
石川県保健環境センター研究報告書

第 41 号

(平成 15 年度)

RESEARCH REPORT FROM ISHIKAWA PREFECTURAL INSTITUTE
OF PUBLIC HEALTH AND ENVIRONMENTAL SCIENCE



2004

石川県保健環境センター

目 次

(報 文)

- ノロウイルスによる胃腸炎の疫学的検討 大矢 英紀ほか ... (1— 6)
- 水質と土壌汚染解明のための地理情報システム (GIS) の応用に関する研究 (第1報)
— 地理及び環境情報データベースの構築と地理情報システムの設計 — ... 井上 和幸ほか ... (7— 10)
- 空間線量率の変動要因に関する研究 (第4報)
— 熊野局の平成13年度～14年度 — 中谷 光ほか ... (11— 18)

(資 料)

- 石川県保健環境センターにおける各職員による報告書記録システムのIT化について
— ISO14001-環境管理に関する日常点検システムのネットワーク化 — ... 横山 暢ほか ... (19— 22)
- バルスフィールドゲル電気泳動法を用いた各種病原菌に対する
分子疫学的解析の応用例 倉本 早苗ほか ... (23— 27)
- 廃棄物固化燃料 (RDF) の細菌数及び脂肪酸並びに pH について 戌亥 一朗ほか ... (28— 30)
- 石川県におけるインフルエンザ流行状況
— 主に2003/2004シーズンについて — 黒崎 直子ほか ... (31— 34)
- 牛乳中の遊離脂肪酸の分析 大西 道代ほか ... (35— 38)
- 郷土野菜に使用する農薬の作物残留性試験結果について 砺波 和子ほか ... (39— 45)
- 農産物中に含まれる残留農薬の系統化分析法の確立 (第4報)
— BHC等を含む157種の農薬とカブタホール等を含む7種の農薬の分析 — ... 中村 朋子ほか ... (46— 56)
- いわゆる健康食品からグリベンクラミドが検出された事例について 安田 和弘ほか ... (57— 60)
- 牛乳等の食品に含まれる消毒剤の分析法について 小野 陽介ほか ... (61— 64)
- 固相抽出カートリッジを用いた海水中の重金属類の分析 井上 和幸 (65— 67)
- 温泉水中残留塩素の測定
— DPD法における問題点について — 橋本 潤子ほか ... (68— 71)
- 平成15年度水道水等水質検査精度管理調査結果について
— 石川県年次報告書 — 橋本 潤子ほか ... (72— 76)
- 硫酸ビッチの迅速確認試験法の検討 平尾真規子ほか ... (77— 80)
- 志賀町米町川における魚類斃死事故時の魚体と河川水試料中からの
2,4,6-トリクロロフェノールの検出について 柿本 均ほか ... (81— 86)
- 土壌とトランス油中における全PCBの定量について 岡 秀雄ほか ... (87— 89)
- 石川県におけるフォールアウト調査 (平成15年度) 宮本 麻美ほか ... (90— 92)

(短 報)

食中毒検体中の細菌の遺伝子解析に関する一事例	戊亥 一朗ほか	… (93-- 94)
光触媒 TiO ₂ を利用した化学物質の分解に関する検討 (第 2 報)		
― 室内空気検体中のシックハウス症候群起因化学物質への応用 ―	坂本 藤夫ほか	… (95-- 97)
能登地域におけるオゾン濃度の標高別分布について	太田 聡ほか	… (98--102)
石川県保健環境センター研究報告書投稿規定		(103--106)

(報 文)

ノロウイルスによる胃腸炎の疫学的検討

石川県保健環境センター感染症部 大矢 英紀・黒崎 直子・尾 西 一

キーワード：ノロウイルス，疫学

1 はじめに

ノロウイルスは、1972年にアメリカ・オハイオ州ノーウォークの小学校で発生した集団胃腸炎の患者糞便より初めて確認された、プラス一本鎖約7.7kbのRNAをゲノムとしてもつ、直径27～35nmの球形ウイルスである。

本ウイルスは、日本では、非細菌性胃腸炎の原因として以前から疑われていたが、平成7年に行われた、ウイルス性胃腸炎実態調査研究班による過去5年間の全国の調査結果¹⁾から、その発生の多さに鑑み、平成9年に「小型球形ウイルス」として食中毒の病因物質に指定された。その後、遺伝子レベルの研究が大きく進み、正式にカリシウイルス科ノロウイルスとして分類され、さらに、ウイルス性食中毒の原因のほとんどが「ノロウイルス」であることから、平成15年に、小型球形ウイルスからこの名称に変更され、今日に至っている。ちなみに平成14年の食中毒統計²⁾では、本ウイルスが、病因物質、患者数とも1位となっており、現在、食中毒原因の主要な位置を占めている。また、本ウイルスによる集団胃腸炎の特徴として、生カキの喫食による比較的小規模の食中毒から、不顕性感染している調理従事者に起因した食中毒、さらに施設内でヒトからヒトへの感染で拡大した胃腸炎等、発生形態も様々である。近年では、ロタウイルスと並び、小児で流行する感染性胃腸炎の主たる原因としても注目されている。

石川県でも、これまでに、多くのノロウイルスによる胃腸炎の集団発生事例があり^{3)~5)}、今回我々は、その際実施したウイルス学的検査データや、保健所の疫学調査結果をもとに、さらに感染症発生動向調査における小児の感染性胃腸炎の検査データも加え、ノロウイルスによる胃腸炎の総合的な解析を行った。

2 材料と方法

2・1 集団発生事例について

(1) 疫学調査について

平成10年4月から15年3月(平成10～14年度)にかけて発生した、ノロウイルスによる集団胃腸炎15事例(カキ関連7事例、非カキ関連8事例)を対象に、県内各保健所で行った疫学調査をもとに、発生時期、発生施設、臨床症状について比較検討を行った。なお、カキ関連事例とは、患者の喫食メニュー等にカキが含まれている場合をいい、非カキ関連事例とは、カキが直接関与していない場合をいう。

(2) 患者糞便検体について

ア ノロウイルスの定量

上記の事例において、ノロウイルス陽性の患者糞便51検体(カキ関連26検体、非カキ関連25検体)を対象に、リアルタイムPCRを用いたノロウイルス遺伝子の定量的検出を行った。なお、陽性コントロールは、国立感染症研究所 西尾治博士より分与されたコピー数 $10^8/\mu\text{l}$ に調整された液を使用した。

イ 遺伝子型別

上記アの検体について、RT-PCR法によりノロウイルス遺伝子の検出を行った。プライマーは、RdRp(RNA依存性RNAポリメラーゼ)領域の一部を増幅するNV81、NV82、SM82を用い、増幅産物の検出バンドについて、西尾らの方法⁶⁾に従い、マイクロプレートハイブリダイゼーションによる確認と、G1とG2の遺伝子型別を行った。

ウ 遺伝子系統解析

上記イにおいて、PCR陽性となった産物について、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、

An Epidemiological Investigation of Gastroenteritis due to Norovirus, by OOYA Hideki, KUROSAKI Naoko and ONISHI Hajime (Infectious Disease Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Norovirus, Epidemiology

RdRp 領域の一部約300bp について系統解析を行った。

2・2 感染症発生動向調査について

平成12年4月から15年3月(平成12~14年度)にかけて、石川県感染症発生動向調査事業の小児科定点より搬入された感染性胃腸炎の検体で、ノロウイルス陽性の糞便検体25検体について、上記の2・1(2)イ、ウと同様に検出と解析を行った。

3 成 績

3・1 集団発生事例について

(i) 疫学調査結果について

ア 月別陽性事例数

ノロウイルスによる集団胃腸炎の発生を月別に比較すると、カキ関連事例は12月から3月にかけて集中し、非カキ関連事例は、1年を通じ散発的に発生していた。

イ 施設別陽性事例数

カキ関連事例では、飲食店が5件と多く、残りの2件は旅館であった。非カキ関連事例では、学校と家庭が3件ずつで、その他は、旅館と老人保健施設が1件ずつであった。

ウ 患者の臨床症状出現率

患者の主な臨床症状の出現率(嘔気、嘔吐、下痢、腹

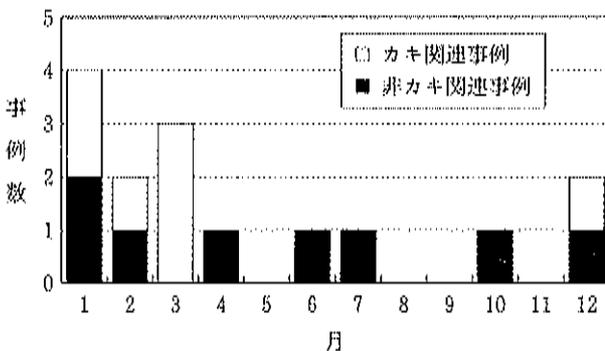


図1 月別ノロウイルス陽性事例数 (平成10年4月から15年3月)

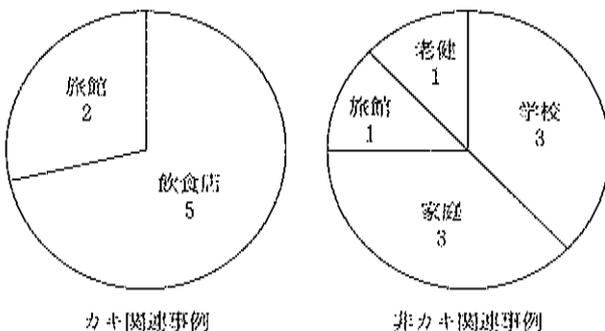


図2 施設別ノロウイルス陽性事例数

痛、発熱)について、カキ関連事例と非カキ関連事例と比較したところ、嘔吐、発熱は非カキ関連事例が、下痢はカキ関連事例でともに有意に高く ($p < 0.05$)、その他の症状については差が認められなかった。

(2) 患者糞便検体について

ア ノロウイルスの定量

ノロウイルスによる胃腸炎の患者糞便から検出されるウイルス量は、カキ関連事例では、糞便1gあたり $10^8 \sim 10^9$ コピー前後が最も多く、非カキ関連事例では、 10^{11} 以上が最も多かった。

イ 遺伝子型別

検出バンドの確認の結果、カキ関連事例では、26検体中8検体がG1で、3検体がG2で、また、6検体がG1とG2の両方でそれぞれ陽性となったが、9検体が型別不能であった。事例別では、すべての事例でG1とG2の両方が陽性となった。

一方、非カキ関連事例では、25検体中9検体がG1で、16検体がG2で陽性となり、両方陽性となったも

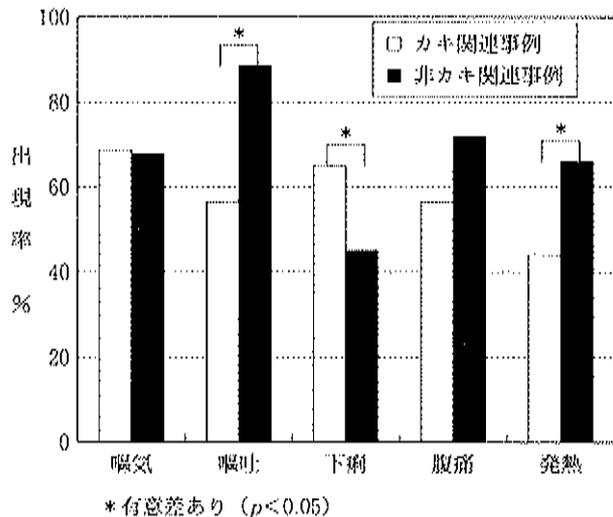


図3 患者の臨床症状出現率

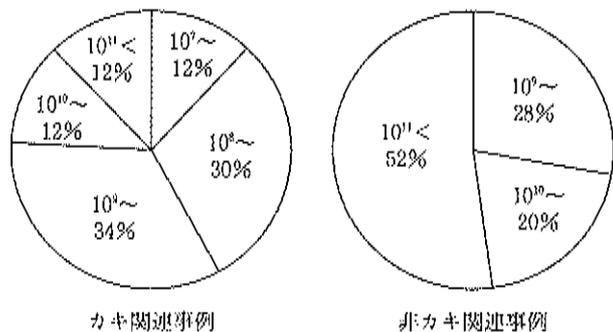


図4 患者糞便中のウイルス量 (copies/g)

表1 検出ノロウイルスの遺伝子型(カキ関連事例)

事例番号	発生年月	発生施設	陽性検体数	遺 伝 子 型			
				G1	G2	G1+G2	型別不能
1	H11.3	飲食店	4	1	1		2
2	H13.1	飲食店	2			1	1
3	H13.1	旅館	4	1		1	2
4	H13.3	飲食店	2	1		1	
5	H13.3	飲食店	3	2		1	
6	H13.12	飲食店	4	1	1		2
7	H15.2	旅館	7	2	1	2	2
合計			26	8	3	6	9

表2 検出ノロウイルスの遺伝子型(非カキ関連事例)

事例番号	発生年月	発生施設	陽性検体数	遺 伝 子 型			
				G1	G2	G1+G2	型別不能
1	H12.1	学 校	4	4			
2	H12.1	学 校	3	3			
3	H12.6	学 校	2	2			
4	H13.4	旅 館	3		3		
5	H13.12	家 庭	3		3		
6	H14.7	家 庭	3		3		
7	H14.10	家 庭	3		3		
8	H15.2	老健施設	4		4		
合計			25	9	16	0	0

のや型別不能のものはみられなかった。事例別では、G1が3事例、G2が5事例であった。

ウ 遺伝子の系統解析

(ア) カキ関連事例

ノロウイルス陽性のPCR産物26検体中8検体(事例1, 1検体;事例4, 1検体;事例5, 3検体;事例6, 1検体;事例7, 1検体)のみの塩基配列が決定でき、残りの18検体は決定できなかった。特に、ハイブリダイゼーションで、G1とG2両方で陽性になったものや、型別不能のものはほとんどが決定できなかった。判読できた8検体の遺伝子タイプは、G1ではChiba, DSVに、G2ではLordsdale, Asb1にそれぞれ類似していた。

(イ) 非カキ関連事例

陽性のPCR産物25検体すべてが決定でき、遺伝子タイプは、G1では3事例ともChiba, G2では3事例がAsb1, 1事例がLordsdale, 1事例がMelkshamであり、同一事例ではタイプはすべて同じで、塩基配列もほとんど一致していた。

ほとんど一致していた。

3・2 感染症発生動向調査について

当所に搬入された、小児の感染性胃腸炎の糞便検体で、ノロウイルス陽性数を月別で見ると、25検体中24検体が11月から4月に集中していたが、夏季の7月にも1検体

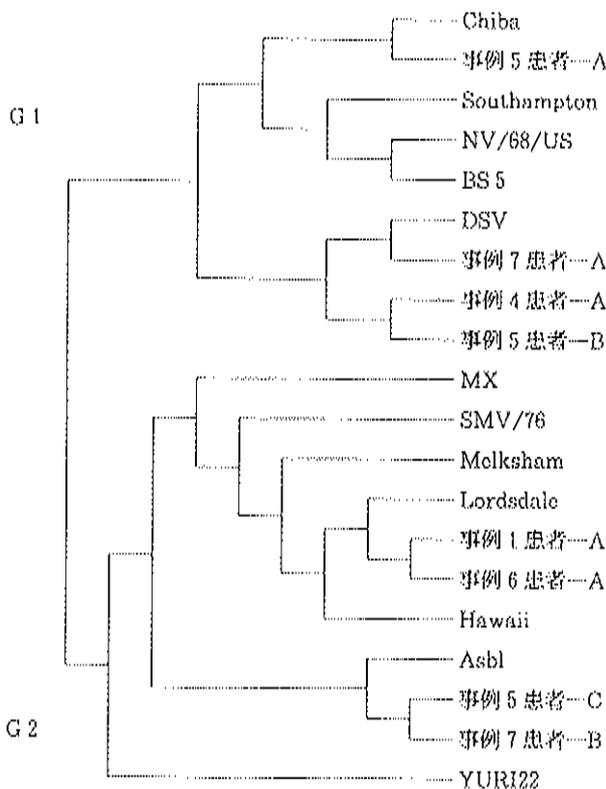


図5 検出ノロウイルスの系統解析(カキ関連事例)

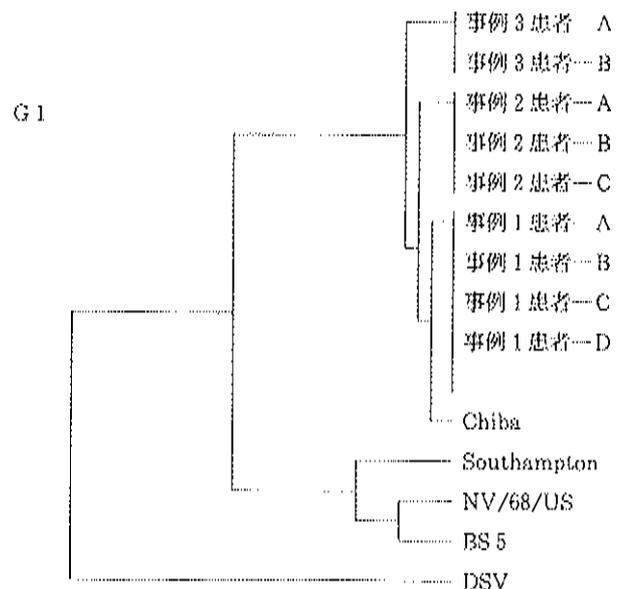


図6 検出ノロウイルスの系統解析-G1(非カキ関連事例)

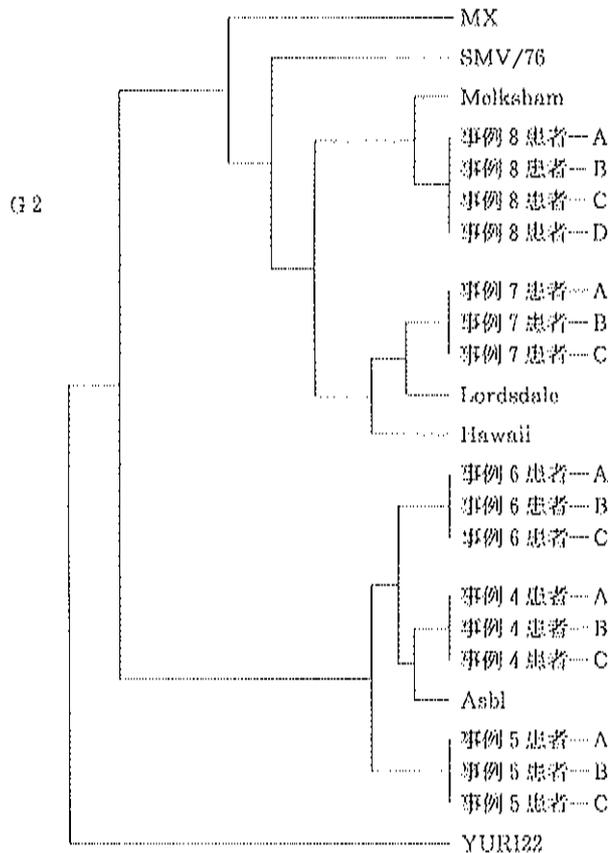


図7 検出ノロウイルスの系統解析-G2 (非カキ関連事例)

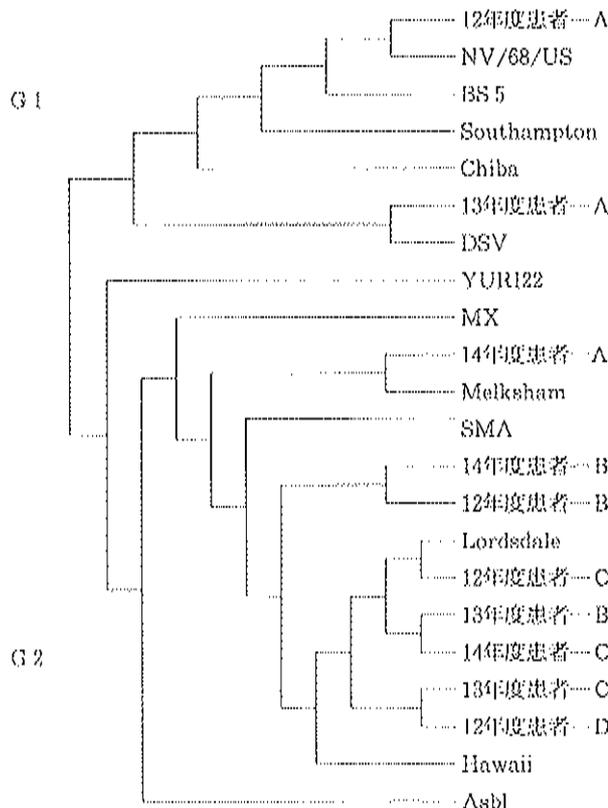


図9 検出ノロウイルスの系統解析 (感染症発生動向調査)

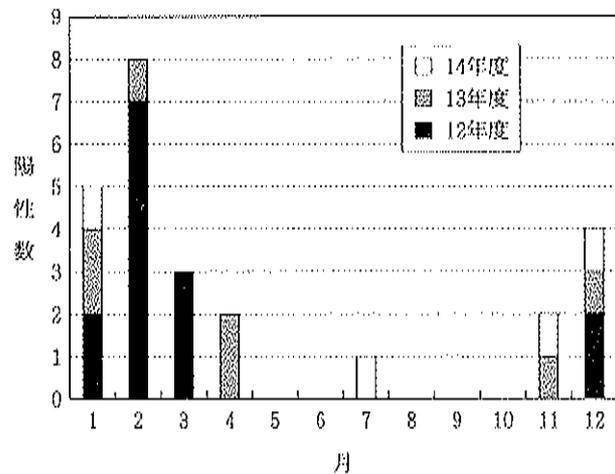


図8 感染症発生動向調査におけるノロウイルス陽性検体数 (平成12年4月から15年3月)

表3 検出ノロウイルスの遺伝子型 (感染症発生動向調査)

年度	陽性検体数	遺伝子型		
		G1	G2	G1+G2 型別不能
12年度	14	1	13	
13年度	7	1	6	
14年度	4		3	1

みられた。検出された遺伝子タイプは、G1ではNV/68/US, DSV, G2ではMelksham, Lordsdale等がみられたが、なかでもLordsdaleに類似したものが多くみられた。

4 考 察

石川県では、平成9年の食品衛生法改正で、ウイルスが食中毒の病因物質に指定されて以来、当所において、検査体制を整備し、検査を行ってきた。以後、毎年のように、ノロウイルスを原因とする集団胃腸炎が発生しているが、その発生形態も多彩で、典型的なカキの生食による食中毒から、原因不明の規模の大きい食中毒や感染症、さらに散発的な小規模の事例まで数多く経験してきた。検査の開始当初は、冬期を中心とした生カキが原因とみられる事例が多かったが、近年は、生カキが関与しない、冬期以外の事例が多くなる傾向にある。また、ノロウイルスの検査法も研究の進歩から数回改定され¹⁾、比較的短時間に、行政に検査結果を提供できるようになった。さらに、検出遺伝子の解析を行うと、カキが関連する場合としない場合とでは明らかな相違も認められることから、過去の報告等⁵⁾⁶⁾を参考に比較検討を行った。

まず、発生月と発生施設からみてみると、カキ関連事例は、12月から3月の冬期に集中しており、生カキを好んで食する時期とも符合する。これらの発生施設は、飲食店と旅館であり、いずれも10~20人程度の会食で、保健所の疫学調査では生カキが原因として疑われたものである。このような事例は、カキ養殖海域に流入したノロウイルスがカキ体内で濃縮され、それをヒトが生あるいは加熱不十分で食したことが原因であると考えられる。カキの生食による食中毒防止には、カキに濃縮されたウイルスを取り除くか、または養殖海域を定期的に調査し、汚染が確認された場合には加熱用として出荷する方法が考えられる。特殊な設備を用いたカキの浄化と、海域のモニタリングについては、三重県で一部実施しており、三重県産カキ由来の食中毒の減少に有効であったとされている⁹⁾。石川県もカキの主要な生産県のひとつであり、カキによる食中毒防止のために参考としなければならない。

一方、非カキ関連事例では、当初はカキ関連と同様冬期に多かったが、近年は、一年を通して散発的に発生する傾向にある。発生規模も患者数4~5人程度から50人以上のものまであり、発生施設も、家庭、飲食店のほか、学校や老人保健施設など様々で、原因の多くは不明であった。さらに、学校等閉鎖的空間で発生した事例では、患者の発生規模が大きくなる傾向があり、なかには、二次感染とみられる患者の発生があるものもあった。本ウイルスは、症状消失後の長期間排泄、環境中での安定性、強い感染力などの特性を持つため、これらの性質を踏まえたうえでの予防対策が必要であろう。また、調理従事者から食品を通して発生したと疑われる事例もあり、調理従事者等は、胃腸炎等体調の悪い時は調理に従事しない、手洗いを徹底する、冬場は生カキの摂取を控えるなどの心がけが必要である。さらに、学校等施設内事例の予防には、手洗いやうがいの啓発、吐物や糞便の適正な処理と消毒が考えられる。近年、石川県では、夏期にも発生がみられ、夏場の集団胃腸炎発生時には、細菌性食中毒以外に、ノロウイルスも念頭にいた疫学調査、糞便検査等を行わなければならない。

患者の臨床症状出現率について、保健所で行った疫学調査票をもとに、カキ関連と非カキ関連とで比較したところ、嘔吐と発熱が非カキ関連で、下痢がカキ関連で有意に高かったが、この点については、原因となったウイルスにカキを通して直接暴露されたためか、一度ヒト体内で選択を受けて増殖したウイルスに暴露されたためか、年齢や個々の感受性によるものなのか、さらに検討が必要である。

ノロウイルスによる集団胃腸炎が発生した場合、通常、

行政からの依頼で患者の糞便検査を実施するが、当初は電子顕微鏡による検出が主体であり、結果判定までに多大な労力と時間を費やしていた。しかし、近年はRT-PCR法による検出が主体となり、現在は、リアルタイムPCRによる検出を補助的に導入し、さらに迅速性と正確性が増した。また、この方法は、検体中のウイルス量も定量することができ、今後大いに活用できると考えている。今回、試行的に、患者糞便中のウイルス量の定量を行ったところ、非カキ関連事例の方が平均で100倍程度高い結果となったが、患者の年齢構成や検体採取時期等を加味しておらず、また、RT-PCR法の結果と少数ながら不一致がみられるため、現在、これらについて検討中である。

ノロウイルスは、未だ組織培養や実験動物などでの培養系が確立されておらず、検査は、もっぱら先に述べたように、遺伝子増幅系に頼ることが多い。しかし、本ウイルスは、遺伝子的に多くのタイプが存在し、PCRで増幅が認められても、感染経路や因果関係の究明には、塩基レベルでの解析が不可欠である。今回我々も、増幅が認められたPCR産物について、ダイレクトシーケンスを行い、事例ごとに詳細に解析を行った。

カキ関連事例のPCR産物では、多くの検体(26検体中18検体)でダイレクトシーケンスが不成功に終わったが、これは、カキ体内に複数のタイプのノロウイルスが存在するため、ヒトはカキ喫食によって複数のタイプのノロウイルスに感染し、検査では、同様に複数のタイプのノロウイルスをPCRで増幅してしまうため、正確に決定できなくなると推察される。今後、これらについて、遺伝子のクローニングを行い、詳細に解析していく予定である。

それに対し、非カキ関連事例では、事例ごとのGIG2の型別はすべて一致し、遺伝子の塩基配列もほとんど一致していた。このような現象は、ヒト体内で増殖したあるひとつのタイプのノロウイルスが、食品を通して一気に感染を拡大させた場合や、ある閉鎖空間において、複数日にわたりヒトからヒトへの二次感染を繰り返した場合に起こると考えられる。ノロウイルスの、タイプ別における感染力やビルレンスについては、ほとんど不明であるが、今後の研究の動向が注目される。

ノロウイルスの環境中の動態については、ヒトの小腸で増殖したウイルスが、河川水、下水を汚染し、大雨等により通常は清浄であるカキ養殖海域を汚染した結果、カキ中腸腺に濃縮されると一般に考えられている⁹⁾。石川県で発生する食中毒、胃腸炎の多くもこれらのサイクルが関係していると考えられるため、今後、患者、河川水、下水、海水、カキについて、定期的に調査して、検

出ウイルスとそれらの関係について、詳細に解析する必要があると考えている。

一方、感染症発生動向調査における小児の感染性胃腸炎の検体では、ノロウイルスは冬期に集中してみられるが、近年、集団発生と同様、夏期にも散発的に検出されるようになってきている。数的には少数であるが、実際は、さらに多くの患者が発生していることも考えられ、ひき続き動向を監視したい。検出ウイルスのG1とG2の型別では、G2が圧倒的に多く、近年では、ほとんどがG2となっている。シーケンスによる解析では、G2のLordsdaleタイプが多く検出されているが、まだ検体数が少ないため、今後、さらに多くのデータを集めて解析していきたい。

石川県では、ノロウイルスによる集団胃腸炎の発生は年々増加傾向にあるが、これは全国的な傾向でもあり、今後、他の地域での発生状況や、検出ウイルスとも比較し、地域的な相違や特性について検討していきたいと考えている。

5 ま と め

平成10年4月から15年3月にかけて、石川県で発生したノロウイルスによる集団胃腸炎について、総合的に解析を行った。

(1) 疫学調査結果について

カキ関連事例は、冬期に集中し施設は飲食店が最も多かった。非カキ関連事例は、一年を通して発生し、施設は学校と家庭が多かった。患者の臨床症状は、カキ関連では嘔吐と発熱が、非カキ関連では、下痢の出現率が有意に高かった。

(2) 患者糞便検体について

ノロウイルス陽性の患者糞便検体について、検体中のウイルスを定量し比較したところ、非カキ関連の検体の方がカキ関連より100倍程度高かった。

RdRp領域の一部約300bpの解析では、カキ関連ではひとつの事例でG1とG2複数のタイプがみられる一方で、塩基配列の決定が困難な場合が多数みられた。また、非カキ関連では、ひとつの事例ではG1かG2ど

ちらか一方のタイプしかみられず、事例ごとの塩基配列も一致していた。

感染症発生動向調査における小児の感染性胃腸炎の検体では、陽性は冬期に多く、タイプはG2が多くみられた。

本研究に多大なご指導をいただきました、国立感染症研究所感染症情報センター 西尾治先生に感謝いたします。

文 献

- 1) 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生全国実態調査研究班：細菌5年間の食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生全国実態調査総合報告書
- 2) 社団法人日本食品衛生協会：食品衛生研究，53(9)，66-148 (2003)
- 3) 病原微生物検出情報月報，19(1)，6 (1998)
- 4) 社団法人日本食品衛生協会：食品衛生研究，54(2)，9-15 (2004)
- 5) 新川奈緒美，吉澤志磨，福田伸治，西香南子，杉枝正明，古屋由美子，三上稔之，西田知子，牛島廣治，秋山美穂，岡部信彦，西尾 治：第51回日本ウイルス学会学術集会・総会 プログラム・抄録集，170 (2003)
- 6) 西尾 治，新川奈緒美：日本医事新報，4105，5-13 (2002)
- 7) 三重県科学技術振興センター保健環境部年報，3，65-67 (2001)
- 8) 大矢英紀，尾西 一：石川保環研報，37，110-112 (2000)
- 9) 大矢英紀，米澤由美子，尾西 一：石川保環研報，38，81-83 (2001)
- 10) 大矢英紀，米澤由美子，尾西 一：石川保環研報，39，55-57 (2002)
- 11) 大矢英紀，黒崎直子，尾西 一：石川保環研報，40，86-88 (2003)

〔報 文〕

水質と土壌汚染解明のための地理情報システム (GIS) の応用に関する研究 (第1報)

—— 地理及び環境情報データベースの構築と地理情報システムの設計 ——

石川県保健環境センター水質科学部

井上 和幸・本田 和子・橋田 哲郎
澤田 道和・酒井 道則

キーワード：地理情報システム、GIS、地理情報、環境情報

1 はじめに

近年、トリクロロエチレン等の有害化学物質による水質・土壌汚染の原因究明や、タンクローリーの横転事故、廃棄物の不法投棄等に対して原因物質の特定及び環境に対する影響や汚染被害の予測を迅速にかつ的確に把握し、対応することが求められている¹⁾。

これらに対処するには、河川水、地下水、事業場等の測定地点及び過去から蓄積されている水質データを解析することが有効である。しかし、現状ではこれらは個別にデータ管理されてはいるが、統合した情報として管理されていないので、迅速な対応が困難な状況である。

近年、国土数値情報や数値地図などのデジタル情報を安価で入手することができるようになり、また、パソコンや周辺機器の性能が向上し、地理情報システム (GIS) を利用した総合的な流域環境管理の構築が容易となったことなどから、琵琶湖や霞ヶ浦流域においても GIS を用いた汚濁負荷量に関する研究がなされている^{2)~4)}。

本研究では、同様に GIS を用いて石川県環境安全部と当センターが昭和45年から平成14年まで過去33年間実施してきた河川等の公共用水域水質調査データ等の有効利用を図り、水質・土壌汚染解明手法を構築するため検討した。

2 地理情報システム (GIS) の概念とその応用

GISとは、地図情報 (緯度・経度) を持った海岸線、市町村区画、都市、道路等のデータを重ね合わせ合成した地図として表示できるシステムである (図1)。

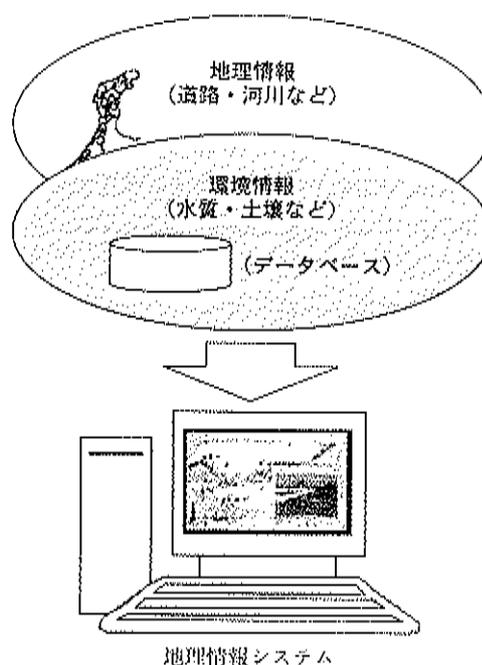


図1 地理情報システムの概念

Applied Geographic Information System to the Pollution Control in Water and Soil (1st Report). by INOUE Kazuyuki, HONDA Kazuko, HASHIDA Tetsuro, SAWADA Michikazu and SAKAI Michinori (Water Quality Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Geographic information system, Geographic information, Environmental information

このGISを応用して、河川等の測定地点をその地点の緯度経度情報から合成した地図上にプロットし、併せてその地点における環境情報、例えば水質データ等の複数のデータを地図上で重ね合わせ、目的とする情報をディスプレイ上で表示し、プリンタで印刷することが可能となるものである(図2)。

また、表示メニューを選択することにより、目的とする情報を素早く表示させることも可能となる。

このように地図情報と種々の環境情報を統合し視覚化した水質・土壌汚染解明手法を検討構築することにより、河川流域の工場・事業所の監視指導、事故発生時の対策立案・実施、潜在する環境問題の発見と解明、新たな研究テーマの発掘、日常業務のデータ検証及び環境教育に役立てるものである。

3 水質・土壌汚染解明のためのGISの構築

3.1 GISソフトウェア

本研究で使用したGISソフトウェアは、次の観点から、MapInfo Professional 7.0 (株)アルプス社)を導入した。

- (1) 環境安全部及び当所が所持する環境情報のデータファイル形式(Microsoft Excel, Microsoft Access)を直接読み込むことが可能なこと。
- (2) GISを構築するコンピュータのOSに適應するGISソフトであること。
- (3) 水質・土壌汚染解明のためのシミュレーション機能

表1 地理情報システムに導入するデータ

地図・データの種別	データ入手先	導入状況
国土数値情報ダウンロードサービス(行政界海岸線面データ)	国土交通省	導入済み
数値地図25,000	国土地理院	導入済み
数値地図200,000(地図画像)	同 上	導入済み
公共用水域水質測定結果	石川 県	一部導入
地下水水質測定結果	同 上	一部導入
水質汚濁防止法に基づく特定施設	同 上	一部導入
数値地図25,000(地名・公共施設)	国土地理院	今後導入予定
数値地図25,000(空間データ基盤)	同 上	今後導入予定
数値地図2,500(空間データ基盤)	同 上	今後導入予定
数値地図25,000(行政界・海岸線)	同 上	今後導入予定

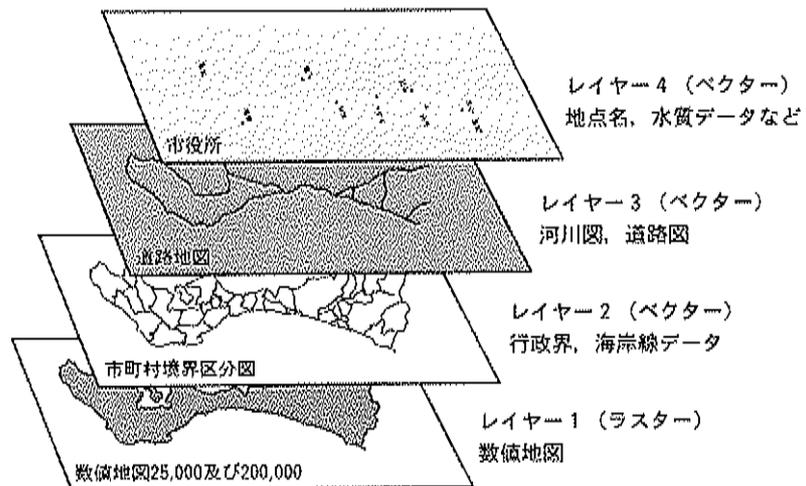


図2 データの重ね合わせ

能を有すること。

- (4) ソフト及び取扱説明書が日本語に対応していること。
- (5) ソフトの製品が国内シェアで上位にあること。
- (6) 試用版・デモソフトが有り、製品のサポート体制がよく、安価であること。

3.2 GISソフトへのデータ変換

GISへ導入する情報データは、表1に示したラスター(メッシュデータ)とベクター(点データ、線データ、面データ)がある。ラスターはデータの編集・加工が困難で重ね合わせることができないが、ベクターは容易に重ね合わせが可能であるため、ラスターは最下層のレイヤーに、ベクターは必要に応じてラスターより上層のレイヤーに作成し、必要に応じて表示させることにした⁵⁾。それぞれのレイヤーに用いるデータは図3の作業を経て変換し用いた⁵⁾。

(1) 地理情報

地勢図、行政界図などの地理情報の基本となる地図は、

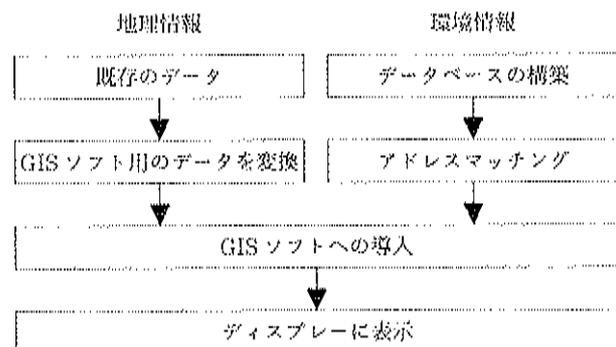


図3 地理情報システムの応用

位置のずれを最小限にとどめるため、極力、国土交通省や国土地理院などの公的機関が提供しているデータを利用することにした。

ア 国土数値情報(国土交通省)

行政界・海岸線データ(ベクター)は、国土交通省が運営する国土数値情報ダウンロードサービス(<http://nftp.mlit.go.jp/ksj/>)よりデータを入手し、MMTM.TV(<http://www.mmtm.tv/>)が提供するデータ変換ツール(Ksj2Mif Converter)を使って、MapInfo Professional 7.0で読み取り可能な形式(MID/MIF)に変換してGISに導入した。

イ 数値地図(国土地理院)

国土地理院が発行する数値地図25,000(地図画像)と数値地図200,000(地図画像)を用いた。これらの数値地図のデータは、直接MapInfo Professional 7.0に取り込むことが可能なファイル形式なので、これに位置を示す情報(緯度・経度)を付加させてGISに導入した(図4)。

(2) 環境情報

ア 公共用水域水質測定結果

石川県が常時監視を行っている県内233地点(平成14年度)の水質測定地点の位置情報と、過去6年間(平成9~14年)における公共用水域水質測定結果⁶⁾(元データ、集計値(平均値、最大値、最小値、75%値))及び測定地点とその周辺の写真情報を、GISへ導入することとし、まず、小松市の一部を対象に実施した(図5)。

イ 地下水水質測定結果

地下水に関しては、石川県内の215井(平成14年度)の位置情報及び地下水水質測定結果をGISに導入することとし、まず、小松市にある井戸の位置情報について実施し、地図上で閲覧できるレイヤーを作成した。

ウ 事業場排水水質測定結果

石川県では、金沢市を除く石川県内の特定施設(水質汚濁防止法)の排水監視調査を行っており、これらの工場・事業場の位置情報及び排水の水質測定結果をGISに導入することとし、特定施設合帳のデータに位置情報(緯度・経度)を付加させ、小松市においては工場・事業場の位置情報を地図上で閲覧できるレイヤーを作成した。

4 水質・土壌汚染解明手法の特徴

水質・土壌汚染解明手法の構築を検討した結果、以下のことが可能となった。

- (1) 地図座標系の変換機能(日本測地系から世界測地系へ緯度経度座標を変換)
- (2) 行政界、数値地図200,000、数値地図25,000へと、

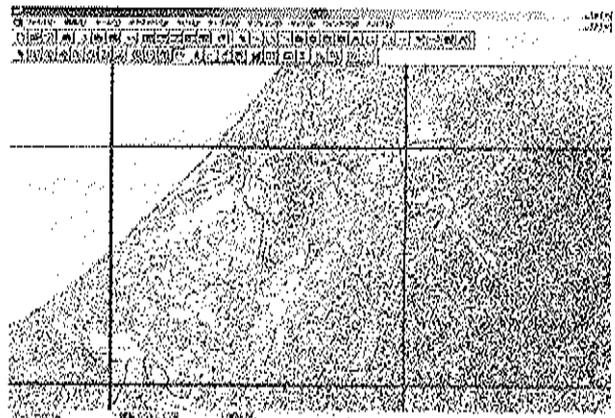


図4 数値地図の導入図

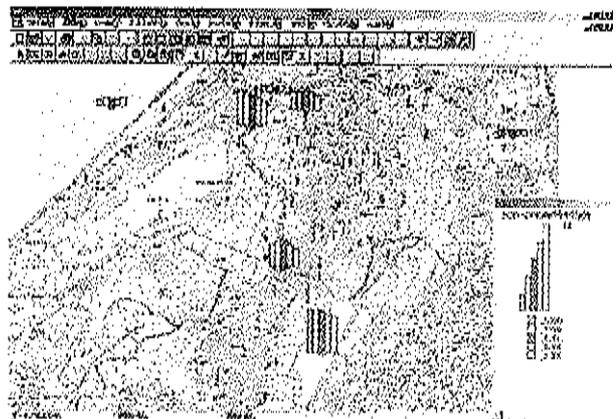


図5 公共用水域水質測定結果の導入図

自動切り換え表示(図6)

(3) GISソフトのメニューから行政界・海岸線データ、数値地図200,000、数値地図25,000、公共用水域水質測定結果(地点・水質データ)、地下水水質測定地点及び事業場排水水質測定地点をディスプレイ等での表示と印刷(図7)

- (4) 地点情報の検索
- (5) データ間の位置関係(距離、面積など)の把握
- (6) 特定の選択範囲内における数値データの統計処理
- (7) 数値データから目的のデータを選択し、グラフ化

5 ま と め

(1) GISソフトを利用して、地理情報として国土数値情報(国土交通省)、数値地図(国土地理院)を、環境情報として、公共用水域水質測定地点、地下水水質測定地点及び工場・事業場排水水質測定地点の位置情報及び水質データを重ね合わせディスプレイ上で視覚的に表示することができた。

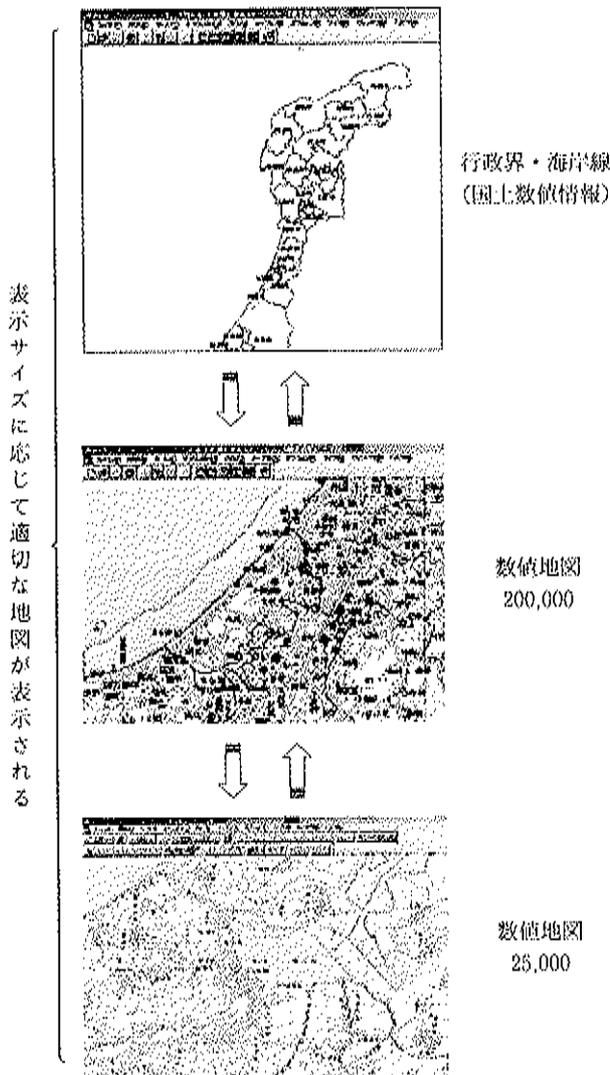


図6 表示地図の切換え

(2) 水質・土壌汚染解明のために利用するとともに、今後、水質測定地点の風景写真などその地点の特色を盛り込んだ環境情報を追加しながら更に対象流域も広めていきたい。

(3) 水質・土壌汚染解明のための地理情報システムを、誰もが簡単に操作できるように改良を加えていきたい。

文 献

- 1) 国土交通省水質連絡会：水質事故対策技術 [2001年版], p172—245, 技報堂出版, 東京 (2001)
- 2) 松重一夫, 相崎守弘, 三浦真吾：国立環境研究所研究報告, 第150号 (2000)
- 3) 増田貴則, 市川 新, 植田康行, 稲岡美紀：環境システム研究, 27, 196—206 (1999)
- 4) 増田貴則：水環境学会誌, 3, 16—21 (2003)
- 5) 新田美美子：図解！これならわかる GIS はじめよう MapInfo, p30, 日本実業出版社, 東京 (2003)
- 6) 石川県：平成9～14年度公共用水域及び地下水の水質測定結果報告書, 石川県 (1998～2003)

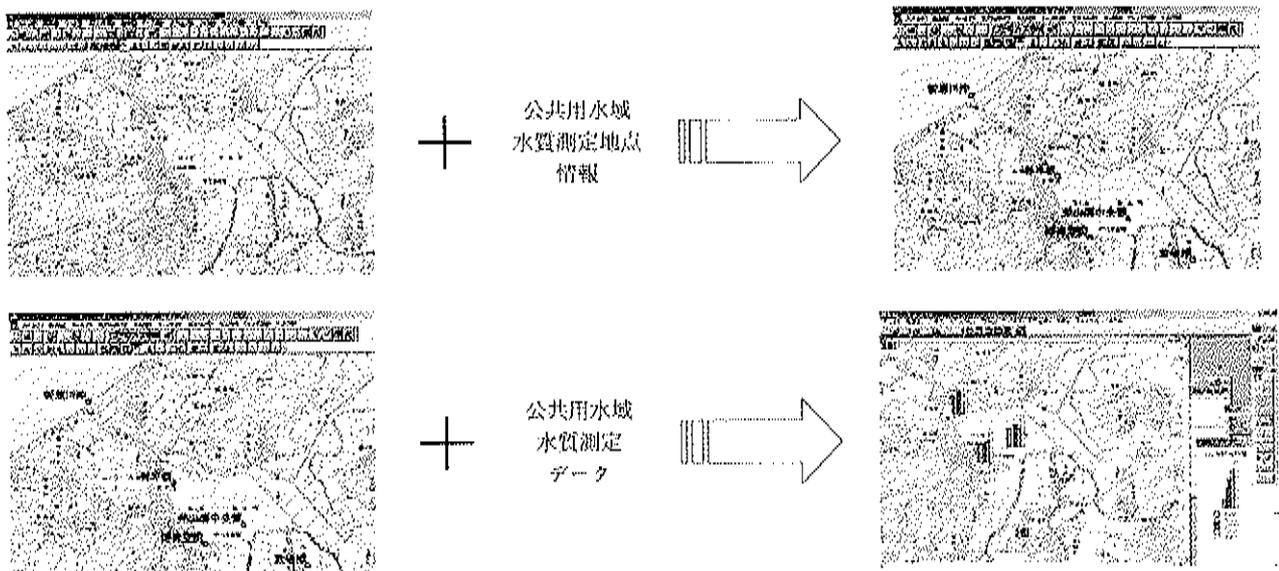


図7 地図の重ね合わせ

〔報 文〕

空間線量率の変動要因に関する研究 (第4報)

— 熊野局の平成13年度～14年度 —

石川県保健環境センター環境放射線部 中谷 光・梶田 武史・小森 正樹

キーワード：環境放射線，空間線量率， γ 線，モニタリング

日本保健物理学会第38回研究発表会 平成16年4月23日 兵庫県神戸市

1 はじめに

本県は、平成2年7月から現在の志賀原子力発電所1号機（電気出力54万キロワット）周辺の環境放射線モニタリングを行っている。平成12年度には環境放射線監視テレメータシステム更新にあわせてガンマ線スペクトルの自動収集も行えるようになり、スペクトル解析手法は空間線量率の変動要因を調査するためのキーツールになってきている。なお、同手法は過去に観測局横の露場工事¹⁾やレントゲン検診²⁾において貴重なデータを提供している。

今回は、内陸部で発電所から北東約5 kmに位置する熊野局（図1参照）において、他の局と比較すると特異的かつ長期的な空間放射線変動が観測されたので、この要因について種々の検討を行った結果を報告する。

2 調査方法

(1) 検出器

線量率：アロカ(株)製温度補償型3インチφ×3インチ NaI (TI) シンチレーション式検出器
高線量率：アロカ(株)製 Ar+He ガス加圧型電離箱式検出器

(2) 測定方法

検出器は地上1.8m 上向きに設置し、NaI (TI) シンチレーション式検出器の線量率への変換は波高値に対しG(E) 関数を荷重演算し、2分、10分毎にテレメータシ

ステムにより収集した。ガンマ線スペクトルデータは1000chを10分毎に測定した。また、スペクトル解析方法については既報¹⁾のとおりの方法で行った。

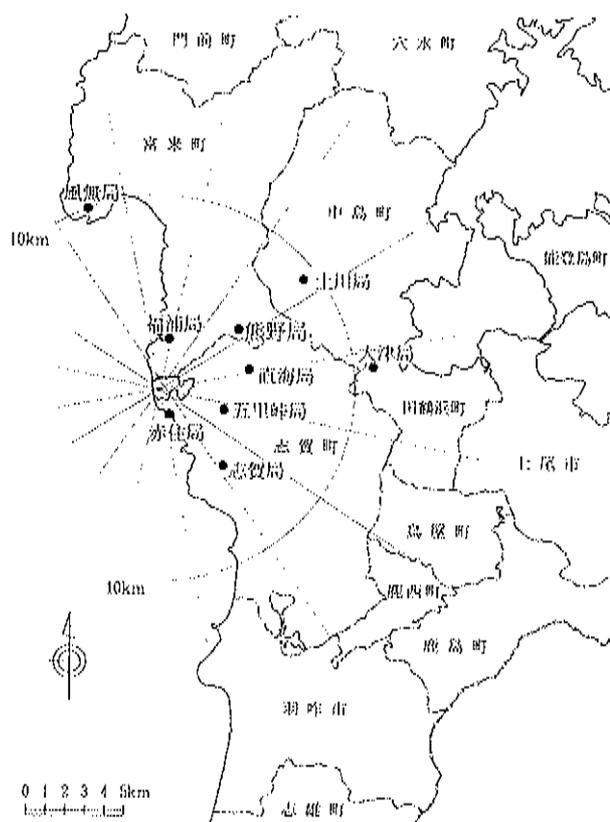


図1 観測局の配置

Study on Variations of Environmental Radiation (4th Report) —Increased Ambient Gamma Radiation between 2001 and 2002 at Kumano Monitoring Station in Ishikawa Pref.— by NAKATANI Mitsuru, MASUTA Takeshi and KOMORI Masaki (Environmental Radiation Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Environmental radiation, Ambient dose rate, γ -Ray, Monitoring

3 結果及び考察

3.1 変動事象の概要

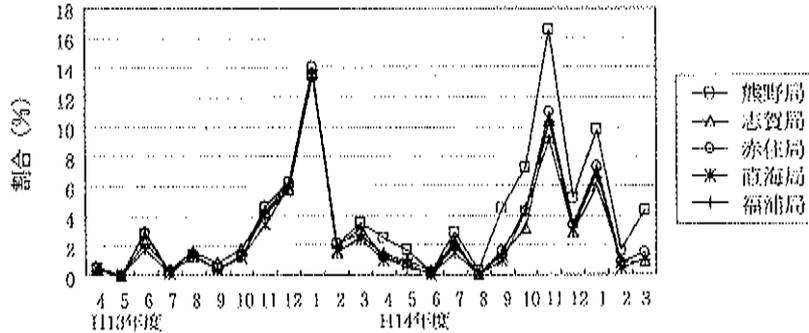
本県においては、原子力発電所周辺監視における空間線量率の評価は、当該調査期間の線量率が過去3年間の「平均値+3×標準偏差」を超えたデータについて、それぞれの原因を評価している。なお、これまでに自然現象（降雨雪等）以外の原因で超過したことはない²³⁻²⁵⁾。

図2は、平成13年度と14年度で、「平均値+3×標準偏差」をいゆる目安レベルを超えたデータ数の割合を示した図である。13年度（図左側）と14年度（図右側）とを比較すると、13年度はどの観測局とも同程度に推移していたのが、14年度に入って熊野局の割合が他の局より年間を通じて高い結果を示した。特に、冬季にはこの傾向が顕著にみられた。目安レベルを超えた割合が、1観測局において他の局よりも明らかに高くなったことについては、過去の環境放射線監視結果からみても稀な事象と判断される。原因としては、機器のトラブル、放射性物質の周辺への散布等々、いろいろな可能性が考えられる。これが、熊野局に対して、詳細に調べる契機となり、目安レベル超過数が多い要因は、どのようにして発生したのかを検討した。

表1には熊野局の2年間分の測定結果を示す。過去の3年間の測定結果を用いた「平均値+3×標準偏差」の値は、平成13年度56.4nGy/h、14年度57.2nGy/hであったが、年間の「平均値」は13年度45.9nGy/hが14年度48.7nGy/hと平均値の比較では線量率が2.8nGy/h、約5%上昇したことになる。すなわち、このことが、「平均値+3×標準偏差」をいゆる目安レベルを超過するデータ数を増加させる結果につながったと考えられた。

3.2 測定結果

図3は、3時間前に降雨がなかった線量率の月平均値を局別にプロットし



H13年度の平均値+3×標準偏差はH10年度～H12年度までの測定値をもとにした。
H14年度の平均値+3×標準偏差はH11年度～H13年度までの測定値をもとにした。

図2 「平均値+3×標準偏差」を超えた割合

表1 線量率測定結果（13年度、14年度）〔熊野局〕

単位：nGy/h

測定年月	最高値	最低値	平均値	過去の測定結果 (測定値範囲) (H10.4～H13.3)	平均値 + 3×標準偏差	平均値+3 ×標準偏差 を超えた数(%)
13年4月	71.4	43.6	45.7	32.2～109.5	56.4 〔平均値 45.7 標準偏差 3.6〕	21 (0.5)
13年5月	53.8	43.6	45.9			0 (0.0)
13年6月	77.5	42.5	46.0			119 (2.8)
13年7月	58.2	42.6	45.1			13 (0.3)
13年8月	95.3	42.5	45.6			55 (1.2)
13年9月	62.3	41.3	43.7			20 (0.5)
13年10月	64.6	41.6	44.6			57 (1.3)
13年11月	97.9	43.1	46.2			177 (4.1)
13年12月	85.0	42.8	46.5			250 (5.6)
14年1月	124.1	41.1	48.8			599 (13.4)
14年2月	72.6	42.4	45.6			81 (2.0)
14年3月	79.1	43.6	46.5			154 (3.5)
期 間	124.1	41.1	45.9	1,546 (3.0)		
測定年月	最高値	最低値	平均値	過去の測定結果 (測定値範囲) (H11.4～H14.3)	平均値 + 3×標準偏差	平均値+3 ×標準偏差 を超えた数(%)
14年4月	83.9	45.2	47.3	32.2～124.1	57.2 〔平均値 46.0 標準偏差 3.8〕	109 (2.5)
14年5月	68.2	44.4	47.0			75 (1.7)
14年6月	59.1	45.7	47.7			10 (0.2)
14年7月	74.0	45.2	48.1			130 (2.9)
14年8月	65.7	47.1	49.4			14 (0.3)
14年9月	79.6	46.6	50.0			189 (4.4)
14年10月	101.4	46.5	50.3			320 (7.2)
14年11月	101.3	46.1	51.7			711 (16.5)
14年12月	114.8	42.8	48.7			230 (5.2)
15年1月	97.5	38.1	49.2			439 (9.8)
15年2月	69.4	40.2	47.0			70 (1.7)
15年3月	68.4	45.5	48.3			191 (4.3)
期 間	114.8	38.1	48.7	2,488 (4.8)		

(注) 上表の「平均値+3×標準偏差」：10年4月から13年3月までの測定値をもととした。
下表の「平均値+3×標準偏差」：11年4月から14年3月までの測定値をもととした。

た図である。この図からは平成14年の4月頃から、熊野局の平均値が赤住局、志賀局のレベルへ次第に近づき、9月以降はこれら2局と同レベルで推移していた。

図4は、平成14年1月14日を基準にしたU系列、Th系列、K-40 (1460keV) の各成分別の計数上昇率トレンドを示した図で、Tl-208ほかの各領域の計数率が上昇していた。なお、3 MeV 以上の宇宙線のカウンタについては変化がみられなかった。

Tl-208 (2614keV) 計数率の上昇は、コンプトン散乱線として2614keV より低いエネルギー領域に影響を及ぼすことから、各成分別の線量率について検討した(図5)。ウラン系列、トリウム系列、カリウム40の各成分の線量率の月平均値の推移からは、3成分の線量率がともに上昇傾向にあり、比較的にK-40の傾きが大きく、線量率上昇に同成分が最も寄与していた。

3・3 測定系の健全性

検出器に到達する空間放射線が増加した原因を検討する前に、測定系に機器の故障や調整ミス等の有無の測定系の健全性について調査した。

(1) ゲイン調整

図6は、Cs-137線源の662keV ガンマ線のシングルピークを132.4chに調整を行った結果であり、調整後のチャンネル値から調整前の値を引いて、調整前のチャンネル値で割った割合(%)を縦軸に示す。平成10年3月末の更新時から、8ヶ月後の11月の点検時に、ゲインを直海局、辰口局などで、10chほど高くなったのを下げた(-7~-6%調整)。これは、ホトマルが安定していない状態、すなわち通電するなどして十分にエイジングをせずに、業者が納めたことが原因であった。その後、全局ともほぼ安定

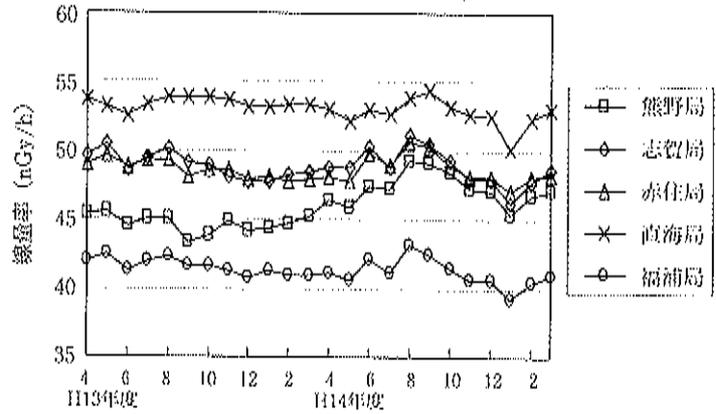


図3 線量率(雨なしデータ)の月平均トレンド

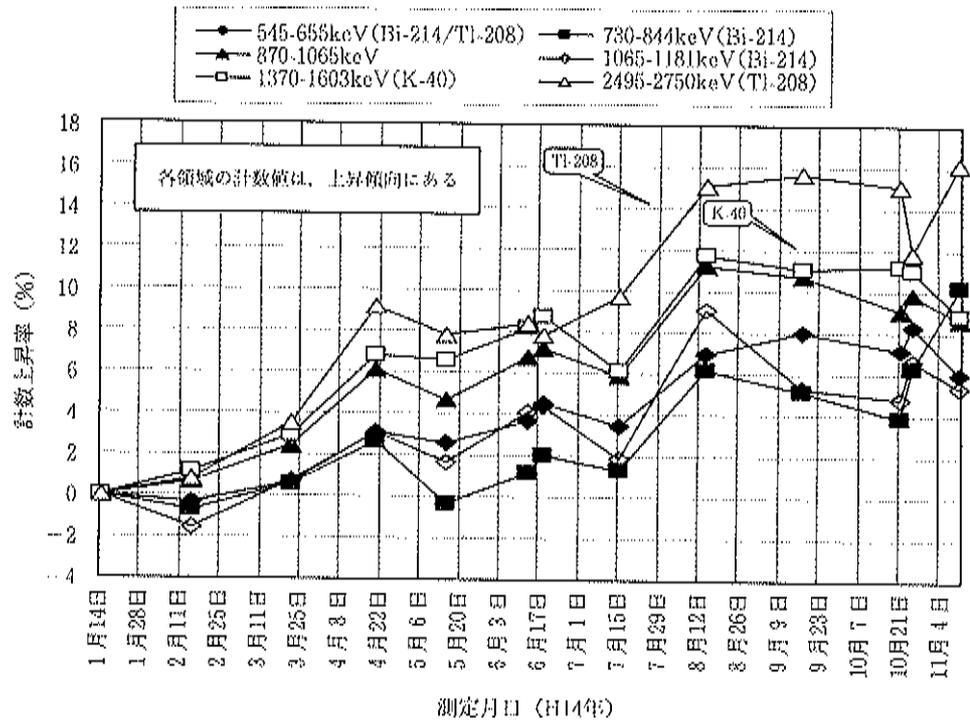


図4 各成分別計数上昇率のトレンド(熊野局)

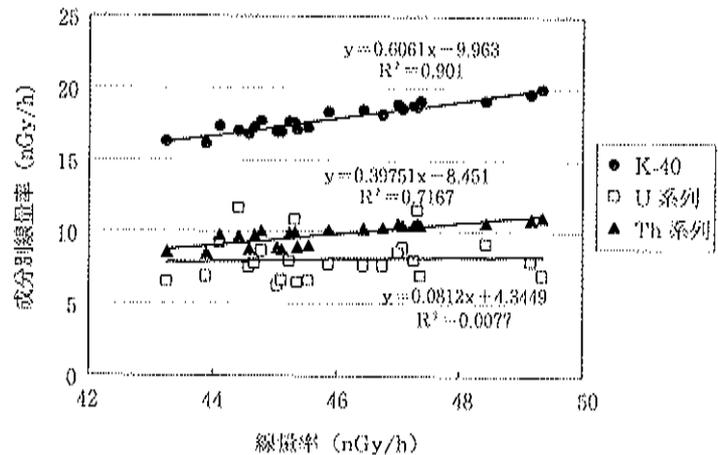


図5 線量率と各成分別線量率(月平均)(熊野局)

していたが、熊野局では、平成12年11月以降の点検時にゲインが下がっていたため、その都度、4回続けて、3 ch, 2 ch, 2 ch, 5 ch と上げた (+2 ~ +4 %調整)。そこで平成13年10月末に予備検出器と取り替え、同年12月には NaI (TI) クリスタル部の交換をしたため、その後は再び安定した。この2回目の安定した時期に、今回報告する線量率上昇が見られたので、ゲインが上昇して線量率が上昇したのではないということがわかった。

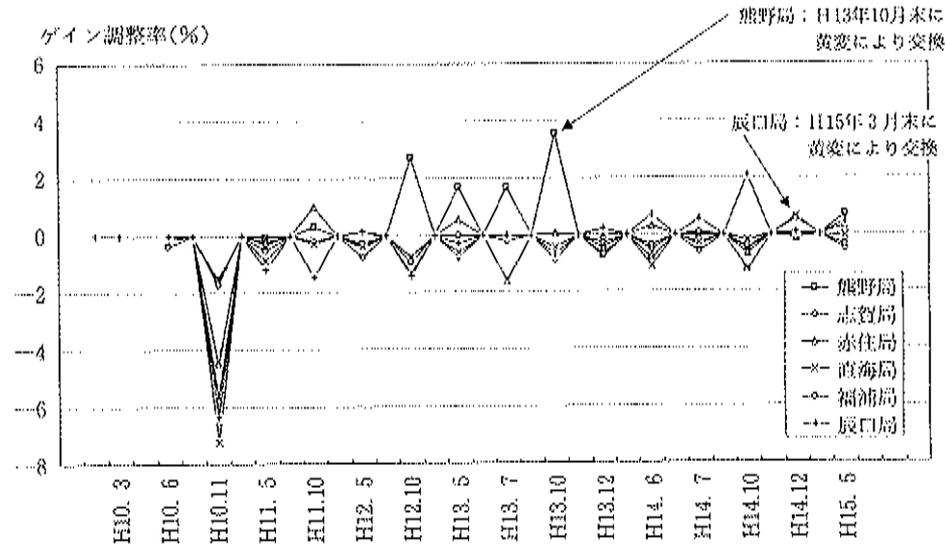


図6 セシウム線源を用いたゲイン調整結果

(2) ADCオフセット

図7は、業者によるADCオフセットの点検結果である。0 ± 0.4chを超過したときに調整を行うもので、0 ch がどれだけずれたかの結果を示す。熊野局のみ平成10年11月の点検時に0 ch が3 ch マイナス側に大きくずれていた。また、同局で平成13年5月に1 ch 調整した。これ

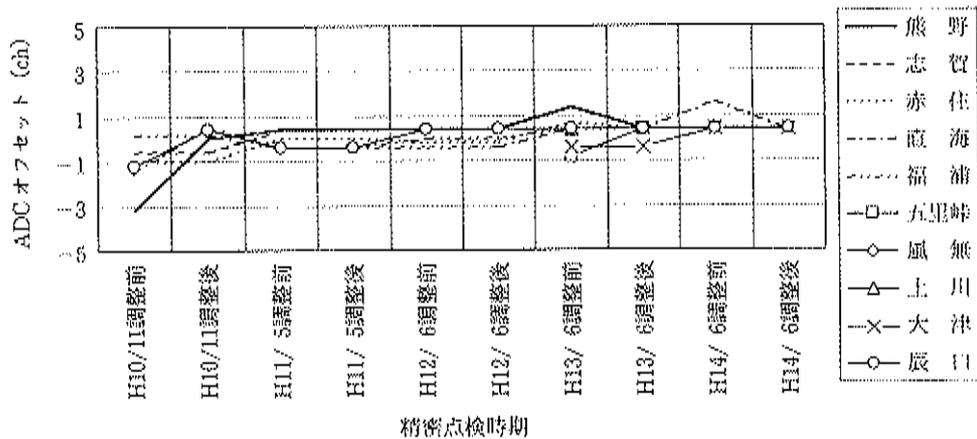


図7 ADCオフセット点検結果

は線量率上昇の前の年のことであり、翌14年度は特に調整していない。業者の模擬データに基づく計算では、1 ch 上昇すると線量率が1.4%上昇することであるが、図7から0 ch がシフトして線量率が上昇したのではないことがわかった。

(3) ゲインパラメータ・温度試験

線量率の上昇した時期には夏期の期間も含まれていたため、温度補償のゲインパラメータについての確認を行った。図8のゲインパラメータは信号のディケイタイム、ホトマルの感度、発光効率といった特性をまとめたものであるが、熊野局について

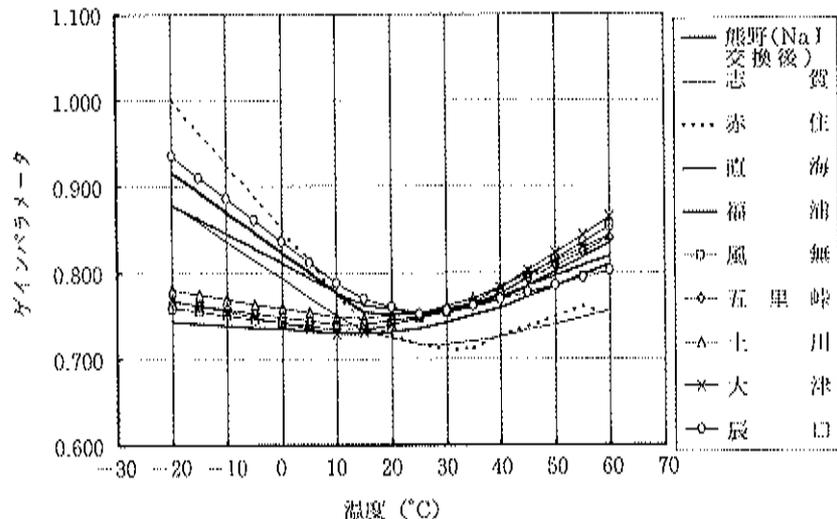


図8 ゲインパラメータ

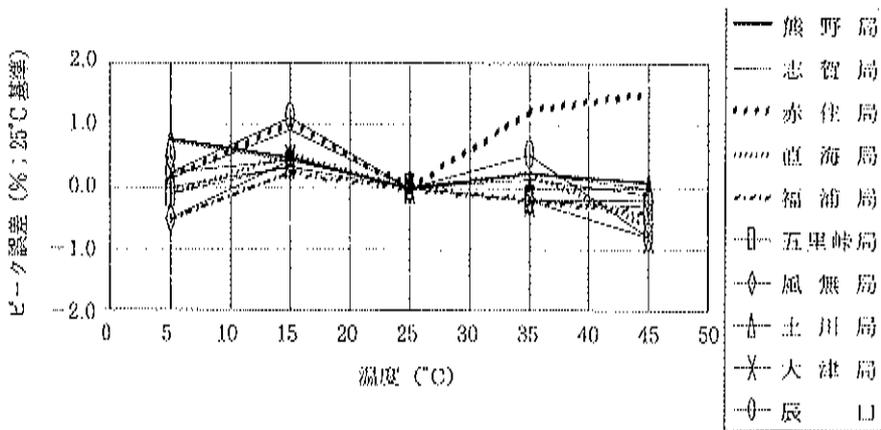


図9 温度試験結果

表 2 自己放射線

単位: nGy/h

熊野局	2.02
志賀局	1.89
赤住局	1.66
直海局	1.63
五里峠局	2.09
福浦局	1.63
風無局	1.91
土川局	3.6
大津局	3.54
辰口局	2.35

10cm 鉛遮へい体内で測定

ては特にほかの局と異なるパラメータではなかった。なお、検出器はゲインパラメータに基づいて回路ゲインを自動調整することにより、温度依存性を一定範囲内に納めている。図9は、実際にこのパラメータを入れた5°C~45°Cまでの温度試験結果である。熊野局は他の局と同様な結果で、温度5°C~45°Cの間では、Cs-137のピークチャネルの変動は-1~+1%程度であり、検出器の温度依存性と夏期の線量率上昇の関係は認められないと考えられた。

(4) ピークチャネルシフト

平成14年の14日分のスペクトル(1日分は10分値144スペクトルを使用)を比較したところ、特にK-40ピークchのシフトは認められず、U系列、Th系列、K-40以外の人工放射線も認められなかった(図10には4月分を表示)。業者の模擬データに基づく計算では、K-40のピークchが1%変動すると線量率が1.2%変動することであるが、ピークチャネルの変動からは線量率の上昇傾向を説明できない結果となった。

(5) 自己放射線

表2には参考として自己放射線の測定結果を示したが、

熊野局に使用している検出器は他の局とあまり差がなかった。

以上から、測定系に起因した線量率の上昇はなかったものと考えられた。

3・4 空間線量率の変動要因

空間放射線の変動要因については、「環境放射線モニタリングに関する指針」⁶⁾に基づいて整理し、それぞれについて検討した。

- (1) 測定器、測定方法等の測定条件の変化：特に測定系に異常があるとの結論には至らなかった。
- (2) 降雨・降雪等気象要因、及び地理・地形形状の要因等の自然条件の変化：下記に記載
- (3) 核爆発実験等の影響：核爆発実験等はなかった。
- (4) 原子力発電所の運転状況の変化：外部への影響はなかった。

この結果、消去法により(2)の自然条件の変化(周辺環境の変化)が考えられるので、ここに焦点をあわせた調査を行ったところ、以下2つの環境の変化があったことが判明した。

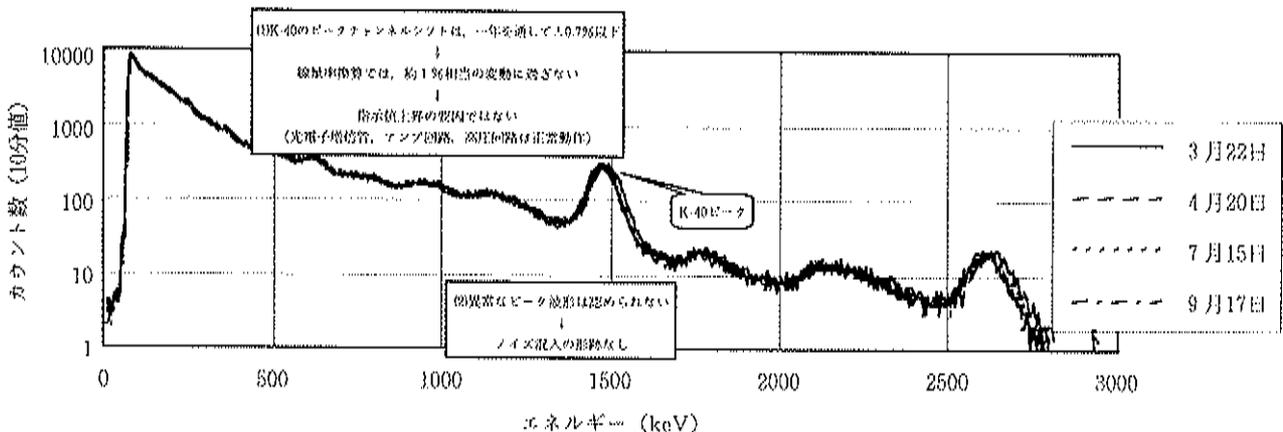


図10 ガンマ線スペクトルの経日変化 (H14) [熊野局]

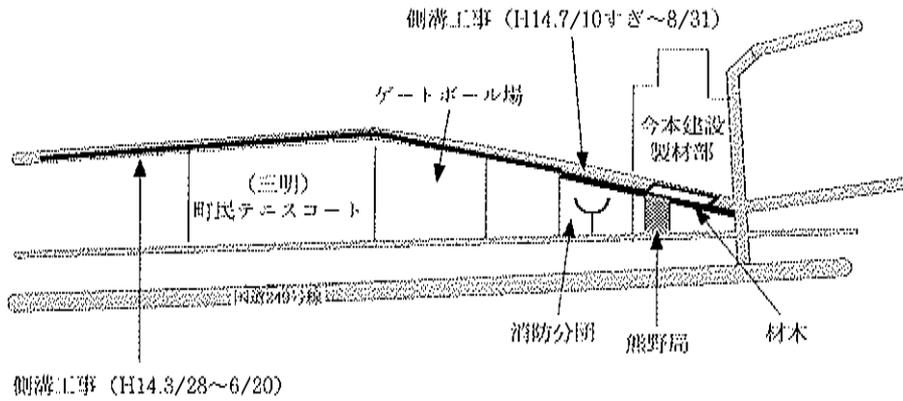


図11 熊野局周辺

3・5 周辺環境の変化

(1) 平成14年3月の周辺環境

図11は、熊野観測局周辺状況を示したもので、平成14年3月25日以前は、熊野局の検出器近くに材木が並べられ、地面からの放射線を遮へいしていた。平成15年7月の熊野地区区長会会長からの聞き取り調査により、熊野局との間に消防車倉庫を挟んで公園があり、この公園横の側溝工事が14年3月28日頃から始まるということで、その前の3月中にこれら材木を移動したとの情報を得ることができた。これが周辺環境の変化に関する事象の一

つ目である。

図12は、平成14年3月25日は降雨がないにもかかわらず、線量率が不連続に1.3nGy/h上昇したことを示す図である。これは、前述の材木の移動、すなわち地面からの放射線を遮へいしていたものが移動したとすれば説明がつく内容である。

1年経った時点では、本当に3月25日に材木を移動したのかどうかの確認はとれない

が、3月28日以前には材木を移動したとのことで、これが線量率を上昇させたものと推定した。図12には電離箱検出器の高線量率のデータもプロットしているが、信号が1カウント増えると1.7nGy/h上昇し、刻みが大きいために、NaIシンチレーションの線量率ほどははっきりしないが、同じ時間帯で差し引いてみると、これも不連続に約1.2nGy/h上昇していた。表3にこのときの線量率の増分を示したが、U系列、Th系列、K-40の3成分中でK-40の寄与が大きい結果が得られた。

表3 線量率の増分 (熊野局)

単位：nGy/h

平成14年3月25日	線量率	K-40	U系列	Th系列	高線量率
8:30~9:40の平均値	45.08	17.54	6.55	9.60	88.57
9:40~10:50の平均値	46.41	18.43	6.81	10.04	89.76
増分	1.33	0.89	0.26	0.44	1.19

図13は、ガンマ線スペクトルの変化を示す図であるが、この差分スペクトルではK-40の1464keVからエネルギーが下側のガンマ線が増加していることがわかる。これは、遮へい体としての材木がなくなったため、これらのガンマ線が増加したことを裏付けるものではないかと思われた。

(2) 平成14年7月~8月の周辺環境

平成14年7月10日以後8月31日までの間、図11に示すように観測局横の側溝工事が行われた。

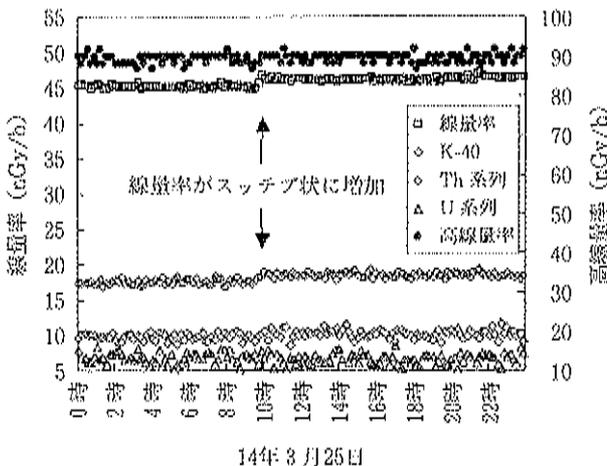


図12 線量率の変化 (熊野局)

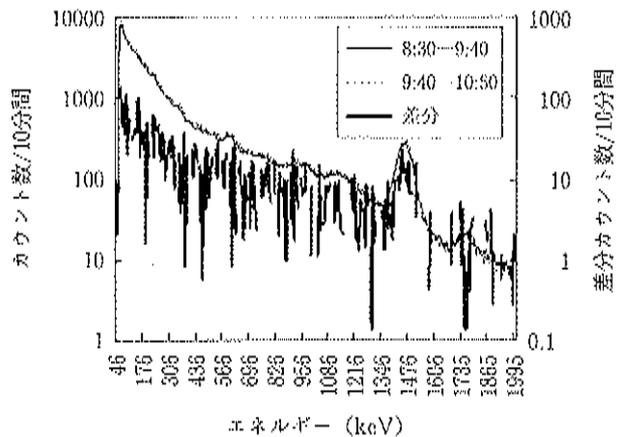


図13 ガンマ線スペクトルの変化 (14年3月25日) (熊野局)

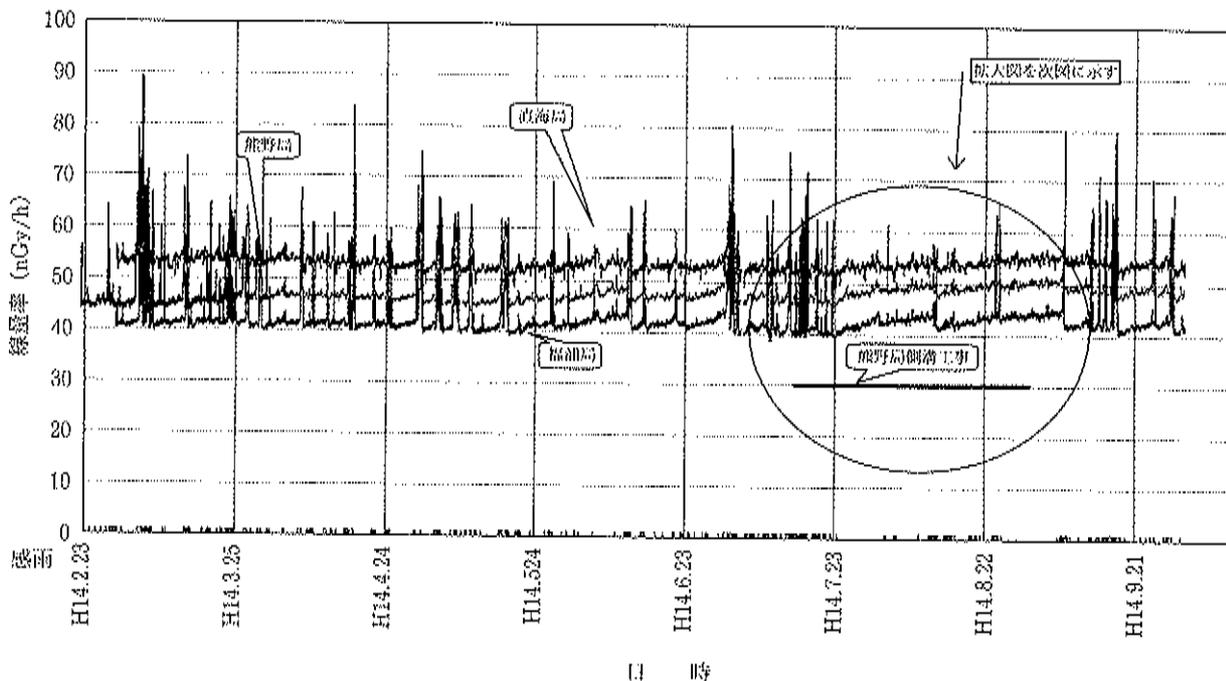


図 14 熊野局と直海局、福浦局の比較

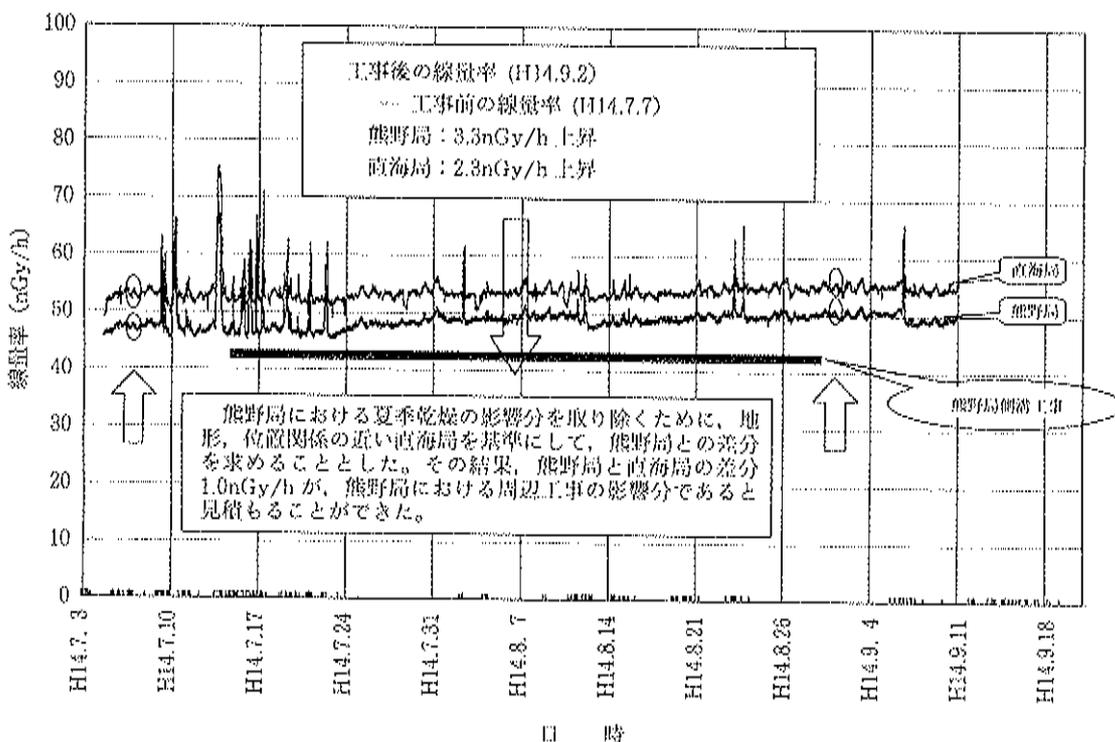


図 15 熊野局と直海局との比較

この工事が周辺環境の変化に関する事象の一つ目で、観測局の横の側溝上にコンクリート構造物が敷き並べられた。

図 3、図 14 に示したとおり、熊野局と同様に他の局に

においても、線量率が降水の少ない 7、8 月の夏季に上昇する傾向がみられた。土壌中の水分量と線量率との関係については詳細な調査を行っていないが、夏季の土壌乾燥による影響とともに、側溝工事の影響があったのでは

ないかと考えられた。図15に、工事前後の熊野局と直海局の線量率を示した。熊野局は直海局との距離が約2.3 km、福浦局とは約3.6kmで、直海局の方が地理的に近いのと、地形的に直海局はほぼ平坦に対して、福浦局はがけの上であり、地形的にも直海局が熊野局に近い状況である。そこで、直海局を比較対照局とし、熊野局との比較を行った。工事前の7月7日(A点)と工事後の9月2日(B点)の線量率の日平均値を比較すると、熊野局で3.3nGy/h、また直海局で2.3nGy/h上昇していたことから、熊野局の上昇分から直海局の上昇分を差し引くことで、熊野局における夏期の影響分を取り除くことが可能である。すなわち、熊野局から距離的、地形的に近い観測局を比較対照局にし、どちらも同程度に夏季の土壌乾燥の影響があると仮定して、線量率の差分を出した結果、側溝工事による影響による上昇分を1.0nGy/hと見積もることができた。

以上の2つの周辺環境の変化に起因して、熊野局の線量率が段階的に上昇した結果、異常値を判定するための目安レベルを超過する数が増加したものと推察された。

また、空間線量率の変動要因に関する調査を行う契機となった「平均値+3×標準偏差」を超えたデータ数(割合)の変化を把握することは、データの質の保証の観点からも大変重要であることを今回のことは示唆する内容であった。

4 ま と め

熊野局の空間線量率が、平成14年に「平均値+3×標準偏差」を超えたデータ数(割合)が他の局よりも増加したことについては、

(1) 平成14年3月28日以前に、同局の近くにあった材木を移動したこと(→1.3nGy/h上昇)

(2) 平成14年7月10日以後8月31日まで、同局横の側溝工事をしたこと(→1.0nGy/h上昇)

の2つの事象により、線量率のベースが2.3nGy/h上昇したためであると考えられた。

文 献

- 1) 梶田武史・泉 善博・吉田 弘：石川保環研報，38，131—133（2001）
- 2) 梶田武史・小森正樹：石川保環研報，40，121—123（2003）
- 3) 中谷 光・橋本桂輔・酒井道則・矢鋪満雄：石川保環研報，30，208—221（1993）
- 4) 酒井道則・中谷 光・橋本桂輔・矢鋪満雄：石川保環研報，31，163—171（1994）
- 5) 酒井道則・中谷 光・玉井 徹・矢鋪満雄：石川保環研報，32，176—183（1995）
- 6) 原子力安全委員会：環境放射線モニタリング指針，p13—p14（1989）

〔資 料〕

石川県保健環境センターにおける各職員による 報告書記録システムのIT化について

----- ISO14001-環境管理に関する日常点検システムのネットワーク化 -----

石川県保健環境センター精度管理室 横山 暢・大西 孝司
石川県石川中央保健福祉センター 宮川 茂樹

キーワード：管理システム、日常点検の報告、ISO14001、IT

1 ISO14001取り組みの現状

環境に配慮した活動を目指し、当センターでは、省資源・省エネルギー、環境情報の提供や環境国際交流、廃棄物排出の減量化の推進、化学薬品の適正な管理等の推進を目的として、平成11年12月に県内自治体としては初めてISO14001（以下、「規格」という。）の認定を取得した。

その後、同規格の精神である「継続的改善（PDCA サイクル）」に努め¹⁾、平成14年度の更新審査を経て、運用開始から現在まで4年を経過した。

平成15年度現在、8つの柱からなる環境目的（3年後の長期的目標）及び、環境目標（環境目的を達成するための単年度目標）を設定（表1）し、継続的に運用を図っているが、その一環として日常点検記録の電子化を進めてきたので、その結果について報告する。

2 規格運用における電子化への取組

規格で要求されるシステム運用のための各種規程類をはじめ、多くの点検・活動記録は、当初から記録用紙を用いてきた。

しかし、規格に要求される日常の作業量は、相当量にのぼることから、事務の簡素化を図る必要があること、及び、センターが設定した「環境目的・環境目標」の1

表1 石川県保健環境センターにおける環境目的・環境目標（概略）

区分	環境目的（2004年度）	環境目標（2003年度）
1	調査研究の適正化	研究評価制度の手順の導入
2	環境教育に関して28万ポイント以上	環境教育に関して28万ポイント
3	基準年*から電力 -1.3%、灯油 -0.9%	基準年から電力 -1.1%、灯油 -0.7%
4	基準年*からコピー用紙 -29%	基準年からコピー用紙 -25%
5	グリーン購入90%以上	グリーン購入90%以上
6	毒劇物の適正管理の推進	管理システムの試行運用
7	基準年*から一般廃棄物 -16%	基準年から一般廃棄物 -11%
8	古紙のリサイクル率を80%以上	古紙のリサイクル率を80%以上

※ 基準年*：2001年度実績値、環境目的は3年間、環境目標は1年間の到達地点

Information Technology Applied to the Recording System of Official Reports from Individual Staff in Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science — Daily Recording System of Activities in ISO14001-Environmental Management Using Network Computers —. by YOKOYAMA Mitsuru, OHNISHI Takashi (Quality Assurance and Quality Control Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science) and MIYAKAWA Shigeki (Ishikawa Chuoh Health Welfare Center of Ishikawa Prefectural Government)

Key words : Management system, Daily report , ISO14001, Information technology

表 2 石川県保健環境における主な ISO14001 日常点検業務記録の分類

区 分	日常点検作業	月点検作業	年点検作業
事務局	文書管理	法改正状況把握, 進捗管理	環境側面洗い出し
部長 (管理者)	日常記録の点検 (繰返し是否正常か)	月単位の環境目標の達成状況, 進捗管理	年単位の環境目標の達成状況
一般職員	日常点検記録の入力・確認	月単位の環境目標の達成状況を確認	年単位の環境目標の達成状況を確認
特定実務担当者 (規程に応じた役割が主の職員)	管理規程に基づいた記録の作成, 委託業者管理	環境測定の実施, 月単位の環境目標の達成状況を把握	規程の改正関連

日常点検システムにて自動化 (ただし, (1)~(6)までの項目のみ)

EXCEL シートにて自動化 (同上)

であるコピー用紙削減にも合致するとして電子化 (ペーパーレス化) を進めてきた。

これまでの電子化作業は, 当センターの規格運用の基準を定めた各種の環境文書類 (規格で要求される環境文書) を電子化し, 所内 LAN システム上に掲載し, 職員がパソコンから自由に閲覧出来るようにしたことである。

また, 電子化は, 所内 LAN システムの構築と並行して, 県庁 IT 化の推進を目指すためのモデル事業としての役割も担ってきた。

3 規格に基づく日常点検状況

規格に基づく日常点検及び, 記録並びに確認は, 大きく分けて, 環境管理責任者 (事務局) の行う作業と, 部長等の管理職の作業, さらに一般職員の行う作業の 3 種類がある。当センターでの分類を, 表 2 に示す。

一般職員の行う日常点検記録は, 下記に示すような毎日の室温管理やゴミ排出計量等の記録記入があり, 利用頻度が最も高いことから最優先順位で電子化することとした。

[一般職員の利用頻度の高い日常点検]

- (1) 各部室の職員室における昼休みの消灯状況・OA 機器休止確認
- (2) 各部室の職員室以外での同上
- (3) 各部室の職員及び, 指定した部屋における空調 (冷暖房) 使用時の温度管理
- (4) 各部室毎のコピー使用枚数と内訳 (両面, 片面, 再利用 (裏面が白色のコピー済用紙))
- (5) 廃棄物の種類別搬出状況
- (6) リサイクル資源の種類別搬出状況

4 日常点検記録電子化システムの開発

職員の技術力の向上及び, コスト抑制を目指して, 日常点検に係るコンピュータシステムを自己開発することとした。

表 3 ハードウェア機器及びソフトウェア構成

区 分	種 類	備 考
ハードウェア	富士通製サーバーマシン DUAL CPU (24h 稼働)	既存
ソフトウェア	WindowsNT4.0 Server	既存
開発言語	IIS4.0 (ASP)	NT4.0付属

システム開発にあたっては, 保守管理の簡易さ及び, 開発の容易さを考慮し, 表 3 に示すシステム構築を進めた。

システム開発に用いた言語としては, 参考書や参考となる HP (ホームページ) が多い点で, WindowsNT Version 4.0 附属しているアクティブサーバーソフト (WWW サーバーソフト) である IIS Version 4.0 (ASP 言語) を用いた。

言語の編集には, レイアウト画面設計に Frontpage (Microsoft 社製) とコード記述に構造化エディタ (フリーウェア) を利用した。クライアントでのレイアウトには, クライアントパソコン約 70 台 (職員一人一台) にすでに導入されているインターネットエクスプローラー (IE5.5sp2) を想定することにした。

5 システムの概要

完成した規格に関する日常点検システムの画面は図 1 のとおりとなった。

システムにログオンすると, 表示されるメニューは, 大きくわけて, データを入力するメニュー (入力メニュー) と, 入力したデータを月単位に集計するメニュー (集計メニュー) の 2 つに分類される。

一般職員が入力メニューで記録を入力し, 部長及び, 環境管理責任者等が集計メニューにて環境マネジメントシステムの実施状況を確認することになる。

例示すると, 入力メニューにおいて, 部内の温度測定

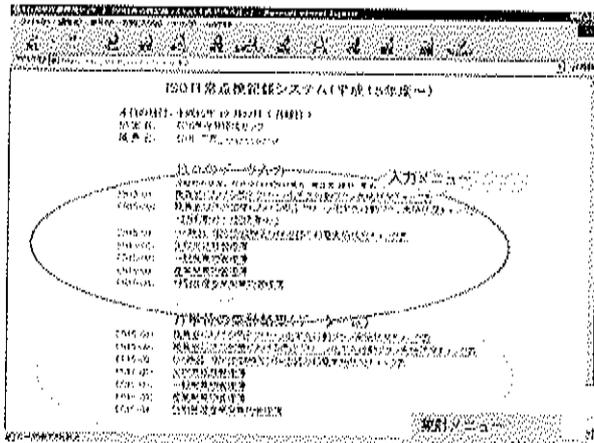


図1 トップ画面例 (各自がログオン後に表示される画面、各個人毎に若干異なる)

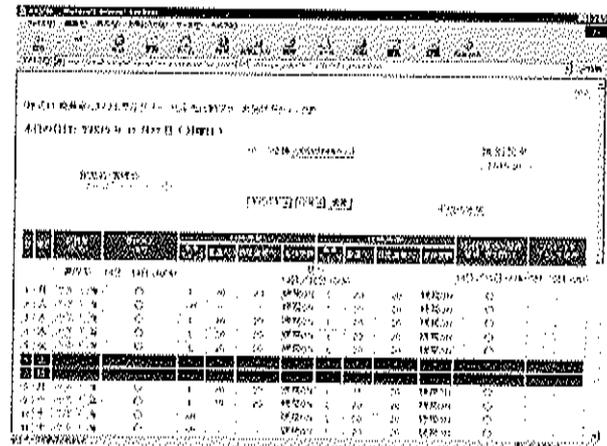


図2 集計画面 (一例)

対象の部屋が各個人のメニューに表示される。

入力者(担当者)は、毎日、昼休みの消灯の状況、温度管理の実施状況を点検し、記録を行う。

部署長は、月単位で集計するメニューを開き、前月の達成状況を把握し、部署毎の達成状況を集計メニューから確認し、部署別集計用記録シート(EXCELシート)にデータを転記する。

このEXCELシートは、所内LANで共有されており、図2とおり、部署単位からセンター単位で集計を行う。

本システムの運用により、規格で要求される環境目標達成状況を月別に正確に集計及び、把握し、一連の工程により、環境管理責任者及び、各部室長は、環境目標の達成不達成の有無を容易に判定し、評価することが可能となった。

なお、データの書き換えを予防するため、入力したデータ及び、その更新は、最初の入力時から60日経過後に不可能とした。

6 システムの改善

システムの開発には、かならずプログラムのデバッグという作業が必要となる。

デバッグとは、意図した通りに動かない状態や、不測の異常な動作をするプログラムを修正し、仕様どおりの正常な動作にする工程である。

今回のシステム開発は、

- (1) ネットワーク構成であること
- (2) 各部室(職員毎)で運用の設定値が異なること
- (3) 画面構成についても設定値で異なること

から、比較的高度なプログラム開発であり、デバッグ期間をスケジュール上では、約3カ月間とした。

試験運用の期間は、予想していないシステムの不具合に対応するため、所内LANシステムに電子会議室を設置し、デバック情報の公開周知を行うとともに、ユーザーである各職員からのデバック情報の収集及び改善点に関する意見募集を行った。

最終的に五十数個の改善意見やデバック情報が集まり、これらの問題点を解決しながらシステム改良を実施した結果、デバッグ期間は2カ月間で完了した。

7 電子化システム導入に係る職員周知

本システムの運用にあたっては、本格運用に先立ち、3カ月間の試験運用期間を設けるとともに、規格に従い記録を行う職員に対し、規格に係る教育研修に取り込む形で職員に動作原理及び、操作方法等の周知を実施した。

また、運用の初期段階には、各セクションに任命されている情報化推進員が職員にシステムの解説やシステム利用の支援を行い本格運用へと移行した。

8 まとめと今後の課題

(1) 日常点検を電子化することにより、各種記録に用いていた紙類を削減することが出来、また職員全員が、電子記録のデータを閲覧することが可能となった。

システムのアクセス解析によると、アクセスカウント数はトップページだけの参照で、1,200ページ/月となり、平均1人1日1回のアクセス数となった。

このことは、職員全員が、毎日、記録シートを点検し、担当する部屋の温度管理の実施状況、及び、廃棄物の排出量の削減率に関心を高め、規格運用への意識の高揚に効果があったと考えている。

また、規格の運用上、データベース(RDBMS)での情報の一元管理が可能となり、「環境目的、環境目標」

の達成状況の把握を容易なものとしている。

(2) 「ISO 日常点検システム」は、当センターの規格を電子化（コンピュータシステム化）したが、他の開発プロセスへ応用ができる。

参考となった項目は、

ア プログラムの抽象化：必要とされる仕様の中心となる再利用可能な簡易なプログラムを最初に作成した。

イ プログラムの派生：最初の中心となるプログラムからプログラムを派生させ、サブプログラムを作成し、項目に合わせた処理プログラムとした。

ウ プログラム処理単位の統合：日常点検での記録単位は毎日～随時まで多岐に渡っていたが、処理単位を点検の最小単位（1日）に合わせた。

以上のことから、プログラムの見通しが良くなり可読性が向上し、人的コストを削減し、システム開発期間を短く出来た。

(3) 当センターの IT 化は、未だ開発途上である。

規格を逐次システム化することは、運用の上で利便性及び、利用頻度が向上し、職員一人一人の自覚が促されるものと期待している。

さらに、IT 化を進める事項として下記の運用管理システムの構築を鋭意進めている。

ア グリーン購入対応の物品発注管理システム

イ 毒劇物薬品の管理システム

なお、これまでの当センターでの規格の運用及び、事務処理の改善についての電子化システム導入の取り組みは、(財) 地方自治情報センターから表彰を受け、雑誌²⁾に既に報告している。

文 献

- 1) 竹野裕治，加藤充哉：石川保環研報，37，96—104 (2000)
- 2) 宮川茂樹：月刊 LASDEC，(財) 地方自治情報センター，32，28—33 (2002)

〔資 料〕

パルスフィールドゲル電気泳動法を用いた各種病原菌に対する分子疫学的解析の応用例

石川県保健環境センター感染症部 倉本 早苗・戌亥 一郎・芹川 俊彦

キーワード：分子疫学的解析，パルスフィールドゲル電気泳動法，制限酵素，散発型集団発生

1 はじめに

近年、感染症や食中毒の原因究明の有用な手段として、分子疫学的解析法が用いられるようになり、その解析結果に基づく科学的根拠が感染源および感染経路の特定に必要不可欠となっている。なかでも、パルスフィールドゲル電気泳動 (Pulse-Field Gel Electrophoresis; 以下 PFGE) 法はその識別能力の高さから有用性が認められ、細菌の分子疫学的解析法の標準的解析法としての地位を確立している¹⁾。

1983年に、通常のアガロースゲル電気泳動では泳動不可能な数百 kd の DNA 分子を分離する方法が紹介され、様々な検討がなされた後1990年代始めに今日の PFGE 法が確立された。その後、1996年の大阪府堺市を中心とした腸管出血性大腸菌 O157 集団感染事例を契機に多くの機関で PFGE 法を用いた遺伝子解析が実施されるようになった。当センターにおいても、1998年に CHEF-DR III System (BIO-RAD 社) を導入し、各種病原菌について順次検討を行い、多くの菌種についての遺伝子解析手法を確立するとともに、その手法を実際の健康危機管理事例に活用することができたので、各種病原菌についての PFGE 手法とその主な活用事例について概要を述べる。

2 各種病原菌の PFGE 法

2・1 PFGE 法の基本操作

(1) PFGE 法の原理

PFGE 法は分子疫学的解析法の一つで、染色体 DNA の制限酵素処理断片を電気泳動し、分子サイズの違いにより生ずる泳動距離の差を利用して分析する技術である。通常の電気泳動では電場は1方向に固定されており、分子サイズがある一定サイズ以上になるとアガロースゲルマトリックスを通過できない欠点がある。しかし、PFGE 法では2方向の電場が任意の時間間隔で交互に変化することにより、DNA 断片はアガロースゲルマトリックス中を屈曲しながら移動するため、巨大な断片でも泳動が可能となる。

(2) PFGE 法の基本的な手順

PFGE 法の基本的な操作手順を表1に示した。まず、目的とする細菌を増菌培養 (純培養) し、後の操作による物理的な損傷を避けるため、その菌体をアガロースブロックの中に包埋する。次に、Lysozyme などを用いて細胞壁を破壊後、Proteinase K でタンパクを分解し DNA を抽出する。抽出した DNA を制限酵素で断片化し、パルスフィールドゲル電気泳動により断片をバンドとして分離する。

2・2 各種病原菌についての PFGE 手法

各種病原菌についての PFGE 手法を、各種文献^{2)~5)}等を参考にして検討し、これまでに確立した病原菌の PFGE 条件を表2にまとめた。以下に検討した内容を手順毎の注意点として記載する。

(1) 前培養および包埋

各種細菌に通常使用している平板培地あるいは液体培地を使用した。なお、*Streptococcus pneumoniae* や

Application of Molecular Epidemiological Analyses to Pathogenic Bacteria Using Pulse-Field Gel Electrophoresis. by KURAMOTO Sanae, INUI Ichiro and SERIKAWA Toshihiko (Infectious Diseases Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Molecular epidemiology, Pulse-field gel electrophoresis, Restriction enzyme, Diffuse outbreak

表1 PFGE法の操作手順

処 理 行 程	意 義	所要時間	処理日程
① 増菌培養	10 ⁸ /mL菌液を調整	16~20時間	1日目
② アガロースゲルで菌を包埋	菌体を固定する	1時間	2~3日目
③ Lysozyme/Lysostaphin 処理	細胞壁の破壊	2時間~ON	
④ Proteinase K 処理	タンパク分解	8時間~ON	
⑤ 洗浄	Proteinase K 除去	3時間	3~4日目
⑥ 制限酵素処理	DNA の断片化	6時間~ON	
⑦ バルスフィールドゲル電気泳動	バンドとして分離する	20~29時間	4~5日目
⑧ 染色(Ethidium Bromide)	DNA 断片の可視化	2時間	5~6日目
⑨ 写真撮影・画像処理	画像取り込み	1時間	

間~一昼夜, *Legionella* および *Clostridium* については終濃度10mg/mL Lysozyme 処理を, *Streptococcus* などのグラム陽性球菌については Lysozyme (終濃度1 mg/mL) +Lysostaphin (終濃度80 μg/mL) 処理を一昼夜で実施することにより溶菌が可能であった。

(3) タンパク分解

全ての菌種において, 一般的な方法である Proteinase K (終濃度1mg/mL) 処理を8時間~一昼夜で十分なタンパク分

Serratia marcescens など自己融解をする菌については通常の方法ではバンドが分離されない傾向があり, 培養時間を短くするか或いは菌液を95°C 30秒間加熱するなどの工夫により問題が解消された。また, プラグに包埋する際, DNA (菌) 量が多すぎるとバンドが大きくなり解析しにくくなる傾向があり, 包埋菌量をマックワラランド1~3に調整する必要があった。

(2) 溶 菌

E.coli, *Salmonella*, *Campylobacter* および *Aeromonas* については終濃度1 mg/mL Lysozyme 処理を2時

間~一昼夜で十分なタンパク分

(4) Proteinase K の洗浄

Proteinase K が残存していると, 後に加える制限酵素が分解されてしまうため, これを失活させる必要がある。以前は Phenylmethylsulphonyl Fluoride (PMSF) を用いていたが, 強い毒性があるため, より毒性が低くかつ不可逆的に Proteinase K を失活させる利点を持つ Pefabloc SC に2002年より変更した。

(5) 制限酵素による DNA の断片化

適宜菌種に応じた制限酵素20~30 U/100 μL を用い, 適温で6時間~一昼夜反応させることにより DNA の断片化が可能であった。*Salmonella* や *Clostridium* など, 2種類の制限酵素を用いることにより更に識別の精度を高めることができる場合があった。このように, 制限酵素により異なる解析結果が得られる可能性のある菌種は, その結果の解釈に注意が必要である。

(6) 電気泳動

適宜菌種に応じた電圧およびパルスタイム条件で, 12~14°C の0.5倍濃度 TBE Buffer で泳動した。

3 主な活用事例

3・1 腸管出血性大腸菌感染症事例

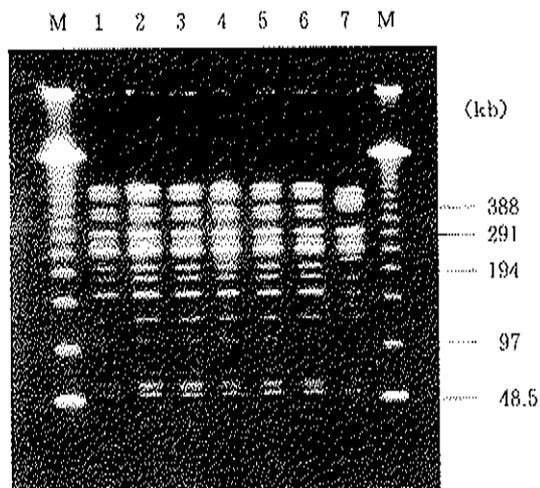
腸管出血性大腸菌 (EHEC) は, これまで当センターで最も数多く, PFGE 法による遺伝子解析 (以下 PFGE 解析) を実施した菌種である。

一例として, 2002年9月に南加賀保健所管内で発生した EHEC O157:H7 集団感染事例⁶⁾では, 保育園の園児, 職員およびその家族に感染が拡大していたが, それらの関連性が PFGE 解析により解明された (図1)。

3・2 食中毒事例

サルモネラ, 黄色ブドウ球菌, 病原性大腸菌など多くの食中毒起因菌について, 患者由来株と食品等由来株と

(制限酵素: Xba I)



M: Size Marker (Lambda Ladder)

No. 1~3: 保育園児由来株
 No. 4, 5: 保育園職員由来株
 No. 6: No. 1の家族由来株
 No. 7: 対照 O157:H7 株

図1 EHEC O157:H7 集団感染事例の PFGE 解析結果

表 2 各種菌株の PFGE の条件 (石川県保健環境センター)

供試菌	<i>Escherichia coli</i> (EHEC)	<i>Escherichia coli</i> (EHEC 以外)	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Legionella</i> spp.	<i>Campylobacter jejuni</i>
使用培地	トリプトニンイ寒天培地	トリプトニンイ寒天培地	トリプトニンイ寒天培地	CW 寒天培地 (寒気)	BCYE 寒天培地	血液寒天培地 (寒気)
培養温度	35-37°C	35-37°C	35-37°C	35-37°C	35-37°C	35-37°C
培養時間	16-20hr	16-20hr	16-20hr	16-20hr	24-48hr	24-48hr
菌の懸濁濃度	MaF: 1~3	MaF: 1~3	MaF: 1~3	MaF: 1~3	MaF: 1~3	MaF: 1~3
固体包埋用アガロース濃度	1% 低融点アガロース	1% 低融点アガロース	1% 低融点アガロース	1% 低融点アガロース	0.5% 低融点アガロース	1% 低融点アガロース
溶菌	Lysozyme (終濃度 1mg/mL): 37°C, 2hr-ON	Lysozyme (終濃度 1mg/mL): 37°C, 2hr-ON	Lysozyme (終濃度 1mg/mL): 37°C, 2hr-ON	Lysozyme (終濃度 10mg/mL): 37°C, ON	Lysozyme (終濃度 10mg/mL): 37°C, ON	Lysozyme (終濃度 1mg/mL): 37°C, 2hr-ON
Proteinase K	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON
高濃酵素 (U/100μL)	Xba I (20-30U: 37°C) Not I (20-30U: 37°C)	Xba I (20-30U: 37°C) Not I (20-30U: 37°C)	Xba I (20-30U: 37°C) Not I (20-30U: 37°C)	Sma I (20-30U: 37°C) Not I (20-30U: 37°C)	Sfi I (20-30U: 50°C)	Sma I (20-30U: 37°C) Sac II (20-30U: 37°C)
泳動条件 (電圧, パルス数, 時間, 泳動温度)	6V/cm (200V) 5-50sec 20hr 12-14°C	6V/cm (200V) 5-50sec 20hr 12-14°C	6V/cm (200V) 5-50sec 20hr 12-14°C	6V/cm (200V) 5-50sec 20hr 12-14°C	6V/cm (200V) 5-50sec 20hr 12-14°C	6V/cm (200V) 0.5-25sec 20hr 12-14°C
供試菌	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA 含)	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
使用培地	トリプトニンイ寒天培地	トリプトニンイ寒天培地	Todd-Hewitt broth (4mL)	トリプトニンイ寒天培地	Todd-Hewitt broth (5mL)	トリプトニンイ寒天培地
培養温度	35-37°C	35-37°C	30°C	35-37°C	35-37°C	35-37°C
培養時間	16-20hr	16-20hr	16-20hr	16-20hr	6-8hr	15-20hr
菌の懸濁濃度	MaF: 1~3	MaF: 1~3	MaF: 1~3	MaF: 1~3 (95°C 30s)	MaF: 1~3	MaF: 1~3
固体包埋用アガロース濃度	1% 低融点アガロース	1% 低融点アガロース	1% 低融点アガロース	1% 低融点アガロース	1% 低融点アガロース	1% 低融点アガロース
溶菌	Lysozyme (終濃度 1mg/mL): 37°C, 2hr-ON	Lysozyme (終濃度 1mg/mL) + Lysoistaphin (終濃度 80μg/mL): 37°C, ON	Lysozyme (終濃度 1mg/mL) + Lysoistaphin (終濃度 80μg/mL): 37°C, ON	Lysozyme (終濃度 1mg/mL): 37°C, 2hr-ON	Lysozyme (終濃度 1mg/mL) + Lysoistaphin (終濃度 80μg/mL): 37°C, ON	Lysozyme (終濃度 1mg/mL): 37°C, 2hr-ON
Proteinase K	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON	Proteinase K (終濃度 1mg/mL): 50°C, 8hr-ON
高濃酵素 (U/100μL)	Xba I (20-30U: 37°C)	Sma I (20-30U: 37°C)	Xba I (20-30U: 37°C) Spe I (20-30U: 37°C)	Xba I (20-30U: 37°C) Spe I (20-30U: 37°C)	Sma I (20-30U: 37°C) Sfi I (20-30U: 50°C)	Sma I (20-30U: 37°C) Not I (20-30U: 37°C)
泳動条件 (電圧, パルス数, 時間, 泳動温度)	4.5V/cm (150V) 20sec 12hr, 5 to 15sec 17hr 12-14°C	6V/cm (200V) 1-40sec 20hr 12-14°C	6V/cm (200V) 1-40sec 20hr 12-14°C	6V/cm (200V) 5 to 60sec 20hr 12-14°C	6V/cm (200V) 1-40sec 20hr 12-14°C	6V/cm (200V) 5-55sec 20hr 12-14°C

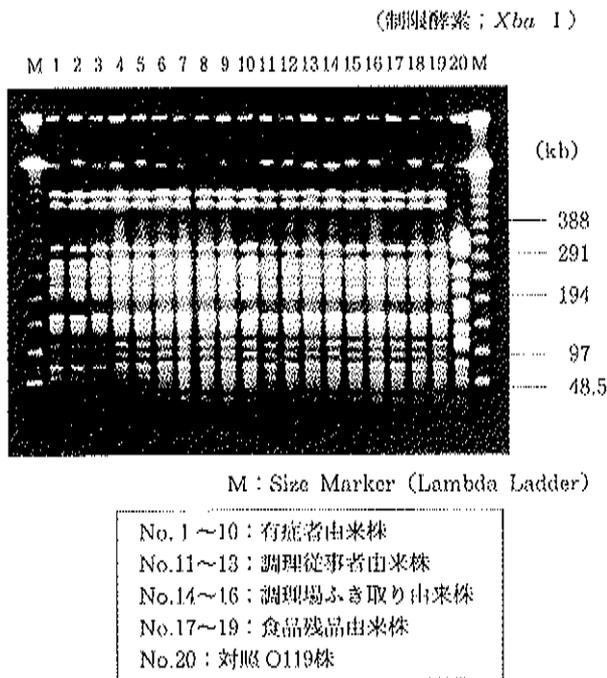


図2 EPEC O119 : H21食中毒事例の PFGE 解析結果

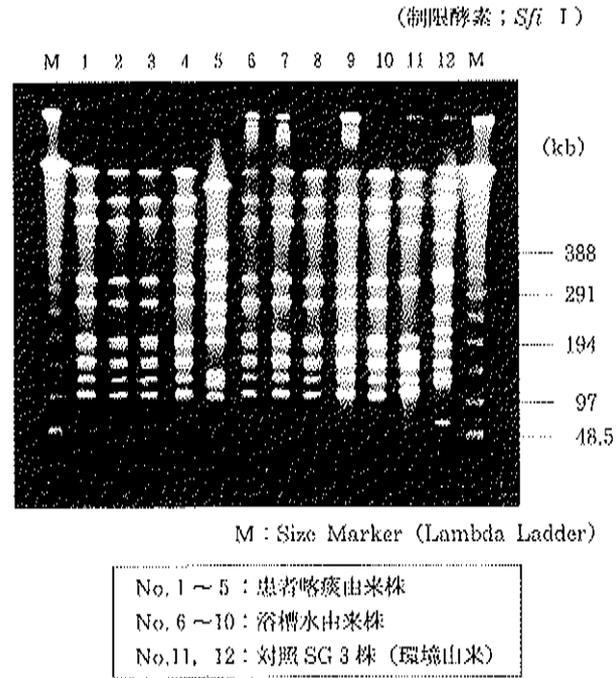


図3 レジオネラ症死亡事例の PFGE 解析結果

の相同性を PFGE 解析により解明し原因食品等の特定に寄与できた。

2001年5月に石川中央保健所管内で発生した腸管病原性大腸菌 (EPEC) O119 : H21による食中毒事例²⁾では、患者の殆どが優勢に本菌を保有していたことと、食品および調理場のふきとり検査からも同菌が分離され、全ての菌が腸管付着因子である *eaeA* 遺伝子を保有しており、また PFGE 解析によりそれらの DNA 切断パターンが一致したことから、同菌が病因物質と断定された (図2)。

2001年6月に金沢市保健所管内で、新しい食中毒菌として注目を浴びている *Providencia alcalifaciens* (PA) が原因と推定される食中毒事例³⁾が発生した。本事例は、既存の病原体は分離されず、患者17人中16人から PA が

優位に分離され、それらの PFGE 解析の結果、患者から分離された全ての PA の DNA 切断パターンが一致し、PA が病因物質と推定された。

3・3 レジオネラ症による死亡事例

2003年1月、石川県内の温泉を利用した循環ろ過方式の公衆浴場施設を感染源とする *Legionella pneumophila* (L.p) 血清群 (SG) 3 によるレジオネラ症死亡事例⁴⁾が発生した。患者の喀痰および患者がほとんど毎日利用していた当該公衆浴場の浴槽水から L.p SG3 が分離され、それらの PFGE 解析の結果、分離された L.p の DNA 切断パターンが一致し、当該公衆浴場の浴槽水が感染源と断定された (図3)。

4 考 察

細菌の分子疫学的解析 (型別) 法には様々なものがあるが、現状において完全な解析法は無い。解析法の機能の評価については、①適応範囲 (菌種)、②識別能力、③再現性、④容易さ、⑤コストおよび機器 (設備) などが挙げられるが、若干菌種により識別能力に差異を認めるものの、総合的に判断して PFGE 法が最も機能的に優れているといわれている (表3)。但し、PFGE 解析は分子

表3 主な細菌型別判定法の特徴の比較

主な型別判定法	適応範囲	識別能力	再現性	実施難度	解釈難度
抗生物質感受性パターン	すべての菌種	1	3	1	1
血清型別	多くの菌種	2	3	3	3
プラスミド型別	多くの菌種	3	3	3	3
ミニゲル DNA 断片長解析	すべての菌種	3	3	3	5
DNA プローブ多型解析	すべての菌種	4	5	5	3
RAPD 法	すべての菌種	3	3	4	3
PFGE 法	すべての菌種	5	5	4	3

(文献¹⁾より抜粋)

疫学的解析手法の一つに過ぎず、由来間の関連性を判断するには、疫学情報や血清型などの表現型も加味して総合的に判断する必要がある。

今日では、主な活用事例で述べたように、PFGE解析は感染症や食中毒の感染源および感染経路の特定に必要不可欠となっている。また、前述のレジオネラ症による死亡事例のように患者が死に至るような事例では、その結果を司法などの証拠として求められることもあり得る。このようにPFGE解析は行政の試験研究機関の業務として大変重要な意義を持っており、当センターは石川県における唯一の実施可能行政機関であることから、今後も適正かつ精度の高い検査が要求される。

EHECについては、1997年より散発型集団発生の把握を主な目的として、分離された全ての菌株を国立感染症研究所(感染研)へ送付しているが、現在全国で年間2000株以上のEHECが分離されており、一機関でPFGE解析を実施することには限界がある。そこで、厚生労働科学研究費「パルスフィールド電気泳動法の標準化及び画像診断を基盤とした分散型システムの有効性に関する研究」¹⁰⁾により、PFGE手法の諸条件を標準化し各地方衛生研究所(地研)でPFGEを実施し、その泳動画像を感染研あるいは各ブロックの担当地研に電送し解析するシステム(パルスネット)の構築が検討されており、近々に本格稼働の予定と報告されている。

5 ま と め

(1) 各種病原菌についてのPFGE手法

1999年～2003年にかけて、順次各種病原菌のPFGE手法を検討し、EHEC、EHEC以外の*Escherichia coli*、*Salmonella spp.*、*Legionella spp.*など10種類以上の菌種についてPFGE解析が実施可能となった。細菌の種類によっては、手法に若干の工夫や改善が必要であった。

(2) 主な活用事例

腸管出血性大腸菌やレジオネラ属菌による感染症事例並びにサルモネラや病原性大腸菌などによる食中毒事例について、菌株間の相同性をPFGE解析により解明し、感染源・感染経路の究明に寄与できた。

文 献

- 1) 満田年宏：感染対策のための分子疫学入門—パルスフィールド電気泳動法を中心に—、(株)メディカ出版、大阪府(2002)
- 2) 一山 智、田中大祐、刑部陽宅、加藤はる、寺嶋淳、渡邊治雄、中村明子：臨床と微生物、23、621—644(1996)
- 3) 渡邊治雄：腸管出血性大腸菌O157の検出・解析等の技術研修会、17—31(1997)
- 4) 水口康雄：新興・再興感染症研究事業「我が国におけるパルスネット構築のための緊急研究」報告書、28—81(1999)
- 5) 杉山 明：平成12年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部細菌部会資料「食中毒対策特別部会からの報告パルスフィールド電気泳動法の標準化」(2001)
- 6) 里見良二、川上慶子、山田恵子、北川恵美子、中村辰美、川尻善典、伊川あけみ、寺西久子、作美清恵、能登隆元、見谷 亨、倉本早苗、米澤由美子、芹川俊彦：病原微生物検出情報月報、23(12)、320(2002)
- 7) 北西陽一、児玉洋江、谷村睦美、村本 隆、木村秋雄、川島ひろ子、倉本早苗、黒崎直子、尾西 一、芹川俊彦、西野久仁夫：病原微生物検出情報月報、22(8)、195—196(2001)
- 8) 倉本早苗、芹川俊彦、田嶋隆俊、岡部佐都瑠、小西和子、梨子村絹代、吉藤香代：日本公衆衛生雑誌、49(10)、849(2002)
- 9) 倉本早苗、芹川俊彦、見谷 亨、金戸恵子、寺西久子、里見良二、能登隆元、伊川あけみ：病原微生物検出情報月報、24(6)、135—136(2003)
- 10) 渡邊治雄：新興・再興感染症研究事業「パルスフィールド電気泳動法の標準化及び画像診断を基盤とした分散型システムの有効性に関する研究」報告書、(2003)

〔資 料〕

廃棄物固形化燃料 (RDF) の細菌数及び 脂肪酸並びに pH について

石川県保健環境センター感染症部 戌亥 一朗・倉本 早苗・芹川 俊彦
石川県保健環境センター食品薬品科学部 大西 道代・岸原 聡
石川県保健環境センター水質科学部 橋本 潤子・平尾真規子・柴野 昭

キーワード：廃棄物固形化燃料 (RDF), 細菌数, 脂肪酸, pH

1 はじめに

平成15年10月、県内の廃棄物固形化燃料貯蔵施設で貯蔵中の廃棄物固形化燃料 (Refuse Derived Fuel, 以下「RDF」という。) が異常発熱した。貯蔵施設への受入れ時の RDF と発熱事故後抽出された RDF の性状の分析を行うことにより、貯蔵サイロ内での微生物による発酵や化学的酸化の有無及び RDF そのものの性状変化を確認することを目的に、各工程での RDF の好気性細菌数、嫌気性細菌数及び耐熱細菌数、脂肪酸の定量並びに pH の測定を行ったのでその結果を報告する。

2 試料と方法

2・1 試料

- (1) 別の4施設で生産された貯蔵施設に受入れる前の RDF (4 検体：検体番号 A-1~A-4)。
- (2) 発熱事故後、貯蔵施設から最初の段階で抽出されたが目視上はほぼ通常の状態と思われる RDF (3 検体：検体番号 B-1~B-3)。
- (3) 発熱にさらされたと思われる RDF が混入したものの (3 検体：検体番号 B-4~B-6)。
- (4) 発熱にさらされたと思われる RDF が混入し、粉化の度合いが進んだもの (3 検体：検体番号 B-7~B-9)。
- (5) 湿潤状態の RDF が混入したものの (1 検体：検体番号 D-1)。

2・2 検査方法

(1) 細菌数の測定

細菌数の測定は：混釈平板培養法「衛生試験法・注解、微生物試験法」(日本薬学会編, 2000) に準拠して以下のとおり実施した。

試料原液の作成：粉碎された RDF10g をストマッカー容器にとり滅菌生理食塩水90ml を加えよく混合し、試料原液とした。

ア 好気性菌の菌数

試料原液、10倍液、100倍液に段階希釈しそれぞれ 1 ml ずつ 2 枚のシャーレに入れ、48°C に保った滅菌標準寒天培地 (ニッスイ) を約15ml 注ぎ、36±1°C で24~48時間培養し発育したコロニー数を計測し、好気性細菌の菌数とした。

イ 嫌気性菌の菌数

アと同様にして試料原液、10倍液、100倍液をそれぞれ 1 ml ずつ 2 枚のシャーレに分注し、GAM 寒天培地 (ニッスイ) を約20ml 注ぎ、36±1°C で24~48時間嫌気培養し発育したコロニー数を計測し、嫌気性細菌の菌数とした。

ウ 好気性及び嫌気性の耐熱細菌数

試料原液 5 ml 並びに10倍液を沸騰水中で10分間加熱し、急冷後それぞれを 4 枚のシャーレに 1 ml ずつ分注し、4 枚のうちの 2 枚には標準寒天培地を、残りの 2 枚には GAM 寒天培地を注ぎ、36°C±1°C で24~48時間培

Bacterial Colony Forming Units, Fatty Acids and pH in Refuse Derived Fuel (RDF). by INUI Ichiro, KURAMOTO Sanae, SERIKAWA Toshihiko, OIINISHI Michiyo, KISHIHARA Satoshi, HASHIMOTO Junko, HIRAO Makiko and SHIBANO Akira. (Infectious Diseases Department, Food & Drug Science Department and Water Quality Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Refuse derived fuel (RDF), Bacterial colony forming unit, Fatty acid, pH

養(前者は好気培養, 後者は嫌気培養)した後, 発育したコロニー数を計測し, 好気性及び嫌気性の耐熱細菌数とした。

(2) 脂肪酸の定量

RDF中の酢酸, プロピオン酸及びn-酪酸を水蒸気蒸留法により留出し, 精製した後, 液体クロマトグラフィーにより定量した(図1)。

(3) pHの測定

pHの測定は「産業廃棄物に含まれる金属等の検定法」に準じ, RDFが重量体積比10%となるよう蒸留水を加え振とう溶出したる液について, ガラス電極法で実施した。

3 結果及び考察

3・1 細菌数について

好気性細菌数, 嫌気性細菌数は1グラムあたり, 1検体(A-3)を除いて $10^1 \sim 10^4$ CFU/gの範囲(表1)であり, 受入れRDFと発熱にさらされたと思われるRDFの間において, 有意水準5%で差は認められなかった。検体番号A-3は受入れRDFで, 10^3 CFU/gレベルであり他の検体の1/100~1/1000であった。

耐熱性細菌数は好気性細菌数, 嫌気性細菌数の1/10のレベルであったが, 受入れRDFと発熱にさらされた

① 試料からの抽出, 精製



② 定量 (HPLC法)

カラム: スベルコ Discovery HS C18 25cm×4.6mm (5μm)
 移動相: 0.05モル/Lリン酸:アセトニトリル=97:3
 流量: 1.0mL/min
 測定波長: 220nm (210nm)
 注入量: 50μL

図1 酢酸, プロピオン酸, n-酪酸の定量

と思われるRDFの間において有意な差は認められなかった。

3・2 脂肪酸, pHについて

RDF貯蔵中の発熱原因として発酵があげられるこ

表1 廃棄物固形燃料(RDF)に係る分析結果

試料番号	試料採取日	細菌検査項目				脂肪酸(mg/g)			pH	備考	区分
		好気性細菌数	嫌気性細菌数	耐熱細菌数		酢酸	プロピオン酸	n-酪酸			
				好気性	嫌気性						
A-1	H.16. 1.27	7.9×10^1	5.0×10^1	4.2×10^3	2.5×10^3	4.96	1.06	2.55	8.5	別の4施設で生産された貯蔵施設に受入れる前のRDF	目視上正常
A-2	H.16. 1.27	4.2×10^3	9.3×10^1	1.5×10^3	1.4×10^3	2.42	0.25	0.47	6.3		
A-3	H.16. 1.24	6.3×10^3	2.0×10^2	1.1×10^2	3.0×10^1	2.91	0.22	0.53	6.7		
A-4	H.16. 1.27	6.4×10^1	3.5×10^1	9.0×10^2	1.4×10^3	2.24	0.20	0.51	6.7		
B-1	H.15.10.27	1.6×10^1	9.4×10^1	1.6×10^1	6.8×10^3	3.60	0.17	0.42	7.1	発熱事故後, 貯蔵施設から最初の段階で払出されたが目視上は通常の状態と思われるRDF	目視上正常
B-2	H.15.10.28	1.5×10^3	7.4×10^1	1.5×10^1	5.4×10^1	3.82	0.22	0.43	7.0		
B-3	H.15.10.29	2.5×10^3	3.4×10^3	5.1×10^1	3.7×10^1	3.26	0.19	0.41	6.7		
B-4	H.15.11. 4	6.5×10^1	3.1×10^1	3.8×10^3	1.1×10^3	4.46	0.23	0.38	6.9		
B-5	H.15.11. 5	2.1×10^1	7.8×10^1	1.4×10^1	4.0×10^1	4.33	0.18	0.37	7.2	発熱にさらされたと思われるRDFが混入したものの	目視上異常
B-6	H.15.11.23	1.2×10^3	7.8×10^1	1.5×10^1	5.3×10^3	4.70	0.23	0.39	6.8		
B-7	H.15.11. 7	7.8×10^1	5.4×10^1	5.3×10^1	2.0×10^3	4.57	0.21	0.35	6.9		
B-8	H.15.12.12	7.1×10^1	3.5×10^1	1.6×10^1	2.8×10^3	4.40	0.18	0.37	7.0		
B-9	H.15.12.16	1.6×10^1	4.8×10^1	7.4×10^1	8.0×10^3	3.73	0.16	0.21	7.4	発熱にさらされたと思われるRDFが混入し, 粉化の度合いが進んだものの	目視上異常
D-1	H.15.11. 3	9.7×10^1	4.4×10^1	5.6×10^1	2.0×10^1	5.26	0.21	0.42	7.0		

※ 試料1gあたりのコロニー数。検出下限値10CFU/g

と¹⁾、有機物の発酵により酢酸等の低級脂肪酸が生成し²⁾、pHの変動があると推察されることから、低級脂肪酸のうち酢酸、プロピオン酸、n-酪酸の3種についての定量を行い、併せてpHの測定を実施した。その結果からは、異常発熱前後のRDFで脂肪酸の量、pHの変動に明らかな差はなかった(表1)。発酵のもととなる有機物はRDFの原料となるゴミ質によりその種類や量が異なることから脂肪酸の分析値から発酵の有無を推定するにはさらなる検討が必要であると思われた。

4 ま と め

今回の試験は、貯蔵サイロ内で微生物による発酵又は化学的酸化の有無、及び発熱にさらされたことによる性状の変化を確認することを目的とするものであったが、

試験を実施した項目については、受入れRDFと発熱にさらされたRDFに有意の差を認めるものではなかった。発熱原因として考えられる発酵と有機物の酸化を示唆する結果は得られなかったが、発酵の原因となり得る菌種の存在が確認されたことから、それらの菌種に至適な温度や湿度条件が整えば発酵する可能性があり、発酵熱による発熱事故の原因と成り得ると考えられた。

文 献

- 1) 環境省ごみ固形燃料適正管理検討会：ごみ固形燃料の適正管理方策について(平成15年12月25日)(2003)
- 2) 本田富義：愛知県公害センター所報, 21, 71—75(1993)

〔資 料〕

石川県におけるインフルエンザ流行状況

—— 主に2003/2004シーズンについて ——

石川県保健環境センター感染症部 黒崎 直子・大矢 英紀・尾西 一

キーワード：インフルエンザウイルス

1 はじめに

近年、世界的に大流行を起こす「新型インフルエンザ」の登場が危惧される¹⁾²⁾中、インフルエンザの流行監視や分離ウイルスの抗原性状の解析等を行うことの意義は、非常に高まっている。

当センターでは、年間を通して集団かぜおよび散発のかぜ患者を対象に、インフルエンザウイルスの検査を実施しているが、その結果をもとに平成15年度(2002/2003シーズンの終盤と主に2003/2004シーズン)における流行状況、分離ウイルスの抗原性状等について報告する。

2 材料と方法

2・1 患者発生状況

(1) 集団かぜ患者発生状況

県健康推進課が、学校を対象として調査している「集団かぜ発生状況報告」で把握した。

(2) 定点医療機関におけるかぜ患者発生状況

感染症発生動向調査の、県内48定点医療機関(インフルエンザ定点19, 小児科定点29)における、インフルエンザ患者報告数で把握した。

2・2 ウイルス検査

(1) インフルエンザウイルス分離

患者の咽頭ぬぐい液または鼻汁を検体として、トリプシン添加 MDCK 細胞を用いて実施した。

(2) 分離ウイルスの HA 抗原性状

0.5%モルモット赤血球を用いて、国立感染症研究所より分与された平成15年度ワクチン株ウイルス A/New

Caledonia/20/99 (H1N1), A/Panama/2007/99 (H3N2), B/Shandong/7/97 (Victoria 系統株) および参照株ウイルス A/Moscow/13/98 (H1N1), A/Kumamoto/102/02 (H3N2), B/Johannesburg/5/99 (山形系統株) に対する感染フェレット抗血清との HI (赤血球凝集抑制) 反応により分析した。なお、2003年4月に分離したウイルスについては、平成14年度の参照株ウイルス B/Hiroshima/23/01 (山形系統株), B/Kagoshima/11/2002 (Victoria 系統株) に対する抗血清(前者は感染フェレット抗血清、後者は羊高度免疫血清)で HI 反応を実施した。

(3) 遺伝子検出

一部の検体については、インフルエンザウイルス A (H1) 型, A (H3) 型, B 型それぞれについての HA 遺伝子を検出するプライマー³⁾を用い、RT-PCR 法による遺伝子検出を実施した。

3 結果と考察

3・1 集団かぜ

(1) 患者発生状況

「集団かぜ発生状況報告」によると、平成15年4月15日(平成15年第16週)の門前町立櫛比小学校の発生が昨シーズン(2002/2003シーズン)最後の発生であったが、2003/2004シーズンの流行は、平成15年12月18日(平成15年第51週)の金沢市立安原小学校が初発であった。その後翌年の第3週から患者数、施設数ともに増加し、第6週でピークとなり、3月16日(平成16年第12週)に輪島市立町野小学校を最後に終息した。この間の発生施設

Prevalence of Influenza during mainly 2003-2004 Influenza Season in Ishikawa Prefecture, by KUROSAKI Naoko, OYAMA Hideki and ONISHI Hajime (Infectious Disease Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Influenza virus

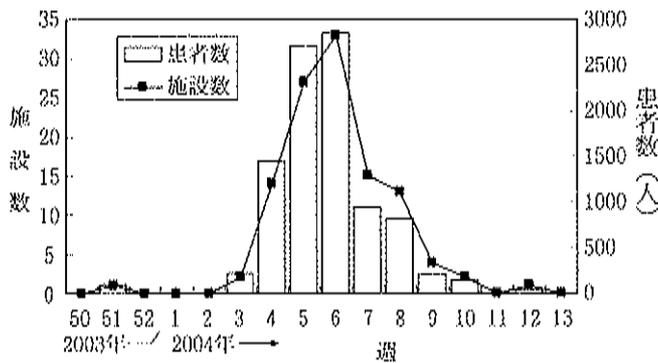


図1 集団かぜ発生状況

は112施設、患者数は9,389人に達した(図1)。

(2) ウイルス検査結果

ウイルス分離は、各保健所・地域センター管内で初発生の12施設、61人について実施し、そのうち9施設20人(分離率32.8%)からインフルエンザウイルスを分離した(表1)。

表1 集団かぜ検査状況

発生年月日(週)	学校名	検体数	分離数	型
2003/4/15 (16)	櫛比小学校 (門前町)	5	4	B
2003/12/18 (51)	安原小学校 (金沢市)	4	0	
2004/1/13 (3)	高尾台中学校 (金沢市)	5	3	A(H3)
" (3)	森本中学校 (金沢市)	5	2	A(H3)
2004/1/19 (4)	中条小学校 (津幡町)	5	2	A(H3)
" (4)	河井小学校 (輪島市)	7	2	A(H3)
2004/1/22 (4)	錦城小学校 (加賀市)	6	1	A(H3)
2004/1/26 (5)	浜小学校 (根上町)	5	0	
2004/1/26 (5)	野々市中学校 (野々市町)	5	0	
2004/1/26 (5)	富来中学校 (富来町)	5	2	A(H3)
2004/1/27 (5)	東部中学校 (七尾市)	5	2	A(H3)
2004/2/5 (6)	珠洲実業高校 (珠洲市)	4	2	A(H3)
合計	12施設	61	20(分離率32.8%)	

表2 分離ウイルスのHA抗原性(集団かぜ, 2002/2003シーズン, B型)

抗原	抗血清(Victoria系統株)		採取日	施設名
	B/Shandong/7/97	B/Kagoshima/11/2002		
B/石川/9	<10 (160) ^a	320 (10240) ^a	2003/4/15	櫛比小学校
B/石川/10	<10 (160)	320 (10240)	"	"
B/石川/11	<10 (160)	320 (10240)	"	"
B/石川/13	<10 (160)	1280 (10240)	"	"

※ () はホモの抗体価
平成14年度の参照株ウイルス B/Hiroshima/23/01 (山形系統株) に対する HI はすべて<10であった

前述の昨シーズン終盤(平成15年第16週)の患者からはB型インフルエンザウイルス4株が分離された。この株はワクチン株のB/Shandong/7/97 (Victoria系統株) に対する抗血清とは反応しない株であったが、平成14年度の参照株であるB/Kagoshima/11/2002 (Victoria系統株) に対する羊高度免疫血清との反応でVictoria系統株と同定され、そのHA抗原性状は、B/Kagoshima/11/2002のホモ価10240に対して、320~1280と低い反応性を示す株であった(表2)。

分離したA型インフルエンザウイルスは16株で、すべて香港型(H3N2)であった。そのうち13株はワクチン株のA/Panama/2007/99 (H3N2) に類似したHA抗原性状を示したが、1月19日に発生した津幡町立中条小学校から分離した1株と、1月27日に発生した七尾市立東部中学校から分離した2株の計3株については、ワクチン株A/Panama/2007/99 (H3N2) のHI抗体価のホモの値(以下ホモ価と略す)160に対して10~20と3倍以上の差を認め、一方参照株ウイルスA/Kumamoto/102/02 (H3N2) のホモ価320に対して、いずれも320と差が無く、参照株と類似したウイルスと考えられた(表3)。

また、2003/2004シーズン初発生の金沢市立安原小学校の患者から採取した咽頭ぬぐい液からは、インフルエンザウイルスが分離されなかったためHA遺伝子の検出を試みた。その結果、A(H1)型、A(H3)型、B型いずれの遺伝子も検出されなかった。

3・2 定点医療機関におけるかぜ

(I) 患者発生状況

感染症発生動向調査のインフルエンザ患者報告は、平成15年第50週にはじまり、集団かぜと同様に平成16年第6週が発生のピークであった。この週の定点あたり患者報告数は31.8人で、昨シーズンピーク時(64.3人)のほぼ1/2であった。また、前2シーズンと比較すると2003/2004シーズンの

表 3 分離ウイルスの HA 抗原性 (集団かぜ, 2003/2004シーズン, A 香港型)

抗原	抗血清 (H3N2)		採取日	施設名
	A/Panama/2007/99	A/Kumamoto/102/02		
A/石川/190	160 (80)*	640 (320)*	2004/1/13	高尾台中学校
A/石川/191	160 (80)	320 (320)	"	"
A/石川/192	80 (80)	320 (320)	"	"
A/石川/198	40 (80)	320 (320)	2004/1/13	森本中学校
A/石川/199	40 (80)	160 (320)	"	"
A/石川/216	10 (160)	320 (320)	2004/1/19	中条小学校
A/石川/218	40 (160)	160 (320)	"	"
A/石川/219	40 (80)	160 (320)	2004/1/19	河井小学校
A/石川/224	40 (80)	160 (320)	"	"
A/石川/259	80 (80)	320 (320)	2004/1/22	錦城小学校
A/石川/277	160 (160)	320 (320)	2004/1/26	富来中学校
A/石川/278	80 (80)	160 (320)	"	"
A/石川/287	20 (160)	320 (320)	2004/1/27	東部中学校
A/石川/288	20 (160)	320 (320)	"	"
A/石川/340	80 (160)	320 (640)	2004/2/5	珠洲実業高校
A/石川/342	160 (160)	320 (640)	"	"

※ () はホモの抗体価
 平成15年度ワクチン株ウイルス A/New Caledonia/20/99 (H1N1) および参照株ウイルス A/Moscow/13/98 (H1N1) に対する HI はすべて<10であった

表 4 分離ウイルスの HA 抗原性 (定点かぜ, 2003/2004シーズン, B 型)

抗原	抗血清 (B)		採取日 (週)
	B/Shandong/7/97 (Victoria 系統株)	B/Johannesburg/5/99 (山形系統株)	
B/石川/372	<10 (80)*	640 (320)*	2004/3/12 (11)
B/石川/385	<10 (80)	640 (320)	2004/3/22 (13)
B/石川/400	<10 (80)	320 (320)	2004/3/29 (14)

※ () はホモの抗体価

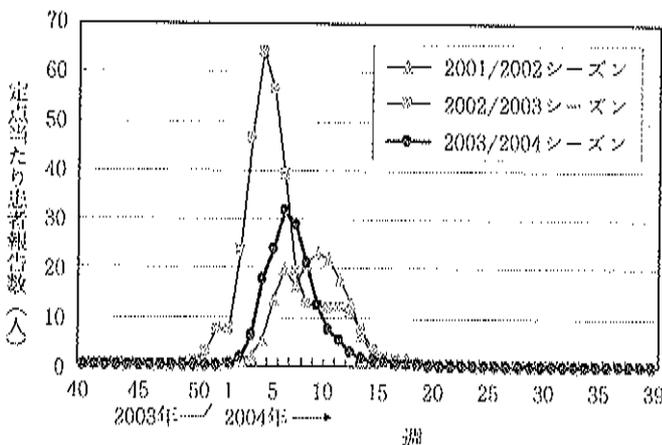


図 2 定点かぜ患者発生状況

流行の終息はやや早かった (図 2)。

(2) ウイルス検査結果

感染症発生動向調査の定点医療機関を受診した、散発のかぜ患者のうち115人についてウイルス分離検査を実施した。その結果109人からインフルエンザウイルスを分離した (分離率94.8%)。

分離したウイルスは、B型は昨シーズン終盤の平成15年第14週に1株、2003/2004シーズンの平成16年第11週以降に3株分離された。前者はワクチン株の B/Shandong/7/97 (Victoria 系統株) に対する抗血清とは反応しない株であったが、平成14年度の参照株である B/Kagoshima/11/2002 (Victoria 系統株) に対する羊高度免疫血清との反応で Victoria

表 5 分離ウイルスの HA 抗原性 (定点かぜ, 2003/2004シーズン, A 香港型)

抗原	抗血清 (H3N2)		採取日 (週)
	A/Panama/2007/99	A/Kumamoto/102/02	
A/石川/202	10 (160)*	160 (640)*	2004/1/10 (2)
A/石川/203	10 (80)	160 (320)	2004/1/11 (2)
A/石川/227	10 (80)	320 (320)	2004/1/16 (3)
A/石川/260	10 (80)	320 (320)	2004/1/20 (4)
A/石川/264	20 (160)	640 (320)	2004/1/21 (4)
A/石川/289	10 (160)	320 (320)	2004/1/23 (4)
A/石川/295	10 (160)	320 (320)	2004/1/24 (4)
A/石川/296	10 (160)	320 (320)	2004/1/25 (4)
A/石川/299	10 (160)	320 (640)	2004/1/27 (5)
A/石川/305	10 (160)	80 (320)	2004/1/29 (5)
A/石川/307	10 (160)	160 (320)	2004/1/29 (5)
A/石川/327	10 (160)	160 (640)	2004/2/2 (6)
A/石川/334	10 (160)	320 (640)	2004/2/4 (6)
A/石川/335	10 (160)	160 (640)	2004/2/4 (6)
A/石川/338	10 (160)	160 (640)	2004/2/5 (6)
A/石川/347	10 (160)	160 (640)	2004/2/9 (7)
A/石川/349	20 (160)	640 (640)	2004/2/9 (7)
A/石川/350	10 (160)	320 (640)	2004/2/9 (7)
A/石川/351	10 (160)	320 (640)	2004/2/9 (7)
A/石川/352	10 (160)	160 (640)	2004/2/9 (7)
A/石川/354	20 (160)	160 (640)	2004/2/9 (7)
A/石川/355	20 (160)	160 (640)	2004/2/10 (7)
A/石川/357	20 (160)	160 (640)	2004/2/10 (7)

※ () はホモの抗体価

平成15年度ワクチン株ウイルス A/New Caledonia/20/99 (H1N1) および参照株ウイルス A/Moscow/13/98に対する HI はすべて <10であった

系統株と同定され, その HA 抗原性状は, B/Kagoshima/11/2002のホモ価10240に対して, 320と低い反応性を示す株であった。後者はすべて山形系統株であった。その H1A 抗原性状は参照株 B/Johannesburg/5/99と類似していた (表4)。

一方, A型は105株ですべて香港型 (H3N2) であった。そのうち82株 (78.1%) はワクチン株の A/Panama/2007/99 (H3N2) と HA 抗原性状が類似していた。残り23株 (21.9%) はワクチン株 A/Panama/2007/99 (H3N2) のホモ価と3管以上の差が認められ, 参照株ウイルス A/Kumamoto/102/02 (H3N2) とは2管以内の差であったことから, 参照株と類似したウイルスと考えられた (表5)。ちなみに昨シーズンは分離された香港型 (H3N2) ウイルス115株のうち, ワクチン株 A/Panama/2007/99 (H3N2) のホモ価と3管以上の差が認められた株は僅か4株 (3.5%) であった⁴⁾。

4 ま と め

(1) 2003/2004シーズンの集団かぜ発生施設は112施設, 患者数は9,389人で, 2002/2003シーズン (121施設, 9,265人) とほとんど変わらなかった。

(2) 2003/2004シーズンに分離されたインフルエンザ

ウイルス124株の内訳は, A 香港型が121株 (97.6%), B型が3株 (2.4%) であった。

(3) 2003/2004シーズンに定点医療機関から分離されたA 香港型ウイルスの HA 抗原性状は, 26株 (21.5%) がワクチン株と3管以上の差があり, 昨シーズン (2.8%) と比較して抗原変異株の割合が増えていたことから, 分離株の抗原変異が示唆された。

(4) 分離されたB型インフルエンザウイルスは, 昨シーズン終盤の集団かぜや定点医療機関の患者から, ワクチン株 B/Shandong/7/97と抗原的相違が大きい Victoria 系統株が5株, 2003/2004シーズン (平成16年第11週以降) には定点医療機関から山形系統株が3株分離され, 流行株の Victoria 系統から山形系統への変化が示唆された。

文 献

- 1) 南谷幹夫: 臨床と微生物, 31(3), 278-279 (2004)
- 2) 鈴木宏: 医学のあゆみ, 208(1), 9-13 (2004)
- 3) 国立感染症研究所: 病原微生物検出マニュアル, 853-895 (2003)
- 4) 黒崎直子, 大矢英紀, 尾西 一: 石川保環研報, 40, 91-94 (2003)

〔資 料〕

牛乳中の遊離脂肪酸の分析

石川県保健環境センター食品薬品科学部 大西 道代・小野 陽介・北 井 博
澤田 道和・岸 原 聡

キーワード：牛乳、遊離脂肪酸

1 はじめに

平成13年から15年にかけて、石川県内で牛乳の異味異臭を主な内容とする事故が多く発生した。そのうちの1事例は、生乳搬入後の温度管理が不十分で発生したランシッド臭によるものが原因であった。ランシッド臭とは、脂肪が分解し、水溶性・揮発性の不快な臭いをもつ酪酸やヘキサン酸などの低級脂肪酸が遊離するために生ずるといわれている¹⁾。そこで、我々は異味異臭等の発生に関わる事故に対応する基礎的検討として、牛乳中の低級遊離脂肪酸の迅速な定分析法を検討することとした。

遊離脂肪酸の分析には、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法があり²⁾、西村らは乳及び乳製品中の遊離脂肪酸を9-アンスリルジアゾメタン(ADAM)により蛍光誘導体化し、高感度にHPLCで定量化する方法を報告している³⁾。今回、西村らの方法について、迅速化を図るために、試験溶液の調製時におけるSep-Pakカートリッジによる精製を省略し、アセトン添加によるタンパク質除去操作のみとした場合の牛乳中の遊離脂肪酸の定分析法について検討したところ、良好な結果が得られたので報告する。また、本法による市販牛乳中の遊離脂肪酸の測定結果を併せて報告する。

2 試料と方法

2・1 牛乳試料

牛乳は平成16年1月金沢市内のスーパーにて購入した8試料を使用した。これら牛乳の乳脂肪分の表示は3.3%以上~3.7%以上となっており、また、風味等には特に異常は感じられなかった。

2・2 試薬及び装置

脂肪酸標準品としてジーエルサイエンス製酪酸(C4:0)、ヘキサン酸(C6:0)、オクタン酸(C8:0)、デカン酸(C10:0)、ラウリン酸(C12:0)、ミリスチン酸(C14:0)、パルミチン酸(C16:0)、ステアリン酸(C18:0)、シグマ社製ミリストレイン酸(C14:1)、パルミトレイン酸(C16:1)、リノレン酸(C18:3)及び和光純薬工業製ペンタデカン酸(C15:0)、オレイン酸(C18:1)、リノール酸(C18:2)の計14物質を使用した。

内部標準物質として関東化学製トリデカン酸(C13:0)を使用した。

蛍光誘導体化試薬としてフナコシ製9-アンスリルジアゾメタン(ADAM)を使用した。

アセトンは和光純薬工業製残留農薬分析用、アセトニトリル及びHPLC移動相に用いる水は和光純薬工業製HPLC用を使用した。

HPLC装置はポンプLC-6A、蛍光検出器RF-10AXL(島津製作所社製)を用いた。

HPLC条件を表1に示す。

2・3 内部標準液の調製

トリデカン酸をアセトンで溶解、10mg/mlとしたものを内部標準液原液とした。これをアセトンで希釈し、内部標準物質25 μ g/mLとしたものを内部標準溶液とした。

2・4 標準溶液の調製

各脂肪酸標準品をアセトン又はヘキサンに溶かし1,000 μ g/mLの標準原液を調製した。これら14種の脂肪酸標準原液をアセトンで希釈、混合して混合標準溶液

Analysis of Free Fatty Acids in Milk. by OHNISHI Michiyo, ONO Yousuke, KITAI Hiroshi, SAWADA Michikazu and KISHIHARA Satoshi (Food & Drug Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Milk, Free fatty acid

表1 HPLC条件

カラム	TSKgel ODS 80-TsQA 4.6×150mm
移動相	アセトニトリル・水混液 (70:30) から (100:0) のグラジエント溶出 〔タイムプログラム〕
	0～5分 (70:30)
	5～55分 (70:30) から (95:5) までのリニアグラジエント
	55～70分 (95:5)
	70～80分 (95:5) から (100:0) までのリニアグラジエント
	80～85分 (100:0)
流速	1.0mL/min
カラム温度	40°C
検出器	けい光検出器 (励起波長 365nm, けい光波長 412nm)
注入量	5μL

を調製した。混合標準溶液には内部標準物質を10 μg/mLの濃度となるよう加えた。

2・5 試験溶液の調製

牛乳試料1.0gに内部標準溶液2mLを加え、さらにアセトンを加えて5mLに定容とし、混合した後、遠心分離 (8000rpm, 10分間) して得られた上清を試験溶液とした (図1)。

2・6 誘導体化

試験溶液及び0～50 μg/mL混合標準溶液 (いずれも内部標準物質を10 μg/mLの濃度に含む) 0.1mLに誘導体化試薬 (用時調製したADAMの1mg/mLアセトン溶液) 0.1mLを加えて室温暗所で90分放置し反応させた。反応後、アセトン0.8mLを加えHPLC試料とした (図1)。

3 結果及び考察

3・1 試験溶液の調製

西村ら³⁾は、牛乳にアセトニトリルを加えてタンパク質を除去し、得られた上清を濃縮、Sep-Pakカートリッジにより精製し試験溶液を調製している。今回、試験溶

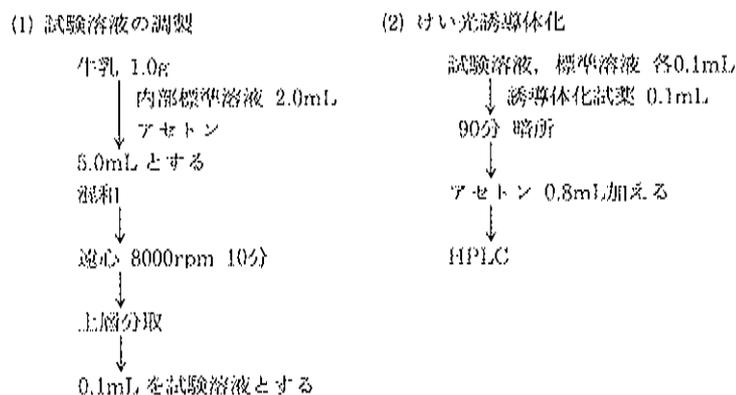


図1 試験溶液の調製及び誘導体化

液の調製を迅速化するため、有機溶媒による除タンパク操作のみの調製法を検討することとした。

対象の有機溶媒については、ADAM誘導体の反応液は極性の高い溶媒中の方がより速く反応が進行するとされていること、ADAM溶液はアセトン又はメタノールが好ましいことから、アセトンを選び、試みた。アセトンの添加量を牛乳の約4倍量とし、変性させたタンパク質を沈澱除去した上清について誘導体化し、誘導体のクロマトグラムから妨害を検討したところ、妨害が少なかった。このことから、本報告では、試験溶液の調製法はアセトン添加による除タンパク操作のみとした。

3・2 誘導体化及び内部標準物質

誘導体化は西村らの方法に準じ、試験溶液0.1mLに等量の1mg/mLのADAM溶液を加え、室温暗所で90分間反応させ、アセトン0.8mLを加え希釈、HPLC試料とした。

また、試験溶液の調製や誘導体化操作における誤差を少なくするため、内部標準法を用いることとし、その内部標準物質として測定対象の脂肪酸と同種の直鎖脂肪酸であり、誘導体化反応が同様におき、牛乳には含まれていないトリデカン酸 (C13:0) を用いることとした。

なお、反応時間については、30分、60分、90分、120分、180分、240分の6条件を検討したが、内部標準法での定量値には影響はなかったが、誘導体の蛍光強度の大きい90分とした。

3・3 HPLC条件及び標準溶液の検量線

西村ら³⁾のHPLCはメタノール・水混液の移動相であるが、今回は迅速性をはかるため、溶出力がより強いと思われるアセトニトリル・水混液を移動相に用いることとした。

測定対象に牛乳中の脂肪を構成する脂肪酸⁹⁾の主要なもの14種を選び、分離できる条件を検討したところ、表1に示すグラジエント溶出により、14種の脂肪酸の誘導体を分離でき、さらに内部標準物質の誘導体ピークもこれらと分離できた。図2に標準溶液のクロマトグラムを示す。各脂肪酸の検量線は0.2～50 μg/mLの範囲で良好な直線性を示した。

3・4 牛乳試料での繰り返し実験及び添加回収実験

同一牛乳試料を用いて遊離脂肪酸の定量を

表 2 牛乳中の遊離脂肪酸の測定結果

ピークNo.	脂 肪 酸	保持時間	濃 度 (μg/g)							
			牛乳1	牛乳2	牛乳3	牛乳4	牛乳5	牛乳6	牛乳7	牛乳8
1	C4:0 酪 酸	11.7(分)	4.5	2.8	3.0	3.8	4.0	4.5	4.3	3.8
2	C6:0 ヘキサン酸	19.2	3.3	2.0	2.3	3.0	2.8	3.1	2.8	2.5
3	C8:0 オクタン酸	29.1	2.8	1.7	1.8	2.2	2.4	2.8	2.5	2.1
4	C10:0 デカン酸	40.2	5.4	3.1	3.4	3.8	4.2	5.0	4.6	3.7
5	C12:0 ラウリン酸	50.7	6.6	3.3	4.5	4.5	4.5	5.4	5.1	4.2
6	C14:1 ミリストレイン酸	52.3	2.0	1.0	1.3	1.3	1.5	1.6	1.5	1.3
7	C18:3 リノレン酸	56.6	1.0	0.6	0.7	0.7	0.8	0.8	0.9	0.8
8	C14:0 ミリスチン酸	59.5	13.3	6.8	8.1	9.3	8.7	10.2	10.3	8.4
9	C16:1 パルミトレイン酸	60.4	3.7	1.6	2.4	2.2	2.5	2.5	2.4	2.3
10	C18:2 リノール酸	62.0	7.4	3.4	3.6	5.2	3.7	5.0	5.5	4.0
11	C15:0 ペンタデカン酸	64.0	1.7	0.9	0.9	1.5	1.0	1.2	1.3	1.0
12	C16:0 パルミチン酸	69.6	35.1	18.5	23.2	26.4	22.0	25.5	26.4	22.6
13	C18:1 オレイン酸	70.4	38.0	19.3	21.0	27.4	25.4	28.2	29.8	25.4
14	C18:0 ステアリン酸	81.8	10.0	5.9	5.5	8.3	6.4	7.7	9.2	6.7
I.S.	C13:0 内 部 標 準	55.3								

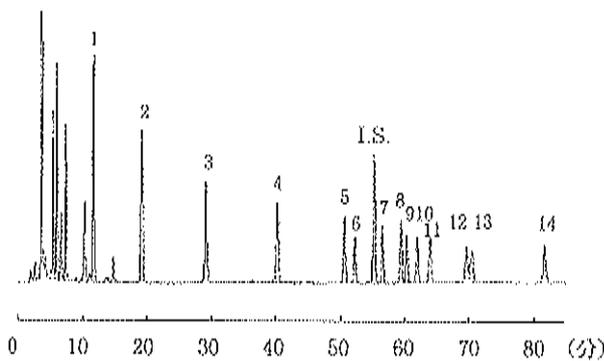


図2 標準溶液のクロマトグラム
1~14, I.S. は表2のピーク No.を示す

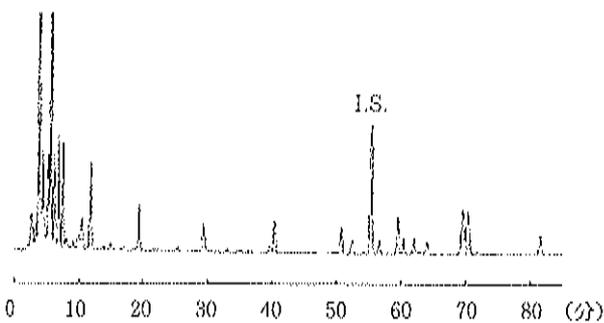


図3 牛乳試料のクロマトグラム

6回繰り返し実施した。各脂肪酸の定量値の変動係数(CV%)は0.9~3.9(平均1.9)%と良好であった。

また、14種の脂肪酸混合標準溶液を用いて、牛乳に各脂肪酸を5μg/gとなるよう添加した添加回収実験を行った。各脂肪酸の回収率は84~108(平均98)% (n=6)で

あった。

以上の実験結果から、牛乳中の遊離脂肪酸の迅速な定量法として、本法が適用できると考えられた。

なお、検出限界は0.2μg/gであった。

3・5 牛乳試料の測定結果

市販の牛乳8件について、本法に従い14種の遊離脂肪酸の測定を行った。そのクロマトグラムを図3に、定量結果を表2に示す。

遊離脂肪酸量の牛乳間による差は少なかった。不快臭を示すといわれるC4:0、C6:0及びC8:0の低級遊離脂肪酸は各2~4μg/gの範囲にあった。これら低級遊離脂肪酸は今回測定した遊離脂肪酸総量の約10%を占めた。どの牛乳においても遊離脂肪酸のうち、C18:1、C16:0、C14:0、C18:0が比較的多かった。これは牛乳中の脂肪を構成する脂肪酸組成²⁾の多いものと一致した。この傾向は西村ら³⁾や戸塚ら⁴⁾が報告した牛乳中の遊離脂肪酸の定量値と同様であった。

4 ま と め

牛乳の異味異臭の1つであるランシッド臭の要因である遊離低級脂肪酸について、迅速な定量法を検討した。牛乳中の遊離脂肪酸の定量について、アセトン添加によるタンパク質除去操作と誘導体化の後HPLC分析する方法を検討した結果、本法で簡便に分析できることがわかった。今後、同様な事故発生に対し迅速な対応が期待できる。

文 献

- 1) (社)日本乳業協会, (社)中央畜産会編: 飲用乳の品

- 質事故防止対策マニュアル (2002)
- 2) 菅原龍幸, 前川昭男: 新食品分析ハンドブック, p 74—76, 健帛社, 東京 (2000)
 - 3) 西村一彦, 鈴木敏之, 板橋 豊: 食衛誌, 43, 230—233 (2002)
 - 4) フナコシ総合カタログ No.13 試薬編 p1267—1268 (2001)
 - 5) 科学技術庁資源調査会編: 日本食品脂溶性成分表 p 116—117 (1989)
 - 6) 戸塚新一, 松田 恒, 佐藤孝義, 皆川憲夫: 分析化学, 45, 927—932 (1996)

〔資 料〕

郷土野菜に使用する農薬の作物残留性試験結果について

石川県保健環境センター食品薬品科学部 礒波 和子・中村 朋子・岸原 聡

キーワード：郷土野菜，残留農薬

1 はじめに

平成14年7月以降，全国で無登録農薬の販売・使用の実態が明らかとなり，大きな社会問題となった。そこで，農林水産省は，無登録農薬問題の再発防止と国産農産物の信頼を回復するため，平成14年12月に農薬取締法の改正を行い，無登録農薬の製造・輸入・使用の禁止，農薬使用基準の遵守を義務付け，違反者に対する罰則規程を設ける等規制を強化した。

しかし，この法改正によって生産量の少ない農作物（マイナー作物）では使用可能な農薬が極めて少ない状況になり，安定生産に支障をきたすことが懸念された。そこで，農林水産省は，当面の経過措置として，農林水産大臣が承認した農薬については使用者を限定し，出荷前に農薬残留調査を行う等安全確保措置を講ずることを条件に使用できる仕組みを設け，その間に農薬登録拡大に必要な試験を都道府県等が連携して整備し，マイナー作物等に使用できる農薬の適用拡大を行える体制をとることとした。

これをうけて，石川県では，郷土野菜の安定生産確保のため「郷土野菜農薬登録拡大推進事業（農畜産課補助事業 実施主体：郷土野菜等登録拡大農薬推進協議会）」を展開し，郷土野菜である金時草等に使用できる農薬の登録拡大に向けて必要な試験データを作成することとし，当センターは作物残留性試験の農薬分析を担当したのでその結果を報告する。

2 調査内容

2・1 農産物と薬剤

対象農産物は，ズイキ及び金時草である。

使用薬剤は，ズイキについてはアドマイヤー顆粒水和剤，金時草についてはアフーム乳剤及びストロビーフロアブルである。

2・2 分析対象成分

使用した各薬剤の分析対象成分は下記のとおりである。

アドマイヤー顆粒水和剤：イミダクロプリド

アフーム乳剤：エマメクチン安息香酸塩及び4"-エビ-アミノ-4"-デオキシ-アベルメクチン B₁（以下，「アミノ体」という。），4"-デオキシ-4"-エビ-（N-ホルミル）アミノ-アベルメクチン B₁（以下，「ホルミルアミノ体」という。），4"-デオキシ-4"-エビ-（N-ホルミル-メチル）アミノ-アベルメクチン B₁（以下，「N-メチルホルミルアミノ体」という。）

ストロビーフロアブル：クレソキシムメチル

2・3 分析用試料の栽培

郷土野菜等登録拡大農薬推進協議会が作成した作物残留試験計画書（農薬使用濃度，使用量，使用回数，収穫時期）に基づいて，石川県農業総合研究センター等4施設の圃場で栽培されたズイキ，金時草を分析用試料とした。分析用試料の内訳は表1に示したとおりである。

2・4 試験方法

(1) イミダクロプリド

環境省告示法¹⁾に準拠した。

ア 標準品及び試薬

イミダクロプリド標準品は，林純薬工業(株)製（純度99.9%）を用いた。

試薬は残留農薬試験用を用いた。

イ 試験溶液の調製

(ア) 抽出

細切均一化した試料20gにアセトニトリル100mLを

Determination of Pesticide Residues in Local Agricultural Products, by TONAMI Kazuko, NAKAMURA Tomoko and KISHIHARA Satoshi (Food & Drug Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Local agricultural products, Pesticide residues

表 1 分析用試料の内訳

農薬物名 (分析部位)	薬剤名 (使用目的)	栽培圃場数	分析用試料の内容	散布濃度 及び散布量	散布回数
ずいき (菜柄)	アドマイヤー顆粒水和剤 (アブラムシ類の防除)	2 **	無散布	10,000倍希釈 200L/10a	2
			2回目散布から3日後に採取		
			2回目散布から7日後に採取		
金時草 (茎葉)	アフファーム乳剤 (ハモグリバエ類, ヨトウムシ類の防除)	2 **	無散布	2,000倍希釈 200L/10a	2
			2回目散布の翌日に採取		
			2回目散布から3日後に採取		
			2回目散布から7日後に採取		
金時草 (茎葉)	ストロビーフロアブル (黒斑病の予防, 治療)	2 **	無散布	3,000倍希釈 200L/10a	2
			2回目散布から7日後に採取		
			2回目散布から14日後に採取		

*) : 県内A圃場, 県外B圃場

**) : 県内C圃場, D圃場

加え3分間ホモジナイズした後、遠心分離(2500rpm, 3分間)し、上澄液を分取した。残留物にアセトニトリル50mLを加え、同様の操作を繰り返し、合わせた上澄液にケイソウ土5gを加え吸引ろ過した後、ろ液を40℃以下で約20mLに減圧濃縮した。

この濃縮液を多孔性ケイソウ土カラムに注入し、10分間放置後、n-ヘキサン50mLで洗浄し、酢酸エチル/n-ヘキサン混液(1:1)100mLで溶出した。溶出液を40℃以下で減圧乾固し、得られた残留物を酢酸エチル/n-ヘキサン混液(1:1)5mLに溶解し、抽出液とした。

(イ) 精製

10w/w%含水シリカゲル10gを酢酸エチル/n-ヘキサン混液(1:1)で充填し、無水硫酸ナトリウム2gを層積したクロマト管(内径1.5cm,長さ30cm)に抽出液を負荷し、酢酸エチル/n-ヘキサン混液(1:1)45mL,酢酸エチル40mLで洗浄し、酢酸エチル80mLで溶出した。溶出液を40℃以下で減圧乾固し、得られた残留物を蒸留水/アセトニトリル混液(3:1)で溶かして5mLとし試験溶液とした。

ウ 定量

高速液体クロマトグラフ法により定量した。

エ 装置及び測定条件

装置:(株)島津製作所製LC-10Aシリーズ

カラム:TSK-GEL ODS-80TM(内径4.6mm,長さ15cm,東ソー(株)製)

移動相:蒸留水:アセトニトリル(3:1)

流量:0.5mL/min

カラム温度:45℃

測定波長:270nm

注入量:20μL

(2) エマメクチン安息香酸塩

厚生労働省告示法⁹⁾に準拠して行った。

ア 標準品及び試薬

エマメクチン安息香酸塩標準品(純度96.6%),アミノ体標準品(純度87.9%),ホルミルアミノ体標準品(純度87.6%),N-メチルホルミルアミノ体(純度87.2%)は林純薬工業(株)製を用いた。

試薬は残留農薬試験用,HPLC用,GC用,特級を用いた。

イ 試験溶液の調製

(ア) 抽出

細切均一化した試料20gにアセトン100mLを加え3分間ホモジナイズし、遠心分離(2500rpm,3分間)を行い、上澄液を分取した。残留物にアセトン50mLを加え、同様の操作を繰り返し、合わせた上澄液にケイソウ土5gを加え吸引ろ過し、ろ液にアセトンを加え200mLとした。このうち50mL(試料5g相当)を分取し、40℃以下でアセトンを減圧除去した。

(イ) 精製

エタノール5mL,水10mLでコンディショニングしたMEGA Bond Elute C₁₈に得られた残留物を負荷し、次いで、水/メタノール混液(19:1)5mLで残留物の入っていた容器を洗い、洗液をカラムに注入した。この

操作を2回繰り返した後、吸引してカラム中の水分を取り除いた。

次に、MEGA Bond Elute C₁₈の先にメタノール5 mLでコンディショニングしたMEGA Bond Elute NH₂を接続し、抽出液の入っていた容器をメタノール5 mLで洗い、この洗液をカラムに注入した。この操作を2回繰り返した後、更にメタノール10 mLをカラムに注入した。次に、MEGA Bond Elute C₁₈を取り外し、MEGA Bond Elute NH₂にエタノール10 mLを注入し、全流出液を集め、40°C以下で溶媒を減圧除去した。得られた残留物に酢酸エチル/メタノール混液(1:1) 2 mLを加えて溶かし、シリル化共栓試験管に移す操作を2回繰り返す。40°C以下で減圧乾固した。

(ウ) 蛍光誘導体化

得られた残留物に蛍光誘導体化用酢酸エチル200 μL及び蛍光誘導体化用アセトニトリル1 mLを加え溶かし、これに1-メチルイミダゾール100 μLを加え混合した後、密栓をして10分間氷冷した。更に、用時調製した無水トリフルオロ酢酸/アセトニトリル混液(1:2) 300 μLを加え、密栓をして室温で10分間放置した後、アセトニトリル400 μLを加えて総量2 mLとし試験溶液とした。

(エ) 定量

高速液体クロマトグラフ法により、エマメクチン安息香酸塩、アミノ体、ホルミルアミノ体及びN-メチルホルミルアミノ体のそれぞれについて定量を行い、換算係数を乗じてエマメクチン安息香酸塩量として算出した(換算係数:アミノ体 1.16, ホルミルアミノ体 1.12, N-メチルホルミルアミノ体 1.10)。

(オ) 装置及び測定条件

装置: (株)島津製作所製 LC-10A シリーズ

カラム: Wakosil-II 3C18HG (内径4.6mm, 長さ15 cm, 粒径3 μm 和光純薬工業(株)製)

移動相: A液 アセトニトリル/蒸留水(8:2)

B液 アセトニトリル

グラジエント条件: A液100%で5分間送液後、A液100%から50%まで5分間の濃度勾配で送液、次いで、A液50%から35%まで20分間の濃度勾配で送液した後、A液35%から0%まで2分間の濃度勾配で送液した。次に、A液0%で3分間送液した後、A液100%で10分間送液した。

流量: 1 mL/min

カラム温度: 50°C

測定波長: 励起波長365nm, 蛍光波長470nm

注入量: 50 μL

(3) クレソキシムメチル

厚生労働省告示法²⁾に準拠して行った。

ア 標準品及び試薬

クレソキシムメチル標準品(純度99.9%)は林純薬工業(株)製を用いた。

試薬は残留農薬試験用を用いた。

イ 試験溶液の調製

(ア) 抽出

細切均一化した試料20gにアセトン100mLを加えホモジナイズし、遠心分離(2500rpm, 3分間)を行い、上澄液を分取した。残留物にアセトン50mLを加え、同様の操作を繰り返す。合わせた上澄液にケイソウ土5gを加え吸引ろ過し、ろ液を40°C以下で減圧濃縮した。この濃縮液に10%塩化ナトリウム溶液100mL, 酢酸エチル100mLを加え5分間振とうし、静置後、酢酸エチル層を分取する。水層に酢酸エチル50mLを加え同様に操作し、酢酸エチル層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水した後ろ過し、ろ液を40°C以下で減圧乾固した。この残留物にn-ヘキサン2 mLを加え溶解し、抽出液とした。

(イ) 精製

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム5gをn-ヘキサンで充填し、無水硫酸ナトリウム5gを層積したクロマト管(内径1.5cm, 長さ30cm)に抽出液を注入した後、ジエチルエーテル/n-ヘキサン混液(1:99) 50mLで洗浄、アセトン/n-ヘキサン混液(3:7) 50mLで溶出した。溶出液を40°C以下で減圧乾固し、得られた残留物にアセトンを加え2 mLとし試験溶液とした。

(ウ) 定量

ガスクロマトグラフ法により定量した。

(エ) 装置及び測定条件

装置: (株)島津製作所製 GC-17A (FTD)

カラム: DB-1701 (内径0.54mm, 長さ30m, 膜厚1 μm G&W Scientific)

注入口温度: 280°C

検出器温度: 280°C

カラム温度: 60°C(2 min)→20°C/min→200°C→5°C/min→270°C(15min)

カラムヘッド圧: 40kPa(2 min)-1.5kPa/min-80kPa(10min)

注入量: 2 μL

2・5 試料中の農薬残留量の測定

表1の試料について2・4により試験操作を行い、分析用試料中の残留量を測定した。なお、測定は1試料につき2回行った。

2・6 添加回収試験

(1) イミダクロプリド

細切均一化した薬剤無散布区の試料20gに1 μ g/mL及び10 μ g/mLのアセトニトリル標準溶液を各1mL添加し、30分間放置後、2・4(1)により試験操作を行い回収率を求めた。

(2) エマメクチン安息香酸塩

細切均一化した薬剤無散布区の試料20gにエマメクチン安息香酸塩、アミノ体、ホルミルアミノ体、N-メチルホルミルアミノ体の0.04 μ g/mL及び1 μ g/mL(変化生成体はエマメクチン安息香酸塩に換算した濃度)アセトン標準溶液を各々1mL添加し、30分間放置後、2・4(2)により試験操作を行い回収率を求めた。

(3) クレソキシムメチル

細切均一化した薬剤無散布区の試料20gに0.5 μ g/mL及び20 μ g/mLアセトン標準溶液を各1mL添加し、30分間放置後、2・4(3)により試験操作を行い回収率を求めた。

なお、添加回収試験は、圃場毎、濃度毎に3回実施した。

2・7 保存安定性試験

(1) エマメクチン安息香酸塩

細切均一化した薬剤無散布区の試料20gを100mLのねじ口瓶にとり、エマメクチン安息香酸塩、アミノ体、ホルミルアミノ体、N-メチルホルミルアミノ体の1 μ g/mL(変化生成体はエマメクチン安息香酸塩に換算した濃度)アセトン標準溶液1mLをそれぞれ別々に添加し、-20℃に保存し、残留試験終了後、2・4(2)により試験を行い回収率を求めた。

(2) クレソキシムメチル

細切均一化した薬剤無散布区の試料20gを100mLのねじ口瓶にとり、20 μ g/mLアセトン標準溶液を1mL添加し、-20℃に保存し、残留試験終了後に、2・4(3)により試験を行い回収率を求めた。

なお、保存中の安定性試験は、圃場毎、農薬成分毎に2回実施した。

3 結果及び考察

作物残留性試験は、農薬の農作物における残留性の程度等に関する科学的知見を得ることを目的とするもので⁹⁾、農薬をある一定の条件で散

布したときに作物にどの程度残留し、どのように減衰するかを明らかにする試験である。

今回、ズイキのイミダクロプリド(アドマイヤー顆粒水和剤)、金時草のエマメクチン安息香酸塩(アフファーム乳剤)及びクレソキシムメチル(ストロビーフロアブル)について作物残留性試験を行った。

3・1 試験方法の精度の確認

試験方法については、食品規格(残留農薬基準値)又は農薬登録保留基準値の設定に際し分析法が定められている場合は原則として当該方法で行うこととなっている⁹⁾。そこで、イミダクロプリドは環境省告示法⁹⁾、エマメクチン安息香酸塩及びクレソキシムメチルは厚生労働省告示法⁹⁾に準拠して行うこととした。

表 2 添加回収試験結果

(薬剤:アドマイヤー顆粒水和剤 農産物:ズイキ)

分析対象成分	添加濃度 (ppm)	栽培圃場	回収率 (%)	変動係数 (%)
イミダクロプリド	0.5	A	90 (94~87)	4.0
		B	86 (87~85)	1.3
	0.05	A	114 (115~111)	2.3
		B	94 (96~92)	2.2

(薬剤:アフファーム乳剤 農産物:金時草)

分析対象成分	添加濃度 (ppm)	栽培圃場	回収率 (%)	変動係数 (%)
エマメクチン安息香酸塩	0.05	C	96 (104~87)	9.0
		D	80 (87~77)	7.2
	0.002	C	92 (99~83)	9.0
		D	85 (91~80)	6.6
アミノ体	0.05	C	98 (100~96)	2.1
		D	90 (95~80)	9.4
	0.002	C	102 (103~99)	2.1
		D	89 (94~83)	6.3
ホルミルアミノ体	0.05	C	84 (88~80)	5.0
		D	84 (86~82)	2.5
	0.002	C	84 (94~78)	10.4
		D	84 (94~78)	10.4
N-メチルホルミルアミノ体	0.05	C	88 (90~86)	2.4
		D	88 (88~86)	1.3
	0.002	C	86 (92~83)	5.7
		D	88 (92~85)	4.1

(薬剤:ストロビーフロアブル 農産物:金時草)

分析対象成分	添加濃度 (ppm)	栽培圃場	回収率 (%)	変動係数 (%)
クレソキシムメチル	1.0	C	98 (100~94)	3.5
		D	96 (97~95)	1.2
	0.025	C	97 (99~94)	2.7
		D	96 (97~94)	1.8

添加回収試験は3試行で実施した。

表 3 保存安定性試験

薬 剤	分析対象成分	添加濃度 (ppm)	栽培圃場	保存期間 (日)	平均回収率 (%)
アファーム乳剤	エマメクチン安息香酸塩	0.05	C	54	82
			D	54	74
	アミノ体	0.05	C	54	105
			D	54	76
	ホルミルアミノ体	0.05	C	55	92
			D	55	90
	N-メチルホルミルアミノ体	0.05	C	55	88
			D	55	92
ストロビーフロアブル	クレソキシムメチル	1.0	C	40	88
			D	42	89

保存中の安定性試験は 2 試行で実施した。

表 4 残留量試験結果

(薬剤：アドマイヤー顆粒水和剤 農産物：ズイキ)

(薬剤：ストロビーフロアブル 農産物：金時草)

栽培圃場	散布から採取 までの日数	残留量 (n=2)	
		イミダクロプリド	
		平均値(ppm)	標準偏差
A	無散布	<0.05	—
	3日	0.48	0.02
	7日	0.14	0.03
	14日	<0.05	—
B	無散布	<0.05	—
	3日	0.28	0.02
	7日	0.21	0.00
	14日	0.14	0.01

栽培圃場	散布から採取 までの日数	残留量 (n=2)	
		クレソキシムメチル	
		平均値(ppm)	標準偏差
C	無散布	<0.025	—
	7日	19.8	0.21
	14日	15.0	0.42
	21日	7.8	0.21
D	無散布	<0.025	—
	7日	26.6	0.50
	14日	14.2	0.99
	21日	3.6	0.85

(薬剤：アファーム乳剤 農産物：金時草)

栽培圃場	散布から 採取までの 日数	残 留 量 (n=2)								エマメクチン 安息香酸塩と しての総量 (ppm)
		エマメクチン安息香酸塩		アミノ体		ホルミルアミノ体		N-メチルホルミルアミノ体		
		平均値(ppm)	標準偏差	平均値(ppm)	標準偏差	平均値(ppm)	標準偏差	平均値(ppm)	標準偏差	
C	無散布	<0.002	—	<0.002	—	<0.002	—	<0.002	—	<0.008
	1日	0.023	0.001	0.003	0.000	0.003	0.000	0.026	0.001	0.067
	3日	0.010	0.001	0.002, <0.002	—	<0.002	—	0.005	0.000	0.020
	7日	0.004	0.000	0.002, <0.002	—	<0.002	—	<0.002	—	0.010
	14日	0.003	0.000	<0.002	—	<0.002	—	<0.002	—	0.009
D	無散布	<0.002	—	<0.002	—	<0.002	—	<0.002	—	<0.008
	1日	0.030	0.001	0.006	0.001	0.005	0.000	0.037	0.001	0.080
	3日	0.016	0.002	0.003	0.000	0.002	0.000	0.012	0.001	0.035
	7日	0.007	0.000	<0.002	—	<0.002	—	0.002, <0.002	—	0.013
	14日	0.004	0.000	<0.002	—	<0.002	—	<0.002	—	0.010

代謝物の残留値はエマメクチン安息香酸塩に換算した値である。

エマメクチン安息香酸塩の総量 = エマメクチン安息香酸塩 (最高値) + 各代謝物 (最高値)

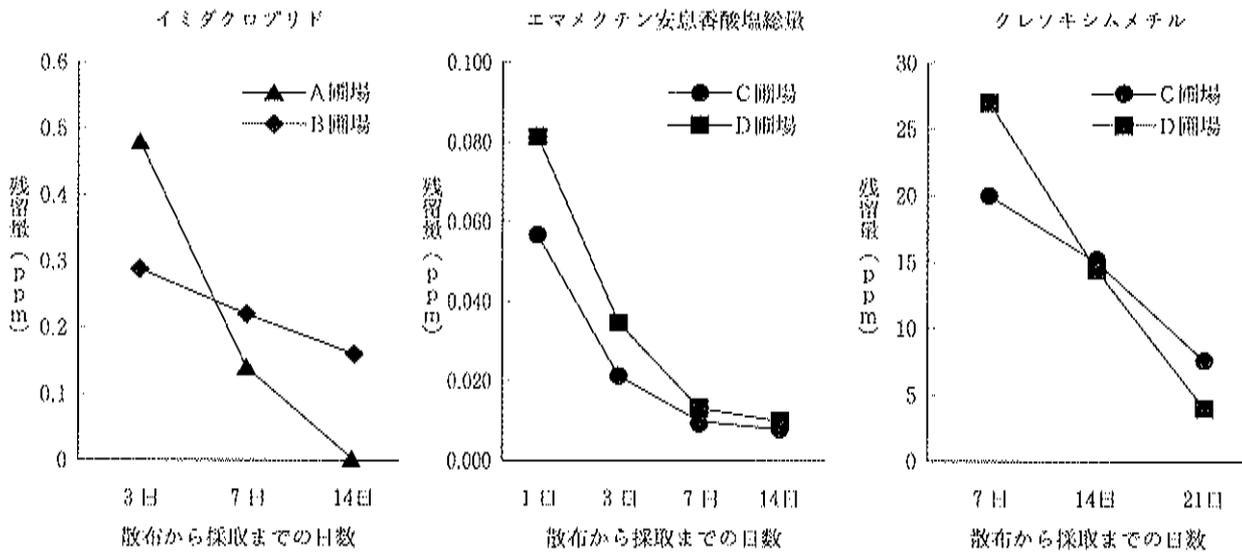


図 1 薬剤散布から採取までの日数と農薬残留量

一方、告示法に準じて試験を行ったとしても、得られた分析値が信頼性のある値であることを確認する必要がある。また、試料到着後、直ちに分析に着手できない場合試料を保存するが、保存中に農薬成分が分解すれば、得られた残留量は正確な値とはいえないことになる。そこで、添加回収試験及び保存安定性試験を実施し、回収率が運用⁹⁾で定める範囲（回収率が70～120%、変動係数が残留想定量濃度で10%以内、定置下限値濃度で20%以内、保存後の回収率が70%以上）に合致していることを確認し、試験方法の精度及び得られた分析値の信頼性を検証した。

(1) 添加回収試験

添加回収試験結果は表 2 に示したとおりである。

ア イミダクロプリド

イミダクロプリドの第二葉菜類の農薬登録保留基準は 5 ppm であり、残留想定量濃度として農薬登録保留基準の 1/10 濃度である 0.5 ppm、定置下限値濃度を残留想定量の 1/10 の 0.05 ppm で添加回収試験を行った。その結果、栽培圃場別の平均回収率は、0.5 ppm 添加で 90, 86% (変動係数 4.0, 1.3%), 0.05 ppm 添加で 114, 94% (変動係数 2.3, 2.2%) と良好な結果が得られた。

イ エマメクチン安息香酸塩

エマメクチン安息香酸塩の第二葉菜の農薬登録保留基準は 0.5 ppm であり、その 1/10 を残留想定量とした。また、定置下限値は厚生省告示法の 0.01 ppm (エマメクチン総量として) の 1/5 の 0.002 ppm とし、エマメクチン安息香酸塩及び各変化生成物 (アミノ体, ホルミルアミノ体, N-メチルホルミルアミノ体) について添加回収試験を行った。その結果、栽培圃場別の平均回収率

は、0.05 ppm 添加でエマメクチン安息香酸塩は 96, 80% (変動係数 9.0, 7.2%), アミノ体は 98, 90% (変動係数 2.1, 9.4%), ホルミルアミノ体は 84, 84% (変動係数 5.0, 2.5%), N-メチルホルミルアミノ体は 88, 88% (変動係数 2.4, 1.3%) であった。また、0.002 ppm 添加ではエマメクチン安息香酸塩は 92, 85% (変動係数 9.0, 6.6%), アミノ体は 102, 89% (変動係数 2.1, 6.3%), ホルミルアミノ体は 84, 84% (変動係数 10.4, 10.4%), N-メチルホルミルアミノ体は 86, 88% (変動係数 5.7, 4.1%) であり、良好な結果が得られた。

ウ クレンキシムメチル

クレンキシムメチルの第二葉菜類の農薬登録保留基準は 25 ppm である。残留想定量としては、農薬登録保留基準値の 1/25 である 1.0 ppm、定置下限値としては厚生労働省告示法の検出下限値 0.025 ppm を用い添加回収試験を行った。その結果、栽培圃場別の平均回収率は、1.0 ppm 添加で 98, 96% (変動係数 3.5, 1.2%), 0.025 ppm 添加で 97, 96% (変動係数 2.7, 1.8%) と良好な結果が得られた。

(2) 保存安定性試験

各々無散布区の試料 (1 薬剤について 2 圃場) に残留想定量となるように標準溶液を添加し、冷凍保存しておき回収率を求めた。今回、保存期間の長かったエマメクチン安息香酸塩及び変化生成物、クレンキシムメチルの保存安定性試験結果は表 3 のとおりである。エマメクチン安息香酸塩及び変化生成物は 54～55 日間の保存で平均回収率 74% 以上、クレンキシムメチルは 40～42 日間の保存で平均回収率 88% 以上であり、いずれの成分も保存による成分の分解等は見られなかった。

以上のことから、今回用いた試験方法で得られた分析値の信頼性は充分確保されていることが確認できた。

3・2 試料中の農薬残留量の測定

各試料中の農薬成分残留量は表4に、農薬散布から収穫までの経過日数と農薬含量の関係を図1に示した。

(1) イミダクロプリド

A圃場では、散布から3日後に採取した試料(3日後採取試料)の残留量は0.48ppmで、7日後採取試料は0.14ppmと3日後の29%に減少し、14日後は定量下限値以下となった。B圃場では、3日後採取試料の残留量が0.28ppmとA圃場に比べ低かったものの、7日後採取試料は3日後採取試料の75%、14日後採取試料は50%の減少にとどまり、圃場間で差が見られた。これは、栽培月に2ヶ月の開きがあり、また、圃場も同一地域でなかったことから、栽培環境の違いが影響したものと推察される。

今回の作物残留性試験では、散布から3日後に採取したA圃場、B圃場の試料の残留量はともに0.5ppm以下と農薬登録保留基準の1/10以下であり、散布からの経過日数とともに減衰しており、登録申請のためのデータとしては問題ないと思われた。

(2) エマメクチン安息香酸塩

エマメクチン安息香酸塩については、翌日採取試料の残留量が0.023ppm、0.030ppmであり、3日後採取試料は、いずれの圃場も翌日採取試料の約50%、7日後採取試料は約20%、14日後採取試料は約10%の残留量であった。また、変化生成物のアミノ体、ホルミルアミノ体については、翌日採取試料から0.003~0.006ppm、3日後採取試料のD圃場で0.003ppmとわずかに検出されたが、7日後採取試料では定量下限値又は定量下限値以下であった。N-メチルホルミルアミノ体は翌日採取試料の含量が0.026、0.037ppmで、3日後採取試料は翌日採取試料の約20~30%、7日後、14日後採取試料は定量下限値以下であった。エマメクチン安息香酸塩及び変化生成物の残留量については圃場間で大きな差は見られなかった。残留基準値は、変化生成物を全てエマメクチン安息香酸塩に換算した総量で設定されており、エマメクチン安息香酸塩総量で見ると、翌日採取試料の含量はC圃場で0.057ppm、D圃場で0.080ppmであり、3日後採取試料は翌日採取試料の35%、44%、7日後採取試料は18、16%、14日後採取試料は16、13%の含有量であった。

今回の散布条件では、2圃場ともに、散布の翌日採取した試料でもエマメクチン安息香酸塩総量として農薬登録保留基準の1/5を下回っており、また、散布からの

経過日数とともに残留量は減衰していることから、登録申請のためのデータとしては問題ないと思われた。

(3) クレソキシムメチル

7日後採取試料の含有量はC圃場で19.8ppm、D圃場で26.6ppmであり、14日後採取試料は7日後採取試料の76%、53%、21日後採取試料は7日後採取試料の39%、14%の残留量であり、クレソキシムメチルは残留しやすい傾向があるように思われた。

今回の残留性試験の結果から、散布から7日後の試料がD圃場で登録保留基準を超えていることから、使用時期は、両圃場とも登録保留基準以下となる収穫14日前での登録となるものと思われる。

4 ま と め

マイナー作物への農薬適用拡大申請に必要な作物残留性試験を、ズイキのアドマイヤー顆粒水和剤、金時草のアファーム乳剤、ストロビーフロアブルについて実施した。

(1) 試験は環境省告示法及び厚生労働省告示法に準拠して実施し、添加回収試験及び保存安定性試験において、良好な結果が得られ、作物残留性試験の試験法として有効であることを確認した。

(2) ズイキのイミダクロプリド及び金時草のエマメクチン安息香酸塩については、薬剤散布から採取までの期間が最も短い試料(イミダクロプリドは3日後採取試料、エマメクチン安息香酸塩は翌日採取試料)でも基準値をかなり下回っており、残留性は低いと思われた。

(3) 金時草のクレソキシムメチルについては、散布後7日目で登録保留基準を超える恐れがあり、散布後14日目でも基準の6割、21日で基準の1~3割程度残留しており、残留しやすい傾向にあると思われた。

文 献

- 1) 環境庁告示第20号「作物残留にかかる農薬の登録保留基準を改正する件」平成9年4月30日(1997)
- 2) 厚生省告示第237号「食品、添加物等の規格基準の一部改正について」平成11年11月22日(1999)
- 3) 平成12年11月24日付12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知「農薬の登録申請に係る試験成績について」(2000)
- 4) 平成13年10月10日付13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知「農薬の登録申請にかかる試験成績について」の運用について」(2001)

〔資 料〕

農産物中に含まれる残留農薬の系統化 分析法の確立 (第4報)

—— BHC 等を含む157種の農薬とカプタホール等を含む7種の農薬の分析 ——

石川県保健環境センター食品薬品科学部	中村 朋子・砺波 和子
石川県保健環境センター化学物質・大気科学部	坂本 藤夫
石川県手取川水道事務所	笹木 千春

キーワード：残留農薬，系統化分析，農産物

1 はじめに

農産物中の残留農薬分析について、前報¹⁾では残留農薬基準が設定されている農薬のうち、79農薬を対象として、抽出及びゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) による精製を基本とし、分析対象農薬により、必要に応じて種々のカートリッジカラムによる精製を加える系統化分析法を確立し報告した (以下、前報という。)。しかし、その後、残留農薬基準の度重なる改正^{2) 3)}により、規制対象農薬は逐次増え続け、平成14年3月には、229農薬に達した。そこで、我々は改正に伴い増加した規制対象農薬を中心として、その系統化分析法を用いて分析できるように、GPC 後の精製法及び機器の測定条件などについて検討した。

また、その系統化分析法の抽出法では分解する農薬があったこと等から、抽出法を変えた別の系統化分析法の確立についても検討を行った。

さらに、前報では GPC の移動相にジクロロメタンを用いていたが、環境への負荷の軽減を目的として、これを用いない移動相についても検討を行った。その結果、いくつかの知見を得たので報告する。

2 試料と方法

2・1 系統化分析(1)

(1) 試料

市販の玄米、オレンジ、レモン、みかん、いよかん、日本なし、りんご、すいか、ぶどう、キャベツ、かんしょ、ばれいしょ、かぼちゃ、きゅうり、レタス、トマト及びしいたけを使用した。

(2) 対象農薬及び検出に用いた測定機器

対象農薬は、平成15年12月現在、食品衛生法にて残留農薬基準が設定されている229農薬のうちの157農薬 (異性体、代謝物を含めると177種) で、農薬名及び各農薬の検出に用いる測定機器は表1に示した通りである。

(3) 装置

ア GPC 装置

AP-512 (フォス・ジャパン(株)製)

イ 測定機器

高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ (N PD-GC)、アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ (ITD-GC)、熒光光度型検出器付きガスクロマトグラフ (FPD-GC)、電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (ECD-GC)、水素炎イオン化検出器付きガ

Establishment of Systematical Analyses for the Pesticide Residue within Agricultural Products (4). Analyses of 157 Kinds of Pesticides Including BHC etc. and 7 Kinds of Those Including Captan etc. By NAKAMURA Tomoko, TONAMI Kazuko, SAKAMOTO Fujio* and SASAKI Chiharu* (Food & Drug Science Department, Air Quality Science Department*, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science; and Tedori River Waterworks Management Office, Ishikawa Prefectural Government**)

Key words :Pesticide residue, Systematical analysis, Agricultural product

表 1 系統化分析(1)における対象農薬と測定機器及び使用可能な検液

No.	農薬名	測定機器						使用可能な検液							
		GC			HPLC			フロリジル				シリカゲル		アミノ	
		NPD FTD	FPD	ECD	UV	ポスト ラベル	A	B1	B2	B3	B4	C1	C2	D	
1	EPN	○	○				○		○				○		
2	アルジカルブ	○				○	○						○		○
3	インプロカルブ	○				○	○		○				○		○
4	イマザリル	○					○						○		
5	エスプロカルブ	○					○		○				○		
6	エチオフェンカルブ	○				○	○						△		○
7	エディフェンホス	○	○				○		○				○		
8	エトプロホス	○	○				○		○				○		
9	エトリムホス	○	○				○		○				○		
10	オキサミル	○				○	○						○		○
11	カルバリル	○				○	○						○		○
12	キナルホス	○	○				○						○		
13	キノメチオネート	○					○		○				○		
14	クロルピリホス	○	○				○		○				○		
15	クロルフェンピホス 15 体	○	○				○		○				○		
	クロルフェンピホス 15 体	○	○				○		○				○		
16	クロルプロファム	○					○		○				○		
17	ジエトフェンカルブ	○					○		○				○		
18	ジクロルボス	○	○				○						○		
19	ジメトエート	○	○				○			△			○		
20	ダイアジノン	○	○				○		○				○		
21	チオベンカルブ	○					○		○				○		
22	テルブホス	○	○				○						○		
23	トリアジメノール	○					○				○				
24	トリクロルホン	○	○				○						○		
25	バミドチオン	○	○				○						○		
	バミドチオンスルホン	○	○				○						○		
26	パラチオン	○	○				○		○				○		
27	パラチオンメチル	○	○				○		○				○		
28	ピテルタノール	○					○				○		△		△
29	ピリダベン	○					○		○				○		
30	ピリミカーブ	○					○		○				○		
31	ピリミホスメチル	○	○				○		○				○		
32	フェントロチオン	○	○				○		○				○		
33	フェノブカルブ	○				○	○		○				○		○
34	フェンスルホチオン	○	○				○				△		○		
35	フェンチオン	○	○				○						○		
36	フェントエート	○	○				○		○				○		
37	フルトラニル	○					○		○				○		
38	プレチラクロール	○					○		○				○		
39	プロチオホス	○	○				○	○					○		
40	プロピコナゾール	○					○				○		○		
41	ベンダイオカルブ	○				○	○		○				○		○
42	ベンディメタリン	○					○		○				○		
43	ホサロン	○	○				○		○				○		
44	マラチオン	○	○				○		○				○		
45	マイクロブタニル	○					○				○		○		
	メチオカルブ	○				○	○		○				○		○
46	メチオカルブスルホン					○	○				○				○
	メチオカルブスルホキシド					○	○								○
	メトリブジン	○					○		○				○		
47	DADK	○					○						△		△
	DK	○					○						△		△
	DA	○					○				○		○		
48	メフェナセツト	○					○		○				○		
49	メプロニル	○					○		○				○		
50	レナシル	○					○				○		○		
51	* アセタミプリド	○					○						○		
52	* アラクロール	○					○		○				○		
53	* イソフェンホス	○	○				○						○		
	* イソフェンホスオキシソ	○	○				○						○		

表 1からの続き

No.	農薬名	測定機器					使用可能な検液							
		GC			HPLC		A	フロリジル				シリカゲル		アミノ D
		NPD FPD	FPD	ECD	UV	ポスト ラベル		B1	B2	B3	B4	C1	C2	
54	* ウニコナゾールP	○					○	○	△		○			
55	* エトキサゾール	○					○	○			○			
56	* カズサホス	○	○				○	○						
57	* カフェンストロール	○					○		○		○			
58	* クレソキシムメチル	○					○	○			○			
59	* シアナジン	○					○	○	△		○			
60	* シハロホップブチル	○					○	○			○			
61	* ジフェノコナゾール	○					○		△					
62	* ジフルフェニガン	○					○	○			○			
63	* シプロコナゾール	○					○		○		△	△		
64	* ジメチルビンホス	○	○				○	○						
65	* ジメチナミド	○					○	○			○			
66	* シメトリン	○					○	○			○			
67	* ケーバシル	○					○	△	○		○			
68	* チフルザミド	○					○	○			○			
69	* テトラコナゾール	○					○		○		△	△		
70	* テニルクロール	○					○	○						
71	* テブコナゾール	○					○		○		△	△		
72	* テブフェンピラド	○					○	○						
73	* トリアゾホス	○	○				○	○			○			
74	* トリクロホスメチル	○	○				○	○			○			
75	* バクロブトラゾール	○					○		○					
76	* ビラクロホス	○	○				○	○						
77	* ビラフルフェンエチル	○					○	○			○			
78	* ビリブチカルブ	○					○	○			○			
79	* ビリプロキシフェン	○					○	○			○			
80	* ビリミジフェン	○					○	○			○			
81	* ビリミノバックメチルE体	○					○	○			○			
	* ビリミノバックメチルZ体	○					○	○			○			
82	* ビリメタニル	○					○	○			○			
83	* フェナリモル	○					○	△			○			
84	* ブタクロール	○					○	○			○			
85	* ブタミホス	○	○				○	○						
86	* フラメトビル	○					○	△	△		○			
	* フラメトビル代謝物				○				○					
87	* フルジオキソニル	○					○	△	△		○			
88	* フルシラゾール	○					○		○		△	△		
89	* ヘキサコナゾール	○					○	△	△		△	△		
90	* ベンコナゾール	○					○	△	△		○	△		
91	* ホスチアゼット	○	○				○		△					
92	* メトラクロール	○					○	○			○			
93	α-BHC			○				○						
	β-BHC			○				△	△					
	γ-BHC			○				○						
	δ-BHC			○					○					
94	pp'-DDE			○				○						
	pp'-DDD			○				○						
	op'-DDT			○				○						
	pp'-DDT			○				○						
95	エンドリン			○										
96	シハロトリン			○					○					
97	シフルトリン			○					○					
98	シベルメトリン			○					○					
99	ジクロフルアニド			○					○					
100	ジコホール			○					○					
101	ディルドリン			○					○					
	アルドリン			○				○						
102	デルタメトリン			○					○					
103	トラロメトリン			○					○					
104	ピレトリン			○					○					
105	フェンバレート			○					○					

表 1からの続き

No.	農薬名	測定機器					使用可能な検液									
		GC			HPLC		A	フロリジル				シリカゲル		アミノ		
		NPD FTD	FPD	ECD	UV	ポスト ラベル		B1	B2	B3	B4	C1	C2		D	
106	フルシトリネート			○												
107	フルバリネート			○												
108	ベルメトリン			○												
109	* アクリナトリン			○												
110	* カルプロバミド			○												
111	* クロルフェナピル			○												
112	* テフルトリン			○												
113	* トリフルラリン			○					○							
114	* ハルフェンプロックス			○						○						
115	* ビフェノックス			○						○						
116	* ビフェントリン			○						○						
117	* フィプロニル			○						○						
118	* フェンプロバトリン			○					△	△						
119	* プロシミドン			○						○						
120	イナベンフィド				○						○					
121	イブロジオン				○					○						
	イブロジオン代謝物				○					○						
122	クロフェンテジン				○					○						
123	ジフルベンズロン				○						○					
124	トリクラミド				○						△					
125	トリフルミゾール				○						○					
	トリフルミゾール代謝物				○						○					
126	ピラゾキシフェン				○						○					
127	ピリフェノックス				○						○					
128	フェンピロキシメート E 体				○					○						
	フェンピロキシメート Z 体				○					○						
129	* アジムスルフロン				○							○				
130	* アゾキシストロピン				○						○					
131	* イマノスルフロン				○							△				
132	* イングノファン				○					○						
133	* エトフェンプロックス				○					○						
134	* エトベンザニド				○					○						
135	* クミルロン				○						○					
136	* クロルスルフロン				○							○				
137	* クロルフルアズロン				○						○					
138	* シクロスルファミロン				○						○					
139	* ジクロメジン				○							△				
140	* シプロジニル	○			○			○		○			○			
141	* ジメトモルフ				○						○					
142	* シラフルオフェン				○					△	○					
143	* ダイムロン				○						△	△				
144	* テブフェノジド				○						△	△				
145	* テフルベンズロン				○						△	△				
146	* ハロスルフロンメチル				○								○			
147	* フラザスルフロン				○											
148	* フルスルツェミド				○							△	○			
149	* フルフェノクスロン				○							○				
150	* ヘキサフルムロン				○							○				
151	* ヘキシチアゾクス				○						○					
152	* ベンシクロン				○						○					
153	* ベントキサゾン				○						○					
154	* メタベンズチアズロン				○						○					
155	* メトスルフロンメチル				○							○				
156	* ルツェスロン				○							○				
157	メトブレソ				○											

測定機器について、○は適用可能であることを示す。

使用可能な検液について、○は回収率が70%以上であることを、また、△は回収率が70%未満であることを示す。

表 2 ECD-GC 測定条件

	測定条件1	測定条件2
カラム	DB-1 (0.53mmφ×30m, 膜厚1.5μm J&W Scientific 社製)	DB-1 (0.53mmφ×30m, 膜厚1.5μm J&W Scientific 社製)
カラム温度	50°C (1min)-30°C/min-160°C -20°C/min-300°C (7min)	60°C (2min)-20°C/min-180°C -8°C/min-280°C (14min)
注入口温度	200°C	280°C
検出器温度	300°C	300°C
キャリアーガス	ヘリウム	ヘリウム
メイクアップガス	窒素	窒素
カラムヘッド圧	40kPa	40kPa
注入量	2μL	2μL
注入方法	スプリットレス	スプリットレス

表 3-1 HPLC (UV) 測定条件

	測定条件1	測定条件2
カラム	TSK-GEL ODS-80™(内径4.6mm, 長さ150mm 東ソー(株)製)	TSK-GEL ODS-80™(内径4.6mm, 長さ150mm 東ソー(株)製)
移動相	アセトニトリル- 0.03M リン酸 2 水素ナトリウム (80:20)	A→B グラジエント溶出法 (タイムプログラム条件は表 3-2 のとおり) A 液: アセトニトリル-0.03M リン酸 2 水素ナトリウム (20:80) B 液: アセトニトリル-0.03M リン酸 2 水素ナトリウム (80:20)
検出波長	239nm, 269nm	239nm, 269nm (クミルロンのみ215nm)
流速	1mL/min	1mL/min
カラム温度	50°C	50°C
注入量	20μL	10μL

表 3-2 HPLC (UV) 測定条件 2 のタイムプログラム条件

時間 (min)	移動相 B 液 (%)
0.00	0
30.00	100
35.00	100
35.01	0
45.00	0 (STOP)

スクロマトグラフ (FID-GC), 紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC(UV)), ポストカラム反応蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC (ポストラベル)) 及びガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) は前報のとおりである。

(4) 操作条件及び測定条件

ア GPC 操作条件

カラム: Showdex CL EV-2000 (昭和電工(株)製), ガードカラム: Showdex CL EV-G (昭和電工(株)製), 移動

相: アセトン-シクロヘキサン (2:8) 混液, 流速: 5 mL/min, 分取画分: 60~150mL, 試料注入量: 8 mL
イ 測定条件

NPD-GC, FTD-GC, FPD-GC, FID-GC, HPLC (ポストラベル) 及び GC/MS の測定条件は前報のとおりである。また, ECD-GC 及び HPLC (UV) 測定条件は表 2, 表 3-1 及び表 3-2 に示したとおりである。

(5) 抽出及び GPC による精製 (検液 A の調製)

前報と同様, 図 1 に示すように抽出及び GPC による精製を行った。すなわち, 細切均一化した試料 50g (豆類, 穀類の場合, 粉碎した試料 50g に蒸留水 50mL を加え 30 分間放置) を遠心管に量りとり, アセトン 100mL を加え磨砕抽出した後, 2500rpm にて 3 分間遠心分離を行い, 上澄液を分取する。分取後, 残留物にアセトン 100mL を加え, 同様の操作を繰り返す。上澄液を合わせた後, ケイソウ土 5g を加え, 吸引ろ過を行い, ろ液は減圧濃縮器を用いて 40°C 以下でアセトンを留去する。

この濃縮液を飽和塩化ナトリウム溶液 100mL とジクロロメタン 50mL を用いて分液ロートに移し, 5 分間振

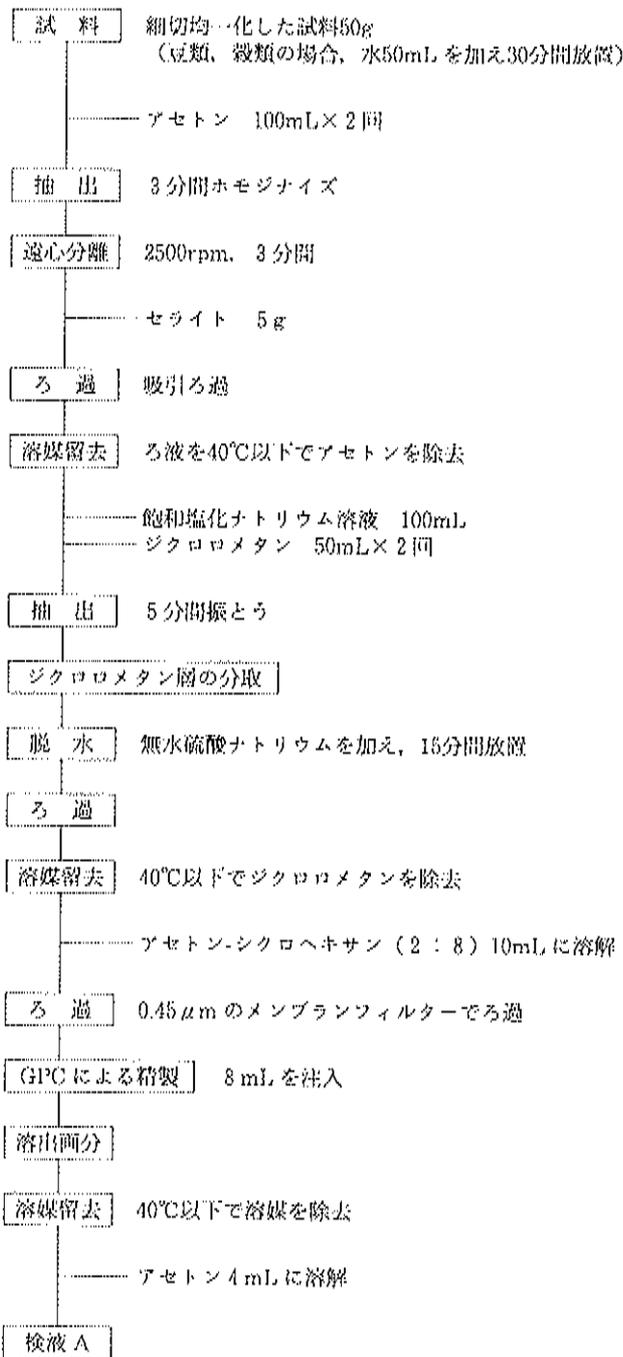


図 1 抽出及び GPC による精製

とう後、ジクロロメタン層を分取する。水層はさらにジクロロメタン50mLを加え同様の操作を行い、ジクロロメタン層を合わせる。このジクロロメタン層に無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、ろ過を行う。ろ液を減圧濃縮器にて40℃以下で溶媒を留去し、この残留物にアセトン-シクロヘキサン(2:8)混液を加えて溶かし10mLとする。

この検液を孔径0.45μmのメンブランフィルターでろ過した後、8mLをGPC装置に注入し、分取した溶出

画分は減圧濃縮器を用いて40℃以下で溶媒を留去する。この残留物にアセトンを加えて溶かし4mLとし、検液Aを得た。

(6) カートリッジカラムによる精製

ア フロリジルカラムによる精製(検液Bの調製)

検液Aを1mL分取し、窒素気流下で溶媒を留去した後、n-ヘキサン1mLに溶かし、アセトン20mL、次いでn-ヘキサン20mLで洗浄したSep-Pak plus Florisil(Waters社製)に負荷した。n-ヘキサン15mL溶出液(以下、B1という。)、10%アセトン-n-ヘキサン15mL溶出液(以下、B2という。)、30%アセトン-n-ヘキサン15mL溶出液(以下、B3という。)、アセトン2mL溶出液と10%メタノール-アセトン15mL溶出液を合わせたもの(以下、B4という。)を順次分取し、40℃以下で溶媒留去後、B1はn-ヘキサンに溶解し、B2、B3及びB4はアセトンに溶解し2mLとした。

イ シリカゲルカラムによる精製(検液Cの調製)

検液Aを0.5mL分取し、窒素気流下で溶媒を留去した後、15%アセトン-n-ヘキサン0.5mLに溶かし、15%アセトン-n-ヘキサン20mLで洗浄したSep-Pak plus Silica(Waters社製)に負荷した。15%アセトン-n-ヘキサン15mL溶出液(以下、C1という。)、50%アセトン-n-ヘキサン15mL溶出液(以下、C2という。)を順次分取し、40℃以下で溶媒留去後、アセトンに溶解し1mLとした。

ウ アミノカラムによる精製(検液Dの調製)

前報と同様に、検液Aを0.5mL分取し、窒素気流下で溶媒を留去した後、1%メタノール-ジクロロメタン0.5mLに溶かし、ジクロロメタン10mLで洗浄したSep-Pak plus NH₂(Waters社製)に負荷した。次いで、1%メタノール-ジクロロメタン10mLで溶出し、その溶出液を40℃以下で溶媒留去後、メタノール0.5mLに溶解し、希塩酸(pH=3)1.5mLを加えた後、上溶液を孔径0.45μmのメンブランフィルターでろ過し、検液Dとした。

エ アルミナカラムによる精製(検液Eの調製)

前報と同様に、検液Aを0.5mL分取し、窒素気流下で溶媒を留去した後、n-ヘキサン0.5mLに溶かし、5%エーテル-石油エーテル10mLで洗浄したSep-Pak plus AluminaN(Waters社製)に負荷した。5%エーテル-石油エーテル10mLで洗浄した後、25%エーテル-石油エーテル20mLで溶出し、その溶出液を40℃以下で溶媒留去後、n-ヘキサンに溶解し1mLとし、検液Eを得た。

オ SAXカラムによる精製(検液Fの調製)

検液Aを0.5mL分取し、窒素気流下で溶媒を留去し

た後、75%アセトン-*n*-ヘキサン0.5mLに溶かし、75%アセトン-*n*-ヘキサン20mLで洗浄したBond Elute SAX (3cc/500mg) (バリアン社製)に負荷した。75%アセトン-*n*-ヘキサン15mLで洗浄した後、10%メタノール-アセトン15mLで溶出し、その溶出液を40°C以下で溶媒留去後、60%アセトニトリルで1mLとし、検液Fを得た。

(7) 濃硫酸処理による精製 (検液Gの調製)

前報と同様、検液B1及びB2を各々0.5mLずつ分取し、B1はそのまま、B2は*n*-ヘキサン0.5mLで置換した後、*n*-ヘキサン0.5mL、濃硫酸1mLを加えて振とうし、遠心分離後、*n*-ヘキサン層を分取した。次いで、*n*-ヘキサン層を水1mLで洗浄し、検液Gとした。

(8) 使用可能な検液

各農薬について、測定時に使用可能な検液は、表1に示した通りである。

(9) 測定用検液の調製と測定

ア 含窒素系農薬

検液AをNPD-GC及びFTD-GC測定し、定量を行った。

なお、標準物質と同じ保持時間にピークが検出された場合は、検液B1 (0.5mLを分取し、窒素気流下で*n*-ヘキサンを留去後、アセトンで0.5mLとしたもの)、B2、B3、C1及びC2を用いて同様に測定し、定量を行った。

イ 含リン系農薬

検液AをFPD-GC、NPD-GC及びFTD-GC測定し、定量を行った。

なお、標準物質と同じ保持時間にピークが検出された場合は、検液B2、B3、C1及びC2を用いて同様に測定し、定量を行った。

ウ ECD-GC測定農薬

(ア) カブルロバミド

検液B2は0.5mLを分取し、窒素気流下で溶媒を留去後、*n*-ヘキサンで0.5mLとし、ECD-GC測定条件1にて測定し、定量を行った。

(イ) カブルロバミド以外の農薬

検液B1はそのまま、検液B2は0.5mLを分取し、窒素気流下で溶媒を留去後、*n*-ヘキサンで0.5mLとし、ECD-GC測定条件2にて測定し、定量を行った。

なお、BHC類、DDT類、ジコホルの3農薬と同じ保持時間にピークが検出された場合、検液Gについて、ECD-GC測定条件2にて測定し、確認を行った。

エ メトプレン

検液EをGC/MS測定し、確認を行った。

なお、標準物質と同じ保持時間にピークが検出された場合は、検液EについてFID-GC測定し、定量を行っ

た。

オ HPLC(UV)測定農薬

(ア) エトフェンプロックス及びシラフルオフェン

検液B1及びB2は0.5mLを分取し、窒素気流下で溶媒を留去後、60%アセトニトリルで0.5mLとし、必要に応じて遠心分離を行った後、上澄液について、HPLC(UV)測定条件1にて測定し、定量を行った。

(イ) フラザスルフロン

検液Fを必要に応じて遠心分離した後、上澄液について、HPLC(UV)測定条件2にて測定し、定量を行った。

(ウ) 上記(ア)、(イ)以外の農薬

検液B2、B3及びB4は0.5mLを分取し、窒素気流下で溶媒を留去後、60%アセトニトリルで0.5mLとし、必要に応じて遠心分離を行った後、上澄液について、HPLC(UV)測定条件2にて測定し、定量を行った。

カ HPLC(ポストラベル)測定農薬

検液Aを0.5mL分取し、窒素気流下で溶媒を留去した後、メタノール0.5mLに溶解し、希塩酸(pH=3)1.5mLを加え、上澄液を孔径0.45µmのメンブランフィルターでろ過後、HPLC(ポストラベル)測定し、定量を行った。

なお、検液Aの測定にて、同じ保持時間にピークが検出された場合、検液DについてもHPLC(ポストラベル)測定し、定量を行った。

2・2 系統化分析(2)

(1) 試料

市販の玄米、いよかん、日本なし、キウイ、すいか、ぶどう、ブロッコリー、かんしょ、ばれいしょ、きゅうり、レタス、トマト、なす及びしいたけを使用した。

(2) 対象農薬及び検出に用いた測定機器

対象農薬名及び各農薬の検出に用いる測定機器は表4に示した通りである。

(3) 装置

GPC装置、測定機器は2・1(3)と同様である。

(4) 操作条件及び測定条件

GPC操作条件、ECD-GC測定条件は2・1(4)と同様である。HPLC(UV)測定条件は表5に示したとおりである。

(5) 抽出及びGPCによる精製 (検液A'の調製)

野菜、果実の場合は、粗く切った試料200gに10%リン酸溶液100mLを加えた後、細切均一化した。そのうち30gを採取し、2・1(5)と同様な操作を行い、検液を調製し、これを検液A'とした。豆類、穀類の場合についても、粉碎した試料20gに10%リン酸溶液20mLを加え30分間放置し同様な操作を行った。

表4 系統化分析(2)における対象農薬と測定機器及び使用可能な検液

No.	農薬名	測定機器		使用可能な検液				
		GC	HPLC	フロリジル				シリカゲル
		ECD	UV	B'1	B'2	B'3	B'4	C'
1	カブタホール	○			○			
2	キャブタン	○			○			
3	クロルベンジレート	○			○			
4	クロロタロニル	○			○			
5	ホルベット	○			○			
6	フェンヘキサミド		○			△	△	
7	シモキサニル		○					○

測定機器について、○は適用可能であることを示す。

使用可能な検液について、○は回収率が70%以上であることを、また、△は回収率が70%未満であることを示す。

表5 HPLC (UV) 測定条件

測定条件3		測定条件4	
カラム	TSK-GEL ODS-80™(内径4.6mm, 長さ150mm 東ソー(株))	TSK-GEL ODS-80™(内径4.6mm, 長さ150mm 東ソー(株))	
移動相	アセトニトリル-0.03M リン酸2水素ナトリウム (50:50)	アセトニトリル-0.03M リン酸2水素ナトリウム (25:75)	
検出波長	239nm	254nm	
流速	1mL/min	1mL/min	
カラム温度	50℃	50℃	
注入量	20μL	20μL	

(6) カートリッジカラムによる精製

ア フロリジルカラムによる精製(検液B'の調製)

検液A'を1mL分取し、窒素気流下で溶媒を留去した後、n-ヘキササン1mLに溶解し、2・1(6)と同様な操作を行い、検液B'1, B'2, B'3及びB'4を得た。なお、B'1及びB'2はn-ヘキササンに溶解し、B'3及びB'4はアセトンに溶解し2mLとし、測定に用いた。

イ シリカゲルカラムによる精製(検液C'の調製)

検液A'を1mL分取し、窒素気流下で溶媒を留去した後、5%アセトン-n-ヘキササン1mLに溶解し、5%アセトン-n-ヘキササン20mLで洗浄したSep-Pak plus Silica (Waters社製)に負荷した。5%アセトン-n-ヘキササン15mLで洗浄後、20%アセトン-n-ヘキササン15mLで溶出し、溶出液を40℃以下で溶媒留去後、酢酸-アセトニトリル-蒸留水(0.2:25:75)混液に溶解し2mLとし、検液C'を得た。

(7) 使用可能な検液

各農薬について、測定時に使用可能な検液は、表4に示した通りである。

(8) 測定用検液の調製と測定

ア ECD-GC測定農薬

検液B'1及びB'2を、ECD-GC測定条件2にて測定し、定量を行った。

イ HPLC(UV)測定農薬

(a) フェンヘキサミド

検液B'3及びB'4は0.5mLを分取し、窒素気流下で溶媒を留去後、60%アセトニトリルで0.5mLとし、必要に応じて遠心分離を行った後、上澄液について、HPLC(UV)測定条件3にて測定し、定量を行った。

(イ) シモキサニル

検液C'を、必要に応じて遠心分離した後、上澄液について、HPLC(UV)測定条件4にて測定し、定量を行った。

3 結果及び考察

前報では、79農薬を対象に、抽出からGPCによる精製を基本操作とし、必要に応じ精製法を加える系統化分析法を開発し報告した。その後、我々は平成7年から14年にかけて、新に食品衛生法の規制の対象となった農薬²⁰⁻²²⁾を中心として、その中で誘導体化等の煩雑な操作が必要でない農薬を選択し、GPCによる精製で回収率の問題がない等、この系統化分析法を適用できる農薬がないか検討を行った。その結果、カートリッジカラムによる精製や測定条件の追加、改良を行うことで表1中の*に示した81農薬が新たに分析可能となった。

また、逆に前報で対象としていたカブタホール及びキャ

ブタンは試料の細切均一化時に植物成分により分解することが判明したため¹⁰⁾、それらの農薬については、その分解を防ぐため告示法⁹⁾を参考に試料の細切均一化時にリン酸を添加する別の系統化分析法で分析することにした。さらに、この方法を利用できる農薬を検討したところ、クロルベンジレート、クロロクロニル、ホルベット、シモキサニル及びフェンヘキサミドの5農薬が適用でき、合計7農薬を分析することができるようになった。

したがって、これまでの系統化分析法については、今回は前報までの79農薬からカブタホール、キャプタン及びクロルベンジレートの3農薬を除き、新に81農薬を加えた157農薬（異性体、代謝物等を含めると177種）を対象農薬とすることとした。

さらに、GPCによる精製において、ジクロロメタンによる環境への負荷の軽減を図るために、移動相について検討を行い、シクロヘキサン-ジクロロメタン（1：1）混液からアセトン-シクロヘキサン（2：8）混液に変更した。

3・1 系統化分析(1)

(1) 測定条件

新に対象農薬に加えた81農薬について、まず、前報の測定条件が適用可能であるか検討を行った。

ア ECD-GC測定

ECD-GC測定において、カルプロバミドについて、前報と同一条件で測定を行ったところ、分解ピークがみられ、また、ピークの形状も悪く定量に適さなかった。これは、注入口での熱分解が原因と考えられたため、注入口温度を200℃に下げ、さらに告示法⁹⁾を参考にした昇温条件を用いた測定条件1にてカルプロバミドの測定を行ったところ、ピークの形状も良く、定量も可能であった。

カルプロバミドを除く、その他のECD-GC測定農薬については、前報と同様の測定条件2にて測定を行ったところ、良好なクロマトグラムが得られたため、この条件にて測定、定量を行うこととした。

イ HPLC(UV)測定

HPLC(UV)は、その測定農薬が前報の9農薬から38農薬へと大幅に増加したことから、前報のアイソクラチック条件では、これら38農薬を同時に分析した場合、ピークの重なり等によりスクリーニングが困難であった。そのため、移動相についてグラジエント溶出の測定条件2を用いたところ、ピークの重なりもみられず、同時に多くの農薬の測定が可能となった。ただし、クミルロンについては、測定条件2の測定波長では感度が悪く、検出下限値のピークを検出できなかったため、波長を極大波長の215nmで測定を行ったところ、良好な感度を

得ることができた。

さらに、同じくHPLC(UV)測定農薬であるエトフェンプロックス及びシラフルオフェンについては、測定条件2により測定を行うと、保持時間が遅いために、1回当たりの分析条件が長くなり、かつ、ピークの形状も悪かったことから、この2農薬については移動相の極性を下げた測定条件1により測定することとし、条件を別に設定し同時に測定を行うこととした。その結果、2農薬ともに良好なクロマトグラムが得られた。

ウ NPD-GC、FTD-GC及びFPD-GC測定

NPD-GC、FTD-GC及びFPD-GCについては、前報と同様の条件で測定を行ったところ、GCによっては、保持時間が近接した農薬が一部みられた。そのため、含窒素系農薬については、NPD-GCならびにFTD-GCの結果を、含リン系農薬については、さらにFPD-GCの結果を加えて、総合的に評価することにより、スクリーニングが可能であったため、これら3種のGCについては測定条件の変更を行わなかった。

(2) GPCによる精製

新にGPC装置を導入し、カラム及び移動相の変更を行ったため、まず、前報の対象農薬について検討を行ったところ、全ての回収率が、本操作条件で概ね70%から120%の範囲内であった。

また、平成7年から14年にかけて新に規制の対象となった農薬¹¹⁾¹²⁾のうち、誘導体化等の煩雑な操作が必要でない農薬を選択し、本操作条件によるGPC精製について検討を行った。その結果、トリシクラゾールやピメトロジン等の一部の農薬では回収率が低く、GPCによる精製が適用できなかったが、今回、新に対象とした81農薬については70%から120%の回収率であったため、GPC装置による精製を適用することとした。

また、前報ではメトブレンの溶出が他の農薬よりも早く、2分画にする必要があったが、本操作条件では他の農薬と同一分画に溶出したため、この溶出液をメトブレンの測定にも用いることとし、操作性が向上した。

(3) カートリッジカラムによる精製

ECD-GC測定農薬について、前報では、ECD-GCは高感度である反面、夾雑物質の影響を受けやすく、線源が汚染され易い等の理由から、GPC精製後のカラムによる精製が不可欠と考え、まず、フロリジルカラムを用い精製法を検討、確立した。さらに、その他の農薬についても、操作の簡略化を図るために、この精製法を基本として検討を行い、前報で対象とした農薬のうち、8割近くがフロリジルカラムにより精製することができた。

今回も、前報のフロリジルカラムによる精製を基本操作として、これを改良、またはカートリッジカラムの追

加を行うことで新に対象とした農薬を系統化分析法に組み込んでいくこととした。

まず、新しく対象とした農薬のうち、No.109~119のECD-GC測定農薬の全てがフロリジルカラムにより、精製ができ、検液B2までに良好に溶出されることが明らかとなった。

次に、No.51~92の含窒素系農薬及び含リン系農薬についても、同様にフロリジルカラムによる精製法の検討を行ったところ、アセタミプリドとイソフェンホスオキソンが検液B3までに溶出されなかったものの、その他の農薬については、検液B2とB3の2分画に分かれて溶出するものもみられたが、良好な回収率が得られた。

アセタミプリドとイソフェンホスオキソンについては、フロリジルカラムの代わりに、シリカゲルカラムによる精製法を検討したところ、検液C2までにどちらも良好に溶出された。また、このシリカゲルカラムを用いた精製法が、前報で対象としていた含窒素系農薬及び含リン系農薬にも適用できるか検討を行ったところ、前報ではフロリジルカラムでは精製できなかったアルジカルブ、イマザリル等、一部の農薬のスクリーニングに有効であった。

No.129~156のHPLC(UV)測定農薬についても、同様にフロリジルカラムによる精製が適用できるか検討を行ったところ、検液B1~B3までに溶出されない農薬がいくつかみられた。そこで、含窒素系農薬及び含リン系農薬と同様に、シリカゲルカラムによる精製法を検討したところ、溶出したが、精製が不十分なため、妨害ピークにより測定が困難であった。そこで、フロリジルカラムによる精製において、溶出溶媒を検討し、検液B3よりもさらに極性を高めた10%メタノール-アセトン溶液15mL(検液B4)で溶出させたところ、良好な回収率が得られ、また、妨害となるピークもみられなかった。

ただし、HPLC(UV)測定農薬のうちフラザスルフロンは上記のフロリジルカラム及びシリカゲルカラムによる精製では、良好な回収率が得られなかったため、フラザスルフロンの告示法⁹⁾を参考にSAXカラムを検討したところ、妨害となるピークもみられず良好な回収率が得られた。

HPLC(ポストラベル)測定農薬については、前報では、アミノカラムの精製により得られた検液Dについて測定を行っていたが、一部の農産物については、カートリッジカラム精製を行わずに検液Aをそのまま測定に使用しても、妨害ピークも少なく良好なクロマトグラムが得られることが分かった。このことから、まず、検液Aを用いて測定を行い、農薬の検出が疑われた場合のみ、アミノカラムにより精製を行い検液Dについて

再度測定を行うこととした。

また、アルミナカラムについては、前報と同様な操作で精製を行うこととした。

(4) 添加回収実験

新に対象農薬とした81農薬について、測定時にピークが重ならないように各農薬をグループに分け、そのグループ毎に農薬の混合標準溶液を調製し、各試料に添加後、30分間以上放置し、2・1に従って操作した。得られた検液はそれぞれの測定機器で定量し、回収率を求めた。

No.51~92の含窒素系農薬及び含リン系農薬については、ブタクロールがみかん、ばれいしょでそれぞれ39%、53%の回収率であり、またジフェノコナゾールがすいかで53%、フラメトピル代謝物が日本なしで55%の回収率であった。一方、アラクロール、シハロホップブチル、ピリプチカルブ、ピリミノバックメチルE体及びF体、フルジオキシニルで農産物によっては回収率が120%を超えたが、その他の農薬については62~119%と良好な回収率であった。

No.109~119のECD-GC測定農薬については、ハルフェンブロックスがかんしょで46%、トリフルランがキャベツで59%の回収率であった。また、テフルトリン、ピフェントリン、フィプロニル及びプロシミドンについては農産物によっては120%を超える回収率であったが、その他の農薬については61~119%と良好な回収率であった。

No.129~156のHPLC(UV)測定農薬については、エトフェンブロックス、シラフルオフェン、フルスルファミド及びヘキシチアゾクスで、玄米においては回収率がそれぞれ53%、57%、34%、55%であった。また、アジムスルフロロン及びメトスルフロロンメチルについても、日本なしでそれぞれ55%、53%、またレタスではそれぞれ59%、58%の回収率であった。

クミルロン、クロルスルフロロン、テブフェノジト及びフルフェノクスロンで農産物によっては120%を超える回収率であったが、これ以外の農薬については、いずれの農産物においても61~118%と良好な回収率であった。

3・2 系統化分析(2)

カブタホール等7農薬については、抽出時の植物成分による分解阻止¹⁰⁾、または、測定妨害成分の生成の抑制¹¹⁾、さらに、抽出効率の向上¹²⁾を目的として、試料の細切均一化時にリン酸を添加することとし、分析法の統一化を図るため、その操作以外は前述の系統化分析(1)と同様な操作が適用できるかどうかについて検討を行った。

(1) 測定条件

ECD-GC測定対象である5農薬について、ECD-GC測定条件2によって測定を行ったところ、良好なクロマ

トグラムが得られたため、測定にはこの条件2を用いることとした。

HPLC(UV) 測定条件については、シモキサニルとフェンヘキサミドの各告示法⁹⁾に準じた条件で測定を行ったところ、妨害となるピークも少なく良好なクロマトグラムが得られた。

(2) 抽出

試料の細切均一化時に、リン酸を添加し抽出を行ったところ、7農薬全てについて良好な回収率が得られた。

(3) GPCによる精製

カブタホール等7農薬について、回収率を求めたところ、本条件で概ね回収率が70%から120%の範囲内であったことから、このGPCによる精製を適用することとした。

(4) カートリッジカラムによる精製

カートリッジカラムの精製については、系統化分析法(1)と統一化し、フロリジルカラムについて、同様の精製法にて各農薬の溶出挙動をみたところ、ECD-GC 測定農薬は、検液 B'2に良好に溶出されることが明らかとなった。また、フェンヘキサミドはさらに高極性の溶出溶媒を用いた検液 B'3, B'4に良好に溶出されたが、シモキサニルはフロリジルカラムでは良好な回収率が得られなかった。そこで、シモキサニルの告示法⁹⁾で用いられているシリカゲルカラムを用いて、精製法の検討を行ったところ、良好な回収率が得られ、クロマトグラム上も妨害となるピークはなかった。このことから、シモキサニルの測定については、シリカゲルカラムによる精製から得られた検液を用いることとした。

(5) 測定用の検液の調製

シモキサニルについてはアルカリ性下による分解が報告されているので¹⁰⁾、告示法⁹⁾を参考に、検液に酢酸を加えて測定を行ったところ、加水分解によるピークの減少もみられなかったため、検液の調製には酢酸-アセトニトリル-蒸留水(0.2:25:75)混液を用いることとした。

(6) 添加回収実験

カブタホール等7農薬の混合標準液を調製し、各試料に添加後、30分以上放置し、2・2に従って操作した。得られた検液はそれぞれの測定機器で定量し、回収率を求めた。

ECD-GC 測定農薬については、カブタホール、キャプタンがそれぞれかんしょで57%、55%であり、クロロクロニルはトマトで51%の回収率であった。

一方、120%を超える高い回収率がみられたのは、カブタホール、キャプタン、ホルベットが玄米でそれぞれ149%、135%、140%であり、また、カブタホール、ホ

ルベットがしいたけでそれぞれ166%、135%であったが、その他については81~116%と良好な回収率であった。

HPLC(UV) 測定農薬であるフェンヘキサミド及びシモキサニルは、いずれの農産物についても78~107%の良好な回収率であった。

4 ま と め

(1) 前報で報告した系統化分析法に、新たに81農薬を対象として組み込み、BHC等157農薬についての系統化分析法を確立することができた。

(2) カブタホール等7農薬については、植物成分による農薬の分解阻止等を目的として、試料を酸性条件で抽出を行う新たな系統化分析法を確立することができた。

(3) GPCによる精製において、移動相について検討を行い、ジクロロメタンを用いないことで、環境への負荷を軽減することができた。

文 献

- 1) 砺波和子、小川 清：石川保環研報，32，135—142（1995）
- 2) 厚生省告示第161号“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成7年8月14日（1996）
- 3) 厚生省告示第221号“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成8年9月2日（1996）
- 4) 厚生省告示第179号“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成9年9月1日（1997）
- 5) 厚生省告示第245号“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成10年10月12日（1998）
- 6) 厚生省告示第237号“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成11年11月22日（1999）
- 7) 厚生労働省告示第56号“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成13年2月26日（2001）
- 8) 厚生労働省告示第258号“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成13年7月24日（2001）
- 9) 厚生労働省告示第94号“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成14年3月13日（2002）
- 10) 食品衛生法検査指針残留農薬編，p286—293，社団法人日本食品衛生協会，東京（2003）
- 11) 厚生省生活衛生局食品化学課長通知“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成10年10月12日，衛化第25号（1998）
- 12) 厚生労働省医薬局食品保健部基準課長通知“食品，添加物等の規格基準の一部改正について”平成14年3月26日，食基発第0326001号（2002）
- 13) 厚生省生活衛生局食品化学課：第7回食品残留農薬分析法講習会講義資料，p157—162，（1998）

〔資 料〕

いわゆる健康食品からグリベンクラミドが 検出された事例について

石川県保健環境センター食品薬品科学部 安田 和弘・塚 林 裕

キーワード：グリベンクラミド、健康食品、低血糖

1 はじめに

平成15年8月、「糖滋源」といういわゆる健康食品を服用した女性が低血糖による意識障害で入院したと保健所に相談が寄せられた。低血糖の原因として、対象の健康食品に医薬品成分が含まれている可能性が考えられたため、経口血糖降下剤が含まれているか検討を行った。

2 材料と方法

2.1 試料

試験を行った健康食品は、三角形の深緑色の錠剤で1錠が約300mgであった。この錠剤165錠がプラスチック容器に詰められていた。表示原材料は明日葉、乾燥酵母、サンヤク、オウセイ、キキョウ、霊芝及び珍珠であった。

また「健康食品として、1日5粒～20粒を目安に水又はお湯とともにお召し上がりください」と記載されていた。

2.2 試験方法

(1) 標準品・試薬等

グリベンクラミド：生化学用，和光純薬工業

グリベンクラミド製剤：アベンティスファーマ株式会社（商品名：ダオニール2.5mg）

トルブタミド錠：アベンティスファーマ株式会社（商品名：ヘキストラステノン錠）

グリクラジド錠：大日本製薬株式会社（商品名：グリミクロン錠）

アセトン，アセトニトリル：HPLC用，和光純薬工業
薄層クロマトグラフ用プレート：TLC plates silica gel 60 F254 pre-coated（メルク，5×20cm 層厚0.25

表1 高速液体クロマトグラフ法 使用機器及び測定条件

使用機器	島津 LC-9A 島津 SPD-M10Avp	アジレント HP1100及び HP1100MSD
カラム	L-column ODS 4.6mmφ×150mm	Wakosil-II 3C18 HG 2.0mmφ×150mm
カラム温度	40℃	40℃
検出器条件	紫外可視多波長検出器 (PDA) 測定波長域：200nm-400nm	質量分析装置 イオン化法：ESI(Positive) ESI(Negative) Scan range：m/z 100-700 フラグメンター電圧：100eV
流速	1 mL/min	0.2mL/min
移動相	水/アセトニトリル/酢酸770mg/L = 600(mL):400(mL):1.7(R) スクリーニング 水/アセトニトリル/酢酸770mg/L = 500(mL):500(mL):1.7(R)	水/アセトニトリル/酢酸770mg/L = 600(mL):400(mL):1.7(R)

The Example with which Glibenclamide was Detected from the So-called Health Food. by YASUDA Kazuhiro and TSUKABAYASHI Hiro (Food & Drug Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Glibenclamide, Health food, Hypoglycemia

mm)

(2) 試料の調製

熊坂らの試験法¹⁾に準拠した。

(3) HPLC・LC/MS 測定条件

表1の通りである。

(4) 薄層クロマトグラフ条件

薄層クロマトグラフの操作・条件については日本薬局方一般試験法の薄層クロマトグラフ法²⁾及び熊坂らの方法に準じた。すなわち、酢酸エチル/メタノール/シクロヘキサン/アンモニア水(28)=6:2:1:1の展開溶媒を用い、薄層板へのスポット量は2μLとした。展開後の薄層板はそのまま、もしくは硫酸/エタノール=1:1を噴霧し、ホットプレートで1分程度加熱した後に254nmの紫外線を照射し検出されるスポットのRf値を求

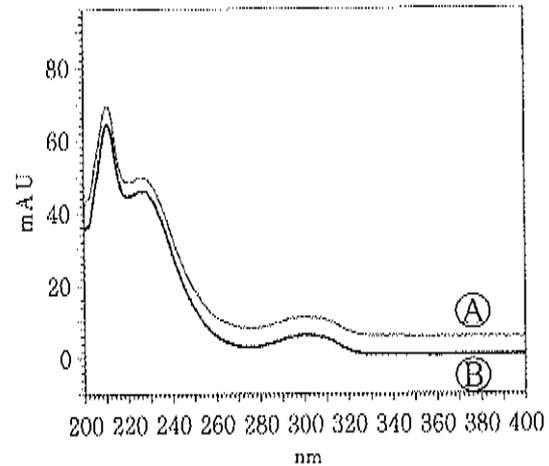
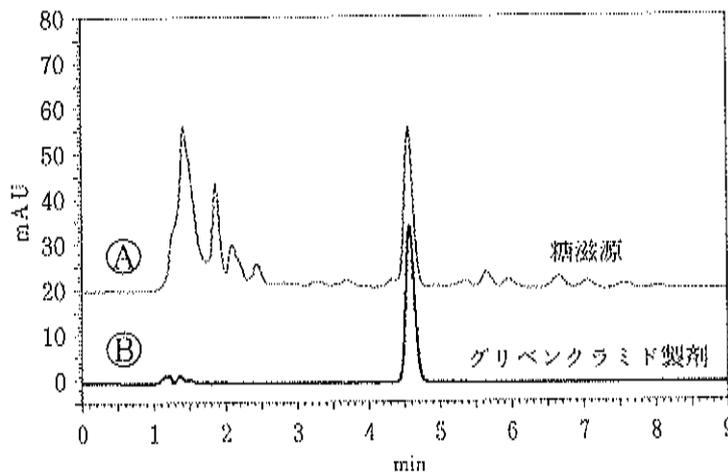
めた。

3 結 果

3・1 グリベンクラミド製剤を用いたスクリーニング

検査依頼内容は、糖滋源という健康食品に経口血糖降下剤の成分が含まれているか調べてほしいというものであった。そこで血糖降下剤成分の標準品の入手までの間に医療用医薬品の製剤(錠剤)を標準品の代用としてHPLC-紫外可視多波長同時検出器(HPLC-PDA)にて予備試験を行うこととした。なお、予備試験はスルホニル尿素系(SU系)血糖降下剤のトルブタミド、グリベンクラミド及びグリグリラジド製剤について行った。

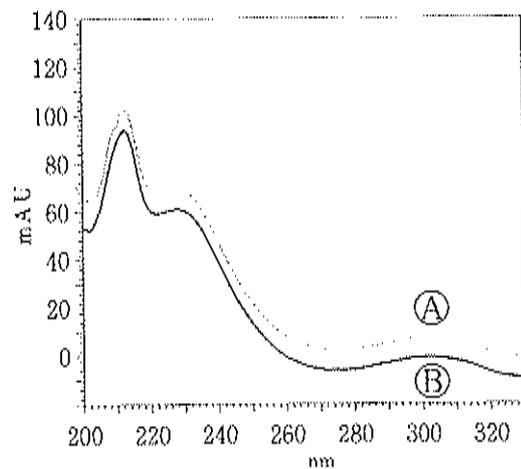
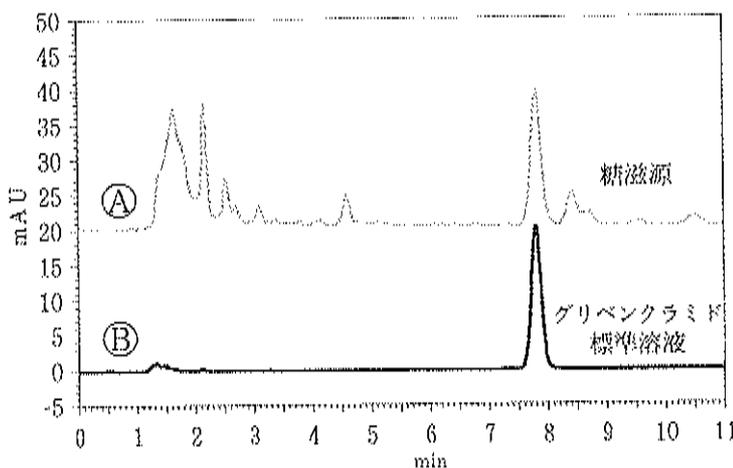
その結果、検体からグリベンクラミド製剤と同じ溶出時間にピークが観察され、この溶出時間における紫外部



波長227nmにおけるHPLCクロマトグラム
A: 糖滋源 B: グリベンクラミド製剤

4.58minにおける紫外部吸収スペクトル

図1 医療用グリベンクラミド製剤を用いたスクリーニング



波長227nmにおけるHPLCクロマトグラム
A: 糖滋源 B: グリベンクラミド標準溶液

7.79minにおける紫外部吸収スペクトル

図2 グリベンクラミド標準品を用いた結果

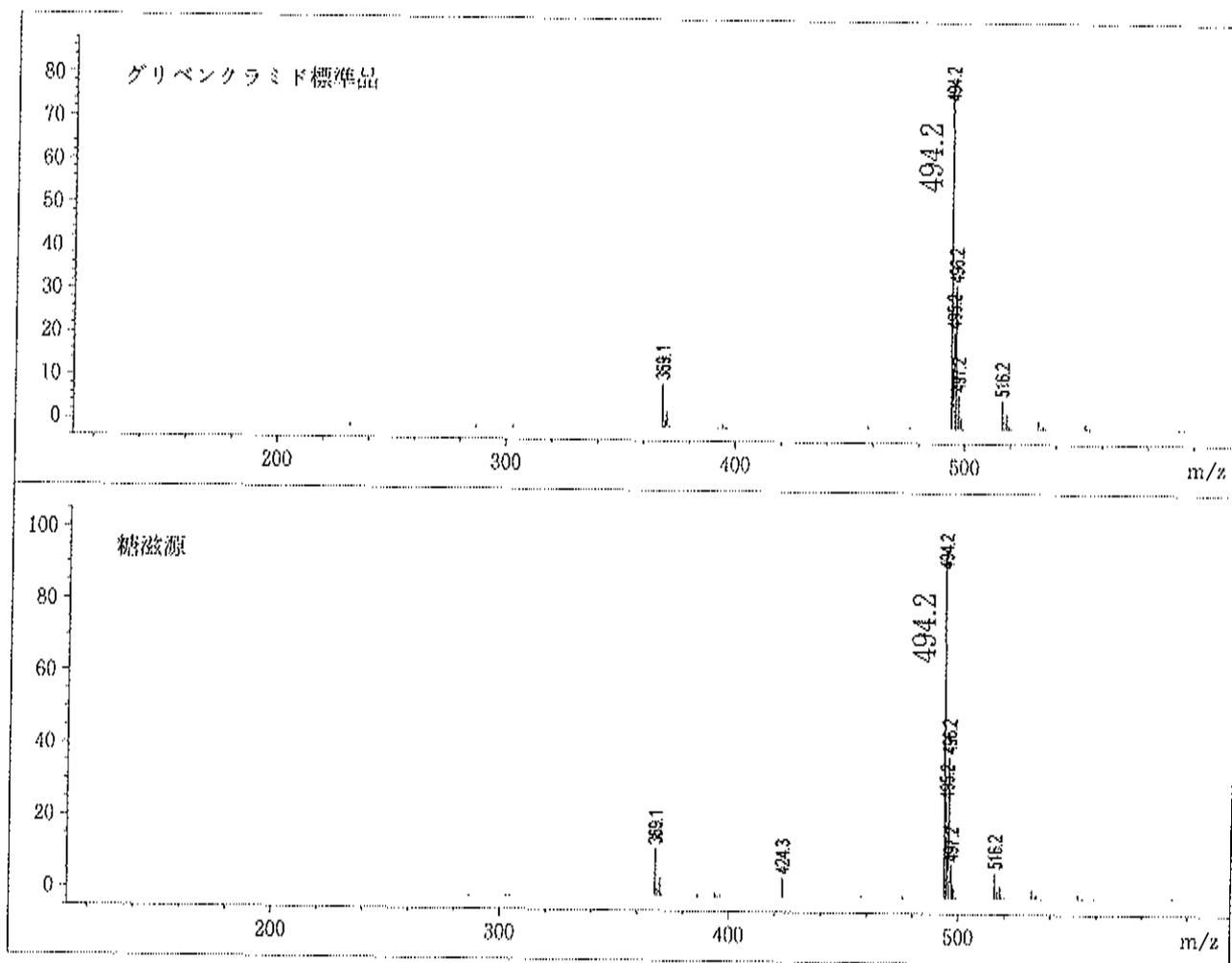
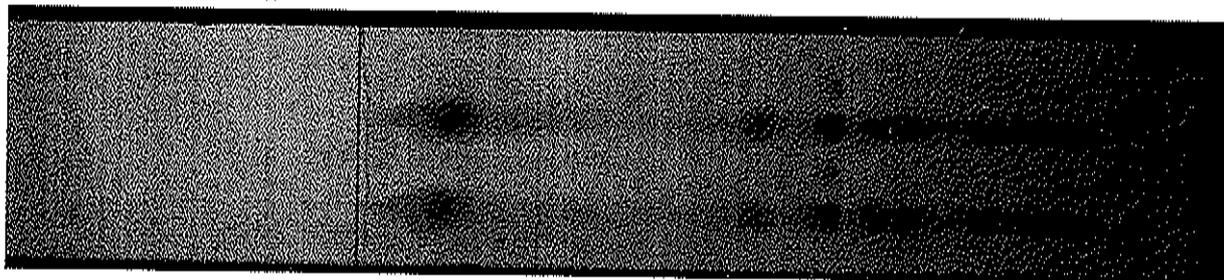


図3 LC/MSによる確認

展開後紫外線254nm 照射



硫酸処理後, 紫外線254nm 照射

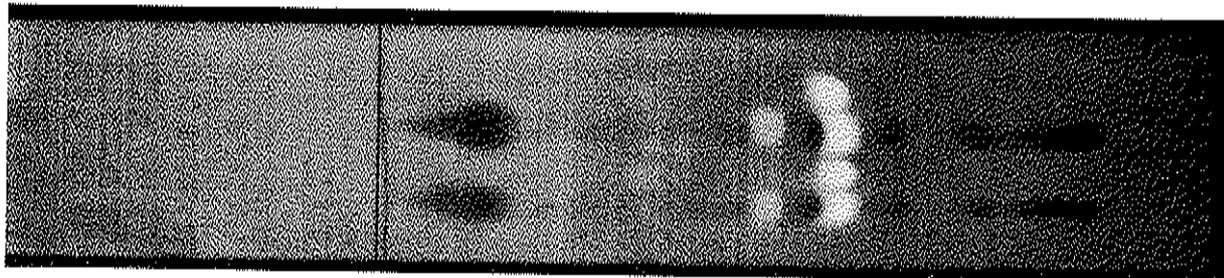


図4 薄層クロマトグラフによる確認試験結果

吸収スペクトルが一致した。また、その他のSU剤については、検体と同一溶出時間にはピークは観察されなかった。

3・2 標準品を用いた定量

グリベンクラミド標準品を用いて HPLC-PDA で調べた結果もスクリーニング結果と同様に、検体から標準品と同じ溶出時間にピークが観察され、この溶出時間におけるスペクトルが一致した。そのピークについて定量を行った結果、検体 1g あたり 1.0mg のグリベンクラミドが検出された。

LC/MS でマススペクトルを確認した結果も標準品と検体で同じパターンを示した。

3・3 薄層クロマトグラフ法による確認

薄層クロマトグラフ法にて試験を行った結果、展開溶媒による展開後、そのまま紫外線を照射した場合は、グリベンクラミド標準品と同じ Rf 値 0.35 の位置に検体からもスポットが観察されたが、その他に検体からは多数のスポットが観察された。さらに 50%硫酸エタノール溶液を薄層板に噴霧後、加熱し、紫外線を照射した場合は、標準品、検体いずれからも特徴的な青白い蛍光のスポットが同じ位置に観察された。

4 考察・まとめ

(1) 今回検査した検体からは 1錠あたり 0.3mg のグリベンクラミドが検出された。摂取量の目安として 1日に 5～20錠とされていたため、この量を服用した場合はグリベンクラミドとして 1.5～6 mg を摂取することになる。これは経口血糖降下剤としてのグリベンクラミドの用法・用量である 1日に 1.25～2.5mg と同等以上であ

り、さらに他に治療等で服用している医薬品があればそれとの相互作用により低血糖となる恐れは十分あると考えられる。

(2) 当センターに標準品の在庫がなかった本事例では、医療用医薬品をその代替とし事前に定性的な試験、スクリーニング及び測定条件の検討を行う事ができた。その結果標準品を入手した日に検査結果の報告ができた。標準品が直ちに入手できない場合でも試験項目が医療用医薬品と同一の成分の場合は、早急に入手が可能な医療用医薬品で事前に分析条件の確認やスクリーニングを行うことにより、検査結果報告の迅速化に寄与できると考えられる。

(3) 2000年米国食品医薬品局の発表では glyburide (=グリベンクラミド) 以外にもビグアナイド系である phenformin が健康食品から検出されていた事例も報告されている³⁾。今後はビグアナイド系の薬剤についても抽出条件をはじめ、SU系薬剤とは別に、迅速に対応できる試験法を確立する必要がある。

試験法について多大なご指導を賜った神奈川県衛生研究所理科学部 熊坂謙一様に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 熊坂謙一, 小島 尚, 土井佳代, 佐藤修三: YAK-UGAKU ZASSHI, 123 (12) 1049-1054 (2003)
- 2) 第十四改正日本薬局方解説書(2001) p B484-B492 (2001)
- 3) <http://www.fda.gov/oc/po/firmrecalls/Zhenqi.html>

〔資 料〕

牛乳等の食品に含まれる消毒剤の分析法について

石川県保健環境センター食品薬品科学部

小野 陽介・大西 道代

北井 博・岸原 聡

キーワード：牛乳、消毒剤、食品

1 はじめに

次亜塩素酸ナトリウム（次亜塩素酸 Na）をはじめとする消毒剤は、食品の製造ラインの殺菌等の目的で汎用されている。そのため、食品への混入事故が発生する可能性が大きい薬剤である。また、日常生活においても消毒剤は汎用されており、非常に入手しやすく、食品の流通過程における混入の可能性も考えられる。

石川県では、平成15年度に学校給食の牛乳及びご飯に関する異味・異臭苦情が発生し、この際も原因として疑われたのが消毒剤であった。実際、牛乳の製造ライン及び貯蔵タンクの洗浄には次亜塩素酸 Na が使用されている。また学校内には、一般的には使用されていない消毒剤ではあるがホルムアルデヒドやフェノール等の薬品が存在する場合があります、これらの混入を疑わせることとなった。

しかし、牛乳をはじめとする食品中に混入したこれら消毒剤を検出するのは非常に困難であり、苦情への対応は主に官能検査と聞き取り調査に頼っているのが現状である。そこで今回、消毒剤3種（次亜塩素酸 Na、ホルムアルデヒド、フェノール）の迅速な定量法を検討した。次亜塩素酸 Na に関してはオランダで牛乳中の残留塩素分析法として採用されている Rupp-Wode 法¹⁾²⁾を用いて、ホルムアルデヒドとフェノールに関しては食品の器具・容器包装のそれらの分析法³⁾を応用し、食品にも適用できるか、さらにはフェノールとホルムアルデヒドに関しては前処理を共通化し、同時分析が可能かどうかを検討した。

2 実験方法

2・1 対象試料及び試薬

今回検討した試験法の対象食品としては牛乳、飲料水、コーヒー、カレー、ご飯を用いた。コーヒー、カレー、ご飯については水道水を用いて実験室で調理したものを用いた。また、試薬は特に断りの無いものに関しては特級品を用いた。

2・2 分析方法

(1) 次亜塩素酸 Na

次亜塩素酸 Na（残留塩素）の分析には、Rupp-Wode 法を用いた。この方法は、オランダで牛乳中の残留塩素の検査法として採用されている。この方法は、食品中の残留塩素がヨウ化カリウムを酸化してヨウ素が生じることにより発色するヨードでんぷん反応を利用した比色法であるが、酸化剤として働く物質が食品中に存在すると、残留塩素が無くとも発色してしまう欠点があるため、必ずコントロール品（無添加試料）との色調比較を行う必要がある。

(2) ホルムアルデヒド及びフェノール

ホルムアルデヒド及びフェノールは食品の容器・包装に用いられる試験法³⁾を応用し、食品中のそれらの測定が出来るか検討した。

対象食品について水蒸気蒸留を行う。ホルムアルデヒドの定量は留液中の濃度をアセチルアセトン法によって測定する。ホルムアルデヒドは過剰の酢酸アンモニウム存在下でアセチルアセトンと定量的に反応し、412～415nm に吸収極大をもつ黄色の3,5-ジアセチル-1,4ジヒドロルチジンを生成するため、その吸光度を測定するこ

Analysis of Disinfectants in Milk, Drinking Water, Coffee, Curry and Rice. By ONO Yousuke, OHNISHI Michiyo, KITAI Hiroshi and KISHIHARA Satoshi (Food & Drug Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Milk, Disinfectants, Food

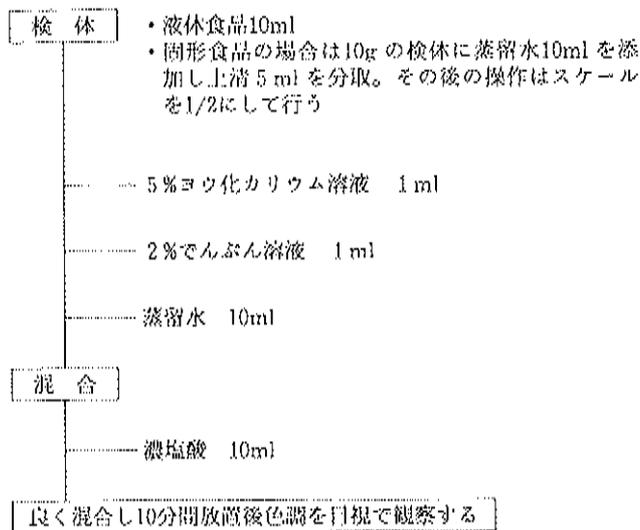


図1 次亜塩素酸Naの分析フロー

とで定量した。

一方、フェノールの定量は、留液中のフェノールを4-アミノアンチピリンを用いて発色させ、比色定量を行った。

分析のフローは図1、2の通りである。

2・3 検量線の作成と定量

(1) 次亜塩素酸Na

有効塩素濃度1000 $\mu\text{g/ml}$ となるように調製した次亜塩素酸Na水溶液を測定対象食品10ml（固形食品の場合は10gの検体に蒸留水10mlを添加・混和した上清5ml、以後の操作はスケールを半分にして）が入った比色管に0, 0.05, 0.1, 0.2mlずつ添加し、塩素濃度0, 5, 10, 20 $\mu\text{g/ml}$ の添加試料を作成した。これらの塩素添加試料について検体と同様の操作を行い検量線とする。これを用いて検体と色調の比較を行い定量した。

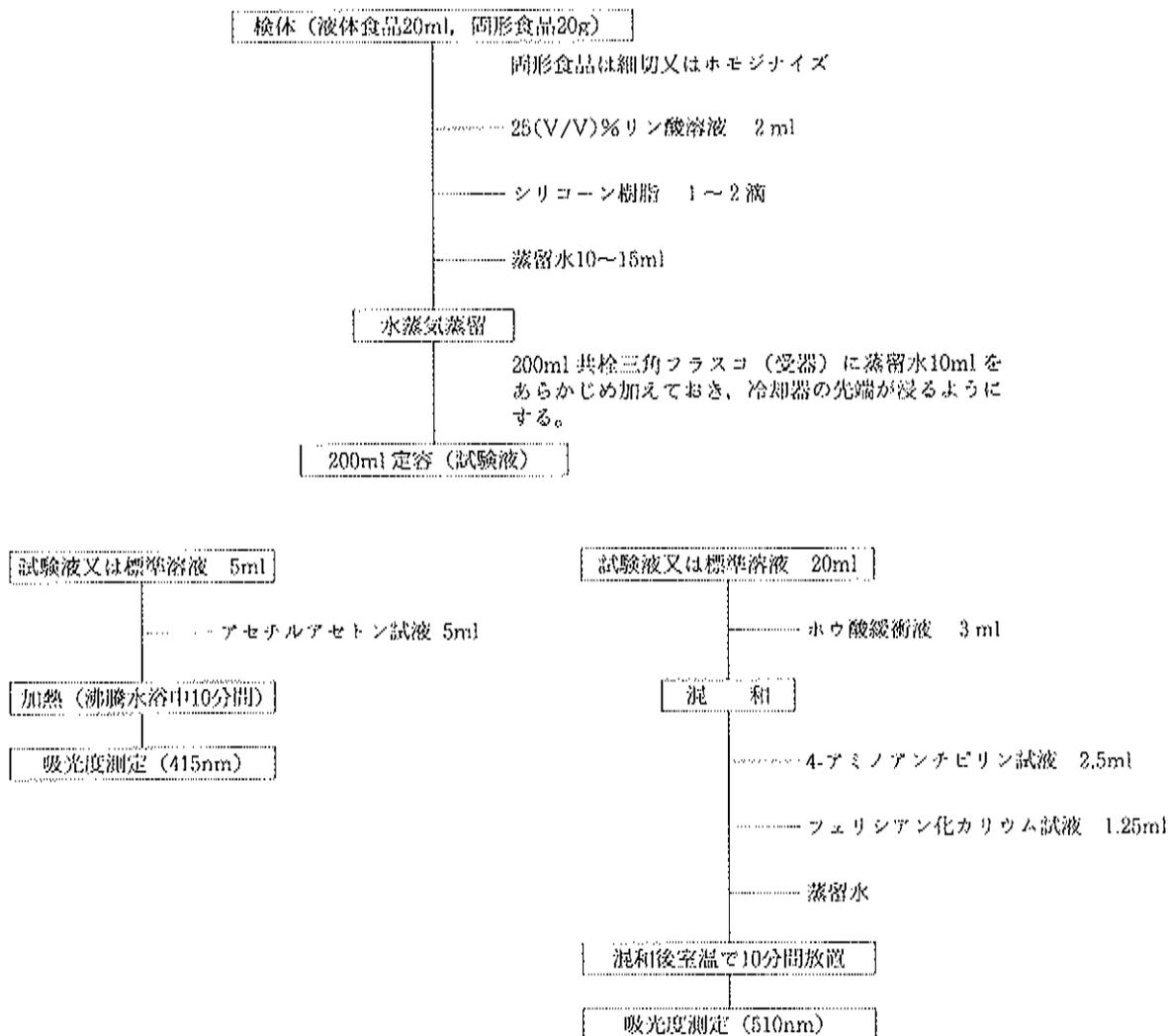


図2 ホルムアルデヒド・フェノールの分析フロー

(2)ホルムアルデヒド

ホルムアルデヒド(水質試験用標準溶液:1mg/ml) 1 ml 取り、蒸留水で正確に100mlとする(ホルムアルデヒド10 μ g/ml)。この1mlをとり、蒸留水で10mlに希釈する(ホルムアルデヒド1 μ g/ml)。さらにこの1mlを取り、蒸留水で10mlに希釈する(ホルムアルデヒド0.1 μ g/ml)。これらを用いて検量線を作成し、定量を行った。

(3) フェノール

フェノール(水質試験用) 1.0gを正確に量り、蒸留水に溶かして正確に100mlとする(10mg/ml)。この溶液の1mlを正確にとり、蒸留水を加えて正確に100mlとする(100 μ g/ml)。さらにこの溶液1, 0.1 mlを正確にとり、蒸留水を加えて正確に10mlとする(10 μ g/ml, 1 μ g/ml)。これらの溶液を用いて検量線を作成し、定量を行った。

3 結果及び考察

3・1 次亜塩素酸 Na

今回、次亜塩素酸 Na(残留塩素)の分析に用いた Rupp-Wode 法は、先に述べたように必ずコントロール品(無添加試料)との色調比較を行う必要がある。今回用いた食品では、牛乳以外の食品においてはコントロール品も発色してしまい判別が困難であった。これは、酸化剤の存在のほかに牛乳を除いた食品の作成に用いた水道水由来の残留塩素が発色に影響を及ぼした可能性が考えられた。また、発色には加える塩酸の量が関係するとの報告もあり³⁾、加える塩酸の量を減らし検討を行った。しかし、コントロール品ではやはり発色が見られ、今後の検討が必要である。なお、コーヒーに関しては、食品自体の色がいわゆるコーヒー色であり、本法により発色する黒紫色と色調が似通っているため、水道水を使用した影響を除いたとしても判定は困難であると思われる。

唯一測定が可能な牛乳については、オランダではこの方法での検出限界値を5 ppmとしているが、今回は10 ppmであった。しかし、色調の目視判定までのまでの時間を10分から20分程度に延長させることにより、一般の牛乳に関しては5 ppmも測定できるようになった。ただし、今回苦情があり測定を試みた生乳に関しては、目視までの時間を延長させるとコントロール品での発色や、多くの沈殿物の発生が見られた。そのため検出下限である5 ppmの測定は不可能であり、生乳における検出下限値は10ppmであった。生乳とは、搾りたての牛乳で何も手を加えられていない状態のものである。通常、市販の牛乳は生乳に浄化(異物、白血球、細胞片等の除去)、均質化(脂肪球を細かく砕き、粒度を均一化す

ることで安定分散状態とし、脂肪の沈殿を防止する)、殺菌(有害微生物の殺滅のみならず各種酵素の失活)等の操作を加えたものである。今回、生乳と市販牛乳でこのような結果の差を生んだ要因として、浄化、均質化を行っていないため沈殿物をより発生しやすくなっていたこと、殺菌過程を行っていないため各種酵素が存在しその影響が出たなどが考えられた。同じ牛乳であっても市販乳であるか、生乳であるかによって試験に及ぼす影響が異なるということであり、検査にあたっては注意が必要であることが分かった。

この方法による測定に要する時間は1時間程度であり、短時間での判定が可能であった。

3・2 ホルムアルデヒドとフェノール

ホルムアルデヒド及びフェノールは食品の容器・包装に用いられるプラスチックの原料や添加物としても使用されるため、食品の器具・容器包装からの溶出量とその試験法が定められている³⁾。今回その方法を応用することで、食品中のそれらの測定が出来るか検討した。

容器・包装におけるホルムアルデヒドの溶出試験で用いられる前処理方法は水蒸気蒸留である。一方、容器・包装におけるフェノールの溶出試験では水蒸気蒸留等の操作はなく、溶媒抽出である。

今回の食品試料では前処理が必要であるため、これら2物質をホルムアルデヒドの前処理である水蒸気蒸留を行うことで同時に食品中から取り出し、一度の前処理で検液を作成することが可能であるか検討した。その結果、食品中に両物質が定量下限値混在していても、水蒸気蒸留で両物質が精度良く回収できた。また、発色において

表1 各食品にホルムアルデヒドを添加したときの回収率

食品の種類	回収率 (%)
飲料水	77.8
ご飯	94.5
コーヒー	114.6
カレー	83.4
牛乳	80.4

表2 各食品にフェノールを添加したときの回収率

食品の種類	回収率 (%)
飲料水	113.5
ご飯	106.4
コーヒー	117.5
カレー	97.7
牛乳	91.3

も両物質が混在していても他方の発色に影響を及ぼすことは無かった。今回の方法での定検下限値はホルムアルデヒドで1 ppm、フェノールで10ppmであった。それぞれの食品に定検下限値の両物質を混入させ、回収率を求めた結果は表1、2に示すとおりであった。

4 ま と め

(1) 食品中の残留塩素の測定法として、Rupp-Wode法を検討したが、牛乳以外の食品への適応には更なる検討を要した。

(2) 食品に混入したホルムアルデヒド・フェノールを同時に前処理し、分析することが可能となった。

文 献

- 1) (財)日本乳業協会, (社)中央畜産会: 飲用乳の品質事故防止対策マニュアル, p69 (2003)
- 2) 野地真奈美: 平成14年度食品衛生監視員研修発表会資料, p125-128 (2003)
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解, p611・p615 (2000)

(資 料)

固相抽出カートリッジを用いた海水中の重金属類の分析

石川県保健環境センター水質科学部 井上 和 幸

キーワード：固相抽出カートリッジ，重金属分析

1 はじめに

海水中の重金属濃度は一般的に1ppb以下であり、分析するには濃縮操作が不可欠である。また、海水中には多量に塩分が存在し、塩分の干渉作用のため、原子吸光光度法、ICP発光分光分析法及びICP質量分析法による直接測定が困難である¹⁾。

通常、海水中の重金属を分析する方法としては、固相抽出法^{2)~4)}がよく用いられており、その利点として、少量の試料で抽出・濃縮が可能であること、市販の製品を使うことで、物理的・化学的に安定な抽出剤が使用できること及び目的物質を迅速に抽出・溶離できることが挙げられる。

今回、ディスク型固相抽出カートリッジを用いて、海水の重金属類を迅速に脱塩・濃縮する方法について検討したので、そのうち通水速度、試料濃度及びpHによる影響について報告する。

2 実験方法

2.1 試 料

超純水及び海水に、表1に示す33元素が0.01mg/l、0.1mg/l及び1mg/lとなるようそれぞれ添加・調整した3種類を試料とした。

2.2 固相抽出カートリッジ

固相抽出カートリッジとして、イミノ二酢酸キレート

樹脂とポリテトラフルオロエチレン (PTFE) で構成されるエムボアキレートディスクカートリッジ (3M社、製品番号4371, 10mm/6ml) を用いた。

2.3 前処理

抽出及び濃縮作業手順を図2に示した。通水速度を1~10ml/minに変化させ、3種類の試料を5段階のpH(1.5~9.5)に調整した試料について抽出を試みた。こ



図1 イミノ二酢酸キレート樹脂

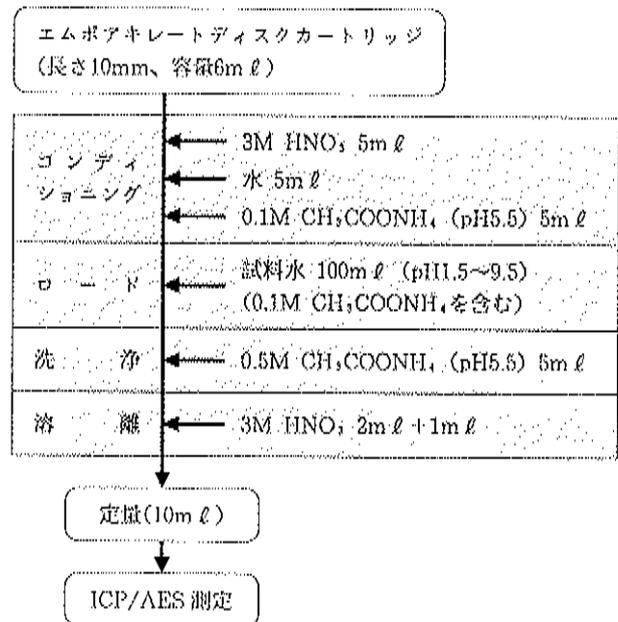


図2 前処理フロー

表1 分析を行った元素

Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, Ge, Hg, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Si, Sn, Sr, Th, U, V, Zn (33元素)

Analysis of Heavy Metals in Sea Water with Solid Phase Extraction Disk Cartridges, by INOUE Kazuyuki (Water Quality Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Solid phase extraction disk cartridges, Heavy metals analysis

の抽出液を10倍濃縮して検液とした。

2・4 測定方法

重金属類の分析は、ICP 発光分光分析 (PERKIN ELMER 社製 Optima 3300XL) を用い絶対検量線法によって測定した。

表2 通水速度別の添加回収率

単位：%

試料の種類		超 純 水				海 水			
通水速度[mℓ/min]		10	5	3	1	10	5	3	1
測定元素	Al	72	81	82	85	94	93	92	97
	Cd	102	101	100	99	88	95	95	95
	Co	103	102	101	98	99	99	96	93
	Cu	102	100	100	99	100	100	98	98
	Ga	83	82	82	83	86	84	81	83
	Ni	102	101	101	100	103	103	101	98
	U	103	101	102	98	95	97	94	93
	Zn	102	101	102	102	112	102	100	100

添加試料濃度 0.1mg/ℓ, 添加試料 pH 5.5

表3 試料濃度別の添加回収率

単位：%

試料の種類		超 純 水			海 水		
添加濃度[mg/ℓ]		0.01	0.1	1	0.01	0.1	1
測定元素	Al	70	72	93	102	94	88
	Cd	94	102	100	79	88	45
	Co	98	103	101	91	99	51
	Cu	97	102	97	89	100	92
	Ga	85	83	101	85	86	47
	Ni	97	102	98	95	103	96
	U	96	103	94	87	95	43
	Zn	92	102	111	89	112	109

通水速度 10mℓ/min, 添加試料 pH 5.5

表4 pH別の添加回収率

単位：%

試料の種類		超 純 水					海 水				
pH		1.5	3.5	5.5	7.5	9.5	1.5	3.5	5.5	7.5	9.5
測定元素	Cr	<1	21	50	77	54	<1	3	12	53	70
	Mn	<1	18	91	104	91	<1	1	10	90	97
	Mo	62	93	18	1	<1	67	92	33	<1	<1
	V	7	98	68	37	17	5	97	52	19	6

添加試料濃度 0.1mg/ℓ, 通水速度10mℓ/min

3 結果と考察

3・1 通水速度の検討

通水速度の違いによる添加試料水中の回収率を検討した。実験は33元素を0.1mg/ℓ添加し pH5.5に調整した試料100mℓを、固相抽出法によって1.0mg/ℓに濃縮し、この抽出液中の重金属類濃度をICP発光分光分析法で測定し添加回収率を算出した。この結果、良好な回収率が得られた8元素の測定結果を表2に示した。

8元素 (Al, Cd, Co, Cu, Ga, Ni, U, Zn) は通水速度により回収率に差が認められなかったが、これは8元素の樹脂への吸着速度が、10mℓ/min程度の通水速度を上回るためであると考えられる。

3・2 固相抽出カートリッジ保持能力の検討

固相抽出カートリッジの保持能力を調べるため、3種類の濃度に調整した試料 (0.01mg/ℓ, 0.1mg/ℓ及び1mg/ℓ)

を用いて検討を行った。実験は3・1と同様に、pH5.5に調整した添加試料を10mℓ/minの通水速度で固相抽出によりそれぞれ10倍に濃縮して回収率を算出した。その結果を表3に示した。

4元素 (Cd, Co, Ga, U) においては、海水の1mg/ℓ添加試料で、回収率の低下が認められたことから、固相抽出カートリッジの保持能力は8元素の濃度が0.1mg/ℓ程度が限界であると考えられる。海水中におけるこれら8元素の濃度は、通常いずれも0.01mg/ℓ以下の低濃度であるので、固相抽出カートリッジによる濃縮は可能であると考えられる。

3・3 pHの検討

回収率のpH依存性について検討した。pHを1.5～9.5まで5段階に調整した添加試料 (0.1mg/ℓ) を10

mℓ/min の速度で固相抽出により10倍に濃縮し、回収率を算出した。その結果、pH5.5では4元素(Cr, Mn, Mo, V)において、回収率の低下がみられた(表4)。

Cr, Mnについては超純水及び海水のいずれにおいても最適pH域が5.5よりもアルカリ側に、Mo, Vについては、酸性側に偏った結果となった。したがって、これらの元素を固相抽出により濃縮する際には、試料のpHを最適条件に設定する必要がある。

4 ま と め

(I) 固相抽出カートリッジを用いた海水中の重金属濃縮方法に関する添加回収試験によって、Cuなど8元素

の最適通水速度は10mℓ/minであることが分かった。

(2) pH濃度の異なる5種類の添加試料による回収試験における最適pHは、4元素(Cr, Mn, Mo, V)については5.5ではなく、固相抽出により濃縮する際には、試料のpHを最適条件に設定する必要がある。

文 献

- 1) 原田敏彦, 稲垣和正: ぶんせき, 494—503 (1998)
- 2) 大関邦夫, 藤塚いそし: ぶんせき, 86—93 (1998)
- 3) 天川裕史: ぶんせき, 189—193 (2001)
- 4) 三浦 勉, 森本隆夫, 早野和彦, 岸本武士: 分析化学, 49, 245—249 (2000)

〔資 料〕

温泉水中残留塩素の測定

— — — DPD 法における問題点について — — —

石川県保健環境センター水質科学部 橋本 潤子・平尾真規子・柴野 昭

キーワード：残留塩素, DPD 法, 温泉水

1 はじめに

近年、温泉を利用した入浴施設（以下温泉施設という）でのレジオネラ症の発生が増加しており、石川県でも平成15年2月に Y 町の温泉施設で60代の男性が死亡する事例が発生した。レジオネラ感染対策としては塩素消毒が有効であるが、旅館等における循環ろ過式浴槽水の残留塩素濃度（以下 残塩濃度）を維持させることが必要である。残塩濃度の測定法としては水道水の残塩濃度を測定するための DPD (N, N-ジエチルパラフェニレンジアミン) 法¹⁾がある。この方法は現場での保健所による監視や温泉施設等の営業者による自主検査の簡易測定法として用いられているが、県内の a 温泉施設の自主検査において試薬メーカーによって測定値が異なるとの報告があった。

そのため、試薬による違いの確認も含め、その原因等を検討し、DPD 法による温泉水中の残塩濃度測定について若干の知見を得たので報告する。

2 試験方法

2・1 試料

温泉水：石川県 M 市 a 温泉施設の温泉水を採取し、必要に応じてその温度を源泉の温度(55℃)に保ち試験水とした。

2・2 試薬

(1) DPD 試薬

A 社(粉末)

B 社(錠剤)

B 社(液体)

(2) 塩素剤

次亜塩素酸ナトリウム溶液：和光純薬工業(株)

NaClO 11.5w/v%(標定値)

2・3 試験方法

試験水に塩素剤を注入し DPD 試薬で発色させた後、一定時間後に分光光度法及び標準比色版を用いた目視法により残塩濃度を測定した。検量線は蒸留水に適當濃度の塩素剤を注入して作成した標準溶液に DPD 試薬を加えて発色させた後、試験水と同様に残塩濃度の測定を行った。

2・4 分析機器

標準比色版：柴田科学(株)製残留塩素測定器 DPD 法

分光光度計：(株)島津製作所製 UV-160

測定波長 555.0nm

3 結果及び考察

3・1 試薬メーカー及び剤型による発色の違い

(1) 蒸留水

試薬による発色の違いを確認するために、塩素剤を注入した蒸留水にそれぞれの試薬を入れ発色させたところ、B 社の錠剤は水に対する溶解性が悪く白濁した。この濁りは現場での目視法での検査では支障がないものであるが、今回、分光光度法で測定することにしたため、その測定値に影響を及ぼすことが考えられたので、この試薬(錠剤タイプ)を除いた A 社(粉末)、B 社(液体)のメーカー 2 社の試薬を用いて、吸光度及び目視による残塩濃度の比較検討を行った。

残塩濃度と吸光度、残塩濃度と目視との関係を図1, 2に示す。図よりこれらはほぼ直線性を示しており、残塩濃度0.5mg/L までの範囲では吸光度、目視ともに試薬

Analysis of Residual Chlorine in Hot Spring - Several Problems in the Method of DPD -
by IIASHIMOTO Junko, HIRAO Makiko and SHIBANO Akira (Water Quality Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Residual chlorine, DPD method, Hot spring

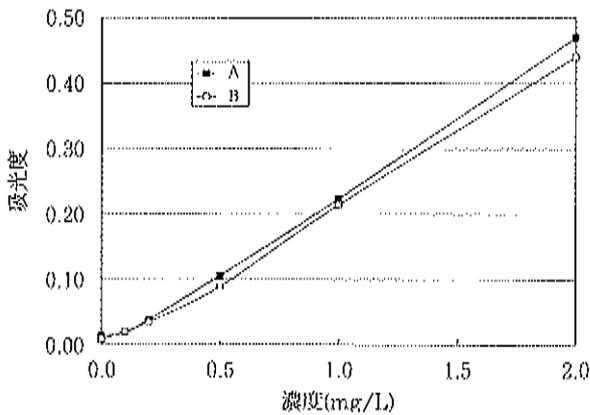


図 1 吸光度のメーカーによる比較

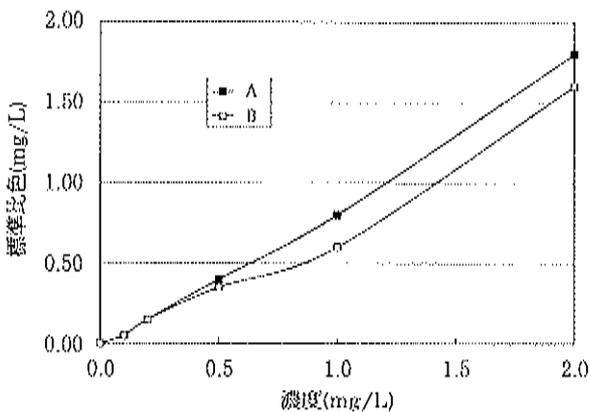


図 2 目視による測定値のメーカーによる比較

表 1 a 施設の温泉水による測定値(分光光度計)の比較

濃度(mg/L)	A 社 ¹⁾	B 社 ²⁾
0.3	0.284	0.211
1.0	0.619	0.477

- 1) A 社 (粉末) の試薬を用いた場合
- 2) B 社 (液体) の試薬を用いた場合

の差はほとんどみられないが、0.5mg/L 以上では B 社の試薬の方が低い値を示した。また、測定が目視の場合はさらに B 社のほうがより低い値を示していた。

(2) 温泉水

次に温泉水中の DPD 試薬のメーカーによる発色の違いを検討するため、温泉水 1 L に対して計算上 0.3mg/L、1.0mg/L になるように塩素剤を注入した試料に、前記 2 種のメーカー別試薬を用いて発色させ、分光光度計で測定した結果を表 1 に示す。表より

ア 設定濃度に対する濃度については、0.3mg/L では設定濃度に対して A 社・B 社とも若干低めの残塩濃度を示す発色であったが、1.0mg/L では A 社・B 社ともに設定濃度に対してかなりの低い濃度を示す発色であ

た (A 社 0.619mg/L, B 社は 0.477mg/L)。

蒸留水では A 社・B 社の発色の程度の差があまりなかったにもかかわらず、温泉水では大きく差が出た。現場の自主検査で、試薬によって発色後の色調が異なったという指摘のとおりの結果になった。

イ 一方、A 社・B 社ともに設定濃度に対してかなりの低い濃度を示す発色であった理由として、温泉成分が残塩濃度に影響を与え、有効な塩素濃度が下がったものと思われる²⁾。レジオネラ対策上塩素濃度を 0.2~0.4 mg/L²⁾に維持することが必要であるが、これについてはかなり困難なことが示唆された。なお、この結果は a 温泉での試験結果であり、他の泉質の温泉も含め、温泉成分の影響やレジオネラ対策に有効な塩素濃度の維持方法について今後検討が必要であると思われる。

3・2 メーカー別の製品による発色後の経時変化について

DPD 試薬による測定では発色後 1 分以内に測定することになっているが、測定操作の都合上その時間には測定できず発色の色調が異なったことも考えられたため経時的な変化も調べた。

(1) 発色後の経時変化 (発色後 0~70 秒間)

ア 分光光度計による測定

分光光度計による発色後の経時変化を図 3 に示す。ここで、▲は 0.3mg/L になるように塩素剤を温泉水に注入し A 社の試薬での発色、△は B 社の試薬での発色、■は 1.0mg/L になるように塩素剤を注入し A 社の試薬で発色、□は B 社の試薬での発色を表す。図より、発色後 0~70 秒間では両者ともほぼ一定値であった。残塩濃度が 0.3mg/L の温泉水では両者とも差はあまりなく、残塩濃度が 1.0mg/L の温泉水では B 社が若干低い値を示しているが、残塩濃度が 0.3mg/L 及び 1.0mg/L ともに発色後 0~70 秒間では A 社・B 社ともほぼ一定値で経時的変化はなく安定であったが、A 社・B 社の発色の差は先のデータと同様に残塩濃度 1.0mg/L では大きく異なっていた。

イ 目視による測定

目視による測定結果を図 4 に示す。(なお、図 3 と同様の測定条件である。) 図より、目視についても分光光度計による場合と同様の傾向であったが、測定値は分光光度計と比べると若干低い値を示した。

(2) 発色後の経時変化 (発色後 0~100 分間)

ア 分光光度計による測定

測定時間は発色後 1 分以内となっているが、現場での操作も考慮して、さらに長い時間の発色後の安定性について調べて見た。結果について、分光光度計による発色後の経時変化を図 5、6 に示す。図より 0~10 分あたりまでは両者の差はほとんどみられないが 20 分以降から差が大

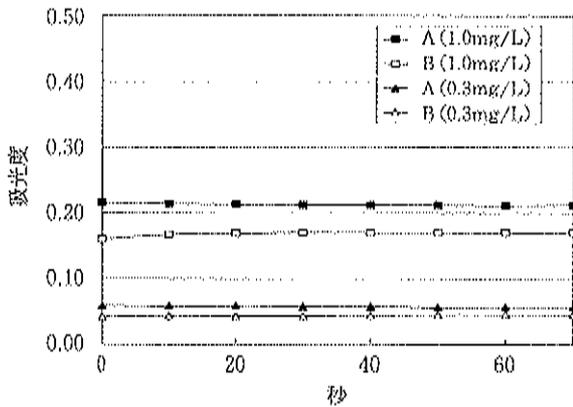


図 3 70秒間の発色の経時変化(分光光度計)

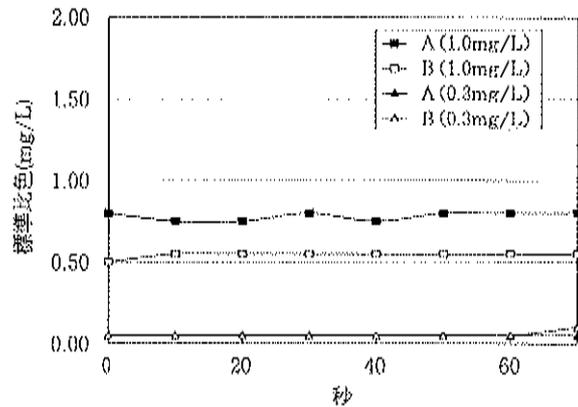


図 4 70秒間の発色の経時変化(目視)

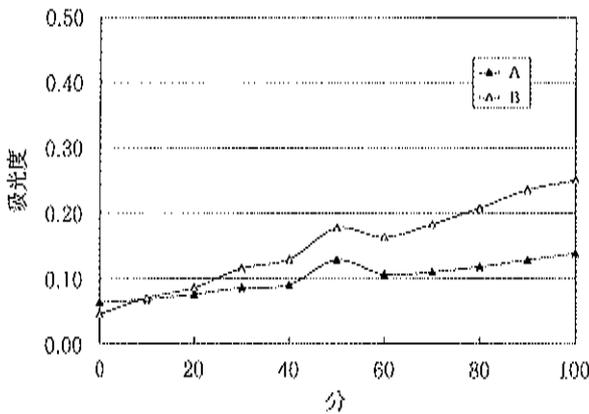


図 5 発色後の吸光度(0.3mg/L)の経時変化

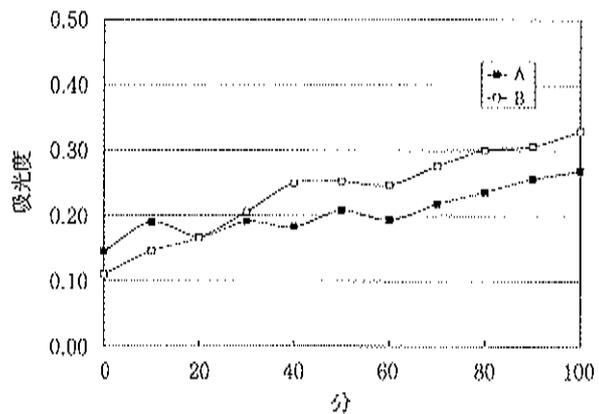


図 6 発色後の吸光度(1.0mg/L)の経時変化

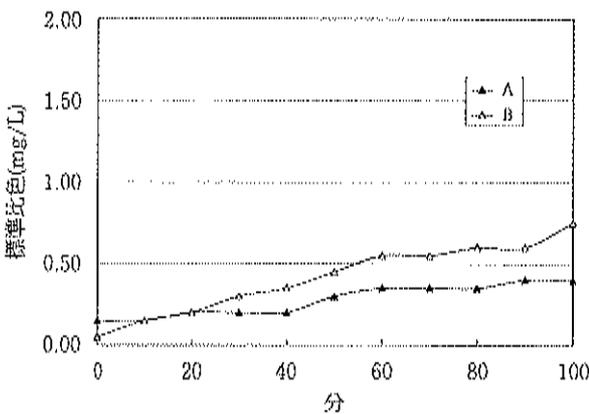


図 7 発色後の目視(0.3mg/L)の経時変化

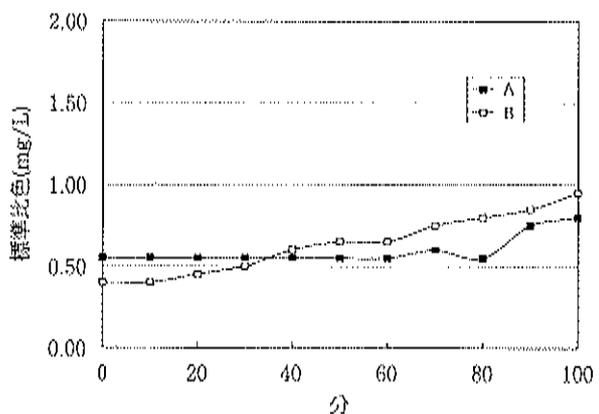


図 8 発色後の目視(1.0mg/L)の経時変化

きくなっていく傾向があった。

イ 目視による濃度の測定

目視による発色後の経時変化を図7, 8に示すが, 分光光度計による場合と同様の傾向を示した。

いずれの方法にしても発色後の安定性が悪く, マニュアルどおり発色1分後に測定すべきであると思われた。

4 ま と め

(1) 残留塩素濃度をB社製の錠剤を用いて分光光度計で測定しようとしたが, 検液に白濁を生じたため試験には使用せずB社製については液体試薬を用いて試験を行った。

(2) 当該温泉をA社の粉末試薬とB社の液体試薬を

用いて測定したところ、ほぼ0.5mg/Lまでは両社の差はみられなかった。今回の調査ではB社製の錠剤は白濁現象がみられるため使用しなかったが、もともとこの調査のきっかけとなった両者の測定値の差はこのことが原因である可能性が大きいと考えられる。

(3) 温泉水への塩素剤注入後に残留塩素が減少する原因として温泉水の有機質が塩素を消費させると推測されるが、温泉水におけるレジオネラ対策に有効な塩素濃度の維持方法について今後検討が必要である。

(4) DPD法による残留塩素濃度の測定を温泉水にも適用する際は発色後の測定時間は測定法にも明記してあ

るように(上水試験方法も同様)試薬注入後1分以内とすべきである。

文 献

- 1) 上水試験方法, 2001年版, p247-257, 社団法人日本水道協会, 東京(2001)
- 2) 静岡県環境衛生科学研究所: 温泉のレジオネラ除菌, モニタリングシステムの開発中間報告書(2003)
- 3) 石川県健康福祉部: 入浴施設におけるレジオネラ症防止対策マニュアル(2003)

(資 料)

平成15年度水道水等水質検査精度管理 調査結果について

—— 石川県年次報告書 ——

石川県保健環境センター水質科学部 橋本 潤子・平尾真規子・柴 野 昭

石川県保健環境センター感染症部 倉本 早苗・戌亥 一郎

キーワード：飲料水、精度管理

1 はじめに

石川県では、日常分析業務の点検、測定上の問題点の改善や解決及び測定技術の向上に役立たせることを目的として厚生労働大臣指定検査機関、水道事業体、保健所等公的機関を対象に、昭和58年度から飲料水の水質分析に関する精度管理調査を行ってきた¹⁾。「石川県水道水質管理計画」には保健環境センターの役割として、県内水質検査機関の検査員の技術研修及び水質検査精度管理の実施を掲げており、当センターは当初からその技術的実務を担ってきた。

以下に、平成15年度に行った精度管理調査の結果を述べる。

2 調査方法

2・1 対象機関

民間の分析機関（厚生労働大臣指定検査機関）5機関、水道事業体4機関、公的機関5機関及び保健環境センターの計15機関を対象とした。

2・2 測定項目及び測定方法

鉄・アルミニウム・銅・亜鉛、鉛、硬度（Ca、Mg等）、大腸菌の7項目を選定した。測定方法を表1に示す。理化学試験の測定は5回の繰り返し試験とした。

2・3 配付試料

表2の内容で保健環境センターが調製を行った試料を配付した。

測定試料は、鉄・アルミニウム・銅・亜鉛については配付試料を100倍に、鉛は1,000倍に、硬度（Ca、Mg等）は20倍に希釈して調製するよう指定した。

3 解析方法

機関ごとに変動係数、設定濃度に対する測定値の割合を算出した。異常値の取り扱いについては、Grubbsの棄却検定法により検証した。また、ISO/IEC43-1（JIS Q0043-1）及び厚生労働省の「平成14年度水道水質検査の精度管理調査結果」を参考にZスコアを計算した。

表1 分析項目及び分析方法

分析項目	分析方法
鉄・アルミニウム・銅・亜鉛	フレイムレス—原子吸光度法(AA)
	ICP—発光分光法 (ICP—AES)
	ICP—MS法 (ICP—MS) * 1
鉛	フレイムレス—原子吸光度法(AA)
	ICP—発光分光法 (ICP—AES)
	ICP—MS法 (ICP—MS)
硬度 (Ca, Mg 等)	滴定法
大腸菌	特定酵素基質培養法

* 1 鉄は除く

Assessment of Precision in the Quality Control of Tap Water among Laboratories in 2003 - An Annual Report in Ishikawa Prefecture -, by HASHIMOTO Junko, HIRAO Makiko, SHIBANO Akira, KURAMOTO Sanae* and INUI Ichirou* (Water Quality Science Department and Infectious Diseases Department* Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Drinking water, Quality control

た（配付試料 D には *Klebsiella pneumoniae*, 同 E に *Pseudomonas aeruginosa*, 同 F に *Escherichia coli* をそれぞれ一定量添加したものであり、試料 F が大腸菌陽性と判定される）。

試料配付時点では、平成16年4月以降の改定基準に併せてそのまま使用できる検査用試薬の製品は試料とともに配付したコリラート「アスカ」100P のみであったが、

その後数社から改定基準に併せた製品が発売されている。4月以降これらを使用して検査を実施する場合は各機関事前に製品の特性を調査しておく必要があると思われる。

文 献

- 1) 柿本 均・加藤充哉・矢田幸子・西川孝蔵・河端芳美：石川衛公研年報，26，307-319(1989)
- 2) 澤田道和・柴野 昭・大西道代：石川保環年報，31，226-237 (1994)
- 3) 南由美子・初瀬 裕・柴野 昭・米沢由美子・芹川俊彦：石川保環研報，36，43-45(1999)
- 4) 初瀬 裕・南由美子・柴野 昭・芹川俊彦：石川保環研報，37，130-132(2000)
- 5) 初瀬 裕・橋田哲郎・柴野 昭・芹川俊彦：石川保環研報，38，105-111(2001)
- 6) 初瀬 裕・橋田哲郎・柴野 昭・倉本早苗：石川保環研報，39，72-76(2002)

表 9 大腸菌の測定結果

機 関	試料 D		試料 E		試料 F	
	大腸菌	大腸菌群*	大腸菌	大腸菌群*	大腸菌	大腸菌群*
1	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
2	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
3	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
4	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
5	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
6	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
7	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
8	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
9	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
10	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
11	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
12	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
13	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
14	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
15	陰性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性
菌種	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Escherichia coli</i>	

*：参考として同一試料で大腸菌群の測定も行った。

表10 データの比較（鉛）

機 関	測定方法	濃度(mg/L)		変動係数(%)		設定濃度に対する割合(%)		Zスコア	
		H14	H15	H14	H15	H14	H15	H14	H15
1	ICP-AES	0.0013	—	24.5	—	134.0	—	4.5	—
	ICP-MS	—	0.0010	—	4.6	—	98.0	—	-0.7
2	AA	0.0013	0.0007	15.0	0.0	128.0	70.0	3.7	-10.1
3	AA	0.0009	0.0011	22.2	4.1	90.0	108.0	-1.2	2.7
4	AA	0.0010	0.0010	4.4	4.6	102.0	98.0	0.4	-0.7
5	AA	0.0010	0.0010	4.6	14.1	98.0	100.0	-0.1	0.0
6	AA	0.0010	0.0010	8.5	0.0	98.0	100.0	-0.1	0.0
7	AA	0.0010	0.0015	11.2	5.7	98.0	148.0	-0.1	16.2
8	ICP-MS	0.0008	0.0010	5.5	4.4	82.0	102.0	-2.2	0.7
9	AA	0.0012	0.0060*	15.6	0.0	120.0	600.0	2.7	168.6
10	AA	0.0010	—	8.2	—	100.0	—	0.1	—
	ICP-MS	—	0.0010	—	0.0	—	100.0	—	0.0
11	ICP-MS	0.0010	0.0010	5.3	0.0	104.0	100.0	0.6	0.0
12	ICP-MS	0.0010	0.0010	5.7	5.7	96.0	96.0	-0.4	-1.3
13	ICP-MS	—	0.0009	—	0.0	—	90.0	—	-3.4
平均	—	0.0010	0.0014	10.9	3.3	104.2	139.2	0.7	13.2
中央値	—	0.0010	0.0010	—	—	—	—	—	—
最小値	—	0.0008	0.0007	4.4	0.0	82.0	70.0	-2.2	-10.1
最大値	—	0.0013	0.0060	24.5	14.1	134.0	600.0	4.5	168.6
設定値	—	0.0010	0.0010	—	—	—	—	—	—

*：Grubbsの検定（危険率5%）で棄却されたデータ

表2 配付試料の内容

名称	分析項目	内 容
試料-A	鉄・アルミニウム 銅・亜鉛	鉄3mg/L(in1%硝酸)
		アルミニウム2mg/L(in1%硝酸)
		銅10mg/L(in1%硝酸)
		亜鉛10mg/L(in1%硝酸)
試料-B	鉛	鉛1mg/L(in1%硝酸)
試料-C	硬度(Ca, Mg等)	1,000mg/L(Caとして) 炭酸カルシウム水溶液
試料-D		滅菌した井戸水に <i>klebsiella pneumoniae</i> ヒト 便由来株を1.0×10個/mlの割合で添加
試料-E	大腸菌	滅菌した井戸水に <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27,853株を1.0×10個/mlの割合で添加
試料-F		滅菌した井戸水に <i>Escherichia coli</i> ヒト便由来株 1.0×10個/mlの割合で添加

表3 鉄の測定結果

機 関	測定方法	濃 度 (mg/L)	変動係数 (%)	設定濃度 に対する割合 (%)	Zスコア
1	ICP-AES	0.0312	0.9	104.0	0.4
2	AA	0.0317	1.0	105.5	0.5
3	AA	0.0320	1.7	106.5	0.5
4	AA	0.0317	1.0	105.5	0.5
5	AA	0.0317	1.8	105.7	0.5
6	AA	0.0245	4.8	81.7	-0.9
7	AA	0.0229	9.6	76.4	-1.2
8	AA	0.0186	8.2	61.9	-2.0
9	AA	0.0201	1.3	67.1	-1.7
10	ICP-AES	0.0293	1.1	97.5	0.0
11	AA	0.0334	4.8	111.2	0.8
12	ICP-AES	0.0275	0.3	91.6	-0.3
13	ICP-AES	0.0273	0.6	90.9	-0.4
平均	—	0.0278	2.9	92.7	-0.3
中央値	—	0.0293	—	—	—
最小値	—	0.0186	0.3	61.9	-2.0
最大値	—	0.0334	9.6	111.2	0.8
設定値	—	0.0300	—	—	—

表4 アルミニウムの測定結果

機 関	測定方法	濃 度 (mg/L)	変動係数 (%)	設定濃度 に対する割合 (%)	Zスコア
1	ICP-MS	0.0208	5.0	103.8	-0.4
6	AA	0.0237	1.9	118.3	0.2
7	AA	0.0280	8.2	140.0	1.1
8	ICP-MS	0.0272	4.2	135.9	0.9
9	AA	0.0367	2.3	183.6	2.9
10	ICP-MS	0.0196	6.2	98.1	-0.6
11	ICP-MS	0.0206	1.0	102.8	-0.4
12	ICP-MS	0.0227	1.8	113.4	0.0
13	ICP-MS	0.0217	0.7	108.4	-0.2
平均	—	0.0245	3.5	122.7	0.4
中央値	—	0.0227	—	—	—
最小値	—	0.0196	0.7	98.1	-0.6
最大値	—	0.0367	8.2	183.6	2.9
設定値	—	0.0200	—	—	—

微生物試験については、添加した既知の菌種が正確に判定されたか否かによった。

調査結果の評価に用いた理化学試験の判定基準は以下のとおりである。微生物試験については判定結果で行った。

[理化学試験の判定基準]

(1) 変動係数

変動係数の適正範囲は、上水試験方法を参考に10%以下とした。

(2) 設定濃度に対する測定値の割合
設定濃度に対する測定値の割合の適正範囲は、上水試験方法を参考に90~

110%とした。

(3) Grubbsの検定

危険率5%で異常値として棄却した。

(4) Zスコア

Zスコアの評価は、厚生労働省の「平成14年度水道水質検査の精度管理調査結果」によると

$ Z \leq 2$	満足
$2 < Z < 3$	疑義あり
$3 \leq Z $	不満足

とされている。本調査においてもこの評価に従い、Zスコアの絶対値が3以上である場合は、改善の必要ありとした。

4 結 果

4.1.1 鉄

変動係数は各機関とも10%以下で、設定濃度(0.03 mg/L)に対する測定値の割合は61.9~111.2%で、90~110%の適正範囲外の機関が5機関あった。Grubbsの検定、Zスコアの絶対値が3を超えた機関はなかった(表3)。

4.1.2 アルミニウム

変動係数が10%を超えた機関はなかったが、設定濃度(0.02mg/L)に対する測定値の割合が110%を超える機関が5機関あった。Grubbsの検定で棄却されたデータ、Zスコアの絶対値が3を超えた機関はなかった(表4)。

4.1.3 銅

変動係数が10%を超えた機関はなかったが、設定濃度(0.1mg/L)に対する測定値の割合が90%未満の機関が1機関あった。この機関はGrubbsの検定で棄却され、Zスコアの絶対値も3を超えた(表5)。

4.1.4 亜鉛

変動係数が10%を超えた機関はなかったが、設定

表5 銅の測定結果

機関	測定方法	濃度 (mg/L)	変動係数 (%)	設定濃度に対する割合 (%)	Zスコア
1	ICP-AES	0.096	0.9	96.0	-0.7
2	AA	0.098	0.8	98.5	0.0
3	AA	0.099	0.9	99.5	0.3
4	AA	0.096	0.4	96.5	-0.6
5	AA	0.102	1.0	102.0	1.1
6	AA	0.091	1.9	91.3	-2.2
7	AA	0.103	9.4	102.7	1.3
8	ICP-MS	0.106	4.3	105.6	2.2
9	AA	0.080*	2.7	79.5	-5.7
10	ICP-MS	0.101	0.6	100.6	0.6
11	ICP-MS	0.100	0.3	100.0	0.5
12	ICP-MS	0.060	0.6	96.1	-0.7
13	ICP-MS	0.098	2.0	97.9	-0.2
平均	—	0.097	2.0	97.4	-0.3
中央値	—	0.098	—	—	—
最小値	—	0.080	0.3	79.5	-5.7
最大値	—	0.106	9.4	105.6	2.2
設定値	—	0.100	—	—	—

* : Grubbsの検定(危険率5%)で棄却されたデータ

表6 亜鉛の測定結果

機関	測定方法	濃度 (mg/L)	変動係数 (%)	設定濃度に対する割合 (%)	Zスコア
1	ICP-AES	0.095	1.5	94.8	-0.7
2	AA	0.116	0.1	116.1	2.9
3	AA	0.105	5.6	105.3	1.1
4	AA	0.107	0.5	106.6	1.3
5	AA	0.102	2.7	101.7	0.5
6	AA	0.095	3.4	94.9	-0.7
7	AA	0.089	6.6	89.4	-1.6
8	ICP-MS	0.104	4.1	104.4	0.9
9	AA	0.097	2.2	96.5	-0.4
10	ICP-MS	0.099	0.9	98.9	0.0
11	ICP-MS	0.100	0.7	100.2	0.2
12	ICP-MS	0.096	1.5	96.3	-0.4
13	ICP-MS	0.097	1.1	96.9	-0.3
平均	—	0.100	2.4	100.2	0.2
中央値	—	0.099	—	—	—
最小値	—	0.089	0.1	89.4	-1.6
最大値	—	0.116	6.6	116.1	2.9
設定値	—	0.100	—	—	—

濃度(0.1mg/L)に対する測定値の割合が90%未満と110%以上の機関が2機関あった。Grubbsの検定で棄却されたデータ、Zスコアの絶対値が3を超えた機関はなかった(表6)。

4・2 鉛

変動係数が10%を超えた機関が1機関あった。設定濃度(0.001mg/L)に対する測定値の割合が90%未満と

110%を超えた機関が3機関あった。Grubbsの検定で棄却されたデータが1機関あり、Zスコアの絶対値が3を超えた機関が4機関あった。Zスコアの絶対値が3を超えた4機関のうち3機関は、設定濃度に対する測定値の割合もはずれており、1機関はGrubbsの検定でもデータが棄却された(表7)。

4・3 硬度

変動係数は各機関とも10%以内で、設定濃度(50mg/L)に対する測定値の割合も90~110%の適正範囲内であった。Grubbsの検定で棄却されたデータが1機関あり、Zスコアの絶対値が3を超えた機関が2機関あった(表8)。

4・4 大腸菌

検査結果は表9のとおりである。すべての機関で試料D及びEは大腸菌陰性、試料Fは大腸菌陽性と判定された。

5 考察及びまとめ

平成15年度の精度管理項目の選定について、鉄・アルミニウム・銅・亜鉛は平成16年4月1日からの水質基準の見直しによる検査方法の変更や基準項目の追加及び一斉分析が可能であるため、測定精度の確認を含めて行った。なお、アルミニウムは県4保健福祉センターでは分析不可能のため実施しなかった。鉛は平成15年4月1日から基準値が0.01mg/Lに基準強化され、報告下限値である0.001mg/Lの確保を図るため昨年度に引き続き行った。硬度(Ca, Mg等)は滴定の精度管理を行うためにEDTA法を指定した。大腸菌は同じく水質基準の見直しにより大腸菌群から大腸菌に変更になり、測定方法も特定酵素基質倍地法となったため、検査方法の検討に加え測定精度を図るために行った。以下に結果をまとめた。

(1) 鉄の分析では、変動係数は良好な結果であったが、設定濃度に対する割合で適正範囲外の機関があった。適正範囲をはずれた機関については、調査票より器具の洗浄、希釈倍率、ブランク値、検量線等について検討してみたが、特に問題点は見当たらなかった。なお、適正範囲内であったが、1機関については試料の濃度が検量線の濃度範囲を下回っており、試料の濃度、あるいは標準物質の濃度を適正に調整することが必要と思われる。

(2) アルミニウムの分析では、設定濃度0.02mg/Lに対して最大値0.0367mg/L、平均値0.0245mg/Lと測定値が高くなった。変動係数は良好な結果であったが、設定濃度に対する割合で適正範囲外の機関が9機関中で5

表7 鉛の測定結果

機関	測定方法	濃度 (mg/L)	変動係数 (%)	設定濃度 に対する割合 (%)	Zスコア
1	ICP-MS	0.0010	4.6	98.0	-0.7
2	AA	0.0007	0.0	70.0	-10.1
3	AA	0.0011	4.1	108.0	2.7
4	AA	0.0010	4.6	98.0	-0.7
5	AA	0.0010	14.1	100.0	0.0
6	AA	0.0010	0.0	100.0	0.0
7	AA	0.0015	5.7	148.0	16.2
8	ICP-MS	0.0010	4.4	102.0	0.7
9	AA	0.0060*	0.0	600.0	168.6
10	ICP-MS	0.0010	0.0	100.0	0.0
11	ICP-MS	0.0010	0.0	100.0	0.0
12	ICP-MS	0.0010	5.7	96.0	-1.3
13	ICP-MS	0.0009	0.0	90.0	-3.4
平均	--	0.0014	3.3	139.2	13.2
中央値	--	0.0010	--	--	--
最小値	--	0.0007	0.0	70.0	-10.1
最大値	--	0.0060	14.1	600.0	168.6
設定値	--	0.0010	--	--	--

* : Grubbsの検定(危険率5%)で棄却されたデータ

表8 硬度の測定結果

機関	測定方法	濃度 (mg/L)	変動係数 (%)	設定濃度 に対する割合 (%)	Zスコア
1	--	50.00	0.0	100.0	0.1
2	--	53.35*	1.4	106.7	15.7
3	--	49.40	0.6	98.8	-2.7
4	--	49.97	0.2	99.9	0.0
5	--	50.00	0.3	100.0	0.1
6	--	49.92	0.2	99.8	-0.2
7	--	49.36	0.1	98.7	-2.8
8	--	49.58	0.2	99.2	-1.8
9	--	49.88	0.3	99.8	-0.4
10	--	50.20	0.0	100.4	1.1
11	--	50.58	0.5	101.2	2.8
12	--	50.00	0.0	100.0	0.1
13	--	50.00	0.0	100.0	0.1
14	--	49.84	0.2	99.7	-0.6
15	--	49.08	0.2	98.2	-4.1
平均	--	50.08	0.3	100.2	0.5
中央値	--	49.97	--	--	--
最小値	--	40.08	0.0	98.2	-4.1
最大値	--	53.35	1.4	106.7	15.7
設定値	--	50.00	--	--	--

* : Grubbsの検定(危険率5%)で棄却されたデータ

機関あった。そのうちの1機関については、試料の濃度が検量線の濃度範囲からはずれていたため、試料の濃度、あるいは標準物質の濃度を適正に調整することが必要であると思われる。その他の4機関では調査票からは特に問題点は見当たらなかった。

全般的に測定値が高くなった原因の一因として、アル

ミニウムのガラス器具からの溶出による影響が考えられるため、前処理操作での器具の選択が重要である。また、他の溶存物質からの妨害を受けることもあるため、マトリックス修飾剤を用いての干渉効果の除去や、標準添加法による補正が必要と思われる。

(3) 銅の分析では、変動係数は良好な結果であったが、設定濃度に対する割合及びZスコアについて適正範囲外の機関が1機関あった。この機関はGrubbsの検定でも棄却された。この原因は試料の濃度が検量線の濃度範囲からはずれていたためと思われ、試料の濃度、あるいは標準物質の濃度を適正に調整することが必要であると思われる。

(4) 亜鉛の分析では、変動係数は良好な結果であったが、設定濃度に対する割合で適正範囲外の機関があった。なお、調査票では特に問題点は見当たらなかった。適正範囲内であったが、1機関で試料の濃度が検量線の濃度範囲からはずれており試料の濃度、あるいは標準物質の濃度を調整することが必要と思われる。また、検量線は測定法の定量範囲内で段階的に濃度系列を作成すべきと思われる。

(5) 鉛の分析では、変動係数は1機関が14.1%であった。設定濃度に対する割合及びZスコアについても適正範囲外の機関があった。うち1機関はGrubbsの検定でも棄却された。設定濃度に対する割合で適正範囲外の機関が3機関あり、うち1機関は設定濃度からの差が0.005mg/Lであった。今後は検出下限値や定量下限値の検討を行う必要があると思われる。

なお、鉛については平成13年度から精度管理測定項目となっているので、本報告書では平成14年度との比較検討も行った。平成14年度の結果との比較では、変動係数が10%以上の機関が5機関から1機関と減少した。設定濃度に対する測定値の割合でははずれた機関は4機関から3機関に、Grubbsの検定で棄却されたデータが平成14年度はなかったが1機関に、Zスコアの絶対値が3を超えた機関は2機関から4機関となった(表10)。参加機関の増加や測定方法の変更があるため単純には比較できないが、若干の改善が見られたものと思われる。

(6) 硬度の分析では、変動係数、設定濃度に対する割合及びZスコアでは良好な結果であった。1機関がGrubbsの検定で棄却されたが、変動係数が10%であることから、設定濃度50mg/Lに対して53.35mg/Lの測定値は判定基準の適正範囲内に含まれる。

(7) 大腸菌の分析では、全機関が正確に判定されてい

〔資 料〕

硫酸ピッチの迅速確認試験法の検討

石川県保健環境センター水質科学部 平尾真規子・橋本潤子

キーワード：硫酸ピッチ、硫酸イオン、n-パラフィン

1 はじめに

近年、硫酸ピッチの不法投棄問題が全国で急増している。本県では、平成14年度から15年度にかけて志賀町と門前町の山林に硫酸ピッチが入ったドラム缶が埋められているのが相次いで見つかリ、不法投棄した業者が逮捕された。不法投棄されている硫酸ピッチは主に不正軽油の製造業者が正規軽油と識別を困難にするため重油、灯油を硫酸処理することによって識別剤のクマリンの除去をする過程で発生したものである¹⁾。硫酸ピッチからは生命が危険となる400~500ppm²⁾よりも高い、高濃度の二酸化硫黄が発生するという報告³⁾もあり、不法投棄されたドラム缶からの発生ガスにより近隣の住民の人体に有害な影響をもたらすことが危惧される。

本県では平成16年3月23日に「ふるさと石川の環境を守り育てる条例」が公布され硫酸ピッチの製造や保管は

原則禁止となった。そこで当所では、ドラム缶中の内容物が硫酸ピッチかどうか判定するために、硫酸イオンの簡易分析法を検討したので報告する。

2 材料と方法

2・1 試料の採取と外観・性状

試料の採取は平成16年3月2日(火)に産業廃棄物処理業者A社で行った。試料は同社が製産したドラム缶に充填して間もないもので事業者が日常用いている金属製のひしゃくにより2Lのポリ容器に黒色のタール状液体物と上ずみの微褐色液状物を採取した。試料は共に強い刺激臭を発したので、実験に際して防毒マスクを使用した。

2・2 試薬及び標準品

n-ヘキサン、無水硫酸ナトリウム：和光純薬工業(株)製
 残留農薬試験用試薬
 硫酸イオンの標準液：和光純薬工業(株)製標準液

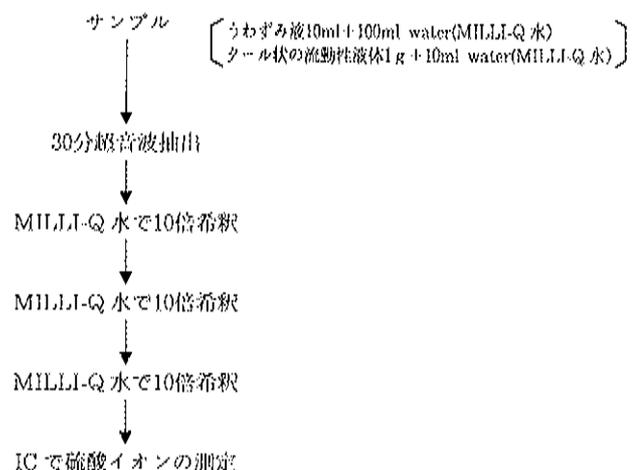
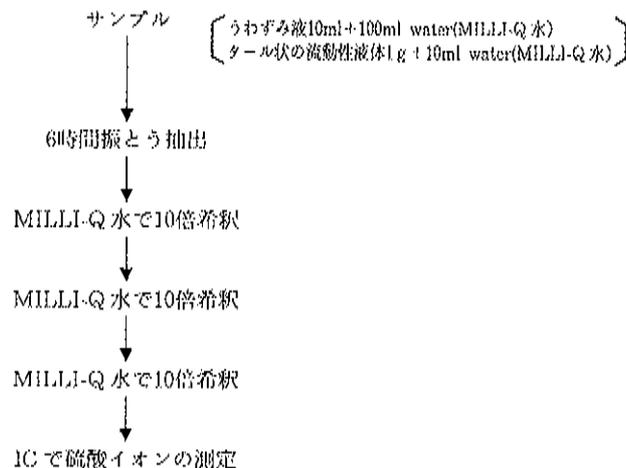


図1 振とう抽出—イオンクロマトグラフ法のフローチャート 図2 超音波抽出—イオンクロマトグラフ法のフローチャート

Application of a Rapid Method to the Determination of Sulfuric Acid Pitch, by HIRAO Makiko and HASIIMOTO Junko (Water Quality Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Sulfuric acid pitch, Sulfuric acid ion, n-Paraffin



図3 硫酸バリウム重量法のフローチャート

n-パラフィン類標準品 (C9~32までの24成分) : GLサイエンス(株)製標準品

2・3 試験方法

(1) 硫酸イオンの試験方法

硫酸イオンの試験方法は全環研支部廃棄物専門部会資料(平成15年12月4日)を参考として次のア~ウの3方法を検討した。

ア 振とう抽出-イオンクロマトグラフ法

黒色タール状液体物は約10gを秤量し、上ずみ淡褐色液状物はホールピペットで10ml分取し、「産業廃棄物に含まれる金属等の検定方法(環境庁告示第13号)」に基づく溶出試験に準じ重量で10倍量の蒸留水を加え、6時間連続振とう後、蒸留水で1,000倍希釈したものを試料溶液とした。試料溶液はGLサイエンス(株)のイオンクロマト用クロマトディスク25A1(0.45μm)でろ過しイオンクロマトグラフにより定量した(図1)。

イ 超音波抽出-イオンクロマトグラフ法

試料はアと同様に10倍量の蒸留水を加え、備藤ら¹⁾の方法に準じて30分間超音波抽出-イオンクロマトグラフ法後アと同様に希釈、ろ過を行いイオンクロマトグラフにより定量した(図2)。

ウ 硫酸バリウム重量法

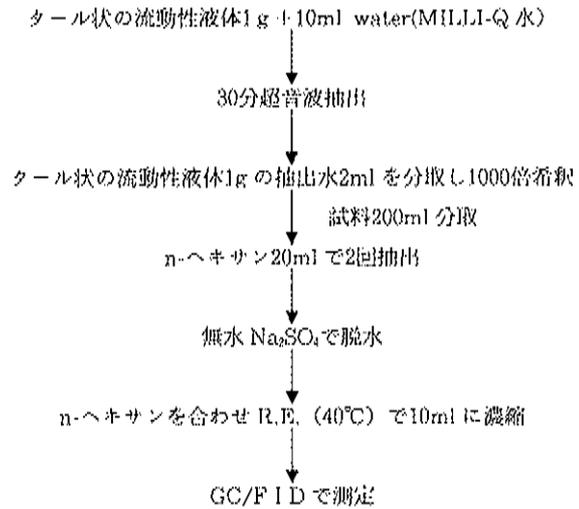


図4 石油成分の確認試験のフローチャート

黒色タール状液体物1gを秤量し、日本工業規格K0102の41.2に定める方法に準じて定量した(図3)。

(2) 石油成分の確認試験

過去のナホトカ号流出重油の汚染調査²⁾で指標として使用したn-パラフィン類の特有の検出パターンとの比較検討をした。前調査では、油塊より直接n-ヘキサンで抽出したがカラムクロマトによるクリーンアップに時間を要したので今回は試料中に残存する石油類を迅速に確認するため(1)アの1,000倍希釈の試料200mlを20mlのn-ヘキサンで2回振とう抽出後、無水硫酸ナトリウムで脱水しロータリーエバポレーター(R.E.)で水浴40℃のもと濃縮し、10mlに定容した(図4)。定容した抽出液はGC/FIDに導入し、検出されたピークのパターンをn-パラフィン類の標準液(24物質混合成分)、A重油、B重油、軽油及び灯油と比較し石油類の残存確認試験を実施した(図5)。

(3) 測定機器と測定条件

イオンクロマトグラフの測定条件は表1に、硫酸イオンの検量線は図6に、GC/FIDの測定条件は表2のとおりである。

3 結果及び考察

3・1 硫酸イオン

(1) 上ずみ淡褐色液状物

2・3(1)ア及びイの2方法で、5回繰り返し試験を行いそれぞれの試験結果の平均値、標準偏差及び変動係数を表2に示した。ア法及びイ法での平均値の測定結果はそれぞれ0.17、0.13%であった。

上ずみの微褐色液状物については振とう抽出-イオンクロマトグラフ法が超音波抽出-イオンクロマトグラフ

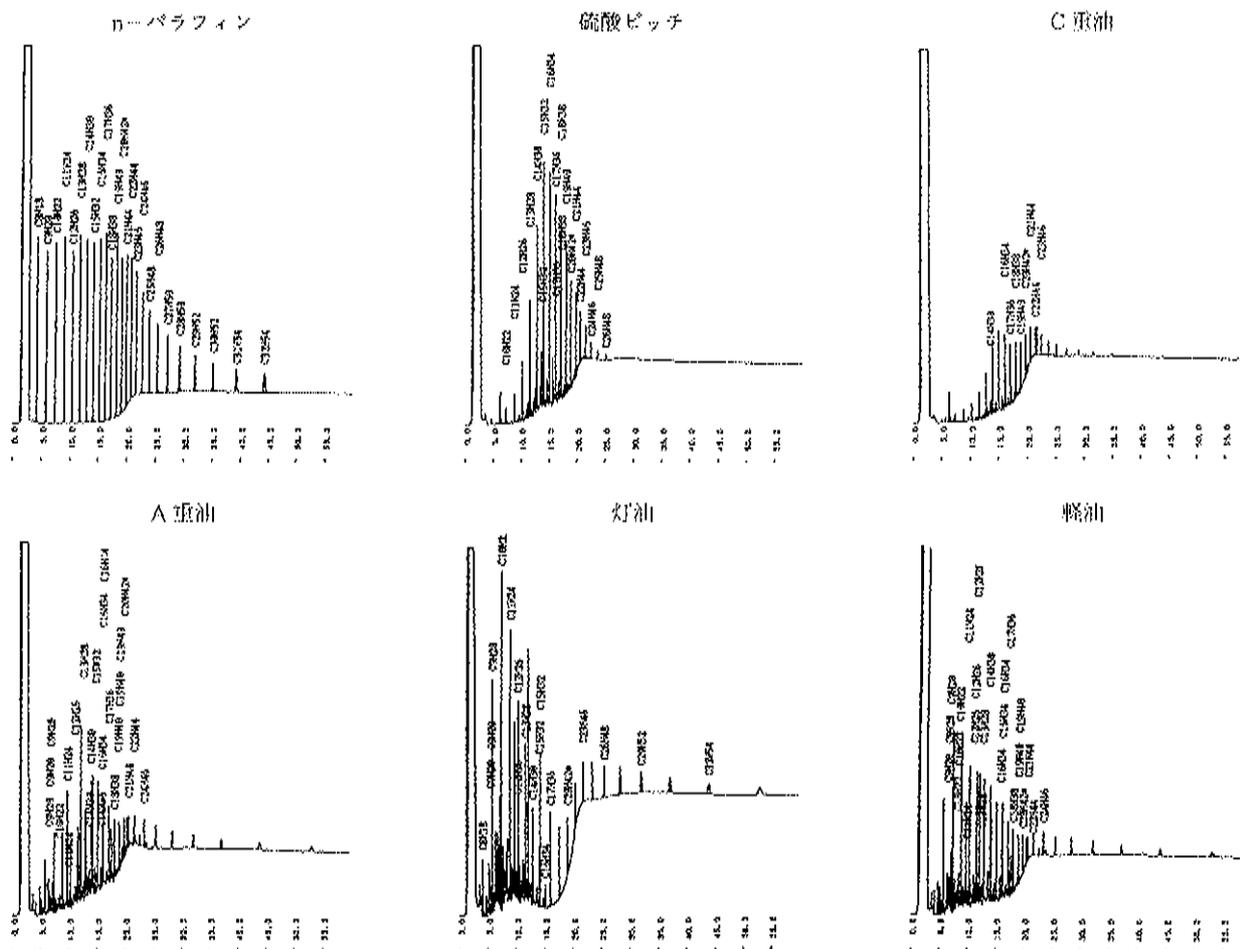


図5 クロマトグラム

表1 イオンクロマトグラフの分析条件

機 器	日本ダイオネックス DX-AQ
カ ラ ム	Ion Pak AS12A(4×250mm)
サ プ レ ッ サ ー	AAFS™
溶 離 液	2.7mM 炭酸ナトリウム 0.3mM 炭酸水素ナトリウム
流 量	1.5ml/min
注 入 量	25 μl
検 出 器	電気伝導度

表2 GC測定条件

機 器	島津 GC-17A
検 出 器	FID
カ ラ ム	DB-1(0.53mm×30m, 膜厚0.1 μm)
カ ラ ム 温 度	50(2)-280(40)
注 入 口 温 度	290℃
検 出 器 温 度	290℃
キャリーガス	ヘリウム
メイクアップガス	ヘリウム
カラムヘッド圧	40kPa
流 量	8.8ml/min
注 入 量	2 μl
注 入 方 法	スプリットレス

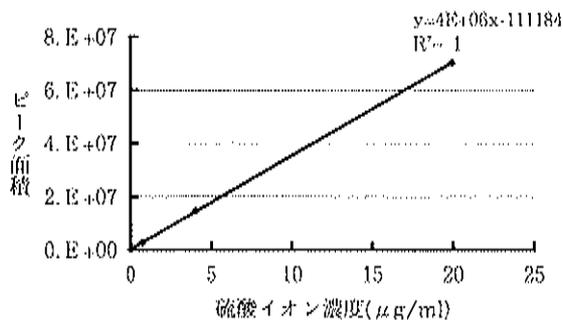


図6 硫酸イオンの検量線

法に比べて高い値がえられた。黒色のタール状液体物についてもわずみの微褐色液状物と同様に振とう抽出ーイオンクロマトグラフ法が最も高い値を示し、超音波抽出ーイオンクロマトグラフ法、硫酸バリウム重量法の順となった。分析時間の点では短時間の順で超音波抽出ーイオンクロマトグラフ法、振とう抽出ーイオンクロマトグラフ法、硫酸バリウム重量法という結果になった。

表 3 硫酸イオン濃度の分析法別の測定結果

	うわずみ液		タール状の流動性液体		
	振とう抽出 (n=5)	超音波抽出 (n=5)	振とう抽出 (n=5)	超音波抽出 (n=5)	硫酸バリウム重量法 (n=5)
平均値(含有%)	0.17	0.13	33	27	23
標準偏差(含有%)	0.026	0.020	2.9	1.3	2.9
変動係数(%)	16	15	8.8	4.9	13

ふるさと石川の環境を守り育てる条例で「硫酸ピッチ」とは、工業標準化法（昭和二十四年法律第百八十五号）第十七条第一項に規定する日本工業規格に定める重油又は灯油（これらとの混合物を含む。）及び硫酸の混合物のうち硫酸イオンの濃度が1%以上のものであって、液状又は泥状のものと定義されている。このことから上ずみ淡褐色液状物は条例に定める硫酸ピッチではないという結果であった。

(2) 黒色タール状液状物

前記ア、イ及びウの3方法で5回繰り返し試験を行いそれぞれの測定結果の平均値、標準偏差及び変動係数を表3に示した。3方法での測定結果の平均値はそれぞれ33、27、23%であった。

いずれの試験法でも黒色タール状液状物は硫酸イオンの濃度が1%以上であり、残存石油成分の有無を確認し硫酸ピッチであるか判定することにした。

(3) 試験方法の比較検討

上ずみ淡褐色液状物の場合、硫酸イオンの濃度が低かったためか振とう抽出ーイオンクロマトグラフ法と超音波抽出ーイオンクロマトグラフ法の両者間での平均値に関するt分布検定では5%の危険率で有意差はみられなかった。

一方、黒色タール状液状物の場合、硫酸イオンの濃度が高かったためか、または十分に試料を均一に混合し難かったためかそれぞれの測定法間での平均値に関するt分布検定では5%の危険率で有意差がみられた。変動係数は8.8、4.9、13%でイ法の変動係数が5%以下と低かった。

これらのことからイ法が他の分析方法より迅速性及び精度上も少し優れていると考えられた。

3・2 残存石油成分

n-パラフィン類の検出パターンによる石油成分の確認を行った。

2・3(2)で調製した試料液とその比較としてn-パラフィン類の標準液（C9～32までの24成分）、A重油、C重油、軽油、灯油をGC/FIDで分析したクロマトグラムを図5に示した。この図より試料液はA重油、C重油のク

ロマトグラムと同様なクロマトパターンを示しており、黒色タール状液状物は重油の混合物であると確認された。

3・3 硫酸ピッチの迅速な確認法

3・1、3・2の結果より、黒色のタール状液体物について硫酸ピッチであることが確認された。

硫酸イオン濃度の測定において3分析法とも適用できるが、迅速分析という点で超音波抽出ーイオンクロマトグラフ法が優れていると考えられた。また、タール状の流動性液体が重油又は灯油の混合物であるかの確認法としては、重量比10%の振とう抽出法または超音波抽出法による抽出液をn-ヘキサンにより抽出、濃縮しGC/FIDに導入しクロマトパターンの確認する方法が硫酸ピッチに含まれる重油及び灯油等の迅速な確認法として有効であった。

4 ま と め

硫酸ピッチの迅速確認試験法として、硫酸イオン濃度を超音波抽出ーイオンクロマトグラフ法で測定し、硫酸ピッチが重油又は灯油の混合物であるかの確認する方法としては、重量比10%の振とう抽出法及び超音波抽出法により得られた試液をヘキサン抽出後GC/FIDで測定する方法が有効であることが分かった。

今回の硫酸ピッチの迅速確認試験法では、試料の外観・性状から硫酸ピッチと確認できた黒色液状物と硫酸ピッチと確認できなかった上ずみ淡褐色液状物からも人体に非常に有害と思われる強い刺激臭がした。そのため今後それらの刺激臭の原因と思われる二酸化硫黄に着目した分析法の検討が必要であると考えらる。

文 献

- 1) 備藤敏次, 星 純也, 天野牙子, 鎌滝裕樹, 笹木裕子, 占部武生, 佐藤藤治, 大場勝治: 東京都環境科学研究所年報, 21, 137-141(2003)
- 2) 多田 治, 中明憲二: 環境有害物の測定と評価 上巻・無機編, 労働科学研究所, 273(1981)
- 3) 平尾貞規子: 石川保環研報, 35, 54-68(1998)

〔資 料〕

志賀町米町川における魚類斃死事故時の魚体と河川水試料中からの2,4,6-トリクロロフェノールの検出について

柿本 均・岡 秀雄・米澤由美子
宮田 芳昭・四月朔日富司子
坂本 藤夫・牛島 茂

石川県保健環境センター化学物質・大気科学部

キーワード：魚類斃死事故、2,4,6-トリクロロフェノール、米町川

1 はじめに

2004年2月18日夕刻、石川県志賀町を流下する米町(こんまち)川の中流・梨谷小山から河口付近の高浜まで約8kmにわたって、大量の斃死魚が確認された。斃死魚種は、コイ、フナ、ボラ、ウナギなどのほか、前日に放流されたばかりのサクラマスも含まれていた。米町川は、富来町谷神地内に発して志賀町の中央部を流下した後、高浜で日本海に注ぐ全長約17kmの二級河川である。

この事件は2月19日の地元紙夕刊に掲載されて広く県民の知るところとなった。死因については、コイヘルペス等の病気や酸欠などが考えにくいことから、県では事件発生当初から毒物が混入された可能性も含めた原因調査を行うことになった。このような経緯のもと、2月19日には能登中部保健福祉センターにより、斃死した魚とともに河川水試料が保健環境センター(当センター)に持ち込まれ、原因究明のための分析作業を開始した。分析項目としては、健康項目の中から、

- ① シアン、ヒ素など急性毒性を有する無機物質
- ② 鉛、カドミウムなどの重金属類
- ③ 有機リンなど急性毒性を有する農薬類
- ④ シマジン、チウラムなど慢性毒性に係る農薬
- ⑤ VOCs(揮発性有機化合物)

を優先させて直ちに実施したが、いずれも不検出(検出

下限値未満)との結果が得られ、2月20日及び21日の地元紙には、『毒物検出されず』あるいは『原因特定できず』という見出しで掲載された。

しかしこの間、水試料のヘキササン抽出液のGC/ECDのクロマトグラム上に、VOCs標準物質及び農薬等のいずれとも異なる未知の顕著なピークが現れていたことから、何らかの有機塩素系化合物が含まれているものと推定された。そこでGC/ECDの測定に用いた抽出試料をGC/MSのSCANモード測定に供し、ライブラリ検索を行ったところ、この物質がトリクロロフェノールであることが強く示唆された。

ここでは、米町川の魚類大量死事件の原因物質として2,4,6-トリクロロフェノールを特定し、その水中濃度を経時的に追跡した結果得られた知見をまとめるとともに、このような事件発生時における当センターの検査体制について総括したので報告する。

2 試料と試験方法

2・1 水及び魚試料

当センターに最初に持ち込まれた水試料は、2月18日夕刻に中流部梨谷小山・番田橋で採水された試料に加え、19日午後には下流部高浜(末吉)・淵端橋及び上流部米町・滝川橋下の2地点で採水された試料の計3試料であった。以後この3地点の水試料は取東宣言が出されるまで連日持ち込まれた。採取地点の位置関係を図1に示す。一方

Detection of 2,4,6-trichlorophenol in Fish and River Water Samples at an Accident of Sudden death of Fishes in Kommachi River, Shikamachi-town. by KAKIMOTO Hitoshi, OKA Hideo, YONEZAWA Yumiko, MIYATA Yoshiaki, WATANUGI Fujiko, SAKAMOTO Fujio and USHIJIMA Shigeru (Chemicals and Air Quality Science Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Sudden death of fishes, 2,4,6-Trichlorophenol, Kommachi River

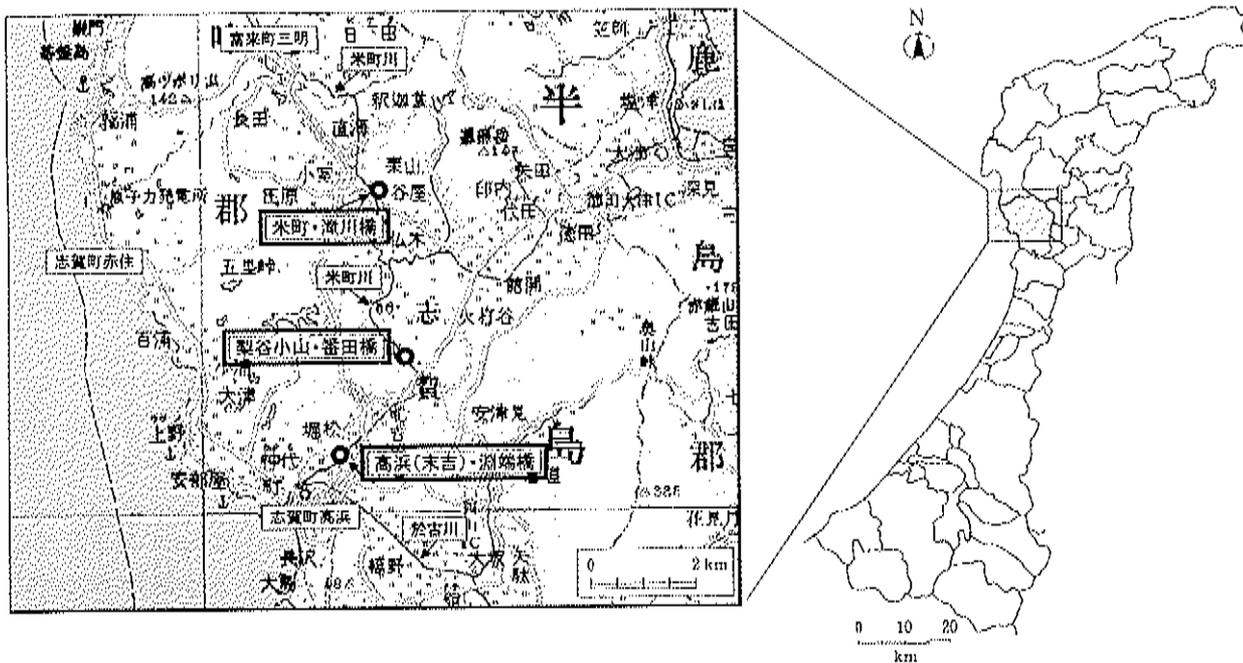


図 1 米町川の流路と水試料採取地点

表 1 魚試料の重量と体長

魚 種	重量 (g)	体長 (cm)	
サクラマス	1	53.4	15.2
	2	36.5	12.5
	3	26.2	11.5
	4	31.0	12.5
	5	27.3	12.4
	6	29.9	11.6
	7	31.1	12.3
フ ナ	1	319.5	20.1
	2	154.9	17.6
	3	161.7	16.5

魚試料としては、2月19日に水試料とともに、斃死したフナとサクラマスが持ち込まれ、水試料の分析と並行して、可食部（筋肉）、内臓、えら、目玉等に分け、部位別に分析を行った。

2・2 試料の前処理

(1) 水試料

トリクロロフェノールの存在が最初に疑われたのは、既に述べたように、GC/ECD 測定用に調製した水試料のヘキサン抽出液であったが、その後は250mLの水試料を50mLのジクロロメタンで3回液々抽出、これらの抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後ヘキサンに転溶し、0.5mLまで濃縮したものを直ちにGC/MSに注入した。試料に比較的濁りが少なかったことから、抽出操作の前に特にろ過は行わなかった。また、必要に応じて脱水の後、カラムクリーンアップにより妨害物質の

除去が必要となる可能性も考えられたが、その操作が必要となる試料は存在しなかった。結果的にはこれらのことが迅速な物質の同定・定量に寄与したことになる。

(2) 魚試料

分析に供したフナ（3匹）とサクラマス（7匹）の重量と体長を表1に示した。これらの魚をさばいて可食部（筋肉）、内臓、えら、目玉、皮に分けた後、部位別に合わせ、それぞれの5gずつを分析用試料とした。前処理は化学物質分析法開発調査報告書（昭和53年：環境庁）¹⁾に記載された方法に準拠し、図2のとおり実施した。試料の前処理（抽出）に用いた有機溶媒はすべて残留農薬試験用の規格品を用いた。添加回収試験については、緊急時対応であったため、サクラマスの身（筋肉）の1件だけとし、試料の前処理と平行して実施した。その結果、回収率は61%であった。

2・3 GC/MS 測定

GC/MS 測定における GC カラムオープンの昇温条件と MS の測定条件等を表2に示した。測定は、最初にトリクロロフェノールを同定した際の SCAN モードを継続し、測定時に定量用の質量数のイオン強度とともに、トリクロロフェノールのマスパターンが現れることを確認しながら実施した。

2・4 トリクロロフェノール標準品

トリクロロフェノールには、①2,3,4-, ②2,3,5-, ③2,3,6-, ④2,4,5-, ⑤2,4,6-及び⑥3,4,5-の6種類の異性体がある。中でも2,4,5-トリクロロフェノールと2,4,6-トリクロロフェノールは、殺菌剤や木材防腐剤として

表 2 GC/MS 測定条件

機種名	Hewlett Packard HP-6890+日本電子 Automass SUN200	
GC	キャピラリーカラム	DB-5MS 30m×0.25mm, film thickness 0.1μm
	注入口	250°C, SPL(Purge ON 1.5min)
	ガス流量	1.5mL/min(Constant Flow)
	オープン昇温条件 (水)	50°C(1.5min)-20°C/min-180°C(0min)-8°C/min-280°C(19.5min)
	オープン昇温条件 (魚)	50°C(1.5min)-20°C/min-180°C(0min)-8°C/min-320°C(13.5min)
MS	測定モード	SCAN
	質量数スキャン範囲	m/z 50-600
	イオン源温度	250°C
	インターフェース温度	250°C
	検出器電圧	550V
	イオン化電圧	70eV
	フィラメント電流	500μA

使用されるなど毒性が高いばかりでなく²⁾, 代表的なダイオキシン前駆物質としても知られている³⁾。したがって, GC/MS の SCAN モードによってトリクロロフェノールと同定されても, 厳密にはどの異性体かを特定する必要があり, すべての異性体の標準物質が必要となる。ここでは, SUPELCO 社の Phenols Kit 27

(フェノール関連43物質の純品セット) からトリクロロフェノール 6 異性体を選択して異性体ごとの標準液を調製した。

3 結果と考察

3・1 トリクロロフェノールの同定と異性体の特定

2月19日に採水された水試料のトータルイオンクロマトグラフを図3(a)に示した。保持時間7min付近に現れた顕著なピークのマスキンを図3(b)に示す。m/z196, 198が卓越し, m/z97, m/z132などがフラグメントイオンとして観測されている。このパターンをライブラリ検索にかけたところ, トリクロロフェノールと合致した。そこで, 前記6異性体の標準液を別々に同様の条件でGC/MSに注入した結果, 表3に示すように, 試料のピークと保持時間が完全に一致するのは2,4,6-トリクロロフェノールであった。

2,4,6-トリクロロフェノールは6種類の異性体の中でも魚毒性が最も強く, カレイ類 (Flounder) に対する96時間曝露のLC₅₀値は1.4mg/L (2,4,5-トリクロロフェノールでは4.0mg/L) であり⁴⁾, 今

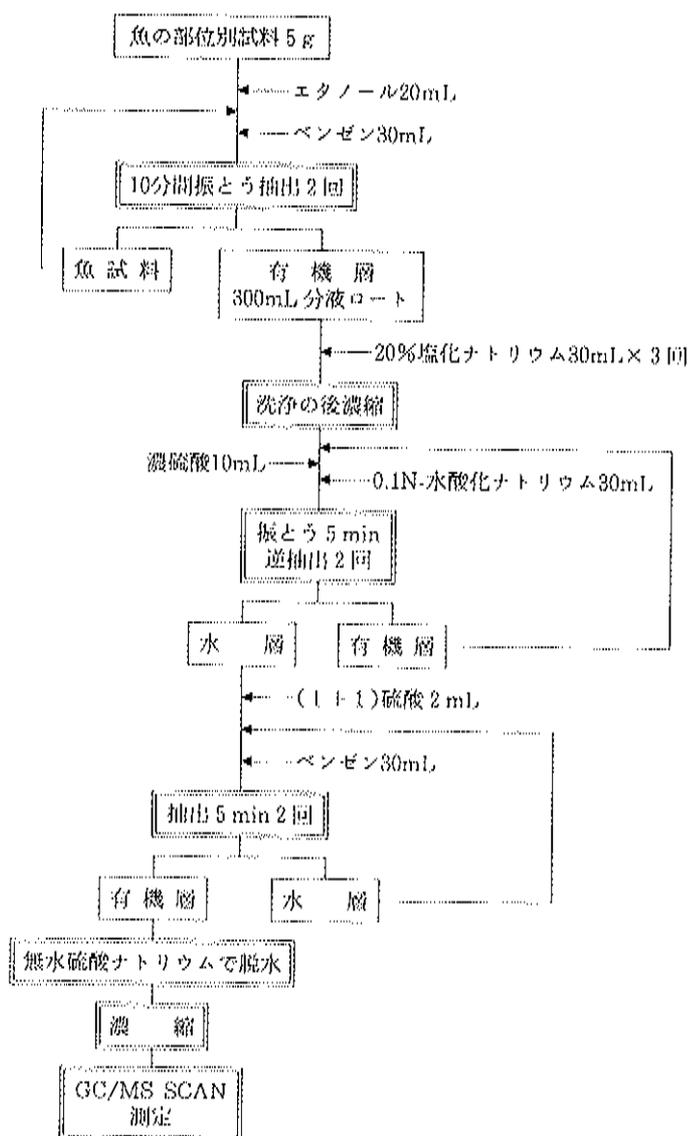


図2 魚試料の分析フロー

表3 トリクロロフェノール標準品の保持時間

異性体	保持時間 (分:秒)
2,3,4-トリクロロフェノール	7:10
2,3,5-トリクロロフェノール	6:57
2,3,6-トリクロロフェノール	7:18
2,4,5-トリクロロフェノール	7:07
2,4,6-トリクロロフェノール	7:05
3,4,5-トリクロロフェノール	8:52
水試料 (番田橋 2月19日)	7:05

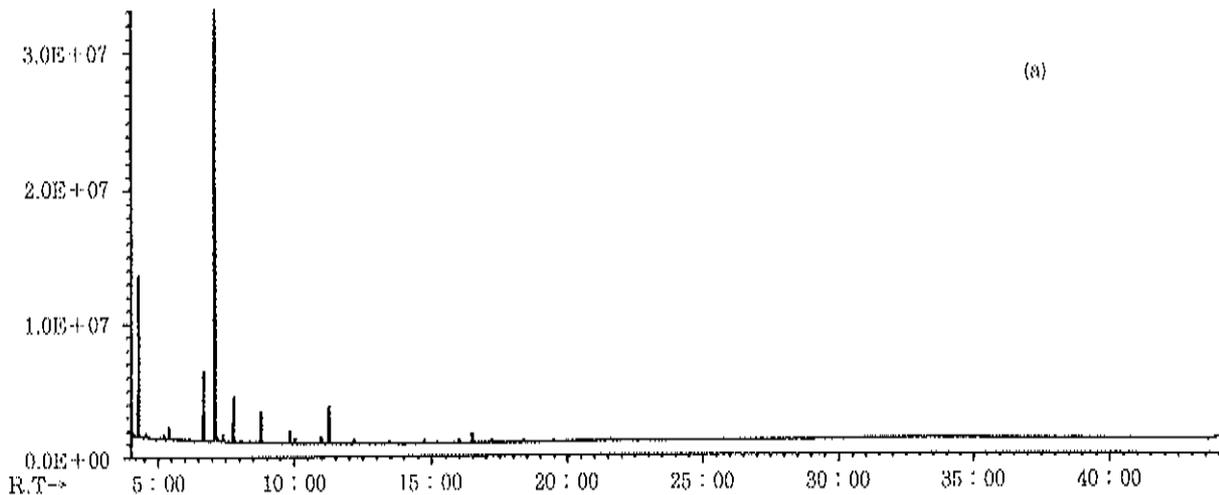


図 3(a) 水試料抽出液のトータルイオンクロマトグラム

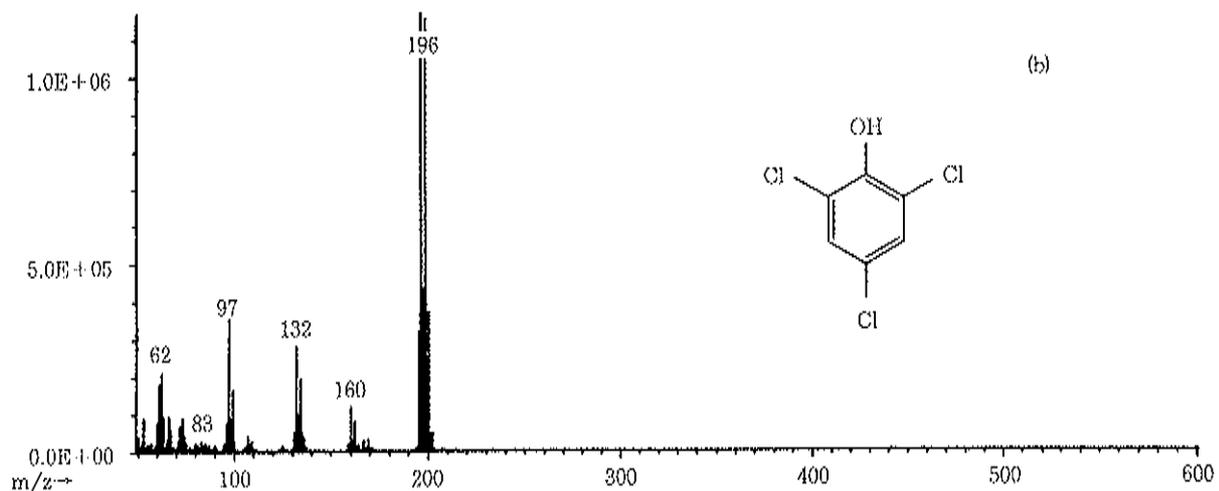


図 3(b) 保持時間 7 分付近に現れる顕著なピークで得られたトリクロロフェノールのマスパターン

表 4 米町川における水試料中の2,4,6-トリクロロフェノール分析結果
(単位: mg/L)

	下流部 高浜(末吉) 淵端橋		中流部 梨谷小山 番田橋		上流部 米町 滝川橋下	
	時刻	濃度	時刻	濃度	時刻	濃度
2月18日(水)	---	---	19:40	0.31	---	---
2月19日(木)	13:30	0.013	---	---	16:00	0.0002
2月20日(金)	---	---	---	---	---	---
2月21日(土)	10:50	0.0045	10:30	0.0048	9:30	<0.0002
2月22日(日)	10:19	0.0025	10:00	0.0023	9:30	<0.0002
2月23日(月)	11:37	0.0033	12:10	0.0021	11:20	<0.0002
2月24日(火)	10:40	0.0006	10:25	0.0008	10:05	<0.0002
2月25日(水)	10:40	0.0005	10:25	0.0004	10:05	<0.0002
2月26日(木)	10:10	0.0003	9:55	0.0004	9:35	<0.0002
2月27日(金)	9:55	0.0033	9:45	0.0008	9:33	<0.0002
3月1日(月)	9:40	0.0002	9:35	<0.0002	9:20	<0.0002
3月8日(月)	9:50	<0.0002	9:38	<0.0002	9:27	<0.0002

同の事件で多くの個体の斃死が確認されたサクラマスに近い種であるブルーギル (Bluegill:クロマス) の同値は0.32mg/Lとされている¹⁾。なお国内では、2,4,6-トリクロロフェノールの生産は1999年以降中止されている。

3・2 水試料中濃度の経時変化

前記3地点で採取された水試料中の2,4,6-トリクロロフェノール濃度の分析結果を表4に示す。中流部の番田橋における事件発生当日の濃度は0.31mg/Lであった。これは、世界保健機構 (WHO) が定めた水道水安全基準値0.2mg/Lの約1.5倍の濃度であり、また

ブルーギルのLC₅₀にも近い値であった。この日の試料採取時刻が住民から最初の通報があったから4時間あまり経過した時点であったことを考慮すれば、通報時にはさらに高濃度であった可能性は十分に考えられ、魚類の死亡原因として2,4,6-トリクロロフェノールがこの河川に不法に投入されたことが疑われた。

2月18日と19日の水試料の分析結果は翌20日深夜には行政に報告され、地元紙では22日朝刊に『基準越す有害物質を検出』として掲載された。2月21日からは前記3地点で採取された水試料が連日当センターに持ち込まれ、分析を継続した。この間2月24日の地元紙には志賀町内の製材業者が2,4,6-トリクロロフェノールを含む薬剤(材木用防腐剤)を側溝を通じて河川に流入させていたことが掲載され、魚類の大群死との因果関係をうかがわせる結果となった。

魚類の斃死は、中流部の番田橋と下流部の淵端橋の間に多くみられたが、この両地点の水中濃度はほぼ平行して推移し時間とともに低下していった。2月26日には一旦定数下限値(0.0002mg/L)に近いレベルまで低下したが、翌27日には特に下流部で濃度が上昇した。前述の製材業者が、薬剤を貯留してあったタンクや側溝を洗浄した際の水が再び河川に流入したためであることが、後になって判明した。3月1日には再び定数下限値まで濃度が低下したため、3日には地元紙上で『収束宣言』が掲載された。

3・3 魚試料中の濃度

魚試料の部位別の2,4,6-トリクロロフェノール分析結果を表5に示す。サクラマス、フナのいずれも、身に比べて内臓や目、エラなどで相対的に濃度が高くなっており、暴露してから短時間のうちに死に至ったことが推測される。

2,4,6-トリクロロフェノールは、環境省が実施している化学物質環境汚染実態調査では、1978年と1996年に取り上げられ、水質と底質が対象として調査された⁵⁾⁶⁾。その結果、両年度ともに水質では全国すべての地点で不検出、底質からは1978年には21検体中1検体、1996年には27検体中1検体で検出下限値をわずかに上回る濃度で

検出されていた。しかし同調査において、これまでに生物試料(魚)の調査例は報告されていない。したがって、表5に示した今回の事件に伴う検出結果を直接評価することはできない。なお、同調査でこれと同時に実施された2,4,5-トリクロロフェノール及びジクロロフェノールの全異性体の調査では、両年度ともに水質、底質いずれも、全調査地点で不検出であったことから⁵⁾⁶⁾、塩素化フェノールの環境汚染事例は極めて希なもののみなすことができる。

4 事件の総括と緊急時対応のあり方について

今回の事件では、比較的すみやかに魚の大群死の原因物質を究明することができたが、その原因として以下に示すようないくつかの幸運が重なったことを記憶しておく必要がある。

(1) 健康項目を中心とした初期のスクリーニング試験では毒性物質の同定には至らなかったが、その中でGC/BCDのクロマトグラム上に、塩素系化合物の存在を示唆するピークを発見することができた。

(2) 河川水の濁りが少なく、前処理の際にろ過やクリーンアップ操作を省略することが可能であったことに加え、流れが極めて遅かったために原因物質が比較的高濃度で1週間以上にわたり持続していた。

(3) 原因物質である2,4,6-トリクロロフェノールが河川水中で分解されにくく、揮発性にも乏しいばかりでなく、GC/MSに注入しても熱分解を受けにくい物質であり、GC/MSのライブラリー機能で容易に検索が可能であった。

(4) トリクロロフェノールを同定した後、異性体を特定するために必要な全異性体の標準物質を保有していた。このため、定数分析もスムーズに行うことができ、濃度推移のモニタリングが可能であった。

今回の事件では、河川水中や魚試料中の2,4,6-トリクロロフェノールを特定することができたが、発生源と考えられる製材業者が自ら出頭し、流出の事実を認めたこともあり、業者が保有していた薬剤そのものを分析して、魚類斃死との因果関係をより確実なものとするまでには行わなかった。今後場合によってはその段階まで踏み込んだ調査が必要となる場合もあると想定される。

初期の段階で当センターに持ち込まれた水試料の量が1.5L程度と少なく、健康項目等を優先的に分析したために、改めてトリクロロフェノール分析用に使用できる試料量が不足していた。原因物質を特定した後、その濃度推移を継続監視する段階になってからは十分な量の水試料が持ち込まれたが、このような緊急を要する環境汚染事例の原因究明には、その初期にこそ十分な量の試料

表5 魚試料中の2,4,6-トリクロロフェノール濃度
(単位: mg/kg)

部 位 名	サクラマス	フナ
身(筋肉)	7	6
内 臓	20	12
目	12	12
エ ラ	16	9
全部位平均	9.6	7.8

が必要となることは言うまでもなく、今後マニュアル化を進めるなどして、現場へ急行する保健所職員等に周知することが必要である。

今後もこのような緊急時を想定して、健康項目等のスクリーニング調査からGC/MS、LC/MSなどによる物質検索に至るまで、あらゆる測定機器を常時稼働可能な状態に保守・管理しておく必要がある。個々の機器について、使用法に熟達した職員を配置し、また分厚い市販の取扱説明書とは別に、簡便な操作手順書をその職員の手で整備しておくことが必要である。

さらに、職員の資質と志気の向上を図ることを目的として、水試料等に何種類かの毒性物質を添加し、その物質を特定し濃度を定量するといった、緊急時を想定した模擬訓練（トレーニング）を定期的にも実施することも必要であると考えられる。

5 ま と め

(1) 2004年2月に志賀町の米町川で起きた魚類の斃死事故に係る河川水及び魚試料から2,4,6-トリクロロフェノールが検出された。事故発生当日の中流部番田橋における濃度0.31mg/Lは、WHOが定めた水道水安全基準値0.2mg/Lの約1.5倍であった。

(2) 中流及び下流の採水地点における水試料中の2,4,6-トリクロロフェノールの濃度は、約2週間で定量下限値未満にまで低下した。

(3) 斃死した魚（サクラマス、フナ）試料中の2,4,6-

トリクロロフェノール濃度は、内臓や目、エラなどで相対的に高く、身（筋肉）の濃度を上回っていた。

(4) 今回の事件ではいくつかの幸運が重なり、比較的すみやかに原因物質の特定が行われたが、今後の緊急時危機管理体制として、測定機器を稼働可能な状況に保つための管理や、そのための人員配置と簡便な操作手順書の準備、さらに模擬訓練等が必要とされている。

文 献

- 1) 環境庁：昭和53年度化学物質分析法開発調査報告書，p994—1001，環境庁環境保健部保健調査室，東京（1978）
- 2) 環境庁環境化学物質研究会：環境化学物質要覧，p 306—307，丸善，東京（1988）
- 3) MASUNAGA, Shigeki, TAKASUGA, Takumi and NAKANISHI, Junko: Chemosphere, 44, 873—885 (2001)
- 4) VERSCHUEREN, Karel and Verschueren Environmental Consultancy: Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals, Fourth Edition (Volume 2), p2080—2087, JOHN WILEY & SONS, INC., New York (2001)
- 5) 環境庁：昭和53年度版化学物質と環境，p63—66，環境庁環境保健部保健調査室，東京（1979）
- 6) 環境庁：平成9年度版化学物質と環境，p56—62，環境庁環境保健部環境安全課，東京（1997）

〔資料〕

土壌とトランス油中における全 PCB の定量について

石川県保健環境センター化学物質・大気科学部

岡 秀 雄・柿 本 均

米澤由美子・宮田 芳昭

キーワード：全 PCB、土壌、トランス油

1 はじめに

2001年7月に「PCB 廃棄物の適正な処理の推進に関する特別措置法」が施行され、これまで保管されていた PCB 廃棄物の処理が進もうとしている。しかし2000年7月に、これまで PCB が含まれないと言われていた変圧器から PCB が検出され、さらに保管 PCB 含有廃棄物でも年々不明になるものがあり、PCB の汚染実態解明のために正確な定量が欠かせなくなっている。

現在、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析装置（以下 HRGC/HRMS）の利用により、これまでのガスクロマトグラフ ECD 検出器に比べ、微量 PCB の測定が可能となってきているが、経験上の不足などから必要とされる前処理工程の情報など不明な点が多い。本報では前処理方法の確立や機器における測定条件確立のための検討を行ったので報告する。

2 試料と分析方法

2・1 試 料

「ダイオキシン類測定精度向上委員会」調製の PCB 汚染土壌および PCB 含有トランス油を試料として用いた。土壌試料は PCB 分解技術の検討のため同委員会会員 A 社が保存していたものを100メッシュのふるいを通過させ、乾燥させたものである。

2・2 分析操作

土壌については PCB の公定分析法が存在しないため、ダイオキシン類の分析操作「ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル」¹⁾ に準じて行った。またトランス油については「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法」²⁾ に準拠した。分析フロー

は以下のとおりである。

土壌：試料10g をトルエン・ソックスレー抽出→内標準物質（クリーンアップスパイク）添加→ヘキサン転溶→硫酸処理→多層シリカゲルカラム処理→内標準物質（シリンジスパイク）添加→40 μ L 定容→HRGC/HRMS 測定

トランス油：試料0.5g をヘキサン10mL に溶解→2mL を分取→内標準物質（クリーンアップスパイク）添加→DMSO 抽出→残存油分洗浄→ヘキサン逆抽出→アルカリ洗浄→硫酸処理→多層シリカゲルカラム処理→内標準物質（シリンジスパイク）添加→40 μ L 定容→HRGC/HRMS 測定

測定には HRGC/HRMS（Agilent HP6890/日本電子 JMS-700D）を用い分解能10,000以上に調整し測定した。キャピラリーカラムは HT8-PCB（関東化学、長さ60m 内径0.25mm 膜厚0.15 μ m）を使用した。内部標準物質の組成を表1に、カラムオープン昇温条件、測定質量数等は表2に示す。

質量分析装置(HRMS)におけるサンプリング時間1000 ms を確保するため同族体を基にグルーピングしたが、同族体同士が分離しない場合が多く GC 注入を2度行い測定結果を得た。すなわち1度目は1塩素化物～3塩素化物および6塩素化物～8塩素化物を、2度目には4塩素化物、5塩素化物9塩素化物、10塩素化物を測定した。

3 結果と考察

3・1 多層シリカゲルカラムの溶出条件

多層シリカゲルカラムにおける内標準物質添加回収試験結果を表3に示す。

2塩素化から10塩素化 PCB はヘキサン150mL で約70

Quantitative Determination of Total PCBs in Soil and Insulating oil. by OKA Hideo, KAKIMOTO Hitoshi, YONEZAWA Yumiko and MIYATA Yoshiaki(Chemicals & Atmospheric Environmental Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Total PCBs, Soil, Insulating oil

表 1 内標準物質の組成及び添加量

塩素数	Bz	内標準物質	クリーンアップ	シリンジ
			スパイク	スパイク
			添加量(ng)	添加量(ng)
1 塩素化物	#3	4-Chloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	2	
2 塩素化物	#8	2,4'-Dichloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	2	
	#9	2,6-Dichloro[¹³ C ₁₂]biphenyl		2
3 塩素化物	#28	2,4,4'-Trichloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#31	2,4,5'-Trichloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#19	2,2',6-Trichloro[¹³ C ₁₂]biphenyl		1
	#52	2,2',5,5'-Tetrachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
4 塩素化物	#81	3,4,4',5'-Tetrachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#77	3,3',4,4'-Tetrachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#70	2,3',4',5-Tetrachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl		1
	#101	2,2',4,5,5'-Pentachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#123	2',3,4,4',5-Pentachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
5 塩素化物	#118	2,3',4,4',5-Pentachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#114	2,3,4,4',5-Pentachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#105	2,3,3',4,4'-Pentachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#126	3,3',4,4',5-Pentachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#111	2,3,3',5,5'-Pentachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl		1
	#153	2,2',4,4',5,5'-Hexachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
6 塩素化物	#167	2,3',4,4',5,5'-Hexachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#156	2,3,3',4,4',5-Hexachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#157	2,3,3',4,4',5-Hexachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#169	3,3',4,4',5,5'-Hexachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#138	2,2',3,4,4',5-Hexachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl		1
	#180	2,2',3,4,4',5,5'-Heptachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	2	
	#170	2,2',3,3',4,4',5-Heptachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	2	
7 塩素化物	#189	2,3,3',4,4',5,5'-Heptachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	1	
	#178	2,2',3,3',5,5',6-Heptachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl		1
	#194	2,2',3,3',4,4',5,5'-Octachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	2	
8 塩素化物	#205	2,3,3',4,4',5,5',6-Octachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl		1
	#206	2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	2	
10塩素化物	#209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decachloro[¹³ C ₁₂]biphenyl	2	

表 2 HRGC/HRMS 測定条件

同族体	対象物質		内標準物質	
	定量イオン	確認イオン	定量イオン	確認イオン
1 塩素化物	188.0393	190.0363	200.0795	202.0766
2 塩素化物	222.0003	223.9974	234.0406	236.0376
3 塩素化物	255.9613	257.9584	268.0016	269.9986
4 塩素化物	289.9224	291.9194	301.9626	303.9597
5 塩素化物	325.8804	327.8776	337.9207	339.9187
6 塩素化物	359.7415	361.8385	371.8817	373.8788
7 塩素化物	393.8025	395.7995	405.8428	407.8398
8 塩素化物	427.7635	429.7606	439.8038	441.8008
9 塩素化物	461.7246	463.7216	473.7648	475.7619
10 塩素化物	497.6826	499.6797	509.7229	511.7199

%以上の回収率が得られたが1塩素化 PCB はシリカゲルに吸着し、ヘキサンでは溶出しなことが確認された。このため、さらに40%ジクロロメタン含有ヘキサンによる溶出を行った。これにより1塩素化 PCB について約30%の回収率が得られた。溶出はヘキサン150mL その後さらに40%ジクロロメタン含有ヘキサン50mLによることとした。

3・2 実試料における回収率 (表4)

実試料に土壌、トランス油を使用した分析では1塩素化物の回収率はそれぞれ54%、79%とばらつきながらも良好な結果が得られたが、これは使用したシリカゲルの活性によると推測される。つまり溶出試験に使用したシリカゲルは開封直後であったが、実試料では数日経過したものを使用したため、活性が落ちていたと思われる。

シリカゲルを同様に使用するダイオキシン類分析では、その活性により溶出パターンの変動は確認されないが、PCB 分析では注意を要することが分かった。

トランス油は全体的に回収率が低い傾向となった。これはDMSO 抽出の操作に起因すると思われる。DMSO による30分振とう後、1時間以上静置し分離する操作を厳守しなければ更に回収率は低下した。

またトランス油において8~10塩素化物と高塩素化物になるにつれ回収率の低下が大きかった。これはDMSO 抽出、アルカリ分解を実施した他の報告³⁾と同じ傾向であり、DMSO 抽出時の損失あるいはアルカリ洗浄による脱塩素と思われる。

3・3 土壌・トランス油測定 結果 (表5)

表 3 多層シリカゲルカラムにおける内標準物質添加回収試験

内標準物質		回収率(%)					計
塩素数	Bz	ヘキサシ		40%ジクロロメタン含有ヘキサシ			
		100mL	50mL	50mL	50mL	50mL	
1 塩素化物	#3	0.0	0.0	0.0	29.1	0.0	29.1
2 塩素化物	#8	64.9	4.1	0.0	0.0	0.0	69.0
3 塩素化物	#28	84.2	0.0	0.0	0.0	0.0	84.2
	#31	92.9	0.0	0.0	0.0	0.0	92.9
4 塩素化物	#52	99.1	0.0	0.0	0.0	0.0	99.1
	#81	96.3	0.0	0.0	0.0	0.0	96.3
	#77	90.3	0.0	0.0	0.0	0.0	90.3
	#101	100.7	0.0	0.0	0.0	0.0	100.7
5 塩素化物	#123	99.9	0.0	0.0	0.0	0.0	99.9
	#118	99.2	0.0	0.0	0.0	0.0	99.2
	#114	98.3	0.0	0.0	0.0	0.0	98.3
	#105	101.6	0.0	0.0	0.0	0.0	101.6
	#126	98.6	0.0	0.0	0.0	0.0	98.6
6 塩素化物	#153	96.3	0.0	0.0	0.0	0.0	96.3
	#167	94.8	0.0	0.0	0.0	0.0	94.8
	#156	97.6	0.0	0.0	0.0	0.0	97.6
	#157	99.0	0.0	0.0	0.0	0.0	99.0
	#169	98.1	0.0	0.0	0.0	0.0	98.1
7 塩素化物	#180	96.3	0.0	0.0	0.0	0.0	96.3
	#170	95.7	0.0	0.0	0.0	0.0	95.7
	#189	91.7	0.0	0.0	0.0	0.0	91.7
8 塩素化物	#194	96.7	0.0	0.0	0.0	0.0	96.7
9 塩素化物	#206	103.6	0.0	0.0	0.0	0.0	103.6
10 塩素化物	#209	98.4	0.0	0.0	0.0	0.0	98.4

表 4 実試料における内標準物質の回収率

塩素数	Bz	土 壌 回収率(%)	トランス油 回収率(%)
1 塩素化物	#3	54.4	79.1
2 塩素化物	#8	77.3	69.6
3 塩素化物	#28	70.3	75.4
	#31	78.4	73.3
4 塩素化物	#52	85.6	71.2
	#81	95.2	85.5
	#77	96.6	90.6
	#101	82.1	67.3
5 塩素化物	#123	96.8	69.1
	#118	95.4	77.2
	#114	98.8	73.7
	#105	103.4	91.0
	#126	101.8	93.2
6 塩素化物	#153	95.8	60.9
	#167	107.3	67.5
	#156	110.4	78.1
	#157	114.4	82.2
7 塩素化物	#169	123.8	98.5
	#180	101.9	65.0
	#170	106.8	74.7
8 塩素化物	#189	113.9	70.8
	#194	97.5	54.0
9 塩素化物	#206	98.2	43.2
10 塩素化物	#209	96.0	14.3

表 5 測定結果

分析項目	土壌(pg/g)	トランス油(mg/kg)
1 塩素化ビフェニル	40000	0.0021
2 塩素化ビフェニル	200000	0.0077
3 塩素化ビフェニル	1200000	0.025
4 塩素化ビフェニル	1800000	0.050
5 塩素化ビフェニル	460000	0.17
6 塩素化ビフェニル	53000	0.10
7 塩素化ビフェニル	5800	0.017
8 塩素化ビフェニル	500	0.0021
9 塩素化ビフェニル	78	0.00018
10 塩素化ビフェニル	7.5	0.000022

土壌においては 4 塩素化物の濃度が最も高く、次いで 3 塩素化物、5 塩素化物、2 塩素化物、6 塩素化物、1 塩素化物、さらに 7 塩素化物から高塩素化物になるにつれ濃度は低下した。

トランス油については 5 塩素化物の濃度が最も高く、次いで 6 塩素化物、4 塩素化物、3 塩素化物、7 塩素化物、2 塩素化物、1 塩素化物さらに 8 塩素化物から 10 塩素化物になるにつれ濃度は低下した。

PCB においては、製品によって各塩素化物の存在比は異なっておりダイオキシン類と同様に多くの同族体、さらに多くの異性体が存在する。このためこれらの存在比を

利用して汚染源を推定できる可能性があると思われる。

4 ま と め

(1) 全 PCB の多層シリカゲルカラムを用いたクリーンアップではシリカゲルの活性によって特に 1 塩素化物の溶出パターンが異なる。

(2) トランス油の前処理では特に DMSO 抽出操作により大きく回収率が変動するため細心の注意を要する。

(3) PCB の広い質量範囲に対応し、なおかつサンプリング時間を確保するためには 2 度の GC 注入により 1 つの測定結果を得ることになる。

(4) PCB は多くの同族体、異性体を持つためダイオキシン類と同様に、組成による汚染源の推定が可能と思われる。

文 献

- 1) 環境省水質保全局土壌農薬課：ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル（平成12年1月）
- 2) 厚生省：特別管理一般廃棄物および特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法（平成4年7月）
- 3) 高橋ゆかり，竹本紀之，八嶋 博，塩崎卓哉：第13回環境化学討論会 講演要旨集，684-685（2004）

〔資 料〕

石川県におけるフォールアウト調査

(平成15年度)

石川県保健環境センター環境放射線部

宮本 麻美・梶田 武史

中谷 光・小森 正樹

キーワード：フォールアウト、環境放射能

1 はじめに

全国放射能監視ネットワーク（文部科学省）の一員として、石川県におけるフォールアウト等による環境放射能の水準を把握するため、ゲルマニウム半導体検出器による核種分析を中心に放射能レベルを調査した。ここでは平成15年度の文部科学省委託放射能調査結果の概要を述べる。

2 調査方法

2・1 調査対象

調査対象は、定時（午前9時）採取の降水、大型水盤による降下物（1ヶ月毎）、陸水、土壌（0～5cm、5～20cm）、農畜産物（精米、大根、ホウレン草、牛乳）、海産生物（ワカメ、サザエ、フクラギ）、日常食、空間線量率、である。

2・2 測定方法

定時降水は全ベータ測定を、降下物、陸水、土壌、農畜産物、海産生物、日常食は核種分析を、空間線量率はサーベイメータ及びモニタリングポストによる測定を、それぞれ行った。

全ベータ測定は、文部科学省放射能測定法シリーズ「全ベータ放射能測定法」（昭和51年改訂）に基づき低バックグラウンド自動測定装置 JDC-3201（アロカ製）により行った。校正線源として科研製 U_3O_8 （500dps）を使用した。

核種分析は、文部科学省放射能測定法シリーズ「ゲル

マニウム半導体検出器によるガンマ線スペクトロメトリー」（平成4年改訂）に基づきゲルマニウム半導体検出器（CANBERRA 製）及び波高分析器（CANBERRA 製）並びにデータ処理解析システム（東陽テクニカ製）により行った。

サーベイメータによる空間線量率測定には TCS-166 型シンチレーションサーベイメータ（アロカ製）を用い、DBM 方式により測定した。モニタリングポストによる空間線量率測定は、文部科学省放射能測定法シリーズ「連続モニタによる環境γ線測定法」に基づき MAR-21（アロカ製）により行った。

3 調査結果とまとめ

3・1 降水の全ベータ

表1に、調査期間（平成15年4月1日～平成16年3月31日）における定時降水中の全ベータ放射能測定結果を示す。年間降水量は2425.0mmであった。採取試料数は106検体であり、そのうち4検体で全ベータ放射能が検出された。月間降水量の最大は12月の104.5MBq/km²であった。

3・2 核種分析

表2に、環境試料中の放射能濃度測定結果を示す。なお、陸水および牛乳の検体数が昨年度の2検体から1検体に、日常食の検体数が昨年度の4検体から2検体に変更された。

(1) 降下物

1ヶ月毎の降下物中の放射能濃度は、セシウム-137が

Survey Data of Fall-out in Ishikawa Prefecture, April 2003 to March 2004. by MIYAMOTO Asami, MASUTA Takeshi, NAKATANI Mitsuru and KOMORI Masaki (Environmental Radiation Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Fall-out, Environmental radioactivity

N.D.~0.11MBq/km²で過去の測定値と同程度であり、その他の人工放射性核種は検出されなかった。セシウム-137の年間降下量は0.11MBq/km²であった。

(2) 核種分析試料(降下物以外)

セシウム-137が土壌で31.0Bq/kg 乾土(0~5cm)、39.3Bq/kg 乾土(5~20cm)、フクラギで0.15Bq/kg 生と検出された。その他の試料は検出限界未満であった。

(3) 牛乳中のヨウ素-131

表3に牛乳中のヨウ素-131濃度測定の結果を示す。牛乳中のヨウ素-131はいずれも検出されなかった。

3・3 空間線量率

表4に空間放射線線量率の測定結果を示す。サーベイメータによる空間線量率は82~100nGy/h(宇宙線寄与分の30nGy/hを含む)の範囲にあった。モニタリングポストによる空間線量率は26~94nGy/hの範囲にあり、過去3年間の変動範囲(29~116nGy/h)の最大値を超えたものはなかった。また年平均値は49nGy/hであった。

表1 定時降水中の金ベータ放射能測定結果

採取場所: 金沢市太陽が丘

採取年月	降水量(mm)	検出数/測定数	放射能濃度(Bq/l)		月間降下量(MBq/km ²)
			最低値	最高値	
平成15年4月	213.0	0/9	—	N.D.	N.D.
5月	60.5	0/5	—	N.D.	N.D.
6月	165.5	0/9	—	N.D.	N.D.
7月	192.0	0/10	—	N.D.	N.D.
8月	185.5	0/8	—	N.D.	N.D.
9月	221.5	0/6	—	N.D.	N.D.
10月	125.5	1/6	N.D.	1.90	22.9
11月	187.0	0/8	—	N.D.	N.D.
12月	304.0	2/13	N.D.	2.80	104.5
平成16年1月	351.0	0/13	—	N.D.	N.D.
2月	306.0	1/12	N.D.	3.36	52.1
3月	113.5	0/7	—	N.D.	N.D.
年間値	2,425.0	4/106	N.D.	3.36	N.D.~104.5
前年度までの過去3年間の値		26/329	N.D.	10.66	N.D.~482.7

N.D.: 検出されず(値が計数誤差の3倍を下回る場合)

表2 環境試料中の放射能濃度測定結果

試料名	採取場所	採取年月	検体数	¹³⁷ Cs		前年度まで過去3年間の値		その他の検出された人工放射性核種	単位	
				最低値	最高値	最低値	最高値			
降下物	金沢市太陽が丘	毎月	12	N.D.	0.11	N.D.	0.53	なし	MBq/km ²	
陸水	上水(蛇口水)	金沢市太陽が丘	H15.6	1	—	N.D.	—	N.D.	なし	mBq/l
土壌	0~5cm	金沢市末町	H15.7	1	—	31.0	29.0	38.0	なし	Bq/kg乾土
	5~20cm	金沢市末町	H15.7	1	—	1,170	1,025	1,730	なし	MBq/km ²
精米	内灘町向粟崎	H15.9	1	—	39.3	20.7	23.5	なし	Bq/kg乾土	
				—	4,600	3,690	4,017	なし	MBq/km ²	
野菜	大根	金沢市西念町	H15.9	1	—	N.D.	—	N.D.	なし	Bq/kg生
	ホウレン草	金沢市西念町	H15.9	1	—	N.D.	N.D.	0.046	なし	
牛乳	羽咋郡押水町坪山	H15.8	1	—	N.D.	—	N.D.	なし	Bq/l	
日常食	金沢市	H15.6	2	—	N.D.	N.D.	0.049	なし	Bq/人・日	
		H15.12		—	N.D.	N.D.	0.049	なし		
海産生物	ワカメ	鳳至郡門前町鹿磯	H15.4	1	—	N.D.	—	N.D.	なし	
	サザエ	鳳至郡門前町鹿磯	H15.6	1	—	N.D.	—	N.D.	なし	Bq/kg生
	フクラギ	金沢市	H15.9	1	—	0.15	0.16	0.21	なし	

N.D.: 検出されず(値が計数誤差の3倍を下回る場合)

表 3 牛乳中¹³¹I濃度測定結果

採取場所	羽咋郡抑水町字坪山ナ部93-2 石川県畜産総合センター						前年度まで過去3年間の値	
	採取年月日	H15. 5. 8	H15. 7. 17	H15. 9. 18	H15.11.20	H16. 1. 15	H16. 3. 9	最低値
放射能濃度 (Bq/l)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	—	N.D.

N.D.: 検出されず (値が計数誤差の3倍を下回る場合)

表 4 空間放射線量率モニタリング結果

測定地点: 金沢市太陽が丘

測定年月	モニタリングポスト(nGy/h)			サーベイメータ*1) (nGy/h)
	最低値	最高値	平均値	
平成15年4月	48	70	51	96
5月	48	68	50	98
6月	48	80	51	98
7月	48	69	51	98
8月	48	70	51	100
9月	48	65	60	94
10月	48	77	50	94
11月	47	77	50	96
12月	42	94	51	88
平成16年1月	26	78	45	96
2月	26	82	42	82
3月	43	68	49	92
年間値	26	94	49	82~100

*1) 宇宙線寄与分30nGy/hを含む。

〔短 報〕

食中毒検体中の細菌の遺伝子解析に関する一事例

石川県保健環境センター感染症部 戌亥 一朗・倉本 早苗・芹川 俊彦

キーワード：パルスフィールドゲル電気泳動，サルモネラ・エンテリティディス，フェージ型別

1 はじめに

平成15年9月に石川県内で *Salmonella* Enteritidis (以下「S.E」とする。)を原因菌とする3件の食中毒事例(表1)が相次いで発生し、総計で107名の患者が確認された。これらの事例において当センターでは分離菌の遺伝子解析を実施し、その結果が原因食品流通ルート全般の衛生状況の改善に有効に生かされたのでその経緯を報告する。

2 疫学調査と遺伝子解析

これらの事例について、保健所が詳細に疫学調査を実施した結果、3事例のうち2事例の原因食品は鶏卵調理食品と特定された。当センターで事例に関連した調理済み食品、患者、調理従事者、調理施設などから分離されたS.Eの遺伝子解析を実施したところ、そのパターンが一致し、このことから2事例は由来を同一とするS.Eが鶏卵を汚染していたものと強く推定された。

また、2事例の原因食品の原材料たる鶏卵については、農林行政当局等の調査の結果、同一ルートで生産・流通していたことが確認された。他の1事例における原因食品は解明されるに至らなかった。

我々はさらに調査関係者の協力を得て、被害の拡大防止と再発防止に有効な情報を得ることを目的に、鶏卵の生産流通ルートから分離されたS.Eを収集し、それら菌株についてパルスフィールドゲル電気泳動(Pulsed-Field Gel Electrophoresis: PFGE)、プラスミドプロファイル等の疫学的解析を実施した。また、フェージ型別試験については国立感染症研究所に依頼した。

その結果、3件の事例のうち、鶏卵調理食品が原因と特定された2事例(事例A, B)由来の菌株は、生産流通ルートから分離された菌株と解析結果が一致し、また他の1事例(事例C)由来の菌株についてはプラスミドプロファイル以外については解析結果が異なっていることが確認された。(図1, 2)

3 情報の還元と行政対応

我々はこれらの細菌遺伝子解析結果を農林水産及び健康福祉の衛生指導担当部局に速やかに還元した。この情報をもとに保健所では食中毒発生の原因施設とその関係者に対し、また、家畜保健衛生所では鶏卵流通ルート(GPセンター、鶏卵生産農家等)の各施設と関係者に対し鶏卵や鶏卵選別施設からS.Eの検出が確認されなくなるまでの継続的な衛生指導が実施された。その結果、鶏卵の生産から消費に至るまでの衛生管理状態全般が改善され、以降、新たな患者の発生は確認されていない。また、関係施設では事件後も定期的に衛生検査と指導がなされ、衛生状態の改善が確認されている。

4 おわりに

感染症(食中毒を含む)発生動向の監視時に、特定の期間に、ある限られた地域で、同じような症状の患者の散発報告などの特異的徴候を認めたときには、監視にあたる者は可能な限りの疫学情報を収集し、その結果を疫学調査の現場に還元して共有することが、健康危害拡大の防止に有効であり、また、食品の安全・安心確保のためにも重要であることを経験的に再認識した。

終わりにS.Eのフェージ型別試験を実施して頂いた国立感染症研究所細菌第一部長渡辺治雄先生、泉谷秀昌先生に心より感謝いたします。

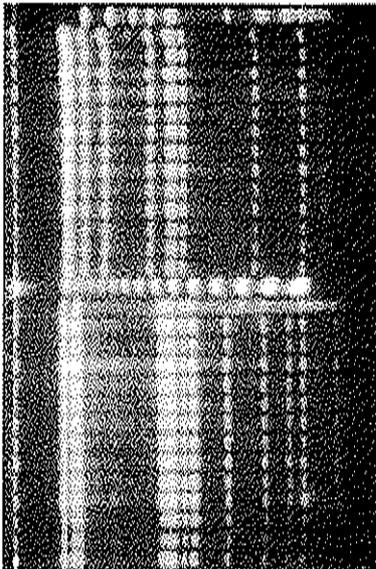
表1 S.E食中毒3事例の概要

事例名	発生年月日	発生地域	発生施設	摂食者数	患者数	原因食品
A	15.9.15	能登地区	(仕出し料理店)	102	56	三色玉子(仕出し料理)
B	15.9.17	能登地区	(仕出し料理店)	66	32	茶碗蒸し(仕出し料理)
C	15.9.26	金沢地区	飲食店 (料理店)	24	19	不明(9月26日の会食料理)

制限酵素 (Xba I)

制限酵素 (Bln I)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



(kb)

← 485.0
← 388.0
← 242.5
← 145.5
← 48.5

M: Size Marker (Lambda Ladder)

菌株番号	由来	事例	プラスミドタイプ	ファージ型	PFGE 結果
1	患者糞便	A	1本のバンド (50kb)のみ	47	
2	患者糞便	A	"	47	
3	患者糞便	A	"	47	
4	患者糞便	A	"	RDNC*	
5	食品残品(緑玉子)	A	"	47	
6	調理器具(タワン)	A	"	47	
7	調理従事者糞便	A	"	47	同一パターン
8	調理従事者糞便	A	"	47	
9	食品残品(ニンジン)	A	"	47	
10	患者糞便	B	"	47	
11	調理従事者糞便	B	"	47	
12	調理従事者糞便	B	"	47	
13	患者糞便	B	"	47	
14	食中毒由来対照株		"	1	菌株 1~13と異なる

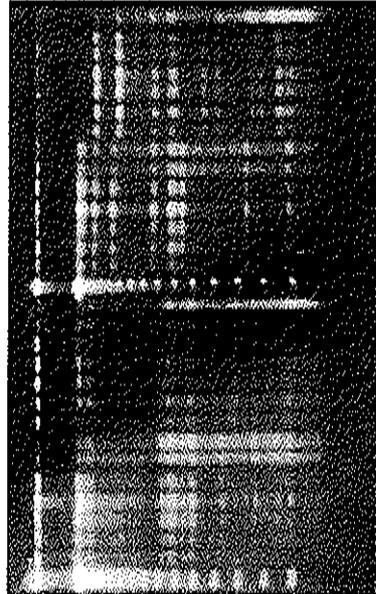
* reacted but did not conform: いくつかのファージに感受性があるが感受性パターンが現行のスキームに該当しない。

図1 事例 A 及び B 由来の *Salmonella* Enteritidis の遺伝子解析結果

制限酵素 (Xba I)

制限酵素 (Bln I)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



(kb)

← 485.0
← 388.0
← 242.5
← 145.5
← 48.5

M: Size Marker (Lambda Ladder)

菌株番号	由来	事例	プラスミドタイプ	ファージ型	PFGE
1	GP* 作業台	A, B 通り調査	1本のバンド (50kb)のみ	47	
2	GP 床	A, B 通り調査	"	47	
3	プラスチックトレイ	A, B 通り調査	"	47	
4	生産所通路	A, B 通り調査	"	47	同一パターン
5	果卵ベルト	A, B 通り調査	"	47	
6	患者糞便	A	"	47	
7	患者糞便	B	"	47	
8	患者糞便	C	"	1	
9	患者糞便	C	"	1	
10	患者糞便	C	"	1	
11	従事者糞便	C	"	1	同一パターン (No1~7と異なる)
12	患者糞便	C	"	1	
13	患者糞便	C	"	1	
14	食中毒由来対照株		"	1	上記パターンと異なる

* GP: Gracing and Packing center (生産された鶏卵の格付けと包装をする工場)

図2 事例 A, B の通り調査及び事例 C 由来の *Salmonella* Enteritidis の遺伝子解析結果

〔短 報〕

光触媒 TiO_2 を利用した化学物質の分解に関する検討 (第2報)

——— 室内空気検体中のシックハウス症候群起因化学物質への応用 ———

石川県保健環境センター化学物質・大気科学部 坂本 藤夫・宮田 芳昭・牛 島 茂
 石川県保健環境センター情報・教育研修室 齋 幹 夫

キーワード：光触媒、珪藻土、酸化チタン

1 はじめに

近年、人や野生生物の生殖機能などの内分泌作用へ影響を及ぼすとされる「環境ホルモン」と呼ばれる化学物質の環境中での存在が指摘され、人を含む生態系への影響が重大な関心事として注目されてきている。一方、身の回りに着目するとシックハウス症候群と呼ばれる化学物質に起因した疾患が注目されている。これら化学物質を分解する試みとして、酸化チタンを利用した光触媒（光が照射されると、その表面で酸化還元反応を起こし、ニオイや汚れなどを分解するといわれている）が、注目を集めており、全国的には、水質浄化の実験や、トンネル内の空気浄化、衣類における利用（抗菌作用）などが試みられている。

本県は珪藻土という豊富な資源を持っており、工業試験場は、これまで珪藻土の有効利用についていろいろと検討を重ねてきており、当センターでもケイソウ土板に酸化チタン触媒を適用し、化学物質の分解・無害化方法について、技術開発を進め、環境保全に寄与することを目的として、光触媒を利用した化学物質の分解に関する検討を行っている。

いままでに、県産材であるケイソウ土板および九谷焼陶板に酸化チタンを塗布したもの

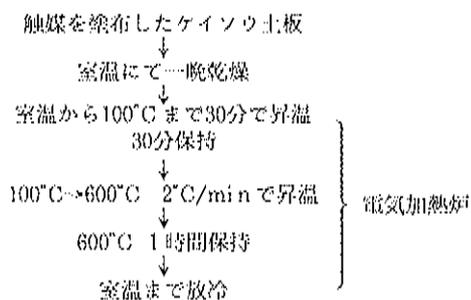


図1 触媒板の作成方法

(以下、「光触媒」とする。)を用いて、水中における数種の化学物質の分解性および酸化チタンの塗布条件による分解性の違いについて検討を行った。¹⁾

本報では、シックハウス症候群の原因物質の一つとされているホルムアルデヒドやアセトアルデヒドを対象物質として、光触媒を利用した除去装置を試作し実環境への応用について検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

2 試験方法

2・1 光触媒の調整及び媒体への塗布

前報同様、試験に用いたケイソウ土板は珪藻土から作成した耐熱レンガ（B-2レンガ）を短辺方向に5mm厚にカットしたもの（115mm×65mm×5mm）を用いた。ケイソウ土板への触媒塗布については図1に示す方法で行った。

2・2 触媒溶液

酸化チタン溶液 STS-01 石原産業株式会社

2・3 装置（試作機）

紫外線の照射方向、ガスの接触面を考慮し、循環式、ワンスルー方式両方に対応した図2に示すような試作機

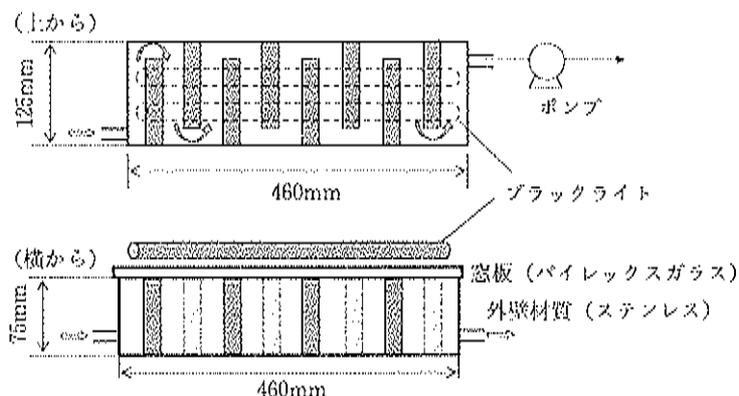


図2 試作機図

を作製し、試験に用いた。

2・4 試薬および測定方法

紫外線源は、ブラックライト（東芝 FL15BLB-A）2本を用い、系の循環または吸引はミニポンプ（柴田科学、MP-2N型）を用いた。

標準的汚染物質として、シックハウス症候群の原因とされるホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの2物質を選定した。

ホルムアルデヒド液 和光純薬 試薬特級

アセトアルデヒド液 和光純薬 試薬一級

試験に用いたホルムアルデヒドガスは、ガス発生器（ガステック、パーミエーター PD-1B）を用いて、ガス拡散管法により、アセトアルデヒドガスはガスバックを用いて直接希釈により作成した。

ホルムアルデヒド濃度およびアセトアルデヒド濃度は、ガス検知管（ホルムアルデヒド用はガステック社製91、91-L、アセトアルデヒド用は同社製92-L、92-M）を用るか、または固相捕集—HPLC法（2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（DNPH）含浸カートリッジを用いて捕集し、アセトニトリルで溶出した試験液をHPLCにより測定）を用いて行った。

HPLC測定条件

使用カラム：TSK—GEL ODS—80TM
内径4.6mm、長さ150mm

移動相：アセトニトリル：水=60：40

流量：1.0mL/min

試料注入量：10 μ L

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

検出器：吸光光度検出器（波長：360nm）

2・5 試験方法

(1) 光触媒性能評価試験

光触媒製品技術協議会の光触媒性能評価試験法 II b（2001年度版）ガスバック B法に準じて評価試験を行った。²⁾

(2) 試作機を用いた分解試験

ア 流速の違いによる分解能の比較試験（循環系）

テドラーバッグ（50L）内に、15ppmに調製したホルムアルデヒドガスを満たし、一定流速（1.65、3.45、6.92L/min）でバッグと試作機の系で循環させ、一定時間ごとにガス検知管を用いて、テドラーバッグ内のホルムアルデヒド濃度を測定した。

イ（一過性）ワンスルー試験

テドラーバッグ（50L）内に一定濃度にホルムアルデヒドまたはアセトアルデヒドガスを封入し、このガスを吸引ポンプにより吸引し、紫外線を照射している試作機の中を通し、通過したガス中のホルムアルデヒドおよび

アセトアルデヒド濃度をHPLCを用いて測定した。

3 結果および考察

3・1 光触媒性能評価試験

光触媒の性能評価にはJIS法のように定まった評価方法が存在するわけではないが、光触媒製品技術協議会が暫定的に定めた光触媒性能評価試験法が存在する。

その方法は、大まかには次のようである。25平方センチの表面積を持つ物質が初期濃度80mg/Lのテドラーバッグ（5L）中のアセトアルデヒドを20Wのブラックライトで5時間照射（紫外線強度1mW/cm²）した前後でのアセトアルデヒドの濃度変化を測定する。

本法を用いると今回作成したケイソウ基板塗布酸化チタンは、初期濃度80mg/Lのアセトアルデヒドを5時間後には検出することができないまで系から分解除去することができ、光触媒製品として適合することを確認した。

3・2 試作機を用いた循環系での分解試験

試作機を用いた流速の違いによる分解能の比較試験

循環系において、異なる流速で（1.65、3.45、6.92L/min）ホルムアルデヒドの残留濃度の経時変化を見た（図3-1、3-2、3-3）。酸化チタンを塗布しないケイソウ基板のみの場合は、ホルムアルデヒドの濃度が減少したもののその傾むきは時間とともに緩やかになっていることから、ホルムアルデヒドは分解ではなく系からケイソウ基板へ吸着除去されていることがうかがわれるのに対し、酸化チタンを塗布したものの場合はいずれの流速でも、2時間以内にホルムアルデヒド濃度が1/10以下にまで低下した。図4にホルムアルデヒド濃度の流速別の時間変化を示すが、流速が約2倍になると同じ時間で濃度が約半分になっている。これは循環系で行ったために被分解物質が酸化チタン表面により多く接触したため、分解が促進したことを示唆している。

3・3 試作機を用いたワンスルーの分解試験

テドラーバッグ中（50L）のホルムアルデヒドガスおよびアセトアルデヒドガスを試作機に通過させた後、別のテドラーバッグに捕集し、その空気中濃度をHPLCにより測定した。ホルムアルデヒドガスおよびアセトアルデヒドガス濃度の変化を図5に示す。図中の1回目とは初期濃度のガスを試作機に1回通過させた時のガス濃度であり、2回目とはその1回通過させたガスをもう一度試作機に通過させた時のガス濃度を示す。

ホルムアルデヒドでは1回目で96%、アセトアルデヒドでも1回目で91%が除去でき、2回目以降でも、1回通過した空気中の残りの両成分を80%以上除去できていることを確認した。

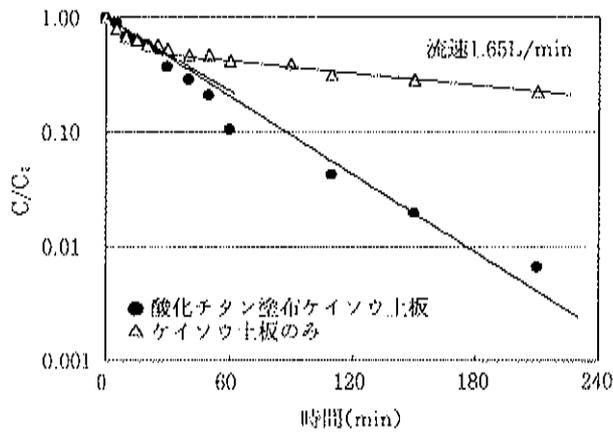


図3-1 循環系でのホルムアルデヒドの分解試験

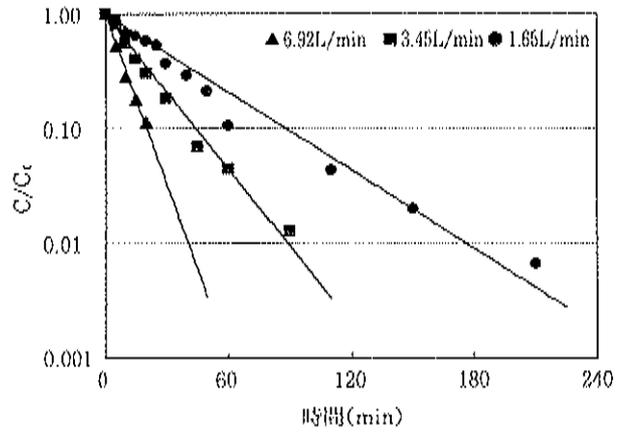


図4 循環系での流速の違いによるホルムアルデヒドの分解の違い

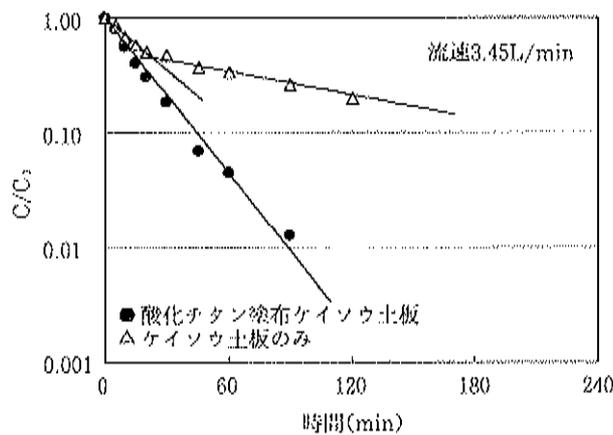


図3-2 循環系でのホルムアルデヒドの分解試験

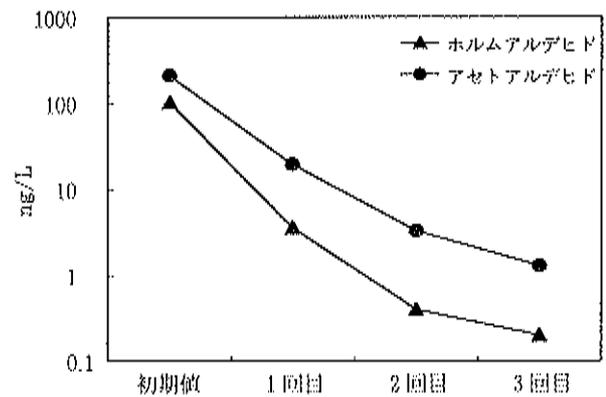


図5 ワンスルー系における光触媒による化学物質の除去効果

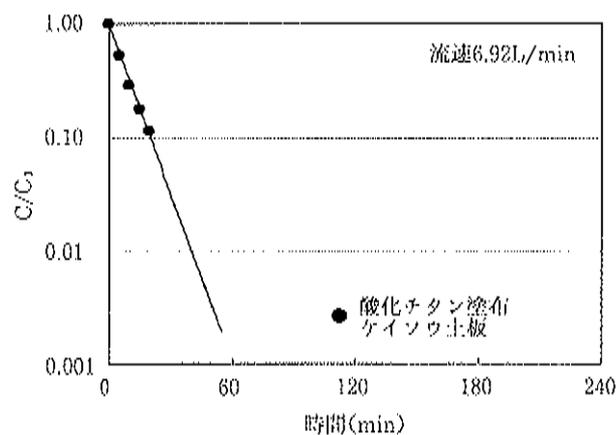


図3-3 循環系でのホルムアルデヒドの分解試験

3・4 フィールド応用への可能性

浅井ら³⁾によると、竣工直後の集合住宅のホルムアル

デヒドおよびアセトアルデヒドの最高濃度は、0.12mg/L、0.06mg/Lと報告している。

例えば、普通の家庭での居間に相当する6畳の部屋が24m³相当であるから、ホルムアルデヒドの初期濃度を0.12mg/Lとし、試作機を今回の試験で用いた流量9.2L/minで運転すれば、約17時間後に0.08mg/L (WHOの基準) 以下となる。これらのことから、空気清浄機のような日中運転するような使用状況に本試作機を適用すれば、スケールアップすることにより、実環境への応用は可能と思われる。

文 献

- 1) 瀧 幹夫他：石川県保健研報，39，30—34 (2002)
- 2) 光触媒性能評価試験法 II b53—57光触媒製品技術協議会
- 3) 浅井靖史他：西松建設技報，22，39—44 (1999)

〔短 報〕

能登地域におけるオゾン濃度の標高別分布について

石川県保健環境センター化学物質・大気科学部 太田 聡・横江 齊・北村 守次

キーワード：光化学オキシダント，上空オゾン，能登地域

光化学オキシダントは、窒素酸化物 (NOx) や炭化水素 (HC) などの一次汚染物質が、太陽光 (紫外線) により反応し生成される二次汚染物質である。日本海側沿岸地域では、春から夏の晴天時で日射量が多い時などに、光化学オキシダントが高濃度で観測されている。本県でも平成14年5月22日に、能登半島の七尾地域 (七尾市、田鶴浜町、烏屋町、鹿島町、能登島町) で「光化学スモッグ予報」が発令された。

能登地域は、県内においても比較的大気の清浄な地域とされており (表1)、「予報」発令時のオキシダント (Ox) 濃度は、能登地域が羽咋以南の加賀地域より高く (図1)、また、Ox 上昇と拮抗する一次汚染物質は、金沢や加賀地域より低濃度であった。

これらのことから、春から夏における能登地域における Ox 濃度の上昇がこれまで考えられてきた汚染物質による生成だけに由来するとは考えにくい面がある。

(財)電力中央研究所の調査によると北陸地方の春季における地上での高濃度 Ox 発生機構の一つとして、成層圏オゾン (O₃) の沈降を報告しており¹⁾、このような現象が加味しているものと推察される。

そこで簡易測定を用いて能登地域において標高別に O₃ 濃度を比較したところ、標高が高くなる程 O₃ 濃度が高くなる興味ある知見が得られたので報告する。

測定には、大気中の乾性沈着の簡易測定に用いられている N 式パッシブサンプラ²⁾を用いることとし、硝酸 (HNO₃) 及び二酸化硫黄 (SO₂) の捕集には Pall 社製の ULTIPOR N66 (φ47mm) ポリアミドろ紙を無処理のまま、また、O₃ の捕集には、O₃ が亜硝酸イオン (NO₂⁻) を硝酸イオン (NO₃⁻) に酸化する原理を利用する NaNO₂ 含浸ろ紙を下記の手順で作成し用いた。(図2)

表1 平成14年測定局別年平均濃度 (ppb)

地域	市町村	測定局	二酸化硫黄	地域平均	二酸化窒素	地域平均
中央	金沢市	三馬	4		11	
	金沢市	西南部	5		19	
	金沢市	小立野	4		10	
	金沢市	中央	2		17	
	金沢市	駅西	5		16	
	金沢市	西部	—	4	12	13
	金沢市	北部	1		10	
	松任市	山島	3		9	
	松任市	松任	3		14	
	美川町	美川	6		13	
加賀	内灘町	内灘	4		12	
	津幡町	津幡	3		11	
	小松市	小松	4		15	
	加賀市	大聖寺	4	5	14	14
能登	加賀市	山代	5		13	
	根上町	根上	5		13	
	羽咋市	羽咋	4		6	
	烏屋町	烏屋	3		5	
	七尾市	七尾	4		9	
	七尾市	大田	0		4	
	田鶴浜町	田鶴浜	0	2	3	5
	能登島町	能登島	1		3	
	鹿島町	鹿島	1		3	
七尾市	石崎	2		6		
七尾市	崎山	1		2		
七尾市	徳田	0		4		

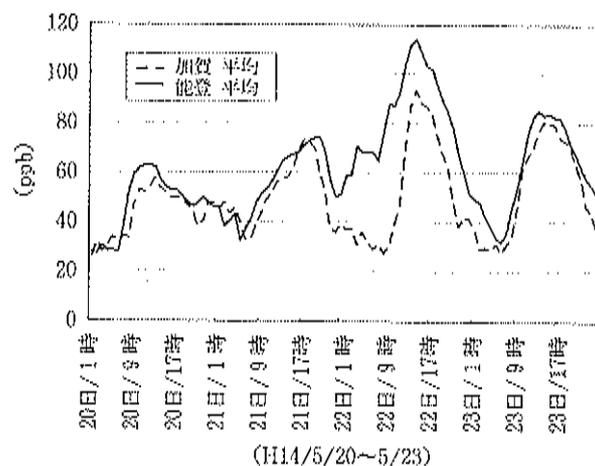


図1 光化学スモッグ予報発令時近辺のオキシダント濃度推移

- ① セルロースろ紙(φ26mm ADVANTEC 514A)を超純水で5分間洗浄(超音波)
- ② NaNO_2 を4g, K_2CO_3 を4g, 400mLの超純水

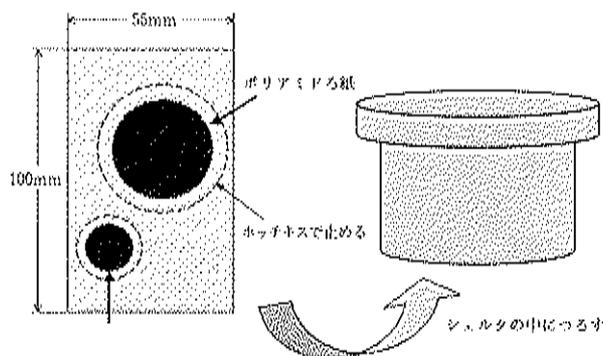


図2 サンプラ及びシェルタ

にとかして溶液を調整

- ③ 溶液を2つに分け, 一方に超純水で洗浄したろ紙を5分浸漬洗浄(超音波)
- ④ 残りの溶液にグリセリン10mLを加え攪拌後, ③のろ紙を5分間浸透(超音波)
- ⑤ 含浸ろ紙1枚づつを2枚重ねのクロマト用ろ紙(ADVANTEC590)で上下をはさみ, 水分を除去
- ⑥ 上に乗せたる紙をとりはずし自然乾燥1時間
- ⑦ 乾燥させた NaNO_2 含浸ろ紙とポリアミドロ紙の2種類を図2に示したように配置し, チェック付きポリ袋に入れさらにシール付きアルミ蒸着袋に入れ冷蔵庫で保管

サンブラは株式会社小川商会製の長期型シェルタ(ステンレス製OG-KN-S)の内側上部にN式バッシュサンブラを取り付けて実施した。

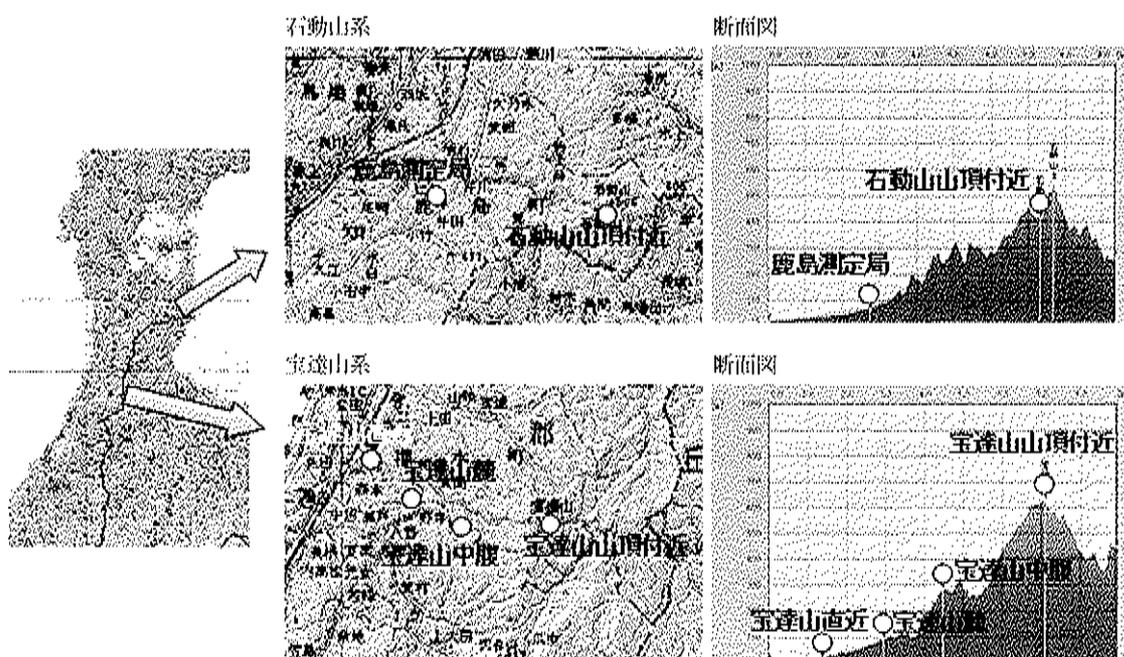


図3 サンプラ設置場所

表2 サンプラ設置場所一覧

NO.	設置場所	標高(m)	備考	調査目的
1	奥達山山頂付近	620	旧奥達山中継局	標高別オゾン濃度の比較
2	奥達山中腹	285	県有林案内板	標高別オゾン濃度の比較
3	奥達山麓	101	畜産総合センター	標高別オゾン濃度の比較
4	奥達山直近平地	20	冬野公民館	標高別オゾン濃度の比較
5	石動山山頂付近	450	石動山資料館	標高別オゾン濃度の比較
6	鹿島測定局	74	屋上	標高別オゾン濃度の比較及び自動測定機と簡易測定との比較
7	羽咋測定局	11	屋上	自動測定機と簡易測定との比較
8	保健環境センタ	120	屋上	自動測定機と簡易測定との比較

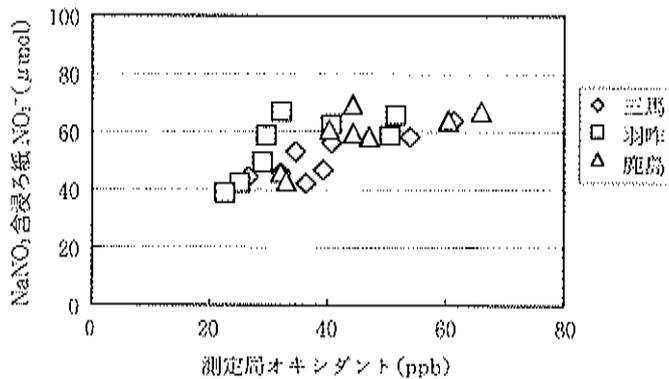


図4 大気監視局における機器測定とパッシブ測定データの比較

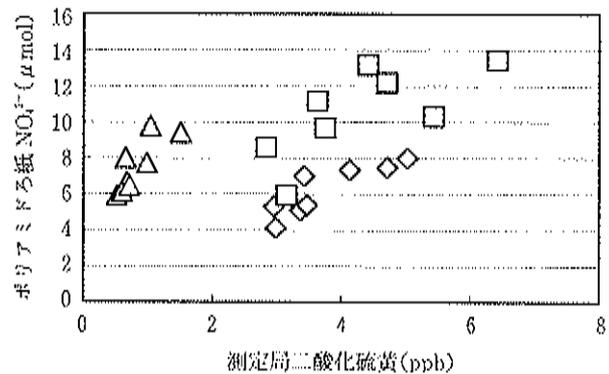


図5 大気監視局における機器測定とパッシブ測定データの比較

サンプラは、①自動大気監視測定機の紫外線吸収 (UV254nm) のデータと比較しパッシブ測定法の有効性を確認するために三馬測定局 (標高20m)、羽咋測定局 (11m) 及び鹿島測定局 (74m) の3か所、②標高別のオゾン濃度の推移を比較するために能登最高峰の宝達山で4か所 (標高20, 101, 285, 620m (宝達山系))、また、七尾地域で鹿島測定局に近い石動山山頂付近 (450m (石動山系)) の1か所の計8か所に設置した (表2, 図3)。

サンプリングは、O_x が高濃度になりやすい5月から7月までの8週間とし、1週間ごとにサンプラを交換して行った。

回収した NaNO₂ 含浸ろ紙は裁断し、50ml の超純水に浸し、15分間超音波抽出・ろ過後ろ液中の NO₃⁻ をイオンクロマトグラフ (横河製 IC7000) で分析した。

ポリアミドろ紙は20ml の超純水に浸し、NaNO₂ 含浸ろ紙と同様に操作後、ろ紙に捕集された SO₂ は硫酸イオン (SO₄²⁻) として、HNO₃ は NO₃⁻ として分析した。

大気汚染測定局地点における O₃ により酸化された NO₃⁻ のパッシブ測定データと自動測定機の O_x 測定データとの関係を図4に、同様に SO₄²⁻ と SO₂ の関係を図5に示した。なお、自動測定機のデータはサンプラを設置した1週間の1時間値を平均して用いた (以下「期間平均値」と略す)。

いずれの項目も相関が見られるが (表3)、測定局によるばらつきも見られ、特に SO₂ での偏りが目立った。このばらつきは、西川らの調査²⁾ においても現れており、風通しなどのサンプラを設置した場所の条件の違によると推察されるが、パッシブ法による O₃ 濃度の比較については概ね問題がないと考えられた。

NaNO₂ 含浸ろ紙による NO₃⁻ の標高別濃度分布を図

表3 自動測定機とパッシブサンプリングの相関係数

相関係数	測定局	三馬局	羽咋局	鹿島局	全局総合
オゾン-硝酸イオン		0.85	0.70	0.75	0.71
二酸化硫黄-硫酸イオン		0.87	0.71	0.82	0.47

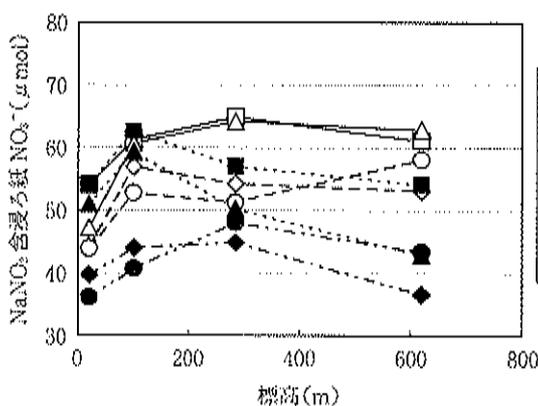


図6 O₃ 酸化による NO₃⁻ の標準別濃度分布 (パッシブ測定: 宝達山)

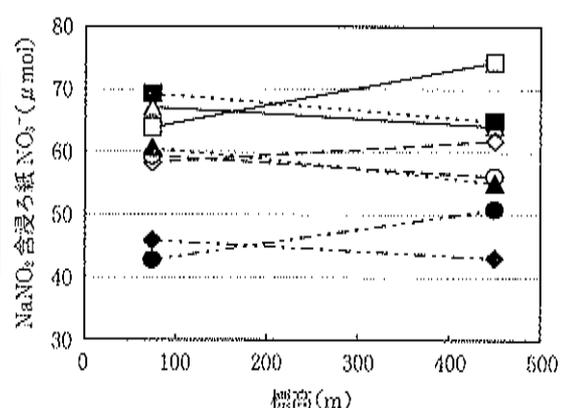


図7 O₃ 酸化による NO₃⁻ の標準別濃度分布 (パッシブ測定: 石動山)

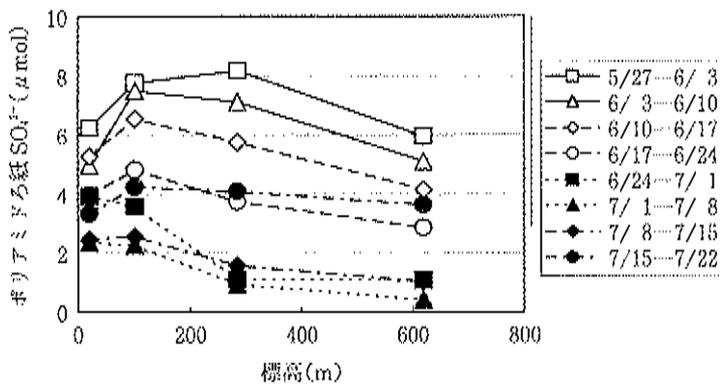


図8 SO₄²⁻の標高別濃度分布 (パッシブ測定：宝達山)

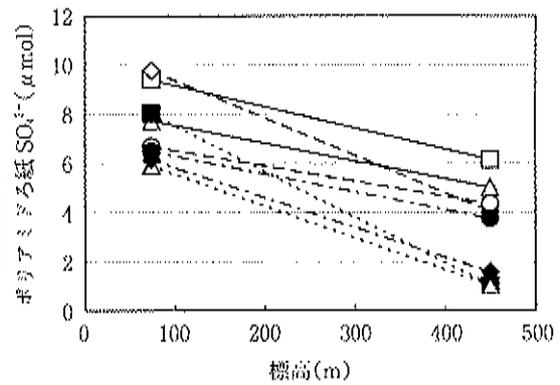


図9 SO₄²⁻の標高別濃度分布 (パッシブ測定：石動山)

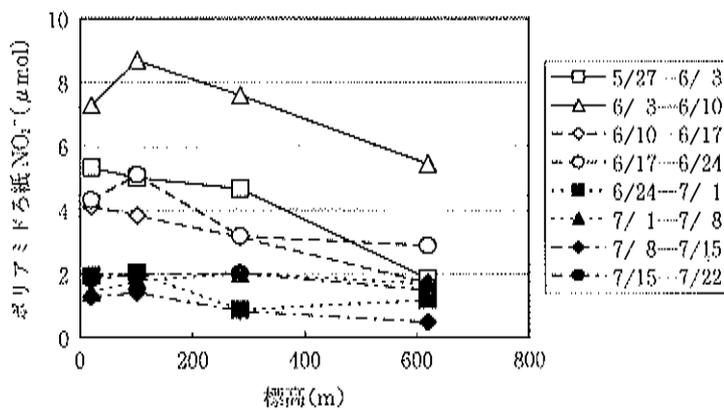


図10 NO₃⁻標高別濃度分布 (パッシブ測定：宝達山)

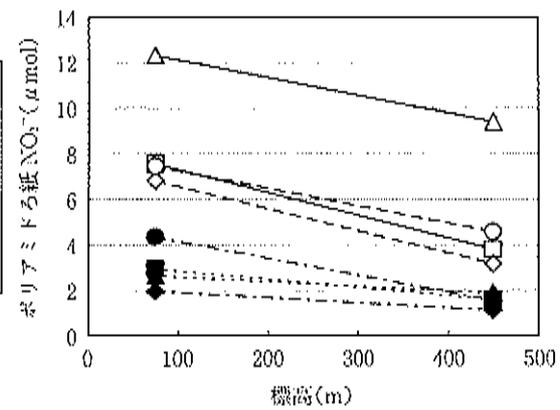


図11 NO₃⁻標高別濃度分布 (パッシブ測定：石動山)

6と図7に示した。ポリアミドろ紙によるSO₄²⁻の標高別推移を、図8と図9に、同様にHNO₃を図10と図11に示した。

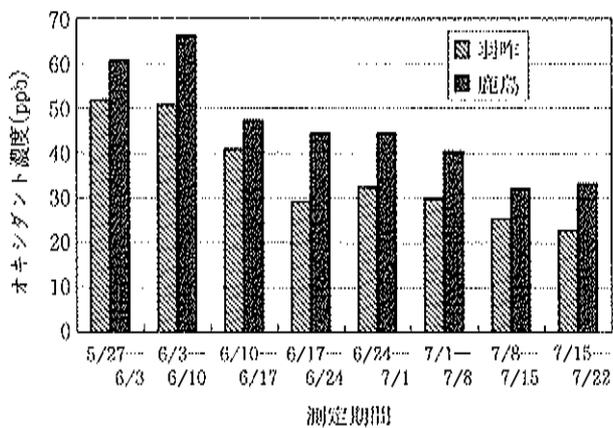


図12 大気監視局におけるオキシダント濃度 (期間平均一時間値)

宝達山系ではいずれの項目も宝達山直近の平地(標高20m)より麓(同101m)が高濃度であった。

一方、麓より標高の高い地点では一次汚染物質のSO₂及びHNO₃は標高が高くなるにつれて濃度の減少傾向がみられ、平地や麓より空気が清浄であった。

しかしながら、一次汚染物質とは逆にNaNO₃含浸ろ紙によるO₃酸化により生成されたNO₃は、測定期間が第1週(5/27~6/3)、第2週(6/3~6/10)及び第8週(7/15~7/22)には平地から宝達山中腹(同285m)にかけて濃度の上昇と、その後中腹から山頂にかけて濃度の横ばい又は若干の低下が見られた。このことから、標高の高い中腹や山頂のO₃濃度が、気象条件によっては平地より高濃度となることが明らかとなった。

石動山でも第1週、第3週(6/10~6/17)及び第8週で宝達山系と同様に標高が高くなるとO₃濃度が高濃度になる傾向がみられた。

鹿島測定局及び羽咋測定局における自動測定機によるO_x濃度の測定結果を図12に示した。

第1週から第8週までの期間平均値が、共に第1週及び第2週に高濃度で、徐々に低濃度に推移した。

先のバッシブ測定によるO₃濃度が標高の高い地点で平地より高くなった期間と、鹿島及び羽咋測定局の自動測定機によるO_x濃度が高くなった第1週と第2週の期間が同じ期間であることから、成層圏からのO₃沈降現象等を示唆するとも考えられるが、メカニズムは解明で

きておらず、今後も調査を続けて解明していきたい。

文 献

- 1) 加藤央之, 藤田慎一, 西宮 昌: 電力中央研究所報告(1985)
- 2) 全環研東海・近畿・北陸支部: バッシブ簡易測定法の実用化検討(2004)