

第14回

秋田県健康環境センター調査研究発表会

要旨集

日時 令和元年7月12日（金）13：30～16：30

会場 秋田県総合保健センター2階 大会議室

秋 田 県 健 康 環 境 セ ン タ ー

第14回秋田県健康環境センター調査研究発表会プログラム

【13:30～13:40】 開 会
所長あいさつ

調査研究発表

【13:40～14:25】

- 保健衛生部の業務紹介：病原体定点観測調査～病原体監視の砦～ 他
- 1 新しい食中毒の原因菌 - エシエリキア・アルバーティー ----- p. 1～2
- 2 市販アサリからのノロウイルスの検出状況----- p. 3～4

【14:25～14:40】 休 憩、 展示ブース案内等

【14:40～15:25】

- 理化学部の業務紹介：環境放射能水準調査（昭和36年～）について 他
- 3 畜水産物中の残留動物用医薬品一斉分析法の開発と行政検査について
----- p. 5～6
- 4 産業廃棄物処分場跡地の廃水処理施設の活性汚泥から単離した
1, 4-ジオキサン分解菌について----- p. 7～8

【15:25～15:40】 休 憩、 展示ブース案内等

【15:40～16:25】

- 環境保全部の業務紹介：秋田県の大気汚染の常時監視 他
- 5 気候変動が八郎湖の水質に与える影響----- p. 9～10
- 6 県内における酸性雨の状況について----- p. 10～11

【16:30】 閉 会

1 新しい食中毒の原因菌 -エシェリキア・アルバーティー-

○今野貴之 檜尾拓子 高橋志保 小川千春 鈴木純恵 熊谷優子

1. 緒言

エシェリキア・アルバーティーは、2003 年に新種として承認された菌種で、エシェリキアという名前は大腸菌（エシェリキア・コリ）の仲間であることを示している。元々バングラデシュ人民共和国の小児の下痢便から見つかった菌であり、ヒトに下痢などを引き起こす病原菌である。秋田県では、2011 年 11 月に発生した食中毒疑い事例の検査の過程でこの菌が検出され、翌年、その際の検査法の詳細が国立感染症研究所発刊の *Jpn J Infect Dis* 誌に、事例の概要が病原微生物検出情報に掲載された。これらの報告を契機に、日本国内においてもエシェリキア・アルバーティーの存在が知られるようになった。その後、過去の食中毒における原因菌の再調査などによって、少なくとも 2003 年には国内でエシェリキア・アルバーティーによる食中毒が発生していたことが明らかになった。現在では、この菌を原因とする集団食中毒の発生が複数確認されており、エシェリキア・アルバーティーは、公衆衛生上の新たな課題の一つとなっている。エシェリキア・アルバーティーは特徴的な性状に乏しく、一般的な細菌検査では同定が困難であり、県内におけるこれまでの患者の発生状況も不明となっている。そこで、当センターの保管菌株を活用し、これまでの県内における健康被害の状況と検出されたエシェリキア・アルバーティーの病原因子の保有状況について調査を行った。

2. 方法

2.1 エシェリキア・アルバーティーの同定

当センターで保管している大腸菌等の菌株のうち、エシェリキア・アルバーティーの可能性を否定できない 992 株を対象に、XM-G 寒天培地を用いて菌を培養した。大腸菌に特異的な β -グルクロニダーゼ活性が陰性の菌株について、

Hyma ら (2005) の方法をもとに、エシェリキア・アルバーティーに特徴的な遺伝子配列がある *clpX*, *lysP*, *mdh* の検出を行い、同定した。糖分解性などの生化学的性状については、市販の簡易菌種同定キット *api20E* 等を用いて行った。

2.2 病原因子の検出

病原因子として、ベロ毒素 *stx* 及び *stx2f*, 細胞膨化致死毒素 *cdtB*, インチミン（腸粘膜に接着するために必要な付着因子）*eae* について PCR による検出を行った。

3. 結果

3.1 エシェリキア・アルバーティーの検出状況

供試した 992 株のうち、 β -グルクロニダーゼ活性が陰性であったのは 321 株で、そのうち *clpX*, *lysP*, *mdh* の 3 遺伝子が検出されたのは 25 株であった。2011 年の食中毒疑い事例で検出されて以降、4 株が既に確認されており、これまで確認されたエシェリキア・アルバーティーは合計 29 株となった（表）。

エシェリキア・アルバーティーは、インドール産生性やリジン脱炭酸能といった部分的な生

表 エシェリキア・アルバーティーの年別検出数

検出年	菌株数	検出年	菌株数
1995年	2	2007年	0
1996年	5	2008年	1
1997年	2	2009年	1
1998年	2	2010年	1
1999年	2	2011年	1
2000年	2	2012年	0
2001年	4*	2013年	0
2002年	2	2014年	0
2003年	0	2015年	0
2004年	0	2016年	1
2005年	1	2017年	2
2006年	0		

*環境水由来 1 株含む。

化学的性状の違いから、2つの生物型が報告されている。県内で確認されたエシェリキア・アルバーティー29株は、いずれもインドール産生性(+)リジン脱炭酸能(+)で既定の生物型に該当しなかった。

3.2 病原因子の保有状況

cdtB 及び *eae* はエシェリキア・アルバーティー29株すべてから検出された。ベロ毒素については、*stx* の亜型である *stx2f* のみ3株から検出された。

4. 考察

我々が以前にエシェリキア・アルバーティーの検出を報告した時点では、国内における本菌の認知度は低かったが、その後、本菌が原因と考えられる食中毒や集団感染が複数報告されている。2016年に発生した沖縄県の事例では、患者数が200名を超えた。県内では、2011年以降しばらく患者発生がなかったが、2016年からは散発的に患者が確認されている。また、今回の調査から少なくとも1995年から継続的に患者が発生していたことが明らかになった(表)。

エシェリキア・アルバーティーの生物型による分類には、インドール産生性やリジン脱炭酸能といった生化学的性状が用いられているが、県内で確認された菌株はいずれも既定の生物型に該当しなかった。同様の性状を示す菌株は国内でも複数確認されており、現在、国立感染症研究所を中心に新たな生物型として提案しているところである。それ以外の性状では、乳糖発酵(-)、D-キシロース発酵(-)といった性状が同定の鍵となるが、例外も考えられる。また、現状では食品等を検体とした場合の有用な検査法が確立されていない。今後は本菌を簡便に検出・同定できるような遺伝子検査法等の確立が期待されている。

エシェリキア・アルバーティーに感染した場合の症状は、過去の食中毒事例の疫学調査を参考にすると、下痢、腹痛、発熱を主として、嘔気・嘔吐や頭痛を伴う場合もある。本調査で確認した限りでは、すべての菌株が病原因子として細胞膨化致死毒素 *cdtB* 遺伝子と付着因子であるインチミン *eae* 遺伝子を保有していた。細胞膨化致死毒素は、下痢との関連については未解

明な点もあるが、強い細胞毒性を示すことが知られている。インチミンは、病原大腸菌の一種である腸管病原性大腸菌と大部分の腸管出血性大腸菌も保有する主要な病原因子である。また、県内で確認された菌株の一部は、腸管出血性大腸菌が持つベロ毒素の亜型である *stx2f* を保有していた。これらの病原因子の解析は、今後の本菌の病原性の評価に役立つと考えられる。

エシェリキア・アルバーティーの感染源や感染経路についてはよく分かっていない。食中毒の原因食品についても実際に本菌が検出された事例は少なく、汚染が調理時に保菌者から起きているのか、原材料に由来しているのか確かめられていない。自然界では、鳥類(主として野鳥)から検出されているが、ネコやブタからの検出も報告されている。今後、こうした保菌動物により、どのようにヒトの生活環境が汚染され、ヒトに感染するのかについて解明することが食中毒対策の構築に重要と考えられる。また、現時点において、エシェリキア・アルバーティーに感染した場合の抗菌薬等を用いた治療の有効性もしくは必要性に関する十分な試験はなく、薬剤耐性に関する知見もほとんど得られていないため、今後の課題の一つと考えられる。

日常の病原菌の検査では、大腸菌や赤痢菌といったよく知られた菌種を対象に行われることが多いため、エシェリキア・アルバーティーは見逃される可能性がある。2016年11月には厚生労働省から全国の自治体にエシェリキア・アルバーティーに係る報告について通知がなされ、全国的に本菌による健康被害に関する情報収集の強化が図られている。当センターでは、今後、感染源となりうる食品等の調査を進めるとともに、検出された菌の特性を明らかにすることで、その汚染実態と感染源の可能性についても解明していきたいと考えている。

5. まとめ

- 29株のエシェリキア・アルバーティーを確認し、以前から県内で健康被害が発生していたことを明らかにした。
- 県内で確認されたエシェリキア・アルバーティーは、共通して *cdtB* と *eae* を病原因子として保有し、一部はベロ毒素の亜型 *stx2f* も保有していることを明らかにした。

2 市販アサリからのノロウイルスの検出状況

○秋野和華子 齋藤博之 野田衛*¹ 上間匡*¹

1. はじめに

カキ等の二枚貝は、生育海域に存在するノロウイルス（NoV）等を、主に消化器官である中腸腺に取り込み蓄積することが知られている。そのため、中腸腺ごと喫食する二枚貝の生食および調理における加熱不足は、食中毒を引き起こす原因のひとつと考えられており、カキによる NoV の食中毒事例はこれまでに多く報告されている。こうした中、2015 年 4 月に秋田県内において、アサリが原因食品と推定された事例が発生した。当センターではこの事例を契機とし、県内で市販されているアサリについて、NoV の汚染状況の調査を実施した。今回は 2016 年～2018 年の調査結果および同時期における NoV 感染症の発生状況との関連について考察したので報告する。

2. 材料と方法

2.1 材料

2016 年 10 月～2018 年 3 月に秋田市内で販売されている国産（県外同一産地）の殻付き生アサリを同一店舗から継続して購入し用いた。検体は 1 パックに入っているアサリの中腸腺をすべて合わせて 1 検体とした。また、一部のアサリについては、砂抜き液の検査も実施した。

2.2 方法

2.2.1 生アサリからのウイルス検出

厚生労働省通知法（平成 19 年 5 月 14 日付け食安監発第 0514004 号）「貝の中腸腺を用いた方法（超遠心法）」に準じ NoV の濃縮を行い、核酸を抽出した。その後、RT-PCR 法と nested リアルタイム PCR 法にて定性的に検査を実施し、陽性となった検体についてはリアルタイム PCR 法で定量検査を行うとともに、capsid N/S 領域遺伝子を増幅し、ダイレクトシーケンスにて遺伝子型を決定した。

2.2.2 砂抜き液からのウイルス検出

3%の食塩水で 6 時間程度砂抜きをした液について、超遠心法を用いて濃縮を行い、核酸を

抽出した。その後、生アサリと同様に NoV の検出を試みた。

3. 結果

3.1 生アサリからの NoV の検出状況

表 1 に示すとおり、GII 群は、2016 年 11 月～2017 年 1 月および 4 月、12 月、2018 年 1 月に遺伝子型 GII.2 が検出され、定量値（単位：コピー数/g 中腸腺）は 10^1 以上 10^3 未満であった。2018 年 2 月には GII.17 が検出され、定量値は 10^2 以上 10^3 未満であった。2017 年 10 月には GII.4 Sydney 2012 が検出されたが、ごく微量のため定量値は得られなかった。GI 群は、2016 年 12 月、2017 年 1 月、4 月には遺伝子型 GI.7 が検出され、定量値は 10^1 以上 10^2 未満であった。2017 年 12 月には GI.2、2018 年 1 月には GI.6、3 月には GI.9 が検出され、定量値は 10^2 以上 10^3 未満であった。

3.2 砂抜き液からの NoV の検出状況

2017 年 2 月～4 月、2017 年 10 月、12 月、2018 年 1 月～3 月に検査を実施したが、すべて不検出であった（表 1）。

4. 考察

アサリから検出された遺伝子型の大半を占めた GII.2 は、本県における感染症発生動向調査（表 2）および食中毒・集団感染事例（表 3：当センター検査実施分）からもほぼ同じ時期に確認されていた。また、検出された他の遺伝子型は、本県においては不検出あるいは散発的な検出にとどまった。しかしながら、今回供試したアサリのように県外産の二枚貝の喫食による感染（不顕性感染も含む）をきっかけとして、県内の環境中へ侵淫する可能性も考えられる。そのため、今後も遺伝子型を含めた発生動向について注視していく必要があると思われる。

定量値に関しては、胃腸炎を発症し得るカキの NoV の汚染量が 10^3 コピー数/g 程度であったとする報告がある¹⁾。今回検査に使用したアサ

*¹ 国立医薬品食品衛生研究所

リの中腸腺は1個当たり0.1~0.2g程度であり、得られた定量値から推定すると、アサリ1個の喫食では感染の可能性は低いと考えられる。しかし、料理によってはアサリ数十個が使用されるため、その喫食により感染が成立することは否定できないと思われる。また、アサリを加熱した際の殻開口時の中心温度が85℃未満であったとの報告がある²⁾。殻の開口を目安に調理を終了した場合には、加熱不足のためNoVの不活化が十分になされない状態で食卓に提供されることも危惧される。実際、秋田県内で発生したアサリによる食中毒事例では、アサリを使用した炒め物の加熱不足が原因と推定されている。本来、アサリは加熱を前提とした食材であるが、調理によっては加熱時間にも注意が必要と思われた。

5. まとめ

生カキを原因とするNoVの感染については、近年の報道等によりその危険性が広く認識されつつあるが、カキ以外の二枚貝による感染の可能性については、未だ社会的な認識が不足しているように思われる。今回の結果は、注意喚起を促すデータとして重要であると考えられた。

参考文献

- 1) 野田衛:二枚貝を介するノロウイルス食中毒の現状と対策, 食品衛生学雑誌, **58**, 1, 2017, 12-25.
- 2) 山田拓也, 他:二枚貝の加熱終了の目安の検討について, 食品衛生研究, **67**, 11, 2017, 83-90.

表1 市販アサリからのノロウイルスの検出状況

購入月	加工日	個数	ノロウイルス				砂抜き液
			GII		GI		
			遺伝子型	コピー数/g中腸腺	遺伝子型	コピー数/g中腸腺	
10月	2016年10月16日	26	(-)	NT	(-)	NT	NT
11月	2016年11月25日	29	GII.2	6.27×10 ²	(-)	NT	NT
12月	2016年12月17日	24	GII.2	4.64×10 ²	GI.7	3.89×10 ¹	NT
1月	2017年1月19日	20	GII.2	9.82×10 ²	GI.7	2.61×10 ¹	NT
2月	2017年2月13日	28	(-)	NT	(-)	NT	(-)
	2017年2月13日	29	(-)	NT	(-)	NT	(-)
3月	2017年3月13日	31	(-)	NT	(-)	NT	(-)
4月	2017年4月18日	21	GII.2	4.45×10 ²	GI.7	3.29×10 ¹	(-)
5月	2017年5月15日	25	(-)	NT	(-)	NT	NT
6月	2017年6月14日	21	(-)	NT	(-)	NT	NT
7月	2017年7月18日	25	(-)	NT	(-)	NT	NT
8月	2017年8月21日	29	(-)	NT	(-)	NT	NT
9月	2017年9月13日	24	(-)	NT	(-)	NT	NT
10月	2017年10月18日	34	GII.4 Sydney 2012	0.00	(-)	NT	(-)
11月	2017年11月20日	27	(-)	NT	(-)	NT	NT
12月	2017年12月12日	28	GII.2	7.94×10 ¹	GI.2	6.43×10 ²	(-)
1月	2018年1月15日	23	GII.2	1.33×10 ²	GI.6	4.86×10 ²	(-)
2月	2018年2月19日	18	GII.17	1.85×10 ²	(-)	NT	(-)
3月	2018年3月12日	32	(-)	NT	GI.9	6.37×10 ²	(-)

(-) : 不検出 NT : Not tested (未実施)

表2 感染症発生動向調査において検出されたノロウイルスの遺伝子型

遺伝子型	2016年			2017年												2018年			計
	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
GII.2		3	10	6	1	3	2	1									1	5	32
GII.3		1																	1
GII.4 Sydney 2012			2				2	4	6	1	1				1	1	2	2	22
GII.17																1		1	2
GI.5																2			2
GI.6																1			1
GI.7								1											1
計	0	4	12	6	1	3	4	6	6	1	1	0	0	0	1	5	3	8	61

(株数)

表3 食中毒・集団感染事例において検出されたノロウイルスの遺伝子型

遺伝子型	2016年			2017年												2018年			計
	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
GII.2	1	6	12	1	4	1				1									26
GII.4 Sydney 2012							3	2	1	1						2	1	1	11
GII.6		1																	1
GII.17									1						1			1	3
GI.4						1													1
計	1	7	12	1	4	2	3	2	2	2	0	0	0	0	1	2	1	2	42

(株数)

3 畜水産物中の残留動物用医薬品一斉分析法の開発と

行政検査の結果について

○宇賀神理奈 松渕亜希子 古井真理子 藤井愛実
 珍田尚俊 今野禄朗*¹ 天明さおり*² 櫻庭香織*³

1. はじめに

動物用医薬品は、家畜等の畜水産物を病気や寄生虫から守るために使用されている。しかし、過剰に薬剤を使用した場合、畜産物への残留による健康被害が懸念されることから、食品衛生法により、数 ppb レベルの厳しい基準が設けられている。また、2006 年より施行されたポジティブリスト制度によって、評価すべき医薬品数が大幅に増加したため、高精度かつ網羅的な一斉分析法が必要となった。加えて、信頼性の高い分析結果であることを保証するため、バリデーション（妥当性評価）を行い、精度確認をすることが必須となっている。

当所では、HPLC、LC-MS/MS を用いて動物用医薬品の検査を行ってきた。2012 年度から 2014 年度にかけては、新規一斉分析法の検討を行い、7 食品を対象とした妥当性評価試験を行っている¹⁾。また、この新規一斉分析法を用いて 2014 年度より食品中の残留動物用医薬品の検査を実施してきた。今回は、新規一斉分析法の検討内容と妥当性評価試験の結果について、また、これらの検討結果をもとに 2014 年度から 2018 年度に行った新規一斉分析法による行政検査の結果について報告する。

2. 方法

2.1 新規一斉分析法について

従来の前処理法をもとに、抽出方法と精製方法について検討を行った。抽出方法は、抽出効率を上げ、操作を簡便にするために、抽出溶媒と容器を変更した。精製方法は、脂質の精製効果を上げるため、精製溶媒と固相カラムを変更した。対象医薬品は 115 項目とした。

2.2 妥当性評価試験について

厚生労働省通知のガイドライン^{2, 3)}に従い、各

動物用医薬品の添加回収試験を実施した。試料は、代表的な食品：鶏肉、豚肉、牛肉、さけ、鶏卵、牛乳、はちみつの 7 種類である。添加濃度は 2 濃度（0.01ppm 及び 0.04ppm）、分析者 3 名が 2 濃度添加試料を 1 日 2 試行、2 日間分析で行った。評価基準は、2 濃度において真度（回収率 70～120%）、併行精度（0.01ppm：25%未満、0.04ppm：15%未満）、室内精度（0.01ppm：30%未満、0.04ppm：20%未満）を満たした場合のみ適合とした。また、妨害ピークの有無、定量限界、検量線の精度についても確認した。

3. 結果および考察

前処理法において、抽出方法と精製方法の検討を行った結果、抽出工程を省力化することができ、高沸点化合物の回収率が向上するなど、より簡便で高精度な一斉分析法を構築することが出来た（図 1-1、図 1-2）。

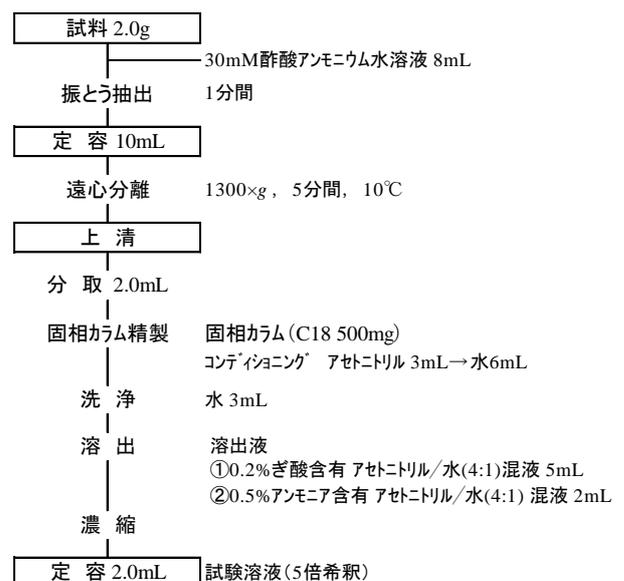


図 1-1 はちみつの前処理フロー

*¹生活衛生課, *²秋田地域振興局福祉環境部, *³仙北地域振興局福祉環境部

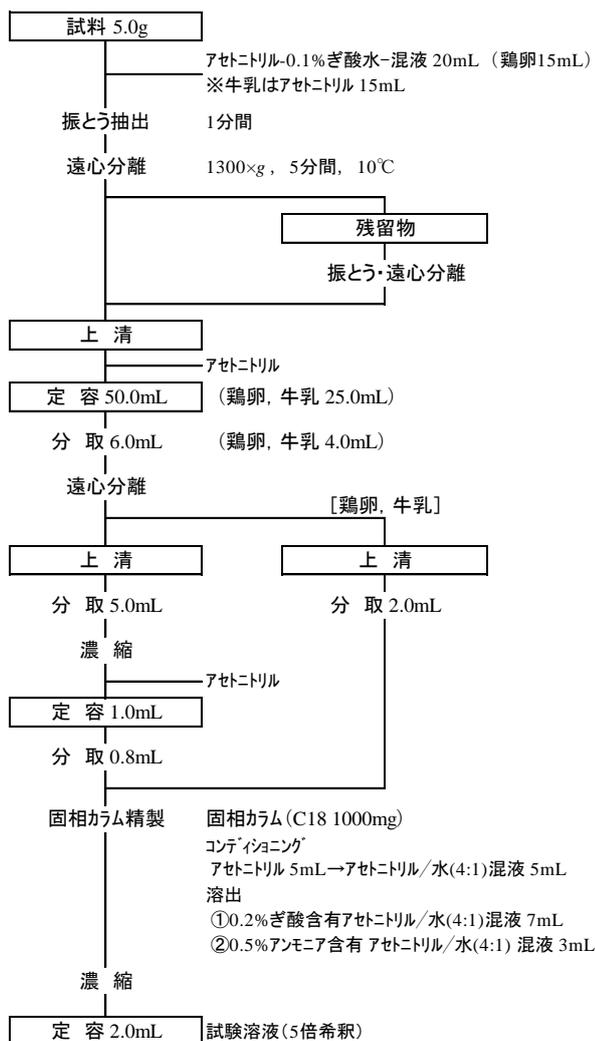


図 1-2 鶏肉・豚肉・牛肉・さけ・鶏卵・牛乳の前処理フロー

この分析法について、妥当性評価試験を行った結果、7食品において評価基準に適合した動物用医薬品は、115項目中の8割以上となった(図2)。よって、本法は残留動物用医薬品の一斉分析法として有用であると考えられる。



図 2 妥当性評価試験結果

4. 行政検査の結果について

2014年度から2018年度の5年間で、県内に流

通していた食品6種類2811件について、前述の新規一斉分析法を用いて残留動物用医薬品の検査を行った。評価可能な医薬品は、食品ごとの妥当性評価が適合し、行政検査と同時に行った添加回収試験の回収率及び精度が良好であった成分とした。

検査の結果、全ての検体において基準値違反、定量下限値以上の検出はなかった(表1)。

表 1 行政検査の結果

検査年度	食品名	件数	結果
2014	牛乳	273	定量下限値未満
2015	鶏卵	380	定量下限値未満
	豚肉	352	
2016	鶏卵	364	定量下限値未満
	豚肉	272	
2017	はちみつ	490	定量下限値未満
2018	鶏肉	344	定量下限値未満
	牛肉	336	

5. まとめ

残留動物用医薬品の検査について、新規一斉分析法を検討し、妥当性評価試験を実施した。評価基準に適合した動物用医薬品の割合は、牛乳、はちみつで9割以上、その他食品で8割以上と良好な結果であり、本法は効率的かつ高精度な一斉分析法として有用と考えられた。

この新規一斉分析法を用いた過去5年間の行政検査では、基準値違反はなく、検出された動物用医薬品もないことから、県内で流通している畜水産物は、動物用医薬品が適切に使用されていると思われた。

今後は、妥当性評価試験で不適合だった残りの医薬品についての改善策や、他の食品について検討し、行政検査に活かしたいと考えている。さらに、動物用医薬品に加え、飼料添加物や畜水産物に含まれる農薬等の成分分析についても検討していく必要がある。

参考文献

- 1) 松淵亜希子, 他: 秋田県健康環境センター年報, 10, 2014, 59-66.
- 2) 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて, 平成19年11月15日, 食安発第115001号.
- 3) 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について, 平成22年12月24日, 食安発第1124第1号.

4 産業廃棄物処分場跡地の廃水処理施設の活性汚泥から単離した

1,4-ジオキサン分解菌について

○村山力則 佐藤 哲 中村淳子 小林貴司

1. はじめに

1,4-ジオキサンは、水にも溶剤にも無制限に溶解し、かつ難分解性のため、一般的な廃水処理施設では処理できない物質である。ところが、県内の埋立処分場跡地の廃水処理施設では、自然に増殖した 1,4-ジオキサン分解菌により、非常に効率良く処理されており、その処理状況や生物処理槽の細菌叢について、いくつかの報告を行ってきた。このうち細菌叢の解析結果からは、1,4-ジオキサン分解菌のうちマイコバクテリウム属の優占度が常に高く、この菌属が実際の廃水処理に大きく寄与している可能性が高いという結果も得られている¹⁾。

この特異的に効率良く 1,4-ジオキサン処理されている生物処理槽での分解機構を解明するために、分解菌の単離をこれまでも何度か試みてきた。しかし、1,4-ジオキサン分解菌の成長が非常に遅いことや菌を単離すると 1,4-ジオキサンを分解しなくなる等の問題があり、安定した単離・培養をすることができていなかった。今回、いくつかの検討を重ねた結果、実際の廃水処理に大きく寄与していると考えられるマイコバクテリウム属の単離・培養方法を見いだすことができたので、その内容を報告する。

2. 方法

2.1 集積培養と 1,4-ジオキサン分解菌の単離

炭素源として 1,4-ジオキサンと THF(テトラヒドロフラン)を添加した無機培地に、少量の活性汚泥を懸濁し、集積培養した。菌の増殖を確認後、培養液を無機寒天培地に塗布し、出現した単独コロニーを採取し、有機寒天培地上で単離した。

2.2 単離した菌の 1,4-ジオキサン分解能試験

有機寒天培地で前培養した菌を無機培地に植菌し、添加した 1,4-ジオキサン濃度の減少速度により分解能を評価した。1,4-ジオキサン濃度はへ

ッドスペース GC/MS 法により測定した。

3. 結果

3.1 集積培養と 1,4-ジオキサン分解菌の単離

はじめに行った集積培養試験では、無機培地に炭素源として 1,4-ジオキサンのみを加え培養を試みたが、1カ月経過後も菌の増殖はまったく見られなかった。次に、Parales らの報告²⁾を参考にし、1,4-ジオキサンとともに THF を炭素源とする試験を行った。2週間ほどで培養液が明らかに白濁し、菌の増殖を確認することができた。

菌を単離するため、集積培養一カ月で増殖した菌液を無機寒天培地に塗布し、プレート上で観察を行った。1週間程度で多数の形態が異なるコロニーが確認されたが、1週間で採取可能なコロニーは、すべて 1,4-ジオキサン分解菌ではなかった。1,4-ジオキサン分解菌は成長が遅い菌であり、成長の早いその他の菌に埋もれている状態と考えられた。

長期間の培養に対応するため、1,4-ジオキサン以外の炭素源を極力含まないように試薬や試験方法を改良した。その結果、コロニーの数は少なくなり成長の遅い 1,4-ジオキサン分解菌を 3株単離することができた。

3.2 単離したジオキサン分解菌の菌種同定

単離した 1,4-ジオキサン分解菌 3株の 16S リボソーム RNA 遺伝子の DNA 配列は全て一致しており、同じマイコバクテリウム属と考えられた。以降、この単離した 1,4-ジオキサン分解菌を *Mycobacterium sp.* C8 株とした。

3.3 炭素源を 1,4-ジオキサンのみとした分解能試験

単離した *Mycobacterium sp.* C8 株と市販されている 1,4-ジオキサン分解菌 *Pseudonocardia dioxanivorans* CB1190 株の 2 種類で 1,4-ジオキサ

ン分解能試験を行い,比較した。その結果を図 1 に示す。CB1190 株では, 4 日目以降に 1,4-ジオキサンの減少が確認され, 分解能は 10 mg/L/day 程度であった。一方 *Mycobacterium* sp. C8 株では, 分解菌による 1,4-ジオキサンの有意な減少は確認できなかった。

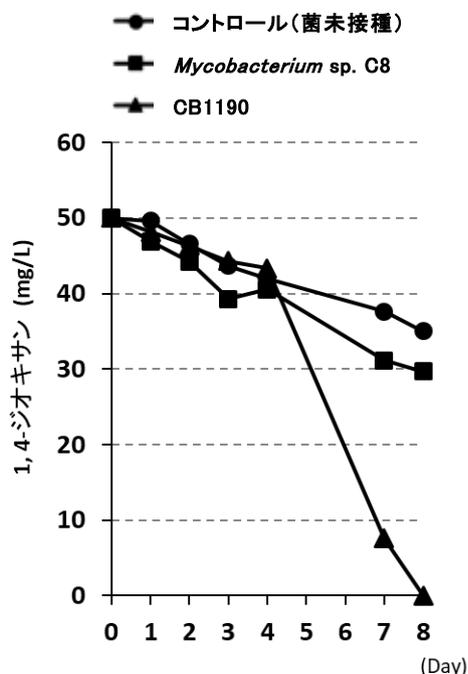


図 1 炭素源を 1,4-ジオキサンのみとした条件での *Mycobacterium* sp. C8 株と B1190 株の 1, 4-ジオキサン分解能試験

3.4 活性誘導剤を加えた 1,4-ジオキサン分解能試験

炭素源を 1,4-ジオキサンのみとした試験では *Mycobacterium* sp. C8 株の 1,4-ジオキサン分解能が発現しなかったため, 活性を誘導するために THF またはエタノールを活性誘導剤として添加した 1,4-ジオキサン分解能試験を行った。その結果を図 2 に示す。THF を添加した系では, 3 日目以降に 1,4-ジオキサンの減少が確認され, 分解能は 8 mg/L/day 程度となった。エタノールを添加した系では, 2 日目以降から 1,4-ジオキサンの減少が確認され, 分解能は最大 20 mg/L/day 程度となった。現在, 確認できている活性誘導剤のうち, エタノールのほうが THF よりも 1,4-ジオキサン活性を促進する効果が高いという結果を示している。

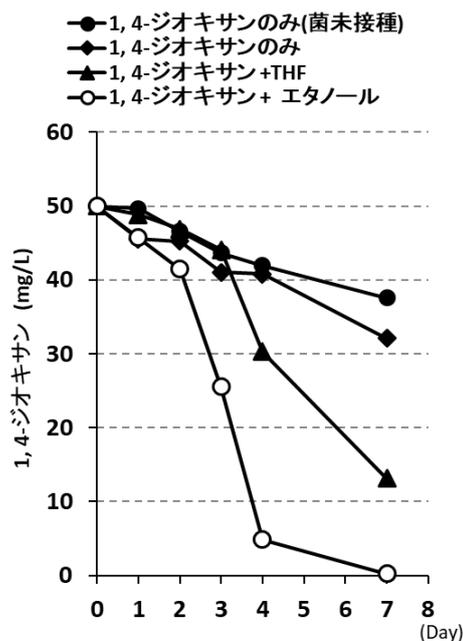


図 2 活性誘導剤を添加した条件での *Mycobacterium* sp. C8 株の 1,4-ジオキサン分解能試験

4. まとめ

産業廃棄物処分場跡地から浸出する 1,4-ジオキサンを特異的に効率良く処理している廃水処理施設において, 実際の廃水処理に大きく寄与していると考えられる *Mycobacterium* sp. C8 株の単離及び単離後の安定した培養方法を見いだすことができた。単離した *Mycobacterium* sp. C8 株は, 単独で 1,4-ジオキサンを資化することができず, THF またはエタノールという他の炭素源を必要としたことから, 共代謝により 1,4-ジオキサンを分解していると考えられるが, その代謝機構など詳しいことはわかっていない。

今後は, THF, エタノール以外の活性促進物質または逆に分解を阻害する物質等を検討し, *Mycobacterium* sp. C8 株の特性を明らかにすることで, より安定した 1,4-ジオキサン廃水処理の実現を目指す予定である。

参考文献

- 岡野邦宏, 他: 1,4-ジオキサンを含む埋立浸出水の生物処理における細菌叢解析, 第 48 回日本水環境学会講演集, 2014, 66.
- Parales RE., et. al.: Degradation of 1, 4-dioxane by an actinomycete in pure culture, *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 1994, 4527-4530.

5 気候変動が八郎湖の水質に与える影響

○伊藤佑歩 玉田将文

1. はじめに

気象庁によると、日本の年平均気温は100年あたり1.1℃の割合で上昇しており、今後更なる上昇が予想される。八郎湖のような富栄養湖においては、平均気温が20℃を超えるとアオコの発生確率が高くなる傾向が報告されていることから¹⁾、気温上昇が水環境や水資源に悪影響を及ぼすことが懸念されている。そこで今回、気候変動が八郎湖の水質に与える影響について、当センターが実施している公共用水域調査の過去30年分のデータ等を用いて解析したので、その結果を報告する。

2. 方法

公共用水域調査は、八郎湖10地点、流入河川6地点について、結氷等で採水できない場合を除いて毎月1回採水を行っている。今回は、1989年～2018年の30年分の公共用水域調査データ及び大潟村における気温データ²⁾を用いて、八郎湖の水質と大潟村の気温との関係について解析した。

3. 結果および考察

3.1 八郎湖水温と大潟村気温との関係

大潟村における年平均気温は、1989年～2018年にかけて0.020℃/年で上昇していた(図1)。また、八郎湖湖心年平均水温は0.015℃/年で上昇していた(図2)。採水時の八郎湖湖心水温と大潟村月平均気温は高い相関があり($R^2=0.9178$) (図3)、八郎湖湖心水温の上昇は、大潟村の気温上昇によることが示唆された。

3.2 八郎湖の水温上昇が水質へ与える影響

八郎湖湖心における主要水質項目値の経年変化を示す(図4)。生物化学的酸素要求量(BOD)及び全リン(T-P)は横ばいであるものの、化学的酸素要求量(COD)及び全窒素(T-N)は上昇傾向を示した。この水質の経年変化は、流域の環

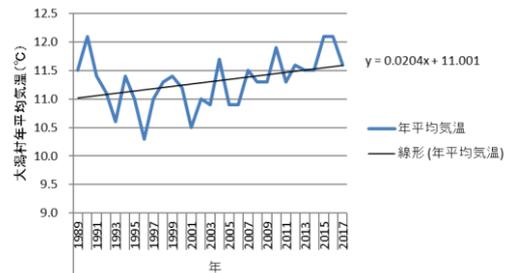


図1 大潟村における年平均気温の推移

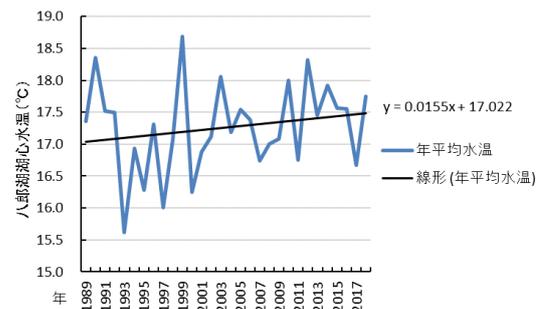


図2 八郎湖湖心年平均水温の推移

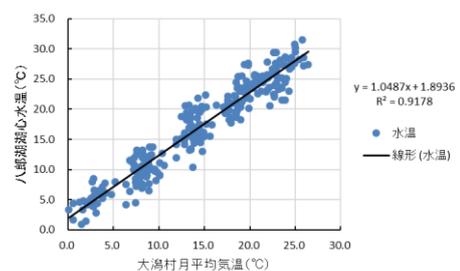


図3 八郎湖湖心水温と大潟村の月平均気温

境変化もしくは水温上昇によるものか、明確に区別することは困難である。そこで、流域環境の影響を排除し、水温と水質の関係を解析することができる隣接年比較法³⁾により、八郎湖湖心の水温上昇が水質へ与える影響について解析を行った。隣接年比較法は、年毎に平均水温・平均水質項目について前年との差分を求め、水温1℃あたりの変化値を算出する方法である。隣接年比較法

6 県内における酸性雨の状況について

小林 渉

1. はじめに

日本では、昭和 48 年から昭和 50 年に関東地方において、最低 pH 3 程度の強い酸性の雨が降り、多数の人々に皮膚や目の痛み等の健康被害が発生したことにより、酸性雨に注目が集まった。このことを契機に、昭和 50 年から関東地方で酸性雨調査が開始され、昭和 58 年からは環境庁（当時）が酸性雨対策調査を実施している。また、地方自治体の環境研究所を会員とする全国環境研協議会（以下「全環研」）においても、日本を網羅する酸性雨全国調査（以下「全国調査」）を平成 3 年度から共同で実施しており、現在も第 6 次調査として継続中である¹⁾。本県においても、平成 2 年 7 月から県内の酸性雨モニタリング調査を実施しており、全環研による全国調査にも参加している。今回、平成 2 年度から平成 29 年度までに実施した酸性雨調査の結果をとりまとめ、全国調査の結果と比較しながら、変化傾向について報告する。

2. 方法

試料は捕集装置により、原則 1 週間単位で採集した。採集した試料について、降水量、pH、電気伝導率、陰イオン成分（ SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 Cl^- ）および陽イオン成分（ NH_4^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ ）の測定を行った。なお、 SO_4^{2-} および Ca^{2+} は、海水中にも含まれるため、式 1、式 2 により非海塩由来成分（non-seasalt ; nss）を算出した²⁾。また、降水中で塩基性成分による中和が全くなかったと仮定したときの pH に対応する指標として、式 3 により pAi を計算した³⁾。

$$\text{nss- SO}_4^{2-} = [\text{SO}_4^{2-}] - 0.06028 [\text{Na}^+] \quad (\text{式 1})$$

$$\text{nss- Ca}^{2+} = [\text{Ca}^{2+}] - 0.02161 [\text{Na}^+] \quad (\text{式 2})$$

$$\text{pAi} = -\log ([\text{nss-SO}_4^{2-}] + [\text{NO}_3^-]) \quad (\text{式 3})$$

県内の酸性雨モニタリング調査結果として、秋田市を県内の代表地点とし、調査結果をとりまとめた。また、比較対象として、全環研から公表さ

れている第 3 次調査から第 5 次調査（平成 11 年度から平成 27 年度）までの全国調査の結果を全調査地点の年平均値としてまとめた。

3. 結果

3.1 pH・pAi の経年変化

秋田市および全国調査における pH と pAi の経年変化を図 1 に示した。秋田市の pH は 4.59 から 5.07 で推移していた。年度毎にややばらつきが見られるものの、平成 2 年度から平成 14 年度までは低下傾向を示しており、平成 14 年度には最小値 4.59 を記録した。一方で、平成 15 年度以降は緩やかな上昇傾向に転じ、近年は 4.8 から 4.9 程度で推移していた。pAi も、近年は概ね pH と同様に緩やかな上昇傾向を示していた。全国調査の結果においても、pH、pAi とともに秋田市と同様に上昇傾向が見られた。

3.2 陰イオン成分の経年変化

代表的な酸性成分である nss- SO_4^{2-} および NO_3^- の経年変化を図 2 に示した。秋田市において、調査開始当初 3 mg/L 程度だった nss- SO_4^{2-} が、平成 18 年度以降は低下傾向を示し、近年は 1.5 mg/L 程度と、調査開始当初の半分程度の濃度にまで低下した。 NO_3^- は年度によるばらつきが大きく、顕著な増減傾向は掴めなかった。一方、全国調査においては、nss- SO_4^{2-} 、 NO_3^- ともに緩やかな低下傾向が認められた。

3.3 陽イオン成分の経年変化

代表的な塩基性成分である nss- Ca^{2+} および NH_4^+ の経年変化を図 3 示した。秋田市における nss- Ca^{2+} は、平成 2 年度には 0.8 mg/L 程度であったが、平成 11 年度には 0.3 mg/L 程度となっており、顕著な低下傾向が確認された。平成 12 年度以降も、0.2 mg/L から 0.4 mg/L 程度で推移しており、近年は、調査開始当初と比較して低い濃度で安定している。 NH_4^+ は、0.39 mg/L から 0.88 mg/L で推移しており、年度によるばらつきが大きかった

が、わずかな低下傾向が認められた。全国調査においても、 $nss-Ca^{2+}$ 、 NH_4^+ ともに低下傾向が認められた。

4. 考察

秋田市および全国における pH の経年変化を比較すると、近年はともに上昇傾向にあることが確認された。イオン成分については、酸性成分および塩基性成分ともに低下傾向にあり、全国的に酸性度の低下と中和作用の低下が同時に起きていることが示唆された。秋田市においては、とくに $nss-SO_4^{2-}$ および $nss-Ca^{2+}$ の低下が顕著であった。平成 2 年度から平成 14 年度までは、 $nss-Ca^{2+}$ の低下に伴う中和作用の低下がより強く寄与し、pH の低下を招いたと推測される。他方、平成 15 年度以降は、 $nss-SO_4^{2-}$ の低下に伴う酸性度の低下が

より強く寄与し、pH の上昇に繋がったと推測される。今後もモニタリング調査を継続し、pH の動向を注視するとともに、イオン成分の変化傾向を把握したいと考えている。

参考文献

- 1) 全国酸性雨データベース：URL. <http://db.cger.nies.go.jp/dataset/acidrain/ja/05/>（2019 年 5 月時点）。
- 2) 環境省：平成 28 年度国内モニタリングデータとりまとめ、URL. <http://www.env.go.jp/air/mat13-h28%20.pdf>（2019 年 6 月時点）。
- 3) 畠山史朗，他：酸性雨原因物質の排出量および降下量の状況と予測．環境庁地球環境部，地球環境の行方 酸性雨，中央法規，東京，1997. 63-71.

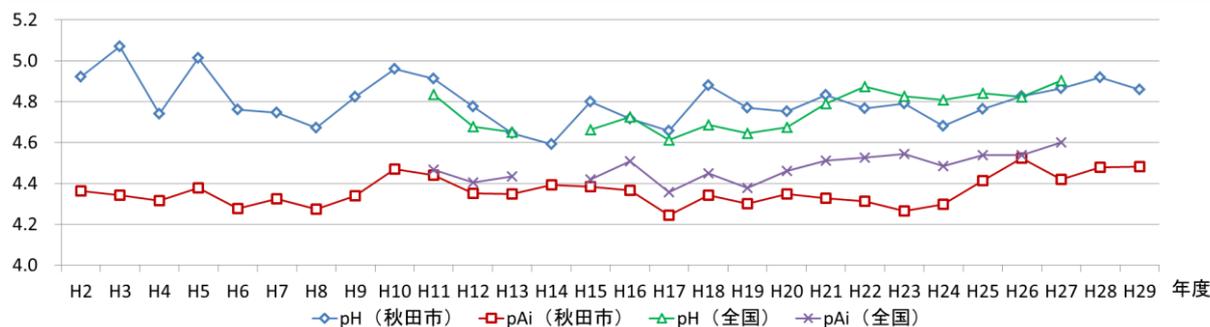


図 1 秋田市および全国における pH・pAi の経年変化

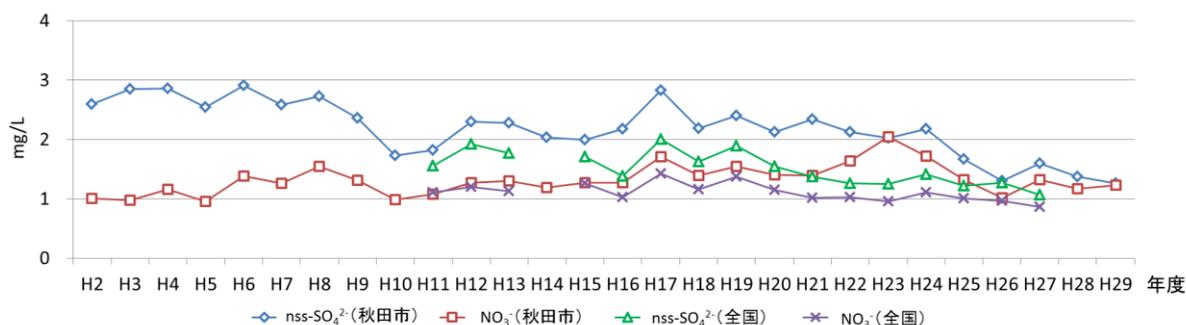


図 2 秋田市および全国における主な酸性イオン成分の経年変化

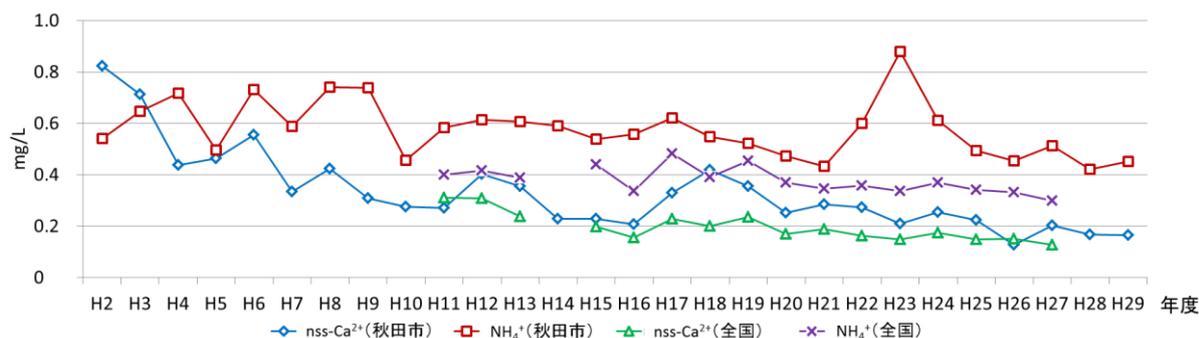


図 3 秋田市および全国における主な塩基性イオン成分の経年変化

秋 田 県 健 康 環 境 セ ン タ ー

Akita Prefectural Research Center for Public Health and Environment

〒010-0874 秋田市千秋久保田町6番6号

電話	018(832)5005(代表)
FAX	018(832)5938
E-mail	b10266@pref.akita.lg.jp