

# Ⅲ 調査研究

## 1. 報文

- 1) 福井県の紅斑熱発生に係るベクターと病原リケッチアの調査  
石畝 史・藤田博己・山崎史子・永田暁洋・矢野泰弘・高田伸弘
- 2) 福井県内の小児および高齢者におけるヒトメタニューモウイルスとRSウイルスの流行状況  
中村雅子・東方美保・川畑光政・浅田恒夫
- 3) 環境水中のダイオキシン類とヘキサクロロベンゼンとの同時分析法に関する検討  
熊谷宏之・三木崇
- 4) 短期間降水量が産業廃棄物最終処分場の浸出水水質に及ぼす影響  
田中宏和・森陰早也香・長谷川耕治・吉田耕一郎
- 5) ヨシ群落を利用した湖沼の水質改善とヨシ等の有効利用技術（バイオマスエタノール等）に関する研究（第1報）  
南部浩孝・加藤賢二・石田敏一

## 2. ノート

- 1) パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収検討（第1報）  
東方美保・川畑光政・斎藤博之・田中智之・武田直和
- 2) 微生物分解による汚泥・土壌のダイオキシン類低減化に関する研究（第1報）  
三木 崇・熊谷宏之
- 3) 水生昆虫等による魚類へい死事故調査について（第2報）  
吉田耕一郎・長谷川耕治・森陰早也香
- 4) 県内4地点における酸性降下物調査結果について - 酸性降下物環境影響解明研究事業 -  
落井 勅・植山洋一
- 5) 敦賀地域植物環境調査結果について  
落井 勅・植山洋一・谷口 道

## 3. 資料

- 1) 福井県における悪性新生物（がん）による死亡の地域特性  
市川宏枝・斉藤みゆき
- 2) 2008年度感染症流行予測調査結果 ～ジフテリア・百日咳・破傷風～  
山崎史子・永田暁洋・石畝 史・浅田恒夫
- 3) 腸管出血性大腸菌（EHEC）O157による集団食中毒事例  
永田暁洋・山崎史子・石畝 史・浅田恒夫

4) 2008/09シーズンの福井県のインフルエンザ

中村雅子・東方美保・川畑光政・浅田恒夫

5) 海岸漂着ポリタンク内容液の性状分析

田中宏和

6) 不法埋立廃棄物の性状分析事例

森陰早也香・田中宏和・長谷川耕治・吉田耕一郎・坊 栄二

7) 活性炭吸着-GC/MS-による環境水や洗剤中の1, 4-ジオキサン分析の検討

小川綾子・松井利夫

## 福井県の紅斑熱発生に係るベクターと病原リケッチアの調査

石畝 史・藤田博己\*1・山崎史子・永田暁洋・矢野泰弘\*2・高田伸弘\*2

Survey of vectors and pathogens associated with spotted fever cases in Fukui Prefecture, Japan

Fubito ISHIGURO, Hiromi FUJITA\*1, Fumiko YAMAZAKI, Akihiro NAGATA,  
Yasuhiro YANO\*2, Nobuhiro TAKADA\*2

平成 15 年～20 年に、福井県の紅斑熱発生地区を含む各地山系で得られたマダニにつき紅斑熱群リケッチアの保有状況を調査した。4 属 11 種計 473 個体のうち、生菌分離できたのは、経ヶ岳、冠山および百里ヶ岳のヒトツトゲマダニから *Rickettsia helvetica*、また刈込池のヤマトマダニから *Rickettsia asiatica*、さらに野坂岳および百里ヶ岳のフタトゲチマダニから *R. sp. Lon type* で、各々はそのマダニ種に固有の菌種であった。このうち、福井県の紅斑熱感染の病原とされる *R. helvetica* 保有のヒトツトゲマダニ、また病原性が言われる *R. asiatica* 保有のヤマトマダニの広い分布は注意を要する。

## 1. はじめに

平成 16 年 7 月に、国内ひいては東アジアで初めての *Rickettsia helvetica* 感染が強く示唆される紅斑熱群の症例が、福井県において確認された<sup>1)2)</sup>。そこで我々は、患者が登山した福井県大野市の荒島岳地区において、媒介マダニ種と紅斑熱群リケッチア (spotted fever group rickettsiae: SFGR) の種を確定するため、平成 17 年から 18 年にかけてマダニの SFGR 保有状況を調査した。その結果、ヒトツトゲマダニ *Ixodes monospinosus* からのみ SFGR を生菌分離でき、その SFGR が *R. helvetica* と同定されたことから、このマダニが最も有力な媒介者であると推論するに至った<sup>3)</sup>。そうなれば、さらに登山者を啓発するための疫学情報を得る必要があると思われたため、県内の広い範囲の山間部において、マダニの SFGR 保有状況を調査することとした。

## 2. 材料および方法

## 2. 1 材料

## 2. 1. 1 調査期間および調査地域

調査期間は平成 15 年 5 月～9 月、17 年 6 月、18 年 5 月、19 年および 20 年の 6～7 月、調査地域は福井県越前地方の国見岳、浄法寺山、部子山、冠山、高倉峠、奥越地方の取立山、赤兎山、経ヶ岳、刈込池、および若狭地方の野坂岳、雲谷山、百里ヶ岳、小浜市郊外の計 13 ヶ所で延べ 20 回実施した。調査地域の標高は小浜市郊外の標高 30～50m を除いて、全体では約 300～1,600m の範囲である。なお、患者発生前年(平成 15 年)の調査資料も併せて記載する。

## 2. 1. 2 材料

フランネル法により植生上から採集したマダニ 473 個体を病原体解析に用いた。生菌分離にはすべての個体を用い、PCR によるマダニからの SFGR 直接検出では 147 個体を供試した。

## 2. 2 方法

## 2. 2. 1 マダニからの SFGR 生菌分離

マダニからの SFGR の分離方法は、既報<sup>4)</sup>のとおり実施した。マダニ表面を 0.01% イソジン加 70% エタノールで消毒後、1% 牛胎児血清加 0.01M PBS (pH7.2) で 5 分間洗浄した。その後、SPG (sucrose phosphate glutamate) で乳剤とした各内臓を L929 細胞で培養し、2～4 週間観察した。SFGR の増殖をみた培養細胞は凍結保存した。

## 2. 2. 2 生菌分離した SFGR 株からの DNA 抽出

凍結した SFGR 陽性細胞を解凍後、4℃で 15,000rpm10 分間遠心分離し、その沈渣を PBS で 2 回 (4℃で 15,000rpm10 分間) 洗浄を行った。次に、沈渣に滅菌蒸留水を加え、100℃10 分間煮沸後、15,000rpm10 分間遠心し、その上清を抽出 DNA として PCR に用いた。

## 2. 2. 3 マダニから DNA の直接抽出

生菌分離に供した後で凍結保存されたマダニ残骸を材料に、QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて抽出した。

## 2. 2. 4 抽出された SFGR の DNA について PCR

生菌分離株およびマダニから直接抽出された DNA を試料に、既報のとおり<sup>5)</sup> *Rickettsia prowazekii* クエン酸合成酵素遺伝子 (*gltA*) 由来の常用プライマーにて、First PCR および Second PCR を行った。すなわち、プライマーは First PCR では RpCS.780p+RpCS.1258n、Second PCR では RpCS.877p+RpCS.1258n をそれぞれ用いた。Second PCR 後、3% アガロースゲルで電気泳動後、ethidium bromide で染色後、382bp の DAN band を確認した。

## 2. 2. 5 PCR 産物からの DNA 精製

PCR 産物からの DNA の精製は、既報のとおり<sup>5)</sup> 実施した。まず、2.2.4 で非特異的な band が確認されなかった試料は、MiniElute PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて DNA を精製した。非特異的な band が確認された試料は PCR 産物を 4% アガロースゲルで電気泳動を行い、染色後紫外線を照射下で、DNA band を切り取った。その後、MiniElute Gel Extracrion Kit (QIAGEN) を用いて DNA を精製した。

\*1 大原総合病院附属大原研究所 \*2 福井大学・医学部

精製後の DNA はどちらもその 1 $\mu$ L を、アガロースゲルで電気泳動し、DNA の濃度を確認した。

### 2. 2. 6 シークエンスによる同定

精製後の DNA のシークエンス反応は、RpCS. 877p + RpCS. 1258n のプライマーと sequencing kit (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit and GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems, USA) を用いて行った。すなわち、反応液は 3.2pmol のプライマー、3~3.5 $\mu$ L (10~20ng) のテンプレート DNA、8 $\mu$ L の terminator ready reaction mix に最終容量が 20 $\mu$ L になるように滅菌蒸留水を加え調整した。サイクルシークエンスは、96 $^{\circ}$ C 5 秒、50 $^{\circ}$ C 5 秒および 60 $^{\circ}$ C 4 分を 25 回行った。

その後、反応液中の不要な蛍光物質を除去するためにスピнкаラム (DyeEx 2.0 Spin kit, QIAGEN) に通過させた後で乾燥させ、ホルムアミドおよび Blue dextran-EDTA で溶解後、ABI PRSM 377 DNA Sequencing System (Applied Biosystems) でシークエンスを行った。シークエンス後のデータは、multisequence alignment program in version 3.1.1 of the Sequencher (Gene Codes Corporation, USA) を用いて塩基配列を調べ、DNA data bank database (DDBJ) の標準株との相同性を調べることにより、SFGR の同定を行った。

マダニ相は表 1 のとおり地域により異なるものの、植生上から得られた総計では、ヒトツトゲマダニ 14 個体、ヤマトマダニ *Ixodes ovatus* 138 個体、シュルツェマダニ *Ixodes persulcatus* 45 個体、タネガタマダニ *Ixodes nipponensis* 1 個体、キチマダニ *Haemaphysalis flava* 112 個体、ヤマトチマダニ *Haemaphysalis japonica* 15 個体、ヒゲナガチマダニ *Haemaphysalis kitaokai* 6 個体、フタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* 70 個体、オオトゲチマダニ *Haemaphysalis megaspinosus* 51 個体、タイワンカクマダニ *Darmacentor taiwanensis* 18 個体およびタカサゴキララマダニ *Amblyomma testudinarium* 3 個体の 4 属 11 種計 473 個体となった。このうち、生菌分離に供したマダニの中で、ヒトツトゲマダニは経ヶ岳の 1/1 個体、冠山の 1/4 個体、百里ヶ岳の 2/2 個体、ヤマトマダニは刈込池の 1/13 個体、フタトゲチマダニは野坂岳の 16/28 個体および百里ヶ岳の 16/37 個体が SFGR 陽性で、ほかにシュルツェマダニ、タネガタマダニ、キチマダニ、ヤマトチマダニ、ヒゲナガチマダニ、オオトゲチマダニ、タイワンカクマダニおよびタカサゴキララマダニでは生菌分離がなかった。分離された SFGR 株のシークエンスによる塩基配列を標準株と比較すると、表 3 のとおりヒトツトゲマダニ 由来の 4 株は *R. helvetica*、ヤマトマダニ由来株は *Rickettsia asiatica*、およびフタトゲチマダニ由来株のうち供試した 3 株は *Rickettsia japonica* と 99.4% の相同性を示す *R. sp Lon type* と 100% 一致した。

## 3. 結果

表 1 福井県のマダニから紅斑熱群リケッチアの生菌分離

地域名	調査年月日	Im	Io	Ip	In	Hf	Hj	Hk	Hl	Hm	Dt	At
越前地方												
国見岳	H18. 5. 21		0/16			0/7						
浄法寺山	H19. 6. 13		0/1			0/17					0/5	
	H20. 6. 14		0/11				0/4				0/3	
部子山	H20. 6. 28		0/2	0/31			0/1					
冠山	H19. 6. 23	1♀/4	0/3				0/3					
高倉峠	H17. 6. 19	0/1										
奥越地方												
取立山	H15. 7. 5		0/6				0/1					
	H17. 8. 13		0/4									
	H19. 6. 16		0/24			0/1	0/2					
赤兎山	H17. 6. 19		0/3									
	H19. 6. 24		0/3	0/2								
	H19. 7. 1		0/3	0/3								
経ヶ岳	H15. 8. 3		0/26			0/1	0/1					
	H19. 7. 7	1♂/1	0/16	0/6			0/3					
刈込池	H20. 6. 28	0/2	1♀/13	0/3								
若狭地方												
野坂岳	H15. 5. 24	0/4	0/6			0/50			11/18 <sup>1)</sup>	0/17		
	H20. 6. 8					0/1		0/2	5/10 <sup>2)</sup>	0/1	0/1	
雲谷山	H20. 6. 8					0/3		0/4	0/5			
百里ヶ岳	H15. 6. 7	2♀/2	0/1			0/28			16/37 <sup>3)</sup>	0/33	0/1	0/3
小浜市郊外	H15. 9. 30				0/1	0/4						0/8
計		4/14	1/138	0/45	0/1	0/112	0/15	0/6	32/70	0/51	0/18	0/3

Im ; ヒトツトゲマダニ、Io ; ヤマトマダニ、Ip ; シュルツェマダニ、In ; タネガタマダニ、Hf ; キチマダニ  
Hj ; ヤマトチマダニ、Hk ; ヒゲナガチマダニ、Hl ; フタトゲチマダニ、Hm ; オオトゲチマダニ  
Dt ; タイワンカクマダニ、At ; タカサゴキララマダニ  
備考 ; 発生段階別の分離状況

1) 幼虫 1/4、若虫 9/13、♂ 1/1 2) ♂ 3/4、♀ 2/6 3) 幼虫 3/13、若虫 6/12、♂ 4/7、♀ 3/5

表2 マダニからの紅斑熱群リケッチアDNAの直接検出

地域名	Im	Io	Ip	Hf	Hj	Hk	Hl	Hm	Dt
国見岳		1/16		1/7					
浄法寺山		2/5		1/6	2/2				1/6
取立山		0/10		0/1	0/2				
赤兎山		0/6	0/5						
経ヶ岳	1/1	1/12	0/6		0/3				
刈込池	0/2	8/10	0/3						
部子山		1/2	0/7						
冠山	1/4	0/3			0/3				
高倉峠	0/1								
野坂岳						0/2	3/5	0/1	0/1
雲谷山				0/3		0/4	0/5		
計	2/8	12/67	0/21	2/17	2/10	0/6	3/10	0/1	1/7

表3 マダニからの分離株および抽出DNA増幅産物とリケッチア標準株との相同性

マダニ 検体数	分離株			PCRによる抽出DNA増幅産物					
	Im*	Io**	Hl	Im*	Io	Io**	Io	Hf	Hj
採集地点 標準株	経ヶ岳 冠山 百里ヶ岳	刈込池	野坂岳 百里ヶ岳	経ヶ岳 冠山	国見岳 赤兎山	刈込池	経ヶ岳	国見岳 浄法寺山	浄法寺山
<i>R. helvetica</i>	100	99.4	94.7	100	100	99.4	99.7	94.7~95.0	94.7
<i>R. asiatica</i>	99.4	100	95.3	99.4	99.4	100	99.1	95.6~95.9	95.3
<i>R. japonica</i>	95.3	95.9	99.4	95.3	95.3	95.9	95.6	98.8~99.1	99.1
<i>R. sp. Lon type</i>	94.7	95.3	100	94.7	94.7	95.3	95.0	98.2~98.5	98.5

Im\* & Io\*\* : それぞれ同一個体。

Im, ヒトツトゲマダニ ; Io, ヤマトマダニ ; Hl, フタトゲチマダニ Hf, キチマダニ ; Hj, ヤマトチマダニ

一方、マダニから直接抽出された DNA を材料とした PCR では、表2のとおりヒトツトゲマダニは経ヶ岳の1/1個体および冠山の1/4個体、ヤマトマダニは国見岳の1/16個体、赤兎山の1/9個体、経ヶ岳の1/12個体、刈込池の8/10個体および部子山の1/2個体、キチマダニは国見岳の1/7個体および浄法寺山の1/6個体、ヤマトチマダニは浄法寺山の2/2個体、フタトゲチマダニは野坂岳の3/5個体およびタイワンカクマダニは浄法寺山の1/6個体が陽性であった。このうち、解析できた9個体についての塩基配列は、表3のとおり経ヶ岳と冠山のヒトツトゲマダニおよび国見岳と赤兎山のヤマトマダニは *R. helvetica* に、刈込池のヤマトマダニは *R. asiatica* にそれぞれ100%一致した。経ヶ岳のヤマトマダニは *R. helvetica* に99.7%と相同性が極めて高く、国見岳と浄法寺山のキチマダニおよび浄法寺山のヤマトチマダニは *R. japonica* に最も相同性が高かった。

#### 4. 考察

経ヶ岳、冠山および百里ヶ岳のヒトツトゲマダニから *R. helvetica* が生菌分離された。福井県では患者が感染したと推定される荒島岳を含めて計4地域のヒトツトゲマダニから *R. helvetica* が分離されたことになる(図1)。また、ヒトツトゲマダニは分布個体数が少ないものの *R. helvetica* の分離率が33.3% (4/12個体) と高いことが注目された。この他、*R. asiatica* および *R. sp. Lon type* が、刈込池のヤマトマダニおよび野坂岳と百里ヶ岳のフタ

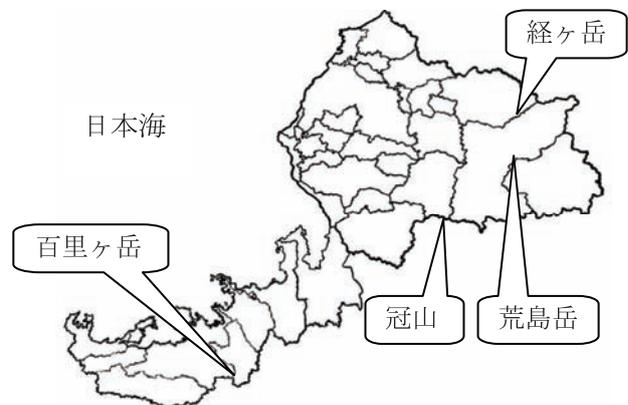


図1 *R. helvetica* 保有をみたヒトツトゲマダニの分布

トゲチマダニからそれぞれ分離された。したがって、本県では計6地域の3種類のマダニ(ヒトツトゲマダニ、ヤマトマダニおよびフタトゲチマダニ)から3種類のSFGRが分離されたことになる。しかし、これまでに日本紅斑熱病原体である *R. japonica* の分離報告<sup>6)</sup>があるフタトゲチマダニ、キチマダニおよびタイワンカクマダニからは、*R. japonica* は分離されなかった。また、同じく分離報告があるヤマアラシチマダニ *Haemaphysalis hystrix*<sup>6)7)</sup>、および *R. japonica* 遺伝子が検出され媒介種と想定されるツノチマダニ *Haemaphysalis cornigera*<sup>8)</sup>などは、

元来暖帯地域に多い種であるためか、北陸地方である本県では分布が確認されなかった。

欧州では1999年に*R. helvetica*のヒトに対する病原性が確認されて以来<sup>9)</sup>、それを保有する*Ixodes ricinus*の調査<sup>10)</sup>、およびこのリケッチア感染による症例が蓄積されつつあり、東南アジアのタイ国の山岳地域などでも確認されつつある<sup>11)12)</sup>。これまでの調査で、日本各地のヒトツトゲマダニから*R. helvetica*が分離されている<sup>13)14)</sup>。また、北陸では現在のところ、*R. helvetica*はヒトツトゲマダニからの分離にとどまっているが、北日本ではシュルツェマダニからの分離報告<sup>14)15)16)</sup>も多い。以上から、中部以北では、南西日本に多発する日本紅斑熱(*R. japonica* 起因)が見られないものの、ヒトツトゲマダニあるいはシュルツェマダニ保有の*R. helvetica*感染による紅斑熱群症例が潜在し得ることに留意すべきである。一方、*R. asiatica*は1993年に日本で初めてヤマトマダニから分離されて以来<sup>17)</sup>、日本各地で分離されている中で<sup>6)</sup>、これによる感染が疑われた熱性発疹性患者が平成16年7月に長野県の白馬梅池で確認されたことから、このマダニに対しても注意が必要である。

さらに最近では、平成20年8月、仙台市においてイスカチマダニ*Haemaphysalis concinna*による媒介が確認された*Rickettsia heilongjiangensis*感染の患者が見出された。本菌種による症例は中国東北部からロシア極東部まで見出されているが、国内では初の確認である<sup>18)</sup>。福井県を含む北陸地方では現在のところ、イスカチマダニの分布は確認されていないものの、福井県に隣接して北日本に近い気候条件をもつ中部山岳では本種の動向に注意したい。なお、平成19年に青森県で見出された紅斑熱群リケッチア症については、患者が在住する八戸市にも見られるイスカチマダニとの関係が疑われつつある(データは示さず)。

## 謝辞

なお、本調査研究の一部は、平成19年および20年度厚生労働省科学研究費補助金(新興再興感染症研究事業; H19-新興一般-014)によった。

## 参考文献

- 1) Noji, Y., Takada, N. et al : The first reported case of spotted fever in Fukui Prefecture, the northern part of central Japan, *Jpn. J. Infect. Dis.*, 58, 112~114 (2005)
- 2) 高田伸弘, 石畝史他 : 福井県で初めて確認された *R. helvetica* 感染が示唆された症例, 病原微生物検出情報, 27, 40~41 (2006)
- 3) Ishiguro, F., Takada, N. et al : Survey of the vectorial competence of ticks in an endemic area of spotted fever group rickettsioses in Fukui Prefecture, Japan, *Microbiol. Immunol.*, 52, 305~309 (2008)
- 4) Takada, N., Fujita, H. et al : First isolation of a rickettsia closely related to Japanese spotted fever pathogen from a tick in Japan. *J. Med. Entomol.*, 31, 183~185 (1994)
- 5) Ishikura, M., Ando, S. et al : Phylogenetic analysis

- of spotted fever group rickettsiae based on *gltA*, *17-kDa*, and *rOmpA* genes amplified by nested PCR from ticks in Japan, *Microbiol. Immunol.*, 47, 823~832 (2003)
- 6) 藤田博己, 高田伸弘 : マダニ類から検出されるリケッチアの多様性, ダニと新興再興感染症, SADI 組織委員会編集, 全国農村教育協会, 129~139 (2007)
- 7) 山本正悟 : 九州地域におけるリケッチア感染症の実態調査—日本紅斑熱の患者発生状況および宮崎県, 長崎県, 熊本県の患者発生地における媒介マダニ調査—, 厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業—リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築—平成19年度総括・分担研究報告, 99~107 (2008)
- 8) 高田伸弘 : 三重県志摩半島に多発する紅斑熱, その感染環と環境要因, 厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業—リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築—平成20年度総括・分担研究報告, 85~101 (2009)
- 9) Nilsson, K., Lindquist, O. et al : Association of *Rickettsia helvetica* with chronic perimyocarditis in sudden cardiac death, *Lancet*, 354, 1169~1173 (1999)
- 10) Nilsson, K., Lindquist, O. et al : *Rickettsia helvetica* in *Ixodes ricinus* ticks in Sweden, *J. Clin. Microbiol.*, 37, 400~403 (1999)
- 11) Fournier, P.F., Allombert C. et al : Aneruptive fever associated with antibodies to *Rickettsia helvetica* in Europe and Thailand, *J. Clin. Microbiol.*, 42, 816~818 (2004)
- 12) Phongmany, S., Rolain, J.M. et al : *Rickettsia* infections and fever, Vientiane, Laos, *Emerg. Infect. Dis.*, 12, 256~262 (2006)
- 13) Fournier, P.E., Fujita, H. et al : Genetic identification of rickettsiae isolated from ticks in Japan, *J. Clin. Microbiol.*, 40, 2176~2181 (2002)
- 14) 藤田博己 : 2007年の国内各地におけるマダニ相とマダニ保有リケッチアの調査, 厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業—リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築—平成19年度総括・分担研究報告, 25~36 (2008)
- 15) 藤田博己 : 2008年の国内各地におけるマダニ相とマダニ保有リケッチアの調査, 厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業—リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築—平成20年度総括・分担研究報告, 35~45 (2009)
- 16) 高田伸弘 : 東南アジアにおけるリケッチア感染症の疫学—地理病理学の視点から—, 化学療法の領域, 845~852 (2005)
- 17) Fujita, H., Fournier, P.E. et al *Rickettsia asiatica* sp. nov., isolated in Japan. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56, 2365~2368 (2006)
- 18) 安藤秀二, 黒澤昌啓他 : 仙台市で確認された新しい紅斑熱リケッチア症, 感染症学雑誌—第83回日本感染症学会総会学術講演抄録—, Vol.83. 臨時増刊号, 214 (2009)

# 福井県内の小児および高齢者における ヒトメタニューモウイルスとRSウイルスの流行状況

中村 雅子・東方 美保・川畑 光政\*<sup>1</sup>・浅田 恒夫\*<sup>1</sup>

Epidemiological Study of Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus  
among Children and Elderly in Fukui Prefecture

Masako NAKAMURA, Miho TOHO, Mitsumasa KAWABATA, Tsuneo ASADA

2007年4月～2009年3月、福井県内の小児科や高齢者施設等において呼吸器系症状を呈した患者から採取された鼻咽頭ぬぐい液373検体(小児科254検体、高齢者施設等119検体)について、ヒトメタニューモウイルス(hMPV)とRSウイルス(RSV)の検出を行った。

その結果、小児科の検体からはhMPVが23検体およびRSVが109検体検出された。また、保育所におけるRSVの流行(A型とB型の同時流行)、身体障害者療護施設におけるhMPVの集団感染および高齢者施設におけるRSV(A型)の流行が確認された。これらのウイルスは県内に広く侵淫し、急性呼吸器感染症の一因となっていることが明らかになった。

hMPVは検出数に季節的な変動は少なく、どの時期もA2とB2の2つのサブグループの株が検出されていた。

RSVは冬季だけでなく夏季にも多く検出された。分子系統樹をみると、A型はGA2とGA5、B型はBAに属していた。2008年以降に検出されたウイルスはGA2の中でもこれまでと異なるクラスターを形成しており、これが2008年夏季の流行の原因ウイルスとなっていた。また、B型はレファレンス株(18537)に比べG領域に20個のアミノ酸が挿入された変異株であった。

## 1. はじめに

呼吸器系疾患の原因となる病原体は数多いが、新型インフルエンザなどの健康危機管理に備え、同様な症状を起こす他の病原体の流行状況を把握しておくことは、健康危機管理上重要である。

ヒトメタニューモウイルス(human metapneumovirus; hMPV)は、2001年にオランダで発見されたウイルスである<sup>1)</sup>。日本では2003年に初めて分離され<sup>2)</sup>、主に小児の呼吸器感染症の原因として知られている<sup>3) 4)</sup>が、国外では成人や高齢者の報告もある<sup>5)</sup>。発見から日が浅く、流行時期や好発年齢層、再感染の有無などの疫学的な実態や臨床像などはまだ解明されていない。

RSウイルス(respiratory syncytial virus; RSV)は急性呼吸器感染症の原因ウイルスのひとつであり、特に小児の下気道感染症の主要な病因とされている<sup>6) 7)</sup>。日本などの温暖な地域では毎年冬のインフルエンザシーズン前に流行を繰り返す<sup>8) 9)</sup>、2歳までの乳幼児のほぼ100%が一度はRSVに罹患すると言われていた<sup>10)</sup>。また、高齢者の下気道感染症の起因病原体となることも指摘されている<sup>11)</sup>。

今回我々はhMPVとRSVについて、県内の侵淫状況や流行状況を把握し、地域の感染予防対策に活用することを目的として調査を行なったので、その概要を報告する。

## 2. 材料と方法

### 2. 1 調査期間

2007年4月から2009年3月までの2年間

### 2. 2 検査材料

県内の小児科2箇所、高齢者施設等5施設において上気道炎、下気道炎などの呼吸器系症状を呈した患者(インフルエンザを除く)から採取された鼻咽頭ぬぐい液373検体(小児科254検体、高齢者施設等119検体)。

### 2. 3 検査方法

#### 2. 3. 1 RT-PCR法による遺伝子の検出

RNA抽出は、MinElute Virus Spin Kit(QIAGEN)を用いた。RT反応および1st-PCRはAccessQuick RT-PCR System(Promega)を用いてone-stepで行い、2nd-PCRにはPCR-Master Mix(Promega)を用いた。

プライマーは、hMPVは高尾ら<sup>12)</sup>が報告したhMPVのFusion(F)領域を増幅するプライマーを使用した。RSVは1st-PCRにはTeresa<sup>13)</sup>らが、2nd-PCRにはMizuho.S<sup>14)</sup>らが報告したRSVのGlycoprotein(G)領域を増幅するプライマーを使用した。

#### 2. 3. 2 遺伝子解析

RT-PCR法の2nd-PCR産物を用いて、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、解読された塩基配列のうち、hMPVは340bp、RSVは270bpについてBLAST検索を行なった。また、調査期間以前(2005年～2007年3

\*1) 元福井県衛生環境研究センター

月)に検出された株も加え、ClustalWを用いた近隣結合法により分子系統樹を作成した。

### 3. 結果

#### 3. 1 小児における流行状況

##### 3. 1. 1 散発例

小児科で採取された254検体を検査したところ、hMPVが23検体およびRSVが109検体検出された。RSVのサブタイプはA型が60検体、B型が44検体、A型B型両方が検出されたのが5検体であった。

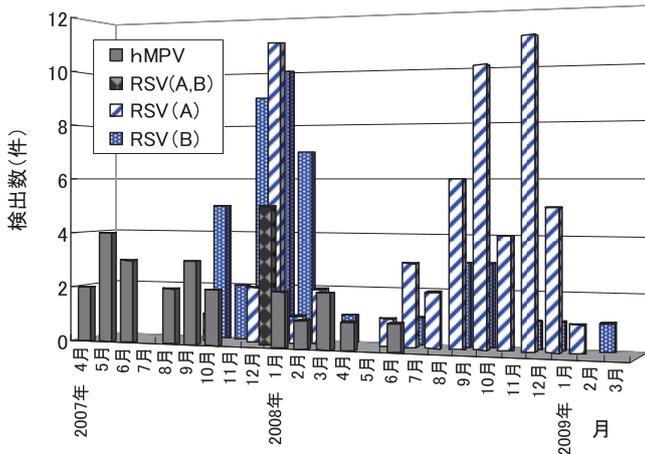


図1 hMPV、RSV検出状況

hMPVは2007年はほぼ毎月検出され、季節的な変動は少なかったが、2008年7月以降は検出されなかった。

RSVは2007年は9月以降に検出され、2008年1月にかけての冬季に多く検出された。この期間はB型が多かったが、12月にはA型とB型が混在しており、A型とB型の両方が検出される検体もあった。2008年2～5月には一旦少なくなったが、6月以降にふたたび検出数が増え、夏季から12月にかけて多く検出された。この期間はA型が多かった(図1)。

年齢別の検出状況では、hMPV、RSVともに0～3才から検出された。hMPVは1才からの検出が最も多かったが、各年齢であまり差はなかった。RSVはA型が0～2才からの検出が多かったのに対し、B型は0才特に6ヶ月以下から多く検出され、年齢が上がるに従って少なくなっていた(図2)。

陽性となった検体の臨床症状をみると、hMPV、RSV

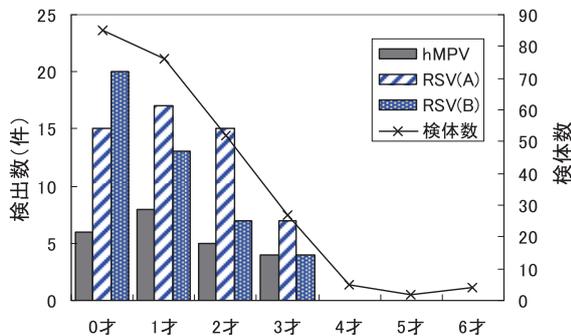


図2 年齢別検出状況

ともに気管支炎や細気管支炎などの下気道炎が多く、hMPVは69.6%(16/23)、RSVは87.2%(95/109)を占めた。この中で細気管支炎はRSVでは27.5%(30/109)を占めたが、hMPVは17.4%(4/23)であった(図3)。上気道炎や咽頭炎などはhMPVでは26.1%(6/23)であったが、RSVは10.1%(11/109)と少なかった。平均発熱は、hMPVが $39.22 \pm 0.71$ 度、RSVが $38.64 \pm 0.94$ 度(A型が $38.94 \pm 0.81$ 度、B型が $38.24 \pm 0.96$ 度)で、hMPVの方が有意( $p < 0.01$ )に高かった。

なお、これらの検体はHEp-2細胞と一部CaCo-2細胞を用いた他のウイルス検索も併せて行った。その結果、hMPVとコクサッキーウイルスB4との重複感染が1例、RSV(B型)とアデノウイルス2型との重複感染が1例あった。hMPVとRSVの重複感染例はなかった。

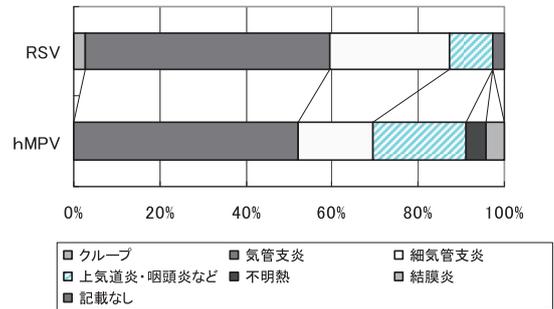


図3 臨床症状

##### 3. 1. 2 保育所におけるRSVの集団感染事例

2007年11月下旬から12月中旬にX市の保育所(園児数214名、年齢0～6歳)においてRSV感染症の流行があった。有症者52名のうち、医療機関を受診しRSV感染症と診断されたのは14名(2才が5名、1才が4名、0才が3名、4才と5才が各1名)であった。症状は咳(14/14)、発熱(12/14)、鼻水・鼻づまり(12/14)などであり、最高発熱は平均39.2度、38.0度以上の有熱期間は平均3.0日であった。

小児科受診者の鼻汁8検体を検査し、全検体からRSVが検出された。サブグループはA型が3検体、B型が2検体であり、残る3検体からはA型とB型の両方が検出された(図1、2のデータに含む)。遺伝子解析の結果、検出されたウイルスはA型、B型それぞれに100%一致し、いずれもこの時期県内で流行していたウイルスとも100%相同であった。

#### 3. 2 高齢者等における流行状況

##### 3. 2. 1 散発例

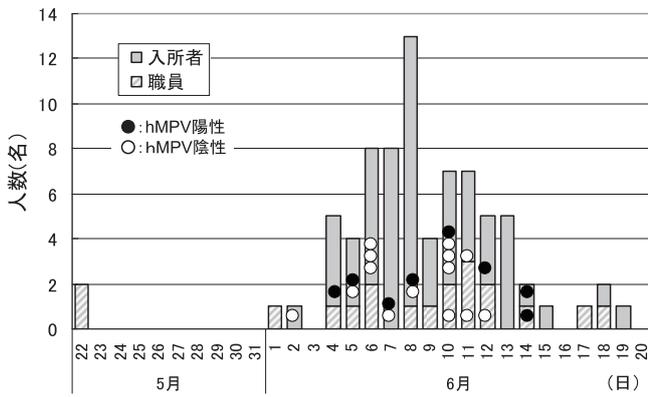
内科や高齢者施設において散発例から採取された61検体を検査した。hMPVおよびRSVは検出されず、他のウイルスの検索でアデノウイルス3型が2検体、ライノウイルスが2検体検出された。

##### 3. 2. 2 身体障害者施設におけるhMPVの集団感染事例

2008年5月下旬から6月中旬、Y市の身体障害者療護施設(入所者97名、職員64名、入所者の平均年齢59.7

歳)において呼吸器系疾患の集団発生があった。発症者数は入所者 58 名、職員 19 名であり、入所者のうち 18 名が入院、そのうち 2 名が死亡した。死亡者の直接死因は細菌性肺炎によるものと診断された。主な症状は咳・発熱等であったが、発熱を示し重症化した者は入所者に多く、職員は咳のみなど軽症であった。患者発生状況を図 4 に示す。

25 名の咽頭拭い液を採取し、呼吸器系ウイルスの検索を行った。その結果、hMPV の RT-PCR 法で 8 名(入所者 7、職員 1)の検体から hMPV の F 蛋白を示すバンドが検出された。これはダイレクトシークエンスにより hMPV と同定され、340bp の塩基配列は全ての検体で 100%一致していた。なお、死亡者のうち 1 名については検査を行ったが、hMPV を含めウイルスは検出されなかった。



(図4) 発症曲線

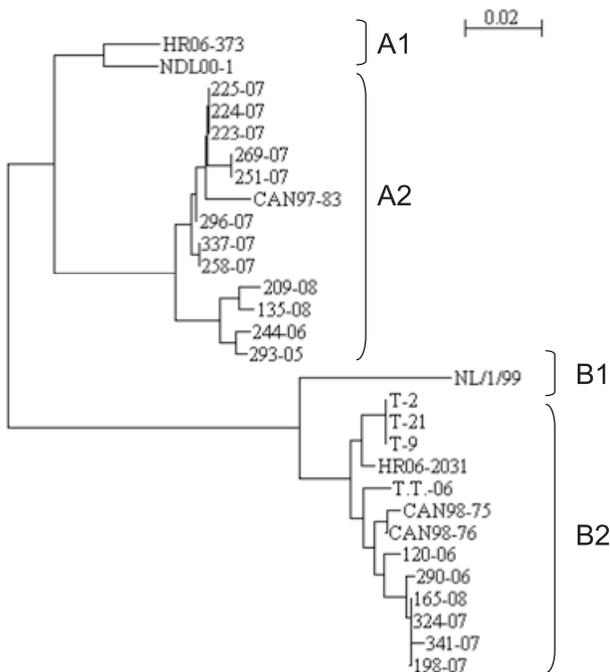


図5 hMPV の分子系統樹(F 遺伝子領域)  
 HR06-373,NDL00-1:A1 参照株、CAN97-83:A2 参照株  
 NL/1/99:B1 参照株、CAN98-75,CAN98-76,HR06-2031:B2 参照株  
 それ以外は 2005 年～2008 年の福井県検出株

### 3. 2. 3 高齢者施設における RSV の集団感染事例

2009 年 11 月上旬から中旬、Z 市の高齢者施設(入居者 100 名)で、かぜ様疾患の流行があった。この期間に発熱などの症状があった入居者 14 名の鼻咽頭拭い液を採取し、hMPV と RSV の RT-PCR 法による検査を行なったところ、6 名の検体から RSV(A 型) が検出された。ウイルスが検出された 6 名の症状は咽頭炎・咳などであり、平均発熱は 38.03±0.29 度であった。

### 3. 3 ウイルスの遺伝子解析

#### 3. 3. 1 hMPV

hMPV の分子系統樹は、A1,A2,B1 および B2 の 4 つのサブグループに分けられるが、検出された株は A2 が 12 株、B2 が 17 株であった。2006 年以降、どの時期においてもこの 2 つのサブグループの株が検出されていた(図 5、6)。3.2.2 の集団発生で検出されたウイルス(図 5 の T-2、T-9 および T-21) は B2 に属しており、これは 2006 年にクロアチアで分離されたウイルス(HR06-2031)と 99% 相同であった。

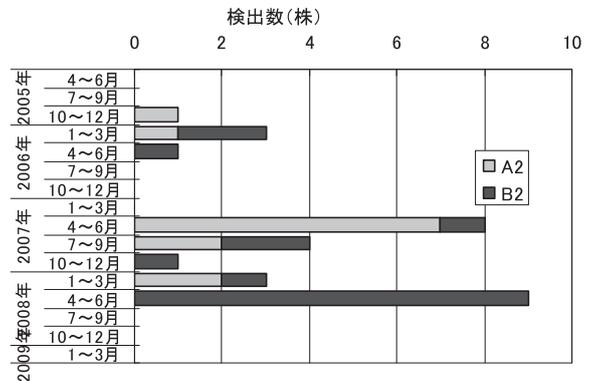


図6 検出されたhMPVの遺伝子型

#### 3. 3. 2 RSV

RSV(A 型)については、2005/06 シーズンの 3 株は Teresa らの分類<sup>13)</sup>による GA5 に、2006/07 シーズン以降の 39 株は主に GA2 に分類された。GA2 は 2007/08 シーズン前半までの 14 株(GA2-1)とそれ以降の 24 株(GA2-2)の 2 つに分けられ、クラスター内ではそれぞれに 98.5~100% 相同であった(図 7、8)。GA2-2 は GA2-1 とは数%異なっており、これが 2008 年夏季の流行の原因ウイルスとなっていた。3.2.3 の高齢者施設で流行したウイルス(図 7 の Hi-09-3,Hi-09-14)も、GA2-2 に属しており、この時期小児散発例から検出されたウイルスと 100%一致していた。

RSV(B 型)については、調査した 33 株すべてが同じクラスター(BA)に属しており、なかでも 2007/08 シーズンの株はほぼすべて 100% 相同であった。この株を含む 22 株(BA-1)と比較すると、他の 11 株は 7~16 塩基の相違があった(BA-2,BA-3,BA-4)(図 8、9)。

なお、B 型はすべてレファレンス株(18537)に較べ 20 個のアミノ酸が挿入されている変異株であった(図 10)。挿入部位のアミノ酸配列はほとんどが一致していたが、2 個異なるものが BA-2 に属する株の中に 1 株、BA-3 に属する株の中に 2 株あった。

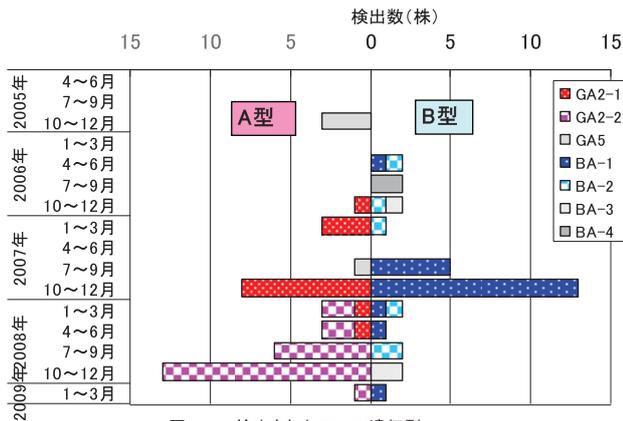


図8 検出されたRSVの遺伝型

#### 4. 考察

hMPVやRSVに感染した場合、臨床の場で病因ウイルスが判明することは少なく、これまで福井県における流行の実態は不明であった。今回の調査では小児や高齢者の呼吸器感染症の検体からhMPVやRSVが高率に検出され、これらのウイルスは県内に広く侵淫し、急性呼吸器感染症の一因となっていることが明らかになった。

hMPVは、3～6月に流行があるされているが<sup>3)</sup>、今回の調査では季節的な変動は少なかった。2006年以降、どの時期も2つのサブグループの株が検出されており、異なるクラスターのウイルスが同時に流行する形態をとっていた。これは高尾らの報告<sup>15)</sup>と同様であった。

近年は、小児だけでなく高齢者施設などでのhMPV感染事例が報告されている<sup>16)</sup><sup>17)</sup>。今回調査した身体障害者施設でのhMPV集団感染事例では、入所者に合併症を有するものが多く、嚥下や喀痰排出の障害を持つものが多かったことが感染拡大や重症化につながった可能性がある<sup>18)</sup>。感染経路は職員を介した感染や食堂での感染と推測され、このような感染リスクの高い集団では日頃から十

分な健康危機管理対策を講じる必要があると考えられた。

RSVは、インフルエンザ流行前の11月～翌年1月に流行があるとされるが、夏季の流行の報告もある<sup>19)</sup><sup>20)</sup>。我々の調査では冬季間に大きな流行はあったものの、それ以外の時期にも検出されていた。特に2008年夏季は多く検出されたが、感染症発生動向調査の患者報告ではその変動はとらえられていなかった。

A型、B型のどちらかが優勢になる時期もあったが、両方のウイルスが同時流行する時期もあり、この場合は流行の規模が大きくなっていった。また、A型、B型ともに時期ごとにそれぞれひとつのクラスターのウイルスが流行していたが、2008年以降に検出されたウイルスはGA2の中でもこれまでと異なるクラスターを形成しており、これが2008年夏季の流行の原因ウイルスとなっていた。また、B型は福井県で検出された株はすべて同じBAに属しており、これはG領域に20個のアミノ酸が挿入された変異株であった。このような変異株はTrento<sup>21)</sup>が1999年にアルゼンチンにて検出し、国内では札幌市や新潟県にて検出された報告がある<sup>14)</sup><sup>22)</sup>。Nagai<sup>23)</sup>により札幌市の乳児施設での集団感染も報告されている。

今回調査した保育所の集団発生では、地域流行していたA型、B型両方のRSVがほぼ同時に保育所に侵入し、混合して感染が拡大していったと考えられた<sup>24)</sup>。流行の後期ではA型、B型両方の遺伝子が検出された検体があり、由井らが報告<sup>25)</sup>しているように重感染の可能性があった。RSV感染症が保育所などで起こった場合、低年齢の集団では高率に感染を受けるので流行の抑制が困難である<sup>26)</sup>とされる。志水ら<sup>27)</sup>はある乳幼児施設では毎年のようにRSVの流行に悩まされ、100%が感染した年もあったと報告している。本事例でも短期間に効率よく感染が拡大し、0才児や1才児のクラスでの発症率はかなり高かった<sup>24)</sup>。迅速診断キットの保険適用は重症例に限られており、医療機関でRSV感染症と確定診断されることは少ないが、RSVの流行時期には低年齢を中心に飛沫感染に加え接触感染の予防策を徹底することが望まれる。

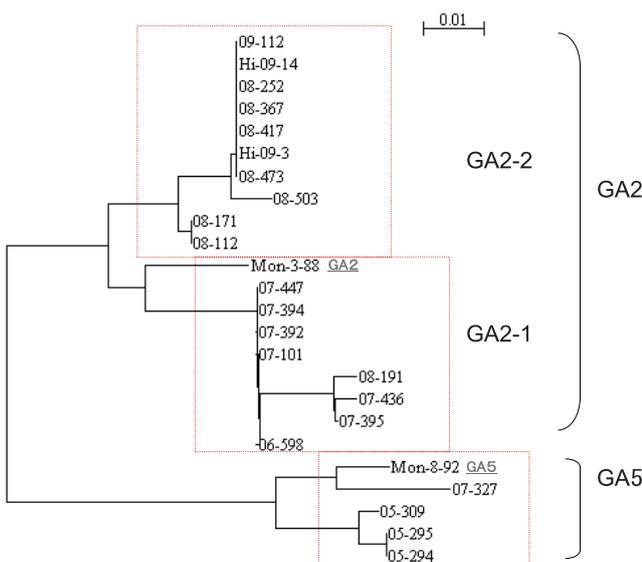


図7 RSV(A型)の分子系統樹(G遺伝子領域)  
Mon3-88: GA2参照株、Mon8-92: GA5参照株、  
それ以外は2005年～2009年の福井県検出株

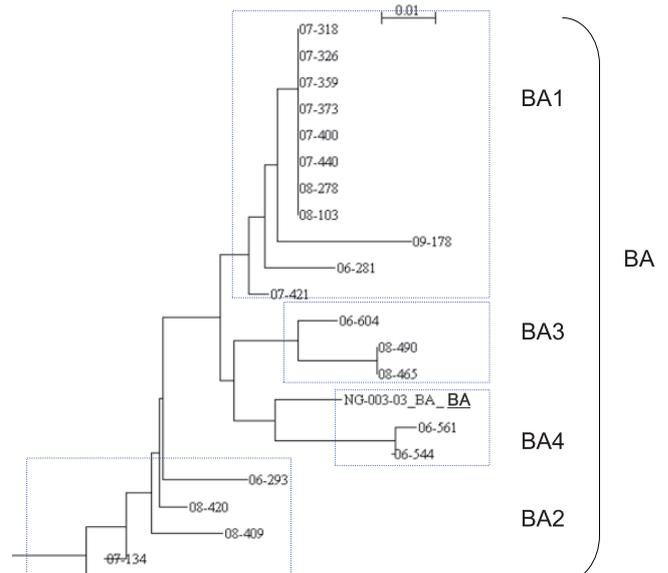


図9 RSV(B型)の分子系統樹(G遺伝子領域)  
NG-003-03: BA参照株、それ以外は2005年～2008年の福井県検出株

## 5. まとめ

- ・2007年4月～2009年3月、県内の小児科および高齢者施設等で採取された鼻咽頭ぬぐい液 373 検体を検査し、hMPV が 23 検体および RSV が 109 検体検出された。RSV はあまり報告のない夏季にも検出された。
- ・保育所での RSV の流行 (A 型と B 型の同時流行)、身体障害者療護施設での hMPV の集団感染および高齢者施設での RSV (A 型) の流行が確認された。
- ・遺伝子型は hMPV は A2 と B2、RAV (A 型) は GA2 と GA5、RSV (B 型) は BA に属していた。
- ・RSV (B 型) は G 領域に 20 個のアミノ酸が挿入された変異株であった。

## 謝 辞

この調査を行うにあたり、検体採取にご協力いただきました各医療機関および施設等の方々に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) van den Hoogen B.G. et al : A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease., *Nat.Med.*, 7, 719-724(2001)
- 2) 後藤郁男他 : インフルエンザ様患者からの human metapneumovirus の分離—宮城県, 病原微生物検出情報, 24, 64-65(2003)
- 3) 菊田英明 : ヒト・メタニューモウイルス感染症, 臨床とウイルス, 34, 409-416(2006)
- 4) Takashi Ebihara et al : Human Metapneumovirus Infection in Japanese Children, *J.Clin.Microbiol.*, 42, 126-132(2004)
- 5) Guy Bovin et al : Virological Features and Clinical Manifestations Associated with Human Metapneumovirus:A New Paramyxovirus Responsible for Acute Respiratory-Tract Infections in All Age Groups, *J.Infect.Dis.*186, 1330-1334(2002)
- 6) 永井和重 : RS ウイルス感染症の病態, 臨床とウイルス, 34, 403-408(2006)
- 7) 西條政幸他 : 北海道における小児の下気道感染症に関する疫学的研究—特に respiratory syncytial virus に注目して—, 感染症学雑誌, 68, 1-7(1994)
- 8) 七種美和子他 : 横浜市における respiratory syncytial virus 流行の疫学的解析, 感染症学雑誌, 79, 381-387(2005)
- 9) 金子光延他 : 小児科診療におけるインフルエンザ様疾患と RS ウイルス感染症の疫学的干渉現象, 感染症学雑誌, 76, 121-122(2002)
- 10) 堤裕幸 : RS ウイルス感染症, 感染症学雑誌, 79, 857-863(2005)
- 11) Scott F.Dowell et al : Respiratory Syncytial Virus Is an Important Cause of Community-Acquired Lower Respiratory Infection among Hospitalized Adults, *J.Infect.Dis.*, 174, 456-62(1996)
- 12) 高尾信一他 : 本邦において初めて流行が確認された小児の human metapneumovirus 感染症の臨床的、疫学的解析, 感染症学会誌, 78, 129-137(2004)
- 13) Teresa C.T.Peret et al : Circulation patterns of genetically distinct group A and B strains of human respiratory syncytial virus in a community., *J.Gen.Virol.*, 79, 2221-2229(1998)
- 14) Mizuho Sato et al. : Molecular Epidemiology of Respiratory Syncytial Virus Infections among Children with Acute Respiratory Symptoms in a Community over Three Seasons., *J Clin Microbiol.*, 43, 36-40(2005)
- 15) 高尾信一他 : 広島県内で認められた、異なる遺伝子グループに属するヒト・メタニューモウイルスの混合流行について, 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告, 15, 11-16(2007)
- 16) 白石博昭他 : 高齢者福祉施設におけるヒトメタニューモウイルス集団感染事例—福岡県, 病原微生物検出情報, 27, 178-179(2006)
- 17) 渡邊王志他 : 特別養護老人ホームにおけるヒトメタニューモウイルスの流行, 第 53 回日本ウイルス学術集会抄録集, 325(2005)
- 18) 中村雅子他 : 身体障害者療護施設の集団感染事例からのヒトメタニューモウイルスの検出—福井県—, 病原微生物検出情報, 29, 282-283(2008)
- 19) 岡本道子他 : 仙台市内および仙台市周辺における真

	221	231	240	241	251	261
18537(JaB1)	PAKMPKKE I I TNP	AKKPTLKT	-----	TERDTS I SQSTV	LDT I TPKY T	
S91-30(GB1)	. . . TTE . . TT . . . T . . . . .				. . . . . T . . . . . T . L . H .	
T97-2(GB3)	L . . TL . . . . T . . . . S . . . .				. . . . . N . T . . . . . T . S . H .	
S00-4	L . . TL . . . TT I . . T . . . P . .		TEGDTSTS	SQSTVLD	TTTSKH . . . . . T . . . . . T . S . H .	
S02-71		. . T . . . P . . . . .		R . . . . .	TP . . . . .	
FS/561/06	L . . T . . . . TT I . . T . . . PE . .			R . . . . .	T . . . I . . . . T . S I H .	
FS/388/07	L . . T . . . . TT I . . T . . . P . . .			R . . . . .	T . . . I . . . . T . S . H .	
FS/465/08	L . . T . . . . GTT I . . T . . . P . . .			R . . . . Q . P . . . . . T . . . I . . . T . S . H .		
FS/604/06	L . . T . . . . GTT I . . T . . . P . . .			G . . . . Q . . . . .	T . . . I . . . . T . S . H .	
FS/293/06	L . . T . . . . TTF . . T . . . . P . . .			R . . CS . . . . .	. . . . . FA . . . T . S . H .	

図10 RSV(B型)のG蛋白領域のアミノ酸配列  
 18537:参照株 S91-30, T97-2, S00-4, S02-71:Y.Kuroiwaら<sup>22)</sup>報告株  
 他は福井分離株

- 夏のRSウイルス感染症の流行、2004年7～8月、病原微生物検出情報, 25, 265-266(2004)
- 20) 改田厚他: 保育所におけるRSウイルスの集団感染事例, 病原微生物検出情報, 25, 235-236(2004)
- 21) Trento A. et al : Major changes in the G protein of human respiratory syncytial virus isolates introduced by a duplication of 60 nucleotides., J Gen Virol , 84, 3115-3120(2003)
- 22) Yuki Kuroiwa et al. : A phylogenetic study of human respiratory syncytial viruses group A and B strains isolated in two cities in Japan from 1980-2002., J Med Virol , 76, 241-247(2005)
- 23) Nagai K : Nosocomial outbreak of respiratory syncytial virus subgroup B variants with the 60 nucleotides-duplicated G protein gene., J Med Virol, 74(1), 161-165(2004)
- 24) 中村雅子他: 保育所で発生したRSウイルス感染症の疫学調査, 福井県衛生環境研究センター年報, 6, 72-75(2007)
- 25) 由井郁子他: RSウイルス再感染例と subgroupA,Bの重複感染-15シーズン(1985-2000)の調査, 第47回日本臨床ウイルス学会プログラム抄録集, S39(2006)
- 26) 宮川宏実: インフルエンザ、RSウイルス感染症, 臨床と微生物, 33, 713-718(2006)
- 27) 志水哲也: 2005/2006年シーズンにおける小児RSウイルス感染症の検討, 日小医会報, 34, 185-190(2007)

# 環境水中のダイオキシン類とヘキサクロロベンゼン との同時分析法に関する検討

熊谷宏之・三木崇

Study on Analytical Method of Dioxins and Hexachlorobenzen in Environmental Water

Hiroyuki KUMAGAI, Takashi MIKI

環境中での残留性が高い非意図的生成物質であるダイオキシン類 (DXNs) とヘキサクロロベンゼン (HCB) による水環境への汚染実態や相関関係などを解明するため、DXNs の分析法をベースに HCB との同時分析が行えないか検討した。

その結果、DXNs と HCB との同時分析は可能だが、HCB は DXNs と比べて前処理工程で損失しやすく、比較的清浄な水試料をろ過、固相抽出する場合、凝集剤に活性炭分散シリカゲルを含有させた捕集剤を添加すると有効であった。また、精製工程で HCB の回収率が低下する原因は、濃縮時の損失と考えられ、濃縮作業を慎重に行う必要があると考えられた。

## 1. はじめに

ダイオキシン類 (DXNs) の主な汚染源として、ごみ焼却等の燃焼、農薬 (CNP、PCP) の不純物、PCB 製品などが一般的に知られている<sup>1)~4)</sup>。しかし、福井県内の一部河川で認められるダイオキシン類汚染の原因として、一般的に知られている汚染源のほかに、事業場系未規制発生源である染色排水があり、染料に不純物として含まれること (染料由来) が要因となっていることを我々はすでに報告している<sup>5)~8)</sup>。

一方、1979年に化学物質審査規制法の第一種特定化学物質に指定されているヘキサクロロベンゼン (HCB) は、DXNs と同様に燃焼の過程等で非意図的に生成されるほか、近年、テトラクロロ無水フタル酸 (TCPA) と TCPA を用いて製造される顔料等の中に HCB が含有されているとの報告もみられる<sup>9)</sup>。また、HCB は 1979年に製造、使用が禁止されたが、それまで、除草剤 PCP の製造原料として工業的に使用されていた。このため、PCP 製剤には、DXNs とともに HCB も不純物として含まれ<sup>10)</sup>、1990年に農薬登録は失効しているが、土壌中に現在もストックされている懸念がある。このように、DXNs と HCB の汚染源には相互関連性がみられる。

こうした背景を踏まえ、残留性有機汚染物質 (POPs) に関するストックホルム条約の対象物質のなかで、特に非意図的生成物質に着目し、水環境への汚染実態や相関関係などを解明するため、DXNs の分析法をベースに HCB との同時分析が行えないか検討した。

## 2. 方法

図1に示すように、水質に係る DXNs の測定は、JIS K 0312 による方法が公定法としてあり、HCB の測定は環境省から POPs モニタリング調査マニュアルが示されている。POPs モニタリングで示されているフロリジルカラムを用いたクリーンアップについては、同時分析法の検討にあたり、DXNs 分析の条件を困難にするともみられたことから、JIS K 0312 に準拠した DXNs 分析法をベースに検討し、次に示す添加回収試験等を行った。

なお、添加回収試験の評価にあたっては、各精製工程

や抽出までの回収率 (捕集率) が概ね 90% 以上か、前処理全体の回収率が 50% 以上かを目安とした。

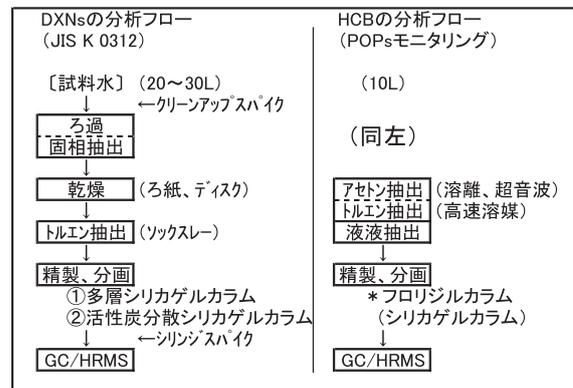


図1 DXNs と HCB の分析法 (公定法)

### 2. 1 精製工程での添加回収試験

多層シリカゲルカラム、活性炭分散シリカゲルカラム (関東化学㈱製のリバースカラム) の精製・分画工程ごとに HCB の内標準物質 (<sup>13</sup>C-HCB) を添加し、その溶出パターンと回収率を確認した。

なお、<sup>13</sup>C-HCB の回収率は、シリンジスパイクとして <sup>13</sup>C-TeCB (#70) を用いて算出した。

### 2. 2 純水を用いた添加回収試験

純水 5L に、標準品として HCB (1000pg) と <sup>13</sup>C-1,2,3,4-TeCDD (200pg) を添加し、ろ過、固相抽出による捕集、乾燥後、ソックスレー等によるトルエン抽出を行い (一部試験でアセトン併用)、精製・分画して回収率を確認した。各試験の条件は、結果のところでも示すが (表3)、捕集剤 (凝集剤等) の添加やクリーンアップスパイク (<sup>13</sup>C-HCB、DXNs-CS) の添加位置など各種条件を変え、HCB 等の挙動を推察した。

なお、捕集剤には、ポリ塩化アルミニウム (PAC) (キシダ化学㈱製) とシルキア FP-10 (日華化学㈱製) を等量混合したもの (捕集剤(A)、捕集剤(A)に活性炭分散シリカゲル (関東化学㈱製) を約 10% 混合させたもの (捕集剤(B))、三浦工業㈱製のダイオフロク (捕集剤(C)) の 3 種類を用い、約 1g を純水 5L に添加した。ただし、

純水のような緩衝能の少ない水試料では、捕集剤(A) (B) を添加すると pH が低くなり凝集効果が低下することから、pH 調整剤として炭酸ナトリウムを添加した。

### 2. 3 河川水での添加回収試験と濃度評価

県内の中小河川を中心に平成 20 年度に採取した河川水を用いた。

#### 1) 河川水試験(1)

SS 濃度が 1mg/L 未満の清浄な試料水 6L に、内標準物質としてクリーンアップスパイク ( $^{13}\text{C}$ -HCB、DXNs-CS) を添加し、純水での試験と同様に前処理を行い、同一試料間での HCB および DXNs の濃度差やクリーンアップスパイクの回収率を確認した。なお、ろ過、固相抽出後の乾燥は風乾のみ行った。

#### 2) 河川水試験(2)

染色排水が流入する前後の河川水 (中流、下流) について、試料水 6L に  $^{13}\text{C}$ -HCB と  $^{13}\text{C}$ -1,2,3,4-TeCDD を添加し、先と同様に前処理を行い、添加した内標準物質の回収率を求め、その挙動等を推察した。なお、ろ過、固相抽出後の乾燥は風乾と凍結乾燥 (4 時間) を行い、トルエン抽出液に DXNs-CS を添加した。

### 2. 4 HRGC/HRMS 測定条件

HRGC/HRMS による測定では、DXNs と POPs の測定に対応できる GC カラムとして RH-12ms を用い、既報<sup>11)</sup>の DXNs 測定条件に準拠し、グルーピング方式で HCB と DXNs (毒性等価係数 (TEF) を持つ 29 異性体) を同時測定した。グルーピングの設定条件については、その概要を表 1 に示す。

表 1 RH-12ms を用いた GC/HRMS のグルーピング設定

No.	測定対象物質 ( $^{13}\text{C}$ -体を含む)		備考
	PCDDs/PCDFs	HCB、DL-PCB	
1	—	HCB	(283.8102、285.8072) (289.8303、291.8273)
2	TeCDDs TeCDFs	TeCB PeCB HxCB	全異性体を測定
3	PeCDDs PeCDFs	HxCB HpCB	グループ2、4との関係で、PeCDDsとPeCDFsの一部異性体測定不可 (TEFを持つ異性体は測定が可能)
4	HxCDDs HxCDFs	—	全異性体を測定
5	HpCDDs HpCDFs	—	全異性体を測定
6	OCDD OCDF	—	全異性体を測定

(備考) 主要29異性体 (TEF設定) と HCB は同時測定が可能

なお、河川水の DXNs 測定による濃度評価では、既報の条件に従い、GC カラムとして SP-2331 を追加して同定・定量を行い、RH-12ms との組み合わせで、毒性等価係数が設定された 29 異性体が単独定量できるように精度確保を図った。

## 3. 結果および考察

### 3. 1 精製工程における HCB の挙動

精製工程における  $^{13}\text{C}$ -HCB の添加回収試験の結果を表 2 に示す。

多層シリカゲルカラム (ヘキサン 150ml 展開) では、HCB は 85%以上が回収された。活性炭分散シリカゲルカラムでは、ヘキサン 50ml で HCB は溶出されず、その後の 25%ジクロロメタン/ヘキサン 50ml (モノオルト

PCB 画分) に 85%以上が回収された。この結果から DXNs と同じ精製・分画で HCB との同時分析が可能とみられる。ただし、回収率が 90%をやや下回ったのは濃縮時に損失したためではないかと推察された。なお、精製工程全体で回収率を確認すると、DXNs-CS は約 90~100%となるのに対し、 $^{13}\text{C}$ -HCB は 50%を下回る場合もあり、これは濃縮時の損失が重なったのが原因と推察された。ロータリーエバポレータによる濃縮では、ウオーターバスの温度や乾固直前の終了操作などに注意する必要があると考えられる。

なお、多層シリカゲルと活性炭分散シリカゲルとの連結カラムで、濃縮工程の回数を減らし、改善が図れないか試みたが、ヘキサン 150ml で HCB が 10%以上溶出したため、適当ではないとみられた。また、DXNs だけに限れば迅速化の観点からメリットはあるものの、展開する濃縮液にトルエンが残存していると分画ミスが生じる恐れがあるため、慎重に操作を行う必要がある。

表 2 精製工程における  $^{13}\text{C}$ -HCB の添加回収試験結果

精製、分画法	Fr.	溶媒(展開量ml)	回収率(%)	DXNs画分
①多層シリカゲルカラム	1	ヘキサン(150ml)	86	PCDDs PCDFs DL-PCB
	1	ヘキサン(50ml)	0	(other)
②活性炭分散シリカゲルカラム	2	25%ジクロロメタン /ヘキサン(50ml)	86	モノオルトPCBs
	3	トルエン(リバー ス)(50ml)	2	ノンオルトPCBs PCDDs PCDFs
①⇒②の全工程		②-Fr.2、Fr.3	40~50%	90~100%
連結カラム (①+②)	1	ヘキサン(150ml)	12	(other)
	2	25%ジクロロメタン /ヘキサン(50ml)	73	モノオルトPCBs
	3	トルエン(リバー ス)(50ml)	1	ノンオルトPCBs PCDDs PCDFs

### 3. 2 純水試験による HCB 等の挙動

DXNs 分析でソックスレーと同等の効果があつた迅速自動抽出 (ソックスサム) を採用し、事前にトルエン抽出の直前に HCB を、抽出液に  $^{13}\text{C}$ -HCB を添加し、HCB の回収が約 100%得られることを確認した。このうえで、純水による添加回収試験を行ったところ、表 3 に示す結果が得られた。また、その結果を捕集剤の区分ごとに図 2-1~図 2-4 にまとめた。

試験①~④ (図 2-1) をみると、試験①のみ HCB の回収率が 20%と著しく低く、凍結乾燥によって大きく損失するとみられた。試験⑤⑥ (図 2-1) では、凍結乾燥しなかったにもかかわらず HCB の回収率が 50%を下回っているが、ろ過操作から入る場合は、HCB が一時的にろ紙に吸着するものの、吸引ろ過中に速やかに損失する可能性が考えられる。

捕集剤(A) (PAC+FP-10) を添加した試験⑦⑧ (図 2-2) では、試験⑤⑥と比べ、ろ紙側に多く捕集されるものの、HCB の回収率が 50%を下回り改善はみられず、吸着剤としての効果は低いとみられる。

次に、改良した捕集剤(B) (PAC+FP-10+活性炭分散シリカゲル) を添加した試験⑨⑩ (図 2-3) では、乾燥方法などに関係なく、HCB と  $^{13}\text{C}$ -1,2,3,4-TeCDD

表3 純水による添加回収試験の結果一覧(条件等を含む)

試験	区分	試料水(添加回収%)		捕集剤	捕集、抽出工程			クリーンアップスパイク(回収%)		
		HCB	<sup>13</sup> C-1,2,3,4-TeCDD		(I)ろ過、固相抽出	(II)乾燥	(III)ソックスサム等	添加位置	<sup>13</sup> C-HCB	<sup>13</sup> C-DXNs-CS
試験①	ディスク	20	68	-	固相(ディスク)のみ	風乾、凍結乾燥	トルエン抽出	III直後	70	90~100
試験②	ディスク	98	100	-	固相(ディスク)のみ	乾燥なし(→III)	アセトン→トルエン抽出	I直後	77	80~100
試験③	ディスク	89	93	-	固相(ディスク)のみ	乾燥なし(→III)	トルエン抽出	I直後	52	80~100
試験④	ディスク	92	96	-	固相(ディスク)のみ	風乾のみ	トルエン抽出	II直後	57	80~100
試験⑤	ろ紙	2	2	-	ろ過	風乾のみ	トルエン抽出	II直後	57	80~100
	ディスク	45	77	-	ろ過後、固相	風乾のみ	トルエン抽出	II直後	56	80~100
試験⑥	ろ紙	2	7	-	ろ過	乾燥なし(→III)	アセトン→トルエン抽出	I直後	62	80~100
	ディスク	45	70	-	ろ過後、固相	乾燥なし(→III)	アセトン→トルエン抽出	I直後	65	80~100
試験⑦	ろ紙	5	24	A	ろ過	風乾のみ	トルエン抽出	II直後	44	80~100
	ディスク	33	66	A	ろ過後、固相	風乾のみ	トルエン抽出	II直後	53	80~100
試験⑧	ろ紙	15	38	A	ろ過	乾燥なし(→III)	アセトン→トルエン抽出	I直後	60	80~100
	ディスク	29	49	A	ろ過後、固相	乾燥なし(→III)	アセトン→トルエン抽出	I直後	64	80~100
試験⑨	ろ紙	73	89	B	ろ過	風乾、凍結乾燥	トルエン抽出	III直後	74	90~100
	ディスク	22	9	B	ろ過後、固相	風乾、凍結乾燥	トルエン抽出	III直後	70	90~100
試験⑩	ろ紙	87	93	B	ろ過	乾燥なし(→III)	アセトン→トルエン抽出	I直後	58	70~100
	ディスク	10	4	B	ろ過後、固相	乾燥なし(→III)	アセトン→トルエン抽出	I直後	75	70~100
試験⑪	ろ紙	110	104	C	ろ過	風乾のみ	トルエン抽出	II直後	61	60~100
	ディスク	3	0	C	ろ過後、固相	風乾のみ	トルエン抽出	II直後	64	80~100

- 1)HCBと<sup>13</sup>C-1,2,3,4-TeCDD(DXN-SS)の回収(捕集)率は、それぞれ<sup>13</sup>C-HCBと<sup>13</sup>C-2,3,7,8-TeCDDを用いて算出。
- 2)<sup>13</sup>C-HCBとDXNs-CS(TEFを持つ異性体を中心に30種)の回収率は、それぞれ<sup>13</sup>C-TeCB(#70)と1,2,3,4,6-PeCDF等5種を用いて算出
- 3)捕集剤(A)は、ホリ塩化アルミニウム(PAC)(キタ化学㈱製)とシルキアFP-10(日華化学㈱製)を等量混合し、pH調整剤として炭酸ナトリウムを添加
- 4)捕集剤(B)は、捕集剤(A)に活性炭分散シリカゲル(関東化学㈱製)などを約10%混合させたもの(含有量は試験⑨より⑩の方が若干多め)
- 5)捕集剤(C)は、ダイオフロク(三浦工業㈱製の固相抽出捕集剤)(環境水用)

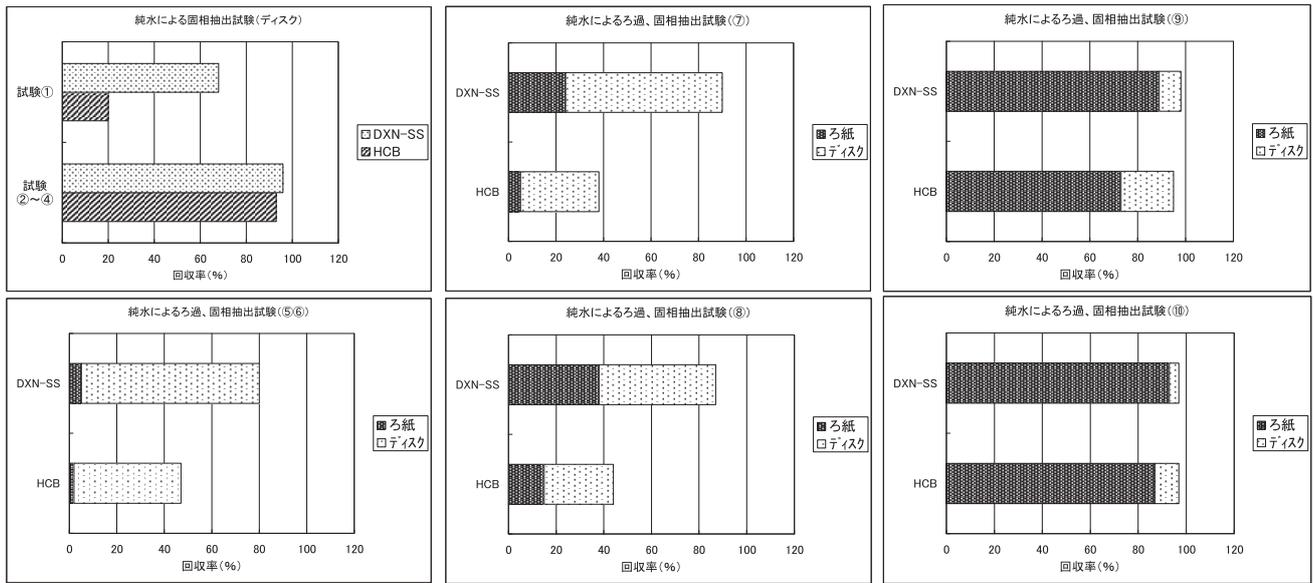


図 2-1 純水試験 (①~⑥; 捕集剤なし)      図 2-2 純水試験 (⑦⑧; 捕集剤(A))      図 2-3 純水試験 (⑨⑩; 捕集剤(B))

(DXN-SS)の回収率はいずれも90~100%程度と良好となり、ろ紙側に多くが捕集された。また、試験⑨と同様の試験(乾燥は風乾のみ)で再現性も認められた。

さらに、捕集剤(C)(ダイオフロク)を添加した試験⑪(図2-4)では、HCBと<sup>13</sup>C-1,2,3,4-TeCDDはほぼ完全にろ紙側に捕集され、固相ディスクへの通水が不要とみられた。この点で言えば、抽出操作の簡便化が図れるため非常にメリットが大きい。しかし、トルエン抽出前に添加したDXNs-CSのうち、OCDDやOCDFなど高塩素化物の回収率がやや低下する傾向もみられた。これは、トルエン抽出前の乾燥不足や分画操作時の活性炭分散シリカゲル(ロットによる活性度の違い)による影響

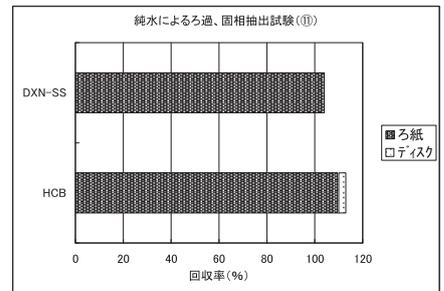


図 2-4 純水試験 (⑪; 捕集剤(C))

などがあった可能性も否定はできないが、水に添加した活性炭の含有量などによってはトルエン抽出時のデメリットとなる可能性も考えられる。また、既報<sup>7)12)</sup>において、分散染料の濃度が高い特殊な試料水では、凝集剤(シルキア FP-10)を主成分としたものと比べ、ダイオフロクではDXNsが十分捕集できなかった試験結果にも留意しておく必要がある。

今回の試験結果から、比較的清浄な試料水では、HCBをろ過、固相抽出で完全に捕集し、乾燥工程での損失を防ぐには、凝集剤(PAC+FP-10)に活性炭分散シリカゲルなどを含有させた捕集剤(B)をベースに添加し、抽出(捕集)することが有効と考えられた。また、トルエン抽出時に高塩素化物の回収率を低下させない範囲で、活性炭シリカゲルの含有量を適度な量に調製することなどによって、捕集剤(C)(ダイオフロク)のように、ディスクへの通水操作が省略できる簡便化が図れる可能性がある。

### 3. 3 河川水試験によるHCB等の挙動

#### 1) 河川水試験(1)

環境省が毎年実施しているエコ調査(POPsモニタリング)地点の河川水(笙の川;SS濃度が1mg/L未満)を用いた比較試験結果を表4に示す。

表4 河川水試験(1)―添加回収試験等の結果

捕集剤の添加	—	(A)	(B)
HCB濃度の評価(%)	5	0	5
<sup>13</sup> C-HCB回収率(%)	33	36	57
DXNs異性体濃度の評価(%)	1~12	2~8	3~14
DXNs-CS回収率(%)	70~90	80~100	80~100

(備考)各濃度は、3試験の平均値との差で評価

過去のデータと同様にHCB濃度は低く、HCBとDXNs(定量下限以上の異性体(OCDD等))は、3試験とも濃度差はみられない。しかし、<sup>13</sup>C-HCBの回収率をみると、捕集剤(B)では50%以上となったが、他の2試験では35%程度と低くなった。この回収率の差は、ろ過操作時から風乾(凍結乾燥なし)までの工程で、捕集剤(B)以外は、ろ紙上からHCBが揮散損失しやすかったため、回収率に差が生じたのではないかと考えられる。

#### 2) 河川水試験(2)

次に、染色排水が流入する前後(中流、下流)の河川水を用いた試験結果を表5に示す。

表5 河川水試験(2)―添加回収試験の結果

内標準物質 (試料水に添加)	<sup>13</sup> C-HCB (最終濃縮までの回収率%)			<sup>13</sup> C-1,2,3,4-TeCDD (トルエン抽出までの回収率%)		
	—	(A)	(B)	—	(A)	(B)
捕集剤の添加						
ろ紙	1	6	42	47	65	89
中流	ディスク	13	20	10	42	23
	<合計>	14	26	52	89	96
ろ紙	16	44	48	54	95	92
下流	ディスク	24	8	5	16	3
	<合計>	40	52	53	70	97

(備考)トルエン抽出液に添加したDXNs-CSの回収率は全試験とも概ね80~100%

中流(SS濃度が5mg/L)では、<sup>13</sup>C-HCBの回収率が、捕集剤(B)では50%以上であるのに対し、捕集剤を添加しない系や捕集剤(A)では30%以下と低くなった。これは、精製工程での濃縮操作以外に、ろ過操作時から乾燥(凍結乾燥あり)までの工程における揮散損失が影響しているのではないかと推察された。

一方、下流(SS濃度が約20mg/L)では、<sup>13</sup>C-HCBの

回収率が、凝集剤を添加しない系で50%をやや下回ったものの、捕集剤(A)および(B)で50%以上となった。

さらに、中小河川でSS濃度が約10mg/L以上の試料水を中心に24Lを用いて試験したところ(表6)、活性炭分散シリカゲルを含有しない捕集剤(A)でも<sup>13</sup>C-HCBの回収率は概ね50~70%と改善していたほか、捕集剤を添加しない系でも回収率が50%前後となるケースもみられた。これは、マトリックス成分の共存によって、HCBの揮散損失が多少抑制されるのではないかとみられる。ただし、マトリックスが非常に多いために、同じ精製操作を繰り返して濃縮回数が増えた試料では、<sup>13</sup>C-HCBの回収率は50%を下回った。

表6 中小河川(24L)での<sup>13</sup>C-HCBの回収率

	捕集剤	<sup>13</sup> C-HCB 回収率	SS濃度 (mg/L)	備考
試料1-1	(A)	57%	11	精製条件 (濃縮回数) が同じ
試料1-2	—	51%	(同上)	
試料3	(A)	67%	9	
試料4	(A)	72%	23	
試料5	(A)	40%	45	精製操作 繰り返し
試料6	(A)	64%	26	
試料7	(A)	34%	13	

(備考)ろ紙、ディスクは凍結乾燥

なお、表5に示すように、<sup>13</sup>C-1,2,3,4-TeCDDの抽出操作までの回収率をみると、中流は捕集剤の添加の有無に関係なく、下流は捕集剤を添加した場合、概ね90%以上であるのに対し、下流で捕集剤を添加しない系だけ70%と回収率が低下した。トルエン抽出液に添加したDXNs-CSから、DXNs濃度を求め、定量下限以上のPCDDs/PCDFs異性体を評価すると、下流で凝集剤を添加しない系だけ、異性体濃度を20~50%程度過小評価する傾向がみられた。これは、既報<sup>7)12)</sup>でも述べているが、ろ過、固相抽出でDXNsが捕集されず染料成分とともに破過していることを意味する。このような問題点は、染色排水流入河川を用いて同様の試験結果を積み重ねて確認しており、染色排水の負荷の程度によって、ろ過、固相抽出における破過の程度は多少変わると推察される。HCBの場合、今回の試験では、ろ過、固相抽出時における破過の問題を検証することはできないが、DXNsと同様の現象が多少なりとも起こる可能性は否定できない。

### 3. 4 同時分析の最適化に向けた課題

HCBとDXNsの物理化学的性質を表7に示すが<sup>10)</sup>、今回の試験結果は、蒸気圧などの違いを比較的反映したのものになっていると考えられる。こうした物性等の違いを十分考慮し、同時分析を適切に行う必要がある。

表7 HCBと2,3,7,8-TeCDDの物理化学的性状

	HCB	2,3,7,8-TeCDD	(単位)
分子量	284.8	322	(g/mol)
融点	230	305	(°C)
蒸気圧	0.0023	$2 \times 10^{-7}$	(Pa)
溶解度	0.005	$1.93 \times 10^{-5}$	(mg/L)
ヘンリー定数	131	3.34	(Pa·m <sup>3</sup> /mol)
Log Kow	5.5	6.8	
Log Koc	4.9	6.2	

また、捕集剤(A)(B)のような凝集剤をベースとしたものを試料水に添加すると、染色排水の影響が大きい試料

水では目詰まりが多少改善され、ろ紙の枚数を少なくできるメリットがあるが、純水や比較的清浄な試料水では逆に目詰まりを起しやすくなるデメリットがある。環境水の DXNs 分析では、通常 20L 以上の試料水を用いることから、ろ過作業で効率性が著しく低下することがないよう配慮する必要がある。こうした点を考慮し、試料水の性状に応じて、凝集剤と粉末活性炭の混合割合や沈降助剤の添加などの調製を行うことで、抽出（捕集）率の向上と操作性のバランスがとれるよう改善を図っていく必要がある。

#### 4. まとめ

残留性有機汚染物質（POPs）のなかで、特に非意図的生成物質に着目し、DXNs の分析法をベースに HCB との同時分析が行えないか検討した。

その結果、HCB は DXNs 分析の標準的な前処理操作で同時分析が可能なものの、蒸気圧が比較的大きいため挙物の違いもみられ、次のことが明らかとなった。

- (1) 活性炭分散シリカゲルカラムを用いた標準的な分画操作において、HCB の大部分はモノオルト PCB 画分に溶出した。
- (2) HCB は DXNs と比べて前処理工程で損失しやすく、ろ過、固相抽出後のろ紙とディスクの乾燥、精製工程での濃縮作業などに注意する必要がある。
- (3) 比較的清浄な環境水をろ過、固相抽出する場合、凝集剤（PAC+FP-10）に活性炭分散シリカゲルなどを含有させた捕集剤を添加すると、HCB の回収（捕集）に有効であった。

今後、妨害成分の多い試料などを中心に検討を重ね、ダイオキシン類等非意図的生成物による汚染実態や相関関係などの解明を進めていく予定である。

#### 参考文献

- 1) 環境庁：ダイオキシン排出抑制対策検討会報告（平成9年5月）
- 2) 野馬幸生他：保管 PCB 廃棄物の PCBs およびダイオキシン類，環境化学，14(3)，501-518（2001）
- 3) Masunaga, et al：Dioxin and Dioxin-like PCB impurities in some Japanese agrochemical formulation, *Chemosphere*, 44, 873-885（2001）
- 4) 清家伸康他：水田土壤中ダイオキシン類の起源と推移，環境化学，13(1)，pp.117-131（2003）
- 5) 熊谷宏之他：福井県の未規制発生源からのダイオキシン類流入河川における年間濃度変動について，第15回環境化学討論会講演要旨集，304-305（2006）
- 6) 熊谷宏之他：未規制発生源である染色排水からのダイオキシン類排出機構について，第16回環境化学討論会講演要旨集，388-389（2007）
- 7) 熊谷宏之他：分散染料中のダイオキシン類分析について—抽出法の検討と測定データの特徴—，福井県衛生環境研究センター年報，5，77-84（2006）
- 8) 熊谷宏之他：未規制発生源である染色排水からのダイオキシン類排出機構について（その2）—太陽光照射による PCDFs の生成反応—，第17回環境化学討論会講演要旨集，410-411（2008）
- 9) 厚生労働省、経済産業省及び環境省：化学物質審査規制法第一種特定化学物質ヘキサクロロベンゼンの副生に係る対応について，報道発表資料，平成18年3月
- 10) 酒井伸一他：ヘキサクロロベンゼン（HCB）の環境排出とその発生源，廃棄物学会誌，12(6)，349-362（2001）
- 11) 熊谷宏之他：未規制発生源からのダイオキシン類流入河川における汚染機構について—年間濃度変動と各汚染寄与割合の推定—，福井県衛生環境研究センター年報，4，66-71（2005）
- 12) 熊谷宏之他：分散染料中のダイオキシン類分析法の開発—凝集剤を用いた抽出法の評価—，第16回環境化学討論会講演要旨集，330-331（2007）

# 短期間降水量が産業廃棄物最終処分場の浸出水水質に及ぼす影響

田中宏和・森陰早也香・長谷川耕治・吉田耕一郎

Effect of Period Precipitation on Leachate Quality of Industrial Waste Landfill

Hirokazu TANAKA, Sayaka MORIKAGE, Koji HASEGAWA, Koichiro YOSHIDA

降水量が多い北陸地方の管理型産業廃棄物最終処分場において、短期間降水量が浸出水水質に及ぼす影響を評価した。一部の区画では主要イオンのバランスが調査日により異なることと、調査前日までの7日間累積降水量の増加に伴い、イオン濃度の指数関数的な低下現象がみられたことから、埋立地表層部から下部まで浸透水が通過しやすい短絡部が存在すると考えられた。また、7日間累積降水量とイオン濃度の低下挙動の関係から、有機物分解由来の炭酸水素イオン、アンモニウムイオン、そして廃棄物由来で易溶解性のナトリウムイオンは、短期間降水量の増加により濃度低下が著しく、カルシウムイオンとマグネシウムイオンは緩やかであった。これらの差は、短絡部付近で局所的な安定化が進行していることと、降水の浸透に伴い嫌気性雰囲気緩和されることなどが影響していると推察された。

## 1. はじめに

管理型最終処分場の安定化には埋立地の層内雰囲気、特に浸透水量が大きく影響し、降水量は埋立層内への浸透水量に関係する重要な因子である。北陸地方は年間降水量が多く、さらに夏期よりも冬期に降水量が多い特徴を有するため、このような気候特性が最終処分場の安定化に及ぼす影響を把握することは、地域に適した処分場設計・管理を行う上で、また人工散水などの早期安定化技術を研究開発する上で意義深い。そのため、筆者らは2005年から、複数に区分された福井県北部の管理型産業廃棄物最終処分場を調査している。

これまでの調査で、浸出水に含まれる主なイオン類は硫酸イオン(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)、塩化物イオン(Cl<sup>-</sup>)、炭酸水素イオン(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、アンモニウムイオン(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)、ナトリウムイオン(Na<sup>+</sup>)、カリウムイオン(K<sup>+</sup>)、カルシウムイオン(Ca<sup>2+</sup>)、マグネシウムイオン(Mg<sup>2+</sup>)であり、冬期には浸透水量増加に起因すると考えられるこれらのイオン濃度の低下がみられ、特に一部の埋立区画において影響が大きいことを報告した<sup>1)</sup>。そこで今回は、短期的な降水量が浸出水水質に及ぼす影響について検討したので報告する。

## 2. 調査方法

### 2.1 調査対象施設の概況

調査対象の処分場埋立地は掘り込み式で、全6区画が存在する。ただし、第6区画は2008年3月から埋立を開始した区画であるため、本報では対象としていない。

第1～5区画の容量と深さ、埋立時期を表1に、埋立物組成を図1に示す。全ての区画は深さ6mであり、第5区画は埋立終了に近い。最終覆土には埋立地の造成時に発生した砂質土を使用しているため、降水は浸透しやすい。下部集水管に溜まった浸出水は水中ポンプにより定期的に水処理施設へ送水し、水処理後に下水道へ排除し

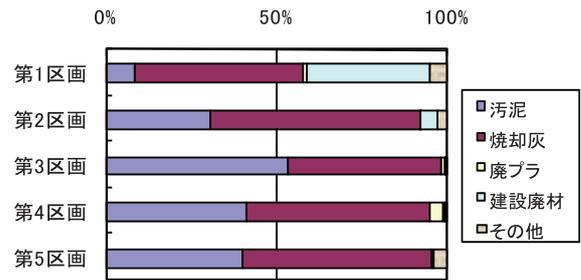


図1 埋立物の組成(重量換算)

表1 各区画の容量と埋め立て時期

(2009年3月現在)

区画	面積 (m <sup>2</sup> )	容積 (m <sup>3</sup> )	深さ (m)	埋立開始	埋立終了	埋立期間	完了からの期間
1	3,840	13,274	6	1982年12月	1988年3月	5年4ヶ月	21年
2	3,840	13,274	6	1988年3月	1990年9月	2年7ヶ月	18年5ヶ月
3	7,800	31,951	6	1990年9月	1995年5月	4年8ヶ月	13年10ヶ月
4	7,800	31,951	6	1995年6月	2000年12月	5年6ヶ月	8年4ヶ月
5	11,790	52,650	6	2001年1月	—	—	—

ている。

### 2. 2 採水方法および調査頻度

浸出水は各区画別に採取し、それぞれの区画番号を浸出水名とした。ただし、第3区画は集水管が2系列あるためNo. 3-1、No. 3-2とし、全6系統の浸出水について調査した。

調査は年4回実施し、今回は2005年4月から2009年1月までの計16回の結果について評価した。

### 2. 3 分析項目および方法

分析項目はイオン類 ( $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ ) と酸消費量(pH4.8)、酸化還元電位(Eh)とした。分析方法は原則として日本工業規格 JIS K0102 に準拠し、機器分析は主にイオンクロマトグラフ法とICP発光分析法を用いたが、 $\text{NH}_4^+$ についてはイオン電極法を用い、 $\text{HCO}_3^-$ は酸消費量から算出した。Ehは比較電極に銀/塩化銀を用いた電極で測定し、標準水素電極を比較電極とした値に換算した。

### 2. 4 気象データ

降水量は気象庁のホームページ<sup>2)</sup>から、調査対象処分場近傍の気象観測点のアメダスデータを引用した。

## 3. 結果と考察

### 3. 1 イオン濃度とバランス

調査対象処分場の浸出水中に含まれる主なイオンは $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ であることが分かっている<sup>1)</sup>。これらのイオンの総濃度を図2に、当量の相対比率を図3に示した。なお、図3においては $\text{Na}^+$ と $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ をそれぞれ合算値で示した。

図2から、浸出水中のイオン総濃度は、調査日により変動していることが分かる。この変動は主に浸透水量や保有水量の違いにより生ずるものと考えられるが、変動が比較的小さいNo. 2、No. 4、No. 5に対して、No. 1とNo. 3-2では最高値と最低値で数倍の差がみられた。

図3では、No. 1とNo. 3-2以外の浸出水については各調査日ごとの変動は少なく、ほぼ同じ形状をしているが、No. 1とNo. 3-2では形状のばらつきがみられ、イオンバランスが変化していることが示された。

### 3. 2 短期間降水量と主要イオン総量

調査前日までの累積降水量に対して、上述した8種のイオン総量をプロットしたものを図4に示した。7日間累積と14日間累積ではNo. 1とNo. 3-2において、累積降水量に対して指数関数的なイオン総量の低下傾向がみられ、No. 1では14日間累積が、No. 3-1では7日間累積が

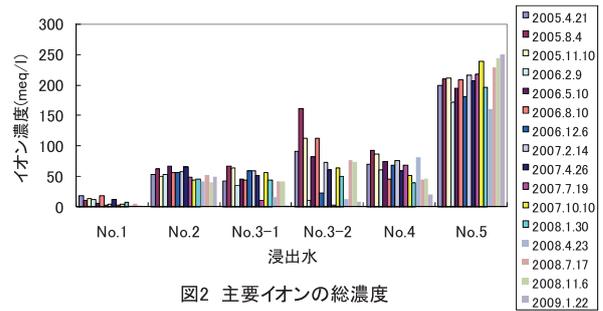


図2 主要イオンの総濃度

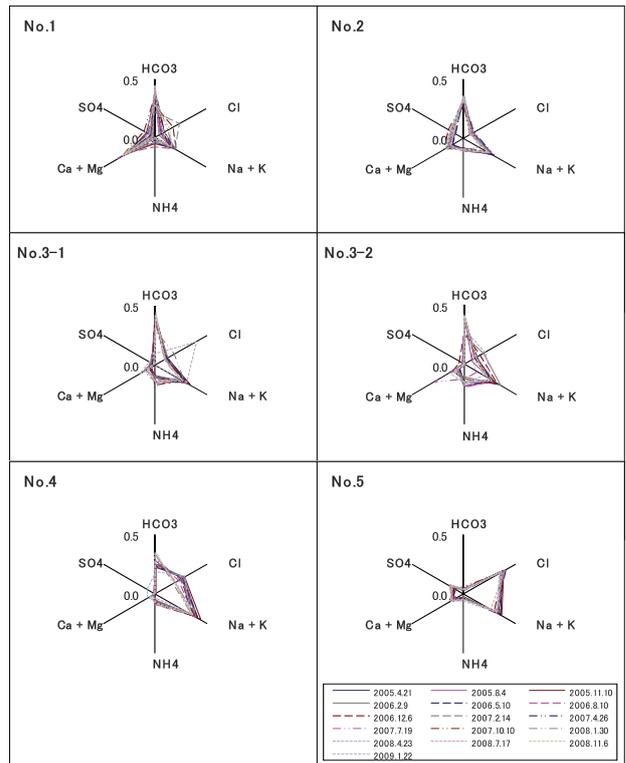


図3 主要イオンの相対比率

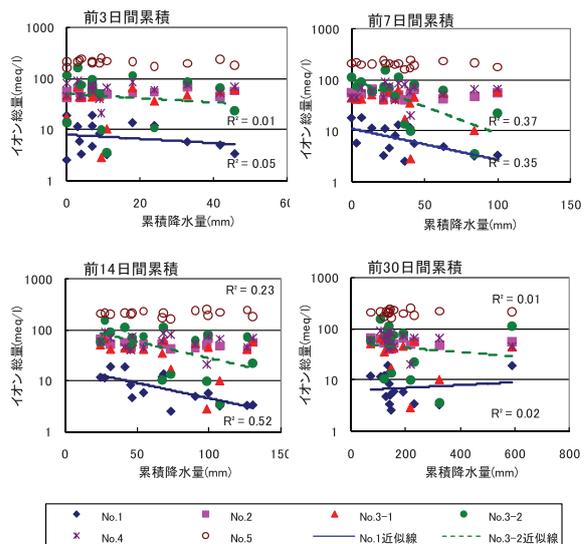


図4 調査前日までの累積降雨量と主要イオン総量

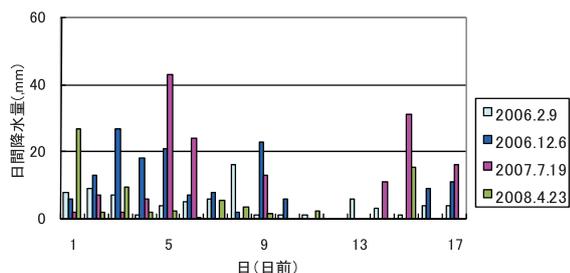


図5 調査前日までの降水状況

相関性が高く、特に7日間累積ではNo. 1、No. 3-1ともに決定係数(R<sup>2</sup>)が0.3以上の相関があった。

そこで、図2において主要イオンの総濃度が低く、図3で他の調査日に比べてイオンバランスの差が大きい2006年2月と12月、2007年7月、2008年4月について、調査前日までの降雨状況を図5に示した。これらの調査日は6日前から前日まで1mm以上の比較的多くの降水があり、連続して浸透水が供給されていたことが分かる。

大雨の後の浸透水濃度に関しては、洗い出しにより上昇した報告事例<sup>3)</sup>と、希釈効果により低下した報告事例<sup>4,5)</sup>があるが、本報の調査対象処分場では埋立廃棄物層の下部4m程度は常に保有水が満たされた状態で維持管理されているため、図5程度の降水量では保有水が一樣に希釈されたとは考えにくい。つまり、図4でNo.1とNo.3-2以外は濃度低下傾向がみられないことや、イオンバランスの変化挙動から、第1区画と第3区画には埋立地表層部から下部へ浸透水が通過しやすい短絡部が存在し、その影響を反映していると考えられた。

### 3.3 短期間降水量が各種イオン濃度に及ぼす影響

次に、短期間降水量が各イオン濃度に及ぼす影響を評価するため、No.1とNo.3-2について、7日間累積降水量を横軸にNa<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>、Ca<sup>2+</sup>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>を縦軸にプロットしたものを、図6～図9に示す。これらのイオンについては全て、指数関数的な低下傾向がみられたため、その他のイオンについても同様な評価を行い、下記の式で近似させたときの定数kと決定係数(R<sup>2</sup>)を表2に示した。

$$[C] = a \cdot e^{-kt}$$

[C] : イオン濃度(meq/l)      t(mm) : 累積降水量  
a(meq/l), k(1/mm) : 係数

表2では、k値が大きいほど累積降水量の増加に対するイオン濃度の低下が著しいことを意味する。なお、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>については、決定係数が小さく、相関関係があまり認められないので評価から省いた。

最もk値が大きいのは、No.1、No.3-2ともにNH<sub>4</sub><sup>+</sup>であり、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>とNa<sup>+</sup>についても比較的大きい値を示した。一

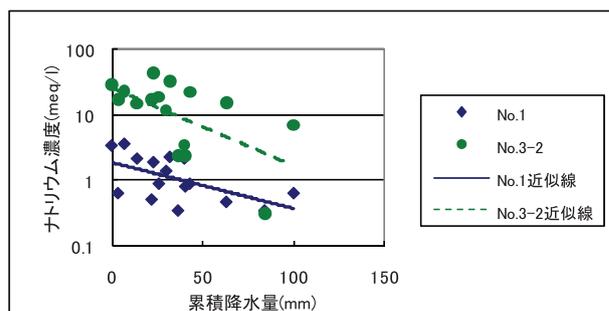


図6 7日間累積降水量とナトリウム濃度

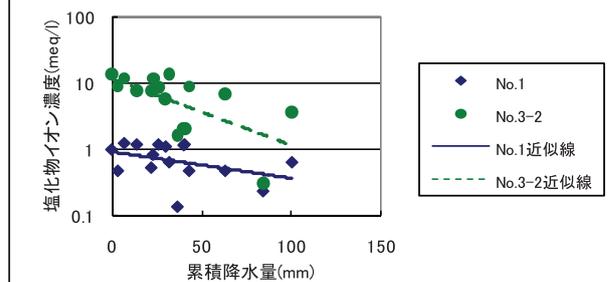


図7 7日間累積降水量と塩化物イオン濃度

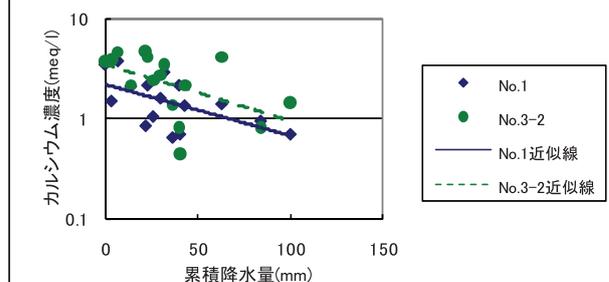


図8 7日間累積降水量とカルシウム濃度

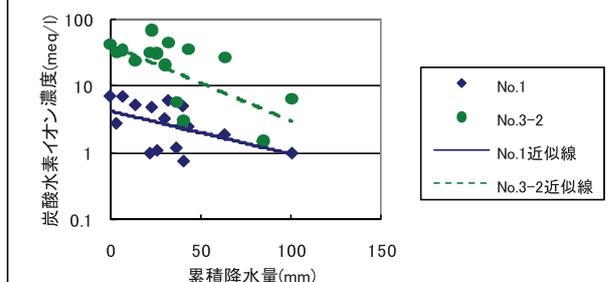


図9 7日間累積降水量と炭酸水素イオン濃度

表2 近似式の定数kと決定係数(R<sup>2</sup>)

	k		R <sup>2</sup>	
	No.1	No.3-2	No.1	No.3-2
全体※	0.0139	0.0242	0.35	0.37
Cl <sup>-</sup>	0.0091	0.0230	0.15	0.39
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.0107	0.0034	0.11	0.01
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.0153	0.0261	0.29	0.37
Na <sup>+</sup>	0.0164	0.0273	0.33	0.34
K <sup>+</sup>	0.0095	0.0162	0.12	0.24
Ca <sup>2+</sup>	0.0119	0.0132	0.33	0.25
Mg <sup>2+</sup>	0.0131	0.0162	0.28	0.30
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.0352	0.0289	0.27	0.43

※)8種の主要イオンの総量について近似した場合

方、 $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ はNo. 1、No. 3-2ともにk値は小さかった。

埋立地に短絡部が存在する場合、短絡部付近は降水に伴う浸透水量の増加により溶存酸素が供給されやすくなる。これにより、有機物分解の進行が早くなり、有機物の残存量が少なくなるとともに、生物分解由来イオンである $\text{HCO}_3^-$ と $\text{NH}_4^+$ 濃度が低下することは理解しやすい。

廃棄物由来のイオンについても同様に、 $\text{Na}^+$ などの易溶出性のイオン<sup>6)</sup>については、短絡部では洗い出しが進んでいて残存量がある程度少なくなっているため、降水量が増えると相対的な濃度低下が大きくなるが、 $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ は易溶出性のイオンに比べて短絡部での残存量が多いこと、さらに図10に示したとおり累積降水量増加に伴いEhが上昇し、嫌気性雰囲気緩和されることが影響して、濃度低下しにくいものと推察される。

なお、 $\text{K}^+$ と $\text{Cl}^-$ は易溶出性イオンであるが<sup>6)</sup>、No. 1のk値はともに、 $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ よりも低い値を示した。また、No. 3-2のk値については、 $\text{K}^+$ では $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ と同程度の値を、 $\text{Cl}^-$ のk値は $\text{Na}^+$ 程度の高い値を示した。

このように同じ易溶出性イオンであってもNo. 1とNo. 3-2でk値が異なる理由については、埋立経過期間や埋立物組成の相違による短絡部付近のイオン残存量の違いが影響していることが推察される。

#### 4. まとめ

- 一部の埋立区画では、調査日によるイオンバランスの変化が大きいことと、調査前日までの累積降水量に伴いイオン濃度が指数関数的に低下することから、浸透水を通過させやすい短絡部が存在し、その影響を受けていると考えられた。
- 短期間降水量がイオン濃度に及ぼす影響は、イオンの種類により異なり、有機物分解由来の $\text{HCO}_3^-$ と $\text{NH}_4^+$ 、廃棄物由来の $\text{Na}^+$ は短期間降水量の増加に伴う濃度低下が著しく、 $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ は緩やかであった。
- 短期間降水量が各種イオン濃度へ及ぼす影響の程度の違いは、短絡部付近で局所的な安定化が進行していることと、降水の浸透に伴う嫌気性雰囲気の緩和などが影響していると推察された。

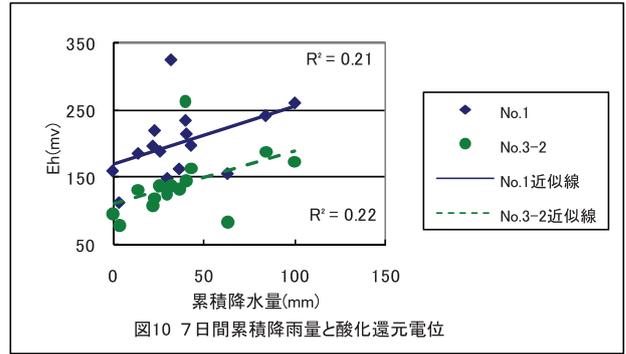


図10 7日間累積降水量と酸化還元電位

#### 謝辞

本研究にあたり、ご指導いただいた国立環境研究所の山田正人主任研究員と遠藤和人主任研究員、さらに、調査にご協力いただいた関係者の方々に深謝します。

#### 参考文献

- 1) 田中宏和他：北陸地方の気候が管理型産業廃棄物最終処分場の安定化に及ぼす影響, 第17回廃棄物学会研究発表会講演論文集, 1048~1050(2006)
- 2) <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>
- 3) 福井博他：最終処分場の廃止時期の判定における浸出液採取方法の検討, 第17回廃棄物学会研究発表会講演論文集, 874~876(2006)
- 4) 長森正尚他：管理型最終処分場の廃止基準に関する考察(4), 第16回廃棄物学会研究発表会講演論文集, 1001~1003(2005)
- 5) 栗原正憲他：最終処分場浸出水の成分濃度の時系列変化と降水量の関係, 第18回廃棄物学会研究発表会講演論文集, 707~709(2007)
- 6) 田中宏和他：管理型産業廃棄物最終処分場における経過期間と浸出水水質の相関分析, 第18回廃棄物学会研究発表会講演論文集, 751~753(2007)

# ヨシ群落を利用した湖沼の水質改善とヨシ等の有効利用技術（バイオマスエタノール等）に関する研究（第1報）

南部浩孝・加藤賢二\*1・石田敏一

Research on Water Quality Improvement of Lakes Using *Phragmites australis* and *Phragmites australis*'s Effective Technology Developed (1)

Hiroataka Nanbu, Kenji Kato, Toshikazu Ishida

水生植物による栄養塩類吸収後の系外除去を促進するため、ヨシ・ヒシの有効利用技術の可能性を検討した。ヨシ・ヒシに含まれるセルロースからグルコースへの化学的加水分解について、セルロース（ろ紙、粉末体、脱脂綿）での予備試験を踏まえて検討を行ったところ、硫酸、塩酸処理によりグルコースの生成を確認した。

## 1. はじめに

湖沼の水質浄化や生物多様性保全の観点から、ヨシ群落の保全・再生の取組みが重要であり、本県でも水生植物を植栽した浮礁の設置や渚護岸の整備に取り組んでいる。

ヨシなど水生植物による水質浄化の十分な効果を得るためには、富栄養化の原因物質である窒素・リンを吸収して成長した植物体を系外除去（刈り取り）する必要があるが、刈り取り後の利用として、梅林の肥料に一部利用されているほかは有効な利用方法がない。

このため、ヨシや三方湖に大量繁茂したヒシ（図1）をバイオマス資源としてとらえ、最終段階のエタノール製造技術まで開発することによって、新たな有効利用の可能性を確保し、湖沼の水質浄化を促進させる。

また、ヨシやヒシ植物を原料とする研究は、他の植物を使ったバイオマスエタノール技術への応用<sup>1)</sup>が可能であり、将来的な地球温暖化対策に繋がる。

そこで、ヨシ・ヒシの成分であるセルロースを、エタノールの前段階であるグルコースへの分解において、(1)グルコースの定性分析法の検討、(2)強酸・強塩基・固体酸・水単独（200, 220℃）による化学的加水分解法の検討を行った。

その結果、セルロースからグルコースへの分解において、いくつかの知見が得られたので、その結果を報告する。

## 2. 実験方法

### 2.1 試料（粉末体ヨシ・ヒシ）

2008年6月に北潟湖の塩尻橋周辺で採取したヨシ（*Phragmites australis*）と2007年7月に三方湖東部周辺で採取したヒシ（*Trapa japonica*）を乾熱機で60℃、12hの条件で乾燥させた。乾燥させた植物体をミキサーで粉砕し、粉末体ヨシとヒシを得た。

### 2.2 グルコースの定性分析

グルコースの定性分析法として、酵素の二段階反応を用いた GOD-POD 法を利用して、生成する赤色キノン色素量をスタンダードとの比色により確認する測定法（これ以降、比色法とする）と血糖値自己検査測定器を用いた測定法（これ以降、電極法とする）（図2）を検討した。

比色法のグルコース分析キットとして、Glucose Assay Kit (BioVision 社、図3) とグルコース CII-テストワコー（和光）を用いた。また電極法のグルコース分析キットとして、グルテストエース R（三和化学、図4）を使用した。

### 2.3 グルコース定性分析法における pH と塩の妨害

化学的加水分解法では、多量の酸・塩基の混入が予測されるため、pH と中和したときに生成する塩の影響によるグルコース測定の妨害を検討した。

1000mg/l のグルコース溶液に対し、塩酸、水酸化ナトリウム、また塩化ナトリウムを添加し、pH と塩濃度を変化させたときの、グルコース測定値の変化を調べた。



図1 三方五湖のヨシ(湖岸)・ヒシ(湖面)の繁茂

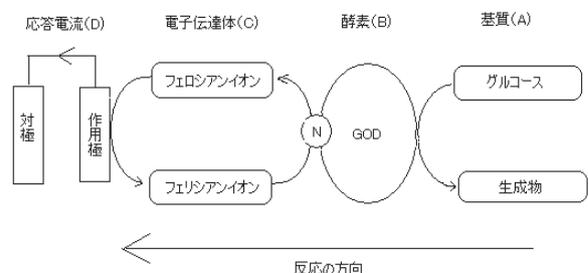


図2 血糖値自己検査測定器によるグルコース測定原理

\*1) 元福井県衛生環境研究センター



図3 Glucose Assay Kit [比色法] (BioVision 社)



図4 グルテストエース R [電極法] (三和化学)

2.4 セルロース (粉末体、脱脂綿、ろ紙) の化学的加水分解の予備試験

セルロースの化学的加水分解の分解条件については、若狭湾エネルギー研究センターのバイオマスエネルギー技術開発研究報告書<sup>2)</sup>を参考にした。

セルロース (ろ紙、粉末体、脱脂綿) を、それぞれ 2g ずつ秤量した。そこに、塩酸、硫酸、水酸化ナトリウム、アンモニア水を 0.01N, 0.1N, 1.0N, 10N の濃度で、100ml 1 添加した。その後、オートクレーブで 120℃、30min の条件で加熱し、遠心分離 3000rpm、20min の条件で浮遊物を沈殿させ、上澄みを 0.8μm のフィルターでろ過し、グルコース定性分析を行った。

2.5 粉末体ヨシ・ヒシの化学的加水分解

2.4 と同様、2.1 で調整した粉末体ヨシ・ヒシを秤量後、酸と塩基をそれぞれ添加した。ただし、粉末体の量を考慮して、2g/100ml ではなく、1g/50ml で行った。その後の実験操作は、2.4 と同様なので省略する。

2.6 固体酸と高温条件下における水単独での粉末体ヨシ・ヒシの加水分解

液体の酸・塩基を用いて加水分解を行った場合、中和・脱塩などの後処理が必要となる。そこで固体酸を用いて、固体表面上で加水分解を触媒し、濾別すれば、系内に酸・塩基が混入せず、厄介な中和・脱塩などの後処理を工程から省く<sup>3)</sup>ことができる。

また、高温条件下 (200℃、220℃) における水単独の加水分解においても同様に、酸・塩基の除去を工程から省略できると考えられる。

固体酸としては、硫酸ジルコニア (ペレット) とナフィオン NR-50 (シグマアルドリッチ) (図5) を用いた。

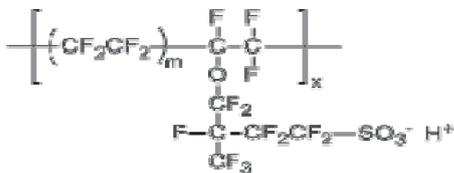


図5 ナフィオンの構造式

固体酸を用いた分解では、粉末体ヨシ・ヒシを 1g 秤量後、硫酸ジルコニア、ナフィオンをそれぞれ 5g 添加し、水 50ml を加えた。その後の実験操作は、2.4 と同様なので省略する。

水単独の分解では、マイルストーン ゼネラル社の MLS-1200 MEGA MICROWAVE LABORATORY SYSTEM を使用した。装置の制限により、ヨシ・ヒシ粉末体 0.2g に水 10ml を添加した。分解条件については表1、2で示す。

表1 分解条件 A (200℃)

Step	Time	Power (W)	T2 (°C)
1	00:05:00	250	110
2	00:10:00	400	110
3	00:05:00	250	110

表2 分解条件 B (220℃)

Step	Time	Power (W)	T2 (°C)
1	00:05:00	250	110
2	00:10:00	400	110
3	00:05:00	350	110

3. 結果と考察

3.1 グルコース定性分析における pH と塩の妨害

1000mg/l のグルコース溶液に対し、塩化ナトリウム濃度を変化させたときの電極法におけるグルコース測定値の変化を図6に示す。

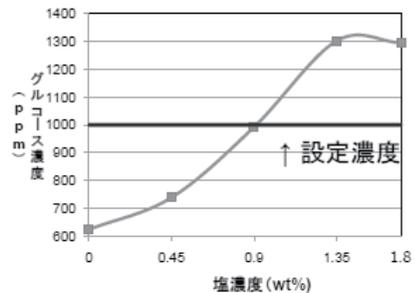


図6 塩化ナトリウム濃度の変化による電極法の測定値

次に、pH を変化させたときの電極法におけるグルコース測定値の変化を図7に示す。ただし pH を変化させる際、1000mg/l グルコース溶液に、0.9wt% の塩化ナトリウムを添加した。

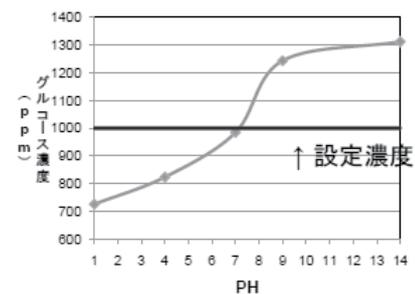


図7 pH の変化による電極法の測定値

また、比色法ではどちらも pH や塩濃度の影響を受けなかった。しかし、Glucose Assay Kit (BioVision 社、図3) は、試薬の保存性が悪く、2週間程度しか試薬が持たなかったため、実用には向かなかった。

したがって、電極法でも pH7 に中和後に塩濃度を 0.9wt% に調整すれば、測定値が添加濃度と一致する。

(今後、電極法による測定では、このように調整した後に測定を行った)

また、比色法においては pH や塩濃度の影響を考慮する必要がないことがわかった。

### 3.2 セルロース（粉末体、脱脂綿、ろ紙）の化学的加水分解の予備試験

セルロース（ろ紙）の分解結果を図8と表3で示す。

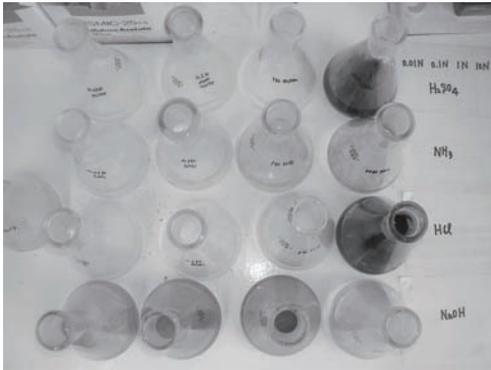


図8 セルロース（ろ紙）の分解結果  
左から、0.01N, 0.1N, 1.0N, 10N

上から、硫酸、アンモニア水、塩酸、水酸化ナトリウム

表3 セルロース（ろ紙）加水分解による  
グルコース濃度【比色法】

酸・塩基濃度 (N)	0.01	0.1	1	10
硫酸 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ND	ND	1000mg/l	ND (炭化)
アンモニア水 (NH <sub>4</sub> OH)	ND	ND	ND (黄色化)	ND (黄色化)
塩酸 (HCl)	ND	微量	1000mg/l	ND (炭化)
水酸化ナトリウム (NaOH)	ND (黄色化)	ND (黄色化)	ND (黄色化)	ND (黄色化)

したがって、グルコースが検出されたのは硫酸と塩酸のみで、塩基では全く検出されなかった。また、グルコースが検出されたときの酸・塩基濃度は 0.1~1.0N で、10N ではろ紙の炭化が見られた。

この結果を踏まえ、セルロース（粉末体、脱脂綿）の分解を行った結果を表4に示す。

表4 セルロース（粉末体、脱脂綿）  
加水分解によるグルコース濃度【比色法】

酸・塩基濃度(N)	0.01	0.1	1.0
粉末体、HCl	ND	ND	1500mg/l
粉末体、H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	ND	ND	1000mg/l
脱脂綿、HCl	ND	微量	1000mg/l
脱脂綿、H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	ND	微量	1000mg/l

セルロースによる分解予備試験を行った結果、粉末体、脱脂綿、ろ紙のいずれも 1.0N でほぼ同程度のグルコースを検出した。また、粉末体の塩酸分解では他系に比べ、検出量が多かった。これは、形状が粉末であったため、酸触媒との接触面積が大きかったからと考えられる。

### 3.3 粉末体ヨシ・ヒシの化学的加水分解

3.2の予備試験の結果を踏まえ、粉末体ヨシ・ヒシを分解した結果を表5と図9に示す。

表5 粉末体ヨシ・ヒシ加水分解 によるグルコース濃度  
(ヨシ・ヒシともに同結果)【比色法】

規定度 (N)	0.1	0.25	0.5	0.75	1
硫酸 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ND	1200mg/l	1200mg/l	1200mg/l	1200mg/l
塩酸 (HCl)	ND	1200mg/l	1200mg/l	1200mg/l	1200mg/l

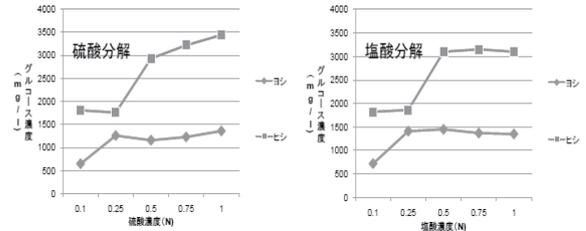


図9 粉末体ヨシ・ヒシ加水分解による  
グルコース濃度【電極法】

粉末体ヨシの酸加水分解では、硫酸・塩酸分解ともに 0.25N~1.0N において、電極法と比色法の両方で 1200mg/l のグルコースを検出した。

粉末体ヒシにおいては、比色法と電極法の測定値が一致せず、比色法より電極法で高いグルコースを検出した。これは電極法では、グルコースだけでなく、ヘミセルロース由来のグルコース類似糖または、糖の過分解物を同時に測定してしまったためと考えられる。

### 3.4 固体酸触媒と高温条件下における水単独での粉末体ヨシ・ヒシの加水分解

高温条件下における分解条件 A, B (表1, 2) の、分解容器内部での温度変化を図10, 11で示す。

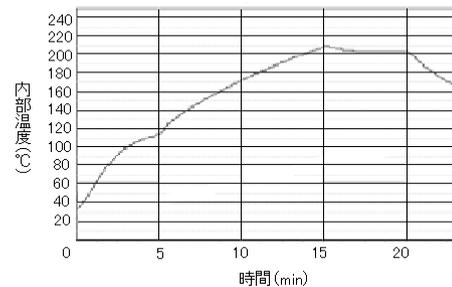


図10 分解条件 A (200°C) における内部温度

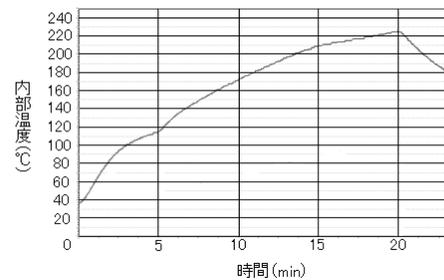


図11 分解条件 B (220°C) における内部温度

固体酸を用いた加水分解と高温条件下 (200°C、220°C) における水単独の加水分解でのグルコース生成は微量であった。

固体酸では液体の酸に比べて、接触面積が少なかったため、グルコース生成量が少なかったと考えられる。また高温条件下 (200°C、220°C) では微量ながらも、粉末体ヨシ・ヒシを分解できることが示唆された。

#### 4. まとめ

粉末体ヨシ・ヒシの化学的加水分解において、硫酸、塩酸ともに 0.25N 以上で、セルロースからグルコースへの分解を確認した。また、グルコース生成量は劣るものの、固体酸を用いた分解や高温条件下 (200°C、220°C) における水単独での分解で、粉末体ヨシ・ヒシからのグルコース生成を確認することができた。

ただし、収率は乾燥重量に対して、6~8%程度となっており、今後更なる検討が必要であると考えられる。

#### 謝辞

本研究にあたり、ご指導いただいた国立環境研究所の板山朋徳研究員、若狭湾エネルギー研究センターの高城啓一主任研究員、田中良和主任研究員、遠藤伸之主査研究員、また石川県保健環境センターの澤田道和総括 GL、橋田哲郎水環境 GL、そして研究にご協力いただいた関係者の方々に深謝いたします。

#### 参考文献

- 1) 湯川英明他：バイオマスエネルギー利用技術，CMC 出版，東京(2001)
- 2) 若狭湾エネルギー研究センター：バイオマスエネルギー技術開発研究報告書，3，1-36(2005)
- 3) Michikazu Hara: Hydrolysis of cellulose by a solid acid catalyst under optimal reaction conditions. *Journal of Physical Chemistry*, 112(No. 51), Page 20143-20148, 2008

# パンソルビン・トラップ法による食品検体からの ノロウイルスの回収検討(第1報)

東方 美保・川畑 光政\*1・斎藤 博之\*2・田中 智之\*3・武田 直和\*4

## Examination of Pansorbin Trapping Method as Concentration Detection of Norovirus from Food Samples (1)

Miho TOHO, Mitsumasa KAWABATA\*1, Hiroyuki SAITO\*2, Tomoyuki TANAKA\*3, Naokazu TAKEDA\*4

### 1. はじめに

ノロウイルス(NV)を原因物質とする食中毒検査において、推定原因食品からのウイルス検出が切望されている。しかし、効率的な濃縮法が存在しない現状では、多大な労力と時間をかけても、検出可能なケースが二枚貝・表面汚染・高濃度汚染等に限られ、偽陰性のまま原因食品の汚染が見逃されている可能性が高い<sup>1),2)</sup>。

このような事態を打開するべく、平成19年度から、厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)「食品中のウイルスの制御に関する研究」班では、斎藤らによって開発されたパンソルビン・トラップ法(以下、パントラ法)を用いて、汚染させたモデル食品からのNV検出を試み、実用化に向けて検討を行っている<sup>3)~7)</sup>。

その検討の一環として、現行の食品検査で汎用されているポリエチレングリコール(PEG)沈殿法による濃縮を並行して行い、これを比較対象として検出効率を評価した<sup>4),6)</sup>。また、プロトコルの改良により検出効率の向上が確認できた<sup>5),6)</sup>ので、その一部を併せて報告する。

### 2. 方法

#### 2. 1 NV陽性糞便による食品の汚染

##### 2. 1. 1 汚染実験に用いる食品

市販の10種の総菜(ナポリタン、マカロニサラダ、ポテトサラダ、まぐろ刺身、切り干し大根煮付、もやし和え物、鶏五目煮、れんこんの金平、きのこの白和え、ゴボウサラダ)を用いた。

##### 2. 1. 2 汚染実験に用いる検出対象NV

2006年12月に福井市で発生した急性胃腸炎集団感染症事例<sup>8)</sup>で搬入されたNV陽性糞便(Genogroup II/4型)を用いた。

##### 2. 1. 3 NV陽性糞便による食品の汚染方法

NV陽性糞便をDWで10%乳剤とし、その遠心上清を汚染用NV原液とした。さらに10倍階段希釈で、10、100、1,000、10,000、100,000倍希釈液を作成した。

これらの汚染用NV原液または希釈液を各食品10gあた

り70 $\mu$ L加えて汚染させた。

#### 2. 2 汚染食品からのウイルス濃縮

汚染させた食品10gに対して、PBS・0.1% Tween20を食品洗滌液として50mL加え懸濁させ、粗遠心(3,000rpmで20分、プロトコル改良後は3,000rpmで30分)を行った後の上清を分取し、パントラ法またはPEG沈殿法で濃縮した。

##### 2. 2. 1 パンソルビン・トラップ法

汚染食品の粗遠心後の上清液50mLに、抗Genogroup II/4血清[国立感染症研究所より分与]<sup>9)</sup>を5 $\mu$ L加え、37°Cで30分反応させてNV-抗体複合体を作らせた。そこに黄色ブドウ球菌の菌体であるパンソルビン(PANSORBIN Cells [和光純薬; #501-43261])を300 $\mu$ L加え、さらに37°Cで30分反応させることでNV-抗体-パンソルビン複合体を形成させた。その後3,000rpmで20分遠心した沈殿を回収し、100 $\mu$ LのDWで懸濁してRNA抽出用サンプルとした。

##### 2. 2. 2 PEG沈殿法

汚染食品の粗遠心後の上清液50mLに、PEG6000を4.00g、NaClを1.05g加え、振とうして完全に溶解させた後、4°Cで一晩放置し、遠心操作(8,500 $\times$ gで90分、または9,500 $\times$ gで20分)後の沈殿を、100 $\mu$ LのDWで懸濁してRNA抽出用サンプルとした。

#### 2. 3 RNA抽出およびDNase処理

改良前のプロトコルでは、TRIzol-LS[invitrogen]を用いて抽出したRNAを、RNeasy Mini kit[QIAGEN]で精製した。

改良後のプロトコルでは、TRIzol-LSを用いてフェノール抽出した段階で分取した水層に、0.8容のエタノールを加え、RNeasy カラム(RNeasy Mini Kit [QIAGEN]の構成成分)で精製した。

DNase処理は、いずれの場合も、RNase-Free DNase Set [QIAGEN]を適用してRNeasy カラム上で処理した。

#### 2. 4 NV遺伝子の定量測定

##### 2. 4. 1 逆転写反応

10 $\mu$ L分のRNAをテンプレートとして、ランダムプライマー(Nona-deoxyribonucleotide mixture [TaKaRa])およびSuper Script III Reverse Transcriptase[invitrogen]を用いた逆転写反応により、20 $\mu$ LのcDNAを合成した。

##### 2. 4. 2 コピー数の測定

厚生労働省通知<sup>10)</sup>に準じてNVのコピー数を測定した。すなわち2.4.1で得たcDNAの2 $\mu$ L分をテンプレートと

\*1) 元福井県衛生環境研究センター

\*2) 秋田県健康環境センター

\*3) 堺市衛生研究所

\*4) 元国立感染症研究所

して、TaqMan Universal PCR MASTER MIX[ABI]を用いてABI PRIZM 7900HT (384well version)[ABI]によりリアルタイム PCR 定量反応 (反応容量 20  $\mu$ L) を行った。陽性コントロールには国立感染症研究所より分与された陽性コントロール用プラスミドを用いた。陽性コントロールは3ウェル、他は2ウェルずつ反応を行い、平均を実測値とした。

### 3. 結果

#### 3.1 汚染用 NV 原液で汚染した食品 (6 種) からの回収実験

6種の総菜 (ナポリタン、マカロニサラダ、ポテトサラダ、まぐろ刺身、切り干し大根煮付、もやし和え物) を汚染用 NV 原液で汚染し、パントラ法および PEG 沈殿法で濃縮後、TRIzol-LS で抽出した RNA を RNeasy Mini Kit で精製して検査に用いた場合の回収実験結果を、図1および表1に示す。

RNA1  $\mu$ L あたりの実測値は、パントラ法の場合、 $3.8E+04 \sim 1.9E+05$  コピー/ $\mu$ L と安定しており、増幅曲線も「ポテトサラダ」以外の食品5種 (ナポリタン、マカロニサラダ、まぐろ刺身、切り干し大根煮付、もやし和え物) ではほとんど一致していた。

それに対し、PEG 沈殿法の場合、増幅曲線が食品の品目によりばらついており、測定値においても  $4.6E+01 \sim$

$1.6E+05$  コピー/ $\mu$ L と差が大きかった。これにより、食品の種類や状態が、NV 遺伝子定量値に大きく影響することが改めて確認された。

また、PEG 沈殿法での測定値を基準とすると、パントラ法での測定値は食品の品目ごとにそれぞれ 0.33~830 倍に相当した (表1)。

#### 3.2 汚染用 NV 原液で汚染した食品 (8 種) からの回収実験 (プロトコル改良後)

8種の総菜 (ナポリタン、マカロニサラダ、ポテトサラダ、まぐろ刺身、鶏五目煮、れんこんの金平、きのこの白和え、ゴボウサラダ) を汚染用 NV 原液で汚染し、汚染食品からのウイルス洗い出し後の遠心条件をより厳しく変更した (3,000rpm で 20 分  $\rightarrow$  3,000rpm で 30 分) 改良プロトコルにより、パントラ法および PEG 沈殿法で濃縮後、TRIzol-LS+RNeasy の系で RNA 抽出を行った場合の回収実験結果を、図2および表2に示す。

3.1と同様に、PEG 沈殿法では品目ごとにばらつきが大きかったのに対し、パントラ法では品目によらず一定の回収を見込むことができた (図2)。

汚染食品からのウイルス洗い出し後の遠心条件をより厳しく変更したことで夾雑物の混入が抑えられ、プロトコル改良前と比べ、パントラ法で  $2.6E+05 \sim 2.4E+06$  コピー/ $\mu$ L、PEG 沈殿法で  $1.2E+03 \sim 2.0E+05$  コピー/ $\mu$ L と

表1. 食品種類別のNV測定値

食品 (汚染用NV液には 原液使用)	測定値 (抽出RNA1 $\mu$ L あたりのコピー数)		PEG 沈殿法を 1とした ときの 効率(倍)
	パンソルビン・ トラップ法	PEG沈殿法	
ナポリタン	4.2E+04	1.6E+04	2.60
マカロニサラダ	5.3E+04	1.6E+05	0.33
ポテトサラダ	1.9E+05	9.0E+04	2.10
まぐろ刺身	4.6E+04	1.7E+02	270.00
切り干し大根煮付	4.9E+04	7.8E+04	0.63
もやし和え物	3.8E+04	4.6E+01	830.00
食品なし	5.4E+04	1.3E+02	420.00

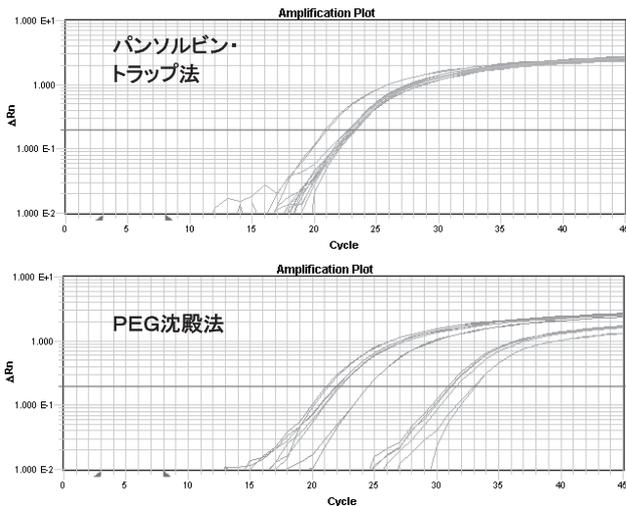


図1. 汚染モデル食品からのNV回収実験の増幅曲線 (濃縮法別)

表2. 食品種類別のNV測定値 (プロトコル改良後)

食品 (汚染用NV液には 原液使用)	測定値 (抽出RNA1 $\mu$ L あたりのコピー数)		PEG 沈殿法を 1とした ときの 効率(倍)
	パンソルビン・ トラップ法	PEG沈殿法	
ナポリタン	3.9E+05	1.5E+05	2.70
マカロニサラダ	8.9E+05	2.5E+03	360.00
ポテトサラダ	1.5E+06	2.0E+05	7.60
まぐろ刺身	2.6E+05	6.8E+04	3.90
鶏五目煮	7.7E+05	4.9E+04	16.00
れんこんの金平	5.8E+05	6.6E+03	87.00
きのこの白和え	5.1E+05	1.3E+05	3.80
ゴボウサラダ	1.2E+06	1.2E+03	1000.00
食品なし	2.4E+06	1.3E+04	190.00

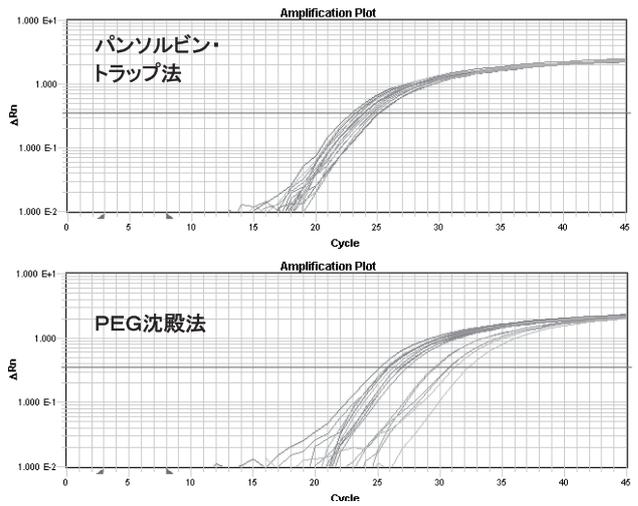


図2. 汚染モデル食品からのNV回収実験の増幅曲線 (濃縮法別, プロトコル改良後)

表3. 汚染用NV液希釈濃度別でのNV測定値(プロトコル改良後)

食品	汚染用NV液希釈濃度	測定値 (抽出RNA1μLあたりのコピー数)		PEG沈殿法を1としたときの効率(倍)
		パンソルビン・トラップ法	PEG沈殿法	
ナポリタン	原液*	3.9E+05	1.5E+05	2.70
	10倍希釈	9.9E+03	2.3E+03	4.30
	100倍希釈	1.4E+03	9.6E+01	15.00
	1,000倍希釈	1.2E+02	2.1E+01	5.70
マカロニサラダ	原液*	8.9E+05	2.5E+03	360.00
	10倍希釈	1.7E+05	7.2E+02	230.00
	100倍希釈	4.9E+03	2.0E+01	250.00
	1,000倍希釈	1.3E+02	7.1E+00	18.00
食品なし	原液*	2.4E+06	1.3E+04	190.00
	10倍希釈	2.4E+05	7.0E+02	340.00
	100倍希釈	2.3E+04	1.1E+02	200.00
	1,000倍希釈	1.3E+03	1.7E+00	750.00

\*表2の再掲

高いレベルの測定値が得られた。

なお、全ての品目でパントラ法がPEG沈殿法より高い値を示し、PEG沈殿法での測定値を基準とすると、パントラ法での測定値は食品の品目ごとにそれぞれ2.7~1000倍に相当した。(表2)。

### 3.3 汚染用NV液で段階希釈的に汚染した食品(2種)からの回収実験(プロトコル改良後)

3.1において、パントラ法の方がより測定値の高かった食品4種(ナポリタン、ポテトサラダ、まぐろ刺身、もやし和え物)の代表として「ナポリタン」を、PEG沈殿法の方がより測定値の高かった食品2種(マカロニサラダ、切り干し大根煮付)の代表として「マカロニサラダ」を、それぞれ選択し、汚染レベルを低くした場合(原液、10・100・1,000倍希釈)の回収実験結果を表3に示す。いずれの場合においても、パントラ法がPEG沈殿法より高い測定値を示した。

## 4. 考察

### 4.1 パントラ法の特長

これまでカキ等の二枚貝を除く食品検体からのNVの検出例は少ない。これは、食品中ではNVは増殖せず汚染量は必ずしも多くないと考えられること、NVは10~100個程度の極少量のウイルス粒子が摂取されても感染が成立すると考えられていること、食品からの効率的な濃縮方法が確立されていないことなどが大きな理由である。さらに食品の形態や食品汚染の経路によりNVの食品汚染部位が異なるため、各食品に応じた検体処理を行う必要がある。従って、食品をやみくもに検査してもNVを検出することは極めて難しい<sup>2)</sup>という状況であった。

これまで食品表面のウイルス洗滌液を濃縮する方法として利用されてきたのは、今回の回収実験で比較対照としたPEG沈殿法や超遠心機を利用して精製する方法などであった。それらと比べ、パントラ法は、操作の簡便さ、必要機材の少なさ、所要時間・作業時間の短さ、など数多くの利点が挙げられる。何よりも、パンソルビン-抗体-NV複合体を回収する遠心操作後の沈殿状態は、PEG沈殿法で得ら

れる沈殿状態と比較して格段に扱いやすく、ストレスなく処理を進めることが可能であるという有利さは大きい。

### 4.2 食品種類別での検出効率

表2、3によると、改良プロトコルを適用した場合には全ての食品において、パントラ法の方が高い測定値を示した。

しかし、「まぐろ刺身」や「きのこの白和え」では、その差はわずかだった。このような表面的な汚染にとどまると考えられる食品では、食品洗滌液でNVを洗い出し遠心上清として回収した時点で比較的夾雑物が少ないため、PEG沈殿法との差も小さいのであろう。パントラ法がより効果を発揮するのは、練り物や油物といった夾雑物が多く混入する食品の場合だと考えられる。

また、「ナポリタン」や「ポテトサラダ」についても、比較的差が小さかった。このような食品洗滌液のpHを酸性側に傾ける性質のある食品では、むしろ夾雑物を取り除けていないと思われる状態において、増幅曲線の立ち上がり方がより早まる傾向がみられた。抽出RNAに混入して持ち込まれた夾雑物がリアルタイムPCR反応系に増幅曲線の立ち上がり方を早める影響を及ぼすことで、見かけ上高い測定値がはじきだされる現象が想定される。夾雑物が多いPEG沈殿法でその影響がより大きく、結果として差が小さくなった可能性が考えられる。

なお、全く夾雑物のない「食品なし」の検体において、低汚染レベルでPEG沈殿法による回収がうまくいかなかったのは、RNA抽出のエタノールを加えた段階で共沈する物質(少量の夾雑物)が存在しない場合に沈殿形成が困難であることを示している。

以上のことから、夾雑物がNV検出での測定値に及ぼす影響は、その種類や混入の程度によって増減いずれの方向にも作用する。そのことが特にPEG沈殿法において、食品の種類により検出効率に大きな差を生む要因となっていると考えられる。それに対しパントラ法では、どの食品においても安定した検出効率を得られており、こうした夾雑物の影響を受けにくい方法といえる。すなわち、パントラ法を用いる場合には食品の種類によらず共通の工程で作業できることを意味しており、高い検出効率に加え、パントラ法の有用性が示された。

## 5. まとめ

新規に開発されたパントラ法は、食品からのNVの濃縮検出をより簡便かつ効果的に行える特長を備えている。そこで、NV陽性糞便で汚染させたモデル食品に本法を適用したところ、実用化につながる可能性が確認された。PEG沈殿法では食品の種類によってばらついた回収結果となつたのに対し、パントラ法では比較的安定した回収結果が得られた。パントラ法は実用化の可能性の高い有望な濃縮法と期待される。

なおこの研究は、平成19~21年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)「食品中のウイルスの制御に関する研究」により実施されている。

## 参考文献

- 1) 薬事・食品衛生審議会 食品衛生分科会食中毒部会：  
ノロウイルス食中毒対策について（提言）（2007）
- 2) 国立感染症研究所感染症情報センターおよび国立感染症研究所ウイルス第二部：ノロウイルス集団発生事例に対して感染症および食品部局が共同で実施する初期実地疫学調査および微生物学検査のポイント（第1版：平成19年11月18日版）（2007）
- 3) 斎藤博之他：パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収，厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成19年度 総括・分担研究報告書,103-111(2008)
- 4) 東方美保他：パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収(検討2)，厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成19年度 総括・分担研究報告書,125-133(2008)
- 5) 斎藤博之：パンソルビン・トラップ法の実用化に向けた改良（検討1），厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成20年度 総括・分担研究報告書,27-38(2009)
- 6) 東方美保他：パンソルビン・トラップ法の実用化に向けた改良（検討2），厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成20年度 総括・分担研究報告書,181-190(2009)
- 7) 斎藤博之：食品検体のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の開発,秋田県健康環境センター年報, 4 (in press)
- 8) 東方美保他：平成14～18年度に福井県で検出されたノロウイルスの遺伝子解析,福井県衛生環境研究センター年報,5,60-72(2007)
- 9) Hansman GS et al. : Genetic and antigenic diversity among noroviruses, J.Gen.Virol., 87, 909-919 (2006)
- 10) 厚生労働省医薬局食品安全部監視安全課長通知：ノロウイルスの検出法について,食安監発第1105001号,平成15年11月5日(2003)

# 微生物分解による汚泥・土壌のダイオキシン類 低減化に関する研究（第1報）

三木崇・熊谷宏之

Degradation of Dioxins by White Rot Fungi

Takashi MIKI, Hiroyuki KUMAGAI

## 1. はじめに

キノコに代表される白色腐朽菌<sup>1)</sup>は、自身の分解酵素（LiP:リグニンペルオキシターゼ、MnP:マンガンペルオキシターゼ、Lac:ラッカーゼ）によって、複雑な化学構造を有する木材構成成分のリグニンなど、難分解性物質を分解できることが知られている。

一方、福井県内のダイオキシン類実態としては、我々の調査研究の結果、一部河川で環境基準（1pg-TEQ/L）を超過するダイオキシン類汚染が確認され、その原因は一般的な汚染要因（燃焼、農薬（CNP、PCP）、PCB製品など）だけでなく、繊維染色事業所からの染色排水（染料）が寄与していることを解明<sup>2)~5)</sup>した。そこで、染色排水のダイオキシン類低減化対策の必要性が生まれ、その手段として凝集沈殿法の検討を行い、有効性を確認した<sup>6)</sup>。

しかしながら、凝集沈殿法によって回収した排水汚泥中にはダイオキシン類が残存することから、その汚泥を無害化する必要がある。これまでの研究から、ダイオキシン類などの難分解性物質について、キノコによる分解・無害化に向けた利用が期待され、基礎的な実験系にて分解効果が確認されている報告<sup>7)~9)</sup>もある。

そこで、低コストで環境負荷の小さな処理技術としてバイオレメディエーションを活用した低減策を考え、白色腐朽菌および県内産キノコによるダイオキシン類の低減化に着目した。

著者らは、微生物やキノコによる分解試験の基礎条件（有効な菌種や分解効果、培養条件等）について検討した。

## 2. 方法

### 2.1 L-25株による分解試験

分解方法は、液相分解、固相分解の2通りで行い、菌を添加しないコントロール試料を用意し、分解後の試料とコントロール試料と比較することで低減化率を求めた。

$$\text{低減化率(\%)} = \frac{\text{コントロール試料(pg)} - \text{分解後試料(pg)}}{\text{コントロール試料(pg)}} \times 100(\%)$$

#### (1)液相分解

培養液は、ポテトデキストロースブロス（以下、PDB）24g/L、ポリペプトン 1~45g/L、MnSO<sub>4</sub> 0.01~0.1mMである。

培養液 100ml を、振とう用の三角フラスコに入れ、菌体を添加して 30°C、150rpm で約 1 週間振とう培養した。

分解効果の確認のため、染色排水由来に特徴的なダイオキシン類である 2,3,4,6,7,8-HxCDF を 10,000pg 添加し、前述の条件で 28 日間以上培養分解した。

液相分解に関しては①単純培養分解、②酵素抽出液分解、③排水汚泥分解、の3種類を用意し、通常濃度培地と高濃度培地の条件下で分解効果を検証した。分解条件の定義は以下の通りである。

①単純培養分解：上記培養条件での分解。

②酵素抽出液分解：培養液から菌体を除去した抽出液を用いた分解。培養期間は約 1 ヶ月。

③排水汚泥分解：上記培養条件での排水汚泥の分解。

なお、②酵素抽出液分解では、酵素の分解活性に必要な過酸化水素水（1mM）を 2 日毎に約 1ml 添加し、分解期間は他より短めの 14 日間としたが、これは共同研究者の助言に基づくもので、初期の酵素抽出液には分解酵素が十分に存在しているが、時間とともに酵素が分解して活性が失われると予想されることから、分解に長期間費やしても意味がないと判断したためである。

#### (2)固相分解

市販の PDB 寒天培地で培養した菌体を 1cm<sup>2</sup> 程度にカットし、5.0g の模擬汚染土壌（もしくは排水汚泥）に 3 片載せ、3 日毎に約 1ml の純水を滴下して 28 日間以上室温（20~25°C）で静置培養した。

模擬汚染土壌は、ダイオキシン類濃度が非常に低い清浄な赤土に、2,3,4,6,7,8-HxCDF を 10,000pg 添加して調整した。

固相分解としては、上記条件で培養分解した④模擬汚染土壌分解、⑤排水汚泥分解、の2種類であり、通常培地と高濃度培地について検証した。

### 2.2 県内産キノコによる分解試験

実験系としては、液相分解として①単純培養分解（通常、高濃度培地）、②セルロース培地分解（2.4g/100ml）、固相分解として、③単純培養分解（30 日）、④単純培養分解（180 日）、化学触媒添加系として、⑤過酸化水素水添加分解（0.1~1mM : 1ml/3days）、⑥酸化カルシウム分解（CaO 1g、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>（0.1mM）:1ml/3days）、の計 6 種類である。

液相分解の培養条件は前述のとおりだが、固相分解に関しては、県内キノコの成長のしやすさと実用性を考慮し、5g の木材チップに菌を植えて約 1 週間成長させ、その後模擬汚染土壌と混合した。

分解条件の定義は以下の通りである。

<液相分解>

①単純培養分解：上記培養条件での分解。

②セルロース培地分解：培養液の成分を、セルロース

2.4g/100ml、MnSO<sub>4</sub> 0.1mM とした。PDB 等は不使用。

<固相分解>

- ③単純培養分解：上記培養条件での分解。(30日)
- ④単純培養分解：上記培養条件での分解。(180日)
- ⑤過酸化水素水添加分解：上記培養条件に加え、過酸化水素水(0.1mM、1mM)を3日に1ml添加。
- ⑥酸化カルシウム分解：上記培養条件の培地に CaO 1gを混合し、過酸化水素水(0.1mM)を3日に1ml添加。

今回の実験では分解効率を上げるため、化学触媒として過酸化水素や酸化カルシウムを選定し、模擬汚染土壌・木材チップ系に添加した。

これらの物質の添加理由は、白色腐朽菌は酵素と過酸化水素を分泌して酵素反応を行っているため、外部から過酸化水素を与えることで現在よりも酵素反応が促進される可能性が考えられること、また、酸化カルシウムは、物質自体がダイオキシン類分解作用を有しており、安価で環境毒性もないため、環境土壌へ散布する際に有効と考えたことの2点である。なお、両者とも過酸化水素水(0.1~1mM)を3日毎に約1ml添加し、その都度、全体が均一な濃度となるよう攪拌した。

2.3 白色腐朽菌の選定

全部で5種類の菌を、以下の観点で選定した。

- (1) 既に染料やダイオキシン類の分解効果が確認されている<sup>7,8)</sup>ものを選定した。これは、福井大学が所有する L-25 株で、酵素分泌量が多いため、高い分解効果が期待できる。この L-25 株の分泌酵素はマンガンペルオキシターゼ (MnP) が主体的である。
- (2) 汎用性と県内産のきのこの有効活用を期待して選定した。これは、福井県内で食用に栽培されているキノコ類(4種類)であり、収穫後には廃菌床と呼ばれる根の部分の部分が廃棄物として発生し、焼却処分されている。また、廃菌床の有効活用に繋がるという可能性がある。

県内産キノコとして、県総合グリーンセンターから4種類(ふくひら1号、ふくひら2号、マイタケ、エノキタケ)の提供を受け、吸光光度計を用いた酵素測定を行った。

2.4 試料のダイオキシン類分析

各試験で得られた処理液に、内標準物質としてクリーンアップスバイクを添加し、吸引ろ過操作によってろ液と残渣に分けた(図1)。

残渣については Gerhardt 製ソックスサームでトルエン抽出を2回行い、ろ液はジクロロメタンとヘキサンによる液-液抽出を計7回実施し、硫酸ナトリウムで脱水処理した後に両抽出液を混合した。(培養液は有機物を多く含んでおり、液-液抽出の際にはジクロロメタンと培養液の混合相(エマルジョン)が発生する。このため、水相と混合相について3回ずつヘキサン抽出を行うこととした。)なお、固相試料の場合は、ろ過操作と液-液抽出を省略し、ソックスサーム抽出から開始した。

得られた抽出液を多層シリカゲルカラムで精製した後、活性炭分散シリカゲルリバースカラムで mono-ortho PCBs 画分と non-ortho PCBs/PCDDs/PCDFs 画分に分離し、20μlまで最終濃縮した。HRGC/HRMS による測定では、既報<sup>10)</sup>の測定条件下で、GC カラムとして

SP-2331 と RH-12ms の2種類を用いて同定・定量を行った。

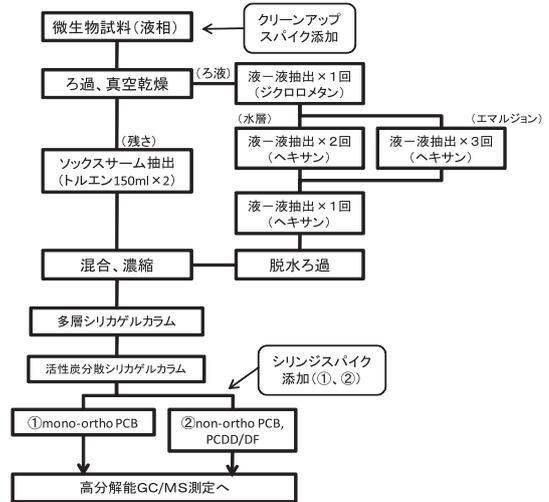


図1 微生物分解試料の分析フロー(液相試料)

3. 結果と考察

3.1 L-25株による分解結果

L-25株を用いて液相分解、固相分解を行った結果を表1に示す。

今回の研究では、分解効果の有無の判定として、低減化率30%を判断基準とした。これは、JIS K 0312等の「ダイオキシン類の測定方法」に準ずる考え方である。

分解結果は、いずれの系も初期濃度に近いダイオキシン類が回収され、①単純培養分解の高濃度培地試料のみ、約20%の低減化が確認されたが、他の系は10%未満で、明確な分解効果は認められなかった。

表1: L-25株による分解試験

液相分解	方法	分解対象	分解日数	低減化率
液相分解	単純培養(通常、高濃度培地)	HxCDF(培養液)	38日	通常培地 : 10%未満 高濃度培地 : 約20%
	酵素抽出液(通常、高濃度培地)	HxCDF(培養液)	14日	10%未満
	排水汚泥(通常、高濃度培地)	汚泥のみ	51日	10%未満
固相分解	単純培養(通常、高濃度培地)	HxCDF(土壌)	29日	10%未満
	排水汚泥(通常、高濃度培地)	汚泥のみ	51日	10%未満

3.2 県内産キノコによる分解結果

食用キノコ株を用いて液相分解、固相分解を行った結果を表2に示す。

いずれの系でも初期濃度に近いダイオキシン類が回収され、低減化率も10%未満と、4菌種(ふくひら1号、ふくひら2号、マイタケ、エノキタケ)とも分解効果は認められなかった。

なお、実験に先立ち、4菌種の培養液について吸光光度計で酵素量測定した結果、食用キノコが基礎的な培養条件で分泌する酵素はラッカーゼ(Lac)が主体的で、マンガンペルオキシターゼ(MnP)、リグニンペルオキシターゼ(LiP)は殆ど分泌されないことが確認された。これらの酵素が存在しないことが、分解効果が得られなかったことに関連しているといえる。

## 参考文献

表2: 食用キノコ株(4菌種)による分解試験

	方法	分解対象	分解日数	低減化率
液相分解	単純培養 (通常、高濃度培地)	HxCDF(培養液)	54日	10%未満
	特殊環境 (セルロース培地)	HxCDF(培養液)	54日	10%未満
固相分解 (土壌+木材)	単純培養(30日)	HxCDF(土壌)	30日	10%未満
	単純培養(180日)	HxCDF(土壌)	180日	10%未満
化学分解 (土壌+木材+触媒)	過酸化水素水 (ふくひら1号)	HxCDF(土壌)	40日	10%未満
	酸化カルシウム (ふくひら1号)	HxCDF(土壌)	40日	10%未満

## 4. まとめ

本年度の基礎的な分解試験では、L-25株、食用キノコ株ともダイオキシン類濃度の明確な減少は認められなかった。

今後は各種酵素の活性を高める条件など、分解効率の改善を検討していく予定である。

## 謝辞

本研究を実施するにあたり、技術指導、ご協力いただいた福井大学工学部櫻井明彦准教授、福井県総合グリーンセンター赤松やすみ主任研究員に感謝申し上げます。

- 1) 渡辺隆司：白色腐朽菌のフリーラジカルプロセス、木材研究・資料 第36号、p34-50 (2000)
- 2) 熊谷宏之他：福井県の未規制発生源からのダイオキシン類流入河川における年間濃度変動について、第15回環境化学討論会講演要旨集、304-305 (2006)
- 3) 熊谷宏之他：分散染料中のダイオキシン類分析法の開発—凝集剤を用いた抽出法の評価—、第16回環境化学討論会講演要旨集、330-331 (2007)
- 4) 熊谷宏之他：未規制発生源である染色排水からのダイオキシン類排出機構について、第16回環境化学討論会講演要旨集、388-389 (2007)
- 5) 熊谷宏之他：分散染料中のダイオキシン類分析について—抽出法の検討と測定データの特徴—、福井県衛生環境研究センター年報、5、77-84 (2006)
- 6) 熊谷宏之他：染色排水からのダイオキシン類低減化試験について—凝集沈殿、微生物分解、太陽光照射の検討—、福井県衛生環境研究センター年報、6、55-60 (2007)
- 7) H.-R.Kariminiaae-Hamedani et al. : Decolorization of synthetic dyes by a new manganese peroxidase-producing white rot fungus, Dyes and Pigments 72, 157-162 (2007)
- 8) A.Sakurai et al. : Removal of dioxins, endocrine disruptors and dyes by a newly isolated white-rot fungus, International chemical congress of pacific basin societies, Honolulu, USA, CD-ROM723 (2005)
- 9) C.Adinarayana.Reddy : The potential for white rot fungi in the treatment of pollutant, Current Opinion in Biotechnology 6, 320-328 (1995)
- 10) 熊谷宏之他：未規制発生源からのダイオキシン類流入河川における汚染機構について—年間濃度変動と各汚染寄与割合の推定—、福井県衛生環境研究センター年報、4、66-71 (2005)

## 水生昆虫等による魚類へい死事故調査について (第2報)

吉田耕一郎・長谷川耕治・森陰早也香

## Investigative Method of Fish Kill Incidents by Aquatic Insects (2)

Koichiro YOSHIDA, Koji HASEGAWA, Sayaka MORIKAGE

## 1. はじめに

河川における魚類へい死事故の原因判明率が低い理由として、事故発生から試料採取までの時間経過やへい死魚の下流への流下、生き延びた魚の舞い戻りなどが考えられる。

前報<sup>1)</sup>において、川底などに生息し魚類に比べて移動量が少ない水生昆虫や貝類などに着目し、カゲロウを用いた複数薬剤による生物影響試験を行った結果、シアン化カリウム以外の薬剤では水生昆虫等が有害物質から受ける影響が魚類と同程度であった。このことから、魚類へい死事故現場においてもカゲロウも魚類と同程度の被害を受けているものと推定し、事故現場周辺でカゲロウ等水生昆虫の被害状況を詳細に観察することにより、原因物質の流入箇所を特定できる可能性が示唆された。

また、その実験過程において、ヒルが毒物に曝された際に体表面から生体防御のためと考えられる多量の粘液を分泌することを確認した。今回、この粘液物質を毒物被曝の有無判定の指標として利用できないかと考え、一般的な河川に普遍的に生息し、かつ比較的薬剤耐性が強いと考えられるカワナナおよびヒルを用いて各種薬剤による曝露試験を行い、事故現場でも適用可能な粘液物質の簡易定量を試みたので報告する。

## 2. 試験方法

## 2. 1 水生昆虫

カワナナは、長野県内の飼育業者から購入した体重0.4~1gのものをを用いた。これを約20°Cの一定水温に保った揚水ろ過式の循環型暴気水槽内でイオン交換水を少しずつ補給交換しながら5日以上馴化した後、元気の良い個体を選んで1か月以内に試験に供した。

ヒルは、鞍谷川で採取した体重0.2~0.5gのシマイシビルを用いた。河川水とともに実験室に持ち帰り、暴気蒸留水で水を交換しながら1日以上馴化した後、形体が正常で元気の良い個体を選んで1週間以内に試験に供した。

## 2. 2 試験薬剤および曝露試験薬液

試験薬剤は、前報において使用した9薬剤のうち、カゲロウへの生物影響の発現濃度が極めて高く非現実的であった硫酸銅と塩化亜鉛を除く、塩酸、水酸化ナトリウム、シアン化カリウム、次亜塩素酸ナトリウム、アンモニア水、フェノールおよびイプロベンホスの7薬剤とした。

また、曝露試験薬液は、各試験薬剤を蒸留水で希釈して調整した3~5段階濃度のものを使用した。

## 2. 3 薬物曝露試験

薬物曝露試験は、各曝露試験薬液25mlを入れた50ml

ビーカー内に水生昆虫を1個体投入して行い、投入後約1分間隔でビーカーを軽く揺すりながら1~10分間放置して行った。また、その間の生死等の状況についても観察した。

なお、暴気蒸留水による対照試験を並行して行うとともに、薬物曝露試験および対照試験とも3~5個体ずつの並行試験により行った。

## 2. 4 回復試験

薬物曝露試験後の被検体に付着した薬液を50mlビーカー内で暴気蒸留水20mlで3回洗浄した後、30mlの暴気蒸留水中に時々軽く揺すりながら30分間放置して回復試験を行った。

## 2. 5 粘液物質の溶出

薬物曝露試験後の水生昆虫をピンセットで摘み、0.03M塩化ナトリウム溶液10mlを入れた12mlスピッツ管内にすばやく移し入れ栓をした後、30秒間緩やかに手振りによる横振とう(振とう幅約20cm、振とう回数約80回)を行い、水生昆虫の体表面に分泌された粘液物質を溶出した。この溶出液を10mlスピッツ管に移したものを試験溶液とした。

なお、試験溶液の安定性を保持する目的で、トリトンX-100の10%水溶液を100 $\mu$ l加えた。

## 2. 6 粘液物質の定量

試験溶液の0.2~1.0mlを10mlスピッツ管に採り、0.05Mりん酸ナトリウム緩衝液2ml加えた後、試験管ミキサーを用いて激しく振とうしながらフルオレサミン溶液(0.03%アセトン溶液)1mlを加え、約20分後に表1に示した測定条件で蛍光強度を測定した。なお、第一級アミンの標準物質としてグルタミン酸ナトリウムを用いた。

表1 蛍光分光光度計の測定条件

装置	楸島津製作所製 RF-5300PC
波長	励起 390nm、蛍光 475nm
バンド幅	励起 3nm、蛍光 5nm
感度	High

## 3. 結果と考察

## 3. 1 粘液物質の定量法の検討

粘液物質の主な成分は一般的に糖蛋白質、糖類、無機塩類である<sup>2)</sup>といわれていることから、今回粘液物質の定量法として蛋白質中の第一級アミンと反応して強い蛍光物質を生成するフルオレサミン法<sup>3)</sup>を採用し、試験溶液中のアミン量としての算出を試みた。

蛋白質中の一般的な第一級アミンであるグルタミン酸

ナトリウムを用いてフルオレサミン法による蛍光を測定したところ、図1に示すようにアミン量として0~2.0 $\mu\text{g}$ の範囲でほぼ直線に近い検量線が得られたことから、同法により糖蛋白質の第一級アミンを指標とした粘液物質の定量が可能と考えられた。

なお、生成した蛍光物質は、5 $^{\circ}\text{C}$ の冷蔵庫内保存で24時間後では蛍光強度の低下は認められなかったが、72時間後には2割程度の低下が認められた。

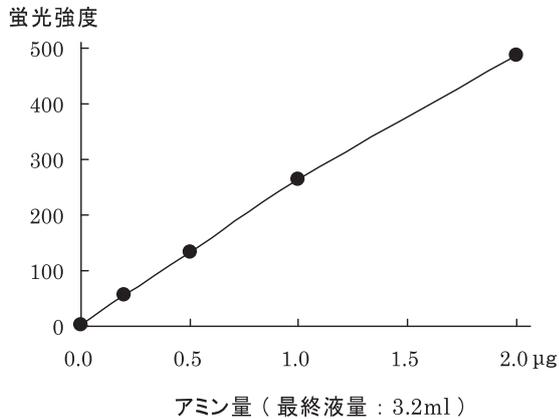


図1 検量線

### 3. 2 粘液物質の溶出法の検討

#### 3. 2. 1 溶出液の検討

水生昆虫が薬物に曝露されたときに分泌する粘液物質は表在性であり、一般的に表在性蛋白質の可溶化には0.2~1M濃度の塩化カリウム溶液や塩化ナトリウム溶液が用いられる<sup>4)</sup>。

そこで、蒸留水と0.01M、0.03M、0.1Mおよび0.3M濃度の各塩化ナトリウム溶液を用いて粘液物質の溶出効果について検討した。なお、溶出は試験管ミキサーでの1分間振とう法により行い、フルオレサミン法での定量には試験溶液の1.0mlを用いた。

0.03M水酸化ナトリウム溶液に10分間曝露したカワニナおよびその対照を用いて行った結果を図2に示した。

検出したアミン量の平均値でみると、対照では塩化ナトリウム濃度が高くなるほど検出アミン量が若干多くなる傾向がみられたが、水酸化ナトリウム溶液曝露ではバラツキは大きいものの0.03M濃度で検出アミン量が最も多くなった。

したがって、以後の試験では、水酸化ナトリウム溶液曝

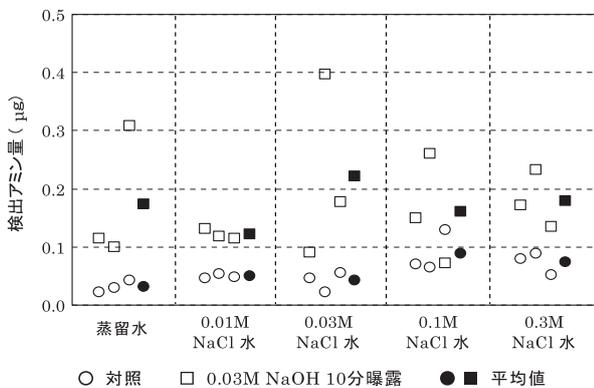


図2 溶出液の違いによる検出アミン量の変化

露における検出アミン量が多く、対照での検出アミン量も比較的少なかった0.03M塩化ナトリウム溶液を溶出液として用いることとした。

#### 3. 2. 2 溶出方法の検討

粘液物質の可溶化には、溶出液とともにどのような溶出方法を用いるかで大きく違ってくると考えられ、強力な溶出方法を用いれば粘液物質以外の組織的な蛋白質(内在性蛋白質)まで抽出されてしまうおそれもある。

そこで、試験管ミキサー(1分)、超音波(1分)および手振り(振とう幅約20cm、振とう回数約80回、30秒)の各振とう法を用いて粘液物質の溶出効果について検討した。なお、溶出液には0.03M塩化ナトリウム溶液を用い、フルオレサミン法での定量には試験溶液の1.0mlを用いた。

0.03M水酸化ナトリウム溶液に10分間曝露したカワニナおよびその対照を用いて行った結果を図3に示した。

検出したアミン量の平均値でみると、対照では手振り振とう法が他の振とう法に比べて検出アミン量が少なく、水酸化ナトリウム溶液曝露では超音波振とう法で最も検出アミン量が多いもののバラツキも大きかった。

したがって、以後の試験では、実際の事故現場での簡便性も考慮して、手振り振とう法により粘液物質の溶出を行うこととした。

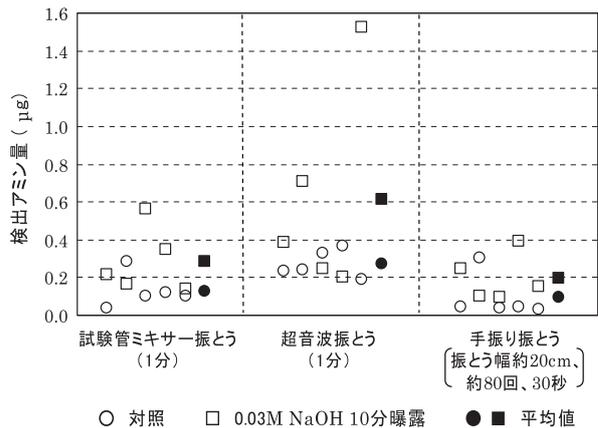


図3 溶出方法の違いによる検出アミン量の変化

#### 3. 2. 3 試験溶液の安定性

ヒルを0.01M水酸化ナトリウム溶液に10分間曝露して作成した試験溶液について、アミンの安定性を検証した。5 $^{\circ}\text{C}$ の冷蔵庫内で2週間保存しても検出アミン量に変化は認められず、安定していることが確認された。

### 3. 3 薬物被曝水生昆虫からの蛋白質定量

#### 3. 3. 1 カワニナ

上記2. 試験方法に従い、カワニナを用いて各種薬剤による曝露試験を行い、粘液物質中の蛋白質をアミン量として定量した結果について図4~図10に示した。曝露時間はすべて10分で行い、フルオレサミン法による定量には試験溶液の1.0mlを検液として使用した。

なお、薬物曝露後にすべての被検体の生存を確認するとともに、一部被検体の体表面から明らかな粘液の分泌を認めた。

塩酸溶液による曝露試験では、検出アミン量の平均値で見ると、0.01M 濃度では対照とほぼ同レベルであったが、0.03M、0.1M 濃度ではそれぞれ 0.11 $\mu\text{g}$ 、0.20 $\mu\text{g}$  と曝露濃度が高くなるほど検出量が多くなった (図4)。

水酸化ナトリウム溶液による曝露試験では、検出アミン量の平均値で見ると、0.01M、0.03M、0.1M 濃度でそれぞれ 0.10 $\mu\text{g}$ 、0.15 $\mu\text{g}$ 、0.19 $\mu\text{g}$  と曝露濃度が高くなるほど検出量が多くなった。また、今回試験した薬剤の中では最も検出アミン量が多かった (図5)。

シアン化カリウム溶液による曝露試験では、検出アミン量の平均値で見ると、シアンイオンとして 3mg/l 濃度では対照とほぼ同レベルであったが、10mg/l、30mg/l 濃度ではそれぞれ 0.06 $\mu\text{g}$ 、0.08 $\mu\text{g}$  と対象よりも若干検出量が多くなった。なお、30mg/l 濃度では曝露後の被検体から目視により粘液の分泌が確認された (図6)。

フェノール溶液による曝露試験では、検出アミン量の平均値で見ると、100mg/l、300mg/l、1000mg/l 濃度でそれぞれ 0.07 $\mu\text{g}$ 、0.09 $\mu\text{g}$ 、0.11 $\mu\text{g}$  と対照の 0.06 $\mu\text{g}$  よりも若干多くなったが、個々の値のばらつきが大きいことから、有意的な差はないように思われた (図7)。

アンモニア水による曝露試験では、検出アミン量の平均値で見ると、10mg/l、30mg/l 濃度では対照とほぼ同等であったが、100mg/l、300mg/l 濃度ではそれぞれ 0.08 $\mu\text{g}$ 、0.10 $\mu\text{g}$  と対照の 0.04 $\mu\text{g}$  よりも若干多くなった (図8)。

なお、アンモニア水が第一級アミンと類似構造を有しているため、アンモニア水自身による蛍光物質生成の可能性について検討したところ、アンモニア水 10 $\mu\text{g}$  からアミン量として 0.09 $\mu\text{g}$  検出された。アンモニア水曝露液から最終試験溶液へのアンモニア水持ち込み量を 0.03ml と仮定

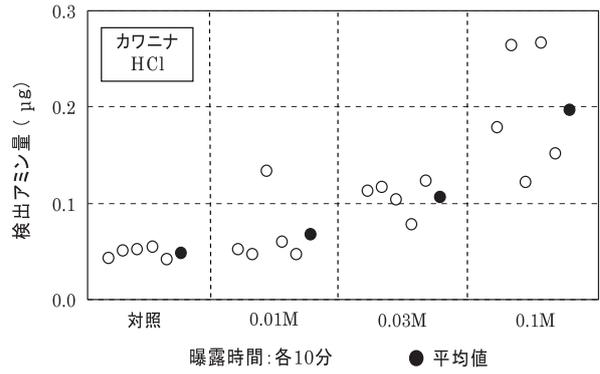


図4 塩酸曝露試験 (カワニナ)

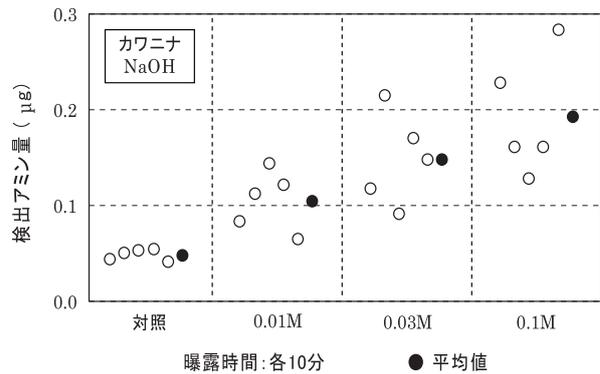


図5 水酸化ナトリウム曝露試験 (カワニナ)

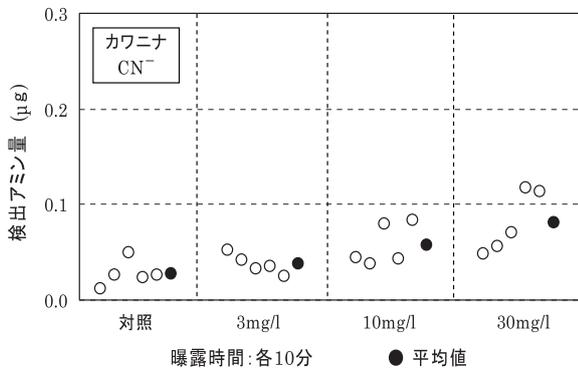


図6 シアン曝露試験 (カワニナ)

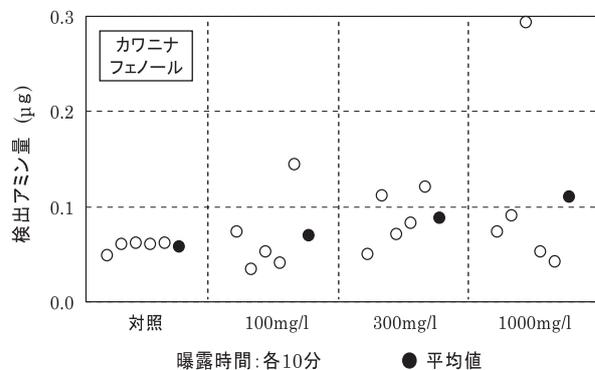


図7 フェノール曝露試験 (カワニナ)

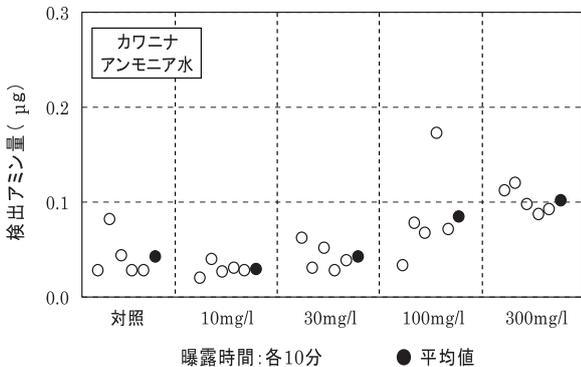


図8 アンモニア水曝露試験 (カワニナ)

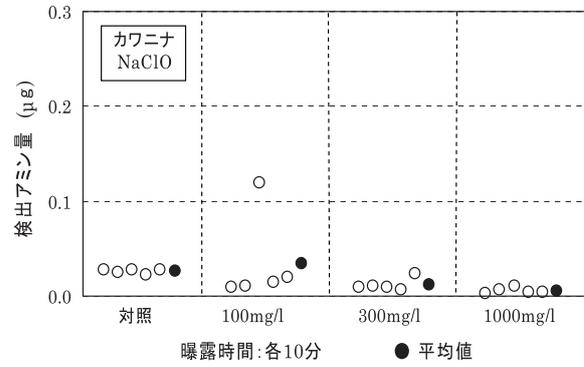


図9 次亜塩素酸ナトリウム曝露試験 (カワニナ)

すると、300mg/l 濃度の場合では持ち込み量が 9 $\mu$ g となることから、今回のアンモニア水曝露によるアミンの検出は、曝露液からの持ち込みによる可能性が高いものと考えられた。

次亜塩素酸ナトリウムによる曝露試験では、ほとんどの被検体で検出アミン量が対照よりも少なかったことから、次亜塩素酸ナトリウムが蛋白質と反応して第一級アミンが消費されている可能性が考えられた (図 9)。

なお、グルタミン酸ナトリウムと次亜塩素酸ナトリウムとを混合してフルオレサミン法で測定したところ、蛍光は全く測定されなかった。

イプロベンホスによる曝露試験では、個々のばらつきは大きかったが、対照とほぼ同レベルと考えられた (図 10)。

### 3. 3. 2 ヒル

ヒルを用いて各種薬剤による曝露試験を行い、粘液物質中の蛋白質をアミン量として定量した結果について、図 11 ~ 図 17 に示した。曝露時間は塩酸および水酸化ナトリウムでは 1~10 分、その他の薬剤では 10 分で行った。また、フルオレサミン法による定量試験では、カワニナよりも感度良くアミンが検出されたため、試験溶液のうち 0.2ml を検液として使用した。

なお、薬物曝露中ほとんどの被検体は生存していたが、塩酸、水酸化ナトリウムおよび次亜塩素酸ナトリウムでは一部で死亡が確認されるとともに、塩酸、水酸化ナトリウムおよびアンモニア水では一部で出血が認められた。

さらに、薬物曝露後の目視観察では、次亜塩素酸ナトリウムを除いて多くの被検体体表面から粘液の分泌が認められたが、そのすべてを溶出させることができなかったこともあり、検出されたアミン量は粘液物質の多寡に必ずしも一致していなかった。

塩酸溶液による曝露試験では、検出アミン量の平均値でみると、0.003M 以下の濃度では 10 分曝露でも対照とほぼ同レベルであったが、0.01M、0.03M、0.1M 濃度の 1 分曝露ではそれぞれ 0.17 $\mu$ g、0.24 $\mu$ g、0.30 $\mu$ g、また、0.01M、0.03M 濃度の 10 分曝露ではそれぞれ 0.27 $\mu$ g、0.91 $\mu$ g 検出され、0.01M 以上の濃度では曝露濃度が高くなるほど検出量が多くなった。なお、0.01M 濃度の 10 分曝露では 0.27 $\mu$ g と同濃度の 3 分曝露での 0.56 $\mu$ g より検出量が少なくなったが、これは被検体の死亡による影響が考えられた (図 11)。

水酸化ナトリウム溶液による曝露試験では、カワニナでの試験と同様に今回試験した薬剤の中では最も検出アミン量が多かった。検出アミン量の平均値でみると、0.001M 濃度では 10 分曝露でも対照とほぼ同レベルであったが、0.003M、0.01M、0.03M 濃度の 1 分曝露ではそれぞれ 0.10 $\mu$ g、0.12 $\mu$ g、0.79 $\mu$ g、0.003M、0.01M 濃度の 3 分曝露ではそれぞれ 0.09 $\mu$ g、0.46 $\mu$ g、また、0.003M、0.01M、0.03M 濃度の 10 分曝露ではそれぞれ 0.19 $\mu$ g、0.79 $\mu$ g、1.4 $\mu$ g 検出され、曝露濃度が高くなるほど検出量が多くなった。なお、0.1M 濃度の 1 分曝露では 0.49 $\mu$ g と 0.03M 濃度の 1 分曝露での 0.79 $\mu$ g より検出量が若干少なくなったが、これは被検体が死亡していないことを考えると強度の毒物に曝されたことによるバリアー機能が働いた可能性が考えられた (図 12)。

シアン化カリウム溶液による曝露試験では、検出アミン量の平均値でみると、シアンイオンとして 30mg/l、100mg/l、300mg/l 濃度でそれぞれ 0.03 $\mu$ g、0.03 $\mu$ g、0.04 $\mu$ g と対照の 0.01 $\mu$ g よりも若干多くなったが、曝露濃度が非常に高

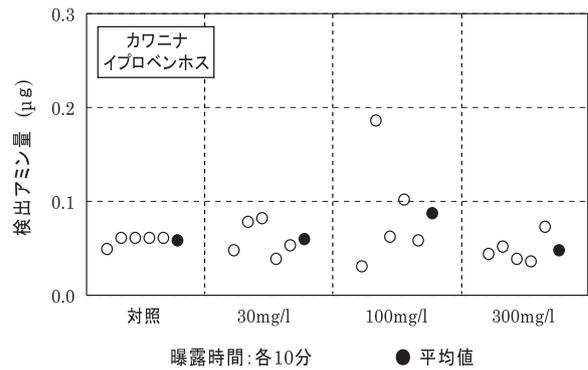


図 10 イプロベンホス曝露試験 (カワニナ)

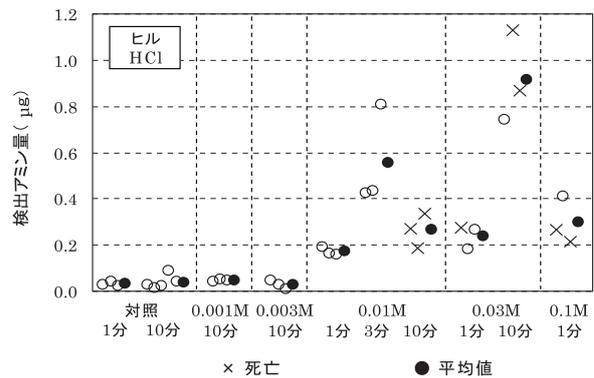


図 11 塩酸曝露試験 (ヒル)

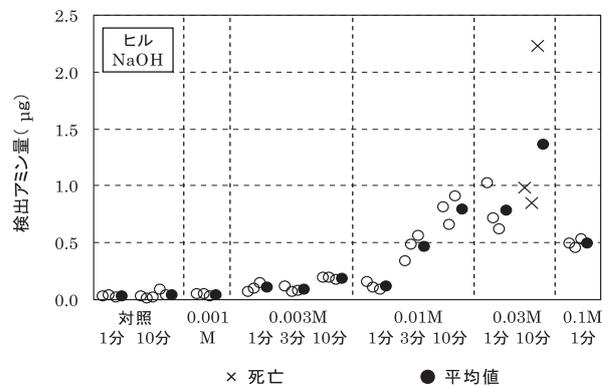


図 12 水酸化ナトリウム曝露試験 (ヒル)

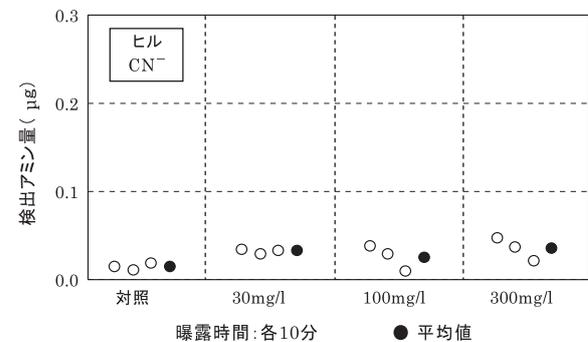


図 13 シアン曝露試験 (ヒル)

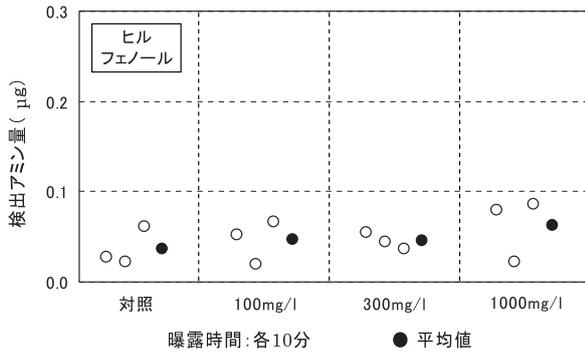


図14 フェノール曝露試験 (ヒル)

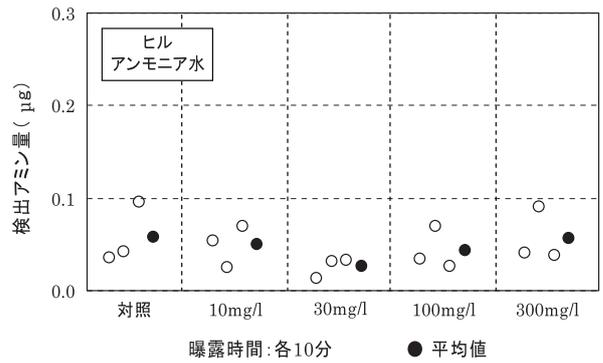


図15 アンモニア水曝露試験 (ヒル)

濃度でもあり、判定指標としての利用は困難と考えられた (図13)。

フェノール溶液による曝露試験では、検出アミン量の平均値でみると、100mg/l、300mg/l、1000mg/l 濃度でそれぞれ 0.05µg、0.05µg、0.06µg と対照の 0.04µg よりも若干多くなったが、カワナでの試験と同様に個々の値のばらつきが大きく有意的な差はないように思われた(図14)。

アンモニア水、次亜塩素酸ナトリウムおよびイプロベンホスによる曝露試験では、検出アミン量の平均値でみると、ほとんどが対照よりも少なかったことから、判定指標としての利用は困難と考えられた (図15~図17)。

### 3.3.3 回復試験

本研究は、水生昆虫が一時的に毒物に曝されてもほとんど動かずにその場に生存し続けることと、多少時間が経過しても被曝した水生昆虫が毒物被曝の痕跡を残していることを前提にしている。

そこで、実際の魚類へい死事故現場を想定して、カワナおよびヒルを用いて薬物曝露後に暴気蒸留水による回復試験を行い、その後に体表面の粘液物質の定量を行った。

この回復試験後の結果と先に記述した薬物曝露直後の結果を比較して、粘液物質の残存率を推定した。

なお、曝露薬剤には今回の薬剤曝露試験においてアミン量が多く検出された塩酸溶液および水酸化ナトリウム溶液を用いた。

カワナでの結果を図18に示したが、検出アミン量の平均値でみると、0.1M 濃度での10分曝露で回復試験後には曝露直後に比べて検出アミン量が塩酸では55%に、水酸化ナトリウムでは53%に減少していた。

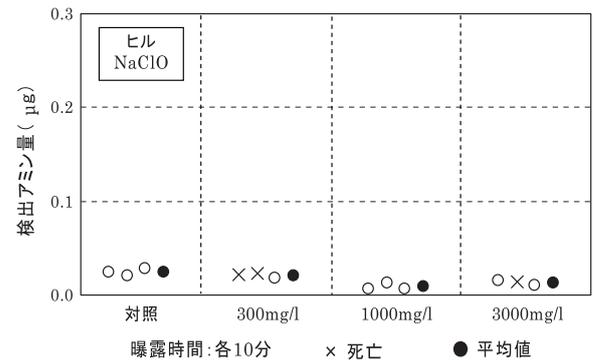


図16 次亜塩素酸ナトリウム曝露試験 (ヒル)

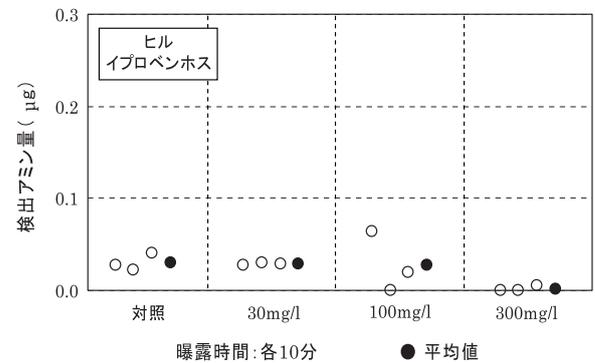


図17 イプロベンホス曝露試験 (ヒル)

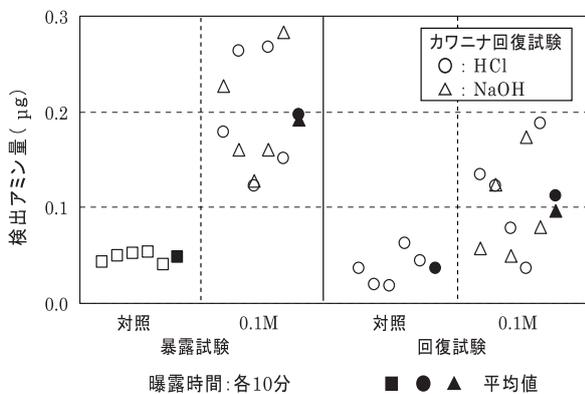


図18 毒物曝露後の回復試験 (カワナ)

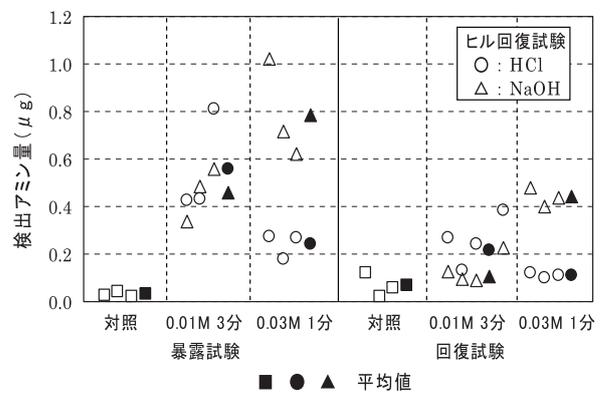


図19 毒物曝露後の回復試験 (ヒル)

またヒルでの結果を図 19 に示したが、検出アミン量の平均値でみると、0.01M 濃度での 3 分曝露では回復試験後には曝露直後に比べて検出アミン量が塩酸では 39%に、水酸化ナトリウムでは 22%に減少し、0.03M 濃度での 1 分曝露では回復試験後には曝露直後に比べて検出アミン量が塩酸では 46%に、水酸化ナトリウムでは 56%に減少していた。

これらの結果から、水生昆虫の体表面に分泌された粘液物質は水中における時間の経過とともに減少する可能性が高いことが示唆された。

#### 4. まとめ

水生昆虫が毒物被曝の際に体表面から分泌する粘液物質が魚類へい死事故時における原因物質流入箇所特定のための指標として利用可能かどうか検討した。

その結果、以下のことが明らかとなった。

1. 蛋白質の第一級アミンの定量に用いられるフルオレサミン法により、粘液物質中の蛋白質をアミン量として定量することが可能であった。
2. カワナナおよびヒルを用いて行った各種薬物曝露後の粘液物質の定量では、
  - (1) 塩酸および水酸化ナトリウムでは、0.01M 程度の低濃度曝露でも比較的多くのアミン量が検出された。
  - (2) その他の薬剤では、高濃度曝露でも検出量が少なく、特に、次亜塩素酸ナトリウムおよびアンモニア水では、

判定指標としての本法の適用は困難と考えられた。

- (3) 今回用いた溶出法では、粘液物質のすべてを溶出させることができなかったこともあり、検出されたアミン量は粘液物質の多寡に必ずしも一致していなかった。
3. 塩酸および水酸化ナトリウムによる曝露後に暴気蒸留水による 30 分間の回復試験を行ったところ、曝露直後に比べて検出アミン量が 22%~56%に減少したことから、水生昆虫の体表面に分泌された粘液物質は水中における時間経過とともに減少する可能性が示唆された。
4. 魚類へい死事故時に原因物質の流入箇所を特定する目的で本法を利用できる可能性については、塩酸、水酸化ナトリウムではある程度の有用性が示唆された。

#### 参考文献

- 1) 坊栄二他：水生昆虫等による魚類へい死事故調査について（第 1 報），福井県衛生環境研究センター年報,6,82-84(2007)
- 2) 八杉龍一他：生物学辞典,4,p1060,岩波書店,東京(1996)
- 3) Böhlen,P.et al.: Fluorometric assay of proteins in the nanogram range.Arch.Biochem.Biophys.,155,213-220(1973)
- 4) 日本生化学会：タンパク質 I.検出・構造解析法,基礎生化学実験法（伊藤明夫他）,3,p50,東京化学同人,東京(2001)

# 県内4地点における酸性降下物調査結果について

- 酸性降下物環境影響解明研究事業 -

落井 勅\*1・植山洋一\*1

Survey of Dry and Wet Deposition in Fukui Prefecture

Tadasu OCHII, Youichi UEYAMA

## 1. はじめに

これまでの酸性雨調査結果から、日本海側の地域は、冬期にH<sup>+</sup>やnss(非海塩)-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>などの酸性成分の降下量が多く、アジア大陸からの越境汚染による影響を受けやすい地域といわれている。<sup>1)~3)</sup>そこで、福井県の酸性降下物の実態を解明することを目的として、平成16年度から18年度までの3年間にわたり調査を実施したので、その結果を報告する。

## 2. 調査方法

### 2.1 調査地点

調査は下記の4地点で実施した(図1)。

- ①敦賀市(沿岸部) : 敦賀市新和町  
大気汚染常時監視和久野局
- ②南越前町(山間部) : 南越前町広野  
広野ダム
- ③福井市(市街地) : 福井市原目町  
衛生環境研究センター
- ④勝山市(山間部) : 勝山市北谷町  
滝波川第1発電所



図1 調査地点

### 2.2 調査期間

3ヶ年とも冬期を中心として下記の期間で実施した。

- ①平成16年度  
秋期:平成16年11月8日~12月5日  
冬期:平成17年1月13日~2月10日
- ②平成17年度  
春期:平成17年4月1日~4月29日  
冬期:平成18年1月12日~2月9日
- ③平成18年度  
夏期:平成18年7月13日~8月10日  
冬期:平成19年1月12日~2月9日

## 2.3 調査方法および調査項目

### ①採取方法

乾性沈着:ガス・粒子状成分を4段ろ紙法<sup>4)</sup>による午前10時から翌日10時までの24時間サンプリング。

湿性沈着:雨水自動採取器による午前10時から翌日10時までの24時間サンプリング。

### ②分析項目

乾性沈着:ガス状成分(SO<sub>2</sub>、HNO<sub>3</sub>、HCl、NH<sub>3</sub>)、粒子状成分(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>)

湿性沈着:降水量、pH、電気伝導率(EC)、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>

### ③分析方法

乾性沈着:全国環境研協議会の定める方法<sup>4)</sup>に準拠し、ろ紙に純水または0.05%過酸化水素水を加え、20分間振とうし、抽出水をイオンクロマトグラフ法で分析した。

湿性沈着:湿性沈着モニタリング手引書<sup>5)</sup>に準拠し、イオン類はイオンクロマトグラフ法、降水量は重量法、pHはpH計、ECはEC計を用いて測定した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 乾性沈着(ガス・粒子状成分)

#### 3.1.1 調査期間別平均濃度

乾性沈着の調査期間別平均濃度を図2に示す。

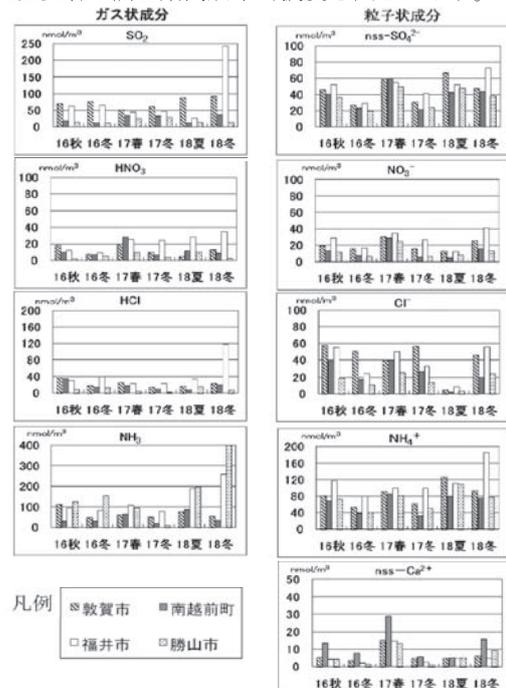


図2 調査期間別平均濃度(乾性沈着)

\*1 元福井県衛生環境研究センター

### 3. 1. 2 季節別平均濃度

冬期については、3ヶ年も調査を実施しているので、3回の結果を平均したものを冬期濃度とし、季節別に比較した(図3)。

$\text{NO}_3^-$ および $\text{nss-Ca}^{2+}$ 濃度は春期が他の3季節より高く、特に $\text{nss-Ca}^{2+}$ はかなり高くなっていた。原因としては、黄砂の影響を受けたものと考えられる。

$\text{nss-SO}_4^{2-}$ および $\text{NH}_4^+$ 濃度は、福井市においては一定の傾向は見られなかったが、その他の3地点においては春と夏に高く、次いで秋、冬の順であった。

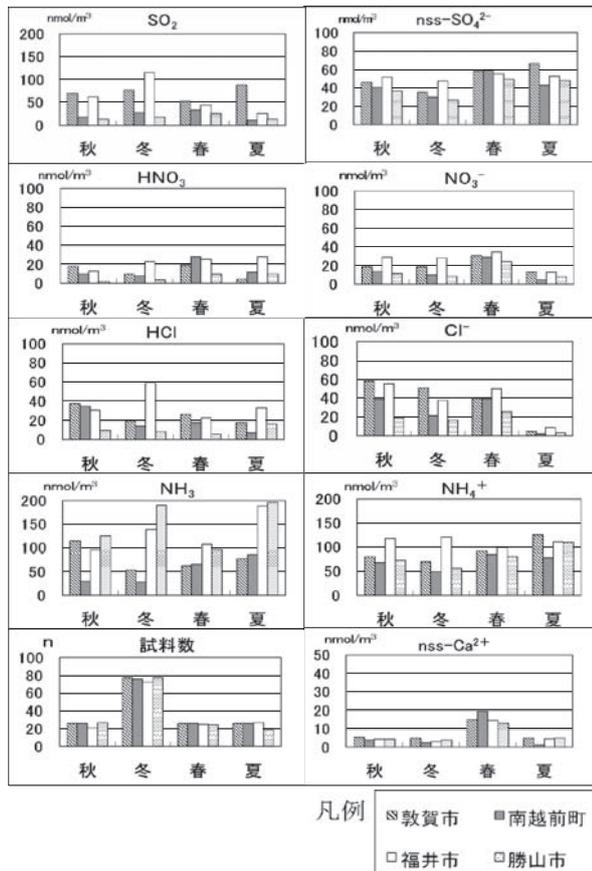


図3 季節別平均濃度(乾性沈着)

### 3. 2 湿性沈着(雨水成分)

#### 3. 2. 1 調査期間別平均濃度および降下量

湿性沈着の調査期間別平均濃度および降下量を図4および図5に示す。

降水量を季節ごとに比較すると、18年度の夏は冬よりも多かったが、16、17年度は秋または春よりも冬の方が多かった。

各成分の平均濃度の比較は、16、18年度は概ね冬の方が秋または夏よりも高かったが、17年度は、 $\text{nss-SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{nss-Ca}^{2+}$ は、冬よりも春の方が高かった。

これに対し降下量は、 $\text{nss-Ca}^{2+}$ は17年度の春の方が冬よりも多かったが、 $\text{H}^+$ や他の成分は各年度とも冬の方が他の季節よりも多かった。春に $\text{nss-Ca}^{2+}$ の降下量が多くなることについては、黄砂の影響を受けているものと推測される。

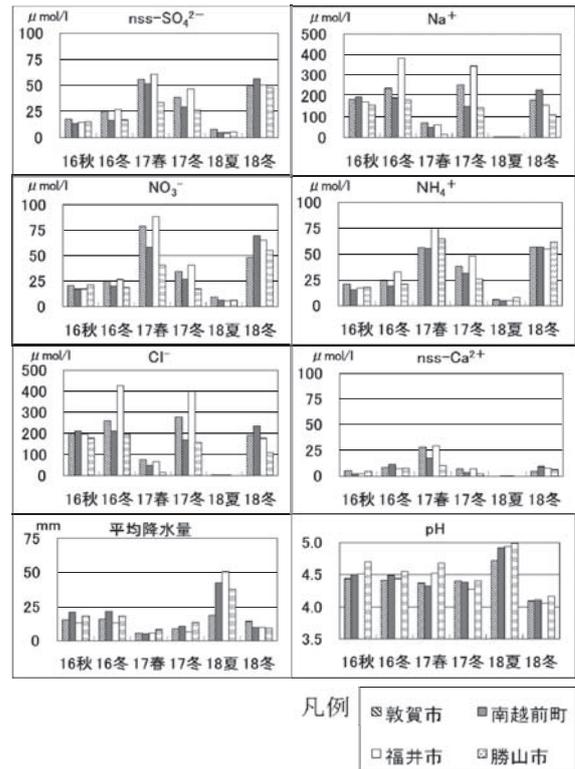


図4 調査期間別平均濃度(湿性沈着)

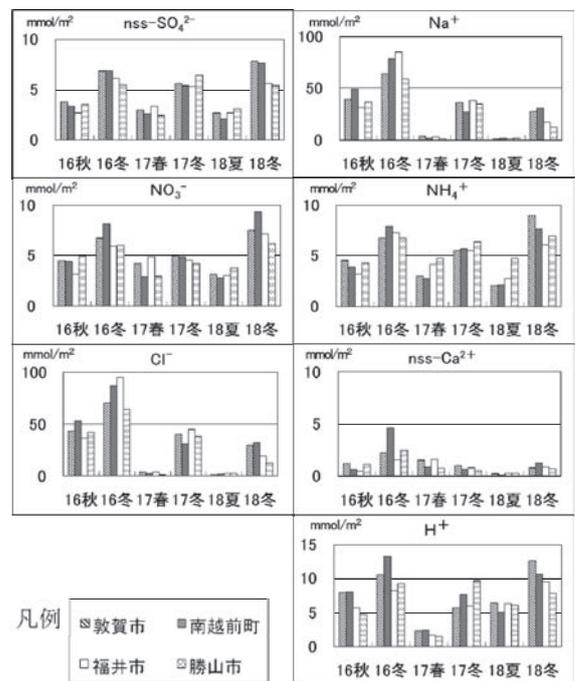


図5 調査期間別降下量(湿性沈着)

#### 3. 2. 2 季節別平均濃度および降下量

季節別の平均温度および降下量を図6,7に示す。なお、冬期は3ヶ年調査を実施したので、3回の結果を加重平均し、季節別平均濃度および降下量とした。

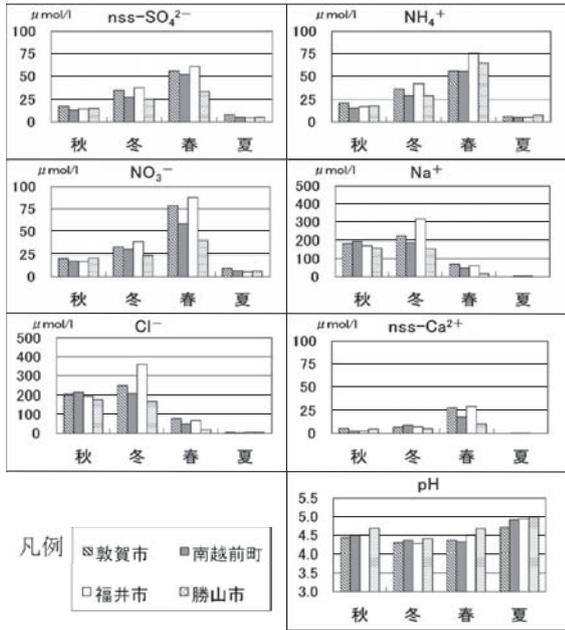


図6 季節別平均濃度(湿性沈着)

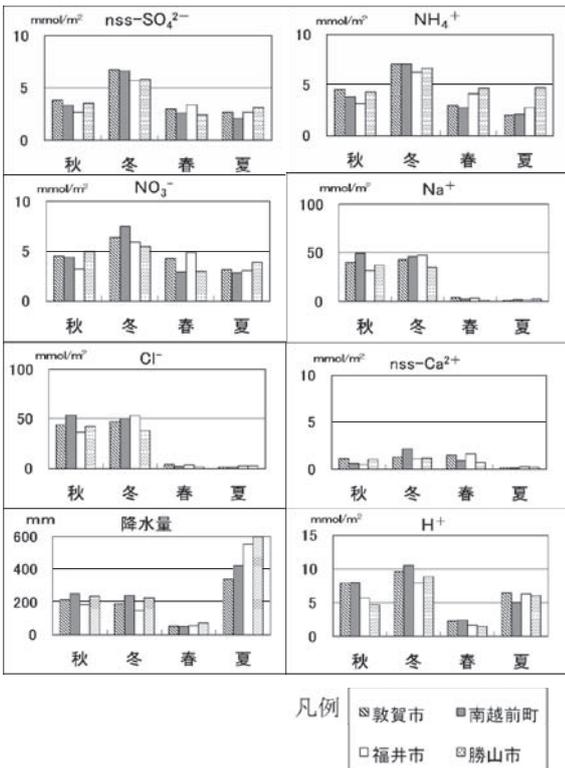


図7 季節別降水量(湿性沈着)

nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、nss-Ca<sup>2+</sup>およびNH<sub>4</sub><sup>+</sup>濃度は、春が高く、次いで冬、秋と続き、夏が低かった。Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>は冬が高く、秋、春、夏の順であり、pHは、逆に夏が高く、秋・春、冬の順であった。

降水量は、概ね各成分とも冬が多かった。夏は、降水量は最も多かったが、H<sup>+</sup>以外の成分は降水量の最も少ない春と同程度かもしくはそれ以下であった。

### 3.3 気流解析

酸性降下物の動態を調べるため、METEXを用いたバックトラジェクトリ解析を行った。

解析条件は次のとおりである。

- ① 解析地点：東経136度26分、北緯36度07分  
(福井県衛生環境研究センター)
- ② 気流高度：1500m
- ③ 計算方法：等温法
- ④ 計算時間：72時間

さらに、求められた流跡線を図8に示す3タイプに分類し、それらのタイプ別の平均濃度や降水量を算出した。

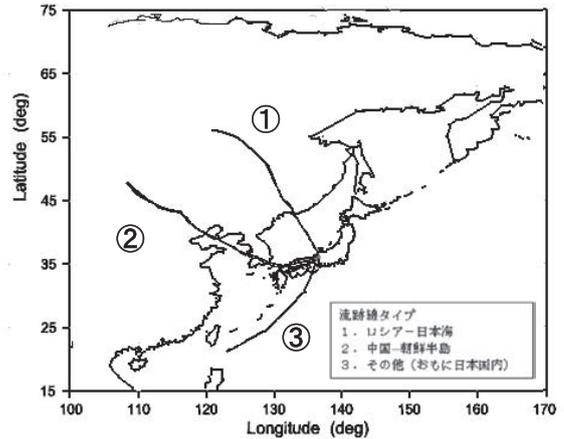


図8 流跡線タイプ

表1 流跡線タイプ別出現日数

年	期間	流跡線タイプ		
		1	2	3
16年	秋	3	20	5
	冬	10	12	6
17年	春	4	20	4
	冬	6	18	4
18年	夏	0	16	12
	冬	8	20	0

なお、調査期間中の流跡線タイプ別の出現日数は表1のとおりであり、中国—朝鮮半島を経由するタイプ2が全季節で最も多く出現した。

#### 3.3.1 乾性沈着

3つの流跡線タイプ別に平均濃度を算出した結果を図9に示した。

粒子状成分のnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>およびnss-Ca<sup>2+</sup>は、福井市を除く3地点でロシア—日本海を経由する1のタイプが、タイプ2や3よりも低い値<sup>6) 7)</sup>となっていた。逆にCl<sup>-</sup>とNa<sup>+</sup>は、タイプ2、3よりもタイプ1の場合に高く、また、福井市以外の地点では、海岸から離れるに従って低くなる傾向がみられた。福井市については、他の地点と比べ、近距離の影響を多く受けるためではないかと推測される。

これらのことから、気流がロシア—日本海を経由する場合には、中国—朝鮮半島やその他の場合よりも海塩粒子を多く含むが、汚染物質濃度は比較的低いと推定される。

これに対し、ガス状成分では一定の傾向は見られなかった。

#### 3.3.2 湿性沈着

流跡線タイプ別の平均濃度および降水量を図10、11に示す。

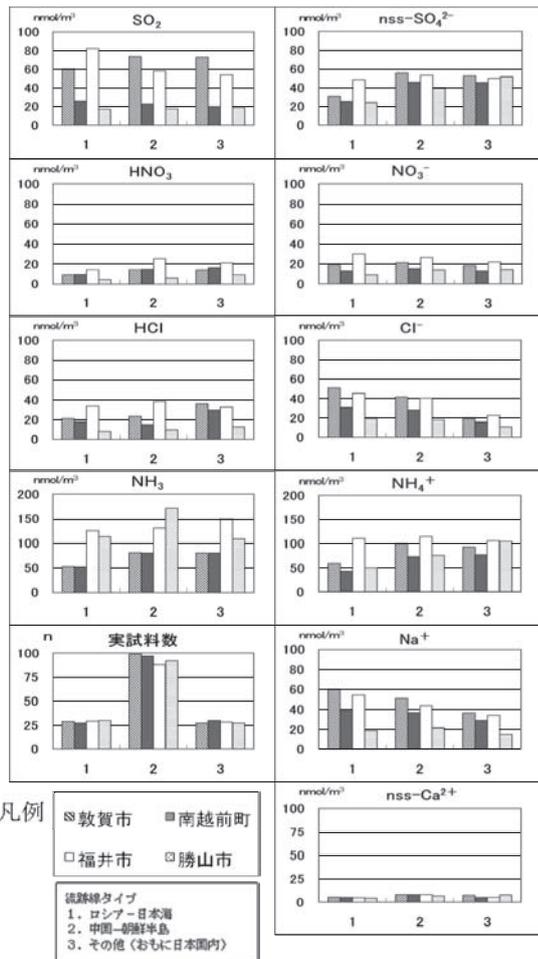


図9 流跡線タイプ別平均濃度(乾性沈着)

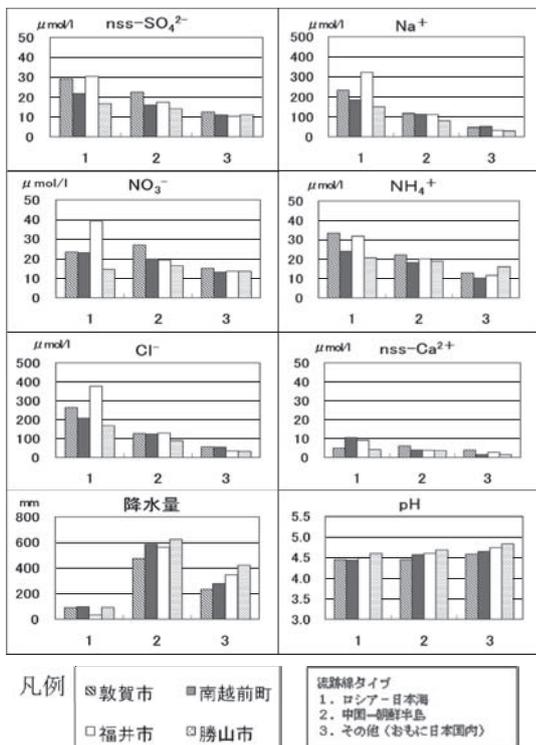


図10 流跡線タイプ別平均濃度(湿性沈着)

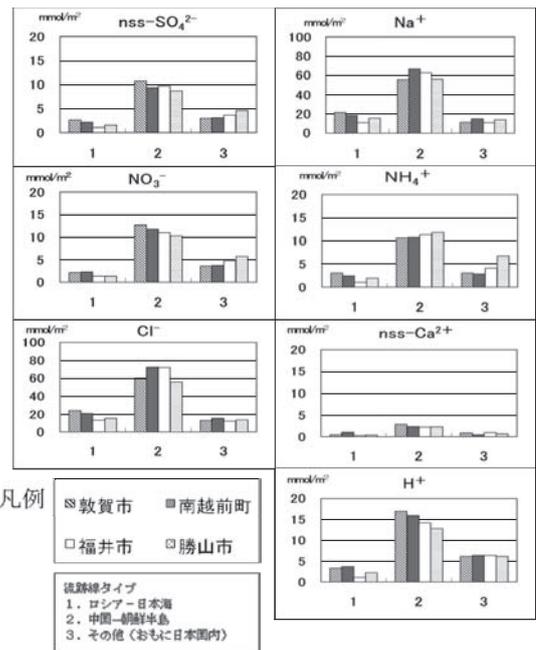


図11 流跡線タイプ別降下量(湿性沈着)

平均濃度は概ねタイプ1の方がタイプ2、3よりも高い傾向がみられたが、降下量はタイプ2の方がタイプ1、3よりも多い結果となった。

タイプ1の方が、平均濃度が高くなったのは、大気汚染物質の濃度は低いものの少ない雨水への取り込み割合が降水量の多い場合よりも多いためと考えられる。

今回の調査では、乾性沈着の降下量については算出できなかったため、乾性降下物と湿性降下物の降下量の比率については考察できなかったが、今後、乾性沈着降下量の簡易的な計算手法が開発された場合には、本県における酸性降下物のさらなる実態解明ができるものと考えられる。

#### 4. まとめ

- 乾性沈着については、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>およびnss-Ca<sup>2+</sup>は春の方が他の3季節より高かった。nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>およびNH<sub>4</sub><sup>+</sup>濃度は、福井市においては一定の傾向は見られなかったが、その他の3地点においては春と夏に高く、次いで秋、冬の順であった。
- 湿性沈着については、nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、nss-Ca<sup>2+</sup>およびNH<sub>4</sub><sup>+</sup>濃度は、春が高く、次いで冬、秋と続き、夏が低かった。Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>は冬が高く、秋、春、夏の順でありpHは、逆に夏に高く、秋・春、冬の順であった。降下量は、概ね各成分とも冬が多かった。
- 3つの流跡線タイプ別に平均濃度を算出した結果、粒子状成分ではnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>およびnss-Ca<sup>2+</sup>は福井市を除く3地点でロシアー日本海を経由するタイプは、中国ー朝鮮半島やその他の場合よりも低い値となっていた。これに対して、湿性沈着の降下量は降水量の多かった中国ー朝鮮半島が他のタイプの場合よりも降下量が多かった。

## 謝辞

本研究にあたり、装置の貸出しとご指導いただいた法政大学村野健太郎博士（元国立環境研究所）に深謝します。

## 参考文献

- 1) 全国環境研協議会：第4次酸性雨全国調査報告書，全国環境研会誌，30(2)，19～37，(2005)
- 2) 全国環境研協議会：第4次酸性雨全国調査報告書，全国環境研会誌，31(3)，13～33，(2006)
- 3) 全国環境研協議会：第4次酸性雨全国調査報告書，全国環境研会誌，33(3)，13～20，(2008)
- 4) 全国環境研協議会：第4次酸性雨全国調査報告書，全国環境研会誌，27(2)，7～8，(2002)
- 5) 環境省地球環境局環境保全対策課，酸性雨研究センター：湿性沈着モニタリング手引書（第2版），2001
- 6) 第47回大気環境学年会講演要旨集：(社)大気環境学会，2C0924，2006
- 7) 第48回大気環境学年会講演要旨集（社）大気環境学会，1G1054，2007
- 8) 第49回大気環境学年会講演要旨集（社）大気環境学会，1B1130，2008

# 敦賀地域植物環境調査結果について

落井 勅\*1・植山洋一\*1・谷口 道\*2

Survey of Various Plant Activity in Tsuruga Area

Tadasu OCHII, Youichi UEYAMA, Michi TANIGUCHI

## 1. はじめに

エネルギー利用の多様化の一環として、敦賀市泉に立地する北陸電力(株)敦賀火力発電所1号機(出力50万Kw)が平成3年度から、また、2号機(70万Kw)が平成12年度から営業運転を開始しており、福井県および敦賀市は、北陸電力(株)との間に排出ガスなどに関する公害防止協定を締結している。

福井県では、当該発電所の稼働に伴う環境の変化を把握するため、昭和61年度から「敦賀地域植物環境調査」を開始し、これまでに1号機稼働前<sup>1)</sup>および稼働後<sup>2)</sup>に調査結果をとりまとめた。

今回、これまでの調査結果に2号機稼働後の樹木活力調査結果を加えて、昭和61年度から平成20年度まで実施した全調査結果についてとりまとめたので報告する。

## 2. 調査方法

### 2.1 調査内容

樹木活力調査：毎年樹木の活力が旺盛な8月から9月にかけて図1および表1に示す22地点で、スギ、ケヤキ、クロマツ、スダジイ、ミカンについて調査を実施した。

なお、評価は林野庁森林活力調査仕様書<sup>3)</sup>に基づき表2に示す8項目についてそれぞれの調査項目ごとに点数で表し、これらの合計値を8で除した値をもって活力指数とした。

表1 樹木調査地点

NO	調査地点名
①	敦賀市杉津 東浦小中学校
②	〃 五幡 五幡神社
③	〃 赤崎 八幡神社
④	〃 鞠山 鞠山神社
⑤	〃 田結 田結神社
⑥	〃 金ヶ崎 金ヶ崎宮
⑦	〃 金ヶ崎 月見御殿跡
⑧	〃 松島町 氣比の松原
⑨	〃 松島2丁目 来迎寺
⑩	〃 曙町 氣比神宮
⑪	〃 井川 東郷公民館
⑫	〃 筋生野 剣神社
⑬	〃 権林 日吉神社
⑭	〃 岡山町 忠霊塔付近
⑮	〃 道ノ口 志比前神社
⑯	〃 色浜 県道北側入る
⑰	〃 常宮 常宮神社
⑱	〃 池河内 市道南側入る
⑲	〃 杉箸 市道西側入る
⑳	美浜町郷市 伊牟田神社
㉑	南越前町今泉 熊野神社
㉒	〃 駄口 日吉神社

表2 樹木活力の評価基準

項目	評価基準			
	1	2	3	4
樹勢	正常な生育を示し、成長旺盛と認められるもの	正常に近いが総体に生気が感じられないもの	ほとんど成長が止まっていると思われるもの	成長が止まり変形を伴うもの
樹形	自然の樹形を保つもの	自然の樹形に近いもの	自然樹形が破壊されつつあるもの	奇形、変形のあるもの
枝の伸長	旺盛	普通	短小	殆んど見られない
梢端の枯損	全くない	目立たない	かなり多い	折損木
枝葉量	かなり密	普通	やや疎	枝枯れがあり、極疎
葉色	良	普通	やや悪い	悪い
樹冠	正常	正常に近い	やや偏位	著しく偏位
枝の変色枯れ	無	目立たない	かなり多い	著しく悪い
参考活力指数	1.0	⇒	⇒	4.0
樹木の活力	健全	⇒	⇒	衰退



図1 調査地点

大気中水銀濃度調査：日本インスツルメンツ(株)製水銀自動測定器を用いて、平成20年5月から8月にかけて大気汚染常時監視和久野局で測定した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 樹木活力

これまでの調査結果を別表1に示し、年度ごとの活力指数の平均値の推移を調査樹木本数とともに図2に示す。

スギ、ケヤキ、スダジイ、クロマツ、ミカンの4樹木の活力指数の平均値は、昭和62年度には1.24であったが、平成20年度には1.48とわずかではあるが高くなった。

\*1) 元福井県衛生環境研究センター

\*2) 福井県総合グリーンセンター

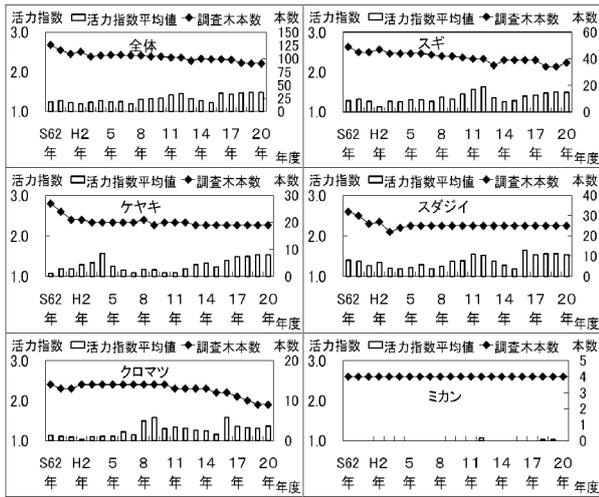


図2 年度別活力指数平均値(1)

調査樹木別の活力指数では、ミカンは、地元の特産品であるため、管理が行き届いていることから、1.00 付近と良好な状態で推移している。しかし、スギ、ケヤキ、スダジイ、クロマツについては、活力指数の平均値は昭和 62 年度の 1.07 (ケヤキ) ~1.38 (スダジイ) が、平成 20 年度には 1.36 (クロマツ) ~1.54 (スダジイ) とわずかではあるが、高くなってきているものの、ほぼ健全に近い状況にあると考えられる。

樹木調査本数は、昭和 62 年度は 22 地点でスギ 49 本、ケヤキ 27 本、スダジイ 32 本、クロマツ 14 本、ミカン 4 本の計 126 本であった。その後、土地造成や伐採により調査木が消失したため、随時調査木の追加を行ってきたが、平成 20 年度は 21 地点でスギ 37 本、ケヤキ 19 本、スダジイ 25 本、クロマツ 9 本、ミカン 4 本の計 94 本とミカンを除く樹木で約 3 割調査木が減少していた。

そこで、石炭火力発電所の稼働状況を基に、1号機稼働前(昭和62年~平成2年)、1号機稼働後~2号機稼働前(平成3年~平成12年)および1、2号機稼働後(平成13年~平成20年)の3つの期間に区分し、各期間および全期間の半数以上で観察ができた樹木について、樹種ごとの活力指数平均値を求め、年度ごとの推移を図3に、また、

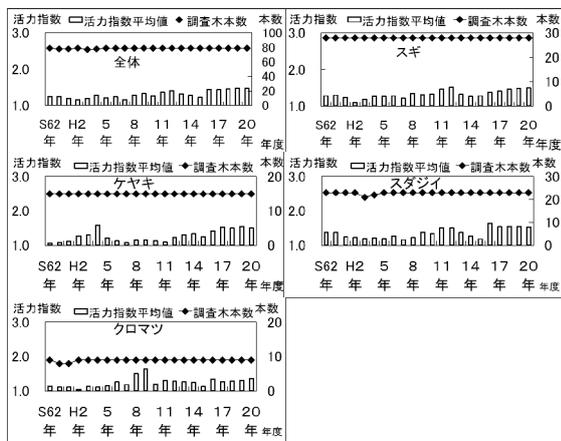


図3 年度別活力指数平均値(2)

期間区分ごとの平均値を表3および図4に示した。

石炭火力発電所1、2号機の稼働時期区別の活力指数平均値は、いずれの期間もミカンが1.00~1.01と最も健全な樹勢を示した。

次いでクロマツ(1.10~1.28)、ケヤキ(1.13~1.42)、スギ(1.22~1.39)、スダジイ(1.31~1.45)の順であった。

ミカンを除く樹木の活力指数は1号機稼働前よりも1、2号機稼働後の方がわずかに高くなっているが、その原因として、境内およびその周辺の舗装等の改変、虫害および周囲の樹木が成長・繁茂してきたことによる隣接樹木の被圧や林内照度不足等<sup>2) 4)</sup>によるものと考えられた。

隣接樹木による被圧の例として、杉津(No.1)のスギの活力指数の変化グラフを図5に、また、調査木の外観を図6に示した。

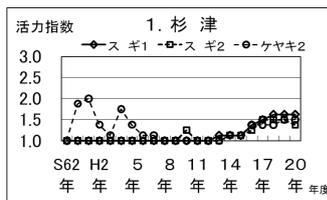


図5 活力指数経年変化



図6 杉津 スギ1、2

表3 期間別活力指数平均値

	調査木本数	期間区分		
		1号機稼働前 S62-H2	1号機稼働後 H3-H12	1、2号機稼働後 H13-H20
スギ	28	1.22	1.31	1.39
ケヤキ	15	1.13	1.21	1.42
スダジイ	23	1.31	1.30	1.45
クロマツ	9	1.10	1.28	1.28
ミカン	4	1.00	1.01	1.01
全体	79	1.21	1.26	1.38

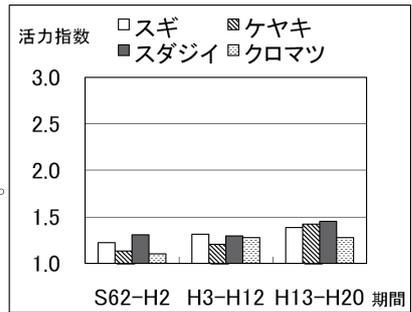


図4 期間別活力指数平均値

### 3. 2 大気汚染物質および気象

大気汚染常時監視和久野局で測定した大気中の水銀調査結果を表4に、また、風向別平均濃度を図7に示した。

和久野局における水銀濃度測定結果は 1.0~2.3ng/m<sup>3</sup> であり、調査地点は異なるが、過去の測定結果<sup>1) 2)</sup>と同程度のレベルであり、また、バックグラウンド濃度<sup>5)</sup>に近い濃度と考えられる。また、風向別平均濃度では、過去の測定結果と同様方位による特徴は見られなかったこと

から、火力発電所からのばい煙の影響は認められないものと考えられる。

表4 大気中水銀濃度測定結果

調査地点	単位:ng/m <sup>3</sup>									
	杉津	田結	色浜	道ノ口	杉津	和久野				
調査年度	平成4年			平成4~5年		平成20年				
調査期間	10/17~10/23	11月	10月	12月	H4.9、H5.2~5	5/12~5/21	5/31~6/10	6/28~7/9	7/12~7/22	8/24~9/2
調査期間区分	1号機稼働前		1号機稼働後、2号機稼働前			1、2号機稼働後				
平均濃度	2.0	2.4	1.6	3.2	3.6	1.0	1.2	2.3	1.8	1.2

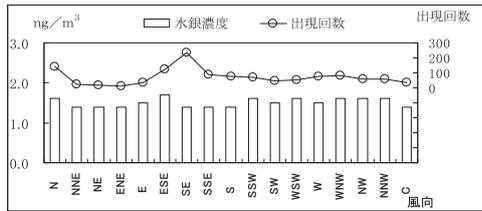


図7 風向別平均濃度

敦賀市内の大気汚染常時監視局 3 局の測定結果を図8および図9に示した。自動測定器の測定法の変更はあったが、SO<sub>2</sub>、SPM、NO、NO<sub>2</sub>の年平均濃度の推移および火力発電所の稼働期間区分ごとの平均濃度ともに増加傾向はないものと考えられる。

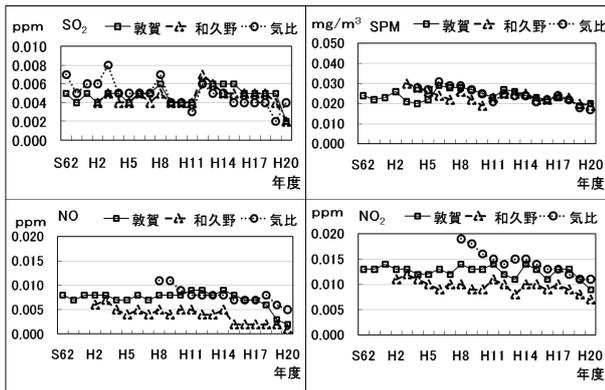


図8 大気汚染物質の年平均濃度

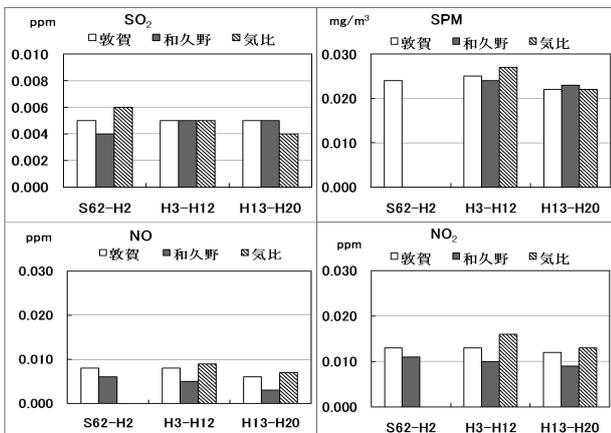


図9 期間別大気汚染物質平均濃度

気象条件の中で、気温、降水量および日照時間は植物の生育にとって重要な因子であると考えられていることから、敦賀におけるこれらのデータの経年変化および期間別平均値を図10に示した。

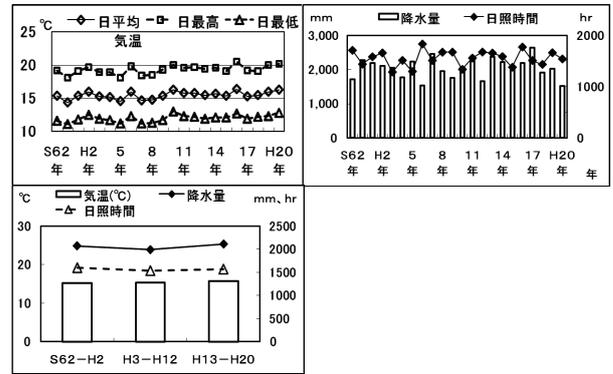


図10 敦賀測候所気象データ (出典: 気象庁HPより)

これらの気象因子では、火力発電所の稼働期間区分による差はないものと考えられる。

#### 4. まとめ

北陸電力(株)敦賀火力発電所の稼働に伴う環境の変化を把握するため、「敦賀地域植物環境調査」を昭和61年度から平成20年度まで実施してきた。

これまでの樹木活力調査の結果をとりまとめた。

- 22地点におけるスギ、ケヤキ、スダジイ、クロマツおよびミカンの5樹種についての活力指数の平均は、ミカンを除く樹種で、わずかであるが高くなっている傾向にあるが、ほぼ健全な状況であった。
- 火力発電所の稼働期間区分別の活力指数平均値は火力発電所1号機稼働前よりも1号機稼働後および1、2号機稼働後の方がわずかに高かったが、その原因としては、境内およびその周辺の舗装等の改変、虫害および周囲の樹木が成長・繁茂してきたことによる隣接樹木の被圧や林内照度不足等によるものと考えられた。
- 水銀やSO<sub>2</sub>、SPMなどの大気汚染物質濃度および気温、降水量等は、火力発電所の稼働期間区分別にみても差がないことから、火力発電所のばい煙による環境への影響は少ないと考えられた。

#### 参考文献

- 1) 福井県: 敦賀地区植物環境調査報告書(事前調査), (平成3年3月)
- 2) 福井県: 敦賀地域植物環境調査報告書, (平成8年3月)
- 3) 林野庁: 林野庁森林活力調査作業仕様書(昭和49年)
- 4) 福井県: 福井平野におけるスギの樹勢衰退要因に関する調査報告書, (昭和61年12月)
- 5) 日本化学会編: 環境汚染物質シリーズ 水銀, 丸善, (1977)



別表1 樹木活力調査結果 (2/2)

地点番号	調査地区名	樹木番号	S62年	63年	元年	H2年	3年	4年	5年	6年	7年	8年	9年	10年	11年	12年	13年	14年	15年	16年	17年	18年	19年	20年	S62~H20平均		
15	道ノ口	スギ1	1.88	1.63	1.88	1.13	1.13	1.13	1.63	1.50	1.50	1.63	2.13	1.88	2.38	2.25	1.75	1.63	1.50	1.75	1.63	1.63	1.63	1.88	1.68		
		スギ2	1.88	2.00	1.63	1.13	1.25	1.13	1.63	1.50	1.50	1.63	2.13	1.88	2.13	2.13	1.63	1.50	1.50	1.75	1.50	1.50	1.63	1.63	1.64		
		スギ3	1.00	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.25	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.38	1.38	1.75	1.63	1.75	1.15	
		ケヤキ1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.50	1.50	1.75	1.13	1.13	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.38	1.38	1.75	2.25	2.50	2.13	2.50	2.13	1.47	
		ケヤキ2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.25	1.13	1.00	1.00	1.25	1.00	1.00	1.00	1.00	1.38	1.13	1.00	1.25	1.13	1.13	1.13	1.25	1.09	
		スダジイ1	1.75	1.50	1.00	1.00	1.13	1.00	1.25	1.38	1.38	1.13	1.38	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	3.13	2.63	2.50	2.13	1.88	1.46	
		スダジイ2	1.25	1.63	1.13	1.13	1.13	1.13	1.63	1.50	1.13	1.25	1.13	1.25	1.25	1.25	1.25	1.00	1.00	1.00	1.13	1.13	1.00	1.00	1.13	1.19	
		スダジイ3	1.13	1.13	1.00	1.13	1.00	1.13	1.13	1.00	1.00	1.13	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.25	1.63	1.75	1.63	1.75	1.22	
		スダジイ4	1.00	1.00	1.00	1.00				1.13	1.00	1.00	1.25	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.75	1.50	1.38	1.38	1.38	1.14	
16	色浜	スギ1	1.00			1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.00	1.38	1.25	1.25												1.10	
		スギ2	1.00			1.13	1.00	1.00	1.00	1.13	1.13	1.13	1.25														1.09
		ケヤキ1	1.13	1.13	1.25	1.38	1.63	1.25	1.13	1.13	1.00	1.00	1.00	1.13	1.13	1.25	1.13	1.50	1.38	1.00	1.25	1.13	1.13	1.38	1.20		
		ケヤキ2	1.13	1.00	1.00	1.38	1.38	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.38	1.25	1.38	1.63	1.88	1.38	1.25	1.38	1.38	1.63	1.63	1.63	1.28	
17	常宮	スギ1	1.13	1.25	1.88	1.00	1.13	1.25	1.50	1.25	1.13	1.38	1.88	1.38	1.25	1.13	1.25	1.13	1.25	1.50	1.75	1.75	1.88	1.63	1.39		
		スギ2	1.00	1.38	1.50	1.25																					1.28
		スギ3	1.13	1.13	1.13	1.00																					1.10
		スギ4	1.00	1.38	1.88	1.00																					1.32
		ケヤキ1	1.13	1.00	1.00	1.00	1.38	1.38	1.13	1.00	1.13	1.38	2.13	2.38	1.88	1.88	1.38	1.63	2.00	1.75	1.50	1.38	1.50	1.75	1.49		
		スダジイ1	1.13	1.38	1.50	1.00			1.25	1.38	1.50	1.38	1.25	2.25	1.38	1.38	1.38	1.63	1.50	1.25	1.25	1.50	1.50	1.75	1.63	1.44	
		スダジイ2	1.13	1.38		1.13																					1.21
		クロマツ1	1.38		1.25	1.25	1.13	1.25	1.25	1.25	1.13	1.38	1.25	2.13	2.00	1.38	1.00	1.13	1.00	2.00	2.00	1.75	1.75	1.75	1.75	1.45	
		スギ1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
18	池河内	スギ2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.25	1.00	1.00	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.25	1.38	1.09	
		スギ3	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.38	1.38	1.25	1.09	
		スギ4	1.00	1.00	1.00	1.00	1.50	1.63	1.25	1.13	1.00	1.13	1.00	1.13	1.00	1.25	1.13	1.13	1.13	1.00	1.13	1.38	1.38	1.38	1.38	1.18	
		ケヤキ1	1.00	1.00	1.13	2.13	1.75	1.63	1.00	1.00	1.00	1.00															1.26
		ケヤキ2	1.00	1.00	1.75	1.13	1.63	1.63	1.25	1.00	1.00	1.25															1.26
		ケヤキ3	1.00												1.00	1.00	1.13	1.00	1.38	1.00	1.00	1.25	1.38	1.38	1.75	1.19	
		スギ1	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.25	1.00	1.00	1.00	1.00	1.38	1.25	1.13	1.13	1.00	1.06	
		スギ2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.00	1.00	1.13	1.00	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.25	1.13	1.13	1.13	1.04
		スギ3	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.01	
20	郷市	スギ4	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.13	1.13	1.05	
		スギ5	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.04	
		スギ1	1.88	2.25	1.38	1.63	1.75	1.25	1.25	1.63	1.75	1.63	1.88	2.88	3.25	3.25											1.98
		スギ2	1.63	2.25	2.00	2.00	3.63	2.50	2.75	2.75	2.75	2.63	1.88	3.00	3.38	3.50											2.62
		スギ3																	1.38	1.50	2.00	2.13	2.38	2.38	2.13	1.98	
		スギ4																	1.25	1.13	1.38	1.63	1.75	1.75	1.75	1.52	
		ケヤキ1	1.00	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.25	1.13	1.25	1.00	1.00	1.00	1.38	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.13	1.05	
		ケヤキ2	1.00	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.25	1.13	1.25	1.00	1.00	1.00	1.00	1.38	1.00	1.13	1.25	1.50	1.50	1.38	1.14	
		スダジイ1	2.25	2.38	2.00	1.88																					2.13
21	今泉	スダジイ2	1.25	1.25	1.00	1.88	1.25	1.63	1.13	1.25	1.13	1.75	1.75	2.50	2.88	2.50	1.75	1.88	1.63	2.38	2.13	2.13	2.13	1.88	1.77		
		スダジイ3	2.63			2.13	1.50	1.13	2.13	2.00	1.88	1.63	1.63	2.75	3.00	2.50	1.75	1.50	1.50	2.13	1.88	2.13	2.13	1.88	1.99		
		クロマツ1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.25	1.00	1.00	1.00	1.25	1.38	1.75	1.38	1.13	1.13	1.50	1.50	1.38	1.50	1.38	1.21	
		クロマツ2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.13	1.50	1.38	1.00	1.25									1.10	
		スギ1	1.63	2.00	1.25	1.00	1.00	1.13	1.25	1.38	1.38	1.50	1.63	1.63	2.13	2.13	1.25	1.38	1.25	1.38	1.50	1.75	1.75	1.75	1.75	1.50	
		スギ2	2.25	1.13	2.25	1.50	1.75	2.50	1.50	1.88	1.50	1.88	2.00	1.50	2.00	2.00	1.38	1.63	1.50	1.88	1.88	1.88	1.88	1.88	1.75	1.79	
		ケヤキ1	1.50	1.00	1.50	1.63	1.63	2.75	2.38	1.38	1.13	1.75	1.00	1.00	1.00	1.63	1.50	1.13	1.25	2.50	2.25	2.25	2.13	1.88	1.64		
		スダジイ1	1.13	1.00	1.25	1.25	1.00	1.25	1.13	1.13	1.00	1.00	1.13	1.25	1.25	1.00	1.00	1.00	1.00	1.50	1.50	1.63	1.63	1.50	1.21		
		スダジイ2	1.38	1.13	1.25	1.00	1.13	1.25	1.00	1.25	1.00	1.00	1.00	1.25	1.88	1.88	1.88	1.63	1.50	1.00	1.38	1.50	1.50	1.50	1.33		
22	駄口	スギ1	1.00				1.50	1.00	1.13	1.13	1.13	1.75	1.25	1.63	1.63	1.88	1.75	1.25	1.25	1.25	1.25	1.38	1.25	1.25	1.35		
		スギ2	1.00				1.50	1.25	1.38	1.25	1.13	2.00	1.75	2.13	1.88	2.00	1.63	1.25	1.38	1.50	1.63	1.63	1.75	1.75	1.57		

# 福井県における悪性新生物（がん）による死亡の地域特性

市川宏枝・斉藤みゆき

Regional characteristics of cancer deaths in Fukui prefecture

Hiroe ICHIKAWA, Miyuki SAITO

## 1. はじめに

福井県では、平成20年3月に「福井県がん対策推進計画～『がん予防・治療日本一』を目指して～」<sup>1)</sup>を策定し、がん予防やがん検診の受診率向上に向け、行政、医療機関、県民等一体となってがん対策を推進しているところである。

一方、本県におけるがん死亡数は年々増加の一途をたどっていることから、より効果的ながん対策の推進が求められており、そのためには、県民のがん死亡の特徴を正確に解析・評価し、その情報を関係機関や県民に提供する必要がある。

そこで今回、平成7～19年までの福井県におけるがん死亡に関する統計をもとに、わが県におけるがん死亡の特徴や部位別がんにおける地域特性について分析を行ったのでここに報告する。

## 2. 方法

資料は、死亡データについては人口動態統計<sup>2)</sup>、福井県衛生統計年報<sup>3)</sup>、福井県の人口動態<sup>4)</sup>を、福井県の人口データについては、H7、12、17年については国勢調査<sup>5)</sup>を、またそれ以外の年には、福井県の推計人口<sup>6)</sup>を用いて、福井県男女別の主ながんの部位別死因ごと（9部位別）に粗死亡率、年齢調整死亡率、損失生存可能年数（years of potential life lost 以下 YPLL および県内市町別の「ペイズ推定」による標準化死亡比（以下 EBSMR）を算出した。市町別 EBSMR の算出とその疾病地図には「DMS: Disease Mapping System」をまた地域集積性の解析には、「FlexScan: Software for the Flexible Scan Statistics (ver.3.0)（いずれも国立保健医療科学院丹後俊郎，横山徹爾、高橋邦彦開発、フリーダウンロード）」を使用した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 福井県における三大死因割合

福井県における全死因のうち割合が最も高いのがんである。平成19年では、死亡総数に対するがんの割合は28.9%であった。また三大死因（がん、心疾患、脳血管疾患）が占める割合は56.5%であった。

### 3.2 福井県における部位別死因順位

がんのうち、部位別にみても死亡数が多い順は、平成19年では、男性では①肺、②胃、③大腸がんであり、

女性では①胃、②大腸がん、③肺がんであった。（表1、2）

表1 がんの部位別死因順位—男—

	1位	2位	3位	4位	5位
平成7年	肺	胃	肝臓	大腸	すい臓
12年	肺	胃	大腸	肝臓	すい臓
17年	肺	胃	肝臓	大腸	すい臓
19年	肺	胃	大腸	肝臓	すい臓

表2 がんの部位別死因順位—女—

	1位	2位	3位	4位	5位
平成7年	胃	大腸	肺	胆のう	肝臓
12年	胃	肺	大腸	胆のう	すい臓
17年	胃	大腸	肺	すい臓	胆のう
19年	胃	大腸	肺	肝臓	すい臓 胆のう

### 3.3 福井県における部位別がん死亡指標の経年変化

平成7年から19年までの13年間について、以下の通り観察した。

#### 3.3.1 部位別がんの粗死亡率の経年変化

男女ともに全部位がんの粗死亡率については、年々上昇傾向である。部位別に見てみると、男性においては、胆のう・肺・前立腺がん、女性においては、胃・大腸・肺・子宮がんの粗死亡率が上昇傾向である。（表3,図1-1～3）

#### 3.3.2 部位別がんの年齢調整死亡率の経年変化

男女ともに全部位がんの年齢調整死亡率は、年々下降傾向である。部位別に見てみると、男性では胆のう・前立腺がんが上昇傾向であり、女性では子宮がんが上昇傾向である。一方、全国と比較すると、本県の男性は、胆のう・すい臓・肺・前立腺がんの死亡率が高く、女性では胃がんが高かった。また女性の乳がんについては、平成19年に改善傾向を示しているが、H17年では47都道府県中最下位であった<sup>7)</sup>。（表4,図1-1,2-1,-2）

表 3 粗死亡率（人口 10 万対）

		H7	H12	H17	H19
全部位がん	男	268.4	295.5	331.8	341.3
	女	168.4	209.7	224.1	227.7
胃がん	男	53.4	48.3	53.7	51.2
	女	30.8	34.7	34.5	37.1
大腸がん	男	29.6	37.2	35.9	32.8
	女	22.3	24.5	32.3	32.0
肝臓がん	男	32.4	35.9	36.1	29.2
	女	15.4	17.3	20.1	18.6
胆のうがん	男	15.6	14.3	14.2	18.2
	女	18.0	23.3	20.8	18.1
すい臓がん	男	19.1	16.8	27.5	25.1
	女	12.1	19.7	22.7	18.1
肺がん	男	59.2	70.4	83.4	89.4
	女	19.4	29.9	25.6	28.4
乳がん	女	10.4	15.7	18.7	15.4
子宮がん	女	7.1	8.1	7.4	9.9
前立腺がん	男	9.0	11.6	12.0	20.5

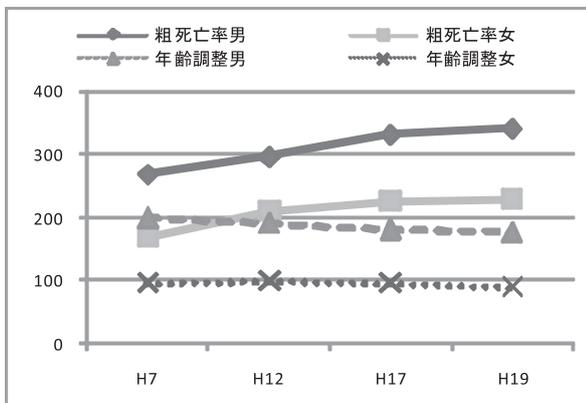


図 1-1 全部位がんの粗死亡率と年齢調整死亡率の経年変化

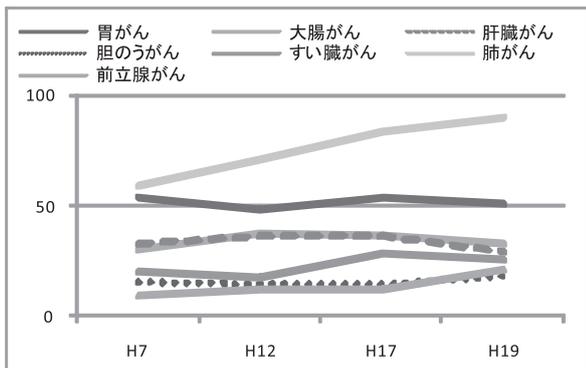


図 1-2 部位別がんの粗死亡率の経年変化（男）

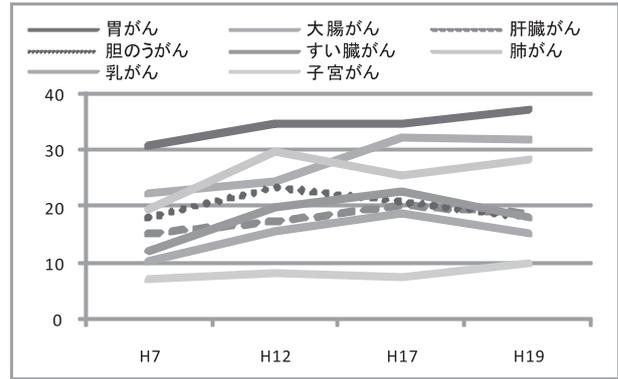


図 1-3 部位別がんの粗死亡率の経年変化（女）

表 4 がんの性別年齢調整死亡率（ ）は全国値（人口 10 万対）

		H7	H12	H17	H19
全部位がん	男	200.3 (226.1)	191.2 (214.0)	181.6 (197.7)	176.6 (191.5)
	女	94.9 (108.3)	98.3 (103.5)	94.5 (97.3)	88.6 (94.5)
胃がん	男	39.7 (45.4)	30.8 (39.1)	29.4 (32.7)	25.6 (31.1)
	女	17.0 (18.5)	16.1 (15.3)	13.4 (12.5)	12.7 (11.5)
大腸がん	男	22.1 (24.4)	24.8 (23.7)	19.4 (22.4)	17.5 (21.9)
	女	12.6 (14.1)	10.9 (13.6)	14.1 (13.2)	11.8 (12.6)
肝臓がん	男	24.7 (31.6)	23.3 (28.2)	21.2 (23.7)	16.7 (21.5)
	女	8.9 (9.1)	7.7 (8.8)	8.1 (7.7)	7.2 (7.3)
胆のうがん	男	11.7 (8.8)	8.6 (8.2)	7.0 (7.6)	8.8 (7.2)
	女	9.2 (7.2)	8.5 (6.3)	6.0 (5.4)	5.1 (5.1)
すい臓がん	男	14.3 (12.7)	11.4 (12.4)	15.1 (12.6)	14.1 (12.6)
	女	6.1 (7.0)	8.4 (7.2)	8.7 (7.5)	6.7 (7.6)
肺がん	男	43.9 (47.5)	44.8 (46.3)	45.4 (44.6)	44.1 (44.0)
	女	10.4 (12.5)	13.1 (12.3)	9.9 (11.7)	9.9 (11.7)
乳がん	女	7.9 (9.9)	10.6 (10.7)	13.1 (11.4)	9.6 (11.6)
子宮がん	女	4.1 (5.4)	4.9 (5.3)	3.7 (5.1)	5.1 (5.1)
前立腺がん	男	6.5 (7.7)	6.9 (8.6)	5.6 (8.5)	9.1 (8.2)

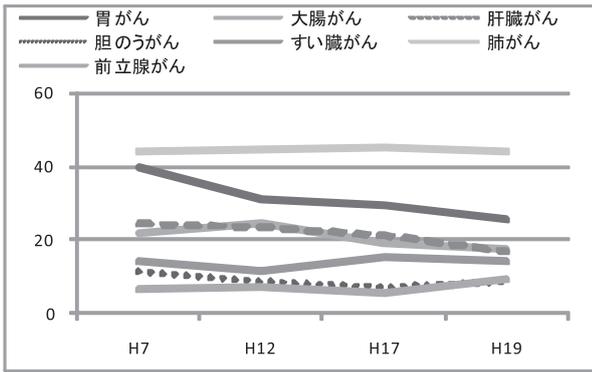


図 2-1 部位別がんの年齢調整死亡率の経年変化 (男)

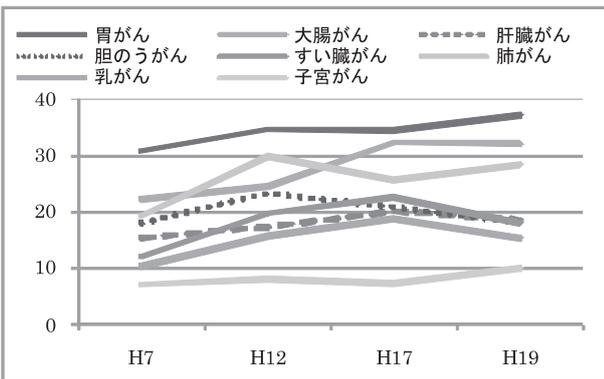


図 2-2 部位別がんの年齢調整死亡率の経年変化 (女)

### 3. 3. 3 部位別がんのYPLLの経年変化)

男女ともに、胃・肝臓、胆のうがんは年々減少傾向であった。男性では、肺がんが最も多く、これは、50歳代と後期高齢者の死亡による寄与が大きかった。女性では、乳がんが増加傾向であり、H19年に改善しているものの、40～50歳代の死亡の寄与が、部位別がんと比較しても極めて高かった。(図 3-1,2)

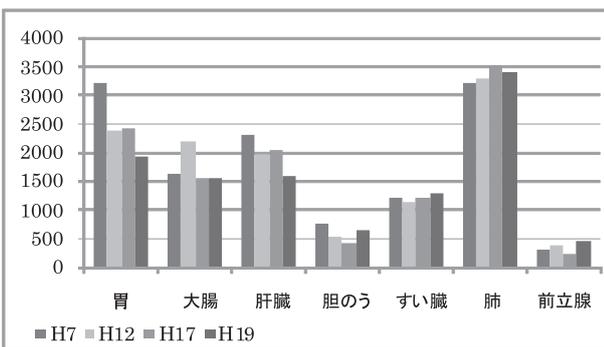


図 3-1 部位別がんのYPLLの経年変化 (男)

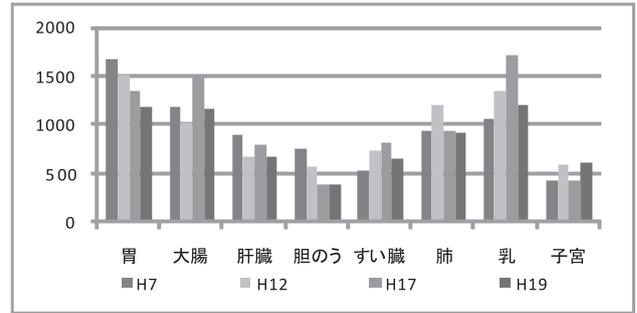


図 3-2 部位別がんのYPLLの経年変化 (女)

### 3. 4 年代別部位別死亡の特徴

30歳代以前の年代ではがん死亡数が少なく疾患部位のばらつきが多かったがそれ以降の年代では、死亡数の増減傾向や死亡原因部位について次のような特徴がみられた。

#### 3. 4. 1 40～50歳代の死亡の特徴

40～50歳代の男性では、がん全体の死亡数は年々減少傾向で、部位別の死亡割合は、胃・肝臓・すい臓・肺がんの割合が高く、女性では、死亡数は横ばいで、死亡割合は胃・大腸・乳がんの割合が高かった。(図 4-1,2)

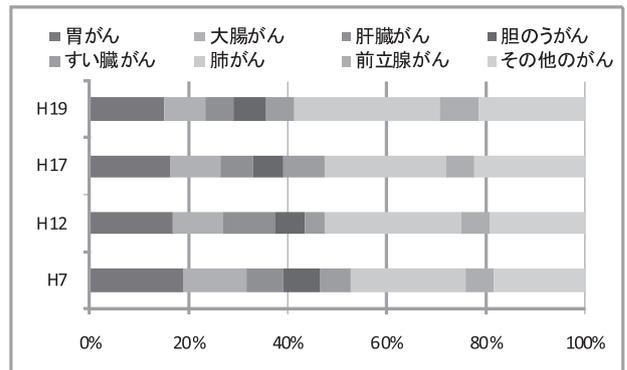


図 4-1 40～50歳代の部位別がん死亡割合 (男)

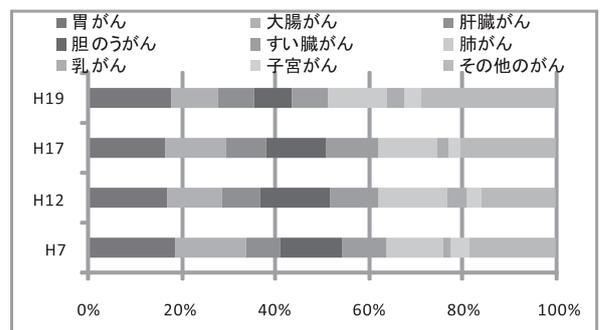


図 4-2 40～50歳代の部位別がん死亡割合 (女)

#### 3. 4. 2 60～74歳 (前期高齢者) の死亡の特徴

男女ともに、死亡数は横ばいで死亡割合は、男性では胃、肝臓、肺がんで高く、女性では、大腸、肝臓、乳がんで割

合が高かった。(図 5-1,2)

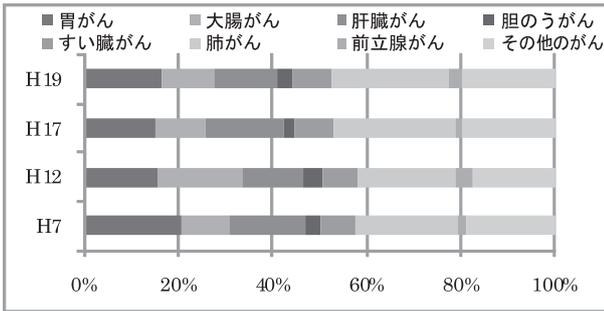


図 5-1 前期高齢者の部位別がん死因割合 (男)

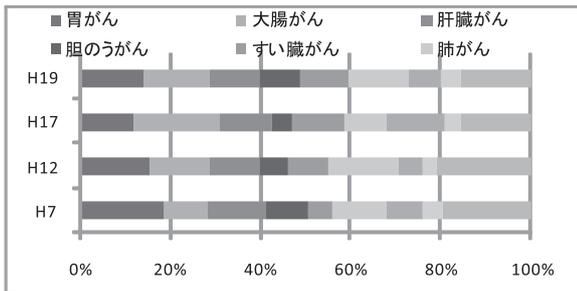


図 5-2 前期高齢者の部位別がん死因割合 (女)

### 3. 4. 3 75 歳以上 (後期高齢者) の死亡の特徴

男女ともに、死亡数は年々増加傾向であり、死亡割合は、男性では胃、肺がんが高く、前立腺、肝臓、大腸がんがほぼ同割合であった。女性では、胃、肺がんで割合が高く、大腸、肝臓、胆のう、すい臓がんがほぼ同割合であった。(図 6-1)

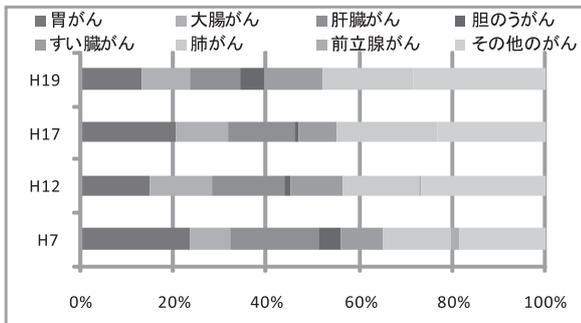


図 6-1 後期高齢者の部位別がん死因割合 (男)

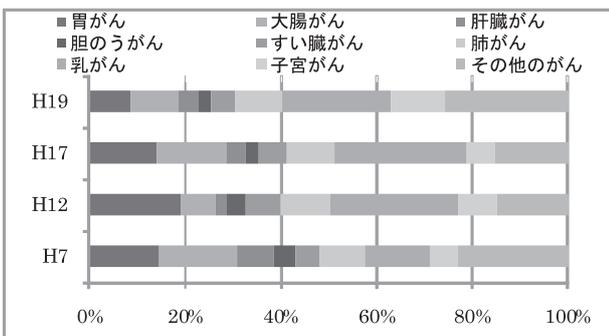


図 6-2 後期高齢者の部位別がん死因割合 (女)

## 3. 5 がんの部位別の地域特性

がんの部位別の地域特性について、市町村別の平成 15～19 年の死亡数累積値から解析ソフト (DMS および Flex Scan) を用いた EBSMR の算出と疾病地図描画および疾病の地域集積性について解析を行った結果、以下のような特徴がみられた。

### 3. 5. 1 全部位がん

男性では、あわら市・坂井市・福井市・大野市・鯖江市・越前町・南越前町・敦賀市・美浜町・若狭町・小浜市が全部位がんによる死亡リスクが高い地域として集積性を示した。女性では、あわら市、坂井市、福井市、永平寺町、大野市、鯖江市に集積性を示した。(図 7-1)



図 7-1 全部位がんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

### 3. 5. 2 胃がん

男性では越前町および鯖江市が胃がんによる死亡リスクの高い地域として集積性を示し、女性では、坂井市・永平寺町・勝山市・大野市・池田町・越前町に集積性を示した。(図 7-2)



図 7-2 胃がんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

### 3. 5. 3 大腸がん

男性では、坂井市・福井市・大野市・鯖江市・越前町・南越前町・越前町・敦賀市・美浜町・若狭町・小浜市・おおい町・高浜町が大腸がんによる死亡リスクが高い地域として集積性を示した。また、女性ではあわら市・坂井市・福井市・永平寺町・大野市・池田町・鯖江市・越前市・越前町に集積性を示した。(図 7-3)

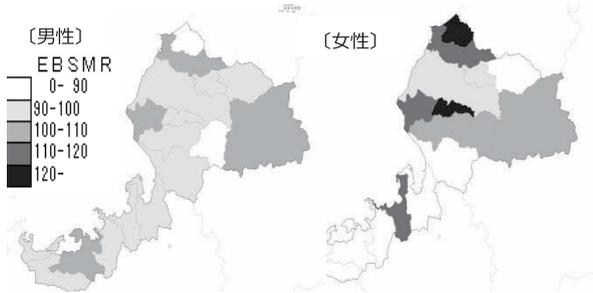


図 7-3 大腸がんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

### 3. 5. 4 肝臓がん

男性では、あわら市・坂井市・福井市・大野市・池田町・南越前町が肝臓がんによる死亡リスクの高い地域として集積性を示し、女性についてはあわら市・坂井市・福井市・大野市・越前市・鯖江市・越前町に集積性を示し、男女ともに、あわら市、大野市は EBSMR が 120 以上と全国と比較して高い死亡リスクを示した。(図 7-4)

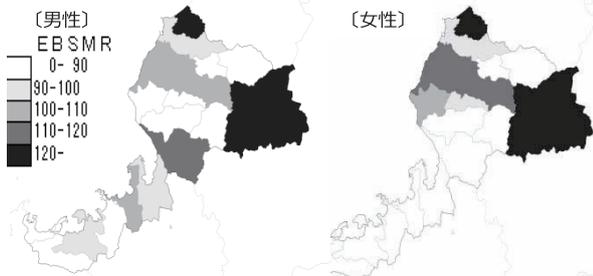


図 7-4 肝がんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

### 3. 5. 5 胆のうがん

男性では永平寺町・勝山市・大野市・池田町・鯖江市・南越前町・越前町が胆のうがんによる死亡リスクの高い地域として集積性を示し、女性では坂井市・福井市・永平寺町・勝山市・池田町・越前町に集積性を示した。(図 7-5)

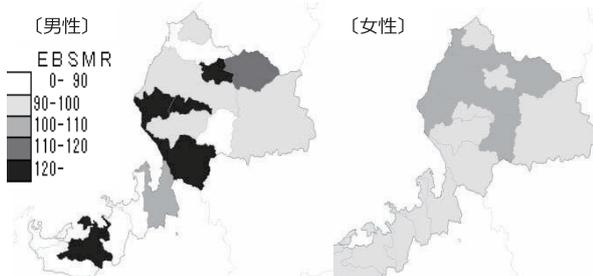


図 7-5 胆のうがんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

### 3. 5. 6 すい臓がん

男性では坂井市・福井市・永平寺町・勝山市・大野市・池田町・鯖江市・南越前町・越前町がすい臓がんによる死亡リスクの高い地域として集積性を示し、女性では、あわら市・坂井市・福井市・永平寺町・大野市・池田町・南越前町・越前町・敦賀市・美浜町・若狭町・小浜市に集積性を示した。また、男女ともに、永平寺町・池田町・南越前

町は EBSMR が 120 以上と高値であった。(図 7-6)。

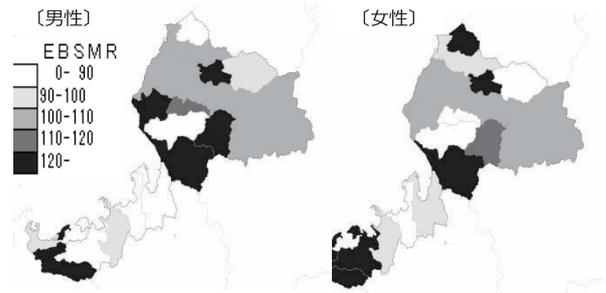


図 7-6 すい臓がんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

### 3. 5. 7 肺がん

男性では、あわら市・坂井市・勝山市・大野市・池田町・南越前町・越前町・敦賀市・美浜町・若狭町・小浜市が肺がんによる死亡リスクが高い地域として集積性を示し、女性では、あわら市・坂井市・福井市・永平寺町・勝山市・大野市・池田町・鯖江市・南越前町・敦賀市・美浜町・若狭町・小浜市に集積性を示した。(図 7-7)

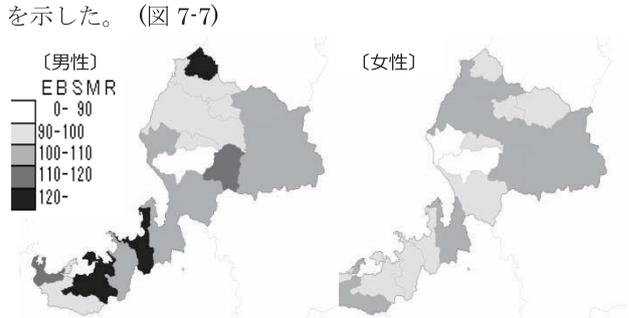


図 7-7 肺がんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

### 3. 5. 8 乳がん(女性のみ)・子宮がん

乳がんによる死亡リスクが高い地域として、坂井市・福井市・永平寺町・大野市・池田町・鯖江市・越前町・南越前町・敦賀市・美浜町・若狭町・小浜市・おおい町・高浜町に集積性を示した。(図 7-8)

また子宮がんにおいては、敦賀市が死亡リスクの高い地域として集積性を示した。(図 7-9)

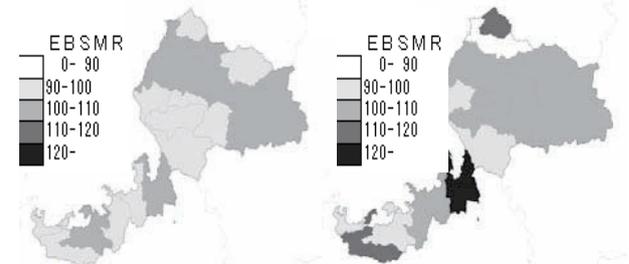


図 7-8 乳がんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

図 7-9 子宮がんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

### 3. 5. 9 前立腺がん

あわら市・坂井市・福井市・永平寺町・大野市・池田町・南越前町・敦賀市・美浜町が前立腺がんによる死亡

リスクの高い地域として集積性を示した。(図 7-10)

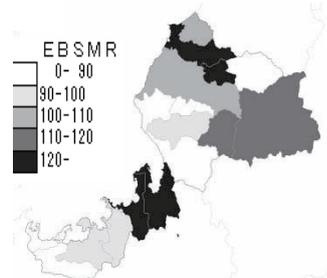


図 7-10 前立腺がんの EBSMR による疾病地図 (H15~19)

### 3. 6 指標の信頼性について

本稿においては、地域特性を分析するにあたり、人口規模による死亡数の格差を少なくするため、平成 15~19 年までの 5 年間の死亡数累積値で「ベイズ推定」による EBSMR を算出した。

EBSMR は、小地域における死因別疾病構造を把握する上で、有用かつ重要な手法の 1 つと言われ、指標としての信頼性は高いと考えられる。しかしながら、今回の累積期間である平成 15~19 年は、県内において大規模な市町村合併が行われたため、合併によってより人口規模格差が大きくなったことや、合併前後における市町の施策の違いによる死亡リスクへの影響が含まれている。したがって、市町の指標としての信頼性については、解釈に注意しなければならない。

## 4. まとめ

福井県におけるがんによる死亡の経年変化、地域特性について複数の健康指標を用いて多角的に解析した結果、以下のことがわかった。

- (1) 福井県は、前期・後期高齢者におけるがんによる死亡割合や、粗死亡率は全国と比較しても高く、高齢化率の高さが大きな影響を及ぼしている。

- (2) 高齢化による死亡の影響を除いた年齢調整死亡率で比較すると男性では肺・すい臓・前立腺がん、女性では、胃・大腸・肝臓・乳がんにおいて全国よりも高い傾向であった。
- (3) YPLL においては、男性は肺がん、女性は乳がんによる死亡が社会的損失を大きくしていることが示唆された。
- (4) 地域特性については、疾病地図や集積性解析ソフトを使い、部位別がんごとに市町比較が視覚的にとらえられた。

## 参考文献

- 1) 福井県：福井県がん対策推進計画「がん予防・治療日本一」を目指して（平成 20 年 3 月）
- 2) 厚生労働大臣官房統計情報部：人口動態統計（平成 7~19 年）
- 3) 福井県：福井県衛生統計年報（平成 7~17 年）
- 4) 福井県：福井県の人口動態（平成 18~19 年）
- 5) 総務省統計局：国勢調査報告，福井県（平成 7 年、12 年、17 年）
- 6) 福井県政策統計課：福井県の推計人口  
<http://toukei.pref.fukui.jp>
- 7) 厚生労働大臣官房統計情報部編 財団法人 厚生統計協会：人口動態保健所・市町村別統計・人口動態統計特殊報告-（平成 5~9 年，平成 10~14 年，平成 15~19 年）

# 2008 年度感染症流行予測調査結果 ～ジフテリア・百日咳・破傷風～

山崎 史子・永田 暁洋・石畝 史・浅田 恒夫\*1

Epidemiological Surveillance of Vaccine-Preventable Disease in Fukui Prefecture in Fiscal Year 2008  
～Diphtheria・Pertussis・Tetanus～

Fumiko YAMAZAKI, Akihiro NAGATA, Fubito ISHIGURO, Tuneo ASADA\*1

## 1. はじめに

感染症流行予測調査の目的は、集団免疫の現況把握および病原体の検索等の調査を行い、かつ、各種疫学情報と併せて検討することにより、効果的な予防接種事業の運用および長期的視野に立った疾病の流行予測をすることである。予防接種は1949年からジフテリア、1959年からジフテリアと百日咳の二種混合、1968年からジフテリア・百日咳・破傷風のDPT三種混合ワクチンが用いられるようになり、現在の沈降精製DPT三種混合ワクチンは1981年に導入され、接種率の上昇とともに、これらの疾患による患者は減少してきた。1994年の予防接種法の改正により、現在は個人毎の定期接種として勧奨されており、第1期として生後3～90ヶ月（標準的には3～12ヶ月）の間に3回接種し、その12～18ヶ月後に1回追加接種し、さらに第2期として11～12歳児を対象に、百日咳を除いたDT二種混合ワクチンの接種が行われている。

そこで、流行前の一時点における社会集団の免疫力（抗体調査等による）保有の程度について、年齢、地域等の別により分布を把握するための感受性調査を百日咳・ジフテリア・破傷風について実施した。なお、この3疾患の感受性調査は5年に一度実施しており、平成15年度から全年齢層について実施されるようになった。今年度は福井県を含めて全国7カ所の自治体で実施された。

## 2. 材料および方法

### 2. 1 調査期間

検体の採血実施期間は平成20年8月～10月であった。

### 2. 2 検体

健康福祉センターを通じて県内の3医療機関に血液採取を依頼した。検体数は0～4歳が11検体、5～9歳が15検体、10～19歳が22検体、20～29歳が40検体、30～39歳が13検体、40～49歳が27検体、50～59歳が34検体および60歳以上が3検体で、合計165検体であった。ジフテリアおよび百日咳ELISA抗体価は全検体を、破傷風および百日咳凝集素価は165検体のうち20～29歳は27検体、40～49歳は26検体、50～59歳は26検体を無作為に抽出し、合計140検体を供した（表1）。

表1 年齢区分別の検体数

年齢区分 (歳)	平成20年度	
	ジフテリア/ 百日咳ELISA抗体価	破傷風/ 百日咳凝集素価
0～4	11	11
5～9	15	15
10～19	22	22
20～29	40	27
30～39	13	13
40～49	27	26
50～59	34	26
60～	3	0
合計	165	140

### 2. 3 検査方法

血液を3,000rpm、15分遠心分離し、得られた血清を検査に供し、感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）<sup>1)</sup>に従い実施した。

#### 2. 3. 1 ジフテリア

ジフテリア毒素に高い感受性を示すVERO細胞を用いた細胞培養法により実施した。すなわち、ジフテリア毒素および血清を反応させた後、細胞浮遊液を添加し、37℃4日間培養した。残存毒素活性による細胞変性の程度を、培養液に添加したpH指示薬であるフェノールレッドの色調変化で判定し、ジフテリア抗毒素価を測定した。1検体につき2回測定し、測定値の平均値を抗毒素価とした。

#### 2. 3. 2 百日咳

市販のキット「百日咳菌抗体価測定試薬「ワコー」」を用い、ELISA-BALL法による血清中の抗百日咳毒素（抗PT）および抗繊維状赤血球凝集素（抗FHA）抗体価、ならびに「百日咳凝集反応抗原「生研」」（流行株の山口株およびワクチン株の東浜株）を用い、凝集反応法による百日咳菌凝集素価を測定した。なお、凝集素価の測定は今年度初めて実施された。

#### 2. 3. 3 破傷風

「破傷風抗体測定キット「化血研」」を使用して取り扱い説明書に従い、血清中の破傷風抗毒素価を間接凝集反応法により測定した。

\* 1) 元福井県衛生環境研究センター

表2 接種歴別のジフテリア抗体保有率

年齢区分 (歳)	接種歴あり			接種歴なし			接種歴不明			合計		
	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)
0	1	4	25	0	2	0	0	0	0	1	6	16.7
1~4	3	4	75	0	0	0	1	1	100	4	5	80
5~9	7	8	87.5	1	1	100	5	6	83.3	13	15	86.7
10~19	15	19	78.9	0	0	0	3	3	100	18	22	81.8
20~29	13	18	72.2	4	4	100	14	18	77.8	31	40	77.5
30~39	2	4	50	0	0	0	4	9	44.4	6	13	46.2
40~49	2	9	22.2	1	5	20	8	13	61.5	11	27	39.3
50~	0	7	0	1	11	9.1	2	19	10.5	3	37	8.1
計	43	73	58.9	7	23	30.4	37	69	53.6	87	165	52.7

### 3. 結果

#### 3. 1 ジフテリア

年齢別の抗体保有状況を図1に示した。発症防御レベル0.1IU/mL以上である抗体陽性率は1~4歳では80.0%、5~9歳では86.7%、10~19歳では81.9%、20~29歳では77.5%であった。0歳では16.7%、30歳以上では抗体陽性率は年齢区分が高くなるにつれて低下していた。

接種歴別の抗体陽性率は表2に示した。接種歴なしでは33.3%で、接種歴ありでは60.0%であった。なお、接種歴不明では52.1%であった。また接種歴ありでは、年齢区分が高くなるに従って、抗体陽性率は低下した。

#### 3. 2 百日咳

##### 3. 2. 1 抗PT抗体

年齢区分別の抗PT抗体価を図2に示した。発症予防レベルである10EU/mL以上の抗体価を示した抗体陽性率は0歳で16.7%、1~4歳で20.0%、5~9歳で59.9%、10~19歳で40.8%、20~29歳で43.6%、30~39歳で0.0%、40~49歳で33.3%および50歳以上で34.2%であった。

接種歴別の抗体陽性率を表3に示した。接種歴なしでは26.1%で、接種歴ありでは38.4%であった。幾何平均抗体価は30~39歳の2.68EU/mLから5~9歳の55.1EU/mLまでであり、全年齢では7.48EU/mLであった。

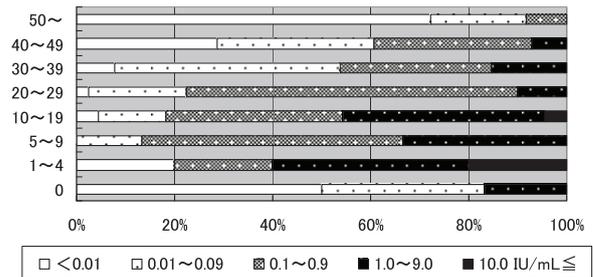


図1 年齢区分別のジフテリア抗体保有状況

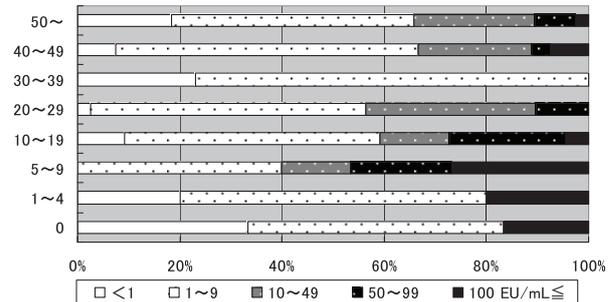


図2 年齢区分別の抗PT抗体価

表3 接種歴別の百日咳ELISA抗体(抗PT)保有率

年齢区分 (歳)	接種歴あり			接種歴なし			接種歴不明			合計		
	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)
0	1	4	16.7	0	2	0	0	0	0	1	6	16.7
1~4	1	4	16.7	0	0	0	0	1	0	1	5	20
5~9	4	8	50	0	1	0	5	6	83.3	9	15	60
10~19	8	19	42.1	0	0	0	1	3	33.3	9	22	40.9
20~29	10	18	55.5	2	4	50	7	18	38.9	19	40	47.5
30~39	0	4	0	0	0	0	0	9	0	0	13	0
40~49	2	9	22.2	2	5	40	5	13	38.5	9	27	33.3
50~	2	7	28.6	2	11	18.2	7	19	36.8	11	37	29.7
計	28	73	38.4	6	23	26.1	25	69	36.2	59	165	35.8

表4 接種歴別の百日咳ELISA抗体(抗FHA)保有率

年齢区分 (歳)	接種歴あり			接種歴なし			接種歴不明			合計		
	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)
0	2	4	50	0	2	0	1	0		2	6	33.3
1~4	2	4	50		0		1	1	100	3	5	60
5~9	6	8	75	1	1	100	5	6	83.3	12	15	80
10~19	15	19	78.9		0		1	3	33.3	16	22	72.7
20~29	16	17	94.1	4	4	100	15	18	83.3	35	40	87.5
30~39	2	4	50		0		3	9	33.3	5	13	38.5
40~49	1	9	11.1	3	5	60	8	13	61.5	12	27	44.4
50~	4	8	50	4	11	36.4	12	19	63.2	20	37	54.1
計	48	73	65.7	12	23	52.2	45	69	65.2	105	165	63.6

3. 2. 2 抗FHA抗体

年齢区分別の抗FHA抗体価を図3に示した。発症予防レベルである10EU/mL以上の抗体価を示した抗体陽性率は0歳で33.4%、1~4歳で60.0%、5~9歳で80.1%、10~19歳で72.7%、20~29歳で84.6%、30~39歳で38.5%、40~49歳で42.3%および50歳以上で46.1%であった。幾何平均抗体価は、0歳の5.51EU/mLから5~9歳の81.5EU/mLまでで、全年齢では17.4EU/mLであった。

接種歴別の抗体陽性率を表4に示した。接種歴なしでの抗体陽性率は52.2%で、接種歴ありでは65.8%であった。

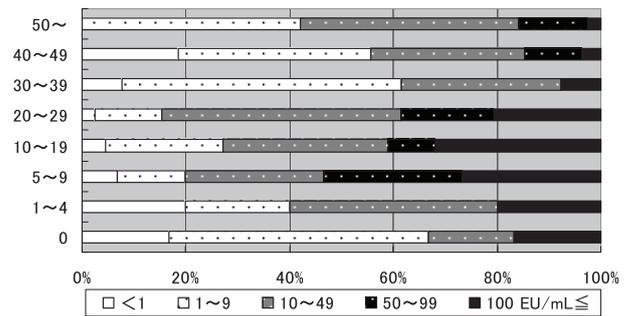


図3 年齢区分別の抗FHA抗体価

3. 2. 3 百日咳菌凝集素価

山口株の凝集素価の分布を図4に示した。20倍未満は0歳および40歳以上で各1人ずつであり、全体の3.6%を占めた。320倍以上は10歳以上で31%~50%で、全体では38.6%であった。幾何平均凝集素価は0歳の50.4倍から40~49歳の267.4倍までであり、全年齢では187.5倍であった。

東浜株の凝集素価の保有状況を図5に示した。20倍未満は0歳、1~4歳および40歳以上で各5人ずつであり、全体の9.3%を占めた。320倍以上は10歳以上で36.4~53.8%で、全体では35.7%であった。幾何平均凝集素価は0歳の25.2倍から40~49歳の267.4倍までであり、全年齢では133.2倍であった。

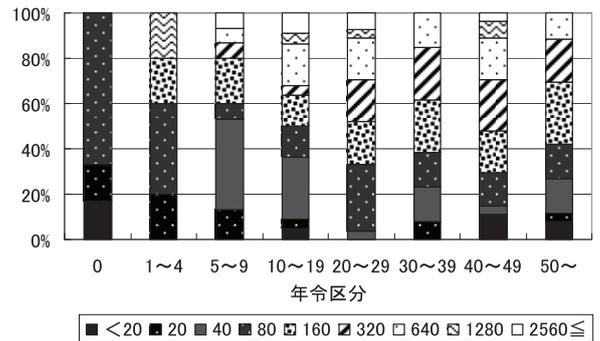


図4 百日咳菌凝集素価(山口株)

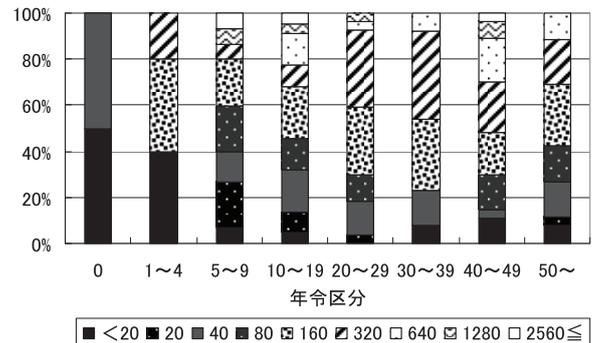


図5 百日咳菌凝集素価(東浜株)

3. 3 破傷風

年齢別の抗体保有状況を図6に示した。発症防御レベルの0.01IU/mL以上の抗体陽性率は0歳では66.7%、1~4歳では90%、5~9歳および10~19歳では100%、20~29歳では96.3%、30~39歳では100%、40~49歳は7.7%、50~59歳では26.9%であった。

接種歴別の抗体陽性率を表5に示した。接種歴なしでは、33.3%、接種歴ありでは78.1%であった。なお、接種歴不明では67.3%であった。

表5 接種歴別の破傷風抗体保有率

年齢区分 (歳)	接種歴あり			接種歴なし			接種歴不明			合計		
	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)	陽性数	検体数	陽性率(%)
0	2	4	50	2	2	100	0	0		4	6	66.7
1~4	3	4	75	0	0		1	1	100	4	5	80
5~9	8	8	100	1	1	100	6	6	100	15	15	100
10~19	19	19	100	0	0		3	3	100	22	22	100
20~29	11	12	91.7	3	3	100	12	12	100	26	27	96.3
30~39	4	4	100	0	0		9	9	100	13	13	100
40~49	1	9	11.1	0	12	0	1	5	20	2	26	7.7
50~	2	4	50	2	6	33.3	3	16	18.8	7	26	26.9
計	50	64	78.1	8	24	33.3	35	52	67.3	93	140	66.4

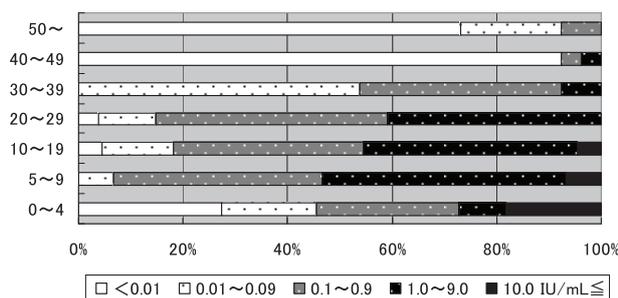


図6 年齢区分別の破傷風抗体保有状況

#### 4. 考 察

今回の調査で、ジフテリア抗毒素抗体陽性率は全体の1~29歳では80%前後、また接種歴ありの抗体陽性率を見ても、これらの年齢層では70~80%の抗体保有率であったことから、予防接種の効果が現れていると考えられた。0歳ではワクチン未接種あるいは1回以下が4/5検体(80%)を占め、これらの抗体価が検出限界以下~0.08IU/mLと低かったため、抗体陽性率は16.7%と低かったと考えられた。また、30歳以上では年齢区分が高くなるにつれて、抗体陽性率は低下していた。これは経年によるワクチン効果の減弱および国内での発生がなくなったことによるブースター効果の消失によるためと考えられた。ジフテリアはジフテリア菌(*Corynebacterium diphtheria*)の感染によっておこる上気道粘膜疾患で、感染・増殖した菌が産生する毒素により全身症状を起こすこともある。国内では2000年以降患者報告はないが、海外では中央アジア、ロシア、ウクライナおよびスウェーデンなどでは感染に注意を要する。近年の海外渡航の増加により、輸入感染症として国内に持ち込まれる可能性があり、この点でも注意が必要である。一方、最近になって先進諸国ではジフテリア毒素産生性*Corynebacterium ulcerans*によるジフテリア類似疾患が問題になっており、国内でも2002年以降現在までに6例の報告がある<sup>9)</sup>。通常*C. ulcerans*にはジフテリア毒素産生能はなく、牛や馬等の牧畜の性状細菌叢の一部として存在している。国外では畜産動物との接触、生の乳製品の摂取、感染した愛玩動物からの感染が報告されている。感染への直接の関与は不明で

あるが、国内事例でも患者はイヌ・ネコを飼育している事例が多い<sup>2)</sup>ことが注目される。

百日咳の血清診断は、凝集素価が広く利用され、ペア血清で4倍以上の上昇が基本であり、シングル血清では評価はできない。酵素抗体法で抗PT抗体価も用いられるが、ペア血清が基本となり、有意上昇の基準がない。シングル血清の場合は米国人を対象とした報告では94EU/mLを目安としている<sup>3)</sup>。乳幼児では凝集素価を指標に診断されているが、成人に適用できるかは不明である<sup>6)</sup>。

百日咳の抗PT抗体価では抗体価1~9EU/mLであった検体の占める割合が各年齢区分において高く、抗体陽性率は30~39歳で0%および0~4歳で20%以下と低かったが、他の年齢層では33.3%~59.9%と比較的高かった。一方、抗FHA抗体価は10~49EU/mLの占める割合が高く、抗体陽性率は0歳では33.3%および30~39歳では38.5%と他の年齢区分に比べて低かったが、他の年齢区分では57.8%~84.6%と高かった。いずれの年齢区分においても抗FHA抗体価は抗PT抗体価よりも高い抗体価を示す傾向にあり、これは前回の調査結果<sup>7)</sup>と同様であった。

今回の凝集素価測定の目的は、抗PT抗体価および抗FHA抗体価と比較して発症予防レベルの目安となる凝集素価や成人での凝集素価による診断基準の検討のためであった。どの年齢区分においても山口株の方が東浜株に比べ、高かったことは、今年度は百日咳の全国的な流行であったため、ある程度の不顕性感染があったのではないかと考えられる。また、凝集素価20未満は東浜株では9.3%、山口株では3.6%であり、320倍以上はそれぞれ35.7%および38.6%であった。年齢区分別に320倍以上の占める割合を見ると、0歳は山口株および東浜株共に0%、1~9歳で20%および26.7%以下で、10~19歳では共に36.3%であった。20歳以上では、30~39歳の山口株で38.5%および50歳以上の東浜株の30.7%を除いては、40%以上を占めた。既報<sup>4)</sup>では健康成人での凝集素価分布では10倍未満の陰性者が全体の15%程度で、320倍以上が約20%であったのに対し、今回の調査では320倍以上の凝集素価の分布が多かった。

百日咳は百日咳菌(*Bordetella pertussis*)の気道感染によって引き起こされる急性呼吸器感染症であり、感染症発生动向調査における小児科定点把握の五類感染症であり、全国3000の定点から毎週患者数が報告される。百日咳は約4年周期で流行を繰り返すことが知られており、

2008年は流行年に該当しており、第28週時点で過去にない累積報告数となった<sup>5)</sup>。県内では2000年から2008年までの定点あたりの患者数をみると、全国の流行と同じように推移しており、2000年、2004年および2008年に定点当たり1.00を越え、それ以外は1.00未満と低く推移している<sup>6)、8)</sup>。特に、2008年は定点あたりの患者数が5.23と今までになく高く、しかも患者の約20%は20歳以上であった。また、2007年は本邦初となる成人の百日咳集団事例が全国各地で発生し、成人の百日咳への関心が高まった<sup>5)</sup>。成人は典型的な症状を示さないことが多く、感染に気づかないうちに乳幼児への感染源となりうる。欧米では思春期・成人用のワクチンを用いて、接種をしております<sup>3)</sup>が、我が国でも思春期・成人での百日咳の実態を把握し、予防接種について検討されている。県内においても集団発生予防の対策や検査体制の整備等の必要があると考える。

破傷風抗体陽性率は0～39歳では67～100%と高く維持されていた。しかし40歳以上では7%～26%と低く、これは三種混合ワクチン接種の開始が1968年であったため、この年齢層は接種する機会がなかったためと考えられる。発生動向調査によると、福井県内では2000年以降では2000年および2005年に各1例のみの報告であるが、全国では2000年以降毎年100例前後の報告がある。破傷風菌は土壌などの自然環境に広く分布しており、誰にでも感染が成立する可能性がある。また、破傷風抗体は自然感染では獲得できない<sup>10)</sup>ため、感染予防にはワクチン接種が必須である。また、近年報告される患者の多くが40歳以上であり<sup>10)</sup>抗体陽性率も低いことから、これらの年齢層の人にワクチン接種をする必要があると考えられる。

3疾患において接種歴ありの検体では抗体陽性率は接種歴なしの検体に比べ、高かったことから、予防接種の効果が現れていると考えられた。しかし、接種歴不明検体の抗体保有率はジフテリアでは52.1%、破傷風では67.3%、百日咳の抗PT抗体価は36.2%および抗FHA抗体価は65.2%と、比較的高かった。これは接種歴不明検体に接種歴ありの検体が紛れ込んでいる可能性があると考えられ、接種歴について正確な情報が望まれる。

DPT三種混合ワクチンの普及により3疾患とも患者数は激減した<sup>2)、5)、6)</sup>が、先に述べた国内や国外の発生状況等を踏まえ、乳幼児へ確実に予防接種を実施することは重要であるが、抗体陽性率が低い年齢層への追加接種や予防接種プログラムの作成が必要であると考えられた。

## 5. まとめ

1. 今回の調査ではジフテリアおよび破傷風は1～39歳、百日咳では5～29才では抗体陽性率は比較的高く、乳幼児期の適切な予防接種が重要であることが再確認された。
2. ジフテリアおよび破傷風では40才以上で、百日咳では30才以上で抗体陽性率が低く、これらの年齢層へのワクチン接種が3疾患の予防対策に必要であると思われた。

## 謝 辞

本調査を行うに当たり、血清を収集していただきました医療機関および関係健康福祉センターの関係者の方々に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課、国立感染症研究所流行予測調査事業委員会：感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）
- 2) 国立感染症研究所：〈特集〉ジフテリア 2006年現在、病原微生物検出情報，27（12），331-337（2006）
- 3) 岡田賢司：成人百日咳流行に伴う問題と対策，臨床と微生物，36（1），29-34（2009）
- 4) 岡田賢司：百日咳，感染症学雑誌，83，127（2009）
- 5) 国立感染症研究所：百日咳，感染症発生動向調査 週報，2008年第28週（6月報含む）（2008）  
<http://idsr.nih.gov/idwr/douko/2008d/28douko.html>
- 6) 国立感染症研究所：〈特集〉百日咳 2005～2007，病原微生物検出情報，29（3），65-77（2008）
- 7) 厚生労働省健康局結核感染症課、国立感染症研究所感染症情報センター：百日咳，平成15年度（2003年度）感染症流行予測調査報告書，144-161（2004）
- 8) 国立感染症研究所：〈特集〉百日咳 1997～2004，病原微生物検出情報，26（3），61-62（2005）
- 9) 国立感染症研究所：Corynebacterium ulcerans感染による急性鼻咽頭炎を呈した1例，病原微生物検出情報，30（7），188-189（2009）
- 10) 国立感染症研究所：破傷風 2008年末現在，病原微生物検出情報，30（3），65-72（2009）

# 腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157 による集団食中毒事例

永田 暁洋・山崎 史子・石畝 史・浅田 恒夫\*1

Outbreak of Enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 Food Poisoning in 2008

Akihiro NAGATA, Fumiko YAMAZAKI, Fubito ISHIGURO, Tsuneo ASADA\*1

## 1. はじめに

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症は感染症法に基づく 3 類感染症として、全数届出が義務付けられており、2008 年は全国で 4330 例が報告されている。本県においては 49 件、患者数 78 名で、1999 年に感染症法が施行されて以来、最も多い届出患者数となり、他県の状況と比較しても、人口 10 万対の県別発生数で、佐賀、岩手に次ぐ 3 番目の多さであった<sup>1)</sup>。また、2008 年に全国で発生した EHEC O157 食中毒は 17 事例で、本県においては 4 月および 7 月に EHEC O157:H7 (VT1+2) (以下 O157 と略) による散発型集団食中毒 (diffuse outbreak)、8 月に集団食中毒の併せて 3 件が発生したので、その概要を報告する。

## 2. 事例

### 2. 1 事例 1

2008 年 4 月 4 日、5 日に O157 感染症の届出があった患者 a および c について坂井保健所が調査した結果、患者 a は 3 月 28 日に、患者 c は 3 月 27 日に、同一焼肉店 (Y 店) で同一日に仕入れた生レバー、ホルモン等を喫食していた。患者 2 名の共通食が Y 店での食事以外になく、検出された原因菌の血清型および毒素型が一致したことから、坂井保健所は Y 店の食事を原因とする食中毒と断定した。その後、当センターで実施した患者 a および c の同行者等 41 名の糞便検査では、患者 a の同行者 1 名 (b) および患者 c の同行者 1 名 (d) から O157 が検出された。また、食中毒の報道によって医療機関を受診し、4 月 10 日に O157 の届出がされた患者 e も 3 月 29 日に Y 店で生レバー、ホルモン等を喫食していた。患者 a~e の家族 26 名からは菌は分離されず、また、Y 店の施設の拭き取り検体および従事者便 4 検体からも菌は分離されなかった (表 1)。患者 a~e 由来株について、Xba I 処理によるパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) を実施したところ、パターン 1 (a、b 由来 1 株および d 由来 2 株)、パターン 2 (d 由来 1 株)、パターン 3 (b 由来 2 株、c 由来 1 株および e 由来 1 株) の 3 パターンが確認された (図 1)。いずれのパターンも 1 バンド違いで、画像解析ソフト (Fingerprinting II) を用いて解析した結果、類似度は 93% 以上であった。

表 1 事例 1 の O157 検出結果

グループ	喫食 月日	喫食者 数 <sup>1)</sup>	有症者 数 <sup>1)</sup>	P/N1 <sup>2)</sup>	患者	P/N2 <sup>3)</sup>
I	3. 28	3	2	1/2	a	0/ 6
					b	0/ 4
II	3. 27	16	5	1/13	c	0/11 <sup>4)</sup>
					d	0/ 3
III	3. 29	7	1	-	e	0/ 2
計		26	8	2/15		0/26

1) 患者を含む、2) 陽性数/同行者の検体数、  
3) 陽性数/患者家族等の検体数、4) 接触者 7 名を含む

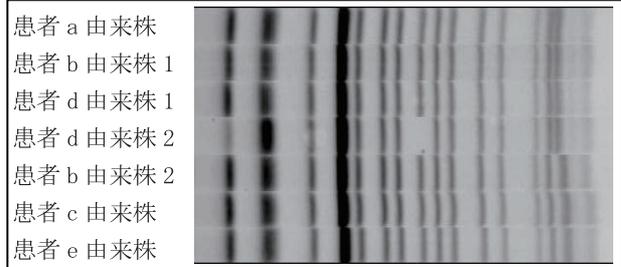


図 1 事例 1 で分離された患者由来株の PFGE パターン

### 2. 2 事例 2

2008 年 7 月 16 日、県内の医療機関から嶺南振興局二州保健所に O157 感染症の届出があった。調査の結果、届出の患者 A は家族 4 名 (本人を含まず、以下同様) と 7 月 5 日に焼肉店 V で生レバー、ホルモン等を喫食して、下痢、腹痛等の症状を呈しており、同日に同店を利用した他のグループのうち 1 グループ 3 名も同様の症状を呈していた。両グループの共通食が焼肉店 V での食事以外になく、有症者 3 名について医療機関から食中毒の届出があったことから、二州保健所は焼肉店 V で提供された食品を原因とする食中毒と断定し、同店を 7 月 17 日から 3 日間の営業停止処分とした。

また、7 月 14 日にも O157 感染症の届出が 2 件 (患者 B および C) あったが、患者 B は家族 6 名と 7 月 4 日に、患者 C は家族 2 名と 7 月 6 日に焼肉店 V で生レバーやホルモン等を喫食していたことが判明した。さらに、7 月 10 日に O157 感染症の届出があった患者 D は家族 3 名と飲食店 W で、7 月 14 日に O157 感染症の届出があった患者 E は家族 3 名と飲食店 X で、それぞれ牛さしやホルモン等を喫食していたが、飲食店 W および X の肉の仕入れ先は焼肉店 V と同じ Z 店であった。

\* 1) 元衛生環境研究センター

表2 事例2の原因食品の廻り調査結果および糞便検査結果

		グループ	患者	同行者等の 検体数	陽性数	PFGE パターン	
Z店	→ V店	従事者グループ	—	5 (従事者)	3 (G、H、K)	b142	
		7月4日喫食グループ	B	6	0	b142	
		7月5日喫食グループ1	A	4	1 (I)	b142	
			—	3 (有症者)	0	—	
		7月6日喫食グループ	C	2	1 (J)	b142	
		→ W店	7月5日喫食グループ	D	3	0	b142
		→ X店	7月6日喫食グループ	E	3	0	b142
不明	暴露元不明グループ	F	9*	0	b142		
		計	6	35	5		

\*濃厚接触者

一方、7月18日にO157感染症の届出があった患者Fは、飲食店VおよびZ店との関連は不明であった。

当センターに7月17日～23日に搬入された焼肉店Vの施設のふきとり材料3検体、従事者4名、有症者3名および届出患者6名(A～F)の同行者等27名の糞便、計37検体についてO157の検査を実施したところ、従事者2名(G、H)、患者Aの同行者1名(I)および患者Cの同行者1名(J)からO157が検出された。また、従事者Gの家族1名(K)からも、O157が検出された。なお、焼肉店Vの従事者2名およびその家族1名も同店の食肉を喫食していた。無症状病原体保有者5名(G、H、I、J、K)を含む11名(A～K)由来株について、XbaI処理によるパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)を行ったところ、全て同一パターンを示し、国立感染症研究所の解析によりType No. b142と判定された(表2)。

原因とする食中毒と断定した。その後、有症者4名が医療機関で受診し、うち2名がO157感染症と診断された。

当センターでは9月2日～15日にバーベキュー喫食者45名の糞便検査を実施し、有症者4名中1名および無症者41名中7名からO157を分離した。医療機関の検査結果を併せると最終的には51名中12名が陽性であった(2名は検査未実施)(図2)。濃厚接触者71名の糞便検査は、すべて陰性であった。一方、同時期に散发事例としてO157感染症の届出が、丹南保健所(患者①)、坂井保健所(患者②)および二州保健所(患者③)管内で各1名あった。調査の結果、患者③は上記バーベキューの食肉等を納入した焼肉店にて9月4日に食事をしていたこと、および患者①は自宅で豚ホルモンを喫食していたことが判明したが、患者②については焼肉等の喫食は確認できなかった。バーベキュー関連の11株(1～11)および散发事例由来3株(①～③)、計14株のPFGEパターンは4パターンに分けられたが、類似度は93%以上で近縁株と思われた(図3)。国立感染症研究所の解析により、主なパターンはType No. b142と判定された。

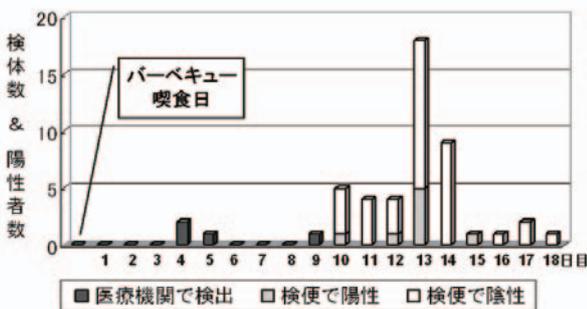


図2 事例3のバーベキュー喫食者の検便結果

### 2. 3 事例3

2008年8月30日、医療機関からO157感染症の届出が2件あり、この患者2名は同じバーベキューを喫食していたとの情報が丹南保健所にあった。調査の結果、2名は8月23日にバーベキューに参加しており、参加者53名のうち10名が腹痛、下痢等の症状を呈したことが判明した。丹南保健所は、これら有症者の共通食がバーベキューでの食事以外にないことから、バーベキューでの食事を

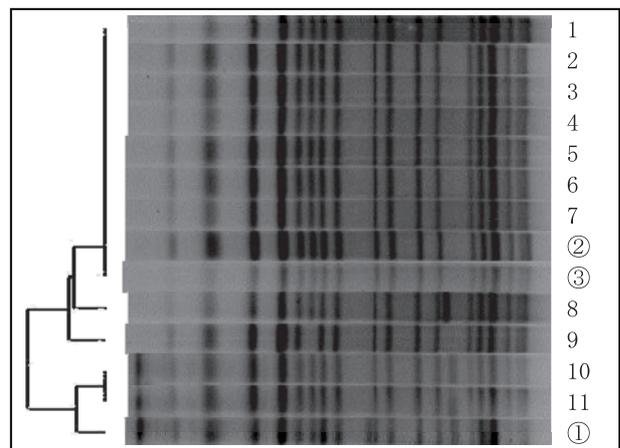


図3 事例3の分離株のPFGE結果

### 3. 考察およびまとめ

事例1では5名から菌が分離されたが、PFGEを実施したところ同一人物由来株でも異なるパターンが確認された。しかし違いは1バンド程度で、分離株の類似度は約93%以上であったことから近縁株であると考えられ、原因食品と推定される生レバーあるいはホルモン等は、近縁の複数株に汚染されていたと示唆された。検体から菌が分離された場合、1検体あたり複数の菌株を収集し解析をする重要性を改めて認識した。

事例2における原因は、施設または従業員からの二次汚染を含む焼肉店Vにおける食肉の汚染だけでなく、疫学調査結果およびPFGEパターン解析により、同一地域で同一時期に発生した散発感染症事例に関係した3飲食店(V、W、X)の肉の仕入れ先であるZ店での食肉の汚染、あるいはZ店よりも前の流通段階での汚染の可能性が示唆された。

事例3のようにバーベキューを原因とするO157による食中毒が2008年10月に福岡市でも発生しているが、やはり同時期に散発9事例のO157感染症が発生している。<sup>5)</sup>そして、9事例の分離菌のPFGEパターンは3パターンに分けられ、バーベキュー事例との関連性が示唆されており、事例3と同様である点が興味深い。

事例2の10株および事例3の11株(バーベキュー関連9株および散発事例2株)は、2006年～2008年に富山・

石川・福井を中心に14府県市で検出されている株と同一パターン(No.b142)であることが判明し、持続的な広域汚染が示唆された。また、上記3事例でO157が検出された者のほとんどは、発症前2週間以内に生あるいは加熱不足の食肉の喫食歴があったことから、県は飲食店、バーベキュー施設および一般消費者に対し、食肉の喫食方法について注意喚起を行った。

### 参考文献

- 1) 腸管出血性大腸菌感染症 2009年4月現在, 病原微生物検出情報, 30(5), 119~120 (2009)
- 2) 山崎史子他: 焼肉店が原因施設とされた腸管出血性大腸菌 O157:H7 食中毒事例—福井県, 病原微生物検出情報, 29(6), 20 (2008)
- 3) 永田暁洋他: 焼肉店が原因施設とされた腸管出血性大腸菌 O157:H7 食中毒事例—福井県, 病原微生物検出情報, 29(12), 19 (2008)
- 4) 石畝史他: バーベキューを原因とする腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例—福井県, 病原微生物検出情報, 30(1), 16 (2009)
- 5) 尾崎延芳他: バーベキュー大会の食事が原因と推察された腸管出血性大腸菌感染症(O157) 集団発生事例—福岡市, 病原微生物検出情報, 30(5), 132~133 (2009)

## 2008/09シーズンの福井県のインフルエンザ

中村 雅子・東方 美保・川畑 光政\*<sup>1</sup>・浅田 恒夫\*<sup>1</sup>

Epidemiological Studies of Influenza in Fukui Prefecture in 2008/09 Season

Masako NAKAMURA, Miho TOHO, Mitsumasa KAWABATA, Tsuneo ASADA

## 1. はじめに

インフルエンザは冬季を中心に流行を繰り返し、人口の5～20%程度が罹患する<sup>1)</sup>感染症である。

2003年以來、H5N1亜型インフルエンザウイルスによるパンデミックの発生が危惧されている。一方、2009年4月にはSwH1新型インフルエンザがメキシコで発生し、またたく間に世界に広がった。

このような新型インフルエンザへの危機管理は、「危機そのもの」に取り組むことも重要であるが、「日常的疾患の動向」をきちんと把握するところからスタートすべきであり<sup>2)</sup>、季節性インフルエンザのサーベイランスがいっそう重要になる。各地方衛生研究所では毎年県内の集団発生事例および散发事例の病原体分離と抗原性状の試験を行っている。この結果は国立感染症研究所（以下、「感染研」）で集約され、インフルエンザの流行予測およびワクチン株選定の資料となっている。

これに加え、世界的にノイラミニダーゼ阻害薬(NAI)に対する耐性株の拡大が懸念されている事態<sup>3)</sup>を受け、2007/08シーズン（以下、「昨シーズン」）から日本でもNAI耐性株サーベイランスが実施されている。

また、感染症流行予測調査として、流行シーズン前のインフルエンザ抗体保有状況調査も2004年から続けて行っている。

本報では2008/09シーズン（以下、「今シーズン」）のインフルエンザの流行状況として、これらの結果をまとめて報告する。

## 2. 材料と方法

## 2.1 集団発生事例および散发事例の調査

## 2.1.1 調査期間

2008年11月～2009年5月

## 2.1.2 材料

集団発生事例は、管内の学校等において発生した事例について、各健康福祉センターで採取した患者うがい液（10事例50検体）を試料とした。

また、散发事例は、当センターが独自に依頼した福井市および敦賀市の小児科（それぞれ1機関づつ）において採取された鼻咽頭拭い液115検体を用いた。

## 2.1.3 検査方法

MDCK細胞を用いたウイルス分離同定試験を行った。

ウイルス分離は、既報<sup>4)</sup>に準じて行った。抗血清は、今シーズンのインフルエンザサーベイランスキットとして感染研から分与された抗A/Brisbane/59/2007(H1N1)、抗A/Uruguay/716/2007(H3N2)、抗B/Brisbane/3/2007、抗B/Malaysia/2506/2004各フェレット感染血清を用いた。

HA価が上昇せず、HI試験ができない場合は遺伝子検査で同定した。すなわち、MDCK培養細胞上清液からViral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用いてRNAを抽出し、感染研マニュアルの方法<sup>5)</sup>に従い、Access Quick RT-PCR (Promega)を用いてRT-PCR法を行った。

また、今シーズン分離されたA/H1N1ウイルスの一部につき、感染研が提示した方法（抗インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランスN1NA遺伝子解析実験プロトコール：平成20年2月）により、NA遺伝子の部分的なシーケンスを行い、H275Yマーカーの同定を行った。

## 2.2 感染症流行予測調査

## 2.2.1 材料

県内の2医療機関において2008年8月から11月に採取された血液を用いた。検体数は0～4歳が11検体、5～9歳が15検体、10～14歳が17検体、15～19歳が5検体、20～29歳が40検体、30～39歳が13検体、40～49歳が27検体、50～59歳が34検体および60歳以上が3検体で合計165検体であった。

## 2.2.2 検査方法

血液を3000rpm、15分遠心分離し、得られた血清を検査に供した。

診断用抗原にはA/Brisbane/59/2007(H1N1)、A/Uruguay/716/2007(H3N2)、B/Florida/4/2006、B/Malaysia/2506/2004の各不活化ウイルス抗原を用いた。血清はRDE処理および血球による吸収操作の後、0.5%ニワトリ血球を用いてHI抗体価をWHO推奨法で測定した。

## 2.3 患者発生状況

教育委員会の協力を得て健康増進課で集計した幼稚園・小学校・中学校・高等学校でのインフルエンザ様疾患発生状況と、県内の32の定点医療機関（小児科定点およびインフルエンザ定点）からの報告をもとにした患者発生動向調査のデータを用いた。

\*1) 元福井県衛生環境研究センター

### 3. 結果および考察

#### 3. 1 集団発生事例および散发事例

##### 3. 1. 1 集団発生事例

各健康福祉センター管内で発生した集団発生事例 10 事例についてウイルス分離およびペア血清の抗体価を測定したところ、7 事例が A ソ連型、2 事例が A 香港型、1 事例が B 型によるものであった（業務報告 3.2.2(2)「インフルエンザ抗体等検査」参照）。全検体でのウイルス分離率は 50.0%であった。

##### 3. 1. 2 ウイルス分離状況

前述の集団発生事例を含む 165 検体のウイルス分離状況を図 1 に示す。インフルエンザウイルスが分離されたのは 127 検体であり、その内訳は A ソ連型が 51 検体(40.2%)、A 香港型が 28 検体(22.1%)、B 型が 48 検体(37.8%)であった。B 型はすべてビクトリア系であった。

インフルエンザウイルスがはじめて分離されたのは、嶺北地方で 2008 年第 48 週に採取された検体からで A 香港型であった。その後嶺北地方、嶺南地方ともに第 12 週あたりまで A ソ連型、A 香港型、B 型が混在して検出された。シーズン終盤の第 12 週以降は B 型が主流となった。

A ソ連型の株は CPE が現れるのが遅く、2 代目ではじめて検出される株もあった。

なお、県内のウイルス分離状況は福井県感染症情報ホームページ (<http://kansen.erc.pref.fukui.jp/>) に 2 週間ごとに掲載し、関係機関に還元した。

##### 3. 1. 3 分離ウイルスの抗原性状

各分離ウイルス（集団発生を含む）の抗原性状を表 1 に示した。

A ソ連型 51 株は、抗 A/Brisbane/59/2007(H1N1)に対してすべて 4~16 倍の変異株であった。

A 香港型 28 株は抗 A/Uruguay/716/2007(H3N2)に対して等価か 2 倍以内の株が 20 株、4 倍以上の株が 5 株であった。継代を重ねても HA 価が 8 以上にならず、HI 試験ができないので RT-PCR 法で同定した株が 3 株あった。

表 1 分離されたウイルスの抗原性状

AH1型				モルモット血球使用
HI価				分離数
A/Brisbane /59/2007 (H1N1)	A/Uruguay /716/2007 (H3N2)	B/Brisbane /3/2007	B/Malaysia /2506/2004	
80	<10	<10	<10	10
160	<10	<10	<10	27
320	<10	<10	<10	14
計				51

AH3型				分離数
HI価				
A/Brisbane /59/2007 (H1N1)	A/Uruguay /716/2007 (H3N2)	B/Brisbane /3/2007	B/Malaysia /2506/2004	
<10	320	<10	<10	1
<10	640	<10	<10	4
<10	1280	<10	<10	4
<10	2560	<10	<10	11
<10	5120	<10	<10	5
PCR法で同定				3
計				28

B型				分離数
HI価				
A/Brisbane /59/2007 (H1N1)	A/Uruguay /716/2007 (H3N2)	B/Brisbane /3/2007	B/Malaysia /2506/2004	
<10	<10	<10	80	5
<10	<10	<10	160	28
<10	<10	<10	320	12
<10	<10	<10	640	3
計				48

(ホモ価) 1280 2560 2560 5120

B 型はビクトリア系の抗 B/Malaysia /2506/2004 に対してすべて 8 倍以上の変異株であった。B 型は昨シーズンは山形系のみが検出された<sup>6)</sup>が、今シーズンはビクトリア系のみを検出であった。

A ソ連型およびビクトリア系の B 型について、標準株と大きく抗原性がずれている傾向は、東海北陸ブロックの各県の報告<sup>7)</sup>や、岡本らによる山形市、仙台市、福岡市の分離株の解析の報告<sup>8)</sup>と同様であった。

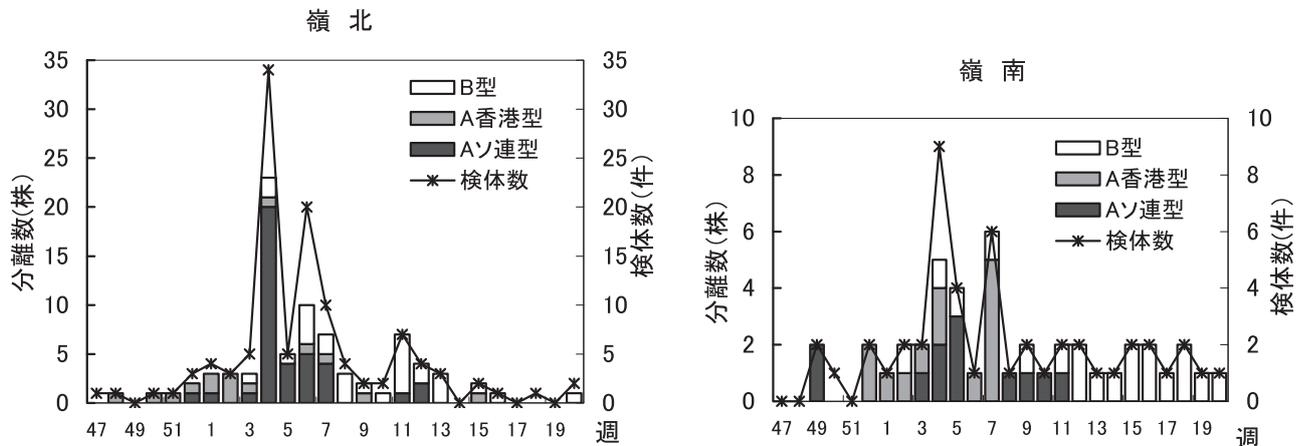


図 1 小児科定点等におけるウイルス分離状況

3. 1. 4 NAI 耐性株の試験

今シーズン分離された A/H1N1 ウイルスのうち 26 株につき試験を行った。その結果、275 番目のアミノ酸はすべて Tyrosine(Y)にアミノ酸置換を起こしており、NAI 耐性株であった。全国のデータ<sup>9)</sup>では、2009 年 4 月時点で全国の A/H1N1 分離株のほぼ 100%が NAI 耐性株であった。

3. 2 感染症流行予測調査

感染症流行予測調査によるシーズン前のインフルエンザ抗体保有状況を図 2 に示す。抗体保有率は HI 抗体価 1:40 以上と 1:80 以上を指標とした。

A ソ連型のワクチン株 (調査株) は昨シーズンの A/Solomon Islands/3/2006 から今シーズンは A/Brisbane/59/2007 に変更になった。

A ソ連型は県内では昨シーズンまで 4 年連続して流行しており、特に昨シーズンは流行の主流を占めたことから、抗体価は全体的に昨年のデータよりも高くなった。

A 香港型は近年流行株の変異が激しく、ワクチン株(調査株)も 2004/05 シーズンからほぼ毎年変更されており、今シーズンは昨シーズンの A/Hiroshima/52/2005 から A/Uruguay/716/2007 に変更になった。この株はこれまで

保有していた抗体との交差反応性が低いことや、昨シーズンは A 香港型は県内ではほとんど流行がなかったことから、抗体価は全体的に昨年のデータよりも低くなった。

B 型は、山形系とビクトリア系のうち近年はどちらかの株がワクチン株となっている。今シーズンは昨年分離された山形系の B/Florida/4/2006 がワクチン株 (調査株) となった。この株に対する抗体価は 10~19 歳などで昨年のデータ (昨年の調査株は B/Florida/7/2004) よりも高くなっている。

ビクトリア系の B 型の調査株である B/Malaysia/2506/2004 は、昨シーズンまでは 2 シーズン続けてワクチン株であった。ビクトリア系の B 型の株に対する抗体保有率はこれまで非常に低かったが、今回の調査では昨シーズンに流行がなかったにもかかわらず、20~29 歳から 50~49 歳の年齢群で抗体価が上昇していた。これは、昨シーズンまでのワクチン接種の効果が考えられる。

3. 3 患者発生状況

3. 3. 1 インフルエンザ様疾患集団発生報告

インフルエンザ様疾患集団発生の週別発生状況を図 3 に、経年変化を図 4 に示す。

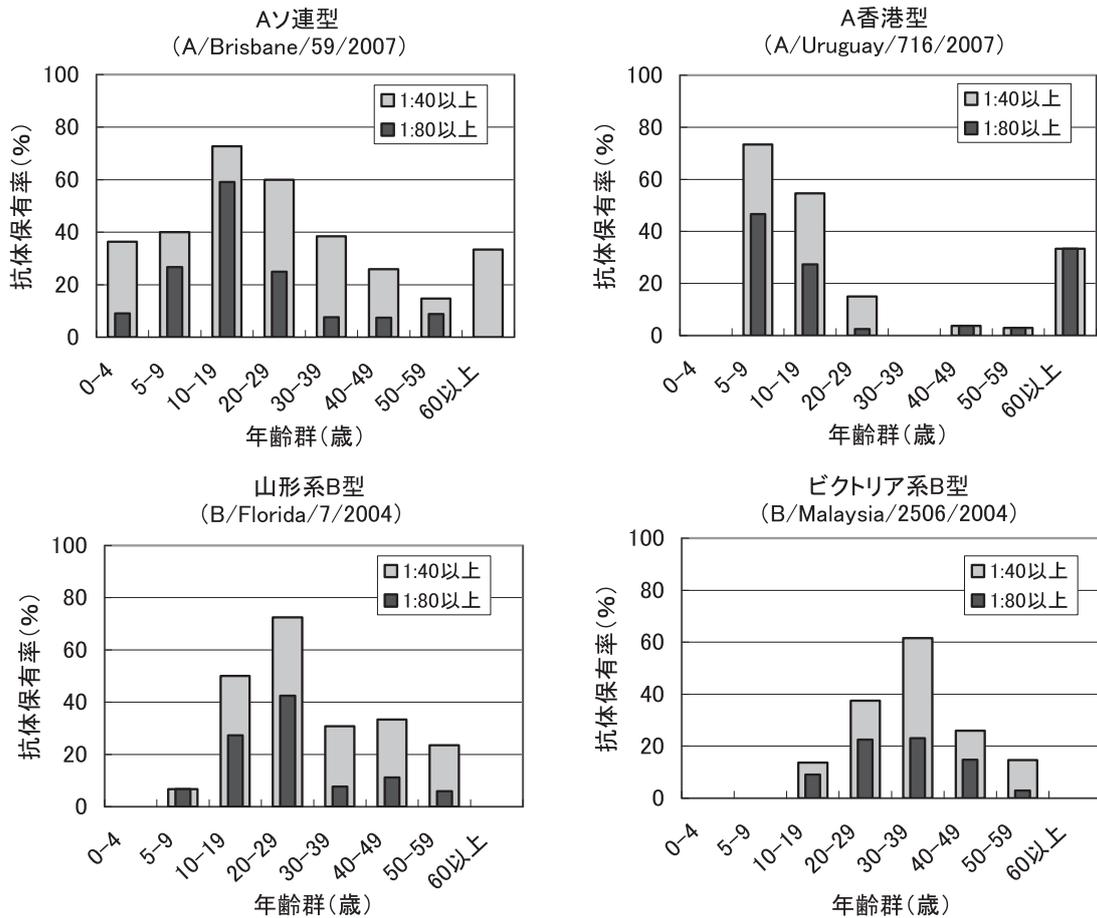


図2 インフルエンザ抗体保有状況

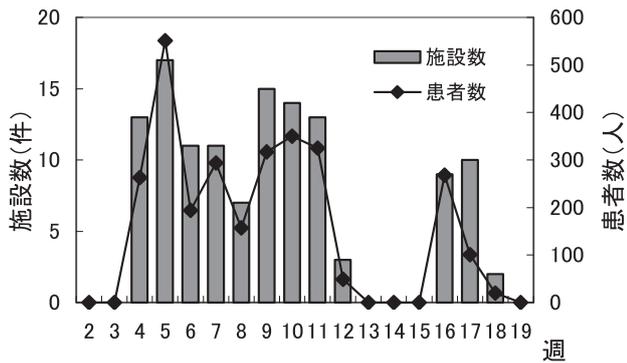


図3 インフルエンザ様疾患集団発生状況

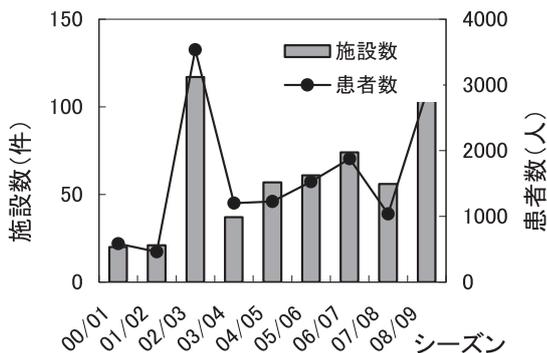


図4 集団発生経年変化

初発は第4週であり、第5週にピークを迎えたところまでは例年並みの推移であった。しかし、その後減少することなく、第4週から第11週まで継続してほぼ10件以上の発生があった。第13週にいったん終息したが、第16週にふたたび発生がみられ、第17週に第2のピークとなった。終息は例年よりもかなり遅い第19週であった。

シーズン全体では施設数は125施設、総患者数2,889人、総欠席者数1,928名となり、流行規模は施設数は昨年の約2倍、患者数と欠席者数は昨年の約3倍であった。

### 3. 3. 2 感染症発生動向調査（患者報告）

患者発生動向調査における定点あたりのインフルエンザ様疾患の患者数を図5（全県）および図6（嶺北・嶺南別）に示す。

患者報告はほぼ平年並みの2008年10月下旬の第44週からみられ、12月初旬の第48週にはじめて定点あたり1人以上になり増加し始めた。冬休みでいったん増加がにぶったが年明けからまた増加し、第2週に定点あたり10人以上となった。ピークは昨年と同じ1月下旬の第5週であり、ピーク時の患者数は39.78人/定点であった。その後減少したが、第11週から再び増加し、第12週には第2のピーク（23.22人/定点）があった。その後も減少は鈍く、第22週でようやく1.0人/定点以下となった。患者発生数が1位を占めた週は1月中旬の第3週から第8週までと、3月中旬の第12週と第13週であった。累積患者数は11,157

人となり、昨シーズンの5,966人に対し約2倍の大きな流行となった。

ウイルス分離状況からみて、これらの患者は前半はAソ連型、A香港型、B型の混合であり、後半はB型によるものと推察される。このように3つの型が流行するシーズンは流行が大規模になる傾向にある。

嶺北と嶺南とを別々にみると、嶺北地方では12月に明確な増加があった。第1のピークは時期、患者数ともに、嶺北・嶺南で同様であったが、第2のピークは嶺北地方の

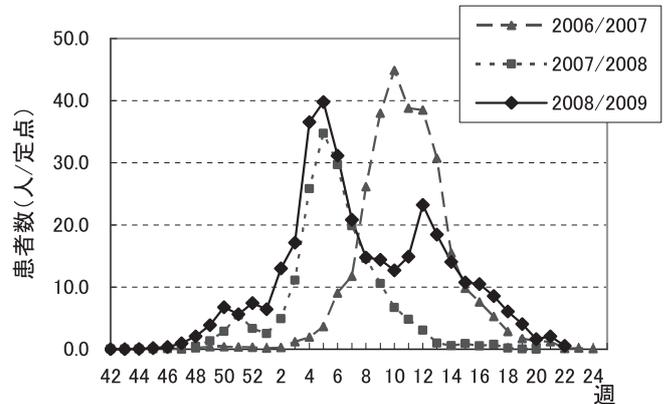


図5 発生動向調査におけるインフルエンザ様疾患患者数

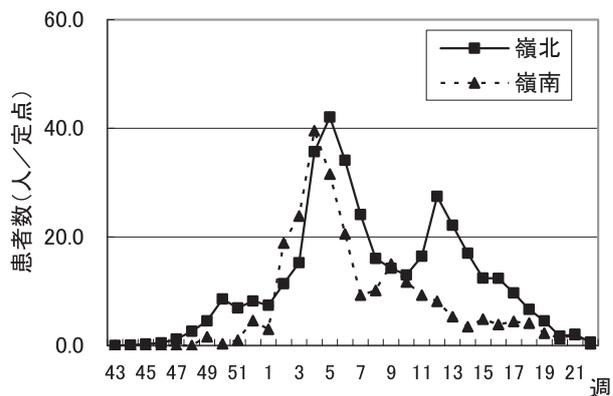


図6 定点あたり患者数(地域別)

方が約1ヶ月遅く、より大きなものとなっていた。

患者数を、その年齢および受診した週に区分して集計したものが図7である。累積患者数は5~9才が最も多く、ついで0~4才、10~19才であった。

第5週の第1のピークは各年代とも同時期に現れたが、第12週の第2のピークは5~9才と10~19才で顕著であり、20才以上の年代ではみられなかった。これまでもB型の流行時には小児の患者が増える傾向にあり、この時期もそれを反映していたと考えられる。

## 4. まとめ

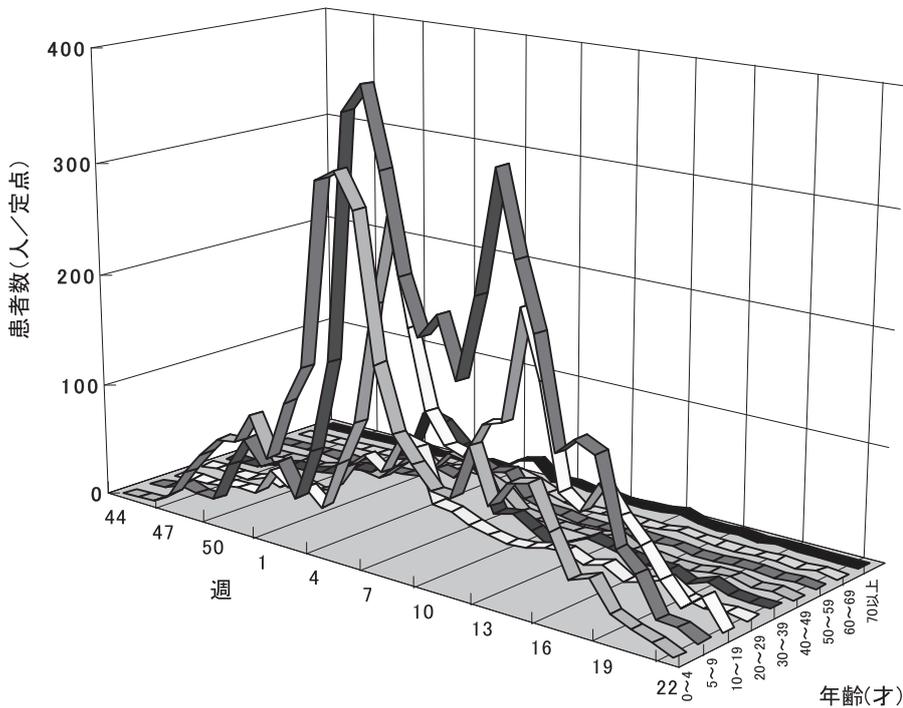


図7 年齢階層別受診患者数

2008/09 シーズンの福井県のインフルエンザは、集団発生の施設数等や散発例も含めた累積患者数において、昨年よりかなり大規模なものとなった。患者発生は立ち上がりは例年並みであったが、ピークは2回存在し、流行が長引いて終息は過去10年でもっとも遅くなった。

嶺北地方、嶺南地方ともにシーズン当初からAソ連型、A香港型およびB型が分離され、後半はB型が主流となった。B型はすべてビクトリア系で、山形系は検出されなかった。

分離されたAソ連型の株は、ワクチン株であるA/Brisbane/59/2007(H1N1)と比較して4~16倍の抗原変異株であった。B型の株も標準株であるB/Malaysia/2506/2004に対して大きな抗原変異を起こしていた。

### 謝 辞

検体採取にご協力いただきました各健康福祉センターおよび医療機関の方々に深謝いたします。

### 参考文献

1) 菅谷憲夫：インフルエンザウイルス感染症，臨床とウイルス，34，396-402(2006)

2) 岡部信彦：インフルエンザの発生动向（サーベイランス），感染症学雑誌，80，59-63(2006)

3) [http://www.who.int/csr/disease/influenza/h1n1\\_table/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/influenza/h1n1_table/en/index.html)（各国の耐性株出現頻度速報）

4) 中村雅子他：2005/2006 シーズンの福井県のインフルエンザ，福井県衛生環境研究センター年報，4，91-97(2006)

5) 地方衛生研究所全国協議会および国立感染症研究所：病原体検出マニュアル，インフルエンザ(2003)

6) 中村雅子他：2007/2008 シーズンの福井県のインフルエンザ，福井県衛生環境研究センター年報，6，92-96(2008)

7) 平成20年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部微生物部会抄録集(2009)

8) 岡本道子他：2008/09 シーズンに仙台市・山形市・福岡市の医療機関で採取された検体から分離されたインフルエンザウイルスの抗原性について（第2報），病原微生物検出情報，30，106-107(2009)

9) 国立感染症研究所ウイルス第3部第1室：2008/09 インフルエンザシーズンにおけるインフルエンザ(A/H1N1)オセルタミビル耐性株(H275Y)の国内発生状況（第2報），病原微生物検出情報，30，101-106(2009)

# 海岸漂着ポリタンク内容液の性状分析

田中宏和

Properties Analysis of Content liquid in Coast washing Resin Container

Hirokazu TANAKA

## 1. はじめに

近年、外国からの漂着ごみが問題となっており、日本海沿岸では2000年頃から冬期を中心に、大量の廃ポリタンクが漂着している<sup>1)</sup>。2008年においても1月から3月にかけて国内で40,000個以上、福井県内だけでも2,000個以上が確認された。これらの一部はふたが閉まった状態で、液体内容物が残存していたが、ほとんどのポリタンクには内容物に関する表記はなく、また表記があるものでも内容物とは必ずしも一致しなかった。さらに県外では、劇物の濃塩酸が確認された事例があった。

市町は沿岸部を巡回し、漂着ポリタンクの収集を行い、内容物を含む漂着ポリタンクの処理・処分については、色や臭い、試験紙等での簡易pH試験により内容物を推定して対応した。そのような中、内容物の推定が困難とされたポリタンク2個が当センターに搬入されたので性状分析を実施した。

## 2. 方法

### 2. 1 検体搬入時の初期情報

ポリタンク搬入時に得られた初期情報を表1に、写真を図1、図2に示す。

図1のポリタンク内容物(検体①)は白濁しており、簡易pH試験で強アルカリ性を示し、ポリタンク内はわず

表1 廃ポリタンクの初期情報

	検体①	検体②
検体回収日	2008年2月15日	2008年2月19日
タンク色	青色	灰色
タンク容量	約30L	約20L
タンク表示	なし	「ACETIC ACID GLACIAL」 「酢酸」に似た文字 「大阪」
タンク内臭気	微芳香臭	微油臭
内容物液量	約10L	約8L
内容物概観	白濁	淡黄色透明
簡易pH試験	pH11以上	中性

ずかな芳香臭があった。

図2のポリタンク内容物(検体②)はポリタンクの側面に英語で氷酢酸を意味する「ACETIC ACID GLACIAL」という表記と、漢字の「酢酸」に似た表記があった。しかし、内容物に酢酸臭は感じられず、かすかな油臭を呈し、簡易pH試験では中性であった。

### 2. 2 分析項目の検討と方法

初期情報として、検体①が強アルカリ性を示すこと以外に毒性、爆発性、引火性の有無など、危険性に関する



図1 ポリタンク(検体①)



図2 ポリタンク(検体②)

情報は全く無かった。さらに分析機器の故障の原因となる物質を含んでいる可能性もあった。

そのため、分析は環境基準項目から始めることとしたが、高価な機器を用いない簡単な手分析項目から段階的に進め、得られた情報を分析者全員が共有しながら、慎重に行った。また、分析方法を工夫したり、項目の追加・削除を行うなど、臨機応変に対応した。

例えば、検体①は、原液ではpHと酸消費量の分析が不可能であったため、それぞれ純水で1000倍、100倍に希釈したものを分析した。電気伝導率についても原液では測定範囲を超過したが、高い電気伝導率を示すという情報のみで十分であり、数値データの必要性は低いと判断し、希釈測定は行わなかった。

また、当該試料は強アルカリ性溶液であるため、これを酸性にした場合に有毒ガスが発生する危険性を想定し、予め遊離シアンや残留塩素が検出されないことを確認した。その後、液性を酸性にするために必要な硝酸量を事前に予備試験で求めてから、重金属分析のための酸分解処理を実施した。

さらに、海水の混入が予想されたため、ほう素と主なイオン類を分析項目に追加した。イオン類分析は懸濁物を含む原液と、孔径0.45μmのメンブレンフィルター過により懸濁物を除去した検体について実施した。

検体②については、かすかな油臭が感じられたものの淡黄色透明の液体であったことから、当初は水溶液であると安易に考えていた。しかし、分解操作で酸を添加した際に層分離が確認されたことから非水溶性液体であることが判明し、イオン分析や揮発性有機化合物等の分析を急遽中止し、代わりに燃焼試験を行った。

なお、両検体とも、ホールピペットと精密天秤を用いて、簡易的な密度測定を行った。この方法で得られる密度の精度は、比重瓶などを用いた正式な手法に比べて低い、高価な器具を汚染、破損する心配がなく、内容物を推定するには有効な情報であった。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 検体①の性状分析と内容物の推定

検体①の分析結果を表2に示す。ほう素を除き、健康項目は検出されなかった。

それ以外の項目について、pH、酸消費量、各種イオン濃度を用いてイオンバランスを計算したところ、ほぼバランスがとれていたことから、分析したイオン項目に高濃度イオンの抜け落ちは無いと判断した。その上で、ナトリウム濃度が突出して高いことから、内容物は水酸化ナトリウム溶液である可能性が高いと考えた。

水酸化ナトリウム溶液であると仮定した場合、ナトリウム濃度から計算した溶液濃度は約7.3%となるが、概

表2 検体①の分析結果

単位:mg/l(pH、電気伝導率、酸消費量を除く)

検体①	
pH	1000倍希釈溶液で 11.0
カドミウム	<0.01
遊離シアン	<0.1
鉛	<0.01
砒素	<0.01
ジクロロメタン	<0.005
四塩化炭素	<0.002
1,2-ジクロロエタン	<0.004
1,1-ジクロロエチレン	<0.005
1,2-ジクロロエチレン	<0.005
1,1,1-トリクロロエタン	<0.005
1,1,2-トリクロロエタン	<0.005
トリクロロエチレン	<0.005
テトラクロロエチレン	<0.005
1,3-ジクロロプロペン	<0.002
ベンゼン	<0.005
セレン	<0.01
ふっ素	<0.5
ほう素	0.70
フェノール	<0.05
銅	<0.1
鉄	<0.2
マンガン	<0.1
亜鉛	<0.1
クロム	<0.02
ニッケル	<0.01
スズ	<0.01
電気伝導率(mS/m)	測定不能
遊離残留塩素	<0.01
ナトリウム	42,000 (42,000)
カリウム	18 (13)
マグネシウム	3.3(0.0)
カルシウム	4.5 (0.5)
バリウム	<0.1 (<0.1)
アンチモン	<0.01
アンモニア性窒素	<0.5
塩化物イオン	(310)
硫酸イオン	(180)
臭素イオン	(<0.1)
酸消費量(pH4.8)(mmol/l)	100倍希釈溶液で 20.5

※括弧内は0.45μmメンブレンフィルターでろ過処理し、濁質除去して検査した値

算密度(1.08g/cm<sup>3</sup>)から計算した溶液濃度も約 7.2%となり、ほぼ同値を示した。以上のことから検体①の主成分は水酸化ナトリウム溶液であると推定した。

また、ほう素や塩化物イオン、硫酸イオンが検出されたが、海水中含有量と測定値の割合が各項目で一致しなかったことから、海水混入の有無は評価できなかった。

さらにマグネシウムとカルシウムの濃度が、原液よりも懸濁物を除去した検液の方が低いことから、懸濁物は海水由来のマグネシウムとカルシウムの水酸化物であると想定し、メンブレンフィルターに捕集された懸濁物について、蛍光X線による定量分析を行った。その結果、カルシウムが重量比の 84%で検出され、原液中濃度は 3.9mgCa/l と算出された。一方、マグネシウムは検出されず、表 2 の結果と矛盾したが、その理由は分からなかった。

以上の結果から、懸濁物質は主にカルシウム化合物であることが判明したが、海水に多く含まれるマグネシウムが検出されなかったことから、海水由来であるかは判明しなかった。

ポリタンク内に感じられた芳香臭については、内容物自体からは芳香臭は感じられなかったことと、GC-MS 分析でも特異的なピークはみられなかったことから、水酸化ナトリウム溶液を入れる前にポリタンクに入っていた薬品の臭いがタンクに付着残存していたものと推察した。

### 3. 2 検体②の性状分析と内容物の推定

非水溶性液体が可燃性かどうか判断するため、ポリタンク内容物を白磁皿に少量分取し、ライターの火を近づけて引火燃焼するかどうか燃焼試験を行った。その結果、室温では引火しなかったが、加熱すると容易に引火燃焼した(図3)。このことから、内容物は引火点が室温より高い油類であると考えられた。また、密度は 0.79 g/cm<sup>3</sup>であり、この密度に相当する石油系油類には灯油が該当した。



図3 検体②が燃焼する様子

そこで、検体②と灯油、軽油、A重油について、10倍量の水を加え、ヘッドスペース法を用いてGC-MS分析を行い、クロマトグラムを比較した。その結果、図4に

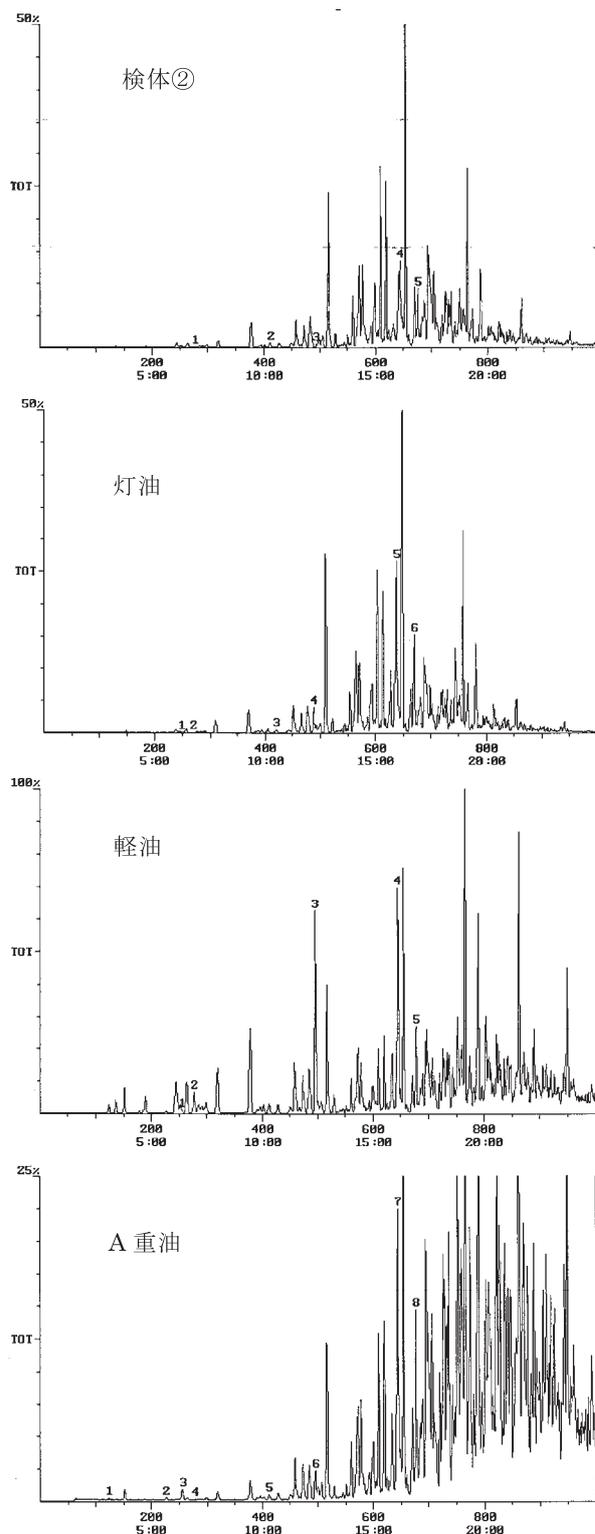


図4 GC-MS クロマトグラム

示すとおり、検体②のピークパターンは灯油と非常に類似していることが確認された。

以上の分析から検体②は灯油であり、長期間の漂流中に淡黄色に劣化変色したものと推定した。ただし、国内で一般的に流通している灯油は識別剤としてクマリンが添加されるため強い臭気を放つが、検体②ではかすかな油臭しか感じられなかったことから、国外で流通している灯油である可能性が高いと考えられた。

#### 4. まとめ

漂着したポリタンク内容物の性状分析は分析者の安全確保と分析機器汚染予防の観点から、慎重かつ段階的に行い、分析方法を工夫したり、項目を追加・削除したりするなどの対応が必要であった。

今回搬入された2個の廃ポリタンクの内容物は、カル

シウム化合物主体の懸濁物を含む7~8%の水酸化ナトリウム溶液と、国外で流通している灯油であると推定された。これらの物質はそれぞれ劇物と危険物に該当し、取り扱いを誤ると重大な健康被害や環境汚染を引き起こすおそれがあることから、漂着ポリタンクに安易に触れないよう注意喚起することは重要であり、収集・運搬、処理・処分を行う自治体関係者においても取り扱いには十分な注意が必要である。

#### 参考文献

- 1) 環境省：日本海沿岸地域への廃ポリタンクの大量漂着について、報道発表資料（平成20年2月19日）、(2008)

# 不法埋立廃棄物の性状分析事例

森陰早也香・田中宏和・長谷川耕治・吉田耕一郎・坊栄二

Property Analysis of Illegal Landfill Waste

Sayaka MORIKAGE, Hirokazu TANAKA, Koji HASEGAWA, Koichiro YOSHIDA, Eiji BOH

## 1. はじめに

近年、産業廃棄物の組織的、計画的な不法投棄が多発している。これらの不法投棄は、排出事業者自らによるもののほか、排出事業者から委託された収集運搬・中間処理業者によって不法投棄されるものや、中間処理業者から無許可業者に渡り不法投棄されるものなど様々なケースが存在する<sup>1)</sup>。

福井県においても平成20年5月に焼却施設を有する中間処理業者の敷地内にプラスチック廃材や燃え殻等が違法に埋められる事件が発生し、掘削調査で黒色の粘土状物質（以下、「埋立物」という。）が確認された。この物質について違反業者は「排ガス処理用の未使用活性炭」であると主張したが、目視では活性炭であるか否かの判断や、その使用歴は確認できなかった。さらに、業者は同様に「排ガス処理用の未使用活性炭」と主張する粘土状物質（以下、「建屋内保管物」という。）を建屋内にも保管していた。

これらの物質について、県の行政部局より当センターに分析依頼があったため、性状分析を行った。

## 2. 方法

### 2. 1 性状分析

性状分析は①固型分重量比および強熱減量試験、②金属類溶出試験、③電子顕微鏡による表面観察と元素分析の3種類の方法によりを行った。

なお、比較対照用の活性炭として、①と②については和光純薬製の試験用粉末活性炭ダルコ G-60（以下、「粉末活性炭」という。）、③ではフタムラ化学製の粒状活性炭 GL830A（以下、「粒状活性炭」という。）を用いた。

### 2. 2 分析方法

#### 2. 2. 1 固型分重量比および強熱減量

固型分重量比は「産業廃棄物に含まれる金属等の検定方法 環告第13号」に準拠して測定し、重量%で表した。さらに、固型分重量比を測定後の乾燥試料を電気マッフル炉により600℃で加熱灰化し、乾燥重量に対する減重量比を強熱減量として求めた。

#### 2. 2. 2 金属類溶出試験

金属類溶出試験は「産業廃棄物に含まれる金属等の検定方法」には準拠せず、以下の方法で行った。

試料約1gに2%の硝酸水溶液50mlを加えて混合攪拌し、時計皿でおおい95℃で約3時間過熱溶出した。放冷後、孔径1μmのガラス繊維ろ紙を用いてろ過し、水50mlにメスアップして検液とした。これをICP発光分析装置

（パーキンエルマー製 OPTIMA 3000 XL）を用いて検液中のアルミニウム、鉄、マンガン、鉛、亜鉛、銅、カドミウム、クロム、ニッケルおよびほう素を測定した。なおこの方法により得られる分析値は試料物質中の全含有量ではないが、活性炭の使用歴を推察することが可能と考えを行った。

### 2. 2. 3 電子顕微鏡による表面観察および元素分析

EDX付電界放射走査型電子顕微鏡（日立ハイテックロジーズ製 SEMEDXIII TypeN/H）を用いて、105℃で乾燥させた試料について、表面の微細構造の観察と組成元素分析を行った。

## 3. 分析結果

### 3. 1 固型分重量比および強熱減量

固型分重量比と強熱減量の結果を表1に示した。

強熱減量は空気中でガスとして揮散する物質質量を示しており、通常、活性炭の主成分である炭素分は燃焼して二酸化炭素となり減量する。従って、埋立物と建屋内保管物が活性炭であれば、粉末活性炭と同様な強熱減量を示すはずである。しかしながら、粉末活性炭の強熱減量が95%以上であったのに対し、埋立物と建屋内保管物ともに10%以下であった。このことから、両者とも主成分は炭素ではなく、無機物主体の物質と考えられ純粋な活性炭とは程遠いものであると推察された。

表1 固型分重量比と強熱減量

	埋立物	建屋内保管物	粉末活性炭
形状	粘土状	粘土状	微粉末
色	黒色	茶黒色	黒色
固型分重量比(%)	80.9	77.4	89.3
強熱減量(%)	7.0	4.7	95.8

### 3. 2 金属類溶出試験結果

金属類溶出試験結果を表2に示した。

粉末活性炭の溶出液中の金属類の濃度は低く、ほとんど含まれていなかったのに対して、埋立物と建屋内保管物からはクロムとニッケルを除く金属類について、粉末活性炭の10倍以上の濃度で検出された。特に両者ともアルミニウムと鉄が多く、このことから両物質は純粋な未使用活性炭とは考えにくいと判断された。

ただし、埋立物と建屋内保管物に多く含まれる金属類がアルミニウム、鉄、マンガンと同じ順であり、業者が同じ活性炭であると主張していることから、両者は同様な経歴を有する廃棄物である可能性が高いと考えられた。

表2 金属溶出試験結果(単位:mg/l)

	埋立物	建屋内保管物	粉末活性炭
アルミニウム	200	190	2.2
鉄	170	120	0.20
マンガン	9.5	8.7	<0.05
亜鉛	7.9	1.9	0.20
鉛	7.6	1.2	0.005
銅	0.95	0.80	0.05
カドミウム	0.035	0.014	<0.001
クロム	0.03	0.04	0.02
ニッケル	0.030	0.033	0.016
ほう素	1.0	0.80	0.08

3. 3 電子顕微鏡による表面観察および元素分析結果

図1~図3にそれぞれ、粒状活性炭、埋立物、建屋内保管物の電子顕微鏡写真を示した。粒状活性炭では凹凸が激しい活性炭特有の表面構造が観察されたが、埋立物および建屋内保管物では、活性炭に比べて凹凸は少なく、さらに建屋内保管物では、不純物と思われる細長い柱状物質の付着が確認された。

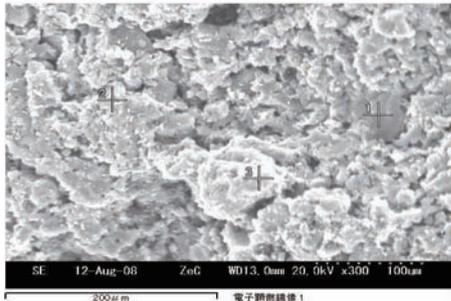


図1 粒状活性炭

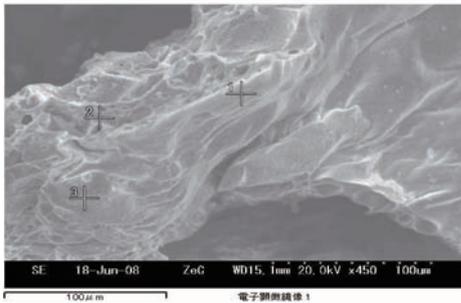


図2 埋立物

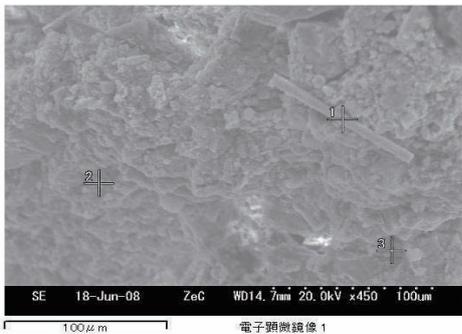


図3 建屋内保管物

次に、元素分析により、検出された元素について、重量比として算出した結果を表3に示した。

粒状活性炭は炭素が90%、酸素が約9%であったのに対し、埋立物では炭素が約26%、酸素が約41%、建屋内保管物では炭素は検出されず、酸素が55%であった。粒状活性炭の炭素と酸素の合計は、粉末活性炭の強熱減量95.8%に近く、矛盾しなかった。

一方、埋立物の炭素割合が強熱減量7%に比べて高値を示した理由としては、電子顕微鏡による元素分析では、試料に電子線を照射して、発生する特定X線から元素分析を行うため、電子線が届く表層部分の組成を主に示している。このことから、物質粒子の表層に炭素が集中して存在している可能性が推察された。

また、酸素については埋立物、建屋内保管物ともに高い割合で存在したが、これに関しても強熱減量が低いことと、粒状活性炭からは検出されなかった鉄、ケイ素、アルミニウム、カルシウムなどが多く検出されていることから、主にこれら元素の酸化物中の酸素を反映しているものと考えられた。

表3 検出元素の重量比(%)

元素	埋立物	建屋内保管物	粒状活性炭
炭素	26.3	-	90.0
酸素	40.9	55.0	8.9
鉄	11.4	0.8	-
ケイ素	9.7	19.1	-
アルミニウム	5.4	5.8	-
カルシウム	1.3	12.6	-
マグネシウム	1.4	4.0	-
カリウム	1.4	0.9	-
ナトリウム	0.9	0.6	-
その他	1.2	1.0	1.1

4. まとめ

強熱減量、硝酸水溶液による金属類溶出試験および電子顕微鏡による観察と元素分析の結果から、埋立物および建屋内保管物は業者が主張する未使用の活性炭ではなく、多くの金属酸化物を含む無機物主体の物質であることが判明した。

参考文献

- 1) 環境省: 循環型社会白書, 平成16年版, 循環型社会構築の障害とその克服に向けて  
<http://www.env.go.jp/policy/hakusyo/hakusyo.php3?kid=220>

# 活性炭吸着-GC/MS-による環境水や洗剤中の 1, 4-ジオキサン分析の検討

小川 綾子・松井 利夫

Analysis of 1,4-dioxane in Environmental Water and Detergents  
Ayako OGAWA, Toshio MATSUI

## 1. はじめに

1,4-ジオキサン(CAS: 123-91-1)は工業溶剤として広く用いられている合成有機化合物であり、国内では約85%が抽出・反応用として使用され、国内の生産量は5,000トン前後で推移している<sup>1)</sup>。同物質は、水に対して任意に溶解し、*n*-オクタノール/水分配係数(Pow)は $\log \text{Pow} = -0.27$ (または $-0.49$ )、蒸気圧3.9kPa(20°C)であることから、底質での検出割合は低く、水環境<sup>2)~3)</sup>や大気中<sup>4)</sup>に存在するといわれている<sup>1)5)</sup>。

国際がん研究機関(JARC)は、同物質を「ヒトに対する発ガン性の可能性あり」のグループ2Bに分類しており、有害性が懸念されている<sup>6)7)</sup>。そのため、わが国の水道水質基準や公共用水域の要監視項目指針値として $50 \mu\text{g/l}$ が設定されており、同物質の分析方法として、LC/MS<sup>8)</sup>の他、パージ&トラップ-GC/MSや固相抽出-GC/MSがある。

著者らは、活性炭による固相抽出-GC/MSについて絶対検量線による方法で追認試験を行ったので報告する。

## 2. 方法

### 2. 1 試薬と固相剤

1,4-ジオキサンの標準物質は関東化学製(1mg/mlメタノール溶液)を使用した。この原液1mlをアセトンで適宜希釈して標準液系列を作成した。固相剤は、GLサイエンス製の活性炭Jr(400mg)を用いた。

### 2. 2 測定条件

GCとMSの条件は以下のとおりである。

表1 機器分析条件

GC条件	
装置	Agilent製 6890GC
カラム	Agilent製 DB-WAX
カラム温度	40°C(1min)→150°C(0min)
キャリアーガス	ヘリウム(G1)
注入方式	スプリットレス
注入量	1 $\mu\text{l}$
注入口温度	200°C

### MS条件

装置	Agilent製 5973MSD
イオン源温度	230°C
インターフェース温度	250°C
測定モード	SIM
モニターイオン質量数	m/z (88)

### 2. 3 試料の前処理

固相剤をアセトン5ml及び精製水5mlでコンディショニングした後、河川水200ml(濃度が高い場合:50ml)を約10ml/minで通水した。その後、固相剤を乾燥するため、空気を約10分間吸引し、さらに遠心分離機(3000rpm, 10min)で水分を除去し、アセトン5mlで溶出後、GC/MSで測定した。

## 3. 結果と考察

### 3. 1 試料中有機溶媒量と吸着割合との関係

精製水に標準液を添加し、さらに有機溶剤(メタノール、アセトン、アセトニトリル)を0~4mlずつ加え、全量を50mlとした液を通水した。次にアセトン5mlで溶出し、固相剤への吸着作用を調べた結果、通水液中にアセトンまたはアセトニトリル等の有機溶剤が若干含まれると固相剤への吸着作用が急激に弱まることが観察された(図1)。

さらに、GC/MS測定において、注入液中にメタノールが存在するとリーディングを起こし、かつ保持時間にずれが生じたことから、固相剤の溶出はメタノールではなく、アセトンを用いる必要がある。

アセトンによる固相剤の溶出条件を調べたところ、2ml以上でほぼ完全に溶出できたが、十分な回収を見込んで溶出液量を5mlとした。Isaacsonら<sup>9)</sup>は、ジクロロメタンでの溶出例も報告したが、著者らは健康への影響を考慮し、検討しなかった。

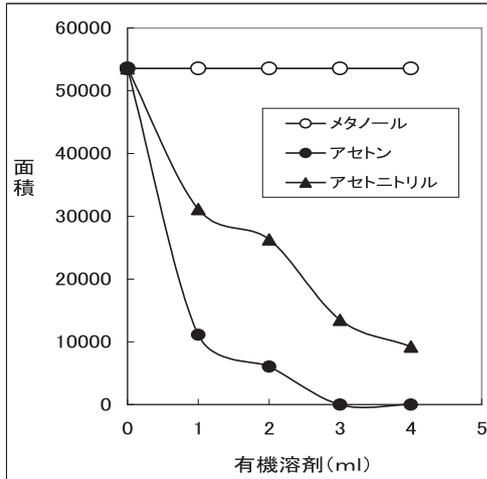


図1 試料中有機溶媒量と吸着割合との関係

### 3. 2 検量線と添加回収試験

標準液系列を用いて検量線を作成したところ、0~1mg/l で相関係数(R<sup>2</sup>)が 0.99 の良好な直線関係が得られた(図2)。装置検出限界(IDL)を求めるため、0.1mg/l の標準溶液で 7 回測定し、標準偏差を算出し、これに危険率 5%となる t-分布(片側検定)の t 値(1.94)を乗じ、さらに 2 倍した結果、IDLは 53 μg/l となった。試料を 40 倍(200ml → 5ml)濃縮した時の測定方法検出限界(MDL)は 1.0 μg/l であった。

環境水への添加回収試験として、河川水 200ml に 1,4-ジオキサンを 2 μg 添加し、5 回測定したところ、回収率は 88.6%、相対標準偏差(RSD)は 3.41%であった。

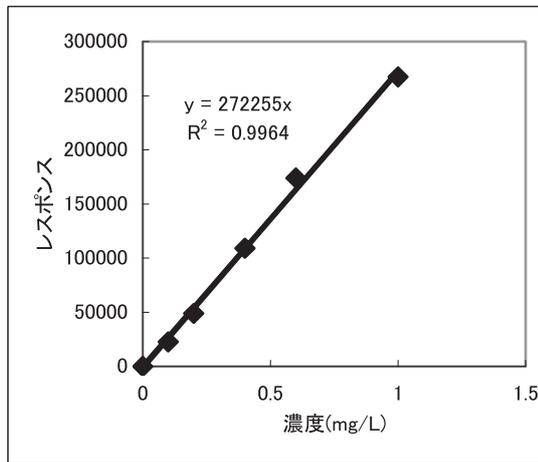


図2 1,4-ジオキサンの検量線

### 3. 3 固相剤の破過

固相剤(活性炭)を 3 段直列接続して、破過を観察したところ、1 段目、2 段目からは 1,4-ジオキサンが検出されたが、3 段目からは不検出であった。2 回試行した時の平均吸着率は 1 段目 89.6%、2 段目 10.4%であった。

次に固相剤の通水方法を吸引流入と加圧方式で比較したが、大きな差異は認められなかった。

### 3. 4 加熱濃縮による揮散損失

有機溶剤を窒素気流下で加温濃縮する方法<sup>10)~12)</sup>が見られるが、加温による揮散損失が懸念される。そこで、ドライサーモバス(40℃)で、アセトン 3ml に 1,4-ジオキサンを添加した溶液に窒素を吹きつけながら 2~0ml まで濃縮乾固し、1,4-ジオキサンの残存率を求めたところ、2ml では 90%、1ml では 36%、乾固では 9%であった。

### 3. 5 洗剤中の含有量調査

これまでの研究事例<sup>13)14)</sup>では、洗剤中に 1,4-ジオキサンがかなり含まれていることが報告されている。そこで、K 社洗剤、F 社洗剤、J 社洗剤、H 社ハンドソープの 4 種の洗剤 1ml を 500ml 精製水に添加混合し、1,4-ジオキサンの測定を行なった。その結果、K 社洗剤 0.17mg/l、F 社洗剤 0.6mg/l、J 社洗剤 0.6mg/l、H 社ハンドソープは ND(3 μg/l 未満)となり、洗剤に 1,4-ジオキサンが含まれていることが確認でき、家庭からの排出もあると推察される。

## 4. まとめ

1,4-ジオキサンを活性炭による固相剤で精製濃縮し、GC/MS で分析できることを追認した。GC/MS でのリーディングを避けるため、固相剤の溶出にはアセトンを用い、破過試験から、固相剤(400mg)は 2 段直列接続する事が必須であった。また、溶出液を加温もしくは濃縮することで揮散することを確認した。活性炭に通水する場合、試料液にアセトンやアセトニトリル等の有機溶媒が含まれていると回収率が著しく低下することも分かった。

このように、1,4-ジオキサンの分析では、回収率低下の要因があり、絶対検量線法による分析では注意する必要がある。

## 参考文献

- 1) 中西準子他：初期リスク評価書シリーズ 57 1,4-ジオキサン, 丸善, 東京(2005)
- 2) 西野貴裕他：多摩川水系における 1,4-ジオキサンの動態調査, 東京都環境科学研究書年報, p69-76(2007)
- 3) 西野貴裕他：都内河川における 1,4-ジオキサンの環境動態, 環境化学, Vol118, No. 12, p333-340 (2008)
- 4) 濱田ゆかり他：ケミカルトラップを備えた HS による 1,4-ジオキサン・VOCs の高感度同時分析, 環境化学討論会, p617(2005)
- 5) 安部明美: 1,4-ジオキサンによる水環境汚染の実態と施策, 神奈川県環境科学センター研究報告, p53-63(2006)
- 6) 1,4-ジオキサンによる健康障害を防止するための指針について 基発第 658 号 平成 4 年 12 月 21 日
- 7) 国際化学物質安全性カード(ICSC) - 日本語版 ICSC 番号: 0041
- 8) Nakamiya K., et al : Degradation of 1,4-dioxane and cyclic ethers by an isolated Fugus, Applied and Environmental Microbiology 71(3), p1254-1258 (2005)
- 9) Isaacson C., et al : Quantitative determination of 1,4-dioxane and tetrahydrofuran in ground water by solid phase extraction GC/MS/MS, Environ Sci., Technol. 40, p7305-7311(2006)
- 10) 厚生労働省告示第 261 号 別表第 16 号に定める方法
- 11) 新水道法に基づく 1,4-ジオキサンの測定-固相抽出・誘導体化・GC/MS 法, JEOL 技術情報, No. 015

- 12) 岡本仁志他：固相抽出-GC/MS 法における 1,4-ジオキサン及びエピクロロヒドリン一斉分析法の検討, 第 12 回日環協”環境セミナー” 発表要旨集
- 13) 安部明美：1,4-ジオキサンの水系汚染における負荷要

- 因と特性, 第 31 回水環境学会要旨, p80 (1997)
- 14) 田辺顕子：家庭用洗剤中の 1,4-ジオキサン濃度, 第 15 回環境化学討論会要旨, p728-729 (2006)