

[ノート]

## 兵庫県阪神地域における妊婦および0-9歳児のコクサッキーB群ウイルスに対する中和抗体保有状況について

藤本 嗣人<sup>1\*</sup>      近平 雅嗣<sup>1</sup>  
芥川 宏<sup>2</sup>        西尾 治<sup>3</sup>

Seroepidemiological Study on the Neutralizing Antibody against Coxsackie B Viruses of Pregnant Women and Children Aged 0-9 in Hanshin-area, Hyogo Prefecture

Tsuguto Fujimoto<sup>1\*</sup>, Masatsugu Chikahira<sup>1</sup>  
Hiroshi Akutagawa<sup>2</sup> and Osamu Nishio<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan

<sup>2</sup>Hyogo Prefectural Tsukaguchi Hospital, Amagasaki 661-0012, Japan

<sup>3</sup>National Institute of Infectious Disease, IDSC, Musashimurayama 208-0011, Japan

### SUMMARY

Seroepidemiological survey was conducted on children aged 0-9 (N=96) and pregnant women (N=96) who live in Hanshin-area, Hyogo Prefecture, Japan. Coxsackievirus B (CB) type 1-6 was targeted in this study. The positive rate (%) of pregnant women was CB 1,44%, CB 2,66%, CB 3,56%, CB 4,82%, CB 5,55% and CB 6,6%. Children had a lower positive rate than pregnant women. Children under 2 years old had a remarkably low positive rate. CB is known to cause severe infectious diseases of young children. Therefore, to prevent nosocomial infection of CB is very important for young children without antibodies against CBs.

### I はじめに

エンテロウイルス感染症は小児期の主要な感染症であり、特に夏季に多発する疾患である。我々はこれまで、県内で流行ウイルスを継続的に調査し、無菌性髄膜炎の

流行や死亡例を含む脳炎・脳症の流行がこのウイルスによるものであることを明らかにしてきた<sup>1,2)</sup>。しかし、エンテロウイルス感染症で注意すべき点は地域的あるいは全国的な流行を引き起こす点のみでなく、院内感染や新生児における感染<sup>3)</sup>で重症化する例があることである。ことにエンテロウイルスのうちコクサッキーB群（以下CBと略す）と分類されてきた一群の新生マウスに硬直性の麻痺を引き起こすウイルスは、新生児感染の場合に脳筋炎症候群などの致死的な劇症感染症を引き起こすことがある<sup>4)</sup>。そして、その発生防止のためには母体が免疫を持っていることが重要である。そこで、我々は妊

<sup>1</sup>感染症部, <sup>2</sup>兵庫県立塚口病院小児科,

<sup>3</sup>国立感染症研究所 感染症情報センター

\* 別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29

兵庫県立健康環境科学研究所  
感染症部 藤本 嗣人

婦を含めた兵庫県在住者の抗体保有状況を、CBの6つの血清型（以下、型と略す）すべてに対して調べた。

## II 材料と方法

### 1. 血清

感受性調査の目的で集められた以下の血清を用いた。

1994年7月に阪神地域在住の0-9歳児から採取された96検体を用いた。0-1歳、25名、2-3歳、24名、4-6歳、23名および7-9歳、24名であった。

1995年4月-8月に阪神地域在住の妊婦由来88検体およびその近隣の合計96検体（平均年齢28.4歳）を用いた。

これらを2%FBS添加Eagle's MEM培地で8倍に希釈し、56°Cで30分間加熱した。

### 2. 使用ウイルスおよび細胞

CBは標準株の1-6型を用い、細胞はHeLa細胞を用いた。力価をReed-Muench法によって求めたところ各標準株のlog TCID<sub>50</sub>/25μLはそれぞれ、CB1で6.6、CB2で4.9、CB3で6.6、CB4で6.2、CB5で6.4およびCB6が6.6であった。中和反応における攻撃ウイルスは100TCID<sub>50</sub>/25μLとなるように維持培地で希釈した。

### 3. 中和反応および抗体保有の判定

0-9歳児96名および妊婦96名の8倍希釈血清を各96穴のU字マイクロプレート7枚に25μLずつ分注し、6枚にCB1-6型の攻撃ウイルスを25μLずつ加えた。

1枚には攻撃ウイルスの代わりに維持液25μLを加えて血清対照とした。中和反応はCO<sub>2</sub>インキュベーター中37°Cで2時間行った。反応後の各ウェルにHeLa細胞を約2×10<sup>5</sup>個/mlになるように希釈した細胞浮遊液を50μLずつ加え、1週間培養して細胞変性が見られなかったものを抗体陽性と判定した。なお、ウイルス力価が32~320TCID<sub>50</sub>/25μLの範囲の値であること、および血清対照で細胞変性が見られないことを確認した。

## III 結果

### 1. 0-9歳児の抗体保有率

96名全体の中和抗体保有率は、CB1、9%、CB2、20%、CB3、34%、CB4、47%、CB5、10%およびCB6、1%であった。Fig. 1に示すように、CB6を除いて加齢とともに抗体保有率が上昇する傾向が見られた。CB6は96名中1名（5歳女児）のみで抗体保有が見られた。一方、CB4およびCB3は7-9歳で70%以上の抗体保有率が見られ、4-6歳でもそれぞれ48%および65%と他

のCBと比較して保有率が高かった。0-1歳の年齢層ではいずれのCBにおいても抗体保有率は低く、ほとんど抗体が検出されなかった。CB4では25名中4名で抗体陽性となり、うち3名は0歳児（4ヶ月、8ヶ月および10ヶ月）であったので、検出された抗体が移行抗体である可能性も考えられた。

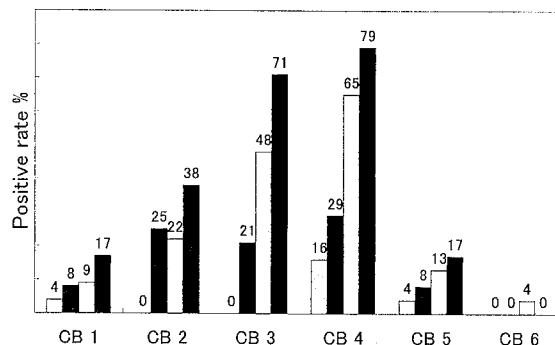


Fig. 1 Age distribution of neutralizing antibody positive rate for CB1-6. Age groups 0-1, 2-3, 4-6 and 7-9 were shown from left to right.

### 2. 妊婦の抗体保有率

妊婦はCB1、CB2、CB3、CB4、CB5およびCB6に対する抗体を44%、66%、56%、82%、55%および6%保有していた（Fig. 2）。妊婦の保有率は、CB3で7-9歳の年齢層が71%の抗体保有率で妊婦より高かったのを除くとすべて0-9歳児を上回っていた。

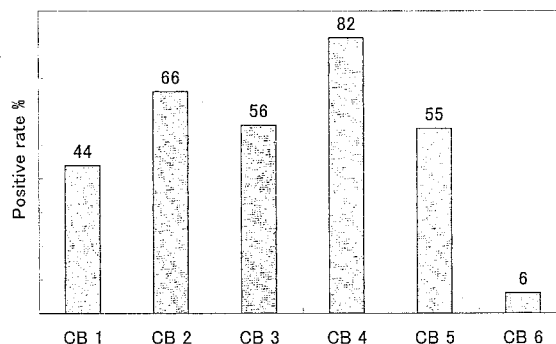


Fig. 2 Positive rate of pregnant woman having neutralizing antibodies against six kinds of CB viruses.

## IV 考察

0-1歳の年齢層での抗体保有率は、CB1-6全てで低かった。CB6を除いて0-9歳児で加齢とともに抗体保有率が上昇する傾向が見られ、常在性のウイルスであると推定された。CB4は妊婦を含めて抗体保有率が高い傾向が見られた。このCB4の常在性の強さについて

は渡辺ら<sup>5)</sup>も岐阜県において指摘している。

母体由来 IgG は 20 - 30 日の半減期で対数的に減少し、生後半年もすると痕跡的になってしまうとされ<sup>6)</sup>、本調査は 0 歳児 3 名を除いて生後 5 ヶ月を過ぎていたため移行抗体が検出されにくかったのではないかと推察された。しかし、CB に対して抗体を持たない妊婦が CB1, CB3, CB5, CB6 で 40% 以上存在したことから、もともと移行抗体を持っていなかった乳児も多かったと推定され、新生児感染が危惧された。本研究ではランダムに選んだ 0 - 9 歳児および妊婦の抗体の有無のみを中和抗体価 8 倍をカットオフ値として調査し、抗体価の調査ができなかったため、今後は妊婦とその新生児を含む乳幼児について抗体価を含めた調査を実施して CB 抗体価が妊婦と乳幼児でどのように相関し、抗体価がどのように変動するかを調査したい。

妊婦の CB 抗体保有に影響したと考えられる 1963 - 1973 年における全国の CB 流行状況<sup>7)</sup>で全国あわせて 100 を超える分離の記録は CB1 - 6 すべてで 1 度もなかった。特に CB6 は 1964 年に 1 株の分離が報告されているのみで妊婦の保有率の低さを裏付けている。

CB4 をはじめとする CB は若年発症性、インシュリン依存性糖尿病 (IDDM) との関連性が多く報告されていて、IDDM の多くの患者で抗 CB-IgM が検出されている<sup>4)</sup>。近年、抗ピコルナウイルス薬が開発されつつあり、今後 CB の治療が実施されるようになるものと思われる。

我々は、兵庫県感染症発生動向調査において CB を含むエンテロウイルスを分離あるいは遺伝子検出して、常時監視している。本研究における抗体調査は 1996 年初旬に終了していたため、その後の発生動向調査を CB 検出および検出患者の臨床症状に注目して進めた。しかし、既報<sup>1)</sup>で報告した通り、1993-2000 年の発生動向調査でエンテロウイルスが検出された患者 370 名中 CB1-5 が検出されたのは 51 名 (14%) で、そのうち新生児感染例は無菌性髄膜炎と細気管支炎の 2 例 (0.5%) のみであった。感染症発生動向調査におけるウイルス検出は流行例でのウイルス検出に力点が置かれている。そのため、重症新生児感染症のように症状が急激に進み死亡してしまうような症例は捉えにくいことが考えられる。五百井らの報告<sup>8)</sup>によると、東京医科大学に心肺停止状態で搬入された小児 5 症例 (事故など原因が特定できないケース) 中 4 症例の脳、肝臓、肺、血清等からエンテロウイルス遺伝子が検出され、乳幼児突然死症候群 (SIDS) の病原が不明な症例の中にエンテロウイルスが関与しているものが存在している可能性が示唆されている。SIDS は救急対応であり、発生動向調査の対象とはなっていないので、このような事例も含める必要があると考

えている。IDDM と同様、SIDS も CB との関連をより綿密に調べる必要がある。

関ら<sup>3)</sup>はエンテロウイルスの新生児感染について 1979 年に CB3 が新生児未熟児室で流行して 6 例中 1 例が死亡したことを報告している。そして、エンテロウイルス感染症はいったん流行するとその対策に苦慮するので、日常の院内感染対策が最も重要であると結論している。木村<sup>9)</sup>らは CB3 の新生児感染 4 例において、重症の血小板減少症および肝機能障害を発症したケースで発症後 3 日以内に免疫グロブリンを投与した 3 名は生存したが、6 日目に投与を受けた 1 名が死亡したことを報告している。重症 CB 感染症のケースの可能性を念頭においた治療が必要である。今回、CB に対する妊婦の抗体保有率が低いことが明らかになったことは、院内感染防止の徹底が重要であることを示唆する。

## V ま と め

兵庫県阪神地域在住の 0 - 9 歳児 (N=96) および妊婦 (N=96) について血清疫学調査をコクサッキー B (CB) 1 - 6 型について実施した。妊婦の陽性率は CB1, 44%, CB2, 66%, CB3, 56%, CB4, 82%, CB5, 55% および CB6, 6% であった。0 - 9 歳児は妊婦より抗体保有率が低く、特に 0 - 1 歳児で低率であった。CB はときに乳幼児に重症感染症を引き起こす。CB の院内感染防止対策は抗体を持たない乳幼児にとって非常に重要と考えられる。

## 謝 辞

本研究にご協力いただいた県庁、保健所、病院の皆様と貴重なご助言を賜りました山岡政興感染症部長ならびに川村隆所長に深謝いたします。本研究の一部は文部科学省研究補助金 (基盤研究 C #15590568 および #13670408) ならびに厚生労働科学研究費補助金 (食品安全確保研究事業) を受けて行われた。

本論文の要旨は第 44 回日本臨床ウイルス学会 (平成 15 年・鹿児島市) で発表した。

## 文 献

- 1) 藤本嗣人, 近平雅嗣, 増田邦義, 楠田均, 岡藤輝夫, 芥川宏, 吉田真策, 河合徹, 吉田茂, 長谷川斐子, 吉田弘, 西尾治: 兵庫県における過去 8 年間 (1993-2000 年) のエンテロウイルス検出・同定状況. 兵庫県立衛生研究所年報, 36, 75-81 (2001)

- 2) Tsuguto Fujimoto, Masatsugu Chikahira, Shigeru Yoshida, Hitomi Ebira, Ayako Hasegawa, Atsuko Totsuka, and Osamu Nishio: Outbreak of central nervous system disease associated with hand, foot, and mouth disease in Japan during the summer of 2000: Detection and molecular epidemiology of Enterovirus 71. *Microbiology and Immunology*, **46**, 621-627 (2002)
- 3) 関和男, 赤松洋, 川上義, 与田仁志, 西巻滋: 新生児病棟におけるエンテロウイルス感染症. *臨床とウイルス*, **18**, 210-216 (1990)
- 4) White, D. O. and Fenner, F. J.: *Medical virology*, 4th edition, p.391-398, Academic Press, San Diego (1994)
- 5) 渡辺実, 野田伸司, 山田不二造: コクサッキーウイルスB群の血清疫学的研究 岐阜県における抗体保有率の推移. *感染症学雑誌*, **56**, p.977-981(1982)
- 6) 植竹久雄: ウイルス感染に対する免疫. 植竹久雄編, *ウイルス学 第4版*, p.137-183, 理工学社, 東京 (1992)
- 7) 多ヶ谷勇, 原稔: エンテロウイルス. 国立予防衛生研究所学友会編, *ウイルス実験学各論 改訂二版*, p.127-155, 丸善株式会社, 東京 (1982)
- 8) 五百井寛明, 加藤直樹, 高見剛, 柏木保代, 篠本雅人, 河島尚志, 武隈孝治, 星加明德: 心肺停止状態で来院し, エンテロウイルスの関与が考えられた小児例. *臨床とウイルス*, **31**, S73 (2003)
- 9) Kimura H, Minakami H, Harigaya A, Takeuchi H, Tachibana A, Otsuki K: Treatment of neonatal infection caused by coxsackievirus B3. *Journal of perinatology*, **19**, 388-390 (1999)

(受理 2003年11月25日)

[ノート]

## ノロウイルス検査における RNA 抽出コントロールとしての エコーウイルス 9 型 Hill 株の適用について

藤本 嗣人<sup>1\*</sup>      近平 雅嗣<sup>1</sup>  
秋山 美穂<sup>2</sup>      西尾 治<sup>2</sup>

Application of Echovirus Type 9 strain Hill as an Alternative Positive Control of RNA Extraction on *Norovirus* Diagnosis

Tsuguto Fujimoto<sup>1\*</sup>, Masatsugu Chikahira<sup>1</sup>  
Miho Akiyama<sup>2</sup> and Osamu Nishio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan

<sup>2</sup>National Institute of Infectious Disease, IDSC, Musashimurayama 208-0011, Japan

### SUMMARY

Application of Echovirus type 9 strain Hill (E9 Hill) was found to be possible as an alternative positive control of RNA extraction on *Norovirus* Diagnosis. To date, Poliovirus type 2 strain Sabin (P2) has been used for this purpose. However, under recent progress of polio eradication program, it is preferable to apply other safe virus which can substitute for P2. Using newly designed primer pair, E9 Hill was detectable sensitively and accurately. Addition of E9 Hill to the clinical samples had no effect to the *Norovirus* diagnosis. Therefore, E9 Hill was found to be able to substitute for P2 in *Norovirus* diagnosis.

#### I はじめに

小型球形ウイルスと呼称されているものにはノーウォークウイルス、サッポロウイルスおよびアストロウイルスが含まれている。これらは、主に冬季に感染性胃腸炎およびウイルス性食中毒を引き起こし、そのほとんどがノーウォークウイルスによる<sup>1,2)</sup>。2002年8月の第8次国際

ウイルス命名委員会において、従来ノーウォークウイルスとしていたものはノロウイルスに、サッポロウイルスはサポウイルスと命名された。ノロウイルスの実験室診断には近年まで、電子顕微鏡での糞便中ウイルスの形態学的確認が用いられてきた。一方、近年は、種々の感染症や食中毒の原因特定などに必須の迅速性、感度および特異性を持ち、検出後の分子疫学的解析も可能なRT-PCR法がノロウイルス検査法の主流となった<sup>2)</sup>。

RT-PCR法において、検査材料からのRNA抽出は重要な工程である。特にノロウイルス検査におけるRNA抽出は、検査材料が糞便や食材であるために、検体中にRT-PCR反応を阻害する物質が含まれている可能性が

<sup>1</sup>感染症部, <sup>2</sup>国立感染症研究所 感染症情報センター  
\*別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29  
兵庫県立健康環境科学研究センター  
感染症部 藤本 嗣人

ある。そのため我々<sup>3)</sup>はノロウイルス検査におけるRNA抽出コントロールとしてポリオウイルス2型Sabin株を用い、「ウイルス性下痢症診断マニュアル(第3版)(以下マニュアルとする)」の中で標準化した。

しかし、ポリオ根絶計画は最終段階に進み、ポリオワクチン株の実験室での保管・管理の厳密化が進み、使用しにくくなることが予想される。また、ワクチン株であっても感染した場合に、ポリオ様の麻痺を発症する可能性がきわめて稀ながら存在する。そこでポリオウイルスの代替として、一般的にヒトに病原性がないと考えられているエコーウイルス9型(E9)Hill株を用いることが可能か否かについて検討した。

## II 材料と方法

### 1. 便材料の処理およびRNA抽出

便材料の処理およびRNA抽出は、マニュアルに準じて行った。被検材料はすべて兵庫県内の患者からウイルス検査目的で採取された。ノロウイルス陽性の8名および下痢症以外の患者便検体12名(うち6名は無菌性髄膜炎)、計20名の糞便を用いた。

これらの便をPBS(-)2.7 mLに加えて全量3 mL(10%)になるよう加え、激しく攪拌して乳剤を作製した。その乳剤200  $\mu$ Lを分取して12,000 rpmで20分間冷却遠心した。この遠心上清からQIAamp Viral RNA mini kit(Qiagen)を用い、添付のマニュアルに従ってRNAを抽出した。

検体20件のうち、ノロウイルス陽性検体8件にE9 Hill株2  $\mu$ Lを追加分注したのもも作製してRNA抽出コントロールとした。

### 2. cDNAの合成

マニュアル<sup>3)</sup>に準じSuperScript<sup>TM</sup> II RNase H<sup>-</sup> Reverse Transcriptase(Invitrogen)を用いて全量30  $\mu$ Lの系でおこなった。反応液組成は、RNA抽出液、14  $\mu$ L、5  $\times$ 添付バッファー、6  $\mu$ L、10mM dNTP(Invitrogen)、1.5  $\mu$ L、pd(N)<sub>6</sub>(Amersham Biosciences、500ng/ $\mu$ Lに調製)、0.8  $\mu$ L、Ribonuclease Inhibitor(40U/ $\mu$ L)(Invitrogen)、1.0  $\mu$ L、100mM dTT#、1.5  $\mu$ L、上記のRT酵素(200U/ $\mu$ L)、1.5  $\mu$ L、およびRNA用の水3.7  $\mu$ Lを用いた。反応温度は42°C1時間とし、99°C5分間加熱して酵素を失活させ、4°Cに急冷した。温度制御には下記のPCRの過程を含めてThermal cycler Dice(TaKaRa)を用いた。

### 3. E9 Hill用のプライマー

E9 Hill株の全ゲノム配列(GenBank accession No.X84981)7420baseのうち、ポジション5003-5671の間に、増幅産物のサイズが260-280bpになるようプライマー(Tm値は約50°C)を設定した。この領域は、これまで使用してきたポリオウイルスの増幅部位に近く、pd(N)<sub>6</sub>に代えてpd(T)<sub>12-18</sub>を用いた場合でもゲノムの3'末端(ポリA鎖)からの位置が大きく異なるらないためである。

E9 Hill用のプライマー対はPrimer3([http://www-genome.wi.mit.edu/genome\\_software/other/primer3.html](http://www-genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html))およびGenetyx等のソフトウェアを利用してデザインした。E9 Hill-F、5'-gTT AAC TCC ACC CTA CAg AT-3'、センスプライマー、ポジション5192-5211、およびE9 Hill-R、5'-TgA ACT CAC CAT ACT CAg T C-3'、アンチセンスプライマー、ポジション5459-5440である。このプライマー対によるE9 Hill株の増幅産物のサイズは268bpと計算された。

### 4. ノロウイルス検出用プライマー

マニュアルに準じてジェノグループG1用のプライマー対としてG1-SKF、5'-CTg CCC gAA TTY gTA AAT gA-3'(Y=C or T)/G1-SKR、5'-CCA ACC CAR CCA TTR TAC A-3'(R=A or G)およびCOG1F、5'-CgY Tgg ATg CgN TTY CAT gA-3'(N=A,C,G or T)/COG1R、5'-CTT AgA CgC CAT CAT CAT TYA C-3'を用いた。同様にジェノグループG2にも2種類のプライマー対として、G2-SKF、5'-CNT ggg Agg gCg ATC gCA A-3'/G2-SKR、5'-CCR CCN gCA TRH CCR TTR TAC AT-3'(H=A, C or T)およびCOG2F、5'-CAR gAR BCN ATg TTY AgR Tgg ATg Ag-3'(B=C, g or T)/COG2R、5'-TCg ACg CCA TCT TCA TTC ACA-3'を用いた。

### 5. PCR

マニュアルに準じてEx-Taq(TaKaRa)を用いた。反応は94°Cで3分間反応後、94°C30秒、50°C30秒、72°C1分を1サイクルとして40サイクルのPCR増幅を行い、72°C7分反応させた。反応液の組成は、蒸留水、17.7  $\mu$ L、10 $\times$ Ex-Taqバッファー、2.5  $\mu$ L、2.5mM dNTP 2  $\mu$ L、センスプライマー(100  $\mu$ M)、0.12  $\mu$ L、アンチセンスプライマー(100  $\mu$ M)、0.12  $\mu$ L、cDNA、2.5  $\mu$ L、Ex-Taq、0.12  $\mu$ Lで全量25  $\mu$ Lとした。

プライマー対はノロウイルス用4対、E9Hill-FおよびE9Hill-Rに加えて、エンテロウイルスのユニバーサ

ルプライマー<sup>4)</sup>である EVP4 および OL68-1 も用いた。

6. E9 Hill 用 PCR の感度に関する実験

E9 Hill 株の RD-18S 細胞での力価は Reed-Muench 法で 5.67 log TCID<sub>50</sub>/25 μL であった。このウイルス液を PBS(-) で 10<sup>-2</sup> ~ 10<sup>-8</sup> に階段希釈して、各希釈倍率の 140 μL から上記の 2 と同様に cDNA を合成した。これを 5 の PCR で増幅して産物が見られるか否かを検討した。

7. アガロース電気泳動による増幅産物の確認

2% ウルトラピュア アガロース (Invitrogen) および TAE バッファーを用いて ミューピッド α (100V) で 30 分間泳動した。染色はエチジウムブロマイドで行い、UV 照射下で写真撮影した。マーカーには 100bp DNA Ladder (第一化学) を用いた。

III 結 果

1. E9 Hill 用のプライマーを用いた PCR

ノロウイルス陽性の下痢症検体 8 件に E9 Hill 株を添加してから RNA 抽出した検体では、E9 Hill-F および E9 Hill-R を使用した PCR で 268bp の増幅産物が明瞭に観察された。一方、未添加の対応するノロウイルス陽性検体では、同じ反応で全く増幅産物が見られなかった (Fig. 1)。その他の無菌性髄膜炎検体 6 件および感染性胃腸炎検体 6 件 (計 12 件) でも増幅産物は確認されなかった。

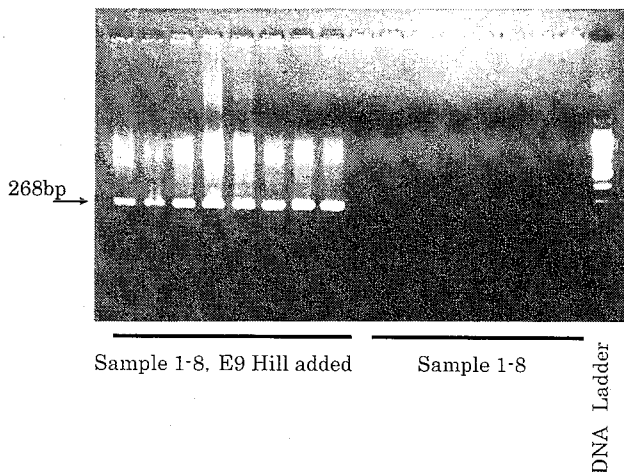


Fig. 1 Electrophoresis photo of amplification product of Echo 9 (E9) using primers E9 Hill-F and E9 Hill-R. Detection of E9 Hill added as a positive control of RNA extraction was possible. Samples 1-8 were all *Norovirus* positive.

2. ノロウイルス特異的プライマーを用いた PCR

E9 Hill 株を添加したノロウイルス陽性検体 8 件についてノロウイルス PCR を実施したところ、全ての検体でノロウイルスのゲノムが確実に検出された。Table. 1 に示した通り 8 件中 1 件はジェノグループ G1 と G2 の混合感染、5 件は G2 の感染、2 件は G1 に感染していたと判定された。これらの結果は E9 Hill 株を添加しないと判定された。これらの結果は E9 Hill 株を添加しない検体で得られた結果と同じで、添加による影響は観察されなかった。

Table. 1 Results of *Norovirus* specific PCRs and E9 Hill specific PCR

Primer pair	<i>Norovirus</i> positive samples E9 Hill added								product size
	1	2	3	4	5	6	7	8	
G1-SKF/ G1-SKR	+	-	-	-	-	-	+	+	330bp
COG1F/ COG1R	+	-	-	-	-	-	+	+	85bp
G2-SKF/ G2-SKR	+	+	+	+	+	+	-	-	344bp
COG2F/ COG2R	+	+	+	+	+	+	-	-	98bp
E9 Hill-F/ E9 Hill-R	+	+	+	+	+	+	+	+	268bp

+ : positive, - : negative

3. エンテロウイルス検出用プライマーを用いた PCR

E9 Hill 株を添加したノロウイルス陽性検体 8 件では増幅がはっきりと確認できたが、未添加の同じ 8 件はすべて陰性であった。その他の 12 名中 5 名の検体からエンテロウイルス遺伝子が検出された。うち 4 名は無菌性髄膜炎患者であり、1 名は感染性胃腸炎患者 (髄膜炎に伴う嘔吐が疑われた患者) であった。この結果から E9 Hill 株用にデザインしたプライマー対は少なくとも今回 5 名から検出されたエンテロウイルスのゲノムを増幅しないことが示された。

4. E9 用 PCR の感度

10<sup>-6</sup> 倍まで明瞭な 268bp の増幅産物が見られた (Fig. 2)。陽性コントロールは確実に検出される必要があり、10<sup>-4</sup> 倍希釈は明瞭な増幅バンドが観察されて非特異増幅がほとんど見られなかったため、陽性コントロールの希釈倍率として適切と考えられた。計算の結果、E9 Hill 株の力価 3.5 log TCID<sub>50</sub>/25 μL のウイルス液 2 μL が RNA 抽出コントロールとして適していた。

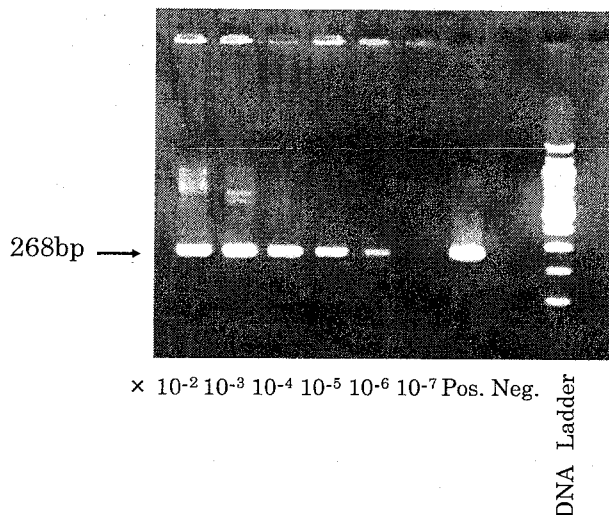


Fig. 2 Sensitivity of RT-PCR for detection of E9 Hill using primers E9Hill-F and E9Hill-R. E9 Hill was diluted from  $10^{-2}$  to  $10^{-7}$  and RNA was extracted from each aliquot. Pos indicates E9 Hill solution without dilution. Neg means negative control.

#### IV 考 察

本研究の目的は、国がノロウイルス検査法を標準化する目的で発行する検査マニュアル中で用いられるポリオウイルスに代えて E9 Hill 株を用いる手法を示すことであり、それが可能なことが明らかになった。

E9 Hill 株の添加は、ノロウイルス PCR に影響が見られず、反応を阻害しないものと考えられる。

今回デザインした E9 Hill 用プライマー対による E9 Hill 株 PCR で、検査結果に影響しないレベルの少量の非特異的な増幅が見られるケースが見られた (Fig. 1, 2) が、これは添加する E9 Hill 溶液を希釈することで防止でき、力価  $3.5 \log \text{TCID}_{50}/25 \mu\text{L}$  のウイルス液  $2 \mu\text{L}$  が RNA 抽出コントロールとして適していると計算された。この陽性コントロールを添加した場合、ノロウイルス検査においても前述したように検査結果に影響を及ぼさなかった。

便中のウイルス RNA の抽出は、糞便以外に適切な検査材料がないノロウイルス検査において特に重要であるので、その抽出法の標準化が必要である。しかし、2003 年現在、ウイルス RNA 抽出キットとして市販されているもので、糞便を適用対象としているものは、我々が把握している限り、存在しない (ただし、便中のウイルス DNA を対象としたものは近年入手可能となった)。これは、RNA が壊れやすい物質で、RT-PCR に及ぼす糞便の組成等が個々に異なり、標準化しにくいと考えられる。E9 Hill 株と今回デザインしたプライマー対

(E9Hill-S + E9Hill-R) を使用した手法は、RNA 抽出および RT 反応過程のコントロール実験として有用であると考える。

#### V ま と め

ノロウイルス検査の RNA 抽出コントロールにおいてエコーウイルス 9 型 Hill 株 (E9 Hill) が RNA 抽出のポジティブコントロールとして使用可能であることが明らかになった。これまで、ポリオウイルス 2 型 Sabin 株 (P2) がこの目的のために用いられてきた。しかし、ポリオ撲滅プログラムの進展とともに、実験室診断においてもポリオウイルスに代わる安全なウイルスの使用が望ましくなりつつある。今回、新たにデザインしたプライマー対を使用して、E9 Hill は高感度かつ正確に検出可能であった。また、E9 Hill の添加はノロウイルス検査に影響しなかった。従って、ノロウイルス検査において E9 Hill を P2 に代えて用いることが出来ることが示された。

#### 謝 辞

本論文を作成するにあたり、ご助言を賜りました山岡政興感染症部長に深謝いたします。

本研究の一部は平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金 (食品安全確保研究事業) ならびに文部科学省研究補助金 (基盤研究 C, #15590568) を受けて行われた。

#### 文 献

- 1) 近平雅嗣, 藤本嗣人, 岡藤輝夫, 増田邦義: 感染症発生動向調査において小児から分離された下痢症関連ウイルス. 兵庫県立衛生研究所年報, 33, p99-104 (1998)
- 2) 西尾治, 西香南子, 福田伸治, 西田知子, 篠原美千代, 三上稔之, 沖村容子, 新川奈緒美, 杉枝正明, 古屋由美子, 大瀬戸光明, 鈴木宏: ウイルス性食中毒の病因. 臨床とウイルス, 31-3, p163-169 (2003)
- 3) 西尾治: ノロウイルスの RT-PCR 法. ウイルス性下痢症診断マニュアル (第 3 版), p44-62 (2003)
- 4) Ishiko H, Shimada Y, Yonaha M, Hashimoto O, Hayashi A, Sakae K, Takeda N.: Molecular diagnosis of human enteroviruses by phylogeny-based classification by use of the VP4 sequence. J Infect Dis, 185, p.744-754 (2002)

(受理 2003年11月25日)



[ノート]

## 兵庫県内の集団下痢症患者から分離された *Cryptosporidium parvum* 株の 遺伝子型別分析

押部 智宏<sup>1\*</sup> 辻 英高<sup>1</sup> 近平 雅嗣<sup>1</sup>  
池野 まり子<sup>1</sup> 山岡 政興<sup>1</sup>

Genotype analysis of *Cryptosporidium parvum* Isolated from the Patients  
in Hyogo Prefecture of Diarrheal Cryptosporidiosis Outbreak

Tomohiro Oshibe<sup>1</sup>, Hidetaka Tsuji<sup>1</sup>, Masatugu Chikahira<sup>1</sup>, Mariko Ikeno<sup>1</sup> and  
Masaoki Yamaoka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of  
Public Health and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku,  
Kobe 652-0032, Japan

### SUMMARY

A Cryptosporidiosis outbreak in Hyogo prefecture occurred in March 2002. The poly-threonine (poly-T) gene of these *Cryptosporidium* isolates (*Cp* Hyogo isolates) were investigated by using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) genotyping techniques, as well as the *Cryptosporidium* oocyst wall protein (COWP) gene. DNA sequencing analysis of the 18S rRNA, the thrombospondin-related protein 2 (TRAP-C2), the 60-kDa glycoprotein (GP60, also known as gp15/45) genes were performed for subgenotyping classification. *Cp* Hyogo isolates were classified into human genotype (by poly-T, COWP), subgenotype A (by 18S rRNA), subgenotype A (by TRAP-C2) and subgenotype I e (by GP60). These findings would help to analyze *Cryptosporidium* outbreak.

#### I はじめに

クリプトスポリジウムは、孢子虫類に属する原虫で、

ヒトや動物の腸管粘膜に寄生する。現在、オーシストの形態学的特徴や宿主特異性などから、少なくとも8種の独立種が存在し<sup>1)</sup>、このうち *Cryptosporidium parvum* (*Cp*) は、飲料水や食品を介してヒトに感染し、水様性下痢を起こすことが知られている。

<sup>1</sup>感染症部

\*別刷請求先：〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29  
兵庫県立健康環境科学研究所  
感染症部 押部 智宏

近年、形態学的特徴などによる分類だけでなく、種々の遺伝子の塩基配列に基づいて分類する研究が急速に進んでいる<sup>2,3)</sup>。*Cp* は、ヒト、ウシ、サル、マウス、フェレット、イヌ、ブタ由来株の18S rRNA 遺伝子などの

塩基配列に基づき、それぞれの動物由来の遺伝子型として分類され<sup>2)</sup>、さらに 18S rRNA, thrombospondin-related protein 2 (TRAP-C2) 及び 60-kDa glycoprotein (GP60) 遺伝子などの塩基配列に基づく亜遺伝子型 (Subgenotype) 分類が提唱されている<sup>7,10,12)</sup>。

2002年3月に北海道への修学旅行に参加した兵庫県内の高校生ら129名が下痢を発症し、61名の患者糞便から *Cp* を分離した。今回、著者らはこの分離株 (*Cp* 兵庫株) の遺伝学的な特徴の詳細を明らかにするため、制限酵素切断長多形 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) による遺伝子型別及び塩基配列による Subgenotype 分類について検討したので報告する。

## II 材料と方法

### 1. 材料

2002年3月の集団感染事例<sup>4)</sup>における有症患者の糞便を供試した。検体は、2.5%重クロム酸カリウム水溶液を添加し、混和後、4℃で保存した。

### 2. オーシストの分離

糞便から遠心沈殿法、シヨ糖浮遊法で分離した<sup>5)</sup> オーシストの一部をスライドガラスに載せ、蛍光抗体染色、DAPI染色を行い、顕微鏡で染色像、微分干渉像を確認した。オーシストの確認後、滅菌精製水で遠心洗浄し、その後の試験に供した。また、必要に応じて、マイクロキャピラリーを用いて顕微鏡下でオーシストを単離した。

### 3. Polymerase chain reaction (PCR) 及び RFLP

2% TritonX-100 含有 TE buffer に浮遊したオーシストを、-80℃で3回凍結融解を繰り返した後、100℃で15分加熱処理してDNAを抽出した<sup>5)</sup>。poly-threonine (poly-T), 18S rRNA, TRAP-C2, *Cryptosporidium* outer wall protein (COWP) 及び GP60 遺伝子は、Table 1 に示すそれぞれのプライマーを使用したPCR法で増幅した。PCR法には、Ex Taq (Takara) を用い、Thermal Cycler MP TP-3000 (Takara) を使用した。

増幅した poly-T, COWP 遺伝子は、QIAquick PCR Purification kit (QIAGEN) で精製後、制限酵素 *Rsa* I (Roche Diagnostics) で37℃、4時間処理し、10~20%ポリアクリルアミドゲル密度勾配電気泳動法により解析した。

### 4. 塩基配列決定および相同性検索

供試した兵庫株4株中2株の18S rRNA, TRAP-C2, COWP, 及び GP60 遺伝子は、それぞれダイレクトシーケンス法 (Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit Ver.2.0, ABI PRISM model 310; Applied Biosystems) で塩基配列を決定した。得られた塩基配列は、GenBank database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) の BLASTn を用いて相同性を検索した。

### 5. Subgenotype

18S rRNA 及び TRAP-C2 遺伝子の Subgenotype は、Sulaiman の方法<sup>7,10)</sup>に基づいて分類した。18S rRNA 遺伝子では、80番目付近のTの反復配列が、11個であるものをA型、10個であるものをB型、8個であるもの

Table. 1 PCR primer sets used in this study

Target gene	Name	Primer sequence	PCR product (bp)	Annealing Temperature (°C)	Reference
18S rRNA gene	CPB-DIAGF	5'-AAG CTC CTA GTT GGA TTT CTG-3'	435	55	6
	CPB-DIAGR	5'-TAA GGT GCT GAA GGA GTA AGG-3'			
TRAP-C2 gene		5'-CAT ATT CCC TGT CCC TTG AGT TGT-3' 5'-TGG ACA ACC CAA ATG CAG AC-3'	369	48	7
COWP gene	CRY-15	5'-GTA GAT AAT GGA GAT TGT G-3'	550	55	8
	CRY-9	5'-GGA GTG AAA TAC AAG CAT TAT CTT G-3'			
poly-T gene	CRY-44	5'-CTC TTA ATC CAA TCA TTA CAA-3'	518	53	9
	CRY-373	5'-AGC AGC AAG ATA TGA TAC CG-3'			
GP60 gene*	AL3531	5'-ATA GTC TCC GCT GTA TTC-3'	50	50	10
	AL3534	5'-GCA GAG GAA CCA GCA TC-3'			
	AL3532	5'-TCC GCT GTA TTC TCA GCC-3'			
	AL3533	5'-GAG ATA TAT CTT GGT GCG-3'			

\* AL3531/AL3534 was primary pair. AL3532/AL3533 was secondary pair for nested PCR.

をC型, 6個であるものをD型と判定し, A~D型の4つに分類した. TRAP-C2遺伝子は, 280番目の塩基がTの場合はA型, 同じCはB型と判定し, A, B型の2型に分類した (Table 2).

GP60遺伝子は, その塩基配列に基づいてSulaiman<sup>10)</sup>は, ヒト型をA~I型の9つ, Peng<sup>12)</sup>は, ヒト型をIa~Ieの5つ, ウシ型をIIaとIIbの2つに分類している.

決定したCp兵庫株のGP60遺伝子塩基配列をBLASTn検索により, Sulaiman<sup>10)</sup>及びPeng<sup>12)</sup>の分類にあてはめて解析した (Table 2).

Table 2 Sources and Classification of Subgenotype used in this study

Target Gene	Classification	Author	Reference
18SrRNA	A,B,C,D	Sulaiman et al.	10
TRAP-C2	A,B	Sulaiman et al.	7,10
GP60	Ia~Ie,IIa~IIb	Peng et al.	12
	A,B,C,D,E,F,G,H,I	Sulaiman et al.	10

### III 結果

#### 1. PCR-RFLPによる遺伝子型

Cp兵庫株4株のpoly-T及びCOWP遺伝子のPCR-RFLPをFig. 1に示した. Cp兵庫株のpoly-T遺伝子のRFLPは, 4株共400bpと67bp付近に2本の合計3本認められた. 一方, COWP遺伝子のRFLPは280bp, 130bp, 110bpに切断産物がみられた. 分離4株のRFLPパターンは, それぞれの遺伝子共に同一であり, 対照のウシ型とは異なり, いずれもヒト型<sup>8), 9)</sup>と一致した.

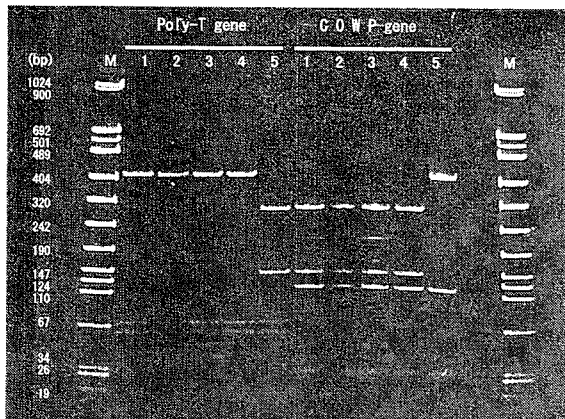


Fig. 2 PCR-RFLP patterns of poly-T, COWP PCR products digested with *Rsa* I M, size maker; Lane1, Hyogo isolate-CP02001; Lane2, Hyogo isolate-CP02002; Lane3, Hyogo isolate-CP02003; Lane4, Hyogo isolate-CP02004; Lane5, positive control (bovine genotype)

#### 2. 塩基配列決定および相同性検索結果

決定した18S rRNA (400bp), TRAP-C2 (369bp) 及びCOWP (494bp)の各遺伝子の塩基配列についてBLASTn検索を行った結果, 下記のCpのヒト型株としてGenBankに登録されている塩基配列とそれぞれ一致した. (18S rRNA遺伝子: GenBank under accession no. AF108865, TRAP-C2遺伝子: GenBank under accession no. AF082522, COWP遺伝子: GenBank under accession no. AF266272)

#### 3. Subgenotype

Cp兵庫株の18S rRNA遺伝子の塩基配列では, 80番目付近のTの反復配列が11個認められ, Sulaiman<sup>10)</sup>の方法では, SubgenotypeはA型であった. また, 同様にTRAP-C2遺伝子では, 280番目の塩基がTで, SubgenotypeはA型であることが判明した.

GP60遺伝子の解析では, 決定した塩基配列 (457bp) についてBLASTn検索した結果, Cp兵庫株はSulaiman<sup>10)</sup>が提唱する分類法ではB型で, Peng<sup>12)</sup>の分類ではIe型であるとしてSulaimanが登録した株の塩基配列 (GenBank under accession no. AF402290) と一致した. これらの結果を, Table. 3にまとめて示した.

Table. 3 Subgenotyping results of Hyogo isolates in this study

Target Gene	Subgenotype of Hyogo isolates
18S rRNA	A
TRAP-C2	A
GP60	Ie
	B

### IV 考察

集団下痢症の原因となったCp兵庫株は, 今回5種類の遺伝子を解析した結果, いずれも遺伝子型がヒト型であることが判明した. ヒト型は, ウシやマウスには感染せず, ヒト-ヒト間の感染環が形成されていると考えられており<sup>11)</sup>, また, 異なる患者由来の複数のCp兵庫株が全てヒト型であったことから, 単一あるいは共通のCp感染者の糞便に汚染された飲料水あるいは食品を介した集団発生の可能性が強く示唆された.

今回, シークエンス解析に比べて簡便なPCR-RFLP法による分析を行った. Poly-T及びCOWP遺伝子と制限酵素*Rsa* Iを組み合わせた方法<sup>5, 8, 9)</sup>を用いたところ, ヒト型とウシ型との判別が明瞭であり, 有用であることが確認された.

## 文 献

近年、様々な *Cp* 遺伝子の塩基配列の解析により Subgenotype の分類が行われている。Sulaiman<sup>10)</sup> は、*Cp* ヒト型株62株における18S rRNA 遺伝子解析の結果、A型39株、B型2株、C型6株、D型2株、その他は型別不能であり、TRAP-C2 遺伝子の解析では、A型36株、B型24株、その他は型別不能と報告した。*Cp* 兵庫株は、いずれの遺伝子による分類においても多数を占めるA型に属していた。

GP60遺伝子は、宿主腸管細胞への接着あるいは侵入に関与し zoite 表面に存在する15k-Da と45k-Da の糖タンパクの前駆タンパク (gp60) をコードしており、この遺伝子の一部領域の遺伝学的多型性<sup>13)</sup> を利用して、Subgenotype 分類が試みられている。Peng<sup>12)</sup> は中国、グアテマラ、インド、ケニア、ポルトガル、スロベニアの各国から分離された臨床株30株について、GP60遺伝子の型別を行った。その結果、Ie型はグアテマラで3株、ポルトガルで1株認められた。また、その他の型についても国によってそれぞれの分布に偏りがあることを示した。Leav<sup>14)</sup> は南アフリカでHIV感染患者から分離した*Cp* 株20株についてGP60遺伝子を解析し、Ia型が1株、Ib型が4株、Ic型が5株、Id型が5株で、Ie型は5株であったと報告した。Alves<sup>15)</sup> は、ポルトガルのHIV感染患者から分離した*Cp* 株23株について、Ib型が4株、Ic型が5株で、Ie型は2株であり、Ia、Id型はなかったと報告した。

これらの報告から、Subgenotype の分類にGP60遺伝子を用いることによって、国や地域による分布及び流行の特徴を明らかにできるものと思われた。

一方、国内の臨床株3株について、ヒト型のIa型、Ie型とウシ型のIa型が報告されている<sup>16)</sup>。今のところ国内の*Cp* の患者由来株数は少なく、GP60遺伝子の型別報告例は限られているが、今後、これらの型別データが蓄積されれば、これから起こりうる散发事例や今回の事例を含む集団発生における感染源、感染経路の解明への手掛かりとなることが考えられた。

## 謝 辞

本研究を行うにあたり、ご指導いただいた現、神戸総合医療介護福祉専門学校増田邦義氏、現、神戸常盤短期大学の小野一男氏に感謝いたします。

なお、この論文内容は、平成14年度日本獣医公衆衛生学会近畿地区および年次大会に発表した。

- 1) Fayer, R.: *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis, p1-42, CRC Press, Boca Raton (1997)
- 2) Xiao, L., Morgan, U.M., Limor, J., Escalante, A., Arrowood, M., Shulaw, W., Thompson, R.C.A., Fayer, R. and Lal, A.A.: Genetic diversity within *Cryptosporidium parvum* and related *Cryptosporidium* species, *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 3386-91 (1999)
- 3) Xiao, L., Morgan, U.M., Fayer, R., Thompson, R.C.A. and Lal, A.A.: *Cryptosporidium* Systematics and Implication for Public Health, *Parasitology Today*, **16**, 287-92 (2000)
- 4) 押部智宏, 辻英高, 小野一男, 増田邦義: クリプトスポリジウムの集団感染事例-兵庫県, 病原微生物検出情報, **23**, 145 (2002)
- 5) 遠藤卓郎, 八木田健司, 増田剛太, 黒木俊郎: クリプトスポリジウム症を中心とした原虫性下痢症の診断マニュアル. p.1-33, 国立感染症研究所, 東京 (2000)
- 6) Johnson, D.W., Pieniazek, N.J., Griffin, D., Misener, L. and Rose, J.B.: Development of a PCR Protocol for Sensitive Detection of *Cryptosporidium* Oocyst in Water Samples, *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 3849-3855 (1995)
- 7) Sulaiman, I.M., Xiao, L., Yang, C., Escalante, L., Moore, A., Beard, C.B., Arrowood, M. and Lal, A.A.: Differentiating Human From Animal Isolates of *Cryptosporidium parvum*, *Emerging Infectious Diseases*, **4**, 681-685 (1998)
- 8) Spano, F., Putignani, L., McLauchlin, J., Casemore, D.P. and Crisanti, A.: PCR-RFLP analysis of the *Cryptosporidium* oocyst wall protein (COWP) gene discriminates between *C. wrari* and *C. parvum*, and between *C. parvum* of human and animal origin, *FEMS Microbiol. Lett.*, **15**, 209-217 (1997)
- 9) Carraway, M., Tzipori, S. and Widmer, G.: A new restriction fragment length polymorphism from *Cryptosporidium parvum* identifies genetically heterogeneous parasite populations and genotypic changes following transmission from bovine to human hosts., *Infect. Immun.*, **65**, 3958-3960 (1997)
- 10) Sulaiman, I.M., Lal, A.A. and Xiao, L.: A population genetic study of the *Cryptosporidium parvum* human genotype parasites., *J. Eukaryot. Microbiol.*,

- Suppl : 24S-27S. (2001)
- 11) Peng, M.M., Xiao, L., Freeman, A.R., Arrowood, M.J., Escalante, A.A., Weltman, A.C., Ong, C.S., MacKenzie, W.R. and Lal, A.A. and Beard, C.B.: Genetic polymorphism among *Cryptosporidium parvum* isolates: evidence of two distinct human transmission cycles. *Emerging Infectious Diseases*, 3, 567-573 (1997)
- 12) Peng, M.M., Matos, O., Gatei, W., Das, P., Pavlinic, M.S. and Bern, C. Sulaiman, I.M. and Glaberman, S., Lal, A.A. and Xiao, L. : A comparison of *Cryptosporidium* subgenotypes from several geographic regions., *J. Eukaryot. Microbiol. Suppl*: 28S-31S (2001)
- 13) Cevallos, A.M., Zhang, X., Waldor, M.K., Jaison, S., Zhou, X., Tzipori, S., Neutra, M.R., Ward, H.D. : Molecular cloning and expression of a gene encoding *Cryptosporidium parvum* glycoproteins gp40 and gp15., *Infect Immun.*, 68, 4108-4116 (2000)
- 14) Leav, B.A., Mackay, M.R., Anyanwu, A., O'Connor R.M., Cevallos, A.M., Kindra, G., Rollins, N.C., Bennish, M.L., Nelson, R.G. and Ward, H.D. : A analysis of sequence diversity at the highly polymorphic Cpgp40/15 locus among *Cryptosporidium* isolates from human immunodeficiency virus-infected children in South Africa, *Infect. Immun.*, 70, 3881-3890 (2002)
- 15) Alves, M., Xiao, L., Sulaiman, I., Lal, A.A., Matos, O. and Antunes, F. : Subgenotype analysis of *Cryptosporidium* isolates from humans, cattle, and zoo ruminants in Portugal, *J. Clin. Microbiol.*, 41, 2744-2747 (2003)
- 16) Wu, Z., Nagano, I., Boonmars, T., Nakada, T. and Takahashi Y. : Intraspecies polymorphism of *Cryptosporidium parvum* revealed by PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) and RFLP-single-strand conformational polymorphism analyses, *Appl Environ Microbiol.*, 69, 4720-4726 (2003)

(受理 2003年11月25日)

[ノート]

## 市販大豆製品およびとうもろこし製品からの 遺伝子組換え体の検出のための基礎研究

西海弘城

Basic Research for Detection of Genetically Modified Organisms from Commercial  
Soybean and Maize Products

Hiroki Nishiumi<sup>1</sup>

Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and  
Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku,  
Kobe 652-0032, Japan

### SUMMARY

On April 2001, a part of Food Hygiene Law was revised, and a duty of safety examination and a display of genetically modified organisms (GMO) was imposed. In Hyogo prefecture, we have inspected GMO of the commercial foods by PCR from 2002. We inspected 30 soybean and 30 maize products. As a result of inspecting maize products, 35S promoter gene of Cauliflower Mosaic Virus was detected with two cornstarch samples. Then we used respectively specific primers of Event176, Bt11, T25 and Mon810. However, the amplification band was not detected even if it used any primers. With the soybean product, RoundUp Ready Soybean was detected from 5 among 30 samples. Then we measured the content of a GMO in these 5 samples by Real-time PCR. There was nothing exceeding 5% which is a mixing permissible value.

#### I はじめに

食品衛生法が一部改正され、2001年4月より遺伝子組換え食品の安全性審査および表示が義務付けられた。現在、5種類の農作物と30品目の加工食品が表示の対象となっている<sup>1)</sup>。それにともない、兵庫県では2002年3月から県内に流通する遺伝子組換え食品に係る食品の表示違反等の監視を行う目的で、大豆製品およびとうも

ろこし製品について遺伝子組換え食品検査を実施している。今回、安全性審査済みのRoundup ready大豆1系統およびGA21, Event176, Bt11, T25, Mon810のとうもろこし5系統について定性PCRを行い、陽性のものについてはリアルタイムPCRにより組換え体の含有量を測定した。

#### II 方 法

##### 1. 試料

2002年3月から2002年10月に入手した大豆穀粒14検体、大豆加工品16検体、とうもろこし穀粒5検体、とうもろこし加工品25検体を対象とした。大豆穀粒は豆

感染症部

\* 別刷請求先：〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29  
兵庫県立健康環境科学研究センター  
感染症部 西海弘城

腐原料大豆であり、それ以外はすべて市販品を用いた。製品に記載された表示も区別して示した (Table 1, 2)。今回、検査に供試した検体はすべて「組換えでない」あるいは無表示のもので、「遺伝子組換え」または「不分別」と表示されたものは入手できなかった。

Table 1. Number of inspected soybean samples

Kind of Soybean products	Product Display		Total
	Non GMO*	Un-displaying	
Soybean Grain	9	5	14
Soybean Flour	3	2	5
Tofu	3	0	3
Freeze-dried Tofu	2	0	2
Canned Soybean	2	0	2
Bean Paste	1	1	2
Fermented Soybeans	2	0	2
Total	22	8	30

\* GMO : Genetically Modified Organism

Table 2. Number of inspected maize samples

Kind of Maize products	Product Display		Total
	Non GMO*	Un-displaying	
Maize Grain	5	0	5
Canned Maize	12	6	18
Cornstarch	7	0	7
Total	24	6	30

\* GMO : Genetically Modified Organism

## 2. DNA の抽出

JAS 分析試験ハンドブック<sup>2, 3)</sup>に示された方法に準じて CTAB 法で行った。DNA を抽出・精製後、それを DNA 試料原液として TE buffer で適宜希釈し、260nm および 280nm の吸光度 ( $OD_{260}$  および  $OD_{280}$ ) を測定し、 $OD_{260}$  の値 1 を 50ng/ $\mu$ L DNA として DNA 濃度を算出した。DNA 試料原液は、定性試験には 10ng/ $\mu$ L、定量試験には 20ng/ $\mu$ L となるように滅菌蒸留水で希釈して用いた。DNA 試料原液の濃度が規定された濃度に達しないときは、そのまま DNA 試料液として用いた。

## 3. 定性試験

試験法は JAS ハンドブック<sup>2, 3)</sup>に準じて行った。プライマー、PCR 条件および電気泳動は以下に示した。

### (1) プライマー

大豆試料に対しては Roundup ready 大豆検出用プライマーおよび内在性遺伝子検出用として Lectin 遺伝子検出用プライマーを用いた。とうもろこしは内在性遺伝子検出用として SSIb 遺伝子検出用プライマーを用いた。

Event176, Bt11, T25, Mon810 のとうもろこし 4 系統は全て Cauliflower Mosaic Virus 由来の 35S

Promoter (以下 CaMV) が組み込まれている。したがって CaMV 検出用プライマーを用いたスクリーニングを行い、増幅がみられた場合、さらに Event176, Bt11, T25, Mon810 にそれぞれ特異的な検出プライマーを用いて PCR 増幅を行った。また、GA21 は、CaMV 遺伝子が組み込まれていないため、GA21 検出用プライマーを用いて PCR 増幅を行った。

### (2) PCR 条件

1  $\times$  PCRbuffer, 0.2mmol/L dNTP Mixture, 1.5 mmol/L 塩化マグネシウム, 0.5  $\mu$ mol/L 5' および 3' プライマー, 0.625U Taq Polymerase になるように調整した反応液に 10ng/ $\mu$ L DNA 試料液を 2.5  $\mu$ L 加え、全量を 25  $\mu$ L とした。PCR 反応は 95°C で 10 分間反応後、95°C 30 秒, 60°C 30 秒, 72°C 30 秒を 1 サイクルとして 40 サイクルの増幅を行い、さらに 72°C で 7 分間保持した。反応終了後は 4°C で保存した。

### (3) 電気泳動

2% アガロースゲルを用い、0.5  $\times$  TBE 緩衝液中で 100V, 30 分間電気泳動した。泳動終了後、エチジウムブロマイドで染色し、トランスイルミネーターで対象遺伝子が増幅されているかどうかの確認を行い、結果をポラロイドカメラで撮影した。

## 4. 定量試験

試験法は JAS ハンドブック<sup>2, 3)</sup>に準じて行った。Universal Master Mix 12.5  $\mu$ L, 対象プライマー 0.5  $\mu$ mol/L, 対象プローブ 0.2  $\mu$ mol/L になるように調整した液に 20ng/ $\mu$ L DNA 試料液を 2.5  $\mu$ L 加え全量を 25  $\mu$ L とした。PCR 反応は 50°C で 2 分間保持後、95°C で 10 分間反応させ、95°C 30 秒, 59°C 1 分を 1 サイクルとして 45 サイクルの増幅を行った。

## III 結果および考察

### 1. DNA の抽出

得られた DNA 抽出液を原液として希釈を行い、 $OD_{260}$  および  $OD_{280}$  を測定し、純度の確認および DNA 収量の算出を行った。 $OD_{260}$  が DNA の吸光度、 $OD_{280}$  が蛋白質等不純物の吸光度を示している。260nm および 280nm の比 ( $OD_{260}/OD_{280}$ ) が 1.7~2.0 になれば DNA が十分に精製されていると考えられる。

大豆穀粒および味噌製品、納豆を除く大豆加工品では  $OD_{260}/OD_{280} = 1.77\sim 2.11$  となり良好な結果が得られた。しかし、味噌製品、納豆は  $OD_{260}/OD_{280} = 1.45\sim 1.66$  で純度は低かった。また、大豆穀粒、黄粉、凍り豆腐、

大豆缶詰の DNA 収量が大きく (421.5~1470ng/ $\mu$ L), 味噌製品, 納豆では低かった. (Table 3).

Table 3. Purity and concentration of DNA which were extracted from soybean samples

Kind of Soybean products	Purity of DNA (O.D.260/O.D.280)	Concentration of DNA (ng/ $\mu$ L)
Soybean Grain	1.79~1.87	920~1470
Soybean Flour	1.87~2.00	163~745.8
Tofu	1.77~1.92	62.3~169
Freeze-dried Tofu	1.87~2.11	955~1102.5
Canned Soybean	1.93~2.04	421.5~768.5
Bean Paste	1.45~1.60	6.8~22.4
Fermented Soybeans	1.58~1.66	25.3~27.8

とうもろこし缶詰では製品によって純度および濃度に大きなばらつきがみられた. 食塩のみが添加されているものは  $OD_{260}/OD_{280} = 1.48\sim 1.61$  と純度が低く DNA 収量も  $11\sim 53\text{ng}/\mu\text{L}$  と低かった. 食塩と砂糖が添加されているものは  $OD_{260}/OD_{280} = 1.37$  であり純度はさらに低かったが, DNA 収量は  $376\sim 542\text{ng}/\mu\text{L}$  と高い値を示した. 食塩, 砂糖, クエン酸が添加されているものは  $OD_{260}/OD_{280} = 1.0$ , DNA 収量は  $14.6\text{ng}/\mu\text{L}$  であり, ともにもっとも低い値を示した. また, コーンスターチでは純度が低く, DNA 収量も低かった (Table 4). 加工・精製等の製造工程のすすんでいるものは純度・DNA 収量が低いものが多く, DNA の抽出法について検討が必要であると思われる.

Table 4. Purity and concentration of DNA which were extracted from maize samples

Kind of Maize products (additives)	Purity of DNA (O.D.260/O.D.280)	Concentration of DNA (ng/ $\mu$ L)
Maize Grain	1.71~2.02	96.0~438
Canned Maize (salt)	1.48~1.61	11.1~53
Canned Maize (salt, sugar)	1.37	376~542
Canned Maize (salt, sugar, citric acid)	1.00	14.6
Cornstarch	1.31~1.43	3.4~6.9

## 2. 定性試験

大豆内在性遺伝子検知用プライマーを用いて PCR をおこなった結果, 30 検体全てで内在性遺伝子に対応する増幅産物が得られ, 正しく DNA の抽出ができたことが確認された. さらに組換え大豆検知用プライマーを用いて PCR を行った結果, 遺伝子組換えでないと表示された豆腐 3 検体, 無表示の大豆穀粒 2 検体から対象遺伝子である 121bp の増幅バンドが検出され, Roundup ready 大豆が混入していたことが示唆された (Table 5).

Table 5. Detection of GMO from Soybean products

Kind of Soybean products	Results of PCR		Concentration of GMO <sup>*3</sup> (%)
	Lectin <sup>*1</sup>	RRS <sup>*2</sup>	
Soybean Grain	+	+	0.42
	+	+	0.62
	+	-	-
	+	-	-
	+	-	-
	+	-	-
	+	-	-
	+	-	-
	+	-	-
	+	-	-
Soybean Flour	+	-	-
	+	-	-
	+	-	-
	+	-	-
	+	-	-
Tofu	+	+	0.23
	+	+	<0.1
	+	+	<0.1
Freeze-dried Tofu	+	-	-
	+	-	-
Canned Soybean	+	-	-
	+	-	-
Bean Paste	+	-	-
	+	-	-
Fermented Soybeans	+	-	-
	+	-	-

\*<sup>1</sup> Lectin : Lectin gene

\*<sup>2</sup> RRS : Roundup Ready Soybean specific gene

\*<sup>3</sup> Lectin : Genetically Modified Organism

とうもろこしでは, 加工品で DNA 純度の低いものが多かったが, 30 検体全てで内在性遺伝子に対応する 151bp のバンドが確認され, 正しく DNA の抽出ができていることが確認された. 一方, 組換えとうもろこし検知用プライマーである CaMV 検出用プライマーを用いて PCR を行った結果, コーンスターチ 2 検体で増幅バンドがみられた. Event176, Bt11, T25, Mon810 の 4 系統のうちいずれかが混入している疑いがあるため, それぞれに特異的なプライマーを用いて PCR を行った. しかし, どのプライマーでも増幅バンドはみられず, 上記 4 系統は混入していないことが確認された. 以上から, CaMV が検出されたコーンスターチ 2 検体には上記 4 系統以外の CaMV が導入されている遺伝子組換え体, または Cauliflower Mosaic Virus が混入していたので



はないかと推測された。組換えとうもろこし検知用プライマーである GA21 検出用プライマーを用いて PCR を行った結果、どの検体からも増幅バンドは検出されず、対象とした組換え体は混入していないと考えられた (Table 6)。

Table 6. Detection of GMO from Maize products

Kind of Soybean products	Results of PCR			Concentration of GMO*4(%)
	*1SSIb	*2P35S	*3GA21	
Maize Grain	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
Canned Maize	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
+	-	-	-	
Cornstarch	+	+	-	-
	+	+	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-

\*1 SSIb : Starch Synthase IIb gene

\*2 P35S : Cauliflower Mosaic Virus 35S promoter gene

\*3 GA21 : GA21 specific gene

\*4 GMO : Genetically Modified Organism

### 3. 定量試験

リアルタイム PCR による定量は、該当する食品が必ずもっている内在性遺伝子に対する組換え遺伝子の存在比率から組換え体がどれだけ含まれているかを相対的に測定する方法である。リアルタイム PCR を用いた遺伝子組換え体の定量分析技術は、製品の原料としての穀物又はその粉砕物に対してのみ確立されている。したがって、豆腐の混入率は参考値として算出した。データ処理後組換え体混入率を算出した結果、豆腐 3 検体のうち 2

検体は 0.1% 未満、残り 1 検体は 0.23% だった。ダイズ穀粒 2 検体の Roundup ready 大豆の混入率は、それぞれ 0.42%, 0.62% だった (Table 6)。5 検体全て食品衛生法が規定する混入許容値である 5%<sup>1)</sup> を上回るものはなく、分別生産流通管理が正確に行われていると考えられた。

## V まとめ

CTAB 法により DNA の抽出を行った結果、大豆発酵食品およびとうもろこし加工食品で純度が低い値を示した。しかし、それらを用いて定性 PCR を行った結果、純度が低い場合でも内在性遺伝子の検知は可能だった。また、とうもろこし缶詰では製品によって純度および濃度に大きなばらつきがあり、コーンスターチでは純度および濃度がともに低かった。

定性 PCR を行った結果、とうもろこし製品ではコーンスターチで CaMV 遺伝子が検知された。そこで Event176, Bt11, T25, Mon810 に特異的なプライマーを用いて PCR を行ったが、いずれのプライマーを用いても増幅バンドは確認されなかった。

大豆製品からは豆腐 3 検体、大豆穀粒 2 検体、計 5 検体から Roundup ready 大豆が検知された。そこで、リアルタイム PCR により定量を行った結果、混入許容値 5% を越えるものは検出されず、分別生産流通管理が正確に行われていると考えられた。

## 謝 辞

検査を実施するにあたり検体採取にご協力いただいた県下健康福祉事務所の関係者に深謝いたします。

なお、本報告の一部は平成 14 年度日本獣医公衆衛生学会 (近畿) において発表した。

## 文 献

- 1) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知, 平成 13 年 3 月 15 日付食発第 79 号: 食品衛生法施行規則及び乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令等の施行について
- 2) 農林水産消費者技術センター編: JAS 分析試験ハンドブック (2001)
- 3) 農林水産消費者技術センター編: JAS 分析試験ハンドブック 改定第 2 版 (2002)

(受理 2003 年 11 月 25 日)

## 苦味を呈したトマトからの原因成分の解明

島田邦夫<sup>1\*</sup> 後藤 操<sup>1</sup> 秋山由美<sup>1</sup>  
吉岡直樹<sup>1</sup> 西海弘城<sup>2</sup> 寺西 清<sup>1</sup>

### The Elucidation of a Cause Component from a Tomato Associated with a Bitter Taste

Kunio Shimada<sup>1\*</sup>, Misao Gotou<sup>1</sup>, Yumi Akiyama<sup>1</sup>, Naoki Yoshioka<sup>1</sup>,  
Hiroki Nishiumi<sup>2</sup>, and Kiyoshi Teranishi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Life Science Division, and <sup>2</sup>Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural  
Institute of Public Health and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku,  
Kobe 652-0032, Japan

### SUMMARY

In this paper, we described and characterized the production of trichothecin by a fungus isolated from a tomato associated with a bitter taste. Among 250 pesticides, a small amount of acetamiprid (0.08  $\mu\text{g/g}$ ) and pyridaben (0.02  $\mu\text{g/g}$ ) were detected, besides the 47  $\mu\text{g/g}$  trichothecin of mycotoxin- was detected. *Trichothecium roseum*, which has been distributed widely on decaying vegetation and in the soil and also caused pink mold rot, was isolated from the tomato.

The fungus produced trichothecin with a bitter taste, and was considered a contaminant. No human or animal diseases caused by the fungus have been reported

#### I はじめに

2002年9月、加古川健康福祉事務所管内のスーパーで箱買いしたトマト(20個入り)を喫食したところ、そのうちの1個に異常な苦味を感じたことにより苦情者より当該品が提供された。

当研究センターで調べたところ、トリコテセン系マイ

コトキシシンであるトリコテシンが検出された。そのため苦情のあったトマトより真菌学的検索を試みた。また、分離された真菌の増殖とトリコテシン産生能についても検討したので報告する。

#### II 材料および方法

##### 1. 供試試料

苦情者より提供されたトマトの食べ残し1個および未喫食2個を使用した。

##### 2. 試薬および試液

アセトニトリル、アセトンおよび*n*-ヘキサンは、和

<sup>1</sup>健康科学部, <sup>2</sup>現在 感染症部

\* 別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29

兵庫県立健康環境科学研究センター  
健康科学部 島田邦夫

光純薬工業(株)製残留農薬試験用, その他は試薬特級を用いた。

### 3. 装置および分析条件

装置: Hewlett Packard 社製 HP5890 シリーズ II ガスクロマトグラフおよび HP5972 質量分析計

カラム: Restek 社製 Rtx-200 (30m×0.25mm i.d., 膜厚 0.10 $\mu$ m)

カラム温度: 80 $^{\circ}$ C (3 min)  $\rightarrow$  30 $^{\circ}$ C/min  $\rightarrow$  170 $^{\circ}$ C (4 min)  $\rightarrow$  10 $^{\circ}$ C/min  $\rightarrow$  270 $^{\circ}$ C (15min)

注入口温度: 250  $^{\circ}$ C

インターフェイス温度: 280 $^{\circ}$ C

イオン化電圧: 70eV

キャリアガス圧力プログラム: 30psi (1 min)  $\rightarrow$  80psi/min  $\rightarrow$  8 psi (0.2min)

(初期流量 4 mL/min で 1 分間保持後, 流量を急速に下げ, 1.5 分後より 0.9 mL/min の定流量とした。)

注入量: 4 $\mu$ L (スプリットレス注入法)

パージオフ時間: 1 min

スキャン範囲およびスキャン速度: m/z 50-450 (1.8 cycles/sec)

### 4. トマト中の残留農薬分析

有機塩素系 35 種, 有機リン系 64 種, 含窒素系 107 種, カーバメート系 15 種, ピレスロイド系 19 種およびその他 10 種で合計農薬 250 種を対象農薬とし, 多成分一斉分析法<sup>1,2)</sup>を用いて, GC/MS により分析した。

### 5. 真菌検索

真菌の分離にはクロラムフェニコール含有ポテト・デキストロース寒天平板 (Oxoid 社製; Hampshire, England) およびサブロー寒天平板培地 (Oxoid) を用い, 25 $^{\circ}$ C で 1 週間培養した。分離菌の同定は, 常法<sup>3,4,5)</sup>に基づき集落の発育速度や発育温度、分生子の形状、その着生状態、菌糸の構造など形態学的観察により行った。

### 6. 分離菌の増殖とトリコテシン産生

#### 6-1) 分離菌の液体培地中での経時的増殖

接種菌液は, 分離菌をあらかじめサブロー液体培地 (Oxoid) 10mL で 25 $^{\circ}$ C, 3 日間培養し調製した。その培養液 0.1mL を 10mL サブロー液体培地 21 本に, それぞれ接種, 25 $^{\circ}$ C で 0 日, 1 日, 3 日, 6 日, 8 日, 10 日および 14 日間経時的に傾斜培養し, 各ステージ 3 本を使用した。それらの菌数測定は, ポテト・デキストロース寒天平板を用い, 10 倍希釈系列により 10,000 倍まで希釈し, 各希釈当たり 3 枚の平板を用いた。各平板に 0.1 mL ずつコンラージ棒で塗布し, 25 $^{\circ}$ C で 3 日間培養後, 発育集落数に希釈乗数を掛けて, 培養液 1 mL 当たりの

平均菌数として算定した。

#### 6-2) 分離菌の培養液中のトリコテシン分析

上で述べた各ステージにおけるトリコテシンの分析は, それぞれの培養液を 0.45 $\mu$ m ミリポア製メンブレンフィルターで除菌濾過した。その濾液 3 mL に食塩 1.5g およびアセトニトリル 6 mL を加えて, 10 分間振とう抽出した。塩析によりアセトニトリル層を分離し, 硫酸マグネシウムを加えて脱水した。その上清を 2 mL 取り, 濃縮後, n-ヘキサン-アセトン (4:1) 混液 1 mL に溶解し, この試験溶液を GC/MS で分析した。トリコテシン標準品は, 神戸市環境保健研究所より分与されたものを使用した。

## III 結果および考察

### 1. 苦味成分についての検討

#### 1-1) 残留農薬分析

当初, 加古川健康福祉事務所で殺虫剤用簡易検査キット (コリンエステラーゼ阻害試験キット) を用いて試験したところ陽性反応を示し, 農薬汚染が疑われた。そのため農薬および農薬代謝物 250 種について分析を行い, 苦情トマトから, 殺虫剤であるアセタミプリドが 0.08  $\mu$ g/g およびピリダベンが 0.02  $\mu$ g/g 検出された。しかし, これらの検出された農薬の濃度は低く, 異常な苦味の原因とは考えにくかった。

#### 1-2) トリコテシンの検出

上述したように農薬が苦味の原因とは考えられなかったため, Fig. 1 に示した GC/MS のトータルイオンクロマトグラムを精査したところ, 18 分付近に大きなピークがみられ, そのマススペクトルは, ライブラリー検索により, トリコテシンのものと類似していることが判明した。さらに, 16 分付近にトリコテシンの側鎖の切れた 12,13-epoxy-4-hydroxy-trichothec-9-en-8-one とマススペクトルが一致するピークも検出された。これらのマススペクトルを Fig. 2 に示す。この結果, トリコテシンが含有されている可能性が高まった。

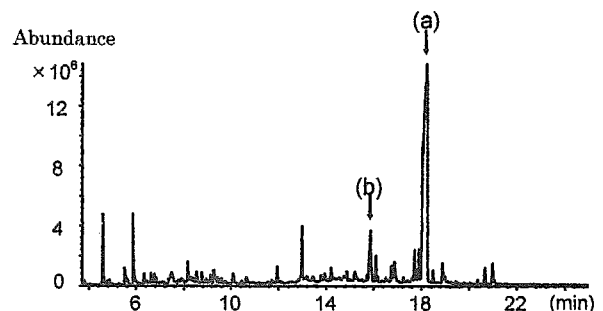


Fig. 1 Total ion chromatogram of the tomato sample, (a) trichothecin and (b) 12,13-epoxy-4-hydroxy-trichothec-9-en-8-one.

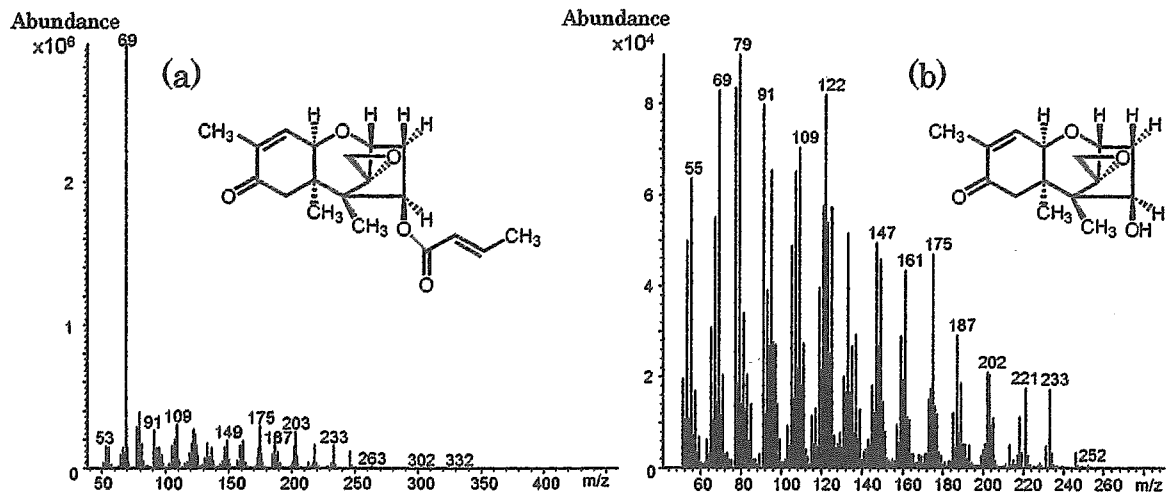


Fig. 2 Mass spectra and chemical structures of (a) trichothecin and (b) 12,13-epoxy-4-hydroxy-trichothec-9-en-8-one.

一方、マスクメロンやトマトがマイコトキソンのトリコテシンに汚染されると、異常な苦味を感じる事が知られている<sup>6)</sup>。また、抽出法について、田中ら<sup>7)</sup>は、我々の行ったアセトニトリル抽出、塩析と同様の方法により農産物中のトリコテシンを抽出、定量できることを報告している。そこで、トリコテシン標準品を同条件で分析した結果、保持時間やマススペクトルが、トマトからのものと一致したため、そのピークをトリコテシンと同一とし、苦情サンプルあたり  $47\mu\text{g/g}$  含有していることを証明した。

また、対照として用いた未喫食のトマトからは上述した農薬が同レベル検出されたものの、トリコテシンは検出されなかった。

## 2. 真菌検索

苦情トマト中の真菌の定量は行わなかったが、食べ残しトマト (Fig. 3, panel A) の直接鏡検より 2 細胞性の分生子が多数検出された。

一方、分離平板培地上で培養 3 日後、優勢菌は、最初羊毛状の白色集落で、次第にややピンク色を帯びた集落となった。発育菌 17 株を釣菌し純粋培養後同定した。そのうちの 13 株は  $25^\circ\text{C}$  で発育するが  $37^\circ\text{C}$  では発育しない。それらの菌糸は有隔で、分生子柄は長くほっそりとし、分岐していない。また、分生子は、特徴のある 2 細胞からなり、西洋梨状、壁は少し厚く滑らかである等の点から *Trichothecium roseum* であると同定した。その集落や分生子、菌糸の写真を Fig. 3 (panel B, C および D) に示した。その他の検出真菌としては 1 株が *Penicillium* sp. で 3 株が酵母であった。苦情のあったトマトから優勢菌として *T. roseum* が検出された。この菌は土壌や植物に広く分布し、マスクメロン<sup>6,7)</sup>、ナシ<sup>8)</sup>、リンゴ<sup>8)</sup>、桑の実<sup>8)</sup> および小麦<sup>7,9)</sup> などのバラ色カビ病 (pink mold rot) の起因菌として知られている。

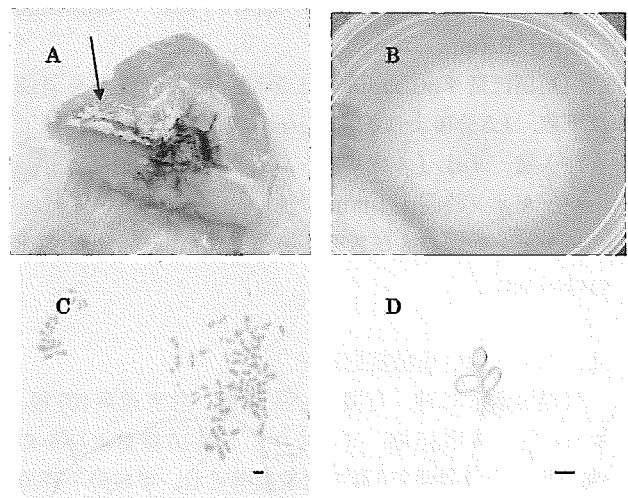


Fig. 3 (A) Leftover tomato after consumer sampled tomato. The arrow shows a part of pale pinkish mass. (B) Colony of isolate (*Trichothecium roseum*) on potato dextrose agar. (C) Dyeing with lactophenol cottonblue. The bar is  $10\mu\text{m}$ . (D) Conidia on slide culture. The bar is  $10\mu\text{m}$ .

## 3. *T. roseum* の増殖とトリコテシン産生

*T. roseum* がトリコテシンを産生することは古くから知られている<sup>10)</sup>。上述したように苦情のあったトマトからトリコテシンが検出されたことに基づき、分離菌 *T. roseum* がトリコテシンを産生するか否か検討した。

サブロー液体培地 10 mL に菌を平均  $36,000\text{CFU}$  接種し、 $25^\circ\text{C}$  で培養した。培養後 3 日目からトリコテシン類マイコトキソシンであるトリコテシンを産生し、培養 8 日後の菌数は平均  $5.7 \times 10^5\text{CFU/mL}$  で、トリコテシンの産生量は最大 (平均  $1.39\mu\text{g/mL}$ ) となり、その後プレートに達した (Fig. 4)。培養 8 日後の培養濾液での官能試験では苦味は感じない。しかし、この液を約 10 倍の 1 mL まで濃縮 (測定結果からトリコテシン量として  $12.8\mu\text{g/mL}$  に相当) すると苦味を感じた。対照に用い

た菌未接種培地の濃縮液では苦味はない。Schwenk ら<sup>11)</sup>は、ワインのトリコテシン汚染において5 mg/L以上の濃度(5 µg/mLに相当)のときに苦味を呈することを報告している。我々の今回の成績では、苦味の域値として彼らの成績の約2.5倍量の結果であった。苦情検体(トマト)中のトリコテシン量は、47mg/kgに相当していた。

以上のことより苦味のあった苦情トマトは、バラ色カビ病の *T. roseum* が産生するマイコトキシンのトリコテシンによって引き起こされたものと推定した。

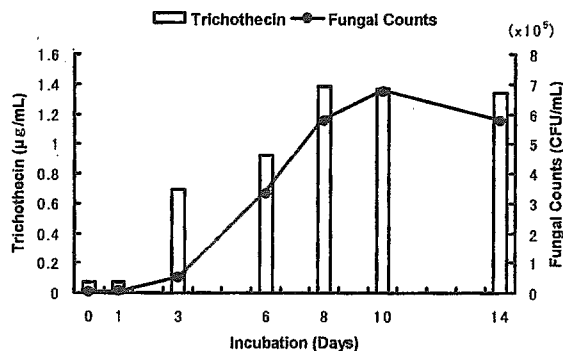


Fig. 4 Production of trichothecin and fungal counts on time course. Isolate (*Trichothecium roseum*) was inoculated into Sabouraud liquid medium and incubated at 25°C during the days. See Materials and Methods for details.

分離菌 *T. roseum* のヒトや動物に対する起病性についての報告はこれまでにないが、その菌が産生するマイコトキシンのトリコテシンには、抗菌活性や蛋白合成阻害作用などが知られている<sup>8,12)</sup>。危害予防の観点から、さらなる研究の蓄積が必要であると思われる。

本報告の一部は第24回日本食品微生物学会学術総会(2003年, 10月, 岡山市)において報告した。

#### IV 要 旨

本報告では、トマトの苦味の原因とトリコテシンの関係について述べた。農薬およびその代謝物250種類の内、アセタミプリドとピリダベンが少量検出された。一方、マイコトキシンのトリコテシンが47 µg/g 検出された。広く植物や土壤中に分布し、バラ色カビ病の起病菌として知られている *Trichothecium roseum* が苦情トマトから分離された。このカビは苦味を呈するトリコテシンを産生した。苦味のあったトマトの苦味は *T. roseum* が産生するトリコテシンによって引き起こされたものと推定した。このカビのヒトや動物に対する起病についての報告はない。

#### 謝 辞

トマトの検体搬入に際し、加古川健康福祉事務所の関係諸氏に、またトリコテシンの標準品を分与していただいた神戸市環境保健研究所、田中敏嗣博士に対しそれぞれ深謝いたします。

#### 文 献

- 1) Akiyama, Y., Yoshioka, N., and Tsuji, M.: Pesticide residues in agricultural products monitored in Hyogo Prefecture, Japan, FY s 1995-1999, J. AOAC, 85, 692-703 (2002)
- 2) 吉岡直樹, 秋山由美, 辻 正彦: 冷凍フライドポテト, パスタ, ビール, トマト加工品等の加工食品中の残留農薬実態調査. 兵庫健康研年報, No.1, 165-168 (2002)
- 3) 厚生省生活衛生局監修: 食品衛生検査指針, 微生物編, p.257-333, 日本食品衛生協会, 東京 (1990)
- 4) 厚生省監修: 微生物検査必携, 細菌・真菌検査, 第3版, M1-M69, 日本公衆衛生協会, 東京 (1998)
- 5) 末柄信夫監訳: 医真菌一同等の手引き, p.202, シュプリンガー・フェアラーク東京株式会社, 東京 (1996), Larone, D.H.: Medically important fungi—a guide to identification, 3rd ed., ASM (1994)
- 6) Takahashi, H., Uematsu, S., Oizumi, T., Mori, E., Yanagihori, S., and Ichinoe, M.: Pink mold rot of muskmelon and tomato fruits and trichothecium production by *Trichothecium roseum*, Mycotoxins, 41, 53-59 (1995)
- 7) Tanaka, T., Kawakami, S., Kojima, N., Aoki, N., and Ueno, Y.: Analytical method of trichothecium in agricultural products by capillary GC-ECD, Mycotoxins, 45, 63-66 (1997)
- 8) American Type Culture Collection: Catalogue of filamentous fungi, p.419-420, 18th ed., ATCC, Maryland, USA (1991), Website ; Fungi, yeast, & yeast genetic stock, [http://www.atcc.org/SearchCatalogs/Fungi\\_Yeasts.cfm](http://www.atcc.org/SearchCatalogs/Fungi_Yeasts.cfm)
- 9) Ishii, K., Kobayashi, J., Ueno, Y., and Ichinoe, M.: Occurrence of trichothecium in wheat, Appl. Environ. Microbiol., 52, 331-333 (1986)
- 10) Sorenson, W. G., Sneller, M. R. and Larsh, H. W.: Qualitative and quantitative assay of trichothecium; a mycotoxin produced by *Trichothecium roseum*, Appl.

- Microbiol., 29, 653-657 (1975)
- 11) Schwenk, S., Altmayer, B., and Eichhorn, K.W.: Significance of toxic metabolites of the fungus *Trichothecium roseum* Link ex Fr. for viticulture, Z. Lebensm. Unters Forsch., 188, 527-530 (1989)
- 12) Huang, W.-L., Lee, K.R. and Shiao, M.-S.: Inhibition of trichothecin and ergosterol biosynthesis in *Trichothecium roseum* by lovastatin, J. Chin. Chem. Soc., 46, 687-693 (1999)

(受理 2003年11月25日)

[ノート]

## 主として中国産・輸入冷凍野菜中の残留農薬実態調査

秋山由美\* 吉岡直樹 寺西清

## Pesticide Residues in Imported Frozen Vegetables from China

Yumi Akiyama\*, Naoki Yoshioka and Kiyoshi Teranishi

Division of Life Science, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences,  
2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan

## SUMMARY

We investigated 45 imported frozen vegetables marketed in Hyogo prefecture. Multiple insecticides, such as cypermethrin, omethoate, chlorpyrifos, methamidophos were detected in some Chinese samples, spinach, baby kidney bean, Welsh onion etc.

Violative samples were not found in our survey, however, 1 spinach sample contained chlorpyrifos and cypermethrin at the level of MRL, and 1 baby kidney bean sample contained more than 10 kinds of pesticides. To add the effects of multiple pesticides, the sum of the ratios of residues to MRLs were calculated. These values are considered to be one of the indexes to represent the risk of multiple residues.

## I はじめに

わが国では、冷凍食品等の加工食品に残留農薬の規格基準は設定されていないが、2002年3月20日の厚生労働省通知<sup>1)</sup>により、ブランチング(下ゆで)野菜のように加工の程度が低く、残留農薬の濃縮が明らかに認められない場合にあつては、加工食品の検査結果により原材料の野菜が基準に適合するか否かを判断することになった。これに伴い、検疫所でのモニタリング検査、都道府県での収去検査<sup>2)</sup>および輸入者による自主検査が実施され、中国産冷凍ほうれんそうから基準値を超えるクロロピリホスが検出される等の違反事例が報告された<sup>3)</sup>。

兵庫県では、2002年7月から2003年7月までに輸入冷凍野菜45検体について、代謝物を含めて258種農薬の残留実態調査を実施した。その結果、食品衛生法の残留農薬基準値を超える農薬の残留は認められなかったが、多数の農薬が同時検出される例もあった。そこで、実態調査結果を報告する。また、これらのデータを基に、複数農薬のリスク評価のための指標の導入法を提案する。

## II 方法

## 1. 試料

兵庫県下で流通していた輸入冷凍野菜を入手した。第1期(2002年7月~2003年1月)12種27検体、第2期(2003年5月~7月)12種18検体に分けて、調査結果を比較した(Fig.1)。第1期のグリーンピースがアメリカ産、第2期のグリーンピースがニュージーランド産、ほうれんそうとえだまめの各1検体が台湾産のほかは、すべて中国産であった。

健康科学部

\* 別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29  
兵庫県立健康環境科学研究所  
健康科学部 秋山由美

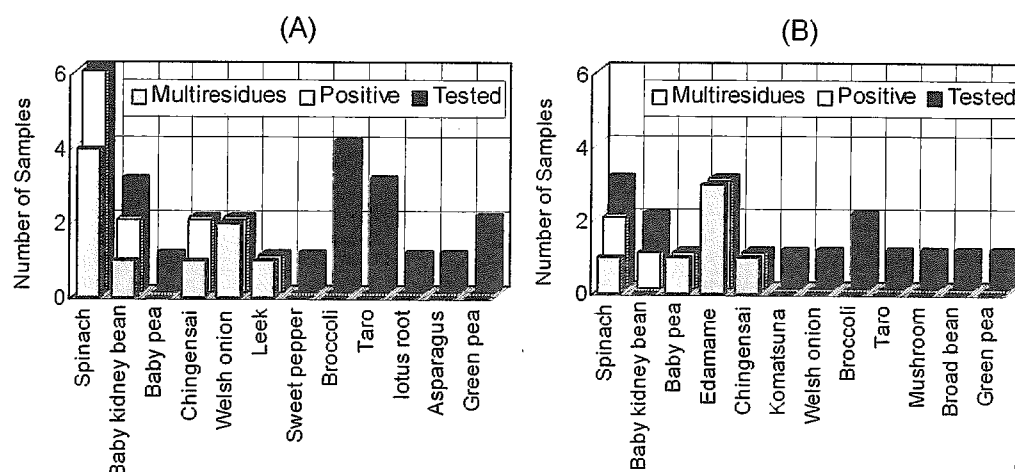


Fig. 1 Number of samples tested and containing detectable pesticide residues for each commodity (A) July 2002–January 2003 (B) May 2003–July 2003

## 2. 調査対象農薬

Table 1 に示す有機リン系農薬 55 種, 有機塩素系農薬 21 種, N-メチルカルバメート系農薬 15 種, 含窒素系農

薬 108 種, ピレスロイド系農薬 22 種およびその他の農薬 11 種, 合計 232 種農薬と Table 2 に示す代謝物 26 種を調査対象とした。

Table 1 Pesticides Tested

### Organophosphorus pesticide (55)

EPN, acephate, azinphosmethyl, butamifos, cadusafos, carbophenothion, chlorfenvinphos (-E, -Z), chlorpyrifos, chlorpyrifosmethyl, cyanofenphos, cyanophos, demeton-S-methyl, diazinon, dichlorvos, dimethoate, dimethylvinphos (-E, -Z), edifenphos, ethion, ethoprophos, etrimfos, fenitrothion, fensulfothion, fenthion, fonofos, fosthiazate, iprobenfos, isofenphos, isoxathion, malathion, methacrifos, methamidophos, methidathion, monocrotophos, naled, omethoate, parathion, parathionmethyl, phenthoate, phorate, phosalone, phosmet, phosphamidon, phoxim, pirimiphosmethyl, profenofos, prothiofos, pyraclofos, quinalphos, terbufos, tetrachlorvinphos, thiometon, tolclofosmethyl, triazofos, trichlorfon, vamidothion

### Organochlorine pesticide (21)

BHC ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -), DDT ( $p$ -,  $p'$ -,  $o$ -,  $p'$ -), aldrin, captafol, captan, chlordane, chlorobenzilate, dicofol, dieldrin, endosulfan ( $\alpha$ -,  $\beta$ -), endrin, folpet, heptachlor, heptachlor epoxide (endo, exo), hexachlorobenzene, indanofan, methoxychlor, mirex, nonachlor, phthalide, quintozone

### N-methylcarbamate pesticide (15)

XMC, aldicarb, bendiocarb, carbaryl, carbofuran, ethiofencarb, fenobucarb, isoprocarb, methiocarb, methomyl, metolcarb, oxamyl, propoxur, terbucarb, xylylcarb

### Organonitrogen pesticide (108)

EPTC, acetamiprid, acibenzolar-S-methyl, alachlor, atrazine, azoxystrobin, bifenox, bitertanol, bromacil, buprofezin, butachlor, butylate, cafenstrole, carpropamid, chlomethoxyfen, chlorfenapyr, chlornitrofen, chlorpropham, clethodim, clofentezine, cyanazine, cyhalofopbutyl, cyproconazole, cyprodinil, desmedipham, dichlofluanid, diclofmet, diethofencarb, diethyltoluamide, difenoconazole, diflufenican, dimethenamid, dimethomorph, diphenamid, diphenylamine, esprocarb, ethoxyquin, ethychlozate, etobenzanid, etoxazole, famoxadone, fenarimol, fenoxapropethyl, fipronil, fludioxonil, flumioxazin, flusilazole, flutolanil, furametpyr, hexaconazole, imazalil, imibenconazole, iprodione, kresoximmethyl, lenacil, mefenacet, mepanipyrim, mepronil, methabenzthiazuron, metolachlor, metribuzin, myclobutanil, nitrofen, paclobutrazol, penconazole, pencycuron, pendimethalin, pentoxazone, pirimicarb, pretilachlor, prochloraz, procymidone, propamocarb, propanil, propiconazole, propyzamide, pymetrozine, pyraflufenethyl, pyrazoxyfen, pyributicarb, pyridaben, pyrifenoxy (-E, -Z), pyrimethanil, pyrimidifen, pyriminobacmethyl (-E, -Z), pyriproxyfen, quizalofopethyl, simazine, simetryn, swep, tebuconazole, tebufenozide, tebufenpyrad, terbacil, tetraconazole, thenylchlor, thiabendazole, thifluzamide, thiobencarb, tolylfluanid, triadimefon, triadimenol, trichlamide, tricyclazole, triflumizole, trifluralin, uniconazole P, vinclozolin

### Pyrethroid pesticide (22)

acrinathrin, allethrin, bifenthrin, bioresmethrin, cyfluthrin, cyhalothrin, cypermethrin, deltamethrin, ethofenprox, fenpropathrin, fenvalerate, flucythrinate, fluvalinate, halfenprox, imiprothrin, permethrin, phenothrin, pyrethrins, silafluofen, tefluthrin, tetramethrin, tralomethrin

### Other pesticide (11)

benfuresate, bromopropylate, cinmethylin, dimethipin, diphenyl, isoprothiolane, methoprene, phenothiol, o-phenylphenol, piperonyl butoxide, propargite

Total (232)



Table 2 Metabolites of Pesticides Tested

Organophosphorus pesticide (10) EPN oxon, diazinon oxon, fenitrothion oxon, isofenphos oxon, malathion oxon, parathion oxon, parathionmethyl oxon, prothiofos oxon, isoxathion oxon, demeton-S-methyl sulfone
Organochlorine pesticide (7) <i>p, p'</i> -DDE, <i>p, p'</i> -DDD, endosulfan sulfate, dichlorobenzophenone (dicofol metabolite), tetrahydrophthalimide (captan, captafol metabolite), phthalimide (folpet metabolite), oxychlordane
Organonitrogen pesticide (9) iprodione metabolite, dichlofluanid metabolite, triflumizole metabolite, imazalil metabolite, imibenconazole desbenzyl, 2, 4-dichloroaniline (imibenconazole metabolite), tolylfluanid metabolite, mepanipyrim metabolite, furametpyr metabolite
Total (26)

いずれの農薬でも、実試料における定量限界値は  $0.01\mu\text{g/g}$ 、検出限界値 ( $S/N \geq 3$ ) は  $0.001\mu\text{g/g}$  とした。検出限界値以上、定量限界値未満で、その農薬の残留が確認できたものは、痕跡値 (Tr.) とした。Fig. 1 では、品目ごとの検査検体数を Tested, 検出限界値以上で何らかの農薬が検出された検体数を Positive, 2 種以上の農薬が検出 (複数検出) された検体数を Multiresidues として示した。

### 3. 試験方法

生鮮農産物<sup>4)</sup>およびトマト加工品・冷凍フライドポテト<sup>5)</sup>を対象とした既報の方法を適用した。すなわち、試料のアセトニトリル抽出液を 2 種の固相抽出用ミニカラム (ODS および PSA) で精製し、GC/MS による多成分一斉分析を行った。

## III 結果および考察

### 1. 残留農薬の検出率

2002年7月から2003年1月までの第1期(A)では、全

27検体中13検体から農薬が検出され、9検体が複数検出であった。2003年5月から7月までの第2期(B)では、全18検体中8検体から農薬が検出され、6検体が複数検出であった (Fig. 1)。

ほうれんそうでは、第1期に検出率100%、複数検出率67%と高率を示したが、第2期には検出率67%、複数検出率33%と低下し、同時検出される農薬数も少なく、ほとんどが Tr. レベルでの残留となった。未成熟いんげんでは、第1期の複数検出検体中に16種の農薬の同時残留が見られたが、その後有機栽培の認証を取った商品も出回り、検出農薬数、残留濃度ともに低下した。その他、えだまめ、ねぎ、にら等で複数農薬が検出されたが、ブロッコリー、さといも等では農薬は検出されなかった。

### 2. 検出農薬と残留濃度

主な検出農薬とその残留濃度範囲を Table 3 に示した。シベルメトリン、フェンバレレート等のピレスロイド系殺虫剤やオメトエート、クロルピリホス等の有機リン系殺虫剤が高頻度で検出され、プロシミドン、トリアジメ

Table 3 Pesticide Residues Detected on Imported Frozen Vegetables

Pesticide <sup>a</sup>	July 2002 - January 2003			Pesticide <sup>a</sup>	May 2003 - July 2003		
	Samples with trace residues	Samples with quantifiable residues No.	Residue ( $\mu\text{g/g}$ )		Samples with trace residues	Samples with quantifiable residues No.	Residue ( $\mu\text{g/g}$ )
Cypermethrin	3	7	0.03 - 1.93	Cypermethrin	0	4	0.01 - 0.34
Omethoate	1	4	0.02 - 0.11	Chlorfenapyr	1	3	0.01 - 0.06
Chlorpyrifos	1	2	0.01, 0.01	Fenvalerate	0	1	0.16
Methamidophos	0	2	0.01, 0.05	Dicofol	0	1	0.03
Fenvalerate	0	2	0.03, 0.04	Permethrin	0	1	0.01
<i>Procymidone</i>	0	2	0.02, 0.22	<i>Triadimenol</i>	0	1	0.21
<i>Triadimenol</i>	0	2	0.01, 0.02	<i>Myclobutanil</i>	0	1	0.02
DDT	3	1	0.01	Chlorpyrifos	2	0	
Fenprothrin	1	1	0.02	DDT	2	0	
Dicofol	0	1	0.07				
Monocrotophos	0	1	0.04				
Dimethoate	0	1	0.03				
Methomyl	0	1	0.03				
Endosulfan sulfate	0	1	0.02				
Propargite	0	1	0.01				
<i>Propamocarb</i>	0	1	0.35				
<i>Iprodione</i>	0	1	0.01				

a) Fungicide is represented in Italic letter, and others are insecticides.

ノール等の殺菌剤の検出数は少なかった。第1期に検出されていたわが国で登録されていない殺虫剤オメトエートとメタミドホスは、第2期では検出されなくなった。

第1期、第2期を通じて、ほうれんそうからシベルメトリンが1.9および0.28  $\mu\text{g/g}$ 、プロパモカルブが0.35  $\mu\text{g/g}$ 、えだまめからシベルメトリンが0.34  $\mu\text{g/g}$ 、フェンバレレートが0.16  $\mu\text{g/g}$ 、未成熟いんげんからオメトエートが0.11  $\mu\text{g/g}$ 、にらからプロシミドンが0.22  $\mu\text{g/g}$ 、未成熟えんどうからトリアジメノールが0.21  $\mu\text{g/g}$  検出されたが、そのほかは0.10  $\mu\text{g/g}$  未満の残留であった。

### 3. 複数農薬の検出例とリスク評価

Table 4に、複数農薬の検出例として、多数の農薬が同時に検出された中国産冷凍未成熟いんげん、冷凍ほうれんそう、および、冷凍えだまめ各1検体について、それぞれ検出農薬と残留濃度、ならびに、基準値（残留農薬基準または登録保留基準）に対する残留値の比率を示した。そして、基準値に対する残留値の比率の合計を算出して、この合計値が100%を超えるか超えないかを、複数農薬の作用に相乗効果がないと仮定した場合の同時残留リスク評価の一つの指標とした。

Table 4 Multiple Pesticide Residues ( $\mu\text{g/g}$ ) Detected on Each Imported Frozen Vegetable

Baby kidney bean (China) (2002.7)				Spinach (China) (2002.9)			
Pesticide <sup>a</sup>	Residue	MRL <sup>b</sup>	(%) <sup>c</sup>	Pesticide <sup>a</sup>	Residue	MRL <sup>b</sup>	(%) <sup>c</sup>
Chlorpyrifos	0.01 /	0.2	5.0	Chlorpyrifos	0.01 /	0.01	100.0
Dimethoate	0.03 /	<i>1</i>	3.0	Methamidophos	0.01		
Omethoate	0.11			Parathion-methyl	Tr. /	1.0	
Methamidophos	0.06			DDT	Tr. /	0.2	
Monocrotophos	0.04 /	<i>0.05</i>	80.0	Cypermethrin	1.93 /	2.0	96.5
DDT	0.01 /	0.2	5.0	Fenvalerate	0.04 /	0.5	8.0
Dicofol	0.07 /	2	3.5	Total (Residue/MRL)%			204.5
Buprofezin	Tr.			Edamame (China) (2003.7)			
Pyridaben	Tr. /	2.0		Pesticide <sup>a</sup>	Residue	MRL <sup>b</sup>	(%) <sup>c</sup>
Methomyl	0.03 /	<i>0.5</i>	6.0	Cypermethrin	0.34 /	5.0	6.8
Isoprocarb	Tr.			Fenvalerate	0.16 /	1.0	16.0
Cypermethrin	0.04 /	0.5	8.0	Dicofol	0.03 /	2	1.5
Fenvalerate	0.03 /	1.0	3.0	Chlorfenapyr	0.01		
Fenpropathrin	0.02			DDT	Tr. /	2.0	
Propargite	0.01			Dichlorvos	Tr. /	0.5	
<i>Triadimenol</i>	0.01 /	<i>1</i>	1.0	Total (Residue/MRL)%			24.3
Total (Residue/MRL)%							

a) Fungicide is represented in *Italic letter*, and others are insecticides.

b) "Standards for Withholding Registration of Pesticides on Crop Residues" are represented in *Italic letter*, and others are "Pesticide Residues Standards" ( $\mu\text{g/g}$ ).

c) Residue ( $\mu\text{g/g}$ )/MRL ( $\mu\text{g/g}$ ) (%)

未成熟いんげんでは、モノクロトホスの残留値が登録保留基準値の80%に達し、他の農薬の残留も加算すると、基準値に対する残留値の比率の合計値が100%を超えた。モノクロトホスには残留農薬基準は設定されていないが、ADIは0.6  $\mu\text{g/kg/day}$ と低く、複数農薬の汚染も考慮すれば、規制を考えなければならない残留例である。また、ほうれんそうには、クロルピリホスとシベルメトリンが基準値レベルで残留しており、リスク評価の指標値は200%に達した。ほうれんそうでは、クロルピリホスの基準値が他の野菜に比べて低く設定されていることも考慮すべきであるが、同時残留リスクの検討も必要である。

## IV ま と め

兵庫県下で流通していた輸入冷凍野菜45検体について残留農薬実態調査を行った結果、基準値を超える農薬の残留は認められなかった。しかし、複数農薬が同時残留した場合のリスク評価のための1つの指標として、検出された農薬の残留値の基準値に対する比率の合計値を算出した結果、指標値が100%を超える事例が見つかった。複数農薬の残留を考慮した基準値を早期に設定する必要がある。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課長：加熱後摂取冷凍食品に係る残留農薬のモニタリング検査について。食監発第0320001号，平成14年3月20日
- 2) 厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課：ブランピング野菜について。事務連絡，平成14年6月19日
- 3) 厚生労働省医薬局食品保健部企画課検疫所業務管理室：中国産冷凍ほうれんそうの違反状況。輸入食品監視業務ホームページ，2003年6月3日更新
- 4) Akiyama, Y., Yoshioka, N., Tsuji, M.: Pesticide Residues in Agricultural Products Monitored in Hyogo Prefecture, Japan, FYs 1995-1999, J. AOAC Int., 85, 692-703 (2002)
- 5) 吉岡直樹，秋山由美，辻 正彦：冷凍フライドポテト，パスタ，ビール，トマト加工品等の加工食品中の残留農薬実態調査。兵庫健環研年報，No.1, 165-168 (2002)

(受理 2003年11月25日)

## 水質変化から見た人工干潟における海水の貧酸素化について

宮崎 一\* 山崎 富夫

### Approaches from Viewpoint of Changes of Sea Water Quality to Solve Oxygen Deficiency in the Sea at the Artificial Tidal Flat

Hajime Miyazaki and Tomio Yamasaki

Water Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 3-1-27 Yukihiro-cho, Suma-ku, Kobe, 654-0037, Japan

#### SUMMARY

Oxygen deficiency in the sea at the artificial tidal flat was approached from viewpoint of changes of sea water quality. Although dissolved oxygen(DO) increased with increasing chlorophyll-a(Chl-a), oxygen deficiency was occurred after they had increased to the maximum. It indicated that the growth and mineralization of phytoplankton is very important relation with the fluctuation of DO. DO also fluctuated with depending pH level which relate to the reductive state of the sea water. Contrary, nutrients didn't always have the relationship with DO, because the sea water was so eutrophic that increases of nutrients do not recognize as significant increase. Therefore, it is suggested that the monitoring of Chl-a or pH is effective to predict oxygen deficiency in the sea at the artificial tidal flat.

#### I はじめに

近年、沿岸域の水環境について、従来の、水質による評価に加えて、生物多様性の回復・保全、および健全な物質循環の回復を旨とした環境の回復や、修復の必要性が認識されてきた。わが国においても、2003年1月1日に自然再生推進法が施行され、2003年4月1日に自然再生基本方針の決定により、本法律の本格的運用が開始されているところである<sup>1)</sup>。

このような背景から、沿岸域に兵庫県尼崎市の南部工業地帯を有し、長期にわたり栄養塩負荷の蓄積があり、

閉鎖性による海水交換の悪さ、垂直護岸の建設により環境悪化が著しい尼崎港内に、環境修復のための実証試験を行うための人工干潟が造成された<sup>2)</sup>。

我々は、生物多様性の回復による物質循環を通じて、栄養塩類の停滞、蓄積を防止することによる環境修復を目標とした第1段階として、この人工干潟においてアサリを養成し、そのろ過食性を利用した水質浄化実験を行っている<sup>3)</sup>。しかしながら、尼崎港内において毎年、夏季に発生する貧酸素化は生物に対して時として致命的な影響を与えるため、貧酸素化現象の出現を予測することは重要な課題となっている。

人工干潟が海水を貧酸素化させる事象としては、これまでの報告<sup>4)</sup>から、港内に形成された貧酸素水塊の到来や、干潟および干潟周辺の海水中の富栄養化により過剰に増殖した植物プランクトンに由来する有機物による酸素消費が考えられる。港内における貧酸素化生成の原因としては、沿岸域に位置する工業地帯、都市域からの栄

水質環境部

\* 別刷請求先：〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27  
兵庫県立健康環境科学研究所  
水質環境部 宮崎 一

養塩負荷に由来する大量の有機物を含む底質による酸素消費が確認されている<sup>2)</sup>。このため、成層構造の発達による海水の鉛直混合の抑制引き起こす表層からの酸素供給の遮断が起これると、底質による酸素消費による影響が酸素供給を上回り、貧酸素化が発生する。このような貧酸素化現象に対する予測手法としては海水の成層構造の観測、調査が考えられる。

なお、人工干潟には2002年3月に新規に清浄な砂(2003年3月の調査開始以降含泥率3%未満で推移)を搬入した。全リン、全窒素等の栄養塩、および全有機炭素(TOC)、強熱減量(IL)の有機物指標値は、貧酸素化が見られない播磨灘等の海域の底質と同程度に低く<sup>5)</sup>、人工干潟内部の底質による大量の酸素消費は考えられない。

一方、海水中有機物等の無機化による酸素消費については、有機物起源の大部分を植物プランクトンが占めるため<sup>6)7)</sup>、底質の場合と比較して天候等による変動が

大きく、人工干潟における水質変化から見た貧酸素化生成機構は明らかにされていない。

そこで、本報では2002年7月から10月まで人工干潟において、水質成分の変動を把握し、貧酸素化と水質との関係について検討した結果について報告する。

## II 調査方法

### 1. 尼崎港内人工干潟および採取地点

Fig. 1 に調査地点および人工干潟概要図を示す。人工干潟の形状規模は長さ約32m、幅約8mであり、干潟前面に砂留潜堤(OP(大阪湾最低干潮位)+0.3m)を設置し、OP+1.0mの高さまで1/50勾配にて砂を撒き造成したものである<sup>2)3)</sup>。

人工干潟において潜堤からの距離が0m:4.5m:12m:20mの横方向から見た中間地点を調査地点とした。

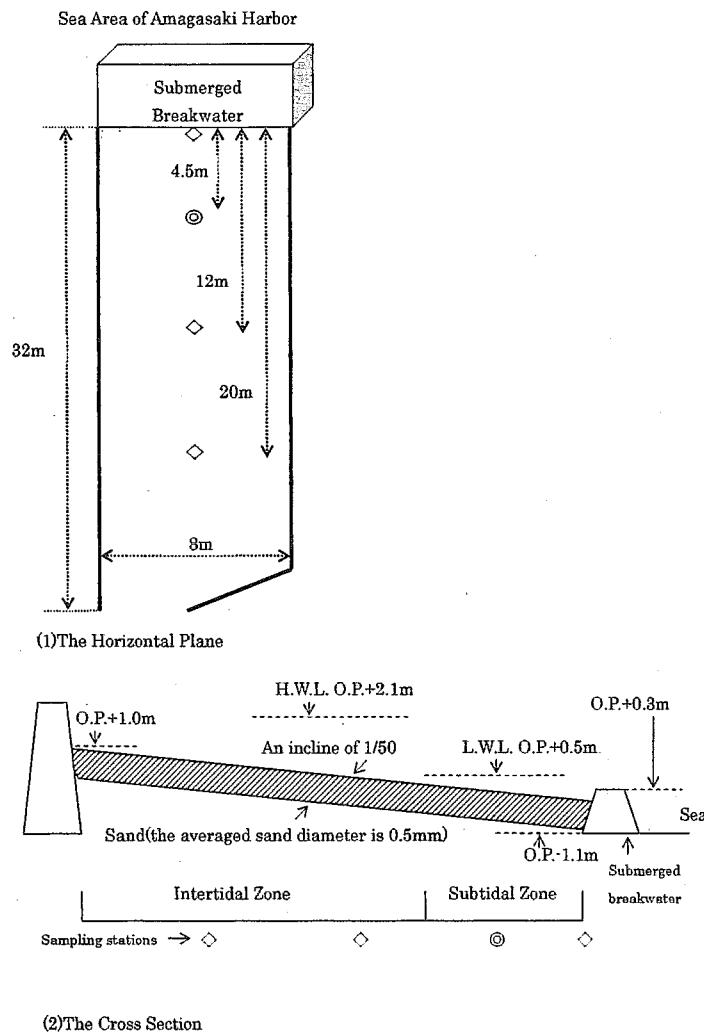


Fig. 1 Schematic view of artificial tidal flat in Amagasaki experimental site. Marks of  $\diamond$  show sampling stations of DO, water temperature and salinity. Marks of  $\odot$  shows sampling station of DO, water temperature, salinity, nutrients, TOC, DOC, POC and Chl-a. O.P., H.W.L., and L.W.L. mean the lowest water level in Osaka bay, high water level and low water level respectively.

## 2. 試料採取方法および分析方法

調査は貧酸素化の発生が予想される、7月から10月初旬まで1週間に1～2回の頻度で干潮時に行った。全調査期間を通じて人工干潟内で水深が2mを超えることはなかったため、海水を採取する水深は表層とした。

表層水は塩化ビニル製バケツにより採水し、ポリエチレン製ビンに入れクーラーボックス中で冷蔵保存して、実験室へ持ち帰った。溶存酸素（DO）測定用試料はDO測定用フラン瓶に採取後、常法に従い直ちに現地固定し実験室へ持ち帰った。

試料水の500mlをあらかじめ450°Cで4時間加熱処理したガラス繊維濾紙（GF-C;Whatman社製）によるろ過し、ろ紙上に分離、残留した固形分については、クロロフィル-a（Chl-a）の分析に、ろ過水については、溶存態の栄養塩類、溶解性有機炭素（DOC）の分析に供した。生海水については、pH、TOCの分析に供した。

なお、水温と塩分は、アレック電子(株)製クロロテック（model ACL208-DK）により現地測定を行った。

Chl-aについては海洋観測指針<sup>8)</sup>、pH、DOおよび栄養塩類については工場排水試験方法JISK0102<sup>9)</sup>、TOCおよびDOCについては海洋汚染調査指針作成調査<sup>10)</sup>に従い分析を行った。また、懸濁性有機炭素（POC）についてはTOCとDOCの差から算出した。

なお、今回の調査目的においては、地点間によるデータの有意な差が見られなかったため、前提から4.5m地点のデータを代表値として、以下の解析に供した。

## III 結果と考察

### 1. DOの経時変化および水温、塩分との関係

Fig. 2にDO、水温、塩分の経時変化および関係を示した。調査期間中にDOは光合成による酸素生産者としての植物プランクトンの増殖により増加し、枯死により減少すると考えられる変動を繰り返しながら減少した。今回のDO測定値においては、柳<sup>11)</sup>が海底の正常なベントス分布が危うくなるとして示した貧酸素水のDO濃度である2.5ml/L（3.58mg/L）を下回る値が2回（8月19日：2.50mg/L、9月20日：2.41mg/L）検出された。これらの値は尼崎港内において設定された水質改善目標値である、3.0mg/L<sup>2)</sup>を下回っており、生物の生存に厳しい環境であることが示された。

水温は22.79°C～31.23°C、塩分は21.14psu～30.33psu（psu；実効塩分濃度）で推移したが、溶存酸素の減少との相関は認められなかった。このため、調査期間中は淀川等の近接する河川からの淡水流入による溶存酸素に対する影響は認められないと推察された。

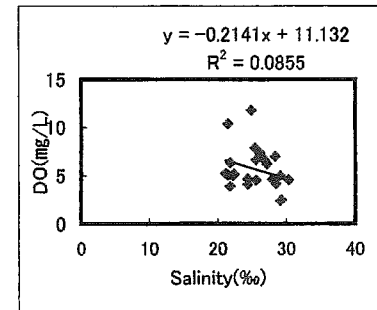
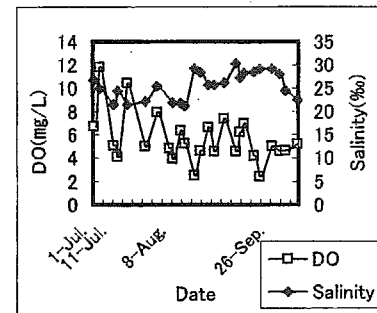
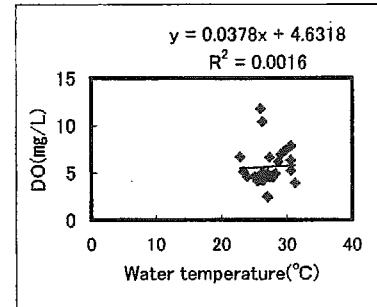
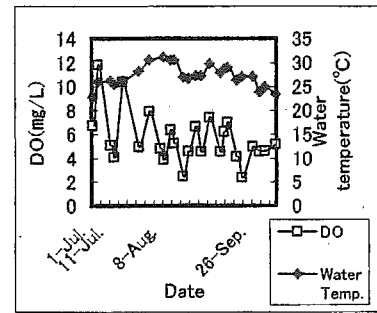


Fig. 2 Relationship and correlation between DO and water temperature or salinity in artificial tidal flat

### 2. DOと有機物指標との関係

DOを生産する植物プランクトン現存量の指標であるChl-a量およびDOを消費すると考えられる有機物量の指標としてDOCおよびPOCとDOとの関係をFig. 3に示す。

前述したとおり、DOは植物プランクトンの増殖、枯死により増減することを示した。このため、植物プランクトン量の指標であるChl-aの増加に伴いDOの増加が見られ、Chl-aの減少に伴いDOの減少が認められた。POCは植物プランクトン現存量の指標であるChl-aと

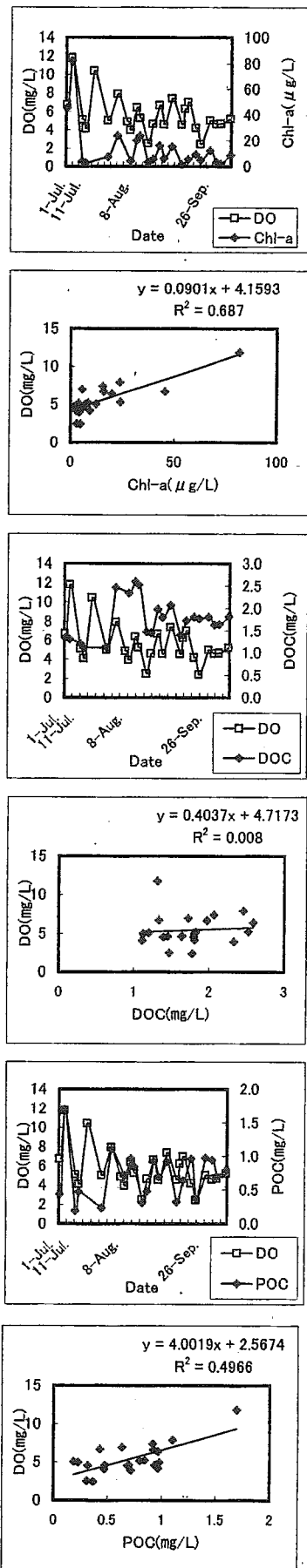


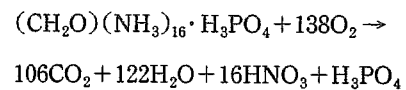
Fig. 3 Relationship and correlation between DO and Chl-a, DOC or POC in artificial tidal flat

密接な関係があることから、POCとDOとの間には、Chl-aとDOの場合と同様の関係が認められた。このことから、人工干潟内においてPOCはそのものが酸素消費物として挙動するのではなく、植物プランクトンに由来する酸素を産生するために必要な有機物量を反映していることが考えられた。一方、植物プランクトンに含まないDOCは有機物指標であるTOC、DOC、POCの3項目のうちではDOとの相関が最も低く、TOCについては、DOCより高くPOCより低い相関を示した。これらのことから、Chl-a量の変化、ひいては、植物プランクトンの現存量がDOの変化に強く影響していることが示された。

### 3. DOと栄養塩濃度およびpHの関係

城<sup>12)</sup>は大阪湾では底層水の貧酸素化に伴い、底層水の溶存態窒素および溶存態リン濃度の上昇が認められ、栄養塩類の分解再生と溶存酸素の消費には密接な関係があることを指摘している。

尼崎港内人工干潟においても、DOはChl-aで示される植物プランクトンの増加に伴い急激に増加し、植物プランクトンが枯死后、沈降、堆積しつつ分解無機化される過程で酸素を消費していくことが考えられる。しかし、Fig. 4から明らかなようにリン酸態リン(PO<sub>4</sub>-P)においては、DOの減少に伴う増加傾向が認められたが、溶存態無機窒素(DIN)においては、必ずしも明らかな増加傾向が認められなかった。植物プランクトンが完全に無機分解される場合、以下に示すRichardsらの植物プランクトン由来の有機物の無機化式に従うと考えられている<sup>13)</sup>。



人工干潟におけるPO<sub>4</sub>-PとDINのDO減少に伴う濃度変化は、DINの増加傾向が認められなかったことから、この式に従うものではなく、溶存態栄養塩とDOの関係は貧酸素化に伴う挙動を反映しているとは言えないため、現在のところ、貧酸素化の予測に利用することは困難であると考えられる。

このことは、尼崎港内の水質はIV類型の環境基準値(全窒素1mg/L全リン0.09mg/L)を超過し、過度に富栄養化(2002年度平均値:全窒素1.40mg/L,全リン0.132mg/L<sup>14)</sup>)しているため、DINのバックグラウンド値が高く、貧酸素化に伴う栄養塩類、特にDINの分解無機化による増加顕在化しなかったことが理由として

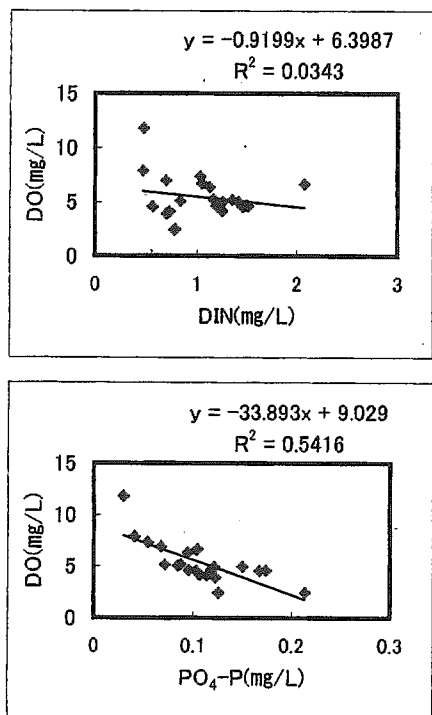


Fig. 4 Correlation between DO and DIN or PO<sub>4</sub>-P

考えられる。

また、DOの減少に伴い、pHの低下が見られた。

pHはDOの減少による還元状態の進行とともに低下することを示した。このことは、6、7、8月の底層のpHが低くなるとされる東京湾における青潮発生年の特徴と一致する<sup>15)</sup>。さらに、pHはChl-aの増加に伴い上昇することも認められた。(Fig. 6)。富栄養化に起因する植物プランクトンの増殖による溶存二酸化炭素吸収、DO増加、pH上昇は一般的に認められている。この現象が抑制され、DOが低下するため、Fig. 5のようにpH低下とDO低下が相関する。これらのことからpHは貧酸素化の予測に有用な測定項目となり得ることが示された。

#### IV まとめ

尼崎港内において造成された人工干潟において、水質と貧酸素化の関係を検討した結果、以下の結論を導き得ることが考えられた。

1. DOの挙動はChl-a量を最も反映するPOCおよびChl-aの挙動と密接に関係していた。
2. 溶存態栄養塩を示すPO<sub>4</sub>-PおよびDINとDOの間に関連性がないことは、貧酸素化に伴う挙動を反映しているとは言えないため、栄養塩量から貧酸素化を予測することは困難であることが考えられた。

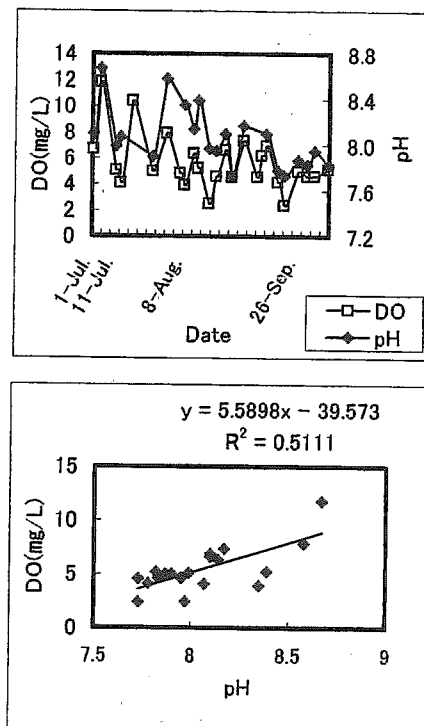


Fig. 5 Relationship and correlation between DO and pH

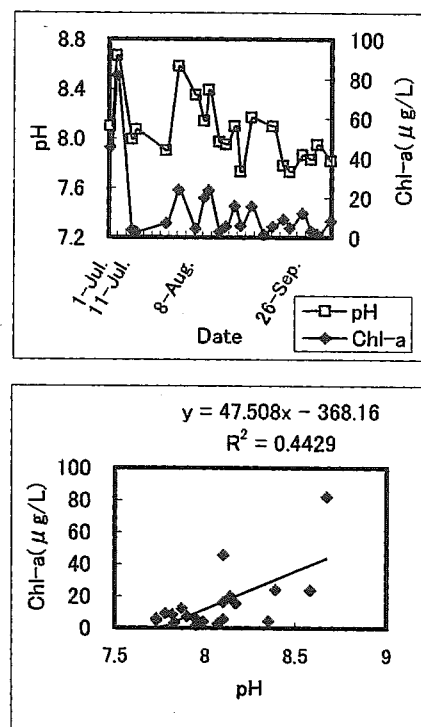


Fig. 6 Relationship and correlation between pH and Chl-a



3. DOおよびpHの増殖にいずれもChl-aが関連することから、尼崎港内人工干潟において貧酸素化が発生する場合には、栄養塩類よりも植物プランクトンの増殖の指標であるChl-aおよびpHをモニタリングすることが、発生予測に有用であることが示唆された。

## V 謝 辞

本調査研究は(財)国際エメックスセンターが環境省から受託したプロジェクト研究「閉鎖性海域における最適環境修復技術のパッケージ化」の一環として行った研究の一部です。また、現地調査においては、地元関係者の方々のご理解とご協力を頂いたことに感謝します。

## 文 献

- 1) 環境省ホームページ,  
<http://www.env.go.jp/nature/saisei/law-saisei/>
- 2) 環境省補助事業, 2001年度環境技術開発等推進事業 [実用化研究開発課題], 閉鎖性海域における最適環境修復技術のパッケージ化 (環境修復技術のベストミックスによる物質循環構造の修復) 研究開発成果報告書, 6-8~6-10, 6-30~6-37, 6-79~6-107, 財団法人国際エメックスセンター (2002)
- 3) 環境省補助事業, 2002年度環境省委託業務結果報告書, 閉鎖性海域における最適環境修復技術のパッケージ化 (環境修復技術のベストミックスによる物質循環構造の修復) 研究開発成果報告書, 5-1~5-7, 5-13~5-30, 財団法人国際エメックスセンター (2003)
- 4) 1996年度環境庁委託業務報告書, 瀬戸内海における底層貧酸素化対策調査・総合解析編, 3-170, 社団

- 法人瀬戸内海環境保全協会 (1997)
- 5) 2001年度環境省委託業務結果報告書, 瀬戸内海環境情報基本調査・播磨灘・燧灘・別府湾・(資料編), 45-65, 77-93, 105-121, 社団法人瀬戸内海環境保全協会 (2002)
  - 6) Parsons, T.R.: Suspended Organic Matter in Sea Water, In Sears, M. (ed.), Progress in Oceanography, 1. Pergamon Press. pp.,205-239, (1963)
  - 7) 服部明彦編, 海洋学講座7 海洋生化学, 141-143, 東京大学出版会 (1973)
  - 8) 気象庁編: 海洋観測指針, 114-122, 日本気象協会 (1999)
  - 9) 工場排水試験方法 JIS K 0102, 日本規格協会, 東京, 23-27, 143-162, 166-184 (1998)
  - 10) 1993年度環境庁委託業務結果報告書, 海洋汚染調査指針作成調査, 166 (1994)
  - 11) 柳 哲雄: シンポジウム「貧酸素水塊」のまとめ, 沿岸海洋研究ノート, 26, 141-145 (1989)
  - 12) 城 久: 大阪湾の貧酸素水塊, 沿岸海洋研究ノート, 26, 87-98 (1989)
  - 13) Richards, F.A. et al.: Some consequences of the decomposition of organic matter in Lake Nitinat, an anoxic fjord, Limnol. Oceanogr., 10, R185-R201 (1965)
  - 14) 2002年度環境監視調査 兵庫県域 報告書, 38-43, 大阪湾広域臨海環境整備センター (2003)
  - 15) 1994年度環境庁委託業務結果報告書 青潮発生予測手法の確立調査 報告書 (総括編), 79-81, 環境庁水質保全局 (1995)

(受理 2003年11月25日)

[ノート]

## メチル誘導体化-GC/MS/MS法を用いた水道水中のジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸の高感度分析法に関する研究

川元達彦\* 巻幡希子

Development of Sensitive Analytical Method of Dichloroacetic acid and Trichloroacetic acid in Tap Water by Methyl Derivatization and GC/MS/MS

Tatsuhiko Kawamoto\* and Nobuko Makihata

Water Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan

### SUMMARY

During the water purification process, various disinfection by-products (DBPs), such as haloacetic acids (dichloroacetic acid(DCAA) and trichloroacetic acid(TCAA)) and trihalomethane, are formed by chlorination. DCAA and TCAA are listed as Surveillance Item which are regulated by Ministers Order. For safety reservation of tap water, the high sensitive and accurate analytical method of DCAA and TCAA by the chemical ionization(CI)-GC/MS/MS was established. The limits of detection for DCAA and TCAA by using this method were 0.02  $\mu\text{g/L}$  and 0.05  $\mu\text{g/L}$  respectively.

#### I はじめに

浄水処理過程における塩素処理や高度浄水処理としてのオゾン処理により種々の消毒副生成物が生成する<sup>1-4)</sup>。

著者らは、今までに兵庫県下の水道水中の消毒副生成物の実態調査結果から、ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸の検出濃度が高い傾向にあり、特にジクロロ酢酸では指針値レベルで推移する地点があることを明らかにし、注目してきた<sup>5,6)</sup>。

ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸は、現行の水道法では監視項目に位置づけられているが<sup>7,8)</sup>、2003年5月30日付の水道法省令改正では、その毒性等から新たに

基準項目に位置づけられることとなった<sup>9)</sup>。

一方、水道水中にはジクロロ酢酸を含めた9種類の塩素、臭素に置換されたハロ酢酸の存在が認められ、これらの物質は構造的にも類似していることから、分離能の優れたキャピラリーカラムにおいても十分な分離が得られないケースがあるため、GC/ECD法と比べてGC/MSの適用<sup>5,6,10)</sup>は重要となる。さらに、近年ではガスクロマトグラム上で分離が不十分の場合や夾雑物の影響がある場合に、目的物の微量分析にMS/MS法が注目され、様々な分野に応用されてきている<sup>11-13)</sup>。

また、ハロ酢酸は不揮発性物質であるため、分析にはメチル誘導体化が必要であることから、正確なメチル化反応条件の確立は精度の高い分析結果を得るために必要不可欠な条件である。

ここでは、水道法省令改正で基準項目として規制されるジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸について、高感度な分析法を開発する目的からメチル誘導体化条件の確立、化合物の分子イオン等の質量情報が得られる化学イオン

水質環境部

\* 別刷請求先：〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29  
兵庫県立健康環境科学研究センター  
水質環境部 川元達彦

化 (CI) 法と高感度化を目的とした MS/MS 法を組み合わせた CI-GC/MS/MS 法の適用について、繁用される電子イオン化 (EI) 法の GC/MS 法と比較検討した。また、この分析法を用いて、兵庫県水道水質管理計画に基づいた監視地点におけるジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸濃度の測定結果についても併せて報告する。

## II 方法

### 1. 試薬および試料等

1) ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸標準溶液: ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸標準品 (和光純薬工業社製, 水質試験用 1,000  $\mu\text{g/L}$  標準溶液) をいずれもメタノールで希釈して 100  $\mu\text{g/L}$  の標準原液を調製した。この標準原液をメタノールで適宜希釈し, 各種実験に必要な標準溶液を調製した。メチル誘導体化には市販の 10% トリメチルシリルジアゾメタン (TMSD, MW114.2) 試薬 (GL-サイエンス社製) を用いた。

2) ジクロロ酢酸メチルおよびトリクロロ酢酸メチル標準溶液: ジクロロ酢酸メチル, トリクロロ酢酸メチル (Riedel-de Haën 社製, 液体品) をいずれも *tert*-ブチルメチルエーテル (MTBE) で溶解して 1,000  $\mu\text{g/L}$  の標準原液を調製した。この標準原液を MTBE で適宜, 希釈して, メチル化反応条件であるカルボン酸のメチル誘導体化の検討に用いた。

3) 精製水: Milli Q SP.TOC (ミリポア社製) で精製したものを用いた。

4) 水道原水: 添加回収実験用に用いた水道原水は T 市の地下水を採取した。pH, 残留塩素の測定については上水試験方法<sup>14)</sup>に準拠して行った。

5) 塩化ナトリウム: 塩化ナトリウム (和光純薬社製) は電気炉で 500°C, 5 時間乾燥した後, 使用時までデシケター中にて保存した。

その他の試薬はすべて市販の特級品を用いた。

6) 有機溶媒: MTBE は関東化学社製の水質試験用を, メタノール, *n*-ヘキサンは残留農薬試験用 2000 (和光純薬社製) を用いた。

### 2. GC/MS 分析

#### 2-1) 測定条件

ガスクロマトグラフ注入口を低温から高温まで制御可能, しかも熱に不安定な測定物質にも対応できる Temperature Programmable Inlet (TPI) オンカラム注入法を採用した。

GC/MS の測定条件を Table 1 に示す。

Table 1 GC/MS operation conditions

#### 【GC】

Injection method: TPI on column injection  
Injection temp.: 35°C (1.5min) → 200°C (100°C/min)  
Coolant: liquid CO<sub>2</sub>  
Oven temp.: 35°C (7 min) → 220°C (10°C/min)  
Carrier gas: Helium, 40cm/sec (EPC)  
Column: Vocol (film thickness: 1.5  $\mu\text{m}$ , 1.30m, i.d.: 0.25mm)

#### 【MS】

Ion source temp.: EI: 200°C, CI: 150°C (methane)  
Transferline temp.: 275°C  
Emission current: 285  $\mu\text{A}$   
Ionization volt: 70eV  
Mass range: 50–650 (m/z)

#### 【MS/MS】

Excitation voltage: 0–1volt, Mass range: 40–350 (m/z)

#### 2-2) メチル誘導体化条件の確立

TMSD 試薬によるメチル化反応を, 反応温度 20°C, 反応時間は 60 分で一定の条件下で, 反応モル濃度との関係を検討した。

カルボン酸 0.0001mmol (ジクロロ酢酸で 12.9mg/L, トリクロロ酢酸で 16.5mg/L) に対して TMSD 試薬を 0.00013mmol (1.3 倍量, TMSD 試薬は 10% 溶液であるため, 1 mL が 1.3mmol に相当), 0.001mmol (10 倍量), 0.002mmol (20 倍量), 0.003mmol (30 倍量), 0.005mmol (50 倍量), 0.01mmol (100 倍量) 添加し, メチル化反応生成率をジクロロ酢酸メチルおよびトリクロロ酢酸メチルから求めた。

#### 2-3) 電子イオン化 (EI) 法と化学イオン化 (CI) 法によるマススペクトルの比較

イオン源温度, 反応ガス以外はすべて同一の分析条件とした (Table 1)。ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸 1mg/L 混合標準溶液と TMSD 溶液 (モル濃度比 100 倍量以上) を 20°C, 60 分間反応させた溶液について, マススペクトルを比較検討した。

#### 2-4) MS/MS 条件の最適化

ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸分析における高感度化を図るため, MS/MS 条件の検討を行った。

MS/MS によりプリカーサーイオンからプロダクトイオンが生成するが, プリカーサーイオンとプロダクトイオンの選定のために MS/MS を行う際の励起エネルギー (EV: Excitation voltage) を 0–1volt の範囲で, 最適化条件の検討を行った。

### 3. 水中ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸の溶媒抽出-誘導体化-GC/MS/MS 分析

水中ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸の溶媒抽出は上水試験方法<sup>14)</sup>および既報<sup>5,6)</sup>に従って行い, メチル誘導体化は市販の TMSD 試薬を用いた。これらの概略を以下

に示す。

試料水50mL (またはジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸として0, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10  $\mu\text{g/L}$ を含むように再精製水を加えて50mLとしたもの)を共栓付試験管50mLに採り, 硫酸酸性下 ( $\text{pH} < 1$ ), MTBE2.0mLと塩析剤としての塩化ナトリウム15gを加えて5分間激しく振とうした。5分間静置後に, 有機層を分取して無水硫酸ナトリウムによって脱水した。これに, TMSD 試薬10  $\mu\text{L}$ , メタノール10  $\mu\text{L}$ を添加し, 室温で60分間放置したメチル化反応液を検液とした。

ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸分析のための検量線作成および定量にあたっては, CI-GC/MS/MS法により測定を行った。

本法における添加回収実験の平均回収率と変動係数は, 3回の繰り返し実験により求めた。

#### 4. 水道水中のジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸の実態調査

兵庫県水道水質管理計画に基づいた水質監視地点のうち, 監視3地点 (水源種別: 河川水1地点(A), 伏流水1地点(B), 浅井戸1地点(C))の水道水を, 2000年6月27日, 同年10月24日, 2001年6月26日, 同年10月23日, 2002年6月25日, 同年10月22日の計6回採水したものを用いた。

各地点から採取した水道水をアスコルビン酸ナトリウムによって脱塩素した後の試料水50mLをIIの3.の方法に従って溶媒抽出を行い, メチル誘導体化反応を行ったものを分析用検液とした。

### III 結果および考察

#### 1. GC/MSによるジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸の分析法について

##### 1) メチル誘導体化条件の確立

ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸とTMSD試薬との反応モル濃度比と反応率について, それぞれのメチル化体を用いて検討を行った (Fig. 1)。ハロ酢酸のカルボン酸のモル比1に対して, TMSD試薬を1.3, 10, 20, 30, 50, 100倍量を個別に添加したところ, 反応率 (%)はジクロロ酢酸でそれぞれ81, 97, 100, 101, 102, 100% ( $n=3$ , 平均値)であり, トリクロロ酢酸でそれぞれ79, 96, 100, 103, 102, 100% ( $n=3$ , 平均値)であった。従って, 少なくとも20倍量 (モル比)以上添加すれば, 反応は20°C, 60分で定量的に完結することが分かった。また, 両メチル化体は24時間安定であることを既に報告<sup>5)</sup>しているが, 検水中の分析には, ジクロロ酢酸,

トリクロロ酢酸以外に7種類のハロ酢酸の存在 (クロロ酢酸, ブロモ酢酸, ブロモクロロ酢酸, ブロモジクロロ酢酸, ジブロモ酢酸, ジブロモクロロ酢酸, トリブロモ酢酸)が考えられること, 反応を短時間で完結させる目的から, 100倍量以上の大過剰のTMSD試薬の添加を至適条件とした。また, 本法はグアニジン関連試薬から調製するジアゾメタンと比べて簡便であり, 分析操作時間の短縮化につながった。

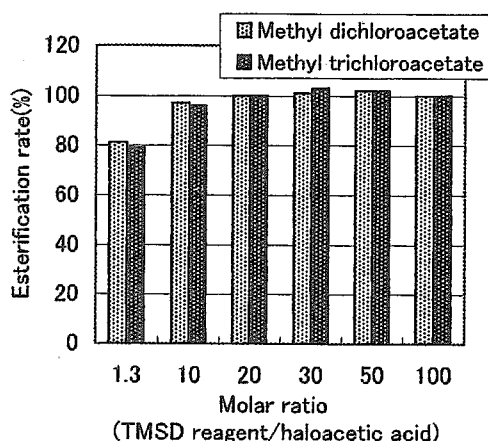


Fig. 1 Relation between the esterification rate and the molar ratio of TMSD reagent to haloacetic acid (dichloroacetic acid and trichloroacetic acid)

2) EI-GC/MSクロマトグラムとマススペクトルの解析  
ジクロロ酢酸とトリクロロ酢酸の1mg/L標準混合溶液のメチル誘導体化後のGC/MSトータルイオンクロマトグラムとそのマススペクトル Fig. 2に示す。ジクロロ酢酸メチルは16.57分に検出され, トリクロロ酢酸メチルは19.43分に検出された。

ジクロロ酢酸メチルのEIマススペクトルは,  $m/z$  83がベースピークとして検出されたが, これは $[\text{CHCl}_2\text{-COOCH}_3]$ の開裂と水素原子の脱離した $[\text{Cl}_2\text{C}\cdot]^+$ の質量数と推定され, この化合物に特徴的なイオンとして検出された。また,  $m/z$  84, 87も塩素の同位体として比較的強いピーク強度で検出された。トリクロロ酢酸のEIマススペクトルは $m/z$  117でベースピークが検出されたが, これは $[\text{CCl}_3\text{-COOCH}_3]$ の開裂によって生成した,  $[\text{Cl}_3\text{C}]^+$ の質量数と推定され, この化合物に特徴的なイオンとして検出された。また,  $m/z$  119, 121も塩素の同位体として比較的強いピーク強度で検出された。これらの特徴的なイオンをそれぞれジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸のEI-GC/MS法による定量に用いるイオンとした。なお, これらの定量に用いるイオンは, 他の7種類のハロ酢酸とは保持時間でも区別されることから, 定量には問題とならないことを確認している。

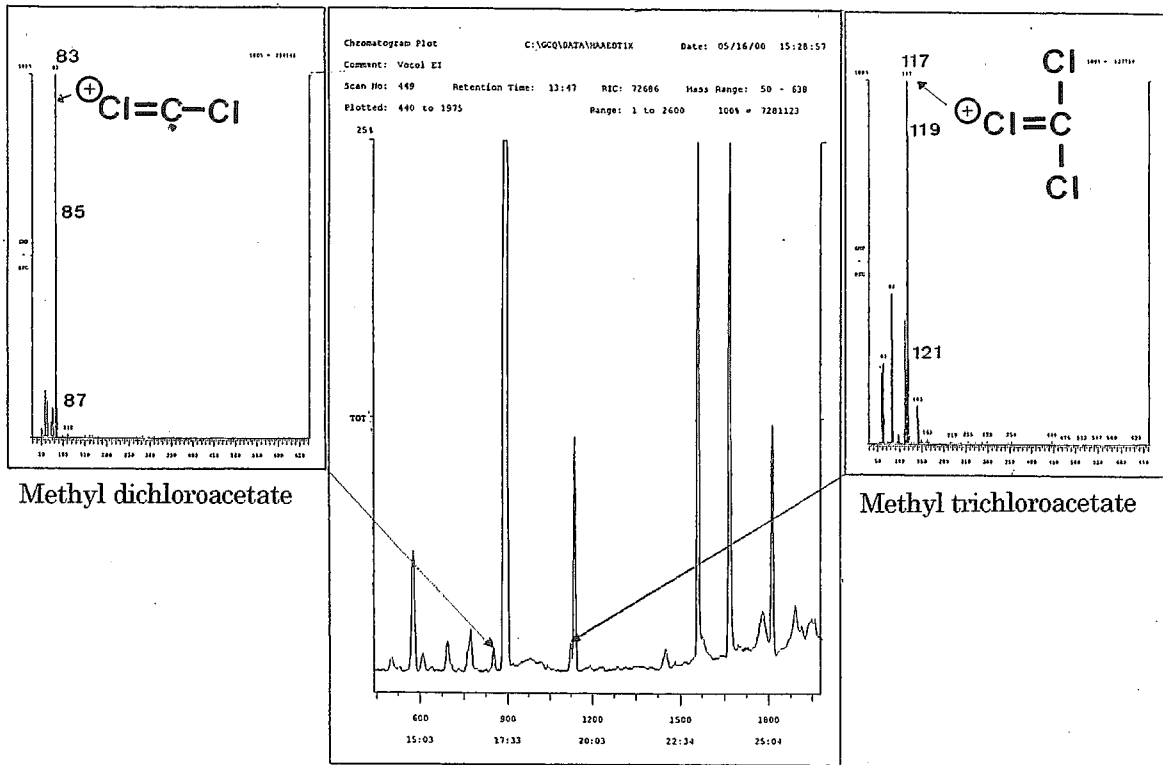


Fig.2 EI-GC/MS total ion chromatogram and mass spectra of methyl dichloroacetate and methyl trichloroacetate

3) CI-GC/MS/MS の最適条件の設定

3-1) CI-GC/MS のスペクトルの検討

ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸について、メタンを反応ガスとしたCIマスペクトルをFig. 3に示す。

ジクロロ酢酸メチルのCIマスペクトルは、 $[M-H]^+$ の  $m/z$  143がベースピークとして検出され、同位体の  $m/z$  145, 147も検出された。トリクロロ酢酸メチルのCIマスペクトルは  $[M-H]^+$  の  $m/z$  177が

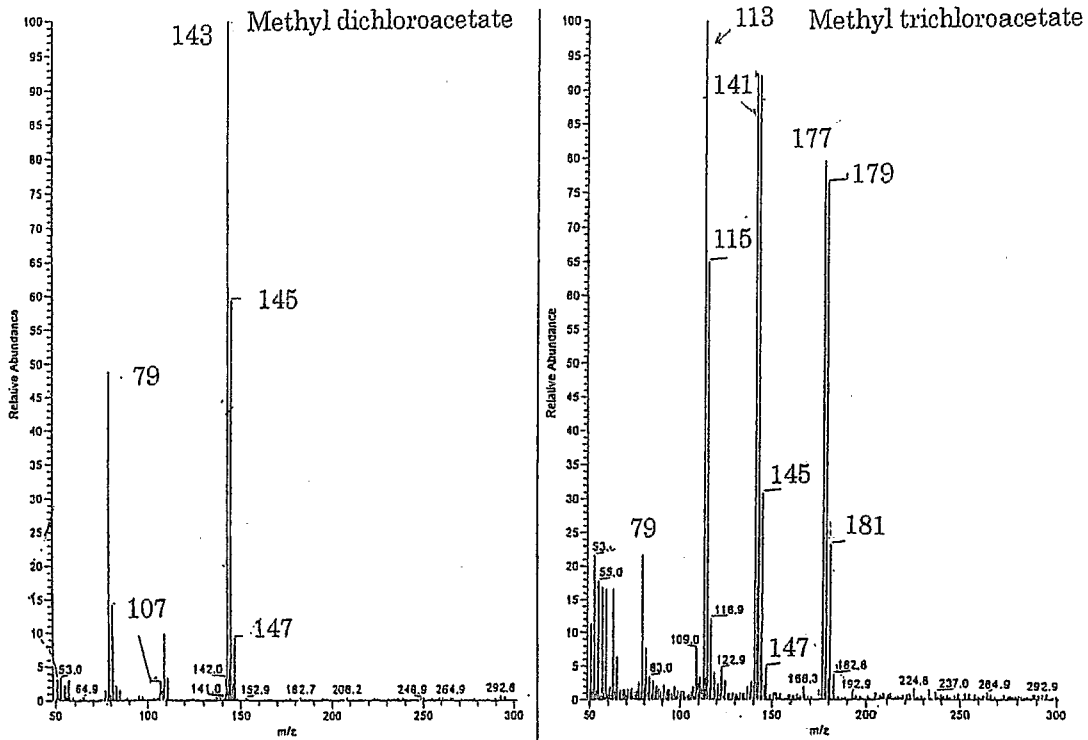


Fig. 3 CI-GC/MS spectra of methyl dichloroacetate and methyl trichloroacetate

比較的強いイオン強度で検出され、同位体の  $m/z$  179, 181も検出された。これらのイオンは、いずれも化合物に特徴的なイオン（分子プロトン化イオン）であり、化合物の同定に有効である。

### 3-2) CI-GC/MS/MS条件の最適化について

ジクロロ酢酸メチルに特徴的な  $m/z$  143, トリクロロ酢酸メチルに特徴的な  $m/z$  177をプリカーサーイオンとして、0.5, 0.7および1.0voltによる開裂反応（MS/MS）を行った際のマススペクトルをそれぞれFig. 4, Fig. 5に示した。ジクロロ酢酸メチルでは  $m/z$  143を0.5voltの励起エネルギー（EV）で開裂させると  $m/z$  79, 107が出現したが、 $m/z$  79の方が強いピークとして検出された。0.7volt, 1.0voltと増すに従い、 $m/z$  143の強度は減少し、 $m/z$  79のピークがさらに強くあらわれた。 $m/z$  79は  $[HCl = O^+ - CH_3]$ ,  $m/z$  107は  $[H_2CCl - COOCH_3]$ と推定している。トリクロロ酢酸メチルでは励起エネルギー（EV）を0.5voltとすると、 $m/z$  141のピークがあらわれ、0.7voltにすると  $m/z$  177は完全に消失し、 $m/z$  113と  $m/z$  141が強く出現した。更に、1.0voltにすると  $m/z$  113のピーク強度が増した。 $m/z$  113は  $[CCl_2 = O^+ - CH_3]$ ,  $m/z$  141は  $[ \cdot CCl_2 - COOCH ]$ と推定している。

これらの現象を詳細に検討した結果をFig. 6に示す。ジクロロ酢酸メチルでは、0.7voltにおいて  $m/z$  79が最も強く出現し、トリクロロ酢酸メチルでは0.6voltで  $m/z$  141が最も強く出現したことから、これらのイオンをプロダクトイオンとして定量に用いた。

### 4) 定量および検出下限値

定量下限値を Signal/Noise (S/N) 比=10として求めると、ジクロロ酢酸で  $0.07 \mu\text{g/L}$ , トリクロロ酢酸で  $0.17 \mu\text{g/L}$ であった。検出下限値をS/N比 = 3から求めると、ジクロロ酢酸で  $0.02 \mu\text{g/L}$ , トリクロロ酢酸で  $0.05 \mu\text{g/L}$ であった。分析手法の相違から定量、検出下

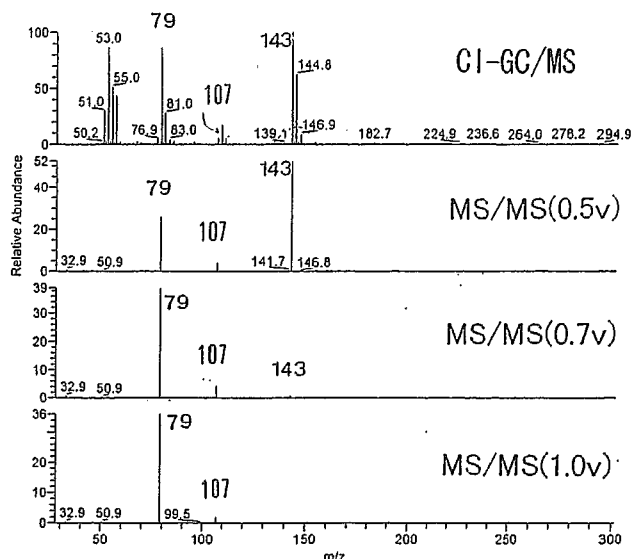


Fig. 4 CI-GC/MS/MS spectra of methyl dichloroacetate  
Excitation voltage: 0.5, 0.7, 1.0 V

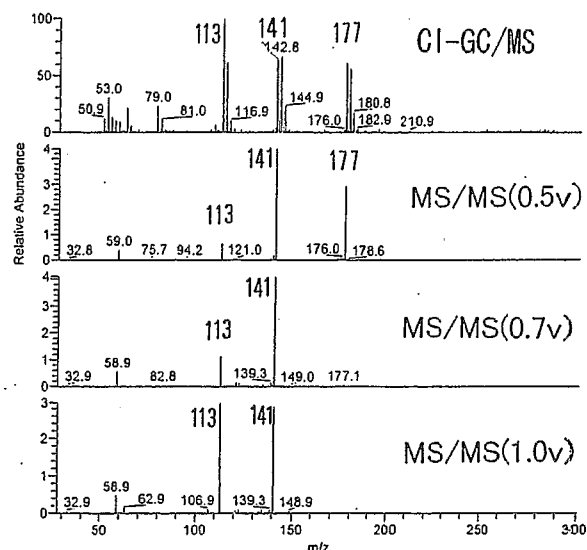


Fig. 5 CI-GC/MS/MS spectra of methyl trichloroacetate  
Excitation voltage: 0.5, 0.7, 1.0 V

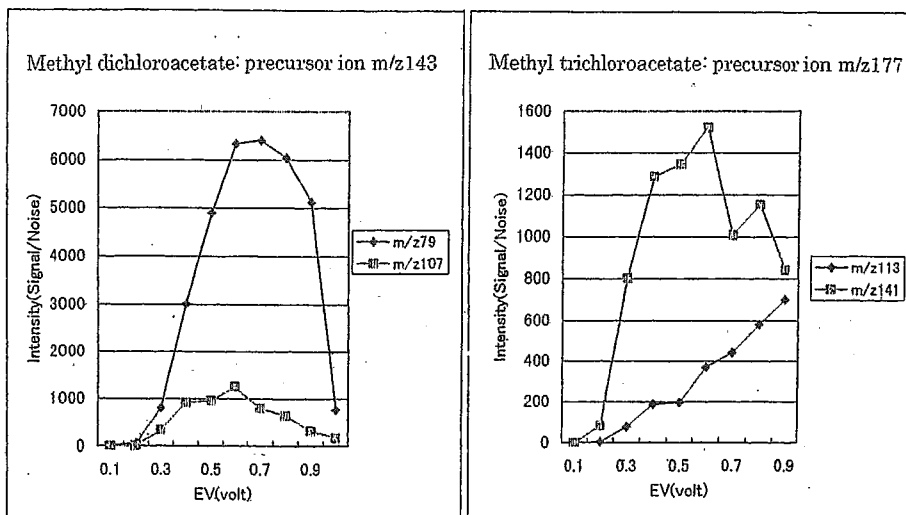


Fig. 6 Variation of the amount of generation from precursor ion to product ion with an increasing excitation voltage

限値の比較を単純には出来ないが、本法はEI-GC/MS法の検出下限値（ジクロロ酢酸：0.14 μg/L，トリクロロ酢酸：0.19 μg/L）との比較では、それぞれ7倍、4倍と高感度な結果が得られることが分かった（Table 2）。

Table 2 Limits of detection(LOD) and limits of quantitation(LOQ) of target compounds

	Dichloroacetic acid	Trichloroacetic acid
CI-GC/MS/MS		
LOD (μg/L)	0.02	0.05
LOQ (μg/L)	0.07	0.17
Precursor ion (m/z)	143	177
Product ion (m/z)	79	141
EI-GC/MS		
LOD (μg/L)	0.14	0.19
LOQ (μg/L)	0.46	0.63
Monitor ion (m/z)	83, 85, 87	117, 119, 121

また、ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸の検量線の直線性を示す濃度範囲は、それぞれ0.07-10 μg/L, 0.17-10 μg/Lであった。ジクロロ酢酸の直線回帰式は  $y = 92.80x$ ，相関係数は  $r = 0.999$  であった。トリクロロ酢酸の直線回帰式は  $y = 16.89x$ ，相関係数は  $r = 0.999$  であった。このようにジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸濃度とピーク面積値との相関係数は高い値を示し、濃度応答性の直線性が極めて良好であった。

以上のことから、本研究によりジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸の検出は、ジクロロ酢酸の指針値 20 μg/L の1/1,000，トリクロロ酢酸の指針値 300 μg/L の1/6,000まで測定可能となり、バックグラウンドを抑えた低濃度レベルを検出する分析法であることが明らかとなった。

5) 添加回収実験

ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸について、0.50 μg/Lの濃度で添加回収実験を行った。回収率と変動係数をTable 3に示す。いずれの試料水においても105~108%と良好な回収率が得られた。また、変動係数も4%未満と再現性の高い結果であることを認めた。

Table 3 Recovery of dichloroacetic acid and trichloroacetic acid by GC/MS/MS

	Dist. Water*	Ground water**	
		R(%)	CV(%)
Dichloroacetic acid	0.025 μg	105.3	106.4
Trichloroacetic acid	0.025 μg	106.4	108.4

\*: Dist. Water: ss<1.0mg/L, pH6.9  
 \*\*: Ground water. ss=1.0mg/L, pH7.0

なお、添加回収実験に用いた水道原水としての地下水

および精製水にはジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸は全く含まれていないことを確認している。

Fig. 7 に水道水から検出されたジクロロ酢酸とトリクロロ酢酸のCI-GC/MS/MSクロマトグラムを示した。このクロマトグラムから、他の夾雑物は全く検出されず、両化合物は鋭いピークとして検出できることが分かった。

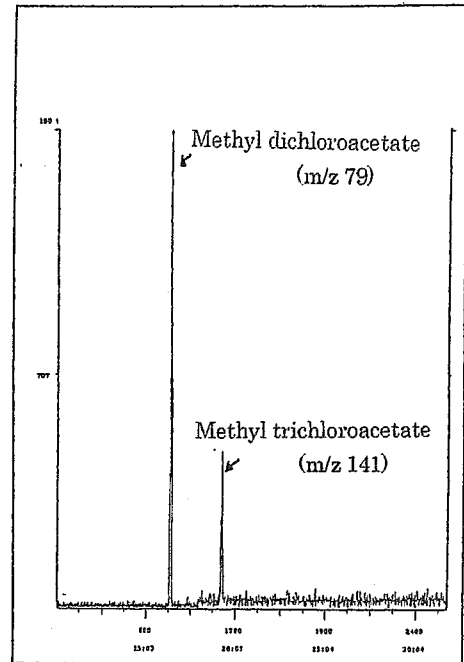


Fig. 7 CI-GC/MS/MS chromatogram of methyl dichloroacetate and methyl trichloroacetate in tap water

Methyl dichloroacetate: production ion m/z79 (EV, 0.7V)  
 Methyl trichloroacetate: production ion m/z141 (EV, 0.6V)

2. 水道水中ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸濃度の実態調査

本研究において開発を行った正確かつ高感度なメチル誘導体化-GC/MS/MS法を兵庫県下の水道水質監視3地点の水道水に適用し、ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸濃度の測定を行った。

水道水中の実態調査の結果、水中ジクロロ酢酸の濃度範囲は、河川水を水源とするA地点の水道水で2.27~6.20 μg/L，伏流水を水源とするB地点の水道水で1.05~4.19 μg/L，浅井戸を水源とするC地点の水道水で0.23~1.26 μg/Lであった。一方、トリクロロ酢酸の濃度範囲はA地点の水道水で0.86~9.48 μg/L，B地点の水道水で0.48~8.05 μg/L，C地点の水道水で0.29~2.30 μg/Lであった。現行の指針値<sup>8)</sup>および2003年5月30日付の省令改正における基準値<sup>9)</sup>（ジクロロ酢酸：40 μg/L，トリクロロ酢酸：200 μg/L）と比較して低く下回っているものの、兵庫県下の水道水中ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸の広範囲な調査結果では高い濃度の水源も

認められているため<sup>5,6)</sup>, 継続した監視調査が必要である。

以上, これらの結果から, 水質基準で規制された値と比べて, 低濃度レベルの水道水中ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸を感度良く測定しうることを認めた。

#### IV まとめ

水中ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸の分析法として, メチル誘導体化後, CI-GC/MS/MS法の検討を行った結果, 以下の知見が得られた。

1. メチル誘導体化反応は, ハロ酢酸のカルボン酸のモル比1に対して, TMSD 試薬を20倍量(モル比)以上添加後の20°C, 60分間の反応は定量的に進行することが分かった。

2. CI-GC/MS法により, ジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸はそれぞれ特徴的なイオンである  $m/z$  143と  $m/z$  177を検出した。これをプリカーサーイオンとするCI-GC/MS/MS法により, それぞれのハロ酢酸に0.7voltおよび0.6voltの励起エネルギーを与えると, 分離の良い特徴的かつ最も強度の強いプロダクトイオン  $m/z$  79と  $m/z$  141がそれぞれ出現したことから, 定量イオンとして最も良いことを認めた。これらの条件によって定量する本法での検出下限値は, ジクロロ酢酸で0.02  $\mu\text{g/L}$  (指針値20  $\mu\text{g/L}$  の1/1,000), トリクロロ酢酸で0.05  $\mu\text{g/L}$  (指針値300  $\mu\text{g/L}$  の1/6,000)であり, EI-GC/MS法のそれらと比べて, 高感度に分析が可能であることが明らかとなった。

3. 精製水と水道原水(地下水)を用いて添加回収実験を行ったところ, 回収率105~108%, 変動係数3~4%と良好な結果であることを認めた。

4. 本法を水道水中のジクロロ酢酸およびトリクロロ酢酸分析に適用した結果, 測定の妨害となるピークは全く認められず, 有用性が確認された。兵庫県水道水質管理計画に基づいた監視地点の水道水中ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸濃度を測定した結果, ジクロロ酢酸は0.23~6.20  $\mu\text{g/L}$ , トリクロロ酢酸は0.29~9.48  $\mu\text{g/L}$ の濃度範囲で検出された。本法は低濃度レベルを精度良く測定しうることを認めた。

謝 辞

本稿を終えるにあたり, 試料水の採取にご協力をいただきました兵庫県健康生活部生活衛生課ならびに各市町水道事業所の皆様に深く感謝いたします。

#### 文 献

- 1) Rook, J.J.: Chlorination reactions of fulvic acids in natural waters. *Envir. Sci. Technol.*, 11, 478-482 (1977)
- 2) Miller, J.W. and Uden, P.C.: Characterization of nonvolatile aqueous chlorination products of humic substances. *Envir. Sci. Technol.*, 17, 150-157 (1983)
- 3) Christman, R.F., Norwood, D. L., Millington, D. S., Johnson, J. D. and Stevens, A.A.: Identify and yield of major halogenated products of aquatic fulvic acid chlorination. *Environ. Sci. Technol.*, 17, 625-628 (1983)
- 4) 猪子正憲, 松野武雄: フミン酸からトリハロメタン生成の一考察. 水道協会雑誌, 54(2), 21-26 (1985)
- 5) 川元達彦, 辻 英高, 市橋啓子, 寺西 清: 兵庫県下の水質監視地点における消毒副生成物の分布について. 兵庫衛研報, 32, 149-155 (1997)
- 6) 川元達彦, 寺西清: 兵庫県下の水道原水におけるハロ酢酸生成能とトリハロメタン生成能の比較. 兵庫衛研報, 34, 163-175 (1999)
- 7) 厚生省生活衛生局水道環境部長通知: 「水道水質に関する基準制定について」, 平成4年12月21日, 衛水第264号
- 8) 厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課長通知: 「水質基準を補完する項目に係わる測定方法について」等の一部改正について, 平成11年6月29日, 衛水第39号
- 9) 厚生労働省: 「水質基準に関する省令」, 平成15年5月30日, 厚生労働省令第101号
- 10) 高橋保雄, 森田昌敏: 水道水中のハロゲン化消毒副生成物の多成分系統分析法. 環境化学, 7(3), 495-506 (1997)
- 11) Choi, M.H., Chung, B.C., Lee, W., and Kim, Y: Determination of anabolic steroids by gas chromatography/negative-ion chemical ionization mass spectrometry and gas chromatography/negative-ion chemical ionization tandem mass spectrometry with heptafluorobutyric anhydride derivatization. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 13, 376-380 (1999)



12) 中牟田啓子, 木下誠, 松原英隆: トリブチルスズ及びトリフェニルスズ化合物のGC/MS/MSを用いた分析法の検討. 福岡市保健環境研究所報, No.24, 135-138 (1999)

13) 森田昌敏, 白石寛明: 環境ホルモンの新たな計測手

法の開発と環境動態に関する研究. 国立環境研究所特別研究報告 (FY1999-2001), p.1-25 (2002)

14) 日本水道協会編: 上水試験方法2001年版. P107-455, 日本水道協会出版, 東京 (2001)

(受理 2003年11月25日)

[ノート]

## スクラバー差量—化学発光法による硝酸ガスモニターの開発 —微粒子除去器の試作と粒子除去効率について—

山 本 匡 利

### Development of Nitric Acid Analyzer by Scrubber Difference— Chemiluminescence Method —Design and Separation Efficiency of New Type Particle Separator—

Masatoshi Yamamoto

Atmospheric Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and  
Environmental Sciences, 3-1-27, Yukihiro-cho, Suma-ku, Kobe 654-0037, Japan

#### SUMMARY

A new type of annular nozzle-reverse flow particle separator (ANRF-PS) was designed. Size distributions of atmospheric aerosol were measured by two low pressure impactors with and without ANRF-PS and the separation efficiencies of 80% for total particle and 100% for coarse particle were observed. The ANRF-PS was used as a prefilter of HNO<sub>3</sub> analyzer by scrubber difference and chemiluminescence method. The blank test was conducted by the HNO<sub>3</sub> analyzer equipped with the ANRF-PS, measuring HNO<sub>3</sub> scrubbed ambient air and showed that the ANRF-PS was effective to use as the prefilter of the HNO<sub>3</sub> analyzer.

#### I はじめに

燃焼過程により大気中に放出された NO<sub>x</sub> は、大気中で種々の化学反応を経て酸化されていくが、硝酸ガスはその最終生成ガスのうちの主成分であり、酸性雨や酸性微粒子問題の原因物質となる。しかし、硝酸ガスの都市大気中での濃度レベル、NO<sub>x</sub> からの生成メカニズムあるいは粒子生成メカニズム等その詳細については充分に

解明されていない。これらの主な理由として、環境大気中硝酸ガスの測定法の難しさが原因していると考えられ、未だに確立された自動測定機もないのが現状である。

著者ら<sup>1)</sup>はこれまでスクラバー差量法—NO オゾン化学発光法 (以下 SDCL 法) について報告した。そこでは除塵のために試料空気採取口にテフロン製プレフィルターを用いている。しかし硝酸ガスの測定においては除塵の過程で生じる異常値、いわゆるアーティファクトの可能性が考えられる。すなわち①硝酸ガスがフィルター上に捕捉された塩化ナトリウムなどの粒子と化学反応や吸着を起こすマイナスの異常値、②フィルター上に捕捉された硝酸アンモニウムが硝酸ガスとアンモニアに解離して新たな硝酸ガスが生じるプラスの異常値などである。

しかしこれらの異常値の生じることは、プレフィルター

大気環境部

\* 別刷請求先：〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27  
兵庫県立健康環境科学研究センター  
大気環境部 山 本 匡 利

を使用する限り不可避であり、フィルター法以外の粒子除去法を新たに見出す必要性があった。栗田ら<sup>2,3)</sup>は、ガス吸収-イオンクロマトグラフィーによる硝酸ガスの連続測定に際し、プレフィルターの代わりに、粒子の慣性を利用した粗大粒子除去具（粗大粒子カットフィルター）を考案した。この方法では、フィルター法でアーティファクトが懸念される5~10 $\mu\text{m}$ 以上の粒子は常に系外に放出される。ガス測定時のプレフィルターに代わって、アーティファクトの問題解決のためにこのような粒子除去方式を用いた最初の試みである。

ここでは、使用目的と粒子除去原理は栗田等<sup>2,3)</sup>と同じであるが、これとは別に、SDCL法による硝酸ガス連続測定装置に使用する新たな粒子除去器を設計し、その性能を調べたのでその結果を報告する。

## II 実 験

### 1. 粒子除去器

#### 設計上の条件

以下の3点に留意して設計・試作を行った。①より微小な粒子まで、より高効率で除去可能とするため、粒子加速のためのノズル構造を有し、主流と支流の角度を最大の180度（逆流構造）とする。②反応性、吸着性の極めて強い硝酸ガス<sup>4,6)</sup>のサンプリングロス为避免のため、基本構造を円形もしくは同心円型（以下、アニュラー型）とし可能な限り単純な構造とする。③硝酸ガスアナライザーの運転条件（吸引速度0.6 L/min, 吸引圧力 $-50\text{ cm H}_2\text{O}$ ）の範囲内で、除去器の最適条件決定のためにノズル巾を可変とする、そのため支流管にねじを切り、回転により位置をずらしてノズル巾を微調整する等である。

#### 粒子の分離原理

上記設計条件に基づいて試作した粒子除去器の装置断面と粒径別に粒子を分離する原理の模式図をFig. 1に示す。分離原理は、①大気取入口から主流部にポンプで吸引された粒子を含んだ空気は、ノズル部で粒子と共に加速される。②ノズル部の出口にある分岐点には、サンプリング管の吸引口があり、ここで流れは主流（大流量）と支流（小流量）が逆方向の二つの流れに分岐される。③分岐点では、主流中の粗大粒子は慣性が大きいため流れに乗ってそのまま直進するが、流れの方向が急激に変わる支流の入り口では、慣性の小さい微粒子のみが、取り込まれる。④サンプリング管の回転でノズル部の間隔を変えると流れのスピードが変わるため粒子の慣性力が変わって、分離する粒子の大きさが調節できる。

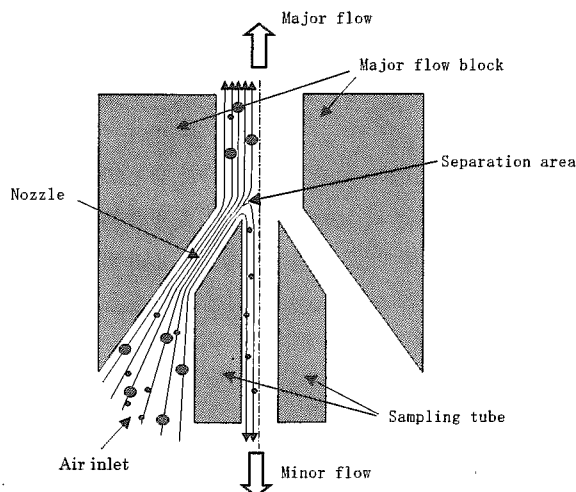


Fig. 1 Schematic principle of particle separation by annular nozzle-reverse flow particle separator.

#### 構造

Fig. 2に試作した装置の見取り図を示す。装置は以下の4つの部分からなる。①大気を取り入れ、主流の流れをつくる主流部、②主流部に台座を固定するための3本の円柱、③3本の円柱で固定され、サンプリング管を立てるための円盤状の台座、④試料空気すなわち支流を測定装置に導入するサンプリング管。この管は台座の中央にねじで固定されていて回転によって上下するため、主流部との間にできた間隙（ノズル）の巾を変えることができる。支流の方向から見たノズルの形状は同心円状（アニュラーノズル）である。ねじのピッチは1 mmでサンプリング管を1回転させるとノズル巾は0.3 mm変化する。

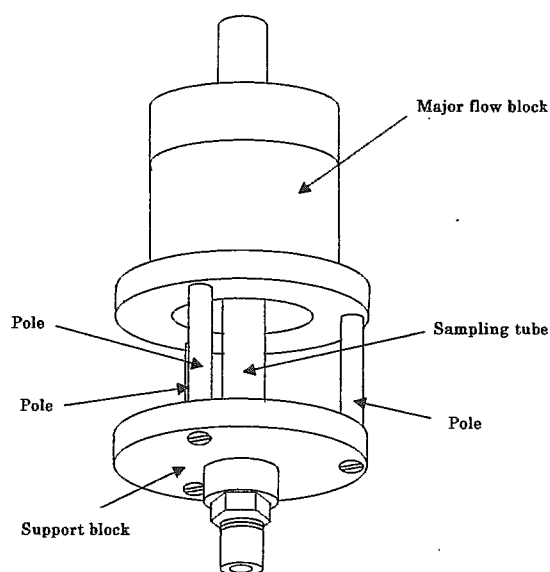


Fig. 2 Schematic diagram of annular nozzle-reverse flow particle separator.

①~③はアルミニウム製、④のサンプリング管は長さ

11 cm, 外径 10 mm, 内径 7 mm のステンレススティール製である。装置全体の大きさは長さ 14 cm, 直径 5 cm である。試料空気の接触する面はすべてテフロンコーティングされている。

この装置の構造はアニュラーノズルを有して主流と支流が逆方向である点の特徴であるので、アニュラーノズル逆流式粒子除去器 (annular nozzle-reverse flow particle separator: ANRF-PS) といえる。このような構造の粒子除去器は、基本的な除去原理から見ればバーチャルインパクト<sup>7)</sup>の一種と言え、これまでにそれぞれアニュラーノズル型<sup>8)</sup>, 逆流型<sup>9)</sup>バーチャルインパクトとして開発されているが、両機能を合わせた型 (かつノズル巾可変型) の報告はない。

## 2. 硝酸ガスアナライザー

著者等<sup>1)</sup>の装置を以下に示す 4 点について改変した。

- ①プレフィルターの代わりに今回検討する粒子除去器を使用。
- ②ナイロン繊維を充填した硝酸ガススクラバーの代わりに塩化ナトリウムをコーティング<sup>1)</sup>したアニュラーデニューダー (L = 20 cm, 外形 = 12 mm) を使用。ただし理論式<sup>10)</sup>から求めたデニューダーの粒子透過効率 (粒径 0.01  $\mu\text{m}$ ) は 95%, 硝酸ガス捕捉効率は 99% である。
- ③硝酸ガスから NO への変換は石英ビーズコンバーターを省いてモリブデンコンバーター (以下 MC) のみ使用。
- ④ 2 つの MC の後ろにテフロン製のフィルターを新たに装着。これは本粒子除去器では一部の微小粒子が装置内へ流入するが、それによるバルブユニットや反応セルの汚染防止のためである。ここでは高温の MC 通過後でアーティファクトの原因となる粒子はすでに熱分解してアーティファクトは無視できると考えられる。

改変後の装置の概略図を Fig. 3 に示した。チャンネル 1 で NO<sub>y</sub>, チャンネル 2 で NO<sub>y</sub>\* が測定される。ただし, NO<sub>y</sub> = NO + NO<sub>2</sub> + 硝酸ガス + 亜硝酸ガス + 過硝酸ガス (HNO<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>) + NO<sub>3</sub> + N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> + PAN + 有機硝酸エステル類 + 硝酸塩粒子 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + . . . , NO<sub>y</sub>\* = NO<sub>y</sub> - 硝酸ガス である。

ル類 + 硝酸塩粒子 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + . . . ,

NO<sub>y</sub>\* = NO<sub>y</sub> - 硝酸ガス

である。

## 3. 低圧インパクト

除去効率測定のための大気微粒子サンプラーは、Hering の 8 段の低圧インパクト<sup>11)</sup> (以下, LPI) を用いた。各段の 50% カットオフ径は 4  $\mu\text{m}$  (1 段目), 2  $\mu\text{m}$  (2 段目), 1  $\mu\text{m}$  (3 段目), 0.5  $\mu\text{m}$  (4 段目), 0.26  $\mu\text{m}$  (5 段目), 0.12  $\mu\text{m}$  (6 段目), 0.075  $\mu\text{m}$  (7 段目), 0.05  $\mu\text{m}$  (8 段目), である。各段に粒子捕集板 (5 × 15 × 0.1 mm のテドラフィルム) を装着して粒子を採取した後, ミクロ天秤 (メトラ製 M3) で重量を測定して粒径分布を求めた。

## III 結果と考察

### 1. 最適条件

粒子除去器による微粒子除去効率を上げるには、支流の流速 (硝酸ガスアナライザーの吸引速度 0.6 L/min) が一定であるため、あとは主流の流速を上げ、かつノズルを絞ってノズルでの流速を上げる必要があるが、この場合同時に支流の速度と圧力が下がってしまう。検討の結果、主流速度 4 L/min の場合、支流の吸引条件を所定の範囲内に保ちながら、ノズル通過速度を最大にできるのは、ノズル巾を 0.03 mm とすればよいことがわかった。この条件下のノズル通過速度は約 40 m/sec である。以下粒子の除去効率の測定や実大気での使用は本条件下で行った。

### 2. 除去効率

微粒子除去効率の測定のため、Fig. 4 に示すように、2 台の LPI のうち一方はそのまま、もう一方に粒子除去器を装着して大気微粒子を同時サンプリングした。ただし LPI の吸引流量は 1 L/min と決まっているので、

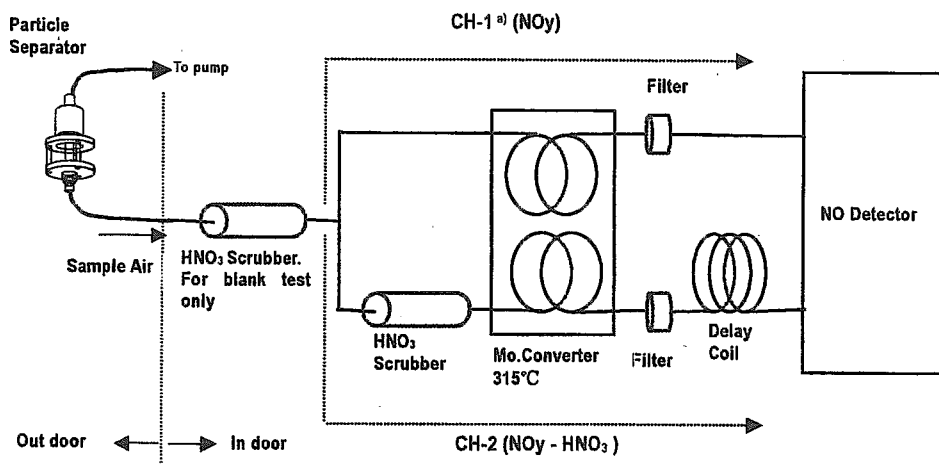


Fig. 3 Schematic diagram of HNO<sub>3</sub> analyzer by scrubber difference and chemiluminescence method equipped with particle separator. a): During the blank test, CH-1 is not NO<sub>y</sub> line but NO<sub>y</sub>\* line.

粒子除去器の支流流量の0.6L/minに不足の0.4L/minを清浄空気(ダストフリー)で補ってサンプリングした。測定場所は当センター6階ベランダ, 期間は2002年6月18日から6月20日までの2600分である。

マイクロ天秤でステージごとの粉塵重量を測定して重量基準の粒径分布を求めた結果を Fig. 5 に示す。粒子除去器なし, すなわち大気微粒子の粒径分布(灰色の線)はいわゆる都市大気微粒子の典型的な3山型の分布を示している。粒子除去器を装着した場合, 黒色の線が示すように0.1 μm以下の微小粒子では装着なしと大差ないが, 1 μm以上の粗大粒子(以下粗粒子)はすべて除去されていることがわかる。粒径ごとの除去効率を Table 1 に

示した。まず塩化ナトリウムなど硝酸ガスが吸着や反応を起こしやすい粗粒子が100%除去されているという結果はフィルター法で最も問題となる捕獲粒子によるマイナス妨害がなくなるということを示している。微小粒子は66.5%が除去されている。すなわち33.5%が硝酸ガスアナライザーに取り込まれている。しかしこのことについては, 差量法という本アナライザーの測定原理から硝酸ガス測定に影響を与えるものでないと考えられる。これは取り込まれた粒子の一部がMCでNOに変換されても, 同一条件に設計された2つのチャンネルで互いに相殺されるためである。

F1	Major Flow (coarse particle)	4L/M
F2	Minor Flow (fine particle)	0.6L/M
F3	Additional Flow (particle free)	0.4L/M
F4	LPI Sampling Flow	1L/M

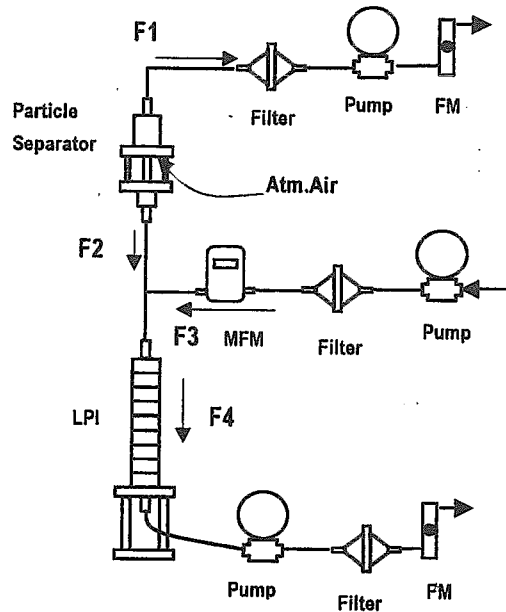
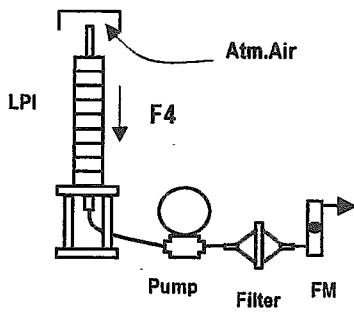


Fig. 4 Size distribution measurement system of atmospheric aerosol by two LPIs with (right) and without particle separator (left). Table shows flow rates at each line.

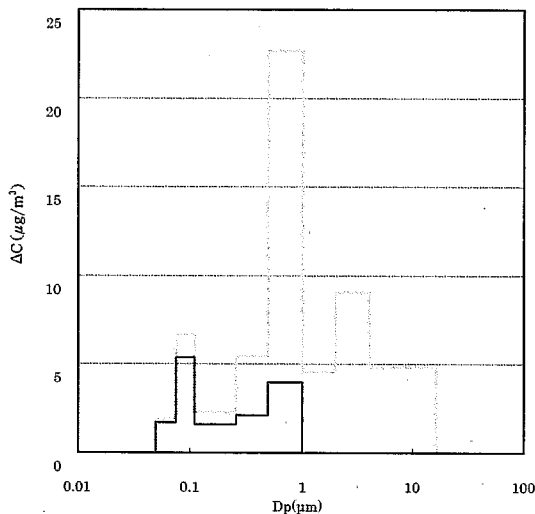


Fig. 5 Size distribution of atmospheric aerosol measured by two LPIs with (black line) and without (gray line) particle separator.

Table 1 Cut-off efficiency of particle separator.

Eight segligated		Two segligated		Tortal
Size(μm)	Cut-off efficiency (%)	Size(μm)	Cut-off efficiency (%)	Cut-off efficiency (%)
4-16	100.0	Coarse (> 1 μm)	100.0	79.7
2-4	100.0			
1-2	100.0			
0.5-1	82.5	Fine (< 1 μm)	66.5	
0.26-0.5	61.2			
0.11-0.26	30.1			
0.075-0.11	19.4			
0.05-0.075	12.6			

以上の結果から本粒子除去器が硝酸ガスアナライザーの粒子除去器として充分使用可能な粒子除去特性を有していると考えられた。粒子径と除去効率をプロットして50%カットオフ径を求めた結果、0.2 μmとなった。

この粒子除去器のもつ別の特徴は、フィルター法における目詰まりの問題（圧損変化）やろ紙取替えの必要がなくなることである。ただしこの装置の使用できる条件は微粒子の混入が許される今回の差量法や栗田等<sup>2,3)</sup>のような方法に限られ、すべてのガス測定装置に使えるわけではない。

### 3. ブランク値および検出限界

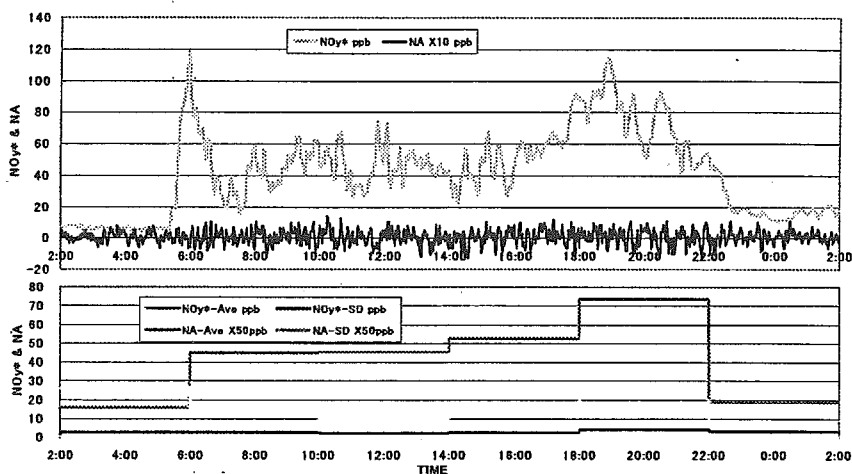
本粒子除去器ではフィルター法のように完全には粒子は除去されないで、微粒子の一部が除去器を通り抜けて測定装置に流入している。そこで、微粒子が混入し、かつNO<sub>y</sub>や粒子状物質濃度が常に変動する実大気の測定条件下での差量法の有効性（2つのチャンネル間の同一性）の有無とアナライザーの検出限界を調べるために、実大気から硝酸ガスのみを除去したNO<sub>y</sub>\*に対するブランク実験を行った。

実験装置は先に示した Fig. 3 で、粒子除去器の直後

にブランク実験のため、通常の大気測定時には取りはずされる硝酸ガスクラパーが挿入されている。

当センター6階ベランダで約2週間ブランク実験を行ったが、このうちでNO<sub>y</sub>\*の変化が比較的激しい任意の1日の測定結果を選んで Fig. 6 上段に示した。ただしここではブランクの目盛りはNO<sub>y</sub>\*目盛りより10倍拡大して示した。灰色の線がNO<sub>y</sub>\*で数ppbの低濃度から120ppbの高濃度の範囲で激しく変化しているのがわかる。一方黒い実線で示す硝酸ガスの指示値（ブランク）は±1ppb前後で変動していることがわかる。硝酸ガスが除去されているので、本来2つのチャンネルの出力は等しく、硝酸ガス指示値は0ppbのはずであるが、一般に、都市大気中の硝酸ガスは、NO<sub>y</sub>に占める割合が、せいぜい数パーセント程度<sup>1)</sup>であり、高濃度で激しく変化するNO<sub>y</sub>とNO<sub>y</sub>\*の差を取った場合、この程度の変動は避けがたいと考えられる。

測定時間帯を6等分してNO<sub>y</sub>\*の濃度レベルの違いとブランク値の関係について調べた。NO<sub>y</sub>\*と硝酸ガスについて4時間ごとの平均値と標準偏差を求めて Fig. 6 下段に示した。NO<sub>y</sub>\*の平均値は16ppb~74ppbと変化



Averaged time (n=240)	NO <sub>y</sub> * ppb		NA ppb	
	Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.
2:00 ~ 6:00	16	26	0.05	0.30
6:00 ~ 10:00	45	16	0.08	0.44
10:00 ~ 14:00	46	10	0.04	0.46
14:00 ~ 18:00	53	16	0.05	0.48
18:00 ~ 22:00	74	19	0.08	0.52
22:00 ~ 2:00	19	9	0.06	0.37
Total average(n=1440)	42	26	0.06	0.43

Determination limit = 2 X Blank S.D. = 0.86 ppb

Fig. 6 Blank test of the HNO<sub>3</sub> scrubbed ambient air by HNO<sub>3</sub> analyzer equipped with the particle separator. Gray line shows NO<sub>y</sub>\* and black line shows the blank of HNO<sub>3</sub> which scale is multiplied the NO<sub>y</sub>\* scale by 10. Table shows the average and standard deviation of NO<sub>y</sub>\* and HNO<sub>3</sub> concentrations for six periods and the determination limit.

しているが、硝酸ガスの平均値は 0.04 ppb~0.08 ppb とすべてプラスの値であるものの、その差は小さく測定誤差の範囲内（標準偏差の値内）である。標準偏差は 0.30~0.52 でほとんど変化がなくほぼ一定である。これらの結果から、ブランクの変動は NOy\* の変動と関連性はない、すなわちこの装置が NOy\* の濃度にかかわらず硝酸ガスを測定しうることを示した結果といえる。Fig. 6 の下段に示すようにこの方法による硝酸ガスの検出限界は、0.86 ppb (2 $\sigma$ ) と見積もることができ、フィルター法で除塵した場合の 1.1 ppb という結果<sup>1)</sup>とほぼ同じ精度である。

#### IV 結 論

新たに設計した粒子除去器の除去効率を調べた結果、粗粒子で 100 %、全粒子で 80 % の粒子が除去されることがわかった。この装置を硝酸ガスアナライザーのプレフィルターに代わりて使用した場合、一部微粒子が測定系へ混入するが、実大気でブランク実験を行った結果では、差量法という硝酸ガスアナライザーの基本的な測定方式に影響を与えるものではないことが明らかになった。これらの結果から、SDCL 法による硝酸ガス連続測定装置のプレフィルターの代わりに本粒子除去器を用いれば、粒子によるアーティファクトの懸念なく、フィルター使用時と同程度の測定精度で硝酸ガスの連続測定が可能であることがわかった。

#### 文 献

- 1) Yamamoto, M., Tamaki, M., Bandow, H. and Maeda, Y. : HNO<sub>3</sub> analyzer by scrubber difference and NO-Ozone chemiluminescence method. *Atmospheric Environment*, 35, 5339-5346 (2001)
- 2) 栗田恵子ら : 第37回大気環境学会講演要旨集, p.460 (1996), 堺市
- 3) 栗田恵子, 青木一幸 : 連続濃縮器による大気汚染物質の自動測定. 東京都環境科学研究所年報, 40-46 (1998)

- 4) Goldan, P. D., Kuster, W. C., Albritton, D. L., Fehsenfeld, F. C., Connell, P. S., Norton, R. B. and Huebert, B. J. : Calibration and tests of the filter-collection method for measuring clean air, ambient levels of nitric acid. *Atmospheric Environment*, 17, 1355-1364 (1983)
- 5) Appel, B. R., Povard, V. and Kothny, E. L. : Loss of nitric acid within inlet devices intended to exclude coarse particles during atmospheric sampling. *Atmospheric Environment*, 22, 2535-2540 (1988)
- 6) Neuman, J. A., Huey, L. G., Ryerson, T. B. and Fahey, D. W. : Study of inlet materials for sampling atmospheric nitric acid. *Environ. Sci. and Technol.* 33, 1133-1136 (1999)
- 7) Sioutas, C. and Koutrakis, P. : Development of small-cutpoint virtual impactors and applications in environmental health. *In* Spurny, K. R. (ed.), *Advances in Aerosol Filtration*. p. 453-469, Lewis Publishers, Germany (1998)
- 8) Gotoh, K. and Masuda, H. : Development of annular type virtual impactor. *Powder Technology*, 118, 68-78 (2001)
- 9) Laucks, M. L. and Twohy, C. H. : Size-dependent collection efficiency of an airborne counterflow virtual impactor. *Aerosol Science and Technology*, 28, 40-61 (1998)
- 10) Possanzini, M. and Febo, A. : New design of a high performance denuder for the sampling of atmospheric pollutants. *Atmospheric Environment*, 17, 2605-2610 (1983)
- 11) Hering, S. V., Friedlander, S. K., Collins, J. J. and Richard, L. W. : Design and evaluation of a new low pressure impactor-2. *Environ. Sci. and Technol.*, 12, 667-673 (1978)

(受理 2003年11月25日)

[ノート]

## 六甲山の7箇所のスギ林における土壌溶液の ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$ )/Al モル濃度比

小林 禧 樹<sup>1</sup>      中川 吉 弘<sup>1</sup>      駒 井 幸 雄<sup>2</sup>

( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$ )/Al molar ratio in soil solution collected at seven stands  
of *Cryptomeria japonica* on Mt. Rokko in Kobe

Tomiki Kobayashi<sup>1</sup>, Yoshihiro Nakagawa<sup>1</sup> and Yukio Komai<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Atmospheric Environment Division, <sup>2</sup>Water Environment Division, Hyogo Prefectural  
Institute of Public Health and Environmental Sciences, 3-1-17, Yukihiro-cho,  
Suma-ku, Kobe 654-0037, Japan

### SUMMARY

In order to study ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$ )/Al molar ratio in soil solution for *Cryptomeria japonica* stands, measurements of both soil solution and throughfall were carried out for two years in seven stands at the altitude from 240m to 845m on Mt. Rokko in Kobe.

Annual molar ratio of ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$ )/Al in soil solution collected at the altitude from 670m to 845m was 1.9 to 5.9. The ratio at the altitude of 845m was equal to or less than the minimum values measured at *Cryptomeria japonica* stand in Japan.

As significant correlations between ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$ )/Al molar ratio and both cloud water deposition and  $\text{H}^+$  deposition to *Cryptomeria japonica* stands were found for the stand at the altitude of 845m, it was suggested that cloud water deposition promoted the decrease of ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$ )/Al molar ratio in soil solution.

If the relation between relative dry mass of *Cryptomeria japonica* seedlings cultured with soil and ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$ )/Al molar ratio in soil solution could be applied to *Cryptomeria japonica* in the field, the ratio in soil solution collected at the altitude from 750 to 845m of Mt. Rokko might be considered to be on the level to influence the growth of *Cryptomeria japonica*.

### I はじめに

国内における樹木(スギ, アカマツなど)に対する土壌

酸性化の影響に関する実験的研究から, 樹木の生長・生理機能を制限する最も重要な要因が土壌溶液中に溶出したアルミニウムであり, 土壌溶液の( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$ )/Al モル濃度比(以下, BC/Al モル比と略)は樹木に対する土壌酸性化の影響を評価する有用な指標であることが指摘されている<sup>1)</sup>. ヨーロッパではドイツウヒやヨーロッパアカマツを中心にした実験から得られたデータをもとに, 土壌溶液の BC/Al モル比 1.0 が植物に影響が現れる臨界値(クリティカルポイント)とされ, その値は欧州での越境汚染に関するコンセンサスを得るため

<sup>1</sup>大気環境部, <sup>2</sup>水質環境部

\*別刷請求先: 〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27  
兵庫県立健康環境科学研究所センター  
大気環境部 小林 禧 樹



の RAINS モデルにも採用されている<sup>2)</sup>。

スギ林ではヒノキ林と異なり林齢が進むと腐植層の分解によりカルシウムなどの塩基が表層土壤に蓄積するため土壤の酸中和能は大きいと考えられているが、表層土壤に酸中和能を上回る酸性沈着がもたらされるとアルミニウムが溶出してくる<sup>3)</sup>。六甲山の高標高にあるスギ林には霧水により多量の酸性沈着がもたらされている<sup>4)</sup>ことから、著者ら<sup>5)</sup>はスギ林土壤からのアルミニウム溶出の程度を検証するために六甲山の7箇所のスギ林で2年にわたり林内雨と土壤溶液を測定した。そして、年間降水量を上回る霧水が沈着する標高845mのスギ林では、土壤の酸性化により土壤溶液の水素イオン及びアルミニウム濃度が高く、スギ林でこれまでに報告された値を上回ることが明らかになった。

国内の森林については土壤溶液の BC/Al モル比の測

定事例は非常に少ない。本報では、六甲山の7箇所のスギ林における土壤溶液の BC/Al モル比の測定結果を示し、土壤溶液の BC/Al モル比がスギ林の立地条件や幹からの距離によってどう変動し、また土壤の酸性化とどのように関係しているかについて検討した。

## II 方法

### 1. 調査林分

調査は六甲山（神戸市灘区）の標高240~845mにある7箇所のスギ林で行なった。調査した7つの林分の位置を Fig. 1 に示す（図中の St. は Stand の略である。表や本文中でも同様である）。図中の太線は六甲山において霧水沈着が多くなる標高700mの等高線を示す。調査地域の土壤は花崗岩質を母材とする乾性褐色森林土（BB）に分類される。

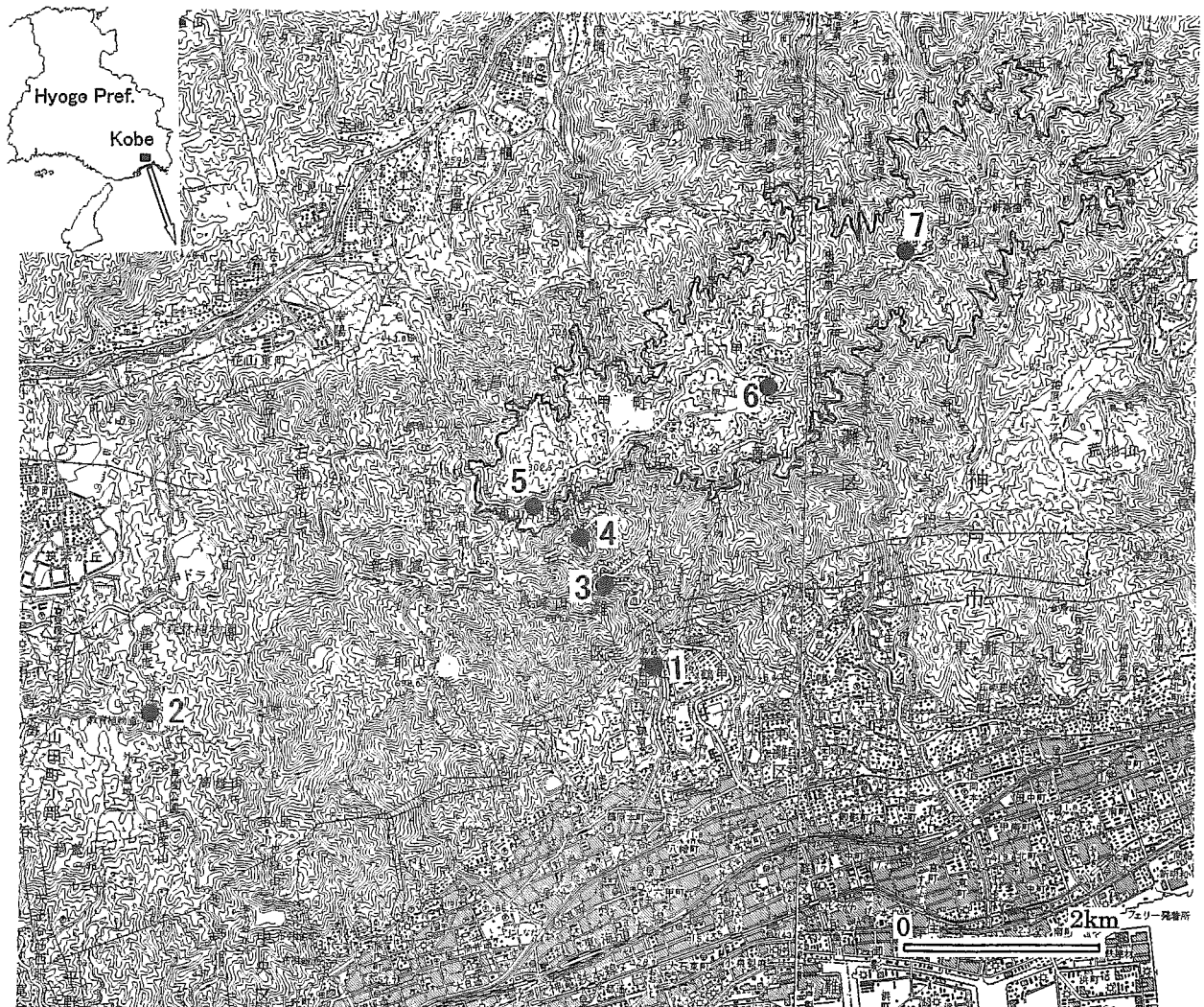


Fig.1 Map showing the seven *Cryptomeria japonica* stands for collecting throughfall and soil solution at Mt.Rokko in Kobe

## 2. 土壌溶液の採取・分析

各林分とも1本のスギについて、幹から30cm (St.1は根の張り出しのため60cm)、深さ30cmの位置にポーラスカップ(東洋電子商事製)を埋めて、吸引圧力70cmHgで土壌溶液を採取した。測定は2000年4月~2002年6月に行ない、年間を通して2週間毎の間隔で採取した。なお、St.6,7については、採取ポイントを増やし、幹から10~100cmの3~4箇所土壌溶液を採取した(測定期間2001年3月~12月)。ポーラスカップの地上部には塩ビ製のクッション材を巻いて凍結防止を図った。土壌溶液は、脱炭酸を防ぐためにシリンジを用いて100mlの分液ロートに移して持ち帰り、大気との接触を少なくしながら、pHを測定した。溶存態アルミニウム(以下、Alと略)をICP発光分光法、イオン8成分(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)をIC法で分析した。なお、ICP分析用の試料はろ過をせず、IC分析用の試料はミリポア製メンブランフィルター(ポアサイズ0.22μm)でろ過し、分析に供した。

## 3. 林内雨・林外雨の測定と霧水沈着量の算出

土壌溶液を採取したスギ調査木の幹から30~50cm位置で林内雨を、標高800mにある開けた空き地で林外雨を、土壌溶液と同じ期間、同じ測定間隔で採取した。

霧水沈着量は既報<sup>4)</sup>に従い、霧発生時の蒸発などによる降水遮断率を0%と仮定し、林内雨量と樹幹流下量の合計量から林外雨量を差し引きして求めた。

## III 結果と考察

### 1. 六甲山のスギ林における土壌溶液のBC/Alモル比

#### 1) スギ林の標高とBC/Alモル比

六甲山の7箇所のスギ林における土壌溶液(幹から30cm)のpH, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Alの濃度及びBC/Alモル比について測定期間中の平均値をTable 1に示した。St.1~3(標高240~430m)の土壌溶液のBC/Alモル比が56~272に対して、St.4~6(標高670~835m)のBC/Alモル比は3.2~5.9と小さく、St.7(標高845m)で最小値1.9を示した。このように、六甲山の高標高のスギ林分では低標高の林分に比べ、土壌溶液のBC/Alモル比が小さくなる明らかな傾向がみられた。

わが国の森林における土壌溶液のBC/Alモル比の報告事例をみると、スギ林の3.4(幹から10cm)<sup>6)</sup>, 185(幹から100cm)<sup>6)</sup>, 122~816<sup>7)</sup>, ヒノキ林の0.77~124<sup>7)</sup>, 17~1091<sup>8)</sup>, 1.71~492<sup>9)</sup>などの報告があるほか、Satoら<sup>10)</sup>はわが国の花崗岩地域のスギ林(13林分)における土壌溶液のBC/Alモル比として、1.5~150(幹から10cm), 4.5~200(幹から100cm)という値(いずれもSatoら<sup>10)</sup>の図から読み取った)を報告している。六甲山のスギ林(標高845m)の幹から30cmにおけるBC/Alモル比は、Satoら<sup>10)</sup>が報告したスギの幹から10cmにおける最小値に匹敵するかそれを下回る値であった。

#### 2) 幹からの距離とBC/Alモル比

六甲山の2つの林分(St.6,7)におけるスギの幹からの距離と土壌溶液のBC/Alモル比の関係をTable 2に示す。

Table 2 BC/Al molar ratio in soil solution at St.6 and St.7 versus the distance from a trunk of *Cryptomeria japonica*

	St. 6				St. 7		
	Distance from a trunk				Distance from a trunk		
	10cm	30cm	50cm	100cm	30cm	50cm	100cm
mean	5.0	6.1	7.0	264	1.8	4.5	4.2
min	2.7	3.6	4.5	77	1.3	2.1	2.5
max	6.2	10.4	9.7	857	2.2	5.7	5.6

Sampling duration: Feb.-Dec.2001

St.6における土壌溶液のBC/Alモル比は、幹から10~50cmでは5.0~7.0とわずかし増加しなかったが、幹から50~100cmでは7.0から264に急増した。一方St.7のBC/Alモル比は幹から30~50cmでは1.8から4.5に増加したが、幹から100cmでは50cmより値が小さくなった。このように2つの林分とも、幹から50cmまでは幹から離れるほどモル比は大きくなったが、50cm以遠については林分により様相が異なった。これは2つの林分におけるスギの立ち木密度が異なるためと考えられる。St.6ではスギの立ち木密度が低く隣接木から離れていて、それらからの影響がないのに対して、St.7では立ち木密度が高く隣接木と樹冠が接して、隣接木の樹冠通過雨による影響を受けていると推測される。St.7

Table 1 Chemical composition and BC/Al molar ratio of the soil solution for seven *Cryptomeria japonica* stands at Mt.Rokko

Stand No.	Stand Altitude(m)	pH	Concentration (mM)				BC/Al molar ratio
			Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Al	
1	240	5.20	0.66	0.16	0.25	0.023	56 (26~91)
2	360	5.55	0.32	0.07	0.08	0.004	187 (24~528)
3	430	5.71	0.36	0.12	0.02	0.002	272 (180~342)
4	670	4.51	0.18	0.08	0.04	0.067	5.9 (2.4~13.6)
5	750	4.23	0.34	0.11	0.03	0.164	3.2 (1.8~6.4)
6	835	4.44	0.28	0.14	0.05	0.088	5.7 (3.6~10.4)
7	845	4.11	0.24	0.06	0.02	0.175	1.9 (1.3~2.7)

Sampling duration: Apr.2000-Dec.2001

BC/Al = (Ca<sup>2+</sup> + Mg<sup>2+</sup> + K<sup>+</sup>)/Al, values in parentheses show the range of BC/Al

の幹から100cmでは隣接木の樹冠通過雨からの酸性沈着も加わり、50cm地点よりもBC/Alモル比が小さくなったと考えられる。

Babaら<sup>9)</sup>はヒノキ林の幹から50cm, 100cm, 170cmの位置(深さ20cm)で土壌溶液のBC/Alモル比を測定し、モル比が幹から離れるにつれて大きくなることを示した(幹から50cmから100cmで2.82→8.77及び21.8→139)。BC/Alモル比が増加する傾向は六甲山のスギ林(St.6)と似ているが、モル比の増加の程度は六甲山のスギ林の方が大きかった。

3) BC/Alモル比の季節変化

六甲山のスギ林におけるBC/Alモル比(幹から30cmの値)の月変化をFig.2に示す。モル比が小さい高標高の林分(St.4~7)では、モル比が大きい低標高の林分(St.1~3)に比べてモル比の変動幅が小さく、特にSt.7の変動幅は1.3~2.7と小さかった(Table1)。季節変化をみると、St.5~7のBC/Alモル比は降水量が多い夏~秋期に大きく、降水量の少ない冬期に小さくなる傾向がみられたが、その他の林分については、そのような傾向はみられなかった(Fig.2)。佐藤ら<sup>11)</sup>はスギ林における調査で土壌溶液のBC/Alモル比が12~2月の少雨期に小さくなると報告しており、六甲山の高標高のスギ林については佐藤らの結果とほぼ一致した。

2. 土壌溶液のBC/Alモル比に及ぼす霧水沈着の影響

著者らは前報<sup>5)</sup>で六甲山の高標高のスギ林分では土壌のpH及びCa<sup>2+</sup>が低く、土壌が酸性化していること、またこれら林分における土壌の酸性化や土壌からのAl溶出にスギ林への霧水沈着が関与していることを示した。スギ林への霧水による酸性沈着が土壌溶液のBC/Alモル比にどのような影響を及ぼしているかをみるため、標高670~845mの4つの林分について、土壌溶液のBC/Alモル比と土壌溶液のH<sup>+</sup>濃度、スギ林への霧水沈着量及びH<sup>+</sup>沈着量との間の相関関係を調べた。その1例として、St.7における霧水沈着量及びH<sup>+</sup>沈着量と土壌溶液のBC/Alモル比との関係をFig.3に、また4林分における相関係数をまとめてTable3に示した。

相関分析の結果、土壌溶液のH<sup>+</sup>濃度とは、St.4,6,7で有意な負の相関関係がみられ、土壌溶液のpHが低いほどBC/Alモル比は小さくなることが示された。St.7においては、スギ林への霧水沈着量及びH<sup>+</sup>沈着量との間で有意な負の相関関係が認められ、土壌溶液のBC/Alモル比の低下にスギ林への霧水沈着や酸性沈着が関与していることが示唆された(Fig.3)。一方、St.4~6については、土壌溶液のBC/Alモル比と霧水沈着量及びH<sup>+</sup>沈着量との間に有意な相関は認められなかった。これは、アルミニウムの土壌からの溶出はスギ林土壌へ

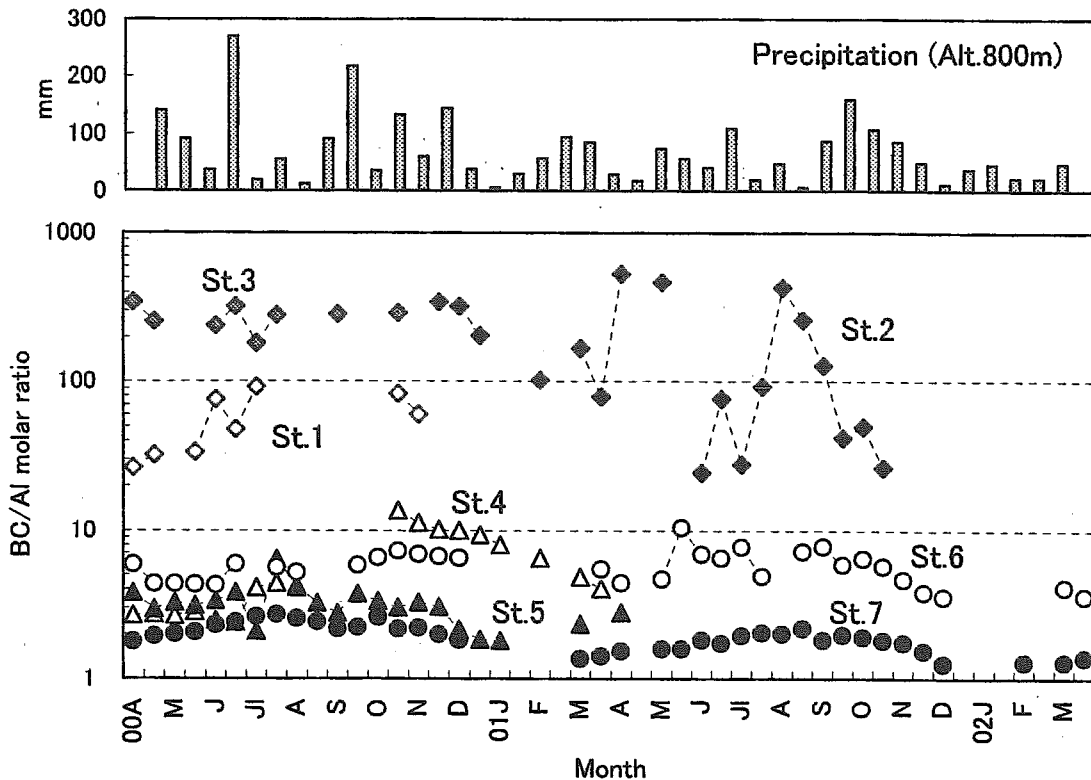


Fig 2 Monthly variation of BC/Al molar ratio in soil solution at seven *Cryptomeria japonica* stands (240-845m) on Mt.Rokko

の酸性沈着量にほぼ比例している<sup>5)</sup>のに対して、塩基の溶出はスギ林の土壌条件により左右されているためと考えられた。すなわち、St. 7では土壌の酸性化により塩基の溶脱が進んでいるため、降水に伴う土壌溶液へのCa<sup>2+</sup>の供給が少ない<sup>5)</sup>のに対して、St. 4~6では土壌からのCa<sup>2+</sup>の供給が比較的多くなされているために、土壌溶液の中でのBC/Alモル比と霧水沈着量及びH<sup>+</sup>沈着量との相関は、St. 7では高く、St. 4~6では低くなったと推測される。

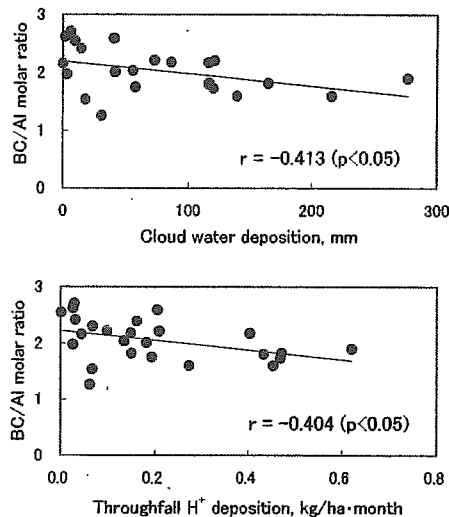


Fig 3 Relation between BC/Al molar ratio of the soil solution for *Cryptomeria japonica* stands at Mt. Rokko (St. 7)

Table 3 Correlation coefficients between BC/Al molar ratio in soil solution and H<sup>+</sup> concentration in soil solution and acid deposition by cloud water to four *Cryptomeria japonica* stands at Mt. Rokko

Stand	Correlation coefficients to BC/Al molar ratio		
	H <sup>+</sup> concentration	Cloud water deposition	Throughfall H <sup>+</sup> deposition
4	-0.497*	0.303	0.188
5	-0.276	0.401	0.397
6	-0.702***	0.385	0.283
7	-0.287 <sup>+</sup>	-0.413*	-0.404*

\*\*\*p < 0.001, \*p < 0.05, <sup>+</sup>p < 0.10

Sampling duration: Apr.2000-Dec.2001

### 3. 植物影響の指標としての土壌溶液のBC/Alモル比

伊豆田ら<sup>1)</sup>は樹木に対する酸性降下物の影響に関する実験的研究を総説し、酸性土壌で生育したスギなどの個体乾物生長は、土壌溶液中のAlとCa<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、K<sup>+</sup>などの塩基との存在バランスによって決まることを示した。

国内で報告されたスギ苗による実験結果によると、土壌溶液のBC/Alモル比1.0における相対乾重量は水耕栽培<sup>14~16)</sup>の60~90%に対して、土による栽培<sup>12,13)</sup>では40~60%であり、土による栽培の方がより大きいモル比でスギ苗に酸性沈着の影響が発現する傾向がある。土による栽培では、BC/Alモル比が2.0、5.0でも、スギ苗の相対乾重量は各々、50~70%、80%に低下する<sup>12,13)</sup>のに対して、水耕栽培では同じBC/Alモル比で相対乾重量は80~110%と大きな値を示す。

六甲山のスギ林における土壌溶液のBC/Alモル比(年平均値)はSt. 5~7の幹から30cmで1.9~5.7 (Table 1), St. 7では幹から50~100cmでも4.2~4.5であった (Table 2)。上記したスギ苗による実験結果が野外のスギにも適用できるとすると、六甲山の高標高林分で観測された土壌溶液のBC/Alモル比は野外のスギの生長や生理機能に何らかの影響を及ぼすレベルに達していると考えられる。今のところ、六甲山のスギには顕著な可視的被害は観察されていないが、霧水による酸性沈着がさらに続いた場合には、スギに対する可視的な被害が顕在化するおそれもあり、六甲山における土壌及び土壌溶液に対する継続的なモニタリングが必要である。

## IV 結 論

六甲山の標高240~845mにある7箇所のスギ林で2年間にわたり林内雨と土壌溶液を測定した。土壌溶液のBC/Alモル比(年平均値)は標高430m以下の56~272に対して、標高670m以上では1.9~5.9と小さく、標高845mで最小値を示した。これはスギ林でこれまでに報告されている最小値に匹敵するか、それを下回る値である。土壌溶液のBC/Alモル比は幹から離れると大きくなる傾向があるが、立ち木密度が高いスギ林では幹から1m離れても小さな値を示した。高標高のスギ林のBC/Alモル比は夏期に大きく、冬期に小さくなる傾向がみられた。相関分析の結果、土壌溶液のBC/Alモル比を低下させるのは、スギ林へもたらされる霧水による酸性沈着であることが示唆された。酸性沈着の影響が発現する閾値をもとめたスギ苗による実験データ(土による栽培)が野外のスギにも適用できるとすると、六甲山の高標高にあるスギ林で観測された土壌溶液のBC/Alモル比はスギの生長や生理機能に何らかの影響を及ぼすレベルに達していると考えられる。

## 文 献

1) 伊豆田猛, 松村秀幸, 河野吉久, 清水英幸: 樹木に

- 対する酸性沈着の影響に関する実験的研究. 大気環境学会誌, 36, 137~155 (2001)
- 2) 河野吉久: 植物からみたクリティカルロード (臨界負荷量) とクリティカルポイント (臨界値). 大気環境学会誌, 32, A65~71 (1997)
- 3) 吉田稔: 酸性雨とわが国の土壌. 現代化学, 1990年9月, 48-52 (1990)
- 4) 小林禧樹, 中川吉弘, 玉置元則, 平木隆年, 藍川昌秀, 正賀充: 霧水により森林樹冠にもたらされる酸性沈着の評価—六甲山のスギ樹冠における測定—. 環境科学会誌, 12, 399~411 (1999)
- 5) 小林禧樹, 中川吉弘, 駒井幸雄: 森林への霧水沈着が土壌溶液の化学組成及び土壌の酸性化に及ぼす影響. 環境科学会誌, (印刷中)
- 6) 佐藤一男, 若松孝志, 高橋章: スギ樹幹の近傍と遠方における土壌溶液の化学組成とアルミニウムの形態. 日本土壌肥科学雑誌, 71, 615~624 (2000)
- 7) 宗芳光, 小平哲夫, 岡崎正規: 上総丘陵におけるスギ, ヒノキ, コナラ林に及ぼす酸性沈着の影響に関する事例研究. 第13回環境情報科学論文集, 263~267 (1999)
- 8) 高橋大輔, 岡崎正規: 多摩丘陵における酸性沈着の土壌への影響—土壌溶液中のイオンバランス—. 第14回環境情報科学論文集, 279~284 (2000)
- 9) Baba, M. and M. Okazaki: Spatial variability of soil solution chemistry under Hinoki Cypress (*Chamaecyparis obtusa*) in Tama Hills. Soil Sci. Plant Nutr., 45, 321~336 (1999)
- 10) Sato, K. and T. Wakamatsu: Soil solution chemistry in forests with granite bedrock in Japan. Water, Air, and Soil Pollution, 130, 1001~1006 (2001)
- 11) 佐藤一男, 若松孝志, 高橋章: スギ林の土壌溶液におけるアルミニウムの存在形態. 電力中央研究所報告 T97043, 1~13 (1998)
- 12) 三輪誠, 伊豆田猛, 戸塚績: 人為的に酸性化させた褐色森林土で生育したスギ苗の乾物生長, 大気環境学会誌, 33, 81~92 (1998)
- 13) Izuta, T., T. Ohtani and T. Totsuka: Growth and nutrients status of *Cryptomeria japonica* seedlings grown in brown forest soil acidified with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution. Environmental Sciences, 5, 177~189 (1997)
- 14) 三宅博, 亀井信一, 伊豆田猛, 戸塚績: 水耕栽培におけるスギ苗の生長に対するアルミニウムの影響. Man & Environ., 17, 10-16 (1991)
- 15) 河野吉久, 松村秀幸, 小林卓也: スギおよびヒノキの生育と養分吸収に及ぼすアルミニウムの影響. 大気環境学会誌, 30, 316-326 (1995)
- 16) Izuta, T., A. Yamada, M. Miwa, M. Aoki and T. Totsuka: Effects of low pH and excess Al on growth, water content and nutrient status of Japanese cedar seedlings. Environmental Sciences, 4, 113-125 (1996)

(受理 2003年11月25日)

## 結核患者の治療成績に関連する要因

沖 典 男<sup>1\*</sup>

中 村 尚 司<sup>2</sup>

### I はじめに

1997年、全国結核罹患率が43年ぶりに上昇した。結核集団感染事例の増加や多剤耐性菌問題など近年の結核の状況を踏まえて、公衆衛生審議会結核予防部会は1999年6月に「21世紀に向けての結核対策（意見）」を提出した。これを受けて、厚生労働省（当時は厚生省）は、同年7月に「結核緊急事態」を宣言し、地方自治体や関係団体に結核対策の強化を要請した。さらに2000年に、結核の現状把握、結核対策の効果の評価、結核対策の強化・見直しのための基礎資料の作成を目的とした「結核緊急事態調査」を実施した<sup>1)</sup>。

厚生科学審議会感染症分科会結核部会は、これら一連の経緯を踏まえて検討を続け、2002年に「結核対策の包括的見直しに関する提言」を報告した<sup>2)</sup>。この報告では今後の結核対策についての具体的な提案として、結核の予防対策、結核の医療対策、結核対策を進めるインフラの充実強化に言及している。この報告にもあるように、結核対策の基本は結核患者を早期に発見し徹底して治癒させることである。しかし、我が国における結核の治療成績は、1991年～1996年（6年間）の平均治療成功率が79.9%であり、WHO（世界保健機関）が目標とする85%に達していない<sup>3)</sup>。

ここで兵庫県の結核をみると、都道府県別罹患率の順位が1997年以降全国ワースト2位と高い状況が続いている。また、近年では罹患率の高い地域が神戸・阪神の都市部に集中しており、結核対策の強化・見直しが必要である。このため本研究では、結核対策の中でも特に重要と考えられる治療成績の改善施策に注目し、治療成績に関連する要因について検討した。

### II 方法

1991年～1998年に兵庫県（神戸市を除く）で新規登録された肺結核患者の治療成績を評価するために「コホート観察調査」を実施した。本研究では、この中から喀痰塗抹陽性初回治療患者2,762例を抽出し、結核菌検査結果等から治療成績（成功、失敗、脱落・中断、結核死亡、結核外死亡）を判定した。治療成績の判定は結核予防会結核研究所の基準<sup>4)</sup>に準じた。

要因と治療成績の関連性に関する解析では、最初に、患者の性、年齢階級、職業、同居家族有無、合併症有無、X線病型、治療内容、初回保健指導種類、指導時期及び合併症名別に治療成績を集計し、他の要因の分布を考慮しないで単純に結果を比較した。なお、X線病型とは、日本結核病学会による肺結核の胸部X線所見分類である<sup>5)</sup>。喀痰塗抹陽性肺結核患者のほとんどはX線病型I型（広汎空洞型）、II型（非広汎空洞型）、III型（不安定非空洞型）のいずれかに分類されるが、希に滲出性胸膜炎（PI）のみの特殊型も存在する。

次に、他の要因の分布を考慮した解析を行うためにロジスティック回帰分析を適用した。ロジスティック回帰分析では、症例を治療不成功群（成功群以外の全て）と成功群、治療失敗群と成功群、脱落・中断群と成功群、結核死亡群と成功群に群別し、治療成績に関連する要因を検討した。ただし、最初に行った要因別治療成績の集計結果から、注目されるカテゴリーを適当に併合して解析した。

### III 結果と考察

#### 1 要因別治療成績

表1に、要因別治療成績を示す。

##### 1.1 性別治療成績

解析した症例の性別割合は男70.7%、女29.3%である。

治療成績は、成功は男78.9%、女84.9%と男の成功割合が低い。失敗、脱落・中断、死亡（結核死亡、結核外死亡とも）の割合は、男が女より高い。

##### 1.2 年齢階級別治療成績

年齢階級別割合は、30歳代よりも20歳代が高いことを除くと加齢とともに上昇しており、60歳以上が過半

<sup>1</sup>企画情報部、<sup>2</sup>健康生活部健康局医療課疾病対策室  
\* 別刷請求先：〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29  
兵庫県立健康環境科学研究所センター  
企画情報部 沖 典 男

数を占めている。15歳未満の症例は無い。

治療成績は、成功は40歳未満が90%台、40~59歳が80%台、60歳以上が70%台と、加齢とともに低下している。失敗は、70歳以上を除くと加齢とともに上昇している。脱落・中断は一定の傾向がみられない。死亡（結核死亡、結核外死亡とも）は30歳以上で発生しており、加齢とともに上昇している。

### 1.3 職業別治療成績

職業別割合は、高い方から無職、常用勤務者、自営業の順で、これらの職業が全体の80.9%を占めている。

治療成績は、成功は教員・医師等と無職が低い。例数の少ない職業が多いが、失敗と脱落・中断は臨時雇・日雇が高い。死亡（結核死亡、結核外死亡とも）は教員・医師等と無職が高い。

### 1.4 同居家族有無別治療成績

家族と同居している症例は、全体の83.1%と大部分を占めている。

治療成績は、成功は同居家族有りが81.9%、無しが75.2%である。失敗及び脱落・中断は同居家族無しが有りより高い。結核死亡は同居家族無しが有りより高いが、結核外死亡では同居家族有りが無しよりやや高い。

### 1.5 合併症有無別治療成績

合併症の有る症例は1,343例（48.6%）存在した。

治療成績割合は、成功は合併症有り75.1%、無し86.3%である。失敗及び脱落・中断は合併症の有り無しで大差ないが、死亡（結核死亡、結核外死亡とも）は合併症有りが無しよりかなり高い。

### 1.6 治療開始時のX線病型別治療成績

治療開始時のX線病型別割合は、高い方からⅡ型、Ⅲ型、Ⅰ型の順である。

治療成績割合は、例数の少ないX線病型その他を除くと、成功は高い方からⅢ型、Ⅱ型、Ⅰ型の順である。失敗は成功の逆順であり、Ⅰ型は10.9%と極めて高い。脱落・中断はほぼ同程度である。結核死亡はⅠ型がⅡ型、Ⅲ型よりかなり高いが、結核外死亡ではⅠ型とⅢ型が同程度である。

### 1.7 治療開始時の治療内容別治療成績

治療開始時の治療内容別割合は、高い方からHR+SE, HRZ+SE, HR, その他の順である。ここで、H, R, Z, S及びEは現在使用されている抗結核薬で、HはINH（イソニコチン酸ヒドラジド）、RはRFP（リファンピシン）、ZはPZA（ピラジナミド）、SはSM（ストレプトマイシン）、EはEB（エタンプトール）を意味する。また、HRZ+SEはINH, RFP及びPZAとSMもしくはEBの4剤併用を意味している。日本結核病学会が定めた結核医療の基準では、HRZ+SE法が喀痰塗沫陽性

初回治療例に対する標準的治療法であり、PZA投与不可の場合に限りHR+SE法を用いることが提案されている<sup>6)</sup>。

治療成績割合は、成功はHRZ+SE及びHR+SEが81.7%と高い。失敗は高い方からHRZ+SE, HR+SE, HRの順であり、脱落・中断及び結核死亡はこの逆順である。結核外死亡はHR+SEがHRよりやや高いが、結核死亡とほぼ同様である。

### 1.8 初回保健指導種類別治療成績

初回保健指導種類別割合は、高い方から家族に面接、本人に面接、家族に電話、本人に電話の順であり、2,762例中2,716例（98.3%）に指導を実施していた。

治療成績割合は、成功は高い方から本人に電話、本人に面接、家族に面接、家族に電話の順で、その他及び指導無しでは成功が70%以下となっている。失敗は本人に面接及び本人に電話がやや高く、脱落・中断は指導無し及びその他が高い。結核死亡は、高い方からその他、家族に電話、指導無し、家族に面接の順であり、結核外死亡は、指導無し、その他、家族に電話、家族に面接の順である。

### 1.9 初回指導時期別治療成績

初回保健指導を実施した2,716例の実施時期別割合は、2週間以内が72.5%と多く、以下1ヶ月まで、2ヶ月までの順で、指導を実施した例中の90.3%が1ヶ月までに指導を行っている。

治療成績割合は、指導時期2ヶ月まででは指導時期が早い程成功が高く、失敗及び脱落・中断が低い傾向がみられる。死亡（結核死亡、結核外死亡とも）については指導時期との関係がみられない。

### 1.10 合併症別治療成績

表2に、合併症別治療成績を示す。合併症の有る症例（1,343例）の中で、糖尿病、肝障害、高血圧、喘息・気管支炎等が多い。

治療成功割合の低い合併症は、悪性腫瘍、低肺機能、非定型抗酸菌症、喘息・気管支炎等である。

例数は少ないが、治療失敗は非定型抗酸菌症、肝障害、糖尿病、アルコール依存症で高い。脱落・中断は例数が極端に少ないが、低肺機能、非定型抗酸菌症、アルコール依存症が高い。結核死亡は低肺機能、精神疾患、喘息・気管支炎等、肝障害が高く、結核外死亡は悪性腫瘍、精神疾患、低肺機能、喘息・気管支炎等が高い。

表1 要因別治療成績

要 因	治療成功		治療失敗		脱落・中断		結核死亡		結核外死亡		合 計	
	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>b)</sup>
総 数	2,228	81	134	5	91	3	139	5	170	6	2,762	100
性 別												
男	1,542	79	108	6	68	3	106	5	130	7	1,954	71
女	686	85	26	3	23	3	33	4	40	5	808	29
年齢階級												
15～19	34	94	1	3	1	3	0	0	0	0	36	1
20～29	204	93	6	3	10	5	0	0	0	0	220	8
30～39	187	91	9	4	7	3	1	0	1	0	205	7
40～49	341	87	22	6	16	4	8	2	4	1	391	14
50～59	389	84	31	7	18	4	11	2	16	3	465	17
60～69	420	77	37	7	17	3	30	6	41	8	545	20
70～	653	73	28	3	22	2	89	10	108	12	900	33
職業												
接客業	106	88	6	5	5	4	3	2	1	1	121	4
看護婦・保健婦等	27	96	1	4	0	0	0	0	0	0	28	1
教員・医師等	11	61	1	6	1	6	2	11	3	17	18	1
高校生以上の学生	37	95	1	3	1	3	0	0	0	0	39	1
他常用勤務者	605	90	34	5	14	2	10	1	11	2	674	24
他臨時雇・日雇	124	82	11	7	10	7	4	3	3	2	152	6
他自営業・自由業	260	88	13	4	9	3	4	1	11	4	297	11
家事従事者	124	87	6	4	5	4	4	3	3	2	142	5
無職	915	72	59	5	44	3	111	9	134	11	1,263	46
不明	19	68	2	7	2	7	1	4	4	14	28	1
同居家族												
有り	1,879	82	101	4	62	3	108	5	144	6	2,294	83
無し	345	75	33	7	27	6	28	6	26	6	459	17
不明	4	44	0	0	2	22	3	33	0	0	9	0
合併症												
有り	1,008	75	62	5	44	3	93	7	136	10	1,343	49
無し	1,194	86	70	5	43	3	42	3	34	2	1,383	50
不明	26	72	2	6	4	11	4	11	0	0	36	1
X線病型												
I型	92	63	16	11	5	3	23	16	11	7	147	5
II型	1,489	81	96	5	64	3	84	5	101	6	1,834	66
III型	636	83	22	3	21	3	31	4	56	7	766	28
PIのみ	1	50	0	0	0	0	0	0	1	50	2	0
その他	10	77	0	0	1	8	1	8	1	8	13	0
治療内容												
HRZ+SE	582	82	46	6	19	3	33	5	32	4	712	26
HR+SE	1,491	82	80	4	55	3	85	5	114	6	1,825	66
HR	100	74	4	3	14	10	9	7	8	6	135	5
その他	55	61	4	4	3	3	12	13	16	18	90	3
初回保健指導種類												
本人面接	731	85	52	6	35	4	22	3	22	3	862	31
家族面接	973	80	55	5	27	2	68	6	88	7	1,211	44
本人電話	191	89	12	6	7	3	2	1	3	1	215	8
家族電話	215	75	9	3	8	3	24	8	31	11	287	10
その他	93	66	5	4	7	5	20	14	16	11	141	5
指導無し	25	54	1	2	7	15	3	7	10	22	46	2
指導時期												
2週間以内	1,609	82	90	5	55	3	100	5	114	6	1,968	72
1ヶ月まで	383	79	27	6	17	4	24	5	34	7	485	18
2ヶ月まで	134	79	12	7	8	5	10	6	6	4	170	6
3ヶ月まで	38	79	2	4	2	4	2	4	4	8	48	2
4ヶ月まで	11	73	2	13	1	7	0	0	1	7	15	1
5ヶ月まで	9	100	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0
6ヶ月まで	8	100	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0
7ヶ月まで	5	100	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
8ヶ月まで	1	50	0	0	1	50	0	0	0	0	2	0
9ヶ月まで	5	83	0	0	0	0	0	0	1	17	6	0
指導有り総数	2,203	81	133	5	84	3	136	5	160	6	2,716	100

a) 要因別治療成績の割合(%)は、要因別合計数(要因別症例数)に占める割合である。

b) 要因別合計数の割合(%)は、全症例数(2,762例)に占める割合である。ただし、指導時期別合計数の割合(%)は、指導有り総合計(2,716例)に占める割合である。



表2 合併症別治療成績

合併症名	治療成功		治療失敗		脱落・中断		結核死亡		結核外死亡		合計	
	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>a)</sup>	例数	(%) <sup>b)</sup>
糖尿病	357	79	29	6	18	4	21	5	26	6	451	34
悪性腫瘍	61	50	5	4	6	5	8	7	41	34	121	9
肝障害	170	73	15	6	5	2	22	9	20	9	232	17
アルコール依存症	27	82	2	6	2	6	1	3	1	3	33	2
精神疾患	35	71	0	0	0	0	5	10	9	18	49	4
胃潰瘍等消化器疾患	94	75	6	5	6	5	10	8	9	7	125	9
塵肺	27	79	1	3	1	3	3	9	2	6	34	3
非定型抗酸菌症	8	62	2	15	1	8	1	8	1	8	13	1
喘息・気管支炎等呼吸器疾患	100	68	5	3	4	3	14	10	23	16	146	11
低肺機能	15	60	1	4	2	8	3	12	4	16	25	2
高血圧	133	84	3	2	5	3	6	4	12	8	159	12
その他	323	73	13	3	13	3	44	10	51	11	444	33
合併症有り総数	1,008	75	62	5	44	3	93	7	136	10	1,343	100

a) 合併症別治療成績の割合(%)は、合併症別合計数(合併症別症例数)に占める割合である。

b) 合併症別合計数の割合(%)は、合併症有り総合計(1,343例)に対する値である。ただし、複数の合併症を有する症例が存在する。

2 ロジスティック回帰分析の結果

ロジスティック回帰分析では、上記の解析結果を踏まえて各要因を次のように分類した。すなわち、性は男と女；年齢階級は30歳未満、30～59歳と60歳以上；職業は教員・医師等、臨時雇・日雇、無職とこれら以外；同居家族有無は有りと有り以外；合併症有無は有りと有り以外；X線病型はI型、II型とI型・II型以外；治療内容はHRZ+SE、HR+SEとこれら以外；初回保健指導種類は本人に指導、家族に指導、その他と指導無し；初回指導時期は2週以内とそれ以外である。

2.1 治療不成功に関連する要因

表3に、治療不成功に関連する要因別相互調整オッズ比を示す。オッズ比の値とその95%信頼区間から、治療不成功に有意に関連する要因は以下のように推測される。なお、オッズ比の基準となるカテゴリーは表に示しているため、以下の記述では省略した。

治療不成功のリスク要因は、性：男、年齢階級：60歳以上、職業：教員・医師等と無職、合併症：有り、X線病型：I型、初回保健指導種類：家族に指導、その他及び指導無しである。治療不成功を抑制する要因は、同居家族：有り、治療内容：HRZ+SE及びHR+SEである。

これらの中で介入が比較的容易と考えられる要因は、治療内容と初回保健指導種類である。すなわち、標準的治療法による治療の徹底と患者本人への指導の強化が、治療不成功の改善に有効と考えられる。この他、治療不成功のリスク要因を持つ患者については、注意深く観察し、指導を強化する必要がある。教員・医師等が発病し

た場合は周囲に感染させる可能性が高く<sup>7)</sup>、特に徹底した治療が必要である。また、X線病型：I型は重症での発見を意味しており、結核患者を早期に発見するための施策が必要である。

表3 治療不成功に関連する要因別相互調整オッズ比

要因	相互調整オッズ比	95%信頼区間		
		(下限)	(上限)	
性 男/女	1.513	(1.190)	(1.925)	
年齢階級 30～59歳/30歳未満	1.349	(0.794)	(2.294)	
	60歳以上/30歳未満	2.128	(1.247)	(3.631)
職業 教員・医師等/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	4.448	(1.578)	(12.537)	
	臨時雇・日雇/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	1.490	(0.934)	(2.378)
	無職/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	2.075	(1.613)	(2.669)
同居家族 有り/有り以外	0.636	(0.465)	(0.870)	
合併症 有り/有り以外	1.416	(1.147)	(1.749)	
	X線病型 I型/I型・II型以外	2.785	(1.847)	(4.198)
II型/I型・II型以外	1.163	(0.918)	(1.473)	
治療内容 HRZ+SE/2カテゴリー以外 <sup>b)</sup>	0.597	(0.414)	(0.860)	
	HR+SE/2カテゴリー以外 <sup>b)</sup>	0.502	(0.361)	(0.697)
初回保健指導種類 家族に指導/本人に指導	1.537	(1.204)	(1.962)	
	その他/本人に指導	1.927	(1.248)	(2.975)
	指導無し/本人に指導	2.534	(1.292)	(4.970)
指導時期 2週以内/それ以外	0.841	(0.673)	(1.052)	

a) 職業の3カテゴリーとは、教員・医師等、臨時雇・日雇及び無職である。

b) 治療内容の2カテゴリーとは、HRZ+SE及びHR+SEである。

2.2 治療失敗に関連する要因

表4に、治療失敗に関連する要因別相互調整オッズ比

を示す。治療失敗のリスク要因は、性：男、X線病型：I型及びII型である。治療失敗を抑制する要因は、同居家族：有りである。

X線病型が大きなリスク要因となっており、軽症での治療の開始、すなわち結核患者の早期発見施策が、治療失敗を改善するために必要である。

表4 治療失敗に関連する要因別相互調整オッズ比

要 因	相互調整 オッズ比	95%信頼区間 (下限, 上限)
性 男/女	1.595	(1.007, 2.526)
年齢階級 30~59歳/30歳未満	1.897	(0.838, 4.295)
60歳以上/30歳未満	1.890	(0.803, 4.451)
職 業 教員・医師等/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	2.121	(0.256, 17.610)
臨時雇・日雇/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	1.277	(0.637, 2.559)
無職/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	1.337	(0.856, 2.087)
同居家族 有り/有り以外	0.590	(0.358, 0.971)
合併症 有り/有り以外	0.844	(0.582, 1.223)
X線病型 I型/I型・II型以外	4.834	(2.405, 9.717)
II型/I型・II型以外	1.714	(1.054, 2.787)
治療内容 HRZ+SE/2カテゴリー以外 <sup>b)</sup>	1.383	(0.628, 3.046)
HR+SE/2カテゴリー以外 <sup>b)</sup>	0.955	(0.447, 2.043)
初回保健 家族に指導/本人に指導	0.956	(0.632, 1.445)
指導種類 その他/本人に指導	0.513	(0.191, 1.378)
指導無し/本人に指導	0.275	(0.035, 2.192)
指導時期 2週間以内/それ以外	0.768	(0.522, 1.130)

a) 職業の3カテゴリーとは、教員・医師等、臨時雇・日雇及び無職である。

b) 治療内容の2カテゴリーとは、HRZ+SE及びHR+SEである。

### 2.3 治療からの脱落・中断に関連する要因

表5に、治療からの脱落・中断に関連する要因別相互調整オッズ比を示す。脱落・中断のリスク要因は、職業：臨時雇・日雇及び無職、初回保健指導種類：指導無しである。脱落・中断を抑制する要因は、治療内容：HRZ+SE及びHR+SEである。

治療からの脱落・中断を改善するためには初回保健指導が重要である。患者が臨時雇・日雇や無職の場合は治療からの脱落・中断を生じやすく、特に注意が必要である。脱落・中断の可能性が高い患者に対しては、DOTS<sup>8)</sup> (Directly Observed Treatment, Short Course, 短期化学療法による直接監視下治療)の検討も必要である。標準的治療法による治療が脱落・中断を抑制する理由は、標準的治療法の治療期間が他の治療法よりも短いと考えられる。

表5 治療からの脱落・中断に関連する要因別相互調整オッズ比

要 因	相互調整 オッズ比	95%信頼区間 (下限, 上限)
性 男/女	1.231	(0.733, 2.069)
年齢階級 30~59歳/30歳未満	0.675	(0.326, 1.398)
60歳以上/30歳未満	0.460	(0.207, 1.026)
職 業 教員・医師等/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	4.293	(0.528, 34.926)
臨時雇・日雇/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	2.278	(1.065, 4.874)
無職/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	1.962	(1.128, 3.413)
同居家族 有り/有り以外	0.612	(0.343, 1.090)
合併症 有り/有り以外	1.034	(0.649, 1.645)
X線病型 I型/I型・II型以外	1.304	(0.460, 3.695)
II型/I型・II型以外	1.284	(0.762, 2.163)
治療内容 HRZ+SE/2カテゴリー以外 <sup>b)</sup>	0.258	(0.127, 0.523)
HR+SE/2カテゴリー以外 <sup>b)</sup>	0.298	(0.164, 0.539)
初回保健 家族に指導/本人に指導	0.761	(0.457, 1.266)
指導種類 その他/本人に指導	1.124	(0.462, 2.733)
指導無し/本人に指導	3.674	(1.349, 10.007)
指導時期 2週間以内/それ以外	0.762	(0.475, 1.222)

a) 職業の3カテゴリーとは、教員・医師等、臨時雇・日雇及び無職である。

b) 治療内容の2カテゴリーとは、HRZ+SE及びHR+SEである。

### 2.4 治療中の結核死亡に関連する要因

表6に、治療中の結核死亡に関連する要因別相互調整オッズ比を示す。治療中の結核死亡が30歳未満で無かったため、年齢階級を60歳未満と60歳以上に分類して解析した。

治療中の結核死亡のリスク要因は、性：男、年齢階級：60歳以上、職業：教員・医師等と無職、X線病型：I型、初回保健指導種類：家族に指導及びその他である。治療中の結核死亡を抑制する要因は、同居家族：有り、治療内容：HR+SEである。

表から明らかなように、教員・医師等のオッズ比が最高となっている。ただし、このカテゴリーは18例と数が少ないため、95%信頼区間の幅も最大となっている。教員・医師等が結核死亡に関連する原因として、医者の不養生という理由の他に、患者が医者の場合、保健所の指導が十分でないことも考えられる。また、治療中の結核死亡にX線病型、治療内容、初回保健指導種類が関連していることから、これを改善するためには、患者の早期発見、標準的治療法による治療、患者本人への指導の強化が必要である。

表6 治療中の結核死亡に関連する要因別相互調整オッズ比

要 因	相互調整 オッズ比	95%信頼区間	
		(下限)	(上限)
性 男/女	1.638	(1.061,	2.530)
年齢階級 60歳以上/60歳未満	3.611	(2.066,	6.309)
職 業	教員・医師等/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	8.205	(1.341, 50.207)
	臨時雇・日雇/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	1.368	(0.439, 4.268)
	無職/3カテゴリー以外 <sup>a)</sup>	3.191	(1.889, 5.389)
同居家族 有り/有り以外	0.489	(0.264,	0.907)
合併症 有り/有り以外	1.473	(0.994, 2.182)	
		X線病型 I型/I型・II型以外	5.006
治療内容 HRZ+SE/2カテゴリー以外 <sup>b)</sup>	0.538	(0.286, 1.013)	
		HR+SE/2カテゴリー以外 <sup>b)</sup>	0.378
初回保健指導種類 家族に指導/本人に指導	3.074	(1.824,	5.182)
指導無し/本人に指導	2.014	(0.488, 8.306)	
		指導無し/本人に指導	4.176
指導時期 2週間以内/それ以外	1.031	(0.674,	1.577)

a) 職業の3カテゴリーとは、教員・医師等、臨時雇・日雇及び無職である。

b) 治療内容の2カテゴリーとは、HRZ+SE及びHR+SEである。

#### IV まとめ

1991年～1998年に兵庫県（神戸市を除く）で新規登録された肺結核喀痰塗抹陽性初回治療患者を対象として、治療成績に関連する要因を解析し、治療成績の改善施策を検討した。

治療不成功には性、年齢階級、職業、合併症、X線病型、初回保健指導種類、同居家族、治療内容が関連しており、標準的治療法による治療、患者本人への指導の強化、結核患者の早期発見施策が、治療不成功の改善に必

要である。

治療失敗には性、X線病型、同居家族が関連しており、結核患者の早期発見施策が改善に必要である。

治療からの脱落・中断には職業、初回保健指導種類、治療内容が関連しており、脱落・中断を生じやすい患者への指導の強化やDOTSの検討が必要である。

治療中の結核死亡には性、年齢階級、職業、X線病型、初回保健指導種類、同居家族、治療内容が関連しており、患者の早期発見、標準的治療法による治療、患者本人への指導の強化が必要である。

#### 文 献

- 1) 厚生労働省：平成12年度結核緊急実態調査報告書（2001）
- 2) 厚生科学審議会感染症分科会結核部会：結核対策の包括的見直しに関する提言（2002）
- 3) 桜山豊夫，山下武子：結核治療の成功のために。結核，78，57-59（2003）
- 4) 森亨：治療成績の評価。厚生省保健医療局エイズ結核感染症課監修，結核医療の基準とその解説，p.76-91，結核予防会，東京（1996）
- 5) 島尾忠男編：結核病学Ⅱ疫学・管理編（平成8年一部改訂），p.164-165，結核予防会，東京（1998）
- 6) 日本結核病学会治療委員会：「結核医療基準」の見直し。結核，77，537-538（2002）
- 7) 森亨：保健所における結核対策強化の手引きとその解説，p.36-43，結核予防会，東京（2000）
- 8) Maher, D. and Mikulencak, M. : What is DOTS? A guide to understanding the WHO-recommended TB control strategy known as DOTS, WHO（1999）  
（受理 2003年11月25日）

## 加古川下流域における農薬の濃度変動

吉田 光方<sup>1\*</sup> 鄭 小萍<sup>2</sup> 藤森 一男<sup>1</sup>

### I はじめに

近年、農薬は食料生産のための農耕地に加え、景観維持や病害虫駆除の目的で山林や公園、ゴルフ場等あらゆる場所で散布されている。日本でも欧米諸国なみの使用量が報告され、単位面積あたりでは世界一の使用国となっている<sup>1)</sup>。平成10年10月～平成11年9月における国内での農薬出荷額は3,779億円、その量は338千tであり、そのなかで兵庫県は62億円、5千tを占めていた<sup>2)</sup>。

農薬はその使用方法から環境中に広く拡散し、生理学的作用や物理特性から人体への影響が懸念されている一方で、環境中の農薬に関する情報は十分とは言えない<sup>3-6)</sup>。加えて、昨今の環境ホルモンや残留性有機汚染物質(POPs)をはじめとする微量有害物質に農薬の占める割合は高く<sup>7)</sup>、環境汚染を引き起こす可能性も指摘されていることから環境中に存在する農薬の実態を把握する必要がある。

兵庫県下では現在、農薬の監視を公共用水域の水質測定<sup>8,9)</sup>の年間計画に沿って実施しているほか、ゴルフ場が密集している地域において主要河川やゴルフ場からの排水の水質調査を行っている。前者の農薬に関する調査は、常時監視の観点から環境基準<sup>10)</sup>及び要監視項目<sup>11)</sup>の16農薬成分の分析を年1～6回行っており、後者は暫定指導指針値<sup>12)</sup>設定農薬45成分を年2回分析している。

農薬の有効成分として約450種類の化学物質が登録されている現況<sup>2)</sup>及びその使用量から考えると、水質汚濁の状況を監視することが目的である上記の調査結果だけを農薬の環境影響を評価するための情報として用いるには不十分であり、さらに多くの農薬成分を低濃度で検出できる調査が必要だと思われる。

そこで本報では、県内河川を代表する加古川において従来の調査対象農薬に13項目を加え、合計57の農薬を

分析し、その濃度及び検出頻度などの傾向をまとめたので報告する。

### II 方法

#### 2. 1 調査対象河川、採水地点及び調査時期

調査対象河川は、丹波山地に端を発し県中央部を南流する一級河川の加古川とした。当河川の幹川流路延長は96kmであり、流域面積1730km<sup>2</sup>は県総面積の2割を占め9市13町に及んでいる<sup>13)</sup>。その流域には、県下におよそ160あるゴルフ場の約4割が集中している<sup>14)</sup>。

採水は加古川河口から15～20kmほど遡った下流域3地点において行った。これらは加古川本流の2地点(大住橋(A)、上荘橋(C))とその中間地点で加古川に流入する美囊川の最下流地点(B)である。この美囊川は、ゴルフ場が多数立地する地域を流下し加古川本流に合流している。

調査地点をFig. 1に示す。

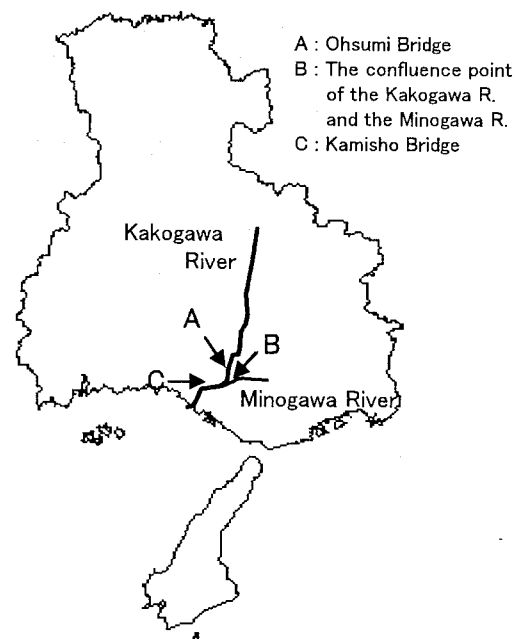


Fig. 1 Map of the water sampling locations

<sup>1</sup>安全科学部, <sup>2</sup>広東省環境保護観測センター

\* 別刷請求先: 〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27

兵庫県立健康環境科学研究センター  
安全科学部 吉田 光方

調査は2002年9月11日から11月20日までおよそ3ヶ月にわたり行い、隔週で計6回、延べ18の河川表層水を採取した。

2. 2 調査対象農薬

調査は、人の健康の保護に関する環境基準値<sup>10)</sup>や指針値<sup>11, 12, 15)</sup>が定められている農薬のうち、GC/MSにより一斉分析が可能な57種類を対象とした。これらの農薬の使用用途の内訳は、殺虫剤 (insecticides) 15種類、殺菌剤 (fungicides) 19種類、除草剤 (herbicides) 23種類であった。また農薬の使用場所として、主に水田で使用される農薬が15種類、ゴルフ場が22種類、両方での使用が想定されるものが19種類であり、1種類のみ野菜に利用される農薬でどちらにも属さないものと分類された<sup>16)</sup>。

2. 3 分析方法、測定条件及び試薬

採取した河川水は、Waters社製PS-2カートリッジに約15mL/minの流速で500mLを通水した。このカートリッジは、あらかじめジクロロメタン、メタノール、精製水の順でコンディショニングを行ったものを使用した。対象物質を吸着捕集したカートリッジを窒素ガス約1L/minで20分の通気乾燥後、ジクロロメタン5mLで溶出した。この溶出液を窒素気流下で濃縮した後、内標準物質としてヘキサクロロベンゼン-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> (HCB-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>)及びフルオランテン-d<sub>10</sub>各0.1μg添加後、1mLに定容し2μLをGC/MSに注入し定量した。GC/MSでの分析条件をTable 1に示す。

Table 1 Operating conditions of GC/MS

Gas chromatograph	: HP-5890 II (Agilent Technologies)
Mass spectrometer	: JEOL JMS-AM150
Column	: Agilent Ultra-2 (25m×0.20mm; 0.33μm)
Temp. program	: 50°C(1min)-30°C/min-180°C-5°C/min/-250°C -8°C/min-300°C
Injection temp.	: 200°C
Interface temp.	: 250°C
Carrier gas	: Helium(Flow Rate; 1 mL/min)
Injection mode	: Splitless(purge on time; 1 min)
Injection volume	: 2 μL
Ion source temp.	: 230°C
Ionization voltage	: 70eV
Ionization current	: 300 μA

また、あらかじめ各対象農薬1μgを精製水に添加した回収試験を5回行い平均回収率及び変動係数、標準偏差を求め、標準偏差の10倍(10σ)を定量下限値とした。Table 2に対象農薬の添加回収率及び変動係数を、Table 3に定量下限値を示した。

Table 2 Recoveries and coefficients of variation of the pesticides

group pesticide name	recovery (%)	C.V. (%) n=5
insecticides		
fenobucarb (BPMC)	89.9	4.0
carbaryl (NAC)	86.7	4.6
fenthion (MPP)	31.7	2.0
isoxathion	70.0	5.0
pyridaphenthion	114.9	16.9
dichlorvos (DDVP)	116.9	10.1
diazinon	128.2	18.7
fenitrothion (MEP)	74.1	4.6
malathion	90.1	2.6
chlorpyrifos	72.0	4.5
isofenphos	83.1	12.7
etofenprox	46.7	5.0
EPN	50.0	3.2
buprofezin	88.2	4.9
dichlofenthion (ECP)	72.3	4.8
fungicides		
iprobenfos (IBP)	87.8	2.6
ftalide	97.2	3.0
isoprothiolane	78.2	9.8
edifenphos (EDDP)	99.6	3.7
flutolanil	122.6	15.4
metalaxyli	87.5	8.0
mepronil	121.8	18.8
probenazole	92.0	1.4
chloroneb	68.8	4.9
tolclofos-methyl	91.9	9.2
quintozene (PCNB)	61.7	2.6
chlorothalonil (TPN)	81.4	6.4
iprodione	115.0	18.0
etrizidazole	82.2	8.1
captan	53.3	2.5
propiconazole (1)	60.6	2.4
propiconazole (2)	59.2	4.7
pencycuron	57.7	8.6
difolatan	65.5	2.8
tricyclazole	100.5	2.5
herbicides		
chlornitrofen (CNP)	85.4	8.0
molinate	85.1	3.9
esprocarb	90.8	7.4
terbucarb (MBPMC)	115.2	13.1
thiobencarb (benthio carb)	91.4	2.5
pyributicarb	65.4	8.2
bromobutide	92.9	2.5
pretilachlor	111.4	4.0
mefenacet	108.5	2.2
simazine (CAT)	107.5	8.7
simetryn	76.8	3.2
pendimethalin	61.1	4.1
oxadiazon	81.6	7.4
dithiopyr	113.4	10.3
butamifos	70.4	5.7
siduron (1)	76.5	7.3
siduron (2)	133.9	35.2
triclopyr-2-butoxyethyl	76.8	6.1
napropamide	130.3	20.2
propyzamide	74.5	3.9
benfluralin	55.7	3.1
methyl dymron	81.8	9.8
prodiamine	77.7	5.8
orbencarb	113.8	10.2

Table 3 Concentrations, detection numbers and quantification limits of pesticides in the river water samples

group	pesticide name	place	frequency of detection	A			B			C			quantification limit ( $\mu\text{g/L}$ )
				concentration ( $\mu\text{g/L}$ )		detected number	concentration ( $\mu\text{g/L}$ )		detected number	concentration ( $\mu\text{g/L}$ )		detected number	
				min.	max.		min.	max.		min.	max.		
<b>insecticides</b>													
	fenobucarb (BPMC)	a) b)	11/18	nd	0.26	3	nd	0.25	5	nd	0.24	3	0.010
	carbaryl (NAC)	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	fenthion (MPP)	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	isoxathion	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	pyridaphenthion	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.030
	dichlorvos (DDVP)	b)	3/18	nd	0.11	1	nd	0.10	1	nd	0.11	1	0.010
	diazinon	a) b)	3/18	nd	0.060	1	nd	0.070	1	nd	0.070	1	0.060
	fenitrothion (MEP)	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	malathion	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	chlorpyrifos	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	isofenphos	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	etofenprox	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.050
	EPN	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	buprofezin	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	dichlofenthion (ECP)		0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
<b>fungicides</b>													
	iprobenfos (IBP)	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	fthalide	a)	5/18	nd	0.14	1	nd	0.22	2	nd	0.20	2	0.010
	isoprothiolane	a) b)	18/18	0.020	0.18	6	0.010	0.21	6	0.010	0.18	6	0.010
	edifenphos (EDDP)	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	flutolanil	a) b)	13/18	nd	0.21	5	nd	0.21	4	nd	0.21	4	0.010
	metalaxyl	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	mepronil	a) b)	4/18	nd	nd	0	nd	0.32	3	nd	0.31	1	0.020
	probenazole	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	chloroneb	b)	3/18	nd	0.10	1	nd	0.10	1	nd	0.11	1	0.010
	tolclofos-methyl	b)	1/18	nd	nd	0	nd	0.13	1	nd	nd	0	0.010
	quintozene (PCNB)	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	chlorothalonil (TPN)	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	iprodione	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.015
	etridiazole	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	captan	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	propiconazole (1)	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	propiconazole (2)	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	penicuron	a) b)	1/18	nd	nd	0	nd	0.16	1	nd	nd	0	0.010
	difolatan	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	tricyclazole	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
<b>herbicides</b>													
	chlornitrofen (CNP)	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.015
	molinate	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	esprocarb	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	terbucarb (MBPMC)	b)	1/18	nd	nd	0	nd	0.040	1	nd	nd	0	0.020
	thiobencarb (benthiocarb)	a)	2/18	nd	0.010	1	nd	nd	0	nd	0.080	1	0.010
	pyributicarb	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.015
	bromobutide	a)	6/18	nd	0.38	2	nd	0.37	3	nd	0.040	1	0.010
	pretilachlor	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	mefenacet	a)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	simazine (CAT)	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	simetryn	a)	18/18	0.11	0.36	6	0.11	0.39	6	0.11	0.36	6	0.010
	pendimethalin	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	oxadiazon	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	dithiopyr	a) b)	1/18	nd	nd	0	nd	0.050	1	nd	nd	0	0.010
	butamifos	a) b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	siduron (1)	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	siduron (2)	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	triclopyr-2-butoxyethyl	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	napropamide	b)	1/18	nd	nd	0	nd	0.010	1	nd	nd	0	0.010
	propyzamide	b)	3/18	nd	nd	0	nd	0.34	3	nd	nd	0	0.010
	benfluralin	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	methylmron	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	prodiamine	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010
	orbencarb	b)	0/18	nd	nd	0	nd	nd	0	nd	nd	0	0.010

a) : use in paddy field

b) : use in golf course

農薬標準品は和光純薬工業(株)などの標準試薬を用い、内標準物質として Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 製の HCB-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> 及びフルオランテン-<sup>d</sup><sub>10</sub> を使用した。その他の溶剤や無水硫酸ナトリウムなどの試薬は和光純薬工業(株)の残留農薬試験用を使用した。

### III 結果および考察

#### 3. 1 検出された農薬の種類の特徴

Table 3 に農薬の使用用途別に全検体の調査結果を示した。左から順に農薬名, 使用場所, 検出頻度, 各採水地点ごとの最小及び最大濃度, 検出数及び定量下限値を示している。

調査した 57 の農薬のうち一度でも検出された農薬は 17 種類であり, いずれの項目においても基準値及び指針値を超過しているものはなかった。

検出頻度の高かった農薬は, 殺虫剤の BPMC, 殺菌剤のイソプロチオランとフルトラニル及び除草剤のシメトリンの 4 種であり, これらは検出率が 50% を超えていた。次いで殺虫剤の DDVP, 殺菌剤のフサライド及び除草剤のプロモブチドなど 8 種の農薬が複数の検体から検出された。殺菌剤のペンシクロンや除草剤のジチオピルなど残り 5 種類の農薬は, 1 検体のみから検出された。

殺虫剤は 3 種類が検出され, その全てが 3 地点ともに検出された。高頻度で検出された BPMC の他には, DDVP とダイアジノンがそれぞれ各地点で一度ずつ検出された。

殺菌剤は 7 種類が検出された。先に述べたイソプロチオラン, フルトラニル及びフサライドに加えクロロネブが全地点において検出されたほか, メプロニルが B, C 地点で, トルクロホスメチル及びペンシクロンがともに B 地点でのみ検出された。

除草剤も 7 種類が検出され, そのうち水田で使用されるシメトリンとプロモブチドが全地点で検出された。またテルブカルブ (MBPMC), ジチオピル, ナプロパミド及びプロピザミドは B 地点のみに出現し, ジチオピルを除いてはゴルフ場で使用される農薬であった。その逆に, 水田で使用されるチオベンカルブは A, C 地点でのみ検出された。

以上, 農薬の検出状況を使用用途ごとにまとめると, 殺虫剤は全地点で検出されたのに対し, 殺菌剤と除草剤では地点により検出農薬に差が見られた。特に B 地点でのみ検出される農薬が目立ち, その数は 6 種類であった。B 地点は, ゴルフ場の立地が多い美囊川流域の下流域にあたり, B 地点でのみ検出された農薬のうち 4 種類がゴ

ルフ場で使用される農薬であったことから, 殺菌剤及び除草剤における農薬の検出は, ゴルフ場から流出した農薬の影響が大きいと思われる。

#### 3. 2 検出された農薬の総濃度の傾向

農薬の使用用途別に, 検出された農薬の濃度の合計(総濃度)を地点ごとに Fig. 2 に示した。農薬濃度の合計は, 使用用途別の全体的な傾向を把握するため採水日ごとに各農薬の濃度を積み重ねたものである。

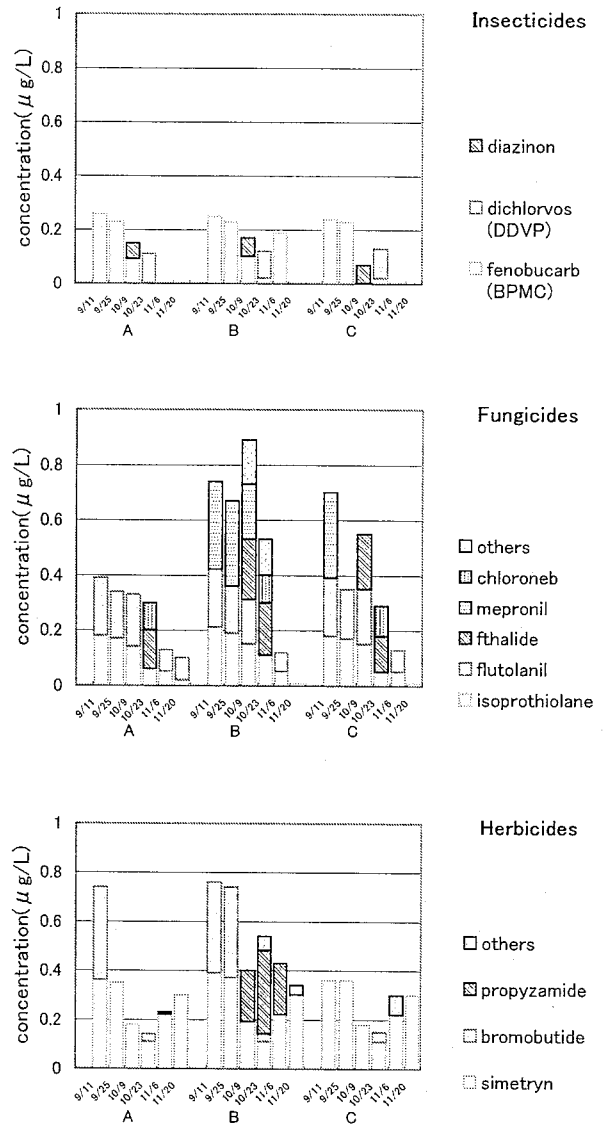


Fig. 2 Pesticide concentrations in the river water samples

殺虫剤は, 3 地点すべてにおいて, 9 月に最大濃度を示し, 10 月にダイアジノン, 11 月に DDVP が一時的に検出されたが, いずれの地点においても総濃度はほぼ同程度であり, 地点による差異はみられなかった。

殺菌剤の合計濃度は 0.01~0.89 µg/L と, 地点及び採水日により変動し, B>C>A の順で高かった。

除草剤の合計濃度は 0.14~0.76 µg/L であり, 全調査

期間を通じB地点での濃度が最も高かった。次いでAの9月上旬の濃度が高かったが、他の採水日ではA、Cともほぼ同程度の濃度であった。

以上、農薬の総濃度について地点ごとの特徴をまとめると、殺虫剤は、全調査期間をとおし全地点で同程度の濃度で安定して推移したのに対し、殺菌剤と除草剤では、B地点での濃度が高く、加えて調査日による濃度変動の幅が大きい傾向にあった。このことは、前項で示したようにB地点でのみ検出された殺菌剤のトルクロホスメチル (Fig. 2では others に分類される) や除草剤のプロピザミドなど6種類の農薬が、低頻度で検出されたからであると考えられる。

### 3. 3 検出された農薬数と濃度の和の月別の特徴

Fig. 3に、検出された全ての農薬の総数(棒グラフ)とその濃度の和(折線グラフ)を採水月及び地点ごとに示した。農薬数の合計については、使用場所をa)水田、b)ゴルフ場、a) b)両方のいずれかに分類し、まとめて示している。

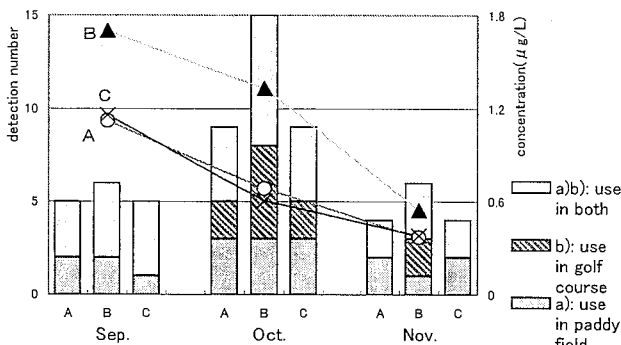


Fig. 3 Variations in the detection numbers and the concentrations of pesticides in the river water samples

この図から、検出農薬数はA、B、C3地点に共通して10月が最も多く、なかでもゴルフ場で使用される農薬の増加が著しいことが特徴的であった。この傾向は、B地点において顕著であった。B地点は、ゴルフ場の立地が多い美濃川流域の最下流地点であり、加えて美濃川の流量が加古川本流のほぼ1/10<sup>17,18)</sup>と少なく、河川に流入した農薬の希釈率が低いために加古川と比べ検出されやすいことによると考えられる。即ち、流量の少ない美濃川は加古川本流と比較して農薬散布の影響が環境水中に反映されやすいものと推察される。

一方、同じFig. 3に示すように農薬濃度の和の月別の変動は、A地点で0.37~1.12 µg/L、B地点で0.55~1.7 µg/L、C地点で0.38~1.16 µg/Lであり、いずれの地点においても9月から順次減少する傾向を示し、検出数が10月をピークとした山型を呈していたのとは異なっていた。このように10月は、低濃度ではあるが多種類

の農薬が一時的に検出されたことが示された。

### 3. 4 過去の調査との比較

1990年度に県南部の河川20地点で行われた調査<sup>19)</sup>によると、およそ1/3以上の河川水から殺菌剤のイソプロチオラン、フルトラニル及び除草剤のシマジン、MBPMCの4種類の農薬が検出されたとの報告がある。今回の調査結果と比較すると、殺菌剤のイソプロチオラン及びフルトラニルの検出頻度が高かったことに変わりはないが、1990年度の調査において高頻度で検出された除草剤のMBPMCの検出頻度は今回の調査では極めて小さくなっており、シマジンに至っては全く検出されなかった。

また藤森ら<sup>20)</sup>は、ゴルフ場排水においても同様に除草剤のシマジン及びMBPMCの検出頻度が小さくなっていることについて、これら除草剤の使用の減少と関連づけて報告している。

つまり、本調査におけるシマジン及びMBPMCの検出頻度の減少の理由は、ゴルフ場での本農薬の使用停止により、ゴルフ場からの排水濃度が低下したことに起因するものと考えられる。

今回調査を行った地域における農薬の流出源としては、主に農地や山林のほかゴルフ場などが考えられたため、対象農薬の使用場所を水田もしくはゴルフ場に分類し、その検出に相違があるかを中心に考察を行った。実際に兵庫県下の土地利用形態は、水田面積42,600ha<sup>2)</sup>、野菜の栽培面積11,400ha<sup>21)</sup>とともにゴルフ場面積は16,300ha<sup>22)</sup>であり、県全面積の2%弱を占め、全国平均の0.5%を大きく上回っている。県下のゴルフ場占有面積率が他県と比較し高いことに加え先に述べてきた結果から、本調査地域においてゴルフ場での農薬使用が、農地と同様に環境へ影響を与えている流出源になりうることが示唆された。

したがって、今後他地域で調査を実施する際には、その地域の土地利用形態を踏まえ、使用が予想される農薬を対象とすることが重要になると考える。

### 3. 5 環境への農薬流出負荷量

今回の調査で得られた各月の農薬濃度の合計と過去5年間の各月平均流量から加古川及び美濃川の農薬流出量を概算したところ、9~11月において、加古川で1.2~7.4kg/日(0.4~2.7t/年)、美濃川で0.3~0.9kg/日(0.1~0.3t/年)であった。農薬出荷量(5000t/年)と加古川流域面積から加古川への流出率を試算したところ、およそ0.04~0.27%が加古川へ流出したことに相当する結果となった。先にゴルフ場の密集した地域の美濃川から相対的に高濃度の農薬が検出されることを指摘したところであるが、その一方で広範な流域から多くの水量を



集める河川では低濃度であっても総負荷量が大きくなり、環境への長期にわたる影響が懸念される。

また、本調査で対象とした農薬以外にも多数の農薬が使用されており、微量有害物質の環境への影響も考え合わせるとさらに多くの成分を調査する必要がある。

#### IV 結 論

秋季において加古川下流域を対象として農薬57種類について調査を行った。その結果17種類の農薬が検出され、その各月の濃度は9月を最大に、A地点で0.37～1.12  $\mu\text{g/L}$ 、B地点で0.55～1.7  $\mu\text{g/L}$ 、C地点で0.38～1.16  $\mu\text{g/L}$ であった。A、C地点に比べB地点で濃度が高くなっているのは、この地点の上流部がゴルフ場の密集地域であることに加え、美囊川の流量が少ないため農薬散布の影響を受けやすいことによるものと考えられた。とりわけB地点では、10月のゴルフ場での使用農薬の検出数が顕著であった。

また、過去の農薬の検出状況と比較してシマジン及びMBPMCの検出頻度が減少していた。これはゴルフ場で、この2種の成分を含有する農薬の使用停止に起因するものと推察された。このことからゴルフ場での農薬散布が周辺環境に影響を及ぼしていることが示唆された。

一方で、広範囲にわたり集水する河川においては低濃度ながら農薬の環境に与える負荷は大きく、こうした状況を把握するためには、さらに多成分の農薬を低濃度で検出する必要性も示唆された。

今後、農薬使用量が多い春～秋にかけての季節変動の調査も必要と思われる。

#### 文 献

- 1) 安藤満：農薬汚染による健康リスク。環境化学, 1, 16-37 (1991)
- 2) 農林水産省農産園芸局植物防疫課：農薬要覧-2000-, p.1-3, 206-209, 522-535, 563-565 (2002)
- 3) 山口之彦, 福嶋実, 藤田忠雄, 山田明男：淀川水系における農薬の分布および季節変動。環境化学, 1, 56-63 (1991)
- 4) 水戸部英子, 茨木剛, 田辺顕子, 川田邦明, 坂井正昭, 貴船育英：水田地域を流域とする河川水中における農薬濃度の変動。環境化学, 9, 311-320 (1999)
- 5) 近藤秀治, 福山龍次, 劉愛民：石狩川水系における農薬の多成分同時分析とその季節変動。環境化学, 11, 253-266 (2001)
- 6) 高橋保雄, 小野寺祐夫, 森田昌敏, 寺尾良保：水道

原水及び水道水中の農薬とその濃度。環境化学, 13, 89-101 (2003)

- 7) 藤森一男ら：第12回環境化学討論会講演要旨集, p.522-523 (2003), 新潟
- 8) 兵庫県：平成15年度公共用水域及び地下水の水質の測定に関する計画 (2003)
- 9) 兵庫県県民生活部環境局：平成13年度公共用水域の水質測定結果報告書 (2002)
- 10) 水質汚濁に係る環境基準について。昭和46年12月28日付環境庁告示第59号
- 11) 環境庁水質保全局長通知：水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件の施行等について。平成5年3月8日付環水管第21号
- 12) 環境庁水質保全局長通知：ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指針について。平成2年5月24日付環水土第77号, ほか平成3年7月30日付環水土第109号, 平成4年12月21日付環水土第187号など
- 13) 国土交通省 河川局情報 HP : [http://www.mlit.go.jp/river/jiten/nihon\\_kawa/index.html](http://www.mlit.go.jp/river/jiten/nihon_kawa/index.html), 近畿地方整備局 姫路河川国道事務所 HP : <http://www.himeji.kkr.mlit.go.jp/library1.html>, [http://www.himeji.kkr.mlit.go.jp/river/database/suishitsu/river\\_12/kako\\_1.htm](http://www.himeji.kkr.mlit.go.jp/river/database/suishitsu/river_12/kako_1.htm), [http://www.himeji.kkr.mlit.go.jp/river/database/suishitsu/river\\_12/kako\\_2.htm](http://www.himeji.kkr.mlit.go.jp/river/database/suishitsu/river_12/kako_2.htm) など
- 14) 兵庫県農林水産部：ゴルフ場の芝草等管理マニュアル～基礎的事項・参考資料編～平成12年12月, 85-88 (2000)
- 15) 環境庁水質保全局長通知：公共用水域等における農薬の水質評価指針について。平成6年4月15日付環水土第86号
- 16) 香月繁孝, 数賀山靖, 後藤宗玄：農薬便覧・第8版, 社団法人農山漁村文化協会 (1999)
- 17) 兵庫県県民生活部環境局：平成9～13年度公共用水域の水質測定結果報告書 (1998～2002)
- 18) 加古川水質汚濁防止協議会：平成13年加古川の水質現況, 3-4 (2002)
- 19) 辻正彦, 中野武, 奥野年秀：ゴルフ場農薬の流出モニタリング。環境化学, 1, 71-75 (1991)
- 20) 藤森一男ら：第11回環境化学討論会講演要旨集, p.432-433 (2002), 箱根
- 21) <http://www.kinki.maff.go.jp/introduction/toukei/sokuhou/naiyosok/15sok07yasai/15hyo07yasai.pdf>
- 22) 朝日新聞調査：ゴルフ場の現況と将来, 1990.3.24付朝日新聞 (1990)

(受理 2003年11月25日)

## 大気環境中ダイオキシンの数値予測

鶴川 正寛\*, 松村 千里, 中野 武

### I はじめに

化学物質によるリスクの問題を考える場合、物質がどのように環境中に放出され、様々な媒体・経路を経て、人や生態系に暴露されるかを把握する必要がある。

化学物質の環境中濃度や暴露の推定は、常時監視等のモニタリングによっても試みられているが、これによりカバーできる範囲や期間は非常に限られており、長期的な健康リスク評価という面では限界がある。

従来、このような環境中濃度予測のために、使用されてきている化学物質運命予測モデルとして最も代表的なのが Mackay らによる fugacity model III<sup>1)</sup> に代表されるような単一ボックス型のマルチメディアモデルである。これは、ある物質が環境に放出され、移動、媒体間での分配、反応、分解などが起こった結果、環境構成媒体（土壌、底質、水、大気、生物）のどこにどれだけ残留するか環境残留予測をするモデルであり、長期平均的な曝露濃度を推定するのに適しているが、環境を大気、水圏、土壌など数十～百キロメートル単位のボックスに分割して、各媒体における対象物質の平均的な分散状況を把握するのが目的となっており、地域分布などの細かい分布状況を知ることはできない。

そこで、地域的な汚染の偏在が予想されるダイオキシン類等の有害化学物質へ適用可能なモデルが必要であることから、兵庫県下のダイオキシン発生源インベントリーを作成、これを入力データとして、プルーム・パフモデルを用いて、兵庫県下の大気中ダイオキシン濃度予測を行い、観測データとの比較検討を試みた。

プルーム・パフモデルは風や拡散係数、排出量等を一定とした時の定常解を求めるもので、本目的のような長期平均的で局地的な分布を把握するのに適している。

本モデルの精度を向上させることによって、削減対策効果の予測や現段階ではモニタリング対象となっていない

い化学物質の濃度予測、また、リスク評価への応用を視野に入れている。

### II 方法

1999年7月にダイオキシン類対策特別措置法が公布され、事業者による自主測定・報告が義務付けられた。これによって、発生源情報の経年変化把握の可能な環境が整ってきている。そこで、まず、これらの発生源諸元データの整理を2000年度、2001年度について行った。

次に、数値予測手法により、上記データを用いて大気環境中濃度予測を行い、ダイオキシンの常時監視モニタリング結果とシミュレーション結果の比較を行った。

#### 2.1 ダイオキシン発生源インベントリーの作成

事業者から提出された2000年度及び2001年度自主測定結果報告書（神戸市を除く）をもとにTEQ濃度（Toxicity Equivalency Quantity：毒性等価換算濃度）、塩素数毎の毒性等価換算係数の定められた17異性体の実測濃度（分析して得られた個々のダイオキシン濃度、毒性等価換算係数TEFを乗じる前の値）をまとめた。

なお、姫路市のTEQ濃度については、市のホームページに掲載されているものを用いてまとめた。各事業所の緯度経度座標については、昭文社の地図ソフトMapplelifeを用いて届出住所をもとに読み取った。

ダイオキシン類対策特別措置法にもとづき、届出のあった廃棄物焼却炉、電気炉、焙焼炉、アルミニウム溶解炉のうちデータが有効であると思われる、かつ、位置座標の判明した施設について排出ガス量、濃度のデータ整理を行った。

年間排出量（g-TEQ/year）の算出については、施設毎に稼働時間（届出値）を考慮して次式により求めた。  
年間排出量（g-TEQ/year）=  $\frac{\text{ダイオキシン濃度} \text{ (ng-TEQ/m}^3\text{)} \times \text{排出ガス量} \text{ (m}^3\text{/s)} \times \text{年間稼働時間} \text{ (s)} \times 10^{-9}}{\text{年間稼働時間} \text{ (s)} \times 10^{-9}}$

図1にダイオキシン年間総排出量(PCDDs + PCDFs：g-TEQ/year)、図2に全施設平均としての実測濃度での同族体別構成割合を示した。

安全科学部

\*別刷請求先：〒655-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27  
兵庫県立健康環境科学研究所センター  
安全科学部 鶴川 正寛

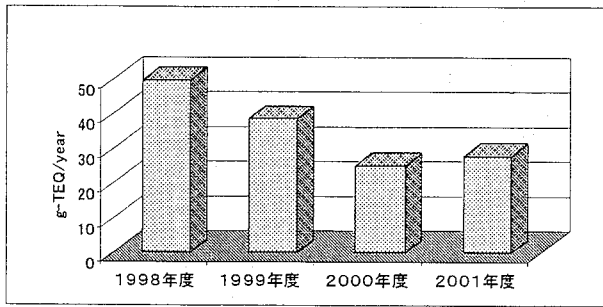


図1 ダイオキシン年間総排出量 (g-TEQ/year)

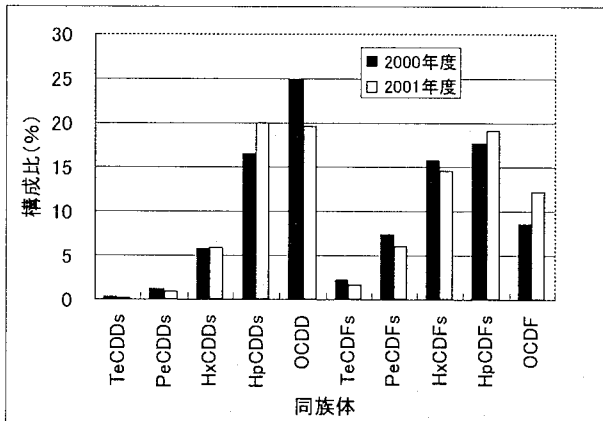


図2 同族体別構成割合 (%)

※TeCDDs～OCDD, TeCDFs～OCDFを総称して各々ポリクロロジベンゾパラジオキシン, ポリクロロジベンゾフランと呼ぶ。

年間総排出量については、1997年度から国において排出インベントリーが作成されているが、県においても同様の方法によって推計を行っている。そこで参考として1999年度以前のデータについても表示した。ただし1999年度までは小型廃棄物焼却炉のダイオキシン排出濃度がそろっていなかったため、予測値をあてはめたものである。これによると、2000年度、2001年度は1998年度に比べて年間排出量がほぼ半減している。

ただし、年度によってデータが有効と思われる報告数に多少の増減があること、また、同一施設であっても年度によって自主測定のコキシン濃度に数倍から数十倍の差があるケースも見られるため、この種の排出量推計値にはある程度の幅をもって評価をする必要があると思われる。

実測濃度でのPCDDs (ポリクロロジベンゾパラジオキシン) の同族体別構成割合 (17異性体の塩素数毎の合計が全体に占める割合) は、2000年度と2001年度ともに高塩素化物ほど全体に占める割合が高かった。

しかし、現在報告されている17異性体のみからの同族体別情報では個々の施設の特徴が現れにくく、異性体毎の情報を有効に活用するためには、以下に述べることを求められると考える。

自主測定結果の報告は、毒性等価換算係数の定められている17異性体についてのみであるが、これら以外の異性体を含めたもので発生源毎に特徴的な同族体分布が見られる<sup>2)</sup>ことから、すべての異性体についての情報を把握することは大気中濃度や各発生源からの寄与を推定する上で重要である。今後、17異性体以外のものについても、現在のような届出用紙に手書きで記入された報告ではなく、フロッピーや電子メール等の電子媒体による発生源情報の整備が望まれる。そのことによって、事業者側、行政側双方のデータ記載ミス等も防ぐことができ、集計の省力化、迅速化にもつながる。

※ PCDDs, PCDFs : 各々ポリクロロジベンゾパラジオキシン, ポリクロロジベンゾフランのことで、毒性が指摘されているものは四塩素化物から八塩素化物である。それぞれTeCDDs, PeCDDs, HxCDDs, HpCDDs, OCDD及びTeCDFs, PeCDFs, HxCDFs, HpCDFs, OCDFのように表す。

## 2.2 シミュレーションモデルの概要

シミュレーションに用いたモデルの概要は以下のとおりである。

階級に区分された気象条件毎に2次元プルーム・パフモデルを用いて拡散計算を行い、その気象区分毎 (本報告では9月～11月の期間平均とした。) の出現頻度の重み付け平均値として大気中濃度を算出した<sup>3)</sup>。

計算対象内のすべての発生源メッシュから全メッシュへの寄与を計算し、重ね合わせることでシミュレーションを行った。

なお、プログラミング言語はFORTRAN, コンパイラはCompaq Visual Fortranを使用した。

モデルのフロー概略を図3に示す。なお、計算格子間隔はx方向, y方向とも500m, 計算対象領域は兵庫県域とした。

モデル式等の詳細については、参考として報告の最後に記載した。

## 2.3 入力データ

### 2.3.1 気象データ

兵庫県常時監視測定局における2000年9月～11月, 2001年9月～11月の毎時の風向・風速データから3ヶ月間の風向, 風速, 安定度別の気象頻度分布を求めた。

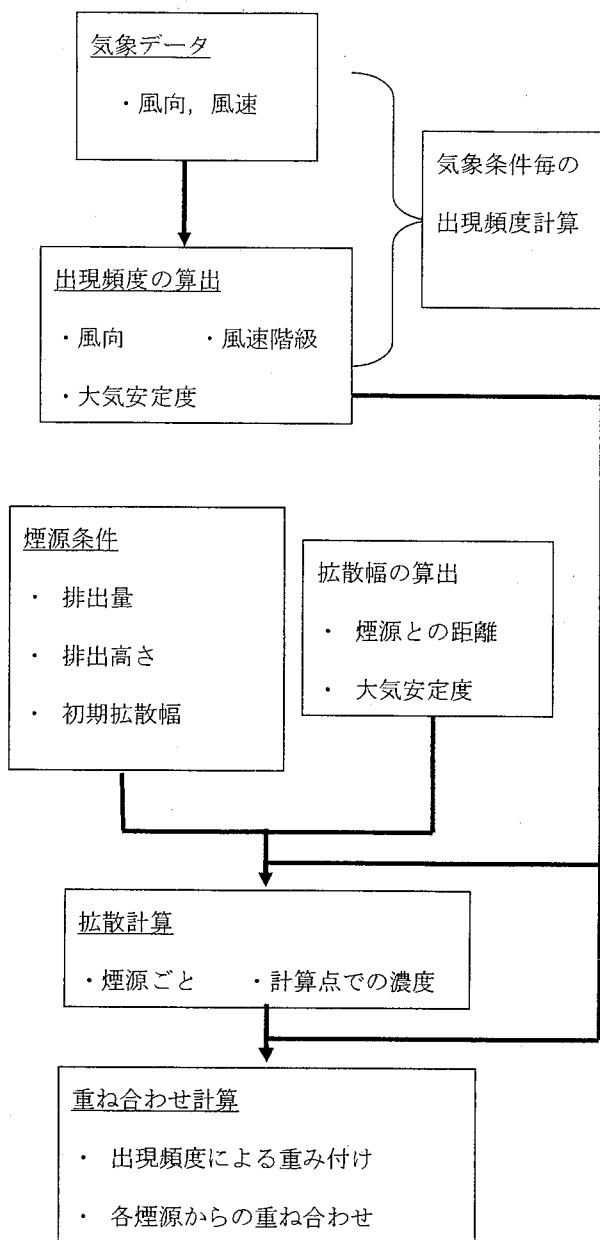


図3 モデルのフロー概略

風配図の代表的な例を図4に示す。

概ね平均風速は3 m/sまでの範囲であり、瀬戸内海沿岸部では北西から北北東の風が卓越していた。洲本では西南西、日本海側の豊岡では北北西と南東の風が卓越していた。

プルーム・パフモデルの拡散計算においては、兵庫県内の常時監視測定局のうちの39局の中から、各発生源に最も近い常時監視測定局の気象頻度分布を用いて計算を行った。

### 2.3.2 発生源データ

2.1で述べた方法により算出した例として2001年度の発生源毎の濃度、排出ガス量、また参考として年間総

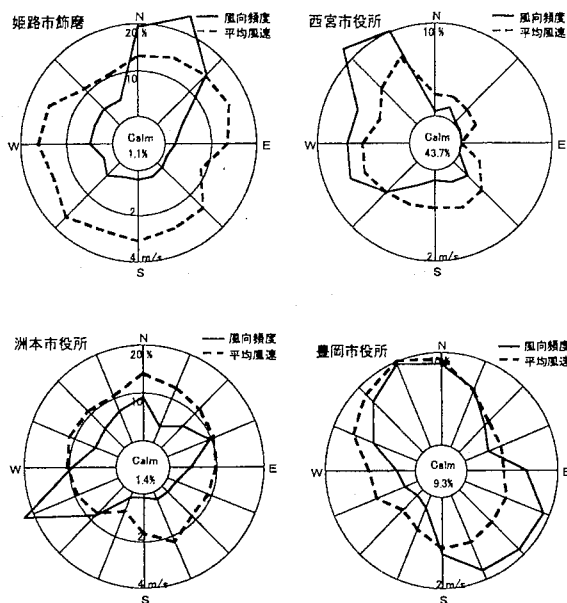


図4 風配図の代表例 (2001年9月~11月平均)

排出量マップを図5に示した。円の中心はそれぞれ発生源の所在地を示しており、円の大きさは濃度 (ng-TEQ/m<sup>3</sup>)、排出ガス量 (m<sup>3</sup>/s)、排出量 (mg-TEQ/year) に比例している。これらのマップから、濃度は高いが、排ガス量や稼働時間が少ないため、例えば、北播磨、西播磨の一部の地域や淡路の沼島地域のように年間総排出量としては少ないケースが視覚化されている。なお、神戸市域についてはデータ入手ができていないため空白になっている。

### 2.4 ダイオキシン実測データ

シミュレーションの結果と比較するための実測データは、ハイボリュームエアサンプラー (以下 Hi-vol. と略す) 及び一部の地点についてはローボリュームエアサンプラー (以下 Low-vol. と略す) の二通りのサンプリング法による分析結果を用いた。Hi-vol. は約700 l/minの流速で連続24時間、約1000m<sup>3</sup>の環境大気を採取する装置であり、1日平均値を得ることができるが、ダイオキシン濃度は日によって変動が大きいことがわかっている<sup>4)</sup>。一方、Low-vol. は約23 l/minの流速で連続1ヶ月間、約1000m<sup>3</sup>の環境大気を採取することができ、1ヶ月間の長期平均値を得ることができる。

今回のシミュレーションのような長期的、平均的な濃度レベルの把握を想定している場合、上記のようなサンプリング装置の特性から Low-vol. による方法が有効である<sup>4)</sup>という知見を得ていることを考慮し、Hi-vol. と並行して Low-vol. による測定 (2001年度の西脇市と高砂市の2ヶ所において各々9月、10月、11月) も行っ

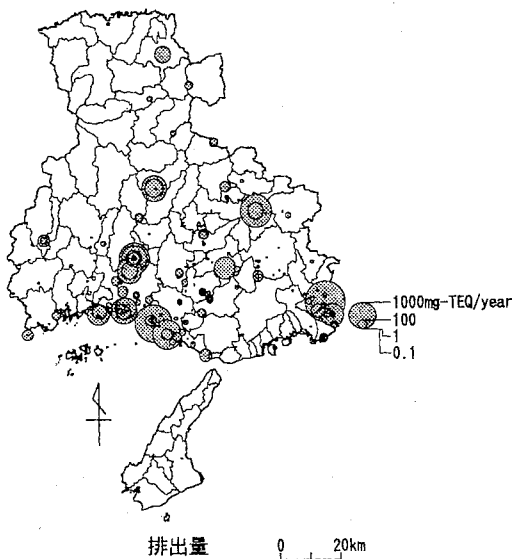
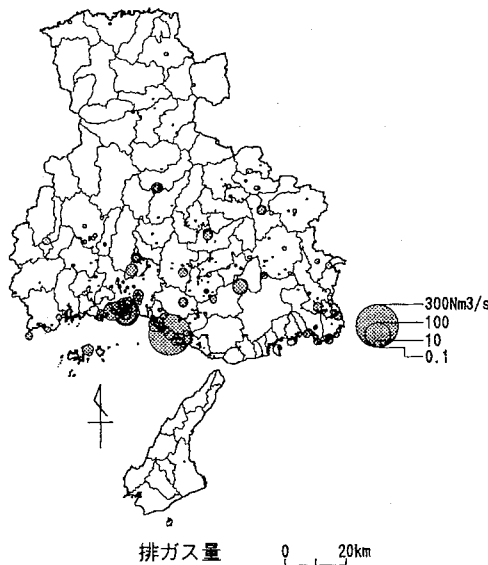
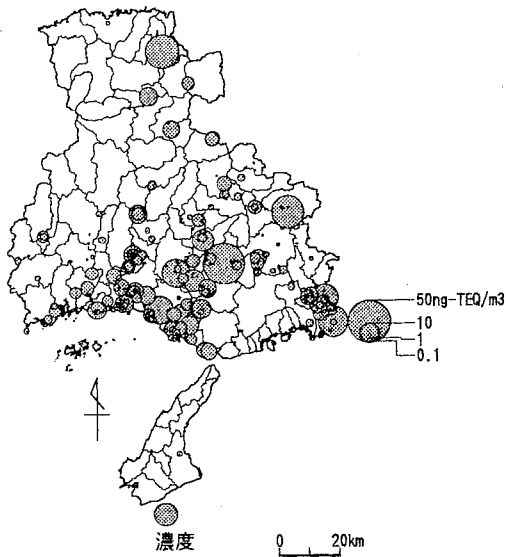


図5 2001年度発生源別マップ

たものである。

Hi-vol. のデータについては、県の常時監視データを用いた。分析法については、既報<sup>4)</sup>のとおりである。

### III 結果及び考察

#### 3.1 実測値と計算値の比較

2000年9月～11月を対象に、常時監視地点における計算値（横軸）と実測値（秋）（縦軸）を図6に示した。それぞれの値はTEQ濃度で表示している。

ほとんどの地点において、計算値が実測値よりかなり低い結果となった。

この原因としては、発生源の排出量が過少に見積もられている可能性が考えられる。

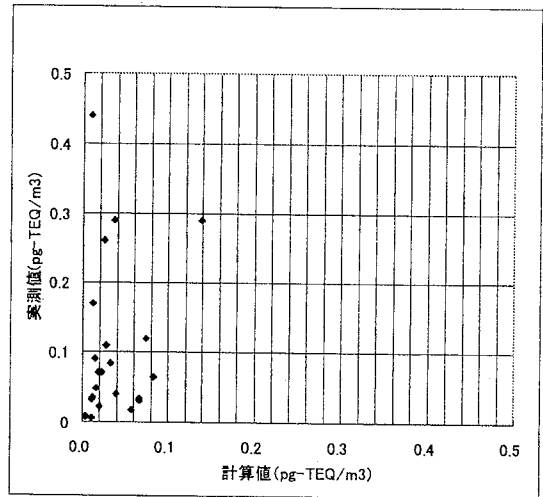


図6 計算値と実測値の比較

ダイオキシン類は燃焼過程に伴って発生する非意図的物質であることから、現在ダイオキシン類対策特別措置法で指定されている施設以外から排出されるものや野焼き等の影響、また、法対象であっても未報告の施設があるため、実際の排出量より少ない推計となっていると思われる。また、焼却炉の排出ガス測定時の問題として、以下の点が挙げられる。

廃棄物焼却炉排ガス中のダイオキシン類の濃度に影響を及ぼす要因には、①焼却する廃棄物の組成、②炉の形式、③燃焼方式、④燃焼温度、⑤維持管理など多数あるが、1日単位でたち上げ（点火）、たち下げ（消火）を繰り返すバッチ炉（8時間/日）や准連続炉（16時間/日）の場合、たち上げと立ち下げ時に、1日単位で生成するダイオキシン類の約半分が排出されると推定されている。これは、たち上げと立ち下げ時に燃焼温度が低下していることがダイオキシン類発生の大きな原因とされていることによる<sup>5)</sup>。

しかし、環境庁有害大気汚染物質分析法マニュアル

(平成11年3月改訂, 環境庁大気規制課) では, 「ダイオキシン類及びコプラナー PCB の測定は, 4 時間平均を基本とし, 炉の燃焼状態が安定した時点から, 最低1 時間以上経過した後に試料採取を開始する」とされており, 燃焼条件, 燃焼管理が一番良好な時にのみ試料採取することとなっているため, 実際の排ガス濃度を反映した測定とはなっていないと思われる<sup>6)</sup>.

### 3.2 ボックスモデルによる排出量の推計

3.1 で述べたように, シミュレーションモデルで発生源の排出量が過小に見積もられている可能性が示唆されたことから, モデルの入力データとなる排出量を推定し直すため, 環境大気濃度(実測値)から対象地域の排出量を以下に概略するボックスモデル<sup>7)</sup>を用いて推計した。

ボックスモデルは, 対象地域のスケールが大きい広域拡散現象の予測に適したモデルであり, 対象地域を矩形の箱と考えて, 箱への汚染質の流出入から箱内汚染濃度を計算するのに用いられている。

ここでは, ボックス内での沈着, 分解がないものと仮定し, 定常状態を考えると, 下式のように表すことができることから, ダイオキシン排出強度  $E(\text{pg-TEQ/s})$  を算出することとした。

対象地域を東西方向は赤穂市から明石市と芦屋市から尼崎市付近, 南北方向は赤穂市から上郡町, 西宮市から猪名川町付近とし, それぞれ2つのボックスに分けた。

混合層高さは400mとした。

$$E = \frac{U_{ave}}{L} (C_{air} - C_o) \times V_{box}$$

$E$ : ダイオキシン排出強度 (pg-TEQ/s)

$V_{box}$ : ボックスの容積 (m<sup>3</sup>)

$C_o, C_{air}$ : 対象地域のバックグラウンド濃度, 大気環境濃度 (pg-TEQ/m<sup>3</sup>)

$U_{ave}$ : 平均風速 (m/s)

$L$ :  $U_{ave}$  方向のボックス長さ (m)

大気環境濃度は対象地域の幾何平均濃度

0.098pg-TEQ/m<sup>3</sup>, バックグラウンド濃度はその十分の一とした。

その結果, ボックス全体で先に集計した排出量の約2.9倍の排出量があるものと推定された。ここでは, 乾性・湿性沈着, 分解の効果を考慮していないので, これらを考慮するとさらに多い排出量となる。

なお, 同様のシミュレーションモデルを用いて大気中のベンゼン濃度を予測した伏見<sup>8)</sup>も PRTR データを利用したベンゼン排出量について, 過少評価の可能性を指

摘している。PRTR 報告値に比べて, 推計総量で3.2倍となったとしており, 推計し直したベンゼン排出量データを用いて, バックグラウンド濃度を考慮した結果, 予測値は観測値をほぼ再現したとしている。

### 3.3 ボックスモデルから推計した排出量による再計算

以下では, 単純化してボックスモデルから推計した結果をもとに, 各発生源の排出量を以下の方法によって推計し直し, 再度計算を行った。

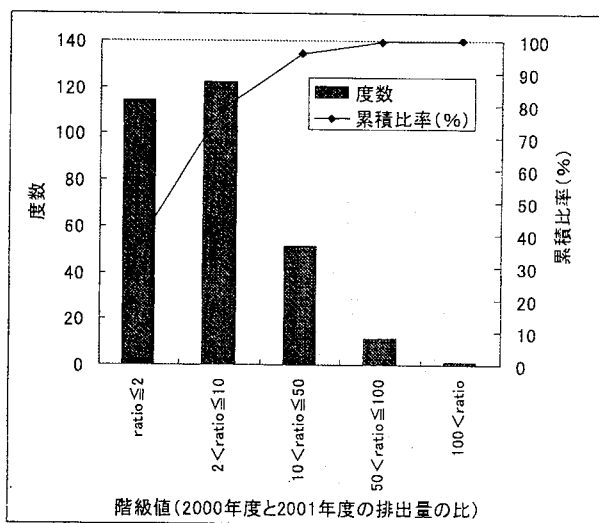


図7 2000年度と2001年度の排出量比の度数分布

まず, 2000年度, 2001年度で発生源毎の排出量の変動の割合を見るために, 全発生源について, それぞれ2カ年の排出量 (ng-TEQ/s) の大きい方の値を小さい値で割って比をとった。これらの比の度数分布及び累積比率を示したものが図7である。平均は8.8倍, 中央値は2.9倍であった。これらの結果から, 2カ年のデータのみからではあるが, 同一施設であっても, 測定時によって排出量にかなりの変動があることがわかった。そこで, これらの変動分を考慮して推計するため, 各発生源について排出量比が2以下のものについては, 測定値が安定しているものとみなして, 自主測定の濃度をそのまま用いることとし, それ以外の施設については, 測定値に変動があるものとみなし, 測定値に係数をかけて変動分を加味することとした。すなわち, 排出量比が2以下の約40%の施設については自主測定値をそのまま用いた。これらの施設と残りの排出量比が2より大きい施設の総排出量の合計が, 2.1の発生源インベントリーで求めた総排出量の2.9倍 (ボックスモデルから導かれた値) になるように, 排出量比が2より大きい施設の自主測定値に

一律に一定係数(3.9倍)を乗じて調整した。

図8に排出量修正後の計算値とHi-vol., Low-vol.による実測値の比較結果を2000年度, 2001年度分合わせて示した。Low-vol.については西脇市と高砂市の2001年度9, 10, 11月の測定結果を白抜き丸で表示した。横棒はそれらの平均値を示している。

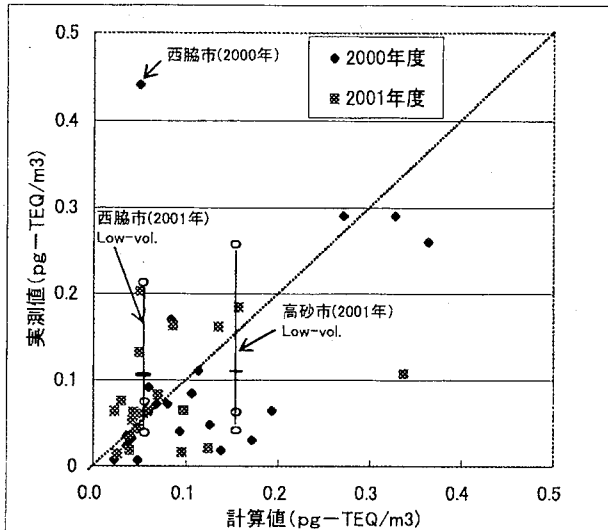


図8 計算値と実測値の比較(排出量修正後)

この結果では, 図6に示した結果より, よく現況を再現している。2000年度の西脇市においては実測値が計算値に比べて1桁高くなったが, 他の年度の実測データではこのような比較の高い濃度は観測されておらず, サンプル時の周辺環境の特殊性に依存した可能性が高いと考えられる。

西脇市と高砂市のLow-vol.の実測データでは, 9月, 10月, 11月で差が見られるが, 9月から11月の平均値は計算値に近似したものとなっている。

#### IV まとめ

兵庫県下のダイオキシン発生源インベントリを作成し, これを用いたブルーム・パフモデルによるシミュレーション結果と実測値の比較を行った。概ねモデルによる再現が可能であったが, さらにLow-vol.による実測データとの詳細な比較を行ってモデルの精緻化をはかる必要がある。また, 発生源データの正確さはモデルの推定結果を左右する最も重要なファクターであるので, 迅速, 精密, 効率的なデータ収集の整備が不可欠である。その上で, 大気のみならず他の水圏, 土壌の環境媒体への移

行を考慮したマルチメディアモデルを用いて各媒体中での濃度予測, さらには人体への暴露評価へと発展させていくことを考えている。

#### 謝辞

本報告のデータ収集, 提供にご協力頂いた県庁大気課の関係者の方々に深謝いたします。

#### 文献

- 1) Mackay, D., Paterson, S. and Shiu, W. Y. : Generic Models for Evaluating the Regional Fate of Chemicals, *Chemosphere*, 24, 695-717 (1992)
- 2) Hagenmaier, H., C. Lindig and J. She : Correlation of environmental occurrence of polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans with possible sources, *Chemosphere*, 29(X), 2163-2174 (1994)
- 3) 環境庁大気保全局大気規制課監修: 浮遊粒子状物質汚染予測マニュアル, 浮遊粒子状物質対策検討会, p198-204, 東洋館出版(1997)
- 4) 鶴川正寛, 松村千里, 藤森一男, 中野武: 第10回環境化学討論会講演要旨集, 229-230 (2001)
- 5) 宮田秀明: ダイオキシン, p80, 岩波新書(1999)
- 6) <http://www.02.246.ne.jp/~takatori/dioxin/pine2stack/index.html>
- 7) 金道龍, 山口克人, 近藤明, 惣田訓: 大阪・兵庫地域における光化学オキシダント濃度と一次原因物質排出量の関係に関する研究, *大気環境学会誌*, 36, 156-165 (2001)
- 8) 伏見暁洋, 梶原秀夫, 吉田喜久雄, 中西準子: 大気拡散モデルを用いた濃度予測及びPRTRデータの検証—ベンゼンを例に—, *環境科学会誌*, 15(1), 35-47 (2002)

(受理 2003年11月25日)

(参考)

計算に用いる気象階級の区分は次のとおりとした。

- (1) 風向 (16方位)
- (2) 風速 (7段階: 0~10.9m/s)
- (3) 大気安定度 (4階級: 有風時の昼, 夜と無風時の昼, 夜)
- (4) 時間帯 (2区分: 昼6時~18時, 夜18時6時)

気象条件は兵庫県常時監視測定局の毎時の気象データ(風向, 風速)から上記の気象階級区分に当てはめた。これらを集計して, 気象区分ごとの出現頻度を求めた。

拡散式はNOx総量規制シミュレーションモデルで使用されてきた手法<sup>3)</sup>を用いた。

【点煙源拡散式】

a. 有風時 (風速 1 m/s 以上の場合)

① 拡散式

$$C(x, y) = \frac{Qp}{2\pi\sigma_y\sigma_zU} \exp\left[-\frac{y^2}{2\sigma_y^2}\right] \left[ \exp\left\{-\frac{He^2}{2\sigma_z^2}\right\} + \exp\left\{-\frac{He^2}{2\sigma_z^2}\right\} \right]$$

x: 計算点の x 座標 (m)

y: 計算点の y 座標 (m)

Qp: 点煙源強度 (ng/s)

U: 風速 (m/s)

He: 有効煙突高さ (m)

C(x, y): 計算点(x, y)の濃度

ここで, シミュレーションでは, 風向を16方位に区分して計算を行うが, このとき長期的には1つの風向の出現率がその風向内に一様に分布していると考えられる。すなわち, 1つの風向内で濃度が一様と考えられると水平方向拡散パラメータ $\sigma_y$ に無関係なブルーム式が得られるので, 本計算では次式を用いた。

$$C(R) = \sqrt{\frac{1}{2\pi}} \frac{Qp}{\frac{\pi}{8}R\sigma_zU} F$$

R: 点煙源と計算点の水平距離 (m)

$$F = \left[ \exp\left\{-\frac{He^2}{2\sigma_z^2}\right\} + \exp\left\{-\frac{He^2}{2\sigma_z^2}\right\} \right]$$

拡散パラメータ $\sigma_z$ はPasquill-Giffordの安定度分類A~G別に風下距離xの関数として与えている。

b. 無風・弱風時 (風速 1m/s 未満)

有風時に使用するブルーム式は, 導出の過程で風に沿った方向の拡散効果を移流の効果に比較して小さいと考え, この拡散効果を見捨てている。しかし, 風が弱くなると双方の効果は同程度となり, さらに風が弱くなれば, 逆

に拡散効果の影響のほうが大きくなると考えられている。ここでは, U=0と仮定して,

$$C(R) = \frac{2Qp}{(2\pi)^{\frac{3}{2}}\gamma(R^2 + \frac{\alpha^2}{\gamma^2}He^2)}$$

$\alpha, \gamma$ : 無風時に係る拡散パラメータ, 文献<sup>3)</sup>のP204の表5-5-6の値を適用

有効煙突高さ(He)については, 下記の排ガス上昇高の経験式により $\Delta H$ を算出して,

$$He = H + \Delta H \quad \text{とした。}$$

H: 実煙突高さ (m)

$\Delta H$ : 排ガス上昇高 (m)

○有風時浮力ブルームの有効煙突高 CONCAWE式

$$\Delta H = 0.175 \cdot Q_H^{1/2} \cdot u^{-3/4}$$

ここで  $\Delta H$ : 排ガス上昇高 (m)

$Q_H$ : 排出熱量 (cal/s)

u: 煙突頭頂部における風速 (m/s)

また,  $Q_H = \rho C_p Q \Delta T$

$\rho$ : 0°Cにおける排ガス密度 ( $1.293 \times 10^3 \text{g/m}^3$ )

$C_p$ : 定圧比熱 (0.24cal/K/g)

Q: 単位時間あたりの排ガス量 ( $\text{Nm}^3/\text{s}$ )

$\Delta T$ : 排ガス温度 (T) と気温の温度差

○無風時における有効煙突高さ Briggs式

$$\Delta H = 1.4 Q_H^{1/4} \cdot (d\theta/dz)^{-3/8}$$

ここで  $d\theta/dz$  は温位傾度 (°C/m)

なお, 排出ガス量, 排ガス温度, 実煙突高さ等の諸元データについては可能な限り, 大気汚染防止法による届出データから入力を行ったが, 排ガス温度が不明のものについては, 実煙突高さ(H)から排出されるものとした。

【長期平均濃度の重合計算】

拡散式を利用して計算される予測計算は類型化された気象条件ごとに各発生源について行うが, これらの計算結果により求められた気象条件毎の濃度をその出現確率を考慮して合成することにより, 季節別平均の重合濃度Caveを次式により算出した。

$$Cave = \sum_i \sum_j \sum_k f_{ijk} C_{ijk}$$

$C_{ijk}$ : 気象条件jikにおける濃度

$f_{ijk}$ : 気象条件jikの出現確率

i: 風向 (1~16)

j: 風速階級

k: 大気安定度階級



[資料]

## 兵庫県下の廃棄物最終処分場維持管理状況に係る調査結果

藤原英隆\* 中野貴彦 森口祐三 吉岡昌徳

### I はじめに

近年、大量生産・大量消費のライフスタイルの定着により、廃棄物は多様化・多量化しており、全国の産業廃棄物総排出量は約4億600万tに達している(2000年度実績)1)。様々な減量化対策・リサイクルが進められる中、依然として総排出量の11%にあたる約4,500万tの産業廃棄物が埋立処分される状況にある。また近年、周辺住民のコンセンサスが得られないことによる新規立地数の激減も相まって産業廃棄物処分場残余年数3.9年(2001年4月1日現在:全国平均)に現れるように、廃棄最終処分場(以下、処分場)は非常に逼迫した状況にある<sup>1)</sup>。

処分場に関しては、「廃棄物の処理及び清掃に関する法律」等に規定されている施設構造基準、施設維持管理基準に従い各々管理がなされている。しかしながら、前述の廃棄物の多様化、多量化及び処分費用の高騰等の理由から、不適正な埋立処分、不法投棄等の発生件数は増加しており<sup>2)</sup>、広範囲な環境汚染を未然に防止していくうえでも行政による適切な監視が求められている。

兵庫県では県下に立地されている処分場の維持管理状況を確認すべく1999~2001年度にかけ県下36ヶ所の処分場について浸透水、保有水(浸出液)、処理水、周縁地下水の金属類に関して調査を行った。今回、この調査結果を基に県下の処分場の維持管理状況について評価を行ったので報告する。また、この論文の一部は口頭により報告している<sup>3)</sup>。

### II 方法

#### 1. 調査対象

県下の計52処分場(遮断型処分場:1, 安定型処分場:40, 管理型処分場:11)(1999年3月31日現在設置)

安全科学部

\* 別刷請求先: 〒655-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27

兵庫県立健康環境科学研究センター

安全科学部 藤原英隆

のうち、県保健所公害課(現、県民局環境課)が立入調査を行った計36処分場(安定型処分場:26, 管理型処分場:10)を調査対象施設とした。調査時期は、2000年3月~2001年2月及び2002年3月であった。

試料の採取については、安定型処分場:浸透水-周縁地下水(上流・下流)、管理型処分場:保有水(浸出液)-処理水-周縁地下水(上流・下流)の組み合わせを基本として実施したが、処分場の構造、調査時期(渇水時期)等の関係から表1に示すように、一部試料が得られない処分場や採取した試料が規定量に満たない処分場があった。

また、初回の調査において、規定量に満たない試料や以下で述べる基準項目の金属濃度が高い試料については一部再調査を実施した。再調査は、初回調査の結果確認後、適宜すみやかに実施した。

表1 試料採取状況

#### 1. 安定型処分場

処分場 No.	試料名			
	浸透水	上流地下水	下流地下水	地下水(区別不明)
A-K-1	×	×	○	-
A-K-2	×	-	-	○
A-K-3*	○	○	○	-
A-K-4*	○	○	○	-
A-K-5*	×	○	○	-
A-K-6*	○	○	○	-
A-K-7	○	○	○	-
A-K-8*	○	○	○	-
A-K-9*	○	○	○	-
A-N-1	○	○	○	-
A-N-2	△	×	×	-
A-N-3	○	○	○	-
A-N-4	×	○	○	-
A-N-5	○	○(2検体)	○	-
A-N-6	○	○	○	-
A-N-7	○	×	×	-
A-Ta-1	○	-	-	○
A-Ta-2	○	○	○	-
A-Ta-3	△	○	○	-
A-Ta-4	○	×	○	-
A-Ta-5	×	○	○	-
A-Ta-6	△	×	×	-
A-Ta-7	△	×	×	-
A-Ta-8	○	×	×	-
A-S-1	△(3検体)	×	×	-
A-S-2	○	○	○	-

## 2. 管理型処分場

処分場 No.	試料名				
	保水(浸出液)	処理水	上流地下水	下流地下水	地下水(区分不明)
K-K-1	△	×	○	○	—
K-K-2	△	△	○	○	—
K-K-3	×	○	—	—	○
K-K-4*	○	○	—	—	○(4検体)
K-K-5	○	○	○	○	—
K-K-6	△	△	○	○	—
K-K-7*	△	○	○	○	—
K-K-8	○	○	○	○	—
K-K-9	×	△	○	○	—
K-Ta-1*	×	○	○	○	—

○：試料あり ×：試料なし △：試料規定量以下

\*：再調査実施

## 2. 調査項目

試料中の重金属類について、処分場の基準項目となっている6項目：Total-Hg（以下T-Hg）、Cd、Pb、Total-Cr（以下T-Cr）、As、Seと参考項目として2項目：Mo、Niについてそれぞれ含有試験を実施した。Crに関しては本来Cr<sup>6+</sup>が基準項目となっているが、今回の調査では、まず蛍光X線法によりT-Cr濃度を確認し、再調査後に依然として濃度が高い試料について吸光光度法によりCr<sup>6+</sup>を確認することとした。なお、結果的にはT-Cr濃度が高い試料はなかったためCr<sup>6+</sup>の分析は行っていない。

## 3. 試薬および試液

- Hg用標準溶液：原子吸光分析用Hg標準液（片山化学工業社製：1,000mg/L）を蒸留水で適宜希釈し調製した。
- Pb、Cd、Cr、As、Se、Mo、Ni用標準溶液：ICP-MS用金属21成分混合標準溶液（SPEX社製：各100mg/L）を蒸留水で適宜希釈し調製した。
- 硫酸：有害金属測定用（和光純薬社製）
- 硝酸(1.38)：有害金属測定用（和光純薬社製）
- 過マンガン酸カリウム：有害金属測定用（和光純薬社製）
- 塩酸ヒドロキシルアンモニウム：有害金属測定用（和光純薬社製）
- 塩化すず(II)二水合物：有害金属測定用（和光純薬社製）
- 吸水性樹脂加工紙：（日本触媒社製）吸水性樹脂加工紙はプロピレン不織布、吸水性高分子ポリマーシート及び防水用ポリエチレンフィルムの三層構造になっており、これをろ紙カッターで47mmφに裁

断し、表面を均一にするため油圧プレスを用いて2～3tの負荷で圧縮成型を行った後、使用時までデシケーターにて保存した。

## 4. 装置

- 還元気化原子吸光光度計：日本インスツルメンツ製マーキュリー/RA-2
- 原子吸光光度計：日立製作所製 180-30型
- 蛍光X線装置：理学電機製 波長分散型蛍光X線分析装置 RIX-2000

## 5. 分析方法

### 1) T-Hgの分析

試料中のT-Hgの含有試験は、JIS K0102<sup>4)</sup>の還元気化原子吸光法に従い行った。

還元気化されたHgについて波長253.7nmにおけるHgの原子吸光を測定し定量を行った。定量下限値は、0.0005mg/Lとした。

### 2) Pb、Cd、T-Cr、As、Se、Mo、Niの分析

#### 2-1) 試料の前処理

予め硝酸2mLを添加した試料1000mLをビーカー1Lに採り、ガスバーナーで加熱濃縮後、ホットプレート上でゆるやかに乾固させ、2～3%硝酸溶液10mLを添加し溶解させた。

#### 2-2) 試料の分析

上記前処理試料を、Cdの原子吸光光度法による分析及びPb、T-Cr、As、Se、Mo、Niの蛍光X線法による分析に供した。

Cdについては波長228.8nmにおけるCdの原子吸光を測定し定量を行った。定量下限値は、0.005mg/Lとした。

Pb、T-Cr、As、Se、Mo、Niについては、上記前処理試料5mLを47mmφ開放型プラスチックろ紙ホルダー（ADVANTEC社製PPO-47）に固定した吸水性樹脂加工紙に点滴・吸収させた後、恒温器中65℃、6時間以上乾燥させたものを試料とし蛍光X線法により定量を行った<sup>5-6)</sup>。分析条件を表2に示す。

各金属の蛍光X線スペクトル：Pb-Lβ(2θ: 28.26)、Cr-Kα(2θ: 69.36)、As-Kα(2θ: 34.00)、Se-Kα(2θ: 34.00)、(Mo-Kα(2θ: 20.33)、Ni-Kα(2θ: 48.67)の強度を測定し定量を行った。(Pb、Asについては、As-Kα線がPb-Laに重なるため、Pbの測定にはPb-Lβ線を使用し、Asの測定ではPbとの重なり補正式によりX線強度の補正を行った。)各金属の定量下限値は

0.005mg/Lとした。

また、表1の△の試料については試料が規定量の1000mLに満たず100mL, 500mLにて分析を実施したため定量下限値が0.05mg/L, 0.01mg/Lとなっている。

表2 蛍光X線分析条件

装置	RIX-2000 (理学電機(株)製)
X線管	縦型 Rh ターゲット
電圧-電流	50kV-60mA
分光結晶	LiF 又は Ge
有効照射面積	35 mm $\phi$
検出器	シンチレーション計数管
測定方式	定時計数法
試料ホルダー	フィルター専用中空 Al 製

### III 結果と考察

#### 1. 安定型処分場について

##### 1) 浸透水の分析結果

表3に浸透水の調査結果を示す。安定型処分場全調査対象26処分場のうち21処分場、23地点で採取した試料について分析を行った。

表3 安定型処分場：浸透水の金属類分析結果

サンプル No.	処分場 No.	金属類含有濃度 (mg/L)							
		T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni
1*	A-K-3	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.027	<0.005
2*	A-K-4	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
3*	A-K-6	<0.0005	<0.005	0.010	<0.005	0.015	<0.005	0.028	<0.005
4	A-K-7	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
5*	A-K-8	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
6*	A-K-9	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.007	<0.005
7	A-N-1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
8	A-N-2	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
9	A-N-3	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
10	A-N-5	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
11	A-N-6	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
12	A-N-7	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
13	A-Ta-1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
14	A-Ta-2	<0.0005	<0.005	0.005	<0.005	0.008	<0.005	0.045	<0.005
15	A-Ta-3	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
16	A-Ta-4	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.007	<0.005	0.006	<0.005
17	A-Ta-6	<0.0005	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
18	A-Ta-7	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
19	A-Ta-8	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
20	A-S-1	<0.0005	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
21	A-S-1	<0.0005	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
22	A-S-1	<0.0005	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.060	<0.01
23	A-S-2	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.018	<0.005

\* 再調査に基づく分析結果

主に、Pb, As, Moが検出された。その詳細はPbが2検体 (0.005mg/L, 0.010mg/L), Asが3検体 (0.007mg/L, 0.008mg/L, 0.015mg/L), Moが7検体 (0.006~0.060mg/L)であった。

そのうち、基準項目であるPb, Asが確認されたのは、21処分場中3処分場であった。

また、表1の安定型処分場：浸透水において△で示される6処分場8検体については試料採取量の関係から定量下限値が0.01mg/L, 0.05mg/Lとなっており厳密な評価は行えなかった。

#### 2) 周縁地下水の分析結果

表4に周縁地下水の調査結果を示す。安定型処分場全調査対象26処分場のうち20処分場、37地点で採取した試料について分析を行った。

主に、Pb, T-Cr, As, Se, Mo, Niが検出された。その詳細はPbが4検体 (0.005~0.010mg/L), T-Crが4検体 (0.006~0.010mg/L), Asが9検体 (0.005~0.009mg/L), Seが1検体 (0.005mg/L), Moが6検体 (0.005~0.036mg/L), Niが9検体 (0.005~0.031mg/L), であった。

そのうち、基準項目であるPb, T-Cr, As, Seが確認されたのは20処分場中9処分場であった。

3) 処分場維持管理状況の評価

浸透水と周縁地下水における基準項目の検出結果から処分場維持管理状況について評価を行い、以下のA～Dの4段階に分類した結果を表5に示す。

A：周縁地下水及び浸透水において金属類が検出されていないケースで、現時点で概ね適正な維持管理がなされていると考えられる処分場。（今回は周縁地下水及び浸透水が非採取のケースも含めた。）

B：周縁地下水に金属類が検出されたが浸透水には検出されておらず、元来土壤中に含有されていた金属等自然由来による影響が推測されるケースで、現時点で概ね適正な維持管理がなされていると考

えられる処分場。

C：浸透水が規定量以下、周縁地下水が非採取のケースで、再調査により確認が必要な処分場。

D：周縁地下水に金属類が検出されており同様の金属類が浸出水に検出されている若しくは浸透水が非採取、規定量以下のケースで、埋立廃棄物による影響の可能性について引き続き監視が必要な処分場。

以上の分類結果によると、現時点では概ね適正な維持管理がなされていると考えられる処分場は16処分場（A：13処分場、B：3処分場）であった。

また、今後再調査の実施若しくは引き続き監視が必

表4 安定型処分場：周縁地下水の金属類分析結果

サンプル No.	処分場 No.	地下水 名称	金属類含有濃度 (mg/L)							
			T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni
1	A-K-1	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<u>0.008</u>	<0.005	<0.005	<u>0.014</u>	<0.005
2	A-K-2		<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
3*	A-K-3	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.009</u>	<0.005	<0.005	<0.005
4*	A-K-3	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>
5*	A-K-4	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.008</u>	<0.005
6*	A-K-4	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
7*	A-K-5	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
8*	A-K-5	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.005</u>	<0.005
9*	A-K-6	北	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
10*	A-K-6	南	<0.0005	<0.005	<u>0.005</u>	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<u>0.015</u>	<0.005
11	A-K-7	A	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.005</u>	<u>0.036</u>	<u>0.005</u>
12	A-K-7	B	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.005</u>	<0.005	<0.005	<0.005
13*	A-K-8	上流	<0.0005	<0.005	<u>0.009</u>	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<0.005
14*	A-K-8	下流	<0.0005	<0.005	<u>0.007</u>	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>
15*	A-K-9	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
16*	A-K-9	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
17	A-N-1	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
18	A-N-1	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
19	A-N-3	1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
20	A-N-3	2	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
21	A-N-4	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
22	A-N-4	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
23	A-N-5	上流1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.005</u>
24	A-N-5	上流2	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.009</u>
25	A-N-5	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.005</u>
26	A-N-6	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
27	A-N-6	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
28	A-Ta-1		<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.010</u>	<0.005
29	A-Ta-2	1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<0.005
30	A-Ta-2	2	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.007</u>	<0.005	<u>0.010</u>	<0.005
31	A-Ta-3	北	<0.0005	<0.005	<u>0.010</u>	<u>0.010</u>	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.026</u>
32	A-Ta-3	南	<0.0005	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.031</u>
33	A-Ta-4	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<u>0.018</u>
34	A-Ta-5	①	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
35	A-Ta-5	②	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
36	A-S-2	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
37	A-S-2	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005

\*再調査に基づく分析結果

要な処分場は10処分場（C：4処分場，D：6処分場）であった。

2. 管理型処分場について

1) 保有水（浸出液）の分析結果

表6の1に保有水の調査結果を示す。管理処分場全調査対象10処分場のうち7処分場，7地点で採取した試料について分析を行った。

主にT-Cr, As, Mo, Niが検出された。その詳細はT-Crが2検体（0.006mg/L, 0.006mg/L），Asが1検体（0.008mg/L），Moが4検体（0.038～10mg/L），Niが2検体（0.006mg/L, 0.060mg/L）であった。

基準項目であるT-Cr, Asが確認されたのは，7処分場中3処分場であった。

また，表1の保有水において△で示される4処分場4検体については試料採取量の関係から定量下限

値が0.05mg/Lとなっており厳密な評価は行えなかった。

2) 処理水の分析結果

表6の2に処理水の調査結果を示す。管理処分場全調査対象10処分場のうち9処分場，10地点で採取した試料について分析を行った。

処理水も保有水と同様に，主に，T-Cr, As, Mo, Niが検出された。その詳細はT-Crが1検体（0.006mg/L），Asが2検体（0.010mg/L, 0.012mg/L），Moが6検体（0.006～10mg/L），Niが1検体（0.005mg/L,）であった。

基準項目であるT-Cr, Asが確認されたのは，9処分場中3処分場であった。

また，表1の処理水において△で示される3処分場4検体については試料採取量の関係から定量下限値が0.05mg/Lとなっており厳密な評価は行えなかった。

表5 安定型処分場の維持管理状況の評価

処分場 No.	試料名				評価
	浸透水	上流地下水	下流地下水	地下水（区別不明）	
A-K-1	×	×	T-Cr (Mo)	—	D
A-K-2	×	—	—	N.D.	A
A-K-3	N.D. (Mo)	As	As (Ni)	—	B
A-K-4	N.D.	N.D. (Mo)	N.D.	—	A
A-K-5	×	N.D.	N.D. (Mo)	—	A
A-K-6	Pb, As (Mo)	N.D.	Pb, As (Mo)	—	D
A-K-7	N.D.	Se (Mo,Ni)	As	—	B
A-K-8	N.D.	Pb, As	Pb, As (Ni)	—	B
A-K-9	N.D. (Mo)	N.D.	N.D.	—	A
A-N-1	N.D.	N.D.	N.D.	—	A
A-N-2	△	×	×	—	C
A-N-3	N.D.	N.D.	N.D.	—	A
A-N-4	×	N.D.	N.D.	—	A
A-N-5	N.D.	N.D. (Ni)	N.D. (Ni)	—	A
A-N-6	△	N.D.	T-Cr	—	D
A-N-7	N.D.	×	×	—	A
A-Ta-1	N.D.	—	—	N.D. (Mo)	A
A-Ta-2	Pb, As (Mo)	As	As (Mo)	—	D
A-Ta-3	△	Pb, T-Cr (Ni)	T-Cr (Ni)	—	D
A-Ta-4	As (Mo)	×	As (Ni)	—	D
A-Ta-5	×	N.D.	N.D.	—	A
A-Ta-6	△	×	×	—	C
A-Ta-7	△	×	×	—	C
A-Ta-8	N.D.	×	×	—	A
A-S-1	△ (Mo)	×	×	—	C
A-S-2	N.D. (Mo)	N.D.	N.D.	—	A

×：試料なし △：試料規定量以下

A：現時点で概ね適正

B：自然由来の金属の影響が推定されるが現時点で概ね適正

C：再度確認が必要

D：引き続き監視が必要

### 3) 周縁地下水の分析結果

表7に周縁地下水の調査結果を示す。管理処分場全調査対象10処分場のうち10処分場、20地点で採取した試料について分析を行った。

周縁地下水では、Pb、T-Cr、As、Mo、Niが検出された。その詳細はPbが1検体(0.006mg/L)、T-Crが1検体(0.005mg/L)、Asが3検体(0.005~0.006mg/L)、Moが4検体(0.009~0.097mg/L)、Niが9検体(0.006~0.018mg/L)であった。

基準項目であるPb、T-Cr、Asが確認されたのは、10処分場中4処分場であった。

### 4) 処分場維持管理状況の評価

保有水(浸出液)、処理水、周縁地下水における基準項目の検出結果から処分場維持管理状況について評価を行い、以下のA~Cの3段階に分類した結果を表8に示す。

A: 周縁地下水及び保有水において金属類が検出されていないケースで、現時点で概ね適正な維持管理がなされていると考えられる処分場。(今回は保有水が規定量以下及び保有水が非採取のケースも含めた。)

B: 周縁地下水に金属類が検出されたが保有水には同種の金属が検出されておらず、元来土壤中に含まれていた金属等自然由来による影響が推測されるケースで、現時点で概ね適正な維持管理がなされていると考えられる処分場。

C: 周縁地下水に金属が検出されており保有水が非採取のケースで、引き続き監視が必要な処分場。

以上の分類結果によると、現時点では概ね適正な維持管理がなされていると考えられる処分場は9処分場(A: 6処分場、B: 3処分場)であった。また、今後引き続き監視が必要な処分場は1処分場であった。

### 3. 初回調査と再調査結果の比較

II-1で示したように初回の調査において、規定量に満たない試料や基準項目の金属濃度が高い試料の一部について再度調査を実施した。安定型処分場及び管理型処分場における初回調査結果と再調査結果の比較を表9、10に示す。安定型処分場の周縁地下水について、両者の金属検出検体数を比較すると、初回調査ではCd: 1検体、Pb: 11検体、T-Cr: 2検体、As: 8検体、Se:

表6 管理型処分場: 保有水(浸出液)と処理水の金属類分析結果

#### 1. 保有水(浸出液)

サンプル No.	処分場 No.	金属類含有濃度 (mg/L)							
		T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni
1	K-K-1	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	10	<0.05
2	K-K-2	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
3*	K-K-4	<0.0005	<0.005	<0.005	0.006	<0.005	<0.005	0.038	<0.005
4	K-K-5	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.008	<0.005	1.4	0.006
5	K-K-6	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
6	K-K-7	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
7	K-K-8	<0.0005	<0.005	<0.005	0.006	<0.005	<0.005	0.45	0.060

#### 2. 処理水

サンプル No.	処分場 No.	金属類含有濃度 (mg/L)							
		T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni
1	K-K-2	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.70	<0.05
2	K-K-3	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
3*	K-K-4	<0.0005	<0.005	<0.005	0.006	<0.005	<0.005	0.033	<0.005
4	K-K-5	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.010	<0.005	3.0	0.005
5	K-K-6	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
6*	K-K-7	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.006	<0.005
7	K-K-8	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
8	K-K-9	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	10	<0.05
9	K-K-9	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
10	K-Ta-1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.012	<0.005	0.10	<0.005

\*再調査に基づく分析結果

表7 管理型処分場：周縁地下水の金属類分析結果

サンプル No.	処分場 No.	地下水 名称	金属類含有濃度 (mg/L)							
			T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni
1	K-K-1	場内	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
2	K-K-1	場外	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
3	K-K-2	井戸1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
4	K-K-2	井戸2	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
5	K-K-3		<0.0005	<0.005	<0.005	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.007
6*	K-K-4	北	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
7*	K-K-4	南	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
8*	K-K-4	No1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.005	<0.005	<0.005	<0.005
9*	K-K-4	No3	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.009	<0.005
10	K-K-5	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.097	0.006
11	K-K-5	下流	<0.0005	<0.005	0.006	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.018
12	K-K-6	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.011
13*	K-K-7	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.018
14*	K-K-7	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.012
15	K-K-8	A	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.006	<0.005	<0.005	0.015
16	K-K-8	B	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.006	<0.005	0.019	0.015
17	K-K-9	B	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
18	K-K-9	C	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.011	<0.005
19*	K-Ta-1	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.009
20*	K-Ta-1	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005

\* 再調査に基づく分析結果

1 検体, Mo: 1 検体, Ni: 5 検体であったが, 再調査では Cd: 0 検体, Pb: 3 検体, T-Cr: 0 検体, As: 5 検体, Se: 0 検体, Mo: 3 検体, Ni: 2 検体となり, Mo 以外の項目について検出数は減少した。また, 管理型処分場の周縁地下水においても同様の傾向が観察された。

初回調査では懸濁物質を含む試料が多く, これは試料採取時に底質を巻き上げてしまったことが原因として考えられた。従って, 再調査においては専用の採水ポンプの設置等巻き上げ防止対策を施すとともに, 分析前に試料を静置して懸濁物質の分離を行い, その上澄みについ

て分析を行うこととした。その結果, 巻き上げの影響が改善され初期調査と比較して再調査において検出数が減少したと考えられる。処分場の観測井戸等は内径が小さく試料採取が困難な場合が多いことから, 今後は試料採取にあたり巻き上げ防止に十分努める必要がある。

#### IV まとめ

兵庫県下に設置されている安定型処分場: 26 処分場と管理型処分場: 10 処分場の, 浸透水, 保有水 (浸出液), 処理水, 周縁地下水の金属類 (基準項目: Total-

表8 管理型処分場の維持管理状況の評価

処分場 No.	試料名					評価
	保有水 (浸出液)	処理水	上流地下水	下流地下水	地下水 (区分不明)	
K-K-1	△ (Mo)	×	N.D.	N.D.	-	A
K-K-2	△	△ (Mo)	N.D.	N.D.	-	A
K-K-3	×	N.D.	-	-	T-Cr (Ni)	C
K-K-4	T-Cr (Mo)	T-Cr (Mo)	-	-	N.D.・N.D.・As・N.D. (Mo)	B
K-K-5	As (Mo,Ni)	As (Mo,Ni)	N.D. (Mo,Ni)	Pb (Ni)	-	B
K-K-6	△	△	×	N.D. (Ni)	-	A
K-K-7	△	N.D. (Mo)	N.D. (Ni)	N.D. (Ni)	-	A
K-K-8	T-Cr (Mo,Ni)	N.D.	As (Ni)	As (Mo,Ni)	-	B
K-K-9	×	△ (Mo)	N.D.	N.D. (Mo)	-	A
K-Ta-1	×	As (Mo)	N.D. (Ni)	N.D.	-	A

×: 試料なし △: 試料規定量以下

A: 現時点で概ね適正

B: 自然由来の金属の影響が推定されるが現時点で概ね適正

C: 再度確認が必要

Hg, Cd, Pb, Total-Cr, As, Se及び参考項目: Mo, Ni) について分析を行った結果, 以下のことが分かった。

1. 安定型処分場について

浸透水では主に Pb, As, Mo が, 周縁地下水では主に Pb, T-Cr, As, Se, Mo, Ni が検出された。両者の結果から全調査対象26処分場の評価を行った結果, A: 現時点では概ね適正な維持管理がなされていると考えられる処分場が13処分場, B: 自然由来の金属の影響が推測されるが概ね適正な維持管理がなされていると考えられる処分場が3処分場, C: 今後再調査の実施が必要な処分場が4処分場, D: 埋立廃棄物の影響の可能性に

ついて引き続き監視が必要な処分場は6処分場となった。

2. 管理型処分場について

保有水(浸出液), 処理水では主に T-Cr, As, Mo, Ni が, 地下水では主に Pb, T-Cr, As, Mo, Ni が検出された。両者の結果から全調査対象10処分場の評価を行った結果, A: 現時点では概ね適正な維持管理がなされていると考えられる処分場が6処分場, B: 自然由来の金属の影響が推測されるが概ね適正な維持管理がなされていると考えられる処分場が3処分場, C: 今後再調査の実施が必要な処分場が1処分場となった。

3. 初回調査と再調査結果の比較について

初回の調査において, 規定量に満たない試料や基準項

表9 初回調査と再調査結果の比較: 安定型処分場

1. 浸透水

サンプル No.	処分場 No.		金属類含有濃度 (mg/L)							
			T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni
初回	1	A-K-3	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
初回	2	A-K-4	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
初回	3	A-K-6	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
初回	5	A-K-8	<0.0005	<0.005	<u>0.008</u>	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
初回	6	A-K-9	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.020</u>	<0.005
再調査	1	A-K-3	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.027</u>	<0.005
再調査	2	A-K-4	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	3	A-K-6	<0.0005	<0.005	<u>0.010</u>	<0.005	<u>0.015</u>	<0.005	<u>0.028</u>	<0.005
再調査	5	A-K-8	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	6	A-K-9	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.007</u>	<0.005

2. 周縁地下水

サンプル No.	処分場 No.	地下水 名称	金属類含有濃度 (mg/L)								
			T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni	
初回	3	K-K-3	地下水上流	<0.0005	<0.005	<u>0.019</u>	<0.005	<u>0.014</u>	<0.005	<0.005	<0.005
初回	4	A-K-3	地下水下流	<0.0005	<0.005	<u>0.094</u>	<0.005	<u>0.022</u>	<0.005	<0.005	<u>0.008</u>
初回	5	A-K-4	地下水上流	<0.0005	<0.005	<u>0.067</u>	<u>0.005</u>	<u>0.021</u>	<0.005	<0.005	<u>0.008</u>
初回	6	A-K-4	地下水下流	<0.0005	<0.005	<u>0.028</u>	<0.005	<u>0.007</u>	<0.005	<0.005	<0.005
初回	7	A-K-5	地下水上流	<0.0005	<0.005	<u>0.016</u>	<0.005	<u>0.009</u>	<0.005	<0.005	<0.005
初回	8	A-K-5	地下水下流	<0.0005	<u>0.006</u>	<u>0.017</u>	<u>0.011</u>	<u>0.007</u>	<0.005	<0.005	<u>0.017</u>
初回	9	A-K-6	地下水北	<0.0005	<0.005	<u>0.010</u>	<0.005	<u>0.008</u>	<0.005	<0.005	<u>0.007</u>
初回	10	A-K-6	地下水南	<0.0005	<0.005	<u>0.028</u>	<0.005	<u>0.012</u>	<0.005	<u>0.040</u>	<u>0.008</u>
初回	13	A-K-8	地下水上流	<0.0005	<0.005	<u>0.007</u>	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
初回	14	A-K-8	地下水下流	<0.0005	<0.005	<u>0.015</u>	<0.005	<0.005	<u>0.005</u>	<0.005	<0.005
初回	15	A-K-9	地下水上流	<0.0005	<0.005	<u>0.039</u>	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	3	A-K-3	地下水下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.009</u>	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	4	A-K-3	地下水下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>
再調査	5	A-K-4	地下水上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.008</u>	<0.005
再調査	6	A-K-4	地下水下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	7	A-K-5	地下水上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	8	A-K-5	地下水下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<u>0.005</u>	<0.005
再調査	9	A-K-6	地下水北	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	10	A-K-6	地下水南	<0.0005	<0.005	<u>0.005</u>	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<u>0.015</u>	<0.005
再調査	13	A-K-8	地下水上流	<0.0005	<0.005	<u>0.009</u>	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	14	A-K-8	地下水下流	<0.0005	<0.005	<u>0.007</u>	<0.005	<u>0.006</u>	<0.005	<0.005	<u>0.006</u>
再調査	15	A-K-9	地下水上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	16	A-K-9	地下水下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005



表10 初回調査と再調査結果の比較：管理型処分場

1. 保有水（浸出液）

サンプル No.	処分場 No.	金属類含有濃度 (mg/L)								
		T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni	
初回	3	K-K-4	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.05	<0.05
再調査	3	K-K-4	<0.0005	<0.005	<0.005	0.006	<0.005	<0.005	0.038	<0.005

2. 処理水

サンプル No.	処分場 No.	金属類含有濃度 (mg/L)								
		T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni	
初回	3	K-K-4	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.11	<0.05
初回	6	K-K-7	<0.0005	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
再調査	3	K-K-4	<0.0005	<0.005	<0.005	0.006	<0.005	<0.005	0.033	<0.005
再調査	6	K-K-7	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.006	<0.005

3. 周縁地下水

サンプル No.	処分場 No.	地下水 名称	金属類含有濃度 (mg/L)								
			T-Hg	Cd	Pb	T-Cr	As	Se	Mo	Ni	
初回	6	K-K-4	北	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.007	<0.005	0.021	<0.005
初回	7	K-K-4	南	<0.0005	<0.005	0.041	<0.005	0.018	<0.005	<0.005	<0.005
初回	8	K-K-4	No1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.022	<0.005	<0.005	<0.005
初回	9	K-K-4	No3	<0.0005	<0.005	0.011	<0.005	0.019	<0.005	0.026	<0.005
初回	13	K-K-7	上流	<0.0005	<0.005	0.046	<0.005	0.013	<0.005	<0.005	0.011
初回	14	K-K-7	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.011	<0.005	<0.005	<0.005
初回	19	K-Ta-1	上流	<0.0005	<0.005	0.008	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.009
初回	20	K-Ta-1	下流	<0.0005	<0.005	0.031	0.006	<0.005	<0.005	<0.005	0.008
再調査	6	K-K-4	北	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	7	K-K-4	南	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	8	K-K-4	No1	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	0.005	<0.005	<0.005	<0.005
再調査	9	K-K-4	No3	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.009	<0.005
再調査	13	K-K-7	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.018
再調査	14	K-K-7	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.012
再調査	19	K-Ta-1	上流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.009
再調査	20	K-Ta-1	下流	<0.0005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005

目の濃度が高い試料の一部について再度調査を実施した。その結果を比較すると、初回調査に比べ再調査ではほぼ全ての金属類で検出数が減少する傾向がみられた。この原因としては、初回調査では多くの試料で試料採取時の底質等巻き上げの影響を受けたが、再調査では巻き上げ防止対策や試料の静置による懸濁物の分離等の実施により改善されたことが考えられる。今後は試料採取にあたり巻き上げ防止に十分努める必要がある。

謝 辞

本調査において処分場の試料採取にご協力頂きました、兵庫県環境局環境整備課及び各保健所公害課（現、県民局環境課）の皆様へ感謝致します。

文 献

- 1) 環境省報道発表資料：「産業廃棄物の排出及び処理状況等（平成12年度実績）について」、2003年1月24日
- 2) 環境省報道発表資料：「産業廃棄物の不法投棄の状況（平成13年度）について」、2002年12月26日
- 3) 森口祐三，藤原英隆，吉田光方子，吉岡昌徳：第23回全国都市清掃研究発表会講演論文集，p.352-354，2002年1月（京都）
- 4) 日本規格協会編集：JISハンドブック2002 No.53 環境測定Ⅱ，p.572-575，日本規格協会，東京（2002）
- 5) 森口祐三，吉岡昌徳，中野貴彦：第19回全国都市清掃研究発表会講演論文集，p.309-311，1997年2月（神奈川）

- 6) 藤原英隆, 森口祐三, 吉岡昌徳 : 日本水環境学会関西支部第3回研究発表会・市民シンポジウム講演集,  
p.11-12, 2001年11月(大阪)  
(受理 2003年11月25日)

## [資料]

## 兵庫県下における水道原水および水道水中カーバメート系農薬の実態調査

巻 幡 希 子<sup>1\*</sup>  
谷 本 高 敏<sup>1</sup>

川 元 達 彦<sup>1</sup>  
河 野 義 一<sup>2</sup>

## I はじめに

カーバメート系農薬は殺虫剤や殺菌剤として一般的に使用されている農薬である。近年、カーバメート系農薬であるメソミル、ベノミル、アルジカルブおよびカルバリルが内分泌攪乱作用を持っているという疑いが生じている<sup>1)</sup>。また、2004年4月から施行される水道法改正に伴い、水質管理目標設定項目に農薬類101種類がリストアップされ、新たに数種のカーバメート系農薬の目標値が示された<sup>2)</sup>。内分泌攪乱化学物質は非常に微量で生体に影響を与えるため、水道水の安全性を確保するためには、水中農薬の低濃度レベルにおける測定が必要である。

カーバメート系農薬の多くが、熱に不安定なため、HPLC-蛍光光度法<sup>3)</sup>で分析されてきた。しかし、HPLC-蛍光光度法で得られる蛍光スペクトルは特異性が低いので、最近、LC/MS法が使用されるようになってきている。LC部で良好な分離を得るための移動相への添加剤や不揮発性の緩衝液がイオン化効率を下げることでMS部における検出感度を低下させるため、添加剤の低減化<sup>4)</sup>やポストカラムにおける不揮発性緩衝液の除去法<sup>5)</sup>など、種々の検討が行われている。著者らは、移動相に添加剤を使用しないアセトニトリル/水系を用いたLC/ESI/MSによる迅速かつ高感度なカーバメート系農薬10種類（内分泌攪乱作用が疑われる上記4農薬を含む）の一斉分析法の開発を行った<sup>6)</sup>。今回、この方法を用いて、兵庫県下の水道原水および水道水中カーバメート系農薬10種類の濃度を測定したので報告する。

## II 材料と方法

## 1. 試料

<sup>1</sup>水質環境部, <sup>2</sup>健康生活部健康局生活衛生課  
\* 別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29  
兵庫県立健康環境科学研究所  
水質環境部 巻 幡 希 子

2002年5月から11月までに当センターで行った飲料水水質試験およびゴルフ場使用農薬に関わる水質試験の検体131試料(56地点, 原水84検体, 水道水47検体)を対象とした。

## 2. 測定対象農薬

環境ホルモン作用が疑われているメソミル、ベノミル、アルジカルブ、カルバリルに、兵庫県下で使用されている<sup>7)</sup>オキサミル、エチオフェンカルブ、ベンフラカルブ、フラチオカルブ、カルボスルフェンおよびベンフラカルブおよびカルボスルフェンの分解物であり、水道水質監視項目として指針値が設定されているカルボフランの合計10種のカーバメート系農薬を測定対象農薬とした。ベノミルは有機溶媒中で速やかにカルベンダジムに分解するため<sup>8)</sup>、カルベンダジムとして測定した。

## 3. 分析方法

既報に示したLC/ESI/MS法<sup>6)</sup>を用いて分析した。pH3.5に調整した試料水500mLを固相カートリッジ(Sep Pak Plus PS-2)に10ml/minの速度で通水し、保持された農薬をアセトニトリル3.5mlを用いて溶出後、窒素ガス気流下で0.5mlまで濃縮したものを検液としてLC/ESI/MSによって測定した。

## III 結果および考察

## 1. 農薬別検出状況

分析対象とした10種の農薬のうち検出されたのはオキサミル、メソミル、カルベンダジムおよびカルボフランの4種であった。カルベンダジムとカルボフランは日本では農薬登録されておらず、使用されていないが、カルベンダジムはベノミルやチオフェネトメチルの、カルボフランはベンフラカルブやカルボスルフェンの分解物として知られ、これらの農薬は兵庫県下でも比較的多く使用されている<sup>7)</sup>。検出された農薬の検出状況を表1に示す。最も多くの地点から検出されたのは、カルベンダジムで56地点のうち15地点から検出された。調査時

表1 農薬別検出状況

	オキサミル	メソミル	カルベンダジム	カルボフラン
検出地点数/全56	8	3	15	8
検出検体数(原水)/全84	16	6	16	9
検出検体数(水道水)/全47	0	0	1	5
最高濃度 (ng/L)	510	240	63	42
検出下限値 (ng/L)	4	1	0.3	0.4

表2 水源別検出地点数および検出濃度範囲

水源種別	オキサミル	メソミル	カルベンダジム	カルボフラン	調査地点数	調査検体数
深井戸	2 4 - 25	0 0	0 0	0 0	6	12
浅井戸	3 20 - 200	0 0	10 0.3 - 63	4 0.4 - 4.5	28	54
伏流水	0 0	0 0	1 0.3	1 0.9 - 3.3	3	7
河川水	1 510	2 28 - 31	3 0.3 - 36	3 0.4 - 42	16	41
湖沼水	0 0	0 0	1 15	0 0	1	4
ゴルフ場調整池	2 47 - 350	1 20 - 240	0 0	0 0	2	13

上段：検出地点数  
下段：検出濃度範囲 (ng/L)

期を変えて2回測定した地点もあるので検体数は地点数より多いが、すべての原水からの検出率はオキサミルおよびカルベンダジムが19%、メソミルが7%、カルボフランが11%であった。水道水からの検出率はカルベンダジムが2%、カルボフランが11%であり、オキサミルおよびメソミルは全く検出されなかった。監視項目として指針値が設定されているカルボフランの最高濃度は42ng/Lであることを示したが、指針値5μg/Lの1%以下であった。

## 2. 水源別検出状況

水源別農薬検出地点数および検出濃度範囲を表2に示した。浅井戸28地点のうち農薬が検出されたのは13地点で、検出率46%と最も高い値を示した。深井戸は調査した6地点のうち2地点から検出され、検出率は33%であった。被圧帯水層から取水する深井戸(深度30m以上)に比べ、不圧地下水を取水する浅井戸(深度10~30m)は地表に散布された農薬が混入し易いものと考えられた。また、これら井戸水からの検出率はゴルフ場や水田などから農薬が流入し易いと考えられる河川水からの検出率(31%)より高い検出率であった。兵庫県における上水道の水源の種類は、井戸水などの地下水の数が、河川水や湖沼水である表流水の約5倍で、水道原

水として用いている水量としては、両者ほぼ同程度となっており<sup>9)</sup>、地下水に大きく依拠している当県としては、今後、監視強化の水源として注目すべきである。

## 3. 各農薬の月別検出率

月毎の調査地点数に対する各農薬の検出地点数の割合を図1に示した。調査地点数が月によって異なるため、統計的に傾向を明らかにすることは出来なかった。兵庫県では水道水質管理計画に基づく水道原水および水道水の水質検査を農薬使用の多い6月および10月に行っているが、今回の結果でも比較的6月および10月によく農薬が検出されていた。しかし、カルベンダジムは5、6、

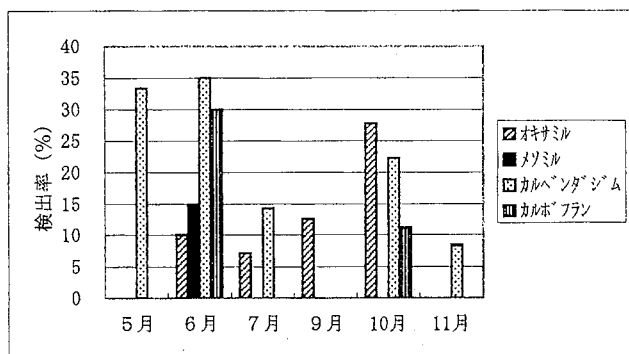


図1 各農薬の月別検出率 (%)

7, 10, 11月のいずれの月も検出されていた。前駆物質であるベノミルおよびチオフェーネトメチルの使用量が比較的多いこと、オキサミル、メソミルおよびカルボフランが春と秋を中心に使用される殺虫剤であるのに比べ、ベノミルおよびチオフェーネトメチルは殺菌剤として季節を問わず散布されること、チオフェーネトメチルに土壤残留性<sup>10)</sup>があり、ベノミルに比べ徐々にカルベンダジムに変化すること<sup>11)</sup>などが原因ではないかと考えられた。

#### 4. 浄水処理過程での農薬の除去性

浄水処理過程における農薬の除去性を評価するために、農薬が検出された原水とその水道水について農薬濃度を検討した。原水と水道水がそろっていた19組のうち原水から農薬が検出されたAからNの16組14地点について原水および水道水中農薬濃度を図2に示した。C地点とD地点は6月と10月の2回測定したものである。オキサミルはA, Bの2地点の原水から検出したが、いずれも水道水からは検出しなかった。メソミルもC, D2地点の6月の原水から検出したが、いずれも水道水からは検出しなかった。カルベンダジムは10地点11原水から検出したが、水道水からは1地点から痕跡程度が検出ただけであった。カルボフランは8地点9原水から検出し、その内の水道水5検体から0.9ng/Lから12ng/Lの濃度で検出した。農薬の水道水中濃度を原水中濃度で割った値を浄水処理後の残存率とするとカルボフランの

残存率は22%から93%で、カルボフランは比較的除去性の悪い農薬であることが考えられた。著者らの過去の実験において<sup>6)</sup>、水道水中の塩素によってカルベンダジムは比較的良く分解されたが、カルボフランは全く分解されなかった。このことから、カルボフランの除去性の悪さの一因として、浄水処理過程で添加される塩素によって分解されにくいことが考えられた。

オキサミルおよびメソミルは例数が少なかったため、各2例の結果から除去性を評価することは困難であった。今後、原水のみ測定している地点は出来るだけ水道水も採水し測定する必要があると考えられる。また、低濃度ではあったが水道水中から検出された農薬について、オゾンによる分解や活性炭吸着による除去性に関する調査研究を行う必要がある。

#### IV まとめ

2002年5月から11月までに採水した兵庫県下の水道原水および水道水131試料について、10種類のカーバメート系農薬を測定した結果、オキサミル、メソミル、カルベンダジムおよびカルボフランが検出された。浅井戸からの検出率は46%と河川水よりも高かった。また、浄水処理過程における除去性はカルボフランが比較的悪いことが分かった。

#### 文 献

- 1) 環境庁：「外因性内分泌攪乱化学物質問題への環境庁の対応方針について」-環境ホルモン戦略計画 SP EED'98, 1998年5月
- 2) 厚生科学審議会生活環境水道部会水質専門委員会：「水質基準の見直し等について」, 2003年4月
- 3) 上水試験方法2001版, p424-427, 日本水道協会出版, 東京(2001)
- 4) Crescenzi, C., Corcia, A. D., Guerriero, E. and Samperi, R. : Development of a multiresidue method for analyzing pesticide traces in water based on solid-phase extraction and electrospray liquid chromatography mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 479-488 (1997)
- 5) Gardner, M. S., Voyksner, R. D. and Haney, C. A. : Analysis of pesticides by LC-electrospray-MS with postcolumn removal of nonvolatile buffers. *Anal. Chem.*, 72, 4659-4666 (2000)
- 6) Makiata, N., Kawamoto, T. and Teranishi, K. : Simultaneous analysis of carbamate pesticides in

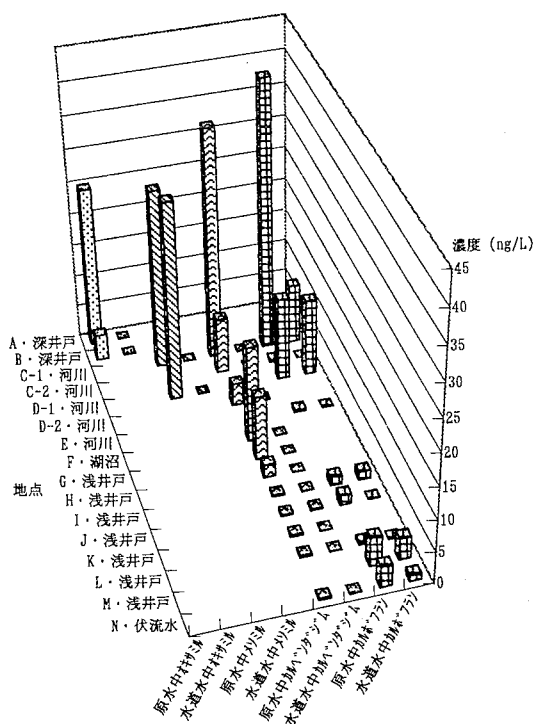


図2 浄水処理過程での農薬の除去性

tap and raw water by LC/ESI/MS. Anal. Sci., 19, 543-549 (2003)

7) 農薬データベース, 県別の出荷量

<http://w-chemdb.nies.go.jp/kis-plus/n-start.ASP>

8) Roberts, T. and Hutson, D. H. : Metabolic Pathways of Agrochemicals Part 2, p.1113-1119, Royal Society of Chemistry, U.K. (1999)

9) 兵庫県県民生活部生活衛生課 : 水道施設現況調査,

2002年3月

10) 上水試験方法解説編2001版, p488, 日本水道協会出版, 東京 (2001)

11) Roberts, T. and Hutson, D. H. : Metabolic Pathways of Agrochemicals Part 2, p.1134-1137, Royal Society of Chemistry, U.K. (1999)

(受理 2003年11月25日)

## [資料]

## 着生地衣植物による大気環境評価 (Ⅲ)

### — 3回の調査 (1984~2002年) にみる経年的変化 —

中川吉弘\*      小林禧樹

#### I まえがき

著者らは兵庫県内の樹木に着生する地衣類の生育分布状況について1984~1988年に調査<sup>1)</sup>を実施し、10年後の1994年に再調査<sup>2)</sup>した結果についてそれぞれ報告した。調査結果は、DeSlooverら<sup>3,4)</sup>のIAP法に改良を加えた方法により着生地衣類の生育分布にもとづく大気汚染地図を作製した。

大気汚染の状況はSO<sub>2</sub>に若干の濃度の低下傾向がみられるものの、NO<sub>x</sub>をはじめとした他の汚染物質にはほとんど変化はみられなく、横ばいの状況にある。このような状況下において、大気汚染以外にも近年の都市化現象は、地衣類の生育環境に様々な影響をもたらしていることも考えられる。

本報告では、樹木着生地衣植物の衰退や回復と生育環境との関係を把握するために2002年に3回目の調査を実施し、過去2回の調査と比較し、その経年的変化傾向について検討した。

#### II 方法

##### 1. 調査地域の概要ならびに試料採取

着生地衣植物の生育分布状況について調査した地点は県南部の都市部とその背後地の農村部、県中北部の山間部におよび、ほとんどの地点が標高400m以下である。調査は1984~1988年<sup>1)</sup>、1994年<sup>2)</sup>に実施した同調査に準じて同一地点、同一樹木について種と被覆度について生育分布の観察を行った。なお、調査地点数は1984~1988年が320地点、1994年が241地点であったのに対し、2002年次の調査地点は、瀬戸内沿岸部の着生砂漠帯の地点を除き、内陸部では地域を代表すると考えられる

大気環境部

\* 別刷請求先：〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27  
兵庫県立健康環境科学研究所  
大気環境部 中川吉弘

135地点に絞った。

##### 2. 複合大気汚染指数 (J-ORAQI 指数) の算出

既報<sup>2)</sup>で述べたように、二酸化硫黄 (SO<sub>2</sub>)、二酸化窒素 (NO<sub>2</sub>)、オキシダント O<sub>x</sub> および浮遊粒子状物質 (SPM) の4大気汚染物質の年平均値を複合させることで大気環境を総合的に評価するのに有効とされるJ-ORAQI指数値<sup>6)</sup>を算出した。

なお、一般環境大気監視データは、県環境情報センターから提供を受けた。

##### 3. 大気清浄度指数 (IAP 値) の算出

既報<sup>1,2)</sup>に示したように、種ごとに評価点 Ti (植物社会学の種群落の序列化操作で用いられている反復平均法<sup>2,7)</sup>を適用することで求められる種位置指数を基本に、その種の出現頻度、硫酸化物に対する生育限界濃度を総合的に判断して設定したものを設定することで、下記算出式により IAP 値を算出した。

$$\text{IAP 値} = \sum_{i=1}^n (\text{Ti} \times \text{fi})$$

n : 調査地点における着生地衣植物の種類数

但し、Ti: i 番目の種の評価点

fi: i 番目の種の被度 (0~3の4段階)

すなわち、大気清浄度指数 (IAP 値) は、式からも明らかのように、種ごとの評価点 (Ti)、被度 (fi) が大きいほど、また、着生植物の種類数 (n) が多いほど大きくなるように定めている。

#### III 結果と考察

##### 1. 大気汚染物質濃度及び J-ORAQI 指数の経年的変化

県内における大気環境の経年的変化を知るために、図1にNO<sub>2</sub>、SO<sub>2</sub>、O<sub>x</sub> およびSPMの濃度変化 (1973~2001年) について7地域区分それぞれの代表的な地点すなわち、阪神北摂地域は尼崎市 (中部)、西・北神地域は神

戸市（東灘），東播磨地域は加古川市（市役所），西播磨地域は姫路市（御国野），丹波地域は柏原町（柏原），但馬地域は豊岡市（市役所），淡路地域は洲本市（市役所）の環境大気測定局のデータの年平均値の変化で示した。図からも明らかなように，SO<sub>2</sub>，SPMの経年変化は1973年以降漸減傾向を示すが，最近10年は減少傾向を維持する尼崎市を除き，他の市域はほぼ横ばいの状況にあることがわかった。一方，NO<sub>2</sub>はSO<sub>2</sub>，SPM同様

1986年まで漸減傾向を示したものの，1987年以降2～3年漸増傾向を示し，近年はそのまま横ばいの状況にある。

また，O<sub>x</sub>については気象要因による影響を大きく受けることから，その濃度には年度により多少のバラツキがみられるものの，傾向として漸増の傾向にあることがわかった。

図2は，これら4大気汚染物質を複合させることで求

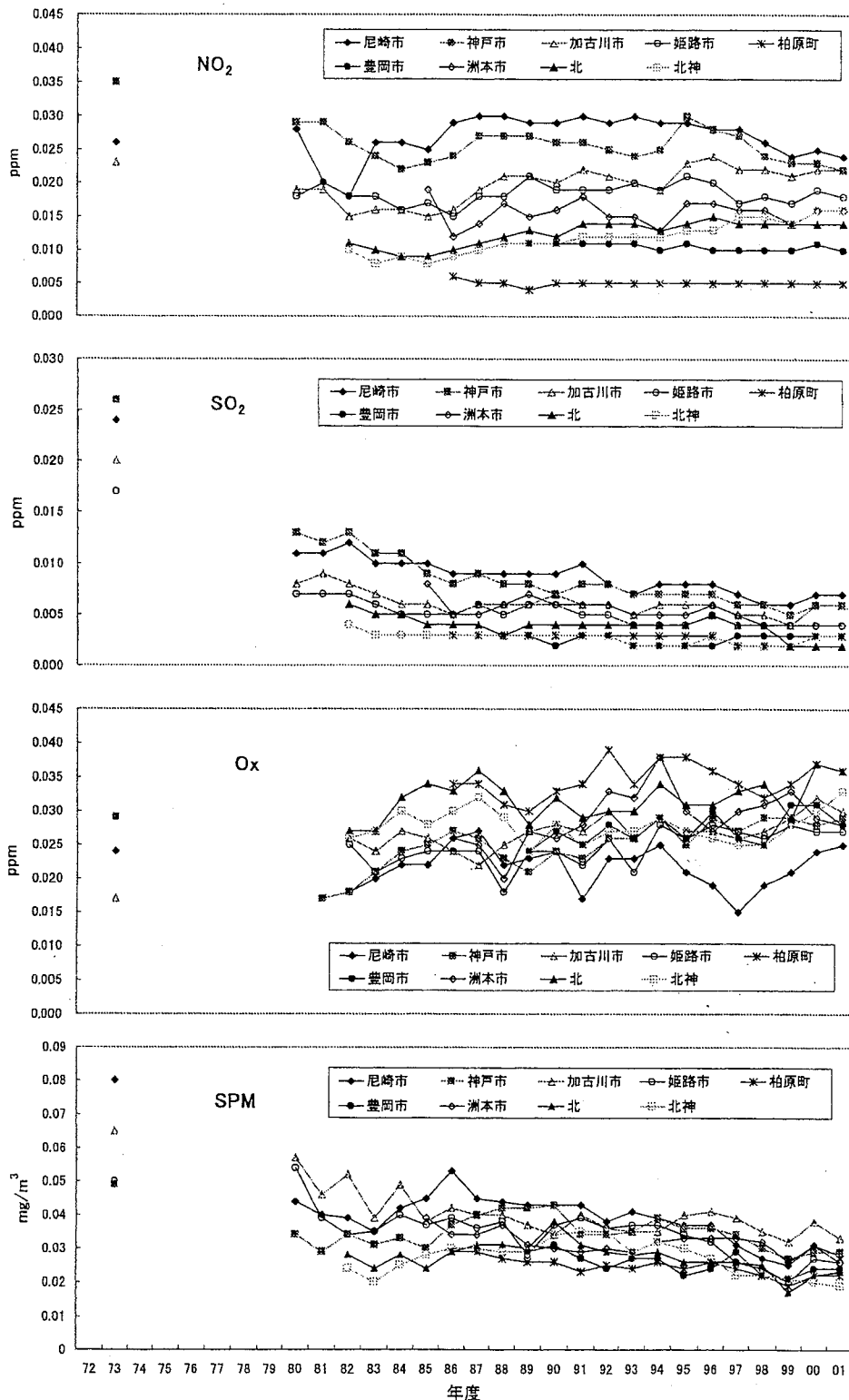


図1 大気汚染物質濃度の経年変化



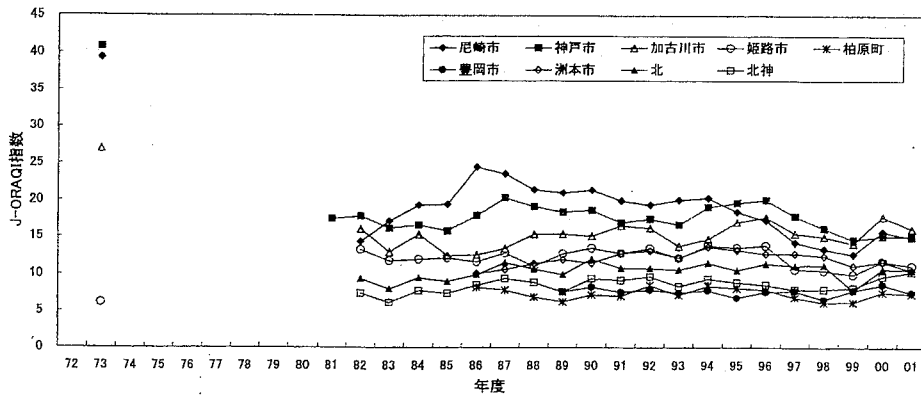


図2 複合大気汚染指数 (J-ORAQI) の経年的変化

められる複合大気汚染指数 (J-ORAQI 指数) の経年変化を地域ごとに示したものである。図にも示されるように、1970年代前半における大気環境は質的に劣悪な状況にあったことがこの指数値の変化からも窺える。しかし、その後のSO<sub>2</sub>を中心とした大気環境の改善が指数値にも反映され、近年の大気汚染の程度は指数値をみる限り低値で推移し、横ばいあるいは漸減傾向にあることが示された。つぎに、これらJ-ORAQI 指数値の経年的変化 (1981年~2001年度) の全体的傾向を各地域の地点ごとにみると、複合大気汚染レベルは加古川・尼崎・神戸>姫路・洲本>柏原・豊岡の順であった。1973年度における指数値は神戸で40.8であり、尼崎、加古川でそれぞれ39.4、27.0と高く、当時の大気環境における汚染の質的な劣悪さを示している。しかし、その後の指数値は、姫路市を除き、年を経るにつれ低下し、近年は神戸、尼崎で14.9、加古川、洲本の各地点でそれぞれ16.1、10.5と1973年度の1/3強から1/2の低値で推移しており、質的にも大気環境の改善がみられることがわかった。また、豊岡、柏原は7.4~7.6で推移しており、他地点と比して複合大気汚染レベルは最も低い清浄な地域であると考えられた。

2. 地域毎の出現種数および IAP 値の経年的変化

地衣植物の出現種数は77種であり、その内訳は、ウメノキゴケ属 (Parmelia) 20種 (26.0%)、ゲジゲジゴケ属 (Anaptychia) 8種 (10.4%)、ハナゴケ属 (Cladonia) 6種 (7.8%) 等の種が比較的多く出現した。着生する樹木の内訳は、ソメイヨシノ (29.7%) が最も多く、次いでクスノキ (16.4%)、マツ (6.4%)、スギ (4.3%) の順であった。

これら着生地衣植物の分布相は、既報<sup>1,2)</sup>にも詳述しているように瀬戸内海側と日本海側で大きく異なることから、改良 IAP 値は日本海側の但馬地域を除外して算出した。

表1 は地域ごとに着生地衣植物出現種数と改良 IAP

値について1984-1988年、1994年の調査時の結果に2002年の今回の調査結果をあわせてその範囲と平均値を示した。

なお、2002年、1994年の各調査時の結果と初回調査時1984年-1988年との比較は、地域によりそれぞれの調査年度における調査地点数が大きく異なること、また、初回の調査時にあっては10種もの見落とし種があったこと、特に丹波、西播磨の両地域において多く見られたことから、表に示した数値でもって単純にその盛衰を論ずることは出来ない。

表2 は、地域における経年的な盛衰の変化を見るために、出来るだけ多くの種でその変化をみるのがより好ましいと思われるが、調査地域に普遍的にみられる着生種

表1 地域ごとの出現種数および改良 IAP 値の比較

地域	調査年	地点数 (n)	出現種数 範囲 (平均値)	改良 IAP 値 範囲 (平均値)
阪神北摂	1984-'88	85	0~8 (2.8)	0~25.0 (4.4)
	1994	73	1~8 (3.8)	0.5~19.5 (6.4)
	2002	26	1~11 (5.7)	1.0~24 (11.6)
西・北神	1984-'88	25	2~11 (6.6)	1.5~27.5 (15.3)
	1994	24	2~12 (7.1)	2.0~27.0 (15.1)
	2002	15	3~14 (6.2)	3.0~38.5 (12.4)
東播磨	1984-'88	69	0~8 (3.8)	0~21.5 (7.7)
	1994	44	2~12 (5.2)	0.8~28.5 (8.3)
	2002	42	1~12 (4.7)	0.8~25.5 (7.2)
西播磨	1984-'88	61	1~9 (4.1)	1~42.0 (11.1)
	1994	45	1~14 (6.5)	1.5~38.0 (14.5)
	2002	19	3~11 (7.2)	3.5~25.5 (11.3)
丹波	1984-'88	19	3~8 (5.5)	8.0~21.5 (13.9)
	1994	18	8~14 (9.8)	13.5~33.5 (21.1)
	2002	11	6~14 (9.5)	11.5~25.5 (17.3)
淡路	1984-'88	22	0~7 (3.1)	0~18.5 (5.5)
	1994	17	2~10 (4.9)	1.0~18.0 (6.4)
	2002	6	3~10 (6.0)	3.5~13.5 (8.8)
但馬	1984-'88	39	2~13 (7.3)	-
	1994	20	3~16 (7.9)	-
	2002	16	6~11 (7.8)	-

表2 着生地衣植物5種についての地域別被度比の年度別比較

地域	コフキヂリナリア		ウメノキゴケ		キウメノキゴケ		マツゲゴケ		レプラゴケ		平均	
	1994年	2002年	1994年	2002年	1994年	2002年	1994年	2002年	1994年	2002年	1994年	2002年
阪神北摂	1.29	1.14	0.79	0.66	0.96	1.00	0.67	1.08	1.07	0.93	0.95	0.96
西北神	0.94	0.94	0.80	0.66	0.87	1.00	1.33	1.11	0.97	0.97	0.98	0.94
東播磨	0.62	0.62	0.72	0.68	0.71	0.69	1.00	0.95	0.75	0.74	0.76	0.74
西播磨	0.60	0.55	0.63	0.60	0.85	0.81	0.86	1.21	0.80	0.74	0.75	0.78
丹波	0.00	0.00	0.90	0.74	0.96	0.92	0.81	0.72	0.86	0.77	0.71	0.63
但馬	1.25	1.50	0.50	0.38	0.93	1.02	0.83	0.57	0.76	0.74	0.85	0.84
淡路	0.60	0.80	0.79	0.64	1.00	0.00	0.50	1.00	0.75	0.63	0.73	0.61
平均	0.76	0.79	0.73	0.62	0.90	0.78	0.86	0.95	0.85	0.79		

注：1994年、2003年の各値は1984年次を1としたときの値である。

5種（コフキヂリナリア、キウメノキゴケ、マツゲゴケ、ウメノキゴケ、レプラゴケ）について、同一調査地点、同一調査樹木について種ごとの被度（生育量）を1984-1988年の調査時の被度との比で示した。なお、前回調査時の調査対象樹木が伐採されていたり、確認できなかったものは集計から除外した。

表からも明らかなように、地域別に見た1994年度における5種の被度比の平均値は、初回調査時（1984-1988年）の0.98~0.71であり、全地域で衰退の傾向にあることがわかった。2002年度の調査結果は、丹波、淡路の両地域で1994年度の被度比をさらに下回る衰退傾向が見られたが、他の5地域は横ばいの状態にあった。つぎに、被度比の平均値を種ごとに見てみると、地域によりバラツキが見られるものの、どの種についても1994年度の被度比は初回調査時の0.90~0.73であり、全種で衰退の傾向が見られた。2002年度の調査結果は、やや回復傾向を示したマツゲゴケ、コフキヂリナリアを除いて、他3種はいずれも1994年度の被度比をさらに下回る衰退傾向が見られた。なかでも、ウメノキゴケの衰退は全地域に及び顕著であった。

### 3. 着生地衣植物の出現種数およびIAP等値線の経年的変化

着生地衣植物の出現種数とIAP値からみた等値線図の分布は、J-ORAQI指数で表される各地域の複合大気汚染の汚染レベルを概ね反映していることがわかった。すなわち、J-ORAQI指数が大きい汚染地域で種数、IAP値はともに小さく、J-ORAQI指数が小さい清浄地域で種数、IAP値はともに大きくなる逆比例の関係が見られた。図3、図4に1984年-1988年、1994年、2002年それぞれの調査時の種数およびIAP等値線図の経年的変化を示した。2002年度における出現種数ならびにIAP等値線図のパターンはいずれも前回調査の1994年度のものと同様のパターンを示した。すなわち、出現種数、IAP値は、ともに沿岸部から内陸部に入るにつ

れ増加する傾向が認められ、北部の山地でいずれも最大値を示した。しかし、詳細に見ると2002年度の調査で西・北神部における種数6および8の等値線がそれぞれ内陸部のほうに後退するとともに、IAP値15、20で示される等値線の範囲も小さくなるこの地域における明らかな衰退現象を見出した。この地域は、近年急速に市街化が進みつつある地域であり、幹線道路が敷設されたことも相俟って、人為的活動に基づくNO<sub>x</sub>をはじめとした大気汚染物質濃度の増加が考えられる。図5に、こ

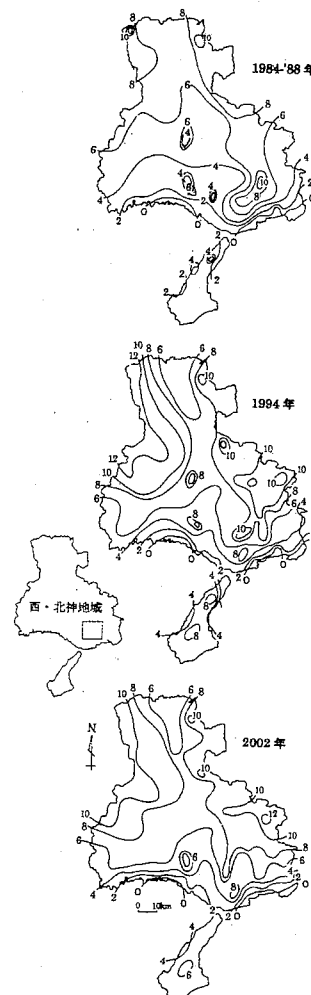


図3 着生地衣植物の出現種数等値線図の経年的変化

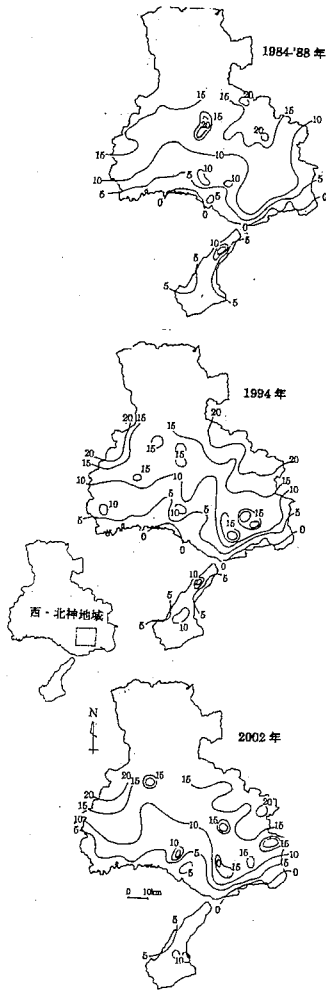


図4 着生地衣植物にもとづく改良 IAP 値の経年的変化の衰退が見られた地域内に設置されている大気監視測定局北神地点（藤原台・岡場公園）における大気汚染物質濃度と J-ORAQI 指数値の経年変化を示した。図から SO<sub>2</sub> 濃度は低値横ばいであり、SPM 濃度は1994年以降低下傾向を示していること、しかし、O<sub>x</sub> 濃度は1998年から、NO<sub>2</sub> 濃度については1982年の測定開始時から漸増傾向にあることがわかった。また、これら4大気汚染物質を複合させることで大気環境を総合的に評価するの

に有効とされる J-ORAQI 指数値も1998年から上昇傾向にあることからこの地域における大気環境の近年の悪化を示しており、着生地衣類の衰退現象を裏付ける結果と考えた。しかし、O<sub>x</sub> が着生地衣植物におよぼす影響の可能性については、O<sub>x</sub> が高濃度を示すのはよく晴れた日中の時間帯であることから、日中のこのような条件下では着生地衣類は乾燥休眠状態にあると考えられ、O<sub>x</sub> による直接的な影響は考えにくい。事実、Gilbert<sup>8)</sup>は着生地衣植物の O<sub>x</sub> による被害報告例は見られないと述べている。これらのことから、着生地衣植物の衰退現象に結びつくもう一つの要因物質としての NO<sub>2</sub> 濃度が、他の地域ではほぼ横ばいで推移しているのに対し、この地域では年々漸増していることとの関連が示唆される。

近年、人為的な活動に基づく種々排出源からの窒素 (NO<sub>x</sub>, NH<sub>3</sub>) の排出が著しく増加し、酸性沈着による無機態窒素の負荷による環境の窒素過剰な状態への移行が欧米<sup>9)</sup>だけでなく日本<sup>10)</sup>においても憂慮されている。大気汚染物質としての窒素の種々の形態は主に NO, NO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> であり、大気中に共存する汚染物質と光化学反応等を起こし、最終的には気体状ならびに粒子状の NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> に変化し、吸着、降塵、降雨等により大気から除去される。

著者<sup>11)</sup>は地域ごとに窒素としての面積あたり排出量を試算し、次のことを明らかにした。窒素の環境への負荷量として窒素飽和の最低の閾値とされる 10kg/ha/yr を下回ったのは但馬、丹波の両地域のみであり、淡路、西播磨の両地域では窒素飽和への移行が生ずるとされている 10~25kg/ha/yr の範囲内であること、東播磨、西・北神、阪神北摂の各地域ではそれぞれ窒素飽和が生ずるとされる 25kg/ha/yr を超える 63.5, 62.8, 48.7kg/ha/yr と高い排出負荷量を示した。

藻類と菌類からなる複合植物体である地衣植物は、水分、養分のすべてを雨水に依存する生活様式をとって

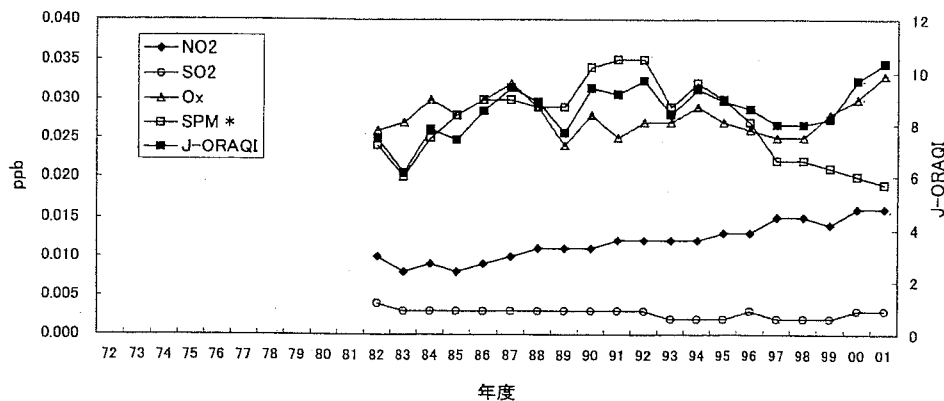


図5 北神地点（藤原台岡場公園）における大気汚染物質濃度と J-ORAQI 指数数の経年変化  
\* 単位は mg/m<sup>3</sup>

ることから、著者ら<sup>12)</sup>は高濃度の無機態窒素が着生地衣植物の溶脱・吸収反応に及ぼす影響について検討し、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ が著しく吸収され、一方で $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$ の溶脱量が増大する反応を見いだしている。そして、これら同時的に生じる両反応は、 $\text{N}/\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{N}/\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{N}/\text{K}^+$ 比の変化に見られる植物体内における栄養（養分）のアンバランスを生みだし、生理機構を乱すと考えた。さらに、低pH条件の付加で $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ の溶脱量がより増大することから、高濃度の無機態窒素によりもたらされる影響がより強調されることも述べた。

このように、西・北神地域で見られる衰退現象は、雨水に溶け込むことによって、濃縮された無機態窒素が地衣体に直接吸収されることで、上述の室内実験で得られた結果と同様の反応がこの地域に生育する地衣植物の体内でも生じていることの可能性を示唆した。

#### IV まとめ

1) 調査地域に普遍的にみられる着生種5種（コフキヂリナリア、キウメノキゴケ、マツゲゴケ、ウメノキゴケ、レブラゴケ）について、同一地点、同一樹木について種ごとの被度（生育量）を1984-1988年の調査時の被度との比で示した。地域別に見た1994年度における5種の被度比値の平均値は、初回調査時（1984-1988年）の0.98~0.71であり、全地域で衰退の傾向にあることがわかった。2002年度の調査結果は、丹波、淡路の両地域で1994年度の被度比値をさらに下回る衰退傾向が見られたが、他の5地域は横ばいの状態にあった。また、種ごとの被度比値について見ると、地域によりバラツキが見られるものの、どの種についても1994年度の被度比値は初回調査時の0.90~0.73であり、全種で衰退の傾向が見られた。2002年度の調査結果は、マツゲゴケ、コフキヂリナリアにやや回復傾向が見られたが、他3種はいずれも1994年度の被度比値をさらに下回る衰退傾向が見られた。なかでも、ウメノキゴケの衰退は全地域に及び顕著であった。

2) 2002年度における出現種数ならびにIAP等値線図のパターンはいずれも前回調査の1994年度のものと同様のパターンを示した。すなわち、出現種数、IAP値は、ともに沿岸部から内陸部に入るにつれ増加する傾向が認められ、北部の山地でいずれも最大値を示した。しかし、詳細に見ると2002年度の調査で西・北神部に

おける種数6および8の等値線がそれぞれ内陸部のほうに後退するとともに、IAP値15、20で示される等値線の範囲も小さくなるこの地域における明らかな衰退現象を見出した。この西・北神地域で見られる衰退現象から、著者らの室内実験<sup>12)</sup>により得られた結果と同様の反応、すなわち、雨水に溶け込むことによって濃縮された無機態窒素（ $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ ）が地衣体に直接吸収される一方で、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$ の溶脱反応が同時的に生じ、これらの反応が地衣植物体内での栄養のアンバランスを生起させ、生理機構を乱していることの可能性を示唆した。

#### 文 献

- 1) 中川吉弘, 小林禧樹: 大気汚染学会誌, 25 (4), 233-241 (1990)
- 2) 中川吉弘, 小林禧樹: 兵庫県立公害研究所研究報告, No.23, 1-7 (1991)
- 3) DeSloover, J. and LeBlanc, F.: In Misra, R. and Gopal, B. (ed), Proceeding of the Symposium on Recent Advances in Tropical Ecology, 42-56 (1956)
- 4) LeBlanc, F. and Rao, D.N.: Bryologist, 76 (1), 1-19 (1973)
- 5) Coppins, B.J. and Gilbert, O.L.: Lichenologist, 22 (2), 191-197 (1990)
- 6) 岡崎 淳: 千葉県公害研究所研究報告, 19 (1), 13-24 (1987)
- 7) 伊藤秀三編: 群落の組成と構造, 朝倉書店, p.1-75 (1977)
- 8) Gilbert, O.L.: Lichens and Pollution. In Ahmjian, V. and Hele, M.E.: The Lichens, Chapter 13, p.443-172 (1973)
- 9) Mohnen, V.A. and Kadlec, J.A.: Cloud chemistry research at Whiteface Mountain. Tellus, 41B, 79-91 (1989)
- 10) Ohri K. and Mitchell, M.J.: Nitrogen saturation on in Japanese forested watersheds. Ecol. Appl., 7, 391-401. (1977)
- 11) 中川吉弘: 全国環境研会誌, 26 (3), 49-56 (2001).
- 12) 中川吉弘, 小林禧樹: 兵庫県立公害研究所研究報告, No.31, 35-40 (1999)

(受理 2003年11月25日)