

ISSN 0911-2073
CODEN: HEKNEU

h342e

広島市衛生研究所年報

ANNUAL REPORT

OF

HIROSHIMA CITY INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

No. 11

(平成3年度)

広島市衛生研究所

は じ め に

広島市衛生研究所は昭和57年4月に設立され、今年で11年目を迎えることになりました。この間、当所は公衆衛生に関する総合的な試験研究機関として、本市の衛生行政を科学的、技術的に支える重要な役割を果たしてまいりました。

しかし、公衆衛生を取り巻く社会情勢は、従来にも増して急激に変化しています。当衛生研究所の業務も、当初の試験検査業務主体から地域社会や行政需要に即応する調査・研究業務へと変化しており、今まで以上に先見性と柔軟さをもった取り組みが求められています。

このような中、平成3年度から検査機器整備事業を行うことにより、機器の計画的な整備を図るとともに、先端技術を導入した検査体制の強化を行う等、最新の知識技術及び機器を導入しているところです。

今後とも、公衆衛生の分野での地域社会の期待に応えるため、職員一同、一層の自覚と研鑽を重ねる必要があると考えます。

ここに、平成3年度に実施した業務の概要と調査研究の成果を年報第11号としてとりまとめましたので、ご高覧いただき、ご指導、ご助言を賜れば幸いです。

平成4年12月

広島市衛生研究所長

荻野武雄

目 次

総 務

I 沿 革	1
II 組織機構及び業務内容	
1. 組織及び業務内容	2
2. 職員配置	3
3. 職員名簿	4
III 庁舎及び施設概要	
1. 建物・施設概要	5
2. 庁舎配置図	5
IV 予算概要	
1. 平成4年度予算	6
2. 平成3年度購入備品	7
V 会議・研修等	
1. 会 議	7
2. 研修・講習会	8
3. 所内専門技術研修	8
4. 技術指導	8
5. 施設見学	8

業 務 報 告

食品環境部

1. 食品化学関連業務	9
2. 環境衛生関連業務	12
3. 疫学情報関連業務	13

微生物部

1. ウィルス関連業務	15
2. 細菌病理関連業務	16
3. 食品細菌関連業務	17

公 害 部

1. 水質関連業務	19
2. 大気関連業務	20
3. 特殊公害関連業務	20

調査研究報告

I 調査研究

1. 食品中の EDTA の簡易分析	23
2. 生カキ流通過程でのトリフェニルテトラゾリウムホルマザン 生成量測定と鮮度判定	27
3. 神経芽細胞腫関連化合物の液体クロマトグラフー質量分析法	32
4. 固相抽出／高速液体クロマトグラフィーを用いた地下水中の ゴルフ場使用農薬の一斉分析の検討	35
5. 流行性角結膜炎患者からのアデノウイルス22/H8,9型の分離	39
6. 混合プライマーを用いた PCR 法による下痢原性大腸菌病原 遺伝子の同時検出法	45
7. PCR 法によるウェルシュ菌エンテロトキシン遺伝子検出法 とその本菌集団発生事例への適用	49
8. 河川の水質変動について	54
9. 広島市における浮遊粉じん調査（その2）	58
10. 感潮河川の底生動物相と生物学的水質評価法の検討（第6報）	62
11. 広島市における環境水中のトリチウム	66
12. 「身近な生き物調査」における生物の分布状況について	73

II 資 料

1. 平成3年度広島湾内産かきの重金属試験結果	79
2. 神経芽細胞腫マス・スクリーニング（平成3年度）	80
3. 広島市における1981年から1990年までの食中毒発生状況の 年次推移	81
4. 平成3年度のインフルエンザ集団発生について	83

5. 広島市における平成3年度の食中毒事例	85
6. 直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS) を指標とした洗剤残存調査結果.....	86
7. 樹林内外における雨水調査 — 樹冠透過雨 (林内雨) と樹幹流 —	88

III 抄 録

他誌掲載論文

1. Intermediate Human Adenovirus Type 22/H10,19,37 as a New Etiological Agent of Conjunctivitis	91
2. 国内で分離された <i>Salmonella</i> serovar Hadar の薬剤耐性と Rプラスミドの保有状況について.....	91
3. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の食中毒菌迅速同定へ の応用; <i>Campylobacter jejuni</i> 集団発生事例の疫学解析	91

学会発表

1. 食品中の EDTA の簡易分析	92
2. 結膜炎患者からの Intermediate Adenovirus Type 22/H8,9 の分離.....	92
3. 赤痢集団発生事例と分離菌の諸性状	92
4. 混合プライマーを用いた PCR 法による腸管病原性大腸菌 の病原遺伝子同時検出法.....	92
5. 河川における降雨時の流出汚濁負荷量の調査	93
6. 広島市の底質	93
7. 底生生物相による河床環境表現 — 生活形分類を用いた主成分分析 —	93

総 務

- I 沿 革
- II 組織機構及び業務内容
- III 庁舎及び施設概要
- IV 予算概要
- V 会議・研修等

I 沿 革

昭和25年7月、当所の前身である衛生試験室が、広島市保健所に設置された。その後、昭和44年4月衛生試験所として独立、昭和46年10月に公害試験所を分離設置し、市民生活の衛生的基盤の確立に努力してきた。

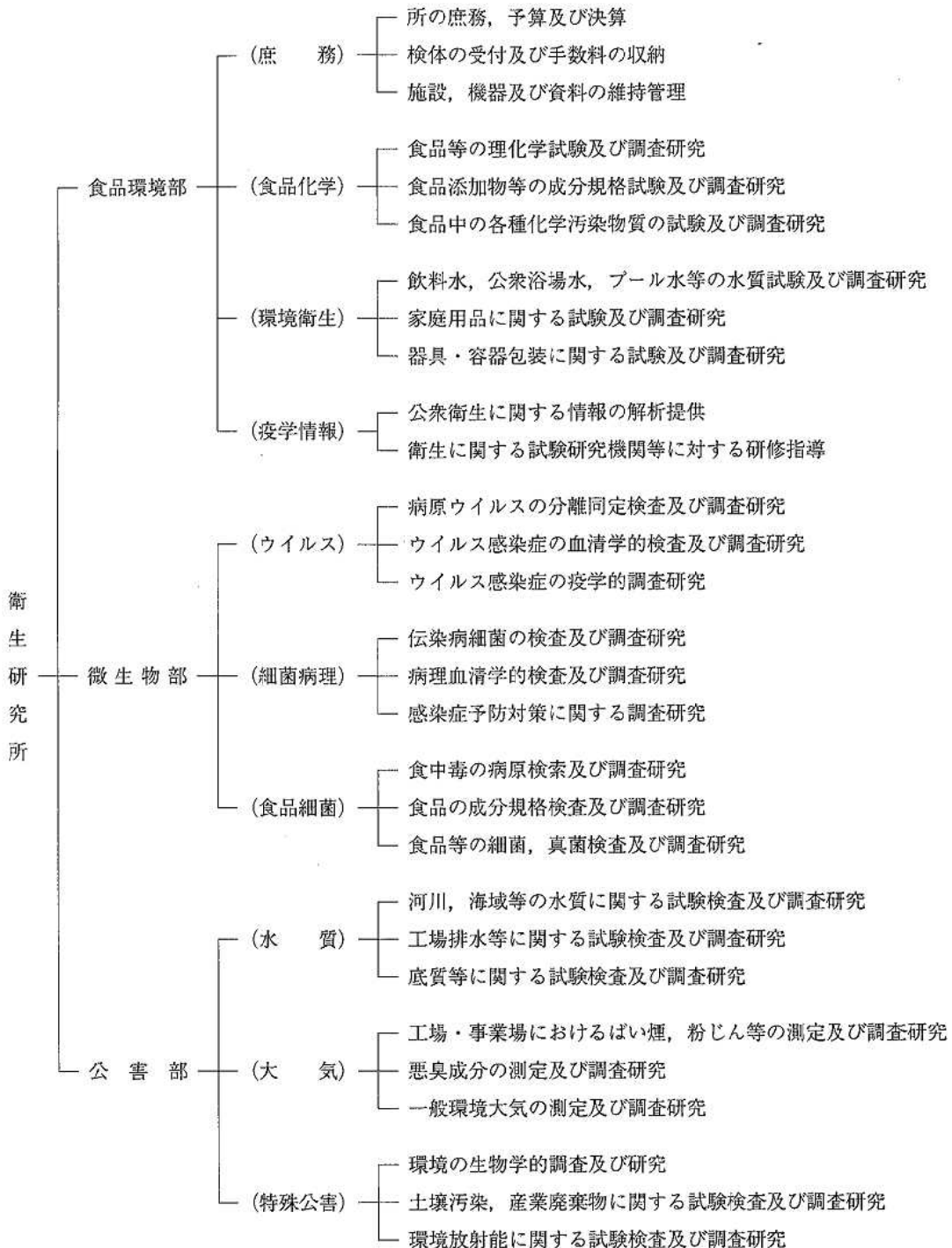
昭和55年政令指定都市昇格を機に、昭和57年4月衛生試験所と公害試験所を統合し衛生研究所を新設した。組織は、庶務・食品化学・環境衛生・疫学情報に関する業務を行う食品環境部、ウイルス・細菌病理・食品細菌に関する業務を行う微生物部、水質・大気・特殊公害に関する業務を行う公害部の3部体制をとり、複雑多様化してきた公衆衛生に係る行政需要に対応している。

年 譜

- (1) 昭和25年7月 広島市保健所（昭和28年より東保健所）に衛生試験室を設置。
- (2) 昭和44年4月 衛生試験所条例施行により、東保健所（現在、中保健所）の2階の一部に衛生試験所（化学試験係、細菌病理検査係）を設置。
- (3) 昭和45年1月 東保健所に増築された3階部分に移転。
- (4) 昭和46年10月 化学試験係より公害関連業務を分離、環境保全部に公害試験所を新設。
- (5) 昭和48年4月 衛生試験所の係制を科制に変更。
- (6) 昭和50年7月 衛生試験所に環境科を新設し、化学試験科を食品科に改め、細菌病理科と合わせて3科体制となる。
- (7) 昭和55年3月 「衛生研究所建設事業計画」にもとづいて、庁舎の建設に着手。
- (8) 昭和55年4月 政令指定都市に昇格。
衛生試験所に食品衛生科を新設し、食品科を食品化学科に、環境科を環境衛生科に改め、細菌病理科と合わせて4科体制となる。
公害試験所は水質科と大気科の2科体制となる。
- (9) 昭和57年4月 衛生研究所条例施行により衛生試験所と公害試験所を統合し、西区商工センター四丁目に衛生研究所を設置。
食品環境部、微生物部、公害部の3部体制で発足。

II 組織機構及び業務内容

1. 組織及び業務内容



2. 職員配置

(平成4年4月1日現在)

部 門 職 名	職 種	事務 一 般 事 務	技 術					計
			一 般 技 術					
			医 師	薬 剂 師	獣 医 師	化学 系	農 学 系	
衛生局理事(事) 所長			1					1
次長(事) 公害部長							1	1
次長(事) 食品環境部長							1	1
食 品 環 境 部	部 長						(1)	(1)
	(庶務)	主幹(事) 主任	1					1
		主 査	1					1
		主 事	1					1
	(食品化学)	専門員(事) 主任					1	1
		主任技師		1				1
		技 師		1		4		5
	(環境衛生)	専門員(事) 主任				1		1
		主任技師				1		1
		技 師				3		3
	(疫学情報)	専門員(事) 主任				1		1
		技 師					1	1
微 生 物 部	部 長				1			1
	(ウイルス)	主 任			1			1
		主任技師			1			1
		技 師			2			2
	(細菌病理)	専門員(事) 主任			1			1
		技 師		3	1			4
	(食品細菌)	専門員(事) 主任					1	1
		主任技師					1	1
		技 師					2	2
公 害 部	部 長						(1)	(1)
	(水質)	主 任				1		1
		主任技師				2		2
		技 師				3		3
	(大気)	主 任				1		1
		主任技師				1		1
		技 師				3		3
	(特殊公害)	専門員(事) 主任					1	1
		主任技師				1		1
技 師					2		2	
合 計		3	1	5	7	24	9	49

3. 職員名簿

(平成4年4月1日現在)

衛生局理事(兼)所長		荻野武雄		物	(細菌病理)	専門員(兼)主任	山岡弘二	
次長(兼)公害部長		坂井主動				技師	林出典明	
次長(兼)食品環境部長		津江芳樹				技師	伊藤文明	
食 品 環 境 部	部 長		津江芳樹		部	技師	吉野谷進	
	(庶務)	主幹(兼)主任	三宅幸雄			技師	平野千春	
		主 査	中正司			(食品細菌)	専門員(兼)主任	中野潔
		主 事	中田かすみ		主任技師		萱島隆之	
	(食品化学)	専門員(兼)主任	久保田明利		技師		石村勝之	
		主任技師	恋田和憲		技師	蔵田和正		
		技師	松室信宏		部 長		坂井主動	
		技師	福田裕		(水質)	主任	小田健士	
		技師	寺西三恵			主任技師	山本修	
		技師	村野勢津子			主任技師	片岡秀雄	
		技師	山下珠生			技師	磯野裕之	
	(環境衛生)	専門員(兼)主任	高野義夫			技師	宮本伸一	
		主任技師	矢野泰正			技師	建畠秀和	
		技師	松尾愛子			(大気)	主任	大倉健二
		技師	細末次郎		主任技師		蔵田義博	
		技師	長谷川富子		技師		白川純	
(疫学情報)	専門員(兼)主任	上野博昭		技師	片岡真喜夫			
	技師	小佐和子		技師	吉清武史			
微 生	部 長		松石武昭		部	(特殊公害)	専門員(兼)主任	亀井且博
	(ウイルス)	主任	池田義文				主任技師	尾川健
		主任技師	藤井彰人				技師	國弘節
		技師	野田衛				技師	松木司
		技師	瀬尾芳子					

Ⅲ 庁舎及び施設概要

1. 建物・施設概要

(1) 建設規模

ア. 敷地面積	5,575.56 m ²
イ. 建築面積	総建築面積 1,529.96 m ²
	総延床面積 4,915.141m ²

ウ. 建物概要

本 館 鉄筋コンクリート造 地下1階・地上4階建（一部5階）

建築面積 1,101.86 m²

延床面積 4,487.041m²

R I 管理棟 鉄筋コンクリート造平家建 床面積 204.27m²

動物管理棟 鉄筋コンクリート造平家建 床面積 199.83m²

薬品庫 ブロック造平家建 床面積 24 m²

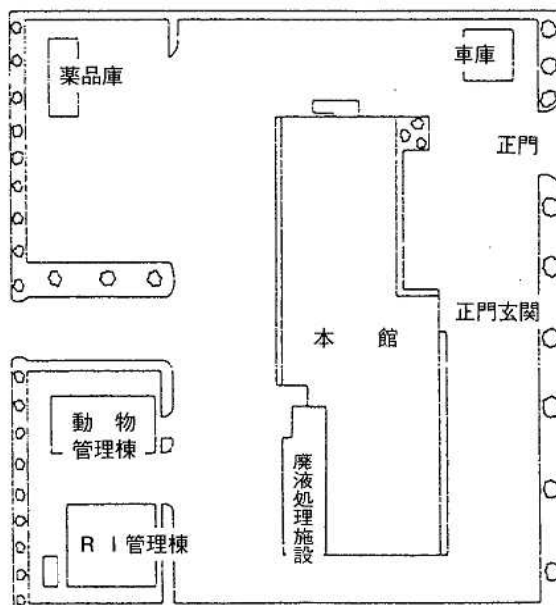
(2) 設備概要

電気設備 非常用発電機 6.6kV 375kVA

廃液処理設備 重金属等廃液処理装置

pH調整装置

2. 庁舎配置図



IV 予算概要

1. 平成4年度予算

科	目	予 算 額
		(千円)
歳 入		
使用料及び手数料		10,869
手 数 料		
衛生手数料	保健衛生手数料	(10,869)
諸 収 入		645
受託事業収入		
衛生費受託事業収入	保健衛生費受託事業収入	(512)
雑 入		
雑 入	実費等回収金	(133)
	計	11,514
歳 出		
衛生費		
保健衛生費		
環境衛生費	賃 金	1,095
	旅 費	3,804
	普通旅費	(3,804)
	需用費	101,558
	消耗品費等	(47,886)
	燃料費	(380)
	食糧費	(109)
	光熱水費	(48,513)
	修繕料	(4,670)
	役 務 費	1,622
	通信運搬費	(1,493)
	手数料等	(74)
	保 險 料	(55)
	委 託 料	58,382
	使用料及び賃借料	1,704
	原 材 料 費	40
	備品購入費	61,912
	負担金、補助金 及び交付金	390
	公 課 費	27
	計	230,534

2. 平成3年度主要購入機器

品名	型式	数量
原子吸光分析装置	日立 Z-8200	1
ピュアGe半導体検出器	キャンベラ GC2518	1
超低温槽	フォーマ 8458	1
核酸・蛋白解析装置	バイオイメージ 80S	1
酵素抗体自動測定装置	コロナ電気 MTP-32	1
硫黄測定器	堀場 SLFA-1800	1
高圧滅菌器	ヒラサワ ZM-Cu-G	1
ガスクロマトグラフ	島津製作所 GC-14AP	1
高速冷却遠心分離器	久保田製作所 7820	1
ダブルビーム分光光度計	日本分光工業 Ubest-35-32	1
シンチレーションサーベイメーター	アロカ TCS-161	1
遠心分離器	久保田製作所 8100	1
超音波洗浄器	シャープ UC-602B UT-604付	1
ホモゲナイザー	日本精機製作所 DX-7	2

V 会議・研修等

1. 会議

年月	会議名	開催地	出席者名
3. 5	第45回地研中四国ブロック会議	山口市	荻野, 久保田, 中野
6	平成3年度公害研協議会中国四国支部会議	鳥取市	坂井
	平成3年度地方衛生研究所長会議	東京都	荻野
7	衛生微生物技術協議会理事会	神戸市	荻野, 萱島
8	中国地区衛生公害研究所長会議	山口市	荻野
9	平成3年度指定都市衛生研究所長会議	仙台市	荻野
10	全国公害研協議会中国四国支部第18回大気部会	高松市	安部
	全国公害研協議会中国四国支部第18回水質部会	広島市	小田
	第29回全国衛生化学技術協議会	広島市	福田, 坂本
	第42回地方衛生研究所全国協議会次長・庶務課長会議	盛岡市	津江
11	平成3年度全国公害研協議会総会	東京都	荻野
	地方自治体公害試験研究機関等所長会議	東京都	荻野
	腸炎ピブリオシンポジウム	別府市	吉野谷
12	第18回環境保全公害防止研究発表会	東京都	國弘
4. 1	公衆衛生情報研究協議会	東京都	荻野, 小佐
2	地研協議会理事会	東京都	荻野
	全国公害研協議会クロスチェック検討会議	松江市	花尾
3	全国家庭用品安全対策担当係長会議	東京都	恋田

2. 研修・講習会

年月	研修・講習会名	研修機関名等	参加者
3.10.11	科学技術庁環境放射線モニタリング研修	科学技術庁放射線医学研究会	松木
11	第66回第1種放射線取扱主任者技術研修会	(社)日本アイソトープ協会	亀井
12	放射線安全管理講習会	放射線障害防止中央協議会	尾川
4.1.2	平成3年度特別課程細菌コース	国立公衆衛生院	萱島
1.2	平成3年度稀少感染症診断技術講習会	国立予防衛生研究所	山岡

3. 所内技術専門研修

年月	内 容	講 師
3.5	放射線の安全取扱いと障害の防止について	亀井
7	小学生を対象にした生物調査について	尾川
9	神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおけるある種の薬剤の影響について	恋田
11	DNA検査について 一遺伝子増幅法を用いた検査を中心にその解説一	伊藤
4.2	畜水産物抗菌性物質の概要と分析法について	寺西
2	遺伝子増幅法を用いた病原因子の迅速検査について	伊藤
2	広島市の底質について	國弘

4. 技術指導

期 間	受 講 者	内 容	担 当
3年10月21日 ～11月1日	生活協同組合ひろしま	食品添加物の分析法及び食品の理 化学試験法について	食品環境部

5. 施設見学

年月日	見 学 者 名	人 員
3.6.7	福岡市衛生試験所	4
8.20	南区市民部 (南区親子施設見学会)	43
22	西区市民部 (西区親子施設見学会)	35
23	安芸区市民部 (安芸区親子施設見学会)	15
30	広島女学院大学	6
9.26	鈴が峰中学校	210
10.7	浜松市衛生試験所	1
28	市長とともに施設見学	50
11.12	広島文教女子短期大学	100
18	国際協力事業団 (JICA)	9
4.1.23	福岡市衛生試験所	11
2.12	文京区衛生試験所	1
13	西区一日区長	5
27	熊本市保健衛生研究所	1
3.18	北九州市環境衛生研究所	1
	計	492

業 務 報 告

食 品 環 境 部

食品環境部の主要業務は、食品衛生及び環境衛生に関する試験検査、調査研究ならびに公衆衛生情報の解析提供であり、食品化学関連業務、環境衛生関連業務及び疫学情報関連業務に大別される。

食品化学関連業務では、食品の理化学試験、食品の規格及び各種添加物試験、さらに食品中の重金属・残留農薬・かび毒・合成抗菌剤等の有害化学物質試験等の各種試験検査ならびに調査研究を実施している。

環境衛生関連業務では、水道法に基づく飲料水試験、環境衛生関係の法令等に基づくプール水、浴場水等の環境水質試験、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く家庭用品試験、食品衛生法に基づく器具及び容器包装等の各種試験検査ならびに調査研究を実施している。また、昭和60年度から神経芽細胞腫マスマスクリーニングにおける精密検査を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて実施していたが、平成元年6月より一次検査からHPLCを用いた検査体制に変更し、行っている。

疫学情報関連業務では、公衆衛生情報の解析提供及び研修指導に関する業務を実施している。

さらに当部では、衛生研究所の庶務に関する事務も併せて行っている。

平成3年度に実施した業務の概要を、以下に報告する。なお、試験区分別試験検査件数は表1のとおりである。

表1 試験区分別試験検査件数

試験区分	行政依頼	一般依頼	計
食品の理化学試験	1,415	248	1,663
食品の規格及び添加物試験	907	99	1,006
食品中の有害化学物質試験	1,098	62	1,160
小計	3,420	409	3,829
飲料水試験	654	475	1,129
環境水質試験	449	155	604
家庭用品試験	758	117	875
器具・容器包装等の試験	10	160	170
その他の試験	10,327	75	10,402
小計	12,198	982	13,180
計	15,618	1,391	17,009

1. 食品化学関連業務

市内8保健所からの行政依頼による食品化学に関する試験を行った。また、市内食品製造業者からの一般依頼による試験も併せて行った。

(1) 行政依頼試験

食品等の収去検査のほか、市民からの食品に対する苦情に伴う試験等の行政依頼試験である。

収去試験は、各保健所の例年の年度計画に基づくもので、輸入食品を対象とした重点的収去検査及び健康食品の安全性評価のための収去検査等を含めて実施した。3年度は、10~11月にかけて牛乳及び乳製品の一部に製造工程で消毒液(次亜塩素酸ナトリウム)、洗浄液(カセイソーダ)混入、さらにガラス片混入の疑いの問題が相次いで発生したことから、これらに係わる収去検査等を実施した。行政依頼の計3,420件の主な内訳は、次のとおりである。

a 食品の理化学試験

試験件数は、1,415件で、その内訳を表2に示す。試験項目は、油脂及び油脂使用食品の酸価・過酸化物価、野菜漬物、生かき浸せき水等の塩分濃度、清涼飲料水等のpH、さらに菓子類、豆腐等の水分・固形分などである。

また、牛乳の異物検査68件をセジメント試験に準じて実施した。

表2 食品の理化学試験件数

区 分	件 数
酸 価 ・ 過 酸 化 物 価	186
塩 分 濃 度	390
水 素 イ オ ン 濃 度 (pH)	370
水 分 ・ 固 形 分	13
そ の 他	456
計	1,415

b 食品の規格及び添加物試験

試験件数907件で、その内訳を表3に示す。試験内容は、学校給食等の牛乳の成分規格試験、輸入食品を含む加工食品中の食品添加物試験等である。

食品添加物試験で実施件数の多いものは、保存料286件、着色料85件、酸化防止剤67件、甘味料(サッ

カリナトリウム) 53件等である。不良検体は、食品添加物使用の旨表示のないもの3件、使用基準に不適合なもの1件であった。

表3 食品の規格及び添加物試験件数

区 分	件 数
牛乳等の成分規格試験	288
保 存 料	286
着 色 料	85
甘 味 料	53
発 色 剤	34
酸 化 防 止 剤	67
漂 白 剤	41
品 質 保 持 剤	16
そ の 他	37
計	907

c 食品中の有害化学物質試験

これらの化学物質の試験は、本市における食品汚染物質の実態把握を目的とした『食品中の微量物質対策事業実施要領』に基づく試験を中心に実施している。試験件数は1,098件で、その内訳は表4のとおりである。

重金属試験は、主に魚介類、健康食品、缶詰食品等を対象にカドミウム、鉛、ヒ素、総水銀等の試験である。

残留農薬試験は、成分規格の定められた対象食品のほか、輸入食品、食肉、魚介類、健康食品等計132件について、有機塩素系及び有機リン系の分析を実施した。

その他として、PCB、ビストリブチルスズオキシド(TBTO)等の環境汚染化学物質、輸入ナッツ類やその加工品のかび毒、畜水産食品中の合成抗菌剤、さらに市内産アサリのまひ性貝毒の試験等を行った。このうち、TBTOについては、市内産及び市内流通魚介類を対象に汚染実態の調査を行った。

表4 食品中の有害化学物質試験件数

区 分	件 数
重 金 属	378
総 水 銀	27
残留農薬成分規格	51
その他	81
P C B ・ T B T O	92
合成抗菌剤	232
生理活性毒物等	101
その他の有害化学物質試験	136
計	1,098

d 苦情に伴う試験(理化学関係分)

市民からの苦情食品試験結果の主なものは、表5のとおりである。

(2) 一般依頼試験

市内の食品製造、加工、販売業者等からの依頼により食品の各種試験検査を実施した。試験区分別試験件数を表6に示す。

表6 一般依頼試験件数

区 分	件 数
牛乳・加工乳の成分規格	3
食 保 存 料	48
添 着 色 料	15
加 甘 味 料	3
の 物 酸 化 防 止 剤	9
規 漂 白 剤	17
格 発 色 剤	3
試 品 質 保 持 剤	—
験 及 び 所 の 他	1
重 金 属	30
残 留 農 薬	25
栄 養 分 析	10
そ の 他	245
計	409

表5 苦情に伴う試験検査結果(理化学試験分)

No.	検体名	苦情内容	検査項目	検査結果			
1	羊かん	カビ様のものが付着していた。	pH, 水分活性	pH: 6.5 水分活性: 0.86			
2	水いか	調理後、異臭がした。	揮発性塩基窒素(VBN)	VBN: 21Nmg%			
3	刺身	臭いがおかしい。	VBN, pH		VBN pH		
				苦情品	イカ エビ コイワシ	10Nmg% 26Nmg% 14Nmg%	7.1 6.3
				対照品	イカ エビ	3Nmg% 18Nmg%	7.1 7.6
4	うなぎ蒲焼き	薬品臭がして、過酸化水素の味がする。	過酸化水素(H ₂ O ₂) 合成保存料	H ₂ O ₂ : 検出せず 合成保存料: 検出せず			
5	錦糸巻	食後、足にじんましんが出た。	ヒスタミン		ヒスタミン		
				アナゴ	検出せず		
6	牛乳	次亜塩素酸混入の疑い。	成分規格, 次亜塩素酸	成分規格: 規格に適する 次亜塩素酸: 検出せず			
7	白菜漬	味がおかしく、きつい臭いがした。	残留農薬, 塩分濃度, pH		残留農薬 塩分濃度 pH		
				苦情品	加味材: 1.5ppm	2.0%	5.8
8	白菜漬	薬品臭がする。	残留農薬, 合成保存料, pH, 次亜塩素酸	有機リン剤: 検出せず 合成保存料: 検出せず 次亜塩素酸: 検出せず pH: 6.3			
9	干いも	食後、舌先がピリピリした。	合成保存料, サッカリン ナトリウム, 漂白剤	合成保存料: 検出せず サッカリンナトリウム: 検出せず 二酸化硫黄(SO ₂): 検出せず			
10	牛乳(LL牛乳)	飲んだら、酸っぱかった。	酸度, ピンホール試験, 成分規格(保存試験有)	苦情品 酸度: 0.63 ピンホール試験: 陰性 対照品 成分規格: 規格に適する			
11	牛乳	ガラス片混入の疑い。	成分規格, 異物検査	成分規格: 規格に適する 異物(ガラス片) 検出せず			
12	エビ(フライ調理済)	味がおかしい。	pH, VBN, SO ₂	pH: 7.2 VBN: 13Nmg% SO ₂ : 検出せず			
13	ワタリガニ	薬品臭がし、舌に刺激をうけた。	pH, VBN	pH: 8.5 VBN: 190Nmg%			
14	かまぼこ(かまぼこ板)	クレゾール臭がする。	ソルビン酸, スチレン, 酢酸エチル, クレゾール	かまぼこ ソルビン酸: 1.2g/kg スチレン: 検出せず 酢酸エチル: 検出せず クレゾール: 3ppm かまぼこ板 クレゾール: 10ppm			
15	和菓子(桜もち)	防腐剤が入りすぎているのではないか。	合成保存料	合成保存料: 検出せず			
16	おから	酸っぱい味がする。	pH, VBN, 酢酸, 乳酸	pH: 6.1 VBN: 6Nmg% 乳酸: 1700ppm 酢酸: 240ppm			
17	お好み焼き(ソース)	ベンジン臭がした。	スチレン, 酢酸エチル, ノナン, デカン	スチレン: 検出せず 酢酸エチル: 検出せず ノナン: 検出せず デカン: 検出せず			
18	ベビーフード	異物(ガラス片)混入の疑い。	異物検査	ガラス片検出			
19	梅漬汁	ホウロウ容器にいれ、保管していたら液が白濁していた。	重金属	As: 検出せず Pb: 検出せず Cd: 検出せず Sn: 検出せず			
20	牛乳	薬品臭がして、味がおかしい。	成分規格, 次亜塩素酸, 逆性石けん試験紙	成分規格: 規格に適する 次亜塩素酸: 検出せず 逆性石けん試験紙: 陰性			

2. 環境衛生関連業務

市内8保健所及び環境保健部環境衛生課からの行政依頼による環境衛生に関する試験を行った。また、市民からの依頼や官公庁の試験成績書を必要とする市内事業所からの依頼による飲料水等の試験を行った。

(1) 飲料水試験

行政及び一般依頼により、飲料水の試験を886件(無機溶存成分試験70件を含む)行った。その種類別試験件数は表7のとおりである。このうち、水道法水質基準に適合しなかったものは263件(不適率約32%)であった。不適検体のほとんどは井戸水や湧き水で、その不適項目の主なものは大腸菌群、一般細菌であった。

表7 飲料水の種類別試験件数

区 分		行政依頼	一般依頼	計
水道水	一般項目	45	232	277
	全項目	75	5	80
	計	120	237	357
井戸水	一般項目	93	190	283
	全項目	126	8	134
	計	219	198	417
その他	一般項目	12	25	37
	全項目	5	0	5
	計	17	25	42
合 計		356	460	816

(2) 地下水汚染物質試験

主に飲料に供されている地下水を対象として、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン等の地下水汚染物質試験を行政依頼で228件実施し、基準を越えたものが2集落(13か所)あった。また、一般依頼で15の試験を実施した。

(3) その他の水質試験

行政及び一般依頼により、プール水等の試験を604件実施した。その種類別試験件数は表8のとおりである。一般依頼による利用水は、工業用水や養魚用水を目的とした試験で、pHやCODなどの項目について行ったものである。

表8 その他の水質試験の種類別試験件数

区 分	行政依頼	一般依頼	計
プ ー ル 水 等	103	3	106
公 衆 浴 場 水	342	13	355
か き 洗 浄 水	4	123	127
利 用 水	0	16	16

(4) 家庭用品試験

家庭用品の安全性をチェックするため、行政依頼により、試買品284検体758件について試験を実施した。項目別試験件数は表9のとおりである。また、一般依頼により、繊維製品のホルムアルデヒド93件、洗浄剤の塩化水素・硫酸等の試験を24件実施した。

表9 家庭用品の項目別試験件数

区 分	繊維製品	その他	計
ホルムアルデヒド	198	0	198
塩化水素・硫酸	0	10	10
NaOH・KOH	0	5	5
塩化ビニル	0	29	29
パークレン・トリクレン	0	29	29
メタノール	0	29	29
有機水銀	153	19	172
TPT・TBT	153	19	172
ディルドリン	36	0	36
BDBPP	42	0	42
DTTB	36	0	36
計	618	140	758

(5) 食品衛生等の試験

行政及び一般依頼により、器具・容器包装、食品添加物、おしぼりなどの規格試験を131件行った。その他、食器に残留する陰イオン界面活性剤などの試験を146件行った。

(6) 神経芽細胞腫マスキリーニング

一次検査を10,260名、二次検査を36名について実施した。そのうち11名に対して受診勧奨し、3名が医療機関において神経芽細胞腫と確定診断された。詳細は本報資料編に掲載した。

3. 疫学情報関連業務

公衆衛生情報の有効な活用を図るため、情報の収集及び解析提供に関する業務を行った。また、併せて研修指導に関する業務を行った。

(1) 公衆衛生情報の解析提供

a 情報の収集整理

当所における試験検査、調査研究業務に必要な技術資料等1,359点を収集し、効果的な利用に供するため分類整理を行い、蓄積を図った。

b 文献、資料等の提供

衛生関係部局等からの要請により、文献や各種技術資料42件177点を提供した。

また、厚生省汚染物質研究班に対し、平成2年度分析試料(437検体)について3,723件のデータを食品汚染物モニタリングデータとして提供した。

c 刊行物による情報提供

平成3年度に印刷発行した刊行物は、表10のとおりである。

当所で得られた技術情報や公衆衛生に関する最近の話題を掲載した技術情報誌「衛研情報」を年4回編集発行し、衛生関係部局及び関係機関に配布した。

また、平成2年度における当所の事業概要と調査研究等を収録した「広島市衛生研究所年報第10号」を刊行し、関係部局及び全国の試験研究機関等に配布した。

さらに、「広島市の弁当・そう菜由来黄色ぶどう球菌調査報告書」、「広島市の水生生物Ⅵ 第2回安川水域底生動物調査」の2編の報告書のほか、「広島市の病原ウイルス調査データ集(昭和63年～平成2年)」を発行し、それぞれ関係機関に提供した。

(2) 公衆衛生情報管理システムの整備・運用

a サブシステムの開発

パーソナルコンピュータ導入による公衆衛生情報管理システム整備の一環として、自主開発のサブシステムとして食品細菌検査成績管理システムの開発を行った。

b システムの運用

公衆衛生情報管理システムを構成する主なサブシステムとデータベース構築状況を表11に示した。

文献情報管理サブシステムについては、従来から実施している文献データベースの構築と並行しながら、依頼に基づく検索出力等を行った。

c システム開発等に関する技術支援

統計解析ソフトなどの利用方法や所員によるソフトウェアの自主開発等については、その技術的な支援を行い、利用技術の向上を図った。

表10 平成3年度刊行物

発行年月	刊行物名	判	部数
平成3.5	衛研情報 第43号	B5	350
8	衛研情報 第44号	B5	350
10	広島市の病原ウイルス調査データ集 (昭和63年～平成2年)	B5	70
11	衛研情報 第45号	B5	350
12	広島市衛生研究所年報第10号	B5	400
4.2	衛研情報 第46号	B5	350
2	広島市の弁当・そう菜由来黄色ぶどう球菌調査報告書	B5	150
2	広島市の水生生物Ⅵ第2回安川水域底生動物調査	B5	150

表11 公衆衛生情報管理システムの主要サブシステムとデータファイル構成(平成3年度末)

サブシステム/ファイル区分	データ格納件数
感染症サーベイランス検査情報	
1) 基礎項目ファイル	3, 949
2) ウイルス分離検査ファイル	5, 648
3) 細菌検査ファイル	158
4) 血清検査ファイル	215
血清疫学調査	
1) 基礎項目ファイル	3, 991
2) 血清検査ファイル	6, 186
菌株情報	
1) 基礎項目ファイル	1, 334
2) 菌株データファイル	1, 357
食品汚染物モニタリング	
1) 基礎項目ファイル	2, 256
2) 試験データファイル	2, 256
文献情報管理	
1) 文献ファイル	20, 177
2) キーワードファイル	6, 705
3) 雑誌ファイル	241

d 更新計画の作成

公衆衛生情報管理システムに係るパーソナルコンピュータ機器等の更新について検討を行い、新規サブシステムの開発計画を含む更新計画を作成し、情報処理に係る基盤強化を図ることとした。

e 保守管理

コンピュータ機器及び各サブシステムについては、定期的な保守点検とファイル管理を行った。

(3) 図書室の管理運営

逐次刊行物の分類整理に重点を置き、図書管理委員会と連携をとりながら図書室を運営した。近着資料については、毎月1回コンテンツサービスを行った。

また、平成2年版逐次刊行物(29種)の製本を行った。

文献の収集調査については、従来から科学技術文献

速報等の定期講読を行っているが、迅速な文献検索・情報収集の必要性から、フロッピーディスク版カレントコンテンツ(米国ISI社)の利用を開始した。

(4) 研修指導

当所では従来から公衆衛生分野での開発途上国に対する技術協力として、研修員の受入れや専門家の派遣を行っている。

3年度は国際協力事業団(JICA)の第三国研修「急性呼吸器感染症の実験室診断と研究技術に関するワークショップ」の実施に協力し、所長をウイルス部門の専門家として、フィリピン共和国熱帯医学研究所(RITM)に派遣した。

また、JICA大阪国際研修センターの依頼により海外研修員7名の見学を受け入れた。

微生物部

微生物部の主要業務は、衛生微生物に関する試験検査並びに疾病予防などに関する調査研究で、ウイルス関連業務、細菌病理関連業務及び食品細菌関連業務に大別される。

ウイルス関連業務では、感染症サーベイランス事業、伝染病予防法に基づくウイルス学的、血清学的検査、伝染病流行予測のための感受性検査、エイズ予防対策の一環としての HIV 抗体検査等の各種検査並びに調査研究を実施している。

細菌病理関連業務では、伝染病予防法、結核予防法に基づく伝染病細菌等の検査、感染症サーベイランス事業に基づく病原細菌検査、性病予防法に基づく梅毒血清学的検査等の各種検査並びに調査研究を実施している。

食品細菌関連業務では、食品衛生法に基づく食品の成分規格検査、食中毒病原検索、食品などの細菌、真菌検査等の各種検査並びに調査研究を実施している。

平成3年度に実施した業務の概要を以下に報告する。

1. ウイルス関連業務

行政検査として、感染症サーベイランス事業の検査情報収集還元のための病原検索と血清検査、集団発生例等の病原診断、伝染病流行予防のための感受性検査等を行った。また、依頼検査として一般市民の HBs 抗原・抗体検査、HIV 抗体検査を行った。

平成3年度に取り扱った件数を表1に示す。

表1 ウイルス検査件数

区 分	検査件数
感染症サーベイランス事業	918
集団発生等に伴う検査	191
感染源及び感受性検査	1,328
一般依頼検査	565
計	3,002

(1) 感染症サーベイランス事業

市内10か所の検査定点医療機関から病原診断のため集められた検体についてウイルス分離同定あるいは血清学的検査を行い、検査情報を毎月1回広島市感染症情報センターへ提供した。

疾病別検査件数を表2に示す。平成3年度に採取された総検体数は918件で、なかでも無菌性髄膜炎と性行為感染症の検体が多かった。

表2 感染症サーベイランス検査件数

区 分	検査件数
乳児嘔吐下痢症	7
感染性胃腸炎	17
手足口病	2
ヘルパンギーナ	25
咽頭結膜熱	16
流行性角結膜炎	42
急性出血性結膜炎	2
無菌性髄膜炎	272
脳脊髄炎	53
性行為感染症	143
その他の疾患	339
計	918

(2) 集団発生等に伴う検査

インフルエンザ様疾患集団発生のウイルス分離、急性胃腸炎等の病因ウイルス検査及び感染源調査を行った。これらの検査件数を表3に示す。

今冬のインフルエンザ様疾患の集団発生は平成4年1月23日に初発した。初発例を含めた7事例についてウイルス分離同定検査を実施した結果、4施設はA(H1N1)型、3施設はA(H3N2)型インフルエンザウイルスであった。

表3 集団発生等の検査件数

区 分	検査件数
インフルエンザ様疾患	50
胃腸炎起因ウイルス	81
その他	60
計	191

(3) 感染源及び感受性検査

感染源及び感受性検査の件数を表4に示す。

風疹は17~42歳の妊婦血清215件について HI 抗体価を測定した。HI 価8倍以上の抗体保有率は83.7%であった。

麻疹は0~86歳の男女血清202件について ELISA 法により IgG 抗体を測定した。ELISA 抗体陽性率は98.5%であった。

日本脳炎は0~86歳の男女血清176件について HI 抗

体価を測定した。

インフルエンザは感冒様症状を呈した散発患者の咽頭ぬぐい液62件についてインフルエンザウイルスの分離検査を行った。また、18~21歳の女性血清76件について、平成3年度のワクチン株と分離株のA(H1N1)型及びA(H3N2)型を用いてHI抗体価を測定した。

分離検査では、平成4年1月16日~2月8日採取の検体からA(H1N1)型が、1月24日~2月26日採取の検体からA(H3N2)型が分離された。

ポリオは6~29歳の男女血清81件について中和抗体価を測定した。4倍以上の中和抗体保有率は1型が81.5%、2型が96.2%、3型が72.8%であった。また、0~5歳の小児糞便22件についてウイルス分離検査を行った。

B型肝炎は17~42歳の女性血清214件についてHBs抗原・抗体の検査を行った。HBs抗原陽性率は1.9%、HBs抗体陽性率は12.6%であった。

単純ヘルペスは0~86歳の男女血清202件についてELISA法による抗体測定を行った。

オーム病は19~30歳の女性血清78件についてCF試験により抗体測定を行った。

表4 感染源、感受性調査

区 分	分離検査件数	血清検査件数
風 疹		215
麻 疹		202
日 本 脳 炎		176
インフルエンザ	62	76
ポ リ オ	22	81
B 型 肝 炎		214
へ ル ペ ス		202
オ ー ム 病		78
計	84	1,244

(4) 一般依頼検査

一般市民からの依頼により、HBs抗原・抗体検査及びHIV抗体検査を行った。

表5 一般依頼検査件数

区 分	検査件数
HBs抗原検査	170
HBs抗体検査	68
HIV抗体検査	327
計	565

2. 細菌病理関連業務

市内8保健所からの行政依頼及び市民、事業所からの一般依頼を受け、腸管系病原菌、呼吸器系病原菌、結核菌、性病及び臨床病理に関する検査を行った。

総検査件数は8,379件でその内訳を表6に示す。

表6 細菌病理検査件数

区 分	行政依頼	一般依頼	計
腸管系病原菌	3,107	656	3,763
呼吸器系病原菌	533		533
結 核 菌	308	166	474
性 病	1,030	847	1,877
臨 床 病 理	1,128	604	1,732
計	6,106	2,273	8,379

(1) 腸管系病原菌検査

行政依頼検査は法定伝染病予防、腸チフス防疫対策、コレラ防疫対策、下痢症病原菌検索として、赤痢菌、チフス菌、パラチフス菌、コレラ菌、サルモネラ、病原大腸菌などの検査を行った。

一般依頼検査は、赤痢菌を主とした腸管系病原菌一般の検査を行った。

検査項目別内訳を表7に示す。

検出病原菌は腸炎ビブリオ64株、サルモネラ46株、赤痢菌14株、病原大腸菌11株、ビブリオ・コレラ non-O1 5株、ビブリオ・フルビアリス2株、カンピロバクター2株、エルシニア・エンテロコリチカ2株の計146株であった。

表7 腸管系病原菌検査件数

区分	行政依頼	一般依頼	計
法定 赤痢菌	1,955	635	2,590
伝染病 チフス、パラチフス	417		417
予 防 コレラ菌	183		183
小計	2,555	635	3,190
腸チフス 河川調査等	192		192
防 疫			
対 策 回復者検便	3		3
小計	195		195
コレラ 海水調査等	120		120
防疫対策 (コレラ、腸炎ビブリオ、NAGビブリオ)			
下痢症 海外旅行者			
病原菌 および	237	21	258
検 索 感染症サーベイランス等			
計	3,107	656	3,763

(2) 呼吸器系病原菌検査

呼吸器系病原菌検査件数の内訳を表8に示す。
 検出病原菌は溶連菌40株、百日咳菌1株の計41株であった。

表8 呼吸器系病原菌検査件数

区 分	病原検査	感受性検査	計
溶連菌	315		315
百日咳菌	12	8	20
マイコプラズマ		198	198
計	327	206	533

(3) 結核菌検査

結核菌の行政依頼、一般依頼検査件数の内訳を表9に示す。
 検出病原菌は非定型抗酸菌1株であった。

表9 結核菌検査件数

区 分	行政依頼	一般依頼	計
塗 抹	154	166	320
培 養	154		154
計	308	166	474

(4) 性病検査

梅毒血清反応検査件数及び淋菌検査件数の検査項目内訳を表10に示す。
 梅毒CL3法試験では3件、TPHA試験では1件が陽性であった。
 淋菌検査では50株が分離された。

表10 性病検査件数

区 分	行政依頼	一般依頼	計
梅 毒 CL3法定性	814	760	1,574
毒 緒方法定量		66	66
検 査 TPHA, FTA	161	21	182
小 計	975	847	1,822
淋菌検査 塗抹・培養	55		55
合 計	1,030	847	1,877

(5) 臨床病理検査

臨床病理検査件数の検査項目別内訳を表11に示す。
 寄生虫卵検査では蟯虫卵1件が陽性であった。

表11 臨床病理検査件数

区 分	行政依頼	一般依頼	計
寄 生 虫 卵		393	393
尿 沈 渣		49	49
潜 血 反 応 (糞 便)		13	13
血 液 一 般	720		720
血 液 型	75	137	212
ポ ー ル パ ン ネ ル 反 応		12	12
原 虫 病 原 検 査		135	135
感 受 性 検 査	198		198
計	1,128	604	1,732

3. 食品細菌関連業務

市内8保健所からの行政依頼による収去食品の細菌検査、食中毒病原菌検索及び苦情に伴う細菌検査などを行った。また、市内食品製造者等からの一般依頼による細菌検査を行った。

平成3年度の総検査件数は7,403件で主な内訳を表12に示す。

表12 食品細菌検査件数

区 分	件数
収 去 食 品 の 検 査	3,221
食 中 毒 病 原 検 索	1,760
そ の 他	415
一 般 依 頼 検 査	2,007
計	7,403

(1) 行政依頼検査

a 収去食品の検査

収去食品検査は成分規格に伴う細菌検査、食中毒細菌検査及び一般細菌等の検査を行った。食品別検査件数を表13に示す。最も多かったのは弁当等そう菜を主とする野菜・果実及びその加工品で、以下生かきを主とした魚介類、米飯を主とする穀類及びその加工品が多かった。

表13 収去食品の検査件数

区 分	件数
魚 介 類	681
冷 凍 食 品	10
魚 介 類 加 工 品	27
肉 卵 類 及 び そ の 加 工 品	274
牛 乳 ・ 加 工 乳	43
乳 製 品	64
乳 類 加 工 品	26
ア イ ス ク リ ー ム ・ 氷 菓	21
穀 類 及 び そ の 加 工 品	434
野 菜 ・ 果 実 及 び そ の 加 工 品	1,289
菓 子 類	294
清 涼 飲 料 水 ・ 粉 末 清 涼 飲 料	44
容 器 包 装 詰 加 圧 加 熱 食 品	3
そ の 他	11
計	3,221

b 食中毒病原検索

食中毒発生時に病原検索を行った検体件数を表14に示す。

平成3年度の食中毒発生件数は10件で、患者数2,162名であった。病因別内訳は、サルモネラ5件(S. Typhimurium 3件, S. Enteritidis 2件), 黄色ブドウ球菌2件, ウエルシュ菌1件, 毒素原性大腸菌(S T1a) 1件, ボツリヌス毒素1件であった。また、サルモネラ(S. Enteritidis), カンピロバクター(C. jejuni) による集団感染例が各1件あった。

表14 食中毒病原検索検査件数

区 分	件数
食 品	544
患 者 吐 物	—
患 者 糞 便	598
患 者 そ の 他	—
従 業 員 糞 便	188
ふ き と り	401
そ の 他	29
計	1,760

c その他の行政依頼検査

収去検査, 食中毒病原検索以外に行政依頼により, 衛生指導のため検査を行った検査件数を表15に示す。

表15 その他の検査件数

区 分	件数
食 品	334
患 者 吐 物	—
患 者 糞 便	—
患 者 そ の 他	—
従 業 員 糞 便	3
ふ き と り	63
そ の 他	15
計	415

(2) 一般依頼検査

市内食品製造, 加工, 販売業者等からの一般依頼による検査件数を表16に示す。

食品別では生かきを主とする魚介類, 弁当等そう菜を主とする野菜・果実及びその加工品, 肉卵類及びその加工品の順に多かった。

表16 一般依頼検査件数

区 分	件数
魚 介 類	628
冷 凍 食 品	26
魚 介 類 加 工 品	65
肉 卵 類 及 び そ の 加 工 品	469
牛 乳 ・ 加 工 乳	2
乳 製 品	9
乳 類 加 工 品	—
ア イ ス ク リ ー ム ・ 氷 菓	28
穀 類 及 び そ の 加 工 品	110
野 菜 ・ 果 実 及 び そ の 加 工 品	476
菓 子 類	113
清 涼 飲 料 水 ・ 粉 末 清 涼 飲 料	4
容 器 包 装 詰 加 圧 加 熱 食 品	58
そ の 他	19
計	2,007

公 害 部

公害部の主要業務は、公害に関する試験検査ならびに調査研究であり、水質関連業務、大気関連業務及び特殊公害関連業務に大別される。

水質関連業務では、水質汚濁防止法に基づく公共用水域（河川、海域）の水質・底質試験、地下水質の調査、工場・事業場等の排水試験及びこれらに関する調査研究を行っている。

大気関連業務では、大気汚染防止法及び悪臭防止法に基づく煙道排ガス、悪臭等の調査・測定、環境大気中の有害物質等の調査・測定及びこれらに関する調査研究を行っている。

特殊公害関連業務では、環境の生物学的調査、土壌や産業廃棄物に関する試験検査、環境放射能に関する試験検査及びこれらに関する調査研究を行っている。

平成3年度に実施した業務概要を以下に報告する。

1. 水質関連業務

行政依頼試験として、公共用水域における水質、底質、栄養塩類の試験、地下水調査、洗剤残存調査、西部丘陵開発現況調査及び工場・事業場等の排水調査を行った。その他、苦情等に伴う調査及び一般依頼による試験検査を行った。

表1は、平成3年度に実施した各区分ごとの試験検査件数及び延べ項目数である。

表1 水質関連業務検査件数

区 分	件 数	延項目数
河 川 水 調 査	493	3,387
海 域 調 査	408	1,848
地 下 水 調 査	38	304
底 質 調 査	3	51
栄 養 塩 類 調 査	48	288
洗 剤 残 存 調 査	15	15
西部丘陵都市開発現況調査	67	421
規制対象事業場調査	622	2,605
窒素排出状況実態調査	162	162
そ の 他	211	655
一 般 依 頼 試 験	120	319
計	2,187	10,055

(1) 河川水調査

太田川、瀬野川、八幡川の各水系における環境基準点計15地点において、pH、BOD等の生活環境項目とカドミウム、総水銀等の健康項目について調査を実施

した。また、汚濁の進んだ中小河川において、生活環境項目の調査を行った。

件数の内訳は、表2のとおりである。

表2 河川水調査件数

区 分	生活環境項目	健康項目
太 田 川	279	60
瀬 野 川	61	12
八 幡 川	49	12
中 小 河 川	20	—
計	409	84

(2) 海域調査

広島湾、広島市地先海域及び海田湾の計5地点において、pH、COD、油分等の調査を行った。

(3) 地下水調査

地下水質の概況を把握するため概況調査として14地点で、また、経年的な水質変化を把握するため定期モニタリング調査として5地点において、有害物質の調査を行った。

(4) 底質調査

河川3地点において、強熱減量、硫化物、重金属類等の調査を行った。

(5) 栄養塩類調査

公共用水域の富栄養化防止対策の一環として、河川7地点、海域5地点においてT-N、NH₃-N、NO₂-N、NO₃-N、T-P、PO₄-Pの調査を行った。

(6) 洗剤残存調査

河川15地点において、直鎖型陰イオン界面活性剤の調査を行った。

(7) 西部丘陵開発現況調査

西部丘陵都市環境管理指針の運用に当たっての環境モニタリング調査として、該当地域の河川の水質及び底質調査を行った。

(8) 規制対象工場・事業場排水調査

水質汚濁防止法、瀬戸内海環境保全特別措置法、広島県公害防止条例等に基づき、工場・事業場の排水についてpH、COD等の生活環境項目、鉛、カドミウム等の健康項目及び亜鉛、銅等の特殊項目について試験を行った。

(9) 窒素排出状況実態調査

広島県の「窒素排出状況等調査」に基づき、窒素及

び燐の調査を行った。

(10) その他

行政上必要な依頼検査ならびに苦情等に伴う試験検査を行った。

(11) 一般依頼試験

市内の工場・事業場からの依頼に基づき、各種の試験検査を行った。

2. 大気関連業務

行政依頼検査として、大気汚染防止法に基づき煙道排ガス中のばいじん、有害物質等の試験及び燃料規制地域内において使用される重油中の硫黄分の測定を行った。

その他、浮遊粉じん調査、降下ばいじん調査及び環境大気中の各種汚染物質調査を行った。

表3は、平成3年度に実施した各区分ごとの試験検査件数及び延項目数である。

表3 大気関連業務試験件数

区分	件数	延項目数
煙道測定	30	69
悪臭測定	32	289
重油中の硫黄分測定	23	23
浮遊粉じん調査	182	1,159
降下ばいじん調査	96	1,920
環境大気調査	609	3,996
計	972	7,456

(1) 煙道測定

煙道排ガスについては、ばいじん、窒素酸化物、硫黄酸化物及び重金属等の測定を行った。

項目数の内訳は、表4のとおりである。

表4 項目別試験件数

試験項目	延項目数
ばいじん	25
窒素酸化物	23
硫黄酸化物	5
その他の有害物質	16
計	69

(2) 悪臭測定

悪臭防止法に定められた12物質（硫化水素、硫化メチル、二硫化メチル、トリメチルアミン、アセトアル

デヒド、スチレン、アンモニア、メチルメルカプタン、プロピオン酸、酪酸、吉草酸、イソ吉草酸）について、下水・し尿処理場、産業廃棄物処理場、と畜場で測定を行った。また、と畜場、産業廃棄物処理場について三点比較式臭袋法による官能試験の調査を行った。

(3) 重油中の硫黄分測定

市内の事業所から採取した重油について、そのに含まれる硫黄分の濃度を放射線式励起法によって測定した。

(4) 浮遊粉じん調査

市役所、安佐北区役所、安佐南区役所、伴小学校の4か所において年4回大気中の浮遊粉じん、重金属（Pb, Cd, Cu, Zn, Fe, Mn, Ni, Al, Tiの9項目）の調査を行った。

(5) 降下ばいじん調査

市内8か所において、環境庁ろ過式採雨器による降下ばいじん量、溶解性物質、不溶性物質、pH等の項目について調査を行った。

(6) 環境大気調査

a 酸性雨調査

全国公害研のメンバーとして、酸性雨全国調査及び中四国ブロック酸性雨共同調査に参加し、市内2か所（安佐北区役所、佐伯区役所）における雨水を対象にpH、導電率、陽イオン、陰イオン等全13項目についての調査を行うとともに、酸性雨の影響をよりの確に把握するため、広島市植物公園内において、土壌及び森林内降雨調査を行った。

b アスベスト調査

環境大気中のアスベスト汚染状況把握のため、市内8か所において調査を行った。

c NOx 調査

市内全域の幹線道路における窒素酸化物による汚染実態把握のため、幹線道路を500m～1kmのメッシュに区切り簡易測定法による調査を行った。

d 未規制物質調査

環境大気中の未規制物質（フロン11、フロン12等）の調査を市内4か所で行った。

3. 特殊公害関連業務

特殊公害関連業務では、環境の生物学的調査としての水生生物調査、環境放射能調査、土壌・廃棄物中の有害物質の試験、各種有害化学物質の調査を実施した。また、河川の水辺環境保全に関する調査として、「身近な水生生物の生息環境調査」を4か年計画で実施している。

表5は、平成3年度に実施した試験検査件数及び延べ項目数である。

表5 特殊公害関連業務試験件数

区 分	件 数	延項目数
環境の生物学的調査	33	99
環境放射能調査	120	274
土壌・廃棄物試験	15	90
有害化学物質調査	240	1,001
廃水処理装置処理水試験	261	261
身近な水生生物の生息環境調査	16	136
計	685	1,861

(1) 環境の生物学的調査

環境の汚染状況を、生物を指標として評価することを行っており、平成3年度は水質の汚濁をより総合的に把握することを目的として、底生動物の生息分布状況の調査を行った。

平成3年度の調査は、太田川支流5地点において春夏秋冬の各季節について行った。

(2) 環境放射能調査

環境中の放射能レベルを把握し、その推移を監視するために、河川水、雨水、降下じん、食品等について全β放射能測定、トリチウム測定、γ線核種分析を行った。

測定試料、測定項目等の内訳は表6のとおりである。

表6 試料別放射能測定件数

測定項目	件 数	全 β 放射能	トリチウム	γ線核種 分 析
陸 水	22	22	22	22
海 水	7	7	7	7
定時降水	12	—	12	—
降下じん	12	12	—	12
浮遊粉じん	12	12	—	12
食 品	9	9	—	9
地 下 水	5	5	5	5
水 道 水	12	12	12	12
海・河底土	17	17	—	17
松 葉	6	6	—	6
土 壌	6	6	—	6
計	120	108	58	108

(3) 土壌・廃棄物試験

行政依頼及び一般依頼により、土壌・廃棄物中の有

害物質について、溶出試験、成分試験を実施した。

(4) 有害化学物質調査

a トリクロロエチレン等調査

水質汚濁防止法に基づき、公共用水域、地下水、事業場排水について、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンの調査を実施した。また同時に、1,1,1-トリクロロエタン、四塩化炭素についても調査を実施した。調査件数は150件計597項目である。

b PCB調査

水質汚濁防止法に基づき、公共用水域、地下水、事業場排水について、68件の調査を実施した。

c ゴルフ場農薬汚染実態調査

ゴルフ場に散布される農薬による環境汚染が社会問題となり、「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針」に基づき、ゴルフ場の排水口及び下流の河川22地点について、24物質計240項目の調査を実施した。

(5) 廃水処理装置処理水試験

市立の試験検査機関、病院及び高校等において発生する有害物質を含む廃液を一括処理している、当所の処理施設の処理排水について、PCB等有害物質の試験を実施した。

(6) 身近な水生生物の生息環境調査

豊かな環境を求める市民ニーズをふまえ、自然環境の保全に関する調査を開始し、平成3年度は水辺環境の保全に関する調査として、感潮河川の生物の指標化、水辺の生物の生息環境調査、水辺の生物の分布調査を実施した。

調査研究報告

I 調査研究

食品中のEDTAの簡易分析

福田 裕 寺西 三恵 山下 珠生 村野勢津子
 吉田 宏* 松室 信宏 恋田 和憲 久保田明利
 津江 芳樹

食品中のエチレンジアミン四酢酸 (EDTA:酸化防止剤) の簡易分析法について検討を行った。前処理にプレパックカートリッジカラム (イオン交換相) を用い、また EDTA がビスマス (Bi) と速やかに反応し、紫外部に特異的な吸収をもつ EDTA-Bi キレート を生成することを利用して、吸光光度法で分析を行った。添加回収率は清涼飲料水93.6~102%, その他の食品88.7~94.0%であった。

はじめに

エチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム (EDTA-Ca) 及びエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA-Na) は、酸化防止剤として昭和58年に缶詰、瓶詰食品への使用が許可された。現在、食品中のEDTAの定量法としては、ガスクロマトグラフ法¹⁾、高速液体クロマトグラフ法²⁾⁻⁵⁾等が報告されているが、操作が煩雑であり、スクリーニング法として日常の検査を行う上で簡便性に欠ける面がある。

今回、前処理としてプレパックカートリッジカラム (イオン交換相) を用い、また EDTA がビスマス (Bi) と速やかに反応し、紫外部に特異的な吸収をもつ EDTA-Bi キレート を生成する⁶⁾ことを利用して、吸光光度法による食品中のEDTAの簡易分析法について検討を行った。

方 法

1 試薬

100ppm Bi 溶液: 塩化ビスマス151mgを濃塩酸16.6mlに溶かし、精製水で200mlに定容した。そのうち10mlを分取し、1N塩酸で50mlに定容した。

1%N-ベンゾイル-N-フェニルヒドロキシルアミン (BPA) 溶液: BPA0.2gを1N水酸化ナトリウム2mlに溶かし、精製水で20mlにした。なお、本品は水溶液では不安定であるため、使用時に調整した。

2 プレパックカートリッジカラム

アナリティケムインターナショナル社製 Bond Elut SCX (ベンゼンスルホン酸基) 及び NH₂ (アミノプロピル基) を使用した。なお、本品を使用時にメタノール10ml, 0.1N塩酸20ml及び精製水20mlで洗浄した。

3 装置及び測定条件

分光光度計: 日立製 100-60型

測定波長: 263nm

4 試験溶液の調整

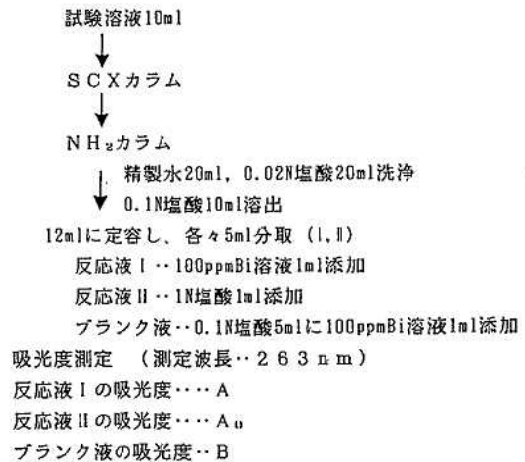
(1) 清涼飲料水

試料10gに1%BPA溶液2mlを加え精製水で50mlに定容し、混和した。BPAを抽出するためクロロホルム20mlを加え、5分間振とうし、遠心分離を行い、水層 (上層) を試験溶液とした。

(2) その他の食品

試料10gに1%BPA溶液2ml及び精製水40mlを加えホモジナイズした。試料中の脂肪分及びBPAを抽出するため、クロロホルム30mlを加え、5分間振とうし、遠心分離を行い、水層 (上層) を分取した。残さに精製水20mlを加え、振とう・遠心分離し、水層を分取した。同操作を再度行い、水層を合わせて精製水で100mlに定容し、試験溶液とした。

5 分析方法



$$A - A_0 - B$$

図1 分析方法のフローチャート

*現 広島市中保健所環境衛生課

分析方法を図1に示す。試験溶液10mlをSCXカラムに通し、続いてNH₂カラムを通してEDTAをNH₂カラムに吸着させ、NH₂カラムを精製水20ml及び0.02N塩酸20mlで洗浄した。つぎに0.1N塩酸10mlでEDTAを溶出させ、0.1N塩酸で12mlに定容した。

その溶液を各々5ml、2本分取し、一本には100ppm Bi溶液1ml添加し反応液Iとし、他の一本には1N塩酸1ml添加し反応液IIとした。ブランク液として0.1N塩酸5mlに100ppm Bi溶液1ml添加した液を用いた。

各々の溶液の263nmにおける吸光度を測定し、その吸光度の差によってEDTAを定量した。

結果と考察

1 Bi溶液の検討

Biは難溶性の塩を生成しやすく、またEDTAと選択的に安定なキレートを生成し他の金属の影響を抑えるため、溶液は酸性側で調整することとした。そのため溶液の酸として塩酸、リン酸、硫酸、硝酸及び過塩素酸で検討した。リン酸、硫酸及び硝酸のBi溶液は紫外外部吸収が大きく、また過塩素酸のBi溶液はきょう雑物の影響を受けやすく吸光度が変化するため、本法には不適當であった。本法では比較的紫外外部吸収の小さい塩酸を溶液として用いることとした。

つぎに、Biの塩酸溶液におけるEDTAとの反応性及びBi溶液の紫外外部吸収について塩酸濃度を変化させて調べた。塩酸濃度によるEDTAとBiの反応性について図2に、Bi溶液の吸光度について図3に示す。塩酸濃度が濃くなるに従って吸光度は低くなり、EDTAとBiの反応性は悪くなった。逆に、Bi溶液の吸光度は塩酸濃度が薄いほど高くなった。

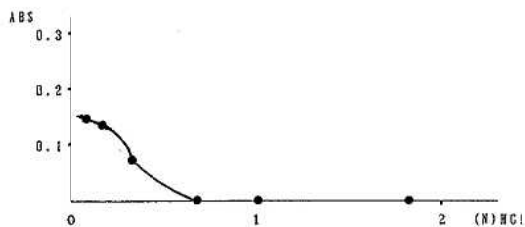


図2 塩酸濃度によるEDTAとBiの反応性

この結果より、Bi溶液の塩酸濃度を1N塩酸で行うこととした。

また、本条件でのEDTA-Biの極大吸収波長である263nmを測定波長とした。

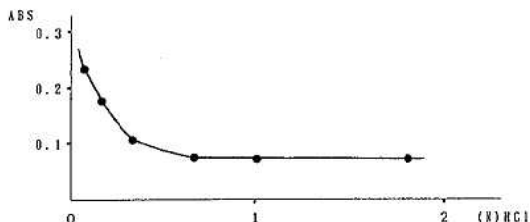


図3 塩酸濃度によるBi溶液の紫外外部吸収

2 カラムの選択

食品中からのEDTAの分離・精製の目的でイオン交換型カラムについて検討した。EDTAは配位した金属の種類あるいはイオン交換型カラムの官能基の種類によってカラムからの溶出パターンが異なる⁹⁾。本法は簡易分析を目的としており、また使用基準がEDTA-Caとして設定されていることから、同一画分にEDTA-Ca及びEDTA-Naが溶出するBond Elut NH₂ (アミノプロピル基)を用いることとした。

また、Bond Elut SCX (ベンゼンスルホン酸基)を試験溶液中のきょう雑物の影響を低減する目的で、NH₂カラムに通す前に用いた。

3 カラムからの溶出条件

BiとEDTAを塩酸性下で反応させるため、NH₂カラムからの溶出パターンを塩酸濃度を変えて検討した。EDTA-Ca100~200μg添加し、各5ml毎に分取した。その結果を図4に示す。

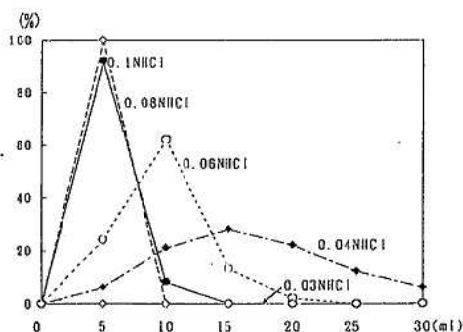


図4 NH₂カラムからの溶出パターン

0.03N塩酸30mlでは、NH₂カラムからEDTA-Caは溶出しなかった。また、0.1N塩酸5mlではほぼ100%溶出した。

本法ではきょう雑物の影響を抑えるため0.02N塩酸20mlでカラムを洗浄し、0.1N塩酸10mlでEDTAを溶出させることとした。

4 検量線

本法の条件で検量線を作成した。その結果を図5に示す。EDTA-Ca₀~100 μg の範囲で、原点を通る直線性が得られた。

また、EDTA-Na も定量的に EDTA-Bi に変換した。

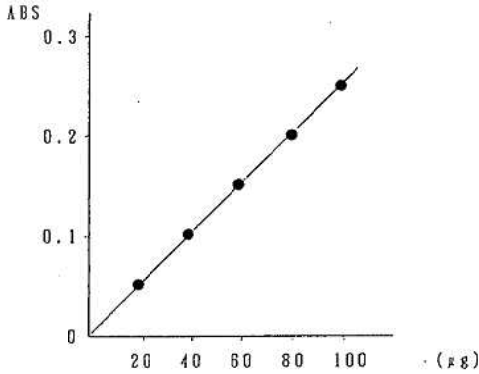


図5 EDTA-Biの検量線

5 共存物質の影響

(1) アミノ酸・有機酸

食品に含まれる成分によって EDTA の NH₂カラム に対するの吸着低下、Bi との反応阻害、紫外部吸収による測定時の妨害等が懸念される。そのため、食品に比較的多く含まれるアミノ酸 (L-ヒスチジン、L-フェニルアラニン、L-アラニン、L-アルギニン、L-アスパラギン酸、L-プロリン、グリシン、グルタミン酸)、有機酸 (クエン酸、酒石酸、乳酸、リンゴ酸) 及びL-アスコルビン酸について検討した。

清涼飲料水、缶詰等の酸味料、酸化防止剤として使用されるクエン酸、酒石酸及びL-アスコルビン酸に

ついては、EDTA-Ca 100 μg に対して20倍量の2000 μg を、その他については10倍量の1000 μg を添加し、EDTA の回収率を求めた。酒石酸を添加した場合の回収率は94%、L-アスコルビン酸では96%、他はすべて98%以上であった。また、測定時に妨害となる紫外部吸収もなかった。本法において食品中のアミノ酸及び有機酸による影響は小さいものと考えられる。

(2) 金属イオン

EDTA は種々の金属イオンとキレートを生成しやすく、とりわけ酸性側でFeと安定なキレートを生成する。EDTA とBi との反応阻害、またFe及びEDTA-Feに紫外部吸収があることから測定時の誤差の原因となるため、BPAによるFeの除去⁷⁾を検討した。EDTA-Fe 500 μg に対して10倍量のBPA 5000 μg 添加し、本法に沿って試験を行った。

EDTA-FeからのFeの除去率は96%と良好であった。

6 添加回収実験

市販の缶詰、瓶詰食品に使用基準の6割のEDTA-Caを添加して、回収実験を行った。その結果を表1に示す。

添加回収率は清涼飲料水93.6~102%、その他の食品88.7~94.0%であった。なお、帆立貝缶詰は反応液の紫外部吸収が大きく、測定時に妨害となるため、SCXカラムを直列に2本使用した。

つぎに、EDTA無添加のマヨネーズ試験溶液を使用し、EDTA-Ca 100 μg 添加してカラムの再現性を確認した。(n=5)

回収率は93.5~102%、平均98.2%であった。

7 市販食品の分析

缶詰、瓶詰の清涼飲料水16検体 (輸入品 9 検体)、

表1 添加回収実験結果

食品名	添加量 (mg/kg)	分析値 (mg/kg)	回収率 (%)
炭酸飲料(ノンアルコールビール)	25.0	25.0	100
〃 (コーラ)	25.0	25.5	102
〃 (無果汁)	25.0	25.0	100
果汁入飲料(100%リンゴ)	25.0	23.7	94.8
〃 (100%オレンジ)	25.0	23.7	94.8
〃 (100%グレープフルーツ)	25.0	23.4	93.6
グリーンピース	150	141	94.0
小えび	150	136	90.7
ずわいがに	150	140	93.3
帆立貝	150	134	89.3
スイートコーン	150	134	89.3
パインアップル	150	133	88.7
ポテト	150	133	88.7
ドレッシング	150	141	94.0
マヨネーズ	150	141	94.0

表2 市販の缶詰, 瓶詰食品の分析結果
(EDTA-Caとして(mg/kg))

食品名	原産国	分析値
炭酸飲料(無果汁)	日本	ND
〃	〃	〃
ベビーフード(100%オレンジ)	〃	〃
炭酸飲料(コーラ)	〃	〃
〃	〃	〃
果汁入飲料(100%オレンジ)	〃	〃
〃 (100%リンゴ)	〃	〃
果汁入飲料(100%リンゴ)	アメリカ	〃
〃 (100%リンゴ)	〃	〃
〃 (100%オレンジ)	〃	〃
〃 (30%果汁)	〃	〃
炭酸飲料(無果汁)	〃	〃
〃 (ノンアルコールビール)	〃	〃
ミネラルウォーター	カナダ	〃
果汁入飲料(100%グレープフルーツ)	イタリア	〃
炭酸飲料(ノンアルコールビール)	ドイツ	〃

グリーンピース	日本	ND
小えび水煮	〃	〃
まるずわいがに水煮	〃	〃
帆立貝水煮	〃	〃
マヨネーズ	〃	〃
スイートコーン	アメリカ	〃
ライブオリーブ	〃	〃
サンドイッチ・スプレッド	〃	43
ポテト	カナダ	ND
分離液状ドレッシング	イタリア	〃
トマト	〃	〃
チック豆	スペイン	56
アーティチョークボトム	〃	ND
ビメント	〃	〃
フォアグラ	フランス	〃
マスタード	〃	〃
黄桃	ギリシャ	〃
コンビーフ	アルゼンチン	〃
ココナッツミルク	タイ	〃
ヒシコイワシのオイル漬	ポルトガル	〃
パインアップル	フィリピン	〃
パインアップル	マレーシア	〃
アスパラガス	中国	〃
いわしの油漬	ノルウェー	〃

その他の缶詰, 瓶詰食品24検体(輸入品19検体)について本法を用いて分析を行った。その結果を表2に示す。

スペイン産のチック豆缶詰より, EDTA-Caとして56mg/kg, アメリカ産のサンドイッチ・スプレッド瓶詰より43mg/kg検出した。なお, 両品ともEDTA使用の表示があった。

本法は2種類のプレパックカートリッジカラムを用いて分離・精製を行い, 簡便にEDTAを分析することができた。本法での定量限界は吸光度差0.02としたとき清涼飲料水10mg/kg, その他の食品20mg/kgである。

なお本研究の一部は, 第28回全国衛生化学技術協議会年会(1991.10.9広島市)で発表した。

文 献

- 1) 三原 翠 他:食品中のEDTAの分析(II), 食衛誌, 11, 88-92(1970)
- 2) 矢部 芳枝 他:高速液体クロマトグラフィーによる食品中のEDTAの分析について, 食衛誌, 24, 220-224(1983)
- 3) 大石 充男 他:食品中のEDTAの分析, 東京衛研年報, 34, 211-215(1983)
- 4) 山口 昭弘 他:高速液体クロマトグラフィーによる缶詰, 瓶詰食品中のエチレンジアミン四酢酸とそのカルシウム(II)及び鉄(III)キレート の分別定量法について, 食衛誌, 26, 253-259(1985)
- 5) 浜野 孝 他:カラムクロマトグラフィーによる食品中の遊離型EDTA及び金属キレート型EDTAの分離定量法, 食衛誌, 26, 630-637(1985)
- 6) 坂口 武一ら編:金属キレート [II], 194-215, 南江堂, (1966)
- 7) ユ・ア・ゾロトフ:キレート化合物の抽出, 培風館, (1972)

生カキ流通過程でのトリフェニルテトラゾリウムホルマザン生成量測定と鮮度判定

村野勢津子 石津 敏之*1 松室 信宏 山下 珠生
 寺西 三恵 吉田 宏*2 福田 裕 恋田 和憲
 久保田明利 津江 芳樹

カキのエラ中のTF生成量を測定したところ、生産、流通、小売と段階を経るにしたがってその値は低下した。水揚げ直後の鮮度の良いカキについての一年間の測定値の変化をみると、冬季にさがる傾向がみられた。こうした季節変動や個体差を考慮に入れることで、TF生成量測定値を用いて流通途中のカキ、市販のカキについて鮮度を判定することができた。

はじめに

カキは広島を代表する特産品で、様々な調理法で広く一般に親しまれている。養殖された海域により生食用と加熱調理用に分けられ、生食用のものには成分規格(細菌数50,000/g以下, *E.coli* 最確数230/100g以下)、保存基準(10℃以下保存)等設けられている。しかし、細菌数が少ない場合でも鮮度は低下していることもあり、細菌数では必ずしも鮮度をあらわすことはできない。従来カキの鮮度はTTC反応による発色度合を定性的に判断してきたが、東京都杉並区衛生試験所の角田らは、鮮度を定量的にとらえる方法として、TTC反応によって生成するトリフェニルテトラゾリウムホルマザン(TF)量を定量する方法¹⁾³⁾を発表した。この方法を用いて、生産から小売まで段階を経て鮮度を測定することにより鮮度低下の要因を知り、それを取り除くことができれば食中毒の予防に役立てることができる。

今回、TF生成量を鮮度判定の指標とするため、生産処理段階のTF生成量を年間を通して測定し、カキの販売期には加工流通段階、小売段階のTF生成量も測定し基礎的データを得たのでこれを報告する。さらに、TF生成量低下の要因であると思われる浸漬水の塩分濃度および保存温度について再現試験を行なったのでこの結果を併せて報告する。

方 法

1 対象検体

鮮度試験に供したカキは、保健所の取去による原料カキ(剥き身の状態で保管してあるもの)89検体および剥き身をパック詰めしたもの(以下パックカキとい

う)32検体と広島市水産振興センターで養殖したカキ(以下水産カキという)23検体である。原料カキおよびパックカキについては剥き身の状態で搬入されたが、水産カキについては殻付の状態での搬入され、試験直前に開殻し剥き身とした。

2 試験期間

原料カキは平成2年11月から平成3年2月および平成3年11月から平成4年1月、パックカキは平成2年11月から平成3年2月および平成3年11月から平成4年1月、水産カキにおいては平成2年10月から平成4年2月である。

3 試薬

トリフェニルテトラゾリウムホルマザン標準品：東京化成製特級、塩化2,3,5-トリフェニルテトラゾリウム(TTC)：和光純薬製細菌発育阻止物質検出用を用いた。

その他の試薬は、市販の一级品または特級品を用いた。

TTC試液：TTC 2g, コハク酸ナトリウム 1g, リン酸水素二ナトリウム 28.4g, 塩化ナトリウム 23.4gに水を加えて1ℓとした。

4 装置

分光光度計：日立 100-60型、恒温水槽：東京理化学機械サーミスタ低温恒温水槽 CH-260, pHメーター：堀場製作所 F-7 II型を使用した。

5 試験操作法

(1) TF生成量の測定法

角田ら³⁾に準じて以下のように操作した。10個体のカキから約1gずつエラ部分を付根から丁寧に切り取り試料とした。試料を精確に測り、TTC試液100mlと消泡剤をいれ2分間振とうした。37℃湯浴中で30分発色させた後氷水中で急冷し、プラスチック製のざるを

*1 広島市環境衛生課

*2現 広島市中保健所環境衛生課

用いて水をよく切った。エタノール150mlを加え、振とう器を用いて2分間振とう抽出した。直ちに5Aのろ紙を用いてろ過し、エタノールで2~5倍に希釈した後484nmにおける吸光度を測定し、検量線よりTF生成量を算出した。TF生成量測定のプローチャートを図1に示す。

(2) pHの測定法

剥き身についてはエラ部分を切り取った残りの試料に10倍量の蒸留水を加えてホモジナイズした後、ろ過してろ液についてpHメーターを用いて測定した。カキ殻中の海水についてはそのまま測定した。

(3) 塩分濃度の測定法

モール法により硝酸銀で滴定し、塩素量より算出した。

10個体からエラを約1gずつ切り取り試料とする
試料を精秤する

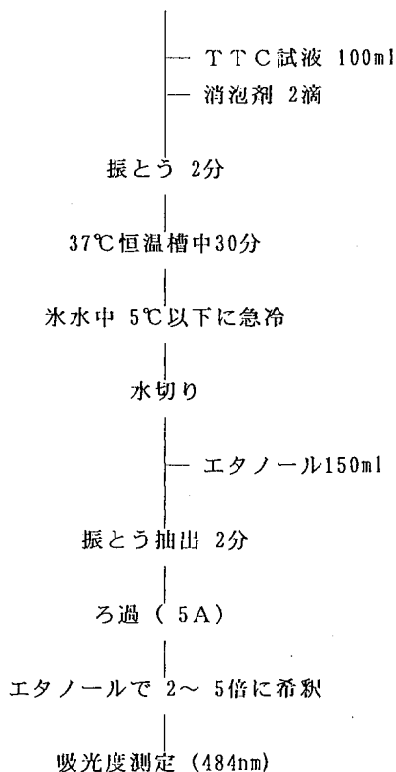


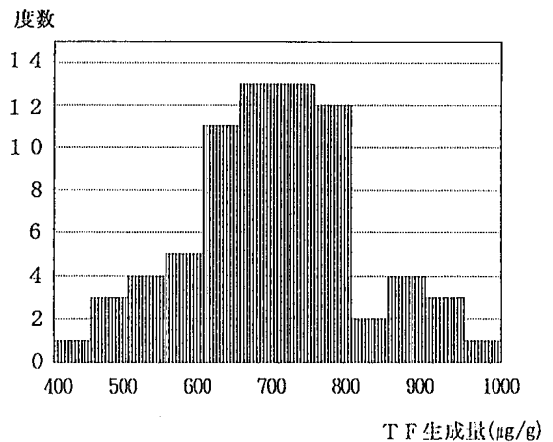
図1 カキのTF生成量測定方法

結果と考察

1 エラ採取時の1個体あたりの個体数の検討(個体差の検討)

個体差をみるためにカキ72個体のTF生成量を1個体ずつ測定した。その結果を図2に示す。図2をみると、400~980 $\mu\text{g/g}$ の範囲でほぼ左右対称の分布を示した。1個体ずつTF生成量を測定した場合、その数値の差が鮮度の差か個体差かを判断することは大変困難であり、鮮度判定を行なうためには個体差を消去する必要がある。

そこで、1個体あたりの個体数を決定するために、パーソナルコンピュータを用いて以下の検討を行なった。72個体それぞれの測定値から重複しないように無作為にn個抽出し、n個の平均値を算出した。この操作を1000回繰り返して算出された1000個の平均値について、平均、標準偏差、変動係数を求めた。抽出数を30, 20, 10, 8, 7, 6, 5, 3, 2, 1とした場合



個体数	72
中央値	690
平均値	690
範囲	400~980
標準偏差	115.2
変動係数	16.6

図2 カキのTF生成量度数分布

の結果を表1に示す。変動係数が大きいと平均値のバラツキが大きいことを示し、抽出数は1検体あたりの個体数を表すこととすると、変動係数が5を超える8個以下については不適當と思われる。また、試料採取に要する時間は短いほうが良いので、個体数は少ないほうが好ましいと思われる。

以上の結果を考慮して、1検体あたりの個体数を10個体とした。

2 TF生成量の季節変動

水産カキは採取してから試験に供するまでの時間が短いこともあって鮮度は良いといえるので、原料カキおよびパックカキの鮮度を判定するうえで、そのTF生成量測定値は対照値であると考えられる。この対照となる水産カキのTF生成量測定値について季節変動をみた。

表1 カキTF生成量の72個体の測定値から重複しないように無作為にn個抽出して求めた平均値のバラツキ計算結果

n	無作為にn個抽出して求めた平均値1000個の		
	平均	標準偏差	変動係数
30	693.0	16.0	2.3
20	692.8	21.1	3.0
20	692.4	22.0	3.2
10	692.9	33.3	4.8
10	692.3	32.6	4.7
8	692.8	38.2	5.5
8	691.2	39.6	5.7
7	690.9	42.1	6.1
6	692.2	45.9	6.6
5	694.7	49.2	7.1
3	689.9	65.8	9.5
2	694.4	77.6	11.2
2	690.1	83.0	12.0
1	692.6	112.4	16.2
1	681.7	114.2	16.7

平成2年10月から平成4年2月までの間に23回、水産カキについて試験を行なった。試験項目はTF生成量、pH、カキ殻中の海水のpH、および塩分濃度である。測定値をそれぞれ項目別に図3に示した(殻中の海水のpHについてはデータ数が少ないので後に範囲と平均のみ示した)。図3をみると、平成2年12月から平成3年3月と平成3年11月から平成4年2月の二ヶ所に落ち込みがみられ、TF生成量は冬季に低下する傾向にあると思われる。pHについては、剥き身の値もカキ殻中の海水の値も季節変化せず、剥き身のpHは6.4~6.7の範囲で平均6.5、カキ殻中の海水のpHは7.2~7.7の範囲で平均7.5であった。カキ殻中の海水の塩分濃度は2.6~3.1の範囲で平均2.9であり、pHと同様季節変動はみられなかった。

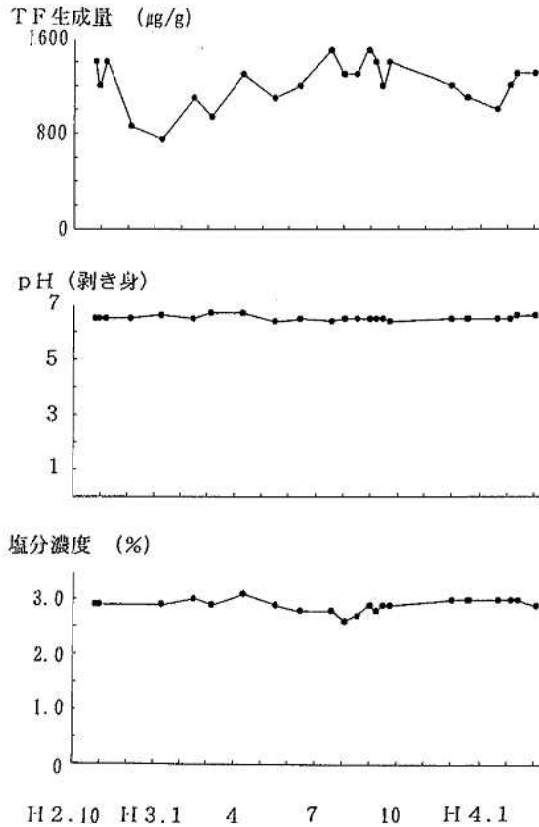


図3 水産カキにおける項目別データ

表2 浸漬水の塩分濃度別のTF生成量

漬けはじめの浸漬水 塩分濃度 (%)	TF生成量 ($\mu\text{g/g}$)
0	440
0.5	1000
1.0	950
2.0	1300
2.6	1400
3.0	1500

浸漬時間：90分 浸漬水量：250ml
浸漬温度：15℃

3 浸漬水塩分濃度および保存温度のTF生成量への影響

(1) 浸漬水の塩分濃度がTF生成量へ及ぼす影響

鮮度が良いと思われる原料カキについて、浸漬水の塩分濃度を6段階に変えて90分間浸漬したあと、TF生成量を測定した。浸漬条件と結果は表2に示す。この結果から塩分濃度は高い方がTF生成量は高いことがわかる。

(2) 保存温度の影響

3段階の浸漬水塩分濃度について、5℃以下で4日間保存し、1日経過する毎にTF生成量およびpHを測定した。同様に18℃で3日間保存した場合についても測定した。その結果を図4に示す。5℃以下で保存した場合は18℃で保存した場合に比べると、どの塩分濃度の場合もTF生成量の低下が緩やかである。また

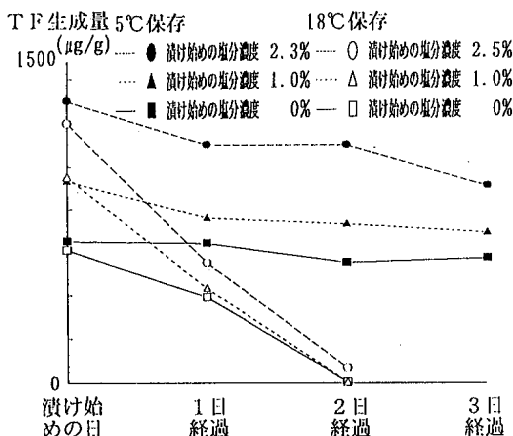


図4 保存温度の違いによるTF生成量の変化

塩分濃度の差によるTF生成量低下速度の差はみられない。この結果、保存温度が高いとTF生成量は急速に低下することがわかった。

保存温度-20℃以下で冷凍した場合のTF生成量を測定した。その結果、保存前に1200 $\mu\text{g/g}$ であった値が、冷凍後3日では390 $\mu\text{g/g}$ に低下した。同じ検体を5℃以下で3日間保存したあと測定した値は520 $\mu\text{g/g}$ であった。冷凍することにより酵素が失活したためや細胞組織が破壊されたためと思われる。

4 水産カキ、原料カキ、パックカキのTF生成量の比較

水産カキ、原料カキ、パックカキについて平成2年11月～平成3年3月、および平成3年11月～平成4年2月のTF生成量の月別平均を表3に示す。鮮度が最も良いと思われる水産カキが最も高く、ついで原料カキ、パックカキの順となる。また、原料カキ、パックカキにも季節変動がみられ、水産カキ同様の推移を示す。

表3 月別生カキTF生成量測定結果

月	項目	平成2年度			平成3年度		
		水産カキ	原料カキ	パックカキ	水産カキ	原料カキ	パックカキ
11	検体数	11	13	3	1	34	5
	TF量 ($\mu\text{g/g}$)	1400	1100	340	1200	1100	860
12	検体数	12	14	6	1	11	4
	TF量 ($\mu\text{g/g}$)	860	590	380	1100	930	760
1	検体数	10	9	9	1	4	4
	TF量 ($\mu\text{g/g}$)	750	570	330	1100	1300	570
2	検体数	11	2	1	1	-	-
	TF量 ($\mu\text{g/g}$)	1100	1100	700	1300	-	-
3	検体数	10	2	-	-	-	-
	TF量 ($\mu\text{g/g}$)	940	1200	-	-	-	-

以上の結果からカキの鮮度を定量的にとらえる方法としてTF生成量を測定することは充分有効であると思われる。ただし、TF生成量を鮮度の指標とする場合、水揚げ直後の鮮度の高いカキの季節変動を考慮に入れる必要がある。

また、カキの鮮度を保持するためには、処理、保存、流通のそれぞれの段階で温度、塩分濃度に充分留意することが望まれる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、試料の採取に御協力くださいました水産振興協会の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) 井上典子 他：TTC (2,3,5,-Triphenyl tetrazolium Chloride) を用いた貝類の脱水素酵素活性の簡易比色定量法 (第1報), 東京都杉並区衛生試験所年報, 1, 79~86 (1984)
- 2) 角田光淳 他：テトラゾリウム塩を用いたカキの脱水素酵素活性の簡易比色定量法, 食衛誌, 26 (3), 229~233, (1985)
- 3) 角田光淳 他：テトラゾリウム塩を用いた貝類の脱水素酵素活性の簡易比色定量法の改良, 食衛誌, 27 (5), 487~491, (1986)

神経芽細胞腫関連化合物の液体クロマトグラフ —質量分析法

恋田 和憲 細末 次郎 長谷川富子 松尾 愛子
矢野 泰正 高野 義夫 津江 芳樹

VMA, HVA, VLA, アセトアミノフェンについてLC-MS法を検討した。また風邪薬を服用後の尿を本法に適用したところ、尿中にアセトアミノフェンの代謝体であるグルクロン酸抱合体を確認した。

はじめに

神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおいて、ある種の風邪薬を服用した場合、測定を妨害するピークが現われ、本スクリーニングの判定に影響することを前号¹⁾で報告した。これは風邪薬の成分であるアセトアミノフェンが生体内で代謝を受け、尿中に排泄されたためであることが分かった。一般に薬物は生体内の解毒機構によりグルクロン酸あるいは硫酸等の抱合体となり尿中に排泄される。

液体クロマトグラフ—質量分析 (LC-MS) 法²⁾は近年、インターフェイスとイオン化法の進歩により生化学分野の他、種々の分野における化合物に対して適用されるようになってきた。現在、LC-MS法での主なイオン化法としては高速原子衝撃化 (FAB) 法³⁾、二次イオン質量分析 (SIMS) 法、大気圧イオン化法、サーモスプレーイオン化法⁴⁾、エレクトロスプレーイオン化法等が用いられている。

LC-MS法の特徴としてはイオン化法がソフトなため、極性が高く、化学的にも熱的にも不安定な揮発性の化合物についても、イオン化することが可能である。これらの化合物は通常のガスクロマトグラフ—質量分析 (GC-MS) 法においては、イオン化は難しく、分析することが出来ない。また本法により得られたMSスペクトルはフラグメントが少ない単純なMSパターンを示し、分子イオン種 (MH⁺) や付加イオン等未知化合物の構造決定の上で重要なピークが現われやすい。

しかし、移動相の液性、マトリックスの選択、感度等測定条件で解決すべき問題が残されており、GC-MS法ほどは普及していない。

そこで今回、神経芽細胞腫のマス・マーカーでカテコールアミンの代謝経路の最終産物として知られるワニールマンデル酸 (VMA)、ホモワニリン酸 (HVA)、ワニール酪酸 (VLA) とアセトアミノフェンをLC-MS法により分析し、あわせて風邪薬を服用後の尿に

ついて本法を適用した。

方 法

1 試薬

VMA, HVA, VLA (ナトリウム塩) はシグマ社製を、アセトアミノフェンは和光純薬製特級を用いた。

他の試薬は和光純薬製及び東京化成製の特級及び一級を用いた。

2 標準液の調製

VMA, HVA, アセトアミノフェンは10mg, VLAは11.2mg量り、別々のメスフラスコに入れ、メタノールで100mlにした。

3 装置

質量分析装置：日本電子製 AX-505WA

液体クロマトグラフ装置：ヒューレットパッカー
製 HP1050

4 LC-MS測定条件

イオン化モード：正イオン FAB

イオン加速電圧：3KV

カラム：島津製 CLC-VMA

移動相：A液：0.1%トリフロロ酢酸

B液：メタノール

B液を0~30%まで20分間グラージエント

流量：1.0ml/min

UV波長：280nm

マトリックス：3%グリセリンをカラムの後で
0.3ml/minの流量で添加

結果と考察

1 フリット—FAB—LC—MS法

今回、インターフェイスをフリット、イオン化法をFAB法としたLC-MS法を行なった。本方法ではLCからの溶出液は多孔質のステンレス鋼のフリット表面に徐々に浸み出し、キセノン粒子衝撃によりFABイオン化を受ける。

方法1で調製した100 μ g/mlの標準溶液100 μ lをそ

れぞれ LC-MS に注入した。LC での保持時間は VMA 6.3分, VLA 11.2分, HVA 12.0分であった。それぞれの MS スペクトルを図 1 から 3 に示す。

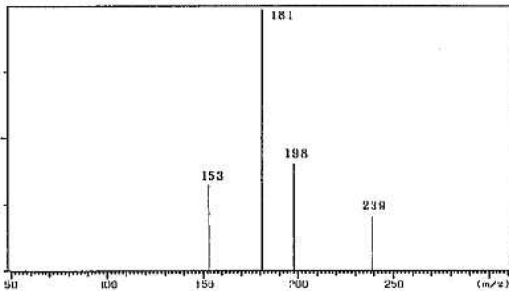


図 1 VMA の FAB-MS スペクトル

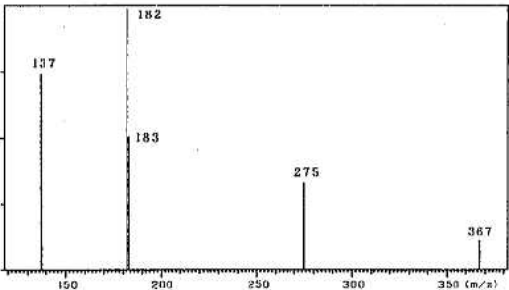


図 2 HVA の FAB-MS スペクトル

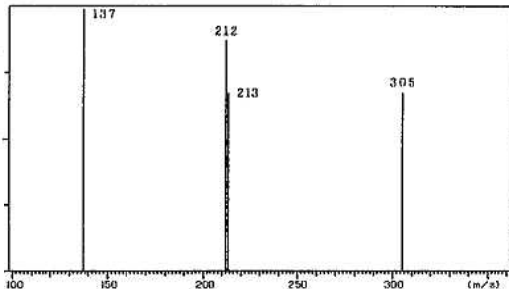


図 3 VLA の FAB-MS スペクトル

VMA (図 1) では m/z 198 に分子量ピーク [Relative Intensity (R.I.) : 40%] が, m/z 181 に分子量から水酸基が脱離したベースピークが, m/z 153 に分子量からカルボキシル基が脱離したピーク (R.I. : 35%) がそれぞれ得られた。

HVA (図 2) では m/z 182 に分子量ピークがベースピークとして, m/z 183 に分子量にプロトンが付加した MH^+ のイオン (R.I. : 50%) が, m/z 275 に MH^+ にグリセリン (分子量 : 92) が付加したピーク (R.I.

: 40%) が, また m/z 137 にカルボキシル基が脱離したピーク (R.I. : 75%) がそれぞれ得られた。

VLA (図 3) では HVA と同様の MS パターンを示した。すなわち m/z 137 にベースピークが, m/z 212 に分子量ピーク (R.I. : 90%) が, m/z 213 に MH^+ (R.I. : 70%) が, m/z 305 に MH^+ にグリセリンが付加したピーク (R.I. : 70%) が得られた。

次にアセトアミノフェン (分子量 : 151) $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ の標準液 $10 \mu\text{l}$ を LC-MS へ注入した。保持時間は 9.2 分で, 得られた MS スペクトルを図 4 に示す。

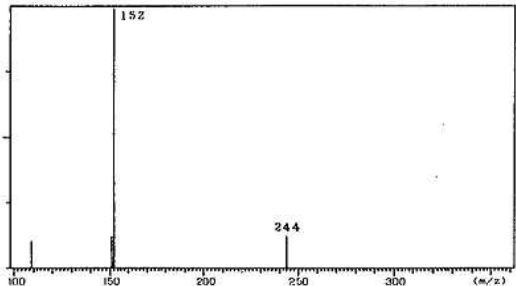


図 4 アセトアミノフェンの FAB-MS スペクトル

m/z 152 に MH^+ のイオンがベースピークとして強く現われ, m/z 244 には MH^+ にグリセリンが付加したイオン (R.I. : 10%) が, m/z 109 に分子量からケトン基が脱離したピーク (R.I. : 10%) がそれぞれ現われたが, その他の質量範囲には何も無い単純な MS スペクトルであった。

このように LC-MS スペクトルでは主として分子量ピーク若しくは分子量にプロトン又はマトリックスとして添加したグリセリンが付加したピークが現われただけで, 他のフラグメントピークは見られない単純な MS パターンであり, 分子量の決定等の構造的な知見が得られるのが特徴であった。

しかし, 検出感度という点においては LC に注入した量がカラム分離後で約百分の一の比にスプリットされることから現在のところ GC-MS と同様の微量分析は難しいと思われる。

また今回の場合, VMA とアセトアミノフェンとで一桁程度検出感度に差があることから, 化合物による感度差もあることが分かった。今回はマトリックスにグリセリンを用いたがトリエタノールアミン等他の化合物についても検討する必要がある。

2 実試料への適用

検体尿 $100 \mu\text{l}$ を LC-MS に注入して, 得られたクロマトグラム (UV 検出器) を図 5 に示す。

保持時間6.3分, 9.3分, 12.0分にそれぞれVMA, アセトアミノフェン, HVAのピークが得られた。VMAに隣接する保持時間5.8分の◎印のピークについてそのMSスペクトル(図6)を求めた。

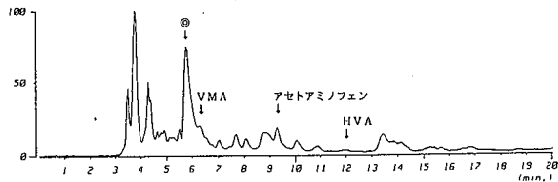


図5 アセトアミノフェン服用後のクロマトグラム

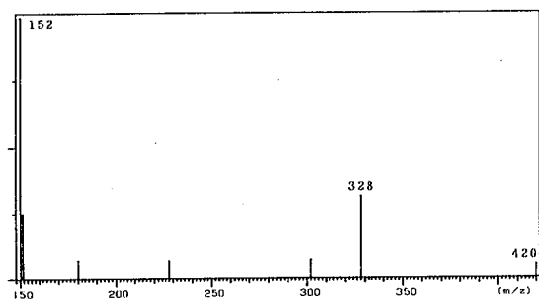


図6 グルクロン酸抱合体のFAB-MSスペクトル

図4のアセトアミノフェンのMSスペクトルとの違いは m/z 328と m/z 420のピークである。 m/z 152のベースピークと m/z 328のピーク(R.I.: 35%)の質量差が176であることから、グルクロン酸(分子量: 194)抱合体を示唆している。さらに m/z 420(R.I.: 8%)とのピークの差92は MH^+ にグリセリンの付加を示している。これらのことからこの保持時間5.8分のピークはアセトアミノフェンのグルクロン酸抱合体であることが分かった。前号¹⁾では尿中のグルクロン酸抱合体については酵素反応を用いた方法で確認したが、LC-MS法により再度確認することが出来た。

今回、LC-MS法について検討したが、MSスペクトルが与える情報は非常に多く、今後、未知化合物の構造解析手段として有用となってくるものと思われる。

またLC-MSによる分析がルーチ的に可能になれば食肉中の合成抗菌剤やゴルフ場使用農薬等、今までGCによる測定が困難であった化合物に対しても適用することが出来、本法を用いることで、より信頼性の高い分析が可能となると思われる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、LC-MSの測定にご協力頂いた日本電子株式会社応用研究センター 松浦 健二氏並びに広島大学医学部 笠井 良次 助教授、またご指導、ご校閲を賜った大阪府立大学農学部 中山 充教授に深謝致します。

文 献

- 1) 恋田 和憲 他: 神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおけるある種の風邪薬の影響について, 広島市衛研年報, 10, 30~34, (1991)
- 2) 土屋 正彦 他: 質量分析法の新展開, 現代化学, 増刊15(1988)
- 3) 今井 準三 他: 神経芽細胞腫マス・スクリーニングで経験したVMA反応偽陽性の原因物質キサンツレン酸, 医学のあゆみ, 152, 133~134(1990)
- 4) 堀江 正一 他: サーモスプレイLC-MSによる食肉中のサルファ剤の一斉分析, 衛生化学, 36, 283~287(1990)

固相抽出／高速液体クロマトグラフィーを用いた 地下水中のゴルフ場使用農薬の一斉分析の検討

細末 次郎 長谷川富子 松尾 愛子 恋田 和憲
矢野 泰正 高野 義夫 津江 芳樹

ゴルフ場使用農薬のアシュラム、オキシ銅、チウラム、イプロジオン、ベンスリドの5種類について固相抽出法を用いて前処理を行い、高速液体クロマトグラフで一斉分析する方法を検討した。pHを3.5に調整した試料水をセップパック プラス PS-1に通水し、アセトニトリルで溶出することにより分離濃縮し、一斉分析することが出来た。高濃度添加ではすべて定量的に回収できたが、低濃度添加ではオキシ銅とチウラムの回収率及び変動係数が若干悪化した。定量限界値は0.1～2.0 $\mu\text{g/l}$ であった。

はじめに

近年、ゴルフ場で使用される農薬による環境や水道水源の汚染問題が提起されたことから、平成2年5月に厚生省及び環境庁から21種類の農薬について水道水中の暫定的水質目標及びゴルフ場排水口における暫定指導指針値が設定され、これに係わる検査方法とともに各都道府県知事に通知があった^{1),2),3)}。更に平成3年7月に9種類の農薬について暫定的水質目標及び暫定指導指針値が追加設定された^{4),5),6)}。

このゴルフ場使用農薬の検査では、ガスクロマトグラフ—質量分析装置、ガスクロマトグラフ及び高速液体クロマトグラフ (HPLC) が分析装置として指定され、前処理にはジクロロメタン抽出による濃縮操作が採用されている。一般に有機溶媒を用いる液液抽出法では、操作時間が長いこと及び多量の有機溶媒を使用することによる環境汚染や長時間の人体暴露による分析者の健康影響も懸念される。また、HPLCにより測定するアシュラム、オキシ銅、チウラムはそれぞれ溶媒抽出の条件が異なっているため、別々に前処理を行わなければならないので操作が煩雑である。

これらの欠点を補うためここ数年、微量物質の濃縮やクリーンアップなどに固相抽出法を用いる分析法が盛んに検討されている。それに伴い、市販される固相抽出用カートリッジも非常に多種類になり、その応用範囲も広がり、ゴルフ場使用農薬についても徐々に応用されてきている^{7),8)}。

そこで、ゴルフ場使用農薬として規制を受けている農薬のなかで HPLC で分析可能なアシュラム、オキシ銅、チウラム、イプロジオン、ベンスリド (SAP) の5種類の農薬について固相抽出法を用いた分析法を検討したので報告する。

方 法

1 試薬

アシュラム、オキシ銅、チウラム、イプロジオン、ベンスリドは、和光純薬工業製の残留農薬試験用を、その他の試薬は和光純薬工業製の液体クロマトグラフィー用を使用した。固相抽出用カートリッジはウォーターズ製のポリスチレンゲルを充填したセップパック プラス PS-1 (PS-1) を使用した。

2 標準溶液

標準原液は、標準品10mgを秤量し、アセトニトリルで100mlとした。標準溶液は、適宜アセトニトリルで標準原液を希釈して用いた。

3 装置

ポン プ：日本分光 TRI ROTAR-V
UV検出器：島津製作所 SPD-10A
恒温槽：日本分光 TU-300
インジェクター：レオダイン 7125

4 HPLC測定条件

カラム：旭化成 Asahi pak ODP-50
C18 5 μm 4.6mmID \times 150mm
移動相：アセトニトリル/50mMリン酸緩衝液
(pH 3.1)+0.1%EDTA=47/53
流速：1.0ml/min
カラム温度：40 $^{\circ}\text{C}$
検出感度：高濃度 0.10AUFS
低濃度 0.02AUFS
注入量：10 μl
検出波長：アシュラム 270nm(0～2.5min)
オキシ銅 240nm(2.5～3.8min)
チウラム 220nm(3.8～6.5min)
イプロジオン 230nm(6.5min～)
ベンスリド 230nm(6.5min～)

5 試験操作法

ポリスチレンゲルを充填した固相抽出用カートリッジ (PS-1) を真空吸引装置 (ウォーターズ製 パキウムマニホールド) に取り付けた後、アセトニトリル及び蒸留水各10mlずつで活性化し、0.1N硝酸を用いて pH3.5に調整した試料水200mlを約10ml/minの流速で通水した。つぎにアセトニトリル/水 (95/5) 2mlで溶出し、試験溶液とした。

結果及び考察

1 HPLC 測定条件の検討

アシュラムほか4種類の農薬を同時分析する場合、特にオキシシン銅がカラム充填剤の金属含有量などに影響され、ピークが出なかったりブロードになることから⁹⁾、合成ポリマー系逆相分配型の Asahipak ODP-50 を分離カラムとして採用した。移動相としてアセトニトリル/50mMリン酸緩衝液を用い、分析時間が20分以内で終了するように割合を47/53とし、カラム等の金属の影響を抑えるために0.1%の割合でEDTAを添加した。また農薬の種類により検出波長が異なるため、検出器のタイムプログラムにより分析中に検出波長を変化させた。

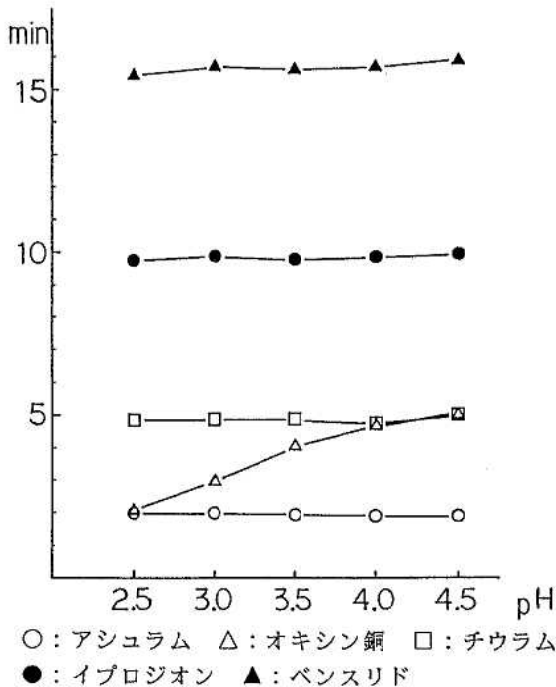
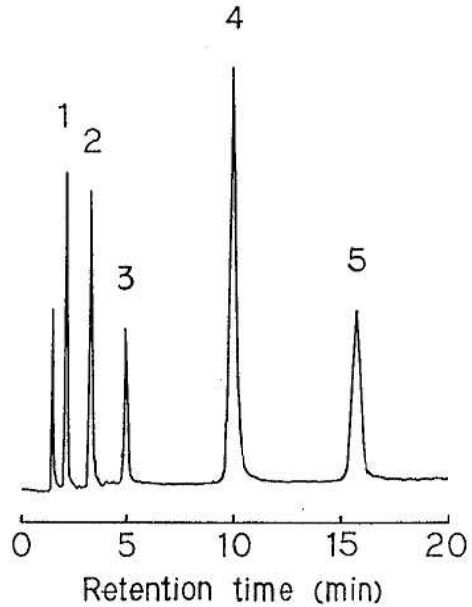


図1 移動相 pH と保持時間との関係

移動相 pH と保持時間の関係を図1に示す。オキシシン銅以外の農薬は pH の影響を受けないで、保持時間は一定であるが、オキシシン銅は緩衝液の pH を低くすると保持時間が短くなり、ピークの分離に影響がみられた。5種類の農薬が完全に分離する最適 pH 値は3.1であった。この測定条件での混合標準溶液のクロマトグラムを図2に示す。



1 : アシュラム 2 : オキシシン銅 3 : チウラム
4 : イプロジオン 5 : ベンスリド

図2 混合標準溶液のクロマトグラム

2 検量線

5種類の農薬についてピーク高さによる検量線を作成した結果、アシュラムは0.1~50ng、オキシシン銅は0.1~100ng、チウラムは0.5~100ng、イプロジオンは1.0~500ng、ベンスリドは2.0~500ngの範囲で注入量とピーク高さの間に原点を通る直線関係が得られた。

3 溶出液の検討

pH を3.5に調整した蒸留水200mlにアシュラム、オキシシン銅、チウラムは5 μg、イプロジオン、ベンスリドは25 μg を添加し、PS-1カラムに通水して農薬成分を保持させた。続いてアセトニトリル/水の混合比を変化させた溶出液2mlで溶出した。図3に各成分の溶出パターンを示す。アシュラムが混合比0.05から溶出し始めるため、溶出前に低濃度のアセトニトリル溶液で成分吸着後のカートリッジをクリーンアップす

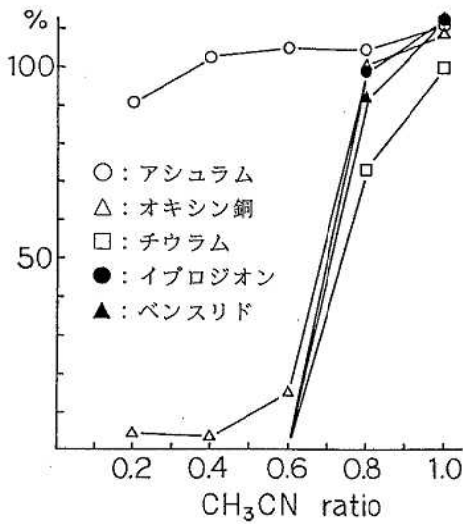


図3 回収率と溶出液のアセトニトリル/水混合比の関係

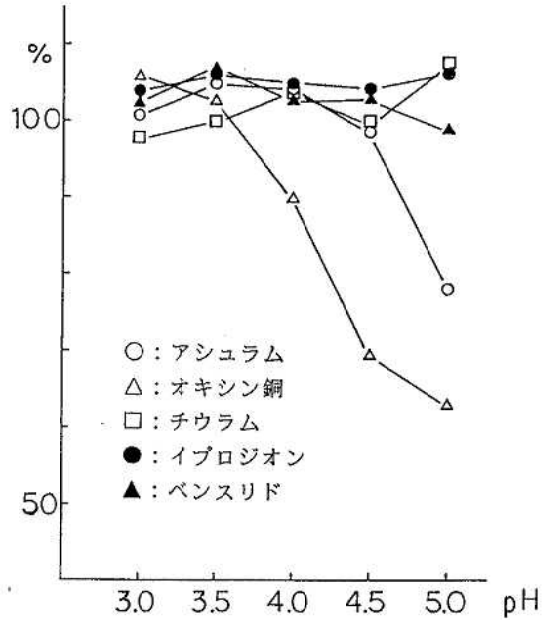


図4 カラム吸着における pH の影響

ることは出来なかった。また5物質とも混合比0.95のときに溶出率が飽和状態となるので、カラムからの溶出には混合比0.95のアセトニトリル溶液を使用することにした。

4 カラム吸着における pH の影響

pH 3.0~5.0の間で試料水の pH の違いによる回収率の差を調べてみたところ、チウラム、イプロジオン、ベンスリドについては回収率に変化がみられなかったが、アシュラムとオキシシン銅については pH が高い場合に回収率が低下した。試料水の pH と回収率の関係を図4に示す。この結果、pH3.5の場合に回収率が最も高くなることが分かった。

5 添加回収実験

蒸留水を pH3.5に調整し、5種類の農薬の一定量を添加して回収実験を各々5回ずつ行った。その添加量

表 添加量(200ml中)及び添加回収率

	高濃度添加			低濃度添加		
	添加量 (μg)	回収率 (%)	CV (%)	添加量 (μg)	回収率 (%)	CV (%)
アシュラム	5	103.1	1.4	0.5	100.2	3.5
オキシシン銅	5	102.5	2.2	0.5	89.1	11.2
チウラム	5	99.4	0.7	0.5	83.9	15.7
イプロジオン	25	104.7	1.3	2.5	105.4	2.1
ベンスリド	25	103.6	1.5	2.5	102.6	2.4

及び結果を表1に示す。高濃度添加の場合、5物質とも回収率99~105%、変動係数0.7~2.2%いずれの場合も良好な結果が得られた。しかし、低濃度添加の場合、アシュラム、イプロジオン、ベンスリドは回収率100~105%、変動係数2.1~3.5%で良好な結果が得られたが、オキシシン銅では回収率89%、変動係数11.2%、チウラムでは回収率84%、変動係数15.7%と回収率が低下し、変動係数も増加した。

6 実試料への応用

広島市の上水未設置地区において飲用に供されている地下水を方法5に従って測定したところ、妨害ピークもなく測定できた。対象とした5種類の農薬も定量限界以下であった。また、SN比=5として求めた定量限界値はアシュラム及びオキシシン銅が $0.1 \mu\text{g}/\text{l}$ 、チウラムが $0.5 \mu\text{g}/\text{l}$ 、イプロジオンが $1.0 \mu\text{g}/\text{l}$ 、ベンスリドが $2.0 \mu\text{g}/\text{l}$ で、ゴルフ場使用農薬の試験に求められる定量限界を十分満足するものであり、実用性があるものと考えられる。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局：ゴルフ場使用農薬に係る水道水の安全対策について、衛水第152号，平成2年5月31日
- 2) 環境庁水質保全局：ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針について，環水第77号，平成2年5月24日

- 3) 厚生省生活衛生局：ゴルフ場使用農薬に係る検査方法について，衛水第153号，平成2年5月31日
- 4) 厚生省生活衛生局：ゴルフ場使用農薬に係る水道水の安全対策について，衛水第192号，平成3年7月30日
- 5) 環境庁水質保全局：ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針の一部改正について，環水第109号，平成3年7月30日
- 6) 厚生省生活衛生局：ゴルフ場使用農薬に係る検査方法について，衛水第193号，平成3年7月30日
- 7) 古谷博 他：固相抽出法／高速液体クロマトグラフィーによる水中の微量農薬の測定，水道協会雑誌，No.686，21～28(1991)
- 8) 江崎光洋 他：対イオン添加による固相抽出法を用いた環境水中のアシュラム・オキシシン銅・チウラムの同時分析方法の検討，福岡市衛試報，16，44～51(1991)
- 9) 小川広 他：高速液体クロマトグラフィーによる水中のオキシシン銅の定量，衛生化学，37，246～250(1991)

流行性角結膜炎患者からのアデノウイルス 22/H8, 9型の分離

野田 衛 宮基 良子* 池田 義文 松石 武昭
荻野 武雄

広島市における結膜炎の病因検索の過程で、新しい intermediate type のアデノウイルス (Ad) が分離された。このウイルスは1988年6月に初めて分離された後、1990年までに7株が分離された。いずれも流行性角結膜炎 (EKC) と臨床診断された患者の結膜拭い液からの分離であった。交差中和および交差 HI 試験の結果、このウイルスは中和試験で Ad22 と同定されるが、HI 試験では Ad8, Ad9 に反応するウイルス (Ad22/H8, 9) であることが判明した。本ウイルスの各種動物赤血球に対する赤血球凝集性は Ad8 のそれと同じであった。9 種類の制限酵素による解析で本ウイルスは先に分離された Ad22/H10, 19, 37 と遺伝子的に極めて類似していることが明らかとなった。以上の結果から Ad22/H8, 9 は EKC の新しい病因ウイルスと結論されるとともに、Ad22/H10, 19, 37 と Ad8 との recombinant である可能性が示唆された。

はじめに

流行性角結膜炎 (EKC) はアデノウイルス感染によって起こる主として角膜と結膜を侵す急性の眼疾患であり、アデノウイルス感染症のうち重要な位置を占めている。EKC の主要原因ウイルスは従来アデノウイルス 8 型 (Ad8) とされていたが、1973 年以降 Ad19, 1976 年以降 Ad37 がそれぞれ同疾患から多数分離され、Ad8 とともに EKC の主要原因ウイルスとしての位置づけがなされた^{1,2,3)}。一方、我々は1983年4月以来結膜炎患者からのウイルス分離を行っているが⁴⁾、その過程において中和試験で Ad22、赤血球凝集抑制 (HI) 試験で Ad10, Ad19, Ad37 に反応する、それまで報告の見られない新しい intermediate type のウイルス (Ad22/H10, 19, 37) を分離し、EKC の新しい病因ウイルスとして報告した⁵⁾。その後さらに中和試験で Ad22 と同定される分離株の中に HI 試験での反応性が異なる変異株の存在が確認され、交差 HI 試験の結果 Ad8 および Ad9 に反応するウイルスであることが明らかとなった。本論文ではこのウイルスを Ad22/H8, 9 と記載することとし、その血清学的、遺伝子学的検討結果について報告するとともに本ウイルスの由来について若干の考察を加えた。

材料と方法

1 分離材料とウイルス分離

広島市結核・感染症サーベイランス事業により1983

年4月から1990年12月までの間に広島市内の2眼科医院 (1987年以降は1医院) を受診した結膜炎患者1,245名から採取された結膜拭い液1,245検体をウイルス分離材料とした。ウイルス分離は既報⁴⁾に準じ HEp-2細胞、ヒト胎児繊維芽細胞、RD18S細胞などの培養細胞を用い、2代まで継代を行った。分離ウイルスは国立予防衛生研究所分与、イスマユニット社製の同定用抗血清あるいは自家製の家兔免疫血清⁶⁾を用いた中和試験により同定した。

2 供試ウイルス

Ad36, Ad38を除く Ad1から Ad41までの各アデノウイルスプロトタイプは国立予防衛生研究所から分与された。各プロトタイプおよび分離株は当所において HEp-2細胞で数代継代した後、供試した。

3 抗血清

Ad8, Ad9各プロトタイプおよび分離株 (89357C 株)

表1 Ad22/H8, 9の由来

株名	性	年齢	住所	採取日	病日
88199C	女	19	佐伯郡沖美町	1988. 6. 6	3
89283C	男	24	広島市西区	1989. 6. 28	2
89312C	男	45	広島市西区	1989. 7. 11	6
89331C	男	24	広島市南区	1989. 7. 18	5
89346C	女	68	広島市南区	1989. 7. 31	4
89357C	男	55	広島市中区	1989. 8. 8	4
89358C	女	68	広島市中区	1989. 8. 9	2

*現 福岡市衛生試験所微生物課

に対する抗血清は既報⁵⁾に準じ家兎にアジュバンド免疫して作製した。その他の抗血清は既報⁵⁾のものを用いた。

4 赤血球凝集 (HA) 試験および HI 試験

HA 試験, HI 試験とも既報⁵⁾に準じ実施した。HI 試験はラット赤血球, HA 試験は表 4 に示す各種動物赤血球を用いた。

5 交差中和試験

既報⁵⁾に準じ, HEp-2細胞を用いて CPE を指標にマイクロタイター法により行った。

6 DNA 切断解析

既報⁹⁾に準じ, HEp-2細胞から直接ウイルス DNA を抽出し制限酵素で切断後, アガロースゲル電気泳動, エチジウムブロマイド染色を行ったのち, 紫外線照射下で写真撮影し, 切断パターンを解析した。制限酵素は BamH I, Bgl II, BstE II, EcoR I, Hind III, Kpn I, Pvu II, Sma I および Xho I の 9 種類 (東洋紡製) を用いた。

結 果

1 結膜炎患者からの Ad22/H8, 9 の分離

Ad22/H8, 9 は EKC と臨床診断された 19 歳の女性から 1988 年 6 月 6 日に採取された結膜拭い液から初めて分離された (表 1)。その後約 1 年間分離されず, 翌 1989 年 6 月 28 日採取検体から再び分離され, 以後同 7 月に 3 株, 8 月に 2 株と集中して 6 株が分離された。患者の臨床診断名はいずれも EKC であり, 年齢は 19 歳から 68 歳であった。1990 年には分離されなかった。分離株 7 株のうち 7 株全てが HEp-2 細胞で, 5 株がヒト胎児繊維芽細胞で, 2 株が RD18S 細胞で分離された。HEp-2 細胞における Ad22/H8, 9 の CPE は Ad8 と同様で, Ad22/H10, 19, 37 とは異なった。

2 交差中和試験

Ad22/H8, 9 分離株は抗 Ad22 プロトタイプ血清により中和され, Ad22/H8, 9 (89357C 株) に対する抗血清は Ad22 プロトタイプを中和したことから, Ad22 と同定された (表 2)。また, Ad22/H8, 9 は抗 Ad8 および抗 Ad9 血清で有意に CPE の進行が遅れ, Ad8 プロトタイプは抗 89357C 血清で 8 倍と弱く中和され, それらの血清型の間に部分的交差反応が認められた。供試した他のアデノウイルスプロトタイプは抗 89357C 血清により中和されなかった。

表 2 交差中和試験による Ad22/H8, 9 の同定

ウイルス	中和抗体価				
	抗血清	Ad8	Ad9	Ad22	Ad22/H10, 89357C 19, 37
Ad8					
prototype	256	—	—	—	8
Ad9					
prototype	—	512	—	—	—
Ad22					
prototype	—	—	128	128	512
Ad22/H10, 19, 37					
88249C	—	—	512	512	2048
Ad22/H8, 9					
89357C	—	—	512	512	2048
88199C	—	—	512	512	2048
89283C	—	—	512	512	2048
89312C	—	—	512	256	1024
89331C	—	—	256	256	1024
89346C	—	—	256	512	2048
89358C	—	—	512	512	2048

— : < 8

表 3 交差 HI 試験による Ad22/H8, 9 の同定

ウイルス	HI 抗体価				
	抗血清	Ad8	Ad9	Ad22	Ad22/H10, 89357C 19, 37
Ad8					
prototype	1280	640	—	20	1280
Ad9					
prototype	1280	1280	2560	20	1280
Ad22					
prototype	—	—	128	—	—
Ad22/H10, 19, 37					
88249C	—	—	512	2560	40
Ad22/H8, 9					
89357C	1280	640	—	20	2560
88199C	640	320	—	20	1280
89283C	640	320	—	20	1280
89312C	1280	640	—	20	2560
89331C	1280	640	—	40	2560
89346C	1280	640	—	40	2560
89358C	640	320	—	20	1280

— : < 20

表4 Ad22/H8,9および対照株のHA活性

ウイルス	HA価								
	ラット	ヒトO型	マウス	モルモット	ミドリザル	カニクイザル	ガ鳥	ニワトリ	綿羊
Ad22/H8,9									
88199C	256	512	256	128	4	1	(8)	(4)	—
89283C	256	512	256	128	4	2	(8)	(4)	—
89312C	256	512	128	64	4	1	(8)	(4)	—
89331C	256	512	256	128	4	1	(8)	(4)	—
89346C	256	512	256	128	2	1	(8)	(4)	—
89357C	128	512	256	64	2	1	(8)	(4)	—
89358C	256	512	256	128	4	1	(8)	(4)	—
Ad8									
prototype	256	512	256	128	2	1	(16)	(4)	—
85858C	128	256	256	128	2	1	(8)	(4)	—
88520C	128	256	256	64	2	1	(8)	(4)	—
Ad9									
prototype	1024	2048	1024	256	4	1	(8)	(4)	—
Ad22									
prototype	1024	—	1024	—	—	—	—	—	—
Ad22/H10,19,37									
87006C	256	512	256	64	1	1	—	—	—
88249C	128	256	256	64	1	1	—	—	—

— : < 1 () : 部分凝集

なお、Ad8との部分的交差からAd8と同定された分離株の中にAd22/H8,9が存在する可能性が示唆されたため、過去のAd8分離株の再同定を行った。その結果、最終的に7株のAd22/H8,9の存在が確認された。

3 交差HI試験

交差HI試験においてAd22/H8,9分離株は中和試験で中和された抗Ad22プロトタイプ血清には反応せず、抗Ad8、抗Ad9血清に、Ad8およびAd9は抗89357C血清にそれぞれホモのウイルスと同程度に反応した(表3)。また、Ad22/H10,19,37との間に20~40倍の弱い交差反応が認められた。上記以外の血清型のうちAd36、Ad38およびラット赤血球にHA性が見られなかったAd25、Ad28を除く他の供試D群アデノウイルスの各プロトタイプは抗89357C血清に反応しなかった。

4 Ad22/H8,9の各種動物赤血球に対するHA活性

Ad22/H8,9分離株はラット、ヒトO型、マウスおよびモルモットの各赤血球を64~512倍で凝集した(表4)。ミドリザル、カニクイザル血球に対しては1~4倍と弱く凝集し、ガ鳥、ニワトリ血球に対しては4

~16倍で部分凝集を示した。綿羊血球は凝集しなかった。

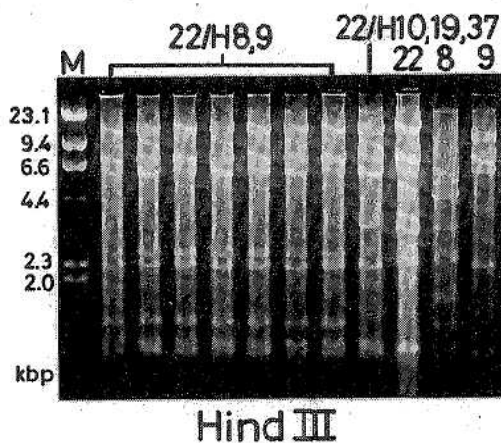


図1 Hind IIIによるAd22/H8,9, Ad22/H10,19,37, Ad22, Ad8, Ad9のDNA切断パターン

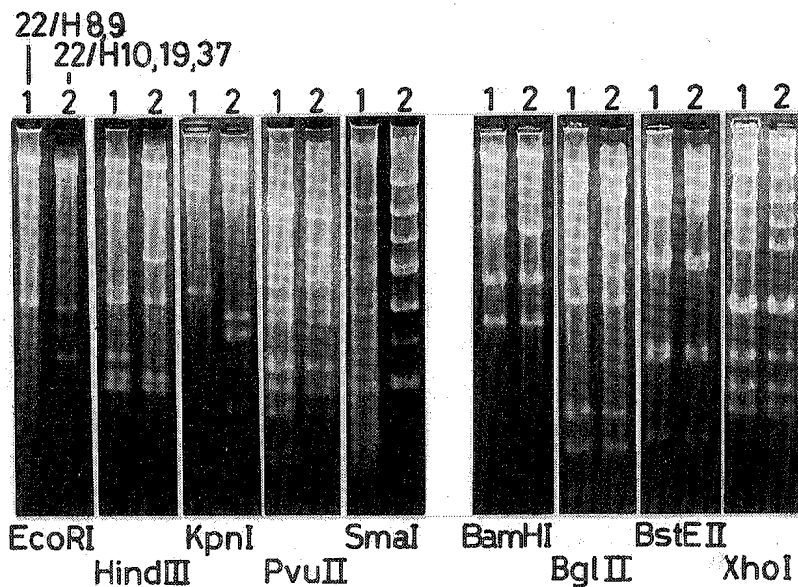


図2 各種制限酵素による Ad22/H8,9と Ad22/H10,19,37との DNA 切断パターンの比較

Ad22/H8,9の各種動物赤血球に対する HA 活性は対象としたウイルスのうち、Ad8のそれと同じであった。Ad9の HA 活性とはラット、ヒトO型およびマウス血球を Ad9がより強く凝集した点において異なった。

5 DNA 切断解析

供試9種類の制限酵素を用いた解析で Ad22/H8,9分離株7株は全て同じパターンを示した。その例として HindIIIの切断パターンを図1に示した。Ad22, Ad8, Ad9各プロトタイプとの比較では全て異なるパターンを示した。

一方、Ad22/H10,19,37との比較では EcoRI, HindIII, KpnI, PvuII および SmaI では異なるパターンを示したが、BamHI, BglII, BstEII および XhoI では同じパターンを示した(図2)。また、異なるパターンを示した例においてその違いを見ると、異なる移動

を示した断片はその分子量から推定し、各制限酵素ごとで1つないし2つの制限酵素切断点の付かないし欠損により生じたものと考えられた(データ示さず)。

供試9種類の制限酵素による消化 DNA 断片の comigration analysis の結果、Ad22/H8,9と Ad22, Ad8, Ad9各プロトタイプおよび Ad22/H10,19,37との遺伝子的近縁性は60%, 56%, 65%, 88%とそれぞれ計算された(表5)。

6 広島市におけるD群アデノウイルス分離状況

同期間の広島市における結膜炎患者からのD群アデノウイルス分離状況を見ると(表6)、Ad22/H8,9が初めて分離された1988年は1985年以降分離されていなかった Ad8 が8株分離されるとともに Ad22/H10,19,37も2株分離され、両ウイルスの流行が確認された。

表5 制限酵素消化 DNA 断片の Comigration analysis

ウイルス	Ad22/H8,9と comigrate する DNA 断片数/DNA 断片数									計 (%)
	BamHI	BglII	BstEII	EcoRI	HindIII	KpnI	PvuII	SmaI	XhoI	
Ad22/H10,19,37	4/4	8/8	8/8	4/6	6/7	2/6	12/14	13/14	10/10	67/77(88.2)
Ad22 prototype	2/4	6/10	4/9	3/7	5/6	3/6	10/14	11/17	3/9	47/82(59.9)
Ad8 prototype	2/4	4/6	2/5	3/4	3/12	3/5	6/11	12/16	6/9	41/72(55.8)
Ad9 prototype	1/4	5/6	6/9	3/5	3/6	3/5	8/13	11/14	7/8	47/70(64.8)
Ad22/H8,9	4	8	8	5	8	4	13	15	10	75

表6 結膜炎患者からのD群アデノウイルス分離状況

ウイルス	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	計
Ad8	3	18	12			8	2	2	45
Ad22/H8,9						1	6		7
Ad22/H10,19,37				2	4	2			8
Ad19	5	18		9	3	2		1	38
Ad37	6	16	51	26	1	2		3	105

考 察

我々は広島市における結膜炎患者のウイルス学的検索の過程で中和試験で Ad22, HI 試験で Ad10, Ad19 および Ad37に関連する新しい intermediate type のアデノウイルス (Ad22/H10,19,37) を分離し, EKC の新たな病因ウイルスとして報告した⁵⁾。今回の血清学的, 遺伝子学的な検討の結果, 88199C 株を最初の分離株とするこれらのウイルスは中和試験で Ad22, HI 試験で Ad8, Ad9に関連する抗原性を有する intermediate type のウイルスであり, 先に分離された Ad22/H10,19,37と遺伝子的に極めて類似するウイルスであることが明らかとなった。本ウイルスも Ad22/H10,19,37と同様に他に報告の見られない⁷⁾新しい intermediate アデノウイルスであり, 結膜炎, 特に EKC の新たな病因ウイルスと考えられる。

今回, Ad22/H10,19,37の出現後わずか2年という短期間のうちに Ad22/H8,9が分離されたことは, その出現機序が問題になるとともに興味を持たれる。一般に中和試験と HI 試験とで異なる血清型に反応する intermediate type のウイルスは2つの異なる血清型のアデノウイルスの recombination により創られると考えられている^{8,9)}。この仮説および各種動物赤血球に対する HA 活性の類似性等に基づき, 我々は先に分離した Ad22/H10,19,37 は Ad22 と Ad19a との recombinant である可能性を示唆した⁵⁾。同じ見地および Ad22/H8,9と Ad22/H10,19,37との遺伝子的類似性から見ると Ad22/H8,9は Ad22/H10,19,37と Ad8との recombinant であると考えられる。Ad22/H8,9が初めて分離された1988年には広島市において Ad8, Ad22/H10,19,37の EKC の病因としての流行が確認されており (表6), それらのウイルスが同時感染を起こす機会は存在しえたものと思われる。以上を合わせ検討すると Ad22/H8,9は Ad22/H10,19,37と Ad8とが何らかの機会により結膜に同時感染し, 増殖の過程で recombination を起こした結果生じたものと推察され

る。

一方, ウイルス DNA 上の recombination の位置を明らかにするためにはその詳細な検討が必要であるが, Ad22/H8,9と Ad22/H10,19,37との DNA 切断パターンの類似性や HA, HI に関与する Fiber¹⁰⁾をコードする遺伝子はマップ単位約0.9の下流域末端付近に存在すると推測される¹¹⁾ことから考えると, 中和関連抗原 (ϵ 抗原) が存在するヘキソン蛋白コード領域を含む上流域の多くは Ad22/H10,19,37に, Fiber をコードする領域を含む下流域のわずかな部分は Ad8にそれぞれ由来すると推察される。Adrian ら⁸⁾は Ad9, Ad15および幾つかの Ad15/H9分離株の解析から下流域により多くの変異が起こっていることを報告しておりアデノウイルス, 特にD群アデノウイルスのゲノムの下流域に recombination を起こしやすい部位が存在するのかもしれない。

謝 辞

貴重なアデノウイルスプロトタイプを分与いただきました国立予防衛生研究所吉井孝男先生に深謝します。

文 献

- 1) Wadell G and de Jong JC: Restriction Endonucleases in Identification of a Genome Type of Adenovirus 19 Associated with Keratoconjunctivitis, *Infect Immun*, 27, 292-296 (1980)
- 2) de Jong JC, et al.: Adenovirus 37: Identification and Characterization of a Medically Important New Adenovirus Type of Subgenus D, *J Med Virol*, 7, 105-118 (1981)
- 3) Kemp MC, et al.: The Changing Etiology Epidemic Keratoconjunctivitis: Antigenic and Restriction Enzyme Analyses of Adenovirus Types 19 and 37 Isolated Over a 10-Year Period, *J Infect Dis*, 148, 24-33 (1983)

- 4) 池田義文 他：広島市における急性結膜炎からのウイルス分離成績，臨床とウイルス，16，348-353 (1988)
- 5) Noda M, et al. : Intermediate Human Adenovirus type 22/H10,19,37 as a New Etiological Agent of Conjunctivitis, 29, 1286-1289 (1991)
- 6) Noda M, et al. : Genome Types of Adenovirus Types 19 and 37 Isolated from Patients with Conjunctivitis in Hiroshima City, J Med Virol, 26, 15-22 (1988)
- 7) Wigand R and Adrian T : Intermediate Adenovirus Strains of Subgenus D Occur in Extensive Variety, Med Microbiol Immunol, 178, 37-44 (1989)
- 8) Adrian T, et al. : Restriction Site Mapping of Adenovirus Types 9 and 15 and Genome Types of Intermediate Adenovirus 15/H9, Intervirology, 30, 169-176 (1989)
- 9) Sambrook J, et al. : The Evolution of the Adenoviral Genome, Ann. N. Y. Acad Sci, 354, 426-452 (1980)
- 10) Norrby E : The Structural and Functional Diversity of Adenovirus Capsid Components, J Gen Virol, 5, 221-236 (1969)
- 11) Grodzicker T, et al. : The Physical Locations of Structural Genes in Adenovirus DNA, Virology, 80, 111-126 (1977)

混合プライマーを用いたPCRによる下痢原性大腸菌病原遺伝子の同時検出法

伊藤 文明 吉野谷 進 石村 勝之 山岡 弘二
松石 武昭 荻野 武雄 伊藤健一郎* 渡辺 治雄*

下痢原性大腸菌の迅速な検査法として、混合プライマーを用い4種の病原遺伝子を同時に確認する、遺伝子増幅法 (Polymerase Chain Reaction, PCR) を用いた系を開発し、その有用性を検討した。

本法は、病原遺伝子として、EIECは *invE* 遺伝子、VTECは VT 遺伝子、ETECは ST 遺伝子および LT 遺伝子を標的とし、電気泳動で一度に確認が可能であるようにそれぞれのプライマーを設定し、その有用性を確認した。

この方法を用いる事により各病原因子ごとの検査を行う必要なく、一度に複数の病原遺伝子の検出が可能であった。また、操作も簡便で日常検査に非常に有用と思われた。

はじめに

大腸菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) のうち、ヒトの腸管感染症の原因になるものは、下痢原性大腸菌あるいは、腸管病原性大腸菌と呼ばれている。下痢原性大腸菌として、現在少なくとも①組織侵入性大腸菌 (enteroinvasive *E. coli*, EIEC) ②毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli*, ETEC) ③腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC) または、Vero 毒素産生大腸菌を一括しベロ毒素産生大腸菌 (verocytotoxin-producing *E. coli*, VTEC) ④病原性大腸菌 (enteropathogenic *E. coli*, EPEC) の4種類が知られている。¹⁾²⁾

これらの下痢原性大腸菌間、あるいは非病原性大腸菌との鑑別には病原因子の確認が必要である。

我々は、これら病原因子の確認を混合プライマーを用いた遺伝子増幅法 (Polymerase Chain Reaction, PCR) により行っている。³⁾⁻⁵⁾ この、病原遺伝子検出法について報告する。

方 法

1 プライマー

プライマー (表1) は、EIECは *invE* 遺伝子、ETECは耐熱性毒素 ST1a, ST1b 遺伝子の共通部分、易熱性毒素 LTh, LTp の共通部分をそれぞれ選んだ。また、VTECのプライマーは Karch らの開発したものの⁶⁾を使用した。このプライマーは、増幅 DNA 断片サイズが *invE* は382bp, VT の VT1は225bp, VT2は228bp, STは171bp, LTは132bpで、一度の電気泳動

表1 下痢原性大腸菌の病原性確認用プライマー

組織侵入性大腸菌 (EIEC)	
I-1	5'-ATATCTCTATTTCCAATCGCGT-3'
I-5	3'-GCCCTATATTAAGAGCGGTAG-5'
Vero 毒素産生大腸菌 (VTEC)	
MK-1	5'-TTTACGATAGACTTCTCGAC-3'
MK-2	3'-CTCGCTTTATTAATATACAC-5'
毒素原性大腸菌 (ETEC)	
ST-1	5'-TTTATTCTGTATTGTCTTT-3'
ST-2	3'-GACACTTGACACAACATTA-5'
LT-1	5'-AGCAGGTTTCCACCGGATCACCA-3'
LT-2	3'-CTCTGGGTCTTAGACTCGTG-5'

でそれぞれの増幅断片サイズにより確認および識別を行なえるよう設定した。

プライマーの合成は Cyclone Plus (MiliGen / Biosearch 社製) を用いた。一部は、市販混合プライマー (日本商事製) を使用した。

2 PCR 用試薬

DNA ポリメラーゼは、Taq ポリメラーゼ (Perkin Elmer Cetus, Promega, 和光純薬製) を用いた。反応用緩衝液はそれぞれに添付のものを使用した。

d N T P は、市販されているもの (Perkin Elmer Cetus, 和光純薬製) を使用した。

* : 国立予防衛生研究所 細菌部

3 試料の調整

表2 PCR反応混液の組成

混合プライマー		
×10	PCR反作用緩衝液	500 μ l
2.5 mM	dNTP混液	200 μ l
5.0 μ M	EIEC (<i>invE</i>) プライマー溶液	200 μ l
2.5 μ M	VTEC (VT) プライマー溶液	200 μ l
1.25 μ M	ETEC (LT) プライマー溶液	200 μ l
5.0 μ M	(ST) プライマー溶液	200 μ l
	滅菌蒸留水	200 μ l
	計 (100検体分)	1,700
単独プライマー		
×10	PCR反作用緩衝液	500 μ l
5.0 mM	dNTP混液	200 μ l
5.0 μ M	各プライマー溶液	200 μ l
	滅菌蒸留水	800 μ l
	計 (100検体分)	1,700 μ l

100 μ l の蒸留水に菌体を懸濁し、100℃ 5分から10分間加温したものを軽く遠心して、その上清をテンプレートDNAとして用いた。

4 遺伝子増幅

PCR反応混液100検体分 (1検体分17 μ l, PCR最終反応液量50 μ l) を事前に作成しておき (表2), 1検体当たり反応混液17 μ l, Taqポリメラーゼ0.3 μ l (1.5 U), 蒸留水22.7 μ l にテンプレートDNAを10 μ l 加え、遺伝子増幅装置 (Program Temp Control System; アステック社) で増幅した。

反応条件は、混合プライマー系では、熱変成94℃, 30秒, アニーリング47℃, 1分, 伸長反応72℃, 1分30秒で25サイクル増幅反応を行った。単独プライマー系では、アニーリング温度をEIEC (*invE*) では61℃, EHEC (VT) では50℃, ETECのSTでは47℃, LTでは55℃にそれぞれ設定し、その他の反応条件は混合プライマーと同様で25サイクル増幅反応を行った。

5 増幅DNAの確認

PCR反応増幅物の5から10 μ l を試料とし、7.5%または、13%ポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動 (PAGE) を行い、エチジウムブロマイドで染色後、トランスイルミネーターで確認し増幅DNAサイズにより判定した。

6 従来法

EIECは培養細胞への侵入性試験およびELISA⁷⁾, VTECはVero細胞への毒性試験, ETECのLTはRPLA (デンカ生研), STはELISA (デンカ生研) を用いた。

結果および考察

従来法で病原因子陽性であった, EIEC, VTEC, ETEC 178株および、陰性であったEPEC 122株, 健康人由来50株, 食品由来5株の大腸菌をもちいて行った混合プライマーによるPCR検査結果を表3に示した。

表3 混合プライマーを用いたPCR検査結果

大腸菌	供試菌株	陽性	陰性
EIEC	46	46	0
VTEC	37	37	0
ETEC	ST	45	0
	LT	27	0
	ST+LT	23	0
EPEC	122	0	122
その他	55	0	55

従来法で陽性であった178株はすべてPCRで各々に対応する病原遺伝子が検出できた。また、従来法で陰性であった株は、すべてPCRでも陰性であった。このことから、混合プライマーを用いることにより4種の病原遺伝子を1回のPCRで同定でき、下痢原性大腸菌の持つ病原因子の確認法として有用と考えられた。

下痢原性大腸菌の検査手順 (図1) で従来法とPCRを比較してみると、従来法では病原因子の確認まで7日以上を要した。しかし、PCRを用いた病原遺伝子検出法では、分離培地上のコロニーを釣菌し直接PCRを行うと2日目に推定可能で、普通寒天斜面培地等の性状確認培地からの釣菌では、3日目で確認可能であった。また、病原因子の検査時間だけを比較しても、従来法では3日以上必要であったが、PCRの操作 (図2) 時間は試料の調製から約5時間で病原遺伝子の確認が可能であった。

PCR増幅後の電気泳動像を図3に示す。13%ゲル濃度PAGEでは、80分の泳動時間で、VT (VT1, VT2) およびST (ST1a, ST1b) それぞれの詳細な区別が可

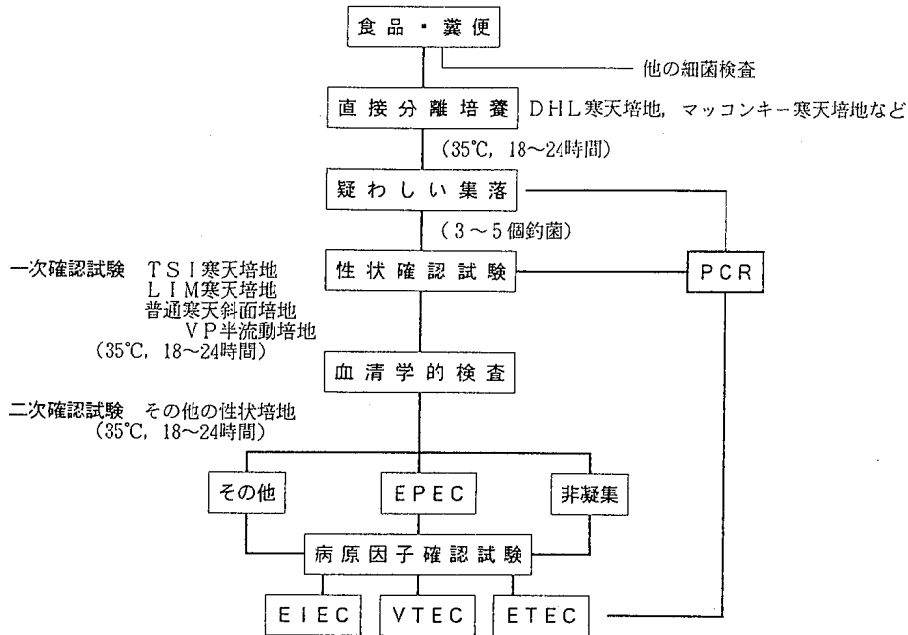


図1 検体からの下痢原性大腸菌の検査手順

能であった。一方、7.5%ゲル濃度 PAGE では、泳動時間が60分に短縮されたが、VT, STの詳細な区別は出来なかった。

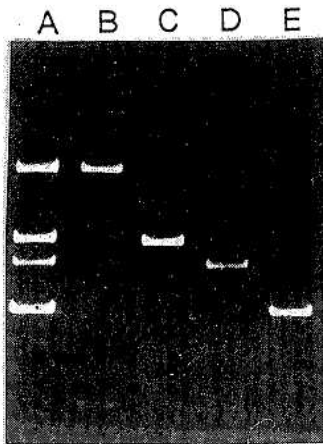
煮沸法による試料調製法では、蒸留水100 μ l に1白金線 ($10^7/ml$) 程度の菌量を懸濁し、煮沸後10 μ l を試料 ($10^6/$ チューブ) として PCR を行った。試料調整時、菌量が多すぎる ($10^8/ml$) と非特異を示すものがあつた。また、菌株によっては目的サイズに近い位置に薄く非特異バンドが出現し、識別が難しい事例があつた。このような事例では、増幅産物 1 μ l を試料とし単独プライマーを用いて再度 PCR を行うことにより特異性を確認することができた。

本法の実用例として我々は、市販血清 (デンカ生研製) で O 型別不能の ST1a 産生大腸菌を集団食中毒事例の原因菌として検出した。また、O 血清型別で EIEC, ETEC に分類されるにもかかわらず病原因子を持たない菌、O 血清型別で EPEC のカテゴリーに分類される菌および、ETEC, VTEC のカテゴリー以外から毒素産生菌の検出も経験している。これらのことから、下痢原性大腸菌の検査¹²⁾は、血清型別だけでなく病原因子の確認が必要と思われた。

PCR は、遺伝子を検出するため病原因子を発現させる必要がなく短時間で検査でき、操作も比較的簡単で、検出感度が高いという利点がある。また、我々が行っている混合プライマーを用いた方法は一度に複数

菌 株			
滅菌蒸留水に懸濁			
	100 μ l		
熱処理			
	沸騰水浴中 5~10分		
	軽く遠心		
反 液			
	試料 (テンプレート DNA) 10 μ l		
	滅菌蒸留水 22.7 μ l		
	反応混液 17 μ l		
	Taq ポリメラーゼ (1.5U) 0.3 μ l		
反 応			
	熱変成 94°C 30 秒		
	アニーリング 47°C 1 分		
	伸長反応 72°C 1 分 30 秒		
増幅 DNA 断片の検出		PAGE	

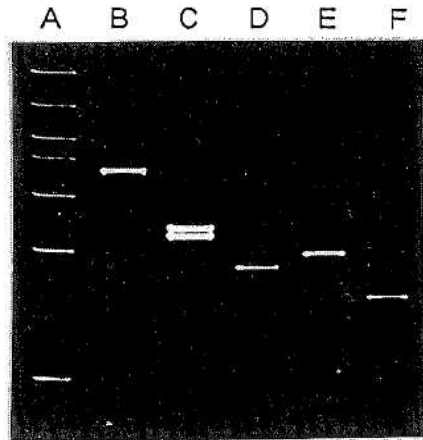
図2 PCRによる下痢原性大腸菌の病原遺伝子確認操作手順



7. 5% PAGE

泳動条件: ×1/2 TBE バッファー
100 V 定電圧 60分

A: EIEC+VTEC+ETEC(ST, LT)
B: EIEC(invE) C: VTEC
D: ETEC(ST) E: ETEC(LT)



13% PAGE

泳動条件: ×1 トリス-グリシンバッファー
20 mA 定電流 80分

A: マーカー B: EIEC(invE)
C: VTEC(VT2, VT1) D: ETEC(ST1a)
E: ETEC(ST1b) F: ETEC(LT)

図3 混合プライマーを用いたPCRによる下痢原性大腸菌の各病原遺伝子増幅断片の電気泳動像

の遺伝子のスクリーニングが可能で有用と思われる。

EHECによる浦和市の幼稚園児死亡例⁸⁾など、下痢原性大腸菌が原因の症例も多数報告されており、その迅速な検査法が要求される機会は今後増大すると考えられ、手技の簡便性や迅速性・高感度などの点からPCRは迅速検査法として非常に有用な方法の一つと思われた。

文 献

- 1) 坂崎利一, 田村和満: 下痢原性大腸菌の血清型別について. メディアサークル 34, 9-14, 1989
- 2) 竹田美文: 病原大腸菌 (下痢原性大腸菌), 食品衛生検査指針-微生物編, 108-117, 日本食品衛生協会, 1990
- 3) 伊藤文明ほか: 混合プライマーを用いたPCR法による腸管病原性大腸菌の病原遺伝子同時検出法. 感染症誌 65, 139, 1991

- 4) 伊藤文明ほか: PCR法による下痢原性大腸菌の病原遺伝子同時検出法の応用. 感染症誌 66, 216, 1992
- 5) 伊藤文明ほか: 混合プライマーを用いたPCR法による下痢原性大腸菌の病原遺伝子同時検出法. 日本臨床 50, 特別号 343-347, 1992
- 6) Karch, and T. Meyer: Single primer pair for amplifying segments of distinct shiga-like-toxin genes by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 27, 2751-2757, 1989
- 7) 伊藤健一郎ほか: 酵素抗体法(ELSA)を用いた組織侵入性大腸菌の同定について. 日本細菌学雑誌 41, 414, 1986
- 8) 城宏輔: 埼玉県某幼稚園で流行した *E. coli* O157: H7による出血性大腸炎. 臨床と微生物 18: 457-465, 1991

PCR 法によるウェルシュ菌エンテロトキシン遺伝子 検出法とその本菌集団発生事例への適用

石村 勝之 萱島 隆之 蔵田 和正 伊藤 文明
中野 潔 松石 武昭 荻野 武雄

Polymerase chain reaction (PCR) 法を用いた *Clostridium perfringens* エンテロトキシン (CPE) の迅速検査法を検討し、集団発生事例へ適用した。

伸長用プライマーは、*C. perfringens* NCTC8239 の CPE 構造遺伝子塩基配列に相補的な合成 oligonucleotide (5'-ATCCTTGATTTAGCTGCTGC-3', 5'-ACAAGAACATATTGTCCGGC-3') を用いた。検討した CPE 産生の Hobbs 血清型標準10株および各種由来 *C. perfringens* 5 株はすべて増幅 DNA が認められた。一方、Hobbs7型標準株等の CPE 非産生株15株は DNA の増幅を認めなかった。増幅領域は302bp に設定したが、ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) 上では約360bp の位置に認められた。しかし泳動バッファー温度を53℃に高めた PAGE では約302bp を示し、制限酵素 (*Dde* I, *Hinf* I, *Mbo* I, *Hind* III) による切断像も塩基配列からの予測と一致した。

集団発生事例へ適用した結果も、PCR 法と培養法の CPE 産生性試験結果は一致した。PCR 法は、培養法で初代に芽胞の認められなかった菌株についても約4時間で CPE 遺伝子の有無の判定が行え、病原検索の効率化に有効であった。

以上の結果より、今回検討した PCR 法は芽胞形成に依存しない CPE 迅速検査法として有用と考えられた。

はじめに

ウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) は、欧米では主要な食中毒起因菌として知られており、わが国でも、例年発生事例数こそ少ないものの、一事例あたりの患者発生規模が大きいなど、食品衛生上注意を要する病原細菌である¹⁾。

本菌の食中毒起病性に係わる病原因子は、芽胞形成に伴って産生されるエンテロトキシン (CPE) である²⁾。従って、集団食中毒事件における起因菌を本菌と決定するには、分離菌株の CPE 産生性の確認や患者糞便中に存在する CPE の証明等が重要な試験項目となっている³⁾。

この CPE は、本菌が芽胞型に移行する際に産生される²⁾ため、培養法による CPE 確認試験は前提条件として芽胞を良好に形成させることが必要である。しかし、本菌は *in vitro* では芽胞形成能が低く、全ての *C. perfringens* に芽胞を高率に形成させ得る培地は、種々検討されているものの、現在でも知られていない³⁾。

そこで我々は、芽胞形成の問題を伴う従来の培養法に代わる CPE 迅速検査法として、Polymerase chain reaction (PCR) 法によって CPE 構造遺伝子⁴⁾の一部を増幅検出する検査法を検討し、本菌による集団発生事例への適用を試みたので報告する。

材料および方法

1 菌株

CPE 産生株として、*C. perfringens* Hobbs 血清型標準菌株10株 (NCTC8238, Hobbs2; NCTC8239, Hobbs3; NCTC8679, Hobbs6; NCTC8235, Hobbs8; NCTC8798, Hobbs9; NCTC9851, Hobbs11; NCTC10239, Hobbs12; NCTC10240, Hobbs13; NCTC10612, Hobbs15; NCTC10614, Hobbs17)、当所で分離した食中毒患者由来1株 (血清型 TW9, 易熱性芽胞形成株)、散発下痢患者糞便由来1株、魚介類由来2株、イヌ糞便由来1株の計15株、および CPE 非産生株として、Hobbs 血清型標準菌株2株 (NCTC8678, Hobbs5; NCTC8449, Hobbs7)、土壌由来2株、魚介類由来11株計15株を PCR 条件および特異性等の検討に用いた。また、1991年に広島市で発生した本菌による集団発生例3事例より分離された *C. perfringens* 70株を供試した。

2 プライマーの調製

Van Damme-Jongsten ら⁴⁾の報告した *C. perfringens* NCTC8239 (Hobbs 血清型 3 型標準株) の CPE 遺伝子の塩基配列に基づいて、塩基724から743のセンスプライマー、CL.p-1 (5'-ATCCTTGATTTAGCTGCTGC-3') および塩基1006から1025のアンチセンスプライマー、CL.P-2 (5'-ACAAGAACATATTGTCCGGC-3') の各

20-mer の oligonucleotide を DNA 合成機 (ミリジェン・バイオサーチ社) で合成後、精製したものを伸長用プライマーとした。

3 鋳型 DNA の調製

被検菌株からの DNA の抽出は、小林ら⁹⁾の報告した煮沸法で行った。被検菌を卵黄加 CW 寒天培地 (日水製薬) で 37℃, 18時間嫌気培養し、その半白金耳を 400 μ l の再蒸留水に懸濁後、10分間煮沸し、その遠心上清を鋳型 DNA として用いた。

4 PCR 用試薬および PCR 反応

各 PCR 反応試薬は、成書の記載に準じて調製した。PCR 反応液 (終濃度: 1 \times Taq DNA Polymerase Buffer [10mM Tris-HCl pH 9.0, 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 0.01% gelatin, 0.1% Triton X-100], 100 μ M dNTPs, 0.2 μ M Primer pairs, 1U Taq DNA Polymerase) に、鋳型 DNA 5 μ l を加えて全量 25 μ l とし、denature 94℃ 20秒; annealing 51℃, 1分; extension 72℃, 1分30秒の条件で温度サイクルを 25 回繰り返して、DNA 増幅を行った。

5 増幅 DNA の検出および解析

増幅した DNA は、室温あるいは緩衝液温度 53℃ での 7.5% ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) 後に ethidium bromide 染色を行い観察した。増幅 DNA の特異性は、制限酵素 *Dde* I, *Hinf* I, *Mbo* I および *Hind* III による消化後の DNA 断片を 15% PAGE により解析した。分子量マーカーは、 ϕ X174RF/*Hinc* II digest (ファルマシア) を用いた。

6 CPE 産生性

菌株の CPE 産生性は、変法 DS 培地³⁾で嫌気培養後、芽胞形成を位相差顕微鏡下で調べ、芽胞形成の認められた菌株の培地遠心上清について逆受け身ラテックス凝集反応 (RPLA) 法 (デンカ生研) により検討した。

結 果

1 増幅 DNA の解析

伸長用プライマー CL.p-1 および CL.p-2 を用い、*C. perfringens* NCTC8239 (Hobbs3, CPE 産生) から煮沸法により抽出した DNA を被検菌 DNA として増幅した結果明確な単一の増幅 DNA を認めたと、室温下では、その分子サイズは Van Damme-Jongsten らの報告した塩基配列より予測される 302bp ではなく、約 360bp の位置に泳動された (図 1, レーン 1)。しかし、泳動用緩衝液の温度を 53℃ に上げると、予測される約 302bp の位置に泳動された (図 2)。そこで、この増幅 DNA を *Dde* I, *Hinf* I, *Mbo* I および *Hind* III の 4 種類制限酵素による切断分析により検討した。その結

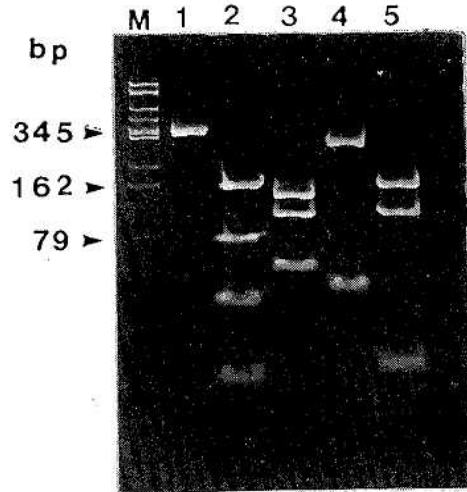


図 1 増幅 DNA 及びその制限酵素切断パターン

M: 分子量マーカー 3: *Hinf* I 消化
1: 増幅 DNA 4: *Mbo* I 消化
2: *Dde* I 消化 5: *Hind* III 消化

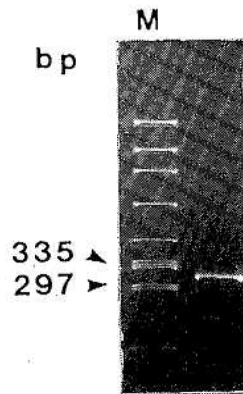


図 2 増幅 DNA の移動度変化

(buffer 温度: 53℃)

M: 分子量マーカー

果は各酵素により各々塩基配列より予想される DNA 断片に切断された (図 1, レーン 2-5)。

2 CPE 産生菌株および非産生菌株の検討

今回用いた PCR 条件による Hobbs 血清型標準菌株および各種由来菌株の検討結果を表 1 に示した。

CPE を産生することが知られている 10 種の異なっ

表1 CPE産生および非産生 *C. perfringens* のPCR結果

菌株	由来	血清型	芽胞 ^b	PPLA	PCR
NCTC8238	食中毒患者	H.2	+	+	+
NCTC8239	食中毒患者	H.3	+	+	+
NCTC8679	食中毒患者	H.6	+	+	+
NCTC8235	食中毒患者	H.8	+	+	+
NCTC8798	食中毒患者	H.9	+	+	+
NCTC9851	食中毒患者	H.11	+	+	+
NCTC10239	食中毒患者	H.12	+	+	+
NCTC10240	食中毒患者	H.13	+	+	+
NCTC10612	食中毒患者	H.15	+	+	+
NCTC10614	食中毒患者	H.17	+	+	+
87001fpHF	食中毒患者	TW9	+	+	+
82001iD	散発患者	H.UT	+	+	+
NO168	赤貝	H.UT	+	+	+
No206	カワニナ	H.4	+	+	+
83001AN	イヌ	H.UT	+	+	+
NCTC8678	食中毒患者	H.5	-	-	-
NCTC8239	食中毒患者	H.7	+weak	-	-
So-9	土壌	H.UT	+	-	-
So-18	土壌	H.4	+	-	-
OY-11	カキ	H.4	+	-	-
OY-18	カキ	H.UT	+	-	-
OY-23	カキ	H.UT	+	-	-
OY-41	カワハギ	H.UT	+	-	-
OY-44	カキ	H.UT	+	-	-
OY-45	カキ	H.UT	+	-	-
OY-46	カキ	H.UT	+	-	-
OY-47	カキ	H.UT	+	-	-
OY-48	カキ	H.UT	+	-	-
OY-49	カキ	H.UT	+	-	-
OY-50	カキ	H.UT	+	-	-

H: Hobbs 血清型 ; TW: 東京都立衛生研究所血清型
a: 変法 DS 培地での芽胞形成性

た Hobbs 血清型標準菌株は、すべて今回の PCR 法で同一分子サイズの増幅 DNA が認められた。なお、これらの菌株は RPLA 法でも CPE の産生が確認された。また、易熱性芽胞形成性の食中毒患者由来株 1 株および魚介類等から分離された 4 株の CPE 産生株もすべて増幅 DNA を認めた。

一方、芽胞は形成するが、CPE を産生しないとの報告のある Hobbs 7 型標準菌株 (NCTC8449) および芽胞形成率がきわめて悪く CPE 産生が確認できない Hobbs 5 型標準菌株 (NCTC8678) は、今回行った RPLA 法でも CPE 産生を確認できなかったが、PCR 法においても増幅 DNA は認められなかった。また、土壌由来 2 株、および魚介類由来 11 株の CPE 非産生性 *C. perfringens* も目的領域の増幅 DNA は認められなかった。

3 集団発生事例への適用

広島市で1991年に発生した *C. perfringens* による集団発生 3 事例に PCR 法を適用した結果を表 2 に示した。

事例 1 は、3月27日、市内 A ホテルで会食した 3 グループ 165 名のうち 63 名 (38.2%) が、平均 13 時間の潜伏時間の後、下痢 (98.4%)、腹痛 (55.6%) の食中毒症状を呈して発症した。細菌検査の結果、患者 15 名中 13 名および調理従事者 8 名中 1 名から同一血清型 Hobbs 1 型の *C. perfringens* が分離され、他の食中毒起因菌は検出されなかった。原因食品としては、検査は行えなかったが、聞き取り調査からローストチキンが最も疑われた。

表 2 1991年広島市における集団発生事例由来 *C. perfringens* CPE 遺伝子の PCR 検査結果

No	月日	原因施設	喫食者数	患者数	由来	血清型	検査株数	PCR	RPLA	原因物質																																																											
1	3.27	ホテル	165	63	患者 従事者	H.1	11	+	+	<i>C. perfringens</i> Type A, Hobbs 1																																																											
						H.1	3	+	+		2	4.14	飲食店	13	11	患者 従事者	H.7	9	+	+	<i>C. perfringens</i> Type A, Hobbs 7	H.UT	1	-	-	H.7	1	+	+	H.UT	3	-	-	H.13	1	-	-	3	4.19	飲食店 (仕出屋)	465	349	患者 従事者 食品 (イカ煮, 原料) (中華ウマ煮) (スパゲッティ) (シュウマイ)	H.13	25	+	+	<i>C. perfringens</i> Type A, Hobbs 13	H.UT	4	-	-	H.13	3	+	+	H.UT	4	-	-	H.13	2	+	+	H.13	1	+	+	H.13
2	4.14	飲食店	13	11	患者 従事者	H.7	9	+	+	<i>C. perfringens</i> Type A, Hobbs 7																																																											
						H.UT	1	-	-																																																												
						H.7	1	+	+																																																												
						H.UT	3	-	-																																																												
						H.13	1	-	-		3	4.19	飲食店 (仕出屋)	465	349	患者 従事者 食品 (イカ煮, 原料) (中華ウマ煮) (スパゲッティ) (シュウマイ)	H.13	25	+	+	<i>C. perfringens</i> Type A, Hobbs 13	H.UT	4	-	-	H.13	3	+	+	H.UT	4	-	-	H.13	2	+	+							H.13	1	+	+		H.13	1	+	+	H.13	1	+	+													
3	4.19	飲食店 (仕出屋)	465	349	患者 従事者 食品 (イカ煮, 原料) (中華ウマ煮) (スパゲッティ) (シュウマイ)	H.13	25	+	+	<i>C. perfringens</i> Type A, Hobbs 13																																																											
						H.UT	4	-	-																																																												
						H.13	3	+	+																																																												
						H.UT	4	-	-																																																												
						H.13	2	+	+																																																												
						H.13	1	+	+																																																												
						H.13	1	+	+																																																												
						H.13	1	+	+																																																												

H: Hobbs 血清型

事例2は、4月13日、B飲食店で宴会した1グループ13名中11名(84.6%)が14日下痢、腹痛を呈した。

検査した患者10名全員から *C. perfringens* が分離され、その内7名から同一血清型の Hobbs 7 型菌が検出された。原因食品は宴会料理のいずれかと思われるが、特定はできなかった。

事例3は、4月19日C仕出し屋の給食弁当を喫食した465名中349名(75.1%)が平均潜伏時間11時間の後、腹痛、下痢を主症状として発症した。検査した患者46名中42名(91.3%)、調理従事者11名中5名(45.5%)から同一血清型 Hobbs13型の *C. perfringens* が検出された。また、弁当検査の中華うま煮から 1.1×10^6 個/g の Hobbs13型 *C. perfringens* が検出された。この中華うま煮は加熱調理後、長時間常温放置されていた。

3事例から分離された *C. perfringens* の一部について PCR 法を適用した結果、原因菌と考えられた同一血清型(各Hobbs 1, 7, 13型)の患者および調理従事者由来株は全て増幅 DNA が確認された。そのうち事例3では、食品材料の中華うま煮から分離された菌株の PCR 結果から原因食品の特定が行えた。一方、これらの分離菌株は後日、培養法によっても CPE 産生が確認されたが、中には芽胞形成が初代培養で得られず、判定により多くの日数を必要としたものもみられた。

考 察

CPE は分子量約34kDa の一本のポリペプチド鎖からなる単純蛋白毒素である⁶⁾。*C. perfringens* の食中毒起病性の判定には、この CPE 産生性を確認する必要があるが、緒言でも述べたように、CPE は栄養型の *C. perfringens* が芽胞型に移行する際に産生される性質があるため、分離菌株に良好に芽胞を形成させる培地を必要とし、従来は Dancan and Strong の培地(DS培地)⁷⁾や Tortora の培地⁸⁾が常用され、最近では変法 DS 培地³⁾が優れた芽胞形成能を示すことが報告されている。しかし、これらの培地を用いても初代培養では芽胞形成の確認できない菌株もみられ³⁾、その際は加熱処理を繰り返すなど、芽胞形成能を高める操作が必要である¹⁾。また、CPE の検出は、Vero 細胞等の培養細胞の形態学的変化をみる生物学的方法や CPE に対する特異的抗体を用いた RPLA 法などの免疫学的方法が用いられているが、これらの方法によれば、通常 CPE 産生性についての検査成績を得るまでには早くても数日を必要とする。このように従来の培養法による CPE 産生性の確認検査は、培養および CPE 検出に要する所要時間や芽胞形成の不確定性など、総合的にみて迅速性・安定性などの点で改良が望まれる。

そこで、著者らは迅速性などの向上が望まれる CPE 検査法の一つとして、PCR 法によって CPE の構造遺伝子の有無を直接検出する遺伝学的検査法を検討した。

今回作製したプライマーは、Van Damme-Jongsten の報告した CPE 遺伝子塩基配列を基に、増幅 DNA 内の制限酵素切断部位を考慮し、増幅産物の分子サイズが302bp となるように設定した。しかし、増幅された DNA は通常の PAGE 上では約360bp を示したため、この増幅 DNA が目的領域の特異的産物であるか否かを4種類(*Dde* I, *Hinf* I, *Mbo* I, *Hind* III)の制限酵素の切断分析により検討したところ、各切断パターンは塩基配列から予測される切断数を示し、各切断断片も予測された分子サイズを示した。また、増幅 DNA は、泳動緩衝液の温度を53℃に保った PAGE 上では予測された約302bp の位置に泳動された。このような泳動緩衝液の温度差による移動度の変化は、DNA 内に折れ曲がり構造(DNA bent)がある場合に認められる⁹⁾ことが知られており、増幅 DNA 内に本構造の存在が示唆された。これらの結果から、増幅された DNA は非特異産物ではなく、CPE 遺伝子中の目的領域の増幅産物であると考えられた。

CPE の産生が知られている10種類の Hobbs 血清型標準株、および著者らが分離した CPE 産生株5株は、今回の PCR 条件で全て同一サイズの増幅 DNA が認められた。一方、CPE 非産生の Hobbs 7 型標準株(NCTC8449)¹⁰⁾、芽胞形成が悪く CPE 産生性の確認できない Hobbs 5 型標準株(NCTC8678)¹⁰⁾および魚介類由来の CPE 非産生分離株には増幅 DNA を認めなかった。この結果は、本法が CPE 遺伝子の特異的に検出していることを示していると考えられる。このことを言い換えると、CPE 遺伝子は CPE 産生株に特異的に存在していることが強く示唆された。

食中毒等の集団下痢症発生時は、被害の拡大や再発の防止などの点から、病原検索をできる限り迅速かつ正確に実施することが求められる。*C. perfringens* はヒト腸管内の常在菌であることから、本菌が原因菌である事例はもとより、他の病原菌が発生原因であったり、原因菌が明らかでない場合も、患者や調理従事者の糞便から比較的高い率で分離されてくる。従って、本菌の食中毒起病性の有無を判定する機会は多く、迅速で簡易に CPE 検査が実施できれば効率的である。

今回、本法を *C. perfringens* によると考えられた集団発生事例に適用した結果でも、患者や調理従事者、あるいは食品材料から分離された *C. perfringens* が CPE 遺伝子を保有するか否かを迅速に判定でき、病

原検索を効率的に行えた。

これらの結果から、今回検討した PCR 法は、菌株段階から、培養法の必要条件である芽胞形成に依存することなく約 4 時間で CPE 遺伝子の有無が確認できる。従って、集団食中毒発生時のような迅速性を要求される病原菌検索において、原因菌や原因食品等の特定に有効な検査法として利用できると考えられた。

謝 辞

Hobbs 血清型標準菌株等の貴重な菌株を分与戴きました北海道大学水産学部岡重美博士に深謝致します。

文 献

- 1) 植村 興：*Clostridium perfringens*. 食水系感染症と細菌性食中毒. 坂崎利一編, 282-303, 中央法規出版, 東京(1991).
- 2) 植村 興：ウェルシュ菌エンテロトキシン. 医学細菌学 3 巻, 三輪谷俊夫監修, 69-91, 菜根出版, 東京(1988).
- 3) 大谷仁己, 氏家淳雄：変法 DS 培地におけるウェルシュ菌の芽胞形成とエンテロトキシン産生性. 食衛誌, 28, 281-285 (1987).
- 4) Van Damme-Jongsten, M., Wernars, K. and Notermans, S. : Cloning and sequencing of the *Clostridium perfringens* enterotoxin gene. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol.*, 56, 181-190 (1989).
- 5) 小林一寛, 勢戸和子, 赤阪 進, 牧野正直：遺伝子増幅法によるコレラ毒素遺伝子の迅速診断法. 感染症誌, 64, 1323-1329 (1990).
- 6) 松田守弘：細菌における病原因子の解析—*Clostridium* 属が産生する毒素, とくに *C. tetani* 神経毒素, *C. perfringens* A 型エンテロトキシンを中心として. 日細菌誌, 44, 649-667 (1989).
- 7) Dancan, C. L. and Strong, D. H. : Improved medium for sporulation of *Clostridium perfringens*. *Appl. Microbiol.*, 16, 82-89 (1968).
- 8) Tortora, J. C. O. : Alternative medium for *Clostridium perfringens* sporulation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 1172-1174 (1984).
- 9) 水野 猛：折れ曲がり (bent) DNA のクローニングと解析法, 核酸シグナル実験マニュアル. 高浪満, 大井龍夫, 柳田充弘 (編), 174-183, 講談社, 東京(1989).
- 10) 都築俊文, 砂川絃之, 安藤芳明：ウェルシュ菌の芽胞形成に及ぼす前培養培地成分の影響. 食衛誌, 25, 356-359 (1984).

河川の水質変動について

山本 修 建島 秀和 坂本 哲夫* 宮本 伸一
磯野 裕之 片岡 秀雄 小田 健士 坂井 主動

1988～1990年の公共用水域水質調査のデータを用いて、生活環境項目に関する水質変動について検討を行った。

- (1) 各項目の分布型は、正規確率紙上で、pH、DO はほぼ正規分布、BOD、COD、SS、大腸菌群数は対数正規分布に近似していた。
- (2) 各年の年平均値に対する95%の推定精度は、pH; $\pm 1 \sim 2\%$ 、BOD; $\pm 12 \sim 23\%$ であった。
- (3) 推定精度を年平均値の $\pm 10\%$ 以内にするためには、pHで3～6回、BODで60～173回の調査が必要であった。
- (4) 水質変動要因の割合では月変動が大きく、全変動に対して約40～70%となり、日変動は約10～20%であった。

はじめに

昭和45年に水質汚濁防止法が施行されて以来、各地方公共団体では、水質測定計画に基づいて河川、海域等の水質監視調査を継続的に実施してきている。調査の目的は、環境水質の汚濁状況の把握、違反水質の発見及び排出源規制の3つに大別される。また、それぞれの目的に適した合理的な水質監視システムについての統計的な検討—観測の時間的、空間的配置の適正化を中心として—も以前から数多くなされている¹⁾。

広島市では、昭和46年から、水質汚濁防止法第16条の水質測定計画に基づく調査及びそれを補完する市計画の水質調査を実施してきた。これらのデータは、水質の平均的かつ年スケールの傾向把握、環境基準適合性の評価をするために用いられ、それぞれ年平均値、75%値を求める処理がなされている。

しかし、平均水質は最も根本的な性質であるが、河川水質の状況を判断する場合、同様に、平均水質からどの程度の幅で水質が変動しているかを把握することは重要である。

ここでは、水質測定計画に基づく調査のうち、通年調査(4回/月、12回/年)を行っている4地点の結果を用いて、年平均値の推定精度と測定回数との関係、水質変動について検討を試みたので報告する。

方 法

1 調査時期

1988年4月～1991年3月

2 調査地点

表1 調査地点

地 点 名	類型指定	特 徴
戸坂取水口	A	河川中流
日浦橋	B	河川下流
御幸橋	A	感潮域
仁保橋	B	感潮域

調査地点の類型指定及び特徴を表1に示す。

3 調査項目

pH、DO、BOD、COD、SS及び大腸菌群数の6項目

結果と考察

1 調査項目の分布型

図に、今回の検討に用いた各項目の分布の例を示した。ただし、大腸菌群数については、分布が典型的な対数正規分布をしていることから、測定値を対数変換した数値を用いた。正規確率紙を用いて検討した結果、pH及びDOはほぼ正規分布を示しており、BOD、COD及びSSは対数正規分布に近似していると考えられた。

一般に、河川等の水質測定値の場合、今回の結果と同様に、測定値が対数正規分布をしているものが多いといわれている²⁾。しかしながら、水質の汚濁状況の評価では、年平均値として算術平均値が用いられ、各種の統計処理がされていることから、大腸菌群数以外の各項目とも正規分布に近似していると仮定し、以降

*現：広島市衛生局環境保全課

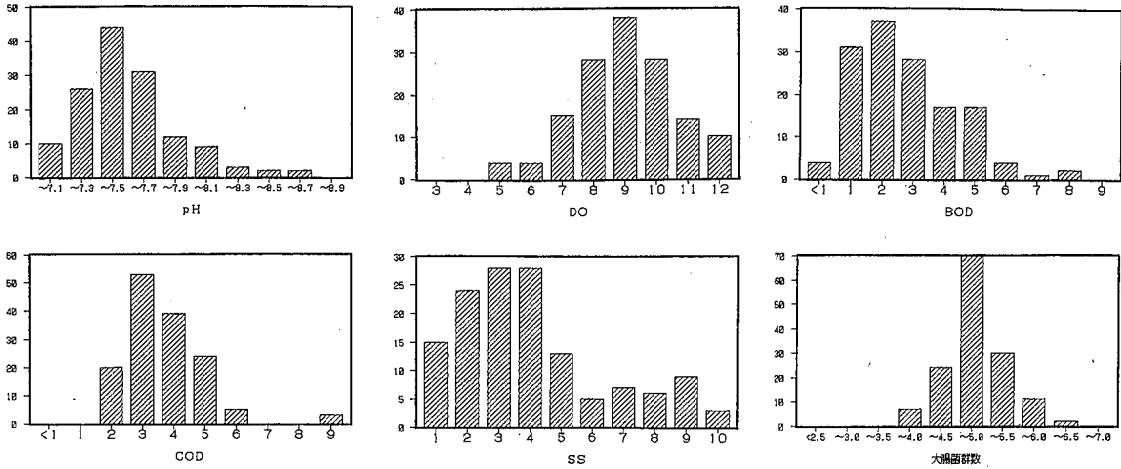


図 各項目の頻度分布 (日浦橋, 1988. 4 ~ 1991. 3)

表2 平均値及び95%の信頼区間 (N = 48)

項 目	戸坂取水口			日浦橋			御幸橋			仁保橋		
	平均	偏差	95%信 頼区間	平均	偏差	95%信 頼区間	平均	偏差	95%信 頼区間	平均	偏差	95%信 頼区間
pH (88')	7.6	0.31	±0.09	7.6	0.25	±0.07	7.7	0.26	±0.08	7.6	0.29	±0.08
〃 (89')	7.5	0.36	±0.10	7.5	0.44	±0.13	7.6	0.28	±0.08	7.7	0.22	±0.06
〃 (90')	7.4	0.34	±0.10	7.8	0.59	±0.17	7.6	0.30	±0.09	7.7	0.27	±0.08
DO (88')	10.2	1.2	±0.36	9.2	1.1	±0.33	7.9	1.7	±0.51	6.8	1.9	±0.56
〃 (89')	10.2	1.2	±0.36	9.1	1.5	±0.44	7.2	2.0	±0.60	6.1	2.0	±0.61
〃 (90')	10.3	1.3	±0.39	9.9	1.7	±0.50	8.1	1.6	±0.48	7.2	1.5	±0.45
BOD (88')	1.0	0.42	±0.12	2.8	1.3	±0.39	1.2	0.60	±0.17	2.6	1.6	±0.48
〃 (89')	0.9	0.54	±0.16	3.5	1.4	±0.41	1.0	0.40	±0.12	2.3	1.2	±0.36
〃 (90')	0.8	0.35	±0.10	3.5	2.1	±0.62	1.1	0.73	±0.21	2.4	1.9	±0.56
COD (88')	2.1	0.38	±0.11	4.0	1.1	±0.33	2.6	0.88	±0.26	3.2	1.2	±0.37
〃 (89')	2.0	0.46	±0.13	4.4	1.2	±0.35	2.3	0.67	±0.19	3.0	1.0	±0.31
〃 (90')	1.9	0.59	±0.17	4.0	1.3	±0.39	2.4	1.0	±0.30	3.0	1.3	±0.40
SS (88')	3.8	1.7	±0.52	3.7	4.0	±1.2	5.1	4.1	±1.2	5.8	2.7	±0.79
〃 (89')	3.8	2.4	±0.72	4.5	2.6	±0.77	6.0	6.9	±2.0	5.6	3.6	±1.0
〃 (90')	4.1	1.7	±0.51	5.1	2.8	±0.81	5.9	7.5	±2.2	5.0	2.9	±0.86
大腸菌 (88')	3.7	0.48	±0.14	4.8	0.44	±0.13	3.9	0.62	±0.18	5.0	0.81	±0.24
群数 (89')	3.6	0.54	±0.16	4.8	0.54	±0.16	3.6	0.67	±0.19	4.8	1.0	±0.29
〃 (90')	3.6	0.51	±0.15	4.7	0.52	±0.15	3.5	0.73	±0.21	4.6	1.0	±0.29

の検討を行った。

2 年平均値の推定精度と測定回数との関係

一般に真の平均値がある範囲の値をとるということを推定する場合、その推定が誤っている確率が危険率何%であってもやむを得ないかをあらかじめ設定しておく必要がある。

平均値の信頼限界は、測定値が正規分布に近似する場合、真の平均値 (μ)、測定回数 (N)、平均値 (\bar{x}) 及び標準偏差 (s) との関係から次のようにあらわされる。

$$\mu = \bar{x} \pm t s / \sqrt{N} \text{ -----(1)}$$

すなわち、 $\mu - \bar{x}$ の絶対値 $|\mu - \bar{x}|$ はある危険率

(α) で $t s / \sqrt{N}$ 以内にある。t は、危険率及び測定回数によって異なる数値であり、t 分布表によって求めることができる。

水質の状況等のような自然現象について推定する場合、危険率5%として解析した方が実際の²⁾ので、5%を用いて年平均値に対する95%の信頼区間を算出した。各項目の年平均値、標準偏差及び信頼区間を表2に示した。

4地点における各年度の年平均値に対する推定精度は、pH; $\pm 1 \sim 2\%$ 、DO; $\pm 3.5 \sim 10\%$ 、BOD; $\pm 12 \sim 23\%$ 、COD; $\pm 5.3 \sim 13\%$ 、SS; $\pm 7.4 \sim 12\%$ 、大腸菌群数; $\pm 2.7 \sim 6.4\%$ であった。

また、年平均値推定の相対誤差と測定回数の関係は(1)式を變形し、

$$\sqrt{N} = t s / (\bar{x} - \mu) \text{ --- (2)}$$

を計算することにより、測定回数Nを求めることができ、必要とする相対誤差の範囲内で平均値を推定することが可能である。

平均値に対する信頼区間の幅を变化させ、相当する測定回数を求めた結果を表3に示した。

推定精度を年平均値の $\pm 10\%$ にするためには、pH; 3~6回、DO; 10~48回、BOD; 64~173回、COD;

16~85回、SS; 72~449回の調査を行う必要がある。

現行の年48回の水質調査では、pH、DO以外の項目については、年平均値に対する誤差が大きく、年平均値を用いて経年変化等の評価をする場合、誤差を含んでいることを考慮する必要がある。

しかし、長期的にみると、3年間で計144回の調査をすることになり、SSを除く各項目は、 $\pm 10\%$ の誤差範囲内で平均水質を推定することができると思われる。

3 水質の変動

河川の水質は、年、月、日及び時間単位で常に変動しており、それらの変動は、人間活動や流量、水温等の自然要因等の周期的な変動が大部分を占めていると考えられる。

また、水質調査における周期的な変動として、日変動と月変動が考えられる。

水質変動をそれぞれの変動に分離するため、日、月の2つを要因とした分散分析を行い、変動の大きさを算出した。

ここで用いた日及び月を要因とする二元配置の分散分析のデータの構造は、次の式で表される。

$$x_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + e_{ij} \text{ --- (3)}$$

表3 平均値の95%信頼限界幅に対する測定回数(N)

項目	戸坂取水口			日浦橋			御幸橋			仁保橋		
	10%	30%	50%	10%	30%	50%	10%	30%	50%	10%	30%	50%
pH (88°)	4			3			3			3		
〃 (89°)	4			4			3			3		
〃 (90°)	4			6	1		3			3		
DO (88°)	10	3	2	10	3	2	28	5	3	36	6	4
〃 (89°)	10	3	2	14	4	3	34	6	4	48	8	5
〃 (90°)	11	4	2	13	4	3	19	4	3	21	4	3
BOD (88°)	71	11	7	91	12	6	100	14	8	158	20	9
〃 (89°)	141	18	10	64	10	5	64	9	5	120	16	7
〃 (90°)	77	12	8	144	19	8	173	22	9	156	19	12
COD (88°)	16	4	3	34	6	4	47	8	4	64	10	5
〃 (89°)	23	6	4	32	6	4	36	7	4	52	9	4
〃 (90°)	40	7	6	47	8	4	76	11	5	85	12	6
SS (88°)	89	13	6	449	52	21	262	31	13	88	12	6
〃 (89°)	168	21	9	138	18	8	522	61	24	163	21	10
〃 (90°)	72	10	5	119	16	7	694	73	29	139	18	8
大腸菌 (88°)	10	4	3	6	1		13	3	2	13	3	2
群数 (89°)	12	5	2	8	3		17	4	3	19	5	3
〃 (90°)	11	5	2	8	3		20	5	4	21	6	4

表4 月変動及び日変動

地 点	pH		D O		B O D		C O D		S S		大腸菌群数	
	月	日	月	日	月	日	月	日	月	日	月	日
戸坂取水口	3/3	3/3	2/3	2/3	3/3	2/3	3/3	3/3	3/3	0/3	3/3	2/3
日浦橋	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	3/3	1/3	3/3	0/3	3/3	2/3
御幸橋	2/3	0/3	3/3	2/3	2/3	2/3	3/3	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3
仁保橋	3/3	0/3	3/3	0/3	2/3	1/3	3/3	1/3	0/3	0/3	2/3	2/3

表5 水質変動要因の割合 (%)

項 目	月 の 効 果			日 の 効 果			そ の 他		
	最大	最小	平均	最大	最小	平均	最大	最小	平均
pH	66.3	26.7	46.4	36.7	9.3	18.6	73.9	12.5	39.5
D O	90.7	40.8	70.7	39.0	2.4	15.4	78.5	9.5	23.6
B O D	58.0	21.9	37.1	28.9	9.5	15.6	76.7	31.4	54.5
C O D	70.7	27.3	47.1	18.6	7.6	11.4	71.7	18.5	46.3
S S	78.1	24.5	46.2	—	—	—	81.7	19.1	63.6
大腸菌群数	56.6	23.0	38.7	31.9	5.7	17.0	74.4	38.7	54.0

x_{ij} ; i月, j回目の測定値

α_i ; i月の効果

β_j ; j回目の効果

e_{ij} ; x_{ij} に含まれる誤差

通常、因子が2つ以上あるときには、それぞれの交互作用効果を考慮しなければならないが、ここでは交互作用はないものとみなした。

分散分析の結果、危険率5%で有意となった月変動及び日変動の割合を表4に示した。

月変動については、SSを除く項目に、全地点とも有意を示す割合が大きい。日変動では、感潮域の2地点における変動が有意となる割合が、他の河川2地点と比較して低い傾向がみられた。

また、各変動要因が有意であった地点及び年度について、全変動に対するそれぞれの変動の寄与率を算出し、表5に示した。なお、SSの日変動については、有意になった地点及び年度が0であったので算出できなかった。

変動の大きさは、項目によってかなりバラツキがみられ、月変動は約40~70%、日変動は約10~20%、そ

の他が約20~40%の割合であった。

今回は測定計画に基づく調査のうち、年48回の調査を行っている地点について水質変動の検討を行った。

今後、調査回数の異なる地点について、調査回数の検討も含め総合的に河川水質の検討を行っていきたいと考えている。

文 献

- 1) 松岡 譲 他：水質監視システムの合理化に関する研究の現状と問題点、水質汚濁研究、6(1)、1~13 (1983)
- 2) 半谷 高久, 小倉 紀雄共編：水質調査法、改訂2版、丸善(1990)
- 3) 近藤 良夫, 舟阪 渡共編：技術者のための統計的方法、共立出版(1985)

広島市における浮遊粉じん調査 (その2)

片岡真喜夫 吉清 武史 白川 純 藏田 義博
大倉 健二 安部 肇* 坂井 主動

自動車排ガス測定局で浮遊粉じんの性状、成分組成割合を粒径別に調査した結果、次のことがわかった。

- 1 浮遊粉じんの粒径分布は、 $2\mu\text{m}$ を谷とした二山型を示した。
- 2 粉じん量、総炭素、Fe、Caの濃度は環境大気測定局に比べ高濃度であった。
- 3 浮遊粉じんへの主要発生源からの寄与率は、自動車排ガス測定局では、燃焼系粒子34%、土壌系粒子31%、環境測定局では、燃焼系粒子35%、土壌系粒子21%であったが、環境大気測定局に比べ土壌系、燃焼系粒子の濃度が増加した。
- 4 環境大気および自動車排ガス測定局における粉じんの主要発生源は、ともに燃焼系と土壌系粒子であり自動車によるものと推定された。

はじめに

前報¹⁾では環境大気測定局 (以下、環境) において調査を行ったが、今回は、幹線道路において、粒径別に浮遊粉じんの性状、成分組成割合を調査したので、その結果を報告する。

表1 調査地点の周囲の状況

調査地点	国道名	車線数	交通量	大型車混入率
古市	54号線	4	29,000	18.4%
庚午	2号線 (県道と交差)	8(高架2)	67,000	17.1
紙屋町	54号線 (県道と交差)	12	59,000	12.5
比治山	2号線	8	57,000	15.0

注) 交通量、大型車混入率は「道路交通量実態調査 総括表 平成3年2月」(広島市建設局)による。

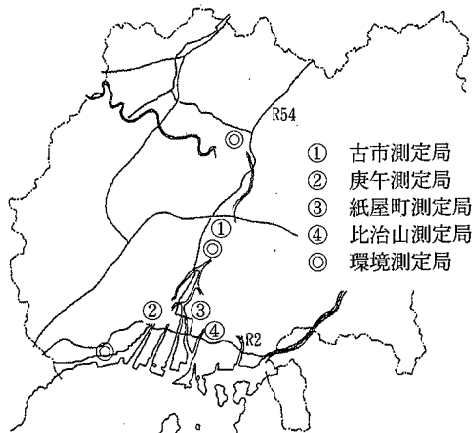


図1 調査地点

方 法

1 調査地点

調査地点として、周囲に大規模な固定発生源の認められない自動車排ガス測定局 (以下、自排) を選定した。調査地点を、図1、周囲の状況を表1に示した。

2 調査内容

各測定地点にアンダーセンローポリウムエアースンプラを設置し、浮遊粉じんを採取した。浮遊粉じんの

表2 捕集方法及び測定期間

捕集方法	ダイレック社 AN-200をシュルター内に設置 0.43~11 μm 以上(50%分級径)を8段分級 0.43 μm 未満はバックアップ	
使用口紙	総炭素: パルフレックス 2500QAT-UP その他: ニュークリポア PCMEMB.4UM	
測定期間	古市	平成3年11月13日~11月29日 平成4年1月23日~2月7日
	庚午	平成3年5月7日~5月14日 〃 9月3日~9月13日
	紙屋町	〃 6月26日~7月10日 〃 12月10日~12月26日
	比治山	〃 5月25日~6月1日 〃 10月18日~11月1日

表3 測定項目及び分析方法

測定項目	分析方法	
粉じん量	恒温恒湿室に放置後、重量測定	
総炭素	パルフレックスろ紙をCHN計で分析 (He雰囲気下900°C7分間加熱燃焼)	
陽イオン	Na, K	水-超音波抽出後、A A分析
	NH ₄	〃 I C分析
陰イオン	SO ₄ , NO ₃ , Cl	水-超音波抽出後、I C分析
重金属	Ca, Mg, Zn	硝酸-過酸化水素分解後、ICP分析
	Fe, Ti	(2 μm 以上, 2 μm 未満に区分)

* 現 広島市衛生局環境保全課

捕集方法、測定期間、測定項目及び分析方法等を表2～3に示した。

結果と考察

1 成分組成

浮遊粉じんを2 μm以上の粗大粒子(粗大粒子)と2 μm未満の微小粒子(微小粒子)に区分した各測定項目の組成成分濃度を表4に示した。

また、粉じん量、総炭素及び水溶性イオンの粒径分布を図2に示した。

(1) 浮遊粉じん

浮遊粉じん量は、72～121 μg/m³であり、環境(45 μg/m³)に比べ非常に高濃度であった。地点間を比較すると、近くに交差点があり交通量の比較的多い紙屋町、庚午は、単路線であり後背地が空間で大きく開けている他の2地点に比べ高濃度であった。また、浮遊粉じんの粒径分布は、各地点とも環境と同様2 μm付近の粒径を谷とした二山型を示し、粗大粒子の山が5～6 μm付近にあり、微小粒子の山が0.7 μm付近にあった。

(2) 総炭素

総炭素は、26～43 μg/m³と、環境(15 μg/m³)に比べて非常に高濃度であった。地点間を比較すると、庚午がもっとも高濃度であり、以下、紙屋町、古市、比治山の順であった。粒径分布は、各地点とも環境と同様2 μm付近の粒径を谷とした微小粒子側に偏った二山型を示した。

(3) 水溶性イオン(陽イオン、陰イオン)

浮遊粉じん中の水溶性イオンのうち、SO₄、NH₄、K、Clは、微小粒子側に偏った二山型を示した。そのうち、SO₄、NH₄は、環境と同濃度であり、この物質は広範

囲に影響を及ぼしていると推定された。

Na、Clの粒径分布は、粗粒子側では、類似した濃度パターンを示したものの、微粒子側では、Clは、Kと類似した大きなピークがあり、KClとしての存在が推定された。

(4) 重金属

浮遊粉じん中の重金属の占める割合は、粗大粒子で2%、微小粒子で1%前後であった。なかでも、土壌の主要構成成分であるFe、Ca、Mgの濃度が環境に比べ高く、土壌の影響が大きいと思われた。

なお、浮遊粉じん中の不明成分は、微小粒子中34%、粗大粒子中65%あり、それらは、土壌系粒子の構成成分であると思われた。

2 主要発生源寄与率の推計

幹線道路周辺における浮遊粉じんの主要発生源は、燃焼系粒子、二次生成粒子、土壌系粒子及び海塩粒子であり、そのうち燃焼系粒子は自動車からの排出粒子、土壌系粒子は自動車による土壌の巻きあげが主なものと考えられる。

そこで、各調査地点の浮遊粉じん濃度に対するこれら主要発生源の予測濃度と寄与率を前報と同様、次式で推計し、その結果を表5に示した。また、粒径別(粗大粒子と微小粒子)の予測濃度を図3に示した。

$$X = A_i \times 100 / B_i$$

$$Y = X / A \times 100$$

X : 発生源からの予測濃度

Y : 発生源の寄与率

A : 浮遊粉じんの濃度

A_i : 浮遊粉じん中の成分(i)の濃度

B_i : 発生源粒子中の成分(i)の含有率

なお、推計は、以下の条件²⁾のもとで行った。

表4 測定項目の組成成分

	古市		庚午		紙屋町		比治山		環境平均	
	微小粒子	粗大粒子	微小粒子	粗大粒子	微小粒子	粗大粒子	微小粒子	粗大粒子	微小粒子	粗大粒子
粉じん量	45800	46100	49000	61200	57700	63600	41400	31000	22900	22100
総炭素	19000	9250	27500	15600	24900	13600	17700	8350	9900	5720
Na	285	344	207	317	235	375	201	430	199	307
K	383	76	211	50	249	91	236	77	181	36
NH ₄	2180	36	1830	9	2440	93	2280	31	1350	3
SO ₄	4230	1600	4900	900	4520	2300	4500	1200	4910	872
NO ₃	1160	592	813	1150	1250	559	2300	1060	869	766
Cl	1170	310	42	284	572	225	212	341	101	198
Ca	27	655	142	1210	71	1940	21	374	31	303
Mg	27	136	74	311	30	250	12	99	15	64
Zn	158	43	96	76	143	103	49	33	28	8
Fe	60	557	142	1180	265	2270	77	416	54	192
Ti	0	19	0	34	1	49	0	5	3	6

単位: μg/m³

- ① 土壤系粒子の指標成分を、Fe (付近で採取した 75 μm 以下の道路堆積物：含有率1.9~4.9%)とし、その指標成分は他の発生源にないものとする。
 - ② 海塩粒子の指標成分を、Na (含有率30.4%)とし、その指標成分は他の発生源にないものとする。
 - ③ 二次生成粒子は NH_4 、 SO_4 及び NO_3 の実測値の合計とする。
 - ④ 燃烧系粒子は総炭素の実測値の合計とする。
- 浮遊粉じんへの主要発生源の予測濃度は、各測定地点とも燃烧系粒子が最も高く 34 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。次いで、土壤系粒子 31 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、二次生成粒子 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、海塩粒子 2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の順であり、それらの合計で 77 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 程度であり、環境 (土壤系粒子：9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、燃烧系粒子：16 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) に比べ土壤系粒子が 3 倍、燃烧系粒子が 2 倍に増加した。しかし、粉じん量も環境に比べ 2 倍に増加しており、環境、自排とも燃烧系粒子の寄与率は同程度であった。

表 5 主要発生源からの予測濃度及び寄与率

	古市	庚午	紙屋町	比治山	平均	環境
燃烧	28.2 (31)	43.1 (39)	38.6 (32)	26.1 (36)	34.0 (34)	15.6 (35)
土壤	32.3 (35)	26.8 (24)	53.1 (44)	11.4 (16)	30.9 (31)	9.2 (21)
二次	9.8 (11)	9.6 (9)	11.2 (9)	11.4 (16)	10.5 (11)	8.8 (19)
海塩	2.1 (2)	1.7 (2)	2.0 (2)	2.1 (3)	2.0 (2)	1.7 (4)
不明	19.5	29.0	16.5	21.5	21.6	9.7
合計	91.9	110	121	72.5	99.0	45.0

単位： $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (寄与率：%)

地点間を比較すると、土壤系粒子は、紙屋町が 53 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と非常に高濃度であり、以下、古市、庚午、比治山の順であった。燃烧系粒子は、庚午が 43 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と最も高く、以下、紙屋町、古市、比治山の順であった。紙屋町、庚午は、交通量の多い交差点に位置し常時渋滞しているため、自動車による影響が非常に大きかったと考えられた。比治山は、単路線であり後背地に大きな空間があり拡散されやすいことが濃度の減少した一因と考えられた。海塩粒子は各地点とも 2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と濃度が低かった。また、二次生成粒子は各地点とも 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 前後と、各地点とも環境と同程度の濃度であり、自動車からの直接影響ではなく広範囲に汚染物質が存在しているためと思われる。

粗大粒子では、土壤系粒子は、古市、庚午、紙屋町が環境に比べ高濃度であり、自動車による土壤系粒子の巻きあげによる影響が大きかったものと考えられるが、微小粒子では、土壤系粒子は少なく、影響はほとんどなかったと考えられた。また、微小粒子では、燃烧系粒子が、環境、自排とも濃度が高く、それらは、自動車からの排出粒子によるものと推定され、環境に影響を与えている主要発生源は自動車によるものと考えられた。

文 献

- 1) 片岡真喜夫 他：広島市における浮遊粉じん調査、広島市衛生研究所年報, 10, 53~57 (1991)
- 2) 横浜市公害研究所：浮遊粉じんの発生源推定に関する調査研究報告書 (1989)

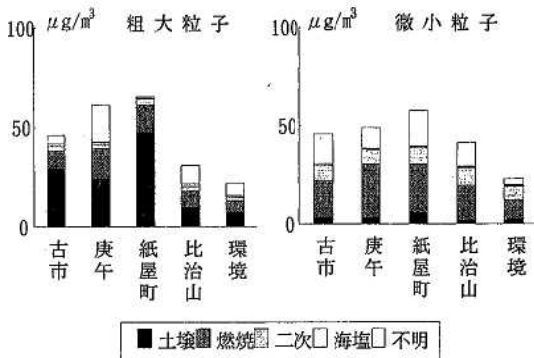


図 3 主要発生源からの粒径別予測濃度

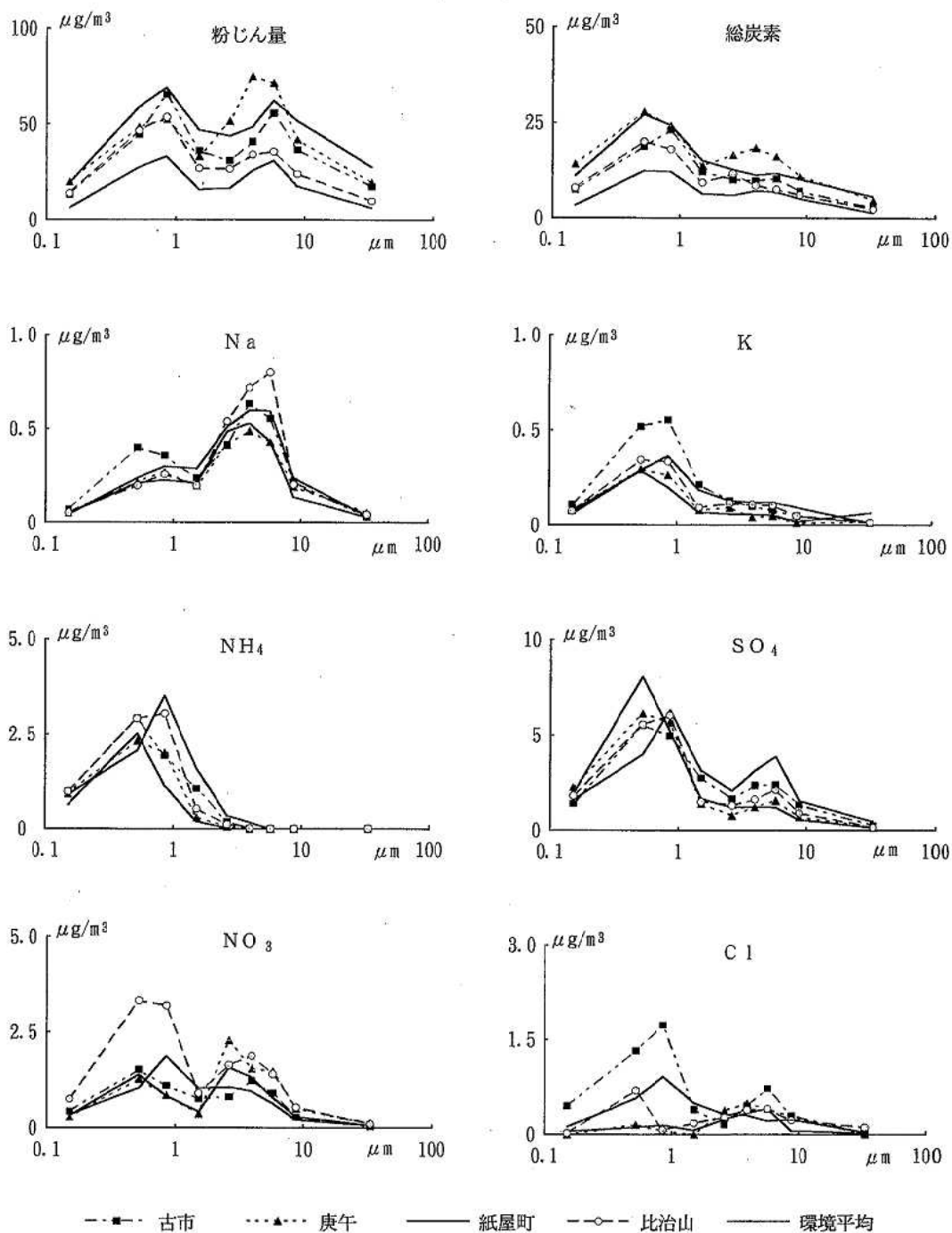


図2 測定項目の粒径分布

感潮河川の底生動物相と生物学的水質評価法の検討 (第6報)

尾川 健 松木 司 花尾 裕士* 國弘 節
亀井 且博 坂井 主動

感潮河川に適用できる生物学的水質評価法として、これまで検討してきたなかで最も適当であると考えられる汚濁指数を使う方法を太田川の感潮域の評価に使用した。

その結果、つぎのことが分かった。

- 1 汚濁指数を使用した水質評価法は太田川の感潮域で使用できる。
- 2 汚濁指数を使用した水質評価法は季節に関係なく使用できる。

はじめに

近年、河川汚濁の調査に、水生生物の生息状況を利用する方法が用いられている。しかしながら、現在用いられている生物学的水質評価法は、淡水河川でのみ適用できるものであり、感潮河川に適用できる生物学的水質評価法は確立されていない。

広島市を流れる太田川は、上流部は淡水河川であるが、下流部は感潮河川である。そのため、広島市の河川全域を生物学的水質評価するには、感潮河川に適用できる生物学的水質評価法を検討する必要がある。

当所では、感潮河川における底生動物相の調査を実施し、感潮河川に適用できる生物学的水質評価法を検討してきた。

これまでに生物指数¹⁾・多様性指数²⁾・多毛類甲殻類編組比率³⁾・指標性種の出現状況による方法⁴⁾・汚濁指数^{5),6)}について感潮河川への適用を検討した^{7),8)}。

また、サンプリング面積の検討を行い⁹⁾、さらに、広島市の感潮河川で出現する底生動物の汚濁階級分けを行った¹⁰⁾。

前年度は、階級分けした底生動物を使って計算した汚濁指数と水質・底質との関係を求めた。その結果、汚濁指数を使っての感潮河川の評価は可能であることが分かった¹¹⁾。今回はこの汚濁指数による評価法が感潮河川の全域で適用できるか否かを調べるため、これまで調査していない地点を調査地点に選び、また、調査時期による適用の可否を調べるため、これまでの春から夏にかけて調査していたものを秋に調査し、前回同様に汚濁指数と水質・底質との関係を求めたので報告する。

方 法

1 調査地点

*現 広島市衛生局環境保全課

河川名	地点番号	地点名
太田川	1	三滝橋
放水路	2	旭橋
天満川	3	新観音橋
本川	4	北大橋
	5	新住吉橋
元安川	6	新明徳橋
京橋	7	常盤橋
	8	平野橋

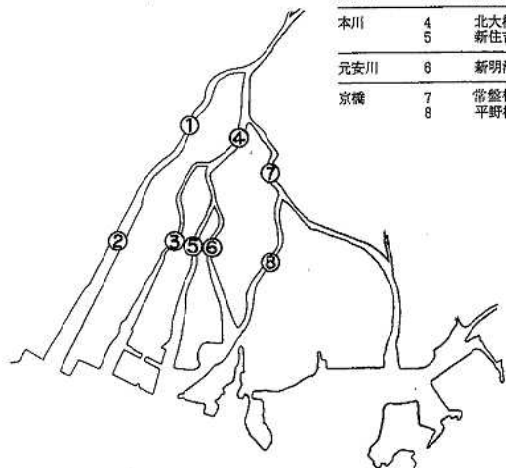


図 調査地点

調査地点を図に示す。調査地点は太田川の感潮域のこれまで調査していない8地点である。

2 調査日

平成3年10月7日

3 試料採取および分類

各調査地点の流心においてエクマンバージ型採泥器(20×20cm)を用い、0.16m²の底土を採取した。採取した底土は、1mm目篩で篩分けし残渣を70%エタノールで固定し、底生動物の分類計数に供した。なお分類は岡田¹²⁾に基づき、できる限り種のレベルまでを行い、困難な場合は科、目あるいはそれ以上のレベルでとどめ、便宜上それらを1種として取り扱った。またこれらとは別に理化学試験用として河底土と河川水を各地

点で採取した。

4 汚濁指数 (PI)

出現した種の指標性を4段階に分け、その種の個体数から3段階の出現頻度を求めて、次式により算出する。

$$PI = \sum (S \cdot h) / \sum h$$

S : 汚濁階級	h : 出現頻度	
貧腐水性 S = 1	1 個体	h = 1
β -中腐水性 S = 2	2 ~ 9 個体	h = 2
α -中腐水性 S = 3	10 個体以上	h = 3
強腐水性 S = 4		

種の汚濁階級は森下⁶⁾尾川¹⁰⁾を使用した。

結果と考察

底生動物の分類結果を表1に、汚濁指数、水質・底質のCOD値を表2に示す。

1 底生動物の出現状況

今回の調査で得られた底生動物は15種、549個体であった。

分類別では環形動物門の多毛綱が4種、367個体、軟体動物門の二枚貝綱が2種、78個体、節足動物門の甲殻綱が8種、103個体出現した。出現個体数が多かったのは多毛綱のゴカイ科 *Nereis* 132個体、ヤマトスピオ *Prionospio japonicus* 185個体、二枚貝綱のヤマトシジミ *Corbicula japonica* 61個体、甲殻綱のウミナナフシ *Paranhura japonica* 72個体であった。前年度の調査で多く出現した二枚貝綱のアサリ *Tapes philippinarum* と甲殻綱のドロクダムシ科 *Corophiidae* が今回の調査では全く出現しなかった。

2 各調査地点の状況

各調査地点の水質COD、底質COD、底生動物の出現状況、汚濁指数は次のとおりである。

(1) 三滝橋 (St 1)

水質は1.8mg/lと今回の調査地点のなかでは最も高く、底質は17mg/kgで今回の調査地点のなかではSt 8・St 3に次いで高かった。

出現種数は7種であったが、出現個体数は133個体と多かった。分類別ではゴカイ科 *Nereis* が103個体と多く、出現個体数の77%を占めた。そのほか、ヤマトシジミ *Corbicula japonica* が18個体と多かった。

また、汚濁指数は2.7とやや高い値であった。

(2) 旭橋 (St 2)

水質は1.5mg/l、底質は4.2mg/kgであった。

出現種数は4種、出現個体数は18個体といずれも今

回の調査地点のなかでは最も少なかった。

分類別で多かったのはヤマトスピオ *Prionospio japonicus* が9個体、ホトトギスガイ *Musculus senhousia* が7個体であった。

また、汚濁指数は2.8であった。

(3) 新観音橋 (St 3)

水質は1.5mg/lとやや高く、底質も27mg/kgと今回の調査地点のなかではSt 8に次いで高かった。

出現種数は10種、出現個体数は160個体といずれも今回の調査地点のなかでは最も多かった。

分類別ではヤマトスピオ *Prionospio japonicus* が88個体と多く、ウミナナフシ *Paranhura japonica* が41個体と多かった。

また、汚濁指数は2.7とやや高かった。

(4) 北大橋 (St 4)

水質は1.2mg/lであり、底質は0.4mg/kgといずれも今回の調査地点のなかでは最も低い値であった。

出現種数は6種と少なく、出現個体数も37個体と少なかった。分類別ではゴカイ科 *Nereis* が17個体と最も多く出現した。

また、汚濁指数は2.4と今回の調査地点のなかでは最も低い値であった。

(5) 新住吉橋 (St 5)

水質は1.2mg/lと今回の調査地点のなかでSt 4とおなじく最も低かったが、底質は3.7mg/kgであった。

出現種は6種、29個体と少なかった。分類別で多かったのはヤマトスピオ *Prionospio japonicus* の19個体であった。また、汚濁指数は2.6であった。

(6) 新明治橋 (St 6)

水質は1.4mg/l、底質は2.0mg/kgといずれも低い値であった。

出現種は8種、71個体であった。分類別ではヤマトスピオ *Prionospio japonicus* が33個体と多く、ウミナナフシ *Paranhura japonica* が23個体と多かった。

また、汚濁指数は2.6であった。

(7) 常盤橋 (St 7)

水質は1.4mg/lと低く、底質も1.1mg/kgと低かった。

出現種数は5種とSt 2に次いで少なかったが、出現個体数は70個体であった。

分類別ではヤマトスピオ *Prionospio japonicus* が33個体、ヤマトシジミ *Corbicula japonica* が30個体と多く出現した。

また、汚濁指数は2.7とやや高い値であった。

表1 底生動物の分類表

種名	河川名 地点番号 地点名	太田川放水路		天満川	本川		元安川	京橋川		計
		1	2	3	4	5	6	7	8	
		三滝橋	旭橋	新観音橋	北大橋	新住吉橋	新明治橋	常盤橋	平野橋	
ANNELIDA	環形動物門									
POLYCHAETA	多毛綱									
Nereis	ゴカイ科	103	1	1	17	1	2	5	2	132
Prionospio japonicus	ヤマトスビオ	1	9	88	1	19	33	33	1	185
Spio	スビオ科	1		4		1	2	1	3	12
Capitellidae	イトゴカイ科	3		1			3		21	28
OLIGOCHAETA	貧毛綱									
Oligochaeta	貧毛綱	5			6					11
MULLUSCA	軟体動物門									
BIVALVIA	二枚貝綱									
Musculus senhousia	ホトトギスガイ		7	8			2			17
Corbicula japonica	ヤマトシジミ	18		3	6	4		30		61
ARTHROPODA	節足動物門									
CRUSTACEA	甲殻綱									
Paranthurus japonica	ウミナナフシ		1	41	3	3	23		1	72
Excirolana japonica	ヒメスナホリムシ				4					4
Harpinia miharaensis	ヒサシソコエビ						4			4
Grandidierella japonica	ニホンドロソコエビ	2		11				1	3	17
Gammaridea	ヨコエビ亜目						2			2
Macrura	長尾類									
Crangon affinis	エビジャコ					1				1
Brachyura	短尾類									
Hemigrapsus penicillatus	ケフサイソガニ (メガロバ)			2 1						2 1
出現種数		7	4	10	6	6	8	5	6	15
出現個体数		133	18	160	37	29	71	70	31	549
最多出現種		ゴカイ科	ヤマトスビオ	ヤマトスビオ	ゴカイ科	ヤマトスビオ	ヤマトスビオ	ヤマトスビオ	イトゴカイ科	ヤマトスビオ

表2 汚濁指数・水質COD・底質COD

	汚濁指数	水質COD (mg/l)	底質COD (mg/kg)
1三滝橋	2.7	1.8	17
2旭橋	2.8	1.5	4.2
3新観音橋	2.7	1.5	27
4北大橋	2.4	1.2	0.4
5新住吉橋	2.6	1.2	3.7
6新明治橋	2.6	1.4	2.0
7常盤橋	2.7	1.4	1.1
8平野橋	2.8	1.7	36

(8) 平野橋 (St 8)

水質は1.7mg/lと今回の調査地点のなかでSt1に次いで高く、底質は36mg/kgと今回の調査地点のなかで最も高かった。

出現種は6種、31個体といずれも少なかった。分類別ではイトゴカイ科 Capitellidae が21個体と多く出現した。

汚濁指数は2.8と今回の調査地点のなかでは最も高かった。

3 汚濁指数, 水質 COD, 底質 COD の関係

汚濁指数と水質 COD・底質 COD との相関係数を表 3 に示す。

表 3 汚濁指数と水質 COD・底質 COD との相関係数

	水質 COD	底質 COD
汚濁指数	0.71	0.54

汚濁指数と水質 COD・底質 COD との相関係数は 0.71・0.54 であり、いずれも前回の相関係数より大きかった。また、今回・前回とも汚濁指数と水質 COD との相関が汚濁指数と底質 COD との相関より大きかった。

一般に底生動物は、底土の中で生活するものが多く、底質の影響が大きいと考えがちである。しかしながら、前回の結果も今回の結果も水質の影響が大きいことを示している。

また、相関係数の10%の有意水準が0.55であることから、汚濁指数は水質・底質の状況をよく表していると考えられる。

これらの結果から、これまでに検討してきた汚濁指数によって感潮河川を生物学的に水質評価する方法は、太田川の感潮域全域に適用できるものであり、また、春・夏の調査に限らず適用できると考えられる。

今後も感潮河川での調査を進め、検討と考察を繰り返しながら感潮河川での生物学的な水質評価法をより確かなものにしていきたい。

文 献

- 1) 菊地泰二：環境指標としての底生動物(1)―群集構造を中心に―、環境と生物指標 2 (水界編), 255~264, 共立出版(1975)
- 2) 渡辺直：多様性指数による生物学的水質判定, 用水と廃水, 15, 725~730(1973)
- 3) 北森良之助：非閉鎖型海域における底生動物相からみた汚染の現況, 水処理技術, 14, 685~695(1973)
- 4) 北森良之助：環境指標としての底生動物(2)―指標生物を中心に―、環境と生物指標 2 (水界編), 265~273, 共立出版(1975)
- 5) 津田松苗 他：biotic index と pollution index, 水処理技術, 15, 457~462(1974)
- 6) 森下郁子：河口域の指標生物と生物学的水質判定法の試案, 公害と対策, 17, 413~418(1981)
- 7) 尾川 健他：感潮河川の底生動物相と生物学的水質評価法の検討, 広島市衛生研究所年報, 6, 69~74
- 8) 尾川 健他：感潮河川の底生動物相と生物学的水質評価法の検討 (第 2 報), 広島市衛生研究所年報, 7, 73~79
- 9) 尾川 健他：感潮河川の底生動物相と生物学的水質評価法の検討 (第 3 報), 広島市衛生研究所年報, 8, 79~82
- 10) 尾川 健他：感潮河川の底生動物相と生物学的水質評価法の検討 (第 4 報), 広島市衛生研究所年報, 9, 68~74
- 11) 尾川 健他：感潮河川の底生動物相と生物学的水質評価法の検討 (第 5 報), 広島市衛生研究所年報, 10, 58~68
- 12) 岡田要：新日本動物図鑑 (上)・(中)・(下) 北隆館(1972)

広島市における環境水中のトリチウム

國弘 節 松木 司 花尾 裕士* 尾川 健
 亀井 且博 坂井 主動

市内における環境水中のトリチウムを調査した結果次のことが分かった。

- 1 雨水の濃度は、1987年度まで減少傾向を示し、その後1 Bq/l前後の値で一定である。9か年の平均は $1.02 \pm 0.78 \text{ Bq/l}$ であり、明確な季節変動はみられない。
- 2 淡水域の河川水濃度は、10か年の平均が $1.43 \pm 0.29 \text{ Bq/l}$ であり、地点間による濃度の差はみられない。また、経年変化をみると1982年以降徐々に減少していくグループと1983年と1990年にピークのあるグループに大別される。
- 3 感潮域の河川水濃度は、9か年の平均が $0.83 \pm 0.09 \text{ Bq/l}$ であり、西部の方が高い傾向を示す。
- 4 海水の濃度は、9か年の平均が $1.24 \pm 0.61 \text{ Bq/l}$ であり、西部の方が低い傾向を示す。
- 5 環境水中のトリチウムのバックグラウンドレベルは、雨水、河川水（淡水域）、河川水（感潮域）及び海水で、それぞれ $0.76 \pm 0.21 \text{ Bq/l}$ 、 $0.96 \pm 0.28 \text{ Bq/l}$ 、 $0.85 \pm 0.29 \text{ Bq/l}$ 及び $0.62 \pm 0.31 \text{ Bq/l}$ である。淡水域の河川水濃度が一番高く、次いで感潮域の河川水、雨水、海水の順である。

はじめに

トリチウム (^3H ・3重水素) は水素の同位元素で、物理的半減期が12.3年、最大エネルギーが18.6KeVの β 線を放出する放射性核種である。その発生源は天然のものとして、主に宇宙線により大気中の窒素が ^{14}N (n, ^{14}C) ^3H の反応で生成されるものと、人工的なものとして、核実験や原子力の平和利用施設である原子力発電所などから放出されるものがある。その生成量は、天然のものは一定であるが、人工的なものは核実験が停止された現在では、原子力の平和利用が盛んになるとともに増加することが考えられる。また、トリチウムは、HTOとして環境中で広く水圏や生物圏に取り込まれるため、その動態を把握することは重要である。

そこで、当所では環境放射能調査の一環として広島市内における環境中のトリチウムを10年間測定してきたので、その結果について報告する。

方 法

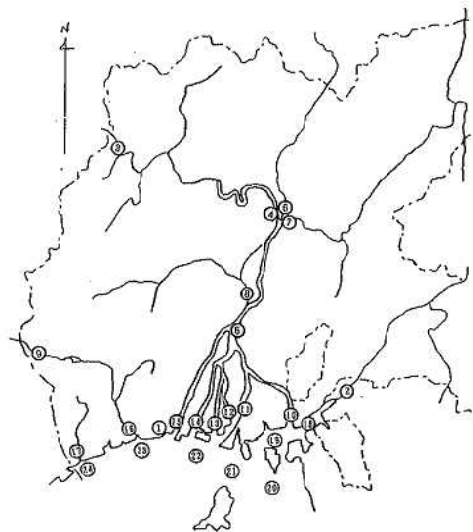
1 調査地点及び採取方法

調査地点を図1に示す。

試料採取は「トリチウム分析法 (科学技術庁, 昭和51年改訂)」に準じて行った。雨水は当所の屋上に設置した自動雨水採取装置 (ヒロマイト製作所製) により採取し1か月分をまとめて1試料とした。

河川水及び海水は、原則として春期と秋期の年2回

(1982年度及び1990年度以降は春期のみ)、表層水を採取した。



St.	調査地点	St.	調査地点	St.	調査地点
1	衛生研究所	9	上原橋	17	三筋橋中央
2	日生浦	10	上原橋	18	三筋橋中央
3	高田	11	仁保橋	19	三筋橋南
4	高田	12	仁保橋	20	三筋橋南
5	大根	13	舟入	21	宇野江
6	大根	14	舟入	22	宇野江
7	大根	15	舟入	23	宇野江
8	大根	16	舟入	24	宇野江

図1 調査地点

*現 広島市衛生局環境保全課

2 調査期間

雨水 1983~1991年度

河川水 1982~1991年度

(感潮河川は、1983~1991年度)

海水 1982~1991年度

なお、旧五日市町の合併にともない、St.9, St.16, St.17の河川及びSt.23, St.24の海域は、1985年度より実施した。

3 試料の調整法

試料調整は「トリチウム分析法 (科学技術庁, 昭和51年改訂)」に準じて行い、試料約1ℓにKMnO₄とNa₂O₂をそれぞれ1g添加し、蒸留を繰り返し2回行い約300mlの試料水を得た。この試料水40mlと乳化シンチレータ (Aquasol-2) 70mlをテフロンバイアルに入れ、温湯中で混合液が透明になるまで振とうし、均一混合したものを測定試料とした。

4 測定機器及び計数法

測定器は低バックグラウンド液体シンチレーションカウンター (Aloka製: LSC-LB1) を用いた。化学発光等の疑似計数を避けるため測定試料を計測温度 (13℃) で保存した後、測定時間100分を10回繰り返し、これを3サイクル行った。

計数値が平均値±3√平均値の範囲を超える場合、その計数値は棄却した。なお、計数効率率は11.3%である。

結果と考察

1 雨水 (St.1)

9か年間の平均値による年度別の経年変化を図2に、また最大値、最小値及び平均値を表1に示す。この期間の、最大値、最小値及び平均値は、11.7±0.44Bq/ℓ (1983年4月)、0.00±0.41Bq/ℓ (1983年11月)、1.02±0.78Bq/ℓであった。平均値による経年変化をみると、1987年度までトリチウム濃度は減少し、その後1990年度まで緩やかな上昇傾向がみられた。また、京都府の35~20pCi/ℓ¹⁾ (1.30~0.74Bq/ℓ)、松江市の24pCi/ℓ²⁾ (0.89Bq/ℓ) さらに高島らによる全国平均値1.0Bq/ℓ³⁾と同程度の濃度であった。

経月変化は図3に示すとおりである。雨水中のトリチウム濃度は、海洋性の気象の時は低く、内陸性の気象の時は高くなる⁴⁾といわれており、秋から冬にかけて低く、冬から春にかけて高くなると考えられる。しかしながら当市においては、1983年10月以降のトリチウムは1Bq/ℓ前後の濃度の低いところで不規則に変動しており (CV%: 53)、明確な季節変動は認められなかった。また、1986年4月末に発生したチェルノブイリ原子力発電所事故による雨水に与える影響は認められなかった。

2 河川水

(1) 淡水域 (St.2~St.9)

10か年間の平均値による年度別の経年変化を図4に、また最大値、最小値及び平均値を、表2に示す。最も高い値を記録したのは、St.5の15.5±0.63Bq/ℓ (1983年) で、低い値を示したのはSt.3の0.00±0.46Bq/ℓ (1983年) であった。また、淡水河川全体の平均は1.43±0.29Bq/ℓであり、St.7の平均値が若干高いものの、地点間による大きな差は認められなかった。

平均値による経年変化をみると、1982年以降徐々にトリチウム濃度が低下していくグループ (St.3, St.4, St.7) と1983年と1990年にピークのあるグループ (St.2, St.5, St.6, St.8) に大別された。なお、St.9は変動も少なく、顕著な傾向はみられなかった。

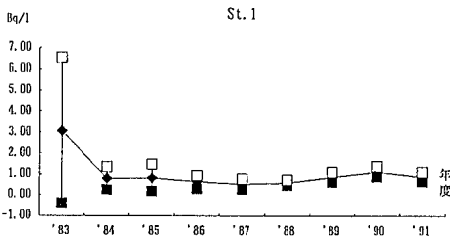


図2 雨水の経年変化

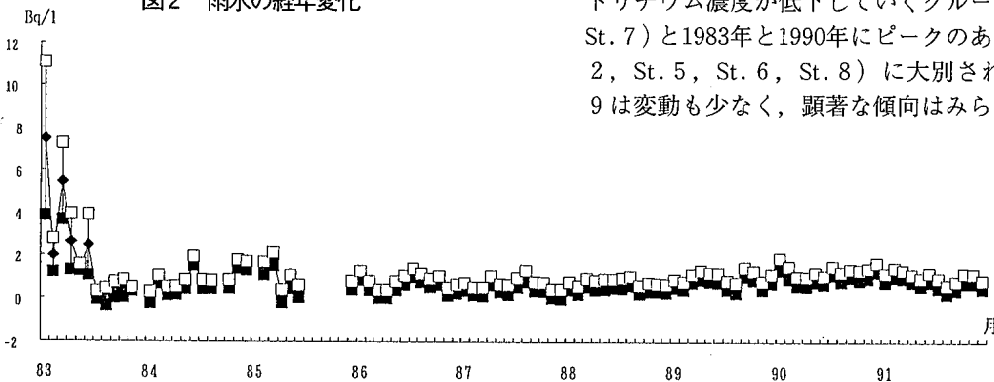


図3 雨水の経月変化

表1 雨水の年度別経年変化

St. No.	'83	'84	'85	'86	'87	'88	'89	'90	'91	全平均値
1	11.7 ± 0.44	1.70 ± 0.23	1.80 ± 0.33	1.18 ± 0.20	1.03 ± 0.28	0.80 ± 0.22	1.22 ± 0.22	1.60 ± 0.22	1.20 ± 0.23	1.20 ± 0.23
	0.00 ± 0.41	0.00 ± 0.28	0.06 ± 0.81	0.00 ± 0.19	0.19 ± 0.23	0.37 ± 0.20	0.49 ± 0.24	0.77 ± 0.22	0.41 ± 0.21	0.41 ± 0.21
	3.05 ± 3.47	0.79 ± 0.56	0.81 ± 0.86	0.63 ± 0.33	0.50 ± 0.25	0.58 ± 0.14	0.84 ± 0.24	1.11 ± 0.25	0.85 ± 0.23	0.85 ± 0.23

(上段：最大値、中段：最小値、下段：平均値) 単位：kg/l

表2 河川水(淡水域)の年度別経年変化

St. No.	'82	'83	'84	'85	'86	'87	'88	'89	'90	'91	全平均値
2	4.44 ± 0.33	17.1 ± 0.52	0.83 ± 0.21	1.76 ± 0.31	0.80 ± 0.22	1.16 ± 0.25	1.10 ± 0.24	1.07 ± 0.22	1.01 ± 0.20	1.10 ± 0.20	1.84 ± 1.59
	1.39 ± 0.39	1.57 ± 0.41	0.57 ± 0.28	1.24 ± 0.23	0.61 ± 0.20	0.85 ± 0.22	0.98 ± 0.21	1.01 ± 0.20	0.98 ± 0.21	1.04 ± 0.08	0.56 ± 0.25
	2.91 ± 2.16	5.74 ± 7.58	0.75 ± 0.25	1.50 ± 0.36	0.70 ± 0.14	1.00 ± 0.22	1.04 ± 0.08	1.04 ± 0.04	1.04 ± 0.08	1.04 ± 0.04	1.10 ± 0.30
3	6.62 ± 0.44	3.20 ± 0.43	0.80 ± 0.23	1.43 ± 0.32	1.52 ± 0.21	1.34 ± 0.23	0.70 ± 0.21	0.89 ± 0.21	1.30 ± 0.30	1.06 ± 0.21	1.50 ± 1.82
	5.51 ± 0.52	0.00 ± 0.46	0.63 ± 0.20	0.36 ± 0.21	0.74 ± 0.22	0.75 ± 0.22	0.56 ± 0.23	0.77 ± 0.19	0.83 ± 0.08	0.83 ± 0.08	1.06 ± 0.21
	6.07 ± 0.78	1.33 ± 1.54	0.71 ± 0.12	0.89 ± 0.76	1.13 ± 0.55	1.05 ± 0.42	0.64 ± 0.08	0.83 ± 0.08	1.30 ± 0.30	1.06 ± 0.21	1.50 ± 1.82
4	6.48 ± 0.56	3.24 ± 0.42	1.31 ± 0.22	2.00 ± 0.31	0.97 ± 0.22	1.18 ± 0.23	0.90 ± 0.25	1.26 ± 0.20	0.98 ± 0.22	0.73 ± 0.23	1.30 ± 0.90
	1.00 ± 0.56	0.00 ± 0.44	1.03 ± 0.20	0.33 ± 0.21	0.71 ± 0.20	0.22 ± 0.19	0.84 ± 0.21	0.89 ± 0.26	0.84 ± 0.21	0.89 ± 0.26	1.30 ± 0.90
	3.74 ± 3.87	1.53 ± 1.32	1.17 ± 0.20	1.24 ± 1.21	0.84 ± 0.18	0.70 ± 0.06	0.87 ± 0.04	1.08 ± 0.26	0.88 ± 0.22	0.73 ± 0.23	1.30 ± 0.90
5	2.19 ± 0.45	15.5 ± 0.63	0.76 ± 0.19	1.90 ± 0.31	1.17 ± 0.23	0.50 ± 0.22	0.99 ± 0.21	1.08 ± 0.20	0.98 ± 0.22	0.67 ± 0.22	1.45 ± 1.28
	1.80 ± 0.40	0.51 ± 0.41	0.74 ± 0.22	0.80 ± 0.21	0.95 ± 0.21	0.50 ± 0.22	0.67 ± 0.28	0.49 ± 0.22	0.67 ± 0.28	0.67 ± 0.28	1.45 ± 1.28
	2.00 ± 0.27	4.87 ± 7.14	0.75 ± 0.02	1.35 ± 0.78	1.06 ± 0.16	0.50 ± 0.00	0.63 ± 0.23	0.79 ± 0.42	0.63 ± 0.23	0.63 ± 0.23	1.45 ± 1.28
6	2.45 ± 0.40	6.65 ± 0.37	1.13 ± 0.21	0.83 ± 0.22	1.19 ± 0.23	1.44 ± 0.25	0.91 ± 0.20	0.82 ± 0.22	1.60 ± 0.30	0.52 ± 0.23	1.23 ± 0.72
	1.32 ± 0.44	1.13 ± 0.42	0.78 ± 0.29	0.61 ± 0.33	0.83 ± 0.20	1.02 ± 0.23	0.52 ± 0.24	0.75 ± 0.22	1.60 ± 0.30	0.52 ± 0.23	1.23 ± 0.72
	1.88 ± 0.80	2.88 ± 2.88	0.98 ± 0.29	0.72 ± 0.16	1.01 ± 0.25	1.23 ± 0.30	0.71 ± 0.28	0.79 ± 0.05	1.60 ± 0.30	0.52 ± 0.23	1.23 ± 0.72
7	13.1 ± 0.46	8.51 ± 0.41	1.86 ± 0.30	1.13 ± 0.33	1.27 ± 0.22	1.50 ± 0.24	1.07 ± 0.26	0.68 ± 0.20	1.30 ± 0.30	0.74 ± 0.20	1.91 ± 2.35
	3.22 ± 0.41	0.87 ± 0.40	0.81 ± 0.21	0.77 ± 0.21	0.77 ± 0.19	0.09 ± 0.20	1.00 ± 0.22	0.27 ± 0.20	1.30 ± 0.30	0.74 ± 0.20	1.91 ± 2.35
	8.14 ± 6.96	3.50 ± 3.49	1.33 ± 0.74	0.35 ± 0.26	0.82 ± 0.64	0.79 ± 1.00	1.04 ± 0.05	0.46 ± 0.29	1.30 ± 0.30	0.74 ± 0.20	1.91 ± 2.35
8	2.39 ± 0.40	12.3 ± 0.63	1.61 ± 0.30	1.27 ± 0.32	1.68 ± 0.22	1.38 ± 0.24	0.71 ± 0.27	0.63 ± 0.23	1.60 ± 0.30	1.06 ± 0.22	1.49 ± 1.22
	1.08 ± 0.45	1.94 ± 0.41	1.39 ± 0.20	0.64 ± 0.22	0.63 ± 0.21	0.65 ± 0.21	0.67 ± 0.21	0.26 ± 0.21	1.60 ± 0.30	1.06 ± 0.22	1.49 ± 1.22
	1.73 ± 0.82	4.77 ± 5.05	1.46 ± 0.22	0.96 ± 0.45	1.15 ± 0.74	1.01 ± 0.52	0.67 ± 0.06	0.45 ± 0.26	1.60 ± 0.30	1.06 ± 0.22	1.49 ± 1.22
9				1.12 ± 0.24	1.07 ± 0.21	1.07 ± 0.25	0.83 ± 0.23	1.62 ± 0.24	1.00 ± 0.30	0.70 ± 0.22	0.93 ± 0.18
				0.83 ± 0.32	0.64 ± 0.21	0.91 ± 0.21	0.63 ± 0.22	0.84 ± 0.21	1.00 ± 0.30	0.70 ± 0.22	0.93 ± 0.18
				0.98 ± 0.21	0.85 ± 0.30	0.99 ± 0.12	0.73 ± 0.14	1.23 ± 0.55	1.00 ± 0.30	0.70 ± 0.22	0.93 ± 0.18

(上段：最大値、中段：最小値、下段：平均値) 単位：kg/l

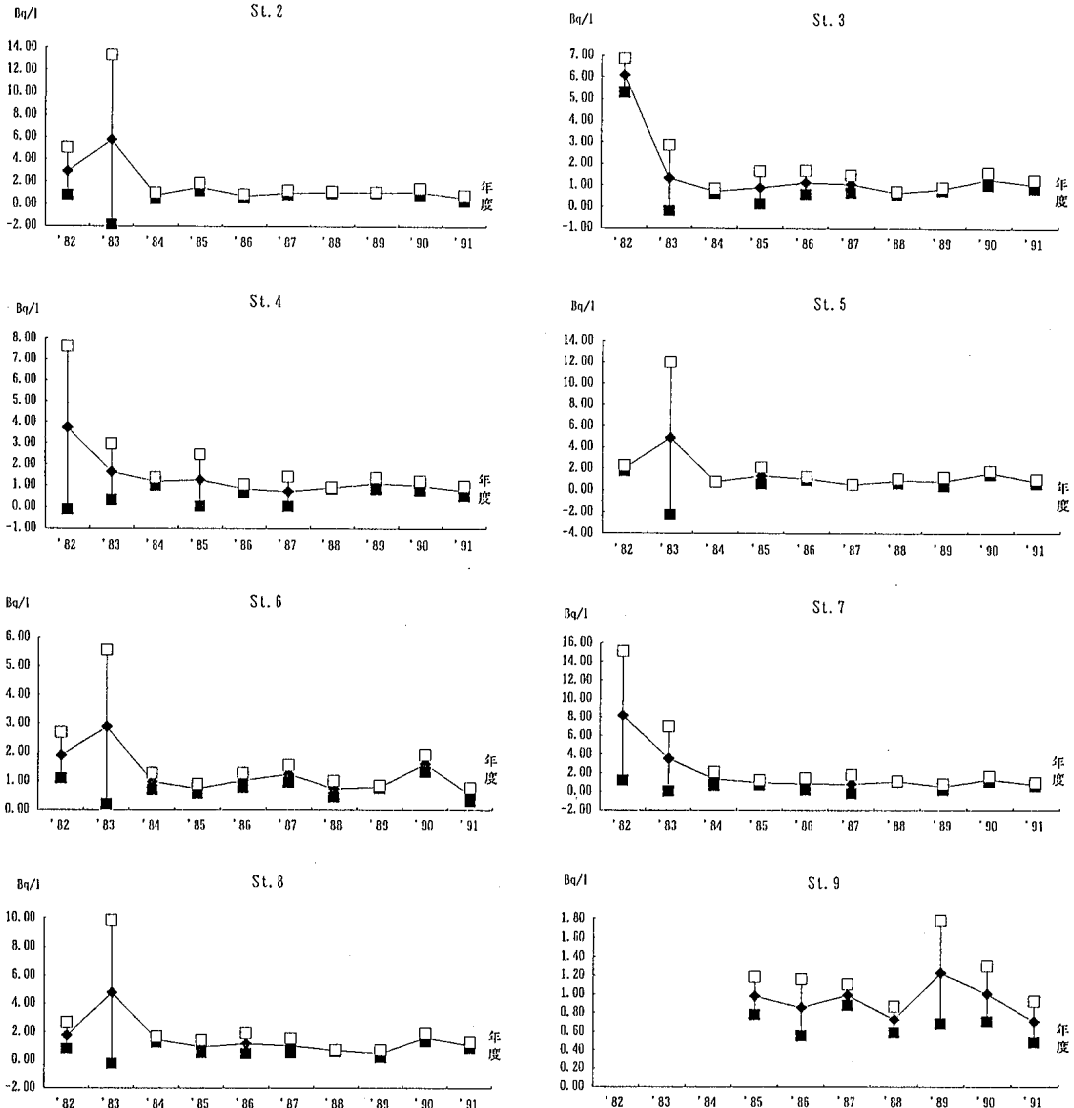
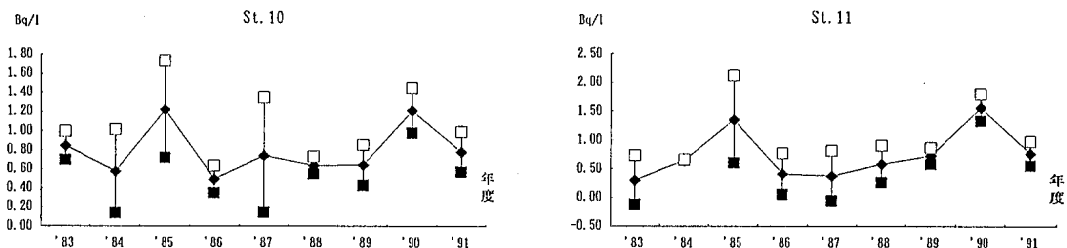


図4 河川水（淡水域）の経年変化

(2) 感潮域 (St.10~St.17)

9か年間の平均値による年度別の経年変化を図5に、また最大値、最小値及び平均値を、表3に示す。最も

高い値を示したのは、St.13の $2.22 \pm 0.31 \text{Bq}/\ell$ (1985年)で、低い値を示したのはSt.13及びSt.15の $0.00 \pm 0.43 \text{Bq}/\ell$ (1983年)であった。感潮河川全体の平



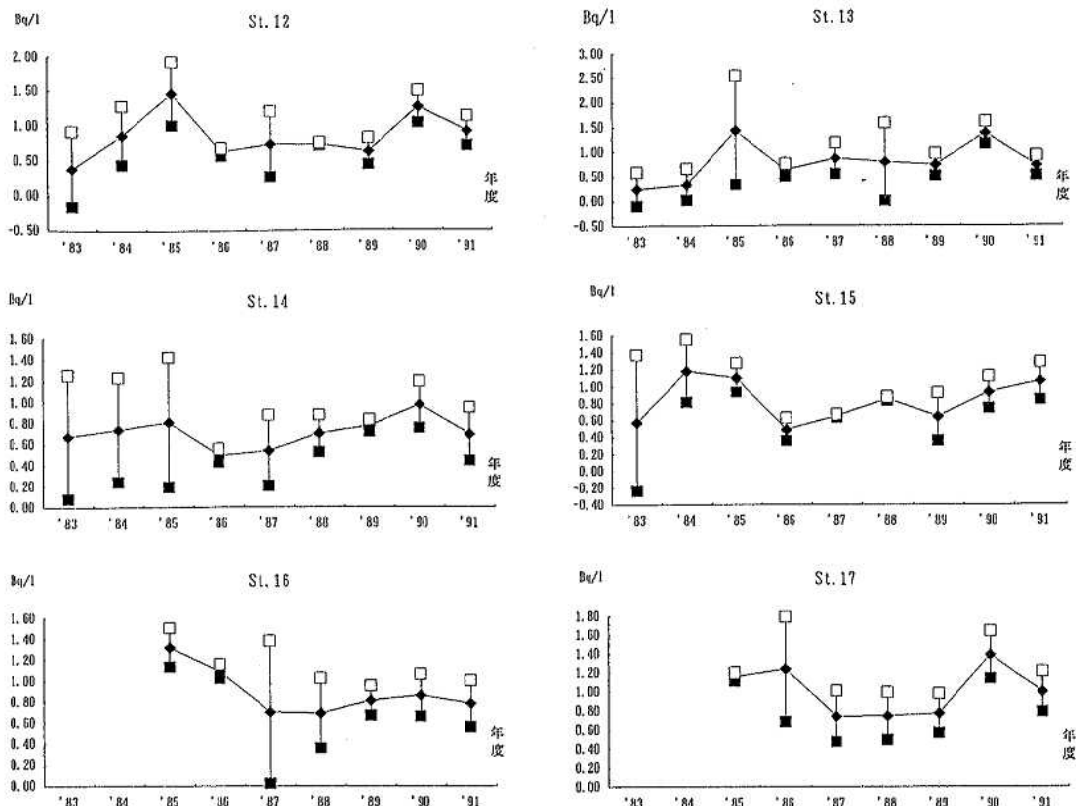


図5 河川水（感潮域）の経年変化

均は、 $0.83 \pm 0.09 \text{ Bq/l}$ であった。

平均値による経年変化をみると、1985年と1990年に2つのピークがあり、西部の方が高い傾向を示した。

3 海水 (St. 18~St. 24)

9か年間の平均値による年度別の経年変化を図6に、また最大値、最小値及び平均値を、表4に示す。最も高い値を示したのは、St.19の $13.4 \pm 0.48 \text{ Bq/l}$ (1982年)で、低い値を示したのはSt.21及びSt.22の $0.00 \pm 0.40 \text{ Bq/l}$ (1983年)であった。海域全体の平均は $1.24 \pm 0.61 \text{ Bq/l}$ であった。この値は、伊勢湾の $13 \pm 4 \text{ pCi/l}^{(5)}$ (0.48 Bq/l)よりは高く、東海、大洗地区沿岸海域の $19 \sim 36 \text{ pCi/l}^{(6)}$ ($0.70 \sim 1.33 \text{ Bq/l}$)と同程度であった。地点別にみると、広島湾の西部で低くなり、感潮域の河川水の場合と逆の傾向を示した。

平均値による経年変化をみると、St.18, St.19, St.21, St.22は1982年に高い値を示したものの、その後大きな変動はなく 0.9 Bq/l 前後の値を示した。St.20は、調査海域の中では河川水の影響を受けにくい湾の中央

に位置しており、変動も少なく他の地点とは異なったパターンを示した。

4 環境水の比較

環境水全般を比較すると雨水、河川水 (淡水域)、河川水 (感潮域) 及び海水全体の平均値は、それぞれ $1.02 \pm 0.78 \text{ Bq/l}$, $1.43 \pm 0.29 \text{ Bq/l}$, $0.83 \pm 0.09 \text{ Bq/l}$ 及び $1.24 \pm 0.61 \text{ Bq/l}$ で、河川水 (淡水域)、海水、雨水、河川水 (感潮域)の順に濃度が高かった。観測値の安定してきた1984年度以降の環境水のトリチウム濃度がバックグラウンドレベルと考えられる。雨水、河川水 (淡水域)、河川水 (感潮域) 及び海水のバックグラウンドは、それぞれ $0.76 \pm 0.21 \text{ Bq/l}$, $0.96 \pm 0.28 \text{ Bq/l}$, $0.85 \pm 0.29 \text{ Bq/l}$ 及び $0.62 \pm 0.31 \text{ Bq/l}$ である。淡水域における河川水の濃度が一番高いのは、核実験の影響が大きかった頃のトリチウムが、一度地下水に貯留され、降雨により地下水が押し出され、河川に再流出してくるものと考えられる。

表3 河川水(感潮域)の年度別経年変化

St. No.	83	84	85	86	87	88	89	90	91	年平均値
10	0.85 ± 0.36	0.88 ± 0.31	1.58 ± 0.30	0.59 ± 0.20	1.17 ± 0.23	0.70 ± 0.23	0.79 ± 0.21	0.79 ± 0.20		
	0.74 ± 0.44	0.27 ± 0.20	0.87 ± 0.22	0.39 ± 0.21	0.82 ± 0.20	0.57 ± 0.25	0.48 ± 0.21		1.21 ± 0.23	0.78 ± 0.21
	0.85 ± 0.15	0.58 ± 0.44	1.22 ± 0.50	0.49 ± 0.14	0.74 ± 0.60	0.64 ± 0.08	0.64 ± 0.09			0.79 ± 0.26
11	0.61 ± 0.36	0.55 ± 0.39	1.89 ± 0.30	0.65 ± 0.20	0.68 ± 0.26	0.81 ± 0.20	0.83 ± 0.21			
	0.00 ± 0.42	0.55 ± 0.20	0.82 ± 0.23	0.15 ± 0.21	0.07 ± 0.23	0.35 ± 0.26	0.63 ± 0.22		1.57 ± 0.23	0.77 ± 0.21
	0.30 ± 0.43	0.65 ± 0.01	1.36 ± 0.76	0.41 ± 0.36	0.38 ± 0.44	0.58 ± 0.32	0.73 ± 0.14			0.75 ± 0.44
12	0.75 ± 0.36	1.16 ± 0.33	1.80 ± 0.31	0.68 ± 0.22	1.08 ± 0.22	0.75 ± 0.28	0.77 ± 0.22			
	0.00 ± 0.42	0.56 ± 0.20	1.15 ± 0.23	0.80 ± 0.20	0.41 ± 0.20	0.73 ± 0.20	0.50 ± 0.21		1.27 ± 0.23	0.92 ± 0.21
	0.38 ± 0.54	0.86 ± 0.42	1.47 ± 0.46	0.64 ± 0.06	0.75 ± 0.47	0.74 ± 0.02	0.64 ± 0.19			0.85 ± 0.34
13	0.48 ± 0.36	0.57 ± 0.22	2.22 ± 0.31	0.71 ± 0.22	1.09 ± 0.25	0.85 ± 0.26	0.89 ± 0.20			
	0.00 ± 0.43	0.31 ± 0.20	0.65 ± 0.22	0.54 ± 0.20	0.64 ± 0.20	0.72 ± 0.21	0.57 ± 0.21		1.38 ± 0.23	0.72 ± 0.20
	0.24 ± 0.34	0.34 ± 0.32	1.44 ± 1.10	0.63 ± 0.13	0.66 ± 0.32	0.79 ± 0.79	0.73 ± 0.23			0.79 ± 0.40
14	1.09 ± 0.36	1.08 ± 0.28	1.24 ± 0.30	0.54 ± 0.20	0.77 ± 0.26	0.82 ± 0.23	0.81 ± 0.21			
	0.26 ± 0.43	0.39 ± 0.20	0.37 ± 0.21	0.44 ± 0.21	0.30 ± 0.21	0.57 ± 0.22	0.73 ± 0.23		0.97 ± 0.22	0.68 ± 0.25
	0.67 ± 0.59	0.74 ± 0.49	0.81 ± 0.61	0.49 ± 0.07	0.54 ± 0.33	0.70 ± 0.18	0.77 ± 0.06			0.71 ± 0.14
15	1.14 ± 0.38	1.44 ± 0.32	1.22 ± 0.30	0.58 ± 0.20	0.66 ± 0.20	0.67 ± 0.20	0.64 ± 0.21			
	0.00 ± 0.43	0.92 ± 0.21	0.96 ± 0.23	0.39 ± 0.21	0.63 ± 0.24	0.83 ± 0.26	0.44 ± 0.21		1.06 ± 0.22	0.83 ± 0.25
	0.57 ± 0.61	1.18 ± 0.37	1.10 ± 0.17	0.49 ± 0.14	0.65 ± 0.02	0.85 ± 0.03	0.64 ± 0.26			0.83 ± 0.25
16		1.45 ± 0.27	1.14 ± 0.21	1.16 ± 0.23	0.93 ± 0.21	0.93 ± 0.21	0.91 ± 0.20			
		1.18 ± 0.33	1.04 ± 0.21	0.22 ± 0.22	0.46 ± 0.24	0.71 ± 0.21	0.71 ± 0.21		0.86 ± 0.20	0.78 ± 0.22
		1.32 ± 0.19	1.09 ± 0.07	0.70 ± 0.68	0.69 ± 0.33	0.81 ± 0.14	0.81 ± 0.14			0.89 ± 0.23
17		1.19 ± 0.33	1.63 ± 0.21	0.93 ± 0.25	0.92 ± 0.20	0.92 ± 0.20	0.92 ± 0.20			
		1.12 ± 0.23	0.85 ± 0.21	0.55 ± 0.20	0.57 ± 0.20	0.57 ± 0.20	0.53 ± 0.21		1.38 ± 0.25	1.00 ± 0.21
		1.15 ± 0.04	1.24 ± 0.55	0.74 ± 0.27	0.74 ± 0.25	0.78 ± 0.21	0.78 ± 0.21			1.01 ± 0.26

上段：感潮域、中段：感潮域、下段：感潮域
単位：Bq/l

表4 海水の年度別経年変化

St. No.	83	84	85	86	87	88	89	90	91	年平均値
18	1.91 ± 0.37	1.02 ± 0.22	0.95 ± 0.30	0.08 ± 0.20	0.71 ± 0.24	0.50 ± 0.20	0.82 ± 0.25			
	0.82 ± 0.41	0.12 ± 0.19	0.95 ± 0.30	0.00 ± 0.21	0.47 ± 0.19	0.09 ± 0.20	0.75 ± 0.22		0.85 ± 0.20	0.55 ± 0.23
	1.36 ± 0.77	0.57 ± 0.63	0.95 ± 0.30	0.04 ± 0.05	0.59 ± 0.17	0.28 ± 0.34	0.79 ± 0.05			1.53 ± 2.75
19	2.40 ± 0.43	0.23 ± 0.19	0.68 ± 0.23	0.75 ± 0.22	0.66 ± 0.24	0.57 ± 0.24	0.92 ± 0.24			
	1.47 ± 0.36	0.10 ± 0.21	0.68 ± 0.23	0.44 ± 0.20	0.26 ± 0.19	0.34 ± 0.23	0.59 ± 0.20		0.78 ± 0.23	0.97 ± 0.21
	1.83 ± 0.66	0.16 ± 0.09	0.68 ± 0.29	0.60 ± 0.22	0.46 ± 0.28	0.45 ± 0.16	0.76 ± 0.23			2.02 ± 4.04
20	1.15 ± 0.36	0.33 ± 0.19	1.21 ± 0.30	0.80 ± 0.21	0.61 ± 0.20	0.63 ± 0.26	0.80 ± 0.21			
	0.10 ± 0.41	0.00 ± 0.21	1.21 ± 0.30	0.26 ± 0.20	0.56 ± 0.22	0.36 ± 0.21	0.89 ± 0.24		0.66 ± 0.19	1.57 ± 0.25
	0.63 ± 0.74	0.17 ± 0.24	1.21 ± 0.30	0.53 ± 0.38	0.58 ± 0.04	0.49 ± 0.16	0.80 ± 0.29			0.84 ± 0.55
21	1.82 ± 0.37	0.42 ± 0.19	1.07 ± 0.30	0.50 ± 0.22	0.39 ± 0.23	0.58 ± 0.25	1.11 ± 0.21			
	0.00 ± 0.40	0.02 ± 0.21	1.07 ± 0.30	0.00 ± 0.20	0.33 ± 0.19	0.22 ± 0.23	0.55 ± 0.26		0.78 ± 0.23	0.99 ± 0.21
	0.96 ± 1.36	0.22 ± 0.29	1.07 ± 0.30	0.25 ± 0.35	0.33 ± 0.00	0.39 ± 0.24	0.83 ± 0.40			1.74 ± 3.46
22	2.00 ± 0.37	0.47 ± 0.19	1.08 ± 0.30	0.44 ± 0.21	1.23 ± 0.23	0.50 ± 0.20	1.32 ± 0.27			
	0.00 ± 0.40	0.46 ± 0.21	1.06 ± 0.30	0.29 ± 0.20	0.03 ± 0.19	0.39 ± 0.21	0.90 ± 0.24		0.76 ± 0.20	1.08 ± 0.22
	1.00 ± 1.42	0.46 ± 0.01	1.06 ± 0.30	0.37 ± 0.10	0.63 ± 0.65	0.44 ± 0.08	1.11 ± 0.30			1.50 ± 2.34
23		0.27 ± 0.31	0.41 ± 0.20	0.15 ± 0.25	0.68 ± 0.20	1.05 ± 0.21	1.05 ± 0.21			
		0.21 ± 0.22	0.11 ± 0.21	0.00 ± 0.20	0.67 ± 0.21	0.96 ± 0.24	0.86 ± 0.24		0.69 ± 0.22	0.68 ± 0.19
		0.24 ± 0.04	0.26 ± 0.22	0.08 ± 0.12	0.67 ± 0.01	1.02 ± 0.05	1.02 ± 0.05			0.52 ± 0.33
24		0.82 ± 0.29	0.37 ± 0.20	0.42 ± 0.23	0.72 ± 0.24	0.86 ± 0.24	0.86 ± 0.24			
		0.00 ± 0.21	0.35 ± 0.21	0.22 ± 0.19	0.44 ± 0.23	0.68 ± 0.22	0.68 ± 0.22		0.66 ± 0.21	0.55 ± 0.21
		0.41 ± 0.58	0.36 ± 0.01	0.32 ± 0.14	0.58 ± 0.20	0.77 ± 0.13	0.66 ± 0.21			0.52 ± 0.16

上段：感潮域、中段：感潮域、下段：感潮域
単位：Bq/l

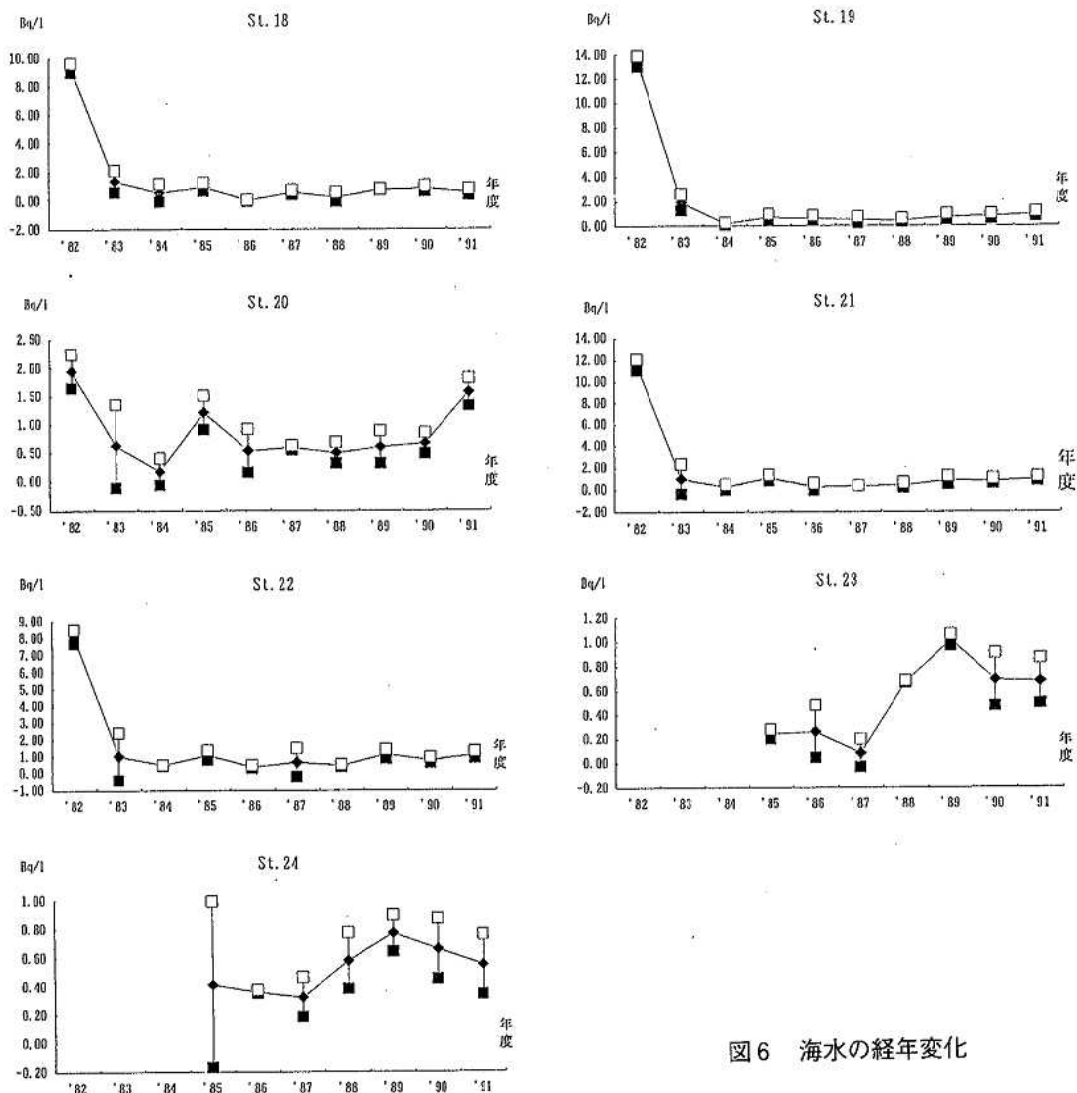


図6 海水の経年変化

文 献

- 1) 入江重美 他：環境中トリチウムの分布に関する研究(Ⅱ) 降雨雪水中のトリチウム濃度, 京都府衛生公害研究所年報, 33, 154~157 (1988)
- 2) 藤井幸一：松江市周辺のトリチウム濃度(昭和60年度), 島根県衛生公害研究所報, 27, 135~136(1985)
- 3) 高島良正：環境トリチウムの変動測定とその解析, 15~74 (1988)

- 4) 茶谷邦男：環境中のトリチウム, 愛知県衛生研究所報, 30, 1~8 (1980)
- 5) 愛知県衛生研究所：愛知県放射能調査資料(昭和59年1月~12月), 55 (1985)
- 6) 平井保夫 他：茨城県東海, 大洗地区における環境中のトリチウム, 茨城県公害技術センター研究報告, 1, 62~69 (1989)

「身近な生き物調査」における生物の分布状況について

松木 司 花尾 裕士* 國弘 節 尾川 健
 亀井 且博 坂井 主動

12種類の水辺に生息する身近な生き物の生息分布調査をアンケート方式で行った。その結果から、次のことがわかった。

- 1 メダカの生息場所は非常に少ないが、アメンボは非常に広範囲の水域で生息している。
- 2 サワガニとカワニナは河川の中流から上流域に生息し、アメリカザリガニは平地の止水域に多く生息している。
- 3 ハッチョウトンボとカワトンボの仲間は、植生の豊かな水域に生息している。
- 4 オニヤンマ、シオカラトンボの仲間、アカトンボの仲間は水域の周辺に限らず、市街地でも多く出現している。
- 5 コサギは、ほとんどの河川全域で出現しているが、カワセミはコサギより自然度の高い地域で出現している。
- 6 出現種数の多い地域は、山間地の自然度の高い地域及び周辺に自然のある住居域で生物が発見されやすい地域であった。

はじめに

本市はとりわけ水に恵まれた環境を持ち、そこには様々な生物が生息している。この環境を保全するには、水質の保全のみならず生物の保護も大切である。

そのための基礎資料を得るために、また環境保全意識の普及啓発を目的とし、水辺に生息する身近な生物の生息調査を小学生と自然愛好家を対象としたアンケート方式で行った。

その結果をもとに、対象生物の生息分布マップを作成し、分布状況について考察を行ったので報告する。

方 法

1 調査対象生物

カワセミ、コサギ、サワガニ、アメリカザリガニ、カワニナ、メダカ、アメンボ、オニヤンマ、シオカラトンボの仲間、アカトンボの仲間、カワトンボの仲間、ハッチョウトンボ

2 調査時期

平成3年7月20日～平成3年9月30日

3 調査方法

調査に参加希望する小学校に、生物の見分け方や生態を記載した手引書を送付し、各学校の先生を集め調査方法についての説明会を行った。また、自然愛好家にも参加を依頼し、調査範囲を拡充した。

調査期間終了後、生物の名前、見つけた場所、見つけた場所の様子等を記入した調査表を回収した。調査

には、79校の小学校から3,750人の児童と49人の自然愛好家が参加した。

4 調査結果の集計

広島市域の地図を生物ごとに生息が確認されたか否かにより1kmメッシュごとに塗りわけ、生息分布マップを作成した。図1～12に、この結果と生息が確認された1kmメッシュの数を示す。なお、図の最小メッシュは500mである。

結果と考察

1 各生物の生息状況

(1) カワセミ

各河川の中流から上流域と八幡川の下流域で出現した。

八幡川は他の河川に比べ、下流の市街地でも中州が多く、護岸も自然状態のところが多い。カワセミは川土手に穴を掘って巣を作る性質があり¹⁾、時に海湾に飛来し魚を捕食することもある²⁾。このため八幡川の下流においても出現したと思われる。

また、カワセミは小枝の上などにとまり、水面に出てくる魚を探すが³⁾、見つけた時の様子は、岩や木にとまっているものが多く、主に探餌行動中のものが確認されたと思われる。

(2) コサギ

ほとんどの河川の全域で出現した。

コサギはマツ林、竹やぶ、雑木林などを寝ぐらや繁殖地としている²⁾。図13に植生自然度を示すが、本市

*現 広島市衛生局環境保全課

は市街地を取り囲むように林が広がっており、全市域の80%にもおよぶ。コサギはこの中に寝ぐらや繁殖地を設け、市内全域の河川に飛び立っていると考えられる。

見つけた場所は、河川がほとんどで特に、浅瀬や中州を歩いているものが多く、旧市内の感潮域の河川では、干潮時の浅瀬で見られたものが多かった。また、河川以外では、田、竹やぶ等で出現した。

(3) サワガニ

主に、河川の中流から上流域で生息が確認された。

サワガニは、非汚濁耐性種の指標生物であり、主に小川や谷川の清水に生息している³⁾。この出現地点の河川の水質は良好な状態であると思われる。

見つけた場所は、ほとんどが河川であるが、その他には、用水路、溝、田、湧水のある場所等であった。

(4) アメリカザリガニ

中央の平地部を中心に生息が確認された。

見つけた場所は、河川、溝、ドブ、田、用水路、池等様々な水域があった。特に水質の悪い場所で見られたものも多かった。見つけた場所の多様性と水質が悪い場所にも生息することを考慮すると、もっと多くの地点で生息していると思われる。

ただし、調査表の中には、「以前は身近な湿地にはどこにでもいた。」との回答もあり、水の汚れに強い割りには、生息場所自体の減少により、生息範囲がしだいに狭められてきていると思われる。

(5) カワニナ

主に、河川の中流から上流域にかけて生息が確認された。

見つけた場所は、ほとんどが河川で、その他には田、用水路、溝等であった。また、市街地の公園での生息確認もあり、このような身近な人工的水域にも生息していることがわかった。

(6) メダカ

主に、三篠川の上流域で生息が確認された。

メダカはかつて、北海道を除く日本全土の池、沼、田、河川の浅瀬に生息していたが、近年その数が減少しているといわれており⁴⁾、今回の調査でも、その生息域が少ないことがわかった。

(7) アメンボ

市内全域で生息が確認された。

見つけた場所は、河川が多いが、その他には田、池、用水路、溝、湧水、水たまり、プールなどの人工的水域と生息場所が、非常に広い。これはアメンボが、飛翔により移動できることと、流水面、静水面の各々を好む種が存在し、溪流から海洋にすむものまで幅広く

存在していること⁷⁾が原因と思われる。

(8) オニヤンマ

河川の周辺に限らず、多くの場所で出現した。

オニヤンマは水域の汚染に伴い、個体数が激減している⁵⁾との報告がある。しかし、このように広範囲に出現しているのは、個体数の多さからではなく、飛翔力が強く移動範囲が広いことが原因と思われる。

(9) シオカラトンボの仲間、アカトンボの仲間

河川の周辺に限らず、多くの場所で生息が確認された。

これらの生物は、幼虫が広範囲な水域に生息できること⁶⁾、飛翔力が強いことから、この様な分布になったと思われる。特に、アカトンボの仲間のうち、ウスバキトンボやアキアカネは、人工的な小水域や水たまりにでも生息でき、大規模な集団を形成し移動性が大変強い⁶⁾ため、絶対数が多く非常に目につきやすい。そのため、今回の調査対象生物のなかでは、最多の281メッシュで出現した。

(10) カワトンボの仲間

市街地以外の平地や、主に山地に点在して出現した。見つけた場所は、河川が多く、その他は田、畑、草原、林等であった。また、河川のなかでも草のある場所で見つけられたものが多かった。

カワトンボの仲間のうち、多く見られるのはハグロトンボと思われるが、この種は水辺の植物の生体組織内に産卵し成虫になっても、その水辺を離れない⁹⁾。そのため、生息分布が植生豊かな河川の周辺に限られていると思われる。

(11) ハッチョウトンボ

周辺の山地に点在して出現した。

見つけた場所は、河川、田、畑、草原、林、湿原等であった。ハッチョウトンボは、モウセンゴケ、ミミカキグサ、サギソウなどが生息し、浸出水のある日当たりの良い湿原に、主に生息するといわれており⁹⁾、生息条件が特異的である。また、成虫は水辺の植物から離れず⁹⁾、飛翔力も非常に弱いことから⁷⁾、このように出現地点が少なく、生息確認メッシュ数も11と今回調査対象生物のうち最も少なかった。

2 分類ごとの生物分布

(1) 水域にのみ生息する生物の分布

サワガニ、アメリカザリガニ、カワニナ、メダカ、アメンボがこのグループに属する。

生息場所は、メダカが最も少なく、アメンボがその移動性と生息域の多様性から最も多い。

サワガニとカワニナは類似した分布を示し、主に河川の中流から上流に生息している。サワガニとアメリ

カザリガニの生息分布の重ね合わせを図14に示す。アメリカザリガニは、泥質の止水域を好み、流れの速い清水域には生息しないといわれており⁸⁾、その生息域はサワガニと対象的で、異なっていることがこの図からもうかがえる。

(2) 水域及びその周辺に生息する生物の分布

トンボ類とカワセミ、コサギの鳥類がこのグループに属する。

これらの生物が出現したメッシュの植生区分ごとの割合を表に、ハッチョウトンボとカワトンボの仲間の出現メッシュの植生及びアカトンボの仲間の出現メッシュの植生を各々図15、図16に示す。

トンボ類では、ハッチョウトンボとカワトンボの仲間が植生豊かな場所に多く出現している。

これらの生物は、前述した様に生息条件として植物が必要不可欠であり、水域の水質のみならず、植生を含めた自然状態を計るうえでの指標生物と言える。今後、河川の護岸工事、宅地開発等によりこれらの種の減少が懸念される。

オニヤンマ、シオカラトンボの仲間、アカトンボの仲間は市街地でも多く出現している。オニヤンマは飛翔力の強さ、シオカラトンボの仲間、アカトンボの仲間は幼虫の生息域の多様性と飛翔力の強さにより、多くの地点で出現していると思われる。

一方、鳥類についてみると、コサギはほとんどの河川全域で出現しており、市街地での出現割合も最も高い。魚類等の餌があればどこにでも移動すると思われる。カワセミは市街地での出現割合がコサギより低いがハッチョウトンボのように、植生豊かな場所に限られている程ではない。このことはカワセミの営巣に自然状態に近い土手が必要とするが、そのなわばりはある程度の広がりを持ち、その中を移動し巣から離れた場所でも出現するためと思われる。

3 生物の出現種数

図17に生物の出現種数を示す。

生物の出現種数を1～4、5～8、9～12の3段階に分けてみると、まず出現種数0の地域は、人が進入できない山地である。1～4種と少ない地域は、自然度の低い市街地と、自然度は高いが住居域と水域から離れた山地で生物が人目につきにくい地域の二つに分かれる。また、9～12種と出現種の多い地域は、①河川の上流域で水質が良く、山間地で自然度の高い地域、②河川の中流域で、水質や自然度は①程良くはないが、周辺に自然のある住居域で、生物が発見されやすい地域、の2とおりである。

表 生物出現メッシュの植生区分ごとの割合 (%)

植生自然度	1	2～5	6～9
区分 生物	市街地、造成地	農耕地、草原、 緑の多い住宅地	林
ハッチョウトンボ	2	23	75
カワトンボの仲間	8	20	72
カワセミ	15	27	58
オニヤンマ	21	15	64
シオカラトンボの仲間	23	15	62
アカトンボの仲間	24	15	61
コサギ	25	18	57

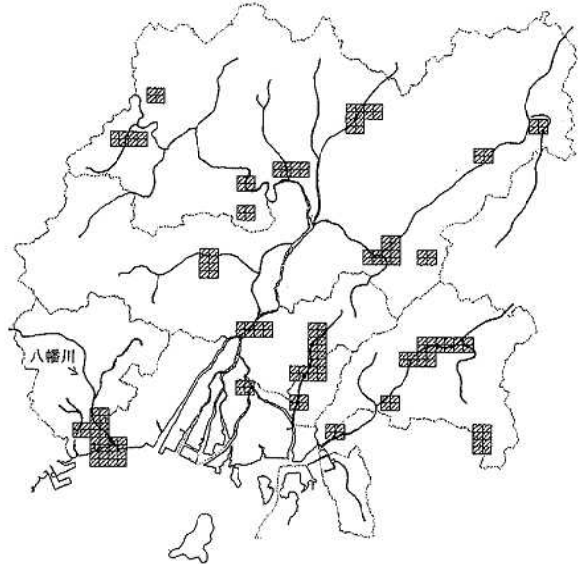


図1 カワセミ (43メッシュ)

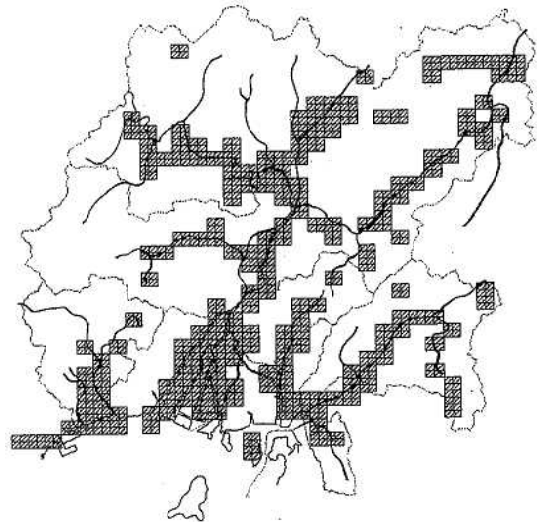


図2 コサギ (198メッシュ)

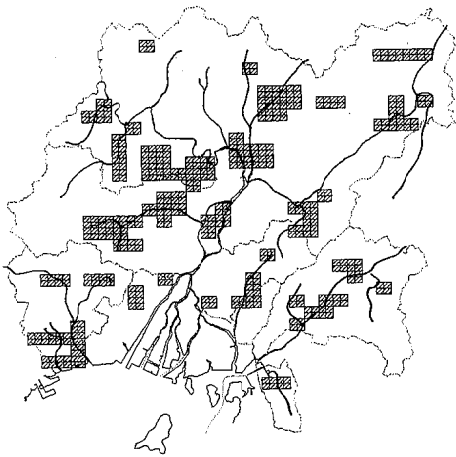


図3 サワガニ (108メッシュ)

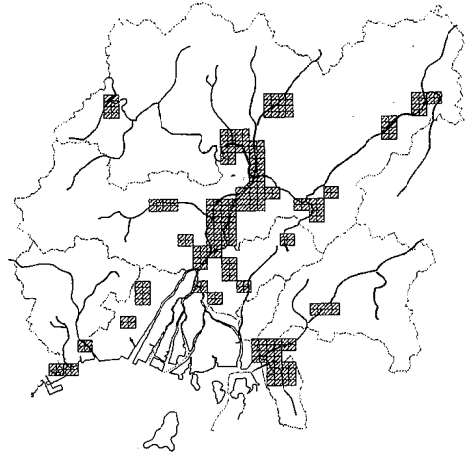


図4 アメリカザリガニ (66メッシュ)

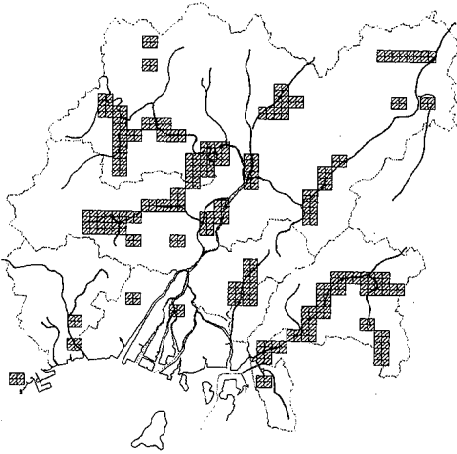


図5 カワナ (94メッシュ)

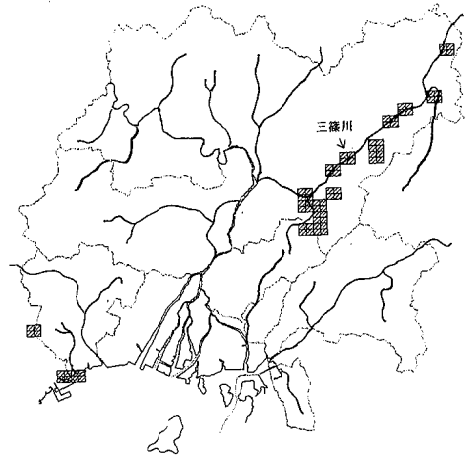


図6 メダカ (18メッシュ)

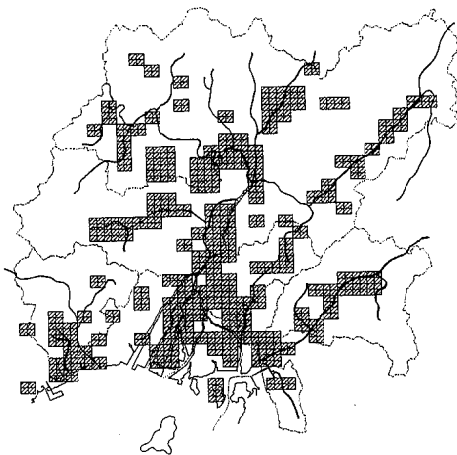


図7 アメンボ (188メッシュ)

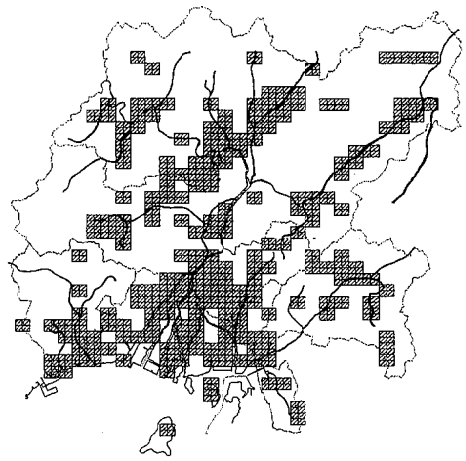


図8 オニヤンマ (218メッシュ)

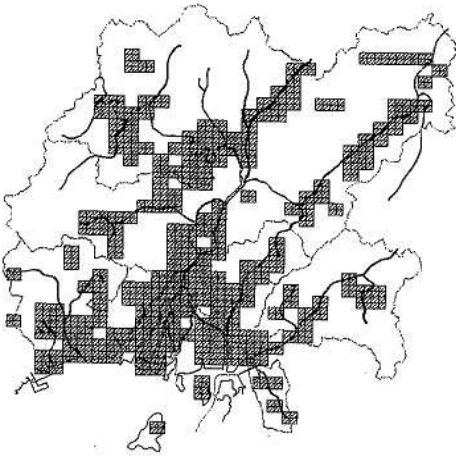


図9 シオカラトンボの仲間 (244メッシュ)

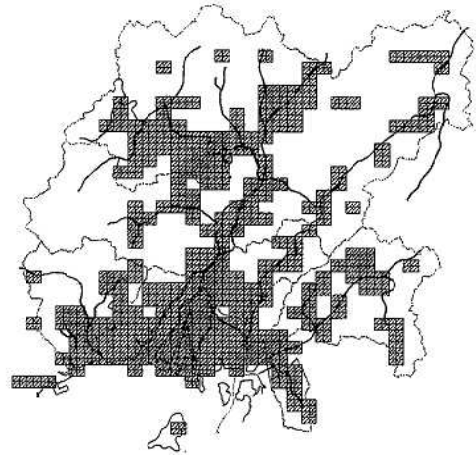


図10 アカトンボの仲間 (281メッシュ)

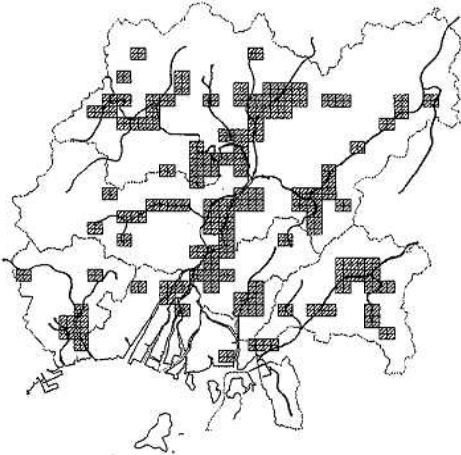


図11 カワトンボの仲間 (124メッシュ)

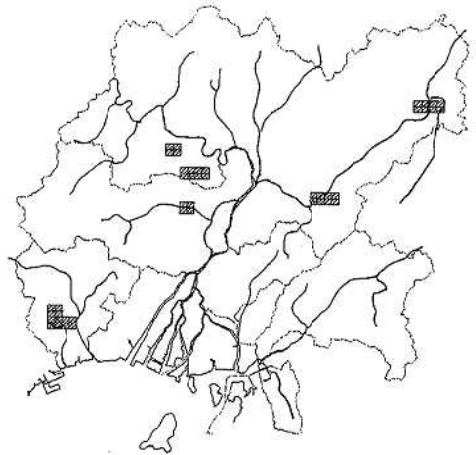
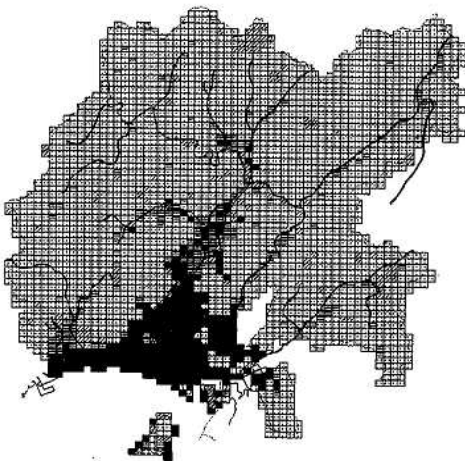


図12 ハッチョウトンボ (11メッシュ)



植生自然度	
■	1
□	2, 3
▨	4, 5
□	6, 7, 8, 9

植生自然度	区分
1	市街地、造成地
2	農耕地(畑地、水田等)、緑の多い住宅
3	農耕地(樹籬地)
4	背の低い草原
5	背の高い草原
6	造林地
7	二次林
8	自然林に近い二次林
9	自然林

図13 植生自然度 (広島市環境情報システムより)

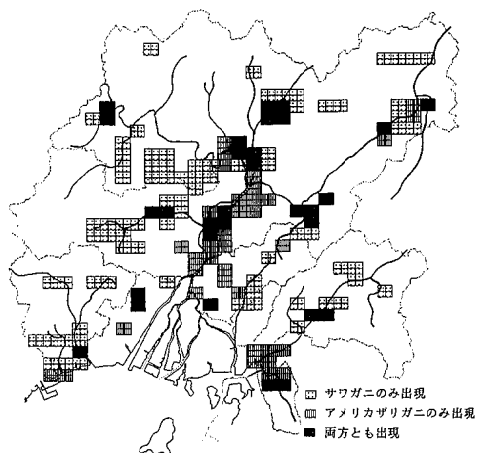


図14 サワガニとアメリカザリガニの生息分布

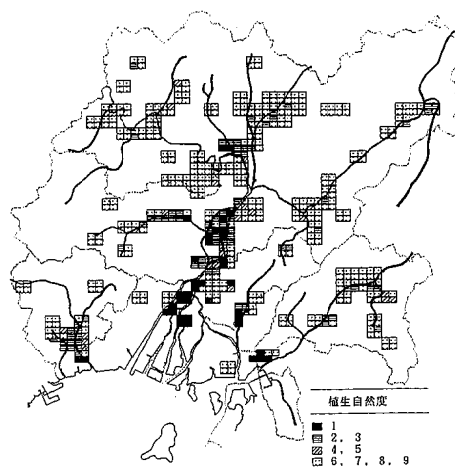


図15 ハッチョウトンボとカワトンボの仲間が出現したメッシュの植生自然度

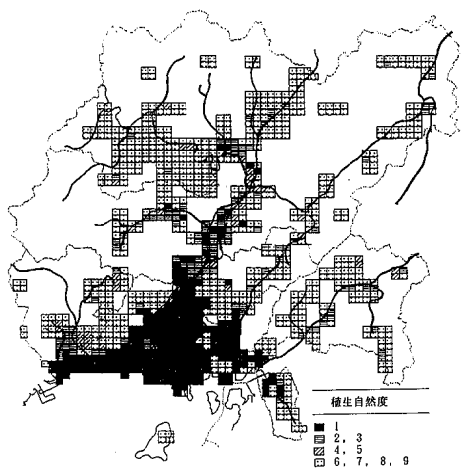


図16 アカトンボの仲間が出現したメッシュの植生自然度

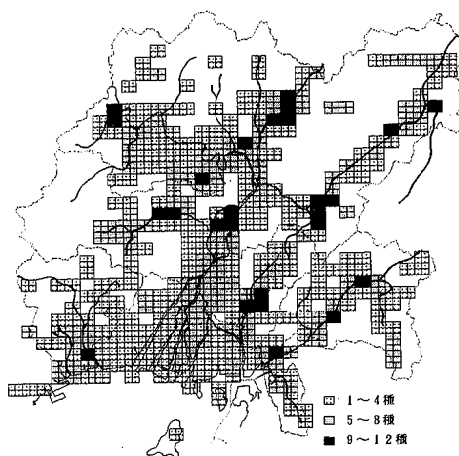


図17 生物の出現種数

謝 辞

この調査に御協力いただいた各学校の先生方、児童の皆様、自然愛好家の皆様に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 宇田川竜男：原色鳥類検索図鑑，第3版，92，北隆館（1983）
- 2) 清棲幸保：野鳥の事典，第11版，243～260，東京堂出版（1984）
- 3) 岡田要：新日本動物図鑑・中，第7版，707，北隆館（1981）
- 4) 大澤一爽：メダカの実験—33章，第3版，4，共立出版（1983年）
- 5) 広島市教育委員会：広島市の動植物，171，広島市教育委員会（1988）
- 6) 石田昇三他：日本産トンボ幼虫・成虫検索図説，第2版，45～127，東海大学出版（1989）
- 7) 古川晴男：昆虫の事典，第3版，20～311，東京堂出版（1977）
- 8) 上野益三：日本淡水生物学，第3版，501，北隆館（1980）

Ⅱ 資 料

平成3年度広島湾内産かきの重金属試験結果

食 品 環 境 部

はじめに

昭和49年度から継続している広島湾内産かきの重金属試験を、平成3年度も12月から1月までの間、15件行った。

検査項目は、総水銀、カドミウム、鉛、亜鉛、銅、マンガン、鉄、コバルト、ニッケル、ひ素、スズ及び固形分である。

方 法

試料の調製及び分析は、既報¹⁾に準じて行った。

結 果

平成3年度の試験結果を表に示した。各金属とも例年の結果と比べ著しい差は見られなかった。

文 献

- 1) 松井俊治 他：広島市における食品中の微量重金属含有量 (第1報), 広島市衛研年報, 2, 31~35 (1982)

表 平成3年度広島湾内産かきの重金属含有量

(湿重量：ppm)

No.	T-Hg	Cd	Pb	Zn	Cu	Mn	Fe	Co	Ni	As	Sn	固形分 (%)
1	0.01	0.26	0.20	340	19	8.8	31	ND	0.07	1.9	ND	19.8
2	0.02	0.32	0.22	320	24	9.7	29	ND	ND	1.9	ND	22.7
3	0.01	0.31	0.16	380	25	8.0	33	0.05	ND	1.9	ND	23.0
4	0.01	0.29	0.15	410	30	8.3	33	ND	ND	1.7	ND	21.6
5	0.01	0.26	0.22	550	26	7.8	24	ND	ND	1.6	ND	18.6
6	0.01	0.33	0.19	470	32	11	40	ND	0.05	1.9	ND	20.6
7	ND	0.25	0.19	290	19	6.3	25	ND	0.08	1.6	ND	20.4
8	0.01	0.23	0.15	450	25	7.4	24	ND	ND	1.3	ND	16.6
9	ND	0.28	0.19	270	18	7.6	30	0.09	ND	1.9	ND	18.0
10	0.01	0.29	0.23	370	22	7.8	32	ND	ND	1.8	ND	22.3
11	0.02	0.23	0.23	410	31	6.7	45	ND	0.07	1.8	ND	14.8
12	0.01	0.30	0.24	460	39	9.5	44	0.07	0.12	2.2	ND	18.5
13	0.01	0.22	0.23	290	23	8.6	34	0.08	ND	2.1	ND	17.9
14	0.02	0.33	0.30	460	41	11	54	0.07	0.12	2.0	ND	18.8
15	0.01	0.33	0.19	380	35	10	38	0.10	0.09	2.1	ND	18.4
範囲	<0.01	0.22	0.15	270	18	6.7	24	<0.05	<0.05	1.3		14.8
	}	}	}	}	}	}	}	}	}	}	<10	}
	0.02	0.33	0.30	550	41	11	54	0.09	0.12	2.2		23.0
平均	0.01	0.28	0.21	390	27	8.6	34	<0.05	0.05	1.8	<10	19.5

神経芽細胞腫マス・スクリーニング (平成3年度)

食 品 環 境 部

はじめに

広島市においては、昭和60年4月から神経芽細胞腫のマス・スクリーニングを行っている。平成3年度は10,260名の検査を行い、3名が神経芽細胞腫と確定診断された。平成3年度の検査結果と今回発見した症例について報告する。

方 法

検査体系及び検査方法は既報¹⁾に準じて行い、全検体について高速液体クロマトグラフィーによる定量検査を行った。1次検査では魚形ポリエチレン製容器で郵送されてきた直接尿を使用し、2次検査では採尿パックで採取した尿を抽出して使用した。

結 果

平成3年度神経芽細胞腫検査実施状況を表1に示す。本年度の検査対象者は11,874名で、そのうち10,260名が検査を受けた。検査の受診率は、86.4%で前年度より0.6%ほど増加した。受検者のうち11名が医療機関で受診し、3名が神経芽細胞腫と確定診断された。平成3年度に発見した3例の神経芽細胞腫の患児の経過を表2に示す。広島市では、平成3年度までに73,129名の検査を行い、13名の患児を発見した。発見率は5,600名に1人の割合であった。

文 献

- 1) 神経芽細胞腫マス・スクリーニング, 広島市衛研年報, 9, 86(1990)

表1 平成3年度神経芽細胞腫検査実施状況

単位：人

1次検査	2次検査	受診者	患児
10,260	36	11	3

表2 神経芽細胞腫マス・スクリーニング発見症例

単位： $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン

発見症例	1 男	2 男	3 男
検査時月齢	6 か月	6 か月	6 か月
尿中VMA値	52, 58	77, 110	27, 23
尿中HVA値	31, 53	77, 73	32, 24
症 状	なし	なし	なし
病 期	Ⅲ	Ⅲ	Ⅰ
予 後	良好	良好	良好

広島市における1981年から1990年までの食中毒発生状況の年次推移

食 品 環 境 部

はじめに

近年食中毒が多様化、大型化するなかで、食中毒の発生状況を把握しておくことは、食品衛生上重要である。

そこで、1981年から1990年までの最近10年間について全国、政令市、広島市ごとに人口10万人当たり¹⁾の年間食中毒事件数、患者数及び広島市における月別食中毒発生状況について検討を行ったので報告する。

資 料

1981年から1990年までの食中毒発生状況の年次推移に用いた資料は、以下のとおりである。

1 食中毒事件数、患者数

1981年から88年までの全国(47都道府県)、政令市(広島市を含む10政令市)、広島市については厚生省生活衛生局食品保健課編「全国食中毒事件録」によった。

1989年、90年の全国、政令市(広島市を含む11政令市)、広島市については、厚生省生活衛生局食品保健課「食中毒発生状況」(日本食品衛生協会発行食品衛生研究第40巻第7号及び食品衛生研究第41巻第7号)によった。

2 人口

厚生統計協会編「国民衛生の動向」によった。

3 広島市における月別食中毒事件数、患者数

広島市衛生局編「広島市の衛生統計(平成3年度版)」によった。

なお統計処理には、日本電気株式会社製パーソナルコンピュータN5200 モデル50、LANFILE 5²⁾、LANSTAT 3³⁾を用いた。

結 果

1 食中毒事件数

人口10万人当たりの食中毒事件数の年次推移を図1に示した。大規模食中毒事件が発生した86年、90年を除いて、広島市は概ね全国、政令市を下回っていた。

また、食中毒事件数の10年間平均を比較すると全国は0.80、政令市0.73、広島市0.60であり広島市は全国、政令市よりも低かった。

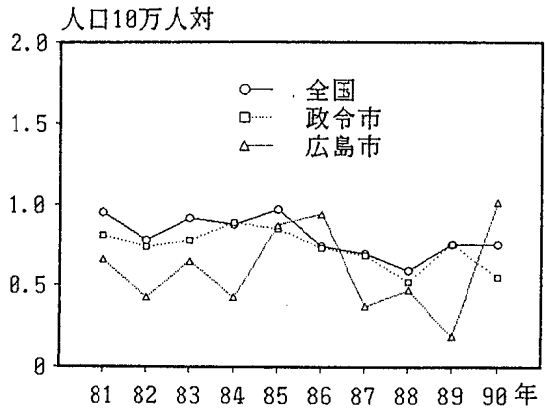


図1 食中毒事件数の年次推移

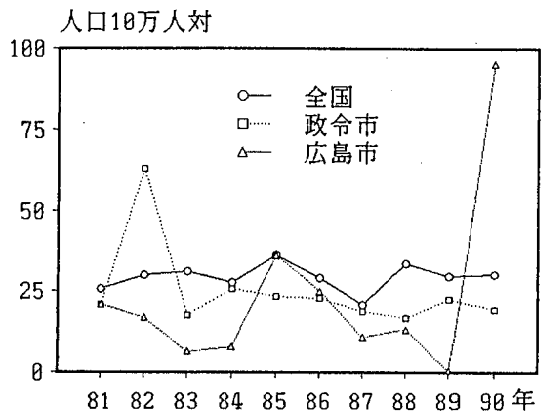


図2 食中毒患者数の年次推移

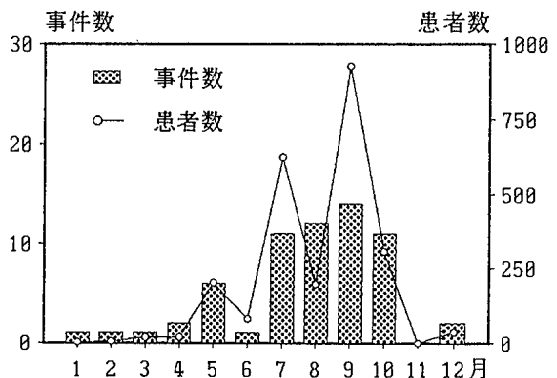


図3 月別食中毒発生状況

2 食中毒患者数

人口10万人当たりの食中毒患者数の年次推移を図2に示した。90年を除いて広島市は概ね全国、政令市を下回っていた。また、食中毒患者数の10年間平均を比較すると全国は29.5、政令市25.1、広島市23.3であり広島市は全国、政令市よりも低かった。

3 月別食中毒発生状況

1981年から1990年までの広島市における月別食中毒発生状況を図3に示した。広島市では7月から10月に

かけて食中毒が多発しており、この4か月間で発生事件数の77.4%を占めていた。また7月と9月に多数の患者が発生していた。

文 献

- 1) 厚生統計協会：厚生統計テキストブック第2版，15～16，(1992)
- 2) 日本電気(株)：LANFILE 5 説明書，(1990)
- 3) 日本電気(株)：LANSTAT 3 説明書，(1990)

平成3年度のインフルエンザの集団発生について

微生物部

はじめに

広島市感染症サーベイランス患者情報によると、広島市における今冬のインフルエンザ様疾患の流行は1月下旬に始まり、2月中旬をピークとした後、3月中旬まで続いた。流行の規模は中規模であった。以下、その間に見られた集団かぜの発生状況とウイルス学的検査結果について報告する。

方法

1 集団かぜ届け出状況

広島市衛生局健康管理課資料を参考にまとめた。

2 検体

6施設における罹患児およびその家族計48名から採取された咽頭拭い液48検体を対象にウイルス分離を、1施設(A小学校)の罹患児1名から採取されたペア血清2検体を対象に赤血球凝集抑制(HI)抗体価の測定を行った。

3 ウイルス分離

既報に準じ¹⁾実施した。

4 HI試験

既報に準じ¹⁾実施した。抗原はA/山形/32/86(H1), A/北京/352/89(H3), A/滋賀/2/91(H3), B/バンコク/163/90, B/パナマ/45/90(以上デンカ生研製)および分離株A/広島/C-3/92(H1), A/広島/C-29/92

(H3)を用いた。

5 分離株の抗原分析

国立予防衛生研究所内日本インフルエンザセンターに依頼した。

結果

1 集団かぜ届け出状況

表1に示した。

2 ウイルス分離結果

安佐南区の2施設、南区と東区の各1施設の患者からインフルエンザA(H1)型が分離された(表2)。一方、西区、佐伯区の各2施設の患者からはインフルエンザA(H3)型が分離された。

3 血清学的検査結果

A/山形/32/86(H1)およびA/広島/C-3/92(H1)に対し4倍以上の有意上昇が認められた(データ示さず)。

4 抗原分析結果

A(H1)型, A(H3)型の抗原分析結果をそれぞれ表3, 表4に示した。

文献

1) 微生物部：昭和60年度のインフルエンザ集団発生について、広島市衛生研究所年報, 5, 82-83(1986)

表1 集団かぜ届け出状況

区分	施設数	在籍者数	患者数	罹患率 (%)	措置	
					学級閉鎖	休園
幼稚園	8	1,506	600	39.8	2	6
小学校	2	1,608	418	26.0	2	
中学校	1	990	362	36.6	1	
計	11	4,104	1,380	33.6	5	6

表2 集団かぜのウイルス分離結果

施設名	施設住所 (区)	発生年月日	被検者数	分離陽性者数 (%)	分離ウイルス
A 小学校	安佐南	1月13日	16	9 (56.3)	インフルエンザA (H1) 型
B 幼稚園	安佐南	1月23日	8	8 (100)	インフルエンザA (H1) 型
C 幼稚園	西	1月28日	5	5 (100)	インフルエンザA (H3) 型
D 小学校	佐伯	1月30日	4	3 (75.0)	インフルエンザA (H3) 型
E 小学校	佐伯	1月30日	4	3 (75.0)	インフルエンザA (H3) 型
F 中学校	南	1月31日	7	2 (28.6)	インフルエンザA (H1) 型
G 幼稚園	東	2月7日	4	3 (75.0)	インフルエンザA (H1) 型

表3 インフルエンザA (H1) 型の抗原分析結果

フェレット感染血清 ウイルス株名	H I 抗体価			
	A/山形/120/86	A/S.Carolina/6/88	A/福島/2/88	A/山形/32/89
A/山形/120/86	<u>4,096</u>	1,024	1,024	512
A/S.Carolina/6/88	4,096	<u>2,048</u>	1,024	2,048
A/福島/2/88	512	512	<u>2,048</u>	2,048
A/山形/32/89	1,024	1,024	512	<u>2,048</u>
A/広島/C-3/92	128	256	256	512
A/広島/C-9/92	512	1,024	1,024	2,048
A/広島/C-19/92	512	1,024	512	1,024

表4 インフルエンザA (H3) 型の抗原分析結果

フェレット感染血清 ウイルス株名	H I 抗体価			
	A/四川/2/87	A/貴州/54/89	A/北京/352/89	A/滋賀/2/91
A/四川/2/87	<u>1,024</u>	<32	<32	<32
A/貴州/54/89	128	<u>256</u>	<32	<32
A/北京/352/89	32	32	<u>1,024</u>	256
A/滋賀/2/91	32	32	64	<u>1,024</u>
A/広島/C-25/92	32	32	256	1,024
A/広島/C-29/92	32	32	256	512
A/広島/C-32/92	64	64	256	1,024

広島市における平成3年度の食中毒事例

微生物部

はじめに

平成3年度の集団食中毒の病原検索結果の概要を報告する。

方法

常法により行った。

結果

平成3年度の食中毒概要を表1に示した。

平成3年度は、昨年度に引き続き多くの食中毒が発生した。本年度の特徴は、春季にウェルシュ菌、夏期にはST単独産生性の毒素原性大腸菌（O抗原型別不能）による仕出し弁当を原因とした大規模食中毒¹⁾が

発生し、秋期には、催事場で調製した弁当を原因としたS. Enteritidisによる食中毒が発生するなど、弁当を原因とした食中毒の多発であった。一方、表2に示したように食中毒事件として断定されなかったが、保育園を発生場所とした集団下痢症が2事例発生した。

文 献

- 1) 石村勝之 他：給食弁当を原因とした毒素原性大腸菌食中毒—広島市，病原微生物検出情報月報，141(1991)
- 2) 萱島隆之 他：保育園におけるサルモネラ集団感染例—広島市，病原微生物検出情報月報，141(1991)

表1 平成3年度食中毒発生状況

No	発生 月日	原因施設	摂食場所	摂食者	患者	原因食品	原因物質	事件概要
1	4.18	飲食店(仕出し)	専業所	465	349	その他(弁当)	C. perfringens (ent+.Hobbs13型)	専業所に配達された弁当によるもの
2	4.27	不明	不明	不明	2	不明	S. Typhimurium	ｽﾀｯﾌﾟ従業員2名が発症
3	6.21	寄宿舎調理場	学校寄宿舎	15	9	いり餅	S. aureus(Ent. A+C.coagulase VI型)	高校バレー部の寄宿舎で発生
4	6.29	飲食店(一般)	同左	8	7	不明	S. Typhimurium	会社員がバーブで会食し発生
5	9.7	不明	不明	1	1	不明	betulinum toxin (A型、菌検出せず)	患者症状より毒菌検出
6	9.7	飲食店(仕出し)	専業所	6,000	1,484	その他(弁当)	STEC (ST+.serovar O UT::H 41)	専業所に配達された給食弁当により発生
7	9.12	不明	不明	6	5	不明	S. Enteritidis(SM 耐性.36Md plasmid)	一家6名中5名が発症
8	9.14	託児施設調理場	託児施設	103	75	おしぼり(推定)	S. Typhimurium	施設の自家製食品により発生
9	10.12	催し場(百貨店)	専業所迄	958	220	その他(弁当)	S. Enteritidis(SM 耐性.36Md plasmid)	百貨店催し物会場で調製した弁当で発生
10	H4 2.15	飲食店(一般)	同左	54	10	その他(弁当)	S. aureus(Ent. A.coagulase VI型)	レストラン調製弁当で発生

*1 UT. 市販抗O血清型別不能(注、予研、及び都衛研によりWH/O大腸菌センター(マウンテン)に型別依頼され、O169:H41であることが後に判明した。)

表2 平成3年度集団下痢症発生状況

No	発生 月日	原因施設	摂食場所	摂食者	患者	原因	原因物質	事件概要
1	8.1	保育園	——	——	42	不明(ベット?)	S. Enteritidis(SM 耐性.36Md plasmid)	一保育園の園児が約2週間にわたり発症
2	8.31	保育園	不明	不明	12	不明	C. jejuni(Lior 4型)	一保育園で欠席者が続いたため調査した

直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS) を 指標とした洗剤残存調査結果

公 害 部

はじめに

LAS は合成洗剤の主成分として使用されている界面活性剤であるが、その実態調査の経過を報告する。

方 法

水中の LAS を塩化ナトリウムの共存下でメチルイソブチルケトン (MIBK) に抽出し、MIBK 相の LAS を高速液体クロマトグラフ (HPLC) により定量した。

調査期間 1985.11~1991.11

結 果

灰川橋、五軒屋、泉橋では増加傾向が見られた。戸坂川河口では1989年を境に一度減少していた。太田川、根の谷川、三篠川では良好な状態で推移していた。
その他の地点ではおおむね横ばい状態であった。

文 献

松枝隆彦 他：高速液体クロマトグラフィーによる水中の直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸塩の迅速定量，分析化学，31，59~62，(1982)

表 LAS 濃度の経年変化

単位：mg/ℓ

地点名	河川名	'85.11	'86.11	'87.11	'88.11	'89.11	'90.11	'91.11
灰川橋	大毛寺川	0.09	0.06	0.20	0.12	0.25	0.30	0.21
帆待川	帆待川	0.98	0.78	0.93	1.3	1.2	0.53	1.7
太田川橋	太田川	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満
根の谷橋	根谷川	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.27	0.05未満	0.05未満	0.05未満
深川橋	三篠川	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満
諸木川河口	諸木川	-	-	0.24	0.05未満	0.45	0.25	0.17
戸坂上水道取水口	太田川	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満
戸坂川河口	戸坂川	1.1	1.2	1.1	3.1	0.52	0.52	0.88
五軒屋	安川	0.19	0.06	0.16	0.15	0.20	0.34	0.32
長束駅入口	安川麿河川	-	-	1.0	1.3	1.1	0.8	1.5
大芝水門	太田川	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満	0.05未満
日浦橋	瀬野川	0.10	0.15	0.12	0.13	0.18	0.14	0.14
泉橋	八幡川	0.07	0.21	0.09	0.28	0.19	0.20	0.28
石内川河口	石内川	0.05	0.26	0.13	0.11	0.15	0.10	0.34
千同橋	岡の下川	0.05未満	0.40	0.15	0.38	0.29	0.05	0.30

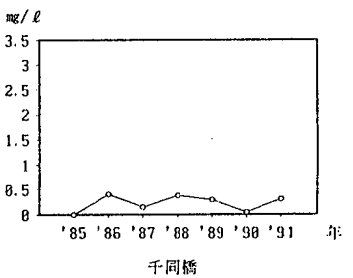
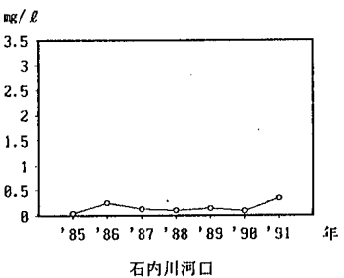
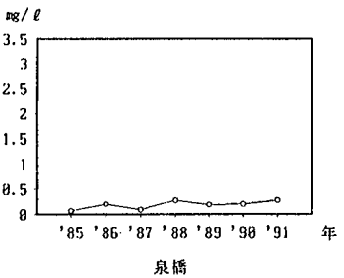
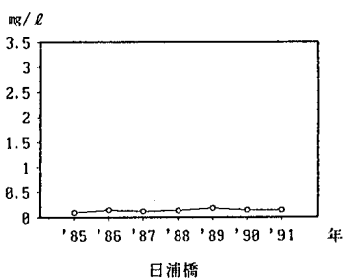
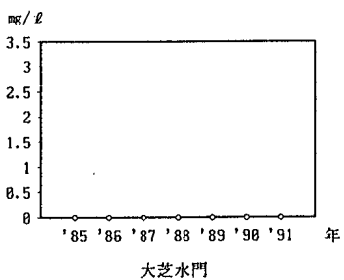
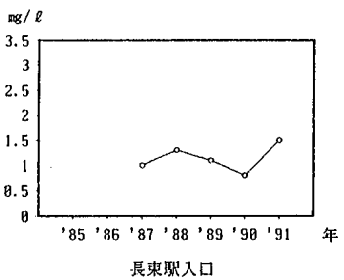
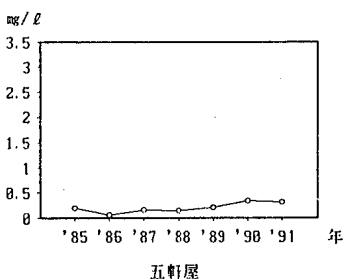
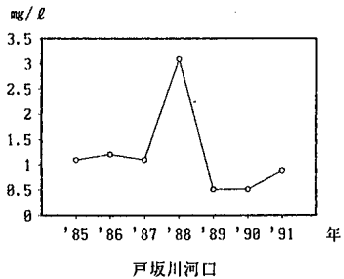
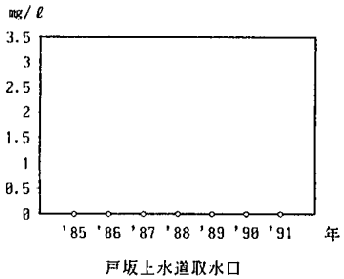
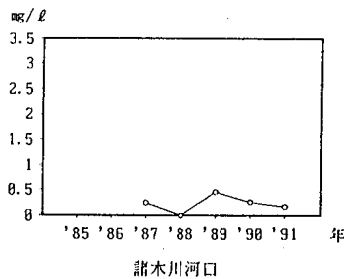
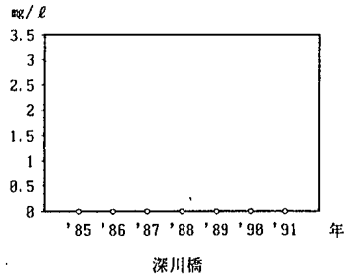
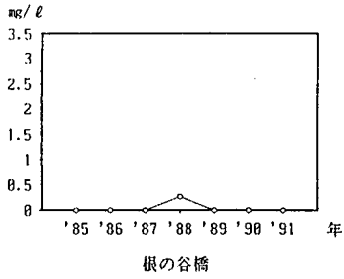
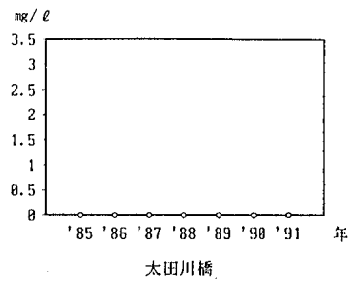
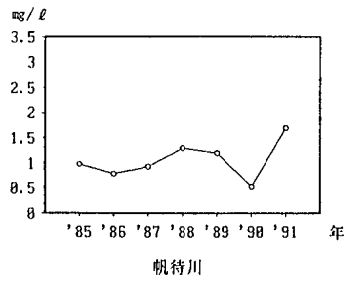
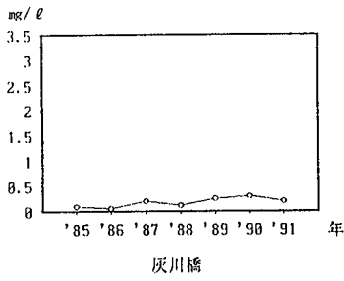


図 LAS濃度の経年変化

樹林内外における雨水調査 — 樹冠透過雨(林内雨)と樹幹流 —

藏田 義博 吉清 武史 大倉 健二

はじめに

近年、ヨーロッパ、北アメリカ、中国南西部において、酸性雨など酸性降下物が原因と思われる森林の枯損被害が大きな社会問題となっている。

一方、日本においては酸性雨による森林被害は顕在化していないと言われているものの、雨水の酸性化は、欧米の高濃度地域とほぼ同程度であることが観測されており、森林生態系への長期的影響が懸念されている。

このような状況の中で、広島市における森林に対する降雨の影響を調べるため、降雨が樹冠を透過または樹幹を流下する際に、植生および樹木種によりどのように変化するか調査を行ったので報告する。

方 法

1 調査方法の概要

樹冠上に降った雨は、一部が葉の表面等に保留されるが、大部分は樹木の幹を伝って地面に達するもの(樹幹流)と、幹を伝わらず樹冠から直接地面に降ってくるもの(林内雨)とに区別される。

そこで、調査は、広島市植物公園内の広葉樹林および針葉樹林において、平成2年12月から平成3年11月まで、林外雨、樹冠透過雨(林内雨)及び樹幹流を対象とし、林外雨、及び樹冠透過雨(林内雨)は、デポジットゲージを用いて採取し、樹幹流は、幹を伝わって流れる雨水を採取して実施した。

2 採取頻度、測定項目及び分析方法

サンプリングは原則、週1回とし、採取後、 $\phi 0.2 \mu\text{m}$ のフィルターでろ過し、ろ液について、pHメーター、電気伝導度計、原子吸光分析計、イオンクロマトグラフ等を用いて次の各成分を測定した。

雨量、pH、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 Cl^- 、 NH_4^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 、 Al^{3+}

結 果

1 pHの変化(図1,2,3)

林外雨(通常降雨)のpH(加重平均値)4.50に比べ、林内雨(広葉樹林および針葉樹林)のpHは広葉樹林で4.75と高く、針葉樹林で4.19と低くなっていた。

また、樹幹流のpHは、クロキ(広葉樹)で4.59と高く、マツ(針葉樹)、ヒノキ(針葉樹)でそれぞれ4.22、3.46と低くなっていた。このことから、広葉樹林においては土壌の酸性化を緩和していると思われるが、針葉樹林においては、土壌の一層の酸性化が懸念される。

2 湿性降下物

雨水中に溶け込んで地上に落下する湿性降下物の成分(図4,5,6)の中では、林内雨で K^+ 、 Ca^{2+} イオン降下量の増加が著しく、林外雨に比べて、広葉樹林で K^+ イオンが約7.4倍、 Ca^{2+} イオンが約3.0倍、針葉樹林で K^+ イオンが約9.6倍、 Ca^{2+} イオンが約4.4倍となっており、長期的には土壌イオンバランスの変化等、間接的な影響についても考慮していく必要があると思われる。

今回の調査では、樹冠を透過した雨水や、樹幹を流れ落ちてきた雨水が、通常の雨水と比べ、大きく変化していることが確認でき、対象となる樹木の種類によっても大きな差があることがわかった。

今後、この知見を、広島市の酸性雨影響調査の中で生かし、より総合的な調査にしていきたい。

終わりに、この調査にご協力いただいた広島市植物公園の皆様にお礼申し上げます。

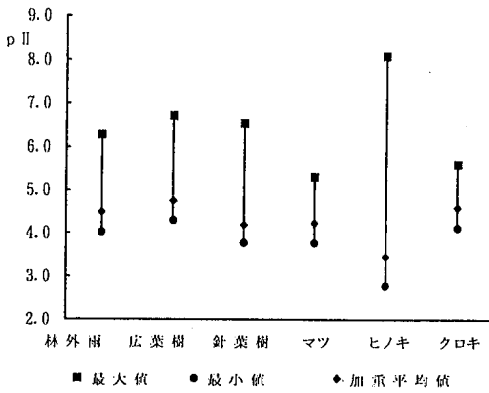


図1 pH測定値の範囲

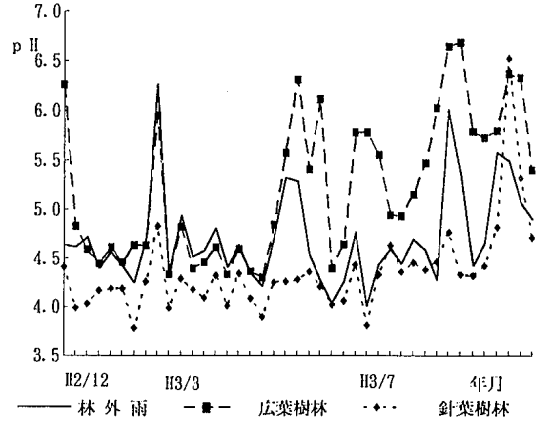


図2 調査期間中の雨水 pH の推移 (林外雨, 林内雨)

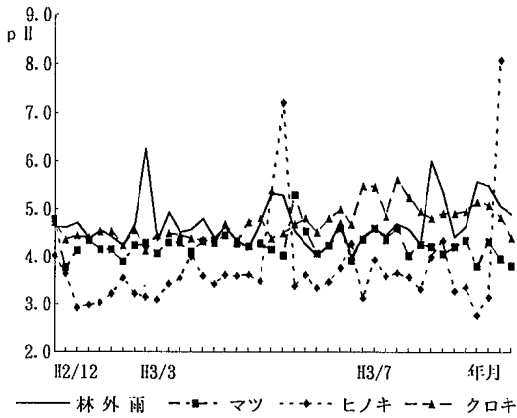


図3 調査期間中の雨水 pH の推移 (林外雨, 樹幹流)

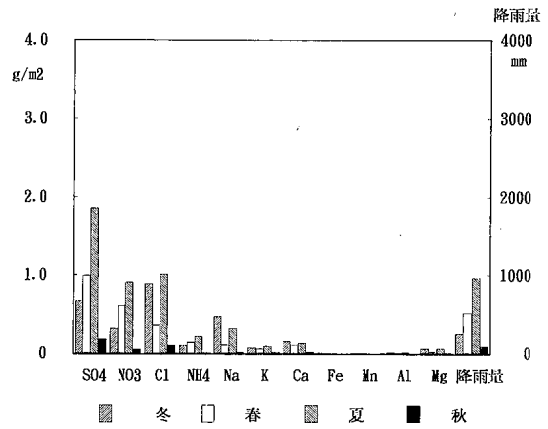


図4 湿性降下物の季節別降水量 (林外雨)

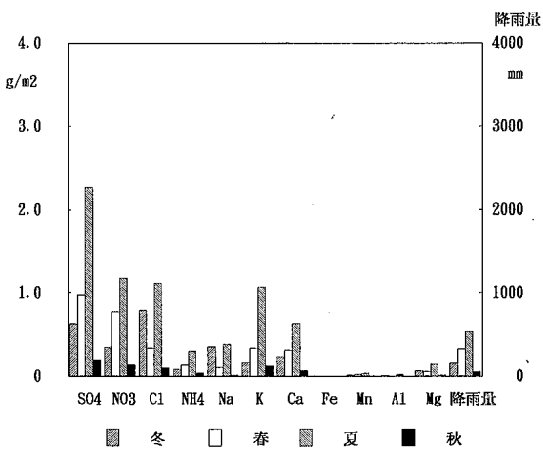


図5 湿性降下物の季節別降水量 (広葉樹林)

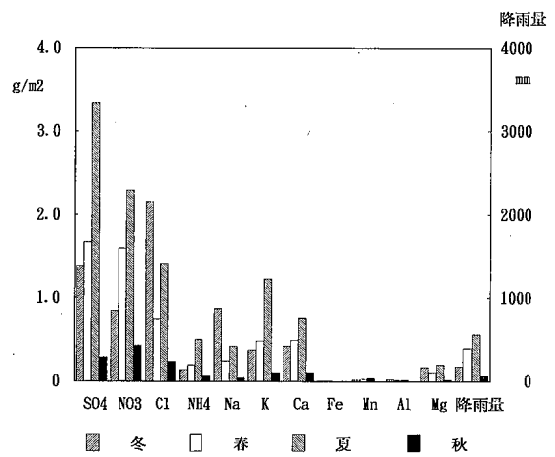


図6 湿性降下物の季節別降水量 (針葉樹林)

表 測定結果の加重平均値及び範囲

(mg/ℓ)

項目	林外雨	広葉樹林 (林内雨)	針葉樹林 (林内雨)	マツ (樹幹流)	ヒノキ (樹幹流)	クロキ (樹幹流)
pH	4.50 (4.01~6.27)	4.75 (4.30~6.70)	4.19 (3.78~4.83)	4.22 (3.77~5.30)	3.46 (2.94~7.20)	4.59 (4.13~5.61)
EC	29.2 (9.1~ 101)	48.3 (13.2~ 267)	96.5 (18.1~ 373)	60.3 (13.6~ 230)	190 (47.6~ 643)	55.7 (15.2~ 407)
SO ₄ ²⁺	2.64 (0.46~11.7)	5.26 (1.26~22.9)	8.67 (2.02~29.1)	5.30 (1.11~20.3)	16.5 (3.87~55.7)	6.86 (1.56~40.6)
NO ₃ ⁻	1.43 (0.41~6.64)	3.34 (1.01~11.0)	7.45 (0.96~29.9)	2.97 (0~14.0)	5.60 (0.61~28.7)	3.23 (0.28~12.5)
Cl ⁻	2.48 (0.29~21.5)	4.62 (0.46~44.9)	9.58 (0.58~54.6)	5.12 (0.36~29.9)	8.36 (0.43~43.2)	5.38 (0.47~57.2)
NH ₄ ⁺	0.40 (0.07~3.78)	0.88 (0.03~5.04)	1.23 (0~6.08)	0.56 (0~3.27)	2.04 (0.03~15.2)	0.78 (0~6.79)
Na ⁺	1.13 (0.07~9.13)	1.57 (0.12~9.84)	2.58 (0.19~10.0)	2.00 (0.12~9.96)	2.21 (0.31~9.15)	1.68 (0.10~9.14)
K ⁺	0.21 (0.04~0.73)	2.23 (0.19~9.30)	2.86 (0.45~11.9)	1.38 (0.32~4.63)	2.08 (0.27~12.8)	1.80 (0.41~6.24)
Ca ²⁺	0.47 (0.06~2.62)	1.82 (0.34~8.16)	2.83 (0.40~10.9)	1.75 (0.21~9.59)	2.32 (0.13~13.3)	1.57 (0.38~6.96)
Mg ²⁺	0.17 (0.01~1.40)	0.49 (0.05~3.91)	0.93 (0.10~5.28)	0.46 (0.04~2.45)	0.53 (0.02~3.58)	0.43 (0.05~5.04)
Fe ³⁺	0.01 (0~0.14)	0.01 (0~0.10)	0.04 (0~0.25)	0.02 (0~0.15)	0.08 (0~0.18)	0.02 (0~0.12)
Mn ²⁺	0.01 (0~0.09)	0.10 (0~0.45)	0.15 (0~0.54)	0.09 (0~0.48)	0.15 (0~0.66)	0.09 (0~0.33)
Al ³⁺	0.04 (0~0.30)	0.05 (0~0.26)	0.10 (0~0.43)	0.09 (0~0.37)	0.16 (0.02~0.82)	0.39 (0.02~1.96)

Ⅲ 抄 録

他誌掲載論文

Intermediate Human Adenovirus Type 22/H10, 19, 37 as a New Etiological Agent of Conjunctivitis

Mamoru Noda, Yoshiko Miyamoto*, Yoshifumi Ikeda, Takeaki Matsuishi, and Takeo Ogino
 J. Clin. Microbiol. 29 1286~1289 1991

Eight strains of a new intermediate adenovirus were isolated in the course of an investigation of conjunctivitis in Hiroshima City, Japan. The strain was first isolated in July 1986. All eight strains were isolated from conjunctival swab samples from patients with conjunctivitis, mainly epidemic keratoconjunctivitis. The virus was typed as adenovirus type 22 in neutralization tests and was related closely to types 10, 19, and 37 in hemagglutination inhibition tests. The DNA cleavage patterns of the eight strains with nine restriction endonucleases were the same with one exception but different from those of the above serologically related species. We conclude that the intermediate adenovirus is a new etiological agent of conjunctivitis, mainly epidemic keratoconjunctivitis.

* Present address : Fukuoka City Institute of Public Health

によって異なっていた。また、広島では由来によっても保有率が異なっていた。

* 現広島市西保健所

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の食中毒菌迅速同定への応用：Campylobacter jejuni 集団発生事例の疫学解析

石村勝之 木戸照明*¹ 河本秀一*² 伊藤文明
 平崎和孝*¹ 岡 新*³ 荻野武雄
 食品と微生物 7(3), 167~172, 1991

whole-cellを用いた銀染色 SDS-PAGE プロファイルが、*C. jejuni* による集団下痢症の疫学的解析手段として応用可能か否か検討した。散発下痢症由来株の SDS-PAGE プロファイルは、約43kDa に認められる銀染色によって染まらない蛋白バンドやその他のバンドによって互いに識別が可能であった。集団発生由来株に適用した結果は事例毎に1~3種類のプロファイルが認められた。このプロファイルの異同は、血清型、薬剤耐性パターンの異同と概ね一致した。本法は約3時間で結果が得られ、*C. jejuni* による集団発生例の疫学的解析法の一手段として有用と考えられた。

*¹ 現 広島市食肉衛生検査所

*² 現 広島市安佐北保健所環境衛生課

*³ 現 生協ひろしま

国内で分離された *Salmonella* serovar Hadar の薬剤耐性と R プラスミドの保有状況について

岸本亜弓* 吉野谷進 伊藤文明 萱島隆之
 山岡弘二 松石武昭 荻野武雄
 広島県獣医学会雑誌 6 52~56 1991

1986年から1989年にかけて、広島市、青森県、大阪府、鳥取県、宮崎県でヒト、環境、食品から分離された *S. Hadar* 194株について、薬剤感受性を調べると共に耐性を示した株について伝達性 R プラスミドの保有状況を調査した。供試菌株194株中186株 (95.9%) が、いずれかの薬剤に耐性を示した。その内181株 (97.3%) は2剤から4剤の多剤耐性であった。耐性型は SM・TC 型, SM・TC・KM 型, SM・TC・KM・AP 型の3型が多く、耐性株の93.0を占めた。薬剤耐性株186株のうち、82株 (44.1%) が伝達性 R プラスミドを保有していた。しかし、伝達性 R プラスミド保有率は、地域

学会発表

食品中の EDTA の簡易分析

福田 裕 寺西三恵 久保田明利 津江芳樹
第28回全国化学技術協議会年会
1991.10.8 ~ 9 広島市

吸光度法による食品中の EDTA (酸化防止剤) の簡易分析法について検討した。精製及び抽出にプレバックカートリッジカラム (化学結合型アミノプロピル基) を用い、また EDTA が Bi と速やかに反応し、紫外部に特異的な吸収をもつ EDTA-Bi キレートを生成することを利用して定量を行った。添加回収率は、清涼飲料水 93.5~102%、その他の缶詰、瓶詰食品 88.8~94.2% の範囲であった。

結膜炎患者からの Intermediate Adenovirus Type 22/H8, 9 の分離

野田 衛 宮基良子* 池田義文 松石武昭
荻野武雄
第39回 日本ウイルス学会総会
1991.10.23~25 福岡市

結膜炎の新しい病因としてアデノウイルス (Ad) 22/H10, 19, 37 型を昨年の本学会で報告したが、今回さらに中和試験で Ad22 と同定されるが、HI 試験における反応性が異なるウイルスを分離したので、抗原性、DNA 切断パターン等を検討した。このウイルスは 1988 年 6 月 6 日に初めて分離され、1991 年までに 7 株が分離された。いずれも結膜炎患者の結膜拭い液からの分離であった。中和試験では Ad22 と同定されたが、HI 試験では抗 Ad22 プロトタイプ血清には反応せず、抗 Ad8, Ad9 血清に反応した。9 種類の制限酵素による解析で本ウイルスは Ad22, Ad88 および Ad9 とは全て異なるパターンを示したが、Ad22/H10, 19, 37 とは 4 種類の酵素で同じパターンを示した。本ウイルスの HA 性は Ad8 のそれと同じであった。以上から、本ウイルスは中和試験で d22, HI 試験で Ad8, Ad9 に関連する intermediate type のウイルス (Ad22/H8, 9; 仮称) であることが明らかとなった。HA 性、DNA 切断パターンの類似性およびウイルス分離状況から Ad22/H8, 9 は Ad8 と Ad22/H10, 19, 37 との recombinant である可能性が示唆された。

* 現福岡市衛生試験所微生物課

赤痢集団発生事例と分離菌の諸性状

岸本亜弓* 吉野谷進 伊藤文明 山岡弘二
松石武昭 荻野武雄
第44回 日本細菌学会中国・四国支部総会
1991.10.3~4 高松市

平成 3 年 3 月から 4 月にかけて広島市中区において同一地区内の A 小学校、B 幼稚園、C 保育園の 3 施設で集団赤痢が発生し、患者総数は 60 人 (疑似患者 5 人) に達した。分離された *S. sonnei* 55 株の生物型は 1 型、a 型、コリシン型は 6、プラスミドプロファイルは約 120, 46, 6, 3.4, 1.4Md のプラスミドを保有する同一パターンを示し、いずれの性状も一致した。薬剤感受性では 45 株が SM, TC の 2 剤耐性、10 株が ABPC を加えた 3 剤耐性で、ABPC に対する感受性が異なっていた。そこで、ABPC 耐性菌の耐性機構を調べるため、 β ラクタマーゼ活性測定、EDTA 加での MIC 測定、プラスミド伝達試験を行ったところ、ABPC 耐性機構は外膜透過性の減少とプラスミド性のセファロスポリナーゼの 2 つの作用によるものであった。これは、感受性菌から突然変異で出現した構成型の耐性菌と同様の耐性機構であった。以上の結果から今回の ABPC 耐性菌は、感受性菌が感染拡大していく中、突然変異により膜透過性の減少と β ラクタマーゼ産生能を獲得、ABPC 耐性となったものと考えられた。

* 現広島市西保健所

混合プライマーを用いた PCR 法による腸管病原性大腸菌の病原遺伝子同時検出法

伊藤健一郎, G. K. D. KARUNARATNE, 渡辺治雄 (予研),
○伊藤文明, 岸本亜弓, 吉野谷進, 山岡弘二, 松石武昭, 荻野武雄 (広島市衛研) 松下 秀, 工藤泰雄 (都衛研), 小坂哲也, 豊里満了, 水野耕治 (日本商事)
第65回日本感染症学会総会
1991.4.26 ~ 27 大阪市

腸管病原性大腸菌は 4 つのカテゴリーに分けられている。病原因子として細胞侵入性 (EIEC), ST 及び LT (ETEC), VT (EHEC) が明らかにされている。我々は大腸菌の病原因子を 1 度の PCR で検出することを目的として混合プライマー系を試みたので報告する。標的 DNA として細胞侵入性関連抗原の発現調節に関与する invE, ST1a 及び ST1b, LTh 及び LTp,

VT1 及び VT2を選んだ。それぞれのプライマーを単独または混合して用いた。被検菌を蒸留水に懸濁し熱処理したものをテンプレート DNA として用いた。EPEC, ETEC, EHEC 株において単独プライマー用いた PCR 法では、それぞれ目的とする DNA 断片が増幅された。混合プライマーを用いた PCR 法においても単独プライマーを用いた結果と一致した。以上のことから混合プライマーを用いることにより 1 回の PCR で複数の病原遺伝子が検出でき、腸管病原性大腸菌のもつ病原因子の簡便で迅速な確認法として有用と考えられた。

河川における降雨時の流出汚濁負荷量の調査

磯野裕之 山本 修 小田健士 坂井主動
荻野武雄

第37回中国地区公衆衛生学会
1991.8.23 山口市

広島市では安川に自動水質測定局を設置しており、このデータを用いて、降雨時における COD 流出負荷量の調査を行った。

その結果、年間総流出負荷量は307tとなり、そのうちの66%にあたる201tが降雨時に流出していた。

このことから、河川の流出負荷量を把握する場合、晴天時の調査のみでは不十分であり、降雨時の調査も必要であることがわかった。

広島市の底質

國弘 節 建島秀和 坂本哲夫* 磯野裕之
山本 修 小田健士 坂井主動 荻野武雄

第18回環境保全・公害防止研究発表会
1991.12.12~13 東京都

市内河川及び海域の底質を調査し、主成分分析及びクラスター分析等を用いて解析を行った結果、次のことが分かった。

主成分分析により、全般的状況は、河川の上・中流域よりも感潮域が汚染されており、特に、海域の汚染が著しい。根谷川及び三篠川の上流で地質由来による金属汚染が認められる。猿猴川は閉鎖性の強い海田湾の影響を受け特に汚染されている。海域はほとんどの地点で同程度の汚染である。

また、主成分分析では分類できなかった海域について、クラスター分析と汚染マップの作成により広島湾

における人為汚染金属項目 (Cu,Pb,Zn,As,Hg) と有機汚濁項目 (COD,IL,T-S,T-N) で、河川からの汚染物質の拡散状況が把握できた。

*現 広島市衛生局環境保全課

底生生物相による河床環境表現 —生活形分類を用いた主成分分析—

花尾裕士* 松木 司 尾川 健 亀井且博
坂井主動 荻野 武雄

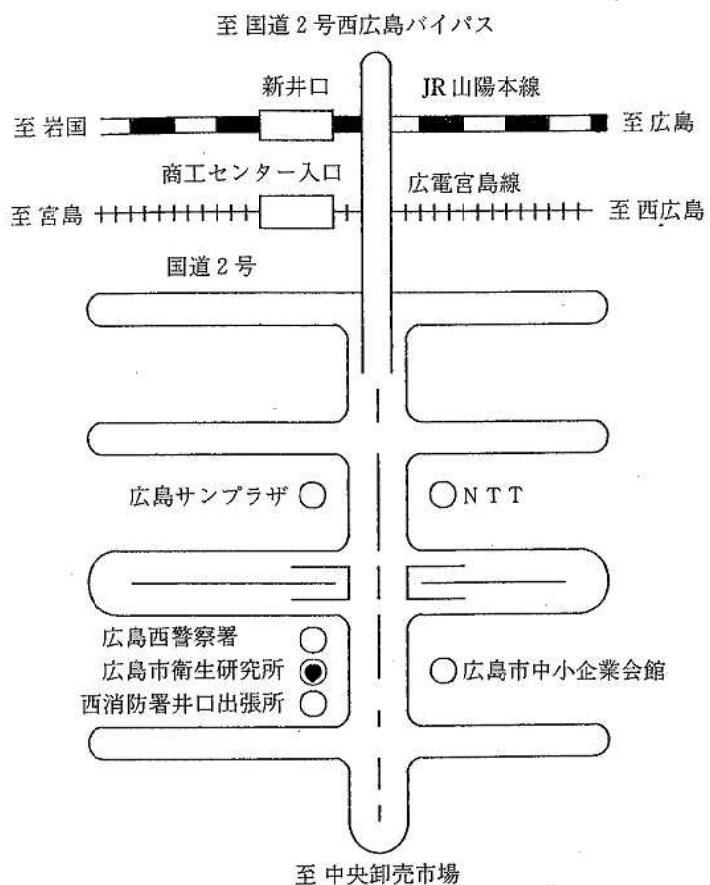
日本陸水学会第56回大会
1991.11.3~5

生物を用いて河川環境を表現するため、主成分分析を行った。

その結果、生物の生息に最も影響を与えるものは、①水質や河床構造、②水質や砂泥表面積、③礫付着物の順であった。各主成分のスコアにより調査地点の分類をすると、第一主成分と第二主成分により、河床の状況や主な構成材料を表現でき、第二主成分と第三主成分より分類された各グループは可児の示す河川形態と一致していた。

*現 広島市衛生局環境保全課





交通 JR西日本 山陽本線新井口駅下車 徒歩10分
 広島電鉄 宮島線商工センター入口下車 徒歩10分
 広島バス JR広島駅発 商工センター行 (26番路線)
 商工センター三丁目下車 徒歩2分

分類登録番号 広H0-92-210

広島市衛生研究所年報
 第 11 号
 (平成3年度)

発行日 平成4年12月10日
 編集発行 広島市衛生研究所
 〒733 広島市西区商工センター四丁目1番2号
 TEL (082) 277-6575
 FAX (082) 277-0410
 印刷所 株式会社白鳥社