

研究成果報告書（1）

研究課題名	生食用カキのノロウイルス不活化に関する研究
担 当	保健科学部 上席専門研究員 高橋 知子、専門研究員 白澤 彰、部長 梶田 弘子
<p>1 目的</p> <p>ヒトノロウイルス（以下、「NoV」）は、冬季に多く発生する感染性胃腸炎の主な原因であり、その感染制御は、公衆衛生上重要な課題となっている。カキ等の二枚貝は水中のNoVを体内に取り込み、蓄積し、それをヒトが生もしくは加熱不十分な状態で食べることで感染することが知られている。カキに取り込まれたNoVを不活化するには十分な加熱が確実であるが、NoVのリスクのない生食用カキの出荷は、生産者、食品取扱業者、消費者にとって強く望まれるものである。今回我々は、食品におけるウイルス制御の方法として効果が期待されている高圧処理¹⁾²⁾を用い、NoV不活化の効果を調査した。また、NoVコピー数の測定に際し、不活化したNoV粒子の検出を抑える“感染性推定遺伝子検査法”を用いて検査を実施した。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) 試料：カキの中腸腺 150 個（計 260g）をブレンダーを用いて、ペースト状にしたものを 10cm×15cm のポリ袋に約 1.5g ずつ分取した。そこに、予めリアルタイム PCR 法でコピー数を確認した NoV 感染者の糞便乳剤（2.26×10^6 コピー/mL）を添加し、ヒートシーラーでシールして試料とした。なお、試料は、糞便乳剤の添加量により低濃度試験区（2.26×10^4 コピー数 NoV 添加）と高濃度試験区（2.26×10^6 コピー数 NoV 添加）の 2 種類を作製した。</p> <p>(2) 高圧処理：装置は「Dr. CHEF」（神戸製鋼所）を使用した。NoV 添加中腸腺に対して、圧力 0、300、400MPa、加圧保持時間 5 分、10 分、5 分 2 回、の条件で処理を行った。処理時の温度はいずれも 4℃に保持した。</p> <p>(3) NoV のコピー数測定：高圧処理を行った各試料について、α-アミラーゼ溶液によるグリコーゲン消化を行った後、ポリエチレングリコール沈殿法により濃縮を行った。ここから感染性推定遺伝子検査法[※]を用いて RNA を抽出及び逆転写を行った後、リアルタイム PCR 法で NoV コピー数を測定した。</p> <p>※感染性推定遺伝子検査法³⁾：不活化したウイルス粒子の検出を抑えるため、カプシドが破壊されて露出した RNA を RNase 処理で消化し、カプシドが正常でも損傷した RNA はオリゴ dT プライマーを用いて逆転写を行うことで排除する方法。</p> <p>(4) データ解析：R version 3.4.3 を使用して分散分析及び多重比較を行った。</p> <p>3 結果</p> <p>NoV の減少量（対数減少値）を図 1 及び図 2 に示した。最も対数減少値が大きかったのは低濃度試験区、高濃度試験区ともに圧力 400MPa 保持時間 10 分であった。低濃度試験区において、5 分、10 分、5 分 2 回のいずれの保持時間でも 300MPa と 400MPa の間で有意な差がみられた。また、低濃度試験区の 300MPa 5 分と 10 分、400MPa 5 分と 10 分の間でも有意な差がみられた。このことから、NoV を添加したカキ中腸腺に対して高圧処理を行うと、感染性をもつと考えられる NoV が減少することが示された。今回、NoV コピー数の測定には“感染性推定遺伝子検査法”を用いたが、従来の方法と比較して NoV コピー数は同等もしくは 0.5～1 オーダー低く検出されていた。高圧処理の NoV への影響は、NoV 粒子のカプシド崩壊だけでなく、NoV の RNA 断片も検出されない状態にまで破壊もしくは変性している可能性が示唆された。また、同じ保持時間では圧力が高い方が、同じ圧力では保持時間 5 分よりも 10 分もしくは 5 分 2 回の方が NoV の対数減少値が大きい傾向がみられた。また、加圧時間 10 分と 5 分 2 回では 10 分の方の対数減少値が大きいことから、圧力を連続でかけ続けたほうが不活化の効果が高くなることが示唆された。</p>	

4 今後の研究方向等

今回、加熱に代わるウイルス不活化法として、近年注目されている高圧処理を用いてNoVの不活化を検討し、一定の効果を確認することができた。高圧処理は、カキむき身の特性に比較的影響を与えないとされ、広島や宮城の一部の業者で、カキ剥きの効率化、省力化を目的として導入されている。現在、NoVの培養は困難であり、その不活化の効果を確かめるために、代替ウイルスの利用や、不活化したウイルス粒子の検出を抑えるように改良した遺伝子検査法が考案されている。今回は、壊れたカプシド内のRNAを酵素により分解除去した後に、ウイルスのコピー数を測定する感染性推定遺伝子検査法を用いて、高圧処理の効果を確かめた。今後はNoVを人工的に取り込ませたカキむき身に対して高圧処理を行い、その効果を検証するとともに、より効果的なNoV不活化方法を検討する。

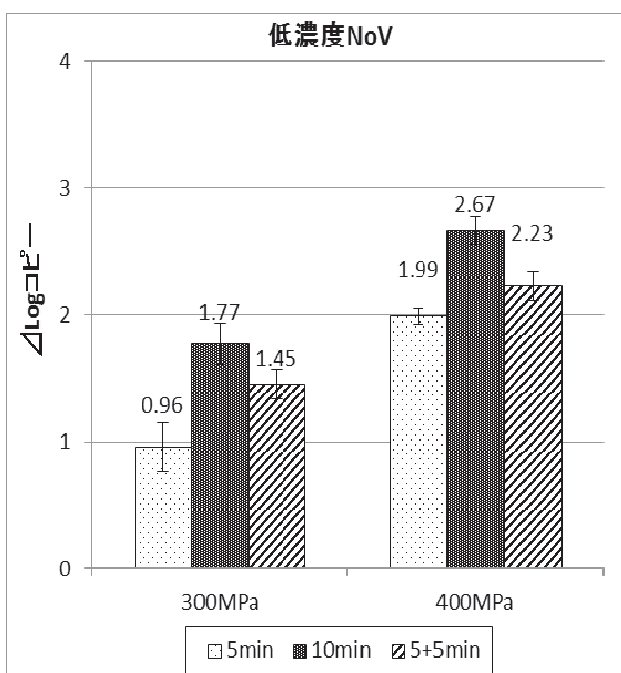


図1. NoV添加中腸線の対数減少値
(低濃度試験区)

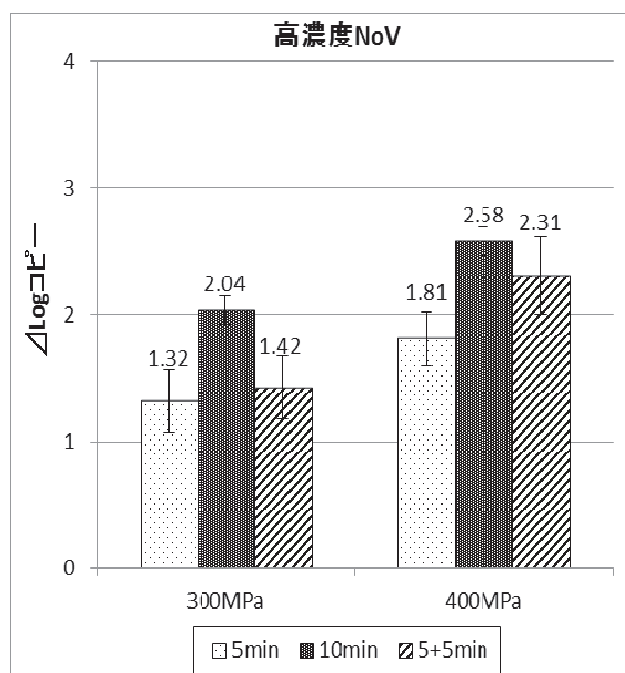


図2. NoV添加中腸線の対数減少値
(高濃度試験区)

参考文献

- 1) Renduelesa, E., Omerb, M.K., Alvseikeb, O., Alonso-Callejaa, C., Capitaa, R., Prietoo, M. Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing:A review. LWT-Food Sci. Technol., 44, 1251-1260 (2011)
- 2) Kingsley, D. H., Holliman, D. R., Calci, KR., Chen, H.,Flick, G. J. Inactivation of a norovirus by high-pressure processing. Appl. Environ. Microbiol., 73, 581-585 (2007)
- 3) 野田衛. 食品のウイルス汚染のリスクを評価のための遺伝子検査法の開発と応用に関する研究 平成 24~25 年度報告書. 内閣府食品安全委員会食品健康影響評価技術研究 (2014)

研究成果報告書（2）

研究課題名	医療機関との連携による薬剤耐性菌の解析
担 当	保健科学部 上席専門研究員 岩淵香織
<p>1 目的</p> <p>薬剤耐性菌のひとつである ESBL (extended-spectrum β-lactamase) 産生菌 (以降 ESBL) の、主流となっている CTX-M 型 ESBL は CTX-M-1, 2, 8, 9, 25 の 5 群に分けられる。さらに CTX-M 型は亜型に分類されており、群や亜型によって地域分布や薬剤耐性に特徴がある。世界的には、CTX-M-1group に属する CTX-M-15 が最も優位に分離されている。岩手県内の ESBL の発生状況の把握のため、県内の 4 医療機関と協力し検出された ESBL の解析を行った。また、CTX-M-15 を産生する <i>Escherichia coli</i> で血清型が O25:H4 で Multilocus Sequense Typing (MLST) が ST131 である特定クローンが拡散し世界的な流行を起こしているとのことから¹⁾、岩手県でもクローンが入り込んでいるかを調査するため、CTX-M-1group の <i>E. coli</i> について血清型および MLST の解析を実施した。</p> <p>なお、感染症発生動向調査により届け出のあった CRE (Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae) の分離株にこについて、耐性遺伝子の検査を実施した。</p> <p>2 方法</p> <p><u>ESBL 解析</u>：</p> <p>(1) 材料</p> <p>県内 4 カ所の医療機関で、平成 28 年 5 月から平成 29 年 12 月にかけて検出され、当センターに提供された 104 株の ESBL 産生菌株を対象とした。菌種は、<i>E. coli</i> が 94 株 (90.4%)、<i>Klebsiella pneumoniae</i> が 6 株 (5.8%)、<i>Proteus mirabilis</i> が 4 株 (3.8%) で、これらを検出した材料は、尿検体 46 検体 (44.2%)、呼吸器検体 21 検体 (20.2%)、動脈血 6 検体 (5.8%)、静脈血 4 検体 (3.8%) その他 20 検体 (19.2%)、不明 7 (6.7%) であった。</p> <p>(2) 血清型別</p> <p>大腸菌の血清型別は、市販抗血清 (デンカ生研) を用い、0 血清群別はスライド凝集反応法で行った。また、H 血清群別は、クレーギー管を通し運動性を増強した菌について、試験管法で行った。なお、血清型別は、CTX-M-15 の <i>E. coli</i> のみ実施した。</p> <p>(3) ESBL 産生遺伝子の検出</p> <p>TEM 型、SHV 型および CTX-M-1 group、CTX-M-2 group、CTX-M-9 group の ESBL 遺伝子について、PCR 法による検出を行った²⁾。CTX-M-1 group の遺伝子が検出された <i>E. coli</i> については、シークエンス解析により遺伝子型別を行った³⁾。</p> <p>(4) MLST 解析</p> <p>CTX-M-15 の <i>E. coli</i> について <i>Adk</i>、<i>fumC</i>、<i>icd</i>、<i>purA</i>、<i>gyrB</i>、<i>recA</i>、<i>mdh</i> の 7 か所のシークエンス解析⁴⁾を行い、ウェブサイト http://enterobase.warwick.ac.uk/species/ecoli/allele_st_search のデータベースから ST 型を検索した。</p> <p><u>CRE 解析</u>：</p> <p>届け出のあった 5 株の CRE (<i>Enterobacter cloacae</i> 4、<i>Enterobacter aerogenes</i> 1) について、カルバペネマーゼ遺伝子 (NDM、KCP、IMP、VIM、OXA-48、GES) の PCR 法による検出を実施した²⁾。</p> <p>3 結果</p> <p><u>ESBL 解析</u>：</p> <p>(1) 提供された 104 株から、CTX-M-1 group が 23 株 (22.1%)、CTX-M-2 group が 5 株 (4.8%)、CTX-M-9 group が 76 株 (73.1%)、SHV が 5 株 (4.8%)、TEM が 22 株 (21.2%) 検出された (表1 複数遺伝子保有株あり)。</p> <p>(2) 22 株の CTX-M-1group の <i>E. coli</i> は、シークエンス解析により、16 株が CTX-M-15 に、5 株が CTX-M-55 に、1 株が CTX-M-3 に型別された。</p>	

(3) 16株のCTX-M-15をMLST解析した結果、14株(全体の13.5%)がST131であった(表2)。2株はunknownであった。

CRE解析:5株ともカルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。

4 今後の研究方向等

岩手県におけるESBLは、菌種は*E. coli*が多く、検出された遺伝子はCTX-M-9 groupが104株中76株と73.1%を占めており、前回調査の70.3%と同様であった。

また、CTX-M-1 groupに属するCTX-M-15を産生する血清型O25:H4ST131 *E. coli*は、医療機関4か所のうち3か所から検出され、ST131 クローンは県内にすでに入り込んでいた。また、13.5%と多くを占めており、さらに蔓延しないよう今後も監視を続けていく必要がある。

また、CREについては、県内では耐性遺伝子は検出されていないが、ST131 *E. coli*のように、今後、入り込む可能性がある。引き続き、医療機関と連携し、早期探知及び拡散防止に向け、遺伝子検査を実施していく必要がある。

表1 菌種別、耐性遺伝子型別結果

	E.coli	K.pneumophila	P.m irabilis
CTX-M-1group	12		
CTX-M-1group・TEM	8		
CTX-M-1group・TEM・SHV		1	
CTX-M-2group			4
CTX-M-2group・SHV		1	
CTX-M-9group	61		
CTX-M-9group・TEM	11		
CTX-M-9group・SHV		3	
CTX-M-1group・CTX-M-9group・TEM	2		
TEM・SHV		1	
	94	6	4

文献

- 1) Peirano G, Pitout JD. Molecular epidemiology of Escherichia coli producing CTX-M beta-lactamases; the worldwide emergence of clone ST131O25hemother, 2001H4. Int J Antimicrob Agents 2010;35(4):316-21
- 2) 薬剤耐性菌サーベイランスの強化及びゲノム解析の促進に伴う迅速検査法開発に関する研究によるマルチプレックスPCR法, Ver170928
- 3) Sridhar Rao P.N(www.microrao.com)
- 4) Tartof SY, Solberg OD, Manges AR, Riley LW. 2005. Analysis of a Uropathogenic Escherichia coli clonal group by Multilocus Sequence Typing. J. Clin. Microbiol. 43:60-5864

表2 CTX-M-15産生O25H4ST131 E.coli一覧

分離年月	材料	ESBL産生遺伝子	血清型	MLST	医療機関
1 A-1	2016.9 胆汁	CTX-M-15	025:H4	ST131	A
2 A-2	2017.1 喀痰	CTX-M-15	025:H4	ST131	A
3 A-3	2017.1 カテーテル尿	CTX-M-15	025:H4	ST131	A
4 A-4	2017.4 腹水	CTX-M-15	025:H4	ST131	A
5 A-5	2017.4 静脈血	CTX-M-15	025:H4	ST131	A
6 A-6	2017.4 呼吸器カテーテル	CTX-M-15	025:H4	ST131	A
7 A-7	2017.4 胆汁	CTX-M-15	025:H4	ST131	A
8 A-8	2017.6 カテーテル尿	CTX-M-15	025:H4	ST131	A
9 A-9	2017.8 中間尿	CTX-M-15	025:H4	ST131	A
10 A-10	2017.9 カテーテル尿	CTX-M-15 TEM	025:H4	ST131	A
11 B-1	2017.9 尿	CTX-M-15 TEM	025:H4	ST131	B
12 B-2	2017.9 中間尿	CTX-M-15	025:H4	ST131	B
13 C-1	2017.7 不明	CTX-M-15 CTX-M-9group・TEM	025:H4	ST131	C
14 C-2	2017.10 カテーテル尿	CTX-M-15 CTX-M-9group・TEM	025:H4	ST131	C

研究成果報告書（3）

研究課題名	岩手県における小児呼吸器ウイルスの疫学に関する研究
担 当	保健科学部 上席専門研究員 高橋 雅輝
<p>1 目的</p> <p>小児の呼吸器疾患起因ウイルスの検出を行うとともに、患者の疫学的背景との関連を解明することにより、充実した感染症発生動向調査事業の推進に貢献する。</p> <p>2 材料及び方法</p> <p>(1) 2017年1月から2017年12月までの間に、もりおかこども病院を受診した上気道炎及び下気道炎患者の咽頭ぬぐい液89検体について、呼吸器ウイルスの検出並びに血清型別/遺伝子型別を行った。</p> <p>(2) 2013年1月から2015年12月までに検出されたパラインフルエンザウイルス3型（HPIV3）34株のHN遺伝子について、Bayesian MCMC法による時系列進化系統樹解析、HNタンパクエピトープマッピング及びBayesian Skyline Plot法によるウイルスポピュレーション変動予測解析を行った。</p> <p>(3) 2016年に分離されたC型インフルエンザウイルス（Flu C）2株について、PB2、PB1、P3、HEF、NP、M及びNSの7遺伝子それぞれの分子系統解析を行った。</p> <p>(4) 2014年1月から2017年12月までに検出されたRSウイルス46株について、サブタイプ分類（AまたはB）を行った。さらに、RSウイルスサブタイプAについてG遺伝子型系統解析を行った。</p> <p>3 結果及び考察</p> <p>(1) 2017年は89検体中58検体（65.2%）から呼吸器疾患関連ウイルスが検出された（重複検出例含む）。検出されたウイルスの内訳は、ライノウイルス（HRV）が27例（30.3%）、RSウイルス（RSV）が11例（12.4%）、パラインフルエンザウイルス（HPIV）が14例（15.7%）、ヒトメタニューモウイルス（HMPV）が3例（3.4%）であった。HMPVの検出率が低かったものの、これら4ウイルスが陽性検体の77%を占めた。2013年から2017年のこれら主要4ウイルスの検出数を表に示した。5年平均の検出率が最も高いのはHRV（22.5%）で、HPIV（16.9%）、RSV（12.6%）、HMPV（9.9%）の順であった（業績1）。</p> <p>(2) HPIV3のHN遺伝子系統樹はA、B及びCの3クラスターに大別された。約80年前に共通始祖から分岐したHPIV3は約40年前に現在流行するサブクラスターC3及びC1に分岐した。岩手県検出株は31株がサブクラスターC3に、3株がサブクラスターC1に属していた（図1）。BSP解析ではC3が2004年から2013年にかけて増加したことが明らかとなった。一方で、C1は減少傾向を示しており2015年以降はC3系統株が流行の中心になると考えられた。HNタンパクモデルにおけるエピトープマッピングでは、アミノ酸置換が起こる部位は広範囲であるが、変異の程度は比較的少なく安定した抗原性を維持していると推察された。推定B細胞エピトープのいくつかはマウス単クローン抗体反応部位と共通していることが判明したことから、ワクチン開発等のヒントになりうるものと推察された（業績2-1及び2-2）。</p> <p>(3) 2株のFlu Cは表面抗原関連のHEF遺伝子解析ではいずれもサンパウロ系統であった。一方で、内部遺伝子解析では組成が両株で異なっており、遺伝子交雑により生まれた2種類のFlu Cが県内で流行していたものと考えられた（業績3）。近年Flu Cは隔年（偶数年）で流行すると報告されており、2018年の流行が懸念される。</p> <p>(4) 過去4年間に検出されたRSウイルス23株がサブタイプA、23株がサブタイプBであった。サブタイプAのG遺伝子超可変領域における分子系統解析では、72塩基の繰り返し配列の挿入が認められるON1型に属していた（図2）。この型は2015年頃から流行しており、今後も流行の主流になるものと思われた（業績4）。</p>	

4 今後の研究方向等

- ・平成 30 年度においても下気道炎等検体からのウイルス検出を継続し、ウイルスの詳細解析を行う。
- ・1994 年から 2017 年の間に県内で分離された HPIV3 の HN 抗原解析を行い、ヒト免疫との関連を解明する。

表 年別ウイルス検出数

検体採取年	2013		2014		2015		2016		2017		5年平均	
検体数	129		105		83		124		89		106	
ライノウイルス	32	24.8%	22	21.0%	9	10.8%	32	25.8%	27	30.3%	24	22.5%
RSウイルス	24	18.6%	10	9.5%	10	12.0%	13	10.5%	11	12.4%	14	12.6%
パラインフルエンザウイルス	35	27.1%	16	15.2%	10	12.0%	18	14.5%	14	15.7%	19	16.9%
ヒトメタニューモウイルス	15	11.6%	18	17.1%	5	6.0%	14	11.3%	3	3.4%	11	9.9%
その他のウイルス	11	8.5%	12	11.4%	19	22.9%	14	11.3%	16	18.0%	14	14.4%
不検出	23	17.8%	35	33.3%	30	36.1%	40	32.3%	31	34.8%	32	30.9%

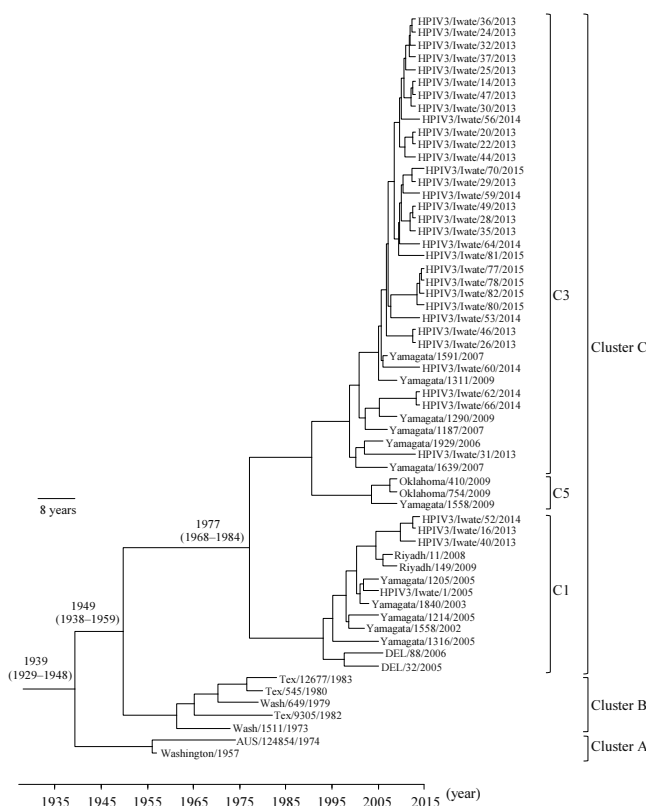


図1 Bayesian MCMC 法による HPIV3 の HN 遺伝子時系列進化系統樹

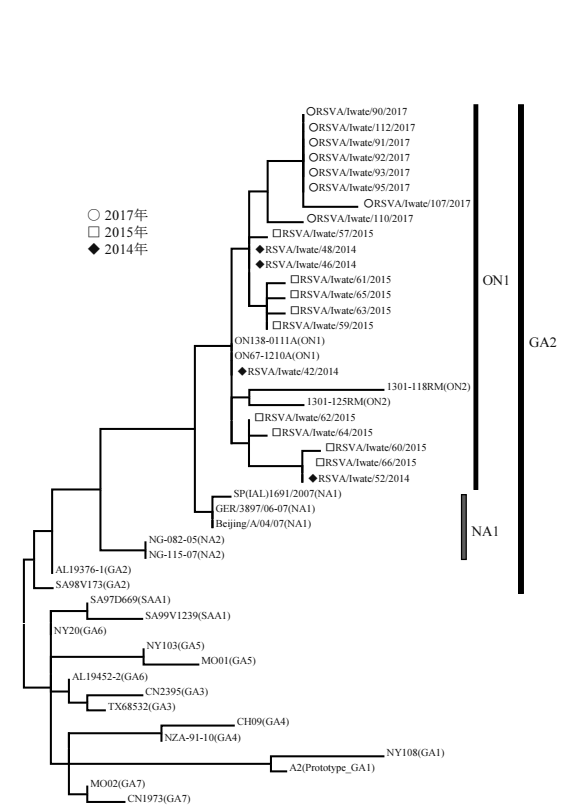


図2 最尤法による HRSV-A の G 遺伝子系統樹

- 業績 1 白澤彰ら, 平成 29 年度第 1 回感染症発生動向調査委員会配布資料、岩手県感染症週報
- 業績 2-1 Masaki Takahashi et al., *Infection, Genetics and Evolution*, **59** (2018) 155-162
- 業績 2-2 高橋雅輝ら, 第 58 回日本臨床ウイルス学会 (2017)
- 業績 3 高橋雅輝ら, 第 71 回日本細菌学会東北支部総会 (2017)
- 業績 4 木村博一ら, 2017 年度 AMED 分担研究報告書 (課題番号: 17fk0108105j0101)

研究成果報告書（4）

研究課題名	麻痺性貝毒に関する機器分析法の研究
担 当	衛生科学部 専門研究員 沼野 聡

1 目的

岩手県は、リアス式海岸に代表される特徴的な地形を有し、豊かな海産資源に恵まれている。ホタテガイやカキなどの養殖が盛んであるが、主に閉鎖的海域で行われているため、貝毒に毒化しやすく、長期間蓄積する傾向がある。

本研究では、平成28年度に麻痺性貝毒のLC-MS/MSによる測定条件を検討し、第16号年報において報告した。平成29年度は、毒化のメカニズムを解明するために、海水域の定点を定め、得られた試料をLC-MS/MSで定性および定量することで、主要な毒成分の経時変化について知見を得たので報告する。

2 方法

対象成分は、毒組成の8割以上を占めるC1-2、GTX1-4及びdcSTXであり、カナダNRC社より標準品を購入した。分析に用いた装置は、ABsciex社製のLC-MS/MS（LC部：Agilent1100, MS部：API4000）である。

県内のホタテガイを実サンプル試料とし、海水温が上昇し始める3月下旬（毒化原因プランクトンの発生期）から、一週間に一度の頻度でサンプリングした（協力：岩手県水産技術センター）。得られた試料から、毒の主な蓄積部位である中腸線を取り出し、マウス毒性試験法¹⁾に準じて、塩酸加熱処理を行った後、LC-MS/MSで測定を行った。

3 結果

平成29年3月27日から7月25日までの、ホタテガイ中の麻痺性貝毒成分の毒組成推移を図1に示す。特徴としては、弱毒成分であるC1とC2の濃度はあまり変化しないが、強毒成分であるGTX1とGTX4の濃度が1週間ごとに増減することが見られた。

大島らは、プランクトンは化合物の11位硫酸エステルがβエピマー体であるGTX3,4、C2等を主に産生し、毒成分が取り込まれた貝類中において、化学的に安定なαエピマー体であるGTX2,1、C1等へと変化することを報告している²⁾。貝類中での最終的な平衡点は、α:β≒3:1の比率になることが認められている。

図1に示された結果からは、GTX4(β)→GTX1(α)でα:β≒3:1の平衡点が得られたが、GTX3(β)→GTX2(α)は、4:1であった。一方で、C1とC2は、採取日によって平衡比が不安定であった。

また、得られた各毒成分の濃度に、比毒性³⁾を乗じ、マウスユニット(MU/g中腸線)として合算した結果を図2に示す。最小値は4月11日で25MU/g中腸線、最大値は6月6日で168MU/g中腸線であった。

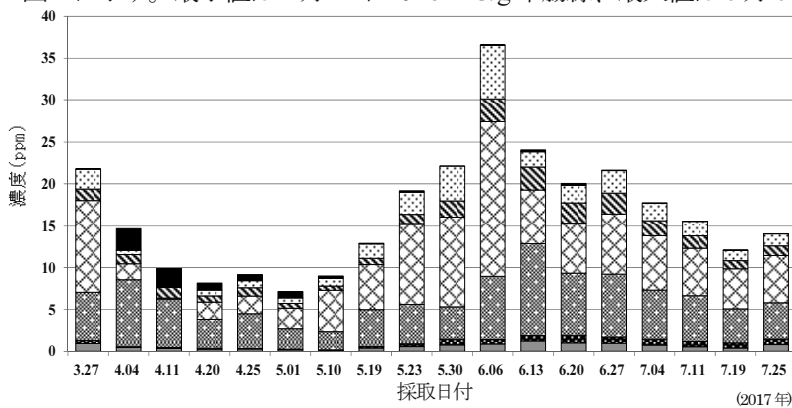


図1 LC-MS/MSによる
県内定点 ホタテガイ毒組成推移

(□ : C1, ■ : C2, ▨ : GTX2, ▩ : GTX1, ▪ : GTX3, ◻ : GTX4, ▣ : dcSTX)

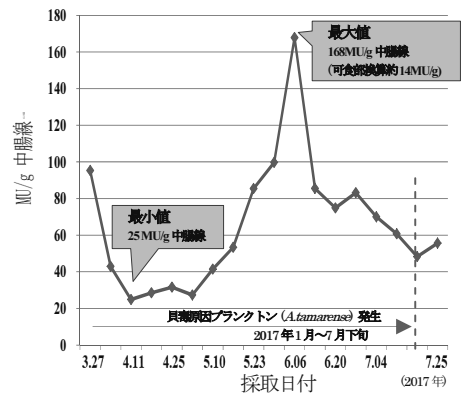


図2 マウスユニット値
(比毒性による算出)

4 今後の研究方向等

α:βのエピマー比を用いれば、ホタテガイに麻痺貝毒成分が取り込まれてからの時間を推測することが可能であると考える。今後も、同一定点のホタテガイを継続的に測定することで、毒化のメカニズムを解明していくと共に、予測に繋がる技術の確立を目指す予定である。

参考文献

- 厚生省(環境衛生局乳肉衛生課長)通達環乳第30号「貝毒の検査法等について」、昭和55年7月1日
- Oshima, Y., Sugino, K., Itakura, H., Hirota, M., Yasumoto, T. Toxic marine phytoplankton, E. Granéli, B. Sundström, L. Edler, D. Anderson (eds.), Comparative studies on paralytic shellfish toxin profile of dinoflagellates and bivalves, Elsevier, 1990, p. 391-396.
- 中央水産研究所主催 貝毒分析研究会テキスト「麻痺性貝毒HPLC分析法(大島泰克)」, 2016
- 食品衛生学雑誌 vol.57 (鈴木敏之, 貝毒の規制値, 監視体制と機器分析, 2016) , vol.41 (村上りつ子, 麻痺性貝毒・最近の知見を中心に, 2000)

研究成果報告書（5）

研究課題名	下痢性貝毒に関する超臨界抽出法の妥当性に関する研究
担 当	衛生科学部 主任専門研究員 昆野 智恵子

1 目的

貝毒の一種である下痢性貝毒は、平成 27 年 3 月の厚労省通知¹⁾によって公定法が、マウス試験法から機器分析法へ移行した。当センターにおいても、機器分析法の移行に対応するため、平成 26 年度に下痢性貝毒成分等の機器分析法について検討を開始したが²⁾、夾雑物質の除去が十分に行われないことから、分析機器への負担が非常に大きく継続して検討をしているところである。

そこで、溶解度がヘキサン程度といわれている超臨界 CO₂ を活用した下痢性貝毒成分の抽出について検討を開始し、既報³⁾では、標準物質の抽出について検討した結果を報告しているところである。今回は、実試料を用いた超臨界抽出結果について報告する。

2 方法

(1) 試料：青森県産 ホタテ可食部

(2) 標準品：OA, DTX1（以下「OA 群」という。）水産庁貝毒安全対策事業配布標準品を用いた。実験には、各標準品をアセトニトリルで 25mL に定容した 1~5ppm の原液から、最終的にメタノールで 100ppb の混合標準液を作り用いた。なお、昨年度の検討において、その他の脂溶性貝毒成分（YTX, PTX 群）は、OA 群に比べ抽出条件が大きく違うため、今回は OA 群のみを検討の対象とした。

(3) 超臨界抽出方法：カートリッジへの装填は、図 1 のとおりとした。また、測定条件は、超臨界抽出装置 SFX220 型（ISCO 社製）を用い、圧力 2000psi、抽出温度 40℃、リストラクター温度 50℃、静的抽出時間 15 分、動的抽出時間 20 分で行った。

(4) 固相カラムによるクリーンアップ：

①Oasis HLB（3cc, Waters 社製）

抽出液は、やや黄色がかっており磯臭も感じられたため、平成 26 年度に当センターが検討した方法²⁾のとおりクリーンアップを行った。なお、抽出液をさらに②でクリーンアップする場合は、最後の溶出液を 90%メタノールからアンモニア/メタノール（10/90）溶液に変更した。

②Oasis MAX（3cc, Waters 社製）

メタノールと超純水で固相のコンディショニングを行い、試料液を負荷した後、超純水、アンモニア/メタノール（5/95）溶液で洗浄を行い、2%ギ酸含有メタノールで溶出した。

(5) 抽出液の測定：既報と同様に行った。

3 結果と考察

(1) 実試料を用いた抽出の検討

ホタテ可食部を用いて既報の条件で超臨界抽出を行った結果、ほとんど抽出できなかったことから、極性物質の回収率を高くする効果があるといわれる無水硫酸マグネシウムを脱水剤に加えた。その結果、最も高い回収率を示したが、測定時に OA 群のイオン化の増幅効果（イオンエンハンスメント）が確認された。

この増幅効果は、超臨界抽出法と従来法の Oasis HLB を組み合わせた前処理では、イオン化の増幅を引

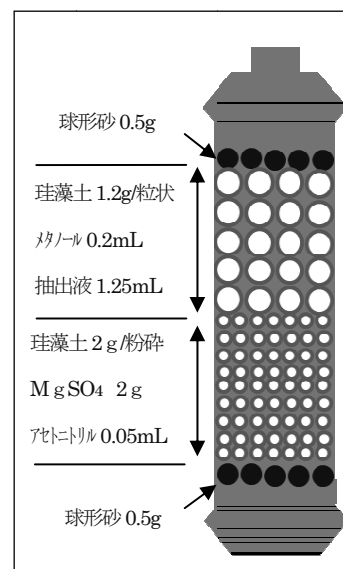


図 1 カートリッジへの装填補法

き起こす夾雑物質の除去が行われなかったためと考えられた。イオン化の増幅がある場合、絶対検量線で定量を行うと実際の数値よりも高く定量してしまう可能性がある。

(2) 超臨界抽出のしくみ

OA 群の超臨界抽出は、OA 群を含む標準溶液を珪藻土に添加したのち 20 分程静置してから、補助溶媒（メタノール及び少量のアセトニトリル）によって適度な極性をもった状態となった超臨界 CO₂ と接触させることで可能となった。静置を行わない場合や補助溶媒を使用しない場合は十分な抽出が行われなかった。静置することにより、標準溶液が珪藻土の細孔まで入り込み、小さな液滴となり強固に保持されることで、流入してきた超臨界 CO₂ とより多く接触することができると考えられる。つまり、珪藻土が、固相のような役割を果たしている。

固相（珪藻土）に吸着し、低極性溶媒での溶出を行うことから、超臨界抽出法の原理としては、順相クロマトグラフィーの仕組みに近い。一方、下痢性貝毒の分析で、従来法で用いているのは、逆相クロマトグラフィーの仕組みである。これらはいずれも、測定対象物質と固相と溶出溶媒との間で、極性・非極性分子同志の相互作用を利用した分離法である。超臨界抽出でも従来法でもイオン化の増幅効果を十分になくすことができなかつたということは、イオン化の増幅をもたらす夾雑物質は、OA 群と極性が近く、そのために極性相互作用・無極性相互作用による分離では、除去することが難しい可能性がある。つまり、異なる分離機構を持つ分離方法と組み合わせる必要があると考えられた。

(3) 異なる分離機構による前処理の組み合わせ

OA 群は、カルボキシル基をもつ酸性化合物である。一方、イオン化の増幅が起こる原因として、OA 群の持つ H 基を受け取る、プロトン受容体となる化合物により引き起こされると考えられることから、塩基性化合物を除去するために、イオン交換カラムによる分離を試みた。

そこで、強陰イオン交換作用を持つ固相 Oasis MAX を用いて検討を行った結果、イオン化の増幅を大きく抑えることができた（表 1）。洗浄溶媒や溶出溶媒の pH を調節することにより、さらなるクリーンアップ効果が期待できることから、継続して検討したい。

4 今後の研究方向等

本研究において検討した抽出法は、いずれも従来法よりも夾雑物質を除去することは可能であるが、処理に時間がかかるという欠点がある。だが、従来法と同じ抽出液から測定できる点、夾雑物質を出来るだけ取り除いたことで測定に与える影響が少ないという点では優れているといえる。従来法をスクリーニング検査に用い、時間がかかるがより夾雑物質が除去されている検査法を確定検査に用いるなど検査法の整理を行うことで、岩手県の実験室に対する危機管理体制をより強固にすることができると考えられる。

[参考文献]

- 1) 平成 27 年 3 月 6 日食安発 0306 第 1 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知
- 2) 梶田弘子ら, 第 51 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, p148-149
- 3) 昆野智恵子, 岩手県環境保健研究センター年報第 16 号, p52-53

表 1 OA 群の逆相-イオン交換カラムの組み合わせによる添加回収結果

検量線の種類	OA	DTX1
	回収率±併行精度 (%)	回収率±併行精度 (%)
絶体検量線	80.9±9.99	107±8.36
マトリックス検量線	87.9±9.32	78.5±8.24

研究成果報告書（6）

研究課題名	機能性炭化物による食品中の重金属低減化のための技術開発
担 当	衛生科学部 主任専門研究員 佐々木陽

1 緒言

これまで農業廃棄物の有効利用の立場から、中国大連産のコーンコブ(とうもろこしの実の芯; CC)を炭化してCC炭を調製し、その性状と吸着特性について研究を行ってきた。中国大連産のCCを実験で用いた理由は、産地の土壌の関係でCCが多く鉄分を含むことが分かっており、そのために比較的低温の炭化温度でも細孔構造が発達した炭化物が得られることを確認していたからである¹⁾。そのため、得られたCC炭化物がイオン性染料や農薬、界面活性剤などの多くの有害有機物質、あるいはノロウイルスの吸着に有効であることも確認し報告している^{2,3)}。

一方、金属イオンの吸着特性を調べたところ、カチオン性金属イオンに対して高い性能を示すことが明らかとなった。また、コマツ菜やキャベツのポット育成実験では、土壌中に少量のCC炭を混入することによりカドミウムイオン(Cd²⁺)の吸収低減効果が認められた⁴⁾。今回は、福島県、秋田県の実際の稲作圃場を使い、米へのCd²⁺の吸収低減のためのCC炭化物活用とその結果について調べたので報告する。

2 方法

2-1 中国産CCの吸着特性

河北省、及び遼寧省で実際に炭化したCC炭化物を用いてカドミウムイオンの吸着実験をおこなった。1ppmのカドミウム溶液を100 mesh以下に粉碎したCC炭化物0.1gにいれ、30分間、250rpmの条件で振とうさせてカドミウムイオンを吸着させた。その後、溶液はろ過しICP発光分析装置で濃度を求め吸着率を求めた。

2-2 稲作の実証試験

2014年～2016年、秋田県藤里町の水田圃場に直接CC炭化物(中国大連市にある実機炭化炉で炭化したもの)を混入するか(坪1Lから6L)、あるいは圃場の用水中に炭化物を沈ませることでカドミウムイオンを吸着させたなかで稲作を行った。玄米のCd²⁺濃度は1圃場(約420坪)から10～12所から採取したものについて測定した。ちなみに育成された玄米からは例年、1.5 ppm(mg/kg)程度のCd²⁺が含まれることが分かっている。また、会津若松市でも同様の実験をおこなった。

3 結果と考察

3-1 中国産CCの吸着特性

河北省、及び遼寧省で実際に炭化したCC炭化物について吸着実験を行った結果、67%から98%の吸着率を示した。また大連産のCCを900℃で炭化したものについては金属類混合標準溶液I (PbCr, Cd, Cu, Fe, Mn, Zn, Naを含む各0.1 mg/ml希硝酸溶液)の1ppm濃度での吸着実験を行った結果、共存するカチオン性金属イオンの影響も少なく高い吸着性能を示すことが確認された。

3-2 稲作の実証試験

秋田県藤里町には太平(だいら)鉱山があり亜鉛鉱

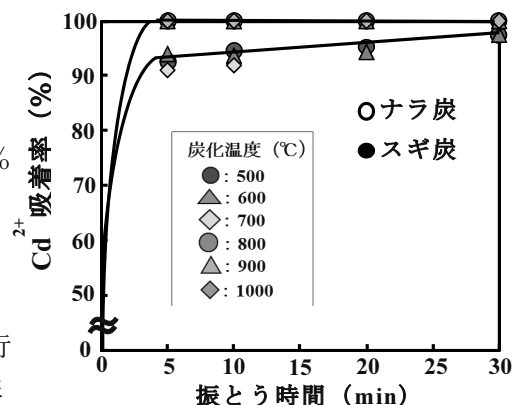


図1 各炭化温度におけるCC炭化物のCd²⁺吸着率

などを産出していた実績がある。この近郊の圃場を使
 ったの稲作実験は 2014 年から行っている。その結果
 を図 2 に示した。すなわち、CC 炭を圃場に投入するこ
 とで、米の Cd 含有濃度が平均 1.5 ppm から 0.44 ppm
 (CC 炭 2 L/坪) 0.63、ppm(CC 炭 1 L/坪)に低減した
 ことから、カドミウム汚染米のリスクが減ることを確
 認した。しかしながら採取場所によってはわが国の基
 準値を上回っていた。そこで 2015 年には圃場への投
 入量を増やして実験を行った。その結果、2014 年で得
 られた値よりも低い含有量の玄米が採取できた。投入
 量を増やすことである程度の低減化が可能であることを
 確認できたが、用水路側の値が 2014 年、2015 年で
 共通して高い濃度になっていることから、2016 年には
 圃場への CC 炭化物は投入はせずに、用水路おび取水
 口部分に炭化物を設置し玄米中のカドミウムイオン量
 を測定した。その結果圃場で採取した 12 か所すべて
 の値が基準値の 0.4ppm を下回った。

一方、福島県磐梯町にある精錬工場では大正 5 年から亜
 鉛の精錬が行われており、ばい煙による大気汚染がカド
 ミニウムの拡散をひきおこし、カドミウム汚染米が生じ
 ている。CC 炭による実験は会津市の 22 か所の圃場を使
 い、CC 炭の施用の有無による土中および玄米中の Cd イ
 オン濃度を計測した。その結果 2016 年の試料すべてが
 基準値以下の値をとっていることがわかった。3 年間の
 経緯で見ても ND の場所も増えてきており、あきらかに
 CC 炭の施用効果があることが確認できた。なお、CC 炭
 の ζ -電位を調べたところ、 -65 mV(500℃炭化)～ -52
 mV(1000℃炭化)であり、比較のナラ炭より大きく負に
 帯電していた。

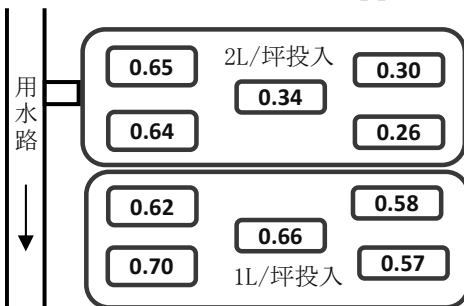
4 結言

以上の結果から、CC 炭化物を直接圃場に添加す
 ることで玄米へ Cd²⁺吸収を低減化できることが確
 認できた。また圃場の流入水がはいる場所付近に
 CC 炭化物を設置することでさらに低減化の可能性
 が示唆された。

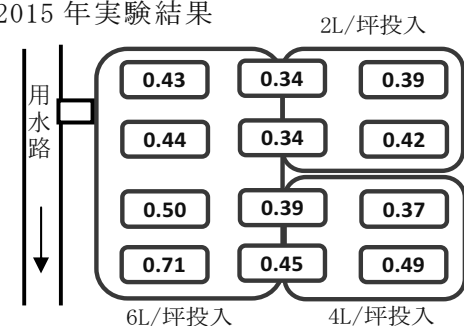
参考文献

- 1) M. H. A. Rahman et al., *J. Soc. Inorg. Mater., Jpn.*, **19**(Jan.), 9-14 (2012).
- 2) 成田榮一ら, 木質炭化学会誌, **9**(2), 59-67 (2013).
- 3) 佐々木 陽, 成田榮一, 環境資源工学, **61**(4), 206-212 (2014).
- 4) 佐々木 陽ら, 木質炭化学会誌, **11**(1), 23 (2014).

2014 年実験結果 (ppm)



2015 年実験結果



2016 年実験結果 (ppm)

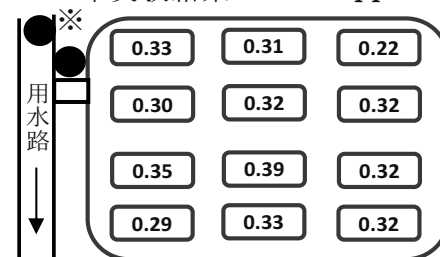


図 2 CC 炭化物投入した圃場での玄米中の Cd²⁺濃度

※ ● CC 炭化物の設置場所



図 3 CC 炭化物投入状況

研究成果報告書（7）

研究課題名	有機フッ素化合物の環境動態及び生物蓄積に関する研究
担 当	環境科学部 主査専門研究員 岩渕 勝己、部長 川村 裕二

【研究①】水質及び底質における新規注目化学物質の分析法及び環境モニタリングに関する共同研究

1 目的

日本各地からメダカとその環境水・底質・土壌をサンプリングしてそこに含まれる有機フッ素化合物（PFAA）を測定し、PFAA の環境汚染実態と生物体内への蓄積特性を明らかにすることを目的とした。

2 方法

全国5地点（岩手、茨城、石川、兵庫、福岡）から環境水・底質・土壌（各地点1検体）、メダカ（各地点20～30 検体）を採取した。分析対象を perfluorocarboxylates（PFCAs；CXA（X は炭素数））の C5A～C14A、perfluorosulfonates（PFSAs；CXS）の C4S、C6S、C7S、C8S、C10S とした。

3 結果

2017 年のサンプルからの平均のトータル検出量は、環境水で 67 ng/L、底質で 0.64 ng/g-dry、土壌で 4.0 ng/g-dry、メダカで 78ng/g であった。各サンプル中の全 PFAA 濃度は、各地点において 2016 年のサンプルと同様の検出傾向が見られた。

2013～2017年のサンプルでPFAA濃度の経年変化を確認したところ、モニタリングした5年間のデータ及びそこから導かれる回帰直線からは、若干の増加傾向や減少傾向は見られるが、

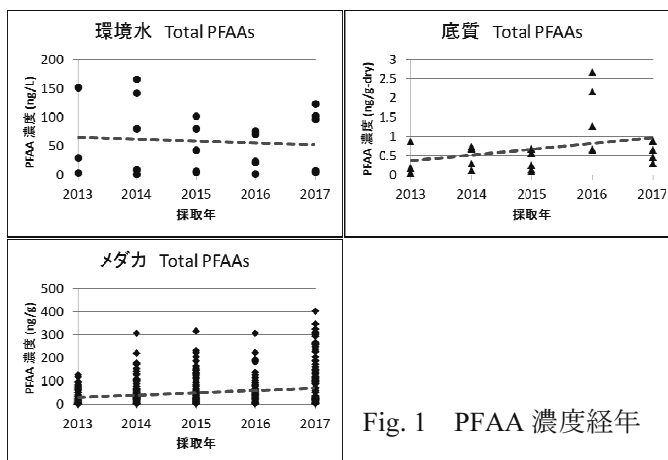


Fig. 1 PFAA 濃度経年

明確な増加傾向や減少傾向は見られず、ほぼ横ばい傾向であった (Fig. 1)。

強熱減量 (IL)

あたりの底質と土壌に含まれる一部の PFAA 濃度の相関について、2017 年のサンプルも追加してデータの補完を行ったところ、C8A～C12A と C8S の 6 種で有意に相関していることを確認した (Fig.

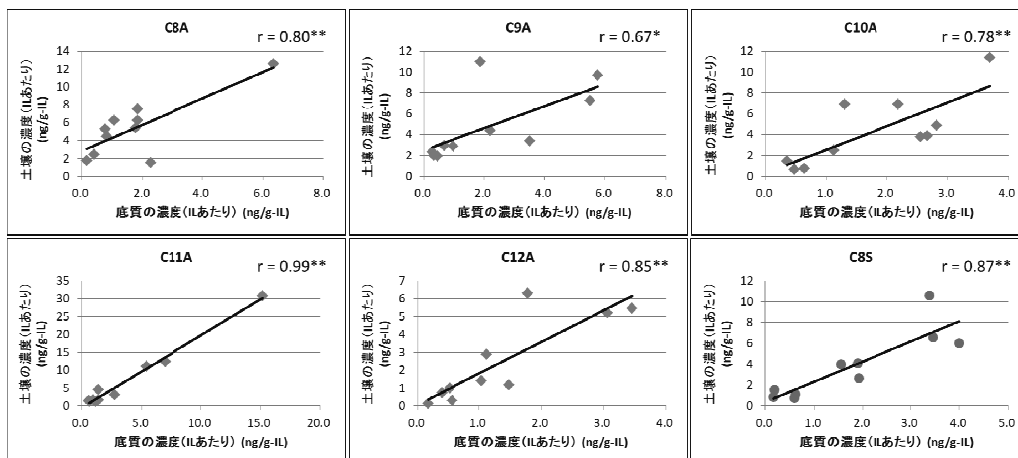


Fig. 2 底質と土壌の PFAA 濃度 (IL あたり) の相関 (p<0.05 : *, p<0.01 : **)

2)。回帰直線の傾きから、土壌の濃度 (IL あたり) と底質の濃度 (IL あたり) の比は約 1～2 程度となることが明らかとなった。

【研究②】パッシブサンプラーを用いた河川中の有機フッ素化合物の測定及び環境動態に関する研究

1 目的

パッシブサンプラーにより環境水中の PFAA の中長期的な平均濃度を測定し、サンプラーへの蓄積量から底質あるいはメダカへの蓄積量を把握できる技術として確立すること。

2 方法及び結果

PFAA をパッシブサンプラーに適用できることは確認できており、次の段階としてフィールド調査へ適用させるにあたり、必要となる知識や技術を習得するため、文献、学会等で情報収集を行っている。

【研究③】下水処理場における生活由来科学物質の発生原単位の把握とその低減化技術に関する研究～有機フッ素化合物に着目して～

1 目的

下水処理場（STP）を対象とし、流入水の PFAA 濃度から発生原単位を、放流水の PFAA 濃度から排出原単位を把握して、STP 毎の差異について検討すること。

2 方法

対象の STP として、北海道、東北、関東、関西地区から合計 5 か所（A～E 処理場）を選定した。2017 年 2 月～5 月に 1 回採水し、流入水及び放流水の 24 時間コンジットを調製し試料水とした。試料水をコンセントレーターで固相カートリッジ（Waters Oasis WAX Plus）に濃縮し、アンモニア含有メタノールで抽出後、濃縮、遠心分離し、上清を LC-MS/MS で測定した。

Table1 流入水、放流水の PFAA 濃度

STP	influent					effluent				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
C5A	1.4	1.8	1.3	7.6	4.9	4.6	1.5	1.5	7.7	8.3
C6A	2.7	1.5	1.7	11	49	4.3	4.5	2.4	10	130
C7A	1.7	1.1	0.92	4.9	6.5	1.8	1.2	1.5	3.4	9.9
C8A	3.2	1.9	3.9	10	30	3.5	4.2	5.5	9.3	30
C9A	2.1	5.6	1.0	2.5	25	2.5	5.0	2.2	2.2	89
C10A	0.19	0.61	1.3	0.47	1.5	0.46	0.75	0.53	0.46	1.2
C11A	n.d.	1.1	1.0	0.66	7.2	0.20	0.47	0.28	n.d.	5.9
C12A	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.13
C13A	n.d.	n.d.	0.59	n.d.	1.1	n.d.	n.d.	0.11	n.d.	0.18
C14A	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C4S	n.d.	11	n.d.	1.4	1.1	0.54	0.29	1.0	2.9	6.9
C6S	n.d.	1.7	0.72	25	6.7	0.22	1.3	0.60	23	22
C7S	1.2	n.d.	0.64	1.8	1.9	n.d.	n.d.	n.d.	0.76	6.5
C8S	4.3	7.3	5.7	23	50	3.2	3.5	1.9	19	240
C10S	3.6	n.d.	1.9	3.4	1.9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: below LOQ

各 STP から検出された流入水及び放流水の PFAA 濃度は Table 1 のとおりである。STP 毎の差が大きく、特に E 処理場では、流入水の C6A、C7A、C8A、C9A、C11A、C12A、C13A、C8S は他の STP よりも有意（5%水準）に高濃度であった。放流水についても同様に、C5A、C6S 以外の PFAA で有意に高濃度であった。各 STP における流入水と放流水間で PFAA 濃度を比較したところ、短鎖側の PFCA（C5A～C9A）では流入水よりも放流水の濃度が高い傾向が見られた。一方、長鎖側の PFCA（C11A～C13A）では、不検出か、又は流入水よりも放流水の濃度が低い傾向が見られた。PFSA については、鎖長にかかわらず、E 処理場以外は概ね流入水より放流水の濃度が低い傾向が見られた。C8A や C8S は、下水処理工程中で前駆物質から生成される可能性のあることが先行研究で指摘されているが、本研究においては、C8A では同様の傾向が認められた。短鎖の PFCA は放流水で濃度が高い傾向があったことから、C8A と同様の生成過程がある可能性が考えられる。一方 C8S では、先行研究の傾向とは異なっていた。また、長鎖の PFAA については、SS への吸着により除去されたものと考えられた。各 STP の処理区域からの発生原単位及び環境中への排出原単位は、STP 間で PFAA の発生及び排出原単位に数倍～数十倍の差が認められた。今回対象とした STP の処理人口は 25～50 万人程度と各 STP 間で大きな差はないことから、発生原単位の差は家庭雑排水ではなく事業場排水に由来しているものと考えられた。

4 今後の研究方向等

対象とする STP を増やしてさらにデータを集めて、STP 間の差異や各 STP の集水域における発生原単位や各 STP からの排出原単位を比較して特徴を明らかにし、日本全国からの PFAA 負荷発生量及び排出量を推定すること、また季節ごとにサンプリングを行ってデータを解析し、季節変動等を確認していくこととする。

研究成果報告書（8）

研究課題名	PPCPs (Pharmaceutical and Personal Care Products) 等化学物質実態調査
担 当	環境科学部 主査専門研究員 伊藤 朋子、主任専門研究員 佐々木 和明

1 目的

PPCPs について、LC/MS/MS を活用した測定法を開発し、本県の河川・海域等の水質濃度を測定することで、環境汚染状況を把握しようとするものである。今年度は、環境省化学物質環境実態調査で本県が開発した分析法を活用した「1-ニトロピレン (1-NP) の汚染実態調査」と、高病原性鳥インフルエンザ発生時の防疫措置に関連し、環境への影響を把握することとなっている陽イオン界面活性剤 (CS) について、「スクリーニング測定 (JIS 改良法) と LC/MS/MS による確認試験の検討」の2項目について報告する。

2 分析方法の概要と測定結果

2-1 1-ニトロピレンの県内環境実態調査

2-1-1 分析方法

水質試料 100ml にサロゲート物質を添加した後、固相抽出カラムに通水、メタノールで洗浄し、アセトンで溶出する。溶出液を濃縮後、メタノールに転溶し、LC/MS/MS-SRM(ESI+)で分析する。本法の定量下限値 (MDL) は 0.18 ng/L である。分析法のフローを図 1-1 に、検量線を図 1-2 に示す。

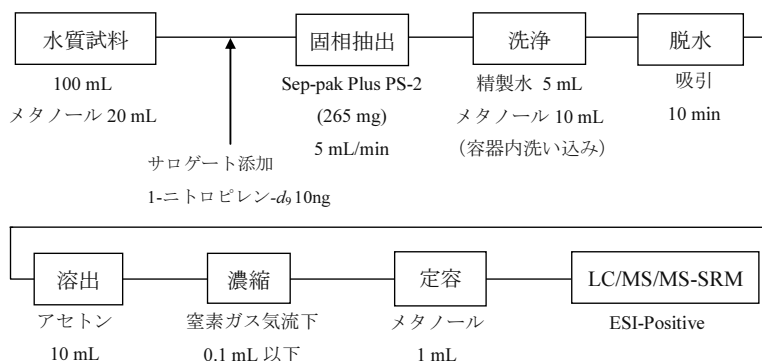
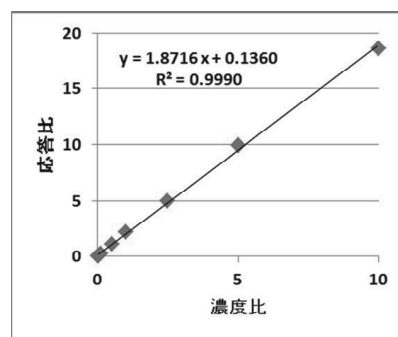


図 1-1 分析法のフローチャート



サロゲート物質 10 ng/mL
対象物質濃度範囲 0.1~100 ng/mL

図 1-2 検量線

2-1-2 測定結果

県内 14 地点の河川及び海域でサンプリングを行い、上記方法で水質試料中の 1-NP を測定したところ、全地点で MDL(0.18 ng/L) 未満となった。測定結果を表 1、サンプリング地点を図 1-3、環境試料のクロマトグラムを図 1-4 に示す。

表 1 県内河川並びに海域中の 1-NP 測定結果

No.	地点名	1-ニトロピレン濃度	サロゲート回収率
1	湊橋	<0.18 ng/L	73%
2	久慈湾	<0.18 ng/L	67%
3	宮古橋	<0.18 ng/L	65%
4	宮古湾	<0.18 ng/L	65%
5	古廟橋	<0.18 ng/L	71%
6	大槌湾	<0.18 ng/L	72%
7	姉齒橋	<0.18 ng/L	79%
8	広田湾	<0.18 ng/L	72%
9	岩谷橋	<0.18 ng/L	80%
10	芋田橋	<0.18 ng/L	83%
11	南大橋	<0.18 ng/L	73%
12	桜橋	<0.18 ng/L	79%
13	宿内橋	<0.18 ng/L	74%
14	松形橋	<0.18 ng/L	71%

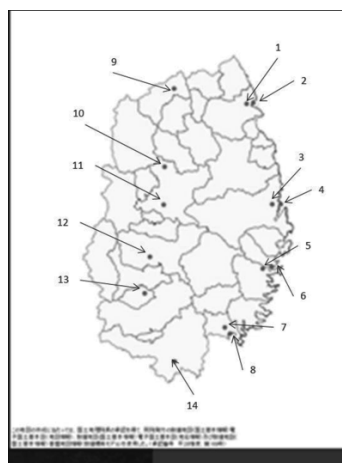


図 1-3 サンプル地点

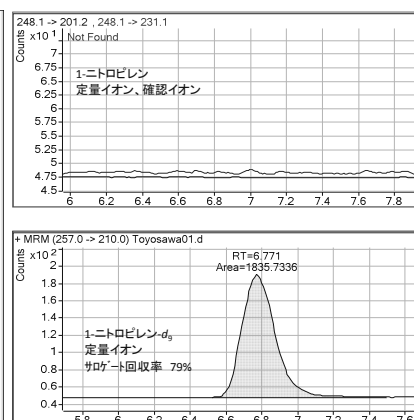


図 1-4 環境試料のクロマトグラム
(豊沢川)

2-2 陽イオン界面活性剤 (CS) 測定の検討

2-2-1 分析方法

スクリーニング測定: JISK0102 1998 年度版付属書 (参考) 補足を改変し、感度の向上を試みた。水質試料を図 2-1 の方法で前処理し、オレンジ 吸光光度法で測定を行う。

この測定法の定量範囲は 0.05~1.0mg/L であり、JIS 参考法の定量範囲 0.2~3.5mg/L と比較して、より低濃度の測定が可能となった。

LC/MS/MS による測定の検討: 上記スクリーニング測定では、高病原性鳥インフルエンザの防疫措置に用いられる消毒剤 (岩手県のマニュアルでは、パコマを使用する) 以外の消毒剤や、コンディショナー等に含まれる CS も検出する可能性がある。スクリーニング測定で CS が検出された場合、防疫措置によるものであるか確認が必要となるため、既報^{1) 2)}を参考とし、LC/MS/MS による個別成分の測定検討を行った。

①マススペクトル: パコマに含まれる CS は [モノ、ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン)] アルキルトルエンである。アルキル基は C9 から C15 のものが含まれ、C12 を主成分とする。また、四級アンモニウム基が 1 つ (モノ体) と 2 つ (ビス体) のものを含む。図 2-2、2-3 にそれぞれのマススペクトルを示す。

②LC/MS/MS の測定条件: LC/MSESI-Positive SRM 測定の条件を下記に、標準物質のクロマトグラムを図 2-4、検量線を図 2-5 に示す。この測定法でモノ体及びビス体が検出可能であったが、モノ体と比較してビス体の感度が非常に低い結果となった。

【LC 条件】

機種: Agilent 社製 1200LC/6460MS

カラム: Agilent 社製 Poroshell 120 EC-C18

(2.1 mm × 150 mm, 2.7 μm)

移動相 A: 0.1%ギ酸水溶液、移動相 B: 0.1%ギ酸添加 ACN

0 → 4 min(A:B=80:20) → 9 min(A=80→10, B=20→90)→

11 min(A:B=10:90)→11.01 min(A=10→80, B=90→20)→

17 min(A:B=80:20)

【MS 条件】

イオン化法: ESI-Positive

モニターイオン: モノ体(C12): 定量 m/z 332>119, 確認 m/z 332>147

ビス体(C12): 定量 m/z 202*>145, 確認 m/z 202>133

*ビス体は二価イオンとなるため、分子量関連イオンが質量数 404 の半分の 202 となっている。

2-1-2 測定結果

上流域に鶏舎がある河川 3 地点 (岩谷橋、報国橋及び大向橋) と、比較用の河川水 1 地点 (桜橋) について、スクリーニング測定を行ったところ、全ての地点で CS が定量下限値未満となった。

3 まとめ

LC/MS/MS による岩手県内河川並びに海水中の 1-NP の測定では、全ての地点で MDL 未満となり、汚染レベルが直ちに問題となるような値ではないことが確認された。

陽イオン界面活性剤の測定では、LC/MS/MS によるビス体の検出感度の向上や、MDL の算出、添加回収試験など、引き続き検討を続けたいと考えている。

(参考文献)

- 1) 岡山県環境保健センター年報 31,45-51,2007
- 2) 株式会社明治 [モノ、ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン)] アルキルトルエンの定量方法 (特許文献)

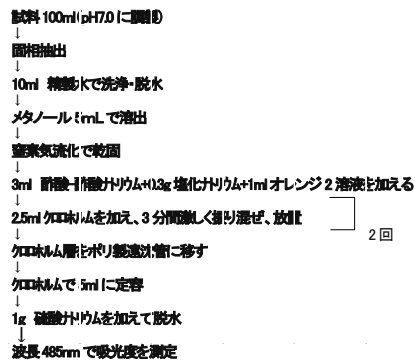


図 2-1 分析フロー

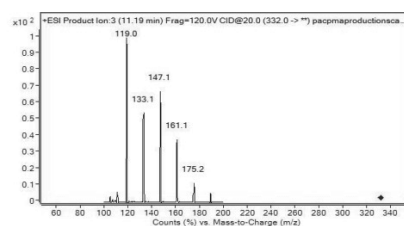


図 2-2 モノ体 (C12) の MS/MS 結果

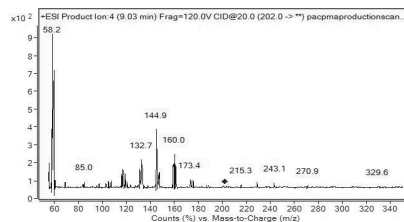


図 2-3 ビス体 (C12) の MS/MS 結果

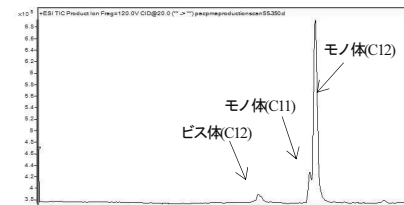


図 2-4 MS2 SCAN 測定の TIC

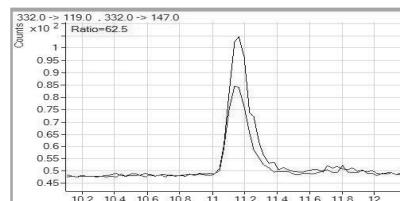


図 2-4 モノ体(C12)のクロマトグラム (2 ng/mL 標準液)

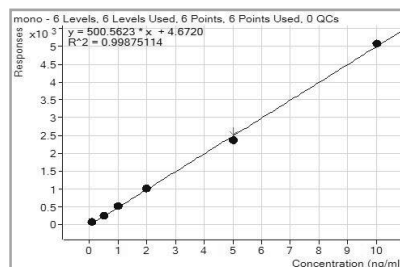


図 2-5 モノ体(C12)の検量線 (0.1~10 ng/mL)

研究課題名	化審法関連物質の排出源及び動態の解明
担 当	環境科学部 主査専門研究員 岩渕 勝己

1 目的

これまでの研究成果として、有機フッ素化合物をパッシブサンプラーの1つであるPOCIS (Polar organic chemical integrative sampler) でサンプリングして濃度を算出することが可能であり、環境水レベルの濃度に適用できることが確認できたことから、フィールドへ展開させていくための基礎データとして、実験室内で水温の違いによるサンプリングレート (R_s) の変化を確認することを目的とした。

2 方法

【ターゲット物質】有機フッ素化合物のPFOA及びPFOS

【試験方法】昨年度までに検討した条件でPOCISを作成した (membrane filter : PALL社製 (材質 : PES)、固相 (Solid Phase ; SP) : Waters社製 Oasis WAX (POCIS1つに200mg使用))。PFOA・PFOSともに100 ng/Lの水溶液を1Lビーカー5個に調製し、ブランク用に1個のビーカーに超純水

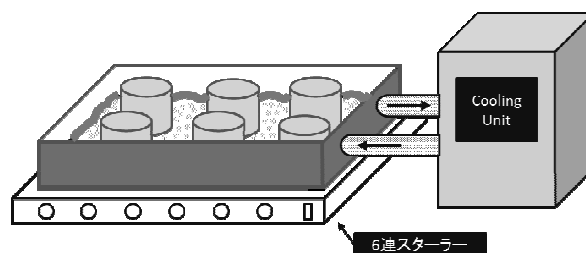


Fig. 1 実験装置

を入れ、POCISを浸漬した (Fig.1)。10、20、30の恒温槽で一定時間 (1、3、6、9、14日間) 放置後に、SPに吸着したPFOA・PFOS量及び水溶液濃度を測定して R_s を算出した。

【サンプリングレートの算出】POCISによるサンプリングでは、一般に以下の関係が成立する。

$$C_w = \frac{M_s}{R_s \cdot t} \quad (C_w: \text{water concentration (ng/L)}, M_s: \text{mass of adsorption (ng)}, R_s: \text{sampling rate (L/day)}, t: \text{time (day)})$$

$M_s/C_w = CF_t$ とおくと、 $CF_t = R_s \cdot t$ となり、 CF_t は t の関数となる。 M_s/C_w と t の散布図から得られた回帰直線の傾きが R_s となることから、測定結果から散布図を作成し、 R_s を算出した。

3 結果と考察

(1) 各温度における CF_t の算出

10、20、及び30°Cで試験し、得られた M_s 、 C_w 、 CF_t は、Table 1 のとおりである。どの温度においても、時間の経過とともにSPへの吸着量 (M_s) は増加しており、14日間の浸漬ではSPが飽和していないことが確認された。水溶液の濃度 (C_w) については、どの温度においてもPFOA、PFOSともに時間の経過とともにほぼ単調に減少していることが確認されたが、30°Cの1日経過後の濃度が3日、6日経過後とほぼ同等かやや低くなっていた。SPへの吸着は急激な変化もなく単調に増加しており、また、水溶液を分析する際の前処理操作にも問題はなかったことから、これは水溶液調製時に100 ng/Lよりも若干低濃度となってしまったことが原因として推定された。

Table 1 各温度における M_s 、 C_w 、 CF_t

t	PFOA			PFOS			
	M_s	C_w	CF_t	M_s	C_w	CF_t	
10°C	0	0.19	104	0.002	0.009	101	0.0001
	1	5.6	87	0.064	1.6	92	0.018
	3	14	70	0.20	2.8	68	0.041
	6	37	40	0.92	14	49	0.29
	9	49	29	1.7	24	46	0.52
	14	55	29	1.9	29	38	0.78
20°C	0	0.13	105	0.001	0.012	104	0.0001
	1	12	74	0.16	1.4	73	0.019
	3	41	51	0.82	17	43	0.39
	6	63	33	1.9	25	42	0.59
	9	73	21	3.4	33	19	1.7
	14	83	12	6.6	49	24	2.0
30°C	0	0.13	105	0.001	0.012	115	0.0001
	1	16	29	0.55	14	35	0.40
	3	31	38	0.83	17	35	0.48
	6	51	35	1.5	33	37	0.88
	9	53	27	2.0	37	27	1.4
	14	69	7.4	9.3	44	15	2.9

(2) R_s の算出

各温度における CF_t と経過日数を散布図 (Fig. 2) にし、その回帰直線 (線形回帰) から R_s を求めた。どの温度

においても、 CF_t と t (経過日数) の間で相関が高く、相関係数は 0.89～0.99 (すべてが 1% 有意) であった。この直線の傾きから、PFOA の R_s (L/day) は 0.15 (10°C)、0.47 (20°C)、0.58 (30°C)、PFOS の R_s (L/day) は 0.060 (10°C)、0.16 (20°C)、0.19 (30°C) と算出された。

(3) 水温と R_s の関係

PFOS、PFOA の各温度における R_s から散布図を作成した (Fig. 3)。PFOA、PFOS ともに、水温が高くなるのに伴って R_s も増加し、10～30°Cの間では相関係数が PFOA、PFOS ともに 0.96 (両方とも 5% 有意) と、高い相関を示した。このことから、 R_s は水温に依存して値が変化し、回帰式より R_s が推定できることが明らかとなった。

この結果は、河川等のフィールドで POCIS を利用して平均濃度を測定する際には、浸漬期間の平均水温の情報を得ることで、回帰式から R_s を推定し、浸漬期間における平均濃度を精度よく算出することが可能であることを示している。今回の試験では、10～30°C の範囲で R_s を算出したが、実際に河川等に適用させる場合、冬期のサンプリングでは 5°C 前後まで水温は低下し、また、夏期には天候やサンプリング地点によっては水温が 30°C を超える可能性も考えられる。その場合、 R_s は外挿によって求めることとなるが、今回の試験から算出された回帰式の決定係数 (R^2) は、PFOA で 0.93、PFOS で 0.92 と非常に高いことから、外挿による推定でもある程度の精度は保たれるものと考えられる。このことは、サンプリングの時期を選ばずに年間を通して平均濃度の推定が可能であることを示唆している。

4 今後の研究方向等

これまで、超純水に PFOA 及び PFOS を溶解させた水溶液で試験を行い、POCIS でサンプリングが可能であること、また、実際のフィールドで想定される水温の温度帯において、 R_s を推定することも可能であることが確認できた。今後は、マトリクスの多い実際の環境水に適用できるかどうかを確認する必要があり、河川等のフィールドへ展開させるための基礎データをさらに蓄積していくこととする。

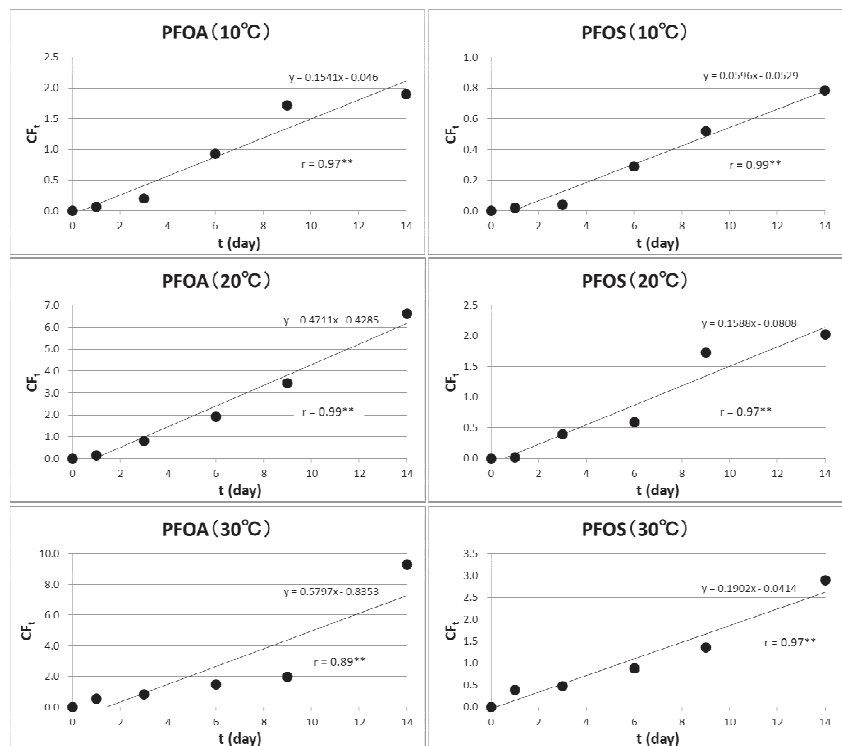


Fig. 2 各温度における CF_t と経過日数の関係

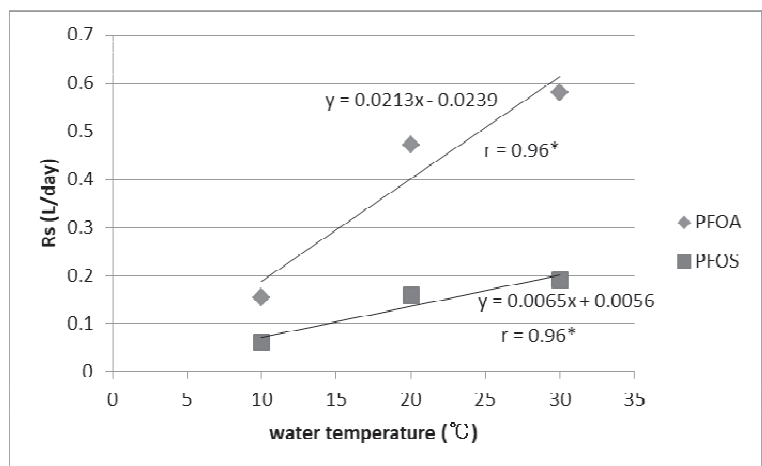


Fig. 3 水温と R_s の関係

研究成果報告書（10）

研究課題名	WE T手法を用いた水環境調査のケーススタディ
担 当	環境科学部 専門研究員 本村 華子
<p>1 目的</p> <p>環境中には多種多様な化学物質が存在し、ヒトや野生生物は常に複数の化学物質に曝露されている。近年、複数の化学物質による水環境への影響や毒性の有無を総合的に評価する手法としてバイオアッセイが用いられている。特に、事業場排水の管理を目的としたWE T（生物応答を利用した排水管理）手法については、近年、米国や欧州、韓国など）で導入されており、我が国でも導入が検討されている。</p> <p>本研究は、国立環境研究所Ⅱ型共同研究であり、国立環境研究所及び地方環境研究所21機関が共同で行うものである。共同研究により、国立環境研究所と地方環境研究所との技術の共有を図るとともに、WE T手法及びT R E / T I E（毒性削減評価／毒性同定評価）手法について知見の集積を目指す。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) 岩手県を含む国内の環境水を採取し、複数の研究機関（国立環境研究所、さいたま市、和歌山県、奈良県、滋賀県、川崎市、名古屋市、いであ株式会社）でWE T手法を用いた生態影響試験（①胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験法、②甲殻類を用いる繁殖試験法、③藻類を用いる生長阻害試験法の3種）を実施した。</p> <p>(2) 生態影響が確認された地点について、昨年度の結果も含めて必要に応じ水質化学分析を追加実施するか検討を行った。</p> <p>(3) (1)及び(2)により得られた結果について、ワークショップで検討を行なった。</p> <p>3 結果</p> <p>(1) 第1回ワークショップでは、共同研究機関と平成29年度の研究方法、試料採取及び当該試料のWE T試験の役割分担について協議した。当センターは県内河川2か所（吸川水門、千厩川松形橋）の検体を提供した。</p> <p>(2) 第2回ワークショップでは、(1)の試験結果の報告及び検討を行った。</p> <p>① WE T試験を実施した全国河川9か所の検体のうち6検体で生態影響がみられた地点・項目があった。名古屋市と川崎市が当センター提供の検体の試験を実施し、対象区と比較し、吸川水門で藻類が有意に低下し、千厩川松形橋で魚類が有意に低下し、藻類が有意に増加するという結果が得られた。</p> <p>②藻類で有意に低下した地点のなかに、栄養塩類の不足や重金属類の検出が原因ではない地点があったことから、結果の考察には、生態影響試験と併せて、今後、詳細な水質化学分析を実施し、検証することが必要であるとの意見や、原因物質の究明には、重金属類や農薬といった毒性値を把握するべきとの意見が出された。</p> <p>③ 生態影響試験の際に希釈水の硬度が試験結果に影響する可能性があるが、各機関で硬度の調整方法が異なっていたことから、WE T試験における統一的な試験方法を検討するべきとの意見が出され、検討することとした。</p> <p>④ ワークショップで出された意見は次年度の課題として整理し、WE T試験を継続することとした。</p> <p>4 今後の研究方向等</p> <p>次年度の課題を整理したうえでWE T試験を実施し、試験結果はⅡ型共同研究における最終年度の研究成果報告書としてとりまとめを行う。当センターも引き続き、WE T手法に関する技術及び知見の共有化、WE T手法を用いた調査事例の集積に努める。</p>	

研究成果報告書（11）

研究課題名	重要な絶滅危惧植物を存続させるための技術開発に関する研究
担 当	地球科学部 上席専門研究員 小山田 智彰
<p>1 目的</p> <p>「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律（種の保存法）」の指定を受けている絶滅危惧植物を対象に、自生個体を存続させるための手法と苗生産を行うための技術の開発を行う。その上で国や他機関からの絶滅危惧植物保護の要請や指導依頼など、高度な要求に対応する国内屈指の技術・実績を獲得するように取り組む。</p> <p>【研究材料1】岩手県に自生する「種の保存法」指定植物：アツモリソウ 【研究材料2】国から依頼された絶滅危惧植物：チョウセンキバナアツモリソウ</p> <p>2 実施内容</p> <p>【研究分類1】：自生地確認、周辺環境の状況、保護の取り組み、先進地の活動状況について調査を行う。 【研究分類2】：種を存続させるための科学的な手法開発を進める。 【研究分類3】：国、県、市町村等の依頼に対応した技術指導を行う。（地域資源の活用等を含む）</p> <p>3 成果</p> <p>(1) 研究分類1. 2. 3の成果を取りまとめて、第18回自然環境復元学会全国大会において以下の4題を発表した。さらに環境省主催の会議等で報告を行った。特に環境省の要請を受けて実施しているチョウセンキバナアツモリソウの培養法確立と長期乾燥保存種子の発芽は、国内初報告となる。（表1） 発表1：「山林開発に伴う希少植物の分布調査」-なぜアツモリソウが残っていたのか？- 発表2：「山林開発に伴うアツモリソウの生息域内保全」-アツモリソウ野生株の移植と保全措置- 発表3：「山林開発に伴うアツモリソウの生息域外保全」-アツモリソウ野生株からの採種と発芽- 発表4：「チョウセンキバナアツモリソウの生息域外保全」-H26年環境省採種・新宿御苑保存種子の発芽-</p> <p>(2) 住田町の依頼を受け、アツモリソウの保護と利用に関する講演を行った。また、アツモリソウ花組織から有用菌群の採取・増殖を行い、食品開発の技術支援を行った。（表1，図1）</p> <p>(3) 培養技術の応用として、アツモリソウから育種開発した国際登録種“岩手”を交配親に用いて新たな品種開発の試験を行った。特に、地下茎で増殖を続ける新たなタイプの育種に取り組み、苗の育成培養を継続中である。（図2）</p> <p>4 今後の取り組み</p> <p>(1) 希少植物の絶滅回避に有効な技術開発を継続する。 (2) 「種の保存法」指定植物の生息域外保全に有効な技術開発を継続する。 (3) 地域資源の活用に関する技術開発を継続する。 (4) 国際誌、原著論文の発表を検討する。</p>	

表1 主な発表業績(H29年度)

No.	主催団体	発表場所	発表年月日	カテゴリー	タイトル名	発表者
1	住田町	住田町アツモリソウ研究会依頼講演	2017/6/23	講演	アツモリソウの保護と利用-町の花からブランドを創る-	小山田智彰
2	東京山草会	やまくさ67	2017/6/30	報文	津波後の希少植物調査と保護の取り組み(第2報)	小山田智彰・鞍懸重和・佐藤卓・千葉文也
3	長野県富士見町	先進地視察交流会	2017/10/17	講演	アツモリソウの生息域外保全-保護・増殖に関する活動紹介-	小山田智彰
4	環境省東北地方環境事務所	環境省依頼講演(チョウセンキバナアツモリソウ保護増殖事業)	2017/10/30	講演	岩手県のアツモリソウ保護-生息域内保全と生息域外保全の事例紹介-	小山田智彰
5	自然環境復元学会	第18回自然環境復元学会研究発表会要旨	2018/2/14	口頭発表	山林開発に伴う希少植物の分布調査-なぜアツモリソウが残っていたのか?	吉田馨・高柳茂暢・小山田智彰
6	自然環境復元学会	第18回自然環境復元学会研究発表会要旨	2018/2/14	口頭発表	山林開発に伴うアツモリソウの生息域内保全-アツモリソウ野生株の移植と保全計画	高柳茂暢・吉田馨・小山田智彰
7	自然環境復元学会	第18回自然環境復元学会研究発表会要旨	2018/2/14	口頭発表	山林開発に伴うアツモリソウの生息域外保全-アツモリソウ野生株からの採種と発芽-	小山田智彰・高柳茂暢・吉田馨
8	自然環境復元学会	第18回自然環境復元学会研究発表会要旨	2018/2/14	口頭発表	「チョウセンキバナアツモリソウの生息域外保全」-H26年度環境省採種・新発芽保存種子の発芽-	小山田智彰・鞍懸重和・千葉文也
9	東京山草会	やまくさ68	2018年刊	報文	アツモリソウ属植物の花酵母増殖と利用	小山田智彰・菅野享一
10	環境省東北地方環境事務所	環境省依頼講演(チョウセンキバナアツモリソウ保護増殖事業)	2018/3/23	講演	「種の保存法指定植物チョウセンキバナアツモリソウの生息域外保全」-H26・H27年度環境省採種・新発芽保存種子の発芽-	小山田智彰

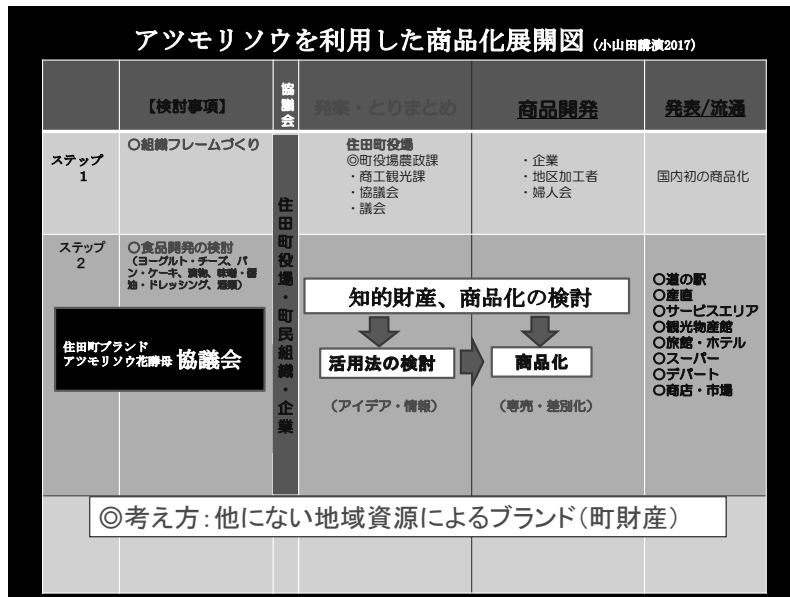


図1 アツモリソウを利用した商品化展開図
 (住田町依頼講演 発表スライドより)

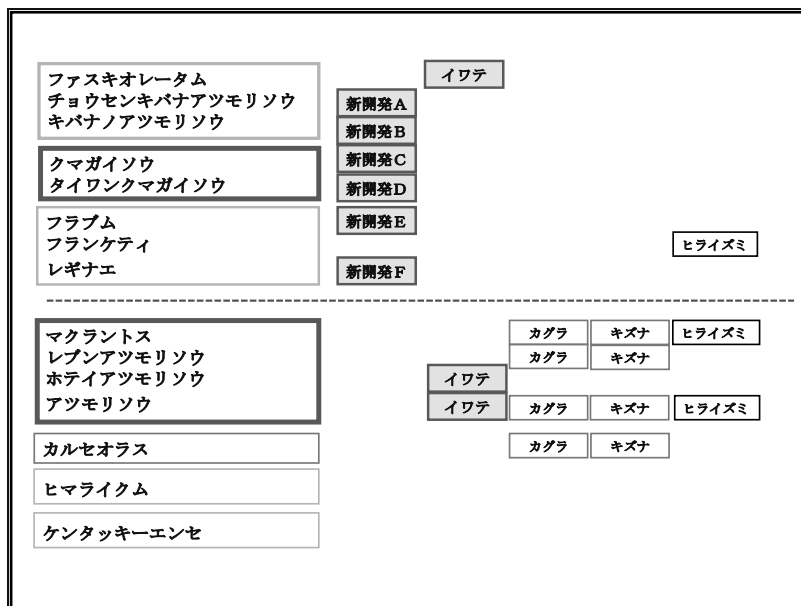


図2 交配親“岩手”と新開発6種の遺伝的な関係図

研究成果報告書（12）

研究課題名	ツキノワグマの個体群動態と将来予測手法の開発ならびに人里への出没メカニズムの解明
担 当	地球科学部 専門研究員 鞍懸 重和

1 目的

継続したヘア・トラップ調査の結果を組み入れた、岩手版の個体群動態モデルと将来予測モデルを開発する。そして、ツキノワグマ（以下、クマ）にGPSテレメトリー首輪を装着して詳細な行動圏を把握し、大量出没年時の行動圏の変化や個体数密度の変化等を観測してクマの人里への出没要因を検討する。

本年度はクマにGPSテレメトリー首輪を装着し、大量出没が生じない年の行動圏を把握することとした。

2 方法

岩手大学御明神演習林内に2基のドラム缶ワナを5月下旬に、1基を9月上旬に設置した。各ドラム缶ワナの周囲にカメラ2機を設置し、1時間に1回画像を撮影するように設定した。撮影された画像はインターネット上に転送し、ドラム缶ワナの扉の開閉を確認した。エサの交換は週に2回行った。捕獲が確認された場合不動化した。各部形体を測定した後、体毛60本、血液20cc及び歯1本を採取後、GPSテレメトリー首輪（Followit社製TellusGPS）を装着して放獣した。GPSテレメトリーの測位間隔について、5～8月は1時間に1点、9～11月は2時間に1点、12月～4月は24時間に1点に設定した。捕獲した個体から得られた全測位点から、可変カーネル法により50%行動圏及び95%行動圏を算出した。

3 結果・考察

6月13日に推定年齢1オメス1個体（F1701）、7月12日に推定年齢2オメス1個体（F1702）、7月14日に推定年齢1オメス1個体（F1703）を捕獲した。F1701の50%行動圏及び95%行動圏面積は33.7km²及び298.0km²であり（図1）、F1702は7.2km²及び49.9km²（図2）、F1703は6.7km²及び46.9km²であった（図3）。

テレメトリー調査によるメスの年間行動圏面積は20～50km²と推定されており（大井・山崎 2007）、F1701を除く個体は平均的な行動圏面積であった。F1701は7月の下旬から8月上旬にかけて、捕獲地点から岩手山南東部山麓までのおよそ20km間を往復したため、他個体よりも行動圏面積が広く推定されたものと思われる。

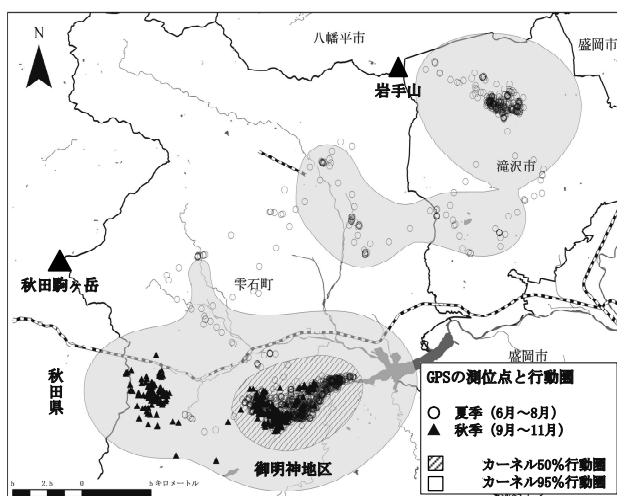


図1 個体F1701のGPSの測位点と行動圏

9月上旬には3個体全てが秋田県境付近のブナ林を利用した後、9月下旬には捕獲地点付近のコナラ、ミズナラ林に回帰する季節的移動パターンを観察した。また、その時のF1701の個体が利用した地点を踏査した結果、ブナに新しい爪痕を確認した。

ツキノワグマは秋季に冬眠に備え飽食すること、またその食物資源として主にブナ科の堅果に依存すること（橋本・高槻 1997）が知られている。また、ブナ科堅果の不作年の秋には拡大した行動圏内を均一的に利用するのではなく、集中的に一部の場所を利用することが知られている（Kozakai et al. 2011）。

平成 29 年度の本県のブナの豊凶調査結果は不作であった。これらのことから観測された季節的移動パターンは、集落周辺を行動圏の中心としていた 3 個体が、秋季に秋田県県境付近のブナ林で堅果が結実した場所を集中的に利用した後、低標高地に生るコナラ、ミズナラの堅果を利用するため生じたものと推測された。

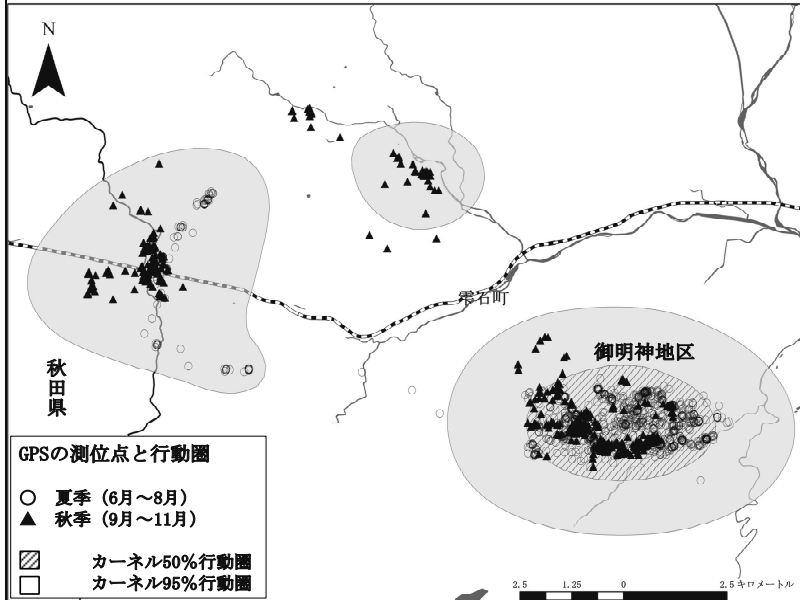


図 2 個体 F1702 の GPS の測位点と行動圏

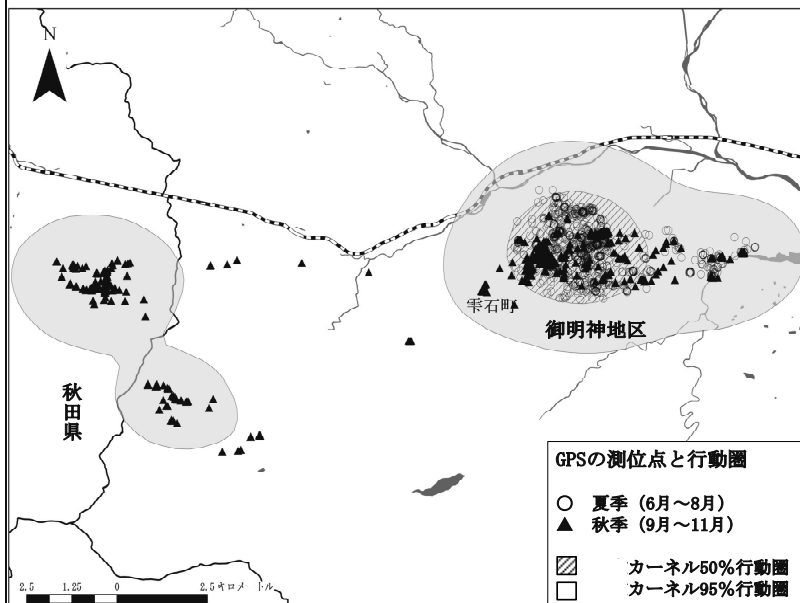


図 3 個体 F1703 の GPS の測位点と行動圏

参考文献

有本勲・岡村寛・小池伸介・山崎晃司・梶光一. 2014. 集落周辺に生息するツキノワグマの行動と利用環境. 哺乳類科学 54 : 19-31.

橋本幸彦・高槻成紀. 1997. ツキノワグマの食性: 総説. 哺乳類科学 37 : 1-19.

Kozakai, C., Yamazaki, K., Nemoto, Y., Nakajima, A. Koike, S., Abe, S., Masaki, T. and Kaji, K. 2011. Effect of mast production on home range use of Japanese black bears. Journal of Wildlife Management 75:865-875.

大井徹・山崎晃司. 2007. 日本のツキノワグマの生息状況. アジアのクマたち—その現状と未来—, 120-130. 日本クマネットワーク.

4 今後の研究方向等

次年度もヘア・トラップ調査を継続してモデル地域の個体数密度を推定し、経年変化をモニタリングする。クマの行動圏調査については、新たな個体にGPSを装着する予定である。そして有本ら (2014) によって報告された「スイッチング状態空間モデル」を用いて個体の移動や活動中の滞在、休息中の滞在で行動区分における植生利用の相違や、季節による特性について詳細に検討する。

研究成果報告書（13）

研究課題名	イヌワシの生息数維持に向けた保全生態学的研究
担 当	地球科学部 上席専門研究員 前田 琢
<p>1 目的</p> <p>岩手県内に生息するイヌワシは、現在までに 35 つがいが確認されている一方、2000 年以降は消失するつがいも増え始めており、その背景には長年に及ぶ繁殖成功率の低迷があると考えられる。今後もイヌワシの生息数を維持していくためには、繁殖率の向上を促す保全方法を明らかにすることが重要である。</p> <p>岩手県内のイヌワシの生息状況や生態的特性については、これまでの研究課題により解明を進めてきたが、個体の移動分散、遺伝的構造、環境収容力など、今後の生息動向を予測するうえで必要となる事項には、未解明な部分が少ない。また、つがいごとに異なる繁殖成績や営巣場所の選択についても、地理・地形的条件や、植生、気象要因、個体の年齢、隣接つがいの有無等を考慮して、多面的に分析を進める必要がある。本研究では、こうした課題に取り組むことを通じて、岩手県のイヌワシを維持、存続させるために必要な保全手法を明らかにし、提言を行なうことを目的とする。</p> <p>29 年度に調査研究を行なった項目は以下のとおりである： ①県内に生息するつがいの動向および繁殖状況の調査、②個体識別による移動分散調査、③羽根等を利用した遺伝子解析（京都大学野生動物研究センターとの共同研究）、④種分布モデルを用いた営巣場所選択性の解明（横浜国立大学との共同研究）。</p> <p>2 方法</p> <p>①県内で確認されている全つがいを対象に、繁殖期全般にわたる行動、巣の状態、ひなの生育状況等を調査し、繁殖経過を明らかにした。また、これまでに生息が確認されていない地域で、新たなつがいや営巣地を発見するための探索調査を実施した。調査したつがいは可能な限り個体識別を行ない、個体の入れ替わり等も明らかにした。</p> <p>② 県内外で観察されたイヌワシを写真撮影するとともに、各地の観察者が撮影した個体映像も収集し、特徴の比較を行なった。そして、同一個体を判別することにより、個体の移動分散の状況を明らかにした。</p> <p>③ イヌワシの巣や採餌場から、羽根、ペレット、卵殻、糞といった試料を採集するとともに、標本や飼育個体からも同様の試料を収集した。得られた試料から DNA を抽出し、核 DNA のマイクロサテライトおよびミトコンドリア DNA のコントロール領域（CR）や擬似コントロール領域（ΨCR）等について、多様性やハプロタイプの解析を行なった。マイクロサテライトの分析にあたっては、既存のマーカーに加え、独自に開発したイヌワシ専用のマーカーも用いた。また、個体群存続可能性分析（PVA）を用いて、遺伝的多様性の今後の推移を予測した。</p> <p>④ 岩手県内で 1996～2016 年に確認された 81 営巣地を含むメッシュ（10km および 1km 四方）について、地形要因（標高や傾斜など）や植生要因（落葉広葉樹面積、草原面積など）の値を地理情報システム（GIS）を用いて測定した。一方、営巣地を含まないメッシュについても同様に測定し、ゼロ過剰条件付自己回帰モデルを用いて営巣地の選択性を検討した。</p> <p>3 結果</p> <p>① 2017 年には新たに 1 つがいの生息を確認し、県全体で 29 つがいの生息が明らかとなった。このうち 16 つがいで抱卵、11 つがいで育雛、5 つがいでひなの巣立ちが観察された。繁殖成功率は 17.2%であり、2016 年よりやや向上した。既知つがいの新たな営巣場所も 6 か所発見された。</p>	

②同一個体であると確認できた映像が複数得られ、とくに幼鳥や若鳥の分散を示す事例を多く集めることができた。幼鳥では巣立ち後1年8か月を経て、出生地から約90キロ離れた場所への移動が明らかになったほか、若鳥では県境を越えた宮城県との約72キロの移動も明らかになった。一方、写真から読み取った個体の特徴の組み合わせに基づき、同一であると判定するための目安となる客観的指標も明らかにした。

③野生51個体および飼育20個体から採取したDNAサンプルについて、ミトコンドリアや核DNAの解析を行なった結果、日本国内の野生個体群の遺伝的変異は比較的高いレベルにあり、動物園の飼育個体群においても多様性は良好に保たれていることが明らかになった。しかし、個体群存続可能性分析(PVA)を用いて飼育個体群の将来を人口学的、遺伝学的に検討したところ、今後遺伝的な偏りによる深刻な影響が現れると予想され、徹底した遺伝子管理を講じないと飼育個体群は存続できないことが示唆された。

④回帰モデルを用いた解析の結果、1kmスケールでは、平均標高が500m程度で、傾斜45度以上の斜面や落葉広葉樹林が多い環境に営巣地がある傾向が明らかになった。また10kmスケールでは、農地や人工地、常緑広葉樹林が少なく、傾斜30度以上の斜面や傾斜のばらつきが高い環境が選択されていた。これらの結果を北上高地全域に当てはめたところ、成鳥、若鳥を合わせて約85羽のイヌワシが生息可能であることがわかった。

4 今後の研究方向等

(1)各営巣地において繁殖状況の把握、失敗原因の解明を進めるとともに、未確認つがいや消失つがいが示唆される地域を中心に、引き続き情報収集や探索調査を行なう。

(2)営巣地の分布について、より精度の高い土地利用データを用いて解析するとともに、つがい間にみられる繁殖成績の違いについても、生息地環境との関連性を検討する。

(3)広域的に個体の映像収集を進め、従来仮定されていた行動圏を越えた移動分散の実態を解明する。

(4)DNA解析の結果から、個体識別や近親度を推定する方法について検討する。

(5)個体ベースモデルによるシミュレーションを行ない、様々な条件下でのイヌワシの存続可能性について検討する。

研究成果報告書（14）

研究課題名	五葉山地域に生息するニホンジカの個体数推定
担 当	地球科学部 専門研究員 鞍懸 重和

1 目的

岩手県では様々なモニタリング調査を実施して保護管理計画を運用してきた。しかし急激な分布の拡大，里周辺に生息する個体の増加など，従来までの個体数推定法では正確な生息状況ならびに将来予測が不可能になっている。そこで本研究では個々の事業で蓄積されたデータを用いて，ヘリコプター調査に代わる五葉山地域の個体数推定法を確立することを目的とした。

今年度は，2014年に環境省が用いた個体数推定モデルを基に，統計解析ソフト WinBUGS での個体数推定モデルを構築し，岩手県全域の個体数を推定することとした。

2 方法

データは岩手県全域から収集した2002年～2015年の総捕獲数，狩猟捕獲数，許可捕獲数，2004年～2015年の糞塊数及び2008年～2015年の目撃効率を用いた。

個体数推定法は階層ベイズ法による Harvest-based model を用いた。過程モデルには Beverton-Holt model を用い，観測モデルには狩猟捕獲数，許可捕獲数，糞塊数及び目撃効率を密度指標として採用した。事前分布は環境省と同様に自然増加率，基準年生息密度，環境収容力について既知の事前分布を採用し，その他のパラメータの事前分布は無情報ないしそれに準ずる事前分布を用いた。

各パラメータの事後分布はマルコフ連鎖モンテカルロ法（MCMC 法）により抽出し，抽出された事後分布が妥当なものであるか，geweke の収束診断及び収束図により検討した。

3 結果・考察

推定した212個のパラメータの内3個のパラメータが geweke の収束診断の基準値を超えたが，概ね各パラメータの事後分布は収束したものと判断した。

岩手県全域の推定個体数の中央値は2013年の32280頭（95%信用区間：20660～143600頭）をピークとし，2015年は25120頭（95%信用区間：9545～168600頭）であった（図1）。また，2014年に環境省が推定した2013年の推定個体数は40579頭（90%信用区間：12526～183363頭）であり，作成したモデルでは低く推定された。

これは糞塊数のデータが強く影響したものと思われる。糞塊数の調査は，2012年まで生息密度の高い五葉山地域周辺を中心に，2013年以降は生息密度の低い五葉山地域周辺以外の調査地を増やし実施している。これにとも

ない糞塊数の平均値が著しく低くなり，個体数が低く推定されたものと考えられる。

4 今後の研究方向等

今後は五葉山周辺とそれ以外の地域を分離し評価するモデルが必要となる。また岩手県ではシカの歯，腎臓を収集していることから，年齢別の栄養状態と自然増加率の関係を明らかにし，個体数推定モデルに導入可能かを検討する。

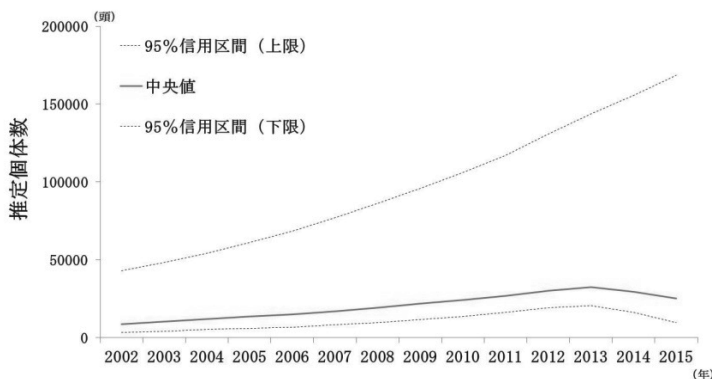


図1 ハーベストベースドモデルによる推定個体数

研究成果報告書（15）

研究課題名	酸性雨による環境影響の総合的評価（広域連携事業）
担 当	地球科学部 技師 小野寺 甲仁

1 目的

酸性雨に影響をおよぼす乾性沈着物調査(ガス状酸性化成分)を行い、既存の酸性雨や酸性雪データと併せて解析を行うことにより、本県の降水の酸性化現象による環境影響の総合的評価に資することを目的とする。

また、全国環境研協議会によって実施する第6次酸性雨全国調査及び全国環境研北海道・東北支部酸性雨専門部会による調査・研究に参加することにより、本県のみならず、北海道・東北ブロックさらに全国的観点からも酸性雨を取り巻く評価を行うことを目的とする。

2 方法

盛岡市（岩手県環境保健研究センター屋上）で、パッシブ法による乾性沈着成分（ガス及び粒子状物質）濃度の把握を行った。毎月1回の頻度で、NO₂及びNO_xは比色分析法にて、NH₃及びO₃はイオンクロマト分析法にて分析を行った。

3 結果

平成29年度における濃度の季節変動（図1）及び長期的な濃度変動（図2）を示す。

分析項目別にみると、O₃は全体的に春季に最大となり、夏季には低い傾向がみられた。また、平成28年度は、1月から3月にかけて上昇傾向を示していたが、平成29年度は比較的安定に推移した。O₃以外の分析項目は、全体的に秋季から冬季にかけて上昇する傾向にあった。

また、経年濃度変化をみると、O₃は昨年度よりも高濃度を示したが、過去9年間の変動範囲（19.0～33.6ppbv）内であった。その他の分析項目についても同様の傾向を示した。

4 今後の研究方向等

大気汚染状況の長期的な推移をみるため、乾性沈着成分のモニターは今後とも継続する必要がある、全国環境研協議会が主催する酸性雨全国調査に引き続き参加する。

今後は、これまで継続してきたパッシブ法を終了させ、フィルターパック法での調査へ完全移行する。

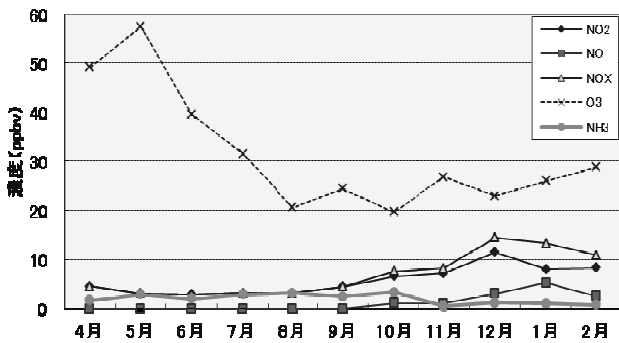


図1 平成29年度季節変動

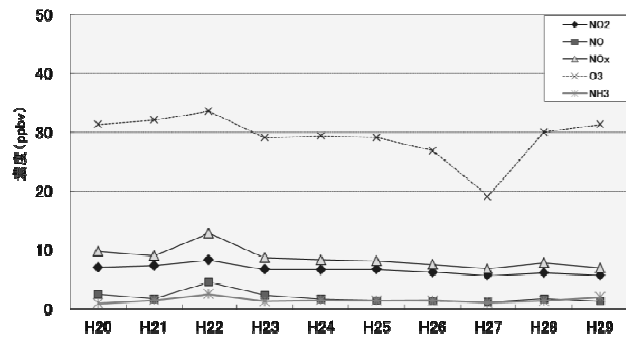


図2 経年変動

研究成果報告書（16）

研究課題名	微小粒子状物質の発生源解明に関する研究
担 当	地球科学部 技師 小野寺甲仁、技師 大橋慶太郎、上席専門研究員 多田 敬子 首席専門研究員兼部長 小野 正文
<p>1 目的</p> <p>微小粒子状物質(PM_{2.5})は、大気中に浮遊する2.5μm以下の微小粒子であり、粒径が小さく人の健康に影響を及ぼす恐れがあるとされている。PM_{2.5}の削減対策を検討するには、県内の実態把握に加え発生源の種類や地域の把握が必要となる。</p> <p>本研究では、県内2地点を調査地点の成分分析結果をもとに、構成成分及び季節変動の特徴について検討を加えた。また、平成29年5月に釜石市で発生した大規模林野火災の際に観測されたPM_{2.5}濃度の上昇について検討を行った。</p> <p>2 方法</p> <p>調査地点は、平成28年度から滝沢市巣子（以下「巣子局」という。）及び奥州市水沢（以下「水沢局」という。）の2地点とし、四半期ごとに1日単位の採取を14日間連続して実施した。試料採取装置はPM_{2.5}用ローボリウムサンプラー（Thermo製FRM2025）を用い、捕集フィルターはイオン成分及び無機元素成分測定にはPTFE製を、炭素成分測定には石英繊維製のものを使用した。各測定項目の測定方法は以下のとおり。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・PM_{2.5}濃度…PTFE フィルターを採取前後に秤量し、重量の変化量からPM_{2.5}濃度を算定した。 ・炭素成分…石英繊維フィルターをサーマルオプティカル・リフレクタンス法により分析した。 ・イオン成分…PTFE フィルターを水抽出し、イオンクロマトグラフ法により分析した。 ・無機元素成分…PTFE フィルターを酸分解し、誘導結合プラズマ質量分析法により分析した。 <p>3 結果・考察</p> <p>(1) PM_{2.5}の構成成分</p> <p>フィルターの重量変化から求めたPM_{2.5}濃度を100%とし、そこに成分分析結果を当てはめ構成割合を算定した（図1、図2）。各サンプリング期間とも、一般的なPM_{2.5}の構成成分である有機炭素、元素状炭素、硝酸イオン、硫酸イオン、アンモニウムイオンが9割以上を占めた。</p> <p>(2) 季節変動</p> <p>構成成分の季節変動は両地点において、硫酸イオンが春と夏に高値を示し、反対に硝酸イオンは秋と冬に高い傾向を示した。この傾向は、当センターによる過去の研究においても見られ、暖かい季節はSO₂の酸化促進によりSO₄²⁻が生成されやすく、寒い季節は硝酸アンモニウムの粒子化が促進されるためであると考えられる。</p> <p>(3) 釜石市で発生した林野火災によるPM_{2.5}濃度の上昇について</p> <p>平成29年5月8日から22日まで釜石市平田で発生した林野火災について、火災発生場所から西北西に約8km離れた釜石市新町の大気常時監視測定局に設置した自動測定機（東亜ディーケーケー製FPM-377）によるPM_{2.5}濃度測定値と、気象庁アメダスによる釜石市内の風向風速データを示す（図3）。</p> <p>火災発災直後は火災発生場所よりも測定局が風上となる風が続いておりPM_{2.5}濃度は10～30μg/m³程度を推移していたが、5月9日午前7時ごろから風向が東南東に変わり測定局が風下になったところPM_{2.5}濃度は急激に上昇し午前10時には149μg/m³を記録し、その後再び風向が変化するとPM_{2.5}濃度は徐々に減少した。</p>	

4 今後の研究方向等

今後もデータの蓄積及び解析によって、PM_{2.5}の削減施策へ繋がる研究を進めていく。また、Ⅱ型共同研究における高濃度解析グループの活動を通じて、広域的汚染要因の解析へ繋げていく。

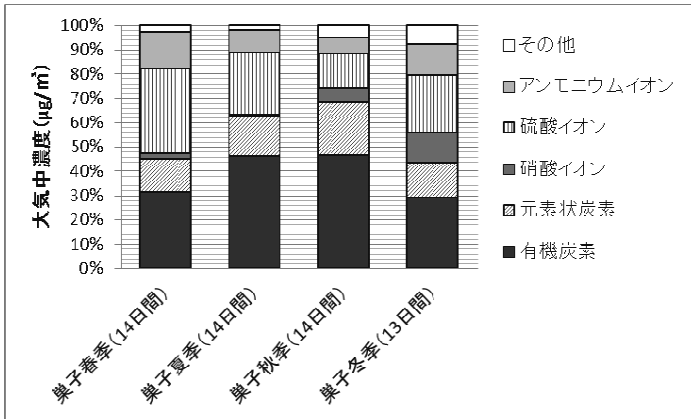


図1：サンプリング期間毎のPM_{2.5}の構成成分の平均割合（平成29年度、巣子局）

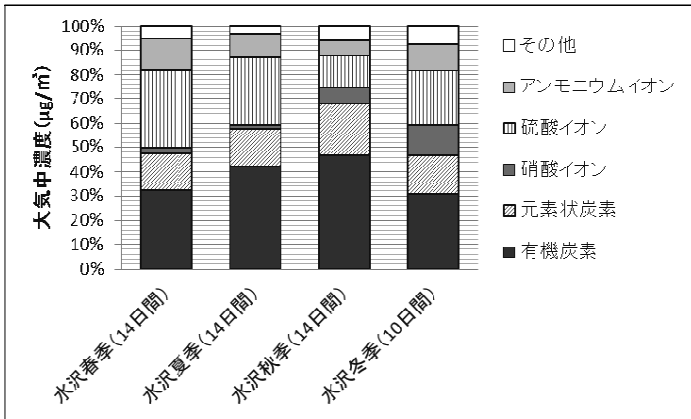


図2：サンプリング期間毎のPM_{2.5}の構成成分の平均割合（平成29年度、水沢局）

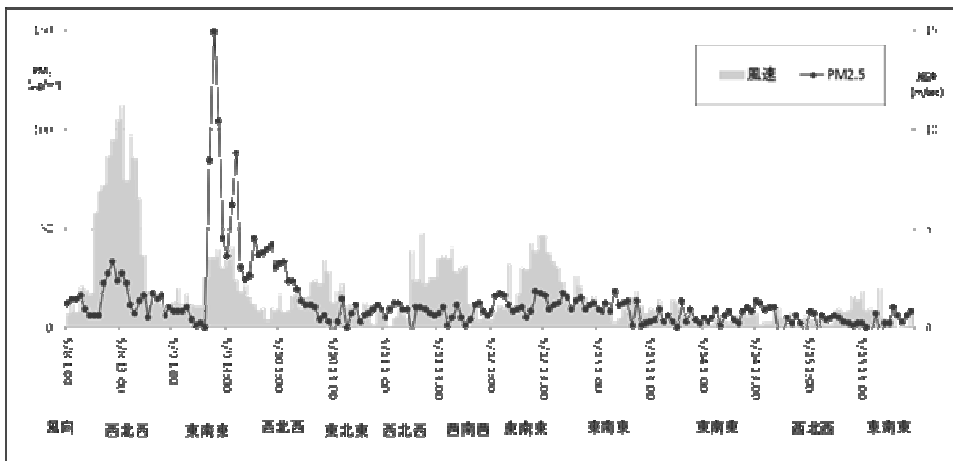


図3：林野火災発生中の釜石市新町局におけるPM_{2.5}濃度と風向風力の関係

研究成果報告書（17）

研究課題名	ウイルス媒介性節足動物（ヒトスジシマカ）の生息に関する研究
担 当	地球科学部 技師 大橋 慶太郎
<p>1 目的</p> <p>ヒトスジシマカは、ジカ熱やデング熱等のウイルス疾患を媒介する感染症対策上重要な節足動物である。近年、その生息北限が北上しており、気温の上昇が影響しているといわれている。岩手県内における同蚊の生息分布状況を明らかにするとともに、生息北限地域における生息条件を検討することにより地球温暖化適応策や感染症予防対策に資することを目的とする。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) 蚊類の生息状況調査</p> <p>蚊類の生息状況調査は平成 29 年 6～9 月、岩手県盛岡市、花巻市、釜石市、遠野市、紫波町、大槌町の 4 市 2 町の延べ 105 地点で行った。</p> <p>調査対象は主に寺院の花生けや手水鉢、屋外に放置された古タイヤなどの人工容器の貯留水とし、生息している蚊の幼虫及び蛹を太口ピペットで採取した。1 調査地点につき 1～6 人工容器を調査した。採取した蚊の幼虫を室温で飼育し、羽化させた成虫を、実体顕微鏡下で形態学的に同定した。</p> <p>(2) ヒトスジシマカの生息条件の解析</p> <p>昨年までに、2009 年から実施しているヒトスジシマカ生息分布調査結果と 1km メッシュ気温情報等を基に、統計モデリング手法を用いてヒトスジシマカ生息ポテンシャルマップ（岩手県）を作成した。ヒトスジシマカのほぼ生息北限である本県では、越冬卵による繁殖が成立している地域と、越冬はしないが成虫の移入によってシーズン限定で繁殖している地域があると考えられることから、今回、シーズン初期からの経過日数を新たにパラメータとして加え、ヒトスジシマカの生息条件を検討した。パラメータ選択は AIC 及び AUC を評価基準とした。GIS アプリケーションは Gisway light ver. 2. 2. 4、統計計算アプリケーションは R ver. 3. 4. 2 パッケージ glmML を用いた。</p> <p>3 結果</p> <p>(1) 蚊類の生息状況調査</p> <p>成虫の羽化が確認された 105 地点 219 人工容器について、計 1207 頭を同定した。今回採集された蚊の種類はヤマトヤブカ、ヒトスジシマカ、ヤマダシマカ、オオクロヤブカ、キンパラナガハシカ、トラフカクイカ、イエカ類及びヤマトクシヒゲカであった。このうちヤブカ類では、ヤマトヤブカは捕集数が最も多く、調査地域全域において優先種であった。ヒトスジシマカは、盛岡市、紫波町、花巻市、大槌町において確認された。また、生息北限地域である盛岡市では、みただけで初めて確認され、徐々に生息域を拡大していることが示唆された。</p> <p>(2) ヒトスジシマカの生息条件の解析</p> <p>一般化混合線形モデルによる解析の結果、メッシュごとのヒトスジシマカの検出割合は、「2 月平均気温」、「人口密度」、「調査年における 1 月 1 日から調査日までの 10. 8℃を閾値とする有効積算温度」が有意なパラメータとして選択された。ROC 解析では、AUC=0. 79 と本モデルのあてはまりは良好であった。</p> <p>本モデルでは、q_i をメッシュごとのヒトスジシマカ生息確率としたとき以下の式で算出される。</p> $\text{logit}(q_i) = -3.747 + [2 \text{ 月平均気温}]_i \times 0.3789 + [\text{人口密度}]_i \times 0.0004156 + [\text{調査年における 1/1 から調査日までの 10.8℃を閾値とする有効積算温度}]_i \times 0.001224$ <p>本モデルにより、岩手県内の任意の 3 次メッシュ及び任意の日について、生息確率を算出することができ、また、カットオフ値を True Positive Rate=0. 90、False Positive Rate=0. 52 とすると、任意の日におけるヒトス</p>	

ジシマカ生息リスクマップを作成することができる。

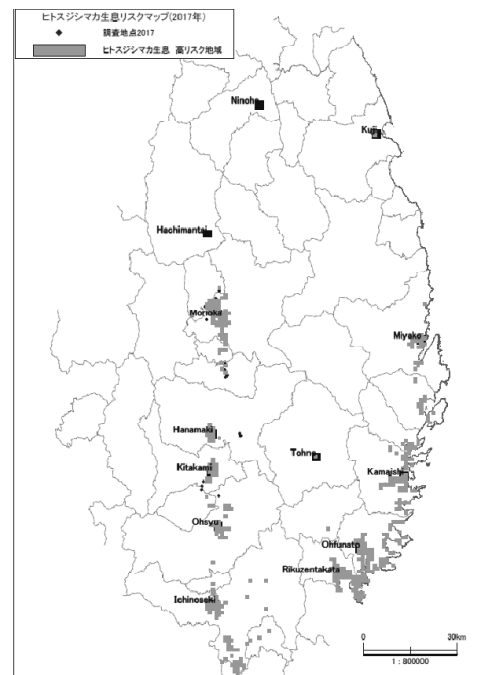
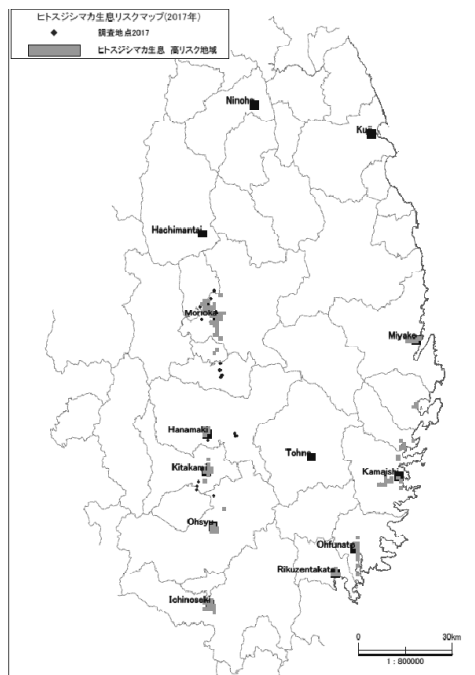


図1 生息リスクマップ(平成29年6月30日現在) 図2 生息リスクマップ(平成29年7月31日現在)

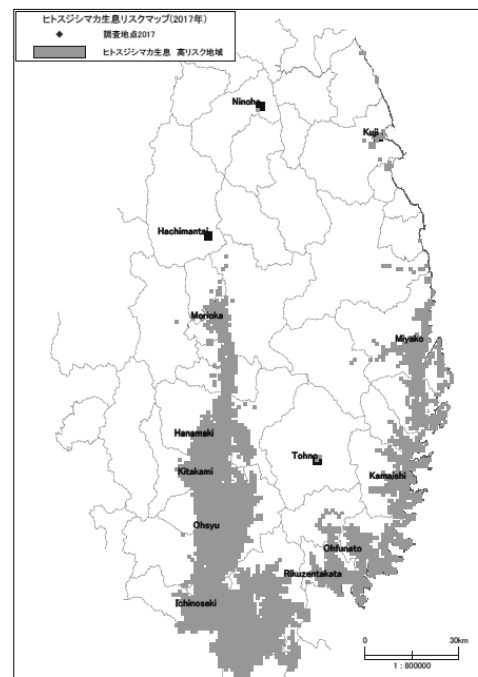
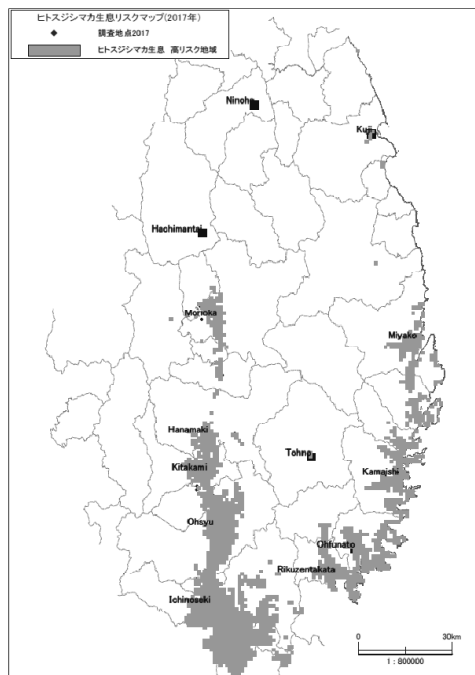


図3 生息リスクマップ(平成29年8月31日現在)

図4 生息リスクマップ(平成29年9月30日現在)

4 今後の研究方向等

ヒトスジシマカの生息調査及び生息条件の解析は、生息北限地域におけるヒトスジシマカの分布の変化や、生息条件を明らかにするうえで重要である。また、地球温暖化に伴う適応策を検討し、感染症予防に関する知見を得るため、今後とも調査を継続することが必要である。

研究成果報告書（18）

研究課題名	新指標による岩手県内光化学オキシダント濃度の長期的評価
担 当	地球科学部 上席専門研究員 多田 敬子

1 目的

光化学オキシダント（以下、Ox という。）に係る環境基準は、短期的評価（急性の健康被害の原因となる高濃度のOxの評価基準）である1時間値について定められているが、Ox濃度は、気象要因による年々変動が大きく、長期的な環境改善効果を把握することが難しい状況にある。このため、環境省はOxの環境改善効果を適切に示すための指標として、年々変動の軽減を図り、また、高濃度の出現の抑制効果を明確に示すことを重点とした長期的評価である新指標を示した。本研究は、本県のOxの状況を新指標により評価するとともに、自動測定機を設置していない県北地域、沿岸北部地域の状況を把握することを目的とする。

2 方法

(1) 新指標によるOx濃度の評価

昭和59年度から行っているOx濃度の常時監視データを利用し、新指標である「Ox濃度8時間値の日最高値の年間99パーセンタイル値の3年平均値」を算出し、長期的推移を検討した。

(2) 沿岸地域におけるOx濃度の把握

昨年度の二戸市荷渡局のOx濃度の検討と同様に、久慈市八日町局にOx自動測定機を設置（平成29年4月～12月）し、Ox濃度の1時間値を連続的に取得し、宮古市横町局のデータと比較検討した。

ア 環境基準等（短期的評価）の評価

超過時間数及び超過日数の割合について、月毎に比較評価する。（ χ^2 -test）
環境基準超過イベントのタイミングを比較する。

イ 1時間値を基にした測定値に関する評価

1) 日平均値及び日最高値の比較

測定値の日平均値及び日最高値について、月毎に比較評価する。（T-test）

2) 両局測定値（1時間値）の差

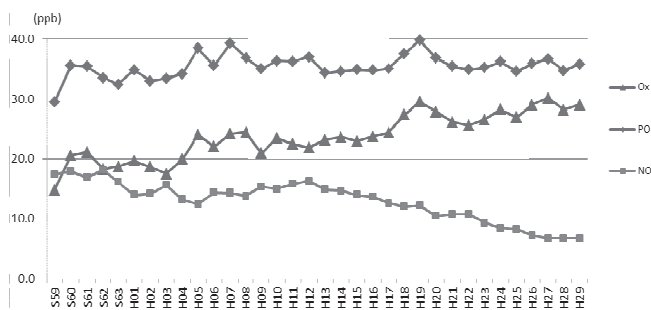
両局の1時間値の差が横町局測定値に占める割合を月毎に比較評価する（割合が15%を超えた場合、両局の測定値に差があると評価する。）。

3) 両局測定値の時間当たり変量の差

両局の時間当たり変量の差が横町局測定値に占める割合を月毎に比較評価する（割合が15%を超えた場合、両局の測定値に差があると評価する。）。

(3) 県内のOx自動測定機の配置に関する検討

環境省の事務処理基準^{*1}に基づく測定局の配置の算定方法に基づき、人口・可住面積による算定、環境濃度レベルによる調整等により県内に必要な測定局数を検討した。



3 結果

(1) 新指標によるOx濃度の評価

本県におけるOx濃度（1時間値の年平均値の全測定局平均値）は、測定を開始した昭和59年度から増加傾向にあるが、これは大気中NO₂濃度減少に伴ったNO-タイトレーション効果の減少によるものと考えられ、同効果の影響を補正し算出したポテンシャルオゾン濃度は、ほぼ横ばいで推移している。一方、新指標値で算出した長期的評価の年次推移をみると

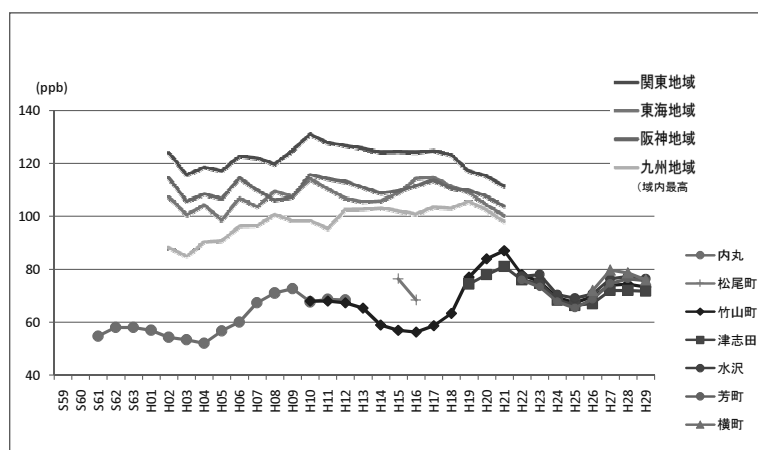


図2 光化学オキシダント（新指標値：日最高8時間値の年間99パーセントタイル値の3年移動平均値の年次推移）

中期的な増減を繰り返しながら徐々に増加し、ここ数年は横ばい傾向にある。しかし、全国データと比較すると、本県は低レベルの濃度で推移している。また、本県においては過去に「注意報発令」に至っていないことから短期的評価である環境基準は未達成であるものの、高濃度0x濃度による影響は少ないと考えられる。

(2) 沿岸地域における0x濃度の把握

ア 環境基準等（短期評価）の比較

環境基準を超えた月は、八日町局、横町局とも4、5、6、7月であった。環境基準を超えた時間数について、5月及び7月において両局に有意に差が認められた。また、同期間における1時間値の推移、特に超過時間数で有意差が認められなかった4月をみると、両局あわせた超過時間数の延べ98時間のうち同時に環境基準を超過した時間数は延べ13時間のみで環境基準超過イベントのタイミングにずれが認められた。

イ 1時間値を基にした測定値に関する評価

1) 日平均値及び日最高値の比較

日平均値の月平均値を比較した結果、7、8、9月で両局の測定値に有意な差が認められた。また、日最大値の月平均値を比較した結果、7、9、11月で両局の測定値に有意な差が認められた。

2) 両局測定値（1時間値）の差

両局の1時間値の差は、全期間において横町局の測定値に対して15%を超えた。

3) 両局測定値の時間当たり変量の差

時間あたりの変量の差については、7月及び12月において15%を超えた。

(3) 県内の0x自動測定機の配置に関する検討

環境省事務処理基準^{※1}により算定した結果、必要測定局数は11.3局となり現局数5局との格差があった。

表1 測定局数の検討

基準局数 人口75000人あたり1局	濃度レベルでの局数 評価「高(計数1)」(過去3年間平均が基準値の7割)	項目ごと特性局数 係数「2/3」(注意報発令なし)	現在の0x測定局数	格差
①	②=①×1	③=②×2/3	④	⑤=④-③
16.9	16.9	11.3	5	-6.3

4 考察

新指標による0xの長期的評価については、環境省において、いまだ評価基準が示されていないことから、常時監視を継続しながら経時変化の動向を把握していく。また、平成28年度に荷渡局と津志田局、平成29年度に八日町と横町局の0x濃度を比較したところ、いずれもデータに差異があることが示唆されたことから、今後、県内の測定局の配置について再検討する必要があると考えられる。

※1 大気汚染防止法第22条の規定に基づく大気汚染の状況の常時監視に関する事務の処理基準（13年5月21日環管大第177号 環管自第75号）

研究成果報告書（19）

研究課題名	糞便からの腸管出血性大腸菌 (EHEC) 検出法の検討
担 当	検査部 主査専門研究員 山中 拓哉、上席専門研究員 太田 美香子、 主査専門研究員 吉田 崇宣、部長 五日市 恵里
<p>1 目的</p> <p>腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症は重篤な合併症を起し致命的になることがあるため、迅速な検査が要求される。当所では保健所の依頼を受け、医療機関で検査した血清型及び毒素タイプの情報をもとに、患者家族および接触者の検便を実施している。平成 29 年度の当部における EHEC 感染症検査件数は過去 10 年で最多の 893 件となった。また、本菌を原因とする感染症・食中毒発生時には、一度に大量の検体が搬入される可能性があることから、検査法の効率化が望まれる。</p> <p>このため当部では、平成 25～27 年度に実施した研究課題「腸管出血性大腸菌 (EHEC) の検査法に関する研究」において、当所で分離・保存している EHEC 菌株の性状を解析し、鑑別に最適な選択分離培地の種類など、検査法に関する知見を得ることに成功した。これを踏まえ、本研究では EHEC 陽性であった便検体を対象として選択分離培地における培養所見等のデータを集積し、前研究で得た知見が便検査において実用可能であることを検証することを目的としている。将来的には、当所における腸管出血性大腸菌の検査マニュアルを構築し、より迅速な検査対応を可能にすることが目標である。</p> <p>2 方法</p> <p>(1) 平成 29 年度に当所に持ち込まれ EHEC 感染症検査で陽性となった便検体のうち、0157、026 以外の血清型の EHEC が検出されたものについて選択分離培地での所見を中心に検査データを収集した。本年度対象となった検体は、0111 が 42 検体及び OUT (0 血清型不明株) が 2 検体であった。</p> <p>(2) (1) で収集したデータをもとに、前研究課題において得られた EHEC 菌株の性状に関する知見が、糞便検体においても有効であるかの検証をおこなった。</p> <p>(3) 収集したデータのうち、平成 29 年 10 月～11 月にかけて奥州保健所管内で発生した 0111 VT1 による集団感染事例において陽性となった便検体について、検査に使用した 2 種の選択分離培地上での所見を詳細に解析した。</p> <p>3 結果</p> <p>(1) 平成 29 年度に当所に依頼のあった EHEC 感染症検査の便検体のうち検査で陽性であった糞便 44 検体 (0111、OUT) について選択分離培地でのコロニーの所見に関するデータを記録した。このうち 2 株の OUT 株については選択分離培地において分離選択剤として使われるセフィキシム及び亜テルル酸カリウム (CT) に対し感受性を示し、CT 不含のラムノースマッコンキー寒天培地において分離に成功した。</p> <p>(2) 前研究課題において 0111 菌株の解析により得られた選択分離培地に関する知見 (CT-ソルボースマッコンキー寒天培地 (CT-SBMAC、CT 含有)、クロモアガー-STEC 培地、クロモアガー-0157TAM 培地 (TAM、CT 不含) が、便検体に関しても有効であることが確認された。</p>	

(3) 奥州保健所管内で発生した O111 VT1 による集団感染事例において陽性となった 33 検体について、検査に使用した 2 種の選択分離培地 (CT-SBMAC 及び TAM) のどちらの培地から O111 VT1 集落が分離できたかを調査した。

結果を表 1 に示した。2 種類の培地のどちらか 1 種類のみから O111 が分離されたものは 33 検体中 13 検体であった。これにより便検体の EHEC 検査において選択性の異なる 2 種類の選択分離培地を組み合わせ使用することの有効性が示された。

また、33 検体中 7 検体の便については、分離された O111 菌株が CT 耐性を示すのにもかかわらず、CT 不含の TAM 培地のみで分離されるという、相反する結果になった。この結果より、EHEC が便検体中における生理状態の違いによっては、CT に対して感受性となる等、選択分離培地上でコロニーの発育に影響を及ぼす可能性があることが示唆された。以上の結果から便検体の EHEC の検査においては CT 含有及び CT 不含の選択分離培地を併用することが有効であることが示された。

表 1 O111 が分離された選択分離培地の種類*

培地種	CT-SB TAM 両方	CT-SB のみ	TAM のみ
検体数	20	6	7

*陽性検体のうち 33 検体について調査した

4 今後の研究方向等

平成 30 年度も継続してデータを集積する予定である。その後、研究成果をまとめて当所における腸管出血性大腸菌の検査マニュアルに反映させる予定である。