

PM_{2.5}中の化学物質の一斉分析について

北九州市保健環境研究所 ○佐藤拓、中村悦子、岡田真由、佐藤健司
北九州市立大学環境技術研究所 門上希和夫

1 はじめに

大気中の微小粒子状物質(PM_{2.5})については、呼吸器系や循環器系に及ぼす健康影響が懸念されることから、発生源解明等の目的で、全国的に成分分析(イオン成分、無機元素成分、炭素成分等)が実施されている。

一方、発がん性等が疑われている多環芳香族炭化水素(PAHs)などの化学物質については、成分分析の対象項目となっていないことや、高度な分析技術を必要とすることなどから、特に多種類の物質を一斉に調査する研究はほとんど実施されていない。

そこで今回、北九州市立大学・門上教授が開発したGC/MS用の自動同定・定量データベースシステム(AIQS-GC)を用いて、PM_{2.5}に含まれる972種類の化学物質スクリーニング調査を実施し、若干の考察を行ったので報告する。

(1) 調査対象物質

調査対象物質を表1に示す。規制対象物質、農薬及び環境中から検出事例のある化学物質等をほぼ網羅した、972種類の化学物質を対象とした。

(2) 調査地点

北九州市保健環境研究所屋上(北九州市戸畑区新池)

(3) 調査期間及び試料数

平成29年11月から平成30年3月にかけて、月1回程度、計8試料を採取した。

(4) 試料の採取及び前処理方法

環境省の「大気中微小粒子状物質(PM_{2.5})成分測定マニュアル」を参考にして行った。

ア PM_{2.5}分粒装置付のハイボリウムエアサンプラに石英繊維製フィルター(8×10インチ)をセットし、流量1,000L/分で24時間試料を採取した。

イ フィルターの半分をジクロロメタン50mlで20分間超音波抽出後、全量を窒素気流下で濃縮し、ヘキサン転溶して最終液量を1mlとした。

これに内標準溶液(島津GLC 560294)を加えてGC/MSの測定試料とした。

また、試料採取前後のフィルターの重量を測定し、PM_{2.5}の質量濃度を算出した。

(5) 分析条件

GC/MSの測定条件を表2に示す。AIQS-GCを用い、データベースに登録された保持時間とマススペクトルの類似度から同定を行い、登録検量線から定量を行った。

表1 調査対象物質

物質分類		物質数
CH構成物質	脂肪族、多環芳香族、PCBs等	190
含酸素化合物	フェノール類等	160
含窒素化合物	芳香族アミン等	113
農薬	殺虫剤、除草剤等	453
その他	PPCPs、含リン化合物等	56
計		972

表2 GC/MSの測定条件

装置	Shimadzu GCMS-QP2010 Plus
カラム	DB-5ms (30m×0.25mm,i.d.;film 0.25 μm)
オーブン	40℃ (1min) - 8℃ /min -310℃ (4min)
温度	注入口250℃、インターフェース：300℃、イオン源：200℃
測定	TIMモード、45-600u/scan, 0.3s/scan

3 結果と考察

(1) 検出された化学物質について

試料8検体の調査結果を図1に示す。8回の調査を通じて、脂肪族化合物やPAHsなど合計93種類の化学物質が検出された。燃料に含まれるn-アルカンや可塑剤として使用されるフタル酸エステルなど、工業用として一般的に広く利用されている物質が比較的高い濃度で検出された(<0.014 ~ 4.0ng/m³)。さらにPAHsは27物質と、今回の分類の中で最も多く検出された(<0.014 ~ 0.75ng/m³)。一方、農薬類については、使用が控えられた冬季の調査であったためか、ほとんど検出されなかった。

図1に化学物質濃度とともに、PM_{2.5}の質量濃度を折れ線グラフで示したが、今回の結果では検出された化学物質の濃度との相関は見られなかった。

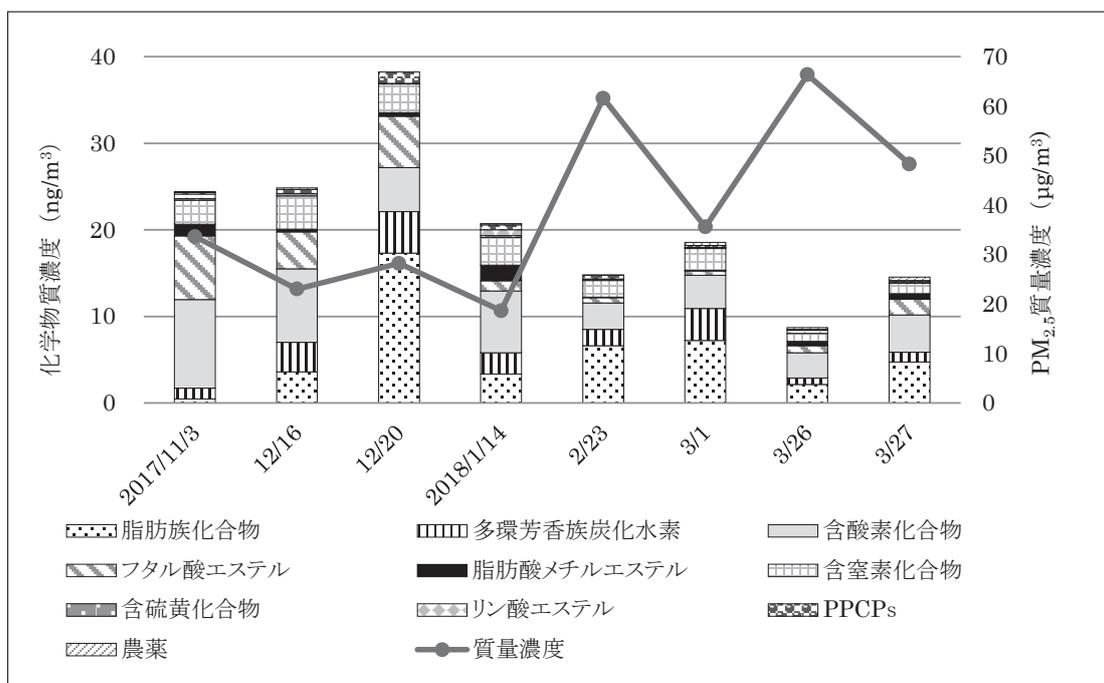


図1 AIQS-GCによる分析結果とPM_{2.5}質量濃度

(2) ベンゾ[a]ピレン (BaP)について

PAHsのうち、BaPについては大気汚染防止法で定める有害大気汚染物質の優先的に対策に取り組む物質（優先取組物質）にも指定されている。本市においても毎月市内4地点で大気粉じん中の濃度を測定している。採取した粉じんの粒径、調査期間・場所、分析方法等が本研究とは異なっているが、参考として比較を行った。

その結果、平成29年度の有害大気汚染物質調査におけるBaP濃度範囲は0.017～2.8ng/m³で、本研究のBaP濃度範囲は0.026～0.20ng/m³となっており、濃度レベル的にも概ね整合性がとれていた。

(3) PAHsの発生源について

大気粉じん中PAHsの発生源を推定するため、PAHs間の濃度比を指標として用いる方法がある^{1) 2)}。本研究では、FluorantheneとPyreneの組成比 (Flu/ (Flu+Pyr)) とIndeno (1,2,3-cd) pyreneとBenzo (ghi) perylene の組成比 (Idp/ (Idp+BgPe)) を用いて解析した(表3)。

本調査期間においてFlu/ (Flu+Pyr)は>0.5となり、バイオマス及び石炭燃焼由来であることが推定された。次に、(Idp/ (Idp+BgPe))は0.45～0.55の範囲にあり、今回の解析では石油燃焼由来に比べてバイオマス及び石炭燃焼由来の可能性が高いことが示唆された。

表3 PAHs組成比による発生源の推定

		Flu/ (Flu+Pyr)	Idp/ (Idp+BgPe)
石油揮散由来		<0.40	<0.20
石油燃焼由来		0.40-0.50	0.20-0.50
バイオマス及び石炭燃焼由来		>0.50	>0.50
本調査結果	2017/11/3	0.62	0.51
	2017/12/16	0.65	0.55
	2017/12/20	0.57	0.46
	2018/1/14	0.65	0.52
	2018/2/23	0.64	0.52
	2018/3/1	0.63	0.52
	2018/3/26	0.65	0.45
	2018/3/27	0.62	0.46
	全調査期間	0.57～0.65	0.45～0.55

4 まとめ

本報告の結果を以下に記す。

- ・平成29年11月から平成30年3月にかけてPM_{2.5}に含まれる972種類の化学物質スクリーニング調査を実施した。
- ・8回の調査を通じて、脂肪族化合物やPAHsなど合計93種類の化学物質が検出された。
- ・n-アルカンやフタル酸エステルなど、環境常在物質が比較的高い濃度で検出された。PAHsは27物質と最も多く検出された。
- ・PAHsの組成比を指標として発生源を推定したところ、今回の調査期間におけるPAHsはバイオマス及び石炭燃焼由来の可能性が高いことが推定された。

今後も調査を継続することで、検出される化学物質の種類や濃度等の季節変動を詳細に解析し、本市におけるPM_{2.5}の発生源の解析を進めたい。

(参考文献)

- 1)中村 心一ほか：長崎県環境保健研究センター所報 58 (2012) 39-44.
- 2)宮脇 崇ほか：福岡県保健環境研究所年報 43 (2016) 59-64.

巻貝食中毒！ テトラミン迅速試験法の開発

北九州市保健環境研究所 ○苗床江理 久保田昌嗣

1 はじめに

平成29年9月に発生した巻貝食中毒事件について、原因物質を特定するために、未経験の理化学試験に取り組んだ現場の状況や今後の緊急時迅速対応に向けての試験法整備の取り組みについて報告する。

2 巻貝食中毒事件の概要

巻貝食中毒事件の概要は以下のとおり。

平成29年9月26日

午前4時半頃 夫婦で北九州市中央卸売市場にて巻貝を購入

6時半頃 自ら調理し喫食(二人で6個)

8時頃 めまい、物が二重に見える、おう吐、手の痺れ等の症状を呈し救急搬送
診察医師は、巻貝喫食によるテトラミン中毒症状と診断

数時間後 二人とも回復



3 巻貝食中毒原因物質 テトラミンとは

テトラミンは、エゾバイ科などの巻貝の「だ液腺」に含まれる神経毒の一種である。テトラミンを持つ巻貝は肉食性であることから、捕食する魚貝類を一時的に麻痺させるために神経毒であるテトラミンを産生すると考えられている。^{※1)}

このテトラミンは加熱調理では分解しない。そのため、必ず「だ液腺」を丸ごと除去し、水洗いしなければならない。しかしながら、この「だ液腺」は、肉質の内部にあり、肉質を切り開かないと見えない箇所にあるため、この巻貝に慣れてない人は巻貝食中毒を惹き起こしやすくなる。

なお、この巻貝食中毒は、全国的には毎年数件程度発生しているが、回復が早く死亡例はない。

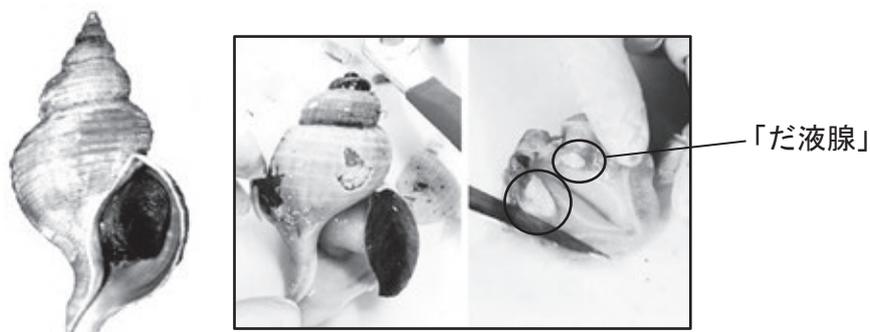


図1 原因巻貝とそのだ液腺(写真)

4 事件当時における原因物質の特定

巻貝食中毒事件発生当時、原因物質を特定するために、未経験の理化学試験に取り組んだ状況は以下のとおり。

当日(9月26日)午後 保健所からテトラミン試験の口頭依頼

試験法の文献調査

検体搬入(調理残品と未調理) 検体処理(殻割りなど)

翌日(9月27日) 厚労省例示法による前処理

LS/MS/MS測定(定性) テトラミン検出を速報報告

3日目(9月28日) 検量線や希釈濃度などのLC/MS/MS測定条件の検討

LC/MS/MS測定(定量) テトラミン濃度報告

5 緊急時迅速対応するために試験法の改良

巻貝食中毒事件発生当時は、厚生労働省例示法を採用し、原因物質テトラミンを特定できた。

しかしながら、3カ月後に試験を再現した際に、厚生労働省例示法に幾つか問題があることが判明した。そこで今回、それらの問題の解決と緊急時に迅速対応できるようにするため、試験法の改良について検討した。

5.1 LC/MS/MS測定条件の検討

9月時点では、厚生労働省例示法のLC/MS/MSカラム条件で、保持時間4.2分にシャープなテトラミンのピークを検出できていた(図2上段参照)。しかし、3カ月後の12月には、大きなテーリングが見られ、再現性がとれなくなった(図2中段参照)。これは、カラム保存時における残存溶離液の酸性成分によるカラム分子構造の開裂が原因と推測された。

そこで、取扱いが比較の難しいHillicカラムを断念し、取扱いが簡単で再現性の良い汎用型のC18カラムを採用することとした。また、水溶性物質であるテトラミンでも、カラム先端濃縮できるように断面積の大きなタイプを選択し、検討した。

その結果、保持時間1.9分とあるものの、

再現性良く検出できるようになった(図2下段参照)。また、測定時間も10分から5分サイクルに半減でき、迅速測定を可能にした。

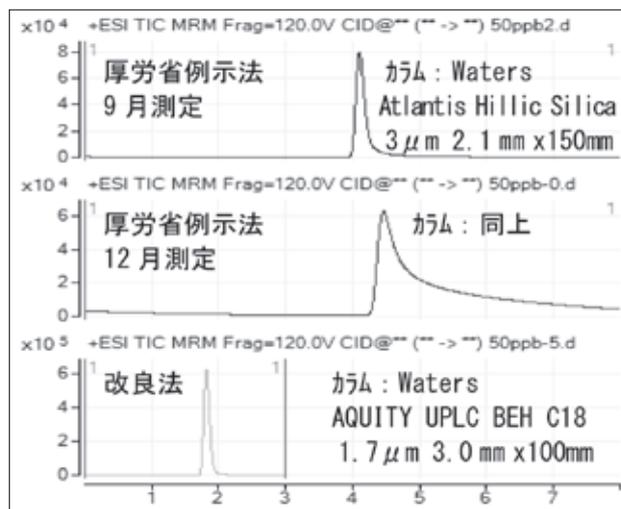


図2 テトラミン標準品LC/MS/MS-MRMクロマトグラム

表1 LC/MS/MS測定条件

装置	Agilent 6460 LC/MS/MS (Agilent)
カラム	AQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm 3.0x100mm(Waters) 40℃
移動相	メタノール：50mMギ酸アンモニウム水溶液(pH3.5) (1：1) 0.2mL/分
注入量	3 μL
イオン化モード	AJS ESI Posi キャピラリー電圧3000V
モニターイオン	m/z74.1→58.2 フラグメンター 120V コリジョン 26V

5.2 前処理方法の検討

厚生労働省例示法におけるその他の問題点として、遠心式限外ろ過によるろ過不足がある。マニュアル指示よりも回転数や時間を大きく変えても、十分なろ過量は得られなかった。この操作に掛かる時間は大きく、緊急時対応としては不向きであった。

そこで、緊急時対応を可能とするために前処理方法を表2のように改良した。

主な改良点は、次のとおり。

- ① テトラミンはLC/MS/MSのイオン化が非常に容易で感度が高いため、主に希釈だけで十分と判断し、遠心式限外ろ過操作を除外した。
- ② 複数の希釈操作をPP遠沈管による1回とし、使用器具種と時間、手間を大幅に削減した。

なお、繰り返し試験(n=3)の結果、試験精度も問題ないと確認できた。

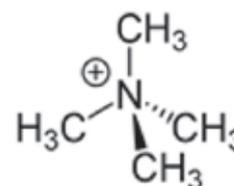


図3 テトラミン構造式
(テトラメチルアンモニウムイオン)

表2 操作フロー比較

厚労省例示法		改良法	
試料採取	2g ←メタノール 25mL (2 回目 20mL)	試料採取	2g ←メタノール 25mL (2 回目 20mL)
ホモジナイズ	3 分 (2 回目は不要)	ホモジナイズ	1 分 (2 回目は不要)
超音波抽出	15 分 (2 回目同様)	超音波抽出	15 分 (2 回目同様)
遠心分離	2500rpm10 分 (2 回目同様)	遠心分離	3000rpm5 分 (2 回目同様)
定 容	メタノールで 50mL	定 容	メタノールで 50mL
ろ 過	PTFE0.45 μ m	希 釈	50%メタノールで 1000 倍に
希 釈	50%メタノールで 10 倍に	フィルター・バイアルろ過	PTFE0.2 μ m
遠心式限外ろ過	3500rpm30 分	試験溶液	
希 釈	50%メタノールで 100 倍に		
試験溶液			
所要時間	2 検体で約 3 時間 6 検体で約 5 時間	所要時間	2 検体で約 1.5 時間 6 検体で約 2.5 時間
試験精度 (n=3、 σ I)	平均回収率 79.3% 変動係数 2.0%	試験精度 (n=3、 σ I)	平均回収率 83.0% 変動係数 1.8%

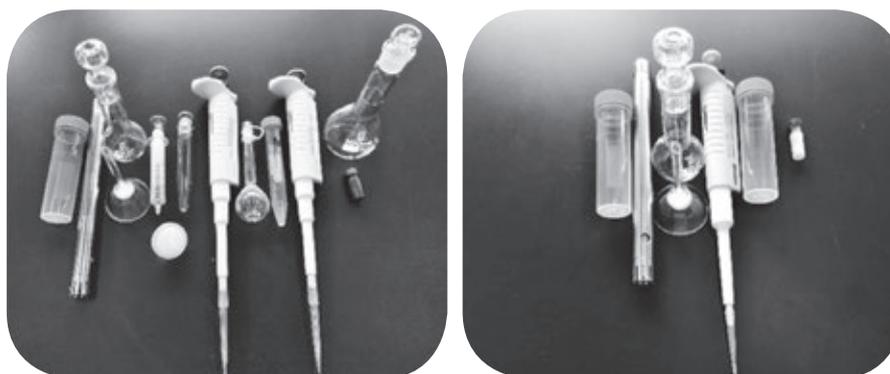


図4 前処理に使用する器具種(写真)
(左：厚労省例示法 右：改良法)

6 検体巻貝のテトラミン濃度

3カ月冷凍保存していた検体の試験結果を表4に示した。持込み巻貝(未調理)では、だ液腺を含めた身に、およそ400-500 μ g/gのテトラミンを検出した。個体当たりでは、小さいもので11mg、大きいもので30mgのテトラミンを検出した。

持込み調理残品のテトラミン濃度570 μ g/gは、未調理の持込み巻貝の濃度よりも大きい値であるが、持込み調理残品は、醤油などで煮詰めたものであり、やや濃縮されていたと推測される。

事件当日、二人で6個喫食しているので各々テトラミンを70mg程度摂取したと推測される。その量は、日本中毒情報センターによると数十mgで発症とあり、テトラミン食中毒を発症するに十分な量であった。

なお、事件発生当時における持込み調理残品の報告値はテトラミン23mgであり、今回の測定値24mgとほぼ同様であり、事件発生当時において厚生労働省例示法で対応したことに問題は無かったと推測される。

表4 持込み巻貝や調理残品のテトラミン濃度

殻付き重量	殻抜き重量	濃度	個体当たり	備考
50g程度	平均23g	460 μ g/g	11mg	12個体分
60g-80g	平均38g	490 μ g/g	19mg	10個体分
124g	75g	410 μ g/g	31mg	1個体分
125g	80g	370 μ g/g	30mg	1個体分
持込調理残品	42g	570 μ g/g	24mg	1個体分

7 まとめ

巻貝食中毒事件発生当時、未経験かつ測定機器の故障トラブルを抱えつつも、厚労省例示試験法で何とか対応できた。

後日、食中毒発生などの緊急時に迅速対応できるよう試験法を改良した。

今後は、その他の項目の試験法も改良し、緊急時迅速体制の更なる拡充を図っていく。

出典 ※1)愛知県衛生研究所生物学部 医動物研究室HP



果実中防かび剤8種の試験法の開発

保健環境研究所 衛生化学部門

○苗床江理 工藤 鋭 東 輝明 藤本啓太 野村義夫

1 はじめに

輸入果実には、コンテナ船による長距離輸送中の品質保持のために、食品添加物の防かび剤が使用されており、農産物としては比較的高頻度・高濃度で検出される。

そのため、市民の食の安全・安心のため、防かび剤のモニタリングの重要度は高い。

昨年度まで、食品衛生検査所では、輸入果実の防かび剤及び残留農薬試験を ①LCMSMS法 ②GCMS法 ③HPLC法の3種類の方法により実施しており、かなりの作業量であった。

そこで、今年度、食品衛生検査所の保健衛生研究所への組織統合に伴い、防かび剤8種の迅速一斉試験法の開発を行い、作業量の軽減を試みたことについて報告する。

表1 主な輸入果実と原産国(2017年農水省)

品目	輸入量(t)	主たる原産国
1 バナナ	985,709	フィリピン エクアドル
2 パイナップル	156,962	フィリピン コスタリカ
3 キウイフルーツ	92,981	ニュージーランド チリ
4 オレンジ	90,593	アメリカ オーストラリア
5 グレープフルーツ	78,069	南アフリカ国 アメリカ
6 アボガド	60,635	メキシコ ペルー
7 レモン	50,800	アメリカ チリ

2 防かび剤とは

柑橘類、果物類の収穫後に使用される防かび剤は、食品衛生法では「農薬」でなく、「食品添加物」としての使用が認められているため、比較的高頻度・高濃度で検出される。

防かび剤の使用基準は、農薬の残留基準よりも高く、その検出濃度も一般的に大きい。

実際に、平成27-29年度の食品衛生検査所における輸入果実の農薬・防かび剤試験の検出の8割は、防かび剤によるものであった。ただし、その使用基準を超えるものは無かった。

表2 防かび剤の使用基準

品名	対象食品	最大限度g/kg
アゾキシストロビン	かんきつ類(みかんを除く)	0.010
イマザリル	かんきつ類(みかんを除く)	0.0050
	バナナ	0.0020
オルトフェニルフェノール	かんきつ類	0.010
ジフェニル	グレープフルーツ、レモン、オレンジ類	0.070
チアベンダゾール	かんきつ類	0.010
	バナナ	全体 0.0030 果肉 0.0004
ピリメタニル	あんず、おうとう、かんきつ類(みかんを除く)、すもも、もも	0.010
	西洋なし、マルメロ、りんご	0.014
フルジオキシニル	あんず、おうとう、ざくろ、すもも、西洋なし、ネクタリン、びわ、マルメロ、もも、りんご	0.0050
	キウイ	0.020
	かんきつ類(みかんを除く)	0.010
プロピコナゾール ※H30年7月～	かんきつ類(みかんを除く)	0.008
	おうとう、あんず、ネクタリン、もも	0.004
	すもも	0.0006

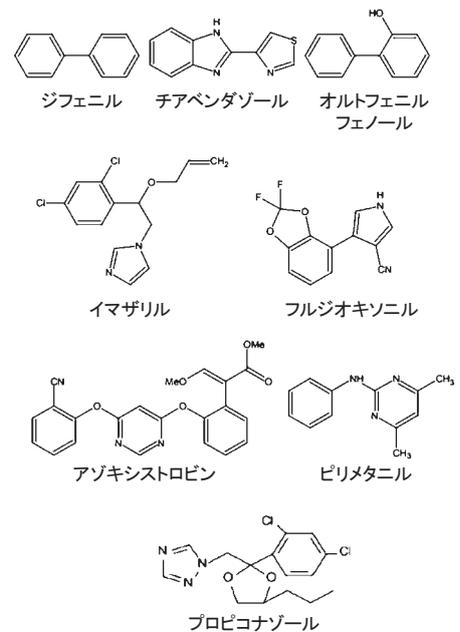


図1 防かび剤の構造

3 開発した防かび剤8種の一斉試験法(GC/MS/MS法とLC/MS/MS法)

今回、吉岡直樹らのLC/MS/MS試験法¹⁾を参考に種々の検討を行い、簡易な前処理方法によるGC/MS/MSとLC/MS/MSの防かび剤8種の一斉試験法(表3参照)を開発した。

今後、この試験法の妥当性評価を実施し、標準作業手順書(SOP)を作成する予定である。

表3 前処理方法と添加回収試験結果

前処理方法	添加回収試験結果 (添加濃度：バナナ果肉 0.0002g/kg その他 0.002g/kg、n=1)				
	防かび剤 品名	測定機器	レモン	バナナ全体	バナナ果肉
試料 10g を 50mLPP 遠沈管に採り、5NNaOH1mL とアセトニル 10mL を加え、1 分間ホモジナイズする。これに NaCl1g と無水 MgSO ₄ 4g を加え 3 分間振とう後、遠心分離する。上澄み液を 20mL メスフラスコに移す。更に PP 遠沈管に 5mL アセトニルを加え、振とう後、遠心分離し、その上澄みもメスフラスコに入れ、アセトニルで 20mL 定容したものを抽出液とする。 抽出液 1mL を Z-Sep/C18 チューブに採り、1 分間振とう後、遠心分離する。上澄みを 15%アセトンヘキサンで希釈したものを GC/MS/MS 用検液、50%水アセトニルで希釈したものを LC/MS/MS 用検液とする。	アゾキシストロビン	LC/MS/MS	122%	115%	112%
	イマザリル	LC/MS/MS	89%	79%	71%
	オルトフェニルフェノール	GC/MS/MS	107%	90%	86%
	ジフェニル	GC/MS/MS	89%	81%	93%
	チアベンダゾール	LC/MS/MS	82%	84%	75%
	ピリメタニル	LC/MS/MS	75%	95%	85%
	フルジオキシニル	LC/MS/MS	111%	100%	96%
	プロピコナゾール	LC/MS/MS	86%	95%	92%

4 昨年度までの防かび剤及び残留農薬の試験法との作業量の比較

今年度の食品衛生検査所の組織統合に伴い、平成31年2月から、残留農薬と防かび剤の試験方法について下図のとおり大幅な変更を行う予定である。これにより、かかる作業量の軽減が図れるとともに、未測定であった防かび剤フルジオキシニルを測定対象に追加できる見通しとなった。

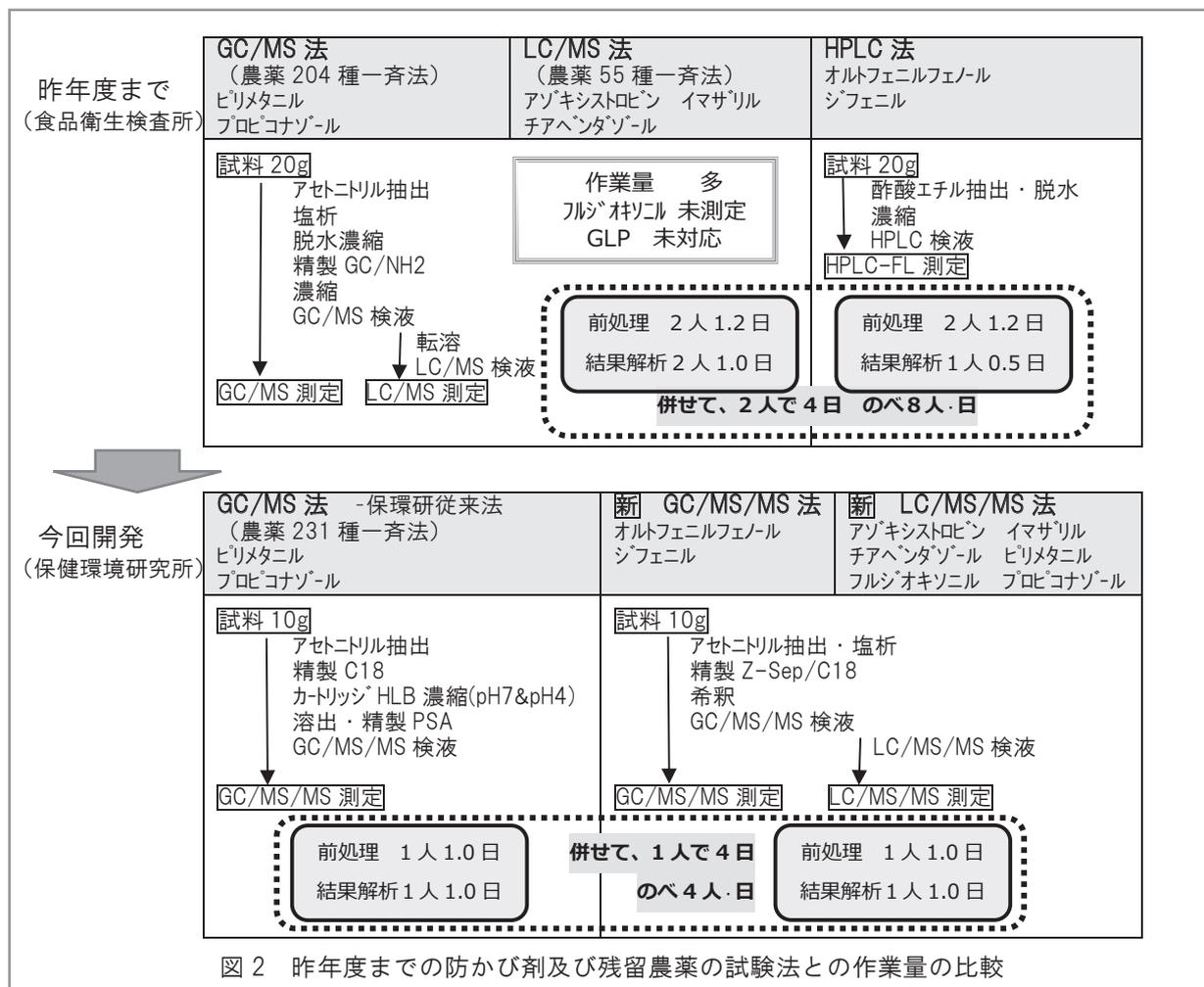


図2 昨年度までの防かび剤及び残留農薬の試験法との作業量の比較

1) 吉岡直樹ら, かんきつ類における7種防かび剤の迅速分析法の検討, 食衛誌, 56(5), p228-232(2015).

北九州市内におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症の 発生状況

北九州市保健環境研究所

○有川衣美、村瀬浩太郎、大羽広宣、二宮正巳

〈背 景〉

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(以下、CRE)感染症は、2014年9月19日に感染症法に基づく5類全数把握疾患に追加され、医師による届出が行われている。2014年から2017年までの北九州市における届出は72例であった。性別は男性が48例(66.7%)、診断時年齢の中央値は78歳(範囲0～100歳)で、65歳以上が全体の84.7%を占めた。症状は、肺炎27.8%、尿路感染症25.0%、菌血症16.7%の順に多かった。菌種は*Enterobacter cloacae* 38.9%、*Enterobacter aerogenes* 26.4%、*Escherichia coli* 12.5%、*Klebsiella pneumoniae* 11.1%の順に報告された。

地方衛生研究所では、2017年3月28日に発出された厚生労働省健康局結核感染症課長通知に則り、医療機関から分与された菌株について、耐性遺伝子等の試験検査を行っている。

〈方 法〉

通知に基づき、提出された菌株について、PCR法によるカルバペネマーゼ遺伝子の検出(IMP型、GES型、VIM型、KPC型、NDM型、OXA-48型)、 β -ラクタム耐性機序の確認のためPCR法による耐性遺伝子の検出(基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)遺伝子、AmpC β -ラクタマーゼ遺伝子)、阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性の確認等を行っている。

〈結 び〉

当所へ搬入されるCRE菌株の遺伝子検査等を引き続き行い、保健所とともに当市におけるCRE感染症の発生状況を把握し、拡大防止に努めていきたい。