

第17回
秋田県健康環境センター調査研究発表会
要旨集

令和4年8月5日
美の国あきたネット公開

秋 田 県 健 康 環 境 セ ン タ ー

目 次

○発表演題

【保健衛生部】

- 1 秋田県におけるRSウイルス感染症の発生動向（2019～2021年） ----- p. 1 ～ 2
- 2 公衆浴場等におけるレジオネラ属菌の検出状況（2017～2021年度） ----- p. 3 ～ 4

【理化学部】

- 3 LC-MS/MSによる食品中の不揮発性腐敗アミン類の一斉分析 ----- p. 5 ～ 7

【環境保全部】

- 4 十和田湖の水質調査結果～令和3年6月の調査結果に関する一考～ ----- p. 8 ～ 11

【参考資料】

- LC-MS/MSによる食品中の不揮発性腐敗アミン類の一斉分析 -----p. 12 ～ 18

秋田県における RS ウイルス感染症の発生動向（2019～2021 年）

○藤谷陽子 齊藤志保子*¹ 伊藤佑歩 今野貴之 佐藤由衣子
柴田ちひろ 檜尾拓子 秋野和華子 斎藤博之

1. はじめに

RS ウイルス感染症は、乳幼児期に発症することが多く、生後 1 歳まで半数以上、2 歳までにほぼ全ての幼児が一度は感染するといわれている呼吸器感染症である。初感染例の 20～30% に細気管支炎や肺炎といった症状がみられ、特に新生児が感染すると無呼吸発作を呈することもあるため注意が必要である¹⁾。感染経路は、飛沫感染と接触感染であり、感染力が強く、幼稚園や保育園（幼保施設）では集団で感染する場合もある。

秋田県感染症情報センターでは、感染症の流行状況の把握を目的に、県内の患者発生状況と病原体探索の両面から情報の収集・解析・発信を行っている。RS ウイルス感染症については、県内 35 の小児科定点医療機関から患者情報を収集し、県内 9 の病原体定点医療機関から提供された検体は RS ウイルスの検索を実施し病原体情報として収集している。近年、RS ウイルス感染症は秋頃に患者数が多くなる傾向にあり、それともなっており病原体の検出が見られている。

2020 年に国内で新型コロナウイルス感染症の流行が始まって以降、RS ウイルス感染症をはじめ定点把握対象疾患の発生状況にも変化が生じ、例年の季節的な流行がみられなくなった²⁾。そこで、今回、RS ウイルス感染症の 2019～2021 年の発生動向についてまとめたので報告する。

2. 対象と方法

2.1 定点あたり患者数及び集団感染事例数

2019 年第 1 週～2021 年第 52 週について、県内 35 小児科定点医療機関からの患者報告を週ごとに集計し、定点あたり患者数（1 医療機関あたりの平均患者数）を算出した。

また、集団感染事例を保健所からの報告をもとに患者が在籍する年齢区分別クラスを集計し、事例数に対しての比率を算定した。

2.2 病原体検出数

2019 年 1 月 1 日～2021 年 12 月 31 日に県内 9 病原体定点医療機関で採取された 1,965 検体のうち、咽頭拭い液等、呼吸器由来の 1,266 検体（2019 年 502 検体、2020 年 405 検体、2021 年 359 検体：同一患者からの重複検体含む）について、リアルタイム PCR による RS ウイルスの検出を試みた。

3. 結果

3.1 定点あたり患者数及び集団感染事例数

定点あたり患者数は、2019 年は第 32 週（8/5～8/11）から増加傾向となり、第 37 週（9/9～9/15）に定点あたり患者数 3.12 のピークを迎え、その後収束した（図 1）。この状況は、例年と同様の傾向であった。2020 年は 2019 年からの継続した患者発生が第 9 週（2/24～3/1）まで確認されたが、その後は秋頃の流行時期になっても患者数の増加がみられなかった。2021 年は、第 13 週（3/29～4/4）から急激に増加し始め、第 25 週（6/21～6/27）に定点あたり患者数 4.18 とピークになり、大きな流行が例年よりも早期にみられた。この傾向は、全国的にも同様であった³⁾。

集団感染事例の報告数は、2019 年は 15 事例、2020 年は 0 事例、2021 年は 90 事例だった。報告は全て幼保施設での集団事例だった。このうち、在籍クラスの報告があった 2019 年 12 事例、2021 年 72 事例を比較すると、2019 年は、12 事例中 11 事例（91.7%）で 0 歳児クラスにおける患者発生を認めた（図 2）。2021 年は 0 歳児クラスにおける患者発生は 72 事例中 49 事例（68.1%）と、その割合がやや低下した一方、1 歳児クラスの患者発生が 72 事例中 66 事例（91.7%）と患者発生クラスとして最も多くなり、2019 年よりも 1 クラス上の年齢層への拡大が認められた。

*¹ 元秋田県健康環境センター

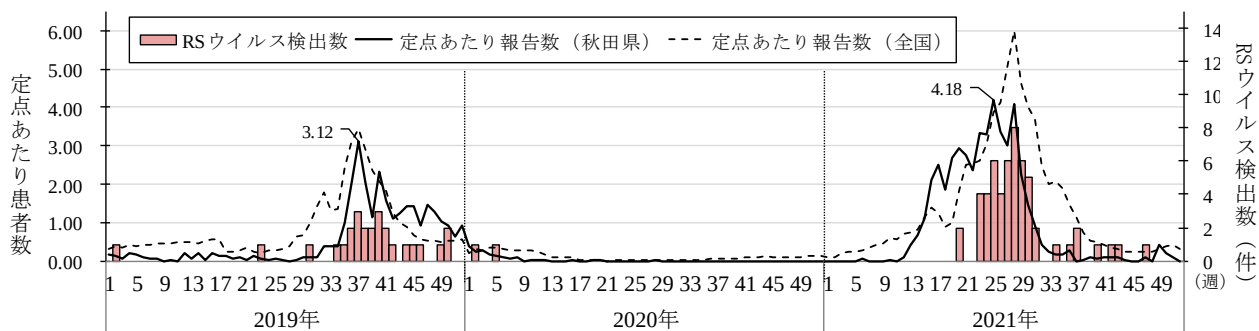


図1 RSウイルス感染症の定点あたり患者数とRSウイルス検出数の推移（2019年～2021年）

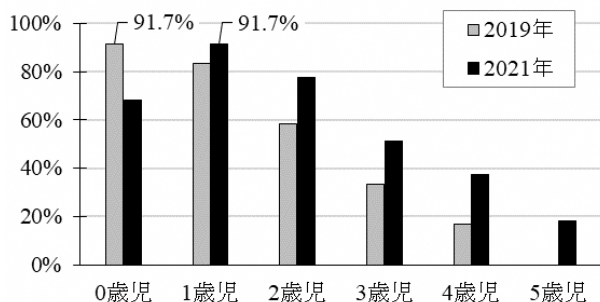


図2 幼保施設におけるRSウイルス感染症集団発生 の患者在籍クラス別割合

3.2 病原体検出数

2019 年は 26 検体、2020 年は 2 検体、2021 年は 55 検体が検出され、検出率はそれぞれ 5.2%、0.5%、15.3%であった。2021 年の検出率は 2019 年の約 3 倍となった。

4. 考察

新型コロナウイルス感染症は、2019 年 12 月に探知され、国内においては 2020 年 3 月に第一波となる流行が始まった。2020 年 4 月からは、全国的な緊急事態宣言の発出により、休校や保育施設の休園などの措置がとられ、外出自粛を求められた。また、マスクの着用や手洗いの励行等の感染対策も推奨された。RSウイルスの感染経路は、主に飛沫感染と接触感染であることから、これらの対策が功を奏し、2020 年の患者数の減少に繋がったと推測される。しかしながら、2021 年には他の呼吸器疾患とは異なって RSウイルス感染症は増加傾向となり、初夏にピークを迎える大きな流行となった。2021 年には徐々に社会活動が平常に戻りつつあり、特に労働者のため保育園等では活動が再開されていた。一方で、RSウイルス感染症の好発年齢である乳幼児は、適切なマスク着用や、集団生活での接触感染の回避などが難しく、感染対策が不十分

であった可能性が考えられる。また、2021 年の集団感染事例患者の年齢層が 2019 年よりもやや高くなっている可能性が示唆されたことから、2020 年に患者発生が少なかった影響により、免疫がない、もしくは減衰した感染しやすい幼児の割合が 1 歳児以上にも多くなったことも流行の要因となった可能性が考えられた。

5. まとめ

秋田県内の RS ウイルス感染症は、2019 年は第 37 週で流行のピークとなったが、2020 年は流行がみられなかった。2021 年には、新型コロナウイルス感染症流行前の 2019 年とは異なる時期の第 25 週に流行のピークがみられた。集団感染事例報告のあった幼保施設では、2019 年よりも 2021 年の方が患者の年齢層がやや高くなり、2020 年に流行が起きなかったことで免疫がない、あるいは減衰した幼児が多くなったことが流行拡大の要因になった可能性が考えられた。今後も感染症の発生動向について、関係する医療機関や保健所等の協力を得ながら情報の収集・解析・発信に努めていきたい。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所: 感染症発生動向調査週報 (IDWR) . **36**. 2013, URL. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/rs-virus-m/rs-virus-idwrc/3972-idwrc-1336-01.html> [accessed July 22, 2022] .
- 2) 秋田県感染症情報センター: 感染症発生動向調査月報. **12**. 2021, URL. http://idsc.pref.akita.jp/kss/back/KAISEKI_2112.pdf [accessed July 22, 2022] .
- 3) 国立感染症研究所: 感染症発生動向調査月報 (IASR) , **43**, 2022, 79-81. URL. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/rs-virus-m/rs-virus-iasrtpc/11081-506t.html> [accessed July 22, 2022] .

公衆浴場等におけるレジオネラ属菌の検出状況（2017～2021 年度）

○高橋志保 今野貴之 伊藤佑歩 鈴木忠之

1. はじめに

レジオネラ属菌はもともと土壌や環境水などの自然界に存在している細菌で、感染すると、レジオネラ肺炎やポンティアック熱といったレジオネラ症を引き起こす。近年は循環式浴槽、冷却塔、加湿器などからもレジオネラ属菌が検出され、それらから生じたエアロゾル（細かい水滴）がレジオネラ症の原因となっている事例が報告されている。

秋田県では、「レジオネラ属菌検査実施要領」に基づき、温泉施設、公衆浴場、旅館などの浴場を対象に、施設の衛生管理状況の確認を行うとともに、検査結果に基づく衛生指導を行うことによりレジオネラ症の発生を未然に防止することを目的として、これらの施設の浴槽水等のレジオネラ属菌検査を実施している。

今回は、2017～2021 年度に実施した検査の結果について報告する。

2. 方法

2.1 対象

2017～2021 年度における県内 6 保健所管内（A～F）の計 50 施設（延べ数として 80 施設）の浴槽水 201 検体及び浴槽水以外の原湯等 106 検体、計 307 検体（各施設 2～4 検体）を対象とした。

2.2 検査方法

2017～2019 年度は検水 200 mL を冷却遠心濃縮法で、2020 年度からは、2019 年 9 月 19 日に発出された通知「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について（薬生衛発 0919 第 1 号）」に基づき、検水 500 mL を濾過濃縮法で、それぞれ 100 倍濃縮検水とした。50℃、20 分間の熱処理後、100 μL を WYOα 寒天培地に塗布し、36±1℃で最長 7 日間培養した。レジオネラ属菌と推定されるコロニーを計数し、BCYEα 寒天培地および羊血液寒天培地に画線

培養した。BCYEα 寒天培地のみに発育したものをレジオネラ属菌として、レジオネラ免疫血清「生研」（デンカ）及び衛生微生物技術協議会レジオネラレファレンスセンターから配布されたレジオネラ免疫血清を用いて菌種及び血清群の確認を行った。

レジオネラ属菌であることが確認できたコロニー数をもとに、試料 100 mL あたりのレジオネラ属菌数（CFU / 100 mL）を算出した。

遊離残留塩素濃度は、各保健所担当者が検体採取時に測定した。

3. 結果と考察

レジオネラ属菌は 14 施設、35 検体（浴槽水 27 検体、原湯等 8 検体）から検出された。検出された菌種は、13 施設が *Legionella pneumophila*、1 施設が *L. londiniensis* であり、複数の菌種が検出された施設はなかった。血清群は、*L. pneumophila* が検出された 13 施設のうち、7 施設から複数の血清群が検出され、*L. londiniensis* は 2 群のみ検出された。レジオネラ属菌数は、10～6,400 CFU/100 mL であった。なお、1 施設からは 2 年続けてレジオネラ属菌が検出され、菌数は前年度の約 40 倍であった（表 1）。

公衆浴場における衛生等管理要領によると、浴槽水の消毒には塩素系薬剤を使用し、浴槽水中の遊離残留塩素濃度を 0.4 mg/L 程度に保ち、かつ最大 1 mg/L を超えないよう努める、と示されている。浴槽水 201 検体のうち、遊離残留塩素濃度が 0.4～1 mg/L に保たれていたのは 49 検体（24.4%）、0.4 mg/L 未満であったのは 88 検体（43.8%）で、レジオネラ属菌が検出された浴槽水 27 検体のうち、26 検体が 0.4 mg/L 未満であった。原湯等については、遊離残留塩素濃度は示されていないが、水質基準として「レジオネラ属菌が検出されないこと」とされている。

今回の調査では、遊離残留塩素濃度が 0.4 mg/L 未満の原湯等 8 検体からレジオネラ属菌が検出された。遊離残留塩素濃度が 1 mg/L を超える検体は、浴槽水 64 検体、原湯等 24 検体で、レジオネラ属菌が検出された検体はなかった(表 2)。

表 1 レジオネラ属菌検出状況

年度	保健所	施設	検体種	菌数 (/100 mL)	菌種及び血清群*	
2017	A	1	原湯等	70	LP UT	
			原湯等	40	LP UT	
			浴槽水	10	LP UT	
			浴槽水	10	LP UT	
	B	2	原湯等	20	LP1	
			原湯等	30	LP1	
			浴槽水	60	LP1	
			浴槽水	10	LP1	
	C	3	浴槽水	30	LP5	
			浴槽水	30	LP5, LP9	
	C	4	浴槽水	50	LP4	
			浴槽水	40	LP4, LP10, LP UT	
2018	A	5	浴槽水	10	LP3	
	A	6	原湯等	10	LP UT	
2019	A	7	原湯等	120	LP4	
			浴槽水	20	LP4	
			浴槽水	140	LP4	
	D	8	浴槽水	270	LP1, LP5	
			浴槽水	170	LP1, LP5	
	C	9	原湯等	30	LP4, LP UT	
浴槽水			10	LP UT		
2020	A	10	原湯等	10	LP6	
			浴槽水	70	LP6	
			浴槽水	30	LP6	
	D	11	浴槽水	150	LP9, LP UT	
			浴槽水	370	LP5, LP9, LP UT	
	D	12	浴槽水	1300	LP UT	
			浴槽水	130	LP1, LP UT	
			浴槽水	40	LP1, LP UT	
	D	13	浴槽水	100	<i>L. londiniensis</i> 2	
			浴槽水	150	<i>L. londiniensis</i> 2	
	2021	A	14	浴槽水	6400	<i>L. londiniensis</i> 2
				原湯等	300	LP1, LP6, LP8
浴槽水				800	LP6, LP8	
浴槽水				300	LP1, LP6	

* LP: *L. pneumophila*, 数字: 血清群, UT: 血清群別不能

2017～2021 年度において、レジオネラ属菌が検出された検体の遊離残留塩素濃度は、35 検体中 34 検体が 0.4 mg/L 未満であったことから、浴槽水については、可能な限り遊離残留塩素濃度を適切に維持することが重要である。原湯等については、レジオネラ属菌が混入あるいは増殖しうる環境であるならば、状況に応じて適切に配管設備等の清掃や消毒を行うなどの対応が必要である。一方で、遊離残留塩素濃度が 5 mg/L と高濃度の検体もあり、消毒の際には塩素系薬剤の適切な使用が望まれる。

今回の調査において、定期的な行政検査の際はレジオネラ属菌が不検出であったが、利用客がレジオネラ症患者として届出がなされ、それに伴い実施した検査で浴槽水から複数の血清群のレジオネラ属菌が検出された施設があった。行政検査実施時にレジオネラ属菌が不検出であっても、衛生管理に不備があればレジオネラ属菌が増殖する可能性がある。施設におけるレジオネラ症対策では、定期的な検査とともに清掃や消毒作業などの日常的な衛生管理の徹底が重要である。

4. まとめ

レジオネラ属菌の検出率は、浴槽水 201 検体中 27 検体 (13.4 %)、原湯等 106 検体中 8 検体 (7.5 %) であった。検出されるレジオネラ属菌数が多い検体もあることから、レジオネラ症予防の観点からも、適切に清掃・消毒作業を行うことが重要である。

表 2 浴槽水と原湯等の遊離残留塩素濃度

遊離残留塩素濃度 (mg/L)	浴槽水 (n = 201)			原湯等 (n = 106)		
	0.4 未満	0.4～1.0	1.0 超	0.4 未満	0.4～1.0	1.0 超
検体数 (%)	88* (43.8)	49 (24.4)	64 (31.8)	67 (63.2)	15 (14.2)	24 (22.6)
レジオネラ属菌検出数	26	1	0	8	0	0

*: 塩素系薬剤を使用していない2検体を含む

LC-MS/MS による食品中の不揮発性腐敗アミン類の一斉分析

○古井真理子 藤井愛実*¹ 松渕亜希子

1. はじめに

不揮発性腐敗アミン類の一種であるヒスタミンは、腐敗や発酵の過程で、食品中のヒスチジンにヒスタミン産生菌の酵素が作用して生成する食中毒の原因物質である。ヒスタミンによる食中毒は、過去 10 年間に於ける国内の化学性食中毒の中で最も発生件数が多く、主な原因食品は、サバ、マグロ、イワシなどの赤身魚やその加工品、調理品である^{1, 2)}。同じく不揮発性腐敗アミン類のチラミンやカダベリン等は、ヒスタミンと一緒に摂取することで、ヒスタミン解毒酵素の阻害やヒスタミンの腸管吸収を促進し、ヒスタミンの作用を増強させるといわれている³⁾。

食品中の不揮発性腐敗アミン類の分析法は、従来から高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法⁴⁾が利用されているが、この方法は前処理操作が煩雑で、迅速性に欠ける。食中毒発生時には、迅速な原因究明と被害拡大防止が求められるため、近年、高感度かつ高選択性を有する液体クロマトグラフタンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた分析法が報告されている^{5, 6)}。今回、当センターでも LC-MS/MS による不揮発性腐敗アミン類の一斉分析法を検討し、県内流通食品について調査を行ったので、その概要を報告する。

2. 方法

2.1 標準品

ヒスタミン二塩酸塩、トリプタミン及びフェニチルアミン (2-フェニルエチルアミン) は富士フイルム和光純薬製、チラミン塩酸塩、カダベリン二塩酸塩、プトレシン二塩酸塩及びスペルミジン三塩酸塩はナカライテスク製、アグマチン硫酸塩は東京化成工業製を使用した。各標準品を 0.1 M 塩酸に溶解し、標準原液 (1 mg/mL) としたのち、各標準原液を 1 mL ずつ混合し、0.1 M 塩酸で 10 mL に定容して混合標準溶液 (100 µg/mL) を調製した。

2.2 添加回収試験

添加回収試験の試料はマグロ刺身、焼き塩サバ、魚醤を粉碎・均一化して用いた。CODEX 委員会のヒスタミン基準値³⁾を参考に、混合標準溶液を、マグロ刺身と焼き塩サバは 100 µg/g (品質基準)、魚醤は 400 µg/g (魚醤の衛生基準) となるよう添加し、添加回収試験 (n=3) を行った。

2.3 県内流通食品試料

試料は、令和 3 年度に秋田県内で流通していたマグロ刺身、カツオたたき、ブリ刺身、焼き塩サバ、しめサバ、サバ水煮缶詰、マグロ水煮缶詰、カツオ油漬缶詰、焼きサンマ、サンマ味噌煮、魚醤 5 種 (県内製造のしょっつる、A~E とする) を粉碎・均一化して用いた。

2.4 前処理法及び測定条件

試料の前処理法を図 1 に、LC-MS/MS の測定条件を表 1 に、イオン化条件を表 2 に示す。なお、一部のアミン類はガラスに吸着する⁵⁾ため、ガラス製の器具やバイアルは直接使用しないようにした。

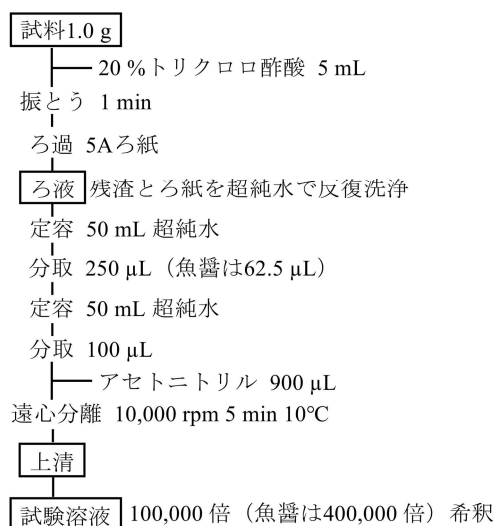


図 1 前処理法

*¹ 秋田県生活環境部生活衛生課

表 1 測定条件

LC-MS/MS装置	QTRAP4500 (AB SCIEX)
カラム	Atlantis HILIC Silica (2.1 mm i.d.×150 mm, 3 μm)
移動相	A液 (超純水:アセトニトリル:メタノール=95:4:1混液) B液 (0.2% 塩酸, 60 mM 塩酸アンモニウム含有, 超純水: アセトニトリル:メタノール=30:56:14混液)
グラジエント条件	B液: 100% (0 min) →100% (2 min) →54% (3 min) →54% (5 min) →0% (6 min) →0% (10 min) →100% (11 min) →100% (25 min)
流速	0.3 mL/min
カラム温度	40 °C
注入量	5 μL
イオン化法	ESI (+)
測定モード	Scheduled MRM
イオン源温度	500 °C
イオン源電圧	5000 V

表 2 MRM条件

成分名	定量イオン (<i>m/z</i>)	定性イオン (<i>m/z</i>)
トリプタミン	161.0>144.1	161.0>117.0
チラミン	138.0>121.0	138.0> 77.0
フェネチルアミン	122.0>105.0	122.0> 77.0
ヒスタミン	112.0> 95.0	112.0> 68.0
アグマチン	131.0> 72.0	131.0>114.0
カダベリン	103.0> 86.0	103.0> 69.0
プトレシン	89.0> 72.0	89.0> 54.9
スペルミジン	146.1> 72.0	146.1>112.0

(保持時間順)

3. 結果及び考察

3.1 検量線及び定量下限

0.1 ng/mL～25 ng/mL の範囲 (8 点) で, ピーク面積による絶対検量線を作成した。スペルミジンを除き良好な直線性 (相関係数 0.999 以上) であり, スペルミジンは相関係数 0.975 であった。

また, 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⁷⁾に示されている定量下限の指標を参考に, ピークの S/N 比を求めた。トリプタミン, チラミン, フェネチルアミン, ヒスタミン, アグマチン, カダベリンの 6 成分は 0.1 ng/mL～0.25 ng/mL から S/N 比 ≥ 10 を満たしていた。プトレシン及びスペルミジンは 2.5 ng/mL から S/N 比 ≥ 10 を満たし, S/N 比 ≥ 3 を満たすのはプトレシンは 0.5 ng/mL から, スペルミジンは 1.0 ng/mL からであった。

3.2 添加回収試験

3.1の結果から, プトレシン及びスペルミジンを除く6成分について, 各試料の添加回収試験を実施した。結果を表3に示す。各試料の回収率は6成分すべてが75～119%であり, 良好であった。

表 3 添加回収試験結果 (平均回収率 (%), n=3)

試料 成分	マグロ 刺身	焼き 塩サバ	魚醬
トリプタミン	92.6 (2.6)	91.6 (5.0)	74.5 (2.1)
チラミン	85.6 (2.5)	100.3 (7.2)	83.0 (2.9)
フェネチルアミン	96.1 (2.8)	109.9 (4.1)	91.0 (2.7)
ヒスタミン	107.1 (2.9)	108.7 (3.4)	86.0 (1.5)
アグマチン	109.4 (4.1)	112.9 (4.8)	91.9 (13.5)
カダベリン	113.1 (6.0)	119.4 (3.7)	106.1 (15.4)

() 内は相対標準偏差 (%)

相対標準偏差は魚醬試料のアグマチン及びカダベリンがやや高い結果となったが, 概ね良好な結果が得られた。なお, ブランク試料から微量検出された場合は差し引いて回収率を算出した。

検討の際, 回収率が変動することがあり, カラムに試料中のナトリウムイオン等の夾雑物が残存していることが懸念された。そのため, 試料を測定後, 超純水 20 μL を注入し, B液: 0% (0 min) →0% (54 min) →100% (55 min) →100% (70 min) の条件でカラム内を洗浄し, その後平衡とピーク強度の確認として, 1.0 ng/mL標準液を2回 (魚醬は3回) 繰り返し測定してから次の試料を測定することで, 測定結果が安定した。

3.3 県内流通食品試料

県内流通食品試料の結果を表4に示す。ほとんどが定量下限値未満で, 検出された試料は魚醬2種のみであり, CODEX 委員会のヒスタミン基準値である魚醬の衛生基準 40 mg/100 g と比較して十分に低い濃度であった。魚醬 A はヒスタミン中毒を起こす魚類としてファクトシート³⁾に記載のあるイワシ及びサンマが原材料に含まれ, 魚醬 B は魚種を特定しない魚という原材料表記であった。魚醬 C～E はファクトシート³⁾に記載のないハタハタ, 真鱈, ワカサギをそれぞれ原材料としていた。基準値と比較して問題のない濃度であったものの, 魚種の違いがヒスタミン濃度の違いにつながったと示唆された。

表 4 県内流通食品試料の結果 (mg/100 g)

試料 成分	マグロ 刺身	カツオ たたき	ブリ 刺身	焼き 塩サバ	しめ サバ	サバ 水煮	マグロ 水煮	カツオ 油漬	焼き サンマ	サンマ 味噌煮	魚醤A	魚醤B	魚醤C	魚醤D	魚醤E
トリプトファン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
チラミン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
フェネチルアミン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ヒスタミン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.2	5.8	—	—	—
アグマチン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
カダベリン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—は定量下限値未満 (カダベリンを除く5成分：<0.1 ng/mg, カダベリン：<0.25 ng/mg)

4. まとめ

ヒスタミン、チラミン等 6 成分について、LC-MS/MS 法による一斉分析法を検討した。アグマチン及びカダベリンは、魚醤ではばらつきがみられるものの、概ね良好な結果が得られ、本分析法は食中毒発生時の分析として十分に適用できると考えられる。プトレシン及びスペルミジンの 2 成分は定性のみ可能で、高濃度であれば定量できる可能性が示唆された。

また、今回調査した県内流通食品はすべて、CODEX 委員会のヒスタミン基準値を超えるものはなかった。今後も食中毒の原因究明のための分析体制の整備に努めていきたい。

参考文献

- 1) 厚生労働省：食中毒統計資料, URL. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/shokuhin/syokuchu/04.html#j4-3 [accessed July 4, 2022] .
- 2) 厚生労働省：ヒスタミンにおける食中毒につ

いて, URL. <https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000130677.html> [accessed July 4, 2022] .

- 3) 食品安全委員会：ファクトシート（ヒスタミン）. 最終更新日：令和 3 年 3 月 30 日, URL. <https://www.fsc.go.jp/factsheets/index.data/210330histamine.pdf> [accessed July 4, 2022] .
- 4) 井部明広：不揮発性腐敗アミン，食品衛生検査指針理化学編 2015，公益社団法人日本食品衛生協会，東京，2015，785-791.
- 5) 西名武士他：LC/MS/MS を用いた食品中不揮発性腐敗アミン類の迅速一斉分析法の検討，熊本県保健環境化学研究所報，**44**，2014，38-47.
- 6) 太田康介他：水産物中に含まれる不揮発性アミンの分析法の検討，山形県衛生研究所報，**46**，2013，11-14.
- 7) 厚生労働省：平成 22 年 12 月 24 日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安心発 1224 第 1 号.

十和田湖の水質調査結果～令和 3 年 6 月の調査結果に関する一考～

鈴木大志 生魚利治

1. はじめに

十和田湖は、青森・秋田両県にまたがる面積 61 km²、最大水深 327 m の二重カルデラ湖である。貧栄養湖で生活環境項目に関する水質環境基準の類型として湖沼 AA (COD 1.0 mg/L 以下) が当てはめられている。両県では、毎年 4 月から 11 月までの年 8 回、湖内 9 地点の各表層及び水深 5 m における水質のモニタリング及び定点における年 4 回の定点層別調査を分担して実施している (図 1)。

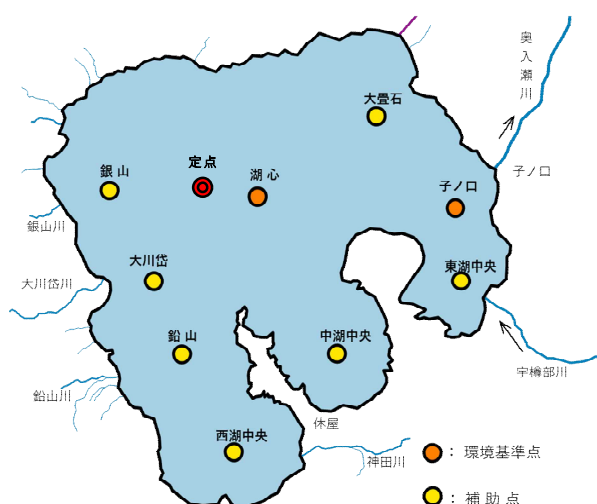


図 1 十和田湖の水質調査地点

近年、湖心の COD は全層平均 75% 値で 1.5 mg/L 前後と依然として環境基準値を超過している。一方で湖心の透明度は「十和田湖水質・生態系改善行動指針 (平成 13 年 8 月策定)」で定める改善目標値 (年平均値 12 m) を上回るなど、上昇傾向である¹⁾。しかし、令和 3 年 6 月の調査では、例年は青色味がかった湖面の色相が緑色味がかった色相に変化するなど、例年の十和田湖とは異なる水質状況が観測された。

そこで本報告では、COD、透明度、その他の項目について直近 5 年間の経月変化をまとめ、令和 3 年 6 月の水質調査結果について考察したので報告する。

2. 方法

青森・秋田両県が実施した、平成 28 年から令和 3 年までの公共用水域水質測定結果を用いて湖心の水質の経月変化の推移を比較した。また、水深別の水質の状況を検証するため、令和 3 年の定点層別調査結果を用いて湖内鉛直方向の水質の経月変化を比較した。測定項目とその分析方法は表 2 のとおりである。

表 2 測定項目及び分析方法

項目	分析方法
COD	JIS K0102 の 17 KMnO ₄ 酸化法 (100℃)
透明度	海洋観測指針 (透明度板)
SS	環境省告示第 59 号 付表 9
Chl-a	海洋観測指針 (吸光法)
NH ₄ -N	JIS K0102 の 42.6 流れ分析法
NO ₃ -N, NO ₂ -N	JIS K0102 の 43.2.6 流れ分析法
PO ₄ -P	JIS K0102 の 46.1.4 流れ分析法
水温	メモリー水温深度計 (JFE アトモスフィア社製)

3. 結果と考察

3.1 経月変化について

3.1.1 COD

湖心の COD (全層平均) の経月変化を図 2 に示す。令和 3 年は、4 月が 1.2 mg/L、5 月が 1.0 mg/L と直近 5 年間の同月と同程度の値であった。一方で、6 月が 2.4 mg/L と直近 5 年間の同月と比較して著しく高い値を示した。COD は水中の有機物量の指標となるため、6 月は水中の有機物量が急増したと考えられる。7 月以降は、7 月が 2.0 mg/L、8 月が 1.6 mg/L と低下傾向が見られたものの、8 月以降は 1.6～1.8 mg/L の範囲で推移しており、直近 5 年間の同月と比較すると 0.3～0.5 mg/L 程度高い値となった。令和 3 年の湖心の全層平均 75 % 値は 1.8 mg/L となり、直近 5 年間の平均 1.4 mg/L よりも高い値となった。これは、6 月に急上昇した水中の有機物が 7 月以降にも影響したためと考えられた。

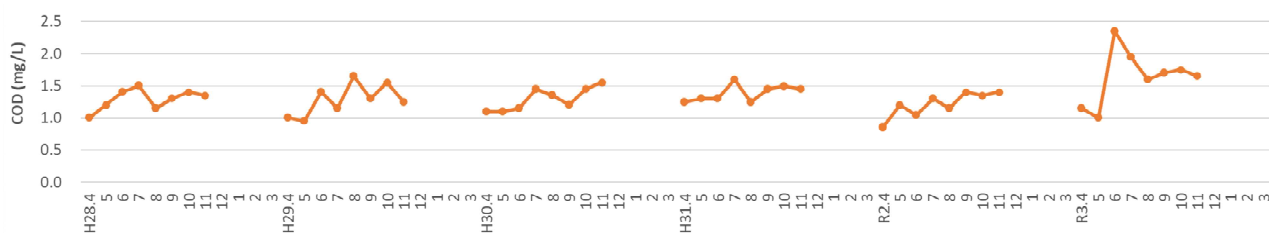


図2 湖心のCOD（全層平均）の経月変化

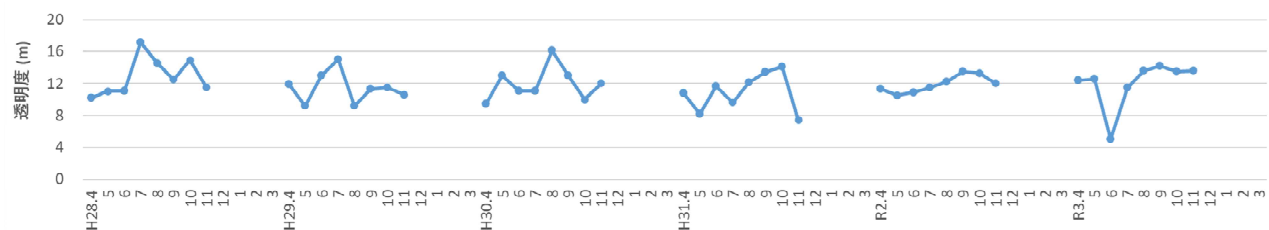


図3 湖心の透明度の経月変化

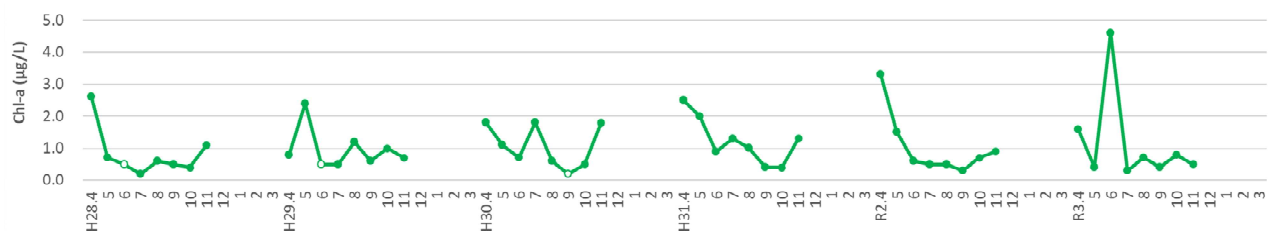


図4 湖心表層のChl-aの経月変化

※白抜きプロットは定量下限値未満であることを示す。

3.1.2 透明度

湖心の透明度の経月変化を図3に示す。令和3年は、4月が12.4 m、5月が12.6 mと直近5年の同月と比較して2 m程度高い値を示した。一方、6月が5.0 mと直近5年間の同月と比較して著しく低い値となった。透明度は、水中の粒子量が多いことで低下するため、6月は湖内の粒子量が増加したものと考えられる。7月は11.5 mと例年並みまで上昇し、8月以降は14 m前後とやや高い値で推移した。令和3年の平均値は12.1 mと改善目標値である12 m以上を達成し、通年で見ると透明度は高い年であった。

3.1.3 SS

湖心表層及び水深5 mのSS(0.6 μm以上)は、平成28年から令和3年まで、全ての月で定量下限値(1 mg/L)未満であった。このため、令和3年6月のCOD上昇及び透明度の低下について、SSとの相関は不明である。

3.1.4 Chl-a

湖心表層のChl-aの経月変化を図4に示す。植



図5 顕微鏡で観察されたウログレナ属

物プランクトン量の指標であるChl-aは、令和3年4月及び5月はそれぞれ1.6 μg/L、0.4 μg/Lと、各月の例年値と比較して低い値を示した。6月は4.6 μg/Lと直近5年間の同月と比較して約4倍と著しく高い値を示した。7月以降は、例年並みの値まで低下し、7月～11月は0.3～0.9 μg/Lの範囲で推移した。年によって差はあるものの、例年、4月是他月と比較して相対的に高い傾向にあり、直近5年間は4月から6月にかけて概ね減少する傾向が見られた。このことから、令和3年6月のChl-a濃度は特異的に高い値であり、植物プランクトンの突発的な増殖が考えられた。

令和3年6月の湖水(表層及び水深5 m)を顕

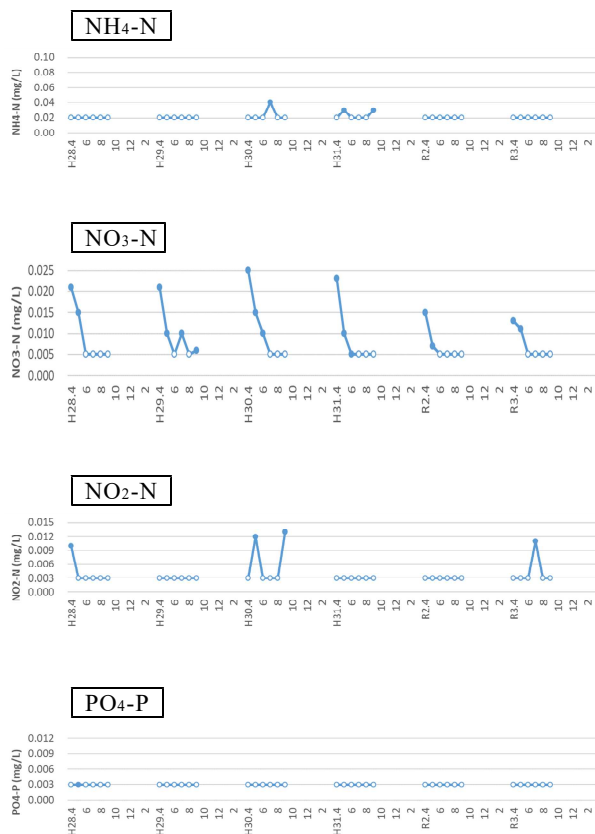


図 6 湖心表層の Chl-*a* 及び栄養塩類の経月変化

※白抜きプロットは各項目の定量下限値未満であることを示す。

顕微鏡で観察したところ、黄色鞭毛藻綱のウログレナ属 (*Uroglena* sp.) が確認された (図 5)。ウログレナ属は春から初夏に水温が 20℃ 程度になると特に増えるとされており²⁾、6 月の特異的な COD 上昇及び透明度の低下は、ウログレナ属の突発的な増殖に起因する可能性が高いと考えられた。

3.2 ウログレナ属の増殖に関する考察

3.2.1 栄養塩類と Chl-*a* の関係性について

湖心表層の栄養塩類 (NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N, PO₄-P) の経月変化を図 6 に示す。植物プランクトンの増殖に関与する各栄養塩の濃度は、NH₄-N, NO₂-N 及び PO₄-P はほとんどの月で報告下限値未満であるため経月の変化については把握できないものの、NO₃-N は例年ほぼ同様の傾向を示し、4 月が最も高く、5 月、6 月と減少し 7 月以降はほぼ報告下限値未満となる。この傾向は Chl-*a* の経月変化と類似していた。

定点の層別調査結果 (図 7) を見ると、5 月は表層から水深 85 m まで NO₃-N 濃度は均一であ

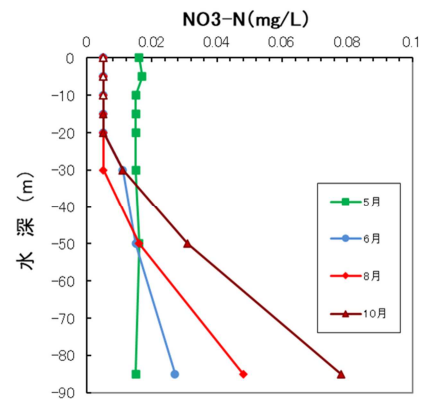


図 7 定点の層別 NO₃-N 濃度の季節変化 (R3)

※白抜きプロットは定量下限値未満であることを示す。

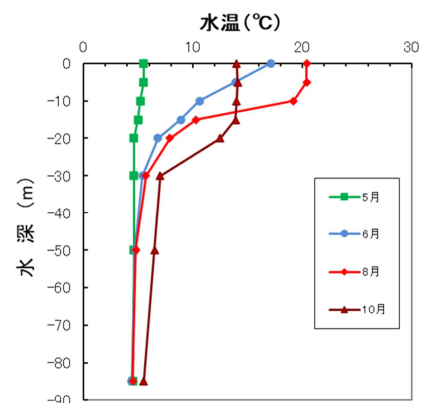


図 8 定点の層別水温の季節変化 (R3)

る。一方で、6 月から 9 月にかけては表層から水深 30 m までの NO₃-N はほぼ検出されず、水深 50 m から 85 m までは 0.02~0.07 mg/L 程度と表層付近の濃度と比べて高い濃度で検出され、月の経過とともに濃度は上昇する。NO₃-N は、降水や周辺沢水から流入する他、有機物の分解により生成する。表層付近は植物プランクトンにより消費され濃度が低下する一方で、50 m 以深では光が届かないため植物プランクトンにより消費されないことから濃度が上昇するものと考えられる。また、十和田湖では図 8 のとおり例年 6 月頃から水温躍層が形成され停滞期となるため、湖水の鉛直方向の循環は停滞するが、秋の循環期を終えると下層部から表層部へ NO₃-N が供給され、4 月から 6 月の植物プランクトンの増殖に利用されることが考えられる。この機構は、PO₄-P についても同様であると考えられるが、濃度レベルが低いいため把握には至っていない。

例年 6 月の表層部は、栄養塩類が不足することで植物プランクトンの増殖も抑制されるものと考えられることから、令和 3 年 6 月に発生したウ

ログレナ類の増殖は、直前に何らかの形で表層部に栄養塩類の流入があったと考えられる。

3.2.2 調査日直近の気象状況及びその影響について

表層部に栄養塩類の流入する要因を調べるため、調査日（令和3年6月15日）直近の気象状況を調べたところ、5月17日から6月3日までの間にまとまった降雨が複数回確認された（図9）。平成17年に十和田湖で実施された降雨時流入河川負荷量調査では、窒素及びリンの全流入量に占める洪水期間の割合を、T-Nが全流入量の87%，NO₃-Nが70%，T-Pが92%，PO₄-Pが38%としている³⁾。令和3年も、複数回のまとまった降雨により、湖内へ直接又は周辺沢水を経由して栄養塩類が供給されたものと考えられる。また、まとまった降雨のあった6月3日以降は、好天気が続き日照量が多く（図10）、気温も平年と比べて高い日が続いたため（図11）、水温が上昇しウログレナ属の増殖に適した条件が揃ったものと考えられる。

5. まとめ

令和3年の十和田湖の水質は、6月を除き、おおむね例年並みの結果であった。

6月はCODの上昇及び透明度の低下が顕著であった。これは、ウログレナ属が増殖したことによるものと推察された。この増殖の要因は、まとまった降雨による表層付近の栄養塩類の濃度上昇及びその後の好天が続いたことと考えられたが、各項目の実測値には反映されておらず検証はできていない。降雨直後の湖水中の栄養塩類の濃度把握は今後の課題である。

なお、ウログレナ属の増殖は平成3年等、過去にも観察された記録がある⁴⁾ことから、十和田湖では稀に起こる現象と考えられる。今後も一定の条件が満たされることで、ウログレナ属が突発的に増殖し、これに伴うCODの上昇及び透明度の低下が起こる可能性が考えられる。

今後も水質データを蓄積し、長期的な変化だけではなく、突発的な変化についても検証を重ね、十和田湖の水質改善につなげることが重要と考える。

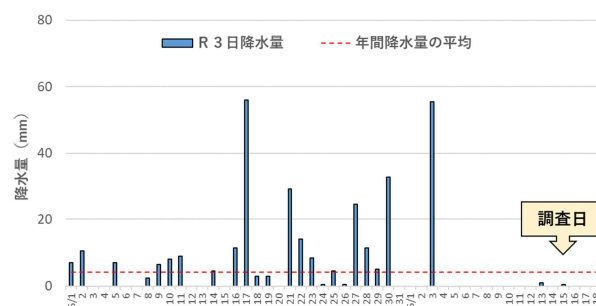


図9 日別の降水量（休屋）

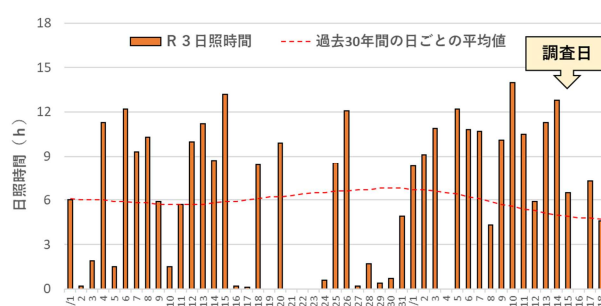


図10 日別の日照時間（休屋）

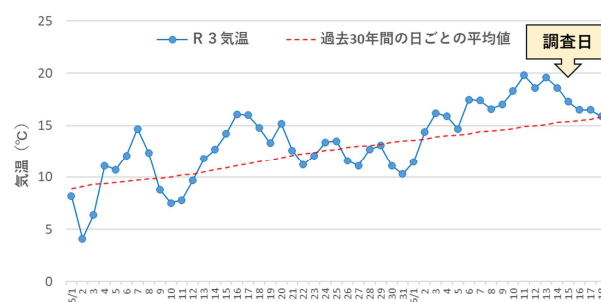


図11 日別の平均気温（休屋）

参考文献

- 1) 鈴木大志：十和田湖の水質の変遷，秋田県健康環境センター年報，16，2020，34-38.
- 2) 滋賀の理科教材研究委員会：普及版やさしい日本の淡水プランクトン図解ハンドブック，合同出版株式会社，2013改訂，東京，150pp.
- 3) 青森県・秋田県：平成17年度十和田湖流入河川降雨時負荷量調査青森県・秋田県合同報告書，2007，67pp.
- 4) 青森県・秋田県：十和田湖水質・生態系改善行動指針，2007，
URL:<https://www.pref.akita.lg.jp/pages/archive/9950> [accessed June 1, 2022] .

参 考 資 料

LC-MS/MSによる食品中の 不揮発性腐敗アミン類の一斉分析

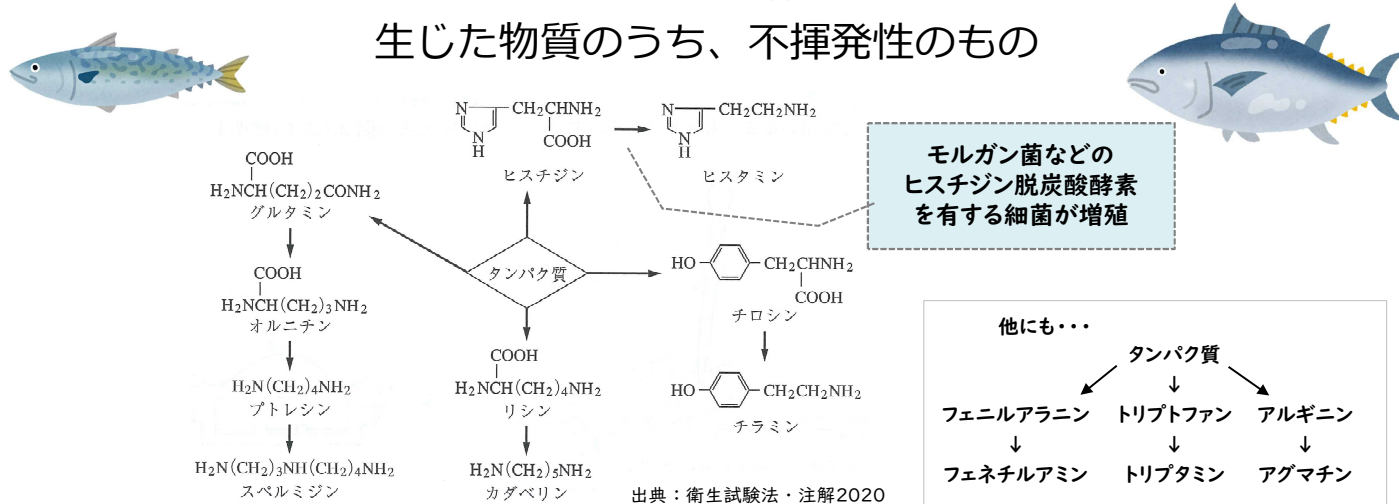
秋田県健康環境センター 理化学部 理化学班
○古井真理子 藤井愛実* 松渕亜希子

*秋田県生活環境部生活衛生課

1

不揮発性腐敗アミン類とは

タンパク質やアミノ酸の微生物的腐敗による分解や発酵の過程で
生じた物質のうち、不揮発性のもの



種類	性質
ヒスタミン	・食中毒の原因物質
チラミン、フェネチルアミン、カダベリン、プトレシン	・食品の腐敗の指標 ・ヒスタミン解毒酵素を阻害し、ヒスタミンの腸管吸収を増強（食品中のチラミンは片頭痛の原因物質との報告あり。）
トリプタミン、アグマチン、スペルミジン等	・食品の腐敗の指標

ヒスタミン食中毒とは

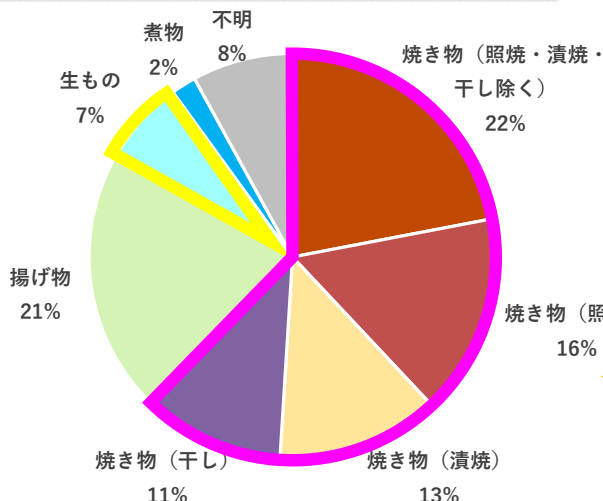
症状

顔面紅潮、じんましん、
頭痛、発熱など

原因食品

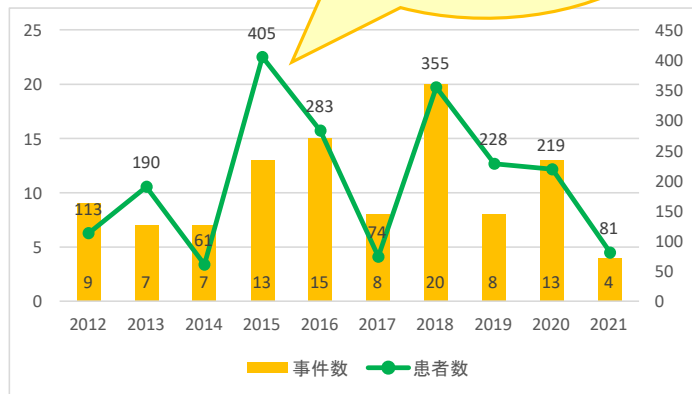
赤身魚やその加工品、調理品が多い

ヒスタミン食中毒事例の調理法



出典：登田ら，国内外におけるヒスタミン食中毒（2009）

発生状況



国内の
化学性食中毒の中では
最も発生件数が多い

年間 約10件
患者数 200名程度

ヒスタミンは加熱しても壊れない

焼き物：全体の約60%
生もの：7%

常温下での調味液への漬け込みなど、
温度管理の不備によるものが多い

3

ヒスタミンの中毒濃度と基準

中毒症状と食品中のヒスタミン濃度の関係（推定）

5mg/100g以下	安全域である
5～10mg/100g	感受性が高いグループでは食中毒を生じる可能性がある
10～100mg/100g	食中毒を生じる可能性があり、軽度～中程度の症状を呈す
100mg/100g以上	食中毒を生じる可能性が高く、重篤な症状を呈す

出典：登田ら，国内外におけるヒスタミン食中毒（2009）

食品中のヒスタミン濃度に関するCODEX委員会*の基準

*国際食品規格委員会

品目	ヒスタミン基準値	
	品質基準 (鮮度低下指標)	衛生基準 (安全性指標)
急速冷凍された魚（骨付き及び骨抜き） マグロ類及びカツオの缶詰 イワシ及びイワシ製品 魚類の缶詰 急速冷凍された魚の切り身ブロック、 魚のすり身、及びそれらの混合物 急速冷凍されたフィッシュスティック、 魚の切り身（パン粉又は衣付き） 急速冷凍された魚の切り身 塩漬アンチョビーの煮干 塩漬ニシン及び塩漬スプラット	10 mg/100g	20 mg/100g
魚醤	—	40 mg/100g

出典：食品安全委員会 ファクトシート（ヒスタミン）（最終更新日：令和3年3月30日）

他、EU、アメリカ、カナダ、オーストラリア、ニュージーランドで基準が設定されている。

・・・ヒスタミンは食品中に一定程度存在

食中毒
発生時



ヒスタミン含有量と
食中毒濃度域との比較が重要！

使用機器と本検討の目的

液体クロマトグラフ タンデム質量分析計

Liquid Chromatograph tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS)

- ◆ 様々な化学特性を持つ**多種類の成分**を、**一斉に分析**できる
- ◆ ppb (10億分の1…魚1kg中のヒスタミン1 μg) 単位の**極微量成分の測定が可能**

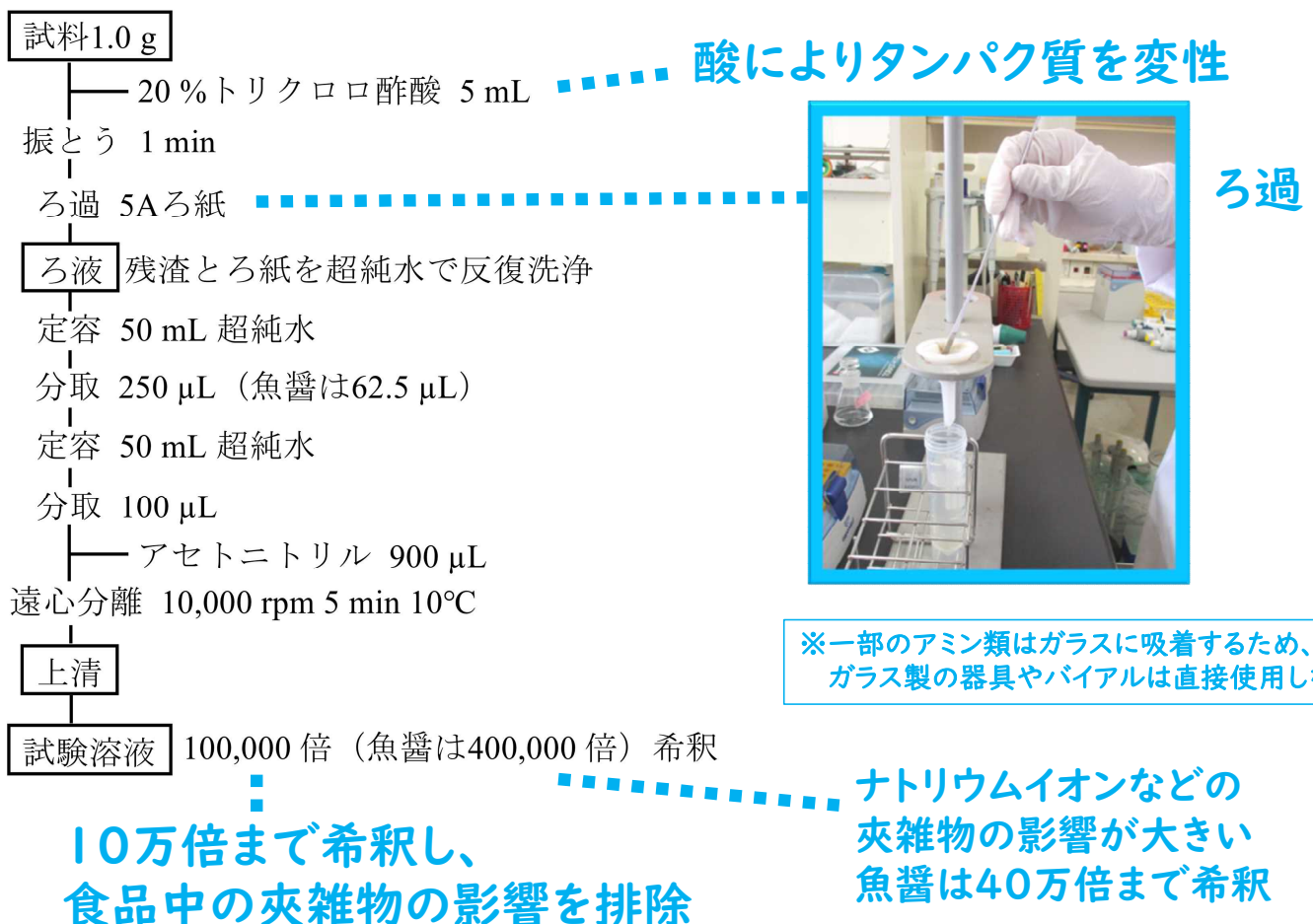


【目的】

ヒスタミンによる健康被害が疑われる場合、迅速な原因究明と被害拡大防止の一助となるよう、LC-MS/MSによる不揮発性腐敗アミン類の一斉分析法を構築する

5

前処理法



測定条件

測定条件

LC-MS/MS装置	QTRAP4500 (AB SCIEX)
カラム	Atlantis HILIC Silica (2.1 mm i.d. × 150 mm, 3 μm)
移動相	A液 (超純水 : アセトニトリル : メタノール = 95 : 4 : 1混液) B液 (0.2 % ぎ酸, 60 mM ぎ酸アモニウム含有, 超純水 : アセトニトリル : メタノール = 30 : 56 : 14混液)
グラジエント条件	B液 : 100 % (0 min) → 100 % (2 min) → 54 % (3 min) → 54 % (5 min) → 0 % (6 min) → 0 % (10 min) → 100 % (11 min) → 100 % (25 min)
流速	0.3 mL/min
カラム温度	40 °C
注入量	5 μL
イオン化法	ESI (+)
測定モード	Scheduled MRM
イオン源温度	500 °C
イオン源電圧	5000 V

MRM条件

成分名	定量イオン (m/z)	定性イオン (m/z)
トリプタミン	161.0>144.1	161.0>117.0
チラミン	138.0>121.0	138.0> 77.0
フェネチルアミン	122.0>105.0	122.0> 77.0
ヒスタミン	112.0> 95.0	112.0> 68.0
アグマチン	131.0> 72.0	131.0>114.0
カダベリン	103.0> 86.0	103.0> 69.0
プトレシン	89.0> 72.0	89.0> 54.9
スベルミジン	146.1> 72.0	146.1>112.0

(保持時間順)

試料中のナトリウムイオンなど、
夾雑物をしっかり洗うことを期待して
A液に塩類を入れない

試料1回測定

洗浄

超純水20 μLを注入し、
B液 : 0 % (0 min) → 0 % (54 min)
→ 100 % (55 min) → 100 % (70 min)
で洗浄する

絶対検量線の1ng/mLのみを
2回 (魚醬は3回) 繰り返し測定

平衡とピーク強度
の確認

7

添加回収試験の方法

CODEX委員会の
ヒスタミン基準値を考慮した
添加回収試験を実施

- ◆ マグロ刺身・焼き塩サバ・魚醬を粉碎・均一化して使用
- ◆ 試料に混合標準溶液を添加し、添加回収試験 (n=3) を実施

マグロ刺身及び焼き塩サバ : 試料に100 μg/g添加
魚醬 : 試料に400 μg/g添加

ヒスタミン品質基準値に相当

魚醬のヒスタミン衛生基準値に相当

検量線及び定量下限の結果

検量線範囲: 0.1~25ng/mL(8点)

良好な直線性

S/N比は、
定量下限の指標
とした

項目 成分	相関係数	S/N比 10以上 (ng/mL)	S/N比 3以上 (ng/mL)
トリプタミン	0.999	0.1	0.1
チラミン	0.999	0.1	0.1
フェネチルアミン	0.999	0.1	0.1
ヒスタミン	0.999	0.1	0.1
アグマチン	0.999	0.1	0.1
カダベリン	0.999	0.25	0.1
プトレシン	0.999	2.5	0.5
スペルミジン	0.975	2.5	1.0

この6成分は、
CODEX委員会の
ヒスタミン基準値の
濃度で、定量可能と
考えられる

(添加回収試験で回収率100%
のとき、1.0ng/mLの値で検出)



添加回収試験の実施

この2成分は、
1.0ng/mLの濃度
では定性のみ

9

添加回収試験の結果

平均回収率(%), n=3

試料 成分	マグロ 刺身	焼き 塩サバ	魚醬
トリプタミン	92.6 (2.6)	91.6 (5.0)	74.5 (2.1)
チラミン	85.6 (2.5)	100.3 (7.2)	83.0 (2.9)
フェネチルアミン	96.1 (2.8)	109.9 (4.1)	91.0 (2.7)
ヒスタミン	107.1 (2.9)	108.7 (3.4)	86.0 (1.5)
アグマチン	109.4 (4.1)	112.9 (4.8)	91.9 (13.5)
カダベリン	113.1 (6.0)	119.4 (3.7)	106.1 (15.4)

[目標値]

- ◆ 回収率: 70~120%
- ◆ 併行精度: 10%以下
(相対標準偏差)

概ね、目標値を
満たす良好な
結果が得られた

()内は相対標準偏差(%)

秋田県内流通食品試料の調査

①マグロ刺身



②カツオたたき



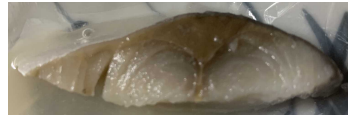
③ブリ刺身



④焼き塩サバ



⑤しめサバ



⑥サバ水煮缶詰



⑦マグロ水煮缶詰



⑧カツオ油漬缶詰



⑨焼きサンマ



⑩サンマ味噌煮



*魚醬は全て県内製造のしょっつる

⑪魚醬A

⑫魚醬B

⑬魚醬C

⑭魚醬D

⑮魚醬E



原材料名

イワシ、サンマ、
イサザアミ、食塩

食塩、魚、調味料
(アミノ酸等)

ハタハタ、食塩

真鱈、食塩

わかさぎ、食塩

11

県内流通食品の結果

魚種の違いが
ヒスタミン濃度の
違いにつながった？

ヒスタミン中毒を
起こす可能性の
ある魚種

魚(魚種不明)

イワシ
サンマ
イサザアミ

ヒスタミン中毒を
起こす可能性が
低い魚種

ハタハタ
真鱈

わかさぎ

単位:mg/100g

試料 成分	マグロ 刺身	カツオ たたき	ブリ 刺身	焼き 塩サバ	しめ サバ	サバ 水煮	マグロ 水煮	カツオ 油漬	焼き サンマ	サンマ 味噌煮	魚醬A	魚醬B	魚醬C	魚醬D	魚醬E
トリプタミン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
チラミン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
フェネチルアミン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ヒスタミン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.2	5.8	—	—	—
アグマチン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
カダベリン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—は定量下限値未満(カダベリンを除く5成分:<0.1ng/mg, カダベリン:<0.25ng/mg)

CODEX委員会の
「魚醬のヒスタミン衛生基準:40mg/100g」と
比較して十分に低い濃度

考察とまとめ

- ◆ LC-MS/MS法による一斉分析法を検討した。
- ◆ 鮪刺身、焼き塩鯖、魚醤の3種の食品において、添加回収試験を行い、ヒスタミン、チラミン、トリプトタミン、フェネチルアミンについては良好な結果が得られた。アグマチン及びカダベリンは、魚醤では、ばらつきがみられるものの、概ね良好な結果が得られた。これら6成分は食中毒発生時の分析に適用できると考えられる。
- ◆ プトレシン及びスペルミジンの2成分は定性のみ可能で、高濃度であれば定量できる可能性が示唆された。
- ◆ 今回調査した県内流通食品はすべて、CODEX委員会のヒスタミン基準値を超えるものはなかった。

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