

# 熊本県 保健環境科学研究所報

平成29年度

Annual Report  
of  
Kumamoto Prefectural Institute  
of Public-Health and Environmental Science

No. 47      2017

熊本県保健環境科学研究所

## はじめに

熊本県保健環境科学研究所は、熊本県における保健環境行政の科学的・技術的中核機関として、地域における保健衛生、水質・大気での環境リスクを評価するため、病原体の分離・解析や、食品及び環境中における農薬等の化学物質の実態調査、PM2.5 や光化学オキシダントなど広域的な調査を実施し、行政機関への報告、学会等での発表、県民への情報提供に努めているところです。

現在、自然毒や化学物質の検査手法の開発や、新たなウイルスの遺伝子解析などの高度な検査、その他国の研究機関や大学、全国の自治体の研究機関と連携し、幅広い分野での共同研究を展開しています。

平成 31 年には、本県において「2019 女子ハンドボール世界選手権大会」、「ラグビーワールドカップ 2019」と大規模な国際スポーツ大会を控えており、さらには 2020 年東京オリンピックの開催など、様々な国からの訪日観光客の増加による感染症発生リスクが高くなることや県域を越えた健康危機事案の発生が懸念されます。このような健康危機発生時に地域の専門的かつ技術的拠点としての機能を十分発揮できるよう、平時から関係機関と連携・協力を図りながら専門知識や検査技術の取得及び検査体制の充実・強化に取り組めます。

また、施行後 20 年が経過した食品 GLP については、国際的整合性の観点から登録検査機関等で認証されている ISO/IEC17025 の導入など、今後ますます検査業務の質的向上に向けた改革が求められており、当研究所においても、内部・外部精度管理の実施等により検査精度の維持・向上に努めているところです。

今後とも、社会情勢の変化や地域のニーズを的確にとらえ、多様な課題に対して即応的に調査研究に取り組み、研究所としての使命を果たしていきたいと考えております。

ここに、平成 29 年度の当研究所における試験検査及び調査研究の成果をとりまとめました。

関係者の皆様には、是非、御活用いただくとともに、忌憚のない御意見を頂戴できれば幸いです。引き続き、関係各位の御支援及び御協力を賜りますようお願いいたします。

平成 30 年 1 1 月

熊本県保健環境科学研究所

所 長 樋口 義則

# 目 次

## 1 運 営

1・1 沿革・組織機構	1
1・2 職員の構成	2
1・3 職員一覧表	2
1・4 施設及び主要備品	3
1・5 学会・研修等	5
1・6 調査研究に対する外部評価	7

## 2 業 務 実 績

2・1 微生物科学部	9
2・2 生活化学部	11
2・3 大気科学部	14
2・4 水質科学部	17

## 3 調 査 研 究

### 3・1 報 文

1) 熊本県内での重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）分布調査結果	20
2) HUS患者から分離されたEHEC O76:H7（ <i>stx2/eae</i> 陽性）及び EPEC O76:H7（ <i>eae</i> 陽性）の細菌学的検討	27
3) LC/MS/MSによる食品中食品添加物の迅速一斉分析法の開発	33
4) LC/MS/MSによるミシマサイコに残留するイミノクタジンの分析法の検討	42
5) LC/MS/MSによる植物性自然毒の迅速一斉分析法の開発	48
6) 常時監視測定局データによるPM <sub>2.5</sub> 濃度の汚染状況解析	56
7) 熊本県南部地域の湧水における金属成分と地質の関係	63

### 3・2 資 料

1) 日本脳炎調査（2017年度）	73
2) 感染症発生動向調査に伴う病原体調査（平成29年度）	75
3) 熊本県内における放射能調査（平成29年度）	79
4) 熊本県の酸性雨長期モニタリング調査結果（2017年度）	84
5) 発泡現象がみられる無田川の水質調査について	89
6) 水生生物調査における自然災害後の指標生物の回復状況	95

### 3・3 誌上発表論文抄録

### 3・4 学会・研究会発表抄録

1) 所外における学会・研究会	102
2) 所内研究発表会	103

Annual Report of Kumamoto Prefectural Institute  
of Public-Health  
and Environmental Science  
No. 47 2017  
Contents (Research)

Regular Articles

- 1) Investigation of Severe fever thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) in Kumamoto Prefecture, Japan  
Hideo OSAKO, Junko TODA\*, Takashi SAKAI and Seiya HARADA  
\*Kikuchi Area Promotion Bureau, Northern Kumamoto Administrative Headquarters
- 2) Bacteriological study of EHEC76:H7(*stx2+/eae+*) and EPEC O76:H7(*stx2-/eae+*) isolated from a patient from HUS  
Atsumi OBARA, Seiya HARADA, Hitomi KONDOU, Kazutoshi MATSUMOTO and Hideo OSAKO
- 3) Development of Simultaneous Analysis for Food Additives in Foods by LC/MS/MS  
Takeshi NISHINA, Yuko NAKAHARA, Junji TOMINAGA, Rise MATSUMOTO, Naho YAMAGUCHI and Misa MATSUMURA
- 4) Development of Analysis method of iminocadine remaining in *Mishimasaiko (Bupleurum falcatum L.)* by LC/MS/MS  
Junji TOMINAGA, Yuko NAKAHARA, Rise MATSUMOTO, Naho YAMAGUCHI and Takeshi NISHINA
- 5) Development of Simultaneous Analysis for Phytotoxins by LC/MS/MS  
Naho YAMAGUCHI, Junji TOMINAGA, Rise MATSUMOTO, Yuko NAKAHARA and Takeshi NISHINA
- 6) Analysis of PM<sub>2.5</sub> Air Pollution in Kumamoto Based on Continuous Monitoring Data  
Yusuke YAMAMOTO, Satoshi TOYONAGA\*<sup>1</sup>, Yumiko SUITO\*<sup>2</sup> and Tatsuya MATSUZAKI  
\*<sup>1</sup> Environment Conservation Division \*<sup>2</sup> Kumamoto Environmental Protection Foundation
- 7) Relations with Heavy Metal Components and Geological Features of Groundwater in Southern Kumamoto  
Kazuhiro WATANABE\*<sup>1</sup>, Toshitaka MAEDA, Daichi UCHIDA, Hiroaki ISHIHARA, Ayumi KOBAYASHI\*<sup>2</sup> and Tomonori HONDA  
\*<sup>1</sup> Hospital Bureau \*<sup>2</sup> Public Sanitation and Pharmaceutical Division

Reports

- 1) Surveillance of Japanese Encephalitis Virus Infection in Kumamoto Prefecture (2017)  
Kazutoshi MATSUMOTO, Seiya HARADA, Shintaro HASHIMOTO\*<sup>1</sup>,

Takashi SAKAI and Hideo OSAKO

\* Aso Area Promotion Bureau, Northern Kumamoto Administrative Headquarters

- 2) Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in Kumamoto Prefecture (2017)

Takashi SAKAI, Shintaro HASHIMOTO\*, Seiya HARADA and Hideo OSAKO

\* Aso Area Promotion Bureau, Northern Kumamoto Administrative Headquarters

- 3) Radioactivity Survey Data in Kumamoto Prefecture (2017)

Hiromichi KITAOKA, Kazunori UENO, Hironori YAMAMOTO and Tatsuya MATSUZAKI

- 4) Long-Term Monitoring of Acid Deposition in Kumamoto Prefecture (2017)

— Samples Collected at Two Areas —

Kazunori UENO and Hiromichi KITAOKA

- 5) Survey of Foaming in Muta River

Hiroaki ISHIHARA, Tomonori TANIGUCHI\*

\* Kuma Area Promotion Bureau, Southern Kumamoto Administrative Headquarters

- 6) Recovery of Indicator Species in Aquatic Organisms Surveys after the Natural Disasters

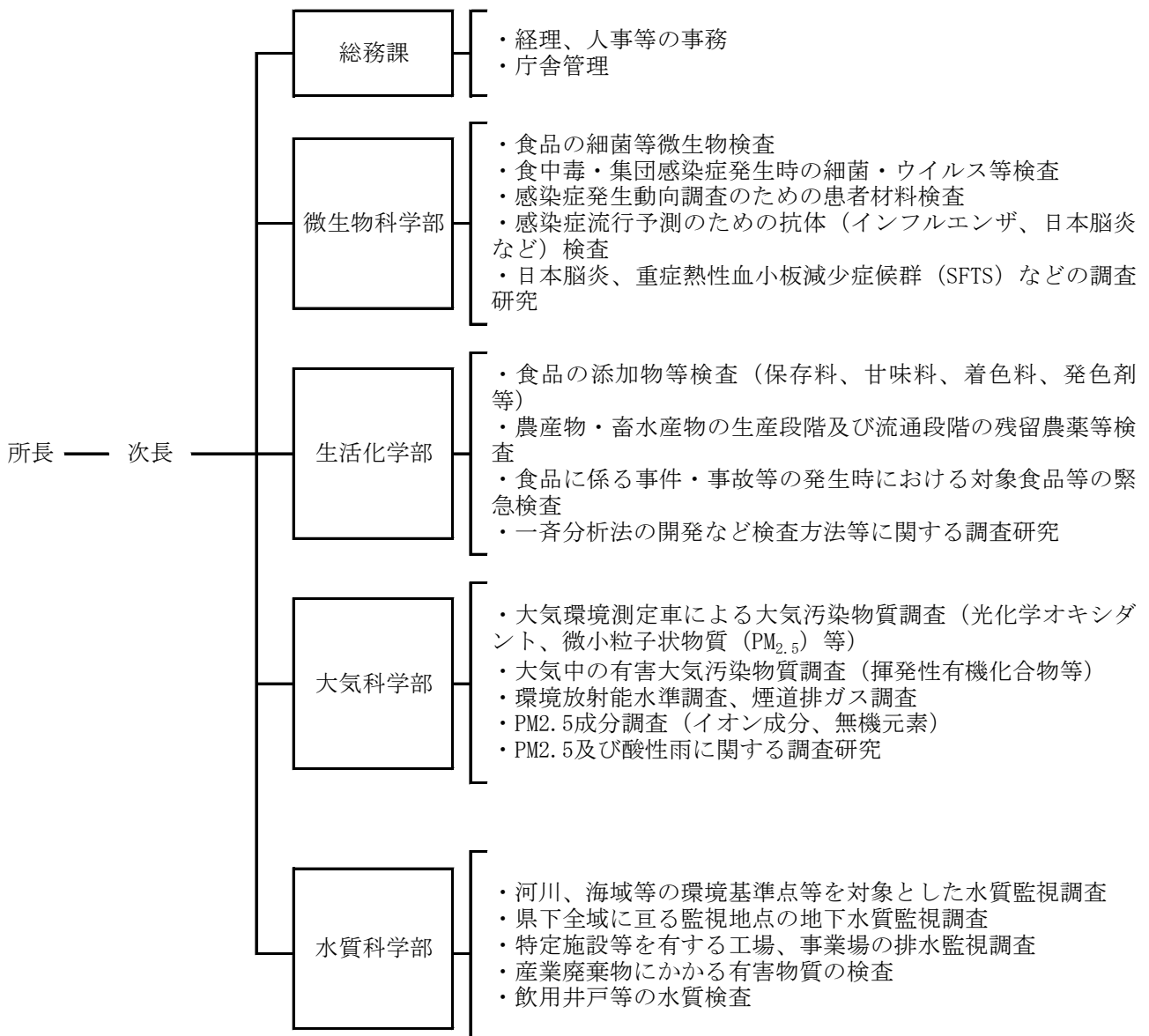
Daichi UCHIDA and Toshitaka MAEDA\*

\* Environmental Conservation Division

# 1 運 営

## 1・1 沿革・組織機構

昭和23年 12月	厚生省3局長通達に基づき、細菌検査所と衛生試験所を統合し、熊本市に「熊本県衛生研究所」として発足
26年 10月	熊本県衛生研究所条例（現熊本県保健環境科学研究所条例）公布
45年 7月	熊本県衛生研究所に公害部を増設
46年 9月	「熊本県衛生公害研究所」と改称（生物科学部、理化学部、公害部）
52年 4月	公害部の組織改編（生物科学部、理化学部、大気部、水質部）
平成 7年 4月	宇土市に新築移転、「熊本県保健環境科学研究所」と改称（微生物科学部、生活化学部、大気科学部、水質科学部、地下水科学室（水質科学部部内室））
21年 4月	地下水科学室を、水質科学部に統合（微生物科学部、生活化学部、大気科学部、水質科学部）



## 1・2 職員の構成

(平成30年5月1日現在)

組 織	職 員 数								合 計
	事務系	技 術 系						技能吏員	
		医師	獣医師	薬剤師	理工系技師	農学系技師	検査技師		
所 長				1				1	1
次 長	1								1
総 務 課	2								2
微生物科学部			3	3				6	6
生活化学部			1	4		1		6	6
大気科学部				1	3			4	4
水質科学部				3	3			6	6
合 計	3	0	4	12	6	1	0	23	26

## 1・3 職員一覧表

(平成30年6月1日現在)

職		氏 名	職	氏 名
所 長		樋口 義 則	大気科学部	研究主幹 (大気科学部長)
次 長		古閑 健 市		研究参事
総務課	総務課長	古閑 健 市		研究員
	参事	尾崎 克 巳	非常勤職員	
微生物科学部	主任主事	西本 幸 恵	水質科学部	水質科学部長
	研究主幹 (微生物科学部長)	大迫 英 夫		研究参事
	研究参事	松本 一 俊		研究主任
	研究員	八尋 俊 輔		研究員
	研究員	原田 誠 也		研究員
	非常勤職員	酒井 崇		非常勤職員
生活化学部	研究主幹 (生活化学部長)	小原 敦 美	* 育休代替臨時職員	
	研究参事	深澤 未 来*		
	研究主任	川田 良 行		
	研究員	西名 武 士		
	研究員	中原 優 子		
	研究員	富永 純 司		
研究員	小林 将 英			
研究員	松本 理 世			
研究員	山口 奈 穂			
研究員	松村 光 紗*			

## 1・4 施設及び主要備品

### 1・4・1 施設

(単位 m<sup>2</sup>)

敷地

22,998.78

庁舎概要

本館	鉄筋コンクリート造 3階建 (平成7年2月20日)	5,436.08
1F	総務課 微生物科学部 テレメーター室	1,880.82
2F	生活化学部 大気科学部 会議室 講堂	1,735.38
3F	水質科学部 図書室 教養室	1,735.38
RF		84.50

排水処理室	鉄筋コンクリート造	9.90
車庫	鉄骨造	113.14
動物舎	鉄筋コンクリート造	158.40
危険物等倉庫	鉄筋コンクリート造・一部鉄骨造	50.00
	計	5,767.52

### 施設の建物別面積

(単位 m<sup>2</sup>)

区分	面積	備考
管理部門	109.20	
研修部門	230.50	図書室 61.0 会議室 講堂 149.2 教養室 20.3
技術部門	4,316.96	
倉庫	326.64	
ボイラー・機械室等	316.80	
その他・共通部門	135.98	
小計	5,436.08	
その他	排水処理室	9.90
	車庫	113.14
	動物舎	158.40
	危険物等倉庫	50.00
計	5,767.52	



1・4・2 主要備品

(注：300万円以上の機器を掲載、平成30年4月1日現在)

品名	規格	購入年月
大気環境測定車(みどりIV世)	日野 BJK-XKU414M	H 21. 3
自動電気泳動装置	島津 電気泳動装置MCE-202MultiNA	H 29. 2
DNA合成装置	日本パーセプティブリミテッド MODEL8905	H 7. 3
DNAシークエンサー	Applied Biosystems社 3500GeneticAnalyzer	H 23. 7
煙道排ガス試料採取装置	マルニサイエンス M2-700DS	H 26. 3
気象観測装置	小笠原計器製作所	H 26. 2
ガスクロマトグラフ	横河 HP6890	H 9. 8
ガスクロマトグラフ	横河 HP6890	H 10. 9
ガスクロマトグラフ質量分析計(磁場)	日本電子 JMS-600WS	H 11. 6
ガスクロマトグラフ	島津 GC-2010	H 13. 3
ガスクロマトグラフ	島津 GC-2010A	H 13. 3
ガスクロマトグラフ質量分析計(Q)	Agilent 5973inert MSD	H 16. 3
ガスクロマトグラフ質量分析計(Q)	島津 GCMS-TQ8040	H 27. 3
ガスクロマトグラフ	Agilent GC7890A	H 22. 3
ガスクロマトグラフ	島津 GC-2010 Plus	H 26. 9
ガスクロマトグラフ質量分析装置	島津 GCMS-TQ8040	H 27. 3
液体クロマトグラフ	島津 LC-10AD	H 5. 7
液体クロマトグラフ	島津 SPD-M10A	H 7. 3
液体クロマトグラフ	島津 LC10A	H 7. 8
液体クロマトグラフ	島津 PROMINENCE	H 17. 9
液体クロマトグラフ	島津 LCMS-8030、Ne x era	H 23. 5
イオンクロマトグラフ	ダイオネクス ICS-1600	H 25. 1
イオンクロマトグラフ	ダイオネクス ICS-2100	H 23. 5
クロマトグラフ関連機器	GLサイエンス AQUALoaderⅢ、G-PrepELUTE8060	H 23. 5
マイクロ波試料分解装置	パーキンエルマー Multiwave3000	H 24. 12
マイクロウェーブ試料前処理装置	マイルストーンゼネラル ETHOS TC	H 14. 9
マイクロウェーブ試料前処理装置	アントンパール社製 Multiware PRO 60Hz	H 29. 12
リアルタイムPCR装置	ロシュ・ダイアグノスティクス LightCycler DX400	H 16. 9
リアルタイムPCR装置	ロシュ・ダイアグノスティクス LightCycler 480System II	H 23. 7
気中水銀分析装置	日本インストルメンツ WA-5A	H 26. 3
オートアナライザー	ビーエルテック SWATT28 2ch+UV	H 29. 10
水質測定装置	YSI model 6920	H 11. 8
電気泳動装置	大塚電子 CAPI-3200	H 9. 3
電気泳動装置	日本バイオイメージ Gel Print 2000i	H 10. 1
全有機炭素計	島津 TOC-500	H 7. 3
原子吸光度計	日本ジャーレルアッシュ AA-890	H 8. 10
分光光度計	モレキュラデバイス M-VMAX	H 5. 8
分光光度計	島津 AA-6800	H 17. 10
分光光度計	TOMY Q5000	H 24. 10
ICP/MS	Agilent 7900	H 28. 12
蛍光顕微鏡	ニコン VFD-TR	S 58. 11
安全キャビネット	日立冷熱 SCV1303EC II B	S 63. 3
遠心分離機	バックマン オプティマ L-70	H 4. 7
PM2.5成分分析用サンブラ	ムラタ計測器サービス MCAS-SJA	H 25. 7
超臨界流体抽出装置	島津 Nexera UCオンラインSFEシステム	H 29. 2

## 1・5 学会・研修等

### 1・5・1 出席した主要な学会・研究会等

年 月	名 称	場 所	氏 名
29年4月	第69回日本衛生動物学会	長崎県	酒井
5月	第58回日本臨床ウイルス学会*	長崎県	橋本
5月	II型共同研究「PM2.5の環境基準超過をもたらす地域的／広域的汚染機構の解明」全国データ解析グループ会合	東京都	松崎、出納
6月	II型共同研究「PM2.5の環境基準超過をもたらす地域的／広域的汚染機構の解明」化学輸送モデルグループ会合	東京都	松崎、山本
6月	第12回オートアナライザーシンポジウム	大阪府	内田
7月	衛生微生物技術協議会39回研究会	東京都	松本、原田、酒井
9月	第28回廃棄物資源循環学会研究発表会	東京都	黒木
9月	第58回大気環境学会年会	兵庫県	山本
9月	S F T S V公開シンポジウム及び講習会	山口県	大迫
10月	日本地下水学会2017秋季講演会	青森県	渡邊
10月	第38回食品微生物学会学術総会	徳島県	原田
10月	第43回九州衛生環境技術協議会*	福岡県	酒井、小原、西名、山口、内田、石原
10月	平成29年度獣医学術九州地区学会	沖縄県	松本、原田
11月	第21回腸管出血性大腸菌感染症研究会*	鹿児島県	小原
11月	全国衛生化学技術協議会	奈良県	中原、山口
11月	平成29年度地方衛生研究所地域専門家会議（九州ブロック）	熊本市	松本、小原
11月	全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査部会（第1回）	東京都	北岡
30年2月	全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査部会（第2回）	東京都	北岡
2月	九州ブロック模擬訓練事業結果検討会	熊本市	西名、山口
3月	第52回日本水環境学会年会 平成29年度日本水環境学会併設研究集会	北海道	小林

\*職員が発表した学会等

1・5・2 出席した技術研修等

年 月	名 称	場 所	氏 名
29年5月	食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	東京都	中原
5月	平成29年度病原体等の包装・運搬講習会	福岡県	松本
5月	平成29年度機器分析研修（Aコース）	埼玉県	小林
7月	リケッチア検査技術研修会	鹿児島県	酒井
7月	光化学オキシダント自動計測器の校正にかかる研修	福岡県	山本
9月	平成29年度飲料水検査技術研修会	千葉県	石原
9月	平成29年度VOCs研修（水質）第2回	埼玉県	石原
9月	アスベスト検査技術（位相差蛍光顕微鏡）の公定法化に伴う説明会	東京都	山本
10月	平成29年度腸管出血性大腸菌MLVA技術研修会	東京都	松本
10月	指定薬物分析研修会議	東京都	中原
11月	環境放射能測定の入門及び環境放射の分析の入門研修	千葉県	山本
30年1月	化学物質環境実態調査環境科学セミナー	東京都	松崎、前田
1月	平成29年度西第3回 第2種放射線取扱者主任者講習会	京都府	内田
1月	石綿位相差顕微鏡法研修	埼玉県	山本
2月	食品衛生検査施設における業務管理に関する研修	東京都、神奈川県	橋本、西名、富永
2月	平成29年度希少感染症診断技術研修会	東京都	橋本
2月	大気分析研修	埼玉県	山本
2月	第33回全国環境研究所交流会シンポジウム	茨城県	石原
3月	平成29年度第2回環境測定分析統一精度管理九州ブロック会議	福岡県	内田

1・5・3 所で行った発表・研修

年 月	対 象 者	人 員	期 間	研修内容等
29年6月	熊本大学薬学部学生	46	2日	早期体験学習
7月	宇土高校生徒	23	1日	SSH未来体験学習
7、8月	熊本県獣医師インターンシップ研修	7	3日	施設見学等
9月	平成29年度「重症感染症などのアウトブレイク対応強化のための実地疫学（管理者向け）研修」	16	1日	講習及び施設見学
9月	山口大学共同獣医学部公衆衛生学実習	3	1日	微生物科学部検査実習
11月	県関係機関・大学関係者・一般県民	41	1日	研究発表会
3月	九州看護福祉大学看護福祉学部学生	20	1日	施設見学

1・5・4 講師派遣

年 月	名 称	人 員	主 催	氏 名
29年4月	マダニ対策講演会	60	天草保健所	大迫
29年5月	熊本大学薬学薬学概要講義 I	90	熊本大学薬学部	西名

## 1・6 調査結果に対する外部評価

当所の調査研究について、外部の意見を聞くことにより県民ニーズに合致した効率的・効果的な業務の遂行とその透明性の確保を図るため、外部評価委員会による評価を行った。

- 1 開催日  
平成29年10月23日
- 2 委員  
学識経験者等5名
- 3 評価対象  
成果評価（調査研究の目的の達成度、行政施策への寄与度等）を評価）・・・なし  
中間評価（調査研究の進捗状況、継続の妥当性等）を評価）・・・1件  
計画評価（計画段階で調査研究の目的、内容の妥当性等）を評価）・・・2件
- 4 評価方法  
項目別評価、総合評価とも次の5段階で評価する。  
5：非常に高く評価できる。  
4：高く評価できる。  
3：評価できる。  
2：あまり評価できない。  
1：評価できない。
- 5 評価結果

### 【1】計画評価

(1) 調査研究課題	
動物由来感染症病原体保有状況調査（H30～H32）	
(2) 項目別評価	
①研究目的の適切性・妥当性	4
②研究体制、研究内容の適切性・妥当性	4
③衛生行政・環境行政施策への寄与度	5
④学術的意義又は技術開発への寄与度	5
⑤県民ニーズへの対応状況	5
(3) 総合評価	5
(4) 委員のコメント	
<p>○研究目的の適切性、妥当性は理解できるが、性格の異なる保護動物とジビエ（野生動物）について計画が不明確であることから、研究目的、切り口、どういう成果が得られるのか等を整理する必要がある。</p> <p>○野生動物については多剤耐性サルモネラ菌の分離率が低いと思われ、一方、保護動物に関しては、猫ひっかき病など重篤化する病原菌についても対象に加えるなど対象菌種を検討した方が良い。</p> <p>○県では、学術的には、これまでやったことのない研究であり、疫学的なデータがあまりないことから、今後、何がどうい菌を保有し、どのように伝播していくのか明らかにしていく上で意義のある研究である。</p> <p>○環境面でもイノシシやシカの被害は深刻であり、ジビエ料理を盛んにする意味からも県民ニーズは高いが、研究結果の公表に当たっては、関係機関とも連携し、不安をあおるのではなく、正確な情報を処理業者や料理人を含め伝える必要がある。</p>	

## 【2】計画評価

(1) 調査研究課題	
S F E - G C / M S / M Sによる農産物中農薬の一斉分析法に関する研究 (H 3 0 ~ H 3 1)	
(2) 項目別評価	
①研究目的の適切性・妥当性	5
②研究体制、研究内容の適切性・妥当性	5
③衛生行政・環境行政施策への寄与度	5
④学術的意義又は技術開発への寄与度	5
⑤県民ニーズへの対応状況	5
(3) 総合評価	5
(4) 委員のコメント	
<p>○研究目的、内容としては今回の研究によりコストや労力の軽減を図ることが可能となり、また、これまでの実績や蓄積したデータにより実現可能性も高く適当である。</p> <p>○環境面では有機溶媒を使わなくて済むという面でも優れており、また、農政に関してもポジティブに捉え、きちんとした農薬の使用を提案できるという期待度は大きい。</p> <p>○学術的には、S F E (超臨界流体抽出法) はそれほど普及しているものではなく、公定法のように全国の研究機関で使えるものではないが、これまで技術開発で前例がなく、微量の物質を検出できるということであれば、他の農薬や中毒物質にも応用できる。</p> <p>○農政部門とも連携し、農業従事者等にも研究成果をきちんと伝え、ブランドとしての熊本県産が安全であるということアピールしていくことが必要。</p>	

## 【3】中間評価(計画変更)

(1) 調査研究課題	
S F T S ウイルスの生態学的研究	
(2) 項目別評価	
①研究目的の進捗状況	4
②研究体制及び研究内容変更の必要性	5
③研究継続の妥当性	5
(3) 総合評価	5
(4) 委員のコメント	
<p>○熊本地震の影響もあり、調査が遅れたということもあるが、S F T Sは死亡例もあり、予後が悪いというイメージがあることから重要な研究であると考えている。</p> <p>○例数が少ないことから、今後とも研究を継続し、他県とも連携しデータを蓄積していくことが必要。</p> <p>○媒介となるマダニは動物にも付着しているという認識を持っている者は少ないと思われることから、正しい情報を提供し、どのように分布しているのか認識させることが必要。</p>	

## 2 業務実績

### 2・1 微生物科学部

平成 29 年度は、行政依頼検査として感染症の検査、食中毒・有症苦情の原因微生物検査、食品の微生物規格基準検査、豚肉の残留抗生物質の検査、HIV の確認検査、つが虫病・日本紅斑熱患者の血清学的検査、健康福祉部職員の B 型肝炎（HBs 抗原・抗体）検査等を行った。また、国庫委託事業として、感染症流行予測調査事業（日本脳炎の感染源調査）、感染症発生動向調査事業等を行った。その他、これらの試験・検査業務に加え、さまざまな課題について調査研究を行った。

主な試験検査及び調査研究の概要は次のとおりである。なお、業務実績表を別表に示す。

#### 2・1・1 試験検査

##### 1) 感染症検査

感染症発生届に基づき、保健所等から依頼された検体（細菌 462 検体、ウイルス・リケッチア 205 検体）について、検査を行った。検出された病原体は腸管出血性大腸菌 29 検体、レジオネラ 5 検体、日本紅斑熱 27 検体、HIV 2 検体、SFTS 1 検体、麻疹 2 検体であった。検出された麻疹の遺伝子型は D8 であった。

##### 2) 食中毒・有症苦情検査

食中毒・有症苦情関連の 165 検体について、原因微生物の検索及び同定検査を行った。原因微生物はノロウイルス、カンピロバクター、黄色ブドウ球菌が検出された。

##### 3) 食品中の微生物検査

市販のからし蓮根 9 検体について、生菌数、大腸菌群数及びボツリヌス毒素の検査を行った。また、清涼飲料水等 25 検体の微生物規格検査、生カキ等 12 検体のノロウイルス等の検査を行った。その他 69 検体（魚肉練り製品 14 検体、冷凍食品 3 検体、アイスクリーム・氷菓 3 検体、麺類 4 検体、食肉製品 3 検体、レトルト食品 1 検体、馬肉 23 検体、狩猟肉 18 検体）について、微生物規格検査等を行った。

##### 4) 食品中の残留抗生物質検査

ブタ肉 3 検体について、スピラマイシン残留の有無を検査した。

##### 5) その他微生物検査

健康福祉部職員のうち希望のあった 114 名の血清について HBs 抗原及び HBs 抗体検査を行った。抗原保有者は 0 名、抗体保有者は 96 名（84 %）であった。

##### 6) 感染症流行予測調査

日本脳炎の感染源調査を、7 月中旬～9 月中旬にかけて、生後 4～6 ケ月のブタ 120 頭について JEV に対する HI 抗体及び 2-ME 感受性抗体を測定した。詳しくは資料の項に掲載した。

##### 7) 感染症発生動向調査事業に伴う検査

平成 29 年 4 月から 30 年 3 月までに、検査定点医療機関等において採取された 1009 検体について、A549、HEp2、RD-A、VeroE6、MDCK 細胞等による組織培養法、遺伝子学的検査法等を用いて病原体の検査を行った。詳しくは資料の項に掲載した。

#### 2・1・2 調査研究

##### 1) 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスの生態学的研究

ヒトへの感染防止対策の一助とすることを目的として、平成 26 年から SFTS ウイルス（SFTSV）媒介ダニの種類やその分布状況及びウイルス保有状況を調査している。平成 29 年度はマダニ 251 検体、動物血液 20 検体の遺伝子検査を行い、6 検体が SFTSV 遺伝子陽性であった。

##### 2) 薬剤耐性菌に関する調査

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）が疑われた 17 株（*Klebsiella* 属 3 株、*Enterobacter* 属 10 株、*Escherichia* 属 3 株、*Serratia* 属 1 株）と基質拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ（ESBL）産生が疑われる *Escherichia coli* (*E.coli*) 92 株について、ディスク法による薬剤感受性試験と PCR 法による薬剤耐性遺伝子検査を実施した。その結果、CRE 疑いの 17 株中 16 株（*Klebsiella* 属 3 株、*Enterobacter* 属 9 株、*Escherichia* 属 3 株、*Serratia* 属 1 株）がディスク法で CRE と判定され、*E.coli* 1 株から NDM 型、*Klebsiella pneumoniae* 2 株から IMP-1 型のカルバペネマーゼ遺伝子が検出された。一方、ESBL 産生が疑われた *E.coli* 92 株中 90 株がディスク法で ESBL 産生菌と判定された。耐性遺伝子型は、CTX-M-9 型：37 株、CTX-M-9 型+TEM 型：20 株、CTX-M-1 型+TEM 型：19 株、CTX-M-1 型：7 株、TEM 型：5 株、CTX-M-8 型：1 株、及び CTX-M-8 型+TEM 型：1 株であった。

##### 3) 動物由来感染症に関する調査研究

熊本県動物愛護センターに保護されている個体のうち、譲渡対象のイヌ、及び有害鳥獣駆除等で狩猟されたイノシ

シについて、病原微生物の保有状況を調査した。

イヌ；延べ60検体の糞便を検査した。寄生虫卵は鞭虫卵6検体、鉤虫卵14検体、回虫卵3検体検出された。病原性大腸菌は19株分離された。また *C.jejuni* も3株分離された。

イノシシ；糞便22検体、肝臓8検体を検査した。寄生虫卵は鞭虫卵7検体、線虫卵6検体、回虫卵1検体検出された。病原性大腸菌は7株分離された。また *C.coli* も3株分離された。E型肝炎ウイルスは検出されなかった。

## 微生物科学部業務実績表

分類	事業名	業務	平成29年度	
			件数	延項目数
行政検査	(1) 感染症病原体検査	細菌	462	3,696
		ウイルス・リケッチア・その他	205	669
	(2) 食中毒・有症苦情検査	原因物質検査	165	1,171
	(3) 食品中の微生物検査	からし蓮根等	9	45
		清涼飲料水等	25	88
		生カキ・海水	12	18
		その他	69	228
		小計	115	379
	(4) 食品中の残留抗生物質検査		3	3
	(5) その他の微生物検査 (B型肝炎検査等)		114	240
	合計	1,064	6,158	
国庫委託調査	(6) 感染症流行予測調査(感染源)		120	240
	(7) 感染症発生動向調査		499	3,842
	合計		619	4,082
調査研究	SFTS ウイルスの調査研究		271	271
	薬剤耐性細菌に係る調査研究		109	1,165
	動物由来感染症に関する調査研究		90	810
	その他		10	20
	合計		480	2,266
総計			2,163	12,506

## 2・2 生活化学部

平成 29 年度は、行政依頼検査として食品中の残留農薬検査、食品、食品添加物の規格基準検査、畜水産食品中の動物用医薬品残留検査及び家庭用品の有害物質検査のほか、熊本県食の安全安心推進条例に基づく県産農林水産物中の農薬・動物用医薬品の出荷前残留検査を実施した。

その他、農林水産部からの依頼による松くい虫防除に使用する薬剤の残留調査を実施した。

主な試験検査及び調査研究の概要は次のとおりである。なお、業務実績表を別表に示す。

### 2・2・1 試験検査

#### 1) 食品・食品添加物等の規格基準検査

食品中の添加物検査として、保存料、甘味料、酸化防止剤、着色料、防かび剤等の検査を実施した結果、防かび剤で表示違反が 1 件あった。また、指定外添加物は検出されなかった。

食品成分規格検査では、清涼飲料水、玄米等について実施したが、基準値を超えたものはなかった。

#### 2) 魚介類の水銀検査

県内で漁獲され、県内に流通している魚介類の総水銀検査を実施してきたが、平成 13 年度からは総水銀検査を保健所試験検査課で行い、当所では暫定的規制値を超える検体について有機水銀検査を実施することになっているが、平成 29 年度は該当する検査はなかった。

#### 3) 畜水産食品中の動物用医薬品等残留検査

生産段階で使用される動物用医薬品及び飼料添加物等が、食肉・魚介類等の畜水産食品中に残留している実態を把握するため、食肉、養殖魚介類、牛乳及び卵について、動物用医薬品の検査を実施した結果、基準値超過はなかった。

#### 4) 食品中の残留農薬検査

輸入食品を含む野菜、果実、茶等の農作物について、残留農薬試験を実施した結果、白菜においてフルアジホップブチルの基準値超過が 1 件あった。

#### 5) 特定アレルギー物質検査

食品中の特定アレルギー物質（小麦、乳、卵）の表示確認試験を実施した結果、乳（検体：菓子）で表示違反が 1 件あった。

#### 6) 家庭用品中有害物質含有検査

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づき、試買した繊維製品中のホルムアルデヒド及びディルドリン等について検査を実施したが、基準値を超えるものはなかった。

#### 7) 医薬品等に関する試験検査

平成 29 年度は、該当する検査はなかった。

#### 8) 器具、容器包装の規格基準検査

食品の調理、製造加工、運搬及び保存などに用いられる器具及び容器包装については、食品衛生法によってその材質毎に規格基準が定められている。平成 29 年度は陶磁器、ガラス容器、合成樹脂製品について蒸発残留物重金属などの試験を実施した結果、限度値を超えるものはなかった。

#### 9) おもちゃの規格基準検査

おもちゃについては、食品衛生法によってその材質毎に規格基準が定められている。平成 29 年度は、着色料、重金属の試験を実施した結果、指定外着色料は不検出であり、重金属の限度値を超えるものもなかった。

#### 10) 食品苦情に伴う理化学的原因調査

平成 29 年度は、該当する検査はなかった。

#### 11) 松くい虫特別防除薬剤残留検査

球磨郡あさぎり町において、平成 29 年 5 月中旬から 6 月中旬に実施された松食い虫防除の影響調査のため、流域の河川水と水源における使用薬剤の残留試験を実施した。

#### 12) GLP に関する精度管理試験

食品衛生外部精度管理調査に参加した。

調査項目は、食品添加物（安息香酸）、残留農薬（マラチオン、クロルピリホス、チオベンカルブ）及び残留動物用医薬品（スルフアジミジン）であり、結果は全て良好であった。

#### 13) 熊本県食の安全安心推進条例に基づく出荷前農林水産物中の残留農薬等検査

県産の主要な農林水産物について残留農薬、動物用医薬品等の出荷前検査を実施した結果、食品衛生法の基準値を超えるものはなかった。



#### 14) 危機管理検査

クワズイモ（疑）中毒に伴い、食品残品のシュウ酸カルシウムの検査を実施した。

#### 15) 一般依頼試験

ピーツ中の残留農薬（メタアルデヒド）の検査を行った。

### 2・2・2 調査研究

#### 1) 有毒キノコに由来する毒成分の一斉分析法の開発

平成25年度に県内で発生したドクツルタケによる死亡事故が発生したことから、12種類の有毒キノコの毒成分について、LC/MS/MSを用いた迅速一斉分析法を開発した。

#### 2) LC/MS/MS による食品中食品添加物の迅速一斉分析法に関する研究

当所で検査を行っている食品添加物のうち、着色料18、保存料8、酸化防止剤6、甘味料3、その他3の計38項目についてLC/MS/MSを用いた迅速一斉分析法を開発した。

#### 3) LC/MS/MS による高極性農薬の迅速一斉分析法に関する研究

従来の当所の分析法では一斉分析が困難であった高極性農薬約20種類について、LC/MS/MSを用いた迅速一斉分析法を開発した。

#### 4) 植物性自然毒の一斉分析法の開発

トリカブト、パイケイソウ、チョウセンアサガオ、スイセンなど有毒植物による食中毒に対応するため、該当植物の24種類の有毒成分について、LC/MS/MSを用いた迅速一斉分析法を開発した。

生活化学部業務実績表

分類	事業名	業務	平成29年度		平成28年度	
			検体数	延項目数	検体数	延項目数
行政検査	(1) 食品・添加物等の規格基準検査	(イ) 清涼飲料水成分規格	25	66	5	20
		(ロ) 人工甘味料	73	106	67	105
		(ハ) 合成着色料	42	688	45	726
		(ニ) 合成保存料	76	81	60	64
		(ホ) 発色剤 亜硝酸ナトリウム	3	3	4	4
		(ヘ) 漂白剤 二酸化硫黄等	0	0	0	0
		(ト) プロピレングリコール	4	4	0	0
		(フ) 米（玄米）中のCd	3	3	6	6
		(リ) 酸化防止剤	6	12	5	10
		(ス) 防かび剤	4	8	2	4
		(ル) メラミン	0	0	0	0
		小 計	236	971	194	939
	(2) 魚介類の水銀検査		0	0	0	0
	(3) 畜水産食品中の動物用医薬品残留検査		66	8818	57	6663
	(4) 食品中の残留農薬検査	(イ) 野菜,果実,米穀,茶	107	44949	108	32009
		(ロ) 輸入・国産食肉	0	0	0	0
		(ハ) 牛乳	0	0	0	0
		小 計	107	44949	108	32009
	(5) 特定アレルギー物質検査		16	24	40	96
	(6) 家庭用品中有害物質含有検査	(イ) 繊維製品	25	54	0	0
		(ロ) 家庭用洗剤等	0	0	0	0
		小 計	25	54	0	0
	(7) 医薬品等に関する試験検査	健康食品	0	0	0	0
(8) 器具・容器包装規格基準検査	材質及び溶出試験	10	22	10	22	
(9) おもちゃの規格基準検査		5	13	5	14	
(10) 食品苦情に伴う理化学的原因調査		0	0	1	1	
(11) 松くい虫特別防除薬剤残留検査		16	16	14	14	
(12) GLPに関する精度管理試験	合成保存料,重金属,	4	6	4	6	
	残留農薬,合成抗菌剤					
(13) 熊本県食の安全安心推進条例に基づく出荷前農薬等検査	(イ) 野菜,果実,穀類,茶	49	8689	63	15146	
	(ロ) 畜水産物	38	4140	38	3727	
	小 計	87	12829	101	18873	
(14) 危機管理検査		1	1	2	4	
合 計		598	67757	536	58641	
一般依頼試験		1	1	0	0	
総 計		598	67758	536	58641	

## 2・3 大気科学部

平成29年度は、大気環境測定車による大気環境調査、有害大気汚染物質調査、煙道排ガス調査及びアスベスト環境調査等の行政検査を行った。また、国民、県民の関心が高い微小粒子状物質（PM2.5）については成分調査を行った。その他、これらの試験検査に加え広域大気汚染に関する調査研究を行った。

試験検査の結果は、別途「大気・化学物質・騒音等環境調査報告書」、「環境白書」として公表される。

主な試験検査及び調査研究の概要は次のとおりである。なお、業務実績表を別表に示す。

### 2・3・1 試験検査

#### 1) 大気環境測定車による大気環境調査

県内に大気汚染常時監視測定局36局を配置し、大気汚染物質（二酸化いおう、二酸化窒素及び光化学オキシダント等）による汚染を常時監視している。この常時監視を補完するため、測定局のない地域に大気環境測定車を設置し本調査を行っている。  
平成29年4月～29年6月は菊陽町において調査を行った。

#### 2) 酸性雨調査

県内では酸性雨による被害は顕在化していないが、東アジアの経済発展に伴い酸性物質排出量が増大し、酸性雨による環境への影響が大きな問題となったことから、酸性雨の実態を把握する本調査を昭和63年10月から行っている。

平成29年度は阿蘇市及び宇土市の2地点で1週間毎の降水を採取した。採取した93検体についてpH、電気伝導率及びイオン成分を測定した。

#### 3) 微小粒子状物質（PM2.5）成分調査

環境基準を超過しているPM2.5は多数の物質の混合物であり、その混合物の科学的情報が不明なことから平成25年7月に本調査を開始した。

平成29年度は宇土市に試料採取装置を設置し、全国一斉に、春季、夏季、秋季及び冬季にPM2.5を採取した。そして、イオン成分及び無機元素を測定した。なお、炭素成分の分析は民間分析機関に委託した。

#### 4) 有害大気汚染物質調査

低濃度であっても長期的に暴露されると発がん性等の健康影響の可能性があるとされる「有害大気汚染物質」による汚染を把握するため、平成9年10月から本調査を行っている。

平成29年度は一般環境及び発生源周辺について、それぞれ玉名市、八代市の2地点で毎月1回12回試料を採取し、重金属類、アルデヒド類及び揮発性有機化合物類（VOCs）等を測定した。なお、VOCs6項目の分析は民間分析機関に委託した。

#### 5) 煙道排ガス調査

固定発生源である工場や事業場への規制・監視のため、大気汚染防止法及び条例に基づくばい煙発生施設において、大気中に排出される汚染物質「ばい煙」の調査を行っている。

平成29年度は2施設で排ガス中のばいじん、いおう酸化物及び窒素酸化物等を測定した。

#### 6) アスベスト環境調査

アスベスト（特定粉じん）による環境汚染が懸念されることから、アスベストモニタリングマニュアル（第4.0版平成22年6月環境省）に基づき調査を行い、総繊維数濃度を測定している。なお、必要に応じてアスベスト繊維の計測は民間分析機関に委託している。

一般環境調査は、山鹿市で2地点において調査を行った。

#### 7) 九州新幹線鉄道騒音調査

九州新幹線鉄道の平成16年3月部分開業及び平成23年3月全線開業に伴い、沿線住民の生活環境を保全するため、騒音振動の調査を行っている。

平成29年度は6地点で騒音の調査を実施した。

#### 8) 環境放射能水準調査（原子力規制庁委託）

放射能の影響の正確な評価に資することを目的に、環境等試料の放射性核種分析調査、定時降水中の全ベータ放射能測定調査及びモニタリングポストによる空間放射線量率測定調査を平成元年度から行っている。

平成29年度に行った調査結果を3・2資料の項に掲載した。

#### 9) 化学物質環境実態調査（環境省委託）

平成29年度は化学物質環境実態調査のモニタリング調査に係る9物質を採取した。

### 2・3・2 調査研究

#### 1) 酸性雨全国調査

日本全域における酸性沈着による広域大気汚染実態を把握す

ることを目的とした全国環境研協議会の共同調査に平成3年度から参加しており第6次調査を実施した。

酸性雨調査のうち阿蘇市及び宇土市のデータを用いて湿性沈着量等の算出と解析を行った。

#### 2) 微小粒子状物質 (PM2.5) による大気汚染実態調査

PM2.5 成分調査結果や大気汚染常時監視測定局データを解析することで、熊本県内のPM2.5による大気汚染状況と越境移流及び県内発生分の寄与割合を把握することを目的としている。

平成29年度は成分調査データ等の統計的手法により発生源の推定及びその寄与割合の推定を行った。解析結果は大気環境学会九州支部会及び研究所発表会で発表した。

#### 3) PM2.5の環境基準基準超過をもたらす地域的／広域的汚染機構の解明 (国立環境研究所と全国の地方環境研とのII型共同

#### 研究)

PM2.5は全国的に環境基準を超過し、高い地域依存性を持つと同時に広域汚染・越境移流の影響を受けるため、国立環境研究所と全国の地方環境研究所51機関との共同研究に参画し、地域と全国両方の視点を持ってPM2.5の汚染機構を解明する。

全国データ解析グループ及び化学輸送モデルグループに参画し、平成29年度はPMF解析及びWRF/CMAQによる感度解析の手法検討を行った。

#### 4) 熊本県の酸性雨長期モニタリング調査

本県における酸性雨の状況を把握するため平成元年度から継続して本調査を行っている。

酸性雨調査のデータを用いて湿性沈着量等の算出と解析を行った(3・2資料の項に掲載)。

大気科学部業務実績表

分類	事業名	業務	平成29年度		平成28年度	
			件数	延項目数	件数	延項目数
行政検査	(1) 大気環境測定車による大気環境調査		70	840	124	1,367
	(2) 酸性雨調査		93	1,023	97	1,067
	(3) 微小粒子状物質 (PM2.5) 成分調査	(イ) イオン成分	56	448	112	896
		(ロ) 無機元素	56	728	112	1,456
		小計	112	1,176	224	2,352
	(4) 有害大気汚染物質 調査	(イ) 重金属類	50	150	50	150
		(ロ) VOCs, アルデヒド類	100	250	112	262
		小計	150	400	162	412
	(5) 煙道排ガス調査		2	8	2	8
	(6) アスベスト環境調査	(イ) 一般環境	6	6	6	6
(ロ) 解体現場等		3	3	12	12	
小計		9	9	18	18	
(7) 九州新幹線鉄道騒音調査		6	6	0	0	
合計			442	3,462	627	5,224
国庫委託 調査	(8) 環境放射能水準調査 (原子力規制庁委託)	(イ) 空間放射線量率	2,202	2,202	2,002	2,202
		(ロ) 全ベータ放射能	96	96	101	101
		(ハ) 放射性核種分析	42	164	25	113
		小計	2,340	2,462	2,328	2,416
	(9) 化学物質環境実態調査 (環境省委託)		6	12	6	18
合計			2,346	2,474	2,334	2,434
総計			2,788	5,936	2,961	7,656

## 2・4 水質科学部

平成29年度は、公共用水域水質測定計画に基づく公共用水域監視調査、地下水質測定計画に基づく地下水調査や、水質汚濁防止法等に基づく特定事業場等排水監視調査、地下水保全条例に基づく対象事業場の排水及び地下水調査の他、水生生物を指標とした川の水環境調査、水俣湾水域環境調査等を行った。

また、魚のへい死等水質事故発生時の環境調査、産業廃棄物の不法投棄箇所周辺の地下水・河川水の調査や飲用井戸の水質検査等行政検査を行った。

主な試験検査及び調査研究の概要は次のとおりである。なお、業務実績表を別表に示す。

### 2・4・1 試験検査

#### 1) 公共用水域水質測定計画に係る調査

公共用水域監視調査として、河川水及び河川底質を対象とした調査を県内53河川127調査地点(国、県、市の合計)で行っている。熊本県は37河川48地点で、生活環境項目および健康項目等について431検体延べ4,252項目、底質3検体延べ23項目の分析を行った。

また、海域を対象とした調査では、4海域で海水15検体延べ162項目、底質16検体延べ100項目の健康項目等の分析を行った。

#### 2) 地下水質測定計画に係る調査

地域の全体的な地下水質の概況を把握するため、県内の市町村を対象とした新規概況調査、それに伴う汚染井戸周辺地区調査では、併せて12検体延べ282項目の分析を行った。

地下水質の経年変化の状況を把握するため、荒尾地域硝酸性窒素削減計画に定められた指標井戸の地下水質動向調査(特定地点調査)では、36検体延べ108項目の分析を行った。

#### 3) 特定事業場等排水監視調査

水質汚濁防止法及び生活環境の保全等に関する条例に係る特定事業場等を対象に、排水について主要6工場72検体延べ582項目、一般工場191検体延べ947項目、有害物質を排出するおそれがある特定事業場等69検体延べ358項目の分析を行った。

#### 4) 地下水保全条例に係る調査

熊本県地下水保全条例(平成2年10月)に係る対象事業場等を対象に、排水及び地下水について99検体延べ354項目の分析を行った。

#### 5) 水俣湾水域環境調査

水俣湾における水質等の状況を把握することを目的として、海水8検体、地下水4検体、底質3検体について、総水銀、濁度、塩化物イオン等延べ27項目の分析を行った。

#### 6) 産業廃棄物に係る調査

産業廃棄物不法投棄箇所周辺、廃棄物の処理及び清掃に関する法律施行前の自社処分場周辺及びその埋立地周辺における有害物質の監視調査、維持管理が不十分と懸念される最終処分場の監視調査など、85検体延べ779項目の分析を行った。

#### 7) 荒尾浦川流域化学物質汚染対策調査

荒尾市浦川流域における化学物質汚染に係る調査として、ベンタクロロフェノールについて15検体延べ265項目の分析を行った。

#### 8) 飲用井戸等の行政検査

飲用井戸等衛生対策要領により飲用井戸等の衛生の確保を図るため、行政試験の一部項目(セレン、鉛、亜鉛、アルミニウム、鉄、マンガン、ヒ素、フッ素、ほう素等)について、68検体延べ474項目の分析を行った。

#### 9) その他の行政検査

今年度は、行政依頼検査として分析依頼はなかった。

#### 10) 研究所排水自主検査

本研究所排水は宇土市終末処理場で処理されているが、排水の水質が下水道排除基準に適合しているか、有害化学物質や農薬の自主検査を10検体延べ145項目の分析を行った。

#### 11) 環境測定分析統一精度管理調査

環境測定分析の精度の向上を図り、環境測定データの信頼性の確保に資することを目的に調査が行われ2検体延べ15項目の分析を行った。

#### 12) 苦情・水質事故に係る調査

排水苦情及び公共用水域でのへい死魚事故等における重金属、農薬類の緊急調査のため17検体延べ284項目の分析を行った。

### 13) 調査研究に係る調査

地下水の硝酸性窒素濃度上昇等に関する要因メカニズムの推定や河川中の発泡現象に対する基礎データ取得等を目的に、413検体延べ11,588項目の分析を行った。

### 14) 化学物質環境実態調査

環境省委託化学物質環境実態調査モニタリング調査については、緑川平木橋及び一部橋で試料水を採取し、調査担当機関に送付した。また、採取直後の水質について生活環境項目等延べ15項目の分析を行った。

## 2・4・2 調査研究

### 1) 熊本県南部地域の湧水における重金属成分と地質の関係

熊本県では、生活用水の多くを地下水に依存しており、地下水の量的・質的保全是県民の生活環境保全の面で非常に重要である。近年、県内における地下水の硝酸性窒素汚染が問題となっているが、一般的な地下水汚染としては、ほかにも重金属や揮発性有機化合物によるものが知られている。

しかし、何を原因として汚染が引き起こされたのか半別できるように重金属成分の概況把握を目的とした研究は多くない。

そこで、今回、筆者らは、湧水及び地下水のイオン成分及び金属成分の調査を実施した。また、河川における金属成分と地

質に関する先行研究等を参考に、地質と湧水の金属成分との関係性について考察したので報告する。

詳細については、3・1 報文の項に掲載した。

### 2) 発泡現象がみられる無田川の水質検査

河川における発泡現象や油膜状物質による表面のぎらつきは、その見た目から近隣の住民の苦情の対象になりやすい。過去に表面のぎらつきや発泡現象が見られた無田川を調査地点として選定し、平成27年度から3年間の分析データから、河川の概況を把握し、発泡現象の原因を考察したので報告する。

詳細については、3・2 資料の項に掲載した。

### 3) 水生生物調査における自然災害後の指標生物の回復状況

熊本県では平成2年度から環境基準点を含む県内河川35地点を対象として、水生生物調査を行っている。

平成28年度調査では、指標生物の総個体数及び出現種類の減少が確認された。その原因については、熊本地震の影響と大雨の影響が考えられることなどが考察されている。

今回、平成28年度の調査で出現した生物種類の減少が確認された6地点において水生生物調査を実施し、その回復状況を確認したので報告する。

詳細については、3・2 資料の項に掲載した。

水質科学部 業務実績表

分類	事業名	業務	平成29年度		平成28年度	
			件数	延項目数	件数	延項目数
行政検査	(1) 公共用水域監視調査	(イ) 河川調査 (河川+河川底質)	434	4,275	344	3,395
		(ロ) 海域調査 (海水+海域底質)	31	262	46	296
		(ハ) 委託クロス調査	4	12	4	12
		小 計	469	4,549	394	3,703
	(2) 地下水質測定計画に係る調査	(イ) 概況調査、特定地点調査	48	390	88	212
		(ロ) 委託クロス調査	18	33	16	25
		小 計	66	423	104	237
	(3) 特定事業場排水監視調査	(イ) 主要工場	72	582	53	343
		(ロ) 一般工場	191	947	132	741
		(ハ) 有害工場	69	358	0	0
		小 計	332	1,887	185	1,084
	(4) 地下水保全条例に係る調査	(イ) 井水	44	168	22	65
		(ロ) 排水	55	186	45	312
		小 計	99	354	67	377
	(5) 水生生物を指標とした川の水環境調査	0	0	35	875	
	(6) 水俣湾水域環境調査	15	27	15	27	
	(7) 産業廃棄物に係る調査	85	779	105	831	
	(8) ゴルフ場で使用する農薬の分析	0	0	0	0	
	(9) 荒尾浦川流域化学物質汚染対策調査	15	265	42	214	
	(10) 飲用井戸等の行政検査	68	474	50	600	
(11) その他の行政検査	0	0	6	65		
(12) 研究所排水自主検査	10	145	11	167		
(13) 環境測定分析統一精度管理調査	2	15	6	22		
(14) 苦情・水質事故に関する分析	17	284	6	168		
(15) グリーン農業に係る地下水質調査	0	0	0	0		
(16) 調査研究等に係る分析	413	11,588	240	8,326		
委託調査	(17) 化学物質環境実態調査	3	15	1	8	
総計			1,594	20,805	1,267	16,704



### 3 調査研究

#### 3・1 報 文

##### 1) 熊本県内での重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) 分布調査結果

大迫英夫 戸田純子\* 酒井崇 原田誠也

#### 要 旨

マダニ及び動物血液（イヌ，イノシシ等）から SFTSV 遺伝子を検査した結果，動物付着マダニの 1.9%，植生マダニの 1.0% 及び動物血液の 0.9% から SFTSV 遺伝子が検出された。また，動物血液の抗体検査では，イヌ，イノシシで抗体陽性個体が確認された。マダニの SFTSV 遺伝子陽性検体のうち，イヌに付着吸血していたフタトゲチマダニの 2 検体から SFTSV が分離された。分離されたウイルスの S 節を遺伝子解析した結果，熊本県内の SFTS 患者と同じ日本型（J1）型に分類された。

これまで患者が確認されている地域だけでなく，患者が報告されていない地域のマダニからも SFTSV 遺伝子が検出されており，マダニの刺咬防止等の感染予防方法の知識の普及・啓発が重要であると考ええる。

キーワード：SFTS，フタトゲチマダニ，日本型（J1）

#### はじめに

重症熱性血小板減少症候群（*Severe fever with thrombocytopenia syndrome*：SFTS）は，2011年に中国で初めて発表されたブニヤウイルス科の SFTSV によっておこるウイルス感染症で，主にマダニの媒介によってされる。これまでに中国，韓国，日本で患者が報告されており，日本では 2013年に初めて患者が報告された。九州，四国，中国地方を中心に 4月～10月頃に患者が多く，2018年 4月末現在で 324人<sup>1)</sup>が報告されている。感染すると一定の潜伏期（6日～2週間程度）を経て，発熱，消化器症状（食欲低下，嘔気，嘔吐，下痢，腹痛），頭痛，筋肉痛，意識障害や失語などの神経症状，リンパ節腫脹，皮下出血や下血などの出血症状などを起こし，死亡率は 6.3～30%と報告されてお

り高い。検査所見は白血球減少，血小板減少，AST・ALT・LDH の血清逸脱酵素上昇が多くの症例で認められる。CRP 上昇は軽度又は認められない。血清フェリチンの上昇や骨髄での血球貪食像も認められることがある<sup>1)</sup>。熊本県の SFTS 患者は 2018年 4月現在で 10名報告されており，国の網羅的 SFTSV の分布調査でも，熊本県のシカから抗体陽性個体が確認されている<sup>2)</sup>が，詳細な SFTSV の分布は不明である。そこで，感染防止の一助とするため，熊本県内のマダニ SFTSV 保有状況と動物の SFTSV 感染状況調査を行ったので報告する。

#### 材料と方法

\*現菊池振興局保健福祉環境部

## 1 マダニ

2013年4月～2018年3月までに熊本県内の患者が発生している地域を中心に旗振り法により採取した植生マダニ 2037 個体と熊本県動物愛護センター、熊本県内保健所、動物病院、及びイノシシ、シカ等を処理する食肉処理施設で採取された、動物付着マダニ 951 個体を用いた。採取されたマダニは種類を同定後、成虫 2 個体、若虫 10 個体、幼虫 20 個体を上限としてプールし、1mL の PBS (-) で乳剤とし、1005 検体（植生マダニ 397 検体、動物付着マダニ 608 検体）を検査材料とした。また、2011～2013 年 3 月末までに採取し、-80 度で保存されていたイヌ付着マダニの PBS 乳剤 152 検体（152 個体）も検体としたため、合計 1, 157 検体（植生マダニ 397 検体、動物付着マダニ 760 検体）を検査材料とした。

これら検査材料の PBS 乳剤からの RNA 抽出、SFTSV 遺伝子確認は国立感染症研究所獣医科学部が作成した「マダニからの SFTS ウイルス検出マニュアル」に準じ実施した。遺伝子検査で陽性となった PBS 乳剤の遠心上清を Vero 細胞に接種し、常法に従いウイルス分離を行った。CPE が認められない場合は 6 代まで継代した。

分離株の全塩基配列（L 節、M 節、S 節）の決定は国立感染症研究所に依頼した。塩基配列の解析は MEGA6.06 を用いて、最尤法により系統樹解析を行った。

## 2 動物血液

熊本県内の動物病院及び食肉処理施設で採取された動物血液 108 検体（イヌ 38 検体、ネコ 8 検体、イノシシ 45 検体、シカ 17 検体）を検査材料とした。SFTSV

の遺伝子検査は血液 300  $\mu$  L を用いて、マダニの検査法と同様の方法で RNA 抽出と遺伝子確認を実施した。また、SFTS 患者検体から Vero 細胞で分離された SFTSV 株を用いて、蛍光抗体法による IgG 抗体検査を実施した。血清を段階希釈し、希釈倍率 20 倍以上で特異的蛍光を確認した検体を抗体陽性と判定した。

## 検査結果

### 1 マダニ

動物付着マダニはオオトゲチマダニ (*Haemaphysalis megaspinosa*:H.m) (53 検体 73 個体)、キチマダニ (*H.flava*:H.fl) (257 検体 335 個体)、タカサゴチマダニ (*H.formosensis*:H.fo) (67 検体 105 個体)、フタトゲチマダニ (*H.longicornis*:H.l) (204 検体 330 個体)、ヤマアラシチマダニ (*H.hystricis*:H.h) (92 検体 122 個体)、タカサゴキララマダニ (*Amblyomma testudinarium*:A.t) (82 検体 102 個体)、ヤマトマダニ (*Ixodes ovatus*:I.o) (5 検体 6 個体) 採取された。これらのうちイヌに付着していたフタトゲチマダニ 8 検体、キチマダニ 2 検体、イノシシに付着していたヤマアラシチマダニ 3 検体、タカサゴキララマダニ 2 検体の計 15 検体が PCR 検査で SFTSV 遺伝子陽性であった（表 1）。マダニは全て吸血していた。植生マダニはキチマダニ (33 検体 77 個体)、タカサゴチマダニ (219 検体 1396 個体)、フタトゲチマダニ (60 検体 361 個体)、ヒゲナガチマダニ (*H.kitaokai*:H.k) (12 検体 32 個体)、ヤマアラシチマダニ (42 検体 101 個体)、タカサゴキララマダニ (60 検体 361 個体)、アカコッコマダニ (*I.turdus*:I.t) (13 検体 38 個体) が採取された（表 2）。そのうちタカサゴチマダニ 2 検体、フタトゲチマダニ 1 検体、ヤ

表 1 動物付着マダニ検査結果

動物種 (頭数) マダニの 種類	イヌ (309)	イノシシ (49)	シカ (14)	ネコ (6)	ヒト (10)	マダニ種別 合計
H.m	0/25(25)	0/1(1)	0/27(47)			0/53(73)
H.fl	2/216(256)	0/11(11)	0/29(67)		0/1(1)	2/257(335)
H.fo	0/5(5)	0/61(98)		0/1(2)		0/67(105)
H.l	8/175(249)	0/3(4)	0/24(74)	0/1(2)	0/1(1)	8/204(330)
H.h	0/66(76)	3/21(29)	0/4(16)	0/1(1)		3/92(122)
A.t	0/11(16)	2/59(72)	0/2(2)	0/2(2)	0/8(10)	2/82(102)
I.o	0/4(5)			0/1(1)		0/5(6)
宿主別合計	10/502(632)	5/156(215)	0/86(206)	0/6(8)	0/10(12)	15/760(1,073)

陽性/検体数 (個体数)

マアラシチマダニ 1 検体の計 4 検体が PCR 検査で SF TSV 遺伝子陽性であった (表 2)。動物付着マダニと植生マダニの PCR 陽性マダニの採取された地域 (保健所区域) は、天草 8 検体、山鹿 3 検体、御船 3 検体、八代 3 検体、有明 1 検体及び人吉 1 検体であった (図 1)。イヌ付着マダニで SFTSV の PCR 陽性であったフタトゲチマダニ 2 検体から SFTSV が分離された。マダニから分離された SFTSV の S 節の塩基配列を系統樹解

析した結果、熊本県内の SFTS 患者から検出された SF TSV 遺伝子と同じクラスターに分類され (図 2)、また、全塩基配列の解析結果も日本で多く確認されている遺伝子型 (J1) に分類された (図 3)。

## 2 動物血液

SFTSV の遺伝子検査の結果、イノシシ 43 検体中 1 検体が SFTSV 陽性であった。天草地域で捕獲された個体であった。IgG 抗体検査の結果、イヌ 2 頭、イノシシ 3 頭の血液から SFTSV の IgG 抗体が検出され、抗体価は 40 倍～160 倍であった (表 3)。抗体が確認された動物の生息地域はイヌが菊池と八代、イノシシは全て天草であり、イヌは家庭の飼養犬であった。

表 2 植生マダニ検査結果

マダニの種類	陽性/検体数 (個体数)
H.fl	0/33(77)
H.fo	2/219(1,396)
H.l	1/60(361)
H.k	0/12(32)
H.h	1/42(101)
A.t	0/18(32)
I.t	0/13(38)
合計	4/397(2,037)

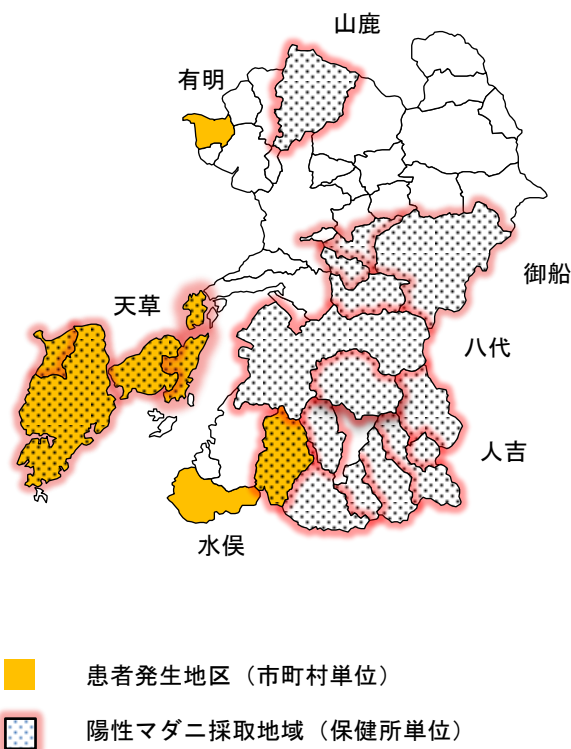
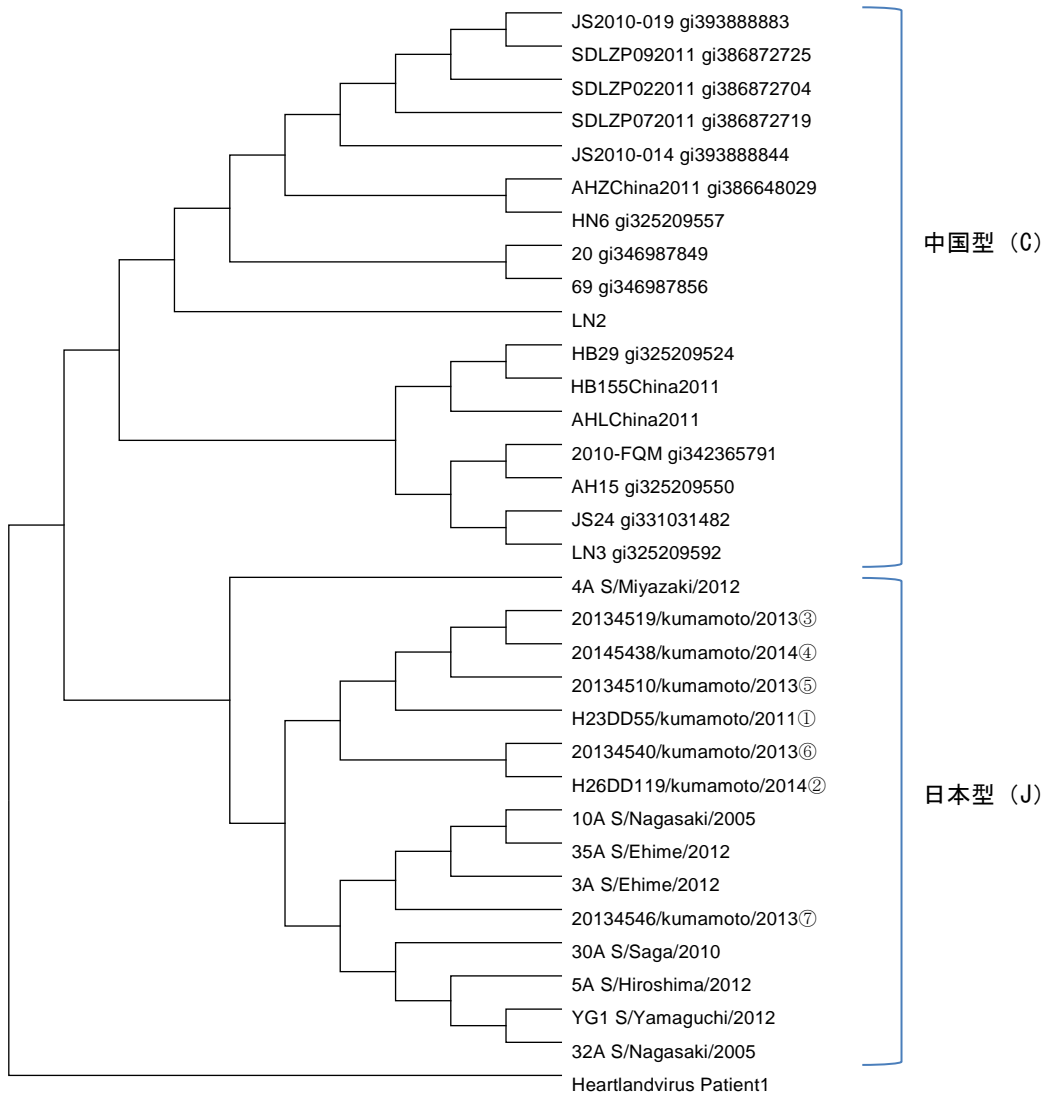


図 1 県内の SFTS の患者及びウイルス分布状況

表 3 動物血液検査結果

	検体数	SFTSV 遺伝子陽性数	IgG 抗体陽性数	抗体価				
				20	40	80	160	≥ 320
イヌ	38		2		1	1		
イノシシ	45	1	3		1	1	1	
シカ	17		0					
ネコ	8		0					
計	108	1	5		2	2	1	



①, ② マダニ分離株 ③~⑦SFTS 患者株

図2 SFTSV 系統樹解析結果 (S 節)

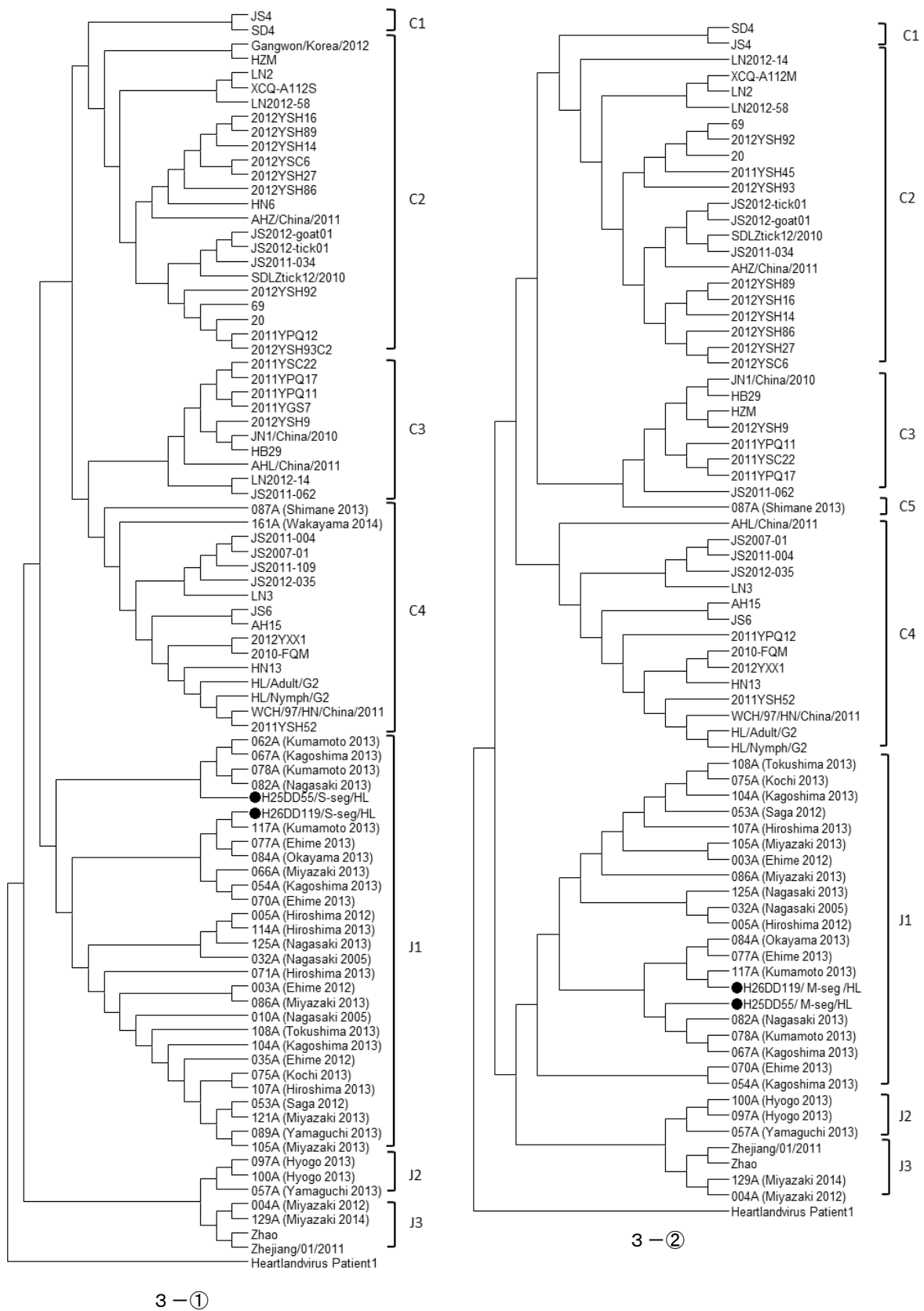
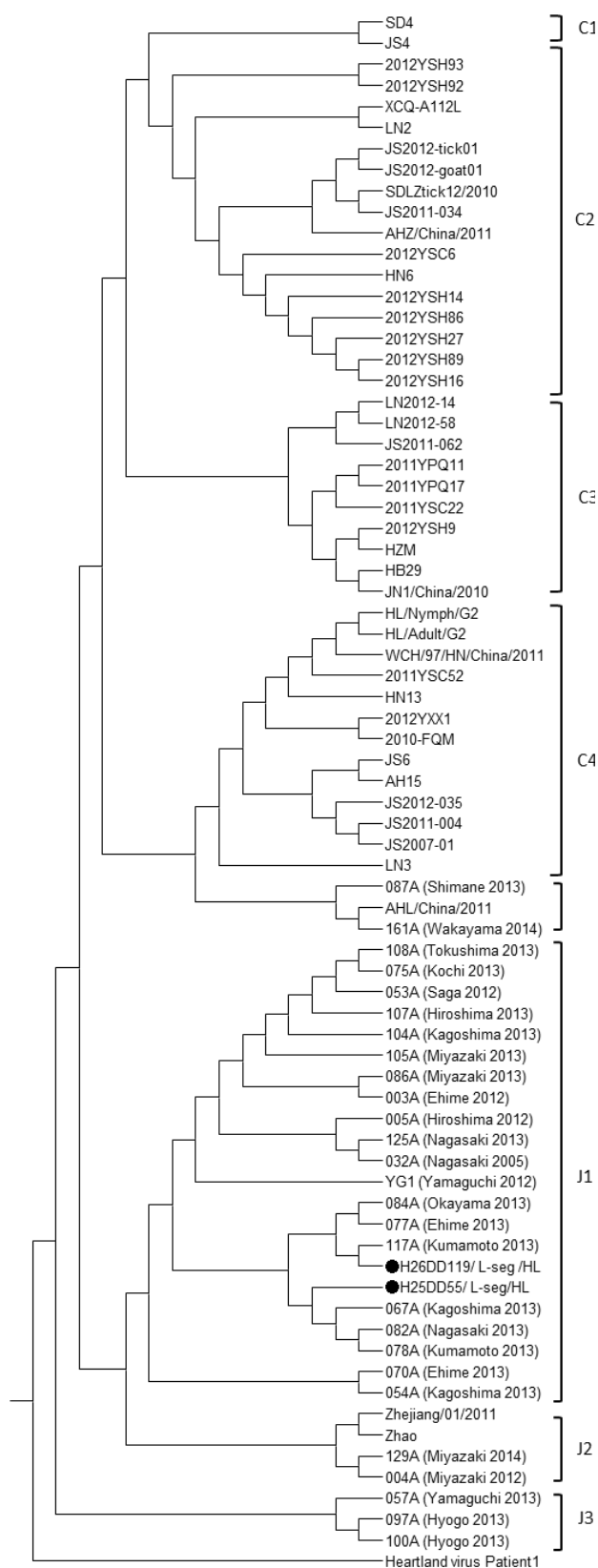


図3 マダニ分離 SFTSV の系統樹解析結果 (3-①S節 3-②M節 3-③S節)

● : マダニ分離株



3-③

### まとめ

熊本県内で採取された動物付着及び植生マダニの SFTSV の遺伝子検査の結果、それぞれ 760 検体中 15 検体（陽性率 2.0%）、397 検体中 4 検体（陽性率 1.0%）が SFTSV 遺伝子陽性で、陽性のマダニ種はフタトゲチマダニ、ヤマアラシチマダニ、キチマダニ、タカサゴキララマダニの 2 属 4 種であった。また、陽性マダニが、天草、山鹿、御船、八代、有明及び人吉の 6 地域から検出された。熊本県の患者報告地域である、天草、人吉、水俣、有明以外の地域（山鹿、御船、八代）からも SFTSV 陽性マダニが検出されていることから、患者未発地域でも患者が発生する危険性が考えられた（図 1）。SFTS 患者が多い鹿児島県及び高知県における植生マダニの SFTSV 遺伝子陽性率は、それぞれ 1.9%<sup>3)</sup> 及び 2.03%<sup>4)</sup> と報告されている。これらの結果から、患者が発生している地域では少なくとも一部のマダニの数が SFTSV を保菌していると考えられた。

SFTSV は、中国で多く認められる遺伝子型（C1～5）と日本で多く認められる型（J1～3）に分けられる<sup>5)</sup>。イヌを吸血したマダニから分離された 2 株の SFTSV 遺伝子解析の結果、これら 2 株の塩基配列は、主に日本の患者から検出される遺伝子型のグループ（J1）型に分類された。熊本県の SFTS 患者と遺伝子的には同じ系統であった。日本でも稀に C 型が認められ、韓国では C 型と J 型が混在して認められる。韓国の SFTS 患者の SFTSV 遺伝子解析と疫学調査から、推定感染場所が渡り鳥のルートと重なるため、トリが付着した SFTSV 保有マダニを持ち込む可能性が報告されている<sup>6)</sup>。

動物血液の 108 検体中、天草で捕獲されたイノシシ 1 検体（陽性率 0.9%）の血液から SFTSV 遺伝子が検出された。また、抗体検査の結果、菊池、八代のイヌと天草のイノシシの計 3 頭から SFTSV の IgG 抗体が検出された。抗体陽性イヌは家庭の飼養犬であったことから、ペットが SFTSV 保有マダニを持ち込む危険性が考えられた。ペットのマダニ対策が重要である。下田らは、和歌山県での 2007 年からのアライグマ SFTSV 調査で、当初 0% だった抗体保有率が 2014 年には 24.2% になり、同じ時期に和歌山県で初めて SFTS 患者が報告されたこと、SFTSV 遺伝子がアライグマや飼育犬から検出され、更にアライグマの糞便から SFTSV 遺伝子が検出されたことを報告している<sup>7)</sup>。近年、各地域でイノシシやシカなどの野生動物による農作物被害が問題となっている。SFTSV やリケッチア感染症等のマダニ媒介感染症が発生している地域でのこれら野生動

物の増加は、マダニ媒介感染症の発地域拡大や患者数増加を招く危険性がある。熊本県でも、イノシシやシカなどによる農作物の被害が多く、地域ぐるみで侵入防止対策がとられているものの、被害は高い水準にある。また、県内でのアライグマ目撃情報が増えるなど、外来生物が生息域を拡大し、また、野生動物のヒトの生活領域へ侵入が多いことから、熊本県内でのSFTS、日本紅斑熱などのマダニ媒介感染症が増加するリスクは高い。さらに、ネコからの咬傷歴があるヒトのSFTS発症事例が確認されていることから、マダニを介さないSFTSV感染も注意する必要がある。SFTSは治療に関する臨床研究が開始されているが、治療薬はなく対処療法が中心である。また、高齢者の死亡率が高い傾向にあり、感染予防が重要である。我々はこれまでの調査結果を取りまとめ、ホームページへの掲載、保健所や医療団体と協力して患者が多い地域住民や医師を対象とした講習会等を実施して、患者発生が少なくなるように啓発にも努めている。

今後もマダニや動物のモニタリングを継続し、データを公表することで、熊本県内でのマダニ媒介感染症予防の一助になるように努めていきたい。

#### 謝辞

今回の調査研究に関して、熊本県動物愛護センターの職員の皆様、開業獣医師の先生方、食肉処理業者の皆様、国立感染症研究所 獣医科学部の森川茂先生、藤田修先生、ウイルス第1部の吉河智城先生など多く

の方々から協力・助言・御指導頂きました。お礼申し上げます。

#### 文献

- 1) 国立感染症研究所 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) <http://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/3143-sfts.html>
- 2) 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスの国内分布調査結果 (第一報) IASR Vol. 34p. 303-304 : 2013年10月号
- 3) 岩元由佳, 山本真美ら. 2015. マダニのSFTSウイルス保有状況等に関する調査研究 (第I報). 鹿児島県環境保健センター所報. 第16号
- 4) 戸梶彰彦, 谷脇妙ら. 2016. 高知県南部におけるマダニ相および重症熱性血小板減少症候群ウイルス調査. 高知衛研報. 62 : 25-28
- 5) Tomoki Yoshikawa, Masayuki Shimojima *et al.* : Phylogenetic and Geographic Relationships of Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome Virus in China, South Korea, and Japan : JID 2015 : 212 (15 : September)
- 6) Yeojun Yun, Sang Taek Heo *et al.* : Phylogenetic Analysis of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus in South Korea and Migratory Bird Routes between China, South Korea, and Japan : Am. J. Trop. Med. Hyg. 93 (3), 2015, pp. 468-474
- 7) 下田宙, 鞆田龍星ら 2016. 獣医学の立場から見た重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス/モダンメディア 62巻2号

## 2) HUS 患者から分離された EHEC O76 : H7 (*stx2/eae* 陽性) 及び EPEC O76 : H7 (*eae* 陽性) の細菌学的検討

小原敦美 近藤ひとみ 松本一俊 大迫英夫 原田誠也

### 要 旨

溶血性尿毒症症候群 (HUS) を発症し、腸管出血性大腸菌 (EHEC) の感染が疑われた患者便から、市販の病原大腸菌免疫血清 (デンカ生研) には含まれていない、希な O 血清型の EHEC O76 : H7 を分離した。しかし、患者便を塗抹培養した分離培地上の EHEC 様のコロニーは、ほとんどが志賀毒素遺伝子 (*stx*) 陰性の腸管病原性大腸菌 (EPEC) O76 : H7 であり、感染時に *stx* 陽性であった EHEC O76 : H7 から Stx フェージが脱落したものと結論づけた。

キーワード : EHEC, O76 : H7, Stx フェージ, 脱落

#### はじめに

腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli* : EHEC) 感染症の主要症状は、腹痛や血便を主徴とする出血性大腸炎であるが、乳幼児や免疫機能の低下した高齢者では溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome : HUS) や脳症などの重篤な合併症を継発し、死に至ることもある。

EHEC の最も重要な病原因子とされる志賀毒素 (Shiga toxin : Stx) は、Stx1 と Stx2 に大別され、菌によりどちらか一方、もしくは両方を産生する。Stx1 と Stx2 の遺伝子はそれぞれ染色体上にプロフェージとして溶原化した Stx1 フェージと Stx2 フェージにコードされ、疫学的調査研究から、Stx2 の方が重症化しやすいと考えられている。

2017年6月、EHEC感染が疑われたが便培養でEHECが確認できず、原因不明となっていたHUS患者便の依頼検査において、PCR法を活用することで市販の病原大腸菌免疫血清(デンカ生研)には含まれていない、希なO血清型のEHEC O76 : H7 (*stx2/eae* 陽性)を分離することができた。しかし、分離培地上に純培養状に生育したEHEC様コロニーのほとんどが*stx2*陰性であり、*eae*のみ陽性のEHEC O76 : H7であったことから、腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *Escherichia*

*coli* : EPEC) と同定された。

そこで、同一血清型を示すこれら2種類の下痢原性大腸菌 O76 : H7 が、もともと異なっていたのか、あるいは Stx2 フェージの脱落によるものかを判断するため、細菌学的検討を行った。

#### 材料及び方法

##### 1 患者情報

患者は3歳男子の保育園児で、平成29年6月25日、朝から保育園に行ったが、胃腸炎症状(粘液・血便10回、嘔吐、食欲不振)を呈したため早退した。翌26日に近隣の病院を外来受診し入院となった。頻回の血性下痢、腹痛、及び嘔吐があり、症状の改善がみられないため、28日に小児ICUを備えた基幹病院へ転院となった。患者は腎機能が徐々に低下し、HUSと判断された。

近隣の病院で行われた便培養検査では、ロタウイルス、腸管アデノウイルス、及びカンピロバクターは陰性であった。大腸菌は多数分離されたが、市販の病原大腸菌免疫血清(デンカ生研)に凝集する血清型の大腸菌は認められなかった。一方、基幹病院ではEHEC O157は陰性と判定された。しかし、培養検査でその他の検査結果が判明するまでには1週間ほど必要であっ



たため、基幹病院から患者の管轄保健所経由で本研究所に行行政試験検査が依頼された。

## 2 検査材料

患者が最初に受診した病院に保存されていた患者便と患者便の直接分離培地（ドリガルスキー改良培地及び S-MAC 寒天培地各 1 枚）、及び基幹病院で採取された患者血清（第 12 病日）を検査材料とした。

また、細菌学的検討には、患者便から分離された *stx2* 陽性の EHEC O76 : H7 と *stx2* 陰性の EPEC O76 : H7 を使用した。

## 3 検査方法

### 1) PCR 法による EHEC のスクリーニング

搬入された直接分離培地のコロニー密集部をスワイプし、アルカリ熱抽出法で調整したテンプレート DNA を用いて、Cebla らの *stx1* 及び *stx2* プライマー<sup>1)</sup> に Schmidt らの *stx2f* プライマー<sup>2)</sup> を加えて構築した *stx*-PCR を行った。さらに、複数の EHEC 様コロニーから、*stx*-PCR 及び伊藤らが構築した EpAll-PCR (*eae*, *aggR*, *astA*, *afaD*, 及び *bfpA* の各遺伝子を検出)<sup>3)</sup> を行った。

同時に搬入された患者便は、クロモアガー-STEC 寒天培地（関東化学）及び DHL 寒天培地（日水）に画線培養後、生育した多数の EHEC 様のコロニーについて、上記の PCR 法で EHEC のスクリーニングを行った。

### 2) 鑑別培養及び血清型別

分離培地上の EHEC 様コロニーを釣菌し、常法により TSI, LIM, CLIG, 及び TSA の各培地で、鑑別培養を行った。また、病原大腸菌免疫血清（デンカ生研）を用いて O 及び H 血清型の同定を試みた。さらに、Iguchi らが開発した *E. coli* O-genotyping PCR 法<sup>4)</sup> を用い、O 抗原遺伝子により血清型 (Og 型) を決定した。

### 3) シークエンス解析による *bfpA* 様 PCR バンドの確認

EpAll-PCR で *bfpA* の位置にバンドが検出されたが、*bfpA* 陽性の EHEC はこれまで経験がなかったため、*bfpA* の単独プライマーで再度 PCR を行ったところ、バンドは見られなくなった。そこで、EpAll-PCR に用いる 10 種類のプライマーを 2 種類ずつ組合せて PCR を行い、*bfpA* の位置にバンドが検出される組合せを調べた。また、バンドが検出された PCR 反応液を ExoSAP-IT (Thermo Fisher Scientific) で精製後、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit によるダイレクトシークエンス法で塩基配列を決定 (ABI3500 Genetic Analyzer) し、BLAST 検索を行った。

### 4) 生化学的性状検査

*stx2* 陽性と陰性の大腸菌 O76 : H7 について、糖分解試験等を追加し、生化学的性状を比較した。

### 5) 薬剤感受性試験

米国臨床検査標準協会 (Clinical and Laboratory Standards Institute : CLSI) 標準ディスク拡散法<sup>5)</sup> に従い、市販のセンシ・ディスク (日本 BD) を用いて Kirby-Bauer 法で実施した。使用薬剤はアンピシリン (ABPC ; 10 $\mu$ g), セフトジジム (CAZ ; 30 $\mu$ g), セフメタゾール (CMZ ; 30 $\mu$ g), セフミノクス (CMNX ; 30 $\mu$ g), ストレプトマイシン (SM ; 10 $\mu$ g), エリスロマイシン (EM ; 15 $\mu$ g), テトラサイクリン (TC ; 30 $\mu$ g), クロラムフェニコール (CP ; 30 $\mu$ g), ナリジクス酸 (NA ; 30 $\mu$ g), シプロフロキサシン (CPFX ; 5 $\mu$ g), ホスホマイシン (FOM ; 50 $\mu$ g), ST 合剤 (ST ; 23.75 $\mu$ g/1.25 $\mu$ g) の 12 剤である。判定は、ディスク添付の判定表に基づき、阻止円の直径により、感受性 (S), 中間 (I), 及び耐性 (R) とした。

### 6) パルスフィールドゲル電気泳動 (Pulsed-field gel electrophoresis : PFGE) 解析

米国疾病予防管理センター (CDC) のパルスネットの EHEC O157 標準プロトコール<sup>6)</sup> に準じ、CHEF-DR III システム (Bio Rad 社) で実施した。使用した制限酵素は *XbaI* (Takara) である。

### 7) 次世代シーケンサー (Next generation sequencer : NGS) によるフルゲノム解析

国立感染症研究所細菌第一部に依頼し、MiSeq システム (イルミナ社) により全ゲノムデータを取得し、*Stx2* ファージの挿入部位の検索、病原遺伝子検索、及び一塩基多形 (Single Nucleotide Polymorphism : SNP) 解析等を行った。

### 8) EHEC 076 に対する患者血清の抗体価測定

国立感染症研究所編集の腸管出血性大腸菌検査・診断マニュアル<sup>7)</sup> に従い、マイクロプレート法で O76 抗原に対する患者血清中の凝集抗体価を測定した。

### 9) *Stx2* ファージの安定性評価試験

分離された *stx2* 陽性の EHEC O76:H7 について、*Stx2* ファージの安定性を確認するため、本菌を TSA に培養し、約 3 ヶ月間室温で保存した。この培地から 1 ヶ月後、2 ヶ月後、及び 3 か月後にクロモアガー-STEC 寒天培地で再分離し、それぞれ約 25 コロニーについて *stx2* の有無を検査した。

## 結果

### 1) PCR法によるEHEC等のスクリーニング

搬入された2枚の直接分離培地のうち、ドリガルスキー改良培地のコロニー密集部のスワイプ試料から、*stx*-PCRで*stx2*の位置にバンドが検出された。そこで、ドリガルスキー改良培地を中心に、各直接分離培地から複数のコロニーを釣菌し、*stx*-PCR及びEpAll-PCRを

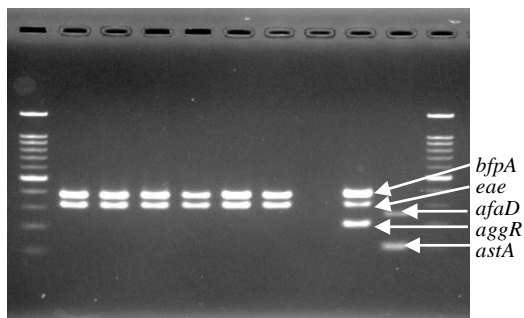


図1 EpAII-PCR法による検出例

ほとんどのコロニーから *eae* と *bfpA* の位置にバンドが検出された。



図2 便を培養したクロモアガー-STE C 寒天培地

クロモアガー-STE C 寒天培地上には藤色の EHEC 様コロニーが純培養状に発育した。

表1 分離された大腸菌 O76:H7 の生化学的性状

生化学的性状試験	Stx2陽性株	stx2陰性株	生化学的性状試験	Stx2陽性株	Stx2陰性株
Indole	+	+	Acid from Dulcitol	+	+
Motility	+	+	Inositol	-	-
ONPG	+	+	Lactose	+	+
$\beta$ -Glucuronidase	+	+	Maltose	+	+
Citrate (Simmon's)	-	-	Mannitol	+	+
Citrate (Christensen's)	-	-	Melibiose	+	+
H <sub>2</sub> S	-	-	$\alpha$ -Methyl-D-glucoside	-	-
Voges-Proskauer	-	-	L-rhamnose	+	+
Lysine decarboxylase	+	+	D-raffinose	+	+
Ornithine decarboxylase	-	-	Salicin	(+)	(+)
Arginine dihydrolase	+	+	Amygdalin	(+)	(+)
D-glucose, acid	+	+	D-sorbitol	+	+
D-glucose, gas	+	+	L-sorbose	-	-
Acid from Adonitol	-	-	Sucrose	+	+
L-arabinose	+	+	Trehalose	+	+
Cellobiose	-	-	D-xylose	+	+

表2 分離された大腸菌 O76:H7 の薬剤感受性

感受性ディスク	Stx2陽性株	Stx2陰性株	感受性ディスク	Stx2陽性株	Stx2陰性株
ABPC	S	S	TC	S	S
CAZ	S	S	CP	S	S
CMZ	S	S	NA	S	S
CMNX	S	S	CPFX	S	S
SM	I	I	FOM	S	S
EM	R	R	ST	S	S

行ったところ、*stx*はすべて陰性であったが、ほとんどのコロニーから *eae* 及び *bfpA* の位置にバンドが検出された。検査結果の一部を図1に示した。

また、患者便を培養したクロモアガー-STE C 寒天培地上には、図2のように藤色の EHEC 様コロニーが純培養状に生育したが、これらのコロニーからも *stx2* のバンドはなかなか検出できなかった。最終的に約250コロニーを検査し、そのうちわずかに2コロニーが *stx2*, *eae*, 及び *bfp* 陽性と判定された。

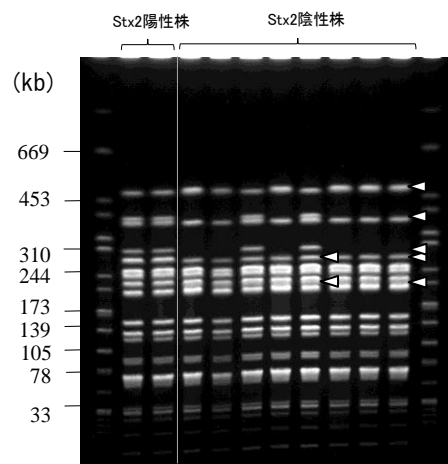


図3 分離された大腸菌 O76:H7 の PFGE 像

◁ : Stx2 陽性株のパターンから変化した部位  
Stx2 陰性株には陽性株と異なる2つのパターンがみられた。

すなわち、この時点では患者便から2株の EHEC (*stx2/eae/bfpA* 陽性) と多数の EPEC (*eae/bfpA* 陽性) が分離されたと判断した。

## 2) 鑑別培養及び血清型別

分離された *stx2* 陽性株と陰性株 (ともに *eae* 及び *bfpA* 陽性) は、鑑別培養とともに典型的な大腸菌の性状を示したが、病原大腸菌免疫血清の O 血清に凝集しなかった。そこで、*E. coli* O-genotyping PCRを行ったところ、ともに O<sub>g</sub>76 と同定された。なお、H 抗原は H 血清で型別可能であり、ともに H7 と同定された。

## 3) シークエンス解析による *bfpA* 様バンドの確認

EpAII-PCRで *bfpA* の位置に検出されたバンドは、*bfpA* と *astA* のリバープライマー同士で増幅された非特異バンドであった。PCR産物の塩基配列を決定し、BLAST検索を行ったところ、IS256 family の transposase の一部であることが判明した。

## 4) 生化学的性状検査

*stx2* 陽性と陰性の大腸菌 O76 は、表1のとおり同一の生化学的性状で、ソルボース非発酵性であった以外は

通常の大腸菌の性状であった。

#### 5) 薬剤感受性試験

*stx2*陽性と陰性の大腸菌O76は、EMを除くほとんどの薬剤に感受性であり、表2のとおり同一の感受性パターンを示した。

#### 6) PFGE解析

*stx2*陽性と陰性の大腸菌O76:H7のPFGE像を図3に示した。両株の泳動パターンは類似していたが、200kb以上の領域で数バンドの違いがあり、*stx2*陰性株には*stx2*陽性株と異なる2種類のパターンが認められた。

#### 7) NGSによる全ゲノム解析

PFGEパターンの異なった3株の大腸菌O76:H7(*stx2*陽性株:1株、*stx2*陰性株:2株)を用いてNGS解析を行ったところ、*stx2*陽性株のStx2ファージ組込み部位はゲノム上の*wrbA*のローカスであり、*stx2*の亜型は*stx2a*であった。また、*stx2*陰性の2株はStx2ファージを含んでいなかった。なお、塩基配列を得ることができたStx2ファージの前半部分約45kbpは、2011年にドイツを中心に集団発生を起こしたO104のStx2ファージと高い相同性を示した。

病原因子解析では、*stx2*陽性株は多数の病原遺伝子(*stx2*, *astA*, *cif*, *eae*, *ehxA*, *espA*, *espF*, *espI*, *espJ*, *lpfA*, *nleA*, *nleB*, *nleC*, *tir*, *toxB*)を保有していたが、*stx2*陰性の2株も*stx2*以外はすべて保有していた。

さらに、全ゲノムデータからファージや繰返し配列等を除いたコアゲノムデータを用いてSNP系統解析を行ったところ、供試した3株間にSNPは全く認められず、系統樹は同一クラスターに分類された。

以上のことから、*stx2*陰性2株のPFGEパターンの違いは解明できなかったものの、*stx2*陰性株は*stx2*陽性株からStx2ファージが脱落した株と推定された。

#### 8) EHEC O76Iに対する患者血清の抗体価

発症時の血清が得られなかったため、基幹病院で採取された第12病日の血清を用い、分離された大腸菌O76抗原に対する凝集抗体価を測定したところ、1:640と高い値であった。

#### 9) Stx2ファージの安定性評価試験

*stx2*陽性EHEC O76:H7のStx2ファージは予想外に安定であり、室温で約3ヶ月間保存しても、*stx2*陰性EPEC O76:H7株を得ることはできなかった。

### 考 察

今回の事例は、患者が受診した最初の病院で起因菌が分離されていたにもかかわらず、市販の病原大腸菌免疫血清に含まれていない血清型であり、さらに培地上に生育したEHEC様コロニーのほとんどが、*stx*陰性

であったため、原因不明となっていた。しかしながら、病院、保健所及び本研究所の連携より、希な血清型であるEHEC O76を迅速に検出し、さらに患者血清中の抗大腸菌O76凝集抗体価が高値であったことと併せて、EHEC O76:H7(*stx2/eae*陽性)が起因菌であると断定することができた。

本事例では、EHECのスクリーニングに用いた*stx*-PCRとEpAll-PCR、及び*E. coli* O-genotyping PCRが非常に有効であった。まず、*stx*-PCRでコロニー密集部のスリーブ試料から*stx2*が検出されたことで、本事例がEHEC感染症であることを確信した。しかし、分離培地上に生育したEHEC様のコロニーから*stx2*は検出されず、EpAll-PCRで*eae*と*bfpA*のバンドが検出されたことから、当初はEPECとの重複感染を疑った。その後、数多くのコロニーを検査し、*stx*陽性のコロニーを検出したが、このコロニーは*eae*と*bfpA*も陽性であった。*bfpA*陽性のEHECは、これまでに分離した経験のないものであったが、検査を進めるうちに、分離されたEHECとEPECは同じ血清型O76:H7であり、両者にみられた*bfpA*様のバンドはともに非特異バンドであることが判明した。これらのことから、分離培地上に多数生育した*stx2*陰性のEPEC O76:H7は、もともと*stx2*陽性のEHEC O76:H7からStx2ファージが脱落して生じたものではないかと推測された。さらに、本事例の起因菌は、市販の病原大腸菌免疫血清に含まれていないO血清型であったが、*E. coli* O-genotyping PCR法で迅速にO血清型を同定することができた。なお、この方法を開発した宮崎大学農学部・畜産草地学科の井口研究室では現在、*E. coli* H-genotyping PCR法<sup>8)</sup>も開発しており、1週間程度かかる大腸菌のH抗原の同定が数時間で可能である。

EHEC O76:H7(*stx2/eae*陽性)によるHUS事例として、伊豫田ら<sup>9)</sup>が本事例と同様、分離の難しかった散発事例を報告している。また、病原微生物検出情報<sup>10, 11)</sup>によると、2013年と2015年に散発事例が各1事例及び2015年8月に山形県の保育所で発生した患者数7名(菌陽性者22名)の集団事例が記載されている。このうち、本事例を含め3事例でHUSを併発していることから、EHEC O76:H7(*stx2/eae*陽性)は検出頻度は低いものの、HUSを起こす可能性のある血清型として注意すべきであろう。

今回分離培地として、多くの血清型のEHECが藤色のコロニーを形成し、EHECの分離培地として評価の高いクロモアガーSTEC寒天培地<sup>12)</sup>を使用したところ、藤色のコロニーが純培養状に生育した。この中には*stx2*陽性のEHEC O76のコロニーも含まれており分離

培地として有効であったが、残念ながらそのほとんどは、*stx2* 陰性の EPEC O76 であり、*stx2* 陽性の EHEC O76 との鑑別は困難であった。なお、さまざまな O 血清型の EHEC 152 株について、市販 EHEC 選択分離培地における生育特性を調べた秋吉ら<sup>13)</sup>は 3 株の EHEC O76 を調べ、クロモアガー STEC 寒天培地には生育しない血清型として報告した。しかし、彼女らが用いた EHEC O76 は 3 株とも *stx1* 陽性及び *eae* 陰性の株であり、本事例の分離株とは病原因子が異なっている。EHEC O76 には H 抗原の異なる 2 つの血清型 (H7 及び H19) が報告されていることから、H 抗原が異なっている可能性もある。また、今回分離された EHEC O76:H7 (*stx2/eae* 陽性) 株はソルボースの発酵性が陰性であり、EHEC O111 の分離に用いられているソルボース・マッコンキー (SBMAC) 寒天も有効と思われるが、この培地でも *stx2* の有無の鑑別は困難である。

EHEC から Stx フェージが脱落する現象は、菌株の継代培養や感染後期の分離培養に伴い発生することが報告<sup>14-21)</sup>されている。感染初期から患者の腸管内で Stx フェージの脱落が起こったと考えられる事例として、Watahiki ら<sup>22)</sup>は 2011 年 4 月から 5 月にかけて富山県の焼肉チェーン店を中心に発生した O111 を主因とする食中毒事例を報告している。この事例では、*stx2* 陽性の EHEC O111 以外に、多くの患者から *stx2* 陰性の O111 が分離され、両者の PFGE パターンの類似性やゲノム解析結果から、*stx2* 陰性の O111 は、*stx2* 陽性の O111 の染色体上に不安定な状態の Stx2 プロフェージが存在し、容易に脱落したものと推察している。また、村田ら<sup>23)</sup>は山形市内で発生した EHEC O157 による食中毒事例で *stx1/stx2* 陽性株と *stx1* 陽性株を分離したが、両者の PFGE パターンが類似し、*stx1/stx2* 陽性株を室温保存することで *stx1* 陽性株が得られ、PFGE パターンが当初分離された *stx1* 陽性株と一致したことから、*stx1* 陽性株は *stx1/stx2* 陽性株から *stx2* が脱落した株であると考えられたと報告している。今回の事例も、感染初期の便を塗抹した分離培地上には EHEC 様のコロニーが純培養状に生育していたにも関わらず、ほとんどが *stx2* 陰性の EPEC O76 であった。そのため 2 株分離された *stx2* 陽性 EHEC O76 の Stx2 フェージは不安定であることが予想されたが、予想外に安定で 3 ヶ月間室温培養しても脱落しなかった。また、PFGE 解析において、*stx2* 陰性株に認められた *stx2* 陽性株と異なる 2 種類のパターンが、どのようなメカニズムで生じたのかを NGS 解析で解明しようと試みたが、明らかにすることはできなかった。今回の事象の解明は今後の検討課題である。

本事例で検出された *stx2* 陽性と陰性の大腸菌 O76 は、EpAll-PCR でともに *bfpA* の位置に非特異バンドが見られたこと、血清型、生化学的性状、及び薬剤感受性パターンが同一であったこと、さらに PFGE パターンが類似し、NGS 解析で *stx2* 以外の病原遺伝子が同一であったこと、及びコアゲノムデータによる SNP 系統解析で全く SNP が認められなかったことから、*stx2* 陰性の EPEC O76:H7 は *stx2* 陽性の EHEC O76:H7 から Stx2 フェージが脱落した株であると結論づけた。

このように、ヒト腸管における Stx フェージの脱落や獲得は、ある程度の頻度で起こっている可能性がある。EHEC 感染が疑われ起原因菌が検出できなかった際には、*stx* や *eae* 等を検出する PCR 法と分離された EHEC の O 抗原に対する患者血清中の凝集抗体価測定検査の併用が有効である。しかしながら、病院の PCR 装置の整備は遅れており、積極的な PCR 装置の導入が望まれる。

## ま と め

1. PCR 法を用いることで、原因不明であった HUS 患者便から、病原大腸菌免疫血清には含まれていない、希な O 血清型の EHEC O76 (*stx2/eae* 陽性) を検出・分離し、患者血清の O76 抗体価上昇と併せて HUS の起原因菌と断定した。
2. 患者便を画線培養した分離培地上の EHEC 様コロニーは、ほとんどが *stx2* 陰性の大腸菌 O76 (*eae* 陽性) であった。
3. *stx2* 陽性と陰性の大腸菌 O76 は、同一の生化学的性状及び薬剤感受性パターンを示した。
4. PFGE 解析では、*stx2* 陽性と陰性の大腸菌 O76 は非常に類似した泳動パターンであったが、*stx2* 陰性の大腸菌 O76 には *stx2* 陽性株とは異なる 2 種類の泳動パターンが認められた。
5. NGS 解析では、*stx2* 陰性の大腸菌 O76 は *stx2* フェージを含んでいないことが確認され、さらに、*stx2* フェージの有無、PFGE パターンの違いにかかわらず、コアゲノムの SNP 系統解析で SNP は全く認められなかったことから、*stx2* 遺伝子陰性の EPEC O76 は、*stx2* 陽性の EHEC O76 から Stx2 フェージが脱落したものと結論づけた。
6. EHEC O76:H7 は希な血清型ではあるが、国内では本事例を含め散発事例が 3 事例、集団事例が 1 事例報告されており、このうち 3 事例で HUS を併発していることから、注意すべき血清型であろう。

## 謝 辞

患者情報を提供していただいた公立多良木病院検査室の江崎有里技師，次世代シーケンサー（NGS）により，患者から分離された *stx2* 陽性及び陰性の大腸菌 O76 の全ゲノム解析を行っていただいた国立感染症研究所 細菌第一部の李 謙一先生，伊豫田 淳先生，及び大西 真先生，Stx フェージの解析にご協力・ご助言をいただいた富山県衛生研究所の綿引正則先生，並びに大腸菌の O 抗原及び H 抗原の遺伝子型別セットを分与していただいた宮崎大学農学部の井口 純先生に深謝します。

## 文 献

- 1) Cebula TA, Payne WL, Feng P : J Clin Microbiol. **33**, 248-50, (1995). Erratum in: J Clin Microbiol, **33**, 1048, (1995).
- 2) Schmidt H, Scheef J, Morabito S, Caprioli A, Wieler LH, Karch H. : Appl Environ Microbiol., **66**, 1205-8. (2000).
- 3) 伊藤健一郎：平成 20 年度 厚生労働省新興再興感染症研究班「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」に関する九州地区研修の新規遺伝子検出法に関する研修会テキスト,(2008).
- 4) Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Morita-Ishihara T, Scheutz F, Ohnishi M, Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan : J Clin. Microbiol. **53**, 2427-2432, (2015).
- 5) CLSI:VET01 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, 5th Edition
- 6) Hunter SB, Vauterin P, Lambert-Fair MA, Van Duyne MS, Kubota K, Graves L, Wrigley D, Barrett T, Ribot E. : J Clin. Microbiol. **43**, 1045-1050, (2005).
- 7) 国立感染症研究所編：腸管出血性大腸菌（EHEC）検査・診断マニュアル（2017年2月改訂）.
- 8) Banjo M, Iguchi A, Seto K, Kikuchi T, Harada T, Scheutz F, Iyoda S, Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan ; J Clin. Microbiol. **56**, e00190-18, (2018).
- 9) 伊豫田ら：第 18 回腸管出血性大腸菌感染症研究会プログラム抄録集, p20, 2014.
- 10) 病原微生物検出情報： **35(5)**, 15, (2014).
- 11) 病原微生物検出情報： **37(5)**, 2 及び 13, (2016).
- 12) 角屋勇気, 梅沢政功, 山崎恒, 岡元満, 林田瑞穂, 金子孝昌：日臨微誌, **22**, 231-238, (2012).
- 13) 秋吉 充子, 中村 寛海, 伊豫田 淳, 石原 朋子, 加藤 結子, 井口 純：日食微誌 **32**, 192-198, (2015)
- 14) Karch H, Meyer T, Rüssmann H, Heesemann J. : Infect. Immun., **60**, 3464-3467, (1992) .
- 15) Feng P, Dey M, Abe A, Taked T : Clin. Diagn. Lab. Immunol., **8**, 711-717, (2001).
- 16) Mellmann A, Bielaszewska M., Zimmerhackl LB, Rita Prager, Harmsen D, Tschape H, and Karch H : Clinical Infectious Diseases, **41**, 785-92, (2005).
- 17) Bielaszewska M, Prager R, Kock R, Mellmann A, Zhang W, Tschape H, Tarr P I, Karch H : Appl. Environ. Microbiol., **73**, 3144-3150, (2007).
- 18) Bielaszewska M, Kock R., Friedrich AW , Eiff C, Zimmerhack LB, Karch H, Mellmann A : PLoS ONE, 2(10): e1024, (2007).
- 19) Friedrich AW, Zhang W, Bielaszewska M, Mellmann A, Köck R, Fruth A, Tschape H, Karch H. : Clin. Infect. Dis., **45**, 39-45, (2007).
- 20) Yoshii N, Ogura Y, Hayashi T, Ajiro T, Sameshima Toshiya, Nakazawa M, Kusumoto M, Iwata T, Akiba M : Applied and Environmental Microbiol., Sept., 5719-5726, (2009).
- 21) Ferdous M, Zhou K, Mellmann A, Morabito S, Croughs PD., Boer RF, e. Kooistra-Smid AMD, Rossen JWA, Friedrich AW : J Clin. Microbiol. **53**, 3530-3538, (2015).
- 22) Watahiki M, Isobe J, Kimata K, Shima T, Kanatani J, Shimizu M, Nagata A, Kawakami K, Yamada M, Izumiya H, Iyoda S, Morita-Ishihara T, Mitobe J, Terajima J, Ohnishi M, Sata T : J Clin Microbiol., **52**, :2757-63, (2014).
- 23) 村田敏夫, 柳生裕子, 三瓶美香, 青木敏也：第 17 回腸管出血性大腸菌感染症研究会プログラム抄録集, 20, (2013).

### 3) LC/MS/MSによる食品中食品添加物の迅速一斉分析法の開発

西名武士 中原優子 富永純司  
松本理世 山口奈穂 松村光紗

#### 要旨

39成分の食品添加物の迅速一斉分析法を開発するため、70%アセトニトリル及び0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル溶液で抽出後、LC/MS/MSを用いて定量する分析法の検討を行った。また、上記分析法について、7種の食品を用いて「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に準拠した妥当性評価試験を行ったところ、良好な結果が得られた。

**キーワード** : LC/MS/MS, 食品添加物, 一斉分析

#### はじめに

食品添加物は、食品の加工若しくは保存の目的で使用される物質であり、現在、指定添加物リストに455品目、既存添加物リストに365品目、天然香料基原物質リストに614品目、一般飲食物添加物リストに112品目が収載され、食品毎に使用基準が設定されている。

本県では、上記食品添加物のうち、使用実態及び過去の検査結果から違反の蓋然性の高いものを中心に定期的に収去検査を実施しており、当所において分析を行っている。

当所での食品添加物の分析は、保存料、酸化防止剤、着色料、甘味料、防かび剤等の食品添加物の種類毎又は個別に示された公定法<sup>1)</sup>や、衛生試験法注解法<sup>2)</sup>などを用いているが、その多くは測定機器にHPLCやGCを用いるものであり、食品由来の成分による定量妨害が起きやすく、また、定性情報が不十分なため、複数の原理を用いた確認試験が必要など正確性・迅速性の面で問題が多かった。また、収去検査における行政からの検査依頼項目が、複数の食品添加物の種類に跨る(保存料と酸化防止剤等)ことも多く、1検体につき複数の分析法を用いる必要があるなど非常に煩雑であった。

なお、近年、HPLC・GC法より高感度、かつ、高選択性の質量分析計付きHPLC(LC/MS又はLC/MS/MS)による分析法が、公定法において保存料の確認試験に導入され、また、多くの研究機関により正確性・迅速性を向上させるための研究<sup>3~10)</sup>がなされているが、複数の食品添加物の種類に適用できるものは少ない。

そこで、今回、複数の食品添加物の種類に適用できる迅速一斉分析法の開発を目的に、保存料、酸化防止剤、着色料、甘味料及び防かび剤の計38項目(39成分)を対象として、LC/MS/MSを用いた食品中食品添加物の迅速一斉分析法の検討を行った。また、本法について、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」<sup>11)</sup>(以下「ガイドライン」という。)に基づく妥当性評価試験を行ったところ、良好な結果が得られたので報告する。

#### 実験方法

##### 1 分析対象食品添加物

当所で分析を行っている食品添加物のうち、表1で示したLC/MS/MSで分析が可能な38項目(39成分)を分析対象とした。

##### 2 試薬等

###### 2.1 標準品

標準品は林純薬工業製、関東化学製、和光純薬工業製、Dr.Ehrenstorfer GmbH製及びsigma-aldrich製を用いた。

###### 2.2 混合標準溶液

各標準品を秤量し、水又はメタノール若しくはアセトンに溶解後、感度、基準値及び分解性を考慮し、2系列(A及びB)に分けて表1に示す濃度(混合標準溶液中の各成分濃度は、本表に示す濃度の比率によるものとし、以下アセスルファミカリウム「AK」濃度

のみを示す。)となるように混合し、メタノール：水＝1：1で希釈した。

## 2.3 その他の試薬等

アセトニトリル：和光純薬工業製（HPLC用）  
メタノール：和光純薬工業製（HPLC用）  
アンモニア水：片山化学工業製，特級試薬  
水：精製水  
ギ酸：和光純薬工業製，LC/MS用  
酢酸アンモニウム：和光純薬工業製，試薬特級  
ろ過フィルター：Agilent製（Econofiltr PTFE，0.2μm）  
バイアル：GL Sciences製（ポリプロピレン製，1.5mL）

表1 分析対象食品添加物

NO	Name	添加物名	系列	濃度 (μg/mL)
1	AK	アセスルファムカリウム	A	25
2	Auramine	オーラミン	A	2.5
3	B1	青色1号	A	25
4	BHA	ブチルヒドロキシアニソール	A	25
5	Cyclamate	サイクラミン酸	A	25
6	Dehydro	デヒドロ酢酸	A	25
7	FLD	フルジオキソニル	A	25
8	G3	緑色3号	A	250
9	Green-S	グリーンS	A	25
10	IMZ	イマザリル	A	2.5
11	NDGA	ノルジヒドロクシアレチック酸	A	2.5
12	OG	没食子酸オクチル	A	2.5
13	Patent-Blue	パテントブルーV	A	25
14	PG	没食子酸プロピル	A	2.5
15	POBA_B	パラオキシ安息香酸ブチル	A	25
16	POBA_E	パラオキシ安息香酸エチル	A	25
17	POBA_IB	パラオキシ安息香酸イソブチル	A	25
18	POBA_IP	パラオキシ安息香酸イソプロピル	A	25
19	POBA_P	パラオキシ安息香酸プロピル	A	25
20	Q-Yellow(di)	キノリンイエロー(ジ体)	A	25
	Q-Yellow(mono)	キノリンイエロー(モノ体)	A	25
21	R102	赤色102号	A	250
22	R104	赤色104号	A	25
23	R105	赤色105号	A	25
24	R106	赤色106号	A	25
25	R3	赤色3号	A	25
26	R40	赤色40号	A	250
27	Rhodamine-B	ローダミンB	A	2.5
28	SA	サッカリン	A	25
29	TBZ	チアベンタゾール	A	2.5
30	Y5	黄色5号	A	25
31	Azorubine	アゾルビン	B	125
32	B2	青色2号	B	1,250
33	BA	安息香酸	B	125
34	BHT	ブチルヒドロキシトルエン	B	125
35	R2	赤色2号	B	1,250
36	SOA	ソルビン酸	B	1,250
37	TBHQ	tert-ブチルヒドロキノン	B	1,250
38	Y4	黄色4号	B	1,250

## 3 試料

### 3.1 検討用試料

検討用試料には、分析対象の食品添加物が含まれないことを確認した魚肉練り製品（竹輪）を、フードプロセッサで細切したものをを用いた。

### 3.2 妥当性評価試験用試料

魚肉練り製品（竹輪），菓子類（飴及びウエハース）調味料（醤油及び味噌）及び瓶詰・缶詰食品（ホールトマト及び鯖缶）各1.0gを50mLPP遠沈管にとり、混合標準溶液をAK濃度として2.5μg/gとなるように添加し、30分間静置したものをを用いた。

## 4 LC/MS/MS測定条件

LC：Nexera X2(島津製作所社製)

・注入量：2μL

・分離カラム：GL Sciences社製 InertsustainC18 PEEK (2.1×150mm, 3μm)

・カラムオープン温度：30℃

・移動相：A液(0.001%ギ酸，12.5mM酢酸アンモニウム水)，B液(メタノール)

・グラジエント条件：表2のとおり

MS/MS：TRIPLE QUAD5500(AB SCIEX社製)

・イオン化法：ESI

・分析モード：sMRM(ポジティブ，ネガティブ同時取り込み)

表2 グラジエント条件

Min	A(%)	B(%)	Flow(mL/min)
0	100	0	0.4
5	100	0	0.4
5.1	90	10	0.4
15	0	100	0.4
22	0	100	0.4
22.1	100	0	0.4
35	100	0	0.4

## 結果及び考察

### 1 測定条件の検討

まず、MS部の測定条件を決定するため、各標準溶液1~100ng/mLをインフュージョンにより直接MS部に導入し、イオン化条件（各成分において定量用及び定性用イオンの2イオン）を検討した。その結果、表3に示す条件が各成分の最適条件となった。

また、分析カラム，移動相条件等は、ピーク形状や分離，感度を考慮しながら最適化した（表2）。

なお、一部の成分では、試験溶液中のアセトニトリル濃度によって、カラムへの保持が不十分なことによ

るピーク先端の割れや、感度の低下がみられた。このため、アセトニトリル濃度を段階的に変化させて混合標準をそれぞれ希釈し、測定結果を比較したところ、70%アセトニトリル溶液では全物質のピーク形状がシャープで、感度も良好であったため、試験溶液の組成はアセトニトリル:水 (7:3) とした。以上の条件で得られた食品添加物 39 成分(100ng/mL)のクロマトグラフ (TIC) を図 1 に示す。

表 3 各成分の最適測定条件

Name	+/-	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)
AK 1	-	161.8	81.8	-55	-22
AK 2	-	161.8	77.9	-55	-42
Auramine 1	+	268.1	147.1	66	39
Auramine 2	+	268.1	131.1	66	63
Azorubine 1	-	456.9	169.9	-150	-54
Azorubine 2	-	456.9	220.9	-60	-30
B1 1	-	747.0	169.9	-15	-78
B1 2	-	747.0	561.0	-15	-60
B2 1	-	420.9	341.0	-185	-40
B2 2	-	420.9	261.0	-185	-52
BA 1	-	120.8	77.0	-25	-16
BA 2	-	120.8	120.8	-25	-5
BHA 1	-	178.9	163.9	-15	-20
BHA 2	-	178.9	149.0	-15	-34
BHT 1	-	219.0	219.0	-145	-25
BHT 2	-	219.0	203.0	-145	-34
Cyclamate 1	-	177.9	79.9	-80	-34
Cyclamate 2	-	177.9	80.9	-80	-28
Dehydro 1	+	169.0	84.9	31	25
Dehydro 2	+	169.0	127.0	31	17
FLZ 1	+	249.1	229.0	51	14
FLZ 2	+	249.1	158.0	51	39
G3 1	-	784.9	169.9	-20	-70
G3 2	-	784.9	170.4	-20	-64
Green-S 1	+	555.0	392.0	60	30
Green-S 2	+	555.0	473.2	60	30
IMZ 1	+	297.0	159.0	61	31
IMZ 2	+	297.0	255.0	61	21
NDGA 1	-	301.0	122.0	-25	-38
NDGA 2	-	301.0	109.0	-25	-36
OG 1	-	281.1	281.1	-45	-5
OG 2	-	281.1	124.0	-45	-36
Patent-Blue 1	-	543.0	419.0	-40	-62
Patent-Blue 2	-	543.0	375.1	-40	-82
PG 1	-	210.9	123.9	-100	-32
PG 2	-	210.9	124.4	-100	-30
POBA_B 1	-	193.0	120.9	-110	-30
POBA_B 2	-	193.0	118.8	-110	-26
POBA_E 1	+	167.1	95.0	26	23
POBA_E 2	+	167.1	77.0	26	37
POBA_IB 1	-	193.0	120.9	-110	-30
POBA_IB 2	-	193.0	118.8	-110	-26
POBA_IP 1	+	181.1	138.9	46	13
POBA_IP 2	+	181.1	77.0	46	39
POBA_P 1	+	181.1	139.0	46	13
POBA_P 2	+	181.1	77.0	46	37
Q-Yellow(di) 1	-	431.9	351.8	-255	-42
Q-Yellow(di) 2	-	431.9	287.9	-255	-52
Q-Yellow(mono) 1	-	351.9	287.9	-160	-42
Q-Yellow(mono) 2	-	351.9	259.0	-160	-60

表 3 各成分の最適測定条件 (つづき)

Name	+/-	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)
R102 1	-	536.8	301.9	-40	-36
R102 2	-	536.8	536.8	-40	-5
R104 1	-	784.4	658.5	-15	-40
R104 2	-	784.4	660.4	-15	-40
R105 1	-	972.3	674.7	-30	-46
R105 2	-	972.3	127.0	-30	-128
R106 1	+	581.0	537.1	26	65
R106 2	+	581.0	581.0	26	5
R2 1	-	536.8	316.8	-200	-42
R2 2	-	536.8	237.0	-200	-58
R3 1	-	834.5	662.5	-25	-52
R3 2	-	834.5	126.8	-25	-124
R40 1	-	450.9	206.8	-170	-44
R40 2	-	450.9	206.3	-170	-60
Rhodamine-B 1	+	443.1	399.0	21	59
Rhodamine-B 2	+	443.1	355.1	21	85
SA 1	-	181.8	41.9	-95	-56
SA 2	-	181.8	105.8	-95	-26
SOA 1	+	112.9	66.9	101	19
SOA 2	+	112.9	95.1	101	13
TBHQ 1	-	164.8	121.0	-85	-38
TBHQ 2	-	164.8	149.0	-85	-34
TBZ 1	+	202.0	175.0	91	35
TBZ 2	+	202.0	131.0	91	43
Y4 1	-	466.9	197.9	-120	-24
Y4 2	-	466.9	79.9	-120	-98
Y5 1	-	406.9	206.9	-135	-42
Y5 2	-	406.9	79.8	-135	-110

※Q-Yellow は、ジ体とモノ体が検出されたため、両方の最適化を行った。

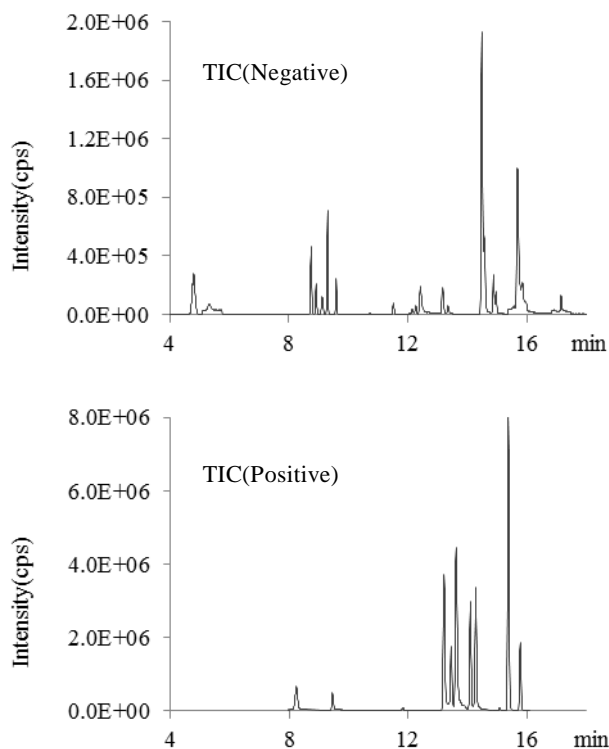


図 1 食品添加物 38 成分のクロマトグラフ (TIC)



## 2 定量範囲の確認

定量範囲を確認するため、混合標準液を AK 濃度として 4, 10, 20, 50, 75 及び 100ng/mL に調製したものを本条件で測定した。各成分の保持時間(Rt), 定量下限値(ng/mL, S/N $\geq$ 10)と上限値(ng/mL)及び得られた検量線の相関係数(r)を表 4 に示す。表 3 に示すとおり、すべての成分で定量下限値から上限値までの範囲で概ね良好な相関 (r:0.9952~1.0000)が得られたため、この範囲で定量可能であると考えられた。

表 4 各成分の定量範囲

Component	RT	下限値	上限値	R
AK	4.83	5	100	0.9994
Auramine	13.68	0.5	10	0.9999
Azorubine	12.66	25	500	0.9999
B1	12.25	5	100	0.9998
B2	9.60	250	5000	0.9995
BA	5.44	25	500	0.9992
BHA	15.01	5	100	0.9998
BHT	17.14	25	500	0.9994
Cyclamate	9.13	5	100	0.9999
Dehydro	9.56	5	100	0.9998
FLD	15.08	5	100	0.9992
G3	12.13	50	1000	0.9991
Green-S	11.84	5	100	0.9990
IMZ	15.77	0.5	10	1.0000
NDGA	14.57	0.5	10	1.0000
OG	15.68	0.5	10	0.9998
Patent-Blue	13.16	5	100	0.9994
PG	12.43	0.5	10	0.9992
POBA_B	14.95	5	100	0.9997
POBA_E	13.45	5	100	0.9992
POBA_IB	14.87	5	100	0.9998
POBA_IP	14.10	5	100	0.9998
POBA_P	14.27	5	100	0.9996
Q-Yellow(di)	10.76	5	100	0.9952
Q-Yellow(mono)	13.34	5	100	0.9990
R102	9.94	50	1000	0.9997
R104	15.45	5	100	0.9990
R105	15.73	5	100	0.9995
R106	13.59	5	100	0.9993
R2	9.31	250	5000	0.9998
R3	14.43	5	100	0.9997
R40	11.51	50	1000	0.9992
Rhodamine-B	15.39	0.5	10	1.0000
SA	8.77	5	100	0.9996
SOA	8.39	250	5000	0.9997
TBHQ	13.17	250	5000	0.9993
TBZ	13.26	0.5	10	0.9999
Y4	8.93	250	5000	0.9994
Y5	10.71	5	100	0.9993

## 3 前処理法の検討

### 3.1 抽出溶媒の検討

食品添加物検査において対象となる食品は、魚肉練り製品、菓子類等多岐にわたり、また、対象となる成分も極性の範囲が広いため、できるだけ多くの食品に適用でき、かつ、抽出効率が優れた抽出法が必要となる。そこで、抽出法は、適用食品の実績が多く 300 種以上の農薬が抽出可能な、当所で実施している残留農薬の分析法<sup>12,13)</sup>を参考に、含水アセトニトリルで 2 回抽出し、上澄みを分取・ろ過後 LC/MS/MS で測定する抽出法を検討することとし、含水アセトニトリルのアセトニトリル濃度（以下「ACN 濃度」という。）の最適値を検索した。図 2-1~2-5 に、検討用試料に AK 濃度として 2.5 $\mu$ g/g となるように混合標準液を添加し、ACN 濃度 0~100%の溶液で 2 回抽出（20mL+10mL）後、最終 AK 濃度として 50ng/ml となるように 70%アセトニトリルで希釈し LC/MS/MS で測定した場合の各成分の回収率（n=1, 添加物の種類毎）を示す。

図2-1~2-3に示した保存料、酸化防止剤及び防かび剤のすべての成分において、ACN濃度の増加に伴って回収率が上昇しACN濃度60%で回収率が100%程度に達する傾向を示したが、BHA及びTBHQではACN濃度100%で減少に転じ、また、BHTではACN濃度70%以上で回収率が100%を大きく超過した。また、図2-4に示した着色料では、多くの成分でACN濃度30%~70%で最も高い回収率を示したが、R3, R104及びR105ではACN濃度の増加に伴って回収率が上昇する傾向を示し、最高でも回収率が70%以下であった。なお、図2-5に示した甘味料では、ACN濃度に関係なく良好な回収率を示した。

以上の結果から、今回対象とした成分すべてにおいて、比較的良好的な回収率が得られた70%アセトニトリル溶液を抽出溶媒とすることにした。

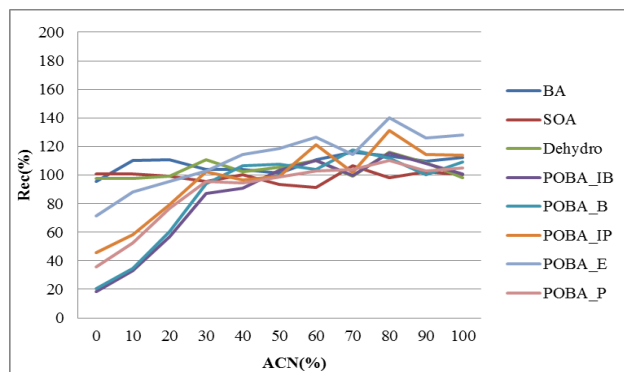


図 2-1 ACN 濃度と回収率の関係（保存料）

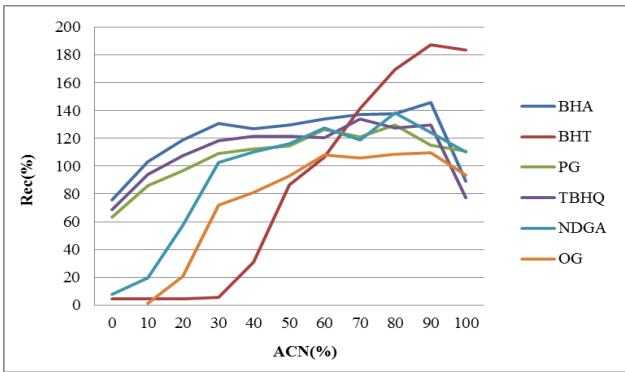


図 2-2 ACN 濃度と回収率の関係 (酸化防止剤)

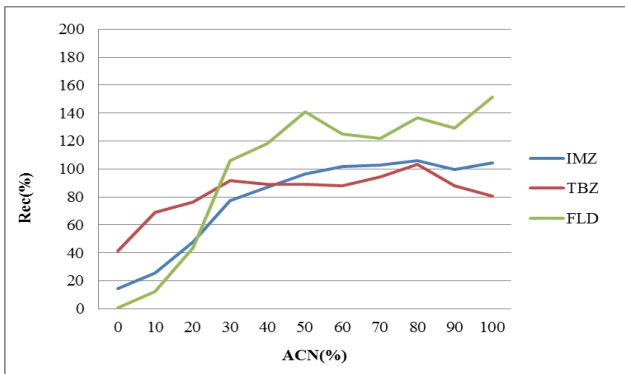


図 2-3 ACN 濃度と回収率の関係 (防かび剤)

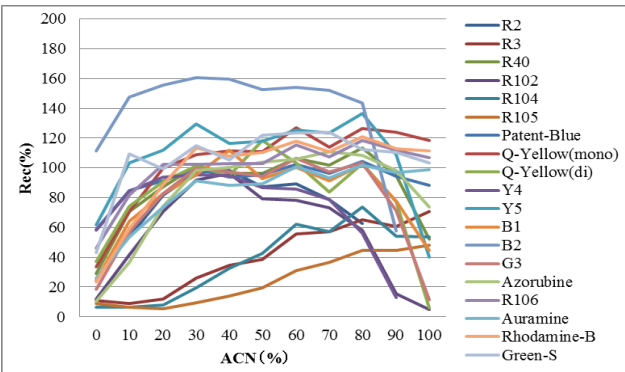


図 2-4 ACN 濃度と回収率の関係 (着色料)

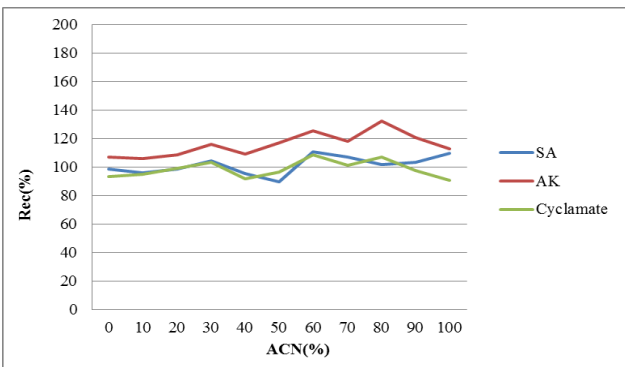


図 2-5 ACN 濃度と回収率の関係 (甘味料)

なお、前述のとおりR3等一部の着色料はACN濃度に関係なく十分な回収率が得られなかった。これは、着色料はタンパク質に結合しやすいため、含水アセトニトリルのみでは十分に抽出できなかつたこと等が考えられた。そこで、これらの抽出効率改善を目的に、70%アセトニトリル溶液20mLで抽出後に、公定法を参考に、残渣に0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル溶液10mLを加え再抽出することとし、70%アセトニトリル溶液で2回抽出(20mL+10ml)したものと回収率の比較を行った(n=1, 表5)。

その結果、0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル溶液を用いて再抽出することで、R3, R104及びR105のすべてで回収率70~120%の範囲内に入る良好な結果が得られた。一方で、NDGA, OG及びPGは回収率が0%となり、これら一部の酸化防止剤はアルカリ条件下で分解するものと考えられた。

なお、NDGA等は先の検討で70%アセトニトリル溶液により効率よくに抽出できており、1回目の抽出でほとんど抽出できていると推察された。このことから、0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル溶液を用いた2回目の抽出液を中和処理した後に、1回目の抽出液と合わせることで分解による回収率低下を防ぐことが可能であると考えられたため、当該中和の条件を検討することとした。

表5 着色料及び酸化防止剤の回収率比較(単位:%)

Name	70%ACN×2	70%ACN+ 0.1%NH3-70%ACN
R3	45.5	77.0
R104	57.3	91.7
R105	39.5	91.7
NDGA	85.5	0.0
OG	95.5	0.0
PG	102.0	0.0

### 3.2 中和の検討

検討用試料にAK濃度として2.5µg/gとなるように混合標準液を添加し、70%アセトニトリル溶液20mLで抽出(1回目)後、0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル10mLで再抽出(2回目)し、この再抽出液に中和剤として0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液を添加した後に、1回目と2回目の抽出液を合わせ、最終AK濃度として50ng/mlとなるように70%アセトニトリルで希釈後LC/MS/MSで測定した場合の回収率を算出し、ここで用いる0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液の添加量の検討を行った(n=1)。その結果を図3に示す。

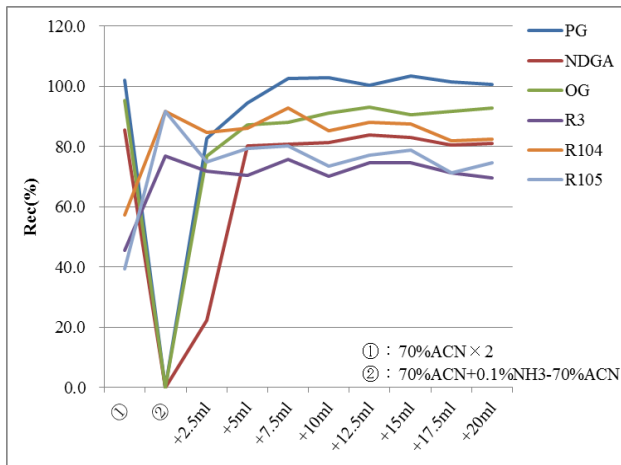


図3 0.2%ギ酸 70%ACN 添加量の検討

図3に示すように、0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液を添加することにより、NDGA等は大幅に回収率が向上し、添加量10mL以上で概ね良好な回収率が得られた。なお、R3等の着色料については、0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液の添加により、回収率の低下が認められたがその程度は低く、添加量10mL程度であれば問題ないと考えられた。

以上により、70%アセトニトリル溶液20mLで抽出後、0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル10mLで再抽出し、この再抽出液に0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液10mlを添加した後に、1回目と2回目の抽出液を合わせ、LC/MS/MSで測定する食品添加物の迅速一斉分析法（以下「本法」という。）を作成した（図4）。

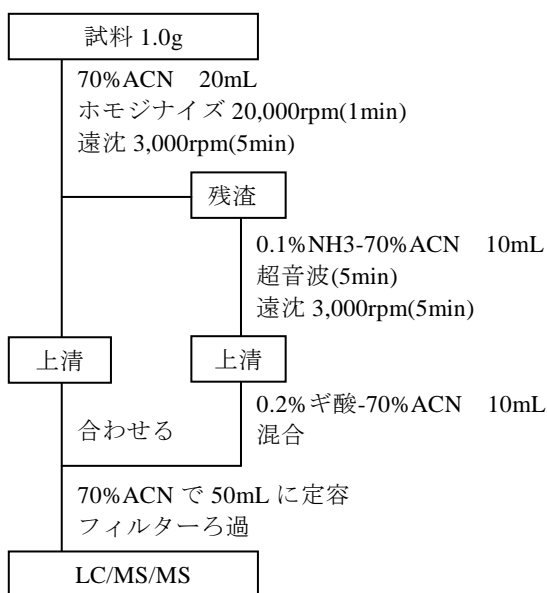


図4 本法の分析フロー

#### 4 マトリックス効果の検証

LC/MS/MS を用いた分析では、試験溶液中の夾雑物の影響により、目的成分のイオン化抑制又はイオン化促進（以下「マトリックス効果」という。）が起こり、その測定強度が変動するため、精製操作を行わない前処理法においては定量分析の障害となり易い。したがって、今回用いる前処理法も、精製操作を行わない簡易なものであることから、マトリックス効果による定量障害が懸念された。

なお、食品添加物検査において対象となる食品は、多岐にわたるため、目的成分の濃度が既知のマトリックス用検体の確保は難しく、マトリックス検量線等のマトリックス効果を補正する手法は用いることができない。

また、一般的にマトリックス効果は、LC/MS/MS のイオン化部に導入されるマトリックス量が多いほど大きくなるため、注入量を一定量以下にすることにより試料由来のマトリックス効果を低減することができると考えられた。

そこで、「AK 濃度として 50ng/mL の混合標準溶液：X」と「検討用試料を用い、本法により前処理を行った試験溶液に、混合標準液を AK 濃度として 50ng/mL となるように添加したもの：Y」について、それぞれ注入量を 1~20μL に変化させ LC/MS/MS で測定し、測定強度の比較（Y/X(%)）を行い、マトリックス効果を無視できる最適な注入量の検索を行った。図5にマトリックス効果が認められた成分の結果を示す。

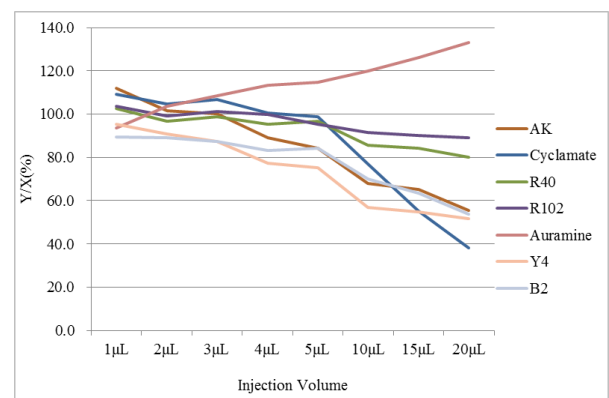


図5 マトリックス効果の検証

図5に示したとおり、AK, Cyclamate, R40, R102, Y4及びB2では注入量が増えると負のマトリックス効果が、Auramineでは正のマトリックス効果が確認された。なお、注入量が少なくなるとその影響は小さくなり、注入量が 3μL 以下ではほとんどすべての成分で Y/X が 90~110%の範囲内に入り、マトリックス効果

は無視できると考えられた。なお、先の検討では注入量を 2 $\mu$ L に設定しており、感度及び精度において特に問題がなかったため、注入量は 2 $\mu$ L とすることにした。

## 5 妥当性評価試験

食品添加物の分析法は、公定法の通則 9 により、公定法以上の精度がある場合には、公定法以外の分析法を用いることができるとされているが、精度の比較方法等妥当性評価の手法については示されていない。そこで、食品添加物と検査の目的や分析対象の性質も比較的近い農薬等の妥当性評価手法（ガイドライン）に準拠し、妥当性評価試験を行った。

本法について、3.2 妥当性評価試験用試料を用いて、分析者 5 名、2 併行での添加回収試験を実施し、真度、併行精度及び室内精度を算出した。その結果を表 6 に示す。

表 6 に示すとおり、魚肉練り製品（竹輪）、菓子類（飴）及び瓶詰・缶詰食品（ホールトマト）では 39 成分中 38 成分で真度及び精度がガイドラインの目標値（添加濃度 $>0.1\mu\text{g/g}$  のとき：真度 70~120%，併行精度 $<10\%$ ，室内精度 $<15\%$ ）を満たす良好な結果が得られた。また、その他の食品についても、菓子類（ウエハース）で 37 成分、調味料（醤油）で 36 成分、調味料（味噌）で 35 成分及び瓶詰・缶詰食品（鯖缶）で 34 成分が目標値を満たしており、食品によって若干の差異は認められるものの、概ね良好な結果が得られた。なお、先の検討で中和により回収率が改善した NDGA 及び OG が、多くの食品で真度（回収率）の目標値を満たさなかった。この原因として食品の種類により最適中和条件が異なることなどが考えられ、今後中和条件については更なる検討が必要と思われる。

今回用いた食品の添加物使用基準（設定されているものに限る。）は 100~2,500 $\mu\text{g/g}$ 、また、今回対象とした成分の公定法の定量下限値は 0.1~10 $\mu\text{g/g}$  である。これに対して、本法の定量下限値は 0.02~10 $\mu\text{g/g}$  であったため、検出感度は十分であり、妥当性評価試験の結果も良好であったことから、本法は広範囲の食品に適用できるものと考えられる。

## ま と め

39 成分の食品添加物の迅速一斉分析法を開発するため、70%アセトニトリル及び 0.1%アンモニア含有 70%アセトニトリル溶液で抽出後、LC/MS/MS を用いて定量する分析法の検討を行った。また、本法について、魚肉練り製品（竹輪）、菓子類（飴及びウエハース）調味料（醤油及び味噌）及び瓶詰・缶詰食品（ホ

ールトマト及び鯖缶）を用いた妥当性評価試験を行ったところ、34~38 成分についてガイドラインの目標値を満たす良好な結果が得られた。

本法は、広範囲の食品への適用が可能であり、また、使用する溶媒等が少なく分析にかかる費用も安価で、かつ、操作が簡便なため、その前処理時間も 4 検体当たり 1 時間程度と短いことから、食品中食品添加物の迅速一斉分析法として非常に有効な手法であると考えられる。

## 文 献

- 1) 厚生労働省：平成 12 年 3 月 30 日付け厚生省生活衛生局食品化学課長通知，衛化第 15 号。
- 2) 公益社団法人日本薬学会：衛生試験法・注解，32 9-406（2015）。
- 3) 鶴田小百合，坂本智徳，赤木浩一：食品衛生学雑誌，54，204-212（2013）。
- 4) 脇山ひとみ，赤木浩一：福岡市保環研報，39，83-85（2014）。
- 5) 関戸晴子，岸弘子：神奈川県衛生研究所研究報告，38，35-38（2008）。
- 6) 小木曾俊孝，中西加奈子，新谷依子，永島聡子，高橋浩司，平川博仙，堀就英，梶原淳睦：福岡県保健環境研究所年報，43，76-81（2016）。
- 7) 吉岡直樹，林幸子，川元達彦，吉田昌史：兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター研究報告，8，30-34（2017）。
- 8) 氏家あけみ，森香織，安永恵，石川順子，西岡千鶴：香川県環境保健研究センター所報，10，80-84（2011）。
- 9) 千葉美子，山口友美，平本都香，柳茂，齋藤善則，濱名徹：宮城県保健環境センター年報，28，50-54（2010）。
- 10) 佐藤環，宮本伊織，角谷直哉，山野哲夫：大阪市立環科研報告，77，31-35（2015）。
- 11) 厚生労働省：平成 22 年 12 月 24 日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安発 1224 第 1 号。
- 12) 西名武士，村川弘，福島考兵，飛野敏明：熊本県保健環境科学研究所報，35，51-56（2005）。
- 13) 福島考兵，増永ミキ，宮原喜子，飛野敏明：熊本県保健環境科学研究所報，37，36-47（2007）。

表 6 妥当性評価試験結果（魚肉練り製品、菓子類、醤油）

NO		魚肉練り製品（竹輪）				菓子類（飴）				菓子類（ウエハース）				醤油			
		真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定
1	AK	94.1	1.9	2.3	◎	110.1	0.8	1.6	◎	105.4	3.3	3.7	◎	98.4	3.5	3.6	◎
2	Auramine	92.5	0.8	1.3	◎	86.7	2.9	2.9	◎	90.7	2.6	2.6	◎	99.2	1.9	1.9	◎
3	Azorubine	88.3	3.7	6.4	◎	83.8	4.2	4.2	◎	87.9	2.5	5.8	◎	94.0	1.5	2.4	◎
4	B1	88.2	2.4	2.4	◎	87.5	3.2	3.6	◎	87.8	1.4	1.4	◎	97.2	1.5	2.4	◎
5	B2	95.0	1.9	1.9	◎	89.7	1.6	1.6	◎	95.9	1.1	1.5	◎	98.1	0.8	1.1	◎
6	BA	92.4	6.6	6.9	◎	93.2	4.5	4.5	◎	110.0	1.9	3.2	◎	103.8	6.0	6.0	◎
7	BHA	84.7	1.6	1.6	◎	94.3	4.4	4.4	◎	84.8	3.2	3.2	◎	102.6	2.7	2.8	◎
8	BHT	103.2	4.1	4.1	◎	87.2	7.7	7.7	◎	97.1	4.5	4.5	◎	101.7	4.2	4.6	◎
9	Cyclamate	90.9	2.4	2.4	◎	86.2	2.1	3.7	◎	90.3	3.0	3.0	◎	100.9	1.0	2.1	◎
10	Dehydro	92.3	1.5	2.1	◎	91.1	6.1	6.1	◎	88.0	4.6	4.6	◎	88.5	9.0	9.0	◎
11	FLD	85.6	5.5	6.7	◎	91.8	4.5	4.5	◎	81.8	4.1	5.6	◎	108.1	4.3	6.9	◎
12	G3	86.0	1.7	1.7	◎	87.0	3.2	3.4	◎	84.8	3.3	3.5	◎	98.0	2.9	2.9	◎
13	Green-S	89.8	3.2	3.2	◎	84.1	6.8	6.8	◎	84.3	4.8	4.8	◎	89.1	3.8	3.8	◎
14	IMZ	90.6	1.2	1.2	◎	88.7	1.4	1.4	◎	87.8	1.9	2.5	◎	101.9	1.4	1.4	◎
15	NDGA	51.9	5.4	7.7	↓	133.6	2.6	2.6	↑	86.5	3.1	3.8	◎	120.1	3.7	3.7	↑
16	OG	76.5	4.3	8.1	◎	93.4	3.2	4.4	◎	118.9	1.9	2.2	◎	113.9	2.7	3.0	◎
17	Patent-Blue	86.5	0.8	3.1	◎	86.5	5.2	5.2	◎	83.8	4.0	4.0	◎	95.6	0.9	2.1	◎
18	PG	95.5	1.9	2.7	◎	96.2	4.5	5.6	◎	107.6	2.8	2.8	◎	116.8	0.7	0.9	◎
19	POBA_B	88.4	3.2	3.2	◎	94.6	9.6	10.5	◎	91.4	6.8	7.0	◎	100.2	3.8	4.0	◎
20	POBA_E	89.3	4.1	4.1	◎	87.0	6.8	6.8	◎	79.1	6.7	7.1	◎	97.3	4.7	4.7	◎
21	POBA_IB	91.8	2.7	3.2	◎	92.9	5.5	5.5	◎	94.2	3.8	3.8	◎	97.9	3.5	3.5	◎
22	POBA_IP	88.5	1.4	1.4	◎	87.7	2.1	2.1	◎	85.6	1.8	1.8	◎	100.7	2.3	2.3	◎
23	POBA_P	90.3	1.8	1.8	◎	84.8	2.2	2.2	◎	84.8	3.8	3.8	◎	98.7	1.7	2.9	◎
24	Q-Yellow(di)	85.1	8.5	12.2	◎	84.9	7.4	7.6	◎	80.0	16.0	16.0	—	99.6	8.9	8.9	◎
25	Q-Yellow(mono)	81.3	5.5	5.5	◎	90.3	8.1	8.1	◎	78.4	1.9	6.8	◎	88.9	3.3	3.3	◎
26	R102	84.0	1.9	2.8	◎	82.9	4.4	5.1	◎	76.7	3.3	3.3	◎	97.0	1.7	3.5	◎
27	R104	84.0	3.8	4.4	◎	89.1	9.1	9.1	◎	82.1	6.2	6.2	◎	97.4	1.8	3.1	◎
28	R105	75.4	1.2	1.3	◎	86.1	1.4	2.2	◎	72.4	1.8	2.7	◎	98.1	3.2	3.2	◎
29	R106	92.5	1.8	1.8	◎	89.3	0.5	1.7	◎	88.0	1.0	1.4	◎	97.5	1.2	1.5	◎
30	R2	90.7	1.9	1.9	◎	91.4	0.5	1.1	◎	85.9	1.0	1.1	◎	99.4	0.9	1.4	◎
31	R3	83.8	2.2	4.6	◎	80.9	2.8	2.8	◎	68.2	1.8	3.6	↓	99.3	2.2	3.6	◎
32	R40	86.5	3.7	3.7	◎	73.4	4.0	4.0	◎	85.8	1.3	1.4	◎	60.5	1.6	2.9	↓
33	Rhodamine-B	89.6	1.1	1.9	◎	87.7	1.6	1.6	◎	87.6	2.0	2.0	◎	102.3	2.0	2.0	◎
34	SA	88.9	5.8	7.6	◎	88.3	4.9	5.1	◎	92.3	6.8	6.8	◎	81.9	3.4	5.3	◎
35	SOA	97.0	2.2	3.2	◎	83.9	0.6	5.5	◎	101.1	3.5	3.9	◎	90.0	3.6	3.6	◎
36	TBHQ	93.7	7.8	8.6	◎	101.9	9.7	9.7	◎	86.9	6.3	6.3	◎	82.6	8.0	8.4	◎
37	TBZ	88.9	0.9	0.9	◎	87.9	1.1	1.4	◎	87.7	0.8	0.8	◎	100.5	0.5	0.6	◎
38	Y4	86.6	2.3	2.3	◎	85.7	1.8	1.8	◎	86.5	3.9	3.9	◎	92.6	2.2	2.2	◎
39	Y5	83.1	5.9	5.9	◎	73.0	2.8	3.0	◎	88.6	6.2	6.2	◎	22.5	16.8	19.1	↓
					38				38				37				36

◎：目標値を満たした成分    ↑：真度>120%    ↓：真度<70%    —：精度不良

表 6 妥当性評価試験結果 (味噌, 瓶詰・缶詰)

NO		味噌				瓶詰・缶詰 (ホールトマト)				瓶詰・缶詰 (鯖缶)			
		真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定
1	AK	106.3	2.3	3.4	◎	99.2	2.6	2.6	◎	125.0	1.9	2.9	↑
2	Auramine	100.6	1.4	1.4	◎	91.8	1.8	1.8	◎	102.5	2.2	2.2	◎
3	Azorubine	90.6	5.1	5.1	◎	87.7	3.2	3.2	◎	91.9	7.8	7.8	◎
4	B1	97.0	2.4	2.8	◎	93.0	2.8	2.8	◎	100.2	2.3	2.9	◎
5	B2	95.1	1.8	1.8	◎	93.2	1.7	1.7	◎	93.8	1.8	1.8	◎
6	BA	99.2	5.6	5.6	◎	97.2	3.9	4.7	◎	98.7	2.1	3.5	◎
7	BHA	101.1	2.8	3.2	◎	100.6	3.7	3.9	◎	99.8	1.5	2.7	◎
8	BHT	108.4	9.1	9.1	◎	94.8	2.5	9.5	◎	106.8	4.7	4.7	◎
9	Cyclamate	104.6	2.3	2.3	◎	93.9	2.7	4.2	◎	103.4	3.5	3.5	◎
10	Dehydro	87.3	7.2	8.6	◎	94.5	3.5	5.1	◎	100.0	2.6	2.9	◎
11	FLD	93.2	6.6	6.6	◎	95.9	5.4	5.4	◎	88.5	5.1	5.3	◎
12	G3	97.5	2.1	2.5	◎	92.8	2.7	3.2	◎	99.7	2.0	2.6	◎
13	Green-S	91.2	2.2	2.4	◎	89.2	3.4	3.7	◎	97.8	2.9	5.8	◎
14	IMZ	97.7	1.5	1.7	◎	93.2	2.4	2.4	◎	99.1	2.1	2.1	◎
15	NDGA	119.8	1.6	3.1	◎	142.8	3.8	4.0	↑	18.1	3.2	3.2	↓
16	OG	120.9	2.4	2.6	↑	113.0	4.2	4.7	◎	23.1	4.2	5.1	↓
17	Patent-Blue	93.1	3.8	4.3	◎	92.1	5.8	6.7	◎	99.8	3.2	3.2	◎
18	PG	113.8	3.0	3.0	◎	107.4	5.4	5.4	◎	105.3	1.5	2.8	◎
19	POBA_B	102.9	4.2	4.7	◎	97.1	5.4	5.4	◎	102.1	3.4	3.4	◎
20	POBA_E	102.0	1.8	1.9	◎	91.5	3.7	4.0	◎	95.1	4.7	4.7	◎
21	POBA_IB	95.5	5.3	5.3	◎	94.7	4.0	5.8	◎	104.9	2.9	3.1	◎
22	POBA_IP	88.2	2.1	2.1	◎	93.9	3.4	3.4	◎	96.0	4.1	4.1	◎
23	POBA_P	84.8	2.3	2.5	◎	89.7	2.9	2.9	◎	95.3	1.9	2.8	◎
24	Q-Yellow(di)	92.1	5.2	5.2	◎	86.0	9.7	9.7	◎	100.3	7.7	7.7	◎
25	Q-Yellow(mono)	75.1	2.9	3.9	◎	88.5	5.7	5.7	◎	88.8	4.3	5.3	◎
26	R102	92.0	2.5	2.8	◎	87.6	5.1	5.1	◎	92.2	2.4	2.7	◎
27	R104	88.9	4.7	4.7	◎	95.3	4.6	5.3	◎	96.5	3.6	5.7	◎
28	R105	85.0	4.2	4.2	◎	93.1	1.7	2.7	◎	80.7	4.4	4.4	◎
29	R106	88.7	2.3	2.3	◎	95.5	2.2	2.8	◎	95.1	1.1	1.4	◎
30	R2	97.2	2.0	2.0	◎	95.3	1.3	1.3	◎	94.4	1.5	1.5	◎
31	R3	56.7	2.1	2.7	↓	90.1	5.1	5.1	◎	72.3	2.7	7.6	◎
32	R40	69.1	1.0	2.2	↓	77.2	1.8	3.7	◎	69.5	2.6	4.1	↓
33	Rhodamine-B	99.4	1.2	2.0	◎	94.0	1.8	1.8	◎	103.8	2.5	2.5	◎
34	SA	88.5	1.5	4.3	◎	101.7	4.0	4.0	◎	117.0	5.7	5.7	◎
35	SOA	90.2	3.8	3.8	◎	99.6	4.4	4.4	◎	98.6	2.2	2.2	◎
36	TBHQ	92.4	8.9	8.9	◎	98.6	8.3	8.3	◎	92.2	8.2	8.2	◎
37	TBZ	97.1	1.3	1.5	◎	94.0	1.3	1.4	◎	91.8	1.3	1.4	◎
38	Y4	87.6	2.0	2.0	◎	91.3	1.9	2.3	◎	91.5	1.5	3.3	◎
39	Y5	29.2	6.8	6.8	↓	71.2	4.0	5.4	◎	59.0	10.1	10.1	↓
		35				38				34			

◎ : 目標値を満たした成分    ↑ : 真度 > 120%    ↓ : 真度 < 70%    — : 精度不良

## 4) LC/MS/MS によるミシマサイコに残留する

### イミノクタジンの分析法の検討

富永純司 中原優子 松本理世  
山口奈穂 西名武士

#### 要旨

LC/MS/MS によるミシマサイコに残留するイミノクタジンの分析法について検討したところ、LC/MS/MS の測定条件は、当所の農産物中の残留農薬一斉分析で用いる測定条件を一部変更することにより設定することができた。また、公定法に示されている抽出法を一部変更することにより、十分な回収率が得られた。開発した分析法は、LC/MS/MS を用いることで高選択的かつ高精度な分析が可能となり、公定法に示されている濃縮及び精製の作業を省略することができるため、分析の簡易・迅速化が図られた。

キーワード : LC/MS/MS イミノクタジン ミシマサイコ

#### はじめに

イミノクタジンはグアニジン系殺菌剤で、細胞膜脂質の生合成を阻害することによる防除機能があると考えられている。現在、キュウリ、スイカなどのウリ類、イチゴ、茶など幅広い農作物で使用登録がされており、他の殺菌剤とは作用機構が異なることから、薬剤を変えながらの定期的な防除の実施及び薬剤耐性菌の発生抑制が期待され、今後も登録作物が増えることが予想される。

農産物中に残留するイミノクタジンは、厚生労働省からの通知により、強塩基性下でブタノールヘキサン混液により抽出し、硫酸酸性下で水層に転溶し、イオン交換ミニカラムにより精製して、ニンヒドリンによるポストカラム誘導体化 HPLC 法で測定することが規定されている<sup>1)</sup> (以下、公定法という。)。そのほか、2M 水酸化ナトリウム・メタノール溶液で抽出する方法<sup>2)</sup>もあるが、抽出後はクロロホルムに転溶し、濃縮後、飽和炭酸水素ナトリウム溶液、トルエン及び1,1,1,5,5,5-ヘキサフルオロ-2,4-ペンタジオンを加え、

90℃で4時間放置するなどの作業があり、分析が大変煩雑である。また、イミノクタジンは幅広い農産物で使用登録されていることから、既に報告されている玄米、キュウリ、リンゴ及びブドウ<sup>3,4)</sup>のほか、多くの農産物で公定法が適用できると考えられるが、化合物の特徴として、グアニジノ基(-NH-(C=NH)-NH<sub>2</sub>)を2つ有しており、作物等へ吸着しやすいことが知られている<sup>1,3)</sup>ことから、全ての農産物において適用できるかについては不明である。

本県では特産作物として、生薬「柴胡」の原料であるミシマサイコが球磨地域を中心に栽培されており、その栽培面積は国内でも上位である<sup>5)</sup>。そのため、本県においてミシマサイコを安定して生産するための技術の開発は、国内需要量の確保及び生産農家の活性化につながると考えられる。農作物の安定生産において、病害虫の防除は重要な課題の1つであるが、ミシマサイコで春から夏にかけて発生する炭疽病は、地下部の生育不良による収量の低下を引き起こすほか、採種株での発症により採種が皆無となることもあることから、

最も予防すべき病害の一つとして考えられている。しかし、ミシマサイコは栽培面積が少ないマイナー作物であり、また近年栽培が本格化してきたことから、使用登録されている農薬数が少なく、炭疽病に関しては現在3剤しか登録されていない。そこで、炭疽病にも実績があり、登録されている3剤の農薬成分とは作用機構が異なるイミノクタジンの使用登録が生産地から望まれている。しかし、使用登録されるためには作物中の農薬の残留量を測定する必要があり、先述のとおり、公定法がミシマサイコにおいても適用可能かどうかについては不明である。

そこで今回、高感度かつ選択性の高いLC/MS/MSを用いて、公定法に準じた抽出法によるミシマサイコ中のイミノクタジン分析法について検討した。また、抽出効率の向上を目的に改良法の検討を行い、「農薬登録申請に係る試験成績について」<sup>6)</sup>及び「農薬の登録申請に係る試験成績について」の運用について<sup>7)</sup>（以下、「ガイドライン」という。）に基づく妥当性評価を行ったので、その結果について報告する。

## 実験方法

### 1 試薬材料等

#### 1-1 標準品

標準品はイミノクタジンアルベシル酸塩標準品（富士フィルム和光純薬，M.W.1335（イミノクタジン単体では M.W.356））を用いた。標準原液は、イミノクタジンとして 100mg/L となるように、標準品 18.77g をメタノールに溶解し、50mL に定容した。

#### 1-2 試料

試料となるミシマサイコは、熊本県人吉市の栽培ほ場から採取した。なお、試料には柴胡として用いられる地下部のみを用い、地上部は除去した。分析に供した試料は、公定法に準じて、試料 100g に対して塩酸グアニジン 25g、トリエチルアミン溶液 100mL を加えて粉碎したものを用い、調製から分析までの期間は、-20℃で保存した。

#### 1-3 試薬

- ・塩酸グアニジン：和光特級（富士フィルム和光純薬）
- ・トリエチルアミン：和光特級（富士フィルム和光純薬）
- ・水酸化ナトリウム：試薬特級（富士フィルム和光純薬）

- ・硫酸：有害金属測定用（富士フィルム和光純薬）
- ・塩酸：有害金属測定用（関東化学）
- ・ギ酸：LC/MS 用（富士フィルム和光純薬）
- ・酢酸アンモニウム：試薬特級（富士フィルム和光純薬）
- ・塩化ナトリウム：残留農薬試験用・PCB 試験用（関東化学）
- ・メタノール：高速液体クロマトグラフ用（富士フィルム和光純薬）
- ・*n*-ヘキサン：残留農薬試験用・PCB 試験用（関東化学）
- ・*n*-ブタノール：高速液体クロマトグラフ用（富士フィルム和光純薬）
- ・トリエチルアミン溶液：  
水酸化ナトリウム 40.0g 及びトリエチルアミン 0.75mL に水を加え、1000mL とする。
- ・25%塩酸グアニジントリエチルアミン溶液：  
水酸化ナトリウム 40.0g、塩酸グアニジン 250g 及びトリエチルアミン 0.75mL に水を加え、1000mL とする。
- ・2N 硫酸：水に濃硫酸 55.8mL を加え、放冷後、1000mL とする。

#### 1-4 実験器具

イミノクタジンは塩基性条件下でガラスのシラノール基に吸着することが知られている<sup>1)</sup>ことから、分析に用いた実験器具は、分液ロートを除いて、全てPP製のものとした。

### 2 LC/MS/MS の分析条件

- ・LC：Nexera X2（島津製作所社製）
- ・質量分析計：Triple Quad<sup>TM</sup> 5500（エービー・サイエックス製）
- ・イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法ポジティブモード(ESI+)

## 結果及び考察

### 1 LC/MS/MS 分析条件の最適化

LC/MS/MS によるイミノクタジンの分析法は、農作物では報告がないが、水道水ではすでに小林ら<sup>8)</sup>によって報告されている。そこで、小林らの報告を参考に、分析条件の最適化を行った。

まず、プリカーサー及びプロダクトイオンの選定を行うために、イミノクタジン標準溶液を用いて、インフュージョンにてマススペクトルを測定した。その結果、プリカーサーイオンの選定において、*m/z* がイミ





表1 設定した LC/MS/MS 条件

機器	項目	設定値
LC	カラム	InertSustain C18 HP (内径 2.1mm, 長さ 15cm, 粒径 3 $\mu$ m, GL science 社製)
	移動相	A 液 : 0.1%ギ酸, 0.25mM 酢酸アンモニウム・水溶液 B 液 : 0.1%ギ酸, 0.25mM 酢酸アンモニウム・メタノール溶液
	グラジエント条件	表 2 のとおり
	カラムオープン	30 $^{\circ}$ C
	流速	0.4mL/min
	注入量	2 $\mu$ L
	MS/MS	イオン化法
	イオン源温度	600 $^{\circ}$ C
	イオンスプレー電圧	5.5kV
	プリカーサーイオン	179
	プロダクトイオン	100, 297
	保持時間	約 6 分

表2 グラジエント条件

時間(分)	A 液(%)	B 液(%)
0	100	0
1	100	0
7	50	50
7.1	0	100
17	0	100
17.1	100	0
25	100	0

## 2 検量線の評価

検量線を評価するために、イミノクタジン標準液を 50%含水メタノールで希釈し、0.05, 0.1, 0.5, 2.5, 10ppb の検量線用標準液を作成した。まず 1 で最適化した条件で最も低濃度である 0.05ppb の標準液を測定し、m/z:100 及び m/z:297 のクロマトグラフを比較した。その結果、感度の指標である S/N 比は m/z:100 が 26.1, m/z:297 が 40.3 で、ともに S/N 比 $\geq$ 10 となり、十分な感度が得られたが、m/z:297 の方が高い感度になった。このことは、m/z:297 の方が、m/z:100 と比較して分子量が大きいため、イオンの選択性が高く、ノイズが抑えられたからであると考えられる。そこで本研究では、新しく設定した m/z:297 のフラグメントを定量イオンとして用いることとし、m/z:100 のフラグメントを定性イオンとして用いることとした。次いで、各濃度の検量線用標準液を測定し、m/z:297 での検量線を作成した。その結果、検量線の決定係数  $r^2$  は 0.999 と高い値を示し、直線性は良好であった(図 5)。以上のことから、設定した測定条件において、0.05~10ppb の間で定量が可能であると考えられた。

## 3 抽出方法の検討

### 3-1) 公定法に準じた抽出方法による検討

農作物中のイミノクタジン分析法の公定法がミシマサイコにも適用可能かについて検討するために、試料にイミノクタジン標準液を 0.25ppm になるように加え、添加回収試験を実施した。なお、本研究

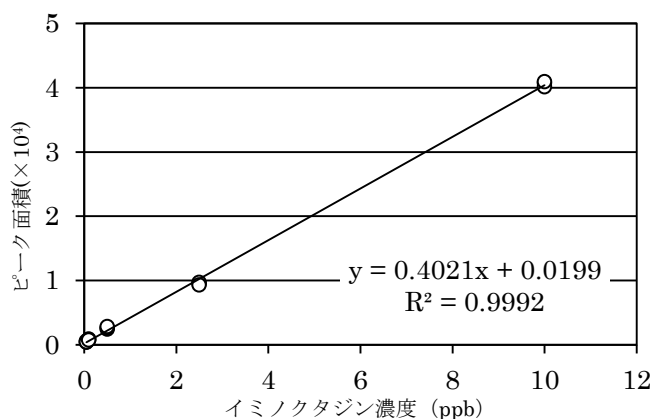


図5 イミノクタジンの検量線

では分析機器が LC/MS/MS で選択性が高いことから、公定法では行う抽出液の濃縮及びイオン交換ミニカラムによる精製作業は省略し、ブタノールヘキササン混液で抽出し、硫酸酸性下で水層に転溶後の溶液にメタノールを加え、100mL に定容したものを分析に供した。また定量は、イミノクタジン無添加のミシマサイコから得られた抽出液に妨害となるピークが見られなかったことから、マトリックスマッチ検量線を用いて行った。

公定法に準じて、試料 20g 相当量で抽出を行った結果、回収率は 10~11%であった。十分な回収率の目安として、添加濃度が 0.25ppm の場合、ガイドラインには 70~110%と示されており<sup>6)</sup>、非常に悪い結果となった(表 3)。原因としては、ミシマサイ

コにはサポニンなど多くの成分が含まれているため、これらにイミノクタジンが吸着し、抽出効率が低下したのではないかと考えられた。そこでミシマサイコに含まれる成分の影響を軽減するために、試料量を公定法の1/10となる2g相当量にして、同様に分析を行った。その結果、回収率は53~56%となり、改善はしたものの、十分な回収率とは言えなかった(表3)。そこで、抽出法の改良について検討することとした。

### 3-2) 抽出法の改良

2g相当量においても回収率が十分でなかった原因としては、20gで分析した際と同様に、ミシマサイコに含まれる成分への吸着が考えられた。また、試料量を削減したことによりトリエチルアミン溶液の添加量が減少し、抽出液のpHが十分に塩基性に

なっていないことも可能性として考えられた。公定法では、試料採取量が20g相当量であるため、トリエチルアミン溶液が20mL添加されるのに対し、試料2g相当量では2mLしかされない。そこで、作物体への吸着と抽出液を十分に塩基性にするために、試料2g相当量に25%塩酸グアニジントリエチルアミン溶液を10mL(公定法の約半量)添加し、同様に抽出を行った。その結果、回収率は82~83%となり、十分な回収率を得ることができた(表3)。さらに、公定法ではブタノールヘキサン混液での抽出を100mL+50mLの2回抽出としているが、50mL×3回抽出に変更したところ、回収率は92~96%と非常に良好な結果となった(表3)。相対標準偏差も1.9と良好な結果となったことから、ミシマサイコからのイミノクタジンの抽出は、図6に示すフローで行うこととした。

表3 検討した抽出法における回収率及び繰り返し測定(n=3)における相対標準偏差

試料量	TEA*添加	抽出液量	回収率(%)	回収率 平均	相対 標準偏差
20g	×	100mL+50mL	10, 10, 11	10	4.6
2g	×	100mL+50mL	53, 54, 56	54	2.9
2g	○	100mL+50mL	82, 82, 83	83	0.9
2g	○	50mL×3	92, 94, 96	94	1.9

\*TEA: 25%塩酸グアニジントリエチルアミン溶液

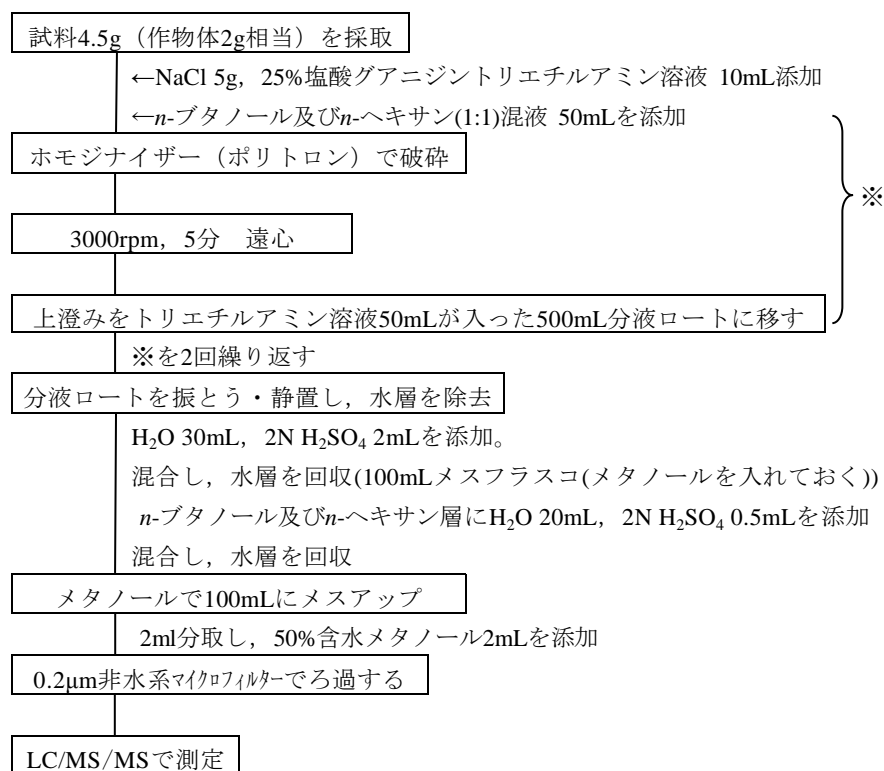


図6 イミノクタジンの分析フロー図

#### 4 妥当性評価

決定した分析法の妥当性を評価するために、ガイドラインに基づいて、ミシマサイコにイミノクタジン標準液を 0.01ppm もしくは 0.25ppm となるように添加し、回収試験を実施した。

各濃度での回収率及び相対標準偏差を表 4 に示す。0.01ppm における回収率は 75~91%，0.25ppm における回収率は 81~89% となり、両濃度とも十分な回収率が得られた。また繰り返し分析による相対標準偏差も、0.01ppm では 7.5，0.25ppm では 3.8 となり、ガイドラインの目標値を満たす良好な結果が得られた。

表 4 回収率及び相対標準偏差

添加濃度 (ppm)	回収率 (%)	平均回収率 (%)	相対 標準偏差
0.01	87, 85, 79, 91, 75	83	7.5
0.25	81, 85, 89, 86, 81	85	3.8

#### ま と め

LC/MS/MS によるミシマサイコ中のイミノクタジンの分析法について検討した結果、イミノクタジンが十分に分析できるプリカーサーイオン及びプロダクトイオンを決定することができた。特にプロダクトイオンに関しては、これまで報告がなかったフラグメントを選択し、分析に用いることができることを示すことができた。また、LC 部においても、当所の通常の農薬一斉分析に用いる分離カラム及び移動相での分析が可能であることが示された。

さらに、抽出法に関しては、公定法に準じた抽出法では十分な回収率が得られなかったため、試料量、イミノクタジンの作物成分への吸着予防及び抽出回数を検討し、十分な回収率を得ることができた。また、LC/MS/MS を用いることによって、公定法では必要な濃縮及び精製作業を省略することができた。

本法を用いた 0.01ppm 及び 0.25ppm での回収試験では、各濃度とも十分な回収率が得られ、再現性も良

好な結果となった。

本研究で示した分析法は、公定法と比較して、濃縮や精製作業を省略できることから迅速・簡便であり、かつ LC/MS/MS を用いることによって、高選択的に低濃度までのイミノクタジンを分析できると考えられる。本研究ではミシマサイコを試料として用いたが、今後は他の農産物についても検討を行い、汎用的な分析法として確立する必要があると考えられる。

#### 文 献

- 1) 「食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について 第 3 章 個別試験法 イミノクタジン試験法(農産物)」(平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)
- 2) 「(133)イミノクタジン酢酸塩およびイミノクタジンアルベシル酸塩分析法」(平成 9 年 4 月 30 日環境庁告示第 20 号(号外第 84 号))
- 3) 森芳計，八倉康二，片岡安克：農薬誌，7(1) 53-56 (1982)
- 4) 小林裕子，俣野修身，後藤真康：農薬誌，7(4) 513-516 (1982)
- 5) 薬用作物及び和紙原料等に関する試料(平成 28 年産)：公益財団法人日本特産農産物協会
- 6) 「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)
- 7) 「「農薬の登録申請に係る試験成績について」の運用について」(平成 13 年 10 月 10 日付け 13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知)
- 8) 小林憲弘，久保田領志，佐々木俊哉，五十嵐良明：環境科学会誌，28(2) 117-125 (2015)
- 9) 西名武士，村川弘，福島孝兵，飛野敏明：熊本県保健環境科学研究所報，35 51-56 (2005)
- 10) 福島孝兵，増永ミキ，宮原喜子，飛野敏明：熊本県保健環境科学研究所報，37 36-47 (2007)

## 5) LC/MS/MSによる植物性自然毒の迅速一斉分析法の開発

山口奈穂 富永純司 松本理世  
中原優子 西名武士

### 要旨

植物性自然毒による食中毒発生時に、迅速な原因究明を行うため、21成分の植物性自然毒を対象としたLC/MS/MSによる一斉分析法の開発を行った。

また、本分析法について植物、食品残品、血液及び尿を用いて妥当性評価ガイドラインに準拠した妥当性評価試験を行ったところ、全項目が目標値を満たす良好な結果が得られた。このことから、本分析法は植物性自然毒の迅速一斉分析法として有効であることが明らかとなった。

**キーワード：LC/MS/MS，植物性自然毒，迅速一斉分析法，食中毒**

#### はじめに

高等植物に由来する自然毒（以下「植物性自然毒」という。）による食中毒は過去10年間（平成20~29年）で188件、患者数は818名、死亡者は10名であり<sup>1)</sup>、近年増加傾向にある<sup>2)</sup>ことから、国は「有毒植物による食中毒防止の徹底について」（平成29年4月13日付け生食監発0413第1号）<sup>3)</sup>において、食用と判断できない植物について「採らない」、「食べない」、「売らない」、「人にあげない」よう注意喚起を行っている。

原因の大半は、山菜と有毒な植物との誤認及び家庭菜園の作物と園芸植物との誤認であるとされる。前者ではトリカブト類はニンソウ等と、バイケイソウ類はオオバギボウシ（ウルイ）との誤認が多く、後者ではニラとスイセンやサトイモとクワズイモを間違える事例が多い<sup>4)</sup>。特にニラとスイセンの誤認は事例数が多く、過去10年間に約50件生じている。

本県でも平成27年に1件（クワズイモ）、平成28年に1件（スイセン）と近年立て続けに植物性自然毒による食中毒が発生している。また、これまでに事例はないが、トリカブト、バイケイソウ等は球磨地方や八代地方の九州山地などに自生しているため、県内で食中毒が発生する可能性は否定できない。

植物性自然毒の多くはアルカロイドで、他に強心配糖体や青酸配糖体等がある。これらの成分を摂取した

場合は中毒症状の発症時間が数時間以内と短く<sup>5)</sup>、また、重篤な症状を呈す成分が多数存在し、致死量や中毒量が数ミリグラムのももあるため、食中毒発生時は早期治療が重要となる。なお、原因と考えられる植物の形態形質から原因特定が可能なこともあるが、調理過程を経て原型を留めていない場合も多い。この場合、植物や食品残品（以下「食品試料」という。）、又は血液や尿（以下「生体試料」という。）からの毒成分の分析が必要になる。

なお、近年、食中毒の原因究明のための植物性自然毒の一斉分析法は多数報告されている<sup>6-10)</sup>が、食品試料と生体試料の両方を対象とした分析法の検討事例は少ない。そこで、植物性自然毒が原因と疑われる食中毒発生時に、食品試料及び生体試料中の毒成分を迅速に検出することを目的に、高感度、かつ、選択性の高いLC/MS/MSを用いた植物性自然毒の迅速一斉分析法の検討を行った。また、本分析法について「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」<sup>11)</sup>（以下「ガイドライン」という。）に準拠した妥当性評価試験を行ったところ、良好な結果が得られたので報告する。

#### 実験方法

##### 1 分析対象成分

本県において、食中毒の原因となる可能性のある植物に含有されている成分（計 21 成分、表 1 参照）を分析対象とした。

表 1 分析対象成分と有毒植物

	成分名	有毒植物
1	aconitine	トリカブト類
2	jesaconitine	
3	hyaconitine	
4	mesaconitine	
5	cyclopamine	コバイケイソウ, バイケイソウ
6	jervine	
7	veratramine	
8	veratrine	
9	galantamine	スイセン, スノーフレーク
10	lycorine	
11	cucurbitacinE	ヒョウタン, ヘチマ, ユウガオ
12	chaconine	イヌホオズキ, ジャガイモ, ホオズキ
13	solanine	
14	atropine	エンジェルストランペット チョウンアサガオ, ハシリドコロ, ベラドンナ
15	scopolamine	
16	colchicine	イヌサフラン, グロリオサ
17	gloriosine	グロリオサ
18	demecolcine	
19	amygdalin	アンズ, ウメ, モモ
20	oleandrin	キョウチクトウ
21	digitoxin	ジギタリス

## 2 試薬等

### 2.1 標準品

aconitine, atropine, oleandrin, colchicine, jervine, digitoxin, cyclopamine, demecolcine 及び mesaconitine : 和光純薬製

$\alpha$ -solanine, amygdalin, galantamine, scopolamine, hyaconitine, veratrine 及び lycorine : Sigma-aldrich 製

cucurbitacinE : 関東化学製

$\alpha$ -chaconine : ChromaDex 製

gloriosine : Tronto Research Chemicals 製

jesaconitine : Carbosynth 製

veratramine : Cayman Chemical 製

### 2.2 混合標準溶液

各標準品を秤量し、メタノール (MeOH) (ただし、aconitine, jesaconitine, hyaconitine 及び mesaconitine はアセトニトリル (ACN)) に溶解後、50 $\mu$ g/mL の混合標準溶液を作成した。(ただし、cucurbitacinE 及び

digitoxin は他の成分と比較して感度が悪かったため、10 倍濃度とした。以下同じ。)

### 2.3 その他の試薬等

ACN(HPLC用), イソプロパノール(HPLC用) (IPA), MeOH (HPLC用), ギ酸 (LC/MS用), 酢酸アンモニウム (試薬特級) : 和光純薬製

## 3 試料

### 3.1 前処理検討用試料

食品試料用分析法にニラをフードプロセッサーで細切したものを用いた。ニラはスイセンとの誤認事例が多いことから選択した。生体試料用分析法には健常者の血液及び尿を用いた。

### 3.2 妥当性評価試験用試料

食品試料として、前処理検討用試料、ニラ和え物、ニラ玉及びびとろろを用いた。植物中の自然毒濃度及び食中毒事例の生体試料中濃度を参考に、食品試料には 5 $\mu$ g/g, 生体試料には 10ng/mL となるように混合標準溶液を添加したものを試験に供した。

## 結果及び考察

### 1 LC/MS/MS 測定条件の検討

まず、対象成分の MeOH 溶液をインフュージョンでそれぞれ MS 部へ導入し、イオン化条件を検討した。イオン化は ESI 法で行った。その結果、ポジティブモードにおいて全成分のプリカーサーイオンが検出された。そして、プロダクトイオンのうち感度及び選択性が高いものを 2 つずつ選び、定量イオンと定性イオンとした。

分析カラム、移動相等は、ピーク形状、分離、感度等を考慮しながら最適化した。

なお、測定対象成分は極性の範囲が広く、成分によっては試験溶液中の MeOH 濃度により、ピークの割れや、感度の低下がみられた。このため、試験溶液の MeOH 濃度を段階的に変化させ、測定結果を比較したところ、70%MeOH 溶液ではほとんどの成分においてピーク形状がシャープで、感度も良好であったため、試験溶液の組成は MeOH:水 (7:3) とした。そのほか、注入量の調節や、ニードルの内洗浄液を移動相 A 液にすることでピーク形状を改善した。

以上の検討から得られた LC/MS/MS 測定条件を表 2 に示す。また、この条件で測定した植物性自然毒 (1ng/mL) のクロマトグラフ (TIC) を図 1 に示す。

表 2 LC/MS/MS 測定条件

MS/MS 部 TRIPLE QUAD5500 (AB SCIEX 製)	
Curtain gas	20 psi
Collision gas	9 psi
Temperature	600°C
Ion source gas 1/2	70/50 psi
Ion transfer voltage	5500 V
Entrance potential	10 V
MRM 条件	表 3
LC 部 Nexera X2 (島津製作所製)	
分離カラム	Inertsustain C18 PEEK(2.1×150mm, 3µm) (GL Sciences 製)
カラムオープン	40°C
移動相	A 液 0.1%ギ酸, 0.25mM 酢酸アンモニウム含有水 B 液 0.1%ギ酸, 0.25mM 酢酸アンモニウム含有 MeOH
グラジエント条件	0min(100:0)→1.0min(100:0)→1.1min(85:15)→15min(0:100)→25min(100:0)→25.1min(100:0)→35min(100:0)
流量	0.4mL/min
注入量	3µL
洗浄液	R0 移動相 A 液 R1 MeOH R2, R3 ACN : IPA : MeOH : 水(1:1:1:1)

表 3 分析対象成分 MRM 条件

Name	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)	Name	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)
1 aconitine	646.3	586.2	141	47	12 hyaconitine	616.2	556.3	71	45
	646.3	77.0	141	129		616.2	524.3	71	49
2 amygdalin	475.1	163.0	41	23	13 jervine	426.2	91.1	81	93
	475.1	144.9	41	25		426.2	66.9	81	79
3 atropine	290.2	124.0	171	31	14 jesaconitine	660.2	600.3	26	43
	290.2	92.9	171	39		660.2	568.2	26	51
4 chaconine	852.4	706.4	211	93	15 lycorine	288.0	146.9	86	37
	852.4	398.2	211	97		288.0	90.9	86	65
5 colchicine	400.2	310.0	116	35	16 mesaconitine	632.3	572.2	141	45
	400.2	152.1	116	113		632.3	77.1	141	129
6 cucurbitacinE	557.3	497.2	86	13	17 oleandrin	577.3	433.2	66	13
	557.3	479.2	86	21		577.3	145.1	66	23
7 cyclopamine	412.0	114.0	96	37	18 scopolamine	304.2	138.0	116	27
	412.0	109.0	96	39		304.2	156.0	116	23
8 demecolcine	372.3	310.0	60	30	19 solanine	869.4	399.3	261	99
	372.3	340.2	60	30		869.4	723.5	261	97
9 digitoxin	782.4	97.1	31	45	20 veratramine	410.2	295.1	91	39
	765.4	97.0	31	39		410.2	83.9	91	35
10 galantamine	288.1	213.1	81	31	21 veratrine	592.2	456.2	76	67
	288.1	197.9	81	43		592.2	574.2	76	55
11 gloriosine	386.1	165.1	121	97					
	386.1	150.9	121	125					

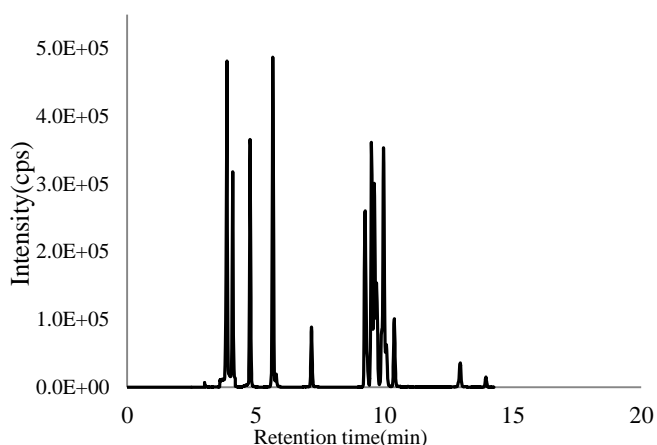


図1 植物性自然毒21成分(1ng/mL)のクロマトグラフ

## 2 定量範囲

定量範囲を確認するため、混合標準溶液を 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5ng/mL に希釈したサンプルを本条件で測定した。各成分の保持時間(Rt), 定量下限値(ng/mL, S/N $\geq$ 10)と上限値(ng/mL)及び得られた検量線の相関係数(r)を表4に示す。表4に示すとおり、すべての成分で定量下限値から上限値までの範囲で良好な相関( $r\geq 0.999$ )が得られたため、この範囲で定量可能であると考えられた。

表4 定量下限値と相関係数

Name	Rt(min)	下限値	上限値	相関(r)
aconitine	9.73	0.01	5	0.9997
amygdalin	5.76	0.01	5	0.9996
atropine	5.73	0.01	5	0.9997
chaconine	9.58	0.01	5	0.9996
colchicine	9.85	0.01	5	0.9995
cucurbitacinE	12.86	0.1	50	0.9990
cyclopamine	10.47	0.01	5	0.9999
demecolcine	7.24	0.01	5	0.9998
digitoxin	13.91	0.1	50	0.9990
galantamine	4.11	0.01	5	0.9999
gloriosine	9.67	0.05	5	0.9992
hyaconitine	9.63	0.01	5	0.9999
jervine	9.59	0.05	5	0.9994
jesaconitine	9.82	0.01	5	0.9999
lycorine	3.88	0.01	5	0.9999
mesaconitine	9.37	0.01	5	0.9999
oleandrin	12.90	0.01	5	0.9999
scopolamine	4.83	0.01	5	0.9999
solanine	9.54	0.01	5	0.9993
veratramine	10.08	0.01	5	0.9998
veratrine	10.22	0.01	5	0.9994

## 3 前処理法の検討

### 3.1 食品の前処理法

まず、食品試料を対象とした前処理法の検討を行った。食品試料は、自然毒を含有する場合、一般にその濃度が高く、定量範囲に入る程度の希釈が必要である。このため、前処理法は精製過程を省略し、迅速性及び簡便性に優れた希釈法<sup>12)</sup>で行うこととし、用いる抽出溶媒の検討を行った。なお、抽出溶媒は、既報<sup>6-10)</sup>を参考に MeOH 溶液で行うこととし、混合標準溶液を添加(試料中 5 $\mu$ g/mL)した前処理検討用試料を、各濃度の MeOH 溶液でポリトロンにてホモジナイズ抽出後、70%MeOH 溶液で最終 1ng/mL になるよう希釈し、LC/MS/MS で測定する添加回収試験(n=1)により最適な MeOH 濃度を検索した。その結果を図2に示す。aconitine 等は MeOH 濃度に関係なく良好な回収率が得られたが、MeOH 濃度が低いと cyclopamine 等は回収率が低く、また、scopolamine 等は回収率が高くなる傾向を示した。これは、MeOH 濃度が低いと抽出効率が不十分であるか、又は水溶性の夾雑物の影響を受けて測定値が真値を示していないと考えられた。抽出溶媒は最も回収率が良好な成分の多い MeOH(100%)を用いることとした。

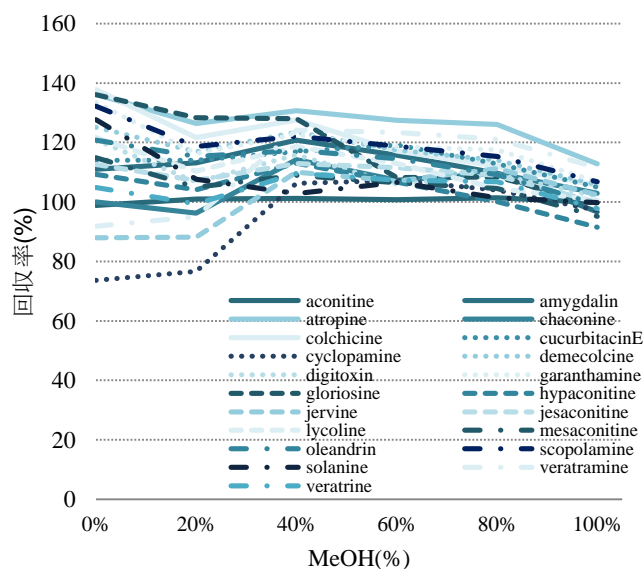


図2 MeOH 濃度の検討

なお、希釈法では精製過程を省略するため、検体又は成分によっては試験溶液中の夾雑物の影響で測定対象成分のイオン化が促進又は抑制(以下「マトリックス効果」という。)され、測定値が真値を示さない可能



性が考えられた。また、一般的に有毒植物やその食品残品は入手困難である場合が多く、マトリックス検量線等のマトリックス効果を補正するための手法を用いることは難しい。これらのことから、前処理にはマトリックス効果を見逃せる程度の希釈が必要と考えられたため、希釈倍率とマトリックス効果の検証を行った。

前処理検討用試料を MeOH でホモジナイズ抽出し、その抽出液を各段階（最終希釈倍率：50, 100, 500, 1000, 5000, 50000 倍）に 70%MeOH 溶液で希釈した後、混合標準溶液を 1ng/mL になるように添加したサンプルと、1ng/mL の混合標準溶液を LC/MS/MS で測定し、それぞれのピーク強度比(%)を求めた。図 3 に結果を示す。veratrine 等は希釈倍率により強度に変化はなかったが、50 倍希釈では aconitine 等が正の、lycorine 等が負のマトリックス効果と考えられるピーク強度の増減がみられた。なお、これらの成分も希釈倍率を大きくすると徐々にマトリックス効果が少なくなり、500 倍以上希釈するとピーク強度比がほぼ 100%となったため、マトリックス効果を見逃せることと推測された。

なお、植物中の自然毒の濃度は数 µg/g から数千 µg/g のものが多い<sup>9,13-17)</sup>。このことから、5,000 倍希釈であっても、溶液中最終濃度は数 ng/mL 以上であるため、「2」で示した定量下限値以上となることから測定は可能と考えられた。よって、希釈倍率は、マトリックス効果、検出感度及び機器への負担を考慮し、5,000 倍とした。図 4 に最終的な食品試料中自然毒成分の分析フロー（以下「第 1 法」という。）を示す。

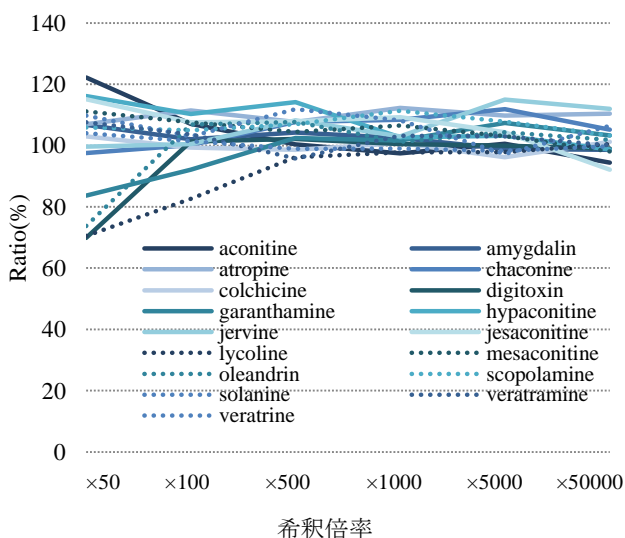


図 3 マトリックス効果の検証

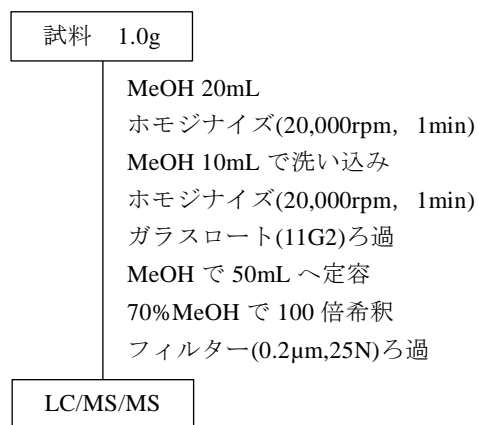


図 4 食品試料中自然毒成分の分析フロー（第 1 法）

### 3.2 生体試料の前処理法

次に健常者の血液及び尿を用いて、生体試料を対象とした前処理法の検討を行った。血液はあらかじめ遠心（3,000rpm, 5min）し、血球を除いた部分を試験に供した。

生体試料中の自然毒濃度を測定した事例は少ないが、aconitine 類が血中 50ng/mL, 尿中 0.6ng/mL であった食中毒の事例<sup>18)</sup>から、検体中濃度として数 ng/mL 程度の検出が可能で必要であり、第 1 法は測定濃度の点で適用できないと考えられた。なお、自然毒成分が含まれない生体試料の入手は可能と考えられることから、定量はマトリックス検量線を用いることができる。このことから、既に抽出効率等が明らかな第 1 法を準用し、検出感度を考慮した希釈倍率（10 倍）に変更した方法を作成した（図 5、以下「第 2 法」という。）。

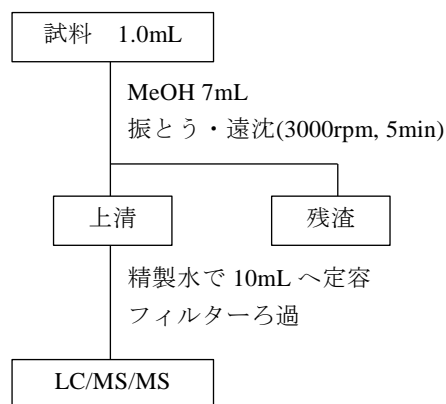


図 5 生体試料中自然毒成分の分析フロー（第 2 法）

なお、第2法は希釈倍率が小さいため、マトリックス効果によるピーク強度の増減が大きく現れると考えられた。また、前述のとおり、生体試料では数 ng/mL（最終試験溶液中ではこの10分の1）程度の濃度の検出が必要であることから、これらを確認するため、第2法により抽出した試料を用いたマトリックス検量線を血液と尿のそれぞれで作成し、定量下限値等を確認した（表5）。その結果、定量下限値はすべての成分が0.5ng/mL以下であり、生体試料中の自然毒成分も十分検出可能であると推察された。

表5 マトリックス検量線定量下限値(単位: ng/mL)

Name	血液		尿	
	下限値	相関(r)	下限値	相関(r)
aconitine	0.01	0.9992	0.01	0.9998
amygdalin	0.05	0.9996	0.01	0.9991
atropine	0.01	0.9997	0.01	0.9999
chaconine	0.05	0.9997	0.05	0.9998
colchicine	0.01	0.9994	0.01	0.9999
cucurbitacinE	0.1	0.9992	0.1	0.9999
cyclopamine	0.01	0.9992	0.01	0.9996
demecolcine	0.05	0.9998	0.01	0.9997
digitoxin	0.5	0.9999	0.1	0.9990
galantamine	0.05	0.9996	0.01	0.9995
gloriosine	0.01	0.9991	0.01	0.9999
hyaconitine	0.01	0.9990	0.01	0.9998
jervine	0.05	0.9995	0.05	0.9999
jesaconitine	0.01	0.9966	0.01	0.9997
lycorine	0.05	0.9995	0.01	0.9991
mesaconitine	0.01	0.9990	0.01	0.9998
oleandrin	0.05	0.9998	0.01	0.9994
scopolamine	0.01	0.9996	0.01	0.9995
solanine	0.01	0.9992	0.01	0.9990
veratramine	0.01	0.9964	0.01	0.9995
veratrine	0.01	0.9990	0.01	0.9999

#### 4 妥当性評価試験

第1法及び第2法について、21成分の植物性自然毒を対象とし、妥当性評価試験用試料（第1法は食品試料、第2法は生体試料）を用い、ガイドラインに準拠して、分析者5名、1日間2併行の添加回収試験を実施し、真度、併行精度及び室内精度を求めた。その結果を表6に示す。全成分において真度及び精度がガイドラインの目標値（添加濃度>0.1µg/gのとき：真度70~120%、併行精度<10%、室内精度<15%、0.001µg/g<

添加濃度≤0.01µg/gのとき：真度70~120%、併行精度<25%、室内精度<30%）を満たす良好な結果が得られた。

このことから、本法は、食品試料及び生体試料に含まれる自然毒21成分を分析することが可能であると考えられた。なお、本法が対象とする自然毒21成分は、24種の有毒植物に対応しており、これは過去10年間（平成20~29年）に発生した植物性自然毒に起因する食中毒の原因植物の約8割にあたり、食中毒が発生する可能性のある植物の多くに適用できると考えられる。

今後、実物の有毒植物を用いた毒成分の分析を行い、本法の適用性についてさらに検証を行う予定としている。

#### まとめ

植物性自然毒による食中毒に対する迅速な原因究明を目的として、試料をMeOH溶液で抽出・希釈し、LC/MS/MSで測定する迅速一斉分析法の検討を行った。また、本分析法について食品試料及び生体試料を用いて妥当性評価試験を行ったところ、すべての項目が目標値を満たす良好な結果であった。

本分析法は、自然毒21成分を一斉に分析でき、また、1検体につき、前処理時間が15分程度、LC/MS/MSでの測定時間は30分程度と短時間で、操作も簡便である。以上のことから、突発的に生じる食中毒に、迅速に対応できる有効な手法であると考えられる。

#### 謝辞

本研究にあたり、有毒植物の生態等について貴重な御指導・御助言をいただきました熊本大学薬学部の渡邊高志教授、渡邊将人様に深謝いたします。

#### 文献

- 1) 厚生労働省ホームページ：食中毒統計資料
- 2) 登田美桜, 畝山智香子, 春田文子：食品衛生学雑誌 55(1), 55-63(2014)
- 3) 「有毒植物による食中毒防止の徹底について」厚生労働省医薬・生活衛生局 生活衛生・食品安全部監視安全課長通知：平成29年4月13日付け生食監発0413第1号。
- 4) 厚生労働省ホームページ：自然毒のリスクプロファイル
- 5) 森昭彦：身近にある毒植物たち。サイエンス・アイ新書(2016)。

- 6) 浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 他: 岡山県環境保健センター年報, **37**, 129-132(2013).
- 7) 立野幸治, 藤原美智子, 三浦泉: 山口県環境保健センター所報, **52**, 54-57(2009).
- 8) 後藤智美, 尾関史晃, 青山文生, 他: 愛知衛生研究所報, **65**, 31-37(2015).
- 9) 笠原翔悟, 大滝麻井子, 笠原義正: 山形県衛生研究所報, **49**, 10-13(2016).
- 10) 村上太郎, 紀雅美, 山口之彦, 他: 大阪市立環科研報告, **79**, 17-22(2017).
- 11) 「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性ガイドラインの一部改正について」厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 第 1 号.
- 12) 松本理世, 飛野敏明, 西名武士, 他: 熊本県保健環境科学研究所報, **44**, 28-36(2014)
- 13) 西川徹, 川口喜之, 村上正文: 長崎県衛生公害研究所報, **52**(2006).
- 14) 佐藤正幸, 姉帯正樹: 北海道立衛生研究所報, **62**, 49-54(2012).
- 15) 高橋正幸, 藤本啓, 佐藤正幸: 北海道立衛生研究所報, **66**, 99-100(2016).
- 16) 宅間範雄, 荒尾真砂, 古田和美, 他: 高知県衛生研究所報, **54**, 41-45(2008).
- 17) 小西友彦, 赤木浩一, 畑野和広: 食品衛生学雑誌, **49**(4), 266-271(2008).
- 18) 中田一之, 間藤卓, 山口充, 他: 日救急医学会誌, **20**, 31-36(2009).

表6 妥当性評価試験結果

食品試料 成分	ニラ			ニラ和え物			ニラ玉			とろろ		
	真度(%)	精度(%)		真度(%)	精度(%)		真度(%)	精度(%)		真度(%)	精度(%)	
		併行	室内		併行	室内		併行	室内		併行	室内
aconitine	105.6	3.2	3.4	100.3	4.4	4.5	95.1	1.6	4.3	96.1	2.4	2.8
amygdalin	104.9	3.4	3.4	100.3	2.9	2.9	98.3	2.3	2.3	103.5	3.6	3.6
atropine	113.2	1.5	1.5	106.2	0.9	1.5	100.7	1.8	2.3	111.3	0.9	0.9
chaconine	101.4	4.8	4.8	101.7	2.8	4.1	97.8	3.6	4.3	104.4	2.5	2.9
colchicine	107.0	2.9	2.9	102.1	1.3	2.9	97.3	2.4	2.4	101.8	1.6	1.6
cucurbitacinE	102.5	4.0	7.6	94.8	2.1	3.5	95.1	5.0	5.0	101.8	2.6	3.4
cyclopamine	99.2	1.5	2.7	101.4	1.2	1.2	96.6	1.0	2.2	101.7	1.2	1.5
demecolcine	105.4	1.0	1.0	102.3	0.9	1.0	99.4	1.0	1.0	100.2	0.9	0.9
digitoxin	102.8	3.1	3.3	95.0	5.5	5.5	90.1	5.1	5.1	101.4	2.6	3.7
galantamine	107.8	0.9	1.1	99.9	1.5	1.5	94.7	1.4	2.4	102.2	0.6	0.6
gloriosine	105.1	5.7	6.1	87.5	2.5	2.8	90.8	3.7	3.8	95.1	4.8	4.8
hyaconitine	104.9	3.5	5.0	107.4	1.6	3.6	99.8	5.0	5.0	98.1	3.1	3.2
jervine	101.0	3.8	4.4	100.9	3.2	4.1	95.9	2.6	4.1	99.9	1.6	2.2
jesaconitine	105.5	3.2	3.2	98.8	1.9	3.2	95.9	3.7	3.9	103.1	1.0	2.1
lycorine	100.8	1.0	1.0	98.6	1.9	2.6	93.9	1.8	2.3	102.8	2.6	2.7
mesaconitine	103.5	1.3	2.3	100.4	2.9	2.9	95.3	2.8	3.4	98.8	2.1	2.1
oleandrin	103.1	3.6	3.6	103.0	1.7	1.8	98.5	0.9	0.9	102.7	1.2	1.9
scopolamine	106.3	0.8	1.0	102.2	0.8	0.8	97.0	1.0	1.0	104.8	0.7	0.8
solanine	101.9	8.9	8.9	107.2	9.1	9.1	100.4	6.2	7.4	109.0	5.2	7.4
veratramine	108.2	1.3	1.3	101.8	2.4	2.6	97.5	2.3	2.3	104.6	1.8	1.8
veratrine	99.1	1.5	3.9	99.7	1.5	2.4	94.2	2.8	2.8	102.3	1.0	1.0

生体試料 成分	血液			尿		
	真度(%)	精度(%)		真度(%)	精度(%)	
		併行	室内		併行	室内
aconitine	85.4	1.4	3.7	98.0	1.9	1.9
amygdalin	84.3	3.3	3.3	99.5	2.1	2.3
atropine	92.2	0.7	1.2	104.6	0.9	1.1
chaconine	85.2	3.0	3.0	100.9	5.7	5.7
colchicine	84.9	2.8	2.8	98.3	2.4	2.4
cucurbitacinE	98.4	4.5	4.5	95.5	3.9	4.5
cyclopamine	83.5	1.0	1.7	99.3	0.8	0.8
demecolcine	83.3	1.0	2.1	98.1	0.9	0.9
digitoxin	93.5	5.0	5.0	97.2	2.9	4.2
galantamine	95.1	0.9	1.2	98.1	0.7	0.8
gloriosine	81.1	3.3	4.2	95.7	5.3	5.3
hyaconitine	88.1	2.4	3.0	96.2	2.1	2.8
jervine	82.2	4.8	5.5	99.5	3.6	4.0
jesaconitine	82.3	1.5	4.0	94.0	2.5	3.0
lycorine	84.1	0.9	1.4	94.4	1.5	1.5
mesaconitine	87.4	2.8	2.8	98.2	1.3	1.6
oleandrin	77.4	0.7	2.0	96.4	2.4	3.4
scopolamine	89.7	1.2	1.4	97.2	0.7	0.7
solanine	88.5	3.8	6.5	96.8	9.8	9.8
veratramine	83.6	0.7	1.0	99.2	1.4	1.5
veratrine	89.4	1.8	1.9	99.7	1.6	2.0

## 6) 常時監視測定局データによる PM<sub>2.5</sub> 濃度の汚染状況解析

山本裕典 豊永悟史\*<sup>1</sup> 出納由美子\*<sup>2</sup> 松崎達哉

### 要 旨

熊本県の PM<sub>2.5</sub> による大気汚染状況を把握するため、大気汚染常時監視測定局で観測された 2014～2016 年度の PM<sub>2.5</sub> 質量濃度を用いて解析を行った。

その結果、PM<sub>2.5</sub> 濃度は減少傾向にあり、大陸からの越境移流の減少が影響していると推測された。ただし、県内において、PM<sub>2.5</sub> 濃度に差が見られることや地点ごとで濃度の減少割合が異なることから、地域発生源からの排出も影響していると考えられた。

キーワード：微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>)，越境移流，地域汚染

#### はじめに

微小粒子状物質（以下「PM<sub>2.5</sub>」という。）は、浮遊粒子状物質 (SPM) に比べ肺の奥深くまで入りやすく、呼吸器系への影響も懸念されているため、PM<sub>2.5</sub> に対する大気環境基準が 2009 年 9 月に設定された。これを受けて、「大気汚染防止法第 22 条の規定に基づく大気の汚染の状況の常時監視に関する事務の処理基準について」が改正されるとともに環境大気常時監視マニュアルも改訂され、PM<sub>2.5</sub> の常時監視体制が図られてきた。このため、熊本県では、2012 年から県内の大気常時監視測定局において PM<sub>2.5</sub> 濃度の自動測定を開始し、2016 年現在では県下 28 地点で監視が行われている。

今回、2014～2016 年度の PM<sub>2.5</sub> 自動測定機による測定結果を基に、経年変化、季節変動、週内変動、日内変動の特徴を整理するとともに、特に経年変化の要因について解析を行ったので報告する。

#### 解析方法

##### 1 測定地点及び代表地点分類

測定地点は、図 1、表 1 に示すように大気常時監視測定局において PM<sub>2.5</sub> 自動測定機が設置されている全 28 局である。

また、越境移流の影響を考察するため、「道路沿道」、「都市」、「バックグラウンド」を代表する地点を選定

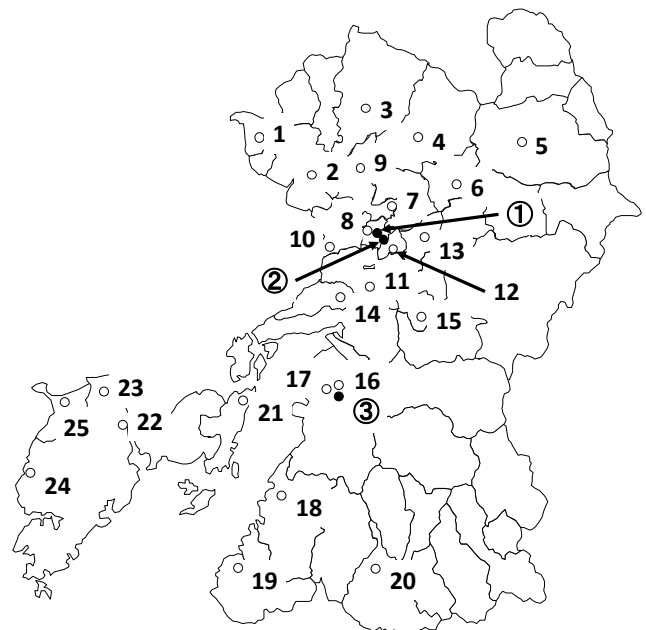


図 1 測定地点 (○一般局, ●自排局)

した。「道路沿道」は、「①水道町自排局（以下「水道町」という。）」及び「②神水本町自排局（以下「神水本町」という。）」の 2 地点、「都市」は、「7 楡木」及び「8 京町」の 2 地点、「バックグラウンド」は、「24 天草高浜」及び「25 苓北志岐」の 2 地点を選定した。

\*<sup>1</sup> 環境生活部環境局環境保全課 \*<sup>2</sup> 現 (公財) 熊本県環境整備事業団

表1 測定地点の一覧

No. 測定局名	No. 測定局名
1 荒尾運動公園	15 甲佐町岩下
2 有明保健所	16 八代八千把
3 山鹿健康センター	17 八代市役所
4 菊池市役所	18 小田浦公民館
5 阿蘇保健所	19 水俣保健所
6 大津町引水	20 人吉保健所
7 楡木	21 上天草合津
8 京町	22 天草保健所
9 北区役所	23 五和手野
10 中島	24 天草高浜
11 城南町	25 苓北志岐
12 秋津	① 水道町自排局
13 益城町役場	② 神水本町自排局
14 宇土運動公園	③ 八代自排局

これらは、土地利用の状況及び自動車排ガス等により地域的に排出される大気汚染物質である NO<sub>2</sub> の年平均値に基づき選定した。各代表地点の特徴としては、「道路沿道」は、主要な幹線道路沿いに位置しており、NO<sub>2</sub> の 2016 年度の年平均値も 0.015～0.017ppm と県内で最も高いため、地域汚染の影響が強い地点と考えられる。「都市」は、市街地に位置しており、NO<sub>2</sub> の 2016 年度の年平均値は 0.009ppm であり、道路沿道に次いで高く、地域汚染の影響は中程度であるといえる。「バックグラウンド」は、市街地から離れており、県の西部に位置している。NO<sub>2</sub> の 2016 年度の年平均値も 0.001～0.002ppm と低く、地域汚染の影響が小さいと考えられる。

## 2 測定方法

PM<sub>2.5</sub> の質量濃度の測定は、いずれの測定地点でも環境省により標準測定法と等価性を有すると評価された PM-712（紀本電子工業）、FPM-377（東亜 DKK）、APDA-3750A（堀場製作所）及び FH62C14（Thermo Fisher Scientific）を使用している。なお、これらの機器はいずれも質量濃度の計測法としてβ線吸収方式を採用している。

## 3 年平均値、日平均値（98%値）、月別平均値、曜日別平均値及び時間別平均値の算出方法

環境基準である年平均値、日平均値（98%値）については、環境省の定める環境大気常時監視マニュアル第6版に準拠し算出した。

月別平均値（季節変動）、測定日数がその月の8割未満の場合は欠測とし、1日の平均値を月別に平均して

算出した。春季は3～5月、夏季は6～8月、秋季は9～11月、冬季は12～2月とした。

曜日別平均値（週内変動）は、1日の平均値を曜日別に平均して算出した。また、月別平均値及び曜日別平均値は、基礎的な解析の結果、全地点で類似の変動を示していたため、全測定局の平均として示した。

時間別平均値（日内変動）は、一時間値を正時刻別に平均して算出した。なお、測定地点はいずれも有効測定日数250日以上の有効測定局であった。

## 4 クラスタ分析

PM<sub>2.5</sub> 濃度変動の類似性を統計的に評価するため、時間別平均値に対して次の条件でクラスタ分析を行った。

- ・使用ソフト：エクセル統計2012
- ・解析法：凝集法による階層型クラスタ解析
- ・距離計算： $\sqrt{2 \cdot 2 \times \text{相関係数}}$
- ・合併後の距離計算：ウォード法

## 結果及び考察

### 1 PM<sub>2.5</sub> 濃度の常時監視結果概要

PM<sub>2.5</sub> 濃度の常時監視結果概要を表2にまとめた。PM<sub>2.5</sub> の環境基準は、長期暴露による健康影響を防止する観点から設定された基準（年平均値 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）と短期暴露による健康影響を防止する観点から設定された基準（日平均値（98%値）35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）から評価される。

年平均値について、2014年度の基準を達成している測定局は全24測定局中2測定局のみ、2015年度は全28測定局中11測定局で基準を満たし、2016年度は全28測定局中16測定局と過半数以上の測定局で基準を達成していた。日平均値（98%値）についても、2014年度は全24測定局中3測定局のみで基準を達成し、2015年度は全28測定局中19測定局、2016年度は全28測定局中26測定局といずれも過半数を超える測定局で基準を満たしていた。

1日の平均値が35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した日（基準超過日）の平均日数は、2014年度は17日、2015年度は6日、2016年度は3日であった。

全国におけるPM<sub>2.5</sub>濃度の平均と比較すると、2014年度、2015年度、2016年度の全てで熊本県の平均の方が高い。九州地域は他の地域よりも大陸からの汚染物質の越境移流の影響を受けやすいとされている<sup>1)</sup>ため、県内のPM<sub>2.5</sub>濃度が高くなっていると考えられる。しかしながら、年平均値、日平均値、基準超過日数いずれにおいても、経年的に減少する傾向がみられ、一般局の環境基準達成率も2014年度から2016年度にかけ

表2 PM<sub>2.5</sub>濃度の常時監視結果概要

	2014年度				2015年度				2016年度			
	年平均値	日平均値	基準	環境基準	年平均値	日平均値	基準	環境基準	年平均値	日平均値	基準	環境基準
	( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	(98%値) ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	超過 (日)	の評価	( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	(98%値) ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	超過 (日)	の評価	( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	(98%値) ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	超過 (日)	の評価
1 荒尾運動公園	18.7*	43.6*	25	×	15.8*	34.8	6	×	15.1*	30.9	4	×
2 有明保健所	17.4*	41.0*	18	×	15.4*	32.7	4	×	14.3	30.3	1	○
3 山鹿健康センター	18.3*	42.5*	23	×	17.9*	37.4*	10	×	17.1*	34.1	7	×
4 菊池市役所	17.1*	41.5*	15	×	15.4*	32.7	5	×	14.8	30.8	2	○
5 阿蘇保健所	13.6	33.3	5	○	11.4	27.8	2	○	11.0	25.8	0	○
6 大津町引水	17.1*	38.7*	11	×	15.4*	32.9	4	×	14.7	30.9	3	○
7 楡木	17.8*	45.3*	25	×	16.1*	39.4*	15	×	15.1*	32.9	6	×
8 京町	18.6*	41.7*	24	×	17.1*	36.1*	9	×	16.1*	31.9	4	×
9 北区役所	-	-	-	-	17.2*	37.3*	9	×	16.5*	31.4	6	×
10 中島	-	-	-	-	14.6	32.5	5	○	13.8	30.3	3	○
11 城南町	-	-	-	-	17.8*	36.6*	10	×	17.4*	32.1	6	×
12 秋津	-	-	-	-	15.4*	34.4	6	×	14.2	28.9	2	○
13 益城町役場	20.1*	46.6*	27	×	19.1*	40.8*	14	×	18.1*	36.4*	8	×
14 宇土運動公園	18.0*	41.8*	18	×	16.4*	33.4	3	×	15.1*	30.8	1	×
15 甲佐町岩下	15.1*	33.5	7	×	13.3	27.8	1	○	12.9	26.7	0	○
16 八代八千把	19.9*	44.9*	29	×	18.1*	37.6*	9	×	16.6*	32.6	2	×
17 八代市役所	18.0*	42.8*	15	×	16.0*	35.8*	8	×	14.0	28.9	1	○
18 小田浦公民館	16.7*	38.5*	17	×	14.4	30.4	3	○	13.8	27.9	1	○
19 水俣保健所	16.1*	37.3*	13	×	13.4	28.7	0	○	12.8	28.1	1	○
20 人吉保健所	16.9*	36.0*	11	×	13.8	26.8	1	○	12.9	26.9	0	○
21 上天草合津	14.1	34.3	7	○	11.8	27.1	1	○	12.0	24.4	0	○
22 天草保健所	16.8*	39.5*	12	×	14.7	32.3	5	○	14.3	29.1	2	○
23 五和手野	15.8*	36.5*	11	×	14.0	31.5	3	○	13.4	27.7	1	○
24 天草高浜	15.1*	37.5*	11	×	12.9	30.6	2	○	12.3	26.3	2	○
25 荅北志岐	16.1*	37.8*	11	×	14.5	34.2	7	○	13.4	26.9	2	○
① 水道町自排局	22.0*	47.7*	41	×	20.1*	40.0*	20	×	19.1*	35.3*	8	×
② 神水本町自排局	18.4*	40.1*	17	×	17.1*	34.0	7	×	16.0*	29.8	2	×
③ 八代自排局	18.3*	40.0*	16	×	16.1*	31.3	5	×	15.3*	28.0	0	×
一般局 平均	17.0		17	9%	15.3		6	44%	14.5		3	64%
自排局 平均	19.6			0%	17.8			0%	16.8			0%
一般局 全国平均	14.7**				13.1**				11.9**			
自排局 全国平均	15.5**				13.9**				12.6**			

\*環境基準超過 \*\*平成28年度大気汚染の状況(環境省 水・大気環境局)

て、9%から64%まで改善した。

なお、2016年度の各測定地点を比較すると、年平均値は最大で $8.1\mu\text{g}/\text{m}^3$ の差がみられた。このことから、越境移流による広域的な影響以外に、自動車等の発生源による地域的な影響があることが示唆される<sup>2)</sup>。

## 2 季節変動

季節変動は県内全域で類似した変動を示していたが、年度ごとでその傾向は異なっていた。月別平均値で作成した年度別の季節変動を図2に示す。

2014年度は、春季(特に5月)の濃度が高く、その後、夏季にかけて濃度が低下した後、冬季～春季にかけて再び濃度が高くなる傾向が見られた。2015年度は、2014年度と同様の傾向は見られたが、2014年5月のよ

うに濃度が著しく高い月はなく、濃度の変動幅が小さくなっていた。2016年度は、2014年度と2015年度に見られた傾向は見られなくなり、濃度の変動幅も更に小さくなっていた。このように、年度ごとで傾向が異なるので、季節変動から地域的な特徴を把握することは難しいといえる。

## 3 週内変動

週内変動も季節変動同様、県内全域で類似した変動を示していたが、年度ごとの傾向は異なっていた。曜日別平均値で作成した年度別の週内変動を図3に示す。

2014年度は火曜日、水曜日、土曜日に、2015年度は月曜日、土曜日、日曜日に、2016年度は金曜日、土曜日に濃度が高くなる傾向が見られた。全国的には人為

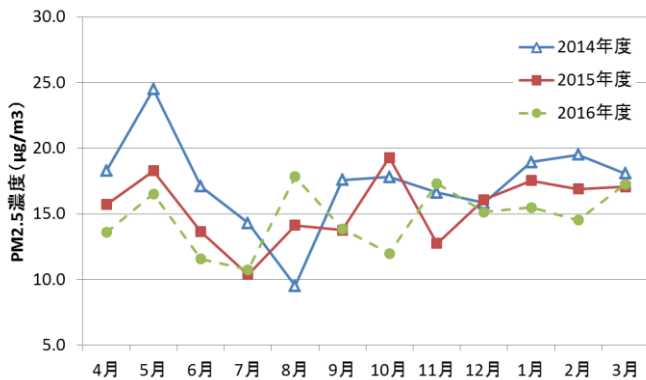


図2 PM<sub>2.5</sub>濃度の年度別季節変動

活動の影響により平日に濃度が高くなる傾向を示す<sup>1)</sup>が、本県では異なる状況となっており、特徴的な結果であった。

また、年度ごとに濃度が高い曜日が異なっていることから、人為活動等による地域的な汚染による影響よりも、曜日に左右されない越境汚染等の広域的な汚染による影響が強いと考えられる。よって、曜日別平均値により県内の地域的な特徴を把握することは難しいと考えられる。

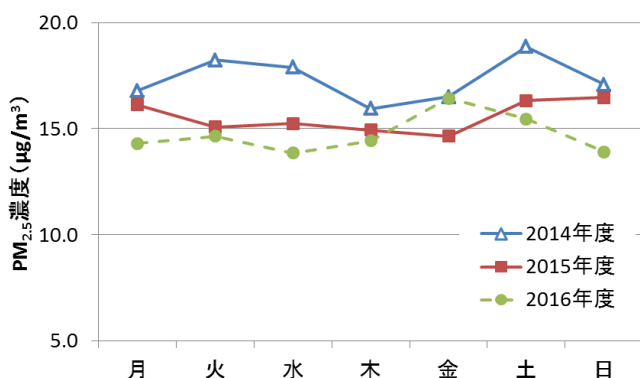


図3 PM<sub>2.5</sub>濃度の年度別週内変動

#### 4 日内変動

時間別平均値に対するクラスター分析を行ったところ、図4のように4つのパターンに分類できた。パターン別の時間別平均値で作成した各測定局の日内変動を図5～8に示した。日内変動は季節変動、週内変動と異なり、年度ごとの傾向は類似していたが、パターンごとに異なる特徴が見られた。

パターン1は変動幅が小さく日中15～19時頃に幅広いピークが見られた。パターン2は変動幅が大きく昼に大きなピークが見られるのが特徴的であった。パターン3は変動幅は小さいが朝(7～10時頃)と夕方(17～22時頃)にピークが見られた。パターン4は変動幅

が小さく他のパターンに見られるようなピークも不明瞭であった。これらの変動パターンは地理的な関係性があまり見られないことから、局所的な特徴を反映していると考えられる。

パターン2に分類された7地点のうち6地点は同じ自動測定機(Thermo製FH62C14)を用いていた。この機種では、標準測定法と比べて夏季において、日中に高く、夜は低くなる特性が報告されている<sup>3)</sup>ことから、日内変動幅が大きくなる要因の一つが自動測定機の機種と考えられる。

全国のPM<sub>2.5</sub>濃度データの日内変動を解析した事例では、パターン3のように二山型のパターンに関しては自動車由来の影響の可能性が指摘されている<sup>1)</sup>。本県においても道路沿道地点である水道町と神水本町い

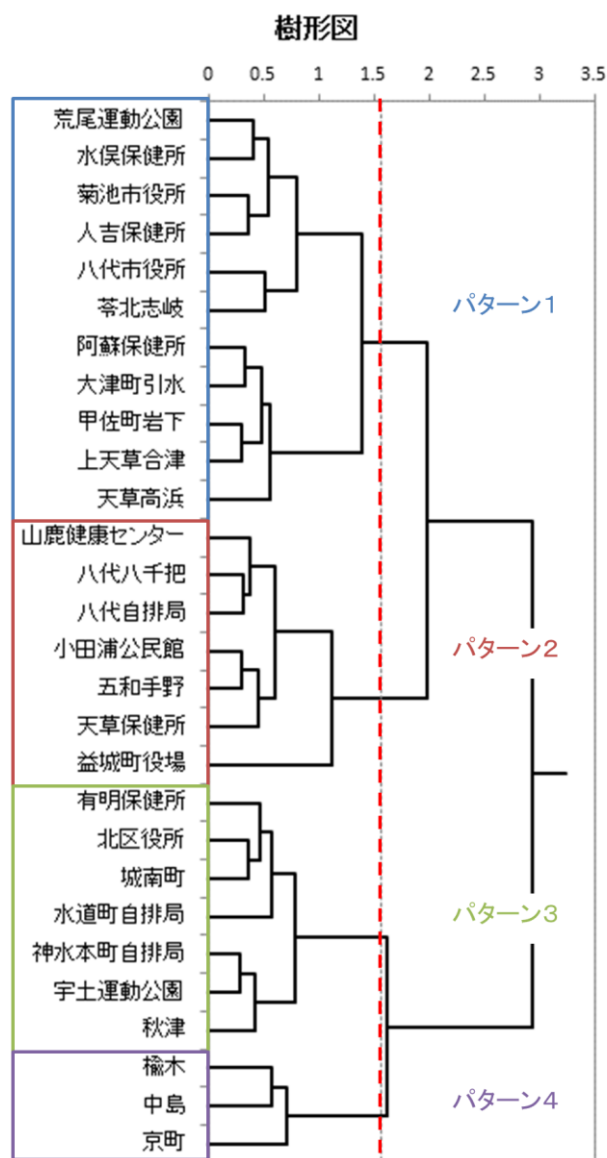


図4 日内変動のクラスター分析



ずれもこのパターン3に分類されており同様の結果が得られている。

## 5 越境移流の影響に関する考察

PM<sub>2.5</sub>濃度の常時監視結果概要において、県内のPM<sub>2.5</sub>年平均値が経年的に減少する傾向が見られ、このとき、中国の北京におけるPM<sub>2.5</sub>年平均値も2014から2016年かけて97.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ から72.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ まで減少していた<sup>6)</sup>。そのため、大陸からの越境移流の減少により、県内の濃度が減少した可能性が考えられる。

このことについて考察するため、県内の代表地点分類（道路沿道、都市、バックグラウンド）ごとにおける年平均値、日平均値（98%値）及び季節別の経年変化について解析を行った。

### 1) 代表地点分類ごとの年平均値、日平均値（98%値）の経年変化

図9にそれぞれの代表地点分類の年平均値の経年変化を、図10にそれぞれの代表地点分類の日平均値（98%値）の経年変化を示す。図中の実線は近似直線を表している。

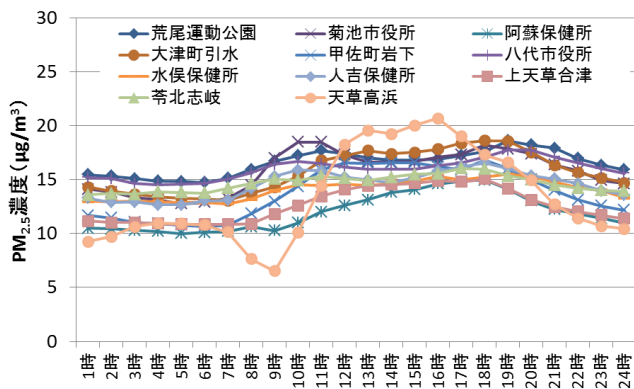


図5 PM<sub>2.5</sub>濃度の日内変動（パターン1）

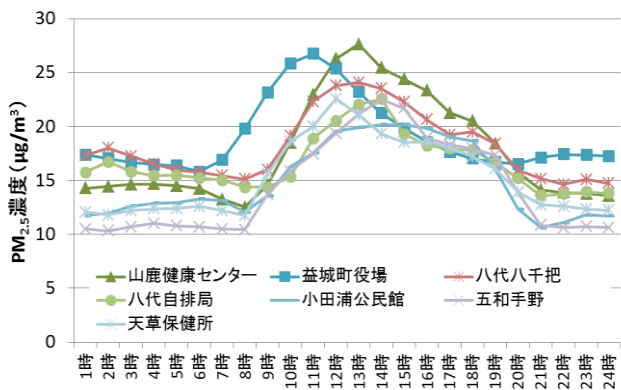


図6 PM<sub>2.5</sub>濃度の日内変動（パターン2）

都市、バックグラウンドの全ての地点分類で、同程度の傾きで、濃度が減少しているのが分かる。バックグラウンドでは周辺の発生源等の影響をほとんど受けないため、PM<sub>2.5</sub>濃度は地域汚染による寄与はほとんどなく、越境移流による寄与がほとんどであるといえる。そのため、バックグラウンドでの濃度減少の要因は越境移流の減少によるものであると解釈できる。バックグラウンドの濃度減少の傾きと道路沿道及び都市の濃度減少の傾きが同程度であるということは、道路沿道及び都市においても、濃度減少の要因は越境汚染の減少によるものといえる。つまり、県内の地域汚染による影響はあまり変化していないが、越境移流による影響が小さくなったため、PM<sub>2.5</sub>濃度が減少したと推測できる。

### 2) 代表地点分類ごとの季節別経年変化

代表地点分類ごとの季節別の経年変化を図11～14に示す。

全ての代表地点分類で、春季、秋季及び冬季については、PM<sub>2.5</sub>濃度は減少傾向、夏季については、PM<sub>2.5</sub>濃度は横ばいの傾向であった。九州地域では、偏西風

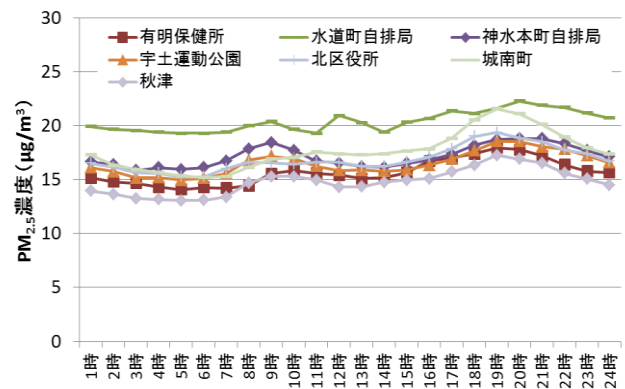


図7 PM<sub>2.5</sub>濃度の日内変動（パターン3）

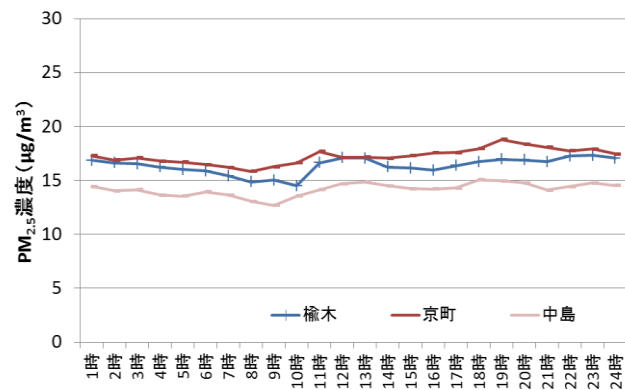


図8 PM<sub>2.5</sub>濃度の日内変動（パターン4）

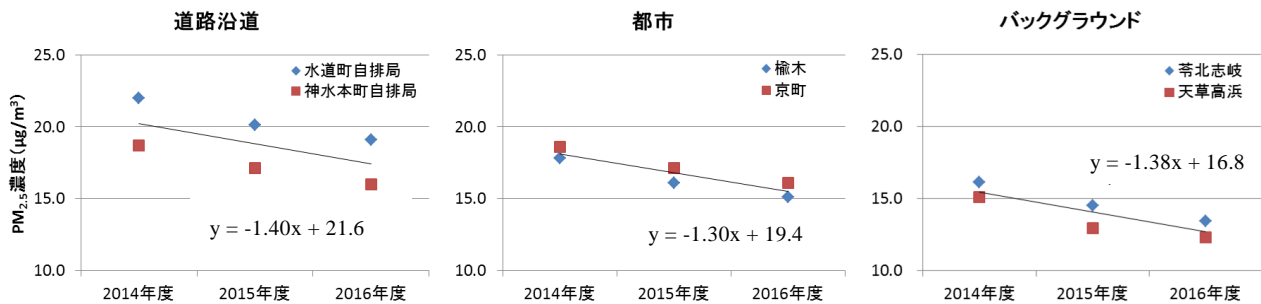


図9 各地点分類のPM<sub>2.5</sub>年平均値の経年変化

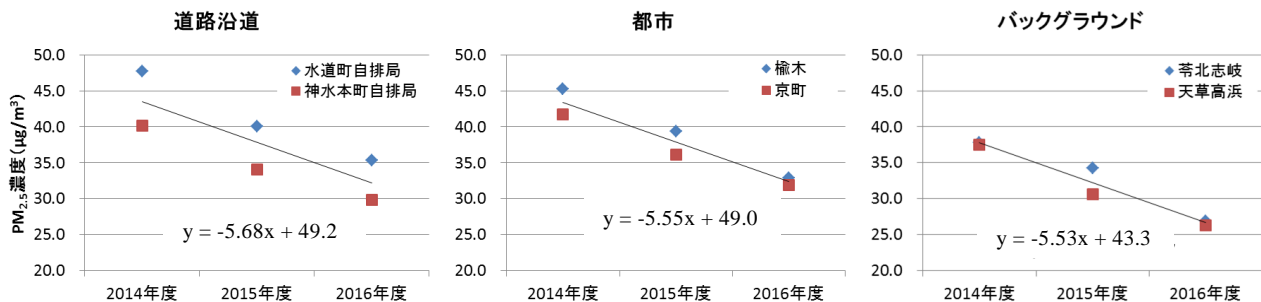


図10 各地点分類のPM<sub>2.5</sub>日平均値(98%値)の経年変化

の影響が強まる春季および秋季、また北西の季節風の影響を受ける冬季において、大陸からの越境移流によりPM<sub>2.5</sub>濃度が上昇するといった報告がされている<sup>4,5)</sup>。つまり、春季、秋季及び冬季は越境移流の影響が大きく、夏季は越境移流の影響が小さい季節と判断できる。

今回、春季、秋季及び冬季と越境移流の影響が大きい季節でPM<sub>2.5</sub>濃度が減少傾向にあり、越境移流の影響が小さい夏季ではPM<sub>2.5</sub>濃度が横ばい傾向にあるが、バックグラウンドと道路沿道、都市の傾きを比較すると差がある季節が見られた。これは、地域的な汚染による影響のため、もしくは、経年的な減少幅より気象条件等に起因した月単位の振れ幅の方が大きいために傾きに差が出た可能性が考えられる。ゆえに、本解析から、越境移流の減少を結論づけることはできず、地域的な汚染についての解析や気象条件の違いに着目した解析が必要である。

### まとめ

2014～2016年度の常時監視測定局のPM<sub>2.5</sub>データを用いて、熊本県のPM<sub>2.5</sub>による汚染状況を解析した。

PM<sub>2.5</sub>濃度は、中国のPM<sub>2.5</sub>濃度の減少に伴って減少していたことから、大陸からの越境移流の影響が小さくなったことが要因であると推測された。

地域的な汚染状況の把握は日内変動や週内変動等からは難しいが、代表地点分類ごとの年平均値、日平均値(98%値)及び季節別の経年変化から越境汚染の影

響度合いを判断でき、大陸からの越境移流の影響によるPM<sub>2.5</sub>濃度の減少を支持する結果が得られた。

しかしながら、県内においてもPM<sub>2.5</sub>濃度に差が見られることや代表地点分類ごとで濃度の減少割合が異なることから、地域発生源の影響や気象条件の違いを考慮する必要があるため、PM<sub>2.5</sub>の成分分析等の調査結果と統合して解析を行う必要がある。

### 文献

- 1) 板野泰之, 大原利真, 山神真紀子, 大野隆史, 長田健太郎, 武直子, 菅田誠治: 大気環境学会誌, **48**, 154 (2013).
- 2) 豊永悟史, 出納由美子, 村岡俊彦, 北岡宏道: 大気環境学会誌, **52**, 150 (2017).
- 3) 長谷川就一, 山神真紀子, 鈴木義浩, 熊谷貴美代, 西村理恵: 全国環境研会誌, **43**, 40 (2018).
- 4) 金谷有剛, 竹谷文一, 入江仁士, 駒崎雄一, 高島久洋, 鶴野伊津志: 大気環境学会誌, **45**, 289 (2010).
- 5) 兼保直樹, 高見昭憲, 佐藤圭, 畠山史郎, 林政彦, 原圭一郎, 河本和明, 山本重一: 大気環境学会誌, **46**, 111 (2011).
- 6) 鶴野伊津志, 王哲, 弓本桂也, 板橋秀一, 長田和雄, 入江仁士, 山本重一, 早崎将光, 菅田誠治: 大気環境学会誌, **52**, 177 (2017).

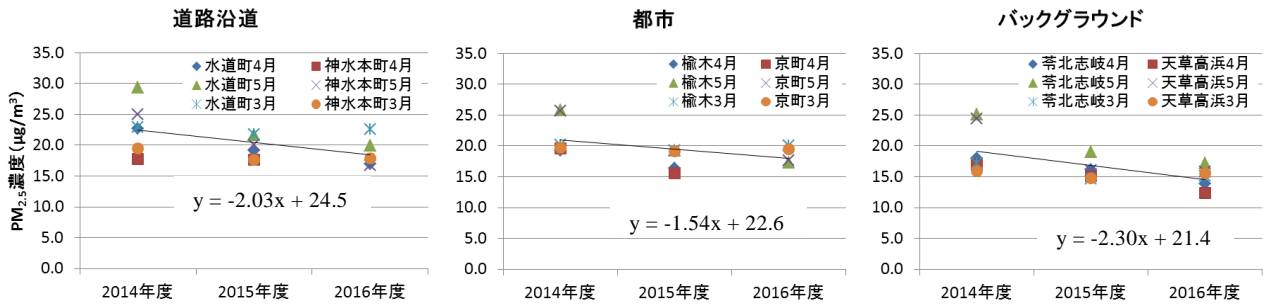


図 11 春季における各地点分類の PM<sub>2.5</sub> 濃度の経年変化

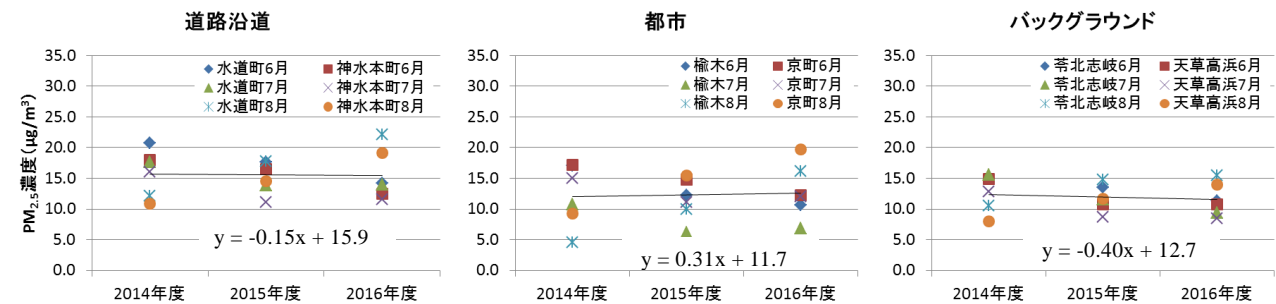


図 12 夏季における各地点分類の PM<sub>2.5</sub> 濃度の経年変化

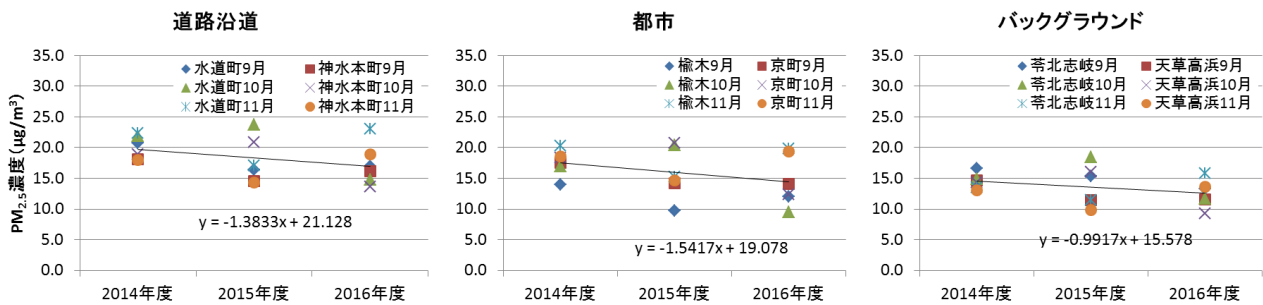


図 13 秋季における各地点分類の PM<sub>2.5</sub> 濃度の経年変化

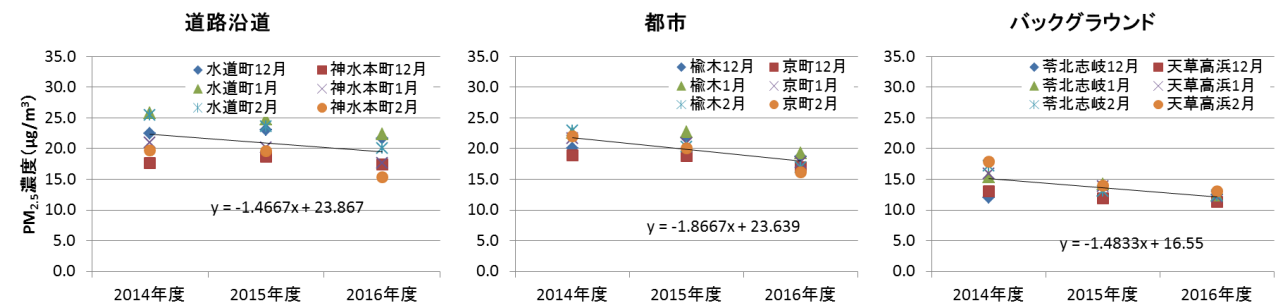


図 14 冬季における各地点分類の PM<sub>2.5</sub> 濃度の経年変化

## 7) 熊本県南部地域の地下水における金属成分と地質の関係

渡邊和博\*1 前田敏孝\*2 内田大智  
石原宏明 小林亜由美\*3 本田智宣

### 要 旨

熊本県南部地域（八代地域，芦北地域及び球磨地域）の地下水について金属成分の概況調査を実施するとともに，地下水の金属成分と地質の関係性を考察した。その結果，安山岩の影響が考えられる地下水ではバナジウム及びルビジウム濃度が高くなり，流紋岩の影響が考えられる地下水ではバナジウム濃度が高くないものの，ルビジウム濃度がさらに高くなる傾向となった。これは他の地域で報告されている内容と合致する結果となった。

**キーワード：**地下水，地質，火成岩，バナジウム，ルビジウム

#### はじめに

熊本県では，生活用水の多くを地下水に依存しており，地下水の量的・質的保全は県民の生活環境保全の面で非常に重要である。近年，県内における地下水の硝酸性窒素汚染が問題となっているが，一般的な地下水汚染としては，ほかにも金属や揮発性有機化合物によるものが知られている。

金属による地下水汚染の原因は，事業所排水等が地下浸透することで引き起こされる人為由来のもの，土壌等に高濃度に重金属が含まれていることを要因とする自然由来のもの，そしてこれらを複合したものが考えられる。なお，何を原因としてこれらの汚染が引き起こされたかを判別できるようにするためには，県内地下水におけるバックグラウンドレベルでの重金属成分の把握が望ましい。これまで木庭ら<sup>1)</sup>が県北地域における地下水中の金属成分の調査を実施したことはあるものの，県南地域で実施した例はない。

そこで，今回，筆者らは八代地域，芦北地域及び球磨地域にかけての熊本県南部地域（以下，県南地域という）を対象地域とした金属成分の概況調査を実施した。また，河川の金属成分と地質との関係性に関する先行研究等<sup>2-4)</sup>を参考に，地下水の金属成分と地質との関係性について考察したので報告する。

#### 調査地域

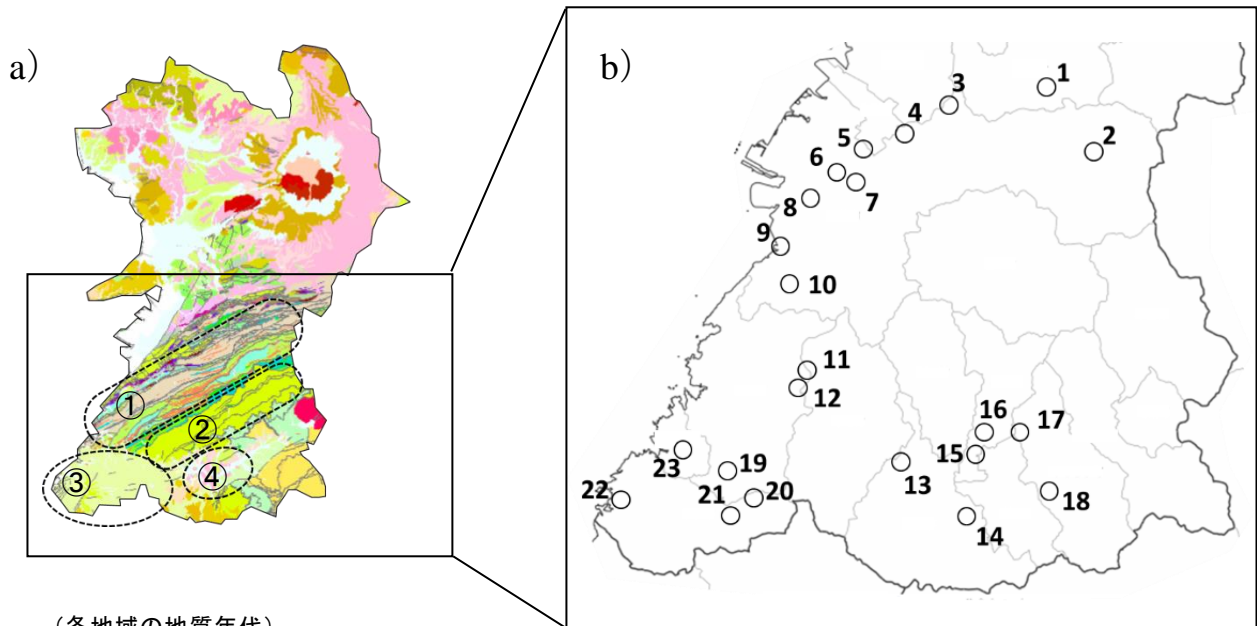
図1に示すとおり，県南地域は，多種多様な地質体が分布している。これまでの研究<sup>5-7)</sup>から地質に着目すると，八代地域は主に秩父帯と呼ばれるジュラ紀～前期白亜紀の付加体からなり，その南側では四十帯と呼ばれる白亜紀～古第三紀の付加体からなっている。また，芦北地域は後期中新世以降の火山活動によって形成された肥薩火山岩類，球磨地域は人吉盆地を中心に中期更新世以降の入戸火砕流堆積物や阿蘇火砕流堆積物からなるとされている。このため，県南地域になるにつれて，地質の年代は新しい時期のものとなる。

今回，県南地域の調査にあたり，熊本県内各地の地下水情報等が書籍としてまとめられた「水は伝える熊本の湧泉」<sup>8)</sup>や熊本県名水百選<sup>9)</sup>を参考とし，地質との関係性を考慮したうえで八代地域10地点（七郎次水源は下益城郡だが，八代地域に含む），球磨地域8地点，芦北地域5地点の全23地点を調査地点として選定した。図1に調査地点を示すが，21地点は湧水であり，2地点は動力により汲み上げられた地下水となっている。

#### 調査内容

平成29年4月から平成30年3月まで，全23地点について，概ね春，夏，秋，冬となる時期に計4回調査

\*1 現病院局診療部 \*2 現環境生活部環境局環境保全課 \*3 現健康福祉部健康局業務衛生課



(各地域の地質年代)

八代地域：①ジュラ紀～前期白亜紀（秩父帯）

球磨地域：②白亜紀～古第三紀（四万十帯），③後期中新世以降

芦北地域：④中期更新世以降

・八代地域(10地点)

地点番号	地点名	住所
1	七郎次水源	下益城郡美里町早楠
2	冷水(ひやみず)	八代市泉町葉木
3	古屋敷水源	八代市泉町下岳
4	清水堂湧水	八代市東陽町南
5	如見水源	八代市岡町谷川
6	妙見中宮	八代市妙見町
7	子安観音(※)	八代市妙見町
8	高田水源	八代市豊原下町
9	日奈久温泉神社(※)	八代市日奈久上西町
10	さくらの雫	八代市坂本町百済来

※は湧水ではなく、動力により汲み上げられた地下水である。

・芦北地域(8地点)

地点番号	地点名	住所
11	岩戸水源	球磨郡球磨村神瀬
12	薮地区水源地	球磨郡球磨村薮
13	石坂井川	人吉市中神町
14	茂賀野水源	人吉市上漆田町
15	浜宮神社の湧水	球磨郡相良村柳瀬
16	池の王神社の湧水	球磨郡相良村深水
17	天子の水	球磨郡あさぎり町深田西
18	権現谷のラムネ水	球磨郡あさぎり町上西

・球磨地域(5地点)

地点番号	地点名	住所
19	地藏谷水源	葦北郡芦北町古石
20	寒川水源	水俣市久木野
21	地藏さんの水	水俣市越小場
22	冷水(ひやすじ)水源	水俣市袋
23	中尾水源	葦北郡津奈木町岩城

図1 調査地点の概略

a) 調査地域の地質及び全体図 b) 調査地域の拡大図

a) は産総研地質調査総合センターウェブサイト (<https://gbank.gs.jp/geonavi/geonavi.php>) のシームレス地質図基本版をもとに、筆者が加筆修正したもの。

を実施した。なお、調査の際は、採水前日及び当日の雨天を避けることとした。

現地にてポリ製の柄杓により試料をポリ瓶に採水した後、実験室に持ち帰り各種項目を測定した。調査項目は、pH、EC（導電率）、イオン成分（Na<sup>+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、F<sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>）及び金属成分（Li、B、Al等21項目）である。

pH及びECは電極法、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>は硫酸滴定法、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>を除くイオン成分はイオンクロマトグラフ法（以下、IC法という）、金属成分は誘導結合プラズマ質量分析法（以下、ICP-MS法という）で測定した。これらの測定方法は環境省ホームページの環境基準・法令等に記載された測定方法<sup>10)</sup>に基づいて実施しており、本所が独自に測定した項目についても、これらの測定方法に準じている。測定機器について、IC法ではDionex ICS-2100、ICP-MS法ではICP-MS Agilent7900を用いた。

## 結果及び考察

## 1 県南地域の概況

### 1-1. pH及びEC

調査した県南地域23地点の測定結果について、各項目の平均値を表1に示す。NO<sub>2</sub><sup>-</sup>及びBr<sup>-</sup>は全地点でNO<sub>2</sub><sup>-</sup>:0.1mg/L、Br<sup>-</sup>:0.1mg/L未満であったことから、表には記載していない。

pHについては概ね7.0前後を示しており、八代地域及び芦北地域では7.0を上回る場所が多く、球磨地域では7.0を下回る場所が多い傾向となった。

ECについては、全23地点のうち、7.子安観音の47.0μS/cmが最低であり、18.権現谷のラムネ水の862.5μS/cmが最高であった。ECが低い（すなわち、溶存成分が少ない）地点は涵養後の地中における水と岩石・土壌類との接触が少なく、流動時間が短いことが示唆される<sup>11)</sup>。7.子安観音及び21.地蔵さんの水はこうした地下水であることが考えられる。なお、藪崎らが環境省の平成の名水百選に選定された全国の湧水の水質を調べたところ、ECは16.7μS/cm～456.0μS/cmとなっており<sup>12)</sup>、18.権現谷のラムネ水は、この範囲を大きく超えていた。

表1 調査地点ごとの水質測定結果（pH、EC、イオン成分）

地点番号	地点名	pH		EC	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	F <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
		最大値	最小値											
八代地域	1 七郎次水源	7.6	7.9	76.6	2.9	<0.1	0.2	1.3	9.4	<0.1	2.1	2.1	2.1	40.6
	2 冷水	7.8	8.0	114.9	2.4	<0.1	0.1	0.5	19.2	<0.1	2.2	3.8	2.4	61.2
	3 古屋敷水源	7.3	7.9	175.3	6.2	<0.1	0.7	1.9	25.9	<0.1	2.4	2.4	7.9	89.4
	4 清水堂湧水	7.8	8.1	160.2	4.1	<0.1	0.5	2.4	23.6	<0.1	2.9	3.4	6.6	83.7
	5 如見水源	7.8	8.0	229.8	7.0	<0.1	0.6	5.7	30.4	0.1	5.6	4.2	13.4	111.8
	6 妙見中宮	6.3	7.3	173.3	6.9	<0.1	0.6	4.8	18.6	<0.1	3.2	2.8	20.7	53.7
	7 子安観音	7.2	7.6	47.0	4.2	<0.1	0.5	0.6	2.3	<0.1	2.8	1.0	5.7	15.8
	8 高田水源	6.9	7.2	112.3	4.9	<0.1	1.2	1.8	12.4	<0.1	3.4	3.9	6.9	40.8
	9 日奈久神社	6.9	7.4	76.4	5.7	<0.1	0.5	1.9	4.8	<0.1	4.4	2.2	7.1	27.3
	10 さくらの雫	7.6	8.1	157.3	3.9	<0.1	0.1	9.8	12.7	<0.1	3.2	1.4	7.2	90.3
球磨地域	11 岩戸水源	7.7	8.0	191.4	2.6	<0.1	0.3	1.0	35.1	<0.1	2.7	3.1	2.9	109.2
	12 薮地区水源地	7.8	8.1	162.3	3.2	<0.1	0.3	1.7	25.8	<0.1	4.0	1.8	3.8	85.3
	13 石坂井川	6.3	7.3	103.7	4.9	<0.1	2.7	1.8	8.3	<0.1	3.0	15.1	11.4	16.3
	14 茂賀野水源	7.2	7.6	101.0	4.2	<0.1	1.4	3.3	8.7	<0.1	3.2	6.3	1.1	45.0
	15 浜宮神社の湧水	6.3	6.4	201.2	9.9	<0.1	8.9	3.9	17.3	<0.1	5.3	11.8	14.3	39.6
	16 池の王神社の湧水	6.5	6.9	121.5	7.5	<0.1	4.0	2.4	8.8	<0.1	5.7	17.2	1.7	28.7
	17 天子の水	6.5	6.6	99.2	6.8	<0.1	5.0	1.7	6.1	<0.1	3.0	8.1	1.6	25.5
	18 権現谷のラムネ水	5.9	6.0	862.5	25.0	0.4	1.6	18.4	133.4	0.1	1.6	0.1	2.2	180.2
芦北地域	19 地蔵谷水源	7.7	8.0	93.2	5.4	<0.1	1.8	2.7	7.7	<0.1	3.5	0.8	1.7	52.8
	20 寒川水源	7.8	8.0	77.4	4.6	<0.1	1.8	1.8	6.2	<0.1	3.3	0.7	2.9	40.2
	21 地蔵さんの水	6.8	6.9	56.1	4.0	<0.1	1.3	1.4	3.4	<0.1	2.9	0.5	1.1	23.7
	22 冷水水源	7.1	7.5	113.8	6.2	<0.1	1.7	3.8	9.1	<0.1	5.0	3.8	1.8	54.0
	23 中尾水源	7.8	8.1	113.9	6.2	<0.1	1.7	3.1	8.0	<0.1	4.0	0.7	4.4	61.6

\* ECの単位はμS/cm、イオン成分の単位はmg/Lである。

## 1-2. イオン成分

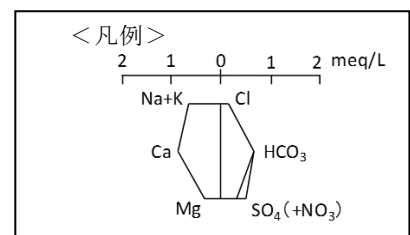
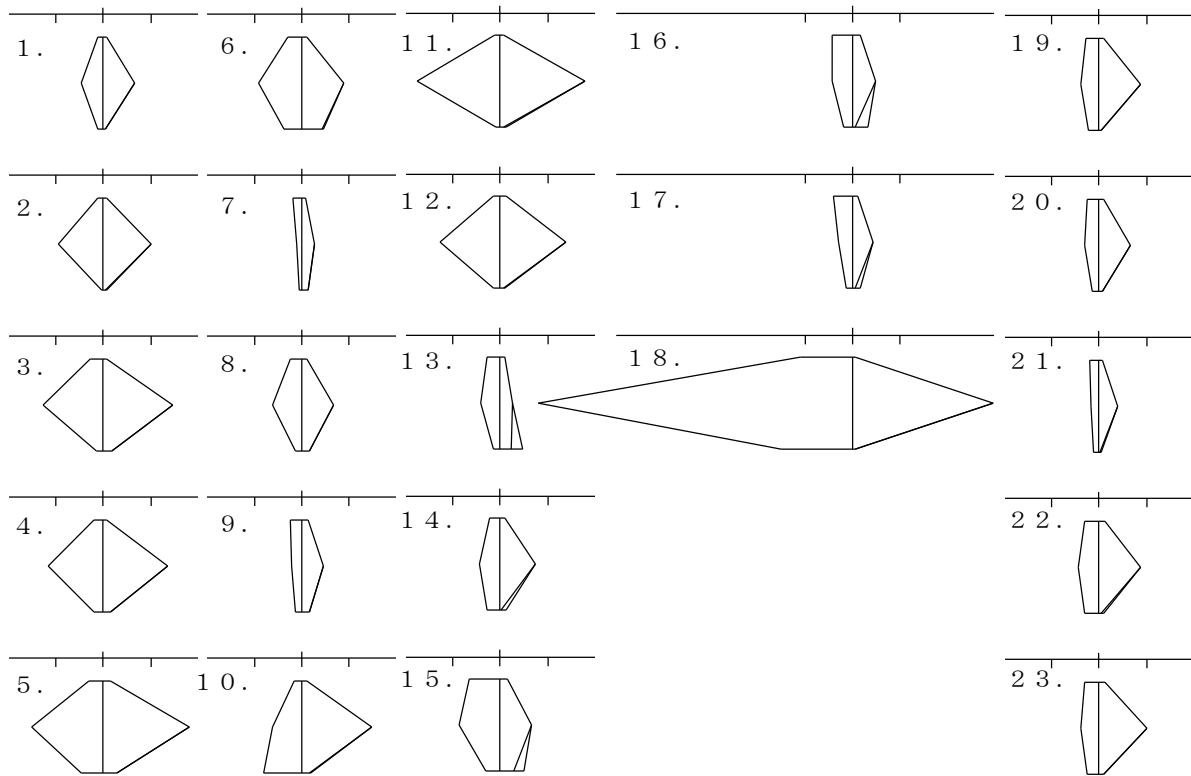
表1の測定結果から作成したヘキサダイアグラムを図2に、トリリニアダイアグラムを図3に示す。

ヘキサダイアグラムでは、ほとんどの地点がCa-HCO<sub>3</sub>型を示した。より極端なCa-HCO<sub>3</sub>型を示した地下水として、球磨地域の11.岩戸水源及び12.葎地区水源があるが、この周辺には球泉洞や神瀬石灰洞窟があり、石灰岩が水の侵食を受けて形成される鍾乳洞が存在する。そのため、一帯に石灰岩質の地質が分布することが明らかであり、地下水の水質形成に地質の影響が反映されたものと考えられた。球磨川水系の河川水質を分析した植木<sup>2)</sup>も流域地質の影響が河川水質のCa<sup>2+</sup>やHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>の濃度に反映されるとしており、地質が水質形成に影響を与えるとする考えが支持される。

トリリニアダイアグラムについては、大部分の地点は通常の地下水が多く分類されるアルカリ土類炭酸塩型を示した。一方、7.子安観音はアルカリ炭酸塩型（滯

留時間の長い深層地下水でよく見られる水質組成)、13.石坂井川はアルカリ土類非炭酸塩型（熱水や化石水が含まれている地下水）を示した。一般的に地下水が深層の帯水層にあり、地下での滞留時間が長くなると、地下水質がアルカリ土類炭酸塩型からアルカリ炭酸塩型に移行すると考えられている<sup>13)</sup>。しかし、1-1.より7.子安観音はECが低く流動時間が短い地下水であると示唆されたことから、トリリニアダイアグラムの考察と矛盾する。よって、今回の測定結果だけで考察することは困難であると考えられるが、この地下水は地質の影響を受けていることがわかった。13.石坂井川についてはNO<sub>3</sub><sup>-</sup>を除いたヘキサダイアグラムの形を見ると、15.浜宮神社の湧水や16.池の王神社の湧水に類似していることがわかる。トリリニアダイアグラムでは、陰イオン濃度全体に対するCl<sup>-</sup>及びSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度によってその位置が決まるため、熱水や化石水の影響を受けたわけではなく、陰イオン濃度に占めるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度が

図2 各地域のヘキサダイアグラム



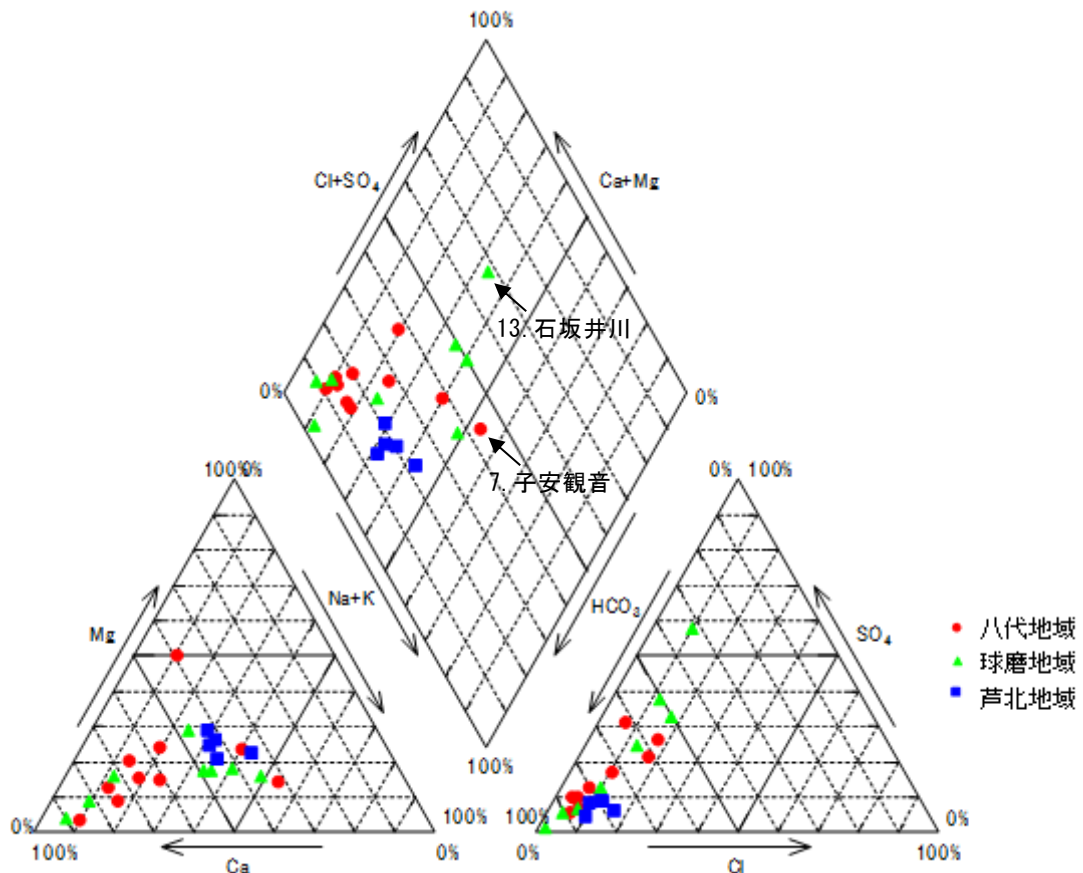


図3 各地域のトリリニアダイアグラム

大きかったことで、結果としてアルカリ土類非炭酸塩型に分類された可能性が考えられる。

これより、選定した23地点は地質の影響を受けることはわかったが、図1の年代別の地層により測定結果が分類される程の大きな差はなかったと考える。しかし、この23地点は通常の地下水であることがわかったため、金属成分も地質の影響を受けることを前提として考察することができる。

### 1-3. 金属成分

金属成分について、各測定項目の平均値及び標準偏差を表2に示す。ただし、18.権現谷のラムネ水については、1-1.で述べたようにECが他の調査地点と比べてかなり高く、金属成分についてもMn, Fe, Sr等の濃度が極めて高いことから、他の湧水と大きく異なる性質であると考えられたため、球磨地域の平均値及び標準偏差の算出から除外した。また、次の章の金属と地質の関係においても考察対象から除外している。

ICP-MS法で測定できる金属成分のうち、地下水の

環境基準としてCd, Pb, As, Se, Bが定められているが、今回調査した23地点において、基準超過は確認されなかった。なお、Al, Feを除くほとんどの元素では調査時期による測定値のばらつきが少なく、季節を通じて濃度がほぼ一定であることが考えられた。同じ地域であっても地点による濃度のばらつきが大きく、明確に地域差があるとは判断できなかった。しかし、地質の年代別では濃度差のある元素が確認できるように感じられたため、より詳細に考察することとした。

## 2 地下水の金属成分と地質の関係

### 2-1. 岩石の種類及び各地域の地質

地質を構成する岩石は大きく分けて、堆積岩、火成岩、変成岩に分類される(表3)。堆積岩は降り積もった砂や泥などが長い時間をかけて押し固められてできたもので、砂岩、泥岩などに加え、生物起源の堆積岩として石灰岩やチャートがある。火成岩はマグマが冷えて固まったもので、地表付近で急速に冷えて固まったものを火山岩、地下でゆっくり冷えて固まったものを深成岩とよぶ。さらに、その組成によって火山岩は



表2 地域別の水質測定結果（金属成分）

	八代地域	球磨地域		芦北地域	球磨地域
	①シユウ紀～前期白亜紀(秩父帯) (10地点, n = 40)	②白亜紀～古第三紀(四万十帯) (2地点, n = 8)	③後期中新世以降 (5地点, n = 20)	④中期更新世以降 (5地点, n = 20)	権現谷のラムネ水 (1地点, n = 4)
Li (μg/L)	0.93 ± 1.17	0.80 ± 0.22	1.90 ± 1.10	0.69 ± 0.28	37.98 ± 1.36
B (μg/L)	24.8 ± 24.8	5.60 ± 1.09	9.07 ± 3.46	6.45 ± 1.18	30.08 ± 0.43
Al (μg/L)	54.77 ± 60.23	12.50 ± 12.43	8.72 ± 13.24	17.37 ± 16.01	10.33 ± 6.48
V (μg/L)	1.21 ± 1.54	0.65 ± 0.33	0.88 ± 0.86	7.67 ± 4.20	0.10 ± 0.00
Cr (μg/L)	0.85 ± 1.58	0.35 ± 0.12	0.13 ± 0.05	0.27 ± 0.19	0.10 ± 0.00
Mn (μg/L)	1.44 ± 1.17	0.54 ± 0.11	0.55 ± 0.22	0.56 ± 0.23	1900 ± 163
Fe (μg/L)	37.21 ± 38.94	7.48 ± 7.85	4.69 ± 7.34	8.63 ± 7.68	22000 ± 6790
Ni (μg/L)	0.31 ± 0.45	< 0.1 (※)	< 0.1 (※)	0.11 ± 0.02	1.93 ± 0.13
Cu (μg/L)	0.66 ± 1.69	0.10 ± 0.00	0.16 ± 0.11	< 0.1 (※)	0.20 ± 0.14
Zn (μg/L)	0.75 ± 0.80	0.50 ± 0.00	0.52 ± 0.09	0.50 ± 0.00	12.48 ± 1.63
As (μg/L)	0.32 ± 0.29	0.23 ± 0.09	0.24 ± 0.15	0.13 ± 0.05	0.65 ± 0.37
Se (μg/L)	0.10 ± 0.00	< 0.1 (※)	< 0.1 (※)	< 0.1 (※)	< 0.1 (※)
Rb (μg/L)	0.50 ± 0.40	0.43 ± 0.0	17.2 ± 11.0	5.75 ± 0.61	3.13 ± 0.17
Sr (μg/L)	70.66 ± 44.52	51.60 ± 5.02	101.5 ± 44.24	52.44 ± 16.77	1600 ± 102
Mo (μg/L)	0.28 ± 0.38	0.16 ± 0.07	0.10 ± 0.00	0.13 ± 0.06	0.10 ± 0.00
Cd (μg/L)	< 0.1 (※)	< 0.1 (※)	< 0.1 (※)	< 0.1 (※)	< 0.1 (※)
Sb (μg/L)	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.01 ± 0.00	0.18 ± 0.07
Cs (μg/L)	< 0.1 (※)	0.10 ± 0.00	0.47 ± 0.43	0.14 ± 0.05	0.30 ± 0.00
Ba (μg/L)	6.98 ± 4.73	73.00 ± 52.65	34.82 ± 25.83	2.26 ± 1.18	220 ± 12.5
Pb (μg/L)	0.12 ± 0.11	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	< 0.1 (※)	0.18 ± 0.15
U (μg/L)	0.07 ± 0.12	0.08 ± 0.04	0.13 ± 0.17	0.03 ± 0.02	0.01 ± 0.00

※は全地点の調査結果が<0.1μg/L未満であったことを示す。

流紋岩・デイサイト、安山岩、玄武岩に分かれ、深成岩は斑レイ岩、閃緑岩、花崗岩に分かれる。変成岩は既にある岩石（堆積岩や火成岩）が高温や高圧などの条件にさらされてできたものである<sup>14)</sup>。そのため、同じ変成岩に分類される岩石であっても、堆積岩が作用を受けてきた場合と火成岩が作用を受けてきた場合では、その化学組成が大きく異なる可能性がある。

同様のことは堆積岩においても言うことができる。火成岩の起源が全てマグマによるものであることを考えると、火成岩は同一岩石種内での化学組成変動が小さいはずである。すなわち、異なる地点であっても、同じ火成岩の影響を受けた地下水であれば、ある種の元素が一定の濃度範囲に収まる可能性が考えられる。

各地域の調査地点の地質を構成する岩石について、

国立研究開発法人産業技術総合研究所地質調査総合センターが提供している20万分の1日本シームレス地質図<sup>15)</sup>を用いて確認した。その結果、八代地域は主に堆積岩、芦北地域一帯及び人吉盆地を中心とした球磨地域は火成岩であることがわかった。

2-2. バナジウム (V) と地質の関係

火成岩の基本的な区分は二酸化ケイ素の含有量でなされており、火山岩の場合、その割合の多い順に流紋岩・デイサイト、安山岩、玄武岩となっている(表4)。過去の研究において、(V)は、二酸化ケイ素の含有量が低い安山岩や玄武岩といった岩石ほど豊富に含まれており、二酸化ケイ素の含有量が高い流紋岩では乏しいことが示されている<sup>16)</sup>。これをもとに、玄武岩質の

表3 主な岩石の分類

岩石の種類	主な岩石	
堆積岩	砂岩, 泥岩, チャート, 石灰岩 等	
火成岩	火山岩	流紋岩, 安山岩, 玄武岩 等
	深成岩	花崗岩, 閃緑岩, 斑レイ岩
変成岩	片岩, 角閃岩, 緑色岩 等	

表4 火成岩の区分

	(SiO <sub>2</sub> ) 多	←————→	少 (SiO <sub>2</sub> )
	【酸性岩】		【中性岩】 【塩基性岩】
(火山岩)	流紋岩 デイサイト		安山岩 玄武岩
(深成岩)	花崗岩		閃緑岩 斑レイ岩

表5 球磨地域の水質測定結果

	11.戸水水源	12.薨地区水源地	13.石坂井川	14.茂賀野水源	15.浜宮神社の湧水	16.池の王神社の湧水	17.天子の水
Li (μg/L)	0.98 ± 0.17	0.63 ± 0.05	1.03 ± 0.30	0.48 ± 0.05	2.00 ± 0.57	2.68 ± 0.36	3.30 ± 0.14
B (μg/L)	4.93 ± 0.57	6.28 ± 1.12	10.75 ± 1.03	4.88 ± 0.40	14.55 ± 0.71	7.33 ± 0.83	7.85 ± 0.26
Al (μg/L)	20.13 ± 14.18	4.93 ± 2.37	1.70 ± 1.34	14.78 ± 7.21	2.33 ± 1.63	21.13 ± 23.99	1.60 ± 0.36
V (μg/L)	0.35 ± 0.06	0.95 ± 0.10	0.28 ± 0.10	2.53 ± 0.13	0.43 ± 0.05	0.43 ± 0.05	0.75 ± 0.06
Cr (μg/L)	0.25 ± 0.06	0.45 ± 0.06	<0.1 (※)	0.10 ± 0.00	<0.1 (※)	0.20 ± 0.00	0.15 ± 0.06
Mn (μg/L)	0.58 ± 0.15	<0.5 (※)	<0.5 (※)	<0.5 (※)	<0.5 (※)	0.75 ± 0.50	<0.5 (※)
Fe (μg/L)	12.10 ± 9.10	2.85 ± 2.00	0.80 ± 0.41	5.05 ± 3.08	4.43 ± 0.48	10.38 ± 15.63	1.75 ± 0.37
Ni (μg/L)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)
Cu (μg/L)	0.10 ± 0.00	<0.1 (※)	<0.1 (※)	0.38 ± 0.05	<0.1 (※)	0.10 ± 0.00	<0.1 (※)
Zn (μg/L)	<0.5 (※)	<0.5 (※)	<0.5 (※)	<0.5 (※)	<0.5 (※)	0.60 ± 0.20	0.50 ± 0.00
As (μg/L)	0.15 ± 0.06	0.30 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.25 ± 0.06	0.28 ± 0.05	0.48 ± 0.05
Se (μg/L)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)
Rb (μg/L)	0.40 ± 0.00	0.45 ± 0.06	8.73 ± 0.87	4.65 ± 0.13	35.10 ± 4.59	17.25 ± 0.58	20.30 ± 0.27
Sr (μg/L)	53.33 ± 4.74	49.85 ± 5.32	65.28 ± 3.34	75.65 ± 2.06	182.08 ± 21.82	103.18 ± 6.29	81.08 ± 3.07
Mo (μg/L)	0.10 ± 0.00	0.23 ± 0.05	<0.1 (※)	<0.1 (※)	0.1 ± 0.00	<0.1 (※)	0.10 ± 0.00
Cd (μg/L)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)
Sb (μg/L)	0.02 ± 0.02	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.05 ± 0.02
Cs (μg/L)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	0.10 ± 0.00	0.20 ± 0.00	1.08 ± 0.10	0.85 ± 0.06
Ba (μg/L)	24.13 ± 1.94	121.80 ± 10.23	13.98 ± 1.14	1.58 ± 0.29	38.80 ± 4.33	47.20 ± 3.27	72.55 ± 4.20
Pb (μg/L)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	<0.1 (※)	0.10 ± 0.00	<0.1 (※)
U (μg/L)	0.11 ± 0.01	0.04 ± 0.01	<0.01 (※)	0.02 ± 0.00	0.45 ± 0.08	0.07 ± 0.01	0.11 ± 0.01
周辺地質 における 主要岩石	石灰岩	玄武岩、段丘堆積物	デイサイト・流紋岩、段丘堆積物	安山岩・玄武岩質 安山岩、海成または非海成堆積岩類	デイサイト・流紋岩、海成または非海成堆積岩類	デイサイト・流紋岩、海成または非海成堆積岩類	デイサイト・流紋岩

※はすべての地点の調査結果において、定量下限値未満であったことを示す。

岩石を主体とする地域の河川水や水道水に含まれる V 濃度が著しく高いという特徴を指摘した研究報告がなされている<sup>3~4)</sup>。

今回、芦北地域一帯が肥薩火山岩類とよばれる安山岩類からなっていることから、各地下水の V 濃度は高濃度になると予想された。実際、表 2 で示したとおり芦北地域の V 濃度平均は  $7.67 \pm 4.20 \mu\text{g/L}$  であり、3つの地域のなかで一番高い濃度であった。標準偏差が大きくなっているのは、21.地蔵さんの水のみ V 濃度が  $1 \mu\text{g/L}$  を下回ったことによるものである。芦北の全ての湧水は安山岩の影響を受けていると考えられるため、この地点だけ V 濃度が低かった理由ははっきりしないが、1-1. で述べたとおり、21.地蔵さんの水は EC が低

く、地中における水と岩石・土壌類との接触が少なかったことで、他の地点ほど V が地下水に溶け込まなかったのではないかと推察した。

次に、球磨地域の調査地点ごとの金属成分の測定結果について、周辺地質における主要な岩石とともに表 5 に示す。その結果、球磨川以南に位置する茂賀野水源のみ V 濃度が  $1 \mu\text{g/L}$  を上回ることがわかった。その理由として、茂賀野水源は雨水が肥薩火山岩類の割れ目等を通して地下に浸透したことによって形成された地下水<sup>17)</sup>と考えられるのに対し、他の湧水は球磨川以北に位置するため、芦北地域から主に球磨川以南にかけて分布する肥薩火山岩類の影響を受けなかったものと推察した。なお、12.葦地区水源は主要な岩石に

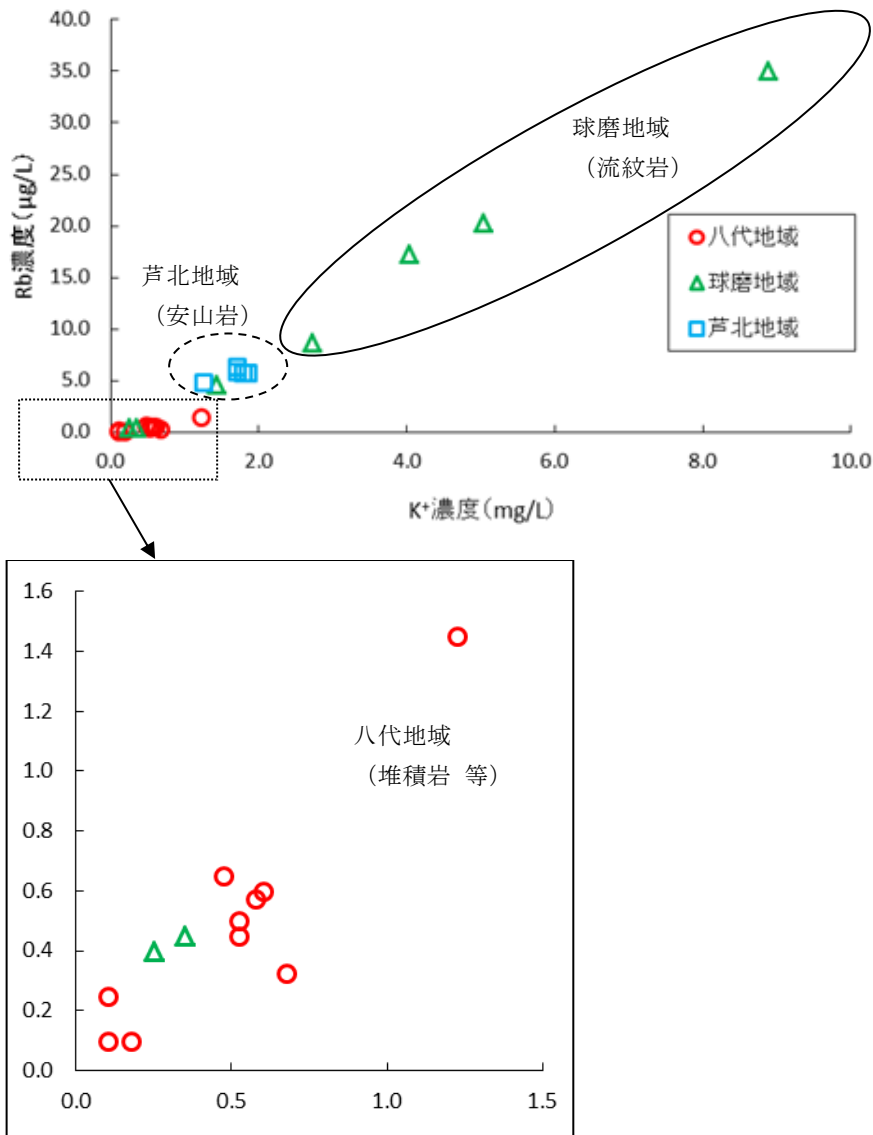


図 4 各地域の湧水における K<sup>+</sup> と Rb 濃度の関係

玄武岩が含まれ、V 濃度が  $0.95 \pm 0.10 \mu\text{g/L}$  と他の湧水より若干高かった。1-2 で述べたとおり、イオン成分において石灰岩の影響を強く受けていると思われるが、湧水周辺に分布する玄武岩によって、V 濃度が多少増加したものと考えられる。八代地域は、1.七郎次水源、5.如見水源、10.さくらの雫で V 濃度が  $1 \mu\text{g/L}$  を上回ったが、全体としては  $1 \mu\text{g/L}$  を下回るものが多かった。八代地域は、主に堆積岩の地質であり、火成岩（特に玄武岩や安山岩）の影響は受けていないことが示唆された。

以上から、他の地域での研究事例と同様に、県南地域においても、周辺の地質及び涵養域における地質が V 濃度に影響を与えるものと考えられる。

### 2-3. ルビジウム (Rb) と地質の関係

表 5 の球磨地域の Rb 濃度に注目すると、15.浜宮神社の湧水、16.池の王神社の湧水、17.天子の水において高濃度を示すとともに、13.石坂井川、14.茂賀野水源でそれより低い濃度、11.岩戸水源、12.蔀地区水源地で  $1 \mu\text{g/L}$  未満の低濃度となっていた。Rb が高濃度を示した地点における主要な岩石を確認したところ、流紋岩で共通していることが示唆された。今井ら<sup>18)</sup>が日本全国の河川堆積物をもとに元素分布の特徴を明

らかにした日本の地球化学図によると、花崗岩や流紋岩などの二酸化ケイ素の含有量が高い酸性岩でカリウムの濃度が高いとされている。そこで、各地域の地下水における  $\text{K}^+$  と Rb 濃度の関係を調べたところ、図 4 のとおり正の相関が認められた。地下水周辺の主要な岩石と Rb 濃度の関係を整理すると、球磨地域（火成岩 [流紋岩]）> 芦北地域（火成岩 [安山岩]）> 八代地域（堆積岩）= 球磨地域（堆積岩 [石灰岩]、火成岩 [玄武岩]）となる。このように、岩石の種類による影響が地下水中の Rb 濃度に反映されていると考えられる。

### まとめ

県南地域の金属成分の概況調査を実施した。また、河川の金属成分と地質との関係性について考察した。

地下水の環境基準項目については、全調査地点において環境基準値未満であり、通常から低濃度であると考えられた。

地質と金属成分の関係性について考察したところ、2つの元素について、湧水周辺や涵養域の岩石の種類によって、濃度に違いが現れると考えられた。1つは V であり、二酸化ケイ素の含有量の少ない火成岩である安山岩の地質で高濃度となるが、二酸化ケイ素の含有

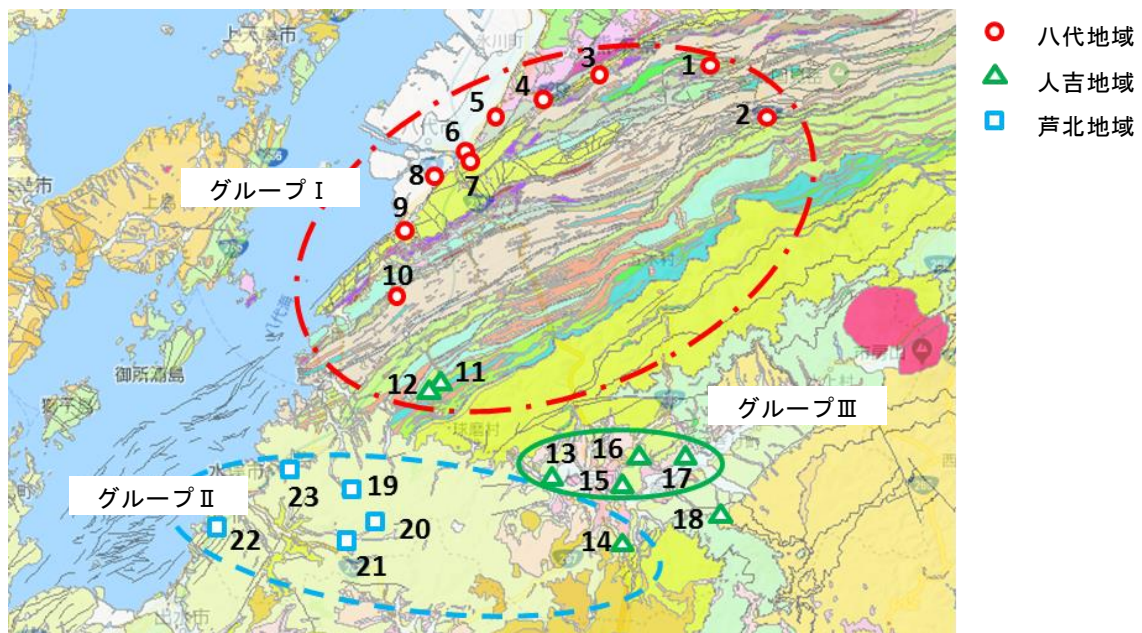


図 5 各地域における地質と水質の関係

地図は産総研地質調査総合センターウェブサイト (<https://gbank.gsj.jp/geonavi/geonavi.php>) のシームレス地質図基本版をもとに、筆者が加筆修正したもの。

量の多い流紋岩では低濃度となった。また、堆積岩や変成岩といった、火成岩と異なる岩石では流紋岩と同程度に低い傾向であった。2つ目は Rb であり、V とは逆に、流紋岩で高く、安山岩で低く、堆積岩や変成岩ではさらに低いという傾向を示した。

これらのことをまとめると、図 5 のとおりとなる。グループ I は堆積岩地域で火成岩の影響を受けない水質であるため、V 及び Rb は低濃度を示す。地層の年代は①ジュラ紀～前期白亜紀（秩父帯）及び②白亜紀～古第三紀（四万十帯）である。グループ II は火成岩の一種である安山岩の影響を受けて V 及び Rb が 1µg/L 以上を示す。地層の年代は③後期中新世以降である。グループ III は火成岩の一種である流紋岩の影響により、グループ II より Rb が高濃度となるものの、V には影響しない。地層の年代は④中期更新世以降である。

これらは、文献で報告されている地質と金属成分の関係性と合致するものとなり、県南地域の地質と金属成分の関係性としては新たな知見を得ることができたと考える。

## 文 献

- 1) 木庭亮一，松本尚己：熊本県保健環境科学研究所報，37，123（2007）。
- 2) 植木肇：熊本県保健環境科学研究所報，35，106（2005）。
- 3) 輿水達司，酒井陽一，戸村健児，大下一政：地球環境，2（2），215（1998）。
- 4) 輿水達司，京谷智裕：陸水学雑誌，63，113（2002）。
- 5) 道前香緒里，石賀裕明：島根大学地球資源環境学研究報告，21，17（2002）。
- 6) 国土交通省河川局：球磨川水系河川整備基本計画（平成 19 年 5 月）。
- 7) 斎藤眞，宝田晋治，利光誠一，水野清秀，宮崎一博，星住英夫，濱崎聡志，阪口圭一，大野哲二，村田泰章：地質ニュース 676 号，49（2010）。
- 8) 荒牧一利，田中浩二，古江研也，米田正：“水は伝える熊本の湧泉”，熊本の湧泉研究会（2004）
- 9) 水の国くまもと HP：水の名所  
[http://mizukuni.pref.kumamoto.jp/intro/pub/list.aspx?c\\_id=21&redi=ON](http://mizukuni.pref.kumamoto.jp/intro/pub/list.aspx?c_id=21&redi=ON)（平成 30 年 6 月閲覧）
- 10) 環境省 HP：環境基準・法令等  
昭和 46 年 12 月 28 日付け環境庁告示第 59 号  
<http://www.env.go.jp/kijun/mizu.html>  
平成 5 年 4 月 28 日付け環水規第 121 号
- 11) 島野安雄：宇都宮文星短大紀要，8，43（1997）。
- 12) 藪崎志穂，島野安雄：地下水学会誌，51（2），127（2009）。
- 13) 水収支研究グループ編：“地下水資源・環境論—その理論と実践—”，p152（1993）共立出版。
- 14) 国立研究開発法人産業技術総合研究所地質調査総合センターHP：岩石の分類  
<https://www.gsj.jp/geology/fault-fold/formation/r-classification/index.html>（平成 30 年 6 月閲覧）
- 15) 国立研究開発法人産業技術総合研究所地質調査総合センターHP：地質図 navi  
<https://gbank.gsj.jp/geonavi/geonavi.php>  
（平成 30 年 6 月閲覧）
- 16) Imai.N, Terashima.S, and Ando.A：Geochemical Journal，29，2991（1995）。
- 17) 茂賀野水源の現地立看板：上水道茂ヶ野水源の経緯と由来
- 18) 今井登，寺島滋，太田充恒，御子柴（氏家）真澄，岡井貴司，立花好子，富樫茂子，松久幸敬，金井豊，上岡晃，谷口政碩：地質ニュース 604 号，30（2004）。

## 3・2 資料

### 1) 日本脳炎調査 (2017 年度)

松本一俊 原田誠也 橋本慎太郎\* 酒井崇 大迫英夫

#### はじめに

日本脳炎 (以下「JE」という。) は、JE ウイルス (以下「JEV」という。) 保有蚊 (主にコガタアカイエカ) 媒介の感染症で、典型的なヒトの臨床像は急性髄膜脳炎である。数十年前には全国で年間 1,000 人を超える患者が発生していた JE が、ワクチンの普及により患者数は激減し、1992 年以降は一桁台が続いていた。2016 年は 25 年ぶりに 10 人を超える患者が報告された<sup>1)</sup>。JE は、発症すると致死率 (20~40%程度) が高く、回復後も半数近くに後遺症がみられることから、ワクチンの積極的接種が推奨されている。

本県では例年、厚生労働省の感染症流行予測事業の一環として、JEV のヒトにおける感受性調査及び飼育ブタの感染源調査を行っていたが、17 年度は飼育ブタの感染源調査を行ったので報告する。

#### 調査方法

##### 1 ブタ血清の赤血球凝集抑制 (HI) 抗体及び 2-メルカプトエタノール (2ME) 感受性抗体調査

2017 年 7 月 24 日から 2017 年 9 月 19 日の間に、県内の養豚場から熊本県畜産流通センター (菊池市七城町) に搬入された飼育ブタ (原則として飼育業者別に 5 検体ずつ) の放血血液を 1 週間毎に 15 検体計 120 検体採取した。採取した血液は血清を分離後、常法<sup>2)</sup>により HI 抗体価と新鮮感染の指標である 2ME 感受性抗体価を測定した。

##### 2 ブタ血清中の JEV 遺伝子検出及び JEV 分離

HI 抗体価測定に用いたブタ血清から、Real time PCR 法<sup>3)</sup>で JEV 遺伝子を検出した。また、JEV 遺伝子が陽性となった検体は、Vero9013 細胞に接種して 3 代まで継代培養し、細胞変性効果 (CPE) の出現を観察した。

#### 結果及び考察

##### 1 ブタ血清の赤血球凝集抑制 (HI) 抗体及び 2-メルカプトエタノール (2ME) 感受性抗体調査

飼育地別のブタ血清中の HI 抗体保有状況を表 1 に示

した。2017 年度に最も早く HI 抗体が確認されたのは、8 月 8 日の合志市で、その後 HI 抗体陽性率は漸増し、9 月 11 日には 73% となった。

次に、HI 抗体価及び 2ME 感受性抗体保有数を表 2 に示した。2ME 感受性抗体は、8 月 8 日の山鹿市鹿本町の検体 (HI 抗体陽性) から初めて確認され、その後、8 月 21 日まで確認された。このことから、県内で JEV が活動を開始した時期は、2016 年とほぼ同じ 8 月初旬と推定された。なお、2017 年の JE 注意報は、本県の発令基準 (ブタ血清から、2ME 感受性抗体を保有するブタが 1 頭でも検出された場合、又は JEV 遺伝子を保有するブタが 1 頭でも検出された場合) に従い、8 月 4 日に発令された。

##### 2 ブタ血清中の JEV 遺伝子検出及び分離

JEV 遺伝子検出状況を表 1 に併記した。ブタ血清中の JEV 遺伝子は合志市の 6 検体 (8 月 1 日: 2 検体, 8 月 8 日: 4 検体) から検出された。これらの検体から JEV 分離を試みたが、分離されなかった。

本県では、2016 年に続き 2017 年も JE 患者の届け出はなかったが、全国では 2017 年には広島県で 2 人、大分県で 1 人の JE 患者が報告<sup>4)</sup>されており、今後も調査を継続していく必要がある。

#### 文献

- 1) 多屋馨子: 臨床と微生物, 44, 193, (2017) .
- 2) 厚生労働省: 感染症流行予測調査事業検査術式 (2002) .
- 3) 高崎智彦: 厚生労働科学研究費補助金 (新興・再興感染症研究事業) 平成 20 年度分担研究報告書, 81-84 (2009).
- 4) IDWR 感染症発生動向調査週報 2017 年第 51, 52 週 (51 週・52 週合併号), 25, (2017).

\*現県北広域本部阿蘇地域振興局保健福祉環境部

表 1 飼育地別ブタの HI 抗体保有状況及び JEV 遺伝子検出状況等

採血月	熊本市	菊池市	鹿本町	大津町	その他	HI 抗体保有率
2017 年 7 月 24 日	0/5			0/5	0/5	0%
2017 年 8 月 1 日		0/5		0/5	0/5 (2)	0%
2017 年 8 月 8 日			5/5	0/5	1/5 (4)	40%
2017 年 8 月 16 日		1/10			5/5	40%
2017 年 8 月 21 日			5/5	0/5	1/5	40%
2017 年 9 月 4 日			5/5	0/5	0/5	33%
2017 年 9 月 11 日	5/5		5/5	1/5		73%
2017 年 9 月 19 日		1/5	5/5		5/5	73%

HI 抗体陽性数/検査頭数 ( ) 内は JEV 遺伝子検出数

表 2 ブタの HI 抗体価及び 2ME 感受性抗体保有数

採取月日	検査頭数	HI 抗体価							2ME 感受性抗体陽性数	
		<10	10	20	40	80	160	320		≥ 640
2017 年 7 月 24 日	15	15								0
2017 年 8 月 1 日	15	15								0
2017 年 8 月 8 日	15	9	1				1		4	4
2017 年 8 月 16 日	15	9					4	2		5
2017 年 8 月 21 日	15	9						2	4	3
2017 年 9 月 4 日	15	10				1		3	1	0
2017 年 9 月 11 日	15	4						9	2	0
2017 年 9 月 19 日	15	4			1	1	7	0	2	0

## 2) 感染症発生動向調査に伴う病原体検査（平成 29 年度）

酒井崇 橋本慎太郎\* 原田誠也 大迫英夫

### はじめに

熊本県感染症発生動向調査事業に基づき、平成 29 年度に検査依頼のあった検体について病原体検査を実施した結果を取りまとめたので報告する。

### 調査方法

#### 1 検査材料

県内の病原体定点やその他の医療機関で採取された咽頭ぬぐい液（鼻咽腔ぬぐい液及び鼻汁を含む）、便、結膜ぬぐい液（眼脂を含む）、髄液、尿及び喀痰等を検体とした。各種検体の受付数は表 1 に示した。搬入された検体は、検査に供するまで 4℃または-80℃で保存した。

#### 2 検査方法

既報<sup>1),2)</sup>及び病原体検出マニュアル<sup>3)</sup>に準じ、PCR 法、マイクロプレートによる細胞培養法で検査を実施した。分離ウイルスの同定は中和法、PCR 法、シークエンス法を用いた。

### 結果

平成 29 年度は、病原体定点である 10 医療機関から臨床検体 494 件、その他 2 医療機関から 5 件、合計 499 件の検査依頼があり、305 件から病原微生物が分離、あるいは遺伝子が検出された。疾患別病原体検出数を表 2 に示す。

#### 1 呼吸器系ウイルス（インフル、その他呼吸器系ウイルス）

インフルエンザウイルスは、インフルエンザ、インフルエンザ様疾患と診断された患者検体のうち、44 検体から分離、あるいは遺伝子が検出された。内訳は、A 型のみ同定が 1 件、A H1pdm 型が 13 件、A H3 型が 12 件、B Victoria 系統が 2 件、B Yamagata 系統が 15 件、A H3 型と B Yamagata 系統の同時検出が 1 件であった。

その他の呼吸器系ウイルスは、インフルエンザ、RS ウイルス感染症、上気道炎、下気道炎、咽頭結膜熱と診断された患者検体のうち、混合感染を含め 74 検体から分離、あるいは遺伝子が検出された。その内訳は、ヒトライノウイルスが 20 件、RS ウイルスが 28 件、ヒトコロナウイルス 229E 型が 2 件、ヒトコロナウイルス OC43 型が 5 件、パラインフルエンザウイルスが 11 件（内訳:1 型:1 件、2 型:1 件、3 型:9 件）、ヒトボカウイルスが 2 件であった。

また、この項にこれまで挙げた疾患以外からも呼吸器系ウイルスが検出され、その内訳は、ヒトライノウイルスが 27 件、RS ウイルスが 6 件、ヒトボカウイルスが 4 件であった。

#### 2 エンテロウイルス

エンテロウイルスは、ヘルパンギーナ、手足口病、発疹症、無菌性髄膜炎と診断された患者検体のうち、混合感染を含め 58 検体から分離、あるいは遺伝子が検出された。その内訳は、コクサッキーウイルス A 群 6 型が 21 件、10 型が 4 件、16 型が 8 件、コクサッキーウイルス B 群 2 型が 8 件、4 型が 4 件、エンテロウイルス 71 型が 5 件、型別不明（NT）が 3 件であった。

また、この項にこれまで挙げた疾患以外からもエンテロウイルスが検出され、その内訳は、コクサッキーウイルス B 群 2 型が 3 件、型別不明（NT）が 9 件であった。

疾患別で、主なものとしてヘルパンギーナからコクサッキーウイルス A 群 6 型が 1 件、10 型が 2 件、コクサッキーウイルス B 群 2 型が 1 件、4 型が 1 件、型別不明（NT）が 1 件、手足口病からコクサッキーウイルス A 群 6 型が 21 件、10 型が 2 件、コクサッキーウイルス B 群 2 型が 1 件、エンテロウイルス 71 型が 4 件、型別不明（NT）が 1 件、無菌性髄膜炎からコクサッキーウイルス B 群 2 型が 2 件、4 型が 3 件、9 型が 1 件、型別不明（NT）が 1 件から分離、あるいは遺伝子が検出された。

#### 3 下痢症ウイルス（ノロ、その他下痢症系ウイルス）

感染性胃腸炎と診断された患者検体のうち、混合感染を含め 43 検体から分離、あるいは遺伝子が検出された。その内訳は、ノロウイルス G I が 1 件、G II が 13 件、アストロウイルスが 3 件、サポウイルスが 3 件、A 群ロタウイルスが 1 件、*Escherichia albertii* が 1 件であった。

#### 4 アデノウイルス

アデノウイルスは流行性角結膜炎、その他結膜炎等と診断された患者検体のうち、混合感染を含め 28 検体から分離、あるいは遺伝子が検出された。その内訳は、3 型が 8 件、37 型が 3 件、54 型が 3 件、64 型が 6 件、型別不明（NT）が 8 件であった。

また、呼吸器疾患、手足口病、ヘルパンギーナ及び感染性胃腸炎と診断された患者検体からもアデノウイルスが 5 件検出されたが、型別は不明であった。

\* 現県北広域本部阿蘇地域振興局保健福祉環境部



## 5 その他の病原微生物

脳炎・脳症と診断された患者検体から、パレコウイルスが2件検出された。

### まとめ

平成29年度は、コクサッキーウイルスA群6型が流行し、手足口病やヘルパンギーナ等から多数検出された。また、インフルエンザウイルスについては、A/H3型やB/Yamagata系統が多数検出され、昨年度とは異なる流行が見られた。今後も事業を継続し、経年的なデ

ータを蓄積することが県民に向けた感染症の注意喚起につながると考えられる。

### 文献

- 1) 西村浩一, 松尾繁, 田端康二, 甲木和子: 熊本県保健環境科学研究所報, **30**, 49 (2000).
- 2) 松尾繁, 田端康二, 西村浩一, 甲木和子: 熊本県保健環境科学研究所報, **31**, 71 (2001).
- 3) 病原体検出マニュアル (国立感染症研究所作成)  
[www.nih.go.jp/niid/ja/lab-manual.html](http://www.nih.go.jp/niid/ja/lab-manual.html)

表1 検体受付数

病原体定点種別	検体数	検体種別						
		咽頭ぬぐい液	結膜ぬぐい液	便	髄液	尿	血液	その他
小児科	327	280	4	40		1	1	1
インフルエンザ	20	20						
眼科	66		66					
基幹	81	31		12	31		5	2
その他	5			3				2
合計	499	331	70	55	31	1	6	5

表2.疾患別ウイルス検出数(平成29年4月1日～平成30年3月31日)

疾患名	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計	
インフルエンザ	検体受付数	2	0	0	0	1	0	1	4	12	18	14	5	57
	Influenza A(H1pdm09)					1			8	4				13
	Influenza A(H3)							1	4		3	3	1	12
	Influenza B(Victoria)	2												2
	Influenza B(Yamagata)								1	5	6	3		15
	Influenza A								1					1
	Influenza A(H3)+Influenza B(Yamagata)									1				1
	Enterovirus NT									1				1
	Human corona OC43									1				1
	RSV											1		1
陰性									5	4	1		10	
RSウイルス感染症	検体受付数	0	0	0	0	0	12	1	2	0	0	0	1	16
	RSV						10	1	1					12
	Parainfluenza 3						1							1
	Human rhino											1		1
	RSV+Enterovirus NT						1							1
	RSV+Human rhino								1					1
	陰性													0
上気道炎	検体受付数	7	6	2	3	2	7	5	7	6	9	7	10	71
	Influenza B(Victoria)	2												2
	Coxsackie B2		1											1
	Enterovirus NT		1			1		1	1					4
	Human bocavirus							1						1
	Human corona OC43									3				3
	Human corona 229E	1											1	2
	RSV				1		5	1			2			10
	Parainfluenza 3	2			2									4
	Human rhino		3						4	2			1	10
	Parainfluenza 2	1												1
	Parainfluenza 3+Human bocavirus			1										1
	Parainfluenza 3+Human rhino	1												1
	RSV+Human rhino								1					1
	陰性		1	1		1	2	2	1	1	7	7	7	30
	下気道炎	検体受付数	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Human rhino													1	1
陰性		1										2		3
ヘルパンギーナ	検体受付数	3	1	1	2	7	6	0	4	9	2	2	2	39
	Coxsackie A6			1										1
	Coxsackie B2						1							1
	Coxsackie B4								1					1
	EBV					1								1
	Adenovirus NT						1			2				3
	Enterovirus NT						1							1
	HHV-7									1				1
	HHV-6									1				1
	Human bocavirus										1			1
	Human rhino	1	1		1	2			2	2		2	1	12
	Parechovirus NT					1								1
	RSV						1		1					2
	Coxsackie A10+Parechovirus NT					1								1
	Coxsackie A10+HHV-6					1								1
	Human rhino+Human bocavirus				1									1
	Parechovirus NT+HSV 1					1								1
	RSV+Human rhino						1							1
	陰性	2					1			3	1		1	8
	手足口病	検体受付数	1	4	8	14	13	2	2	1	5	0	0	2
Coxsackie A6					5	8	4							17
Coxsackie A10			2											2
Coxsackie A16					5				1	1				7
Coxsackie B2						1								1
Adenovirus NT						1								1
Enterovirus 71								2		2				4
HHV-6						1				1				2
Human rhino							1						1	2
Parechovirus NT				1	1									2
Coxsackie A6+Parechovirus NT						2								2
Coxsackie A16+HHV-6										1				1
Cytomegalovirus+Human rhino													1	1
Enterovirus NT+Human bocavirus						1								1
陰性		1	2	2		3	1							9

表2.疾患別ウイルス検出数(平成29年4月1日～平成30年3月31日)

疾患名	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計		
発疹症	検体受付数	2	2	5	1	2	2	2	0	2	1	2	7	28	
	Coxsackie A6							1						1	
	Coxsackie B2		1											1	
	Entero 71												1	1	
	VZV									1				1	
	HHV-6									1				1	
	Human boca			1										1	
	Human rhino	1		2								1		4	
	Parecho NT					1	1							2	
	RSV							1						1	
	Parecho NT+Human rhino					1								1	
	RSV+Parecho NT						1							1	
	陰性	1	1	2	1						1	1		6	13
	咽頭結膜熱	検体受付数	2	10	3	0	1	1	1	1	1	0	1	1	22
Coxsackie B2			1											1	
Adeno NT							1		1					2	
Entero NT			1											1	
Human corona OC43										1				1	
Human rhino			2										1	3	
RSV						1						1		2	
Parainfluenza 1				1										1	
Adeno NT+EnteroNT								1						1	
Coxsackie B2+Human boca			1											1	
Parainfluenza 3+Human rhino			1	1										2	
陰性		2	4	1										7	
無菌性髄膜炎		検体受付数	0	1	6	5	6	0	3	6	5	1	0	3	36
		Coxsackie B2				5	4		1						10
	Coxsackie B4							1	1		1			3	
	Entero NT								1					1	
	HHV-7								1					1	
	VZV			2				1						3	
	Parecho NT					1								1	
	陰性		1	4		1			3	5				3	17
	脳炎・脳症等	検体受付数	1	4	0	0	0	2	0	0	0	0	2	3	12
		Parecho NT		2											2
		陰性	1	2				2					2	3	10
	流行性耳下腺炎	検体受付数	4	5	2	0	2	1	1	1	1	3	0	2	22
		Mumps	3	2	1										6
		Entero NT					1								1
HHV-6			1						1		2			4	
Human rhino										1				1	
Parecho NT						1	1							2	
陰性		1	2	1				1			1		2	8	
感染性胃腸炎	検体受付数	3	5	3	2	2	3	1	11	7	2	2	2	43	
	Noro G1									1				1	
	Noro G2		1	1					5	4		1	1	13	
	Adeno NT								1			1		2	
	Entero NT								1					1	
	Astro NT										1			1	
	Rota A	1												1	
	Sapo NT		1								1			2	
	Escherichia albertii					1								1	
	Sapo NT+Adeno NT		1											1	
	陰性	2	2	2	2	1	3	1	4	2			1	20	
	流行性角結膜炎	検体受付数	3	1	0	0	8	4	2	3	0	2	2	1	26
		Adeno 3					2	1	1	1					5
		Adeno 37					2	1							3
Adeno 54		2						1						3	
Adeno 64		1				2			1					4	
Adeno NT									1		2	2		5	
陰性			1			2	2							1	6
その他結膜炎等		検体受付数	5	3	7	0	1	2	1	6	2	5	2	8	42
		Adeno 3								1			1	1	3
	Adeno 64			2										2	
	Adeno NT		1							1	1			3	
	陰性	5	2	5		1	2		5	1	5	1	7	34	
その他	検体受付数	1	2	0	1	2	4	3	0	0	8	5	3	29	
	EBV				1									1	
	Herpesvirus NT						1							1	
	Human rhino	1	2								1			4	
	Parecho NT					1								1	
	RSV						1							1	
	Adeno NT+Parecho NT										1			1	
	HHV-6+Human rhino										1			1	
	陰性					1	2	3			5	5	3	19	
	検体受付総数	35	44	37	28	47	46	23	46	50	51	41	51	499	
陽性	19	26	19	25	37	31	16	33	38	26	19	16	305		
陰性	16	18	18	3	10	15	7	13	12	25	22	35	194		

### 3) 熊本県内における放射能調査（平成 29 年度）

北岡宏道 上野一憲 山本裕典 松崎達哉

#### はじめに

熊本県では平成元年度から科学技術庁（現原子力規制庁）の委託を受け環境放射能水準調査（以下「放射能調査」）を実施している<sup>1)</sup>。平成 29 年度の調査結果を取りまとめたので報告する。

#### 調査方法

調査項目及び測定方法は「放射能水準調査委託実施計画書（平成 29 年度）」及び既報<sup>1)</sup>に基づいた。測定装置は次のとおりである。モニタリングポストによる空間放射線量率調査はアロカ MAR-22、定時降水中の全ベータ放射能測定調査はアロカ JDC-3201B（ベータ線自動測定装置）、ゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線放出核種分析調査はキャンベラジャパン GC-3018 及び GC-3020 をそれぞれ用いた。

#### 調査結果

宇土市における定時降水中の全ベータ放射能調査の結果を表 1 に示した。測定した 96 検体中 2 検体から検出され、年間値 ND～2.0 Bq/L、6.9Bq/km<sup>2</sup> は過去の値と同程度であった。

県内 6 地点におけるモニタリングポストによる空間放射線量率調査の結果を表 2 に示した。各地点の線量率は過去の値と同程度であった。

宇土市（14.5m）の線量率は他 5 地点と比べやや低いが、これはこの検出器の高さが地上 14.5m に対し、福島第一原発事故後に配備した他 5 地点の検出器の高さが地上 1m であることから、土壌・地質等に由来する放射線量の影響を反映しているものと考えられる。

なお、宇土市（14.5m）の結果の比較として、毎月 1 回、年 12 回測定した地上 1m のサーベイメータによる空間放射線量率の最低値、最高値及び平均値はそれぞれ、37、62 及び 44nGy/h であった。この線量率は、宇土市（14.5m）の年間値（最低値、最高値及び平均値）25、59 及び 28nGy/h よりやや高いが、その他 5 地点の年間平均値 34～52nGy/h 等と同程度であった。

ゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線放出核種分析調査結果を表 3、4 に示した。平成 28 年 4 月発生の熊本地震の影響から、土壌調査地点を阿蘇郡西原

村から宇土市に変更した。

人工放射性核種である <sup>137</sup>Cs は宇土市土壌からそれぞれ 1.2 Bq/kg（43MBq/km<sup>2</sup>）、1.8Bq/kg（74MBq/km<sup>2</sup>）検出されたが、まだ 2 回の結果であり、宇土市土壌のガンマ線放出核種濃度レベルは今後の調査による。

原発事故の影響と推定される <sup>134</sup>Cs 及び <sup>131</sup>I について、平成 22 年度の大気浮遊じん（第 4 四半期）及び月間降下物（3 月分）、平成 23 年度の大気浮遊じん（第 1 四半期）及び月間降下物（4～6 月分）から検出されたが、平成 24 年度以降は検出されていない<sup>2)</sup>。

北朝鮮の地下核実験に伴うモニタリング強化の緊急調査を平成 29 年 9 月 3 日～9 月 12 日に行った。大気浮遊じん及び降下物（定時降水）についてゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線放出核種分析を行ったが、人工放射線核種は検出されなかった。この強化期間の全ベータ放射能測定は中止した。

#### まとめ

平成 29 年度の熊本県における環境放射能水準調査の全ベータ放射能調査、空間放射線量率及びガンマ線放出核種分析調査の結果に異常は認められなかった。

#### 謝辞

本調査にあたり、試料提供に御協力いただきました熊本県農業研究センターの生産環境研究所、茶業研究所、球磨農業研究所及び畜産研究所の関係各位に謝意を表します。

#### 文献

- 1) 上野一憲，塘岡 穰，久保 清：熊本県衛生公害研究所報，20，55（1990）。
- 2) 村岡俊彦，豊永悟史，北岡宏道：熊本県保健環境科学研究所報，42，134（2012）。

表1 定時降水中の全ベータ放射能調査結果

(調査地点:宇土市)

採取年月	全ベータ放射能				
	降水量 (mm)	測定数 (回)	最低値 (Bq/L)	最高値 (Bq/L)	月間降下量 (MBq/km <sup>2</sup> )
平成29年 4月	234.6	9	ND	1.8	3.9
5月	150.7	5	ND	ND	ND
6月	239.9	11	ND	ND	ND
7月	339.3	11	ND	ND	ND
8月	278.4	8	ND	ND	ND
9月	166.0	7	ND	ND	ND
10月	195.5	8	ND	ND	ND
11月	58.1	8	ND	ND	ND
12月	18.2	5	ND	2.0	3.0
平成30年 1月	85.2	10	ND	ND	ND
2月	66.9	7	ND	ND	ND
3月	135.6	7	ND	ND	ND
年間値	1968.4	96	ND	2.0	6.9
過去の年間値			ND	7.4	ND~42

ND: 不検出(測定値が計数誤差の3倍未満)

※過去の年間値: 平成元年度~平成28年度の年間値を集計。

※平成7年3月、調査地点を熊本市から宇土市に変更。

※北朝鮮地下核実験に伴うモニタリング強化期間は測定を中止(9月、5回)

表2 モニタリングポストによる空間放射線線量率調査結果

調査地点	(nGy/h)																	
	宇土市(地上高 14.5m)			熊本市(地上高 1m)			荒尾市(地上高 1m)			水俣市(地上高 1m)			天草市(地上高 1m)			八代市(地上高 1m)		
	最低値	最高値	平均値	最低値	最高値	平均値	最低値	最高値	平均値	最低値	最高値	平均値	最低値	最高値	平均値	最低値	最高値	平均値
平成29年 4月分	26	50	28	33	64	36	31	56	35	40	68	43	46	86	50	49	77	52
5月分	26	42	28	33	53	35	31	56	34	40	73	44	47	73	50	49	67	52
6月分	26	51	29	33	68	36	31	66	35	40	92	44	46	81	51	49	77	53
7月分	25	44	27	32	55	35	31	58	33	39	61	42	44	65	49	48	68	51
8月分	26	47	28	33	87	36	31	83	34	40	112	44	47	93	50	49	115	52
9月分	26	59	29	33	75	36	31	68	35	40	125	44	47	90	50	48	92	52
10月分	26	50	29	33	61	36	32	72	35	40	93	43	47	78	51	48	78	52
11月分	26	45	29	33	55	36	32	47	34	39	70	43	47	78	50	49	69	52
12月分	26	50	28	33	50	36	31	46	34	40	65	43	47	79	49	48	69	52
平成30年 1月分	26	54	29	33	72	36	31	65	34	40	87	44	46	82	50	48	79	52
2月分	26	44	28	33	66	36	31	71	34	40	76	43	47	88	50	48	77	52
3月分	26	53	28	32	68	36	31	66	35	40	86	43	46	94	50	48	77	51
年間値	25	59	28	32	87	36	31	83	34	39	125	43	44	94	50	48	115	52
過去の年間値	21	78	28	33	133	38	31	118	35	37	118	43	42	123	50	47	121	53

※1 時間値を集計

※宇土市検出器の高さは地上14.5m、その他は地上1m。

※過去の年間値：宇土市はグレイ単位となった平成12年度以降の年間値を、その他は測定を開始した平成24年度以降の年間値を集計。

表3 ゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線放出核種分析調査結果 (<sup>137</sup>Cs, <sup>134</sup>Cs)

試料名	調査地点	採取年月	検体数	<sup>137</sup> Cs						<sup>134</sup> Cs						単位
				平成29年度		平成元～原発事故前		原発事故後～平成28年度		平成29年度		平成元～原発事故前		原発事故後～平成28年度		
				最低値	最高値	最低値	最高値	最低値	最高値	最低値	最高値	最低値	最高値	最低値	最高値	
大気浮遊じん	宇土市	平成29年4月 ～平成30年3月	4	ND	ND	ND	ND	ND	0.050	ND	ND	ND	ND	ND	0.045	mBq/m <sup>3</sup>
月間降下物	宇土市	平成29年4月 ～平成30年3月	12	ND	ND	ND	0.36	ND	0.12	ND	ND	ND	ND	ND	0.11	MBq/km <sup>2</sup>
蛇口水	宇土市	平成29年6月	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	mBq/L
土壌	0～5cm	宇土市(樹園地)	平成29年12月	1	1.3	-	-	1.2	ND	-	-	ND	ND	ND	Bq/kg乾土	
					43	-	-	49	ND	-	-	ND	ND	MBq/km <sup>2</sup>		
	5～20cm	宇土市(樹園地)	平成29年12月	1	1.2	-	-	1.8	ND	-	-	ND	ND	Bq/kg乾土		
					74	-	-	190	ND	-	-	ND	ND	MBq/km <sup>2</sup>		
精米	合志市	平成29年10月	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Bq/kg精米	
野菜	大根	合志市	平成29年11月	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Bq/kg生	
	ホウレン草	合志市	平成29年11月	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
荒茶	御船町 あさぎり町	平成29年5月 平成29年5月	2	ND	ND	ND	1.4	ND	0.54	ND	ND	ND	ND	ND	0.30	Bq/kg乾物
原乳	合志市	平成29年8月	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Bq/L

ND:不検出(測定値が計数誤差の3倍未満) - :分析対象外核種等

※平成22年度大気浮遊じん第4四半期及び月間降下物(3月),平成23年度大気浮遊じん第1四半期,月間降下物(4～6月)及び荒茶については福島第一原発事故(H23,3,11)の影響があったものと推測される。

※土壌について、熊本地震のため調査地点を西原村から宇土市に変更(平成28年度)。

表4 ゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線放出核種分析調査結果 (<sup>131</sup>I, <sup>40</sup>K)

試料名	調査地点	採取年月	検体数	<sup>131</sup> I						<sup>40</sup> K						単位
				平成29年度		平成元～原発事故前		原発事故後～平成28年度		平成29年度		平成元～原発事故前		原発事故後～平成28年度		
				最低値	最高値	最低値	最高値	最低値	最高値	最低値	最高値	最低値	最高値	最低値	最高値	
大気浮遊じん	宇土市	平成29年4月 ～平成30年3月	4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.053	0.066	ND	0.58	ND	0.12	mBq/m <sup>3</sup>
月間降下物	宇土市	平成29年4月 ～平成30年3月	12	ND	ND	ND	ND	1.1	ND	1.1	ND	91	ND	3.9	MBq/km <sup>2</sup>	
蛇口水	宇土市	平成29年6月	1	ND	ND	ND	ND	ND	130	120	260	120	150	mBq/L		
土壌	0～5cm	宇土市(樹園地)	平成29年12月	1	ND	-	-	ND	240	-	-	180	Bq/kg乾土			
	5～20cm	宇土市(樹園地)	平成29年12月	1	ND	-	-	ND	8000	-	-	7100	MBq/km <sup>2</sup>			
精米	合志市	平成29年10月	1	ND	ND	ND	ND	ND	20	5.0	33	21	29	Bq/kg精米		
野菜	大根	合志市	平成29年11月	1	-	-	-	-	80	65	100	71	94	Bq/kg生		
	ハウレン草	合志市	平成29年11月	1	-	-	-	-	220	140	320	230	300			
荒茶	御船町 あさぎり町	平成29年5月 平成29年5月	2	-	-	-	-	-	550	700	480	790	440	570	Bq/kg乾物	
原乳	合志市	平成29年8月	1	ND	ND	ND	ND	ND	51	49	58	47	51	Bq/L		

ND:不検出(測定値が計数誤差の3倍未満) - :分析対象外核種等

※平成22年度月間降下物(3月)及平成23年度月間降下物(4～6月)については福島第一原発事故(H23,3,11)の影響があったものと推測される。

※土壌について、熊本地震のため調査地点を西原村から宇土市に変更(平成28年度)。



## 4) 熊本県の酸性雨長期モニタリング調査結果 (2017 年度)

### — 県内 2 地点における降水試料調査結果 —

上野一憲 北岡宏道

#### はじめに

熊本県では、1988 年 10 月から県内における酸性雨の状況を把握するため、長期モニタリング調査<sup>1)</sup>を行っている。2004 年 4 月から採取装置を湿性沈着と乾性沈着を分けて採取する降水時開放型採取装置に変更した<sup>2)</sup>。なお、2008 年からは、湿性沈着のみ調査を行っており、乾性沈着(非降水時における降下物)の結果については、既報<sup>3)</sup>を参照されたい。本報では 2017 年度の調査結果について報告する。

#### 調査方法及び分析方法

##### 1 調査地点及び降水採取方法

図 1 に調査地点を示した。阿蘇市(熊本県阿蘇保健所)及び宇土市(熊本県保健環境科学研究所)で小笠原計器製降水採取器 US-300 型を用い、1 週間ごとに降水の回収を行った。なお、八代市(八代市役所)は 2016 年 4 月 14、16 日に発生した熊本地震により降水採取器を設置している庁舎が立入禁止となった。また、苓北町(苓北町立志岐小学校)は 2016 年 3 月 7 日から降水採取器の故障により 2016 年度は欠測とし、以後両地点の調査を終了した。

調査月の区切りと降水試料の回収日は、酸性雨全国調査実施要領<sup>4)</sup>の別表月割り表に従った。

##### 2 分析方法

pH 測定は東亜ディーケーケー製 HM-42X を用い、複合電極は GST-5841C を使用した。電気伝導度(以下「EC」という)測定には東亜ディーケーケー製 CM-42X を用い、電導度セルは CT-58101B を使用した。なお、pH 及び EC は恒温水槽を使用して 25℃で測定した。

イオン成分分析はダイオネクス製 ICS-1600 を用い、イオンクロマトグラフ法で行った。ICS-1600 の分析条件は、カチオンでは Dionex IonPacTM CS16 のカラムと、溶離液として 30mM メタンスルホン酸溶液を用い、流速 1.0mL/min で分析を行った。また、アニオンでは Dionex IonPacTM AS23 のカラムと、溶離液として 4.5mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、0.5mM NaHCO<sub>3</sub> 混合溶液を用い、流速 1.0mL/min で分析を行った。

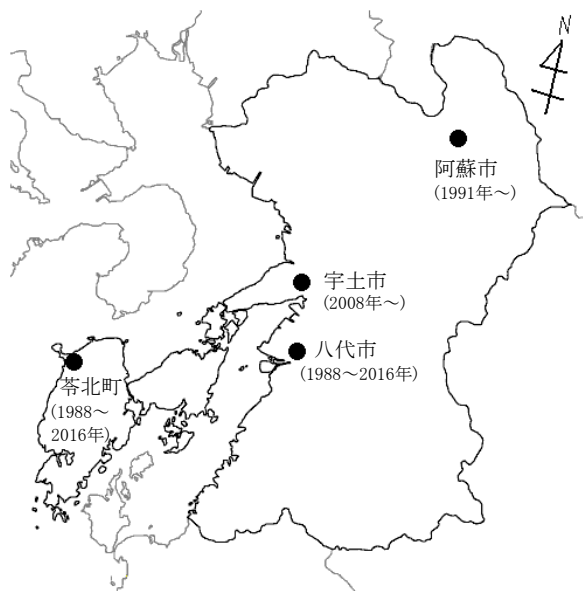


図 1 調査地点

#### 調査結果及び考察

##### 1 2016 年度<sup>5)</sup>との比較

表 1 に 2017 年度の調査 2 地点におけるイオン成分総括表を示した。降水量は貯水量から算出した。なお、宇土市の降水量について、2 月第 4 週から 3 月第 4 週までの期間は感雨器の故障により同地点に設置してある雨量計の降水量を用いて算出した。平均 pH、平均 EC 及び平均イオン成分濃度は降水量との加重平均により算出した。

年間降水量は 2016 年度と比べ、阿蘇市で 73.0mm、宇土市で 209.4mm、それぞれ減少した。宇土市については、11、12、1 月の少雨が年間降水量の減少に寄与した。

pH の年平均値は 2016 年度と比べ、阿蘇市は 0.14 の増加、宇土市は 0.06 の減少であったが、両地点の差はなかった。

EC の年平均値は、2016 年度と比べ、阿蘇市は 6 $\mu$ S/cm、宇土市は 1 $\mu$ S/cm 減少した。両地点とも 12 $\mu$ S/cm で、pH と同様に両地点の差はなかった。

イオン成分のうち、主に海塩由来成分である Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup> 及び Mg<sup>2+</sup> の年平均濃度は、宇土市がいずれも高く、海岸からの距離が影響した。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>を除く他のイオン成分は 2016 年度と比べ、同程度または減少した。なかでも、阿

表1 阿蘇市及び宇土市におけるイオン成分総括表<sup>注1)</sup>

調査地点	pH	EC μS/cm	Cl <sup>-</sup> μg/mL	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> μg/mL	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> μg/mL	H <sup>+</sup> μg/mL	Na <sup>+</sup> μg/mL	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> μg/mL	K <sup>+</sup> μg/mL	Mg <sup>2+</sup> μg/mL	Ca <sup>2+</sup> μg/mL	年間降水量 <sup>注2)</sup> mm
阿蘇市 n=50	平均	4.74 (4.60)	12 (18)	0.45 (0.81)	0.57 (0.52)	1.2 (1.5)	0.018 (0.025)	0.22 (0.22)	0.22 (0.26)	0.030 (0.063)	0.032 (0.050)	2655.3 (2728.3)
	最高	5.02	30	3.2	1.8	2.8	0.035	1.7	0.53	0.11	0.22	
	最低	4.46	7.5	0.13	0.33	0.61	0.010	0.021	0.065	0.011	0.0046	
宇土市 n=47	平均	4.75 (4.81)	12 (13)	0.58 (0.68)	0.55 (0.54)	1.0 (1.1)	0.018 (0.016)	0.30 (0.39)	0.16 (0.20)	0.032 (0.040)	0.040 (0.053)	2203.5 (2412.9)
	最高	5.10	57	3.0	5.0	5.0	0.073	1.4	1.3	0.18	0.20	
	最低	4.14	6.3	0.15	0.34	0.40	0.0080	0.030	0.035	0.013	0.0065	

注1) n: 検体数。平均は分析に供した雨水の降水量を基に加重平均により算出。表中の最高値及び最低値は、月平均(荷重平均)値から抽出。  
( )内: 2016年度の成分荷重平均濃度及び降水量。

注2) 測定地点で回収した雨水重量より計算した値(小数第2位を四捨五入し、小数第1位まで表記)。

阿蘇市の Cl<sup>-</sup> と SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> の年平均濃度は宇土市と比べて大きく減少した。

## 2 経月変化

表2に2017年度の各調査地点における月平均 pH 及び

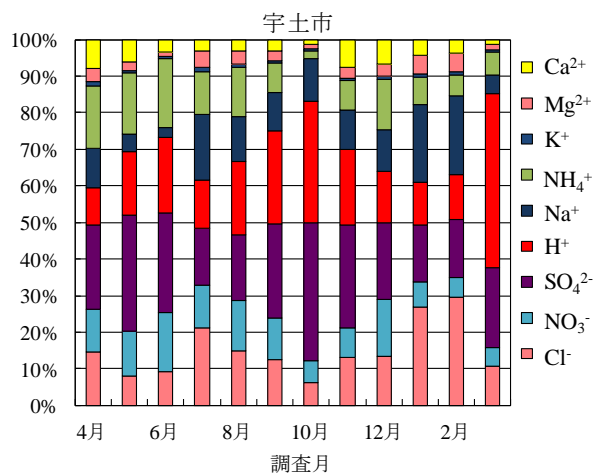
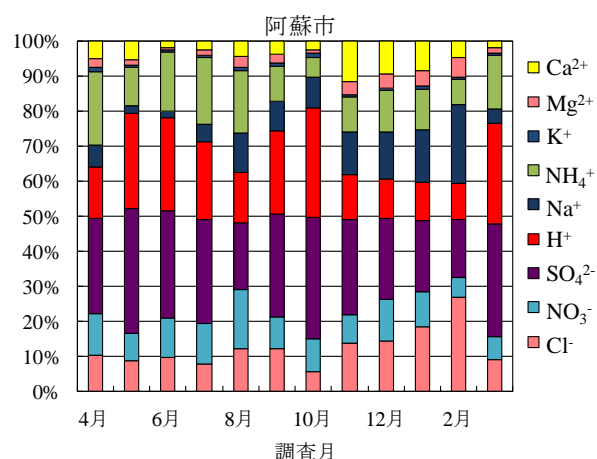


図2 月間沈着量に対する各イオン成分沈着量の割合

EC と月別イオン成分沈着量を、図2に2017年度の月間沈着量に対する各イオン成分沈着量の占める割合を示した。月平均 pH 及び EC は月別降水量との荷重平均により算出し、イオン成分沈着量は各イオン成分濃度に対し、分析に供した降水量を乗じて算出した。

月平均 pH では、宇土市(12月)の4.14が最も低く、次いで宇土市(3月)の4.28、宇土市(2月)と阿蘇市(2月)の4.46の順であった。

月平均 EC については、総じて pH が低い月に EC が高くなっていた。宇土市(12月)の57 μS/cm が最も高く、次いで宇土市(2月)の32 μS/cm、阿蘇市(2月)の30 μS/cm の順であった。

イオン成分沈着量は、2地点の年間沈着量を比較すると、阿蘇市の250 meq/m<sup>2</sup> (2016年度: 430 meq/m<sup>2</sup>)、宇土市の210 meq/m<sup>2</sup> (2016年度: 250 meq/m<sup>2</sup>) の順であった。このうち、海塩由来の影響が大きい Cl<sup>-</sup> と Na<sup>+</sup> について、阿蘇市は宇土市と比べて Na<sup>+</sup> に対する Cl<sup>-</sup> のイオン成分沈着量の割合が大きい。本県では火山性ガスが阿蘇地域の

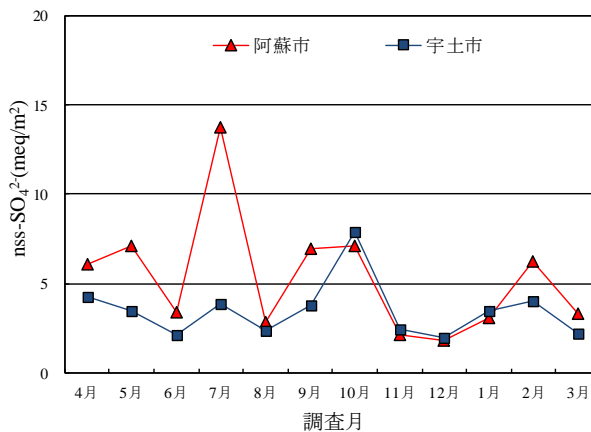


図3 nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>月間沈着量の推移

表2 月平均(加重平均) pH及びECと月別イオン成分沈着量<sup>注1)</sup>

調査地点	月	試料数	降水量 <sup>注2)</sup> mm	pH	EC μS/cm	Cl <sup>-</sup> meq/m <sup>2</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> meq/m <sup>2</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> meq/m <sup>2</sup>	H <sup>+</sup> meq/m <sup>2</sup>	Na <sup>+</sup> meq/m <sup>2</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> meq/m <sup>2</sup>	K <sup>+</sup> meq/m <sup>2</sup>	Mg <sup>2+</sup> meq/m <sup>2</sup>	Ca <sup>2+</sup> meq/m <sup>2</sup>	年間沈着量 meq/m <sup>2</sup>
阿蘇市	4月	3	284.4	4.92	10	2.4	2.7	6.2	3.4	1.4	4.8	0.31	0.53	1.2	23
	5月	3	199.9	4.56	16	1.8	1.6	7.1	5.5	0.42	2.2	0.12	0.28	1.1	20
	6月	2	202.7	4.83	8.4	1.1	1.2	3.4	2.9	0.18	1.9	0.057	0.077	0.23	11
	7月	6	592.8	4.75	11	3.8	5.3	14	10	2.3	9.0	0.29	0.74	1.3	47
	8月	3	240.9	5.02	7.5	1.9	2.7	3.1	2.3	1.8	2.8	0.13	0.50	0.74	16
	9月	4	355.1	4.78	10	3.0	2.3	7.2	5.9	2.1	2.5	0.21	0.63	0.93	25
	10月	4	322.4	4.68	10	1.2	2.0	7.3	6.6	1.9	1.2	0.28	0.22	0.54	21
	11月	3	52.1	4.69	16	1.2	0.67	2.3	1.0	1.0	0.84	0.047	0.32	0.96	8.3
	12月	3	33.1	4.54	25	1.2	1.0	1.9	0.95	1.1	0.98	0.060	0.34	0.78	8.3
	1月	6	112.8	4.79	14	3.1	1.7	3.4	1.8	2.5	2.0	0.12	0.74	1.5	17
	2月	4	133.6	4.46	30	12	2.4	7.4	4.6	9.9	3.2	0.36	2.5	2.1	45
	3月	3	125.5	4.62	12	0.95	0.68	3.3	3.0	0.42	1.6	0.061	0.15	0.22	10
	年間合計	44	2655.3			34	24	70	48	25	33	2.0	7.0	12	250
宇土市	4月	4	253.1	5.10	8.2	2.8	2.3	4.5	2.0	2.1	3.3	0.24	0.70	1.5	20
	5月	3	170.9	4.95	8.6	0.88	1.3	3.5	1.9	0.50	1.8	0.10	0.23	0.68	11
	6月	3	173.1	5.03	6.3	0.73	1.3	2.1	1.6	0.22	1.5	0.061	0.092	0.26	7.8
	7月	5	457.7	5.07	7.3	6.2	3.4	4.5	3.8	5.3	3.3	0.41	1.3	0.88	29
	8月	4	310.6	5.02	6.4	2.2	2.0	2.6	2.9	1.8	2.0	0.13	0.50	0.46	15
	9月	4	236.0	4.77	10	2.0	1.8	4.0	4.0	1.6	1.3	0.078	0.46	0.46	16
	10月	4	224.9	4.49	17	1.4	1.3	8.2	7.3	2.6	0.44	0.17	0.27	0.26	22
	11月	3	60.0	4.50	19	1.2	0.73	2.5	1.9	1.0	0.72	0.045	0.29	0.68	9.0
	12月	4	19.8	4.14	57	1.3	1.6	2.1	1.4	1.1	1.4	0.091	0.33	0.67	10
	1月	6	96.5	4.48	27	7.2	1.9	4.2	3.1	5.7	2.0	0.18	1.4	1.1	27
	2月	4	105.4	4.46	32	8.8	1.6	4.8	3.6	6.4	1.7	0.23	1.6	1.1	30
	3月	3	95.5	4.28	26	1.1	0.53	2.3	5.0	0.53	0.66	0.054	0.16	0.14	10
	年間合計	47	2203.5			36	20	45	38	29	20	1.8	7.3	8.0	210

注1)イオン成分沈着量は、有効数字2桁で表記。

注2)測定地点で回収した雨水重量より計算した値(小数第2位を四捨五入し、小数第1位まで表記)。

Cl濃度に影響を与えていることが報告されている<sup>6)</sup>。この点からも、pHと同様に、これらのイオン種については今後とも火山活動との関係を注視していく必要がある。

また、降水の酸性化成分となるSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>について、海塩由来のss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>を除いた非海塩性成分nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>年間沈着量の経年推移を図3に示した。宇土市のnss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>年間沈着量は、季節変動は比較的少ない。一方、阿蘇市では、7月に降水量が多かったことで沈着量が高くなったが、宇土市との差は少なかった。

### 3 経年変化

調査開始年度から2017年度までの苓北町、八代市、阿蘇市及び宇土市における年間降水量及び平均pHの推移を図4に、また、2008年度から2017年度までの平均pH、EC及びイオン成分年間沈着量の推移を表3にそれぞれ示した。なお、調査開始(1989年度)からのデータは既報<sup>7)</sup>を参照されたい。

2000年度以降、苓北町、八代市及び阿蘇市はpHが低下傾向にあったが、2007年度を境に再び上昇傾向に転じ、その後は上昇・下降を繰り返しながら推移している。このうち、阿蘇市については2011年度から下降に転じ、2014年度は急激に低下した。

次に、nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>年間沈着量の経年推移を図5に示した。調査開始から苓北町は八代市及び阿蘇市より低い値で推

移した。八代市は阿蘇市とともに高い値で推移していたが、2007年度以降減少傾向に転じ、八代市、苓北町及び宇土市の3地点の差は小さくなった。一方、阿蘇市は、2008年度以降減少に転じ、他の地点との差が減少したが、2013年度から2016年度まで再び差が広がりを見せた。2017年度は宇土市との差が小さくなっている。

### まとめ

nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>年間沈着量について、阿蘇市と宇土市の比較では、2012年度を除く調査年度で阿蘇市が高い傾向にあった。これは阿蘇山から排出される火山性ガス中に含まれる二酸化硫黄の排出量<sup>8)</sup>が影響していると考えられた。2017年度は火山噴火レベルがレベル1まで引き下げられ、年間沈着量も減少し、宇土市との差が少なくなった。

### 文献

- 1) 今村 修, 久保 清; 熊本県衛生公害研究所報, 19, 53 (1989).
- 2) 緒方和博, 矢野弘道, 上野一憲, 今村 修; 熊本県保健環境科学研究所報, 35, 91(2005).
- 3) 松本依子, 上野一憲, 今村 修; 全国環境研会誌, 33(4), 219 (2008).
- 4) 全国環境研協議会・酸性雨広域大気汚染調査研究部会; 酸性雨全国調査実施要領(平成29年度), (2017).

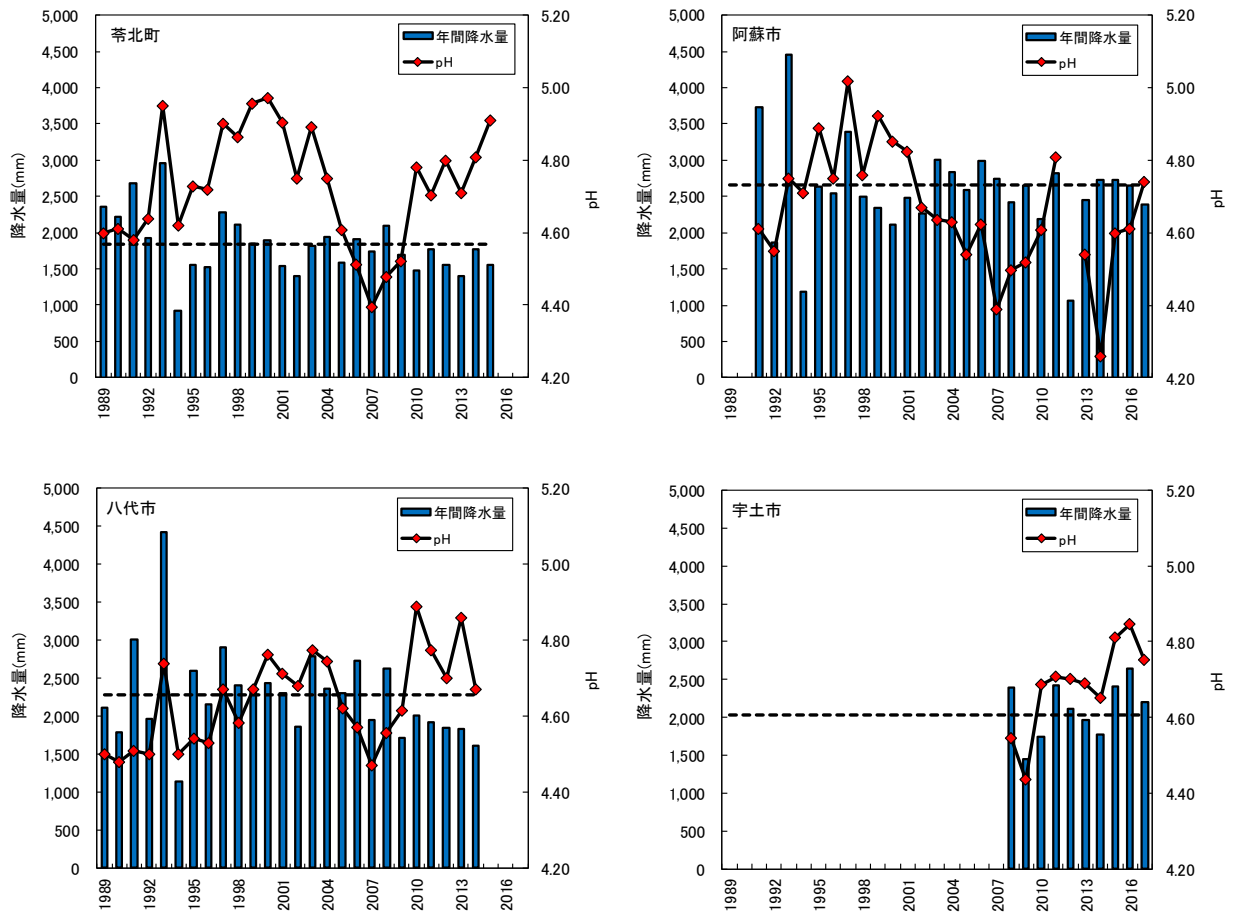


図4 年間降水量及び年平均 pH の推移

※) 阿蘇市 (2012年度) 及び八代市 (2015年度) は、長期間欠測のため、グラフから除外した。

※※) 破線：調査開始年度から 2015 年度までの平均降水量 (阿蘇市及び八代市は長期間欠測の年度を除く)。

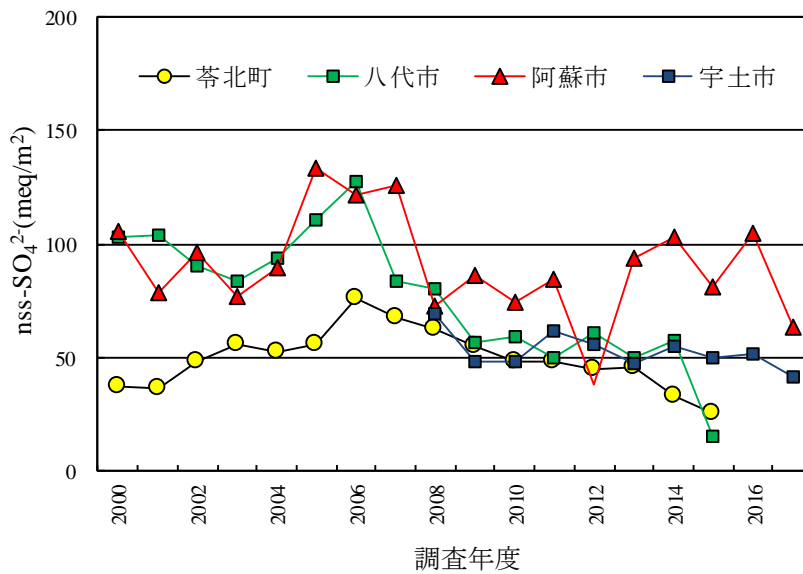


図5 nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>年間沈着量の推移

表3 イオン成分年間沈着量の推移

調査地点	年度	年間降水量 mm	pH	EC μS/cm	Cl <sup>-</sup> meq/m <sup>2</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> meq/m <sup>2</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> meq/m <sup>2</sup>	H <sup>+</sup> meq/m <sup>2</sup>	Na <sup>+</sup> meq/m <sup>2</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> meq/m <sup>2</sup>	K <sup>+</sup> meq/m <sup>2</sup>	Mg <sup>2+</sup> meq/m <sup>2</sup>	Ca <sup>2+</sup> meq/m <sup>2</sup>	年間沈着量 meq/m <sup>2</sup>
苓北町 <sup>注11)</sup>	2008	2089.4	4.48	21	110	27	74	64	91	25	4.0	22	15	430
	2009	1700.2	4.52	25	130	27	68	51	110	24	6.3	26	16	460
	2010 <sup>注1)</sup>	1474.6	4.78	25	120	26	61	24	110	25	6.9	26	21	420
	2011	1771.9	4.70	21	90	24	57	36	100	22	6.2	19	17	370
	2012	1555.8	4.80	23	100	22	55	27	90	23	7.5	22	16	360
	2013	1400.4	4.71	26	110	21	58	27	100	19	6.7	21	22	390
	2014 <sup>注2)</sup>	1774.0	4.81	23	110	15	44	19	93	15	5.9	22	15	330
	2015 <sup>注3),注4)</sup>	1553.1	4.91	60	570	9.4	83	19	490	8.7	14	120	32	1400
	2016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2017	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
八代市 <sup>注11)</sup>	2008	2631.3	4.56	16	54	31	85	71	46	41	3.0	10	14	360
	2009	1715.7	4.61	17	48	29	61	41	42	37	2.3	10	18	290
	2010	2004.0	4.89	15	58	34	66	26	52	45	2.5	13	21	320
	2011	1912.4	4.77	15	29	24	52	35	24	32	1.8	5.7	13	220
	2012	1848.0	4.70	17	46	26	66	35	39	35	2.0	9.9	17	270
	2013	1825.4	4.86	14	45	23	54	25	40	33	2.8	11	18	250
	2014 <sup>注1)</sup>	1606.5	4.67	17	27	21	60	34	23	30	1.7	6.1	12	210
	2015 <sup>注5)</sup>	312.8	4.61	22	6.8	5.9	15	7.6	2.9	8.0	0.5	1.0	3.3	51
	2016 <sup>注10)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2017	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
阿蘇市	2008 <sup>注6)</sup>	2424.6	4.50	15	37	23	75	74	21	37	4.3	6.6	13	290
	2009	2655.3	4.52	16	55	33	90	80	32	48	6.3	10	19	370
	2010	2190.9	4.61	19	60	33	80	50	33	49	4.0	9.5	22	350
	2011	2823.3	4.81	14	42	34	90	40	28	49	7.7	10	24	320
	2012 <sup>注7)</sup>	1056.2	4.60	21	27	13	40	30	16	22	6.0	6.0	13	170
	2013	2455.9	4.54	23	88	44	99	70	48	67	8.9	16	29	470
	2014 <sup>注1)</sup>	2199.2	4.26	35	120	28	110	120	29	42	4.1	15	35	500
	2015	2728.3	4.60	18	64	23	85	68	26	39	4.4	11	21	340
	2016	3802.0	4.61	16	55	38	110	88	32	58	3.2	9.0	13	400
2017	2655.3	4.74	12	34	24	70	48	25	33	2.0	7.0	12	250	
宇土市	2008	2389.6	4.55	16	38	25	72	65	29	35	2.8	8.0	13	290
	2009 <sup>注8)</sup>	1446.2	4.44	19	36	23	52	53	29	29	1.6	7.7	11	240
	2010	1744.1	4.69	16	31	22	51	36	25	32	1.6	6.6	11	220
	2011	2427.2	4.71	14	33	25	64	48	25	34	2.4	6.0	10	250
	2012	2106.8	4.70	16	44	23	60	42	36	34	2.6	8.8	11	260
	2013 <sup>注9)</sup>	1968.3	4.69	15	31	22	51	36	26	27	1.7	6.7	10	220
	2014	1775.1	4.65	16	28	21	57	40	23	25	1.9	6.3	10	210
	2015	2412.9	4.81	13	41	19	47	33	36	24	2.3	9.5	10	220
	2016	2649.4	4.85	11	27	21	41	28	21	25	1.7	5.7	8.0	180
2017	2203.5	4.75	12	36	20	45	38	29	20	1.8	7.3	8.0	210	

注1) 試料未回収過を含む。 注2) 2014年7月22日から2014年10月6日まで降水量のみ測定。  
 注3) 台風が影響したと考えられる降水試料を含めて計算した結果。 注4) 2016年3月7日以降2016年度は採取器の故障により欠測。  
 注5) 2015年6月1日から2016年3月14日まで欠測。欠測期間が長期に及ぶため、年間値は参考値扱い。 注6) 欠測月(9月, 10月)を含む。  
 注7) 2012年7月2日から2013年2月24日まで欠測。 注8) 欠測月(2月, 3月)を含む。  
 注9) 2013年9月2日から2013年12月2日まで降水量のみ測定分, 2014年1月24日から2月10日までの欠測を含む。  
 注10) 熊本地震により八代市役所庁舎へ立入禁止となったため欠測。  
 注11) 2016年度で調査を終了。

- 5) 上野一憲, 宮本 俊; 熊本県保健環境科学研究所報, 46, 66 (2016).  
 6) 今村 修, 矢澤 吉邦; 熊本県衛生公害研究所報, 21, 63 (1991).  
 7) 宮本 俊, 古澤尚英; 熊本県保健環境科学研究所報, 44, 96 (2014).  
 8) 阿蘇山火山防災連絡事務所ホームページ「最近のガス観測」<http://www.jma-net.go.jp/aso/gas/gas.htm>

## 5) 発泡現象がみられる無田川の水質調査について

石原宏明 谷口智則\*1 黒木隆司 内田大智  
前田敏孝\*2 渡邊和博\*3 小林亜由美\*4 福島宏暢

### はじめに

河川における発泡現象は、様々な原因により発生するが、その見た目から近隣住民の苦情や問い合わせの対象となりやすい。発泡現象は、糖類が原因の自然由来のものや界面活性剤等の人工由来のものがある。発泡がみられた河川において、平成 27 年度から 3 年間の分析データ（生活環境項目及び糖類）から、河川の概況を把握し、発泡現象の原因を考察したので報告する。

### 調査方法

#### 1 調査地点及び調査時期

頻繁に発泡現象がみられた無田川の調査地点を図 1 に示す。河川の周辺には田畑が広がっており、上流地点から下流地点の間には複数の農業用水等の流れ込みがあり、また下流地点には排水処理施設が存在している。

調査時期は平成 27 年 4 月から平成 30 年 3 月において月一回の採水及び分析を行った。（ただし、平成 28 年度は熊本地震の影響で採水できなかった期間がある。）

平成 29 年 7 月から無田川に流れ込んでいる農業用水路の中から水量が多い 1 地点について、追加して調査した。

#### 2 調査項目

生活環境項目等（pH、EC、DO 等）及び発泡現象の主要因と考えられる糖類の測定を行った。生活環境項目は JISK0121 に準じて分析を行った。糖類はフェノール硫酸法<sup>1~3)</sup>により求めた。また、平成 28,29 年度はイオンクロマトグラフ（Thermo Scientific ICS-2100）による硝酸性窒素及びアンモニア性窒素の分析項目を追加した。

### 結果及び考察

平成 27 年度から 3 年間の上流及び下流の分析結果及び平成 29 年度における流れ込みがあった水路の分析

結果を表 1~7 で示す。

#### 1 生活環境項目等の変化

生活環境項目等の変化を把握するため、平成 27 年度から平成 29 年度の河川上流地点及び下流地点の調査結果で傾向がみられた項目に査結果には流れ込み地点の結果を併せて示す。

##### 1) pH

全ての調査地点で夏季に比較的低くなる傾向を示した。

上流と下流を比較すると、夏季は上流≒下流、その他の時期では上流<下流の傾向を示した。

##### 2) DO（溶存酸素）

pH と同様の挙動を示し、夏季は上流≒下流、その他の時期では上流<下流の傾向を示した。

3) BOD（生物化学的酸素要求量）、COD（化学的酸素要求量）

全体的に低い値で推移しており、特徴的な傾向はみられなかった。

##### 4) T-N（全窒素）

年間通して上流>下流となっていた。夏季は上流と下流の濃度差が大きくなる傾向にあった。流れ込みについては、夏季に比較的低い濃度を示す傾向が見られた。

##### 5) T-P（全リン）

年間通して上流<下流となっていた。流れ込み地点は上流とほぼ同じ濃度であった。

##### 6) EC（電気伝導度）

pH と同様の挙動を示し、夏季は上流>下流の傾向を示した。

##### 7) SS（浮遊物質）

特徴的な傾向はみられなかった。

##### 8) 硝酸性窒素

年間通して上流>下流となっていた。

##### 9) アンモニア性窒素

ほぼ全ての時期において上流<下流となっていた。

\*1 球磨地域振興局保健福祉環境部

\*2 現環境生活部環境局環境保全課

\*3 現病院局診療部

\*4 現健康福祉部健康局業務衛生課



図1 調査地点

pH の冬季の上昇は植物等の活動が原因と考えられる。無田川では9月から1月の間は河川に植物が多く繁殖しており、冬季の方が水の流れが緩やかで滞留時間が長く、滞留の間に植物活動によって pH が上昇したと考えられる。

DO や EC も pH と同様に植物等の活動が原因と考えられる。

T-N は上流から下流に向けて硝酸性窒素が大きく減少し、アンモニア性窒素が増えており、T-N はトータルとして減少していることがわかった。窒素は、主に硝酸性窒素として植物に吸収されるため、上流と下流の採水地点の間で、硝酸性窒素が内部生産に使われて減少していると考えられる。

また、T-P は濃度の高い水の流入がないが、上流より下流の濃度が高くなっていることから、無田川の底質からの浸み出しにより濃度が上昇した可能性が考えられる。

生活環境項目等の結果から、硝酸性窒素を消費した内部生産が考えられたが、発泡現象に関わる特異的な傾向は確認されなかった。

## 2 糖類

過去に河川の発泡現象の原因が糖類と推定した事例が報告されている<sup>4)</sup>。今回はフェノール硫酸法で糖類濃度を測定することにより、糖類の発泡現象への影響を確認した。検量線は1~50 mg/L で作成し、分析を

実施した。

糖類の分析結果についてグラフ化したものを図9に示す。全分析期間における平均値は上流で3.7 mg/L、下流で平均3.8 mg/Lの値であった。また、バラツキが大きく、濃度の傾向は見取れなかった。これは採水時の方法に問題があると考えられ、採水時に発泡した表面をどれだけ採取するかによって、糖類の定量的結果が変化するものと思われる。

そこで、通常は無作為に採水した場合と、発泡表面を採水した場合の検体について糖類の検討した結果を表8に示す。

表のとおり、発泡表面を採水した検体では糖類の濃度が河川の濃度の約1.5~10倍となっていた。発泡表面で糖類の濃度が上昇がみられており、発泡は糖類が影響している可能性が示唆された。

また、周辺には無田川に排水する事業場や工場がないため、糖類は自然由来のものと考えられる。

一般に発泡現象と河川の流下形態との関係は、緩やかな流れが長く続き、その下流部に気泡点となる攪拌部が存在するとともに泡の集積しやすい流下形態が組み合わさることにより視覚的に目立つ発泡現象が生じやすくなる<sup>4)</sup>とされており、無田川は水量が少なく、緩やかな流れであり、水路が川へ流入する箇所ですら攪拌されるため、発泡現象が生じやすい状況にあると考えられる。

表8 無作為に採水した場合と発泡表層を採水した場合の糖類濃度比較

(mg/L)	H29.2.21	H29.5.23	H29.7.18	H29.8.23	H29.9.13
無作為に採水した場合(上流)	1.9	4.9	2.0	2.3	3.3
無作為に採水した場合(下流)	1.8	4.6	2.2	2.2	1.9
発泡表層を採水した場合	19	7.7	7.6	5.6	9.5

#### まとめ

発泡現象が確認された河川基礎データを測定し、河川の状況を把握した。硝酸性窒素を消費した内部生産があることは確認されたが、特異的な状況は確認されなかった。

今回の調査で糖類を分析した結果、発泡表面で濃度が高く、自然由来の糖類による発泡の可能性が高いことがわかった。

#### 引用文献

- 1) Kouji TAKEUCHI, Takeshi IKUMA, Yuji TAKAHASHI, Keiko SAGISAKA and Toshihide TAKASAWA :帯大研報, 22, p103-107,(2001).
- 2) 北村進一, 中屋慎: 生物工学, 第 90 巻, 第 12 号, p790-793 (2012).
- 3)Tatsuo FUJIKAWA, Michio SHIOMI, Sunao MUKAI and Masafuto WADA: 農化 第 48 巻, 第 9 号, p483-491 (1974).
- 4) 藤村茂夫, 邑岡和昭 (1999) 四万十川あわ発生機構解析調査結果,高知環境研究所報,16,15-57.



表1 平成27年度上流分析結果

	採水月日	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
		H27.4.21	H27.5.26	H27.6.23	H27.7.29	H27.8.27	H27.9.30	H27.10.30	H27.11.26	H27.12.10	H28.1.28	H28.2.17	42437
生活環境項目	pH	7.22	7.41	7.13	7.23	6.95	7.2	7.2	7.2	7.25	7.24	7.33	7.3
	DO	7.49	3.63	6.93	5.61	-	7.96	8.54	7.58	7.66	7.71	7.73	6.5 (mg/l)
	BOD	0.79	0.68	0.7	0.56	0.6	0.87	0.45	0.59	0.45	0.52	0.46	0.9 (mg/l)
	COD	3.31	3.39	3.26	2.71	2.15	1.77	1.44	1.67	1.73	1.98	2.2	2.2 (mg/l)
	SS	23.6	35.5	11.7	10.9	7.1	5	5.4	9.2	6	9.8	7.2	9 (mg/l)
	T-N	0.5	3.05	2.43	1.57	2.11	2.06	2.5	2.53	2.44	2.87	2.64	2.4 (mg/l)
	T-P	0.023	0.104	0.108	0.069	0.0701	0.0891	0.0583	0.056	0.0571	0.0853	0.0946	0.070 (mg/l)
	EC	235	247	237	193	224	207	226	242	234	243	247	250 (uS/cm)
	糖類	4.7	5.7	0	9.7	5.3	8.4	1	1.9	3.2	5	3.7	(mg/l)

表2 平成27年度下流分析

	採水月日	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
		H27.4.21	H27.5.26	H27.6.23	H27.7.29	H27.8.27	H27.9.30	H27.10.30	H27.11.26	H27.12.10	H28.1.28	H28.2.17	42433
生活環境項目	pH	7.51	7.58	7.16	7.27	6.94	7.08	7.52	7.46	7.52	7.54	7.49	7.5
	DO	-	8.02	7.18	8.31	-	7.51	8.6	8.56	9.09	10.3	10.6	8.8 (mg/l)
	BOD	0.35	0.99	0.71	0.72	1.54	0.82	0.41	0.57	0.66	0.99	0.49	0.3 (mg/l)
	COD	4.28	3.94	3.55	3.94	4.33	2.92	3.88	3.6	3.77	4.5	4.16	3.8 (mg/l)
	SS	8.6	13.5	13.5	9.7	19.6	9.4	5.6	2	4.2	0.8	3.4	8 (mg/l)
	T-N	0.29	1.28	1.7	0.614	1.03	0.367	1.2	1.14	1.15	1.23	1.38	1.1 (mg/l)
	T-P	0.143	0.476	0.203	0.212	0.381	0.167	0.805	0.525	0.707	0.476	0.727	0.78 (mg/l)
	EC	396	302	196	126	213	207	432	365	408	392	431	360 (uS/cm)
	糖類	12.4	0.76	6.5	9.2	4.6	6.3	10.7	0	2.1	1.9	4	(mg/l)

表3 平成28年度上流分析結果

	採水月日	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
						H28.8.17		H28.10.19	H28.11.29	H28.12.13	H29.1.17	H29.2.21	H29.3.7
生活環境項目	pH	※	※	※	※	7.01	※	7.21	7.23	7.24	7.33	7.28	7.32
	DO	※	※	※	※	6.16	※	6.79	7.66	7.21	8.65	7.94	7.78 (mg/l)
	BOD	※	※	※	※	0.62	※	0.72	0.46	1.24	0.54	-	0.66 (mg/l)
	COD	※	※	※	※	3.21	※	2.31	2.07	3.16	1.96	-	2.6 (mg/l)
	SS	※	※	※	※	14	※	9.9	12.2	26.6	7.5	11.4	9.8 (mg/l)
	T-N	※	※	※	※	1.95	※	2.64	2.53	2.71	2.55	2.59	2.76 (mg/l)
	NO3-N	※	※	※	※	1.79	※	2.31	2.4	2.46	-	2.23	0.783 (mg/l)
	NH4-N	※	※	※	※	0.029	※	0.023	0.016	0.012	-	0.07	0.001 (mg/l)
	T-P	※	※	※	※	0.0485	※	0.0758	0.0736	0.0976	0.0706	0.0983	0.0841 (mg/l)
	EC	※	※	※	※	232	※	246	240	231	247	240	241 (uS/cm)
	糖類	※	※	※	※	1.84	※	2.95	1.47	2.87	1.02	1.9	2.19 (mg/l)

※平成28年4～7月及び9月：熊本地震の影響で採水できず

表4 平成28年度下流分析結果

	採水月日	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
						H28.8.17		H28.10.19	H28.11.29	H28.12.13	H29.1.17	H29.2.21	H29.3.7
生活環境項目	pH	※	※	※	※	6.99	※	7.44	7.43	7.55	7.65	7.49	7.5
	DO	※	※	※	※	8.65	※	7.15	9.4	8.47	9.97	9.04	8.92 (mg/l)
	BOD	※	※	※	※	1.19	※	1.02	0.25	1.34	0.33	-	0.48 (mg/l)
	COD	※	※	※	※	4	※	3.28	2.56	3.12	2.85	-	3.98 (mg/l)
	SS	※	※	※	※	10.4	※	18.1	4	8.2	4.3	8.8	9.8 (mg/l)
	T-N	※	※	※	※	0.477	※	1.4	1.71	1.71	1.72	1.84	1.92 (mg/l)
	NO3-N	※	※	※	※	0.177	※	1.02	1.42	1.42	-	1.36	0.43 (mg/l)
	NH4-N	※	※	※	※	0.056	※	0.075	0.043	0.028	-	0.113	0.21 (mg/l)
	T-P	※	※	※	※	0.0857	※	0.295	0.303	0.308	0.293	0.425	0.559 (mg/l)
	EC	※	※	※	※	126.9	※	384	360	346	340	347	440 (uS/cm)
	糖類	※	※	※	※	3.01	※	1.35	1.64	0.74	1.6	1.89	2.9 (mg/l)

※平成28年4～7月及び9月：熊本地震の影響で採水できず

表5 平成29年度上流分析結果

	採水月日	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
		H29.4.25	H29.5.23	H29.6.13	H29.7.18	H29.8.23	H29.9.13	H29.10.19	H29.11.16	H29.12.6	H30.1.23	H30.2.14	H30.3.13
生活環境項目	pH	7.5	7.7	7.5	7.3	7.0	7.0	7.1	7.3	7.4	7.3	7.5	7.5
	DO	8.7	8.4	6.9	7.9	5.8	6.2	6.0	7.6	9.2	8.9	9.4	8.3
	BOD	0.8	0.4	0.4	0.7	0.8	0.7	0.7	0.6	0.5	0.5	0.6	0.5
	COD	2.9	2.0	2.2	3.5	3.4	3.1	3.6	2.8	2.4	2.5	2.0	2.72
	SS	27	7	5	20	15	14	21	23	19	17	14	20
	T-N	2.5	2.0	2.7	2.1	1.9	1.9	2.1	2.4	2.7	3.0	2.6	2.1
	NO3-N	2.0	2.0	2.3	1.7	1.5	1.6	1.7	2.2	2.6	2.6	2.5	1.9
	NH4-N	0.0001	0.009	0.05	0.02	0.06	0.04	0.04	0.06	0.05	0.02	0.02	0.02
	T-P	0.059	0.066	0.68	0.11	0.099	0.097	0.091	0.076	0.074	0.084	0.079	0.085
	EC	250	240	240	230	220	230	250	230	240	250	250	260
糖類	6.8	4.9	3.4	2.0	2.2	3.3	5.3	3.7	1.8	1.5	7.4	6.7	

表6 平成29年度下流分析結果

	採水月日	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
		H29.4.25	H29.5.23	H29.6.13	H29.7.18	H29.8.23	H29.9.13	H29.10.19	H29.11.16	H29.12.6	H30.1.23	H30.2.14	H30.3.13
生活環境項目	pH	7.7	8.2	7.8	7.4	7.0	7.1	7.5	7.7	7.7	7.5	7.8	8.1
	DO	9.9	9.4	6.8	8.0	6.7	7.9	9.5	9.3	10	10	12	11
	BOD	0.8	0.7	0.6	1.0	0.7	0.7	0.5	0.6	0.5	0.4	0.6	0.4
	COD	2.4	3.7	2.7	4.3	3.2	2.8	2.7	2.1	2.0	3.0	2.1	1.7
	SS	14	9	12	8	13	6	7	7	6	3	7	8
	T-N	1.4	0.83	0.84	0.78	0.55	0.55	1.0	1.7	2.0	2.7	2.1	1.8
	NO3-N	1.2	0.50	0.60	0.33	0.25	0.23	0.77	1.5	1.8	1.9	1.9	1.5
	NH4-N	0.05	0.10	0.03	0.08	0.08	0.04	0.03	0.07	0.06	0.38	0.03	0.05
	T-P	0.061	0.46	0.83	0.17	0.14	0.13	0.17	0.076	0.14	0.36	0.07	0.12
	EC	170	290	130	120	130	120	240	190	240	330	220	220
糖類	6.2	4.6	3.4	2.9	2.2	1.9	1.1	4.5	3.9	3.6	3.7	5.0	

表7 平成29年度流れ込み分析結果

	採水月日	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
		H29.4.25	H29.5.23	H29.6.13	H29.7.18	H29.8.23	H29.9.13	H29.10.19	H29.11.16	H29.12.6	H30.1.23	H30.2.14	H30.3.13
生活環境項目	pH	※	※	※	7.3	6.9	6.9	7.6	8.0	7.8	7.8	7.8	8.2
	DO	※	※	※	8.6	8.0	9.0	12	11	10	10	10	11
	BOD	※	※	※	1.1	0.5	1.1	0.4	0.5	0.3	0.3	0.5	0.4
	COD	※	※	※	3.6	4.7	2.6	1.9	1.5	1.1	1.6	2.0	1.1
	SS	※	※	※	9	7	4	5	5	5	10	22	5
	T-N	※	※	※	1.1	0.84	0.83	2.1	2.6	2.8	3.0	2.9	2.7
	NO3-N	※	※	※	0.80	0.52	0.62	1.9	2.5	2.7	2.6	2.7	2.5
	NH4-N	※	※	※	0.01	0.02	0.02	0.00	0.05	0.04	0.01	0.02	0.02
	T-P	※	※	※	0.10	0.071	0.079	0.072	0.085	0.087	0.089	0.11	0.092
	EC	※	※	※	130	110	130	210	230	230	230	230	230
糖類	※	※	※	4.2	2.1	1.6	0.7	2.5	2.6	3.2	2.6	5.4	

※平成30年7月から分析開始

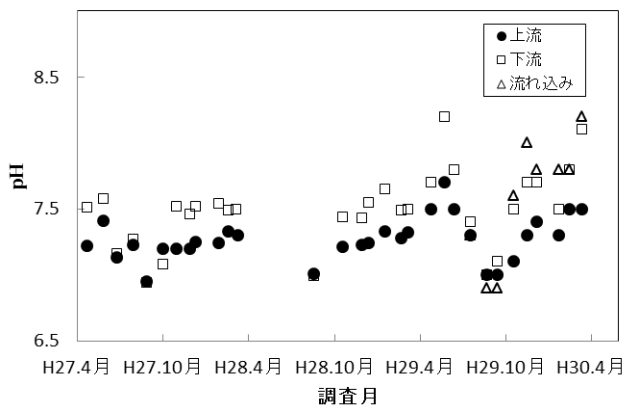


図2 無田川推移グラフ pH

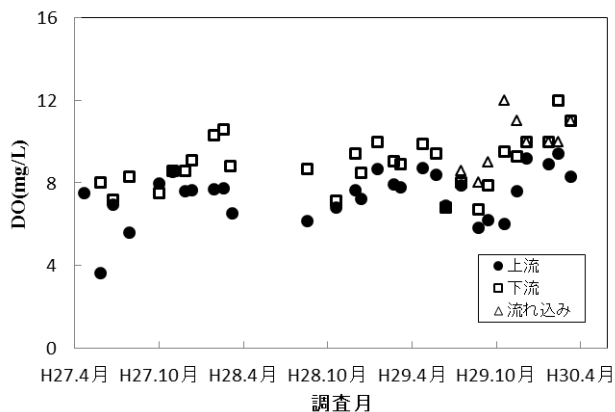


図3 無田川推移グラフ DO

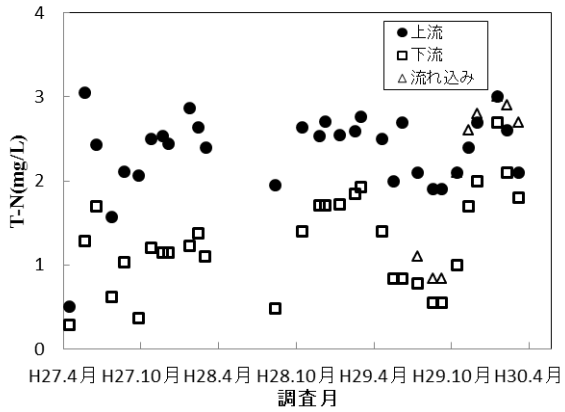


図4 無田川推移グラフ T-N

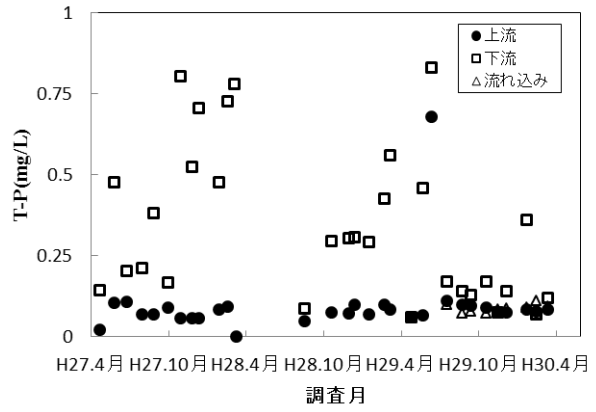


図5 無田川推移グラフ T-P

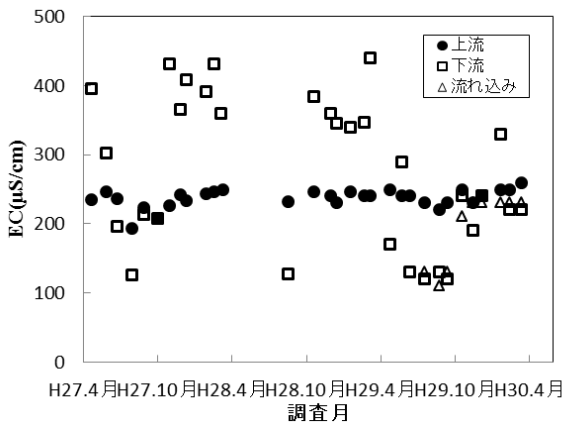


図6 無田川推移グラフ EC

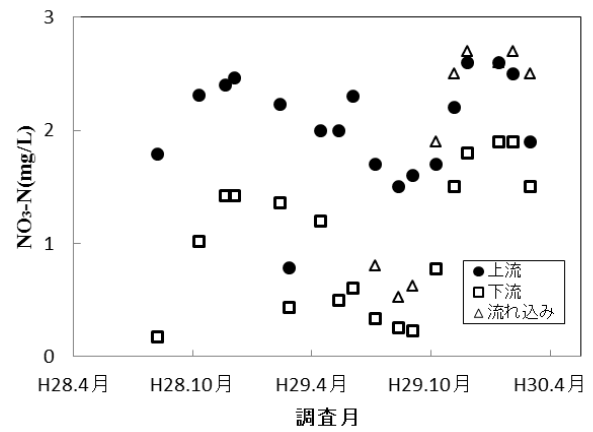


図7 無田川推移グラフ NO<sub>3</sub>-N

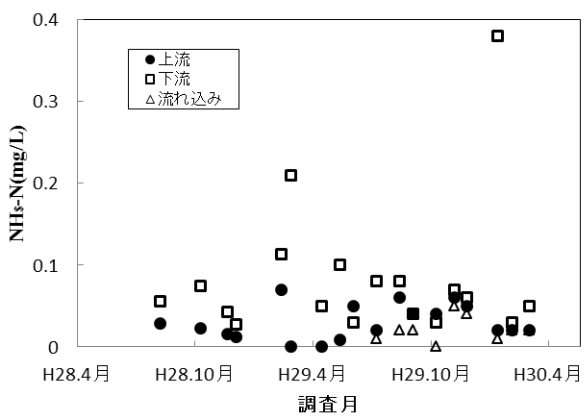


図8 無田川推移グラフ NH<sub>4</sub>-N

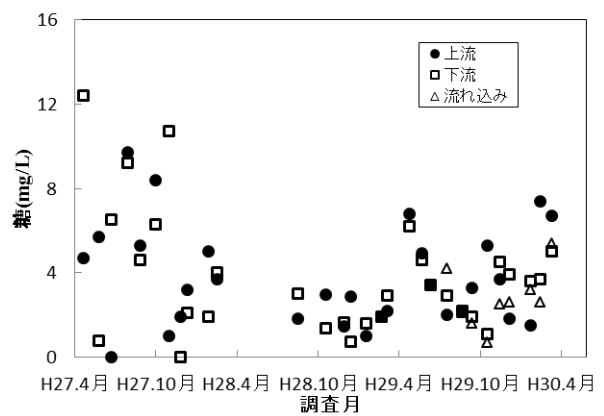


図9 無田川推移グラフ 糖

## 6) 水生生物調査における自然災害後の指標生物の回復状況

内田大智 前田敏孝\*

### はじめに

河川における水生生物調査は、水環境の中長期的な状態を知るために有用な方法であり、また、高価な機材や高度な知識を必要としないことから環境教育の題材としても用いられている。

熊本県では、「みんなの川の環境調査」として学校、民間団体等が行う水環境調査を支援する<sup>1)</sup>とともに、平成2年度から平成28年度にかけて県内35地点の環境基準点等での調査を実施した。その結果は、毎年度環境保全課により公表される<sup>2)</sup>とともに、谷口<sup>3)</sup>によって各地点の生物の出現状況の変遷が取りまとめられている。

平成28年度の環境基準点等の調査では、指標生物の総個体数及び出現種数の減少が確認され、特に、杖立、木庭橋、妙見橋、藤田、白岩戸及び立神峡の6地点で出現種数が著しく減少していた。その原因については木庭橋では平成28年熊本地震の影響が、その他5地点では平成28年6月から7月の大雨の影響が考えられる

ことなどが前田ら<sup>4)</sup>によって考察されている。

今回、平成28年度の調査で出現した生物種数の減少が確認された6地点において水生生物調査を実施し、その回復状況を確認したので報告する。

### 調査方法

#### 1 調査期間

平成29年10月27日～11月2日

#### 2 調査地点

平成28年度の調査において生物種数の減少が確認された地点6地点(図1)で調査を実施した。

#### 3 調査方法及び評価

熊本県HP上で環境保全課が公開している「川の水環境・調査のてびき」<sup>5)</sup>に基づき行った。水生生物の採取は、D型フレームネット(網目:約1.0mm)を用いて、水深約10~30cmの瀬においてキック・スリー

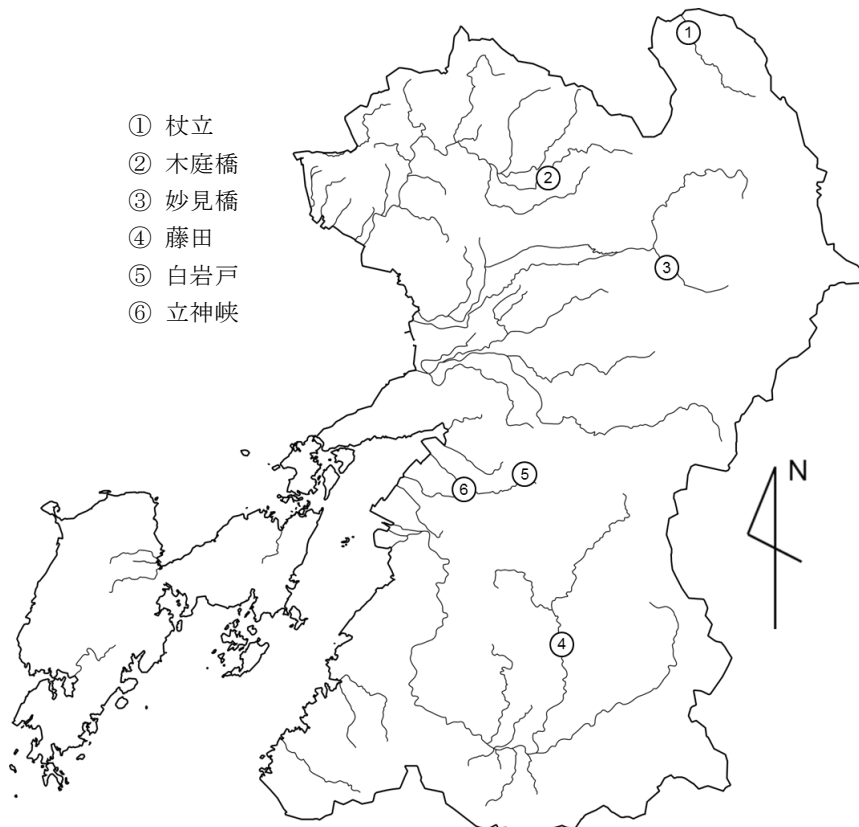


図1 平成29年度調査地点

\*現環境生活部環境局環境保全課

ブ法により行った。調査した各地点の水生生物による川の水環境評価値（以下、「生物評価値」とする。）をそれぞれ求めた。生物評価値は熊本県独自の25種類の指標生物種による方法<sup>6)</sup>に従って求めた。この方法では河川の状態を25種の指標生物の出現状況によりⅠ：快適な水環境、Ⅱ：親しめる水環境、Ⅲ：不快を感じない水環境、Ⅳ：多少不快な水環境、Ⅴ：不快な水環境の5段階に分類することができる。指標生物の同定は図説等<sup>7~12)</sup>を参考とした。

また、生物評価値以外に、生物の多様性をみるために、多様性指数を用いた評価も行った。多様性指数はShannonの式により求めた。

$$H' = -\sum_{i=1}^S P_i \log_2 P_i$$

H' : 多様性指数

S : 群集に含まれる種の数

P<sub>i</sub> : 種*i*の個体数が全体に含まれる割合

この場合、多様性指数は値が大きいくほど、生物が偏りなく存在し、多様性に富んでいると評価される。

その他、各生物群集間の類似度をみるために、以下の式によりMorisitaの指数を求めた。

$$Cl = \frac{2 \sum n_{1i} n_{2i}}{(\lambda_1 + \lambda_2) N_1 N_2}$$

$$\lambda_1 = \frac{\sum n_{1i} (n_{1i} - 1)}{N_1 (N_1 - 1)}$$

$$\lambda_2 = \frac{\sum n_{2i} (n_{2i} - 1)}{N_2 (N_2 - 1)}$$

ただし、Cl : Morisitaの指数

n<sub>1i</sub>, n<sub>2i</sub>: それぞれの標本の*i*番目の指標生物の個体数

N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>: それぞれの標本の指標生物の総個体数

この場合、Morisitaの指数は0から1までの数値で表され、1に近いほど2標本の類似度が高いと評価される。

## 調査結果及び考察

### 1 調査結果の概況

平成28年度調査では、指標生物の総個体数の減少が見られていた<sup>4)</sup>ことから、平成29年度に調査を実施した6地点における個体数を確認した。その結果、平成29年度調査で確認された総個体数(6地点計)は、平成28年度よりも増加していた(表1)。

地点別には、杖立のみが昨年度より減少していたも

の、その他の5地点ではいずれも増加していた。

表1 指標生物の個体数の変化(H23~H29)

	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29
杖立	468	465	271	301	598	94	78
木庭橋	520	253	77	427	226	102	192
妙見橋	664	219	179	439	284	75	417
藤田	161	73	80	139	163	25	216
白岩戸	167	354	318	99	156	44	196
立神峡	348	241	154	284	210	54	363
6地点計	2328	1605	1079	1689	1637	394	1462

## 2 各調査地点の結果

(1) 各調査地点における指標生物種の出現状況及び多様性指数の変化

調査地点6地点における平成29年度の指標生物種の出現状況及び多様性指数を過去6年間(H23~H28)の結果と比較し、その変化を評価した。

### ① 杖立

平成29年度調査では、10種の指標生物種が確認され、平成28年度から比較して3種増加した(表2-1)。

平成23年度から平成27年度のすべての年で確認され、平成28年度には確認されなかったもののうち、ユスリカ類(白・緑)が確認されたものの、携巢性トビケラ類及びヘビトンボ類は確認されなかった。

また、平成28年度調査で個体数が著しく減少していたヒゲナガカワトビケラ類、ヒラタカゲロウ類、マダラカゲロウ類では個体数の回復が見られなかった。

表2-1 杖立の指標生物の出現状況(H23~H29)

No.	区分	指標生物名	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29
1		カワゲラ類	12	3	6	3	20	1	10
2		ナガレトビケラ類	6		6		7		
3		ヒゲナガカワトビケラ類	19	14	8	17	19	1	1
4	I	チラカゲロウ		3	15	16			
5		携巢性トビケラ類	1	1	12	11	12		
6		ニッポンヨコエビ・サワガニ	10		5	9	3		5
7		ヒラタカゲロウ類	65	171	13	69	287	26	15
8		ウズムシ類(プラナリア)	1						
9		ヘビトンボ類	1	1	3	3	2		
10	II	マダラカゲロウ類	6	41	31	22	21	4	2
11		タニガワカゲロウ類	127	58	68	89	144	36	22
12		ブユ類・ガガンボ類	18	2	1		5	4	6
13		カワニナ							
14		ヒラタドムシ類	7	1			1		
15	III	コカゲロウ類	108	144	94	34	64	22	10
16		コガタシマトビケラ	35	13		11	2		1
17		ユスリカ類(白・緑)	52	12	7	17	11		6
18		貝類			2				
19	IV	サホコカゲロウ		1					
20		ミズムシ(等脚目)							
21		ヒル類							
22		サカマキガイ							
23	V	イトミズ類							
24		セスジユスリカ(赤)							
25		ホシチョウバエ							
		出現指標種数	15	14	14	12	14	7	10
		個体数	468	465	271	301	598	94	78
		生物評価値	II	I	I	I	I	II	II
		多様性指数	2.96	2.37	2.82	2.96	2.30	2.06	2.85

これらの個体数等の回復が見られなかった原因の一つとして、平成29年7月九州北部豪雨の影響が考えられる。気象庁の気象データ<sup>13)</sup>によると、平成29年7月5日から6日にかけて、熊本県内の多くの地点では著しい降水は観測されなかったが、杖立近くの観測地点である南小国においては、当該期間（48時間）の総降水量が300mmを超えていた。この降雨により水生生物が流されるなどした結果、指標生物の回復が確認されなかったと考えられる。

一方、多様性指数は平成28年度調査よりも増加し、平成27年度までと同等程度であった。

### ② 木庭橋

平成29年度調査では、14種の指標生物種が確認され、平成27年度までと同等の水準であった（表2-2）。

個別には、平成23年度から平成27年度のすべての年で確認され、平成28年度調査では確認されなかったヒゲナガカワトビケラ類、ブユ・ガガンボ類、コカゲロウ類のすべてが確認された。

表2-2 木庭橋の指標生物の出現状況（H23～H29）

No.	区分	指標生物名	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29
1		カワゲラ類	22	5	9	8	17	6	14
2		ナガレトビケラ類	4			7	1		2
3		ヒゲナガカワトビケラ類	20	2	1	37	53		6
4	I	チラカゲロウ		3		9	1		
5		携巣性トビケラ類	18			27	2		6
6		ニッポンヨコエビ・サワガニ	21		2	33		4	7
7		ヒラタカゲロウ類	19	27	10	39	33	16	1
8		ウズムシ類(プラナリア)	2			1			
9		ヘビトンボ類		1			1	3	
10	II	マダラカゲロウ類	13	3	5	35	16	16	3
11		タニガワカゲロウ類	69	4	8	109	37	31	66
12		ブユ類・ガガンボ類	127	12	18	1	4		1
13		カワニナ							
14		ヒラタドROMシ類	1	2		13	1		27
15	III	コカゲロウ類	142	172	17	78	48		13
16		コガタシマトビケラ	14	10	4	5	9	25	1
17		ユスリカ類(白・緑)	48	8	3	25	3	1	44
18		貝類							1
19	IV	サホコカゲロウ		4					
20		ミズムシ(等脚目)							
21		ヒル類							
22		サカマキガイ							
23	V	イトミミズ類							
24		セスジユスリカ(赤)							
25		ホシチョウバエ							
		出現指標種数	14	13	10	15	14	8	14
		個体数	520	253	77	427	226	102	192
		生物評価値	I	III	II	I	I	II	I
		多様性指数	2.99	1.87	2.93	3.24	2.92	2.50	2.76

### ③ 妙見橋

平成29年度調査では、13種の指標生物種が確認され、平成27年度までと同等の水準であった（表2-3）。

平成23年度から平成27年度のすべての年で確認され、平成28年度調査では確認されなかったヒゲナガカワトビケラ類及びユスリカ類（白・緑）の両方が確認され、総個体数も平成27年度までと同程度であった。

ただし、多様性指数は平成28年度よりも減少していた。多くの種が確認されたものの、コカゲロウ類が総個体数の半数以上を占めたことが減少の要因である。

表2-3 妙見橋の指標生物の出現状況（H23～H29）

No.	区分	指標生物名	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29
1		カワゲラ類				1	1		
2		ナガレトビケラ類	4	4	2	4	3	1	1
3		ヒゲナガカワトビケラ類	15	33	10	5	14		20
4	I	チラカゲロウ				13	12	1	
5		携巣性トビケラ類	2	1		21	9	4	3
6		ニッポンヨコエビ・サワガニ	4	1	1	9	8	1	6
7		ヒラタカゲロウ類	27	19	6	86	7	2	57
8		ウズムシ類(プラナリア)	3						
9		ヘビトンボ類		1	5		2		2
10	II	マダラカゲロウ類	25	3	9	30	25	12	16
11		タニガワカゲロウ類	4	6	9	58	12	7	14
12		ブユ類・ガガンボ類	17	3	1	4	13	1	6
13		カワニナ					1		
14		ヒラタドROMシ類					1		
15	III	コカゲロウ類	282	119	71	200	105	31	247
16		コガタシマトビケラ	182	28	46	6	74	16	39
17		ユスリカ類(白・緑)	99	1	5	3	8		5
18		貝類							
19	IV	サホコカゲロウ							
20		ミズムシ(等脚目)			1				1
21		ヒル類							
22		サカマキガイ							
23	V	イトミミズ類							
24		セスジユスリカ(赤)							
25		ホシチョウバエ							
		出現指標種数	12	12	13	13	16	9	13
		個体数	664	219	179	439	284	75	417
		生物評価値	I	I	I	I	I	I	I
		多様性指数	2.26	2.13	2.62	2.45	2.77	2.36	2.10

### ④ 藤田

平成29年度調査では、11種の指標生物種が確認され、平成27年度までと同等の水準であった（表2-4）。

平成23年度から平成27年度のうち4回の調査で確認されていたが、平成28年度の調査で確認されなかったヘビトンボ類、マダラカゲロウ類、ユスリカ類（白・緑）がいずれも確認された。

また、平成28年度調査で個体数が大きく減少していたヒゲナガカワトビケラ類、ヒラタカゲロウ類はいずれも個体数が回復していた。

### ⑤ 白岩戸

平成29年度調査では、13種の指標生物種が確認され、平成27年度までと同等の水準であった（表2-5）。

平成23年度から平成27年度までの調査で4回以上確認され、平成28年度調査では確認されなかったナガレトビケラ類、携巣性トビケラ類、ヘビトンボ類、マダラカゲロウ類、ブユ・ガガンボ類、ユスリカ類（白・緑）でいずれも個体を確認した。

ただし、これらの指標生物種の個体数はいずれも少なく、回復途上の可能性がある。

一方、平成23年度から平成27年度までの調査で4回確認され、平成28年度調査では確認されなかった

たヒラタドロムシ類は確認されなかった。

また、多様性指数については、平成 28 年度よりも減少していた。上記指標生物種で確認された個体数が少なかったことに加え、コカゲロウ類が総個体数の約 7 割を占めたことが要因である。増加の理由については不明であるが、同様にコカゲロウ類が半数以上を占める現象は、平成 19 年度<sup>14)</sup>、平成 20 年度<sup>15)</sup>、平成 23 年度及び平成 24 年度にも起きており、前後の年と比較して多様性指数が減少している。

表 2-4 藤田の指標生物の出現状況 (H23~H29)

No.	区分	指標生物名	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29
1		カワゲラ類	6	9	4	13	2	6	25
2		ナガレトビケラ類	1			7	1		
3		ヒゲナガカワトビケラ類	2	16	16	13	31	1	44
4	I	チラカゲロウ					1		
5		携巢性トビケラ類		3	2		1	2	8
6		ニッポンヨコエビ・サワガニ							
7		ヒラタカゲロウ類	22	11	14	2	19	1	11
8		ウズムシ類(プラナリア)			1	2			
9		ヘビトンボ類	1	2		2	1		1
10	II	マダラカゲロウ類		4	6	6	10		9
11		タニガワカゲロウ類	29	9	7	22	13	6	20
12		ブユ類・ガガンボ類	15	1		11	9	1	4
13		カワニナ							
14		ヒラタドロムシ類				8			1
15	III	コカゲロウ類	69	15	20	35	70	5	59
16		コガタシマトビケラ	14	1			1	3	
17		ユスリカ類(白・緑)	2		10	18	4		34
18		貝類							
19	IV	サホコカゲロウ		2					
20		ミズムシ(等脚目)							
21		ヒル類							
22		サカマキガイ							
23	V	イトミミズ類							
24		セスジユスリカ(赤)							
25		ホシチョウバエ							
		出現指標種数	10	11	9	12	13	8	11
		個体数	161	73	80	139	163	25	216
		生物評価値	II	I	I	II	I	I	II
		多様性指数	2.41	2.98	2.80	3.15	2.54	2.67	2.84

⑥ 立神峡

平成 23 年度から平成 28 年度までの調査のいずれよりも多い 14 種の指標生物種が確認された(表 2-6)。

平成 23 年度から平成 27 年度までの調査で 4 回以上出現し、平成 28 年度調査で確認されていなかったカワゲラ類、ブユ・ガガンボ類、ユスリカ類(白・緑)のすべてで個体を確認した。

また、平成 23 年度から平成 28 年度において一度も確認されていなかったヒゲナガカワトビケラ類が確認された。これは、一度生物相が破壊されたことにより新たな生物相が形成された可能性、又は、生物相が遷移している途中の状態をとらえた可能性が考えられる。いずれの可能性が高いか現時点では判断できないため、今後の状況を注視する必要がある。

なお、ヒゲナガカワトビケラ類を含む造網性トビケラ類は、川底が安定し、生物相が極相に達した際に優

表 2-5 白岩戸の指標生物の出現状況 (H23~H29)

No.	区分	指標生物名	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29
1		カワゲラ類	3	5	8	12	4	1	9
2		ナガレトビケラ類	2	5	1	6			2
3		ヒゲナガカワトビケラ類	9	20	40	3	8	2	1
4	I	チラカゲロウ		11	12				
5		携巢性トビケラ類		2	4	4	10		5
6		ニッポンヨコエビ・サワガニ	1	2			2	2	3
7		ヒラタカゲロウ類	19	17	55	5	20	1	7
8		ウズムシ類(プラナリア)							
9		ヘビトンボ類	1	2	1	3			5
10	II	マダラカゲロウ類	7	35	80	11	20		3
11		タニガワカゲロウ類	10	11	32	20	16	8	20
12		ブユ類・ガガンボ類	19		24	14	30		2
13		カワニナ							
14		ヒラタドロムシ類	1		1	1	2		
15	III	コカゲロウ類	86	241	47	8	27	24	137
16		コガタシマトビケラ	9	1			1	6	
17		ユスリカ類(白・緑)		2	13	12	16		1
18		貝類							
19	IV	サホコカゲロウ							
20		ミズムシ(等脚目)							
21		ヒル類							1
22		サカマキガイ							
23	V	イトミミズ類							
24		セスジユスリカ(赤)							
25		ホシチョウバエ							
		出現指標種数	12	13	13	12	12	7	13
		個体数	167	354	318	99	156	44	196
		生物評価値	I	I	I	II	I	I	I
		多様性指数	2.41	1.83	3.00	3.27	3.15	1.97	1.78

占することが知られている<sup>16)</sup>。平成 29 年度の調査において造網性トビケラ類であるヒゲナガカワトビケラ類及びコガタシマトビケラは、いずれも優占ではないものの過去 6 年間よりも多くの個体が確認されており、川底が比較的安定した状態にあることが伺える。

多様性指数については、ヒゲナガカワトビケラ類を含め、多数の生物種が確認されたことにより増加している。

表 2-6 立神峡の指標生物の出現状況 (H23~H29)

No.	区分	指標生物名	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29
1		カワゲラ類	1	1		14	1		2
2		ナガレトビケラ類				1			
3		ヒゲナガカワトビケラ類							38
4	I	チラカゲロウ			1				10
5		携巢性トビケラ類		4		1	5		1
6		ニッポンヨコエビ・サワガニ			3		3		11
7		ヒラタカゲロウ類	51	18	14	87	47	5	61
8		ウズムシ類(プラナリア)	2				1		1
9		ヘビトンボ類	1	2	2				2
10	II	マダラカゲロウ類	13	11	16	16	23	25	29
11		タニガワカゲロウ類	155	162	72	109	72	15	80
12		ブユ類・ガガンボ類	40	1		2	13		23
13		カワニナ							
14		ヒラタドロムシ類	1	7		7	8	4	
15	III	コカゲロウ類	53	30	40	28	26	4	75
16		コガタシマトビケラ	8		3	1		1	21
17		ユスリカ類(白・緑)	20	2	3	18	10		9
18		貝類		3					
19	IV	サホコカゲロウ	3						
20		ミズムシ(等脚目)					1		
21		ヒル類							
22		サカマキガイ							
23	V	イトミミズ類							
24		セスジユスリカ(赤)							
25		ホシチョウバエ							
		出現指標種数	12	11	9	11	12	6	14
		個体数	348	241	154	284	210	54	363
		生物評価値	II	II	II	II	II	II	II
		多様性指数	2.41	1.75	2.13	2.35	2.70	2.01	3.06

(2) 群集類似度

次に、各地点の調査年度ごとの指標生物の出現状況から群集類似度（Morisita の指数）を算出し、デンドログラムを作成した（図2）。

立神峡では、平成28年度の調査結果が他の年度と比較して明確に差異があり、大雨によって群集組成が破壊されたことが確認できる。また、平成29年度の調査結果が平成28年度に次いで他の群集との類似度が低くなっていた。このことは、(1)⑥で示したこれまで確認されていなかった多数の指標生物種が確認されたことと一致する。

杖立、妙見橋、藤田については、全ての調査結果で群集類似度が高く、大雨等による明確な変化は確認されなかった。Morisita の指数は、群集のサイズ（個体数）が変わっても指標の値は不変となる<sup>17)</sup>ため、これらの地点では、平成28年度調査において確認された総個体数が変化しても生物相の大きな変化が起きていなかったことがわかる。このことは、前田ら<sup>4)</sup>によって大きな影響を受けたとされたヒゲナガカワトビケラ類等の特定の生物種だけでなく、その地点に生息する指標生物種が同様に大雨の影響を受けていたことを示している。

一方、木庭橋では、各調査間の群集類似度が比較的 low、種々の要因によって群集組成が大きく変わっていることが示唆された。木庭橋における平成28年度の

指標生物種の減少は、熊本地震に伴う土砂崩れ等が要因であると推定されていた<sup>4)</sup>が、このデンドログラムの結果から、この地点では他の要因の影響も大きく受けており、一つの要因に限定できないと考えられる。

また、白岩戸については、平成23年度、平成24年度、平成28年度及び平成29年度の調査結果が他の3回の調査と明確に区別されている。この4回の調査では、いずれもコカゲロウ類が優占種となっており、コカゲロウ類の大量発生が生物相に影響を与えている可能性が示された。

まとめ

平成28年度調査において指標生物種の減少が確認された6地点では、平成29年度調査における指標生物種の個体数が総じて増加しており、生物相が回復した、又は、回復傾向にあることがわかった。

ただし、その回復状況については、各地点さまざまであった。特に、杖立では今回の調査の時点では、個体数等が十分な回復をしていない可能性が示された。今後の調査やより詳細な調査により回復過程を明らかにしていく必要がある。

また、大雨等によって生物相が変化する様子が明確に確認できたのは立神峡のみであり、他の地点においては明確な群集類似度の変化は示されなかった。

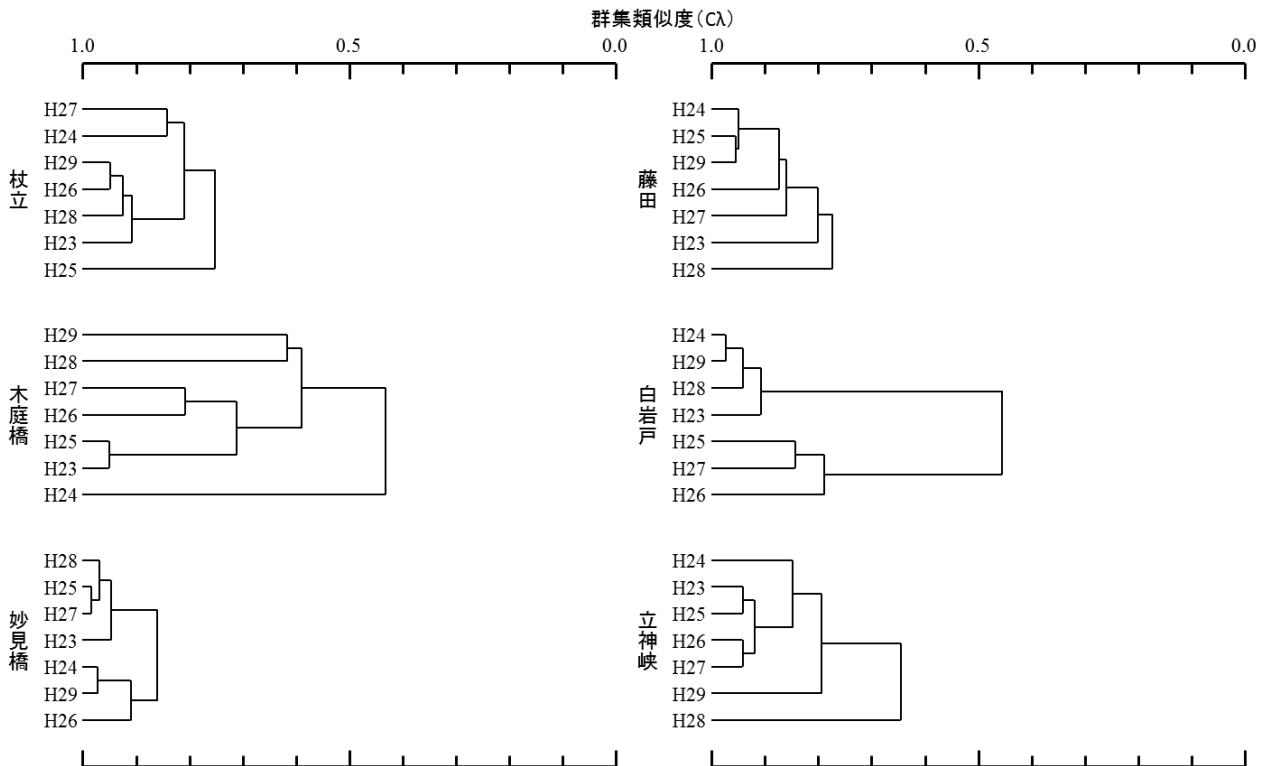


図2 群集類似度を用いて作成した各地点のデンドログラム



## 文 献

- 1) 熊本県環境保全課 HP:「平成 30 年度みんなの川の環境調査ー川の生き物と水質を調べてみようー」の参加者を募集しています!!  
[https://www.pref.kumamoto.jp/kiji\\_11174.html](https://www.pref.kumamoto.jp/kiji_11174.html) (平成 30 年 6 月閲覧)
- 2) 熊本県環境保全課 HP:みんなの川の環境調査報告書 [http://www.pref.kumamoto.jp/kiji\\_583.html](http://www.pref.kumamoto.jp/kiji_583.html) (平成 30 年 6 月閲覧)
- 3) 谷口智則:熊本県保健環境科学研究所報, **44**, 108 (2014).
- 4) 前田敏孝, 渡邊和博:熊本県保健環境科学研究所報, **46**, 44 (2016).
- 5) 熊本県環境保全課 HP:みんなの川の環境調査「川の水環境調査のてびき」を掲載しています  
[https://www.pref.kumamoto.jp/kiji\\_584.html](https://www.pref.kumamoto.jp/kiji_584.html) (平成 30 年 6 月閲覧)
- 6) 小田泰史, 杉村継治, 久保 清:用水と廃水, **34**, 112 (1992).
- 7) 川合禎次編:“日本産水生昆虫検索図説”, (1985), (東海大学出版会).
- 8) 谷田一三編, 丸山博紀, 高井幹夫著:“原色川虫図鑑”, (2000), (全国農村教育協会).
- 9) 刈田 敏著:“水生昆虫ファイルⅠ”, (2002), (株式会社つり人社).
- 10) 刈田 敏著:“水生昆虫ファイルⅡ”, (2002), (株式会社つり人社).
- 11) 刈田 敏著:“水生昆虫ファイルⅢ”, (2002), (株式会社つり人社).
- 12) 椎野季雄著:“水産無脊椎動物学”, (1969), (培風館).
- 13) 気象庁 HP:過去の気象データ検索  
<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php> (平成 30 年 6 月閲覧)
- 14) 熊本県環境保全課:平成 19 年度川の水環境調査報告書ー水生生物等による川の水環境調査と啓発活動ー (2009).
- 15) 熊本県環境保全課:平成 20 年度みんなの川の環境調査ー川の生き物と水質を調べてみようー (2009).
- 16) 津田松苗編:“水生昆虫学”, p.243 (1962), 北隆館.
- 17) 土井秀幸, 岡村 寛:日本生態学会誌, **61**, 3(2011).

### 3・3 誌上发表論文抄録

#### **First Complete Genome Sequences of Human Sapovirus Strains Classified as GI.3, GI.4, GI.6, GI.7, and GII.7**

Genome Announcements, Volume 6 Issue 12 e00168-18, (2017).

Tomoichiro Oka\*<sup>1</sup>, Nobuhiro Iritani\*<sup>2</sup>, Mineyuki Okada\*<sup>3</sup>, Tomoko Ogawa\*<sup>4</sup>, Setsuko Iizuka\*<sup>5</sup>, Chika Tatsumi\*<sup>5</sup>, Seiya Harada, Kei Haga\*<sup>1</sup>, Yen Hai Doana\*<sup>1</sup>

\*<sup>1</sup> Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan

\*<sup>2</sup> Division of Microbiology, Osaka Institute of Public Health, Osaka, Japan

\*<sup>3</sup> Chiba Prefecture Toso Meat Inspection Office, Chiba, Japan

\*<sup>4</sup> Division of Virology, Chiba Prefectural Institute of Public Health, Chiba, Japan

\*<sup>5</sup> Division of Virology, Shimane Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science, Shimane, Japan

We report the first complete genome sequences of genotype GI.3, GI.4, GI.6, GI.7, and GII.7 sapovirus strains, detected from fecal samples of acute gastroenteritis patients. Complete or nearly complete genome sequences of all 18 genotypes of human sapoviruses are now available for phylogenetic analysis and primer design.

#### **Recombinant type Human mastadenovirus D85 associated with epidemic keratoconjunctivitis since 2015 in Japan**

Journal of Medical Virology Volume 90, Issue 5, May 2018, Pages 881-889

Shintaro Hashimoto, Gabriel Gonzalez\*<sup>1</sup>, Seiya Harada, Hideo Oosako, Nozomu Hanaoka\*<sup>2</sup>, Rikutarō Hinokuma\*<sup>3</sup>, Tsuguto Fujimoto\*<sup>2</sup>

\*<sup>1</sup> Division of Bioinformatics, Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido University, Sapporo, Japan

\*<sup>2</sup> Infection Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Disease, Tokyo, Japan

\*<sup>3</sup> Hinokuma Eye Clinic, Kumamoto, Japan

The aim of this study was to report the emergence of a recombinant human mastadenovirus (HAdV) type 85 (HAdV-85) and to describe its genomic and clinical characteristics. The strains were detected and identified in Japan in cases of adenoviral conjunctivitis including epidemic keratoconjunctivitis (EKC). The type was designated as HAdV-85 based on the novel combination of penton base (P = HAdV-37), hexon (H = HAdV-19), and fiber (F = HAdV-8). The whole genome sequence determined for HAdV-85 was compared against sequences of other types in the same species. The results of the phylogenetic analysis suggested a recombinant origin between HAdV-53 and HAdV-64, which have been two major causes of adenoviral EKC in Japan over the past decade. During the period between 2008 and 2016 in Kumamoto city, southwest of Japan, 311 cases diagnosed with conjunctivitis were diagnosed as being the consequence of adenoviral infections. Among them, 11 cases were determined to have been caused by HAdV-85 since 2015. Thus, HAdV-85 could be an emerging causative agent of adenoviral conjunctivitis.

### 3・4 学会・研究会発表抄録

#### 3・4・1 所外における学会・研究会

##### 8年間にわたる眼科定点調査で検出されたヒトアデノウイルス流行型の推移と新たに発見された流行性角結膜炎起因病原体

第58回日本臨床ウイルス学会 平成29年5月27日 長崎県

橋本慎太郎\*

\* 現阿蘇地域振興局保健福祉環境部

流行性角結膜炎 (EKC) はヒトアデノウイルス (HAdV) の感染を主因とする感染症であり、近年、HAdV D種の8型, 19型, 37型等に加え、新型である53型, 54型, 56型の検出報告が増加している。そこで今回、熊本県で2008～2015年度に検出されたHAdVの分子疫学解析を行った。結膜ぬぐい液692件中295件(43%)から13種類の型のHAdVが検出された。その内訳は37型が74件(25.0%), 54型が60件(20.3%), 56型が43件(14.6%)等であり、4型, 8型, 37型, 53型および54型には流行年度がみられた。また、2015年11月以降、Penton領域/37型, Hexon領域/19型, Fiber領域/8型の新型と考えられる組み換えウイルスが8名から分離された。今回の新型候補株もEKCの全国流行など公衆衛生的に大きな影響を与える可能性を内在し、疫学的な精査が必須である。

##### 猪から分離した多剤耐性サルモネラの薬剤耐性伝達試験結果

第66回九州地区獣医師大会 平成29年10月15日 沖縄県

松本一俊

サルモネラ属菌 (Sal) は、家畜や家禽の消化管内に存在し、食中毒を引き起こす最近として重要である2016年2月に、猪の肝臓から分離した本邦初の多剤耐性 *S.Cholerasuis* biotype *Kunzendruf* (SCK) の薬剤耐性機構について解析を行った。SCKの薬剤耐性遺伝子は約50kbのIncFIIA型プラスミド (Pls) にコードされ、接合伝達試験で耐性遺伝子が伝達された。Plsにより薬剤耐性が伝達されることから、野生動物間での薬剤耐性菌の拡大も懸念される。今後も野生鳥獣肉の検査を継続し、薬剤耐性菌等の浸潤状況を調査する予定である。

##### HUS患者から分離されたEHEC 76:H7 (stx2陽性) について

第21回腸管出血性大腸菌感染症研究会 平成29年11月17～18日 鹿児島県

第66回九州地区獣医師大会 平成29年10月15日 沖縄県

第43回九州衛生環境技術協議会 平成29年10月12～13日 北九州市

小原敦美 松本一俊 近藤ひとみ 原田誠也 大迫英夫 李謙一\* 伊豫田淳\* 大西真\*

\* 国立感染症研究所細菌第一部

溶血性尿毒症症候群 (HUS) を発症し、腸管出血性大腸菌 (EHEC) の感染が疑われた患者便から、市販の病原大腸菌免疫血清 (デンカ生研) には含まれていない、希なO血清型のEHEC O76:H7を分離した。しかし、患者便を塗抹培養した分離培地上のEHEC様のコロニーは、ほとんどが志賀毒素遺伝子 (stx) 陰性の腸管病原性大腸菌 (EPEC) O76:H7であり、感染時にstx陽性であったEHEC O76:H7からStxファージが脱落したものと結論づけた。

### 平成28年度水生生物調査で見られた指標生物減少に関する考察

内田大智 前田敏孝\*<sup>1</sup> 渡邊和博\*<sup>2</sup>

\*<sup>1</sup> 現環境生活部環境保全課 \*<sup>2</sup> 現病院局診療部

第43回九州衛生環境技術協議会生物分科会 平成29年10月12～13日 北九州市

県内35地点で実施している水生生物（底生生物）の平成28年度モニタリング調査において、観察された指標生物の総個体数の減少が確認されたため、その要因等について考察した。

県内35地点のうち6地点では特に大きな影響を受けており、その要因は1地点が熊本地震、残る5地点が平成28年6月の大雨と推察された。また、25種の指標生物のうち、生活型が固着型のものや摂食機能群がコレクターであるものが大きく影響を受けていると考えられた。

## 3・4・2 第18回熊本県保健環境科学研究所研究発表会(平成29年11月17日)

### イヌ等の動物由来感染症病原体の保有状況について

松本一俊 原田誠也 小原敦美 大迫英夫

動物由来感染症とは、動物から人に感染する病気の総称である。日常生活において、ペット（伴侶動物）や食品としての野生動物（ジビエ）等に接する機会があるが、それらの動物にはどのような病原体を持っているか不明なことがあり、直接感染、節足動物及び動物性食品（獣肉等）媒介等により健康被害が起きる可能性がある。そこで身近な動物がどのような感染症の病原体を保有しているかについて調査した。

### 熊本県におけるエンテロウイルス感染症の流行状況と分子疫学的解析

酒井崇 日高直子\*<sup>1</sup> 吉岡健太\*<sup>2</sup> 橋本慎太郎\*<sup>3</sup> 原田誠也 大迫英夫

\*<sup>1</sup> 芦北地域振興局保健福祉環境部 \*<sup>2</sup> 健康福祉部健康危機管理課

\*<sup>3</sup> 現阿蘇地域振興局保健福祉環境部

エンテロウイルスは手足口病やヘルパンギーナなど主に小児の間で様々な感染症の原因となるウイルスである。

今回は、近年のエンテロウイルスの検出状況を疾患別に報告すると共に、2017年度に流行した手足口病の病原エンテロウイルスの1つであるコクサッキーウイルス A6について解析を行った。

### クワズイモ食中毒検査事例—LC/MS/MSによるシュウ酸分析法の開発—

西名武士

クワズイモは、葉及び葉柄の様子がサトイモとよく似ていることから、誤って喫食されることによる食中毒事例が後を絶たず、本県においても、平成27年度に、クワズイモをサトイモと誤認したことによる食中毒事例が発生した。

当所では、本事例において、クワズイモに含まれるシュウ酸を、LC/MS/MSを用いて分析・同定する手法を検討し、良好な結果が得られた。

### LC/MS/MSによる食品添加物の迅速一斉分析法の開発

山口奈穂 西名武士

食品添加物は、食品の加工若しくは保存の目的で使用される物質であり、食品毎に使用基準が設定されている。本県では、使用実態及び過去の検査結果から違反の蓋然性の高い食品添加物を中心に約40項目の検査を行っているが、そのほとんどが個別分析法であるため、操作が煩雑で時間がかかっていた。

そこで、今回、検査の迅速化を目的に、食品添加物計38項目を対象とした迅速一斉分析法の検討を行ったところ、良好な結果が得られた。

## 大気環境測定車を用いた PM2.5 による大気汚染状況調査(菊陽町編)

山本裕典 北岡宏道 宮本俊\*<sup>1</sup> 出納由美子\*<sup>2</sup> 松崎達哉

\*<sup>1</sup> 環境生活部環境保全課 \*<sup>2</sup> 現(公財)熊本県環境整備事業団

平成 25 年 1 月における深刻な大気汚染を機に、日本国内でも大気汚染物質 PM2.5 への関心が急速に高まり、本県では現在 28 ヶ所の測定局において、PM2.5 を常時監視し、注意喚起を発出する際は、県内を 4 地域に区分して実施している。今回、測定局が設置されていない菊陽町に大気環境測定車を設置し、PM2.5 による大気汚染状況を調査し、既存の PM2.5 の測定局との類似性を検証した。

## WRF/CMAQ を用いた PM2.5 の発生源寄与解析

### —PMF モデルによる発生源寄与との比較—

松崎達哉 出納由美子\*<sup>1</sup> 古澤尚英\*<sup>2</sup> 豊永悟史\*<sup>2</sup>

\*<sup>1</sup> 現(公財)熊本県環境整備事業団 \*<sup>2</sup> 環境生活部環境保全課

熊本県の PM2.5 主要発生源および越境・地域汚染の影響を把握するために、化学輸送モデル CMAQ を用いて 2014 年冬季の熊本県を対象とした発生源寄与を求めた。PMF モデルによる発生源寄与と比較したところ、越境汚染の寄与について有意な相関が得られ、両モデルの結果の妥当性が支持された。PMF の「2 次生成硝酸塩+塩化物」因子は CMAQ の「九州」寄与と有意な相関が得られたが、宇土と益城で相関が違い、このことは NH<sub>3</sub> の地域汚染と類似性がみられた。

## 県内河川における重金属等の調査結果

渡邊和博\* 本田智宣

\* 現病院局診療部

熊本県内河川の重金属等 19 項目の調査結果を平成 18 年 4 月から平成 29 年 1 月までとりまとめ、重金属等 19 項目から河川の環境変化及び特徴について考察した。河川の環境変化について、この 11 年間で大きな濃度変化は見られなかったが、海水の影響により一時的に高濃度となる河川及び同一河川で合流の影響により上流から下流にかけて濃度変化する河川が確認された。

## 平成 28 年度水生生物調査で見られた指標生物減少に関する考察

前田敏孝\*<sup>1</sup> 渡邊和博\*<sup>2</sup>

\*<sup>1</sup> 現環境生活部環境保全課 \*<sup>2</sup> 現病院局診療部

平成 28 年に実施した熊本県内河川の水生生物調査では、例年と比べて出現した指標生物の個体数が大きく減少していた。その原因を考察したところ、平成 28 年に起きた自然災害(平成 28 年熊本地震及び梅雨時期の豪雨)との関連性が高いことが示唆された。また、指標生物の減少が大きかった地点のデータを解析したところ、漂流物や堆積物を餌とする定住性の高い生物が共通して大きな影響を受けたと考えられた。

ダイヤルインシステムによる

各部室への直通電話のご案内

(市外局番 0964)

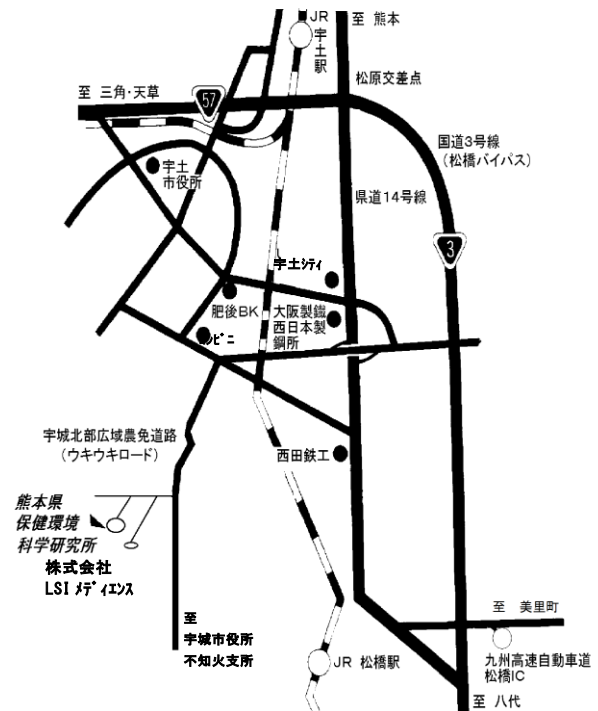
総務課 (代) 23-5771

微生物科学部 23-5794

生活化学部 23-5795

大気科学部 23-5924

水質科学部 23-5936



平成 29 年度版 所報編集委員会

委員長 樋口 義則

副委員長 古閑 健市

委員 八尋 俊輔

北岡 宏道

中原 優子

内田 大智

## 熊本県保健環境科学研究所報

平成 29 年度 第 47 号

2017

編集

熊本県保健環境科学研究所

〒869-0425

熊本県宇土市栗崎町 1240-1

T E L (0964) 23-5771 (代)

F A X (0964) 23-5260

熊本県保健環境科学研究所

〒869-0425 熊本県宇土市栗崎町1240-1

TEL (0964)23-5771(代) FAX (0964)23-5260

Kumamoto Prefectural Institute  
of Public-Health and Environmental Science  
1240-1 Kurisaki-machi, Uto City  
Kumamoto 869-0425, Japan

発行者：熊本県

所属：保健環境科学研究所

発行年度：平成30年度