

福井県における日本紅斑熱の感染環調査

1. 2014年の患者発生を受け媒介種のスクリーニング調査

石畝 史*³・藤田博己*^{1,3}・平野映子・矢野泰弘*²・高田伸弘*^{2,3}

Survey of infection dynamics of Japanese spotted fever in Fukui Prefecture, Japan

1. Screening of vectors in endemic areas after an outbreak in 2014

Fubito ISHIGURO*³, Hiromi FUJITA*^{1,3}, Eiko HIRANO, Yasuhiro YANO*², Nobuhiro TAKADA*^{2,3}

1. はじめに

日本紅斑熱は1984年に徳島県で確認されて以来、南西日本を中心に発生し¹⁻³、2008～2012年の全国における患者報告数は、130、120、130、180、170例と増加し⁴、一昨年来は200台にあると聞く。そういう中で、日本海側をみれば従来から島根県の島根半島の西部で多発していたものが⁵、2007年からは鳥取県東部で発生が確認されるようになり⁶、昨年は兵庫県北部でも初めて患者が確認された⁷⁻⁸。そして福井県では、2004年に我国初ともなる欧州型紅斑熱の*Rickettsia helvetica*感染例が確認されたため⁹⁻¹⁰、媒介マダニ種の分布および当該病原体の保有状況の調査を、2005～2007年に本県北部の山間部を中心に行ない、媒介種はヒトツトゲマダニ*Ixodes monospinosus*、保有病原体は*R. helvetica*であると判明している¹¹⁻¹²。

そういう状況下、2014年9月中旬に二州健康福祉センター管内で本県初となる日本紅斑熱の感染が見出された。患者の概況は別報のとおりで⁸、希少例ゆえ診断が遅れて重症化したものの救命はし得て、抗体検査で*R. japonica*感染と判定された。時を移さず発生地区で試行したマダニ調査では本病の一般の媒介種となるチマダニ類が優占的に生息することを確認した。今回は、この発生地区に周辺地域も加えて広くマダニの分布を調べるとともに、それらのマダニから紅斑熱群リケッチア (spotted fever group rickettsiae : SFGR) の分離を試行したので報告する。

2. 材料および方法

2. 1 材料

2. 1. 1 調査期間および調査地域

2014年10～11月(以下、秋季)に嶺南の患者発生地区で3回、および周辺(若狭湾岸の4市町の計5地区)で各1回、2015年3月(以下、春季)に患者発生地区で2回および周辺の1地区で1回採集した。いずれの地区も海岸から約100m～1.5km(標高数m～100mほど)にあり、普通の里山麓の小道で類似した環境であった。

2. 1. 2 材料

フランネル法により植生上から採集したマダニ910個体を成書を参考に分類同定した上で¹³⁻¹⁴、現発生地区の秋季採集分253個中の159個体、また春季採集分360個体中の325個体、さらに周辺の秋季採集分260個中の114個体と春季採集分37個体のすべて、以上合計635個体を生菌分離に供した。

2. 2 方法

2. 2. 1 マダニからのSFGR生菌分離

マダニからのSFGRの分離は、既報¹⁵のとおり実施した。マダニ表面を0.01%イソジン加70%エタノールで消毒後、1%牛胎児血清加0.01M PBS (pH7.2)で5分間洗浄した。その後、SPG (sucrose phosphate glutamate)で乳剤とした各内臓をL929細胞で培養し2～4週間観察した。

2. 2. 2 分離株の同定

単クローン抗体(*Rickettsia japonica*種特異的C3、および紅斑熱群特異的S3、X1、F8)¹⁶に対する反応性を調べ、遺伝子シーケンス前段階の同定の目安とした。

3. 結果

3. 1 採集されたマダニ種

3. 1. 1 秋季のマダニ種

採集できたマダニは、発生地ではチマダニ属のヤマアラシチマダニ*Haemaphysalis hystricis*、フタトゲチマダニ*Haemaphysalis longicornis*、キチマダニ*Haemaphysalis flava*、タカサゴチマダニ*Haemaphysalis formosensis*、オオトゲチマダニ*Haemaphysalis megaspinoza*およびヒゲナガチマダニ*Haemaphysalis kitaokai*の他に、タイワンカクマダニ*Dermacentor taiwanensis*、タカサゴキラマダニ*Amblyomma testudinarium*およびアカコッコマダニ*Ixodes turdus*の4属9種の253個体であった(表1)。幼若虫が98.0%を占め、成虫はキチマダニ3個体およびヒゲナガチマダニ2個体のみで、幼虫および若虫で最も多かったのは、それぞれオオトゲチマダニおよびキチマダニであった。また、ヤマアラシチマダニは若虫1個体および幼虫14個体、およびフタトゲチマダニは幼虫12個体であった。周辺ではヤマアラシチマダニ、フタトゲチマダニ、キチマダニ、タカサゴチマダニ、オオトゲチマダニ、ヒゲナガチマダニおよびタカサゴキラマダニの2属7種の260個体であった。幼若虫が82.3%を占め、成虫は、キチマダニ11個体、オオトゲチマダニ4個体およびヒゲナガチマダニ31個体のみで、幼虫および若虫で最も多かったのは、それぞれオオトゲチマダニおよびキチマダニであった。なお、ヤマアラシチマダニは採集されなかった。

3. 1. 2 春季のマダニ種

発生地では4属9種の360個体採集できた(表1)。幼若虫が89.2%を占め、成虫はキチマダニ13個体およびヒゲナガチマダニ26個体のみで、幼虫および若虫で最も多かったのは、それぞれタイワンカクマダニおよびキチマダニであった。ヤマアラシチマダニは若虫3個体および幼虫19個体、およびフタトゲチマダニは幼虫12個体であった。

¹ 馬原アカリ医学研究所(徳島県阿南市)

² 福井大学医学部

³ 医学野外研究支援会(MFSS)

表1 日本紅斑熱患者発生地および周辺におけるマダニ分布相

採集地	採集 時季	Hf				Hfo		Hh		Hk		Hl		Hm				Io	It	Dt	At
		♀	♂	N	L	N	L	N	L	♀	♂	N	L	♀	♂	N	L	♀	L	L	N
発生地	秋季	1	2	104	11	15	25	1	14	2		12		11	31		18	4	2		
	春季	8	5	169		28	5	3	19	14	12	12		6			2	69	8		
周辺	秋季	3	8	72			1		1	19	12		23	1	3	43	73			1	
	春季	3	2	23						2	2			1	2		1		1		

N:若虫、L:幼虫、Hf;キチマダニ、Hfo;タカサゴチマダニ、Hh;ヤマアラシチマダニ、Hk;ヒゲナガチマダニ
Hl;フタトゲチマダニ、Hm;オオトゲチマダニ、Io;ヤマトマダニ、It;アカコッコマダニ、Dt;タイワンカクマダニ
At;タカサゴキララマダニ

表2 日本紅斑熱患者発生地および周辺のマダニにおけるリケッチア分離個体数

採集地	採集 時季	Hf				Hfo		Hh		Hk		Hl		Hm				Io	It	Dt	At
		♀	♂	N	L	N	L	N	L	♀	♂	N	L	♀	♂	N	L	♀	L	L	N
発生地	秋季	1	2	85	5	13	22	1	7	1		2		4	10		5			1	
	春季	8	5	164		27	4	2	12	12	10	12		2					59*	8*	
周辺	秋季	1	7	61		1		1	2	9		1		3	25	2				1	
	春季	3	2	23						2	2			1	2		1		1		

*各1個体からSFGRを分離、N:若虫、L:幼虫、Hf;キチマダニ、Hfo;タカサゴチマダニ、Hh;ヤマアラシチマダニ
Hk;ヒゲナガチマダニ、Hl;フタトゲチマダニ、Hm;オオトゲチマダニ、Io;ヤマトマダニ、It;アカコッコマダニ
Dt;タイワンカクマダニ、At;タカサゴキララマダニ

周辺では秋季に採集できなかったヤマトマダニ *Ixodes ovatus* 成虫も僅少得られて計3属5種の37個体であった。

3. 2 SFGR 分離状況 & 単クローン抗体の反応性

リケッチア分離に供したのは、秋季と春季を合わせると発生地ではキチマダニ幼若成虫 270 個体、タカサゴチマダニ幼若虫 66 個体、タイワンカクマダニ幼虫 59 個体、ヤマアラシチマダニ幼若虫 22 個体およびフタトゲチマダニ幼若虫 14 個体など計 484 個体、また周辺ではキチマダニ幼若成虫 97 個体、オオトゲチマダニ幼若成虫 33 個体、ヒゲナガチマダニ成虫 15 個体、フタトゲチマダニおよびヤマアラシチマダニの各 1 個体など計 151 個体であった(表2)。

リケッチアが分離できたのは、いずれも発生地の春季の個体で、タイワンカクマダニ幼虫 59 個体中 1 個体(株名を Dt-2 とする)およびタカサゴキララマダニ若虫 8 個体中 1 個体(株名を At-102)であった。そのうち、Dt-2 は 4 種類の単クローン抗体全てに陽性であったことから、*Rickettsia japonica* と推定された。また、At-102 は過去の西日本におけるタカサゴキララマダニ由来株の例から *Rickettsia tamurae* と推定された。

4. 考察

2005~2007 年の県内における SFGR の調査¹¹⁻¹²⁾では、主に標高 300~1,600m の山間部を中心調査したこともあったためか、県内の 4 地点のヒトツトゲマダニから *R. helvetica*、および嶺南地区のフタトゲチマダニから *R. japonica* の近縁種とされる *R. sp. Lon type* などが分離されたものの、*R. japonica* は分離されていなかった。

今回は、患者をみていない周辺に比べマダニ生息数が多い傾向をみる患者発生地区のタイワンカクマダニ幼虫から *R. japonica* と推定される株が生菌分離された。周辺に生息するマダニは秋季には種類が少ない傾向が、春季は生

息数が低い傾向がみえて分離もなかった。ただ、過去に *R. japonica* が分離されて日本紅斑熱の媒介種と言われるヤマアラシチマダニ、フタトゲチマダニおよびキチマダニの 3 種からは分離できなかった¹⁷⁻¹⁸⁾。ちなみに、熊本県上天草地区ではヤマアラシチマダニ 196 個体中 2 個体から *R. japonica* が分離されている¹⁹⁾。*R. japonica* 遺伝子は島根半島ではフタトゲチマダニ 585 個体中 16 個体およびヤマトマダニ 215 個体中 2 個体^{6, 20)}、和歌山県岩出市のヤマアラシチマダニ 44 個体中 1 個体²¹⁾、鹿児島県大隅半島ではタカサゴキララマダニ、ヤマアラシチマダニおよびフタトゲチマダニから検出されている²²⁻²³⁾。

今回の調査地域は標高が低く、嶺南地区の海岸に近かったためか、2005~2007 年に採集できなかったヤマアラシチマダニおよびタカサゴチマダニが新たに採集できたが、三重県志摩半島において *R. japonica* 遺伝子が検出されて媒介の可能性は言われるツノチマダニ *Haemaphysalis cornigera* は採集されなかった³⁾。

一方、タカサゴキララマダニ由来株は藤田ら¹⁷⁾および Motoi *et al*²⁴⁾の報告により *R. tamurae* と推定され、このリケッチア感染例は島根県で 1 例報告²⁵⁾されている。本種は卵を除く発育全期でヒト嗜好性が強い種類であることから注意が必要である¹⁷⁾。

今回は、西日本において有力媒介種とされるヤマアラシチマダニおよびフタトゲチマダニの採集数は少なかったため、分離供試数もいささか少なかった。今後は、それら媒介有力種の生息地区を探索しつつ、年間を通じた調査などで、患者発生地区の疫学的意義を非発生地区と比較してゆきたい。

ちなみに、去年は福井県と同じ日本海側として兵庫県北部および新潟県中越地区⁷⁻⁸⁾、一方で、国立感染症研究所からの情報では内陸の栃木県那須塩原市でそれぞれ初の日本紅斑熱患者が発生している。この理由のひとつとして考えられるのは、熊本県上天草におけるヤマアラシチマダ

ニおよびタカサゴチマダニからの *R. japonica* 遺伝子の検出¹⁹⁾、また島根半島におけるフタトゲチマダニとニホンジカの密接な関係など言われるが²⁰⁾、福井県でもこれらの野生動物の繁殖と生息域拡大の影響を受けている可能性もあり、今後の調査を待ちたい。

5. まとめ

2014年10～11月および2015年3月に、日本紅斑熱発生地区と周辺にてマダニを採集して SFGR の分離を試みた。その結果、10～11月は患者発生地で4属9種の253個体、周辺では2属7種260個体のマダニが採集でき、3月は発生地で4属9種類360個体、周辺は3属5種37個体のマダニが採集でき、計4属10種の910個体であった。

SFGR の分離は計4属10種635個体について試みたところ、北陸で初めてタイワンカクマダニおよびタカサゴキラマダニ各1個体から SFGR が分離でき、前者は *R. japonica*、後者は *R. tamurae* と推定された。

謝辞

現地調査に直接、間接に支援いただいた敦賀市立病院および二州健康福祉センターの諸氏に感謝する。なお、本研究の一部は、平成26年度厚労省科学研究費補助金（新興再興感染症研究事業）により実施した。

参考文献

- 1) 御供田睦代、濱田まどか他：鹿児島県におけるつが虫及び日本紅斑熱について、鹿児島県環保セ所報, **14**, 50～52 (2013)
- 2) 山本正悟：九州地域におけるリケッチア感染症の実態調査—日本紅斑熱の患者発生状況および宮崎県、長崎県、熊本県の患者発生地における媒介マダニ調査—, 厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業—リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築—平成19年度総括・分担研究報告, 99～107 (2008)
- 3) 高田伸弘：三重県志摩半島に多発する紅斑熱、その感染環と環境要因, 厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業—リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築—平成20年度総括・分担研究報告, 85～101 (2009)
- 4) つが虫病・日本紅斑熱 2006～2009, IASR, **31**, 120～122 (2010)
- 5) Tabara, K., Kawabata, H. et al : High incidence of Rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick, J Vet Med Sci, **73**, 507～510 (2011)
- 6) 白井僚一、松本尚美他：鳥取県における日本紅斑熱, IASR, **31**, 130～131 (2010)
- 7) 高田伸弘：地域特性に伴う多様な感染環調査～シモコシ型や南方系の恙虫病および日本海側の紅斑熱～, 厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業—ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築とその基盤となる技術・情報の体系化に関する研究—平成26年度総括・分担研究報告書, 93～98 (2015)
- 8) 高田伸弘、清水達人他：福井県南部で初確認できた紅

- 斑熱の速報、若狭湾地方の環境要因と症例比較から、衛生動物, **69**, 60 (2015)
- 9) Noji, Y., Takada, N. et al : The first reported case of spotted fever in Fukui Prefecture, the northern part of central Japan, Jpn J Infect Dis, **58**, 112～114 (2005)
 - 10) 高田伸弘、石畝史他：福井県で初めて確認された *R. helvetica* 感染が示唆された症例, IASR, **27**, 4 (2006)
 - 11) Ishiguro, F., Takada, N. et al : Survey of the vectorial competence of ticks in an Endemic area of spotted fever group rickettsioses in Fukui prefecture, Japan, Microbiol Immunol, **52**, 305-309 (2008)
 - 12) 石畝史、藤田博己他：福井県の紅斑熱発生に係るベクターと病原リケッチアの調査, 福井県衛環研年報, **7**, 46～49 (2009)
 - 13) 高田伸弘：病原ダニ類図譜, 金芳堂, 107～130
 - 14) 藤田博己、高田伸弘：日本産マダニの種類と幼弱期の検索, ダニと新興再興感染症 (SADI 組織委員会編集), 全国農村教育協会, 53-68 (2007)
 - 15) Takada, N., Fujita, H. et al : First isolation of arickettsia closely related to Japanese spotted fever pathogen from a tick in Japan, J Med Entmol, **31**, 183～185 (1994)
 - 16) Oikawa, Y., Takada, N. et al : Identity of pathogenic strains of spotted fever rickettsiae isolated in Shikoku District based on reactivates to monoclonal antibodies, Jpn J Med Sci Biol, **46**, 45～49 (1993)
 - 17) 藤田博己、高田伸弘：マダニ類から検出されるリケッチアの多様性, ダニと新興再興感染症, SADI 組織委員会編集, 全国農村教育協会, 129～139 (2007)
 - 18) 馬原文彦：マダニ媒介性疾患を考える～日本紅斑熱の現況と SFTS の出現～, モダンメディア, **60**, 13～20 (2014)
 - 19) 大迫英夫、古川真斗他：熊本県における日本紅斑熱の疫学調査, 熊本県環保研所報, **41**, 27～33 (2011)
 - 20) 田原研司：島根半島における日本紅斑熱 (*Rickettsia japonica*) の感染リスクとニホンジカの影響, JVM, **65**, 817～822 (2012)
 - 21) 寺杉文男、下野尚悦他：和歌山県内のマダニ類の日本紅斑熱リケッチア保有状況調査, 厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業—ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築とその基盤となる技術・情報の体系化に関する研究—平成26年度総括・分担研究報告書, 183～187 (2015)
 - 22) Noda, S., Yamamoto, S. : Detection of Japanese spotted fever rickettsiae DNA from ixodid ticks in Osumi Peninsula of Kagoshima Prefecture, Japan, Med Entomol Zool, **4**, 273～277 (2006)
 - 23) 御供田睦代、岩元由佳他：鹿児島県におけるつが虫及び日本紅斑熱患者の病原体検出に関する調査研究, 鹿児島県環保セ所報, **15**, 50～52 (2014)
 - 24) Motoi, Y., Asano, M. et al : Detection of *Rickettsia tamurae* DNA in ticks and wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) skin in Shimane Prefecture, Japan, J Vet Med Sci, **75**, 263～267 (2013)
 - 25) Imaoka, K., Kaneko, S. et al : The first human case of *Rickettsia tamurae* infection in Japan, Case Rep Dermatol, **3**, 68～73 (2011)

近年の福井県におけるノロウイルスの検出状況 (平成22～26年度)

小和田和誠・平野映子・野田 希・大村勝彦

Detection of noroviruses from Fukui Prefecture in recent years

Kazuaki KOWADA, Eiko HIRANO, Nozomi NODA, Katsuhiko OMURA

1. はじめに

ノロウイルス（以下 NoV）は、カリシウイルス科に属するウイルス属の一つであり、ノーウォークウイルス種を唯一の種として持つ¹⁾。エンベロープを持たない約 7,600 塩基のプラス 1 本鎖 RNA ウイルスである²⁾。また、NoV は主に糞口感染により、嘔吐、下痢、腹痛および発熱等を発症する。さらに、感染経路が多種多様で、汚染食品の喫食や、調理従事者を介しての摂取による食中毒およびヒト-ヒト感染による感染症の集団発生原因となることが知られている^{3),4)}。

NoV には I～V の Genogroup があり、その中の Genogroup I（以下 G I）、Genogroup II（以下 G II）、Genogroup IV がヒトを宿主とすることが知られている³⁾。さらに、G I は 9、G II は 22 の遺伝子型が報告されている^{5),6)}。中でも G II.4 の検出率は、世界的に高いことが報告されており、胃腸炎の大流行に関与することがある⁷⁻⁹⁾。過去に胃腸炎が大流行した平成 18 年度冬期（平成 18 年 10 月～19 年 1 月）および平成 24 年度冬期（平成 24 年 10 月～25 年 1 月）には G II.4 の変異株が出現しており、その関連性が指摘されている^{10),11)}。福井県においても、G II.4 変異株出現時には胃腸炎が大流行した^{12),13)}。そのため、NoV の検出および遺伝子解析による流行動態の把握は、公衆衛生において非常に重要であり、これまでに NoV の検出および遺伝子解析を実施してきた^{12),13)}。平成 25 年には NoV の遺伝子型分類法が、ノロウイルスサイエンティフィックコミッティー（以下 NoV S.C.）より報告^{5),6)}されたことを受けて、従来の調査法¹⁴⁾で定めた遺伝子型番号とは異なる場合については、新分類法で統一するなどの対応が必要となった。

本報では、近年 5 ヶ年に福井県内で発生した集団発生事例から検出された NoV について、遺伝子型の変遷を調査した結果について報告する。

2. 方法

2.1 検査材料

平成 22～26 年度（平成 22 年 4 月～27 年 3 月）に福井県内で発生した急性胃腸炎のうち、当センターへ行政検査依頼があった急性胃腸炎集団発生 67 事例 839 検体を対象とした。検体の由来の内訳は、有症者由来 407 検体、調理従事者および施設職員由来 331 検体、その他（拭き取り等）101 検体であった。また、各年度の期間は 4 月～翌年 3 月とした。

2.2 検査方法

糞便および嘔吐物は滅菌水で 10% 乳剤とし、8,500G、10 分間冷却遠心後の上清を試料とし、直腸拭い液は粗遠心後の上清を試料とした。カキは中腸腺摘出後、滅菌水で 10% 乳剤とし、30% ショ糖を用いた超遠心（36,000rpm、2hr）で濃縮したものを試料とした。試料から、厚生労働省通知¹⁵⁾のリアルタイム PCR 法に準じて、RNA 抽出、DNase 処理および逆転写反応を実施し、cDNA を合成した。その後、糞便・吐物はリアルタイム PCR で、拭き取りは 1st PCR 産物を用いた nested リアルタイム PCR で、NoV が陽性であるか判定をした。リアルタイム PCR 装置は、StepOne Plus [Life technologies] を使用した。

NoV 陽性と判定した検体については、Kojima ら¹⁶⁾のプライマー（G1-SKF/G1-SKR もしくは G2-SKF/G2-SKR）を用いて Capsid NS 領域を増幅し、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。そして、プライマー配列を除いた領域（G I : 295nt、G II : 282nt）について、相同性解析および系統解析を実施した。シーケンス装置は、ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer [Life technologies] を使用した。データの解析は、MEGA (Molecular Evolutionary Gene Analysis) ver. 5.0 プログラム¹⁷⁾を使用し、最尤法 (ML 法) により系統樹を作製した。その際に、系統樹評価のため 1000 回のブートストラップを実施した。各遺伝子型の標準株は、NoV S.C. が推奨する株を使用した^{5),6)}。また、同一事例内で同一の塩基配列が得られた検体については、塩基配列の一つ選出し、その事例の代表株とした。

3. 結果および考察

調査対象の集団発生 67 事例のうち、NoV が検出されたのは 46 事例であった。全ての事例において、G II が検出され、G II だけでなく G I も同一事例から検出されたのは 6 事例 (13.0%) であった。G I は計 7 検体から検出され、G II は計 374 検体から検出された。G I が検出された検体は、いずれの検体も G II が検出されており、G I が単独で検出された検体はなかった。

発生施設別では、飲食店 (21 事例) が最も多く、他には仕出し店 (10 事例)、小・中学校・保育所 (6 事例) が多かった (表 1)。食中毒の原因施設になるケースが含まれる飲食店および仕出し店における事例については、G II.4 の検出が半数以上 (飲食店 12 事例、仕出し店 9 事例) を占めた。それに対し、食中毒ではなくヒト-ヒト感染などの感染症が推定された小・中学校・保育所の 6 事例においては、G II.4 の検出は無く、G II.2、G II.3、G II.14 等が主に検出された。

表1. 胃腸炎集団発生事例の発生(原因)施設

発生施設	件数	(%)
飲食店	21	45.7
仕出店	10	21.7
学校・保育所	6	13.0
社員食堂	2	4.3
イベント会場	2	4.3
公共施設	2	4.3
高齢者施設	1	2.2
旅館	1	2.2
病院	1	2.2

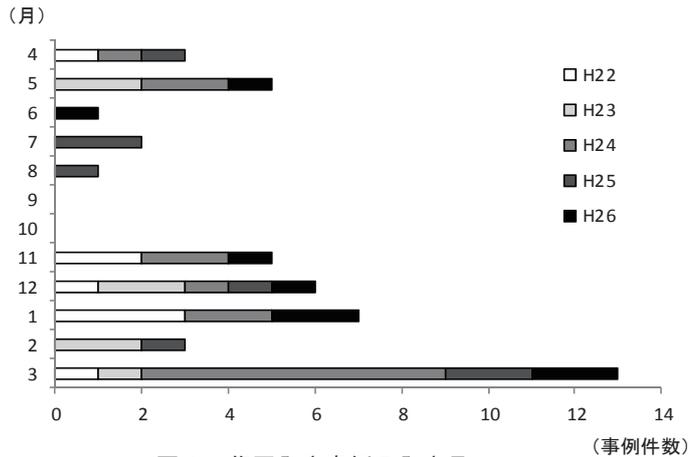


図1 集団発生事例の発生月

表2. 検出されたノロウイルスの遺伝子型

遺伝子型	検出年度(件数)					合計	
	H22	H23	H24	H25	H26	件数	(%)
G I .1		1				1	2.2
G I .2					1	1	2.2
G I .3	1	1				2	4.3
G I .4		1				1	2.2
G I .5	1					1	2.2
G I .6			1			1	2.2
G II .2	3		1	1		5	10.9
G II .3	1	1			4	6	13.0
G II .4	3	3	12	6		24	52.2
G II .6				2	2	4	8.7
G II .12	1					1	2.2
G II .13					1	1	2.2
G II .14	2	3	1			6	13.0
G II .17		1			2	3	6.5

※ 複数の遺伝子型を検出した事例は、当該遺伝子型の全てに数える。

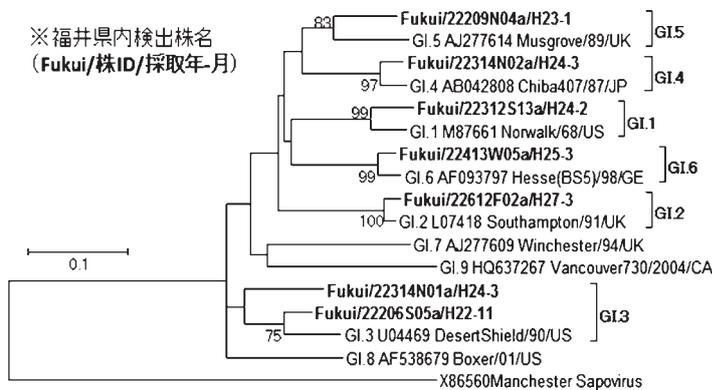


図2 Genogroup I の系統樹解析

また、発生月別では、3月(13事例)が最も多く、5年連続でNoVが検出された(図1)。他には、1月(7事例)、12月(6事例)などNoV流行期にあたる冬季に多かった。一方で、5月(5事例)や7月(2事例)のような春から夏にかけてもNoVが検出される年もあった。全国的には、1月にNoV食中毒のピークが見られることが多い¹⁸⁾が、本県では春にかけて発生が継続または増加しており、全国よりやや遅れて流行する傾向が見られた。そのため、冬のピークをすぎた後もNoVの予防対策は重要であると考えられた。

検出されたNoVの塩基配列について、各事例の代表株を用いて、Genogroupごとに系統樹解析を実施した(図2、3)。その結果、GIでは、GI.1、GI.2、GI.3、GI.4、GI.5、GI.6の6種類の遺伝子型が確認された。同様にGIIでは、GII.2、GII.3、GII.4、GII.6、GII.12、GII.13、GII.14、GII.17の8種類の遺伝子型が確認された。遺伝子型ごとの検出頻度を比較すると、GII.4が24事例(52.2%)で突出して多く、次点のGII.3およびGII.14の各6事例(13.0%)の約4倍であった(表2)。

検出された各遺伝子型について、発生時期との関連性について調査した。

まずGII.2については、平成22年11月から翌年1月までに検出された株(3事例)と、平成25年3月から4月までに検出された株(2事例)では異なるクラスターに分かれていた。同様に、GII.3についても平成22年11月から翌年3月までに検出された株(2事例)と平成26年11月から翌年1月までに検出された株(4事例)では異なるクラスターに分かれていた。両者とも検出の無かった3~4年の間に変異したために、再び流行するようになったと考えられた。

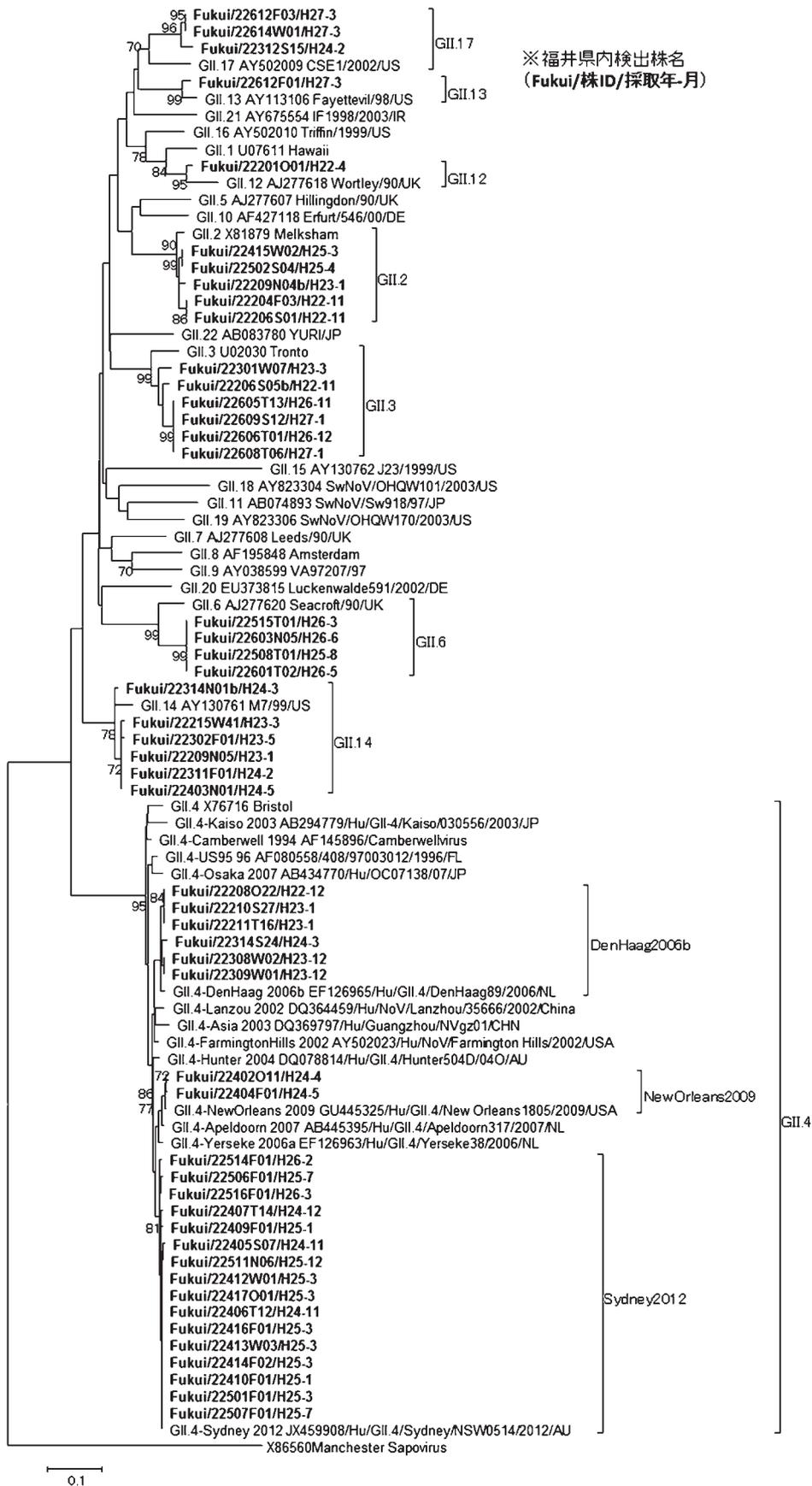


図3 Genogroup II の系統樹解析

一方で、GⅡ.6 および GⅡ.14 については検出年度の違いによるクラスターの違いは見られなかった。GⅡ.6 は平成 25 年 8 月から平成 26 年 6 月の間に検出され、GⅡ.14 は平成 23 年 1 月から平成 24 年 5 月の間に検出された。両者とも検出期間が 1~2 年以内と、GⅡ.2 等と比べて検出期間が短く、大きな変異を起こすには至っていない可能性があり、数年後にはクラスターの異なる変異株が検出される可能性が考えられた。

検出頻度が最も高かった GⅡ.4 について、NoV S.C. が推奨する GⅡ.4 変異株の標準株を用いて系統樹解析を実施した。その結果、平成 22~23 年度に発生した 6 事例は全て DenHaag2006b、平成 24 年度の 4~5 月頃に発生した 2 事例は NewOrleans2009、平成 24~25 年度に発生した 16 事例は全て Sydney2012 に分類され、検出されるクラスターが変遷していた。以前検出された変異型が再び検出されるということもなく、新しい変異型に移行していると考えられた。今後の変異の行方が注目される GⅡ.4 であるが、例年最も多く検出されているにもかかわらず、平成 26 年度の集団発生事例からは検出されなかった。このことから、Sydney2012 に対する免疫が獲得された可能性が考えられた。その一方で、免疫逃避のために新たな変異が起きている可能性も考えられた。

GⅡ.4 が検出されない中で、GⅡ.3 や GⅡ.17 が平成 26 年度に数年ぶりに検出されるようになった。今後も検出される遺伝子型が変遷していくと推定されるため、その動向に注視する必要があると考えられた。

4. まとめ

近年 5 ヶ年 (平成 22~26 年度) に検査した集団発生 67 事例 839 検体のうち、46 事例 374 検体から NoV を検出した。そして、事例ごとに発生状況を調査し、代表株について遺伝子解析を実施した。その結果、14 種類 (GⅠ : 6 種類、GⅡ : 8 種類) の遺伝子型に分類され、特に GⅡ.4 が多数 (24 事例 : 52.2%) を占めた。検出された GⅡ.2、GⅡ.3、GⅡ.4 は、集団発生時期により主要流行株が異なっており、遺伝子変異を繰り返しながら胃腸炎の流行に関与していることが示唆された。

謝辞

検体の採取、搬入および疫学等の情報収集を担当された健康福祉センター、医療機関、福井県健康福祉部医薬食品衛生課、健康増進課の関係各位に深謝いたします。

参考文献

1) 武田直和他 : カリシウイルスの命名変更について, IASR., **24**, 311-312 (2003)

- 2) 片山和彦 : 胃腸炎関連カリシウイルス (ノロウイルス、サポウイルス) 総論, IASR., **24**, 312-314 (2003)
- 3) 田代真人他 : ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 羊土社(2011)
- 4) 丸山務他 : つけない・うつさない・持ち込まない ノロウイルス現場対策 その感染症と食中毒, 幸書房(2006)
- 5) 片山和彦 : ノーウォークウイルス (ノロウイルス) の遺伝子型 2014 年版 IASR, **35**, 173-175 (2014)
- 6) Kroneman A et al.: Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping., Arch Virol., **158**, 2059-2068(2013)
- 7) Siebenga JJ et al.: Epochal Evolution of GGII.4 Norovirus Capsid Proteins from 1995 to 2006., J Virol., **81**,9932-9941 (2007)
- 8) Vega E et al.: Novel surveillance network for norovirus gastroenteritis outbreaks, United States., Emerg Infect Dis., **17**,1389-1395 (2011).
- 9) J van Beek et al., Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012., Eurosurveillance., **18**, 03 Jan (2013).
- 10) 本村和嗣他 : ノロウイルスのゲノム解析と流行発生のしくみ, 感染症誌, **86**, 563-568(2012)
- 11) 田村務他 : ノロウイルス GⅡ/4 の新しい変異株の遺伝子解析と全国における検出状況, IASR., **33**(12),333-334(2012)
- 12) 東方美保他 : 平成 14~18 年度に福井県で検出されたノロウイルスの遺伝子解析,福井県衛生環境研究センター年報, **5**, 60-72(2006)
- 13) 小和田和誠他 : 平成 22~24 年度に福井県の集団発生事例から検出されたノロウイルスの遺伝子解析, 福井県衛生環境研究センター年報, **11**, 58-62(2012)
- 14) Kageyama T et al.: Coexistence of multiple genotypes,including newly identified genotypes,in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan., J.Clin.Microbiol., **42**, 2988-2995(2004)
- 15) 厚生労働省医薬局食品安全部監視安全課長通知 : ノロウイルスの検出法について, 食安監発第 1105001 号, 平成 15 年 11 月 5 日
- 16) Kojima S et al.: Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses, J Virol Methods., **100**, 107-114 (2002)
- 17) Tamra K, et al.: MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods., Mol. Biol. Evol. **28**, 2731-2739 (2011)
- 18) 厚生労働省 食中毒統計資料, 公式 HP http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html



福井県内の河川における HBCD の実態について

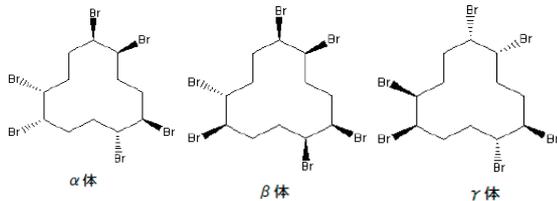
三木 崇・吉川 昌範

Distribution of Hexabromocyclododecane in River Water and Sediment in Fukui.

Takashi MIKI, Masanori YOSHIKAWA

1. はじめに

樹脂製品やカーテン素材に使用されている臭素系難燃剤ヘキサブロモシクロドデカン (HBCD: $C_{12}H_{18}Br_6$) は 2013 年 5 月にストックホルム条約の規制対象物質に追加され、2014 年 5 月に化審法第一種特定化学物質に指定された。繊維産業が盛んな福井県では、嶺北地方の平野部を中心として多数の繊維染色加工事業所が操業していることから、工場排水による HBCD 汚染が懸念され、他機関の研究報告¹⁻³⁾でも九頭竜川の底質から、主要異性体である γ -HBCD が高濃度で検出されている。また、環境中の分解過程においては、より毒性が高いとされる分解産物 (PBCDs) による汚染も懸念される。このため、県内における HBCD 汚染実態の把握を目的として、平成 26 年度に県内全域の 30 河川を対象とした河川水および底質試料の分析を実施した。



生物濃縮係数 (BCF)	α体	β体	γ体
	3,390~16,100	3,350~8,950	479~2,030

ヘキサブロモシクロドデカン (HBCD) の構造式

2. 方法

2.1 河川水分析法

河川水 (0.5~1L) に内部標準物質 (^{13}C -HBCD) 50ng を添加し、ガラス繊維ろ紙で懸濁物をろ過した後、試料溶液を再度固相ディスク (Empore Disk C18) にて約 50mL/min で吸引ろ過を行った。1 時間の 40°C 乾燥と風乾により試料を完全に乾燥させ、超音波抽出 (アセトン 1 回、ジクロロメタン 2 回、各 20mL) により得られた抽出液を濃縮してヘキサン 5mL に転溶し、1mL まで窒素パーズ濃縮を行った。クリーンアップ用固相カートリッジ (Envi-Carb) に固定後、25%ジクロロメタン/ヘキサン溶液 10mL で溶出させ、窒素パーズ濃縮後、ヘキサン 3mL 程度に転溶し、乾固寸前まで濃縮した。アセトニトリル 3mL に転溶後、再度 0.5mL まで濃縮し、シリジスパイク用内部標準物質 (d_{18} - α HBCD) 50ng を添加後、1mL にメスアップし、シリジフィルターで懸濁物を

を除去して LC-MS/MS 測定 (Shimadzu 社製 LP-8050) を行った。(図 1)

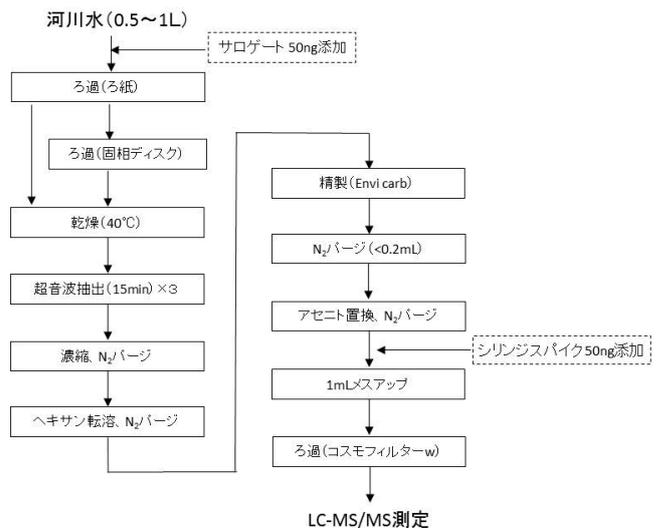


図 1 河川水分析フロー

2.2 底質分析法

底質の分析法に関しては、既存の分析法検討結果⁴⁻⁶⁾を参考に、高速溶媒抽出装置 (ASE) による抽出操作 (表 1) と硫酸シリカゲルによる精製操作を行った。風乾処理後の底質 2g を分取し、抽出セル内に珪藻土と底質試料を入れて内部標準物質 (^{13}C -HBCD) 50ng を添加し、アセトン抽出 (100°C、1500psi) を 2 回行った。アセトン抽出液を濃縮後、銅片 1g を加えて 45°C にて 1 時間以上加温処理した後、精製水 100mL とヘキサン 40mL で液-液抽出し、再度精製水 100mL を加え液-液抽出を行った。ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過して 1mL 程度まで濃縮し、多層カラム (硫酸シリカゲル 22% 6g、44% 4.5g、ワコーゲル・硫酸ナトリウム適量) に固定させ、25%ジクロロメタン/ヘキサン溶液 140mL で溶出し、精製液を濃縮してヘキサン溶液に転溶した。窒素パーズ濃縮で乾固寸前まで濃縮し、アセトニトリル 3mL に転溶後、再度 0.5mL まで濃縮し、シリジスパイク用内部標準物質 (d_{18} - α HBCD) 50ng を添加後、1mL にメスアップし、シリジフィルターで懸濁物を除去して LC-MS/MS 測定を行った。(図 2)

なお、河口付近の底質の多くはヘドロ状のシルト質であることが多く (表 2)、濃縮時には硫黄と思われる多量の針状結晶が析出したため Cu 処理 (45°C) を行うこととした。この操作により針状結晶の析出が大きく抑制さ

れ、100%近い回収率を安定して得ることができた。今回採取した底質試料の性状を表2に示す。

3. 結果と考察

表1 高速溶媒抽出条件 (DIONEX ASE-350)

項目	条件
セル容量	22 mL
空隙充填	珪藻土
セル圧力	10.3 MPa(1500psi)
加熱温度	100 °C
静置時間	7 min
フラッシュ溶媒量	13.2 mL
パーズ時間	60 sec
抽出溶媒	アセトン

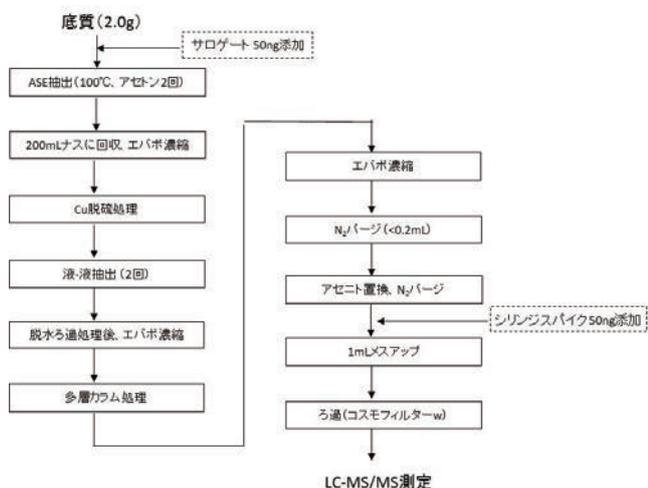


図2 底質分析フロー

表2 底質試料の性状 (H26.10-H27.1採取)

水系	No	採取河川・地点	含水率 (%)	強熱減量 (%)	粒径
九頭竜川 (本川)	1	九頭竜川 荒鹿橋	28.2	1.3	粗砂
	2	日野川 豊橋	16.0	2.5	粗砂
	3	竹田川 清間橋	24.3	2.3	粗砂
	4	竹田川 栄橋	68.2	14.1	シルト
	5	兵庫川 新野中橋	55.6	11.3	シルト
	6	荒川 水門	25.3	1.2	粗砂
	7	吉野瀬川 高見橋	44.7	5.2	細砂
	8	浅水川 天神橋	32.7	3.3	粗砂
	9	真名川 土布子橋	28.4	2.1	粗砂
	10	磯部川 安沢橋	26.1	2.5	粗砂
九頭竜川 (支派川)	11	底喰川 西野橋	26.4	1.2	粗砂
	12	狐川 狐橋	25.1	1.8	粗砂
	13	鞍谷川 浮橋	57.9	9.9	シルト
	14	清滝川 新在家橋	23.5	1.5	粗砂
	15	赤根川 東大月橋	26.5	1.7	粗砂
	16	穴田川 榎木橋	26.4	3.2	粗砂
	17	田島川 長屋橋	23.2	2.9	粗砂
	18	八ヶ川 水門	64.5	12.4	シルト
	19	五領川 熊堂橋	25.5	1.3	粗砂
	20	馬渡川 末端	41.2	4.1	シルト
笙の川・井の口川	21	大納川 末端	23.4	1.6	粗砂
	22	黒津川 水門	28.4	4.0	粗砂
	23	笙の川 三島橋	24.4	0.3	粗砂
	24	木の芽川 木の芽橋	23.4	2.1	粗砂
	25	深川 木の芽橋	24.1	1.8	粗砂
	26	二夜の川 末端	(採取不可)	(採取不可)	(採取不可)
	27	井の口川 豊橋	25.6	1.5	粗砂
	28	井の口川 穴地藏橋	32.7	3.8	粗砂
耳川	29	耳川 和田橋	21.3	1.7	粗砂
	30	北川 新道大橋	23.6	2.6	粗砂
北川・南川	31	鳥羽川 末端	61.2	10.8	シルト
	32	南川 湯岡橋	30.0	3.1	粗砂

3.1 分析条件の検討

3.1.1 LC-MS/MSパラメータの検討

HBCDには $\alpha \sim \epsilon$ まで5種類の異性体があり、環境試料の測定の際には各々についてピーク分離・定量可能な精度が必要である。移動相として水・アセトニトリル系を選択し、グラジエント条件と機器パラメータの調整を行った。他報と比べて異性体毎の感度差が大きく、同一濃度において $\beta \cdot \epsilon$ のピーク面積は $\alpha \cdot \gamma \cdot \delta$ の約7~10倍であった(図3)。ヒートブロック温度やヒーティングガス流量などの機器パラメータを調整したが、各々のピーク面積は一樣に増加・減少しており、感度比に目立った変化は認められなかった(図4、5)。移動相の流速を上げるとMS感度は低下するが、流速0.4mL/minで5異性体の分離が可能となり、グラジエント条件はアセトニトリル62%が最適であった(図6)。また、移動相のアセトニトリル濃度とともに感度が増加する傾向が認められた。試料溶液の注入量を5 μ Lまで減らした結果、ピーク形状・異性体分離の良いクロマトが得られた。(図7)

諸条件の検討の結果、流速0.4mL、注入量5 μ L、グラジエント62→72% (0-20min)、ヒートブロック温度375°C、ガス流量7.5L/minを採用することとした。(表3)

表3 LC-MS/MS測定条件

HPLC	
Column	CELI L-column2 ODS 2.1mm×150mm×2 μ m
Mobile phase	A: H ₂ O B: CH ₃ CN
Flow rate	400 μ L/min
Column oven temp	40°C
Injection volume	5 μ L
Gradient condition	0 → 20 min A: B = 38 → 28 : 62 → 72 20 → 20.2min A: B = 28 → 0 : 72 → 100 20.2 → 21.6min A: B = 0 : 100 21.6 → 21.8min A: B = 0 → 28 : 100 → 72 21.8 → 25 min A: B = 28 : 72
MS/MS	
Ionization	ESI
Polarity mode	negative
Scan type	MRM
DL temp	250°C
Heater temp	375°C
Nebulizer gas	3 L/h
Heater gas	7.5 L/min

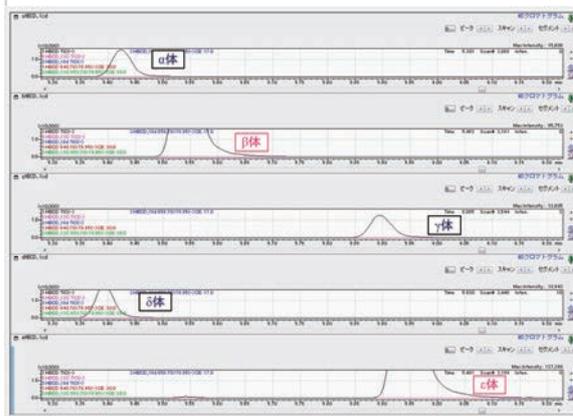


図3 HBCD異性体ピーク ($\alpha \sim \epsilon$)

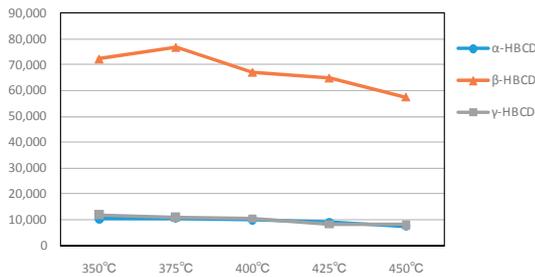


図4 ヒートブロック温度による感度変動

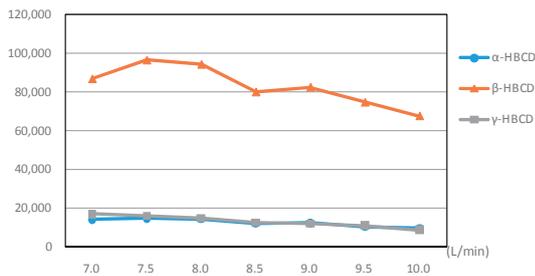


図5 ヒーティングガス流量による感度変動

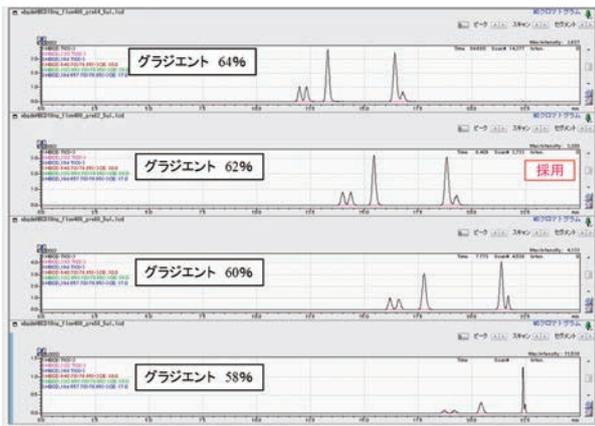


図6 グラジエント分離条件

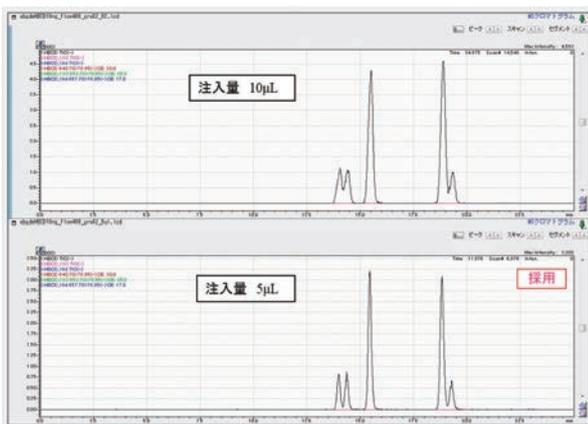


図7 注入量とピーク形状

3. 1. 2 検出下限値

0.5ng/mL の標準混合溶液の繰り返し測定により算出した装置の検出下限値 (IDL) を表 4 に示す。α~γ体の検出下限値は溶液濃度で 0.13~0.22 ng/mL であり、環境省の化学物質環境実態調査結果⁷⁾と比較しても妥当な水準といえる。

表 4 定量下限値の算出

	α-HBCD	β-HBCD	γ-HBCD
注入液濃度 (ng/mL)	0.5	0.5	0.5
注入量 (μL)	5	5	5
測定値1 (ng/mL)	0.576	0.581	0.518
測定値2 (ng/mL)	0.511	0.560	0.554
測定値3 (ng/mL)	0.530	0.603	0.646
測定値4 (ng/mL)	0.620	0.643	0.513
測定値5 (ng/mL)	0.534	0.629	0.535
測定値6 (ng/mL)	0.532	0.570	0.624
測定値7 (ng/mL)	0.589	0.632	0.618
平均値 (ng/mL)	0.556	0.603	0.573
標準偏差 (ng/mL)	0.039	0.033	0.055
IDL (ng/mL)	0.153	0.128	0.215
IQL (ng/mL)	0.395	0.330	0.554
CV (%)	7.1	5.5	9.7

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

$$IQL = 10 \times \sigma_{n-1}$$

3. 1. 3 添加回収試験結果

底質試料の添加回収試験結果を表 5 に示す。大納川の底質 2.0g (α-, β-, γ-HBCD 全て ND) に各異性体 50ng を添加し、前述の底質前処理法にて ASE 抽出・分析前処理を行った。

各異性体の平均値は 26.5~27.8ng/g、平均回収率 102.5% であり、設定濃度より 6~11% 高めであったが、再現性の良い定量結果が確認できた。

表 5 底質試料添加回収試験結果 (大納川 2g)

	α-HBCD	β-HBCD	γ-HBCD
設定濃度 (ng/g)	25	25	25
注入量 (μL)	5	5	5
測定値1 (ng/g)	26.39	26.56	26.94
測定値2 (ng/g)	26.82	26.54	28.42
測定値3 (ng/g)	26.74	26.76	27.90
測定値4 (ng/g)	26.00	26.11	27.67
測定値5 (ng/g)	27.82	26.52	28.17
平均値 (ng/g)	26.75	26.50	27.82
標準偏差 (ng/g)	0.681	0.239	0.567
3σ (ng/g)	2.65	0.929	2.20
CV (%)	2.5	0.9	2.0

3. 2 河川水調査結果

平成 26 年 10 月に採水した福井県内 29 河川 31 地点の河川水 (八ヶ川は河川工事中のため欠測) を分析した結果、γ-HBCD が 19 地点で検出された (表 6、図 8)。そのうち 3 地点 (兵庫川、磯部川、狐川) で環境省の化学物質環境実態調査結果 (H23)⁷⁾ の γ-HBCD 最大値 (65ng/L) を超える濃度が確認され、それぞれ 90ng/L、320ng/L、890ng/L であった。異性体組成比はいずれも一般的な工業用 HBCD と同様^{8,9)}で、γ体が 8 割以上を占め、次いで α 体、β 体の順であった。工業用 HBCD に含まれていない δ 体・ε 体は全地点で不検出であった。

表6 河川水調査結果

水系	No	採取河川・地点	αHBCD (ng/L)	βHBCD (ng/L)	γHBCD (ng/L)	異性体比			
						α体	β体	γ体	
九頭竜川 (本川)	1	九頭竜川 荒鹿橋	(ND)	(ND)	0.92	—	—	—	
	2	日野川 豊橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	
	3	竹田川 清間橋	0.19	(ND)	0.41	—	—	—	
	4	竹田川 栄橋	0.30	0.20	4.2	0.06	0.04	0.89	
	5	兵庫川 新野中橋 ※	2.8	1.2	90	0.03	0.01	0.96	
九頭竜川 (支派川)	6	荒川 水門	0.39	(ND)	1.1	—	—	—	
	7	吉野瀬川 高見橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	
	8	浅水川 天神橋	0.39	(ND)	1.9	—	—	—	
	9	真名川 土布子橋	0.21	(ND)	1.5	—	—	—	
	10	磯部川 安沢橋 ※	11	3.2	320	0.03	0.01	0.96	
	11	底喰川 西野橋	0.87	0.49	5.9	0.12	0.07	0.81	
	12	狐川 狐橋 ※	170	55	890	0.15	0.05	0.80	
	13	鞍谷川 浮橋	0.99	0.44	11	0.08	0.03	0.89	
	14	清滝川 新在家橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	
	15	赤根川 東大月橋	0.28	(ND)	0.72	—	—	—	
	16	穴田川 榎木橋	0.33	(ND)	0.83	—	—	—	
	17	田島川 長屋橋	0.31	(ND)	0.63	—	—	—	
	18	八ヶ川 水門	(河川工事中)	(河川工事中)	(河川工事中)	—	—	—	
	19	五領川 熊堂橋	0.52	(ND)	0.80	—	—	—	
	20	馬渡川 末端	2.8	0.65	17	0.14	0.03	0.83	
	21	大納川 末端	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	
	22	黒津川 水門	0.32	(ND)	1.1	—	—	—	
	笙の川・ 井の口川	23	笙の川 三島橋	0.24	0.33	0.55	0.21	0.30	0.49
		24	木の芽川 木の芽橋	0.54	0.38	0.61	0.36	0.25	0.40
		25	深川 木の芽橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
26		二夜の川 末端	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	
27		井の口川 豊橋	0.25	(ND)	(ND)	—	—	—	
28		井の口川 穴地藏橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	
耳川	29	耳川 和田橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	
	30	北川 新道大橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	
北川・南川	31	鳥羽川 末端	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	
	32	南川 湯岡橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—	

※: γ-HBCD濃度が、化学物質実態調査結果(河川水:H23)の最大値を超えた地点。

H23 化学物質実態調査結果(環境省)			
	α体	β体	γ体
最大値	6.3ng/L	1.3ng/L	65ng/L
検出頻度(検体)	4/47	4/47	5/47
検出頻度(地点)	4/47	4/47	5/47

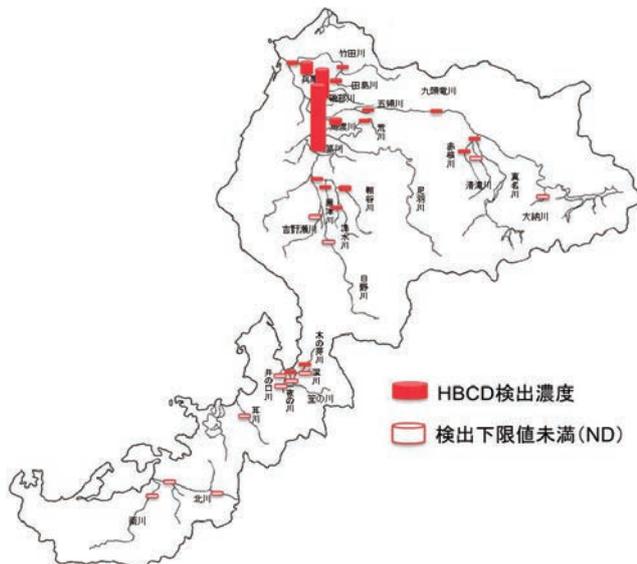


図8 河川水濃度分布(γ-HBCD)

表7 底質調査結果

水系	No	採取河川・地点	αHBCD (ng/g)	βHBCD (ng/g)	γHBCD (ng/g)	異性体比		
						α体	β体	γ体
九頭竜川 (本川)	1	九頭竜川 荒鹿橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	2	日野川 豊橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	3	竹田川 清間橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	4	竹田川 栄橋 ※	13	9.3	1100	0.01	0.01	0.98
	5	兵庫川 新野中橋 ※	69	60	6800	0.01	0.01	0.98
	6	荒川 水門	4.1	1.9	26	0.13	0.06	0.81
	7	吉野瀬川 高見橋	(ND)	(ND)	0.64	—	—	—
	8	浅水川 天神橋	24	13	57	0.25	0.14	0.61
	9	真名川 土布子橋	0.17	0.39	1.4	0.09	0.20	0.72
	10	磯部川 安沢橋	9.8	2.8	230	0.04	0.01	0.95
	11	底喰川 西野橋	0.56	(ND)	2.5	—	—	—
	12	狐川 狐橋 ※	310	63	1200	0.20	0.04	0.76
九頭竜川 (支派川)	13	鞍谷川 浮橋	1.1	(ND)	3.1	—	—	—
	14	清滝川 新在家橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	15	赤根川 東大月橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	16	穴田川 榎木橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	17	田島川 長屋橋	2.3	1.0	9.3	0.18	0.08	0.73
	18	八ヶ川 水門 ※	180	30	2900	0.06	0.01	0.93
	19	五領川 熊堂橋	1.7	(ND)	9.2	—	—	—
	20	馬渡川 末端 ※	58	23	710	0.07	0.03	0.90
	21	大納川 末端	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	22	黒津川 水門	81	3.8	240	0.25	0.01	0.74
笙の川・ 井の口川	23	笙の川 三島橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	24	木の芽川 木の芽橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	25	深川 木の芽橋	(ND)	(ND)	0.53	—	—	—
	26	二夜の川 末端	採取不可	採取不可	採取不可	—	—	—
	27	井の口川 豊橋	(ND)	(ND)	0.65	—	—	—
	28	井の口川 穴地藏橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
耳川	29	耳川 和田橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	30	北川 新道大橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
北川・南川	31	鳥羽川 末端	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—
	32	南川 湯岡橋	(ND)	(ND)	(ND)	—	—	—

※: γ-HBCD濃度が、化学物質環境実態調査結果(底質:H23-24)の最大値を超えた地点。

H23-H24 化学物質環境実態調査結果(環境省)			
	α体	β体	γ体
最大値	24ng/g	14ng/g	570ng/g
検出頻度(検体)	125/249	77/249	141/249
検出頻度(地点)	82/125	50/125	88/125

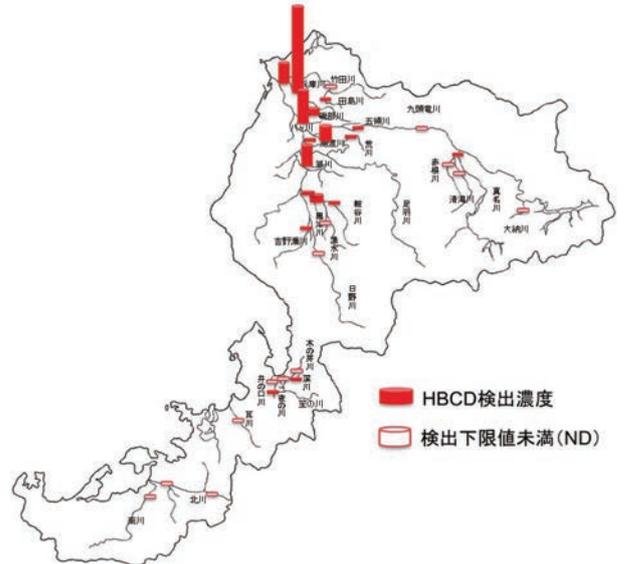


図9 底質濃度分布(γ-HBCD)

3. 3 底質調査結果

平成26年10月～27年1月にかけて採取した29河川31地点の底質（二夜の川はコンクリート三面張りのため底質なし）を分析した結果、 γ -HBCDが17地点で検出された（表7、図9）。そのうち高濃度河川を中心に5地点（竹田川、兵庫川、狐川、八ヶ川、馬渡川）で化学物質環境実態調査結果（H23-24）⁷⁾の γ -HBCD最大値（570ng/g-dry）を超える濃度が確認され、最高濃度は兵庫川新野中橋の6,800 ng/g-dryであった。異性体組成比はいずれも一般的な工業用HBCDと同様^{8,9)}であり、 δ 体・ ϵ 体は河川水と同様、全地点で不検出であった。

4. まとめ

県内30河川32地点を対象に、河川水、底質中のHBCDを分析した結果、多数の染色事業所が操業している嶺北地方の平野部に高濃度が確認され、奥越地方、嶺南地方はNDに近い水準であった。河川水・底質がともに比較的高濃度の地点については、両方の組成比が地点毎に似通っている傾向が認められた。

今後は、今回の調査でHBCDが高濃度で検出された5河川（竹田川、兵庫川、磯部川、狐川、八ヶ川）および他研究¹⁻³⁾で高濃度が報告されている九頭竜川を対象に、流域毎に区切った調査を行い、主要な発生源を推定するとともに、HBCDの分解産物であるPBCDs測定条件を確立し、HBCDの分解プロセス、環境動態の解明を行う予定である。

謝辞

本研究は文部科学省「特別電源所在県科学技術振興事業費補助金」により、「化学物質対策調査研究事業（平成26～28年度）」として実施したものであり、ご協力を賜りました関係者の方々に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Oh.JK et al. : Profile for Hexabromocyclododekane and its Degradation Product in River Sediment, Japan and Korea, Organohalogen Compounds, Vol 74, 596-599 (2012)
- 2) 呉正根他、第21回環境化学会討論会要旨集、p340-341 (2012)
- 3) Managaki.S et al. : Spatial Distribution of HBCD in Japanese River Sediment and its Source, 29th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (2009)
- 4) 長谷川瞳他、名古屋市環境科学研究所年報41、p39-46 (2012)
- 5) 舟橋祐子他、第22回環境化学会討論会要旨集、p568-569 (2013)
- 6) 環境省：平成21年度化学物質分析法開発調査報告書、p699-755 (2010)
- 7) 環境省：化学物質と環境 (2011), (2012)
- 8) 環境省HP：化学物質審査小委員会（第103回）参考資料11
- 9) M. Peled et al. : Thermal Rearrangement of Hexabromocyclododekane(HBCD), Advance in Organobromic Chemistry II, 92-99

平成 26 年度大気中揮発性有機化合物の調査結果と一考察

山崎隆博・三木 崇・吉川昌範

Survey results and Consideration of Volatile Organic Compounds in the Atmosphere, 2014
Takahiro YAMAZAKI, Takashi MIKI, Masanori YOSHIKAWA

1. はじめに

本県では、大気汚染防止法第 18 条第 23 項に基づき平成 9 年度より県内 5 地点において揮発性有機化合物（以下、「VOC」という。）を含む大気中の有害大気汚染物質濃度の測定を行っており、これまで、植山や高橋が既報^{1,2)}にて、各物質濃度の経年変化や風向風速、発生源との関係等について考察し報告している。

本報では、平成 26 年度の VOC 調査結果とともに、平成 26 年度から武生局に替わって新たに調査を開始した神明局において一部の物質が高濃度であったため、その要因について考察したので報告する。

2. 調査方法

2. 1 調査期間

平成 26 年 4 月～平成 27 年 3 月
(毎月 1 回、24 時間採取)

2. 2 調査物質

環境基準値および指針値が設定されている 9 項目と、塩化メチル、トルエンを加えた計 11 項目

- ・環境基準値設定物質（4 項目）
ベンゼン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、ジクロロメタン
- ・指針値設定物質（5 項目）
アクリロニトリル、塩化ビニルモノマー、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、1,3-ブタジエン
- ・その他（2 項目）
塩化メチル、トルエン

2. 3 分析方法等

採取方法および分析方法は「有害大気汚染物質測定方法マニュアル」に準拠した。

測定に使用した機器等は以下のとおりである。

測定機器	型式
試料導入部	GL サイエンス AERO C ²
GC/MS	島津 GCMS-QP2010 Ultra
カラム	GL サイエンス InertCap AQUATIC

2. 4 調査地点

平成 26 年度の調査地点を図 1、表 1 に示す。

環境省策定の「有害大気汚染物質モニタリング地点選定ガイドライン」による全国標準監視地点が 2 地点（福井局、和久野局）、地域特設監視地点が 3 地点（自排福井局、神明局、三国局）の計 5 地点で調査を実施した。

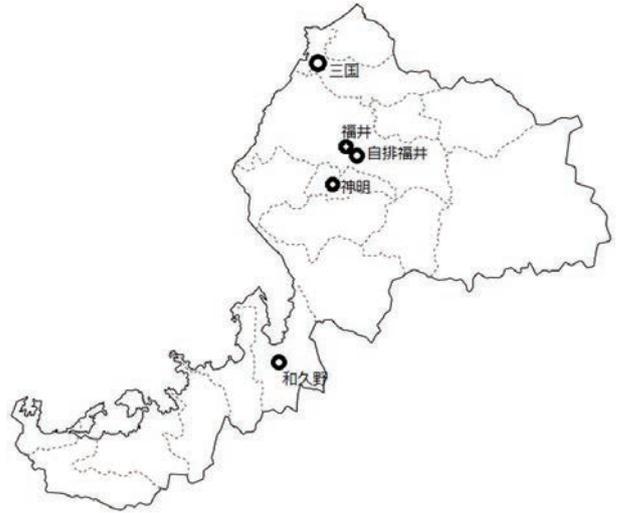


図 1 調査地点

表 1 調査地点一覧

調査地点	分類	属性	所在地
福井局	全国標準監視	一般環境	福井市豊島 2 丁目
和久野局	全国標準監視	一般環境	敦賀市新和町 2 丁目
自排福井局	地域特設監視	沿道	福井市下六条町
神明局	地域特設監視	固定発生源周辺	鯖江市水落町 4 丁目
三国局	地域特設監視	固定発生源周辺	坂井市三国町山岸

3. 結果および考察

3. 1 環境基準値および指針値との比較

平成 26 年度の県内 VOC 年平均値と平成 25 年度の全国平均値を表 2 に示す。

環境基準値が設定されているベンゼン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、ジクロロメタンの 4 項目は全て環境基準値未満であった。

指針値が設定されているアクリロニトリル、塩化ビニルモノマー、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、1,3-ブタジエンの 5 項目は全て指針値未満であった。

表 2 VOC 測定結果（年平均値）

	福井	和久野	神明	三国	自排福井	全国平均値 (H25年度)	環境基準値 (指針値)
ベンゼン	0.84	0.93	0.76	0.69	0.81	1.1	3
トリクロロエチレン	0.40	0.046	1.9	0.27	0.54	0.53	200
テトラクロロエチレン	0.11	0.064	0.15	0.18	0.18	0.15	200
ジクロロメタン	1.3	0.61	2.6	0.99	1.5	1.6	150
アクリロニトリル	0.017	0.015	0.046	0.042	0.038	0.077	2
塩化ビニルモノマー	0.047	0.0085	0.055	0.055	0.062	0.032	10
クロロホルム	0.16	0.15	0.21	0.23	0.20	0.21	18
1,2-ジクロロエタン	0.12	0.13	0.17	0.17	0.17	0.17	1.6
1,3-ブタジエン	0.072	0.053	0.083	0.076	0.11	0.12	2.5
塩化メチル	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.5	-
トルエン	6.5	3.2	6.4	8.2	7.7	7.6	-

3.2 全国平均値との比較

殆どの項目は全国平均値と同程度もしくはそれ以下であったが、神明局のトリクロロエチレン、ジクロロメタンおよび和久野局以外の4地点の塩化ビニルモノマーは全国平均値を大きく超過していた。

なお、和久野局以外の4地点の塩化ビニルモノマー濃度は0.047~0.062 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、平成21~24年度の全国平均値(0.047~0.066 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)と比較すると概ね同水準であった。

3.3 VOC濃度の経月変動

項目別のVOC濃度の経月変動を図2に示す。

1,2-ジクロロエタン、塩化メチルは、5地点ともほぼ同濃度でかつ経月変動も類似していた。このことから、これらの物質は、調査地点周辺に排出源がなく、越境汚染のような広域的な影響を受けているものと示唆される。

ベンゼン、ジクロロメタン、アクリロニトリル、クロロホルムおよび1,3-ブタジエンについては、一部の地点で高い濃度になる月があるものの、5地点とも概ね同様の経月変動を示していた。

トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、塩化ビニルモノマー、トルエンについては、地点毎の濃度に差があり、また経月変動も異なっていたことから、調査地点周辺に排出源があり、風向、風速など局所的な影響を受けているものと推察される。

なお、本県では、1,2-ジクロロエタン、クロロホルムなど一部の有機ハロゲン化合物が4月~5月に高濃度となる傾向にあるが、1,2-ジクロロエタンが同様な時期に高濃度となる傾向は、滋賀県や広島県など西日本を中心に確認されており、この要因として、排出源の多い中国で滞留した気塊が、日本国内に移流している可能性が報告^{3,4)}されている。また、1,2-ジクロロエタンについては、11項目の中で唯一経年的な増加傾向にあり、今後ともデータを蓄積し、注視していく必要がある。

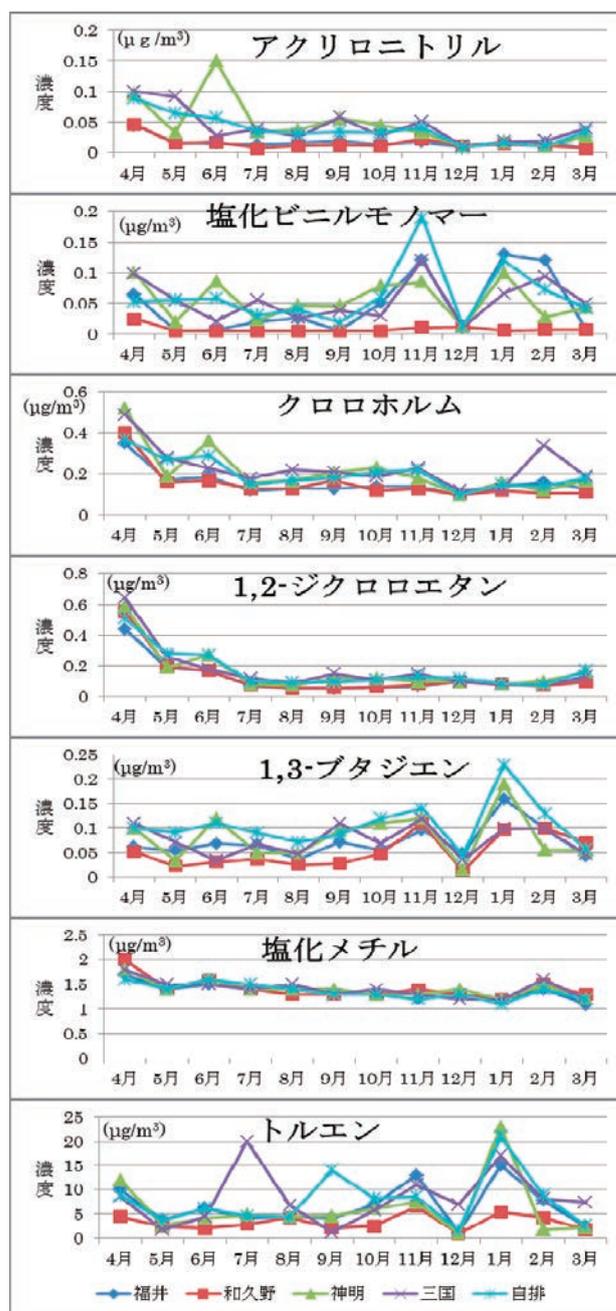
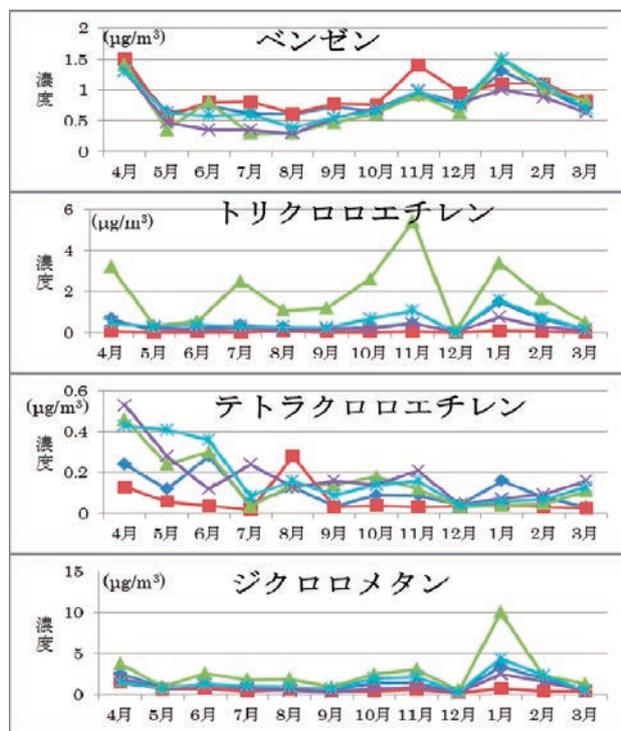


図2 VOC濃度の経月変動

3.4 神明局のVOC高濃度要因の検討

神明局のVOC濃度は他の調査地点に比べ高めで推移している物質が多く、中でもトリクロロエチレン、ジクロロメタンは年間を通じて5地点で最も高い濃度レベルであった。特に、トリクロロエチレンは他の地点との濃度差が大きかった。

高濃度の要因を検討するため、「化学物質排出移動量届出制度(以下「PRTR」という)」の登録データを基に神明局周辺の排出源について調査した。

その結果、ジクロロメタンに関しては、年間大気排出量6.7~51tの事業所群が神明局の北東約1km、東2km、南西4kmの3箇所に確認され、これらの事業所からの影響を受けている可能性が推察された。また、トリクロロエチレンに関しては、PRTR届出事業所は存在しなかったが、神明局周辺には小規模事業所が多数立地していることが

ら、届出対象外の小規模な排出源の影響を受けている可能性も考えられる。

そこで、排出源の影響を把握するため、濃度と神明局の風向・風速の関係について検討した。



図3 神明局周辺のジクロロメタン排出地点

神明局のトリクロロエチレン、ジクロロメタン濃度と無風頻度、平均風速の関係を図4、図5に示す。

両物質の濃度とも、無風頻度とは正の相関が、平均風速とは負の相関がそれぞれ認められ、各相関係数は、ジクロロメタンの方がトリクロロエチレンより高かった。

なお、神明局と排出源との位置関係が明確なジクロロメタンについて風向による影響を評価したが、濃度と風向との間に明確な関係は認められなかった。

以上のことから、神明局では、近傍の固定発生源から排出されたトリクロロエチレンやジクロロメタンが、風速が弱い時に、希釈・拡散されずに周辺に漂うことによって、高濃度になったものと考えられる。

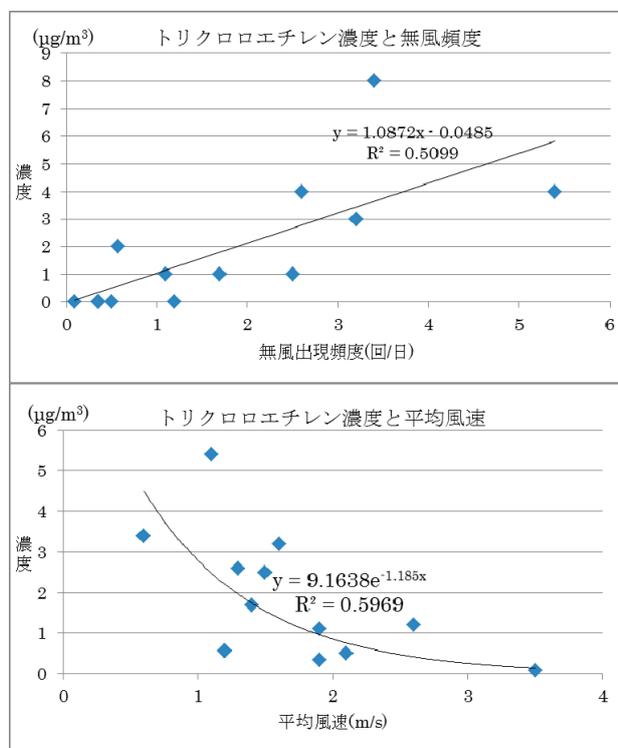


図4 トリクロロエチレン濃度と風況の相関

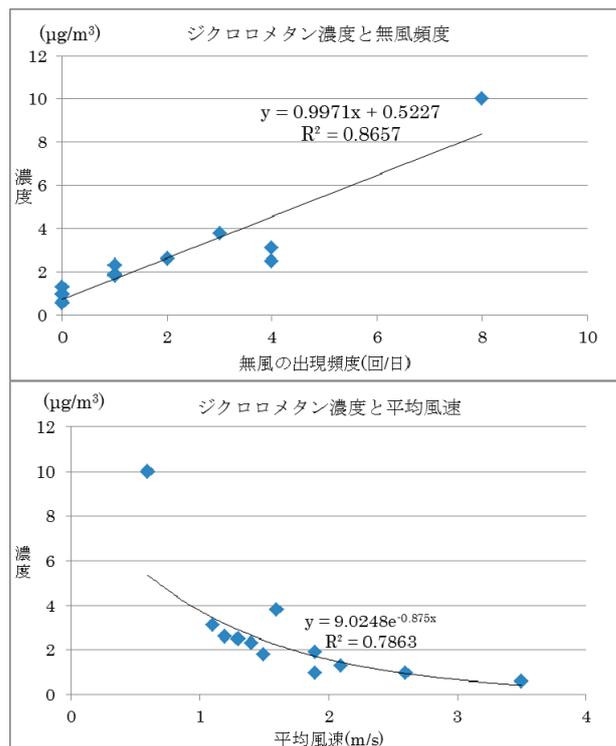


図5 ジクロロメタン濃度と風況の相関

4. まとめ

- ・ 県内5地点におけるVOC濃度は、環境基準値および指針値を大きく下回っていた。
- ・ 塩化メチル、1,2-ジクロロエタンは、県内5地点全てでほぼ同様の濃度推移を示していたことから、越境汚染由来など広域的影響を受けていると考えられた。
- ・ 神明局のトリクロロエチレン、ジクロロメタン濃度は他の4地点に比べ高濃度であった。その要因として、近傍の固定発生源から排出されたトリクロロエチレンやジクロロメタンが、希釈・拡散されずに周辺に漂うことで高濃度になったものと考えられた。

参考文献

- 1) 植山洋一他：福井県における有害大気汚染物質濃度についてー平成10～19年度の調査結果のまとめー、福井県衛生環境研究センター年報，**6**，108-116，(2007)
- 2) 高橋伸行：福井県における大気中揮発性有機化合物の挙動について，**10**，102-105，(2011)
- 3) 瀧野昭彦他：大気環境モニタリングー有害大気汚染物質調査結果について，滋賀県琵琶湖環境科学センター研究報告書，**8**，50-60，(2013)
- 4) 小中ゆかり他：広島市における有害大気汚染物質(1,2-ジクロロエタン)の挙動，広島市衛研年報 **32**，45-50，(2013)

最終処分場跡地の自然エネルギー発電施設としての利用可能性の検討

田中宏和・中村大充

Consideration of the Availability of Industrial Waste Landfill Site as Electric Generating Facilities using the Natural Power Sources

Hirokazu TANAKA, Masamitsu NAKAMURA

1. はじめに

近年、再生可能エネルギーの固定価格買取制度 (FIT) を受け、これまで利活用されていなかった最終処分場跡地に太陽光発電施設を設置する事例が増えている。著者らは2011年から最終処分場の跡地利用法として、埋立地からの発生ガスによる事故や健康被害のリスクが少なく、廃棄物層の安定化を阻害しにくいと考えられる太陽光発電所と風力発電所としての利用可能性を検証した。本報では、検証試験で得られた結果を評価検証する。

2. 方法

埋立が終了した管理型最終処分場跡地に、家庭用の太陽光パネルを用いて作成した発電システムと、市販のプロペラ式マイクロ風力発電機を使用したシステムをそれぞれ据付し、発電量をモニタリングした。なお、風力発電システムについては、最終処分場跡地では大型風力発電施設の建設は困難であり、非現実的であるため、小型風力発電を想定した。実証試験は福井県北部の沿岸部に近い管理型最終処分場で行った。冬期の北陸地方は季節風の影響で荒天が続き、降水量が多く、特に沿岸部は風が強いが、内陸部に比べて積雪は少ない特徴がある。

太陽光発電試験装置の概要を図1に、使用した計器類情報を表1に、写真を図2に示した。システムには蓄電用の

バッテリーが含まれ、その電圧変化から発電量を計測するシステムであり、負荷として太陽光システムにはモバイルパソコン (定格出力 30W) を接続し、途中 (2012年12月14日) からコンプレッサー (定格出力 110W タイマーによる間欠運転) に変更した。太陽光発電試験は2012年6月19日から2013年5月30日まで実施した。ただし気象計センサーの故障や、データロガーの故障により一部の期間はデータが欠損している。

風力発電試験装置の概要を図3に、使用した計器類情報を表1に、写真を図4に示した。このシステムにも蓄電用のバッテリーが含まれるが、風力システムは発電量が少なく、発電量計測器による電力消費量だけで十分なバッテリー電圧低下がみられたため、追加の負荷は設置しなかった。風力発電試験では、風力と発電量との関係を調査することを目的とするため、風力発電機の強風保護機能が作動しな

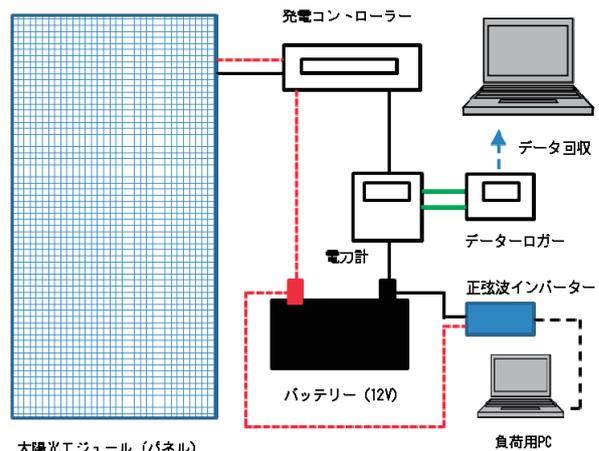


図1 太陽光発電試験装置概要

表1 発電試験装置・気象計機器情報

機器名	メーカー・型式等
●太陽光発電システム	
太陽光モジュール	シャープ製 ND-114CA 114W 7.52A 15.16V 2枚
発電コントローラー	未来舎製 PV-1212D1A
発電量計測器	安川商事 M-DC KY-REC-01
電圧データロガー	アズワン VR-71
バッテリー	古河電池製 12m38B 高サイクル密閉型 12V 38AH 2個
正弦波インバーター	未来舎製 FI-S256(12V) 250W 60Hz
●風力発電システム	
風力発電機	ニューパワー製 NP-30A 30W (風速8m/秒時)
発電コントローラー	未来舎製 PV-1212D1A
発電量計測器	安川商事 M-DC KY-REC-01
電圧データロガー	アズワン VR-71
バッテリー	古河電池製 12m38B 高サイクル密閉型 12V 38AH 1個
正弦波インバーター	未来舎製 FI-S126T(12V) 125W 60Hz
●気象計	
データロガー	オンセット製 U30NRC
風速/風向センサー	オンセット製 S-WSET-A
日照センサー	オンセット製 S-LIB-M003



図2 太陽光発電試験装置写真

いように改造した。試験は 2012 年 9 月 20 日から開始し 2013 年 9 月 5 日に発電機が破損して終了した。

発電システムと併せて気象計を設置し、日射量や風速等の気象データを収集した。気象計の型式は表 1 に示した。

また、モニタリングデータはロガーの性能上、発電量は 15 分間隔の瞬時値を、日照量と風速は 1 時間あたりの平均値を記録した。

3. 結果および考察

3.1 太陽光発電試験

消費電力負荷を変更する前の 2012 年 6 月 19 日から 12 月 13 日までの日照量と発電量の関係を図 5 に示す。全体的にバラツキが大きく、日照量が多くても発電量が検出されていない点が見られ、また 20W の付近に集まる傾向もみられた。これは発電量が多いときにバッテリー充電量が飽和し、ソーラーコントローラーの過充電防止機能が作動したことが原因と考えられた。そこで過充電防止機能の影響を除外して評価するため、計測時とその 1 時間前のバッテリー電圧が 13.5V 未満のデータのみを抽出したものを図 6 に示す。その結果、日照量と発電量は一次関数的な相関関係が確認できた。

気象庁のアメダスデータによれば、1974 年から 2013 年の福井市における平均年間日照量は 4,477 MJ/m² (1,243,535 Wh/m²) であり、図 6 の関係から、本試験で用いたシステムを 1kW にスケールアップした場合の年間発電量は約 950 kWh と推計される。ただし、試験では実際の発電量から負荷分の電力が差し引きされているため、実際の年間発電量はさらに多いと考えられる。太陽光発電協会によれば、我が国での一般的な家庭用太陽光発電 1kW システム当たりの年間発電量は 1,000 kWh 程度とされており、北陸地方の年間日照時間が短いことを考慮すると、最終処分場跡地でも一般家屋屋根と同等の発電量が見込めることが確認できた。

3.2 風力発電試験

強風による風力発電機の破損や故障が頻発し、信頼性のあるデータが収集できたのは、2013 年 2 月 1 日から 16 日、3 月 28 日から 4 月 20 日、5 月 6 日から 28 日の合計 63 日間のみであった。

3 月 28 日から 4 月 20 日までの風速と発電量の経時変化を図 7 に示す。この図では強風時に発電量が多く、それぞれが関係しているように見える。しかし、その関係を図 8 にプロットするとバラツキが大きいことが分かった。これは、プロペラの回転速度は短時間で不安定に変化し、データロガーが一時的な強風または弱風時の発電量を計測することが原因と考えられた。そこで、データ収集ができた 63 日間の日間平均風速と日間平均発電値を計算し、図 9 にプロットすると相関性が確認できた。プロペラ型風力発電機の場合、原理的には発電量が風速の 3 乗に比例する。しかし、図 9 の近似式のべき数は 1.889 であり、これは試験に採用した風力発電機の性能による影響と考えられた。

次に 2013 年 4 月から 2014 年 3 月までの時間平均風速の経時変化を図 10 に示す。なお、気象計センサー不良によるデータ欠損部分は最も近いアメダス地点データを用いて補填した。冬季に風が強まる傾向はみられるが、時間平均では 10m/s を超えるデータは少なく、ほとんどが 5m/s 以下であった。

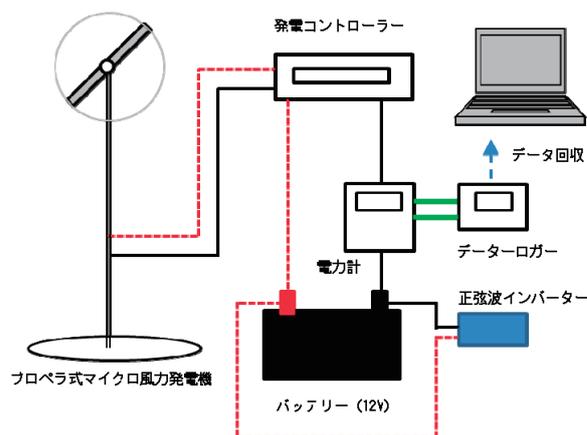


図 3 風力発電試験装置概要



図 4 風力発電試験装置写真

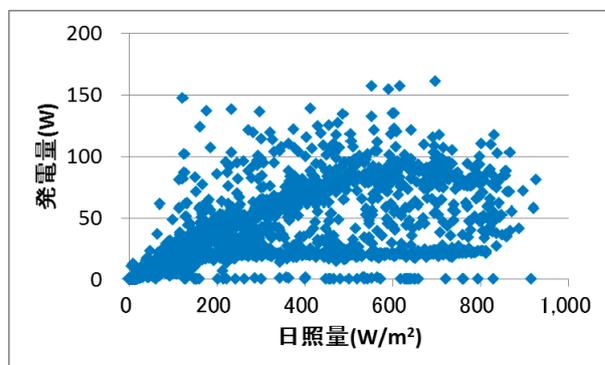


図 5 日照量と発電量の関係 (全データ)

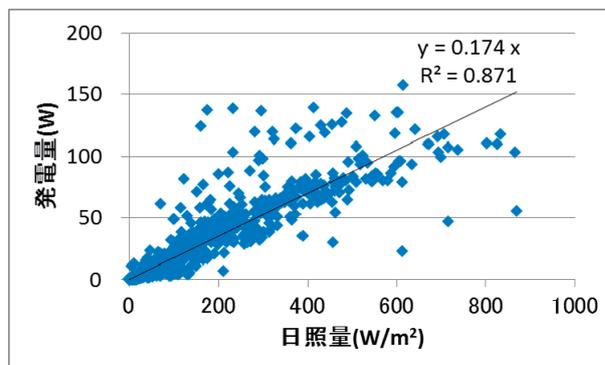


図 6 日照量と発電量の関係 (バッテリー13.5V 未満)

風力発電は微風ではプロペラが回転せず、一定の風速がなければ発電しない。そこで風速が 2m/s 未満の風速をゼロとして年間平均風速を算出すると 1.6 m/s であり、本試験で用いた風力発電機で定格 1kW のシステムを設営した場合の年間発電予想量は約 210 kWh となる。この計算結果は定格出力が同じ発電システムの場合、小型風力発電は太陽光発電の約 20%程度発電量しか見込めないことを示している。実際に風力発電設備を設置する場合は、強風に耐えられる風力発電機になるため弱風での発電効率がさらに悪化することが予想される。

4. まとめ

福井県沿岸部の最終処分場跡地では、太陽光発電は一般的な家庭用発電と同程度の発電能力が見込めるが、小型風力発電は太陽光発電に比べて発電効率が悪いことが示された。

実際に試験を実施した処分場跡地において、2013年11月から最大出力 500kW の太陽光発電所が運転している。今回の試験結果から想定される年間発電量は 475,000 kWh と算出され、売電価格を 40 円/kWh とすれば 1,900 万円の年間収入になる。総建設費は約 2 億円であるため単純には約 11 年で減価償却できる計算になるが、実際にはパネル劣化による発電能力の低下や維持管理コスト、建設費用の金利等を考える必要がある。しかし、実際に設置した太陽光パネルは試験に使用したものよりも高性能であり、パワーコンディショナーの変換効率も高く、発電ロスが少ないため年間発電量は本試験による想定量よりも多いと考えられ、事業者は約 12 年間での減価償却を見込んでいる。

処分場跡地での太陽光発電は、通常活用が困難な広大な土地で再生可能エネルギーが生産できるといった環境面の利点だけでなく、処分場跡地が適正に維持管理されるといった副次的なメリットがある。ただし、安定化に伴う不平等沈下により発電施設破損等が発生する懸念もあり、筆者らは現在、これらのリスクを回避するための調査研究を進めている。

謝辞

本研究は、特別電源所在県科学技術振興事業「安定化の促進と安全な跡地利用のための最終処分場の分析評価と技術開発」の一環として実施した。御指導いただいた国立環境研究所資源循環・廃棄物研究センター廃棄物適正処理処分研究室の山田正人室長、遠藤和人主任研究員、石垣智基主任研究員、早稲田大学理工学術院の香村一夫教授、そして、調査に御協力いただきました関係者の方々に深謝いたします。

参考文献

- 1) <http://www.ipea.gr.jp/knowledge/whynow/index.html>, (平成 27 年 6 月 10 日閲覧)

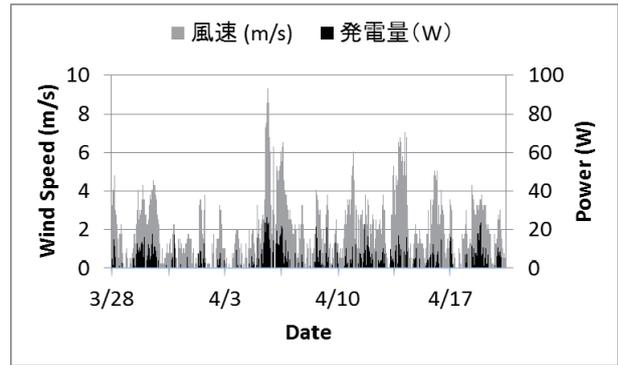


図7 時間平均風速と発電量の経時変化

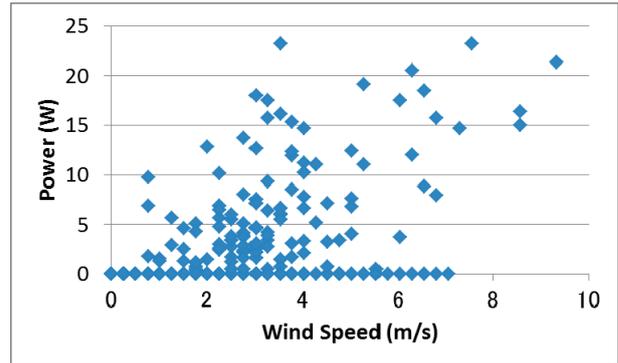


図8 時間平均風速と発電量の関係

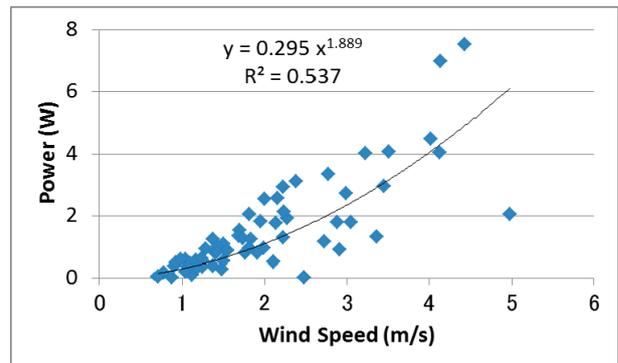


図9 日間平均風速と日間平均発電量

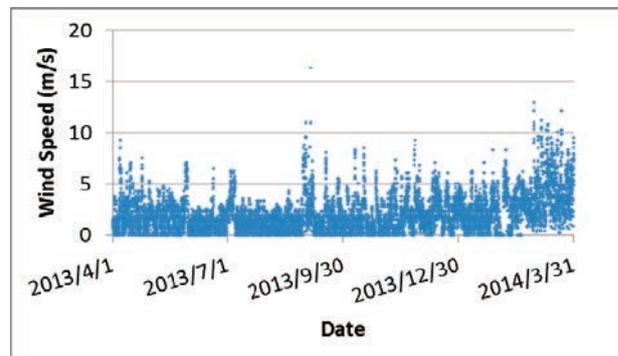


図10 時間平均風速の経時変化

河川水中のノニルフェノールの分析方法の検討

松井 亮

Quantitative Analysis of 4-Nonylphenol in River Water by GC/MS/MS

Ryou MATSUI

1. はじめに

ノニルフェノール (4-NP) は、2012年8月に「環境基本法に基づく水質汚濁に係る環境基準」のうち、「水生生物保全環境基準」の項目に追加された。これに関して2012年8月22日、環境省告示127号付表11に示される4-NP分析法では、ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) 法が採用されたものの、4-NPの13異性体のピーク検出が難しい¹⁾。そこで、本研究では、トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析 (GC-MS/MS) 法を使用して分析する方法を検討したので報告する。

2. 実験方法

2. 1 試験操作法

前処理フローを図1に示す。

前処理操作における濃縮は1000倍とした。また、クリーンアップ操作は行わなかった。それ以外の試験操作法は告示付表11に準じた。

2. 2 試薬

4-NP標準液は、100 mg/L (異性体として) アセトン溶液であるノニルフェノール溶液 (和光純薬工業 (株)、環境分析用)、4-NPサロゲート溶液は、10 mg/L アセトン溶液である4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル) フェノール-¹³C₆標準液 (関東化学 (株)、環境分析用)、4-NP内標準液 (シリンジスパイク溶液) は、4-n-ノニルフェノール-2, 3, 5, 6-d₄標準品 (関東化学 (株)、環境分析用) を用いた。

検量線作成は、標準液を0.05、0.1、0.2、0.4、1、2.5 mg/Lに希釈した各溶液0.5 mLに4-NPサロゲート溶液10 μLと4-NP内標準液10 μLをそれぞれ添加したものを使用した。

2. 3 GC-MS/MS 分析条件

GC-MS/MSはAgilent Technologies 7000Cを用い、多重反応モニタリング (MRM) モードで測定した。分析条件を表1に示す。

2. 4 GC-MS/MS モニターイオン

分析に使用したモニターイオンを表2に示す。

2. 5 既知濃度試料の分析

設定値0.32 μg/L (総4-NP濃度) の既知濃度試料を、当該条件で最適化したMRMモードで分析した。

2. 6 河川水実試料の分析

夾雑物が多い河川水の実試料について、当該条件で最適化したMRMモードで分析した。

表1 GC-MS/MS 分析条件

system :	GC-MS/MS Agilent Technologies 7000C
Column :	ジューエルサイエンス (株) 製 Inert Cap® 5MS/NP ProGuard (0.25 mm, I.D.×30 m, df=0.25 μm, ガードカラム長さ2 m)
Col. Temp :	50°C (1 min. hold) - 8°C/min. - 280°C
Carrier Gas :	He 1.2 mL/min. (Constant Flow)
Injection :	Splitless 1 min.、280°C
Detection :	MS MRM
Interface Temp. :	280°C
Injection Vol. :	2 μL
ion source :	280°C

表2 GC-MS/MS モニターイオン

化合物名	トランジション (Target)	トランジション (Qual.)
4-NP01	121 → 77	121 → 113
4-NP02	135 → 107	135 → 77
4-NP03	135 → 107	135 → 77
4-NP04	149 → 107	149 → 55
4-NP05	135 → 107	135 → 77
4-NP06	149 → 107	149 → 55
4-NP07	135 → 107	135 → 77
4-NP08	163 → 107	163 → 121
4-NP09	149 → 107	149 → 55
4-NP10	163 → 107	163 → 121
4-NP11	135 → 107	135 → 77
4-NP12	191 → 121	191 → 107
4-NP13	149 → 107	149 → 55
Surr.	155 → 113	155 → 127
I.S.	111 → 80	224 → 111

備考 4-NP01~13は、4-NPの各異性体番号を表す

3. 結果および考察

3. 1 既知濃度試料の分析結果

5回の繰り返し分析の結果、設定値と同値である平均値0.32 μg/L (総4-NP濃度) を得た。このことから標準物質を希釈した試料については、精度の高い結果を得られることが確認された。

3. 2 河川水実試料の分析結果

従来法 (GC-MS法) で得た分析結果0.84 μg/Lに対して、GC-MS/MS法のMRMモードでも同値である0.84 μg/Lを得た。

この結果は、実試料についてもGC-MS/MS法が告示における公定法と同等の信頼性を有することを示している。

また、4-NPの12番目の異性体 (4-NP12) のクロマトグラムについてGC-MS法とGC-MS/MS法との比較を図2に示す。ピーク検出の難しい4-NP12ピークは従来法と比べてGC-MS/MS法の方が、明確に分離できていること

が分かる。

4. まとめ

河川水等の 4-NP 分析において、GC-MS/MS 法は、クリーンアップ操作を省略しても、従来法である GC-MS 法と同等の精度の高い分析を実現することができた。このことから GC-MS/MS 法の有用性が確認できた。

参考文献

- 1) 株式会社島津製作所：トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた河川水中のノニルフェノールの高感度分析，SHIMADZU Application News, No.M269, 2014

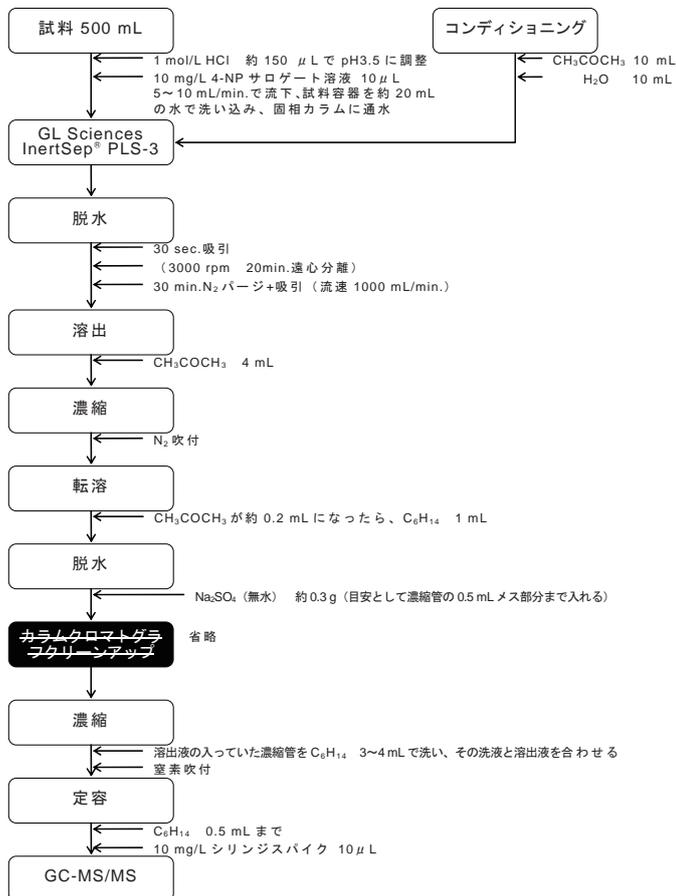


図1 前処理フロー

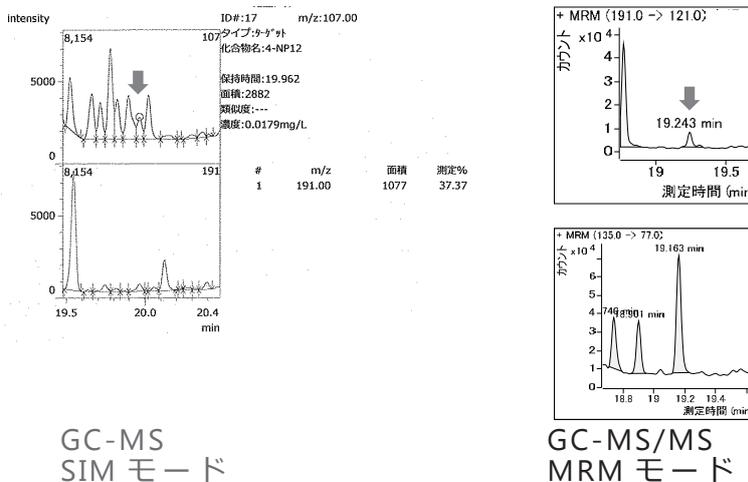


図2 4-NP12 の従来法 (左) と GC-MS/MS 法 (右) のクロマトグラム

環境水中の LAS 分析における操作ブランク低減化の検討

荻野賢治

Consideration on Reduction of Reference Blank in LAS Analysis of Environmental Water

Kenji OGINO

1. はじめに

直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩 (LAS) は、界面活性剤の一種であり、業務用および家庭用洗剤、繊維染色加工の際の分散剤等に用いられるが¹⁾、水生生物の生育に支障を及ぼすおそれがあるとして、2013 年から新たに水生生物保全項目として環境基準値が設定された項目である。

LAS 分析における操作ブランク値が高値となることは多くの分析機関から報告されており²⁾、当センターで LAS 分析を実施したところ、操作ブランク値が高い傾向がみられた。この原因としては、固相抽出操作に用いる分析機材に洗剤由来の LAS が付着残存し、汚染している可能性が考えられた。

そこで本研究では、固相抽出操作におけるコンタミネーション低減化方法 (以下、「固相抽出法」という。) を検討した。さらに根本的な対策として、固相抽出操作を行わずに水試料を分析機器に直接導入する方法 (以下、「直打ち試験法」という。) についても検討したのでそれらの結果を報告する。

2. 実験方法

高速液体クロマトグラフは Nexera、タンデム質量分析計は LCMS8050 (ともに島津製作所製) を用いた。機器分析条件を表 1 に、モニターイオンを表 2 に示す。表 2 における C10-LAS とはアルキル基の炭素数が 10 の LAS を示しており、本検討では内部標準物質 (I.S.) として C8-LAS を用いた。

2.1 固相抽出法

固相抽出法の前処理フローを図 1 に示す。操作に用いた分析機材は温水 (40 °C 程度)、アセトン、メタノールの順に洗浄したものを使用した。温水は冷水に比べて LAS の溶解性が高いため³⁾、効率的に洗い落とすことができると考えて洗浄溶媒として選定し、洗浄用に簡便かつ大量に洗浄に使うことができる一般的な給湯器の温水を使用した。

試料は超純水を用いて、機材をメタノールのみで洗浄した操作ブランク試験を併行して行い、温水洗浄の効果を確認した。また既知濃度試料を測定することにより、固相抽出法の信頼性を確認した。

2.2 直打ち試験法

直打ち試験法の前処理フローを図 2 に示す。2.1 で示した固相抽出法で用いた既知濃度試料と同一の試料を測定することにより、直打ち試験法の信頼性を評価し、さらに固相抽出法の結果と比較した。

表 1 機器分析条件

カラム	Shim-pack XR-Phenyl/3.0 μm/2.0 × 100 mm				
注入量	10 μL (直打ち) ・ 1 μL (固相抽出)				
流速	0.3 mL/min				
カラム温度	40 °C				
移動相 A	0.1% ギ酸 ・ 50 mM ギ酸アンモニウム				
移動相 B	アセトニトリル				
グラジエント条件					
時間 (分)	0	2.50	2.51	6.50	6.51
A (%)	40	20	0	0	40
B (%)	60	80	100	100	60
イオン化モード	ESI negative				

表 2 モニターイオン

	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	CE (V)
C8-LAS (I.S.)	269	183	35
C10-LAS	297	183	32
C11-LAS	311	183	34
C12-LAS	325	183	36
C13-LAS	339	183	37
C14-LAS	353	183	40

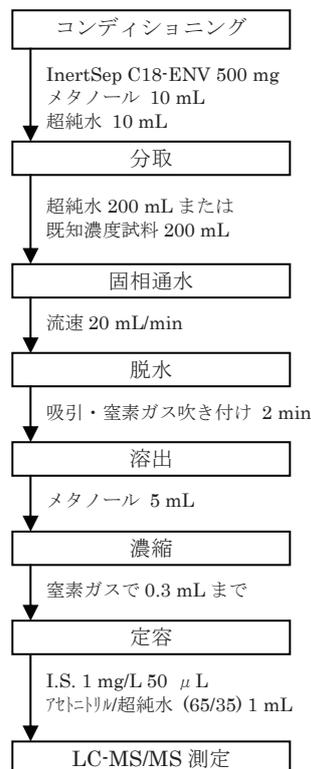


図 1 前処理フロー (固相抽出法)

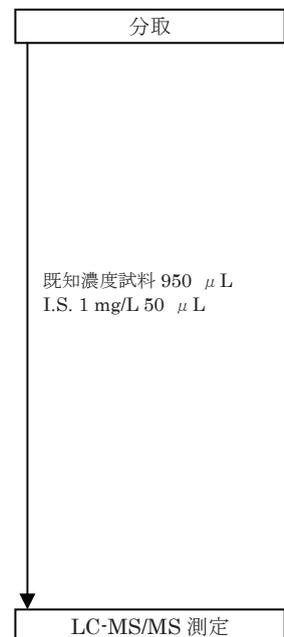


図 2 前処理フロー (直打ち試験法)

3. 結果および考察

3.1 固相抽出法

分析機材を温水、アセトンおよびメタノールで洗浄して実施した操作ブランク試験の結果を表3に示す。

本検討に先がけて実施した操作ブランク試験(メタノールのみによる機材洗浄)では C10-LAS、C11-LAS、C12-LAS、C13-LAS および C14-LAS の和(計 LAS)で 0.44 $\mu\text{g/L}$ の高値が検出されたが、本検討の結果では平均値は 0.027 $\mu\text{g/L}$ となり、約 20 分の 1 まで低下し、告示⁴⁾付表 12 に示される定量下限値 0.1 $\mu\text{g/L}$ を下回った。これは温水に溶けやすい LAS の特性により、高温かつ多量の温水が分析機材に付着していた LAS を溶解除去したためと考えられ、温水による機材の洗浄が効果的であることが示された。

既知濃度試料試験の結果を表4に示す。なお測定値を設定値で除した値を信頼度として記載した。計 LAS の信頼度は 94% となり、固相抽出法は信頼度の高い分析法であることが確認できた。しかしながら C14-LAS の信頼度は 70% と他の同族体と比べて低く、これは C14-LAS は疎水性が高いため、抽出操作に用いたガラス器具等に付着したことによると考えられる。

表3 操作ブランク試験結果

	LAS 濃度 ($\mu\text{g/L}$)					
	C10	C11	C12	C13	C14	計
n=1	0.001	0.008	0.012	0.010	<0.0002	0.031
n=2	0.001	0.008	0.013	0.010	<0.0002	0.032
n=3	0.001	0.008	0.009	0.008	<0.0002	0.026
n=4	0.001	0.006	0.009	0.007	<0.0002	0.022
平均	0.001	0.007	0.011	0.009	<0.0002	0.027
RSD	16%	15%	20%	18%	-	18%

表4 既知濃度試料試験結果(固相抽出法)

n=3	LAS 濃度 ($\mu\text{g/L}$)						
	C10	C11	C12	C13	C14	計	
既知試料	設定値	0.65	1.8	1.7	0.85	0.40	5.4
固相抽出	測定値	0.68	1.7	1.6	0.76	0.28	5.1
	信頼度	105%	95%	95%	89%	70%	94%

3.2 直打ち試験法

直打ち試験法による既知濃度試料試験結果を表5に示す。直打ち試験法の計 LAS の信頼度は 93% と高く、固相抽出法の信頼度は表4より 94% であったことから、直打ち試験法は固相抽出法と同等の結果が得られることが分かった。しかしながら直打ち試験法でも C14-LAS の信頼度は他の同族体と比較して低く、これは直打ち試験法ではサンプル溶液が水であるため、疎水性の高い C14-LAS が十分にイオン化しなかったためと考えられる。

表5 既知濃度試料試験結果(直打ち試験法)

n=3	LAS 濃度 ($\mu\text{g/L}$)						
	C10	C11	C12	C13	C14	計	
既知試料	設定値	0.65	1.8	1.7	0.85	0.40	5.4
直打ち	測定値	0.63	1.8	1.5	0.76	0.32	5.0
	信頼度	97%	100%	88%	89%	80%	93%

4. まとめ

固相抽出法は、使用機材の温水洗浄により告示定量下限値以下まで操作ブランク値を低減化することに成功した。また、直打ち試験法は、固相抽出法と同等の結果が得られることを確認した。この方法は前処理操作による煩雑な操作を省くことができ、コンタミネーションの低減化も図られることから有効であると考えられた。

参考文献

- 1) 環境省：化学物質ファクトシート 2011 年版 (2012)
- 2) 環境省：平成 25 年度環境測定分析統一精度管理調査結果(本編),110 (2014)
- 3) 佐々木麻紀子他：洗濯用洗剤の性質について,東京家政学院大学紀要,52,33-38 (2012)
- 4) 環境省：環境省告示 30 号,13 (2013)