

(2) 調査・事例

1) 化学物質による食中毒への危機管理対応について	41
2) クドア検査法の開発	49
3) サルコシスティス検査法の開発	54
4) 大分県における浴用水中の <i>Legionella</i> 属菌の検出状況 (2010)	59
5) 由布地域の環境大気調査 (2010年度)	65
6) 大分県における大気中の硫酸イオン濃度調査 (2009、2010年度)	73

化学物質による食中毒への危機管理対応について

安井玉樹*、山下秀門、森崎澄江

Investigation for Food Poisoning Caused by Chemical Compounds

Tamaki Yasui*, Hideto Yamashita, Sumie Morisaki

Key word : 食中毒 food poisoning, 自然毒 natural toxin
イルージンS illudin S

要 旨

2000～2009年度の化学物質による全国食中毒事例調査から、優先的に検査マニュアルの作成を必要とする化学物質を選定し、分析法の検討等を行った。

植物性自然毒では、九州でも発生頻度の高い病因物質であるツキヨタケ中のイルージンS及びクワズイモ中のシュウ酸カルシウムを確認するための検査手法を検討した。

その結果、市販品のないイルージンSについては、ツキヨタケより抽出・精製した参照品を確保することができ、食中毒発生時の対応が可能となった。また、クワズイモ中のシュウ酸カルシウムについては、電子顕微鏡及びX線解析による方法を検討し、迅速な病因物質の特定が可能となった。

は じ め に

大分県における食中毒の発生状況は、2001年から10年間の発生件数133件のうち、89%は細菌・ウイルスが病因物質で、化学物質による食中毒の発生件数は11%と少ない。¹⁾

しかし、化学物質による食中毒は多種多様な病因物質が考えられ、その特定に苦慮することが多い。そこで、化学物質による食中毒への危機管理対応を目的として、病因物質となりうる化学物質に関して、全国の食中毒事例を調査し、発生事例が多いツキヨタケ中のイルージンSについて、抽出・精製及びLC/MS/MSを用いた定性分析を行った。

また、九州地域に多い食中毒の病因物質であるクワズイモ中のシュウ酸カルシウムについては、走査電子顕微鏡及びエネルギー分散型X線分析装置を用いて、迅速分析手法の検討を行った。

方 法

1 食中毒事例調査

厚生労働省監修「食中毒事件録」や厚生労働省ホームページの過去の食中毒事件一覧 (<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/>) 等を参考にし、2000～2009年度に発生した化学物質による食中毒事例1,316件についてデータベース化し、病因物質ごとの発生頻度及び地域性について検討した。

2 ツキヨタケ中のイルージンSの定性分析

2.1 試料

ツキヨタケは2010年9月下旬、大分きのこ会の協力を得て大分県由布市黒岳にて採取した。

2.2 イルージンSの抽出・精製

小坂らの方法²⁾に準じてメタノール抽出・シリカゲルカラム精製後、GPC (分子ふるい) による精製を以下のとおり行った。

生のツキヨタケ約50gにメタノール100mLを加え、10,000rpmで5分間ホモジナイズし、遠心分離してメタノール抽出液を分取した。

*豊肥保健所

次に、メタノール抽出液を減圧濃縮後（ツキヨタケ由来の水分が残る）、酢酸エチル200mLを加え攪拌抽出し、酢酸エチルを分取、無水硫酸ナトリウムによる脱水、ろ過した後に減圧乾固した。

残渣物を酢酸エチル1mLで溶解後、ヘキサン9mLを加え、シリカゲルカラム(※)に負荷した。

酢酸エチル/ヘキサン（1:9）50mL、酢酸エチル/ヘキサン（1:1）50mLで洗浄した後、酢酸エチル50mLで溶出し、GPCクリーンアップ後、イルージンSの分画を分取した。このGPCによる精製を3回繰り返した。

※ シリカゲルカラム

内径20mmのガラスカラムに、酢酸エチル：ヘキサン（1:9）溶液を用いてシリカゲル10g、無水硫酸ナトリウム 2gの順に充填する。

2.3 測定機器及び条件

GPCクリーンアップシステム：ジーエルサイエンス（株）G-PREP GPC8100
 移動相：酢酸エチル
 流速：5 mL/min
 検出波長：240nmまたは320nm
 カラム：Waters社製 Envirogel 19×300mm
 分画時間：14.2~16min

LC/MS/MS装置：アジレントテクノロジー（株）HPLC 1200シリーズ

MS/MS検出器G6460AA DAD検出器G1316B

カラム：Inertsil ODS-3,150mm×2.1mm i.d, 5um

カラム温度：40℃

移動相：A：0.1%ギ酸水溶液，B：アセトニトリル又はメタノール

流速：0.2mL/min

グラジエント：A:B=70:30

注入量：5 μL

イオンプレー：4000V

ターボガス：400℃

測定条件：Scanモード（start mass 80, end mass 400, FG80）

3 クワズイモ中のシュウ酸カルシウム分析

3.1 試料

大分県農林水産研究指導センター農業研究部花きグループから供与されたクワズイモを用いた。顕微鏡観察用試料を葉柄の外皮から5mm~1cm程内側の部分を薄くスライスした後、ステージホルダーに両面テープを貼り、そこに検査サンプルを貼り付け固定した。電子顕微鏡用については凍結乾燥後にスパッタリングを行うことが望ましい。

3.2 分析機器及び条件

電子顕微鏡付き X線分析装置

電界放出形走査電子顕微鏡

日本電子（株）

JSM-7400F, JED-2300F

エネルギー分散型 X線分析装置（EDX）

エスアイアイ・テクノロジー(株)

SEA-2220A

励起源：電子線

分析深さ：0.1 μm~数 μm

空間分解能：~数 μm

測定元素：Be~U

結果及び考察

1 食中毒事例調査

1.1 化学物質による食中毒の現状

図1に2000~2009年度の全国食中毒患者の病因物質別割合を示した。

化学物質による中毒患者数は全体の2.1%で、病因物質別では毒きのこや野草による植物性自然毒が約半数（1.0%）を占め、次にフグ毒やテトラミン等による動物性自然毒（0.3%）、その他の化学物質は農薬やヒスタミン等の自然毒を除く化学物質であった。

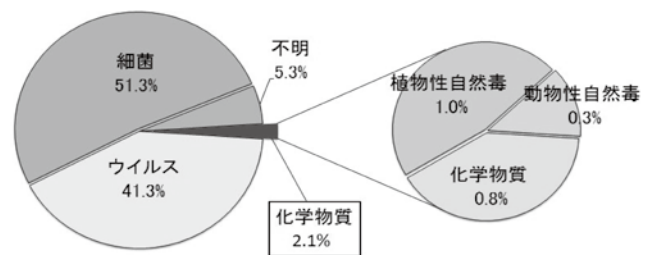


図1 2000~2009年度全国食中毒患者の病因物質別の割合

1.2 植物性自然毒による食中毒

表1及び図2に2000~2009年度に発生した植物性

自然毒による病因物質別の食中毒患者数を示した。
また、表2に植物性自然毒とその含有植物を示した。

植物性自然毒について、九州管内で最も患者数が多いのはツキヨタケに含まれるイルージンSを原因とする食中毒で、全国的にも患者数が最も多かった。

喫食理由としては、食用のシイタケ、ヒラタケやムキタケに似ており、きのこ狩りで間違えるケースが多いことが考えられている。

九州管内で二番目に多いのは、主にクワズイモに含まれるシュウ酸カルシウムによる食中毒で、全国的には少ないものの、中毒患者51人中49人が九州地域で局地的に発生していた。これは、シュウ酸カルシウムを多く含有しているクワズイモが、亜熱帯性

の観葉植物であることに起因していると考えられる。喫食理由として、食用可能なハスイモ（ズイキ）の葉柄と誤認している場合がほとんどで、大分県内においても、2008年に豊後高田市で中毒が発生している。

三番目に多いのは、チョウセンアサガオ等に含まれるトロパン系アルカロイドによる食中毒で、これは、全国的にも患者数は平均しており、大分県においても、過去に中毒が発生した事例があった。

なお、未成熟なジャガイモに多く含まれるソラニン、チャコニンによる中毒は全国的には二番目に患者数が多かったが、九州管内では事例がなかったため、表1ではその他の項に分類した。

表1 主な植物性自然毒による食中毒患者数

	福岡県	佐賀県	熊本県	長崎県	大分県	宮崎県	鹿児島県	沖縄県	九州患者数	西日本患者数	東日本患者数	全国総計
	75	1	13	9	15	11	47	7	178	689	2,220	2909
イルージンS	20	1	6		6		21		54	176	632	808
シュウ酸カルシウム	26			4	2	6	11		49	49	2	51
トロパン系アルカロイド	12				5		7	2	26	48	55	103
アマトキシン類	4								4	9	22	31
リコリン					2		2		4	16	100	116
ククルピタシンB								3	3	3	14	17
レクチン	3								3	46	12	58
ムスカリン	2			1					3	22	376	398
シロシビン							2		2	5	30	35
イボテン酸							2		2	11	32	43
2-シクロプロベンカルボン酸						1			1	7	9	16
その他									0	216	669	885
毒成分不明(植物性自然毒)	8		7	4		4	2	2	27	81	267	348

表2 植物性自然毒とその含有植物

有毒成分	含有植物
イルージンS(主成分)	ツキヨタケ
シュウ酸カルシウム	クワズイモ
トロパン系アルカロイド	チョウセンアサガオ、ブルグマンシア、ハシリドコロ等
アマトキシン類	ドクツルタケ、シロタマゴテングタケ等
リコリン	スイセン、タマスダレ等
ククルピタシンB	ヒョウタン、ユウガオ
レクチン	白いんげん
ムスカリン(主成分)	クサウラベニタケ、カブラアセタケ等
シロシビン	マジックマッシュルーム(総称)
イボテン酸(主成分)	デングタケ、ベニテングタケ等
2-シクロプロベンカルボン酸	ニセクロハツ

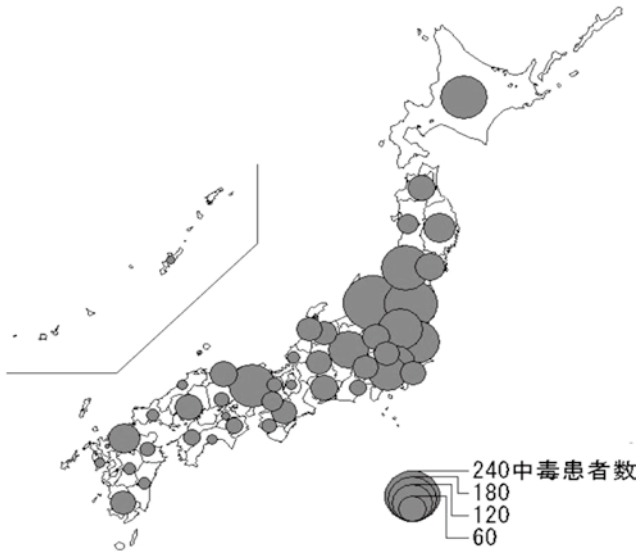


図2 植物性自然毒による中毒者数

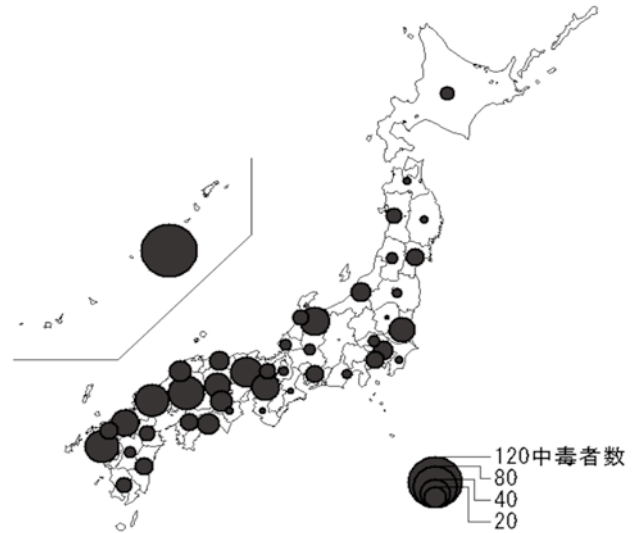


図3 動物性自然毒による全国食中毒患者数分布

1.3 動物性自然毒による食中毒

表3及び図3に動物性自然毒による全国食中毒患者数を示した。

全国的に患者数が最も多かったのはフグ毒のテトロドトキシンによるもので、地域差がみられ西日本が東日本に比べ約2倍の患者数であった。

また、二番目に多いシガテラ毒による中毒も、サンゴ礁に住む魚の食物連鎖による毒の蓄積が原因となるため、地域特性がみられ、患者の89%は西日本で、特に沖縄県で顕著に発生し78%を占めた。

三番目に多いのは、巻き貝が持つテトラミンによる中毒で、西日本、東日本に患者数は平均しているが、九州での発生はみられなかった。

表3 動物性自然毒による全国食中毒患者数

	九州	西日本 合計	東日本 合計	全国 合計
	271(9)	591(19)	216(4)	807(23)
テトロドトキシン	117(8)	353(16)	128(4)	481(20)
シガテラ毒	134	148	19	167
テトラミン		46	50	96
パリトキシン	13(1)	24(1)		24(1)
ビタミンA			14	14
ジノグネリンA,B,C,D			4	4
麻痺性貝毒		3		3
毒成分不明	7	17(2)	1	18(2)

備考：() は死亡者数

1.4 その他の化学物質による食中毒

表4及び図4に自然毒を除く化学物質による全国食中毒患者数を示した。

その結果は、ヒスタミンによる患者数が約85%と最も多く、東日本が西日本に比べ約4倍の患者数と大きな差がみられた。

次に、台所用洗剤、油脂の酸化物の順に患者数が多く、台所用洗剤は97%が東日本、油脂の酸化物は90%が西日本で占められるという特徴がみられた。

表4 自然毒を除く化学物質による全国食中毒患者数

	九州	西日本 合計	東日本 合計	全国 合計
	272	493	2,022	2,515
ヒスタミン	205	408	1,720	2,128
界面活性剤(台所用合成洗剤)		7	204	211
油脂の酸化物	66	66	7	73
銅			41	41
農薬	1	4	23	27
水酸化ナトリウム			14	14
漂白剤(殺菌剤)		1	6	7
床用洗剤			5	5
メチルアルコール			1	1
塩化ベンザルコニウム			1	1
灯油		1		1
不明(化学物質)		6		6

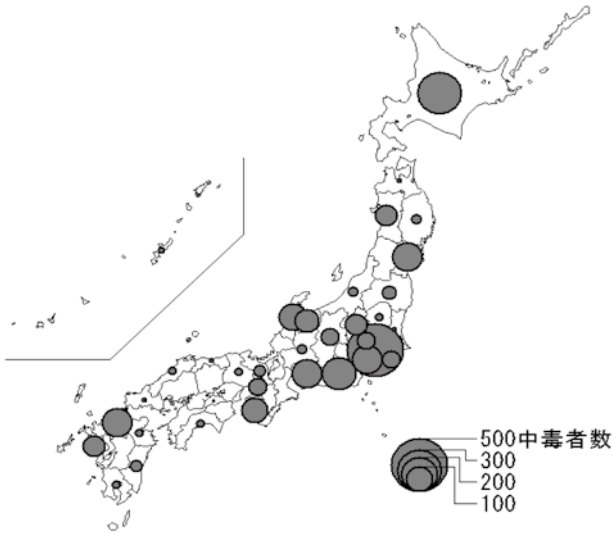


図4 自然毒を除く化学物質による全国食中毒患者数分布

以上の結果から、優先的に分析法を検討する病因物質として、本県でも発生する可能性が考えられるが、分析の経験がないツキヨタケに含まれるイルージンS、クワズイモ中のシュウ酸カルシウムを選定し検討を行うこととした。

定性分析の検討結果

1 ツキヨタケ中のイルージンS

1.1 GPCクリーンアップ

図5にGPCカラムの分離における波長240nmでのクロマトグラフを示した。

このピークは少なくとも3つのピークの重なりが想定されたことから、分画①(分取11~14min)、分画②(14.2~15.8min)及び分画③(15.8~18min)をそれぞれ分取後、濃縮・乾固しメタノール20mLに溶解させたものをLC/MS/MSでScan測定を行った。

それぞれの分画①~③より得られた、イルージンS由来と考えられるM/Z 247.1、265.1のスペクトル強度から、分画②に約80%が存在する考えられたことから分画②を分取した。

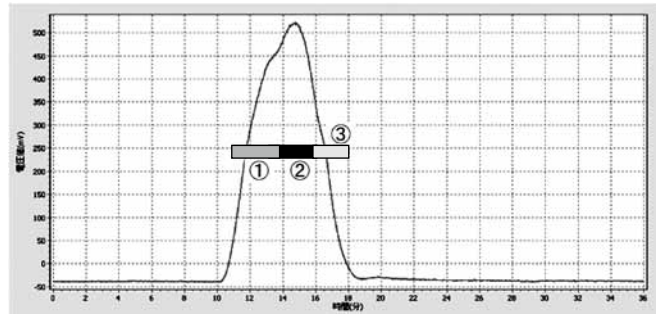
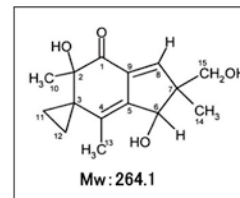


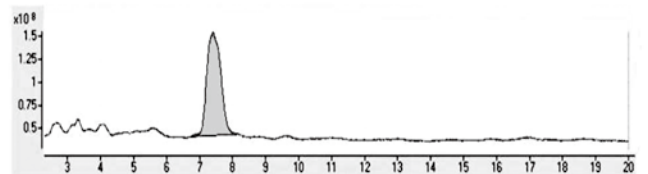
図5 ツキヨタケ抽出物のGPC 処理クロマトグラフ (240nm)

1.2 イルージンSの確認

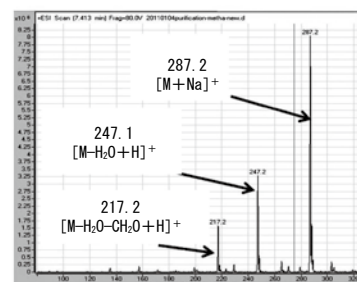
図6にイルージンSの分子構造とツキヨタケの抽出・精製溶液中のメタノール溶離液によるプロダクトイオンスキャンのマススペクトルを示した。この結果イルージンSのNa負荷体が最も強く検出された。なお、イルージンSについては、標準品が市販されていないことから、ここに得られた精製溶液をスペクトルパターンからイルージンSと判断し、中毒発生時には、病因物質を推定する際の参照品として使用できるものと考えた。



A: イルージンSの分子構造



B: ツキヨタケ抽出物のTIC



C: ツキヨタケ抽出物 (B) のメタノール溶離液におけるプロダクトイオンスキャン

図6 ツキヨタケ抽出物のLC/MS/MS分析結果

以上の結果、今後は、精製できたイルージンSの純度の確認をするとともに、調理食品及び中毒患者の吐物や尿を用いた添加回収試験を実施し、中毒原因の特定を可能にする必要がある。

2 クワズイモ中のシュウ酸カルシウム

シュウ酸カルシウムによる中毒症状は、シュウ酸カルシウムの針状結晶による粘膜等の刺激なので、喫食から短時間で中毒症状が生じることから、喫食残品や調理前残品が残っている場合が多い。

これまでの事例では、キャピラリー電気泳動法³⁾、イオンクロマト法⁴⁾、ガスクロマトグラム法⁵⁾でシュウ酸イオンを定量している。

今回は、調理前残品が残っている際の、シュウ酸カルシウムの簡易確認試験法として、光学顕微鏡観察、電子顕微鏡及びX線分析装置(EDX)を用いた定性を試みた。

2.1 光学顕微鏡観察

図7-A、Bに光学顕微鏡の観察結果を示した。100~200倍でシュウ酸カルシウムが格納されているアンプル形細胞を観察できたが(A)、薄くスライスする際に、アンプル形細胞を傷つけると、針状結晶が飛散している状態で観察された。

2.2 電子顕微鏡観察

図7-C、Dに電子顕微鏡の観察結果を示した。光学顕微鏡では、水分を含んでいるため、針状結晶を明瞭に観察できない場合があるため、電子顕微鏡観察を行った。凍結乾燥後にスパッタリングを行ったが、緊急の場合はスパッタリングのみでもよかった。

光学顕微鏡と比較するとシュウ酸カルシウムが存在している場合は、はっきりと針状結晶が観測できた。

2.3 EDXによるカルシウムの定性

図8にクワズイモ細胞部(A)及び針状結晶部(B)のEDX分析結果を示した。

針状結晶がシュウ酸カルシウムにより構成されているので、植物細胞部のカルシウムピークと比較して有意な差が見られた。

これらの検査は検体搬入から、分析終了まで1時間程度で行え、危機管理に対応したクワズイモによる食中毒の迅速・確実な検査法であると考えられた。

ま と め

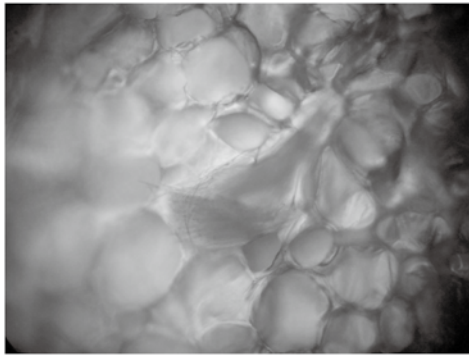
2000~2009年度の化学物質による全国食中毒事例調査から、優先的に標準品の整備や検査マニュアルの作成を必要とする化学物質を選定し、分析法の検討等を行った。

植物性自然毒では、九州で発生頻度の高い病因物質である、イルージンS及びシュウ酸カルシウムを確認するための検査手法が危機管理対策として早急に必要であると判断された。そこで、市販品のないイルージンSについては、ツキヨタケより抽出・精製した参照品を確保することで食中毒発生時の対応が可能となった。また、クワズイモ中のシュウ酸カルシウムについては、電子顕微鏡及びX線解析による方法を検討し、両法を併用することで病因物質の推定が可能となった。

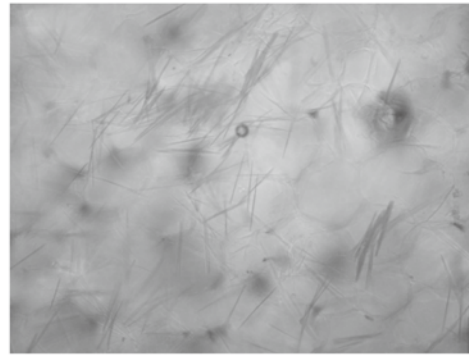
今後さらに、動物性自然毒、自然毒以外の化学物質に関しても、危機管理の観点から、優先順位の高い化学物質についてマニュアル整備や簡易検査法等の検討を行い、化学物質による食中毒が発生した場合に備えて対応強化を図る必要がある。

謝 辞

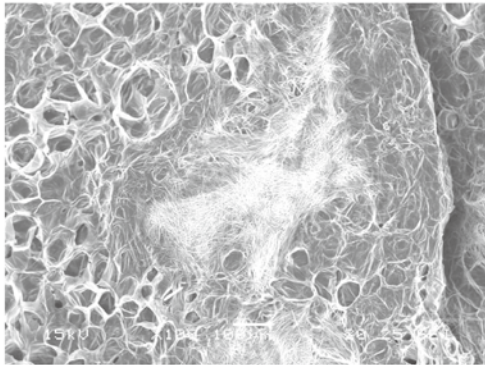
ツキヨタケ採取に際して大分県きのこ研究所 村上主幹研究員、また、分析に際して山形県衛生研究所 笠原研究主幹(兼)理化学部長、大分県産業科学技術センター 山本主任研究員、谷口主任研究員、柳主任研究員にご指導・ご協力をいただき深謝いたします。



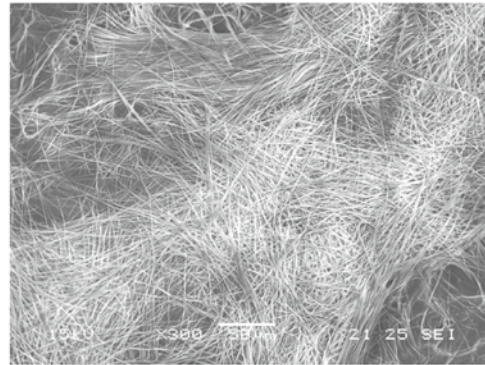
A: 光学顕微鏡観察アンプル形細胞



B: 光学顕微鏡観察 針状結晶が飛散したもの

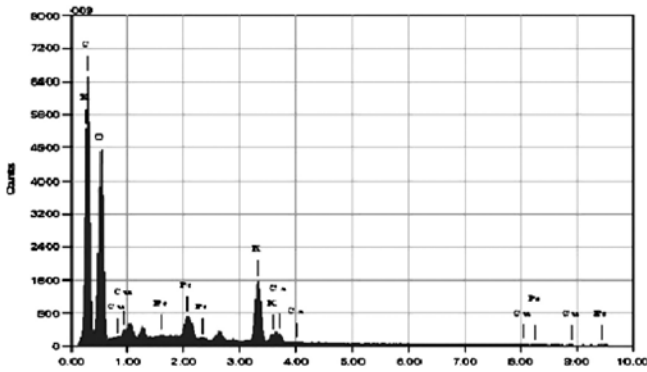


C: 電子顕微鏡観察 外皮に近い部分 (×100)

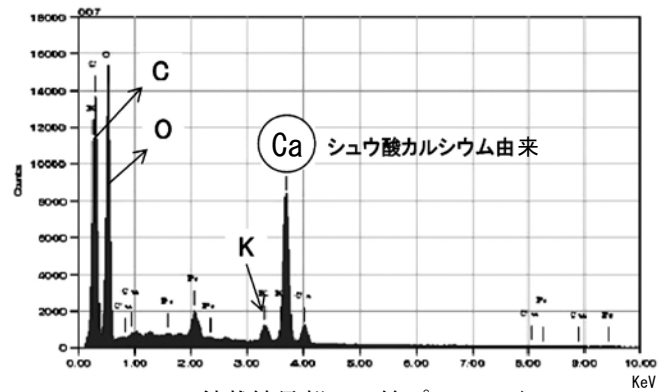


D: 電子顕微鏡観察外皮に近い部分 (×300)

図7 クワズイモ中のシュウ酸カルシウム結晶



A: 細胞部のX線プロファイル



B: 針状結晶部のX線プロファイル

図8 クワズイモ中のシュウ酸カルシウムのX線解析

参 考 文 献

- 1) 平成22年大分県食中毒事件録：大分県生活環境部食品安全・衛生課, 2011
- 2) 小坂妙子、浜田洋彦、中村公生：ツキヨタケによる食中毒におけるイルージンSの分析, 宮崎県衛生環境研究所年報, 16, 62-65 (2004)
- 3) 森岡浩文、樺山恭子、小玉義和：キャピラリー電気泳動によるクワズイモ中のシュウ酸分析, 宮崎県衛生環境研究所所報, 20, 91-93 (2009)
- 4) 牛山博文、観 公子、新藤哲也、斉藤和夫：化学物質及び自然毒による食中毒等事件例ー平成14年ー, 東京都健康安全研究センター, 54, 214-219 (2003)
- 5) 大川博徳：ガスクロマトグラフィーによる食品中のシュウ酸の定量, 三重大学教育学部研究紀要 自然科学, 50, 79-87 (1999)

クドア検査法の開発

若松正人*¹、人見徹*²、加藤聖紀、緒方喜久代、小河正雄

Development of *Kudoa septempunctata* detection method

Masato Wakamatsu, Toru Hitomi, Miki Kato, Kikuyo Ogata, Masao Ogawa

Key words : クドア・セプテンプンクタータ *Kudoa septempunctata*,
リアルタイムPCR realtimePCR, ヒラメ flounder

要 旨

有症苦情事例のヒラメからクドア遺伝子を検出し、遺伝解析により *Kudoa septempunctata* (以下 *K. septempunctata*) であることを明らかにした。この16SリボゾームRNAをコードする遺伝子を標的とするTaqManリアルタイムPCR法を開発し、有症苦情事例のヒラメ残品を検査したところ、全例からこのクドア遺伝子を検出した。また、患者の便や吐物からもクドア遺伝子が検出された。

はじめに

近年、生食用生鮮魚介類を共通食とする原因不明有症苦情事例が増加している(図1)。症状は、嘔吐、下痢が中心で一過性であり、潜伏時間は2~6時間と細菌性食中毒やウイルス性食中毒に比べて短い。厚生労働省はその病因物質や原因食品を明らかにするため国立医薬品食品衛生研究所を中心とした調査研究事業を2009年から開始した。2010年5月に、大西、黒田らは有症例のヒラメ残品と購入したヒラメの筋肉組織の網羅的遺伝子解析を行い、

有症例のヒラメ筋肉に寄生虫の一種であるクドア属粘液胞子虫の遺伝子が多く検出されることを報告した¹⁾。

我々は、クドアが食中毒の原因物質である可能性を明らかにするために、リアルタイムPCR法を開発し、有症例のヒラメ及び患者の便、吐物についてクドア遺伝子の検出状況を調査したので報告する。

材料及び方法

1 材料

2008年3月2日から2010年9月30日の間に発生した原因食品としてヒラメが関与していると疑われる有症苦情事例で入手したヒラメ残品11検体と、有症苦情事例に関与していないヒラメ6件検体、及び2010年8月11日から2010年9月20日の間に発生したヒラメの関与が疑われる有症苦情事例の患者便17検体、吐物2検体を検査に使用した。

2 方法

2.1 DNAの抽出

事例ヒラメの筋肉をスパーテルで少量(約30mg)かき取り、2mlのバイオマッシャー(AS-SIST)で破碎、遠心した沈査を試料とした。DNA抽出はQIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN)を用い、

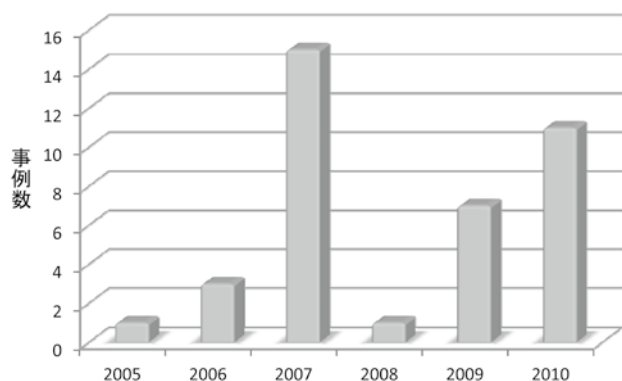


図1 生食用生鮮魚介類を共通食とする原因不明有症苦情事例 (大分県)

*¹ 豊肥保健所

*² 豊後大野家畜保健衛生所

そのプロトコールに従いDNAを抽出し精製した。

患者の糞便、又は吐物からのDNAの抽出にはQIAamp DNA Stool Kit (QIAGEN) を用い、そのプロトコールに従いDNAを抽出し精製した。

2.2 PCR及びシーケンス

PCRは、18SリボゾームRNAをコードする遺伝子を標的とし、Elvira AbolloらのプライマーU1、U2 及び、SSU1、SSU3を使用した²⁾。PCR液25 μ l(10 \times PCR buffer 2.5 μ l, 2.5mM dNTPs 2.5 μ l, 5units/ μ l TaKaRa Taq 0.125 μ l, Forward primer 1 μ l, Reverse primer 1 μ l, Sterilized distilled water 16 μ l, template 2 μ l)を調整し、94 $^{\circ}$ C 1分、53 $^{\circ}$ C 1分、72 $^{\circ}$ C 2分の反応を30回行った。PCR産物を2%アガロースゲルで30分電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色した後、紫外線照射下で特異的バンドの確認を行った。

プライマー SSU1、SSU3 で特異的なバンドが検出されたPCR産物をExoSAP-IT (USB)で精製し、シーケンス反応を行った後、CentriSepスピンカラム(PRICETON)で精製し、3130xl ジェネティックアナライザ(Applied Biosystems)で遺伝子配列を決定した。

2.3 分子系統樹

GeneBankで主なKudoa属の遺伝子配列を検索し、有症苦情事例から検出されたKudoa遺伝子配列とClustal Wでアラインメントを行い、TreeViewで分子系統樹を作成した。

2.4 Real Time PCR

*K. septempunctata*³⁾ の16SリボゾームRNAをコードする遺伝子配列を基にPrimer Express Software v3.0 (Applied Biosystems) でTapMan法に用いるプライマーとプローブの設計を行った。フォワード側のプライマーは、Kudoa3F (TGTAATAATTG CTCACGAAAGAGGAA)を、リバース側のプライマーはKudoa3R (CAAAGGGCAGAGACTTATTC AACAA)を、プローブはKudoa3P(FAM- TCCTCG TAAGCGCGAGTCATCAGCTC-TAMURA)を用いた。リアルタイムPCR反応試薬は、Premix EX Taq (TaKaRa) を用い、試薬の調合は添付の説明書に従った。反応条件は、LightCycler 2.0 (Roche)を用い、アニーリング・伸長60 $^{\circ}$ C、20秒の

シヤトルPCRを45サイクル実施した。

2.5 シスト及び粘液胞子の観察

ヒラメの筋肉を少量スライドグラス上に置き、もう1枚のスライドグラスで筋肉を圧迫した後、そのスライドグラスを取り除いた。トルイジンブルー、メチレンブルー等の染色液を筋肉に滴下し、顕微鏡の200~400倍で粘液胞子虫を観察した。

結 果

1 クドアの同定

有症苦情事例のヒラメ残品からDNAを抽出し、多くの種類のクドアを検出するプライマーでPCRを行ったところ、クドア特異的なバンドを検出した(図2)。

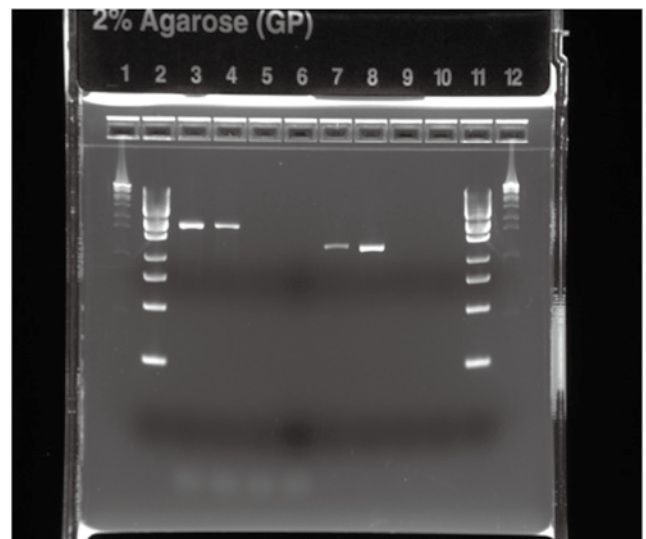


図2 有症苦情事例のヒラメ残品の PCR

レーン2、11は分子量マーカー。レーン3、4、7、8は有症苦情ヒラメ。レーン5、6、9、10は陰性対照。レーン3~6は、プライマーU1/U2使用。レーン7~10はプライマーSSU1/SSU3使用。

この遺伝子を、分子系統樹解析したところ *K. septempunctata* であることが判明した(図3)。念のため、遺伝子をクローニングして複数調べたが、全て*K.septempunctata*と100%遺伝子配列が一致した。ヒラメ筋肉中のクドアの粘液胞子を顕微鏡で調べたところ、5~6個の極囊を持つ粘液胞子が観察された(図4)。

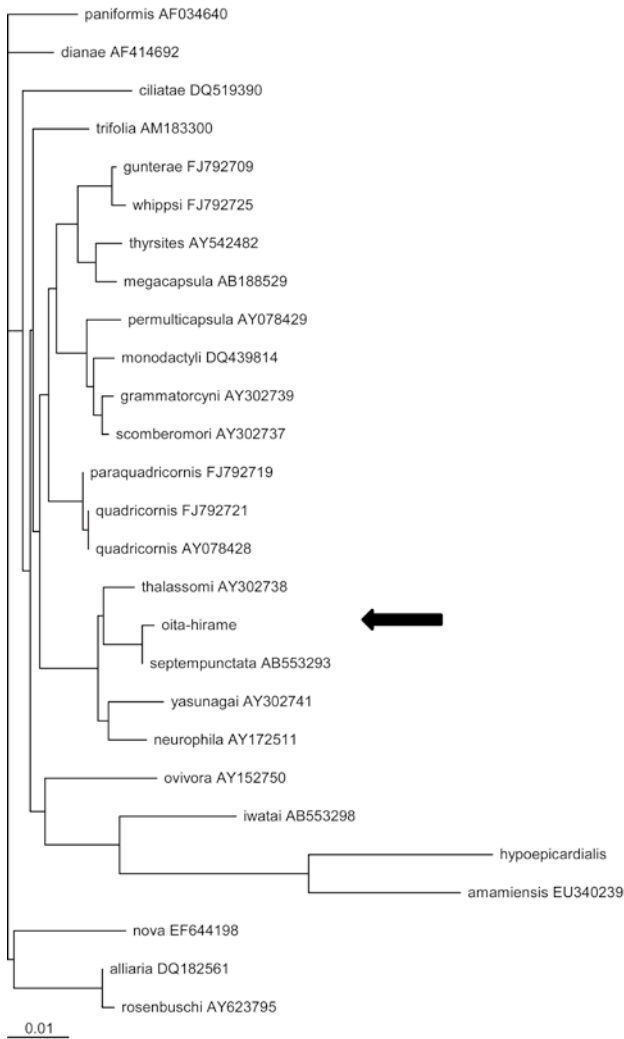


図3 クドア属の分子系統樹

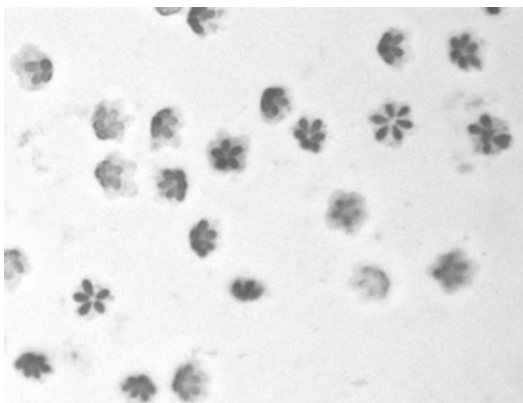


図4 ヒラメ筋肉中の *K. septempunctata*

2 リアルタイムPCR法

有症苦情事例ヒラメの由来のクドアが *K.septempunctata* であることから、データベースに登録されているこの遺伝子を基に、TapManPCR用のプライマーとプローブを設計した。BLAST

検索によりプライマー、プローブの特異性を確認したところ *K.septempunctata* 以外に、*K.yasunagai*, *K.grammatorcyni*, *K.thalassomi*, *K.scomberomori*, *K.permulticapsula*, *K.unicapsula*, *K.trifolia*, *K.dianae*, *K.miniauriculata* とも反応することが分かったが、これらはヒラメの筋肉に寄生しない種類であるため、ヒラメの筋肉の検査には使用できると考えた。プライマーSSU 1/SSU 3によるPCRで陽性であった2検体と蒸留水を陰性対照としてリアルタイムPCRを実施したところ、陽性、陰性とも正常に反応した(図5)。

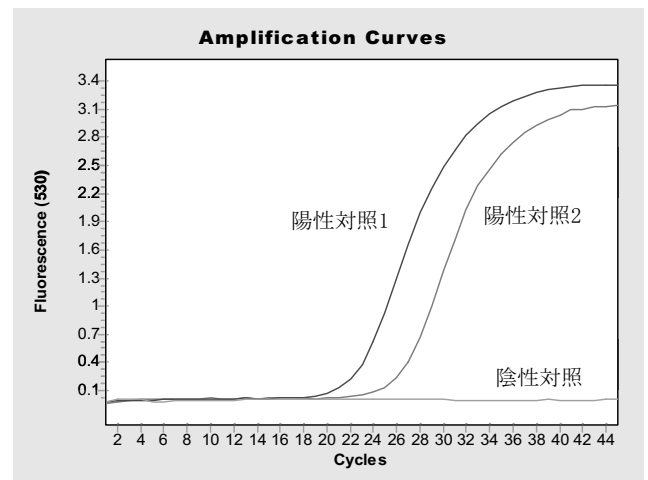


図5 リアルタイムPCR法の増幅曲線

3 ヒラメの遺伝子検査

11事例の有症苦情のヒラメ残品についてリアルタイムPCR検査を実施したところ、全例からクドア遺伝子を検出した(表1)。CT値が低いほど含まれている遺伝子量が多いことを示すが、CT値25以下が8事例あり、クドアが高濃度に寄生していたことが推定された。一方、有症苦情事例や食中毒と関連の無いヒラメ6個体についてリアルタイムPCR検査を実施したところ、4個体からクドア遺伝子は検出されず、2個体から微量のクドア遺伝子が検出された(表2)。

4 患者の便、吐物の遺伝子検査

4事例の有症苦情について、患者便17件と患者吐物2件のリアルタイムPCR検査を行った(表3)。患者便では、4事例5件からクドア遺伝子を検出した。患者吐物では、2事例2件からクドア遺伝子を検出した。いずれもCT値は高く、遺伝子量が少なかった。

表1 有症苦情例等のヒラメ残品の検査

事例 No.	発生場所	発生年月日	摂食者数	患者数	リアルタイム PCR	CT 値
1	国東市	2008/ 3/ 2	37	12	+	23.0
2	国東市	2009/ 9/ 4	2	2	+	18.6
3	由布市	2009/10/24	5	4	+	21.5
4	由布市	2009/10/26	15	10	+	> 35
5	佐伯市	2009/12/13	49	5	+	31.5
6	別府市	2010/ 8/14	41	12	+	19.0
7	大分市	2010/ 8/25	6	5	+	19.0
8	日田市	2010/ 9/ 8	8	6	+	34.1
9	国東市	2010/ 9/19	23	4	+	17.6
10	別府市	2010/ 9/20	29	13	+	20.7
11	別府市	2010/ 9/30	11	6	+	16.6

表2 対照ヒラメの検査

検体No.	採取日	リアルタイム PCR	CT 値	備考
1	2009/ 9/28	-	-	養殖
2	2009/11/19	-	-	養殖
3	2009/11/20	+	> 35	養殖
4	2009/11/21	-	-	養殖
5	2009/11/21	-	-	
6	2009/11/23	+	> 35	

表3 便、吐物の検査

事例 No.	発生年月日	発生場所	検 体 名	リアルタイム PCR	CT 値
1	2010/ 8/11	国東市	患者便 1	+	32
			患者便 2	-	-
			患者便 3	+	> 35
			患者吐物 1	+	> 35
2	2010/ 8/14	別府市	患者便 4	-	-
			患者便 5	-	-
			患者便 6	+	> 35
			患者便 7	-	-
			患者便 8	+	> 35
3	2010/ 9/ 8	日田市	患者便 9	-	-
			患者便 10	-	-
			患者便 11	-	-
			患者便 12	+	> 35
4	2010/ 9/20	別府市	患者便 13	-	-
			患者便 14	-	-
			患者便 15	+	> 35
			患者便 16	-	-
			患者便 17	+	> 35
			患者吐物 2	+	> 35

考 察

有症苦情ヒラメに寄生していたクドアは、PCR産物の遺伝子解析により*K.septempunctata*であることが明らかとなった。このクドアは、2010年3月に東京都築地魚市場で販売されていた韓国からの輸入ヒラメの筋肉から発見された新種のクドアで、その生態や病原性は不明である。文献によると、多くは7個の極嚢を持つとされているが、我々の観察では6個以下の極嚢を持つものばかりであった。

*K.septempunctata*の16SリボゾームRNAをコードする遺伝子配列を基に、定量性、迅速性、特異性に優れたTaqManリアルタイムPCR用のプライマー、及びプローブを開発した。生食用魚介類を原因食品とする原因不明の有症苦情事例で保管していたヒラメの筋肉についてリアルタイムPCRを実施したところ11事例中11事例から*K.septempunctata*遺伝子が検出され、遺伝子量が多いものが多かった。一方、通常のヒラメは*K.septempunctata*遺伝子が検出されないか、極少量であった。これらの結果から、*K.septempunctata*が食中毒の原因物質である可能性が高いと考えられた。

実際の食中毒では、ヒラメ残品の入手が困難なことが多い。患者の便や吐物についてクドア遺伝子が検出できれば、科学的な証明が可能となる。4事例17件の患者便と2件の患者吐物を検査したところ、4事例7件の便からごく少量のクドア遺伝子が検出された。吐物は2件中2件からクドア遺伝子が検出された。遺伝子量は少ないが、患者便と吐物からのクドア遺伝子の検出は可能であった。

本県は、ヒラメの生産県である。関係部、課、機関と協力して養殖ヒラメについてクドアの寄生の実態調査、感染経路の解明調査を、開発したリアルタイムPCR法で行った。その結果、養殖場で使用する海水由来の感染の可能性は小さく、購入前の稚魚の段階でクドアに感染する可能性が高いことが分かってきた(未発表)。

2011年4月25日に厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒・乳肉合同部会において、ヒラメによる食中毒の病因物質が*K.septempunctata*である可能性が高いことが報告された。2011年7月11日に厚生労働省から*K.septempunctata*の検査法(暫定版)が通知された。今後は、全国レベルでクドアによる食中毒の実体が明らかになるとともに、

生産者側の対策も進み、患者が減少することが期待される。

参 考 文 献

- 1) 大西 真、黒田 誠：超高速シーケンサーを用いた病原因子の網羅的検索，衛生微生物技術協議会第31回研究会講演抄録集，58 (2010)
- 2) Elvira Abollo, Beatriz Novoa, Antonio Figueras : SSUrDNA analysis of *Kudoa rosenbuschi* (Myxosporea) from the Argentinean hake *Merluccius hubbsi*, DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS Dis Aquat Org., 64, 135-139 (2005)
- 3) Matsukane Y, Sato H, Tanaka S, Kamata Y, Sugita-Konishi Y. : *Kudoa septempunctata* n. sp. (Myxosporea : Multivalvulida) from an aquacultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) imported from Korea., Parasitol Res., 107 (4), 865-72 (2010)

サルコシステイス検査法の開発

小河正雄、加藤聖紀

Development of Sarcocystis detection method

Masao Ogawa, Miki Kato

Key words : 肉孢子虫 Sarcocystis, 食中毒 food poisoning, 馬肉 horse meat

要 旨

有症苦情事例の馬肉残品からサルコシステイスの遺伝子を検出し、その遺伝子配列をもとにSYBRリアルタイムPCR法を開発した。馬肉が関連した有症苦情 6 事例の馬肉残品についてリアルタイムPCR検査したところ、全てから*Sarcocystis feyeri* (以下 *S. feyeri*) と推定される遺伝子が検出された。

はじめに

近年、原因不明となった有症苦情事例の中で、喫食した食品中に馬刺しが含まれる事例が見られるようになった。主な症状は、下痢、嘔吐で、潜伏時間は3~14時間と通常の細菌やウイルスの感染型の食中毒より短時間で発症する(表1)。ワックス等の化学物質や、細菌、寄生虫等の微生物の可能性が考えられていたが、馬に寄生するサルコシステイス(以下 肉孢子虫)が注目されるようになってきた。我々は、遺伝子学的手法を用いて、食中毒に関連した馬肉中の肉孢子虫遺伝子を検出する方法を開発したので報告する。

材料及び方法

1 材料

2010年と2011年5月までに有症苦情で搬入された馬肉残品及び関連品7検体を用いて検査した。

2 方法

2.1 DNAの抽出

馬肉5gをフィルター付きストマッカー袋に入れ、蒸留水5mlを加え、3分間ストマッカー処理をした。滲出液200 μ lを用い、QIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN)でDNAを抽出した。抽出法は、キット説明書の「血液および体液からのスピンプロトコール」を使用した。

2.2 PCR及びシーケンス

PCRは、18SリボソームRNAをコードする遺伝子を標的とするPrittらの方法¹⁾を用いた。PCRで

表1 馬刺しが関与した原因不明食中毒、有症苦情事例

No.	発生場所	発生年月日	摂食者数	患者数	症状	潜伏時間 (hr)
1	由布市	2008. 5.27	260	6	下痢、嘔吐、発熱	3~5
2	中津市	2008. 5.28	16	3	下痢、嘔吐、腹痛	7~14
3	国東市	2010.10.21	4	3	下痢	9~10
4	日田市	2010.11.25	17	12	下痢、嘔吐	9~11
5	日田市	2010.12. 7	8	5	下痢、嘔気	5~13
6	宇佐市	2011. 2. 7	7	6	下痢、嘔吐、腹痛	3~7
7	日田市	2011. 2.14	5	4	下痢、嘔吐、腹痛	6~8
8	宇佐市	2011. 5.23	5	5	下痢、嘔吐、発熱	3

陽性となったら、PCR産物をMiniElute PCR Purification kit(QIAGEN)で精製し、シーケンス反応を行った後、CentriSepスピンカラム(PRICE-TON)で精製し、3130xl ジェネティックアナライザ(Applied Biosystems)で遺伝子配列を決定した。

2.3 分子系統樹

GeneBankで主な肉胞子虫属の遺伝子配列を検索し、食中毒関連事例から検出された肉胞子虫遺伝子配列とClustal Wでアラインメントを行い、TreeViewで分子系統樹を作成した。

2.4 リアルタイムPCR

決定された1031bpの遺伝子配列を基にPrimer Express Software v3.0 (Applied Biosystems)でTapMan法に用いるプライマーとプローブの設計を試みたが、特異性のある領域では設計できなかった。そこで、SYBR法に用いるプライマーをLightCycler Probe Design Software 2.0(Roche)で設計した。フォワード側のプライマーは、f582 (5' -TATTGGGTTAGATAAACCGTACTT-3')を、リバーズ側のプライマーはr732 (5' -CTGTCCCTATTAACCATTATTCAG-3')を用いることとした。

リアルタイムPCR反応試薬は、SYBR Premix EX Taq (TaKaRa) を用い、試薬の調合は添付の説明書に従った。反応条件は、StepOne plus (Applied Biosystems) を用い、アニーリング・伸長60℃、24秒のシャトルPCRを40サイクル実施し、融解曲線分析を行った。

2.5 シスト及びブラディゾイトの観察

馬肉中のシストを肉眼で探し、ハサミとピンセットでスライドグラス上にシストを含む肉片を置く。カバーグラスで肉片を圧迫し、位相差顕微鏡の400倍でシスト及びブラディゾイトを観察した。

結 果

1 有症苦情事例馬肉残品のPCR

2010年9月に豊肥保健所管内で発生した有症苦情事例の馬肉残品について、Prittらの方法で定性PCRを行ったところ、約1100bpの位置に肉胞子虫属遺伝子のバンドが検出された(図1)。ダイレク

トシーケンス法で検出した遺伝子の配列を調べ、BLASTで遺伝子のホモロジー検索したが100%一致した遺伝子は無く、この馬の肉胞子虫の遺伝子配列が未登録であり、種の同定ができないことが判明した。分子系統樹では、この肉胞子虫はヒトに病原性のある*S. hominis* や*S. cruzi* と離れたところに位置した(図2)。

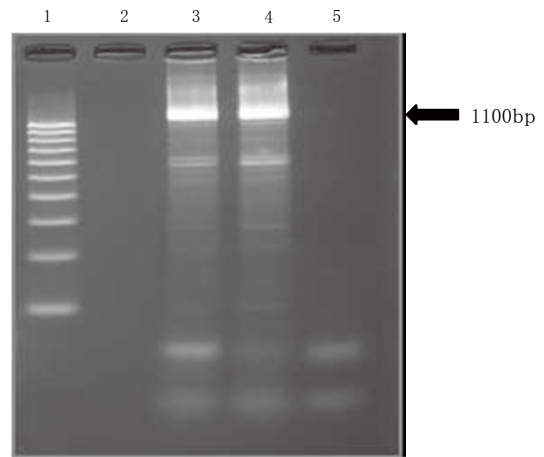


図1 サルコシスティスの定性PCR
レーン1は、分子量マーカ。レーン3とレーン4は検体。レーン5は陰性対照。

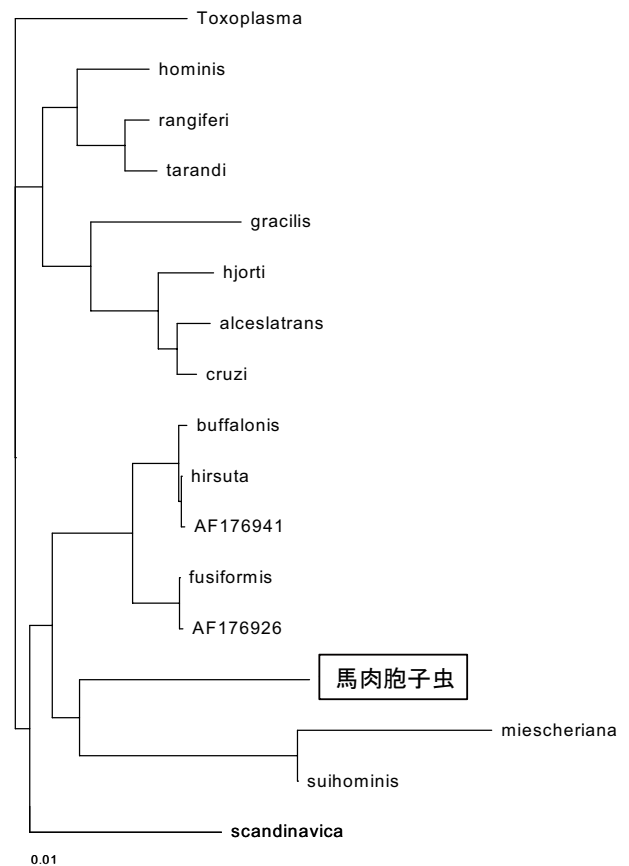


図2 サルコシスティスの分子系統樹

2 リアルタイムPCR

抽出した遺伝子の原液、10倍希釈液、100倍希釈液、1000倍希釈液を用いてリアルタイムPCRを行ったところ、濃度に応じた増幅曲線が描かれ、検量線も直線となった。陰性対照には非特異的な増幅は見られなかった(図3、図4)。融解曲線分析で

は、リアルタイムPCR産物の融解温度(T_m)は78.7~79.2°Cであった(図5)。

2010年10月以降に発生した馬刺しに関連した有症苦情6事例の馬肉残品についてリアルタイムPCR検査を行ったところ、全てから馬由来肉胞子虫遺伝子が検出され、Ct値は24.8~27.3であった(表2)。

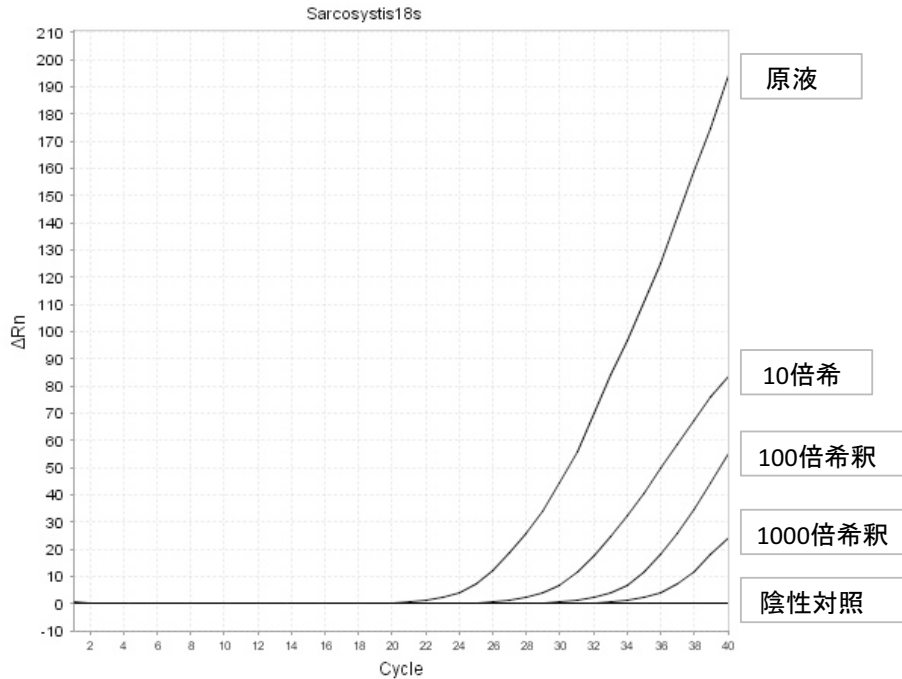


図3 増幅曲線

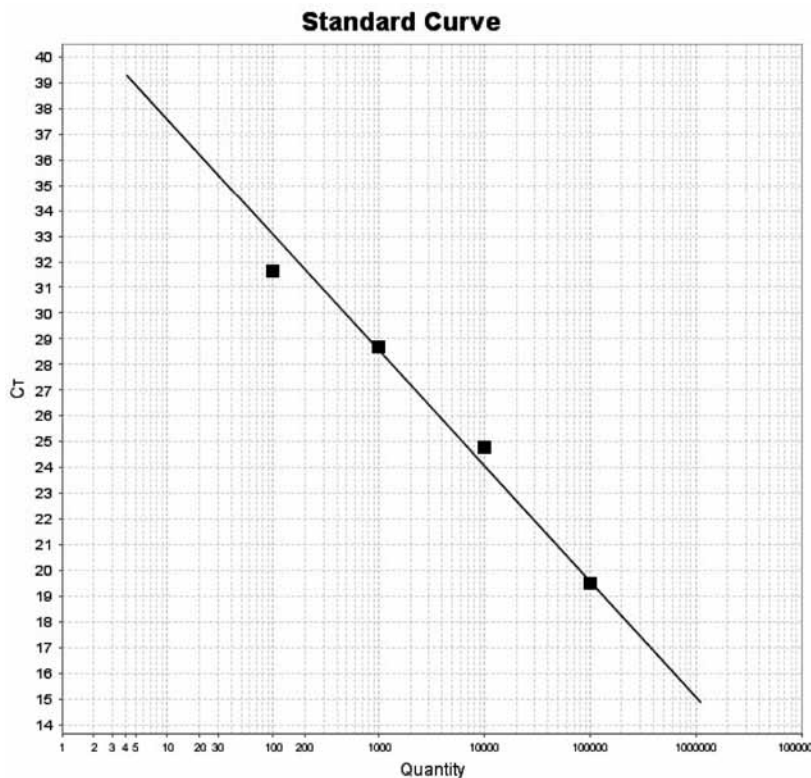


図4 検量線

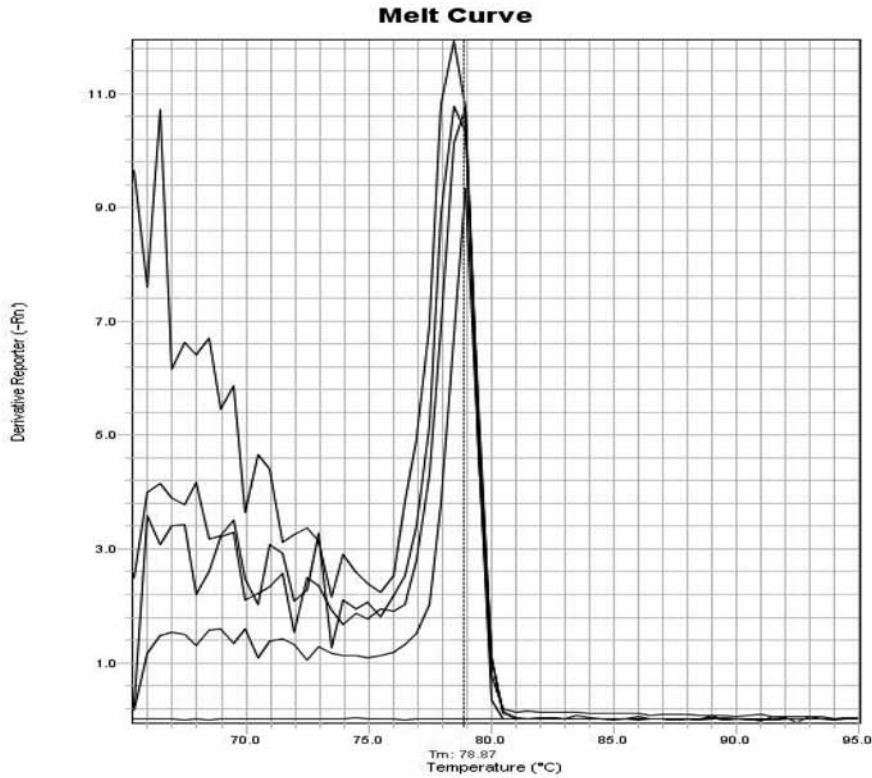


図5 融解曲線

表2 原因不明食中毒, 有症苦情事例の馬肉残品のリアルタイムPCR

No.	発生場所	発生日月日	遺伝子の検出	Ct値
1	国東市	2010.10.21	+	26.2
2	日田市	2010.11.25	+	24.8
3	日田市	2010.12. 7	+	26.6
4	宇佐市	2011. 2. 7	+	24.8
5	日田市	2011. 2.14	+	26.6
6	宇佐市	2011. 5.23	+	27.3

3 顕微鏡による観察

2010年10月に発生した日田市の事例について実体顕微鏡で馬肉中のシストを探したが脂肪と見分けが付きにくかった。実態顕微鏡で探し出したシストとその中に含まれる三日月型のブラディゾイトを位相差顕微鏡で観察した(図6、図7)。

考 察

有症苦情事例馬肉残品から検出された肉胞子虫の遺伝子は、遺伝子のデータベースに登録されていなかった。馬に寄生する主要な肉胞子虫は、*S. bertrami* と *S.fayeri* とされているが、これらの遺伝子も

データベースに登録されていない。2011年6月8日付の食中毒・乳肉水産食品合同部会の提言²⁾によると、食中毒に関連した馬の肉胞子虫は *S.fayeri* とされているので、我々が検出し解析した遺伝子は *S.fayeri* と推定された。

開発したSYBRリアルタイムPCRの系は、プライマーダイマーによる非特異的な反応が無く、検量線も直線性があったので実用性には問題がないと思われた。また、顕微鏡による観察でも肉胞子虫のシストとブラディゾイトが確認され、遺伝子検査の結果と顕微鏡検査による結果が一致した。県内で発生した馬刺しが関連した有症苦情事例の馬肉残品全てから肉胞子虫の遺伝子が検出され、肉胞子虫が馬刺し

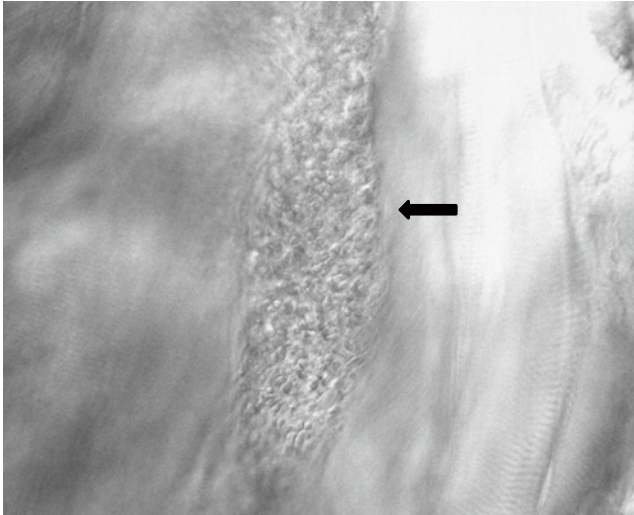


図6 馬由来肉胞子虫のシスト

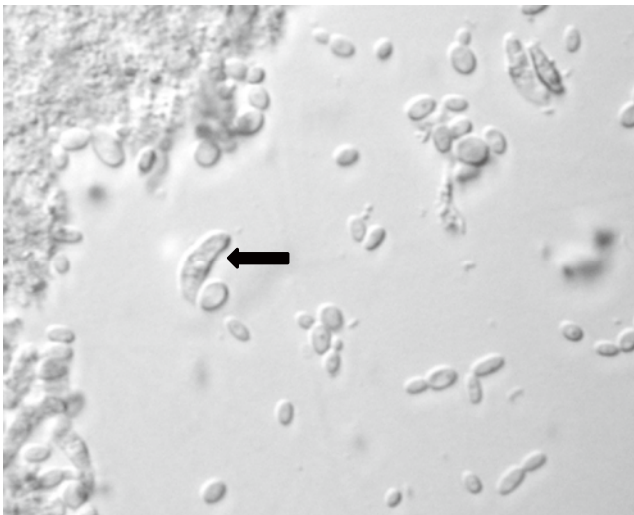


図7 馬由来肉胞子虫のブラディゾイト

による食中毒の病因物質である可能性が示された。
2011年6月17日付の厚生労働省の通知³⁾によると、生食用生鮮食品の馬肉の摂取に関連した有症事例について、*S.fayeri*の関与が強く示唆され、今後、この寄生虫を起因すると考えられる有症事例が報告された場合は食中毒事例として取り扱うことになった。今後は、馬肉残品や患者の吐物、便等から*S.fayeri*遺伝子を検出することにより起因病原体を決定し、原因不明の食中毒を減らしてゆきたい。

最後に、検体採取に協力していただきました東部保健所国東保健部、豊肥保健所、西部保健所、北部保健所の衛生課の皆様には深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) B. Pritt, T. Trainer, L. Simmons-Arnold, M. Evans, D. Dunams, and B. M. Rosenthal: Detection of Sarcocystis Parasites in Retail Beef: A Regional Survey Combining Histological and Genetic Detection Methods, Journal of Food Protection, 71(10), 2144-2147 (2008)
- 2) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知「生食用生鮮食品による病因物質不明有症事例への対応について」(2011.6.17 食安発0617 第3号)
- 3) 厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒・乳肉水産食品合同部会: 生食用生鮮食品による病因物質不明有症事例についての提言, P1-9 (2011)

大分県における浴用水中の*Legionella*属菌の検出状況(2010)

緒方喜久代、若松正人、山本由香利、成松浩志

Isolation of *Legionella* Species from Public Bath Water in Oita Prefecture, 2010

Kikuyo Ogata, Masato Wakamatsu, Yukari Yamamoto, Hiroshi Narimatsu

Key words : レジオネラ属菌 *Legionella sp.*, 浴用水 Public Bath Water

要 旨

2010年度、県下29施設の公衆浴場浴槽水等58検体を対象に、*Legionella*属菌による生息状況等について調査した。併せて、斜光法を取り入れた培養法の迅速化についても検討を行った。浴槽水について、調査した29施設のうち17施設(59%)から*Legionella*属菌が検出され、うち15施設(52%)が基準値(100mlあたり10cfu未満であること)違反であった。浴槽の種類別では、掛け流し浴槽22施設のうち11施設(50%)から、循環式浴槽7施設のうち6施設(86%)から*Legionella*属菌が検出された。分離された*Legionella*属菌の血清型は、*L.pneumophila* SG1、SG3、SG6、SG型別不能などであった。

は じ め に

元来、*Legionella*属菌は湖沼などの淡水や湿った土壌中、温泉水などに存在する自然環境中の常在菌の一種としても知られている。近年では、空調システムの冷却塔や加湿器、循環式浴槽(24時間風呂、ジャグジー、温泉利用施設等)などの人工環境水にも広く生息し、しばしばこれらの水を利用する際に発生する微小な水滴(エアロゾル)を介してヒトに感染する。本菌によって引き起こされるレジオネラ症は、肺炎を起こして命にかかわることもある重症なタイプのレジオネラ肺炎(肺炎型)と発熱するだけの比較的軽症なタイプのポンティアック熱(非肺炎型)がある。1976年の米国フィラデルフィアで発生したレジオネラ症の集団感染事例以来注目されるようになった。一方、日本においても、2002年7月、宮崎県において循環式入浴施設において発生したレジオネラ症集団感染事例^{1)・2)}をはじめ、数多くの事例が報告されている^{3)~6)}。

宮崎県の集団感染事例を契機に、2003年4月1日、大分県公衆浴場法施行条例及旅館業法施行条例を改正し、*Legionella*属菌の自費による検査(以下、自主検査)を含む入浴施設管理者の自主衛生管理の強

化を図ってきた。入浴施設管理者の自主管理体制の効果を高め、衛生管理のより一層の徹底を図るため、県による行政検査として県保健所が採取した大分県下の公衆浴場浴槽水等について、*Legionella*属菌の分布調査を実施した。

一方、浴槽水の*Legionella*属菌の検査法として広く用いられている培養法は結果を得るまでに7日から10日の長い時間を要し、患者発生時の原因施設特定などの緊急調査時や*Legionella*属菌汚染施設の清掃・殺菌後の安全確認調査など、浴槽水中の*Legionella*属菌の存在あるいは菌数を速やかに把握する必要がある場合は、監視現場からより迅速で、かつ正確な検査が求められている。そこで、様々な泉質を有する温泉水等を対象に、正確・簡便・迅速な培養結果を得る方法としての斜光法⁷⁾(分離培地上の出現コロニーに2方向から斜光をあて、実体顕微鏡下で観察をすると*Legionella*属菌は特徴的なモザイク状の形態を示すことを利用した方法)を*Legionella*属菌検査法に導入することを目的に従来の培養法との比較検討を行った。併せて、選択分離培地の比較検討を行った。

また、搬入から数日で結果が得られる手法として、遺伝子増幅を利用した*Legionella*属菌の迅速検査法

(LAMP法)についても検討したので、併せて報告する。

材料及び方法

1 対象と材料

原則、公衆浴場業又は旅館業の許可を受けている営業施設内にある入浴施設とし、2010年、9月から11月の間、29施設から採取した浴槽水等58検体を試料とした。採水には高圧滅菌処理をしたポリプロピレン製ボトル(2L)を用い、約2000mlを採取した。また、採取時に残留塩素が認められた検体についてはハイポ処理を直ちに施し、採水当日あるいは翌日に当所へ搬入され、検査に供するまでは冷蔵保存とした。なお、*Legionella*属菌が基準値以上検出された場合、*Legionella*属菌汚染源の推定に役立てるため湯口水を浴槽水と同時に採水し、検査に供した。

2 *Legionella*属菌の分離培養・同定法

検査法は新版レジオネラ症防止指針に準じて実施した⁸⁾。すなわち、検水1500mlをメンブランフィルター(直径47mm、0.2 μ m、ADVANTEC社POLYCARBONATE)で吸引ろ過し、ろ過後のフィルターを滅菌蒸留水 15ml入りの滅菌コニカルビーカー(100ml容量)に移し、ボルテックスミキサーにて5分間激しく振とうした。ろ過濃縮後、濃縮検体(未加熱と表記)と50℃ 20分加熱後、急冷した濃縮検体(加熱処理と表記)をそれぞれ濃縮試料(100倍濃縮)とした。

*Legionella*属菌の分離培地としてWYO α 寒天平板(栄研化学)、GVPC寒天平板(日研生物)、MWY寒天平板(自家製)を用い、非濃縮処理の検水および各濃縮試料について、必要に応じて階段希釈し、その200 μ Lを各分離平板1枚にコンラージ棒で塗布し、これらの培地を乾燥しないようにビニール袋に入れ、輪ゴム止めをした後、36℃で培養した。

培養3日目に、2方向から光を照射し、実体顕微鏡下で各分離培地を観察した。*Legionella*属菌が疑われたコロニーは、BCYE α 寒天培地(自家製)及び血液寒天培地(ウマ血、自家製)に接種し、血液寒天培地での発育の有無を確認すると同時に、PCR法

での同定検査を行った。斜光法観察後の分離培地は36℃で10日間培養を継続し、分離平板上に出現した灰白色のレジオネラ様コロニーについて、同様の同定検査を行った。分離培地上に*Legionella*属菌の発育を認めない場合、*Legionella*属菌数は10cfu/100ml未満とし、最終的に同定されたコロニー数をもって検水100mlあたりの*Legionella*属菌数に換算した。

分離した菌株は、*Legionella* Latex Test Kit(OXOID)及びレジオネラ免疫血清(デンカ生研)を用いたスライド凝集反応により血清群型別を行った。

L-システインの要求性から*Legionella*属菌が疑われたにもかかわらず、*mip*および5SrRNAを標的としたPCR法で既知の生成物が得られなかった分離株あるいはスライド凝集に反応しなかった分離株については、F: 5'-GTAAAGCACTTTTCAGTGGGGAG-3'、R: 5'-GGTCAACTTATCGCGTTTGCT-3'あるいは、ユニバーサルプライマー(MicroSeq-F: 5'-TGGAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'、MicroSeq-500R: 5'-TACCGCGCTGCTGGCAC-3')を用いた16Sシーケンス解析により、詳細な同定を行った。

3 LAMP法

濃縮検体について、*Legionella* Detection Kit E(栄研化学)を用い、Loopampリアルタイム濁度測定装置LA320-Cで1検体につき3回繰り返し測定を行った。

加えて、培養(+)、LAMP(-)の濃縮検体について、阻害回避試薬を用いた検討を行った。

結 果

1 *Legionella*属菌の検出状況

培養結果の概要を表1に示した。58検体中31検体(53%)から*Legionella*属菌が検出された。浴槽水の検出状況では、非循環式浴槽施設の11施設(50%)、循環式浴槽施設の6施設(86%)、合計17施設(59%)から*Legionella*属菌が検出され、これらのうち、当県の条例で定められている「濃縮法で10cfu/100mL未満」という基準値と比較すると、前者では11施設(50%)、後者では4施設(57%)が基準値違反であった。

表 1 培養法の結果(n=58)

	採水箇所	検体数	検出数	
			基準値によらない	基準値 ^a
非循環式	浴槽水	22	11	11
	湯口水	22	10	9
循環式	浴槽水	7	6	4
	湯口水	7	4	2
計		58	31	26

a:10cfu/100ml 以上

同一施設における浴槽水と湯口水からの*Legionella*属菌の検出状況を比較すると、浴槽水と湯口水ともに*Legionella*属菌が検出された施設は9施設で、浴槽水(+)、湯口水(-)となった施設は8施設、浴槽水(-)、湯口水(+)となった施設は5施設であった(表2)。施設別では、非循環式浴槽施設においては浴槽水から*Legionella*属菌が検出された11施設中6施設(54%)の湯口水から、循環式浴槽施設においては浴槽水から*Legionella*属菌が検出された6施設中3施設(50%)の湯口水から*Legionella*属菌が検出された。

表 2 浴槽水と湯口水の検出状況^b (n=29)

		浴槽水		計
		+	-	
湯口水	+	9	5	14
	-	8	36	44
計		17	41	58

b: 基準値 10cfu/100ml のよらない

斜光法は培養3日目を判定日とし、特徴あるモザイク状のコロニーについて確認検査を行った。その結果、*Legionella*属菌が検出された31検体のうち28検体は斜光法で確認することができたが、3検体は継続培養後に*Legionella*属菌が確認された(表3)。継続培養で陽性となった3検体から分離された*Legionella*属菌は、いずれも*L. pneumophila*であった。

表4に非濃縮検体と濃縮検体からの*Legionella*属

菌の検出状況の比較を示した。濃縮検体からは検出されず、非濃縮検体から検出された事例が、58検体のうち1検体(2%)で見られた。非濃縮検体からの検出率が10%であるのに対し、濃縮検体からの検出率は45%であった。

*Legionella*属菌が検出された31検体について、雑菌処理と未処理の併用効果と分離培地の検出感度を比較した結果を表5に示した。

表 3 斜光法と従来法の比較

斜光法で検出 ^b	従来法のみで検出 ^b	合計
28	3	31

b: 基準値 10cfu/100ml のよらない

表 4 非濃縮検体と濃縮検体からの*Legionella*属菌の検出比較

		濃縮検体		計
		検出	検出せず	
非濃縮検体	検出	5	1	6
	検出せず	21	31	52
計		26	32	58

* 10cfu/100ml を基準値として「検出」、「検出せず」をカウントした。

表 5 雑菌処理と分離培地の検出感度(n=58)

			未加熱	加熱
WYO	GVPC	MWY	13	14
WYO	GVPC		2	2
WYO		MWY	1	2
	GVPC	MWY	1	1
WYO			5	2
	GVPC		4	3
		MWY	2	2
計			28	26

同一施設の浴槽水と湯口水から検出された*Legionella*属菌の血清群型別の結果を表6に示した。おおむねの検体において、浴槽水と湯口水から検出される*Legionella*属菌の血清型は一致していた。

表6 同一施設の浴槽水と湯口水から検出された*Legionella*属菌数および血清型別

	浴槽水				湯口水	
	施設No.	<i>Legionella</i> 属菌数	血清型	塩素濃度	<i>Legionella</i> 属菌数	血清型
非循環式浴槽	1	3500cfu	SG1, <i>L.gormanii</i>	0.00	1500cfu	SG1,SG10, <i>L.gormanii</i>
	2	5900cfu	SG3,SG5,SG6	0.00	5500cfu	SG3,SGUT
	3	39500cfu	SG2,SG6,SG10,SG15	0.01	38500cfu	SG3,SG6,SGUT
	4	10cfu	SG3	0.00	15cfu	SG6
	5	50cfu	SG5	0.00	10cfu	SG5
	6	10cfu	SGUT		5cfu	SGUT
循環式浴槽	7	20cfu	SG9,SGUT	0.20	50cfu	SG3,SG9,SG10,SGUT
	8	23000cfu	SG1,SG5,SG6	0.03	2250cfu	SG1,SG5,SG6
	9	5cfu	SG6	0.24	5cfu	SG3,SG5

L-システインの要求性から*Legionella*属菌が疑われたにもかかわらず、同定ができなかった分離株を16SrRNAあるいはユニバーサルプライマーを用い、シーケンスによる同定を試みた。その結果、5 SrRNAプライマーに反応し、スライド凝集に反応しなかった分離株は*L.maceachernii*、*L.oakridgensis*と同定され、5 SrRNAプライマーに反応せず、スライド凝集に反応しなかった分離株のうち、16SrRNAプライマーに反応した分離株は*L.rubrilucens*、*L.londiniensis*、*L.birminghamiensis*と同定された。16SrRNAプライマー反応しなかった分離株はユニバーサルプライマーを用いたPCRで*Mycobacterium phocaicum*、*Mycobacterium mageritense*と同定された。

2 遺伝子迅速検査法 (LAMP法) と培養法の比較

検査に供した58検体のLAMP法と培養法の検査結果を表7に示した。LAMP (+)、培養 (+)、LAMP (-)、培養 (-) の両検査結果一致したものが44検体 (76%) であった。LAMP (+)、培養 (-) の不一致が21検体 (36%)、LAMP (-)、培養 (+) の不一致が9検体 (16%) であった。LAMP (-)、培養 (+) の不一致の詳細は表8のとおりであった。

表7 LAMP法と培養法の比較

	LAMP		計	
	+	-		
培養法	+ ^b	22	9	31
	-	6	21	27
計	28	30	58	

b : 基準値 10cfu/100ml のよらない

表8 LAMP法(-)培養法(+)となる不一致検体の詳細

No.	菌数 cfu/100m	菌種	泉質	pH	参考
2010. 9. 2-10	50	<i>L.pneumophila</i>	ナトリウム・マグネシウム・カルシウム-炭酸水素塩-硫酸塩泉	6.6	浴槽水
2010. 9. 2-11	50	<i>L.pneumophila</i>	ナトリウム-炭酸水素-塩化物泉	8.4	湯口水 No. 1-1
2010. 9.30- 9	50	<i>L.londiniensis</i>	マグネシウム・ナトリウム炭酸水素塩泉	8	浴槽水
2010. 9.30-10	50	<i>L.pneumophila</i>	マグネシウム・ナトリウム炭酸水素塩泉	8	浴槽水
2010. 9.30-16	15	<i>L.pneumophila</i>	炭酸水素	7.9	湯口水 No. 2-6
2010. 9.30-17	10	<i>L.pneumophila</i>	単純泉	8.2	湯口水 No. 2-7
2010.11.11- 1	600	<i>L.pneumophila</i>	炭酸水素塩泉	7.3	浴槽水
2010.11.11-11	5	<i>L.pneumophila</i>	カルシウム-硫酸塩泉		湯口水 No. 3-2
2010.11.11-12	5	<i>L.pneumophila</i>	水道水 / ボーリング水	8.4	湯口水 No. 3-3

考 察

本調査の結果、*Legionella*属菌の検出率（基準値違反）は44.8%で他の調査結果^{9), 12)}と同様の結果となった。浴槽水（+）、湯口水（-）となった9施設は、浴槽や床の清掃不足や入浴客の不適切な利用方法などが原因と考えられる。浴槽水（-）、湯口水（+）となった5施設のうち、1施設は浴槽水の残留塩素濃度が4.08ppmと高く、他の1施設の浴槽水は雑菌が多く、検出不能という事例であった。

一方、斜光法と従来法の比較では、培養7日以降で発育を認める検体もあったため、培養3日目で培養検査を打ち切ることができないものの、斜光法は、高価かつ特殊な機器を必要とせず、簡便で迅速な結果が得られる培養法として、非常に有用な方法であり、今後は、LAMP法で得られた結果と斜光法の培養結果を合わせて迅速な行政対応を行い、10日間引き続き培養を継続し、最終結果として判断することが可能と考える。3日目観察・同定後、最終判定日の10日目まで作業を中断することができることから、負担軽減にも功を奏し、また、検査を集中することにより検出確率が上昇する利点も考えられた。

また、*Legionella*属菌の検査をするうえで、菌数を予測できないため、濃縮検体と非濃縮検体を同時に検査することが望ましいとの報告¹⁷⁾があることから、濃縮検体と非濃縮検体から同時に*Legionella*属菌の検出を試みた。その結果、濃縮検体から*Legionella*属菌が検出されず、非濃縮検体からのみ*Legionella*属菌が検出された場合があり、濃縮法のみでは*Legionella*属菌を見逃す危険性がある。

さらに、*Legionella*属菌が検出された31検体について、使用した分離培地WYO α 、GVPC、MWYの個々の解析をすると、各分離培地での*Legionella*属菌の分離は17検体から21検体であり、*Legionella*属菌を感度よく分離するためには、*Legionella*属菌の発育特性に配慮し、選択性の異なる培地を併用することが望ましい。また、未加熱の濃縮検体では28検体から、加熱処理では26検体から*Legionella*属菌が分離され、処理工程を併用することにより31検体か

ら*Legionella*属菌が検出された。各種分離培地の併用や処理工程の併用など培養チャンスを多くすることが検出率アップにつながり、レジオネラ感染症の危険性を回避することに貢献できると考える。

L-システインの要求性から*Legionella*属菌が疑われたにもかかわらず、同定ができなかった分離株についてシークエンスによる同定を試みた結果、5SrRNAプライマーに反応しない株でも*Legionella*属菌と同定されたこと。16SrRNAプライマーを用いたPCRに反応しなかった株は*Legionella*属菌以外であったことから、16SrRNAプライマーを用いた確認方法が有用と思われた。

従前より、環境水から検出される*L.pneumophila*の血清群には特徴があり、冷却塔からはSG1、浴槽水からはSG4～6が主に分離される¹¹⁾とされてきたが、本調査の結果、SG1が24.2%、SG3が20.5%、SG6が19.7%で約64%を占めており、その傾向は遠藤ら¹⁵⁾の報告と一致している。今回、結果としては示さなかったが、分離された*L.pneumophila* SG1の代表株についてPFGE法で遺伝子解析を行った結果、同時期の同一施設由来でも異なるPFGEパターンを示したことから、同一施設の同じ血清群であっても複数の遺伝子型が存在することが示唆された¹⁶⁾。2003年4月、レジオネラ症の診断に尿中抗原検出キットが保険適用になったことで検査件数そのものが増加し、以前は、原因不明の市中肺炎とされていた一部の肺炎患者がレジオネラ症と診断されるようになり、結果として、レジオネラ症は増加傾向に繋がっていると考えられる。しかし、感染源を特定し、感染防止対策を講じるうえでは、臨床検体からの*Legionella*属菌の分離・同定は不可欠で、医療機関との連携を図り、菌株確保に向けたより一層の努力が必要と考える。^{5), 6)}

加えて、現在までの厚生労働省からの通知では、塩素消毒を用いた管理手法が中心となっているが、塩素管理下では*L.pneumophila* SG1が浴槽水中で優性化しているとの報告¹⁵⁾もあることから、塩素消毒に頼らない管理手法の早期確立が望まれる。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取にご協力いただきました浴用施設および各保健所ならびに食品安全・衛生課の関係各位に深謝します。

参 考

- 1) 宮崎県福祉保健部：日向サンパーク温泉「お船出の湯」におけるレジオネラ症集団発生事例報告書, (2003)
- 2) 岡田美香、河野喜美子、倉文明、前川純子、渡辺治雄、八木田健司、遠藤卓郎、鈴木泉：循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例Ⅰ．発症状況と環境調査, 感染症学雑誌, 79, 365-374 (2005)
- 3) 杉山寛治、西尾智裕、郷田淑明、張 凡非、増田教子、秋山真人、他：生活環境水のレジオネラ汚染およびレジオネラ症患者調査－循環濾過式浴槽水を感染源とするレジオネラ症集団感染事例と検査－, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 43 : 1-4 (2000)
- 4) Nakamura H, Yagyu H, Kishi K, Tsuchida F, Ohishi S, Yamaguchi K *et al.* : A large outbreak of legionnaires' disease due to an inadequate circulating and filtration system for bath water epidemiologic manifestations. Intern Med, 42 : 806-11 (2003)
- 5) 国立感染症研究所 厚生労働省健康局結核感染症課：病原微生物検出情報, 28 : 144-145 (2008)
- 6) 国立感染症研究所 厚生労働省健康局結核感染症課：病原微生物検出情報, 29 : 193-194 (2009)
- 7) 森本 洋：分離集落の特徴を利用したレジオネラ属菌分別法の有用性, 環境感染誌, 25 (1) : 8-14 (2010)
- 8) 第3版 レジオネラ症防止指針, 財団法人ビル管理教育センター, (2009)
- 9) 鈴木敦子、市瀬正之、松江隆之、天野祐次、寺山 武、泉山信司、遠藤卓郎：各種生活環境水からのレジオネラ属菌検出状況－1996年4月から2000年11月まで－, 感染症学雑誌, 76, 703-710 (2002)
- 10) 笹原武志、菊野理津子、奥田舜治、関口朋子、佐藤義則、高山陽子、青木正人、井上松久：温泉水におけるLegionella属菌汚染と泉質に関する調査・研究, 感染症学雑誌, 78, 545-55 (2004)
- 11) 楠木くみ子、岩谷美枝、花岡 暉、石上 武、矢野一好：多摩地域における入浴施設水のレジオネラ属菌汚染緊急調査とその対策事例 (平成13年度), 東京衛研年報, 53, 14-19 (2002)
- 12) 磯部順子、綿引正則、清水美和子、嶋 智子、木全恵子、倉田 毅：富山県における浴用水中のLegionella属菌の分離状況, 富山衛研年報, 30, 110-114 (2006)
- 14) 井上博雄：厚生労働省科学研究費補助金 (地域健康危機管理研究事業) 掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究 平成17年度～平成18年度 総合研究報告書, (2007)
- 15) 遠藤卓郎：厚生労働省科学研究費補助金 (健康科学総合研究事業) 循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究 平成17年度 総括・分担研究報告書, (2006)
- 16) 寺嶋 淳：厚生労働省科学研究費補助金 (新興・再興感染症事業) 広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究 平成18年度 総括・分担研究報告書, (2007)
- 17) 「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」厚生労働省科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業, 研究代表者 倉 文明, H21年度総括研究報告, (2010)

由布地域の環境大気調査 (2010年度)

小野由加里、中田高史、上田精一郎

Survey of air Pollution at Yufu area, 2010

Yukari Ono, Takashi Nakata, Seiichiro Ueda

Key Words : 大気環境 atmospheric environment, 常時監視 constant monitoring,
光化学オキシダント photochemical-oxidants

はじめに

本県では、大気汚染防止法第22条の規定に基づき、大気汚染状況を常時監視している。常時監視測定局が整備されていない地域においては、大気環境測定車を一定期間設置することにより、その大気環境の把握を行っている^{1), 2), 3)}。2010年度は、由布市において実施したので、その結果を報告する。

調査方法

1 調査期間

2010年4月16日～2010年9月17日

ただし、表1の期間は測定器不良や配管内結露等のため欠測とした。

表1 欠測期間

欠測期間	項目	事由
4月28日12時～6月18日13時	一酸化炭素	測定器不良
6月24日18時～6月25日11時	浮遊粒子状物質	ろ紙切れ
7月7日0時～7月20日16時	一酸化炭素、一酸化窒素、二酸化窒素、二酸化硫黄、浮遊粒子状物質、光化学オキシダント、風向、風速	配管内結露

2 調査地点

中部保健所由布保健部駐車場敷地内

: 由布市庄内町大字柿原302 (図1)

由布市は、大分県のほぼ中央部に位置し、北部から南西部にかけては由布岳や黒岳など標高1,000m級の山々が連なる人口3万人余の地域である。

当該保健部は、市役所に隣接し、約150m北方に大分市と九重町を結ぶ国道210号(由布市庄内町柿原交通量: 約12,700台/日)が東西にかけて走っている⁴⁾。また、南西～南東方向には田園が広がり、約100m東方には大分川の支流となる阿蘇野川が流れる。



図1 調査地点⁵⁾

3 測定項目、方法及び使用機器

測定項目、方法及び使用機器は、表2のとおりである。各項目の測定は、環境大気常時監視マニュアル⁶⁾に従って行った。なお、測定データは、バッチ処理による通信システムを用いて収集した。

ル⁶⁾に従って行った。なお、測定データは、バッチ処理による通信システムを用いて収集した。

表2 測定項目、方法及び使用機器

測定項目	方法	使用機器
二酸化硫黄	紫外線蛍光法	大気中二酸化硫黄測定装置 GFS-212J ^{*1}
窒素酸化物 (一酸化窒素及び二酸化窒素)	オゾンを用いる化学発光法	大気中窒素酸化物測定装置 GLN-214J ^{*1}
一酸化炭素	非分散赤外線吸収法	大気中一酸化炭素測定装置 GIA-272H ^{*1}
浮遊粒子状物質	ベータ線吸収法	浮遊粒子状物質測定装置 DUB-222 ^{*1}
光化学オキシダント	紫外線吸収法	大気中オゾン測定装置 GUX-213J ^{*1}
気象 (風向及び風速)	風向、風速計による測定	風向風速計 C-W503 ^{*2}

*1：東亜ディーケーケー株式会社

*2：株式会社 小笠原計器製作所

調査結果

1 二酸化硫黄

二酸化硫黄（以下、「SO₂」という）に係る測定結果の概要を表3に示す。

測定期間中の1時間値の平均値は、0.003ppmであった。

環境基準⁷⁾との適合状況をみると、日平均値の期間中最高値は0.007ppmであり、基準値（日平均値

0.04ppm以下）を満たしていた。また、1時間値の期間中最高値は0.029ppmであり、同様に、基準値（1時間値 0.1ppm以下）を満たしていた（図2）。

経時変化をみると、13時～18時に僅かな上昇がみられた（図3）。

風向別濃度は、0.002～0.004ppmの範囲にあり、東から東南東にかけてやや高い（0.004ppm）傾向にあった（図4）。

表3 二酸化硫黄測定結果

項目	4月	5月	6月	7月	8月	9月	平均値*
有効測定日数	(日) 14	31	30	17	31	16	(139)
測定時間	(時間) 347	739	715	414	742	392	(3349)
月平均値	(ppm) 0.001	0.001	0.003	0.004	0.004	0.004	0.003
1時間値が0.1ppmを超えた時間数	(時間) 0	0	0	0	0	0	(0)
日平均値が0.04ppmを超えた日数	(日) 0	0	0	0	0	0	(0)
1時間値の最高値	(ppm) 0.015	0.023	0.029	0.018	0.017	0.012	0.019
日平均値の最高値	(ppm) 0.004	0.005	0.007	0.006	0.007	0.005	0.006

*：()内は合計値

2 窒素酸化物

窒素酸化物（以下、「NO_x」という）に係る測定結果の概要を表4、表5及び表6に示す。

測定期間中の1時間値の平均値は、二酸化窒素（以下、「NO₂」という）については0.006ppm、一酸化窒素（以下、「NO」という）については0.002ppm、NO_xについては0.008ppmであった。環境基準⁸⁾との適合状況をみると、NO₂の日平均値の期間中最高値は0.016ppmであり、基準値（日平

均値0.04ppm~0.06ppmまでのゾーン内又はそれ以下）を満たしていた（図2）。

経時変化をみると、NOは7時から9時に、NO₂は18時に小さなピークを示しており、移動発生源の影響が見られた（図3）。

NO₂の風向別濃度は、0.004~0.008ppmの範囲にあり、風向による濃度差は小さい。東方向の風が吹くときやや高い（0.008ppm）傾向にあった（図4）。

表4 二酸化窒素測定結果

項 目	4月	5月	6月	7月	8月	9月	平均値*
有効測定日数 (日)	14	31	30	17	31	16	(139)
測定時間 (時間)	347	742	715	414	742	392	(3352)
月平均値 (ppm)	0.007	0.007	0.007	0.005	0.004	0.004	0.006
1時間値の最高値 (ppm)	0.031	0.035	0.044	0.026	0.019	0.022	0.030
日平均値の最高値 (ppm)	0.016	0.013	0.016	0.012	0.010	0.007	0.012
1時間値が0.2ppmを超えた時間数 (時間)	0	0	0	0	0	0	(0)
1時間値が0.1ppm以上0.2ppm以下の時間数 (時間)	0	0	0	0	0	0	(0)
日平均値が0.06ppmを超えた日数 (日)	0	0	0	0	0	0	(0)
日平均値が0.04ppm以上0.06ppm以下の日数 (日)	0	0	0	0	0	0	(0)

* : () 内は合計値

表5 一酸化窒素測定結果

項 目	4月	5月	6月	7月	8月	9月	平均値*
有効測定日数 (日)	14	31	30	17	31	16	(139)
測定時間 (時間)	347	742	715	414	742	392	(3352)
月平均値 (ppm)	0.001	0.002	0.002	0.003	0.002	0.003	0.002
1時間値の最高値 (ppm)	0.012	0.009	0.019	0.017	0.024	0.014	0.016
日平均値の最高値 (ppm)	0.003	0.003	0.006	0.004	0.004	0.004	0.004

* : () 内は合計値

表6 窒素酸化物測定結果

項 目	4月	5月	6月	7月	8月	9月	平均値*
有効測定日数 (日)	14	31	30	17	31	16	(139)
測定時間 (時間)	347	742	715	414	742	392	(3352)
月平均値 (ppm)	0.009	0.009	0.010	0.008	0.006	0.007	0.008
1時間値の最高値 (ppm)	0.035	0.039	0.048	0.028	0.029	0.025	0.034
日平均値の最高値 (ppm)	0.018	0.015	0.021	0.014	0.012	0.010	0.015
月平均値 [NO ₂ /(NO+NO ₂)] (%)	83.7	78.1	75.7	67.5	60.9	60.4	71.1

* : () 内は合計値

3 一酸化炭素

一酸化炭素（以下、「CO」という）に係る測定結果の概要を表7に示す。

測定期間中の1時間値の平均値は、0.4ppmであった。

環境基準⁷⁾との適合状況を見ると、日平均値の期間中最高値は0.7ppmであり、基準値（日平均値10ppm以下）を満たしていた。また、1時間値の

期間中最高値は、0.9ppmであり、同様に、基準値（1時間値の8時間平均値20ppm以下）を満たしていた（図2）。

経時変化をみると、CO濃度は14時から18時に僅かな上昇がみられた。

風向別濃度は、0.3~0.5ppmの範囲にあり、北北東方向の風が吹くときやや高い（0.5ppm）傾向にあった。

表7 一酸化炭素測定結果

項 目	4月	5月	6月	7月	8月	9月	平均値*
有効測定日数 (日)	11	0	12	17	31	16	(87)
測定時間 (時間)	283	0	298	416	742	393	(2132)
月平均値 (ppm)	0.6	-	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4
8時間値が20ppmを超えた回数 (回)	0	-	0	0	0	0	(0)
日平均値が10ppmを超えた日数 (日)	0	-	0	0	0	0	(0)
1時間値の最高値 (ppm)	0.9	-	1.1	0.9	1.1	2.2	1.2
日平均値の最高値 (ppm)	0.7	-	0.6	0.5	0.7	0.7	0.6
1時間値が30ppm以上となったことがある日数 (日)	0	-	0	0	0	0	(0)

* : () 内は合計値

4 光化学オキシダント

光化学オキシダント（以下、「Ox」という）に係る測定結果の概要を表8に示す。

測定期間中の昼間^{*1)}の1時間値の平均値は、0.041ppmであった。

昼間の1時間値が基準値⁷⁾（0.06ppm以下）を超過した時間数は、513時間であり、環境基準を満たさなかった。また、超過した日数は79日であった（図2）。

経時変化をみると、Ox濃度は14時から16時をピ

ークに日中に山なりに高くなった（図3）。

風向別濃度は、0.025~0.050ppmの範囲にあり、東方向の風が吹くとき高い（0.050ppm）傾向にあった。昼間の1時間値の月平均値は、春先（4月及び5月）に高く、夏季（6月、7月及び8月）から秋季（9月）にかけて減少した（図2）。

*1 : 光化学オキシダントの測定における「昼間」とは、5時から20時までの時間帯をいう。

表8 光化学オキシダント測定結果

項 目	4月	5月	6月	7月	8月	9月	平均値*
昼間測定日数 (日)	15	31	30	18	31	17	(142)
昼間測定時間 (時間)	217	460	444	258	463	244	(2086)
昼間の1時間値の月平均値 (ppm)	0.056	0.057	0.041	0.035	0.028	0.029	0.041
昼間の1時間値が0.06ppmを超えた日数 (日)	12	24	15	10	11	7	(79)
昼間の1時間値が0.06ppmを超えた時間数 (時間)	97	197	94	42	54	29	(513)
昼間の1時間値が0.12ppm以上の日数 (日)	0	1	2	0	1	0	(4)
昼間の1時間値が0.12ppm以上の時間数 (時間)	0	4	2	0	2	0	(8)
昼間の1時間値の最高値 (ppm)	0.090	0.127	0.133	0.118	0.122	0.105	0.120
昼間の日最高1時間値の月間平均値 (ppm)	0.071	0.077	0.064	0.064	0.049	0.050	0.063

* : () 内は合計値

5 浮遊粒子状物質

浮遊粒子状物質（以下、「SPM」という）に係る測定結果の概要を表9に示す。

測定期間中の1時間値の平均値は、0.021mg/m³であった。

環境基準⁷⁾との適合状況をみると、日平均値の期間中最高値は0.063 mg/m³であり、基準値（日平均値0.10 mg/m³以下）を満たしていた。また、1時間値の期間中最高値は0.161mg/m³であり、同様に、基準値（1時間値 0.20mg/m³以下）を満たしていた（図2）。

経時変化をみると、SPM濃度は14時から21時に僅かな上昇がみられた（図3）。

風向別濃度は、0.015~0.025 mg/m³の範囲にあり、東北東～東にかけてやや高い（0.025ppm）傾向にあった（図4）。

考 察

SO₂、NO₂、Ox及びSPMは、東方向の風が吹くときやや高い傾向を示した。7時から18時にかけては、東方向の風が全測定数の1%を占めており、最頻風向であった（図4）。また、風速は、12時から15時をピークとして日中に山なりに速くなる傾向にあった（図3）。この時間帯に、SO₂、NO₂、Ox及びSPM濃度も高くなることから、東方向から輸送されている可能性が示唆された。

また、SPMの期間中最高値(13時、0.161 mg/m³)を計測した6月17日は、Ox濃度も昼間の1時間値の期間中最高値（14時、0.133ppm）を計測しており、10時から16時の最頻風向は東方向であった。

表9 浮遊粒子状物質測定結果

項 目	4月	5月	6月	7月	8月	9月	平均値*
有効測定日数 (日)	14	31	28	17	31	16	(137)
測定時間 (時間)	347	741	695	415	744	393	(3335)
月平均値 (mg/m ³)	0.017	0.022	0.022	0.030	0.019	0.014	0.021
1時間値が0.20mg/m ³ を超えた時間 (時間)	0	0	0	0	0	0	0
日平均値が0.10mg/m ³ を超えた日数 (日)	0	0	0	0	0	0	(0)
1時間値の最高値 (mg/m ³)	0.081	0.094	0.161	0.082	0.079	0.048	0.091
日平均値の最高値 (mg/m ³)	0.037	0.050	0.063	0.046	0.049	0.029	0.046

* : () 内は合計値

お わ り に

本調査の実施にあたり、大気環境測定車の設置及び保守管理にご協力いただいた中部保健所由布保健部の職員に深謝致します。

参 考 文 献

- 岡本盛義 他：「杵築地域の環境大気調査」、大分県衛生環境研究センター 年報, 20, 127-132 (1992)
- 三浦清徳 他：「豊後高田地域の環境大気調査」、大分県衛生環境研究センター 年報, 21, 58-62 (1993)
- 小野由加里 他：「豊後大野地域の環境大気調査 (2009年度)」, 大分県衛生環境研究センター 年報, 37, 78-84
- 国土交通省 道路局道路経済調査室：「平成17年度 全国道路・街路交通情勢調査」(2006) <http://www.mlit.go.jp/road/ir/ir-data/ir-data.html#koutu>
- 電子国土：URL <http://cyberjapan.jp/>
- 環境省 水・大気環境局大気環境課：「環境大気常時監視マニュアル 第6版」(2010)
- 昭和48年 環境庁告示25号「大気の汚染に係る環境基準について」別表(昭48環庁告35・昭53環庁告38・昭56環庁告47・平8環庁告73・一部改正)
- 昭和53年 環境庁告示38号「二酸化窒素に係る環境基準について」(平8環庁告74・一部改正)

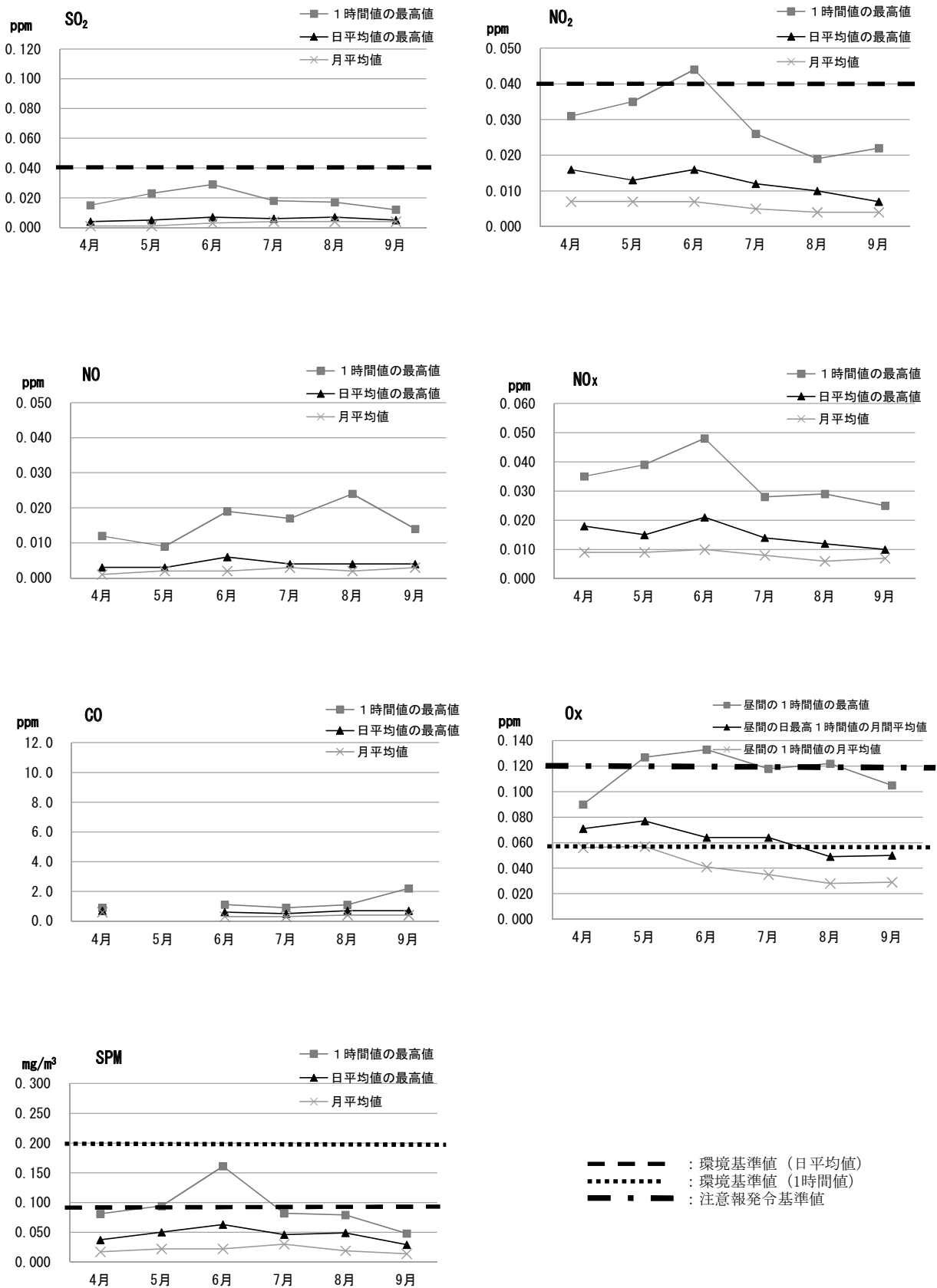


図2 月別濃度変化

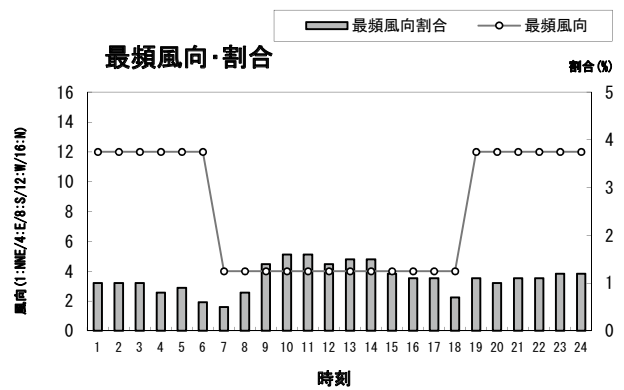
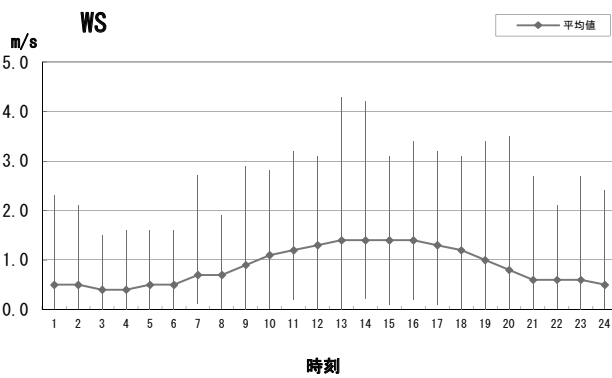
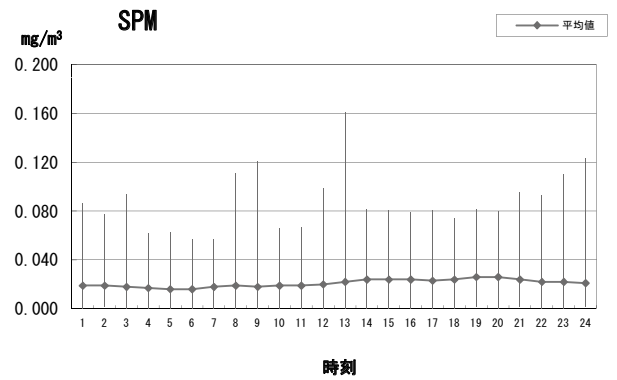
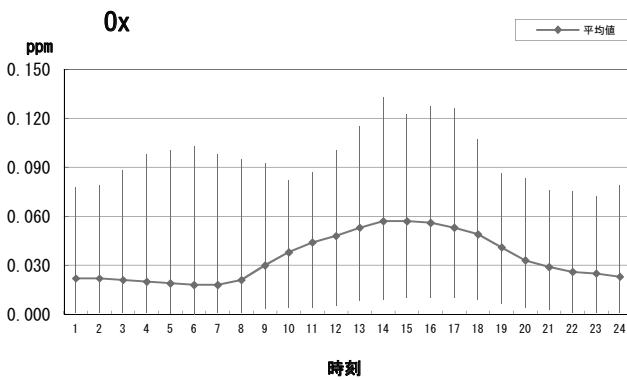
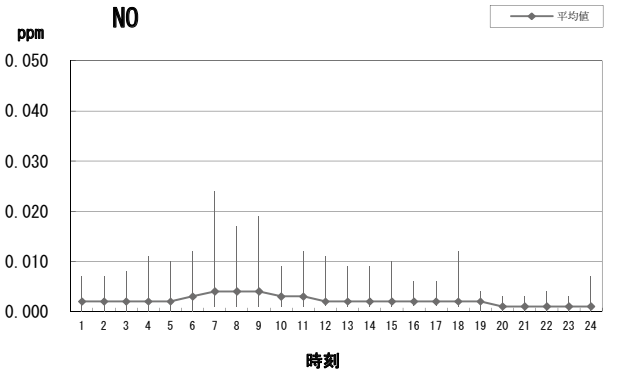
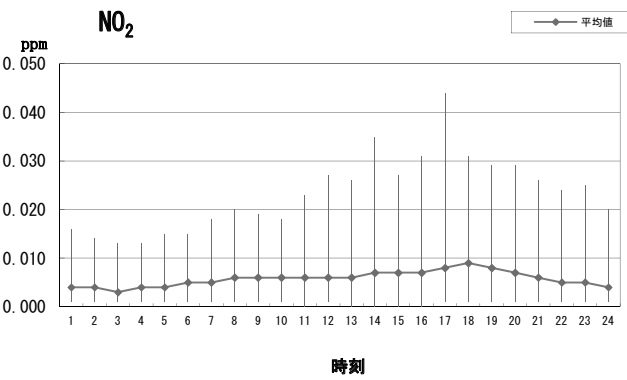
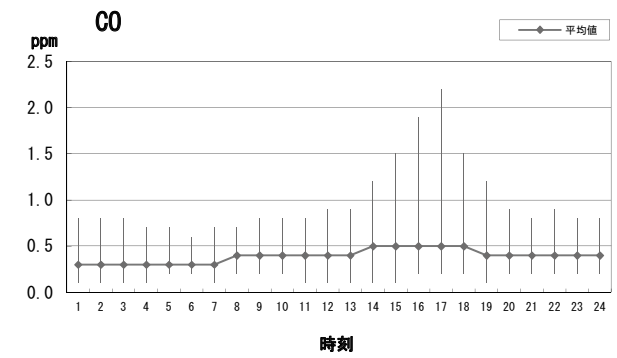
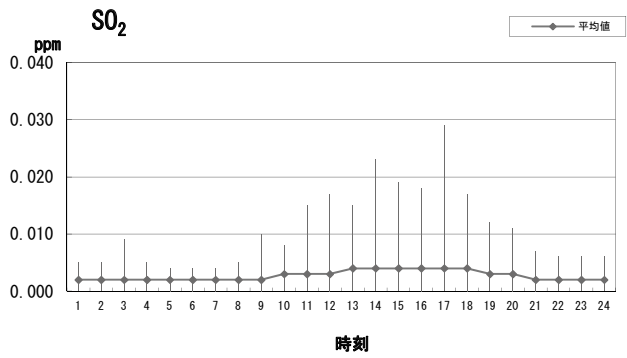


図3 項目別経時変化

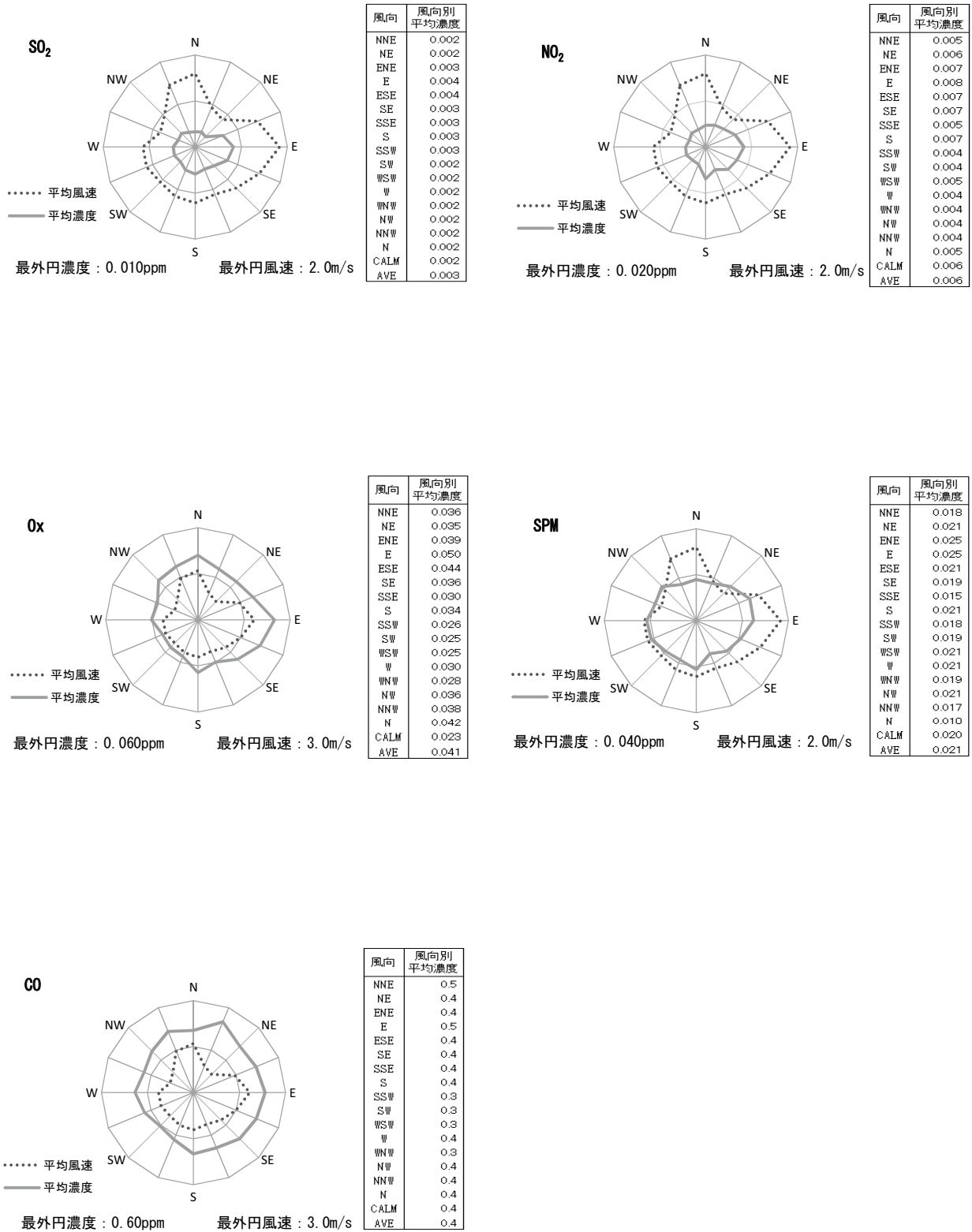


図4 風向別平均濃度

大分県における大気中の硫酸イオン濃度調査 (2009、2010年度)

小野由加里、酒盛早美、中田高史、上田精一郎

Survey of sulfate ion in the atmosphere at Oita Prefecture, 2009, 2010

Yukari Ono, Hayami Sakamori, Takashi Nakata, Seiichiro Ueda

Key Words : 硫酸イオン sulfate ion, 粒子状物質 particulate,
光化学オキシダント photochemical-oxidants

はじめに

近年、全国的に光化学オキシダント（以下、「Ox」という）濃度が上昇し、注意報発令地域が広域化する傾向にあり、本県においても、2009年5月に初の注意報が発令された。

これはアジア地域の急速な経済発展に伴う大気汚染物質の排出量の増大によるものと懸念されている。Ox濃度の上昇が大陸からの移流であるか地域発生によるものかを判断する指標の1つとして、大気中の硫酸イオン（以下、「SO₄²⁻」という）濃度による方法がある。

硫黄成分は、大気中では、二酸化硫黄（ガス状物質）（以下、「SO₂」という）や硫酸ミスト（粒子状物質）などの状態で存在しており、これらは溶液に抽出して測定した場合、SO₄²⁻として検出される。2009年度の大気中のSO₂の全国平均値は0.003ppmであり、近年はほぼ横ばいで推移している。このため、国内で排出される二酸化硫黄由来のSO₄²⁻濃度は低濃度であると考えられる。しかし、アジア地域から排出された大気汚染物質が季節風により移流する際、Ox濃度の上昇とともに、国内のSO₂濃度からは考えられないほど高濃度の粒子状SO₄²⁻を検出することがある。移流によるOx高濃度と粒子状SO₄²⁻濃度には相関があると考えられており、粒子状SO₄²⁻濃度は移流の判断材料として利用できる¹⁾。

今回、当センターにて、大気中のSO₄²⁻濃度の調査を行ったので、その結果を報告する。

調査方法

1 調査期間

2009年度：2009年5月1日～2009年8月31日

ただし、5月1日から28日まで、前段と後段のろ紙を逆に装着して採取した。

2010年度：2010年4月1日～2010年6月30日

2 調査地点

大分県衛生環境研究センター：大分市高江西2-8
北緯33° 09'
東経131° 36'
標高約90m

大分市は、約46万人の人口を抱える県下随一の都市である。北部には臨海工業地帯（当センターから北北東に約14km）があり、鉄鋼や石油化学等の工場が立地している。

当センターは、市の中心から南約10kmに位置している。周囲は閑静な住宅地域である。

3 試料採取方法及び分析方法

2段に組み立てたろ紙にローボリュームサンプラーを用いて、9時半～翌9時半までを1日とする24時間の大気試料採取を行った¹⁾。ろ紙は、粒子状物質捕集用として前段にテフロンフィルターを、ガス状物質捕集用として後段にナイロンフィルターを装着した。ナイロンフィルターはガス状物質のうち、硝酸ガスの捕集には適しているが、二酸化硫黄、アンモニアガス及び塩酸ガスは一部しか吸着しないため、本方法による評価は難しい。

試料の分析は、各フィルターを超純水にて抽出した液についてイオンクロマトグラフ計を用いて測定した。測定したイオン成分は、2009年度

は、 SO_4^{2-} 1成分、2010年度は、 SO_4^{2-} 、塩化物イオン（以下、「 Cl^- 」という）、硝酸イオン（以下、「 NO_3^- 」という）、アンモニウムイオン（以下、「 NH_4^+ 」という）、ナトリウムイオン（以下、「 Na^+ 」という）、カリウムイオン（以下、「 K^+ 」という）、カルシウムイオン（以下、「 Ca^{2+} 」という）及びマグネシウムイオン（以下、「 Mg^{2+} 」という）の8成分である。

調 査 結 果

1 イオン成分濃度について

イオン成分のうち、粒子状物質は (p)、ガス状物質は (g) と表す。

1.1 2009年度

測定結果を表1に、日変動を図1に示す。図中の縦線はOx高濃度日（県内常時監視測定局において日最高が0.100ppm以上）を表す。

2009年度は、5月1日から28日の期間、前段と後段のろ紙を逆に装着して試料採取を行っている。テフロンフィルター（本来は前段）は粒子状物質を吸着しガス状物質は吸着しないが、ナイロンフィルター（本来は後段）は粒子状物質とガス状物質の両方を吸着してしまう。そのため、上記期間中は、前段に装着したナイロンフィルターにより粒子状物質の量を実際より過大評価しており、後段に装着したテフロンフィルターではガス状物質を過小評価している。

SO_4^{2-} (p)濃度の最高値は、6月12日の $26.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、翌13日も $26.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ と高濃度であった。 $10\sim 20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上が移流の指標として考えられているが、県内常時監視測定局において、Ox注意報発令基準²⁾である0.120ppmに達した測定局はなく、県内のOx濃度最高値は、0.111ppm（6月12日12時、日出町鷹匠局）及び0.098ppm（6月13日13時、日出町鷹匠局）であった。

測定期間中、 $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した日数は、上記2日のみであった。

また、 $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した日数は、34日であった（5月は7日、6月は12日、7月は7日、8月は8日）。

5月10日に予報、5月20日、6月25日及び26日に注意報の発令があり、 SO_4^{2-} 濃度はそれぞれ、14.4

$\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $11.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $11.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 及び $15.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

1.2 2010年度

測定結果を表2に、日変動を図2に示す。

SO_4^{2-} (p)濃度の最高値は、5月24日の $19.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。当日の県内のOx濃度最高値は、0.121ppm（5月25日6時、敷戸小局）であった。

測定期間中、 $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した日はなかった。また、 $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した日数は、8日であった（4月は2日、5月は6日、6月はなし）。4月30日、5月3日～5日に $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過していた。

2010年度は、Ox注意報等の発令はなかった。

NH_4^+ (p)濃度の最高値は、5月24日の $4.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、 SO_4^{2-} の高濃度日と一致した。

$\text{NO}_3^-(\text{p})$ 濃度の最高値は、4月30日の $6.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

$\text{NO}_3^-(\text{g})$ 濃度の最高値は、6月24日の $4.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

Ca^{2+} (p)濃度の最高値は、5月4日の $2.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。4月27日、30日にも同程度の Ca^{2+} (p)を検出した。

4月27日、4月30日、5月3日～5月5日にかけて黄砂が観測されており⁴⁾、このときの SO_4^{2-} (p)及び Ca^{2+} (p)の高濃度は大陸からの黄砂の移流による影響が考えられる。

Na^+ (p)濃度の最高値は、4月2日の $2.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。4月2日は、 $\text{Cl}^-(\text{p})$ 濃度及び $\text{Mg}^{2+}(\text{p})$ 濃度も高濃度であった。

K^+ (p)濃度の最高値は、4月30日及び5月24日の $0.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

2 粒子状物質中のイオン成分の相関について

2010年度の粒子状物質のイオン成分の相関を表3に示す。

2.1 $\text{NH}_4^+(\text{p})$ と $\text{SO}_4^{2-}(\text{p})$

$\text{NH}_4^+(\text{p})$ 濃度と $\text{SO}_4^{2-}(\text{p})$ 濃度の相関係数は、0.92であり高い相関関係にあった。 $\text{NH}_4^+(\text{p})$ と $\text{SO}_4^{2-}(\text{p})$ は大気中で硫酸アンモニウムなどの硫酸塩を形成していると考えられる³⁾。

2.2 $\text{Na}^+(\text{p})$ と $\text{Cl}^-(\text{p})$

S $\text{Na}^+(\text{p})$ 濃度と $\text{Cl}^-(\text{p})$ 濃度の相関係数は0.90であ

り高い相関関係にあった。 $\text{Na}^+(\text{p})$ と $\text{Cl}^-(\text{p})$ の比は0.65であり、海塩中の比⁵⁾である0.85より低かった(図3)。大気中の海塩由来の $\text{Cl}^-(\text{p})$ は、硝酸ガス等と反応しガス化した可能性が考えられる。

2.3 $\text{Na}^+(\text{p})$ と $\text{Mg}^{2+}(\text{p})$

$\text{Na}^+(\text{p})$ 濃度と $\text{Mg}^{2+}(\text{p})$ 濃度の相関係数は0.85であり高い相関関係にあった。 $\text{Na}^+(\text{p})$ と $\text{Mg}^{2+}(\text{p})$ の比は0.12であり、海塩中の比⁵⁾である0.12と一致するため、これらは海塩由来成分であると考えられる(図3)。

3 イオン成分の月変動について

各イオン成分の月平均濃度の変動を図4、5に示す。

3.1 2009年度

$\text{SO}_4^{2-}(\text{p})$ は、6月がもっとも高かった。

3.2 2010年度

$\text{SO}_4^{2-}(\text{p})$ は、5月がもっとも高く、 $\text{NH}_4^+(\text{p})$ 、 $\text{Ca}^{2+}(\text{p})$ 及び $\text{K}^+(\text{p})$ も同じ変動を示した。

$\text{NO}_3^-(\text{p})$ は4月に最も高く、6月にかけて徐々に低下した。しかし、 $\text{NO}_3^-(\text{g})$ は4月から6月にかけて

増加傾向にあり6月がもっとも高かった。これは光化学反応が活発になり、窒素酸化物から硝酸ガスへの酸化が促進されたため、相対的に粒子状物質が減少したと考えられる。

$\text{Na}^+(\text{p})$ 、 $\text{Cl}^-(\text{p})$ 及び $\text{Mg}^{2+}(\text{p})$ は、4月に最も高く、6月にかけて徐々に低下した。

参 考 文 献

- 1) 国立環境研究所・地方環境研究所C型研究：「光化学オキシダントと粒子状物質等の汚染特性解明に関する研究」, 国立環境研究所研究報告 第203号, p179-191
- 2) 大分県生活環境部：「大分県大気汚染緊急時等対策実施要綱」(2010)
- 3) 国環境研協議会編集委員会：「第4次酸性雨全国調査報告書(平成20年度)(1)」, 全国環境研究会誌, VOL.35, p107-116(2010)
- 4) 気象庁：「2010年度黄砂観測日および観測地点の表」
http://www.data.kishou.go.jp/obs-env/kosahp/kosa_table_2010.html
- 5) 酸性雨調査法研究会編集：「酸性雨調査法」, (株)ぎょうせい, 267-268

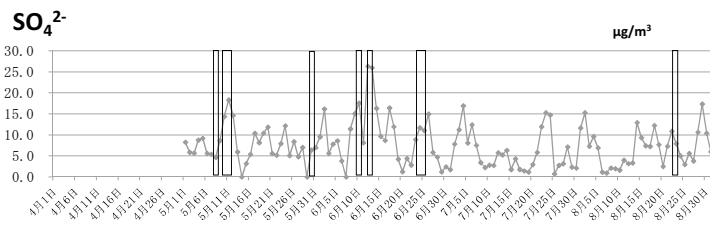


図1 粒子状物質の日変動 (2009年度)

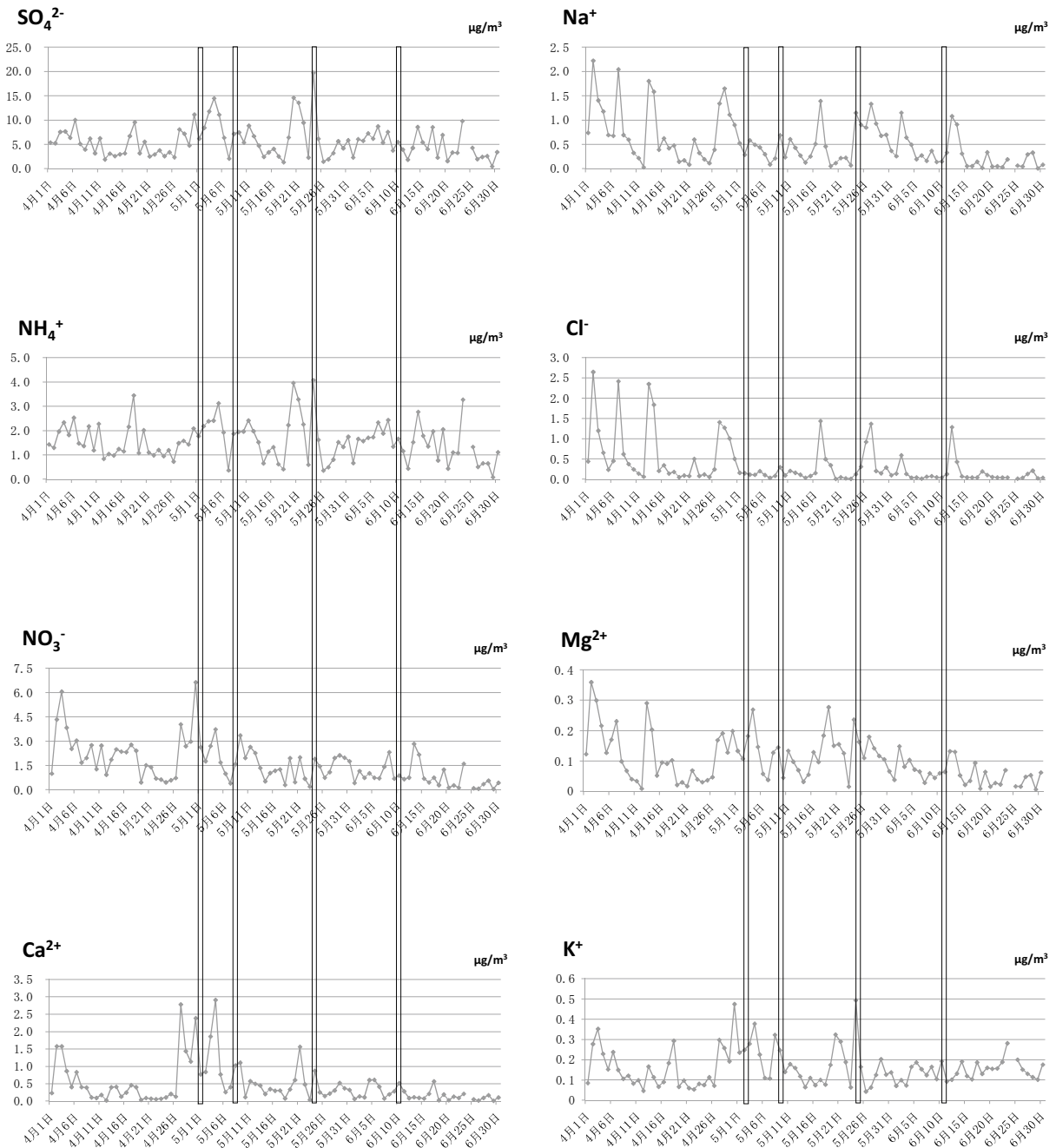


図2 粒子状物質の日変動 (2010年度)

表1 硫酸イオン測定結果 (2009年5月~8月)

単位 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

採取開始日	粒子状物質	ガス状物質	採取開始日	粒子状物質	ガス状物質	採取開始日	粒子状物質	ガス状物質	採取開始日	粒子状物質	ガス状物質
5月1日	8.3	0.0	6月1日	9.6	0.1	7月1日	1.7	0.1	8月1日	11.7	0.1
5月2日	5.9	0.0	6月2日	16.2	0.1	7月2日	7.9	0.1	8月2日	15.3	0.2
5月3日	5.7	0.0	6月3日	5.6	0.1	7月3日	11.2	-	8月3日	7.3	0.1
5月4日	8.8	0.0	6月4日	7.8	0.1	7月4日	16.9	0.1	8月4日	9.6	0.1
5月5日	9.2	0.0	6月5日	8.6	0.2	7月5日	8.1	0.1	8月5日	6.9	0.1
5月6日	5.6	0.0	6月6日	3.8	0.1	7月6日	12.4	0.1	8月6日	1.2	0.0
5月7日	5.4	0.0	6月7日	0.0	-	7月7日	7.6	0.1	8月7日	1.0	0.0
5月8日	4.6	0.0	6月8日	11.5	0.1	7月8日	3.4	0.1	8月8日	2.2	0.1
5月9日	8.7	0.0	6月9日	15.1	0.1	7月9日	2.2	0.0	8月9日	2.0	0.1
5月10日	14.4	0.0	6月10日	17.6	0.2	7月10日	2.8	0.1	8月10日	1.6	0.0
5月11日	18.3	0.0	6月11日	8.1	0.1	7月11日	2.7	0.1	8月11日	4.0	0.0
5月12日	14.6	0.0	6月12日	26.4	0.2	7月12日	5.8	0.3	8月12日	3.2	0.1
5月13日	6.0	0.0	6月13日	26.0	0.1	7月13日	5.2	0.1	8月13日	3.3	0.0
5月14日	0.0	-	6月14日	16.3	0.2	7月14日	6.4	0.2	8月14日	13.0	0.1
5月15日	3.2	0.0	6月15日	9.7	0.1	7月15日	1.8	0.1	8月15日	9.4	0.2
5月16日	5.4	0.0	6月16日	8.7	0.1	7月16日	4.3	0.1	8月16日	7.4	0.1
5月17日	10.4	0.0	6月17日	16.4	0.1	7月17日	1.8	0.2	8月17日	7.3	0.0
5月18日	8.2	0.0	6月18日	11.9	0.0	7月18日	1.5	0.1	8月18日	12.3	0.0
5月19日	10.4	0.0	6月19日	4.2	0.1	7月19日	1.2	0.1	8月19日	7.7	0.0
5月20日	11.9	0.0	6月20日	1.3	0.1	7月20日	3.0	0.0	8月20日	2.5	0.0
5月21日	5.6	0.0	6月21日	4.4	0.1	7月21日	5.8	0.0	8月21日	7.3	0.0
5月22日	5.2	0.0	6月22日	2.9	0.1	7月22日	11.9	0.1	8月22日	10.9	0.0
5月23日	7.9	0.0	6月23日	8.9	0.1	7月23日	15.3	0.1	8月23日	7.9	0.1
5月24日	12.2	0.0	6月24日	11.7	0.0	7月24日	14.7	0.1	8月24日	5.0	0.1
5月25日	5.1	0.0	6月25日	11.1	0.1	7月25日	0.7	0.0	8月25日	3.0	0.1
5月26日	8.4	0.0	6月26日	15.0	0.2	7月26日	2.8	0.1	8月26日	5.6	0.0
5月27日	4.8	0.0	6月27日	5.8	0.1	7月27日	3.2	0.0	8月27日	3.8	0.0
5月28日	7.0	0.0	6月28日	4.7	0.2	7月28日	7.2	0.1	8月28日	10.6	0.2
5月29日	0.0	-	6月29日	1.2	0.0	7月29日	2.4	0.1	8月29日	17.3	0.2
5月30日	6.4	0.1	6月30日	2.4	0.1	7月30日	2.1	0.1	8月30日	10.4	0.1
5月31日	7.0	0.1				7月31日	11.7	0.1	8月31日	6.0	0.1
5月平均	7.6	0.0	6月平均	9.8	0.1	7月平均	5.8	0.1	8月平均	7.0	0.1
最大	18.3	0.1	最大	26.4	0.2	最大	16.9	0.3	最大	17.3	0.2
最小	0.0	0.0	最小	0.0	0.0	最小	0.7	0.0	最小	1.0	0.0

表 2-1 イオン成分測定結果 (2010年 4月)

単位 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

採取 開始日	粒子状物質								ガス状物質			
	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	NH ₄ ⁺	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	NH ₄ ⁺
4月 1日	5.4	1.0	0.4	0.7	0.1	0.2	0.1	1.4	0.1	0.3	0.6	0.1
4月 2日	5.3	4.3	2.6	2.2	0.3	1.6	0.4	1.3	0.1	0.6	0.7	0.3
4月 3日	7.6	6.0	1.2	1.4	0.4	1.6	0.3	2.0	0.1	1.0	0.5	0.4
4月 4日	7.7	3.8	0.7	1.2	0.2	0.9	0.2	2.3	0.1	1.5	0.8	0.5
4月 5日	6.4	2.5	0.2	0.7	0.2	0.4	0.1	1.8	0.1	0.9	0.6	0.3
4月 6日	10.0	3.0	0.5	0.7	0.2	0.8	0.2	2.5	0.1	2.6	0.7	0.5
4月 7日	5.1	1.7	2.4	2.0	0.1	0.4	0.2	1.5	0.0	0.5	0.7	0.2
4月 8日	4.0	2.0	0.6	0.7	0.1	0.4	0.1	1.4	0.1	1.2	0.6	0.2
4月 9日	6.2	2.8	0.4	0.6	0.1	0.1	0.1	2.2	0.1	0.8	0.4	0.2
4月10日	3.2	1.3	0.2	0.3	0.1	0.1	0.0	1.2	0.1	1.0	0.4	0.3
4月11日	6.3	2.7	0.1	0.2	0.1	0.2	0.0	2.3	0.1	1.5	0.5	0.3
4月12日	1.9	0.9	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	0.1	0.6	0.1	0.1
4月13日	3.1	1.9	2.4	1.8	0.2	0.4	0.3	1.0	0.1	0.7	0.5	0.2
4月14日	2.6	2.5	1.8	1.6	0.1	0.4	0.2	1.0	0.1	0.6	0.4	0.2
4月15日	3.0	2.4	0.2	0.4	0.1	0.1	0.1	1.2	0.1	1.1	0.4	0.1
4月16日	3.2	2.3	0.3	0.6	0.1	0.2	0.1	1.1	0.1	1.6	0.7	0.1
4月17日	6.7	2.8	0.1	0.4	0.2	0.5	0.1	2.2	0.1	2.2	0.5	0.5
4月18日	9.6	2.4	0.2	0.5	0.3	0.4	0.1	3.4	0.1	2.2	0.6	0.6
4月19日	3.2	0.5	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0	1.1	0.0	0.3	0.1	0.0
4月20日	5.6	1.5	0.1	0.2	0.1	0.1	0.0	2.0	0.1	1.5	0.5	0.2
4月21日	2.5	1.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	1.1	0.1	1.5	0.2	0.2
4月22日	2.9	0.7	0.5	0.6	0.1	0.1	0.1	1.0	0.1	0.5	0.4	0.2
4月23日	3.8	0.6	0.1	0.3	0.1	0.1	0.0	1.2	0.1	0.7	0.3	0.1
4月24日	2.6	0.5	0.1	0.2	0.1	0.1	0.0	1.0	0.1	0.6	0.3	0.1
4月25日	3.4	0.6	0.1	0.1	0.1	0.2	0.0	1.2	0.3	1.6	0.4	0.3
4月26日	2.4	0.7	0.2	0.4	0.1	0.1	0.0	0.7	0.0	0.6	0.2	0.1
4月27日	8.1	4.0	1.4	1.3	0.3	2.8	0.2	1.5	0.1	0.4	0.4	0.2
4月28日	7.2	2.7	1.3	1.7	0.3	1.4	0.2	1.6	0.1	1.4	0.9	0.4
4月29日	4.8	3.0	1.0	1.1	0.2	1.1	0.1	1.4	0.4	0.7	0.5	0.3
4月30日	11.1	6.6	0.5	0.9	0.5	2.4	0.2	2.1	0.1	1.4	0.5	0.4
4月平均	5.2	2.3	0.7	0.8	0.2	0.6	0.1	1.6	0.1	1.1	0.5	0.3
最大	11.1	6.6	2.6	2.2	0.5	2.8	0.4	3.4	0.4	2.6	0.9	0.6
最小	1.9	0.5	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.3	0.1	0.0

表2-2 イオン成分測定結果 (2010年5月)

単位 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

採取開始日	粒子状物質								ガス状物質			
	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	NH ₄ ⁺	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	NH ₄ ⁺
5月1日	6.2	2.6	0.2	0.5	0.2	0.8	0.1	1.8	0.3	1.2	0.3	0.3
5月2日	8.4	1.8	0.2	0.3	0.2	0.8	0.1	2.2	0.1	1.9	0.3	0.4
5月3日	11.8	2.7	0.1	0.6	0.3	1.9	0.2	2.4	0.1	2.4	0.6	0.6
5月4日	14.5	3.7	0.1	0.5	0.4	2.9	0.3	2.4	0.1	2.2	0.4	0.5
5月5日	11.1	1.7	0.2	0.4	0.2	0.8	0.1	3.1	0.1	1.0	0.3	0.2
5月6日	6.4	1.0	0.1	0.3	0.1	0.3	0.1	1.9	0.1	0.6	0.2	0.1
5月7日	2.1	0.4	0.0	0.1	0.1	0.4	0.0	0.4	0.1	0.8	0.1	0.1
5月8日	7.2	1.6	0.1	0.2	0.3	1.0	0.1	1.9	0.1	2.9	0.2	0.7
5月9日	7.5	3.4	0.3	0.7	0.2	1.1	0.1	1.9	0.2	3.4	0.4	1.0
5月10日	5.4	2.0	0.1	0.2	0.1	0.1	0.0	2.0	0.0	1.3	0.3	0.2
5月11日	8.9	2.6	0.2	0.6	0.2	0.6	0.1	2.4	0.1	1.8	0.4	0.3
5月12日	6.7	2.3	0.2	0.4	0.2	0.5	0.1	2.0	0.1	1.6	0.4	0.3
5月13日	4.7	1.3	0.1	0.3	0.1	0.4	0.1	1.5	0.1	2.0	0.3	0.3
5月14日	2.5	0.5	0.0	0.1	0.1	0.2	0.0	0.7	0.1	1.0	0.2	0.2
5月15日	3.4	1.0	0.1	0.3	0.1	0.3	0.1	1.1	0.1	1.7	0.3	0.3
5月16日	4.1	1.2	0.2	0.5	0.1	0.3	0.1	1.3	0.1	1.2	0.5	0.2
5月17日	2.6	1.3	1.4	1.4	0.1	0.3	0.2	0.6	0.0	0.3	0.5	0.1
5月18日	1.3	0.3	0.5	0.5	0.1	0.1	0.1	0.4	0.0	0.2	0.2	0.0
5月19日	6.4	2.0	0.3	0.1	0.2	0.3	0.0	2.2	0.1	1.2	0.2	0.1
5月20日	14.6	0.5	0.0	0.1	0.3	0.6	0.1	4.0	0.1	1.0	0.2	0.2
5月21日	13.6	2.0	0.1	0.2	0.3	1.6	0.2	3.3	0.2	3.2	0.4	1.0
5月22日	9.5	0.7	0.0	0.2	0.2	0.5	0.1	2.3	0.1	1.2	0.2	0.2
5月23日	2.3	0.2	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.6	0.1	1.3	0.1	0.2
5月24日	19.7	1.9	0.1	1.1	0.5	0.9	0.2	4.1	0.1	2.6	0.6	0.3
5月25日	6.2	1.4	0.3	0.9	0.2	0.3	0.2	1.6	0.0	1.1	0.7	0.3
5月26日	1.5	0.7	0.9	0.8	0.0	0.1	0.1	0.4	0.0	0.3	0.4	0.1
5月27日	2.0	1.1	1.4	1.3	0.1	0.2	0.2	0.5	0.0	0.2	0.4	0.1
5月28日	3.2	2.0	0.2	0.9	0.1	0.3	0.1	0.8	0.1	0.8	0.6	0.2
5月29日	5.7	2.1	0.2	0.7	0.2	0.5	0.1	1.5	0.1	2.9	0.5	0.6
5月30日	4.2	2.0	0.3	0.7	0.1	0.4	0.1	1.3	0.2	2.5	0.5	0.5
5月31日	5.9	1.8	0.1	0.4	0.1	0.3	0.1	1.7	0.1	2.3	0.5	0.5
5月平均	6.8	1.6	0.3	0.5	0.2	0.6	0.1	1.8	0.1	1.5	0.4	0.3
最大	19.7	3.7	1.4	1.4	0.5	2.9	0.3	4.1	0.3	3.4	0.7	1.0
最小	1.3	0.2	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.2	0.1	0.0

表 2-3 イオン成分測定結果 (2010年 6月)

単位 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

採取 開始日	粒子状物質								ガス状物質			
	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	NH ₄ ⁺	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	NH ₄ ⁺
6月 1日	2.3	0.4	0.1	0.3	0.1	0.1	0.0	0.7	0.0	0.7	0.2	0.2
6月 2日	6.1	1.2	0.6	1.2	0.1	0.1	0.1	1.7	0.0	0.6	0.8	0.1
6月 3日	5.7	0.7	0.1	0.6	0.1	0.1	0.1	1.6	0.0	0.7	0.5	0.1
6月 4日	7.3	1.0	0.0	0.5	0.2	0.6	0.1	1.7	0.1	2.3	0.5	0.5
6月 5日	6.2	0.7	0.0	0.2	0.2	0.6	0.1	1.7	0.2	3.2	0.2	0.6
6月 6日	8.7	0.7	0.0	0.3	0.2	0.4	0.1	2.3	0.1	3.4	0.3	0.6
6月 7日	5.4	1.4	0.1	0.2	0.1	0.1	0.0	1.9	0.0	1.0	0.1	0.1
6月 8日	7.6	2.3	0.1	0.4	0.2	0.2	0.1	2.4	0.1	3.0	0.6	0.6
6月 9日	3.8	0.7	0.0	0.1	0.1	0.3	0.0	1.3	0.1	2.6	0.3	0.5
6月10日	5.5	0.9	0.0	0.1	0.2	0.5	0.1	1.7	0.2	3.1	0.3	0.6
6月11日	3.9	0.7	0.1	0.3	0.1	0.3	0.1	1.2	0.1	2.1	0.3	0.3
6月12日	1.9	0.8	1.3	1.1	0.1	0.1	0.1	0.4	0.0	0.0	0.4	0.0
6月13日	4.3	2.8	0.4	0.9	0.1	0.1	0.1	1.5	0.1	1.3	0.5	0.1
6月14日	8.6	2.2	0.1	0.3	0.2	0.1	0.1	2.8	0.1	2.5	0.3	0.2
6月15日	5.4	0.7	0.0	0.1	0.1	0.1	0.0	1.8	0.1	1.3	0.2	0.3
6月16日	4.0	0.5	0.0	0.1	0.1	0.2	0.0	1.4	0.1	1.8	0.4	0.3
6月17日	8.5	0.8	0.0	0.1	0.2	0.6	0.1	2.0	0.2	3.7	0.5	1.1
6月18日	2.3	0.3	0.2	0.0	0.1	0.0	0.0	0.8	0.1	0.4	0.1	0.0
6月19日	6.9	1.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	2.0	0.2	2.6	0.5	0.4
6月20日	1.6	0.1	0.1	0.0	0.2	0.0	0.0	0.4	0.1	0.2	0.1	0.0
6月21日	3.3	0.3	0.0	0.1	0.2	0.1	0.0	1.1	0.1	0.8	0.4	0.2
6月22日	3.3	0.1	0.0	0.0	0.2	0.1	0.0	1.1	0.1	0.8	0.4	0.1
6月23日	9.8	1.6	0.0	0.2	0.3	0.2	0.1	3.3	0.1	2.3	0.4	0.5
6月24日	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	4.8	0.2	1.0
6月25日	4.3	0.1	0.0	0.1	0.2	0.1	0.0	1.3	0.1	0.9	0.2	0.1
6月26日	2.0	0.1	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.1	0.0
6月27日	2.4	0.4	0.1	0.3	0.1	0.1	0.0	0.7	0.1	1.2	0.5	0.2
6月28日	2.6	0.6	0.2	0.3	0.1	0.2	0.1	0.7	0.1	0.8	0.5	0.1
6月29日	0.5	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
6月30日	3.4	0.4	0.0	0.1	0.2	0.1	0.1	1.1	0.1	1.3	0.2	0.3
6月平均	4.8	0.8	0.1	0.3	0.1	0.2	0.1	1.4	0.1	1.7	0.3	0.3
最大	9.8	2.8	1.3	1.2	0.3	0.6	0.1	3.3	0.2	4.8	0.8	1.1
最小	0.5	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0

表3 粒子状物質のイオン成分濃度の相関 (2010年4月~6月)

	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	NH ₄ ⁺
SO ₄ ²⁻	1							
NO ₃ ⁻	0.462	1						
Cl ⁻	-0.127	0.383	1					
Na ⁺	0.098	0.550	0.900	1				
K ⁺	0.815	0.603	0.080	0.239	1			
Ca ²⁺	0.606	0.716	0.273	0.392	0.758	1		
Mg ²⁺	0.466	0.682	0.702	0.850	0.588	0.673	1	
NH ₄ ⁺	0.921	0.412	-0.192	-0.007	0.674	0.371	0.300	1

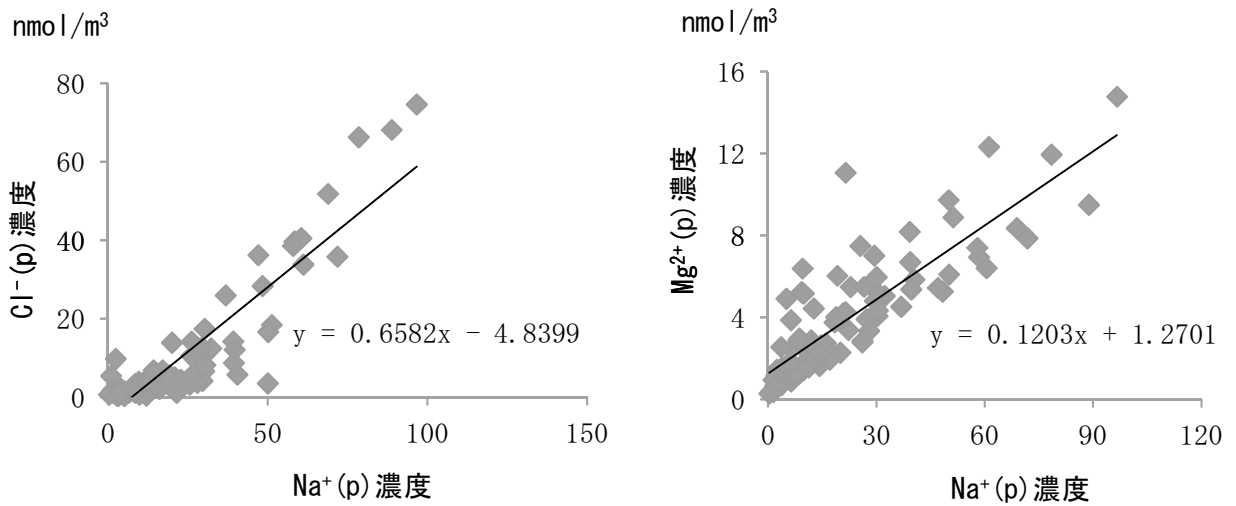


図3 Na⁺(p)、Cl⁻(p) 及び Mg²⁺(p) 濃度の関係

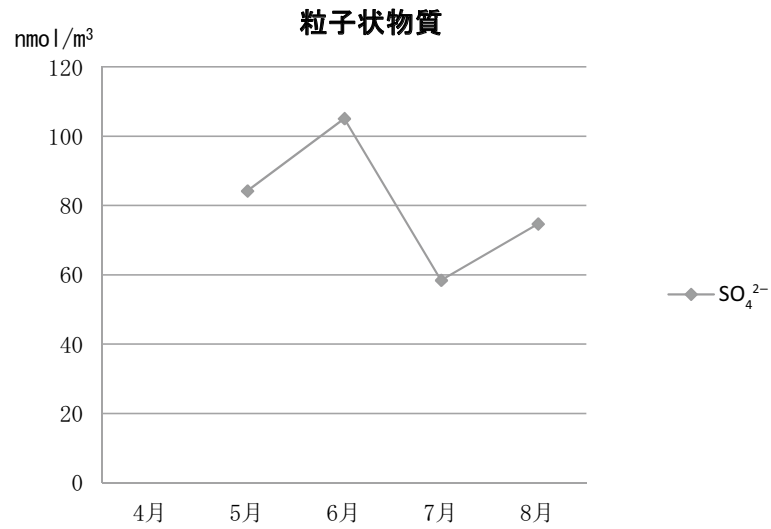


図4 月変動 (2009年度)

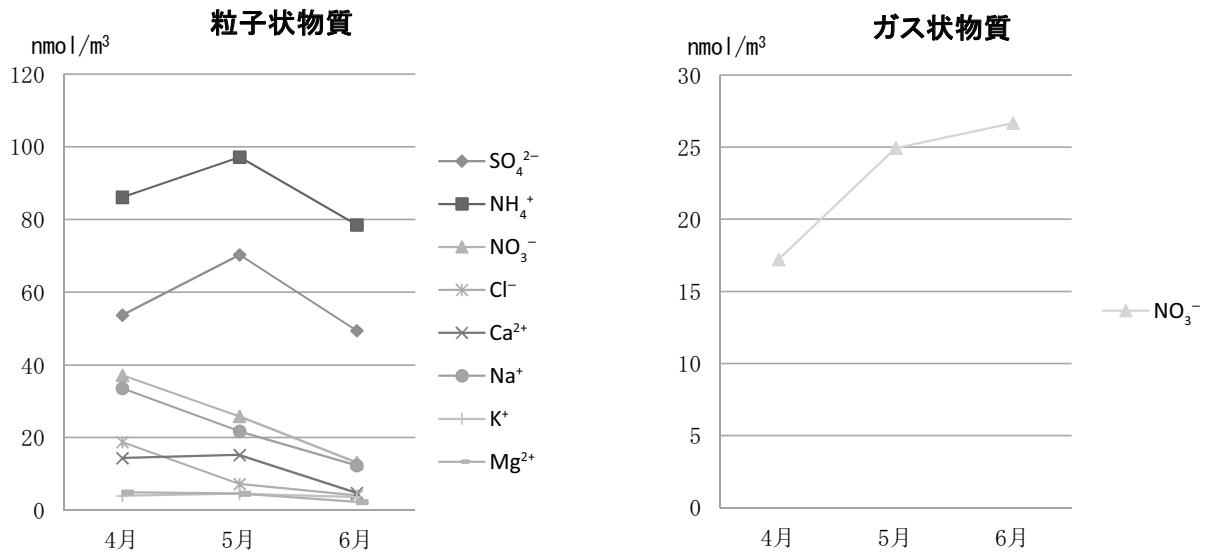


図5 月変動 (2010年度)