

北九州市におけるベンゼン高濃度現象について

北九州市環境科学研究所 永富 孝則

1 はじめに

大気汚染防止法に基づく有害大気汚染物質モニタリングについて、本市では一般局3局及び自排局1局の計4局で実施している。その内一般局の1局(北九州観測局)においてベンゼンは、ここ数年環境基準(年平均値 $3\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下)は適合しているものの、時々高濃度で検出されることがある(図1)。

そこで、その原因を解明するため、平成21年度から実施した光化学オキシダントに関する調査等から、高濃度時との関係を検討し、ベンゼンが高濃度となる原因の一つが判明したので報告する。

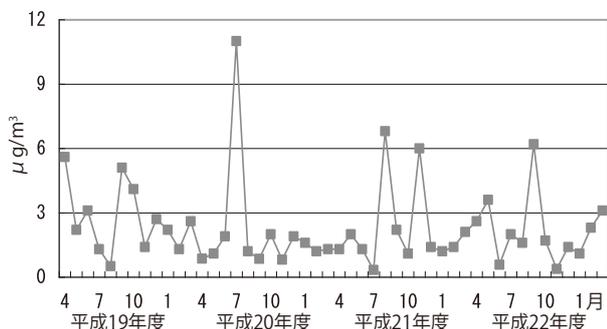


図1 北九州観測局のベンゼン濃度

2 検討方法

有害大気汚染物質モニタリングにおいて、過去ベンゼンが高濃度で検出された時のクロマトグラム及び光化学オキシダントの原因物質の一つである非メタン炭化水素の、朝(6~11時)と昼(11~18時)の比較等から、ベンゼン以外で検出された物質及び気象状況を調査し、高濃度時との関係を検討した。

なお、非メタン炭化水素の朝昼調査は、平成21年5月、8月、11月、平成22年2月及び平成22年5月3~6週目のそれぞれ5日間(月~金曜日)行った。

3 検討結果

3-1 朝昼の濃度変化

ベンゼン濃度の朝昼の変化を図2に示す。

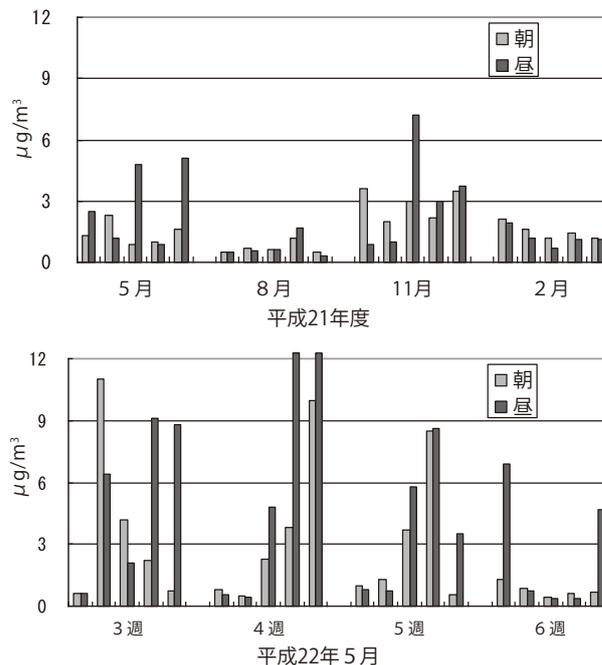


図2 ベンゼンの朝と昼の濃度

連続した日でも変動幅が大きく、朝と昼でも極端に変動する日があり、特に平成22年の5月は朝の方が高かったり昼の方が高かったりとばらばらであった。

次に代表して平成22年5月の第3週目の朝昼濃度の変動が大きい時(5月13日)のクロマトグラムを図3に示す。

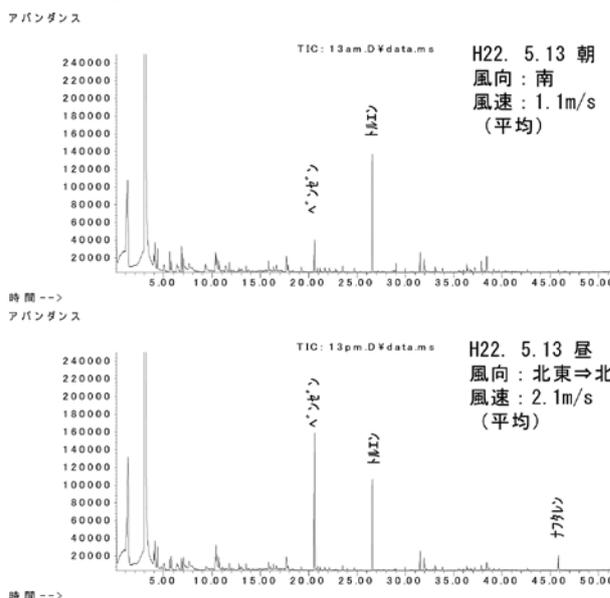


図3 平成22年5月13日の朝と昼のクロマトグラム

測定に用いたGC-MS (Agilent 6890N - Agilent 5975)は、スキャンモードとSIMモード同時測定が可能であり、有害大気汚染物質等以外でもマススペクトルから定性が可能である。

5月13日朝の風向は南でベンゼン(2.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、トルエン(5.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )が検出され、昼の風向は北東から北でベンゼン(9.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )が高濃度で検出され、同時にナフタレンも相当量検出(定性のみ)された。このようにベンゼンが高濃度で検出された時には、ほとんどナフタレンが同時に相当量検出(定性のみ)され、風向もほとんど北を向いていた。

### 3-2 モニタリング調査時の濃度

有害大気汚染物質モニタリングにおいて高濃度で検出(図1参照)された平成20年7月と平成21年8月のクロマトグラム(図4)を見ると、同様にナフタレンが同時に相当量検出(定性のみ)され、風向もほとんど北を向いていた。

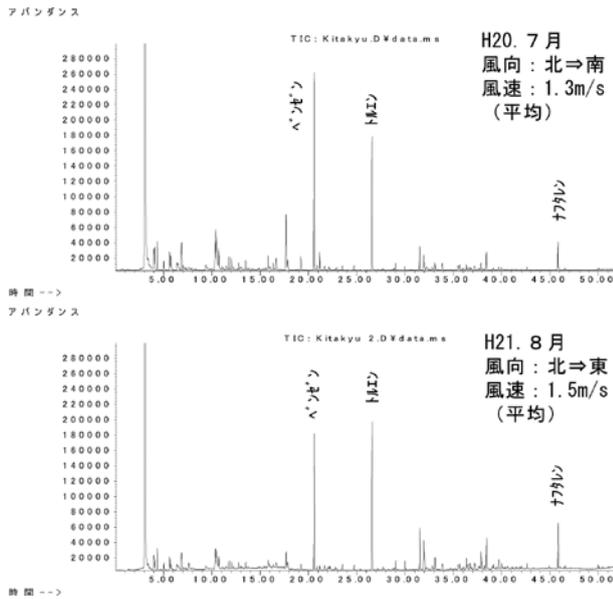


図4 H20.7月とH21.8月のクロマトグラム

同様にベンゼンが高濃度で検出された日の風向は、概ね北からの時か無風の時がほとんどであった。

## 4 ベンゼン高濃度時の要因

ベンゼン高濃度時の要因として調査結果や気象状況から、ナフタレンが同時に検出され、かつ北よりの風の時と判断されるため、北九州観測局の北方面にある事業所が発生源と思われる。

そこで、北側にありなおかつベンゼンやナフタレンを発生させる可能性のある事業所は、北に約4 km先に位置する製鉄業の事業所であるコークス工場やその関連事業所のタール工場やナフタリン工場と思われる。

当該事業所では、平成20年7月29日にコークス工場で火災があり、その際両事業所の敷地境界付近で大気の試料採取を実施した。その時のクロマトグラム(図5)を見ると、ベンゼンやナフタレンなどのベンゼン化合物が高濃度で検出されていた。

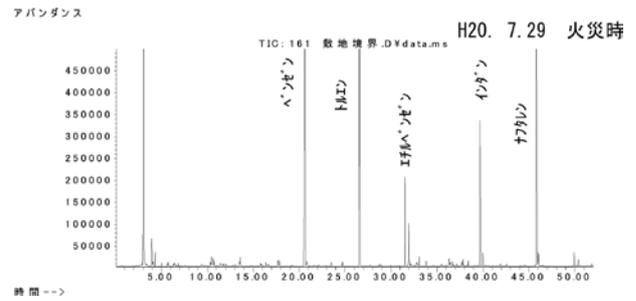


図5 敷地境界付近でのクロマトグラム

## 5 おわりに

北九州観測局におけるベンゼン濃度は日々刻々と変化しており高濃度時のパターンとしては、北よりの風か無風及びナフタレンが同時に検出されることが判明した。よって発生源と考えられるのは、当該観測局の北の方に位置する事業所と思われる、ベンゼンが高濃度となる原因の一つを解明することができた。

なお、自動車排ガスの影響は、常時監視データのNO濃度等を見ると、関連は薄いものと思われる。

### <北九州観測局の概要>

本市の中心に位置する一般環境大気測定局で、観測される大気汚染物質の主要な固定発生源は、当該観測局から北4.4km及び北東4 kmに位置する製鉄業の事業所があり、また移動発生源としては、北500mの旧国道(交通量18,400台/日)、西50mの市道(同18,800台/日)及び南230mの県道(同24,900台/日)を走行する車両からの排気ガス等がある。大気汚染状況は光化学オキシダントを除き環境基準に適合している。

LC-TOF-MS用全自動同定・定量データベースシステムの開発

唐木千明<sup>1)</sup>、岩村幸美<sup>2)</sup>、宮脇崇<sup>3)</sup>、大窪かおり<sup>4)</sup>、杉本直樹<sup>5)</sup>、門上希和夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>北九州市立大学国際環境工学部、<sup>2)</sup>北九州市環境科学研究所、<sup>3)</sup>福岡県保健環境研究所、

<sup>4)</sup>佐賀県衛生薬業センター、<sup>5)</sup>国立医薬品食品衛生研究所

1 はじめに

化学物質の種類及び使用量の急増に伴い、化学物質による環境や食品汚染が懸念されている。これに対応するには、できるだけ多数の化学物質の存在量を把握することが求められる。門上ら<sup>1)</sup>はガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)用の全自動同定・定量データベースシステム(AIQS-DB)を開発・実用化しており、実試料の分析に適用している。本研究はGCに比べ広範な物質を対象にでき、かつ精密質量分析が可能な液体クロマトグラフ飛行時間型質量分析計(LC-TOF-MS)を用いてLC/MS用AIQS-DBの開発を目的としている。本報告では保持時間予測手法及び移動相条件に関する検討結果を報告する。

2 方法

保持時間の予測に保持指標(RI)<sup>23)</sup>を用いることとし、保持指標物質としてポリエチレングリコール(PEG200、400、600、1000)及びアルキルフェノン(Butyrophenone ~ Decanophenone、Tetradecano-phenone ~ Octadecanophenone; 偶数)を使用した。また農薬類(関東化学製農薬混合農薬標準液53,54,55,58)とアルキルアミン(6種)を保持時間予測対象物質とした。保持指標物質と農薬(2ppm)のメタノール溶液を調製し、4機関で保持時間の予測を行った。緩衝液は10mM及び5mMの酢酸アンモニウム緩衝液(pH4.8、5.8及び6.8)を用いた。また、カラムはGLサイエンス社製InertsilODS-4の同一ロットのものを使用し、LC条件は各メーカー推奨値を用いた。各機関の使用したLCの機種名をTable 1に示す。

Table 1. LC instrument in each laboratory

Laboratory	LC equipment
A	Agilent 1200
B	Agilent 1100
C	Waters ACQUITY UPLC®
D	GL Science LC800

3 結果と考察

(1) 保持時間の予測精度(pH6.8、5 mM)

PTRI算出式を用いて保持指標RIを式(1)より算出し、式(2)を用いて保持時間(RT)の予測を行った。

$$RI = n + (RT_x - RT_n) / (RT_{n-1} - RT_n) \dots\dots\dots(1) \quad n: \text{保持指標番号}, RT_x: \text{対象物質 } x \text{ の保持時間}$$

$$RT_x = RT_n + (RI - n)(RT_{n+1} - RT_n) \dots\dots\dots(2) \quad RT_n: \text{保持指標 } n \text{ の保持時間}, RT_{n+1}: \text{保持指標 } (n+1) \text{ の保持時間}$$

RIの算出には機関Aの測定結果を用いた。算出したRI及び式(2)を用いて保持時間を予測した(Table 2)。機関Aでアルキルアミンを除外した予測値と実測値の差は概ね0.3分以内で、平均値は-0.005分であった。一方、アルキルアミンの実測時間は予測時間に比べて長く、差が大きい傾向にあった。なお、機関Aで予測に用いたデータは、RIの算出に用いたデータと異なる測定日のものである。さらに、機関B及びCにおいても、農薬の予測値と実測値の差はほぼ±0.5分以内に収まったが、アルキルアミンや酸性・塩基性農薬のずれが大きかった。機関Dでは予測値と実測値の差が全て±1分以内となった。

以上から、装置間で実保持時間が大幅に異なっても、保持時間をほぼ正確に予測できることが確認された。

(2) 移動相pH及び緩衝液濃度の影響

機関Aにおいて移動相の塩濃度を10mMとして分析した結果、保持時間及びピーク面積はともに5mMと同一であった。また、pHを5.8、4.8にして測定し、pH6.8での保持時間とピーク面積と比較した。その結果、pHが低くなるほど保持時間は長くなり、ピーク面積は小さくなった(Fig. 1)。機関B及びCにおいて、保持時間が変化しやすい55物質に対して行った結果も同様であった(Table 2)。以上から緩衝液はpH6.8の5mM酢酸アンモニウム溶液が良いことが示唆された。

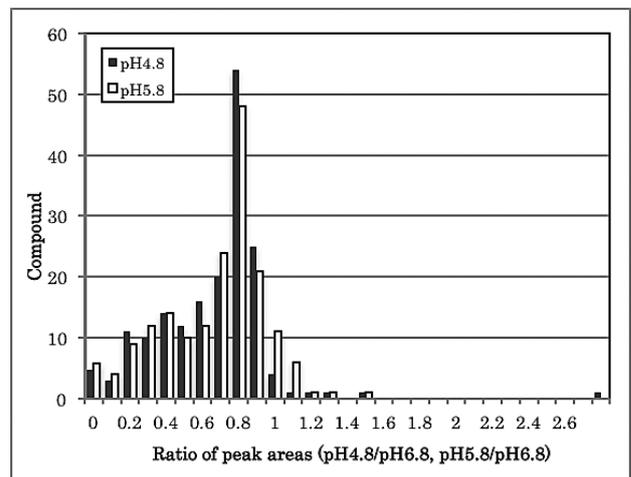


Table 2. Difference between predicted and actual retention time (min)

Laboratory	pH 4.8			pH 5.8			pH 6.8		
	Alkylamines			Alkylamines			Alkylamines		
	Average	Range	SD	Average	Range	SD	Average	Range	SD
A	0.348	0.299~0.390	0.037	0.001	-0.054~0.034	0.033	-0.151	-0.218~-0.101	0.039
B	1.038	0.553~1.781	0.434	1.214	1.010~1.639	0.226	0.595	0.527~0.704	0.070
C	0.843	0.371~1.065	0.246	0.983	0.684~1.187	0.173	0.467	0.151~0.610	0.162
D	-	-	-	-	-	-	0.691	0.395~0.808	0.153
	Pesticides			Pesticides			Pesticides		
	Average	Range	SD	Average	Range	SD	Average	Range	SD
	A	0.119	-1.227~4.887	0.792	-0.438	-2.622~4.803	2.779	-0.005	-0.512~-0.102
B	0.047	-0.359~1.781	0.336	-0.194	-0.520~1.010	0.239	-0.091	-0.205~-0.527	0.103
C	-0.223	-0.768~0.873	0.364	-0.143	-0.573~0.908	0.227	-0.129	-0.355~-0.465	0.136
D	-	-	-	-	-	-	-0.118	-0.767~-0.679	0.172

The figures are obtained by subtracting actual retention times from predicted retention times.

### (3) 試料マトリクスの影響

実試料のマトリクスの保持時間への影響を調べるために、5種の野菜試料に農薬標準液と保持指標物質を加えて測定した。その結果、標準液を用いた場合との差は見られず、マトリクスの影響は認められなかった。

## 4 まとめ

異なる装置で実保持時間が大幅に異なっても、RIを用いることで対象物質の保持時間は予測可能であり、LC-TOF-MSにおいてAIQS-DBを開発できることが示唆された。また、移動相条件はpH6.8の5 mM酢酸アンモニウム溶液が最も良いと判断された。

### 【参考文献】

- 1) 門上ら：分析化学,53,581-588 (2004)
- 2) 岩村ら：第19回環境化学討論会講演要旨集,634-635 (2010)
- 3) 宮脇ら：第19回環境化学討論会講演要旨集,635-637 (2010)

## 今年の手足口病原因ウイルス検出状況(北九州市)

北九州市環境科学研究所 村瀬浩太郎

### 1 はじめに

北九州市環境科学研究所・ウイルス部門の業務の一つである感染症発生動向調査における検査は、1999(平成11)年4月施行の「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(いわゆる感染症新法)」という法的根拠に基づいて行われている。毎週当研究所に搬入される検体(病原体)に関する情報を収集、分析、提供及び公開することは、患者への良質かつ適切な医療の提供に不可欠であり、感染症対策上重要な意義がある。

北九州市では感染症発生動向調査の一環として、協力医療機関において採取された糞便、咽頭ぬぐい液、髄液、結膜ぬぐい液からのウイルス分離・検出を行っている。主な対象疾病は、インフルエンザ、感染性胃腸炎、手足口病、ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、流行性角結膜炎、無菌性髄膜炎である。そのなかで今回は、今年全国で大流行した「手足口病」について、北九州市における原因ウイルス検出状況を報告する。

### 2 全国の検出状況

これまで手足口病はCA16、EV71、CA10が主要な病原体として報告されてきた。一昨年は手足口病患者から分離・検出されたウイルスの報告総数は280件だったが、昨年は報告総数947件と大規模な流行が見られ、主な原因ウイルスはEV71だった。

今年は、昨年以上に手足口病患者報告数が増加し、報告総数1419件(11月1日現在)と大流行した昨年を上回っている。しかもこれまでとは異なり、主な原因ウイルスはCA 6となっていた。

### 3 北九州市の検出状況

これまで当研究所では、病原体検査マニュアル(国立感染症研究所作成)記載の手足口病の検査の進め方(通常行われる実験室検査)に従って検査を実施してきた。

今年は5月末に初めて検体が搬入され、HEp-2、RD-18S、Veroの3種類の細胞に検体を接種し、これを3代まで継代を繰り返し、CPEの見られなかったものを「ウイルス分離陰性」として報告していた。6月21日搬入の検体までは、この流れで検査を実施していた。

一方、国立感染症研究所・感染症情報センターによる病原体検出情報というものがインターネットで公開されており、そこに「速報記事」というものが掲載されている。手足口病に関する記事が掲載され始めたのは7月1日からだった。

7月1日島根県、7月4日兵庫県、7月13日広島市とCA6検出に関する記事が相次ぎ、「CA 6の場合、細胞培養による分離率は低いので、病原体検査マニュアル記載のエンテロウイルスを検出するPCRを実施しよう。」と判断した。

7月5日までに搬入された10検体についてPCRを実施したところ、すべて未検出だった。7月14日には7月12日に搬入された5検体中4検体についても同様に実施したが、いずれも未検出だった。

しかし、PCR終了後の同日7月14日、インターネット上に「佐賀県における手足口病の大流行」の記事が掲載され、その内容は「CA 6:6件、CA16:12件」と、ここで初めてCA16が出現。そこでCA16を検出できるnested PCR(マニュアル未掲載)<sup>1)</sup>を実施することにした。その結果12検体からCA16を検出した。

また、nested PCRで陰性だった1検体においてRD-18S細胞でCPEを認めたため検査したところ、CA10を分離することができた。

さらに、nested PCRで陰性だった検体を乳のみマウスに接種してウイルス分離を試みたところ、3検体からCA 6、1検体からCA16を分離することができた。

手足口病検体30検体中、13検体からCA16、3検体からCA 6、1検体からCA10を分離・検出した。

検体No	定点	搬入日	診断名	細胞培養	エンテロPCR	nested PCR	マウス	シーケンス	結果
1	54	M	5/31	手足口病	-				-
2	65	K	6/7	手足口病	-				-
3	80	K	6/21	手足口病・口内炎	-				-
4	81	K	6/21	手足口病	-				-
5	82	K	6/21	手足口病	-				-
6	87	M	6/28	手足口病	-	7/7 - 7/12 -	7/21 CA16		CA16
7	88	M	6/28	手足口病	-	7/7 - 7/12 -	7/21 -	-	-
8	93	K	6/28	手足口病	-	7/7 - 7/12 -	7/21 CA16		CA16
9	94	K	6/28	手足口病 疑い	-	7/7 - 7/12 -	7/21 CA16		CA16
10	95	K	6/28	手足口病	-	7/7 - 7/12 -	7/21 -	CF:?	8/12 CA16 CA16
11	101	S	6/28	手足口病	-	7/7 - 7/12 -	7/21 CA16		CA16
12	110	K	7/5	手足口病	-	7/7 - 7/12 -	7/21 -	CF:CA6	(8/12 CA6) CA6
13	113	S	7/5	手足口病	-	7/7 - 7/12 -	7/21 CA16		CA16
14	114	S	7/5	手足口病	-	7/7 - 7/12 -	7/21 -	-	-
15	115	S	7/5	手足口病	-	7/7 - 7/12 -	7/21 CA16		CA16
16	117	K	7/12	手足口病 疑い	-		7/28 -	-	-
17	119	K	7/12	手足口病・ヘルパンギーナ	-	7/14 -	7/19 -	CF:?	8/12 CA6 CA6
18	122	Y	7/12	手足口病・無菌性髄膜炎	-	7/14 -	7/19 -	-	-
19	126	S	7/12	手足口病	-	7/14 -	7/19 CA16		CA16
20	127	S	7/12	手足口病	-	7/14 -	7/19 -	-	-
21	129	K	7/19	手足口病	-		7/21 -	-	-
22	130	K	7/19	手足口病	-		7/21 CA16		CA16
23	131	M	7/19	手足口病	-		7/21 -	-	-
24	135	S	7/19	手足口病	-		7/21 CA16		CA16
25	139	S	7/26	手足口病	-		7/28 CA16		CA16
26	140	K	7/26	手足口病	RD-18S	8/10(2) - 8/18(3) -	7/28 - 8/19 -		8/19 CA10 CA10
27	143	S	7/26	手足口病	-		7/28 -	-	-
28	151	S	8/2	手足口病	-		8/19 CA16		CA16
29	160	S	8/9	手足口病	-		8/19 -	CF:?	11/1 CA6 CA6
30	185	S	9/13	手足口病	-		9/15 CA16		CA16

#### 4 結果をふりかえって

まず手足口病の原因ウイルスについてであるが、全国的にはCA 6の検出報告が目立ったが、北九州市においてはむしろCA16が流行していたと考えられた。

次に、細胞培養による分離率の低さを考慮し、臨床検体からのエンテロウイルスPCRを実施したが、まったく検出できなかった。検出できている自治体はマニュアル以外の方法で検出している例がほとんどであり、マニュアルの変更など改善の余地があると考えられた。

さらに、当研究所ではこれまで2004年と2007年にVero細胞にてCA16を分離しているが、今年CA16は細胞で分離できなかった。他のウイルス(例：B群コクサッキーウイルスなど)の分離・検出の際にはVero細胞でもCPEを認めているため、Vero細胞自身に問題があったとは考えにくい。今後、系統樹解析などを用いて以前の株との違いを調べる必要があるかもしれない。

#### 5 おわりに

今年の手足口病に関しては、例年と異なった流行形態を示すなど、サーベイランス事業の目的である監視体制という役割を十分に発揮した年になったのではなかろうか。

手足口病だけでなく他の疾病においても、これまでとは異なった臨床症状・ウイルス分離の状況の変化、あるいは今回のようにこれまで主要な原因となっていなかったウイルスによる症状の発現などの発見・解明が期待できることから、今後も感染症の発生動向に注意していく必要があると考える。

#### 参考文献

- 1) 山崎謙治、奥野良信：2000年大阪府で流行した手足口病の遺伝子診断および分子疫学的解析,感染症学雑誌, 75：909-915, 2001