

宮城県における新生児マス・スクリーニング

Neonatal Mass-Screening in Miyagi Prefecture

佐藤 由美 菊地 奈穂子 沖村 容子
秋山 和夫

Yumi SATO, Naoko KIKUCHI, Yoko OKIMURA
Kazuo AKIYAMA

1 はじめに

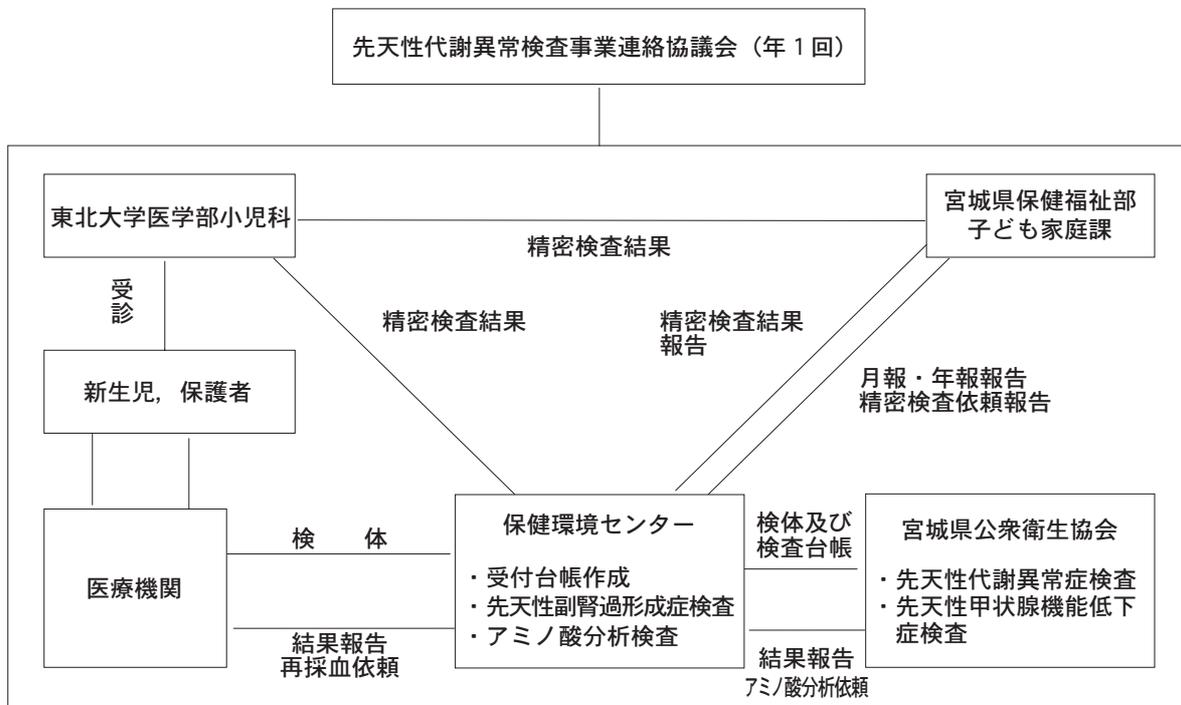
宮城県における新生児マス・スクリーニング事業は、「先天性代謝異常症検査等実施要綱」に基づき、1978年より県内（1989年より仙台市除く）で出生した新生児のうち保護者が検査を希望する者を対象に開始した。開始当時の対象疾患はフェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、メイプルシロップ尿症、ヒスチジン血症、ガラクトース血症の5疾患であったが、1992年9月にヒスチジン血症が除外された。また、1979年10月からは先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）が、1989年1月からは先天性副腎過形成症検査が追加されており、現在の対象疾患は表1に示した代謝異常症4疾患、内分泌疾患2疾患の計6疾患となっている。

2002年度は11,031名について検査を実施し、先天性甲状腺機能低下症患者5名を発見したので報告する。

2 実施方法

検査事業システムを図1に示す。

先天性代謝異常症検査及び先天性甲状腺機能低下症検査は、宮城県公衆衛生協会に委託し、先天性副腎過形成症検査及び検査受付台帳の作成、検査結果の発送、再採血依頼や要精密検査児発生の場合の関係機関との連絡は、保健環境センターで行った。さらに抗生物質を使用しているため、BIA法（ガスリー法）での検査が不可能であった検体等77件については、アミノ酸分析計を用い検査を行った。



先天性代謝異常症検査：フェニルケトン尿症、メイプルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症

図1 検査事業システムフローチャート

表1 新生児マス・スクリーニングの対象疾患

	疾患名	測定項目(測定物質)	検査法	カットオフ値	初回精密検査値
先天性代謝異常症	フェニルケトン尿症	フェニルアラニン	BIA法	4 mg/dl	10mg/dl
	メイプルシロップ尿症	ロイシン	BIA法	4 mg/dl	6 mg/dl
	ホモシスチン尿症	メチオニン	BIA法	1.5mg/dl	4 mg/dl
	ガラクトース血症	ガラクトース	ペイゲン法	8 mg/dl	20mg/dl
Gal-1-P ウリジルトランスフェラーゼ		ポイトラー法	蛍光なし	蛍光なし	
内分泌疾患	先天性甲状腺機能低下症	甲状腺刺激ホルモン	ELISA法	10.00 µU/ml	30.00 µU/ml
	先天性副腎過形成症	17 - ヒドロキシprogesteron	ELISA法	6.0ng/ml (抽出法)	20ng/ml (抽出法)

BIA法：細菌生長阻止法（ガスリー法） ELISA法：酵素免疫抗体法

3 検査方法

3.1 検体

医療機関より郵送された検体（日齢4～6日の新生児のかかとを穿刺して得られた血液をしみ込ませ、乾燥させたろ紙）を3mmディスクに打ち抜き、各対象疾患の検査に用いた。

3.2 検査方法

対象となる6疾患の測定物質、検査法等について表1に示す。

3.3 判定

表1に示したカットオフ値を基準として再採血を依頼した。東北大学医学部小児科への精密検査の依頼は、再採血の結果においても再度カットオフ値を越えた場合と、初回受付で初回精密検査値を越えた場合に行った。

4 実施状況

4.1 検査結果

各対象疾患について総検査件数、再採血依頼数、要精密検査数とその内訳を、表2に示した。

総検査件数、再採血依頼数、精密検査数ともに昨年度とほぼ同様であった。

4.2 不備検体

不備検体の内訳を表3に示す。

不備検体の総数38件中、28件が血液量不足が原因で

あった。「その他」の不備はろ紙への血液の二度つけなどであった。これらの不備検体に対してはその理由を医療機関に連絡し、再採血を依頼した。また同時に、不備検体の減少を目的に正しい採血方法について記載したお知らせの送付なども行っている。

表3 検体不備の内訳

不備理由	件数	
	2002年度	2001年度
血液量不足	28	14
生後4日以前の採血	1	4
採血後10日以上経過	6	11
ろ紙の汚染等	0	0
その他	3	0
合計	38	29

4.3 患児

2002年度に発見した患児の症例を表4に示す。発見した先天性甲状腺機能低下症の5名の患児のうち1名は初回受付検査で精密検査を依頼した。5名とも、東北大学医学部小児科にて治療を行っている。

また、フェニルケトン高値のため精密検査を依頼した児は、検査対象疾患には該当しないアミノ酸代謝異常症であるシトリン欠損症と診断されている。

表2 2002年度検査結果

検査対象疾患	総検査件数	再採血依頼数	要精密検査数	精密検査結果の内訳		
				要治療	要経過観察	異常なし
フェニルケトン尿症	11,034	3	1	1	0	0
ホモシスチン尿症	11,035	4	0	0	0	0
メイプルシロップ尿症	11,037	6	0	0	0	0
ガラクトース血症	11,055	24	4	0	0	4
先天性甲状腺機能低下症	11,271	240	24	5	9	10
先天性副腎過形成症	11,165	139	15	0	1	14
合計	66,597	416	44	6	10	28
2001年度	66,663	404	48	6	7	35

総検査件数 = 初回検査件数 + 再検査件数

表4 2002年度新生児マス・スクリーニング発見患児例

	性別	生年月日	マス・スクリーニング結果		
			測定項目	初回検査	再検査
1	女	2002 / 4 / 1	TSH	16.6	19.3
2	女	2002 / 7 / 1	TSH	71.1	-
3*	女	2002 / 10 / 7	PHE	4.0	4.0
4	男	2002 / 12 / 13	TSH	22.1	24.5
5	女	2002 / 12 / 27	TSH	14.9	13.7
6	女	2003 / 1 / 4	TSH	11.5	18.9

TSH：甲状腺刺激ホルモン（µU/ml）

PHE：フェニルアラニン（mg/dl）

*精密検査の結果、シトリン欠損症により要治療との報告

宮城県における神経芽細胞腫マス・スクリーニング

Neuroblastoma Mass-Screening for 6-months-old Infants in Miyagi Prefecture

佐藤 由美 菊地 奈穂子 沖村 容子
秋山 和夫

Yumi SATO, Naoko KIKUCHI, Yoko OKIMURA
Kazuo AKIYAMA

1 はじめに

神経芽細胞腫は小児がんの一種であり、神経冠細胞由来の細胞から発生するため、多くの場合カテコールアミンを産生・分泌する。従って腫瘍が存在するとカテコールアミンの代謝産物であるバニルマンデル酸 (VMA)、ホモバニリン酸 (HVA) が尿中へ大量に排泄される場合が多く、それらを指標とする神経芽細胞腫マス・スクリーニングが可能である。

宮城県においては「宮城県神経芽細胞腫検査事業実施要綱」に基づき、1985年10月より生後6か月児を対象としたマス・スクリーニングを開始し現在に至っている。

2002年度は、9,914件(一次検査9,612件 二次検査302件)の検査を実施し、患児2名を発見したので報告する。

2 実施方法

神経芽細胞腫検査事業システムを図1に示す。

市町村における3～4か月児の乳児健康診査の際に、保護者に対し保健師が神経芽細胞腫マス・スクリーニングについての説明を行い、採尿セット(ろ紙、封筒、説明書)を配布した。

3 検査方法

3.1 試料調整

保護者より郵送された検体(東洋ろ紙No.327に受検者尿を滴下し、乾燥させたもの)を9mmディスクに打ち抜き、蒸留水600μlで室温30分間振とう抽出し試料とした。これを高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用いてVMA, HVA, クレアチニンの同時分析法で測定した。

3.2 測定条件

VMA・HVA分析計: 東ソー製 HLC-726VMA

HPLC: 島津製 LC-10AD VP

UV検出器: 島津製 SPD-10A VP

電気化学検出器: esa製 coulochem

カラム: 島津製 shim-pack NB-VMA

移動相: 島津製 神経芽細胞腫マス・スクリーニングシステム用移動相

流速: 0.8ml/min

カラム温度: 50

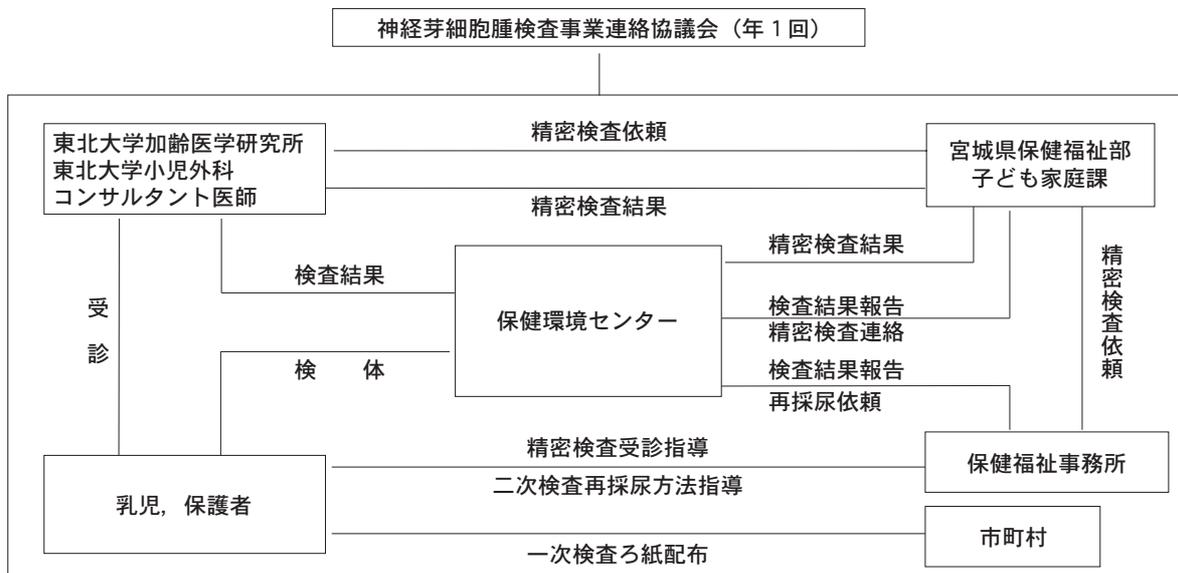


図1 検査事業システムフローチャート

3.3 判 定

VMA、HVAの値は尿中のクレアチンあたりの値に換算し、平均値+2.5SD以上をカットオフ値（異常高値）として判定した。

4 実施状況

4.1 一次検査結果

一次検査結果を表1に示す。

受検率は保健福祉事務所によって若干差が見られるものの、県全体で82.4%、疑陽性率は3.2%であり、いずれも昨年とほぼ同様の結果であった。

表1 2002年度一次検査結果

保健福祉事務所（支所）	受付数	不備数	検査件数	陰性数	疑陽性数（%） ¹	受検率 ²
仙 南	1,382	28	1,354	1,308	4(3.4)	82.8
岩 沼	1,314	24	1,290	1,247	4(3.3)	85.1
黒 川	625	12	613	601	1(2.0)	89.1
塩 釜	1,435	18	1,417	1,370	4(3.3)	81.4
大 崎	1,616	34	1,582	1,523	5(3.7)	80.7
栗 原	490	7	483	467	1(3.3)	84.4
登 米	668	14	654	631	2(3.5)	82.3
石 巻	1,571	22	1,549	1,514	3(2.3)	78.5
気仙沼	682	12	670	648	2(3.3)	84.6
合 計	9,783	171	9,612	9,309	30(3.2)	82.4
2001年度	9,833	159	9,674	9,351	32(3.3)	82.3

受付数 - 不備数 = 検査件数 = 陰性数 + 疑陽性数

1 疑陽性数(%) : 疑陽性数 / 検査件数

2 受検率 : 検査件数 / 届出出生数

4.2 不 備 検 体

不備理由内訳を表2に示す。

細菌汚染による不備が全体の約半数を占め、ついで日数経過であった。「その他」の12件には、採尿月日不明が11件、ろ紙の直射日光乾燥が1件あった。不備検体については、再採尿依頼時に採尿方法の注意を記載したお知らせを同封することなどによる効果が認められ、ほとんどが適切に採尿されて、再検査が行われている。

4.3 二次検査結果

二次検査結果を表3に示す。

受付数は昨年度よりやや減少した。また、保健福祉事務所の保護者に対する個別指導によって、多くが二次検査

査では適切に採尿された検体が送付され陰性の結果が得られたことから、一次検査で疑陽性と判定された要因には、食事（HVAは特定の食物摂取により一過性に高値になりやすい）や体調などの影響が考えられた。再々検依頼数については26件となり、昨年度とほぼ同数となった。

また、2002年度は12名の精密検査を東北大学加齢医学研究所に依頼し、そのうち2名が患児であった。

表2 不備検体の理由内訳

保健福祉事務所（支所）	日数経過	6か月未満	尿濃度が薄い	細菌汚染	その他	不備数合計（%） ¹	問合わせ数（%） ²
仙 南	4	5	1	16	2	2(2.1)	61(4.4)
岩 沼	6	4	3	10	1	2(1.9)	3(3.0)
黒 川	0	0	5	6	1	1(2.0)	3(5.3)
塩 釜	7	1	1	8	1	1(1.3)	4(3.3)
大 崎	12	0	3	17	2	3(2.1)	6(3.9)
栗 原	2	0	0	5	0	1(1.4)	1(2.4)
登 米	2	0	4	6	2	1(2.1)	2(3.9)
石 巻	4	4	3	8	3	2(1.4)	4(3.1)
気仙沼	3	0	1	8	0	1(1.8)	1(2.6)
合 計	40	14	21	84	12	17(1.7)	34(3.6)

1 不備数合計(%) : 不備数 / 受付数

2 問合わせ数(%) : 問合わせ数 / 受付数

表3 2002年度 二次検査結果

年度	受付数	不備数	検査件数	陰性数	再々検依頼数（%） ¹	精密検査数（患児数）
1998	408	2	406	326	6(16.5)	1(1)
1999	503	0	503	446	4(9.3)	10(1)
2000	409	0	409	386	14(3.4)	9(4)
2001	353	4	349	307	2(8.0)	14(2)
2002	302	0	302	264	2(8.6)	1(2)

受付数 - 不備数 = 検査件数 = 陰性数 + 再々検依頼数 + 精密検査数

1 再々検依頼数(%) : 再々検依頼数 / 検査件数

4.4 患 児

患児の症例を表4に示す。

症例1・2とも一次検査受検時からVMA・HVAともに高値を示していた。症例1は病期 ，症例2は病期 で発見されている。

表4 2002年度マス・スクリーニング
発見患児症例

患 児		1		2	
生 年 月 日		2002.2.4		2002.5.6	
性 別		男		男	
出 生 後 月 数		6か月		8か月	
測 定 項 目 ($\mu\text{g}/\text{mgCre}$)		VMA	HVA	VMA	HVA
マス・スクリーニング	一次	85.4	40.1	31.4	43.1
	二次	89.0	47.9	29.0	39.3
腫瘍発生部位		左副腎		右副腎	
病 期		Ⅲ		Ⅰ	

5 事業開始からの検査結果

マス・スクリーニング開始時からの検査件数及び発見患児数を表5に示す。

開始時の1985年度は、一次検査がDip法によるVMAの定性検査、二次検査はHPLCによるVMA、HVAの定量検査であったが、1988年7月からは要綱の改正に伴い、一次、二次検査ともにHPLCによるVMA、HVAの定量検査を実施している。

1985年10月の開始より約18年間で248,632名を検査し、39名の患児を発見した。HPLCによる定量検査開始からの患児発見率は1/5,194人である。

表5 マス・スクリーニング開始時からの検査件数
及び発見患児数

年 度	検査件数 (受検率)	発 見 患児数	発 見 率	
1985(10月開始)	9,523(65.5)	0	1/28,217人 Dip法 (定性試験)	
1986	20,961(76.2)	1		
1987	20,931(77.4)	0		
(4月~6月)	5,019	1		
1988	(7月~3月)	15,439(79.5)	3	1/5,194人 HPLC法 (定量試験)
1989	21,055(86.5)	2		
1990	20,954(88.6)	4		
1991	20,680(90.3)	5		
1992	11,538(89.3)	1		
1993	11,113(90.1)	2		
1994	10,879(87.4)	3		
1995	10,902(87.4)	0		
1996	10,365(87.1)	4		
1997	10,580(86.8)	3		
1998	10,031(83.2)	1		
1999	9,726(81.9)	1		
2000	9,650(81.3)	4		
2001	9,674(82.3)	2		
2002	9,612(82.4)	2		
合 計	248,632(83.1)	39		

健康食品の分析事例について

A Study of Analysis of Health Foods

高橋 紀世子 佐藤 信俊 大江 浩*

Kiseko TAKAHASHI Nobutoshi SATO Hiroshi OOE

キーワード：健康食品，健康茶，N- ニトロソフェンフルラミン，フェンフルラミン，
高速液体クロマトグラフィー / 質量分析法

Key Words : Health Foods , Health Tea , N-nitrosofenfluramine , Fenfluramine , LC/MS

1 はじめに

平成14年10月厚生省は、宮城県で製造されたダイエットなどを標榜した健康茶を飲んだ高知県の女性が急性肝炎を起こして重体となったとして、健康茶との因果関係は不明ではあるが、被害の拡大を防ぐ目的で商品名を公表した¹⁾。この公表は厚生省通知²⁾「健康食品・無承認無許可医薬品健康被害防止対応要領」に基づき、あくまでも予防的観点、健康被害を未然に防止する観点から製品名等を公表したもので、本製品がその第一号であった。

昨年7月以降、カプセルや錠剤などの中国産「やせ薬」による肝機能障害が問題化していたが、お茶による肝機能障害の可能性が報告されたのは初めてであった。

N- ニトロソフェンフルラミンはフェンフルラミンのニトロソ化合物であり(図1)、その毒性や薬理作用は不明ではあったが医薬品成分として取り扱うことになった(その後の動物実験で肝障害作用が明らかとなった³⁾)。

健康食品と称する製品を摂取後、肝障害を含む健康被害事例が発生していたことから、厚生労働省

は無承認無許可医薬品の取締まりを強化するため、N- ニトロソフェンフルラミンはLC/MS法とLC法を、また、フェンフルラミンはGC/MS法とLC法を暫定的な分析法として通知した⁴⁾。しかしこれらは、それぞれの個別分析法であるために両者を同時に分析する方法が求められた。

今回、N- ニトロソフェンフルラミンおよびフェンフルラミンのHPLC 及びLC/MSによる一斉分析法を検討し、健康茶を分析した事例と、両物質が含有されているとして公表されている健康食品を入手したので、この分析事例もあわせて報告する。

* 現 生活衛生課

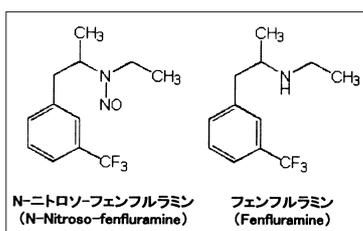


図1 構造式

2 実験方法

2.1 試料

健康茶(花柳茶, 以下K), 健康食品(御堂肥囊, 以下G)

2.2 試薬及び試液

アセトニトリル, メタノール(液体クロマトグラフィー用及び残留農薬分析用・和光純薬(株)及び関東化学(株)), トリフルオロ酢酸(以下TFA東京化成(株), MERCK), ドデシル硫酸ナトリウム(以下SDS 生化学用和光純薬(株)), N- ニトロソフェンフルラミン(以下NF 国立医薬品食品研究所より分与(定性用), 和光純薬 薬理研究用)フェンフルラミン塩酸塩(以下FF和光純薬 生化学用)

標準溶液: NF及びFF塩酸塩(FFとして)各々10mgを精秤してメタノールに溶解し全量を100ml(100ppm)とした。必要に応じてアセトニトリル/水で希釈した。

2.3 装置

高速液体クロマトグラフ: HP1100

高速液体クロマトグラフ/質量分析計: HP1100シリーズLC/MSD

2.4 操作条件

1) HPLC

カラム: TSKgel ODS-80Ts(2 mm i.d. x 150mm, 粒径5 μm 東ソー(株)製), カラム温度: 40 °C, 移動相: 種々のbufferを検討 流速: 0.2 ml/min, 注入量: 10 μl, 測定波長: UV 210, 234, 263nm

2) LC/MS

カラム, カラム温度, 流速, 注入量, 移動相: HPLC条件と同じ, イオン化法: ESIポジティブ, SCAN(M/Z 100-400)フラグメンター電圧80V SIM(M/Z 232, 261, 302)フラグメンター電圧120V

2.5 試験溶液の調製

国の暫定法に準じた。つまり、健康茶1パック(約2g)及び健康食品1カプセル(約0.26g)を精密に量り、メタノール10mlを加え10分間振とうする。遠心分離後抽

出液を分別する。残さにメタノール10ml, 5 mlで2回繰り返し返した後これらを合わせてメタノールで全量を25mlとし、試験溶液とする。

3 結果及び考察

3.1 HPLC分離条件の検討

健康食品等緊急に分析を行う場合は、その時点のHPLC機器の移動相条件にてとりあえず分析を実施する場合も考えられる。暫定分析法を含め種々の移動相条件を検討した。

1) TFAとSDSを移動相に用いた場合

HPLCでのNFの測定における国の暫定法では、アセトニトリル/水/TFA(60/40/0.1)を移動相として用いる。しかし、この条件では逆相系カラムにFFが保持されにくいいため、イオンペア剤としてSDSを加える方法がFFの暫定測定法となっている。この方法を参考にして、移動相としてアセトニトリル/水/SDS/TFA(50/50/0.6/0.1)を用いて両物質を測定すると、NFが保持時間(以下RT)12.0分、その異性体が13.3分に、FFが17.3分に溶出されたが、検出波長210nmでの移動相のノイズが高いため、検出感度はNFで1ppm, FF5ppmと低かった。図2にFF25ppm, NF(定性用)7.5ppmの210nmでのクロマトグラムを示す。

この移動相では微量に混入しているものについては検出が難しいものと思われる。

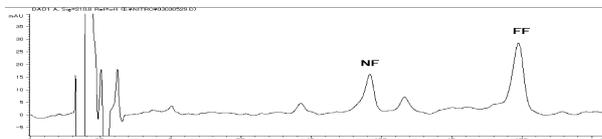


図2 移動相にイオンペア剤を用いたLCクロマト
移動相: CH₃CN/H₂O/SDS/TFA (50/50/0.6/0.1)
標準 NF7.5ppm, FF25ppm UV210nm

2) 酢酸を移動相に用いた場合

LC/MSでの国のNFの暫定的な分析法での移動相は、アセトニトリル/水/酢酸(60/40/2)である。HPLCの分析だけでなく、後にLC/MS測定する場合でのイオン化室への汚染を考慮し、酢酸の濃度を0.3%とした。この移動相でもFFは保持されにくいとウォーターディップの中に入ってしまう。そこで、初期のアセトニトリルの濃度を低くし、しかもNFの保持時間を速めるため、1分間までを20%アセトニトリル、3分から60%アセトニトリルのグラジエントとする条件で、8.8分にFF, 15.1分にNFを溶出することができた。

ただし、UVでのFFはグラジエントによるベースラインのドリフトを少なくするために、360nmでのレファレンスをとる必要があり、263nmを検出波長とした。NFの検出波長は210nm及び234nmとした。検量線はFFが0.2~5ppm, NFは0.1~5ppmまで直線で相関係数が0.999以上であった。標準物質の2ppmのLCクロマトグラム

(263nm)を図3に示す。

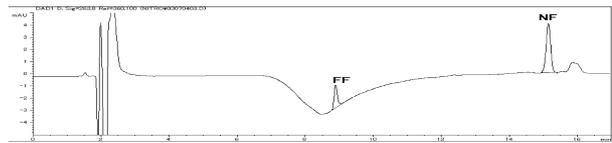


図3 移動相に酢酸を用いたLCクロマト

移動相: 0.3%酢酸(20%CH₃CN(1min) 60%CH₃CN(3min))
標準 2ppm UV263nm

3) 酢酸アンモニウムを移動相に用いた場合

一般的な移動相として使用される酢酸アンモニウムを用いて検討した。塩濃度はイオン化室への汚染を考慮し低濃度とするため5mMとし、アセトニトリル濃度は60%とすることで、FFが4.6分, NFが6.8分に溶出した。検出波長はFFが210, 263nm, NFが210, 234nmとし、検量線は0.1~5ppmまで10μl注入で相関係数が0.999以上であった。標準1ppmのクロマトグラムを図4に示した。

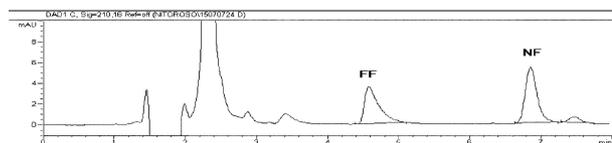


図4 移動相に酢酸アンモニウムを用いたLCクロマト

移動相: 60%CH₃CN/5mM酢酸NH₄
標準 1ppm UV210nm

3.2 LS/MS定量法の検討

フローインジェクション(FIA)法よりMS測定条件の検討をおこなった。その結果、SCANではNFのM+H+MeCN:302が確認できるフラグメンター電圧として80V, SIMによる定量ではFFのM+H:232及びNFのM+H:261で感度が良いフラグメンター電圧として120Vを用いることとした。ただし、今回は医薬品で含有量が多いと考えSCANで定量することとした。これらのモニターイオンによる感度はFFがNFよりかなり高く、面積比で20倍以上であり、0.1~5ppmの検量線では高濃度側で放物線を描いたが、二次曲線での相関係数は0.999以上であった。NFは0.1~5ppmで直線の検量線で相関係数0.999以上であり、それらの検量線を図5, 6に示した。また、

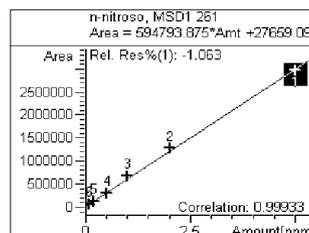


図5 NFのMSD検量線

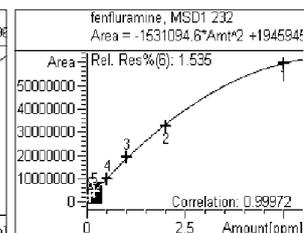


図6 FFのMSD検量線

標準1ppmのUVとMSDのイオンクロマトグラムを図7

に示し、0.1ppmの5回繰り返し測定値を表1に示した。NFではUV測定でのバラツキは低く、MSの値の1/3~1/6であった。検出下限値(3)はFF, NF共に0.02ppm、定量下限値(10)は0.1ppmとした。

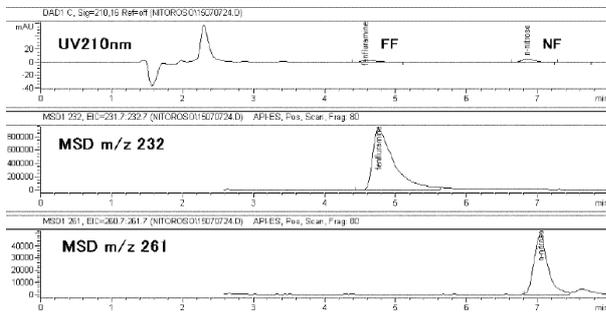


図7 標準1ppmのUV及びMSDのクロマトグラム
移動相：60%CH₃CN/5mM酢酸NH₄

表1 標準溶液0.1ppmの繰り返し精度 (ppm)

	fenfluramine			N-nitrosafenfluramine		
	DAD 210	DAD 263	MSD 232	DAD 210	DAD 234	MSD 261
A.V	0.114	0.116	0.098	0.114	0.109	0.110
	0.0067	0.0058	0.0035	0.0012	0.0029	0.0076
CV%	5.91	4.98	3.63	1.04	2.69	6.92
3	0.020	0.017	0.011	0.0036	0.0088	0.023
10	0.067	0.058	0.035	0.012	0.029	0.076

3.3 健康茶及び健康食品の分析結果

1) 移動相：酢酸/アセトニトリル

健康茶Kは12種の原料茶葉(日本, 中国, インド, 南アフリカ産)を焙煎, ブレンドしてティーパックにしている。試験溶液を10倍希釈後測定した結果, UVではFFのRTに妨害成分が多く検出不能であった。一方, NFのRTには妨害ピークも無くUVでの測定は可能であったが, 健康茶KからNFは不検出であった。LC/MSで確認したところ, 健康茶KからFF, NFの2物質は検出されなかった(検出下限値0.002%)。

また, 健康食品G試験溶液を20倍希釈したものにFF標準を0.5ppmとなるよう, また, 試験溶液を200倍希釈したものにNFを0.6ppmとなるよう添加してその回収率を求め, その結果を表2に示した。保持時間近くでベースラインが下降するFF(263nm)の回収率がやや低い, その他は90~105%と良い回収率が得られた。この健康食品Gの定量値としてLC/MSの値を用いると, FF及びNFの各々の濃度は0.05%及び2.0%であった。

2) 移動相：酢酸アンモニウム/アセトニトリル
健康茶Kの試験溶液を10倍希釈したもの, 及び健康食品Gの試験溶液の10倍と200倍希釈溶液にFF及びNFを各1ppmとなるよう添加しその回収率を求めた結果を表3

表3 標準添加回収試験(移動相：酢酸アンモニウム/アセトニトリル)

検出器	fenfluramine (%)		N-nitrosafenfluramine	
	健康茶K-2	健康食品G-2	健康茶K-2	健康食品G-2
UV 210nm	*	90.2	96.2	99.3
UV 234nm			95.2	101
UV 263nm	*	*		
MS 232M/Z	81.7	82.0		
MS 261M/Z			83.2	88.2

* 妨害にて定量不可

に示した。1)同様に前処理は試料をメタノールにて抽出するだけの操作であり, 抽出液に標準を添加して妨害の有無を検討することを目的としたため, 回収率試験は1回だけとした。健康茶Kでは, FFがUVでの妨害ピークで測定不能であったが, MSでは回収率82%, NFはUVでの回収率が95~96%, MSでは83%であった。健康茶K自体からはFF, NF共に検出はされなかった。

健康食品Gでも, FFの回収率がUVでは90%, MSでは82%であり, MSの回収率はUV値に比較して低めであった。また, NFでもUVでの回収率は99~101%であるが, MSでは88%であり, LC/MSでのイオン化が充分でなかつ

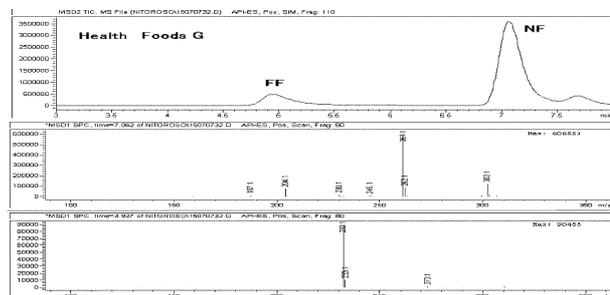


図8 健康食品Gのマスペクトル
(試験溶液10倍希釈)

たと考えられる。健康食品G自体の濃度はLC/MSの値を用いた場合, FFは前回測定値0.05%の約1/10濃度の0.006%, NFが1.8%であった。図8に健康食品G(試験溶液を10倍希釈)のマスペクトルを示した。

厚生労働省の中国製ダイエット用健康食品(未承認医薬品)に関する調査結果(概要)³⁾によると, 健康茶G

表2 健康食品Gの標準添加回収試験(移動相：酢酸/アセトニトリル)

検出器	fenfluramine (ppm)			N-nitrosafenfluramine (ppm)		
	試験液20倍希釈	標準0.5ppm添加	回収率%	試験液200倍希釈	標準0.6ppm添加	回収率%
UV 210nm	*	*	*	0.96	1.5	96.0
UV 234nm				0.95	1.6	105
UV 263nm	0.34	0.71	74.6			
MS 232M/Z	0.34	0.84	100			
MS 261M/Z				1.02	1.6	89.5

* 妨害にて定量不可

のNF濃度は2001年9月～11月製造品の1%台から2002年2月～3月の5%台へと、半年で約5倍と急上昇していると報告している。今回の製品の製造時期は不明であるが、濃度が1.8～2.0%であり、報告値の中間的な値であった。

4 ま と め

- 1) 宮城県内で製造された健康茶を飲んだ女性が重症肝障害になったとして、因果関係は不明ではあるが商品名の公表があり、N-ニトロソフェンフルラミンとフェンフルラミンの分析を行ったが、この健康茶からは両物質は検出されなかった。
- 2) N-ニトロソフェンフルラミンとフェンフルラミンのLC及びLC/MSでの一斉分析法として、移動相条件は酢酸/アセトニトリルまたは酢酸アンモニウム/アセトニトリルで、UV又はMSにより標準品として1ngまで検出できた。UVでの回収率は90～101%、MSでは82～88%であった。

- 3) N-ニトロソフェンフルラミンとフェンフルラミンを含有しているとして公表されている健康食品からは、1.8～2.0%のN-ニトロソフェンフルラミンと0.006～0.05%のフェンフルラミンが検出された。

5 参 考 文 献

- 1) 健康食品等健康被害情報① 平成14年10月4日厚生労働省食品保健部
- 2) 平成14年10月4日付医薬発第1004001号「健康食品・無承認無許可医薬品健康被害防止対応要領について」厚生労働省医薬局長
- 3) 中国製ダイエット用健康食品（未承認医薬品）に関する調査結果（概要）厚生労働省ホームページ 平成15年2月12日
- 4) 平成14年7月29日付医薬監麻発第729009号「いわゆる健康食品と称する無承認無許可医薬品の監視指導について」

LC/MSによる残留農薬一斉分析

Simultaneous Analysis Method of Residual Pesticides with LC/MS

氏家 愛子 長船 達也 大江 浩*¹

Aiko UJIIE, Tatsuya OSAFUNE, Hiroshi OOE

キーワード：残留農薬，LC/MS，一斉分析

Key Words：Residual Pesticides，LC/MS，Simultaneous Analysis Method

1. はじめに

昨年度、長船ら¹⁾は、告示法²⁾で示されたHPLC分析対象農薬51種の農薬のうち、加水分解、pH調整、置換基修飾等の工程をとらず、従来のルーチン分析による抽出方法が適用可能と考えられる24種の農薬について、一斉分析法の検討を行った。その結果、感度が低いことまたは保持時間(RT)の重なり等で定量ができない8農薬を除く16農薬の一斉分析法が可能となった。今年度は、LC/MSの導入に伴い、これら16農薬に定量ができなかった8農薬、さらにイプロジオン等4農薬(+2代謝物)を加えた一斉分析方法の検討を行った。また、併せて、HPLC-ポストカラム法³⁾で分析をしているN-メチルカーバメイト系農薬についても、検出された場合の確認法としてLC/MSによる分析条件の検討を行った。

2. 試薬および装置

2.1 試薬

農薬標準品：残留農薬試験用標準品(既報¹⁾)での対象外農薬：クロリムロンエチル、シクロスルファミロン、ダイムロン、クミルロン、ジクロメジン、テブフェノジド、エトベンザニド、ルフエヌロン、新たな追加農薬：イプロジオン、イプロジオン代謝物、プロベナゾール、シモキサニル、ベンスルフロメ

チル、エトベンザニド代謝物)
有機溶媒：残留農薬・PCB試験用300及びHPLC用
精製水：ミリQ水
無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用
酢酸アンモニウム：試薬特級
Bond Elut SAX/PSA：バリアン社製
2.2 装置
LC/MS：HP 1100 Series

3. 結果

3.1 抽出および精製

追加12農薬(+2代謝物)について、ルーチン分析の試料調整法が適用できるかどうか標準添加回収試験による検討を行った。日本なし20gに13農薬混合標準溶液1μg/mlを200μl添加した回収試験結果を表1に示す。(イプロジオンは代謝物との和として測定を行ったので、イプロジオン代謝物は添加していない。)

クロリムロンエチル、プロベナゾール、エトベンザニド代謝物は、ODS系カラムでの保持時間が非常に短く、測定ができなかった。また、ベンスルフロメチル及びシクロスルファミロンは、この抽出・精製方法では全く回収されなかったが、表1に示すシモキサニル等8農薬は80±1.6%~100±7.3%で良好な結果が得られた。この結果、14農薬のうち9農薬(イプロジオン代謝物も含む)に従来の抽出法が適用可能であった。

表1 日本なしの標準添加回収試験結果

	農薬名	n = 3
1	クロリムロンエチル	-
2	プロベナゾール	-
3	エトベンザニド代謝物	-
4	シモキサニル	83±3.0
5	ベンスルフロメチル	-
6	シクロスルファミロン	-
7	ダイムロン	88±6.4
8	クミルロン	100±7.3
9	ジクロメジン	100±3.0
10	イプロジオン(+代謝物)	86±6.1
11	テブフェノジド	93±7.3
12	エトベンザニド	86±3.6
13	ルフエヌロン	93±2.2

表2 HPLC条件(25農薬)

カラム：Tskgel ODS-80Ts, 2.0mm(ID)×15cm(L), 東ソー(株)製
カラム温度：40
移動相：A；5mM-酢酸アンモニウム
 B；メタノール
グラジュエント条件：

	A	B
initial	60	40
20min	30	70
25min	30	70
40min	20	80
50min	20	80
60min	0	100
70min	0	100
Stop		

流速：0.2ml/min
注入量：10μl, 注入モード：Needle Wash

* 1 現 環境生活部生活衛生課

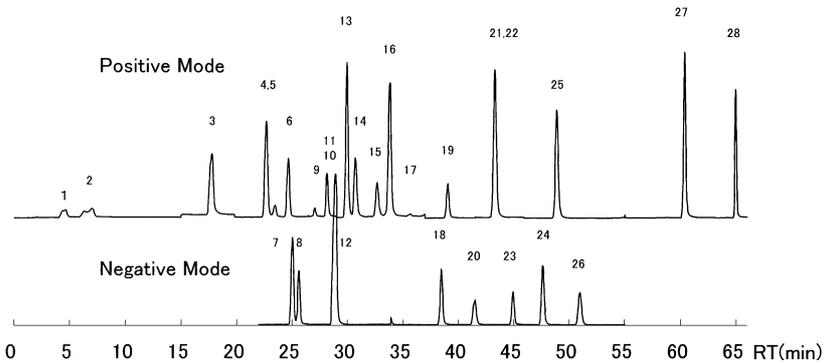
表3 LC/MS分析条件 (25農薬)

No.	農薬名	RT (min)	mode	Frag.V	m/z	イオン導入電圧			Spray Chamber
						Pos: 3000 Neg: 2500	Pos: 3500 Neg: 3000	Pos: 4000 Neg: 3500	
1	トリベヌロンメチル	4.749	p	100	155	1.00	1.03	0.97	• Gas Temp. 350 • Drying Gas 10l / min • Nebriizer Pres. 40Psi
2	シモキサニル	6.865	p	70	199	1.00	1.04	1.04	
3	メタバズチアズロン	17.843	p	100	222	1.00	1.05	0.95	
4	ジエトフェンカルブ	22.741	p	100	268	1.00	1.04	0.94	
5	ジメトモルフE	23.501	p	100	388	1.00	1.05	0.98	
6	ジメトモルフZ	24.725	p	100	388	1.00	1.03	0.99	
7	ダイムロン	25.082	n	100	327	1.00	0.87	0.83	
8	クミルロン	25.650	n	100	361	1.00	0.87	0.84	
9	ジクロメジン	27.115	p	100	255	1.00	1.05	1.04	
10	イブロジオン	28.072	p	150	352	代謝物として測定			
11	ジフルベンズロン	28.296	p	150	333	1.00	1.00	0.87	
12	テブフェノジド	28.936	n	100	351	1.00	0.87	0.86	
13	シブロジニル	29.973	p	150	226	1.00	1.05	0.97	
14	エトベンザニド	30.911	p	100	340	1.00	1.02	0.97	
15	クロフェンテジン	32.900	p	100	303	1.00	1.00	0.91	
16	ベンシクロン	33.960	p	100	329	1.00	1.04	0.95	
17	イブロジオン代謝物	35.599	p	150	330	1.00	1.14	1.19	
18	ヘキサフルムロン	38.666	n	150	459	1.00	1.02	0.94	
19	ペントキサゾン	39.281	p	70	371	1.00	1.08	1.08	
20	テフルベンズロン	41.518	n	150	379	1.00	0.99	0.86	
21	フェンピロキシメートZ	43.271	p	100	422	1.00	1.01	1.01	
22	ヘキシチアゾクス	43.345	p	100	353	1.00	1.09	1.11	
23	ルフェヌロン	44.930	n	150	509	1.00	1.03	0.92	
24	フルフェノクスロン	47.794	n	100	487	1.00	1.08	1.02	
25	フェンピロキシメートE	49.129	p	100	422	1.00	1.08	1.02	
26	クロルフルアズロン	50.974	n	100	520	1.00	1.00	0.09	
27	エトフェンブロックス	60.360	p	100	394	1.00	1.07	1.02	
28	シラフルオフェン	64.941	p	150	287	1.00	0.81	0.96	

3.2 LC/MS分析条件の検討

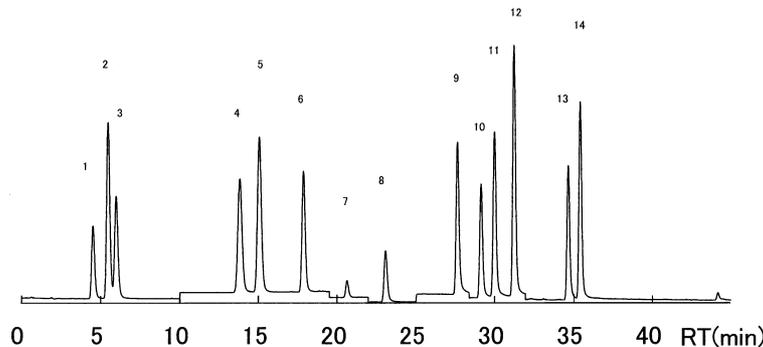
既報¹⁾でHPLC分析で可能となった16農薬にフェンピロキシメート(E)の異性体であるフェンピロキシメート(Z)及び、既に回収率が良好であることが確認済み⁴⁾であるジエトフェンカルブを追加し、今回回収率を確認した8農薬とイブロジオン代謝物の計25農薬(28種)の条件を検討した。

HPLC測定条件を表2に、MS測定条件(ESI:エレクトロスプレーイオン化法)及びMSでのイオン導入電圧(Vcap)について、Positiveモード3000V, Negativeモード2500Vの感度を基準にした相対感度を表3に示す。この結果から、全体的に感度の高いPositiveモード3500V, Negativeモード3000Vを採用した。標準混合溶液は2 ng/ml ~ 100ng/mlまでAbundanceと良好な直線関係が得られたため、試料はメタノールで10倍に希釈して測定を行った。クロマトグラムを



1:トリベヌロンメチル, 2:シモキサニル, 3:メタバズチアズロン, 4:ジエトフェンカルブ, 5:ジメトモルフE, 6:ジメトモルフZ, 7:ダイムロン, 8:クミルロン, 9:ジクロメジン, 11:ジフルベンズロン, 12:テブフェノジド
 13:シブロジニル, 14:エトベンザニド, 15:クロフェンテジン, 16:ベンシクロン, 17:イブロジオン代謝物, 18:ヘキサフルムロン, 19:ペントキサゾン, 20:テフルベンズロン, 21:フェンピロキシメートZ,
 22:ヘキシチアゾクス, 23:ルフェヌロン, 24:フルフェノクスロン, 25:フェンピロキシメートE, 26:クロルフルアズロン, 27:エトフェンブロックス, 28:シラフルオフェン

図1 トータルイオンクロマトグラム (25農薬)



1:アルシカルブスルホキド, 2:アルシカルブスルホ, 3:オキサミル, 4:エチオフェンカルブスルホ, 5:エチオフェンカルブスルホキド, 6:メチオカルブスルホキド,
 7:メチオカルブスルホ, 8:アルシカルブ, 9:ベンダイオカルブ, 10:カルバリル, 11:エチオフェンカルブ, 12:ピリミカルブ, 13:フェノカルブ, 14:メチオカルブ

図2 トータルイオンクロマトグラム (N-メチルカーバメイト系農薬)

1に示す。リテンションタイムの早いトリベヌロンメチル及びシモキサニルは、標準溶液及び試料の溶解溶媒をメタノールにすると、移動相との溶媒比によりピーク形状が悪くなるため、水/メタノールの混合溶液を使用し検討した。この結果、水/メタノール(2/8)でピーク形状に影響のないクロマトグラムが得られた。しかし、この溶媒では実試料のマトリックスが懸濁するものが多く、試料のろ過操作が必要となり、また一部の農薬に原因不明のAbundance低下が認められたことから、今回の検討では試料等の溶解溶媒をメタノールとした。このため2農薬のピーク形状が悪くなっている。定量下限値は5ng/ml。

また、N-メチルカーバメイト系農薬のHPLC測定条件を表4に、MS測定条件を表5に示す。N-メチルカーバメイト系農薬の標準混合溶液及び試料は、移動相の溶媒比によるピーク割れを起こさないよう水/メタノール(1

表4 HPLC分析条件(N-メチルカーバメイト系農薬)

カラム: Tskgel ODS-80Ts, 2.0mm(ID)×15cm(L)、東ソー(株)製
 カラム温度: 40
 移動相: A; 5mM-酢酸アンモニウム
 B; メタノール
 グラジュエント条件: A B
 initial 80 20
 5min 80 20
 40min 10 90
 45min 10 90
 Stop
 流速: 0.2ml/min
 注入量: 10µl, 注入モード: Needle Wash

表6 標準添加回収試験

(試料換算: 20ng/ml)

No.	農薬名	いちご	きゅうり	いんげん	枝豆	とまと
		n=1	n=5	n=1	n=1	n=1
1	トリベヌロンメチル	33	140±8.0	50	90	41
2	シモキサニル	57	78±8.5	68	82	100
3	メタベンズチアズロン	80	97±0.57	97	100	120
4	ジエトフェンカルブ	77	98±0.74	100	100	120
5	ジメトモルフE	54	120±2.4	94	100	110
6	ジメトモルフZ	58	90±0.84	91	92	100
7	ダイムロン	75	96±1.2	96	100	110
8	クミルロン	74	92±1.6	95	100	120
9	ジクロメジン	63	68±1.7	90	95	120
10	イプロジオン+代謝物	79	94±11	100	69	85
11	ジフルベンズロン	79	88±2.8	95	100	120
12	テブフェノジド	68	100±0.65	110	100	91
13	シプロジニル	62	100±1.2	85	89	120
14	エトベンザニド	67	100±1.0	91	100	120
15	クロフェンテジン	59	120±12	100	76	120
16	ベンシクロン	74	100±2.0	90	100	140
17	ヘキサフルムロン	72	98±0.50	100	100	120
18	ペントキサゾン	78	110±1.8	100	100	130
19	テフルベンズロン	82	100±0.96	100	100	120
20	フェンピロキシメートZ	62	95±2.7	98	100	120
21	ヘキシチアゾクス	78	110±1.0	120	120	110
22	ルフェヌロン	74	100±2.7	98	110	120
23	フルフェノクスロン	70	99±1.7	100	110	120
24	フェンピロキシメートE	66	100±7.9	100	99	120
25	クロルフルアズロン	63	100±0.42	100	110	130
26	エトフェンプロックス	52	91±1.5	95	92	120
27	シラフルオフェン	49	74±3.4	95	79	120

/1)で希釈調整を行った。標準混合溶液は1ng/ml~40ng/mlまでAbundanceと良好な直線関係が得られた。クロマトグラムを図2に示す。定量下限値は2ng/ml。

3.3 標準添加回収試験結果

25農薬(28種)について、試料20gに標準混合溶液各1µg/mlを200µl(200ng)添加し、回収試験を行った。結果を表6に示す。

いちごについては、検量線に使用した標準溶液をメタノールで希釈調整したため、試料では、イオン化時のマトリックスによる妨害が大きくなったものと推察され、既報¹⁾のHPLCでの回収率と比較すると全体的に低い値となった。このため、いちご以外の野菜については、GC/MSルーチン分析でも採用している標準溶液を測定対象野菜等のマトリックスで希釈する方法で調整し、回収率試験をおこなったところ表6のとおり概ね良好な結果が得られた。

表5 LC/MS分析条件(ESI)

(N-メチルカーバメイト系農薬)

No.	農薬名	RT(min)	mode	Frag.V	m/z	Spray Chamber (ESI)
1	アルジカルブスルホキシド	4.529	p	100	207	• Gas Temp. 350
2	アルジカルブスルホン	5.481	p	100	240	
3	オキサミル	5.988	p	100	237	
4	エチオフェンカルブスルホン	13.839	p	50	275	• Drying Gas 13l/min
5	エチオフェンカルブスルホキシド	15.065	p	100	242	
6	メチオカルブスルホキシド	17.837	p	100	242	• Nebulizer Pres. 60Psi
7	メチオカルブスルホン	20.636	p	100	275	
8	アルジカルブ	23.093	p	50	116	• Vcap(positive) 3000V
9	ペンダイオカルブ	27.665	p	100	224	
10	カルバリル	29.194	p	100	202	
11	エチオフェンカルブ	30.040	p	50	226	
12	ピリミカルブ	31.270	p	100	239	
13	フェノブカルブ	34.730	p	100	208	
14	メチオカルブ	35.488	p	100	226	

引用文献

- 1) 長船達也, 氏家愛子, 曾根美千代, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 20, 72 (2002)
- 2) 平成13年2月26日付け厚生労働省告示第56号
- 3) 氏家愛子, 高橋紀世子, 細谷義隆, 伊藤孝一: 宮城県保健環境センター年報, 17, 70 (1999)
- 4) 菊地秀夫, 氏家愛子, 新目眞弓, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 19, 173 (2001)

OASISカートリッジを使用した食肉中残留動物用医薬品 一斉分析法のLC/MSへの応用

Application of Simultaneous Determination analysis method to LC/MS which Purified
Residual Veterinary Drugs in Meats with OASIS Cartridge

赤間 仁 石川 潔 大江 浩*¹

Hitoshi AKAMA, Kiyoshi ISHIKAWA, Hiroshi OOE

キーワード：HPLC，残留動物用医薬品，一斉分析法，OASISカートリッジカラム，LC/MS

Key words：HPLC，Residual Veterinary Drugs，Simultaneous Determination，
OASIS Cartridge Columns，LC/MS

1 はじめに

食品衛生法による動物用医薬品の残留基準は年々増加しており平成15年4月現在26種類にのぼり、それぞれ個別の試験法が制定されている。

これまで我々はOASISカートリッジを使用してフォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフィーによる一斉分析法の検討を行ってきたが⁽¹⁾⁽²⁾、牛肉（筋肉）中のゼラノールに関してはppbレベルの感度が要求され、フォトダイオードアレイ検出器では十分な感度が得られない。

そこで今回は、遠心分離とメンブランフィルターを併用した抽出方法に加え、新たに導入された質量分析器付き高速液体クロマトグラフィー（以下LC/MS）による分離状況及び添加回収、妨害ピークの有無等の検討を行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 分析対象動物用医薬品

今回分析対象とした医薬品はフォトダイオードアレイ検出器（以下DAD）と質量分析器（以下MS）の比較のため以下の動物用医薬品を選択した。

レバミゾール(LZ)、スルファジミジン(SDD)、5-ヒドロキシ-チアベンダゾール(TBZm)、チアベンダゾール(TBZ)、テトラサイクリン(TC)、オキシテトラサイクリン(OTC)、オルメプリム(OMP)、クロルテトラサイクリン(CTC)、ピリメタミン(PYR)、オキシソリン酸(OXA)、セフチオフル(STF)、フルベンダゾール(FBZ)、-トレンボロン(-TB)、-トレンボロン(-TB)及びゼラノール(ZNL)の15種類とした(LC溶離順)。

2.2 装置

HPLC：Agilent社製 HP1100シリーズLC/MSD SL

検出器：DAD，MSが直列に接続されており，同時に

* 1 現 生活衛生課

測定できる。

カラム：Inertsil ODS - 3 (2.1mmi.d. x 150mm)

2.3 LC分析条件

流速：0.4ml/min

カラム温度：40

移動相：A：メタノール

B：0.05%トリフルオロ酢酸水溶液

試料注入量：20 µl

2.4 抽出方法

抽出方法は、既法に準じ、図1の分析フローのとおりである。

検	凍結保存品約100gをホモジナイザーで細切にする。
試	料 5g 300ml遠沈管
	0.25%メタリン酸：CH ₃ CN：MeOH（6：2：2）を100ml加える (除タンパク抽出液は、NaClを加えた氷水であらかじめ4℃に氷冷)
抽	出 バイオトロン（1分間）（氷冷下；約4℃）
静	置 氷冷下（4℃）15分間
ろ	過 ハイフロースーパーセルを用い桐山ロートによる吸引ろ過 (ハイフロースーパーセルは2~3mm厚でろ過) 250mlナスフラスコ
濃	縮 45℃ 20~25mlまで ロータリーエバポレータ
抽	出 OASIS HLB500 活性化：MeOH 5ml, H ₂ O 5ml
負	荷 H ₂ O数mlで洗い
洗	浄 H ₂ O 20ml プラスチックシリンジ（25ml）上から
溶	出 100% MeOH 10ml
濃	縮 45℃ 乾固直前まで 30mlナスフラスコ
N ₂	バ
溶	解 アセトニトリル/0.05%TFA（25/75）1mlで溶解
HPLC	HP-1100 LC/MSD

図1 分析フロー

2.5 試薬等

カートリッジカラム：OASIS HLB 6cc 500mg LP
Extraction Cartridges

2.6 MS条件

イオン化法：API - ES Positive Mode

N₂ガス温度：350

乾燥ガス流量：13.0ℓ/min

Vcap電圧：3000V

3 結果及び考察

3.1 LC/MS条件

LC/MSでは溶離液としてこれまで用いていたリン酸バッファーはマスデテクターに悪影響を及ぼすため、変更する必要がある。また、LC分析の経験からカラムはInertsil ODS - 3を使用し、テトラサイクリン系でシャープな分離が得られ、MSへの影響も少ないトリフルオロ酢酸水溶液とアセトニトリル及びメタノールとのグラジエントにより分離を試みた。

グラジエント条件は表1のとおりとし、シグナルの取り込み時間を55分間、ポストランを10分間に設定した。

表1 LC/MSグラジエント条件

時間(分)	濃度A(%)	濃度B(%)
0	5	95
9	5	95
25	25	75
49	100	0
55	100	0

図2は、15物質混合標準液のカラム分離状況を示す。なお、分離はメタノールの方が良好であったため以降の条件で検討を行った。

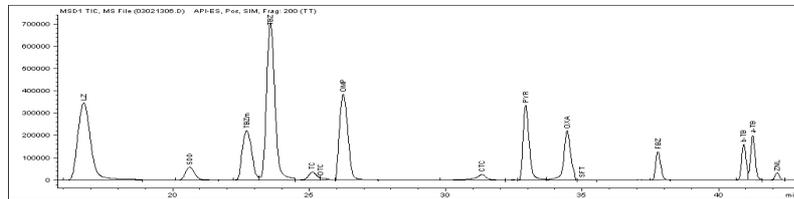


図2 トータルイオンクロマトグラフ

また、MSに用いる各対象物質ごとのフラグメント電圧及びイオン質量は、それぞれの標準溶液(各100ppm)を用いて本器のFIA機能により、表2のような最適条件を採用した。

表2 SIM用フラグメント電圧及びイオン設定表

物質名	フラグメント電圧(V)	マス(m/z)
LZ	200	205.1
SDD	150	279.1
TBZm	175	218.0
TBZ	175	202.0
OTC	150	461.1
OMP	175	275.1
TC	150	445.1
CTC	150	479.1
PYR	225	249.1
OXA	100	262.1
SFT	175	524.1
FBZ	50	314.1
- TB	125	271.1
- TB	175	271.2
ZNL	175	305.2

3.2 検量線及び検出感度

今回対象とした動物用医薬品の中で最も低い基準値が設定されているZNLの基準値0.02ppmの10分の1の感度を出すため、検量線に用いる各標準品を10, 50, 100, 250, 1000ppbの5濃度系列とした。

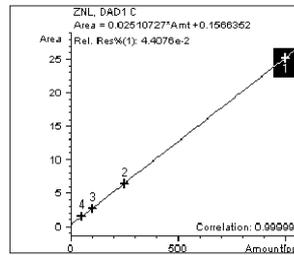


図3-1 ZNLの検量線 (LC/DAD 365nm)

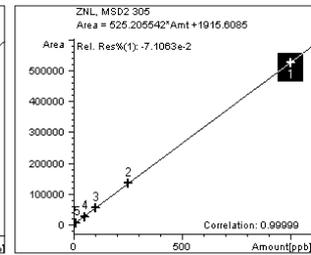


図3-2 ZNLの検量線 (LC/MS m/z 305.2)

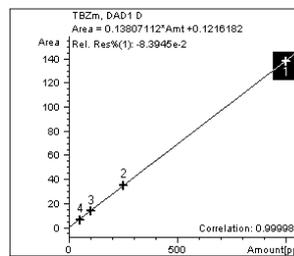


図4-1 TBZmの検量線 (LC/DAD 305nm)

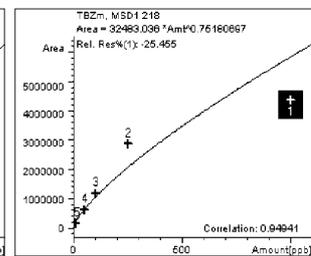


図4-2 TBZmの検量線 (LC/MS m/z 218.0)

ZNLではLC/DAD(図3-1)及びLC/MSによる(図3-2)いずれの検量線も直線性が良い。ただしLC/DADでは、これまでの結果と同様に10ppbではピークが検出できない。

LC/DADは、他の14物質についても直線性の良い検量線が得られたが、LC/MSの検量線は物質によって、放物線を描くものがある。その一例としてTBZmの検量線を示す。図4-1がLC/DADによる検量線で、ZNLと同様に直線性が良い。

一方、図4-2はm/z218のLC/MSの5点検量線であるが、高濃度で直線性が悪い。

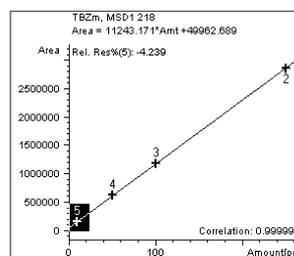


図4-3 TBZmの検量線 (LC/MS m/z 218.0)

図4-3は1000ppbを除く10, 50, 100, 250 ppb 4点の検量線であるが、良好な直線性を示した。

すなわち、検量線が放物線を描くのはLC/MS(SIM)の感度が良く、相対的に使用した標準物質の濃度が高すぎたためと考えられたが、再現性は確保されたことから、以下の添加回収試験等では同濃度の実験系で行った。

3.3 添加回収試験及びマトリックスの影響

牛肉 5 g に15種混合標準液(1000ppb, 1 ml)を添加し、本県で採用しているOASISカートリッジを使用した前処理法(図1)による回収率を求めた。

DADとMSの添加回収結果を図5及び表3に示した(回収率の悪いITC, OTC及び感度の低いISTFは除く)。

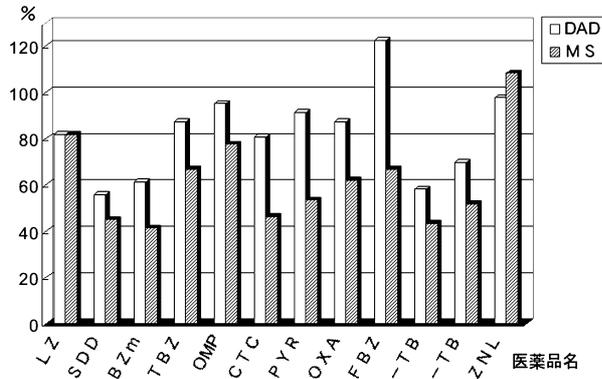


図5 DAD及びMSの添加回収結果

表3 DAD及びMSの添加回収結果

(%) n = 3

医薬品名	DAD	MS
LZ	81.9	81.8
SDD	55.8	45.0
TBZm	61.4	41.4
TBZ	87.3	66.9
OMP	95.1	77.6
CTC	80.8	46.3
PYR	91.3	53.4
OXA	87.4	62.0
FBZ	122.5	66.9
-TB	58.2	43.4
-TB	69.8	51.9
ZNL	97.7	108.3

DADによる回収率は55~122%で、SDD, TBZm, -TB, -TBが70%以下、FBZが122%となったが、ほぼこれまでの結果と同様であった。一方、MSの場合は、回収率が41~108%となり、LZ, ZNLを除きDADに比べ低い傾向にある。図6にDADに対するMSの回収率の比を示したが、LZ, SDD, ZNLで90%以上となったが、FBZでは56%と極めて低かった。なお、MS測定における定量は、抽出液に添加した標準からも求めた。

MSによる回収率低下の原因として、マトリックス存在下におけるイオン化の不安定さや、高濃度域の感度低下による検量線の非直線性(放物線を描く)などの影響が考えられた。

しかし、マトリックスの影響については標準に抽出液

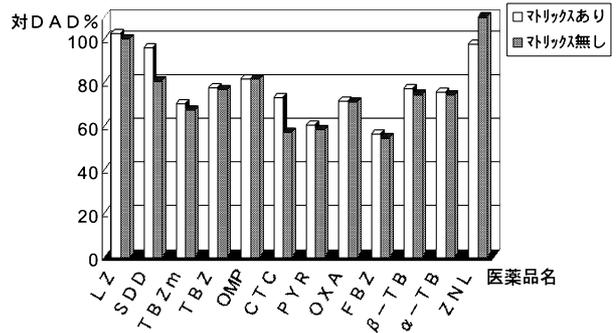


図6 MS分析におけるマトリックスの影響

を添加したものと無添加のものとのレスポンスの差はわずかであり(図6),その影響は小さいと思われた。また、高濃度域の感度低下については、物質によって検量線が直線にならずに放物線を描くものもあるが、回収した試料は添加濃度(1000ppb)以下であることから、むしろ定量値は高めに見積もられる可能性があるなど、必ずしもMSとDADの回収率の違いを合理的に説明できるものではなく、今後の課題としたい。

4 ま と め

- ① これまでの前処理法にLC/MSを適用ことにより、ZNLや -TB, -TB等基準値が低い物質(10ppbオーダー)についても感度が得られ良好な検量線が引けたことから、試料5 gでも十分定量が可能であることが分かった。
- ② MSによる回収率は、同一試料を並行して測定したDADの結果と比較し明らかに低い。

残留動物用医薬品の一斉分析では不純物の分離が大きな課題となる。回収率を高めることと不純物を少なくすることは前処理法としては相反するものである。従って、マトリックスの影響を軽減しうるLC/MSを用いることは、より多種類の残留動物用医薬品の一斉分析への応用が期待できるものと考えられる。

参 考 文 献

- 1) 石川潔他：宮城県保健環境センター年報No.19, 171~172 (2001)
- 2) 赤間仁他：宮城県保健環境センター年報No.20, 84~88(2003)
- 3) 石井理枝他：食品衛生学誌No.35, 173~179 (1994)
- 4) 堀江正一他：食品衛生学誌No.39, 383~389 (1998)
- 5) 氏江愛子他：宮城県保健環境センター年報No.17, 74~78 (1999)

平成14年度生活化学部検査結果

Test Results for Official Inspection of Chemical Substances Containing in Foods,
Food Containers, Household Articles, Drugs and Other Products in 2002

生活化学部

Department of Chemical Pollution

平成14年度の生活化学部における食品，医薬品，家庭用品の検査結果を，表1から表9に示す。

表1 分離調整米のカドミウム検査結果

分離調整地区名	カドミウム濃度						合計
	0.4ppm未満		0.4以上1.0ppm未満		1.0ppm以上		
	検体数	割合(%)	検体数	割合(%)	検体数	割合(%)	
小原赤井畑地区	2	100					2
新堀・出来川地区	5	100					5
二迫地区	16	20	55	70	8	10	79
合計	23	27	55	64	8	9	86

表2 残留動物用医薬品検査結果

単位: μg/g

検査品目	検査件数	基準値	動物用医薬品													
			TBZ, TBZmの和	ABZm	SDD	FBZ	-TB	-TB	ZNL	SMR	LZ	FZ	PYR	OXA	SDMX	SQX
豚肉	5	基準値	0.10	0.10	0.10	0.010	-	-	-	-	0.01	-	-	-	-	-
		濃度	<0.01	<0.01	-	-	<0.005	<0.005	<0.01	-	-	-	-	<0.005	-	-
牛肉	5	基準値	0.10	0.10	0.10	-	-	0.002	0.002	-	0.01	-	-	-	-	-
		濃度	-	<0.01	<0.01	<0.005	<0.005	<0.002	-	-	-	<0.005	<0.005	<0.005	-	-
鶏肉	6	基準値	-	0.10	0.10	0.20	-	-	-	-	0.01	-	-	-	-	-
		濃度	<0.01	<0.01	<0.01	<0.020	<0.005	<0.005	<0.01	<0.001	<0.006	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
鶏卵	6	基準値	-	-	-	0.40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		濃度	<0.02	-	<0.02	<0.04	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.03	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
総計	22	検出率	0/17	0/16	0/17	0/17	0/22	0/22	0/17	0/12	0/12	0/17	0/17	0/22	0/12	0/12

TBZ: チアベンダゾール, TBZm: 5-ヒドロキシチアベンダゾール, ABZm: 5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン, SDD: スルファジミン, FBZ: フルベンダゾール, -TB: -トレンボロン, -TB: -トレンボロン, ZNL: ゼラノール, SMR: スルファメラジン, LZ: レバミゾール, FZ: フラゾリドン, PYR: ピリメタミン, OXA: オキシリン酸, SDMX: スルファジメトキシ, SQX: スルファキノキサリン

表3 カビ毒及びPCB等検査結果

単位: ppm

検査品目	検査件数		検査項目						
			PCB	総水銀	TBTO	TPT塩化物	TPeP塩化物	DBT塩化物	アフラキシン(4種類)
スズキ	4	結果	0.008~0.016	0.17~0.22					
		検出率	4/4	4/4					
カキ	6	結果			0.01~0.03	<0.01	<0.01	-	
		検出率			6/6	0/6	0/6	-	
銀鮭	3	結果			<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
		検出率			0/3	0/3	0/3	0/3	
ナッツ類	5	結果						<0.01	
		検出率						0/5	

注) 検出率: 定量下限値以上の値が検出されたもの。TBTO: トリブチルスズオキシド, TPT: トリフェニルスズ, TPeP: トリペンチルスズ, DBT: ジブチルスズ, ナッツ類: ビーナッツ1検体, カシューナッツ1検体, アーモンド1検体, ビスタチオ2検体

表4 遺伝子組換え食品検査結果

(定性)

検査品目	検査件数		組換え遺伝子
乾燥マッシュポテト	2	結 果	不検出
		検 出 率	0/2
ポテトチップス	8	結 果	不検出
		検 出 率	0/8
豆 腐	10	結 果	不検出：6，検出：4
		検 出 率	4/10
総 計	20	検 出 率	4/20

組換え遺伝子：じゃがいも；New leaf Y，豆腐；RRS

表5 健康茶検査結果

検査品目	検査件数	検査項目	項目数	不適件数
ダイエット健康茶	1	フェンフルラミン，N-ニトロソフェンフルラミン	2	0
合 計	1		2	0

表6 医薬品等検査結果

検査品目	検査件数	検査項目	項目数	不適件数
外 用 薬	1	フルオシノロンアセトニド	1	0
内 服 薬	1	一硝酸イソソルビド	1	0
造影カテーテル	1	外 観 試 験	1	0
		溶 出 物 試 験	5	0
化 粧 品	3	パ ラ ベ ン 類	6	0
合 計	6		14	0

表7 家庭用品検査結果

検査品目	検査件数	検査項目	項目数	不適件数
乳幼児(24ヶ月以内)用繊維製品	21	ホルムアルデヒド	1	0
上記を除く繊維製品	20	ホルムアルデヒド	1	0
合 計	41		1	0

表8 無登録農薬検査結果

No.	農薬名	種 別	定量限界 (ppm)	検査品目および検査件数		
				りんご	日本なし	イチゴ
1	カプタホール	殺菌剤	0.01	ND(4)	ND(10)	ND(4)
2	シヘキサチン	殺虫剤	0.02	ND(9)	ND(11)	ND(4)
3	1-ナフチル酢酸	落果防止剤	0.002		ND(6)	ND(4)
	検査件数			9	11	4
	検査項目数			2	3	3
	総項目数			13	27	12

()内数字は検査件数

表9-1 食品中の残留農薬検査結果

No	農薬名	種別	定量限界 (ppm)	検査品目および検査件数										
				キュウリ	トマト	日本なし	馬鈴薯	ほげん草	イチゴ	パプリカ	にんにくの芽	はみ瓜	冷凍茶豆	
1	BHC	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	DDT	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	EPN	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	アクリナトリン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	アセタミプリド	殺虫剤	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	アミトラス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	アルジカルブ	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	イソフェンホス	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	エチオフェンカルブ	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	エトフェンプロックス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	エトプロホス	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	エトリムホス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	エンドリン	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	オキサミル	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	カズサホス	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
16	カルバリル	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	キナルホス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	クオルピリホス	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
19	クオルフェナビル	殺虫剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20	クオルフェンビンホス	殺虫剤	0.0025	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	クオルフルアズロン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	ジクオルホス (DDVP)	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	シハロトリン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
24	シフルトリン	殺虫剤	0.025	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	ジフルベンスロン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
26	シベルメトリン	殺虫剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.02
27	ジメトエート	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28	シラフルオフェン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
29	ダイアジノン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
30	チオメトン	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
31	ディルドリン	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
32	テフルトリン	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
33	テフルフェンジド	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
34	テフルベンスロン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
35	デルタメトリン (含むトラロメトリン)	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
36	パラチオン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
37	パラチオンメチル	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
38	ピフェントリン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
39	ピラクロホス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
40	ピリダベン	殺虫剤	0.04	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
41	ピリプロキシフェン	殺虫剤	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
42	ピリミカーブ	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
43	ピリミホスメチル	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
44	ピレトリン	殺虫剤	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
45	フェニトロチオン (MEP)	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
46	フェノプカルブ	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
47	フェンシルホチオン	殺虫剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
48	フェンチオン (MPP)	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
49	フェントエート (PAP)	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
50	フェンバレレート	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.03
51	フルシトリネート	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
52	フルバリネート	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
53	プロチオホス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
54	プロボキシル	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
55	ヘキサフルムロン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
56	ベルメトリン	殺虫剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
57	ペンダイオカルブ	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
58	ホスチアゼート	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
59	ホスメット	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
60	マラチオン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1
61	メタミドホス	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
62	メチオカルブ	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
63	ルフェニロン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
64	イソプロチオラン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
65	イプロジオン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
66	エディフェンホス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
67	キャプタン	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
68	ジエトフェンカルブ	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
69	ジクオルフルアズロ	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
70	ジクロメジン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
71	シプロコナゾール	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
72	シプロジニル	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
73	ジメトモルフ	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
74	シモキサニル	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
75	テブコナゾール	殺菌剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
76	トリアジメノール	殺菌剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
77	トルクロホスメチル	殺菌剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
78	ビテルタノール	殺菌剤	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
79	ピリフェノックス	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
80	ピロキロン	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
81	フェナリメル	殺菌剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
82	フルジオキソニル	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
83	フルシラゾール	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
84	フルトラニル	殺菌剤	0.025	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
85	ペンシクロン	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
86	マイクロプタニル	殺菌剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.17	ND	ND	ND	ND
87	メタラキシル	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.02	ND	ND	ND	ND
88	メブロニル	殺菌剤	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
89	クロフェンテジン	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
90	クロルベンジレート	殺菌剤	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
91	ジコホール (ケルセン)	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.02
92	テフエンピラド	殺菌剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.04	ND	ND	ND	ND
93	フェンピロキシメート	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
94	フルフェノクスロン	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.01	ND	ND	ND	ND
95	ヘキシチアゾクス	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
96	E P T C	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
97	アラクロール	除草剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
98	エスプロカルブ	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
99	エトベンザニド	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
100	クミルロン	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
101	クオルプロファミ	除草剤	0.001	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
102	シメトリン	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
103	ダイムロン	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
104	チオベンカルブ	除草剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
105	トリフルラリン	除草剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
106	ピフェノックス	除草剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
107	ピリプチカルブ	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
108	ブタクロール	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
109	ブタミホス	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
110	ブレチキサロール	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
111	ペンディメタリン	除草剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
112	ペントキサゾン	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
113	メタベンズチアズロン	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
114	メトラクロール	除草剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
115	メトリブジン	除草剤	0.05	ND	ND	ND	ND	ND						

表9-2 食品中の残留農薬検査結果

No	農薬名	種別	定量限界 (ppm)	検査項目および検査件数										
				冷凍枝豆	冷凍ライチ	冷凍ラズベリー	しょうが1	冷凍いんげん	アメリカンチェリー	しろねぎ	たけのこ水(細切り)	たけのこ水	しょうが2	ブルーベリー
1	BHC	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	0.03	ND	ND	ND	ND	ND	0.24	ND
2	DDT	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	EPN	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	アクリナトリン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	アセタミプリド	殺虫剤	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	アミトラズ	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	イソフェンホス	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	エトプロホス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	エトリムホス	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	エンドリン	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	カズサホス	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	キナルホス	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	クロルピリホス	殺虫剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	クロルフェナビル	殺虫剤	0.0025	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	クロルフェンピホス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
16	ジクロロボス (DDVP)	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	シハロトリン	殺虫剤	0.025	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	シフルトリン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
19	シベルメトリン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20	ジメトエート	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	0.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	ダイアジノン	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	チオメトン	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	ディルドリン	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
24	テフルトリン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	デルタメトリン	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
26	パラチオン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
27	パラチオンメチル	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28	ピフェントリン	殺虫剤	0.01	ND	ND	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
29	ピラクロホス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
30	ピリダベン	殺虫剤	0.04	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
31	ピリプロキシフェン	殺虫剤	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
32	ピリミホスメチル	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
33	ピレトリン	殺虫剤	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
34	フェニトロチオン (MEP)	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
35	フェンスルホチオン	殺虫剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
36	フェンチオン (MPP)	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
37	フェントエート (PAP)	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
38	フェンバレーレート	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
39	フルシトリネート	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
40	フルバリネート	殺虫剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
41	プロチオホス	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
42	ベルメトリン	殺虫剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
43	ペンダイオカルブ	殺虫剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
44	ホスチアゼート	殺虫剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
45	馬拉チオン	殺虫剤	0.01	ND	ND	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
46	メタミドホス	殺虫剤	0.01	ND	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
47	キャプタン	殺菌剤	0.002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
48	ジクロフルアニド	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
49	シプロコナゾール	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
50	テブコナゾール	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
51	トリアジメノール	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
52	トルクロホスメチル	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
53	ピテルタノール	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
54	ピリフェノックス	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
55	フェナリモル	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
56	フルジオキシニル	殺菌剤	0.01	ND	ND	0.08	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
57	フルシラゾール	殺菌剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
58	フルトラニル	殺菌剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
59	マイクロブタニル	殺菌剤	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
60	メプロニル	殺菌剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
61	クロルベンジレート	殺ダニ剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
62	ジコホール (ケルセン)	殺ダニ剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
63	テブフェンピラド	殺ダニ剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
64	EPTC	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
65	アラクロール	除草剤	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.006	ND	ND
66	クロルプロファミ	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
67	チオベンカルブ	除草剤	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
68	トリフルラリン	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
69	ピフェノックス	除草剤	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
70	ブタミホス	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
71	ペンディメタリン	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
72	メトラクロール	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
73	メトリブジン	除草剤	0.005	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
74	レナシル	除草剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
75	バクロブトラゾール	成調剤	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
検査件数				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
検査項目数				70	72	64	49	63	66	68	67	71	56	66
総項目数				70	72	64	49	63	66	68	67	71	56	66

宮城県におけるダイオキシン類の測定法

The Measuring Method of Dioxins in Miyagi Prefecture

鈴木 滋 中村 朋之 清野 陽子*¹
加藤 謙一 高橋 正弘*²

Shigeru SUZUKI, Tomoyuki NAKAMURA, Yoko KIYONO¹⁾
Ken-ichi KATO, Masahiro TAKAHASHI²⁾

キーワード：ダイオキシン類，PCDDs，PCDFs，Co-PCB，測定法

Key words：Dioxins，PCDDs，PCDFs，Co-PCB，Measuring Method

1 はじめに

ダイオキシン類 [Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (以下PCDDs), Polychlorinated dibenzofurans (以下PCDFs), Coplanar polychlorobiphenyls(以下Co-PCBs)]の分析法については、非常に高感度な多成分分析が要求され、それを達成するために複雑で高度な技術が必要となっている。そのため、JISや各種の分析法マニュアルにより、かなり細部にわたり具体的な処理方法が定められている。

一方、分析現場ではこれら公定法を逸脱することない範囲で、実試料についてより正確に、より簡便に分析出来る方法を模索し、その現場特有の方法を確立している。宮城県ではダイオキシン類分析を開始してから3年を経過したが、その間様々な問題点を克服しながら、宮城県の手法を確立していった。今回は当センターで現在行われている分析手法を①抽出、②精製、③GC/MS測定、の項に分け報告する。

2 方法

2.1 試薬及び器具

PCDDs, PCDFs標準品は¹²C体¹³C体ともWellington社製を、有機溶媒は関東化学社製ダイオキシン分析用を使用した。濃硫酸は関東化学製試薬特級、無水硫酸ナトリウムは関東化学製残留農薬試験用を使用した。

多層カラム用の2%水酸化カリウムシリカゲル、10%硝酸銀シリカゲル、22%硫酸シリカゲル、44%硫酸シリカゲルは和光純薬製ダイオキシン分析用を使用した。

シリカゲルはメルク社製Kieselgel60、アルミナはICN社製Alumina-B-Super I (for dioxin analysis)を使用した。

2.2 実験装置

高速溶媒抽出装置(ASE)はダイオネクス社製ASE-200を使用した。

* 1 宮城県立循環器・呼吸器病センター

* 2 宮城県原子力センター

GC/MS測定はサーモクエスト製GC: TRACE GC2000, HRMS:Finnigan MAT 95XLを使用し、SIM(分解能10,000以上)で測定を行った。

3 結果及び考察

3.1 抽出法

図1にJIS K 0312(工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法)に記載されているフローの例を記載する。ダイオキシン類の抽出法はソックスレー法が唯一の公定法であり、原則的には他の方法は使えない。しかしソックスレー装置は①火災の原因となる可能性がある¹⁾、②大量の溶媒を用いる、③長時間を必要とする、等の問題があるため、当センターでは可能なかぎり高速溶媒抽出装置(以下ASE)を用いる方法に切り替えている。その際はソックスレーと同等以上の性能を有していることの確認を行っている²⁾。また環境省が実施している統一精度管理調査(クロスチェック)でもASEを使用し、過去3年間(平成12~14年度)良好な結果を得ている³⁾。現在、唯一ソックスレーを使用しているのは排ガス分析だけであるが、これは①法的拘束力がある、②XAD樹脂の容量が大きくASE-200のセル(最大33m^l)に入らない、等の理由による。

以下に代表的なASEの抽出条件を示す。

Press: 2000 psi, Temp: 195, Solvent: toluene
Pre Heat: 1 min., Heat: 7 min., Static: 15min.
Flush(%): 60%, Purge: 300sec., Cycle: 2 times

3.2 精製法

3.2.1 硫酸処理、多層シリカゲルカラム処理

ダイオキシン類の精製法としては、硫酸処理が非常に有効となる。しかし硫酸処理は①濃硫酸を扱うため危険である、②試料により強力なエマルジョンを形成し、分離が困難な場合がある、③硫酸処理後にシリカゲルカラム処理が必要(図1)、等の問題がある。このため現在

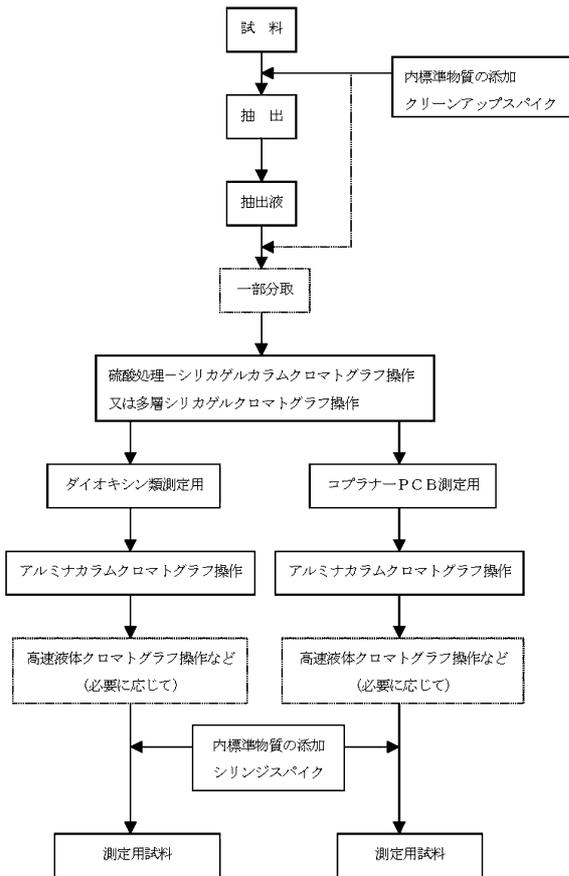


図1 JIS K 0312での測定フロー例

は多層カラムを用い、硫酸処理、シリカゲル処理等をまとめて行うこととしている。多層カラムの利点としては試料によりその充填量を任意に変えられることで、例えばS分が多いと予想される試料の場合は硝酸銀シリカゲルの量を増やす、銅カラムを追加する、等の方法が可能である。但し、抽出液に大量の極性物質を含む場合は、十分にカラムに試料を付加出来ない可能性がある（n-ヘキサンに溶けない物質が多量に存在する場合）ため、硫酸処理を行う方が有効な場合もある。

以下に代表的な多層カラムの積層順を示す。(下から)
 無水硫酸ナトリウム 3 g 水酸化カリウムシリカゲル 2 g 無水硫酸ナトリウム 2 g 44%硫酸シリカゲル 4 g 22%硫酸シリカゲル 4 g 無水硫酸ナトリウム 2 g 10%硝酸銀シリカゲル 2 g シリカゲル 2 g 無水硫酸ナトリウム 5 g

3.2.2 アルミナカラム処理

ダイオキシン類分析では精製の最終工程として、PCDDs/PCDFsとCo-PCBsを分離する必要がある。公定法ではこのため、シリカゲル処理液をPCDDs/PCDFs処理用液とCo-PCBs処理用液と2分し、それぞれ別に精製することとなっている(図1)。しかしこの方法では①試料を2分するため検出感度が悪くなる、②アルミナカラム工程の数が倍になる、等の問題がある。このため当センターでは試料液をアルミナカラムクロマトグラフィーで

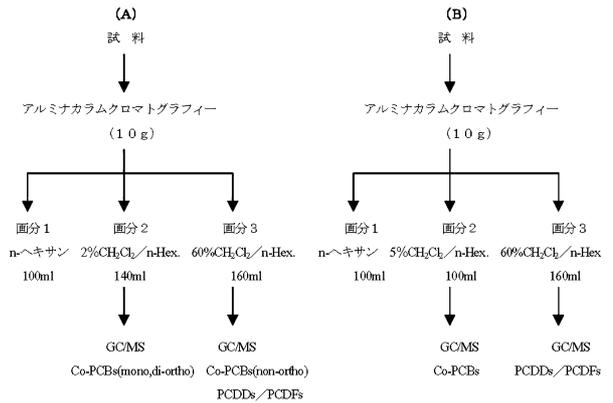


図2 アルミナカラムクロマトグラフィーによるダイオキシン類の分画法
 (A) 2%CH₂Cl₂/n-Hex.溶出 (B) 5%CH₂Cl₂/n-Hex.溶出

分画することにより、2分することなく分析する方法を採用した(図2, A, B法)。この方法は添加した内標準物質の回収率をチェックすることでその精度を担保できる。

図3, 4にはアルミナ10gを用いた際の2%ジクロロメタン/n-ヘキサン(以下DCM/H) 5%DCM/H及び60%DCM/Hでの溶出パターンを示した。2%DCM/H, 150ml溶出した場合(A法), Co-PCBのモノ, ジオルソ体が溶出され、次いで60%DCM/Hで溶出するとCo-PCBのノンオルソ体(IUPAC No. 77, 81, 126, 169)及びPCDDs/PCDFsが同じ画分に溶出される。GC/MS測定ではCo-PCBとPCDDs/PCDFsでは測定条件が異なるため、この方法ではGC/MSの注入回数が増える欠点がある。一方、5%DCM/H(B法)の場合、100ml溶出するとノンオルソ体も含むCo-PCB類がほぼ溶出されPCDDs/PCDFsと分離出来るのでGC/MSの測定回数は減る。しかしこの方法は試料のマトリックスの影響やアルミナの活性の違いにより微妙に溶出パターンが変化する。特にPCDDs/PCDFsの4塩素化体の速く溶出される成分(1,3,6,8-TeCDF, 1,3,6,8-TeCDD等)が5%DCM/H画分に出てくる可能性

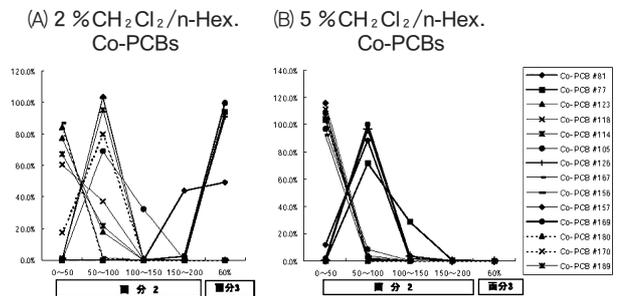


図3 アルミナでのCo-PCBsの分画試験 (アルミナ10g)

溶出条件(A)	画分1	n-Hex	100ml
	画分2	2%CH ₂ Cl ₂ /n-Hex.	200ml
	画分3	60%CH ₂ Cl ₂ /n-Hex.	150ml
溶出条件(B)	画分1	n-Hex	100ml
	画分2	5%CH ₂ Cl ₂ /n-Hex.	200ml
	画分3	60%CH ₂ Cl ₂ /n-Hex.	150ml

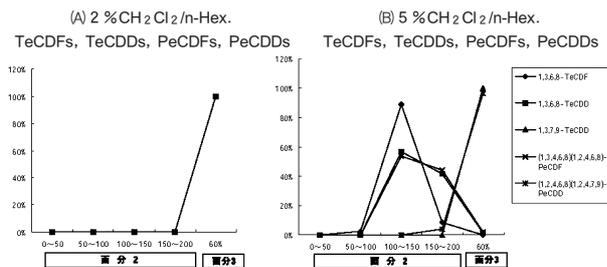


図4 アルミナでのPCDDs/PCDFsの分画試験 (アルミナ10g)

溶出条件(A) 画分1 n-Hex 100ml
 画分2 2%CH₂Cl₂/n-Hex. 200ml
 画分3 60%CH₂Cl₂/n-Hex. 150ml
 溶出条件(B) 画分1 n-Hex 100ml
 画分2 5%CH₂Cl₂/n-Hex. 200ml
 画分3 60%CH₂Cl₂/n-Hex. 150ml

がある。こうなるとTEQ算出には影響を及ぼさないが、発生源推定に必要な異性体パターンが不正確になる。またノンオルソ体のIUPAC No.77が一部60% DCM/H画分に溶出される場合もある。このためA法、B法のどちらを採用するかは目的により使い分ける。河川水のようにマトリックスが少なく、且つ検出感度を上げるため最終濃縮量を小さくする(20~25μl) 必要がある場合は、A法

を用いIGC/MSへの注入回数を減らす、排ガスのように短時間で結果を出す必要がある場合は、間違いがないことを優先させ、B法で溶出させるような対応を行っている。

なお大気試料に関してはPCDDs/PCDFsとCo-PCBを分離せずにn-Hex 洗浄後直ちに60% DCM/Hで溶出している。これは大気試料では両者を分離しなくてもGC/MSで定量出来ることを確認しているためである⁴⁾。

3.3 GC/MS測定

3.3.1 測定条件

GC/MS測定条件は下記のとおりである。

測定イオンは表1に示す。

1) PCDDs/PCDFs(1)

カラム：J&W社製 DB- 5 ms

(60m x 0.25mm I.D. 膜厚0.1μm)

キャリアーガス：He

昇温条件：120 (1min) 20 /min 200 (0min) 3 /min 300 (4min)

注入温度：280

トランスファーライン温度：280

イオン源温度：280

試料注入量：2 μl

表1 2種のカラムでのPCDDs, PCDFs, Co-PCBsの測定イオン

	Window-1			Window-2			Window-3			Window-4			Window-5			
	m/z	分析対象	備考	m/z	分析対象	備考	m/z	分析対象	備考	m/z	分析対象	備考	m/z	分析対象	備考	
DB-5ms	303.9016	4 F12	M	339.8598	5 F12	M + 2	373.8208	6 F12	M + 2	407.7818	7 F12	M + 2	441.7428	8 F12	M + 2	
	305.8987	4 F12	M + 2	341.8569	5 F12	M + 4	375.8179	6 F12	M + 4	409.7789	7 F12	M + 4	443.7389	8 F12	M + 4	
	315.9419	4 F13	M	351.9000	5 F13	M + 2	385.8610	6 F13	M + 2	419.8220	7 F13	M + 2	453.7830	8 F13	M + 2	
	317.9389	4 F13	M + 2	353.8970	5 F13	M + 4	387.8580	6 F13	M + 4	421.8190	7 F13	M + 4	455.7801	8 F13	M + 4	
	319.8965	4 D12	M	355.8547	5 D12	M + 2	389.8157	6 D12	M + 2	423.7767	7 D12	M + 2	457.7377	8 D12	M + 2	
	321.8937	4 D12	M + 2	357.8518	5 D12	M + 4	391.8128	6 D12	M + 4	425.7738	7 D12	M + 4	459.7348	8 D12	M + 4	
	331.9368	4 D13	M	367.8949	5 D13	M + 2	401.8559	6 D13	M + 2	435.8169	7 D13	M + 2	469.7779	8 D13	M + 2	
	333.9338	4 D13	M + 2	369.8919	5 D13	M + 4	403.8529	6 D13	M + 4	437.8140	7 D13	M + 4	471.7750	8 D13	M + 4	
	339.8598	5 F12	M + 2													
	341.8569	5 F12	M + 4													
CP-SIL 88	303.9016	4 F12	M	303.9016	4 F12	M	339.8598	5 F12	M + 2	407.7818	7 F12	M + 2	441.7428	8 F12	M + 2	
	305.8987	4 F12	M + 2	305.8987	4 F12	M + 2	341.8569	5 F12	M + 4	409.7789	7 F12	M + 4	443.7379	8 F12	M + 4	
	315.9419	4 F13	M	339.8598	5 F12	M + 2	373.8208	6 F12	M + 2	419.8220	7 F13	M + 2	453.7830	8 F13	M + 2	
	317.9389	4 F13	M + 2	341.8569	5 F12	M + 4	375.8179	6 F12	M + 4	421.8190	7 F13	M + 4	455.7801	8 F13	M + 4	
	319.8965	4 D12	M	351.9000	5 F13	M + 2	385.8610	6 F13	M + 2	423.7767	7 D12	M + 2	457.7377	8 D12	M + 2	
	321.8937	4 D12	M + 2	353.8970	5 F13	M + 4	387.8580	6 F13	M + 4	425.7738	7 D12	M + 4	459.7348	8 D12	M + 4	
	331.9368	4 D13	M	355.8547	5 D12	M + 2	389.8157	6 D12	M + 2	435.8169	7 D13	M + 2	469.7779	8 D13	M + 2	
	333.9338	4 D13	M + 2	357.8518	5 D12	M + 4	391.8128	6 D12	M + 4	437.8140	7 D13	M + 4	471.7750	8 D13	M + 4	
	339.8598	5 F12	M + 2	367.8949	5 D13	M + 2	401.8559	6 D13	M + 2							
	341.8569	5 F12	M + 4	369.8919	5 D13	M + 4	403.8529	6 D13	M + 4							
	351.9000	5 F13	M + 2	373.8208	6 F12	M + 2	407.7818	7 F12	M + 2							
	353.8970	5 F13	M + 4	375.8179	6 F12	M + 4	409.7789	7 F12	M + 4							
	355.8547	5 D12	M + 2	385.8610	6 F13	M + 2	419.8220	7 F13	M + 2							
	357.8518	5 D12	M + 4	387.8580	6 F13	M + 4	421.8190	7 F13	M + 4							
				389.8157	6 D12	M + 2	423.7767	7 D12	M + 2							
			391.8128	6 D12	M + 4	425.7738	7 D12	M + 4								
DB 5ms	289.9224	4 C12	M	325.8804	5 C12	M + 2	359.8415	6 C12	M + 2							
	291.9194	4 C12	M + 2	327.8775	5 C12	M + 4	361.8385	6 C12	M + 4							
	301.9626	4 C13	M	337.9207	5 C13	M + 2	371.8817	6 C13	M + 2							
	303.9597	4 C13	M + 2	339.9178	5 C13	M + 4	373.8788	6 C13	M + 4							
	337.9207	5 C13	M + 2	371.8817	6 C13	M + 2	393.8025	7 C12	M + 2							
	339.9178	5 C13	M + 4	373.8788	6 C13	M + 4	395.7995	7 C12	M + 4							
							405.8428	7 C13	M + 2							
						407.8398	7 C13	M + 4								

注) 分析対象 記載例 4 F 12

12; ¹²C体(測定物質), 13; ¹³C体(内標準物質)
 F; PCDF, D; PCDD, C; Co-PCB

塩素数 PCDF ¹²C

注入方式：スプリットレス

2) PCDDs/PCDFs(2)

カラム：バリアン社製 CP-SIL 88 for DIOXINS

(60m × 0.25mm I.D. 膜厚0.1μm)

キャリアーガス：He

昇温条件：120 (1.5min) 20 /min 180 (0min)

3 /min 250 (25min)

注入口温度：260

トランスファーライン温度：250

イオン源温度：250

試料注入量：2 μℓ

注入方式：スプリットレス

3) Co-PCBs

カラム：J&W社製 DB- 5ms

(60m × 0.25mm I.D. 膜厚0.1μm)

キャリアーガス：He

昇温条件：120 (1min) 20 /min 200 (0min)

3 /min 260 (0min) 20 /min

300 (3min)

注入口温度：280

トランスファーライン温度：280

イオン源温度：280

試料注入量：2 μℓ

注入方式：スプリットレス

3.3.2 データ処理

PCDDs/PCDFsは3.3.1で示したように2種類のカラムで測定する。これは各異性体について、両者を比較し、分離の良いカラムの値を採用するようにするためである。一般的にDB-5msのような低極性カラムは、カラムブリードが少なくSIMの感度が高くなる、塩素数の違いに

よりグルーピングが容易に行える、等の利点がある。一方CP-SIL88のような高極性カラムは、カラムブリードが多くSIMの感度が悪い、カラム温度が上げられない(分析時間を短縮出来ない)、グルーピングが困難、高塩素側(7塩素体)のピーク形状が良くない、等々欠点が多いが、2,3,7,8位に塩素を含むPCDDs/PCDFsの分離が良い、との大きな利点がある⁵⁾。このため一般的に、他の分析機関では4~6塩素体はCP-SILやSP-2331等の高極性カラムを用い、7~8塩素体はDB-5等の低極性カラムを使用している例が多い。しかし当センターでは個々に検討した結果、表2に示すように殆どの異性体でDB-5msを採用した⁶⁾。測定は両カラムで行い、お互いの測定値を比較しながら、その妥当性について個々に検討するが、最終的に採用する数字は表2に示すカラムで殆ど問題はない。

Co-PCB類についてはDB-5msで測定した場合IUPAC No.123の分離がやや悪いが、その他は特に問題なく測定出来る。

4 まとめ

宮城県で行っているダイオキシン類分析法は、抽出は高速溶媒抽出装置(ASE)を用い、ついで多層シリカゲルガラムクロマトグラフィー、アルミナカラムクロマトグラフィー処理を行い、GC/MS測定を行う方法を主に採用している。しかし大量の極性物質を含む場合は硫酸処理を追加する、S分が多い試料の場合は硝酸銀カラムまたは銅カラムを追加する、排ガスの場合は法的に拘束力のあるので公定法に従いソックスレー抽出を行う、大気分析ではPCDDs/PCDFsとCo-PCBの分離を行わない等、分析の目的、試料の性状により適宜、操作を変更する場

表2 異性体別の分離目安及び定量値採用カラム

塩素数	PCDDs			PCDFs		
	異性体	分離目安	採用カラム	異性体	分離目安	採用カラム
4 Cl	1,3,6,8-TeCDD	DB=CP	DB-5ms	2,4,6,8-TeCDF	DB>CP	DB-5ms
	1,3,7,9-TeCDD	DB=CP	DB-5ms	1,2,7,8-TeCDF	DB>CP	DB-5ms
	1,2,3,8-TeCDD	DB>CP	DB-5ms	2,3,7,8-TeCDF	DB=CP	DB-5ms
	2,3,7,8-TeCDD	DB=CP	DB-5ms			
5 Cl	1,2,3,6,8-PeCDD	DB=CP	DB-5ms	1,2,4,6,8-PeCDF	DB<CP	CP-SIL 88
	1,2,3,7,8-PeCDD	DB=CP	DB-5ms	1,2,3,7,8-PeCDF	DB>CP	DB-5ms
				2,3,4,7,8-PeCDF	DB<CP	CP-SIL 88
6 Cl	1,2,3,4,7,8-HxCDD	DB=CP	DB-5ms	1,2,4,6,8,9-HxCDF	DB=CP	DB-5ms
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	DB=CP	DB-5ms	1,2,3,4,7,8-HxCDF	DB>CP	DB-5ms
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	DB=CP	DB-5ms	1,2,3,6,7,8-HxCDF	DB>CP	DB-5ms
				1,2,3,7,8,9-HxCDF	DB<CP	CP-SIL 88
			2,3,4,6,7,8-HxCDF	DB<CP	CP-SIL 88	
7 Cl	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	DB>CP	DB-5ms	1,2,3,4,6,8,9-HpCDF	DB>CP	DB-5ms
				1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	DB>CP	DB-5ms
				1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	DB>CP	DB-5ms
8 Cl	OCDD	DB>CP	DB-5ms	OCDF	DB>CP	DB-5ms

DB ; DB-5ms CP ; CP-SIL 88 for DIOXINS

合もある。

参 考 文 献

- 1) 村山 等 他：第28回環境保全・公害防止研究発表
会要旨集，87～88（2001）
- 2) 鈴木 滋 他：第28回環境保全・公害防止研究発表
会要旨集，91～92（2001）
- 3) 環境省環境管理局総務課環境管理技術室編：平成12
～14年度環境測定分析統一精度管理調査結果 - ダイ
オキシン類 - （2001～2003）
- 4) 清野陽子 他：宮城県保健環境センター第21回研究
発表会要旨集，4（2003）
- 5) John J. Ryan et al. : Journal of Chromatography ,
541, 131-183（1991）
- 6) 中村朋之 他：第12回環境化学討論会講演要旨集，
620-621（2003）

大気中の揮発性有機化合物調査

Study on Volatile Organic Compounds in Atmospheric Samples

佐久間 隆 小泉 俊一 北村 洋子
木戸 一博 佐藤 信俊 鈴木 康民

Takashi SAKUMA, Syun-ichi KOIZUMI, Yoko KITAMURA
Kazuhiro KIDO, Nobutoshi SATO, Yasutami SUZUKI

キーワード：有害大気汚染物質，揮発性有機化合物（VOCs）

Key Words：Hazardous Air Pollutants，Volatile Organic Compounds（VOCs）

1 はじめに

平成8年5月の大気汚染防止法の改正に伴い，地方公共団体は有害大気汚染物質の大気汚染状況の把握に努めなければならないと定められ，本県では平成9年10月から県内4地点において有害大気汚染物質のモニタリング調査を開始した。

揮発性有機化合物（以下「VOCs」）は，優先取組物質であるベンゼン，トリクロロエチレン及びテトラクロロエチレン等の9物質について調査開始当初から測定を行っているが，優先取組物質以外のVOCsについても県内における濃度分布状況を把握する必要があると考え，前年度に引き続き調査を行ったので報告する。

2 方 法

2.1 調査地点

調査は次の4地点で行い，調査区分を括弧内に示した。

- ① 大河原町 仙南保健福祉事務所（一般環境）
- ② 名取市 名取自動車排出ガス測定局（沿道）
- ③ 塩釜市 塩釜大気汚染測定局（発生源周辺）
- ④ 古川市 古川大気汚染測定局（一般環境）

2.2 調査期間，測定頻度

平成13年4月から平成14年3月までの一年間，月に1回24時間試料採取を実施した。

2.3 調査対象物質

優先取組物質9物質を含むVOCs合計41物質を対象とした。

2.4 試料採取方法及び分析法

「有害大気汚染物質測定方法マニュアル¹⁾」に従い実施した。大気試料は真空化した6Lキャニスター容器を用い124時間採取，大気試料濃縮装置（Tecmar社製AUTOCan）により試料を導入しGC/MS（HP社製HP6890+日本電子社製JEOL JMS-AM II 15）で分析を実施した。

3 結 果

VOCsの年平均値を表1に示した。年平均値は12回の測定結果を算術平均して算出した。なお，平均値の算出にあたり検出下限値未満の場合は検出下限値の1/2値を用い，検出下限値以上で定量下限値未満の場合は測定値を用いた。優先取組物質9物質のうち大気環境基準の定められているベンゼン，トリクロロエチレン，テトラクロロエチレン及びジクロロベンゼンの4物質について，環境基準を超えた物質は無かった。さらに，優先取組物質について平成12年度地方公共団体等における有害大気汚染物質モニタリング調査結果²⁾と比較したところ，大河原町を除いた3地点でジクロロメタン，アクリロニトリルが高めであったが，その他の物質は同程度か低めであった。

優先取組物質以外の物質について，各調査地点の年平均値を比較したところ，前年度同様にフロン類4物質，四塩化炭素及び1,1,1-トリクロロエタンは調査地点による差が非常に少なかった。一方，エチルベンゼン，キシレン類は塩釜市，古川市で特異的に高い濃度を示した。

4 ま と め

前年度に引き続き優先取組物質に加え優先取組物質以外のVOCsについて，各調査地点における単年度の濃度分布状況を把握した。今後データの蓄積を図り多変量解析等を行うことにより，県内の汚染実態がより明確になると考える。

参 考 文 献

- 1) 環境庁大気保全局大気規制課，有害大気汚染物質測定方法マニュアル，平成10年3月
- 2) 環境省環境管理局大気環境課，平成12年度地方公共団体等における有害大気汚染物質モニタリング調査結果，平成13年9月

表1 各物質の年平均値

単位：μg/m³

No.	物質名	大河原町 (一般環境)		名取市 (道路沿道)		塩釜市 (発生源周辺)		古川市 (一般環境)		全体平均		検出下限値(3)		検出下限値(10)		環境基準	全国データ ²⁾ (平成12年度)
		2.7	2.8	2.7	2.6	2.7	2.7	2.5	3.4	最小	最大	平均	最大	平均			
1	Freon12	2.7	2.8	2.7	2.6	2.7	2.6	2.7	2.7	2.5	3.4	0.0051	0.034	0.061			
2	Freon114	0.16	0.17	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.11	0.53	0.0024	0.012	0.017			
3	Chloromethane	1.1	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	0.93	1.5	0.0015	0.010	0.015			
4	Chloroethene	0.046	0.034	0.036	0.036	0.028	0.036	0.028	0.028	ND	0.26	0.0031	0.0060	0.014			0.16
5	1,3-Butadiene	0.14	0.39	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.072	0.64	0.0019	0.031	0.038			0.32
6	Bromomethane	0.079	0.068	0.076	0.076	0.059	0.076	0.059	0.059	0.020	0.20	0.0050	0.020	0.035			
7	Chloroethane	0.059	0.060	0.057	0.057	0.042	0.057	0.042	0.042	ND	0.19	0.0043	0.011	0.024			
8	Freon11	1.4	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.3	1.7	0.0048	0.016	0.035			
9	Freon113	0.64	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.59	0.83	0.0042	0.014	0.034			
10	1,1-Dichloroethene	0.0052	0.011	0.011	0.011	0.0072	0.011	0.0072	0.0072	ND	0.069	0.0018	0.016	0.024			
11	Dichloromethane	1.6	7.6	13	13	3.4	13	3.4	3.4	0.34	38	0.0023	0.019	0.034		150	3.1
12	Acrylonitrile	0.055	0.16	0.47	0.47	0.37	0.47	0.37	0.37	ND	0.98	0.0030	0.020	0.023			0.15
13	1,1-Dichloroethane	0.0065	0.0086	0.0084	0.0084	0.0077	0.0084	0.0077	0.0077	ND	0.037	0.0010	0.026	0.029			
14	c-1,2-Dichloroethene	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	ND	ND	0.0020	0.0086	0.017			
15	Chloroform	0.16	0.28	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.085	0.43	0.0023	0.011	0.018			0.35
16	1,1,1-Trichloroethane	0.22	0.23	0.22	0.22	0.23	0.22	0.23	0.23	0.17	0.29	0.0013	0.010	0.017			
17	Tetrachloromethane	0.65	0.69	0.65	0.65	0.64	0.65	0.64	0.64	0.55	1.0	0.0037	0.012	0.028			
18	1,2-Dichloroethane	0.051	0.071	0.069	0.069	0.043	0.069	0.043	0.043	ND	0.30	0.0016	0.0068	0.014			0.19
19	Benzene	1.2	2.4	1.7	1.7	1.4	1.7	1.4	1.4	0.54	3.5	0.0050	0.039	0.081		3	2.4
20	Trichloroethene	0.28	0.13	0.063	0.063	0.053	0.063	0.053	0.053	ND	0.80	0.0042	0.019	0.031		200	1.2
21	1,2-Dichloropropane	0.030	0.045	0.050	0.050	0.033	0.050	0.033	0.033	ND	0.16	0.0021	0.0047	0.011			
22	c-1,3-Dichloropropene	0.011	0.012	0.014	0.014	0.0087	0.014	0.0087	0.0087	ND	0.074	0.0043	0.014	0.034			
23	Toluene	20	93	88	88	63	88	63	63	1.6	310	0.0048	0.028	0.046			
24	t-1,3-Dichloropropene	0.0066	0.0045	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	ND	0.028	0.0013	0.0068	0.011			
25	1,1,2-Trichloroethane	0.0038	0.0061	0.0087	0.0087	0.0035	0.0087	0.0035	0.0035	ND	0.039	0.0022	0.012	0.023			
26	Tetrachloroethene	0.13	0.43	0.25	0.25	0.17	0.25	0.17	0.17	0.048	1.5	0.0027	0.024	0.030		200	0.66
27	1,2-Dibromoethane	0.0062	0.010	0.016	0.016	0.0074	0.016	0.0074	0.0074	ND	0.094	0.0029	0.011	0.024			
28	Chlorobenzene	0.058	0.063	0.54	0.54	0.44	0.54	0.44	0.44	0.017	1.0	0.0015	0.0066	0.011			
29	Ethylbenzene	12	24	140	140	140	140	140	140	0.24	240	0.0019	0.074	0.069			
30	m-8-p-Xylene	44	68	470	470	440	470	440	440	0.48	850	0.0029	0.18	0.20			
31	o-Xylene	15	21	320	320	270	320	270	270	0.19	560	0.0025	0.047	0.063			
32	Styrene	0.24	0.49	0.44	0.44	0.42	0.44	0.42	0.42	0.0034	1.0	0.0026	0.010	0.018			
33	1,1,2,2-Tetrachloroeth	0.0076	0.019	0.025	0.025	0.011	0.025	0.011	0.011	ND	0.12	0.0074	0.030	0.051			
34	1,3,5-Trimethylbenzene	0.71	1.2	1.2	1.2	0.95	1.2	0.95	0.95	0.11	3.1	0.0023	0.025	0.032			
35	1,2,4-Trimethylbenzene	1.2	3.3	3.5	3.5	2.6	3.5	2.6	2.6	0.32	8.1	0.0051	0.082	0.076			
36	m-Dichlorobenzene	0.19	0.050	0.056	0.056	0.018	0.056	0.018	0.018	ND	0.58	0.0020	0.021	0.032			
37	p-Dichlorobenzene	0.43	0.47	0.66	0.66	0.36	0.66	0.36	0.36	0.073	2.1	0.0013	0.021	0.029			
38	o-Dichlorobenzene	0.26	0.12	0.059	0.059	0.054	0.059	0.054	0.054	ND	0.79	0.0024	0.022	0.037			
39	1,2,4-Trichlorobenzene	0.22	0.37	0.045	0.045	0.019	0.045	0.019	0.019	ND	3.6	0.0018	0.071	0.042			
40	Hexachlorobutadiene	0.91	0.40	0.065	0.065	0.061	0.065	0.061	0.061	ND	7.4	0.0036	0.10	0.063			

注：平均濃度の算出にあたり，検出下限値未満の値は検出下限値の1/2を平均値算出に用いた。「ND」は，検出下限値未満を示す。
 は優先取組物質である。

伊豆沼のカラス貝生息調査（水質浄化能評価の一部として）

A Research on the Number of *Cristaria Plicata* in Izunuma for Assessment of Water Pollution Control by the Shellfish

渡部 正弘 栗野 健 小山 孝昭
阿部 時男*

Masahiro WATANABE, Takeshi AWANO, Takaaki KOYAMA
Tokio ABE*

キーワード：カラス貝，貝，伊豆沼，水質浄化

Key Words : *Cristaria Plicata* , Shellfish, Izunuma, Water Pollution Control

1 はじめに

貝には水の濁り除去能や水質浄化能を有することが知られている。伊豆沼における貝の濁り除去・水質浄化能を把握する目的で、イシガイ科の大型二枚貝であるカラス貝 (*Cristaria plicata*) の数の調査を行なった。調査は貝を引き上げ、数・大きさを調査し、伊豆沼全体の貝の総量と浄化能をより精度良く評価しようと試みた。

これまで、伊豆沼での魚貝類の調査は部分的には行なわれたことはあるが、貝だけに絞る、沼全域で本格的に行なわれたのは、今回が初めてである。

なお、カラス貝はタナゴ類の貴重な産卵母貝にもなっており、伊豆沼の生態系にとっても重要な位置を占めている。

2 調査地点・方法

調査は平成14年12月19日および25日に、図1に示す沼内11地点で行った。

1 m 四方の枠を作製し、沼の調査地点ごとに船上から枠内を0.7cm目の網で、貝をもれなくすくい上げ、貝の種類、数、大きさ、重さを計測した。

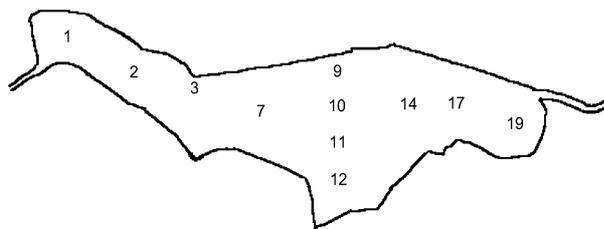


図1 伊豆沼カラス貝調査地点 (H14. 12)

3 結果と考察

生きているカラス貝の結果を表1に示す。

表1 伊豆沼のカラス貝の大きさ、重さ

平成14年12月19日 & 25日調査

調査地点	貝番号	殻長 (cm)	殻巾 (cm)	殻高 (cm)	重さ (g)
No. 1	1 - 1	26.5	13.0	7.0	1,100
	1 - 2	19.0	10.5	5.7	550
No. 2	2 - 1	13.0	8.5	3.1	110
No. 3	3 - 1	16.0	10.0	4.9	300
No. 7	7 - 1	20.2	10.5	6.4	580
	7 - 2	18.0	10.0	5.5	410
	7 - 3	18.5	10.0	5.5	380
	7 - 4	16.5	9.0	3.9	210
No. 9	9 - 1	19.5	10.0	4.8	400
	9 - 2	15.5	8.3	4.1	210
	9 - 3	13.0	7.2	3.6	110
No. 10	10 - 1	15.0	9.2	5.1	280
	10 - 2	16.3	8.2	4.7	280
	10 - 3	14.4	7.8	5.0	220
No. 11	-	-	-	-	-
No. 12	12 - 1	20.0	11.0	5.9	570
	12 - 2	18.0	9.0	5.1	330
	12 - 3	16.0	8.7	4.1	210
	12 - 4	15.0	8.2	4.1	200
No. 14	14 - 1	18.0	9.5	5.2	410
	14 - 2	15.0	9.3	4.4	260
	14 - 3	12.0	7.0	4.2	160
No. 17	17 - 1	16.5	9.0	4.8	280
	17 - 2	14.5	8.0	4.4	190
	17 - 3	14.0	8.5	3.9	180
	17 - 4	11.5	6.8	4.0	110
No. 19	19 - 1	14.0	8.0	3.8	170
	19 - 2	13.4	7.7	3.8	140
合計 (g)					8,350
平均 (g)					310

* 現 (財)宮城県下水道公社

No.11地点では、カラス貝は1個も確認できなかった。また、他の貝では、No.14で生きたイシ貝1個が確認され、No.9ではオオタニシの殻が3個見られた。

今回の調査では11.5cm未満のカラス貝は見られなかった。平成6年に沼沿岸部におけるカラス貝の殻長と年令の関係を調査した進東のデータ¹⁾を用い、今回調査したカラス貝の年令を推定し図2に示す。推定年令5才未満が欠けていると推測される。カラス貝の成長史の過程で幼生が魚に付着して成長する時期がある。平成8年頃から魚食性のブラックバスの出現²⁾や平成10年夏の大雨によるハスの枯死等の生息環境の変化等が考えられるが、今後、伊豆沼でのカラス貝の減少が危惧されるため、さらに詳細な調査が必要と考えられる。

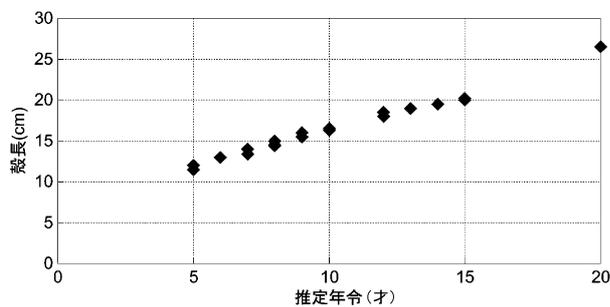


図2 カラス貝の推定年令

今回調査した11地点で、1㎡に生きているカラス貝は0～4個、死んで殻のみのものが0～4個であった。平成13年に18地点で予備調査を行っており、金属棒によるアタリのカウント数で、7.7個/㎡と推定したが、死貝等の要因があったものと推測する。

調査した11地点のカラス貝の生息数は単純平均約2.5

個/㎡で、1個当たり平均の重さは約0.31kgであった。カラス貝のろ過速度の室内実験での文献データ(約15mℓ/g-wet·h)³⁾から、伊豆沼の平均水深を0.8m、昼夜を問わずろ過できると仮定すると、カラス貝のこの数量により約3日間で深さ0.8mの水を交換できる能力があると推算される。カラス貝は、濁質のうちプランクトン類を餌として食べ、無機質を擬糞として固定化するといわれており、伊豆沼のSS低下に大きく寄与していると推測される。

これまで、貝による水質浄化能の研究は、砂質底質に棲むシジミで主になされているが、泥状底質の多い淡水湖沼において、泥状底質を好むカラス貝を評価する価値は大きいと考えられる。

4 謝 辞

今回の調査に同行して協力をいただき、また、貝のろ過速度のデータの提供をいただいた東北大学工学部の西村研究室の方々、およびカラス貝の殻長と年令のデータの提供をいただいた(財)伊豆沼・内沼環境財団の進東研究員に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 進東健太郎：伊豆沼におけるカラス貝の殻長組成(私信)
- 2) 高橋清孝，小野寺毅，熊谷明：伊豆沼・内沼におけるオオクチバスの出現と定置網魚種組成の変化，宮城県水産研究報告(2001)
- 3) 千葉信夫，野村宗弘，西村修：淡水二枚貝のろ水速度に及ぼす濁質濃度の影響について，土木学会第57回年次講演会(2002)

宮城県内ダム湖におけるアオコ発生状況

An Outbreak of Waterbloom at some Water-storage Dams in Miyagi Prefecture

渡部 正弘 牧 滋 栗野 健
 小山 孝昭 三沢 松子 吉田 徳行
 阿部 時男*

Masahiro WATANABE, Shigeru MAKI, Takeshi AWANO
 Takaaki KOYAMA, Matsuko MISAWA, Noriyuki YOSHIDA
 Tokio ABE*

キーワード：アオコ，ダム湖，アナベナ，栄養塩

Key words : Waterbloom , Water-storage Dam , Anabaena , Nutrient

1 はじめに

関東以南の暖地ではアオコの発生は珍しくないが、東北・北海道の寒冷地では大規模な発生は少ない。

これまで宮城県内の大きな湖沼やダム湖において、大規模なアオコの発生はほとんどなく、平成11年度に花山ダムでアオコがダム湖全域にわたり見られた大規模な発生が唯一報告¹⁾されている。

ダム湖でのアオコの発生は、ダム湖水質のCODやSSを高めたり、湖水を水源とする浄水場でのろ過障害や着色・着臭が問題となる。

平成14年に漆沢ダムをはじめ県内のいくつかのダム湖でアオコの発生が相次いだため、湖内の水質調査やプランクトン調査を実施したので報告する。

2 調査方法・時期

調査ダム湖：漆 沢 ダム；平成14年 8 月23日
 七北田ダム；平成14年 9 月26日
 花 山 ダム；平成14年 9 月25日，
 平成14年10月31日

水 質 測 定：ダム湖表層の水を採取し、プランクトン、水温、pH、COD、窒素・リン等の水質を測定した。漆沢ダム、七北田ダムでは、表層から下層まで水質の垂直分布を測定した。

3 結果と考察

平成14年の県内ダム湖におけるアオコ発生時期は、漆沢ダムでは7月から8月にかけて、七北田ダムでは、7月から9月にかけて、また、花山ダムでは9月と10月に二回発生した。7月に季節外れの台風による大雨が降ったこと、10月上旬に大雨が降ったこと等が何らかの影響

を与えている可能性が考えられる。

各ダム湖におけるアオコの発生状況は、漆沢ダムと花山ダムでは部分的であったが、七北田ダムではダム湖全面に発生が見られた。

プランクトンの優先種は3湖とも、藍藻類のアナベナ（*Anabaena crassa*）であった。アナベナは気温が低い所でも増殖できることから、寒冷な東北地方の山間ダムでも発生を見たと考えられる。

漆沢ダムと七北田ダムは上流に人家はなく、花山ダムも上流には人家は少なく人為汚濁がほとんど無い山間に位置するダムである。また、アナベナは窒素固定能を有していると言われている²⁾ことから、自然的要因で濃度がやや高く、結果としてN/P比が低くなったためこれらのダム湖に発生した可能性がある。藤本ら³⁾もミクロキステイス等の藍藻類はN/P比30未満で優先すると述べている。なお、これらのダム湖の昭和61年から12年間の公共用水域のデータの平均値よりTPを図1に、N/P比を図2に示す。

一方、調査時の漆沢ダムと七北田ダムのダム湖水質の垂直分布を図3、図4に示すが、温度躍層があり、下層では表層に比べDO(溶存酸素)が少なくなっていた。(TPは変化を見るため10倍にしてある)特に七北田ダムでは顕著で、下層で鉄・リンの濃度が高くなっていた。下層から濃度の高い栄養塩類が何らかの原因で表層に供給されれば、プランクトンの増殖に寄与することになる。

今後県内のダム湖にアオコが発生する可能性もあるため、次年度以降ダムの水質調査を継続して実施し、アオコの発生原因の究明および発生抑制対策へとつなげていきたい。

* 現 (財)宮城県下水道公社

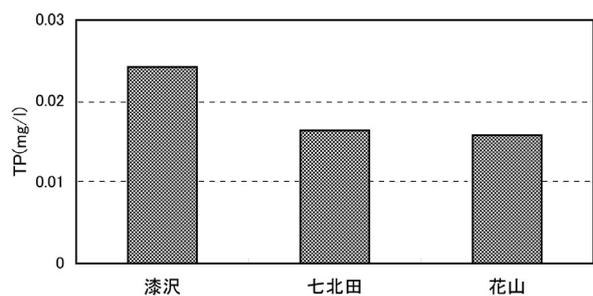


図1 ダム湖のTP

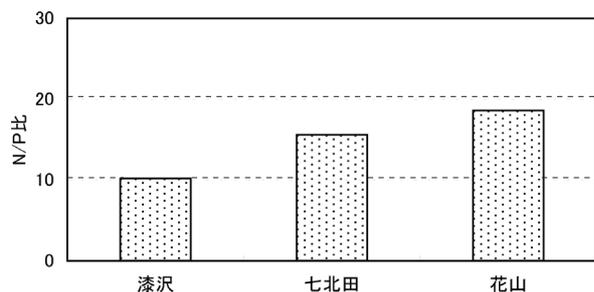


図2 ダム湖のN/P比

謝 辞

調査に際しご協力をいただいた各ダム事務所，仙台市水道局，大崎広域水道事務所の関係者の方々に深謝いたします。

参 考 文 献

1) 吾妻正道，渡部正弘，水谷登志喜，牧滋，小葉松英

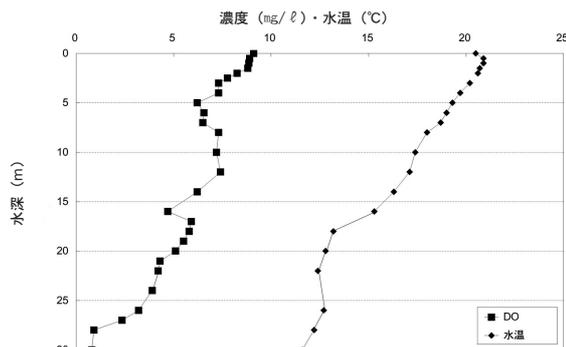


図3 漆沢ダム水質垂直分布

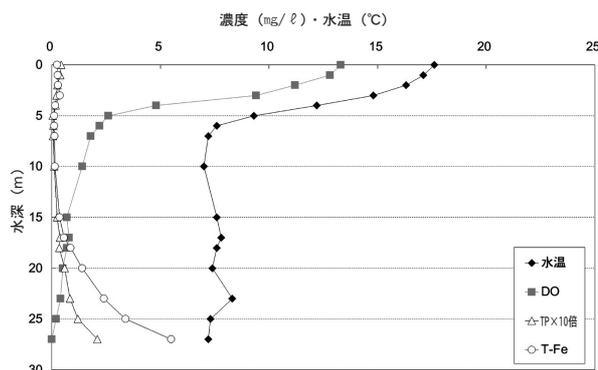


図4 七北田ダム水質垂直分布

行，八木純（2000）花山湖のアオコ調査結果の概要について，宮城県保健環境センター年報，18，166 - 167
 2) 渡辺真利代，原田健一，藤木博太編（1994）「アオコその出現と毒素」，pp15 - 16（東京大学出版会）
 3) 藤本尚志，福島武彦，稲森悠平，須藤隆一（1995）全国湖沼データの解析による藍藻類の優占化と環境因子との関係，水環境学会誌，18，901 - 908

伊豆沼・内沼の「巻上現象」を利用した底質除去試験（そのⅢ）

An Experiment in Sediment Removal Employing the
“ Resuspension Phenomenon ” at Izunuma & Uchinuma(Ⅲ)渡部 正弘 栗野 健 小山 孝昭
阿部 時男*Masahiro WATANABE, Takeshi AWANO, Takaaki KOYAMA
Tokio ABE*

キーワード：底質除去，巻上，伊豆沼・内沼，水質浄化

Key words : Sediment Removal , Resuspension Phenomenon , Izunuma & Uchinuma,
Water pollution control

1 はじめに

湖沼は河川と異なり流れがほとんどなく泥が堆積しやすい。特に浅底湖沼では、栄養分に富んだ堆積泥が再度懸濁し栄養分が湖沼水質中に還る機会が多く、湖沼の富栄養化が進行する。

宮城県北部に位置する伊豆沼・内沼は、1985年に「ラムサール条約」に指定された貴重な湖沼湿地で、湖面積合わせて約3.9km²であるが、最大水深が1.4mと浅く、地形的に沼水が流出しにくい構造となっているため、泥が堆積しやすく浅底化および富栄養化が問題となっていた。

これまで、沼および周辺の基礎調査やマコモの植栽と水質保全型給餌池等の水質浄化対策¹⁾等が実施されてきている。浅底化防止対策としては、浚渫も提案されていたが、水鳥の生息環境保全の観点からその実施は困難である。そこで、柴崎は「巻上（まきあがり）現象」を利用した底質の除去法²⁾を提案した。導水により沼の水位を上げ満水にして待ち、強い北西風が吹き沼の底質が強く巻き上がった時に下流の堰を下げれば、沼水の流下と共に一気に底質を除去でき、生物への底生環境を損なわずに浅底化防止と水質改善が図られるというものである。

我々は、この方法の効果を確かめるため河川を管理する関係機関の協力を得て、2000年2月から底質除去試験を実施³⁾してきている。2002年は天候の関係で実施できなかったが、2003年1月に1回試験を実施できたのでその結果を報告する。

2 方 法

2.1 調査日時

2003年1月24日11時30分に流出河川荒川の飯土井水門（沼口橋より約2km下流）の堰を下げ沼水の排出を開始

* 現 財 宮城県下水道公社

し、25日12時に堰を上げ、この間を実施期間とした。

2.2 測定地点

伊豆沼周辺の調査地点を図1に示す。

風向風速は伊豆沼・内沼サンクチュアリセンターにおいて自記風向風速計で測定した値を用いた。

水位は第二工区水門に臨時に設置した自記水深計で測定した値を用いた。

採水は、厳寒期で自動採水器はチューブ内の水が凍結してしまうため使用できず、伊豆沼下流の荒川沼口橋でバケツ採水を行った。

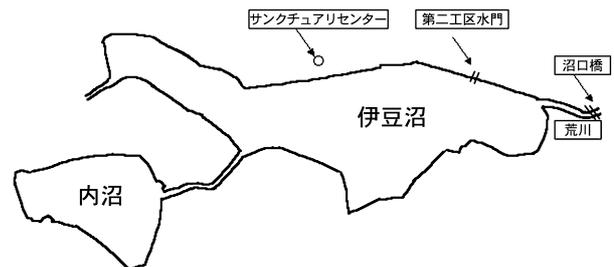


図1 調査地点図

3 結果と考察

試験前日の2003年1月23日は南岸低気圧の通過による大雪があったが、寒さは25日の朝まで続いたので、雪解けによる沼への水の流入影響はほとんど無視できるものとした。

試験当日には晴れて北西風は吹いたが、この間の最大瞬間風速の変化は図2のとおりであり、最大瞬間風速が15m/sを越えることはほとんどなく、やや弱めの「巻上現象」であった。

今回自動採水器は使えなかったため、伊豆沼下流の荒

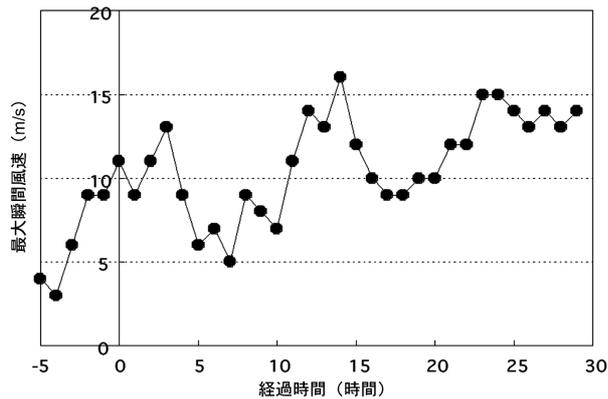


図2 最大瞬間風速の変化

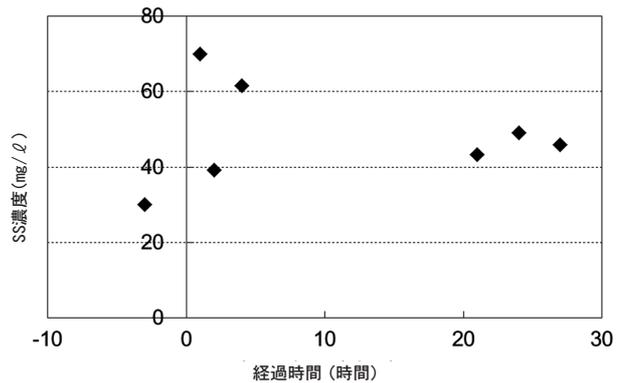


図3 SSの時間変化

川沼口橋で日中のみバケツ採水により調査した。そのSSの変化は図3のとおりであった。この試験中風に変動があまりないことからSSの変化は少ないと考えられ、経過時間0から24時間間のSSの測定値5回の平均 $53\text{mg}/\ell$ を流出水の平均SSとみなした。また、試験実施による伊豆沼・内沼の水位低下は水深計により6cmであり、沼からの総排水量は約23万t ($0.06\text{m} \times 3.9 \times 10^6\text{m}^2 = 2.3 \times 10^5\text{m}^3 = \text{約}23\text{万}\text{m}^3$)、底質除去量は約12t ($2.3 \times 10^5\text{m}^3 \times 0.053\text{kg} \cdot \text{m}^{-3} = 0.12 \times 10^5\text{kg} = 12\text{t}$)と推定される。排出水量は、年末年始に沼の水位を下げていたこと、一迫川から伊豆沼への導水の水量が $0.2\text{m}^3/\text{s}$ と少なかったことのため、堰を全倒したにもかかわらず1日当たり約23万tとやや少ないものとなった。SS排出量は、沼の出口方向への追い風となる北西の風が吹いたが強い風が少なかったこと、沼出口付近の湖面に氷が残っていたためか、排出水量が多かったにもかかわらずやや少なかった。

2000年、2001年に実施した試験は春先の試験であったが、今回は、真冬の試験であり大雪や寒さのため湖面に残る氷や、自動採水器が使用できないこと等の困難はあったが、やや弱めの巻上条件でのデータが得られたと考えられる。

巻上試験は風や利水の関係で、年に1、2回しか実施できないため、今後は風の向きや吹き方、水位の状況等種々の条件下で実施し、適切な実施方法の確立とその効果の検討を行なっていく必要があると考えられる。

試験を実施した結果、この底質除去法が沼の浅底化防止・延命化に効果的であることが分かった。しかし、この方法にだけ頼るのではなく、沼内での他の浄化対策や、

沼に流れ込む土砂や汚濁負荷の減少対策の実施も併せて考えなければならない。

この方法の長所は、巻上がった細かい底質のみを選択的に除去でき、また、強風と水の落差という自然の力を利用するため経済的で、底生環境を大きく変化させることなく、当然下流に流れ去るべき底質が除去できる「環境にやさしい」手法と考えられる。

沼の水環境や生態系を保全する上で、流入負荷を抑えつつこの底質除去法を行なうことで、浅底化防止に役立つと期待される。

謝 辞

「巻上現象」を利用した底質除去試験に際しご協力をいただいた「迫町外三町排水組合」、「各ポンプ場」、「宮城県伊豆沼・内沼サンクチュアリセンター」の関係者の方々に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 江成敬次郎, 中山正与, 斎藤孝市, 鈴木淳, 柴崎徹, 佐々木久雄 (1994) 鳥の飛来による水質汚濁とその防止対策, 用水と廃水, 36, 124 - 130
- 2) 柴崎徹 (2000) 「伊豆沼・内沼」, 日本の水環境第2巻東北編: 日本水環境学会編, pp40 - 48, 技報堂, 東京
- 3) 渡部正弘, 小葉松英行, 粟野健, 柴崎徹 (2003) 強風時の「巻上現象」を利用した底質除去試験, 水環境学会誌, 26, 387 - 392

「鳴瀬川の水循環特性（環境共生を目指した健全な水循環）」
 （H13～14年度経常研究の要約版）

清野 茂 阿部 時男*

Shigeru SEINO, Tokio ABE

1 鳴瀬川の概況

鳴瀬川は、宮城・山形県境の船形山を源に、田川・花川・多田川等の支流を集め、人工河川の新江合川も合わせ穀倉地帯の大崎平野を貫流し河口部で吉田川を合流し仙台湾に注ぐ流路延長89km、流域面積1,130km²の一級河川¹⁾。流域は、小野田・宮崎・中新田・鳴瀬各町のほぼ全域、三本木・松山・鹿島台各町の大部分、古川市・小牛田・鹿島台・南郷各町の一部、計11市町、灌漑用水の利水市町17、流域人口約9万人で県内人口の約4%²⁾。豊水流量、平水流量、低水流量、渇水流量は降水量で変動し経年的に一定傾向はない（表1）。

M8・22・23・43・T9に大水害、S22・9カスリン台風、S23・9アイオン台風、S25・8熱帯低気圧による大洪水があり、鳴瀬川総合開発事業の一環としてS55に多目的ダム（洪水調節・農業用水・水道用水・工業用水・発電）として漆沢ダムを築造¹⁾。漆沢ダム概要【中央コア型ロックフィルダム・堤高80m・総貯水量1,800万m³・計画堆砂量200万m³・集水面積58.9km²の約98%（5,770ha）が森林・国有林約5,330ha（92%）・民有林約440ha（8%）・年平均気温10.6℃・年降水量1,957mm・年間降水日数178日・積雪深最大100cm以上³⁾⁴⁾⁵⁾】

表1 鳴瀬川の流況と降水量

年	三本木橋 (550.8km ²) : m ³ /s							野田橋 (707km ²) : m ³ /s							降水量 : mm/年		
	豊水	平水	低水	渇水	最大	最小	平均	豊水	平水	低水	渇水	最大	最小	平均	大衡	鹿島台	仙台
44	31	18	11	4.9	638	1.6	29	34	20	13	8.2	835	1.3	32	1,198	1,097	1,036
45	27	14	8.5	3.9	436	2.1	24	26	14	10	3.3	502	0.9	25	(996)	(832)	848
46	29	17	11	0.8	531	0.1	25	32	20	13	5.5	406	3.2	30	1,464	(1,289)	1,257
47	32	18	8.9	1.6	413	0.6	25	37	22	13	5.3	568	3.3	30	1,454	(1,517)	1,505
48	20	13	4.5	0.5	177	0.5	17	28	19	11	0.8	210	0.5	23	(878)	705	814
49	29	16	10.1	3.4	469	2.0	27	42	26	20	14.6	485	11.9	40	1,374	1,150	1,326
50	17	11	5.7	2.3	513	0.0	19	27	19	11	3.9	487	2.6	27	952	945	1,037
51	29	17	9.3	2.7	523	1.5	24	37	23	15	8.9	613	8.4	33	1,581	1,357	1,545
52	27	14	10.8	4.7	533	2.9	24	37	22	14	7.3	473	3.4	31	1,057	997	1,154
53	24	12	7.8	2.5	257	2.2	30	31	16	11	3.3	239	3.2	26	937	(826)	863
54	26	17	10	4.6	405	3.1	22	39	24	15	7.5	300	0.5	31	1,268	1,207	1,423
55	28	16	11	5.3	425	2.9	30	53	26	17	9.1	487	6.1	44	1,451	1,299	1,638
56	30	18	13	3.0	877	1.0	30	43	26	18	6.9	862	5.1	41	1,094	1,043	1,122
57	29	16	12	4.9	1,357	2.9	28	41	22	16	9.1	2,973	4.9	41	1,309	1,146	1,209
58	35	19	12	4.3	603	0.7	29	46	27	18	11	612	6.1	40	1,456	1,182	1,330
59	26	11	7.8	1.8	425	0.4	24	35	16	12	8.2	243	6.0	32	996	889	820
60	28	15	7.3	1.3	572	0.1	21	36	20	11	2.8	722	0.7	32	1,242	1,018	1,181
61								39	22	17	12	1,474	1.0	35	1,255		1,292
62	24	16	12	4.4	317	0.7	21	37	24	17	8.8	368	6.1	31	1,001	851	838
63	47	25	18	11	514	5.1	39	61	35	25	18	518	12	50	1,428	1,169	1,415
1	35	21	14	6.0	1,409	1.9	33	36	25	19	11	1,472	5.7	39	1,397	1,180	1,394
2	27	19	11	3.2	1,566	1.2	26	33	23	16	4.3	945	1.2	34	1,451	1,297	1,337
3	36	23	16	5.2	618	2.8	35	46	28	19	8.3	804	1.1	45	1,733	1,498	1,797
4	22	13	8.5	3.5	146	1.8	19	28	17	13	7.1	212	3.5	25	1,010	908	977
5	36	24	16	11	923	8.9	32	50	32	23	15	1,001	8.3	44	1,415	1,268	1,466
6	25	14	7.9	0.9	1,637	0.2	24	31	20	12	0.9	1,611	0.0	31	1,032	1,056	1,239
7	27	15	10	5.7	224	1.3	22	33	19	14	10	272	2.5	28	1,085	1,063	975
8	26	15	10	3.8	315	0.7	23	35	17	13	6.0	382	0.4	27	998	944	945
9	27	16	11	4.7	827	2.5	23	34	24	17	12	906	5.0	32	1,298	1,186	1,161
10	34	19	13	4.3	1,056	1.0	31	45	31	20	8.5	1,043	2.5	43	1,567	1,341	1,419
11	38	19	14	3.0	887	0.1	39	51	27	20	10	953	4.4	50	1,625	1,549	1,596
12	28	15	9	3.8	581	2.6	28	38	22	15	10	691	6.7	35	1,335	1,110	1,187
最大	47	25	18	11	1,637	8.9	39	61	35	25	18	2,973	12	50	1,733	1,549	1,797
最小	17	11	4.5	0.5	146	0.0	17	26	14	10	0.8	210	0.0	23	878	705	814

* 現 (財)県下水道公社仙塩処理場

()内は推定10%以内の欠測

空欄は統計値なし

2 地域別の水循環特性

(1) 山間部

- ① 漆沢ダム上流域の広葉樹伐採状況は、Ⅱ期以前：皆伐主体、Ⅲ期以降：択伐主体で、伐採面積率はそれぞれ4.7%、5.4%（表2）。漆沢ダム上流域の伐採面積率4.7~5.4%は流況変化のポーターライン付近で、H1~10は流況や水質に大きな変化は見られない⁷⁾⁸⁾⁹⁾。
- ② ダム上流域の国有林ブナ蓄積量は減少、現在は平衡状態。民有林は、年間の伐採総面積が約20haと少なく、ダム流入量等への影響は少ない。
- ③ 森林最良流域4.8m³/s/百km²、森林良好流域3.8、森林不良流域3.0の区分から、漆沢ダム上流域4.2（H1~10平均）は森林最良流域~森林良好流域⁸⁾。
- ④ いわゆる「白いダム」の効果：H12.4~5実測値で試算。2ヶ月ダム流入量 - （最低流量 + 降水直接流入量）を効果とすると、漆沢ダム集水域の42%を占める辻倉上流域だけで貯水量の約2倍。
- ⑤ いわゆる「緑のダム」の効果：H12.7~10実測値で試算。（降水後の直接流出と見られる急激な増加と減少を示す日以外の流量）-（深部地下水の流出と見られる各月の最低流量）を効果とすると、辻倉上流域かつ4ヶ月間だけで貯水量の約0.2倍。

(2) 農村部

- ① 流域面積1,130km²の約1/5が田畑でその約60%が水田¹¹⁾。345カ所の農業用水取水施設、大小38カ所の堰や揚水ポンプ¹²⁾¹⁵⁾。他に約520カ所の農業用水ため池¹³⁾・農業用地下水の揚水量約100千m³/日¹⁴⁾（表3・表4）。
- ② 国営・県営の灌漑排水事業で水田の基盤整備が進み、農業用水の使用合理化が図られたが、取水量・地下浸透量などを推定する統計資料はなかった。
- ③ 水田地帯の灌漑期は面的に水張り状態。貯留された水は土壌水や地下水を涵養し水環境を保全。反面、減反による農地の減少やコンクリートライニング水路（三面護岸）整備で地下水涵養機能や浄化機能の低下、過剰な施肥や農薬等による土壌や地下水等への環境負荷が問題化している。
- ④ 下水処理水の増加で、農業用水の窒素過多等による水稻障害が懸念される。上流域は「農業用水基準」1.0mg/l未満、中流域以下では超過。

(3) 市街部

- ① 公共下水道5市町、流域下水道5町、残り1町が農業集落排水。下水道普及率平均27.9%は県普及率61.7%に比べ低い¹⁵⁾。終末処理場は5浄化センターで処理され鳴瀬川へ放流（表5・表6）。
- ② 上水道水源は漆沢ダム（鳴瀬川）・南川ダム（吉田川）、2系統の浄水場から17市町村に日平均55,155m³供給。工業用水は、0.69m³/sの供給能力。

表2 漆沢ダム上流域における国有林の状況

期別	年度	森林面積 ha	蓄積(千m ³)		年平均伐採面積・量(m ³)		
			広葉樹	ブナ	面積ha	広葉樹 m ³ /ha	
I	1974~1978	5330	504		55	7500	136
II	1979~1983	5330	478	338	64	8200	128
III	1984~1988	5330	446	319	73	4600	63
IV	1989~1993	5330	447	314	49	2000	41
V	1994~1997	5330			31	1200	39

注) 中新田営林署管内、小野田町内、漆沢ダム上流域の国有林面積の比率から推定⁶⁾。

表3 鳴瀬川の農業用水取水施設

施設数		水系	本川
施設数		345	38
灌漑面積(ha)		18,800	8,800
取水量 (m ³ /s)	最大(代播き期5月初め)	59	26
	常時(普通期5月半~9月初)	44	20

(宮城県産業経済部資料)

表4 鳴瀬川流域のため池施設(古川管内)

施設数	520
灌漑面積(水田) ha	8,400
総貯水量 千m ³	6,800
有効貯水量 千m ³	6,000

資料：ため池台帳(1990)¹³⁾

表5 鳴瀬川流域の下水道普及率(H10年度末)

市町名	処理区域人口	処理人口	普及率	区分
古川市	71,135	19,195	27	公 共
中新田町	14,178	7,125	50.3	公 共
小野田町	8,499	3,514	41.3	公 共
宮崎町	6,542	2,124	32.5	公 共
色麻町	8,383			公 共
松山町	7,188	3,428	47.7	流 域
三本木町	8,703	2,913	33.5	流 域
鹿島台町	14,197	4,857	34.2	流 域
小牛田町	20,641	3,331	16.1	流 域
南郷町	7,224			農業集落
計	166,690	46,487	27.9	

資料：宮城の下水道(1996)

表6 鳴瀬川流域内浄化センターの状況(H9年度末)

市町名	処理場名	処理水量	BOD	供用開始	位置
古川市	師山水浄化センター	5,385	4.7	S59.4	32
中新田町	中新田浄化センター	1,225	3.1	H5.3	47.3
小野田町	小野田浄化センター	502	1.7	H6.3	51
宮崎町	宮崎浄化センター	427	4.4	H3.4	46.5
色麻町	色麻浄化センター				
鳴瀬川流域	鹿島台浄化センター	2625	2.6	H4.4	9.5
松山町	"			H4.4	
三本木町	"			H4.6	
鹿島台町	"			H4.6	
小牛田町	"			H6.10	
計		10,164			

(注) 処理水量：1日当たり平均処理水量(m³)

(注) BOD：放流水(mg/l)

(注) 位置：放流口の位置で、鳴瀬川河口からの距離(km)

表7 内水面魚種別漁獲量－鳴瀬川－ 空欄及びH4以降は統計値なし 単位：t

年度	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	1	2	3
川さけ	9	10	9	5	6	48	21	22	21	27	16	12	29	22	29	28	32	
しじみ	100	90	60	54	60	60	40	20	1	0	0	0	0	8	9	9	4	7

表8 鳴瀬川水質の経年推移 空欄は統計値なし 単位：mg/ℓ

測定地点名	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
筒砂子橋	0.7	1.0	0.5	1.0	0.5	0.5	0.5	0.8	0.7	0.7	0.6	0.6	0.6	0.7	0.6	0.7	0.8	0.5	0.8	0.8	0.7	0.9	0.7	0.5	0.7	0.5
唐府沢川					0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.7	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5
漆沢ダム流入部					0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.7	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0.3
鳴瀬橋(中新田)	0.4	1.2	0.5	1.0	0.9	0.6	0.9	1.1	0.9	1.2	0.9	0.8	0.7	1.1	1.0	1.0	1.0	0.9	1.0	0.9	0.6	1.1	1.0	1.1	1.0	0.5
三本木	1.5	1.8	2.1	1.8	1.4	1.1	1.1	2.2	2.0	1.6	1.8	1.9	1.2	1.7	1.2	1.3	1.5	1.7	3.4	1.0	1.5	1.3	1.6	0.8	1.0	0.9
下中ノ目	1.5	1.8	2.0	2.1	1.4	1.0	1.5	2.4	2.7	2.5	1.9	2.4	1.4	1.6	1.4	2.3	1.9	2.1	3.0	1.2	1.3	0.9	1.6	0.9	1.1	1.0
感恩橋(南郷)	0.8	1.0	0.7	1.0	1.0	0.8	0.9	1.2	1.3	1.5	1.1	1.1	1.0	1.1	1.1	1.2	1.3	1.2	1.4	1.2	1.2	1.4	1.7	1.2	1.3	1.1
小野橋	1.4	1.6	1.9	2.3	1.8	1.3	1.3	2.3	2.4	2.4	1.8	1.9	1.8	1.8	1.7	2.3	2.2	2.1	3.3	1.4	2.2	1.5	1.6	1.4	1.2	1.1
筒砂子橋	0.4	0.7	0.6	1.0	0.5	0.5	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.7	0.7	0.6	0.8	0.6	0.7	0.7	0.6	0.7	0.7	0.6	0.6	0.6
唐府沢川					0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.7	0.5	0.5	0.7	0.6	0.7	0.8	0.8	0.6	0.7	0.7	0.8	0.7	0.7	0.6	0.5
漆沢ダム流入部					0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	0.5	0.5	0.6	0.5	0.6	0.5	0.3	0.3	0.5
鳴瀬橋(中新田)	0.4	0.9	0.5	1.3	0.7	0.5	0.7	0.8	0.9	0.9	0.7	0.7	0.6	0.9	0.8	0.8	0.9	0.7	1.0	0.8	0.6	0.8	0.8	0.9	0.9	0.6
三本木	1.2	1.2	1.7	1.9	1.0	1.0	1.0	1.9	1.6	1.4	1.5	1.5	1.1	1.2	1.1	1.4	1.3	1.4	2.6	0.9	1.2	1.1	1.3	0.8	1.0	0.9
下中ノ目	1.4	1.5	1.6	1.6	1.1	1.0	1.2	1.7	1.9	2.1	1.8	1.8	1.3	1.4	1.1	1.7	1.5	1.4	2.5	1.0	1.3	1.0	1.2	0.9	1.0	0.8
南郷	0.7	0.9	0.7	0.8	0.9	0.7	0.8	0.9	1.1	1.3	1.0	0.9	0.8	1.0	1.0	1.2	1.1	0.9	1.1	1.1	1.1	1.1	1.4	1.1	1.2	1.0
小野橋	1.2	1.4	1.5	1.7	1.4	2.0	1.3	1.8	1.8	2.1	1.5	1.4	1.5	1.6	1.5	1.8	1.6	1.5	2.5	1.1	1.4	1.2	1.3	1.1	1.0	0.9

(4) 河口域

- ① 河口には2つの運河。右岸には鳴瀬川と松島湾を結ぶ東名運河(M17),左岸には鳴瀬川と北上川を結ぶ北上運河(M14),いずれも野蒜築港事業の一環として開削²¹⁾。潮止堰は河口から3.0kmに鳴瀬潮止堰(H1.3),5.6kmに若針潮止堰(S48.3)が構築され²²⁾,海水の遡上を調整。
- ② 内水面魚種別漁獲量は,しじみがS49の100tからS57の1tまで減少,H3に約10tに回復。若針潮止堰がS48,鳴瀬潮止堰がH1であり,堰による塩分の変化ではない。しじみ漁獲量減少がS56~57頃で,ダム構築年とほぼ一致。一方S54のさけの漁獲量の急増との関連性も考える(表7)。

分断,(b)河川の恒常流量の低下や異常出水の増加,(c)外来種の進入,(d)漆沢ダム築造による下流域の環境変化などを考える。

(2) 水質(BOD)の状況

- ① 鳴瀬川流域8地点とともに環境基準点(S51~H13)のBOD75%値は環境基準以下(表8)⁷⁾。
- ② BOD年平均値の経年変化は,上流部はダム上流及び下流(筒砂子橋)で横ばい,中流部(南郷)は漸増そして下流部は異常気象の影響を受けた年(H6)があったものの漸減。
- ③ 鳴瀬川のBOD排出負荷量(H9)は県内主要な10河川で2位,汚濁負荷量(人口千人当たり)が3位,1メッシュ(1km×1km)当たりで6位で10河川の平均値を下回る。上流域に負荷量が少ない自然系を持ち,中流域や下流域の負荷強度が高いことを意味。負荷量割合は産業系(4%)よりも生活系(54%)や畜産系(32%)が大方を占める²⁰⁾。

3 生物相の変化と水質変化

(1) 生物等からみた水環境

- ① 水産用水基準ではBOD指標だけでなく,生物影響を階級化した強腐水性,中腐水性,貧腐水性等の水質区分を採用した水生生物調査結果¹⁸⁾によると,カゲロウ類,カワゲラ類が優占,比較的きれいな川と判定。S60とH9の捕獲魚類調査結果,約10年間における魚類の生息状況に大きな変化はない¹⁸⁾¹⁹⁾。
- ② 地元漁協組合員や遊魚者等からは「魚種の数に変化が少なく,絶対数が減っている。昔の川の姿とは違う。」という話がよくきかれる。要因は(a)堰堤にある魚道の未設置や機能低下による河川の

表9 鳴瀬川流域の社会環境の変化

国勢調査(流域でなく11市町村の計)

	人口(人)	就業人口(人)			土地(ha)			
		第一次	第二次	第三次	田	畑	宅地	山林
昭和45年	162,960	40,109	10,164	23,020	21,641	4,355	1,790	52,051
平成12年	178,017	10,895	30,438	45,438	23,283	3,030	4,256	46,628
H12/S45	1.09	0.27	2.99	1.97	1.08	0.70	2.38	0.90

4 流域の社会経済的变化 (S40代とH12の統計値対比)

- (1) 1市10町の流域人口が約1万5千人増加。流域のほとんどの町で減少、古川市のみ顕著に増加、人口の極集中。産業構造は、第一次産業が約1/4に激減、一方第二次産業が約3倍、第三次産業が約2倍に増加。流域が県内有数の穀倉地帯であることから、農業の専業化から兼業化へと変化。土地利用は宅地が約2.4倍、水田が10%増加、畑が30%減少、山林が10%減少(表9)。

表10 鳴瀬川流域の水利用の変化 (千³m/年)

	上水道	下水道	農業用水	工業用水
昭和45年	6,598	0	649,900	0
平成12年	29,696	4,898	722,100	8,634
H12/S45	4.50	-	1.11	-

上水道:「宮城県の水道」

下水道:「宮城県の下水道」

農業用水:(水田+下水道)×25千³m/ha

工業用水:平成9年度契約水量×365日

- (2) 社会環境の変化に伴う水利用や河川の変化を検討した。上水道が人口の増加により給水量4.5倍となり、その水源は漆沢ダム。下水道整備により下水処理量・放流量も激増。工業用水道整備により取水量が増。農業用水は水田・畑面積拡大により増加、兼業農家の増加により取水時期(代掻き～田植え)が集中。流量は低水量及び濁水量が確保されたものの、最大流量と最小流量の差が拡大(表1・10・11)。

表11 地下水の揚水量 (万³m/日)

	①	③	②	①
	S50	S50	S59	H6
工業用	14	3.9	1.1	0.3 (4.5%)
建物用	31	0.7	0.1	1.3 (7.7%)
水道用	0	0.4	0.0	0.0 (1.8%)
農業	3	56.3	3.1	11.6 (86%)
計	48	61.2	4.3	13.2

①:地下水揚水量実態調査

②:地下水利用適正化調査

③:5.6万³m/日(昭51県公害白書)

5 水収支の変化 (S40代とH12の統計値対比)

流域の社会経済環境の変化に伴う流域の水収支の変化を調べるため、昭和40年代と平成12年の比較を試みた。蒸発散量、表面流出量、地下浸透を推定できる資料がないため、両年で同じ係数を用いた。しかし統計値の多くは市町村単位のため流域内外への按分が難しく、年ごとの降水量の変動が200%にも達するため、水収支の構造的変動を検出することはできなかった。

しかし、数量的に裏付けは難しいものの、一般的には、中下流域では、水田と宅地の増加による水収支の変化が

予想される。護岸工事や堰堤の設置・ダムの築造は上水道の安定供給、灌漑用水の確保、河川の低水流量の維持、洪水調節等の量的な確保は達成されたものの、河川のもつ多機能を低下させ、下流域の生物生息環境等を変化させた可能性も考えられる。

6 おわりに

水循環の健全化とは、自然環境の根幹をなす水循環の「流れ」と水環境・地盤環境の「場」を健全に保つことである。この過程に人為的な開発の手が加えられると、地表面に降った雨が浸透や流動、陸地からの蒸散・水面からの蒸発によって大気に戻るという「流れ」と「場」の連続性が保持されにくくなる。具体的には「水の使い過ぎ」や「水の汚し過ぎ」等を避け、これらの要因が流域の水循環とバランスする状態に保持すれば、循環の連続性は維持できると考えられる^{29,30)}。

県内でも、名取川水系では仙台地域水循環協議会(事務局:東北地方整備局)が「仙台地域の水循環」を作り公表している³¹⁾。

引用文献

((注)報告書本文で用いた文献番号をそのまま使用しているので、本文中に引用されない文献もある)

- 1) 宮城県(1977):鳴瀬川水系鳴瀬川総合開発事業計画書(漆沢ダム)S52.8
- 2) 宮城県(2002):宮城県県勢要覧 統計課資料第1077号
- 3) 宮城県(1990):宮城県土木史 407-409
- 4) 宮城県土木部水資源開発課(1993):宮城県のダム事業概要
- 5) 青森県営林局(1974~1997):青森県営林局事業統計書(S49年度-H9年度)
- 6) 志水俊夫(1999):森林の水源かん養機能-降った雨水の行方-森林保全 35
- 7) 宮城県(1971~2000):公共用水域及び地下水水質測定結果報告書(S47年度-H12年度)
- 8) 石井正典・大沼良彦・荒木志保(1998):東北地方の森林流域における流況と降水量、気温及び森林蓄積との関連性(II)東北森林科学会誌
- 9) 小川滋(1991):ブナ林の自然環境と保全 ソフトサイエンス社
- 10) 宮城県古川農林振興事務所(1999):水源森林総合整備事業調査測量設計業務調査報告書
- 11) 東北農政局統計情報部(2000):宮城農林水産統計年報
- 12) 宮城県産業経済部(1998):農業用水取水施設概要(資料)
- 13) 宮城県農政部農地計画課(1990):ため池台帳改訂三版
- 14) 宮城県(1990):平成10年度宮城県環境白書資料編

- 15) 宮城県 (1998): みやぎの下水道
- 16) 國松孝男・須戸幹 (1994): 大気降下物によるチッソ・リンの供給とその変動環境技術 23 (12) 6 - 9 共立出版
- 17) 宮城県内水面水産試験場 (1996): 鳴瀬川河川形状調査結果報告書
- 18) 宮城県内水面水産試験場 (1997): 鳴瀬川水生生物調査結果報告書
- 19) 宮城県内水面水産試験場 (1985)(1996): 鳴瀬川魚類調査結果報告書
- 20) 高橋正人 (2000): 鳴瀬川における水質汚濁の現況 H10年度自主研究グループ研究成果報告書
- 21) 宮城県土木部河川課 (1999): 宮城の河川と海岸
- 22) 北上川下流工事事務所資料
- 23) 西條八束・奥田節夫編 (1997): 河川感潮域 東海大学出版会
- 24) 栗原康編著 (1988): 河口・沿岸域の生態学とエコテクノロジー 東海大学出版会
- 25) ジョン・クラーク (1970): 沿岸域の保全と開発 思考社
- 26) 森下郁子 (1982): 河口の生態学 山海堂
- 27) 中村幹雄 (2000): 日本のシジミ漁業 たたら書房
- 28) 農林水産省農村振興局水産庁, 経済産業省資源エネルギー庁, 国土交通省河川局港湾局: 「海岸侵食対策と利水ダムの機能の維持・回復のための土砂管理対策検討委員会」の設置について記者発表資料H13.5.25
- 29) 環境保全上健全な水循環に関する基本認識及び施策の展開について ~豊かな水の恵みの永続を目指して~ H11.4 中央環境審議会水質部会・地盤沈下部会
- 30) 村岡浩爾 (1999): 「総論 - 水循環思想, 健全な水循環とは - 」 環境技術 28 (7) 25 - 28
- 31) 仙台河川国道事務所: 仙台地域の水循環
<http://www.pref.sendai-mlit.go.jp/junkan/index.html>

水道施設における生物学的な水質調査（第2報）

Biological Research for Public Water Supply Systems

那須 務*¹ 名村 真由美 千葉 美子
菅原 優子*² 川野 みち 加藤 玲子*³
梅津 幸司 鈴木 隆 千葉 圭子
後藤 つね子 日野 久美子 氏家 雪乃
小林 妙子 加茂 えり子 及川 敏彦*⁴
坂本 和臣

Tsutomu NASU, Mayumi NAMURA, Yoshiko CHIBA
Yuko SUGAWARA, Michi KAWANO, Reiko KATO
Koshi UMEZU, Takashi SUZUKI, Keiko CHIBA
Tsuneko GOTO, Kumiko HINO, Yukino UJIE
Taeko KOBAYASHI, Eriko KAMO, Toshihiko OIKAWA
Kazuomi SAKAMOTO

キーワード：公共水道，降雨，水質

Key Words : Public Water Systems , Rainfall , Water Quality

宮城県内の、ろ過施設を有していない水道施設の原水及び栓水から、509株の従属栄養細菌（以下、従属菌）を分離し、そのうちの408株を同定した。

1 はじめに

従属菌は、河川、湖沼、海水、上水など水環境の広い分野で汚染や水質管理の指標として検査されている。

我々は昨年第一報で、従属菌検査は水道水の良好な管理指標になること、即ち一般菌より高感度に細菌の存在を示していることを報告した。

今回は、上水道における汚染対策の詳細な資料を得る目的で、従属菌叢の解析を行ったので報告する。

2 方法

2.1 調査地点

宮城県内の塩素消毒のみを行い、ろ過施設のない次の3施設を対象とした（図1）。

- 施設：湧水（蔵王町）
- 施設：浅層地下水（"）
- 施設：湧水（涌谷町）

2.2 調査時期

7月及び11月の計2回の調査を行った。

2.3 採水日の環境（降雨）

鹿島台町及び白石市におけるアメダスのデータを用いて、採水日までの3日間の降雨量の合計が20mm以上を降雨時とみなした。



図1 採水施設（①～③）

* 1 現 仙南・仙塩広域水道事務所
* 2 現 大崎保健所
* 3 現 (財)宮城県公衆衛生協会
* 4 現 循環器呼吸器病センター

表1 理化学検査及び一般検査結果

(ND: 未実施)

		色度		濁度		pH		過マンガン酸カリウム消費量		残留塩素		先行降雨 (mm)		気温		水温	
		7月	11月	7月	11月	7月	11月	7月	11月	7月	11月	7月	11月	7月	11月	7月	11月
施設①	原水	<2	<2	1	<0.5	7.3	7.1	2	1	0	0	1	3	19	8	10	10
	栓水-1	<2	<2	1	<0.5	7.4	6.9	2	1	0.2	0.4	1	3	22	10	13	11
	栓水-2	<2	<2	1	<0.5	7.5	7.3	1	1	0.4	0.6	1	3	21	8	18	13
施設②	原水	<2	<2	1	<0.5	7.3	7	3	3	0	0	1	3	21	7	15	8
	栓水-1	<2	<2	<0.5	<0.5	7.3	7	2	2	0.4	0.5	1	3	22	8	18	11
	栓水-2	<2	<2	1	<0.5	7.3	6.8	3	2	0.2	0.3	1	3	23	7	22	18
施設③	原水	<2	<2	<0.5	<0.5	7.4	7.6	2	1	0	0	29	1	ND	ND	6.6	13.1
	栓水-1	<2	<2	<0.5	<0.5	7.6	7.7	2	1	0.2	0.2	29	1	ND	ND	6.6	11
	栓水-2	<2	<2	<0.5	<0.5	7.5	7.7	2	1	0.2	0.2	29	1	ND	ND	6.6	11

2.4 検査項目

上水道試験法¹⁾に基づいて次の検査を実施した。

一般検査項目：気温，水温

理化学検査項目：濁度，色度，pH，過マンガン酸カリウム消費量，残留塩素

細菌検査項目：一般菌，大腸菌群，大腸菌，従属菌 (R2A培地，20，7日間培養) 及び分離菌株の同定

3 結果と考察

3.1 採水時の気象 (表1)

今回の調査で降雨日とされたのは，延べ18日間の検査日のうち7月17日の施設の調査日であった(降雨の最高値29mm)。

また，最高水温は22 (施設 栓水-2，7月24日)で，最低水温は8 (栓水 原水，11月13日)であった。

3.2 理化学検査項目 (表1)

色度，濁度，pH，過マンガン酸カリウム消費量及び栓水の残留塩素に異常値はなかった。

3.3 細菌検査項目 (表2)

3.3.1 一般菌

原水での最高値は44cfu/mL (施設，7月24日)であった。

また，栓水の最高値は1cfu/mL (施設 栓水-2，7月24日)であった。

3.3.2 大腸菌群及び大腸菌 (表2)

原水では，大腸菌群は11月13日の施設を除くすべての原水から検出された。また，大腸菌は施設 (7月24日)，施設 (7月17日)から検出された。

栓水では，大腸菌群が施設 栓水-2から検出された (7月24日)。

3.3.3 従属菌 (表2)

原水の最高値は450cfu/mL (施設，7月24日)であった。

栓水の最高値は202cfu/mL (施設，11月13日)であった。

3.3.4 一般菌と従属菌との比較 (図2及び表2)

一般菌と従属菌の検出数を比較すると，今回の調査では，従属菌は一般菌よりおおむね10~100倍高いことが確認された。

表2 細菌検査結果

		大腸菌群 (大腸菌)		一般細菌数 (cfu/ml)		従属栄養細菌数 (cfu/ml)	
		7月	11月	7月	11月	7月	11月
施設①	原水	+(-)	+(-)	0	1	25	52
	栓水-1	-(-)	-(-)	0	0	1	1
	栓水-2	+(-)	-(-)	1	0	110	3
施設②	原水	+(+)	+(-)	44	9	450	380
	栓水-1	-(-)	-(-)	0	0	14	1
	栓水-2	-(-)	-(-)	0	0	5	13
施設③	原水	+(+)	-(-)	11	0	139	18
	栓水-1	-(-)	-(-)	0	0	67	202
	栓水-2	-(-)	-(-)	0	0	105	48

また，従属菌に着目すると (図2)，消毒された栓水の細菌数が原水より多いという逆転現象が観察された (施設 栓水-2，7月24日，施設 栓水-1及び2，11月13日)。しかし一般菌ではこの逆転現象はみられず，従属菌が一般菌より検出率が高いことの一例と考えられた。

金子らは今回の様な逆転現象の原因の一つとして，配

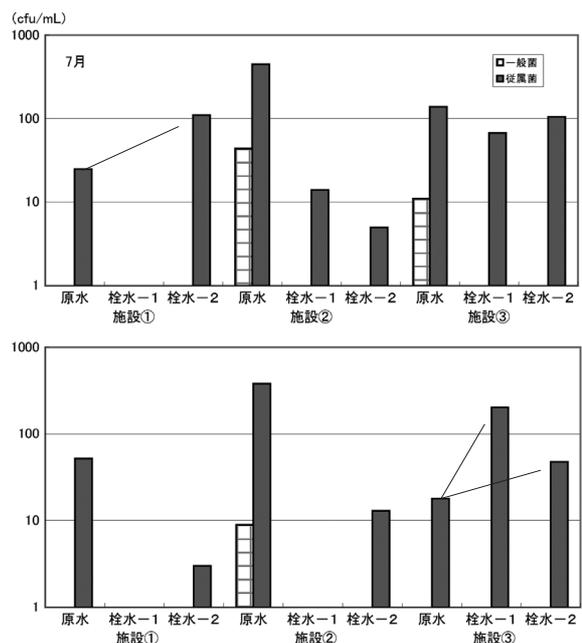


図2 一般菌と従属菌

水管内の滞留による2次増殖をあげている。

3.3.5 従属菌の同定法 (図3)

分離菌株の同定は上水試験方法に基づいて行った。検体を段階希釈して、1平板あたり30から50集落が出現した平板の全集落を対象とした。

- ↓
- R2A培地を用いて、分離培養及び純培養。
- ↓
- 形態及び生化学的性状から菌種を同定。
- グラム染色
- オキシターゼ, カタラーゼ, VP反応, 運動性,
- OF試験, 簡易同定キット (BBLクリスタルE/NF, GP, ANR, Api20NE)

図3 同定方法

3.3.5.1 同定結果

栓水及び原水から合計509菌株の従属菌を分離し、その内408菌株を同定した。同定率は80%で、101/509菌株、20%が種不明菌。

3.3.5.2 原水の結果

原水由来の分離菌株247菌株から205菌株を同定した。その概要を図4に示す。

いずれの施設でもグラム陰性非発酵菌が40~57%を、グラム陰性発酵菌は19~24%を占めており類似した傾向がみられた。また、グラム陽性菌は3~22%であったが、その多くはコリネバクテリウム属菌で、全体的には施設間の菌種に大きな違いはみられなかった。

3.3.5.3 原水と栓水の比較 (図5)

施設及びでは、栓水で菌数がおおむね減少して塩素消毒の顕著な効果みられたものの、同定結果は腸内細菌科などのグラム陰性発酵菌が証明され、糞便汚染が疑われた。

さらに、施設栓水-1から日和見感染症の原因とされる腸球菌が(7月24日)、また施設の栓水から原水より多数の従属菌が分離された。

施設の現象は、分離菌株の構成から、3.3.4に記した逆転現象の原因と考えられた。

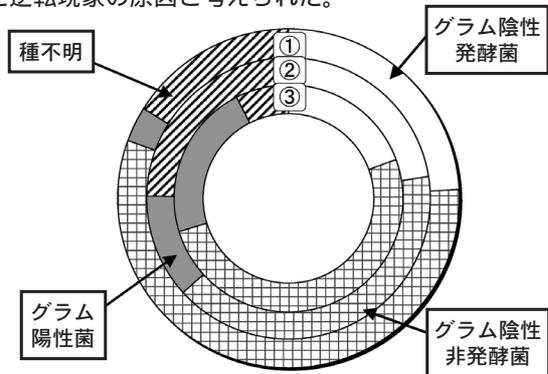


図4 分離菌株の同定結果 (原水)

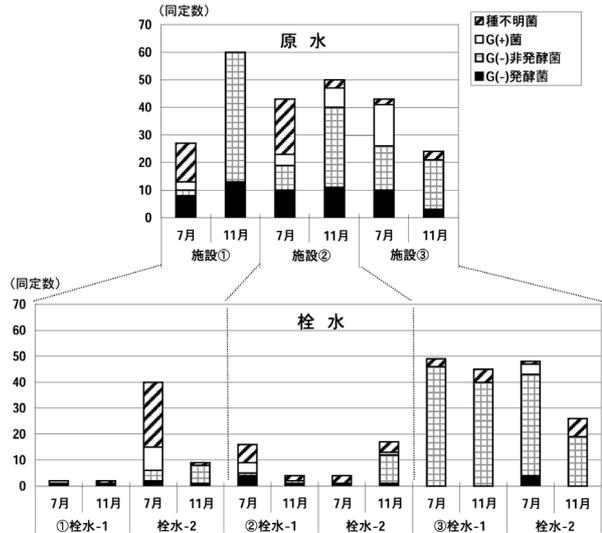


図5 分離菌株の同定結果

4 まとめ

今回の調査結果から以下のことを確認した。

- 1) 従属菌は一般菌より検出感度が高いこと。
- 2) 従属菌の菌種の多様性。
- 3) すべての原水からグラム陰性発酵菌(腸内細菌科など)、日和見感染症の原因とされる細菌が検出され、水源をとりまく環境の汚染が強く示唆された。
- 4) 残留塩素が証明された栓水から、グラム陰性発酵菌(腸内細菌科)が検出されるなど、塩素消毒以外の除菌施設の必要性が示唆された。

謝辞

蔵王町水道事業所及び涌谷町水道組合の方々のご協力に感謝いたします。

参考文献

- 1) 安藤ら: 上水試験方法・解説 2001年版, 社団法人日本水道協会 (2001)
- 2) 金子光美監訳: 飲料水の微生物学, 技報堂出版, 57 (1992)

酵母Two-hybrid法を用いたエストロゲン様活性測定法の検討

Study of Yeast Two-hybrid Based Assay for Estrogenic Activity

名村 真由美 千葉 美子 梅津 幸司
 鈴木 隆 三沢 松子 阿部 時男*¹
 有田 富和*² 秋山 和夫

Mayumi NAMURA, Yoshiko CHIBA, Koshi UMEZU
 Takashi SUZUKI, Matsuko MISAWA, Tokio ABE
 Tomikazu ARITA, Kazuo AKIYAMA

キーワード：酵母，ツーハイブリッド法，エストロゲン様活性，バイオアッセイ

Key Words：Yeast，Two-hybrid，Estrogenic Activity，Bioassay

1 はじめに

近年、内分泌攪乱作用を持つ物質やその疑いを持たれている物質の解明が進んでいる。しかし、数十万種以上も存在するとされる化学物質の環境中での挙動を、スクリーニングなしに機器分析により解析することは、費用や時間的な制約に加え、生体内での作用機序との関わりが不明のままであることなどの問題を含んでいる。

一方、反応系に生物を使用した解析方法いわゆるバイオアッセイ法は、間接的ではあるが生体内における化学物質の作用を観察出来る方法として、近年環境ホルモン様物質の解明に広く応用されている。

ここでは、バイオアッセイ法の一つである酵母Two-hybrid法を用い、発色法とより感度が高いとされている化学発光法について、エストロゲン様活性と多検体同時測定法などについて検討したので報告する。

2 方法

2.1 酵母Two-hybrid法と原理

測定原理を図1に示す¹⁾。使用した酵母は、国立環境研究所から分与され、エストロゲンレセプターがプラスミドに組み込まれたものである。この酵母は、エストロゲン様物質を取り込んで、最終的にコアクチベータと結合し、 β -ガラクトシダーゼ(β -gal)が発現して添加基質を分解するように設計されたものである。

2.2 発色法(図2)

マイクロプレート上で、対照とする化学物質および陽性対照17 β -Estradiol(E2)を60 μ lずつ2倍段階希釈する。次に、あらかじめ30 \pm 18時間、SD培地(-Leu,-Trp)にて振とう培養し、波長595nmで濁度1.65~1.8に調整した酵

* 1 現 財宮城県下水道公社

* 2 現 石巻保健所

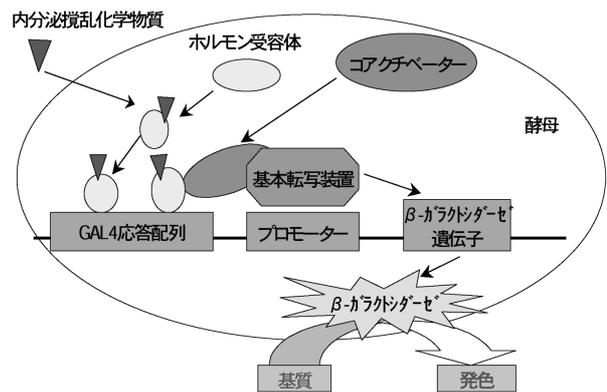


図1 酵母Two-hybrid法の原理と概略

母を、各ウェルに60 μ lずつ添加する。30 \pm 18時間、暴露を兼ねた静置培養後、600nmの吸光度を測定して細胞濃度とする。

吸光度測定後、5mg/mlのZymolyaseを含むZ buffer(5 \times)溶液25 μ lを加えて、37 \pm 1時間反応させて細胞壁を破壊後、 β -galの発色基質であるクロロフェノールレッド- β -ガラクトピラノキド(CPRG)(0.5mg/mlリン酸buffer)25 μ lを加えて30 \pm 1時間発色させる。2M炭酸ナトリウム溶液50 μ lで反応停止後、プレートリーダーで550nmと600nmの吸光度を測定し、川越らの式²⁾で β -gal活性値を求めてエストロゲン様比活性値とした。

$$= (A_{550} - A_{600}) / (OD_{600})$$

ただし、 β -gal比活性値、 A_{550} = 550nmの吸光度、 A_{600} = 細胞壁破壊後の測定値、 OD_{600} = 細胞濃度。

2.3 化学発光法

図3に化学発光法の測定法を示す。発色法と同様に、試料と陽性対照をマイクロプレート上で60 μ lずつ2倍段階希釈し、酵母前培養液60 μ lを加える。30 \pm 4時間、

暴露を兼ねた培養後、Zymolyaseと化学発光反応液の混合液を80 μl添加、37 °C 1時間反応させる。化学発光測定装置にて発光促進液を50 μlずつ自動添加し、3秒後の1秒間の積算化学発光強度から -gal活性値を測定する。陰性対照であるDMSOの化学発光強度（ベースライン）に対する発光比(T/B)を求め、以下白石ら³⁾の方式に従って、エストロゲン様活性値を算定した。なお、-galを測定するための化学発光レポーター遺伝子測定用キットは、Aurora Gal-XE Kit (ICN) を用いた。

酵母を前培養 (SD培地 [-Leu ,Trp])
30 °C , 18hr振とう培養
マイクロプレート上で化学物質を2倍段階希釈

前培養液を60 μl添加
30 °C , 18hr静置培養
細胞濃度600nmを測定

5 mg/ml Zymolyase20T含 5 × Z buffer 25 μl添加
37 °C , 1hr静置反応
0.5mg/ml CPRG含0.1Mリン酸buffer 25 μl添加
30 °C , 1hr静置反応
2 M炭酸ナトリウム溶液 50 μl添加

吸光度600nm, 550nmを測定
図2 発色法測定フロー

酵母を前培養 (SD培地 [-Leu ,Trp])
30 °C , 18hr振とう培養
マイクロプレート上で化学物質を2倍段階希釈

前培養液を60 μl添加
30 °C , 4hr静置培養
Zymolyase + 化学発光反応液 80 μl添加
37 °C , 1hr静置反応

測定 (発光促進液自動添加)
図3 化学発光法測定フロー

3 結 果

表1は発色法で標準物質10種のエストロゲン様活性を測定した結果である。7種の化学物質で活性が認められたが、4-n-Octylphenol等3種では活性が認められなかった。エストロゲン様活性が認められた物質について、E2における -gal活性値の10%値 (EC₁₀) に相当する濃度 (EC₁₀) を算出した³⁾。その結果、Bisphenol Aでは 8.84×10^{-8} 、4-Nonylphenolでは 1.69×10^{-9} と、他の文献と同程度の感度を得ることができた。

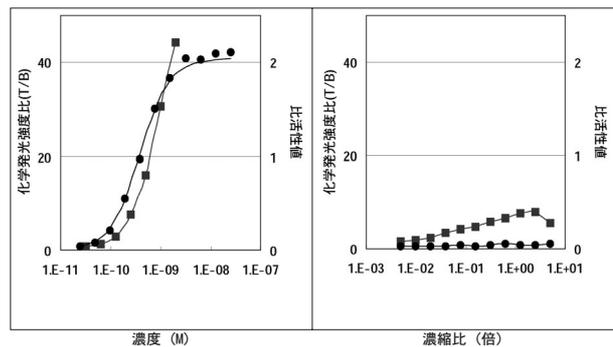
次に、化学発光法と発色法の検出感度を比較した結果、E2では化学発光法で直線領域が約100倍広くなった。また、河川水を測定した結果では、発色法でエストロゲン

様活性は検出されなかったが、化学発光法では濃度に依存した発光比からエストロゲン様活性がみられるなど検出感度の向上を確認できた。(図4)

更に、これらの試験は従来、マイクロチューブを用いて1検体ずつ測定していたが、マイクロプレート法は多検体を一括測定でき、実験誤差の少ないこと、測定時間の短縮、操作の容易さなど、マイクロチューブ法より優れていることが確認できた。

表1 標準物質のEg様活性とE2相当活性値

物質名	EC ₁₀ (M)
Bisphenol A	8.84×10^{-8}
Bisphenol F	1.31×10^{-7}
4-Nonylphenol	1.69×10^{-9}
4-Octylphenol	4.40×10^{-9}
4-n-Nonylphenol	2.09×10^{-7}
4-n-Octylphenol	N.D.
4-n-Heptylphenol	N.D.
4-n-Pentylphenol	2.94×10^{-5}
4-n-Hexylphenol	2.01×10^{-5}
4-tert-Butylphenol	N.D.



β-Estradiol 試料 (河川水)

図4 発色法・化学発光法の比較

●は発色法, ■は化学発光法の測定結果を表す

4 ま と め

以上の結果から、マイクロプレート上で全操作を行う本方法は操作が簡便であり、多検体を同時に測定できること、測定誤差が少ないことなど、エストロゲン様活性の簡易スクリーニング法として有用であると考えられる。

また、化学発光法は発色法より高感度にエストロゲン様物質の検出が可能であり、今後は化学発光法による試験系の実用化に向けて引き続き検討したい。

5 謝 辞

酵母Two-hybrid法について種々のご指導をいただきました。国立環境研究所の白石不二雄先生に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) 井上達：内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法，シュプリンガー・フェアラーク東京（2000），p 20 - 27
- 2) 川越保徳ほか：酵母Two-hybridシステムによるエストロゲン様活性測定法の簡便化に関する検討，環境化学，Vol .10，No.1，p .65-72，（2000）
- 3) 白石不二雄ほか：酵母Two-Hybrid Sysytemによる簡便なエストロゲンアッセイ系の開発 環境化学，Vol .10，No.1，p 57 - 64，（2000）

食品中の黄色ブドウ球菌エンテロトキシン検査法の検討

Studies on the Detection of Staphylococcal Enterotoxins in Foods

後藤 つね子 日野 久美子 氏家 雪乃
小林 妙子 及川 敏彦 坂本 和臣

Tsuneko GOTO, Kumiko HINO, Yukino UJIIE
Taeko KOBAYASHI, Toshihiko OIKAWA, Kazuomi SAKAMOTO

キ - ワ - ド : 黄色ブドウ球菌エンテロトキシン, Transia Plate, 濃縮抽出

Key Words : Staphylococcal Enterotoxins, Transia Plate, extraction

1 はじめに

平成12年6月～7月に発生した乳製品による黄色ブドウ球菌エンテロトキシン(以下SE)の大規模な食中毒事件を受け、厚生労働省は平成14年2月、「乳等からのエンテロトキシンの検査方法について」の通知を出した。今回「ELISAキット「Transia Plate Staphylococcal Enterotoxins」(Diffchamb社製。以下TP)を用い、牛乳からの濃縮抽出法について検討した。あわせて食品からのSE検出法について検討した。

2 材料及び方法

2.1 トリクロロ酢酸(TCA)法による濃縮抽出法の検討

2.1.1 材料

- ① 市販牛乳25mℓにSEを添加し最終濃度4.9ng/mℓに調整したもの
- ② 市販牛乳25mℓにSEを添加し最終濃度0.2ng/mℓに調整したもの

2.1.2 方法

試料25mℓを、図1の方法に従い25倍濃縮試料を作成する。抽出した試料液100μℓをTP(図2)と逆受身ラテックス凝集法(RPLA)で実施した。

2.2 TPの検討

2.2.1 材料

- ① 惣菜、滅菌惣菜、生かき、生肉、生魚、米飯、生クリ-ム(市販品を使用)
- ② ①の食品20gにエンテロトキシンA産生黄色ブドウ球菌 3.25×10^6 CFU/mℓを100μℓ添加したもの(1.6×10^6 CFU/g)
- ③ ①の食品20gにSE100ng/mℓを20μℓ、200μℓ添加したもの(SE濃度0.1ng/g, SE濃度1ng/g)

2.2.2 方法

①～③の食品20gにPBS40mℓを加えストマッカー処理し、懸濁液を20分間静置後、3,000rpm, 15分間遠心分離

する。上清を0.8μmフィルターでろ過し、試料液100μℓを図2に従って実施した。

試料(25mℓ)

上 清 | pH3 & 2N HCl)
| 攪拌後, 10分間放置
| 遠心分離(3,000rpm, 20分, 4)

上 清 | pH6 & 2N NaOH)
| クロロホルム10%量添加, 混和
| 遠心分離(3,000rpm, 20分, 4)

上 清 | 30% TCA溶液20%量添加
| 転倒混和10回
| 反応(水中, 30分間)
| 遠心分離(3,000rpm, 20分, 4)

沈 渣 | 遠心分離(3,000rpm, 1分, 4)
| 遠沈管内壁の溶液を除去

沈 渣 | 溶解(100mM Tris-HCl)
| pH7～8(2N NaOH)

濃縮サンプル(1mℓ)

エンテロトキシン測定検出キット(TP, RPLA)

図1 TCA法による濃縮抽出法

濃縮サンプル100μℓをTPに分注
室温30分

洗浄5回

ペルオキシダ-ゼ結合体100μℓ添加
室温30分

洗浄5回

発色基質100μℓ添加
室温30分

反応停止液50μℓ添加

450nmで測定

判 定 陰 性: 吸光度 < (閾値 - 0.05)
陽 性: 吸光度 > 閾値
疑陽性: (閾値 - 0.05) < 吸光度 < 閾値

図2 TP法の操作方法

3 結果及び考察

3.1 濃縮抽出法による検討

SE4.9ng/mlに添加調整した牛乳については、エンテロトキシンを回収することができた。SE0.2ng/mlに添加調整した牛乳は濃縮操作を行ったにも関わらずエンテロトキシンは検出できなかった。(表1)

3.2 TPの検討

SE無添加食品では、10件中生魚2件が非特異反応を示した。エンテロトキシンA産生黄色ブドウ球菌(1.6×10⁶CFU/g)を添加した食品では、10件中全てが陽性となった。またSEを添加した食品については、SE(0.1ng/g)添加で10件中1件が陽性反応を示した。(表2)

食品からのTP法による直接検出においては、検出感度、特異性、回収率等、検査現場での使用には幾つかの検討課題が残された。また牛乳の濃縮抽出法においては乳清分離やpH調整操作等に注意し、回収率を上げるためなお検討が必要である。今後、牛乳以外の乳及び乳製品についても充分検討を行い、広域化する食中毒事例や日常の検査に対応できるよう努めたい。

参 考 文 献

- 1) 雪印食中毒事件に係る厚生省・大阪市原因究明合同専門家会議：食品衛生研究 Vol.51, No.2 (2001)
- 2) 楠美敬子他：第22回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集 68, 69 (2001)

表1 牛乳の濃縮抽出法による検出結果

実施回	試料	SE濃度4.9ng/ml		SE濃度0.2ng/ml	
		TP法	RPLA法	TP法	RPLA法
1	濃縮前	+	×128	+	×4
	後	+	×2	-	<×1
2	濃縮前	+	/	+	/
	後	+		-	
3	濃縮前	+	×64	+	×4
	後	+	×16	-	<×1
4	濃縮前	+	×64	+	×2
	後	+	×2	-	<×1

表2 食品からのTP検出結果

品名	SE無添加	菌添加 (1.6×10 ⁶ CFU/g)	SE添加	
			SE濃度1ng/g	SE濃度0.1ng/g
惣菜	-	+	+	-
滅菌惣菜	-	+	+	-
生かき	-	+	+	-
魚(たら)	-	+	+	-
魚(赤魚)	+	+	+	+
魚(鮭)	+	+	+	+
豚肉	-	+	+	+
鶏肉	-	+	+	-
米飯	-	+	+	-
生クリーム	-	+	+	-