

緊急時における水中のVOCモニタリング手法について

○岡山安幸、原口公子

肥塚隆男（現保健福祉局保健所西部生活衛生課）

三苦洋介（現環境局環境国際協力室）

門上希和夫（北九州市立大学大学院国際環境工学研究科）

第34回九州衛生環境技術協議会

平成20年10月（長崎市）

1 はじめに

本市における水中の揮発性有機化合物（VOC）の測定は、JIS K 0125「用水・排水中の揮発性有機化合物試験方法」のページ・トラップ-ガスクロマトグラフ質量分析法（P&T/MS法）に従って23物質及び要監視項目2物質（エピクロトリル及び塩化ビニル）について行っているが、米国環境保護庁（EPA）ではP&T/MS法（METHOD 524.2）で84物質の測定法を提示している。

本市の化管法（PRTR）により届出された第一種指定化学物質の物質数は、平成18年度は83物質であり、現在測定を行っているVOCの25物質以外にも多数届出されている。そこで、事故や火災などの災害で環境中に排出された有害化学物質による二次災害の対策や既に発生した環境汚染などのモニタリングを行うため、EPA法の84物質のVOCを対象とした測定法について検討し、あらかじめ作成した検量線を用いた定性と定量が可能なシステムの開発を行った。

2 装置及び測定条件

通常VOCの測定は、専用機としてP&T/MS法を使用している。本手法においても緊急性を考慮し、分析条件等を変更せず、緊急時に即時対応するため装置及び操作条件等は、通常の実験業務の条件で行った。

また定性を行うため検出方式はスキャン法とした。表1に装置及び測定条件等を示す。

表1 装置及び測定条件

【GC部】 Agilent 6890	カラム	AQUATIC(GLサイエンス)キャピラリーカラム 60m(長さ)×0.25mm(内径)膜厚1.0μm
	注入口温度	200℃
	キャリアガス	He: 95kPa
	昇温昇温条件	40℃(1分)→4℃/分→100℃(0分)→10℃/分 →200℃(10分)
【MS部】 日本電子 Autmass Sun	イオン源温度	200℃
	インターフェイス温度	210℃
	フィラメント電流	300μA
	検出方法	スキャン
【P&T部】 Tekmar 4000J	ページ温度	40℃
	ページ時間	4.5分
	ドライページ時間	3分
	脱着温度	180℃
	脱着時間	6分
	クライオフォーカス温度	-150℃
	クライオ注入温度	200℃
	クライオ注入時間	4分

3 標準物質

標準物質は、以下の市販品を使用した。

- (1) SUPELCO 社製 : EPA 524.2 VOC Mix (60 物質)
- (2) AccuStandard, Inc 製 : Additions to 524.2 (24 物質)

4 結果

(1) 84 物質の同定及びリテンションタイム (以下 Rt とする。) の確認

EPA 法の 84 物質の VOC は、塩素等のハロゲン化物を含む化合物が 52 物質、酸素を含む化合物が 7 物質、窒素を含む化合物が 7 物質、イオウを含む化合物が 1 物質となっている。本研究では 84 物質中、83 物質についてピークを同定することができた。未同定物質の 2-Nitropropane は、定量用モニタリーイオンの m/z が 46 と低分子であり、現在の分析条件では分析不可能である。なお、EPA 法にはピクロトリンが含まれていないが、JIS 法で測定可能である。

本市の平成 18 年度 PRTR で届出された主な揮発性有機化合物は 20 物質であった。その内 14 物質は JIS 法で、その他 6 物質 (アクリロトリル、*o*-ジクロロベンゼン、エチルベンゼン、メタクリル酸メチル、スチレン、1,3,5-トリメチルベンゼン) は EPA 法によって測定可能である。以下、図 1 にクロマトグラムを示す。

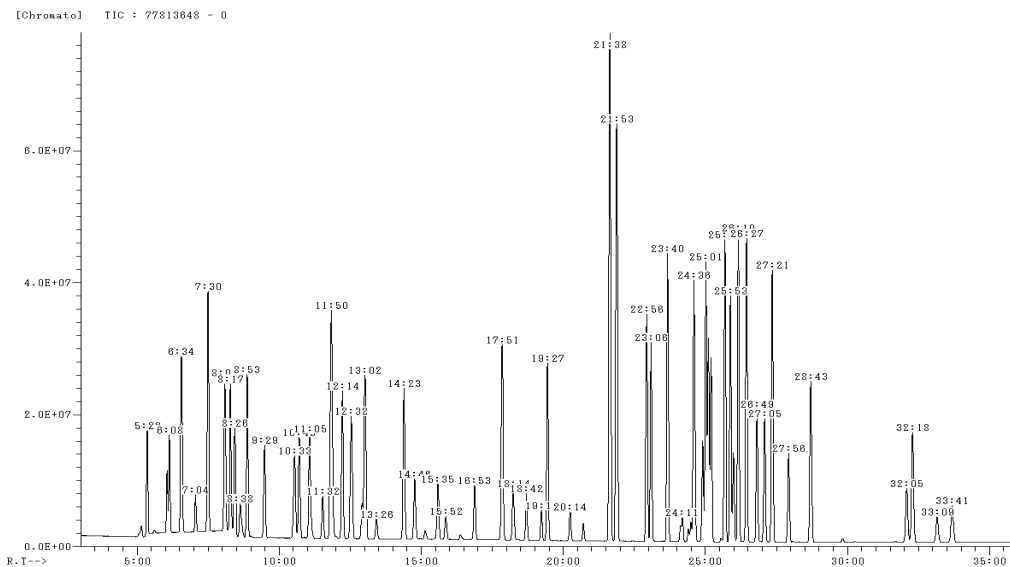


図 1 VOC84 物質のクロマトグラム

(2) 検量線の作成

検量線は内部標準法を用いて作成した。内部標準物質標準液は、通常使用する 4-ブromofluorobenzene とフルオロベンゼンを用いた。対象とした 83 物質については、0.1~22 $\mu\text{g/L}$ の範囲内でほぼ直線性を示し定量は可能と判断した。

(3) 標準液とサンプルのリテンションタイムの差について

本測定法は、P&T-GCMS を専用機として使用しているため、GC 条件の変動はなく、カラムの切断による Rt の変動はほとんどないことから、あらかじめ作成していた定量用ファイルを利用してサンプルのみの測定により定性が可能である。

(4) 液体窒素使用について

本装置は、P&T 部にクライオフォーカスを使用しているため、液体窒素が必要となり、その準備に時間がかかるが 1 検体 1 時間の測定時間としても緊急時に十分対応できると考える。

5 まとめ

測定は VOC 専用機 (P&T-GCMS) の使用を前提条件としているため、

- ・ Rt の変動が少なく、Rt とマスクロマトグラムにより定性が可能である。
- ・ 緊急時には、検量線を作成せず定量が可能であるため迅速に対応できる。

緊急時における水中のVOCモニタリング手法について

○岡山安幸、原口公子

肥塚隆男（現保健福祉局保健所西部生活衛生課）

三苦洋介（現環境局環境国際協力室）

門上希和夫（北九州市立大学大学院国際環境工学研究科）

第 35 回環境保全・公害防止研究発表会

平成 20 年 11 月（広島市）

1 はじめに

本市における水中の揮発性有機化合物（VOC）の測定は、JIS K 0125「用水・排水中の揮発性有機化合物試験方法」のページ・トラップ-ガスクロマトグラフ質量分析法（P&T/MS 法）に従って 23 物質及び要監視項目 2 物質（エピクロヒドリン及び塩化ビニル）について行っているが、米国環境保護庁（EPA）では P&T/MS 法（METHOD 524.2）で 84 物質の測定法を提示している。

本市の化管法（PRTR）により届出された第一種指定化学物質の物質数は、平成 18 年度は 83 物質であり、現在測定を行っている VOC の 25 物質以外にも多数届出されている。そこで、事故や火災などの災害で環境中に排出された有害化学物質による二次災害の対策や既に発生した環境汚染などのモニタリングを行うため、EPA 法の 84 物質の VOC を対象とした測定法について検討し、あらかじめ作成した検量線を用いた定性と定量が可能なシステムの開発を行った。

2 装置及び測定条件

通常 VOC の測定は、専用機として P&T/MS 法を使用している。本手法においても緊急性を考慮し、分析条件等を変更せず、緊急時に即時対応するため装置及び操作条件等は、通常の実験業務の条件で行った。

また定性を行うため検出方式はスキャン法とした。表 1 に装置及び測定条件等を示す。

3 標準物質

標準物質は、以下の市販品を使用した。

- (1) SUPELCO 社製：EPA 524.2 VOC Mix (60 物質)
- (2) AccuStandard, Inc 製：Additions to 524.2 (24 物質)

表 1 装置及び測定条件

[GC 部] Agilent 6890

カラム	AQUATIC (GL サイエンス) キャピラリーカラム 60m(長さ)×0.25mm(内径) 膜厚 1.0 μm
注入口温度	200℃
キャリアガス	He : 95kPa
昇温昇温条件	40℃ (1 分) → 4℃/分 → 100℃ (0 分) → 10℃/分 → 200℃ (10 分)

[MS 部] 日本電子 Autmass Sun

イオン源温度	200℃
インターフェイス温度	210℃
フィラメント電流	300 μA
検出方法	スキャン

[P&T 部] Tekmar 4000J

ページ温度	40℃
ページ時間	4.5 分
ドライページ時間	3 分
脱着温度	180℃
脱着時間	6 分
クライオフォーカス温度	-150℃
クライオ注入温度	200℃
クライオ注入時間	4 分

4 結果

- (1) 84 物質の同定及びリテンションタイム（以下 Rt とする。）の確認
EPA 法の 84 物質の VOC は、塩素等のハ

ロゲン化物を含む化合物が 52 物質、酸素を含む化合物が 7 物質、窒素を含む化合物が 7 物質、イオウを含む化合物が 1 物質となっている。本研究では 84 物質中、83 物質についてピークを同定することができた。未同定物質の 2-Nitropropane は、定量用モニターイオンの m/z が 46 と低分子であり、現在の分析条件では分析不可能である。なお、EPA 法には正六クロトリルが含まれていないが、JIS 法で測定可能である。

本市の平成 18 年度 PRTR で届出された主な揮発性有機化合物は 20 物質であった。その内 14 物質は JIS 法で、その他 6 物質(アクリロニトリル、*o*-ジクロロベンゼン、エチルベンゼン、メタクリル酸メチル、スチレン、1,3,5-トリメチルベンゼン)は EPA 法によって測定可能である。以下、図 1 にクロマトグラムを示す。

(2) 検量線の作成

検量線は内部標準法を用いて作成した。内部標準物質標準液は、通常使用する 4-ブロモフルオロベンゼンとフルオロベンゼンを用いた。対象とした 83 物質については、0.1~22 $\mu\text{g/L}$ の範囲内でほぼ直線性を示し定量は可能と判断した。

(3) 標準液とサンプル Rt の差について

本測定法は、P&T-GCMS を専用機として使用しているため、GC 条件の変動はなく、カラムの切断による Rt の変動はほとんどないことから、あらかじめ作成していた定量用ファイルを利用してサンプルのみの測定により定性が可能である。

(4) 液体窒素使用について

本装置は、P&T 部にクライオフォーカスを使用しているため、液体窒素が必要となり、その準備に時間がかかるが 1 検体 1 時間の測定時間としても緊急時に十分対応できると考える。

5 まとめ

測定は VOC 専用機 (P&T-GCMS) の使用を前提条件としているため、

- ・ Rt の変動が少なく、Rt とマスクロマトグラムにより定性が可能である。
- ・ 緊急時には、検量線を作成せず定量が可能であるため迅速に対応できる。

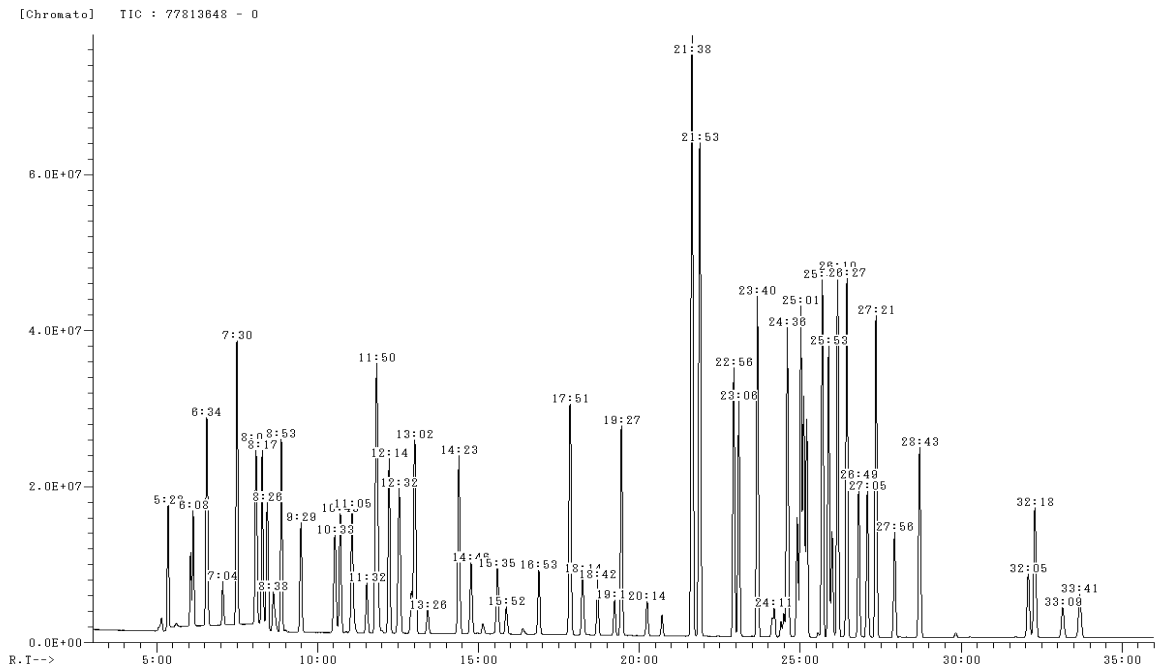


図 1 VOC84 物質のクロマトグラム

包括分析法による河川水中の化学物質調査と生物処理の効果

○原口 公子

棚田 京子 (水道局水質試験所)

陣矢 大助 (北九州市立大学アควア研究センター)

門上 希和夫 (北九州市立大学大学院国際環境工学研究科)

第 43 回水環境学会年会

平成 21 年 3 月 (山口市)

【はじめに】

福岡県内の一河川において化学物質汚染を総合的に把握するため、門上らが開発した化学物質の包括的分析システム¹⁾を利用して実態調査を行った。併せて、支川に設置している河川浄化施設(ろ材+土壌処理)、及びこの川から取水している浄水場における活性炭を担体とする生物接触ろ過装置(BCF)の処理効果を検証した。

【方法】

(1) 調査地点： 調査場所の概略を図 1 に示す。対象河川は農業、上水道用等利水率が高く、しかも流域の汚水処理整備率が低いため家庭雑排水による汚濁が進んでいる。調査は農業・住宅の広がる中流域の A 支川の土壌処理施設への流入水 (No1)、放流水 (No2)、約 500m 上流部にし尿処理場の放流口がある B 支川 (No3)、下流地点 (No4)、更に下流の取水口から貯水池に揚水した水を原水としている浄水場原水 (No5)、BCF 処理水 (No6) で行った。No 1～3、5～6 地点では、2007 年 5 月、8 月、10 月、2008 年 2 月に、No4 地点は 10 月、2 月に各々採水を行った。

(2) 包括分析： 試料 1L を陣矢らの方法²⁾に従って抽出、前処理し GC/MS 測定・データベースシステム¹⁾により同定・定量を行った。

【結果と考察】

(1) 包括分析結果の概要

測定した全検体から対象の 947 物質のうち 106 物質が検出された。検出頻度が高い化合物は、n-アルカン、難燃剤のリン酸エステル類、加硫促進剤のベンゾチアゾール類、コレステロール類、PPCPs であった。測定対象物質を発生源別に 5 種類に分類した場合、各分類別の検出数は、工業系 (IND) : 11, 商業・生活系 (B/H) : 41, 医薬 (PPCPs) : 7, 農薬 (PEST) : 47, 農業、動植物系 (AGR) : 7 であった。各分類別に高頻度で検出された物質は、IND : Naphthalene, Dibenzylether, B/H:n-アルカン類, Benzyl alcohol, Acetophenone, Benzothiazole, Tris-(2-chloroethyl)phosphate, Squalane, PPCPs: : Menthol, Crotonamiton, Caffeine, PEST: Pyroquilon, Bromobutide, Flutolanil, AGR: Coprostanol, Cholesterol, Cholestanol, Stigmasterol であり、北九州市の河川調査³⁾や全国 11 河川での調査⁴⁾の検出例とほぼ同様の結果であった。

(2) 地点別濃度

各地点の季節別化学物質濃度を図 2 に示す。総濃度は地点 No1 と No3 はほぼ同レベルであり、最大値は 5 月の約 80 $\mu\text{g/L}$ で、全国の河川調査結果の最大値 320 $\mu\text{g/L}$ の約 40%程度であった。⁴⁾ 季節別では、5 月以外では約 1/2 から 1/4 で大きな変動は見られなかった。5 月の高濃度の原因は濁水によるものと推察された。分類別では、No1 は AGR が最も高く、次いで B/H, PPCPs が同程度であった。No3 では AGR と B/H がほぼ同レベルで AGR のなかでも非自然発生の Cholestane が検出され、PPCPs も B/H に次いで高濃度を示した。No4, 5 の濃度レベルは同程度で B/H と PPCPs が大半を占めた。IND はすべての検体において非常に低濃度で全体に占める割合も 0.3～1.4%であった。また、PEST は使用量の多い 8 月に高めであったが全体的に低濃度であった。しかし、検出されたす

べての物質の水生生物に対する予測無影響濃度を超えたものは Fenobucarb, Chlorpyrifos methyl, Fenitrothion の農薬類であった。

(3) 処理施設の効果

A 支川の処理施設の平均除去率は 80%と非常に高い値を示した。分類別の除去率では農薬が若干低め (67%) であった。季節別では 8 月が低め (65%) であった。一方、No6 の浄水場 BCF の平均除去率は 66%で、分類別では B/H, AGR が低め (50%), 季節別では 2 月が低め (50%) であった。この除去率の差は、河川の処理施設におけるろ材の効果によるものも要因の一つと考えられる。

【結論】

対象河川からは 106 種類の化学物質が検出された。総濃度は全国河川の最高濃度に比べ約 1/4 程度であった。流域からの家庭排水・農業用水が流入する支川では AGR が高く、上流にし尿処理場のある支川では、PPCPs, B/H が高濃度であった。全体的に IND を発生源とする物質の濃度は非常に低濃度であった。対象河川の汚染は生活系、農業系によるものであることが化学物質の検出状況からも示唆された。生物処理およびろ材による化学物質の処理効果は 60%以上を示した。

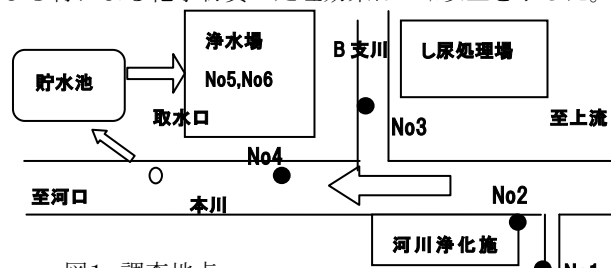


図1 調査地点

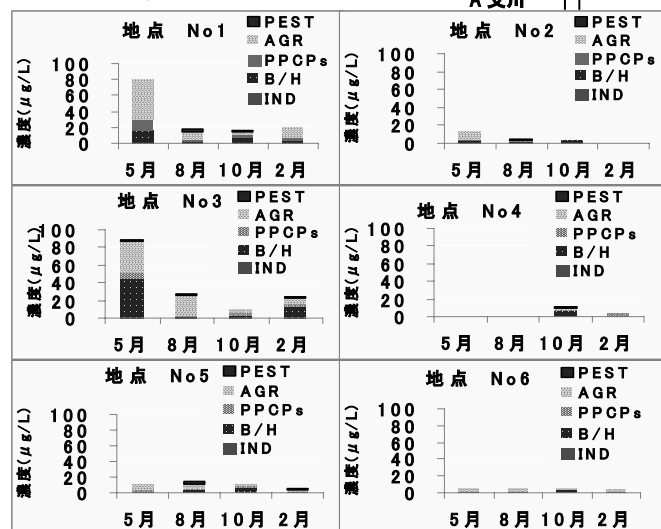


図2 各地点の季節別分類別の検出濃度

【参考文献】

- 1 K. Kadokami et al., *J. Chromatogr A*, 1089, pp219-226, 2005.
- 2 陣矢ら, 第 16 回環境化学討論会講演要旨集 (演題番号 P155) 2007.
- 3 陣矢ら, 第 4 回 77 研究発表会講演要旨集 1997.
- 4 門上ら, 第 41 回日本水環境学会年会講演集 (p601) 2007.

日本における淡水魚中の有機塩素系農薬類及びポリ臭素化ジフェニルエーテル蓄積量調査

梶原葉子

○岩村幸美, 陣矢大助 (北九州市立大学アควア研究センター)

門上希和夫 (北九州市立大学大学院国際環境工学研究科)

第 43 回水環境学会年会

平成 21 年 3 月 (山口市)

1. はじめに

ダイオキシン類、PCB や DDT 等有機塩素系農薬の残留性有機汚染物質 (POPs) は、地球規模で環境中に残留していることが明らかになっているが、淡水域での調査報告は比較的少ない。そこで、日本全国の淡水域において、有機塩素系農薬類 (OCPs) 及び POPs 候補物質であるポリ臭素化ジフェニルエーテル類 (PBDEs) の蓄積状況について調査した結果を報告する。

2. 調査方法

日本全国の淡水域から 14 地点を選定し、2003 年から 2005 年の秋期にギンブナ (琵琶湖のみニゴロブナ) 及び底質試料を採取した。ギンブナ試料は、体長 20~25cm のギンブナを各地点 30 個体以上採取し、筋肉部を等量混合したもの 1 試料とした。調査対象物質は DDT 類、クロルデン類、ドリソール類、ヘプタクロル類、ヘキサクロロベンゼン、マイレックス、HCH 類、PBDEs (1~10 臭素化物) である。試料の前処理方法は、OCPs は環境省の「モニタリング調査マニュアル」¹⁾ に準拠し、PBDEs は杉山らの方法²⁾ を参考にした。測定は、いずれも高分解能 GC/MS (JEOL JMS-700) を用いて分解能 10,000 以上で行った。

3. 結果及び考察

ギンブナ中の脂肪重量当たりの OCPs 濃度は大都市 (多摩川、天白川、大和川) で高い濃度であったが、底質では全く異なる濃度分布が見られた。ギンブナ、底質ともにクロルデン類と DDT 類の合計が今回対象とした OCPs 総濃度の 52%~96% を占めていた。クロルデンは、農薬用途以外にシロアリ駆除剤等として 1980 年代後半まで使用されていたため、都市部において高濃度であったと考えられる。マイレックスは、日本において農薬として登録されていないにもかかわらず、ギンブナから全地点で、底質から 9 地点で検出された。

ギンブナ中の PBDEs は、都市部において高濃度の傾向が見られた。底質中では、琵琶湖において顕著に高濃度に検出され、次いで黒瀬川、緑川水系、天白川の順に高い値を示した。ギンブナ中の PBDEs 同族体構成比の地域差はほとんど見られず、いずれの地点も 4BDEs が高く、最も高濃度で検出されたのは 2,2',4,4'-TeBDE (BDE-47) であった。一方底質試料では、PBDEs の同族体構成比はギンブナとは全く異なり、ジュンサイ沼及び四万十川を除いて主に 8~10 臭素化物が高い割合を占めていた (図 4 (b))。PBDEs は難燃剤として広く使用されており、底質試料中の存在状況は使用実態の影響を受けていると考えられる。

本調査は、環境省による「内分泌攪乱物質に関する日韓共同研究」の一環として国立環境研究所、釜山大学と共同で行った。また、調査地点の選定に当たり、大学及び関係自治体からご助言をいただいた。記して深謝いたします。

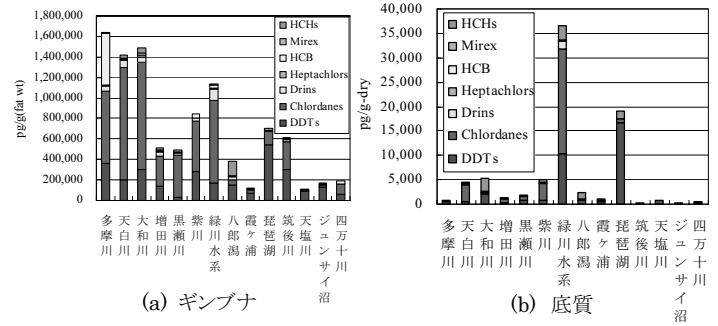


図 1 ギンブナ及び底質中の OCPs 濃度

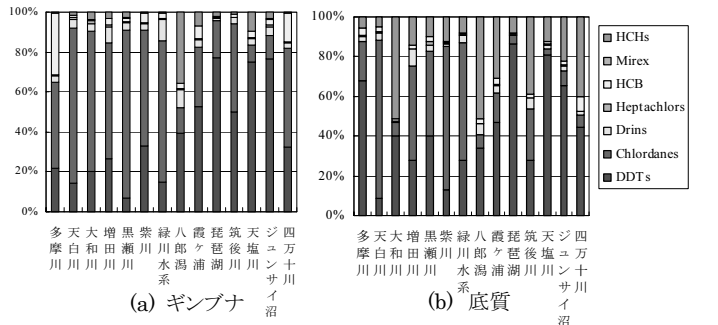


図 2 OCPs 物質群別濃度構成比

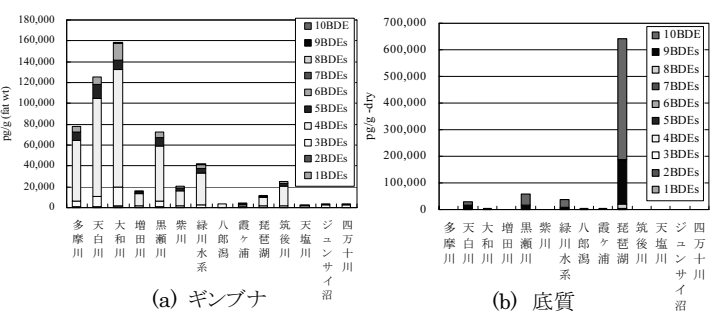


図 3 ギンブナ及び底質中の PBDEs 濃度

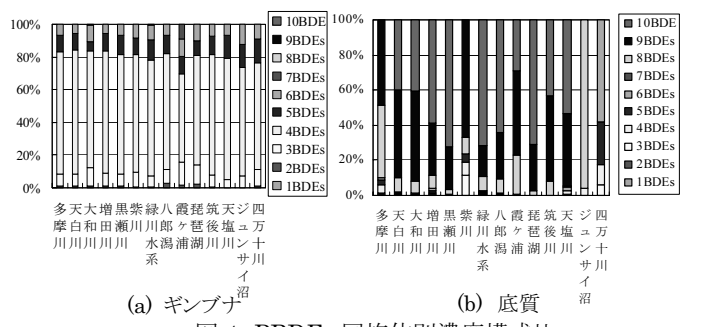


図 4 PBDEs 同族体別濃度構成比

【参考文献】

- 1) 環境省環境安全課: モニタリング調査マニュアル (2005)
- 2) 杉山広和: 岡山県環境保健センター年報, 28, 23-31 (2004)

散布農薬飛散（ドリフト）モデル試験の結果について

○苗床江理

共同研究者：北九州市産業経済局農林課

北九州市産業経済局総合農事センター

第1回北九州市立大学アクア研究センターとの合同研究発表会

平成20年8月（ウェルとばた）

1 はじめに

平成18年に食品残留農薬の規制にポジティブリスト制度が導入され、それまで基準が設定外であった作物にも厳しい一律基準(0.01ppm)が適用されるようになった。一方、市内の農家は、狭い農耕地に多種の作物を栽培することが多い。近接する農耕地から農薬が飛散（ドリフト）した場合、農産物から未使用の農薬が基準値を超えるような事態も予測される。しかし、その対策の裏づけとなるドリフト実態データは殆どない。

本市では、産業経済局農林課が、ファームレンジャー制度を立ち上げて市内農家に対して農薬の適正使用の指導にあたっている。

今回、ドリフトモデル試験を、農林課と共同で実施(平成18～19年度)した。得られたドリフトの結果を、今後のファームレンジャー活動に生かすことを目的とする。

(参考)ファームレンジャー制度とは
平成15年度より本市の産業経済局農林課が、農薬の専門知識を有する職員を「ファームレンジャー」として2名を配置し、JA北九東部、JA北九州と連携して、市内農家への農薬適正使用の指導などの活動により、市内産農産物の安全性の確保に努めるもの

2 実地試験概要

ドリフトの概況を把握するためのドリフト基礎実験として平成18年度に「モデル試験Ⅰ」を、その結果を踏まえ、平成19年度は、水田と畑の近接栽培事例の実証実験として「モデル試験Ⅱ」を実施した。

2.1 モデル試験Ⅰ

ドリフト基礎実験として、試験区を設定し、実施した。

- (1) 栽培環境：ハウス施設内と露地の2種類を設定した。(図1)
- (2) 試供作物：薬剤感受性が高く、試供作物として一般的な小松菜を採用した。
- (3) 畝の配置：ドリフト距離把握のために、ドリフト区畝を3本並行して造成した。(図2)
- (4) 散布日：平成18年11月6日
- (5) 散布農薬：小松菜に比較的使用頻度の高い農薬成分2種混合の噴霧形農薬(表1)を使用した。
- (6) 散布方法：標準的な背負い式動力噴霧機で噴霧した。
- (7) 残留濃度：農薬散布区及びドリフト区の作物について定期的にモニタリングした。

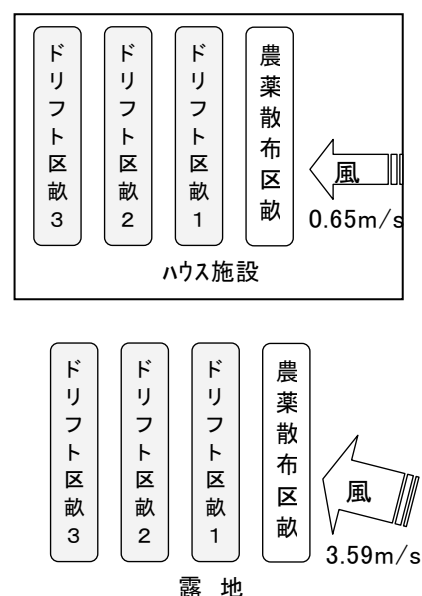


図1 試験区設定

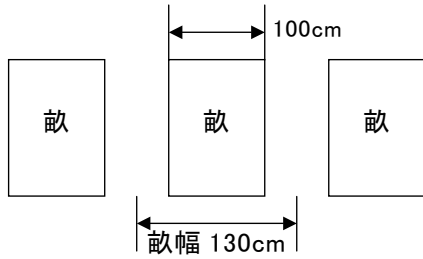


図2 畝幅の設定

表1 農薬散布区小松菜への散布農薬

農薬成分	薬剤名 (用途)	使用時期	散布濃度
クロルフェナピル	コテツフロアブル (殺虫)	収穫 14 日前まで	2000 倍 (50ppm)
アゾキシストロビン	アミスター 20 フロアブル(殺菌)	収穫 21 日前まで	2000 倍 (100ppm)

2.2 モデル試験 II

水田と畑の近接栽培事例の実証実験として、試験区を設定し、実施した。

- (1) 栽培環境：モデル試験 I と同様にハウス施設内と露地の 2 種類としたが、ハウス施設の農薬散布には、人工的に送風し、行った。(図 3、図 4)
- (2) 試供作物：農薬散布区は、水稲とした。ドリフト区は、露地にナスと小松菜を、ハウス施設内に小松菜のみとした。
- (3) 畝の配置：モデル試験 I の結果から、ドリフトの影響がある領域はおおよそ 2m 範囲内と推定したため、ドリフト区の畝は 1 本とした。
- (4) 散布日：平成 19 年 9 月 13 日
- (5) 散布農薬：水稲に比較的使用頻度の高い農薬成分 4 種混合の噴霧形農薬を使用した。(表 2) 但しこれらの農薬は、ナスと小松菜には登録されていない。
- (6) 散布方法：標準的な背負い式動力噴霧機で噴霧した。
- (7) 残留濃度：ドリフト区のみ作物について定期的にモニタリングした。

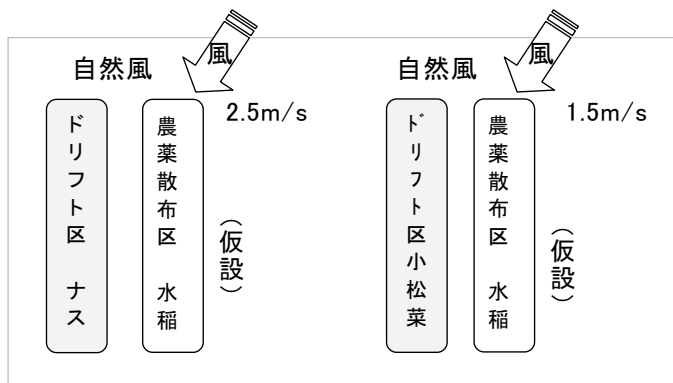


図3 露地の試験区設定

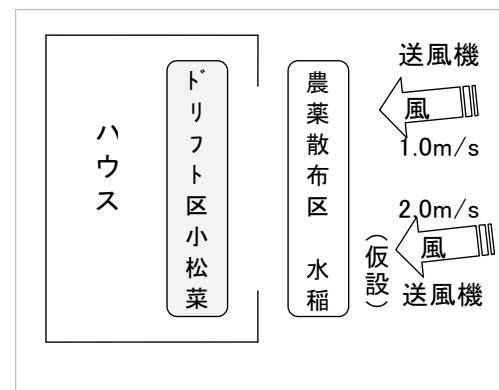


図4 ハウス施設の試験区設定

表2 水稲への散布農薬

農薬成分	薬剤名 (用途)	使用時期	散布濃度
トリクラゾール	ノンプラスフロアブル (殺菌)	収穫 14 日前まで	1000 倍 (80ppm)
フェリムゾン			1000 倍 (150ppm)
ペンシクロン	モンセレンフロアブル (殺菌)	収穫 21 日前まで	2000 倍 (100ppm)
シラフルオフェン	Mr.ジョーカー EW (殺虫)	収穫 14 日前まで	1500 倍 (127ppm)

3 残留農薬の測定法

均一化試料 20.0g を採取した。アセトニトリル 50mL を加え、ホモジナイズ後吸引ろ過を行った。2 回目はアセトニトリル 30mL で同様の処理を行った。ろ液を併せアセトニトリルで 100mL に定容した。

その 25mL を分液ロートに分取し、リン酸緩衝液 (pH7) 25mL と NaCl 10g を加え振とうした。有機層を無水 Na_2SO_4 カラムに流下させた後、濃縮し、25%トルエンアセトニトリル溶液 2mL に溶解した。コンディショニング済のミニカラム (スペルコ社 ENVI-Carb/LC-NH2) に、負荷後少量の 25%トルエンアセトニトリル溶液で洗い込み、20mL で溶出させた。溶出液を濃縮し、最後、窒素気流下で穏やかに溶媒を除去した。

測定対象農薬によって、その後の操作は異なり図 5 のとおり。A クロルフェナピルの場合、アセトン：ヘキサン (1:1) で 1mL に定容し、GC/MS 測定を行った。B その他の農薬類は、メタノールで 5mL に定容し、LC/MS/MS 測定を行った。高濃度検出時は適宜希釈し、再測定した。

検出例としてのナス (露地) の LC/MS/MS クロマトグラムを図 6 に示す。

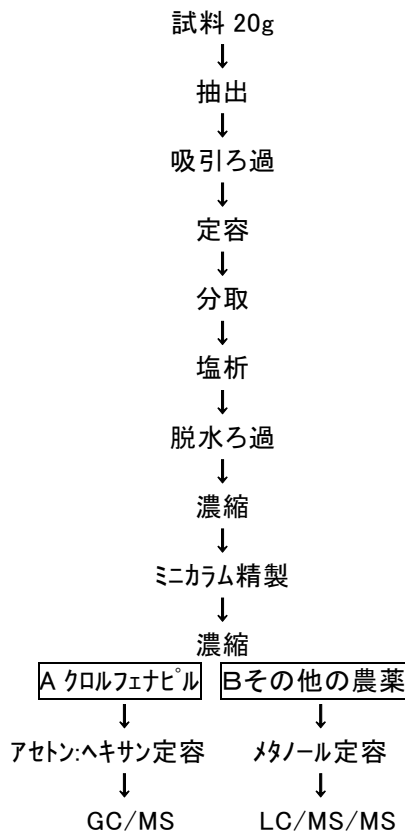


図 5 操作フロー

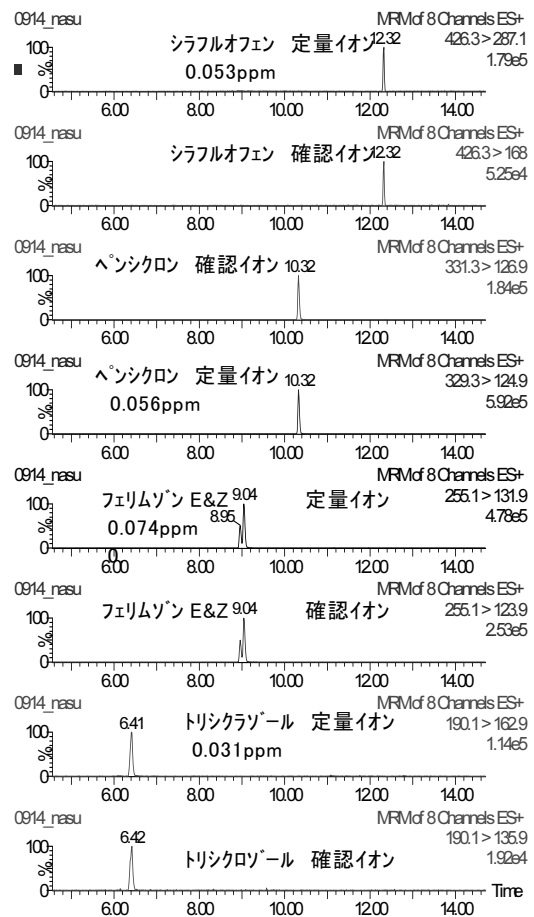


図 6 検出例 ナス 散布後 5 日
LC/MS/MS クロマトグラム

4 試験結果と考察

4.1 モデル試験 I

残留濃度モニタリングの結果を表 3、表 4 に示す。

表 3 クロルフェナピルの残留濃度 (単位: ppm、定量限界: 0.005ppm、ND: 定量限界未満)

散布後日数	ハウス施設				露地			
	散布-畝	ドリフト-畝 1	ドリフト-畝 2	ドリフト-畝 3	散布-畝	ドリフト-畝 1	ドリフト-畝 2	ドリフト-畝 3
0	12	ND	ND	ND	4.2	ND	ND	ND
7	3.6	ND	ND	ND	0.98	ND	ND	ND
14	1.2	ND	ND	ND	0.33	ND	ND	ND
21	0.42	—	—	—	0.14	—	—	—

表 4 アゾキシストロピンの残留濃度 (単位: ppm、定量限界: 0.001ppm、ND: 定量限界未満)

散布後日数	ハウス施設				露地			
	散布-畝	ドリフト-畝 1	ドリフト-畝 2	ドリフト-畝 3	散布-畝	ドリフト-畝 1	ドリフト-畝 2	ドリフト-畝 3
0	18	0.034	ND	ND	9.4	0.099	0.008	0.005
7	4.6	0.004	ND	ND	0.37	0.002	0.001	0.001
14	1.5	ND	ND	ND	0.086	ND	ND	0.002
21	0.041	—	—	—	0.029	—	—	—

注: **太字斜体の値**は、食品規格基準超過を示した。

(1) 農薬の種類

ドリフト区でアゾキシストロピンが検出された。

一方、クロルフェナピルは検出されなかった(定量限界

0.005ppm: 農薬散布区における散布日濃度の 0.1~0.04%未満濃度)。その物性として、空気中で分解し(半減期 0.88 日)、蒸散する(蒸気圧 1.1×10^{-7} mPa (20°C))傾向がある。このことから、クロルフェナピルはドリフト区作物に被曝したものの、農薬散布から試料採取までの 1-2 時間に分解や蒸散し、定量限界未満レベルまで消失したものと考えられる。

(3) 栽培環境

ハウス施設内、露地に関わらず、アゾキシストロピンが検出された。露地の方が高濃度傾向であるものの、風速が小さいハウス施設内でもドリフトの影響が認められた。

(2) ドリフトの影響

散布日のドリフト区で、露地で最高 0.099ppm、ハウス施設内で 0.034ppm が検出された。

小松菜は、残留基準値があり(表 5)、既に散布日の時点で、食品規格 (=残留基準値があるものは残留基準値以下、無いものは一律基準値 0.01ppm 以下) に適合した。

もし、ドリフト区作物が残留基準設定外のもので、かつそれが散布直後に収穫されたと想定した場合、その残留農薬が一律基準 0.01ppm 超過の可能性が生じてくる。このことは、ドリフトによる残留農薬の問題が生じ得ることを示唆した。

(4) ドリフト影響距離

露地試験区におけるアゾキシストロピンの散布日の散布区濃度を 1 とすると、ドリフト区の濃度レベルは、順に、畝 1 でおよそ 1/100、畝 2 で 1/1000、畝 3 で 1/2000 であった。(図 7)

表 5 食品規格基準(小松菜)

農薬名	食品規格基準
アゾキシストロピン	5ppm(残留基準)
クロルフェナピル	3ppm(残留基準)

畝1の濃度は一律基準の10倍レベルであったが、畝2の地点では一律基準よりも低かった。

地点間距離(=畝幅1.3m、図2)から、作物種や収穫時期によっては、ドリフトによる残留農薬が問題となる恐れのある領域は、散布中心からおよそ2m範囲内と推測した。

(参考) 農薬散布区小松菜の残留濃度

栽培環境に関わらず、農薬散布区小松菜の残留濃度推移は、初期7日間で7割以上も急

激に消失し、その後穏やかな減少傾向であった。(表3、表4) 農薬の使用時期(表1)から指定される収穫時期における残留濃度は、クロルフェナピル1.2~0.14ppm、アゾキシストロビン0.041~0.029ppmといずれも食品規格(表5)に適合した。このことから、農薬の使用時期の遵守の重要性を確認した。

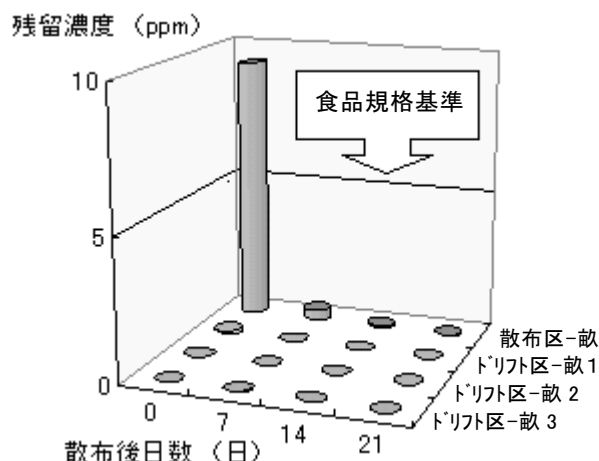


図7 アゾキシストロビンの地点別濃度分布(露地)

4.2 モデル試験II

作物別残留農薬の結果を表6に示す。また、農薬別の濃度推移を図8に示す。

表6 作物別残留農薬濃度(単位:ppm)

散布後 日数	露地								ハウス施設			
	ナス				小松菜				小松菜			
	トリシクラ ゾール	フェリム ゾン	ペンシク ロン	シラフル オフエン	トリシクラ ゾール	フェリム ゾン	ペンシク ロン	シラフル オフエン	トリシクラ ゾール	フェリム ゾン	ペンシク ロン	シラフル オフエン
1	0.031	0.031	0.056	0.052	0.20	0.25	0.37	0.41	0.072	0.074	0.13	0.14
5	0.008	0.008	0.023	0.005	0.018	0.006	0.055	0.28	0.016	0.004	0.043	0.062
7	ND	ND	0.002	ND	0.004	ND	0.012	0.063	0.007	ND	0.027	0.039
14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.003	0.020	ND	ND	0.005	0.011
21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.003	0.016	ND	ND	ND	0.005

注1: **太字斜体の値**は、食品規格基準超過を示した 注2: 定量限界はいずれも0.001ppm

(1) 農薬の種類

散布1日後のドリフト区において、使用した全ての農薬が検出され、ドリフトの影響が認められた。

(最高0.41ppm: 露地小松菜、シラフルオフエン)

(2) 栽培環境

モデルIと同様に、露地、ハウス施設ともに試験した全ての農薬のドリフトの影響が認められた。

(3) 作物種と部位

小松菜はいずれの農薬についても、ナスよりも高濃

度であった。その理由は、小松菜の方が重量あたりの表面積が大きいことや、ナスは、試験に供されない葉が実を覆い農薬の被曝を遮蔽したためと考えられる。

表7 食品規格基準(単位:ppm)

農薬名	ナス	小松菜
トリシクラゾール	0.02(残留基準)	0.02(残留基準)
フェリムゾン	0.01(一律基準)	0.01(一律基準)
ペンシクロン	1(残留基準)	0.5(残留基準)
シラフルオフエン	0.05(残留基準)	0.05(残留基準)

(4) ドリフトの影響

散布1日後のドリフト区の作物に、最高0.41ppm～最小0.031ppmと、一律基準0.01ppm以上の濃度が検出された(表6)。このことは、モデル試験Iと同様に、作物種と収穫時期によっては、ドリフトによる残留農薬の問題が生じ得ると示唆した。

また、農薬散布区水稻の農薬の使用時期(表2)から指定された収穫時期であれば、ドリフト区の作物は食品規格(表7)に適合した。ナスと小松菜が使用した農薬に未登録であることから、近接栽培も含めた使用農薬の情報把握が重要であると判明した。

更に、各農薬の濃度推移(図8)から、水溶性(表8)が高い程、急激に濃度減衰する傾向があった。逆にシラフルオフェンなど難水溶性のものは、雨水や灌水による流出損失が少なく残留傾向があるため、特に収穫時期への注意を要すると考える。

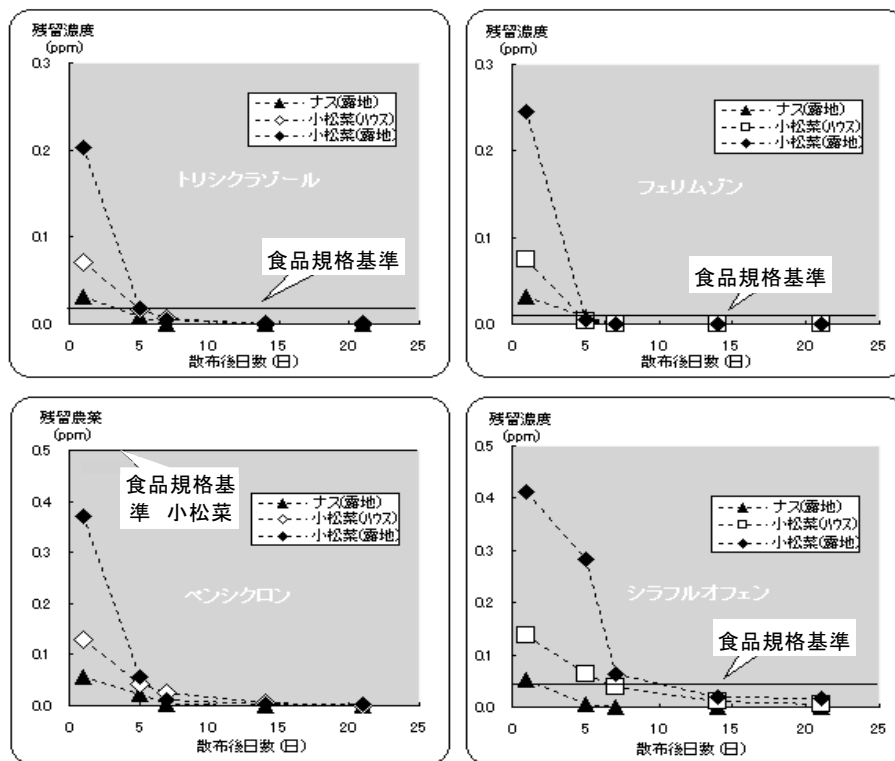


表8
各農薬の水溶解度(mg/l)

トリシクラーゾール	596 (20°C)
フェリムゾン	162 (30°C)
ベンシクロン	0.3 (20°C)
シラフルオフェン	0.001(20°C)

図8 各農薬の濃度推移

5 まとめ

今回の調査においては、農薬散布地点からおおよそ2m範囲内であるが、ハウス施設、露地ともに、使用した殆どの農薬(6種中5種)において、作物種や収穫時期によっては、ドリフトによる残留農薬の問題が生じ得ることが分かった。近接栽培も含めた使用農薬の情報把握が必要であることも同時に示唆された。

参考文献 「農薬ドリフト試験結果について(農作物の安全安心対策事業)」産業経済局農林課

LC/MS/MSを用いた食品中残留農薬一日摂取量実態調査

○苗床江理、布川徹
花田喜文（建設局水質管理課）
第34回九州衛生環境技術協議会
平成20年10月（長崎市）

1 目的

北九州市における市民の食品由来の農薬摂取の実態を把握するために、マーケットバスケット方式の試料について、低濃度測定が可能なLC/MS/MSを用いて残留農薬測定を行った。なお、当調査は平成19年度厚生労働省受託事業である。

2 試料の調製法

調査対象食品は「平成17年度国民栄養調査」の食品分類と食品別摂取量を参考に、市内の市販食品（購入時期：平成19年12月）と飲料水のおよそ170品目について、14の食品群に分類後、摂取量比に分取し均一化した（表1）。なお、未調理の食品は調理加工した。

3 試験法

3.1 前処理 ①1~3群、5~9群、12~14群

平成17年1月24日付食安発0124001号厚労省通知のLC/MSによる農薬の一斉試験法（農産物）に準じて行った。

② 4群、10群、11群

試料5.0gをヘキササン30mLを加え均一化したものに、ヘキササン飽和アセトニトリル30mL（2回目30mL、3回目30mL）と無水Na₂SO₄10gを加えホモジナイズした後、ろ過した。濃縮後、PSAミニカラム精製を行った。溶媒除去後、メタノール10mLに定容した。

3.2 測定

LC/MS/MS測定を行った。表3に測定装置条件を、表4に41種の対象農薬名、イオン化条件及び定量限界を示す。

4 添加回収試験

8群、11群、14群試料の添加回収試験（標準品添加濃度0.02ppm相当）の結果を表5に示す。8群試料では39種（95%）、11群で37種（90%）、14群で22種（54%）が良好であった。

5 結果

10種の農薬を検出した（表2）。検出農薬の摂取量はADI（一日摂取許容量）の0.22~0.0041%となり、今回調査した41種の農薬については、健康上問題のないレベルと分かった。

参考までに、検出農薬の群別摂取量のADI比を群別に積算したところ（表1）、他の群に比べて、野菜類の7群、8群食品から0.24%、0.10%と比較的高く摂取され、僅かながらも油脂類（4群）からも摂取される傾向が分かった。

なお、クロメプロップはADI未設定のためADI比算出はしていない。

表1 食品群と群別積算ADI%

群	主成分	群別積算ADI(%)
1	米類	
2	穀類・芋類	
3	砂糖類・菓子類	
4	油脂類	0.0016
5	豆類	
6	果実類	0.041
7	緑黄色野菜類	0.24
8	淡色野菜類・海草	0.10
9	調味・嗜好飲料	0.082
10	魚介類	—
11	肉類・卵類	
12	乳類	0.013
13	その他の食品	—
14	飲料水	

表2 検出農薬一覧

農薬名	用途	一日摂取量(μg)(n=3)		ADI (ug/50kg体重/日)	ADI比 (%)
		総量	群別		
アゾキシストロピン	殺菌剤	0.37	0.37 (7群)	9000	0.0041
オキサミル	殺虫剤	0.20	0.20 (8群)	1000	0.020
クロメプロップ	除草剤	0.66	0.24 (10群)、0.42 (13群)	未設定	—
チアクロプリド	殺虫剤	0.75	0.24 (6群)、0.017 (7群)、0.49 (9群)	600	0.13
チアトキサム	殺虫剤	0.055	0.055 (8群)	900	0.0061
メソミル	殺虫剤	0.95	0.95 (8群)	1400	0.068
ノバルロン	殺虫剤	0.11	0.059 (7群)、0.055 (8群)	550	0.020
フルフェノクスロン	殺虫剤	4.0	0.0040 (4群)、4.0 (7群)、0.031 (12群)	1850	0.22
ボスカリド	殺菌剤	0.11	0.002 (4群)、0.021 (6群)、0.033 (7群)	2200	0.0050
ルフェエロン	殺虫剤	0.091	0.0091(4群)、0.082 (12群)	700	0.013

表3 HPLC-LC/MS/MS 装置条件

装置:	Waters AQUITY UPLCTM システム/Waters Quattro Premier XE					
カラム:	Waters AQUITY UPLCTM BEH C18 1.7um 2.1×100mm					
移動相:	A 5mM 酢酸 NH4 水溶液/ B 5mM 酢酸 NH4 メタノール溶液 B%(min)=5(0)→5(1)→60(3)→95(12)→95(28)→5(30)					
カラム温度:	40°C	流速:	0.3mL/min	注入量:	35uL	
イオン化モード:	エレクトロスプレー(ESI+/ESI-)		キャピラリー電圧:	1kV	イオン源温度:	120°C

表4 農薬名、LC/MS/MS イオン化条件及び定量限界

農薬名	測定モード	プリカーサーイオン m/z	プロダクトイオン m/z	イオン電圧 (V)	C.E. ※1 (eV)	定量限界 (ppm)	農薬名	測定モード	プリカーサーイオン m/z	プロダクトイオン m/z	イオン電圧 (V)	C.E. ※1 (eV)	定量限界 (ppm)
アザフェニジン	ESI+	338.0	263.9	35	25	0.0001	ジメチルモール	ESI+	210.2	70.9	40	30	0.001
アンベンゾラルSメチル	ESI+	211.0	136.0	35	25	0.002	シラフルオフェン	ESI+	426.3	287.1	10	30	0.002
アゾキシストロビン	ESI+	404.1	372.1	20	15	0.0001	チアクロフリト	ESI+	253.0	125.8	30	25	0.0001
アベルメクチン B _{1a}	ESI+	890.5	305.2	20	25	0.001	チアトキサム	ESI+	292.0	211.0	20	15	0.0001
アルシカルブ	ESI+	208.1	115.7	10	5	0.0001	テブフェノジト	ESI+	353.2	132.8	10	20	0.0001
イソキサフルトール	ESI+	360.1	250.9	25	20	0.0001	トリコナゾール	ESI+	318.1	69.8	25	15	0.0001
イプロハリカルブ	ESI+	321.2	118.9	15	20	0.0001	トリフロムロン	ESI+	359.0	155.8	25	20	0.0001
イミダクロフリト	ESI+	256.1	174.8	20	20	0.001	ノバルロン	ESI+	493.0	157.8	25	25	0.0001
エホキシコナゾール	ESI+	330.1	120.8	25	20	0.0001	ブリフタリト	ESI+	319.1	138.9	40	30	0.0001
オキサミル	ESI+	237.1	71.8	10	10	0.0001	フェノブカルブ	ESI+	208.1	94.7	20	15	0.001
オリザリン	ESI-	345.1	281.1	40	20	0.0001	フェンアミト	ESI+	312.1	91.8	20	30	0.0001
カルブロハミト	ESI+	334.1	138.8	20	20	0.001	フェンメディファム	ESI+	318.1	167.8	15	15	0.0001
(キサロホップPテフリル) ※2	ESI+	429.1	298.9	30	20	0.0001	フルフェノクスロン	ESI+	489.0	157.8	25	25	0.0001
キサロホップエチル	ESI+	373.1	299.0	30	20	0.0001	プロハキサホップ	ESI+	444.1	99.8	25	15	0.0001
クロキセットメキシル	ESI+	336.1	238.0	25	15	0.0001	ヘキシチアゾクス	ESI+	353.1	227.9	20	15	0.0001
クロフェンテジン	ESI+	303.0	137.8	20	20	0.0001	ホスカリト	ESI+	343.0	307.0	30	25	0.0001
クロメフロップ	ESI+	324.1	119.7	25	20	0.0001	メゾミル	ESI+	163.1	87.8	10	10	0.001
クロロクスロン	ESI+	291.1	71.8	30	20	0.0001	メタベンスチアスロン	ESI+	222.1	164.9	20	15	0.0001
シクロエート	ESI+	216.1	82.9	20	15	0.002	トキシフェノジト	ESI+	369.2	149.0	10	20	0.0001
シフルフェナミト	ESI+	413.0	295.1	20	15	0.0001	ラクトフェン	ESI+	479.1	343.9	20	15	0.0005
シプロジニル	ESI+	226.1	92.8	40	40	0.001	ルフェスロン	ESI-	509.0	325.9	25	20	0.0001

※1 C.E.とは、コリジョンエネルギーのこと。

※2 キサロホップ P テフリルは、キサロホップエチル測定時の同時測定項目

表5 添加回収試験結果

農薬名	8群 淡色野菜類・海草 (n=3)		11群 肉類・卵類 (n=3)		14群 飲料水 (n=3)		農薬名	8群 淡色野菜類・海草 (n=3)		11群 肉類・卵類 (n=3)		14群 飲料水 (n=3)	
	平均	CV%	平均	CV%	平均	CV%		平均	CV%	平均	CV%	平均	CV%
アザフェニジン	93.7	5.8	98.1	2.2	106.0	10.5	ジメチルモール	41.1	41.6	100.8	2.3	34.5	89.1
アンベンゾラルSメチル	111.5	12.6	127.2	11.2	86.4	23.5	シラフルオフェン	90.5	5.0	47.6	10.7	104.0	15.5
アゾキシストロビン	105.6	6.1	103.7	4.7	100.7	20.2	チアクロフリト	69.4	12.3	89.7	7.2	103.6	20.7
アベルメクチン B _{1a}	103.7	10.5	101.5	4.7	90.5	14.2	チアトキサム	78.7	6.1	74.0	22.0	88.1	16.3
アルシカルブ	89.6	3.8	82.3	4.2	18.8	173.2	テブフェノジト	96.3	2.0	102.9	3.6	97.6	13.9
イソキサフルトール	94.3	4.5	52.8	34.9	83.9	4.7	トリコナゾール	93.6	11.4	99.3	2.3	103.5	14.6
イプロハリカルブ	101.1	5.9	101.6	4.0	102.0	12.1	トリフロムロン	95.6	5.0	98.2	4.8	77.1	13.7
イミダクロフリト	86.6	4.7	90.8	7.6	87.6	9.5	ノバルロン	97.1	2.9	103.6	4.9	69.1	15.6
エホキシコナゾール	94.2	2.7	101.4	5.6	99.8	15.7	ブリフタリト	106.0	4.5	100.8	4.6	103.5	19.6
オキサミル	93.7	8.7	96.0	4.0	89.5	7.1	フェノブカルブ	93.8	13.6	98.0	10.3	69.6	6.6
オリザリン	98.5	19.1	113.0	12.3	83.3	7.1	フェンアミト	98.7	3.3	99.9	7.3	96.1	16.2
カルブロハミト	93.8	5.6	102.0	5.2	104.6	15.5	フェンメディファム	94.0	3.3	96.4	1.8	35.7	51.6
(キサロホップPテフリル)	99.2	4.8	100.1	6.3	99.5	14.0	フルフェノクスロン	99.4	1.0	96.5	10.4	75.2	6.2
キサロホップエチル	98.9	4.4	103.0	6.4	92.6	8.1	プロハキサホップ	97.1	2.5	96.1	3.9	98.0	12.7
クロキセットメキシル	99.3	3.1	99.1	2.9	98.5	16.8	ヘキシチアゾクス	98.0	5.1	94.4	2.3	101.8	10.5
クロフェンテジン	94.5	2.6	69.5	27.3	85.3	20.1	ホスカリト	93.6	4.9	93.4	8.4	97.5	9.9
クロメフロップ	99.1	4.6	97.1	3.2	104.4	17.9	メゾミル	96.3	12.0	77.6	11.0	92.4	6.2
クロロクスロン	95.1	3.2	100.2	2.0	100.0	11.7	メタベンスチアスロン	96.3	9.4	98.1	3.0	95.7	9.0
シクロエート	99.7	3.0	73.9	3.5	66.0	7.1	トキシフェノジト	98.1	5.8	95.2	2.1	91.1	10.8
シフルフェナミト	95.7	1.7	100.1	3.2	98.0	10.6	ラクトフェン	101.5	4.2	98.6	2.4	94.3	10.0
シプロジニル	101.1	5.6	97.7	3.0	94.9	15.1	ルフェスロン	98.3	5.1	101.4	3.5	73.5	11.1

※ 太字の値は回収率 70~120%範囲外、又は CV%は 15%以上を示す。

※ 標準品添加量は試料中濃度 0.02ppm 相当。

リアルタイム PCR を用いた *Campylobacter jejuni* および *Campylobacter coli* の迅速検出法の検討

○村瀬浩太郎、清水寧、下原悦子

第 34 回九州衛生環境技術協議会

平成 20 年 10 月（長崎市）

[はじめに]

食中毒事件における原因菌の検査は、食中毒のまん延および再発防止という観点から行政処分や衛生指導のためにも迅速性が求められる。平成 18 年度以降、当所では従来のカンピロバクター属菌検査法の問題点である①菌の同定に日数がかかること②生化学性状試験において判定困難な事例が存在すること③の解消を目的として PCR 法を導入しており、一度の PCR で *Campylobacter jejuni* と *Campylobacter coli* を同時に検出・識別できる方法で実施している。

一方、PCR 法よりもさらに迅速な検査法としてリアルタイム PCR 法がある。リアルタイム PCR（インターカレーター法）での融解曲線分析では、増幅された DNA の融解温度を確認することにより、PCR 法で必要となる電気泳動・染色などの確認操作が不要となるからである。

そこで今回、リアルタイム PCR におけるインターカレーター法について基礎的検討を行った結果、両菌種の同時検出において PCR 法よりも有効性を示す結果が得られたので報告する。

[材料および方法]

1 供試材料

①保存菌株（過去の食中毒事件の際に分離・同定・保存された 7 菌株）

当所にて実施している PCR 法では、選択分離培地上に出現したコロニーをサンプルとして用いているが、今回はその前段階の増菌培養液（プレストン培地）をサンプルとしたものを追加した。プレストン培地については、アルカリ抽出およびキットを用いて DNA を抽出した。

キット抽出には QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を使用した。

②半年間冷蔵保存患者便 15 検体

さらに患者便そのものをサンプルとしたものについても検討を行った。冷蔵保存患者便からの DNA 抽出には QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN) を使用した。

2 プライマー

最初は PCR 法と同様に *C. jejuni* : hippuricase / *C. coli* : CCCH をターゲット領域に定め、Primer Express Version 2.0.0 (Applied Biosystems) にて設計し検証に用いたが、CCCH に関しては特異性に問題があったため、ターゲット領域を *cdt*（細胞膨化致死毒素をコードする遺伝子）に変更して実施した。

3 方法

リアルタイム PCR 装置は ABI 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) を使用した。反応試薬は SYBR Premix Ex Taq (Perfect Real Time)（タカラバイオ）を使用し、反応条件はアニーリング・伸長 60℃・30 秒のシャトル PCR（標準プロトコール）にて実施した。さらに *C. jejuni* および *C. coli* を同時に検出する条件を検討した結果、各プライマーセットを混合後アニーリング・伸長 66℃・30 秒でより安定した融解曲線分析結果が得られたことからこれを採用した。

PCR 法は、日常業務で導入している方法で実施した。

[結果]

表 1 保存菌株

	菌株 No.	菌種	PCR 法			リアルタイム PCR 法			<T _m 値>
			プレストン		コロニー	プレストン		コロニー	
			キット	アルカリ	アルカリ	キット	アルカリ	アルカリ	
1	07030	<i>coli</i>	<i>coli</i>	<i>coli</i>	<i>coli</i>	82.1	82.9	82.9	
2	06135	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	<i>jejuni</i>	79.7	80.3	81.2	

3	06136	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	<i>jejuni</i>	79.3	80.5	80.9
4	05025	<i>coli</i>	<i>coli</i>	—	<i>coli</i>	81.9	83.2	83.4
5	05026	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	<i>jejuni</i>	79.9	80.8	81.1
6	05018	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	<i>jejuni</i>	79.7	80.5	80.6
7	05017	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	<i>jejuni</i>	80.1	80.7	80.8

jejuni 79.7±0.4 80.6±0.3 80.9±0.3
coli 82.0±0.1 83.0±0.2 83.2±0.3

プレストン培地からキットを用いて抽出したものは PCR 法・リアルタイム PCR 法ともに検出したが、アルカリ抽出したものはリアルタイム PCR 法のみ全て検出した。

リアルタイム PCR 法で融解曲線分析を行うと、*C. jejuni* で 80℃前後、*C. coli* で 82℃前後に T_m 値のピークが存在するが、アルカリ抽出したもののの方がキット抽出したものよりも T_m 値が若干高めに出来ていた。

表 2 半年冷蔵保存患者便

還元結果	検体 No.	2007/10 食中毒事件発生時に実施			2008/4 半年冷蔵保存患者便で実施	
		PCR 法			PCR 法	リアルタイム PCR 法 <T _m 値>
		コロニー	プレストン(結果還元後に予備実験)		糞便	
	アルカリ	キット	アルカリ	キット		
<i>jejuni</i>	15	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	—	79.5
<i>jejuni</i>	16	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	—	79.5
<i>jejuni</i>	17	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	—	79.5
<i>jejuni</i>	18	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	—	79.4
<i>jejuni</i>	19	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	—	79.4
<i>jejuni</i>	20	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	(<i>jejuni</i>)	79.7
<i>coli</i>	21	<i>coli</i>	<i>coli</i>	—	—	81.4
<i>jejuni</i>	22	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	<i>jejuni</i>	79.6
<i>coli</i>	23	<i>coli</i>	<i>jejuni & coli</i>	—	(<i>jejuni & coli</i>)	79.2/81.5
<i>jejuni</i>	24	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	—	79.4
<i>jejuni</i>	25	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	(<i>jejuni</i>)	80.2
<i>jejuni & coli</i>	29	<i>jejuni & coli</i>	<i>jejuni & coli</i>	—	<i>jejuni</i>	79.3/82.3
<i>coli</i>	30	<i>coli</i>	<i>coli</i>	—	—	81.4
<i>jejuni</i>	33(無症)	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i>	—	—	79.7
—	26	—	<i>jejuni</i>	未実施	未実施	79.9

半年冷蔵保存患者便からのものは PCR 法では検出率が低い、リアルタイム PCR 法では全て検出した。
一部 PCR 法では得ることのできなかつた結果をリアルタイム PCR 法では検出できた。

[考察]

今回設定したリアルタイム PCR の反応系において、T_m 値の異なるピークを確認することにより約 1 時間 30 分で *C. jejuni* および *C. coli* を同時に検出することが可能となった。これにより従来の PCR 法よりさらに検査時間の短縮が図られた。

保存菌株での検証において抽出法の違いにより T_m 値に差が生じたのは、サンプル元の純度や抽出操作に用いる溶液組成などにより、溶液中の DNA 濃度が異なるために起きているものと考えられる。

また、プレストン培地からのアルカリ抽出 DNA や半年も経過した糞便検体からもリアルタイム PCR 法では全て検出し、なおかつ PCR 法では未検出だったものも検出することができた。糞便から病原体 DNA を抽出しリアルタイム PCR 法を用いれば、検体搬入日に結果を得ることも可能である。

以上のことから、リアルタイム PCR 法は PCR 法よりも高感度でかつ迅速性に優れていると考えられた。

今後実際のカンピロバクター食中毒が疑われる事例に応用すれば、スクリーニングとしての実用性を証明できると思われる。

論文・報告書

平成20年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

検査機関の信頼性確保に関する研究

食品に含まれる微量農薬の分析法と精度管理体制の構築に関する研究

布川徹 梨田実 苗床江理 衛藤修一

主任研究者	小島幸一	財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所 所長
研究分担者	尾花裕孝	大阪府立公衆衛生研究所 食品化学課長
	畠山えり子	岩手県環境保健研究センター
	土田由里子	新潟県保健環境科学研究所
	上野英二	愛知県衛生研究所
	田中健	奈良県保健環境研究センター
	田中敏嗣	神戸市環境保健研究所
	河瀬志保	広島市衛生研究所
	堤泰造	徳島県保健環境センター

平成20年度総括・分担研究報告書（尾花裕孝）、pp23-118(2008)

研究要旨

食品中の残留農薬基準は、主に使用後の残留を監視する目的で生鮮農産物を対象に設定されており、検査体制もそれに則っている。そのため、複数食材を加工、調理して製品化されている加工食品や冷凍食品に対しては、残留農薬分析は行われていなかった。しかし、平成20年初頭に冷凍餃子への農薬混入事件が発覚したため、加工食品に対する不安が急激に増大し、これを受けて加工食品に対する農薬分析の需要が喚起された。加工食品といってもその種類は多種多様であり、生鮮食品に準じた検査方法で農薬分析が行える範囲は限定的である。

そこで、加工度が高く脂質を含む加工品を対象に分析法を考案、例示し、消費段階の分析機関である地方衛生研究所で、加工食品中の農薬分析への対応の可否を検証した。参加した地方衛生研究所は岩手県、新潟県、愛知県、奈良県、大阪府、神戸市、広島市、徳島県、北九州市の9機関であり、検証方法としては内部精度管理試験および外部精度管理試験を実施した。

今回、加工食品の代表例となる精度管理用試料には、含有する原材料数、脂質含有量、試料調製時の利便性を考慮してレトルトカレーを用いた。添加農薬としては、農薬混入事件の実例をもとにアセチルコリンエステラーゼ阻害作用をもつ有機リン系、カーバメート系農薬とし、使用する農薬標準品を共通化する為に、市販品の農薬混合標準液に含まれる15種類を選択した。例示した分析法の概略は次の通り。

吸水剤として硫酸マグネシウムと混合した試料より、酢酸エチルで農薬成分を抽出し、アセトニトリル分配で脱脂した後、グラファイトカーボンおよび一級二級アミン固相カートリッジで精製を行って、GCおよびLCの質量分析計で測定した。

全機関で無添加試料を用いた内部精度管理試験、外部精度管理試験を行い、平均回収率と変動係数を算出した。品質管理などに用いられている \bar{X} -R管理図や、Zスコアによる評価を行った結果、全ての測定農薬で全項目が適正範囲に入ったのは2機関のみであり、その他の7機関では一つ以上の項目が適正範囲に入らなかった。このことは、今回試料に選択したレトルトカレーが測定困難な試料であったこと、また、メタミドホスやアセフェートのように極性が高く、一斉分析法での分析が困難な農薬が含まれていたことが原因として考えられる。GC-MSでは夾雑物のピークが多く見られ、定性や定量に支障をきたす例もあった。LC-MS/MSでは、MRM測定のため夾雑物のピークとしては観測されなかったが、共存する物質によるイオン化抑制を受け、見かけ上の回収率が低下する原因になったと考えられた。さらに、GCシステム評価試料で大きな変動が見られた機関があることから、今回の試料を連続して測定し、安定した分析結果を得ることは容易ではないと考えられた。

加工食品は通常業務の検査対象ではないため、分析方法に習熟する時間的余裕がなかったことも大きな要因であると考えられるが、カレーのような高度に加工された試料を用いての一斉分析は、現時点では高い精度を得ることは困難であると思われる。しかし、市場流通品に対する残留農薬分析は主としてスクリーニングであり、現在の加工食品中の農薬分析において、地方衛生研究所に求められる有事に際した即応性は高く評価できると思われる。

九州地区における食品由来感染症の拡大防止・予防に関する取り組み3 —IS-printing System の分子疫学的解析法としての有用性について—

村瀬浩太郎

堀川和美、江藤良樹、中村祥子、濱崎光宏、小野塚大介、村上光一、竹中重幸（福岡県保健環境研究所）
尾崎延芳（福岡市保健環境研究所）、西桂子（佐賀県衛生薬業センター）、右田雄二（長崎県衛生公害研究所）
江原裕子（長崎市保健環境試験所）、松本一俊（熊本県保健環境科学研究所）、岩永貴代（熊本市環境総合研究所）
河野喜美子（宮崎県衛生環境研究所）、緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター）
上野伸広（鹿児島県環境保健センター）、久高潤（沖縄県衛生環境研究所）
大岡唯祐¹、林哲也^{1, 2}（宮崎大学・¹医学部、²フロンティア）、楠本正博（動物衛生研究所・安全性研究チーム）
平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」）平成 20 年度分担研究報告書、p. 167-172（2009）

九州ブロックでは平成 18 年度の研究において、IS-printing system を実用化するため、DNA 抽出条件、DNA ポリメラーゼ量や PCR 条件等について検討を行い、IS-printing system Ver. 1 は改良され、Ver. 2 が作成された。しかし新バージョンの IS-printing system を用いた平成 19 年度の結果においてもなお使用上の問題点があることがわかったため、平成 20 年度は、その問題解決を図ると共に、O157 の解析事例数を増やし、その有用性を検討した。

平成 19 年度に解析し、*eae* と *hlyA* が検出されなかった株は、宮崎大学での Ver. 2 を用いた検定の結果すべて陽性となったため各地研でも再度確認を行ったところ、すべて *eae* と *hlyA* が陽性であった。

また、九州地区の分離株 219 株について、IS-printing system と PFGE の比較検討を行ったところ、IS-printing system が 74 タイプ、PFGE が 140 タイプに分類された。PFGE タイプが同じで IS-printing system の ID が異なる株は、4 グループあった。一方、IS-printing system の ID 同じで PFGE タイプが異なる株は、31 グループあった。IS-printing system の ID コード数は、PFGE 型の数の約 3 分の 2 から半分で識別能力は劣るが、疫学情報との相関性がよく、現場で発生している事例の大枠を把握するには有用と考えられた。IS-printing System を用いた解析は、1 日で数値データが得られ、迅速性が求められる公衆衛生分野での応用が期待される。

九州地区における食品由来感染症の拡大防止・予防に関する取り組み

村瀬浩太郎、徳崎里美

堀川和美、江藤良樹、中村祥子、小野塚大介、野田多美枝、濱崎光宏、村上光一、竹中重幸（福岡県保健環境研究所）
尾崎延芳、瓜生佳世（福岡市保健環境研究所）、西桂子、眞子純孝（佐賀県衛生薬業センター）
右田雄二、山崎省吾（長崎県衛生公害研究所）、江原裕子、植木信介（長崎市保健環境試験所）
松本一俊、八尋俊輔（熊本県保健環境科学研究所）、岩永貴代、峰真由美、杉谷和加奈（熊本市環境総合研究所）
河野喜美子（宮崎県衛生環境研究所）、緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター）
上野伸広（鹿児島県環境保健センター）、久高潤（沖縄県衛生環境研究所）
大岡唯祐¹、林哲也^{1, 2}（宮崎大学・¹医学部、²フロンティア）、楠本正博（動物衛生研究所・安全性研究チーム）
度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」）平成 18～20 年度総合研究報告書、p. 347-356（2009）

九州地区における食品由来感染症の拡大防止・予防に関する取り組みに向けた基礎的研究について、九州地区 12 地方衛生研究所の参加により平成 18 年度からの 3 カ年間で、1) IS-printing system に冠する基礎的研究、2) PFGE が実施可能な状態にある菌種を増やすための方法論等についての検討、3) 食中毒及び感染性胃腸炎事例の検討、4) 新規遺伝子解析法の導入検討を実施した。その成果は以下のとおりである。1) IS-printing system は新規遺伝子解析法として有用であり、行政現場に迅速に科学的根拠として細菌学的疫学データを還元できる解析法であることが判明した。2) *Campylobacter jejuni* 及び *Legionella* 属菌の PFGE 方法等についてマニュアルを作成し、緊急時に対応可能とした。3) 各機関で原因究明がなされた食中毒及び感染症 9 事例について詳細な情報を提供した。4) IS-printing system、*Legionella pneumophila* の SBT 及び下痢原性大腸菌の遺伝子解析法について研修会を行い、行政検査への新規遺伝子検査法の導入及び整備を図った。