-(NFQ)-(MGB)

3 結果

3.1 県内のマダニ生息状況

捕獲されたマダニの総数は、3,525匹であり、7定点全てで捕獲された。定点Fは、2014年1月～4月の期間、積雪により調査ができなかったが、他の6定点では調査期間を通して毎月マダニが捕獲された。捕獲マダニのうち、*R.j.*を媒介する主な5種の定点別捕獲数を表3に示す。5種の総数は、2,879匹であった。種別の捕獲数は、キチマダニが最も多く1,421匹(40.31%)、次いでフトゲチマダニ1,295匹(36.74%)、オオトゲチマダニ100匹(2.84%)、ヤマアラシチマダニ39匹(1.11%)、ヤマトマダニ24匹(0.68%)の順であった。また、各定点で最も多く捕獲された種は、定点A及びBではフトゲチマダニ、定点C、D、E、F及びGではキチマダニであった。

表3 定点別マダニ捕獲数

種	定点	A	B	C	D	E	F	G	計(匹)
キチマダニ		33	187	373	286	339	15	188	1,421
フトゲチマダニ		778	347	88	10	1	0	71	1,295
オオトゲチマダニ		85	11	0	0	3	0	1	100
ヤマアラシチマダニ		1	3	12	2	12	0	9	39
ヤマトマダニ		0	2	3	0	11	1	7	24
その他		12	304	81	5	14	0	230	646



図1 保健所・支所別の定点配置

2.2 捕獲マダニの鑑別及び集計

捕獲マダニについて、形態学的観察により種を鑑別し、*R.j.*を媒介する主な5種(フトゲチマダニ、キチマダニ、オオトゲチマダニ、ヤマアラシチマダニ及びヤマトマダニ)を、定点及び捕獲月別に集計した。

2.3 捕獲マダニからの*R.j.*の検索

捕獲マダニのうち、3月から10月の期間に捕獲した*R.j.*を媒介する主な5種を選択し、1匹又は複数匹をプールしたものを検体とした。これらを潰して得られた内臓液をPBS(-)に浮遊させ、QIAamp DNA mini kit及びQIAcube(ともに株式会社キアゲン)を用いてDNAを抽出した。このDNAを用いて、花岡ら⁹⁾によって報告された*R.j.*を特異的に検出するreal-timePCR法を実施した。使用したプライマー及びプローブの配列を表2に示す。

3.2 定点別のマダニの季節的消長

調査期間のうち、2013年10月～2014年9月の1年間を対象とし、各定点における*R.j.*を媒介する主な5種の季節的消長を解析した。5種の各定点における月別捕獲数をスコア化したグラフを図2に示す。定点Aでは、春から秋の期間に捕獲数が多かったが、そのほとんどがフトゲチマダニであった。一方、冬から春の期間の捕獲数は少なく、キチマダニ及びオオトゲチマダニの割合が高かった。定点Bの種別の季節的消長は定点Aと類似していたが、春から秋よりも冬から春の期間の捕獲数が多かった。定点C、D及びEでは、春から秋の期間の捕獲数は少なく、フトゲチマダニ、ヤマアラシチマダニ及びヤマトマダニが同程度捕獲された。一方、冬から春の期間には捕獲数が多かったが、そのほとんどがキチマダニであった。定点Gの種別の季節的消長は、定点C、D及びEと類似していたが、年間を通して捕獲数は少なかった。定点Fでは、積雪により

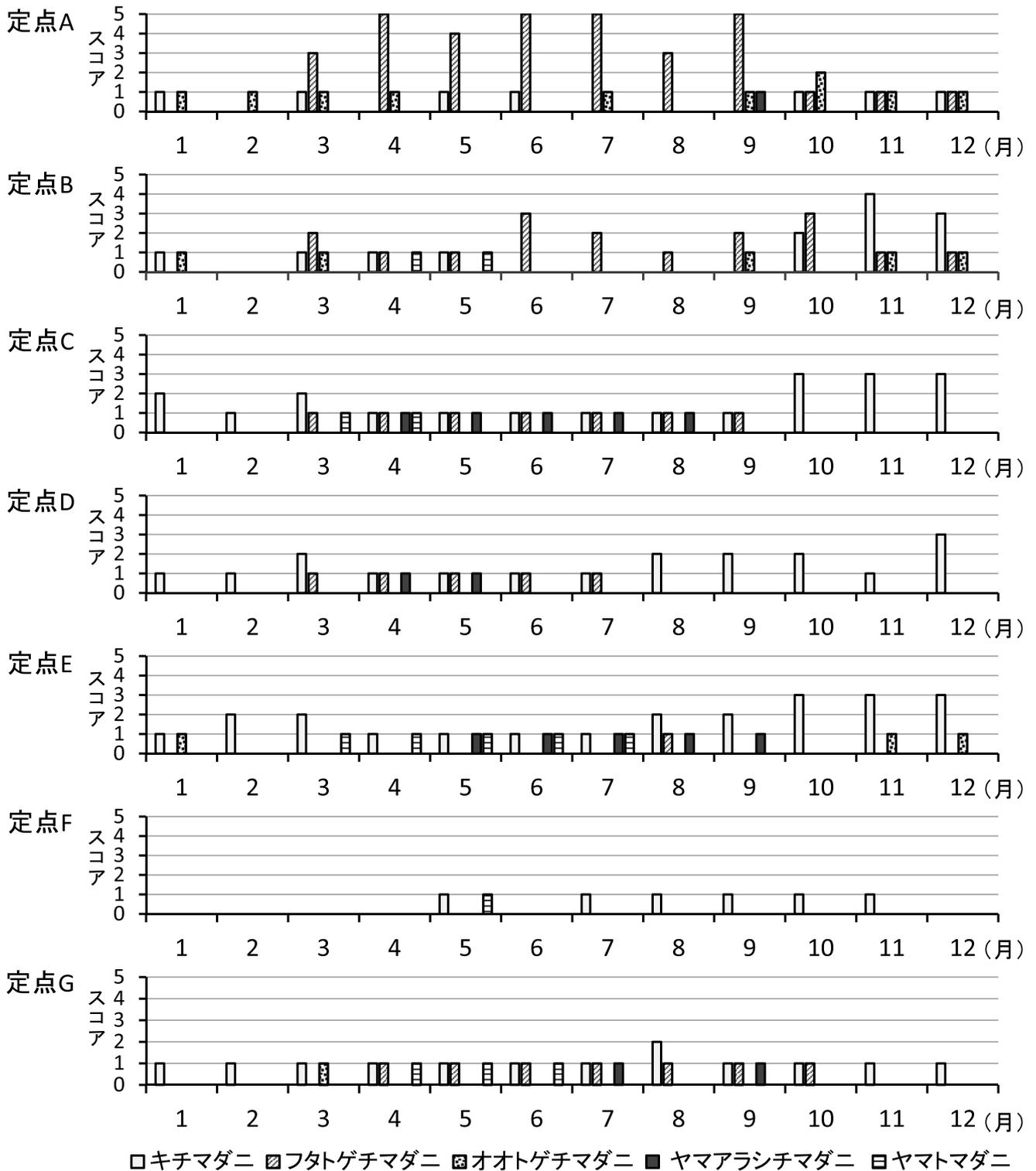


図2 定点別のR_j媒介主要マダニの季節的消長

捕獲数0匹をスコア0、1-20匹をスコア1、21-40匹をスコア2、41-60匹をスコア3、61-80匹をスコア4、81-100匹をスコア5とした。

調査ができなかった2014年1月～4月の期間を除き、継続的にキチマダニが捕獲されたが、その数は少なかった。

3.3 県内のマダニのR_j保有状況

選択したマダニ 657 匹 213 検体 (キチマダニ 221 匹 52

検体, フタトゲチマダニ 350 匹 75 検体, オオトゲチマダニ 35 匹 35 検体, ヤマアラシチマダニ 28 匹 28 検体及びヤマトマダニ 23 匹 23 検体) について, R_j 遺伝子検索を実施した結果, 全て陰性であった。

4 考察

R.j. は、地域によって媒介マダニ種が異なる可能性が示唆されており、予防のためには、地域ごとの *R.j.* 保有マダニ種とその季節的消長を把握することが重要である。今回の調査では、*R.j.* を媒介する主な5種のマダニが県内全域に年間を通して生息していることが明らかとなった。一方で、マダニ種の季節的消長には地域差が見られた。これは、地理的条件によって野生動物の生息状況が異なることが影響しているかもしれない。また、一般的にマダニの活動が活発になるのは春から秋とされているが、キチマダニやオトゲチマダニでは、むしろ秋から春にかけての寒い時期に多く活動していることが確認された。過去に県内で *R.j.* 遺伝子が検出されたヤマアラシチマダニ⁵⁾ は、全捕獲数の1.11%と少なかったが、春から秋に捕獲され、過去に県内で患者が発生した時期とおおむね一致していた。

マダニ 657 匹 213 検体について、*R.j.* 遺伝子の検索を実施したが、全て陰性であった。このことから、県内のマダニの *R.j.* 保有率は低く、地域ごとの *R.j.* 媒介種を明らかにするためには、さらなる調査が必要であると考えられた。

日本紅斑熱は1984年に発見された新興感染症であるが、2011年には新たなマダニ媒介性ウイルス感染症として、致死率の高い重症熱性血小板減少症候群(SFTS)が報告¹⁰⁾される等、マダニの保有する病原体や生息実態の把握は重要性を増している。今回の調査では県内の新たな *R.j.* 媒介マダニ種を明らかにすることはできなかったが、マダニの季節的消長に地域差があることが確認できたことは大きな収穫であった。今後も継続的な調査を実施し、適切な予防啓発へ繋げたい。

文 献

- 1) 馬原文彦, 古賀敬一, 沢田誠三, 谷口哲三, 重見文雄ら: わが国初の紅斑熱リケッチア感染症, 感染症学雑誌, 59, 1165-1172, 1985
- 2) Uchida T, Mahara F, Tsuboi Y, Oya A: Spotted fever group rickettsiosis in Japan. Jpn J. Med. Sci. Biol. 38, 151-153, 1985
- 3) SADI組織委員会編: ダニと新興再興感染症, 129-139, 全国農村教育協会, 東京, 2007
- 4) Tabara K, Kawabata H, Arai S, Itagaki A, Yamauchi T, et al.: High incidence of rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick, J. Vet. Med. Sci. 73(4), 507-510, 2011
- 5) 木田浩司, 岸本壽男, 溝口嘉範, 藤井理津志, 葛谷光隆ら: 岡山県備前保健所東備支所管内で発生した日本紅斑熱事例における感染源調査, 平成24年度厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業: ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築とその基盤となる技術・情報の体系化に関する研究), 159-165, 2013
- 6) 高尾伸一: 広島県における日本紅斑熱の現状について, 広島県立総合技術研究所保健環境センター業績発表会要旨集, 16, 2008
- 7) 稲荷公一, 大瀬戸光明, 近藤玲子, 山下育孝, 豊嶋千俊ら: 愛媛県におけるマダニの分布状況及びマダニからの *Rickettsia japonica* の検出, 愛媛県衛生研究所年報, 7, 5-12, 2004
- 8) 中本 敦, 岸本壽男, 木田浩司, 溝口嘉範, 藤井理津志ら: 岡山県の野ネズミにおけるリケッチア侵淫調査, 平成23年度厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業: リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究), 93-106, 2012
- 9) Hanaoka N, Matsutani M, Kawabata H, Yamamoto S, Fujita H, et al.: Diagnostic assay for *Rickettsia japonica*, Emerging Infect. Dis. 15, 1994-1997, 2009
- 10) Yu X-J, Liang M-F, Zhang S-Y, Liu Y, Li J-D. et al: Fever with Thrombocytopenia Associated with a Novel Bunyavirus in China, N Engl J Med, 364, 1523-1532, 2011

【調査研究】

食品と医薬品等に含まれる有害化学物質等の分析技術の開発に関する研究

－水産物及び穀類等の残留農薬分析法の検討について－

Study on the development of analytical techniques of hazardous chemicals
contained in food and pharmaceuticals, etc.

－Study of pesticide residue analytical method in marine products and cereals, etc－

吉岡敏行, 難波順子, 浅田幸男, 赤木正章, 北村雅美 (衛生化学科)

Toshiyuki Yoshioka, Junko Namba, Yukio Asada, Masaaki Akaki, Masami Kitamura
(Food and Drug Chemical Research Section)

要 旨

水産物及び穀類等の残留農薬分析法について、通知法を改良した精製法を検討した結果、多機能カラムを採用することにより、脂肪酸エステル類やコレステロール類等の妨害成分を効率的に除去できることが判明した。マトリックス標準液を用いて定量した結果、農薬136～216成分について良好な回収率が得られた。

[キーワード：残留農薬, 食品, 精製, ガスクロマトグラフ質量分析計]

[Key words : Pesticide residue, Food, Purification, GC-MS]

1 はじめに

本県では、野菜及び果実類について「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号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知、以下「通知法」という)の「GC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)」に準じた方法を用いて、厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに従った妥当性評価試験を実施し、ガイドラインの目標値を満たした検査項目について収去検査を実施している。今回、収去検査可能な品目を増やすために、水産物及び穀類等の一斉分析法を検討した。魚試料について、通知法の「GC/MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)」に従い、アセトン及びヘキサン混液で抽出後、ゲル浸透クロマトグラフ(GPC)処理とエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム(PSA)処理を行い、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)を用いて測定を行ったところ、脂肪酸エステル類やコレステロール類の除去が不十分で、分析装置の汚染の原因となるほか回収率が異常となる農薬もあった。そのため、GPCやPSAに替わる精製法として、シリカゲルカラム或多機能カラム、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムによる方法について検討し、若干の知見が得られたので報告する。

2 材料及び方法

2.1 試料

水産物(ボラ, アナゴ, カキ, サーモン)は、可食部をホモジナイズした後、冷凍保存したペースト状のものを解凍して使用した。穀類・豆類・種実類(玄米, 大豆, なたね)は、ミルサーで粉末にしたものを使用した。

2.2 標準品及び固相カラム

混合標準液①: PL2005 農薬 GC/MS Mix I～VII: 林純薬(354成分)を混合した。

混合標準液②: PL-1-1～PL-12-1等: 和光純薬(269成分: 既報のとおり¹⁾)を混合した。

エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム:
BOND ELUT JR-PSA 500mg VARIAN

シリカゲルカートリッジカラム: Supelclean LC-Si 1g/6mL SUPELCO
グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム:

ENVI-Carb/LC-NH₂ 500mg:500mg/6mL SUPELCO
オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム: MEGA BE-C18 1g/6mL VARIAN
多機能カラム: MultiSep PR Romer Labs

2.3 装置

GPC: Shodex CLNpak EV-G (20mm × 100mm) +EV-2000 (20mm × 300mm)

移動相アセトン: シクロヘキサン (1:4), カラム温度 40℃
流速 4mL/min, 注入量 2mL

GC-MS : JMS-Q1000GC

GC カラム : GLScience InertCap 5MS/NP
30m+10m 0.25mm × 0.25 μ m

Varian-240MS

GC カラム : Agilent DB-5MS 30m+DG10m
0.25mm × 0.25 μ m

Varian-300MS

GC カラム : Agilent VF-5MS30m+EZ Guard
10m 0.25mm × 0.25 μ m

各 GC-MS の操作条件は、既報^{1),2)}のとおり行った。

2.4 前処理方法

最初に、水産物について検討した分析フローを図1に示す。通知法どおりに前処理したものを試験溶液①、通知法にLC-Siを追加したものを試験溶液②とした。GPCを省略し、代わりにENVI-Carb/LC-NH₂処理したものを試験溶液③、同様に、C18+ENVI-Carb/LC-NH₂処理したものを試験溶液④とした。次に、穀類等と水産物について検討し

た分析フローを図2に示す。それぞれ、抽出後、MultiSep PR+ENVI-Carb/LC-NH₂(連結カラム)で処理したものを試験溶液⑤とした。

各精製処理は、次のとおり行った。PSAは、アセトン：ヘキサン(1：1)10mLでコンディショニングし、抽出液を負荷した後、同溶媒20mLで溶出した。LC-Siは、ヘキサン10mLでコンディショニングし、抽出液を負荷した後、第1溶出画分(Fr1)としてヘキサン5mL、Fr2としてエーテル：ヘキサン(1：9)5mL、Fr3としてアセトン：ヘキサン(5：95)5mL、Fr4としてアセトン：ヘキサン(1：9)5mL、Fr5としてアセトン：ヘキサン(1：4)5mL、Fr6としてアセトン5mLで順次溶出し、6分画液を得た。ENVI-Carb/LC-NH₂は、トルエン：アセトニトリル(1：3)10mLでコンディショニングし、抽出液を負荷した後、同溶媒20mLで溶出した。C18+ENVI-Carb/LC-NH₂は、トルエン：アセトニトリル(1：3)10mLでコンディショニングし、抽出液を負荷した後、同溶媒20mLで溶出した。

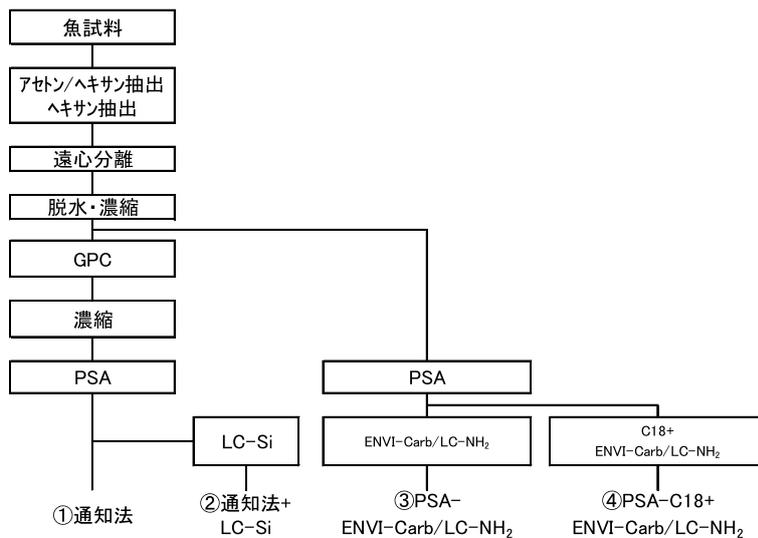


図1 分析フロー

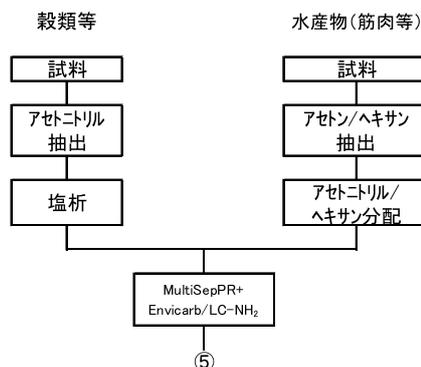


図2 MultiSep PR + ENVI-Carb/LC-NH₂ を用いた分析フロー

GPCは、10分から40分まで2分ごと8mLずつ分画液を得た。MultiSep PR+ENVI-Carb/LC-NH₂は、それぞれアセトニトリル10mLでコンディショニングし、抽出液を負荷後、アセトニトリル9mLで溶出後、MultiSep PRを取り外し、ENVI-Carb/LC-NH₂にトルエン:アセトニトリル(1:3)15mLで溶出し、合計約24mLの溶出液を得た。

3 検討結果及び考察

3.1 GPCの分画状況

通知法に基づく条件でGPCを用いて混合標準溶液①の分画試験を行った。14分～40分(56mL～160mL)を2分毎(8mL)に分取したところ、回収率が良好な(70%以上、140%未満)農薬は249成分であった。回収率が70%未満

の農薬は66成分、回収率が140%を超過する農薬は39成分であった。GPC処理は、装置の安定や操作性の点から1日に処理できる試料が10検体程度(40分/1試料)である。操作を自動化できるメリットはあったが、8時間稼働で移動相が1.92Lと使用する溶媒が多いデメリットがあった。通知法のGPC画分の指標農薬として示されたアクリナトリンは14～16分(56～64mL)に溶出し、トリシクラゾールは24～26分(96～104mL)に溶出した。アクリナトリンと同じ画分に溶出するのは、テフルトリンやフェンプロピモルフ等10成分であった。しかし、魚試料ではこの画分には脂肪酸エステル類が同時に溶出し、測定を妨害するとともに装置が著しく汚染される懸念があったため、分取しなかった。トリシクラゾールより後の画分に溶

表1 処理法別の添加回収試験結果(農薬数)

回収率	①GPC-PSA (通知法)	②GPC-PSA (LC-Si追加)	③PSA-ENVI- Carb/LC-NH ₂	④PSA-C18+ Envicarb/LC-NH ₂
<70%	33	101	28	15
70～140%	83	217	313	268
>140%	238	36	13	71

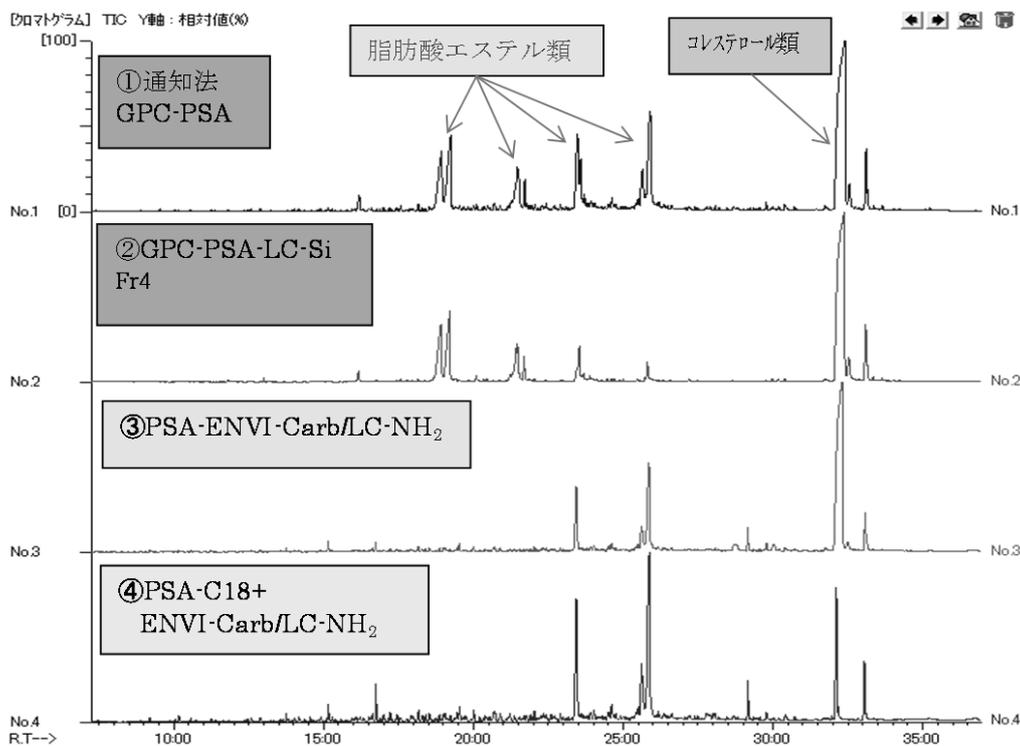


図3 クロマトグラフ(処理法①～④)

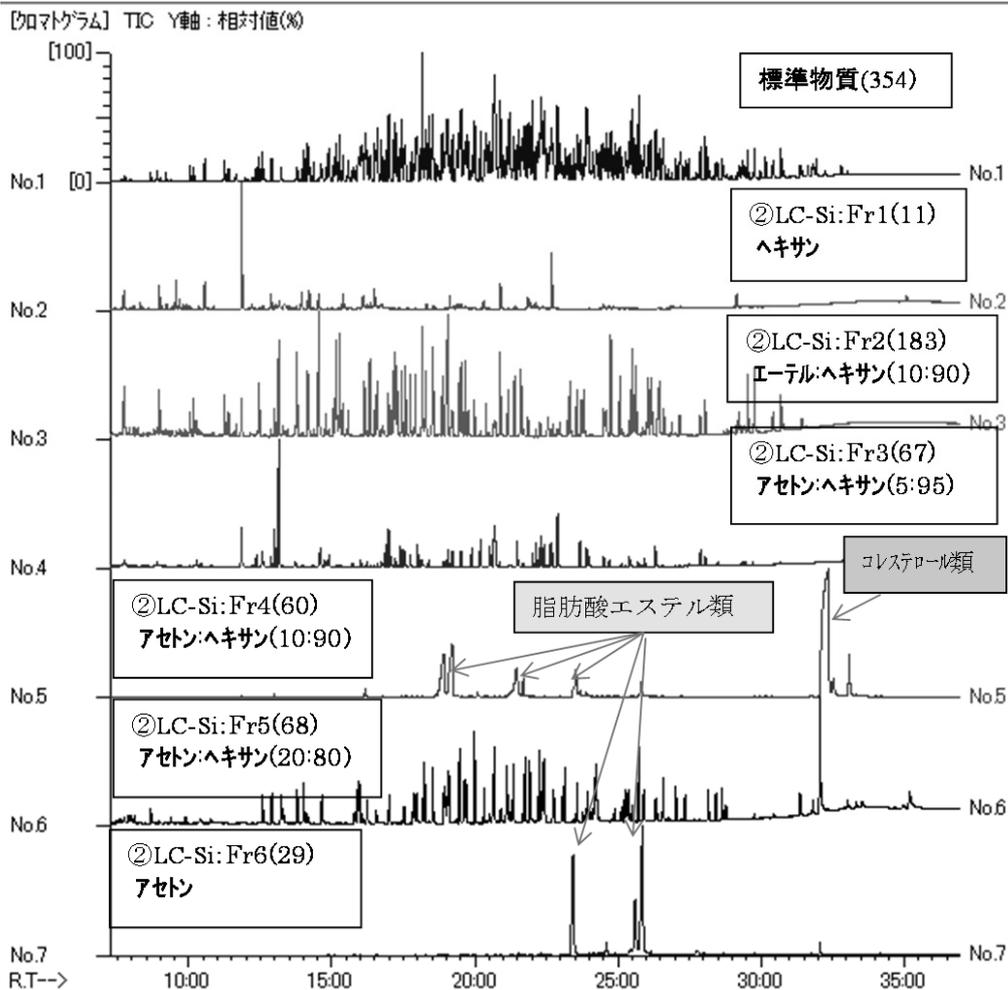


図4 クロマトグラフ (② LC-Si の分画別 : JMS-Q1000GC-SCAN)

出するものは、サリチオンやオキサジキシル、クロロネブ等 25 成分であり、この画分にはほとんど妨害成分は認められなかった。なお、32～40 分には農薬はほとんど溶出しなかった。したがって、GPC 処理は、16～32 分 (64～128mL : 64mL) を分取することとした。

3.2 通知法及びその改良法の添加回収試験結果

ボラ試料 20g (脂肪含有量約 3%) に混合標準溶液①を各農薬 1 μg (50ng/g-wet) となるよう添加し、図 1 の分析フローのとおり操作し、JMS-Q1000GC を用いて SCAN 測定した。添加回収試験結果を表 1 に示す。また、測定溶液のクロマトグラムを図 3 と図 4 に示す。

① GPC-PSA (通知法) は、脂肪酸エステル類やコレステロール類が多量に残存しており、精製不足で回収率が 140% を超過した農薬は 238 成分と多く、良好な回収率を示した農薬は 83 成分だけであった。② GPC-PSA (LC-Si 追加) は、良好な回収率が得られた農薬は 217 成分と増加したが、回収率が 70% 未満の農薬も 101 成分に増加した。また、LC-Si は 6 分画する煩雑な操作と Fr4 に脂肪酸

エステル類とコレステロール類が、Fr6 に脂肪酸エステル類が溶出してくる欠点があった。③ PSA-ENVI-Carb/LC-NH₂ は、コレステロール類の除去は不十分であったが、比較的 low molecular weight の脂肪酸はかなり除去でき、回収率が良好な農薬は 313 成分と飛躍的に増加した。④ PSA-C18+ENVI-Carb/LC-NH₂ は、クリーンアップ効果は最も高く、回収率が良好な農薬は 268 成分であったが、操作が煩雑であるデメリットが大きかった。また、回収率が 140% を超過する農薬が 71 成分と増加した。通知法を基に 4 種類の前処理方法を検討したが、十分満足できる方法が見つからなかった。そこで、さらに MultiSep PR 処理を組み込んだ前処理方法について検討を行った。

3.3 MultiSep PR の分画状況

MultiSep PR は、魚介類や畜産物試料の前処理方法として採用^{3),4)}されており、脂肪酸エステル類の除去効果が高いことがわかっている。氏家ら³⁾は、MultiSep PR の溶出溶媒について検討した結果、アセトン/ヘキサン系では脂肪酸エステルが保持されず、酢酸エチル、アセトニトリ

表2 MultiSep PR の回収率

回収率	0%	<70%	70~120%	>120%	計
農薬数	26	38	180	25	269

表3 穀類等の高濃度添加回収試験結果（農薬数）

回収率	40~70%	70~120%	>120%	計
操作ブランク	24	144	119	287
大豆	16	80	179	275
玄米	10	56	216	282
なたね	16	93	172	281

ル、トルエン:アセトニトリル (1:3) では、トリアジン系、トリゾール系などの有機窒素系 27 農薬や有機リン系 10 農薬で回収率が悪く、メタノール溶出でこれら農薬の回収率が向上することが認められたと報告している。しかし、標準物質を用いた分画試験を行ったところ、メタノールを流すと不溶性の白い懸濁物質が溶出してくることが判明したことから、メタノール溶出は採用せず、アセトニトリル溶出だけとした。

MultiSep PR にアセトニトリル 10mL を流してコンディショニングし、混合標準液②を負荷し、アセトニトリルを用いて 9mL 流したときの回収率を表2に示す。良好な回収率を示した農薬は 180 成分、回収率が 70% を下回るものが 38 成分、カラムに吸着して全く回収できないものが 26 成分であった。

3.4 MultiSep PR + ENVI-Carb/LC-NH₂ (連結カラム) で処理する方法の検討

通知法の「GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）」による穀類、豆類及び種実類のクリーンアップは、まず C18 で精製、溶出した後、濃縮した溶出液を ENVI-Carb/LC-NH₂ で処理する方法であるが、C18 の代わりに MultiSep PR を用いるとともに ENVI-Carb/LC-NH₂ との連結カラム処理法を採用し、前処理の効率化を図った。また、畜水産物の筋肉・脂肪・魚介類・乳及び卵の場合の前処理法は、アセトン/ヘキサン抽出後、GPC-PSA 処理であるが、アセトニトリル/ヘキサン分配 - MultiSep PR + ENVI-Carb/LC-NH₂ について検討した。

高濃度添加回収試験として、玄米、大豆、なたね各 20g を抽出し、8g 相当を分取し、混合標準溶液①を各農薬が 1 μg (125ng/g) となるよう添加し、図2に示す分析フローのとおり処理し、Varian-240MS を用いて SCAN 測定した。回収率を表3に、クロマトグラムを図5に示す。いずれの試料にも、妨害成分はほとんど観察されず、MultiSep PR のクリーンアップ効果を確認できた。しかし、回収率が 120% を超過する農薬が多く、正のマトリックス効果が

認められ、マトリックス検量線による定量法を検討する必要があると考えられた。

低濃度添加回収試験として、玄米、大豆、なたね各抽出液 (4g 相当) 及びアナゴ、カキ、サーモン各抽出液 (4g 相当) それぞれに、混合標準液①を各農薬が 40ng (10ng/g) となるように添加し、図2に示す分析フローのとおり処理し、Varian-300MS を用いて MS/MS 測定した。添加回収結果を表4に示す。回収率が 120% を超過する農薬が多かった

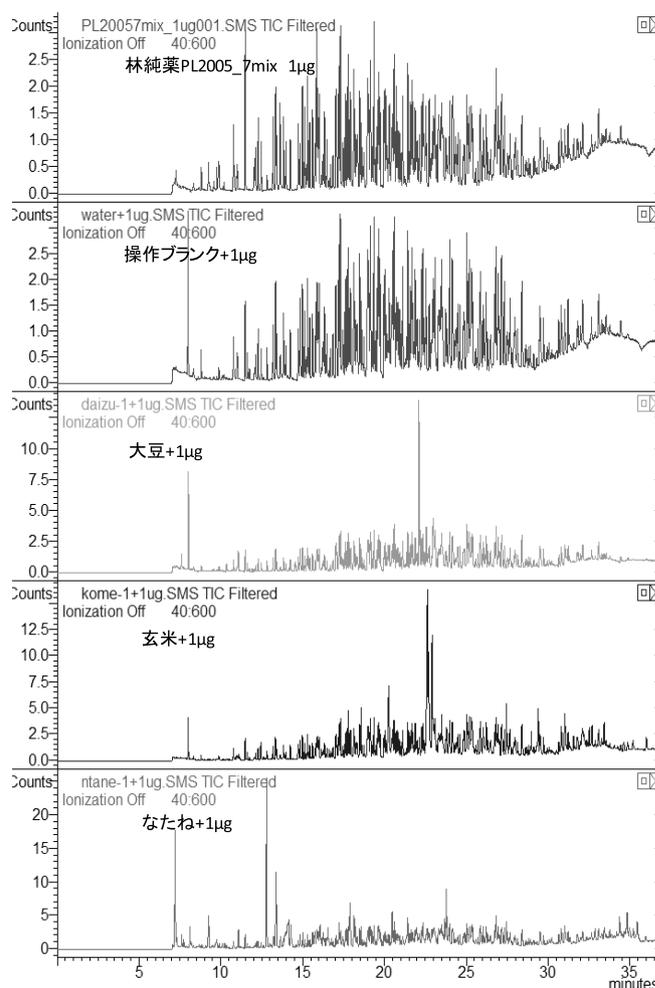


図5 クロマトグラム (高濃度添加回収試験: Varian-240MS-SCAN)

表4 低濃度添加回収試験結果（農薬数）

回収率	40～70%	70～120%	120～200%	計
アナゴ	10	145	58	213
カキ	9	123	71	203
サーモン	3	104	53	160
玄米	33	146	28	207
大豆	17	147	56	220
なたね	11	143	50	204

表5 低濃度添加回収試験結果
（マトリックス検量線で定量）（農薬数）

回収率	40～70%	70～120%	120～200%	計
アナゴ	12	201	1	214
カキ	17	185	1	203
サーモン	12	197	2	211
玄米	56	136	2	194
大豆	19	194	1	214
なたね	3	216	4	223

ため、マトリックス標準液を用いることを検討した。マトリックス標準液で定量した添加回収結果を表5に示す。回収率が120%を超過する農薬はほとんどなくなり、良好な回収率の農薬は最大で216成分となった。

低濃度添加回収試験試料を Varian-240MS を用いて SCAN 測定したクロマトグラムを図6に示す。アナゴと玄米は非常にきれいになっていた。カキは黄色の着色成分が MultiSep PR から溶出しており、脂肪酸エステル類等が残存していることが観察された。サーモンはアセトニトリル / ヘキサン分配においてエマルジョンが生成し、油脂類が十分除去しきれっていない可能性があった。大豆はリノール酸メチル等が残っていた。なたねも若干、精製不足気味であるが、野菜類・果実類の一斉分析法の試料と同程度のクリーンアップ効果が得られていると考えられた。

以上の検討結果から、穀類及び水産物（筋肉等）は、クリー

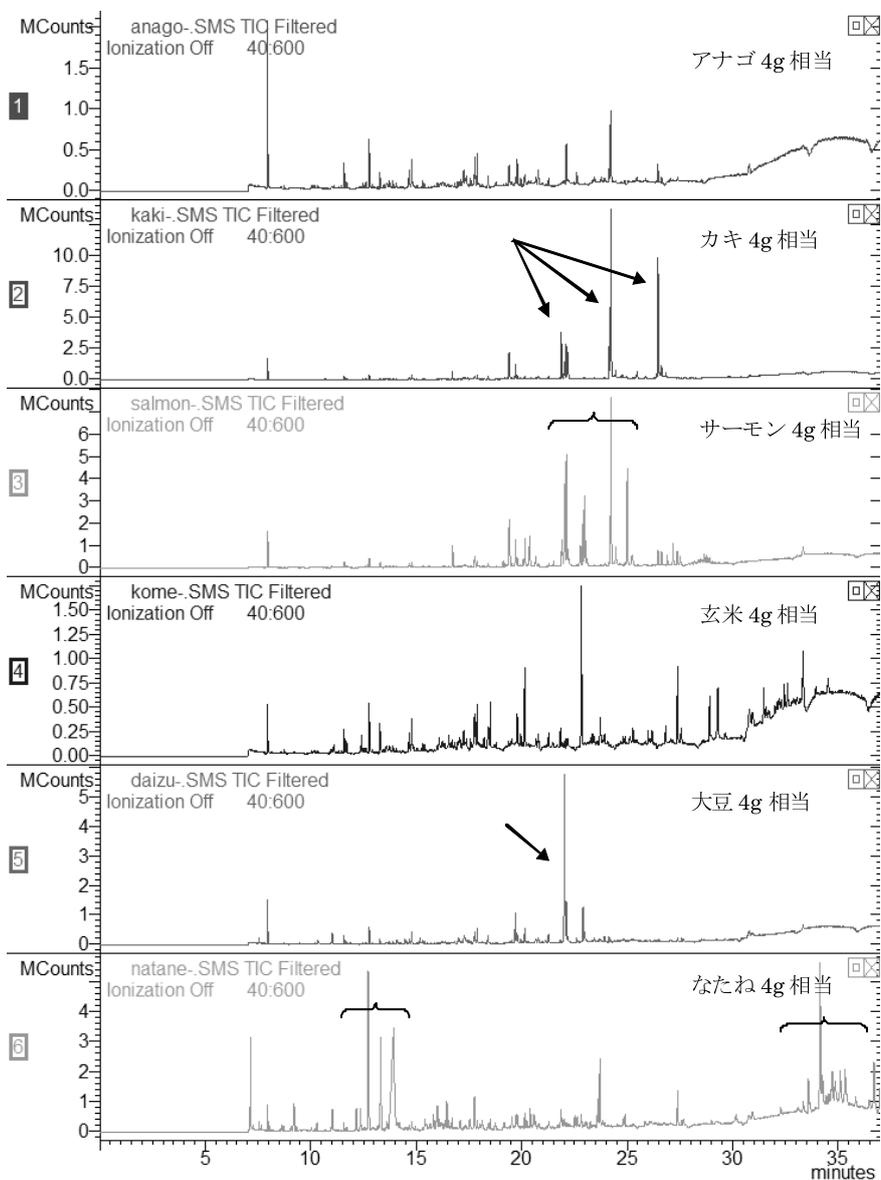


図6 クロマトグラム（低濃度添加回収試験：Varian-240MS-SCAN）

ンアップに連結カラムを実施することにより妨害成分を十分除去できることが判明した。今後は、図2の分析フローに基づいて、水産物及び穀類・豆類・種実類の妥当性評価試験を実施する予定である。また、今回は、GC/MS対象農薬について検討を実施したが、LC/MS対象農薬についても同様に、妥当性評価試験を実施する予定である。

3 まとめ

水産物及び穀類・豆類・種実類中の残留農薬一斉分析法について、MultiSep PRとENVI-Carb/LC-NH₂の連結カラム処理を用いた前処理法を検討し、操作が比較的簡単で、クリーンアップ効果の高い分析法を構築した。

- ① 通知法に基づいてボラ試料を検査したところ、脂肪酸エステル類やコレステロール類が多量に残存し、精製が不十分であることが判明した。
- ② MultiSep PRを用いて農薬269成分をアセトニトリルで溶出したところ、180成分が良好な回収率であった。
- ③ MultiSep PRとENVI-Carb/LC-NH₂のタンデム処理により、脂肪酸エステル類やコレステロール類は十分除去されたが、正のマトリックス効果が観察されたことから、マトリックス標準液での定量を実施したところ、改善が見られた。
- ④ 今回、検討した分析フローに基づいて、畜水産物及び穀類・豆類・種実類中の残留農薬分析法の妥当性評価試験を順次、実施する計画である。

文 献

- 1) 難波順子, 浅田幸男, 赤木正章, 北村雅美, 肥塚加奈江: GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価(第1報), 岡山県環境保健センター年報, 38, 69-81, 2014
- 2) 吉岡敏行, 山辺真一, 坂口浩範, 大月史彦: 有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 - GC/MSを用いた水質中フタル酸エステル(PAE)の多成分分析法の検討 -, 岡山県環境保健センター年報, 36, 35-43, 2012
- 3) 氏家愛子, 千葉美子, 大熊紀子, 吉田直人, 濱名 徹: GC/MS/MS及びLC/MS/MSによる魚介類の残留農薬一斉分析, 宮城県環境保健センター年報, 28, 45-48, 2010
- 4) 近藤貴英, 燕木康郎, 柴田雅久, 黒川千恵子, 井上 豊, 山本善彦, 宮崎元伸: 分散固相抽出および多機能カラムを用いたGC-MS/MSによる畜水産物中の残留農薬一斉分析法, 食衛誌, 53(2), 75-84, 2012

【調査研究】

GC-MS/MS及びLC-MS/MSを用いた穀類及び豆類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価（第1報）

Validation Study on a Method for Simultaneous Determination of Pesticide Residues in Grains and Beans by GC-MS/MS and LC-MS/MS (1)

難波順子, 吉岡敏行, 浅田幸男, 赤木正章, 北村雅美 (衛生化学科)

Junko Namba, Toshiyuki Yoshioka, Yukio Asada, Masaaki Akaki, Masami Kitamura
(Food and Drug Chemical Research Section)

要 旨

GC-MS/MS 及び LC-MS/MS を用いた穀類及び豆類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価を厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに従って行った。添加を行う穀類及び豆類として玄米及び大豆の2種類を選び、検討した分析法を用いて試験を行った。添加濃度は試料中0.1ppm及び0.01ppmの2濃度とし、添加試料を2併行で5日間実施する枝分かれ試験で行った。その結果、ガイドラインの目標値を満たしたのは、GC-MS/MS項目では玄米で197種類、大豆で176種類、LC-MS/MS項目では玄米で68種類、大豆で58種類であり、合計すると玄米で265種類、大豆で234種類であった。

[キーワード：残留農薬, 一斉分析法, 妥当性評価,

ガスクロマトグラフトンデム質量分析計, 液体クロマトグラフトンデム質量分析計]

[Key Words : pesticide residues, simultaneous determination,
validation study, GC-MS/MS, LC-MS/MS]

1 はじめに

平成18年5月29日から食品の規格基準に残留農薬等のポジティブリスト制度が導入され、現在では約800品目の農薬の残留基準が設定されている。また、残留基準が設定されていない農薬等を含む食品については一律基準(0.01ppm)が適用され、それを超えた濃度で含まれる食品の販売等が禁止されている。これに伴い監視対象農薬が大幅に増加し、一斉分析法を用いた迅速かつ高感度な農産物中の残留農薬分析が求められようになった。岡山県でも、通知試験法であるGC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)及びLC/MSによる農薬等の一斉試験法I(農産物)¹⁾に示された試験溶液調製法に準拠した一斉分析法により、野菜類及び果実類中の残留農薬検査をGC-MS/MS及びLC-MS/MSを用いて実施している。

また、平成19年11月15日付け食品安全部長通知「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について」²⁾(以下「ガイドライン」という。)が平成22年12月24日に改正された³⁾ことにより、通知試験法¹⁾に基づき残留農薬検査を実施する場合においても食品の多様性等にも配慮の上、検査機関ごとに妥当性評価を実施する必要が生じた。そのため、岡山県でも野菜類及び果実類の妥当性評価を行っている^{4)~6)}。今回、野菜類及び果実

類とは試験溶液調製法が一部異なる穀類及び豆類を試料として用い、通常の混合標準溶液に加えてマトリックス添加(玄米又は大豆)混合標準溶液を用いて妥当性評価を行ったので報告する。

2 方法

2.1 試料

試料としては、ガイドラインに例示してある穀類及び豆類の代表的な食品である玄米及び大豆の2種類を用いた。

2.2 標準品及び試薬

マトリックス添加混合標準溶液：玄米及び大豆のブランク試料を用いて作成した。

GC-MS/MS試験溶液及びLC-MS/MS試験溶液に混合標準溶液を添加し、検体濃度でそれぞれ0.01ppm及び0.1ppmになるように作成した。

その他の標準品及び試薬等は既報等^{4)~7)}のとおり行った。

2.3 試験溶液調製方法

試料20.0gを量り取り、精製水20mLを加え、15分間放置した。これにアセトニトリル50mLを加えてホモジナイズした後、GF/Bで吸引ろ過した。残渣をアセトニトリルで洗い、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセト

ニトリルを加えて正確に100mLとした。

抽出液20mLを分取し、塩化ナトリウム10g及び0.5mol/Lリン酸緩衝液(pH7.0)20mLを加え、10分間振とうした。静置した後、分離した水層を捨て、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。無水硫酸ナトリウムを石英ウールを用いてろ別した後、ろ液を減圧濃縮し溶媒を除去した。残留物にアセトニトリル2mLを加えて溶かし、抽出液とした。

MultiSep PR カラム及びENVI-Carb/LC-NH₂ カラムに、それぞれアセトニトリル10mLを注入しコンディショニングした。上側にMultiSep PR、下側にENVI-Carb/LC-NH₂を連結し、抽出液を全量負荷した。容器をアセトニトリル5mLで洗い込み、アセトニトリル10mLを追加し、溶出液を得た。上側のMultiSep PRカラムは取り外し、ENVI-Carb/LC-NH₂カラムにアセトニトリル：トルエン(3:1)20mLを加え、溶出した。溶出液を溶媒が乾固する直前まで濃縮し、アセトン：ヘキサン(1:1)約5mLを添加し、再度、乾固直前まで濃縮した。この操作を2回繰り返し、溶媒をアセトン：ヘキサン(1:1)に置換し、アセトン：ヘキサン(1:1)で2mLに定容した。この内、1mLを正確に分取してGC-MS/MS測定用試験溶液とした。また、残り1mLを溶液が乾固する直前まで濃縮し、メタノールで2mLに定容し、0.45μmのシリジフィルターでろ過したものをLC-MS/MS測定用試験溶液とした。

2.4 装置及び条件

既報等^{4)~7)}のとおり行った。

2.5 妥当性評価の方法

真度及び精度は通常の検量線から求めた値(以下「STD」という。)及びマトリックス添加(玄米又は大豆)混合標準溶液で算出した補正值(以下「matrix」という。)をそれぞれガイドライン²⁾に従って評価を行い、真度が100%に近いことを精度が小さいことより優先し、いずれか良好な値を採用した。

3 結果及び考察

3.1 GC-MS/MS測定

3.1.1 定量限界値とマトリックス添加混合標準溶液

異性体を含めて229種類の農薬成分をmultiple reaction monitoring(以下「MRM」という。)測定を行った。これらの農薬の0.02ppmの濃度の混合標準溶液(検体濃度では0.01ppm)から得られるピークのS/N比を確認したところ、全ての農薬が目標値のS/N比 ≥ 10 を満たしていた。また、検量線は良好な直線性(相関係数0.99以上)が得られた。

マトリックス添加混合標準溶液ではマトリックスの影響で混合標準溶液と比較してピーク形状の改善が見られる農薬が多かった。図1に混合標準溶液及びマトリックス添加(玄米及び大豆)混合標準溶液中のピロキロン標準品(0.02ppm)のクロマトグラムを示す。混合標準溶液中のピロキロン標準品(0.2ppm及び0.02ppm)の面積値を100とした場合のマトリックス添加混合標準溶液中の農薬の面積の比(%)は、玄米で113%及び128%、大豆で142%

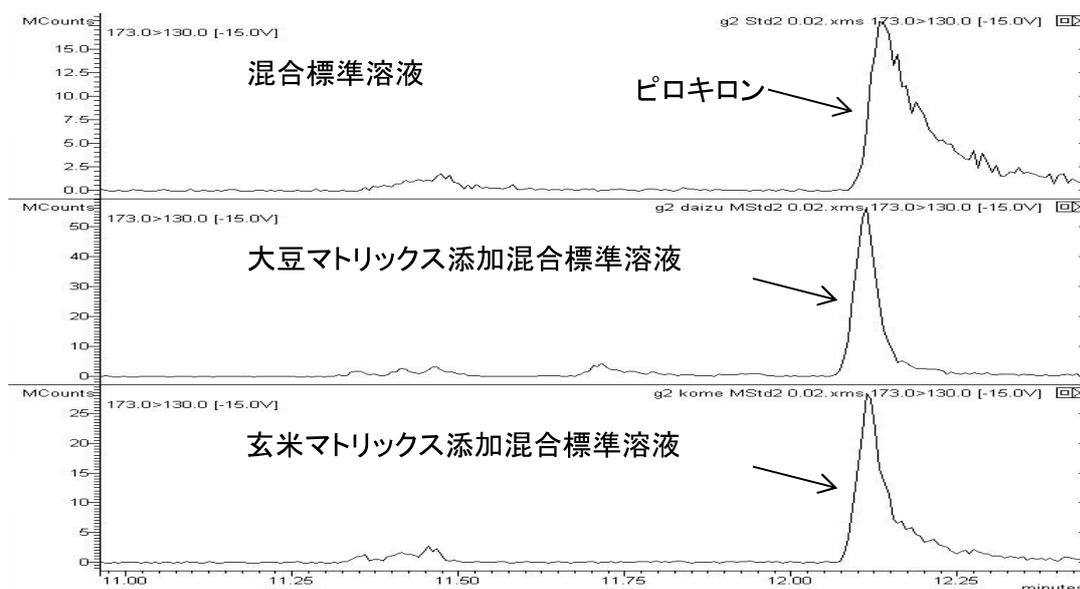


図1 ピロキロン標準品(0.02ppm)のクロマトグラム(MRM)

及び237%であった。高濃度より低濃度、玄米より大豆の方がマトリックスの影響を与えやすいことが推測された。

3.1.2 カートリッジカラムの溶出条件

過去に行った野菜類及び果実類では使用していないが、今回の穀類及び豆類の試験溶液調製方法で採用したMultiSep PR カラムの溶出溶媒（アセトニトリル）の量を検討した。アセトニトリル1mLに混合標準溶液を0.1ppmになるように添加し、アセトニトリル10mLで溶出後、5mL追加して溶出させた。結果を表1に示す。アセトニトリル5mLを追加することで10%以上回収率が増加した農薬は、ジフェノコナゾール、ペンコナゾール、プロピコナゾールの3種類であった。アセトニトリル15mLで溶出させることで、229種類の内、203種類の農薬が70%以上溶出した。

表1 MultiSep PR カラム溶出結果 (GC-MS/MS)

回収率 (%)	農薬数
50<	21
50-70	5
70-120	185
>120	18

3.1.3 選択性

ブランク試料を試験法に従って測定し、定量を妨害するピークの有無を確認したが、ガイドラインに示された選択性の目標値を超えるような妨害成分は認められなかった。

3.1.4 真度及び精度

真度の結果を表2に示す。真度の目標値（70～120%）を満たす農薬は、玄米及び大豆で添加濃度が0.01ppmで208種類及び200種類、0.1ppmで200種類及び185種類であった。両添加濃度で目標値を満たす農薬は、玄米199種類、大豆181種類であった。目標値から外れる農薬は、70%未満の農薬がほとんどであり、70%を下回った農薬は3.1.2で検討したMultiSep PR カラムからの溶出が困難な農薬であった。添加濃度で比較すると、玄米及び大豆共に目標値を満たす農薬は0.01ppm添加時の方が19農薬多く、特に大豆では16農薬で0.01ppm添加時のみ目標値を満たしていた。また、スクリーニングとして真度の範囲を50～150%に広げた場合、いずれの農産物でも206種類以上と90%以上が満たし、既報⁵⁾と同様にスクリーニングとしての有用性も示された。

図2に大豆ブランク試料、玄米ブランク試料及び果実

表2 真度結果 (GC-MS/MS)

真度 (%)	農薬数			
	玄米		大豆	
	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm
<50	11	23	16	15
50-70	9	6	12	29
70-120	208	200	200	185
120-150	1	0	1	0

添加濃度0.01ppm及び0.1ppmにおける目標値 真度:70-120%

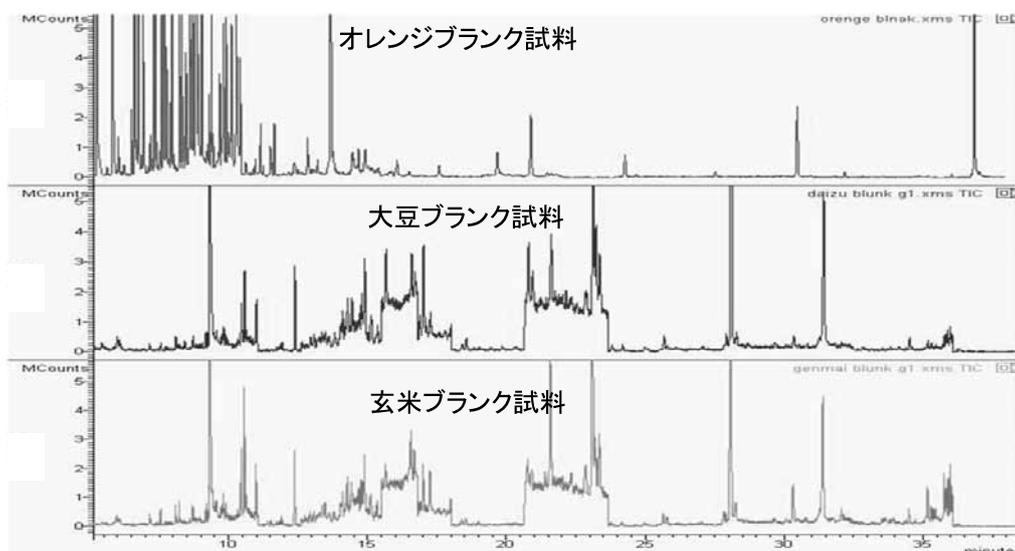


図2 オレンジ、大豆、玄米の各ブランク試料のクロマトグラム (MRM)

類の評価時に用いたオレンジブランク試料のクロマトグラム (MRM) を示す。大豆及び玄米のブランク試料では、オレンジブランク試料と比較して、約7割の農薬の保持時間である約11分から24分の保持時間にマトリックス由来のピークが多く見られた。野菜類及び果実類の評価時はマトリックス添加混合標準溶液を用いて定量しておらず、オレンジでは真度が120%を超える農薬が多かった。玄米及び大豆では測定用試験溶液にマトリックスが多いが、マトリックス添加混合標準溶液を用いて補正すれば、真度が120%を超える農薬は4農薬（玄米中のベンフルラリン、玄米及び大豆のメトキシクロル、大豆のジクロトホス）のみであった。

精度の結果を表3に示す。真度の目標値を満たす農薬はほぼ精度の目標値を満たした。真度の目標値を満たす農薬であって精度の目標値を満たさない農薬は、玄米で3種類、大豆で6種類のみであった。室内精度は併行精度よりも目標値を満たさない農薬が多かった。また、併行精度及び室内精度共に目標値を満たす農薬は、0.01ppm添加時の方が多かった。これは、真度の目標値を満たす農薬が0.01ppm添加時の方が多かったためと推測される。

3.1.5 妥当性評価結果

妥当性評価において適合と判定される両添加濃度で真度及び精度の目標値を全て満たす農薬をグループA、0.01ppm添加時のみ目標値を満たす農薬をグループB、0.1ppm添加時のみ目標値を満たす農薬をグループC、両濃度添加時共に目標値を満たさない農薬をグループDに分類した。各農産物別の集計結果を表4に、農薬別の詳細結果を表5に

示す。MultiSep PR カラムからの溶出率が50%以下の農薬に*、50-70%の農薬に**を記載した。グループAの農薬は、玄米は197種類、大豆は176種類であった。グループA以外の目標値を満たさない農薬は、MultiSep PR カラムからの溶出率が低い農薬が多く、MultiSep PR カラムからの溶出条件を検討することにより改善できる農薬があると思われる。また、目標値を満たさない農薬でMultiSep PR カラムからの溶出率が高い農薬は、玄米は6種類、大豆は26種類であった。これらの農薬は、真度の目標値を数%程度外れる場合が多いものの、スクリーニングとしては十分満足できる結果であった。

定量に用いる混合標準溶液の比較検討を行ったところ、玄米はSTD 88種類、matrix 141種類であり、大豆はSTD 112種類、matrix 117種類であった。この内目標値を全て満たすグループAの農薬は、玄米はSTD 63種類、matrix 134種類の計197種類であり、大豆はSTD 72種類、matrix 104種類の計176種類であった。マトリックス添加混合標準溶液を用いて補正した方が良好な結果が得られる農薬の方が多く、マトリックス添加混合標準溶液で補正することの有用性が示された。また、農薬毎に標準溶液を選択することにより、ガイドラインの目標値を満たす農薬が増加した。野菜類及び果実類中のマトリックスに対して、多種類に及ぶ食品に供用できる汎用マトリックスを活用することの有効性が報告されており⁸⁾、今後は穀類および豆類中のマトリックス効果に対する補正能力のある汎用マトリックスの検討を行っていく予定である。

表3 精度の目標値を満たした農薬数 (GC-MS/MS)

精度	農薬数			
	玄米		大豆	
	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm
併行精度	212	204	209	207
室内精度	209	202	205	198

添加濃度0.01ppm目標値 併行精度:RSD%<25, 室内精度:RSD%<30

添加濃度0.1ppm目標値 併行精度:RSD%<15, 室内精度:RSD%<20

表4 妥当性評価結果まとめ (GC-MS/MS)

グループ	判定		農薬数	
	0.01ppm	0.1ppm	玄米	大豆
A	○	○	197	176
B	○	×	10	24
C	×	○	1	4
D	×	×	21	25

表5 妥当性評価結果詳細 (GC-MS/MS)

	農薬名	玄米								大豆							
		評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液	評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液
			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	
1	(E)-Clorfenvinfos	A	108	3	6	77	4	6	STD	A	109	5	10	76	6	11	STD
2	(E)-PyrifenoX	A	113	4	7	105	2	7	STD	A	84	3	6	74	4	6	matrix
3	(E)-Pyrinobac-methyl	A	90	4	4	92	3	3	matrix	A	101	5	5	100	3	6	STD
4	(Z)-Clorfenvinfos	A	110	3	3	79	2	5	STD	A	108	4	5	80	3	6	STD
5	(Z)-Dimethylvinphos	B	93	6	22	51	9	15	STD	B	91	9	26	49	11	34	STD
6	(Z)-PyrifenoX	A	94	5	5	85	2	3	matrix	A	84	5	5	75	3	5	matrix
7	(Z)-Pyrinobac-methyl	A	80	2	3	88	3	3	matrix	A	88	2	4	95	3	7	STD
8	1,1-Dichloro-2,2-bis(4-ethylphenyl)ethar	A	110	1	4	81	2	6	STD	A	101	5	5	76	3	4	STD
9	1-Naphthylacetamide	B*	82	12	28	60	28	39	STD	B*	108	14	17	88	11	29	STD
10	Acetochlor	A	101	3	3	100	3	8	STD	A	82	4	9	76	2	9	matrix
11	Acrinathrin	A	87	8	11	89	5	5	STD	A	84	11	16	79	4	8	STD
12	Alachlor	A	96	3	5	84	2	4	matrix	A	93	2	2	83	3	3	matrix
13	Aldrin	A	98	2	7	90	2	2	matrix	D	68	9	13	60	5	8	matrix
14	alpha-BHC	A	99	4	7	93	3	4	matrix	A	81	3	10	76	4	7	matrix
15	alpha-Endosulfan	A	86	7	14	78	4	5	matrix	A	80	2	4	73	2	5	matrix
16	Ametryn	A	99	3	4	88	1	3	matrix	A	84	5	10	76	4	9	matrix
17	Anilofos	A	85	4	6	82	2	3	matrix	A	71	5	6	75	3	8	matrix
18	Atrazine	A	93	3	5	85	2	3	matrix	A	89	5	5	84	3	5	matrix
19	Azaconazole	A	78	8	14	87	10	18	STD	A	85	8	8	83	6	11	STD
20	Azinophos-methyl	A	78	7	8	78	2	5	matrix	A	78	6	9	77	5	8	matrix
21	Benalaxyl	A	78	6	8	86	3	3	matrix	A	78	6	7	93	3	7	STD
22	Benfluralin	C	125	9	12	92	2	3	matrix	A	77	5	17	83	4	7	matrix
23	Benfuresate	A	98	9	10	88	4	4	matrix	A	81	9	10	79	3	6	matrix
24	Benoxacor	A	101	3	4	86	2	2	matrix	A	84	2	9	78	3	6	matrix
25	beta-BHC	A	99	3	3	87	2	3	matrix	A	78	5	8	72	3	9	matrix
26	beta-Endosulfan	A	106	3	4	82	4	7	STD	A	105	4	4	76	5	5	STD
27	Bifenox	A	93	4	11	93	1	3	matrix	A	80	13	17	81	3	7	matrix
28	Bifenthrin	A	96	2	4	109	1	6	STD	A	77	9	9	100	4	7	STD
29	Bioallethrin1	A	103	12	16	87	4	6	matrix	A	73	9	11	78	5	5	matrix
	Bioallethrin2		105	15	20	84	12	13			107	6	7	80	5	6	
	Bioallethrin3		103	2	10	81	2	6			93	8	16	77	2	6	
	Bioallethrin4		145	4	10	93	2	4			86	6	6	77	3	3	
30	Bitertanol1	D*	40	42	59	28	33	89	matrix	D*	64	42	57	58	52	90	STD
	Bitertanol2		94	8	12	131	11	13			0	-	-	32	26	69	
31	Bromacil	D*	15	136	150	20	52	138	STD	D*	0	-	-	0	-	-	-
32	Bromobutide	A	92	5	7	87	3	3	matrix	A	79	4	16	80	4	8	matrix
33	Bromophos	A	94	3	5	86	3	4	matrix	B	72	6	12	69	3	8	matrix
34	Bromophos-ethyl	A	90	1	2	82	1	5	matrix	A	84	4	4	73	4	4	matrix
35	Bromopropylate	D*	54	26	43	45	29	56	matrix	D*	54	41	41	68	14	49	STD
36	Bupirimate	A	100	6	12	86	3	4	matrix	A	81	13	14	90	4	10	STD
37	Buprofezin	A	101	5	6	78	6	8	STD	C	0	-	-	79	3	3	STD
38	Butachlor	A	107	2	2	94	2	8	STD	A	80	3	9	74	3	7	matrix
39	Butamifos	A	106	2	5	95	2	7	STD	A	103	4	4	82	3	6	STD
40	Cadusafos	A	95	4	8	90	2	3	matrix	A	76	7	13	76	2	4	matrix
41	Cafenstrole	A	81	10	12	82	3	7	matrix	A	84	10	15	78	3	8	matrix
42	Carbofuran	A	71	3	5	78	2	4	matrix	D	63	3	6	70	3	4	matrix
43	Carboxin	A	84	10	25	83	5	18	matrix	C	42	45	48	86	4	13	STD
44	Carfentrazone-ethyl	A	93	14	14	104	3	6	STD	A	90	9	10	105	3	4	STD
45	Chlorbenside	A	102	3	5	93	2	4	STD	A	90	5	5	80	3	5	STD
46	Chlorethoxyfos	A	97	2	5	88	2	6	STD	A	92	4	6	92	6	8	STD
47	Chlorfenapyr	A	100	8	13	105	9	16	STD	A	72	20	30	81	6	9	matrix
48	Chlorobenzilate	D*	62	26	41	46	27	57	STD	D*	61	26	31	57	13	49	STD
49	Chlorofenson	A	92	6	6	82	1	3	matrix	A	93	12	12	79	5	5	matrix
50	Chlorpropham	A	96	4	9	89	1	2	matrix	A	78	4	14	78	3	6	matrix
51	Chlorpyrifos	A	93	2	3	84	1	4	matrix	A	86	11	11	76	2	4	matrix
52	Chlorpyrifos-methyl	A	98	2	4	82	3	5	matrix	A	86	6	6	81	3	6	matrix
53	Chlorthal-dimethyl	A	102	2	3	87	2	5	matrix	A	78	3	11	74	3	8	matrix
54	Cinidon-ethyl	B	71	11	20	69	3	8	matrix	C	83	52	66	119	5	10	STD
55	Clomazone	A	94	6	7	88	2	3	matrix	A	100	4	4	86	4	5	matrix
56	Cyanazine	A	91	7	8	106	3	6	STD	A	85	5	10	92	4	7	STD
57	Cyanophos	A	99	2	4	87	1	3	matrix	A	83	2	9	78	3	7	matrix
58	Cyfluthrin1	A	91	5	7	84	1	4	matrix	A	99	7	7	96	4	9	matrix
	Cyfluthrin2		86	7	8	83	1	4			87	6	10	74	4	8	
	Cyfluthrin3		92	5	7	84	1	4			96	8	8	90	4	9	
	Cyfluthrin4		91	7	7	95	3	6			102	10	13	110	8	14	

	農薬名	玄米								大豆							
		評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液	評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液
			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	
59	Cyhalofop-butyl	A	91	5	5	90	2	3	matrix	A	109	7	7	105	3	6	STD
60	Cyhalothrin1	A	84	3	4	85	1	3	matrix	A	81	8	10	78	3	7	matrix
	Cyhalothrin2		92	6	6	89	1	2			89	4	8				
61	Cypermethrin1	A	92	3	5	87	2	5	matrix	A	85	6	9	79	4	7	matrix
	Cypermethrin2		90	3	5	90	1	4			93	9	9	98	5	9	
	Cypermethrin3		97	2	6	95	1	4			95	8	9	88	4	7	
	Cypermethrin4		94	7	7	88	2	5			87	10	10	83	4	7	
62	Cyproconazole1	D*	62	23	38	50	30	68	STD	D*	63	28	35	65	13	59	STD
Cyproconazole2	26		74	85	30	39	103	24			58	69	49	36	83		
63	delta-BHC	A	89	3	5	86	2	3	matrix	A	83	3	12	71	3	8	matrix
64	Deltamethrin	A	83	1	4	79	3	4	matrix	A	110	5	9	107	5	9	STD
65	Diazinon	A	102	4	5	90	1	4	matrix	A	92	4	5	85	3	5	matrix
66	Dichlocymet1	A	98	7	10	112	2	7	STD	A	81	4	6	93	4	7	STD
	Dichlocymet2		81	5	12	110	3	6			68	7	7	94	4	7	
67	Dichlofenthion	A	98	3	6	90	2	2	matrix	A	79	4	11	75	4	7	matrix
68	Diclofop-methyl	A	84	6	6	86	3	3	matrix	A	77	5	6	96	3	7	STD
69	Dicofol (Kelthane) (deg.)	A	94	6	6	87	6	6	STD	B	103	6	6	66	6	9	STD
70	Dicropthos	B**	108	6	12	45	8	29	STD	D**	121	7	12	61	15	41	STD
71	Diethofencarb	A	106	3	5	98	3	7	STD	A	110	3	5	78	3	4	STD
72	Difenoconazole1	A	88	8	8	72	6	9	matrix	A	84	7	12	71	8	13	matrix
	Difenoconazole2		82	7	8	77	3	6			91	8	9	79	6	10	
73	Diflufenican	A	105	4	8	107	1	7	STD	A	106	5	5	97	3	5	STD
74	Dimepiperate	A	98	2	6	88	2	3	matrix	A	82	4	10	74	4	7	matrix
75	Dimethametryn	A	104	2	6	97	2	7	STD	A	97	3	3	72	3	6	STD
76	Dimethenamid	A	99	2	5	88	1	2	matrix	A	84	2	7	79	3	6	matrix
77	Dimethoate	A	112	5	6	106	3	6	matrix	A	100	2	4	113	5	6	matrix
78	Diphenamid	A	103	5	8	103	2	8	STD	A	87	3	6	76	4	7	matrix
79	Edifenphos	D*	18	64	177	7	49	87	STD	D*	11	54	183	19	40	142	STD
80	Endrin	A	95	3	4	84	2	3	matrix	B	75	5	12	68	5	6	matrix
81	EPN	A	90	5	10	112	3	7	STD	A	94	8	8	95	3	7	STD
82	Epoxiconazole	A	85	5	7	78	2	4	matrix	A	113	7	7	100	3	6	STD
83	Esprocarb	A	95	2	4	86	1	2	matrix	A	81	3	8	72	3	8	matrix
84	Ethalfuralin	A	114	9	12	93	2	4	matrix	A	78	8	28	81	4	6	matrix
85	Ethion	A	105	1	10	89	1	7	STD	A	101	6	6	95	3	5	STD
86	Ethofenprox	A	93	3	4	89	2	4	matrix	A	110	7	7	95	4	9	STD
87	Ethofumesate	A	93	3	3	82	1	4	matrix	A	90	4	4	82	2	3	matrix
88	Ethoprophos	A	105	8	11	105	4	7	STD	A	82	14	15	79	6	8	matrix
89	Ethylthiomethone	A	95	8	11	83	2	2	matrix	A	87	7	7	81	3	4	matrix
90	Etoxazole	A	89	10	12	90	3	4	matrix	A	105	13	13	97	3	6	STD
91	Fenamidone	A	82	4	6	78	1	3	matrix	A	89	5	6	89	2	5	STD
92	Fenamiphos	A	76	4	11	83	1	4	matrix	A	102	7	7	105	5	8	STD
93	Fenarimol	B*	88	7	12	84	18	32	STD	B*	95	13	16	86	8	22	STD
94	Fenbuconazole	A	96	3	5	82	2	5	matrix	A	97	4	7	83	6	9	matrix
95	Fenchlorphos	A	96	3	7	85	1	5	matrix	A	93	4	4	81	3	4	matrix
96	Fenitrothion	A	99	5	7	89	2	2	matrix	A	90	8	8	94	5	7	matrix
97	Fenothiocarb	A	111	3	9	96	2	8	STD	A	105	3	4	75	4	6	STD
98	Fenoxanil	A	89	5	5	87	3	4	matrix	A	98	3	4	96	3	7	STD
99	Fenpropathrin	A	91	16	16	85	2	4	matrix	A	91	18	21	88	7	8	STD
100	Fenpropimorf	A	93	2	4	85	1	4	matrix	A	84	4	4	75	3	4	matrix
101	Fensulfothion	A	92	6	6	90	3	5	matrix	A	79	5	13	83	3	6	matrix
102	Fenthion	A	91	2	2	82	2	4	matrix	A	85	2	4	82	3	4	matrix
103	Fenvalerate1	A	92	5	6	86	1	4	matrix	A	87	11	11	77	5	11	matrix
	Fenvalerate2		88	5	6	85	1	3			79	9	12	77	5	9	
104	Fipronil	A	100	2	7	102	2	9	STD	A	93	7	7	92	4	5	STD
105	Flamprop methyl	A	96	10	14	105	3	9	STD	A	80	12	12	83	5	9	STD
106	Fluacrypyrim	A	83	4	7	111	3	7	STD	A	89	3	6	93	3	8	STD
107	Flucythrinate1	A	93	3	6	88	1	4	matrix	A	94	7	9	87	4	8	matrix
	Flucythrinate2		89	4	6	86	1	4			90	7	8	84	5	8	
108	Flufenpyr-ethyl	A	92	6	18	104	2	11	STD	A	96	7	11	90	3	6	STD
109	Flumiclorac-pentyl	A	81	5	10	76	4	6	matrix	A	109	5	7	98	4	8	STD
110	Flumioxazin	A	98	4	7	82	3	7	matrix	A	76	6	9	74	2	7	matrix
111	Fluquinconazole	A	106	3	6	103	2	10	STD	A	89	5	8	82	4	8	matrix
112	Fluridon	D	67	4	9	63	4	7	matrix	A	74	6	12	77	5	8	matrix
113	Fluthiacet-methyl	A	81	16	22	97	5	5	STD	A	104	10	10	98	5	13	STD
114	Flutolanil	A	97	2	8	103	1	8	STD	A	96	3	4	92	3	4	matrix
115	Flutriafol	D*	28	107	114	27	35	115	STD	D*	19	83	101	38	41	92	STD

	農薬名	玄米							大豆								
		評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液	評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液
			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	
116	Fluvalinate1	A	86	6	10	83	2	4	matrix	A	87	11	13	102	5	10	matrix
	Fluvalinate2		85	4	6	81	2	4		84	9	10	79	5	9		
117	Formothion	D*	0	-	-	0	-	-	-	D*	0	-	-	0	-	-	-
118	Fosmet	A	99	8	19	82	5	5	STD	A	86	9	17	86	6	11	STD
119	Fosthiazate1	D**	85	6	30	34	18	21	STD	D**	83	6	29	35	15	51	STD
			Fosthiazate2	61	7	38	33	19			24	60	15	44	37	15	
120	Fthalide	A	95	5	7	77	4	6	STD	B	91	4	9	58	30	35	STD
121	gamma-BHC	A	114	4	7	88	2	6	matrix	B	87	4	7	84	3	24	matrix
122	Halfenprox	A	93	4	5	91	2	4	matrix	A	99	9	9	94	4	9	STD
123	Heptachlor	A	102	4	11	92	2	3	matrix	B	72	5	14	68	4	8	matrix
124	Heptachlor Epoxide (isomer A)	A	97	3	3	87	2	4	matrix	A	80	3	10	71	3	7	matrix
125	Heptachlor Epoxide (isomer B)	A	100	3	3	86	1	3	matrix	B	80	3	7	64	4	6	matrix
126	Hexazinone	A	112	3	7	109	1	10	STD	A	93	3	5	91	3	6	matrix
127	Imibenconazole	A	98	7	7	95	2	5	matrix	A	75	6	15	79	4	8	matrix
128	Iprobenfos	A	99	1	3	86	2	2	matrix	A	87	2	7	77	3	6	matrix
129	Isazophos	A	99	4	5	82	4	5	matrix	A	99	4	4	84	3	4	matrix
130	Isofenphos	A	90	2	3	80	2	4	matrix	A	94	3	3	80	2	2	matrix
131	Isofenphos oxon	A	111	2	6	78	3	8	STD	A	110	2	4	72	4	9	STD
132	Isoprocarb	A	91	6	7	91	3	3	matrix	A	78	4	14	84	3	7	matrix
133	Isoprothiolane	A	112	5	5	90	4	5	STD	A	102	10	10	81	3	5	STD
134	Isoxathion	A	89	3	13	92	2	4	matrix	A	101	4	6	96	4	5	STD
135	Kresoxim-methyl	A	103	4	11	87	3	6	STD	A	98	3	4	88	2	4	STD
136	Lenacil	B*	72	16	27	71	23	45	STD	B*	89	21	28	77	10	38	STD
137	Malathion	B	78	3	12	54	4	11	matrix	B	112	7	14	68	8	18	STD
138	Mecarbam	A	111	3	4	79	3	5	STD	A	109	5	5	77	3	6	STD
139	Mefenacet	A	94	5	5	91	2	3	matrix	A	80	4	10	84	2	6	matrix
140	Mefenpyr diethyl	A	87	7	7	90	3	3	matrix	A	94	5	5	99	3	8	STD
141	Mepronil	A	91	3	6	89	3	4	matrix	A	79	5	16	82	4	8	matrix
142	Metalaxyl	A	93	3	7	87	1	2	matrix	A	82	3	8	79	3	6	matrix
143	Methidathion	A	90	2	2	80	2	4	matrix	A	88	3	3	82	3	3	matrix
144	Methoxychlor	A	103	3	5	107	1	6	STD	A	97	7	7	101	3	5	STD
145	Methoprene	A	103	3	5	107	1	6	STD	A	97	7	7	101	3	5	STD
146	Metolachlor	A	94	2	2	82	1	4	matrix	A	90	2	2	83	3	3	matrix
147	Mevinphos	D*	21	76	174	7	42	80	STD	D*	0	-	-	22	28	127	STD
148	Monocrotophos	B**	90	9	16	49	8	29	STD	B**	110	12	14	60	13	42	matrix
149	Myclobutanil	A	101	4	7	102	2	8	STD	A	95	4	5	101	4	6	STD
150	Napropamide	A	91	3	4	85	2	2	matrix	A	115	2	4	83	3	6	STD
151	Nitrothal-isopropyl	A	113	2	2	101	2	7	STD	A	79	2	10	73	3	8	matrix
152	Norflurazon	A	93	11	13	87	1	3	matrix	A	93	4	5	87	4	6	matrix
153	o,p'-DDT	A	95	1	2	89	2	8	STD	B	86	6	6	56	5	6	STD
154	Omethoate	B*	95	6	13	15	18	45	STD	B*	103	6	6	34	22	59	STD
155	Oxadiazon	A	107	2	6	82	2	9	STD	A	101	4	4	83	2	3	STD
156	Oxadixyl	A	80	4	10	107	3	7	STD	A	83	7	8	97	4	8	STD
157	Oxychlordane	A	95	11	11	85	2	4	matrix	B	80	4	17	64	5	6	matrix
158	Oxyfluorfen	A	103	5	6	102	3	7	STD	A	83	9	11	91	5	13	STD
159	p,p'-DDD	A	80	3	3	85	2	3	matrix	D	62	6	6	68	5	8	STD
160	p,p'-DDE	A	105	2	3	91	2	7	STD	B	90	5	5	53	5	5	STD
161	p,p'-DDT	A	86	2	10	95	2	6	STD	D	64	8	8	65	5	7	STD
162	Paclobutrazol	D*	56	27	46	59	30	58	STD	D*	55	30	39	61	12	50	STD
163	Parathion	A	96	4	4	85	2	3	matrix	A	90	4	6	91	7	11	matrix
164	Parathion-methyl	A	98	5	8	89	2	4	matrix	A	88	3	5	78	5	8	matrix
165	Penconazole	A	115	3	4	83	5	8	STD	A	113	2	3	82	3	5	STD
166	Pendimethalin	A	92	1	3	83	2	4	matrix	A	114	5	5	86	4	8	STD
167	Permethrin1	A	89	4	6	83	1	3	matrix	A	97	15	16	108	4	11	STD
			Permethrin2	92	4	9	84	1			4	103	9	11	105	4	
168	Phenothrin1	A	88	12	16	95	2	3	matrix	A	79	14	14	92	5	10	STD
			Phenothrin2	107	4	7	91	1			2	83	11	11	87	5	
169	Phenthoate	A	96	1	2	85	2	2	matrix	A	82	2	8	76	3	6	matrix
170	Phorate	A	88	8	9	92	2	3	matrix	C	0	-	-	81	4	7	matrix
171	Phosalone	A	97	1	5	92	2	4	matrix	A	106	5	5	108	3	7	matrix
172	Phosphamidon1	D*	68	8	60	19	22	36	STD	B*	90	8	29	28	24	92	STD
			Phosphamidon2	79	9	26	22	21			32	75	9	28	28	20	
173	Picolinafen	A	113	3	3	110	3	8	STD	A	98	21	21	99	4	6	STD
174	Piperophos	A	96	4	5	91	2	4	matrix	A	111	3	4	106	4	7	STD
175	Pretilachlor	A	92	7	12	74	2	8	STD	B	86	4	8	59	4	16	STD
176	Procymidon	A	91	3	6	82	1	4	matrix	A	78	18	18	83	2	5	matrix

	農薬名	玄米								大豆							
		評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液	評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液
			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	
177	Profenofos	D*	50	38	79	6	22	31	STD	D*	0	-	-	0	-	-	-
178	Prometryn	A	94	3	3	86	1	2	matrix	B	79	3	5	70	4	5	matrix
179	Propachlor	A	100	4	6	110	2	4	STD	A	80	5	14	79	4	6	matrix
180	Propanil	A	90	6	6	89	5	7	matrix	A	98	7	8	94	6	6	matrix
181	Propaphos	A	89	1	3	81	1	3	matrix	A	113	4	4	89	3	5	STD
182	Propargite1	A	93	5	7	106	2	9	STD	A	89	21	21	109	5	8	STD
	Propargite2		90	7	9	106	1	6			90	7	13	112	5	5	
183	Propazine	A	92	2	3	88	2	2	matrix	A	80	3	4	77	3	6	matrix
184	Propiconazole1	A	96	10	19	100	4	7	STD	A	96	7	15	102	5	7	STD
	Propiconazole2		105	6	8	106	1	7			106	6	7	105	5	10	
185	Propoxur	A	107	2	5	99	2	4	STD	A	97	3	4	84	3	6	matrix
186	Propyzamide	A	94	2	3	83	1	3	matrix	A	89	1	2	83	3	4	matrix
187	Prothiofos	A	88	3	4	81	1	2	matrix	B	115	3	3	68	5	6	STD
188	Pyracllofos	D**	61	40	85	40	19	26	STD	D**	42	24	80	57	16	48	STD
189	Pyraflufenethyl	A	93	10	10	91	5	6	matrix	A	87	13	16	100	4	9	STD
190	Pyrazophos	A	89	5	5	90	2	3	matrix	A	83	6	14	83	2	7	matrix
191	Pyributicarb	A	80	5	6	111	2	7	STD	A	92	6	6	95	3	7	STD
192	Pyridaben	A	88	5	6	86	1	4	matrix	A	82	9	11	78	4	9	matrix
193	Pyridaphenthion	A	94	7	7	92	2	3	matrix	A	82	3	14	85	4	7	matrix
194	Pyrimethanil	A	95	3	5	88	1	2	matrix	A	74	2	9	76	3	6	matrix
195	Pyrimiphos-methyl	A	96	2	6	89	2	3	matrix	A	92	4	4	83	3	4	matrix
196	Pyriproxyfen	A	86	4	5	86	1	4	matrix	A	97	9	9	100	4	8	STD
197	Pyroquilon	A	111	3	4	104	1	4	matrix	A	79	3	8	78	3	6	matrix
198	Quinolphos	A	89	2	3	85	1	2	matrix	A	80	2	9	79	3	5	matrix
199	Quinoxifen	A	95	6	12	93	2	6	STD	A	80	7	7	91	4	6	matrix
200	Quintozene	A	88	8	13	84	1	7	matrix	A	105	12	18	104	9	9	STD
201	Simazine	A	91	6	10	87	4	5	matrix	A	89	7	8	93	2	4	matrix
202	Simetryn	A	97	7	7	85	2	3	matrix	A	82	3	12	84	5	7	matrix
203	Spirodiclofen	D	34	35	58	40	17	20	matrix	D	0	-	-	0	-	-	STD
204	Spiroxamine1	D*	0	-	-	0	-	-	-	D*	0	-	-	0	-	-	-
	Spiroxamine2		0	-	-	0	-	-			0	-	-	0	-	-	
205	Tebufenpyrad	A	94	3	3	91	2	3	matrix	A	101	4	5	98	4	7	STD
206	Tecnazene	A	80	6	8	72	3	8	matrix	D	67	14	21	56	7	10	matrix
207	Tefluthrine	A	99	2	4	84	2	4	matrix	A	94	3	3	80	5	5	matrix
208	Terbacil	B*	91	10	18	65	26	46	STD	B*	104	13	16	65	10	37	STD
209	Terbuconazole	D*	50	28	42	47	30	75	STD	D*	50	41	48	55	50	77	STD
210	Terbufos	A	102	3	8	90	1	4	matrix	A	95	5	8	99	4	5	matrix
211	Terbutryn	A	97	4	4	83	2	6	matrix	A	90	3	3	81	4	4	matrix
212	Tetrachlorvinphos	D**	54	12	52	28	16	26	STD	D**	36	15	53	34	19	55	matrix
213	Tetraconazole	A	107	6	8	95	2	6	STD	A	105	7	7	81	2	7	STD
214	Thenylchlor	A	82	4	5	90	2	3	matrix	A	89	6	6	104	3	6	STD
215	Thiobencarb	A	94	3	4	83	1	4	matrix	A	85	4	5	81	2	5	matrix
216	Tolclofos-methyl	A	102	3	5	88	2	2	matrix	A	80	4	8	76	3	6	matrix
217	Tolfenpyrad	A	100	7	7	91	3	6	matrix	A	77	3	12	78	4	7	matrix
218	Tralomethrin	A	92	2	4	85	3	4	matrix	B	89	6	9	79	35	35	STD
219	Triadimefon	A	93	4	4	82	3	5	matrix	A	92	4	4	80	4	5	matrix
220	Triadimenol1	D*	73	22	22	36	33	84	STD	D*	0	-	-	49	53	78	STD
	Triadimenol2		62	32	47	46	34	77			0	-	-	66	19	66	
221	Triallate	A	103	3	7	89	2	4	matrix	A	85	6	7	79	4	5	matrix
222	Triazophos	A	111	5	9	107	2	6	STD	A	108	7	7	102	4	7	STD
223	Tribufos	A	115	10	10	87	4	9	STD	B	117	3	15	63	4	9	STD
224	Trifloxystrobin	A	83	9	11	89	2	3	matrix	A	85	7	7	99	3	9	STD
225	Trifluralin	A	112	6	8	96	2	2	matrix	A	85	8	11	84	5	5	matrix
226	Uniconazole P	D*	23	67	89	43	33	89	STD	D*	0	-	-	48	23	75	STD
227	Vinclazoline	A	95	3	6	80	3	7	matrix	A	88	3	3	77	3	6	matrix
228	XMC	A	91	6	7	90	2	4	matrix	A	76	9	18	82	3	7	matrix
229	Zoxamide	A	91	3	3	92	3	4	matrix	A	81	5	13	81	3	6	matrix

3.2 LC-MS/MS 測定

3.2.1 定量限界値とマトリックス添加混合標準溶液

異性体を含めて 93 種類の農薬成分を 2 つのグループ (グループ 1 及び 2) に分けて MRM 測定を行った。これらの農薬の 0.01ppm の濃度の混合標準溶液 (検体濃度で 0.01ppm) から得られるピークの S/N 比を確認したところ、全ての農薬が目標値の S/N 比 ≥ 10 を満たしていた。また、検量線は良好な直線性 (相関係数 0.99 以上) を得ることが出来た。

一方、マトリックス添加混合標準溶液では混合標準溶液と比較して、GC-MS/MS 測定の様な明らかなピーク形状の改善は認められなかった。表 6 に混合標準溶液中の農薬の面積値を 100 とした場合のマトリックス添加混合標準溶液中の農薬の面積の比 (%) を示した。2 種類の農薬 (スピノシン A 及びスピノシン D) を除き、標準溶液の濃度 (0.01ppm 又は 0.1ppm) やマトリックスの種類 (玄米又は大豆) によらず面積値の違いが $\pm 20\%$ 以内であった。これは LC-MS/MS 測定の方が一律基準濃度 (検体濃度で 0.01ppm) でのピーク形状が整っており、マトリックス効果によるピーク形状の変化が GC-MS/MS 測定よりも小さいためであることが推測された。

3.2.2 カートリッジカラムの溶出条件

MultiSep PR カラムの溶出溶媒 (アセトニトリル) の量を検討した。アセトニトリル 1mL に混合標準溶液を 0.1ppm になるように添加し、アセトニトリル 10mL で溶出後、5mL 追加して溶出させた。結果を表 7 に示す。アセトニトリル 5mL を追加することで 10% 以上回収率が増加した農薬は、クロチアニジン、イミダクロプリドの 2 種類であった。したがって、アセトニトリル 15mL で溶出させることで、90 種類の内、70 種類の農薬が 70% 以上溶出した。

3.2.3 選択性

ブランク試料を試験法に従って測定し、定量を妨害するピークの有無を確認したが、ガイドラインに示された選択性の目標値を超えるような妨害成分は認められなかった。

3.2.4 真度及び精度

真度の結果を表 8 に示す。真度の目標値 (70 ~ 120%)

を満たす農薬は、玄米及び大豆で添加濃度が 0.01ppm で 68 種類及び 61 種類、0.1ppm で 70 種類及び 63 種類であった。両添加濃度で目標値を満たす農薬は、玄米 69 種類、大豆 59 種類であった。目標値から外れる農薬は真度が 70% 未満の農薬がほとんどであり、70% を下回った農薬は GC-MS/MS 測定の農薬と同様に穀類及び豆類の検査法で採用した MultiSep PR カラムからの溶出が困難な農薬であった。また、スクリーニングとして真度の範囲を 50 ~ 150% に広げた場合、いずれの農産物でも 70 種類の農薬が目標値を満たし、GC-MS/MS 測定と同様にスクリーニングとしての有用性が示された。

精度の結果を表 9 に示す。真度の目標値を満たす農薬は全て精度の目標値を満たしており、精度の目標値を満たす農薬は併行精度と室内精度であまり差はなかった。

3.2.5 妥当性評価結果

妥当性評価の判定を GC-MS/MS 測定と同様に行い、各農産物別の集計結果を表 10 に、農薬別の詳細結果を表 11 に示す。グループ A 以外の農薬は、GC-MS/MS 測定と同様に MultiSep PR カラムからの溶出率が低い農薬がほとんどであり、MultiSep PR カラムからの溶出条件を検討することにより改善できると思われる。また、目標値を満たさない農薬で MultiSep PR カラムからの溶出率が高い農薬は、玄米は 2 種類、大豆は 12 種類であった。これらの農薬は、真度の範囲が目標値を数% 程度外れることが多いものの、GC-MS/MS 測定と同様にスクリーニングとしては十分満足できる結果であった。

定量に用いる混合標準溶液の比較検討を行ったところ、玄米は STD 91 種類、matrix 2 種類であり、大豆は STD 89 種類、matrix 4 種類であった。この内、目標値を全て満たすグループ A の農薬は、玄米は STD 66 種類、matrix 2 種類の計 68 種類であり、大豆は STD 54 種類、matrix 4 種類の計 58 種類であった。LC-MS/MS 測定では、GC-MS/MS 測定と比較してマトリックス添加混合標準溶液を用いて補正することによる明らかな有用性は示されなかった。

表 6 マトリックス添加による面積値の変化

面積値の比(%)*	農薬数			
	玄米		大豆	
	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm
70-80	2	1	2	2
80-90	6	3	4	2
90-110	81	90	86	90
110-120	5	0	2	0

*混合標準溶液中の農薬の面積値を 100 とした場合のマトリックス添加混合標準溶液中の農薬の面積の比

表7 MultiSep PR カラム溶出結果 (LC-MS/MS)

回収率(%)	農薬数
<50	20
50-70	3
70-120	66
>120	4

表8 真度結果 (LC-MS/MS)

真度 (%)	農薬数			
	玄米		大豆	
	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm
<50	23	22	23	21
50-70	2	1	9	9
70-120	68	70	61	63
120<	0	0	0	0

添加濃度0.01ppm及び0.1ppmにおける目標値 真度: 70-120%

表9 精度の目標値を満たした農薬数 (LC-MS/MS)

精度	農薬数			
	玄米		大豆	
	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm
併行精度	74	71	70	71
室内精度	69	70	69	70

添加濃度0.01ppm目標値 併行精度: RSD%<25, 室内精度: RSD%<30

添加濃度0.1ppm目標値 併行精度: RSD%<15, 室内精度: RSD%<20

表10 妥当性評価結果まとめ (LC-MS/MS)

グループ	判定		農薬数	
	0.01ppm	0.1ppm	玄米	大豆
A	○	○	68	58
B	○	×	0	2
C	×	○	2	5
D	×	×	23	28

表 11 妥当性評価結果詳細 (LC-MS/MS)

	農薬名	玄米								大豆							
		評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液	評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液
			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	
1	(EZ)-Ferimzone	A	80	3	9	89	3	4	STD	A	77	4	8	82	5	7	STD
2	Acibenzolar-S-methyl	A	82	6	11	79	7	8	STD	D	68	10	11	70	5	12	STD
3	Aldicarb(NH3)	A	95	6	10	84	2	6	STD	A	88	11	14	76	5	7	STD
4	Aldoxycarb	D**	27	22	73	38	14	21	STD	D**	24	43	81	40	18	37	STD
5	Anilofos	A	88	7	8	88	2	5	STD	A	83	5	7	78	5	5	STD
6	Aramite	A	84	7	17	80	5	7	STD	A	84	18	18	72	6	8	STD
7	Azafenidin	A	90	11	13	92	2	3	STD	A	81	9	9	83	7	10	STD
8	Azamethiphos	D*	0	—	—	0	—	—	STD	D*	0	—	—	0	—	—	STD
9	Azinphos-methyl	A	88	6	9	92	2	6	STD	A	78	9	13	83	7	9	STD
10	Azoxystrobin	A	103	9	9	91	3	7	STD	A	87	5	5	81	4	7	STD
11	Bendiocarb	A	96	13	13	89	5	5	STD	A	88	9	9	80	3	7	STD
12	Benzofenap	A	78	6	9	86	5	5	STD	A	70	12	14	72	5	10	matrix
13	Boscalid	A	98	10	13	91	4	5	STD	A	87	12	12	80	6	8	STD
14	Butafenacil	A	93	5	7	91	4	6	STD	A	79	6	9	83	7	8	STD
15	Carbaryl	A	96	9	11	98	3	4	STD	A	86	6	10	93	7	9	STD
16	Carbofuran	A	89	5	5	92	2	4	STD	A	79	7	8	82	3	7	STD
17	Carpropamide	A	78	11	11	89	2	8	STD	C	67	14	14	78	6	11	STD
18	Chloridazon (PAC)	A	85	12	14	94	4	5	STD	A	71	10	18	78	6	10	STD
19	Chloroxuron	A	88	13	13	86	6	6	STD	A	83	3	10	81	6	7	STD
20	Chromafenozide	A	100	5	14	92	3	6	STD	A	84	13	13	86	8	8	STD
21	Clofentezine	A	87	11	16	89	5	5	STD	A	85	12	13	76	8	9	STD
22	Clomeprop	A	76	18	19	82	5	7	STD	D	61	7	12	68	10	10	STD
23	Cloquintocet-mexyl	C	18	152	152	75	7	17	STD	C	53	8	21	74	5	10	STD
24	Clothianidin	A	84	7	9	93	7	10	STD	A	75	12	14	83	3	8	STD
25	Cumyluron	A	85	8	10	88	3	5	STD	A	75	10	12	81	6	7	STD
26	Cyazofamid	A	85	9	11	77	5	6	STD	A	82	11	11	73	3	6	STD
27	Cycloate	C	70	21	21	75	7	8	STD	D	53	25	25	64	13	13	STD
28	Cyflufenamide	A	96	12	16	87	1	6	STD	A	82	17	18	76	4	10	STD
29	Cyprodinil	A	84	7	11	91	2	3	STD	C	68	9	9	75	7	8	STD
30	Daimuron	A	90	7	8	90	4	4	STD	A	77	6	8	81	4	7	STD
31	Diallate	A	103	12	14	74	8	8	STD	D	88	31	31	68	9	14	STD
32	Diflubenzuron	D*	13	100	128	20	42	116	STD	D*	17	108	112	29	47	97	STD
33	Dimethirimol	D*	0	—	—	0	—	—	STD	D*	0	—	—	0	—	—	STD
34	Dimethomorph E	A	74	15	15	81	3	4	STD	A	75	8	16	77	4	8	STD
35	Dimethomorph Z	A	100	8	8	94	4	5	STD	A	92	7	7	88	5	6	STD
36	Diuron	A	100	10	10	86	3	4	STD	A	91	8	8	79	4	6	STD
37	Epoxiconazole	A	80	6	6	80	4	4	STD	A	77	5	6	75	6	7	STD
38	Fenamidone	A	112	6	12	82	2	3	STD	A	87	6	9	76	4	6	STD
39	Fenobucarb	A	87	6	10	87	2	6	STD	A	84	8	8	81	6	9	STD
40	Fenoxaprop-ethyl	A	83	15	15	89	4	5	STD	A	72	9	9	79	6	10	STD
41	Fenoxycarb	A	105	7	9	84	4	4	STD	A	99	5	9	76	6	7	STD
42	Fenpyroximate E	A	75	11	11	89	4	5	STD	A	71	9	9	75	4	12	matrix
43	Fenpyroximate Z	A	84	7	8	81	4	6	STD	B	72	10	11	69	7	11	STD
44	Flufenacet	A	94	9	9	92	2	6	STD	A	87	8	8	84	7	8	STD
45	Flufenoxuron	D*	43	21	69	47	34	62	STD	D*	39	41	70	50	15	51	STD
46	Fluridon	A	93	4	5	88	2	3	STD	A	86	6	8	81	4	6	STD
47	Furametpyr	A	87	6	6	91	2	5	STD	A	77	6	9	81	6	9	STD
48	Furathiocarb	A	84	5	11	88	1	7	STD	A	80	10	10	84	5	7	STD
49	Hexaflumuron	D*	14	73	152	20	36	129	STD	D*	14	135	135	30	47	97	STD
50	Hexythiazox	A	88	10	15	88	5	5	STD	C	69	16	16	73	6	9	STD

	農薬名	玄米								大豆							
		評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液	評価	0.01ppm			0.1ppm			標準溶液
			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	
51	Imazalil	D*	0	—	—	0	—	—	STD	D*	0	—	—	0	—	—	STD
52	Imidacloprid	A	73	12	23	88	8	10	STD	C	54	18	29	77	5	10	STD
53	Indanofan	A	78	6	27	92	6	6	STD	A	71	11	23	82	8	8	STD
54	Indoxacarb	A	83	13	13	83	4	11	STD	A	76	13	15	74	10	13	STD
55	Iprovalicarb	A	91	7	7	87	3	6	STD	A	82	6	7	82	6	7	STD
56	Isoxaflutole	D*	11	47	178	2	47	90	STD	D*	10	69	181	8	37	165	STD
57	Lactofen	A	82	14	14	88	2	11	STD	A	72	24	25	80	8	8	STD
58	Linuron	A	97	17	17	89	5	7	STD	A	84	13	16	79	5	8	STD
59	Lufenuron	D*	55	17	59	54	30	38	STD	D*	45	34	62	56	16	28	STD
60	Mepanipyrim	A	86	13	13	82	3	8	STD	A	74	7	10	72	3	6	STD
61	Methabenzthiazuron	A	91	8	8	88	1	5	STD	A	82	6	8	79	4	7	STD
62	Methiocarb	A	85	7	7	84	2	5	STD	A	76	9	9	75	4	7	STD
63	Methomyl	A	96	3	10	115	9	20	STD	A	78	3	10	88	9	20	STD
	Thiodicarb																
64	Methoxyphenozone	A	104	14	14	93	3	7	STD	A	87	8	12	83	7	7	STD
65	Monolinuron	A	91	11	11	99	3	6	STD	A	83	11	13	90	6	8	STD
66	Naproanilide	A	76	4	9	76	3	6	STD	A	76	8	8	74	4	8	STD
67	Novaluron	D*	24	48	104	26	47	105	STD	D*	24	74	94	32	41	90	STD
68	Oryzalin	D*	27	58	115	36	34	92	STD	D*	34	60	93	40	23	74	STD
69	Oxamyl	A	74	9	17	70	6	9	matrix	D	56	9	24	64	7	10	STD
70	Oxaziclomefone	A	92	3	4	94	3	4	STD	A	81	10	10	84	3	8	STD
71	Oxycarboxine	D*	0	—	—	10	38	43	STD	D*	0	—	—	12	27	58	STD
72	Pencycuron	A	94	7	7	93	2	6	STD	A	82	5	10	75	9	15	STD
73	Phenmedipham	D**	32	29	98	17	21	47	STD	D**	28	22	93	21	33	92	STD
74	Pirimicarb	A	89	5	6	95	4	5	STD	A	83	6	7	88	6	8	STD
75	Propaquizafop	A	73	14	17	93	4	6	STD	A	72	12	26	72	10	12	matrix
76	Pyraclostrobin	A	85	8	11	92	3	4	STD	A	71	11	14	80	6	7	STD
77	Pyrazolynate	D*	0	—	—	0	—	—	STD	D*	0	—	—	0	—	—	STD
78	Pyrifthalid	A	92	6	6	84	4	4	STD	A	81	5	6	76	3	6	STD
79	Quizalofop-ethyl	A	87	8	11	88	4	5	STD	A	78	12	12	78	8	8	STD
80	Silafluofen	A	108	12	13	98	4	8	STD	B	73	10	11	70	6	12	STD
81	Simeconazole	D*	20	41	100	32	36	79	STD	D*	18	106	110	39	22	67	STD
82	SpinosynA	D*	0	—	—	0	—	—	STD	D*	0	—	—	0	—	—	STD
83	SpinosynD	D*	0	—	—	0	—	—	STD	D*	0	—	—	0	—	—	STD
84	Tebufenozide	A	91	7	9	86	2	4	STD	A	83	11	11	80	2	6	STD
85	Tebutiuron	A	93	2	5	87	1	4	STD	A	86	4	8	82	6	8	STD
86	Teflubenzuron	D*	28	24	94	34	41	83	STD	D*	27	44	89	38	15	69	STD
87	Tetrachlorvinphos	D**	37	21	71	27	16	23	STD	D**	32	25	68	30	15	45	STD
88	Thiabendazole	D*	0	—	—	17	39	93	STD	D*	0	—	—	24	34	81	STD
89	Thiacloprid	A	91	9	9	87	2	4	STD	A	81	7	7	77	3	7	STD
90	Thiamethoxam	A	74	12	15	83	5	13	matrix	A	85	25	25	74	14	19	matrix
91	Tralkoxydim	D*	0	—	—	0	—	—	STD	D*	0	—	—	0	—	—	STD
92	Triflumuron	D*	22	53	110	27	46	105	STD	D*	13	98	103	34	32	80	STD
93	Triticonazole	D*	12	98	125	26	39	97	STD	D*	12	98	125	26	39	97	STD

4 まとめ

GC-MS/MS及びLC-MS/MSを用いた穀類及び豆類中残留農薬の一斉分析法のカラムの検討及び厚生労働省のガイドラインに従った妥当性評価を行い、次の結果を得た。

- (1) GC-MS/MS測定では229種類、LC-MS/MS測定では93種類の農薬のMRM測定を行ったところ、試料中濃度0.01ppmで十分な定量感度が全ての農薬で得られた。
- (2) GC-MS/MS測定で201種類、LC-MS/MS測定で70種類の農薬は、MultiSep PRカラムからアセトニトリル15mLで溶出させることで70%以上の回収率が得られた。
- (3) 選択性は、GC-MS/MS測定及びLC-MS/MS測定で検討した全ての農薬で満たしていた。
- (4) 真度の目標値を両添加濃度で満たす農薬は、GC-MS/MS測定では玄米199種類、大豆181種類であり、LC-MS/MS測定では玄米69種類、大豆59種類であった。目標値から外れる農薬は、真度が70%未満の農薬がほとんどであり、これらは穀類及び豆類の検査法で採用したMultiSep PRカラムからの溶出が困難な農薬であった。真度の目標値を満たす農薬はほぼ精度の目標値を満たしていた。
- (5) 妥当性評価で適合と判定される両添加濃度で真度及び精度の目標値を全て満たす農薬は、GC-MS/MS測定では玄米197種類（STD 63種類，matrix 134種類），大豆176種類（STD 72種類，matrix 104種類）であった。LC-MS/MS測定では玄米68種類（STD 66種類，matrix 2種類），大豆58種類（STD 54種類，matrix 4種類）であった。GC-MS/MS測定ではマトリックス添加混合標準溶液を用いて補正した方が良好な結果が得られる農薬が多く、マトリックス添加混合標準溶液で補正することの有用性が示された。一方LC-MS/MS測定では、GC-MS/MS測定と比較してマトリックス添加混合標準溶液を用いて補正することによる明らかな有用性は示されなかった。

今後とも妥当性評価を継続して行い、適正に検査項目の選定を行っていく予定である。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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について、食安発第0124001号，平成17年1月24日，2005
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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について，食安発第1115001号，平成19年11月15日，2007

- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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，食安発1224第1号，平成22年12月24日，2010
- 4) 難波順子，浅田幸男，赤木正章，北村雅美，肥塚加奈江：GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価（第1報），岡山県環境保健センター年報，38，69-81，2014
- 5) 難波順子，浅田幸男，赤木正章，北村雅美，吉岡敏行：GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価（第2報），岡山県環境保健センター年報，39，143-152，2015
- 6) 赤木正章，浅田幸男，難波順子，北村雅美，吉岡敏行ら：LC-MS/MSを用いた野菜及び果実中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価（第1報），岡山県環境保健センター年報，40，103-110，2016
- 7) 吉岡敏行，難波順子，浅田幸男，赤木正章，北村雅美：食品と医薬品等に含まれる有害物質等の分析技術の開発に関する研究－水産物及び穀類等の残留農薬分析法の検討について－，岡山県環境保健センター年報，40，77-83，2016
- 8) 福井直樹，高取聡，山口聡子，北川陽子，吉光真人ら：汎用マトリックス添加標準溶液を活用した野菜類および果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価，食品衛生学雑誌，56，178-184，2015

【調査研究】

納豆を検体とする遺伝子組換え食品検査についての一考察 (平成26～27年度)

A Study of Method for Detection of Genetically Modified Organisms in Natto
(Apr.2014-Mar.2016)

北村雅美, 浅田幸男, 赤木正章, 難波順子, 吉岡敏行 (衛生化学科)

Masami Kitamura, Yukio Asada, Masaaki Akaki, Junko Namba, Toshiyuki Yoshioka
(Food and Drug Chemical Research Section)

要 旨

平成26年度に大豆加工食品の遺伝子組換え食品検査を行ったが、納豆検体においては大豆内在性遺伝子である *LeI* が検出できなかったため、検査不能と判定された。原因究明のため、3種の国産大豆穀粒について、それぞれ粉末納豆菌を用いて納豆に加工し、工程ごとのDNA収量を比較した。その結果、DNA収量は加工工程が進むとともに減少し、特に蒸煮工程では、加工前と比較して9割程度も減少することが確認された。また、5%の米国産遺伝子組換え大豆 (RRS: Roundup Ready Soybean) を含む大豆試料の抽出DNA溶液に、納豆菌抽出DNA溶液を段階的に添加し、*LeI* 及び RRS 遺伝子を検出するリアルタイムPCRを実施したところ、両測定値は納豆菌抽出DNA溶液の添加量に依存して低下した。これらの結果から、平成26年度に納豆検体が検査不能と判定された一因として、加工工程で大部分のDNAが分解されること、また納豆菌抽出DNA溶液には何らかのPCR阻害物質が含まれることが考えられた。

[キーワード: 遺伝子組換え食品, *LeI*, RRS, 定量PCR]

[Key words: Genetically modified organisms, Lectin gene *LeI*, RRS, Quantitative PCR]

1 はじめに

遺伝子組換え作物の世界での栽培面積は、2014年時点で全作物栽培面積の12%を占めており¹⁾、世界的にも遺伝子組換え作物の栽培が増加する中、日本では、生物多様性への影響や、食品や飼料としての安全性について、最新の科学的知見により評価を行い、安全性が確認されたもののみが使用 (栽培、輸入等) できる仕組み (安全性審査) を導入している。日本は2014年には大豆、セイヨウナタネ及びトウモロコシ約2000トンを入力しているが、そのうちの1500トン程度が遺伝子組換え品種と推定されており²⁾、もはや遺伝子組換え作物は日常生活の中で欠かせないものとなってきている。

岡山県では、平成14年度から遺伝子組換え食品の検査を行っており、平成24年度からは大豆加工食品である豆腐や油揚げについて、「安全性審査済みの組換えDNA技術応用食品の検査方法」(平成24年11月16日付け消食表第201号消費者庁次長通知) 別添「安全性審査済みの組換えDNA技術応用食品の検査方法」2.1.2 定量PCR法に従い、食品衛生法に基づく収去検査 (検査項目: 安全性審査済の遺伝子組換え大豆であるRRS (Roundup Ready Soybean)) を行っている。大豆を対象としたRRSの定量

PCRにおいては、大豆に普遍的に存在するレクチン遺伝子 (*LeI*) を指標 (内在性遺伝子) としてRRSの混入率を求めるが、平成26年度に新たに大豆加工食品として「納豆」を対象に検査を実施したところ、検体全てにおいて*LeI* が検出できなかったため、検査不能と判定された。今回我々は、その原因を究明するため、納豆の加工工程におけるDNA分解状況及び納豆菌抽出DNA溶液による大豆DNA (*LeI* 及び RRS) を標的とするリアルタイムPCR阻害の可能性について検討した。その結果、若干の知見を得たので報告する。

2 実験方法

2.1 試料

大粒大豆 (平成26年産宮城県産ミヤギシロメ)、中粒大豆 (平成26年産北海道産トヨマサリ)、小粒大豆 (平成26年産北海道産スズマル) を原料とし、家庭用高橋納豆素 (乾燥粉末納豆菌) でそれぞれ納豆に加工し、分析試料に供した。

また、アメリカ産不分別大豆 (RRS 80.4%) 及びアメリカ産分別大豆から抽出したDNA溶液並びに納豆菌抽出DNA溶液を用いてリアルタイムPCRで遺伝子増幅を確認した。

2.2 試薬等

DNeasy Plant Mini Kit, Genomic-Tip 20/G, RNaseA (100mg/mL), Proteinase K, AP1 緩衝液, AP2 緩衝液, AP3/EtOH 混液, AW/EtOH 混液, G2 緩衝液, QBT 緩衝液, QC 緩衝液, QF 緩衝液: QIAGEN 製, 滅菌水 (超純水を滅菌), エタノール (99.5%), イソプロピルアルコール (99.5%): ナカライテスク製, Trypticase Soy Agar (TSA 培地): BD 製, GM サイズ (RRS) プラスミドセット-ColEI/TE-, サイズ内在性 DNA *LeI* オリゴヌクレオチドセット, GM サイズ (RRS) 系統別 DNA RRS オリゴヌクレオチドセット: ニッポンジーン製, TaqMan Universal PCR Master Mix, MicroAmp Optical Reaction Plate, Optical Adhesive Cover, Optical Cover Compression Pad: ABI 製

2.3 調査

2.3.1 測定条件等

使用機器 分光光度計: Thermo Fisher Scientific
NanoDrop 2000

リアルタイム PCR: ABI PRISM 7900HT 96well

DNA 抽出法及びリアルタイム PCR 測定条件

平成 24 年 11 月 16 日付け消食表第 201 号消費者庁次長通知準拠及び JAS 分析試験ハンドブック遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル改訂第 3 版 (2012) 一部参照

2.3.2 PCR 標的 DNA のコピー数の算出方法

「安全性審査済みの組換え DNA 技術応用食品の検査方法」(平成 24 年 11 月 16 日付け消食表第 201 号消費者庁次長通知) 別添「安全性審査済みの組換え DNA 技術応用食品の検査方法」2.1.2 定量 PCR 法に規定されている, 標準プラスミド DNA 溶液を標準物質として用い, コピー数を算出した。

2.3.3 PCR 増幅阻害率の算出方法

納豆由来 DNA による *LeI* 及び RRS 遺伝子の PCR 阻害率は次のように算出した。

$$\text{PCR 阻害率 (\%)} = [(A - B) / A] \times 100$$

A= RRS 5% 大豆の *LeI* (RRS) 遺伝子の増幅量 (コピー数)

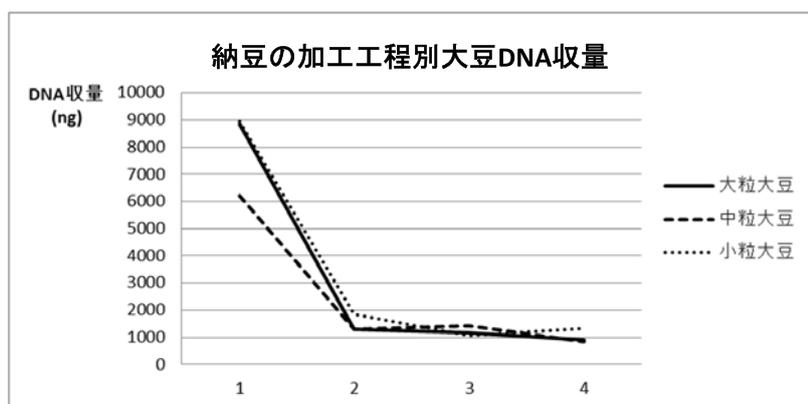
B= 納豆菌由来 DNA 添加試料の *LeI* (RRS) 遺伝子の増幅量 (コピー数)

2.3.4 納豆加工工程における DNA 分解状況調査

検査試料に用いる大豆の量は, 質量で規定されているため, 試料中の大豆 DNA のコピー数は大豆の粒の大きさに依存する (平成 26 年度の事例では, 大豆内在性遺伝子 *LeI* のコピー数は, 大粒 46.3, 中粒 94.7, 小粒 79.4, 極小粒 1020)。そこで, 大粒, 中粒, 小粒の 3 種類の大豆について, 乾燥粉末納豆菌を用いて納豆に加工³⁾し, ①納豆加工前, ②蒸煮 (200kPa, 1hr) 後 (通常の製法では 9 時間蒸煮), ③納豆菌発酵 (40 ± 2°C, 24hr) 後, ④熟成 (4 ± 3°C, 24hr) 後の 4 段階で試料を採取し, 各々 DNA 抽出 (使用キットは, ①は DNeasy Plant Mini Kit, その他は Genomic-Tip 20/G) を行い, Thermo Fisher Scientific NanoDrop2000 を用い, 260nm における吸光度から DNA 濃度を求め, 得られた DNA 収量の比較を行った。

2.3.5 納豆菌 DNA によるリアルタイム PCR 阻害調査

乾燥粉末納豆菌 0.1g を 2mL の滅菌水に溶解し, TSA 培地に接種後, 40 ± 2°C のふ卵器中で 18 時間培養し, 培地から採取したコロニーについて Genomic-Tip 20/G で納豆菌由来 DNA を抽出した。また, アメリカ産不分別大豆 (RRS 80.4%) と分別大豆を RRS の質量比が 5% となるよう混合調整した大豆試料から DNA を抽出した。次に, 大豆由来 DNA の濃度が一定となるよう, 納豆菌由来 DNA 量を段階的に添加調整して試料とした。すなわち, 大豆由来 DNA 濃度が 16.9ng/μL, 納豆菌由来 DNA 濃度がそれぞれ 1.8ng/μL, 3.4ng/μL, 6.9ng/μL となるよう試料を



- 1 納豆加工前(生大豆)
- 2 蒸煮(200kPa,1hr)後
- 3 発酵(納豆菌接種)後
- 4 熟成(4±3°C,24hr)後

図 1 納豆の加工工程別大豆 DNA 収量

調整した。対照として、同濃度の大豆 DNA のみ及び納豆菌 DNA のみを含む試料も調整した。これらについてリアルタイム PCR を行い *Le1* 及び RRS 遺伝子の増幅について確認を行った。

3 結果および考察

3.1 納豆加工工程における DNA 分解状況調査結果

大粒大豆、中粒大豆及び小粒大豆の納豆加工工程における試料 0.5g から得られた DNA 収量を比較したグラフを図 1 に示す。大粒、中粒、小粒とも全て蒸煮後の試料で DNA 収量が 9 割程度落ちていた。小粒大豆が蒸煮後の

DNA 収量が最も多かったが、納豆菌発酵後ではその差も無くなっていた。これまで、蒸煮工程のない豆腐を検体とする場合は、問題なく検査が行われてきているので、納豆加工工程のうち、蒸煮工程が大豆 DNA に与える損傷は非常に大きいと考えられた。更に納豆を工業的に生産する場合は、蒸煮釜と呼ばれる高圧力の釜が蒸煮工程で用いられるので、本調査以上に大豆 DNA の受ける損傷は大きくなると推察される。DNA は、加工温度に影響を受け、高温処理される食品については分解を受ける⁴⁾こと、加えて納豆のような発酵食品ではさらに DNA の分解が進む⁵⁾ことも知られており、本調査においてもそのことが確認された。

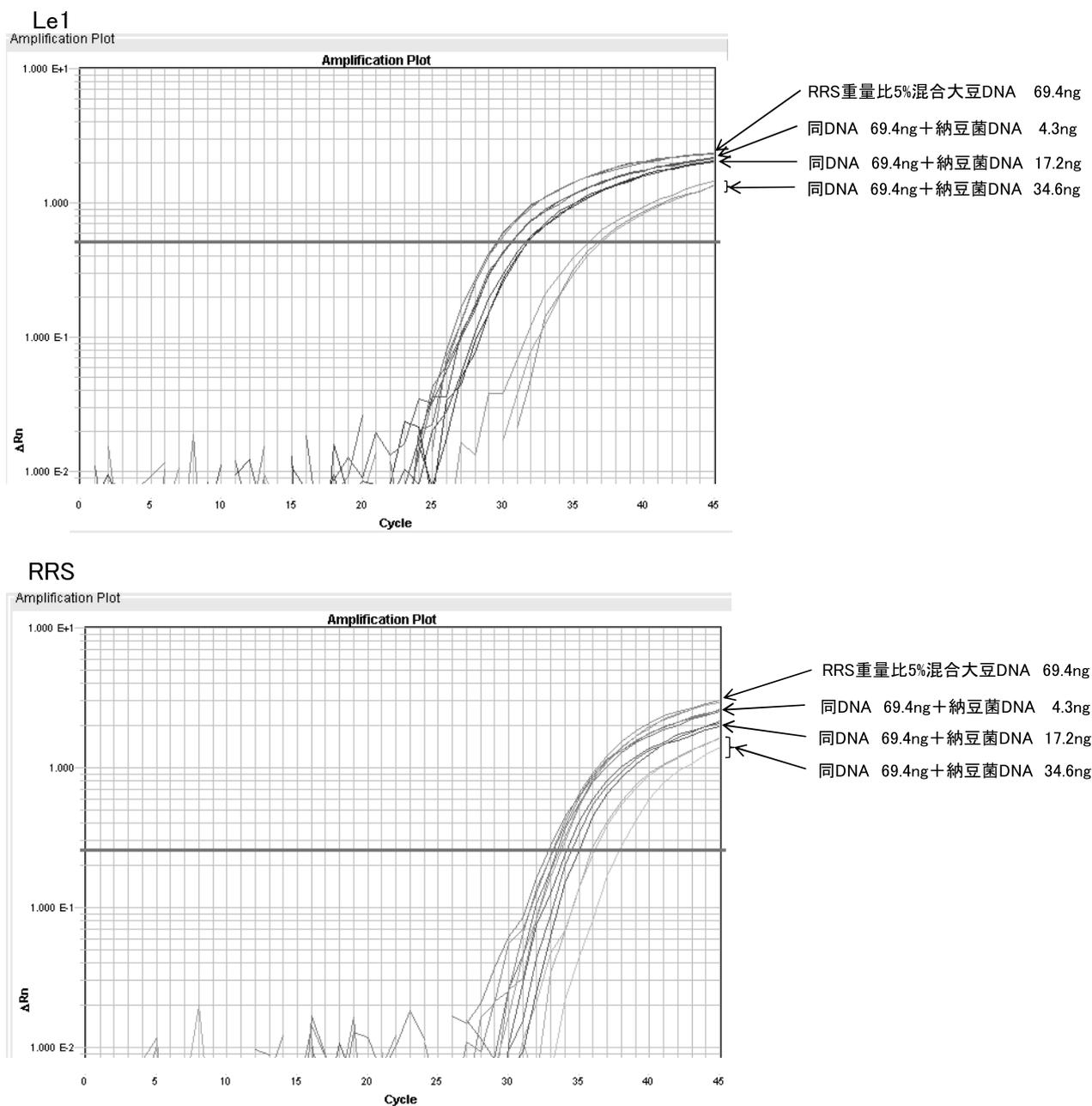


図 2 amplification Plot

3.2 納豆菌由来 DNA によるリアルタイム PCR 阻害調査結果

LeI 遺伝子及び RRS 遺伝子を標的としたリアルタイム PCR 結果 (amplification plot) を図 2 に示す。分別大豆 DNA のみ、分別大豆の 1/16・1/4・1/2 の各量納豆菌 DNA を添加した試料のそれぞれの Ct (Threshold cycle) 平均値は、30.00, 30.79, 31.98, 37.09 で蛍光の発現が段階的に遅れており、またそれぞれの DNA の増幅量(コピー数)の平均値は、4035, 2422, 1119, 42 と減少しており、添加した納豆菌由来 DNA の量が多いほど PCR 増幅が阻害されていることが分かった。また、納豆菌抽出 DNA 溶液から受ける PCR 阻害の割合が、*LeI* 遺伝子の方が RRS 遺伝子に比べて大きくなっており、PCR 標的遺伝子により阻害の程度が異なる様子も見られた。(図 3)

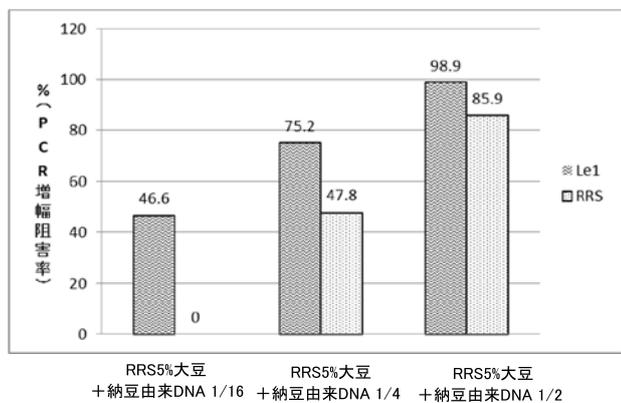


図 3 納豆由来 DNA による *LeI* 及び RRS の PCR 増幅阻害率 (大豆 DNA のみの *LeI* 及び RRS の PCR コピー数を阻害率 0% として換算)

4 まとめ

納豆を検体とする遺伝子組換え食品検査において、遺伝子組換え食品のモニタリングを目的として独立行政法人農林水産消費安全技術センターにより示された検査法⁹⁾では、15 分間流水でぬめりを取った後、滅菌水ですすぐことになっているが、平成 26 年度の納豆検体では、このとおり洗浄を行っても検査不能となった。他県の例でも、JAS 法に基づき流水で十分に洗浄したものをサンプルに用いても、大豆 DNA 抽出液への納豆菌由来 DNA の混在が確認されている⁷⁾ことから、納豆については、その加工工程(特に蒸煮工程)において DNA の分解が起こることに加え、納豆菌抽出 DNA 溶液に含まれる何らかの PCR 阻害因子から *LeI* 遺伝子及び RRS 遺伝子を標的とした PCR の阻害も受けることで検査不能となると推測された。また、*LeI* 遺伝子と RRS 遺伝子で PCR 阻害を受ける程度が異なる(RRS の方が *LeI* よりも納豆菌由来 DNA 溶液の影響を受けにくい)ことから、リアルタイム PCR の結果が良好であっても、RRS 混入率の算出は不正確になると考えられた。

本調査では、リアルタイム PCR の阻害因子の特定には至らなかったが、DNA ポリメラーゼの活性阻害、標的遺伝子と類似配列を持つ DNA によるプライマー・プローブの競合阻害等、様々な可能性が考えられるため、今後の検討課題としたい。

文 献

- 1) 国際アグリバイオ事業団 (ISAAA) : Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops : 2014
- 2) 小島正美:誤解だらけの遺伝子組換え作物, エネルギーフォーラム出版 (2015)
- 3) 全国納豆協同組合連合会納豆 PR センター HP「納豆ができるまで」
<http://natto.or.jp/make/index.html>
- 4) 松岡猛, 日野明寛: 農産物遺伝子組換え体の検知・判定技術, 食糧 - その科学と技術 -, No.42, 55-71, 2004
- 5) 小川美緒, 若林沙織ら: 遺伝子組換え農産物の食品原材料とその加工食品実態調査, 鳥取県衛生環境研究所報, 第 44 号, 42-45, 2004
- 6) 独立行政法人農林水産消費技術センター: JAS 分析試験ハンドブック 遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル改訂第 3 版 (2012)
- 7) 奥村史朗, 執行修司, 富岡寛治: 納豆における原料サイズの遺伝子組換え判定, 福岡県工業技術センター研究報告, No.21, 31-34, 2011

【資 料】

LC-MS/MSを用いた野菜及び果実中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価 (第1報)

Validation Study on a Method for Simultaneous Determination of Pesticide Residues in Vegetables and Fruits by LC-MS/MS (1)

赤木正章, 浅田幸男, 難波順子, 北村雅美, 吉岡敏行, 浦山豊弘* (衛生化学科)

*水質科

Masaaki Akaki, Yukio Asada, Junko Namba, Masami Kitamura, Toshiyuki Yoshioka, Toyohiro Urayama* (Food and Drug Chemical Research Section)

*Water Section

要 旨

LC-MS/MSを用いた野菜及び果実中残留農薬の一斉分析法の妥当性を、妥当性評価ガイドラインに従い評価した。ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、オレンジ及びりんごに農薬を高濃度(0.1ppm)又は低濃度(0.01ppm)で添加し、厚生労働省の通知法であるLC/MSによる農薬等の一斉試験法I(農産物)に準拠し、各農薬を測定した。その結果、5農産物全てでガイドラインの目標値を満たした農薬は25種類であった。

[キーワード: 残留農薬, 一斉分析法, 妥当性評価, 液体クロマトグラフタンデム質量分析計]

[Key Words: pesticide residues, simultaneous determination, validation study, LC-MS/MS]

1 はじめに

食品中の残留農薬等のポジティブリスト制度導入により、従前残留基準がなかった農薬に一律基準(0.01ppm)が設けられた。このため、検査対象となる農薬の数が大幅に増加し、より効率的な一斉分析法による検査が求められるようになった。現在、岡山県では、農産物中の残留農薬を、通知試験法¹⁾のLC/MSによる農薬等の一斉試験法I(農産物)及びGC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)に準拠した一斉分析法を用いて、機器分析を行っている。

また、平成19年11月15日付け、食品安全部長通知「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について」²⁾(以下「ガイドライン」という。)が平成22年12月24日に改正され³⁾、通知試験法により残留農薬検査を実施する場合であっても、妥当性評価をすることとされた。今回、ガイドラインに具体的に示された5種類の野菜及び果実で、LC-MS/MSを用いた残留農薬の一斉分析法の妥当性を評価したので報告する。

2 方法

2.1 試料

ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、オレンジ、りんご

2.2 試薬及び標準品

農薬標準品: 林純薬工業製農薬混合標準液(PL2005農

薬 LC/MS Mix 4~6 (各濃度 20 μ g/mL アセトニトリル溶液), PL2005 農薬 LC/MS Mix 7 (各濃度 50 μ g/mL アセトニトリル溶液)

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム:

SUPELUCO製 ENVI-Carb/LC-NH₂カラム(500mg/500mg) 6mLをアセトニトリル及びトルエン(3:1)混液10mLでコンディショニングして使用した。

その他の試薬は、和光純薬工業製又は関東化学製の残留農薬試験用、LC/MS用又は特級品を用いた。

2.3 LC-MS/MS 装置及び条件

1) LC 条件

LC機種: 島津製作所製 LC-20A 高圧グラジエントシステム
カラム: Waters製 XTerra MS C18 3.5 μ m

(2.1mm I.D. x 15cm)

カラム温度: 40°C

移動相: A液 (5mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液)

B液 (5mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液)

グラジエント条件: A/B=85/15 (0min) → 60/40 (1-3.5min) → 50/50 (6min) → 45/55 (8min) → 5/95 (17.5-30min)

移動相流量: 0.2mL/min

試料注入量：5 μ L

2) MS 条件

MS 機種：Applied Biosystems 製 API3200 QTrap

インターフェース：Turbo V source

測定法：MRM モード

条件 1

イオン化モード：ESI positive mode

イオン源温度：400℃

イオン化電圧：5500V

測定イオン (precursor ion > product ion)：表 1 に示した

条件 2

イオン化モード：ESI positive mode

イオン源温度：600℃

イオン化電圧：5500V

測定イオン (precursor ion > product ion)：表 2 に示した

2.4 検量線の作成

混合標準液をメタノールで適宜希釈し、検量線用の 5, 10, 20, 50, 100, 200ng/mL の混合標準液を調製し、検量線を作成した。

2.5 試験溶液の調製

各農作物に混合標準液を添加し、30 分経過後、既報⁴⁾に従い、試験溶液を調製した。

表 1 分析条件 1

	農薬名	定量イオン(m/z)		確認イオン(m/z)	
		precursor ion	> product ion	precursor ion	> product ion
1	アジンホスメチル	318	> 132	318	> 160
2	アゾキシストロビン	404	> 372	404	> 329
3	アニロホス	368	> 125	368	> 199
4	アラマイト	352	> 191	352	> 105
5	アルジカルブ	208	> 116	208	> 89
6	イソキサフルトール	360	> 251	360	> 144
7	イプロバリカルブ	321	> 119	321	> 116
8	インダノファン	341	> 175	341	> 187
9	インドキサカルブ	528	> 203	528	> 218
10	オキサジクロメホン	376	> 190	376	> 161
11	オキサミル	237	> 72	237	> 90
12	カルバリル	219	> 145	219	> 127
13	カルプロパミド	336	> 139	336	> 103
14	カルボフラン	222	> 165	222	> 123
15	クミルロン	303	> 185	303	> 125
16	クロキントセットメキシル	336	> 238	336	> 192
17	クロマフェノジド	395	> 175	395	> 91
18	クロメプロップ	324	> 120	324	> 203
19	シアゾファミド	325	> 108	325	> 217
20	シフルフェナミド	413	> 295	413	> 241
21	シラフルオフエン	426	> 287	426	> 168
22	ダイムロン	269	> 151	269	> 91
23	チアメトキサム	292	> 211	292	> 181
24	チオジカルブ	355	> 88	355	> 108
25	テトラクロロビンホス	367	> 127	367	> 241
26	テブフェノジド	353	> 133	353	> 105
27	トラルコキシジム	330	> 138	330	> 284
28	ピラクロストロビン	388	> 194	388	> 163
29	フェノキサプロップエチル	362	> 288	362	> 121
30	フェノフカルブ	208	> 95	208	> 152
31	ブタフェナシル	492	> 180	492	> 331
32	フラチオカルブ	383	> 195	383	> 167
33	フラメビル	334	> 157	334	> 290
34	フルフェナセット	364	> 152	364	> 194
35	プロパキザホップ	444	> 100	444	> 163
36	ヘキサフルムロン	461	> 158	461	> 141
37	ペンシクロン	329	> 125	329	> 89
38	ペンダイオカルブ	224	> 167	224	> 109
39	ボスカリド	343	> 307	343	> 140
40	メソミル	163	> 88	163	> 106
41	メタベンズチアズロン	222	> 165	222	> 150
42	メチオカルブ	226	> 169	226	> 121
43	メトキシフェノジド	369	> 149	369	> 91
44	メパニピリム	224	> 106	224	> 77
45	モノリニュロン	215	> 126	215	> 148
46	ラクトフェン	479	> 344	479	> 223
47	リヌロン	249	> 182	249	> 160

表2 分析条件2

	農薬名	定量イオン(m/z)		確認イオン(m/z)	
		precursor ion	> product ion	precursor ion	> product ion
1	アザフェニジン	338	>	264	338 > 112
2	アザメチホス	325	>	183	325 > 112
3	アシベンゾラル-S-メチル	211	>	136	211 > 91
4	アルドキシカルブ	223	>	86	223 > 148
5	イマザリル	297	>	159	297 > 255
6	イミダクロプリド	256	>	175	256 > 209
7	エポキシコナゾール	330	>	121	330 > 101
8	オキシカルボキシ	268	>	175	268 > 147
9	オリザリン	347	>	288	347 > 305
10	キサロホップエチル	373	>	299	373 > 91
11	クロチアニジン	250	>	169	250 > 132
12	クロフェンテジン	303	>	138	303 > 102
13	クロリダゾン	222	>	104	222 > 77
14	クロロクスロン	291	>	72	291 > 72
15	ジウロン	233	>	72	233 > 160
16	シクロエート	216	>	154	216 > 83
17	ジフルベンズロン	311	>	158	311 > 141
18	シプロジニル	226	>	93	226 > 77
19	シメコナゾール	294	>	70	294 > 73
20	ジメチリモール	210	>	71	210 > 140
21	ジメトモルフE	388	>	301	388 > 165
22	ジメトモルフZ	388	>	301	388 > 165
23	スピノシンA	732	>	142	732 > 98
24	スピノシンD	746	>	142	746 > 98
25	ダイアレート	270	>	86	270 > 109
26	チアクロプリド	253	>	126	253 > 128
27	チアベンダゾール	202	>	175	202 > 131
28	テブチウロン	229	>	172	229 > 116
29	テフルベンズロン	381	>	158	381 > 141
30	トリチコナゾール	318	>	70	318 > 70
31	トリフルムロン	359	>	156	359 > 139
32	ナプロアニリド	292	>	171	292 > 120
33	ノバルロン	493	>	158	493 > 141
34	ピラゾリネート	439	>	91	439 > 173
35	ピリフタリド	319	>	139	319 > 93
36	ピリミカルブ	239	>	72	239 > 182
37	フェノキシカルブ	302	>	88	302 > 116
38	フェリムゾン	255	>	91	255 > 132
39	フェンアミドン	312	>	92	312 > 65
40	フェンピロキシメートE	422	>	366	422 > 135
41	フェンピロキシメートZ	422	>	366	422 > 135
42	フェンメディファム	301	>	136	301 > 168
43	フルフェノクスロン	489	>	158	489 > 141
44	フルリドン	330	>	310	330 > 259
45	ヘキシチアゾクス	353	>	228	353 > 168
46	ベンゾフェナップ	431	>	105	431 > 119
47	ルフェヌロン	511	>	158	511 > 141

2.6 評価の方法

実験者1名が2併行5日間実施する枝分かれ試験計画に基づき、添加濃度0.1ppm及び0.01ppmの2濃度で添加回収試験を行った。ガイドラインに示された目標に従い、定量限界、選択性、真度、精度を評価した。

3 結果及び考察

3.1 定量限界

添加濃度0.01ppm相当の10ng/mL混合標準液をMRM測定したところ、すべての農薬でピーク面積のS/N比10以上が得られた。

3.2 選択性

ブランク試料から試験溶液を測定し、定量を妨害するピークの有無を確認した。5農産物ともに、定量を妨害するピークはなかった。

3.3 真度

真度の結果を表3に示す。真度の目標値(70~120%)を両添加濃度で満たす農薬は、ばれいしよで83種類、キャバツで86種類、ほうれんそうで82種類、オレンジで52種類、りんごで79種類であった。オレンジで目標値を満たした農薬数が他の農産物に比べて少なかったのは、イオン化抑制の影響⁵⁾と考えられる。

3.4 精度

精度の結果を表4に示す。併行精度は、5農産物とも、ほとんどの農薬で目標値を満たす良好な結果が得られた。一方、室内精度では、オレンジ以外の農作物では、9割以上の農薬で目標値を満たしたものの、オレンジでは、3割の農薬が目標値を満たさなかった。

3.5 妥当性評価結果

妥当性評価の結果、両添加濃度で真度及び精度のガイドラインの目標値を全て満たした農薬をA、0.01ppm添加時のみ目標値を満たした農薬をB、0.1ppm添加時のみ目標値を満たした農薬をC、両濃度とも目標値を満たさなかった農薬をD、定量限界又は選択性が許容範囲外の農薬をEに分類した。各農産物別の集計結果を表5に、農産物別の詳細結果を表6-1～表6-3に示す。目標値を全て満たしたAの農薬は、ばれいしょ80種類、キャベツ83種類、ほうれんそう77種類、オレンジ46種類、りんご75種類であった。野菜3農産物ともにAであった農薬は63種類、

果実2農産物ともにAであった農薬は35種類で、5農産物ともにAであった農薬は25種類であった。

3.6 県内流通農産物の残留農薬の状況

平成25～27年度に、県内で販売されていた野菜326検体及び果実78検体、合計404検体について本法を用いて検査を行った。野菜は、妥当性評価の結果、野菜3農産物で目標値を満たした63種類の農薬を検査した。果実は、果実2農産物で目標値を満たした35種類の農薬を検査した。検査の結果、野菜22検体、果実11検体の33検体から農薬が延べ37種類検出された。検出された農薬は全て基準値以下であった。最も高濃度で検出された農薬は、野菜ではトマトからボスカリド0.18ppm（基準5ppm）、果実ではぶどうからシアゾファミド0.18ppm（基準10ppm）であった。いずれかの農薬を検出した割合は、野菜は6.7%、果実は14.1%であった。

表3 真度結果

真度 (%)	ばれいしょ		キャベツ		ほうれんそう		オレンジ		りんご	
	0.01ppm	0.1ppm								
<50	2	1	2	0	1	0	17	10	0	0
50-70	6	1	5	4	10	3	22	17	11	0
70-120	83	90	86	89	82	90	53	66	79	92
120-150	2	0	0	0	0	0	1	0	2	0
150<	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1

添加濃度0.1ppm及び0.01ppmにおける目標値 真度:70-120%

表4 精度の目標値を満たした農薬数

精度	ばれいしょ	キャベツ	ほうれんそう	オレンジ	りんご
併行精度	85	92	92	86	88
室内精度	82	86	80	65	86

添加濃度0.1ppm目標値 併行精度:RSD%<15, 室内精度:RSD%<20

添加濃度0.01ppm目標値 併行精度:RSD%<25, 室内精度:RSD%<30

表5 妥当性評価結果まとめ

グループ	農薬数							5種まとめ
	判定		ばれいしょ	キャベツ	ほうれんそう	オレンジ	りんご	
	0.01ppm	0.1ppm						
A	○	○	80	83	77	46	75	25
B	○	×	1	0	3	2	0	2
C	×	○	8	5	6	14	17	27
D	×	×	4	5	7	31	1	39
E	定量限界, 選択性 ×		0	0	0	0	0	0

表6-1 農産物別の評価結果

農薬名	評価	ばれいしょ						キャベツ						
		0.01ppm			0.1ppm			0.01ppm			0.1ppm			
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	
1 アザフェニジン	A	95	4	10	91	4	4	A	96	8	17	90	3	8
2 アザメチホス	D	62	18	18	62	16	22	C	68	9	9	72	5	5
3 アシベンゾラル-S-メチル	A	92	10	20	83	4	6	A	80	9	9	79	8	13
4 アジンホスメチル	B	91	11	16	95	6	25	C	85	19	43	92	6	13
5 アゾキシストロビン	A	95	4	4	94	1	2	A	90	8	11	93	1	3
6 アニロホス	A	91	4	4	95	1	3	A	86	8	8	91	3	4
7 アラマイト	A	89	6	11	98	3	6	A	92	8	8	93	3	6
8 アルジカルブ	A	92	8	13	86	4	6	A	83	5	19	91	4	9
9 アルドキシカルブ	A	82	7	14	98	5	20	A	86	5	8	85	6	6
10 イソキサフルトール	C	134	11	82	89	4	7	A	77	9	9	80	2	6
11 イプロバリカルブ	A	93	3	6	94	1	2	A	89	6	8	90	2	3
12 イマザリル	A	76	4	13	83	4	6	D	60	9	38	69	3	32
13 イミダクロプリド	A	91	10	18	91	2	6	A	75	23	23	82	3	10
14 インダノファン	A	97	5	9	93	3	5	A	79	7	10	90	3	6
15 インドキサカルブ	A	100	5	22	94	4	6	A	95	13	17	88	3	5
16 エボキシコナゾール	A	92	2	12	94	2	2	A	82	5	10	87	2	6
17 オキサジクロメホン	A	94	4	7	93	2	4	A	90	4	12	92	2	4
18 オキサミル	A	85	5	8	87	2	4	A	80	9	9	87	3	6
19 オキサカルボキシ	A	80	2	5	84	2	6	C	63	4	18	72	3	17
20 オリザリル	A	90	17	23	91	3	6	C	98	23	48	86	6	14
21 カルバリル	A	93	5	7	93	2	4	A	88	7	10	91	2	4
22 カルプロバミド	A	98	3	5	97	1	4	A	80	10	12	91	1	4
23 カルボフラン	A	93	4	7	95	3	4	A	92	4	7	93	1	3
24 キザロホップエチル	A	75	16	24	85	4	5	A	85	7	8	90	2	4
25 クミルロン	A	93	5	7	93	2	4	A	82	7	12	89	2	8
26 クロキントセツメキシル	A	95	3	5	95	2	3	A	83	3	9	91	2	4
27 クロチアニジン	A	91	11	16	88	4	7	D	58	27	30	70	5	25
28 クロフェンテジン	D	39	14	24	48	11	16	A	81	5	5	87	2	5
29 クロマフェノジド	A	88	6	11	96	3	4	A	84	10	11	90	2	4
30 クロメフロップ	A	85	11	26	95	5	6	A	77	5	14	90	2	6
31 クロリダゾン	A	92	5	9	95	2	4	A	92	7	11	91	3	3
32 クロロクスロン	A	91	6	11	91	2	2	A	86	7	7	91	2	6
33 シアゾファמיד	A	88	6	7	89	2	4	A	77	8	10	85	3	6
34 ジウロン	A	92	5	13	91	2	3	A	87	4	10	89	2	6
35 シクロエート	A	84	9	28	79	10	10	A	81	23	23	80	7	10
36 シルフェナミド	A	96	4	6	95	1	3	A	81	4	9	86	2	6
37 ジフルベンズロン	A	88	3	8	93	4	6	A	81	5	10	87	3	5
38 シプロジニル	C	74	33	47	94	3	3	A	100	14	14	93	2	3
39 シメナゾール	A	87	5	11	93	4	4	A	74	9	17	87	3	5
40 ジメチリモール	C	59	46	63	86	4	5	D	49	8	88	57	6	62
41 ジメトモルフェ	A	86	8	11	86	3	5	A	79	7	14	85	3	4
42 ジメトモルフZ	A	101	7	10	103	2	5	A	84	10	10	90	3	6
43 シラフルオフェン	A	103	13	15	98	11	20	A	80	8	24	88	6	13
44 スピノシンA	A	87	4	7	92	3	4	A	72	8	14	84	2	13
45 スピノシンD	A	86	5	6	92	2	4	A	76	5	17	80	2	14
46 ダイアレート	A	92	7	20	87	5	5	A	81	12	12	81	5	9
47 ダイムロン	A	92	4	5	94	2	2	A	84	7	8	90	2	2
48 チアクロプリド	A	91	5	10	93	3	3	A	82	6	6	89	1	3
49 チアベンダゾール	C	62	35	43	87	3	3	A	87	13	17	84	3	6
50 チアトキササム	A	76	8	15	84	5	6	D	45	18	38	62	7	30
51 チオジカルブ及びメソミル	A	93	6	14	90	3	3	A	86	6	8	87	3	4
52 テトラクロロピホス	A	92	3	8	93	3	4	A	88	3	14	93	1	3
53 テブチウロン	A	89	2	4	92	1	2	A	88	3	5	92	1	4
54 テブフェノジド	A	90	5	8	98	10	10	A	86	8	8	94	2	11
55 テルベンズロン	A	91	5	20	92	5	7	A	70	13	16	84	4	7
56 トラルコキシジム	D	142	18	72	1037	24	202	A	74	11	14	100	3	15
57 トリチオナゾール	A	87	10	13	93	2	4	A	74	13	13	86	5	5
58 トリフルムロン	A	91	7	7	94	2	3	A	75	5	15	83	2	12
59 ナプロアニリド	A	88	2	5	95	2	2	A	85	4	7	89	2	4
60 ノバルロン	A	86	6	9	94	3	7	A	78	8	8	83	2	6
61 ピラクロストロビン	A	96	4	9	93	3	3	A	90	5	8	92	2	6
62 ピラゾリネート	D	0	0	0	77	14	22	D	60	14	15	65	4	4
63 ピリフタリド	A	95	1	7	96	2	4	A	89	6	6	91	2	5
64 ビリミカルブ	A	90	3	7	92	3	3	A	84	5	17	89	3	8
65 フェキサプロップエチル	C	62	23	44	82	7	8	A	85	5	7	90	1	5
66 フェノキシカルブ	A	91	7	9	93	3	3	A	86	6	10	90	4	4
67 フェノプカルブ	A	95	10	15	92	2	5	A	83	5	11	91	2	5
68 フェリムゾン	C	60	6	27	84	4	4	A	82	3	12	88	1	5
69 フェンアミドン	A	88	5	11	92	2	4	A	83	10	10	89	1	4
70 フェンピロキシメートE	A	78	7	18	94	3	5	A	84	5	6	87	3	5
71 フェンピロキシメートZ	A	92	2	6	94	2	4	A	78	6	7	86	1	4
72 フェンメデフィアム	A	98	5	11	94	4	8	A	109	7	18	93	2	5
73 フタフェナシル	A	91	6	9	94	2	4	A	80	10	10	91	2	6
74 フラチオカルブ	A	92	2	5	93	3	5	A	85	9	9	88	2	5
75 フラメトビル	A	93	4	7	94	2	2	A	86	5	5	90	2	5
76 フルフェナセット	A	94	3	8	94	2	4	A	82	3	8	91	2	5
77 フルフェノクスロン	A	96	5	19	91	3	3	A	83	8	12	89	3	6
78 フルリドン	A	92	3	7	93	4	5	A	90	5	7	92	3	4
79 フロバキサホップ	C	55	27	60	76	10	11	A	83	8	8	85	3	7
80 ヘキサフルムロン	A	91	6	14	98	6	7	C	83	20	40	79	5	6
81 ヘキシチアゾクス	A	93	7	12	92	2	3	A	86	6	10	87	2	5
82 ベンジクロン	A	93	5	7	94	2	2	A	84	3	7	88	2	4
83 ベンゾフェナップ	A	89	4	7	94	1	3	A	87	6	11	89	2	5
84 ベンダイオカルブ	A	85	3	5	93	4	5	A	86	10	10	91	3	5
85 ボスカリド	A	86	9	9	91	2	3	A	75	13	14	86	4	4
86 メタベンズチアズロン	A	95	4	8	95	4	4	A	86	9	12	92	2	5
87 メチオカルブ	A	91	4	9	93	2	3	A	91	7	10	92	2	2
88 メトキシフェノジド	A	86	9	11	97	4	11	A	78	13	13	86	3	5
89 メニピリム	C	84	33	33	92	3	4	A	88	7	16	90	2	4
90 モノリニユロン	A	94	5	9	94	2	4	A	92	10	13	89	2	3
91 ラクトフェン	A	86	7	14	91	3	5	A	78	15	20	85	2	4
92 リヌロン	A	94	14	14	92	4	4	A	90	16	16	92	2	7
93 ルフェヌロン	A	90	7	11	95	2	4	A	77	14	21	81	4	10
妥当性評価目標値		70-120	<25	<30	70-120	<15	<20		70-120	<25	<30	70-120	<15	<20

表6-2 農産物別の評価結果

農薬名	評価	ほうれんそう						オレンジ						
		0.01ppm			0.1ppm			0.01ppm			0.1ppm			
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	
1 アザフェニジン	A	83	14	14	86	2	8	A	74	7	11	83	4	5
2 アザメチホス	A	71	5	6	70	5	8	D	61	5	11	66	4	7
3 アシベンゾラール-S-メチル	A	78	16	23	84	7	9	A	104	10	20	88	3	8
4 アジンホスメチル	C	69	7	26	89	8	10	D	56	16	26	73	6	22
5 アゾキシストロビン	A	87	7	13	90	3	6	D	55	5	13	64	5	19
6 アニコロホス	A	88	6	6	88	2	7	C	63	7	7	74	4	4
7 アラマイト	A	88	4	9	87	2	8	A	77	7	10	87	3	3
8 アルジカルブ	D	67	11	32	71	7	29	A	87	10	29	81	8	20
9 アルドキシカルブ	A	79	9	12	80	8	10	A	79	11	21	81	9	13
10 イソキサフルトール	A	81	7	20	79	4	14	A	85	7	28	80	2	7
11 イプロバリカルブ	A	88	3	3	89	2	8	D	25	5	34	38	4	15
12 イマザリル	C	62	14	30	74	6	25	D	59	6	48	59	4	68
13 イミダクロプリド	A	79	14	18	88	4	8	C	62	9	42	81	6	14
14 インダノファン	A	82	9	21	85	1	6	C	64	15	26	77	2	8
15 インドキサカルブ	A	90	7	23	82	4	13	A	80	18	19	87	4	6
16 エボキシコナゾール	A	84	7	9	86	3	5	C	58	6	26	73	3	6
17 オキサジクロメホン	A	87	7	9	88	2	9	A	86	5	12	88	2	5
18 オキサミル	A	87	6	12	84	2	4	A	80	10	10	80	5	8
19 オキシカルボキシシン	A	73	7	11	81	3	3	A	80	16	18	88	5	15
20 オリザリル	A	118	21	21	87	6	9	A	75	19	21	85	6	11
21 カルバリル	A	91	9	12	87	4	8	A	89	8	8	90	5	8
22 カルプロバミド	A	84	9	12	86	2	8	C	68	8	8	78	3	4
23 カルボフラン*2	A	108	6	11	102	3	6	A	87	6	9	90	2	5
24 キザロホップエチル	A	83	9	17	88	4	9	A	80	5	12	83	2	4
25 クミルロン	A	87	6	6	89	3	7	D	14	11	101	32	7	45
26 クロキントセットメキシル	A	72	5	27	81	3	17	A	76	3	8	88	3	4
27 クロチアニジン	A	75	12	15	85	6	14	D	55	18	45	65	6	32
28 クロフェンテジン	A	95	15	15	79	5	10	D	38	33	45	58	7	12
29 クロマフェノジド	A	84	5	10	89	5	7	D	21	18	78	41	5	29
30 クロメプロップ	A	78	8	9	87	3	10	A	83	7	10	85	4	4
31 クロリダゾン	A	95	8	8	84	3	7	B	81	16	19	91	21	21
32 クロロクサロン	A	84	8	17	88	2	4	D	30	9	45	43	3	10
33 シアゾファミド	A	80	6	10	85	3	4	A	76	5	22	76	4	12
34 ジウロン	A	88	7	7	90	2	6	C	115	4	43	89	4	7
35 シクロエート	A	101	16	30	78	8	13	C	69	12	12	78	5	10
36 シフルフェナミド	A	93	7	7	86	3	5	A	73	6	16	85	3	6
37 ジフルベンスロン	A	80	6	11	86	2	6	D	41	9	17	56	2	4
38 シプロジニル	A	92	19	19	91	2	4	A	94	21	21	89	2	4
39 シメコナゾール	A	77	5	10	87	1	4	D	42	16	64	64	4	25
40 ジメチリモール	D	49	9	32	57	5	18	C	62	5	24	71	3	12
41 ジメトモルF-E	A	79	5	17	81	7	13	D	58	9	24	67	5	19
42 ジメトモルF-Z	A	94	5	5	92	3	6	C	143	12	19	77	3	8
43 シラフルオフェン	D	87	19	34	99	10	46	D	82	16	42	94	22	28
44 スピノシンA	C	68	5	33	76	2	9	A	75	8	18	78	4	10
45 スピノシンD	C	64	7	44	71	4	14	A	73	10	16	77	4	8
46 ダイアレート	A	79	11	13	90	7	11	C	77	35	35	83	7	9
47 ダイムロン	A	83	5	15	88	3	7	D	27	13	80	37	6	73
48 チアクロプリド	A	80	15	15	89	3	9	A	76	8	8	82	8	8
49 チアベンダゾール	A	84	3	15	84	4	5	A	80	5	11	85	3	6
50 チアトキササム	A	70	11	18	80	4	8	C	66	11	25	81	4	10
51 チオジカルブ及びメソミル	A	98	5	6	92	4	13	A	78	6	13	86	2	5
52 テトラクロロピルホス	A	88	10	15	89	2	3	A	74	6	27	74	3	18
53 テブチウロン	A	83	5	14	87	2	7	A	72	2	12	80	1	17
54 テブフェノジド	A	90	6	19	85	10	10	D	44	21	40	48	9	12
55 テルベンズロン	D	67	20	28	80	11	22	A	85	14	19	86	5	5
56 トラルコキシジム	B	71	13	17	81	8	22	D	21	37	116	35	28	79
57 トリチオナゾール	A	74	5	23	86	3	7	D	28	17	100	55	4	31
58 トリフルムロン	A	84	10	10	87	3	4	A	74	8	15	83	3	6
59 ナプロアニリド	A	83	7	11	87	2	5	D	35	13	14	49	1	23
60 ノバルロン	A	74	10	22	75	4	13	A	78	5	21	81	2	7
61 ビラクロストロビン	A	88	7	8	89	2	8	A	83	7	16	90	1	5
62 ビラゾリネート	D	62	7	20	66	3	9	D	58	3	13	59	4	12
63 ビリフタリド	A	87	8	12	90	2	6	D	74	28	28	82	19	19
64 ビリミカルブ	A	83	5	12	86	3	6	A	93	4	19	98	4	10
65 フェノキサプロップエチル	A	84	10	15	88	2	8	A	82	7	7	88	1	3
66 フェノキシカルブ	A	84	4	6	89	2	5	D	54	5	65	62	3	32
67 フェノプロカルブ	A	84	6	10	89	4	9	A	79	9	16	84	5	7
68 フェリムゾン	A	85	4	12	86	1	7	D	49	4	35	69	3	12
69 フェンアミドン	A	83	6	10	90	1	4	D	48	8	48	66	4	22
70 フェンピロキシメートE	C	69	7	16	74	3	11	A	83	5	10	87	3	5
71 フェンピロキシメートZ	D	59	15	60	66	6	38	A	74	4	19	81	4	7
72 フェンメチファム	B	105	19	28	106	12	23	C	95	9	36	93	4	17
73 フタフェナシル	A	88	8	11	89	2	6	D	27	18	63	46	2	14
74 フラチオカルブ	A	77	13	19	72	6	20	A	87	6	9	88	4	6
75 フラトビル	A	86	4	11	89	4	9	C	69	5	13	77	3	9
76 フルフェナセット	A	89	5	12	89	2	5	D	61	5	37	72	3	23
77 フルフェノクスロン	B	72	8	28	85	20	30	A	73	6	20	80	3	11
78 フルリドン	A	84	7	17	89	4	5	B	73	21	21	82	22	22
79 プロバキサホップ	A	82	7	16	89	3	4	A	83	11	15	87	3	9
80 ヘキサフルムロン	A	74	15	22	82	4	9	C	69	11	19	80	2	12
81 ヘキシチアゾクス	D	76	14	37	78	14	31	A	77	8	23	79	4	10
82 ベンシクロン	A	77	6	18	81	1	10	A	80	4	5	86	3	3
83 ベンゾフェナップ	A	78	5	14	83	2	8	A	77	6	10	83	3	4
84 ベンダイオカルブ	A	84	5	13	92	7	7	A	82	11	18	91	1	5
85 ボスカリド	A	91	9	10	89	3	8	D	53	10	29	68	2	5
86 メタベンズチアズロン	A	91	2	7	88	1	8	D	55	7	29	64	2	24
87 メチオカルブ	A	88	4	11	90	1	8	A	74	5	19	82	4	13
88 メトキシフェノジド	A	89	8	18	86	10	18	D	29	17	95	38	4	87
89 メバニピリム	A	85	8	9	86	3	7	D	52	9	21	64	3	12
90 モリニューロン	A	88	9	10	90	5	8	A	87	4	5	91	3	3
91 ラクトフェン	A	84	14	14	84	2	9	A	79	7	21	81	2	12
92 リヌロン	A	90	8	14	91	4	9	D	38	21	23	64	11	11
93 ルフェヌロン	C	70	10	60	76	10	20	A	74	7	27	84	2	5

妥当性評価目標値

70-120 <25 <30 70-120 <15 <20 70-120 <25 <30 70-120 <15 <20

表6-3 農産物別の評価結果

農薬名	評価	りんご					
		0.01ppm			0.1ppm		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1 アザフェニジン	A	90	17	19	104	8	8
2 アザメチホス	A	80	13	14	83	10	13
3 アシベンゾラル-S-メチル	A	103	20	20	102	4	10
4 アジンホスメチル	A	108	14	14	89	3	5
5 アゾキシストロピン	A	92	6	7	102	5	5
6 アニロホス	A	95	4	4	100	4	4
7 アラマイト	A	77	12	12	84	5	5
8 アルジカルブ	A	90	7	13	86	7	8
9 アルドキシカルブ	C	68	32	32	92	13	13
10 イソキサフルトール	A	73	6	10	83	5	8
11 イプロバリカルブ	A	92	5	5	97	3	3
12 イマザリル	A	85	17	23	99	7	8
13 イミダクロプリド	C	58	15	27	102	8	12
14 インドナファン	A	107	11	11	97	5	5
15 インドキサカルブ	C	68	6	19	80	7	8
16 エボキシコナゾール	A	81	9	10	98	4	7
17 オキサジクロメホン	A	98	6	6	98	4	4
18 オキサミル	A	82	15	15	92	4	4
19 オキシカルボキシシン	C	71	33	36	102	12	18
20 オリザリン	C	127	31	34	113	14	14
21 カルバリル	A	98	4	8	100	6	7
22 カルプロバミド	A	94	7	7	92	4	4
23 カルボフラン	A	97	7	11	101	6	6
24 キザロホップエチル	C	68	16	17	80	7	9
25 クミルロン	A	98	4	8	96	5	6
26 クロキントセットメキシル	A	98	4	6	100	4	4
27 クロチアニジン	C	82	27	38	105	14	15
28 クロフェンテジン	A	87	12	12	85	7	10
29 クロマフェノジド	A	85	4	8	93	4	4
30 クロメプロップ	C	68	10	22	71	6	9
31 クロリダズン	C	114	22	31	86	12	12
32 クロロクスロン	A	87	10	11	110	8	10
33 シアゾファミド	A	90	7	8	87	2	3
34 ジウロン	A	102	16	16	100	5	10
35 シクロエート	C	81	49	49	95	8	8
36 シフルフェナミド	A	85	4	7	92	5	5
37 ジフルベンスロン	A	95	9	18	93	4	7
38 シプロジニル	A	90	16	16	112	4	7
39 シメコナゾール	A	93	8	9	102	9	9
40 ジメチリモール	C	66	13	30	82	7	9
41 ジメトモルFE	A	71	11	17	112	7	8
42 ジメトモルFZ	A	106	14	14	113	5	9
43 シラフルオフエン	A	87	21	21	101	4	5
44 スピノシンA	C	64	15	15	84	4	6
45 スピノシンD	C	65	14	14	87	5	7
46 ダイアレト	A	99	18	18	98	11	11
47 ダイムロン	A	86	6	10	95	4	6
48 チアクロプリド	A	97	15	22	102	10	10
49 チアベンダゾール	C	66	16	22	95	5	7
50 チアマトキサム	A	82	14	15	86	2	4
51 チオジカルブ及びメソミル	A	83	7	7	98	5	5
52 テトラクロロピソホス	A	95	5	7	96	4	4
53 テブチウロン	A	93	14	17	109	10	11
54 テブフェノジド	A	102	6	6	98	5	5
55 テフルベンスロン	A	84	14	19	95	6	7
56 トラルコキシジム	D	290	14	73	187	7	76
57 トリチコナゾール	A	83	22	27	94	3	5
58 トリフルムロン	A	92	10	10	99	4	6
59 ナプロアニリド	A	92	11	15	98	4	7
60 ノバルロン	A	72	17	17	96	7	7
61 ピラクロストロピン	A	101	7	8	101	6	6
62 ピラゾリネート	A	70	8	10	81	7	9
63 ピリフタリド	A	104	14	16	96	5	8
64 ピリミカルブ	A	106	10	10	109	9	10
65 フェノキサプロップエチル	A	95	8	9	94	3	4
66 フェノキシカルブ	A	92	11	14	95	3	5
67 フェノフカルブ	A	88	8	8	95	4	4
68 フェリムゾン	A	72	13	19	100	5	8
69 フェンアミド	A	88	13	15	120	3	6
70 フェンピロキシメートE	A	86	9	9	96	3	5
71 フェンピロキシメートZ	A	80	14	14	102	1	6
72 フェンメディファム	C	134	4	10	119	5	5
73 フタフェナシル	A	99	10	10	93	5	7
74 フラチオカルブ	A	81	7	9	84	4	5
75 フラメトビル	A	92	7	9	93	3	4
76 フルフェナセット	A	106	5	8	101	4	4
77 フルフェノクスロン	A	73	13	13	90	3	5
78 フルリドン	A	95	14	16	107	4	6
79 プロバキサホップ	C	67	14	18	81	5	7
80 ヘキサフルムロン	A	83	15	15	85	7	7
81 ヘキシチアゾクス	A	73	10	10	91	3	5
82 ベンシクロン	A	85	4	8	91	3	4
83 ベンゾフェナップ	A	92	7	13	98	3	6
84 ベンダイオカルブ	A	96	10	12	93	4	5
85 ポスカリド	A	97	8	8	94	4	4
86 メタベンスチアズロン	A	95	5	6	98	3	3
87 メチオカルブ	A	88	7	7	94	5	5
88 メトキシフェノジド	A	99	10	10	99	3	3
89 メバニビリム	A	98	8	8	96	4	4
90 モノリニユロン	A	102	6	6	97	6	6
91 ラクトフェン	C	56	22	22	76	6	9
92 リヌロン	A	90	4	12	90	5	5
93 ルフェヌロン	A	96	12	15	106	5	6
妥当性評価目標値		70-120	<25	<30	70-120	<15	<20

4 まとめ

LC-MS/MSを用いた野菜及び果実中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価を、野菜（ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう）、果実（オレンジ、りんご）を用いて、厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに従って実施した。

90種類の農薬のうち、野菜全てで妥当性評価の目標を満たしたのは63種類、果実全てで満たしたのは35種類、5農産物とも満たしたのは25種類であった。

野菜及び果実404検体（平成25～27年度）の検査を行い、33検体から延べ37種類の農薬が検出されたが、全て基準値以下であった。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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について、食安発第0124001号，平成17年1月24日，2005
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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について、食安発第1115001号，平成19年11月15日，2007
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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、食安発1224第1号，平成22年12月24日，2010
- 4) 難波順子，浅田幸男，赤木正章，北村雅美，肥塚加奈江：GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価（第1報），岡山県環境保健センター年報，38，69-81，2014
- 5) 山辺真一，肥塚加奈江，山本 淳，田邊英子，今中雅章：LC/MS/MSによる柑橘類中の残留農薬測定におけるイオン化抑制，岡山県環境保健センター年報，30，123-126，2006

【資料】

指定おもちゃに使用される可塑剤の使用実態について (平成27年度)

Survey of plasticizers used in designated toys
(FY2015)

北村雅美, 吉岡敏行, 浅田幸男, 難波順子, 赤木正章, 中尾美江* (衛生化学科)
*保健福祉部生活衛生課

Masami Kitamura, Toshiyuki Yoshioka, Yukio Asada, Junko Namba, Masaaki Akaki,
Mie Nakao

(Food and Drug Chemical Research Section)

*Environmental Health Division, Department of Health and Welfare

要 旨

平成 27 年度に試買を実施した指定おもちゃ製品のうち、ポリ塩化ビニル (PVC) 部分についてガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS) による測定を実施した結果、規制フタル酸エステル類の代わりに 6 種類の未規制の可塑剤が検出された。

[キーワード：指定おもちゃ、可塑剤、フタル酸エステル、GC-MS、未規制]

[Key words : Designated toys, Plasticizers, Phthalate, GC-MS, Not regulation]

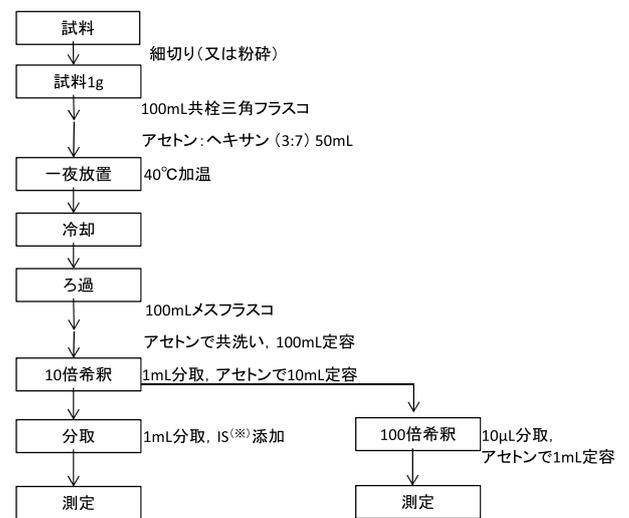
1 はじめに

通常 PVC 製品には、柔軟性と加工性を高めるために可塑剤が使用されており、2015 年には国内で 252 千トンの可塑剤が出荷されている¹⁾。可塑剤には様々な種類があるが、代表的なものは相溶性、可塑性効率、耐久性にバランス良く優れるフタル酸系で、全可塑剤国内出荷量の 8 割を占めている。その他には、耐油性に優れ、食品用ラップに使用されるアジピン酸系、難燃性を持ち、ゴム製品に使用されるリン酸系や、耐熱性、非移行性に優れ電線被覆用等に使用されるトリメリット酸系などがある。食品衛生法では、乳幼児の暴露量が耐容一日摂取量 (TDI) を超える可能性がある²⁾ことから、おもちゃの可塑化された材料部分にフタル酸エステル類 6 種類 (BBP, DBP, DEHP, DIDP, DINP, DNOP) がそれぞれ 0.1% を超えて含有することが禁止されている³⁾。そのため、近年、PVC 製おもちゃの可塑剤として、規制対象外物質の使用実態が指摘されている⁴⁾。岡山県では、乳幼児用おもちゃの試買検査を実施し、フタル酸エステル類等の規格基準の検査を実施しているが、おもちゃの PVC 部分について、規制対象外物質も併せた可塑剤の使用実態が調査から判明したので、報告する。

モードで、代替可塑剤類は SCAN モードで測定し、検出された主要ピークについて、付属のデータベースで検索して物質の推定を行った。次に、推定された標準物質を入手して GC-MS で測定し、物質の同定及び定量を行った。

2.1 試料

平成 27 年度の指定おもちゃの試買検体のうち、PVC の部分を切り取り、試料とした。



<規制フタル酸エステル類>

<代替可塑剤>

(*)IS: internal standard compound の略。内部標準物質のこと。

図1 分析フロー

2 実験方法

図 1 に示す分析フローに従い前処理を実施し、GC-MS を用いて測定した。規制フタル酸エステル類は MS/MS

表1 フタル酸エステル類と代替可塑剤の略称等

	日本語表記	化合物名称	略称
規制フタル酸エステル類	フタル酸ベンジルブチル	Butyl benzyl phthalate	BBP
	フタル酸ジ-n-ブチル	Di-butyl phthalate	DBP
	フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	DEHP
	フタル酸ジイソデシル	Di-isodecyl phthalate	DIDP
	フタル酸ジイソノニル	Di-isononyl phthalate	DINP
	フタル酸ジ-n-オクチル	Di-octyl phthalate	DNOP
未規制のフタル酸エステル代替可塑剤	アセチルクエン酸トリブチル	Acetyl tributyl citrate	ATBC
	アジピン酸ビス-(2-エチルヘキシル)	Bis(2-ethylhexyl)adipate	DEHA
	テレフタル酸ビス-(2-エチルヘキシル)	Bis(2-ethylhexyl)terephthalate	DEHT
	アジピン酸ジイソノニル	Diisononyl adipate	DINA
	1,2-シクロヘキサジカルボン酸ジイソノニルエステル	1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester	DINCH
	2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタジオールジイソブチレート	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	TXIB

2.2 試薬

下記の試薬について、フタル酸エステル類と代替可塑剤の名称と略称を表1に示す。

フタル酸エステル類混合標準液(6種): 関東化学製, フタル酸ジイソノニル: 関東化学製, フタル酸エステル類混合内部標準液(5種): 関東化学製, ATBC: 和光純薬工業製, DEHA: Acros Organics製, DEHT: Acros Organics製, DINA: 東京化成製, DINCH: Matrix Scientific製, TXIB: 和光純薬工業製, アセトン(フタル酸エステル試験用): 関東化学製, ヘキサン(フタル酸エステル試験用): 関東化学製, 無水硫酸ナトリウム(フタル酸エステル試験用): 関東化学製

ATBC, DEHA, DEHT, DINA, DINCH, TXIBの構造を、図2に示す。

2.3 測定条件

2.3.1 GC-MS 定量分析(検出モード: MS/MS)

使用機種 GC: Varian製 450GC, MSD: Varian製

240MS(イオントラップ)

カラム: Agilent製 DB-5MS+DG(0.25mm.i.d. × 30m, 膜厚0.25μm)

キャリアーガス: ヘリウム 1.0mL/min

注入口温度: 250℃, 注入量: 1μL, 注入方法: スプリットレス, パージ開始時間: 2min

昇温条件: 50℃(2min) -20℃/min-320℃(8min), 23.5min

インターフェース温度: 300℃, イオン源温度: 210℃

モニターイオン(表2)

表2 モニターイオン
モニターイオン(検出モード: MS/MS)

略号	保持時間(min)	Precursor ion(m/z)	Product ion(m/z)
BBP	14.54	206	149
DBP	12.66	223	149
DEHP	15.26	279	149
DIDP	17.02	307	149
DINP	16.58	293	149
DNOP	16.08	279	149

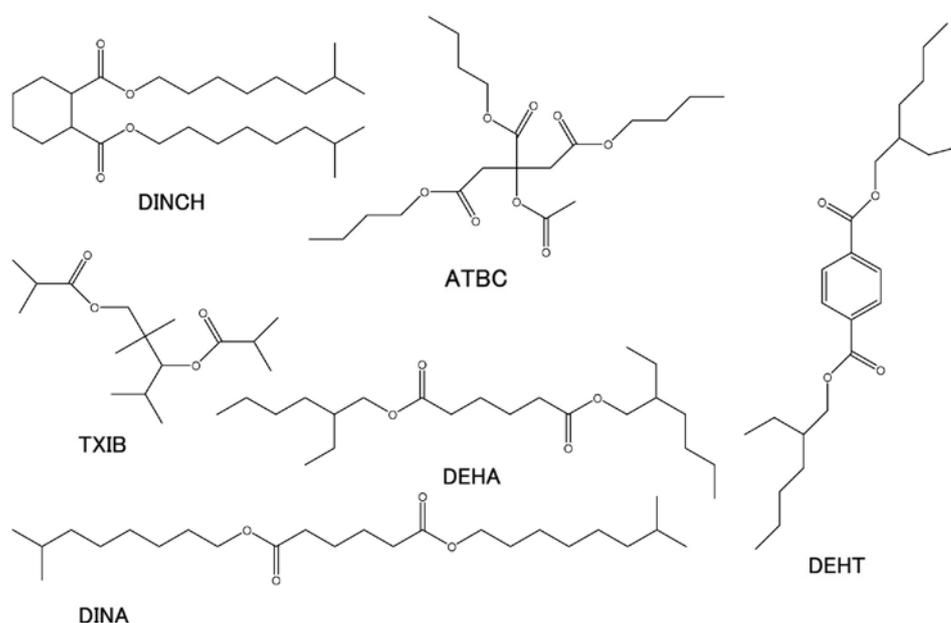


図2 規制フタル酸エステル類代替可塑剤構造式

2.3.2 GC-MS 定性分析 (検出モード: SCAN)

使用機種 GC: Varian 製 450GC, MSD: Varian 製 240MS (イオントラップ)

カラム: Agilent 製 DB-5MS+DG (0.25mmi.d. × 30m, 膜厚 0.25μm)

キャリアーガス: ヘリウム 1.0mL/min

注入口温度: 250℃, 注入量: 1μL, 注入方法: スプリットレス, パージ開始時間: 2min

昇温条件: 50℃ (2min) -20℃ /min-320℃ (8min), 23.5min

インターフェース温度: 300℃, イオン源温度: 210℃

モニターイオン (表 3)

表 3 モニターイオン

モニターイオン (検出モード: SCAN, 50~500m/z)

略号	保持時間 (min)	定量イオン	参照イオン
ATBC	14.54	185	259
DEHA	14.65	129	147,111
DEHT	16.14	149	167,261
DINA	15.26~16.06	129	111,225
DINCH	15.27~16.59	155	71,127
TXIB	10.63	173	243

2.4 検量線

規制対象フタル酸エステル類については、混合標準液 (6種) をアセトンを用いて順次希釈し、0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 μg/mL (内標準 (5種) 濃度は 0.4 μg/mL) の混合標準溶液を調製した。

代替可塑剤類の定量においては、アセトンを用いて各 1000 μg/mL の標準原液を調製し、各標準原液を当量混合し、アセトンを用いて順次希釈し、0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 μg/mL の混合標準溶液を調製した。

なお、規制対象フタル酸エステル類は、内標準法 (BBP: BBD-d₄, DBP: DBP-d₄, DEHP: DEHP-d₄, DIDP: DINP・DNOP: DEHA-d₈) により、代替可塑剤類は絶対検量線法により定量した。検量線を図 3 と図 4 に示す。

3 結果及び考察

平成 27 年度に指定おもちゃについて試買検査を実施した 26 検体のうち、14 検体に PVC 材質が使用されており、これらについて図 1 に示す検査を実施したところ、規

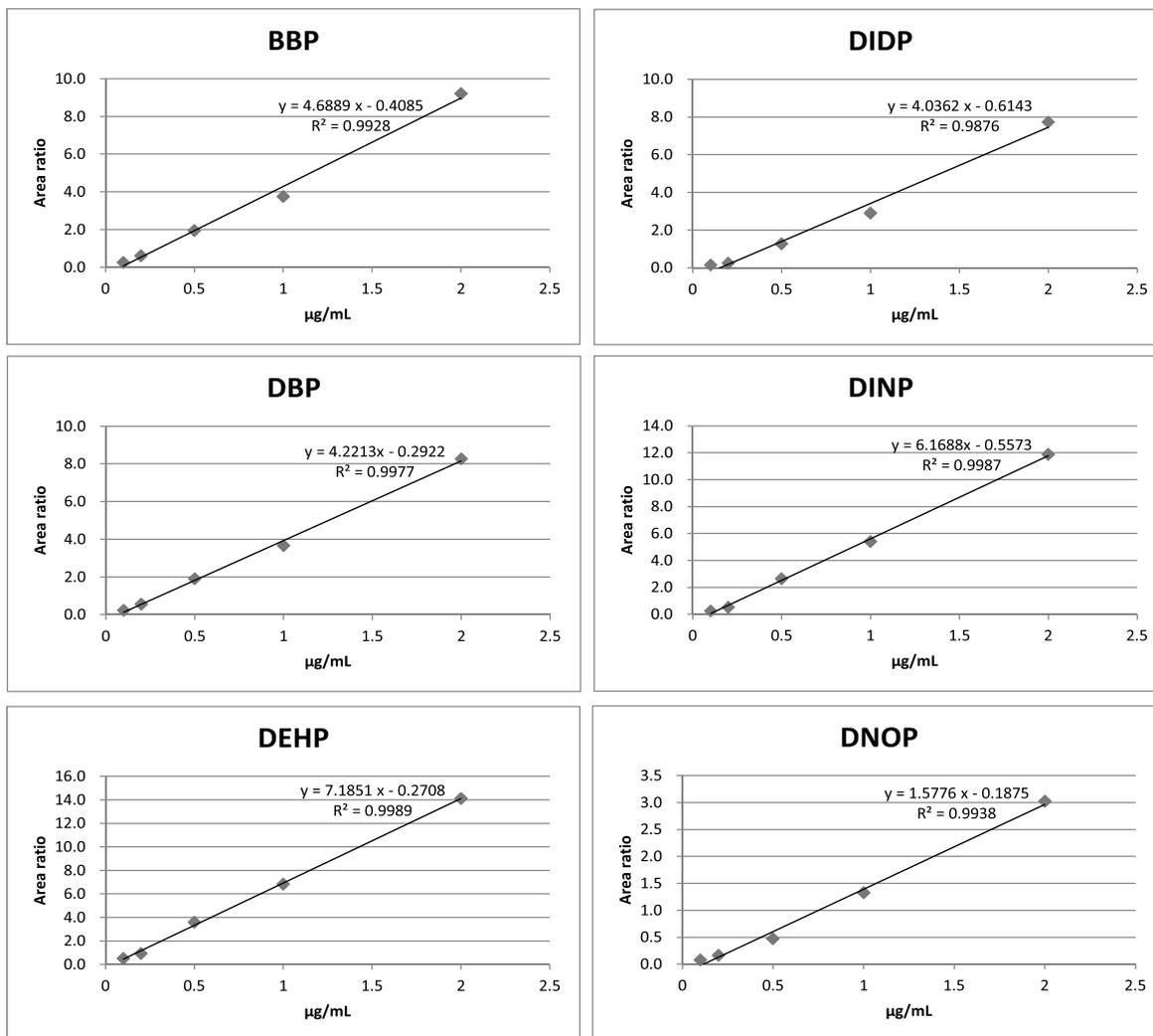


図 3 規制フタル酸エステル類の検量線

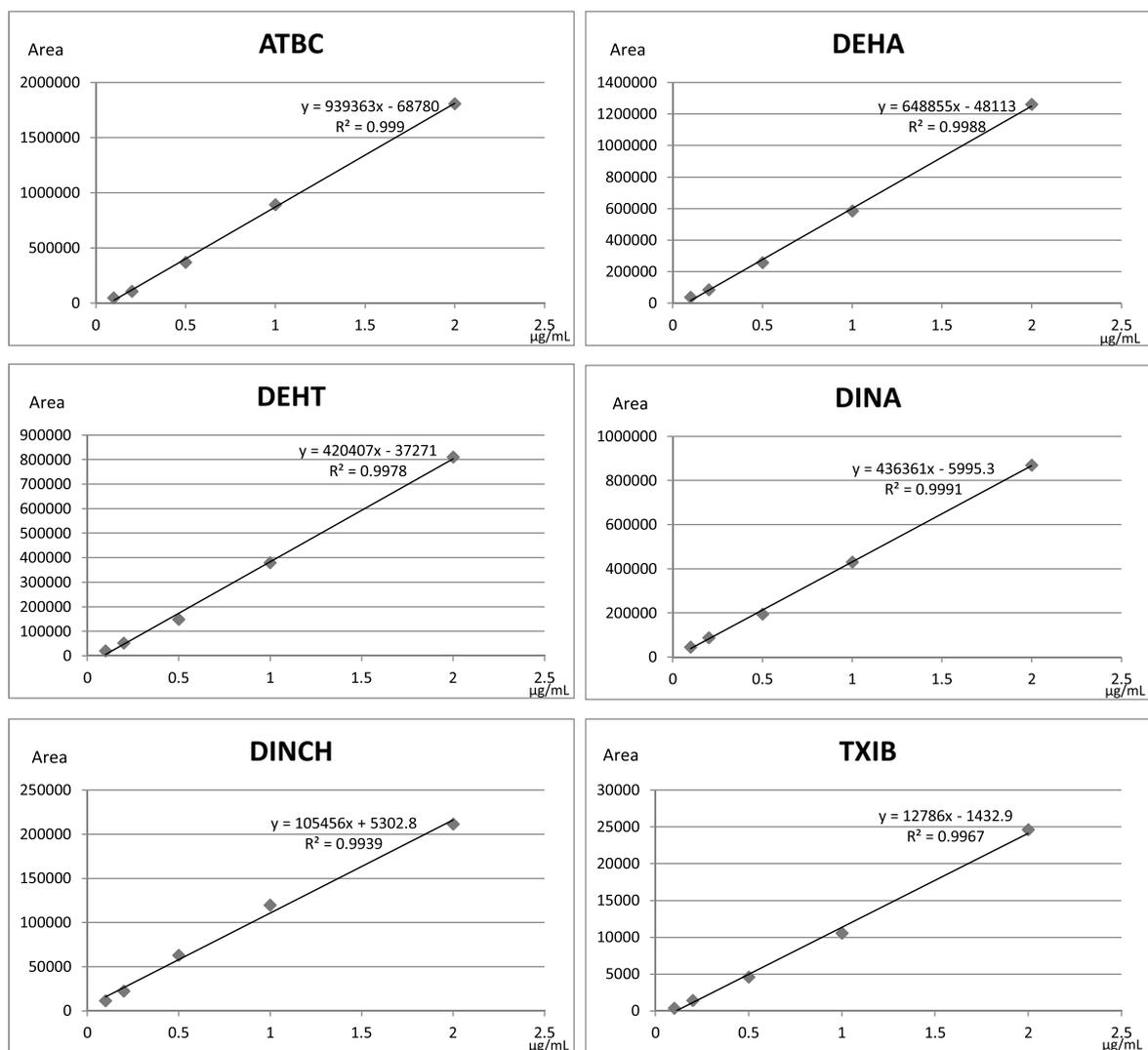


図4 規制フタル酸エステル類代替可塑剤の検量線

制対象フタル酸エステル類はいずれも検出されなかったが、代替可塑剤と推定される6種類の物質が検出された。GC-MS 付属のデータベースで検索した結果、これらの物質は ATBC, DEHA, DEHT, DINA, DINCH, TXIB と推定された。推定された物質について標準品を GC-MS で測定したところ、6物質全てについて、マススペクトルとリテンションタイムが一致したことから、これら6種類の物質と同定された。図5に比較マススペクトルを示す。

また、検体のクロマトグラムの代表的な例を図6に示す。

未規制の6物質のうち、DEHTは、規制対象フタル酸エステル類であるDNOPとリテンションタイムが非常に近接（DEHTは16.14分、DNOPは16.08分）しており、取り違える可能性が高いため、マススペクトルの相違に注意する必要がある。（図7）

検体のPVC部分の6物質の含有濃度を表4に示す。

代替可塑剤の検出頻度は、DINCH, DEHT, ATBC・DEHA, DINA, TXIBの順であった。検体ごとの含有可

塑剤の種類数は、4種類の可塑剤を含有していたのが1検体、3種類含有が2検体、2種類含有が3検体、1種類のみが8検体であった。検出された物質を個別に見ていくと、ATBC, DEHA及びDINAで、10%未満の含有濃度となっている検体（検体1, 2, 9, 11）があった。この場合は、可塑剤としてではなく、品質改良のために微量添加されたか、または工場などで混入したものと推測される⁵⁾。これらの、可塑剤としてではなく、非意図的混入が推測されるもの（検体1のATBC、検体2のATBC及びDEHA、検体9のATBC及びDINA、検体11のDINA）を除くと、今回検出された6物質は、各検体において13～45%検出されている。一般的に、軟質PVCには可塑剤が10～60%程度配合されていることから、今回検出された未規制の6物質が、可塑剤として使用されていた可能性があるかと判断するには妥当な濃度であると考えられる。

今回、指定おもちゃのPVC部分について可塑剤の使用について検査を実施したところ、すべての検体で使用が規

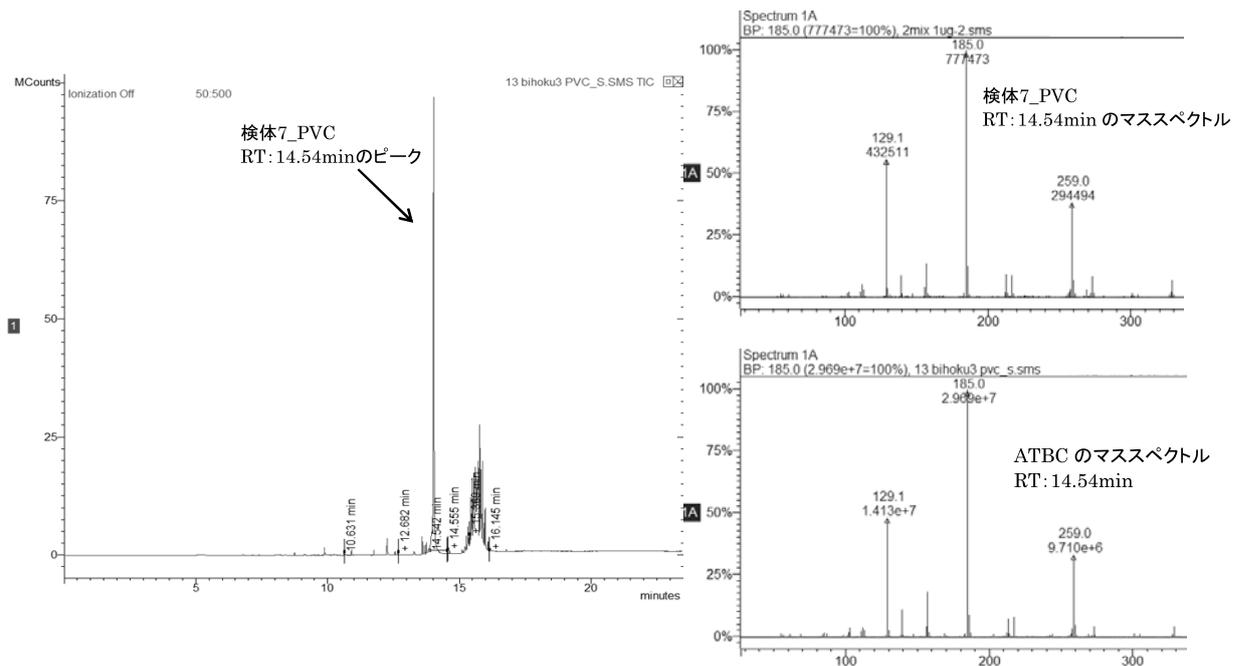


図5 マススペクトル一致例

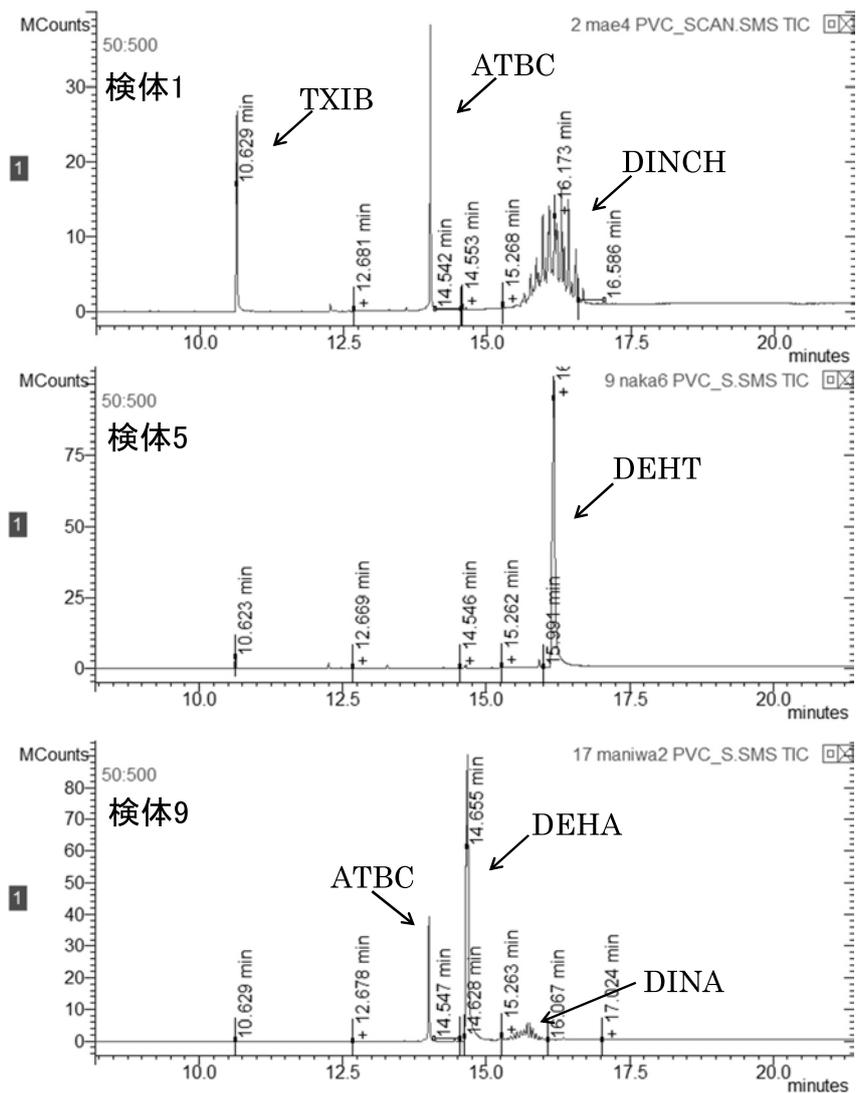


図6 クロマトグラム代表例

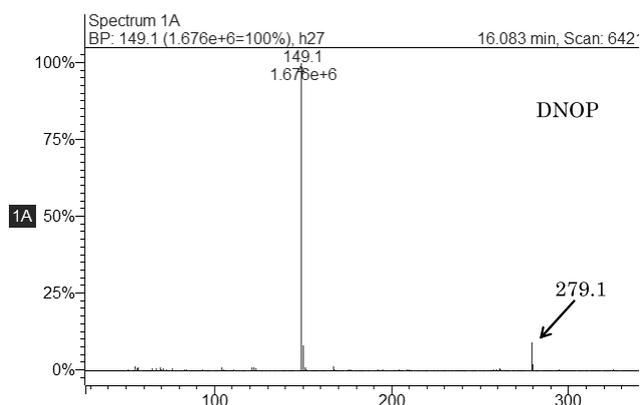
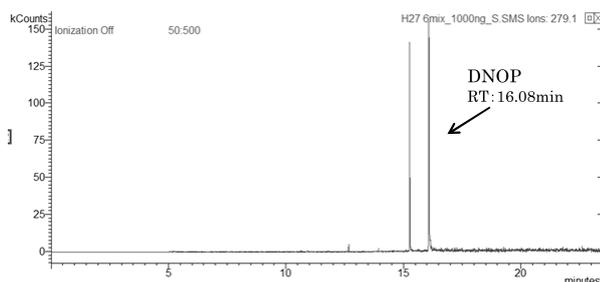
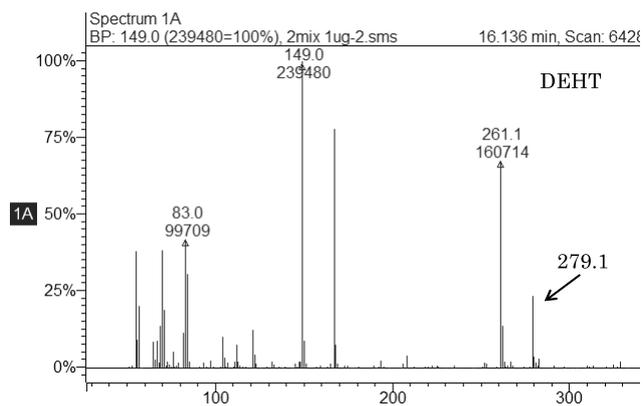
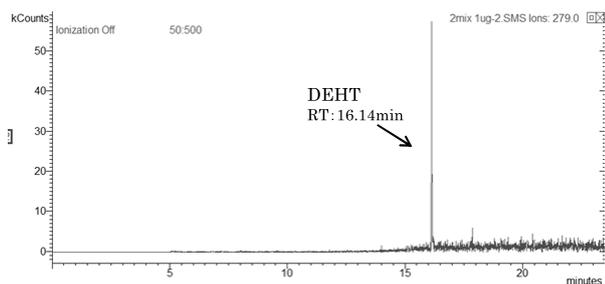


図7 DEHT及びDNOP

表4 可塑剤濃度一覧表

PVC部分の 可塑剤含有量	ATBC (%)	DEHA (%)	DEHT (%)	DINA (%)	DINCH (%)	TXIB (%)
検体1	3.9	<1.0	<1.0	<1.0	16	13
検体2	2.4	5.0	22	<1.0	<1.0	13
検体3	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	45	<1.0
検体4	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	44	<1.0
検体5	<1.0	<1.0	33	<1.0	<1.0	<1.0
検体6	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	45	<1.0
検体7	16	<1.0	<1.0	15	<1.0	<1.0
検体8	<1.0	<1.0	15	<1.0	18	<1.0
検体9	2.4	31	<1.0	1.9	<1.0	<1.0
検体10	<1.0	33	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
検体11	<1.0	35	<1.0	1.6	<1.0	<1.0
検体12	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	40	<1.0
検体13	<1.0	<1.0	38	<1.0	<1.0	<1.0
検体14	<1.0	<1.0	32	<1.0	<1.0	<1.0

制されているフタル酸エステル類は検出されなかったが、可塑剤として使用されていると思われる未規制の物質が検出された。

4 まとめ

平成27年度に指定おもちゃの検査で試買を実施した26

検体のうち、14検体にPVC材質が使用されており、これらについてフタル酸エステル類の検査を実施したが、現在規制されている6種類のフタル酸エステル類(DBP, DEHP, BBP, DIDP, DINP, DNOP)はいずれも検出されなかった。しかし、PVC材質を使用している14検体全てにおいて、規制フタル酸エステル類に代わる6種類の可塑剤(ATBC, DEHA, DEHT, DINA, DINCH, TXIB)

として使用されていると思われる物質が検出された。

規制対象フタル酸エステル類代替可塑剤の目的で使用される物質は、データとしては急性毒性の弱い物質が使用される傾向にある^{6)~11)}が、一部の物質は毒性情報が未公表であるため、詳細な有害性評価の実施が望まれる。

(2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, CAS No.6846-50-0) submitted to the U.S. Consumer Product Safety Commission (CPSC) on March 16, 2010

文 献

- 1) 塩ビ工業・環境協会ホームページ「可塑剤の種類と使い方」http://www.vec.gr.jp/anzen/anzen2_2.html
- 2) 杉内たき子, 河村葉子, 谷村雅子, 松田りえ子, 新野竜大ら: 乳幼児用軟質ポリ塩化ビニル製玩具からのフタル酸エステル暴露量の推定, 食品衛生学雑誌, 第44巻, 第2号, 96-102, 2003
- 3) 厚生労働省: 「食品, 添加物等の規格基準の一部を改正する件について」, 医薬食品局食品安全部長通知 (食安発 0906 第1号, 平成22年9月6日)
- 4) 平田睦子, 高橋美加, 松本真理子, 川村智子, 小野敦ら: 小児用玩具に使用されるフタル酸エステル代替可塑剤の毒性影響, 国立医薬品食品衛生研究所報告, 第130号, 31-42, 2012
- 5) 阿部 裕, 山口未来, 六鹿元雄, 平原嘉親, 河村葉子: ポリ塩化ビニル製玩具中の可塑剤使用実態, 食品衛生学雑誌, 第53巻, 第1号, 19-27, 2012
- 6) US CPSC: “Review of Exposure and Toxicity Data for Phthalate Substitutes”, U.S.Consumer Product Safety Commission, prepared by Versar, Inc.and Syracuse Research Corporation (SRC), January 15, 2010
- 7) カナダ環境省: Screening Assessment for the Challenge Hexanedioic acid, bis (2-ethylhexyl) ester (DEHA), 2011
- 8) Barber, E.D. and Topping, D.C.: *Food Chem. Toxicol.*, 33, 971-978, 1995
- 9) The American Chemical Council Aliphatic Esters Panel: “Robust Summaries and Test Plans for the diesters category of the aliphatic esters chemicals”, submitted to the United States Environmental Protection Agency (EPA) under the High Production Volume (HPV) Chemical Challenge Program, November 14, 2003
- 10) US CPSC: “Robust Summary for DINCH”, US Consumer Product Safety Improvement Act (CPSC), 2010
- 11) Eastman[®] Chemical Company: “Toxicity summary for EASTMAN TXIB formulation additive

【資料】

アレルギー物質を含む食品の試買調査について—平成26～27年度—

Survey of Foods containing Allergic Substances in Okayama Prefecture—2014～2015—

浅田幸男, 北村雅美, 難波順子, 赤木正章, 吉岡敏行, 村上泰之*, 中尾美江** (衛生化学科)

*食肉衛生検査所, **保健福祉部生活衛生課

Yukio Asada, Masami Kitamura, Junko Namba, Masaaki Akaki, Toshiyuki Yoshioka, Yasuyuki Murakami*, Mie Nakao** (Food and Drug Chemical Research Section)

*Okayama Prefectural Meat Sanitation Inspection Station

**Environmental Health Division, Department of Health and Welfare

要 旨

岡山県内で製造された各種加工食品の試買を実施し, アレルギー物質について適正な表示がなされているか確認した。平成26年度は, 落花生及びえび・かにを調査項目とし, 20検体を試買した。ELISA法によるスクリーニング検査では, 両項目とも全ての検体が陰性と判定された。しかし, 味付けのり1検体から落花生が $8 \mu\text{g/g}$ 検出され, 陽性基準である $10 \mu\text{g/g}$ は超えなかったものの, 混入が疑われた。そこで, PCR法による確認検査を行ったところ, 落花生遺伝子は検出されず, ELISA法の結果が偽陽性であった可能性が示唆された。平成27年度は, 小麦及び落花生を調査項目とし, 21検体を試買した。ELISA法によるスクリーニング検査では, 米粉麵1検体から小麦が陽性基準値を超えて検出された。PCR法による確認検査でも小麦遺伝子が検出されたため, 当該製品の製造所に対し, 混入防止策についての指導が行われた。

[キーワード: アレルギー物質を含む食品検査, 特定原材料, 小麦, 落花生, ELISA法(酵素免疫測定法), PCR法]

[Key words: Foods inspection containing Allergic Substances, specific raw materials, wheat, peanut, ELISA technique, PCR technique]

1 はじめに

我が国では, 食物アレルギーを引き起こすことが明らかとなったもののうち, 特に発症数, 重篤度から勘案して表示する必要性の高い7品目(えび, かに, 小麦, そば, 卵, 乳及び落花生)のアレルギー物質を含む食品について, これらを含む旨の表示が義務化されている。^{1),2)}

本県においては, 食の安全・安心事業の一環として, 平成15年度より県内で製造された製品を中心に, 表示が適正に行われているか確認する目的で, アレルギー物質を含む食品の試買検査を実施している。岡山県食品衛生監視指導計画に基づき, 平成26年度は, 落花生, えび・かにについて, 平成27年度は, 小麦, 落花生についての試験検査を行った³⁾ので, その検査結果について報告する。

2 実験方法

2.1 試料

2.1.1 平成26年度

平成26年6月に, 平成26年度岡山県食品衛生監視指導計画³⁾に基づき, 県内で購入した20検体について検査を行った。検査試料については表1に示す。

2.1.2 平成27年度

平成27年11月に, 平成27年度岡山県食品衛生監視指導計画³⁾に基づき, 県内で購入した21検体について検査を行った。検査試料については表2に示す。

2.2 試薬等

2.2.1 ELISA法

小麦, 落花生については, 森永生科学研究所製モリナガFASPEK エライザⅡ特定原材料測定キット(小麦グリアジン, 落花生), 日本ハム中央研究所製FASTKIT エライザ Ver.Ⅲキット(小麦, 落花生)を, えび・かにについては, マルハニチロ製甲殻類キットⅡ「マルハニチロ」, 日水製薬製FAテストEIA-甲殻類Ⅱ「ニッスイ」を用いた。

2.2.2 PCR法

QIAGEN製Genomic-Tip 20/G, SIGMA製 α -アミラーゼ, オリエンタル酵母製アレルギーンチェッカー「小麦」, 「落花生」, アプライドバイオシステムズ製PCR緩衝液, dNTP, MgCl_2 , Taq DNAポリメラーゼ, タカラバイオ製100bpDNA Ladder, Loading Buffer, バイオラッド製アガロース, ニッポンジーン製TAE緩衝液を用いた。

2.3 装置

ホモジナイザー: 岩谷産業製 IFM-800

振とう機: TAITEC製 RECIPRO SHAKER SR-2S

表1 検査試料の一覧及びELISA法での検査結果(平成26年度)

NO.	製品名	検査項目						備考
		落花生			えび・かに			
		モリナガ ^{*1}	日本ハム ^{*2}	判定	マルハニチロ ^{*3}	ニッスイ ^{*4}	判定	
1	米菓	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
2	米菓	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
3	米菓	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
4	ゆば	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
5	ゆば	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
6	味付けのり	不検出	8 µg/g	陰性				「海老」表示あり
7	焼き菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
8	焼き菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
9	和菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
10	めんつゆ	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
11	たれ	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
12	ジャム	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
13	羊羹	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
14	羊羹	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
15	羊羹	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
16	焼き菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
17	和菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
18	和菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
19	和菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
20	焼き菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	

検出限界値：1 µg/g(10 µg/g以上を陽性と判定)

*1：モリナガ FASPEK エライザⅡ特定原材料測定キット

*2：FASTKIT エライザ Ver.Ⅲキット

*3：甲殻類キットⅡ「マルハニチロ」

*4：FAテストEIA-甲殻類Ⅱ「ニッスイ」

表2 検査試料の一覧及びELISA法での検査結果(平成27年度)

NO.	製品名	検査項目						備考
		小麦			落花生			
		モリナガ ^{*1}	日本ハム ^{*2}	判定	モリナガ ^{*1}	日本ハム ^{*2}	判定	
1	米粉麺	36 µg/g	32 µg/g	陽性	不検出	不検出	陰性	
2	焼き菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
3	米菓	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
4	米菓	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
5	米菓	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
6	豆腐	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
7	みそ	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
8	豆腐	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
9	揚げ	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
10	焼き菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
11	惣菜				不検出	不検出	陰性	「小麦」表示あり
12	ジャム	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
13	はっ酵乳	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
14	はっ酵乳	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
15	洋生菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
16	洋生菓子	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
17	焼き菓子				不検出	不検出	陰性	「小麦」表示あり
18	焼き菓子				不検出	不検出	陰性	「小麦」表示あり
19	焼き菓子				不検出	不検出	陰性	「小麦」表示あり
20	キャンディー	不検出	不検出	陰性	不検出	不検出	陰性	
21	冷凍食品				不検出	不検出	陰性	「小麦」表示あり

検出限界値：1 µg/g(10 µg/g以上を陽性と判定)

*1：モリナガ FASPEK エライザⅡ特定原材料測定キット

*2：FASTKIT エライザ Ver.Ⅲキット

遠心機：コクサン製 H501FA
 ベックマン製 CPKR CEntrifuse
 KUBOTA 製 5930
 Eppendorf 製 mini spin plus
 マイクロプレートウォッシャー：TECAN 製 ハイドロフレックス
 マイクロプレートリーダー：TECAN 製 サンライズレインボー RC-R
 吸光光度計：島津製作所製 UV-2200
 PCR 装置：ABI 製 Gene Amp PCR System 9700
 電気泳動装置：ADVANCE 製 Mupid-S

2.4 アレルギー物質同定（定量）検査

通知法⁴⁾では、小麦、落花生、えび・かにかについては、ELISA 法によるスクリーニング検査を行い、食品採取重量 1g あたりの特定原材料等由来のタンパク質含量が 10 μ g 以上の試料については、微量を超える特定原材料が混入している可能性があるものと判断し、PCR 法による確認検査を実施することとされている。ELISA 法、PCR 法共に通知法⁴⁾に従って検査を行った。

2.4.1 ELISA 検査

粉砕等により均質混和した試料 1g をポリプロピレン製遠沈管にはかりとり、キットに添付の説明書に従って調製した検体抽出液を 19mL 加え、ボルテックスで検体を分散し、遠沈管を横にして振とう機で 1 晩振とう抽出した (20℃)。pH 試験紙で抽出液の pH が 6～8 の間にあることを確認した後、3000 × g、室温で 20 分間遠心分離し、上清をろ紙でろ過して ELISA 用試験試料液とした。

それぞれの試料液について、小麦、落花生については、モリナガ FASPEK エライザⅡ特定原材料測定キット及び FASTKIT エライザ Ver.Ⅲキットを用いて、また、えび・かにかについては、甲殻類キットⅡ「マルハニチロ」及び FA テスト EIA-甲殻類Ⅱ「ニッスイ」を用いて通知法⁴⁾に従い、ELISA 検査を行った。

2.4.2 PCR 確認検査

試料は均質化を行った後、通知法⁴⁾のうちより精製度の高い DNA 抽出液が得られたとされる^{5),6)}「DNA 抽出精製法-イオン交換樹脂タイプキット法」の項に従って DNA を抽出精製し、試料原液とした。この試料原液について、同じく通知法⁴⁾の定性 PCR 法、アガロースゲル電気泳動

の項に従って定性検査を行った。

3 結果及び考察

3.1 平成 26 年度の調査結果

3.1.1 ELISA 法によるスクリーニング検査

県内で試買した 20 検体を検査に供した。落花生については全ての検体を検査したが、えび・かにかについては「海老」の表示がなされていた 1 検体を除く 19 検体を検査した (表 1)。

その結果、落花生及びえび・かにかが 10 μ g/g 以上検出された検体はなかったため、通知法⁴⁾に従い、全て陰性とした。しかし、落花生の検査における味付けのり 1 検体は、モリナガ FASPEK エライザⅡ特定原材料測定キットでは不検出であったが、FASTKIT エライザ Ver.Ⅲキットでは陽性基準値を下回る 8 μ g/g が検出された。FASTKIT エライザ Ver.Ⅲキットの製造元である日本ハム中央研究所が提供している情報⁷⁾(2014 年 3 月作製)を確認したところ、焼きのり、青のり、ふのりといったのり類に偽陽性が確認されていない旨は示されていたが、味付けのりに関する偽陽性情報は確認できなかった。しかし、一般に、味付けのりには醤油、調味料等が使用されているため、抗原抗体反応を利用した検査法である ELISA 法において、非特異反応が生じる可能性は否定できない。そこで、PCR 法による確認検査を行った。

3.1.2 PCR 法による確認検査

PCR 法による確認検査の結果を表 3 に示す。通知法⁴⁾に従い、2 点併行で行ったが、植物 DNA 検出用プライマー対を用いた PCR 増幅では、1 点の増幅バンドが確認できなかった (図 1)。のり製品からの抽出 DNA による、植物 DNA 検出用プライマー対を用いた PCR 増幅においては、抽出 DNA 中に PCR 阻害物質の存在が示唆されることが報告されている⁸⁾ことから、本確認検査においても PCR 増幅が確認できなかった抽出 DNA 中に PCR 阻害物質が存在する可能性が考えられた。このため、植物 DNA 検出用プライマー対を用いた PCR 増幅で陽性と判断できた 1 検体により、落花生 DNA 検出用プライマー対を用いた PCR 増幅を行ったが、増幅バンドの確認はできなかった (図 2)。従って、味付けのりからは、落花生遺伝子は不検出であると判断した。

表3 PCR法での落花生の確認検査結果（平成26年度）

NO.	製品名	ELISA 法の検査項目		PCR 確認	
		モリナガ ^{*1}	日本ハム ^{*2}	植物 DNA	落花生 DNA
1	味付けのり	不検出	8 μ g/g	+	-

検出限界値：1 μ g/g (10 μ g/g 以上が陽性)

*1：モリナガ FASPEK エライザⅡ特定原材料測定キット

*2：FASTKIT エライザ Ver.Ⅲキット

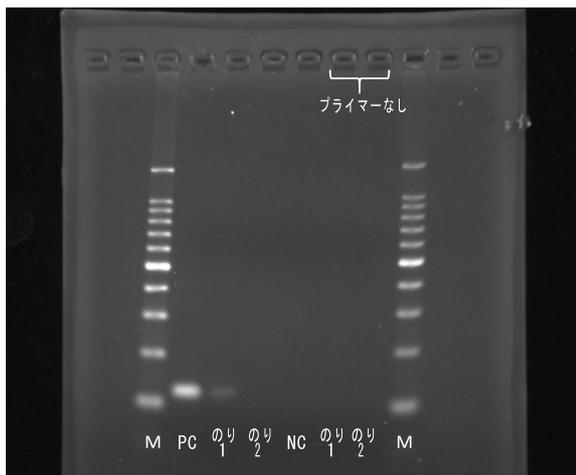


図1 植物 DNA 検出用電気泳動

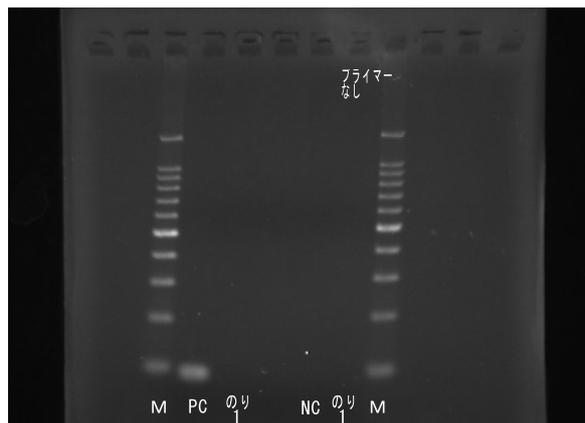


図2 落花生 DNA 検出用電気泳動

これらの結果を勘案すると、今回、FASTKIT エライザ Ver. IIIキットを用いたELISA法で、味付けのり検体から落花生が8 μg/g検出された結果は、何らかの非特異反応による偽陽性であると考えられた。

3.2 平成27年度の調査結果

3.2.1 ELISA法によるスクリーニング検査

県内で試買した21検体を検査に供した。小麦については「小麦」の表示がなされていた5検体を除く16検体を、落花生については全ての検体を検査した(表2)。

その結果、小麦の検査における米粉麺1検体から、モリナガFASPEK エライザII特定原材料測定キット及びFASTKIT エライザ Ver. IIIキットで、それぞれ36 μg/g及び32 μg/gが検出されたため、通知法⁴⁾に従い、当該検体を陽性とした。なお、その他の検体(小麦15検体、落花生21検体)については全て陰性とした。

3.2.2 PCR法による確認検査

PCR法による確認検査結果を表4に示す。ELISA法によるスクリーニング検査で小麦陽性となった米粉麺は、確認検査でも小麦遺伝子が検出され、陽性と確定した。当該検体には、製造工場が小麦を含む製品を製造している旨の注意喚起表示がなされていたことから、製造工程におけるコンタミネーションが原因であることが推測されたため、食品衛生監視員からコンタミネーション防止対策の徹底⁸⁾について指導が行われた。

4 まとめ

平成26年度に実施したアレルギー物資を含む食品の試買検査では、落花生20検体及びえび・かに19検体の検査を行ったが、ELISA法による検査の結果、いずれの検体も陰性であった。

なお、味付けのりのFASTKIT エライザ Ver. IIIキット

を用いたELISA法による落花生の検査の結果は、8 μg/gであったが、PCR法による確認検査では陰性であり、ELISA法による検出値は偽陽性と判断した。また、味付けのりの加工所においても、食品衛生監視員が調査を行ったところ、落花生の使用、持ち込み等は確認されなかった。

平成27年度に実施したアレルギー物質を含む食品の試買検査では、小麦16検体及び落花生21検体の検査を行い、ELISA法による検査の結果、小麦の15検体及び落花生の21検体についてはいずれも陰性であったが、小麦については、米粉麺が陽性であったため、PCR法で確認検査を実施した。その結果、ELISA法で小麦の陽性を示した米粉麺は、PCR法でも陽性であることが確認された。米粉麺の製造所では、うどんの製造も行っており、うどんに使用する小麦が微量に混入した可能性が高く、食品衛生監視員からコンタミネーション防止対策の徹底⁸⁾について指導が行われた。

謝 辞

本件の調査に際して、検体試買等に携わった岡山県保健福祉部生活衛生課及び県下保健所衛生課の皆様へ感謝申し上げます。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知：食品衛生法施行規則及び乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令等の施行について、食発第79号、平成13年3月15日、2001(最終改正 消食表第257号、平成25年9月20日)
- 2) 厚生労働省医薬局食品保健部企画課長/監視安全課長連名通知：アレルギー物質を含む食品に関する表示について、食企発第2号・食監発第46号、平成13年3

月 21 日, 2001 (最終改正 消食表第 257 号, 平成 25 年 9 月 20 日)

- 3) 岡山県ホームページ: 保健福祉部生活衛生課食の安全推進班 “岡山県食品衛生監視指導計画と結果” <http://www.pref.okayama.jp/page/detail-3088.html>
- 4) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知: アレルギー物質を含む食品の検査方法について, 消食表第 286 号, 平成 22 年 9 月 10 日, 2010 (最終改正 消食表第 36 号, 平成 26 年 3 月 26 日)
- 5) 新家薫子, 清水隆二, 芹川俊彦, 安田和弘, 竹田正美ら: 特定原材料検査における DNA 抽出法の検討 (第 2 報), 石川県保健環境センター年報, 48, 42-48, 2011
- 6) 橋本博之, 中西希代子, 眞壁祐樹, 宮本文夫, 長谷川康行ら: 特定原材料検査における海苔製品からの DNA 抽出法の検討, 第 46 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 106-107, 2009
- 7) 日本ハム中央研究所: 「FASTKIT エライザ Ver. III シリーズ」において偽陽性・偽陰性を示す食品一覧 <http://www.rdc.nipponham.co.jp/fastkit/3-foods-list.html>
- 8) 厚生労働省医薬局食品安全部基準審査課長/監視安全課長連名通知: アレルギー物質のコンタミネーション防止対策の徹底について, 食安基発第 1118001 号・食安監発第 1118001 号, 平成 15 年 11 月 18 日, 2003

業 務 報 告

2015年岡山県における感染症の患者発生状況について

(岡山県感染症情報センター業務報告 2015.1～2015.12)

1 はじめに

感染症発生動向調査事業では、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(平成10年法律第104号。以下「感染症法」という。)及び「感染症発生動向調査事業実施要綱」(平成11年3月19日付け健医発第458号。以下「要綱」という。)に基づいて、医師等医療関係者の協力のもと、感染症の発生状況、患者情報及び病原体情報などを収集・分析し、その結果を国民や医療関係者へ提供公開していくこととされている。

岡山県では、昭和50年9月から患者発生情報を収集還元していたが、平成23年4月に患者情報と病原体情報の収集・分析・提供の一体化を図るため、要綱に基づく基幹地方感染症情報センターとなる岡山県感染症情報センターを、岡山県環境保健センター内に設置した。岡山県感染症情報センターでは、医師等医療関係者の協力のもと、県内(岡山市を除く。)の保健所を介して患者情報及び病原体情報を収集し、国立感染症研究所感染症疫学センター(中央感染症情報センター)へ報告している。また、感染症の予防及びまん延防止のため、岡山市及び倉敷市と連携し、感染症情報の収集・分析を行い、これらの情報をホームページや電子メールなどを用いて公開している。

2015年(平成27年)、岡山県における感染症の患者発生状況について、岡山県感染症情報センター業務報告として総合的に取りまとめたので報告する。

2 届出対象感染症及び調査方法

2.1 届出対象感染症

対象となる感染症は、感染症法により定められており、一類～五類感染症、新型インフルエンザ等感染症及び指定感染症に分類されている。一類～四類感染症、新型インフルエンザ等感染症及び指定感染症は全数把握対象に、五類感染症は、全数把握対象と定点把握対象に区分されている(表1参照)。なお、平成27年1月21日に感染症法施行令及び施行規則の改正により、「中東呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属 MARS コロナウイルスであるものに限る。)],「鳥インフルエンザ(H7N9)」が全数把握対象の指定感染症から二類感染症に変更となった。

1) 全数把握感染症

全数把握感染症とは、発生数が希少、あるいは周囲への感染拡大防止を図るため、発生した全ての患者を把握することが必要な感染症で、医師は該当する患者を診断したときには、最寄りの保健所へ届出なくてはならない。

2) 定点把握感染症

定点把握感染症とは、発生動向の把握が必要な感染症のうち、患者数が多数で、その全てを把握する必要がないもので、指定された医療機関(定点)から発生状況が週単位又は月単位で届出されることになっている。なお、定点医療機関は、要綱の基準に基づき選定されており、岡山県の場合、定点医療機関数は、小児科定点54、内科定点30、眼科定点12、性感染症定点17、基幹定点5が設定され、小児科定点と内科定点をあわせて、インフルエンザ定点84となっている。

2.2 調査方法

要綱に従って各関係機関から報告された患者情報を、感染症サーベイランスシステム(以下「システム」という。)により、国立感染症研究所感染症疫学センターへ報告するとともに、岡山県内の発生状況を解析した。定点把握感染症については、1週間に1つの定点医療機関からどのくらいの報告があったかを表す「定点あたり報告数」の数値により、他の地域での流行状況や過去のデータとの比較を行った。また、週単位又は月単位の定点あたり報告数を累積した数値である「定点あたり累積報告数」で、流行の規模を比較した。

2.3 調査期間

全数把握感染症(表1-1)及び月報告の定点把握感染症(表1-2-②)の調査期間は、2015年1月1日～12月31日、週報告の定点把握感染症(表1-2-①)については、53週(2014年12月29日～2015年1月3日)とした。なお、インフルエンザについては、流行時期にあわせて、第36週～翌年第35週(2014年9月1日～2015年8月30日)とした。また、いずれの感染症も診断日を基準とした。

3 結果

3.1 全数把握感染症の届出状況(表2, 3参照)

3.1.1 一類感染症

一類感染症の届出はなかった。

3.1.2 二類感染症

二類感染症は、結核 371 例の届出があり、急性灰白髄炎、ジフテリア、重症急性呼吸器症候群（病原体がベータコロナウイルス属 SARS コロナウイルスであるものに限る。）、中東呼吸器症候群（病原体がベータコロナウイルス属 MERS コロナウイルスであるものに限る。）、鳥インフルエンザ (H5N1)、鳥インフルエンザ (H7N9) の届出はなかった。

結核の病型は、患者 238 例、無症状病原体保有者 127 例、疑似症患者 5 例、死亡者 1 例で、無症状病原体保有者 127 例のうち 36 例が医療・介護従事者（医師、看護婦、介護士など）であった。年齢階級別では、80 歳代（27.8%）が最も多く、70 歳代（19.1%）、60 歳代（11.6%）の順であった（図 1）。

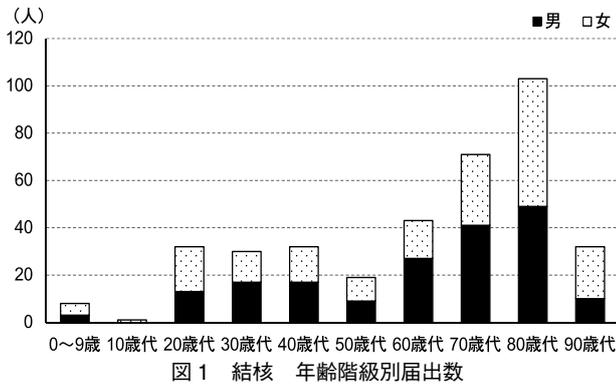


図 1 結核 年齢階級別届出数

3.1.3 三類感染症

三類感染症は、細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌感染症の届出があり、コレラ、腸チフス、パラチフスの届出はなかった。

i) 細菌性赤痢

細菌性赤痢は 2 例の届出があり、推定感染地域は国内 1 例（県内）、国外 1 例（インドネシア）で、菌型は全て *Shigella sonnei* であった。

ii) 腸管出血性大腸菌感染症

腸管出血性大腸菌感染症は 63 例の届出があり、うち 12 例は養護老人ホームにおいて発生した O157 による集団感染事例であった。病型は、患者 43 例（うち溶血性尿毒症症候群 4 例）、無症状病原体保有者 20 例であった。年齢階級別では、0～9 歳（27.0%）、次いで 10 歳代（15.9%）、30 歳代（11.1%）の順に多かった。月別発生状況は、夏～秋にかけて多くの届出があった（図 2）。血清群別の内訳は、図 3 のとおりであった。

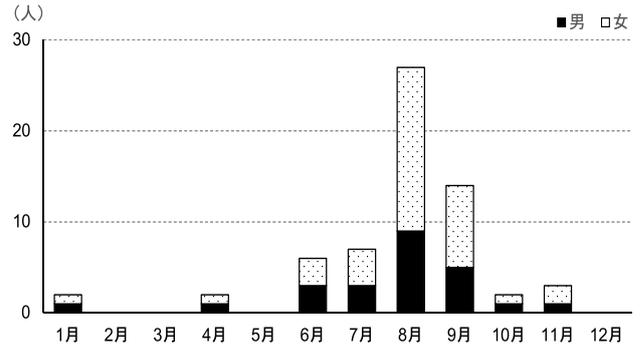


図 2 腸管出血性大腸菌感染症 月別届出数

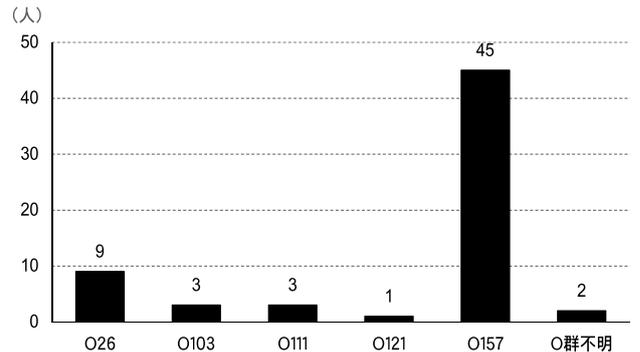


図 3 腸管出血性大腸菌感染症 O血清群別発生状況

3.1.4 四類感染症

四類感染症は、E 型肝炎、A 型肝炎、オウム病、つつが虫病、デング熱、日本紅斑熱、マラリア、レジオネラ症の届出があり、その他の四類感染症の届出はなかった。

i) E 型肝炎

E 型肝炎は 4 例の届出があり、推定感染地域は、全て国内（県内 1 例、都道府県不明 3 例）であった。

ii) A 型肝炎

A 型肝炎は 9 例の届出があり、推定感染地域は、国内 8 例（県内 5 例、県外 1 例、都道府県不明 2 例）、国外 1 例（中華人民共和国）であった。

iii) オウム病

オウム病は 2 月に 1 例の届出があり、推定感染地域は、国内（県内）で、推定感染経路は不明であった。

iv) つつが虫病

つつが虫病は 12 月に 1 例の届出があり、推定感染地域は国内（県内）であった。

v) デング熱

デング熱は 12 月に 2 例の届出があり、推定感染地域は、全て国外（インドネシア、フィリピン）であった。

vi) 日本紅斑熱

日本紅斑熱は 3 例の届出があり、月別発生状況は、9 月、11 月、12 月に各 1 例の発生であった。

vii) マラリア

マラリアは 2 例の届出があり、病型は熱帯熱マラリア 1 例、三日熱マラリア 1 例で、推定感染地域は全て

国外（ガーナ、パキスタン）であった。

viii) レジオネラ症

レジオネラ症は27例の届出があり、病型は肺炎型26例、ポンティアック熱型1例であった。年齢階級別では、60歳代（25.9%）が最も多く、50歳代（18.5%）、70歳代・80歳代（各14.8%）の順となっており、患者は全て30歳以上であった（図4）。推定感染経路（重複あり）は、水系感染3例、塵埃感染1例、不明24例であった。

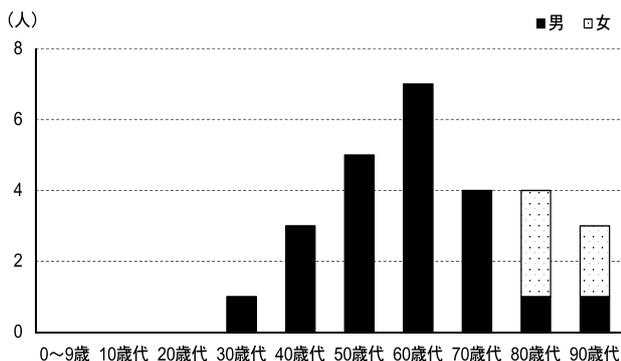


図4 レジオネラ症 年齢階級別届出数

3.1.5 五類感染症（全数把握対象）

五類感染症では、14の感染症で届出があった。主な感染症については、以下のとおりである。

i) アメーバ赤痢

アメーバ赤痢は17例の届出があり、腸管アメーバ症16例、腸管外アメーバ症1例であった。推定感染地域は国内15例（県内7例、都道府県不明8例）、国外2例（トルコ、マレーシア・インドネシア）で、推定感染経路は性的接触（異性間）2例、不明15例であった。

ii) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症は34例の届出があった。年齢階級別では、80歳以上（61.8%）、60歳代・70歳代（各17.6%）の順となっており、患者のほとんどが60歳以上の高齢者であった（図5）。

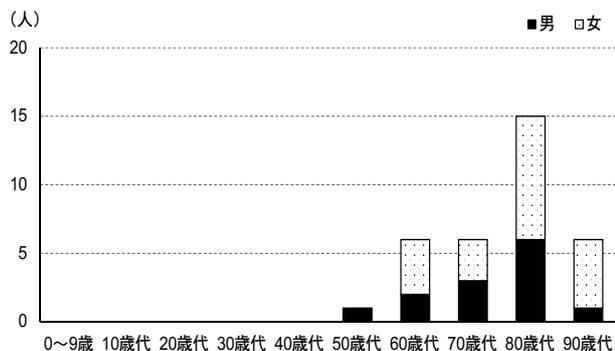


図5 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 年齢階級別届出数

iii) 急性脳炎

急性脳炎は14例の届出があり、そのうち病原体が検出されたのは、ヒトヘルペスウイルス3例、インフルエンザウイルス1例であり、10例は病原体不明であった。

iv) 後天性免疫不全症候群

後天性免疫不全症候群は21例の届出があり、過去10年間で最も多かった2010年（22例）に次いで患者発生が多くなった（図6）。病型はAIDS4例、無症候性キャリア17例であった。性別は全て男性で、年齢階級別では、20歳代（33.3%）が最も多く、50歳代（28.6%）、40歳代（23.8%）の順となった（図7）。推定感染地域は、国内18例、国外1例（トルコ）、国内又は国外2例であった。推定感染経路は性行為感染17例（異性間9例、同性間6例、異性間又は同性間2例）、不明4例であった。

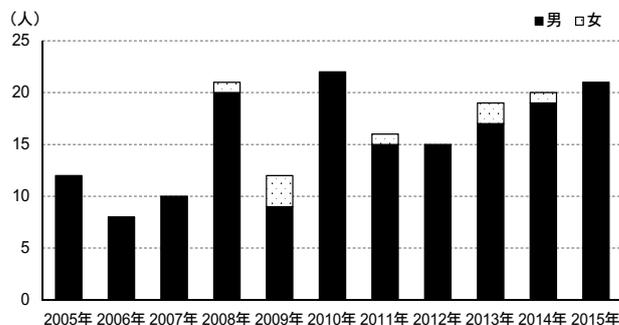


図6 後天性免疫不全症候群 年次別届出数

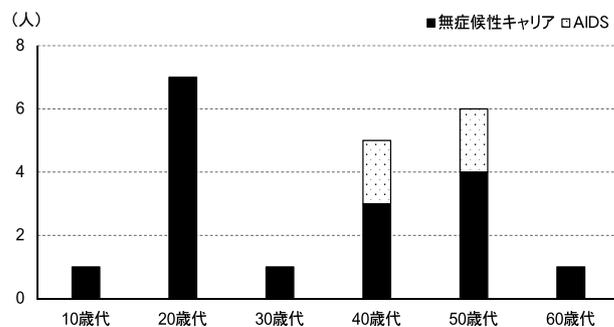


図7 後天性免疫不全症候群 年齢階級別届出数

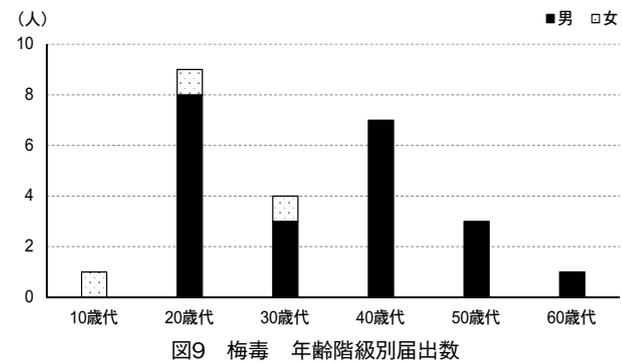
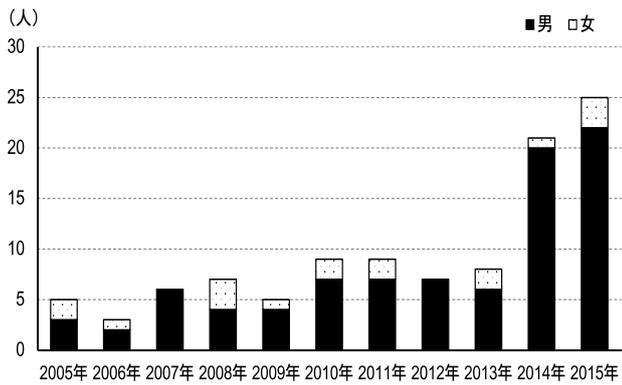
v) 侵襲性肺炎球菌感染症

侵襲性肺炎球菌感染症は35例の届出があり、ワクチン接種歴別で見ると、接種歴あり8例、なし17例、不明10例であった。

vi) 梅毒

梅毒は25例の届出があり、過去10年間で最も多くなった（図8）。類型は、早期顕症梅毒Ⅰ期5例、早期顕症梅毒Ⅱ期12例、無症状病原体保有者8例であった。性別は、男性22例、女性3例で、年齢階級別では、20歳代（36.0%）が最も多く、40歳代（28.0%）、30歳代（16.0%）の順となった（図9）。推定感染地域は

全て国内(県内11例, 県外13例, 都道府県不明1例)で、推定感染経路は、性行為感染24例, 不明1例であった。



vii) その他の五類感染症

その他の五類感染症は、ウイルス性肝炎(E・Aを除く)9例, クリプトスポリジウム症1例, クロイツフェルト・ヤコブ病2例, 劇症型溶血性レンサ球菌感染症2例, ジアルジア症4例, 侵襲性インフルエンザ菌感染症2例, 水痘(入院例)6例, 播種性クリプトコックス症1例の届出があった。

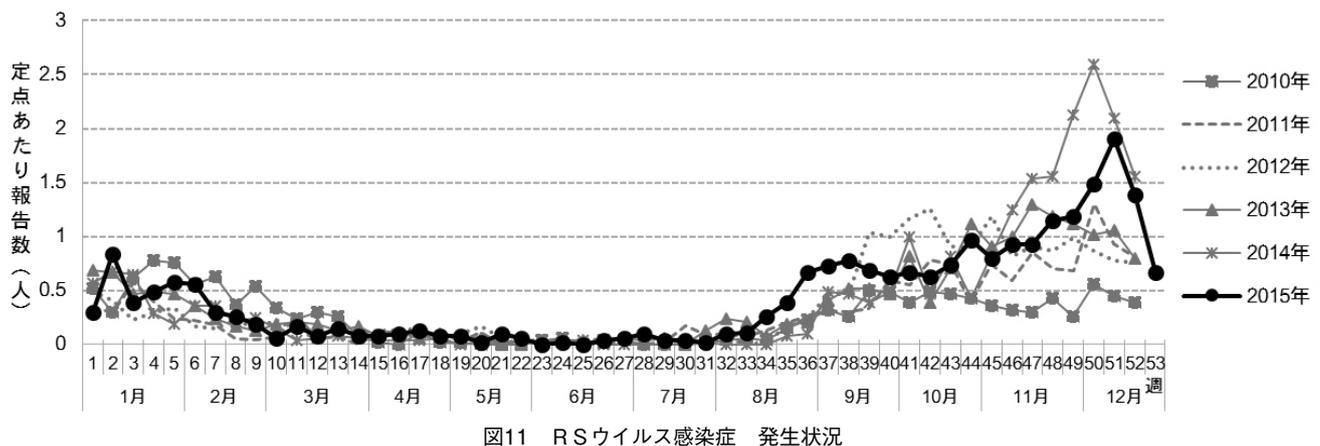
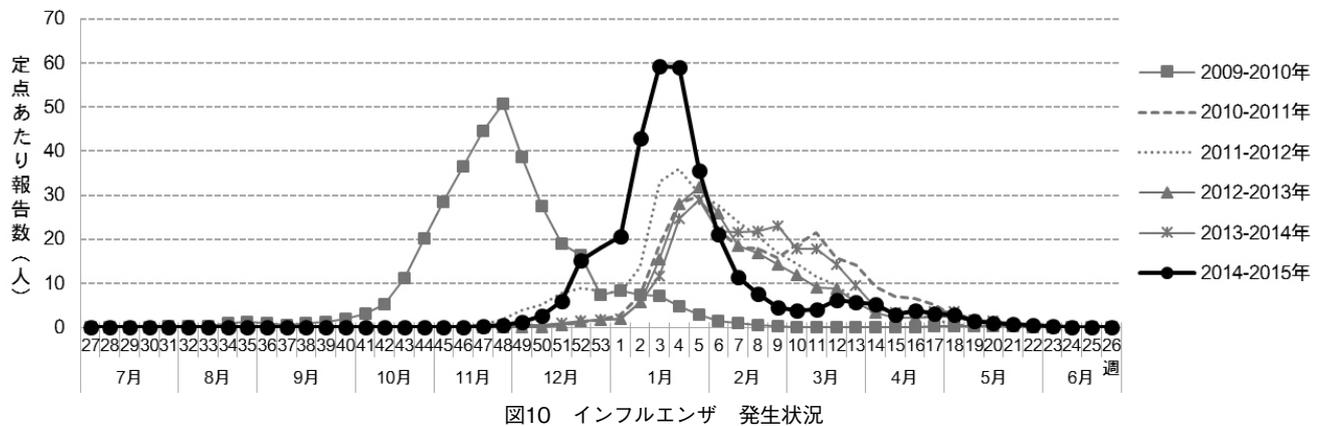
3.2 定点把握感染症(五類感染症)の届出状況

3.2.1 小児科・内科定点における週報告の感染症(表4参照)

小児科・内科定点における週報告の感染症のうち、主な感染症については、以下のとおりである。

i) インフルエンザ(2014/2015年シーズン流行のまとめ)

インフルエンザは、2014年第36週(9/1~9/7)にシーズン初めての患者が報告され、第49週(12/1~12/7)には定点あたり報告数1.24人となり、注意報発令基準の1.00人を上回った。以降、急速に流行は拡大し、2015年第2週(1/5~1/11)に定点あたり42.99人となり、警報発令基準の30.00人を上回った。そして第3週(1/12~1/18)に定点あたり59.21人、第4週(1/19~1/25)に58.98人となり、過去5年間で最も高いピークを迎えた。その後急速に減少し、



第8週(2/16～2/22),第9週(2/23～3/1)と2週連続して定点あたり10.00人を下回ったため,岡山県では警報から注意報に切り替えた。以降,ほぼ横ばい状態から徐々に減少し,第20週(5/11～5/17),第21週(5/18～5/24)に2週連続して定点あたり1.00人を下回り,インフルエンザの流行は終息した。

2014/2015年シーズン(2014年9月1日～2015年5月31日),岡山県環境保健センターで検出されたインフルエンザウイルス94株であった。その内訳は,AH3型が87株(93%)と最も多く,次いでB型(山形系統)が7株(7%)であった。2013/2014年シーズンは,AH1pdm09型が最も多く検出されたが,今シーズンは,2シーズンぶりにAH3型が主流であった。

ii) RSウイルス感染症

RSウイルス感染症は,定点あたり累積報告数が23.31人であり,前年(22.42人)より増加した。前年12月の患者が多い状態から2015年に入り,増減を繰り返しながら減少し,第10週(3/2～3/8)からは散発的であった。第32週(8/3～8/9)から徐々に増加しはじめ,第51週(12/14～12/20)には定点あたり1.91人と過去5年間で2番目に多くなった。

iii) 咽頭結膜熱

咽頭結膜熱は,定点あたり累積報告数が10.76人であり,前年(21.99人)より大幅に減少した。

iv) A群溶血性レンサ球菌咽頭炎

A群溶血性レンサ球菌咽頭炎は,定点あたり累積報告数が59.39人であり,前年(49.27人)より増加した。第2週(1/5～1/11)に1.91人と急増し,過去5年間の同時期と比較して最も多くなり,その後も増減を繰り返しながら患者が多い状態で推移した。

v) 手足口病

手足口病は,定点あたり累積報告数が89.26人であり,2011年(113.59人)に次いで2番目に多い年であった。4月下旬から徐々に増加し,第27週(6/29～7/5)には定点あたり5.39人となり,大きな流行を示す基準となる5.00人を上回った。第28週(7/6～7/12)には減少したものの第29週(7/13～7/19)に再び増加し,流行のピークを迎え,その後は増減を繰り返しながら減少した。

3.2.2 眼科定点における週報告の感染症(表4参照)

i) 急性出血性結膜炎

急性出血性結膜炎は,定点あたり累積報告数が0.58

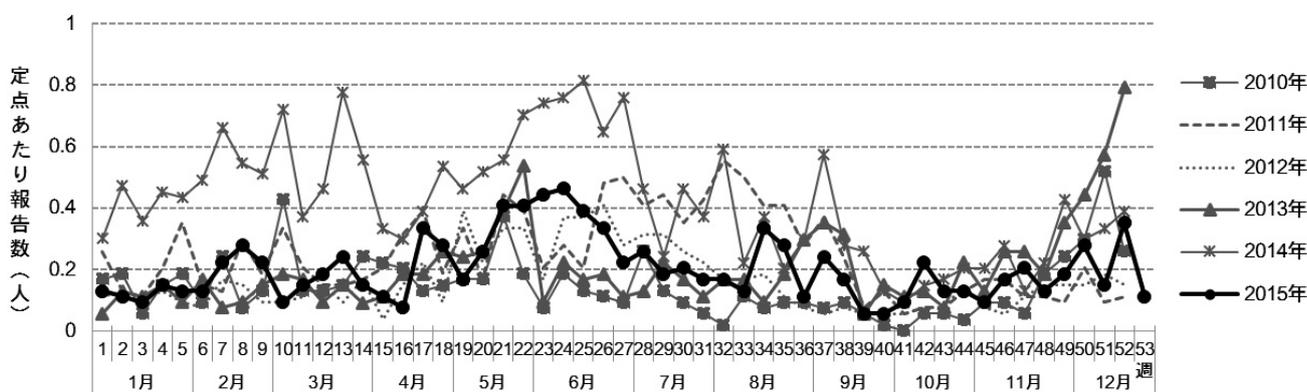


図12 咽頭結膜熱 発生状況

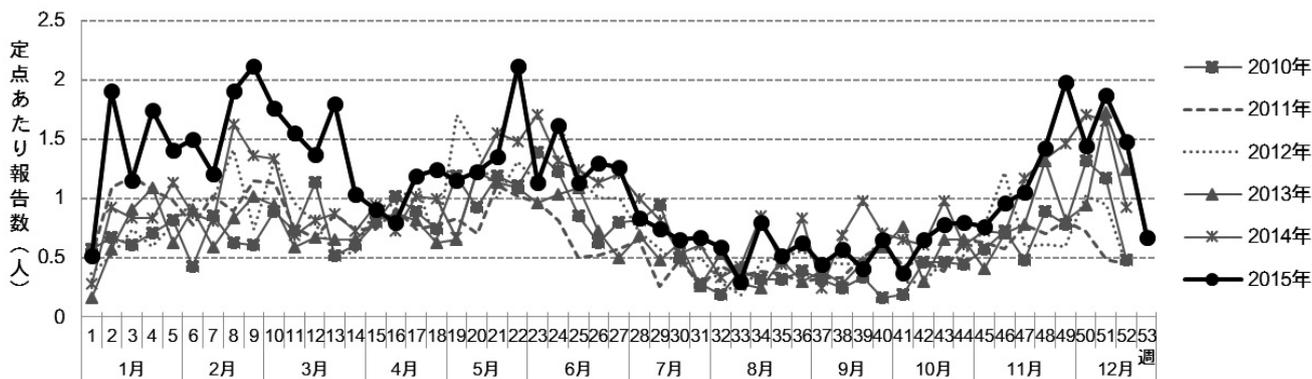


図13 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎 発生状況

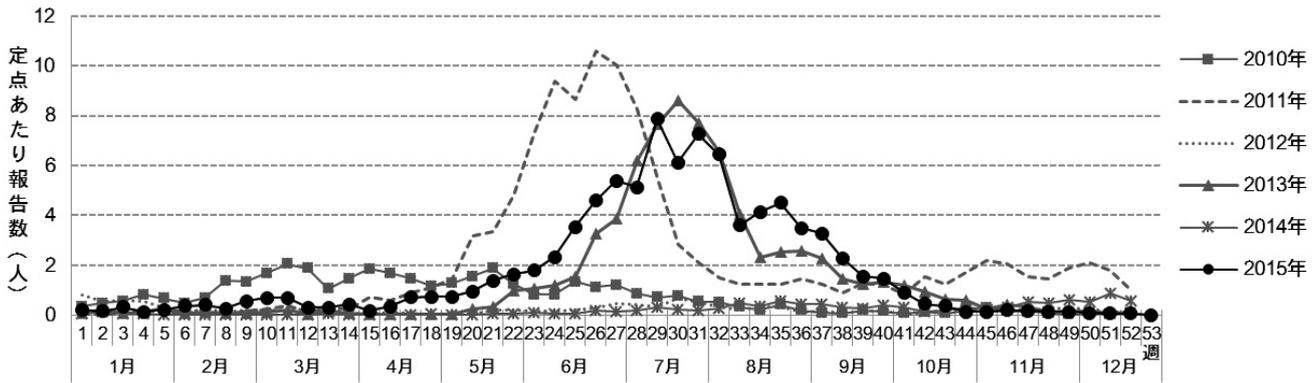


図14 手足口病 発生状況

人であり、前年（1.08人）より減少した。

ii) 流行性角結膜炎

流行性角結膜炎は、定点あたり累積報告数が24.75人であり、前年（24.00人）とほぼ同数であった。

3.2.3 基幹定点における週報告の感染症（表4参照）

i) 細菌性髄膜炎

細菌性髄膜炎は、定点あたり累積報告数が0.40人であり、前年（2.00人）より減少した。

ii) 無菌性髄膜炎

無菌性髄膜炎は、定点あたり累積報告数が1.80人であり、前年（2.00人）より減少した。

iii) マイコプラズマ肺炎

マイコプラズマ肺炎は、定点あたり累積報告数が5.40人であり、前年（3.60人）より増加した。

iv) クラミジア肺炎（オウム病を除く）

クラミジア肺炎（オウム病を除く）は、定点あたり累積報告数が0.40人であり、前年（1.60人）より減少した。

v) 感染性胃腸炎（ロタウイルスによる）

感染性胃腸炎（ロタウイルスによる）は、定点あたり累積報告数が8.40人であり、前年（7.60人）より増加した。

3.2.4 性感染症定点における月報告の感染症（表5、6参照）

性感染症（性器クラミジア感染症、性器ヘルペスウイルス

感染症、尖圭コンジローマ、淋菌感染症）を年齢階級別でみると、20歳～30歳代が71%を占めており、若年層に多い傾向がみられた（図15）。

i) 性器クラミジア感染症

性器クラミジア感染症は、定点あたり累積報告数が22.18人であり、前年（21.29人）より増加した（図16）。男女別割合では男性24.1%、女性75.9%と女性が多かった（図17）。

ii) 性器ヘルペスウイルス感染症

性器ヘルペスウイルス感染症は、定点あたり累積報告数が4.65人であり、前年（5.65人）より減少した（図16）。男女別割合では男性2.5%、女性97.5%と女性が圧倒的に多かった（図17）。

iii) 尖圭コンジローマ感染症

尖圭コンジローマ感染症は、定点あたり累積報告数が4.76人であり、前年（4.82人）とほぼ同数であった（図16）。男女別割合では男性71.6%、女性28.4%と男性が多く、また男性の報告数が4年連続で増加した（図17）。

iv) 淋菌感染症

淋菌感染症は、定点あたり累積報告数が6.00人であり、前年（8.06人）とほぼ同数であった（図16）。男女別割合では、男性52.0%、女性48.0%で、ほぼ同数であった（図17）。

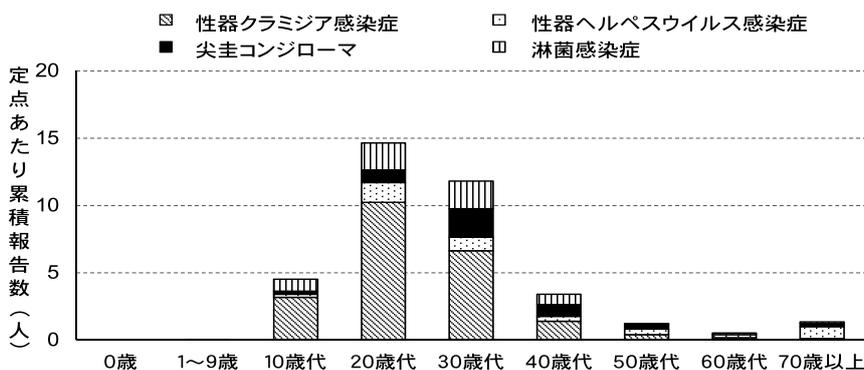


図15 性感染症 年齢階級別発生状況

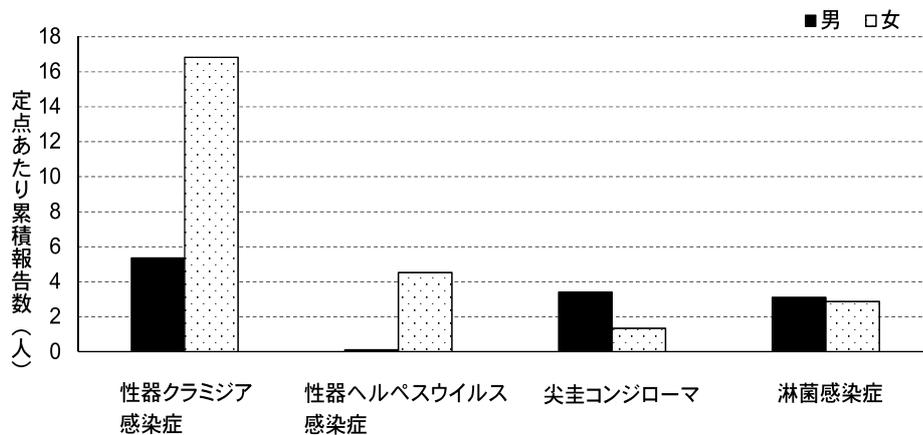
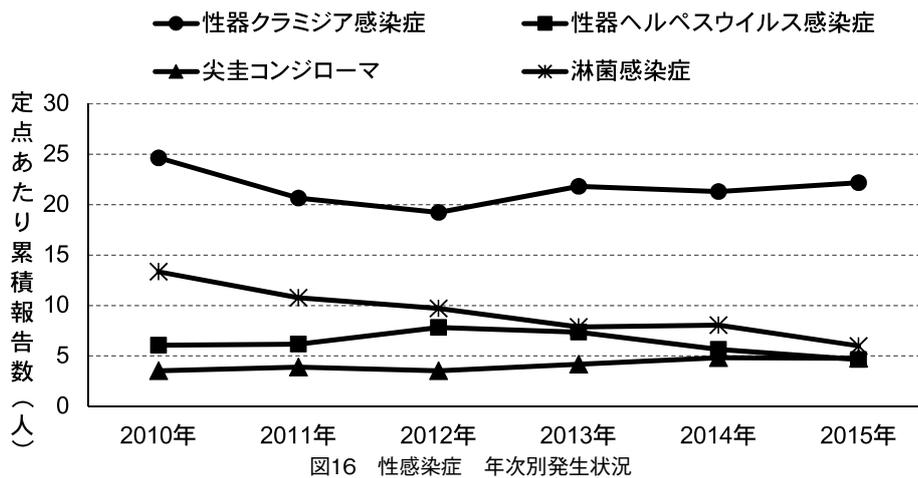


図17 性感染症 男女別発生状況

3.2.5 基幹定点における月報告の感染症 (表 5, 7 参照)

i) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症は、定点あたり累積報告数が26.20人であり、前年(37.00人)より減少した。年齢別では、70歳以上の報告が最も多かった。

ii) ペニシリン耐性肺炎球菌感染症

ペニシリン耐性肺炎球菌感染症は、定点あたり累積報告数が0.20人であり、報告がなかった前年よりわずかに増加した。

iii) 薬剤耐性緑膿菌感染症

薬剤耐性緑膿菌感染症は、定点あたり累積報告数は1.40人であり、報告がなかった前年よりわずかに増加した。年齢別では、すべて70歳以上の高齢者であった。

4 まとめ

全数把握感染症では、結核の届出数は、2015年が371例であり、前年(387例)よりわずかに減少した。年齢別では、70歳以上の高齢者が多く報告されている。2014年8月には約70年ぶりにデング熱の国内感染患者発生が確認されたが、2015年に届出があった2例については、すべ

て輸入症例であった。梅毒の届出数は25例で、前年(21例)より増加し、過去10年間で最も多くなった。全国の梅毒患者の報告数も2010年以降、増加傾向にあり、岡山県でも今後の発生動向に注意が必要である。

定点把握感染症に関して、2014/2015年シーズンのインフルエンザは、流行期間が25週間と前年とほぼ同様であったが、新型インフルエンザが猛威をふるった2009/2010年シーズンに次いで、患者発生の多いシーズンであった。過去10年間で最も高いピークを迎えた後、急速に減少し、その後ほぼ横ばいで、緩やかな減少であった。手足口病は、4月下旬から定点あたり報告数が徐々に増加し始め、2011年に次いで定点あたり累積報告数が多かった。

今後も引き続き、県内における患者情報の収集・分析に努め、全国の感染症発生動向にも注意を払いながら、県民の健康を守るための一助となるよう感染症情報を広く発信していきたい。

表1 感染症法に基づく届出対象感染症 (2015年)

1. 全数把握感染症：全ての医師が、全ての患者発生について届出を行う感染症

<p>【 一類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) エボラ出血熱 (2) クリア・コンゴ出血熱 (3) 痘そう (4) 南米出血熱 (5) ペスト (6) マールブルグ病 (7) ラッサ熱</p>
<p>【 二類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) 急性灰白髄炎 (2) 結核 (3) ジフテリア (4) 重症急性呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属 SARS コロナウイルスであるものに限る)</p> <p>(5) 鳥インフルエンザ(H5N1) (6) 鳥インフルエンザ(H7N9) * (7) 中東呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属 MERS コロナウイルスであるものに限る) *</p>
<p>【 三類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) コレラ (2) 細菌性赤痢 (3) 腸管出血性大腸菌感染症 (4) 腸チフス (5) パラチフス</p>
<p>【 四類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) E 型肝炎 (2) ウエストナイル熱 (3) A 型肝炎 (4) エキノコックス症 (5) 黄熱 (6) オウム病 (7) オムスク出血熱 (8) 回帰熱 (9) キヤサヌル森林病 (10) Q 熱 (11) 狂犬病 (12) コクシジオイデス症 (13) サル痘 (14) 重症熱性血小板減少症候群(病原体がフレボウイルス属 SFTS ウイルスであるものに限る) (15) 腎症候性出血熱 (16) 西部ウマ脳炎 (17) ダニ媒介脳炎 (18) 炭疽 (19) チングニア熱 (20) つつが虫病 (21) デング熱 (22) 東部ウマ脳炎 (23) 鳥インフルエンザ(H5N1 及び H7N9 を除く) (24) ニパウイルス感染症 (25) 日本紅斑熱 (26) 日本脳炎 (27) ハンタウイルス肺症候群 (28) B ウイルス病 (29) 鼻疽 (30) プルセラ症 (31) ベネズエラウマ脳炎 (32) ヘンドラウイルス感染症 (33) 発しんチフス (34) ボツリヌス症 (35) マラリア (36) 野兔病 (37) ライム病 (38) リッサウイルス感染症 (39) リフトバレー熱 (40) 類鼻疽 (41) レジオネラ症 (42) レプトスピラ症 (43) ロッキー山紅斑熱</p>
<p>【 五類感染症の一部 】 7 日以内に届出(麻しん・風しんはできるだけ早く)</p> <p>(1) アメーバ赤痢 (2) ウイルス性肝炎(E 型肝炎及び A 型肝炎を除く) (3) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 (4) 急性脳炎(ウエストナイル脳炎, 西部ウマ脳炎, ダニ媒介脳炎, 東部ウマ脳炎, 日本脳炎, ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く) (5) クリプトスポリジウム症 (6) クロイツフェルト・ヤコブ病 (7) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (8) 後天性免疫不全症候群 (9) ジアルジア症 (10) 侵襲性インフルエンザ菌感染症 (11) 侵襲性髄膜炎菌感染症 (12) 侵襲性肺炎球菌感染症 (12) 水痘(入院例に限る) (13) 先天性風しん症候群 (14) 梅毒 (15) 播種性クリプトコックス症 (16) 破傷風 (17) バイコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症 (18) バンコマイシン耐性腸球菌感染症 (19) 風しん (20) 麻しん (21) 薬剤耐性アシネトミクター感染症</p>
<p>【 指定感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) 鳥インフルエンザ(H7N9) ** (2) 中東呼吸器症候群(病原体がベータウイルス属 MERS コロナウイルスであるものに限る) **</p>

2. 定点把握感染症 (五類感染症)：指定した医療機関が、患者の発生について届出を行う感染症

① 週単位報告

<p>【 小児科定点 】</p> <p>(1) RS ウイルス感染症 (2) 咽頭結膜熱 (3) A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎 (4) 感染性胃腸炎 (5) 水痘 (6) 手足口病 (7) 伝染性紅斑 (8) 突発性発しん (9) 百日咳 (10) ヘルパンギーナ (11) 流行性耳下腺炎</p>
<p>【 インフルエンザ定点 】</p> <p>(1) インフルエンザ(鳥インフルエンザ及び新型インフルエンザ等感染症を除く)</p>
<p>【 眼科定点 】</p> <p>(1) 急性出血性結膜炎 (2) 流行性角結膜炎</p>
<p>【 基幹定点 】</p> <p>(1) 感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る) (2) クラミジア肺炎(オウム病を除く) (3) 細菌性髄膜炎(髄膜炎菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌を原因として同定された場合を除く) (4) マイコプラズマ肺炎 (5) 無菌性髄膜炎</p>

② 月単位報告

<p>【 性感染症定点 】</p> <p>(1) 性器クラミジア感染症 (2) 性器ヘルペスウイルス感染症 (3) 尖圭コンジローマ (4) 淋菌感染症</p>
<p>【 基幹定点 】</p> <p>(1) ペニシリン耐性肺炎球菌感染症 (2) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症 (3) 薬剤耐性緑膿菌感染症</p>

* 2015年1月21日より追加

** 2015年1月21日から二類感染症に変更

表2 全数把握感染症 月別患者発生状況

	総数	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
一類感染症	エボラ出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	クリミア・コンゴ出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	南米出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	マールブルグ病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ラッサ熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
二類感染症	急性灰白髄炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	結核	371	22	26	22	30	30	35	34	39	35	41	39
	ジフテリア	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	重症急性呼吸器症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	中東呼吸器症候群*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
三類感染症	鳥インフルエンザ(H5N1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鳥インフルエンザ(H7N9)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	コレラ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	細菌性赤痢	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-
	腸管出血性大腸菌感染症	63	2	-	-	2	-	6	7	27	14	2	3
四類感染症	腸チフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	パルチフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E型肝炎	4	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	1
	ウエストナイル熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A型肝炎	9	-	2	-	2	2	-	-	-	-	-	1
	エボラ出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	オーストラリア熱	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	オムスク出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	回帰熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	キヤサヌル森林熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Q熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	狂犬病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	コクシジオデス症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	サル痘	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	重症熱性血小板減少症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	腎症候性出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	西部ウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ダニ媒介脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	炭疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	チクングニア熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ツツガムシ病	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	デング熱	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	東部ウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鳥インフルエンザ(鳥インフルエンザ(H5N1)を除く)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ニバウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	日本紅斑熱	3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
	日本脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ハンタウイルス肺症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B型肝炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鼻疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ブルセラ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ベネズエラウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ヘンドラウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	発疹チフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ボツリヌス症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	マラリア	2	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-
	野兎病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ライム病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	リッサウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	リフトバレー熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	類鼻疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	レジオネラ症	27	3	1	2	2	-	5	3	1	5	2	1
	レプトスピラ症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ロッキーマウンテン紅斑熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	アメリカーナ赤痢	17	3	2	-	1	4	1	2	2	-	1	1
	ウイルス性肝炎(E・Aを除く)	9	1	1	1	-	1	-	-	3	-	-	-
	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	34	1	5	4	2	6	4	2	2	-	3	1
	急性脳炎*	14	1	2	2	-	2	2	2	1	-	-	-
	クリプトスポリジウム症	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	クロイツフェルト・ヤコブ病	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
劇症型溶血性レンサ球菌感染症	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	
後天性免疫不全症候群	21	3	1	3	3	-	4	2	-	2	2	-	
ジアンジェラ症	4	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	
侵襲性インフルエンザ菌感染症	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	
侵襲性髄膜炎菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
侵襲性肺炎球菌感染症	35	7	4	2	4	2	1	2	1	1	3	2	
水痘(入院例)	6	-	-	-	-	-	2	2	-	-	-	1	
先天性風しん症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
梅毒	25	-	-	3	1	4	-	2	2	1	2	7	
播種性クリプトコックス	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
破傷風	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
バンコマイシン耐性腸球菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
風しん	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
麻疹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
薬剤耐性アシネトバクター感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

*1 ウェストナイル脳炎, 西部ウマ脳炎, ダニ媒介脳炎, 東部ウマ脳炎, 日本脳炎, ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く

*2 2015年1月21日より, 中東呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属MARSコロナウイルスであるものに限る。), 鳥インフルエンザ(H7N9)が指定感染症から全数把握感染症に変更。

表3 全数把握感染症 年齢別患者発生状況

	総数	0～9歳	10歳代	20歳代	30歳代	40歳代	50歳代	60歳代	70歳代	80歳代	90歳～
一類感染症	エボラ出血熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	クリミア・コンゴ出血熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	南米出血熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
二類感染症	マールブルグ病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	ラッサ熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
三類感染症	急性灰白髄炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	結核	371	8	1	32	30	32	19	43	71	103
	重症急性呼吸器症候群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	中東呼吸器症候群*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
四類感染症	鳥インフルエンザ(H5N1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	鳥インフルエンザ(H7N9)*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	コレラ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	細菌性赤痢	2	1	—	1	—	—	—	—	—	—
	腸管出血性大腸菌感染症	63	17	10	6	7	6	1	3	6	3
	腸チフス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	バチラチフス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	E型肝炎	4	—	—	—	—	1	—	3	—	—
	ウエストナイル熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	A型肝炎	9	—	—	2	—	2	2	—	2	—
エキノコックス症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
黄熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
オウムムチフス	1	—	—	—	—	1	—	—	—	—	
回帰熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
キヤサスル森林病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Q熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
狂犬病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
コクシジオイデス症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
サングル痘	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
重症熱性血小板減少症候群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
腎症候性出血熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
西部ウマ脳炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ダニ媒介脳炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
炭疽	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
チングニア熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ツツガムシ病	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	
デング熱	2	—	—	1	1	—	—	—	—	—	
東部ウマ脳炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
鳥インフルエンザ(鳥インフルエンザ(H5N1)を除く)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
日本脳炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
日本紅斑熱	3	—	—	—	—	—	—	—	2	1	
ハンタウイルス肺症候群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Bウイルス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
鼻疽	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ブルセラ病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ベネズエラウマ脳炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ヘンドラウイルス感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
発しんチフス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ボツリヌス症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
マラリア	2	—	—	—	2	—	—	—	—	—	
野兎病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ライム病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
リッサウイルス感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
リフトバレー熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
類鼻疽	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
レジオネラ症	27	—	—	—	1	3	5	7	4	4	
レプトスピラ症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ロッキーマウンテン紅斑熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
五類感染症	アムニオニオチフス	17	—	—	1	3	4	4	4	1	—
	ウイルス性肝炎(E・Aを除く)	9	—	1	2	3	2	1	—	—	—
	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	34	—	—	—	—	1	—	6	6	15
	急性脳炎*	14	12	—	1	1	—	—	—	—	—
	クリプトスポリジウム症	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—
	クロイツフェルト・ヤコブ病	2	—	—	—	—	—	—	1	1	—
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	2	—	—	—	—	—	—	1	1	—
	後天性免疫不全症候群	21	—	1	7	1	5	6	1	—	—
	ジニア症	4	—	—	—	1	—	1	2	—	—
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	2	—	—	—	—	1	—	1	—	—
	侵襲性髄膜炎菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	侵襲性肺炎球菌感染症	35	6	—	—	2	6	1	4	10	2
	水痘(入院例)	6	1	3	—	—	—	—	—	—	2
	先天性風しん症候群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	梅毒	25	—	1	9	4	7	3	1	—	—
	播種性クリプトコックス症	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1
	破傷風	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
バンコマイシン耐性腸球菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
風疹	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
麻疹	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
薬剤耐性アシネトバクター感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

*1 ウエストナイル脳炎, 西部ウマ脳炎, ダニ媒介脳炎, 東部ウマ脳炎, 日本脳炎, ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く

*2 2015年1月21日より, 中東呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属MARSコロナウイルスであるものに限る。), 鳥インフルエンザ(H7N9)が指定感染症から全数把握感染症に変更。

表4 定点把握対象感染症の発生状況 定点あたり報告数, 週別 (小児科・インフルエンザ定点, 眼科定点, 基幹定点)

2015年

	インフルエンザ	RSウイルス感染症	咽頭結膜熱	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	感染性胃腸炎	水痘	手足口病	伝染性紅斑	突発性発しん	百日咳	ヘルパンギーナ	流行性耳下腺炎	急性出血性結膜炎	流行性角結膜炎	細菌性髄膜炎	無菌性髄膜炎	マイコプラズマ肺炎	クラミジア肺炎	感染性胃腸炎(ロタウイルス)
総数	307.67	23.31	10.76	59.39	344.67	18.65	89.26	12.24	14.54	0.50	24.09	14.70	0.42	24.75	0.40	1.80	8.00	0.40	8.60
1週	20.56	0.30	0.13	0.52	8.24	0.43	0.22	0.02	0.22	—	—	0.02	—	0.08	—	—	—	—	—
2週	42.99	0.83	0.11	1.91	8.39	1.44	0.15	0.04	0.44	—	—	0.20	0.08	0.42	—	—	—	—	—
3週	59.21	0.39	0.09	1.15	8.39	0.50	0.31	0.13	0.28	0.02	—	0.19	0.08	0.08	—	—	—	—	—
4週	58.98	0.48	0.15	1.74	8.56	0.48	0.13	0.13	0.39	—	—	0.15	0.08	0.33	—	—	—	—	—
5週	35.69	0.57	0.13	1.41	8.07	0.63	0.22	0.13	0.28	0.04	—	0.17	—	0.25	0.40	—	0.40	—	—
6週	21.14	0.56	0.13	1.50	7.11	0.43	0.37	0.06	0.24	—	—	0.11	—	0.08	—	—	—	—	—
7週	11.39	0.30	0.22	1.20	5.96	0.46	0.41	0.06	0.35	0.02	0.04	0.15	—	—	—	—	—	—	—
8週	7.70	0.26	0.28	1.91	6.48	0.48	0.26	0.07	0.39	—	0.02	0.22	0.08	—	—	—	—	—	—
9週	4.55	0.19	0.22	2.11	7.04	0.43	0.56	0.07	0.43	0.02	0.04	0.15	—	0.17	—	—	—	—	1.20
10週	3.85	0.06	0.09	1.76	8.02	0.48	0.69	0.06	0.28	0.02	0.02	0.33	—	0.25	—	—	—	—	0.20
11週	4.11	0.17	0.15	1.56	8.04	0.28	0.69	0.09	0.39	—	0.06	0.41	—	0.17	—	—	—	—	1.00
12週	6.18	0.07	0.19	1.37	8.52	0.41	0.30	0.06	0.39	0.02	0.02	0.24	—	0.08	—	—	—	—	0.40
13週	5.67	0.15	0.24	1.80	6.50	0.41	0.30	0.07	0.22	—	0.02	0.46	—	0.08	—	—	—	—	0.20
14週	5.18	0.07	0.15	1.04	7.63	0.52	0.43	0.19	0.37	—	—	0.43	—	0.33	—	—	—	—	0.60
15週	2.83	0.07	0.11	0.91	5.83	0.20	0.17	0.02	0.39	—	0.02	0.28	—	0.25	—	—	—	—	0.20
16週	3.81	0.09	0.07	0.80	6.35	0.50	0.35	0.07	0.37	—	—	0.20	—	0.58	—	—	—	—	0.20
17週	3.19	0.13	0.33	1.19	6.76	0.15	0.70	0.15	0.52	0.02	0.02	0.20	—	0.25	—	—	—	—	0.20
18週	2.89	0.07	0.28	1.24	7.85	0.22	0.74	0.19	0.44	0.02	0.02	0.30	0.08	0.25	—	—	—	—	0.20
19週	1.45	0.07	0.17	1.15	6.04	0.19	0.74	0.06	0.26	0.02	0.02	0.48	—	0.58	—	—	—	—	0.40
20週	0.96	0.02	0.26	1.22	6.24	0.31	0.94	0.11	0.48	0.02	0.15	0.33	—	0.67	—	—	—	—	—
21週	0.81	0.09	0.41	1.35	7.02	0.13	1.37	0.19	0.30	0.04	0.33	0.35	—	0.17	—	—	—	—	—
22週	0.55	0.06	0.41	2.11	7.72	0.19	1.63	0.19	0.39	—	0.24	0.30	—	0.25	—	—	—	—	0.20
23週	0.18	—	0.44	1.13	6.07	0.39	1.80	0.13	0.41	0.06	0.41	0.24	—	0.25	—	—	—	—	0.40
24週	0.10	0.02	0.46	1.61	6.63	0.07	2.33	0.35	0.44	—	0.37	0.44	—	0.33	—	0.20	—	—	—
25週	0.01	—	0.39	1.13	6.31	0.13	3.54	0.33	0.59	0.06	0.93	0.43	—	0.33	—	—	—	—	—
26週	—	0.04	0.33	1.30	6.22	0.15	4.59	0.39	0.43	—	1.41	0.50	—	0.33	—	—	0.60	0.20	0.20
27週	0.02	0.06	0.22	1.26	6.22	0.31	5.39	0.28	0.41	0.02	1.72	0.59	—	0.75	—	—	0.40	—	—
28週	0.02	0.09	0.26	0.83	5.26	0.22	5.13	0.46	0.28	—	2.52	0.46	—	0.17	—	—	0.20	—	—
29週	—	0.04	0.19	0.74	5.06	0.30	7.87	0.19	0.30	—	3.06	0.69	—	0.42	—	—	0.40	—	—
30週	0.02	0.04	0.20	0.65	4.87	0.15	6.11	0.26	0.39	—	2.13	0.56	—	0.42	—	0.40	0.20	—	0.20
31週	—	0.02	0.17	0.67	4.78	0.11	7.26	0.22	0.46	0.07	2.81	0.98	—	0.25	—	0.20	0.20	—	—
32週	0.01	0.09	0.17	0.59	4.28	0.19	6.44	0.26	0.59	—	2.07	0.48	—	0.75	—	—	—	—	—
33週	—	0.11	0.13	0.30	3.67	0.20	3.59	0.13	0.39	0.02	1.59	0.85	—	0.75	—	—	0.20	—	—
34週	—	0.26	0.33	0.80	4.72	0.09	4.15	0.37	0.52	0.02	1.35	0.50	—	2.08	—	—	—	—	—
35週	0.01	0.39	0.28	0.52	4.39	0.22	4.50	0.31	0.48	—	0.98	0.74	—	1.17	—	0.20	—	—	—
36週	—	0.67	0.11	0.63	4.50	0.22	3.50	0.31	0.31	—	0.74	0.57	—	0.83	—	—	—	—	—
37週	—	0.72	0.24	0.44	4.22	0.41	3.28	0.46	0.41	—	0.70	0.41	—	0.83	—	—	0.20	—	—
38週	0.02	0.78	0.17	0.57	4.44	0.17	2.28	0.24	0.31	0.02	0.30	0.59	—	0.83	—	—	0.80	—	—
39週	0.02	0.69	0.06	0.41	3.67	0.19	1.56	0.26	0.22	—	0.13	0.72	—	0.25	—	—	0.40	—	—
40週	0.02	0.63	0.06	0.65	3.87	0.19	1.46	0.30	0.44	0.02	0.07	0.67	—	0.92	—	—	0.20	—	—
41週	0.02	0.67	0.09	0.37	4.04	0.17	0.91	0.26	0.33	—	0.04	0.61	—	0.50	—	—	0.20	0.20	—
42週	—	0.63	0.22	0.65	3.87	0.11	0.44	0.28	0.37	—	0.04	0.61	—	0.50	—	—	—	—	0.20
43週	0.01	0.74	0.13	0.78	4.44	0.30	0.37	0.39	0.28	—	0.06	1.06	—	0.67	—	—	0.40	—	—
44週	0.02	0.96	0.13	0.80	5.70	0.37	0.13	0.24	0.28	—	0.02	0.59	—	0.42	—	—	0.20	—	—
45週	0.02	0.80	0.09	0.76	5.00	0.30	0.13	0.31	0.35	0.02	—	0.63	—	0.50	—	—	—	—	0.20
46週	0.14	0.93	0.17	0.96	4.96	0.46	0.19	0.35	0.33	0.04	0.07	0.69	0.17	0.33	—	0.20	—	—	—
47週	0.15	0.93	0.20	1.06	6.15	0.59	0.17	0.43	0.41	—	0.02	0.85	—	1.25	—	0.20	—	—	0.40
48週	0.24	1.15	0.13	1.43	6.44	0.39	0.13	0.37	0.39	0.02	0.02	0.74	—	0.33	—	—	—	—	—
49週	0.33	1.19	0.19	1.98	9.06	0.69	0.13	0.33	0.56	0.02	—	0.96	—	1.67	—	—	0.20	—	0.20
50週	0.55	1.48	0.28	1.44	11.46	0.46	0.09	0.67	0.43	0.02	—	1.20	—	0.58	—	0.20	0.80	—	—
51週	0.52	1.91	0.15	1.87	12.81	0.65	0.06	0.52	0.37	0.02	0.02	1.30	—	0.08	—	0.20	1.40	—	1.40
52週	0.85	1.39	0.35	1.48	11.91	0.74	0.07	0.67	0.13	—	0.02	1.04	—	0.92	—	—	0.60	—	0.20
53週	0.65	0.93	0.11	0.67	8.87	0.46	—	0.04	0.09	—	—	0.83	—	—	—	—	—	—	0.20

表5 月報告 定点把握感染症（性感染症定点、基幹定点） 月別、定点あたり報告数

2015年

疾患名		総計	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
性感染症定点	性器クラミジア感染症	計	22.18	1.65	1.76	1.82	1.53	1.94	2.24	1.53	2.24	1.88	2.12	1.41	2.06
		男	5.35	0.59	0.41	0.41	0.35	0.47	0.47	0.29	0.76	0.35	0.41	0.35	0.47
		女	16.82	1.06	1.35	1.41	1.18	1.47	1.76	1.24	1.47	1.53	1.71	1.06	1.59
	性器ヘルペスウイルス感染症	計	4.65	0.65	0.41	0.65	0.29	0.47	0.53	0.53	0.18	0.41	0.18	0.24	0.12
		男	0.12	—	—	0.06	—	0.06	—	—	—	—	—	—	—
		女	4.53	0.65	0.41	0.59	0.29	0.41	0.53	0.53	0.18	0.41	0.18	0.24	0.12
	尖圭コンジローマ	計	4.76	0.47	0.41	0.41	0.47	0.18	0.41	0.41	0.29	0.41	0.29	0.59	0.41
		男	3.41	0.35	0.29	0.29	0.35	0.18	0.18	0.29	0.24	0.24	0.24	0.47	0.29
		女	1.35	0.12	0.12	0.12	0.12	—	0.24	0.12	0.06	0.18	0.06	0.12	0.12
	淋菌感染症	計	6.00	0.94	0.65	0.71	0.29	0.35	0.35	0.41	0.65	0.41	0.18	0.47	0.59
		男	3.12	0.59	0.29	0.24	0.06	0.24	0.12	0.18	0.41	0.29	0.18	0.29	0.24
		女	2.88	0.35	0.35	0.47	0.24	0.12	0.24	0.24	0.24	0.12	—	0.18	0.35
基幹定点	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	計	26.20	3.20	1.00	2.80	3.20	1.40	2.60	2.00	1.60	1.60	2.40	1.40	3.00
		男	18.00	2.20	0.20	2.00	2.60	1.00	1.40	1.20	1.40	1.40	2.00	1.00	1.60
		女	8.20	1.00	0.80	0.80	0.60	0.40	1.20	0.80	0.20	0.20	0.40	0.40	1.40
	ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	計	0.20	—	—	—	0.20	—	—	—	—	—	—	—	—
		男	0.20	—	—	—	0.20	—	—	—	—	—	—	—	—
		女	0.00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	薬剤耐性緑膿菌感染症	計	1.40	0.20	—	—	—	0.20	0.20	0.20	0.40	—	—	0.20	—
		男	1.20	0.20	—	—	—	0.20	0.20	0.20	0.20	—	—	0.20	—
		女	0.20	—	—	—	—	—	—	—	0.20	—	—	—	—

表6 月報告 定点把握感染症（性感染症定点）年齢階級別患者報告数

2015年

疾患名		0歳	1歳～	5歳～	10歳～	15歳～	20歳～	25歳～	30歳～	35歳～	40歳～	45歳～	50歳～	55歳～	60歳～	65歳～	70歳～	総計
性器クラミジア感染症	計	—	—	—	—	54	107	67	74	39	15	9	5	2	3	—	2	377
	男	—	—	—	—	7	22	15	16	10	5	6	3	2	3	—	2	91
	女	—	—	—	—	47	85	52	58	29	10	3	2	—	—	—	—	286
性器ヘルペスウイルス感染症	計	—	1	—	—	4	9	16	4	13	3	3	3	4	1	3	15	79
	男	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
	女	—	—	—	—	4	8	16	4	13	3	3	3	4	1	3	15	77
尖圭コンジローマ	計	—	—	—	—	4	9	7	32	4	7	8	2	4	—	—	4	81
	男	—	—	—	—	3	3	—	28	4	4	8	2	3	—	—	3	58
	女	—	—	—	—	1	6	7	4	—	3	—	—	1	—	—	1	23
淋菌感染症	計	—	—	—	—	15	23	11	21	14	10	3	1	—	2	—	2	102
	男	—	—	—	—	8	9	7	12	7	5	1	—	—	2	—	2	53
	女	—	—	—	—	7	14	4	9	7	5	2	1	—	—	—	—	49

表7 月報告 定点把握感染症（基幹定点）年齢階級別患者報告数

2015年

疾患名	0歳	1歳～	5歳～	10歳～	15歳～	20歳～	25歳～	30歳～	35歳～	40歳～	45歳～	50歳～	55歳～	60歳～	65歳～	70歳～	総計
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	3	4	2	—	1	2	1	4	3	3	—	1	5	7	11	84	131
ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1
薬剤耐性緑膿菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	7

他誌発表論文抄録

市中病院における*Mycoplasma pneumoniae*の抗菌薬感受性 および臨床経過に関する検討

堺 隆大, 石田 直, 有田真知子, 橋 洋正, 吉岡弘鎮, 野山麻紀, 時岡史明, 伊藤明広, 古田健二郎,
西山明宏, 橋本 徹, 藤井寛之, 中嶋 洋, 見理 剛, 柴山恵吾

感染症学雑誌, 89 (4), 458-464, 2015

近年, 小児科を中心にマクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* 株の増加が報告されており, 内科領域においても増加がみられている。2008～2012年に肺炎マイコプラズマが検出された70例の市中肺炎患者を対象に, 抗菌薬感受性および臨床経過に関して検討を行った。2003～2006年の検出株ではマクロライド耐性株を認めなかったが, 今回の検討では, *M. pneumoniae*70株中46株(65.7%)がマクロライド系薬剤耐性23SrRNA遺伝子変異株(A2063G)であり, 近年の耐性化傾向を裏付けるものであった。

マクロライド耐性株の臨床経過について検討を行ったが, マクロライド耐性株検出例は感受性株検出例に比較し, 発

熱期間の延長を認めたものの入院期間の有意差は認めなかった。初回使用抗菌薬に感受性のあった場合の発熱期間とマクロライド感受性株の発熱期間はともに約7日であり, 発熱期間は, マクロライド耐性か否かより, 初回抗菌薬に感受性があるかどうか依存すると考えられた。また, 耐性株であっても, 感受性のある抗菌薬未使用で軽快した例も多く認められており, 重篤化や入院期間の延長は認めなかった。よって, マクロライド系薬は, 現在においてもマイコプラズマ肺炎の第1選択薬として可と考えられ, 発熱が続き全身状態が改善しない時に薬剤変更を検討してもよいと思われる。

Yersinia pseudotuberculosis infection in Kawasaki disease and its clinical characteristics

Tomoko Horinouchi, Kandai Nozu, Kiyoshi Hamahira, Yosuke Inaguma, Jun Abe,
Hiroshi Nakajima, Masaaki Kugo and Kazumoto Iijima

BMC Pediatrics, 15, 177, 2015

KD (Kawasaki disease) patients with YPT (*Yersinia pseudotuberculosis*) infection had CS (Cardiac sequelae) significantly more frequently and treatment with RAISE (Randomized controlled trial to Assess Immunoglobulin plus Steroid Efficacy for Kawasaki disease) protocol did not decrease the frequency of CS in our cohort, nor did YPT infection affect risk scores of

no response to IVIG (IntraVenous ImmunoGlobulin). However, our sample size was overly small to draw such conclusions. Further investigation in a larger cohort is necessary to confirm our findings. Additionally, further research is needed to determine whether early diagnosis of YPT can prevent KD from developing and reduce the incidence of CS.

Yersinia enterocolitica 感染を認めた川崎病の 1 例

上原陽治, 佐藤 彩, 米田真紀子, 伊藤英介, 杉本 徹, 宗村純平, 中嶋 洋

Progress in Medicine, 35 (7), 1121-1124, 2015

本症例は、川崎病と *Y. enterocolitica* (以下、「Y.ent」という。) 感染症が合併していた症例で、Y.ent 感染症が川崎病の契機となった可能性がある。川崎病の診断基準を満たす症例では、冠動脈瘤などの川崎病の合併症を回避するた

めに、まず川崎病の治療を適切に施行することが重要である。そして、本症例のように川崎病に対する治療経過が思わしくない場合に、随伴症状を手がかりに川崎病以外の原因検索を行う必要がある。

当院の1年間の川崎病患者におけるエルシニア抗体・抗YPM抗体の上昇

堀之内智子, 稲熊洋祐, 濱平陽史, 江渕有紀, 中川満理子, 百々菜月, 城田佑子, 松本真明, 宮内寛子, 多田慎吾, 向井祥代, 藤原安曇, 井上恵理子, 上村裕保, 高見勇一, 柄川 剛, 高橋宏暢, 五百歳智明, 久呉真章, 阿部 淳, 中嶋 洋

Progress in Medicine, 35(7), 1125-1128, 2015

108例の川崎病患者のうち, 11例に抗 *Ypseudotuberculosis* (以下, 「Yp」という。) 抗体もしくは抗 Yp-derived mitogen 抗体の上昇を認めた。上昇を認めた11例のうち2例に心後遺症を認めた。しかしながら, Yp陽性群・陰

性群間の違いを腹部症状以外の臨床所見で見分けることは困難であった。川崎病患者において, Yp感染症の早期診断・治療が心後遺症を減らすことにつながるか, 今後の研究が期待される。

Characterization of an A(H1N1) pdm09 Virus Imported from India in March 2015

Emi Takashita, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Kazuya Nakamura, Noriko Kishida, Tomoko Kuwahara, Suguru Ohmiya, Ko Sato, Hiroko Ito, Fumiko Chiba, Hidekazu Nishimura, Shizuo Shindo, Shinji Watanabe, Takato Odagiri, and The Influenza Virus Surveillance Group of Japan

Japanese Journal of Infectious Diseases, 69, 83-86, 2016

A large influenza A (H1N1) pdm09 outbreak occurred in India in December 2014. Between January 1 and April 21, 2015, over 35,000 cases, and 2,335 deaths have been reported, making this one of the worst influenza

outbreaks that India has experienced in recent years. A number of reports have suggested various reasons for this large outbreak, but detailed information about the influenza viruses causing this outbreak in India is limited.

Sensitive and specific PCR systems for detection of both Chinese and Japanese severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strains and prediction of patient survival based on viral load

Tomoki Yoshikawa, Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Aiko Fukuma, Satoshi Taniguchi, Shoichi Toda, Yukie Shimazu, Koji Yano, Toshiharu Morimitsu, Katsuyuki Ando, Akira Yoshikawa, Miki Kan, Nobuyuki Kato, Takumi Motoya, Tsuyoshi Kuzuguchi, Yasuhiro Nishino, Hideo Osako, Takahiro Yumisashi, Kouji Kida, Fumie Suzuki, Hirokazu Takimoto, Hiroaki Kitamoto, Ken Maeda, Toru Takahashi, Takuya Yamagishi, Kazunori Oishi, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, and Masayuki Shimojima

Journal of Clinical Microbiology, 52(9), 3325-3333, 2014

Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) is an emerging infectious disease with a high case fatality risk and is caused by the SFTS virus (SFTSV). A retrospective study conducted after the first identification of an SFTS patient in Japan revealed that SFTS is endemic to the region, and the virus exists indigenously in Japan. Since the nucleotide sequence of Japanese SFTSV strains contains considerable differences compared with that of Chinese strains, there is an urgent need to establish a sensitive and specific method capable of detecting the Chinese and Japanese strains of SFTSV. A conventional one-step reverse transcription-PCR (RT-PCR) (cvPCR) method and a quantitative one-step RT-PCR (qPCR) method were developed to detect the SFTSV genome. Both cvPCR and qPCR detected a Chinese SFTSV strain. Forty-one of 108 Japanese

patients suspected of having SFTS showed a positive reaction by cvPCR. The results from the samples of 108 Japanese patients determined by the qPCR method were in almost complete agreement with those determined by cvPCR. The analyses of the viral copy number level in the patient blood samples at the acute phase determined by qPCR in association with the patient outcome confirmed that the SFTSV RNA load in the blood of the nonsurviving patients was significantly higher than that of the surviving patients. Therefore, the cvPCR and qPCR methods developed in this study can provide a powerful means for diagnosing SFTS. In addition, the detection of the SFTSV genome level by qPCR in the blood of the patients at the acute phase may serve as an indicator to predict the outcome of SFTS.

Phylogenetic and Geographic Relationships of Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome Virus in China, South Korea, and Japan

Tomoki Yoshikawa, Masayuki Shimojima, Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Aiko Fukuma, Satoshi Taniguchi, Harpal Singh, Yuto Suda, Komei Shirabe, Shoichi Toda, Yukie Shimazu, Taro Nomachi, Mutsuyo Gokuden, Toshiharu Morimitsu, Katsuyuki Ando, Akira Yoshikawa, Miki Kan, Marina Uramoto, Hideo Osako, Kouji Kida, Hirokazu Takimoto, Hiroaki Kitamoto, Fumio Terasoma, Akiko Honda, Ken Maeda, Toru Takahashi, Takuya Yamagishi, Kazunori Oishi, Shigeru Morikawa and Masayuki Saijo

The Journal of Infectious Diseases, 212(6), 889-898, 2015

Background. Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) is a tick-borne acute infectious disease caused by the SFTS virus (SFTSV). SFTS has been reported in China, South Korea, and Japan as a novel Bunyavirus. Although several molecular epidemiology and phylogenetic studies have been performed, the information obtained was limited, because the analyses included no or only a small number of SFTSV strains from Japan.

Methods. The nucleotide sequences of 75 SFTSV samples in Japan were newly determined directly from the patients' serum samples. In addition, the sequences of 7 strains isolated in vitro were determined and compared

with those in the patients' serum samples. More than 90 strains that were identified in China, 1 strain in South Korea, and 50 strains in Japan were phylogenetically analyzed.

Results. The viruses were clustered into 2 clades, which were consistent with the geographic distribution. Three strains identified in Japan were clustered in the Chinese clade, and 4 strains identified in China and 26 in South Korea were clustered in the Japanese clade.

Conclusions. Two clades of SFTSV may have evolved separately over time. On rare occasions, the viruses were transmitted overseas to the region in which viruses of the other clade were prevalent.

単行本

クラミジア疾患

岸本壽男

感染症予防必携（第3版），250-254，日本公衆衛生協会，東京，2015

非定型病原体検査

岸本壽男

小児の肺炎（改訂版），69-75，医薬ジャーナル社，大阪，2016

報告書等

人形峠周辺の環境放射線等測定報告（平成27年度）

小川 登, 木下浩行, 畑 陽介, 片岡敏夫, 清水光郎, 山本 淳, 伊東清実, 岸本壽男

岡山県環境保健センター, 同 環境企画課：平成27年度人形峠周辺の環境放射線等測定報告書

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター周辺の安全確保や環境保全のために、昭和54年度から環境放射線等の連続測定及びサンプリング測定を実施している。平成27年度における放射線、放射能、ふっ

素等の測定結果を外部専門家で構成される測定技術委員会において検討した結果、“施設由来の異常値は認められなかった。”との評価であった。

レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み（平成27年度）

森本 洋, 中嶋 洋 他

（厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業）
レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究
平成27年度 総括・分担研究報告書：71-95, 2016

レジオネラ属菌検査法の安定化を目的とし、1) 精度管理、2) 標準的検査法、3) 研修システムの3点を柱とし、レジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループ（以下WG）内で検討を行った。

WGでは、これまでの厚労科研研究事業において、レジオネラ属菌の特異的な性質から、外部精度管理用の配付試料の作製について、その安定性と再現性及びそれらの妥当性評価について試行錯誤を繰り返してきた。平成25、26年度は、微生物定量試験用標準菌株の販売を行っているシスメックス・ジオメリュー社のBioBall（特注品）を利用し、外部精度管理を試みた。その結果、配付試料の信頼性

においてメーカー保証が得られ、また、メーカーによる商品発送対応であることから、多施設へ安定した輸送が可能となった。そこで、配付試料がより安定した性能を発揮できる範囲内で、検査工程のどの部分に重きを置くかの定義付けを行い平成27年度はその実施母体を日水製薬(株)とし、公的、民間を問わず全国189の検査機関(延べ192試料配付)に対し外部精度管理を実施した。研究班への協力機関として参加した地方衛生研究所68機関については、WGでも集計・解析を実施した。今後もさらに検討を重ね、適切な研修会までの実施を視野に入れた継続的な外部精度管理を開催できるよう検討が必要と思われる。

レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み（平成25～27年度）

森本 洋, 中嶋 洋 他

（厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業）
レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究
平成25年度～平成27年度 総合研究報告書：61-70, 2016

レジオネラ属菌検査法の安定化を目的とし、1) 精度管理、2) 標準的検査法、3) 研修システムの3点を柱とし、レジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループ（以下WG）内で検討を行った。

WGでは、これまでの厚労科研究事業において、レジオネラ属菌の特異的な性質から、外部精度管理用の配付試料の作製について、その安定性と再現性及びそれらの妥当性評価について試行錯誤を繰り返してきた。また、病原体の輸送においても日本国内での対応が平成24年6月以降厳しくなり、苦慮していたところである。本研究機関にお

いては、微生物定量試験用標準菌株の販売を行っているシスメックス・ビオメリュー社のBioBall（特注品）を利用し、外部精度管理を試みた。平成27年度はその実施母体を日水製薬㈱とし、公的、民間を問わず全国192の検査機関に対し外部精度管理を実施した。研究班への協力機関として参加した地方衛生研究所68機関については、WGでも集計・解析を実施した。今後もさらに検討を重ね、適切な研修会までの実施を視野に入れた継続的な外部精度管理を開催できるよう検討が必要と思われる。

地域特異的な感染源不明クラスターに関する調査（平成27年度）

中嶋 洋

（厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業）
レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究
平成27年度 総括・分担研究報告書：131-137, 2016

平成27年度に県内で発生したレジオネラ症患者から分離された菌株5株を収集して、sequence-based typing (SBT) 法による型別を実施した。このうちの1株は *L.pneumophila* (Lp) 血清群 (SG) 1 sequence type (ST) 609 で、過去にも患者3名から分離され、本県に地域特異性の高い菌株であった。また、Lp SG3 ST93 は国内では県内の患者9名のみから分離されている菌株であり、これらの感染源を究明するための調査を実施した。環境由来の

37検体中7検体（18.9%）からレジオネラを検出し、さらに保健所が分離したレジオネラ83株を収集した。これらの株を含め、今まで環境から分離されたLp SG1とSG3について、分子疫学解析を行ったが、患者由来株と同じSTやPFGEパターンの菌株は、検出されなかった。感染源の究明には、より多様な検体の調査や患者発生時の自宅周辺の調査も、必要であると思われた。

地域特異的な感染源不明クラスターに関する調査（平成25～27年度）

中嶋 洋

（厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業）
レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究
平成25年度～平成27年度 総合研究報告書：105-113, 2016

県内のレジオネラ症患者由来株のうち、本県に地域特異的に検出されている *L.pneumophila* (Lp) 血清群 (SG) 3 は、9 株すべてが sequence type (ST) 93 で、パルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 法による遺伝子パターンも一致した。また、Lp SG1 (ST609, ST1077) も同様に地域特異的に検出されていることから、これら患者の感染源を明らかにするため、環境検体のレジオネラ汚染調査を行った。3年

間に 282 検体について検査を行った結果、69 検体 (24.5%) からレジオネラが検出されたが、上記の菌株はどの検体からも検出されず、感染源の究明には至らなかった。このため、修景水等の未調査の検体に調査対象を拡大して、より多様な検体についてもレジオネラ汚染実態の調査が必要であると思われた。

食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究 (平成27年度)

中嶋 洋, 大島律子, 河合央博, 檀上博子, 他

(厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究
平成27年度 総括・研究分担報告書: 87-141, 2016

中四国地域で食品由来感染症の広域事例が発生した場合等においては、各施設の分子疫学解析結果等を共有する必要がある。このため、各施設における分子疫学解析手法の維持と解析精度の向上、さらにこのデータを用いたデータベースの構築を目的として、腸管出血性大腸菌(EHEC) O157 菌株を用いたパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE法)及びIS-printing Systemによる精度管理を、実施した。その結果、ほとんどの施設は良好な解析結果であったが、一部施設では解析法の習熟が必要と思われた。

中四国地域の EHEC O157 による感染事例について、IS-printing system 等による解析データや疫学情報を収集し解析した結果、7種類の IS コードの菌による感染事例の発生が、複数の県で確認された。このうち、疫学的に関連のある株については、MLVA 法による結果も一致していた。広域発生事例の疫学解析に重要な分子疫学情報等のデータベース構築に向け、今後さらに分子疫学解析技術の維持・向上が重要になるものと思われる。

病原体サーベイランスに関する自治体間の関係構築に関する現状調査 (平成27年度)

岸本 剛, 濱野雅子 他

(厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
地方衛生研究所における病原体サーベイランスの評価と改善に関する研究
平成27年度 総括・分担研究報告書：34-47, 2016

病原体サーベイランスについて、地方衛生研究所のウイルス検査実施の視点から、自治体間の連携構築の現状を把

握することで、地域特性や問題点を共有して、法改正後の円滑な実施のための検討を行う。

我が国におけるダニ媒介性感染症の多様性

岸本壽男, 濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 松岡保博, 服部妙子,
藤井理津志, 岡 弘子, 筒井みちよ, 木田浩司

日本内科学会雑誌, 104 (9), 2011-2019, 2015

我が国における主なダニ媒介性感染症としては、従来からリケッチア感染症のつつが虫病や日本紅斑熱と、ボレリアによるライム病などが知られてきた。最近ではこれらに加えて、欧米で多くの患者報告があるヒト顆粒球性アナプラズマ症や、ロシアで患者報告がされているボレリア・ミヤモトイ (*Borrelia miyamotoi*) による新興回帰熱の国内での存在も明らかとなった。一方で輸入感染症としても、東南アジアからのつつが虫病や、ヨーロッパからの地中海

紅斑熱、アフリカダニ咬傷熱などが報告されている。さらに2011年に中国で報告された重症熱性血小板減少症候群 (severe fever with thrombocytopenia syndrome : SFTS) が、2013年に我が国でも確認され、致死率の高さから大きな問題となっている。本稿では、これらの多様化するダニ媒介性感染症のうち、リケッチア感染症と SFTS を中心にトピックスや疫学の現状と課題、対策について述べる。

重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)

岸本壽男

小児科, 57 (1), 17-22, 2016

重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) は、2011 年に中国から新種のウイルス SFTSV による新興感染症として報告されたダニ媒介性感染症で、わが国では、2013 年 1 月に山口県で初めて確認された。2013 年 1 月～2015 年 12 月までに西日本を中心とした 20 府県で、158 人の SFTS 症例が確定され、死亡例 39 人 (致死率約 25%) と高い死亡率から問題となっている。患者は、高齢者が主で、死亡例は高齢者でより高率になっている。マダニの活動が活発化する 5～8 月が多いが、温暖な地域では冬にも患者発生がある。SFTSV を保有するマダニに刺咬され感染すると、6 日～2 週間の潜伏期を経て、発熱、消化器症状が認められ、

その他頭痛、筋肉痛、意識障害などの神経症状、リンパ節腫脹、皮下出血や下血などの出血症状などを起こす。重症化すると血球貪食症候群や多臓器不全を起こして死亡する。検査では、血小板減少、白血球減少、血清電解質異常、血清酵素異常、尿検査異常が多くの症例でみられ、血清フェリチンの上昇や骨髄での血球貪食像も重症例で多く認められる。特異的な治療法はなく、対症療法が主体となり、早期の全身管理が重要である。中国では、ヒト-ヒト感染例が報告されており、院内感染対策には十分留意することが重要である。

学会発表

	題 名	発表者	学会名
1	岡山県における重症熱性血小板減少症候群疑い症例の検査状況について	濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 松岡保博, 藤井理津志	第56回日本臨床ウイルス学会
2	岡山県におけるロタウイルスAの流行状況(2009年～2013年)	藤原香代子, 濱野雅子, 磯田美穂子, 松岡保博, 藤井理津志, 濃野 信	第56回日本臨床ウイルス学会
3	岡山県におけるエンテロウイルスの検出状況(2009年～2013年)	松岡保博, 藤原香代子, 濱野雅子, 磯田美穂子, 藤井理津志	第56回日本臨床ウイルス学会
4	ポリ塩化ビニル(PVC)製おもちゃの代替可塑剤の使用実態について	北村雅美, 吉岡敏行	第61回中国地区公衆衛生学会
5	岡山県におけるダニ媒介感染症(2009年～2014年)について	濱野雅子, 松岡保博, 木田浩司	平成27年度公衆衛生獣医師協議会調査研究発表会
6	ジフェニルジスルファンほか同系5物質(水質)の分析法	浦山豊弘	平成27年度化学物質環境実態調査環境化学セミナー
7	岡山県下の微小粒子状物質の成分の実態について	中野温朗, 信森達也, 間野遼太, 喜多真帆, 野村 茂, 鷹 野洋	第22回岡山県保健福祉学会
8	岡山県におけるダニ媒介感染症(2013年～2015年)	濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 松岡保博, 藤井理津志	第22回岡山県保健福祉学会
9	岡山県におけるダニ媒介感染症(2009年～2014年)について	濱野雅子, 磯田美穂子, 藤原香代子, 松岡保博, 藤井理津志, 木田浩司	平成27年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会

岡山県環境保健センター年報 第40号

(平成27年度)

平成29年1月20日発行

編集・発行 岡山県環境保健センター
〒701-0298 岡山市南区内尾739-1

TEL 総務課	086-298-2681	企画情報室	086-298-2682
大気科	086-298-2683	水質科	086-298-2684
放射能科	086-298-2685	細菌科	086-298-2686
ウイルス科	086-298-2687	衛生化学科	086-298-2688

FAX 086-298-2088 (代表)

ホームページ <http://www.pref.okayama.jp/soshiki/185/>
