活彩あおもり

ISSN 0917-1924

青森県環境保健センター研究報告

Bulletin
of
Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment

No.17 2006

LAB
JAB
Lab Accreditation
RTL01290

青森県環境保健センター

は　じ　め　に

この冬は、他県と同様に、本県においてもノロウィルスによる集団食中毒・感染症発生事例が多発し、当センターの担当職員は昼夜を問わず対応に追われたところです。ややもすれば、本庁からは当センターが軽視されているように思われますが、まさに、健康危機管理の科学的中核として、その存在意義が再認識されたことと考えております。

さて、当センターでは、むつ湾産ホタテガイのEUへの輸出に向けた貝毒試験と細菌試験について、国際標準であるISO/IEC 17025試験所認定を取得していますが、４年間の登録有効期限が、2007年３月末に切れるため、現在、職員一丸となって更新作業をすすめているところです。

多くの公設試験研究機関が2008年度から独立行政法人となる予定ですが、現在のところ、当センターは法人化の対象とはなっておりません。研究機関としては、県民とって余り目立たない施設ですが、今は、地道に「健康危機管理」と「食の安全・安心」という課題を、具体的に確実に実行していくことが重要であると思っています。

このたび、青森県環境保健センター研究報告17号を刊行することになりました。ご一読の上、ご意見・ご感想などお寄せくだされば、幸甚に存じます。

2007年３月

青森県環境保健センター

所長　竹　内　重　正

目　　次

Ⅰ 報　　文

ノロウィルス分子疫学解析（2005/2006 シーズン）
石川　和子　　熊谷　邦彦　　三上　稔之　　阿部　幸一
畑山　一郎 ………………………………………………………… 1

ノロウィルス Genogroup Ⅱ /4 型の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ領域およびカプシド領域の変異の検討
熊谷　邦彦　　石川　和子　　三上　稔之　　阿部　幸一
畑山　一郎 ………………………………………………………… 7

ホタテ貝殻の有効利用　—揮発性有機化合物の吸着・分解作用を生かして—
山本　明美　　対馬　奈津子　　小泉　千鶴子　　横澤　幸仁
松尾　章　　古川　章子 ………………………………………… 11

非積雪期における十和田湖流入河川の降雨時負荷量調査
三上　一 …………………………………………………………… 20

Ⅱ ノ　ー　ト

下痢症患者由来カンピロバクター属菌の発生状況と遺伝子学的解析
桜庭　恵　　和栗　敦　　澤田　譲　　阿部　幸一 ………… 33

食品苦情事例（平成 16 年度－平成 17 年度）
工藤　志保　　山本　明美　　木村　淳子　　村上　淳子
三浦　啓徳　　古川　章子 ……………………………………… 38

水道水質外部精度管理調査結果（平成 17 年度）
村上　淳子　　対馬　奈津子　　古川　章子 ………………… 44

JR 津軽海峡線騒音の調査結果の近年の動向
—新型電気機関車 EH500 の騒音を中心として—
花石　竜治　　安田　徳彦　　吉田　綾子　　松尾　章 …… 49

Ⅲ 他誌投稿抄録

Ⅲ 他誌投稿抄録 ……………………………………………………… 53

Ⅳ 学会等発表抄録

Ⅳ 学会等発表抄録 …………………………………………………… 55

CONTENTS

Ⅰ Original Articles

A Molecular Epidemiological Analysis of Norovirus in 2005–2006
Kazuko Ishikawa, Kunihiko Kumagai, Toshiyuki Mikami, Koichi Abe
and Ichiro Hatayama ········· 1

A Review on the Mutation of the RNA-dependent RNA polymerase domain
and Capsid Domain of Genogroup II/4-type Norovirus
Kunihiko Kumagai, Kazuko Ishikawa, Toshiyuki Mikami, Koichi Abe
and Ichiro Hatayama ········· 7

Effective Use of Scallop Shells : Through the Absorbent and Disintegration Actions
on Volatile Organic Compounds
Akemi Yamamoto, Natsuko Tsushima, Chizuko Koizumi,
Yukihito Yokozawa, Akira Matsuo and Akiko Kogawa ········· 11

A Survey on the Pollution Load during Rainfall of the Rivers Flowing into Lake Towada
in the Snowless Season
Hajime Mikami ········· 20

Ⅱ Notes

Outbreak of Diarrhea-patient-derived Campylobacter and its Genomic Analysis
Mugumi Sakuraba, Atsushi Waguri, Yuzuru Sawada and Koichi Abe ········· 33

Food Complaint Cases in Fiscal 2004–2005
Shiho Kudo, Akemi Yamamoto, Junko Kimura, Atsuko Murakami,
Hironori Miura and Akiko Kogawa ········· 38

Findings from Quality Controls on Measures of Accuracy and Precision for
Tap Water Quality Monitoring in Fiscal 2005
Atsuko Murakami, Natsuko Tsushima and Akiko Kogawa ········· 44

Recent Trends in Results of the Train Noise of the JR Tsugarukaikyo Line: a New Type
of Electric Locomotive EH500 (Ⅱ)
Ryuji Hanaishi, Tokuhiko Yasuda, Ayako Yoshida and Akira Matsuo ········· 49

Ⅲ Summaries of Other Publication ········· 53

Ⅳ Abstracts of Presentation in Society Meeting ········· 55

Ⅰ　報　　　　　文

青森県環境保健センター研究報告　17，１－６，2006

ノロウイルス分子疫学解析（2005/2006シーズン）

石川　和子　　熊谷　邦彦　　三上　稔之　　阿部　幸一　　畑山　一郎

2005年９月から2006年５月までにノロウイルス（*Norovirus*：以下 NV）による感染症及び食中毒疑い集団発生例は18事例で，糞便307検体，吐物10検体，食品54検体，ふきとり70検体，感染症発生動向調査の病原体定点から感染性胃腸炎由来６検体を検査材料とした。RT-PCR により，発症者及び調理従事者便307検体中165検体から NV 遺伝子が検出され，NV の Genogroup 別では，ＧⅡ単独が集団発生13事例で，ＧⅠとＧⅡ重複例が集団発生５事例であった。また，散発感染性胃腸炎６検体はすべてＧⅡであり，遺伝子解析を進めた結果，同時期に同じ株の４型 Bristol 類似株の流行が確認され，ウイルスが広く浸透していることが推察された。ＧⅡ単独集団事例では，同一事例内で検出された遺伝子は，キャプシド領域のダイレクトシークエンスにより，99.6％～100％と高い相同性を示したことから，NV 汚染源が単一的なものと推測された。一方，ＧⅠ・ＧⅡ重複例では，便，食品等から多種類の NV が検出され，食品が複数の NV により汚染されていたと考えられた。

Key words：*Norovirus*，RT-PCR，ダイレクトシークエンス法

１．はじめに

NVは，感染性胃腸炎及び食中毒の病因物質である。集団発生時等においては，感染症と食中毒の両面を考慮して調査が行われる。感染症は，感染様式として，糞便，吐物が付着した手指等を介しての人→人感染やウイルスに汚染された糞便，吐物の乾燥による空気感染等により[1]，食中毒は，汚染されていた貝類を生あるいは十分に加熱調理しないで喫食した場合やNVが混在した糞便及び吐物がヒトを介して食品を汚染させることにより起こると考えられている[1,2]。NVのキャプシド構造蛋白遺伝子の違いからGenogroupⅠ（以下：ＧⅠ）とⅡ（以下：ＧⅡ）に，さらに遺伝子解析により，ＧⅠは14種，ＧⅡは17種の遺伝子型に分類されている。

そこで，青森県における2005年９月から2006年５月までの集団発生及び散発から検出されたNVの遺伝子型について検討した。

２．材料および方法

２．１　検査材料

2005年９月から2006年５月までの集団発生18事例から得られた糞便307検体，吐物10検体，食品54検体，ふきとり70検体及び感染性胃腸炎散発例６検体を検査材料とした。

２．２　検体処理 RNA 抽出および DNase 処理

糞便は滅菌蒸留水で10％乳剤とし，10,000rpm，20分間冷却遠心後，遠心上清140 μlをRNA抽出に使用した。食品は10％乳剤，ふき取りに使用したスポンジのしぼり水，カキは中腸腺を切り出しホモジナイズした後の10％乳剤を10,000rpm，20分間冷却遠心した。遠心上清に等量のポリエチレングリコール（最終濃度10％）およびNaCl（最終濃度0.5M）を加え，４℃に一晩静置後，10,000rpm20分間冷却遠心し，沈渣に滅菌蒸留水300 μlを加え，140 μlをRNA抽出に使用した。抽出にはQIAmp Viral RNA Miniキット：遠心法（QIAGEN社製）を用いた。抽出RNAをDNaseⅠ（Takara）で37℃，30分間処理した。

２．３　RT-PCR法

cDNA合成にはrandam hexamer（Amersham社製）およびSuper ScriputⅡRT（Invitrogen社製）を用いた。

NV遺伝子キャプシド領域の増幅は，COG1F/G1SKR，COG2F/G2SKRまたは，G1SKF/G1SKRとG2SKF/Ｇ２SRRプライマーを用いた。

２．４　遺伝子解析

塩基配列は，患者便のPCR産物をQIAquick PCR Purification Kitで精製し，BigDye Terminator Kit（ABIPRISM）を用いて，オートシーケンサー ABI PRISM310（Applied Biosystems）で決定した。

NV遺伝子の比較は，キャプシド領域のＧ１は264塩基，Ｇ２は246塩基についてClustal Ｗで行った。遺伝子型の分類は，片山らの報告に準じた[4]。

3．結　　果

発生年月と事例数は，2005年９，10，11月が各々１例，12月３例，2006年１月３例，２月２例，３月１例，４月２例，５月４例であった（図１）。

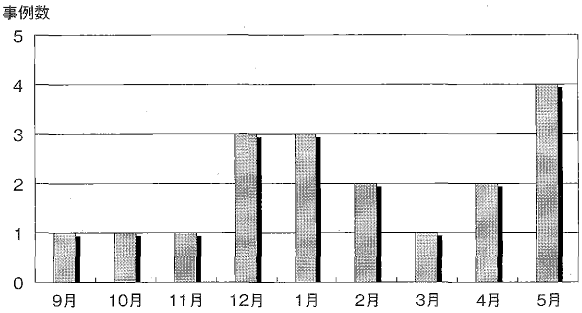


図１　2005/2006 月別 NV 集団発生事例数

また，推定感染場所は，福祉養護施設（３），特別養護老人ホーム（３），小学校（１），保育園（２），幼稚園（１），グループホーム（１），京都，東京への修学旅行（１）ホテル（１），国民宿舎（１），居酒屋（１），下宿先（１），家庭内（２）であった。

2005年９月から2006年５月までに，嘔吐，下痢を主症状とする集団発生18事例の発症者便及び調理従事者便307検体中165検体，吐物10検体中３検体，食品54検体中４検体，ふきとり70検体中１検体からNV遺伝子が検出された。集団発生におけるGenogroupは，13事例がＧⅡ単独で，５事例がＧⅠ･ＧⅡ重複例であった（表１）。

また，感染性胃腸炎の散発例の検体は，2005年11月１検体，12月４検体，2006年１月１検体の計６検体で，すべてＧⅡが検出された。

事例１を除く，17事例と散発６例について遺伝子解析を行った。解析による遺伝子型は，事例２～８及び

表１　2005/2006　ノロウィルス集団発生事例（青森県）

事例番号	発生年月日	発生場所		発病者数／喫食者数		ふん便				吐物		食品		ふきとり		検査結果
						発症者・その他		調理従事者ふん便								
						陽性数／検査数		陽性数／検査数		陽性数／検査数		陽性数／検査数		陽性数／検査数		
1	2005.9.26	家庭内	八戸市	6	8	7	7					0	4			NV(GⅡ)7
2	10.21	福祉養護施設	弘前市	30	55	16	23	0	5			0	7			NV(GⅡ)16
3	11.12	特別養護老人ホーム	十和田市	36	110	27	29	1	9	1	2	0	9			NV(GⅡ)29
4	12.4	幼稚園	三戸町	44	74	17	28	1	3			0	5	0	13	NV(GⅡ)18
5	12.14	特別養護老人ホーム	八戸市			9	11	0	6							NV(GⅡ)9
6	12.16	福祉養護施設	八戸市			4	8	1	20							NV(GⅡ)5
7	2006.1.12	特別養護老人ホーム	むつ市			4	6									NV(GⅡ)4
8	1.1	グループホーム	浪岡町	5		5	5	2	3							NV(GⅡ)7
9	1.31	福祉養護施設	弘前市	10	44	8	8	1	6							NV(GⅡ)9
10	2.1	国民宿舎	大鰐町	12	21	9	11	0	4			0	14			NV(GⅠ)1　(GⅡ)3 NV(GⅠ･GⅡ)5
11	2.13	ホテル	弘前市	9	33	9	12	0	27			2	10	0	19	NV(GⅠ)6　(GⅡ) 便3　カキ2
12	3.24	居酒屋	八戸市	31	71	9	13	0	5			0	1	0	15	NV(GⅠ)3　NV(GⅡ)5 NV(GⅠ･GⅡ)1
13	4.25	修学旅行	京都･東京	20	235	6	14									NV(GⅡ)6
14	4.26	下宿	八戸市	11	18	7	12	0	1					0	6	NV(GⅠ)3　NV(GⅡ)4
15	5.6	家庭内	青森市	3	4	3	3			0	1					NV(GⅠ)2 NV(GⅠ･GⅡ)1
16	5.1	小学校	弘前市	61	401	6	6			0	2					NV(GⅡ)6
17	5.12	保育園	板柳町	67	125	9	13	0	3	2	4	2	4	1	17	NV(GⅡ) 便9、検食2、 まな板１、吐物2
18	5.25	保育園	弘前市	11	81	4	6			0	1					NV(GⅡ)4

表2　GⅡ遺伝子が検出された事例のシークエンス結果

事例番号	発生年月日	発生場所	解析数	シークエンスによる型別
1	2005. 9.26	家庭内	0	
2	10.21	福祉養護施設	5	GⅡ/4/Bristol/93/UK
3	11.12	特別養護老人ホーム	8	GⅡ/4/Bristol/93/UK
4	12. 4	幼稚園	9	GⅡ/4/Bristol/93/UK
5	12.14	特別養護老人ホーム	6	GⅡ/4/Bristol/93/UK
6	12.16	福祉養護施設	4	GⅡ/4/Bristol/93/UK
7	2006. 1.12	特別養護老人ホーム	3	GⅡ/4/Bristol/93/UK
8	1. 1	グループホーム	4	GⅡ/4/Bristol/93/UK
9	1.31	福祉養護施設	5	GⅡ/2/Melksham/89/UK
13	4.25	修学旅行	6	GⅡ/5/Hillingdon/90/UK
16	5. 1	小学校	6	GⅡ/3/SaitamaU201/98/JP
17	5.12	保育園	7	GⅡ/2/Melksham/89/UK
			5	GⅡ/3/SaitamaU201/98/JP
18	5.25	保育園	4	GⅡ/3/SaitamaU201/98/JP
散発	11・12・1月	弘前・むつ	6	GⅡ/4/Bristol/93/UK

散発6例はGⅡで，いずれも4型Bristol類似株であった。事例9は，GⅡ/2型Malksham類似株，事例13はGⅡ/5型Hillingdon類似株，事例16，18はGⅡ/3型Saitama類似株であった。1事例内で2種類のNVが確認された事例17においては，5月連休中の発症者便がGⅡ/3型Saitama類似株，5月12，13日の発症者便と吐物ではGⅡ/2型Melksham類似株，5月11日と12日の検食2検体と調理済みまな板はGⅡ/3型Saitama類似株であった（表2）。

GⅠ·GⅡが重複されて検出された事例は，5事例であった。事例10は，国民宿舎で昼食を食べた団体客21名中12名が発症し，発症者9名中GⅠが1名，GⅡが3名，GⅠ·GⅡが5名から検出された。GⅠ（5株），GⅡ（4株）の9株について遺伝子解析をおこなった結果，GⅠ/14型Saitama類似株（5），GⅡ/4型Bristol類似株（4）であった。昼食にカキ酢を喫食したことから，食品の病原検索をおこなったがNV遺伝子は，検出されなかった。

事例11は，ホテルで会食した33名中9名が発症し，発症者9名中GⅠが6名，GⅡが33名であった。解析可能な8株について遺伝子解析を行ったところ，GⅠ/1型Norwalk類似株（1），GⅠ/8型WUGⅠ類似株（4），GⅡ/3型Saitama類似株（2），GⅡ/4型Bristol類似株（1）であった。喫食調査では，カキの酢の物を食しており，残品がなかったことから，同じロットのカキを検査した結果，カキ2検体からGⅡが，解析可能な1検体はGⅡ/3型Saitama類似株であった。

事例12は，居酒屋で喫食した71名（3グループ）中31名が発症し，発症者9名中GⅠが3名，GⅡが5名及び1名がGⅠ·GⅡであった。6株について遺伝子解析を行ったところ，GⅠ/1型Norwalk類似株（2），GⅠ/8型WUGⅠ類似株（2），GⅡ/6型Saitama類似株（1），GⅡ/15型Saitama類似株（1）であった。生カキを喫食しており，同じロットのカキを検査したが，NV遺伝子は検出されなかった。

事例14は，同一の下宿に入居している野球部員18名中11名が発症し，7名中GⅠが3名，GⅡが4名であった。4株について解析を行ったところ，GⅠ/8型WUGⅠ類似株（1），GⅡ/3型Saitama類似株（3）であった。

事例15は，家庭内で10名中3名が発症し，GⅠが2名，1名からGⅠ・Ⅱが検出され，4株について解析をおこなったところ，GⅠ/8型WUGⅠ類似株（2），GⅠ/7型Winchester類似株（1），GⅡ/5型Hillingdon

類似株（1）であった（表3）。

解析を行った17集団事例における6種類のGⅡの検出比率は，4型Bristol類似株が45%，3型Saitama類似株が25%，2型Malksham類似株，5型Hillingdon類似株が10%，6型Saitama類似株，15型Saitama類似株が5%であった（図3）。一方，GⅠでは，8型WUGⅠ類似株が50%，1型Norwalk類似株が25%，14型Saitama類似株，7型Winchester類似株が12.5%であった（図4）。

4．考　　察

2005年9月から2006年5月までのNVが原因の集団事例は18事例，散発は6例であった。検出されたNVの集団発生事例は，GⅡ単独事例とGⅠ·GⅡ重複例に分けられ，GⅡ単独例では集団発生13事例，GⅠ·GⅡ重複例では集団発生5事例であった。感染性胃腸

表3　GⅠ·GⅡ遺伝子が検出された事例のシークエンス結果

事例番号	発生年月日	発生場所	解析数		シークエンスによる型別
10	2006. 2.1	国民宿舎	GⅠ	1	GⅠ/14/SaitamaT25GⅠ/01/JP（1株）
			GⅠ·GⅡ	4	GⅠ/14/SaitamaT25GⅠ/01/JP（4株） GⅡ/4/Bristol/93/UK（4株）
11	2.13	ホテル	GⅠ	5	GⅠ/1/Norwalk/68/US（1株） GⅠ/8/WUGⅠ/00/JP（4株）
			GⅡ	4	GⅡ/3/SaitamaU201/98/JP（3株） GⅡ/4/Brisiol/93/UK（1株）
12	3.24	居酒屋	GⅠ	4	GⅠ/1/Norwalk68/US（2株） GⅠ/8/WUGⅠ/00/JP（2株）
			GⅡ	2	GⅡ/6/SaitamaU3/97/JP（1株） GⅡ/15/SaitamaKU80aGⅡ/99/UK（1株）
14	4.26	下宿	GⅠ	1	GⅠ/8/WUGⅠ/00/JP（1株）
			GⅡ	3	GⅡ/3/SaitamaU201/98/JP（3株）
15	5.6	家庭内	GⅠ	2	GⅠ/8/WUGⅠ/00/JP（2株）
			GⅠ·GⅡ	1	GⅠ/7/Winchester/94/UK（1株） GⅡ/5/Hillingdon/90/UK（1株）

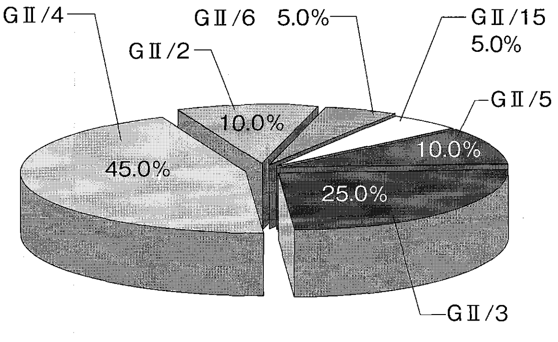


図3　NVGⅡ遺伝子型検出比率

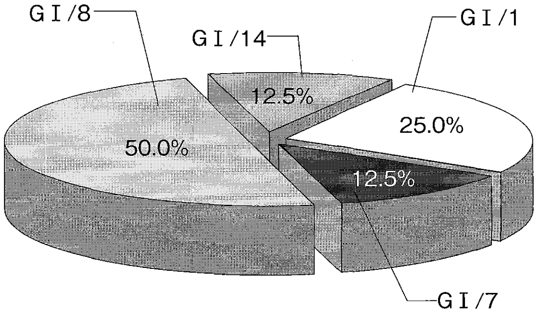


図4　NVGⅠ遺伝子型検出比率

炎の散発例では，６例からＧⅡが検出された。集団発生事例と小児の散発例について分子疫学的検討を行った結果，散発例の検体は，11月から１月に採取されており，この時期は，集団発生ではGⅡ/４型Bristol類似株が流行していた頃と一致し，散発例６株はすべてGⅡ/４型Bristol類似株であることより，同時期に同じ株が流行していたことが確認された。

ＧⅡ単独事例は13事例で，発生場所が福祉養護施設，特別養護老人ホーム，幼稚園などで，同一事例で検出された遺伝子型は単一で，遺伝子配列は，99.6%～100%の相同性を示した。このことは，NV汚染源が特定のヒトを介しての人→人感染と推測された。また，事例17は５月連休中の発症者便がGⅡ/３型Saitama類似株，５月12，13日の発症者便と吐物がGⅡ/２型Melksham類似株，５月11日と12日の検食2検体と調理済みまな板は，GⅡ/３/Saitama類似株であった。当初，単一的なNVによる食中毒と考えられたが，保健所の疫学調査と２種類のNVが検出されたことにより感染症事例となった。しかし，検食の汚染経路解明には，さらに詳細な調査が必要と思われる。

ＧⅠ·ＧⅡ重複例は５事例で，発生場所は，ホテル，国民宿舎，居酒屋，下宿先，家庭内である。そのうちカキを喫食しているのが３事例で，事例11は，原材料であるカキと発症者から検出されたNV遺伝子がGⅡ/３型Saitama株と一致したが，詳細な調査から発症者とカキとの関連性がなかった。事例10, 12はいずれも，カキからはNV遺伝子が検出されなかった。他の２事例は原因食品が不明であった。重複５事例から検出されたNV遺伝子は，ＧⅠが４種類ＧⅡが５種類で，食品が多種類のNVで汚染されていたと考えられ，二枚貝等の複数のウイルスを蓄積するような食材による食中毒が疑われたが，事例12以外は感染症事例であった。

また，食事に貝類が含まれず，感染源として糞便及び吐物が食品を汚染させることにより起こる食中毒事例は，遺伝子が単一の場合が多く，感染源，感染経路を解明するには，発症者及び関係者に対する積極的な遡り調査が必要と思われる。

2004/2005シーズンに全国の高齢者施設で集団発生を起こしたGⅡ/４型Bristol株はポリメラーゼ領域のみならず，キャプシド領域においても変異が認められているとの報告があり[3]，岡田らもGⅡ/４遺伝子型に年次的な遺伝子レベルの変化が生じていると報告している[4]。また，われわれもポリメラーゼ領域での遺伝子変異を確認しており，今後は遺伝子変異と病原性とのつながりについて解析を進めたいと考えている。

５．ま と め

1．2005年９月から2006年５月までにノロウイルスが原因と考えられる集団事例は18事例，散発は６例で，集団で検出されたＧⅡは６種類，ＧⅠは４種類であった。
2．同時期に集団事例と散発例で，同じ株の４型Bristol類似株の流行が確認され，ウイルスが広く青森県内に浸透していたことが推察された。
3．ＧⅡ事例は，同一事例で検出された遺伝子型は単一で，遺伝子配列は，99.6%～100%の相同性を示したことなどから感染症と推察された。また，ＧⅠ·ＧⅡ重複例は，食品が多種類のNVに汚染されていたと考えられた。

本稿を終えるにあたり，疫学調査資料を提供していただきました，保健所各位に謝意を表します。

文　献

1）西尾　治，他：ノーウォーク様ウイルスによる集団発生，厚生労働科学研究費補助金　食品·化学物質安全総合研究事業，食品中の微生物汚染状況の把握と安全性の評価に関する研究，p5－9，平成14年度.
2）国立感染症情報センター：病原微生物検出情報，ノロウイルス感染集団発生，**26**（12）1－2，2005.
3）木智　香子，他：微生物検出情報，欧米で流行しているノロウイルスＧⅡ/4変異型の国内での流行状況，**26**（12）3－5，2005.
4）岡田　峰幸，他：微生物検出情報，千葉県におけるノロウイルスＧⅡ/4の遺伝子変異，**26**（12）5，2005.
5）片山　和彦：ノロウイルス感染症，IDWR（感染症発生動向調査　週報），14週，2004.

Abstract

A Molecular Epidemiological Analysis of Norovirus in 2005－2006

Kazuko Ishikawa, Kunihiko Kumagai, Toshiyuki Mikami, Koichi Abe, and Ichiro Hatayama

There were 18 suspected cases of mass-epidemic infection and food poisoning caused by Norovirus (hereinafter referred to as NV) from September 2005 to May 2006, and the following samples were used for examination: 307 excrement samples, 10 vomit samples, 54 food samples, 70 swabbed samples, and 6 infectious gastroenteritis-derived samples from pathogen medical facilities for an infection outbreak survey. NV genes were detected using RT-PCR in 165 out of the 307 excrement samples of infected patients and food preparers. According to NV Genogroup, solo Genogroup II (GII) was found in 13 mass-epidemic cases, and a duplicate type of GI and GII was in five mass-epidemic cases. All the six sporadic infectious gastroenteritis samples contained solo GII. A further genetic analysis revealed that there was an epidemic arising from the same virus strain, a variant of the 4-type Bristol virus around the same time, suggesting that the virus had widely spread. In the mass-epidemic cases in which solo GII was found, genes detected in the same case share strong homology of 99.6%–100% due to the direct sequence of the capsid domain, indicating the infectious source of NV is singular. Meanwhile, in cases containing a duplicate type of GI and GII, several kinds of NV were detected in excrement and foods, suggesting that the foods had been contaminated by multiple kinds of NV

Key words：*Norovirus*, RT-PCR, direct sequencing

青森県環境保健センター研究報告　17，7－10，2006

ノロウイルスGenogroupⅡ/4型のRNA依存性RNAポリメラーゼ領域およびカプシド領域の変異の検討

熊谷　邦彦　　石川　和子　　三上　稔之　　阿部　幸一　　畑山　一郎

2005年9月から2006年5月までに県内では，ノロウイルス(NV)を原因とする，食中毒や感染症の集団発生が18事例あり，検出されたNVGⅡのカプシド領域の遺伝子解析から，6事例がGⅡ/4型類似株によることが明らかとなった。6事例の発生地域は，発生順から弘前，上十三，八戸(2事例)，青森，むつとほぼ県内全域に及んだ。6事例における各株のRNA依存性RNAポリメラーゼ領域の解析から，弘前，八戸(2事例)，青森，むつ地域の14株がGⅡ/4型Bristol/93/UK株には90%の相同性であったのに対し，GⅡ/12型SaitamaU1/97/JPに対し95～96%の相同性を示し，最も近縁であった。一方，上十三の5株は，GⅡ/4型Bristol/93/UK株には90%の相同性であったのに対し，Bristol株の変異株であるFarmington Hills/2002/USA株には98%の相同性で最も近縁であり，RNA依存性RNAポリメラーゼ領域の系統樹は2つのクラスターに分けられた。カプシド領域においては，弘前，八戸(2事例)，青森，むつ地域の14株がFarmington Hills株に97%の相同性を，上十三の5株においても98%の相同性を示し，Farmington Hills株に最も近縁であった。本県においても大きくはないが，変異したNVGⅡ/4型が県内全域に広がっていることが推定された。

Key Words：ノロウイルス，GenogroupⅡ/4型，ポリメラーゼ領域，カプシド領域

1．はじめに

ノロウイルス(以下NV)は，プラスの一本鎖RNAを遺伝子にもち，嘔吐，下痢を主症状とする感染性胃腸炎の主な病原体であり，冬季を中心に流行する。また感染力が強く，頻繁に食中毒や感染症の集団発生を引き起こす。しかしながら，未だ培養系が確立されていない。本ウイルスの検索は，RT(Reverse transcription)-PCR法によるウイルス遺伝子の検出と電子顕微鏡法によるウイルス粒子の形態観察で行われている。現在，RT-PCR法による遺伝子検出は主にカプシド領域を対象に行われ，GenogroupⅠ(GⅠ)とGenogroupⅡ(GⅡ)という二つの遺伝子群に大別されている。さらに，遺伝子解析によりGⅠが14種類とGⅡが17種類の遺伝子型に分類されている[1)]。

2005年9月から2006年5月までに県内では，NVを原因とする，食中毒や感染症の集団発生が18事例確認され，検出されたNVGⅡのカプシド領域の遺伝子解析から，6事例がGⅡ/4型によることが明らかとなった。近年，全国的に高齢者施設や保育園等において集団発生を引き起こしているNVは，GⅡ/4型変異株によるものが多数あると報告されており[2,3)]，公衆衛生上の問題となっている。

今回，我々はカプシド領域の解析を進めるとともに，RNA依存性RNAポリメラーゼ(以下ポリメラーゼ)領域の解析も試み，両領域における遺伝子変異等について検討した。

2．材料および方法

ポリメラーゼ領域の解析には，集団発生6事例のカプシド領域においてNVGⅡ/4型と決定された35株を用いた。

増幅は，NV81，NV82/SM82(330bp)プライマーを用い，熱変性94℃1分，アニーリング43℃1分20秒，伸長反応72℃1分，35cycle(増幅器：ABI，GeneAmp PCR system 9700，試薬：Takara Ex Taq)で行った。

塩基配列は，得られたPCR産物をQIAquick PCR Purfication Kit(キアゲン)により精製し，蛍光ラベルには，BigDye Terninator Kit(ABI PRISM)を用い，オートシーケンサーABI PRISM 310(Applied Biosystems)で決定した。

解析は，231塩基を対象にClustal Wでアライメント(塩基配列比較)を行い，系統樹はNJ法により作成した[4)]。

カプシド領域の遺伝子解析は，上記と同様の方法により行い，プライマーはCOG2F，G2SKR(387bp)を用い，分類は264塩基を対象に行った[4)]。

3．結　　果

表1にはNVGⅡ/4型が検出された集団事例とカプシド及びポリメラーゼ領域の解析数を示す。

6事例は，2005年10月21日から2006年1月12日までに発生し，12月4日発生の幼稚園を除き5事例が高齢者施設であった。発生地域は，発生順から弘前，上

十三，八戸（2事例），青森，むつとほぼ県内全域に及んだ。

解析数は，カプシド領域解析数35株を対象に行い，ポリメラーゼ領域遺伝子検出RT-PCRでは，23株が検出され，12株が検出されなかった。検出された23株中シーケンスが可能であった株数は，19株で弘前3株，上十三5株，八戸（幼稚園）4株，八戸（特別養護老人ホーム）2株，青森3株，むつ2株であった。

表1．NVG Ⅱ／4型検出集団事例とカプシドとポリメラーゼ解析数

発生年月日	発生場所・地域		カプシド領域 解析数	ポリメラーゼ領域 PCR陽性数	ポリメラーゼ領域 解析数
2005.10.21	福祉養護施設	弘前	5	3	3
11.12	特別養護老人ホーム	上十三	8	6	5
12. 4	幼稚園	八戸	9	5	4
12.14	特別養護老人ホーム	八戸	6	4	2
2006.1.1	グループホーム	青森	4	3	3
1.12	特別養護老人ホーム	むつ	3	2	2
		計	35	23	19

6事例における各株のポリメラーゼ領域の解析から，弘前，八戸（2事例），青森，むつ地域の14株はGⅡ/4型であるBristol/93/UKには90～91％の相同性であったが，GⅡ/12型であるSaitamaU1/97/JPに対しては95～96％の高い相同性を示した。図1にGⅡ/12/SaitamaU1/97/JPと弘前株の塩基配列を示す。また，GⅡ/4型の変異株であるFarmington Hills/2002/USA[3, 5]に対しては87～88％，別の変異株であるHu/GⅡ.4/Hunter/532D/04O/AU[5, 6]に対しては88～89％の相同性があり，弘前，八戸（2事例），青森，むつ地域の14株は，GⅡ/12型であるSaitamaU1/97/JPに最も近縁であった。

```
弘前  2005.10.21            TCCCGGTGGGACTCAACACAACAAAGAGCCGTGTTAGCAGCGGCTTTAGA
G2/12/Saitama/U1/97/JP     TCCCGGTGGGACTCAACACAACAAAGAGCCGTGTTAGCAGCAGCCTTAGA
                           ***************************************** ** *****

弘前  2005.10.21            AATCATGGTCAAGTTCTCCCCAGAGCCGCATCTGGCCCAAAAGGTTGCAG
G2/12/Saitama/U1/97/JP     AATCATGGTTAAGTTCTCCCCAGAACCGCATCTGGCCCAAAAGGTTGCAG
                           ********* ************** ****** ******************

弘前  2005.10.21            AAGACCTTCTTTCTCCTAGCGTGATGGACGTGGGTGATTTCAAAATATCA
G2/12/Saitama/U1/97/JP     AAGACCTTCTCTCTCCCAGCGTGATGGACGTAGGTGACTTCAAAATATCA
                           ********** ***** ************** ***** ************

弘前  2005.10.21            ATCAATGAGGGTCTCCCCTCCGGGGTGCCCTGCACCTCCCAATGGAATTC
G2/12/Saitama/U1/97/JP     ATCAATGAGGGCCTCCCCTCCGGGGTGCCCTGCACCTCCCAATGGAATTC
                           *********** **************************************

弘前  2005.10.21            CATCGCCCACTGGCTCCTCACTCTATGTGCA
G2/12/Saitama/U1/97/JP     CATCGCCCACTGGCTCCTCACTCTCTGTGCA
                           ************************ ******
```

図1．GⅡ/12/SaitamaU1/97/JP株と弘前株の塩基配列の比較（＊は同じ塩基を表す）

一方，上十三の5株は，GⅡ/4型Bristol株と90％，Hunter株と96％の相同性であったのに対し，図2に示すようにFarmington Hills株とは4箇所の塩基置換をもって最も高い98％の相同性を示した。

```
FarmingtonHills/2002/USA   TCTCGGTGGGATTCAACACAACAGAGAGCTGTGTTGGCAGCAGCTCTAGA
上十三 2005.11.12           TCTCGGTGGGATTCAACACAACAGAGAGCTGTGTTGGCAGCAGCTCTAGA
                           **************************************************

FarmingtonHills/2002/USA   AATCATGGTTAAATTCTCCTCAGAACCACATTTGGCTCAGGTAGTCGCAG
上十三 2005.11.12           AATCATGGTTAAATTCTCCTCAGAACCACATTTGGCTCAGGTAGTCGCAG
                           **************************************************

FarmingtonHills/2002/USA   AAGACCTTCTTTCTCCTAGCGTGGTGGATGTGGGTGACTTCACAATATCA
上十三 2005.11.12           AAGACCTCCTTTCTCCTAGCGTGGTGGATGTGGGTGATTTCACAATATCA
                           ******* ****************************** ************

FarmingtonHills/2002/USA   ATCAACGAGGGTCTCCCCTCTGGGGTGCCCTGCACCTCCCAATGGAACTC
上十三 2005.11.12           ATCAATGAGGGTCTCCCCTCTGGGGTACCCTGCACCTCCCAATGGAACTC
                           ***** ******************* ************************

FarmingtonHills/2002/USA   CATCGCCCACTGGCTTCTCACTCTCTGTGCG
上十三 2005.11.12           CATCGCCCACTGGCTTCTCACTCTCTGTGCG
                           *******************************
```

図2．Farmington Hills/2002/USA株と上十三株の塩基配列の比較（＊は同じ塩基を表す）

これら19株のポリメラーゼ領域における分子系統樹を図3に示す。弘前，八戸（2事例），青森，むつ地域の14株はGⅡ/12/SaitamaU1/97/JP株に，上十三の5株はFarmington Hills/2002/USA株にと，2つのクラスターに分けられた。

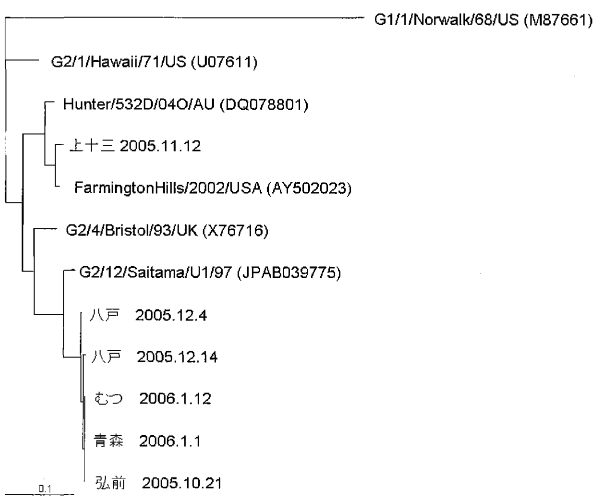


図3．ポリメラーゼ領域解析による分子系統樹（NJ法）

カプシド領域においては，弘前，八戸（２事例），青森，むつ地域の14株がGⅡ/４型Bristol株と93%，Farmington Hillsと97%，Hunter株と95%の相同性を示した。上十三の５株も，GⅡ/４型Bristol株に94%，Farmington Hills株に98%，Hunter株に96%の相同性を示し，ポリメラーゼ領域のように明確なクラスター分類は認められなかった。カプシド領域の分子系統樹を図４に示す。

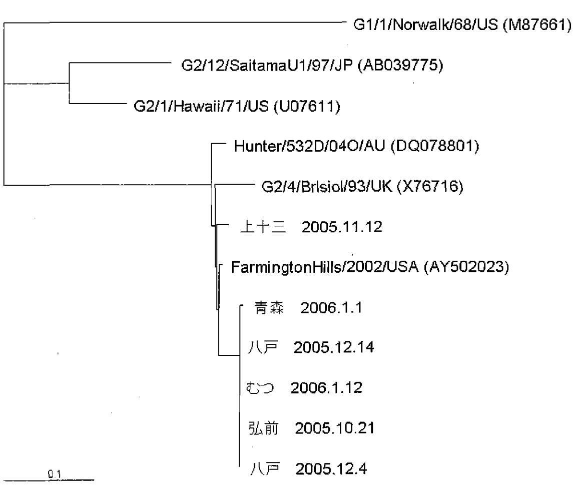


図4．カプシド領域解析による分子系統樹（NJ法）

４．考　　察

2005年９月から2006年５月までにNVが検出された集団事例は18事例を数え，検出されたNVGⅡのカプシド領域遺伝子を解析した結果，６事例がNVGⅡ/４型であった。GⅡ/４型による集団発生が高齢者施設に多いことは，本ウイルスの感染力の強さによるのか，あるいは，基礎疾患を保有している高齢者の免疫機能の低下など様々な要因が考慮される。今後，感染症対策の一助とするために，ウイルス側と宿主側の各々の検証が必要と思われる。

本研究では，GⅡ/４型の変異株の出現が報告されていることから，カプシド領域のプライマーでNVGⅡ/４型と確認されている６事例計35株において，ポリメラーゼ領域のプライマーNV81, NV82/SM82でPCR検出を試みた。その結果，検出されたのは23株で，シーケンス可能なものは19株であった。現在用いているカプシド領域のプライマーに比して検出感度が劣り，今後，ポリメラーゼ領域における検出及び解析を行うにあたり，カプシド領域検出プライマーと同等，または，それ以上の検出感度になるようなプライマーの検討が必要である。

19株のポリメラーゼ領域の解析では，弘前，八戸（２事例），青森，むつ地域の14株がGⅡ/12型SaitamaU1/97/JP株に類似し，上十三地域の５株がGⅡ/４型Bristol株の変異株であるFarmington Hills/2002/USA株に最も近縁で，系統樹では，２つのクラスターが構成された。また，カプシド領域の解析では，ポリメラーゼ領域とは異なり，Farmington Hills株に19株全てが近縁であった。これらのことから，県内における集団発生のNVの主流は，変異は小さいもののカプシド領域では，Bristol株の変異株であるFarmington Hills株が占め，ポリメラーゼ領域では，弘前，八戸（２事例），青森，むつ地域の14株がGⅡ/12型，上十三地域の５株がFarmington Hills株の組合わせとなっていた。本県においても大きくはないが，変異したNVGⅡ/４型が県内全域に広がっていることが推定された。

Farmington Hills株は2002年に欧米で流行したNVの代表株であり，ポリメラーゼ領域の塩基配列はKronemanらの報告[7]によると2002型と呼ばれている。また，愛木らは2004/2005シーズンに全国的に流行したNVポリメラーゼ領域変異株について報告して

いるが[2)]，2002型は全体の１％に過ぎず，県内の他の地域では流行しなかった上十三地域で検出されたNVは，全国的にも珍しいNVGⅡ/４型変異株であることが推察された。このNV株が限局した地域内での発生で終わるのか，それとも拡大するのか，今後ウイルスの解析による監視が必要と思われる。また，今回，我々が解析したNV株には見出されなかったが，両遺伝子領域の株間での遺伝子組換え株が報告されており，疫学的状況を把握すると共に，カプシドとポリメラーゼ両領域の解析を実施していくことが重要と思われる。

文　　献

１）片山和彦：ノロウイルス感染症，感染症発生動向調査　週報**11**，14－19，2004.

２）愛木智香子，他：欧米で流行しているノロウイルスＧⅡ/4変異型の国内での検出状況，病原微生物検出情報，**26**（12）３－４，2005.

３）吉澄志摩，他：高齢者施設におけるノロウイルス集団感染事例の発生状況－北海道，病原微生物検出情報，**26**（12）９－10，2005.

４）濱野雅子，他：胃腸炎ウイルスの研究（平成17年度），岡山県環境保健センター年報，**30**，101－114，2005.

５）Rowena A. Bull, et. al, Emergence of a New Norovirus Genotype II. 4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis, *J. Clin. Virol.*, **44**, 327－333, 2006.

６）関根雅夫，他：2003年～2005年に仙台市で検出したノロウイルス（NoV）について，仙台市衛生研究所報，**35**，69－73，2005.

７）Kroneman. A., et. al：High number of norovirus outbreaks associated with a GGⅡ4 variant in the Netherlands and elsewhere：Dose this herald a world increase?, *Eurosurveillance*, **10**, 51－52, 2005.

Abstract

A Review on the Mutation of the RNA-dependent RNA polymerase domain and Capsid Domain of Genogroup II/4-type Norovirus

Kunihiko Kumagai, Kazuko Ishikawa, Toshiyuki Mikami, Koichi Abe, and Ichiro Hatayama

There were 18 food poisoning and infection cases caused by norovirus (NV) in the prefecture from September 2005 to May 2006, and a gene analysis of the detected NV GII's capsid domain revealed that 6 of the 18 cases were caused by a variant of GII/4-type. The six cases occurred in order of outbreak in Hirosaki, Kamitosan, Hachinohe (two cases), Aomori, and Mutsu, covering almost every region of the prefecture. An analysis of the RNA-dependent RNA polymerase domain of each virus strain in the 6 cases indicated that the 14 virus strains in Hirosaki, Hachinohe (two cases), Aomori, and Mutsu areas share 90% homology with the GII/4-type Bristol/93/UK virus, while in the case of the GII/12-type SaitamaU1/97/JP virus, they have 95–96% homology or the closest relation. Meanwhile, the 5 virus strains in Kamitosan area shared 90% homology with the GII/4-type Bristol/93/UK virus, while in the case of the Farmington Hills/2002/USA virus, a variant of the Bristol strain, it had 98% homology or the closest relation. The phylogenetic tree of RNA-dependent RNA polymerase domain was divided into two clusters. As for the capsid domain, the 14 strains in Hirosaki, Hachinohe (two cases), Aomori, and Mutsu areas share 97% homology with the Farmington Hills virus, and the 5 virus strains in Kamitosan area also have 98% homology, showing the closest relation to Farmington Hills. It is estimated that variants of the NV GII/4-type virus are spreading throughout the prefecture not extensively but steadily.

Key words：norovirus, genogroup II/4, polymerase, capsid

青森県環境保健センター研究報告　17, 11 − 19, 2006

ホタテ貝殻の有効活用
―揮発性有機化合物の吸着・分解作用を生かして―

山本　明美　　対馬　奈津子　　小泉　千鶴子　　横澤　幸仁[1]　松尾　章　　古川　章子

青森県において問題となっている水産廃棄物のホタテ貝殻に付加価値をつけ，貴重な資源として利用してもらうため，ホタテ貝殻粉末による揮発性有機化合物（VOC）の吸着・分解等に関する基礎的な調査を行った。平成13年度にはホルムアルデヒドについて，吸着・分解が起こることを検証済みであるが，今回は他のVOCについて調査を行った。また，今回は機能の有無を確認することを主たる目標としたため，高濃度・小空間での試験を実施した。その結果，ホルムアルデヒドを除く23種のVOCについて検討したところ，21種について概ね吸着効果が認められた。

Key words：VOC (Volatile Organic Compounds), malodorous substance, scallop shell, sick house syndrome

1．はじめに

近年，住宅の気密化が進み，新築の住宅のみならず住環境中の化学物質は増加傾向にある。これら化学物質によって，シックハウス症候群や化学物質過敏症といった健康被害が報告されている。現在，厚生労働省からはホルムアルデヒドをはじめ11種類の化学物質に対して室内濃度指針値が示されているが，一方を規制すると別のVOCが増えてくるといった，いたちごっこになっている。

当県においては，陸奥湾におけるホタテガイの養殖に伴い年間約５万トンものホタテ貝殻が廃棄されている。水産廃棄物として有料で廃棄しなければならないホタテ貝殻を有効利用するため，ホタテ貝殻を原料とした壁剤等が製造販売されているが，これがVOCを吸着する機能をもつものであれば，その付加価値は上がり産業廃棄物が資源となり得る。また，違った形での製品化に繋がる可能性もある。当センターでは，平成13年度にホタテ貝殻がホルムアルデヒドを吸着・分解することを検証し，良好な結果を得た[1)]が，ホルムアルデヒドのみならず他のVOCに対する吸着効果の可能性を探るべく，基礎的な検証を行った。

2．調査方法

2.1　試　　料

市販されているホタテ貝殻粉末（平均粒子径：約18 μm）を0℃（未焼成）～1000℃まで100℃間隔で焼成し，試料とした。焼成方法は，試料200 gを耐熱皿に入れ，各温度で電気炉に１時間保持することとし，青森県工業総合研究センターに焼成を依頼した。なお，100℃の焼成は当センターにおいて使用時に行った。

実験には，焼成温度毎に２種類の試料（乾燥試料・湿潤試料）を用いた。**乾燥試料**とは調製した試料をそのまま用いたものであり，**湿潤試料**とは壁剤として使用する場合を想定し，乾燥試料に２倍量の水を加え，30℃24時間乾燥させたものである。

試料は，150mLバイアル瓶にはそのまま入れ，４Lテドラーバッグにはお茶パック（９×７cm）に入れて試験を行った。

2.2　分析対象物質（24種）

厚生労働省より指針値が示されている物質，新築住宅中に高濃度に存在する物質及び悪臭物質等を分析対象とし，以下の物質を選んだ。なお，試験濃度は，基準[2)]があるものについては，その基準値の数倍から数百倍の高濃度で試験を行った。

芳香族炭化水素：ベンゼン，トルエン，キシレン（３種），スチレン，エチルベンゼン
脂肪族炭化水素：ヘキサン
ハロゲン化炭化水素：p-ジクロロベンゼン（以下p-DCB）
アルコール類：n-ブタノール，イソブタノール
アルデヒド・エステル・ケトン類
：ホルムアルデヒド（以下HCHO），アセトアルデヒド，酢酸エチル，酢酸

1　青森県工業総合研究センター

nブチル，酢酸イソブチル，アセトン，メチルエチルケトン，メチルイソブチルケトン（以下MIBK）

悪　臭　物　質：アンモニア，ジエチルアミン，トリメチルアミン，硫化水素，メチルメルカプタン

2．3　試薬及びミニカラム

(1) アンモニア・硫化水素
：ガステック社製パーミエーションチューブ

(2) トリメチルアミン・メチルメルカプタン
：和光純薬工業㈱悪臭物質試験用1 μg/μL溶液

(3) その他の対象物質
：和光純薬工業㈱又はMERCK製
特級又は残農用（純度98～99.8％）

(4) 6種アルデヒド-DNPH混合標準液/アセトニトリル溶液
：和光純薬工業㈱悪臭物質試験用（HPLC用）
0.1 μg/μL溶液

(5) Sep Pak DNPH XpoSureカラム：ウォーターズ㈱

(6) 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン試液（用事調製）
：2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（特級：和光純薬工業㈱）2gを2mol/L塩酸250mLに溶解し，グラスウールでろ過して調製する。

2．4　測定機器及び分析条件

〈GC〉　島津製GC-17A，FID検出器，カラム：TC-WAX（ϕ0.53mm×30m，膜厚2.0 μm，GIサイエンス），全流量：10ml，注入口温度：250℃，検出器温度：250℃，カラム温度：40℃保持後150℃まで昇温保持

〈HPLC〉島津製LC-VP，UV検出器，カラム：CAPCELL PAK C18（ϕ4.6×150mm，5.0 μm，資生堂），移動相：アセトニトリル・水（6：4），流速：1.0ml/min，カラム温度：40℃，注入量：20 μL

〈検知管〉ガステック社製No. 3L，No. 180，No. 180L，No. 4LK，No. 70L

2．5　試験方法

(1) GC法

ア．対象物質

芳香族炭化水素，脂肪族炭化水素，ハロゲン化炭化水素，アルコール類，エステル・ケトン類（17種）

イ．試験方法

ガラス製150mLバイアル瓶に試料2gを入れ，真空にした。一定濃度の分析対象物質（気体）を入れ，一定時間毎（2，4，24，48時間後）に中の気体を採取し，GCにガスタイトシリンジで直接注入した。同様に，試料を入れないものについても試験を行い，これを対照（基準）とし，吸着効果の判定を行った。

添加量は各物質とも概ね4～4.5 μg（p-DCBは7.7 μg）とした。

ウ．検量線

1L真空瓶を真空にし，標準溶液（純度98～99.8％）各1 μL注入後，窒素ガスで常圧とし，室温で1時間以上飽和させて検量線用標準ガスとした。GCにガスタイトシリンジで5，10，25，50 μL注入し，検量線を書いたところ，概ね良好な直線性を得た。

(2) HPLC法

ア．対象物質

HCHO（H13年度に試験[1]），アセトアルデヒド

イ．試験方法

アセトアルデヒドは4Lテドラーバッグ中に試料5gを入れ，真空にした。窒素4Lを充填した後，一定濃度（アセトアルデヒド　38.6 μg相当）の分析対象物質（液状10 μL）を入れ，20℃に放置した。24時間後に中の気体をDNPHカラムで捕集し，アセトニトリル10mLで溶出して試験溶液Aとした。また，試験後の試料（貝殻粉末）[1)3)]は，水200mLを加え激しく30分間振とう後，遠心分離した上澄み液50mLにHCl　3mL，2,4-ジニトロフェニルヒドラジン試液5mLを加えて反応させた。メタノール及び水でコンディショニングしたSep-Pak Plus C18で精製後，アセトニトリル5mLで溶出し，試験溶液Bとした。試験溶液A及びBについてHPLC分析を行い，Aより空気中残留量をBより貝殻吸着量をそれぞれ求めた。試料を入れないものについても同様な操作を行い，これを対照（基準）として吸着効果の判定を行った。

ウ．検量線

6種アルデヒド-DNPH混合標準液/アセトニトリル溶液各0.1 μg/μL溶液を希釈し，検量線用標

準溶液とした。これにより検量線を作成したところ，良好な直線を得た。

(3) 検知管法

ア．対象物質

悪臭物質（５種）

イ．試験方法

４Ｌテドラーバッグ中に試料を入れ，真空にした。一定濃度の分析対象物質（気体）を入れ，一定時間毎（0.5，１，２，４，24時間後）に中の気体を検知管で測定した。同様に，試料を入れないものについても試験を行い，これを対照（基準）とし，吸着効果の判定を行った。

３．結果及び考察

３．１　焼成温度による吸着効果の違い

ベンゼン，トルエン，キシレン（３種），スチレン，エチルベンゼン，イソブタノール，酢酸エチル，MIBK（計10種）を対象とし，0℃（未焼成）から1000℃まで100℃刻みで焼成した試料を用いGC法により試験した。

代表的な物質についての各焼成温度での吸着効果を図１に示す。対象物質によっても異なるが，効果の差によって３温度帯，即ち①未焼成～300℃以下の低温焼成温度帯，②400～700℃の焼成温度帯，③800℃以上の高温焼成温度帯に区分された。

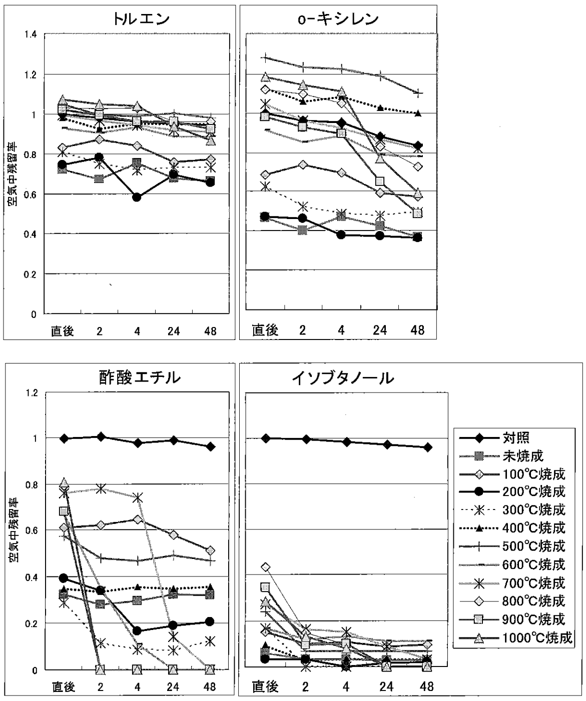


図１　各焼成温度での吸着効果（乾燥試料）

ベンゼンについては各温度帯とも効果は見られなかったが，他の９種については概ね①の低温焼成温度帯及び③の高温焼成温度帯で効果が見られた。これは，乾燥試料・湿潤試料とも同様であった。②の温度帯は，アルコール・ケトン類では有効であったが，他の温度帯に比べるとその効果は弱く，全く効果もみられない物質もあることから，以後の試験ではこの温度帯を除くこととした。

①と③の温度帯は，ともに効果は認められるものの，効果の現れ方（即効性・遅効性，最初に一定量吸着しその後緩やかに減少・経時的に減少等）に違いが見られた。これは，平成13年度に検証したHCHOの結果[1)]とも一致している。図２にHCHOにおける各焼成温度での吸着効果を示す。この時は同じカルサイト型の炭酸カルシウムを主成分とする石灰石でも同様の試験を行ったが，800℃以上の焼成時におけるHCHOに対する吸着効果は貝殻のみならず石灰石でもみられた。すなわち，高温焼成温度帯は焼成により炭酸カルシウムが変化して酸化カルシウムが現れてくる温度[4)]とほぼ一致した。

また，ホタテ貝殻では300℃以下の低温焼成温度帯でも試料へのHCHO吸着がみられたが，石灰石ではみられなかった。この効果は，400℃程度から無くなることから，貝殻に含まれる有機物が関与している吸着ではないかと考えられる。

図は，対照を１で示してあるため，空気中残留率が小さいほど効果があることを示す。

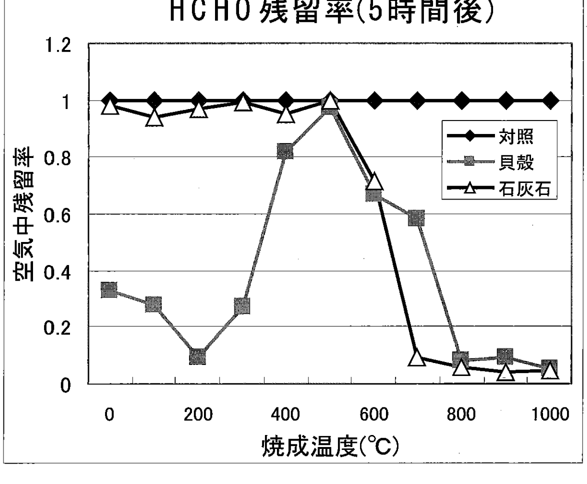


図２　HCHOにおける各焼成温度での吸着効果（乾燥試料）

３．２　分析対象物質別吸着効果の違い

24種のVOCを対照に，未焼成試料及び1000℃焼成試料を用い効果を検証した。それぞれについて乾燥試料と湿潤試料で試験を行った。なお，HCHOに関しては，既報[1)]のデータを引用した。

(1)　芳香族炭化水素

７種のうちベンゼン以外の６種で効果がみられた。代表的な物質の経時変化を図３に示す。乾燥試料においては，未焼成では実験直後に一定量まで減少し，その後は緩やかに減少する傾向がみられたのに対し，1000℃焼成では経時的に減少する傾向がみられた。

これに対し，湿潤試料では，両温度帯とも直後に一定量の減少がみられた。

また，未焼成，1000℃焼成とも概ね湿潤試料の方が効果は大きかった。

(2)　脂肪族炭化水素

ヘキサンのみ実施したが，効果がみられなかった。(図３参照)

(3)　ハロゲン化炭化水素

p-DCBのみ実施した。p-DCBは実験器具に対する吸着が強く，ガラス製バイアル瓶で実験したが，セプタムに吸着するのか対照自体もかなり経時的に減少した。そのため，ヘキサンも同時に添加し，これを内標として注入量を補正し，試験を行った。実験直後に一定量まで減少し，その後は緩やかに減少する傾向がみられたが，24時間後は対照も減少するためあまり効果に差は見られなくなった。試験方法に問題があると思われるが，未焼成の乾燥・湿潤，及び1000℃焼成の湿潤試料では吸着自体は起こっていると考えられた。(図３参照)

(4)　アルコール類

新築室内環境中で高濃度にみられるn-ブタノールと，悪臭物質として指定されているイソブタノールに関してのみ試験を行った。この２物質に関しては全ての試料で直後から空気中濃度は激減した。(図３参照)

近年，住環境が気密化し，糸状菌（いわゆるカビ）が結露等で発生し問題となっているが，これら糸状菌がVOCを放出することが近年報告されている。このVOC中にはアルコール類も含まれており，今後はそれらも対象物質として考えていきたい。

(5)　エステル類

３種（酢酸エチル，酢酸nブチル，酢酸イソブチル）について試験した。全ての試料で初期濃度の50％以下となる良好な効果が得られたが，乾燥試料と湿潤試料で差が見られた。即ち，未焼成試料では直後に50％以上の吸着が起こり，それがほぼ横ばいとなるのに対し，1000℃焼成試料では直後にほとんど吸着され，2時間後にはほぼ0となった。(図４参照)

(6)　ケトン類

ケトン類３種（アセトン，メチルエチルケトン，MIBK）について実施した。未焼成乾燥試料はアセトンでは全く効果がみられなかったが，他は吸着がみられた。特に，MIBKでは顕著な効果がみられた。また，1000℃焼成湿潤試料ではアセトン，メチルエチルケトンでも24時間以降の減少が大きかった。ケトン類では，側差が長い方が吸着されやすい傾向がみられた。(図４参照)

(7)　アルデヒド類

HCHOの経時変化を図５に，アセトアルデヒドの結果及び含有水分による差を図６に示す。なお，図に示した試料のＤは乾燥試料を，Ｗは湿潤試料を表す。

HCHOでは，5, 24, 48時間後でデータをとったところ，未焼成試料では経時的に空気中残留量が減少したが，1000℃焼成試料では即効性の吸着が起きているものと推測された。

HCHOは水で容易に抽出されることから，貝殻に吸着された量も測定したところ，特に未焼成試料で分解が起こることを確認した。最も分解が進んだ未焼成乾燥試料では，10Lデシケータ中に試料５ｇを入れたところ，試験初期値（空気中濃度）3.43ppmが48時間後には空気中残留分0.34ppm・貝殻吸着分0.62ppmの合計0.96ppmとなった。これより，初期値の72％は分解されたものと考えられる。

アセトアルデヒドでは，24時間後のデータのみであるが，未焼成の湿潤試料に顕著な効果がみられた。この効果に対する含有水分の影響を調べるため，①乾燥試料②湿潤試料を乾燥時と同じ重量になるまでしっかり乾燥させたもの（以下Ｗ完乾）③湿潤試料に通常の倍量の水を加え②と同じ時間乾燥させたもの（以下Ｗ湿）の３種について更に実験したところ，貝殻に含まれる水分量が多いほど空気中アセトアルデヒド濃度は減少した。また，貝殻自体にも吸着されていないことから，アセトアルデヒドが水存在下

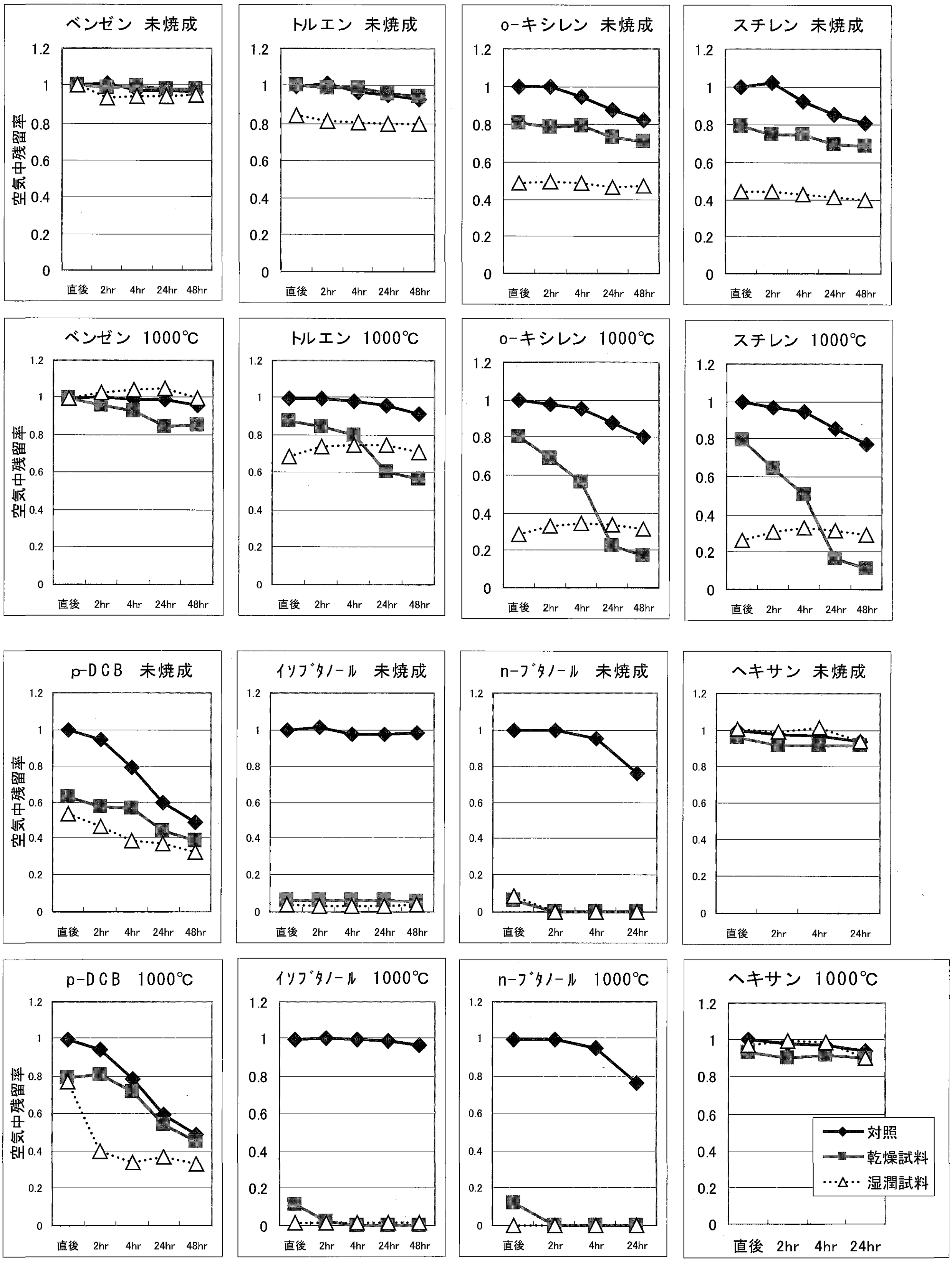


図３ 芳香族・脂肪族・ハロゲン化炭化水素・アルコール類 経時変化

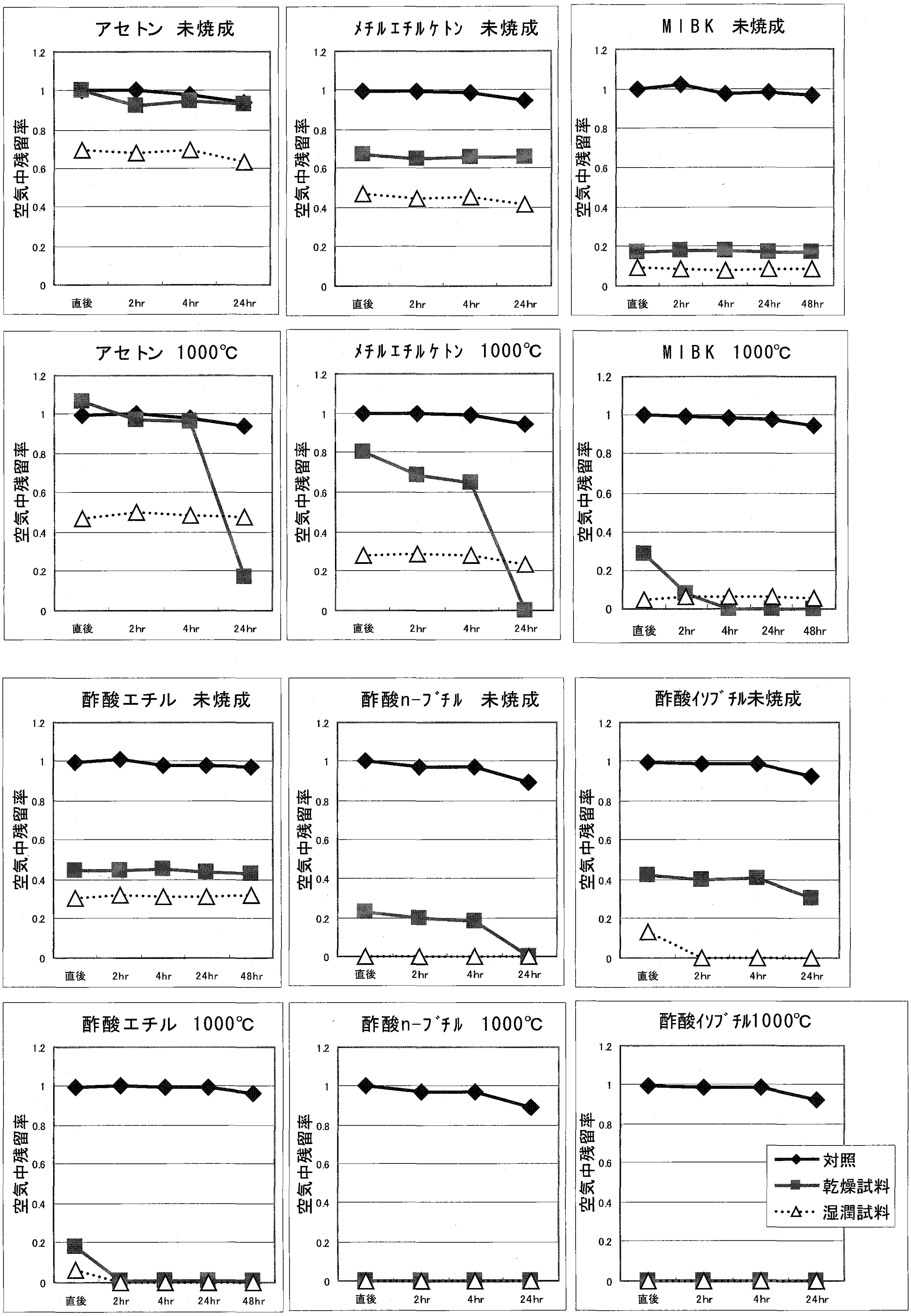
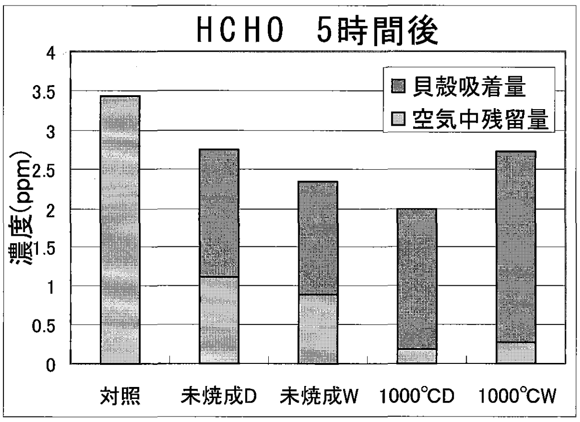
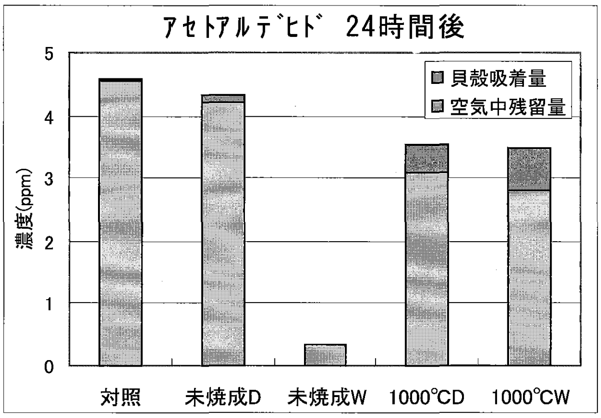


図4　ケトン類・エステル類の経時変化





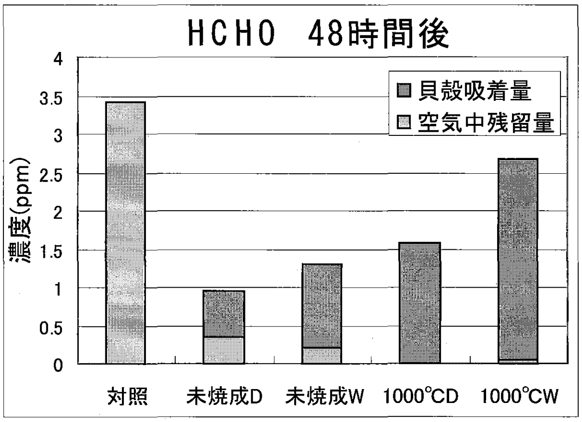


図５　HCHO の経時変化

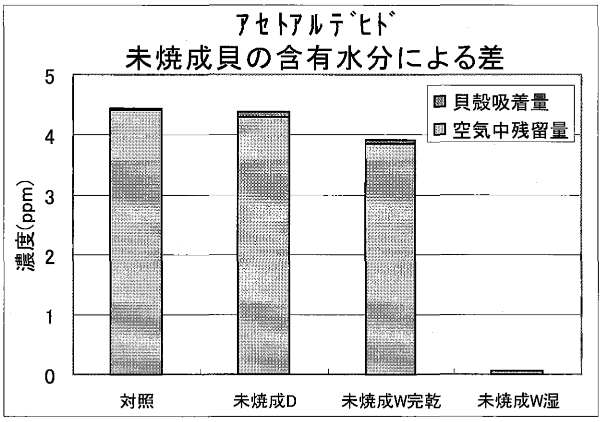


図６　アセトアルデヒド結果及び含有水分による差

で貝殻に含まれる物質を触媒として分解されているのではないかと推測された。

(8)　アンモニア・アミン類

アンモニア及びアミン類２種（ジエチルアミン，トリメチルアミン）について実施した。経時変化を図７に示す。

これらはすべてアルカリ性物質であり，同様にアルカリ性（未焼成でpH9.5程度，1000℃焼成でpH12.5程度）である貝殻粉末では効果は期待できないと予想していたが，未焼成試料で効果がみられた。これらの物質では水分が重要とみられ，水分を含んだ試料で吸着がみられた。水分を吸収する作用を持つ1000℃焼成試料は，対照よりも高い値を示した。未焼成試料は，アセトアルデヒドと同様，①乾燥試料　②W完乾　③W湿の３種についてその水分量の違いをみたところ，③は直後では効果が大きいものの，そこで横ばいになるのに対し，②では経時的減少がみられ，最も効果があった。①の効果は②と③の中間程度であった。

(9)　硫化水素・メチルメルカプタン

硫化水素及びメチルメルカプタンの経時変化を図８に示す。

硫化水素及びメチルメルカプタンは，ともに1000℃焼成試料で実験直後から急激に減少した。メチルメルカプタンでは未焼成はあまり効果がなかったものの，硫化水素では未焼成でも効果が認められた。

４．ま　と　め

(1)　ホタテ貝殻粉末には，各種VOCを吸着する機能が認められた。

(2)　焼成温度帯によって，効果に差がみられた。未焼成～300℃以下の低温焼成温度帯，及び800℃以上の高温焼成温度帯で効果が認められた。低温帯の効果は400℃以上の焼成でみられなくなることから，貝殻上の何らかの有機物が関与する吸着と考えられる。800℃以上での効果は，焼成により化学組成が炭酸カルシウムから酸化カルシウム（一部水酸化カル

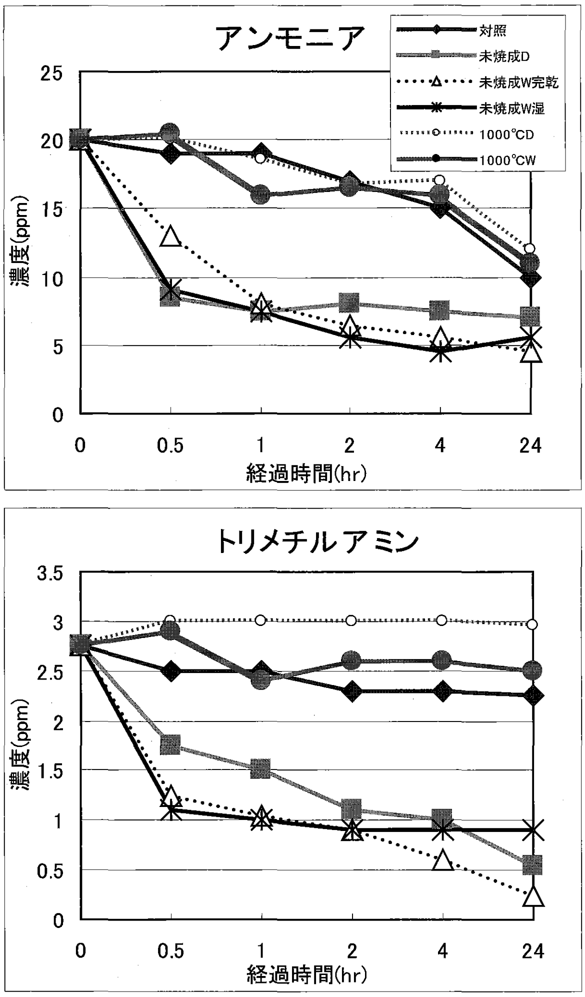


図7　アンモニア・アミン類の経時変化

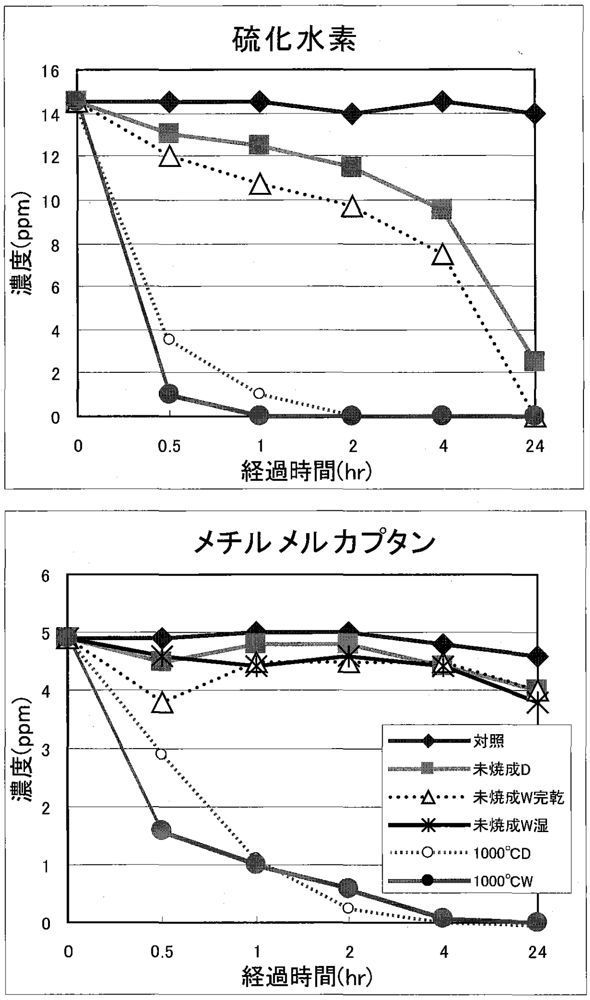


図8　硫化水素・メチルメルカプタンの経時変化

シウム）となってくる温度とほぼ一致することから，この結晶構造上及び化学組成が吸着に影響を及ぼしているものと考えられる。

(3)　標的物質により，その効果に差が見られた。物質によっては，直後から激減するもの，経時的に減少していくもの，ある一定量トラップして，それ以降は効果が変わらないものなど，様々であった。

(4)　HCHOについては，特に未焼成貝でHCHOの分解が確認された。

以上のことから，ホタテ貝殻は機能性を有した建材として，または消臭効果を期待した製品の材料として使用可能な資源であると考えられた。

謝　　辞

本研究を進める上で，国立保健医療科学院生活環境部環境化学室　遠藤治室長はじめ，関係各位の方々にご指導いただきました。ここに深謝いたします。

文　　献

1）山本　明美，他：ホタテ貝殻焼成粉末のホルムアルデヒド吸着・分解作用に関する研究，青森県環境保健センター研究報告，**13**，9－14，2002.

2）シックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会中間報告書その4―第8回及び第9回のまとめ（2002年1月）.

3）吉田　政晴，佐喜　眞幸：固相抽出法-HPLCによる自然食品中のホルムアルデヒドの定量法について，大阪府立公衛研所報，**37**，69－74，1999.

4）平成13年度　青森県産学官共同推進事業　水産加工業から排出されるホタテ貝殻の有効利用に関する研究　青森県工業試験場.

Abstract

Effective Use of Scallop Shells

－Through the Absorbent and Disintegration Actions on Volatile Organic Compounds－

Akemi Yamamoto, Natsuko Tsushima, Chizuko Koizumi, Yukihito Yokozawa, Akira Matsuo, and Akiko Kogawa

In order to add value to scallop shells, a waste product of the fisheries industry in Aomori Prefecture, and encourage people to use them as a precious resource, basic research was conducted on the absorbent and disintegration action of volatile organic compounds (VOC) using the powder of scallop shells. In 2001 it was already verified that the shells show absorbent and disintegration effects on formaldehyde, and a test was also conducted on other VOC this time. This test was done in a small space using the test substance in concentrated amounts because its main goal was to determine whether the substance was truly effective. The result indicated that it largely exhibits an absorbent action on 21 out of 23 kinds of VOC except for formaldehyde.

Key words：VOC（Volatile Organic Compounds）, malodorous substance, scallop shell, sick house syndrome

青森県環境保健センター研究報告　17, 20 - 32, 2006

非積雪期における十和田湖流入河川の降雨時負荷量調査

三上　一

十和田湖では，1986年以降，ＣＯＤが環境基準値（AA類型；1mg/L以下）を超え，透明度の低下が問題となっている。青森県と秋田県が合同で2005年５月１日～11月30日間の十和田湖に流入する主要な６河川および駐車場排水，道路側溝，排水路の負荷量調査を行った。その結果，５mm以上の総降水量は991mmで，総降雨時間15.6日であった。河川流量は晴天時$1.8 \times 10^7 m^3$，降雨時$1.5 \times 10^7 m^3$と見積もられた。晴天時には，リン酸態リン負荷量が卓越していたが，降雨時には宇樽部川，神田川からのSS，ＣＯＤなど土壌由来の粒子状物質の流入負荷量が全負荷量の大半を占めていた。駐車場，道路側溝，排水路からの汚濁負荷は小さかった。一方，比流出負荷量をみると，滝ノ沢川，神田川が大きかった。これは，後背地において崩落地，裸地の拡大に土壌保持能力が低下し，森林，河川などからのノンポイント汚染が増大したことが考えられた。今後，後背地の現地調査により，このことを確認し，降雨時における宇樽部川，神田川の土壌流出防止対策を講ずる必要がある。

key words : lake, river, load, rainfall, non-point pollution.

1．はじめに

湖沼は，水道水源，かんがい用水，工業用水などに利水されるとともに，観光，釣をはじめとするレクレーションの場を提供する貴重な水資源である。また，湖沼は魚，水草をはじめとする多様な生物を育む場であり，良好な湖沼環境を保全することは人間のみならず，生物にとっても重要である。

しかしながら，湖沼は閉鎖性水域で，水が滞留しやすく，水の交換が悪いため富栄養化問題が発生すると水質改善が困難である。

海域，河川および湖沼の水質汚濁の現状を公共用水域の有機物汚濁に係る水質環境基準値の達成率でみると，1983年には海域は79.8%，河川は65.9%，湖沼は40.8%であった。2005年には海域は76.9%，河川は85.1%，湖沼は43.8%で，湖沼の水質改善傾向はみられない（環境省平成18年12月21日報道発表資料による）。

十和田湖は，青森・秋田両県に跨る二重式カルデラ湖で，清澄な湖水と四季折々に移り変わる躍動的な奥入瀬渓流は多くの人々を魅了している青森県内有数の観光地である。

しかしながら，1986年以降，十和田湖のCODは環境基準値（AA類型；1mg/L以下）を超過し，透明度の低下も問題となっている。

この十和田湖の水質悪化は，湖内に過剰に流入する有機物が蓄積されたこと，窒素・リンなどの栄養塩類を植物プランクトンが利用し，増殖する富栄養化に起因するなど様々な要因が考えられる。

湖沼に流入する発生源は，点源負荷と面源負荷に大別される。点源負荷として生活系，事業場系，畜産系，面源負荷として森林，河川，農地，市街地，降雨がある。これらの発生源のうち，十和田湖では，事業場系，畜産系，農地，市街地からの負荷が小さい（表１）。

青森・秋田両県では，十和田湖の水汚濁要因を観光客増加による生活系負荷量の過剰流入によるものとし，十和田湖環境保全特定下水道事業を開始し，1991年４月から一部共用開始をしている（2004年現在；約$7{,}200 m^3$/日）。処理水は暗渠により焼山十和田橋に放流され，湖内には処理水は放流されない。

下水道が未整備であった1980年代中葉から1990年代初頭には観光客の入込み数増加とともにCODの上昇が認められた[1)]が，接続率の向上に伴い，湖内への生活系排水が減少したことから，COD（75%値）は1.2～1.5mg/Lで，ほぼ横ばいか，または，改善傾向にある。これは，十和田湖の水質汚濁が生活系排水の過剰流入に起因し，下水道整備効果の証左の一つと考えられる。

しかしながら，2004年春～夏季にはCODが２mg/L前後，透明度が４m前後と水質悪化が長期間続いた。この要因として，水位変動による湖水中の生物利用可能なリン濃度の上昇による植物プランクトン増殖が考えられた[2)]が，真の要因は不明である。

十和田湖は国立公園内にあり，集水域の98%以上がブナ，ミズナラなどの落葉広葉樹林を中心とする森林で，森林伐採などの開発行為が厳しく制限されているため自然環境が良好に保全されていると考えられてい

る。このため，従来，十和田湖では森林，河川などの面源からの有機物や栄養塩類の湖内への流入が抑制されているとして，面源負荷量に関する調査・研究がまりなされてこなかった。

一方，琵琶湖をはじめとする多くの湖沼では，点源の発生源対策が行われているにもかかわらず期待されたほどの効果があがっていないのが現状である。このことは，森林，河川などの自然系のノンポイント（非特定発生源）汚染が進行し，点源の発生源対策による削減量を上回る面源負荷量が増加しているためと考えられている。また，琵琶湖では，一年間を通した負荷量をみた場合，降雨時負荷量が晴天時負荷量とほぼ同等か，それを上回ることが報告[3]されている。このことは，降雨時の面源負荷量が，湖水に多大な影響を及ぼす可能性を示唆するものである。

十和田湖では，下水道接続率向上により生活系負荷量が確実に減少したが，当初，期待されたほど顕著な水質改善効果が現れていない。これは，下水道整備による生活系負荷削減量に見合うか，上回る面源負荷量が増加し，水質改善が起きなかったと考えられた。

晴天時における降雨，河川，漁獲を対象とした十和田湖の負荷量調査から，十和田湖では，湖面降雨，河川からの面源負荷量が大きいことが明らかになっている。これと同時に行った宇樽部川の降雨時調査では，1降雨時の負荷量が瞬間的に晴天時における全河川負荷量を上回ることが想定された。CODの環境基準値が達成されていた時期は，自然環境が良好に保全されていたため降雨時には流出が抑制されていたが，後背地における裸地や小崩落の拡大がノンポイント汚染を進行させ，降雨時の負荷量が大きくなっていることを示唆[4]するものである。

今後，下水道の接続率のさらなる向上に伴い，生活系負荷量の影響が限りなく小さくなるが，この削減効果を上回る面源負荷が増加し続けるため，十和田湖の水質改善・保全が期待されたほど進まないことが考えられる。

有効な削減対策を講ずるためには，面源発生源を特定し，通年の負荷量収支を明らかにすることが重要である。2005年5～11月に，青森県と秋田県が合同で，十和田湖に流入する外輪山を取り巻く主要6河川及び駐車場排水，道路側溝排水，雨水排水路を対象に降雨時負荷量調査を行った。

今回，この降雨時負荷量調査に至るまでのCODの状況と調査結果について報告する。

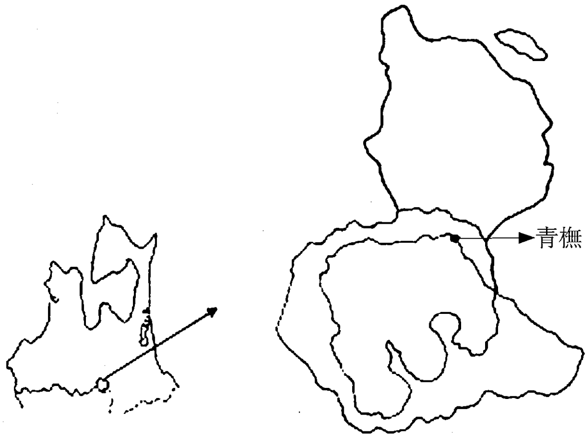


図1　十和田湖の集水域

表1　十和田湖の諸元

成　　因	二重式カルデラ
海抜高度（m）	400
湖　面　積（km^2）	61.06
流域面積（km^2）	67.54
山林面積率（%）	98.4
水田面積率（%）	0.9
畑地面積率（%）	0.3
その他面積率（%）	0.4
宇樽部川（km^2）	13.1
神　田　川（km^2）	3.92
鉛　山　川（km^2）	1.65
大川岱川（km^2）	4.7
銀　山　川（km^2）	2.61
滝ノ沢川（km^2）	1.01
最大水深（m）	327
平均水深（m）	71
湖　周　囲（km）	48.1
湖　容　積（km^3）	4.19
滞留時間（年）	8.5
流域人口（人）	693
戸　　数（戸）	361

1985年青森県調べ

2．十和田湖集水域の概況

十和田湖の集水域は，外輪山を取り巻く十和田湖固

有の集水域と青橅集水域から成っている（図１）。湖岸北東部の青橅において水力発電用取水が行われている。通常，水力発電用として湖水を取取しているが，春季と秋季に水位を確保するため，蔦川をはじめとする11渓流水を湖内に流入している。この11渓流がある集水域が青橅集水域で，湖内に戻している渓流水を逆送水と呼んでいる。

十和田湖周辺の地質･土壌は，約20万年前にはじまる十和田火山活動と密接に関連[6]している。４万３千年前の奥瀬噴火（奥瀬火砕流）により十和田湖から噴出したマグマの量は100億トンで，３万年前の大不動噴火（大不動火砕流）および１万５千年前の八戸噴火（火砕流）でそれぞれ500億トンのマグマが噴出し，十和田湖陥没カルデラが形成された。その後，５千４百年前の中掫（ちゅうせり）噴火では70億トンのマグマが噴出した。

平安時代に書かれた「扶桑略記」の延喜15(915）年の７月の状に，「七月五日甲子。卯時。日无暉。其貌似月。時人奇之。十三日。出羽國上雨灰高二寸諸郷農桑枯之由」[6]（915年８月18日の朝日には輝きがなく，まるで月のようだった。人々はこれを不思議に思った。８月26日になって，灰が降って二寸積もった。桑の葉が各地で枯れたそうだ，と出羽の国から報告があった；日付はユリウス暦に直した，早川より転記）」と記載されている。

この噴火で，50億トンのマグマが噴出し，現在の十和田湖が形成された。1783（天明３）年の浅間山噴火の７億トン，1991年の雲仙岳の４億トンに比べて，格段に多くのマグマが噴出し，過去２千年間に日本で起きた最大の噴火[7]といわれている。

このように十和田湖周辺の土壌･地質は，大量のマグマ噴出を伴う火山活動に起因する火山灰のもろい地層が広がっている。このため，降雨時，融雪洪水時に崩落地や裸地からの土壌が流出しやすいという特性をもつものと考えられる。

また，降雨時調査期間中の集水域の改変として，1989～2006年度に国道103号線の宇樽部～休屋地内間約3.8kmのバイパス工事[8]（うちトンネル部約1.1km；事業費93.3億円）が行われた。1999年度から休屋側（440m），2002年から宇樽部側（750m）で掘削工事が開始され，2006年10月25日に開通[9]した。このバイパス工区のうち，休屋側の工区は神田川流域内にあり，降雨時には汚濁負荷量は神田川に流入する。

３．調査方法

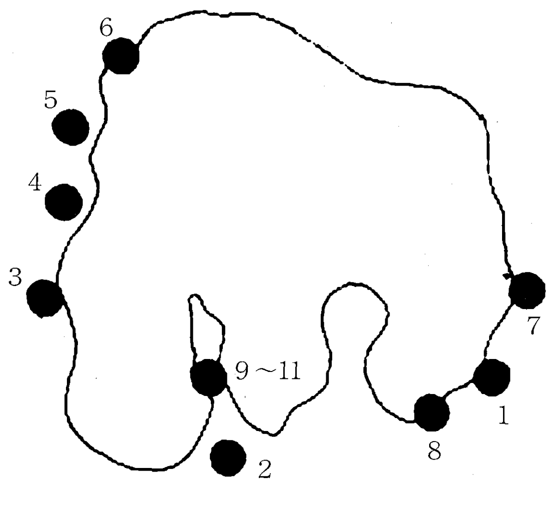
降雨時における調査対象は，青森県は宇樽部川，神田川，子ノ口駐車場排水，宇樽部道路側溝，休屋駐車場排水で，秋田県は鉛山川，大川岱川，銀山川，滝ノ沢川，休屋雨水排水路Ａ，休屋雨水排水路Ｂである（図２）。

降雨時における採水は，青森県は2005年７月４日～６日，2005年10月21日～23日で，秋田県は2005年７月４日～６日，９月13日～15日に行った。

採水は，４回／１降雨の頻度で，可能な限り以下のタイミングで採水した。

オ）降雨前日から降雨直前までの間
カ）降水により河川流量が変化し始めてから流量が最大になった時の中間時
キ）河川流量最大時
ク）河川流量最大時から河川流量の減少変化が穏やかになった時の中間時

なお，採水，分析は東北緑化環境保全㈱に委託した。負荷量解析に対象とした期間は2006年５月１日～11月30日で，晴天時，降雨時における流量，負荷量は佐藤による解析結果[10]を用いた。



１）宇樽部川　２）神田川　３）鉛山川
４）大川岱川　５）銀山川　６）滝ノ沢川
７）子ノ口駐車場　８）宇樽部側溝　９）休屋駐車場
10）休屋排水路Ａ　11）休屋排水路Ｂ

図２　調査地点図

4．結果と考察

4．1　全国の主要な湖沼におけるCODの現状

日本における主要な天然淡水湖沼の水質の現状を有機物汚濁の指標であるCOD（75%）値でみると，十和田湖のCOD値（75%）は1.4mg/Lとなり，全国レベルでは比較的良好な水質であった（図3）。

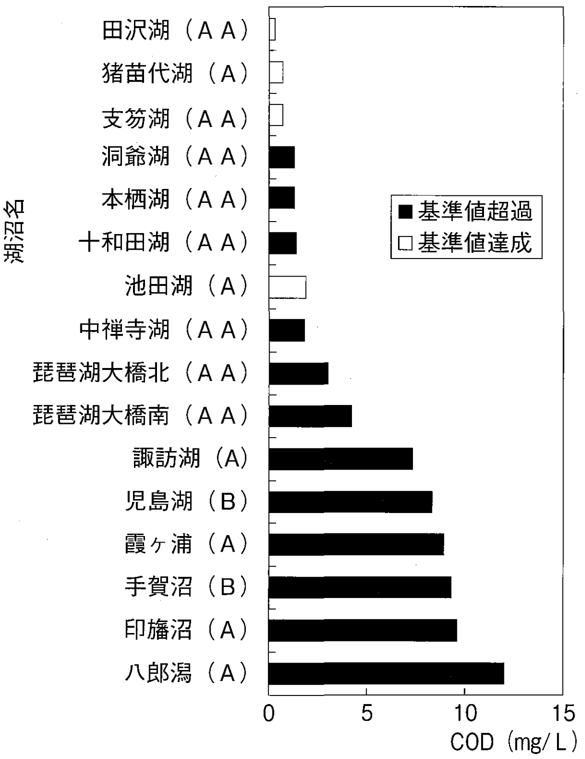


図3　2005年度における主要な天然湖沼のCOD（75%値）の現況（環境省ホームページより作成）

4．2　下水道の接続率

下水道が共用開始された1991年の接続率は27.7%で，1997年は69.9%であった。2005年度末には全体で85.6%になっている。特に，ホテル・旅館，公共施設など民家・住宅よりも規模が大きく，排水量も多いと考えられる施設の下水道接続率が高くなっている。このことから，接続率を上回る生活系の排水量が削減されたと考えられた（表2）。

表2　十和田湖特定環境保全公共下水道の接続率（2005年度末）

区　分	対象戸数	接続戸数	接続率（%）
民家・住宅	200	167	79.5
寮・民宿・保養所	56	51	91.1
食堂・土産店	69	60	87.0
ホテル・旅館	20	20	100.0
公共施設	49	48	98.0
合　計	404	346	85.6

4．3　入込み数とCODの関係

青森・秋田両県では，十和田湖の水質汚濁の要因を観光客増加による生活雑排水，観光由来の排水の湖内への過剰流入として1980年より十和田湖特定環境保全公共下水道事業に着手し，1991年4月1日に一部共用を開始していた。前報において，1973～1995年間の観光客入込み数とCODの関係について検討し，COD上昇の一因として春～秋季における観光客の増加によるもの[1)]とした。下水道の共用が開始されて15年以上が経過していることから，それ以降の経年変化について再検証した。但し，観光客入込み数については，十和田湖八幡平国立公園の入込み数のデータを用いた。これは，十和田湖への観光客入込み数のデータがないためである。ここでは，十和田湖八幡平公園の観光客入込み数と十和田湖観光客入込み数との変動パタンが類似していると見なし，観光客入込み数とCODの経年変化について検討した。

湖心表層におけるCODの年平均値は，ほぼ一貫して上昇傾向にあった。一方，観光客の入込み数は下水道の共用が開始された1991年前後を境にして大きく異なった。1991年以前は，CODと観光客入込み数はほぼ連動して増加していた。しかしながら，下水道共用開始からほぼ10年間の観光客入込み数は減少したにもかかわらず，CODは上昇傾向にあり，CODの経年変化とは連動しなかった。このことから，下水道共用開始後，下水道接続率の向上と観光客入込み数の減少による生活系負荷の削減量を上回る面源負荷量の増加があったと考えられた（図4）。

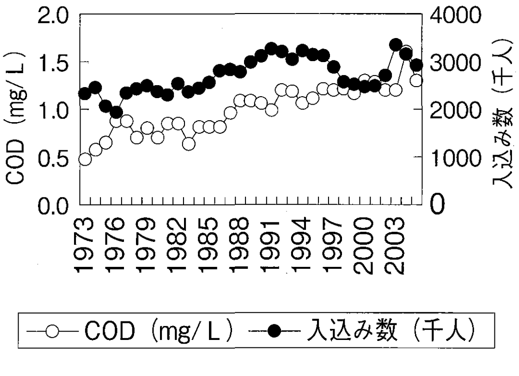


図4　観光客入込み数とCODの経年変化（出典資料：青森県観光統計より作成）

4．4　十和田湖湖心におけるCODと透明度の経年変化（1973年～2005年）

十和田湖では，青森・秋田両県により公共用水域測定計画に従い，4月から11月に月1回の頻度で，湖内9地点において表層と水深5ｍ層で水質測定が行われている。

湖心におけるCODと透明度の経年変化をみると，CODは，観測当初，しばしば，環境基準値（AA類型；1 mg/L以下）を超過する場合もあったが，概ね，低いレベルで推移していた。1986年以降，CODは環境基準値を超過し，特に，2004年春～夏季にCODの悪化が著しかった（図5）。14～13mあった透明度は，漸次低下し，近年では10mを下回る状況にあった。特に，CODの悪化が著しかった2004年春～夏季には透明度の低下が著しかった（図6）。

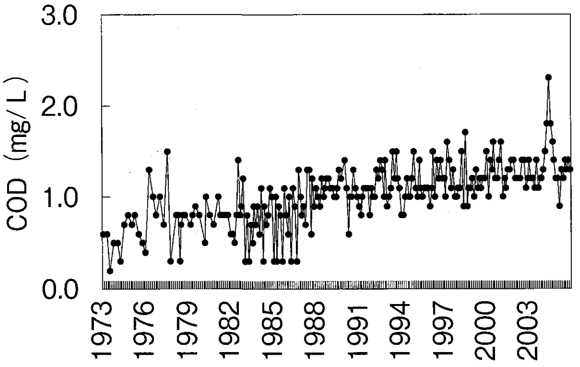


図5　十和田湖湖心におけるCODの経年変化（1973～2005年）

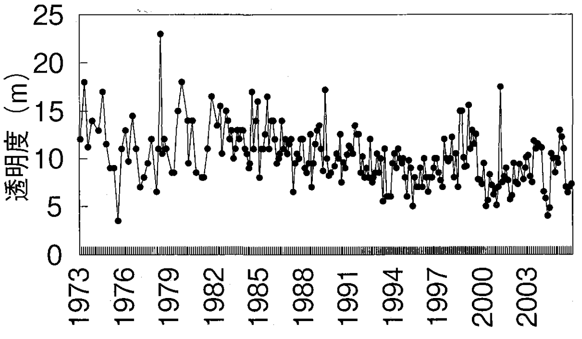


図6　十和田湖湖心における透明度の経年変化（1973～2005年）

4．5　降水量

1996～2005年度における年間総降水量の経年変化をみると，2005年度の総降水量は1,819mmで，ここ10年間では，比較的豊水年であった。月別にみると，2005年6月は降雨量が最小であったが，2005年7月は降水量が最大になったほかは，ほぼ例年並みの降雨状況であった（図7；休屋アメダスによる）。

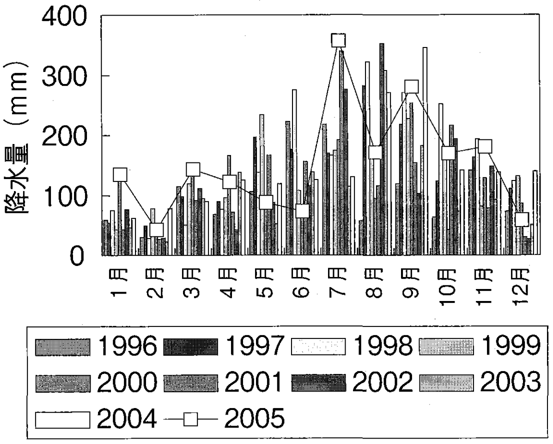


図7　十和田湖休屋における月別の降水量（1996-2005）

今回，負荷量調査対象とした2005年5月1日～2005年11月30日（213日間）における降雨状況を降水量が5 mm以下と5 mm以上に区分して検討した。総降水量1,320mm中，降水量5 mm以上の総降水量は991mm，降雨継続時間は377時間（15.7日）で，全調査期間での降雨時が占める割合は7.4％であった。今回の負荷量調査では，5 mm以上の降雨による降水量は，全降水量の76％であり，降雨時における負荷量収支の実態を良い精度で把握することが出来たと考えられた（図8）。

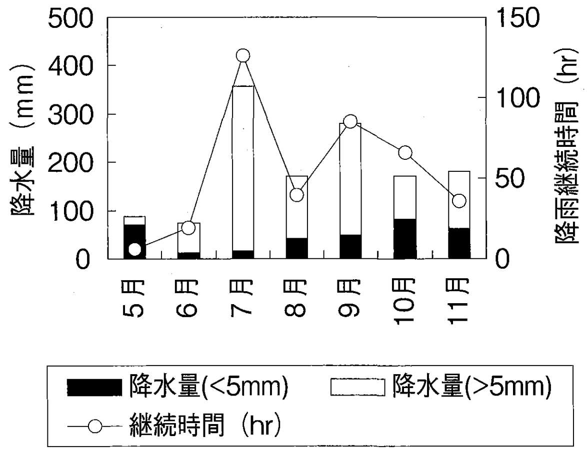


図8　十和田湖休屋における降雨状況（2005.5.1-2005.11.30）

青森県は宇樽部川，神田川，子ノ口駐車場，宇樽部道路側溝，休屋駐車場，秋田県は鉛山川，大川岱川，銀

山川，滝ノ沢川，休屋排水路A，休屋排水路Bを対象に1降雨4回の頻度で，各々2回採水した。採水した降雨毎の降水量，降雨時間をみると，10月の採水は，短時間の少雨であったほかは，150mmを超える大降雨であった（表3）。

表3　降雨時負荷量調査期間の降水量と降雨時間

	採水期間	降水量（mm）	降水時間（時間）
青森県	7/4 − 7/6	180	42
	10/21 − 10/23	31	17
秋田県	7/14 − 7/16	20 3	48
	9/13 − 89/15	153.5	17

4.6　流　量

6河川の総流量は，晴天時はおよそ1,800万m^3，降雨時はおよそ1,500万m^3と見積もられた（図9）。2005年度は豊水年であったことを勘案しても，晴天時と降雨時における河川からの流入水量は晴天時が僅かに上回るか，ほぼ同等と考えられた（図9）。

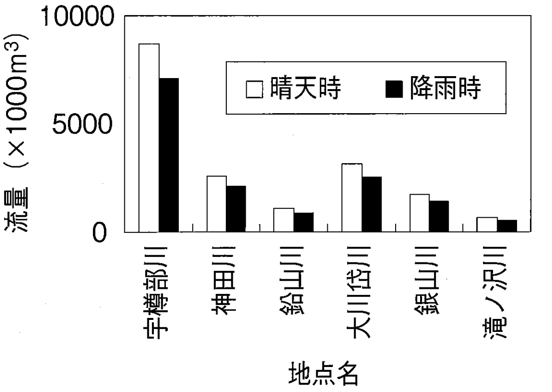


図9　晴天時と降雨時における十和田湖流入河川の流量(2005.5.1-2005.11.30)

4.7　河川水の概要

COD濃度をみると，D-COD濃度の変動幅が小さかったが，P-COD濃度の変動幅が大きかった。特に，7月の滝ノ沢川のP-COD濃度は490mg/Lと高かった。このため，7月の滝ノ沢川のP-COD濃度を10分の1の縮尺で図示した（図10）。

SS濃度は，COD，TN，TPと同様に降雨強度が強くなるとともに高くなる傾向にあった。

CODと同様に7月の滝ノ沢川のSS濃度は5,000mg/Lと著しく高かったため5分の1に縮尺して図示した（図11）。

窒素・リンは，湖沼の富栄養化を招く栄養塩類であるが，硝酸性窒素，リン酸態リンが生物利用可能な形態である。ここでは，窒素を硝酸性窒素（NO_3-N）とR-N（residue nitrogen；TNからNO_3-Nを差し引いた窒素），リンをリン酸態リン（PO_4-P）とR-P（residue phosphorus；TPからPO_4-Pを差し引いたリン）に区分した。

降雨時には，窒素，リンともに懸濁態窒素，懸濁態リン濃度が高くなった。一方，硝酸性窒素は降雨時には濃度が上昇したが，リン酸態リンは濃度が低下する傾向にあり，硝酸性窒素とリン酸態リンの挙動が異なっていた（図12，13）。

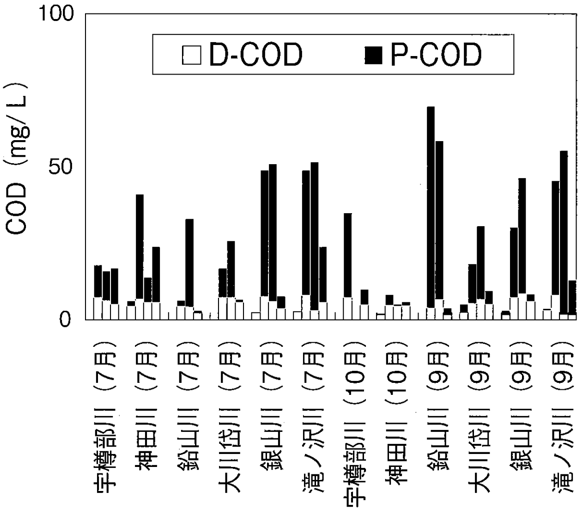


図10　降雨時における河川の形態別COD濃度

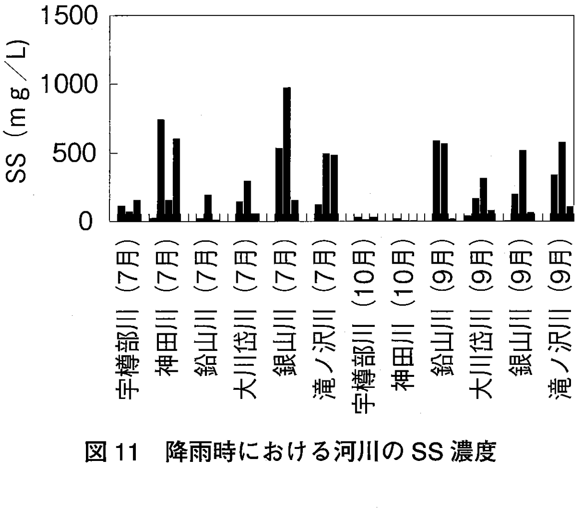


図11　降雨時における河川のSS濃度

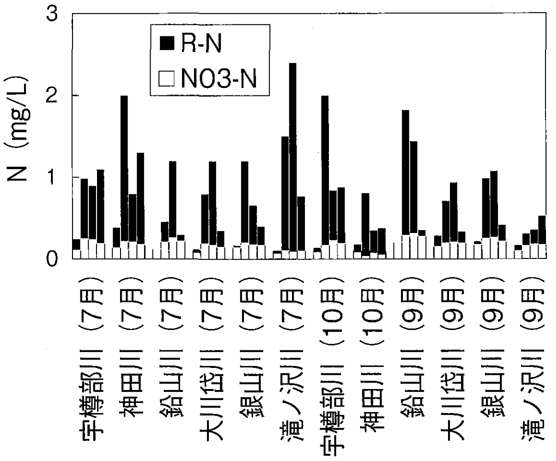


図12　降雨時における形態別窒素の濃度

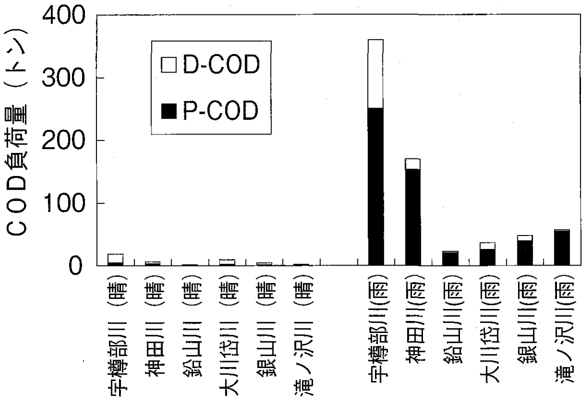


図14　晴天時と降雨時における形態別CODの負荷量（2005.5.1-2005.11.30）

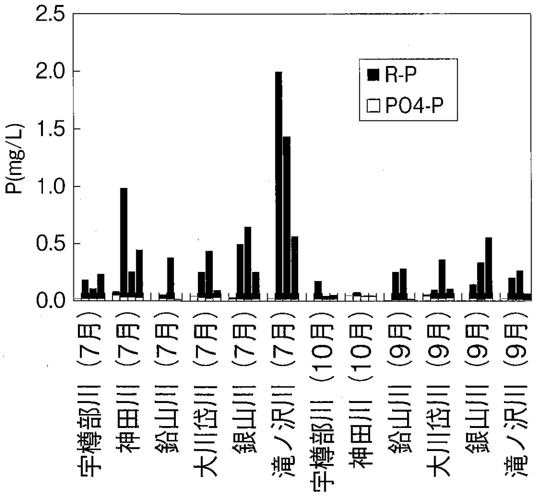


図13　降雨時における形態別リン濃度

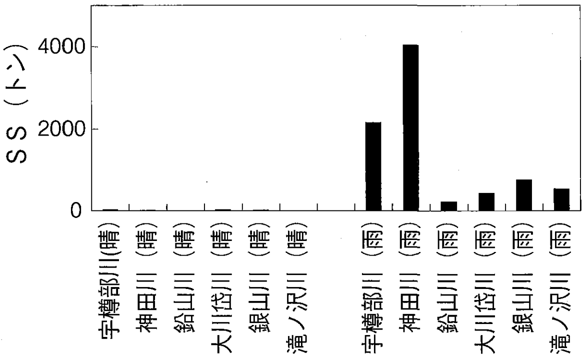


図15　晴天時と降雨時における十和田湖流入河川のＳＳ負荷量（2005.5.1-2005.11.30）

4．8　河川の負荷量調査

晴天時と降雨時における形態別CODの負荷量をみると，晴天時のP-CODは13トン，D-CODは30トン，T-CODは43トンで，降雨時のP-CODは540トン，D-CODは160トン，T-CODは700トンと見積もられた。河川別のT-COD負荷量をみると，宇樽部川と神田川の負荷量が晴天時と降雨時の全負荷量の70%以上を占めていた。降雨時における宇樽部川と神田川のCOD負荷量を形態別にみると，宇樽部川ではD-COD負荷量の割合が大きく，両河川ではCODの構成分が異なっていた(図14)。

晴天時と降雨時におけるSSの負荷量をみると，晴天時は78トン，降雨時は8,100トンと見積もられた。降雨時における河川別のSS負荷量をみると，神田川は4,000トン，宇樽部川は2,100トンで，降雨時での両河川からの負荷量は晴天時と降雨時の全負荷量のおよそ75%を占めた(図15)。

晴天時と降雨時における全窒素と硝酸性窒素の負荷量をみると，晴天時の全窒素負荷量は4,000kg，硝酸性窒素負荷量は1,900kg，降雨時の全窒素負荷量は，28,000kg，硝酸性窒素負荷量は，4,500kgであった。

一方，晴天時と降雨時における全リンとリン酸態リンの負荷量をみると，晴天時の全リン負荷量は600kg，リン酸態リン負荷量は420kg，降雨時の全リン負荷量は7,100kg，リン酸態リン負荷量は260kgであった。河川別の全窒素，全リン負荷量をみると，COD，SSと同様に，宇樽部川，神田川の２河川からの負荷量が大きく，宇樽部川では窒素系成分が，神田川ではリン系成分が卓越していた。しかしながら，生物利用可能な栄養塩類の形態である硝酸性窒素とリン酸態リンに着目してみると，降雨時には硝酸性窒素負荷量が，晴天時にはリン酸態リン負荷量が卓越していた(図16，17)。

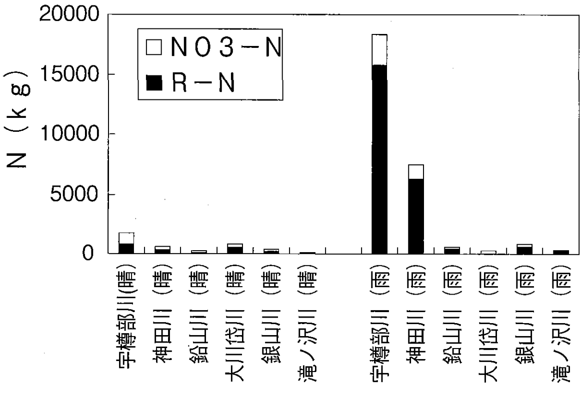


図16　晴天時と降雨時における形態別窒素の負荷量

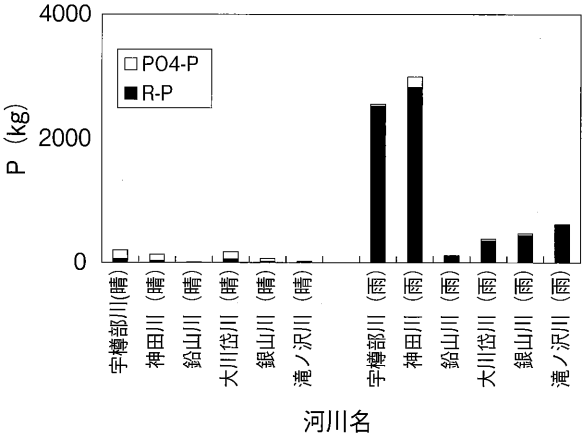


図17　晴天時と降雨時における
十和田湖河川の形態別リンの負荷量

硝酸性窒素とリン酸態リンは植物プランクトン増殖に必要な栄養塩類である。十和田湖では，AGP試験，M-BOD試験から硝酸性窒素が過剰気味で，リン酸態リンが不足気味で(未発表)，植物プランクトンの生産量はリン酸態リンに規定されている。

湖内では，生物間で餌を巡って植物プランクトン→動物プランクトン→魚類という「食う，食われる」の食物連鎖が成り立っており，これらの生産量がリン酸態リンにより決定されることからリン酸態リンの挙動，収支を把握することは重要である。特に，降雨時には神田川のリン酸態リン負荷量の増加が大きいことから，その起源と影響を検討することが必要になろう。

今回，降雨時に硝酸性窒素負荷量が増加し，リン酸態リン負荷量が減少した要因として，以下のことが考えられた。

(1) 降水中には比較的高濃度の硝酸性窒素が含まれており，降雨自体が硝酸性窒素の主要な供給源であること。

(2) リン酸態リンは降水中には殆ど含まれていないため，降雨により希釈されること。

一方，

(3) 硝酸性窒素は土壌粒子などに吸着しないため，土壌中に蓄積された硝酸性窒素が降雨により溶解性物質として流出すること。

(4) リン酸態リンが土壌粒子に吸着し，粒子状物質として流出する割合が大きいことが考えられた。

リン酸態リンの土壌吸着能の証左の一つとして，底質の粒径とC, N, Pを検討した十和田湖底質調査があげられる。この底質調査から，底質中のシルト・粘土分にリン酸態リンが生物利用可能なリンとして堆積していることが確認[11]されている。これは，湖水に流入した河川水中のリン酸態リンが生物に利用される前にシルト・粘土などの微少な土壌成分に吸着・沈降し，底質中に堆積したと考えられた。このことから，降雨時中にリン酸態リンは流下の過程で，土壌成分に吸着することが推察された。

また，リン酸態リンの供給源は，土壌，岩石中の結合が強固なアパタイトリンで，長期間のわたる風化作用によりリン酸態リンが供給[12]され，降雨時に風化作用が急激に進行するとは考えにくく，リン酸態リンの供給量は風化作用を受ける時間に左右されることになる。このため，晴天時と降雨時の水量よりも晴天時と降雨時の時間の影響を強く受けることになる。今回，調査対象とした調査期間中の総降雨時間は15.6日で，全調査期間に占める割合が小さいため，リン酸態リン負荷量が小さかったと考えられた。

4.9　比流出負荷量

降雨時には森林・草地などの面源から流出する負荷量は小さく，畑地などの面源から流出する負荷量が大きいこと，集水域が大きいと負荷量が大きくなることは一般的に見られることである。このため，降雨時の流出量は，面積当たりの負荷量として評価し，比較することが重要である。これを表す指標として，比負荷量(単位面積当たりの負荷量；トン/km^2)がある[13]。

降雨時における形態別COD比負荷量をみると，いずれの河川ともP-COD比負荷量がD-COD比負荷量を上回っており，降雨時には粒子状物質が流出しやすい河川といえる。河川別の比負荷量をみると，滝ノ沢

川が最も大きく，これに神田川が続いていた。宇樽部川からの負荷量が最も大きかったが，これは集水域面積が大きいためである（図18）。

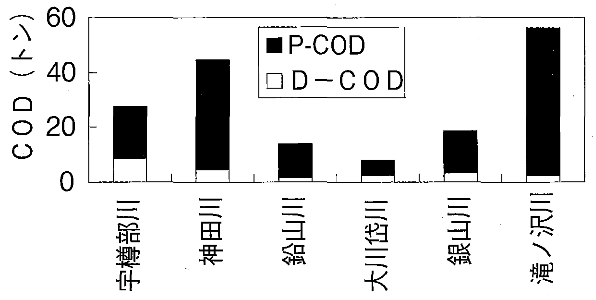


図 18　降雨時における十和田湖河川における形態別ＣＯＤの比流出負荷量

土壌成分の代表的な指標であるSSの比負荷量をみると，神田川が他の河川に比べて大きく，神田川は，降雨時には土壌成分が極めて流出しやすい流域といえる。十和田湖周辺地域の土壌・地質は火山活動に起因し，降雨時には土壌が流出しやすい特性を有すると考えられた。

今回の降雨時負荷量調査期間中，神田川集水域の休屋地内で宇樽部バイパス工事が行われていた。後背地の現地調査では，神田川集水域では，工事に伴う残土が確認されていることから，降雨時には多量の残土が流出したと考えられた。今後，工事終了後はSSをはじめとする土壌流出実態を把握するための降雨時調査が必要である。一方，各形態別のCOD負荷量が最も大きい宇樽部川は，集水域面積が広いためで，比負荷量が小さかった（図19）。

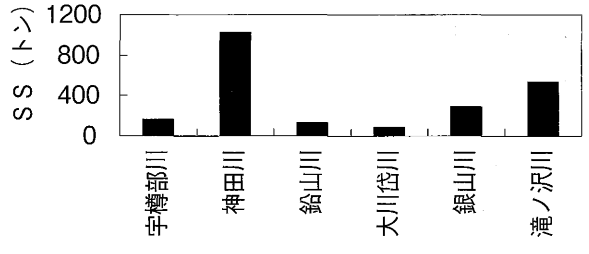


図 19　降雨時における十和田湖河川におけるＳＳの比流出負荷量

1999～2000年に行われた負荷両調査では，降雨時には瞬間的に全河川からの負荷量を上回る可能性があることから，宇樽部川集水域では裸地や崩落地の拡大により土壌が流出しやすい集水域である可能性を指摘した。今回の比負荷量では，宇樽部川の比負荷量は小さいことから，森林などの自然環境が良好に保全されていることが明らかになった。一方，これまで小河川であることからあまり注目してこなかった神田川では，SS比負荷量が他の河川に比べて極めて大きく，SS負荷量も大きいことから早急な土壌流出防止対策が必要である。また，形態別CODとSSの比負荷量をみると，P-COD比負荷量が最も大きい滝ノ沢川では，SS比負荷量が神田川に比べて小さいことから，滝ノ沢川はSS中のP-COD濃度が高い集水域と考えられた。

形態別の窒素，リン比負荷量を指定湖沼と比較すると，窒素比負荷量は汚濁が進行している指定湖沼に比べて小さい傾向にあったが，滝ノ沢川，神田川のリン比負荷量が最も汚濁が進行している手賀沼を上回ることが想定された。十和田湖では，リンが植物プランクトン増殖の制限因子となっている。植物プランクトン増殖による富栄養化防止のうえから，神田川の降雨時土壌防止対策は有効であると考えられた（図20，21）。

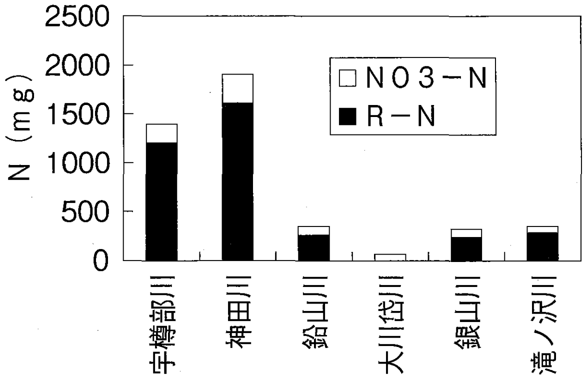


図 20　降雨時における十和田湖河川における形態別窒の比流出負荷量

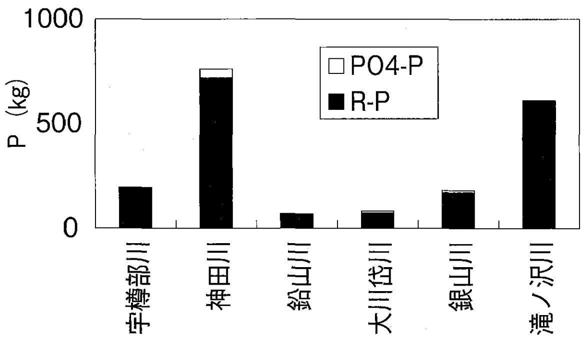


図 21　降雨時における十和田湖河川における形態別リンの比流出負荷量

今後，十和田湖の流入負荷量削減対策として，神田川の降雨時負荷量の削減を如何に行うかが課題となる。また，宇樽部川は，SS比流出負荷量が小さく，自然環境が良好に保全されているが，D-COD比流出負荷量の割合が高く，負荷量も高いのが特徴である。十和田湖では，湖内で難分解性容存有機物の増加がCODの環境基準値超過要因の一つとして考えられていることから，降雨時における宇樽部川のD-COD負荷量の削減対策も考慮に入れるべきである。

十和田湖は清澄な湖水に象徴される湖で，これを実現するために透明度12mを確保することが当面の行政目標として掲げられている。一般的に，透明度は光の散乱と吸収に大きく影響されている。湖水中では，P-COD, SSは植物プランクトンと同様に粒子状物質として振る舞い，光の散乱を招き透明度を低下させる。一方，土壌中には腐食質として着色物質が含まれている。これは，色度として測定される項目である。融雪期における河川調査から，P-CODと色度の間には良い正の相関が認められている。P-COD濃度が高いと腐食質濃度が高くなり，光の吸収による透明度の低下を招くことになる。従来，降雨時における土壌成分流出の抑制は，湖内への有機物や栄養塩類の流入防止効果の観点から論じられてきたが，透明度の確保のうえでも重要である。

また，水道水源として利水される場合，塩素処理をすることが義務づけされている。塩素処理過程で有機物と反応し，発ガン性のトリハロメタンを生成し，新たな問題を発生することになることから，公衆衛生学的な立場からも土壌流入防止対策は重要である。

4.10　排水路，駐車場，側溝排水路の負荷量調査

排水路，駐車場，側溝排水路を対象とした負荷量調査のうち，降雨時に最も負荷量の増加が大きかったSSをみると，河川に比べて極めて小さく，降雨時負荷量の流入による影響は少ないと考えられた（図22）。

4.11　降水および河川負荷量の比較検討

十和田湖の負荷量調査として，1999年7月5日～2000年7月3日における降水，河川および漁獲を対象とした負荷量調査がある。今回，2005年5月1日～11月30日における非積雪期の負荷量調査と比較検討した。

なお，総括表における晴天時の40河川の負荷量は，夏季の晴天時の実測値（測定は1～数回）で，この値を基底値として年換算した値である。また，総括表では，

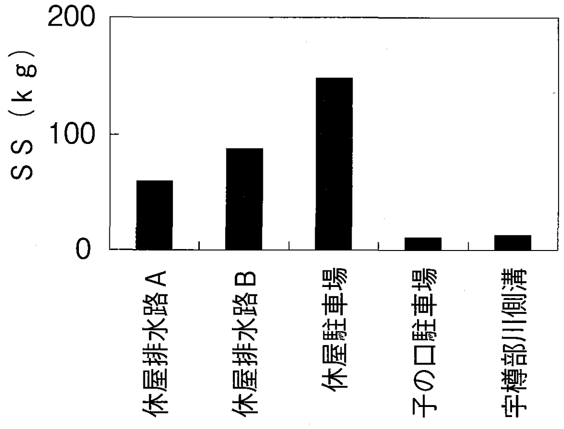


図22　降雨時における排水路、駐車場等におけるＳＳ負荷量

非積雪期の6河川の負荷量を用いたが，十和田湖に流入する年間の負荷量を算定するためには，十和田湖に流入する全河川を対象にし，積雪期，特に，融雪期の負荷量を加味する必要がある。このため，総括表では，十和田湖に流入する年間の負荷量は過小評価していることになる。

成分別の負荷量をみると，T-COD, P-COD, SS, TPの負荷量は，降雨時の宇樽部川，神田川では卓越していた。一方，生物利用可能な栄養塩類の形態である硝酸性窒素は降水が，リン酸態リンは晴天時の河川が主要な供給源と考えられた（表4）。

十和田湖の水質改善・保全に向けた負荷量削減対策を構築するためには，何をターゲットとし，どれだけの量を削減するのかが問題である。総括表からみると，当面，宇樽部川，神田川における降雨時のCOD, SSの負荷量が著しく増加することから，これら2河川を対象とした削減対策が必要である。特に，宇樽部バイパス工事が行われた神田川集水域では，工事に伴う影響が大きいと考えられることから早急な修復対策を要する。また，どれだけの量を削減すれば良いのかは，湖内に流入する成分は様々な過程を経て変化することから定量化が困難である。

1985～1986年に行った休屋，宇樽部，子ノ口地域の特定事業所を対象とした排水調査では，事業場から湖内に放出される年間の負荷量は，CODは4.14トン，SSは2.92トン，TPは0.135トン，TNは0.93トンで，単純拡散による湖水濃度の上昇はCODで0.0041mg/Lと見積もられ，汚濁の進行させる要因となることが指摘さ

表4　十和田湖流入河川および降水からの負荷量の総括表

項目	単位	降水（湖面）	晴天時（40河川）	晴天時（6河川）	降雨時 6河川	降雨時 宇樽部川	降雨時 神田川	降雨時 その他
総降水量	（mm）	1,560	−	−	991	−	−	−
降雨時間	（時間）	−	−	−	377	−	−	−
総流量	（×万 m^3）	9,530	5,240	1,800	1,500	710	210	580
T-COD	（トン）	280	100	43	700	360（52%）	170（24%）	170（24%）
P-COD	（トン）	80	26	13	540	250（46%）	150（28%）	140（26%）
D-COD	（トン）	200	74	30	160	110（69%）	17（11%）	33（20%）
TOC	（トン）	−	−	19	79	49（62%）	0.95（1.2%）	29（36.8%）
DOC	（トン）	−	−	16	72	45（63%）	16（22%）	11（15%）
SS	（トン）	480	150	78	8,100	2,100（26%）	4,000（49%）	2,000（25%）
TN	（kg）	79,000	9,100	4,000	28,000	18,000（66%）	7,500（27%）	2,500（7%）
DTN	（kg）	70,000	5,800	3,000	7,700	4,900（64%）	1,800（23%）	1,000（13%）
NO_3-N	（kg）	31,000	3,900	1,900	4,500	2,600（58%）	1,200（27%）	1,500（15%）
TP	（kg）	2,200	1,700	600	7,100	2,500（35%）	3,000（42%）	1,500（23%）
DTP	（kg）	1,200	1,400	500	310	71（39%）	170（55%）	69（6%）
PO_4-P	（kg）	820	1,200	420	260	30（11%）	170（65%）	60（24%）

注1）（　）内の数字は，降雨時における総負荷量に対する宇樽部川，神田川及その他の河川の寄与率
注2）降水（湖面）および晴天時（40河川）の負荷量は1999年7月5日～2000年7月3日の負荷量，その他の負荷寮は2005年5月1日～11月30日の負荷量である。

れている[14)]。

降雨時にCODが100トン流入し，単純拡散した場合，COD濃度の上昇濃度は0.24mg/Lとなる。非積雪期の6河川を対象とした降雨時負荷量調査では，T-CODが700トン，D-CODが160トンと見積もられ，事業場からの生活系負荷量を大幅に上回っている。

CODと観光客入込み数の経年変化から，下水道の共用開始前後を境にして，CODと観光客入込み数が連動せず，ノンポイント汚染拡大の可能性を指摘した。生活系と降雨時河川の負荷量から，僅かの降雨時河川負荷量の増加が下水道処理による削減量を上回ったことは充分に考えられることである。今後，宇樽部川，神田川を対象とした降雨時負荷量削減対策を講ずることが課題である。効果的な対策を講ずるためには，費用対効果のうえから必要最小限の削減量を算定することが重要である。当面，宇樽部川，神田川を対象とした流量，水質の連続測定による負荷量把握のためのモニタリング体制の構築が必要になろう。このことは，対策を講じた後の効果を検証する上でも，重要である。

5．まとめ

十和田湖では，1986年以降，CODが環境基準値（AA類型；1mg/L以下）を超過し，透明度の低下が問題となっている。十和田湖の水質の改善・保全に向けた負荷量削減対策として下水道整備事業を整備し，下水道接続率が向上したにもかかわらず，環境基準値をクリアできていない。この要因として，下水道整備による生活系負荷量の削減量を上回る面源負荷量が湖内に流入していると考えられる。

今回，非積雪期である2005年5月1日～11月30日に外輪山を取り巻く主要な6河川と排水路，駐車場，側溝を対象に降雨時負荷両調査を行った。

その結果，

(1)　CODと観光客入込み数の経年変化から，下水道が共用開始された前後では汚濁発生源が生活系から面源へと変化したことが示唆された。

(2)　調査期間中の総降水量は1,320mmで，5mm以上の総降水量991mm，継続降雨時間15.7日であった。

(3) 河川流量は，晴天時は1,800万m³，降雨時は1,500万m³と見積もられた。

(4) 降雨時ではCOD, SS, TN, TPなどの懸濁態成分濃度の上昇が著しかった。

(5) 降雨時には，硝酸性窒素濃度は上昇するが，リン酸態リン濃度は低下する傾向にあった。

(6) 晴天時のP-CODは13トン，D-CODは30トン，T-CODは43トンで，降雨時のP-CODは540トン，D-CODは160トン，T-CODは700トンと見積もられた。

(7) 晴天時のSSは78トン，降雨時は8,100トンと見積もられた。

(8) 晴天時の全窒素負荷量は4,000kg，硝酸性窒素負荷量は1,900kg，降雨時の全窒素負荷量は28,000kg，硝酸性窒素負荷量は4,500kgであった。

(9) 晴天時と降雨時における全リンとリン酸態リンの負荷量をみると，晴天時の全リン負荷量は600kg，リン酸態リン負荷量は420kg，降雨時の全リン負荷量は7,100kg，リン酸態リン負荷量は260kgであった。

(10) 宇樽部川と神田川からのT-COD, P-COD, SS, TN, 硝酸性窒素, TPの負荷量は，全負荷量の大半を占めていた。

(11) リン酸態リン負荷量は，晴天時に卓越していた。

(12) 比流出負荷量は，滝ノ沢川，神田川が大きく，宇樽部川は小さかった。

(13) 神田川の比流流量が大きいのは，宇樽部バイパス工事の影響と考えられた。

(14) 宇樽部川，神田川からの降雨時負荷量が大きいことから降雨時における土壌流出防止対策を講ずる必要がある。

(15) 駐車場，道路側溝，排水路から負荷量は河川に比較して極めて小さかった。

以上，十和田湖の水質改善・保全には，降雨時における宇樽部川と神田川の土壌流出対策を講ずることが明らかになったことは大きな成果といえる。特に，神田川は十和田湖周辺地区では住民，観光客が最も多い休屋地区にあること，その汚濁要因がバイパス工事に起因していると考えられることから早急な費用対効果を考慮した削減対策が必要と考えられた。

有効な削減対策を打ち立て，その効果を検証するためには通年の負荷量収支を把握することが課題である。

文　献

1）三上　一 他：十和田湖における透明度と生物群集の変遷，青森県環境保険センター研究報告，8，15－26，1997.

2）十和田湖の水質に及ぼす水位の影響，青森県環境保健センター研究報告，15，31－43，2004.

3）滋賀県琵琶湖研究所：滋賀県琵琶湖研究所プロジェクト研究報告書　No. 01-A01　湖内現象を考慮したノンポイント負荷量削減対策の検討，Vol. 2，1．赤野井湾流入河川雨天時汚濁負荷量調査結果，2．プロジェクト研究会講演資料，2002年3月.

4）三上　一 他：十和田湖の負荷量調査（1999～2000年），青森県環境保健センター研究報告，11，21－36，2000.

5）日本水産資源保護協会編：湖沼環境の基盤情報整備事業報告書―豊かな自然環境を次世代に引き継ぐため―十和田湖平成16年3月.

6）黒坂　勝美・国史大系編集会編：国史大系―扶桑略記・帝王編年記，188，吉川弘文館，2003.

7）早川　由紀夫：十和田湖の成立ちと平安時代に起こった大噴火，日本の自然　地域編　2　東北，58－60，1997，岩波書店.

8）東奥日報：十和田湖畔・宇樽部トンネル開通，2004年2月9日(月)付け.

9）東奥日報：宇樽部バイパスが開通，2006年11月25日(土)付け.

10）秋田県健康環境センター：平成17年度十和田湖流入河川降雨時負荷量調査解析結果，平成18年11月.

11）三上　一 他：粒径組成とC, N, Pからみた十和田湖の底質環境（1999），青森県環境保健センター研究報告，12，21－30，2001.

12）若松　孝志 他：わが国における渓流水のリン濃度の実態とその規定要因，電力中央研究所報告，平成18年6月.

13）田淵　俊雄：湖の水質保全を考える　霞ヶ浦からの発言，151－168，技報堂出版，2005. 水木　靖彦：十和田湖における水収支の現状と課題，平成18年2月.

14）根岸　勝信 他；十和田湖周辺事業場の排水調査，青森県公害センター所報第8号，98－104，1987.

Abstract

A Survey on the Pollution Load during Rainfall of the Rivers Flowing into Lake Towada in the Snowless Season

Hajime Mikami

The COD level in Lake Towada has been exceeding the environmental limit (AA type; less than 1 mg/L) since 1986, and the decreased degree of clearness has become a problem. The Aomori and Akita prefectures carried out jointly researches on the pollution load of six major rivers flowing into Lake Towada, parking drainage, road gutters, and drains during May 1 to November 30 in 2005. Rainfall of 5 mm or above totaled 991 mm and the total period of rainfall was 15.6 days. The river flow rate was estimated to be 1.8 × $10^7 m^3$ during fine weather and 1.5 × $10^7 m^3$ during rainy weather. In fine weather the load of phosphate-phosphorus was distinctly heavy, but in the rain the influx load of soil-derived particulate matter including the SS and COD from Utarube River and Kanda River constituted a majority of the total load. The burden from parking lots, road gutters, and drains was light. Meanwhile, as for the specific effluent load, Takinosawa River and Kanda River were overloaded. This is attributed to that fact that the hinterland's diminished soil-retaining ability with the expansion of landslides and vegetation removal caused an increase in the non-point source pollution of woods and rivers. It will be necessary in the future to confirm this with an on-site survey of the hinterland and take measures to prevent soil flowage in the Utarube River and Kanda River during rainy weather.

Key words : lake, river, load, rainfall, non-point pollution.

Ⅱ ノ　ー　ト

青森県環境保健センター研究報告　17, 33 - 37, 2006

下痢症患者由来カンピロバクター属菌の発生状況と遺伝子学的解析

桜庭　恵　　和栗　敦　　澤田　譲　　阿部　幸一

定点機関で分離されたカンピロバクター属菌相互の関連性を把握し，カンピロバクター食中毒予防の一助とするために発生状況調査と遺伝子学的解析を行った。その結果，散発事例の下痢症患者由来カンピロバクター属菌では血清型やパルスフィールド・ゲル電気泳動法（PFGE）の泳動パターンに相似性はみられなかった。県内では様々な型のカンピロバクター属菌が浸潤し，原因食品も多種類にわたっていることが推測された。

Key words：下痢症患者，カンピロバクター属菌，PFGE

1．はじめに

青森県環境保健センターでは，細菌検査施設を有する医療機関及び民間臨床検査センターのうち，地域別に10ヶ所の定点機関から病原菌の検出状況を収集して統計的解析を行い，毎週「病原微生物検出情報」としてWeb上で公開している。

このなかで，カンピロバクターの検出数増加がみられ（表1），さらに，当該菌による食中毒事件も発生している。

今回，定点機関で分離されたカンピロバクター属菌相互の関連性から，下痢症の感染源を探り，下痢症の発生防止・食中毒予防の一助とするために，遺伝子学的手法を用いて，詳細な菌株の解析を実施した。

表1　県内における各病原体の年別検出数

	腸炎ビブリオ	サルモネラ属菌	カンピロバクター
2002	110	182	444
2003	78	537	501
2004	104	226	545
2005	82	148	560
2006	41	167	594

青森県病原微生物検出情報より

2．検査材料および方法

1）検査材料

定点機関のうち最も報告数の多い，社団法人弘前市医師会成人病検診センター（表2のC機関）で，2005年6月から2006年3月までの期間に分離された下痢症患者（散発事例）由来カンピロバクター属菌219株を検査材料として用いた。

また，集団食中毒事例で分離された36株（*Campylobacter coli* 5株含む）も解析に供した。

2）PCR法による菌種の同定

マルチプレックスPCR法[2]によりカンピロバクター属菌特異的遺伝子の検索を行った。検索遺伝子は，ヒトからの検出率が高くカンピロバクター腸炎の原因菌である*Campylobacter jejuni/coli*の菌種特異的遺伝子を対象とした。

3）血清型別

耐熱性抗原によるPennerの型別法に準拠した市販血清，カンピロバクター免疫血清「生研」（デンカ生研）を用いた。

4）PFGE[1]法による解析

制限酵素*Sma* I処理後にPFGE解析を行った。

表2　定点機関別カンピロバクター検出数

機関名	2004年	2005年
A	18	19
B	89	115
C	315	303
D	1	0
E	48	61
F	6	1
G	31	24
H	8	10
I	10	9
J	19	18
計	545	560

PFGE装置はCHEF DR Ⅲ (Bio-Rad),

条件は6.0V/cm, 6.76－35.38秒, 18時間, Buffer温度14℃, 1％SeaKem Gold Agarose×0.5TBEで泳動した。

画像解析ソフトにはFingerprinting Plus (Bio-Rad) を用いて系統樹を作成した。

3．結　　果

1　発生状況

1）月別分離状況（図1）

すべての月で分離されたが特に夏季に多く，他の菌の分離が少なくなる冬季にも発生がみられた。

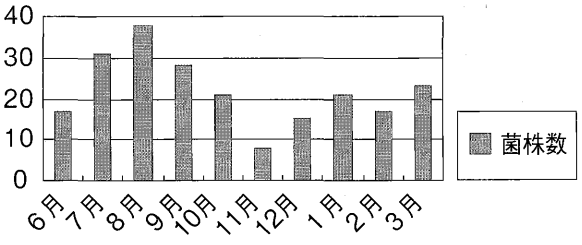


図1　月別分離状況

2）性別分離状況（図2）

女性44％男性56％で，男性がやや多かった。

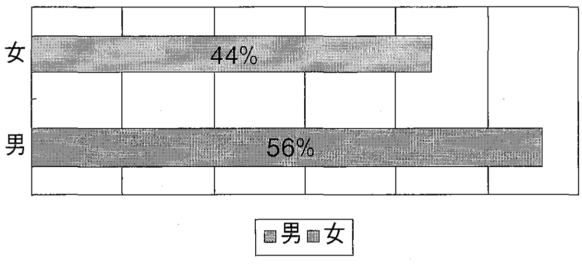


図2　性別分離状況

3）年齢別分離状況（図3）

0～9歳が16％，10～19歳が23％，20～29歳が30％，30歳以上が31％であった。

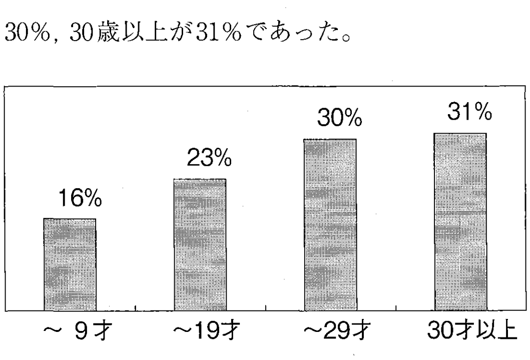


図3　年齢別分離状況

4）年齢と性別（図4）

0～9歳では男女ほぼ同数，10～19歳では男性が70％，20～29歳では同じく男性が61％。30歳以上では女性が59％であった。

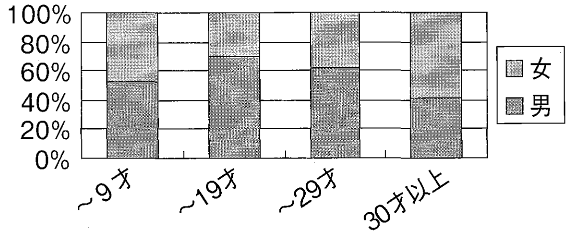


図4　年齢と性別

2　PCR法による菌種の同定

219株中*C.jejuni*が180株（80％），*C.coli*が41株（20％）であった。

*C.jejuni*と*C.coli*が混在していた検体が2株あった（一例を図5に示す）。

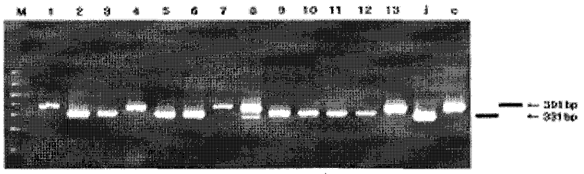


図5　PCR法による菌種の同定
M：Bio Marker Low
1～13：検体　8：2菌種混在
j：*C.jejuni*　c：*C.coli*

3　血清型

散発事例由来株は，23の血清型に型別された。

型別された中ではR群がもっとも多く24株（11％），次いでC群･F群19株（8.7％），A群16株（7.3％），O群15株（6.8％），Y群13株，B群･J群10株，D群9株，G群6株，L群･Z6群4株，E群･Z5群3株，K群･Z2群2株，さらにI･N･P･U･Z･Z4･Z7群が1株ずつであった。型別不能株は64株（29.2％）であった。

集団食中毒事例分離株の血清型は，*C.jejuni* 31株で実施し，3事例19株がD群，1事例12株がF群であった。各事例由来株はそれぞれ同一の血清型を示した。

4　PFGE法による解析

散発事例では，同じ血清型であってもPFGEパターンは多様であった（図6　1～5，右端の数字は，受付順の菌株番号）。

それに対して，集団食中毒事例分離株では，血清型とPFGEパターンは同一であった（図7～9）。

4．考　　察

カンピロバクターによる散発性の下痢症患者は，近年多数発生している。集団食中毒発生時にはPFGE解析を実施するが，散発の下痢症患者由来株の解析は通常行われない。そこで今回，検査機関に協力を依頼し菌株を収集して解析を実施した。

集団事例では，事例毎に一致した血清型やPFGEパターンを示すので，散発事例においてもある特定の血清型が分離され，さらに，それぞれの血清型で同一のパターンを示すと予想した。しかし，散発事例は多くの血清型に分類され，同じ血清型であってもPFGEパターンが一致することは，まれだった。散発事例で一致するパターンを示す場合には，何らかの共通原因があることは想定できるが，残念ながら今回の調査では，多様なパターンからその感染源や由来を特定するまでには至らなかった。

今回の調査で，PFGEが集団事例の解析に有用で，菌株相互の関連性を明確にできることが裏付けられた。散発事例においても，もっと多くのデータを集積できれば，感染源特定の可能性がある。

現時点では，食品のカンピロバクター汚染をゼロにすることはできないので，ヒトへの感染防止のために，基本的な食中毒予防対策を再認識することが重要である。一般的な3原則，つけない・増やさない・殺菌する，のほかにカンピロバクター対策として，「焼く箸」と「食べる箸」を区別する・肉やレバーなどの内臓は十分に加熱する・子供や高齢者，抵抗力の弱っている方は生肉（とりわさ・たたき・ユッケのような生に近い状態も含む）などを食べない・未消毒の水は飲まない，という点を心がけなければならない。

全国集計では*C.jejuni*が97%を占め*C.coli*は非常に少ない[3]とされているのに比べ，今回の調査で散発性の下痢症患者から*C.coli*が20%分離された。*C.coli*は，*C.jejuni*よりも環境での抵抗力が弱いとされている[4]。その*C.coli*が分離されたことは，低温管理や真空包装等の，品質保持における技術の進歩及び流通の迅速化が，カンピロバクターの生存性に好都合の条件を与えていることを示唆している[5]。

今回の調査で，様々な血清型やPFGEパターンを持つカンピロバクター属菌が浸潤し，原因食品も多種類にわたっていることが推測された。いわば，カンピロバクターは食生活の中に入り込んでいて，いつ自分が下痢患者になってもおかしくない状況であるといえる。我々は，正しい知識で対処していかなければならない。

最後に，病原微生物検出情報提供や菌株収集に協力していただいた，定点機関の細菌検査担当者各位に深謝いたします。

文　　献

1）伊藤喜久治：我が国におけるパルスネット構築のための緊急研究，平成10年度厚生科学研究費補助金〈新興・再新興感染症研究事業〉分担研究報告書，51－56（1999）

2）John D. Klena, Craig T. Parker, Krista et al.：*J. Clin. Microbiol.*, **42**, 5549－5557(2004)

3）カンピロバクター腸炎1995－2005，病原微生物検出情報，27, 7(2006)

4）阪崎利一編集：食水系感染症と細菌性食中毒，中央法規，336－356

5）高木昌美：鶏病研報，38増刊号，25－34,（2002）

図6－1
R群

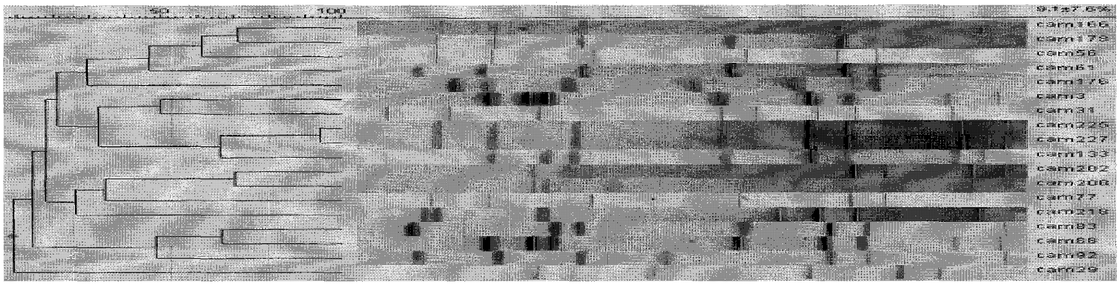


図6－2
C群

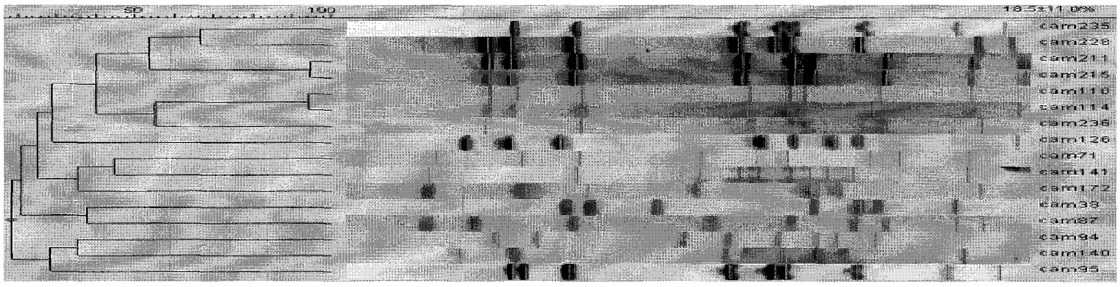


図6－3
F群

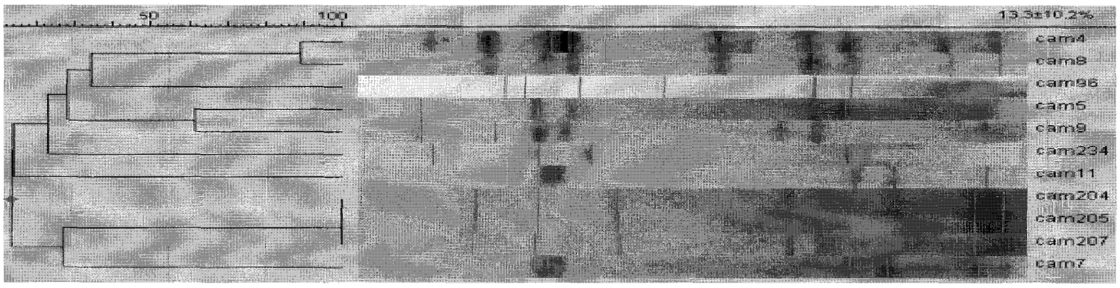


図6－4
A群

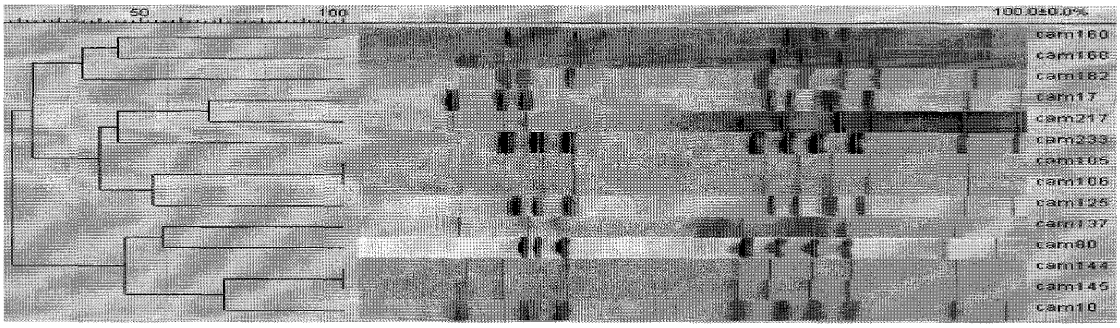


図6－5
O群

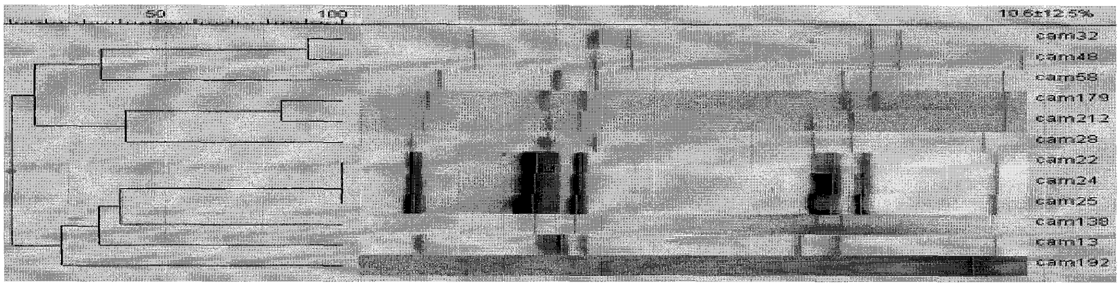
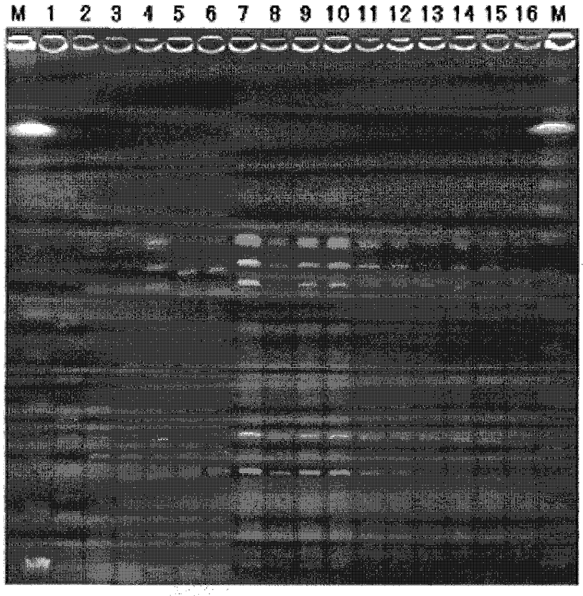


図6　散発事例由来株のPFGEパターン



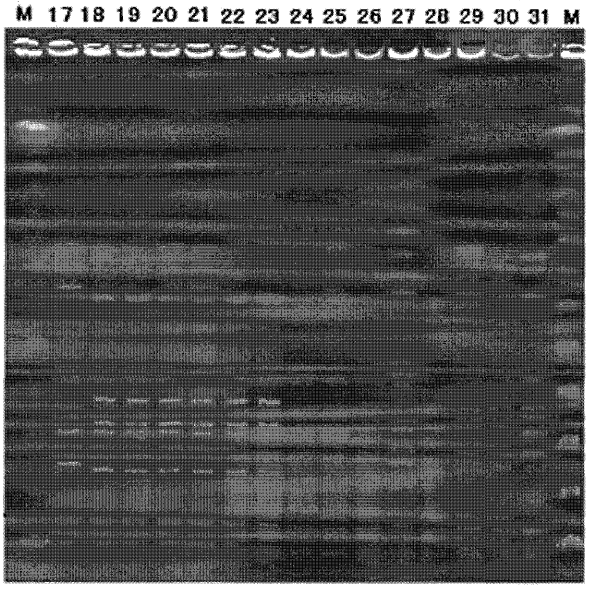


図７　集団事例と散発事例のPFGEパターン
M：λ ladder BIO-RAD
１：2005　３月分離*C.coli*
２～４：2005 ４月散発事例
５･６：2005 ７月集団事例（原因食品：バーベキュー）
７～１６：2005 ４月集団事例（原因食品：不明）
17：2005 ４月集団事例（原因食品：不明）
18～23：2005 ８月集団事例（原因食品：不明）
24～31：2005~2006 散発事例（血清型Ｄ群）

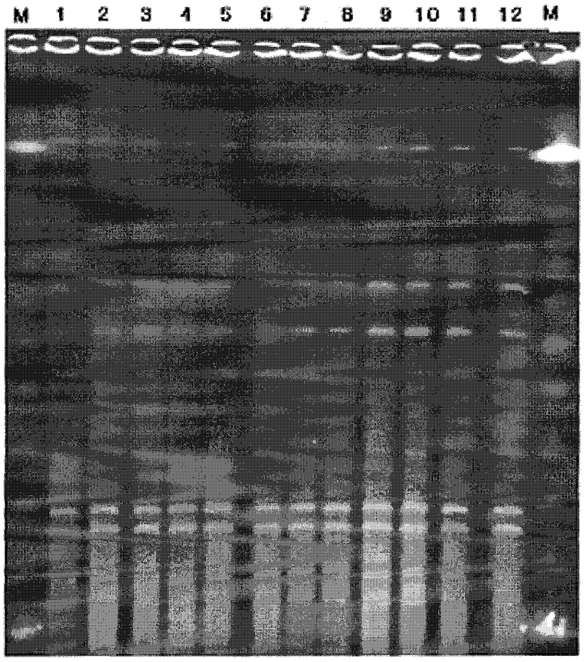


図８　集団事例　2006　６月
血清型：Ｆ群（原因食品：不明）
M：λ ladder BIO-RAD
１～10　：患者
11･12：水

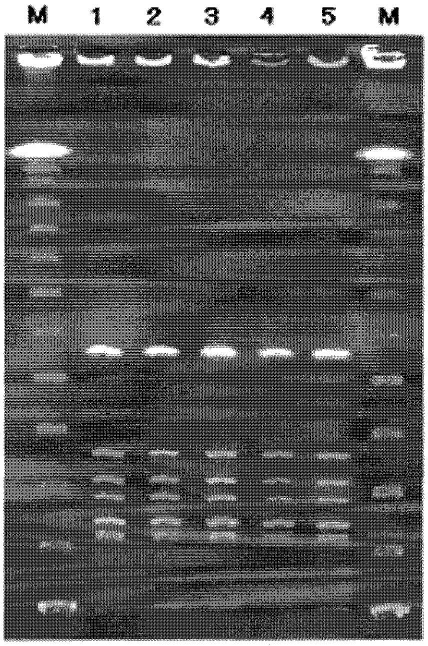


図９　*C.coli*による集団事例　2006　12月
原因食品：焼肉･牛レバー･ユッケ
M：λ ladder BIO-RAD
１～３：患者
４　：保菌者
５　：レバー

青森県環境保健センター研究報告　17, 38 - 43, 2006

食品苦情事例（平成16年度～平成17年度）

工藤　志保　　山本　明美　　木村　淳子　　村上　淳子　　三浦　啓徳　　古川　章子

平成16～17年度における食品苦情事例について取りまとめた。異味・異臭がした学校給食については，原因物質を特定するには至らなかった。異臭がした米からは，精米機の消毒用に使用されたクロルピクリンが検出された。また，自家製豆腐による食中毒については，豆腐から農薬のエンドスルファンが高濃度で検出された。一方，クロルピクリン中毒が疑われた採卵鶏については，死亡した鶏の肝臓，肺，羽毛，卵からクロルピクリンは検出されず，生体内で分解及び揮散されたものと推測された。

Key words：nasty smell milk, nasty smell rice, chloropicrin, endosulfan

1．はじめに

当センターは，保健衛生の向上及び生活環境の保全に係る試験検査及び調査研究に加え，地域における健康危機管理センターとしての役割も担っている。したがって，食品等を媒体とする健康危機被害が疑われる事例が発生した場合には，原因物質の分析・特定等の迅速な対応が求められる。しかし，限られた情報をもとに，膨大な化学物質の中から原因物質を特定することは大変難しい問題である。

今回は，平成16年度～平成17年度に当センターに分析依頼のあった食品苦情事例について取りまとめたので報告する。

2．事例1　給食牛乳の異臭

2.1　概　要

平成16年9月13日，学校給食を食べた小学生6名が吐き気，のどの痛み，手のしびれを訴えて医療機関を受診しているとの連絡が保健所に入った。これらの生徒は給食を食べてから15～40分後に発症しており，また，発症した生徒のうち数名が給食時の牛乳の異臭を訴えていたことから，給食に出された紙パックの牛乳（200ml入り）の異味，異臭について検査することになった。

また，その後の調査により，同じ日に同じ製造所の牛乳を飲んだ県内の小・中学校合わせて12校において，吐き気，のどの痛み（違和感），腹痛，発熱（～38℃）等の症状を訴えた生徒及び教師が75名，牛乳に異臭を感じた人は445名に達していたことが判明した。なお，医療機関を受診した患者の便から食中毒菌は検出されていないとのことであった。

さらに，4日後の9月17日にも同様に，学校給食に出された同じ製造所の牛乳の異臭により，体調不良を訴えた生徒3名が医療機関を受診しているとの連絡が入り，その飲み残し検体についても異味，異臭の検査を行った。

2.2　調査方法

(1)　試　料

ア　9月13日に医療機関を受診した生徒が飲み残した開封済の牛乳及び同じ製造ロットの未開封の牛乳（検体①）

イ　9月17日に医療機関を受診した生徒が飲み残した開封済の牛乳及び異臭を感じたと訴えた生徒が飲み残した開封済の牛乳（検体②）

(2)　検査項目及び検査方法

ア　官能試験：におい等についてセンター職員で確認

イ　残留塩素：Rupp-Wode法（オランダ公定法）[1]（図1）。対照品として別の製造メーカーの牛乳（以下対照品）に次亜塩素酸ナトリウムを添加したものについて同様に操作，検体溶液と色調を比

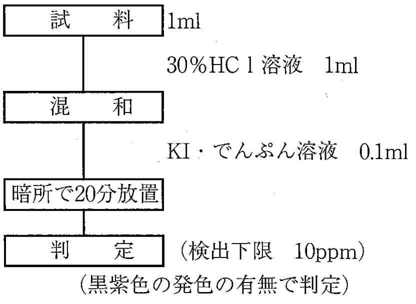


図1　牛乳中の残留塩素検査法

較した。

ウ　水素イオン濃度(pH)

PHメーター(HORIBA pH/IONMETER F-23)により測定した。

エ　陽イオン界面活性剤検査:エオシン法[2)](図2)

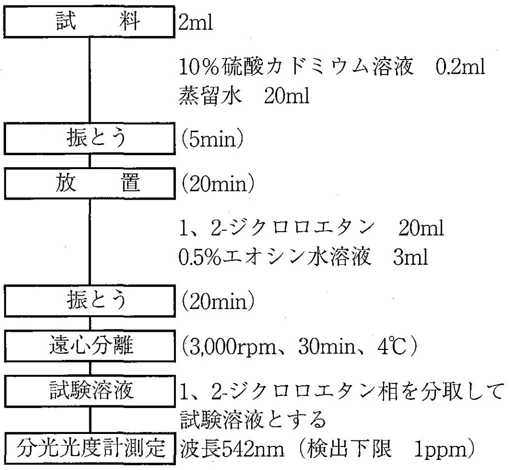


図2　陽イオン界面活性剤検査法

オ　陰イオン界面活性剤検査:上水試験方法・メチレンブルー法の一部改正[3)](図3)

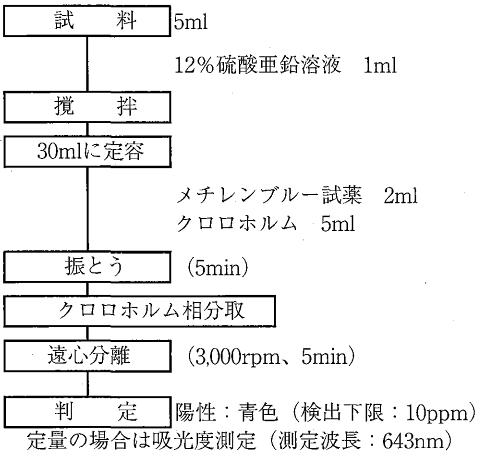


図3　陰イオン界面活性剤検査法

カ　揮発性成分確認試験：ガスクロマトグラフィーによる定性及び定量の連続抽出法の一部改正[4)](図4)

測定機器：ガスクロマトグラフ－質量分析計(島津　GCMS－QP5050A)

測定条件：カラム　DB-1(内径0.25mm×60m, 1μm)

カラム温度40℃(5min)－10℃/min－300℃(2min)

気化室温度　250℃

インタフェース温度　250℃

対照品についても同様の抽出操作を行い，苦情品と比較した。

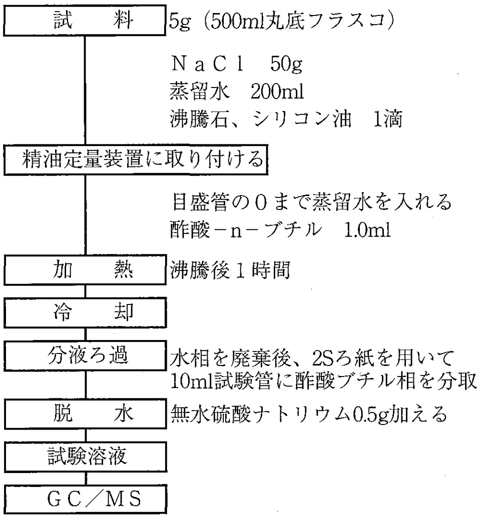


図4　揮発性成分確認試験法

2.3　調査結果

官能試験については，検体①は，塩素臭などの明白な異臭は感じられなかった。検体②からは，紙パックの焦げ臭が確認された。

pHは，6.73～6.97であった。苦情品と同じ製造ロットの未開封の牛乳及び対照品と比較したが，差は見られなかった。

残留塩素，陽イオン界面活性剤及び陰イオン界面活性剤については，全ての検体において不検出であった。

揮発性成分についても，対照品との差は見られなかった。

保健所検査課で実施した成分規格試験については，開封済及び未開封のどちらも牛乳の規格基準に適合していた。

しかし，保健所及び保健衛生課による施設の立入検査において，学校牛乳(学乳)の充填ラインの稼働中に焦げ臭を認めたことから，充填機の点検を行ったところ，牛乳パックのトップシール用のヒーターにずれがあったことが判明した。このため，充填機の機器調整が行われ，焦げ臭が発生しないことを確認した後，学乳製造が再開された。

なお，東北厚生局等の施設検査から，薬剤等の異物が学乳へ混入することはあり得ないということ，生徒が訴える体調不良についても医療機関で牛乳との因果

関係は不明としていること及び当センターの検査結果等から一連の体調不良の原因は牛乳であると特定するには至らなかった。

3．事例2　異臭を呈する米

3.1　概　要

購入したばかりの10kg入りの米を米びつへ移し替えようとして袋を開封したところ，強烈な異臭を感じ，それが原因となって，眼科で治療を受けているとの苦情が保健所に寄せられた。

保健所でその米の精米所から聞き取り調査を行ったところ，米のタンクを消毒した際にクロルピクリンを使用したとの情報が入ったため，苦情品の米にクロルピクリンが残留しているかどうか確認することにした。

3.2　調査方法

(1)　試　料

10kg入りの苦情米一袋（開封済）

(2)　検査項目及び検査方法

ア　官能試験

異臭について確認した。

イ　クロルピクリン：ガスクロマトグラフによる方法[5]（図5）

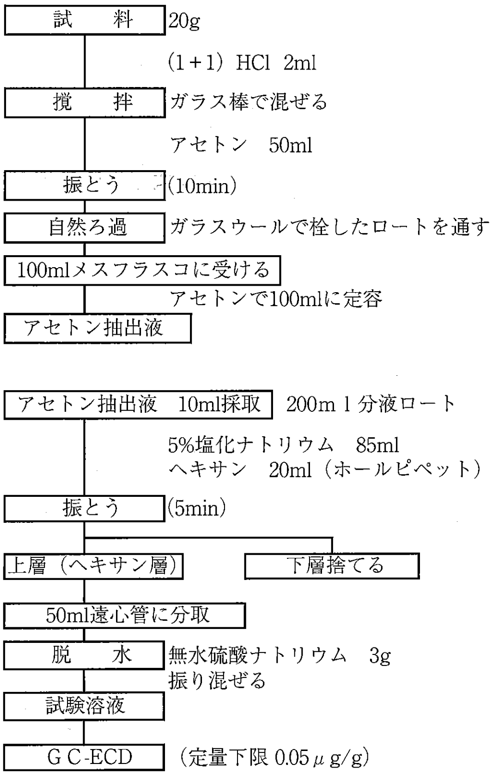


図5　クロルピクリン検査法

測定機器：電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフ（ECD）

測定条件：カラム　DB-1

（内径0.53mm×15m,15μm）

カラム温度60℃（5min）－30℃/min－250℃（1min）

注入口温度　250℃

検出器温度　250℃

キャリアガス　窒素　80ml/min

カラムDB-624

（内径0.32×60m,1.8μm）

カラム温度50℃（1min）－5℃/min－150℃－20℃/min－200℃（20min）

注入口温度　250℃

検出器温度　250℃

キャリアガス　窒素　80ml/min

3.3　調査結果

官能試験においては，異臭及び刺激臭などはまったく感じられなかった。しかし，GC-ECDによる検査では，4.87～5.32μg/g（ppm）のクロルピクリンが検出された。この値は日本産業衛生学会で定める許容濃度0.1ppm（0.67mg/m^3）を大きく上回る濃度であった。クロルピクリンは一般的には，穀物くん蒸剤や土壌殺菌剤として使用されており，揮発性が高く，催涙を伴う強い刺激臭がある農薬であるため，苦情者が最初開封したときには，今回の検査結果よりも高濃度のクロルピクリンに暴露されたと推定された。

今回の当所における検査結果及び保健所による施設の立入検査の結果から，精米機のタンク消毒用に使われたクロルピクリンが完全に除去されていなかったために，その精米機にかけられた米がクロルピクリンに汚染されて，そのまま袋詰めになり，販売されたと推測された。

この後，保健所の指導により，精米機のタンクの洗浄が行われ，洗浄後の精米について同様に検査を行った結果，クロルピクリンは不検出であった。

4．事例3　神経症状のみられた自家製豆腐

4.1　概　要

嘔吐，痙攣，意識混濁等の症状を呈する患者が県内（6名）及び岩手県（10名）で発生し，患者は共通して，岩手県内に住む親類が家庭で作った豆腐を食べていた。

原因食品はこの豆腐と推定されたが，意識喪失などの神経症状が見られることから毒物などの可能性が考えられた。

4．2　調査方法

(1)　試　料

患者宅から収去した自家製豆腐およびおから

(2)　検査項目及び検査方法

ア　シアン化物：毒劇物の迅速分析キットによる方法（メルコクアント　シアン化物テスト）（図６）

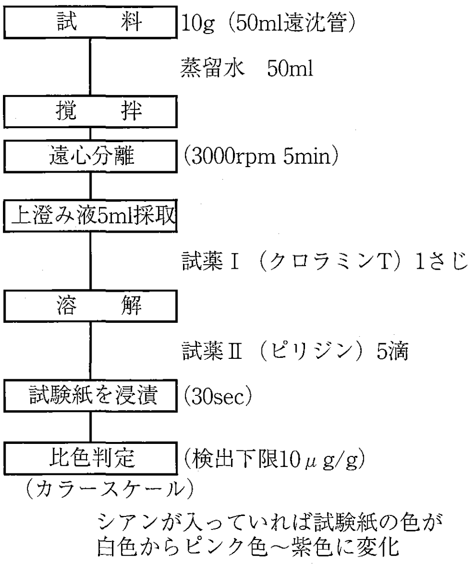


図６　シアン化物検査法

イ　アジ化物：塩化第二鉄微量拡散法（図７）

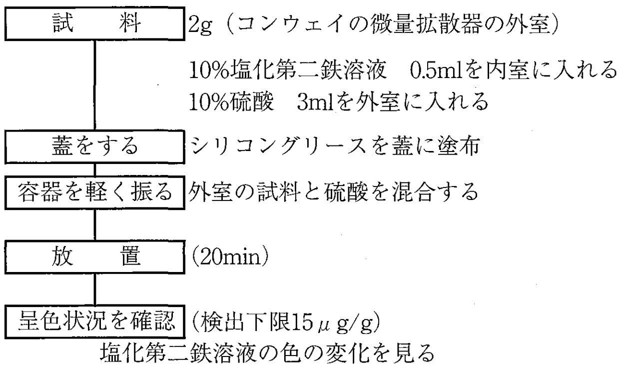


図７　アジ化物検査法

ウ　重金属（ヒ素，鉛，鉄，マンガン，銅，クロム，カドミウム，亜鉛，ナトリウム，カリウム，カルシウム，マグネシウム）：硝酸－過塩素酸分解－原子吸光光度法[6)]

エ　農薬：厚生労働省通知迅速分析法（図８）

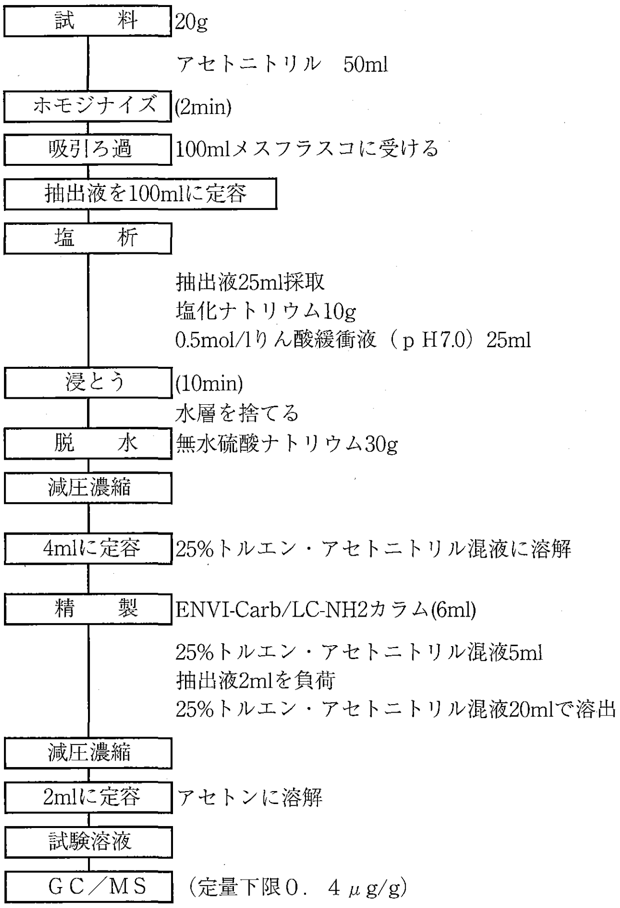


図８　農薬分析法

測定機器：ガスクロマトグラフ－質量分析計（島津　GCMS－QP5050A）

測定条件：カラム　DB-5ms

（内径0.25mm×30m，膜厚0.25μm）

カラム温度 50℃（1min）

－25℃/min-125℃-10℃/min-300℃（13.5min）

気化室温度　250℃

インタフェース温度　280℃

4．3　調査結果

苦情品が搬入された時点では，毒物の可能性が疑われたことから，シアン化物，アジ化物，重金属の検査を実施したが，シアン化物，アジ化物については検出されなかった（検出下限未満）。また，重金属については，鉄，マンガン，亜鉛，ナトリウム，カリウム，カルシウム，マグネシウムが検出されたが，いずれの値も，市販の豆腐と比較して顕著な差は見られなかった（表１）。

そこで，GC/MSによる農薬分析を実施した結果，豆腐及びおからから高濃度の有機塩素系殺虫剤であるエンドスルファンが検出された（図９，図10）。それぞれの濃度は307ppm，339ppmであった。

岩手県側の調査では，原料の大豆残品からはエンドスルファンが検出されなかったことから，豆腐製造過程で混入したエンドスルファンによる食中毒と断定された。

表１　豆腐及びおからの重金属

検査項目	検体		対照品	定量下限 (μg/g)
	豆腐 (μg/g)	おから (μg/g)	市販の豆腐 (μg/g)	
ヒ素	定量下限未満	定量下限未満	定量下限未満	0.025
鉛	定量下限未満	定量下限未満	定量下限未満	0.05
鉄	15.4	20.8	18.3	2.5
マンガン	5.5	7.1	5.8	2.5
銅	定量下限未満	定量下限未満	4.9	2.5
クロム	定量下限未満	定量下限未満	定量下限未満	2.5
カドミウム	定量下限未満	定量下限未満	定量下限未満	0.25
亜鉛	7.63	9.61	11.55	0.25
ナトリウム	22	20	29	10
カリウム	2093	1282	2212	10
カルシウム	304	606	880	10
マグネシウム	600	711	231	0.5

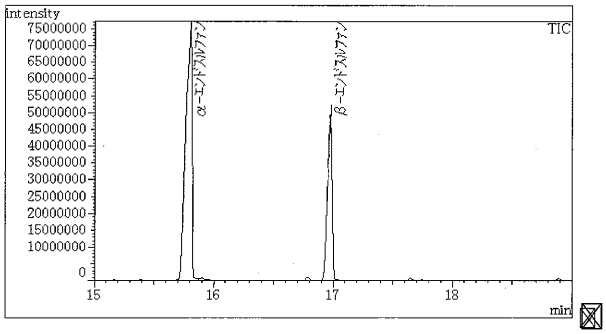


図９　豆腐及びおからのTIC

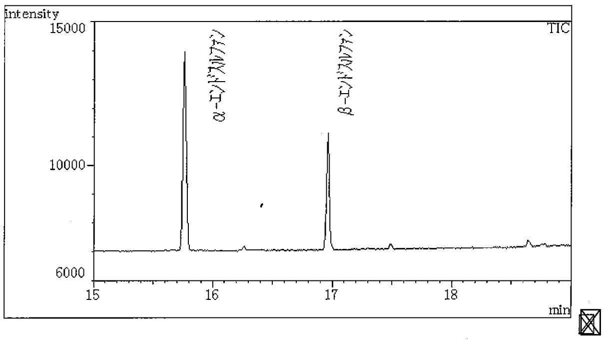


図10　標準品のTIC

５．事例４　クロルピクリン中毒が疑われた採卵鶏

５．１　概　要

養鶏場の鶏舎４棟中１棟において，2289羽の死亡鶏が確認された。また，呼吸器症状（開口呼吸，努力性呼吸，流涙等）を呈する異常鶏も多数認められた。

原因として鶏インルエンザが疑われたが，インフルエンザ簡易検査キットによる検査では，高病原性鶏インフルエンザ陰性が確認された。

また，死亡鶏の病理解剖では，肺に著しいうっ血と水腫が確認されたが，伝染病の特徴的な病変は認められないことから，伝染病による可能性は極めて低いと診断された。

一方，鶏舎に隣接する畑で，前日に土壌消毒作業を実施していたところが目撃されており，確認した結果，消毒剤のクロルピクリンを，フィルムによる被覆をせずに散布したことが判明した。

以上のことから，クロルピクリンが原因物質と推定され，死亡鶏にクロルピクリンが残留しているか確認を行った。

５．２　調査方法

(1)　試　料

死亡鶏の肝臓，肺，羽毛，鶏卵

(2)　検査項目及び検査方法

ア　クロルピクリン：ガスクロマトグラフによる方法[5]（フローは事例２の図５と同じ）

測定機器：電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフ（ECD）

測定条件：カラムDB-1
（内径0.53mm×15m,15μm）
カラム温度60℃（5min）－30℃/min－250℃（1min）
注入口温度　250℃
検出器温度　250℃
キャリアガス　窒素　80ml/min
カラムDB-624
（内径0.32×60m,1.8μm）
カラム温度50℃（1min）－5℃/min－150℃－20℃/min－200℃（20min）
注入口温度　250℃
検出器温度　250℃
キャリアガス　窒素　80ml/min

5.3　調査結果

すべての検体からクロルピクリンは検出されなかった（検出下限未満）。表２に検体別の検出下限を示した。

クロルピクリンは生体成分と反応しやすく揮発性が高いことから，鶏に降りかかったクロルピクリンが生体内で分解あるいは揮散したと推測された。

検体名	検出下限（μg/g）
肝臓	0.5
肺	0.5
羽毛	0.2
卵	0.033

表２　検出下限値

なお，死亡鶏の肺，羽毛，卵表面にクロルピクリンを添加し，添加回収試験を実施した結果，肺の回収率はほとんど０％に近く，羽毛と卵の回収率は約50～90％であった（表３）。羽毛と卵の回収率が比較的高く，肺の回収率が低いのは，マトリックスの影響と推側された。

検体名	回収率（%）
肺	0～2.4
羽毛	50.0～92.9
卵	40.2～86.5

表３　回収率

また，クロルピクリンは経時的に分解していく物質であるため，生体に取り込まれたないしは付着したクロルピクリンを検出することは難しいと考えられた。

6．ま　と　め

平成16年度～平成17年度に当センターに行政依頼として持ち込まれた食品苦情事例について取りまとめた。

(1)　給食牛乳の異臭については，種々の検査を実施したが，体調不良につながるような原因物質を特定することはできなかった。

(2)　異臭を呈する米については，クロルピクリンが原因物質であることが判明した。

(3)　神経症状のみられた自家製豆腐については，豆腐製造過程で混入した高濃度の農薬（エンドスルファン）による食中毒と断定された。

(4)　クロルピクリン中毒が疑われた採卵鶏については，死亡した鶏の肝臓，肺，羽毛，卵からクロルピクリンは検出されなかった。クロルピクリンは生体成分と反応しやすく揮発性が高いため，すでに分解あるいは揮散したと推定された。また，各部位について添加回収試験を実施したが，肺についてはほとんど回収できなかった。今後，分析法の開発等検討を要する課題である。

(5)　原因物質を特定するためには，種々の検査を迅速に実施しなければならないことから，迅速対応が可能となるよう検査マニュアルの作成等検査体制の整備をしておく必要がある。

(6)　GC/MSによる物質の特定には，標準品が必要であるが，今回のエンドスルファンは当所で通常検査を実施していない物質だったため，標準品の入手に時間がかかり，濃度を確定するまでに時間を要した。標準品の整備についても，今後，検討を要する課題である。

文　　献

1）野池真奈美，他：食品中に混入した塩素剤の検出法に関する検討について，食品衛生研究，**53**（９）33 － 36，2003.

2）乳製品試験1.4.4残留洗剤　エオシン法

3）中村朋子，他：異臭味牛乳事故における原因物質検査について，石川県保健環境センター研究報告，**39**，61 － 64，2002.

4）衛生試験法・注解（1990）日本薬学会編　2.3.4 酸化防止剤(2)BHAおよびBHT　1）ガスクロマトグラフィーによる定性及び定量の連続抽出法

5）衛生試験法・注解（2000）日本薬学会編　食品汚染物試験方法2.4.2.2理化学的試験　6）クロルピクリン

6）衛生試験法・注解（2000）日本薬学会編　硝酸―過塩素酸分解―原子吸光光度法

青森県環境保健センター研究報告　17，44 − 48，2006

水道水質外部精度管理調査結果（平成17年度）

村上　淳子　　対馬　奈津子　　古川　章子

県内10検査施設を対象に，測定値の信頼性確保及び分析技術の向上を目的として，フッ素，塩化物イオン及びTOCについて，水道水質外部精度管理調査を実施し，$\bar{X}$-R管理図を基に各施設の評価を行なった。
フッ素，塩化物イオンは，$\bar{X}$管理図では，いずれの施設も管理限界内にあり，良好な結果であったが，TOCは測定開始が遅れた2施設が，$\bar{X}$管理限界からわずかに外れた。
R管理図では，フッ素で2施設が管理限界からわずかに外れた他は，いずれも良好な結果であった。

Key words：external quality control, $\bar{X}$-R control chart, fluoride, chloride,TOC

1．はじめに

水道水質検査を行なっている県内の検査施設における，測定値の信頼性確保及び分析技術の向上を目的として，平成11年度から，国の水道事業体に対する精度管理要領に基づき，当センターが試料を調製，配布し結果をとりまとめる形式の，外部精度管理調査を実施してきた。

平成11～16年度の精度管理調査結果は，既報[1)～4)]において報告済みであることから，今回は平成17年度の調査結果を報告する。

2．方　　法

2．1　実施対象

県内10検査施設

2．2　実施期間

平成18年1月16日～2月10日

2．3　実施項目

フッ素，塩化物イオン，TOC

2．4　実施方法

各項目について5回併行測定を行ない，その結果と平均値及び分析方法（前処理方法，測定方法，測定条件等を含む分析フロー），定量方法（検量点数，検量範囲，評価方法等）の報告を求めた。又，分析チャートの提出も求めた。

2．5　試　料

(1)　試　薬

添加用標準液：

フッ素：和光純薬製1000mg/L標準液

塩化物イオン：和光純薬製1000mg/L標準液

TOC：関東化学製1000mg/L標準液

(2)　試料作製及び送付方法

フッ素，塩化物イオン及びTOCの標準液（1000mg/L）を，2Lメスフラスコにそれぞれ4mL，200mL，10mLとり，精製水を標線まで加え定容した。この溶液を，10Lポリ瓶に移し，同メスフラスコで精製水8Lを正確に加え，10Lとした。これを十分混合した後，850mLポリ瓶10個に分配し，試料とした。試料中のフッ素，塩化物イオン及びTOCの濃度はそれぞれ0.4mg/L，20mg/L，1.0mg/Lとなり，これを目標値とした。

作製した試料は，クール宅配便により各施設に送付あるいは保冷剤を同封して，直接担当者に配布した。

(3)　作製試料の均一性の確認

作製した試料の均一性は，F検定を行ない確認した。すなわち，10個の容器から5個を無作為に選び，n=2で各容器の濃度を測定した。その結果，F値はフッ素が2.60，塩化物イオンが2.28，TOCが2.90で5%水準（F4/4=6.39）より小さいことから，当試料は均一であることが確認された。

2．6　統計処理の方法

各施設から得られたデータを基に，$\bar{X}$-R管理図を求め，評価を行った。

3．結果及び考察

$\bar{X}$管理図において，中心線（実線）は，各施設の平均値の平均値であり，上部管理限界（二点鎖線），下部管理限界（点線）をそれぞれ目標値の110%，90%値とした。

R管理図において，実線は各施設の範囲の平均値であり，上部管理限界（二点鎖線）は，平均値にn=5に対

応する管理図用係数2.115をかけた値とした。

3．1　フッ素

(1)　測定結果

各施設の分析条件及び測定結果を表1に示した。10施設すべてが，イオンクロマト法による測定であった。定量は，1施設がピーク高さで，他はピーク面積で行っていた。

各施設の測定値の平均値は，0.391～0.434mg/Lで，平均値の平均値は，0.403mg/L，標準偏差は，0.00122～0.0589mg/L，変動係数は，0.302～13.58%であった。(1施設で1個だけかけ離れた棄却値があり，変動係数が大きくなった。)

また，全データの最大値は0.539mg/L，最小値は0.372mg/L，平均値は0.403mg/L，標準偏差は0.0215mg/L，変動係数は5.35%であった。

棄却値を除いた場合の平均値は，0.400mg/L，標準偏差は0.00892mg/L，変動係数は，2.23%であった。

(2)　解析結果

棄却値をのぞいた$\overline{X}$及びR管理図をそれぞれ図1，図2に示す。

$\overline{X}$管理図では，平均値の平均値は0.400mg/L，上部管理限界，下部管理限界はそれぞれ0.440mg/L，

表1　測定結果：フッ素

施設No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均値	平均値の標準偏差
測定法	イオンクロマト	イオンクロマト法	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト法		
測定機器	島津 CLASS-VP	DIONEX DX320	横河製 IC7000	横河製 IC7000	DIONEX 320J	DIONEX ICS-2000	DIONEX ICS-90	島津 CDD-10AVP	島津 LC-10A VP	DIONEX DX500		
カラム	Shim-pack IC-A3	IonPac AS17	ICS-A23	ICS-A23	IonPac AS17	IonPac AS17A	IonPac AS12A	SUN PACK IN 02	Shim-pack IC-A3	IonPac AS12A		
溶離液	8mM p-hydroxy benzoic acid 3.2mM Bis-Tris	1～25mM KOH	3mM Na_2CO_3	2.5mMNa_2CO_3/1mM$NaHCO_3$	1～35mM KOH	1～40mM KOH	2.7mM Na_2CO_3/0.3mM $NaHCO_3$	8mM p-hydroxy benzoic acid 2.15mM Bis-Tris	8mM p-hydroxy benzoic acid 3.2mM Bis-Tris	2.7mM Na_2CO_3/0.3mM $NaHCO_3$		
流量	1.0ml/min	1.2ml/min	1.0ml/min	1.0ml/min	1.5ml/min	1.5ml/min	1.5ml/min	1.0ml/min	1.0ml/min	0.3ml/min		
注入量	200μl	25μl	50μl	50μl	25μl	25μl	25μl	10μl	100μl	25μl		
濃度評価	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク高さ	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積		
検量点	5	3	3	3	3	6	4	3	5	5		
検量範囲	0～0.8	0.25～1	0～5	0.05～0.3	0.1～1	0.08～2.8	0.05～1	0.04～0.8	0.1～3	0.1～3		
定量下限	0.03	0.25	0.05	0.05	0.08	0.08	0.08	0.05	0.1	0.1		
定量年月日	1月18日	2月6日	1月18日	1月17日	1月23日	1月19日	1月23日	1月23日	2月1日	1月19日		
				*2倍希釈								
測定値1	0.402	0.411	0.393	0.408	0.389	0.404	0.399	0.399	0.389	0.401		
測定値2	0.437	0.410	0.392	0.401	0.391	0.405	0.404	0.403	0.392	0.398		
測定値3	0.401	0.403	0.398	0.403	0.387	0.405	0.400	0.408	0.392	0.398		
測定値4	0.395	(0.539)	0.401	0.400	0.393	0.407	0.403	0.401	0.395	0.399		
測定値5	0.394	0.406	0.402	0.400	0.393	0.404	0.407	0.372	0.410	0.399		
最大値	0.437	0.411	0.402	0.408	0.393	0.407	0.407	0.408	0.410	0.401		
最小値	0.394	0.403	0.392	0.400	0.387	0.404	0.399	0.372	0.389	0.398		
平均値	**0.406**	**0.408**	**0.397**	**0.402**	**0.391**	**0.405**	**0.403**	**0.397**	**0.396**	**0.399**	**0.400**	0.0053
標準偏差	0.0178	0.0037	0.0046	0.0034	0.0026	0.0012	0.0032	0.0142	0.0083	0.0012	0.0060	
変動係数	4.385	0.907	1.145	0.835	0.668	0.302	0.797	3.569	2.104	0.307	1.502	
範囲	0.043	0.008	0.010	0.008	0.006	0.003	0.008	0.036	0.021	0.003	0.015	
誤差	0.006	0.007	−0.003	0.002	−0.009	0.005	0.003	−0.003	−0.004	−0.001	0.000	
誤差率	1.45	1.87	−0.70	0.60	−2.35	1.25	0.65	−0.85	−1.10	−0.25	0.057	
回収率	101.5	101.9	99.3	100.6	97.7	101.3	100.7	99.2	98.9	99.8	100.1	
Zスコア	1.046	1.366	−0.569	0.408	−1.809	0.896	0.445	−0.682	−0.870	−0.231		

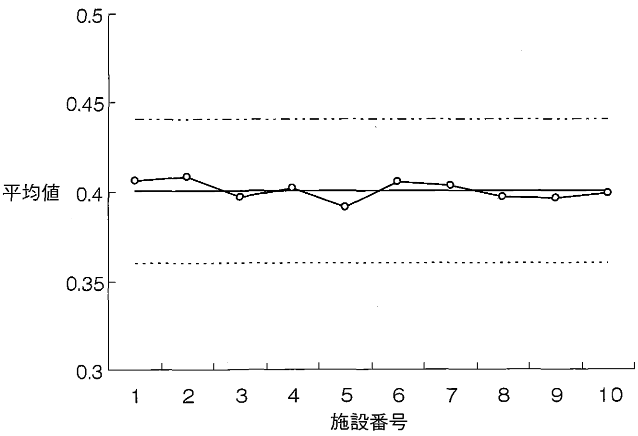


図1　フッ素 $\overline{X}$-管理図

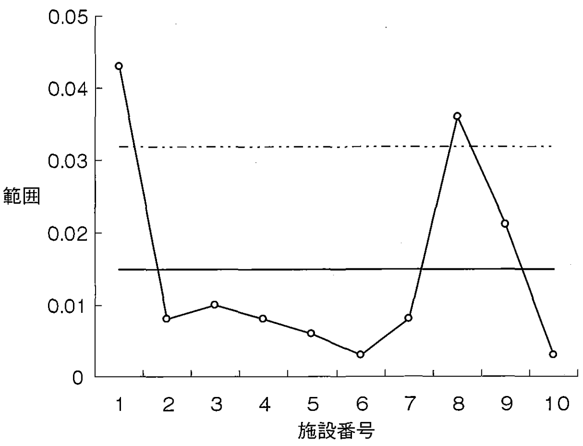


図2　フッ素 R-管理図

0.360mg/Lで，10施設すべてが管理限界内にあり，目標値の97.7～101.9%と良好な結果を示した。

R管理図では，測定値の範囲の平均値は0.015mg/L，上部管理限界は0.032g/Lで，2施設が管理限界からはずれた。

これは，2施設の変動係数が5%未満であるにもかかわらず，1%未満の施設が多かったため，管理限界から外れる結果となったもので精度管理上は問題とはならない。

定量月日は1月17日から2月6日まで約3週間の差があったが，保存期間の違いによる有意な差は，認められなかった。

また，測定機器，測定条件による有意差も認められなかった。

3.2　塩化物イオン

(1)　測定結果

各施設の分析条件及び測定結果を，表2に示す。フッ素同様，10施設すべてがイオンクロマト法により測定していた。

各施設の測定値の平均値は，19.1～20.4mg/Lで，標準偏差及び変動係数はそれぞれ0.000～0.235mg/L，0.00～1.15%であった。

また，全データの最大値は20.7mg/L，最小値は18.8mg/L，平均値は19.9mg/Lで，標準偏差は0.387mg/L，変動係数は1.95%と，ばらつきの少ない良好な結果であった。

(2)　解析結果

$\bar{X}$及びR管理図をそれぞれ図3，図4に示す。

表2　測定結果：塩化物イオン

施設No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均値	平均値の標準偏差
測定法	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト	イオンクロマト		
測定機器	島津 CLASS-VP	DIONEX DX320	横河製 IC7000	横河製 IC7000	DIONEX 320J	DIONEX ICS-2000	DIONEX ICS-90	島津 CDD-10AVP	島津 LC-10A VP	DIONEX DX500		
カラム	Shim-pack IC-A3	IonPac AS17	ICS-A23	ICS-A23	IonPac AS17	IonPac AS17	IonPac AS12A	SUN PACK IN 02	Shim-pack IC-A3	IonPac AS12A		
溶離液	8mM p-hydroxy benzoic acid 3.2mM Bis-Tris	1～25mM KOH	3mM Na2CO3	2.5mM Na_2CO_3/1mM $NaHCO_3$	1～35mM KOH	1～40mM KOH	2.7mM Na_2CO_3/0.3mM $NaHCO_3$	8mM p-hydroxy benzoic acid 2.15mM Bis-Tris	mM p-hydroxy benzoic acid 3.2mM Bis-Tri	2.7mM Na_2CO_3/0.3mM $NaHCO_3$		
流量	1.0ml/min	1.2ml/min	1.0ml/min	1.0ml/min	1.5ml/min	1.5ml/min	1.5ml/min	1.0ml/min	1.0ml/min	0.3ml/min		
注入量	200 μl	25 μl	50 μl	50 μl	25 μl	25 μl	25 μl	10 μl	100 μl	25 μl		
濃度評価	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積		
検量点	5	3	3	3	3	6	3	3	2	5		
検量範囲	0～40	7.5～30	0～20	5～20	4～40	2～70	0.1～5	0.4～20	2.0～40	1～30		
定量下限	0.2	0.25	0.1	0.1	0.2	2	0.1	0.2	0.1	1		
定量年月日	1月18日	2月6日	1月18日	1月17日	1月23日	1月19日	1月23日	1月25日	2月1日	1月19日		
				＊2倍希釈			＊5倍希釈					
測定値1	19.8	20.3	20.0	19.6	19.9	20.2	20.1	19.8	19.7	19.3		
測定値2	19.8	20.6	20.1	19.3	19.9	20.3	20.2	19.9	19.8	19.1		
測定値3	19.8	20.2	20.0	19.4	20.0	20.3	20.0	20.0	19.8	18.8		
測定値4	19.8	20.7	20.0	19.3	19.9	20.2	20.3	20.0	19.8	19.1		
測定値5	19.8	20.2	20.1	19.4	20.0	20.2	20.2	20.2	19.8	19.3		
最大値	19.8	20.7	20.1	19.6	20.0	20.3	20.3	20.2	19.8	19.3		
最小値	19.8	20.2	20.0	19.3	19.9	20.2	20.0	19.8	19.7	18.8		
平均値	**19.8**	**20.4**	**20.0**	**19.4**	**19.9**	**20.2**	**20.2**	**20.0**	**19.8**	**19.1**	**19.9**	0.386
標準偏差	0.000	0.235	0.055	0.122	0.051	0.055	0.114	0.148	0.045	0.205	0.103	
変動係数	0.000	1.150	0.273	0.631	0.255	0.271	0.566	0.742	0.226	1.072	0.519	
範囲	0.00	0.50	0.10	0.30	0.10	0.10	0.30	0.40	0.10	0.50	0.24	
誤差	-0.200	0.400	0.040	-0.600	-0.054	0.240	0.160	-0.020	-0.220	-0.880	-0.113	
誤差率	-1.00	2.00	0.20	-3.00	-0.27	1.20	0.80	-0.10	-1.10	-4.40	-0.567	
回収率	99.0	102.0	100.2	97.0	99.7	101.2	100.8	99.9	98.9	95.6	99.4	
Zスコア	-0.224	1.329	0.397	-1.260	0.154	0.915	0.708	0.242	-0.276	-1.985		

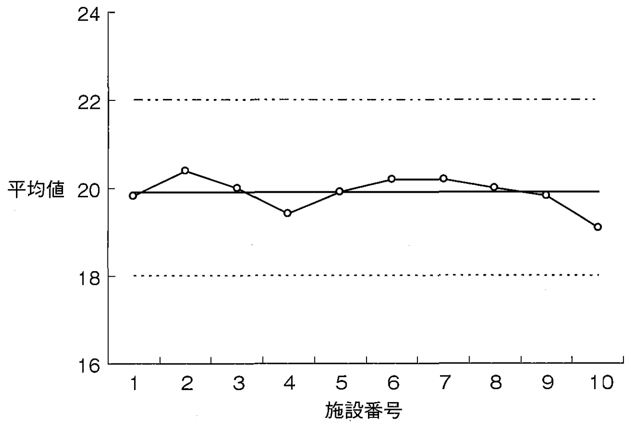


図3　塩化物イオン　$\bar{X}$-管理図

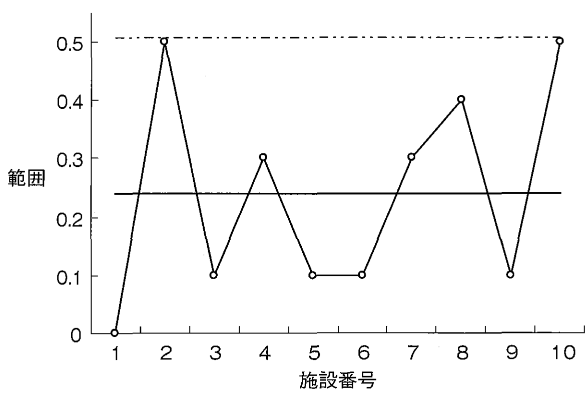


図4　塩化物イオン　R-管理図

$\overline{X}$管理図では，平均値の平均値は，19.9mg/L，上部管理限界，下部管理限界はそれぞれ22.0mg/L，18.0mg/Lで，管理限界を超えた施設はなかった。各施設の回収率は，目標値の95.6～102%と，良好な結果であった。

R管理図で，測定値の範囲の平均値は0.24mg/Lで，上部管理限界は0.51mg/Lで，すべての施設が管理限界内にあったが，2施設は，管理限界ぎりぎりの値であった。この場合もフッ素同様，1施設は全くばらつきがない等，変動係数が1%未満のところが多かったためで，精度管理上問題とはならないものである。

また，定量月日，測定条件，測定機器の違いによる有意差は，フッ素と同様認められなかった。

3．3　TOC

(1)　測定結果

各施設の分析条件及び測定結果を表3に示す。

1施設で担当者が不在のため測定できなかったとのことで，9施設の結果を示した。

9施設すべてが島津製のTOC計を用いているが，VCPH，VCPN，VCSN，VCSHの4型式あった。

各施設の測定値の平均値は，0.908～1.19mg/Lで，標準偏差及び変動係数は，それぞれ0.0055～0.0179mg/L，0.53～1.50%でばらつきは各施設とも小さかった。

また，全データの最大値は1.22mg/L，最小値は0.899mg/L，平均値は1.06mg/Lで，標準偏差は0.0735mg/L，変動係数は6.95%であった。各施設の

表3　測定結果：TOC

施設No.	1	3	4	5	6	7	8	9	10	平均値	平均値の標準偏差
測定法	燃焼酸化法	燃焼酸化法	燃焼酸化法	燃焼酸化法	燃焼酸化法	燃焼酸化法	燃焼酸化法	燃焼酸化法	燃焼酸化法		
測定機器	島津 TOC-VCPH	島津 TOC-VCPN	島津 TOC-VCPH	島津 TOC-VCSN	島津 TOC-VCSN	島津 TOC-VCSN	島津 TOC-VCPH	島津 TOC-VCPH	島津 TOC-VCSH		
定量法	検量線法	検量線法	検量線法	検量線法	検量線法	検量線法	検量線法	検量線法	検量線法		
濃度評価	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積	ピーク面積		
検量点	5	3	5	6	4	4	3	5	4		
検量範囲	0～2	0～5	0～2	0～2	0～5	0～5	0～5	0～5	0.25～5		
定量下限	0.05	0.05	0.1	0.2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25		
標準原液	自己調整	自己調整	自己調整	市販	市販	自己調整	市販	自己調整	市販		
定量年月日	1月16日	1月19日	1月18日	1月18日	1月19日	1月17日	1月24日	2月8日	1月18日		
測定値1	1.05	1.03	1.04	0.899	1.03	1.08	1.14	1.18	1.05		
測定値2	1.06	1.03	1.04	0.909	1.04	1.07	1.12	1.20	1.06		
測定値3	1.06	1.03	1.02	0.915	1.06	1.07	1.12	1.22	1.06		
測定値4	1.04	1.04	1.02	0.910	1.06	1.06	1.14	1.18	1.08		
測定値5	1.06	1.04	1.05	0.908	1.05	1.07	1.12	1.18	1.06		
最大値	1.06	1.04	1.05	0.915	1.06	1.08	1.14	1.22	1.08		
最小値	1.04	1.03	1.02	0.899	1.03	1.06	1.12	1.18	1.05		
平均値	**1.05**	**1.03**	**1.03**	**0.908**	**1.05**	**1.07**	**1.13**	**1.19**	**1.06**	**1.06**	0.0764
標準偏差	0.0089	0.0055	0.0134	0.0058	0.0130	0.0071	0.0110	0.0179	0.0110	0.0104	
変動係数	0.849	0.530	1.298	0.639	1.244	0.661	0.971	1.501	1.031	0.969	
範囲	0.020	0.010	0.030	0.016	0.030	0.020	0.020	0.040	0.030	0.024	
誤差	0.054	0.034	0.034	-0.092	0.048	0.070	0.128	0.192	0.062	0.059	
誤差率	5.40	3.40	3.40	-9.18	4.80	7.00	12.80	19.20	6.20	5.89	
回収率	105.4	103.4	103.4	90.8	104.8	107.0	112.8	119.2	106.2	105.9	
Zスコア	－0.064	－0.326	－0.326	－1.972	－0.143	0.145	0.904	1.742	0.040		

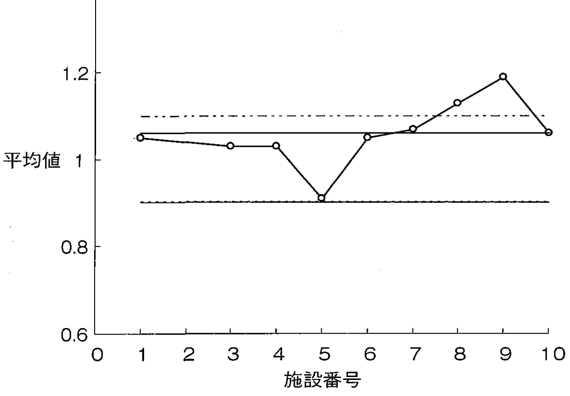


図5　TOC　$\overline{X}$-管理図

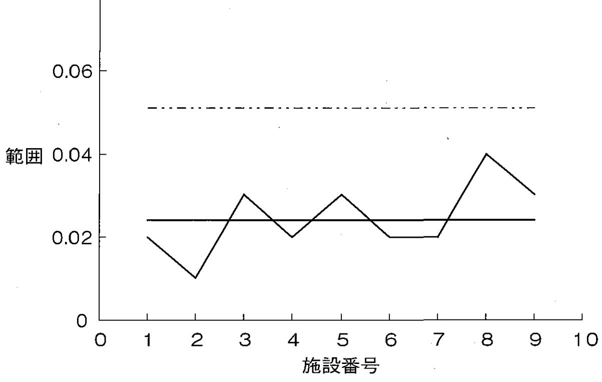


図6　TOC　R-管理図

変動係数は，0.53～1.50%と小さいが，全体としてはばらつきが大きく，変動係数は7%近い値となった。

(2) 解析結果

$\bar{X}$及びR管理図をそれぞれ図5，図6に示す。

$\bar{X}$管理図では，平均値の平均値は1.06mg，上部管理限界，下部管理限界はそれぞれ1.10mg/L, 0.90mg/Lである。2施設が上部管理限界を超え，1施設が下部管理限界ぎりぎりの値であった。

上部管理限界を超えた2施設は，他の施設に比べ1～3週間遅く定量しており，定量年月日により，差が認められた。

No.9の施設は，当初1月17日に測定した結果を提出したが，同一試料をを5回測定したということで，本来の併行試験を2月8日に改めて，測定した結果を，提出したものである。当初提出されたデータでは平均1.04mg/Lと管理限界内に入っていたが，再測定結果では，管理限界を超える1.19mg/Lに増加していた。

当センターで行った，経時変化テストにおいても，1週間を超えると，測定値が増加していくことが，確認されている。

上水試験法[5]にも，TOCは保存期間1週間以内とされているので，試験は，検体搬入後速やかに行う必要がある。と同時に併行試験の定義等基本的な知識の理解が求められる事例であった。

R管理図では，測定値の範囲の平均値は0.024mg/L，上部管理限界は0.0506mg/Lで，いずれの施設も管理限界内にあった。

4. ま と め

県内10検査施設を対象として，フッ素，塩化物イオン及びTOCについて水道水質外部精度管理調査を実施し，$\bar{X}$-R管理図を基に評価を行った。

(1) $\bar{X}$管理図において，フッ素，塩化物イオンは，10施設すべて管理限界内にあり，良好な結果であったが，TOCは2施設が管理限界を超えた。

(2) R管理図では，各施設の範囲が総じて小さかったため，フッ素で2施設が管理限界を超えたが，塩化物イオン及びTOCはいずれも管理限界内にあった。

(3) フッ素，塩化物イオンでは，施設により機種，定量方法，測定年月日に違いはあったが，測定値に差は認められなかった。

(4) TOCは，測定年月日により有意差が認められ，1週間以上保存後に，測定を開始した2施設が管理限界を超えた。

(5) 併行試験についての注意を喚起する必要があった。

文　　献

1）木村淳子，他：水道水質外部精度管理調査結果，青森県環境保健センター研究報告，**11**，67－72，2000.

2）村上淳子，他：水質精度管理実施状況（平成12年度～14年度），青森県環境保健センター研究報告，**14**，71－80，2003.

3）村上淳子，他：水質精度管理実施状況（平成15年度），青森県環境保健センター研究報告，**15**，51－54，2004.

4）村上淳子，他：水質精度管理実施状況（平成16年度），青森県環境保健センター研究報告，**16**，62－65.

5）日本水道協会編：上水試験方法2001年版，p40.

青森県環境保健センター研究報告　17，49 − 52，2006

JR 津軽海峡線騒音の調査結果の近年の動向
―新型電気機関車 EH500 の騒音を中心として―（第２報）

花石　竜治　　安田　徳彦　　吉田　綾子　　松尾　章

昨年度，JR 津軽海峡線の貨物列車を中心とした騒音問題に関して，従来の調査に付け加えて行った周波数測定結果までを報告したが，今回は，周波数解析装置を改良し，より簡単にこれを行うことを可能にし，さらに高速なデータ処理を行い，これにより雑音の少ないデータを得ることができたので報告する。周波数解析の結果，列車の上り下り以外にも，列車１本１本で騒音の周波数スペクトルに違いが見られ，今後，より多くのデータを集積し，騒音対策を練ることが必要との知見を得た。

Key words：JR Tsugarukaikyo line, noise, freight car, frequency analysis, electric locomotive

1．緒　　言

近年のJR津軽海峡線の騒音問題の概要に関しては，第１報(1)で述べているので，ここでは記述を省略する。ただし，繰り返し着眼すべき点は，３電源（直流，交流50 Hz, 60Hz）方式の新型機関車EH500（通称「金太郎」）が大きな騒音を及ぼしていることが明らかになってきたという点である。

第１報に報告した研究では，ハードウェアとソフトウェアを工夫し，市販のアナログデジタル（AD）変換器でデータの採取を行った。今回，マイクロソフト社Windowsに標準装備されているサウンドレコーダーの機能を生かすことにより，ハードウェアが簡略化でき，ソフトのほうも，高速な処理や雑音の相殺などが可能になり，きれいなデータが得られた。本報告では，これらハード･ソフトについて述べ，得られたデータを紹介する。

2．調査日時

調査は平成18年10月16日に，ここ数年継続して調査を行っている，外ヶ浜町蟹田の蟹田駅から青森よりの土場踏切近傍で，通常のルーチン測定である騒音･振動調査と，これに付加して周波数測定を行った。騒音波形採取は，ノート型パーソナルコンピュータ（PC）をバッテリー駆動で動作させて，PCの基本ソフト（OS）標準装備のサウンドレコーダー機能を用いて行った。PCのバッテリーの駆動時間を考え，貨物列車が集中する時間帯に3本の貨物列車のデータを採取した。

3．調査方法

ルーチン測定については第１報と同様に行い，ここでは周波数解析が主題であるので，説明を省略する。

周波数測定の騒音の波形採取は，軌道中心から６ｍの地点で行った。９Ｖの乾電池から抵抗で分圧した電圧をコンデンサーマイクに印加し，その出力を増幅せずに直にPCのマイク入力に取り込んだ。PCのマイク入力はステレオであるが，用いたマイクロホンはモノラル出力であるので，ステレオの左右２入力にはモノラルの同じ信号を入れた。なお，PCのマイク入力はハイインピーダンスであり，マイクロホンの信号を歪なく取り込むことが可能である。PC付属のサウンドレコーダーのAD変換機能は，デジタル分解能が16ビットであり，マイクロホンの使用条件下では，2^{16}=65536により，波形に正負の電圧があることを考慮すると，10log（65536/2）＝約45dBのダイナミックレンジを持つ。マイクロホンの利得調整はWindowsの機能で簡単に行うことができ，基本的な設定で，十分に精度よく測定できる。サンプリング周波数は22.205kHzであり，１回の測定につき，数MBのファイルが生成される。この膨大な出力データはWindowsのWaveファイル形式でバイナリであるが，これをMicrosoft社Visual Basicで作成したプログラムにより，解析に供した。

騒音波形の周波数解析には，連続する時系列データを窓関数法（Hamming window）によって時間分解し，その時刻周辺で2^{10}=1024点の高速コサイン変換（高速フーリエ変換の一種）により，列車通過時刻に対し

て周波数分布がわかるようにした。第1報でのハードおよびソフトのラインナップでは，Windowsの割り込みにより，データが一定の時間間隔のものではなかったが，今回の測定に用いたサウンドレコーダーではAD変換の時間間隔が一定であったので，高速フーリエ変換(2)を用いることができ，高速なデータ処理が可能である。Hamming windowやフーリエ変換に関しては第1報で述べているが，ここでも解説を試みる。

騒音波形はさまざまな周波数を持つ時間軸でのデータであるが，これを数学的に処理し，周波数を横軸にとり，縦軸にその周波数における強度を示したのが周波数スペクトルである。

時間軸データから周波数スペクトルデータを得る手法の一つがフーリエ変換であり，この方法では，任意の関数が三角関数の和で表されることを利用している。フーリエ変換の定義式では，まず時間軸信号の繰り返すユニットを考え，これを無限幅の積分に拡張する。実際のデータ処理では，データが離散的であり，また，データ数が有限であるため，離散フーリエ変換を行う。これに関して，電子計算機で計算する場合に有利な方法として考案されたのが高速フーリエ変換(FFT)である。

第1報と同様に，今回の研究でも，騒音波形を窓関数法(Hamming window)によって時間分解した。Hamming windowについて簡単に述べれば次のようになる。すなわち，ある時刻からまたある時刻までの有限幅の時系列データをそのままフーリエ変換すると，信号の周期がこれに一致しない場合は，シンクウィグルという人造的な偽の周波数ピークが出現してしまう。これは，フーリエ変換の定義がそもそも無限の積分幅であるのに，有限の幅で積分を行ったために現れるものである。数学的には，そもそも無限に連なる時間軸関数に，矩形の窓関数を乗じて積分を行ったためであり，矩形の窓関数にはさまざまな周波数成分が含まれる(矩形の窓関数が種々の周波数成分を持った三角関数で展開されることと等価である。)ことから明確に理解できる。そこで，こういった有限幅のデータ処理を，人造的な偽ピークの出現なく行うために考案されているのが，窓関数法である。今回用いたのは，Hamming windowというもので，

$$f(t)=\frac{1}{2}\left\{1-\cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right)\right\}$$

ここで，tはコサイン変換開始からの時刻，Tは窓関数が0となる時刻で，コサイン変換終了の時刻である。窓関数は，時刻$t=0$および$t=T$でゼロであり，$t=T/2$で極大の1となる。矩形の窓関数とは異なって，滑らかに時間軸で窓関数を乗じていることは簡単に理解できよう。この$f(t)$なる関数を時系列データに時間軸で乗じて，その後高速コサイン変換を行うことにより，時系列データから通過時刻付近の周波数を求めた。

今回の計算では，サンプリング波形が実数で，複素フーリエ変換が実関数に対して適応されるので，周波数成分の実部が正負の周波数で対称となり，虚部は反対称となることから，複素フーリエ変換の結果として出力されるデータの実部の周波数正の部分を利用した。これはコサイン変換と同じことである。Hamming窓については，

$T=1/(22.205\text{kHz}\times 1000)\times 1024\times 2 ≒ 0.092\ \text{s}$

とした。

第1報では，雑音の多いスペクトルであったが，一定時間間隔のデータサンプリングであるので，データを平均化して，雑音の影響を相殺することが可能である。後述するデータでは，約0.88秒間のデータを平滑化して示している。これにより，きれいなスペクトルが得られた。

4．結果および考察

ここでは，周波数解析を行った結果について述べる。

(1) 10:38下り貨物「金太郎」。ルーチン測定(A特性，Slow)でピークが79.0dB。

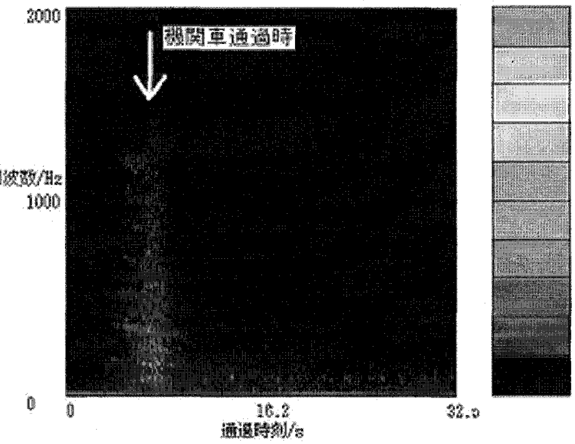


図1：通過時刻対騒音周波数の二次元プロット

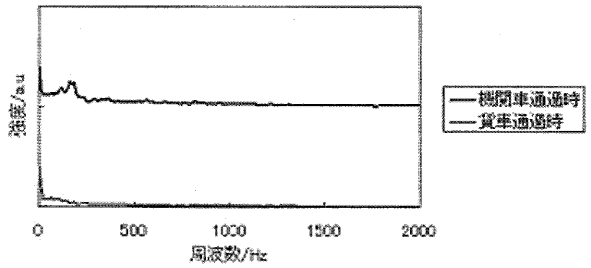


図2：機関車通過時および貨車通過時の図1のスライス

(2) 10：53下り貨物「金太郎」。ルーチン測定でピークが88.5dB

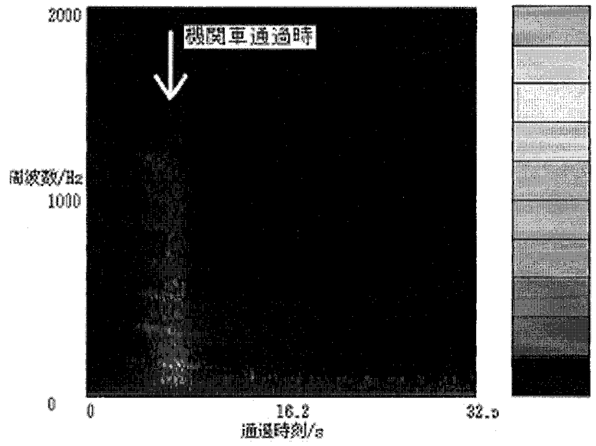


図3：通過時刻対騒音周波数の二次元プロット

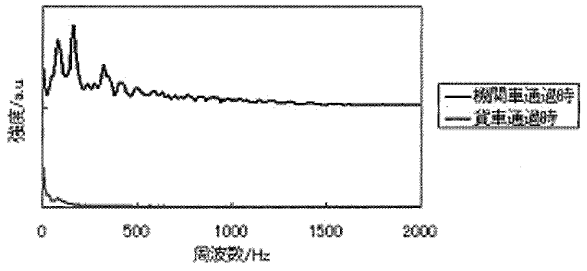


図4：機関車通過時および貨車通過時の図3のスライス

(3) 10：57上り貨物「金太郎」。ルーチン測定でピークが81.3dB

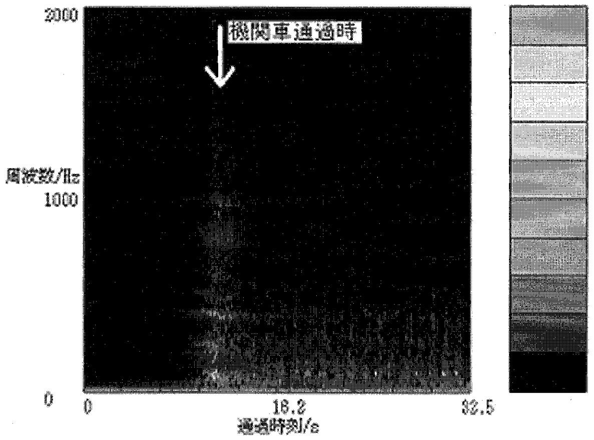


図5：通過時刻対騒音周波数の二次元プロット

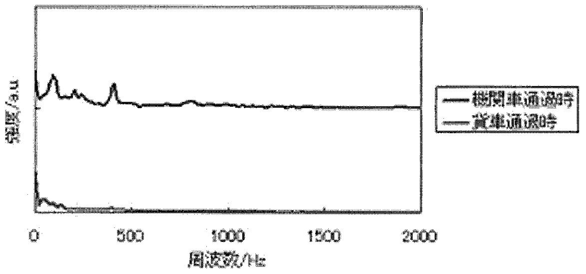


図6：機関車通過時および貨車通過時の図5のスライス

(4) 考　察

図1，2および図3，4はどちらも下り貨物列車であるが，機関車通過時の騒音の周波数スペクトルはかなり異なっている。もちろん，ピーク時の騒音レベルが異なっているのも事実であるが，同じ形式の貨物機関車で，同一方向への走行であるのに，スペクトルが異なるというのは，新規な知見である。今後，採取する騒音データを増やし，列車一本一本を吟味しなければ，騒音対策を練ることが難しい。

ただし，前述の2本の列車と，図5，6に示した上り列車とを比べると，EH-500「金太郎」機関車の騒音は，割合，低周波数領域に広く分布して強いことがわかる。これは，3本の列車のデータしか採取できなかった今回の研究の中でも明瞭な結果であって，騒音の発生源箇所追究に有益な情報と考えられる。

5. 結　　論

第１報に続き，JR津軽海峡線の騒音調査で，新型機関車「金太郎」EH500の騒音の周波数解析を行い，結果を考察した。同じ進行方向の同じ機関車の騒音でも列車一本一本でスペクトルが異なることや，ただし，新型電気機関車EH-500「金太郎」の騒音は低周波数領域に強く，広いスペクトルで分布することが明らかになった。今後は，数多くの列車の騒音を採取し，列車の走行速度との相関などを精査し，JR津軽海峡線の騒音対策に資することが重要と考えられる。

文　　献

1）花石　竜治，他：JR津軽海峡線騒音調査の近年の動向―新型電気機関車EH500の騒音を中心として―，青森県環境保健センター研究報告，**16**，25－30(2006)

2）南　茂夫監修，河田　聡編著：科学計測のためのデータ処理入門，2002年，CQ出版，pp39－69.

Ⅲ　他誌投稿抄録

他誌投稿抄録

新しい健康機能糖質の生産とその利用：ホタテ煮汁由来グリコーゲンの構造と生理機能

松江　一[1]，高谷　芳明[2]，内沢　秀光[3]，一戸　秀隆[4]，畑山　一郎：食品工業，49(12)1－12, 2006.

ホタテ煮汁からDEAE sephadex A-25とSepharose CL-2Bによりグリコーゲンを精製した。そのうち，DEAE sephadex A-25非結合画分に原発性マウス肝臓癌を抑制する機能が認められた。

1：青森県立保健大学

2：名城大学

3：青森県工業総合研究センター

4：(株)ともや

A coprological survey of the potential definitive hosts of Echinococcus multilocularis in Aomori prefecture

Yasuaki Morishima[1], Hiromu Sugiyama[1], Kyoko Arakawa[1], Joji Ohno[2], Atsushi Waguri, Koichi Abe, Masanori Kawanaka[1]：Jpn. J. Infect .Dis., 58, 327－328, 2005.

青森県におけるエキノコックスの伝播の状況を把握するために，2003年12月から2005年2月までに集めたキツネ便43検体についてPCRによる解析を行った。結果は全て陰性であった。また，犬の便1検体が陽性を示したが，詳細な検討から陰性であると判明した。PCRテストの信頼性を含めてさらに検討していく必要がある。

1：感染症研究所寄生動物部

2：青森県東地方保健所

Ⅳ　学会等発表抄録

学会等発表抄録

ラットの肝臓に誘発する前癌前駆細胞の検出とイニシエーションの分子機構の特殊解の検討

佐藤公彦[1]，森藤哲史[1]，菅原亜希子[1]，杉尾英昭[1]，畑山一郎：第71回日本生化学会東北支部会，5. 13－14. 2006(弘前市)

2-AAFで誘発した2種のラット肝前癌前駆細胞，GST-P(+)/GGT(−)とGST-P(+)/GGT(+)が認められた。高増殖性GST-P(+)/GGT(+)のフォーカスは細胆管に結合しており，その内部にはGGT(+)のcanalicular networkが確認された。

1：弘前大学医学部

The bile duct-linked growth of precursor cell species of preneoplastic foci in rat liver

Kimihiko Sato[1], Makoto Hayakari[1], Ichiro Hatayama: 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, 6.18－23, 2006(京都)

学会等発表抄録「ラットの肝臓に誘発する前癌前駆細胞の検出とイニシエーションの分子機構の特殊解の検討」参照。

1：弘前大学医学部

ラット肝発癌イニシエーション：第一前駆細胞の過剰発現と第二前駆細胞の選択的増殖

佐藤公彦[1]，木村義信[1]，大場祐輔[1]，熊谷直哉[1]，畑山一郎：第25回日本分子腫瘍マーカー研究会，9. 27. 2006(横浜)

学会等発表抄録「ラットの肝臓に誘発する前癌前駆細胞の検出とイニシエーションの分子機構の特殊解の検討」参照。

1：弘前大学医学部

ラット肝に誘発する2種類の前癌前駆細胞の性質と増殖過程：2-AAFの単独投与

佐藤公彦[1]，畑山一郎：第65回日本癌学会，9. 28－30. 2006(横浜)

学会等発表抄録「ラットの肝臓に誘発する前癌前駆細胞の検出とイニシエーションの分子機構の特殊解の検討」参照。

1：弘前大学医学部

下痢症患者由来カンピロバクター属菌の発生状況と遺伝子学的解析

桜庭　恵，和栗　敦，澤田　譲，三上稔之，阿部幸一，畑山一郎，工藤幸生[1]，月足正辰[1]，齋藤雅明[1]，竹内敏博[1]：2006年度青森県保健医療福祉研究発表会，2. 16. 2007(青森市)

散発事例で分離されたカンピロバクター属菌相互の関連性から感染源を探り，下痢症の発生防止及び食中毒予防の一助とするために，遺伝子学的手法を用いて解析を行った。散発事例では血清型やパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)の泳動パターンに相似性はみられず，感染源を特定するまでは至らなかった。県内では様々な型のカンピロバクターが浸潤し，原因食品も多種類にわたっていることが推測された。

1：社団法人弘前市医師会成人病検診センター

青森県におけるつつが虫病の患者発生状況 2001年～2006年

石川和子：平成18年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部微生物研究部会総会，10. 12－13. 2006(山形市)

つつが虫病の年別患者報告数は，2001年に19人と最も多い報告数となっており，その後3年間は，10人前後で推移し，2005年18人，2006年は8月現在までに18人で増加傾向を示している。また，男女比では男31人に対し，女48人と女性が17人多く報告され，その原因は不明である。本疾患発生は，6月と11月にピークを示し，青森県では，特に春に患者の発生が多く見られた。2001年から2006年8月までの保健所別患者報告数は，青森保健所管内が22人と最も多く，次に八戸保健所管内が18人，上十三保健所管内が14人，弘前保健所管内が12人，五所川原保健所管内10人，むつ保健所管内が3人と最も少ない報告数であり，県内全域から報告されている。

集団発生事例から検出されたNorovirus遺伝子のカプシド及びポリメラーゼ領域の解析

熊谷邦彦，石川和子，三上稔之，阿部幸一，畑山一郎：第26回青森感染症研究会，7. 22. 2006(弘前市)

2005年12月から06年2月までに発生した集団発生5事例有症者便由来NV Genogroup Ⅱ(GⅡ)13株について塩基配列を決定し，カプシド及びポリメラーゼ領

域における遺伝子の変異を調べた。青森，八戸，むつ地域で検出されたNVは，GⅡ/4/Bristol/93/UKのポリメラーゼ領域が変異したSaitamaU1型に高い相同性があった。また，上十三地域で検出されたNVは，GⅡ/4/Bristol/93/UKのポリメラーゼ領域が変異した2002型に高い相同性があった。弘前地域で検出されたNVは，標準株GⅡ/2/Melksham/89/UKに類似していた。以上のことから，県内では，GⅡ/2/Melksham株とGⅡ/4/Bristol株の流行があり，後者については，二種類の変異株による流行であった。

集団発生事例から検出されたNorovirus遺伝子の解析

熊谷邦彦，石川和子，三上稔之，阿部幸一，畑山一郎：2006年度青森県保健医療福祉研究発表会，2. 16. 2007（青森市）

2005年12月から2006年1月までの集団発生6事例から検出されたNorovirusについて，カプシド領域およびポリメラーゼ領域の塩基配列を決定し，分子系統樹を作成して全国の状況と比較した。すべての事例においてカプシド領域の解析から，NV GenogroupⅡ/4型が検出され，全国の状況と同一であった。NV GenogroupⅡ/4型については，ポリメラーゼ領域変異型が報告されており，日本で集団発生事例から検出されているものは主に3種類ある。ポリメラーゼ領域の解析から，本県ではSaitamaU1型（5事例）と2002型（1事例）が検出された。分子系統樹より，カプシド領域の変異とポリメラーゼ領域の変異は相関しているように思われたが，リコンビナント（遺伝子組換え）株の存在を考えるとき，両領域の解析を実施することは重要と考えられた。

ホタテ貝殻の有効活用～VOCの吸着･分解作用を生かして

山本明美，対馬奈津子，小泉千鶴子，松尾　章，古川章子：第43回全国衛生化学技術協議会年会，11. 1－2. 2006（米子市）

当県において問題となっている水産廃棄物のホタテ貝殻を付加価値の高い商品に加工する，産業の育成を目的とした研究事業の一環として，ホタテ貝殻粉末による揮発性有機化合物（VOC）の吸着に関する基礎的な調査を行った。24種の物質を対象に貝殻粉末を入れたものと入れないもので検証したところ，22種については概ね吸着効果が認められた。貝殻粉末は0℃～1000℃まで100℃間隔で焼成し効果を検証したが0℃～300℃以下及び800℃以上で焼成した貝殻粉末で吸着効果がみられた。対象物質によっては分解効果も確認できた。（本報告の報文の項を参照）

ホタテ貝殻を利用した居住環境中の有害な揮発性化合物の吸着

山本明美，対馬奈津子，小泉千鶴子，松尾　章，古川章子：2006年度青森県保健医療福祉研究発表会，2. 16. 2007（青森市）

当県において問題となっている水産廃棄物のホタテ貝殻を付加価値の高い商品に加工する，産業の育成を目的とした研究事業の一環として，ホタテ貝殻粉末による揮発性有機化合物（VOC）の吸着に関する基礎的な調査を行った。24種の物質を対象に貝殻粉末を入れたものと入れないもので検証したところ，22種については概ね吸着効果が認められた。貝殻粉末は0℃～1000℃まで100℃間隔で焼成し効果を検証したが0℃～300℃以下及び800℃以上で焼成した貝殻粉末で吸着効果がみられた。対象物質によっては分解効果も確認できた。（本報告の報文の項を参照）

食品に混入された有害物質の原因究明調査

工藤志保，木村淳子，村上淳子，三浦啓徳，古川章子：2006年度青森県保健医療福祉研究発表会，2. 16. 2007（青森市）

当センターに分析依頼のあった食品苦情事例について報告した。神経症状のみられた自家製豆腐については，豆腐から塩素系農薬であるエンドスルファンが高濃度で検出され，豆腐製造課程で混入したエンドスルファンによる食中毒と断定された。クロロピクリン中毒が疑われた採卵鶏については，クロロピクリンが原因物質と推定されていたため，確認検査を行ったが，死亡鶏の肝臓，肺，羽毛，鶏卵からクロロピクリンは検出されなかった。クロロピクリンは生体成分と反応しやすく揮発性が高いことから分解あるいは揮散したと推測された。

下痢性貝毒

古川章子：全国自然毒中毒講演会･研修会，11. 30－12. 1. 2006（姫路市）

公定法による下痢性貝毒検査では，マウスアッセイ法が用いられているが，マウスの飼育管理が煩雑，分

析精度が低い，結果判明までに時間を要する，毒成分ごとの測定が不可能等問題点が多々あることから，これらの欠点を補い，下痢性貝毒の迅速かつ高感度な毒力測定法を確立するために，当所では早い時期からELISA法やHPLC法について検討を行ってきた。今回は，当所がこれまで検討してきた貝毒に係る調査研究及び貝毒による食中毒事例について発表するとともに，中毒症状，毒成分による毒性の違い，日本とEUにおける貝毒規制の比較，当所が実施してきた対EU輸出ホタテガイ生産海域モニタリング検査の実情（分析法，規制値等）等についても紹介した。

陸奥湾の下痢性貝毒発生に関する新たなモニタリング手法の開発

神　毅統，三津谷正，鈴木敏之：平成17年度貝毒安全対策事業検討会，3. 9. 2006（東京都）

陸奥湾におけるホタテガイの下痢性貝毒（DSP）について，より安全性の高い出荷自主規制手法を検討することを目的として，従来の採水プランクトン顕鏡計数法に代わるネットプランクトン調査手法を用いて実用化すること，及びネットに捕集された懸濁物とホタテガイの毒性を分析してその関係を解明することにより，マウス試験公定法における的確な毒化予察技術の確立を図る。県増養殖研究所及び独立行政法人　東北区水産研究所と共同で平成15年度より実施している。平成17年度は以下のことが確認された。①DSP産生種別のプランクトン細胞毒量を把握できた。②プランクトン出現密度・懸濁物毒性・ホタテガイ毒性・マウス毒性の対応関係を把握できたことで，プランクトン出現密度からマウス毒性の推定が可能となった。③ネット懸濁物1～20μm画分からは，昨年度同様，DSP成分は検出されなかった。④D.fortii及びD.acuminata両種がPTX群を産生していることがわかった⑤D.acuminata出現時期にはOA，DTX1は検出されなかった。

JR津軽海峡線騒音の周波数解析―新型電気機関車EH500の騒音―

花石竜治，安田徳彦，松尾　章：第32回北海道・東北支部環境研研究連絡会議，10.5－6. 2006（青森市）

近年のJR津軽海峡線の騒音・振動調査で，新型電気機関車「金太郎」EH500が強い騒音をもたらしていることが明らかになってきていた。本発表では，騒音発生箇所解明の一方法である周波数解析の結果を報告した。自作の増幅回路や，市販のアナログデジタル変換器の利用により，低コストでの計測を可能にした。その結果，上り列車と下り列車とで，騒音の周波数スペクトルに違いが見られ，上り列車では，低周波数領域に明瞭なピークが観測され，換算して3dBの寄与があるなどの知見を得た。得られた結果は，騒音の発生源究明に役立つと考えられ，今後も調査を続行し，データを蓄積する必要性があるとの結論であった。

地下水のダイオキシン類分析におけるクリーンアップスパイク回収率の低下について

野澤直史，成田　俊：第32回 北海道・東北支部環境研研究連絡会議，10. 5－6. 2006（青森市）

地下水のダイオキシン類モニタリング調査においてクリーンアップスパイク回収率の低下がみられ，その原因及び前処理の検討を行った。クリーンアップスパイク回収率の低下の原因は，地下水中のフミン酸によるものと推測された。また，前処理として地下水を塩酸酸性にすることにより，クリーンアップスパイク回収率が改善した。

融雪期における十和田湖河川及び逆送水の水質特性

吉田綾子，三上　一：第32回 北海道・東北支部環境研研究連絡会議，10. 5－6. 2006（青森市）

十和田湖では，1986年以降，ＣＯＤが環境基準値（ＡＡ類型；1mg/L以下）を超過していることから，水質改善・保全に向けた流入負荷量削減対策が求められている。融雪期河川及び逆送水の水質特性を調査した結果，融雪期の河川流量は積雪の影響を受けていた。また，降雨時と同様に，融雪期にはＣＯＤ，ＳＳなどの粒子状物質の負荷量が大きいと考えられることから，粒子状物質の流入防止対策が必要である。逆送水については，逆送時に雪解けによる融雪洪水期を避ける運転管理が重要であり，秋季には水位が急激に低下する傾向にあることから，水位変動について再考する必要がある。

編集者　　畑　山　一　郎

青森県環境保健センター研究報告

(平成18年度)

平成19年3月発行

編　集　〒030-8566　青森市東造道1－1－1
発　行　青 森 県 環 境 保 健 セ ン タ ー
所　長　竹　内　重　正
電　話 (017) 736-5411　FAX (017) 736-5419
印　刷　〒030-0802　青森県青森市本町1－2－5
会社名　ワタナベサービス(株)
電　話 (017) 777-1388

(環境保護の為，再生紙を使用しています。)