

諫早湾干拓調整池水質等調査結果(2009年度)

川井 仁、川口 勉、横瀬 健、坂本 陵治、石崎 修造

Water Quality of Detention Pond Originated from Isahaya Bay Land Reclamation (2009)

Hitoshi KAWAI, Tsutomu KAWAGUCHI, Takeshi YOKOSE,
Ryouji SAKAMOTO and Syuzo ISHIZAKI

Key words: Isahaya Bay, detention pond, land reclamation

キーワード: 諫早湾、調整池、干拓

はじめに

2009年度に年4回実施した諫早湾干拓調整池と流入河川についての調査結果を報告する。

調査内容

1 流入負荷量調査

(1) 河川調査

- ・調査地点: 流入8河川
- ・調査時期: 年4回(5、8、11、2月)
- ・調査項目: 生活環境項目及び栄養塩類等

(2) 小河川・小水路調査

- ・調査地点: 流入6小河川・小水路
- ・調査時期: 年2回(5、11月)
- ・調査項目: 生活環境項目及び栄養塩類等

2 水質現況調査

- ・調査地点: 調整池内10地点(St.1~St.8、P.1、P.2)
- ・調査時期: 年4回(5、8、11、2月)
- ・調査項目
一般項目及び栄養塩類等
健康項目(年1回。ただしSt.4~St.8を除く。)
(Cd、Pb、As、T-Hg、Cr(6)、セレン・・・11月)
(チウラム、シマジン、チオベンカルブ・・・11月)

3 底質調査

- ・調査地点: 調整池内6地点
(St.1~St.3、St.6、St.7、P2)
- ・調査時期: 年1回(8月)
- ・調査項目: 強熱減量、COD、T-N、T-P、硫化物

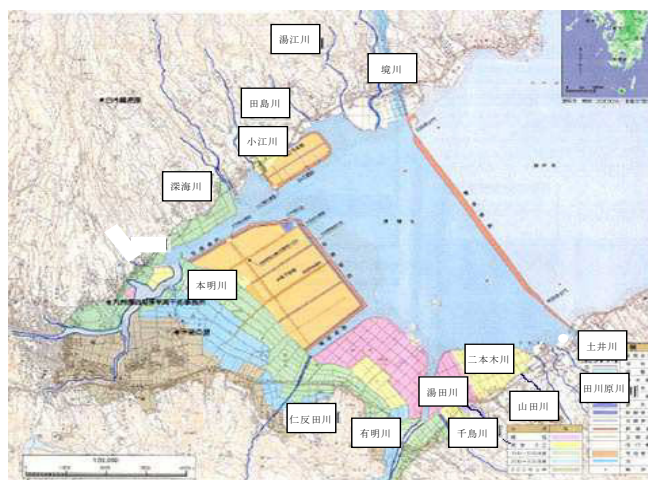


図1 河川・小河川・小水路調査地点

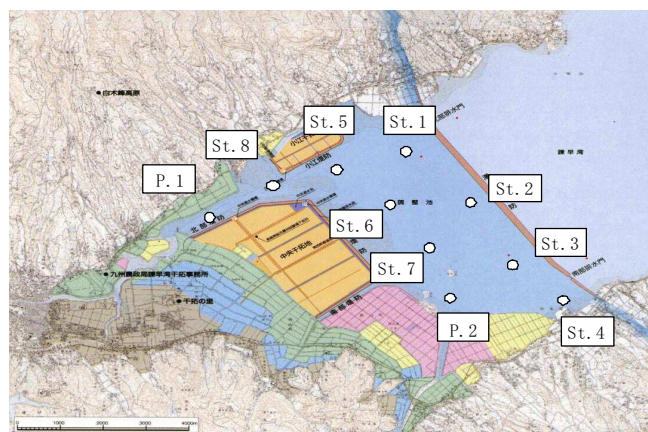


図2 調整池内調査地点

調査結果

1 流入負荷量調査

2009年度における14河川の流量、COD、SS、T-N及びT-Pの流入負荷量を表1に示す。

14河川の項目別負荷量はCOD:831 kg/日、SS:3,717 kg/日、T-N:260 kg/日、T-P:23.83 kg/日であった。

2009年度における14河川の項目別負荷量割合を図3に示す。例年、本明川の占める項目別負荷割合は14河川中最も高く約50~80%の範囲で推移しており、T-Nを除けば2009年度もほぼ同様の割合を占めた。T-Nは千鳥川をはじめとした調整池南部側河川の影響を大きく受け、他の項目と比べ、本明川の占める負荷量割合は、やや低い結果であった。

2 水質現況調査

(1) 塩化物イオン (Cl)

調整池は1997年4月に潮受け堤防が締切られ誕生した。その後2002年4月24日から5月20日に実施された。

表1 項目別負荷量

(単位: 万m³/日、kg/日)

調査河川	年度	流量	COD	SS	T-N	T-P	
河川	本明川	2008	9.12	457	1,998	149.9	14.26
		2009	10.56	636	3,407	173.1	19.48
	境川	2008	1.48	40	39	11.5	0.35
		2009	1.19	26	30	7.2	0.21
	山田川	2008	1.73	51	99	28.7	1.73
		2009	0.74	19	37	12.0	0.76
	小江川	2008	0.66	18	17	7.2	0.31
		2009	2.31	60	77	23.4	0.80
	深海川	2008	0.88	20	16	7.3	0.43
		2009	0.92	23	38	6.9	0.44
	土井川	2008	0.62	16	21	11.5	0.56
		2009	0.92	29	32	16.0	1.00
	千鳥川	2008	1.38	47	128	66.4	1.46
		2009	0.26	12	44	12.9	0.32
仁反田川	2008	0.20	8	10	4.1	0.29	
	2009	0.68	27	52	8.5	0.85	
合計	2008	16.07	656	2,327	286.5	19.41	
	2009	17.58	831	3,717	260.0	23.87	
対前年比 (%) 2009/2008		109.4	126.8	159.7	90.7	123.0	
小川	田川原川	2008	0.20	8	3	5.8	0.23
		2009	0.36	7	4	6.9	0.33
	湯江川	2008	0.27	5	8	3.2	0.16
		2009	0.69	13	34	7.1	0.58
	田島川	2008	0.41	6	11	51.0	0.34
		2009	0.21	2	3	24.9	0.17
	有明川	2008	0.19	6	19	2.0	0.08
		2009	0.32	5	4	2.0	0.12
	二本木川	2008	0.62	32	29	35.7	1.41
		2009	0.71	35	14	53.0	1.43
	湯田川	2008	0.35	12	9	35.1	0.89
		2009	0.51	11	5	42.5	1.12
	合計	2008	2.03	69	79	132.7	3.12
		2009	2.80	73	64	136.5	3.76
対前年比 (%) 2009/2008		137.9	104.6	81.3	102.8	120.4	
全河川	合計	2008	18.10	725	2,406	419.3	22.53
		2009	20.38	904	3,782	396.5	27.62
対前年比 (%) 2009/2008		112.6	124.7	157.2	94.6	122.6	

短期開門調査を経て現在淡水化されている。短期開門調査以降のClの経年変化を図4に示す。2009年度は調整池内(St.1~8、P.2)は45~769 mg/L、P.1は10~210 mg/Lの範囲で推移していた。例年、Clは5~8月頃の豊水期に低下し、11~2月頃の渇水期に上昇する傾向がある。2009年度は春、夏に低い値を示し、秋、冬は高い値を示した。

(2) 浮遊物質量 (SS)

調整池内SSは降水量や陸域からの流入負荷、植物プランクトンの増殖、調整池内の浮泥の巻き上げ等に影響を受ける。SSの経年変化を図5に示す。2009年度の調整池内(St.1~8、P.2)平均SSは5月:113 mg/L、8月:147 mg/L、11月:46 mg/L、2月:38 mg/Lであった。ここ数年は春から夏に上昇し、秋から冬にかけて低下する湖沼の特徴を示し始めている。本明川の影響を受ける北部承水路上のP.1及びSt.8は低く推移していた。

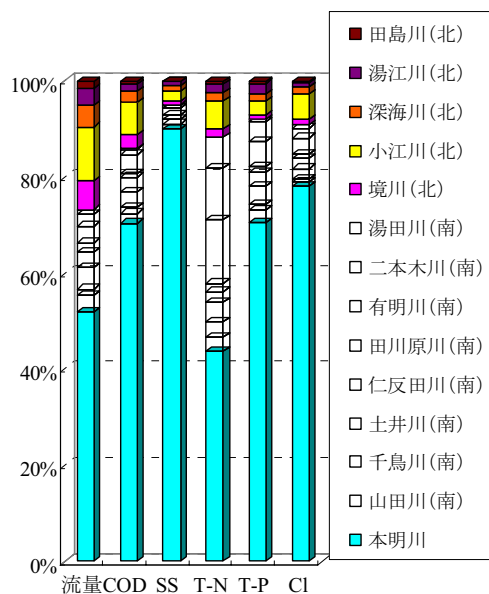


図3 項目別負荷量割合

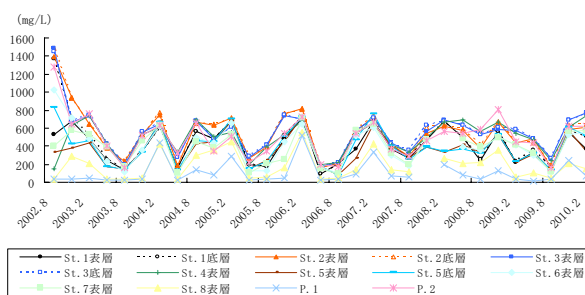


図4 Clの経年変化

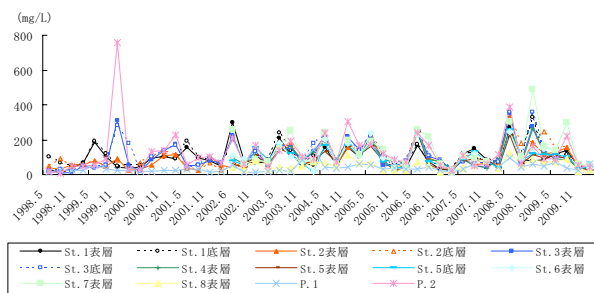


図5 SSの経年変化

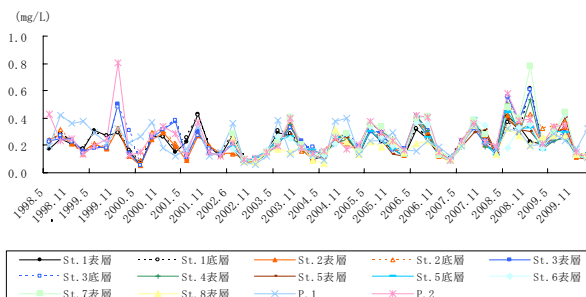


図8 T-Pの経年変化

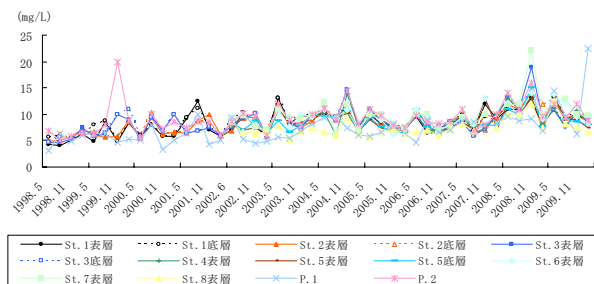


図6 CODの経年変化

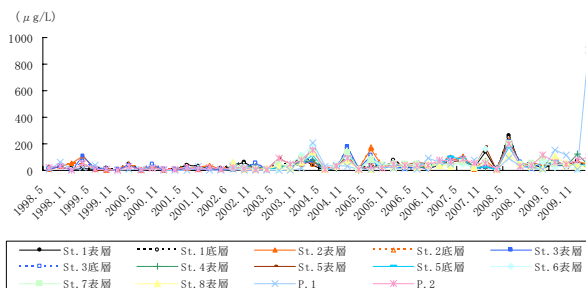


図9 クロロフィル a の経年変化

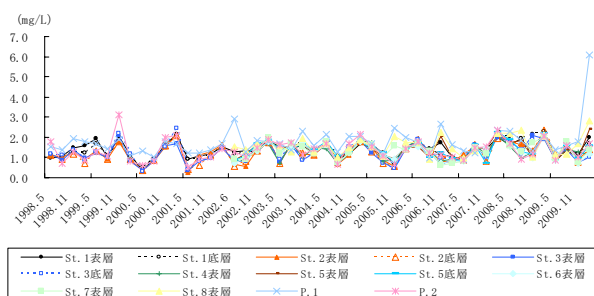


図7 T-Nの経年変化

表2 健康項目測定結果

(単位: mg/L)

項目	調整池						河口部	
	St.1		St.2		St.3		P.1	P.2
採水地点	表層	底層	表層	底層	表層	底層	表層	表層
T-Hg	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005
Cd	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Pb	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
Cr(6)	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
As	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
セレン	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002
チウラム	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006
シマジン	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003	<0.0003
チオベンカルブ	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002

(3) 化学的酸素要求量 (COD)

CODの経年変化を図6に示す。2009年度は6.3~14 mg/Lで推移し、例年よりわずかに高い値を示した。2002年4月24日から5月20日の短期開門調査終了後、2003年度以降から5月のCODは上昇傾向にあった。特に2009年度はP.1で2月に23 mg/Lと高い値を示した。

(4) 全窒素 (T-N)

T-Nの経年変化を図7に示す。2009年度における本明川不知火橋の平均は1.64 mg/Lであった。その下流に位置する北部承水路上のP.1では平均1.6 mg/L(5月、8月および11月)、調整池内(St.1~8、P.2)平均は1.26 mg/Lであり、例年観測されている調整池中央部にむかうにつれ低下する傾向は見られなかったが、例年と同程度で推移していた。2009年度は2月にP.1で6.1 mg/Lと高い値を示した。

(5) 全磷 (T-P)

調整池内のT-Pは春から夏に上昇し、秋から冬に低下する傾向が続いている。T-Pの経年変化を図8に示す。2009年度は例年と同様の値を示した。

(6) クロロフィル a

クロロフィル aの経年変化を図9に示す。2009年5月には本明川の影響を受ける北部承水路上のP.1及びSt.8においても約100 µg/Lと高い値を示した。特に2009年度はP.1で2月に904 µg/Lと高い値を示した。

(7) 健康項目

健康項目の測定結果を表1に示す。2008年度は、AsがSt.1(表層、底層)、St.2(表層、底層)、St.3(表層、底層)およびP.2において0.002~0.003 mg/L(報告下限値:0.002 mg/L)検出され、PbがSt.2(表層、底層)およびP.2において0.006~0.008 mg/L(報告下限値:0.005 mg/L)検出されたが、2009年度は全項目について全地点で報告下限値未

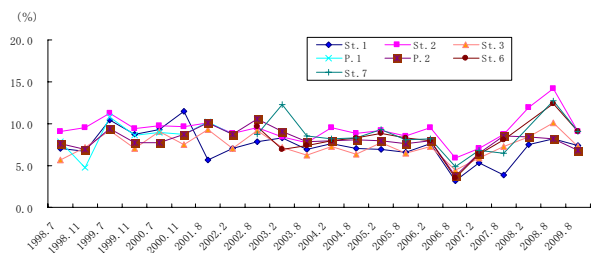


図 10 強熱減量の経年変化

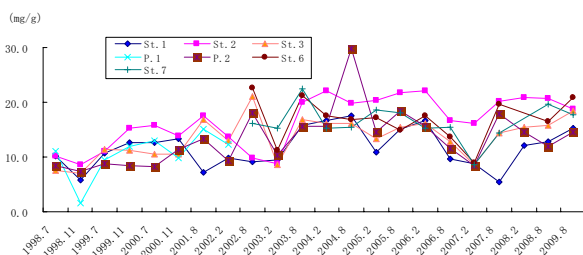


図 11 CODの経年変化

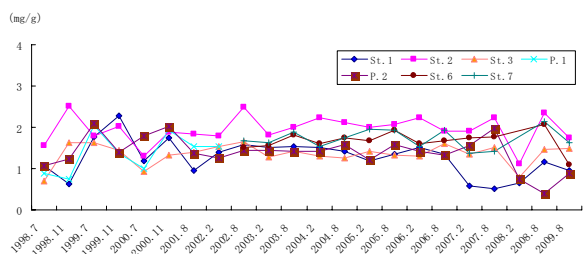


図 12 T-Nの経年変化

満であった。

3 底質調査

(1) 強熱減量

強熱減量の経年変化を図 10 に示す。有機物の指標である強熱減量は、2006 年 8 月に低下して以降、近年は上昇傾向にあったが、2009 年度は前年度よりも低い値を示した。

(2) 化学的酸素要求量 (COD)

COD の経年変化を図 11 に示す。2009 年度の COD は例年と同程度からやや高い値を示した。2004 年 8 月の P.2 は約 30 mg/g と高い値を示したが、経年的にみるとおおそ横ばい傾向を示している。

(3) 全窒素 (T-N)

T-N の経年変化を図 12 に示す。2009 年は全地点で例年と同程度の値を示した。経年的にはおおそ横ばい傾向を示している。

(4) 全磷 (T-P)

T-P の経年変化を図 13 に示す。2009 年度の T-P は全地

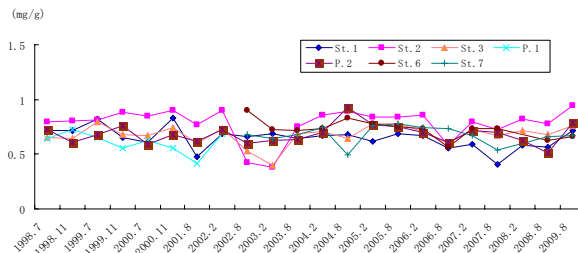


図 13 T-Pの経年変化

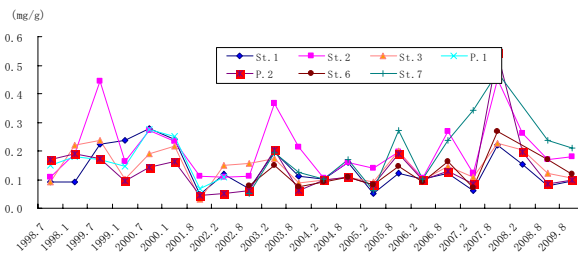


図 14 硫化物の経年変化

点で例年と同程度であった。経年的には横ばい傾向を示している。

(5) 硫化物

硫化物の経年変化を図 14 に示す。2007 年に St.2、St.7、P.2 で高い値を示したが、2009 年は例年と同程度であった。経年的には 2003 年度以降、変動はあるがおおそ横ばい傾向を示している。

なお、(社) 日本水産資源保護協会が定める底質の水産用水基準では、0.2 mg/g 以下が望ましいとされている。

まとめ

調整池は 1997 年 4 月の潮受堤防締め切り後から急激に淡水化が進行し、CI は急激に低下した。同年 11 月には 5,000 mg/L 前後まで上昇したが、それ以降 2002 年 4 月の短期開門調査までは P.1 を除く調整池内は約 200~1,000 mg/L、P.1 は 100 mg/L 未満で推移した。その後、2002 年 4 月 24 日~5 月 20 日に実施された短期開門調査により調整池に海水が一時的に導入され、2002 年 6 月は全地点でこれまでの約 10 倍程度上昇し、P.1 を除いて 3,000 mg/L 以上となった。2003~2008 年度にかけては、P.1 を除きおおむね 200~800 mg/L の範囲で推移しており 2009 年度は 45~769 mg/L の範囲でありおおそ例年と同様の結果であった。P.1 では春から夏にかけて 10~30 mg/L 程度で推移しているが、降水量の少ない秋から冬では 73~236 mg/L まで上昇している。調整池の貯水量が多い時期は調整池内における高めの CI の影響は P.1 付近まで波及すると考えられる。

調整池の SS 上昇の要因は降雨に伴う陸域からの流入

表3 水質保全目標値と調整池内地点別年平均濃度

(単位: mg/L)

項目	COD		T-N		T-P	
計画の目標値	5以下		1以下		0.1以下	
年度	2009	2008	2009	2008	2009	2008
St.1 平均値	10	10	1.37	1.93	0.218	0.329
St.2 平均値	10	12	1.22	1.75	0.226	0.365
St.3 平均値	9.4	12	1.03	1.74	0.189	0.428
St.4 平均値	9.4	11	1.17	1.43	0.178	0.374
St.5 平均値	9.6	10	1.32	1.68	0.214	0.309
St.6 平均値	11	11	1.13	1.48	0.236	0.262
St.7 平均値	11	14	1.23	1.66	0.245	0.473
St.8 平均値	8.7	9.9	1.70	1.92	0.205	0.265
P.2 平均値	10	12	1.29	1.46	0.236	0.391

St.1、2、3、5 は表、底層の平均として算出。

や台風接近時や強風時による浮泥の巻き上げによるものと考えられるが、CIが低く保たれる春から夏にかけて、植物プランクトン(特にアオコ)の増殖によるSSの上昇が認められる。2009年度も同様の傾向が見られた。秋から冬にかけてはSSの減少傾向がみられるが、汽水性の珪藻類の増殖がみられた時は、クロロフィル a が上昇している。特に2009年度は2月のP.1でアオコの異常繁殖が確認されており、例年になくほとんどの調査項目で高い値を示した。

CODは時折高い値を示すことがあるが、この要因としては植物プランクトンの増加や強風に伴う浮泥の巻き上げが考えられる。2009年度は5、11月にCODが増加していた。5月のCOD上昇は浮泥の巻き上げとクロロフィルaの上昇が原因だと考えられた。11月のCOD上昇はろ過態(溶存態)COD値が高く、クロロフィルaが上昇していたことから、植物プランクトンの分解物が原因であると推察された。

表4 水質汚濁負荷量と本明川の占める割合

項目	14河川合計負荷量 (kg/日)	本明川負荷量 (kg/日)	割合 (%)
COD	904	636	70
T-N	396.5	173.0	44
T-P	27.62	19.48	71

底質状況をみると2007年8月はSt.7を中心に硫化物濃度の上昇がみられた。2008年8月は硫化物濃度が低下し、2009年8月も同レベルで推移していた。経年的には横ばい傾向にあるが注意が必要と思われる。

第2期諫早湾干拓調整池水辺環境の保全と創造のための行動計画における調整池の水質保全目標値と2009年度における調整池内(St.1~8, P.2)地点別年平均濃度を表3に示す。COD、T-NならびにT-Pは2008年度より減少傾向であった。しかしながら、いずれの項目においても目標値を超過していた。

2009年度における年4回調査での14河川および本明川の水質汚濁負荷量と本明川の占める割合を表4に示す。14河川の合計負荷量はCOD:904 kg/日、T-N:396.5 kg/日、T-P:27.62 kg/日であり、そのうち本明川はCOD:70%、T-P:71%、T-Nは44%であった。これらの結果より、調整池の水質保全目標値達成には今後も陸域対策、特に本明川での対策や調整池の直接浄化対策等が必要と思われる。

なお、2009年1月に調整池の環境基準の水域類型について、湖沼B及び湖沼Vとして指定されている。

諫早湾干拓調整池の生物相(植物プランクトン及びベントス)

石崎 修造

Phytoplankton and Benthos of The Detention Pond Originated from Isahaya-bay Land Reclamation

Syuzo ISHIZAKI

Key words: Isahaya bay , detention pond , phytoplankton , benthos

キーワード: 諫早湾、調整池、植物プランクトン、底生生物

はじめに

国営諫早湾干拓事業は農地の造成及び高潮・洪水等の防災機能の強化を目的として1989年(平成2年)より工事が行われ、1997年(平成9年)4月14日に潮受け堤防が閉じられた。その後10年に及ぶ工事により2008年(平成20年)3月に干拓工事は完了し、同年4月からは営農が始められている。

調整池の水質保全については各種対策が講じられているが環境基準値が達成されておらず、水質汚濁の進行が懸念されている。水環境の変動については堤防の閉めきり後から調査を継続してきたが、ここでは、平成21年度の植物プランクトン及び底生生物の調査結果について報告する。

調査方法

1)調査地点

図1に示す調整池内7地点で調査を行った。P2、St.6、St.7は表層のみ、他の4地点は表層・底層の2層で採水した。

2)プランクトン

グルタルアルデヒドで固定後、分類・算定した。

なお、調整池水は浮泥等のSS成分が多く、通常行う濃縮法では検鏡が不可能である。従って、原則として原水を検鏡し、50個体/ml以上観察された種について記載している。

3)底生生物

エックマンバージ採泥器を用い、1地点につき3箇所まで採泥し、3箇所分を併せて1検体とした。泥は1mmメッシュの網カゴを用いて現場で篩い、メッシュ上に残った物を検鏡用サンプルとした。各検体はホルマリンで固定し、同定に供した。

4)調査頻度

プランクトンは原則として5、8、11、2月の4回/年、底

生生物は8、2月の2回/年のサンプリングを行った。

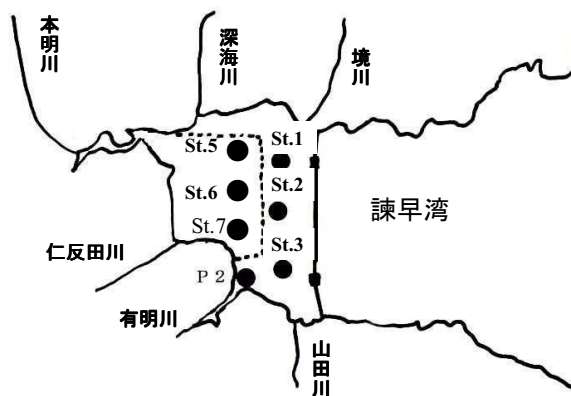


図1 調査地点

調査結果

1)塩化物イオンの変化

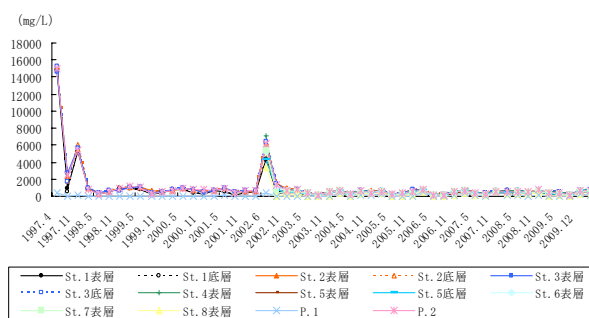


図2 塩化物イオンの変化

生物の生息環境に大きな影響を与えられる塩化物イオン濃度の変化について図2に示すが、塩化物イオン濃度はP1地点を除き、130~770mg/Lで推移しており、最近の傾向と同様に大きな変化はなかった。

2)植物プランクトン調査

平成9年4月以降の各地点の主要な植物プランクトン出現種類数及び総個体数の変化を図3、図4に示す。

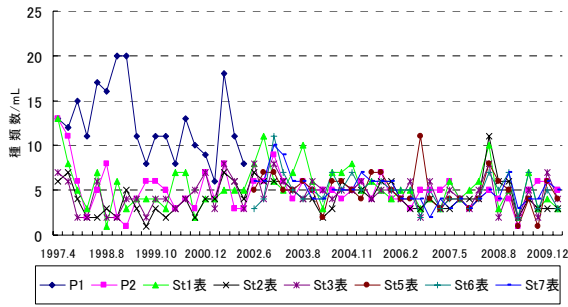


図3 種類数の変化

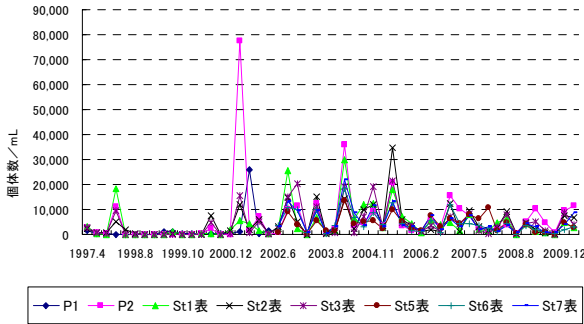


図4 個体数の変化

堤防締め切り以降の調整池内植物プランクトンの種類数は多少の増減はあるもののほぼ5種類前後で推移し、平成21年度も大きな変化は認められなかった。

個体数については平成21年度は比較的少なく、赤潮状態に近いレベルにまでは増加しなかった。アオコの原因となる藍藻類については、12月に *Microcystis* (マイクロキスティス) がみられたものの、個体数としては多い地点でも500個体/mL程度で、アオコ状態にまでは増殖しなかった。なお、年間を通しての優占種は珪藻類の *Skeletonema subsalum* であり、例年の傾向と同様であつ

た。平成21年度の出現種及び個体数については表1-1~1-4に示す。

(3)底生生物調査

平成21年度の調査結果を表2-1、2-2に示すが、これまでと同様各地点とも貧弱で、2~3種類しかみられず、イトミミズの優占度が高くなっている。夏季調査では無生物状態の地点が多くみられ、底質の悪化が懸念される。

表2-1 底生生物の密度(平成21年8月11日) (個体数/m²)

	P2	S1	S2	S3	S5	S6	S7
セスジユスリカ			30	15			
環形動物			15				
イトミミズ			45	15			
計	0	0	45	15	0	0	0

表2-2 底生生物の密度(平成22年2月9日) (個体数/m²)

	P2	S1	S2	S3	S5	S6	S7
セスジユスリカ	15						
環形動物	30		326	45			45
イトミミズ							
計	45	0	326	45	0	0	45

まとめ

諫早湾干拓調整池の生物調査は平成9年に諫早湾の一部が閉めきられた直後から継続して実施したが、平成14年以降は植物プランクトンは一貫して珪藻の *Skeletonema subsalum* を優占種とした4~5種類の生物群で推移し、平成21年度も同様の傾向であった。

平成19年の夏期以降は *Microcystis* を中心とした藍藻類の出現頻度が多くなりアオコ発生が危惧されるところであったが、平成21年度は藍藻類の発生は少なかった。

底生生物はイトミミズを中心とした2~3種の貧弱な生物相であり、底質の変動が大きいことに一因があると考えられるが、平成21年度の夏季調査では無生物状態の地点が多くみられ、今後注視する必要があると考えられる。

表1-1 植物プランクトン調査結果

調査年月日: 2009年5月19日
採集方法: バンドン採水器(2L)
単位: 細胞/mL

調査地点	P2	St.1-表層	St.1-底層	St.2-表層	St.2-底層	St.3-表層	St.3-底層	St.5-表層	St.5-底層	St.6-表層	St.7-表層
有色植物門 珪藻綱 <i>Cyclotella</i> sp.		50		50			50			50	100
<i>Skeletonema subsalum</i>	4,350	100	50	200	1,250	1,250	2,100	600	250	350	
<i>Nitzschia longissima</i>					50					50	
<i>Nitzschia</i> sp.		50	50				50				
<i>Nitzschia paunduriformis</i>	150	300	200	500	200	200	150	100	450	150	650
<i>Melosira</i> sp.	50										
<i>Suriella</i> sp.	50										
緑藻植物門 緑藻綱 <i>Scenedesmus</i> sp.		50				50				50	
<i>Pediastrum duplex</i>										50	
<i>Oocystis</i> sp.		50				50		50	50		50
<i>Closterium</i> sp.	300	100	100	100	100	50	250	50		100	50
出現種数	5	7	4	4	4	5	5	4	3	7	4
出現細胞数	4,900	700	400	850	1,600	1,600	2,600	800	750	800	850

空欄は検出せず。

表1-2 植物プランクトン調査結果

調査年月日:2009年8月11日
採集方法:バンドン採水器(2L)
単位:細胞/mL

調査地点		P.2	St.1-表層	St.1-底層	St.2-表層	St.2-底層	St.3-表層	St.3-底層	St.5-表層	St.5-底層	St.6-表層	St.7-表層
有色植物門	珪藻綱											
	<i>Cyclotella</i> sp.	100		50	50	100				50	150	150
	<i>Melosira</i> sp.	50							50			
	<i>Nitzschia paunduriformis</i>		50	100	100	50	50	100		50	250	700
	<i>Gyrosigma</i> sp.					50						50
	<i>Skeletonema sabsulsum</i>	400								100		
	<i>Nitzschia longissima</i>	150					50					
	<i>Nitzschia</i> sp.			100						50	50	100
	<i>Navicula</i> sp.				100							
	<i>Synedra ulna</i>	50										
	<i>Surirella</i> sp.					50						
	<i>Diploneis</i> sp.							50				
緑藻植物門	緑藻綱					50						
	<i>Scenedesmus</i> sp.											
	<i>Oocystis</i> sp.	50	100									
	<i>Closterium</i> sp.		50	50								
	出現種数	6	3	4	3	5	2	2	1	4	3	4
	出現細胞数	800	200	300	250	300	100	150	50	250	450	1,000

表1-3 植物プランクトン調査結果

調査年月日:2009年12月2日
採集方法:バンドン採水器(2L)
単位:細胞/mL

調査地点		P.2	St.1-表層	St.1-底層	St.2-表層	St.2-底層	St.3-表層	St.3-底層	St.5-表層	St.5-底層	St.6-表層	St.7-表層
藍藻植物門	ラン藻綱											
	<i>Oscillatoria</i> sp.					50	50					
	<i>Arthrospira maxma</i>						50					
	<i>Microcystis</i> sp.	45					250	250	300	15	14	20
有色植物門	珪藻綱											
	<i>Cyclotella</i> sp.	150	100	150	100			350	250	150		50
	<i>Skeletonema sabsulsum</i>	9,050	4,550	1,750	6,950	5,400	8,050	8,050	3,800	2,550	1,450	3,650
	<i>Melosira</i> sp.											100
	<i>Nitzschia</i> sp.					50						
	<i>Nitzschia paunduriformis</i>	250		50		50	50	100			50	50
	<i>Nitzschia longissima</i>	250	250	50	400	50	200	300	300	50	250	200
	<i>Gyrosigma</i> sp.						50					
緑藻植物門	緑藻綱											
	<i>Closterium</i> sp.		50			50			100		50	
	<i>Scenedesmus</i> sp.	50							50			
	出現種数	6	4	4	3	6	7	5	6	4	5	6
	出現細胞数	9,795	4,950	2,000	7,450	5,650	8,700	9,050	4,800	2,765	1,814	4,070

表1-4 植物プランクトン調査結果

調査年月日:2009年2月9日
採集方法:バンドン採水器(2L)
単位:細胞/mL

調査地点		P.2	St.1-表層	St.1-底層	St.2-表層	St.2-底層	St.3-表層	St.3-底層	St.5-表層	St.5-底層	St.6-表層	St.7-表層
有色植物門	珪藻綱											
	<i>Skeletonema sabsulsum</i>	8,050	2,250	2,600	4,750	2,850	3,150	3,700	2,600	2,600	2,650	7,750
	<i>Cyclotella</i> sp.											50
	<i>Nitzschia paunduriformis</i>	100					50			50		250
	<i>Nitzschia longissima</i>	50		50								50
	<i>Chaetoceros</i> sp.	3,250	300	900	1,950	1,050	500	700	250	850	400	850
緑藻植物門	緑藻綱											
	<i>Monoraphidium</i> sp.											
	<i>Closterium</i> sp.	100	100		50	300	450	400	100	150	200	
	<i>Scenedesmus</i> sp.								50			
	出現種数	5	3	3	3	3	4	3	4	4	3	5
	出現細胞数	11,550	2,650	3,550	6,750	4,200	4,150	4,800	3,000	3,650	3,250	8,950

大村湾における底生水産生物浮遊幼生調査結果(概要)

粕谷 智之

Summary on Planktonic Larvae of Commercially Important Benthic Organisms in Omura Bay, Nagasaki.

Tomoyuki KASUYA

Key words: benthos, plankton, bivalves, *Ruditapes philippinarum*, *Atrina pectinata*

キーワード: ベントス、プランクトン、二枚貝類、アサリ、タイラギ

はじめに

長崎県科学技術振興課経常研究「底生水産生物を利用したメンテナンスフリー型内湾環境修復技術の開発」(研究期間平成19年度～22年度)の一環として、平成19年度から21年度にかけて大村湾において水産有用種8種、すなわちマナマコ、アサリ、マガキ、アコヤガイ、タイラギ、アカガイ、バカガイ、ハマグリ等の浮遊幼生出現状況を調査した。2007年の観測結果については環境保健研究センター所報に報告した¹⁾。ここでは2008年および2009年の調査結果を加えて、大村湾における底生水産生物の浮遊幼生出現状況の概要を述べる。

材料と方法

観測は二枚貝類の産卵が活発になると考えられる春から秋にかけて、原則として図1に示した21観測点で月1回の頻度で行った。各年の観測実施月は表1に示す。

幼生は濾水計(General Oceanics製、Model 2030R)を取り付けた北原式定量ネット(口径22.5cm、目合75 μ m)を海底上1mから海面まで鉛直曳きして採集した。水深が21mを越える観測点については、水深20mからの鉛直曳きとした。採集は各観測点2回ずつ行い、合わせて1サンプルとした。サンプルは冷蔵して研究センターに持ち帰った後、-20 $^{\circ}$ Cで凍結保存した。

種の同定はアサリについてはモノクローナル抗体を利用した分類手法で、その他の種については形態による分類手法で行った。

用した分類手法で、その他の種については形態による分類手法で行った。

結果と考察

一連の観測でアサリ、タイラギ、マガキ、アコヤガイの幼生が採集された。各種幼生が最も多く出現したのは2007年で、出現密度のピークは主に夏期に見られた。大村湾における上記4種の産卵盛期は夏期と考えられる。

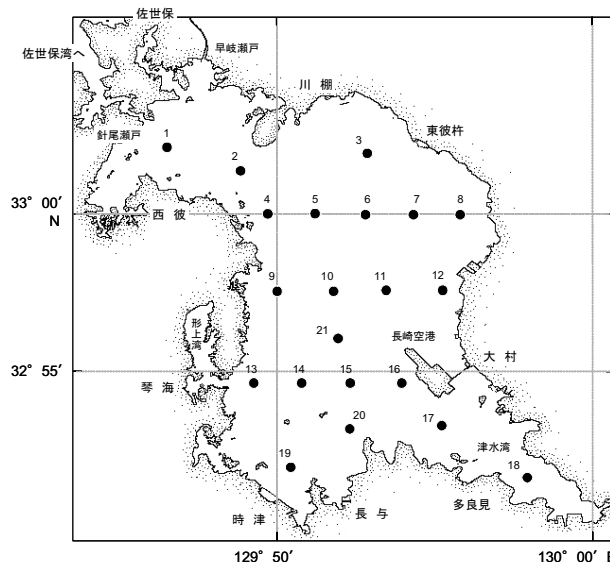


図1 大村湾における観測点位置図

表1 観測実施年月

年 \ 月	4	5	6	7	8	9	10	11
2007			○	○	○		○	○
2008		○		○		○	○	
2009	○			○			○	

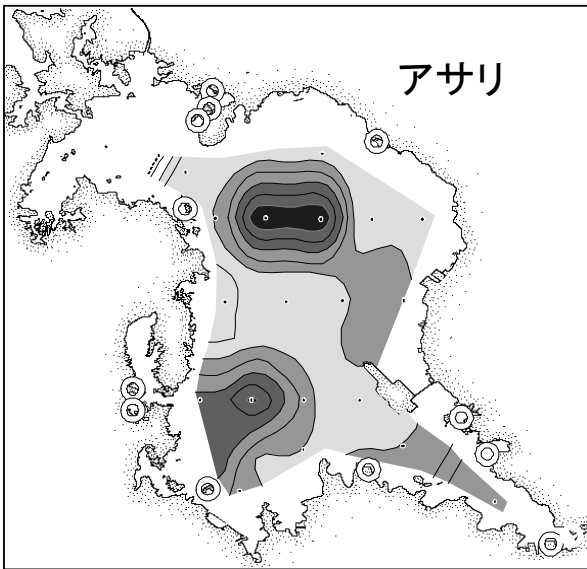


図 2 2007 年 7 月 30 日の観測で得られたアサリ浮遊幼生の分布例。図中の◎は成員の生息場／養殖場を表す。

対象種以外の出現種についてはホトギスガイ、シズクガイ、カリガネエガイ、イガイ科、フネガイ科などの幼生が多く見られた。

幼生が多く出現した海域と親貝の生息(養殖)場所は概ね一致したことから(図 2)、各種幼生は湾内で産まれたと考えられる。また、幼生の浮遊期間が 14 日～40 日程度であるのに対して、大村湾の海水の平均滞留時間はおよ

長崎県環境保健研究センター所報 55, (2009) 資料そ 3 ヶ月であることから、湾内で産まれた幼生は主に湾内に着底していると思われる。

タイラギ幼生については成貝の生息が知られている長崎空港周辺の海域に加えて、湾口部周辺の海域からも多く採集されたことから、同海域にもタイラギの産卵個体群が存在していることが示唆された。

2007 年 9 月および 2008 年 9 月には湾奥を中心に大規模な青潮が発生し、魚介類が大量に斃死した。また、2007 年と比較して、2008 年および 2009 年には肉食性動物プランクトンであるカブトクラゲが多く出現した。カブトクラゲの大量発生時には餌となる動物プランクトンが激減することが報告されている²⁾。青潮による親貝の大量死やカブトクラゲによる幼生の捕食が、浮遊幼生出現密度の年変動の一因となっている可能性がある。

参 考 文 献

- 1) 粕谷智之, 他: 大村湾における底生水産生物浮遊幼生に関する研究, 長崎県環境保健研究センター所報 53, 54～61, (2007)
- 2) Kasuya et al. : Seasonal abundance and size composition of the lobate ctenophore *Bolinopsis mikado* (Moser) in Tokyo Bay, central Japan. *Journal of Oceanography*, 56: 419～427, (2000)

温泉水中の希少金属に関する可能性調査

中村 心一、古賀 康裕、平良 文亨

Feasibility Study on Rare Metals in Hot Springs

Shinichi NAKAMURA, Yasuhiro KOGA and Yasuyuki TAIRA

Key words: hot springs, rare metals

キーワード: 温泉、希少金属

はじめに

希少金属いわゆるレアメタルは、国際的に一意的に定まった定義はないが、一般的には、地球上の存在量が稀であるか、技術的・経済的な理由で抽出困難である鉱種等を指すものとされている¹⁾。また、今では自動車や IT 製品をはじめとする高付加価値・高機能製品の製造に必須の素材であることから、その安定供給は、日本における製造業の国際競争力の維持・強化の観点から極めて重要とされている。現在、この安定供給に向けて、希少金属の探鉱開発、リサイクル対策、代替材料の開発などの対策が取りくまれている。

このような中、草津温泉から希少金属であるスカンジウムを回収したとの報告がなされ、温泉水中の希少金属が、新たな供給源となり得る可能性が示された。そこで本研究(FS 研究)は、本県が有する温泉が希少金属の供給源となり得るかの可能性を調査する目的で、雲仙、小浜をはじめとする温泉について、含有する希少金属のスクリーニング調査を実施した。

調査方法

1 調査日及び調査地点

調査は、図 1 に示す a-f の温泉水について、2010 年 2 月に実施した。

2 試料

試料は各源泉の湧出口あるいはその貯水槽等から、事前に酸洗浄したポリ容器に採取し、実験施設に搬送後、1%硝酸酸性溶液となるように硝酸を添加した。また、試料は測定まで 4°C で保存した。

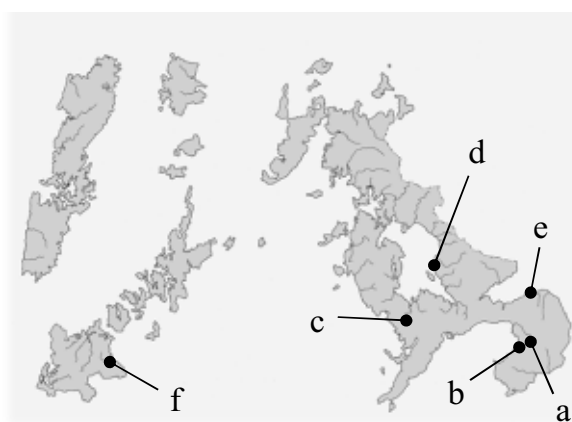


図1 調査地点

3 使用機器

パーキンエルマー社製の誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS、ELAN 6100 DRC)を用いた。

4 試薬

1) 多元素標準溶液

希少金属の測定には、パーキンエルマー社製の 3 種類の ICP-MS 用多元素標準溶液(10 mg/L)を用いた。

・多元素標準溶液 2 : Ce、Dy、Er、Eu、Gd、Ho、La、Lu、Nd、Pr、Sm、Sc、Tb、Th、Tm、Y、Yb (17 種)

・多元素標準溶液 3 : Ag、Al、As、Ba、Be、Bi、Ca、Cd、Co、Cr、Cs、Cu、Fe、Ga、Hg、In、K、Li、Mg、Mn、Na、Ni、Pb、Rb、Se、Sr、Tl、V、U、Zn (30 種)

・多元素標準溶液 5 : B、Ge、Mo、Nb、P、Re、S、Si、Ta、Ti、W、Zr (12 種)

これらのうち測定対象には、総合資源エネルギー調査会鉱業分科会レアメタル対策部会が平成 19 年 7 月にまとめた「今後のレアメタルの安定供給対策について」において希少金属と定義されている、B、Ba、

Be、Bi、Ce、Co、Cr、Cs、Dy、Er、Eu、Ga、Gd、Ge、Ho、In、La、Li、Lu、Mn、Mo、Nb、Nd、Ni、Pr、Rb、Re、Sc、Se、Sm、Sr、Ta、Tb、Ti、Tm、V、W、Yb、Zr (39 種)とした。

2) 内標準溶液

測定は内標準法で行い、内標準元素としてタリウム (Tl)あるいはイットリウム (Y)を用いた。

5 測定方法

1) 前処理

1%硝酸酸性溶液とした試料を孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過し、そのろ液 50 mL を煮沸した。冷却後、溶液中濃度が 0.1 M となるように 2 M 酢酸アンモニウムを加え、2 M 硝酸及び 28% アンモニア溶液を用いて pH 5.5 に調製した。最後に、超純水で 50 mL に定容し、抽出用試料とした。

2) 抽出

抽出用キレートカラムは、GL サイエンス社製の InertSep mini ME-1 を用いた。キレートカラムに 2 M 硝酸 7 mL を 3 回、超純水 7 mL を 2 回及び 0.1 M 酢酸アンモニウム溶液 (pH 5.5) 5 mL を 2 回通水し、コンディショニングを行った。次に、抽出用試料 50 mL を通水し、0.5 M 酢酸アンモニウム溶

液 (pH 5.5) 5 mL を 2 回及び超純水 3 mL を 1 回通水し、洗浄した。最後に、2 M 硝酸 5 mL を 2 回通水し、溶出した。

3) 希少金属の測定

検量線は、多元素標準溶液 2、3 及び 5 をそれぞれ 0.2-3.0、0.5-50 及び 0.5-50 ng/mL の濃度範囲で作成した。なお、検量線用標準液には、硝酸及び内標準として Y あるいは Tl をそれぞれ最終濃度が 3%及び 20 ng/mL となるように添加した。

調査結果

今回、県内 6 か所の温泉水について、スクリーニング調査を目的に ICP-MS による希少金属の測定を実施した。その結果、V、Co、Ni、Ga、Sr、Ti、Ge、Zr、Mo が数 ng/ml レベルであるが確認された。

参考文献

- 1) 経済産業省総合資源エネルギー調査会鉱業分科会レアメタル対策部会; 今後のレアメタルの安定供給対策について, 平成 19 年 7 月 31 日

最終処分場の黒色浸透水対策

坂本 陵治、竹野 大志、山口 仁士

Black Seepage Water Generation Measures in Industrial Waste Landfill Sites

Ryoji SAKAMOTO, Taiji TAKENO and Hitoshi YAMAGUCHI

Key words: industrial waste landfill sites, black seepage water

キーワード: 最終処分場、黒色浸透水

はじめに

長崎県において平成20年7月に改善及び使用停止を命じられた最終処分場の事案では、梅雨時期に集中して発生する黒色浸透水を周辺環境に配慮して場内に返送していた。しかしながら黒色浸透水の場内循環処理では有機物等の最終的な除去につながらないことから有機物等を吸着除去するなどの処理を行い、浸透水水質基準を満たす水質にすることが必要である。

本研究では黒色浸透水(汚濁した浸透水)の現実的対策として、浸透水水質基準を満たすことを目的とし、水質浄化資材の効果等を凝集沈殿試験及び吸着試験を実施することで検討したので、その結果について報告する。

材料と方法

1 材料

試料水は県内の最終処分場の周辺から流出した汚濁した浸透水を用いた。

凝集沈殿試験にはポリ塩化アルミニウム(以下「PAC」という。)、硫酸バンド及び塩化第二鉄(III)(以

下「塩化鉄」という。)の無機凝集剤、分子量等が異なる4種類の高分子凝集剤を供した。高分子凝集剤の種類を表1に示す。

吸着試験には、活性炭、木炭、ハイドロタルサイト、モンモリロナイト、ろう石、セルベン及びモレキュラーシーブを供した。活性炭は、市販の試薬活性炭(和光純薬工業(株)製特級:Lot. No. LTG-6980)(以下「活性炭(試薬)」という。)及び市販の量販店活性炭(以下「活性炭(量販)」という。)を試験に供した。吸着剤は価格、イオン状態及び地域資源等の観点から選定した。吸着剤は粒径を250 μm 以下にしたものを試験に供した。

2 方法

(1) 凝集沈殿試験

無機凝集剤は、試料水100mlに0~5000mg/Lの範囲で添加し、5分間急速攪拌後、10分間緩速攪拌した。試料水は120分静置させ、凝集沈殿の状態を観察した¹⁾。

試験結果が良好であった無機凝集剤の5つの条件に対して、高分子凝集剤を添加した。

高分子凝集剤は、試料水100mlに無機凝集剤を添加後、0~50ppmの範囲で添加し、5分間急速攪拌後、10分間緩速攪拌した。試料水は15分静置させ、凝集沈殿の状態を観察した。

フロック及び分離液の状態が良好な条件については、パケット(株)共立理化学研究所製)を用いてCODを測定した(以下「COD_{PACK}」という。)。高分子凝集剤50ppm添加以外の条件は、試料を孔径0.45 μm のフィルターを用いてろ過し(以下「ろ過」という。)、COD_{PACK}を測定した。

表1 高分子凝集剤の種類

種類	イオン性	分子量(万)	主成分
高分子A	アニオン	1,900	ポリアクリルアミド系
高分子B	アニオン	1,600	ポリアクリルアミド系
高分子C	アニオン	1,600	アクリルアミド、 アクリル酸
高分子D	アニオン	1,300	アクリルアミド、 アクリル酸

(2) 吸着試験

吸着試験においては試料水をろ過したものをを用いた。試料水 30ml に吸着剤を 1%及び 10%添加し、添加後、1 時間後及び 3 時間後に転倒混和した。試料を 24 時間後にろ過し、COD_{PACK} を測定した。

また、吸着速度を概査する観点で試料水 100ml に吸着剤を 1%及び 10%添加し、マグネチックスターラーで連続攪拌した。試料を所定時間後に採取及びろ過し、COD_{PACK} を測定した。

さらに活性炭(試薬)及び活性炭(量販)については、試料水 100ml にそれぞれ吸着剤を 0~10g、0~50g の範囲で添加し、3 時間後にろ過し、COD(過マンガン酸カリウムによる酸素消費量(以下「COD_{Mn}」という))を測定した。

結果

1 凝集沈殿試験

無機凝集剤を用いた試験結果を表 2 に示す。フロック状態の判定基準は、フロックが非常に重い場合を◎、良好な場合を○、軽く細かい場合を△、不良の場合を×とした。一方、分離液の状態は、透明感があるものを◎、透明感がややあるものを○、透明感がほとんどないものを△、透明感がないものを×とした²⁾。

フロックはどの条件も軽く、細かいものであったが、分離液の透明感 PAC500ppm、1000ppm、硫酸バンド 500ppm、1000ppm 及び塩化鉄 1000ppm が良好であった。

無機凝集剤に高分子凝集剤を添加した試験結果を表 3 に示す。フロック状態及び分離液が良好であったのは、硫酸バンド 500ppm 及び高分子 C、D を併用した条件であった。COD_{PACK} の測定結果はいずれの条件においても 160ppm 程度であり、無機凝集剤及び高分子凝集剤を添加しても COD_{PACK} を 20%程度しか削減できなかった。COD_{PACK}(ろ過後)の測定結果から分離液の COD 値に影響を及ぼしているのは懸濁物質よりも溶解性有機物であると考えられる。

2 吸着試験

転倒混和による吸着試験結果(COD_{PACK})を図 1 に示す。活性炭(試薬)は、添加 1%は 90mg/L であったのに対し、添加 10%は 7mg/L であり、浸透水水質基準である 40mg/L を満たす結果であった。活性炭(量販)は、添加 1%では COD はほとんど変化しなかったが、添加 10%では 120mg/L まで減少し、COD を約 45%削減した。ハイドロタルサイトは、添加 1%は 160mg/L であったのに対し、添加 10%は 120mg/L で

あり、COD を約 45%削減した。

また、活性炭(試薬)添加 10%は試験開始 24 時間後に無色透明になることが観察された、ハイドロタルサイト添加 10%は透明感がややあった。

連続攪拌による吸着試験結果(COD_{PACK})を図 2 に示す。吸着試験開始 1 時間後で COD が低下し、3 時間後にはほぼ横ばいとなった。この試験においても活性炭(試薬)添加 10%は浸透水水質基準である 40mg/L を満たす結果であった。

転倒混和による吸着試験結果(COD_{Mn})を図 3 及び写真 1 に示す。試料水 500mg/L に対し、活性炭(試薬)添加 8%及び 10%は転倒混和 3 時間でそれぞれ 24mg/L、13mg/L まで低下し、浸透水水質基準 40mg/L を満たした。試料水は活性炭(試薬)添加 8%で無色透明となった。

まとめ

無機凝集剤及び高分子凝集剤を併用した場合は COD_{PACK} を 20%程度削減可能であった。

吸着剤は活性炭(試薬)が著効し、転倒混和及び連続攪拌試験における COD_{PACK} は添加 10%で 97%以上削減され、浸透水水質基準を満たした。また、転倒混和試験における COD_{Mn} は添加 8%で 95%以上削減され、浸透水水質基準を満たした。

活性炭(試薬)は優れた浄化資材であることが確認できたが、高価であることから安価で著効する活性炭(量販)等との組合せによる水処理工程が課題である。

参考文献

- 1) (社)産業環境管理協会:新公害防止の技術と法規 水質編, (2006)
- 2) 山下博史:凝集助剤としての無機凝集剤の有効性の評価, 東京都下水道局技術調査年報, (2006)

表 2 無機凝集剤試験結果

種類	観察項目	添加濃度 (ppm)				
		20	100	500	1000	5000
PAC	フロック状態	△	△	△	△	△
	分離液状態	×	△	○	○	△
硫酸バンド	フロック状態	△	△	△	△	△
	分離液状態	×	△	○	○	×
塩化鉄	フロック状態	△	△	△	△	△
	分離液状態	×	×	△	○	×

表 3 無機凝集剤に高分子凝集剤を添加した試験結果

無機凝集剤	濃度 (ppm)	観察項目及び測定条件	高分子凝集剤											
			高分子A (ppm)			高分子B (ppm)			高分子C (ppm)			高分子D (ppm)		
			10	20	50	10	20	50	10	20	50	10	20	50
PAC	500	フロック状態	×	○	△	×	△	○	△	○	○	△	△	○
		分離液状態	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
		COD _{PACK}	-	160	-	-	-	160	-	160	160	-	-	160
		COD _{PACK} (ろ過後)	-	160	-	-	-	-	-	160	-	-	-	-
	1000	フロック状態	×	×	○	×	×	○	×	×	○	×	×	○
		分離液状態	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
		COD _{PACK}	-	-	160	-	-	160	-	-	160	-	-	160
		COD _{PACK} (ろ過後)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	160
硫酸バンド	500	フロック状態	×	○	△	×	△	○	◎	◎	◎	○	◎	◎
		分離液状態	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
		COD _{PACK}	-	160	-	-	-	160	160	160	160	160	160	160
		COD _{PACK} (ろ過後)	-	160	-	-	-	-	160	160	-	160	160	-
	1000	フロック状態	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
		分離液状態	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
		COD _{PACK}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		COD _{PACK} (ろ過後)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
塩化鉄	1000	フロック状態	△	○	△	△	△	△	○	○	○	△	△	○
		分離液状態	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
		COD _{PACK}	-	160	-	-	-	-	160	160	160	-	-	160
		COD _{PACK} (ろ過後)	-	160	-	-	-	-	160	160	-	-	-	-

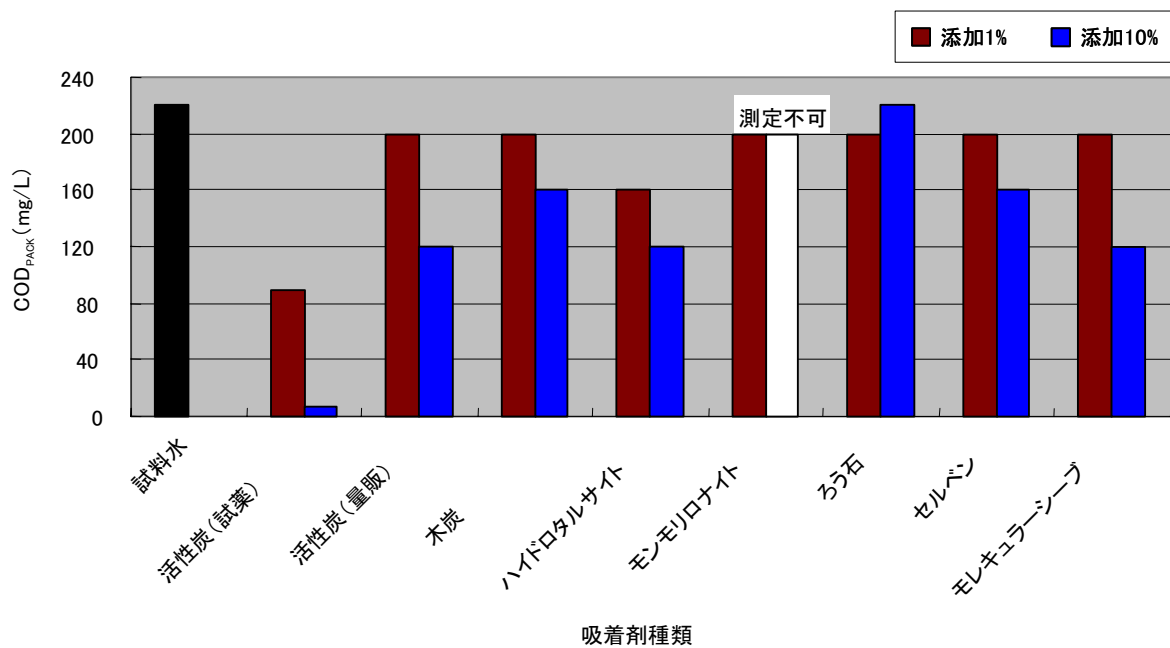


図1 転倒混和による吸着試験結果(COD_{PACK})

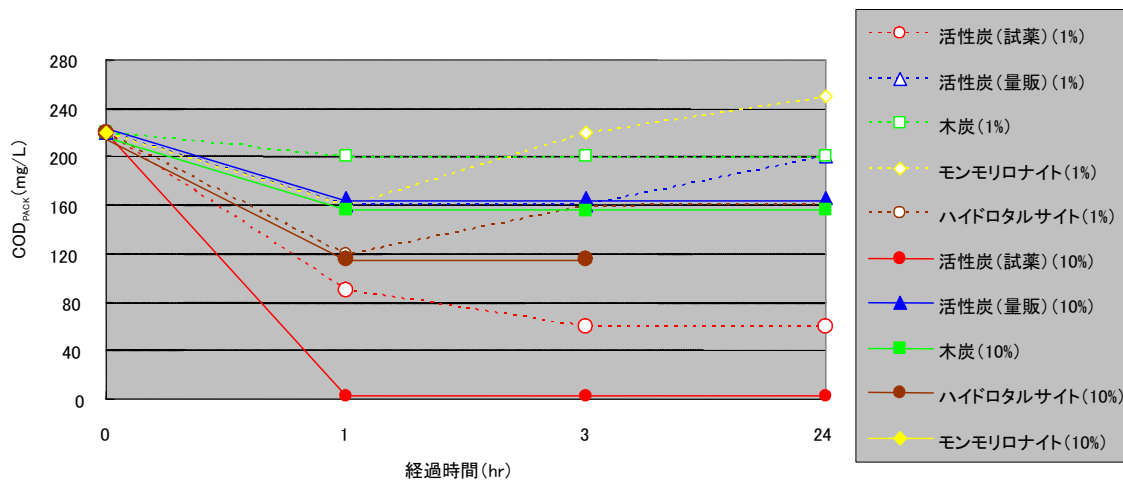


図2 連続攪拌による吸着試験結果(COD_{PACK})

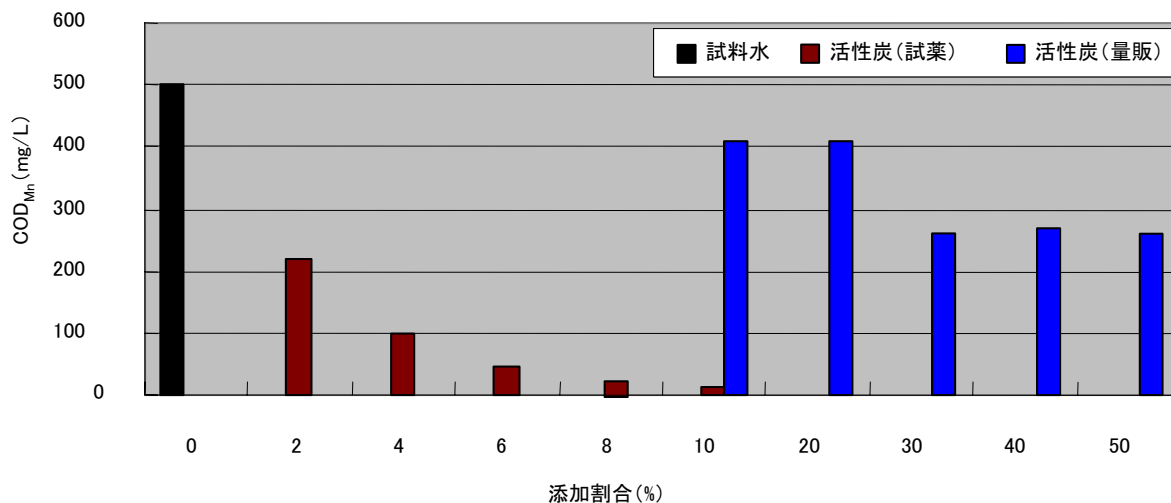
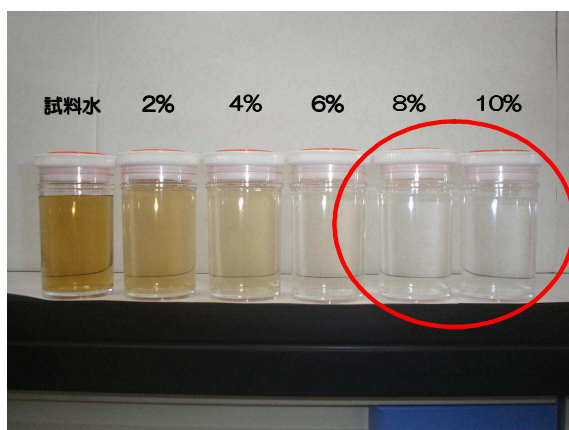
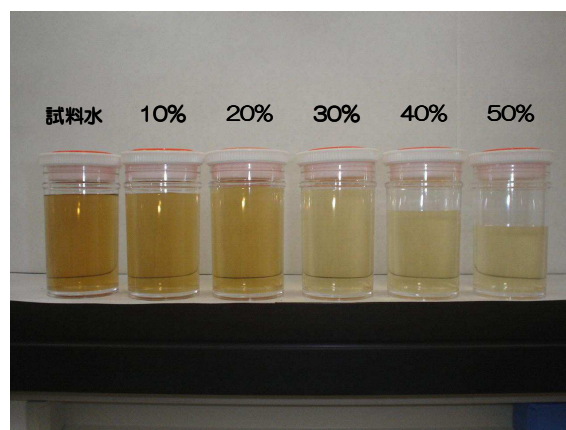


図3 転倒混和による吸着試験結果(COD_{Mn})



活性炭(試薬)



活性炭(量販)

写真1 転倒混和による吸着試験結果

焼酎蒸留廃液の堆肥化処理のコスト評価

竹野 大志、山口 智士¹、田本 佳史²

Cost evaluation of Shouchu-Distillery wastes compost treatment

Taiji TAKENO, Satoshi YAMAGUCHI, Yoshihumi TAMOTO

乙類焼酎の生産に伴って発生する焼酎蒸留廃液(以下、焼酎粕)は、2007年から原則海洋投棄処分が禁止となった産業廃棄物である。長崎県の焼酎粕のリサイクルは、堆肥化と飼料化が実践されているが、そのコストは明らかになっていない部分が多い。そこで、新規の醸造許可を得たG酒造の焼酎粕リサイクル技術の指導を行うとともに、ライフサイクルコスト手法により、焼酎粕の堆肥化処理単価を試算したところ5,781円/m³であると評価した。

Keywords: Shouchu-Distillery wastes, Compost Cost evaluation

キーワード: 焼酎蒸留廃液、堆肥化、コスト評価

はじめに

乙類焼酎の生産に伴って発生する焼酎蒸留廃液(以下、焼酎粕)は、2007年から海洋投棄処分が原則禁止となった産業廃棄物である。焼酎粕の性状は、水分95%以上の混濁液であり高濃度の有機性廃液である。焼酎粕のリサイクル技術の開発は、焼酎生産量の多い九州地方の焼酎製造業界の懸案であり、各地において飼料化や堆肥化等によってリサイクルが取り組まれている。長崎県においては、2002年に焼酎粕の堆肥化技術を確立し、その技術は、県内外の複数の製造事業所において実践活用されている。

今回、S町において、新規の焼酎製造業が許可され(以下、G酒造という)、それに伴い堆肥化処理の技術相談があり技術指導することとなった。これまでの焼酎粕の堆肥化には、原料の一部である水稲の余剰産物として発生する籾殻を堆肥化副資材として利用していたが、S町では水稲の生産がないことやG酒造の原料はサツマイモであるため、籾殻を島内確保することが困難であった。そこで、島内において適用可能な副資材の検索を行い、発生量やハンドリング面から公共事業や公園管理等によって発生する剪定木チップを副資材とすることとした。

また、新たに専用の堆肥舎を建設することから、堆肥舎の建設等に係るインシヤルコストと堆肥化作業に伴うランニングコストについて、総合的にライフサイクルコスト評価の概念により、焼酎粕の堆肥化処理のコスト評価を行った。

堆肥化処理に至った経緯

G酒造の主原料は、サツマイモであり当初の許可要件として、地産地消が前提とされていた。S町でのサツマイモの通常の収穫期は秋季に限られ、したがって醸造期もそれに合わせられ、実質的な醸造期は3ヶ月程度である。原料生産者とG酒造は、安定的な原料の生産と確保のために、それぞれ協力提携関係を結んでいる。しかし、原料生産者にとって、畜産業と水稲生産業等、土づくりに関係する業者が少ないことから、堆肥の確保に苦慮しており、焼酎粕を活用した堆肥づくりは、生産者側から要望されていた。

また、3ヶ月の醸造期間のみの対応のために、応用性のない重機等を整備することは、処理単価の上昇に繋がる可能性がある。よって、人力による労力が必要であるが、処理費用が安価となりうる堆肥化を選択した。

1: バイオパーク(株)

2: 五島灘酒造(株)

堆肥舎の構造と条件

焼酎粕の堆肥化処理に必要なとなる堆肥舎の規模は、焼酎粕の1日最大発生量と堆肥化処理能力から予測できる。これまでの研究結果では、籾殻を副資材とした堆肥化では $13\text{L}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ の能力であった。しかし、剪定木は籾殻より空隙率が高く、保水力が低いことから籾殻を用いた処理能力を下回ること予想されたことから処理能力を $10\text{L}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ を予測処理原単位として、必要となる堆肥舎の面積を求め、その数値を基に $5\text{m}^{\text{W}} \times 6\text{m}^{\text{L}} \times 2\text{m}^{\text{H}} \times 7$ 区(合計実有効面積 175m^2)の堆肥舎を新設した。G酒造の焼酎粕の発生量は、最大で $2.3\text{m}^3/\text{day}$ であり、蒸留工程の間隔を考慮し平均化すると $1.6\text{m}^3/\text{day}$ の発生量となる。よって、予測処理原単位である $10\text{L}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ に堆肥化の実有効面積の 175m^2 を乗じた $1,750\text{L}/\text{day}$ を堆肥化処理可能量と設定すると、堆肥化処理に必要な面積は充足すると試算された。副資材とする剪定木チップは、島内の産業廃棄物中間処理業者から、 $2,000$ 円/ m^3 (運搬料込)の価格で購入し、予め堆肥舎の区画内に 1.8m の高さに堆積して堆肥化に備えた。

堆肥化処理の工程

G酒造の焼酎製造期間は、10~12月の約3ヶ月間であり、焼酎粕の発生日数は正味80日間である。蒸留機から発生した焼酎粕は、一度、工場内の貯留タンクに移され放冷された後に、トラックにて堆肥舎まで運搬する。堆肥舎に搬出した焼酎粕は、エンジンポンプにて各堆肥化区画の上面に散布する。散布後は、人力によりスコップやフォーク等を用いて、散布面に蓄積する固形分を剪定木チップと混合する作業を行う。この焼酎粕の散布は、連日、7区画に平均的に散布する工程を繰り返す。ただし、連日の人力による攪拌のみでは、水分や固形分の均一化が十分に図られないため、7日間に1回の頻度でショベルローダーを用いて全面的に切り返す行程で堆肥化した(図1)。

堆肥化期間中は、最高 80°C 近くの発酵熱が発生し、焼酎粕の水分はこの熱による蒸散が行われる。焼酎粕の連続散布によって水分と有機物の供給が行われ堆肥化が進行する。

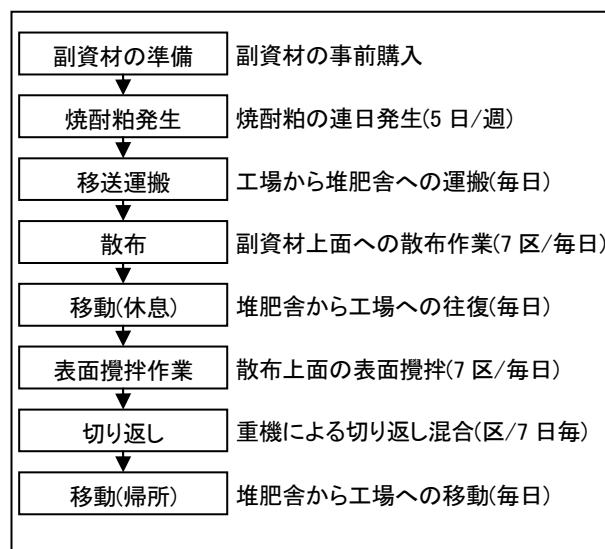


図1 焼酎粕堆肥化の作業工程フロー

実験概要

焼酎粕が、平成21年10月20日から連続的に発生したのに伴い、散布堆肥化実験を開始した。実験は、それぞれ試験区を設けて、試験区毎に散布日数と散布量を変化させて、剪定木チップを用いた堆肥化の最大能力を見極めることを目的として実施した。

各試験区では、堆積物の発酵温度と水分の浸み出しの有無を現場で確認しながら、基本的に $10\text{L}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ の散布により堆肥化を進めた。散布から4週間後の途中評価では、過剰水分の浸み出しやアンモニアガスの発生濃度もわずかで、良好な状況であると判断されたため、散布量を最大 $13\text{L}/\text{m}^2$ まで引き上げて実験した。しかし、 $13\text{L}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ まで引き上げると過剰水分の浸み出しが確認されたため、散布量を約 $11\text{L}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ に再調整して散布を継続した。なお、対照区としていた籾殻区は、島外からの籾殻の購入が高価であったため、他の試験区の約半分の量しか準備することができず、それに伴い散布可能量も少なく、 $11\text{L}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ の散布は困難であると判断し、籾殻区の試験は途中から中止した。

堆肥化の発酵温度を温度記録機(T&D社 おんどとり RTR-52R)にて、1時間毎に記録測定した。剪定木チップ区の堆積内部の温度は $55\sim 67^\circ\text{C}$ であり、最高温度は、 $71^\circ\text{C}\sim 82^\circ\text{C}$ であった。発酵温度は、連日散布する焼酎粕の温度の影響並びに醱部位のムラや切り返し作業による、温度測定結果にばらつきがあるものの、一般的に堆肥化に必要なとなる発酵温度 70°C 以上を記録していた。

また、発酵温度は、水分の蒸散効率と水分過多の目安となるが、期間中 50°C を下回る部分は、試行的に焼

耐粕の散布量を13L/m²・dayにした期間と一致していた。このことから、剪定木チップを用いた焼耐粕の堆肥化の散布量は、11L/m²・day が適当であると推測された。

ライフサイクルコスト評価の方法

堆肥化処理のコスト評価では、イニシャルコストとランニングコスト、堆肥化作業に係る人件費、消耗費を計上し、堆肥化作業日数と焼耐粕の発生量で除した値を処理単価として求めた。

イニシャルコスト

堆肥化処理によるコストで最も高額であるのが堆肥舎の建設費である。今回の事例は、新規の堆肥舎を新たに建設した。堆肥舎は、不浸透性のコンクリート壁面2mの高さの区画を8区設け、その上に木造柱とスレート葺による屋根を設けた構造である。設計建設費は10,000,000円であり、コスト評価では耐用年数を20年間として定額減価償却額を計上している。堆肥化に供する区は、8区のうち7区を用い、1区はショベルローダーや器具の保管場所としている。

次に、副資材である剪定木チップの初年度の購入金額をイニシャルコストとして計上した。剪定木チップは、堆肥化工程において発酵分解によって減耗するものであるため、消耗費として計上すべきものであるが、剪定木チップは高炭素率の副資材であるため、堆肥として適切な炭素率に低下するまでに長い年月が必要であると予想され、毎年度、土壌施用せずに、翌年度以降も焼耐粕堆肥化副資材として利用する計画としている。

よって、初年度の副資材必要量である350m³に購入単価2,000円を乗じた700,000円を10年間で原価償却するとして計上した。

表1 イニシャルコスト

項目	単位	値	備考
堆肥舎建設費	(円)	10,000,000	土地代を含めない
堆肥舎耐用年数	(年)	20	
堆肥舎原価償却費	(円/年)	500,000	①
副資材購入単価	(円/m ³)	2,000	運搬費込み料金
副資材購入量(区)	(m ³ /区)	50	5mW×5mL×2mH
副資材購入量(7区)	(m ³ /7区)	350	50m ³ ×7区
副資材購入費	(円/年)	700,000	2,000円×350m ³
副資材耐用年数	(年)	10	初年度購入分のみ償却
副資材原価償却費	(円/年)	70,000	②
イニシャルコスト計	(円/年)	570,000	①+②

ランニングコスト

堆肥化に係るランニングコストは、製造工場から堆肥舎までの往復運搬距離である約2kmのトラックの燃料費と切り返し作業に用いるショベルローダーの燃料費である。これらの燃料費については、燃料の消費量の実測値から、運搬費と切り返し燃料費を合わせて400円/日を計上した。また、作業衣等の消耗費として100円/日を計上した。

人件費

G酒造の焼耐の製造期間は、約3ヶ月であり、その期間のみに対応させるために専用の装置を導入することは、装置の稼働効率が低く、結果的に処理単価が高くなることが予想される。したがって今回の方法は、焼耐粕の散布や攪拌作業等多くの部分を人力で賄う方法で行った。そこで、堆肥化の作業人員は、パートタイム制度により実施したため、作業時間を実測調査して作業人件費を求めた(表2)。

表2 人件費

項目	単位	円
人件費単価	(円/8時間)	5,250
作業時間	(時間/日)	6
(準備) 着替え器具準備等	(分)	30
(移送) 貯留槽からの移送	(分)	50
(運搬) 堆肥舎へ運搬(3往復)	(分)	30
(散布) 焼耐粕散布作業(7区)	(分)	40
(攪拌) 攪拌作業(7区)	(分)	110
(切り返し) 切り返し(1区)	(分)	90
(その他) 休憩時間等	(分)	10
作業日数	(日/年)	80
計	(円/年)	315,000

処理単価の試算

焼耐粕の堆肥化処理に係る人件費、消耗費、償却費を積算し、焼耐粕の処理単価を表3のとおり評価した。平成21年度実績を基に80日間に160m³の焼耐粕を堆肥化するとして処理単価を求めた結果は5,781円/m³であった。

表3 焼耐粕堆肥化処理単価

項目	単位	円	
副資材償却費(10年)	(円/年)	70,000	
堆肥舎償却費(20年)	(円/年)	500,000	
イニシャルコスト計	(円/年)	570,000	①
燃料費	(円/日)	400	
作業衣等償却	(円/日)	100	
作業日数	(日/年)	80	
ランニングコスト計	(円/7区・年)	40,000	②
人件費単価	(円/8時間)	5,250	
作業時間	(時間/日)	6	
散布作業日数	(日/年)	80	
人件費計	(円/7区・年)	315,000	③
合計	(円/年)	925,000	①+②+③
年間焼耐粕発生量	(L)	160,000	
焼耐粕処理単価	(円/m ³)	5,781	

まとめ

S 町の G 社における焼酎粕堆肥化処理単価は、5,781 円/m³ と試算された。米や麦を原料とする焼酎製造業者は、生産業者と提携することで堆肥化の副資材の確保が容易であるが、離島という地域特性に加え堆肥化副資材の発生を伴わない醸造体系においては、その確保が課題となる。しかしながら公共事業等で発生する剪定木チップを活用することで堆肥化が可能であると示唆された。

過去、九州地方での焼酎粕の海洋投棄処分委託費は、約 4,000 円/m³とされていた。今回の処理単価費は、その金額より高価であるが、副資材となる剪定木チップの購入費用をさらに圧縮することによって、処理経費を抑えることは十分可能である。また、仮に焼酎粕を産業廃棄物処理業者に委託する場合の単価は、10,000～20,000 円/m³も言われその価格と比較すると

十分安価であると思われる。

今回のコスト評価は、他の離島地域や小規模な焼酎業者において、これまで客観的なコスト評価が行われていなかった堆肥化処理の選択を検討する資料となりえると考ええる。

謝辞

バイオパーク(株) 山口智士取締役園長には、焼酎粕の共同研究者として、実践的なアドバイスを頂き深く感謝申し上げます。

なお、この研究は、長崎県商工連合会農商工連携ファンド助成事業の一部である。

残留農薬の検査結果(2009 年度)

西川 徹、濱野 敏一

Pesticide Residues in Agricultural Products

Toru NISHIKAWA and Toshikazu HAMANO

Key words: Simultaneous determination, Pesticide residues, Agricultural products

キーワード: 一斉分析、残留農薬、農産物

はじめに

ポジティブリスト制度により残留農薬検査の検査項目を拡大するひつようがあるため、当センターにおいても平成19年度より検体数及び検査対象農薬を拡大している。平成21年度は75検体の農産物についてGC/MSにより152項目、LCMS/MSにより48項目の残留農薬検査を行った。

調査方法

1 検体

平成21年5月～平成21年8月に当センターへ搬入された表1に示す75検体について検査を行った。

2 検査対象農薬

表2に示す200農薬について検査を行った。なおGC/MSによる一斉分析法対象農薬は農薬混合標準溶液22, 31, 34, 34 (関東化学(株)製)及び個別に当センターで調整し混合した農薬を用いた。

3 試薬等

農薬標準溶液は市販標準品を、また、有機溶媒等の試薬は残留農薬分析用又は特級を、LC/MS/MS分析においてはLC/MS用を用いた。ミニカラムはENVI-Carb/LCNH2 (500 mg / 500 mg, 6 mL, SUPELCO社製), Sep-pak Plus Florisil (900 mg, WATERS社製), Sep-pak Plus Silica (690 mg, WATERS社製)を用いた。

4 装置及び測定条件

(1) GC/MS: (株)島津製作所製 (GC17A+QP5050A)

カラム: DB-5MS+DG (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 µm, Agilent社製)

カラム温度: 50°C(1min) - 25°C/min - 125°C(0min) - 10°C/min - 300°C (6.5 min)

注入口温度: 250°C, インターフェイス温度: 280°C

キャリアーガス: ヘリウム 80 kpa (定圧モード)

注入量: 2µL

表1 検査対象農産物

国内産

ばれいしょ(7), なす(5), トマト(3), すいか(1), にんじん(3), きゅうり(8), たまねぎ(5), かぼちゃ(3), ごぼう(3), キャベツ(3), ねぎ(2), オクラ(1), レタス(1), いんげん(1), ししとう(1), ゴーヤ(1), さといも(1), 小松菜(1)

県外産

ピーマン(2), なし(1), トマト(2), チンゲン菜 (1)

輸入品

バナナ(3), そらまめ(1), いんげん(1), キウイフルーツ(1), さといも(2), オレンジ (2)

加工食品(加工度の低いもの)

茶豆(1), えだまめ(3), いんげん(3), グリンピース(1), さといも(1),

*()内の数字は検体数を示す

表2 検査対象農薬

GC/MS	<p>EPN, BHC, アクナトリン, アザコナゾール, アジンホスメチル, アトラジン, アトリン, アレスリン, イサゾホス, イソフェホス, イプロカルブ, イソプロチオラン, イプロベンホス, エスプロカルブ, エチオン, エディフェンホス, エトプロホス, エトリムホス, オキサジアゾン, オキサジキシル, オキシフルオルフェン, カズサホス, カルフェントラゾニエチル, キナルホス, キノキシフェン, キノクラミン, クロキシムメチル, クロマゾン, クロルピリホス, クロルピリホスメチル, クロルフェナピル, クロルフェンピホス, クロルベンジレート, クロロプロファム, シアノホス, ジエトフェンカルブ, ジオフェノラン, ジクロホップメチル, ジクロラン, シハロトリン, シフェナミド, シフェノナゾール, シプロコナゾール, シペルメトリン, シマジン, ジメタトリン, ジメチピホス, ジメチルピホス, ジメエート, シメリン, ジメピペレート, ダイアジノン, チオベンカルブ, チフルサミド, テトラクロルピホス, テトラジホソ, テニルクロール, テブコナゾール, テブフェンピラト, テフルトリン, テルタトリン, テルブホス, トリアジメノール, トリアジメホソ, トリアゾホス, トリアレート, トリシクラゾール, トリブホス, トリフロキシストロピホソ, トルクロホスメチル, ナプロパミド, ノルフルラゾニ, パクロプロトラゾール, パラチオン, パラチオンメチル, ハルフェンプロックス, ピコリナフェン, ピテルタノール, ピフェントリン, ピペロホス, ピラクロホス, ピラゾホス, ピリダフェンチオン, ピリダベン, ピリフェノックス, ピリプロキシフェン, ピリミノバックメチル, ピリミホスメチル, ピロキロン, ピンクロリゾニ, ファムアール, ファイプロニル, フェナリモル, フェントロチオン, フェノトリン, フェノブカルブ, フェンアミド, フェンシルホチオン, フェンチオン, フェトエート, フェンバレート, フェンコナゾール, フェンプロピモル, フサライト, フタミホス, フピリメート, フルキシコナゾール, フルシトリンエート, フルシラゾール, フルトラニル, フルリアホール, フプロフェジン, フラムプロップメチル, フルアクリピリム, フルバリネート, フルミクロラックベンチル, プレチラクロール, プロシミド, プロチオホス, プロパクロール, プロパジン, プロパニル, プロパルキット, プロピコナゾール, プロピサミド, プロパタンホス, プロホキシル, プロトリン, プロモブチド, プロモプロピレート, プロモホスメチル, ヘキサジン, ヘナラキシル, ヘキサコール, ヘルメトリン, ヘンティメトリン, ヘンフレート, ホサロン, ホスファミド, ホスメット, マラチオン, ミクロバタニル, メタラキシル, メチダチオン, メキシクロール, メミノストロピホソ, メラクロール, メフェナセト, メプロニル, モノトホス, レナシル</p>
LC/MS/MS	<p>アサメチホス, アゾキシストロピホソ, アニロホス, アバメクチン B1a, イソキサフルトール, イプロハリカルブ, イマザリル, イダクロプリド, イントキサカルブ, オキサジクロホソ, オキサミル, オキシカルホキシホソ, オリザリル, カルバリル, カルプロパミド, カルボフラン, キザロホップエチル, クロキントセト-1-メチルヘキシルエステル, クロチアニジン, クロマフェナミド, クロメプロップ, クロリダゾン, シフルフェナミド, シメコナゾール, ダイムロン, チアクロプリド, チアヘンタゾール, チアホキサム, チオジカルブ, トラルコキシジム, ナプロアニド, ピラゾレート, ピリフタリド, ピリミカルブ, フェノキシカルブ, フェリムゾン(E)及び(Z), フェンメディファム, フタフェナシル, フラチオカルブ, フラトピル, フルリトリン, ベンゾフェナップ, ミルベメクチン A3 及び A4, メミル, メキシフェバミド, モリニューロン, ラクトフェン, リニューロン</p>

(2) LC/MS/MS

液体クロマトグラフは(株)島津製作所製 LC-VP システム、質量分析計はApplied Biosystems社製API2000を用いた。分析カラムは関東化学(株)製 Mightysil RP-18GP (2.0 mm i.d.×150 mm、粒子径 3 μm)を用いた。カラム温度は 40℃とし、移動相はA液に 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液、B 液にメタノールを用い、B 液: 15% (0min) →40% (1min) →40% (3.5min) →50% (6min) →55% (8min) →95% (17.5-30min) でグラジエント分析を行い、次の分析までは 10 分間平衡化した。試料注入量は 5μL とし、流速は 0.2 mL/min とした。

イオン化はエレクトロスプレー (ESI) によるポジティブ及びネガティブイオン化法により行った。ポジティブモードではイオンスプレー電圧は 5.0 kv、イオン源温度は

500℃に設定し、ネガティブモードではイオンスプレー電圧は -4.5 kv、イオン源温度は 500℃に設定した。

5 分析方法

厚生労働省通知法「GC/MS による農薬等の一斉分析法(農産物)」¹⁾及び厚生労働省通知法「LC/MS による農薬等の一斉分析法(農産物)」¹⁾に準じて行った。すなわち、それぞれ均一化した試料 20 g にアセトニトリル 50 mL を加えホモジナイズした後、遠心分離 (2,500 rpm, 5 min) し上清を分取した。残った残渣に、アセトニトリル 20 mL を加え同様に操作した。得られた上清を合わせ、アセトニトリルを加え正確に 100 mL とした。

抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) 20 mL を加え、10 min 振とうした。静置した後、分離した水層を捨てた。野菜・果実の

表3 農産物中残留農薬実態調査結果

	農産物名	検体数	検出数	農薬名 / 検出値 (ppm)	基準値 (ppm)
県内産	きゅうり	8	1	プロシトリン: 0.03	プロシトリン: 5
	ばれいしょ	7	1	チアホキサム: 0.01	チアホキサム: 0.5(暫定)
	長ねぎ	2	1	メミル: 0.01 シペルメリン: 0.18	メミル: 2(暫定) シペルメリン: 5
	小松菜	1	1	クロチアニジン: 0.03 チアホキサム: 0.09	クロチアニジン: 1 チアホキサム: 5
	ピーマン	2	2	プロシトリン: 0.06 チアクロプリド: 0.06	プロシトリン: 5 チアクロプリド: 5(暫定)
県外産	なし	1	1	クレソキシムメチル: 0.11 ピフェントリン: 0.03 シペルメリン: 0.04	クレソキシムメチル: 5 ピフェントリン: 0.5 シペルメリン: 2
	チンゲン菜	1	1	クロチアニジン: 0.05 シペルメリン: 0.22	クロチアニジン: 5 シペルメリン: 5
	オレンジ	2	2	チアベンダゾール: 0.09, イマザリル: 0.1 チアベンダゾール: 0.09, イマザリル: 0.07	チアベンダゾール: 10(暫定) イマザリル: 5
加工食品	えだまめ	3	2	シペルメリン: 0.13 シペルメリン: 0.04	※シペルメリン: 5

※加工する前の枝豆としての基準値

場合は、アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加え脱水し、無水硫酸ナトリウムはろ過で除き、ろ液を 40℃以下で濃縮、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物はアセトニトリル:トルエン (3:1) 混液 2 mL に溶かした。

あらかじめアセトニトリル:トルエン (3:1) 混液 10 mL でコンディショニングした ENVI-Carb/LCNH2 に上記抽出液を負荷し、さらにアセトニトリル:トルエン (3:1) 混液 20 mL を負荷、全溶出液を 40℃以下で濃縮した。これにアセトン 10 mL を加え 1 mL 以下に濃縮し、再度アセトン 5 mL を加えて濃縮、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物はアセトンに溶かし、野菜・果実は 2mL とした。これを試験溶液とし、GC/MS(SIM)により測定した。なお、検量線は 0.02~0.2 µg/mL の範囲で作成した。LC/MS/MS においては残留物をメタノールに溶かし、4 mL に定容した。これを試験溶液とし、LC/MS/MS により測定した。なお、検量線は 0.01~0.1 µg/mL の範囲で作成した。

また、GC/MS (SIM)や LC-MS/MS (MRM)測定により農薬が検出された場合には、フロリジルやシリカゲルカラムによる再精製後、SCAN 測定等により再測定を行い、標準品のマススペクトルとの比較による確認を行った。農薬臭の苦情があった食品に関しては対象農薬以外の農

薬の可能性を考え、GC-MS 及び LC-MS/MS においてスクリーン測定を行った。

検査結果

検出された農薬について表3及び表4に示した。検出された農薬のほとんどは基準値を大きく下回る値であり、基準値を超える農薬はなかった。また、冷凍加工食品のえだまめからシペルメリンが 0.01 µg/mL を超えて検出されたが、これは原材料がえだまめだけであり、加工も塩茹のみであったため、原材料のえだまめ中のシペルメリンが基準値の 5 µg/mL を超えていたかどうかの判断が必要であるが、原材料のえだまめを調べることはできなかった。シペルメリンは 220℃までは安定な農薬であるが、Lin HM *et al.*はシペルメリンの加水分解が熱によって促進され、加熱後に水中に残留するシペルメリンは 10 分後で 66%であり、1 時間後には 27%に低下したと報告している²⁾。この報告と今回の検出値から考えて、原材料のえだまめ中のシペルメリンは基準値以内であることが考えられる。

参 考 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(一部改正)”平成17年11月29日, 食安発第1129002号
- 2) Lin HM, Gerrard JA, Shaw IC, Stability of the insecticide cypermethrin during tomato processing and implications for endocrine activity. Food Addit Contam., **22**, 15-22 (2005)

食品添加物、器具・容器包装等の理化学検査結果(2009年度)

八田 秀樹、濱野 敏一

Survey Report Food Additives and Apparatuses/Containers and Packages (2009)

Hideki YATSUDA and Toshikazu HAMANO

Key words: food additive, prepared meat, lead, ceramic ware, acid value, peroxide value, fried noodles

キーワード: 食品添加物、食肉製品、鉛、陶磁器、酸価、過酸化物品価、揚げ麺

はじめに

平成 21 年度食品・添加物の一斉収去検査において、加熱食肉製品の規格基準試験(亜硝酸根)、陶磁器製食器からの鉛の溶出試験及び即席めん類の規格基準試験(酸価及び過酸化物品価)を行ったので報告する。

調査方法

1 加熱食肉製品の規格基準試験(亜硝酸根)

県内に流通する加熱食品製品のうち、県内産を中心に包装後加熱食肉製品 16 検体及び加熱後包装食肉製品 16 検体の計 32 検体を試料とした。

検査は、食品中の亜硝酸ナトリウムについて、亜硝酸イオンとジアゾ化反応によって発色する赤紫色を分光光度計(SHIMADZU UV-1600)を用いて、吸光光度法により亜硝酸根として定量した¹⁻³⁾。

2 陶磁器製食器からの鉛の溶出試験

県内に流通する陶磁器製食器のうち、県内産 32 検体を試料とした。

検査は、陶磁器に含まれる鉛(Pb)を4%酢酸溶液で溶出した後、原子吸光分析装置(PerkinElmer AAnalyst 100)を用いて、原子吸光光度法により測定した¹⁻³⁾。

3 即席めん類(揚げ麺)の規格基準試験(酸価、過酸化物品価)

県内に流通する揚げ麺のうち、県内産を中心に 24 検体を試料とした。

検査は、試料よりジエチルエーテルで抽出した油脂を用いて行った。抽出した油脂を 0.1mol/L 水酸化カリウム溶液で滴定して酸価を、同様に 0.01mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定して過酸化物品価を求めた¹⁻³⁾。

規格基準

1 加熱食肉製品(亜硝酸根)

1) 食肉製品、鯨肉ベーコン、2) 魚肉ソーセージ、魚肉ハム及び 3) いくら、すじこ、たらこ(スケトウダラの卵巣を塩蔵したもの)の亜硝酸根としての最大残存量は、それぞれ 1) 0.070 g/kg、2) 0.050 g/kg 及び 3) 0.0050 g/kg である。なお、定量下限は 0.0002 g/kg である。

2 陶磁器製食器(鉛)

1) 深さ 2.5 cm 以上で容量 1.1 L 未満の陶磁器、2) 深さ 2.5 cm 以上で容量 1.1 L 以上の陶磁器及び 3) 液体を満たせないもの、深さ 2.5 cm 未満の陶磁器の鉛の規格基準は、それぞれ 1) 5.0 µg/mL、2) 2.5 µg/mL 及び 3) 17 µg/mL である。なお、定量下限は 0.5 µg/mL である。

3 揚げ麺(酸価、過酸化物品価)

即席めん類の成分規格基準は、含有油脂の酸価が 3 以下、又は過酸化物品価が 30 以下である。

検査結果

1 加熱食肉製品の規格基準試験(亜硝酸根)

検査した試料は、全て規格基準に適合していた。

2 陶磁器製食器(鉛)

検査した試料は全て定量下限未満であり、規格基準に適合していた。

3 揚げ麺の規格基準試験(酸価、過酸化物品価)

検査した試料から 1 検体、規格基準に適合しないものが確認された。

参考文献

- 1) 食品衛生法(昭和 22 年法律第 233 号)
- 2) 日本食品衛生協会編: 食品衛生検査指針(理化学編)、2005
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 2000

畜水産食品中の合成抗菌剤等の検査結果(2009年度)

辻村 和也、土井 康平、田栗 利紹、吾郷 昌信、濱野 敏一

Survey Report of Synthetic Antimicrobials in Stock Farm and Marine Products (2009)

Kazunari TSUJIMURA, Kohei DOI, Toshitsugu TAGURI, Masanobu AGOH and Toshikazu HAMANO

Key words: stock farm and marine products, veterinary products, synthetic antimicrobials, pesticide, liquid

chromatography-tandem mass spectrometry(LC/MS/MS), -tandem mass spectrometry(GC/MS/MS)

キーワード: 畜水産食品、動物用医薬品、合成抗菌剤、農薬、高速液体クロマトグラフータンデム質量分析装置(LC/MS/MS)、ガスクロマトグラフータンデム質量分析装置(GC/MS/MS)

はじめに

平成 20 年度厚生労働省畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の一環として、県内産の畜水産食品(養殖魚介類、乳、食肉)中の、抗生物質、合成抗菌剤、内寄生虫用剤、農薬の検査を行ったので報告する。

調査方法

1 試料及び試薬

検査に供した試料は、表 1 に示す。

標準品に関しては、和光純薬工業(株)、関東化学(株)、林純薬工業(株)及び SIGMA-ALDRICH 社製のものを使用した。

試薬に関しては、アセトニトリル、メタノール及び蒸留水は関東化学(株)製の LC/MS 用を、ヘキサンは関東化学(株)製の残留農薬用(5000 倍濃縮)を使用した。その他は、特級品を使用した。

2 検査項目及び残留基準

検査項目及び残留基準は、表 2 に示す。

3 検査方法

(1) 抗生物質

昭和 34 年 12 月厚生省告示第 370 号「食品、添加物等の規格基準」及び昭和 26 年 12 月厚生省令第 52 号「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」に準じた。

(2) 合成抗菌剤及び内寄生虫用剤

厚生労働省通知試験法 HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ(畜水産物)に準じて分析を行った。

(3) 農薬

昭和 62 年 8 月 27 日付け衛乳第 42 号厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知「牛肉中の有機塩素化合物の分析法」に準じ、改良を加えた。

4 分析装置

(1) 高速液体クロマトグラフータンデム質量分析装置(LC/MS/MS)

(株)島津製作所製 CLASS-VP、Applied Biosystems 社製 API2000 を使用した。

(2) ガスクロマトグラフータンデム質量分析装置(GC/MS/MS)

バリアン・テクノロジー・ジャパン・リミテッド製 Varian 1200 を使用した。

検査結果及び考察

養殖魚介類 28 検体、乳 10 検体、食肉 15 検体について検査を行った結果、いずれの検体においても抗生物質、合成抗菌剤、内寄生虫用剤、農薬は定量下限値未満であった。

参考文献

- 1) 衛乳第 42 号厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知「牛肉中の有機塩素化合物の分析法」(昭和 62 年 8 月 27 日)
- 2) 西川徹、他: LC/MS/MS を用いた動物用医薬品の一斉分析法の検討, 長崎県衛生公害研究所報, **51**, 18-22, (2005)
- 3) 厚生労働省ホームページ: 畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査

表1 試料

搬入機関	養殖魚介類						乳	食肉		
	ぶり	まだい	ひらめ	トラフグ	車エビ	うなぎ		牛肉	豚肉	鶏肉
西彼保健所	1	1								
県央保健所						1	4			3
県南保健所		2	1	1	1		5			2
県北保健所	2	1	1	4	1					
五島保健所	1	3					1			
上五島保健所	2	1								
対馬保健所	2	2								
諫早食肉衛生検査所								5		
川棚食肉衛生検査所									5	
合計	8	10	3	5	2	1	10	5	5	5

表2 検査項目及び残留基準 (単位: µg/g)

検査項目	養殖魚介類						乳	食肉(脂肪中濃度)		
	ぶり	まだい	ひらめ	トラフグ	車エビ	うなぎ		牛肉	豚肉	鶏肉
(抗生物質)										
テトラサイクリン類	0.2*1	0.2*1	0.2*1	0.2*1	0.2*1	0.2*1	0.1*2			
スピラマイシン類*3	0.2	0.2		0.2			0.2			
ベンジルペニシリン (合成抗菌剤)							0.004			
スルファラジン	0.01	0.01				0.01				
スルフアジミジン	0.01	0.01				0.01	0.025			
スルフアモノメキシ	0.01	0.01				0.01				
スルフアジメキシ	0.01	0.01				0.01				
スルフアキノキサリン	0.01	0.01				0.01				
オキシリン酸	0.06	0.06			0.03	0.1				
チアンフェニコール	0.01	0.01								
オルトプリム (内寄生虫用剤)						0.1				
チアベンタゾール類*4							0.10			
(農薬)										
DDT*5								5	5	5
デルタリン*6								0.2	0.2	0.2
ヘプタクロル*7								0.2	0.2	0.2

*1: オキシテトラサイクリンのみの値

*2: オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン、クロルテトラサイクリンの和

*3: スピラマイシン、ネオスピラマイシンの和

*4: チアベンタゾール、5-ヒドロキシチアベンタゾールの和

*5: 総DDT (o,p'-DDT、o,p'-DDD、o,p'-DDE、p,p'-DDT、p,p'-DDD、p,p'-DDE)

*6: アルドリンを含む

*7: ヘプタクロルエポキシイドを含む

*8: 残留基準の設定されていないものは、定量限界値を記載

家庭用品中のホルムアルデヒドの検査結果(2009年度)

八田 秀樹、山之内 公子、濱野 敏一

Survey Report of Formaldehyde in Domestic Articles (2009)

Hideki YATSUDA, Kimiko YAMANOUCHI and Toshikazu HAMANO

Key words: formaldehyde, domestic article

キーワード: ホルムアルデヒド、家庭用品

はじめに

例年、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づき県内の各地域において販売されている衣料品等の検査を行なっている。平成 21 年度は西彼杵地区において販売されている衣料品等に含まれるホルムアルデヒドの検査を実施したので報告する。

調査方法

1 検体及び試薬

24 月以内の乳幼児用の衣料品 25 検体及びそれ以外のもの 15 検体の計 40 検体の検査を行なった(表1)。

ホルムアルデヒド標準品およびアセチルアセトン(2,4-ペンタンジオン)は関東化学(株)製を使用した。

吸光度計は(株)島津製作所製 UV-1600 を用いた。

表1 検体一覧

	検体数
24 月以内のもの	25 検体
肌着	7
手袋	2
くつ下	2
帽子	1
外衣	7
よだれかけ	3
おむつカバー	1
エプロン	2
24 月を超えるもの	15 検体
下着類	15
合計	40 検体

2 分析方法

試験は、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に規定する方法に準じて行なった。

身体と接触する部分を細かく切り、24 月以内のものは

2.5g、それ以外のものは 1g を正確に量りとり、精製水 100mL を正確に加えて 40°C で 1 時間抽出を行なった。これをガラスろ過器 G2 によりろ過し、試験溶液とした。

試験溶液 5 mL を正確にとり、アセチルアセトン試薬を 5mL 加え、40°C で 30 分加温後、30 分室温にて放置し、波長 412~415nm で吸光度を測定した(A)。同様に試験溶液にアセチルアセトンの代わりに精製水 5mL を加えた対象サンプルを用意し、吸光度を測定した(Ao)。

検査結果

表1に示した検体について検査したところ、全ての検体は基準値以下であり、ホルムアルデヒドは検出されなかった。

(参考)

家庭用品中のホルムアルデヒド基準値

(1) 繊維製品のうち、おしめ、おしめカバー、よだれ掛け、下着、寝衣、手袋、くつした、中衣、外衣、帽子、寝具であって、出生後 24 月以内の乳幼児用のもの

A-Ao の値が 0.05 以下

又は下式により計算する試料 1g についてのホルムアルデヒド溶出量が 16µg 以下でなければならない。

(2) 繊維製品のうち、下着、寝衣、手袋及びくつした(出生後 24 月以内の乳幼児用のものを除く。)、たび並びにかつら、つけまつげ、つけひげ又はくつしたのために使用される接着剤

下式により計算する試料 1g についてのホルムアルデヒド溶出量は 75µg 以下でなければならない。

ホルムアルデヒド溶出量(µg)

= C (µg/ml) × (A-Ao) / As × 100 × 1 / 試料採取量 (g)

C: ホルムアルデヒド標準液の濃度

As: ホルムアルデヒド標準液の吸光度

医薬品の検査結果(2009年度)

八田 秀樹、山之内 公子、濱野 敏一

Survey Report of Medicine (2009)

Hideki YATSUDA, Kimiko YAMANOUCHI and Toshikazu HAMANO

Key words: cold medicine, aspirin, acetaminophen, caffeine, bromvalerylurea

キーワード: 医薬品、風邪薬、アスピリン、アセトアミノフェン、カフェイン、ブロモバレリル尿素

はじめに

平成21年度医薬品等一斉監視指導の実施に伴う県内製造医薬品の収去検査において、崩壊試験及び製剤均一性試験(4成分の定量検査含む。)を行なったので報告する。

調査方法

1 試料及び試薬

試料は県内の許可施設で製造された感冒薬であり、表1に1日量(6カプセル)中の成分を示す。

表1 試料1日量(6カプセル)中の各成分とその分量

成分名	分量 (mg)
アスピリン	900
アセトアミノフェン	600
無水カフェイン	200
ブロモバレリル尿素	200
その他	440
計	2340

アスピリン(アセチルサリチル酸)、アセトアミノフェン及びカフェイン(ともに高速液体クロマトグラフ用)は和光純薬(株)のものを使用した。ブロモバレリル尿素は局方品を使用した。アセトニトリル、メタノール、蒸留水は関東化学(株)製の高速液体クロマトグラフ用を使用し、リン酸二水素ナトリウムは関東化学(株)製を使用した。

標準原液(1000ppm)は承認書に記載されている方法で調製し、それぞれ適宜混合希釈して混合標準溶液を調製した。

2 分析方法

(1) 崩壊試験

第十五改正日本薬局方に規定する崩壊試験法、即放性製剤の項に基づき検査を行った。

崩壊試験器は、富山産業株式会社製 NT-20 を使用した。

(2) 有効成分の定量

アスピリン、アセトアミノフェン、カフェイン及びブロモバレリル尿素的の定量は高速クロマトグラフ法(HPLC)により行った。

試料10個をとり、それぞれの内容物の量を精密に量った後、均一になるよう混和した。その0.100gを精密に秤取りし、メタノールに溶解させた後に水を加えて正確に50mLとした。これを適宜希釈して試験溶液とした。

試験溶液を0.45 μ m フィルター(Millipore社製)でろ過後、HPLCに注入した。

(3) 製剤均一性試験法

第十五改正日本薬局方に規定する製剤均一性試験法、質量偏差試験の項に基づき試験を行った。

本品10個について、それぞれの内容物の質量及び平均含有量を求め、また(2)の定量結果より各有効成分の平均含量を求め、判定値により適合かどうか判定した。

3 HPLCの分析条件

H P L C: (株)島津製作所製 LC-10VP システム

分析カラム: TSKgel ODS-80TM (4.6mm i.d.×150mm)

カラム温度: 45°C

検出波長: 210nm

移動相: 0.05Mリン酸二水素ナトリウム:メタノール (6:4)

流速: 1.0mL/min

試料注入量: 10 μ L

検査結果

1 崩壊試験

6カプセルについて崩壊試験法に従い試験を行なったところ、すべての試料の規定時間内における崩壊を確認

し、これに適合した。

2 定量及び製剤均一性試験

各試料について、アスピリン、アセトアミノフェン、カフェイン及びプロモバレリル尿素の定量を行ったところ、それぞれの含量推定値は103.4、97.0、94.6及び102.7であり、製造承認書に規定する含量規格(表示量の90%~110%)に適合した(表2)。

また製剤均一性試験を行なったところ、平均重量値は0.395gであった。アスピリン、アセトアミノフェン、カフェイン及びプロモバレリル尿素について判定値を求めると、それぞれ10.9、10.0、12.2及び10.1であり、日本薬局方の製剤均一性試験法、質量偏差試験(判定値が15.0%以下)に適合した。

表2 各有効成分の含量推定値

	アスピリン (%)	アセトアミノフェン (%)	カフェイン (%)	プロモバレリル 尿素(%)
1	102.7	95.1	98.9	111.7
2	107.2	97.2	89.0	104.1
3	105.2	95.9	94.0	93.5
4	101.5	93.5	97.1	101.3
5	98.3	99.2	102.9	111.3
6	108.1	94.1	89.2	106.7
7	105.1	95.5	90.7	94.7
8	100.5	101.0	101.3	102.0
9	102.4	101.1	89.6	100.7
10	103.0	97.7	93.0	100.6
平均	103.4	97.0	94.6	102.7

参考文献

- 1) 第十五改正日本薬局方製剤均一性試験法: 2006、厚生労働省
- 2) 改訂かぜ薬・解熱鎮痛薬の試験法: 日本公定書協会

健康食品中の痩身及び強壯用医薬品の検査結果(2009年度)

八田 秀樹、山之内 公子、濱野 敏一

Survey Report of Drugs Using for Slimming and Tonic in Health Foods (2009)

Hideki YATSUDA, Kimiko YAMANOUCHI and Toshikazu HAMANO

Key words: slimming drug, tonic drug, health foods

キーワード: 痩身用医薬品、強壯用医薬品、健康食品

はじめに

近年、痩身及び強壯効果を標榜している健康食品に無承認無許可医薬品が含まれている事例が相次いで報告されている¹⁾。このため、これら無承認無許可医薬品による健康被害を未然に防ぐため、平成15年より県内で販売されている「いわゆる健康食品」(以下、健康食品)の医薬品成分検査を実施している。平成21年度の健康食品の検査結果について報告する。

調査方法

1 検体

県内で販売されている痩身用健康食品2検体及び強壯用健康食品14検体。

2 検査対象物質

(1) 痩身用医薬品及び医薬品類似物質

シブトラミン、マジンドール、フェンフルラミン、N-ニトロソフェンフルラミン

(2) 強壯用医薬品及び医薬品類似物質

シルデナフィル、ホンデナフィル、タダラフィル、バルデナフィル

3 試薬

各標準品は10mgをメタノールに溶解して20mLとし、標準原液とした。さらに各標準原液をアセトニトリル-水(10:90)で希釈して、混合標準溶液を調整した。

蒸留水、メタノール、アセトニトリルは関東化学(株)製の高速液体クロマトグラフ用を用いた。

4 分析装置及び条件

(1) 高速液体クロマトグラフ

高速液体クロマトグラフには(株)島津製作所製LC-10AVPシステムを使用し、分析カラムは東ソー(株)製TSK-gel Super ODS(2.0mm i.d.×100mm、粒子径2µm)

を用いた。

カラム温度は室温とし、移動相はA液に0.1%ギ酸溶液、B液にアセトニトリルのグラジエント分析を表1の条件で行った。

また、流速は0.2 mL/min、試料注入量は5µlとした。

表1 グラジエント分析条件

Time (min)	A 液(%)	B 液(%)
0	90	10
3	90	10
10	30	70
15	30	70
15.1	90	10
20	90	10

(2) 質量分析装置

Applide Biosystems 社製 API2000 を用いた。イオン化はエレクトロスプレー(ESI)によるポジティブイオン化法により行った。イオンスプレー電圧は3.5kV、イオン源温度は500°Cに設定した。

検査対象物質は表2に示す条件でMRMモードにおいて同時分析し、また100~1000(m/z)の範囲で検査対象物以外に化合物が含まれていないかを検討するためにプレカーサーイオンのスクリーニングを行った。

5 分析方法

錠剤及び散剤については乳鉢で粉末にしたものを、カプセル剤についてはその中身を200mg採取し、これにアセトニトリル-メタノール(50:50)10mLを加え、超音波により10分間抽出した。これを3000rpm、5分間遠心分離した後、上清をとりアセトニトリルで20mLにメスアップし、0.2µmのフィルターでろ過して試験液とした。

表2 各医薬品のESI-MS/MS パラメーター

医薬品及び医薬品類似物質	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Declustering Potential(V)	Collision Energy(V)
バルデナフィル	489.3	72.4	66	63
ホンデナフィル	467.3	111.1	31	43
マジンドール	285.1	242	11	29
フェンフルラミン	232.2	159	26	33
シルデナフィル	475.0	58.1	46	63
タダラフィル	390.1	268.1	26	19
シブトラミン	280.3	125.1	21	21
N-ニトロソフェンフルラミン	261.2	159.0	21	27

表3 健康食品検査結果 (2009)

検査項目	検出数/検体数	備考
シブトラミン	0 / 15	錠剤 10 検体 顆粒剤 1 検体 液剤 2 検体 ハードカプセル剤 2 検体 ソフトカプセル剤 1 検体
フェンフルラミン	0 / 15	
N-ニトロソフェンフルラミン	0 / 15	
マジンドール	0 / 15	
シルデナフィル	0 / 15	
バルデナフィル	0 / 15	
ホンデナフィル	0 / 15	
タダラフィル	0 / 15	

検査結果

既報¹⁾により報告した一斉分析法により分析したところ、今回調査した健康食品からは検査対象医薬品及び医薬品類似物質は検出されなかった(表3)。

またスキャン測定においても特定のフラグメントイオンは確認されなかった。

参考文献

- 1) 西川徹、他; LC/MS/MS を用いた痩身及び強壯用医薬品の一斉分析法の検討, 長崎県衛生公害研究所報、51, 23~28 (2005)

食品中のアレルギー物質検査結果(2009年度)

土井 康平、辻村 和也、濱野 敏一

Survey Report of Allergic Substance in Food (2009)

Kohei DOI, Kazunari TSUJIMURA and Toshikazu HAMANO

Key words: allergic substance, wheat, ELISA method, PCR method

キーワード: アレルギー物質(特定原材料)、小麦、酵素免疫測定法、ポリメラーゼ連鎖反応

はじめに

アレルギー物質を含有する食品は、食物アレルギーによる健康被害を防止する目的で、平成13年4月に特定原材料の表示が義務づけられ、平成14年4月から本格的に施行された。特定原材料の検査法については、平成14年11月の厚生労働省通知により、定量検査法(ELISA法)および確認検査法(PCR法・ウエスタンブロット法)が定められた¹⁾。

当センターでは、平成19年度から本格的に特定原材料の検査を開始しており、平成19、20年度の検査結果については既に報告している。平成21年度は、食品中の特定原材料(小麦)の検査を行ったので報告する。

調査方法

1 試料

県内に流通する加工食品のうち、「小麦」の使用、または混入が疑われるもので、使用原材料表示に「小麦」が記載されていないもの20検体とした(西彼保健所・県央保健所・県南保健所・県北保健所収去分)。

2 試薬

1) 定量検査法(ELISA法)

森永生科学研究所製 FASPEK 特定原材料測定キット・小麦グリアジン(以下、M社キット)および日本ハム(株)製 FASTKIT エライザ ver. II 小麦(以下、N社キット)を使用した。

2) 確認検査法(PCR法)

DNA抽出には、シリカゲル膜タイプキット法を用い、QIAGEN社製 DNeasy Plant mini kitを使用した。

植物DNA検出用プライマー対、小麦検出用プライマー対は Sigma-Aldrich 社製、PCR緩衝液、dNTP、MgCl₂、Taqポリメラーゼは Applied Biosystems 社製を使用した。電気泳動用時に使用する100bp DNA

Ladder、Loading buffer は東洋紡績(株)製、エチジウムブロマイドは Invitrogen 社製、アガロースはタカラバイオ(株)製、TE緩衝液、TAE緩衝液は(株)日本ゼイン製を使用した。

3 機器

フードカッター: Retsch 社製 GM200、恒温振とう機: 東京理科器機(株)製 MMS-3011、冷却遠心機: クボタ商事(株)製 3740、マイクロプレートリーダー: BIO-RAD 社製 Benchmark Plus、分光光度計: GEヘルスケアジャパン(株)製 GeneQuant1300、サーマルサイクラー: Applied Biosystems 社製 2720、電気泳動装置: (株)アドバンス製 Mupid-2 plus、トランスイルミネーター: VILBER LOURMAT 社製 ECX 15M、ゲル撮影装置: アムズシステムサイエンス製 Limited STAGE

4 検査方法

ELISA法、PCR法ともに平成18年6月22日厚生労働省通知食安発第0622003号「アレルギー物質を含む食品の検査法について(一部改正)」²⁾に準じて検査を行った。

規格基準

特定原材料等由来のタンパク質含量が、10μg/g未満でなければならない。

検査結果

ELISA法による定量検査の結果、4検体で「小麦」の混入が疑われた(表1)。4検体についてPCR法による確認検査を行った結果、2検体から小麦由来のDNAが検出されたが、残る2検体からは小麦由来のDNAは検出されなかった(図1)。小麦由来のDNAが検出されなかった要因として、ELISAキットを製造しているメーカーのホームページ^{3,4)}において、ELISAキットが様々な食品成分に交差反応性を示すことが明ら

かにされていることから、被検食品中にも交差反応性を示す食品成分が含まれていた可能性が考えられた。

しかしながら、東京都健康安全研究センターの報告⁵⁾によると、通知法ではない NucleoSpin DNA Trace (MACHREY-NAGEL 社製)を用いた DNA の抽出並びに PCR 反応組成中のプライマー量および DNA 試料液量の増減によって、加工食品中の微量の小麦 DNA を抽出が可能となり、PCR 反応での増幅が可能となったとの報告もあることから、今後検討すべき課題であると考えられた。

今回の検査において、2 検体の小麦表示違反製品が市場に出回っていることが明らかとなった。今後も表示違反食品の排除および表示適正化を行う目的で、県内に流通する食品中のアレルギー物質(特定原材料)の検査が必要と考える。

参考文献

- 1) 厚生労働省通知食案基発第 0513003 号:アレルギー物質を含む食品の検査法について, 平成 14 年 11 月 6 日
- 2) 厚生労働省通知食安発第 0622003 号:アレルギー物質を含む食品の検査法について(一部改正), 平成 18 年 6 月 22 日
- 3) 日本ハム中央研究所ホームページ
(http://www.rdc.nipponham.co.jp/fastkit/fastkit_elisa.html)
- 4) 森永生科学研究所ホームページ
(http://www.miobs.com/tokutei/gijutu/gijutu06_set.html)
- 5) 萩野賀世、松本ひろ子、牛山博文:加工食品中の特定原材料検査(小麦)における PCR 法の検討, 東京都健康安全研究センター研究年報, 59, 149-153, (2008)

表 1. 小麦由来タンパク質が検出された検体の検査結果

検体	小麦表示	定量検査 (ELISA法)		確認検査 (PCR法)	判定
		M社	N社		
けいらん餅	なし	17 µg/g	>20 µg/g	陽性	陽性
かしわ餅	なし	>20 µg/g	>20 µg/g	陽性	陽性
かから餅	なし	陰性	11.0 µg/g	陰性	陰性
ごぼう餅	なし	陰性	> 20µg/g	陰性	陰性

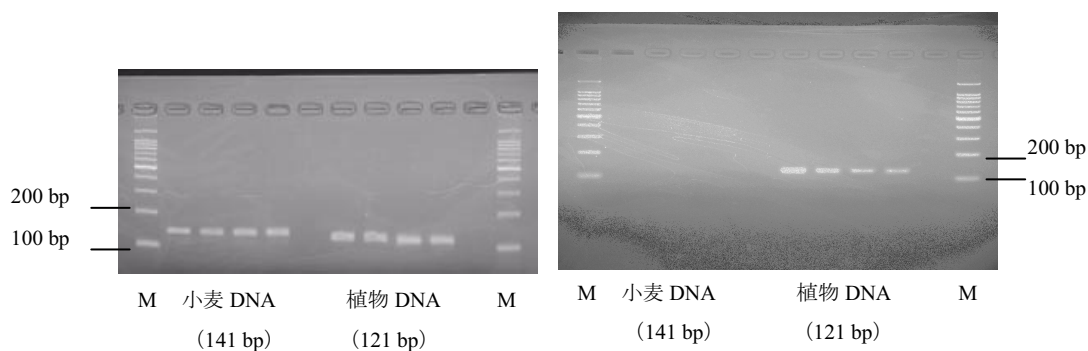


図 1. PCR 法による確認検査結果(左:陽性検体、右:陰性検体)

チョウセンボラの喫食によるテトラミン食中毒事例

西川 徹、土井 康平、辻村 和也、濱野 敏一

Food Poisoning Case of Tetramine from Eating *Neptunea Arthritica Cumingii*

Toru NISHIKAWA, Kohei DOI, Kazunari TSUJIMURA and Toshikazu HAMANO

Key words: Food poisoning, Tetramine, *Neptunea arthritica cumingii*,

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

キーワード: 食中毒、テトラミン、チョウセンボラ、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計

はじめに

チョウセンボラはエゾバイ科エゾボラ属の仲間であり、対馬暖流海域に生息していることが知られている¹⁾。一般的にエゾボラ属巻貝は唾液腺にテトラミン(Fig.1)を高濃度含んでいることが知られており²⁾、このテトラミンは喫食後 30 分から 1 時間程度で激しい頭痛、めまい、船酔い感、酩酊感、足のふらつき、嘔吐感などがみられるのが特徴である。チョウセンボラ以外のエゾボラ属巻貝のほとんどは寒海性であり、テトラミン中毒も北海道や東北地方で多かったが、平成 21 年 12 月、長崎県内においてもチョウセンボラ(*Neptunea arthritica cumingii*)の喫食が原因と疑われる食中毒が発生した。そこで液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いて検体中テトラミン含有量の調査を行ったので報告する。

調査方法

1 検体

患者が喫食したものと同様の加熱済みのチョウセンボラを採取した。

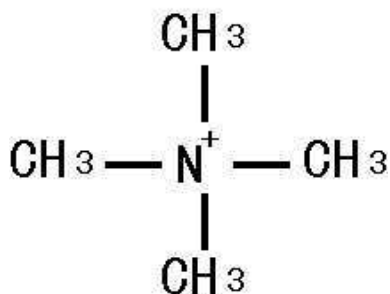


Fig.1 Structure of tetramine

2 試薬等

テトラミン標準品は塩化テトラメチルアンモニウム(WAKO, 特級)を用い、調整した。メタノールや蒸留水は関東化学社製 LC/MS 用を用いた。限外ろ過膜は東ソー社製 Amicon ultracent-10 (MWCO: 10,000)を用いた。

3 装置及び測定条件

液体クロマトグラフは(株)島津製作所製 LC-VP システム、質量分析計は Applied Biosystems 社製 API2000 を用いた。分析カラムは Waters 製 Atlantis HILIC Silica (2.0 mm i.d.×150 mm、粒子径 3 μm)を用いた。カラム温度は室温とし、移動相は 0.02%ギ酸含有 50mM ギ酸アンモニウム水溶液及びメタノールを用い、メタノールの割合が 60%となるようイソクラティック分析を行い、流速は 0.2 mL / min とした。次の分析までは 10 分間平衡化した。試料注入量は 1μL とした。

イオン化はエレクトロスプレー(ESI)によるポジティブイオン化法により行った。ポジティブモードではイオンスプレー電圧は 5.0 kv、イオン源温度は 500°C に設定した。

定量イオンは 74→58.1 (DP:26, CE:29)、定性イオンを 74→42.1(DP:29, CE:51)とした。

4 分析方法

伊藤らの方法³⁾を参考に行った。検体を細切して均一化し、その 2g を正確に量り取り、メタノール 25mL でホモジナイズ及び超音波抽出を行った(2 回目の抽出は 15mL)。抽出後 1,200g で 10 分間遠心分離し、上清をあわせて 50mL に定容した。この 0.5mL を 50%メタノールで 100 倍希釈し、0.2μm フィルター (Millipore) でろ過後し

たものを試験溶液とし、LC/MS/MS により測定した。検量線は 0.01~0.5 µg/mL の範囲で適宜作成した。

またチョウセンボラを筋肉と剥き身に分けて採取し、過熱後の部位別濃度についても同様の方法で測定を行った。

検査結果

(1) LC-MS/MS による分析

テトラミンの分析方法としてはマウス試験⁴⁾や比色定量法⁵⁾、HPLC 法⁶⁾、イオンクロマトグラフィー法⁷⁾が開発されているが感度や特異性の点で問題がある。近年では LC-ESI/MS 法などが開発されており、感度や特異性において優れた手法であることが報告されている^{1, 8)}。そこで今回の事例ではテトラミンの迅速分析法を目的として LC-MS/MS による分析を試みた。

MRM 条件を検討したところ、74→58.1 と 74→42.1 の 2 種類のトランジションが確認された。そこで感度の高い 74→58.1 を定量イオンとし、感度が前者の 10 分の 1 程度あった 74→42.1 のトランジションを確認イオンとした。

テトラミンは通常では第 4 級アンモニウムイオンの状態で存在するため、逆相系のカラムによる分離は困難である。伊藤ら³⁾は HILIC モードにおけるテトラミンの分離法を報告している。本分析法においても HILIC モードを採用した。移動相に 0.02% ギ酸含有 50mM ギ酸アンモニウム水溶液及びメタノールを用いることでテトラミンを十分に保持することが可能であった。メタノールの割合を増やすことで保持が強くなるが、65%以上にするとピークがブロードになる傾向が見られたため、メタノールの割合は 60%とし、インクラティック分析により分析した。限外ろ過の有無によるテトラミン感度を比較したところ、50%MeOH で十分に希釈することによりほとんどイオンサプレッションは確認されなかったため、今回の分析方法では限外ろ過膜による精製を省略した。本法によって得られたクロマトグラムを Fig.2 に示す。なお、本法の定量下限値は 1 pg であり、非常に高感度であった。

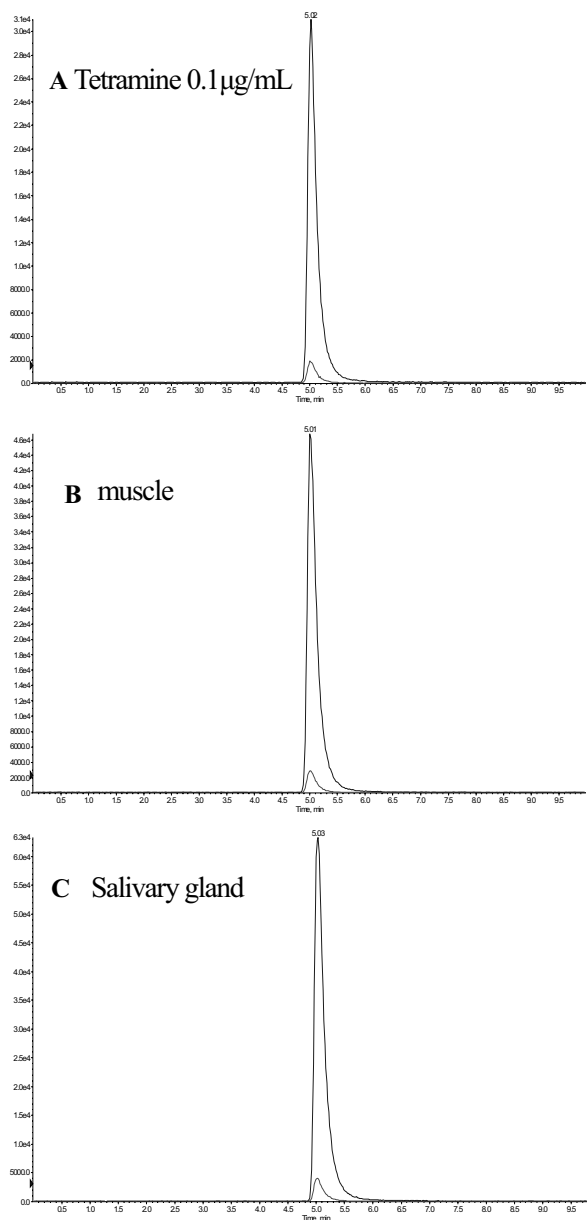


Fig2. Chromatogram of tetramine 0.1 µg/mL (A), of a muscle (B), and of a salivary gland (C) from *Neptunea arthritica cumingii*

Table.1 Tetramine content in boiled *Neptunea arthritica cumingii*.

	平均値±SD (mg)	最高値 (mg)	最低値 (mg)
チョウセンボラ全体 (n=5)	20.2 ± 3.8	24.2	15.1
筋肉 (n=3)	14.8 ± 2.3	16.4	12.2
唾液腺 (n=3)	1.2 ± 0.1	1.3	1.1

(2)テトラミン定量結果

チョウセンボラ及び部位別のテトラミン含量を Table.1 に示す。チョウセンボラ全体から検出されたテトラミンの平均含量は約 20mg であった。今回の食中毒事例では患者がそれぞれチョウセンボラを2~3個喫食しているため、40mg~60mg のテトラミンにより食中毒症状が起こったこととなる。テトラミン中毒が約 10mg と少量でも発症するという報告もあることから⁷⁾、今回のチョウセンボラに含まれているテトラミンによって食中毒が起こりうることは十分にあり得ると考えられる。

また筋肉と唾液腺の部位別に定量したところ、筋肉部位からもテトラミンが検出された。一般的にテトラミンは唾液腺に多く存在することが知られているが、今回の検体は加熱後のものであったため、テトラミンが筋肉組織へ移行していることが考えられる。

エゾボラ属の巻貝を喫食する場合は唾液腺を取り除いてから食べるよう各自治体の HP など注意されているが、加熱処理によるテトラミンの筋肉組織への移行が確認されたため、喫食前でなく調理前に唾液腺を取り除く必要があることを販売者や購入者に呼びかけていく必要がある。

参 考 文 献

1) 荒川 修, 塩見一雄:巻貝の毒 テトラミンおよびテロドトキシン, 食品衛生研究, **60**, 15-25 (2010)

2) 衛藤修一, 一色賢司, 桃園裕子, 矢野達明, 作間忠道, 宮崎昭夫:チョウセンボラ (*Neptunea cumingii*) 中のテトラミン含量の測定, 衛生化学, **35**, 476-478 (1989)

3) 伊藤光男, 上田泰人, 小島信彰, 田中敏嗣: LC-ESI/MS/MS を用いたテトラミンの分析, 神戸市環境保健研究所, **36**, 49-55 (2008)

4) Kungswan A, Noguchi T, Kano S, and Hashimoto K: Assay method for tetramine in carnivorous gastropods, Nippon Suisan Gakkaishi, **47**, 881-884 (1987)

5) 藤井令子, 森脇直子, 田中幸生, 小川時彦, 森悦男, 齋藤充司:テトラプロモフェノールフタレインエチレステルを用いた巻貝中のテトラミンの比色定量, 食品衛生学雑誌, **33**, 476-478 (1992)

6) 橋爪清松, 戸田千登世, 安井照代, 永納秀男:高速液体クロマトグラフィーによるエゾボラモドキ中のテトラミン定量, 衛生化学, **33**, 179-184 (1987)

7) 新藤哲也, 牛山博文, 観公子, 齋藤寛, 原康裕, 上原真一, 安田和男:イオンクロマトグラフィーによる巻貝(軟体動物)中テトラミンの分析及び調理における消失, 食品衛生学雑誌, **41**, 11-16 (2001)

8) Kawashima Y, Nagashima Y, Shiomi K: Determination of tetramine in marine gastropods by liquid chromatography/electrospray ionization-mass spectrometry, Toxicon, **44**, 185-191 (2004)

キムチ・白菜漬け中の残留農薬分析

西川 徹、濱野 敏一

Pesticide Residues in Kimchi and Pickles

Toru NISHIKAWA and Toshikazu HAMANO

Key words: Simultaneous determination, Pesticide residues

キーワード: 一斉分析、残留農薬

はじめに

長崎県内で購入したキムチ及び白菜漬けから農薬臭がするとの苦情が届けられたため、農薬が残留していないかどうか検査を行ったので報告する。

調査方法

1 検体

農薬臭の苦情があったキムチ及び白菜漬け各 1 検体について緊急検査を行った。

2 検査対象農薬

通常の行政検査において検査する 200 農薬について検査を行った(表 1)。

3 試薬等

農薬標準溶液は市販標準品を、また、有機溶媒等の試薬は残留農薬分析用又は特級を、LC/MS/MS 分析においては LC/MS 用を用いた。ミニカラムは ENVI-Carb/LCNH2 (500 mg / 500 mg, 6 mL, SUPELCO 社製)を用いた。

表1 検査対象農薬

GC/MS	EPN, BHC, アクナトリン, アザコナゾール, アジンホスメチル, アトラジン, アトリン, アレスリン, イサゾホス, イソフェホス, イプロカルブ, イソプロチオラン, イプロベンホス, エスプロカルブ, エチオン, エディフェンホス, エトプロホス, エトリムホス, オキサジアゾン, オキサジキシル, オキシフルオルフェン, カズサホス, カルフェントラゾニエチル, キナルホス, キノキシフェン, キノクラミン, クロキシムメチル, クロマゾン, クロルピリホス, クロルピリホスメチル, クロルフェナピル, クロルフェンピホス, クロルベンジレート, クロロプロファミ, シアノホス, ジエトフェンカルブ, ジオフェノラン, ジクロホップメチル, ジクロラン, シハロトリン, シフェナミド, シフェノコナゾール, シプロコナゾール, シペルメトリン, シマジン, ジメタトリン, ジメチピホス, ジメチルピホス, ジメエート, シメリン, ジメピペレート, ダイアジノン, チオベンカルブ, チフルサミド, テトラクロルピホス, テトラジホス, テニルクロール, テブコナゾール, テフエンピラト, テフルトリン, テルタトリン, テルブホス, トリアジメノール, トリアジメホス, トリアゾホス, トリアレート, トリシクラゾール, トリブホス, トリフロキシストロピホス, トルクロホスメチル, ナプロハミド, ノルフルラジン, パクロプロトラゾール, パラチオン, パラチオンメチル, ハルフェンプロックス, ピコリナフェン, ピテルタノール, ピフェントリン, ピペロホス, ピラクロホス, ピラゾホス, ピリダフェンチオン, ピリダベン, ピリフェノックス, ピリプロキシフェン, ピリミノバックメチル, ピリミホスメチル, ピロキロン, ピンクロリジン, ファムアール, フィプロロニル, フェナリモル, フェントロチオン, フェノトリン, フェノアカルブ, フェンアミド, フェンスルホチオン, フェンチオン, フェントエート, フェンバレート, フェンコナゾール, フェンプロピモル, フサライト, ブタミホス, ブピリメート, フルキシコナゾール, フルシトリン, フルシラゾール, フルトラニル, フルトリアホール, ププロフェジン, フラムプロップメチル, フルアクリピリム, フルバリネート, フルミクロラックベンチル, プレチラクロール, プロシミド, プロチオホス, プロパクロール, プロパジン, プロパニル, プロパルキット, プロピコナゾール, プロピサミド, プロペンタンホス, プロホキシル, プロトリン, プロモプミド, プロモプロピレート, プロモホスメチル, ヘキサジン, ヘナラキシル, ヘノキサコール, ヘルメトリン, ヘンティメトリン, ヘンフレセート, ホサロン, ホスファミド, ホスマット, マラチオン, ミクロバタニル, メタラキシル, メチダチオン, メキシクロール, メミノストロピホス, メトラクロール, メフェナセート, メプロニル, モノトホス, レナシル
-------	--

LC/MS/MS	アサメチホス, アゾキシストロビン, アニロホス, アバメクチン B1a, イソキサフルトール, イプロバリカルブ, イマザリル, イダクロプリド, イントキサカルブ, オキサジクロメホン, オキサミル, オキシカルボキシシン, オリザリル, カルバリル, カルプロパミド, カルボフラン, キザロホップエチル, クロキントセト-1-メチルヘキシルエステル, クロチアニジン, クロマフェニド, クロメプロップ, クロリダゾン, シフルフェナミド, シメコナゾール, ダイムロン, チアクロプリド, チアベンダゾール, チアメキサム, チオジカルブ, トラルコキシジム, ナプロアニド, ピラゾレート, ピリフタリド, ピリミカルブ, フェノキシカルブ, フェリムゾン(E)及び(Z), フェンメデジアム, フタフェナシル, フラチオカルブ, フラトピル, フルリドン, ヘンゾフェナップ, ミルベメクチン A3 及び A4, メミル, メキシフェバジド, モリニューロン, ラクトフェン, リニューロン
----------	--

表2 苦情食品検査結果

農産物名	検体数	検出数	農薬名 / 検出値 (ppm)	基準値 (ppm)
キムチ	1	0	検出せず	
白菜漬け	1	1	トルクロホスメチル: 0.06ppm	※トルクロホスメチル:2

4 装置及び測定条件

(1) GC/MS: (株)島津製作所製 (GC17A+QP5050A)

カラム: DB-5MS+DG (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 µm, Agilent 社製)

カラム温度: 50°C(1min) - 25°C/min - 125°C(0min) - 10°C/min - 300°C (6.5 min)

注入口温度: 250°C, インターフェイス温度: 280°C

キャリアーガス: ヘリウム 80 kpa (定圧モード)

注入量: 2µL

(2) LC/MS/MS

液体クロマトグラフは(株)島津製作所製 LC-VP システム、質量分析計は Applied Biosystems 社製 API2000 を用いた。分析カラムは関東化学(株)製 Mightysil RP-18GP (2.0 mm i.d.×150 mm, 粒子径 3 µm) を用いた。カラム温度は 40°C とし、移動相は A 液に 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液、B 液にメタノールを用い、B 液: 15% (0min) →40% (1min) →40% (3.5min) →50% (6min) →55% (8min) →95% (17.5-30min) でグラジエント分析を行い、次の分析までは 10 分間平衡化した。試料注入量は 5µL とし、流速は 0.2 mL/min とした。

イオン化はエレクトロスプレー (ESI) によるポジティブ及びネガティブイオン化法により行った。ポジティブモードではイオンスプレー電圧は 5.0 kv、イオン源温度は 500°C に設定し、ネガティブモードではイオンスプレー電圧は -4.5 kv、イオン源温度は 500°C に設定した。

5 分析方法

厚生労働省通知法「GC/MS による農薬等の一斉分析法(農産物)」¹⁾及び厚生労働省通知法「LC/MS による農

薬等の一斉分析法(農産物)」¹⁾に準じて行った。

6 検査結果

農薬臭の苦情のあった検体について、キムチからは農薬は検出されなかったが、白菜漬けから 0.06 µg/mL の濃度でトルクロホスメチルが検出された。白菜漬けにおけるトルクロホスメチルの回収率は 82% と良好であった。この場合においても原材料が白菜だけであり、加工度も低いことから、原材料の白菜中のトルクロホスメチルが基準値の 2 µg/mL を超えていたかどうかの判断が必要であるが、原材料の白菜を調べることはできなかった。またトルクロホスメチルは紫外線により土壌表面で早く分解され、2,6-ジクロロ-p-クレゾールが出来ることが報告されているが²⁾、GC-MS における SCAN では確認されなかったため、原因物質の特定には至らなかった。

参考文献

- 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(一部改正)」平成17年11月29日, 食安発第1129002号
- 2) 萱島隆之, 安永大介, 河瀬志保, 薬品臭のするゴボウから検出された残留農薬の分解生成物について, 食品衛生研究, 60, 39-43 (2010)

感染症サーベイランスにおけるウイルス分離(2009 年度)

平野 学、山口 顕徳、吉川 亮、吾郷 昌信

Virus Isolation on Surveillance of Infectious Disease (2009)

Manabu HIRANO, Akinori YAMAGUCHI, Akira YOSHIKAWA and Masanobu AGOH

Key words: Surveillance, Influenza virus (A/H1N1pdm), Virus isolation and identification

キーワード: サーベイランス、新型インフルエンザ、エンテロ及びエコーウイルス分離及び同定

はじめに

感染症サーベイランスの目的は、医療機関の協力を得て、細菌及びウイルス等による感染症の患者発生状況や病原体の検索結果等により流行実態を早期、且つ的確に把握し、必要な情報を速やかに各地域に還元することで予防接種、衛生教育等の適切な予防処置を講ずることにある。2009 年度当初、厚生労働省からメキシコで死亡例を含むインフルエンザ様疾患の患者が発生し、そのうち、18 例についてはカナダで発生した豚インフルエンザウイルス(H1N1 亜型)と遺伝学的に同一のウイルスであったとの報告があった。また、4月28日にWHOはそのウイルスが継続的にヒトからヒトへの感染がみられるとしてインフルエンザのパンデミック警報レベルを4に、5月1日にはレベル5に、さらに6月12日にはレベル6に引き上げた。これに併せて厚生労働省は健康局結核感染症課長通知により、メキシコやアメリカ等で確認された豚インフルエンザ(A/H1N1 亜型)を「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114号)第6条第7項に規定する新型インフルエンザ等感染症と位置づけ、検疫の強化、発熱相談センターの設置や医療体制の確認などの対策を行った。以上の背景から、当センターにおいても新型インフルエンザ(A/H1N1pdm)の確定検査体制を整え、積極的疫学調査に伴う患者確定検査を行うと共に、例年の感染症サーベイランスを実施したので、その概要について報告する。

調査方法

1. 検査材料

長崎県感染症発生動向調査事業に基づいた定点医療機関とは、政令市及び県立保健所管轄の10地域で指定された医療機関である。政令市及び県立保健所管轄の

10地域の病原体定点、基幹定点及び協力医療機関等で採取され、管轄保健所を通じて依頼された検体(咽頭ぬぐい液、髄液、糞便及び眼ぬぐい液他等)について、病原体検索を当センターで実施した。また、A/H1N1pdmについては、発熱相談センターを介して受診した指定医療機関および任意に受診した医療機関等で採取されたA/H1N1pdmに感染、若しくは感染疑いのある患者検体(咽頭または鼻腔ぬぐい液)を管轄保健所担当者が行政依頼検査として当センターに直接搬入、若しくは郵送した。A/H1N1pdm 遺伝子検査において陽性と判定された検体は、MDCK細胞を用いたウイルス分離検査を実施するまで-80℃で保存した。病原体サーベイランスおよびA/H1N1pdm 確定検査のために医療機関等で患者522名から採取された検体数は、総数620検体であった。

2. 検査方法

検体の前処理、細胞培養、ウイルス分離・同定等については既報¹⁾の如く行った。感染性胃腸炎(乳児嘔吐下痢症を含む)、特にノロウイルス感染症を疑った検体は、既報²⁾に従いウイルス遺伝子の検出を試みた。また、A/H1N1pdmの検査は、国立感染症研究所の病原体検出マニュアル「H1N1 新型インフルエンザ(2009年5月ver.1)」に準じて実施した。

調査結果及び考察

検査結果を検査依頼件数の多い疾病順に示す。

1. A/H1N1pdm

A/H1N1pdmの確定検査体制を5月初旬までに整え、緊急対応ができる体制を構築した。初めて検査依頼があったのは5月11日、アメリカからの帰国者で検査結果は陰性であった。

表 1. 感染症発生動向調査(4類・5類感染症)における疾病別検査数(平成21年度)

1. 全数把握の対象疾病における検査数: なし
 2. 定点把握の対象疾病における検査数:

対象疾病名	被験者数	検体数	検体名			
			咽頭ぬぐい液	髄液	糞便	その他
75 RSウイルス感染症						
76 咽頭結膜熱						
77 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎						
78 感染性胃腸炎	11	11			11	
79 水痘						
80 手足口病						
81 伝染性紅斑						
82 突発性発疹						
83 百日咳						
84 ヘルパンギーナ						
85 流行性耳下腺炎						
86 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)	13	13				13
87 急性出血性結膜炎						
88 流行性角結膜炎						
89 性器クラミジア感染症						
90 性器ヘルペスウイルス感染症						
91 尖圭コンジローマ						
92 淋菌感染症						
93 クラミジア肺炎(オウム病を除く)						
94 細菌性髄膜炎						
95 ペニシリン耐性肺炎球菌感染症						
96 マイコプラズマ肺炎						
97 無菌性髄膜炎	2	2	1	1		
98 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症						
99 薬剤耐性緑膿菌感染症						
新型インフルエンザ	478	567	52			515
その他対象外疾病	18	27	6	1		20
合計	522	620	59	2	11	548

その後、39例の検査を実施し、渡航歴のないインフルエンザ様疾患の患者からは、何れもウイルス遺伝子は検出されなかった。一方、サウジアラビア、マレーシア及びグアム等からの帰国者から季節性インフルエンザ A 香港型(A/H3N2 亜型)が6例検出された。この時期、A/H3N2 亜型がこれらの滞在先において流行していたことが示唆された。県内におけるA/H1N1pdmの初発例は6月16日に米国ラスベガスからの帰国者であった。その後、帰国者からのみ連続して3例、A/H1N1pdmが検出された。しかし、7月10日にA/H1N1pdmが検出された患者は海外渡航歴がなく、県内初の国内接触感染者であったが、保健所に

おいて疫学調査を実施したものの感染経路については明らかにできなかった。7月20日以降は、搬入された検体のほとんどからA/H1N1pdmが検出された。表1の疾病別検査数に示すとおり、本年度のA/H1N1pdmの検査依頼患者数は478名、検体数は567検体であった。そのうち遺伝子検査で検出されたA/H1N1pdmは、450検体であった。遺伝子検査において、A/H1N1pdm陽性が確認されたこれら450検体からのウイルス分離は、現在進行中であるが、これまでに12株が分離され、何れも遺伝子レベルでA/H1N1pdmであることが確認された。

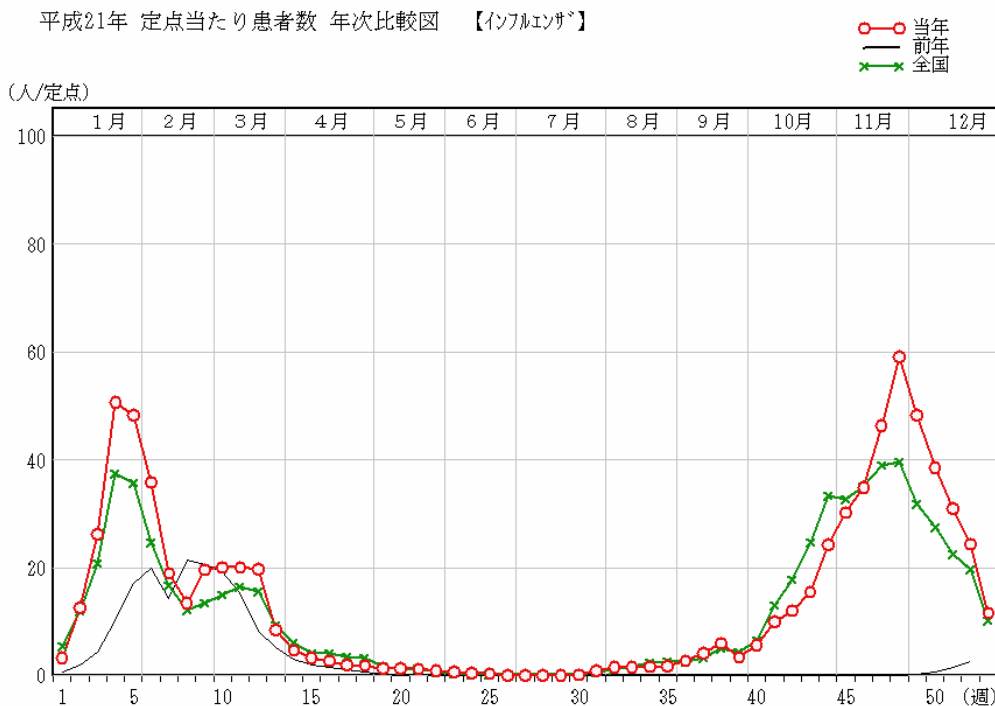
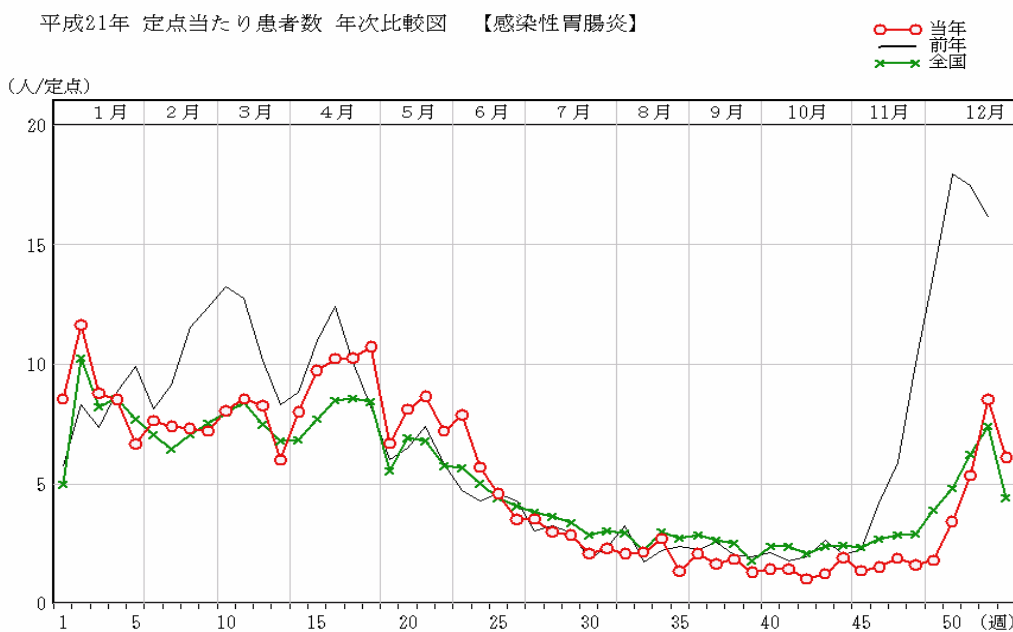


図1. 平成21年 定点当たり患者数(インフルエンザ) (長崎県感染症情報センター資料より)



(長崎県感染症情報センター資料より)

図2 .平成21年 定点当たり患者数(感染性胃腸炎)

A/H1N1pdm 以外では A/H3N2 亜型が 12 検体、B 型が 2 検体からそれぞれ検出された。A/H1N1pdm 流

行前に依頼された検体からは、A ソ連型(A/H1N1 亜型)が8検体検出されたが、A/H1N1pdmが流行して以

降はまったく検出されなかった。

インフルエンザ診断簡易キットを用いた医療機関からの診断結果と当センターの遺伝子検査による確定検査成績を比較したところ、検体が採取された時期を考慮する必要があるものの、簡易診断キットによる擬陽性率は13%、擬陰性率は0.3%であった。使用したキットによる偏りは、特に認められなかった。

今回のA/H1N1pdmの流行により、例年は1月初旬頃から始まるインフルエンザの流行が、8月下旬ごろから始まり11月下旬にピークを迎えるという異例の推移を示した(図1)。シーズン後半の3月には例年どおりインフルエンザシーズンの終焉を告げるB型が2件検出された。

2. 感染性胃腸炎

インフルエンザに次いで患者数が多く認められた疾患は感染性胃腸炎の11名で、検体数は同数の11検体(糞便等)であった。そのうち、10検体からノロウイルス遺伝子(G II)が検出された。定点当たり患者数の立ち上がりは、全国的傾向と同様に長崎県でもほぼ同時期の11月下旬から12月上旬にかけて急速な立ち上がりを見せ、12月下旬にピークとなり、その後、徐々に患者数は減少した。しかしながら、前年より報告数は大幅に減少した(図2)。A/H1N1pdm流行による手洗いの励行、公衆衛生意識の向上が一因しているかもしれない。

2009年度のサーベイランスは、A/H1N1pdmの流行により状況が例年とは一変し、依頼検査のほとんどがA/H1N1pdmの遺伝子検出による確定検査であり、小児科定点からも他のウイルス性疾患の検査依頼は、ほとんどなかった。現在もA/H1N1pdmのサーベイランスは継続しており、これまでに蓄積したA/H1N1pdmの検体をさらに詳細に調査・解析することにより、今後の流行予測の一助となればと考えている。また、2009年度はほとんど依頼がなかった小児ウイルス性感染症についても、今後はウイルス分離に使用する細胞株を整備、充実して分離率の向上を図るとともにエンテロウイルス遺伝子の新規迅速高感度検出法をルーチン検査に導入し、さらに、インフルエンザ以外の風邪の原因ウイルスの遺伝子検査を拡充することにより、小児ウイルス感染症およびウイルス性呼吸器疾患に対する監視及び予防対策の一環として本調査をより強化して継続し、その役割の一端を担っていきたいと考えている。

参 考 文 献

- 1) 平野 学、他: 長崎県衛生公害研究所所報, 47, 95-98, 2001.
- 2) 厚生労働省通知: 平成13年11月「ノーウォーク用ウイルス(NLV)のRT-PCR法について」及び平成15年11月「ノロウイルスの検出法について」

感染症発生動向調査における細菌検査概要(2009 年度)

山崎 省吾、右田 雄二、吾郷 昌信

Summary of Epidemiological Surveillance of Bacterial Infectious Diseases in Nagasaki Prefecture (2009)

Shogo YAMASAKI, Yuji MIGITA and Masanobu AGOH

Key words: Surveillance, Bacteria isolation, EHEC, *Shigella* spp.

キーワード: サーベイランス、細菌分離、腸管出血性大腸菌、赤痢菌

はじめに

厚生労働省より通知される「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」の一部を改正する法律が、平成 20 年5月2日公布、同年5月 12 日に施行された。本改正によりコレラ、細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌(以下、EHEC)、腸チフス及びパラチフスが全て三類感染症として変更された。感染症拡大防止のため、旧来より保健所および当センターにおいて、三類感染症の疫学調査および細菌検査を継続して実施している。

本報告は、2009 年度に長崎県内で発生した三類感染症(細菌性赤痢および EHEC)の発生状況および検査結果、並びに細菌性赤痢2事例の散发事例についてまとめたものである。

調査方法

三類感染症の発生状況: 三類感染症の発生状況は、長崎市および佐世保市の保健所、長崎県医療政策課(県立保健所発生届け分)より2009年度(平成21年4月～平成22年3月)に報告された三類感染症について、取りまとめた。

EHEC は、佐世保市および長崎県立(西彼、県央、県南、県北および壱岐)保健所から当センターに搬入された EHEC 菌株の生化学性状試験、VT 型別試験(PCR 法もしくは RPLA 法)、血清型を確認後、国立感染症研究所 細菌第一部(以下、感染研)に郵送した。制限酵素 *Xba* I を用いた PFGE 型別は、感染研で実施された。

結果および考察

2009 年度の三類感染症の発生状況: 長崎県内で三類

感染症が 20 事例報告された。管轄保健所毎にみると、長崎市2事例、佐世保市6事例、県央4事例、県南4事例、西彼2事例、県北1事例および壱岐 1 事例であった(表 1)。

細菌毎では、EHEC が19事例および細菌性赤痢が1事例であった。

EHEC;O 血清型別では、O157 が 14事例、O26 が3事例および O103 が1事例であった。菌陽性者が 10 名以上の集団発生事例は保育園で発生した1事例であった。感染研の PFGE 結果より集団発生 1 事例の PFGE パターンは同一 type (e127)であり(表 1)、同一由来株による集団事例であることが確認された。

また、EHEC 感染症の Diffuse Outbreak (散發的集団発生)が推察される事例は認められなかった。

細菌性赤痢; 1件であった。

まとめ

三類感染症の発生状況は、2008年度の32事例(うち集団例3例)¹⁾と比べ2009年度は、20事例(うち集団例1事例)と減少した。

参考文献

1) 山崎省吾 他: 感染症発生動向調査における細菌検査概要(2008年度)、長崎県環境保健研究センター所報、54、134-137 (2008)

表1 長崎県内の三類感染症発生状況および分離菌の性状(2009(H21)年度)

事例 No.	管轄HC	発生地	初発 年月日	診断 年月日	初発患者		集団発生		菌種	血清型	毒素型等	菌株番号 NPH-STEC	国立感染症研(PFGE: <i>Xba</i> I 消化)		
					年齢	性別	施設	菌陽性者数 (人)					PFGE コメント	157 type No.	26 type No.
1	長崎市	長崎市	H21.5.11	H21.5.18	6	女			EHEC	O157	VT+	—			
2	西彼	西海市	H21.5.25	H21.6.1	5	男			EHEC	O157	VT2	—			
3	県央	諫早市	H21.6.21	H21.6.26	59	男			EHEC	O103:H2	VT1	0736			
4	佐世保市	佐世保市	H21.6.25	H21.7.1	45	女			EHEC	O26:H11	VT1+2	0737			c155
5	県央	大村市	H21.7.11	H21.7.17	61	男			EHEC	O157:H7	VT1+2	0738	e463		
6	西彼	西海市	H21.7.24	H21.7.30	79	女			EHEC	O157:H-	VT1+2	0739			b184
7	佐世保市	佐世保市	H21.7.25	H21.7.31	82	男			EHEC	O157:H7	VT1+2	0742	e95		
8	長崎市	長崎市	H21.7.26	H21.7.30	66	男			EHEC	O157	VT+	—			
9	佐世保市	佐世保市	H21.8.9	H21.8.15	35	男			EHEC	O157	VT1+2	—			
10	県北	平戸市	H21.9.8	H21.9.15	8	男			<i>Shigella</i>	不明	—	—			
11	佐世保市	佐世保市	H21.9.26	H21.10.1	4	女			EHEC	O157:H7	VT2	0749-0752	same as 2117	e558	
12	壱岐	壱岐市	H21.9.29	H21.10.6	11	男			EHEC	O26:H11	VT1	0748			e121
13	県南	島原市	H21.10.8	H21.10.16	60	女			EHEC	O157:H7	VT1	0761	e549		
14	県央	諫早市	H21.10.15	H21.10.21	4	男	保育園	10	EHEC	O26:H11	VT1	0753-0760 0762,0763	same as 2107		e127
15	県南	島原市	H21.11.7	H21.11.13	15	男			EHEC	O157:H7	VT1	0768	same as 336		e714
16	県南	島原市	H21.11.11	H21.11.17	8	男			EHEC	O157:H7	VT1+2	0766(関連株)		e770	
17	県央	諫早市	H21.11.14	H21.11.20	9	女			EHEC	O157:H7	VT1+2	0769	e773		
18	佐世保市	佐世保市	H21.11.21	H21.11.28	1	男			EHEC	O26:H11	VT1	0772			e181
19	佐世保市	佐世保市	H21.12.5	H21.12.9	81	女			EHEC	O157:H7	VT1+2	0770			e601
20	県南	雲仙市	H22.2.26	H22.3.5	6	男			EHEC	O157:H7	VT1+2	0775	f11		

※ 本表は、長崎市、佐世保市および長崎県立保健所管内で発生した三類感染症の届出および記者発表資料から作成した。
VT+: VT型の詳細不明。

長崎県における日本脳炎の疫学調査(2009年度)

— 豚の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況調査 —

吉川 亮、山口 顕徳、平野 学、吾郷 昌信

Epidemiological Study of Japanese Encephalitis in Nagasaki Prefecture (2009)

— Surveillance of swine infected by Japanese Encephalitis Virus —

Akira YOSHIKAWA, Akinori YAMAGUCHI, Manabu HIRANO and Masanobu AGOH

Key words: Japanese Encephalitis, Arbovirus, Swine Infection, HI Antibody Positive Rate

キーワード: 日本脳炎、アルボウイルス、ブタ感染、HI抗体陽性率

はじめに

日本脳炎ウイルス(以下、JEV)は、Flavivirus 属に属し、コガタアカイエカが媒介するアルボウイルスである。その生態環は、蚊→豚(時にトリ)→蚊の感染サイクルを形成しており、ヒトは JEV 感染の終末宿主である。従って、ウイルス増副動物としての豚の感染状況が、ヒトの感染状況に関与していると考えられる。

現在、日本脳炎の流行地は、東アジア、東南アジア、南アジアからオーストラリアにまで拡大し、年間数百万人の日本脳炎患者が発生している。症状は、定型的な脳炎で、1~2日で40℃以上の高熱となる。頭痛、嘔吐、頸部硬直などの髄膜刺激症状が現れ、次いで意識障害、筋硬直、けいれん等の脳炎症状が出現する。

近年、本邦での日本脳炎確認患者は、1965年以前と比べ激減しているが、その患者発生の強力な抑制因子としては、ヒトに対するワクチン接種による免疫賦与、コガタアカイエカの減少、豚飼育環境の変化の3点がその大きな役割を担っていると考えられる。¹⁾

本県では、厚生労働省の定めた感染症流行予測調査実施要領に基づいて、豚の感染源調査を毎年実施している。また、あわせて豚の血清から JEV 分離を実施したので、2009年度の概要について報告する。

調査方法

1. 感染源調査

①調査時期および回数

7月初旬~9月中旬の各旬1回ずつ計8回実施した

②調査客体および検体

調査客体は、諫早市内で飼育、出荷された生後約

6ヶ月の肥育豚から佐世保市と畜場において放血液を採取した80頭とし、検体は調査客体の血清とした

③調査事項

感染症流行予測調査事業検査術式に従い、JEV 赤血球凝集抑制(HI)抗体の測定および2-ME (2-Mercaptoethanol)感受性抗体の測定を行った

2. JEV 遺伝子検索

採血後の豚血清より QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用いて RNA 抽出し、E 領域に設定したプライマーセットおよび SuperScript III One Step RT-PCR システム (Invitrogen)を用いて1次増幅反応を行った後、その産物の一部を用いて2次増幅反応を行った。遺伝子増幅反応(PCR)条件およびプライマーを図1に示す。増幅産物は、アガロースゲル電気泳動を行って確認し、1次増幅産物は381 bp、2次増幅産物は326 bpの位置にバンドが確認されたものを陽性とした。

3. JEV の分離

ウイルス遺伝子の存在が確認された血清について、Vero 9013細胞に接種して JEV の分離を行った。すなわち、24 ウェルマルチプレートに単層を形成させた Vero 9013細胞を滅菌リン酸緩衝食塩水(PBS)で2回洗浄した後、各ウェル維持培養液(2%非動化牛胎児血清加 Eagle MEM) 900 μlを加え、被検血清 100 μl ずつ2ウェルにそれぞれ接種してウイルス分離を行った。37℃、5%炭酸ガス下で7日間培養して細胞変性効果(CPE)の有無を判定し、明瞭な CPE が観察されなかった場合は、感染細胞の遠心

上清を再度 Vero 9013 細胞に接種して盲継代を行った。

4. JEV の確認

明瞭な CPE が観察された場合は、感染細胞の培養上清から抽出した RNA を鋳型にして NS3 領域に

設定されたプライマーセットを用いた PCR により JEV 遺伝子を確認した。PCR 反応条件を図 2 に示す。増幅産物は、アガロースゲル電気泳動を行って確認し、142 bp の位置にバンドが確認されたものを陽性とした。

① 1 次増幅反応 (One step RT-PCR)

<プライマーセット> JE8K-S : 5' ATGGAACCCCTTC 3'
 JEER : 5' AGCAGGCACATTGGTCGCTA 3'

<組成>

<反応条件>

<組成>		用量	<反応条件>		
			温度	時間	サイクル数
2× Reaction Mix		12.5 μl	53 °C	15 分 (RT)	1 サイクル
primer (JE8K-S: 25 μM)		0.2 μl	94 °C	2 分	1 サイクル
primer (JEER: 25 μM)		0.2 μl	94 °C	15 秒	40 サイクル
SSIII/Platinum Taq Mix		0.5 μl	53 °C	30 秒	
DW (DNase/RNase free)		10.1 μl	68 °C	1 分	
抽出 RNA		1.5 μl	68 °C	5 分	1 サイクル
total		25 μl	4 °C	∞ (保存)	1 サイクル

② 2 次増幅反応 (2nd PCR)

<プライマーセット> JE8K inner-S : 5' ATCGTGGTTGGGAGGGGAGA 3'
 JEER inner-C :: 5' AGCACACCTCCTGTGGCTAA 3'

<組成>

<反応条件>

<組成>		用量	<反応条件>		
			温度	時間	サイクル数
10× EX Taq Buffer		2.5 μl	94 °C	5 分	1
dNTP mixture (25 mM each)		2.0 μl	94 °C	10 秒	25
primer (JE8K inner-S: 25μM)		0.2 μl	53 °C	30 秒	
primer (JEER inner-C: 25μM)		0.2 μl	72 °C	1 分	
TaKaRa EX Taq Mix		0.125 μl	72 °C	5 分	1
DW (DNase/RNase free)		18.475 μl	4 °C	∞ (保存)	1
1 次増幅産物		1.5 μl			
total		25 μl			

図 1 JEV 遺伝子の検索

<プライマーセット> JE-NS3-1S : 5' AGAGCGGGGAAAAAGGTCAT 3'
 JE-NS3-4R : 5' TTTCACGCTCTTCTACAGT 3'

<組成>

<反応条件>

<組成>		用量	<反応条件>		
			温度	時間	サイクル数
2× Reaction Mix		12.5 μl	50 °C	30 分 (RT)	1
primer (NS3-1S: 25 μM)		0.2 μl	94 °C	2 分	1
primer (NS3-4R: 25 μM)		0.2 μl	94 °C	15 秒	40
SSIII/Platinum Taq Mix		0.5 μl	53 °C	30 秒	
DW (DNase/RNase free)		10.1 μl	68 °C	1 分	
抽出 RNA		1.5 μl	68 °C	5 分	1
total		25 μl	4 °C	∞ (保存)	1

図2 JEV の確認

表1 2009年度豚HI抗体陽性率調査結果

採血 月日	採血 頭数	HI 抗体価 (倍)							HI抗体陽 性率(%)	2-ME 抗体 陽性率(%)	
		<10	10	20	40	80	160	320			≥640
7/1	10			7	3					100	0
7/14	10		7	1					2	100	50
7/28	10		1	3	1				5	100	67
8/4	10		1			1			8	100	89
8/11	10				1				9	100	40
8/25	10								10	100	10
9/1	10							1	9	100	0
9/8	10					1	1	4	4	100	60

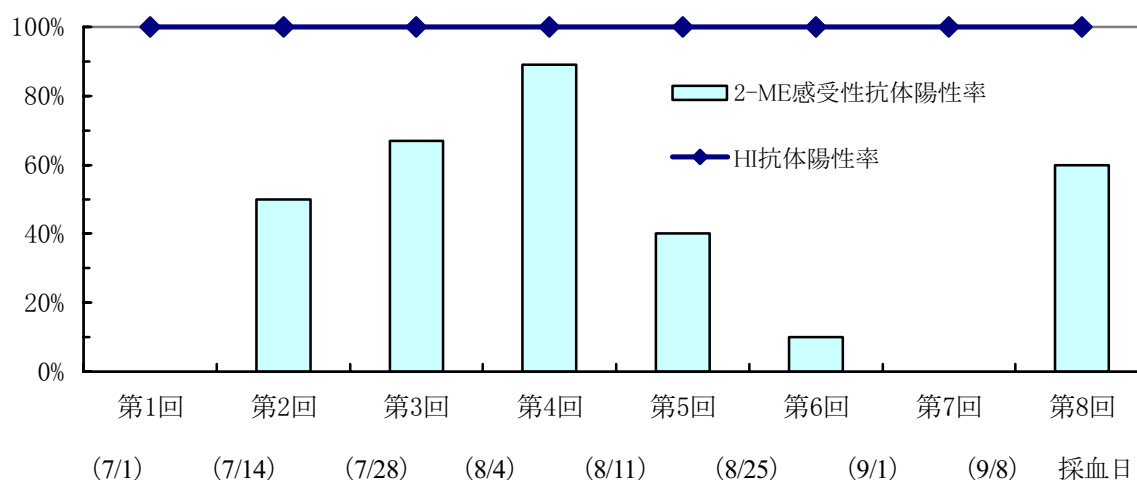


図3 HI 抗体価陽性率および2-ME 感受性抗体陽性率の推移

調査結果及び考察

1. 感染源調査結果

豚 HI 抗体検査結果を表1に、HI 抗体陽性率および2-ME 感受性抗体陽性率の推移を図1に示した。

2009年度は7月1日に採血した豚10頭のうちすべて(陽性率100%)がHI抗体陽性となった。7月14日に採血した豚10頭において、HI抗体価40倍以上となった2頭のうち1頭(陽性率50%)から初感染の指標となる2-ME感受性抗体が検出された以後もすべての個体においてJEVの感染が確認された。

2. JEV 遺伝子検索および分離結果

前年度同様に2009年度も第1回調査(7月1日)より既にHI抗体価の上昇が100%となったことから、豚血清中のJEV遺伝子検索を行ったところ、2009年7月28日に採血した2頭の血清からJEV遺伝子が確認された。さらに、この2頭の血清からウイルス分離を実施したところ、ともにCPEが観察され、PCRで

もJEVの標準株JaGAr#01株と同様にNS3領域142bpの産物が増幅されたことから、JEVの分離が確認された。

保毒蚊が生後4~6ヶ月の免疫のない豚を吸血することで豚はJEVに感染し、2~3日の潜伏期を経て約3日間持続するウイルス血症を起こす。このウイルス血症時に吸血した蚊がウイルスに感染し、10~13日の潜伏期を経てウイルスを媒介するようになる²⁾ことから、2009年度の本県ではJEVを保有した蚊が6月には活動を既に開始し、9月以降も豚を吸血してウイルスを媒介しながら感染を拡大していた可能性が推察される。

まとめ

- 2009年度は7月1日に採血した10頭からHI抗体が、7月14日に採血した1頭から初感染の指標となる2-ME感受性抗体が最初に確認された。

2. 2009年7月28日に採血した2頭の血清からJEVが分離された。
3. 日本脳炎確認患者は、1965年以前と比べ激減しているものの、豚では依然JEVに対する抗体保有が確認されたことから、現在も生活環境中にJEVは確実に維持されており、県民に対する日本脳炎の注意喚起は今後も必要である。

謝 辞

感染症(日本脳炎)流行予測調査事業にご協力いただいた長崎県中央農業協同組合、佐世保食肉センター株式会社および佐世保市食肉衛生検査所長他関係職員各位に深謝します。

参 考 文 献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課,感染症流行予測調査事業検査術式,2004
- 2) 厚生省保健医療局結核感染症課,改定・感染症マニュアル,1999

食中毒における病因物質の概要 (2009 年度)

右田 雄二、山崎 省吾、山口 顕徳、平野 学、平木 希、吾郷 昌信

Summary of Epidemiology of Food Poisoning in Nagasaki Prefecture (2009)

Yuji MIGITA, Shogo YAMASAKI, Akinori YAMAGUCHI, Manabu HIRANO,
Nozomi HIRAKI and Masanobu AGOH

Key words: Food poisoning, Pathogenic organism, *Norovirus*, Simultaneous detection

キーワード: 食中毒、病原微生物、ノロウイルス、同時検出

はじめに

1997年5月30日の食品衛生法施行規則の改正で小型球形ウイルス(2003年8月29日同規則改正でノロウイルスに名称変更)およびその他のウイルスと腸管出血性大腸菌が、1999年12月28日同規則改正によりコレラ菌、赤痢菌、チフス菌、パラチフス A 菌が食中毒事件票に病因物質として追加された。これらの施行規則の改正により、ウイルス性食中毒が位置付けられるとともに、コレラ菌等の4菌種についても飲食に起因する健康被害発生時は、他の食中毒病因物質と同じ措置がとられるようになった。これより、本県では保健所との協力体制の下、ノロウイルスおよび細菌学的検査を同時に実施している。

本報告は、1998年以降に長崎県下で発生した食中毒の主要病因物質の経年推移と2009年度に発生した本県食中毒事例で検出された病因物質を示した。さらに、複数種

の病原微生物が同時に検出された集団発生事例を経験したことから、その概要についても併せて報告する。

調査方法

主要病因物質の経年推移:長崎県生活衛生課が取りまとめた1998年～2009年までの食中毒発生状況一覧表(長崎市及び佐世保市の発生届出分含む)を元に、主要病因物質(細菌、ウイルス、自然毒及び化学物質等)ごとに事件数および患者数の経年推移を示した。集計方法は厚生労働省食中毒統計にあわせ、年ごとに取りまとめた。

2009年度病因物質の概要:2009年4月～2010年3月にわたる食中毒事例の発生状況を示すとともに、県立保健所管轄地域から検出された病因物質について、詳細な調査情報を記載した。

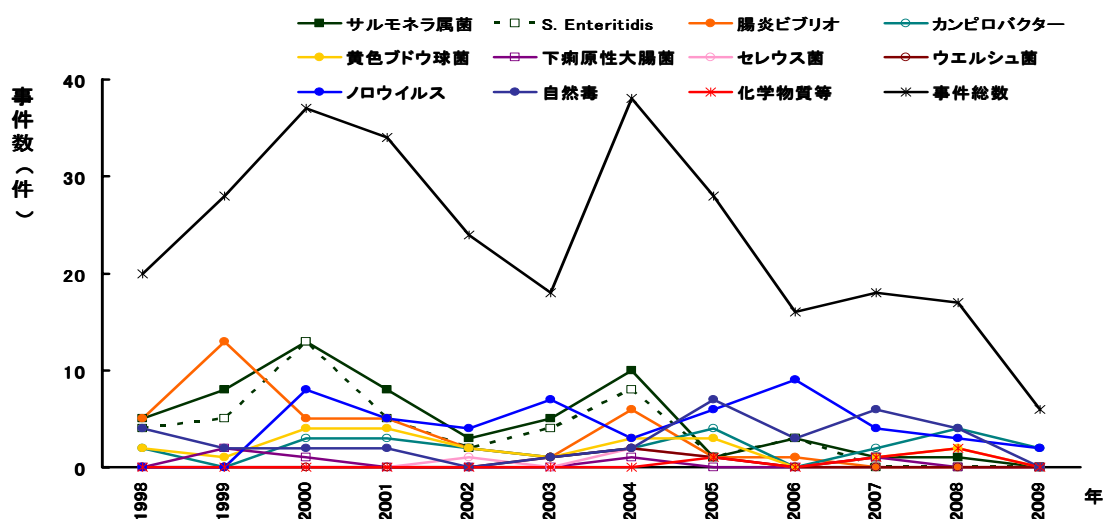


図1 病因物質ごとの食中毒事件数の推移(長崎県)

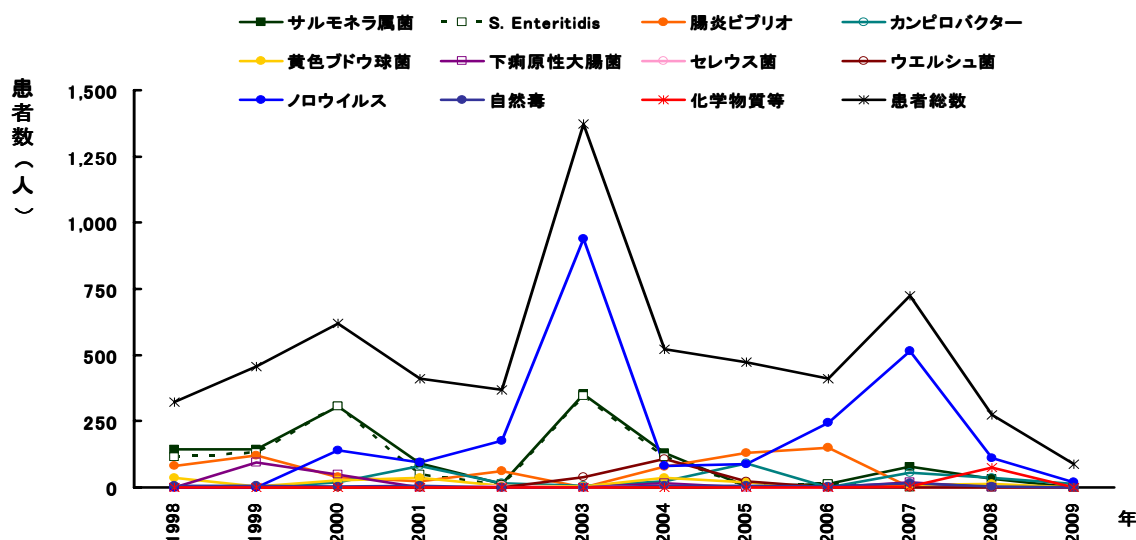


図2 病因物質ごとの食中毒患者数の推移(長崎県)

複数種の病原微生物検出事例: ノロウイルス食中毒事例の中で、カンピロバクターを同時検出した1事例について概要を示した。

結果及び考察

主要病因物質の経年推移: 1998年以降の本県発生食中毒の事件数(図1)及び患者数(図2)の推移を病因物質ごとに示す。

2004年までは、細菌性食中毒の中で *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (サルモネラ属菌)と *Vibrio parahaemolyticus* (腸炎ビブリオ)は常に主要な病因菌であった。しかし、2005年以降、サルモネラ属菌による食中毒は頻出血清型である Enteritidis の減少に伴って、事例数及び患者数に減少傾向がみられた。腸炎ビブリオは、2005年頃から事例数が減少し、2007年以降は発生がみられなかった。しかし、*Campylobacter* spp. (カンピロバクター属)による食中毒は、1999年と2006年を除いて継続して発生している。

Norovirus (ノロウイルス)による食中毒事例は2000年以降、毎年発生し、大規模事例が発生した(2003, 2007)年をのぞくと、例年100~200名程度で推移するが、2009年の患者発生数は特に少なかった。

自然毒食中毒の大部分はフグの喫食によるテトロドトキシン中毒によるもので、死者が発生する年もある。本県ではフグの家庭内自家調理による発生事例が多いことが特徴的であった。

2009年の事件数と患者数の発生総数は、1998年以降最も低い結果となった。

全国の食中毒の事件数および患者数は¹⁾、サルモネラ属菌によるものは、1998年: 757件 11,471人から2009年:

67件 1,518人に、腸炎ビブリオによるものは、1998年: 839件 12,318人から2009年: 14件 280人と減少している。一方、カンピロバクター属による食中毒は、1998年以降、事例数は345~645件 患者数は1,784~3,439人の間を推移しているものの、増加傾向が認められる。ノロウイルスは、1997年5月に病因物質に追加されて以来、事例数及び患者数は増加傾向を示し、2006年以降のノロウイルスの患者数は細菌性食中毒の患者総数を上回るようになった。

本県の病因物質の経年推移も全国と同じ発生傾向であった。

2009年度の病因物質の概要: 長崎県内では、7事例の食中毒の発生があった。発生事例の内訳を病因物質区分ごとに示す(表1)。

1) 細菌性食中毒

今年度はカンピロバクター属によるもののみ2事例13名の患者が発生した。このうち、1事例は農業漁業体験民宿が原因施設であった。これまで頻りにみられたサルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌及び腸炎ビブリオの発生は全く認められなかった。

2) ウイルス性食中毒

ノロウイルスによる食中毒は、4事例73名の患者が発生した。このうち酢ガキを推定原因食品とした2事例の患者便からは、Genogroup I (GI)とGIIを同時検出した。

3) 自然毒及び化学物質等による食中毒

発生はみられなかった。

複数種の病原微生物検出事例: 平成22年3月9日、医療機関から飲食店で会食した職場グループうち嘔吐・下痢を発症した患者6名を診察したとの届出が出された。保健所では、直ちに有症者、調理従事者の検便を採取し、保健所と当所において既報²⁾³⁾に従い食中毒検査を実施し

表1 長崎県内の食中毒発生状況および病因物質について(2009年度)

事例 No.	発生日	発生場所	管轄保健所	摂食者数	患者数	死者数	原因施設	摂食場所	原因食品	検出病因物質	検出数 / 検体数	検体数(由来)	備考
1	H21.6.12	北松浦郡	県北	9	6	0	農業漁業体験民宿	農業漁業体験民宿	不明	<i>Campylobacter jejuni</i> (G群)	0 / 3 1 / 1 0 / 10	(従事者糞便) (有症者糞便) (拭き取り)	
2	H21.7.6	時津町	西彼	11	7	0	飲食店	飲食店	不明	<i>Campylobacter jejuni</i> (O群及びUT)	6 / 11	(有症者糞便)	
3	H21.11.21	雲仙市	県南	93	18	0	旅館	旅館	不明	不明	0 / 10 0 / 9	(従事者糞便) (有症者糞便)	
4	H21.1.16	杵岐市	杵岐	44	13	0	飲食店	飲食店	不明	<i>Norovirus</i> (G II)	2 / 5 5 / 6	(従事者糞便) (有症者糞便)	
5	H21.2.6	諫早市	県央	55	29	0	飲食店	飲食店	酢ガキ(推定)	<i>Norovirus</i> (G I 及びG II)	1 / 2 10 / 11 0 / 1	(従事者糞便) (有症者糞便) (食品)	
6	H22.3.3	南島原市	県南	53	24	0	給食施設	給食施設	不明	<i>Norovirus</i> (G II)	3 / 5 4 / 10 0 / 10	(従事者糞便) (有症者糞便) (食品・拭き取り)	
7	H22.3.8	大村市	県央	18	7	0	飲食店	飲食店	酢ガキ(推定)	<i>Norovirus</i> (G I 及びG II)	0 / 5 4 / 5	(従事者糞便) (有症者糞便)	*有症者1名から <i>C.col</i> を同時検出

※ 本表は、県民生活部生活衛生課の食中毒発生状況一覧表(長崎市、佐世保市発生分含む)から作成した。
 ※※ 病因物質の検出数は、長崎市及び佐世保市をのぞく、県立保健所と環境保健研究センター対応事例のみとした。

()内には、病因物質の詳細情報を記載
 ・ *Norovirus* (Genogroup)
 ・ *Campylobacter* (Penner 血清型, UT: Untypable)

た。結果は、有症者糞便5名中4名からノロウイルス (GII 2名、GI + GI 2名) が検出された。本事例では、GII が検出された1名からは *Campylobacter coli* も同時に検出された。保健所の疫学調査によると、患者は会食後、約 12 ~ 48 時間で急性胃腸炎を発症していたこと、有症者の共通食である酢ガキがこのグループのみに提供されていたこと、有症者からノロウイルスが検出されたこと等から、この飲食店を原因施設とするノロウイルス食中毒と判断した。横田ら⁴⁾は、ノロウイルスを病因微生物と判断した事例からも黄色ブドウ球菌、ウェルシュ菌及びカンピロバクター属の複数種の病原微生物が同時に検出されたことを報告している。なお、報告事例の中には混合感染であったか、患者自身が元々保菌していたかについて、最終結論に至らない事例もあった。さらに、病因物質の判定においてノロウイルスを含む複数種の病原微生物が同時に検出された場合、遺伝子型、血清型、コアグラゼ型およびエンテロトキシン型などの解析に加え、喫食状況や潜伏時間等を含む疫学的情報は欠かせない要因であることを指摘している。

以上のことから、食中毒発生時には、ノロウイルスと細菌性食中毒の検査を同時並行で実施する必要があるとともに、検出された病原微生物の表現形質や遺伝形質の同一性を検討することは欠かせないことであると思われる。

謝辞

本報告にかかわる情報を提供いただいた長崎県生活衛生課、長崎市、佐世保市および長崎県立保健所の関係諸氏並びに、本稿をまとめるにあたり、校閲いただいた長崎県生活衛生課 課長補佐 嘉村敏徳および係長 吉松嗣晃の両氏に感謝する。

参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課: 厚生労働省食中毒統計 1998 年 - 2009 年 (2009)
- 2) 厚生省監修: D 経口感染症(食中毒を含む)、微生物検査必携 細菌・真菌検査 第3版、財団法人 日本公衆衛生協会, D2-165 (1987)
- 3) 衛生微生物協議会レファレンス委員会: ウイルス性下痢症検査マニュアル(第3版), 44-62 (2003)
- 4) 横田正春, 三好龍也, 大中隆史, 内野清子, 山内昌弘, 中村 武, 下迫純子, 吉田永祥, 田中智之: 食品衛生研究, 59, 15-22 (2009)

Ⅲ 論文投稿・学会発表

III 論文投稿・学会発表

■ 論文 (1)

J. Vet. Med. Sci. ;71(4):425-9, 2009

Isolation and Characterization of *Leptospira* spp. from Raccoons in Japan

Nobuo Koizumi¹, Masaki Uchida², Takashi Makino³, Toshitsugu Taguri⁴, Toshiro Kuroki⁵, Maki Muto¹, Yukio Kato² and Haruo Watanabe⁶

¹Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases, ²Department of Veterinary Medicine, Azabu University, ³Kanagawa Prefectural Natural Environment Conservation Center, ⁴Department of Public Health, Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, ⁵Department of Microbiology, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, ⁶Deputy of Director General, National Institute of Infectious Diseases

We investigated whether raccoons (*Procyon lotor*) carried leptospires in their kidneys in Japan. *Leptospira* was isolated from 2 of 71 raccoons captured in Kanagawa Prefecture and 1 of 53 raccoons at a zoological park in Nagasaki Prefecture. Anti-*Leptospira* antibodies were detected in 16 of 124 raccoons (12.9%) in Kanagawa and 33 of 53 raccoons (62.3%) in Nagasaki, respectively. The partial nucleotide sequences of their flaB genes suggested that the isolates belonged to *L. interrogans*. The serovars of the isolates were identified as Copenhageni/Icterohaemorrhagiae (1 strain in Kanagawa) and *Hebdomadis* (1 strain both in Kanagawa and Nagasaki) by reactivity with the reference antisera and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis based on pulsed-field gel electrophoresis and cross-agglutination-absorption test, respectively. RFLP analysis on the serovars *Hebdomadis* strains revealed genetic diversity among serovar *Hebdomadis*. Although it is unclear if the raccoons carried leptospires in their kidneys at the time imported, there is no doubt that imported animals are a new reservoir animal of leptospires in Japan.

■ 論文 (2)

J. Agric. Food Chem. 57: 6417–6424, 2009

Coupling Reactions of Catechins with Natural Aldehydes and Allyl Alcohols and Radical Scavenging Activities of the Triglyceride-Soluble Products

Ryusuke Fudouji¹, Takashi Tanaka^{1*}, Toshitsugu Taguri², Yosuke Matsuo¹, and Isao Kouno¹

¹Department of Natural Product Chemistry, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Bunkyo-machi 1-14, Nagasaki 852-8521, Japan, and ²Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Ikeda 2-1306-11, Omura, Nagasaki 856-0026, Japan

Hydrophobic catechin derivatives were produced by heating with natural aldehydes or allyl alcohols. (+)-Catechin or (-)-epigallocatechin-3-O-gallate was heated with trans-2-hexenal, citral, (+)-citronellal, geraniol, or phytol. Although each reaction generated complex mixtures of products, 11 compounds were isolated and characterized by spectroscopic methods. The unsaturated aldehydes were found to attach to the flavan A-ring. Besides C-C linkage between aldehyde and the C-8 and/ or C-6 of the catechin A-ring, formation

of ether linkages between unsaturated carbons of the aldehydes and phenolic hydroxyl groups was observed. The allyl alcohols, geraniol and phytols, reacted at the galloyl group as well as the A-ring. After partitioning between triglyceride and water, the lipid layer of the reaction products showed strong 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity. In contrast, epigallocatechin-3-O-gallate was not transferred to the lipid layer.

■ 論文 (3)

古今書院「黄砂」2009年7月発行 5.4.2 188-194

長崎で観測された黄砂の実態

○森 淳子

長崎は日本に飛来する黄砂を観測するのに適した地点のひとつである。

長崎市で黄砂が観測された日数は、1914年から2001年までの92年間の平均で年間5.2日であった。長崎市で黄砂が観測された日数が年々増える傾向はなく、全国での観測地点数に占める割合は減少傾向にあり、全国的に黄砂が観測される規模が広がっていることが伺われる。

2002年4月に観測された大規模黄砂では8日に長崎県内の Suspended Particulate Matter (SPM) 濃度が1時間値で最高 $517 \mu\text{g}/\text{m}^3$ に達し、県内のほとんどの局で1時間値の環境基準値 ($200 \mu\text{g}/\text{m}^3$) を大きく超過した。

2003、2004年には大規模な黄砂現象は観測されなかった。この2年間にSPMが環境基準を超えていた日には煙霧が観測された。

黄砂をろ紙に捕集し、成分分析を行ったところ、粗大粒子である土壌粒子が主成分である典型的な黄砂が観測される場合と、煙霧が観測された日の試料に硫酸塩など化石燃料の二次汚染物質が含まれる場合があることが分かった。硫酸塩などの微小粒子は、粗大粒子に比べ健康への影響がより大きいといわれており、微小粒子を対象とした観測体制の整備が望まれる。

■ 論文 (4)

日本獣医師会雑誌 62 (8): 649-655, 2009

長崎県沿岸における *Vibrio vulnificus* の分布と環境因子

○山崎省吾、右田雄二、中村まき子、浦伸孝、工藤由起子、三澤尚明、岡本嘉六、高瀬公三

長崎県沿岸の漁港7地点(有明海5地点、橘湾2地点)における海水中の *Vibrio vulnificus* (*V. vulnificus*) 菌数を Most probable number (MPN)-PCR 法を用いて測定し、その菌数の増減に及ぼす各種環境因子(水温、塩分濃度、DO、COD、総窒素量、総リン量、クロロフィル a 量)の影響を海域性および季節性を加えながら統計学的に解析し、検討した。

V. vulnificus 菌数は、有明海では6月から菌数上昇傾向を示し7月に最高値 ($4.50 \times 10^4 \pm 17.1 \text{MPN}/100\text{ml}$) となり、橘湾では8月に最高値を示した。両海域での *V. vulnificus* 菌数は、水温 ($r_s=0.711$) および塩分濃度 ($r_s=-0.712$) との間で高い相関を認めた。また DO、総窒素量およびクロロフィル a 量と *V. vulnificus* 菌数の間には、単回帰分析 ($R^2 > 0.1$) で低度の寄与率が認められた。

V. vulnificus は、有明海産魚介類からの分離率が橘湾のそれらよりも高く、二枚貝で90%および魚類で94.1%を示し、その菌数の最高値は $10^6 \text{MPN}/100\text{g}$ であった。

■ 論文 (5)

Endocrine Journal, 57 (1): 87-91 (2010)

Urinary Iodine Concentrations in the High Background Radiation Areas of Kanakumari District, Tamilnadu, India

Gopalganapathi M. BRAHMANANDHAN^{1), 2), 3)}, Naomi HAYASHIDA¹⁾, Yasuyuki TAIRA¹⁾, Jeyapandian MALATHI³⁾, David KHANNA³⁾, Subramaniyan SELVASEKARAPANDIAN³⁾, Naoki MATSUDA²⁾ and Noboru TAKAMURA¹⁾

1) Department of Radiation Epidemiology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

2) Division of Radiation Biology and Protection, Center for Frontier Life Sciences, Nagasaki University, Japan

3) Department of Physics, Bharathiar University, Coimbatore, India

We screened urinary iodine (UI) concentrations in high background radiation areas of the Kanyakumari district of Tamilnadu, India. We collected 331 urine samples from three villages in the district: Chinna-Villai, Kadiyapatinam, and Pallam-Annai nagar. The median UI concentrations were 257, 262, and 454 µg/L in Chinna-Villai, Kadiyapatinam, and Pallam-Annai nagar, respectively. Only 27 samples showed mild or moderate iodine deficiency (<100 µg/L) and none showed severe deficiency (<20 µg/L). These findings indicate that iodine supplementation in the villages is sufficient, probably as a result of appropriate fortification of iodized salt in the region. Further screening, including morphological and functional analysis of the thyroid gland, will be needed to clarify the health effects of chronic low-dose radiation exposure attributable to residing in a high background radiation area.

■ 論文 (6)

The Tohoku Journal of Experimental Medicine, 219: 263-267 (2009)

Poor Chewing Ability Is Associated with Lower Mucosal Moisture in Elderly Individuals

Tetsuko Shinkawa¹⁾, Naomi Hayashida¹⁾, Kurumi Mori¹⁾, Keiichi Washio¹⁾, Kanami Hashiguchi¹⁾, Yasuyuki Taira¹⁾, Michiko Morishita¹⁾ and Noboru Takamura¹⁾

¹⁾Department of Radiation Epidemiology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

Oral dryness is common among aging individuals and its objective evaluation is an important issue for improving their oral health. In the present study, we measured the objective mucosal moisture in elderly individuals with a moisture checker and evaluated its relation with laboratory findings and subjective oral status. The subjects were 502 adults (244 men and 258 women), with a mean age of 72.3 ± 6.7 years, who participated in a regular medical screening program in Nagasaki Prefecture, Japan. We evaluated the moisture of the oral mucosa by measuring the weight percentage of water content in the oral epithelium, subjective oral dryness, self-assessed chewing ability [“good” (“able to chew all foods”) or “poor” (“able to chew soft foods only” and “unable to chew any foods”)], and laboratory findings. The values obtained with a moisture checker, which represent objective oral mucosal moisture, were significantly lower in women with poor chewing ability

than those with good chewing ability ($28.2 \pm 2.4\%$ vs. $29.2 \pm 2.0\%$, $p=0.004$) and in all subjects ($28.4 \pm 2.4\%$ vs. $29.1 \pm 2.0\%$, $p=0.004$), but not in men ($28.6 \pm 2.5\%$ vs. $29.0 \pm 2.0\%$, $p=0.27$). When multiple logistic regression analysis was performed on confounding factors, older age (OR: 1.24, $p=0.015$), women (OR: 1.70, $p=0.016$), and anemia (OR: 1.96, $p=0.030$) were significantly associated with self-assessed chewing ability. Our current study indicates that poor chewing ability is associated with lower mucosal moisture in elderly individuals.

■ 論文 (7)

Appl. Clay Sci. 46 (3): 296-299, 2009

Antimicrobial activity and thermostability of silver 6-benzylaminopurine montmorillonite

Fumihiko Ohashi¹, Seiichi Ueda², Toshitsugu Taguri³, Shoko Kawachi⁴ and Hisao Abe⁵

¹MRISUS-AIST, Shimo-Shidami, Moriyama, Nagoya 463-8560, Japan, ²Siebold Univ. Nagasaki, 1-1-1 Manabino, Nagayo, Nagasaki 851-2195, Japan, ³Nagasaki Pref. Inst. for Environ. Res. and Public Health, 1306-11 Ikeda, Omura 856-0026, Japan, ⁴Biken Technos Co., 166-1 Shiratake, Sasebo 857-1164, Japan, ⁵Ceram. Res. Center of Nagasaki, Hasami, Higashi-Sonogi, Nagasaki 859-3726, Japan

Novel antimicrobial materials were constructed by the intercalation of organometallic cations into montmorillonite. The silver chelate complex of 6-benzylaminopurine was intercalated into montmorillonite by a cation exchange reaction in aqueous medium. The basal spacing of 1.8 nm was attributed to an almost planar arrangement of the silver chelate complex. Most of the interlayer cations were replaced by the silver chelate complexes. Thermogravimetric/differential thermal analyses indicated that the degradation temperature of the chelating ligands was increased by complexation with the silver ions and electrostatic binding in the interlayer space. Ca. 0.15% of the silver chelate complex was released in water after 7 days followed by steady-state release up to 22 days. The intercalated montmorillonite exhibited antibacterial and antifungal activity compared with the commercial silver supported products.

■ 論文 (8)

九州大学出版会「油症研究Ⅱ」2010年2月発行 第1部 第4章 40-45

油症患者の血液中 PCB・PCQ 濃度の測定(長崎県)

○山之内公子 長崎県環境保健研究センター

カネミ油症発生当時から長崎県は、「長崎油症研究班」を組織し、毎年五島市(玉之浦・奈留)及び長崎市で油症検診を実施するなど、油症の診断と治療法に関する研究等を行ってきた。当センターでは1973年から血液中のポリ塩化ビフェニル(PCB)の分析を、1979年からポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)の分析を開始し、各年度の分析結果はカネミ油症認定診査の基礎資料として長崎県認定審査会に提供してきた。35年間で延べ6,625人の試料を分析し、そのうち1,338人のデータについては経年変化を解析、認定診査会に報告してきた。

1. 検診受診者数および認定患者数の推移

1968年から2008年までに延べ10,577人が検診を受診した。検診開始時は受診者が500人を超えていた

が、1987年以降受診者は100人前後で推移してきた。2007年4月に、与党カネミ油症問題対策プロジェクトチームにおいてカネミ油症被害者救済策が決定し、カネミ油症患者の実態調査が実施されたこともあり、2008年度を受診者数は最近20年では最高になった。認定患者数については、1988年以降認定される人はいなかったが、2004年に2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF)が油症診断基準に追加され、新たに25人が認定された。2009年8月現在長崎県の認定患者数は779人で、全国の認定患者の約4割を占める。

2. 油症認定患者の血中 PCB・PCQ 濃度の経年変化

検診受診認定患者の血中 PCB・PCQ 濃度の濃度分布をみると、高濃度者の割合が年々減少し低濃度者の割合が増加している。また、認定患者の PCB・PCQ 濃度の経年変化をみると、生体内残留性の強さは、PCDF>PCB>PCQと推定されているが、PCBと比較するとPCQはあまり変化がみられず、体内半減期が長く、体外への排出が少ないと考えられる。

■ 論文 (9)

Jpn. J. Infect. Dis., 63 (2): 119-123, 2010

Comparison of Ethidium Monoazide and Propidium Monoazide for the Selective Detection of Viable Legionella Cells

Bin Chang*, Toshitsugu Taguri¹, Kanji Sugiyama², Junko Amemura-Maekawa, Fumiaki Kura, and Haruo Watanabe

Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640; ¹Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Nagasaki 856-0026; and ²Department of Microbiology, Shizuoka Institute of Environment and Hygiene, Shizuoka 420-8637, Japan

(Received September 11, 2009. Accepted January 18, 2010)

Ethidium monoazide (EMA) and propidium monoazide (PMA) have been utilized for selective PCR amplification of DNA from viable bacterial cells. In this study, we compared the abilities of EMA and PMA, together with real-time PCR, to specifically distinguish dead Legionella cells from viable cells. Several experiments showed that PMA or EMA treatment could specifically prevent the PCR amplification of DNA from dead Legionella cells in water samples. However, a 4-fold higher concentration of PMA than EMA was required to achieve this effect. EMA may therefore be more useful for practical environmental investigations of Legionella.

■ 論文 (10)

J. Clin. Microbiol. 48 (3): 728-735, 2010

Development of a Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Detection of Pandemic (H1N1) 2009 Virus as a Novel Molecular Method for Diagnosis of Pandemic Influenza in Resource-Limited Settings

Toru Kubo,^{1,2} Masanobu Agoh,³ Le Q. Mai,⁴ Kiyoyasu Fukushima,⁵ Hidekazu Nishimura,⁶ Akinori Yamaguchi,³ Manabu Hirano,³ Akira Yoshikawa,³ Futoshi Hasebe,^{1,2} Shigeru Kohno,⁷ and Kouichi Morita^{2*}

Center for International Collaborative Research, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University, 1-12-4, Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan,¹ Department of Virology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, 1-12-4, Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan,² Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, 2-1306-11, Ikeda, Omura, Nagasaki, Japan,³ National Institute of Hygiene and Epidemiology, No. 1 Yersin Street, Hai Ba Trung District, Hanoi 10000, Vietnam,⁴ Division of Respiratory Medicine, Japanese Red Cross Nagasaki Genbaku Isahaya Hospital, 986-2, Keya, Tarami, Isahaya, Nagasaki, Japan,⁵ Virus Research Center, Clinical Research Division, Sendai Medical Center, National Hospital Organization, 2-8-8 Miyagino, Sendai, Miyagi 983-8520, Japan,⁶ Department of Molecular Microbiology and Immunology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-12-4, Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan⁷

This paper reports on the development of a one-step, real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay targeting the hemagglutinin (HA) gene for the rapid molecular-based detection of pandemic (H1N1) 2009 virus. The detection limit of the pandemic (H1N1) 2009 virus HA-specific RT-LAMP assay was same as that of the currently used real-time reverse transcription-PCR method. The assay detected the pandemic (H1N1) 2009 virus HA gene in 136 RNA samples extracted from nasopharyngeal swab specimens from Japanese and Vietnamese patients. No cross-reactive amplification with the RNA of other seasonal influenza viruses was observed, and the detection of specific viral genome targets in clinical specimens was achieved in less than 40 min. The sensitivity and specificity of the pandemic (H1N1) 2009 virus HA-specific RT-LAMP assay obtained in this study were 97.8% and 100%, respectively. Use of the (H1N1) 2009 virus HA-specific RT-LAMP assay will enable the faster and easier diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus infection, especially in resource-limited situations in developing countries.

■ ポスター発表 (1)

第 82 回日本内分泌学会学術総会 平成 21 年 4 月 23 日 前橋市

チェルノブイリ周辺におけるヨード充足状況の評価:都市部と地方の比較

○平良文亨^{1,2)}、林田直美¹⁾、山下俊一¹⁾、高村昇¹⁾
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科¹⁾、長崎県環境保健研究センター²⁾

要 旨

1986 年のチェルノブイリ原子力発電所事故後、事故時に小児～若年者であった世代に甲状腺がんが激増したことはよく知られているが、この地域は事故当時ヨード欠乏状態であったことが推定されており、このことも甲状腺がんの増加の一因であったと考えられている。今回我々は甲状腺がんの増加が最も顕著にみられたベラルーシ共和国ゴメリ州の州都であるゴメリ市と地方都市であるホイニキ市においてヨードの充足状況の評価した。まず、ゴメリ市及びホイニキ市の一般住民 100 名及び 126 名から随時尿を採取し、simple microplate method で尿中ヨード濃度を測定後、Mann-Whitney の U 検定によって両市の濃度を比較すると同時に、ゴメリ市については、2000 年に我々が同市で実施した尿中ヨードの測定結果と比較した結果、ゴメリ市の中央値は 220.5 μ g/L であり、2000 年(中央値:47.3 μ g/L)に比して、有意に改善していた。またホイニキ市の中央値は 228.0 μ g/L であり、両市において尿中ヨード濃度に差は見られなかった($p=0.39$)。また中等度(<50 μ g/L)や重度(<20 μ g/L)のヨード欠乏を示すサンプルはなかった。以上から、ベラルーシ共和国の都市部及び地方においてヨードの充足状況は改善していることが示唆された。このことは、ヨード塩によるヨードの充足が都市部、地方の両方において順調に行われていることを示唆するものである。

■ 口頭発表 (2)

第 44 回日本脳炎生態学研究会 2009 年 6 月 19-20 日 千歳市

長崎県におけるイノシシの日本脳炎抗体保有率調査(2)

○吉川亮^{1,2)}、井上真吾²⁾、吾郷昌信^{1,2)}、森田公一²⁾
(¹長崎県環境保健研究センター、²長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野)

Serological surveillance on Japanese encephalitis virus infection of wild boars in Nagasaki (2)

Akira Yoshikawa, Shingo Inoue, Masanobu Agoh, Koichi Morita

¹Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health and

²Department of Virology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University

【背景と目的】 昨年の本研究会において、ブタの飼育地とイノシシの生活圏が近接することにより、イノシシの日本脳炎ウイルスに感染する機会が増えることが推察され、イノシシが日本脳炎ウイルスの増幅動物となる可能性について報告した。そこで、本年もイノシシの日本脳炎ウイルス増幅動物として可能性を探索するため、長崎県におけるイノシシの抗体保有率を追加調査したので報告する。

【材料および方法】 2006 年 5 月から 2009 年 3 月の期間に長崎県内においてブタの飼育地区の近隣で捕獲されたイノシシ 120 頭及びブタの非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシ 30 頭、合計 150 頭の血清を使用した。抗体価(IgG)の測定は anti-Flavi IgG indirect ELISA を用いて行った。

【結果及び考察】 2008 年の調査では、イノシシ 42 頭中 15 頭(35.7%)で IgG 陽性、42 頭中 5 頭(11.9%)で

IgM 陽性であったが、今年の追加調査では、今回新たに入手したイノシシ 150 頭の血清のうち 87 頭 (58.0%) で IgG 陽性であった。このうち、ブタが飼育されている本土地区のイノシシにおいて、昨年 34 頭中 14 頭 (41.2%) が IgG 陽性であったのに対し、今回は 120 頭中 67 頭 (55.8%) が IgG 陽性となり、感染率が上昇した。一方、ブタの非飼育地区 (離島) のイノシシにおいては、昨年は 8 頭中 1 頭 (12.5%) のみ IgG 陽性であったが、今回は 30 頭中 20 頭 (66.7%) が IgG 陽性となり感染率が大幅に上昇した。

以上のことからブタの非飼育地区 (離島) においても活発に日本脳炎ウイルスが活動していることが確認され、近年離島においても増加傾向にあるイノシシが日本脳炎ウイルスの増幅動物となる可能性が示唆された。現在、さらにウイルス分離、IgM 抗体及び中和抗体等について解析中である。

■ 口頭発表 (3)

第 50 回大気環境学会年会 平成 21 年 9 月 16 日 横浜市慶應義塾大学

長崎県北部高地における水稻葉枯症とその発症要因

○森淳子¹⁾、伊藤祥子²⁾、清水英幸²⁾

¹⁾長崎県環境保健研究センター、²⁾国立環境研究所

長崎県北部の高標高地帯の水田では、水稻葉枯症が昭和 40 年代から発生しており、累積被害額は 8 億円にも及ぶ。これまでの長崎県による調査では、酸性霧を含めた大気汚染や気象条件が関係している可能性が指摘された。

2006 年 4 月から 3 年間は環境省地域密着型研究として長崎県環境保健研究センター、長崎県総合農林試験場、国立環境研究所および中央農業総合研究センターの共同研究として取り組んだ。

長崎県総合農林試験場は毎年、田植えから収穫時期まで県北部一体での被害発生状況をモニタリングするとともに、対策技術について検討を行った。長崎県環境保健研究センターは被害頻発地区 (里美) と対象地区 (心野) において、酸性霧、気象、水田水質の観測を行い水稻被害との関係を検討した。

2006 年と 2007 年は 6 月 10 日前後に入梅し、7 月 20 日前後に梅雨明けし、梅雨の期間としてはほぼ平年並みであった。この間、里美では、強い酸性度の霧が観測された。2006 年には梅雨明け後 8 月の初頭に被害が初発し、その後広い範囲で確認された。2007 年は 7 月 17 日に被害が確認された。2007 年 7 月 21 日に採取された霧は、最低 pH が 2.41、最高 pH が 2.78 と、2006 年からの観測でも最低レベルの pH を示した。このときの硫酸イオン濃度は最高 6800 μ eq/L、硝酸イオンは最高 2800 μ eq/L であった。酸性霧の存在は梅雨時期の日照不足、低温などの条件とともに、被害発現との関係が示唆される。

2008 年の入梅時期は平年並みであったが、梅雨明けが 7 月 6 日とやや早かった。この年、被害の発生はごく一部に限られた。この年被害が発生した水田の共通点として、未熟堆肥の投入や乾土効果で地力が高い傾向にあることがあげられ、窒素過多と被害発生の関係が示唆された。

被害頻発地区 (里美) と対象地区 (心野) の気象、水田水質データの比較からは、被害発生地区の方が気温、水温が低く、湿度が高く、日照が不足していることが確認できた。

■ 学会発表 (4)

日本分析化学会第 58 年会 平成 21 年 9 月 24-26 日 北海道

閉鎖性海域である大村湾の難分解性溶存有機物の実態とその起源について

○中村 心一、浦 伸孝、本多 隆 (長崎県環境保健研究センター)

【緒言】長崎県の中央に位置する大村湾は、閉鎖性内湾であるため、外海との海水交換率が悪く、また湾流域における人口の増加も重なり、水質の悪化が懸念されている。これまで長崎県は、大村湾への汚濁負荷量を削減するために、生活排水や工場・事業場排水に対して排水基準の規制強化等の各種対策を講じてきた。しかしながら、水質の汚濁指標である COD (化学的酸素要求量) が依然として環境基準 (2 mg/L) を超過している。

そこで本研究では、水質汚濁の一つの要因として考えられる難分解性溶存有機物に着目し、大村湾における実態解明を目的に大村湾海域、流入河川及び工場・事業場排水について非イオン性交換樹脂による分画法を用いた溶存有機物調査を行った。

【調査方法】海域調査は、2007 年 10 月から 2008 年 8 月まで、湾口部から湾奥部にかけての 5 地点において表層水及び底層水を採取した。流入河川及び工場・事業場調査は、2007 年 10 月及び 2008 年 1 月に実施し、6 河川及び下水処理施設と食品製造業の 10 工場・事業場について実施した。採水試料は、ろ過後 pH 2 に調整し、非イオン性交換樹脂 (Supelco 社製 Spelite DAX-8) を充填した分画カラムに通水し、親水性成分・疎水性塩基成分を分画した。次に、逆方向から水酸化ナトリウム水溶液を通水し、疎水性酸成分を溶出させた。溶存有機物測定には、島津製作所製 TOC-V_{CPN} を用いた。また、疎水性中性成分は、カラムに保持されたまま溶出されないため、全溶存有機物濃度から親水性成分・疎水性塩基成分及び疎水性酸成分濃度を差し引いた値とした。

【結果】海域、河川及び工場・事業場排水の溶存有機物濃度は、それぞれ 0.9-1.5、0.2-1.7 及び 0.4-29.3 mgC/L であった。海域試料の生分解試験の結果、64 日後においても約 60%の有機物が残存しており、難分解性有機物の存在が示唆された。また、海域試料中の形態別溶存有機物組成は、親水性成分・疎水性塩基成分が全体の約 70%を占め、疎水性酸成分は約 15%であった。河川では、人為的負荷の少ない河川において、疎水性中性成分の割合が極端に少ない結果が得られた。また、各試料の形態別溶存有機物組成によるクラスター分析を行った結果、海域表層試料と工場・事業場排水が同グループに区分され、類似性が示唆された。この結果を基に、今後は工場・事業場の業種や排水の処理工程による溶存有機物組成の違いを把握し、海域試料との関係性を調査していく予定である。

■ 口頭発表 (5)

第 148 回日本獣医学会学術集会 2009 年 9 月 26-27 日 鳥取市

長崎県沿岸における *Vibrio vulnificus* の分布と環境因子

○山崎省吾¹⁾、右田雄二¹⁾、吾郷昌信¹⁾三澤尚明²⁾、岡本嘉六²⁾、高瀬公三²⁾

¹⁾長崎県環境保健研究センター、²⁾山口大学連合獣医学研究科

【目的】*Vibrio vulnificus* (*V. vulnificus*) 感染症は、その発生に地域的特徴があり、国内では有明海沿岸を中心に多くの患者が報告されている。本菌は、海洋細菌であるビブリオ属の一菌種で、海水中に生息するが、本菌と環境因子との関係について、未だ不明な点が多い。そこで本研究では、沿岸海水における *V. vulnificus* の季節消長と環境因子の関係を調べた。

【方法】長崎県沿岸の漁港 7 地点 (有明海 5 地点、橘湾 2 地点) で 2004 年 7 月から 2007 年 1 月に採取された海水中の *V. vulnificus* 菌数を Most probable number (MPN)-PCR 法を用いて測定し、その菌数の増減に及ぼす各種環境因子 (水温、塩分濃度、溶存酸素 (DO)、化学的酸素要求量 (COD)、全窒素、全リン、クロロフィル a 量) の影響を地域性および季節性の要因を加味して統計学的に検討した。

【結果および考察】*V. vulnificus* 菌数は、有明海では 6 月から菌数上昇傾向を示し 7 月に最高値 ($4.50 \times 10^4 \pm 17.1$ MPN/100ml) となり、橘湾では 8 月に最高値 ($4.46 \times 10^3 \pm 8.72$ MPN/100ml) を示した。両海域での *V. vulnificus* 菌数は、水温 ($r_s=0.711$) および塩分濃度 ($r_s=-0.712$) との間に高い相関を認めた。また

DO、全窒素およびクロロフィル a 量と *V. vulnificus* 菌数の間には、単回帰分析 ($R^2 > 0.1$) で低度の寄与率が認められた。また、魚介類における *V. vulnificus* の分離率は、橘湾産で 43.8%、有明海産で 80.8%と有明海産魚介類で高く、有明海産の二枚貝で 90%および魚類で 94.1%を示し、その菌数の最高値は 10^6 MPN/100g であった。

以上の結果より、有明海での海水中の *V. vulnificus* の菌数および魚介類からの *V. vulnificus* の分離率が高いのは、環境因子が複合して形成される有明海特有の環境を反映した結果であると推察される。

■ 口頭発表 (6)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

長崎県大村湾における水産有用底生生物浮遊幼生の分布

○粕谷智之、川井仁、中村心一、山口仁士 (長崎県環境研セ)、中田英昭 (長大水産)、高橋鉄哉 (東大海洋研)

要 旨

大村湾では近年、二枚貝やマナマコなどの漁獲量の減少が問題となっている。しかし、大村湾における水産有用底生生物に関する生態学的な研究はあまり行われておらず、浮遊期の幼生に関する知見は極めて少ない。本研究では予備調査などによって選定した水産有用種 9 種(マナマコ、アサリ、タイラギ、マガキ、アコヤガイ、アカガイ、ハマグリ、アカガイ、トリガイ)を対象として 2007 年から 2009 年にかけて浮遊幼生の分布状況を調べた。幼生が最も多く出現したのは 2007 年で、出現密度のピークは主に夏期に見られた。2007 年 9 月および 2008 年 9 月には湾奥を中心に大規模な青潮が発生し、魚介類が大漁に斃死した。また、2007 年と比較して、2008 年および 2009 年には肉食性動物プランクトンであるカブトクラゲが多く出現した。青潮による親貝の大量死やカブトクラゲによる幼生の捕食が、浮遊幼生出現密度の年変動の一因となっている可能性がある。

■ 口頭発表 (7)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

長崎県における食品とアレルギーに関する実態調査

○土井康平、辻村和也、濱野敏一 長崎県環境保健研究センター

国民の約 3 人に 1 人がアレルギー疾患に罹患していることが明らかにされており、アレルギーは国民病であるといえる。このような背景を踏まえ、平成 14 年 4 月には、食物アレルギーを防止する観点から食品への特定原材料 5 品目(現在 7 品目)の表示が義務化され、「食」の安全・安心の観点からもアレルギー対策が必要となっている。しかながら、本県においては、アレルギーに関する実態把握が行われていない状況であり、今後食物アレルギー対策に取り組むための基礎資料を得ることを目的に実態調査を行った。

調査対象は、長崎県内の 2 地域(大村市(本土)と五島市(離島))の小学校児童およびその同居の家族(2,272 世帯)を調査の対象とした。調査方法はアンケート方式で実施した。主な調査事項は、アレルギーおよび食物アレルギーの有無並びにアレルギーを起こす食品、食物アレルギーに対する免疫学的寛容の有無等について調査を行った。

アンケートは 1,813 世帯からの回答があり、回収率は 79.8%で、7,681 名のデータを得た。自己診断により何らかのアレルギー症状を有する人は全体の 40.8%であった。アレルギーの有症頻度に関しては、地域間差は

ほとんど無かった。食物アレルギーの有症率は全体の 9.0%であり、原因食品としては、卵、牛乳に加え魚介類や野菜、果物、ソバによるアレルギー有症頻度が高かった。魚介類アレルギーについて種類別でみると、平成 20 年 4 月 1 日から特定原材料として追加されたエビ・カニや特定原材料に準ずるサバ、イカの有症数が多かった。魚介類アレルギーに関しては、ヒスタミン等の仮性アレルゲンによるアレルギー様症状も影響しているものと考えられた。野菜アレルギーについて種類別にみると、特定原材料に準ずるヤマモの発症数が多かった。ヤマモはシュウ酸カルシウムを含有しており、物理的刺激により皮膚症状を起こしているものと推察された。果物アレルギーに関しては、特定原材料に準ずるキウイフルーツの他にパイナップル、メロン、スイカで発症数が比較的多かった。食物アレルギーの原因食品ごとに食品間の相関を調べた結果、エビ・カニの甲殻類とキュウリ・スイカ、メロン・スイカのウリ科の食物にアレルギー発症における相関があったが、異なる食品群間では相関は認められなかった。魚介類、特に魚アレルギーに関しては一般的に多種の魚に対して反応を起こす例が多いことが知られているが、今回の調査結果ではエビ・カニを除いて魚介類ではアレルギー発症における種間の相関は低かった。

■ 口頭発表 (8)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

原因菌が分離されたヒスタミン食中毒の一事例

○山崎省吾、土井康平、右田雄二、高藤美和子、濱野敏一、吾郷昌信

【目的】 ヒスタミンは、即時型アレルギーの原因物質の一つであり、肥満細胞、好塩基球顆粒に存在し、アレルゲンの侵入により放出されアレルギーを惹起する。また、体内では経口摂取においても同様の作用を発現する。ヒスタミン食中毒の原因食材はすべて海産魚に由来する刺身あるいはその調理加工品であり、脱炭酸酵素 (Histidine decarboxylase: HDC) により分解されてヒスタミンが生成される。

通常、アレルギー様食中毒が疑われる時は、ヒスタミンの理化学的検出により食中毒事件は帰結するため、一般には細菌検査や生成菌の検出まで行われることは少ない。このため、ヒスタミン生成菌に関する知見は多いとはいえないのが実情である。

今回、原因食材にヒスタミン含有を認めたアレルギー様食中毒事例が発生し、さらにヒスタミン生成菌を分離したので報告する。

【材料および方法】 アレルギー様食中毒事例の原因食品として推定された魚肉練り製品“まさご揚げ”の魚肉のみの原料(魚肉原料)および加熱加工後の製品(製品)を検体とした。ヒスタミンを既報(食品衛生検査指針)に従い定量した。

ヒスタミン生成菌の分離は既報に従い、希釈攪拌した食品を 2.5% NaCl 添加ヒスチジンブロスで 25°C、48 時間増菌後、ヒスタミン産生能を濾紙クロマトグラフィー法にてスクリーニングした。菌は Niven's agar に塗抹培養後分離した。

PCR による検出は、既報を一部変更し、*hdc* 遺伝子の検出を行った。また、PCR 増幅後の産物は塩基配列を決定し、得られたアミノ酸配列を Blast 検索して同定した。

【結果】 平成 20 年 9 月 30 日に長崎県立保健所管内で、“まさご揚げ”を食べた保育所の園児 8 名がアレルギー様症状を呈し、うち一名が病院を受診した。園児および保育士等 35 名が原因食を喫食し、発症数は 8 名 (22.9%) であった。患者の男女構成比は男:女=1:1 で、年齢は 2 歳以下 3 名、4 歳以下 3 名および 6 歳以下 2 名であった。主な症状として、喫食後、約 30 分以内に蕁麻疹 (1 名) および発赤 (8 名) が認められた。

ヒスタミン量は、魚肉原料で 100 mg/100g、製品で 59 mg/100g であった。

ヒスタミン生成菌 (*hdc* 陽性菌) の分離および *hdc* 遺伝子を解析した結果、原料のヒスチジンブイオン増菌液の PCR スクリーニングで、*hdc* はいずれも陽性を示した。さらに、Niven's agar 上のヒスタミン生成菌を疑うコロ

ニーでも *hdc* 陽性菌が確認された。一方、製品から菌分離できなかった。得られた *hdc* のアミノ酸配列の Blast 検索の結果、*Photobacterium phosphoreum* (Accession No. BAE94284) と 94% の相同性を示した。

【考察】 製品におけるヒスタミン量の減少は、つなぎ等の添加物の付加によるものと考えられた。ヒスタミンは耐熱性であるため加熱工程を経ても、ヒスタミンの減少はほとんどなかったものと推察される。また、HDC のアミノ酸配列は、同種間においても多型が示されており、本分離株のヒスタミン生成能等について、さらに検討する予定である。

ヒスタミン食中毒の検査において、ヒスタミンを含む不揮発性アミン類の定量は「食品衛生検査指針」や「衛生試験法」に記載されているものの、その生成菌の分離に関して“公定法”は存在しない。生成菌の検索に今回、東京海洋大学で確立された方法を用いることによりヒスタミン生成菌が分離された。しかしながら、本方法を全て実施すると煩雑になるため、PCR 法を用いて簡便化した。PCR 法を用いた食品中の原因菌のスクリーニングは、通常の食中毒菌でよく用いられる方法であり、起因菌検索において導入しやすいものとする。

■ 口頭発表 (9)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

エンテロウイルスの高感度検出法に関する検討

○吾郷昌信、平野 学、山口顕徳、吉川 亮 長崎県環境保健研究センター

【目的】 夏かぜの代表的な原因ウイルスの一つであるヒトエンテロウイルス(HEVs)には 100 以上もの血清型が存在し、分離同定は中和試験により行われてきたが、煩雑で長時間を要する上に分離同定が困難な場合も少なくない。近年、RT-PCR で VP4 領域を増幅して塩基配列を解読することにより迅速に型別同定が行われるようになってきたが、比較的保存された領域のため同定できない場合も多い。最近、Nix らによって開発された Consensus-Degenerate Hybrid Oligonucleotide Primers (CODEHOP) を用いてエンテロウイルス間で多様性のある VP1 領域を増幅する CODEHOP RT-PCR 法が、より高率に HEVs の型別同定を可能にする方法として注目されている。本研究では、夏かぜにおける HEVs の侵淫状況を明らかにするために、臨床検体から CODEHOP RT-PCR 法を用いた HEVs 高感度検出法の有効性を確認すると共に、培養細胞を用いたウイルス分離・同定との比較検討を行った。

【材料と方法】 来院時、上気道炎症状を呈した患者より採取された咽頭ぬぐい液 216 検体を材料とした。ウイルス RNA を抽出後、Nix らの方法に準じて CODEHOP RT-PCR により VP1 領域を増幅した後、塩基配列を決定して型別同定した。ウイルス分離・同定は、HEp-2、RD-18S、Caco-2、Vero 細胞を用いて中和法により行った。

【結果】 使用した培養細胞では HEVs 49 株が分離され、49 株中 48 株は HEV B に属するウイルスで、HEV A に属するウイルスはコクサッキーウイルス A3 の 1 株のみであった。本法による HEVs の分離率は、22.7% であった。これに対して、CODEHOP VP1 RT-PCR 法による HEVs の検出、同定では、105 株が検出・同定され、陽性率は 48.6% と培養細胞法の 2 倍以上の高値を示した。同定された HEVs の 7 割以上は培養細胞で分離しにくい HEV A に属するウイルス(77 株)であった。

【考察】 CODEHOP RT-PCR 法は、従来法に比較して多検体処理への応用も可能で、高感度かつ比較的短時間に同定まで行える上に、HEV A に属するウイルスでも問題なく型別同定でき、同定後に使用する細胞を選択して目的のウイルスを分離することもできることなどから極めて有用な方法であるとする。

■ 口頭発表 (10)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

長崎県におけるイノシシの日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況

○吉川亮、山口顕徳、平野学、吾郷昌信 長崎県環境保健研究センター

【目的】

長崎県では、2000 年以降、イノシシの捕獲頭数が急増し、生息数・生息密度・生息範囲いずれも増加していることが推計されていることから、ヒトの生活圏とイノシシの生息域が近接・交差し、イノシシが保有もしくは媒介する病原体による Zoonosis が懸念されている。特に、イノシシはブタに近縁であることから日本脳炎ウイルス(JEV)の増幅動物としての可能性が示唆され、新たな日本脳炎の感染源として留意する必要がある。

そこで、長崎県におけるイノシシの JEV 感染状況を調査し、イノシシの JEV 増殖動物としての可能性について検討した。

【材料と方法】

2006 年 5 月から 2009 年 3 月の期間に長崎県内でブタの飼育地区の近隣で捕獲されたイノシシ 154 頭及びブタの非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシ 38 頭、合計 192 頭の血清を使用した。

JEV に対する抗体価(IgG・IgM)は、anti-JEV IgG indirect ELISA 及び anti-JEV IgM capture ELISA により測定した。

また、IgG 抗体の上昇が認められなかった血清は、JEV 遺伝子の検索並びに Vero 9013 細胞を用いてウイルス分離を行った。

【結果】

捕獲されたイノシシ 192 頭中 102 頭(53.1%)が抗 JEV IgG 陽性、16 頭(8.3%)が抗 JEV IgM 陽性であった。このうち、ブタの飼育地区近隣で捕獲されたイノシシでは 154 頭中 81 頭(52.6%)が抗 JEV IgG 陽性、16 頭(10.4%)が抗 JEV IgM 陽性であった。一方、ブタの非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシでは 38 頭中 21 頭(55.3%)が抗 JEV IgG 陽性を示したものの、抗 JEV IgM 陽性個体は確認されなかった。

また、IgG 抗体の上昇が認められなかったイノシシ 90 頭の血清から JEV 遺伝子の確認及び JEV の分離はできなかった。

【考察】

今回の調査では、イノシシの血清中から JEV を直接検出することはできなかった。

しかしながら、イノシシはブタの飼育状況に関係なく同程度の JEV 感染状況を示し、イノシシの生息域でも活発に JEV が活動していることが確認されたことから、増加傾向にあるイノシシが JEV の増幅動物となる可能性が示唆された。

■ 口頭発表 (11)

第 35 回九州衛生環境技術協議会 2009 年 10 月 8-9 日 大分市

環境マネジメントシステム エコアクション 21 への取組み

○森 淳子、荒木昌彦、赤木 聡、西村 昇 長崎県環境保健研究センター

【はじめに】平成 20 年 4 月、長崎県環境保健研究センター(以下「当センター」という)は、設置理念及び3つの基本方針並びに運営計画(平成 19~22 年度)の実現と併せ、自ら率先して環境に配慮する行動を継続的に実施していくためエコアクション 21(以下「EA21」という)への取り組みを決定した。ここでは、平成 21 年 3 月 13 日、財団法人地球環境戦略研究機関持続性センターから EA21 の認証・登録を受けるまでの取り組みの概要を紹介する。

【取組概要】取り組みにあたっては、EA21 地方公共団体向けマニュアル試行版及び EA21 大学等(教育・

研究機関)向けマニュアル試行版に従った取り組みを行った。また取り組みの結果については、「環境活動レポート」を作成し、公表することがEA21の特徴ともなっている。

【まとめ】当センターのEA21の認証・登録は長崎県で22番目、公共団体としては初めてとなった。九州全体では市の機関が2施設登録を果たしたのみで、県の機関としては初めてとなった。これを契機として、長崎県をはじめ九州各県においても公的機関の認証・登録が拡大することが期待されている。

EA21は、代表的な環境マネジメントシステムであるISO14001に比べ、国際的には有効性を持たないものの、一桁小さい費用で取り組むことができる。また、マニュアルや様式、審査基準がホームページ上に整備されており、大変取り組みやすいシステムとなっている。また結果を環境活動レポートとして公表することを義務付けているため、成果が確実に得られるという特徴を持っている。今後、県内中小企業、公共団体等に普及すれば、温暖化ガスの削減をはじめ、環境負荷の削減が確実に図れることが期待できる。

このようなことから、当センターにおいても、企業などを対象とした支援制度説明会において、資料の配布を行ったが、今後も機会を捉えて普及・啓発に努めたいと考えている。

■ 口頭発表 (12)

LEGIONELLA 2009 Paris October 2009.

Detection and quantification of viable Legionella cells from environmental water samples by combined use of ethidium monoazide and real-time PCR

Bin Chang¹, Toshitsugu Taguri², Kanji Sugiyama³, Junko Amemura-Maekawa¹, Fumiaki Kura¹ and Haruo Watanabe¹

1Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, 162-8640, Tokyo, Japan; 2Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Ikeda, 2-1306-11, 856-0026, Oomura City, Nagasaki, Japan; 3Department of Microbiology, Shizuoka Institute of Environment and Hygiene, 4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, 420-8637, Shizuoka City, Shizuoka, Japan

Legionellae are ubiquitous inhabitants of biofilms in aquatic environments and moist soil, replicating as intracellular parasites of protozoa. The bacteria widely exist in man-made water systems and cause legionellosis in humans. Because it takes 4-7 days to isolate Legionella organisms from environmental and clinical samples, we have worked on development and improvement of rapid detection methods in order to identify sources and routes of infections caused by Legionella at an early stage. In this study, ethidium monoazide (EMA) treatment was used together with real-time PCR targeting 16S or 5S rRNA genes for specific detection of DNA from viable Legionella cells. EMA could covalently link to the genomic DNA and inhibit PCR amplification of dead Legionella cells. Combined use of EMA and real-time PCR targeting 16S rRNA gene could specially and rapidly determine the number of viable cells in environmental samples. However, detection sensitivity of real-time PCR was low (,100 CFU/100 ml). In order to increase sensitivity, EMA treatment and real-time PCR targeting 5S rRNA gene (1 CFU/100 ml) was tried. As a result, the number of Legionella cells estimated by the combination of EMA treatment and real-time PCR targeting 5S rRNA gene was found to be larger than that determined by plating, suggesting that EMA treatment could not completely inhibit PCR amplification targeting 5S rRNA gene of DNA from dead cells. It may be attributed to the difference between the lengths of PCR fragments targeting 16S and 5S rRNA genes and/or between the effects of EMA binding to the DNAs of the two genes. In conclusion, combined use of EMA and real-time PCR targeting 16S rRNA gene is appropriate to specifically detect viable Legionella cells from environmental samples.

■ 口頭発表 (13)

LEGIONELLA 2009 Paris October 2009.

Using Flow Cytometry to Monitor the Risk of Legionellosis in Bath Water

Toshitsugu Taguri¹, Yasunori Oda², Kanji Sugiyama³, Shinji Izumiyama⁴ and Fumiaki Kura⁴

¹ Health Department, Nagasaki Prefectural Institute for ER and Public Health, 2-1306-11 Ikeda, Omura 856-0026, Japan, ² Sysmex Corporation, ³ Shizuoka Institute of Environment and Hygiene, ⁴ National Institute of Infectious Diseases

Maintaining clean water in public bathing facilities is necessary in order to prevent water borne diseases, and thereby protects the bathing facility industry's reputation for health and safety. It is for that reason that water quality is constantly checked for contaminants, and chlorine is added whenever levels of contamination exceed the guidelines established by local and national governments. In the case of Legionella, however, the effectiveness of chlorination is greatly reduced by the presence in the water of Fe²⁺, Mn²⁺, NH₃, skin debris and/or biofilms; and therefore it is necessary to add more chlorine whenever such presence occurs. In the present detection system, we use a flow cytometer to measure the total number of bacteria (both intact and degraded) within 2 minutes per sample by detecting typical patterns of light scattering and fluorescence (derived from DNA/RNA stained with BactQuick Dye), and thereby above a threshold of 3,000 of total bacteria consistently indicates the occurrence of Legionella in the bathing system tested. First, 4 bath waters of hot springs with inocula of 10 species of bacterial strains were fully chlorinated to provide the specific scattergram in FCM and their inactivation was assessed by using Live/Dead bacterial fluorescence assay and plate counting. Second, in a laboratory model of a hot tub, it was demonstrated that this specific criteria could monitor the growth curve of naturally-occurring heterotrophic bacteria with one and two days-delayed growth of Amoeba and Legionella, respectively, and also the killing curve of these bacteria by chlorination. Finally, "positive" or "negative" samples determined by the FCM criteria in samples from different 149 hot tubs were significantly correlated with positive or negative for Legionella in samples (detection limit, 10 CFU/100mL) with 95% sensitivity and 84% specificity. As a result, the FCM assay can be used for Legionella control at bathing facilities, especially those where the effectiveness of chlorine is reduced. ACKNOWLEDGEMENT This work was supported by grants from H19-20 Nagasaki Prefectural Specific Research Project and Health and Labour Sciences Research Grant (H19-kenki-015 to T. E.).

■ 口頭発表 (14)

第 57 回日本ウイルス学会学術集会 2009 年 10 月 25-27 日 東京

長崎県におけるイノシシの日本脳炎ウイルス感染状況

○吉川亮^{1,2}、井上真吾²、吾郷昌信^{1,2}、森田公一²

(¹長崎県環境保健研究センター、²長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野)

【目的と意義】長崎県では、2000 年以降、イノシシの捕獲頭数が急増し、生息数・生息密度・生息範囲いずれも増加していることが推計されていることから、ヒトの生活圏とイノシシの生息域が近接・交差し、イノシシが保有もしくは媒介する病原体による Zoonosis が懸念されている。特に、イノシシは豚に近縁であることから日

本脳炎ウイルス(JEV)の増幅動物としての可能性が示唆され、新たな日本脳炎の感染源として留意する必要がある。そこで、長崎県におけるイノシシの JEV 感染状況を調査し、イノシシの JEV 増殖動物としての可能性について検討した。

【材料と方法】 2006年5月から2009年3月の期間に長崎県内で豚の飼育地区の近隣で捕獲されたイノシシ 154頭及び豚の非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシ 38頭、合計 192頭の血清を使用した。JEV に対する抗体価(IgG・IgM)は、anti-JEV IgG indirect ELISA 及び anti-JEV IgM capture ELISA により測定した。IgG抗体の上昇が認められなかった血清は、JEV 遺伝子の検索並びに Vero 9013細胞を用いてウイルス分離を行った。

【結果】 捕獲されたイノシシ 192頭中 102頭(53.1%)が抗 JEV IgG 陽性、16頭(8.3%)が抗 JEV IgM 陽性であった。このうち、豚の飼育地区近隣で捕獲されたイノシシでは 154頭中 81頭(52.6%)が抗 JEV IgG 陽性、16頭(10.4%)が抗 JEV IgM 陽性であった。一方、豚の非飼育地区(離島)で捕獲されたイノシシでは 38頭中 21頭(55.3%)が抗 JEV IgG 陽性を示したものの、抗 JEV IgM 陽性個体は確認されなかった。また、IgG抗体の上昇が認められなかったイノシシ 90頭の血清から JEV 遺伝子の確認及び JEV の分離はできなかった。

【考察】 今回の調査では、イノシシの血清中から JEV を直接検出することはできなかった。しかしながら、イノシシは豚の飼育状況に関係なく同程度の JEV 感染状況を示し、イノシシの生息域でも活発に JEV が活動していることが確認されたことから、増加傾向にあるイノシシが JEV の増幅動物となる可能性が示唆された。

■ 口頭発表 (15)

第 57 回日本ウイルス学会学術集会 2009 年 10 月 25-27 日 東京

上気道炎患者由来検体からの高感度エンテロウイルス検出同定法

○吾郷昌信¹⁾²⁾、平野 学¹⁾、山口顕徳¹⁾、吉川 亮¹⁾²⁾、Umami Qifqiyar Nur³⁾、西村順裕³⁾、清水博之³⁾
長崎県環境保健研究センター¹⁾、長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野²⁾、国立感染症研究所ウイルス第二部³⁾

【目的と意義】 夏かぜの代表的な原因ウイルスの一つであるヒトエンテロウイルス(HEVs)には 100 以上もの血清型が存在し、分離同定は中和試験により行われてきたが、煩雑で長時間を要する上に分離同定が困難な場合も少なくない。近年、RT-PCR で VP4 領域を増幅して塩基配列を解読することにより迅速に型別同定が行われるようになってきたが、比較的保存された領域のため同定できない場合も多い。最近、Nix らによって開発された Consensus-Degenerate Hybrid Oligonucleotide Primers (CODEHOP)を用いてエンテロウイルス間で多様性のある VP1 領域を増幅する CODEHOP RT-PCR 法が、より高率に HEVs の型別同定を可能にする方法として注目されている。本研究では、夏かぜにおける HEVs の侵淫状況を明らかにするために、臨床検体から CODEHOP RT-PCR 法を用いた HEVs 高感度検出法の有効性を確認すると共に、培養細胞を用いたウイルス分離・同定との比較検討を行った。

【材料と方法】 来院時、上気道炎症状を呈した患者より採取された咽頭ぬぐい液 216 検体を材料とした。ウイルス RNA を抽出後、Nix らの方法に準じて CODEHOP RT-PCR により VP1 領域を増幅した後、塩基配列を決定して型別同定した。ウイルス分離・同定は、HEp-2、RD-18S、Caco-2、Vero 細胞を用いて中和法により行った。

【結果】 使用した培養細胞では HEVs 49 株が分離され、49 株中 48 株は HEV B に属するウイルスで、HEV A に属するウイルスはコクサッキーウイルス A3 の 1 株のみであった。本法による HEVs の分離率は、22.7%であった。これに対して、CODEHOP VP1 RT-PCR 法による HEVs の検出、同定では、105 株が検出・同定され、陽性率は 48.6%と培養細胞法の 2 倍以上の高値を示した。同定された HEVs の 7 割以上は培養細胞で分離しにくい HEV A に属するウイルス(77 株)であった。

【考察】 CODEHOP RT-PCR 法は、従来法に比較して多検体処理への応用も可能で、高感度かつ比較的短時間に同定まで行える上に、HEV A に属するウイルスでも問題なく型別同定でき、同定後に使用する細胞を選択して目的のウイルスを分離することもできることなどから極めて有用な方法であると考えられる。

■ 口頭発表 (16)

The 10th Joint International Symposium between Pukyong National University and Nagasaki University

2009. 29th. Oct. College of Fisheries Science, Pukyong National University, Busan, Korea

Distribution of *Vibrio vulnificus* in Coastal and Estuarine Water of Ariake Sea

Yuji Migita (Supervisor: Minoru Wada)

V. vulnificus causes the most lethal infection such as the necrotizing fasciitis or septic shock for humans with some underlying diseases, particularly the cirrhosis. *V. vulnificus* is a common inhabitant in estuarine environments, and infectious for humans through consumption of raw seafood or exposure of wounds to seawater. There have been many patients in coastal areas of Ariake Sea, Japan. This study intends to contribute to the infection prevention of *V. vulnificus*.

We investigated the distribution of free-living *V. vulnificus* at five stations in Ariake Sea and ten sampling points along the Funatsu River that flow into the sea from August 2004 through September 2008.

V. vulnificus increased in the seawater from June, reached a maximum number of 3.65 ± 0.80 Log MPN/100 ml in July, and decreased toward December while keeping the detectable levels. There was a clear tendency for *V. vulnificus* to become higher in number in waters of estuarine basin than in other sampling points of the Funatsu River. In contrast, despite a less-variable salinity range in offshore points (26.5 to 32.6 psu), there was a clear negative correlation between *V. vulnificus* counts and salinity ($r_s = -0.584, p < 0.001$).

These results demonstrated that estuary basin was a suitable habitat for *V. vulnificus* in Ariake Sea, and that salinity was a controlling factor for the bacterial population in the environments.

■ ポスター発表 (17)

2009 年度水産海洋学会研究発表大会 平成 21 年 11 月 19 日 長崎市

海底からの曝気による水塊の鉛直混合(夏季内湾における実験的研究)

○山口仁士、川井仁、粕谷智之、中村心一 (長崎県環境保健研究センター)

海底(水底)からの曝気は水塊の鉛直混合を誘起し、その影響範囲では溶存酸素濃度の上昇や成層破壊による水温や塩分の均一化が指摘されている。

ここでは夏季の高水温に脆弱なアコヤガイの養殖海区を対象に、海底に曝気管を敷設して曝気実験を行い、鉛直混合によるアコヤガイ養殖深度での水温低下が期待される結果を得たので報告する。

実験を行った対象海区は佐保浦(対馬市)とした。曝気管は先端の 15m に 2m 間隔の穴を開け、禁油の空気圧縮機で給気量(曝気量) $18L \cdot \text{min}^{-1}$ で給気した。鉛直混合を表層と底層の水温差で評価するために、水温計を表層と底層とで 30 分間隔で計測記録した。鉛直混合は

その結果、曝気期間中の表層と底層の水温差の平均は曝気停止期間中のそれよりも 0.2°C 程度小さかった。このことから曝気による鉛直混合は夏季高水温期の水温低下に効果があり、アコヤガイ生残に有効であ

ることが窺えた。

■ 口頭発表 (18)

2009 年度水産海洋学会研究発表大会 平成 21 年 11 月 19 日 長崎市

アコヤガイの殻体運動と摂餌活動との関係

○川井 仁、粕谷 智之、山口 仁士 長崎県環境保健研究センター研究部環境科

【目的】

アコヤガイの成長は主に餌料環境によって左右されるが、餌料密度が十分であっても摂餌活動が低下する可能性があることが指摘されている。この要因の一つとして溶存酸素(DO)濃度の低下が考えられるが、詳細な検討はなされていない。また、アコヤガイは生息環境が悪化すると異常な殻体運動(貝殻の開閉運動)を示すことが知られている。ここでは、DO 濃度低下に伴うアコヤガイの応答を把握することを目的として、DO 濃度とアコヤガイの摂餌活動と殻体運動の関係について検討した。

【材料と方法】

海水はグラスフィルターでろ過をした自然海水を用いた。殻体運動の計測は貝リングルを用いた。実験に供する餌は珪藻類 *Chaetoceros gracilis* を用いた。アコヤガイは形上湾(大村湾の支湾)で養殖されている二年貝を用いた。DO 濃度ならびに水温の計測は小型メモリーDO 計を用い、クロロフィル *a* 濃度の計測は小型メモリークロロフィル濁度計を用いて連続観測を行った。

4 基の実験水槽を用意し海水 10L を注水して、それぞれ DO 濃度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) を 0.5(水槽 A)、1.5(水槽 B)、3.6(水槽 C)、および、6.0(水槽 D) に設定した。DO 濃度の調整は水槽内へ空気と窒素を吹き込んで行った。水温は各水槽ともに 24.5°C に保った。計測開始時の餌料密度は各水槽ともに $10.0 \times 10^4 \text{cell}\cdot\text{mL}^{-1}$ (100%) とした。計測はアコヤガイ、DO 計およびクロロフィル濁度計を一括して水槽 A から D まで順次移動させながら行い、計測時間は各水槽ともに 1 時間とした。

【結果と考察】

DO 濃度 $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上の場合はクロロフィル *a* 濃度が時間経過とともに減少したことから、アコヤガイの摂餌活動は維持されていたことが示唆された。一方 DO 濃度が $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ の場合はクロロフィル *a* 濃度がほとんど減少しなかったことから、アコヤガイの摂餌活動が低下したことが示唆された。また、アコヤガイの摂餌活動と殻体運動の関係は DO 濃度が $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上の場合は殻体運動が少なくクロロフィル *a* 減少量(摂餌活動)は多かったが、DO 濃度が $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ の場合は殻体運動が多くなり、クロロフィル *a* 減少量(摂餌活動)は少なくなることが確認された。このことから、アコヤガイの摂餌活動と殻体運動とは密接な関係があることが示唆された。

■ ポスター発表 (19)

第 71 回九州山口薬学大会 平成 21 年 11 月 21-23 日 別府市

長崎県内で発生したヒスタミン食中毒の一事例

○土井康平、西川 徹、辻村和也、山之内公子、濱野敏一 長崎県環境保健研究センター

平成 20 年 9 月 30 日、長崎県対馬市において、すり身揚げを食べた保育所の児童 8 人が発赤、蕁麻疹等のアレルギー様症状を呈し、うち 1 人が病院を受診した。児童は喫食直後から次々に発症したが、数時間後には症状は消失し、回復に至った。発症までの時間が非常に短いこと、アレルギー様症状を呈していることか

ら、ヒスタミンが原因物質として疑われたため、検査を行った。

原因として疑われた試料中のヒスタミン含量は、すり身揚げが 590 mg/kg、原料が 1,000 mg/kg であった。すり身揚げと原料におけるヒスタミン含有量の差は、ヒスタミンが耐熱性という物性から、調理する過程で卵や野菜等の食材が添加されたためと考えられた。一般的にヒスタミンの中毒量は 500~1,000 mg/kg 以上とされている。今回、原料はもとより、すり身揚げでも中毒量を超えて検出された。以上のことから、当該食中毒の原因物質はヒスタミンと断定した。

■ 口頭発表 (20)

第 29 回日本微生物生態学会学術総会 2009 年 11 月 12-13 日 広島市

有明海河口域における *Vibrio vulnificus* の分布 Distribution of *Vibrio vulnificus* in the Estuarine Water of Ariake Sea

○右田 雄二¹⁾³⁾、山崎 省吾¹⁾、高藤 美和子¹⁾、西山 雅也²⁾、和田 実³⁾、吾郷 昌信¹⁾
長崎県環境研¹⁾、長大・環境²⁾、長大院・海洋³⁾

V. vulnificus は、特に肝硬変などの基礎疾患を有するヒトに壊死性筋膜炎や敗血症ショックなどの劇症型感染症を惹き起こす。本菌は河口域に広く生息し、魚介類の生食や創傷部の海水暴露を通してヒトに感染するが、有明海沿岸は全国的に患者の発生が多い。我々は有明海沿岸域における本菌の感染症予防へ貢献することを目指し、2004 年 8 月から 2008 年 9 月にわたり、有明海沿岸の 5 地点と河川から沖合にかけての 1 流域内 10 地点において *V. vulnificus* の分布を調査した。有明海沿岸の海水中では *V. vulnificus* は 6 月から増加し、7 月に最高値 3.65 ± 0.80 Log MPN/100 ml に達し、12 月まで減少傾向を示しながらも常に検出された。河川から沖合においては、感潮域の菌数が沿岸海水中よりも高くなる傾向がみられた。感潮域の塩分は 0.5~31.7 psu を示し、*V. vulnificus* は高検出率(69%)および高菌数(最高値: 3.66 Log MPN/100 ml)であったが、菌数と塩分の相関は認められなかった。一方、沿岸域の塩分は 26.5~32.6 psu を示し、菌数と塩分の間に負の相関($r_s = -0.584$, $p < .001$)が認められた。以上の結果より、感潮域の完全な淡水あるいは海水とならない塩分の変動が、*V. vulnificus* に好適な生息場を提供する重要な因子の一つとなっていることが分かった。

■ 口頭発表 (21)

平成 21 年度生産科学研究科 (博士後期課程) 公開論文発表会 平成 22 年 1 月 25 日 長崎大学

液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いたアルギン酸オリゴマーの高感度定量法の確立及びその経口投与後のマウス及びマハタにおける体内動態解析

○西川 徹 (長崎県環境保健研究センター)

【背景・目的】アルギン酸オリゴマー (以下、「AOs」) については多くの生理活性が報告されているが、AOs を高感度で定量する分析法や、経口投与における消化管吸収を *in vivo* で確認している報告はほとんどない。しかしながら、健康食品や飼料の開発という研究の出口を考えた場合、高感度分析法や、経口投与で消化管から吸収されるかどうかの知見は重要である。そこで筆者は液体クロマトグラフ-タンデム質量分析器 (LC-MS/MS) を用いた分析法を確立し、マウスとマハタにおける AOs の体内動態に関する知見の集積を試みた。さらに養殖が困難とされているマハタを用い、アルギン酸オリゴマーの生理活性について、基礎的知見

の集積を試みた。

【方法・結果】LC-MS/MS を用いた分析により、ポジティブイオン化で生成するアンモニウムイオン付加体 ($[M+NH_4]^+$) をプレカーサーイオンとし、さらに生成するフラグメントイオンから、3量体をターゲットとした MRM (m/z 546 \rightarrow 141) を設定することで AOs の検出が可能であった。そのピーク面積比より AOs の濃度を算出した。検出感度は $0.05 \mu\text{g/ml}$ であった。分離について、第4級アンモニウムイオンを付加させた弱陰イオン交換樹脂に、移動相を 100 mM ギ酸アンモニウム溶液にすることにより、オリゴマー中の2量体～4量体を分離することが可能であった。

AOs をマウスへ経口投与後の消化管吸収をみたところ、投与量に比べれば少量ではあるが、少なくとも2量体～4量体の AOs 血中に移行しているということが確認された。単回経口投与後の経時変化をみたところ、AOs の一部は投与後直ぐに消化管より吸収され、それから速やかに尿細管からの再吸収なしに尿中排泄されることが示唆された。

AOs 混合飼料の給餌が中枢性神経壊死症に及ぼす影響を調べたところ、外海に放流して 30 日を過ぎたあたりから生存率に差が付き、60 日後にはコントロール飼料給餌グループの生存率がそれぞれ 21%、5% AOs 混合飼料給餌グループの生存率が 54% であった。AOs をマハタへ単回腹腔内投与し、血漿中サイトカインについて調べたところ、5% AOs 混合飼料給餌グループのマハタ血漿から TNF- α などのサイトカイン類が検出された。このことから AOs がマハタに対して免疫賦活作用を示すことが示唆された。

■ 口頭発表 (22)

平成 21 年度生産科学研究科 (博士後期課程) 公開論文発表会 平成 22 年 1 月 25 日 長崎大学

低分子化アルギン酸オリゴマーの多様な生物活性に関する研究

○横瀬健 (長崎県環境保健研究センター)

アルギン酸は、食品の増粘剤、医薬品、化粧品、歯科材料などの分野で多岐にわたって利用されている。近年、アルギン酸を分解したオリゴマーが幅広い生物種に対して様々な生物活性を発現することが報告されており、機能性オリゴ糖として種々の産業への利用が期待されている。今回我々は、アルギン酸オリゴマーの様々な生物活性を解析した。その結果、種々の動物細胞株及び腫瘍に対し、アルギン酸オリゴマー添加の顕著な影響は認められなかった。一方、アルギン酸オリゴマー高濃度添加条件下において、養殖産業で非常に有用な植物プランクトンである珪藻 *Chaetoceros gracilis*、及びその他の珪藻である *Skeletonema* sp. の増殖が顕著に抑制された。興味深いことに、低濃度添加条件下において、*C. gracilis* の増殖は促進されたが、*Skeletonema* sp. の増殖は抑制された。アルギン酸オリゴマー添加により増殖促進された *C. gracilis* の栄養価は対照区とほぼ同程度であり、高い飼料価値をもつことがわかった。これらの結果より、アルギン酸オリゴマーは哺乳類動物細胞に対し、顕著な細胞毒性を示さず、*in vivo* での明確な抗腫瘍効果も示さなかった。しかしながら、種苗生産において有用な、*C. gracilis* の増殖を特異的に促進し、種苗生産における培養技術の安定化に有用である事がわかった。

■ 口頭発表 (23)

大気環境学会九州支部 第 10 回研究発表会 2010 年 1 月 26 日 福岡市

平成 21 年 10 月に長崎で観測された黄砂について

○古賀康裕 (長崎県環境保健研究センター)

大気環境問題の一つである黄砂は、春期に飛来することが広く知られている。しかし、まれにではあるが秋期や冬期にも観測されることがあり、平成 21 年 10 月 19 日には長崎を含む 6 地点で黄砂が観測された。また、翌 20 日には那覇等の沖縄県内 3 地点、21,22 日には山陰地方の 2 地点において黄砂が観測されている。長崎において 10 月に黄砂が観測されるのは昭和 47 年 10 月 30 日以来 37 年ぶりであり、全国でも平成 4 年に那覇で観測されて以来 17 年ぶりであった。平成 21 年 10 月に観測された黄砂について、平成 20 年及び 21 年の 2 年間の他の黄砂事例との比較解析を行ったところ、他の 4 事例においては黄砂単独で飛来している事例もあったが、平成 21 年 10 月に観測された黄砂現象では、汚染物質と共に黄砂が飛来してきていたことが示唆された。秋期に黄砂が飛来した要因としては、発生地乾燥と黄砂等が飛来しやすい西高東低の気圧配置が挙げられる。

■ 口頭発表 (24)

山口大学獣医連合大学院学位論文公開発表会 2010 年 2 月 3 日 鹿児島大学

長崎県における食品媒介感染症起因菌、 特に *Vibrio vulnificus* および *Salmonella* Enteritidis の疫学に関する研究

○山崎省吾 (長崎県環境保健研究センター)

わが国において、2,000 年以降に細菌性食中毒(食品媒介感染症)の患者数は、減少傾向にある。長崎県でも同様に細菌性食品媒介感染症の減少が認められるが、近年 *Vibrio vulnificus*(*V. vulnificus*)感染症と非定型的性状を示す *Salmonella* Enteritidis (*S. Enteritidis*)感染症の発生事例が注目されるようになった。そこで本研究では、起因菌である *V. vulnificus* および *S. Enteritidis* の疫学的背景を解明することを目的とした。第 1 章では長崎県沿岸における *V. vulnificus* の生息について、第 2 章では長崎県内で発生した非定型的性状を示す *S. Enteritidis* の地理的背景について調査した。

Vibrio vulnificus は、食品媒介感染症の起因菌の一つである腸炎ビブリオ(*Vibrio parahaemolyticus*)と同属の海洋性細菌であるが、腸炎ビブリオとは異なり、胃腸炎型の症状を示さず、魚介類の生食による経口および海水の暴露による創傷感染により原発性敗血症を引き起こす。わが国において、*V. vulnificus* は九州の熊本県、福岡県、佐賀県および長崎県の有明海沿岸 4 県に患者が集中して発生している。そこで有明海沿岸の海水中および魚介類の *V. vulnificus* の生息状況を調査した。

調査は、長崎県沿岸の漁港 7 地点(有明海 5 地点、橘湾 2 地点)における海水中の *V. vulnificus* 菌数を Most probable number (MPN)-PCR 法を用いて測定した。さらに、その菌数の増減に及ぼす各種環境因子(水温、塩分濃度、DO、COD、総窒素量、総リン量、クロロフィル a 量)の影響を海域性および季節性を加えながら、統計学的に解析し検討した。

V. vulnificus 菌数は、有明海では 6 月から菌数上昇傾向を示し、7 月に最高値($4.50 \times 10^4 \pm 17.1 \text{MPN}/100\text{ml}$)となり、橘湾では 8 月に最高値を示した。両海域での *V. vulnificus* 菌数は、水温($r_s=0.711$)および塩分濃度($r_s=-0.712$)との間に高い相関を認めた。また DO、総窒素量およびクロロフィル a 量と *V. vulnificus* 菌数の間には、単回帰分析($P > 0.1$)で低度の寄与率が認められた。*V. vulnificus* は、有明海産魚介類からの分離率が橘湾のそれらよりも高く、二枚貝で 90%および魚類で 94.1%を示し、その菌数の最高値は $10^6 \text{MPN}/100\text{g}$ であった。

これらの成績は、有明海の環境が魚介類に反映された結果であろうと推察された。

一方、長崎県内でも全国の発生傾向と同様に患者の減少傾向が見られている *S. Enteritidis* 感染症において、2000 年以降に分離される菌株の中で、リジン脱炭酸試験(LDC)が陰性の性状を示す *S. Enteritidis* 株が増加した。そこで、LDC 陰性株の発生前である 1992 年から 2005 年に長崎県内で分離された *S. Enteritidis* 株について、LDC 能、薬剤感受性、ファージ型(PT)および遺伝子(PFGE)型別によるクラスター解析により

LDC 陰性株の発生年の変化について調査した。さらに、同時期に本州でも LDC 陰性株の散発が報告されていることから、長崎県内由来株および本州由来株の地理的背景について検討した。

LDC 陰性株は、供試 120 菌株中 18 株検出され、そのうち 15 株がストレプトマイシン耐性であった。PT 型別においては PT1 型 (31 株) および PT4 型 (33 株) が優位を占めた。PFGE 型別では、5 つのクラスター A~E に分類され、LDC 陰性 3 株はクラスター A に、残りの LDC 陰性 15 株は全てクラスター E に属した。クラスター A に属した LDC 陰性 3 株は 2000 年および 2003 年に分離された PT4 型であり、本州由来株である Fukuoka 101 株 (福岡県内で分離、本州旅行者由来株) : (PT4 型) および Okayama S-HC359 株 (岡山県内の食中毒事例) : (PT14b 型) と同一泳動パターンを示した。一方、クラスター E に属した LDC 陰性 15 株は、PT1 型が 5 株、RDNC (Reacted but did not conform) が 7 株及び型別不明 3 株であり、県外で分離された LDC 陰性株とは異なる PFGE パターンを示した。長崎県においては、クラスター E に属す LDC 陰性株は 2001 年以降に分離された。

したがって、2001 年以降に長崎県内で分離された LDC 陰性株は県外由来株とは異なり長崎県内でのみ分離される菌群であることが示唆される。

本研究で、長崎県に特有な *V. vulnificus* および LDC 陰性 *S. Enteritidis* の疫学的背景の一部が解明された。両疾病の予防・対策にはさらに解明されなければならない部分も多く残されている。

■ 口頭発表 (25)

**長崎大学グローバル COE プログラム「放射線健康リスク制御国際戦略拠点」第 5 回研究課題報告会
平成 22 年 3 月 11 日 長崎市**

チェルノブイリ、セミパラチンスク及び長崎における放射線被ばくリスクについて

○平良文亨^{1), 2)}

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科¹⁾、長崎県環境保健研究センター²⁾

要 旨

1986 年 4 月に発生したチェルノブイリ原子力発電所の事故、1989 年までに 450 回以上の核実験を実施してきたセミパラチンスク核実験場の閉鎖から 20 年以上が経過したが、環境中の放射能レベルは経時的に減少しているが、フォールアウト核種の中には長半減期核種であるセシウム 137 (¹³⁷Cs、約 30 年) 等が含まれており、それらの慢性的な被ばくによる健康影響が懸念される。そこで、チェルノブイリ周辺地域、セミパラチンスク核実験場周辺及び 60 年以上前に原爆被ばくを経験した長崎における食物摂取による内部被ばく評価と環境中の放射能レベルの現状把握のために、キノコ類 (内部被ばく)、土壌 (外部被ばく) 及び石の核種分析等を実施した。チェルノブイリ周辺地域のキノコ類は、長崎の 2~3 桁大きいレベルの ¹³⁷Cs が検出され、チェルノブイリ原子力発電所に近接する地域ほど高値を示した。内部被ばくの実効線量はコロステン及びゴメリでそれぞれ年間 0.18 ミリシーベルト (mSv) 及び 0.17mSv であり、公衆の年間被ばく線量限度である 1mSv (ICRP1991) の約 6 分の 1 で、胸部レントゲン写真 (エックス線) 1 回当たりの被ばくと同程度であった。土壌では、キノコ類と同様の傾向がみられた。一方、セミパラチンスクでは市内で採取したキノコ類の放射能レベルは、長崎とほぼ同程度で実効線量は低値を示したが、核実験場敷地内の石からは、¹³⁷Cs 等 4 種類の人工放射性核種が検出され、チェルノブイリ原子力発電所近傍及びセミパラチンスク核実験場では、人工放射性核種が大量に放出された当時に比べ低レベルであるものの、現在も複数の人工放射性核種が環境中に存在し、放射線被ばくリスクが賦存していることが示唆された。

■ ポスター発表 (26)

第 47 回長崎県総合公衆衛生研究会 平成 22 年 3 月 12 日 長崎市

長崎県の実産生物を指標とした放射線被ばくのリスク評価

○平良文亨^{1), 2)}、古賀康裕¹⁾、山口仁士¹⁾、西村昇¹⁾、林田直美²⁾、高村昇²⁾
長崎県環境保健研究センター¹⁾、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科²⁾

要 旨

放射性核種は大陸起源のエアロゾルや土壌粒子に起因した物質輸送が考えられ、長崎県内における調査結果から放射性核種が気流の影響を受け大気環境に依存した挙動を示すことがわかっている。2009 年 11 月、九州電力(株)玄海原子力発電所 3 号機(佐賀県玄海町)では、国内初の MOX 燃料によるプルサーマル発電が実施され、近接する松浦市鷹島町では住民の安全・安心を担保する対策が切望されている。しかし、人体への放射線リスク評価を行うためには、環境中の人工放射性核種の同定が不可欠であり、そのための基礎データの蓄積が必要であることから、環境中の蓄積メカニズムや人体への影響評価を目的に、海産生物(長崎市、松浦市及び五島市)を指標とした核種分析等を実施した結果、魚種及び産地に関わらず各年度におけるセシウム ^{137}Cs 等の濃度に大きな差はなかった。また、預託実効線量を算出した結果、いずれも公衆被ばくの年間線量限度である 1mSv を大きく下回る数値を示した。さらに、海産生物における ^{137}Cs の蓄積メカニズムを調査するために、トラフグを指標として部位別(可食部、皮、骨及び内臓)の核種分析を実施した結果、可食部に ^{137}Cs が蓄積される傾向にあることがわかった。以上から、長崎県内におけるフォールアウト核種の分布及び蓄積状況を把握するためには、海産生物を指標とした核種分析が有効であることが確認された。特にトラフグに着目した結果、可食部に ^{137}Cs が蓄積される傾向にあり、採取地域の海水中の ^{137}Cs レベルの約 30 倍であった。このことから、海水を介してトラフグ等の海産生物に取り込まれた ^{137}Cs は、その後生体内に蓄積されることが示唆される。

■ 口頭発表 (27)

2010 年度日本海洋学会春季大会 平成 22 年 3 月 26-30 日 東京海洋大学

長崎県大村湾における底生水産生物浮遊幼生出現密度の変動要因

○粕谷智之、川井仁、山口仁士(長崎県環境研セ)、中田英昭(長大水産)、高橋鉄哉(東大海洋研)

要 旨

長崎県大村湾の環境改善に向けた取り組みの一環として、2007 年から 2008 年にかけて底生水産生物浮遊幼生の定量を行った。調査の結果、アサリ、タイラギなどの浮遊幼生が採集された。2008 年の幼生出現量は 2007 年と比較して激減した。浮遊幼生(特にタイラギ)の減少は湾口域よりも湾奥域で顕著であった。湾奥域では 2007 年 9 月に発生した大規模な青潮により魚介類が斃死したことから、親個体群の激減が幼生出現量の減少につながった可能性がある。2008 年の観測ではタイラギ浮遊幼生は 9 月になってようやく湾奥域から採集された。同種幼生は 2007 年、2008 年ともに湾口域周辺から採集されていることから、湾口域の親個体群が湾奥域への幼生の供給源となっている可能性がある。

■ 口頭発表 (28)

日本農芸化学会 2010 年度大会 平成 22 年 3 月 27-30 日 東京大学

マハタへの経口投与におけるアルギン酸オリゴマーの消化管吸収

○西川 徹^{1, 2}、横瀬 健^{1, 2}、宮木廉夫³、門村和志³、築山陽介³、山口健一²、小田達也²
(¹長崎県環境保健研究センター、²長崎大学生産科学研究科、³長崎県総合水産試験場)

【背景・目的】アルギン酸オリゴマーについては多くの生理活性が報告されているが、魚類において、経口投与後の消化管からの吸収性に関する知見は報告されていない。本研究ではアルギン酸オリゴマー分析法を検討し、VNN による大量へい死のため養殖が困難とされているマハタを用い、アルギン酸オリゴマーの消化管吸収を調べた。

【方法・結果】液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いた分析により、マハタ血漿中アルギン酸オリゴマーの検出が可能であった。重量濃度 5%及び 10%となるようにアルギン酸オリゴマーを添加した試料をマハタへ単回給餌させたところ、給餌して 6 時間後のマハタ血漿中からアルギン酸オリゴマーが検出された。アルギン酸オリゴマーの三量体のピークを基準ピークとして検量線を作成し、濃度を定量したところ、その濃度はそれぞれ 6.5 $\mu\text{g/mL}$ 及び 7.9 $\mu\text{g/mL}$ であった。これらの結果から、アルギン酸オリゴマーのマハタにおける消化管吸収が確認された。

■ 口頭発表 (29)

日本農芸化学会 2010 年度大会 平成 22 年 3 月 27-30 日 東京大学

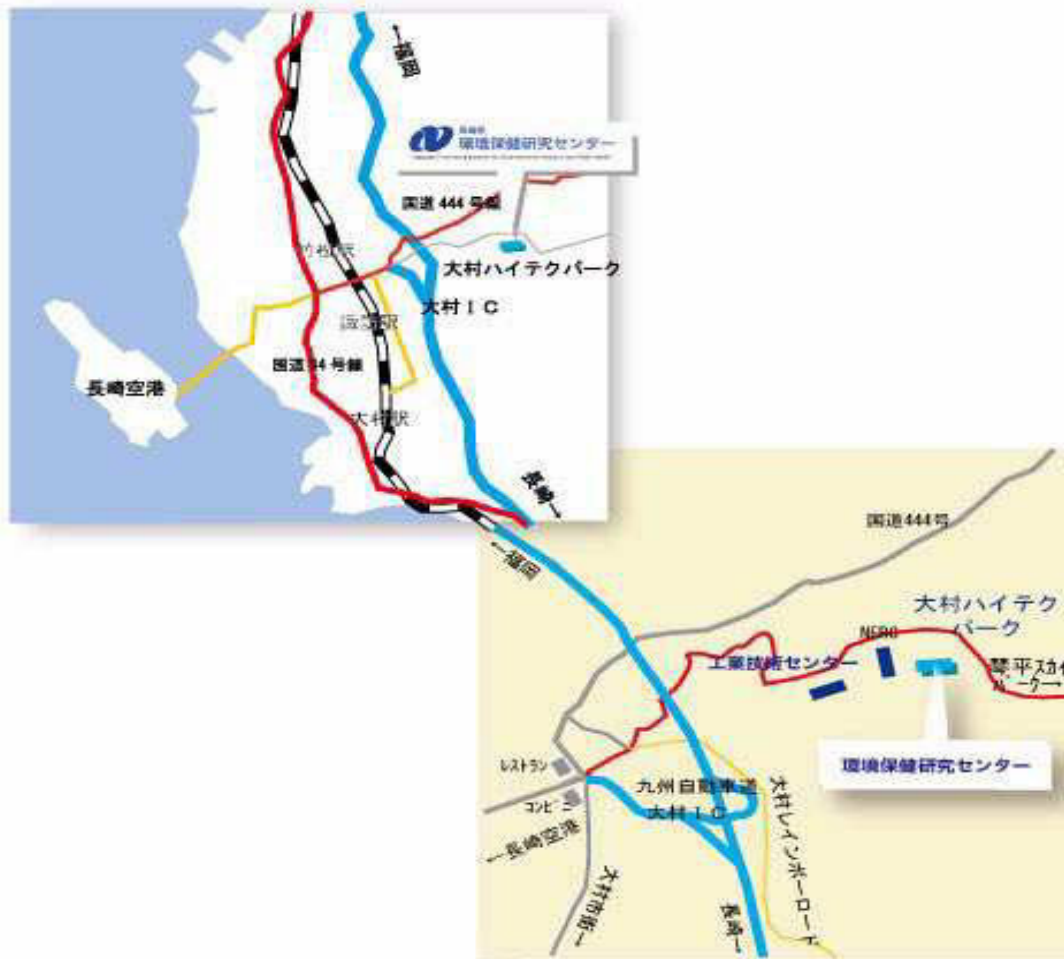
低分子化アルギン酸オリゴマーの哺乳類培養細胞、及び単細胞植物プランクトンの増殖に対する影響

○横瀬健^{1, 2}、山崎康裕³、西川徹^{1, 2}、姜澤東²、山口健一^{2, 3}、小田達也^{2, 3}

¹長崎県環境保健研究センター、²長崎大学大学院生産科学研究科、³長崎大学水産学部

アルギン酸オリゴマーが哺乳類培養細胞および単細胞植物プランクトンの増殖に与える影響を調べるため、酵素処理で調整したアルギン酸オリゴマーを種々の動物細胞株、及び植物プランクトンに添加し、その増殖に与える影響を調べた。種々の動物細胞株に対してアルギン酸オリゴマー添加の顕著な影響は認められなかった。一方、アルギン酸オリゴマー高濃度添加条件下において、養殖産業で非常に有用な植物プランクトンである珪藻 *Chaetoceros gracilis*、及びその他の珪藻である *Skeletonema* sp. の増殖が顕著に抑制された。興味深いことに、低濃度添加条件下において、*C. gracilis* の増殖は促進されたが、*Skeletonema* sp. の増殖は抑制された。これらの結果より、植物プランクトンの種、及びアルギン酸オリゴマー濃度の組み合わせにより、選択的に増殖促進、抑制効果をコントロールすることで、今後、種苗生産への応用が期待できると思われる。

【環境保健研究センター案内図】



〒856-0026 長崎県大村市池田2丁目1306番地11

TEL 0957-48-7560 FAX 0957-48-7570

E-Mail: s26210@pref.nagasaki.lg.jp

URL: <http://www.pref.nagasaki.jp/kanhoken/>

■業務時間

9:00～17:45 ※休業日/土・日・祝日 年末年始(12月29日～1月3日)

■アクセス

長崎自動車道「大村IC」より車で3分

JR大村線大村駅からバスで約20分(1日朝夕2便)、タクシーで約10分

長崎空港からタクシーで約15分

編集委員

委員長	山口 仁 士 (研究部)	委員	濱 野 敏 一 (環境科)
委員	山之内 公 子 (生活化学科)	委員	吾 郷 昌 信 (保健科)
委員	石 崎 修 造 (企画情報課)	委員	高 田 満 生 (総務課)

長崎県環境保健研究センター所報 (平成21年度業務概要・業績集)

平成22年10月 発行

編集・発行 長崎県環境保健研究センター

(再生紙使用)