

1 保健科学課
(1) 微生物係

調査研究名	研究の概要																																																																																																								
<p>札幌市内で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) における薬剤耐性遺伝子の検出状況について</p> <p>研究担当者：坂本裕美子</p> <p>研究期間：平成 30 年度</p>	<p>【目的】 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) とは、カルバペネム系薬剤及び広域 β-ラクタム剤に対し耐性を示す腸内細菌科細菌の総称である。近年、米国をはじめとした世界規模で CRE が流行してきており、この対策が大きな課題となっている。平成 29 年 3 月 28 日付厚生労働省通知において CRE 感染症の届出がなされた場合、地域における薬剤耐性菌の流行状況を把握するため、地方衛生研究所等における耐性菌に係る解析と流行状況把握の必要性が示された。そこで、今年度札幌市保健所に届け出のあった CRE、VRE、MDRA の菌株について薬剤耐性遺伝子等の検査を実施し、札幌市の薬剤耐性菌流行状況について把握するとともに、医療機関へ情報提供することを目的とする。</p> <p>【方法】 2018 年 4 月から 2019 年 3 月の間に CRE 感染症として届出された 10 株について</p> <p>①ディスク拡散法による β-ラクタマーゼ産生性確認試験 ②カルバペネマーゼ産生試験 ③PCR 法による β-ラクタマーゼ遺伝子型確認試験</p> <p>を実施した。具体的には、</p> <p>①ディスク拡散法：β-ラクタマーゼ阻害剤であるクラブラン酸 (CVA)、スルバクタム (S/A)、メルカプト酢酸ナトリウム (SMA)、アミノフェニルポロン酸 (APB)、クロキサシリン (MCIPC) をそれぞれ含有したディスクを用いて β-ラクタマーゼ産生性を確認した。 ②カルバペネマーゼ産生試験：mCIM 法によりカルバペネマーゼ産生の有無を確認した。 ③PCR 法による β-ラクタマーゼ遺伝子型確認：カルバペネマーゼ遺伝子 (KPC 型、IMP 型、NDM 型、VIM 型、OXA-48 型、GES 型)、ESBL 遺伝子 (TEM 型、SHV 型、CTX-M-1group、CTX-M-2group、CTX-M-9group、CTX-M-8/25group)、AmpC 遺伝子 (MOX 型、CIT 型、DHA 型、ACC 型、EBC 型、FOX 型) の計 18 遺伝子について保有の有無を確認した。</p> <p>【結果】 10 株の検査結果を表 1 に示す。</p> <p>表1</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">番号</th> <th rowspan="2">菌種</th> <th colspan="5">ディスク拡散法</th> <th rowspan="2">検出遺伝子</th> <th rowspan="2">mCIM 法</th> </tr> <tr> <th>SM A</th> <th>AP B</th> <th>MCIP C</th> <th>CV A</th> <th>S/A</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td><i>E. coli</i></td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>OXA-48 型</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td><i>E. coli</i></td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>CTX-M-9 group</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td><i>E. aerogenes</i></td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td><i>E. aerogenes</i></td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td><i>E. aerogenes</i></td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td><i>E. cloacae</i></td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>EBC 型</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td><i>E. asburiae</i></td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>EBC 型</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td><i>E. asburiae</i></td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>EBC 型</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td><i>C. braakii</i></td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td><i>K. pneumoniae</i></td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>SHV 型</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table> <p>+: 阻害あり -: 阻害なし</p>	番号	菌種	ディスク拡散法					検出遺伝子	mCIM 法	SM A	AP B	MCIP C	CV A	S/A	1	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	OXA-48 型	+	2	<i>E. coli</i>	-	-	-	+	-	CTX-M-9 group	-	3	<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	4	<i>E. aerogenes</i>	-	+	+	-	-	-	-	5	<i>E. aerogenes</i>	-	+	+	-	-	-	-	6	<i>E. cloacae</i>	-	+	+	-	-	EBC 型	-	7	<i>E. asburiae</i>	-	+	+	-	-	EBC 型	-	8	<i>E. asburiae</i>	-	+	+	-	-	EBC 型	-	9	<i>C. braakii</i>	-	+	+	-	-	-	-	10	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	SHV 型	-
番号	菌種			ディスク拡散法							検出遺伝子	mCIM 法																																																																																													
		SM A	AP B	MCIP C	CV A	S/A																																																																																																			
1	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	OXA-48 型	+																																																																																																	
2	<i>E. coli</i>	-	-	-	+	-	CTX-M-9 group	-																																																																																																	
3	<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-																																																																																																	
4	<i>E. aerogenes</i>	-	+	+	-	-	-	-																																																																																																	
5	<i>E. aerogenes</i>	-	+	+	-	-	-	-																																																																																																	
6	<i>E. cloacae</i>	-	+	+	-	-	EBC 型	-																																																																																																	
7	<i>E. asburiae</i>	-	+	+	-	-	EBC 型	-																																																																																																	
8	<i>E. asburiae</i>	-	+	+	-	-	EBC 型	-																																																																																																	
9	<i>C. braakii</i>	-	+	+	-	-	-	-																																																																																																	
10	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	SHV 型	-																																																																																																	

	<p>【考察】</p> <p>今回検査した 10 株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子が検出されたのは OXA-48 型に属する 1 株のみであった。それ以外は、ESBL 産生株 2 株 (CTX-M-9group1 株、SHV 型 1 株)、AmpC β-ラクタマーゼ産生株 3 株 (EBC 型 3 株)、いずれの遺伝子も検出されなかった株が 4 株であった。</p> <p>ESBL 産生株 2 株のうち、ディスク拡散法による結果と不一致となった 1 株 (SHV 型)については、第三世代セファロスポリン系薬剤(セフトジジム、セフォタキシム)で大きな阻止円形成が認められたこと、クラブラン酸、スルバクタムで阻害がほとんど認められなかったことからペニシリナーゼのタイプであったと思われる。</p> <p>日本国内において、CRE におけるカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE)の割合は30%前後と報告されている。今回の検査ではCPEは10株中1株のみであったことより、本市においてCPEはそれほど流行していないように思われる。</p>
<p>キャピラリーシーケンサーを用いた結核菌の遺伝子型別法の検討</p> <p>研究担当者：石黒真琴</p> <p>研究期間：平成 30 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>平成 21 年から VNTR 法により結核菌の遺伝子型別分類を実施してきたが、VNTR 法において PCR 産物のサイズを確認する際、結核菌の株や VNTR 領域によっては PCR 産物の分子量が大きくなり、アガロースゲル電気泳動では解析が難しく精度の低い結果となる。当所において電気泳動装置として使用しているキャピラリー電気泳動装置 QIAxcel についても、分子量の大きい領域での精度が不安定であり、結果判定時の課題となっている。</p> <p>そのため本研究では、分子量の大きい領域についても高精度に解析が可能とされるキャピラリーシーケンサーを用いたフラグメント解析による遺伝子型別法を検討し、検査精度の向上を図る。</p> <p>【方法】</p> <p>過去の外部精度管理で配布された各 VNTR 領域のリポート数が既知の DNA を使用して解析を行った。蛍光色素でラベルされたプライマーによる PCR 産物の大きさを、キャピラリーシーケンサーを用いたフラグメント解析により算出した。</p> <p>【結果及び考察】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・泳動用サンプルの混合比率および最適希釈率の検討 <p>VNTR 領域により PCR 産物の濃度が大きく異なり、また、使用する蛍光色素の種類により発光強度が異なるため、泳動用サンプルを適した濃度に希釈する必要がある、キャピラリーシーケンサーにより解析する際に支障のないサンプル濃度にするための検討を行った。数検体について泳動した結果から検討した希釈率を他のサンプルについて適応したが、すべてのサンプルで最適とはならなかった。使用したテンプレート DNA の濃度はすべて同程度に調整されているが、それでも PCR 産物の濃度は常に一定にはならず、実試料で行う際は、濃度を高めに希釈して泳動し、過剰なものについて適宜希釈後、再泳動する必要があると考えられる。今回の検討で最も PCR 産物の濃度が薄かったものに合わせて再度濃度設定を行い、実試料を用いての検討を進める予定である。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・解析ソフトの設定 <p>リポート数が既知のサンプルピークから、サイズとリポート数を解析ソフトにテンプレートとして登録した。既報のプライマー配列を用いたが、キャピラリーシーケンサーにより解析された PCR 産物のサイズが理論値と大きく異なる領域が 6 領域あった。結核菌の遺伝子は GC リッチであることが知られており、GC リッチ配列は構造が変化して泳動速度に影響を及ぼす可能性があると考えられるため、これらのずれはその影響であると思われる。。</p>

次世代シーケンサーを用いたウイルス感染症の解析の検討

研究担当者：大西麻実

研究期間：平成 29～31 年度

【目的】

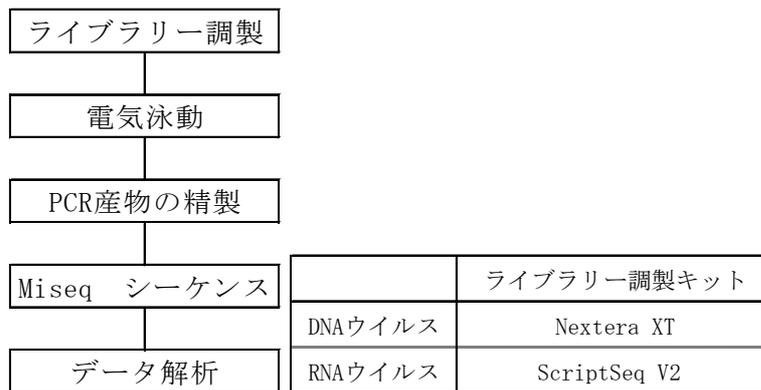
現在当所で行っている感染症の検査は臨床診断や症状などからあらかじめターゲットを絞り、PCR 法などで病原体の同定を行っている。PCR 法は想定した病原体しか検出できないため、検出できなかった場合は多くの病原体の中から模索することとなり、業務量及び試薬コストが増加し、検査対応が困難となり原因病原体を特定できない場合がある。

近年開発された次世代シーケンサーは膨大なゲノム情報を得られるだけでなく、ターゲットを決めずに病原体を検出できるため、スクリーニングとして大変有用である。

本研究では、原因不明感染症などの病原体同定のため、次世代シーケンサー（以下、NGS）を用いた解析法を検討するとともに、感染症発生动向調査において病原体が不検出であった臨床検体等の解析を行うことを目的とする。

【方法】

平成 28、29、30 年度の感染症発生动向調査で収集された検体の中から「病原体不検出」となった臨床検体及び細胞分離により細胞変性効果が認められた検体のうち、PCR 法において病原体が特定できなかった検体について NGS を用いた解析の検討を行った。このうち、NGS でウイルスが検出された検体は PCR 及びダイレクトシーケンスを行い、一部の塩基配列について確認を行った。



【結果及び考察】

今年度は KB 細胞で細胞変性効果が確認された分離株 4 検体と臨床検体（咽頭ぬぐい液及び髄液、尿）26 検体の計 30 検体について RNA ウイルスの解析を行った。30 検体のうち、18 検体でウイルスが検出され、12 検体はウイルス不検出となった。ウイルスが検出された 18 検体のうち、8 検体は PCR 及びダイレクトシーケンスによる結果と一致し、10 検体は PCR により検出できなかった。

今回の結果より、NGS は PCR で病原体が同定できないものや混合感染例などにも非常に有用であった。検体の採取時期によっては偽陰性や偽陽性の可能性があるため、急性期に検体が採取されることが望ましく、また解析結果の精査が必要である。

RNA ウイルスのライブラリー調製試薬が製造中止のため、新たな試薬を用いたライブラリー調製の検討が必要である。

現在の札幌市のイントラネット環境ではデータの解析が複雑になり、解析結果のデータ容量が大きく処理時間に時間がかかる。また、現在 2 検体についてデータ容量が大きいためダウンロードができず、データの確認ができないため、インターネット環境の整備を考えていかなければならない。

<p>食品のノロウイルス検査におけるパンソルビン・トラップ法の検討</p> <p>研究担当者：島崎梨絵</p> <p>研究期間：平成 30 年度</p>	<p>【目的】 現行の前処理法(超遠心法)により食品検体からノロウイルスが検出される事例が少ない状況であるため、平成 25 年 10 月 22 日付け食安監発 1022 第 1 号で改正された「ノロウイルス検出法について」に記載された一般食品からのウイルス濃縮法であるパンソルビン・トラップ法(パントラ法)による検査の実用性を検討する。</p> <p>【方法】 検査用食品に 1.0×10^5/mL 濃度となるように調製した糞便由来のノロウイルスを添加し、パントラ法及び超遠心法で添加回収試験を行い、その実用性を検討した。</p> <p>【結果及び考察】 パントラ法、超遠心法ともに 1st PCR ではウイルスを検出できなかった。また、パントラ法は実際に検査を行うと、手順が多く煩雑であり、検体数が多く迅速な結果を求められる食中毒事例の際は対応が難しいことが分かった。 また当所では、1st リアルタイム PCR のみを行い結果を判定していたが、Nested リアルタイム PCR で行ったところ、検体によっては超遠心法でも検出可能されたため、手順が簡易である超遠心法で行うこととしたい。 しかしながら Nested PCR は 1st PCR よりコンタミネーションの可能性が高くなるため、便検体との検査の分け方(時間的、物理的など)の検討及び食品別の検出率の確認が必要である。</p>
---	---

(2) 母子スクリーニング検査係

調査研究名	研究の概要						
<p>LC-MS/MS による有機酸の分析法の基礎検討</p> <p>研究担当者：手塚美智子 吉永美和 石川貴雄</p> <p>研究期間：平成 30～32 年度</p>	<p>【目的】 先天性代謝異常症の一次検査（タンデムマス検査）では、主に有機酸代謝異常症において、1つのアシルカルニチンが複数の疾患の指標となるケースがある。各疾患において特異的に検出される有機酸も疾患の指標となり得るが、先天性代謝異常検査における有機酸の分析系はまだ確立されていない。より早期に疑い疾患を特定できるよう、新生児マススクリーニングのろ紙血検体を用いた有機酸の分析系の構築について検討する。</p> <p>【方法】 高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析装置 LC-MS/MS-8050（島津製作所製）及び分離カラムを用いて、12種類の有機酸（ピルビン酸、乳酸、3-ヒドロキシプロピオン酸、3-ヒドロキシイソ吉草酸、2-メチル-3ヒドロキシ酪酸、コハク酸、メチルマロン酸、グルタル酸、3-メチルグルタル酸、3-ヒドロキシグルタル酸、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸、メチルクエン酸）の分析法を検討する。</p> <p>【結果及び考察】 メチルクエン酸を除く 11種類の有機酸について、検出条件の検討を行い、4種類の逆相カラム（InertSustainC18, InertSustainAQ18, LunaOmega PolarC18, ScherzoSWC18）を使用して分離条件の検討を行った。ScherzoSWC18カラムを用いることで最も良好な結果が得られたので、その分離条件及びクロマトグラムを下図に示す。3-ヒドロキシプロピオン酸(3-OH-PA)及び3-ヒドロキシグルタル酸(3-OH-GA)ではピーク割れが見られ、3-ヒドロキシプロピオン酸(3-OH-PA)は感度不良であり、構造異性体であるコハク酸(SA)及び2-メチル-3ヒドロキシ酪酸(2-Me-3-OH-BA)では分離が不十分であった。</p> <div data-bbox="526 1086 1420 1545"> <p>カラム: ScherzoSWC18 (3µm, 150 × 2.0mm)</p> <p>A: 0.1% HCOOH H₂O B: CH₃CN Flow: 0.3ml/min カラム温度: 37°C</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (min)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.01</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table> </div> <p>図 有機酸の分離条件及びクロマトグラム</p>	時間 (min)	B (%)	0.01	20	5	20
時間 (min)	B (%)						
0.01	20						
5	20						

新生児マススクリーニング
用濾紙血の保存性評価のための研究

研究担当者：山岸卓弥
藤倉かおり
阿部正太郎

研究期間：平成 30 年度

【目的】

新生児マススクリーニング用濾紙血の保存が内分泌検査の測定対象物質に与える影響を確認し、検査の精度向上を図る。

【方法】

ELISA 法により測定している新生児マススクリーニング内分泌検査 3 項目について、過去 10 年間に測定を 2 回行った検体のデータを収集し、2 回の差異を解析する。

【結果及び考察】

2 回目測定において、特に FT4 は上昇傾向、TSH は低下傾向にあった(図 1) が、いずれの項目でも経過日数と測定値の間に相関は認められなかった(図 2)。2 回目測定までの時間は最長で、170HP, FT4 で 200 日程度、TSH で 100 日程度であったが、当該期間内において各指標物質は検体内で安定的に存在していると考えられた。

2 回目測定において、一定の傾向をもって測定値がずれるのは平均への回帰によるものである可能性があると思われた。

● 1回目測定 ○ 2回目測定

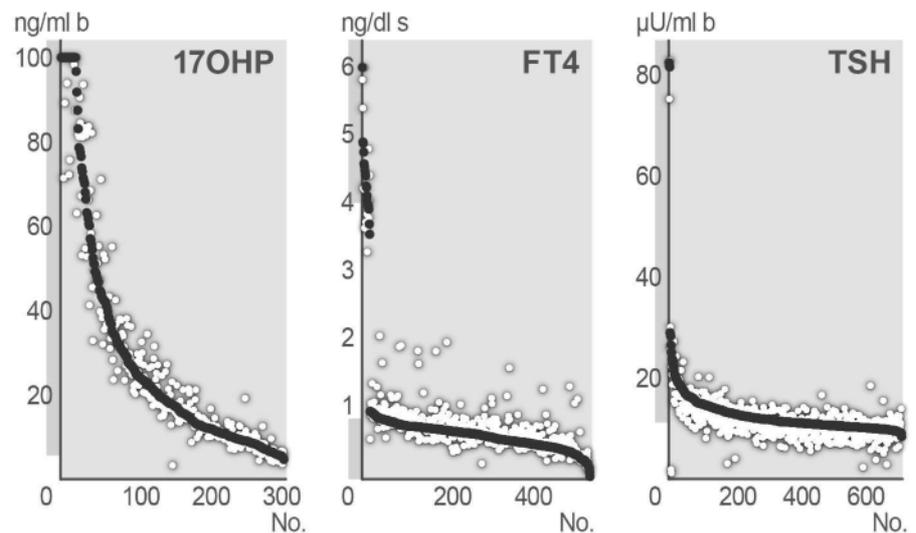


図 1 1 回目測定と 2 回目測定の比較

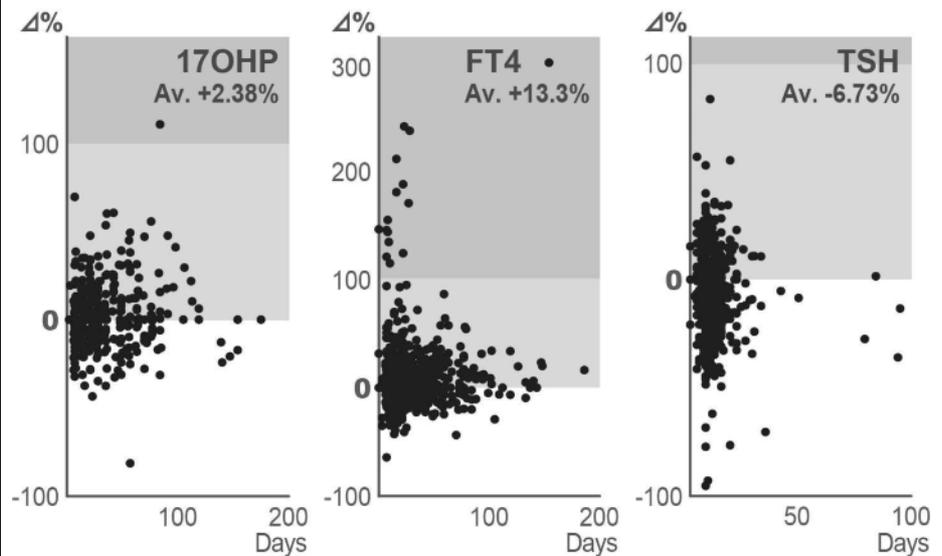


図 2 保存期間と測定値の変動割合

Δ : $100 \times (2 \text{ 回目測定値} - 1 \text{ 回目測定値}) / 1 \text{ 回目測定値}$

LC-MS/MS によるろ紙血及び尿中総ホモシステインの測定

研究担当者：吉永美和
手塚美智子
石川貴雄

研究期間：平成 30～31 年度

【目的】

マススクリーニング関連疾患依頼検査の検査項目である、総ホモシステインは、新生児マススクリーニングの対象疾患の 1 つであるホモシステイン尿症の指標であり、現在 HPLC により測定を行っている。現在測定に使用している HPLC が老朽化しており今後使用できなくなる可能性が高いが、HPLC の更新が難しいため、現在ルーチン検査に使用している LC-MS/MS を用いて測定の検討を行う。

【方法】

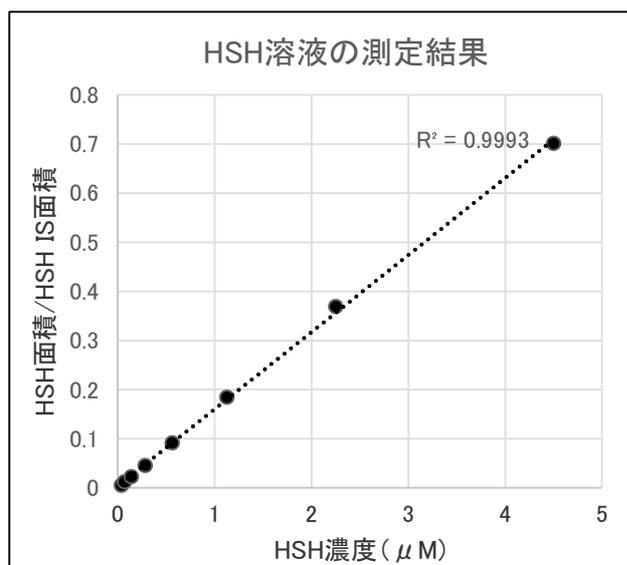
新生児マススクリーニングに使用している、タンデムマス (LC-MS/MS-8050 (島津)) を使用し、フローインジェクション又はカラムを用いて、ろ紙血及び尿中総ホモシステイン測定の検討を行う。検討後、現行法との比較を行い、良い相関が得られれば測定系の移行を行う。

【結果及び考察】

ホモシステイン溶液を作成し、測定条件の最適化を行い、8 点の希釈系列 ($0.035 \mu\text{M}$ ～ $4.5 \mu\text{M}$) を作成し、各 6 重測定を行ったところ、直線性は良好で日内変動は小さく (CV2.6%～7.4%)、良好な結果が得られた。

(図)

CDC 内部精度管理用検体 (ろ紙血検体) 及び依頼検査ろ紙血検体用いて、フローインジェクションで前処理条件について検討を行った。ろ紙血検体の前処理方法について、現時点での条件を決定した。



<図>

2 生活科学課

(1) 食品化学係

<p>食品添加物一日摂取量調査</p> <p>研究担当者：村越早織 小金澤望 滝川香織 畠山久史</p> <p>研究期間：平成 30 年度</p>	<p>【目的】 食品添加物一日摂取量調査は、日本人が一日にどの程度の量の食品添加物を摂取しているのかを把握する目的で、厚生労働省の委託事業として行われている。平成 30 年度は国立医薬品食品衛生研究所と 8 つの地方研究所（札幌市、仙台市、千葉県、東京都、香川県、広島県、長崎市、沖縄県）が参加した。</p> <p>【方法】 小児（1～6 歳）の食品喫食量リストに基づき、263 品目の食品を購入した。7 つの食品群に分類し、喫食量の比率に応じて混合した試料（混合群試料）の安息香酸、ソルビン酸及びデヒドロ酢酸の含有量を測定した。混合群試料の検査結果に群別喫食量を乗じて群別の一日摂取量を求め、1 群から 7 群まで合計して各食品添加物の一日摂取量を算出した。また、当該添加物表示がある食品（表示群試料）の含有量も測定し、一日摂取量を算出した。試験法は水蒸気蒸留による抽出精製後、高速液体クロマトグラフにより定量した。各試料 3 回併行で測定を実施した。</p> <p>【結果及び考察】 安息香酸の一日摂取量は、混合群試料からは 0.871mg/人/日、表示群試料からは 0.209mg/人/日と算出された。小児における安息香酸の一日摂取量の一日摂取量調査（ADI）比は、1～6 歳の平均体重を 16.5kg としたとき、1.1%と算出され、ADI に比べて小児における安息香酸の一日摂取量は非常に小さい値であった。 ソルビン酸の一日摂取量は、混合群試料からは 3.24mg/人/日、表示群試料からは 3.49mg/人/日と算出された。ADI 比は、同様に 0.79%と算出され、ADI に比べて小児におけるソルビン酸の一日摂取量は非常に小さい値であった。 デヒドロ酢酸は全ての混合群試料から検出されず、表示群試料は該当する食品はなかった。</p>
<p>LC-MS/MSによる植物性自然毒の検査体制の整備</p> <p>研究担当者：佐々木翼 葉原美菜 佐藤寛子</p> <p>研究期間：平成 30～31 年度</p>	<p>【目的】 例年、全国各地で有毒植物の誤食による食中毒が発生しており、札幌市においても、主にイヌサフラン、チョウセンアサガオ等の誤食による食中毒が発生している。植物性自然毒が原因と疑われる食中毒が発生した際の迅速な原因究明に寄与するため、LC-MS/MS による自然毒の分析方法の検討を行い、当所における植物性自然毒の検査体制を整備する。</p> <p>【方法】 他地衛研の自然毒検査の手法等について情報収集を行った。 コルヒチン、アトロピン、スコポラミン、アコニチンの 4 成分について、LC-MS/MS による測定条件の検討を行った。</p> <p>【結果】 他地衛研（北海道、岩手県、仙台市、岐阜県、岡山県等）の年報等を参考に、自然毒成分の抽出方法を検討した結果、検体をホモジナイズし、定容後メンブレンフィルターでろ過したものを測定溶液とすることとした。 0.1ppb から 5ppb までの 5 点の 4 成分混合標準液を作成し、LC-MS/MS で一斉分析を行った結果、良好な検量線を得ることができた。 次に、添加回収試験を実施する予定であったが、4 成分のうちアコニチンが使用期限を迎えたため、新たに標準品を購入した。4 成分混合標準液を再度調製し、LC-MS/MS で一斉分析を行ったが、アコニチンのキャリーオーバーが出現し、アコニチンの検量線のベースラインが上昇した。なお他 3 成分への影響はなかった。 LC 部に吸着したものと考えられたため、メタノールを流し LC 部の洗浄</p>

	を試みたが改善しなかった。移動相に標準品が混入した可能性を考慮して、移動相を再度調製したが改善しなかった。
--	---

(2) 大気環境係

調査研究名	研究の概要
<p>平成30年度化学物質環境実態調査（エコ調査）</p> <p>研究担当者：菅原雅哉 丸山敦子</p> <p>研究期間：平成30年度</p>	<p>【目的】 化学物質の環境の残留実態を把握し、地域環境のリスク評価のためのデータを得る。</p> <p>【方法】 初期環境調査 大気中の <i>o</i>-アニシジン、2-メトキシ-5-メチルアニリン、2-ナフチルアミンについて試料の採取及び分析を行った。</p> <p>【結果及び考察】 初期環境調査 平成30年11月6日（火）～9日（金）、札幌市衛生研究所敷地内にて試料採取を行った。 酸化防止剤として、<i>p</i>-アミノフェノールを添加した Sep Pak plus PS2 を用い、毎分300mLの流速で大気試料を通気後、1mol/L水酸化ナトリウム/メタノール（2：1）混合液でカートリッジを洗浄し、窒素ガスを通気してカートリッジを乾燥させメタノールとジクロロメタンで溶出。溶出液に窒素ガスを吹き付け0.2mLに濃縮後、1mol/L水酸化ナトリウム溶液を加え、内標準物質を含む50%ジエチルエーテルヘキサン溶液に転溶した後無水硫酸ナトリウムで脱水し、GC/MSで分析した。 本法の検出下限はそれぞれ1.6ng/m³、1.4ng/m³、0.85ng/m³であり、採取試料はいずれもこれを下回った。当所周辺の大気試料（一般環境）からは、当該3物質はいずれも検出されなかった。</p>
<p>微小粒子状物質（PM2.5）の成分分析に関する調査研究</p> <p>研究担当者：吉田 勤 菅原雅哉 丸山敦子</p> <p>研究期間：平成28～30年度</p>	<p>【目的】 PM2.5の低減に向けて発生源解析を行う。</p> <p>【方法】 1 平成29年度までの測定データの解析について PM2.5の発生源解析で用いられている数理モデル Positive matrix factorization (PMF) を使用して、平成26年から29年度までの成分分析データを解析した。 2 II型共同研究について 当市はII型共同研究の3つグループに参加し、他の地方研究機関と共同でPM2.5の解析を行う。3つのグループは、高濃度グループ、全国データ解析グループ、都市汚染グループである。</p> <p>【結果及び考察】 全国解析グループは、全国の自治体から報告された平成29年度までの成分分析測定結果を用いて、数理モデルを用いた発生源解析を行った。前期は全国を一つのデータブロックとして解析したが、今期は全国を5つのブロックに分けて解析を行った。結果を比較したところ、全国データでは、実際の大気環境とは乖離している結果がいくつかみられ、全国データの結果から、特定の地域の傾向を見ようとするのは、誤った結果を導く恐れがあった。同様に各地域ブロックでも、特定の地域をみることは避けたほうが良いことが分かった。 高濃度グループは昨年度に引き続き札幌を含む地域で広域的にPM2.5濃度が上昇した際の試料の成分分析を行い、測定結果を全国解析のために提供した。</p>

	<p>都市汚染グループは2016年11月に北海道で観測されたPM2.5高濃度事例について気象条件を含めた解析を実施した。このケースでは大陸からの越境汚染（森林火災などのバイオマス燃焼）がPM2.5の上昇の原因となった可能性が示唆された。</p>
<p>酸性降下物に関する調査研究</p> <p>研究担当者：吉田 勤 太田 優</p> <p>研究期間：平成28～平成30年度</p>	<p>【目的】 札幌市における酸性降下物の実態を把握することを目的とした。</p> <p>【方法】 全国環境研協議会の酸性雨部会では、全国酸性雨調査を実施し、酸性降下物の試料採取方法及び分析方法を定めている。当係では、平成29年度は湿性沈着調査に参加し、平成30年度はさらに乾性沈着調査についても参加することとした。 サンプリングは衛研屋上にて通年1週間単位で実施した。湿性沈着調査では雨水採取器を用い、乾性沈着調査ではフィルターパック法によるサンプリングを行った。回収した試料は、採水量、pH、電気伝導度、イオン成分等の測定を行い、各項目の月平均値及び年平均値を算出した。 これらの調査結果を、全国環境研協議会の酸性雨部会に報告し、土壌酸性化に与える影響について考察を行う。</p> <p>【結果及び考察】 湿性沈着調査について、2018年9月に起こった地震による停電の影響で一部欠測が生じた。pHの年間加重平均は5.0であり、昨年度並みであった。Na⁺は冬期間に多く、海塩の影響が考えられる。nss-Ca²⁺沈着量は4月と1月に高かった。 乾性沈着調査は機材の調達などで時間を要し5月からサンプリングを開始したが、停電やサンプリング時のリークなどが原因で一部欠測が生じた。月毎の測定値を比較したところ粒子状成分のうちPM_{2.5}が占める割合は30～70%であり、冬季にNH₄⁺とNO₃⁻が高かった。ガス状成分ではSO₂が冬季に高く、NH₃は夏季に高い傾向がみられた。</p>
<p>有害大気汚染物質モニタリング調査(VOCs)におけるサンプリング条件の検討</p> <p>研究担当者：太田 優 吉田 勤</p> <p>研究期間：平成30年度</p>	<p>【目的】 本市では有害大気汚染物質による大気汚染の状況を把握するため、毎月、市内4地点における優先取組物質21物質のモニタリング調査を実施している。 現行の調査では、24時間採取した大気試料を分析し、その月の代表値として12か月分のデータから年平均値を算出し評価しているが、短いサンプリング期間では1か月の平均的な汚染状況を適確に反映させるのは難しい。 そこで、長期サンプリングに関し、有効な期間及び対象物質について検討する。</p> <p>【方法】 10月に当所の屋上、2月に4階機械室にて流量設定の異なる2種類のパッシブエアースンプラーを用いて1週間連続サンプリングを行った。有害大気汚染物質のVOCsの測定と同様に、サンプルを窒素加圧した後、大気濃縮導入装置を用いてGC-MSにて測定した。</p> <p>【結果及び考察】 サンプリング方法が異なっても測定値は概ね10%以内の差で収まったが、10月にサンプリングしたVOCs15物質のうち、ジクロロメタン、ベンゼンで連続サンプリングの方が高値となり、その差は30%程度であった。連続サンプリング用のキャニスターでリークが生じている可能性が考えられたため、使用するキャニスターを変更したところ2月測定時には問題なかった。 屋外でサンプリングした10月の24時間サンプリング7日分の最大値と</p>

	<p>最小値の差は1～3.5倍であった。</p> <p>機械室では所内で使用している排気設備の室外機等が集められており、検査で使用しているジクロロメタン、クロロホルム、ベンゼンの他、フロン類が高値であった。冷蔵庫や室外機、断熱材等から高濃度で飛散していることが示唆された。</p> <p>通常の有害大気汚染物質の調査では24時間サンプリングを月1回行っているが、ある物質が高濃度で検出されるという事象が繰り返された場合に、1週間連続サンプリングを行うことで日常的にその物質が高濃度で存在しているのかを確かめる際の手法として本法は有用であることが分かった。</p>
--	---

(3) 水質環境係

調査研究名	研究の概要
<p>平成30年度化学物質環境実態調査（エコ調査）</p> <p>研究担当者：東山裕美 木原敏博 折原智明</p> <p>研究期間：平成30年度</p>	<p>【目的】 化学物質環境実態調査（エコ調査）は、化学物質の一般環境中での残留実態を把握し、化審法、化管法へ反映させることを目的とした環境省の調査である。平成30年度は分析法の開発及び本市における残留実態を調査した。</p> <p>【結果】</p> <p>1. 分析法開発 環境水中のレボフロキサシンの分析法（要求感度：0.031 μg/L）レボフロキサシン(LV)と光学異性体である(R)-オフロキサシン(R-OF)の分別定量方法ほぼ完成。開発分析方法 MDL(LV)：0.00047 μg/L となり要求感度を達成。〔担当：折原〕</p> <p>2. 初期環境調査 アジルサルタン、アルベンダゾール及びその代謝物3種について豊平川下流(中沼)、新川下流(第一新川橋)の2地点で水質調査を実施した。また札幌市独自調査として東橋及び茨戸橋でも調査を実施した。アジルサルタンは各地点で検出された。アルベンダゾール及びその代謝物は各地点とも不検出であった。〔担当：木原、東山〕</p>
<p>イオンクロマトグラフ誘導結合プラズマ質量分析計(IC-ICP/MS)による水中ヒ素の形態別(価数別)分析方法の検討について</p> <p>研究担当者：小林 毅 東山裕美</p> <p>研究期間：平成30年度</p>	<p>【目的】 ヒ素は5価のほか毒性が強い3価もあり、現在の分析方法では総量しか測定できない。このため、イオンクロマトグラフ(IC)とICP/MSを組み合わせたIC-ICP/MS法による分別定量の方法を検討し、分析方法を確立する。</p> <p>【方法】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 無機及び有機ヒ素の分別の確認 2. 検量線の作成 3. 検出下限値・定量下限値の測定 4. 実試料への添加回収および実際の検体の測定値を従来法と比較する <p>【結果及び考察】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 2種類の無機ヒ素と5種類の有機ヒ素を分別できた。 2. イオンクロマトグラフの溶離液にEDTAを添加することで0.5 μg/L～50 μg/Lの範囲で亜ヒ酸・ヒ酸共に検量線は概ね直線となった。 3. 亜ヒ酸、ヒ酸の定量下限は0.13～0.14 μg/Lとなり、必要とする0.5 μg/Lの測定が可能だった。 4. 地下水及び河川水への添加回収率は良好だった。また、従来法との比較も概ね良好だった。 5. モノメチルアルソン酸を内標準物質として用いることで測定値の変動係数を減少させることができた。

<p>チウラム・シマジン・チオベンカルブの同時一斉分析法について</p> <p>研究担当者：藤沼政憲</p> <p>研究期間：平成 30 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>標記 3 項目の農薬は、特定事業所排水（水再生プラザ）の検査項目として環境対策課から年に 10 件ほどの依頼検査がある。</p> <p>現在、当係ではチウラムが固相抽出 LC-MS/MS 法、シマジン及びチオベンカルブが固相抽出 GC-MS 法として、別々に分析を行っている。</p> <p>しかし、GC-MS 法で行っているシマジン、チオベンカルブについても可溶性があることから、LC-MS/MS 法により測定が可能であると思われ、前処理の固相抽出方法から機器測定まで、3 農薬の同時一斉分析法の検討を行う。</p> <p>【方法】</p> <p>精製水、実試料を用い固相カートリッジの選択・前処理方法・添加回収試験などを行う。</p> <p>【結果】</p> <p>シマジン・チオベンカルブについては、実試料の 50 倍濃縮で十分な回収率を得ることができ、測定は可能であった。</p> <p>しかし、チウラムではサロゲート(チウラム-d₁₂)およびチウラムの回収率が低く、さらに検討を行う必要があった。そのため、試料の汚濁の影響を少なくするため、試料濃縮を 50 倍から 5 倍にするとともに塩化ナトリウムによる塩析を行うことで回収率が上がり、3 物質の同時一斉分析が可能であると思われた。</p>
---	--