

令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
(総括) 分担) 研究報告書

EU向け輸出二枚貝の海域指定及びモニタリング計画作成の加速化のための調査研究

研究代表者又は研究分担者

鈴木 敏之 中央水産研究所 水産物応用開発研究センター長

研究要旨：EUに動物性食品を輸出するためには、EUが求める衛生要件に適合する必要がある。そのため、ホタテガイなどの二枚貝類についても、都道府県が指定する生産海域においてサンプリング計画を作成し、国内規制に基づく措置に加え、必要に応じて追加のモニタリング検査を行う必要がある。

青森県陸奥湾西部海域および、北海道根室海域で採捕されたホタテガイについて、各種貝毒成分を分析し、国内やEUにおける規制値との関係を検討した。下痢性貝毒（オカダ酸群）については、両海域ともにモニタリングが必要と考えられるが、麻痺性貝毒については、過去の報告などから根室海域についてモニタリングが必要と考えられた。一方、その他の貝毒については、二枚貝の毒化リスクは極めて低いことが明らかになった。

微生物検査においては、両海域のホタテガイともに、EU規則（EC）No 854/2004 およびNo 2073/2005 で定められた大腸菌数の基準を下回り、活二枚貝を出荷できるAクラスの海域の基準を満たしていた。従って本課題で調査した北海道および青森県の海域で生産されるホタテガイは、喫食用にEUに輸出するために必要な大腸菌の衛生基準を満たしていることが示された。

環境汚染物質においては、総PCB、有機塩素系農薬及び4-5環のPAH類の濃度を環境省によるモニタリング調査の分析法に従い測定した結果、青森県の陸奥湾西部海域及び北海道の根室海域で水揚げされたホタテガイから検出された環境汚染物質は、EUあるいは我が国の食品衛生法に基づく基準値を下回っており、安全性が確認された。また、重金属についても安全性が確認された。

以上の結果から、今回の調査結果では、両海域のホタテガイはEUが規定するAクラス海域の基準を満たしているとともに、他の検査結果についてもEUが求める衛生要件に適合していることが確認された。

分担研究者

渡邊 龍一・中央水産研究所・主任研究員	大島 千尋・中央水産研究所・任期付研究員
内田 肇・中央水産研究所・任期付研究員	福井 洋平・中央水産研究所・主任研究員
松嶋 良次・中央水産研究所・主任研究員	持田 和彦・瀬戸内海区水産研究所・環境保全研究センター長
及川 寛・中央水産研究所・グループ長	

田中 博之・瀬戸内海区水産研究所・研究員
朝倉 宏・国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部長

A. 研究目的

EU に動物性食品を輸出するためには、EU が求める衛生要件に適合する必要がある。二枚貝においては国内で設けられている下痢性貝毒および麻痺性貝毒の検査に加えて、脂溶性貝毒（ペクテノトキシン、イエソトキシン）およびアザスピロ酸、記憶喪失性貝毒（ドウモイ酸）のモニタリング検査が求められる。さらに、大腸菌を指標とした微生物学的品質を評価する必要がある。

2019年6月に「農林水産物・食品の輸出拡大のための輸入国規制への対応等に関する関係閣僚会議」において「輸出拡大のための相手国・地域の規制等への対応強化（工程表）」が取りまとめられ、EU 向けホタテガイ生産海域の追加について言及されている。EU 向けホタテガイの海域指定を行うにあたり必要となる、ホタテガイの貝毒の実態調査や微生物調査を行い、効率的かつ迅速に海域指定を行う科学的知見を提供し、モニタリング計画作成手法について検討することを目的とした。

B. 研究方法

B-1. 貝毒評価

B-1-1. 貝毒分析用ホタテガイ試料

本研究課題により収集した青森県陸奥湾西部ならびに北海道根室海域のホタテガイについて表 1 に示す。ホタテガイは中腸線を含む可食部 10 個体（200 g 以上）を均質になるまでホモジナイズし麻痺性貝毒分析用試料として 5.00 ± 0.05 g、下痢性・脂溶性

貝毒分析試料として 2.00 ± 0.05 g、ドウモイ酸分析用試料として 4.00 ± 0.05 g を採取した。

表 1. 収集したホタテガイ試料

地域	漁協	採取日（発送日）	採捕地点	
			緯度 (N)	経度 (E)
青森県	後潟漁協	2019/11/27	40° 55.686, 140°	43.256
	平内漁協	2019/12/11	40° 58.946, 140°	51.017
	外ヶ浜漁協	2019/12/16	41° 00.946, 140°	39.791
	蓬田村漁協	2019/12/16	41° 00.005, 140°	41.753
	平内漁協	2020/1/15	40° 58.946, 140°	51.017
	平内漁協	2020/2/10	40° 58.946, 140°	51.017
	平内漁協	2020/2/18	40° 58.946, 140°	51.017
北海道	野付漁協	2019/12/5	43° 34.102, 145°	23.393
	野付漁協	2020/1/14	43° 33.628, 145°	24.430
	野付漁協	2020/1/27	43° 31.765, 145°	24.468
	野付漁協	2020/2/18	43° 33.520, 145°	22.778
	野付漁協	2020/2/26	43° 32.532, 145°	23.444

B-1-2. 貝毒分析用試料の調製

1) 麻痺性貝毒分析用試料

ホタテガイのホモジネイトから麻痺性貝毒の抽出および分析のための前処理は Boundy らの方法 (J. Chromatogr. A, 2015, 1387, pp1-12) に従った。すなわち、ホモジネイト 5.0 g に対し、等量の 1%酢酸を加え、良く攪拌したのち、加熱抽出し、遠心分離によって得られる上清を回収した。次に、回収した上清 1 ml に対し、25%アンモニア水を 5ul 加えよく攪拌したのち、0.4ml をグラフアイトカーボンカートリッジ (Supelclean ENVI-Carb 250 mg/3ml) に負荷した後、カートリッジを蒸留水 0.7 ml で洗浄し、1%酢酸含有 20%アセトニトリル 2 ml で毒を溶出・回収した。回収した溶出液 0.1ml に対し、アセトニトリル 0.3 ml を加え 4 倍希釈したものを分析用試料とした。

2) 下痢性・脂溶性貝毒分析用試料

ホタテガイのホモジネイト 2.0 g に対し、1 度目の抽出では、9 mL のメタノールを加

えて3分間ホモジナイズし、遠心分離(2000 ×g, 10分間)した上清を分取した。2度目の抽出は、遠心分離した沈殿物に9 mLのメタノール:水(90:10, v/v)を加えて1分間ホモジナイズし、遠心分離(2000 ×g, 10分間)で上清を分取した。2回の抽出により得た上清を合わせてメタノール:水(90:10, v/v)で20 mLに定容したものをメタノール抽出液とし、含まれる脂溶性貝毒(ペクテノトキシン群、イエソトキシン群)およびアザスピロ酸群を高速液体クロマトグラフィー/質量分析法(LC/MS/MS)で分析した。

なお、下痢性貝毒であるオカダ酸群の分析は、メタノール抽出液を加水分解処理したのちに分析した。加水分解処理では、メタノール抽出液2.0 mLに2.5 Mの水酸化ナトリウム水溶液を添加し、76°Cで40分間加熱し、試料を室温程度まで冷却した後に2.5 Mの塩酸を250 μL加えて中和した。アルカリ加水分解した試料はLC/MS/MS法により下痢性貝毒オカダ酸群を分析した。

3) 記憶喪失性貝毒用分析試料

ホタテガイのホモジネイト4.0 gに対し、16 mLのメタノール:水(1:1, v/v)を加えて3分間ホモジナイズし、遠心分離(3000 ×g, 10分間)で得た上清をシリンジフィルター(0.46 μm)でろ過したろ液を分析用試料とした。記憶喪失性貝毒は、LC/PDA法により分析した。

B-1-3. 各貝毒成分の分析方法

1) 麻痺性貝毒

Boundyらの方法(J. Chromatogr. A, 2015, 1387, pp1-12)を参考に装置を最適化して分析した。分析用標準物質はC1/2,

GTX1-6, dcGTX2/3, neoSTX, dcSTX, STXの13成分を使用した。また、分析によって得られた各成分の濃度と大島が報告した比毒性情報(J. AOAC int., 1995, 78, p 528)から毒力を換算した。

2) 下痢性貝毒・脂溶性貝毒

下痢性貝毒オカダ酸および脂溶性貝毒イエソトキシン群は陰イオンモードのLC/MS/MSによる多重反応モニタリング(MRM)で分析した。分析カラムとしてHypersil Gold C8 2.1 mm i.d. × 100 mmをカラムオープンにより30°Cに保ち用いた。移動相は50 mMギ酸および2 mMギ酸アンモニウムを含む(A)水、(B)アセトニトリル:水(95:5, v/v)の二相によるリニアグラジエント分析によってオカダ酸およびイエソトキシン群を分離した。平衡化を20%Bで7分間行ったのち、10分間で20%Bから100%Bにし、100%Bを15分間保った。流量は0.3 mL/minで行った。試料は5 μL注入した。

脂溶性貝毒ペクテノトキシン群およびアザスピロ酸群は陽イオンモードのLC/MS/MSによるMRMで分析した。分析カラムとしてHypersil Gold C8 2.1 mm i.d. × 100 mmをカラムオープンにより30°Cに保ち用いた。移動相は50 mMギ酸および2 mMギ酸アンモニウムを含む(A)水、(B)アセトニトリル:水(95:5, v/v)の二相によるリニアグラジエント分析によってPTX群・AZA群を分離した。平衡化を5%Bで7分間行ったのち、10分間で5%Bから100%Bにし、100%Bを15分間保った。流量は0.3 mL/minで行った。試料は5 μL注入した。

MRM 分析条件は EU の標準操作手順書「EU-Harmonised Standard Operating Procedure for determination of Lipophilic marine biotoxins in molluscs by LC-MS/MS. Version 5.」に従って装置を最適化して測定した。

3) 記憶喪失性貝毒

記憶喪失性貝毒ドウモイ酸は EU の標準操作手順書「EU-Harmonised Standard Operating Procedure for determination of domoic acid in shellfish and finfish by RP-HPLC using UV detection」の条件を改変し、LC/PDA の 242 nm の吸収波長をモニターして分析した。カラムとして、L-column3 C18 2.1 i.d. × 100 mm をカラムオープンにより 25°C に保ち用いた。移動相として (A) 10 mM ギ酸アンモニウム、0.1% ギ酸を含む水、(B) アセトニトリルの二相によるリニアグラジエントによって分離した。平衡化を 5%B で 10 分間行い、20 分間で 5%B から 25%B にした。7 分間 25%B を保ち、3 分間で 25%B から 5%B にした。流量は 0.3 mL/min で行った。試料は 5 µL 注入した。

B-2. 微生物評価

2019 年 11 月～2020 年 2 月にかけて、北海道の野付漁協、青森県の平内町漁協、後潟漁協、外ヶ浜漁協、および蓬田村漁協で採捕されたホタテガイを冷蔵で輸送したものを試料とした(表 1)。各試料から 5 個体を選択し、大腸菌数測定試験に供した。

2019 年 12 月 11 日以降に採捕した北海道の 4 試料および青森県の 6 試料について、EU 規則において推奨されている IS016649-

3 に従って、大腸菌数を測定した。本法では、試料原液とその希釈液を Mineral Modified Glutamate (MMG) 培地に接種し、培養後に変色もしくはガスの発生が認められた試験管について、培養液を Tryptone Bile X-Glucuronide (TBX) 培地へ画線した。培養後、TBX 培地に大腸菌の典型コロニーが確認されれば陽性と判定し、陽性の試験管数から MPN 値を算出した。

2019 年 11 月 27 日に青森県で採捕した 1 試料および 12 月 5 日に北海道で採捕した 1 試料については、国内の生食用かきの成分規格に示された *E. coli* 最確数測定法により、大腸菌数を測定した。本法では、試料原液とその希釈液をそれぞれ 5 本の EC 発酵管に接種して培養後、ガス発生の陽性試験管数から大腸菌の MPN 値を算出した。

B-3. 環境汚染物質評価

2019 年 11 月～2020 年 2 月にかけて、北海道の野付漁協、青森県の平内町漁協、後潟漁協、外ヶ浜漁協、および蓬田村漁協で採捕されたホタテガイを冷蔵で輸送したものを試料とした(表 1)。ただし、表 1 の北海道の野付漁協のホタテガイについては、12 月 5 日採取試料は分析できなかったため、代わりに 12 月 17 日採取試料を分析した。

水揚げ後冷蔵状態で輸送し研究室に到着後ただちに軟体部を取り出し冷凍保存した。総重量が 600 g 前後になるよう 10-30 個体の軟体部を合わせ、ミンサーでミンチ状にした後、さらにディスペーサーで均一化し分析試料とした。分析試料は分析時まで冷凍保存した。

重金属分析用はホタテガイ可食部を上記の方法にてホモジナイズし、この内 50g を

分析に用いた。

分析の対象とした化合物は総 PCB (1 塩素化合物から 10 塩素化合物の 209 異性体の総量)、有機塩素系農薬 (ドリソ類: アルドリソ、ディルドリソ、エンドリソ; DDT 類: DDT、DDE、DDD の *p,p'* 体及び *o,p'* 体計 6 化合物; クロルデン類: *cis*-クロルデン、*trans*-クロルデン、オキシクロルデン、*cis*-ノナクロル、*trans*-ノナクロル; ヘプタクロル類: ヘプタクロル、*cis*-ヘプタクロルエポキシド、*trans*-ヘプタクロルエポキシド; HCH 類: α , β , γ , δ の 4 異性体) 及び 4-5 環の PAH 類 (ベンゾ[a]アントラセン: B[a]A、クリセン: CHR, ベンゾ[b]フルオランテン: B[b]F, ベンゾ[k]フルオランテン: B[k]F、ベンゾ[a]ピレン: B[a]P) で、分析法は環境省による環境モニタリング調査の方法に従った。総 PCB、有機塩素系農薬は同時にジクロロメタンで 6 時間ソックスレー抽出、脱水濃縮後、PCB はカラムクリンナップ、農薬類はカラムクリンナップ・分画後、GC/HRMS で測定した。PAH 類はアルカリ分解後カラムクリンナップし、GC/HRMS で測定した。時期的な変動を検討するために平内町漁協の 1 回目、4 回目の試料、青森県と北海道の地理的な違いを検討するために、平内町漁協の 1 回目に加え、後潟漁協、外ヶ浜漁協、蓬田村漁協の試料を等量混合したものと野付漁協の 1 回目の試料を分析に供した。

ヒ素、カドミウム、および鉛については ICP 質量分析計により、クロム、ニッケル、銀、銅、および亜鉛については IPC 発光分析により、総水銀については金アマルガム原子吸光光度法により分析した。なお、分析は一般財団法人日本食品検査に委託した。

C. 研究結果

C-1. 貝毒評価

C-1-1. 麻痺性貝毒

麻痺性貝毒の国内規制値は 4 MU/g であり、これを超えている場合、出荷の自主規制となる。青森県陸奥湾西部の試料については、いずれの試料も比毒性情報から換算した毒力は規制値未満であった。具体的には、2019/11/27 (以下発送日で示す) の後潟漁協で 0.5 MU/g, 2019/12/11 の平内漁協で 0.1 MU/g, 2019/12/16 の外ヶ浜漁協で 0.1 MU/g, 同日の蓬田村漁協では <0.1 MU/g であった。また、平内漁協の 2020/1/15, 2020/2/10, 2020/2/18 の試料では、それぞれ 0.1 MU/g, 不検出, 不検出であった。実際のマウス毒性試験においては、2 MU/g 前後が検出限界であることから、いずれも、マウス毒性試験に供した場合には毒性が不検出となる毒量であった。

北海道根室海域のホタテガイ試料でも、換算した毒力はすべて規制値未満の毒量 (0.0 MU/g~0.2 MU/g) であり、マウス試験に供した場合にはすべて不検出となる毒量であった。

C-1-2. 下痢性貝毒およびペクテノトキシン

青森県平内漁協の試料における下痢性貝毒 (オカダ酸群) およびペクテノトキシン群の推移を図 1 に示す。2019 年 12 月 11 日の 8.0 ng OAEq./g が最も高く、その後経時的に減少した。ペクテノトキシン群は 2019 年 12 月 11 日および 2020 年 1 月 15 日のホタテガイ試料においては検出限界以下であったが、2020 年 2 月 10 日以降に採取した試料では検出され、2020 年 2 月 18 日の試

料において 25.9 ng PTX1,2/g まで増加した。また、そのほかの試料では、後潟漁協のホタテガイで 22.4 ng OA eq./g、外ヶ浜漁協のホタテガイで 4.4 ng OA eq./g、蓬田村漁協のホタテガイで 7.1 ng OA eq./g のオカダ酸群が検出され、後潟、外ヶ浜、蓬田村漁協で採取したホタテガイでは、PTX 群は検出されなかった。OA 群および PTX 群を合わせた毒量においても、全ての試料で 160 ng OA eq./g よりも低い値であった。

北海道野付漁協の試料における下痢性貝毒(オカダ酸群)およびペクテノトキシン群の推移を図 2 に示すが、2019 年 12 月 5 日の 13.2 ng OA eq./g から経時的に減少した。ペクテノトキシン群は、2020 年 1 月 14 日の試料が最も高く、56.0 ng PTX1,2/g となり、OA 群および PTX 群を合わせた毒量は EU における規制値の約 1/3 の毒量であった。

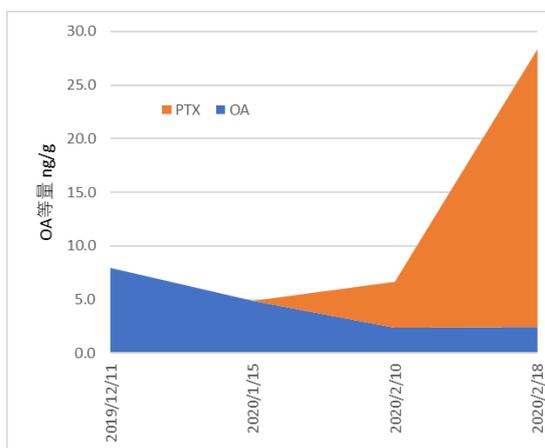


図 1. 青森県平内漁協のホタテガイにおける下痢性貝毒およびペクテノトキシン群含有量の推移

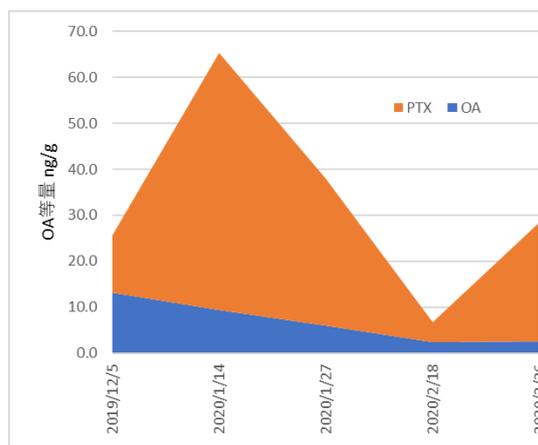


図 2. 北海道野付漁協のホタテガイにおける下痢性貝毒およびペクテノトキシン群含有量の推移

C-1-3. イエソトキシン

青森県平内漁協の試料におけるイエソトキシン群の推移を図 3 に示す。イエソトキシン群は 2019/12/11 の試料において 257.7 ng YTX eq./g が検出され、その後は経時的に減少する傾向が見られた。後潟、外ヶ浜、蓬田村漁協で採取したホタテガイの YTX はそれぞれ 205.0 ng eq./g、156.9 ng eq./g、186.3 ng eq./g であった。

北海道野付漁協の試料におけるイエソトキシン群の推移を図 4 に示す。イエソトキシン群は青森県の試料と比較して低濃度であったが、2020 年 1 月 27 日の試料以降においてわずかに増加する傾向が見られ、2020 年 2 月 26 日の試料では、81.3 ng YTX eq./g となった。以上のように、青森県陸奥湾西部および北海道根室海域の試料においてイエソトキシンは検出されたが、EU の規制値(イエソトキシン群; 3,750 ng YTX eq./g) を超える毒量となる試料はなかった。

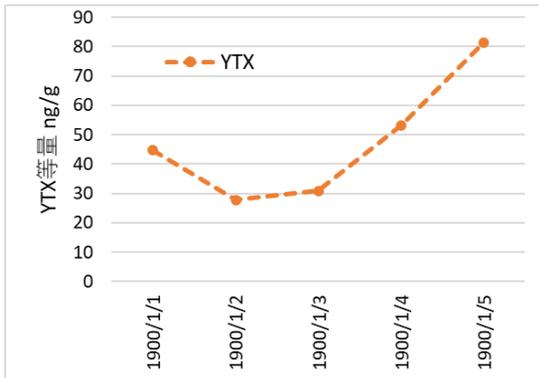


図 3. 北海道野付漁協のホタテガイにおけるイェットキシン群含有量の推移

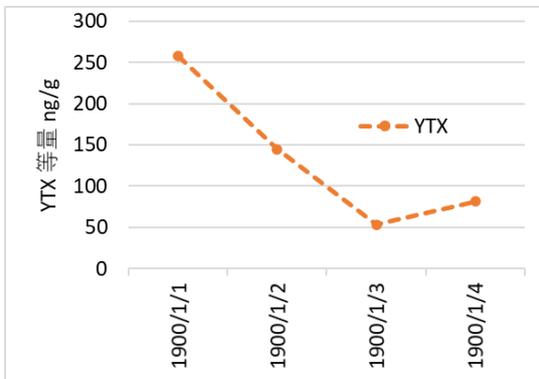


図4. 青森県平内漁協のホタテガイにおけるイェットキシン群含有量の推移

表2. 青森県海域で採取したホタテガイのイェットキシン群

採取場所	採取日	YTX (ng eq./g)
後潟	2019/11/28	205.0
外ヶ浜	2019/12/16	156.9
蓬田村	2019/12/16	186.3

C-1-4. アザスピロ酸

青森県陸奥湾西部海域で 11 月および 12 月に採集したホタテガイ試料において、蓬田村漁協の試料を除き、全ての試料においてトレースレベルの濃度でアザスピロ酸-2 が検出された。アザスピロ酸-1 当量に換算

したホタテガイ可食部あたりの毒量は 0.3-0.5 ng AZA1 eq./g であり、EU の設けている基準値 (160 ng AZA1 eq./g) よりも極めて低い濃度であった。一方、北海道野付漁協の試料において、アザスピロ酸群はいずれも検出限界以下であった。

C-1-5. 記憶喪失性貝毒

青森県陸奥湾および北海道根室海域で採取したホタテガイ試料のドウモイ酸を LC/PDA 分析により分析したが、すべて検出限界以下であった。

C-2. 微生物評価

C-2-1. 北海道のホタテガイにおける大腸菌数

ISO16649-3 に準拠して試験をした北海道の 4 試料のうち 3 試料 (1 月 14 日、2 月 18 日、および 2 月 26 日) において、大腸菌は 5 個体全てで検出されなかった (<18 MPN/100g)。また、1 試料 (1 月 27 日) は、5 個体中 1 個体から 20 MPN/100g の大腸菌が検出されたが、残りの 4 個体からは検出されなかった。

国内の告示法により試験をした 1 試料 (12 月 5 日) においては、5 個体から大腸菌が検出され、その菌数は 20~230 MPN/100g であり、A クラスの海域の基準 (230MPN/100g 以下) を満たしていることを確認した。

C-2-2. 青森県のホタテガイにおける大腸菌数

青森県で採捕された 6 試料を ISO16649-3 に準拠して、大腸菌数を測定した。平内町漁協で採捕された 3 試料 (12 月 11 日、1 月 15 日、および 2 月 10 日) は、5 個体全てから大腸菌は検出されなかった。平内町漁協 (2

月 18 日)、外ヶ浜漁協 (12 月 16 日)、および蓬田村漁協 (12 月 16 日) で採捕された 3 試料はいずれも、5 個体中 1 個体から 20 MPN/100g の大腸菌が検出されたが、残りの 4 個体からは検出されなかった。

後潟漁協で採捕されたホタテガイ (11 月 27 日) を国内の告示法により測定したところ、5 個体中 2 個体からそれぞれ、20 MPN/100g および 45 MPN/100g の大腸菌が検出されたが、残りの 3 個体からは検出されなかった。

C-3. 環境汚染物質評価

青森県の陸奥湾及び北海道の根室海域で水揚げされたホタテガイから検出された環境汚染物質は、EU あるいは我が国の食品衛生法に基づく基準値を下回っていた。

D. 考察

D-1. 貝毒評価

本課題において北海道根室海域で採取したホタテガイにおいても微量に麻痺性貝毒成分が検出された。過去に北海道が行ったホタテガイの貝毒モニタリングでも根室海峡海域において麻痺性貝毒によるホタテガイの毒化が報告されておりモニタリングは必要と思われる。また、青森県陸奥湾西部で採取したホタテガイの分析でも麻痺性貝毒が微量に検出された。検出された麻痺性貝毒は規制値を大きく下回る毒量であり、過去に青森県が行ってきた貝毒モニタリングでも、ホタテガイが規制値を上回って毒化したことは無く、毒化原因藻類の検出も報告されていない。以上より、陸奥湾においては麻痺性貝毒による毒化リスクは低いと思われるが、毒成分が微量に検出されたことから、毒化原因藻類の出現動態については

モニタリングが必要と思われた。

下痢性貝毒 (オカダ酸群) は北海道根室海域および青森県陸奥湾西部の試料とともに少量検出された。北海道や東北地方の沿岸域は下痢性貝毒 (オカダ酸群) の産生能が高い有毒渦鞭毛藻である *Dinophysis fortii* の分布域であり (Toxins, 2018, 10(11), 457)、下痢性貝毒による毒化はこれまでも二枚貝のリスクの一つと認識されておりモニタリングが必要である。一般的に本種は春季から秋季に多く出現するとされ、本課題で試料採取を行った冬季は出現頻度が低い時期である。そのため微量に検出されたオカダ酸群は 2019 年度の初夏に毒化した際のオカダ酸群が残存して検出された可能性も考えられる。

同じく *Dinophysis* 属の有毒渦鞭毛藻 *Dinophysis acuminata* が産生するペクテノトキシン群は、北海道根室海域の試料では、2020 年 1 月 14 日のホタテガイ試料において濃度が最も高かった (図 3)。北海道中央水産試験場より公表されている貝毒プランクトンデータでは、近隣の標津定点で *D. acuminata* が 40 cells/L (水深 15 m) の密度で出現しており、プランクトンの出現状況とも一致していた。

2020 年 1 月 14 日の北海道根室海域におけるホタテガイ試料の OA 群および PTX 群を合わせた毒量は、EU における基準値の 1/3 程度であった。また青森県平内漁協の試料においても 2020 年 2 月 10 日および 2 月 18 日のホタテガイ試料にペクテノトキシン-1 およびペクテノトキシン-2 が検出されたが、OA 群および PTX 群を合わせた毒量は EU の基準値を大きく下回る値であった。なお、ホタテガイは *Dinophysis* 属が産生した

ペクテノトキシン-2 をペクテノトキシン-1 へ、さらにペクテノトキシン-3、ペクテノトキシン-6 へと酸化的に代謝することが知られている。今回分析したホタテガイでは、ペクテノトキシン-1 およびペクテノトキシン-2 が検出されていることから、この時期にも毒化原因藻類の出現があり、新たなペクテノトキシン-2 の供給があった可能性が考えられた。青森県産業技術センター水産総合研究所が公表している貝毒プランクトンデータでは、2020 年 3 月 19 日に *D. acuminata* を主とする *Dinophysis* 属の出現が報告されているが、ホタテガイの分析結果よりペクテノトキシン-2 が検出されたことから、2 月にも本藻の出現があった可能性が示唆された。以上のように、北海道根室海域、青森県陸奥湾の双方の試料において、ペクテノトキシンおよびイェソトキシンが検出され、一部には原因藻類との関係も認められたことから、原因藻類の出現とホタテガイ毒量の間を把握することが必要と考えられた。

アザスピロ酸については、青森県陸奥湾で採取した試料から検出されたが、極めて微量であった。近年、日本近海においてアザスピロ酸を生産する微細藻類の出現が報告されているが、原因藻類が高密度で出現した例は無い。また、過去の調査においても、国内の二枚貝から今回と同様に微量のアザスピロ酸が検出されることはあったが、EU の基準値を超えるような毒力が報告されたことはない。そのため、現時点でアザスピロ酸によるホタテガイの毒化リスクは低いと思われるが、毒化原因藻類の出現動向については情報収集が必要である。

ドウモイ酸については、本課題で採取し

た北海道および青森県の試料ではすべて不検出であった。日本国内では EU 基準値を超えるドウモイ酸による二枚貝の毒化はこれまでに報告はなく、毒化リスクは低いと考えられた。

D-2. 微生物評価

北海道および青森県で生産された活ホタテガイの大腸菌数を ISO16649-3 に従って測定したところ、10 試料のうち 6 試料において、5 個体全てから大腸菌は検出されなかった。また 4 試料においても、大腸菌は 5 個体中 1 個体からのみ、20 MPN/100g で少量検出され、残りの 4 個体からは検出されなかった。採捕時期および地点で菌数に大きな違いは観察されなかった。

EU 規則 (EC) No 2073/2005 で定められたホタテガイの大腸菌数の基準は、活二枚貝の 5 検体を検査した場合、「5 検体全てで 100g あたり 230 MPN 以下」もしくは「5 検体のうち 1 検体で 230 MPN/100g より高く、700 MPN/100g 以下」であり、これらの基準を満たす必要がある。本試験で得られたホタテガイの大腸菌数は、EU 規則の基準を下回り、活二枚貝を採捕できる A クラスの海域の基準も満たしていることが示された。

国内の告示法に基づいて試験したホタテガイ 2 試料の大腸菌数は、いずれも 230 MPN/100 g 以下であった。国内の生食用かきの成分規格に示された試験法は、44.5°C で発育可能な糞便系大腸菌群の数を測定する方法である。一方、ISO16649-3 においては、大腸菌群のうち、特に大腸菌に特異的な β -グルクロニダーゼの産生能を判断することにより、糞便系大腸菌の数のみを測定の対象としている。そのため、検査法の違いによ

り測定される大腸菌数に違いが見られたと考えられた。また、1 試料で5 個体全てから大腸菌が検出されたのは、採捕から試験を行うまでに4 日の日数を要したことによるものと考えられた。

D-3. 環境汚染物質評価

EU における基準値とホタテガイにおける残留濃度との比較を行った。EU においてはPCB の基準値は主要6 異性体の合計濃度として定められており、水産物の筋肉の基準値は75ng/g wet である。今回分析したホタテガイの全異性体を含量した濃度は200-370pg/g wet で、EU の基準値の1/100 以下であった。また、生の二枚貝に対するPAH 類のEU 基準値はベンゾ[a]ピレンが5ng/g、ベンゾ[a]アントラセン、クリセン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[a]ピレンの含量が30ng/g で、今回の分析値はこれらを下回っていた。今回分析対象とした有機塩素系農薬の水産物に対するEU の基準はない。我が国の基準値はアルドリノ、ディルドリンの含量が0.1ppm、エンドリンが0.005ppm、DDT 類の合計が1ppm、*cis*-クロルデン、*trans*-クロルデン、オキシクロルデンの含量が0.05ppm、 γ -BHC(HCH)が1ppm で、今回の分析値はこれらの1/1,000 以下であった。

重金属については、カドミウムが青森県の陸奥湾及び北海道の根室海域のサンプルよりそれぞれ2.97 ppm 及び5.90 ppm で検出され、EU の基準値(1 mg/kg-wet)を上回っていた。今回はホタテ軟体部全体を分析に供したが、重金属等の化学物質を蓄積しやすい中腸腺等を含んでいたため、カドミウムが高い値で検出されたと考えられた。一般に食用に供される貝柱と軟体部全体の

カドミウム濃度比は約0.07 であることが報告されている。従って、今回分析したサンプルの貝柱中カドミウム濃度は、青森県の陸奥湾及び北海道の根室海域のサンプルでそれぞれ0.2 mg/kg-wet および0.4 mg/kg-wet 程度と見積もることができ、基準値を下回っていると考えられる。なお、他の重金属は基準値以下であった。

以上の結果より、重金属を含む汚染物質の残留濃度については、ホタテガイの安全性は高いと判断される。

E. 結論

青森県陸奥湾西部海域および、北海道根室海域で採捕されたホタテガイについて、各種貝毒成分を分析し、国内やEU における規制値との関係を検討した。下痢性貝毒(オカダ酸群)については、両海域ともにモニタリングが必要と考えられるが、麻痺性貝毒については、過去の報告などから根室海域についてモニタリングが必要と考えられた。

青森県陸奥湾西部の麻痺性貝毒、ならびに両海域における脂溶性貝毒およびドウモイ酸は、いずれも国内およびEU の規制値を大きく下回る毒量であった。また、これらの毒成分は、過去の調査においても、規制値を上回る毒量が二枚貝から検出されることがなく、毒化リスクは低いと考えられた。一方で、各毒成分を生産する原因藻類は、国内でも報告されている種があり、原因藻類の出現動向やそれに対する二枚貝の毒化レベルなどについて、引き続き基礎的な知見を集積することが望まれる。

北海道および青森県で生産されたホタテガイの大腸菌数をIS016649-3(一部、国内告示法)に準拠して測定した。その結果、

全ての試料において、大腸菌数はEU規則の活二枚貝における基準を下回った。従って、本課題で調査した海域で生産されるホタテガイは、直接喫食用としてEUに輸出されるのに必要な大腸菌の衛生基準を満たしていることが示された。

青森県の陸奥湾及び北海道の根室海域で水揚げされたホタテガイから検出された環境汚染物質は、EUあるいは我が国の基準値を下回っており安全性が確認された。

以上の結果から、今回の調査結果では、両海域のホタテガイはEUが求める衛生要件に適合しているとともに、利用した検査法はモニタリング計画の作成において利用できることが実証された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし