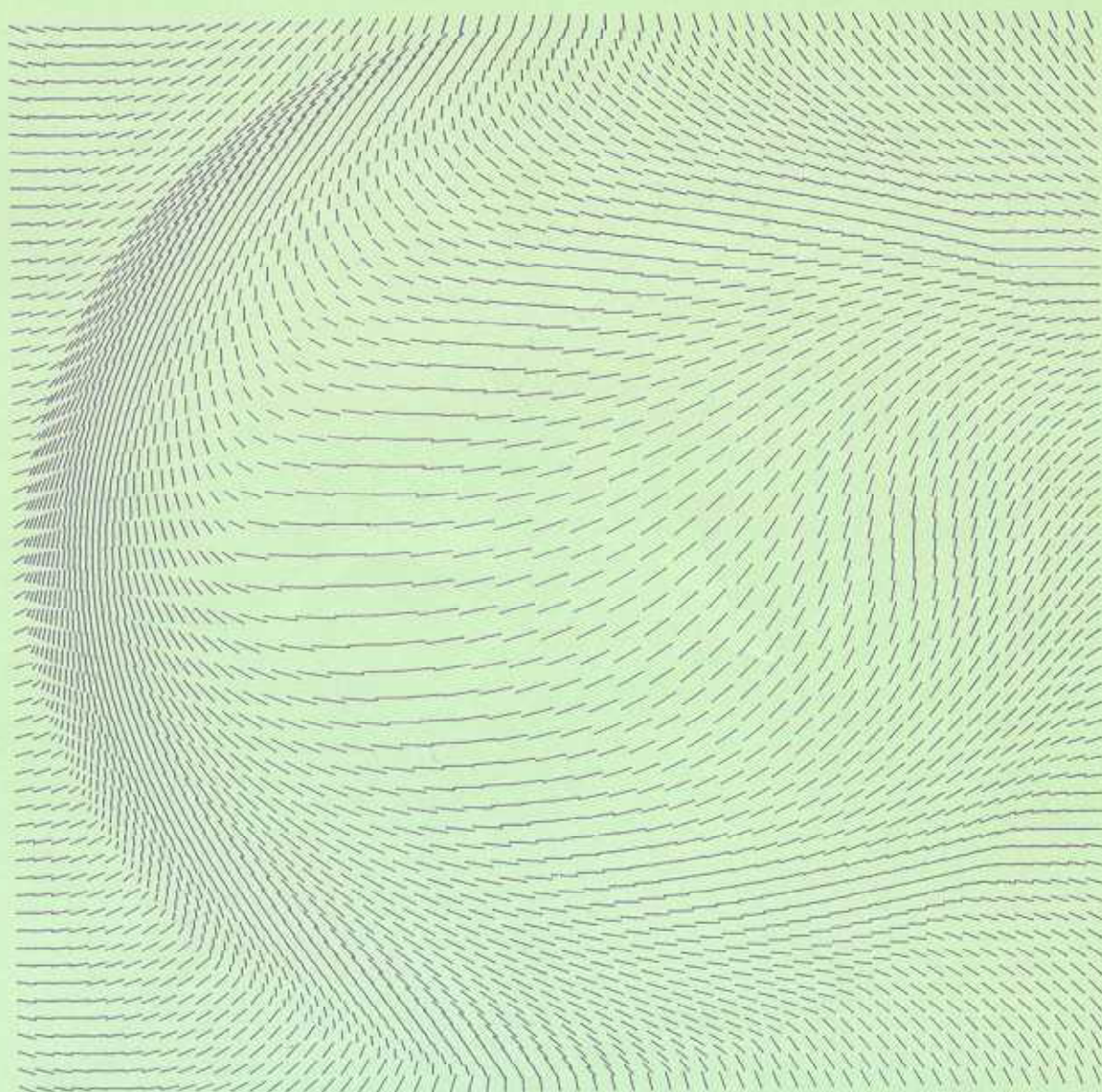


宮崎県衛生環境研究所年報

第8号 (平成8年度)

Annual Report of
the Miyazaki Prefectural Institute for
Public Health and Environment

No.8 (1996)



宮崎県衛生環境研究所

目 次

I 事業の概要

1	沿革	1
2	組織機構	2
(1)	組織と業務	2
(2)	庁舎の概要	3
3	職員の異動及び事務分掌	4
(1)	職員の異動	4
(2)	事務分掌	4
4	予算及び決算（平成8年度）	8
(1)	歳入予算及び決算額調	8
(2)	歳出決算額調	8
5	主要備品等	9
6	試験検査業務実績	14
7	各部事業概要	15
8	講師派遣及び研修指導	39
9	学会、研修、講習への参加	40
10	研究発表会	42
11	施設見学等	43
12	宮崎県衛生環境研究所職員名簿	44

II 誌上発表・学会発表

誌上発表・学会発表	47
-----------	----

III 調査研究

1	宮崎県におけるO-157及びその他の腸管出血性大腸菌感染症について	53
2	Caco-2細胞を用いたインフルエンザウイルスの分離	59
3	HPLCによる残留農薬一斉分析法の検討	63
4	鶏肉中亜塩素酸イオンの分析法の検討	69
5	養殖魚中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズの簡易分析法	76
6	養殖魚中のホルムアルデヒド	82
7	宮崎県内における環境放射能調査（第9報）	86
8	嗅覚測定法による悪臭物質実態調査	89

9	宮崎県内における酸性雨調査	94
10	宮崎県における大気汚染常時監視測定結果（平成8年度）	98
11	塩素処理によるフェニトロチオンの分解	105
12	底生動物による清武川の水質評価及び季節的変動調査	111
13	流出油の識別について（第2報）	119

宮崎県におけるO-157及びその他の腸管出血性大腸菌感染症について

河野 喜美子・山田 亨・八木 利 喬

Infectious Diseases Caused by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Sero-type O157 and Other Sero-types in Miyazaki Prefecture

Kimiko KAWANO, Tooru YAMADA, and Toshitaka YAGI

Abstract

Thirty two sporadic cases caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) were detected in Miyazaki Prefecture in 1992-1996. Twenty seven of these were diagnosed by isolation of the bacteria that caused disease, and the other five cases by the presence of positive antibody titers against *Escherichia coli* sero-type O157. They include 21 cases of O157, 7 cases of O26, 1 case of O111, 2 cases of O114, and 1 case of O91.

We undertook several kinds of bacteriological tests on 16 strains of *E. coli* O157. Their sero-types were all O157:H7. Ten strains of these produced both verotoxin 1 (VT1) and verotoxin 2 (VT2), and another 6 strains produced VT2. Seven strains of these showed drug resistance against one to three antibiotics (ABPC, TC, SM) among 9 drugs, namely, ABPC, KM, TC, NFLX, OFLX, FOM, CP, SM, and NA. According to the results of random PCR (RAPD), none of O157 isolates in Miyazaki Prefecture were classified into RAPD type I which were the strains that caused group food poisoning in Okayama, Gifu, and Fukuoka Prefecture in 1996, but they were classified into RAPD type II. Continuing on, we plan to classify them into small groups by pulsed-field gel electrophoresis.

Key words : *Escherichia coli*, enterohemorrhagic *E. coli*, verotoxin, hemolytic uremic syndrome

はじめに

腸管出血性大腸菌O157は、1990年に埼玉県浦和市の幼稚園で2人の死亡者が出て以来何かと話題になっていた菌であるが、1996年の大規模集団食中毒の多発により日本国中をパニックに陥れその悪名をとどろかせた。宮崎県においても同様である。そこで1996年およびそれ以前の本県における腸管出血性大腸菌感染症の発生状況をまとめた。また分離菌の薬剤感受性試験、RAPD-PCR等の結果も併せて報告する。

材料と方法

1. 材料

1992年～1996年に県内の病院や検査センターより搬入された下痢患者の便を用いた(表1)。

Table. 1 Number of samples from patients with diarrhea

Year of test	Number of samples
1992	43
1993	90
1994	347
1995	427
1996	639

2. 腸管出血性大腸菌の分離方法

菌分離の方法は前報の通りに実施した¹⁾。すなわち検体を適当な培地で培養し、遺伝子増幅法(PCR)により培養菌のベロ毒素(VT)遺伝子を調べた。PCRでVT遺伝子(-)であればそこで検査は終了とし、(+)であれば分離培地上の疑わしいコロニーを釣菌・純培養後、生化学性状、血清型別試験および毒素の確認をして最終結果を出した。毒素型の確認はPCRおよび大腸菌ベロトキシン検出用キット(デンカ生研)を用いた。

3. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験はセンシ・ディスク(BBL)を用いたディスク法で行い、薬剤はABPC, KM, TC, NFLX, OFLX, FOM, CP, SM, NAの9種類を使用した。

4. ランダムPCR

RAPDは1996年8月に国立予防衛生研究所により

示された方法に準じて行った²⁾。

5. パルスフィールド電気泳動

国立予研で実施された。

成績および考察

1. 宮崎県における腸管出血性大腸菌症の発生状況

表2に宮崎県で1992～1996年に発生を確認した件数を示した。O157のほか、O26, O111, O114, O91による症例が発生しており、それぞれ21例、7例、1例、2例および1例の計32例であった。また表2で*印のついた5例は溶血性尿毒症症候群(HUS)を起こした重症例であったが、5例ともすでに菌は分離できずO157に対する血清抗体価が上昇していたことにより感染を確認した(東京都衛研検査)。

また、発生例のうち当所で分離または確認した株数を表3に示した。

Table. 2 Number of cases diagnosed as EHEC infections in Miyazaki Prefecture in 1992-1996

Sero-type Year	O157	O26	O111	O114	O91	Total
1992	1					1
1993	1*					1
1994	4 + 4*	1		1	1	11
1995	1	2				3
1996	10	4	1	1		16
Total	21	7	1	2	1	32

* : These patients with HUS were not diagnosed by isolation of bacteria but by the presence of positive antibody titers against *E.coli* O157.

Table. 3 Number of EHEC strains isolated or confirmed in our laboratory in 1992-1996

Sero-type Year	O157	O26	O111	O114	O91	Total
1992	1					1
1993						0
1994	5*	1		1	1	8
1995	1	2				3
1996	9	3		1		13
Total	16	6	0	2	1	25

* : Two strains of these were isolated from the same patient.

2. 年齢別患者発生状況

患者の年齢は0～5歳の低年齢層が多く（表4），この中でも特に1歳が18例中10例と多かった。また他の年齢層でも少例ずつの発生があったが，21～50歳群では1例と他の年齢層に比べて有意に患者発生が少なかった。

3. 症状

患者の症状をまとめて表5に示した。下痢，血便，腹痛，38℃以下の発熱が主症状と思われた。

Table. 4 The age of EHEC patients in Miyazaki Prefecture in 1992–1996

Age group	0157	026	0111	0114	091	Total
0～5	11	6	1			18
6～10	5	1				6
11～20	2			2		4
21～30	1					1
31～50						
51≤	2				1	3
Total	21	7	1	2	1	32

Table. 5 Symptoms of EHEC patients in Miyazaki Prefecture in 1992–1996

Symptoms	0157 of 21 cases	026 of 7 cases	0111 of 1 cases	0114 of 2 cases	091 of 1 cases	Total of 32 cases
HUS	5 (24%)					5 (16%)
Diarrhea	20 (95%)	4 (57%)		2	1	27 (84%)
Bloody feces	18 (86%)	5 (71%)		1		24 (75%)
Loose feces	1 (5%)	3 (43%)	1			5 (16%)
Stomachache	11 (52%)	1 (14%)		2	1	15 (47%)
Nausea Vomitting	4 (19%)				1	5 (16%)
Fever ≥38℃	3 (14%)	2 (29%)	1			6 (19%)
Fever <38℃	9 (43%)	3 (43%)		2		14 (44%)

4. HUS患者の抗O157血清抗体価

1992～1996年に12例のHUS患者の原因調査（O157およびその他の腸管出血性大腸菌の検査）が依頼されたが，これらの患者の便からは全例原因菌が分離できなかった。そこで原因を明らかにするために患者の血清中抗体価測定（対象抗原：O26，O111，O128，O157の加熱および非加熱抗原）を東京都立衛生研究所にお願いした。

その結果，12例中5例でO157感染が疑われた。また3例でO111加熱抗原に対する抗体が上昇していたが，他の4例については上記4種の菌に対する血清抗体価の上昇は認められなかった。1996年には幸いにもHUSを起こすような重症例はなかった（表6）。

Table. 6 Serum antibody titers against *E.coli* sero-type O157 of patients with HUS (by Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health).

No	Age	Date of onset	Date of serum collection	Days after onset	Isolation of bacteria	Antibody titers to O157	Judge-ment*	Symptoms	
1	6	1993. 8. 27	9. 4	9	(-)	900×	(+)	HUS	
2	1	1994. 4. 16?	4. 21 4. 28	6≤ 13≤	(-)	100×	(+)	Bloody feces	
						300×		HUS, 37°C	
								Convulsion	
3	1	1994. 4. 27?	5. 2 5. 9 5. 16	6≤ 13≤ 20≤	(-)	100×	(+)	37.8°C HUS	
						100×		Bloody feces	
4	10	1994. 4. 28?	5. 1 5. 6	4≤ 9≤	(-)	2700×	(+)	HUS	
						2700×		Diarrhea	
5	4	1994. 7. 26	7. 31 8. 8	6 14	(-)	300×	(+)	HUS, Jaundice	
						300×		Bloody feces	
6	71	1994.	11. 29 12. 6		(-)	<100×	(-)	HUS	
						<100×		Diarrhea	
7	1	1995. 11. 8	11. 15 11. 17 11. 24	8 10 17	(-)	<100×	(-)	HUS, 38.6°C	
						<100×		Bloody feces	
						<100×		Vomitting, Nausea	
8	2	1996. 7. 2	7. 9 7. 22	8 21	(-)	<100×	(-)	Waterly diarrhea	
						<100×		HUS, 37°C	
9	2	1996. 4. 2	4. 8 4. 18	7 17	(-)	<100×	(-)	Waterly bloody diarrhea, HUS	Anti O111 titer
						<100×			900×
									300×
10	1	1996. 4. 4	4. 10 4. 22	7 19	(-)	<100×	(-)	Bloody diarrhea	100×
						<100×		HUS	<100×
11	4	1996. 4. 1	4. 12	12	(-)	<100×	(-)	HUS	900×
								Bloody diarrhea	
12	7	1996. 7. 3	7. 9	7	(-)	<100×	(-)	HUS, 39°C	

*: <100 Negative, ≥100 Positive

5. 血清型および毒素型

O157のH抗原はすべてH7で、毒素はVT1とVT2の両方を産生するもの、VT2単独の2種類があった。O26はH11で毒素はVT1を産生した。O114は

H19、毒素はVT2を産生したが2例中1例は乳糖非分解菌であった。またO91はH14、VT1産生菌であった(表7)。

Table. 7 Characteristics of EHEC isolates in Miyazaki Prefecture in 1992-1996

1) O157

No.	Year month	Sex	Age	Serotype	Toxin type	Antimicrobial susceptibility	RAPD type	PFGE type (100Kb>)
1	1992. 7	M	3	O157:H7	2	—	II j	ND**
2	1994. 6	M	5	O157:H7	1+2	ABPC	II f	ND
3	1994. 7	M	6	O157:H7	1+2	ABPC, TC	II e	ND
4	1994. 7	M	6	O157:H7	2	—	II e	III a
5	1994. 7	F	7	O157:H7	1+2	ABPC, TC	II e	ND
6	1994. 8	M	11	O157:H7	1+2	—	II e	III a
7	1995. 8	F	3	O157:H7	1+2	ABPC, TC	II e	ND

8	1996. 7	M	1	O157:H7	1+2	ABPC, TC	II e	ND
9	1996. 7	F	58	O157:H7	2	—	II j	III c
10	1996. 7	M	2	O157:H7	2	—	II e	III a
11	1996. 7	M	21	O157:H7	1+2	ABPC, TC, SM	II e	ND
12	1996. 8	M	5	O157:H7	1+2	—	II e	/
13	1996. 8	F	67	O157:H7	1+2	—	II e	/
14	1996. 8	F	1	O157:H7	2	—	II j	/
15	1996. 9	F	6	O157:H7	1+2	ABPC	II e	/
16	1996. 12	F	19	O157:H7	2	—	II i	/

* : Done at the National Institute of Health

** : Other type than I ~ VI type classified by PFGE in the National Institute of Health

2) O26、O114、O91

No.	Year month	Sex	Age	Serotype	Toxin type
17	1994. 3	M	9	O26:H11	1
18	1995. 5	M	2	O26:H11	1
19	1995. 10	M	1	O26:H11	1
20	1996. 8	M	1	O26:H11	1
21	1996. 9	F	1	O26:H11	1
22	1996. 11	F	1	O26:H11	1

23	1994. 8	M	11	O114:H19	2
24	1996. 6	F	12	O114:H19	2

25	1994. 1	M	55	O91:H14	1
----	---------	---	----	---------	---

6. 薬剤感受性試験

O157分離株を対象に薬剤感受性試験を行った。その結果を表7に示した。VT2産生株は6株すべて使用薬剤に耐性はなかったが、VT1、VT2産生株は10株中7株がABPC、TC、SMに耐性を示した。

7. ランダムPCR

分離株のDNA解析法の1つとして、国立予防衛生研究所により示された方法でランダムPCR(RAPD)を行った。菌株は1992～1996年のO157分離株16株と、

対象株として国立予防衛生研究所より分与されたa～fの6株を用いた(a：広島県1996年集団発生株、b：岐阜市1996年集団発生株、c：岡山県邑久町1996年集団発生株、d：堺市1996年集団発生株、e：神奈川県三浦市1996年散発例株、f：神奈川県三浦市1996年レバサン株)。そのRAPDパターンを図1、表7に示したが、宮崎県分離株は対象株d、e、fと同じⅡ型に分類され、さらにわずかのバンドの差でⅡe、Ⅱf、Ⅱj、Ⅱiの4つのサブタイプに分類された。16株中、Ⅱeタイプが11株と最も多く、Ⅱfタイプは1株、Ⅱjタイプは3株、Ⅱiタイプは1株であった。

8. パルスフィールド電気泳動

宮崎県分離株O157のNo.1～11の11例について国立予研で実施されたPFGEの結果を表7に示した。予研のPFGEでは泳動パターンを100kb以下、100～200kb、350kb以上の3つの部分に分けて観察し、型別する。特に100kb以下の領域に特徴的なパターンが見られ、これによりタイプIからⅥの6タイプに分類している。表7には100kb以下のタイプのみを示した。その結果11例中、No.4、6、9、10がⅢ型であり、他の7株はⅠ～Ⅵ以外のタイプであった。

9. RAPDパターン、PFGEパターンによる宮崎県O157分離株の解析

予研では、全国から寄せられた1996年のO157分離株についてDNA解析(RAPD、PFGE)を行い、これらの株をRAPDでは2タイプ、PFGEでは大きく6タイプに分類した。

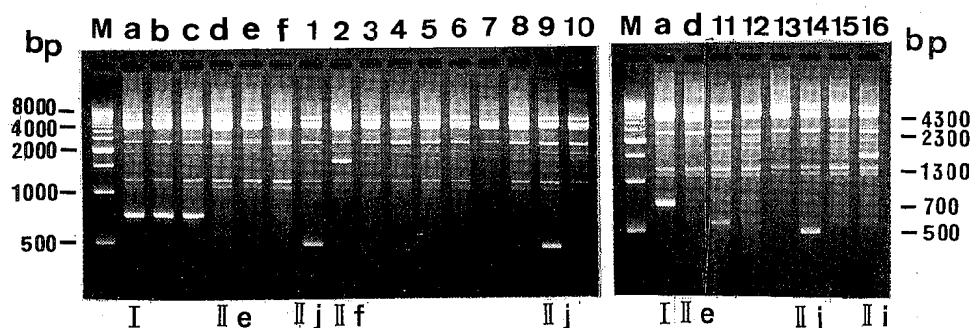


Fig. 1 RAPD Patterns of O157 Isolates

- | | |
|----------------------|---------------|
| a: Hiroshima, 1996 | 1～16 Miyazaki |
| b: Gifu, 1996 | 1 : 1992 |
| c: Okayama, 1996 | 2～6 : 1994 |
| d: Sakai, 1996 | 7 : 1995 |
| e: Miura, 1996 | 8～16 : 1996 |
| f: Miura, Food, 1996 | |

すなわちRAPDではI型かそれ以外かの2タイプにしか分類できないが、宮崎県分離株は、RAPDでI型が全くないことより、1996年の重要な菌の1つであるPFGEタイプI, RAPDタイプIの菌は全くなかったことになる。タイプIの菌とは5, 6月に岡山・岐阜・広島・福岡などで集団発生を起こした菌で、この時期以降全国で発生した散発例にもよく見られる菌である。従って宮崎県分離株のRAPD型はすべてII型となるが、この方法ではこれ以上の分類はできなかった。

PFGE型は、11株中4株が、予研分類のI～VIタイプのうちタイプIIIを示した{1995年以前の2株(No. 4, 6)と1996年の2株(No. 9, 10)}。タイプIII(ただしIIIh)は1996年10月に北海道帯広市の幼稚園での集団事例で分離されており、宮崎県の上記株もこれに近縁の株と思われる。しかし他の7株はI～VI以外のタイプであり、未実施の株も5株あるため、宮崎の株を最終的に分類・解析することはまだできなかった。すなわち全国のPFGE型との比較も現段階ではできないし、また1996年の株とそれ以前の株との近縁関係についても不明のままであり、今後の課題である。

おわりに

大規模集団食中毒の発生で1996年に急増したO157感染症だが、宮崎県でも1992年に初めて患者が確認されて以来、毎年発生がある。すなわち、現在では決して珍しい菌ではなく、下痢症を検査する場合には一食中毒菌として必ず考えなければならない菌となってきた。また宮崎県では、予研のDNA解析による分類でのPFGEタイプI, RAPDタイプIの菌がまだ認められていない。今後追跡していく必要があると思われる。

謝 辞

検査材料を提供して下さった永山小児科院長、貴島小児科院長、および宮崎市郡医師会検査センターの宮越証之氏に感謝します。また血清抗体価測定をしていただいたほか、貴重な助言をしていただいた東京都立衛生研究所 甲斐明美博士、PCRに関して御指導下さった国立予防衛生研究所 伊藤健一郎博士に深謝いたします。

参考文献

- 1) 河野喜美子ら：1994年に宮崎県で発生したVero毒素産生性大腸菌による散発下痢症について。宮崎県衛生環境研究所，第6号，41-45，1995
- 2) 渡辺治雄：腸管出血性大腸菌に関する研究班一病原菌のDNAパターンに関する調査研究中間報告。国立予防衛生研究所，1996，8，2。

Caco-2細胞を用いたインフルエンザウイルスの分離

吉野修司・山本正悟・八木利喬

Use of Caco-2 cells for Isolation of Influenza Virus

Syuji YOSHINO, Seigo YAMAMOTO, Toshitaka YAGI

Abstract

Usually, Influenza viruses are isolated in an egg or MDCK cell. However, these methods require preparation of 8- to 10- day-old embryonated eggs or a medium supplemented with trypsin. In this study we assessed the usefulness of Caco-2 cells, derived from a human colon carcinoma, to isolate an influenza virus.

Throat washings collected from 30 patients with influenza-like illnesses in Miyazaki Prefecture in 1997 were inoculated in MDCK and Caco-2 cells, 17 influenza virus strains were isolated in MDCK cells, and 20 in Caco-2 cells.

Of all the viruses isolated, only one strain was identified as influenza virus type B ; other strains were identified as type A (H3N2). With Caco-2 cells, each type of influenza virus was isolated effectively without the supplement of trypsin in the culture medium. This fact is the unique advantage of Caco-2 cells in comparison with MDCK cells.

These results indicated the usefulness of Caco-2 cells as a host to isolate influenza virus as shown to be suitable in the detection of many types of enteric viruses. Caco-2 cells will serve as a useful cell line for the surveillance of infectious disease because Caco-2 cells are sensitive to a wide range of virus.

Key words : Caco-2, Trypsin, virus isolation, Influenza virus

はじめに

インフルエンザは冬期を代表するウイルス感染症であるが、日本では「かぜ症候群」の一つとして軽視される傾向がある。しかし、宮崎県でも過去にインフルエンザ脳炎による小児の死亡例を報告¹⁾したように、インフルエンザウイルスの神経親和性に対する危惧や、特別養護老人ホームでの集団発生、それに伴う高齢者の死亡、また新型ウイルス出現の可能性など社会的にも大きな問題となってきた。このため、感染症サーベイランス事業や伝染病流行予測事業で病原体検出を迅速に行うことが流行状況の把握や感染症危機管理対策のために重要と考えられる。

現在、宮崎県では発育鶏卵またはMDCK細胞（イヌ腎臓由来の株化細胞）を用いてインフルエンザウイ

ルスを分離している。しかし、発育鶏卵による分離は検体接種時に8～10日卵を準備する必要があり、MDCK細胞による分離の際にはトリプシンを含む維持培地を別途準備する必要があるため、これらの方法はインフルエンザウイルスを分離する目的だけに用いられている。このことは、発育鶏卵やMDCK細胞を準備しているインフルエンザの流行期ではウイルスを分離できるが、流行閑期ではウイルス分離が困難であることを示しており、年間を通したインフルエンザウイルスの正確な浸淫状況を知る妨げとなっている。

今回、我々はヒト結腸腺癌由来細胞であるCaco-2細胞²⁾がインフルエンザウイルスに対して①MDCK細胞と同等かそれ以上の感受性を示す、②トリプシンを添加しない通常の維持培地を用いてもウイルスが分離できる、

ことを確認し, Caco-2 細胞がインフルエンザウイルスに対して高い感受性を示し, ウイルスを分離同定するのに有用な細胞であることを見いだしたので報告する。

材料と方法

1. 咽頭うがい液

1996年～1997年のインフルエンザ流行期に伝染病流行予測事業で集められたうがい液30件を用いた。咽頭うがい液を3000rpm15分遠心後, 上清にペニシリン, ストレプトマイシンをそれぞれ2万単位/*ml*, 4万 γ /*ml*加え, 37℃30分処理したものを接種材料として用いた。処理した材料は使用時まで-80℃で保存した。

2. 細胞

MDCK細胞(継代歴は不明)とCaco-2細胞(大日本製薬より購入, 継代歴62代)を用いた。各細胞の増殖培地として, 10%牛胎児血清加Eagle's MEMにペニシリン, ストレプトマイシンをそれぞれ100単位/*ml*, 100 γ /*ml*加えたものを用いた。MDCK細胞の維持培地として上記の培地に1%の割合で牛胎児血清を加えたものを用い, Caco-2細胞の維持培地として上記の培地に5%の割合で牛胎児血清を加えたものを用いた。

3. 分離方法

分離は96穴マイクロプレートを用い, 1検体につき単層培養した細胞2穴ずつを使用した。検体は1穴あたり25 μ lずつ接種し, 36℃30分間吸着後, 維持培地を100 μ lずつ加え, 炭酸ガス孵卵器で1週間培養した。1週間観察してもCPEの出現しなかったものについては3回凍結融解を行い, 新しい細胞に継代した。3代継代してもCPEが出現しないものはウイルス分離陰性とした。CPEの出現した細胞は3回凍結融解後3000rpm5分遠心し, 上清をさらに新しい細胞に接種して継代したものを種ウイルスとした。なお, 分離用の維持培地としてMDCK細胞ではトリプシン10 μ g/*ml*を含む牛胎児血清非添加Eagle's MEM³⁾を用い, Caco-2細胞では通常の1%牛胎児血清加Eagle's MEMを用いた。

4. 同定方法

得られたウイルスは0.5%ヒトO型赤血球または0.5%ニワトリ赤血球で赤血球凝集能を確認した後, HA価を測定し, 日本インフルエンザセンターより分与された1996～1997年のワクチン株であるA/Yamagat

a/32/89, A/Wuhan/359/95, B/Mie/1/93の各フレット抗血清を用いたHI試験によりインフルエンザウイルスと確認した。

結 果

Table 1に示すように1996年～1997年のインフルエンザ流行期に伝染病流行予測事業で集められたうがい液30件のうちMDCK細胞で17株(57%), Caco-2細胞で20株(67%)が分離され, 同定の結果, 検体番号E97018がB型, それ以外はすべてA香港型であった。また, 初代で分離されたウイルスのCPEの出現時期は検体接種後MDCK細胞で平均2.3日, Caco-2細胞で平均5.5日であった。

考 察

Caco-2細胞はヒト結腸腺癌由来の細胞でエンテロウイルスをはじめとしてアデノウイルス, 単純ヘルペスウイルス, ロタウイルスなど様々なウイルスに対して広い感受性を示すことが知られている^{4) 5)}。しかし, インフルエンザウイルスA(H1N1)が出芽する際にCaco-2細胞のどの部位へ集簇するかを論じた報告⁶⁾はあるが, インフルエンザウイルスA型, B型の分離に有用であるという報告はみられない。今回, Caco-2細胞はインフルエンザウイルスA型, B型に対してもMDCK細胞を用いた場合と同様の分離率が得られ, インフルエンザウイルスに対し高い感受性を示すことが明らかとなった。また, インフルエンザウイルスはMDCK細胞をはじめVero細胞^{7) 8)}, LLC-MK2細胞⁹⁾, HeLa細胞¹⁰⁾でも分離できることが報告されているが, いずれもトリプシンを含む維持培地で分離することが必須となっている。しかし, 今回の成績ではトリプシンを添加しなくてもウイルス分離できることが示された。

インフルエンザウイルスのHA解裂活性は様々なプロテアーゼで起こることが知られており¹¹⁾, Caco-2細胞がトリプシンの作用を阻害する α 1-AT(α 1-アンチトリプシン)等を発現, 分泌していること^{12) 13)}, 牛胎児血清を含むトリプシン非添加維持培地で分離できること等を併せて考えるとインフルエンザウイルスの増殖はCaco-2細胞自体から分泌されるトリプシン以外のプロテアーゼあるいは他の因子が関与している可能性がある。

インフルエンザウイルスの分離は発育鶏卵またはMDCK細胞が常用されている。しかし、感染症サーベランス事業のように年間を通して提出される臨床材料からインフルエンザウイルスやそれ以外のウイルスも分離するためには、発育鶏卵かMDCK細胞を常に準備しておくとともに、他の多くの細胞を用いる必要があり、細胞の維持管理に限界がある。この点、Caco-2細胞はインフルエンザウイルスのCPEがMDCK

細胞に比べ不明瞭で、確認できるまでに時間がかかるという欠点はあるが、特別な分離用培地を用いることなくインフルエンザウイルスを他のウイルスと同様に分離でき、エンテロウイルスなど他のウイルスに対する感受性も高いため、インフルエンザウイルスを含むウイルス感染症全般の流行状況を把握するのに有用な細胞であると思われる。

Table 1 Comparison of isolation result of influenza virus in MDCK cell and Caco-2 cell.

Sample No	Date of sample correction	Sex	Age	Epidemic area	Cultivation period (days)*		Virus type
					MDCK	Caco-2	
E97001	14/ 1/97'	M	14	Kobayashi	+ (2)	+ (4)	A (H3N2)
E97002		F	14		+ (2)	+ (4)	A (H3N2)
E97003		F	13		—	+ (6)	A (H3N2)
E97004		M	14		+ (2)	+**	A (H3N2)
E97005		M	14		+ (2)	+ (5)	A (H3N2)
E97006	1/17/97'	M	12	Miyakonojyo	—	—	
E97007		M	12		—	—	
E97008		F	9		—	—	
E97009		F	12		—	—	
E97010		F	12		+ (2)	+ (6)	A (H3N2)
E97011	1/22/97'	F	14	Nobeoka	—	—	
E97012		M	14		—	+ (6)	A (H3N2)
E97013		M	14		—	—	
E97014		M	14		+ (3)	+ (6)	A (H3N2)
E97015		F	—		—	—	
E97016	1/22/97'	M	8	Takanabe	+ (2)	+ (6)	A (H3N2)
E97017		M	8		—	—	
E97018		M	9		+ (3)	+ (7)	B
E97019	1/22/97'	M	11	Nichinan	+ (2)	+ (6)	A (H3N2)
E97020		M	11		+ (2)	+ (4)	A (H3N2)
E97021		M	11		+ (3)	+ (6)	A (H3N2)
E97022		F	11		+**	+ (6)	A (H3N2)
E97023		F	11		+ (2)	+ (4)	A (H3N2)
E97024	1/23/97'	M	12	Hyuga	+ (2)	+ (6)	A (H3N2)
E97025		F	13		—	—	
E97026		M	14		+ (2)	+ (6)	A (H3N2)
E97027		M	14		—	—	
E97028		M	15		—	+**	A (H3N2)
E97029	1/31/97'	F	14	Takachiho	+ (2)	+ (6)	A (H3N2)
E97030		F	14		+ (3)	+ (5)	A (H3N2)
Total (Average of cultivation period*)					17 (2.3)	20 (5.5)	

* : The first appearance of CPE.

** : Cytopathic effect was observed after 2-3 passages.

文 献

- 1) 山本正悟, 三吉康七郎, 吉野修司, 小牧宏文: 宮崎県におけるインフルエンザの流行およびA(H3)型インフルエンザウイルスによる脳症例について (1994年度). 宮崎県衛生環境研究所年報, 6, 51-57, 1994
- 2) Fogh J, Wright WC, Loveless JD: Absence of HeLa cell contamination in 169 cell lines derived from human tumors. J Nat Cancer Inst, 58, 209-214, 1977
- 3) 根路銘国昭: MDCK細胞におけるインフルエンザウイルスの分離. 臨床病理, 35, 111-123, 1978
- 4) Reigel F: Isolation of human pathogenic viruses from clinical material on Caco2 cells. J Virol Methods, 12, 323-327, 1985
- 5) Pinto RM, Diez JM, Bosch A: Use of the colonic carcinoma cell line Caco-2 for in vivo amplification and detection of enteric viruses. J Med Virol, 44, 310-315, 1994
- 6) Rindler MJ, Traber MG: A specific sorting signal is not required for the polarized secretion of newly synthesized proteins from cultured intestinal epithelial cells. J Cell Biol, 107, 471-479, 1988
- 7) Govorkova EA, Kaverin NV, Gubareva LV, Meignier B, Webster RG: Replication of influenza A viruses in a green monkey kidney continuous cell line (Vero). J Infect Dis, 172, 250-253, 1995

- 8) Kaverin NV, Webster RG: Impairment of multicycle influenza virus growth in Vero (WHO) cells by loss of trypsin activity. J Virol, 69, 2700-2703, 1995
- 9) 中村和幸, 西沢修一: LLC-MK2細胞を用いたインフルエンザウイルスの分離と分離指標としてのノイラミニダーゼ活性について. 長野県衛公研報告, 5, 1-4, 1982
- 10) 小川知子, 山中隆也, 篠崎邦子, 時枝正吉, 水口康雄: 1993-1994年に千葉県で分離したインフルエンザウイルスの抗原性. 臨床とウイルス, 24, 78-81, 1996
- 11) 田代真人: インフルエンザウイルスの感染性発現とインフルエンザ肺炎の発症機序. メディヤサークル, 41, 1-12, 1996
- 12) Perlmutter DH, Daniels JD, Auerbach HS, De Schryver-Kecs Kemeti K, Winter HS, Alpers DH: The alpha 1-antitrypsin gene is expressed in a human intestinal epithelial cell line. J Biol Chem, 264, 9485-9490, 1989
- 13) Molmenti EP, Perlmutter DH, Rubin DC: Cell-specific expression of alpha 1-antitrypsin in human intestinal epithelium. J Clin Invest, 92, 2022-2034, 1993

HPLCによる残留農薬一斉分析法の検討

小坂 妙子・小野 和則・山本 雄三
武田 攻

Studies on Simultaneous Determination of Pesticides by HPLC

Taeko KOSAKA, Kazunori ONO, Yuzo YAMAMOTO, and Osamu TAKEDA

Abstract

A method for simultaneous determination of various pesticides by HPLC was studied. The pesticides were extracted with acetonitrile, and acetonitrile in the crude extracts were evaporated. Water was added to the residue and applied to a C_{18} cartridge. The C_{18} cartridge was washed with water and eluted with acetonitrile and 50mM potassium dihydrogenphosphate-acetonitrile. The eluates were added with *di*-sodium hydrogenphosphate solution and sodium chloride, and all pesticides moved to the acetonitrile layer. After evaporation, the solution was applied to a SAX cartridge combined with a PSA cartridge, and eluted with acetone-petroleum ether. The eluates were evaporated and dissolved in acetonitrile. The pesticides were determined by HPLC.

14 kinds of pesticides were spiked in agricultural products at 0.4ppm. The recovery rate of 13 kinds of pesticides was over 70%.

Key words : pesticides , simultaneous determination , solid-phase extraction , HPLC

はじめに

農産物中の農薬の残留基準は、平成9年3月現在138の農薬に対して設定されている。これらの残留農薬試験の告示法は個別的な分析法がほとんどであり、分析に多大な時間を要するため平成9年4月に多成分を一斉分析する残留農薬迅速分析法¹⁾が定められた。しかし、この分析法が適用されるのは、主にGCで分析できる農薬であり、HPLCで分析できるのは主にN-メチルカーバメイト系農薬に限られている。告示法の中でもHPLCによるのは個別的な分析法が多く、一斉分析法の開発が必要とされている。

そこで、前報²⁾で報告したアセトニトリルによる抽出と C_{18} および陰イオン交換カラムであるSAX, PSAを用いたGC/MSによる残留農薬一斉分析法をHPLCによる一斉分析法へ適用することを試みた。この方法は極性の高い農薬にも適用可能で、脂肪酸の除去にも効果が高く、簡易なスクリーニング法として有効で

あった。今回、残留基準の設定されている14の農薬についてHPLCによる一斉分析方法を検討したのでその結果を報告する。

方 法

1. 試 料

宮崎県下で生産されたスイカ、メロン、キャベツ、トマト、キュウリ、カボチャ及び精米の7種類を用いた。

2. 測定対象農薬

今回の試験に用いた農薬は、イプロジオン、イマザリル、イマゾスルフロン、エトフェンブロックス、クロフェンテジン、クロルフルアズロン、ジクロメジン、ジフルベンズロン、テブフェノジド、トリフルミゾール、トリフルミゾール代謝物、フェンピロキシメート、ペンシクロン、ベンスルフロンメチルの14種類である。

3. 試薬及び標準品

1) 農薬標準品：和光純薬工業(株)製、関東化学(株)製お

よび林純薬工業(株)製の残留農薬試験用農薬標準品を用いた。

2) 標準液：イマザリル，エトフェンプロックス，テブフェノジド，トリフルミゾール，トリフルミゾール代謝物，フェンピロキシメート，ペンシクロンは各農薬標準品50mgをそれぞれメタノールで50mlとして，1000ppmの標準原液を作成した。メタノールへの溶解度が小さいイプロジオン，イマゾスルフロン，クロフェンテジン，クロルフルアズロン，ジクロメジン，ジフルベンズロン，ペンスルフロンメチルは10mgをそれぞれメタノールで100mlとして，100ppmの標準原液を作成した。

1000ppmの標準原液は1mlずつ，100ppmの標準原液は10mlずつを合わせ，メタノールで100mlとして各標準液が10ppm混合溶液とし，添加回収試験用標準溶液とした。

3) 試薬

アセトニトリル，メタノール：関東化学(株)製，高速液体クロマトグラフィー用

アセトン及び酢酸エチル：和光純薬工業(株)製，残留農薬試験用

石油エーテル及び無水硫酸ナトリウム：片山化学工業(株)製，残留農薬分析用

りん酸二水素カリウム及びりん酸水素二ナトリウム：片山化学工業(株)製，試薬特級

塩化ナトリウム：和光純薬工業(株)製，試薬特級

Bond Elut SAX (500mg)，Bond Elut PSA (500mg)：バリアン社製

Accu BOND ODS-C 18 (1000mg)：J&W社製

超純水：ミリポア社製ミリポアプラスQで得られた超純水を使用した。

その他の試薬：残留農薬試験用又は高速液体クロマトグラフ用を用いた。

4. 装置

高速液体クロマトグラフ：(株)島津製作所製，LC-10A型

検出器：(株)島津製作所製，フォトダイオードアレイ検出器SPD-M10A型

ホモジナイザー：Polytron, Kinematica, Switzerland

5. 分析操作

1) 試料溶液の調整

細切した試料20gを300mlのコニカルビーカーにとり，アセトニトリル50mlを加えて，3分間ホモジナイ

ズし，グラスファイバーろ紙でろ過した。残さにアセトニトリル50mlを加え，同様の操作を再度繰り返した。両アセトニトリル抽出液を合わせ，抽出液とした。

2) 固相抽出カートリッジによる精製

抽出液の半量を分取し，減圧下でアセトニトリルを除去した。残留した溶液に水50mlを加え，アセトニトリル10mlと水10mlでコンディショニングしたAccu BOND C18に負荷した後，水10mlでカラムを洗浄した。この流出液及び洗浄液は捨てる。アセトニトリル5ml，次いで50mMリン酸二水素カリウム-アセトニトリル(3:7) 5mlをカラムに注入した。これらの溶出液に10%リン酸水素二ナトリウム溶液5ml，塩化ナトリウム2g及びアセトニトリル10mlを加えて振とうし，アセトニトリル層を分離し脱水後，減圧乾固した。残留物にアセトン2mlを加えて溶解した後，石油エーテル4mlを加え，Bond Elut SAXの下にBond Elut PSAを接続したカートリッジカラムに負荷し，

```
Sample 20g
| CH3CN 50ml × 2
| homogenize for 2min
|
Filtrate
|
1/2 aliquot
|
Evaporate CH3CN
| H2O 50ml
|
Apply to C18
| wash with H2O 10ml
| elute with CH3CN 5ml, 50mM KH2PO4:CH3CN(3:7) 5ml
|
Eluate
| 10% Na2HPO4 5ml
| NaCl 2g
|
CH3CN layer
Dehydrate with anh. Na2SO4
Evaporate to dryness
| Acetone 2ml
| Petroleum Ether 4ml
|
Apply to SAX-PSA
| elute with Acetone:Petroleum Ether(1:2) 15ml
|
Evaporate to dryness
Dissolve in CH3CN 2ml
|
Test solution for HPLC
```

Scheme 1. Analytical procedure for pesticides by HPLC

アセトン・石油エーテル（１：２）１５ｍｌで溶出し、すべての溶出液を減圧乾固後、アセトニトリル２ｍｌで定量化し、HPLC用試験溶液とした。

精米中のイマゾスルフロンとベンスルフロンメチルはSAX,PSAカラムに負荷する前の試験液を分取し、乾固後アセトニトリル溶液とし、HPLC用試験溶液とした。

３）添加回収試験溶液の調整

試料中の濃度が０．４ppmとなるように、細切した試料２０gに農薬混合標準溶液（２μg/ml）４mlを添加し、１）および２）の操作を行った。

４）測定条件

HPLCの測定条件はTable 1に示した。

Table 1 Conditions of HPLC

Column	: Inertsil ODS-3 4.6mm×250mm
Mobile Phase	: A: 10mM KH ₂ PO ₄ :CH ₃ CN (70:30) B: 10mM KH ₂ PO ₄ :CH ₃ CN (20:80)
Gradient	: Time 0→30→60 min B 20→90→90 %
Flow rate	: 1.2mg/min
Sample	: 20 μl
Column Temp.	: 40℃
Detector	: SHIMADU SPA-M10A

結果および考察

１．HPLC条件

移動相について検討した。

アセトニトリル－水混液ではイマゾスルフロン及びベンスルフロンメチルが溶離してこないため、リン酸二水素カリウム－アセトニトリル混液を用いることとした。リン酸二水素カリウムはアセトニトリルの混合比が多くなると溶解しない。そこでリン酸二水素カリウムの濃度を１０mMと２０mMで比較した。２０mMの方がイマザリル、トリフルミゾール代謝物のピークが少しシャープになり保持時間が短くなったが、他の農薬は保持時間と農薬の相互分離に違いがなかったため、濃度の低い方を用いることとした。

１４種類の農薬を同時に分析するためにグラジエント溶出法を用いた。１０mMリン酸二水素カリウム－アセトニトリル混液A液を（７０：３０）と（８０：２０）、B液を（２０：８０）と（１０：９０）の混合比を変化させ農薬の分離と分析時間を検討した。保持時間が非常に遅いエトフェンプロックスを早くすると他の農薬の分離悪く

なり、A液（７０：３０）、B液（２０：８０）でTable 1に示す条件が最適であった。

検出波長は一斉分析では２３０nmで測定されることが多いが、イマザリルの感度が低いこと、クロフェンテジン、クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、フェンピロキシメートは２５０～２６０nmが最適波長であり食品由来の妨害ピークも少ないため、検出波長は２０２，２３０，２５０nmとした。

標準液のクロマトグラムをFig. 1に示す。

２．抽出法

残留農薬迅速分析法ではアセトン抽出後ケイソウ土カラム－酢酸エチル固相抽出法になっている。１４農薬についてケイソウ土カラムの回収試験を行ったところ、１３農薬については８３％以上の回収率であったが、イマザリルの回収が低く７１％であった。その後の精製操作でC₁₈を水系で使うことと、色素の抽出も抑制することを考慮し、アセトニトリルを抽出溶媒にした。

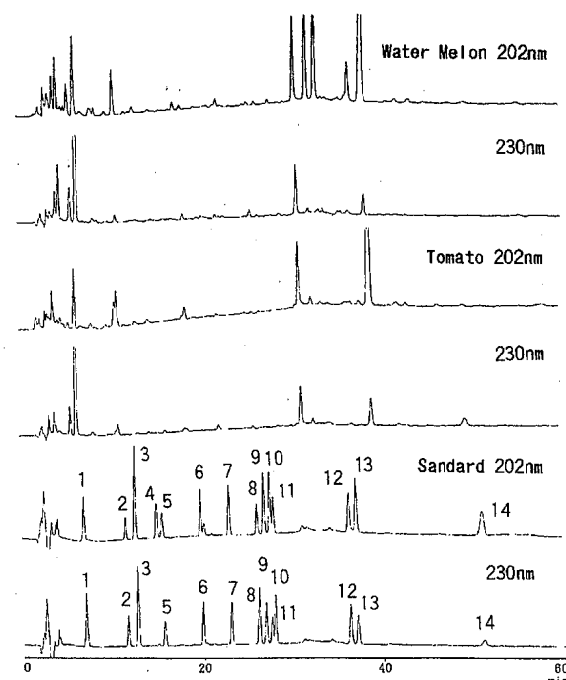


Fig.1 HPLC chromatograms of standard solution and sample extracts

(A) water melon extract

(B) tomato extract

(C) standard at 2 μg/ml

1:imazosulfuron, 2:bensulfuron-methyl, 3:diclomezine, 4:imazalil, 5:triflumizole metabolite, 6:diflubenzuron, 7:tebufenozide, 8:triflumizole, 9:iprodion, 10:clofentezine, 11:pencyclon, 12:fenpyroximate, 13:chlorfluazuron, 14:ethofenpurox

3. 精製法の検討

精製には固相抽出ミニカラムを用いることにし、告示法で多用されているシリカゲル、フロリジルと前報で有用性が示されたC₁₈、SAX-PSAについて検討した。

10ppmの標準溶液 2 mlのメタノール溶液を除去し、各固相抽出に用いる溶液で2 mlとし、それぞれのカラムに負荷し、溶出試験を行った。

各カラムによる溶出パターンと回収率をTable 2に示す。

シリカゲルは、イマゾスルフロン¹の溶出が遅く、アセトン-ヘキサン (1 : 1) 30mlで溶出した。野菜果実の基準農薬は10mlの溶出液で十分であったが、シリカゲルのみではクリーンアップ効果が少なかった。

フロリジルでは、イマゾスルフロンとベンスルフロンメチルはアセトン100%にしても溶出してこなかった。また、ジクロメジンも42%の回収であり、これらの農薬にはフロリジルは適用できなかった。

C₁₈のカラムクロマト条件を検討した。アセトニトリル抽出液をそのまま負荷し、30%含水アセトニトリル10mlで溶出した場合、フェンピロキシメートの一部とエトフェンプロックス、トリフルミゾール代謝物、イマザリルが溶出せず、アセトニトリルでフェンピロキシメートとエトフェンプロックスが溶出し、トリフルミゾール代謝物、イマザリルは50mMリン酸二水素ナ

トリウム-アセトニトリル溶液で溶出した。これらのすべての流出液を合わせて塩化ナトリウムを加え、アセトニトリル層に転溶する方法では、試料によってはクリーンアップが不十分であった。

そこで試料抽出液を減圧下でアセトニトリルを除去した後、水50mlを加えてC₁₈に負荷し、この流出液は捨てた。14農薬はすべてC₁₈に保持された。水10mlで洗浄後、アセトニトリル 5 mlと50mMリン酸二カリウム-アセトニトリル溶液 (3 : 7) 5 mlで溶出し、この2つの流出液を合わせた。イマザリルはアルカリ性で有機溶媒層に移行するため、10%リン酸二水素ナ

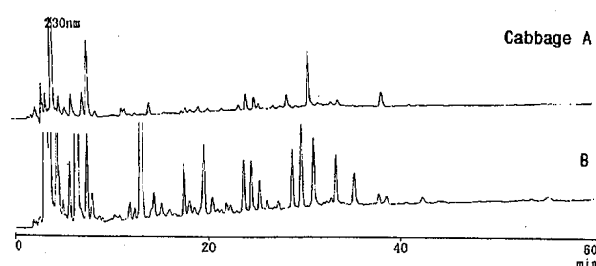


Fig.2 Effect of clean-up by C₁₈ cartridge on HPLC chromatograms

- (A) Acetonitrile extract was applied without evaporation
(B) Extract was applied after evaporation of acetonitrile

Table 2 Elution Pattern of Pesticides from Cartridges

Cartridge Eluent	CHEM BLUT Ethyl Acetate	Silica Acetone:Hex(1:1)			Florisil				C ₁₈			SAX-PSA Acetone:P. Ether (1:2)
		Acetone:Hex(1:1)			Acetone:Hex(3:17) Acetone:Hex(3:7)				CH ₃ CN	50mM KH ₂ PO ₄ CH ₃ CN(3:7)	Acetone:P. Ether (1:2)	
Eluate(ml)	0-150	0-10	10-20	20-30	0-10	10-20	0-10	10-20	0-5	0-5	0-10	
Imazosulfuron	83	7	70	10					92			
Bensulfuron-methyl	112	80	13						105			
Diclomazine	102	88					32	10	96		94	
Imazalil	71	71					75	7		99	90	
Triflumizole Metabolite	88	87			92					90	91	
Diflubenzuron	105	97			85	15			93		95	
Tebufozide	103	93			92	7			94		92	
Triflumizole	133	92			62	32			91		93	
Iprodione	92	87			92				90		90	
Clofentezine	98	93			98				98		97	
Pencyclon	95	92			96				100		90	
Fenpyroximate	98	93			99				85		91	
Chlorfluazuron	100	93			71	25			80		93	
Ethofenprox	101	93			98				92		93	

20 μg of each pesticide was applied to cartridges

P. Ether: Petroleum ether

リウム溶液 5 ml で PH 8 に調整し、塩化ナトリウム 2 g 及びアセトニトリル 10 ml を加えて振とうし、アセトニトリル層を分離した。その結果、水溶性の妨害物質と脂肪の除去をかねることができ、Fig. 2 に示すようにクリーンアップ効果が高まった。

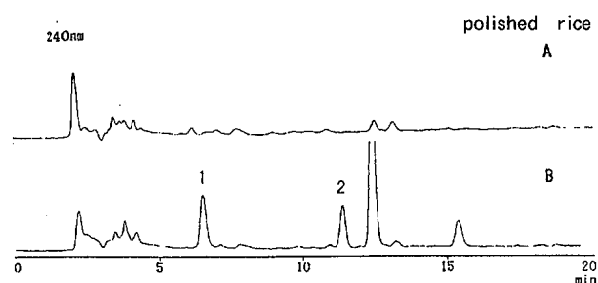


Fig.3 HPLC chromatograms of polished rice treated with C_{18} cartridg

(A) polished rice extract

(B) polished rice extract spiked with $0.2 \mu\text{g/g}$ of standards

1:imazosulfuron, 2:bensulfuron-methyl

陰イオン交換カラムSAX,PSAは、Luke-II法³⁾による方法であり、外海らによるHPLCへの適用も報告⁴⁾されている。イマゾスルフロンとベンスルフロンメチルを除く農薬はアセトン・石油エーテル(1:2) 10 ml で溶出した。イマゾスルフロンとベンスルフロン

メチルはメタノールでも溶出しなかった。そこで弱イオン交換性であるPSAのみを用いて2%アンモニア水を含むメタノールで溶出したが、試料に適用すると回収率が50%程度であり、精製効果も少なかった。そこで精米はSAX,PSAカラムに負荷する前の試験液を分取し、アセトニトリル溶液とし測定した。

この分析法によるトマトとスイカのクロマトグラムをFig. 1 に示す。イマザリルの基準が低い精米やトマトの試料も、202nmでも妨害ピークもなく良好な測定結果が得られた。本方法は簡易なスクリーニング法として十分使用できると思われた。

イマゾスルフロンとベンスルフロンメチルについては、精米の結果をFig. 3 に示すとおり十分な精製とは言えず今後更に検討する。

4. 添加回収実験

試験中の濃度が0.4ppmとなるように農薬混合標準溶液 ($2 \mu\text{g/ml}$) 4 ml をスイカなど7種類の試料に添加した回収実験の結果(n=2の平均値)をTable. 3 に示す。

検討した14農薬の内、13農薬についてはほぼ70%以上の回収率が得られた。

クロフェンテジンは、37~80%と作物によって回収率が大きく変動した。残留農薬簡易分析法開発委員会の報告⁵⁾によっても同様の結果が示されており、作物成分による分解等が考えられる。

Table 3 Recoveries of 14 Pesticides Added Samples

	Recovery(%), n=2					
	Cabagge	Cucumber	Pumpkin	Melon	Tomato	Polished rice
Imazosulfuron	-	-	-	-	-	88
Bensulfuron-methyl	-	-	-	-	-	108
Diclomezine	-	-	-	-	-	89
Imazalil	96	70	85	78	77	83
Diiflubenzuron	92	93	89	100	95	-
Tebufenozide	87	96	101	98	94	-
Triflumizole	79	89	80	95	90	95
Iprodione	88	93	98	95	86	85
Clofentezine	49	63	37	80	69	-
Pencyclon	84	86	78	101	91	98
Fenpyroximate	77	101	87	93	83	-
Chlorfluazuron	80	108	73	97	90	-
Ethofenpurox	95	87	88	97	86	91

Samples were spiked with $0.4 \mu\text{g/g}$ of pesticides

-:Not in vestigated

W.Melon:Water melon

ま と め

1. アセトニトリル抽出, 固相抽出カラムC₁₈, SAX, PSAを用いた精製法を用いたHPLCによる残留農薬の一斉分析法の検討を行った。
2. アセトニトリル抽出後, アセトニトリルを除去し水溶液に調整した試料溶液をC₁₈により精製することにより, 水溶性の妨害物質と脂肪の除去をかねることができ, 良好な精製効果が得られた。
3. SAX-PSAはイマゾスルフロン, ベンスルフロンメチルを除く12農薬については良好な精製が得られ, 残留基準値の低い農薬も感度よく測定できた。イマゾスルフロン, ベンスルフロンメチルについては今後更に検討する。
4. 野菜, 果実及び精米に14農薬を添加したときの回収率はクロフェンテジンを除き70%以上であり, この分析法は農薬のスクリーニング法として十分使用できる。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局長：残留農薬迅速分析法の利用について, 平成9年4月8日, 衛化第43号
- 2) 小坂妙子, 小野和則, 山本雄三, 武田攻：GC/MSによる残留農薬一斉分析法の検討, 宮崎県衛生環境研究所報, 7, 82-87, 1995
- 3) Thomas Cairns, Milton A. Luke, Kin S. Chiu, David Navarro and Emil G. Siegmund: Multiresidue Pesticide Analysis by Iontrap Technology: A Clean-up Approach for Mass Spectral Analysis, RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY, 7, 1070-1076, 1993
- 4) 外海泰秀, 島津ゆかり, 中村優美子, 柴田正：HPLCによる青果物中残留農薬及びその代謝物の一斉分析, 第73回食品衛生学会講演要旨集, 38, 1997
- 5) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会：食品衛生研究, 45, 31-49, 1995

鶏肉中亜塩素酸イオンの分析法の検討

山本 雄三・小坂 妙子・小野 和則
武田 攻

Determination of residual chlorite in chicken

Yuzo YAMAMOTO, Taeko KOSAKA, Kazunori ONO and Osamu TAKEDA

Abstract

Analytical methods for residual chlorite in chicken were studied. A gas chromatographic method with ECD detection and an ion chromatographic(IC) method with UV detection could not quantitatively determine the residue level of chlorite in chicken.

However an IC method with conductivity detection has been developed for the determination of chlorite in chicken at the $5\mu\text{g/ml}$ level. Sample solutions prepared by aqueous extraction were treated with solid-phase extraction. Bond Elut C18 and Waters AccellTM Plus QMA Cartridges were utilized to purify extracts from the samples. The IC separation was carried out on Ion Pac AS9-SC using 1.0 mM NaHCO_3 as the mobile phase. The recovery of chlorite was 54.3% at the level of $10\mu\text{g/ml}$ spiked in the aqueous extraction from chickens.

Key words : chlorite ; solid-phase extraction ; ion chromatography

はじめに

近年、輸入食品が増大し、食品添加物に関する規制の異なる諸外国から多くの食品が輸入されている。これとともにわが国で使用が認められていない食品添加物が使用された食品が国内に入ってくるのが懸念されている。検疫所をはじめとする諸検査機関の輸入食品の監視業務が強化されてきているものの、多種多様にわたる添加物の検査はきわめて困難なものとなっている。

このような中で鶏肉は、現在国内で消費される25%以上が輸入品である。わが国では鶏肉の殺菌料として次亜塩素酸ナトリウムのみが使用を認められているが、諸外国では二酸化塩素、亜塩素酸ナトリウム(NaClO_2)なども使用されている。

わが国において、 NaClO_2 については平成7年12月の食品・食品添加物規格基準の改正により、菓子製造用のかんきつ類の果皮、生食用野菜、卵殻の殺菌料としての用途が加えられた。しかし、鶏肉に対しては、二酸化塩素と同様に NaClO_2 の使用は認められていない。

い。

二酸化塩素は近年塩素にかわる殺菌消毒剤として考えられつつあり、その微生物に対する制御効果が注目されている。しかし、二酸化塩素はアミノ酸との高い反応性から、 NaClO_2 と同様にその安全性に対する懸念が数多く報告されている¹⁻³⁾。

食品中の NaClO_2 の試験法としては厚生省法⁴⁾のほか、UV検出イオンクロマトグラフィーによる方法(IC-UV)^{5)・6)}、電気化学検出器を用いて分析する方法⁷⁾などがあるが、いずれも野菜等の農産物を対象としたものである。また、大島ら⁷⁾は抽出液に通気し、二酸化塩素を発生させ捕集する方法でサンマ中の残留検査ができることを報告しているものの、定量の妨害となりやすい脂肪、蛋白質などを多く含む鶏肉などの畜水産食品を対象した簡便な分析法の報告はきわめて乏しい。

二酸化塩素は、超臨界流体抽出の後ガスクロマトグラフィーで定量する方法が知られている。しかし、二酸化塩素は水分が存在すると三酸化塩素、次亜塩素酸、亜塩素酸などを生ずる⁸⁾が、中性域においては亜塩素

酸イオン(ClO_2^-)に還元されそれとまると言われており⁹⁾、鶏肉中の二酸化塩素の残留検査としても ClO_2^- を定量することが適当だと考えられる。

そこで、鶏肉中の ClO_2^- を定量するため、従来野菜中などの ClO_2^- を定量するための方法として報告されているものをもとに、鶏肉中の ClO_2^- を定量するための試験法の検討をおこなった。イオンクロマトグラフィー(IC-CDM)およびUV検出ガスクロマトグラフィー(IC-UV)による方法とともに、 ClO_2^- が酸性下で有効塩素を生成することから、これをシアンと反応させクロルシアンとしてガスクロマトグラフィーで定量する方法⁴⁾(GC-ECD)の適用を試みた。

また、固相抽出カートリッジによる精製法についても詳細に検討を行った。

方 法

1. 試 料

平成8年10月から平成9年7月にかけて、宮崎県下で市販されていた輸入鶏肉および国産鶏肉を用いた。

2. 試薬・試液

炭酸水素ナトリウム：和光純薬工業(株)製、試薬特級
メタノール：和光純薬工業(株)製、高速液体クロマトグラフ用

NaClO_2 ：和光純薬工業(株)製、

NaClO_2 標準原液： NaClO_2 を精秤し、水を加えて溶解し、 5 mg/ml の標準原液とした。

NaClO_2 標準溶液： NaClO_2 標準原液を水で適宜希釈して用いた。

リン酸一ナトリウム：二水和物、片山化学工業(株)製、試薬特級

リン酸二ナトリウム：12水塩、片山化学工業(株)製、試薬特級

シアン化カリウム溶液：シアン化カリウム 100 mg に水を加えて 100 ml とし、原液を調製する。原液 10 ml を採り、水を加えて 100 ml とする(この液 1 ml は、 KCN として $100\text{ }\mu\text{ g}$ を含む)。

フタル酸二ナトリウム：ナカライテスク(株)製、試薬特級

Bond Elut LRC C18, Sep-Pak Plus tC18, Accu BOND ODS：バリアン社製のBond Elut LRC C18 (500 mg)、ウォーターズ社製のSep-Pak Plus tC18 (400 mg)、横河アナリティカルシステムズ社製のAssuBOND ODS (500 mg)をメタノール 5 ml 、つづ

いて水 10 ml でコンディショニングしたものを用いた。

Sep-Pak アクセルプラスQMA：ウォーターズ社製のSep-Pak アクセルプラスQMAを2%フタル酸二ナトリウム溶液 20 ml 、つづいて水 20 ml でコンディショニングしたものを用いた。

3. 装 置

1) GC-ECD法

ガスクロマトグラフ：(株)柳本製作所製、G2800型

検出器： ^{63}Ni ECD検出器

2) IC-UV法

高速液体クロマトグラフ：(株)島津製作所製、LC-10A型

検出器：(株)島津製作所製、フォトダイオードアレイ検出器SPD-M10A型

3) IC-CDM法

イオンクロマトグラフ：日本ダイオネクス(株)製DX-AQ型

検出器：電気伝導度検出器CDM-II型

4. 分析操作

1) 試験溶液の調製

① GC-ECD法

鶏肉 20 g を水 100 ml にガラス棒で静かにかき混ぜながら2分間浸漬した。遠心分離 ($3,500\text{ rpm}$, 10 min) 後、ろ紙 (5A) でろ過し 200 ml とする。この後厚生省法⁴⁾の15. 次亜塩素酸及びその塩類の(2)試料ガスの調製にしたがい、あらかじめヘッドスペース用三角フラスコにリン酸緩衝液 20 ml 及びシアン化カリウム溶液 1 ml を入れ、これに試料 2 ml を正確に量って加え、密栓して30分間放置し、発生したガスを試料ガスとした。リン酸緩衝液のpHは4.5とした。

② IC-UV法

鶏肉は $1\sim 2\text{ cm}$ 角のブロック状に切り、この $20\sim 25\text{ g}$ をビーカー中に正確に秤取したものに3倍量の水を加え、全体を水に浸漬した。30分間放置した後、浸漬液をろ紙 (5B) でろ過し、ろ液を試験溶液とした。

③ IC-CDM法

前項と同様に鶏肉は $1\sim 2\text{ cm}$ 角のブロック状に切り、この $20\sim 25\text{ g}$ をビーカー中に正確に秤取したものに3倍量の水を加え、全体を水に浸漬した。30分間放置した後、浸漬液をろ紙 (5B) でろ過し、ろ液を試験溶液とした。

2) 固相抽出カートリッジによるクリーンアップ

① IC-UV法

前項②の調製法による試験溶液 10 ml を分取し、

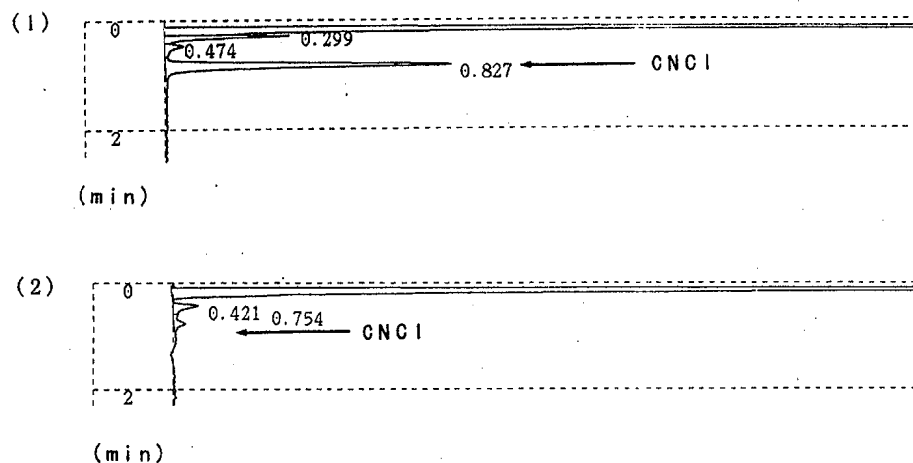


Fig.1 Gas Chromatograms of Chlorite Standard and Extract of Rinsing Water from Chicken

(1): standard (chlorite 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

(2): extract of rinsing water from chicken [spiked with 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of chlorite]

Bond Elut LRC C18を通塔させた溶出液をIC用試験溶液とした。

② IC-CDM法

C 18 (ODS) 系固相抽出カートリッジの回収率を求める場合は、 ClO_2^- 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準溶液 30 ml を C 18 (ODS) 系固相抽出カートリッジにアプライし、通過させた溶出液をさらに水 6 ml による洗浄液を合わせこれを 40 ml に定容したものを IC 用試料とした。

Sep-Pak アクセルプラス QMA による ClO_2^- の溶出パターンを検討する場合は、 ClO_2^- 50 μg (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液 5 ml) を Sep-Pak アクセルプラス QMA にアプライした後 2 mM フタル酸二ナトリウム溶液で溶出させ、その 2 ml ずつの分画を IC 用試料溶液とした。

鶏肉の浸漬液に標準溶液を添加した全過程の回収率を求める場合は、1) 試験溶液の調製③ IC-CDM で調製した試験溶液に ClO_2^- を添加し 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度とした溶液 5 ml を、Bond Elut LRC C18 の下端に Sep-Pak アクセルプラス QMA を連結させたものにアプライした。水 1 ml で洗浄した後、Bond Elut LRC C18 をはずし Sep-Pak アクセルプラス QMA のみとし、2 mM フタル酸二ナトリウム溶液による溶出液のはじめから 5 ml を分取し IC 用試料溶液とした。

3) 測定条件

① GC-ECD法

カラム: TENAX-GC 3 mm i.d. $\times$ 1 m

カラム温度: 40°C

注入口温度: 80°C

② IC-UV法

カラム: TSKgel IC-Anion-PW_{XL} PEEK 4.6 mm

i.d. $\times$ 150 mm

カラム温度: 40°C

移動相: 0.5 mM ホウ酸塩緩衝液 (pH 9) - メタノール (97.5 : 2.5)

流速: 1.0 ml/min

検出器: UV; 260 nm

試料注入量: 50 μl

③ IC-CDM法

分離カラム: Ion Pac AS 9-SC 4 mm i.d. $\times$ 250 mm

プレカラム: Ion Pac AG 9-SC 4 mm i.d. $\times$ 50 mm

移動相: 1.0 mM 炭酸水素ナトリウム溶液

アニオンサプレッサー: 25 mM 硫酸溶液

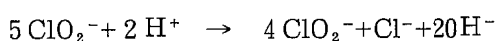
流速: 1.5 ml/min

試料注入量: 100 μl

結果と考察

1. GC-ECD法による検討

食品中の次亜塩素酸およびその塩類の試験法として有効塩素をシアンと反応させクロルシアンとし、GC により定量する方法がある¹⁴⁾。亜塩素酸も pH 4.5 以下において次のような反応により有効塩素を生成することが知られている。



この Cl^- をクロルシアンに誘導体化することにより

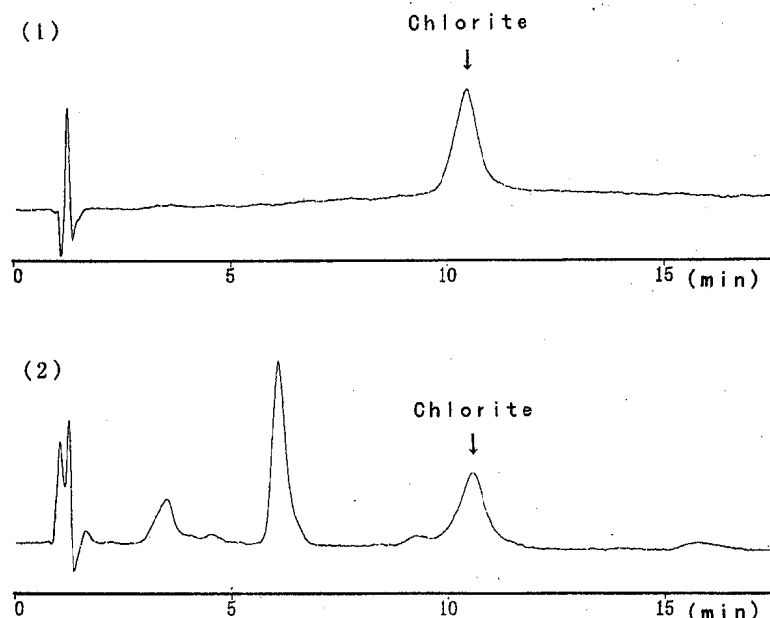


Fig.2 UV-Ion Chromatograms of Chlorite Standard and Extract of Rinsing Water from Chicken

(1): standard (chlorite 20 $\mu\text{g/ml}$)

(2): extract of rinsing water from chicken [spiked with 20 $\mu\text{g/ml}$ of chlorite]

ClO_2^- をGC-ECDにより定量することを試みた。

標準液による検出下限値は、GC注入時の濃度で0.2 $\mu\text{g/ml}$ であり、蒸留水による回収試験は良好であった。しかし、鶏肉試料については、まったく回収できなかった(Fig. 1)。遊離塩素はアミン類、アミノ酸、アンモニアとクロラミンを生成する。また多くの有機物と反応しやすい。このため、遊離塩素が有機物に消費され、クロルシアン生成の反応ができないものと思われる。また、このことは、試料ガスの調製の際、シアン化カリウム溶液と試料(鶏肉浸漬液) 2 mlを加える順序を逆にするとクロルシアンの生成が抑制されることから裏付けられた。

試料溶液中の有機物を減らすため、同量のメタノールを加えて除タンパクを行ってみたが、効果はなかった(メタノールはクロルシアンの生成を抑制しなかった)。C18固相抽出カートリッジによる前処理も効果がなかった。このGC-ECD法は、不純物(有機物)の少ない試料には適用可能だが、鶏肉など多くの有機物が浸漬液に浸出しやすい試料については適用困難であると思われた。

2. IC-UV法による検討

通常の高速液体クロマトグラフを利用できるノンサプレッサー方式ICを用い、 ClO_2^- がリン酸塩緩衝液

(pH 8)で紫外部(UV)の極大吸収をもつ¹¹⁾ことを利用したIC-UV法により、鈴木らは野菜及び鶏卵に使用された亜塩素酸ナトリウムの分析を行っている⁶⁾。この方法により鶏肉浸漬液中 ClO_2^- の定量を試みた。

すでに述べた試料溶液の調製法により調製した試験溶液を、Bond Elut LRC C18で前処理したものをIC用試験溶液とした。

ICの移動相としては、脂肪を多く含む鶏肉からの浸漬液を注入するため、鈴木ら⁶⁾が用いた移動相に試料由来の夾雑ピークと重ならないよう2.5%メタノールを添加したものを用いた。 ClO_2^- の標準液では1 $\mu\text{g/ml}$ まで検出可能であった。

ClO_2^- を含まない鶏肉からの浸漬液に、 ClO_2^- が25 $\mu\text{g/ml}$ となるように添加し、回収率を求めたところ、 $61.7 \pm 5.2\%$ ($n=3$)であった(Fig. 2)。定量下限は浸漬液の濃度で10 $\mu\text{g/ml}$ であった。しかし、Bond Elut LRC C18を通塔させただけでは精製操作が不十分で ClO_2^- のピークの近傍にも夾雑ピークができることもあり、フォトダイオードアレイでスペクトルをとる必要があった。検査を繰り返すにつれ、ピークの保持時間が徐々に短くなりカラムの劣化も著しかった。

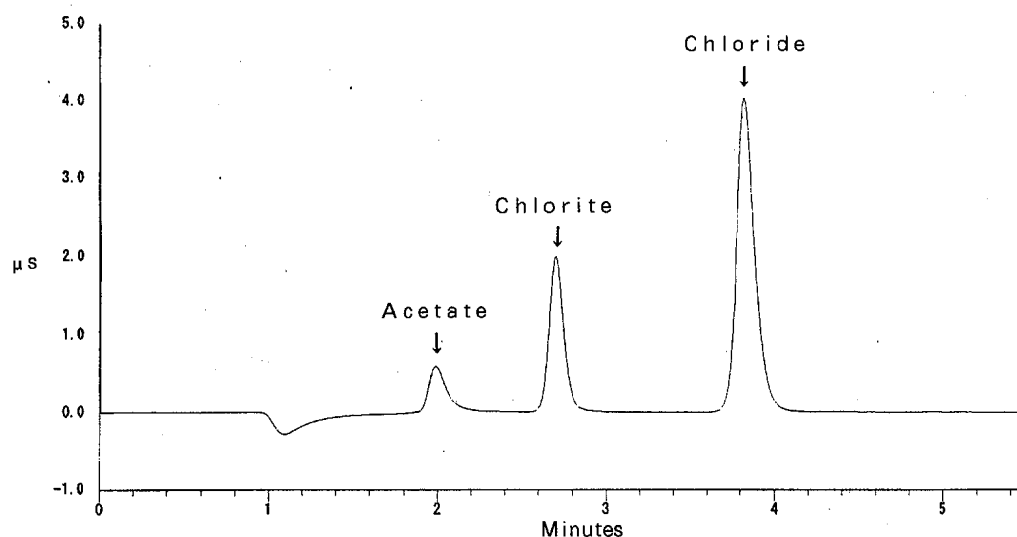


Fig.3 Ion Chromatograms of Acetate, Chlorite and Chloride Standard

Acetate(400ng), Chlorite(400ng), Chloride(400ng)

3. IC-CDM法による検討

1) IC測定条件の検討

炭酸水素ナトリウム溶液を移動相として^{1a)}, カラムをIon Pac AS 4 A-SC, Ion Pac AS 9 -SC, Ion Pac AS12A-SCの3種類のカラムを比較したところ Ion Pac AS 9 -SCが, 酢酸イオン, 塩素イオンのピークとも最も良好な分離を示した(Fig. 3) のでこれを用いることにした. ClO_2^- の標準液では $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ まで検出可能であった.

2) 固相抽出カートリッジによるクリーンアップの検討

鶏肉は, カラムの劣化をはやめる脂肪, 定量の妨害となる有機酸などを含むことからこれらを除き, 濃縮, 精製することを目的に固相抽出カートリッジによるクリーンアップの検討を行った.

① C18(DOS)系固相抽出カートリッジの比較検討

Bond Elut LRC C18, Sep-Pak Plus tC18, Accu BOND ODSの3種類のC18(ODS)系固相抽出カートリッジによる ClO_2^- の回収率を比較検討した(Table

Table 1 Comparison of C18 Solid-Phase Extraction Cartridges for Chlorite

Cartridge	Added(μg)	Recovery(%)
Bond Elut LRC C18	60	99.5
Sep-Pak Plus tC18	60	93.4
AccuBOND ODS	60	93.4

1). この結果いずれも良好な回収率を示したが, Bond Elut LRC C18を用いることにした.

② イオン交換樹脂によるクリーンアップの検討

シリカ系のイオン交換体では, ポーラスポリマー担体のイオン交換体にくらべ吸着, 分配がなく無機イオンより有機酸が早く溶出されるといわれる. またイオン性をもたない糖は保持されない. そこでシリカベースのSep-PakアクセルプラスQMAを用いて検討を行った.

ClO_2^- をSep-PakアクセルプラスQMAに負荷し, 2 mMフタル酸二ナトリウムで溶出させた. Fig. 4はその溶出パターンを示したものである. 溶出しはじめから4 mlまでの分画で負荷された ClO_2^- の90%以上が溶出することがわかる. このことからSep-PakアクセルプラスQMAにより ClO_2^- の濃縮, 精製が可能であることが示唆され, 本試験操作においては溶出しはじめから5 mlを分取し試験溶液とすることにした.

3) 添加回収実験および検出限界

ClO_2^- 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるよう添加した鶏肉浸漬液をそのままICで測定しても約20%の損失があった. ClO_2^- を含まない鶏肉からの浸漬液に, ClO_2^- が20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように添加し, 回収率を求めたところ, $54.3 \pm 5.1\%$ ($n=3$) であった(Fig. 5). 本試験の全過程を行うと検出下限は浸漬液の濃度で5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった.

また, IC-CDM法は, 固相抽出カートリッジによるクリーンアップ操作なしに鶏肉浸漬液中の ClO_2^- をICに注入してもIC-UV法によるクロマトグラムよりも

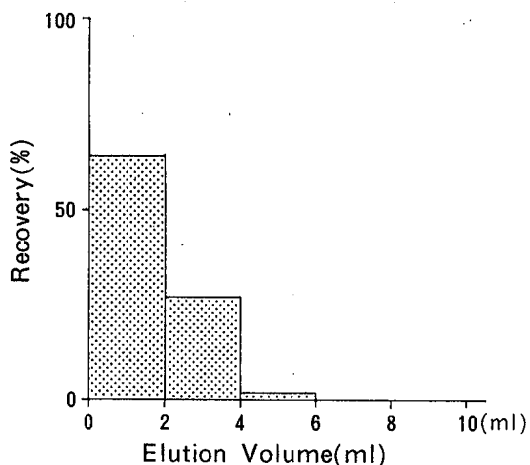


Fig.4 Elution Pattern of Chlorite from Sep-Pak Accell Plus QMA Cartridge with 2mM Phthalic Acid Disodium Salt Solution

夾雑ピークが少なかった。

FDAは食鳥の生肉に接する製造用水中の二酸化塩素の上限を 3 ppmと規制している。また漬物用キュウリの望ましい制御には、残留二酸化塩素濃度1.3 ppmが最適であり、二酸化塩素濃度が0.95ppmでは細菌数はあまり変化せず、2.8や5.1ppmでは二酸化

塩素の臭いが強かった¹²⁾との報告がある。さらに高感度の残留検査のためにはSep-PakアクセルプラスQMAによる濃縮操作後IC-CDM法により分析することが有用だと考えられた。

まとめ

鶏肉中 ClO_2^- の定量法の検討を行ったところ、次のようなことがわかった。

酸性下で ClO_2^- から Cl^- を生成させクロルシアンとしてGC-ECDで分析する方法では Cl^- が鶏肉中の有機物に消費され、鶏肉浸漬液中の ClO_2^- を定量法することはできなかった。

IC-UV法では、Bond Elut LRC C18による前処理だけでは夾雑ピークが多く鶏肉中の ClO_2^- を検査することは困難であった。

固相抽出カートリッジによるクリーンアップの検査により、Sep-PakアクセルプラスQMAにより ClO_2^- の精製、濃縮が可能であることが示唆された。鶏肉浸漬液中の ClO_2^- をBond Elut LRC C18, Sep-PakアクセルプラスQMAで前処理後IC-CDM法により分析することができた。

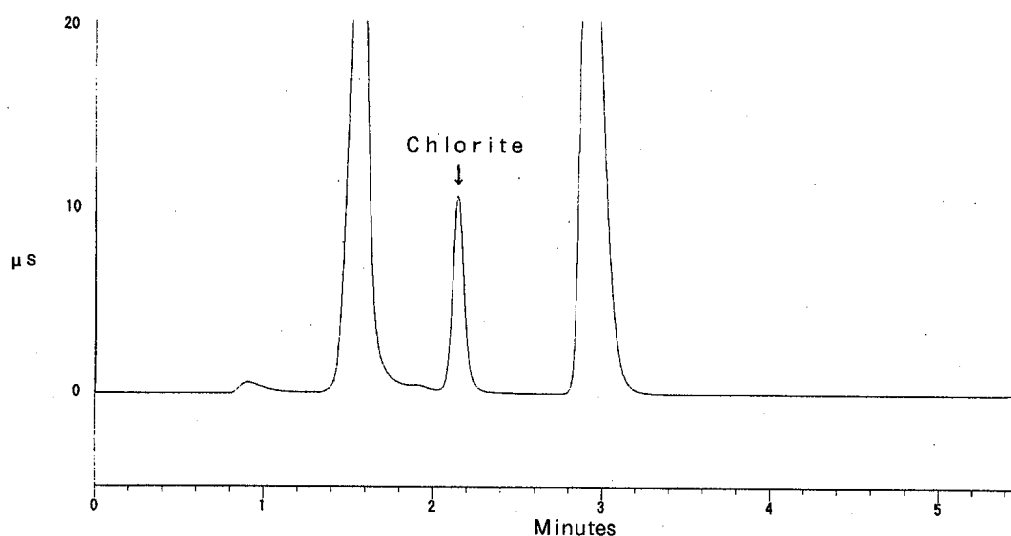


Fig.5 Ion Chromatograms of Extract of Rinsing Water from Chicken Spiked with 20 $\mu\text{g/ml}$ of Chlorite

文 献

- 1) Abdel-Rahman, M.S., Couri, D., Bull, R. J. : J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. 6, 105~113 (1985) .
- 2) Fukayama, M.Y., Tan, H., Wheeler, W.B., Wei, C.I. : Environ. Health. Perspect. 69, 267~274 (1986) .
- 3) Owusu-Yaw, J., Wheeler, W.B., Wei, C.I. : Toxicol. Lett. 56, 213~227 (1991) .
- 4) 厚生省生活衛生局監修: “食品衛生検査指針－食品中の食品添加物分析法－”, a)p. 78~81, b)p. 72~75 (1989) (社)日本食品衛生協会.
- 5) 山本 敦, 松永明信, 牧野正雄: 衛生化学31, 421~425 (1985) .
- 6) 鈴木 仁, 奥本千代美, 勝本康隆, 友松俊夫, 田村行弘, 伊藤誉志男, 石綿 肇, 山田 隆, 西島基弘: 食品衛生学雑誌, 38, 22~26 (1997) .
- 7) Beitler, M. K., Chin, H.B.: J.AOAC Int. 78, 878~883 (1995) .
- 8) 大島晴美, 山田貞二, 齊藤 勲, 早川順子: 愛知県衛生研究所報, 46, 23~27 (1996) .
- 9) 化学大辞典編集委員会編: “化学大辞典”, 6, p. 695~696 (1964) .
- 10) Aita, E.M., P.V., Hernandez, M. : J. Am. Water Assoc. 76, 64~70 (1984) .
- 11) 神蔵美枝子, 佐藤恭子, 合田幸広, 義平邦利: 衛生試験所報告107, 138~141 (1987) .
- 12) Reina, L.D., Flening, H.P., Humphries, E. G., : J. Food. Prot. 58, 541~546 (1995) .

養殖魚中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズの簡易分析法

小野 和 則・山 本 雄 三・小 坂 妙 子
武 田 攻

A Simple Method for Determining the Presence of Tributyltin and Triphenyltin in Hatchery Fish

Kazunori ONO, Yuzo YAMAMOTO, Taeko KOSAKA, and Osamu TAKEDA

We present a simple method for determining the presence of tri-*n*-butyltin(TBT) and triphenyltin(TPT) compounds in hatchery fish.

A solid phase extraction(SPE) column cartridge was utilized to concentrate and purify extracts from fish samples. Divinylbenzene-hydrophilic methacrylate copolymer type of the SPE column cartridge proved to be effective. The analytical method process was simple, and we used little glassware. It was given much care not to cause an experimental pollution to the environment throughout this work.

The sample was hydrolysed with a potassium hydroxide-ethanol solution. Then, TBT and TPT compounds in the hydrolysate were extracted with petroleum ether. Petroleum ether was evaporated, and then the extract in 50% ethanol solution was charged into a SPE column cartridge. The column was washed with the 10% of methanol, and then TBT and TPT compounds were eluted with a hydrochloric acid/methanol(1/9)mixture. TBT and TPT compounds were extracted with a hexane/cyclohexane(1/1)mixture from the hydrochloric acid-methanol eluate. After hydrogenation, derivatives of the extract were determined by a gas chromatograph with a quadrupole mass spectrometric detector(GC-QMS). The lower limit of detection by the GC-QMS was estimated at the level of $0.05 \mu\text{g/g}$ (as TBTC) and $0.1 \mu\text{g/g}$ (as TPTC) in Tiger Puffer (*Fugu rubripes rubripes*).

Key words: tributyltin, triphenyltin, gas chromatograph, fish, solid phase extraction

はじめに

当所では、毎年養殖魚中トリブチルスズ(TBT)及びトリフェニルスズ(TPT)のモニタリングを実施している。分析方法は、TBTとTPTを同時に測定することから高見らの報告に準じている^{4) 11)}。今回、市販の固相抽出カラムによる簡便な精製法によって省力化が期待されると思われた郡¹⁾、佐藤²⁾らの方法を参考にして養殖魚中のTBT並びにTPTの分析を行った。有機スズは特別化学物質に指定されており、その取り扱いには注意を要するため分析の行程も、また分析のために使用する器具類も複雑にならないことが望ましいと考える。

方 法

1. 材 料

養殖魚 (トラフグ, ハマチ)

2. 試 薬

エタノール, メタノール, *n*-ヘキサン及びシクロヘキサン, 残留農薬試験用: 和光純薬工業(株)製
石油エーテル, 残留農薬分析用: 片山化学工業(株)製
塩酸, 有害金属測定用: 和光純薬工業(株)製
水酸化カリウム, 試薬特級: 米山薬品工業(株)製
塩化ナトリウム, 試薬特級: 和光純薬工業(株)製
水素化ホウ素ナトリウム, 化学用: 和光純薬工業(株)製

固相抽出カラムカートリッジ, Excelpak SPE-

GLF (500mg) :横川アナリティカルシステムズ製

塩化トリ-n-ブチルスズ標準原液及び塩化トリフェニルスズ標準原液, 各々 1 mg / ml, トルエン溶液 : 関東化学(株)製

アルカリ溶液 : 水酸化カリウム110 g に, エタノール1000mlを加えてマグネティックスターラーで水酸化カリウムが溶解するまで攪拌した.

3. 装置

ガスクロマトグラフ, HP6890-MSD : Hewlett Packard製

ホモジナイザー, Polytron : Kinematica, スイス
卓上遠心分離器, H-108N : 国産遠心器(株)製
マグネティックスターラー, LABORATORY STIRRER MODEL PC-320 : CORNING

超音波洗浄器, SUS-100 : 島津製作所(株)製

4. 試験溶液の調製

フードプロセッサーを用いて細切・攪拌させた試料 5 g を共栓付き50ml容遠沈管に採り, 10mlのアルカリ溶液を加えて10分間放置した後, ホモジナイザーで1分間攪拌した. 更に 5 mlのアルカリ溶液でホモジナイザーのシャフトを洗う操作を2回繰り返し, 洗液を試料に併せた. 10mlの塩酸を慎重に加えた. 時々振盪しながら10~30分間反応させ放冷した. 冷後 2 g の塩化ナトリウム及び15mlの石油エーテルを加え, 蓋を押えて15秒程度強振した. これを遠心分離器に掛け (3000 rpmで5分間), 上清を100ml容ナス型フラスコに集めた. 残渣に15mlの石油エーテルを加え, 蓋を押えて15秒程度強振した. そして遠心分離器に掛け (3000 rpmで5分間), 上清を先の100ml容ナス型フラスコ

に併せた. 残渣に15mlの石油エーテルを加え, 同様の操作を繰り返し, 上清を先の100ml容ナス型フラスコに併せた. 大部分の石油エーテルを除去した (ロータリーエバポレーター, 50℃). ナス型フラスコの残留物を 5 mlのエタノールを数回に分けて用いて, 10ml容目盛りつき試験管に洗い込んだ. これに蒸留水を加えて10mlになるように希釈した (試料液).

試料液を全量, 固相抽出カラムカートリッジ (GLF) (予め①メタノール 5 ml, ②蒸留水10ml, ③50%エタノール水溶液10mlによってコンディショニング済みのもの) に負荷した. 10mlの10%メタノールで洗浄後, 10mlの塩酸/メタノール (1 / 9) 溶液を用いて, トリブチルスズ (TBT) 及びトリフェニルスズ (TPT) を溶出させた.

溶出液を集めた20ml容目盛り付き共栓付き試験管に10mlの水を加え, 更にn-ヘキサン/シクロヘキサン (1 / 1) 混液 (2 mlで2回) でTBT及びTPTを抽出し, 別の20ml容目盛り付き共栓付き試験管に集めた. 抽出液に 7 mlの2.5%水素化ホウ素ナトリウムエタノール溶液を加えて20分間放置した. 次に 7 mlの水を加えて (振り混ぜずに), 30分間放置した. 上層からおおよそ 6 mlの量を10ml容ネジ蓋付き試験管に分取し, 遠心分離器に掛けた (3000rpmで5分間). これを冷蔵庫 (約 5℃) に3時間静置した後有機溶媒層を採取し, 試験液とした. 試験液をガスクロマトグラフ (GC) の分析に供した. なお, 操作の概要はFigure 1に示した.

5. GC測定条件

Table 1に示した.

Table 1 Operating Conditions of GC-QMS

Instrument	: HEULETT PACKARD 6890 series Mass selective detector
Injector	: Autoinjector with Electron pressure control Temperature was held constant at 260℃
Ion source	: Temperature was approximately at 160℃ Temperature of the Interface was set at 280℃
GC oven	: Temperature was programmed: Initial 100℃, Rate 5℃/min., Up to 150℃, Rate 10℃/min., Up to 260℃, Rate 30℃/min., Up to 290℃, Hold 10min
Column	: HP-5MS (Hewlett Packard), 30m × 0.25mm × 0.25 μm Film thickness
Carrier gas	: Helium (99.9999%), Flow rate was controlled constant at 0.9ml/min.
Injection volume	: 1 μl

5g of ground Sample
 10ml of KOH/Ethanol
 Standing for 10min.
 homogenize
 10ml of HCl
 Standing for 30min.

Cooled Sample
 2g of NaCl
 15ml of Petroleum ether
 shake for 15sec.

Centrifuge at 3000rpm for 5min.

Upper layer	Residue
	15ml of Petroleum ether shake for 15sec. Centrifuge at 3000rpm for 5min.
Upper layer	Residue
	15ml of Petroleum ether shake for 15sec. Centrifuge at 3000rpm for 5min.
Upper layer	Residue
	15ml of Petroleum ether shake for 15sec. Centrifuge at 3000rpm for 5min.
Upper layer	Residue
	discarded

Evaporate to remove Petroleum ether
 dissolve with 5ml of Ethanol
 dilute with 5ml of water

Sample solution

SPB cartridge
 previously conditioned with 5ml of Methanol, 10ml of Water, and 5ml of 50%Ethanol
 wash with 10ml of 10%Methanol
 elute with 10ml of HCl/Methanol(1/9) mixture

Eluant
 10ml of water
 2ml of Hexane/Cyclohexane(1/1)mixture
 shake for 15sec.

Upper layer	Lower layer
	2ml of Hexane/Cyclohexane(1/1)mixture shake for 15sec.
Upper layer	Lower layer
	discarded

Extract
 7ml of 2.5% Sodium borohydride-Ethanol solution
 standing for 20min.
 7ml of water
 standing for 30min.

Collect 6ml of Upper parts, and into screw capped tube
 Centrifuge at 3000rpm for 5min.

Strage at 5°C for 3hrs.

Hexane/Cyclohexane layer was withdrawn and analyzed by GC-QMS

Figure 1 Schematic diagram for determination of TBT and TPT in fish

結果および考察

1. 抽出

TBTO等の抽出は、メタノール³⁾、塩酸/メタノール/酢酸エチル混液^{4) 5)}、塩酸/メタノール混液⁶⁾、塩酸/ジクロロメタン混液⁷⁾、などメタノール抽出液を再度ヘキサン³⁾、酢酸エチル/ヘキサン混液⁴⁾、ヘキサン/ジエチルエーテル混液⁵⁾、ジクロロメタン⁷⁾等の有機溶媒による抽出が行われているが、筆者らはアルカリ分解の後、塩化物に変換させ、石油エーテルで抽出する方法を採用した⁸⁾。

アルカリ分解法は、ホモジナイズの効率を上げ、特にTBTに関しては抽出率の向上を期待されるようであるが^{8) 9) 10)}、更に操作上試料に由来する油脂、粘性物の影響が軽減されることは、迅速性に貢献した。

次にTBT等を有機溶媒で再抽出したが、これに関して筆者は、厚生省通知³⁾の方法をはじめ、塩酸酸性下で塩化物とし、ヘキサン等^{3) ~10)}で抽出する方法が一般的であるように認識している。またTPPTの抽出には酢酸エチルが有効であることがわかっているが¹¹⁾、酢酸エチルが劇物であること、また、酢酸エチルは分解した酢酸が溜去に要する時間を遅延させるため窒素パージによる酢酸除去操作を加える手間がいること、石油エーテルは単品を用いるため抽出液の調製等の手間を省略できること、また溜去も容易であることなどの理由から、今回は石油エーテルを試みた。

なお、石油エーテルと酢酸エチルのTBT及びTPPTに対する抽出効率を以下の方法によって比較した。アルカリ分解試料（試料中に各々0.5 $\mu\text{g/g}$ 添加）5 gから①酢酸エチル/n-ヘキサン（3 / 2）混液¹¹⁾あるいは②石油エーテルを用いて抽出したときの回収率を求めた。TBTの場合①は120.8% $\pm$ 2.1%, CV=1.7% (N=5), ②は119.8% $\pm$ 2.3%, CV=1.9% (N=5), であった。両者の平均値間に差はなかった ($P < 0.05$)。一方TPPTの場合①は102.5% $\pm$ 10.8%, CV=10.5% (N=5), ②は110.3% $\pm$ 4.0%, CV=3.6% (N=5), であった。両者の平均値間に差はなかった ($P < 0.05$)。更に標準品を添加しない試料についてTBTの分析値を比較した結果、平均値において①の方が②よりも上回ったが有意差を認めなかった ($P < 0.05$, N=5)。

2. 精製

試料液精製のためには、アルミナ³⁾、フロリジル^{5) 6) 10)}、シリカゲル⁷⁾、イオン交換樹脂^{4) 8) 9) 11)}、などが用いられ、筆者も環境庁、高見らの方法^{4) 11)}

を参考にしているが、これは有効な方法である。

郡、佐藤らはジビニルベンゼン-親水性メタクリル酸エステル共重合ゲルを用いた海水中の有機スズ化合物の分離・濃縮を報告している^{11) 12)}。筆者は本報を参考にして養殖魚中の有機スズ化合物の分離・濃縮の方法を検討した。カラム負荷液（試料液）としては厚生省、環境庁が標準液の調製に用いているエタノールを基本として用いることとし、カラムに保持させるために溶媒の組成の検討を試みたが、50%エタノールで十分であった。カラム洗浄には10%メタノールを用いたが^{11) 12)}、試料液を全エタノールとした場合負荷液及び洗浄液10mlで目的物は全て漏出してしまい、20~50%エタノール溶液を負荷したときは、洗浄液20mlを用いてもよく保持されているようであった。以上の結果から抽出溶媒を除去した残留物をエタノールに溶解させた後水を加えて50%エタノール溶液としたものを試料液とし、負荷後10mlの10%メタノール溶液で洗浄することにした。溶出液は後の水素化のために、高見らの方法¹¹⁾で用いられた塩酸/メタノール混液を試みた。6mlの塩酸/メタノール（1 / 9）混液によって大部分の目的物は溶出されたため塩酸/メタノール（1 / 9）混液10mlを溶出液とした。

3. 誘導体化及びGC分析

一般に有機スズ化合物の分析ではGC（電子捕獲型検出器^{3) 5) 6) 10)}、蛍光光度検出器^{4) 8) 9) 11)}、質量検出器^{7) 11)}）或いは液体クロマトグラフ（紫外分光光度計⁹⁾、誘導結合プラズマ質量分析計^{11) 12)}）が利用されているが、液体クロマトグラフの廃液の処理に苦慮することが予想されたので筆者は目的物の水素化後GC（四重極型質量検出器）（GC-QMS）で分析する方法を採用した。水素化の際気付いた点が2つあった。ひとつは、反応後に水を加えて有機層を分離しGC試験液とするがその際に振り混ぜなくても回収率に影響はなかった。2点目は反応時間に関することである。反応時間は20分としていたが、TBTでは検量線が対数的な曲線を描くことがあった。高見ら¹¹⁾の指摘にあるように水素化が不十分であることが考えられたが、筆者は再度水素化操作を行うことなく、簡単な方法、すなわち、分離した上層から6ml程度を分取し、これを3時間以上冷蔵保存することによって直線的な検量線を得ることが可能であった。但しガスは発生し続けているので、試験管の破損等には充分注意を払うべきである。

高見らの方法¹¹⁾ではそのクリーンアップ成果に

よって魚肉試料からマススペクトルの検出が可能であるが、筆者の方法では0.5ppm添加試料からのTPTHのマススペクトルの検出は不完全であった。しかし選択イオンモードを利用するとき、フグは $m/z=272$ 又は $m/z=349$ 、またハマチは $m/z=349$ によって定量上

妨害なく分析可能であった(Figure 2)。TBTHの分析ではほぼ問題なくマススペクトルの検出が可能であった。検出下限値はTBTCとしてフグ、ハマチで $0.05 \mu\text{g/g}$ 、TPTCとしてフグで $0.1 \mu\text{g/g}$ 、ハマチで $0.2 \mu\text{g/g}$ とした。

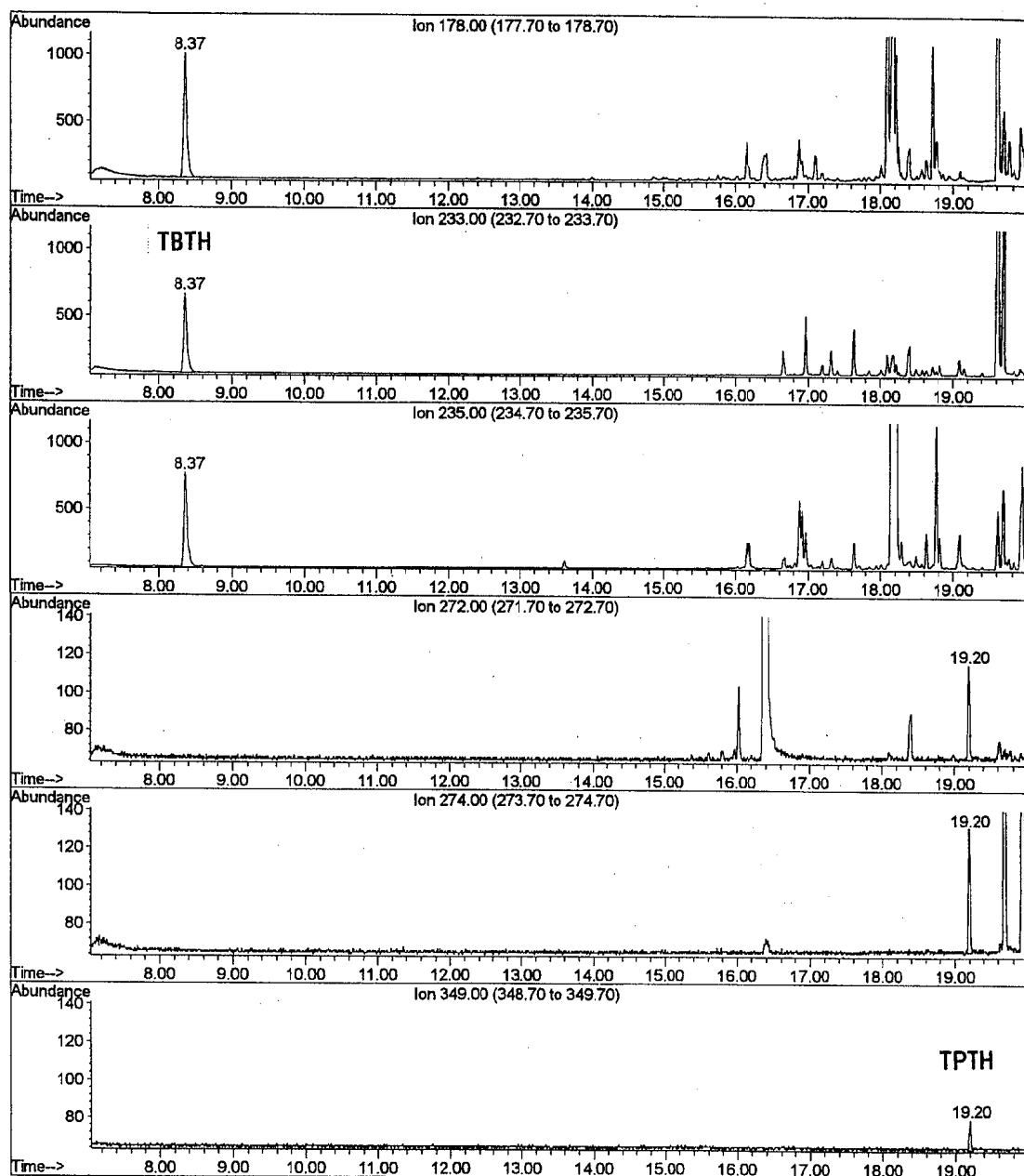


Figure 2 GC-QMS chromatograms of TBTH and TPTH from fish extract (Tiger Puffer, It was found at the level of 0.3ppm of TBTC; fortified with TBTC and TPTC at the level of 0.5ppm)

4. 養殖魚中の有機スズ化合物のモニタリング

有機スズ化合物の危険性は以前から様々な機関によって指摘されているが、今尚海域或いは食品中の残留値のモニタリングは必要と思われる。今年度はトラフグを8検体得る機会があったので本法によって分析した結果を参考までに掲載する。

8検体の内訳はA(3検体), B(3検体), C(2検体)の地区から搬入されたもので8検体の分析値はTBTCとして $0.23 \pm 0.16 \mu\text{g/g}$ であった。これは他の報告値と比べて高い値ではないと考える¹⁰⁾。TPTは検出されなかった。また、C地区は県南部に位置するがここではTBTも殆ど検出されないか非常に低値であった。

ま と め

市販の固相抽出カラムカートリッジを利用して、養殖魚中の有機スズ化合物の分析を行った。各々の操作は簡便で、使用する器具等も少なく、環境汚染対策を考慮した。試料をアルカリ分解後、石油エーテルで抽出した。溶媒溜去しエタノールに溶解させた試料液に水を加えて50%エタノール溶液としたものを固相抽出カラムカートリッジに負荷した。10%メタノールで洗浄後、塩酸/メタノール(1/9)混液で溶出した。固相抽出カラムカートリッジはジビニルベンゼン-親水性メタクリル酸エステル共重合ゲルを用いた。溶出液からヘキサン/シクロヘキサン(1/1)混液で抽出したものを20分間で水素化した。水を加えて30分間放置後、上層から6mlの量を10ml容ネジ蓋付き試験管に分取した。これを遠心分離器に掛け(3000rpmで5分間)、約5℃で3時間以上静置後きれいに分離した有機溶媒層を試験液とした。試験液をガスクロマトグラフ(四重極型質量分析計)(GC-QMS)分析に供した。GC-QMSで分析したときの添加回収率(試料5g当たりTBTC及びTPTCを各々 $2.5 \mu\text{g}$ 添加)はTBTの場合 $119.8\% \pm 2.3\%$, $\text{CV}=1.9\%$ ($N=5$)、TPTの場合 $110.3\% \pm 4.0\%$, $\text{CV}=3.6\%$ ($N=5$)であった。また、本法における検出限界(試料中重量)はTBTCとしてフグ、ハマチで $0.05 \mu\text{g/g}$ 、TPTCとしてフグで $0.1 \mu\text{g/g}$ 、ハマチで $0.2 \mu\text{g/g}$ とした。

文 献

- 1) 郡宗幸, 佐藤幸一, 井上嘉則, 井手邦和, 大河内春乃: バッチ式固相抽出法による海水中有機スズ化合物の分離濃縮. 分析化学, 44, 537-542, 1995
- 2) 佐藤幸一, 郡宗幸, 大河内春乃: 液体クロマトグラフィー/誘導結合プラズマ質量分析法による海水中有機スズ化合物のスペシエーション. 分析化学, 44, 561-568, 1995
- 3) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知衛乳第18号, 昭和60年4月26日
- 4) 昭和63年度化学物質分析法開発調査報告書, 環境庁環境保健部保健調査室, 平成元年5月
- 5) 竹内正博, 水石和子, 山野辺秀夫, 渡辺四男也, 道口正雄: 臭化水素酸カラムを用いるガスクロマトグラフィーによる魚介類試料中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ化合物の定量. 分析化学, 38, 523-528, 1989
- 6) 近本武次, 都築英昭, 足立透, 時武正明, 藤田研: フロリジルカートリッジを前処理に利用したガスクロマトグラフィーによる魚類中のトリブチルスズ化合物の定量. 食衛誌, 29, 141-145, 1988
- 7) D.J.Hannah, T.L.Page, L.Pickston, and J.A.Tauchr: Analysis of Tributyltin Compounds in Shellfish by Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Bull.Environ.Contam. Toxicol., 43, 22-27, 1989
- 8) 黒崎裕人, 横山ひろみ, 尾崎邦雄: ガスクロマトグラフィーによる魚肉中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ化合物測定のための試料前処理法の検討. 分析化学, 40, T65-T69, 1991
- 9) 永美大志, 宇野正清, 陰地義樹, 山添: 高速液体クロマトグラフィーによる養殖鮮魚中のビストリブチルスズオキシドの定量. 食衛誌, 29, 125-129, 1988
- 10) 馬場強三, 力岡有二, 平山文俊: 魚介類中のTBTOの測定. 長崎県衛生公害研究所報, 30, 112-116, 1987
- 11) 高見勝重, 奥村為男, 山崎裕康, 中本雅雄: ガスクロマトグラフィーによる魚介類中のトリフェニルスズ及びトリブチルスズ化合物の定量. 分析化学, 37, 449-445, 1988

養殖魚中のホルムアルデヒド

小 野 和 則・山 本 雄 三・小 坂 妙 子
武 田 攻

The amount of Formaldehyde in Hatchery Fish

Kazunori ONO, Yuzo YAMAMOTO, Taeko KOSAKA, and Osamu TAKEDA

This report addresses the amount of formaldehyde in hatchery fish. Formaldehyde was collected with steam distillation, and analysed by gas chromatograph-selective mass spectrometry. It was monitored with $m/z=117$, 181, and 195 for quantity. They showed rather linear calibration curves at the range of 10 to 400pg formaldehyde. The lower limit of detection by the GC-QMS was estimated at the level of $1\mu\text{g/g}$ in fish(Tiger Puffer ; *Fugu rubripes rubripes*).

The average values of formaldehyde concentration in fish(Tiger Puffer ; *Fugu rubripes rubripes*)were at the range of 2.8ppm to 6.4ppm. We also found formaldehyde in shrimp (Okiami) for feeding fish ; frozen Okiami(12.0ppm), and boiled Okiami(5.9ppm and 2.7ppm).

Key words : formaldehyde, gas chromatograph, mass spectrometry, fish, steam distillation

はじめに

平成8年12月に厚生省は、養殖トラフグ等のホルムアルデヒド残留実態調査に関わる通知を発した。当所へはこれに先立ち平成8年6月、養殖魚が死にやすいのは餌(オキアミ)に含まれるホルムアルデヒドが原因ではないかという相談が行政を通じて寄せられていた。苦情主がホルマリンを指摘した経緯は明らかではないが、当所では平山らの方法²⁾を参考にして当該物のガスクロマトグラフによる分析を試みた。

方 法

1. 材 料

冷凍オキアミ、養殖魚(トラフグ)

2. 試 薬

n-ヘキサン及びシクロヘキサン、残留農薬試験用：和光純薬工業(株)製

硫酸、試薬特級：和光純薬工業(株)製

0-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)

hydroxylamine hydrochloride(PFBOA), ナカラ

イテスク(株)製

PFBOA溶液：上記PFBOA 100mgを100mlの超純水に溶解した。

3. 装 置

ガスクロマトグラフ, HP6890-MSD : Hewlett Packard製

卓上遠心分離器, H-108N : 国産遠心器(株)製

超純水製造装置, MILLI-Q PLUS : MILLIPORE製

アルミブロック恒温槽, DRY THERMO

BATH MG-2000 : 東京理化工業(株)製

4. 試験溶液の調製

フードプロセッサーを用いて細切・攪拌させた試料から5gを二口フラスコに採取し、2mlの20%リン酸を加えて水蒸気蒸留器に掛けた。200ml容メスシリンダーを受器として、これを氷冷しながら蒸留液を200mlに達するまで集めた。蒸留液から5mlを10ml容ネジ蓋付き試験管に分取し、500 μ lのPFBOA溶液を添加して反応させた(50℃で30分間)。反応後、500 μ lの硫酸(1 $\rightarrow$ 2)及び1gの食塩を添加し、更にヘキサン/シクロヘキサン(1/1)混液5mlを加えて食

塩が溶けるまで振盪し、これを遠心分離器に掛け(3000 rpmで5分間)、上清を採取し試験液とした。試験液をガスクロマトグラフ(四重極型質量分析計: GC-

QMS)の分析に供した。なお、操作の概要はFigure 1に示した。

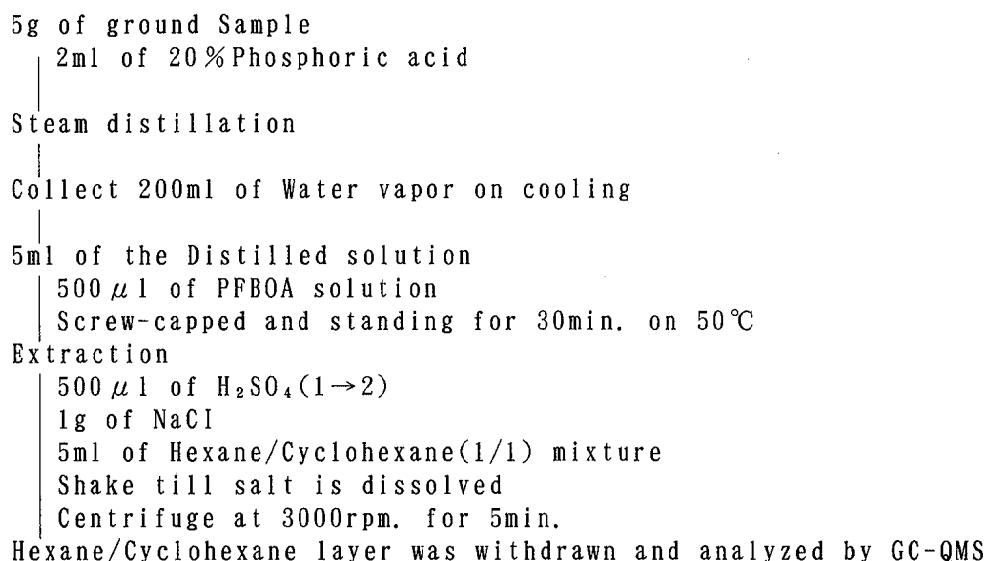


Figure 1 Schematic diagram for determination of formaldehyde

5. GC測定条件

Table 1に示した。

Table 1 Operating Conditions of GC-QMS

Instrument	: HEULETT PACKARD 6890 series Mass selective detector
Injector	: Autoinjector with Electron pressure control Temperature was held constant at 260°C
Ion source	: Temperature was approximately at 160°C Temperature of the Interface was set at 280°C
GC oven	: Temperature was programmed: Initial 50°C, Hold 2min., Rate 3°C/min., Up to 120°C, Rate 30°C/min., Up to 290°C
Column	: HP-5MS (Hewlett Packard), 30m × 0.25mm × 0.25 μm Film thickness
Carrier gas	: Helium (99.9999%), Flow rate was controlled constant at 0.9ml/min
Injection volume	: 1 μl

結果および考察

1. 抽出

ホルムアルデヒドの抽出は、器具・容器包装試験法¹⁾を参考にした。試薬、試料液の調製のために用いた超純水は予め加熱沸騰させるなどの操作の必要がなく操作上有効であった²⁾。

2. 誘導体化及びGC分析

水中のホルムアルデヒド類をPFBOAで誘導体化し、ヘキサンで抽出してガスクロマトグラフ(電子捕獲型検出器: GC-ECD)で分析する方法は一般的に採用されている³⁾。一方アルカリ熱イオン化検出器(GC-FTD)による方法も考えられたが⁴⁾、今回は、より簡便な前者に準じて試料調製を行い、GC-QMSによる定量が可能であった。

PFBOAによる反応条件は室温で90分～2時間とされているが、筆者は10 μ gのホルムアルデヒドを200 mlの水に溶解させた試料を用いて50℃で30分間(①)の反応を行い、室温で90分間(②)反応させたものと比較した。その結果、①の平均測定値は 0.051 ± 0.004 , CV=8.3%,同様に②は 0.042 ± 0.002 , CV=4.0%(N=5, いずれも $m/z=195$ でモニターした場合)であり、①と②の平均値間に差を認めた($P < 0.01$; N=5)。更に、50℃で60分間の反応(③)を行ったところ、③の平均測定値は 0.054 ± 0.003 , CV=5.6%となった。③と他

の二者を①と②のときと同様の方法で比較したところ、①と③ではその平均値間に差は認めず、②と③ではその平均値間に差を認めた($P < 0.0005$; N=5)。以上の結果からPFBOAによる反応条件は50℃で30分間とした。選択イオンモードによるGC-QMS分析では、 $m/z=117, 182, 195$ を選んだがいずれも妨害ピークによる影響を受け難かった。またブランクから0.4ppmまでの濃度の水溶液を反応させて得た検量線も直線性が高かった(Figure 2)。

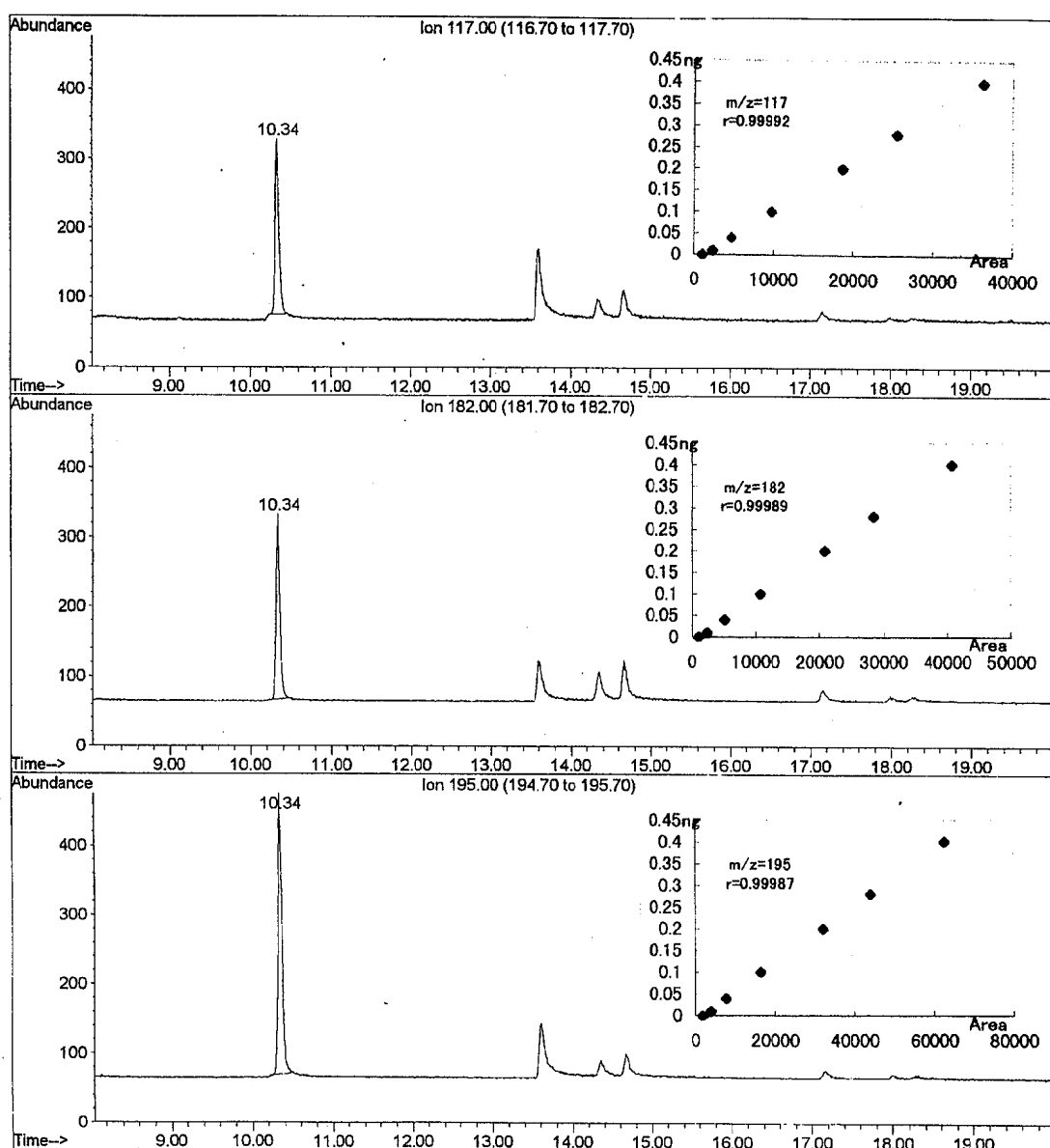


Figure 2 SIM chromatograms of the Hatchery Fish(Tiger Puffer) and Calibration curves of the Formaldehyde derivatives

3. 冷凍オキアミ及び養殖魚中のホルムアルデヒド

本法で分析した結果をTable 2に示した。養殖魚試料は概ね三つの海域に分けられたが、海域による差は明らかではないと思われた。冷凍オキアミについては生のものがボイルしたものに比べて高値を示しているようではあるが、検体の由来も不明であり、また生をボイルした結果ホルムアルデヒドが除去されるかどうかも今回は実験的に未確認である。試料調製方法等が異なるが、ガスクロマトグラフィーによる魚肉中のホルムアルデヒドに関する報告⁵⁾を参考にすると、今回筆者の実施した冷凍オキアミ及び養殖魚については特筆すべき分析値ではなかった。

Table 2 Concentration of Formaldehyde in fish

Sample	Area of sea	found(ppm)
Tiger Puffer	A	3.7
Tiger Puffer	A	4.5
Tiger Puffer	A	2.8
Tiger Puffer	B	4.1
Tiger Puffer	B	6.4
Tiger Puffer	B	4.9
Tiger Puffer	C	3.4
Tiger Puffer	C	4.2
Okiami(rare)	-	12.3
Okiami(boiled)	-	5.9
Okiami(boiled)	-	2.7

ま と め

冷凍オキアミ及び養殖魚（トラフグ）のホルムアルデヒドを定量した。水蒸気蒸留によって試料中のホルムアルデヒドを捕集し、それをPFBOAによって誘導体化した。目的物をヘキサン/シクロヘキサン（1 / 1）混液で抽出しGC/QMSで分析した。誘導体化は50℃で30分間の条件で行ったが、室温で90分間反応させたときよりも高い測定値を得た。GC-QMSによる分析は、 $m/z=117, 182, 195$ がいずれも妨害ピークの影響を受け難く比較的きれいなクロマトグラムを描き、ブランクから0.4ppm濃度までの水溶液を反応させて得た検量線も直線性が高かった。本法による検出下限値は1 ppmとした。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針 理化学編, p.645-648, 1991, 社団法人 食品衛生協会
- 2) 平山晃久, 加島淳子, 渡辺徹志：水道水及び市販ミネラルウォーター中のホルムアルデヒドの含量. 食衛誌, 34, 205-210, 1993
- 3) 日本薬学会編：衛生試験法・注解（1990）, p. 1792-1974, 1990, 金原出版
- 4) 日本薬学会編：衛生試験法・注解（1990）, p. 1856-1860, 1990, 金原出版
- 5) 城戸浩三, 作間忠道, 渡辺忠雄：かまぼこ製造工程におけるホルムアルデヒドの消長. 食衛誌, 21, 442-445, 1980

宮崎県における環境放射能調査 (第9報)

押 川 智 子・平 田 泰 久^{*1}・前 田 武

Radioactivity Monitoring Data in Miyazaki Prefecture (IX)

Tomoko OSHIKAWA, Yasuhisa HIRATA and Takeshi MAEDA

Environmental and dietary radioactivity has been monitored in Miyazaki Prefecture since July 1988. In this paper, we are reporting the radioactivity survey data from 1996.

Gross β radioactivity in rain samples collected in Miyazaki Prefecture was at a usual level. We detected Cesium-137 in dry fallout, soil, spinach, green tea and a full one day ordinary diet by gamma-ray spectrometry.

However, these concentrations were at the same level as in other prefectures, and the same as in an ordinary year.

The range of the environmental radiation dose rate in Miyazaki Prefecture was 10.0–18.1 cps using a monitoring post and 50–58 nGy/h using a survey meter.

This data is part of the radioactivity monitoring data consigned by the Science and Technology Agency.

Key words : radioactivity, gamma-ray spectrometry, gross β

はじめに

本県内の平常時における環境放射能レベルについては昭和63年度に当所に機器が配備されて以来、全国調査の一環として調査を続けているが、このたび平成8年度の調査を終了し、結果を取りまとめたので、その概要を報告する。

調査の方法

1. 調査対象

降 水：降雨を毎日午前9時に採取し、担体等(I^- , Ag^+ , HNO_3)を添加したのち、濃縮乾固し、全 β 放射能を測定した。

大気浮遊塵：ハイボリウムエアサンプラにより大気浮遊塵を濾紙上に採取して、濾紙のまま γ 線を測定し、核種分析を実施した。

降下物：大型水盤に水を張り屋外に放置して、降下してくる放射性物質を捕集し、担体等を添加したのち、濃縮乾固し、 γ 線核種分析を実施した。

蛇口水：試験室内の蛇口から宮崎市水道局より供給される上水を採取し、以後降下物と同様の方法で処理して γ 線を測定し、核種分析を行った。

土壌：圃場より採取した上層及び下層の土壌を乾燥後粉碎し縮分して、 γ 線核種分析を実施した。

精米、牛乳：生産地から採取した試料について、そのまま γ 線を測定し、核種分析を行った。

野菜、茶、日常食：生産地から直接採取した野菜（大根、ホウレン草）、所定の茶園から生産され加工された煎茶及び毎回10名の提供者より集められた各1日分の食事等を乾燥炭化後灰化し、 γ 線核種分析を実施した。

空間放射線量率：NaI(Tl)シンチレーション検出器を当所屋上（地上高20m）に設置し、常時連続して測定した。また、サーベイメータにより西諸県郡高原町での地表上1mにおける線量率を測定した。

2. 測定装置

全 β 放射能：GM式 β 線測定装置（アロカJDC-163）

γ 線核種分析：ゲルマニウム半導体核種分析装置（SEIKO EG&G MODEL 7800）

空間放射線量率：モニタリングポスト（アロカMA R-11）及びシンチレーション式サーベイメータ（アロカTCS-166）

調査結果

降水中の全 β 放射能調査結果をTable 1に示す。平成8年度は、総量2229.3mmの降雨があり、108回の降水試料を採取して、降雨中の全 β 放射能を測定した。測定結果のほとんどは検出限界値未満（計数値がその計数誤差の3倍未満）であった。僅かに検出限界値以上となった13回分の降水試料について、残試料の γ 線核種分析を実施したところ、人工放射性核種は検出されなかった。

大気浮遊塵、降下物及び土壌等の環境試料並びに茶、野菜、牛乳及び日常食等の食品試料について、所定の前処理後、 γ 線スペクトルを測定し、核種分析を実施

したところ、Table 2に示すとおりとなった。人工放射性核種としては、検出限界値（計数誤差の3倍）以上の ^{137}Cs が全31試料中10試料から検出された。検出された試料は、降下物12試料中1試料、土壌2試料中全試料、野菜試料2試料中1試料、茶2試料中全試料及び日常食4試料中全試料であった。しかし、その量はいずれも僅かで、前年度までの過去3年間の本県及び他県の調査結果^{1) 2) 3)}とほぼ同程度であった。その他の人工放射性核種は検出されなかった。

モニタリングポスト及びサーベイメータによる空間放射線量率調査結果をTable 3に示す。年度間平均はモニタリングポストによる測定結果が11.4cps、サーベイメータによる測定結果が53.7nGy/hであり、降雨日にやや高くなる傾向にあるが、全体として前年度までの過去3年間の本県及び他県の調査結果^{1) 2) 3)}とほぼ同程度のレベルであった。

Table 1 Gross β radioactivity concentrations in rain samples collected in Miyazaki Prefecture

採 年	取 月	降 水 量 (mm)	降 水 の 定 時 採 取 (定 時 降 水)			
			放 射 能 濃 度 (Bq/l)			月 間 降 下 量 (MBq/km ²)
			測 定 数	最 低 値	最 高 値	
平成8年	4月	240.4	8	N.D	3.0	3.0
	5月	202.5	7	N.D	2.0	2.4
	6月	329.5	14	N.D	2.4	1.9
	7月	428.0	12	N.D	N.D	N.D
	8月	248.8	12	N.D	4.2	4.6
	9月	198.4	12	N.D	1.5	9.6
	10月	152.2	12	N.D	2.4	34.1
	11月	127.0	7	N.D	7.1	29.0
	12月	52.3	5	N.D	N.D	N.D
	平成9年 1月	45.0	4	N.D	2.3	25.0
平成9年	2月	52.1	5	N.D	N.D	N.D
	3月	153.1	10	N.D	1.9	59.3
年 間 値		2229.3	108	N.D	7.1	N.D ~ 59.3
前年度までの過去3年間の値		--	271	N.D	6.6	N.D ~ 236.4

(N.D : 計数値がその計数誤差の3倍未満)

Table 2 Analytical results of gamma-ray spectrometry for environmental and dietary samples collected in Miyazaki Prefecture

試料名	採取場所	採取年月	検体数	¹³⁷ Cs 平成8年度の値		前年度までの 過去3年間の値		その他検出 された人工 放射性核種	単位
				最低値	最高値	最低値	最高値		
大気浮遊塵	宮崎市	H8.4 ~ H9.3	4	N.D	N.D	N.D	N.D		mBq/m ³
降下物	"	H8.4 ~ H9.3	12	N.D	0.095	N.D	0.084		MBq/km ²
陸水 蛇口水	"	H8.6, H8.12	2	N.D	N.D	N.D	N.D		mBq/l
土 0-5cm	佐土原町	H8.7	1	8.0 600	7.1 420	9.1 660		Bq/kg乾土 MBq/km ²	
壤 5-20cm	"	"	1	5.8 950	5.3 680	8.3 1120		Bq/kg乾土 MBq/km ²	
精 米	"	H8.9	1	N.D	N.D	N.D	N.D		Bq/kg精米
野 大根	高鍋町	H8.11	1	N.D	N.D	0.076		Bq/kg生	
菜 ホウレン草	"	"	1	0.06	N.D	N.D		Bq/kg生	
茶	川南町, 都城市	H8.5	2	2.0	2.7	0.97	2.9	Bq/kg乾物	
牛 乳	高原町	H8.8, H9.2	2	N.D	N.D	N.D	0.092	Bq/l	
日 常 食	宮崎市, 高原町	H8.6, H8.12	4	0.027	0.084	0.063	0.18	Bq/人・日	

(N.D : 計数値がその計数誤差の3倍未満)

Table 3 Environmental radiation dose rate in Miyazaki Prefecture

測定年月	モニタリング値 (cps)		サーベイメータ (nGy/h)
	最低値	最高値	
平成8年 4月	10.0	18.1	11.5
5月	10.3	16.7	11.5
6月	10.2	17.0	11.4
7月	10.1	18.1	11.3
8月	10.0	16.8	11.3
9月	10.4	16.7	11.6
10月	10.0	16.4	11.4
11月	10.2	17.3	11.4
12月	10.4	14.6	11.3
平成9年 1月	10.2	16.0	11.4
2月	10.2	16.8	11.5
3月	10.4	17.2	11.5
年間値	10.0	18.1	11.4
前年度までの 過去3年間の値	10.0	21.8	11.5

まとめ

平成8年度における宮崎県内の降水、大気浮遊塵、降下物、蛇口水、土壌、精米、大根、ホウレン草、茶、牛乳及び日常食中の放射能並びに空間放射線量率は、いずれも例年と同程度であり特に異常値は認められなかった。

なおこれらのデータは、科学技術庁から受託した環境放射能水準調査により得られた成果の一部である。

文 献

- 1) 科学技術庁：第36回環境放射能調査研究成果論文抄録集（平成5年度）
- 2) 科学技術庁：第37回環境放射能調査研究成果論文抄録集（平成6年度）
- 3) 科学技術庁：第38回環境放射能調査研究成果論文抄録集（平成7年度）

嗅覚測定法による悪臭物質実態調査

齋 藤 信 弘・山 田 音由記・山 田 和 史
小 畑 聡 子

Studies on the Offensive Odors of Some Factories by Olfactory Measurement Method

Nobuhiro SAITO, Otoyuki YAMADA, Kazufumi YAMADA, and Satoko KOBATA

According to the revision of the Offensive Odor Control Law in 1995, the use of the olfactory measurement method was introduced in addition to the former regulations. This new law took effect in 1996.

A survey of offensive-odor substances by the olfactory measurement method was carried out in four factories in Miyazaki prefecture. At the same time, the former method of instrumental analysis of the offensive-odor substances was also carried out. The odor indexes recorded by the olfactory measurement method at the boundary sites of three piggeries were 10–17; the odor index recorded by the same method at a point about ten meters away from the emission site of the offensive-odor substances in the meat industry was 27.

The results in this study showed that there is no close correlation between the data of the olfactory measurement method and the data of the instrumental analysis method.

Key words : offensive odor, olfactory measurement, index

はじめに

複合臭による悪臭問題に対応するために、平成7年4月悪臭防止法が改正され、悪臭の原因となる特定の物質ごとの排出濃度に着目した従来の機器測定法による規制制度に加えて、人間の嗅覚を用いて悪臭を測定する方法いわゆる嗅覚測定法による規制制度が導入されることになり、平成8年4月から施行された。

そこで、平成9年1月から2月に本県における主な悪臭物質発生源事業場について嗅覚測定法による実態調査及び従来の機器測定方法による実態調査を行うことにより比較検討した。

方 法

1 調査事業場

調査事業場として、養豚業を3事業場、合成樹脂製造工場を1事業場、食肉製品製造工場を1事業場選定した。

試料採取地点は、前者2業種については風下になる敷地境界地点、後者は悪臭発生源の一つである施設の近傍とした。試料採取は、臭気が強く感じられる時に実施し、嗅覚測定用試料は、吸引瓶法¹⁾により試料採取袋（ポリフッ化ビニルフィルム製）に採取した。また、機器分析用試料は吸引ポンプにより直接試料採取袋に採取した。

2 嗅覚測定

嗅覚測定は、悪臭防止法施行規則（平成7年総理府令第42号）の第1条に定める測定方法（三点比較式臭袋法）により行った。パネルについては、あらかじめ基準臭（5種）及び無臭液によるパネル試験に合格した者を6名選定した。原臭の希釈倍数については10倍希釈からとしたが、特に強い臭気については100倍希釈から実施した場合もあった。なお、合成樹脂製造工場については敷地境界での臭気がほとんど感じられなかったため嗅覚測定は実施しなかった。

3 機器測定及び分析方法

機器測定は、養豚業の内1事業場について行い、プロピオン酸、ノルマル酪酸、ノルマル吉草酸、イソ吉草酸及びアンモニアについて測定した。合成樹脂製造工場については、塩化ビニリデンを測定した。食肉製品製造工場については、プロピオン酸、ノルマル酪酸、ノルマル吉草酸、イソ吉草酸、アセトアルデヒド、プロピオンアルデヒド、ノルマルブチルアルデヒド、イソブチルアルデヒド、ノルマルバレールアルデヒド、イソバレールアルデヒドを測定した。

プロピオン酸などの低級脂肪酸についての分析方法は、悪臭防止法施行規則による悪臭物質の測定の方法別表第8に掲げる方法によった。アンモニアについては、悪臭物質の測定の方法別表第1に定める方法に準

Table 1 Conditions of gas chromatograph
Lower fatty aldehydes

Instrument	Shimadzu GC-9A
Detector	FTD
Injection port	250°C
Column	DB-1, 0.245mm×30m, 0.1μm
Oven Temp.	50°C(1min)→50°C~200°C(20°C/min) →200°C~250°C(3°C/min)
Carrier gas	He 1.0kg/cm ²
Makeup gas	He 50ml/min
H ₂	0.5kg/cm ²
Air	0.55kg/cm ²

Lower fatty acids

Instrument	Shimadzu GC-9A
Detector	FID
Injection port	260°C
Column	FFAP(0.3%)+H ₃ PO ₄ φ3mm×3m
Oven Temp.	80°C→(16°C/min)→220°C(30min)
Carrier gas	N ₂ 50ml/min
H ₂	0.5kg/cm ²
Air	0.7kg/cm ²

Vinylidene chloride

Instrument	Shimadzu GC-9A
Detector	FID
Injection port	150°C
Column	TCP(25%) φ3mm×3m
Oven Temp.	70°C
Carrier gas	N ₂ 50ml/min
H ₂	0.5kg/cm ²
Air	0.5kg/cm ²

拠し、試料の捕集・調製を行い、イオンクロマトグラフ法により測定を行った。塩化ビニリデンについては、環境庁大気保全局編大気汚染物質測定法指針「15 塩化ビニリデン」により測定した。また、アセトアルデヒドなどのアルデヒド類については悪臭物質の測定の方法別表第4に掲げる方法によった。ガスクロマトグラフの使用条件などをTable 1に示した。

結 果

1 嗅覚測定による結果

養豚業の嗅覚測定による結果の1例をTable 2に示した。この場合の臭気濃度は54となり、臭気指数は17となった。そのほかの2養豚場の敷地境界での臭気指数はそれぞれ15および10となった。また、食肉製品製造工場の臭気指数は27となった。

2 機器測定による結果

機器測定については、養豚場、合成樹脂製造工場、食肉製品製造工場のそれぞれ1事業場を対象として行った。それぞれの測定結果をTable 3に示した。

3 嗅覚測定による結果と機器測定による結果との比較

機器測定を行った養豚場について、両測定方法の結果を比較した。この養豚場ではTable 3に示したようにプロピオン酸、ノルマル酪酸及びアンモニアが検出された。それぞれの濃度を臭気強度との関係²⁾からみると、アンモニアについては臭気強度3~3.5、プロピオン酸については1以下、ノルマル酪酸は1~2の間であり、この養豚場の悪臭はアンモニアが支配的と考えられたので、アンモニアの臭気強度3~3.5を臭気強度に対応する臭気指数との関係³⁾からみると15~18となる。この事業場の嗅覚測定の結果では、臭気指数が10であり、臭気強度2.5(臭気指数12)程度となり、機器測定の結果より低い値となった。

環境用オペータ集計用紙

試料注入量(ml)			300ml			30ml			3ml		
希 釈 倍 数			10			100			1,000		
パ ネ ル	1	付臭番号	1	2	3	3	1	1			
		解 答	2	2	3	3	1	3			
		判 定	×	○	○	○	○	×			
	2	付臭番号	2	1	2	3	1	2			
		解 答	2	1	3	3	1	△			
		判 定	○	○	×	○	○	△			
	3	付臭番号	3	2	1	2	3	3			
		解 答	3	2	1	1	1	△			
		判 定	○	○	○	×	×	△			
4	付臭番号	1	3	3	2	3	1				
	解 答	1	3	△	△	△	△				
	判 定	○	○	△	△	△	△				
5	付臭番号	2	3	2	1	2	2				
	解 答	2	3	2	△	2	1				
	判 定	○	○	○	△	○	×				
6	付臭番号	3	1	2	1	2	3				
	解 答	3	1	2	1	△	△				
	判 定	○	○	○	○	△	△				
環境測定の場合の臭気濃度は、基準判定法によって求める。 まず、「正解」を1.00「不正解」を0.00、「不明」を0.33として、18個の解答から平均正解率を求める。 (1) 正解率が0.58未満であれば、試験は終了する。 (2) 正解率が0.58以上であれば、100倍で同様な試験を行う。			10倍における平均正解率Mは下記式により算出する。 (1) Mが0.58未満のとき ① 臭気濃度は10以下である。 ② 臭気指数は10以下である。 (2) Mが0.58以上のとき 100倍希釈で同様な試験を行う。 $M = \frac{15 + 0.33}{18} = 0.85$			100倍における平均正解率Nは下記式により算出する。 $N = \frac{6 + 0.33 \times 8}{18} = 0.48$ (1) Nが0.58未満のとき ① 臭気濃度 (Y) $Y = 10 \cdot 10^{\frac{(M - 0.58)}{0.85 - 0.58}} = 10 \times 10^{\frac{-0.08}{0.27}} = 53.67$ ② 臭気指数 (Z) $Z = 10 \cdot \log Y = 17.2$ (2) Nが0.58以上のとき 1000倍希釈で同様な試験を行う。			1000倍における平均正解率Pは下記式により算出する。 (1) Pが0.58未満のとき ① 臭気濃度 (Y) $Y = 100 \cdot 10^{\frac{(N - 0.58)}{0.85 - 0.48}}$ = ② 臭気指数 (Z) $Z = 10 \cdot \log Y =$ (2) Nが0.58以上のとき		
M, N, Pの計算式											
$M(N, P) = \frac{1.00 \times () + 0.00 \times () + 0.33 \times ()}{18}$											

Table 3 Concentration of offensive odor substances

	H piggery	meat food industry	units:ppm synthetic resin industry
Propionic acid	0.00039	0.00065	-
normal-Butyric acid	0.00019	0.00017	-
normal-Valeric acid	nd	0.00010	-
iso-Valeric acid	nd	nd	-
Lower fatty aldehydes	nd	nd	-
Ammonia	3.6	nd	-
Vinylidene chloride	-	-	0.066

食肉製品製造工場の機器分析結果では、Table 3に示したようにいずれも低濃度であり、濃度と臭気強度との関係からみると大きいもので1～2程度であった。一方、嗅覚測定の結果では臭気指数が27であり、臭気強度と臭気指数の関係からみると臭気強度3.5の場合の臭気指数（食料品製造工場17～21）を超えている結果となった。従って、機器分析で測定した物質以外の物質により臭気指数が大きくなったと推定された。この事業場について、別に実施したほぼ同じ地点での硫黄系悪臭物質の調査結果ではメチルメルカプタン0.021ppm、硫化水素0.025ppmという測定結果であった。両測定時とも同様の操業状態であったことから、この結果で臭気強度を推定してみるとメチルメルカプタンでは3.5～4の間になる。硫化水素では2.5～3となる。各臭気強度に対応する臭気指数は、食料品製造工場でみると臭気強度3.5の場合、臭気指数は17～21となっており、測定結果からみた臭気指数27は硫黄系悪臭物質による寄与が考えられた。

おわりに

近年、日常生活に起因する悪臭の苦情の割合が増加する傾向にあるといわれ、また身近な施設からの悪臭問題の解決には従来の規制では十分な規制効果が見込まれない場合が多いと思われる。したがって、嗅覚測定法による規制方式はこれらに適切に対応するものと期待される。

現在、環境基本法の理念の一つである環境への負荷をできる限り少なくすることなどが求められており、一人ひとりがそれぞれの役割の下で悪臭の防止のための行動を行っていくことが必要である。

参考文献等

1) 臭気指数測定マニュアル（環境庁大気保全局大気生活環境室編 平成8年3月）

2) 別表1 臭気強度と濃度の関係（抜粋）

		(単位: ppm)					
臭気強度 物質名	1	2	2.5	3	3.5	4	5
アモニア	0.1	0.6	1	2	5	1×10	4×10
アセトアルデヒド	0.002	0.01	0.05	0.1	0.5	1	1×10
プロピオン酸	0.002	0.01	0.03	0.07	0.2	0.4	2
ノルマル酪酸	0.00007	0.0004	0.001	0.002	0.006	0.02	0.09
ノルマル吉草酸	0.0001	0.0005	0.0009	0.002	0.004	0.008	0.04
イソ吉草酸	0.00005	0.0004	0.001	0.004	0.01	0.03	0.3
プロピオンアルデヒド	0.002	0.02	0.05	0.1	0.5	1	1×10
ノルマルブチルアルデヒド	0.0003	0.003	0.009	0.03	0.08	0.3	2
イソブチルアルデヒド	0.0009	0.008	0.02	0.07	0.2	0.6	5
ノルマルバレールアルデヒド	0.0007	0.004	0.009	0.02	0.05	0.1	0.6
イソバレールアルデヒド	0.0002	0.001	0.003	0.006	0.01	0.03	0.2

（出典：悪臭規制基準強化対策調査報告書（財）日本環境衛生センター
平成5年2月）

3) 別表2 業種別悪臭の臭気強度と臭気指数の関係(抜粋)

業 種		臭気強度に対応する臭気指数		
		2.5	3.0	3.5
畜産農業	養豚業	1.2	1.5	1.8
	養牛業	1.1	1.6	2.0
	養鶏業	1.1	1.4	1.7
食料品 製造工場	水産食料品製造工場	1.3	1.5	1.8
	油脂系食料品製造工場	1.4	1.8	2.1
	でんぷん製造工場	1.5	1.7	1.9
	調理食料品製造工場	1.3	1.5	1.7
	コーヒー製造工場	1.5	1.8	2.1
	その他	1.2	1.4	1.7

(出典：悪臭防止法の一部を改正する法律の施行について 環境庁大気保全局長
平成7年9月13日付け環大企第286号)

宮崎県内における酸性雨調査

—— 平成 8 年度観測結果 ——

山 田 音由記・齋 藤 信 弘・山 田 和 史
小 畑 聡 子

Investigation of Acid Rain in Miyazaki Prefecture
—— Observations in the Fiscal Year 1996 ——

Otoyuki YAMADA, Nobuhiro SAITO, Kazufumi YAMADA, and Satoko KOBATA

Continuous investigation of acid rain in Miyazaki Prefecture was carried out through the fiscal year 1996, the number of observatories being reduced from 8 to 5. The monthly average value of pH varied from 4.16 to 6.21. The annual average pH was 4.83, showing a slightly increased tendency again. The lowest pH 3.85 was observed in October in Miyakonojo City.

The total amount of ion precipitation in the year was low, however, the average amount was higher than that of the last year. The average NSS(non sea salt)content ratio of the year was lower than that of the last year with the value of 20%. The ratio of $\text{NO}_3^-/\text{nss-SO}_4^{2-}$, with an average of 0.35, varied from 0.25 to 0.49. The ratio of $(\text{NH}_4^+ + \text{nss-Ca}^{2+})/(\text{NO}_3^- + \text{nss-SO}_4^{2-})$ ranged from 0.41 to 0.77, with an average of 0.60. The amount of the neutralizing component nss-Ca^{2+} exceeded that of the other component, NH_4^+ , only in Shiiba.

Although the detection frequencies of F^- in the samples showed somewhat higher value, which did not seem to correspond exactly with the frequencies of volcanic activities of Mt. Sakurajima, it can be still considered that both frequencies correlate closely with each other on the whole.

Key words : acid rain, pH, anion, cation, ion precipitation

はじめに

この調査は平成3年度から県内の8地点で実施されてきたが、平成7年度までの5年間で一応県内の酸性雨の概況を把握できたものとして、今年度からは観測地点を5地点に縮小して観測調査を継続することとなった。観測地点数の縮小でこれまでの8地点の観測に基づく結果との比較については無理な点があるかもしれないが、平成8年度の調査結果として報告する。

調査方法

1. 試料採取方法

雨水試料の採取方法および装置については、いずれも従来と同一のろ過方式による装置・方法²⁾を採用した。

2. 試料採取期間

試料採取期間は、平成7年3月27日から平成8年3月31日までの1年間とし、各月単位の区分については年度当初に環境庁から提示のあった期間区分に従った。また、1試料の採取単位期間は従来どおり2週間を標準とした。

3. 分析方法

環境庁大気保全局から指示されている方法¹⁾に準拠したが、イオン成分については陰イオン、陽イオンともにイオンクロマトグラフ法により分析した。

4. 観測地点

今年度から延岡、椎葉、衛環研、鰐塚山および都城の計5地点で実施した。

調査結果および考案

1. 降雨量等について

各観測地点の降雨量等についてはFig. 1に示すとおりである。

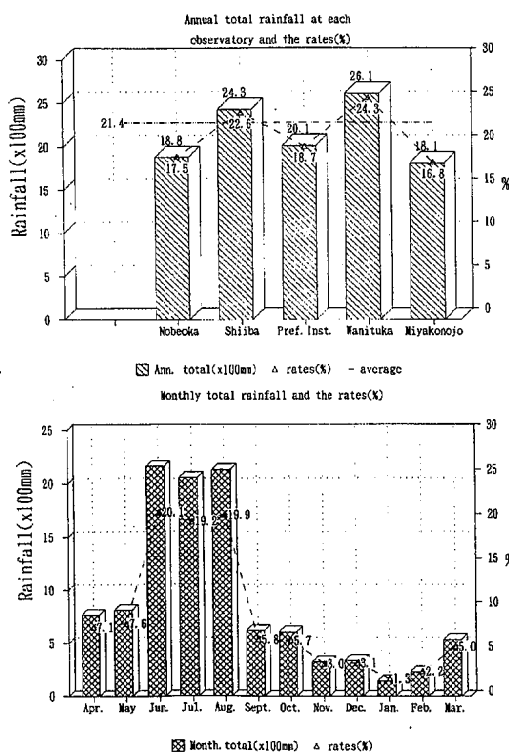


Fig. 1 Total rainfall at each observatory, monthly rainfall and their rates(%)

今年度から地点数が異なっているので前年度までとの単純な比較は困難であるが同一の5地点の降雨量に関しては全体としてほぼ前年度と同量の状況にあり、6月～8月の期間にまとまって降雨があった。

台風については7月と8月に6号及び12号の上陸があった。

2. pHについて

各観測地点における年間平均値と月平均pH値の推移状況をFig. 2に示す。

5地点の年間総平均値は4.83であり、2年前をピークにわずかに減少傾向を示していたが今年度再び微増状

況を呈した。また、1試料単位のパHでは4.0を下回る値として都城市（都城保健所）において10月に3.85、鰐塚山で3月に3.98等が観測されている。

3. イオン降下量等について

全イオン降下量については地点別降下量及び月別降下量等の変化状況をFig. 3に示す。山間地域に位置する椎葉で低値を示したが、5地点の平均値としてはもっとも低かった前年度の降下量を上回る結果となった。

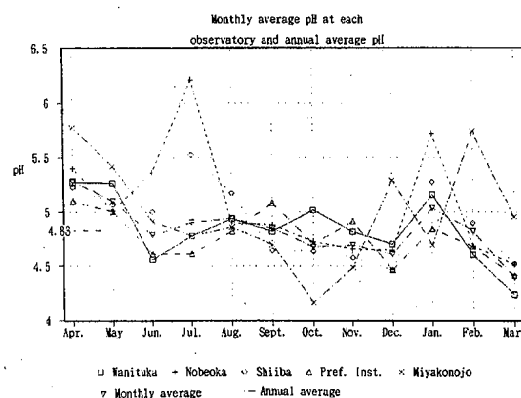


Fig. 2 Monthly change in pH at each observatory

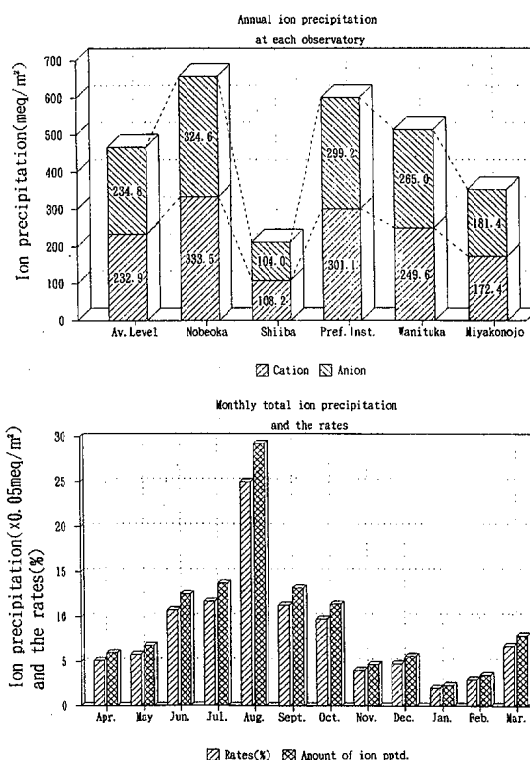


Fig. 3 Total amount of ion precipitation at each observatory and the monthly change

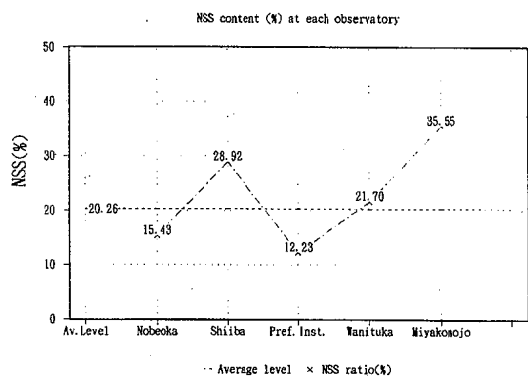


Fig. 4 NSS content ratios(%)at each observatory

イオン降下量中のNSSについてみると、Fig. 4に示すとおり、相対的に海浜に近い都城の方が山間部の椎葉よりもNSSの割合が高かったのは興味深い。

平成3年度から7年度の5年間における県内のNSSの平均割合は約30%程度と算出された⁴⁾が、今

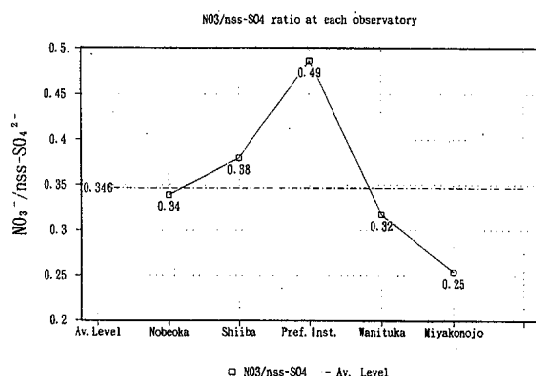


Fig. 5 NO₃⁻/nss-SO₄²⁻ ratio at each observatory

年度はこれまでで最も低く20%であった。酸性化成分間の比NO₃⁻/nss-SO₄²⁻はFig. 5に示すとおり当衛環研で最も高かったが平均値でも0.35とやや高い値を示した。また、NO₃⁻よりもnss-SO₄²⁻の割合が高く(NO₃⁻/nss-SO₄²⁻=0.28)酸性化の主な原因と考えられることについては前報において述べた³⁾が、NO₃⁻及びnss-SO₄²⁻の合計量(酸性化ポテンシャルPA)に占めるnss-SO₄²⁻の割合が約74%(昨年度)を占めるので、NSSの割合が低いと言うことはそのままnss-SO₄²⁻が少いことになり、pHを上げる要因の一つになったものと言える。

中和成分についてはFig. 6-1にみるとおり、椎葉

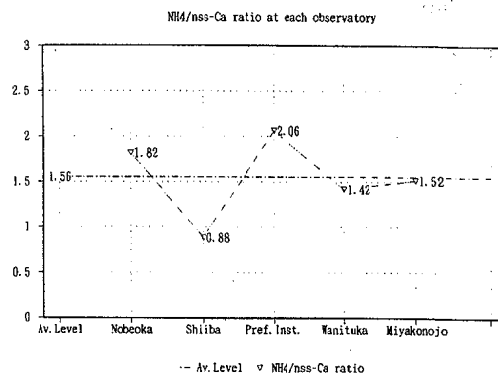


Fig. 6-1 NH₄⁺/nss-Ca²⁺ ratio at each observatory

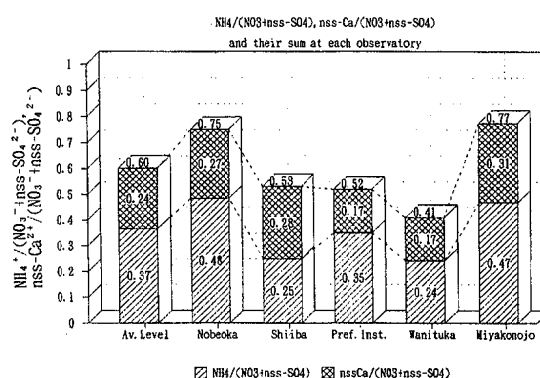


Fig. 6-2 NH₄⁺/(NO₃⁻+nss-SO₄²⁻), nss-Ca²⁺/(NO₃⁻+nss-SO₄²⁻) and their sum at each observatory

のみNH₄⁺/nss-Ca²⁺が0.88でnss-Ca²⁺がNH₄⁺を上回ったが他地点ではすべてNH₄⁺が優勢であり平均値でも1.56と高かった。

PN/PA {(NH₄⁺+nss-Ca²⁺) / (nss-SO₄²⁻+NO₃⁻)}はFig. 6-2のとおり延岡と都城で比較的高いが、両地点ともにNH₄⁺の比率が高い状況にある。

4. その他

火山性ガスの影響の指標のひとつと考えられるF⁻の検出回数は84回あった。この数字はここ30年ぶりに噴火・爆発活動が沈静化している桜島火山の状況に照らし合わせると必ずしも活動状況に対応して低いとはいえないが、同じ5地点について比較してみると昨年度が109回、今年度が84回となり減少していることがわかる。

桜島火山の活動に伴って放出されるSO₂についてはかなり変動があるもののおおよそ1000t~2000t/dayもの莫大な量であることが報告されており⁵⁾、nss-SO₄²⁻の大部分も桜島から供給されているものと考え

謝 辞

調査の実施に当たり、試料の採取・搬入およびpHの測定等について御協力いただきました関係保健所の担当者ならびに日向保健所椎葉駐在の長友保健婦に感謝いたします。また、引き続き試料採取装置の設置等について便宜を図っていただいている椎葉村役場環境衛生課の方々にお礼申し上げます。

文 献

- 1) 環境庁大気保全局：酸性雨等調査マニュアル（改訂版），1990
- 2) 川井田哲郎，齋藤信弘，藤田芳和：宮崎県における酸性雨調査，宮崎県衛生環境研究所報，2，86-98，1990
- 3) 山田音由記，齋藤信弘，山田和史，小畑聰子，迫田勝蔵：宮崎県内における酸性雨調査，宮崎県衛生環境研究所報，7，100-103，1995
- 4) 山田音由記，齋藤信弘，山田和史，他：宮崎県の酸性雨について，平成8年度所内研究成果発表会要旨，1997
- 5) 鎌田政明，太田一也，松尾紉道：桜島火山南岳からのSO₂（二酸化硫黄）の放出量，1975-1982，第5回桜島火山の集中総合観測報告書，89-95，1986
- 6) 平林順一，大場 武，他：火山ガス成分による桜島火山の活動状況（8），第8回桜島火山の集中総合観測報告書，55-70，1995

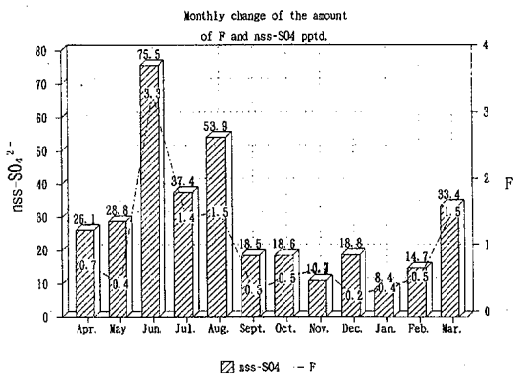


Fig. 7 Correlation between monthly amount (meq/m²) of F⁻ and nss-SO₄²⁻ pptd.

られる。このことは、Fig. 7にみるとおり同時に放出されているものと考えられるF⁻とnss-SO₄²⁻の沈着量間の相関関係からもうかがえる。

Table 1 には6年間の桜島火山の噴火・爆発活動とF⁻の検出回数の推移状況を示すが、この表からも両者間にかなりよい相関関係があることがわかる。

このようにF⁻とnss-SO₄²⁻の相関関係を利用して、たとえば一定期間における火山周辺のHF、SO₂の平均濃度⁶⁾等を用い、nss-SO₄²⁻に対する桜島火山からの寄与率を算出してみることも意味のあることと考えられるがいろいろな仮定または条件が必要であり試みるまでには至っておらず、今後の検討課題としたい。

Table 1 Frequencies of F⁻ detection, eruption and explosion of Mt. Sakurajima

Fiscal year	1991	1992	1993	1994	1995	1996
Eruption frequencies	464	259	131	347	404	49
Explosion frequencies	318	129	57	209	291	33
F ⁻ detection frequencies	98	66	13	40	172(109*)	84

* Total number at the same 5 observatories as FY 1996

宮崎県における大気汚染常時監視測定結果（平成8年度）

山 田 和 史・山 田 音由記・齋 藤 信 弘
小 畑 聰 子

Annual Report of Air Pollution Monitoring in Miyazaki Prefecture (FY 1996)

Kazufumi YAMADA, Otoyuki YAMADA, Nobuhiro SAITO, and Satoko KOBATA

Since 1981, in Miyazaki Prefecture, continuous surveillance and monitoring of air pollution has been conducted with a telemetry system by the prefectural government in accordance with the Air Pollution Control Law.

The system is run by 17 general air pollution monitoring stations, 4 automobile exhaust gas monitoring stations, 1 inversion layer monitoring station and 4 stationary source monitoring stations.

The hourly concentration of sulfur dioxide at Miyakonojo automobile exhaust gas monitoring station exceeded 0.1 ppm due to the volcanic activities of Mt. Sakurajima.

The daily average values of nitrogen dioxide readings at the 98% mark from the lowest value throughout the year (hereinafter referred to as "annual 98% value of the daily average") didn't exceed 0.04ppm at any general air pollution monitoring station.

At one of the automobile exhaust gas monitoring stations, the annual 98% value of the daily average was within the range of 0.04 ppm and 0.06 ppm.

Key words : air pollution, sulfur dioxide, nitrogen dioxide, photochemical oxidants

はじめに

宮崎県では、大気汚染防止法第22条に基づき、昭和56年4月に大気汚染常時監視テレメータシステムを設置し、それ以後、大気汚染中央監視局（当研究所内）において、大気汚染の状況を常時監視している。

ここでは、平成8年度の測定結果をもとに、宮崎県における大気汚染の現状について報告する。

測定局と測定項目

平成8年4月現在、一般大気測定局17局、自動車排出ガス測定局4局、発生源監視局4局、逆転層観測局1局の合計26局で常時監視を行っている。

このうち、大気汚染測定局と測定項目一覧をTable 1に、測定局の位置をFig. 1に示す。

大気汚染の状況

大気汚染常時監視測定結果のうち、二酸化硫黄、二

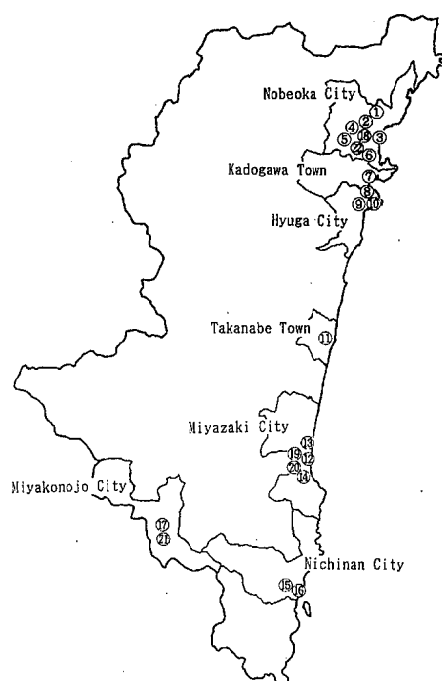


Fig. 1 Location of monitoring stations

酸化窒素, 一酸化炭素, 光化学オキシダント及び浮遊
粒子状物質の測定結果をTable 2 に, 環境基準を超

えた回数をTable 3 に示す.

Table 1 Characteristics of Monitoring Stations

Type	No. of Fig.1	Monitoring stations	Address	Monitoring Substances							
				SO ₂	SPM	NOx	OX	CO	HC	w	TS
General Air Pollution Monitoring Stations	1	Nobeoka Commercial High School	Sakuragaoka Nobeoka City	○		○	○			○	
	2	Asahi Junior High School	Tomiyamacho Nobeoka City	○		○	○			○	
	3	Higashi Elementary School	Idekitacho Nobeoka City	○		○	○			○	
	4	Nobeoka Health Office	Ohnukicho Nobeoka City	○	○	○	○		○	○	○
	5	Nobeoka Botanical Garden	Amoricho Nobeoka City	○		○				○	
	6	Nobeoka Daini High School	Hirabaracho Nobeoka City	○		○				○	
	7	Kadogawa Welfare Facilities	Hirajohigashi Kadogawa Town	○	○	○	○			○	
	8	Daiohdani Elementary School	Daiohdani Hyuga City	○		○	○		○	○	
	9	Hyuga Health Office(previously)	Haruharacho Hyuga City	○	○	○				○	○
	10	Hososhima Public Hall	Hososhima Hyuga City	○		○	○			○	
	11	Takanaba Health Office	Kitatakanabe Takanabe Town	○	○	○	○			○	
	12	Training Institute	Asahimachi Miyazaki City	○	○	○	○			○	
	13	Physically Disabled Welfare Center (previously)	Ohshimacho Miyazaki City	○		○				○	
	14	Prefectural Institute for Public Health and Environment	Gakuenkibanadai Miyazaki City	○	○	○				○	
	15	Nichinan Health Office	Todaka Nichinan City	○	○	○	○			○	
	16	Aburatsu Elementary School	Sonodacho Nichinan City	○	○	○	○			○	
	17	Miyakonojo National College of Technology	Himegi Miyakonojo City	○	○	○	○			○	
Automobile Exhaust Gas Monitoring Stations	18	Shin-nobeoka Automobile Exhaust G- -as Monitoring Station	Idekitacho Nobeoka City			○		○	○		
	19	Takachiho St. Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	Kitatakamatsucho Miyazaki City			○		○	○		
	20	Minamimiyazaki Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	Nakamuracho Miyazaki City			○		○	○		
	21	Miyakonojo Automobile Exhaust Gas Monitoring	Yoshiocho Miyakonojo City	○		○		○	○	○	
Inversion Layer Moni- toring Sta.	22	Mt. Atago Inversion Layer Monitor- ing Station	Mt. Atago Nobeoka City								Only T

Remarks SO₂:Sulfur Dioxide

SPM:Suspended particulate Matter

NOx:Nitrogen Oxides

OX:Photochemical Oxidants

CO:Carbon Monoxide

HC:Hydro Carbons

W:Wind Direction and Wind Speed

TS:Temperature and Sunshine

Table 2 Concentrations of air pollutant at monitoring stations (1996.4~1997.3)

Air pollutant Monitoring stations		Sulfur Dioxide		Nitrogen Dioxide		Carbon Monoxide		Photochemical Oxidants		Suspended Particulate Matter	
		Annual average value (ppm)	Annual value excluded highest 2% range (ppm)* ¹	Annual average value (ppm)	Annual 98%value of the daily average (ppm)* ²	Annual average value (ppm)	Annual value excluded highest 2% range (ppm)* ¹	Annual average of maximum hourly value in the day-time (ppm)* ³	Maximum hourly value in the day-time (ppm)	Annual average value (mg/m ³)	Annual value excluded highest 2% range (mg/m)* ³
Nobeoka City	Nobeoka Commercial High School	0.003	0.008	0.004	0.009	—	—	0.051	0.112	—	—
	Asahi Junior High School	0.004	0.008	0.005	0.012	—	—	0.050	0.109	—	—
	Higashi Elementary School	0.003	0.007	0.010	0.018	—	—	0.047	0.097	—	—
	Nobeoka Health Office	0.004	0.011	0.007	0.018	—	—	0.041	0.095	0.023	0.066
	Nobeoka Botanical Garden	0.003	0.006	0.003	0.008	—	—	—	—	—	—
	Nobeoka Daini High School	0.003	0.007	0.005	0.011	—	—	—	—	—	—
	Shin-nobeoka Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	—	—	0.017	0.029	0.7	1.4	—	—	—	—
Hyuga City	Daiohdani Elementary School	0.004	0.008	0.007	0.014	—	—	0.047	0.106	—	—
	Hyuga Health Office (previously)	0.005	0.009	0.009	0.016	—	—	—	—	0.026	0.056
	Hososhima Public Hall	0.006	0.010	0.011	0.019	—	—	0.045	0.110	—	—
Kadogawa Town	Kadogawa Welfare Facilities	0.004	0.007	0.006	0.011	—	—	0.051	0.108	0.028	0.062
Takanabe Town	Takanabe Health Office	0.004	0.008	0.007	0.014	—	—	0.042	0.096	0.020	0.048
Miyazaki City	Physically Disabled Welfare Center (previously)	0.003	0.008	0.008	0.018	—	—	—	—	—	—
	Training Institute	0.004	0.008	0.014	0.027	—	—	0.034	0.089	0.026	0.053
	Prefectural Institute for Public Health and Environment	0.005	0.010	0.004	0.009	—	—	—	—	0.017	0.039
	Takachiho St. Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	—	—	0.022	0.036	1.1	2.0	—	—	—	—
	Minamimiyazaki Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	—	—	0.025	0.043	1.2	2.0	—	—	—	—
Nichinan City	Nichinan Health Office	0.003	0.006	0.006	0.013	—	—	0.052	0.109	0.026	0.050
	Aburatsu Elementary School	0.004	0.009	0.007	0.016	—	—	0.047	0.115	0.025	0.049
Miyakonojo City	Miyakonojo National College of Technology	0.003	0.006	0.008	0.016	—	—	0.041	0.093	0.044	0.086
	Miyakonojo Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	0.006	0.010	0.021	0.033	1.0	1.8	—	—	—	—

*¹ The daily average value throughout the year excluding those which come within a range of 2% from the measured highest value*² The daily average value equivalent to 98% from the lowest throughout the year*³ The annual average of maximum hourly concentration in the daytime

Table 3 Comparison with environmental quality standards

Monitoring stations		Sulfur Dioxide		Nitrogen Dioxide		Carbon monoxide		Photochemical Oxidants		Suspended Particulate Matter	
		Number of Hourly concentration exceeding 0.1 ppm	Number of days when the daily average exceeding 0.04 ppm	Number of days when the daily average within range of 0.04 to 0.06ppm	Number of days when the daily average exceeding 0.06 ppm	Number of 8 hours' average exceeding 20 ppm	Number of days when the daily average exceeding 10 ppm	Number of hourly concentrations exceeding 0.06 ppm	Number of hourly concentrations exceeding 0.12 ppm	Number of hourly concentrations exceeding 0.2 mg/m ³	Number of days when the daily average exceeding 0.1 mg/m ³
Nobeoka City	Nobeoka Commercial High School	0	0	0	0	—	—	5 0 7	0	—	—
	Asahi Junior High School	0	0	0	0	—	—	6 0 4	0	—	—
	Higashi Elementary School	0	0	0	0	—	—	3 7 9	0	—	—
	Nobeoka Health Office	0	0	0	0	—	—	1 9 2	0	1	0
	Nobeoka Botanical Garden	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—
	Nobeoka Daini High School	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—
	Shin-nobeoka Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	—	—	0	0	0	0	—	—	—	—
Hyuga City	Daiohdani Elementary School	0	0	0	0	—	—	4 3 3	0	—	—
	Hyuga Health Office (previously)	0	0	0	0	—	—	—	—	0	0
	Hososhima Public Hall	0	0	0	0	—	—	4 6 4	0	—	—
Kadogawa Town	Kadogawa Welfare Facilities	0	0	0	0	—	—	6 2 9	0	0	0
Takanabe Town	Takanaba Health Office	0	0	0	0	—	—	2 2 9	0	1	0
Miyazaki City	Physically Disabled Welfare Center (previously)	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—
	Training Institute	0	0	0	0	—	—	1 8 9	0	0	0
	Prefectural Institut for Public Health and Environment	0	0	0	0	—	—	—	—	0	0
	Takachiho St. Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	0	0	1	0	0	0	—	—	—	—
	Minamimiyazaki Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	—	—	2 7	0	0	0	—	—	—	—
Nichinan City	Nichinan Health Office	0	0	0	0	—	—	7 4 8	0	2	0
	Aburatsu Elementary School	0	0	0	0	—	—	4 5 2	0	0	0
Miyakonojo City	Miyakonojo National College of Technology	0	0	0	0	—	—	2 7 5	0	2 2	3
	Miyakonojo Automobile Exhaust Gas Monitoring Station	1	0	0	0	0	0	—	—	—	—

1 二酸化硫黄

各測定局（18局）の年平均値は、0.003～0.006ppmで前年と比較して、全局とも横ばいの状況であった。各地区の二酸化硫黄の年平均値の経年変化をFig. 2に示す。

日平均値の2%除外値は、0.007～0.011ppmで、全局とも環境基準（0.04ppm）を満足していた。

1時間値では、都城自排局で、環境基準（0.1ppm）を超過していた。

これは、前日に桜島が小規模ではあるが、2回爆発しており、この噴煙の影響によるものと推定された。

2 二酸化窒素

各測定局（21局）の年平均値は、一般環境測定局で0.003～0.014ppm、自動車排出ガス測定局で0.017～

0.025ppmであった。前年度と比較すると、全局とも横ばいの状況であった。

日平均値の年間98%値で見ると、0.007～0.041ppmで、南宮崎自排局が0.04～0.06ppmのゾーン内にはいっているが、環境基準は、満足している。

自動車排出ガス測定局における二酸化窒素の年間98%値の経年変化をFig. 3に示す。

南宮崎自排局は、平成6年度から3年間連続して0.04～0.06ppmのゾーン内にあることがわかる。

3 一酸化炭素

各測定局（4局）の年間平均値は、0.7～1.2ppmで前年度と比較すると、横ばい又は減少傾向にあり、環境基準を全局とも満足していた。

一酸化炭素の年平均値の経年変化をFig. 4に示す。

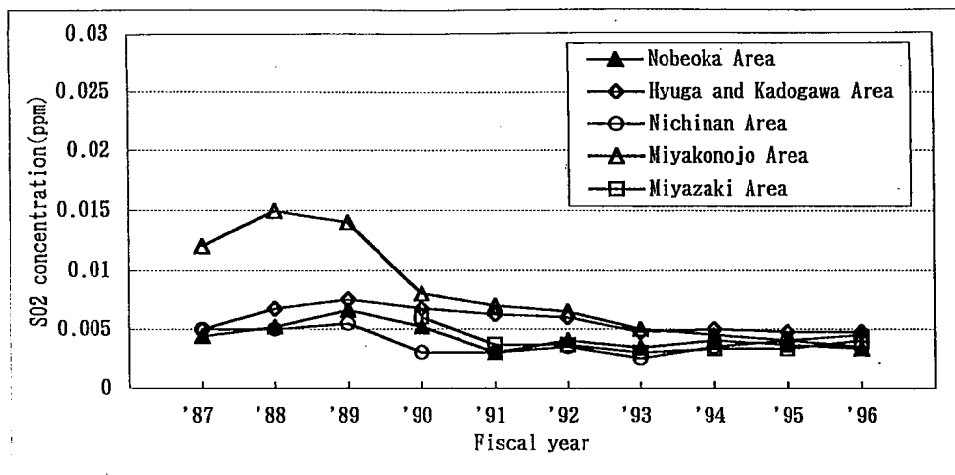


Fig. 2 Changes in annual average concentrations of sulfur dioxide Each concentration is average of all monitoring stations in the area

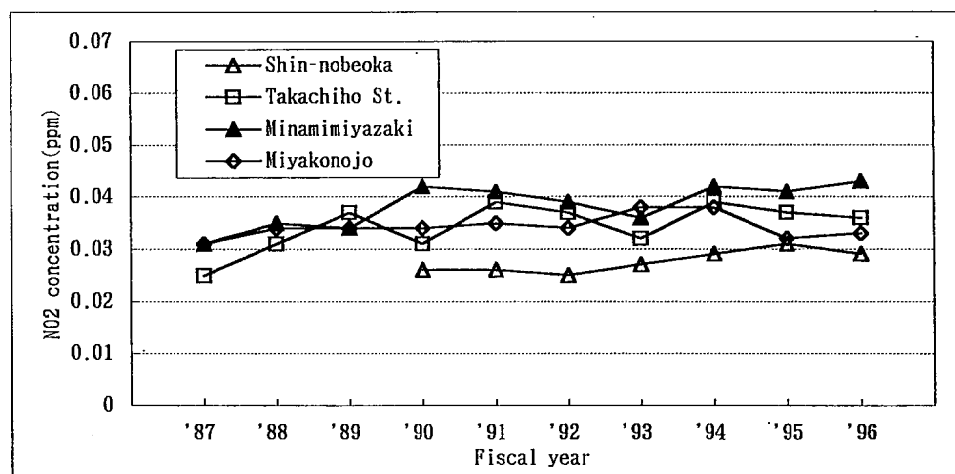


Fig. 3 Changes in annual 98% value of daily average of nitrogen dioxide at automobile exhaust gas monitoring stations

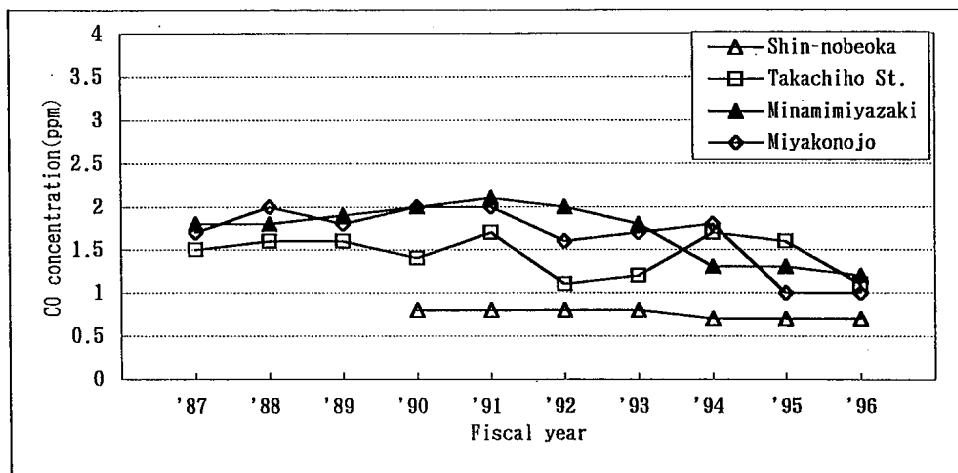


Fig. 4 Changes in annual average concentration of carbon monoxide at automobile exhaust gas monitoring stations

4 光化学オキシダント

全測定局（12局）で、1時間値が0.06ppmを超えていたが、注意報発令基準（0.12ppm）を超過した測定局はなかった。

光化学オキシダントの昼間の日最高1時間値の年平均値の経年変化をFig. 5に示す。

平成8年度は、前年度と比較すると上昇傾向の測定局が多かった。

5 浮遊粒子状物質

本年度から3つの測定局が追加され、9測定局で浮遊粒子状物質が測定されるようになった。

各測定局の年平均値は、0.017～0.044mg/m³で、日平均値の2%除外値は、0.039～0.086mg/m³であった。

年平均値の経年変化をFig. 6に示す。

都城高専測定局で、日平均値が0.1mg/m³を超過した日があり、延岡保健所、高鍋保健所、日南保健所、都城高専の4測定局で1時間値が0.2mg/m³を超える時間が観測された。

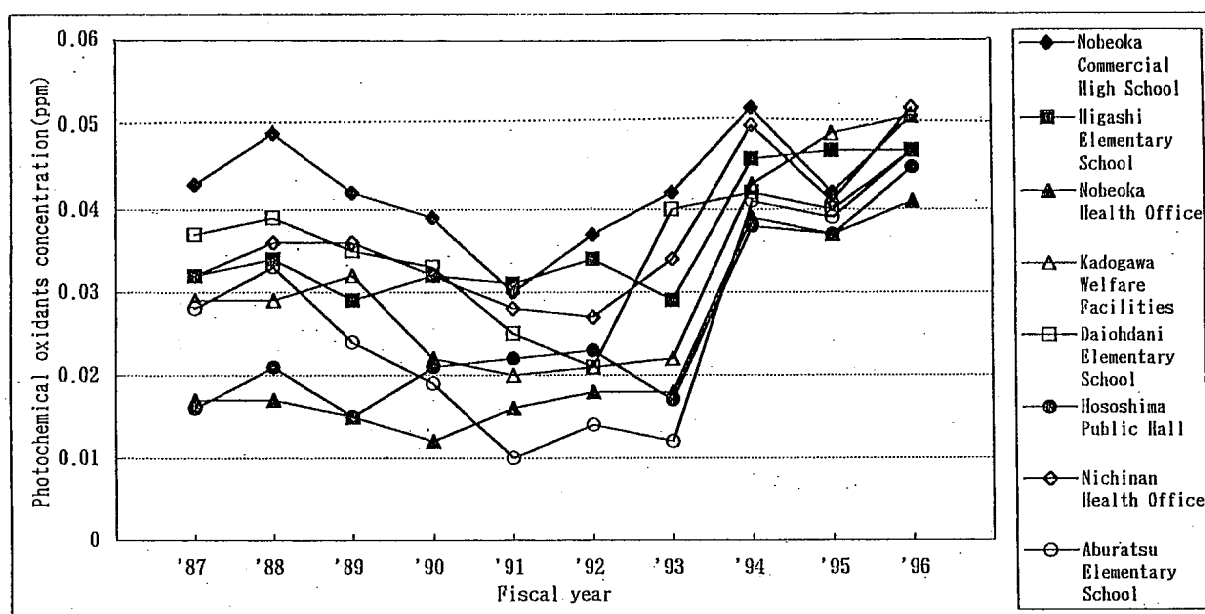


Fig. 5 Changes in annual average of maximum hourly concentration of photochemical oxidants in the daytime

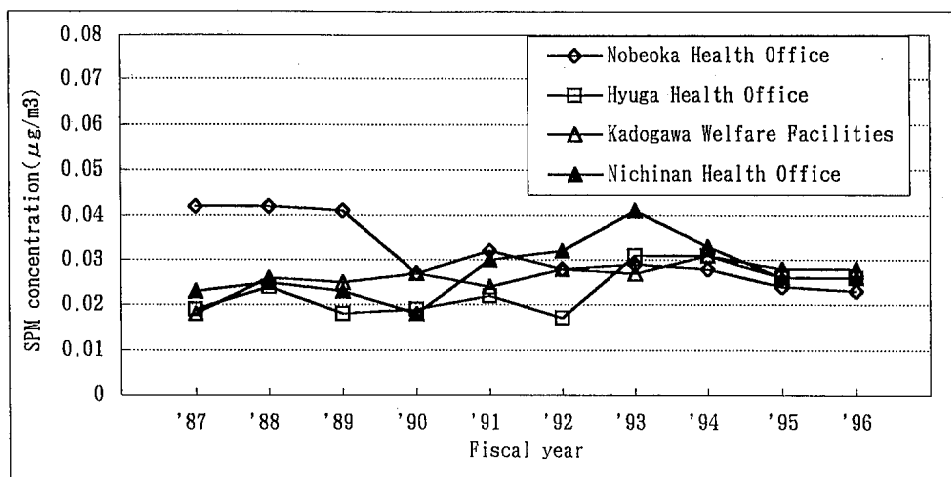


Fig. 6 Changes in average concentrations of suspended particulate matter (SPM)

まとめ

宮崎県の大気の状態は、各項目とも、前年度と比べて、多少の上昇や減少傾向が見られる項目があるものの、ほぼ横ばいの状況であり、全体的には、前年度と同様に、おおむね良好な状況であった。

しかし、南宮崎自動車排出ガス測定局で二酸化窒素濃度の日平均値の年間98%値が、0.043ppmとなっており、環境基準は満足しているものの、0.04~0.06ppmのゾーン内にはいっているので、今後とも注意深く監視していく必要がある。

文 献

- 1) 財団法人日本気象協会南九州センター：桜島火山状況

塩素処理によるフェニトロチオンの分解

河野 謙一・富山 典孝・関屋 幸一
杉本 貴之・安藤 ゆかり^{*1}・小畑 聡子

Chemical change of Fenitrothion in Chlorinated Water

Ken'ichi KOHNO, Noritaka TOMIYAMA, Koichi SEKIYA, Takayuki SUGIMOTO,
Yukari ANDOU, and Satoko KOBATA

We investigated recovery of fenitrothion and fenitrooxon in water by using a C18(ODS) cartridge, one of the solid-phase extraction method, and analyzed the half-life of fenitrothion in chlorinated water. The following results were obtained:

- 1) Recovery of fenitrothion and fenitrooxon in refined water of various pH values and river water, showed more than 90%.
- 2) Fenitrothion changed to fenitrooxon within 2 hours in chlorinated and refined water of various pH values. The initial concentration of residual chlorine in each water studied was 0.8 mg/l.
- 3) Half-lives of fenitrothion in the water of 5.9, 6.4, and 7.2 pH value, were calculated by using rate equation of first order reaction, and they were about 18, 20, and 25 minutes, respectively.
- 4) Fenitrothion did not change to fenitrooxon in chlorinated river water in which the initial concentration of residual chlorine was 0.8 mg/l. However, all the fenitrothion added changed to fenitrooxon within 15 minutes in chlorinated river water in which the initial concentration of residual chlorine was 3.0 mg/l.
- 5) As a results of analysis of the data, we have concluded that decomposition of fenitrothion depended on pH value and initial concentration of residual chlorine in water.

Key words : fenitrothion, fenitrooxon, half-life, residual chlorine, solid-phase extraction(ODS)

はじめに

フェニトロチオン(MEP)は、農作物、ゴルフ場、森林(主に松林)の害虫や衛生害虫の駆除に広く使用されている有機リン系殺虫剤である。

従来、著者らは松くい虫防除安全確認調査において、河川水のフェニトロチオンの抽出をジクロロメタンによる液液抽出法により実施してきた。平成4年12月、水道水質に関する監視項目に、平成5年3月に水質汚濁に係る要監視項目に指定されたのに伴い、抽出法に固相抽出法が採用された。フェニトロチオン(P=S体)及びフェニトロオキシソン(P=O体)について、オクタデシル(C18)シリカゲルカートリッジを使用した抽出条件の基礎的な検討を行い、平成7年度から業務

に利用してきた。

フェニトロチオン等は光分解¹⁾や浄水処理で使用する塩素及びオゾン処理等により、急性毒性²⁾の高いオキシソン体を生成する³⁾⁻⁷⁾ことが知られている。塩素処理によりフェニトロチオンの分解に要する半減期については、数例の報告^{3), 4)}があるが、結果に相違があり、その原因について、C18カートリッジによる固相抽出法を利用して基礎的な検討を行ったので、その概要を報告する。

実験方法

1 試 薬

Sep-Pak plus C18カートリッジ:Waters社

アセトン:和光純薬工業(株), 残留農薬試験用

次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素約10%):

片山化学工業(株), 有効塩素の濃度を測定後, 使用

フェニトロチオン及びフェニトロオキシソンの標準品:和光純薬工業(株)

塩酸, 水酸化ナトリウム, 亜硫酸ナトリウム:市販特級品

2 装 置

セップパック コンセントレーター及びセップパック カートリッジラック:Waters社

ガスクロマトグラフ:GC-9 A/FPD(P フィルター):(株)島津製作所

pHメーター:HM-35V型, 東亜電波工業(株)

残留塩素測定器(オルトリジン法):柴田科学器械(株)

3 GCの測定条件

カラム:DB-17/0.53mm×15m,膜厚1.0μm

:DB-1/0.53mm×15m,膜厚1.0μm

検出器:250℃, オープン:200℃

キャリアーガス(He):DB-17カラム;0.80kg/cm², DB-1カラム;0.55kg/cm²

メイクアップガス:37ml/分, 水素ガス:0.80kg/cm², 空気:0.80kg/cm²

4 C18カートリッジによる固相抽出の方法

固相抽出法のプロシードは次のとおりである。

① C18カートリッジをアセトン及び純水, 各々5mlで洗浄。

② コンセントレーターにC18カートリッジを取り付けて, 供試水を毎分15mlで通水。

③ 通水が終了後, 純水10mlで洗浄。

④ カートリッジをはずし, 空気を送り, 水分を除去。

⑤ カートリッジラックに取付け, アセトン4mlで1滴ずつ溶出。

⑥ 5mlに定容。

⑦ GC-FPDにより定量。

5 フェニトロチオン及びフェニトロオキシソンの回収率の検討

1) pHの異なる精製水による回収試験

超純水500mlに0.01N塩酸, 又は0.01N水酸化ナト

リウム溶液を加えて, pH3.5, 5.0, 7.0, 9.0の4種類を調製した。次にフェニトロチオン及びフェニトロオキシソンの各々1μgを含有するアセトン溶液1mlを加え, スターラーで混合後, C18カートリッジによる固相抽出を実施した。

2) 河川水による回収試験

河川水(大淀川中流で採水, pH7.3)500mlにフェニトロチオン及びフェニトロオキシソンの各々1μgを含有するアセトン溶液1mlを加え, スターラーで混合後, C18カートリッジによる固相抽出を実施した。

6 塩素処理によるフェニトロチオンの分解

1) pHの異なる精製水中における分解

供試水として, 超純水に0.01N塩酸又は0.01N水酸化ナトリウム溶液を添加し, pH5.9, 6.4, 7.2の3種類を調製した。

フェニトロチオンの分解を検討する供試水中の塩素の初濃度は, 浄水処理における塩素処理濃度の1/2から1/4に相当する0.8mg/lとした。供試水は, 河川水のように多くの還元性の物質を含有しないためである。

2lのメスフラスコに供試水約1980mlを入れておき, 直前に調製した次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度1550mg/l)を1ml添加して混合した(有効塩素の初濃度は0.8mg/l)。

次に, 20mg/lのフェニトロチオン/アセトン溶液を3ml加え, 供試水で定容後, 混合した(フェニトロチオンの添加濃度は30μg/l)。

200mlのトルビーカーに100mlずつ取り, 室内に放置した。一定時間(15分, 30分, 1時間, 2時間, 3時間)経過後に, 残留塩素によるフェニトロチオンの分解を停止するため, 1.4%(W/V)の亜硫酸ナトリウム溶液0.2mlを加えた。スターラーで攪拌し, pHメーターで確認しながら0.01N塩酸(約0.2ml)を加え, pHを約7に調整した。この試験液をC18カートリッジによる固相抽出に供試した。なお, 経時的にpH及び遊離残留塩素(残留塩素測定器を使用)を測定した。

塩素剤を添加しない対照として, 同様にフェニトロチオン30μg/lを含有する水溶液(pH5.9)を準備し, 一定時間経過後に固相抽出を実施した。

2) 河川水中における分解

(1) 懸濁物質を含む河川水中における分解(有効塩素0.8mg/l)

河川水(前述の河川水と同一, pH7.3)に, 有効塩素0.8mg/lになるように次亜塩素酸ナトリウム溶液を

添加し、直ちにフェニトロチオンを加え（添加濃度30 $\mu\text{g/l}$ ）、混合後、前述の6の1）と同様に経時的に分解を調査した。

(2) 懸濁物質を除去した河川水中における分解（有効塩素3.0mg/l）

1 μm のGFPによりろ過した河川水を0.1N塩酸によりpH6.4に調整した。これに、有効塩素3.0mg/lになるように次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加し、混合した。直ちにフェニトロチオンを加え（添加濃度30 $\mu\text{g/l}$ ）、混合後、前述の6の1）と同様に経時的に分解を調査した。

結果及び考察

1 pHの違いによるフェニトロチオン及びフェニトロオキシソンの回収率

pH3.5から9.0までの精製水（添加濃度、各々0.002mg/l）におけるC18カートリッジによる回収率を検討した結果（Table 1）、フェニトロチオン及びフェニトロオキシソンの回収率は90%以上であり、良好な結果を示した。通常の水環境及び飲料水の場合、pHの調整は不要であり、直ちに固相抽出が可能であった。

2 河川水によるフェニトロチオン等の回収率

懸濁物質を含む河川水からの回収率（Table 2）は、フェニトロチオン96.2%及びフェニトロオキシソン97.4%であった。なお、未添加の河川水からは、両化合物を検出できなかった。

河川水中における両化合物の添加濃度（各々、0.002mg/l）は環境水の要監視項目であるフェニトロチオンの指針値（0.003mg/l以下）に近い濃度に設定した。

3 塩素処理によるフェニトロチオンの分解及びオキシソン体の生成

1) pHの異なる精製水中における分解

有効塩素を含有する水中（pH5.9, 6.4, 7.2の3種類）において、フェニトロチオンは速やかに酸化され、オキシソン体を生成した（Table 3 及び Fig. 1）。フェニトロチオンは、時間の経過とともに、急速に減少し、2時間後には、検出限界に近いレベルまで分解した。酸化体のフェニトロオキシソンは、経時的に増加を示し、2時間後に、最大濃度を示した。

なお、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加しない精製水（pH5.9）中のフェニトロチオンの経時変化のデータをTable 4に示したが、フェニトロオキシソンは生

成しなかった。

フェニトロチオンの分解に関するデータ（Table 3）を1次反応速度式に適用⁹⁾して、半減期等を算出した結果をTable 5に示した。速度式の相関係数は-0.977~-0.999の範囲であり、きわめて良好であった。フェニトロチオンの半減期はpH5.9において約18分、pH6.4では約20分、pH7.2では約25分であり、pHが低い方がやや速く分解する結果が得られた。

塩素剤の希薄溶液では、低pH領域において、次亜塩素酸の存在比が大きいため、強い酸化力を示すことが知られている⁹⁾。このことは、供試水のpHによ

Table 1 Recovery of Fenitrothion and Fenitrooxon in refined water of various pH value

unit: %		
pH value	Fenitrothion	Fenitrooxon
3.5	90.6	96.8
5.0	97.8	101
7.0	96.5	101
9.0	102	99.7

Table 2 Recovery of Fenitrothion and Fenitrooxon in river water

unit: %		
Sample	Fenitrothion	Fenitrooxon
River water	96.2	97.4

Note;

- (1) Each concentration of the two compounds those were added in river water was 0.002mg/l.
 (2) Water quality of river water were as follows;
 Suspended solid: 4.2mg/l, pH: 7.3

Table 3 Decomposition of fenitrothion and formation of fenitrooxon in chlorinated refined water

unit: $\mu\text{g/l}$						
Time	Fenitrothion			Fenitrooxon		
	pH 5.9	pH 6.4	pH 7.2	pH 5.9	pH 6.4	pH 7.2
0 min	30.0	30.0	30.0	< 0.5	< 0.5	< 0.5
15 min	17.0	13.6	12.9	9.2	7.8	6.4
30 min	10.2	7.4	8.9	16.3	15.2	11.4
1 hr	3.0	3.2	2.8	18.8	20.9	15.4
2 hr	< 0.3	0.4	1.0	22.4	21.8	18.0
3 hr	< 0.3	-	-	21.8	-	-

Note;

- (1) Water temperature : $24 \pm 0.5^\circ\text{C}$
 (2) Initial concentration of residual chlorine and fenitrothion those were added in refined water were 0.8mg/l and 30 $\mu\text{g/l}$, respectively.

て、分解速度に影響を与えるものと考えられ、低pHの供試水において、分解が速いことと一致した。これらの結果から、フェニトロチオンの半減期は処理水中の遊離残留塩素の初濃度に関係していることが推察された。フェニトロチオンの分解は、大過剰に存在する遊離残留塩素の経時変化（約30分までに急速に分解後、緩やかに減少）から擬一次反応と考えられた。

塩素処理水中におけるフェニトロチオンの半減期に関して、大戸ら³⁾は、27分（有効塩素の初濃度1 mg/l、供試水のpH6.2、塩素希釈水を使用）、奥村⁴⁾は28.9時間（遊離残留塩素の初濃度0.1mg/l、全塩素の初濃度0.2mg/l、水道水を使用）の報告がある。著者らの結果は、大戸ら³⁾の報告に近い結果を示した。奥村⁴⁾の報告では、多種類の農薬を同時に検討しており、また、遊離残留塩素の初濃度が低すぎるという相違点があげられる。

なお、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加2時間後の遊離残留塩素は0.2mg/lに、pHは塩素処理前の供試水の値近くに低下した。添加2時間後の残留塩素の濃度は、フェニトロチオンの分解に必要な量以上の遊離塩素が分解していることを示した。当研究では、次亜塩素酸ナトリウム溶液の希釈水及び供試水に超純水をそのまま使用していることもあり、フェニトロチオン1モル当たりに消費する次亜塩素酸のモル数の考察は実施できなかった。

2) 河川水中における分解

河川水（pH7.3）に有効塩素0.8mg/lを添加した場合、フェニトロチオンのオキシソニ体は15分～2時間の間に、全く生成しなかった。河川水に添加した有効塩素は、反応の速い還元性の無機物（鉄、マンガン等）の酸化及びアンモニア等との反応に優先的に消費されたことが推察された。遊離残留塩素の経時変化は、7分後0.3mg/l、50分後0.2mg/l、2時間後0.1mg/lであった。オキシソニ体を生成しなかったのは、有効塩素の初濃度が低いことが主な原因と考えられた。

次に、河川水の懸濁物質をろ過し、pHを6.4に調整した供試水の有効塩素の初濃度を3.0mg/lとした場合は、15分後にオキシソニ体が検出され、フェニトロチオンはトレース程度しか検出されなかった（Table 6）。15分ではほぼ完全に分解したので、フェニトロチオンの分解に要する半減期は、約2分と推定された。

以上の結果から、フェニトロチオンの分解に要する半減期は、供試水のpH及び添加する次亜塩素酸ナトリウム溶液の初濃度に依存していることが判明した。

Table 4 Decomposition of fenitrothion and formation of fenitrooxon in refined water that do not contain residual chlorine

Time	unit: $\mu\text{g/l}$	
	Fenitrothion	Fenitrooxon
	pH 5.9	pH 5.9
0 min	30.0	< 0.5
15 min	30.4	< 0.5
30 min	30.2	< 0.5
1 hr	28.3	< 0.5
2 hr	28.5	< 0.5
3 hr	29.3	< 0.5

Note; Water temperature : $24 \pm 0.5^\circ\text{C}$

Table 5 Analysis of the data concerning decomposition of fenitrothion in chlorinated refined water

Items	pH	The results
(1) Rate constant	5.9	0.0383 min^{-1}
	6.4	0.0347 min^{-1}
	7.2	0.0275 min^{-1}
(2) Half-life	5.9	18.1 min
	6.4	20.0 min
	7.2	25.2 min
(3) Regression formula	5.9	$\ln y = -0.03828x + 3.419$
	6.4	$\ln y = -0.03474x + 3.215$
	7.2	$\ln y = -0.02746x + 3.070$
(4) Correlation coefficient	5.9	$\gamma = -0.999$
	6.4	$\gamma = -0.997$
	7.2	$\gamma = -0.977$

Table 6 Decomposition of fenitrothion and formation of fenitrooxon in chlorinated river water

Time	unit: $\mu\text{g/l}$	
	Fenitrothion	Fenitrooxon
0 min	30.0	< 0.5
15 min	< 0.3	22.8
30 min	< 0.3	23.4
1 hr	< 0.3	23.2
2 hr	< 0.3	23.2

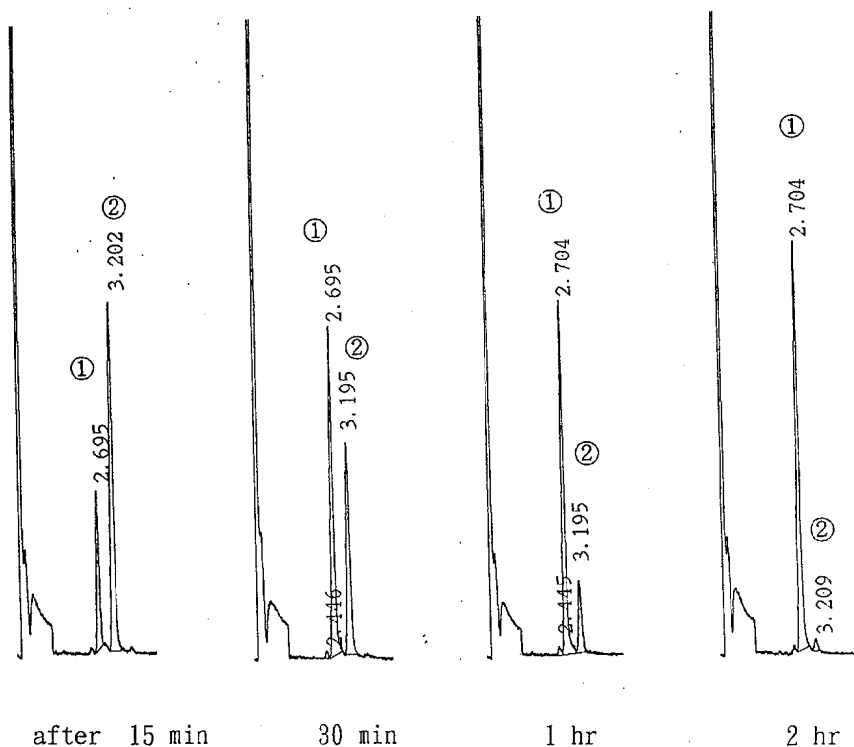
Note;

(1) Water temperature : $23 \pm 0.1^\circ\text{C}$

(2) Initial concentration of residual chlorine and fenitrothion those were added in river water were 3.0mg/l and 30 $\mu\text{g/l}$, respectively.

(3) Water quality of river water were as follows;

Suspended solid: below 1 mg/l, pH: 6.4



① Fenitrooxon ② Fenitrothion
pH value of refined water:5.9, Initial concentration of residual chlorine:0.8mg/l

Fig. 1 Decomposition of Fenitrothion and formation of Fenitrooxon in chlorinated refined water (Gaschromatogram, Column; DB-17)

おわりに

pH (3.5~9.0) の異なる精製水並びに河川水について、C18カートリッジによるフェニトロチオン及びフェニトロオキシソンの回収率を検討した結果、いずれも90%以上であり、環境水及び飲料水の場合、pHの調整をしなくても直ちに固相抽出が可能であった。

pHの異なる3種類の精製水に次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加した供試水（有効塩素の初濃度0.8mg/l）におけるフェニトロチオン（添加濃度30 μ g/l）の分解について、一次反応速度式を適用して、データを解析した結果、半減期はpH5.9で約18分、pH6.4で約20分、pH7.2で約25分であり、供試水が低pHの場合、フェニトロチオンの分解が速かった。フェニトロチオンの分解に伴い、フェニトロオキシソンが生成し、2時間後に最大値を示した。

次に、塩素処理した河川水（pH7.3、懸濁物質を含む、並びにpH6.4、懸濁物質を除去）におけるフェニトロチオンの分解を検討した結果、有効塩素0.8mg/lの場合、フェニトロオキシソンを生成しなかったが、有

効塩素3.0mg/lの場合、15分以内にフェニトロチオンはほぼ完全に分解し、オキシソン体を生成していた。

塩素処理した供試水中におけるフェニトロチオンの分解に要する半減期は、pHと有効塩素の初濃度に依存していることが確認された。また、フェニトロチオンの分解は擬一次反応と考えられた。

文 献

- 1) 井上英朋, 高橋政弘, 南部健二, 加藤隆: フェニトロチオンの光及び熱安定性, 日本農薬学会第20回大会講演要旨集 (東京), 160, 1995
- 2) Edited by Wayland J. Hayes, Jr., Edward R. Laws, Jr.: Handbook of Pesticides Toxicology, 2, 1020-1021, Academic Press, 1991
- 3) 大戸幹也, 山本敦, 松永明信, 高柳信孝, 健名智子, 斉藤行男, 水上英一: 塩素処理水中のゴルフ場使用農薬の分解, 環境化学, 3, 1, 59-64, 1993
- 4) 奥村為男: 水中農薬の塩素およびオゾンによる分解について: 水環境学会誌, 15, 1, 62-69, 1992

- 5) 鈴木静夫著：水の農業汚染，水の環境科学，164-165，内田老鶴圃，1993
- 6) 今西喜久男，高木博男：塩素処理による水中残留農薬の分解，奈良県衛研年報，24，52-55，1990
- 7) 真柄泰基監修：水道水質ハンドブック，113，日本水道新聞社，1994
- 8) 河野謙一，関屋幸一，岩切淳，富山典孝，安藤ゆかり，迫田勝藏：クロルピクリンによる水源井戸汚染の追跡調査，宮崎県衛環研年報，5，93-103，1993
- 9) 厚生省生活衛生局水道環境部監修：上水試験法解説編，255-262，日本水道協会，1993
- 10) 金澤純：農薬の環境特性と毒性データ集，156，合同出版，1996
- 11) 農薬残留分析法研究班編集：最新農薬の残留分析法，279-281，中央法規出版，1995
- 12) 厚生省生活衛生局水道環境部監修：上水試験法，210-215，325-333，日本水道協会，1993
- 13) 小野寺祐夫，町田三一，山尾和也，岩崎達行，錦織宏介，荒井克憲：オゾンおよび紫外線照射併用法による水中微量有機りん農薬の分解，環境化学，3，2，261-270，1993
- 14) 河野謙一，関屋幸一，岩切淳，富山典孝，安藤ゆかり，迫田勝藏：低沸点有機塩素系溶剤による地下水汚染の追跡調査，-PCE及びTCEの化学反応速度論による考察-，宮崎県衛環研年報，6，115-120，1994

底生動物による清武川の水質評価及び季節的変動調査

関 屋 幸 一 ・ 杉 本 貴 之 ・ 富 山 典 孝
安 藤 ゆかり^{*1} ・ 河 野 謙 一 ・ 小 畑 聰 子

Seasonal Fluctuation of Water Quality and Estimated Value of the Environment Based on Zoobenthos at the Kiyotake River

Koichi SEKIYA, Takayuki SUGIMOTO, Noritaka TOMIYAMA, Yukari ANDOU
Ken'ichi KOHNO, and Satoko KOBATA

Water quality of rivers was influenced by changes in the Environment.

We examined ASPT values and water quality in regard to Kiyotake river running through the mountains to the suburbs of a city at the center of the prefecture.

The investigation took place at 5 points on the upper part and lower part of the Kiyotake river. The times were fixed as May, October, and January.

The results of the investigation were as follows.

- 1) Good results were obtained for estimations of water based on zoobenthos both in the upper part and the middle part, but results in the lower part were distorted due to organism pollution.
- 2) ASPT values were high in January and in good correlation (0.55-0.7) through the BOD and SS.
- 3) Number of total individuals were high in January and in good correlation (0.6) among the DO.
- 4) T-N values recorded high in January and T-P values recorded high in October.

Key words : ASPT, zoobenthos, seasonal fluctuation

はじめに

近年、人間活動や生活様式の変化などに伴って、河川の水質や底生動物の生息に様々な影響を及ぼしている¹⁾ことが指摘されている。底生動物の生息には、水質だけではなく、河川改修などによる流域の変化や季節的な変動による影響が関わっていると考えられる。

当所では、総合的な評価方法としての大型底生動物による河川の水質評価方法²⁾に従って、県内の河川の水質状況を把握し、あわせて季節的な変動も調査することとした。

平成8年度は、県央部の清武川の調査を実施したので、その概要を報告する。

調査方法

1 調査対象河川及び調査地点

調査対象河川及び調査地点をFig. 1に、それらの概況をTable 1及びFig. 2にそれぞれ示した。

清武川は、標高1119mの鰐塚山に源を発し、井倉川など一次支川数12、流路延長28kmの二級河川で、田野町、清武町及び宮崎市南部を貫流し、日向灘に至っている。

2 調査年月日

平成8年5月22日～23日、10月11日及び16日、平成9年1月27日

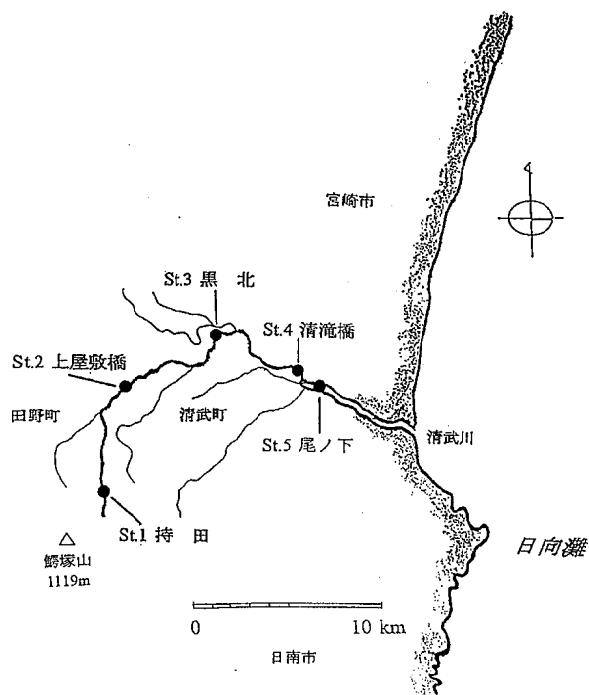


Table 1 Review of the Kiyotake river

河川名	地点名	標高 (m)	源流からの 距離 (km)	河川 形態 ³⁾	周辺 環境
清武川	St.1 持田	210	2.9	Aa (溪流)	樹林地
	St.2 上屋敷橋	90	9.6	Bb (平地流)	畑地
	St.3 黒北	40	17.5	Bb (平地流)	樹林地
	St.4 清滝橋	15	23.6	Bb (平地流)	宅地
	St.5 尾ノ下	10	24.7	Bb (平地流)	宅地 工場地

Fig. 1 Points of collecting samples

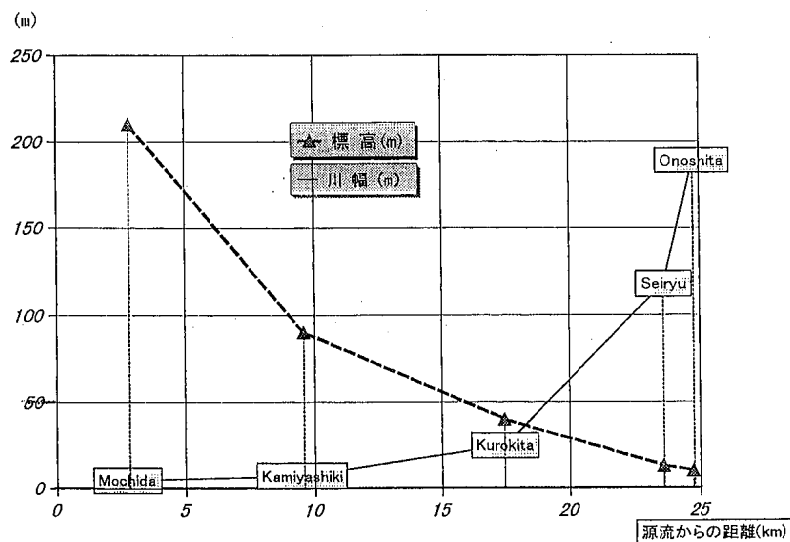


Fig. 2 Review of the Kiyotake river

3 調査方法

底生動物の採集は、河川の瀬（右岸，中心，左岸）の部分で、Dフレームネットによる1分間キック・スweep法²⁾により行い、1調査地点につき3サンプルを採取した。

4 理化学的検査

底生動物の採集時に各採集地点で採水し、pH、EC、DO、BOD、SS、T-N、T-P及びTOCをJIS法⁴⁾により測定した。

5 分類及び同定

底生動物の分類及び同定は、すべて幼虫を対象とし、

日本産水生昆虫検索図説⁵⁾及び水生昆虫学⁶⁾により行った。同定は、原則として科のレベルまで行い、個体数も記録した。

6 大型底生動物による河川水域評価方法

評価には、瀬の3サンプルをまとめたものを使用した。環境庁水質保全局の「大型底生動物による河川水域評価の調査マニュアル（案）」に従って、分類群を科でとりまとめ、各科に与えられたスコアを合計して総スコアを求め、それを出現科数で割って評価値のASPT値(Average score per taxon)を算出した。

ASPT値は、1～10までであり、1に近いほど汚濁の

程度が大きく、周辺の開発が進むなど人為的影響が大きい河川環境であり、逆に10に近いほど汚濁の程度が少なく、自然状態に近いなど人為的影響も少ない河川環境であることを示している。

調査結果及び考察

清武川の各調査地点における理化学的検査結果をTable 2に、底生動物の分類及び同定結果（底生動物相）をTable 3にそれぞれ示した。

1 理化学的検査結果及び底生動物相による水質評価

持田：総個体数は、春期99、秋期45、冬期202であった。ASPT値は、春期7.2、秋期7.3、冬期7.5であった。総個体数は、春期及び秋期に比較して冬期に多かったが、ASPT値は季節に関係なく7.3前後と安定していた。この地点（最上流域・渓流）では、生物種のスコアを比較してみると、冬期に近づくにつれて、スコア8以上の好清水性の生物種（出現科数）が、個体数は少ないにも係わらず多種類観察・採集された。このことは、ASPT値が冬期に高くなったことに寄与していると考えられた。理化学的検査において、河川の汚濁指標となるBODやT-N等の検査結果からも清水性の水質であった。

上屋敷橋：総個体数は、春期290、秋期262、冬期732で、持田と同様に冬期に多かった。ASPT値は、春期6.1、秋期6.7、冬期6.9と季節的にはやや差がみられ、持田と同様に冬期に高くなる傾向にあった。この地点（上流域・平地流）では、スコア8以上の生物種が秋期及び冬期に3種類観察・採集されたにも係わらず、春期に好汚濁性のミミズ綱（スコア2）及びユスリカ科（スコア3）、秋期に同様のヒル綱（スコア2）が観察・採集されたので、それぞれが相対的に春期におけるASPT値の低下に寄与していると判断された。周辺環境は畑地であるが、多くの場合、住宅地周辺の河川にみられるユスリカ科（個体数10、占有率3.4%）が観察・採集されていることから、この地点のすぐ上流に生活排水等の流入があることが推測された。また、ユスリカ科は広い範囲の環境条件に適応し、しばしば上流のきれいな水域でも観察される⁷⁾ことがあるので、この地点がそれに該当すると考えられた。BOD等の検査結果からも、全体的にはやや清水性の水質であった。

黒北：総個体数は、春期188、秋期139、冬期498で冬期に多かった。ASPT値は、春期6.6、秋期6.6、冬期6.7と差がみられなかった。この地点（中流域・平

地流）では、スコア8以上の生物種は春期及び冬期に2種類観察・採集されたが、スコア3以下の生物種は観察・採集されなかった。このことは、ASPT値の動向にはあまり影響しないということに加え、スコア6～7の生物種が常時出現しているので安定したASPT値が得られたものと考えられる。T-Nが冬期に2.61 mg/lと若干高かったことを除けば、この地点の水質は、生物的にもやや清水性と判断された。

清滝橋：総個体数は、春期410、秋期135、冬期521で春期及び冬期に多かった。ASPT値は、春期6.0、秋期6.4、冬期5.9であった。この地点（下流域・平地流）では、上屋敷橋と同様に、年間を通してスコア3以下の生物種が、占有率は低いにも係わらず3種類観察・採集されたので、全体的にASPT値が低かった。また、黒北と同様にT-Nが冬期に2.37 mg/lと若干高かったことを除けば、この地点の水質は、生物的にもやや清水性ではあるが、同時にやや有機汚濁が懸念されると判断された。

尾ノ下：総個体数は、春期306、秋期213、冬期54であった。この地点（最下流域・平地流）では、秋期にやや下流の対岸で、冬期に上流でそれぞれ護岸などの改修工事が行われていた。底生動物の生息環境要因としては、水温、水質（特に溶存酸素）、流速、水深、底質、光量など⁶⁾があるといわれている。その中でも、水温、溶存酸素は生理的要求の要因としてもあげられるうえに、これらに大きな影響を与えると考えられる環境要因に、河川の改修工事などによって引き起こされる地形的条件がある。これらのことを考慮すると、冬期において総個体数が激減した理由は、この地点の上流で護岸などの改修工事が行われていたためと考えられた。ASPT値は、春期5.8、秋期6.6、冬期6.7であったが、冬期の値は、前述の理由から平常時のASPT値を示していないと考えられた。冬期の結果を除いても、この地点の水質は、生物的にもやや清水性ではあるが、同時にやや有機汚濁が懸念されると判断された。

2 理化学的検査結果及び底生動物相に関する季節的変動

理化学的検査結果及び底生動物相に関する季節的変動をFig. 3に示した。

BODについては、1地点を除いて、春期及び秋期に比較して冬期にやや低くなる傾向にあった。

T-Nについては、全地点とも春期及び秋期に比較して冬期に高くなる傾向にあった。

Table 2 Analytical results of water quality at the Kiyotake river

Kiyotake river																			
River	Mochida						Kamiyashiki				Kurokita			Seiryu			Onoshita		
Sampling points	96. 5. 22	96.10.16	97. 1. 27				96. 5. 22	96.10.16	97. 1. 27	96. 5. 22	96.10.16	97. 1. 27	96. 5. 23	96.10.11	97. 1. 27	96. 5. 23	96.10.11	97. 1. 27	
Sampling date	96. 5. 22	96.10.16	97. 1. 27				96. 5. 22	96.10.16	97. 1. 27	96. 5. 22	96.10.16	97. 1. 27	96. 5. 23	96.10.11	97. 1. 27	96. 5. 23	96.10.11	97. 1. 27	
Water																			
temperature ℃	15.6	17.0	9.5				20.5	19.2	10.0	22.7	20.6	9.5	23.0	20.6	10.0	17.5	20.5	15.0	
Depth of																			
river	14	23	14				14	28	18	20	19	17	24	35	21	22	25	23	
Water																			
current	33.8	72.6	20.7				92.4	21.6	41.8	26.6	83.2	12.9	33.2	76.3	28.6	23.0	71.6	6.3	
pH	6.7	6.6	7.2				6.9	7.2	7.3	7.0	7.2	7.4	6.9	7.1	8.6	6.6	7.0	6.9	
EC	127	115	90				183	151	224	201	194	209	221	203	238	238	206	210	
D0	9.8	9.4	11.5				9.2	9.6	13.0	9.4	9.4	11.4	9.8	9.7	13.6	6.5	8.4	9.0	
BOD	<0.5	<0.5	<0.5				0.9	0.6	0.6	<0.5	<0.5	<0.5	0.7	0.5	0.8	<0.5	0.5	0.6	
SS	0.6	<0.5	<0.5				1	0.6	<0.5	1	1	<0.5	3	1	3	0.8	0.6	1	
T-N	0.13	0.04	0.17				0.72	0.11	0.71	0.62	0.41	2.61	0.73	0.37	2.37	0.59	0.39	2.20	
T-P	0.006	0.020	0.009				0.041	0.028	0.022	0.014	0.037	0.017	0.021	0.034	0.019	0.012	0.054	0.010	
TOC	1.5	0.6	0.6				1.6	0.7	0.8	1.7	0.6	0.6	1.9	1.3	1.1	1.6	1.5	1.5	

Table 3 The species and the number of zoobenthos

地 点 名	持 田	上屋敷橋		黒 北		清 滝 橋		尾 ノ 下			
採 集 年 月 日	96. 5. 22	96. 5. 22		96. 5. 22		96. 5. 23		96. 5. 23			
科 名	スコア	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)
チラカゲロウ	7	6	6.1								
ヒラタカゲロウ	7	12	12.1	5	1.7	12	6.4	83	20.2	17	5.6
コカゲロウ	6			4	1.4	84	44.7	185	45.1	60	19.6
トビロカゲロウ	7			1	0.3			9	2.2	2	0.7
マダラカゲロウ	7	29	29.3	37	12.8	3	1.6	9	2.2	7	2.3
ヒメカゲロウ	6			2	0.7			3	0.7	1	0.3
モンカゲロウ	7			1	0.3						
サナエトンボ	7			48	16.6	16	8.5			6	2.0
カワゲラ	7	13	13.1	9	3.1	5	2.7	3	0.7	2	0.7
ヘビトンボ	7	10	10.1	13	4.5	1	0.5	2	0.5		
シマトビケラ	6	7	7.1	31	10.7	26	13.8	86	21.0	6	2.0
ヤマトビケラ	7					1	0.5				
エグリトビケラ	7	1	1.0							1	0.3
カクツツトビケラ	9	4	4.0								
ヒラタドROMシ	6	1	1.0	22	7.6					25	8.2
ドROMシ	7			7	2.4			14	3.4	14	4.6
ヒメドROMシ	6			4	1.4	2	1.1			1	0.3
ガガンボ	7	5	5.1	20	6.9	13	6.9	3	0.7	2	0.7
ブユ	6			4	1.4	9	4.8	4	1.0		
ユスリカ(腹鰓い)	3			10	3.4			2	0.5	27	8.8
ナガラエブ	8	2	2.0								
ドゲッシア	6			53	18.3	14	7.4	4	1.0	96	31.4
イシガイ	6									7	2.3
シジミガイ	6			1	0.3	1	0.5				
ミミズ綱	2			18	6.2					27	8.8
ヒル綱	2							3	0.7	5	1.6
サワガニ	8	9	9.1			1	0.5				
総 個 体 数		99	100	290	100	188	100	410	100	306	100
総 科 数		12		19		14		14		18	
総スコア(TS)		86		116		93		84		105	
A S P T 値		7.2		6.1		6.3		6.0		5.8	

地 点 名		持 田		上屋敷橋		黒 北		清 滝 橋		尾 ノ 下	
採 集 年 月 日		96.10.16		96.10.16		96.10.16		96.10.11		96.10.11	
科 名	スコア	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)
チラカゲロウ	7			1	0.4			1	0.7		
ヒラタカゲロウ	7	4	8.9	78	29.8	27	19.4	16	11.9	45	21.1
コカゲロウ	6	7	15.6	47	17.9	41	29.5	50	37.0	72	33.8
トビイロカゲロウ	7			1	0.4					1	0.5
マダラカゲロウ	7	1	2.2	15	5.7			28	20.7	26	12.2
モンカゲロウ	7			2	0.8						
サナエトンボ	7			18	6.9	12	8.6	2	1.5	7	3.3
カワゲラ	7	9	20.0	16	6.1	23	16.5	18	13.3	5	2.3
ミドリカワゲラ	10	1	2.2	1	0.4						
ヘビトンボ	7	8	17.8	7	2.7	2	1.4	4	3.0	6	2.8
シマトビケラ	6	7	15.6	41	15.6	5	3.6	3	2.2	24	11.3
ナガラトビケラ	8	1	2.2	3	1.1			3	2.2		
ヤマトビケラ	7			1	0.4						
エグリトビケラ	7	2	4.4								
ヒラタドROMシ	6			14	5.3	22	15.8	2	1.5	23	10.8
ドROMシ	7			4	1.5	1	0.7			2	0.9
ガガンボ	7	1	2.2	4	1.5	5	3.6	3	2.2		
ブユ	6			1	0.4			2	1.5		
ドゲッシア	6			7	2.7						
カワニナ	6					1	0.7			2	0.9
ヒル綱	2			1	0.4			3	2.2		
サワガニ	8	4	8.9								
総 個 体 数		45	100	262	100	139	100	135	100	213	100
総 科 数		11		19		10		13		11	
総スコア(TS)		80		127		66		83		73	
A S P T 値		7.3		6.7		6.6		6.4		6.6	

地 点 名		持 田		上屋敷橋		黒 北		清 滝 橋		尾 ノ 下	
採 集 年 月 日		97. 1. 27		97. 1. 27		97. 1. 27		97. 1. 27		97. 1. 27	
科 名	スコア	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)	個体数	占有率 (%)
ヒラタカゲロウ	7	56	27.7	147	20.1	140	28.1	268	51.4	45	83.3
コカゲロウ	6	29	14.4	65	8.9	103	20.7	78	15.0	1	1.9
マダラカゲロウ	7	16	7.9	119	16.3	18	3.6	29	5.6	1	1.9
モンカゲロウ	7	4	2.0								
サナエトンボ	7			12	1.6	9	1.8	1	0.2	2	3.7
オナシカワゲラ	8	1	0.5								
アミメカワゲラ	9	1	0.5								
カワゲラ	7	28	13.9	16	2.2	5	1.0	35	6.7		
ミドリカワゲラ	10	8	4.0								
ヘビトンボ	7	9	4.5	4	0.5	10	2.0			1	1.9
ヒゲナガカワトビケラ	8			1	0.1						
シマトビケラ	6	15	7.4	271	37.0	152	30.5	67	12.9	4	7.4
ナガレトビケラ	8	2	1.0	19	2.6	10	2.0	4	0.8		
ヤマトビケラ	7			6	0.8	2	0.4				
カクスイトビケラ	9	9	4.5								
エグリトビケラ	7			1	0.1						
カクツツトビケラ	9	11	5.4								
ヒラタドROMシ	6	3	1.5	4	0.5	10	2.0	1	0.2		
ガガンボ	7	5	2.5	41	5.6	34	6.8	18	3.5		
ブユ	6					4	0.8				
ドゲッシア	6	1	0.5	26	3.6	1	0.2	2	0.4		
ミミズ綱	2							3	0.6		
ヒル綱	2							15	2.9		
サワガニ	8	4	2.0								
総 個 体 数		202	100	732	100	498	100	521	100	54	100
総 科 数		17		14		13		12		6	
総スコア(TS)		127		96		87		71		40	
A S P T 値		7.5		6.9		6.7		5.9		6.7	

T-Pについては、T-Nとは逆に全地点とも春期及び秋期に比較して冬期にやや低くなる傾向にあった。

TOCについては、全地点とも春期にやや高い値を示したが、秋期及び冬期には、数値的には横ばいまたは低下がみられた。

総個体数については、最下流域の尾ノ下を除いて、春期及び秋期に比較して、冬期にきわめて高くなる傾向にあった。その理由としては、河川の上流域では、秋に大量の落葉などの有機物が河川中に加わり、そこに生息する生物種は、この落葉にエネルギー源を依存している種が多く、その多くが年1回冬期を中心に発生する種である⁸⁾ということや、河川中の植物量は、一般に夏から秋にかけて増加し、そこに生息する生物相を豊富にする⁸⁾ことなどがあげられた。しかしこのことは、有機物を堆積させ、スコアの低い底生動物を住みつかせることにもなる⁸⁾点に注意を払っておく必要がある。

ASPT値については、下流域の清滝橋を除いて冬期にわずかながら高くなる傾向にあった。水質環境が良好な地点（上流域）では、冬期にもっとも高く、春期にもっとも低くなる傾向にあった。このことは、スコアが高く設定されている生物種の出現頻度が冬期に高くなることによるものと考えられた。

3 理化学的検査結果及び底生動物相における相関について

理化学的検査結果及び底生動物相における相関行列をTable 4 に示した。

理化学的検査項目については、水温とDO及びTOC、流速とT-N、pHとDO及びT-N、ECとT-N、BODとSSとの間でそれぞれ相関がみられた。

総個体数については、pH、EC及びDOとの間で正の相関がみられた。特に、季節的変動の要因のひとつとしても取り扱われる⁸⁾DOは、底生動物にとって欠かすことができない生息環境要因であることを考慮すると、DOの値が高くなる冬期において(Table 2)、底生動物の出現頻度が高くなると考えられた。

ASPT値については、EC、BOD、SS及びTOCとの間で負の相関がみられた。特にECは-0.807と高い負の相関を示し、ECの値が低くなるに従ってASPT値が高くなる傾向にあった。ECの値は下流域になるほど高くなること(Table 2)、及びASPT値から判断すると、上流域から下流域になるに従って良好な水質環境の維持が難しくなっていくということを示唆していると考えられた。水質汚濁指標として重要であるBODも-0.545と負の相関を示し、BODの値が低くなるに従ってASPT値が高くなる傾向にあった。BODの値は下

流域になるほどわずかながら増加すること (Table 2), 及びASPT値から判断すると, 上流域から下流域になるに従って良好な水質環境の維持がやや難しく

なっていくということを示唆していると考えられた.
総科数については, 他の項目との相関は低かった.

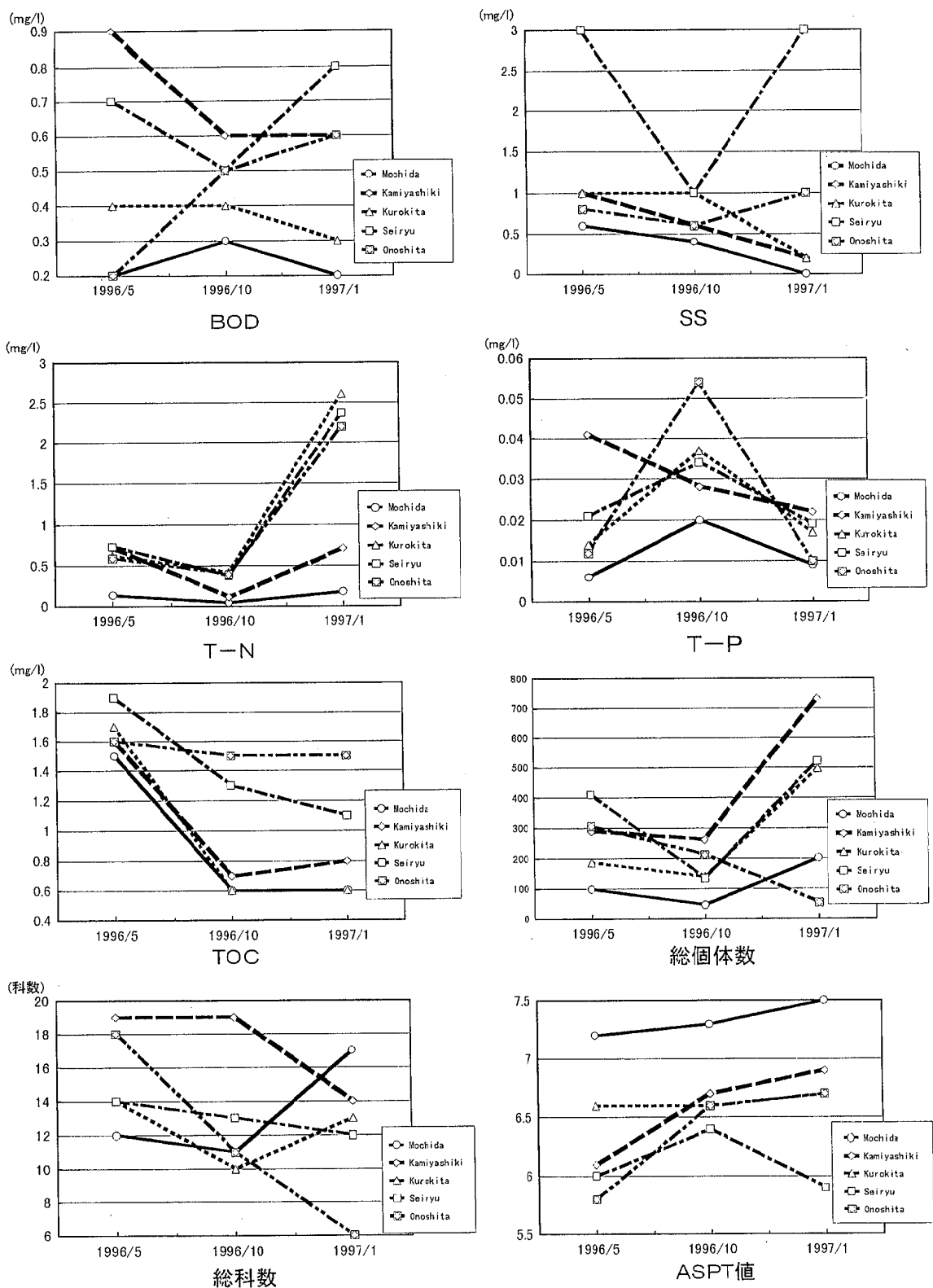


Fig. 3 Seasonal fluctuation of analytical results of water quality and funa of zoobenthos

Table 4 Procession of correlation coefficient

水 温	1.000														
水 深	0.434	1.000													
流 速	0.472	0.134	1.000												
p H	-0.497	-0.016	-0.181	1.000											
E C	0.112	0.275	-0.075	0.322	1.000										
D O	-0.692	-0.261	-0.199	0.776	-0.003	1.000									
BOD	0.186	0.172	0.237	0.420	0.444	0.272	1.000								
S S	0.246	0.220	-0.040	0.446	0.498	0.167	0.590	1.000							
T-N	-0.489	-0.117	-0.456	0.572	0.545	0.395	0.299	0.325	1.000						
T-P	0.471	0.337	0.766	0.039	0.206	-0.185	0.445	0.024	-0.226	1.000					
TOC	0.352	0.122	-0.016	-0.299	0.420	-0.457	0.286	0.474	0.001	0.022	1.000				
総個体数	-0.466	-0.195	-0.231	0.542	0.521	0.620	0.363	0.216	0.399	-0.005	-0.119	1.000			
総科数	0.073	-0.133	-0.003	-0.069	-0.156	-0.074	0.060	-0.122	-0.369	0.044	-0.005	-0.295	1.000		
ASPT値	-0.345	-0.283	-0.068	-0.251	-0.807	0.205	-0.545	-0.692	-0.338	-0.262	-0.555	-0.332	-0.202	1.000	
水温	水深	流速	pH	EC	DO	BOD	SS	T-N	T-P	TOC	総個体数	総科数	ASPT値		

n=15

相関係数 R: $R < -0.5$ or $R > 0.5$

ま と め

文 献

底生動物による清武川の水質評価を試みた結果、ASPT値は、年間を通して最上流域の持田では7.2～7.5、上屋敷橋では6.1～6.9、中流域の黒北では6.6～6.7、清滝橋では5.9～6.4、最下流域の尾ノ下では5.8～6.7であった。上流・中流域は比較的良好な水質環境にあるが、下流域はやや有機汚濁が懸念される水質環境にあるといえた。

季節的な変動については、総個体数は、春期及び秋期に比較して冬期にきわめて高くなる傾向にあった。ASPT値についても、春期及び秋期に比較して冬期にわずかながら高くなる傾向にあった。

相関関係については、総個体数とDOとの間で正の相関がみられ、前述した冬期に総個体数が高くなることについては、DOの増加が要因のひとつであると考えられた。ASPT値は、BODとの間で負の相関がみられ、BODの値が低くなるに従ってASPT値が高くなる傾向にあった。BODの値は下流域になるほどわずかながら増加すること、及びASPT値から判断すると、上流域から下流域になるに従って良好な水質環境の維持がやや難しくなっていくことを示唆していると考えられた。

- 1) 福井県環境センター編：福井県の大型底生動物調査報告書－第2報－、福井県環境センター、1994
- 2) 環境庁水質保全局：大型底生動物による河川水域環境評価のための調査マニュアル（案）、1992
- 3) 可児藤吉：溪流性昆虫の生態、日本動物誌、研究社、1944
- 4) JIS K 0102：工場排水試験方法、日本規格協会、1993
- 5) 河合禎次編集：日本産水生昆虫検索図説、東海大学出版会、1985
- 6) 津田松苗編：水生昆虫学、北隆館、1983
- 7) 大串龍一：水生昆虫の世界、東海大学出版会、191～193、1981
- 8) 緒方 健、山崎正敏、杉 泰昭：底生生物による河川環境評価値の季節的変動、全国公害研会誌、20、1、17～20、1995

流出油の識別について (第2報)

—油による汚濁事例とその識別分析—

富山典孝・河野謙一・関屋幸一・杉本貴之
安藤ゆかり^{*1}・河野和子・小畑聡子

Analyses to Identify the Source of Leakage Oils (The Second Report)

Water Pollution by Leakage Oils and Analysis Method Adopted
to Identify the Source of the Oils

Noritaka TOMIYAMA, Ken'ichi KOHNO, Kouichi SEKIYA, Takayuki SUGIMOTO,
Yukari ANDOU, Kazuko KAWANO, and Satoko KOBATA

Eight analyses were undertaken to identify sources of leakage oil, by which spring and river water pollution occurred, between April, 1996 and July, 1997.

The analytical method of identification had to be adopted for the sample property because the pollution samples collected differed according to the cases.

First of all, in order to distinguish petroleum oils in a sample from animal-vegetable oils in the same sample, Infra-red adsorption spectrometry was used for examining different sample-holders (disposable IR card or 50mm CaF₂ cell) according to the density of oil in the sample.

Next, in the case of high density of petroleum oils in a sample, GC-FID method was adopted to identify the source of the oils in the sample.

After that, in the case of low density of petroleum oils in a sample such as those that were oily-smelling, HS-GC/MS method was adopted to identify the source of the oils in the sample.

Key words : water pollution, leakage oil, IR, GC-FID, GC/MS

はじめに

当県では、油の流出による河川水や井水の汚濁事例が平成8年度末から例年になく多く発生し、汚染油の識別分析を実施した事例は、平成8年度に4件、平成9年4月から7月までに4件の計8件であった (Table 1)。

前報¹⁾では、流出油の識別法の習得も兼ねて、油状物の試料を識別することを目的に、赤外分光光度法で鉱物油と動植物油の識別を行う方法 (以下、「IR法」と略す。)、オートサンプラーを装備したヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析計で軽質油を識別する

方法 (以下、「HS-GC/MS法」と略す。)、及び溶媒抽出後、GC/MSにより中質油や重質油を識別する方法 (以下、「GC/MS法」と略す。)を検討し、事例No.1のオイルマット吸着油について、油種の識別結果を報告した。

実際の事例における識別分析にあたっては、個々の事例により分析の対象とする試料の性状が異なるため、その都度、分析法を検討し、選択しなければならない必要性が生じた。

分析の対象となる試料には、建設工事現場から湧出した油や浮上油のような高濃度の油状物、外観はきれいであるが油臭のある井水や、調査時に油膜がわずか

Table 1 The cases of water pollution by leakage oil (April, 1996~July, 1997)

No.	発生年月	汚濁事例の概要	分析対象	摘要した分析法等	識別結果
1	96/5	都市下水路沿場に流出油が浮遊	オイルマット吸着油	①IR法 ②溶媒抽出-GC/MS法	①鉱物油 ②潤滑油、絶縁油又は工作油等
2	96/12	ハウスボイラー用燃料タンクからA重油が流出し井水が汚染された。	油臭のある井水とない井水	①HS-GC/MS法 ②HS-GC/MS-SIM法 ③模擬汚染土壌からの水溶出試験	①油臭はA重油の成分 ②1,3,5-トリメチルベンゼンにより汚染の程度比較 ③汚染成分がA重油全成分ではなく一部の成分であることを確認
3	97/1	建設工事現場の地中から油状物質が湧出した。	油状物	①IR法 ②燃焼試験 ③GC-FID法 ④簡易比重測定	①鉱物油と推定 ②可燃油と判明 ③A重油又は軽油と類似 ④重油の比重と類似
4	97/3	河川水に油膜が認められた。	河川水	①ヘキサン抽出物質 ②IR法（四塩化炭素抽出物質）	油分定量
5	97/5	井水の油臭	油臭のある井水	HS-GC/MS法	ガリン臭
6	97/6	河川水に油が流出していた。	浮上油を含む河川水	GC-FID法	A重油
7	97/6	河川水に油膜が認められた。	河川水	①IR法 ②溶媒抽出-GC-FID法	不明
8	97/6	河川水に油膜が認められた。	河川水	①IR法 ②溶媒抽出-GC-FID法 ③溶媒抽出-GC/MS法	①鉱物油 ②不明 ③不明

に認められた程度の油臭のない河川水のような低濃度のものなどさまざまであった。

これらの分析法もまず高濃度と低濃度の場合では異なるセルを用い、IR法により鉱物油と動植物油との識別を実施した。

次に、高濃度の油状物に対しては、溶媒抽出後に、GC-FIDのクロマトパターンから識別する方法（以下、「GC-FID法」と略す。）を実施しクロマトパターンが明確でない場合に、補助的に比重測定などを実施してその識別を行った。

また、低濃度で油臭があるものに対しては、HS-GC/MS法で各種油の水溶性成分から識別を行い、油臭がなく現場で油膜がわずかに認められる程度のものは、溶媒抽出後に濃縮してGC-FID法又はGC/MS法により識別する方法を検討した。

なお、汚染の程度を比較する必要があったために、ノルマルヘキサン抽出物質²⁾や四塩化炭素抽出物質³⁾などの油分の定量やHS-GC/MS法でSIMにより主な汚染成分を定量する方法（以下、「HS-GC/MS-SIM法」と略す。）で汚染の程度比較も実施した。

これらの各事例における識別法についての検討結果を次の5項目に分け、以下に報告する。

- 1) 試料の採取方法等について（全事例）
- 2) 鉱物油と動植物油の識別分析（全事例）
- 3) 高濃度鉱物油の識別分析（事例3, 事例6）
- 4) 低濃度鉱物油の識別分析（事例2, 事例5, 事例7,

事例8）

5) 汚染の程度比較（事例2, 事例4）

実験方法

1 試料

依頼試料は、油流出等の通報があった保健所の職員が現地を調査し、現場で流出経路等から原因物質の特定が不可能である場合など、識別分析を実施する必要が認められた場合に採水し、当日又は翌日に当所に搬入、分析を実施したものであり、その採取方法及び検体の性状はさまざまであった（Table 2）。

2 試薬及びその調整法

1) 標準品

a) 鉱物油

ガソリン、灯油、軽油、4サイクルエンジンオイル：前報¹⁾と同じ。

A重油：昭和シェル（株）製

C重油：某社からの提供（メーカー名不明）

2サイクルエンジンオイル（2サイクルガソリンエンジン用）：（株）キョーリツ製

b) 動植物油

バターオイル：雪印乳業（株）製

サラダオイル：前報¹⁾と同じ。

c) パラフィン系炭化水素（鎖状 C12~C25）：東京化成工業（株）製

Table 2 Sampling Method and properties of sample

事例 No.	採取方法	採取容器	検体の概要
1	オイルマットにより吸着させた油分	ビニール袋	黒色の油状物の吸着，量多し
2	井水蛇口から採水 河川水（上水道取水口）の採水	剃容器	透明，油臭のあるもの及びないもの
3	油状物のみ採取	剃容器	黒色の油状物のみ
4	河川水の油膜を多く含むように採水	剃容器	透明で油臭なし
5	井水の蛇口から採水	剃容器	透明で油臭あり
6	油分が多量に浮遊する河川水を採水	剃容器	黒色の油状物の分離，浮上
7	河川水の油膜を多く含むように採水	剃容器	透明で油臭なし
8	河川水の油膜を多く採水	剃容器及び ガラス容器	透明で油臭なし

d) OCB（2，2，4-トリメチルペンタン・ヘキサデカン・ベンゼン）混合標準液 和光純薬工業(株)製

2) 試薬

四塩化炭素，無水硫酸ナトリウム：前報¹⁾と同じ。

フロリジルカラム：Waters社 Sep-Pak florisil

n-ヘキサン：和光純薬工業(株) n-ヘキサン300

ミネラルウォーター，塩化ナトリウム：前報¹⁾と同じ。

ジエチルエーテル：片山化学工業(株) 残留農薬試験用

アセトン：和光純薬工業(株) アセトン300

3 使用機器・機種及び使用条件

1) IR法

フーリエ変換赤外分光光度計：(株)島津製作所，FTIR-8200PC（以下，「FTIR」と略す。）

測定波長域：4000 cm^{-1} ～400 cm^{-1}

セル：住友スリーエム(株)，ディスポーサブルIRカード TYPE62IR(PTFE)（以下，「IRカード」と略す。）

(株)島津製作所 油分測定用50mm CaF_2 セル（以下，「 CaF_2 セル」と略す。）

2) HS-GC/MS法

ヘッドスペースオートサンプラー：パーキンエルマー社 HS40

使用条件は，前報と同じ。

GC/MS：(株)島津製作所 QP-5000

SCAN法 GCの条件：50℃（2 min）～10℃/min
～280℃（5 min）

MSの条件：前報¹⁾と同じ。

SIM法 GCの条件：50℃（2 min）～10℃/min
～280℃（5 min）

MSの条件：1，3，5-トリメチルベンゼンの

測定

m/z 定量 105，確認 119，120，70

3) GC-FID法

GC：(株)島津製作所 GC-9A

カラム：パックドカラム

3% SE-30 Uniport HP 60/80 3.2mm×2.1m

“ 60/80 3.0mm×1.6m

2% Silicone OV-1 Uniport HP 60/80

3.2mm×2.1m

キャピラリーカラム ULBON HR-1

0.53mm×15m，1 μm

昇温プログラム（エンジンオイル等）

150℃（0.5min）～7℃/min～280℃（5 min）

（その他の油）50℃（2 min）～7℃/min～280℃（5 min）

検出器：FID H_2 0.6kg/ cm^2 Air 0.5kg/ cm^2

4) 溶媒抽出-GC/MS法

GC/MS：(株)島津製作所 QP-5000

SCAN法 GCの条件：50℃（2 min）～10℃/min
～280℃（5 min）

MSの条件：前報¹⁾と同じ。

4 試料の前処理

1) IR-法

a) 高濃度試料又は標準品

そのままガラス棒でIRカードに塗布し測定用試料とした。

b) 低濃度試料の場合

試料を四塩化炭素で抽出し，無水硫酸ナトリウムで脱水後，測定用試料とした。

2) HS-GC/MS法

前報¹⁾と同じ。

3) 溶媒抽出-GC-FID(GC/MS)法

試料をn-ヘキサン又はジエチルエーテルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、測定用試料とした。

結果及び考察

1 試料の採取方法等について

ほとんどの試料がポリ容器を使用して採取していた(Table 2)。ある程度油分の濃度が濃い場合の事例では、その識別には支障がなかったが、低濃度試料の事例では濃度が低すぎて識別できないものもあり、容器に付着する油分が無視できないと考えられた。また、ポリ容器から溶出してくる成分も考えられるので、容器自体に溶媒を入れ洗浄できるガラス容器(ヘキサン等で洗浄したもの。)で採水するのが望ましい。

また、汚染された油分の識別のみを行うのか、汚染の程度を比較する必要があるのかなどその分析の目的に応じて、表層の油分のみを採取したり、試料が汚染度合いを代表するような採取方法をとらなければならない^{2, 4)}。なお、事例によっては採水日から搬入日まで日数がたったものもあり、水に多少溶解する低分子の炭化水素、脂肪酸類は比較的分解しやすく、また揮

発しやすいので、抽出溶媒を添加したり、硫酸又は塩酸によりpH 2以下にし、冷暗所で保存することも必要かと考えられた^{2, 4)}。

試料の採水は、分析者自身が採水するのが望ましいが、遠隔地であるなど時間的制約のため困難である。従って、実際の現場で調査・採水する保健所等行政機関へ試料の採取方法等の周知や識別分析のために必要な情報の提供等の連携が必要である。

2 鉱物油と動植物油の識別分析(IR法)

前報¹⁾では、赤外分光光度計を使用した識別を報告したが、事例2以降では、その後、導入されたFTIRを使用した。

測定に際しては、高濃度の場合にはIRカードで、低濃度の場合にはCaF₂セルを用いたが、赤外分光光度計と比較すると、FTIRの方が吸収スペクトルの分解能がよかった。

1) 高濃度油分の場合(IRカードによる分析)

a) 鉱物油と動植物油の識別

各種油の標準品をIRカードに塗布し、測定した結果(Fig. 1)、前報¹⁾と同様に動植物油及び鉱物油ともにCH₂, CH₃の伸縮振動に基づく2925cm⁻¹付近と、変角振動に基づく1460cm⁻¹付近の吸収が見られ、動植

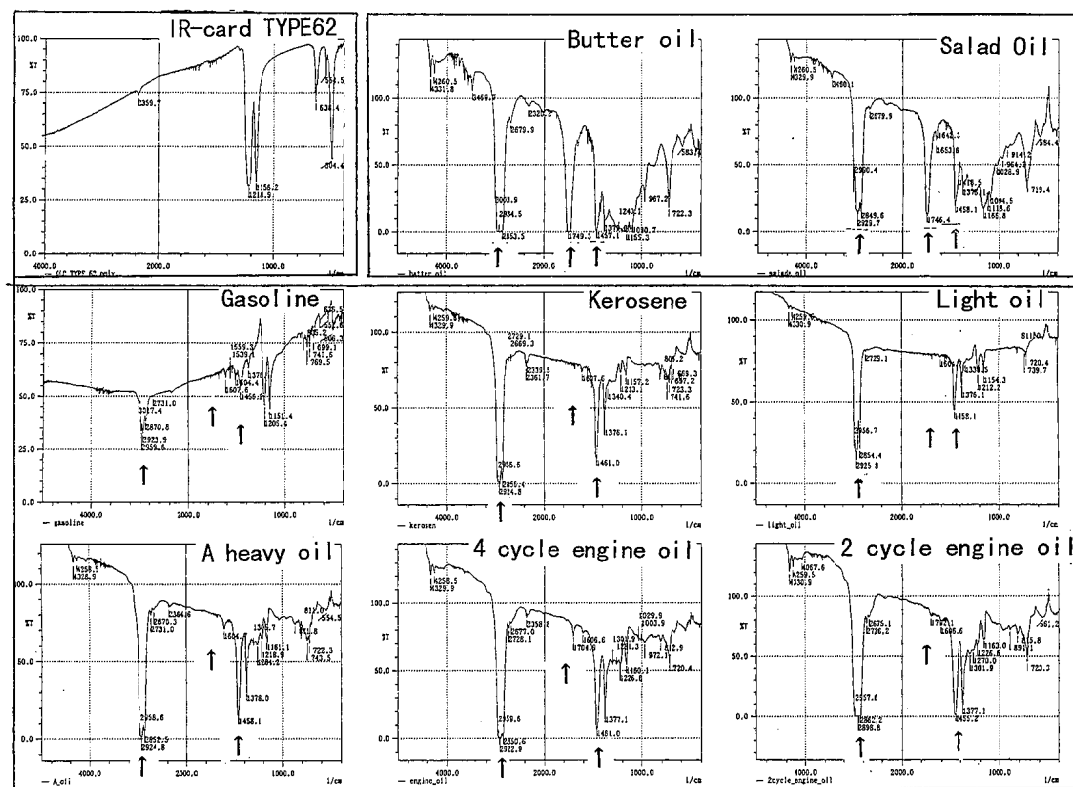


Fig. 1 Infrared absorption spectrum of animal-vegetable oils and petroleum oils

物油においてはこれらに加えC=Oの伸縮振動に基づく 1750cm^{-1} 付近の吸収が認められた。従って、前報と同様に 1750cm^{-1} 付近での吸収の違いから鉱物油と動植物油との識別が可能であった。

しかしながら、分解能が向上したにも係わらず各種鉱物油の識別ができるような特徴的な吸収パターンは見い出せなかった。

なお、使用したIRカードは、油状物などには、前処理が不要であるため便利ではあるが、ガソリンの場合は、測定している間に吸収スペクトルが減少する傾向が見られ、揮発性の高いものには適さなかった。

b) 試料の識別結果

事例No. 3の建設工事現場から油状物が湧出した場合の試料は、直接IRカードに塗布し、測定を行った結果(Fig. 2), 2925cm^{-1} 付近と 1460cm^{-1} 付近の吸収があり、 1750cm^{-1} 付近での吸収がなかったため、鉱物油と推定した。

2) 低濃度油分の場合(CaF_2 セルによる分析)

事例No. 4, 7, 8における河川水の表面に油膜が認められる程度の試料や事例5におけるわずかに油臭がする程度の井水のような低濃度の油分を含む試料の場合、四塩化炭素抽出液をIRカードや数mm単位のKBrセルで測定した場合、そのスペクトルパターンを取るには感度が足りなかった。

そこで、セル幅が広く 1000cm^{-1} から 4000cm^{-1} までにはほとんど吸収帯のない(Fig. 3) 50mm幅の CaF_2 セルを用い、その識別を検討した。

a) 鉱物油と動植物油の識別

異なる低濃度のA重油とサラダオイルの四塩化炭素溶液を用い吸収スペクトルを測定した結果(Fig. 3, 4), 高濃度の場合と同様に 1750cm^{-1} 付近の吸収があるか否かで識別が可能であった。

そこで、識別下限値を検討するため、A重油とサラダオイルのそれぞれ0~20mg/lの四塩化炭素溶液を調製し、 CaF_2 セルを用いて測定した結果(Fig. 3, 4), サラダオイルの 1750cm^{-1} 付近の吸収スペクトルは 2925cm^{-1} 付近の吸収スペクトルと比較し、ピーク形状が明確でないため、識別下限値はこのピークの検出下限に左右された。

従って、IR測定に使用する四塩化炭素抽出液のレベルで約10mg/lの濃度までがその識別下限値と推定された。

実際の事例では、汚染油の種類が明らかにならないと、その油種の標準液が調製できないので、代わりに、OCB混合標準液を使用して試料の油分濃度がこの識別下限値以上であるかの判断を行った。

なお、界面活性剤が多量に存在するような試料の場合には、その影響⁵⁾を考慮する必要がある。

b) 試料の識別結果

事例No. 4, 7, 8の測定の結果(Fig. 5), 事例7では試料の 2925cm^{-1} 付近の吸収スペクトルをOCB混合標準液10mg OCB/lと比較すると、その濃度が5 mg OCB/l程度の識別下限値以下であり識別不可能と判断された。

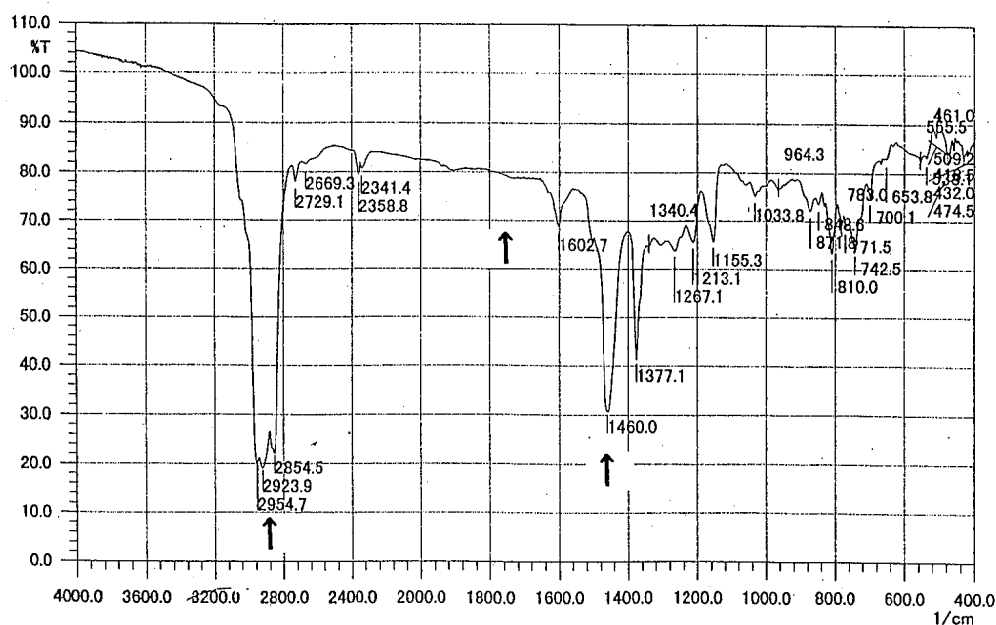


Fig. 2 Infrared absorption spectrum of No. 3 sample

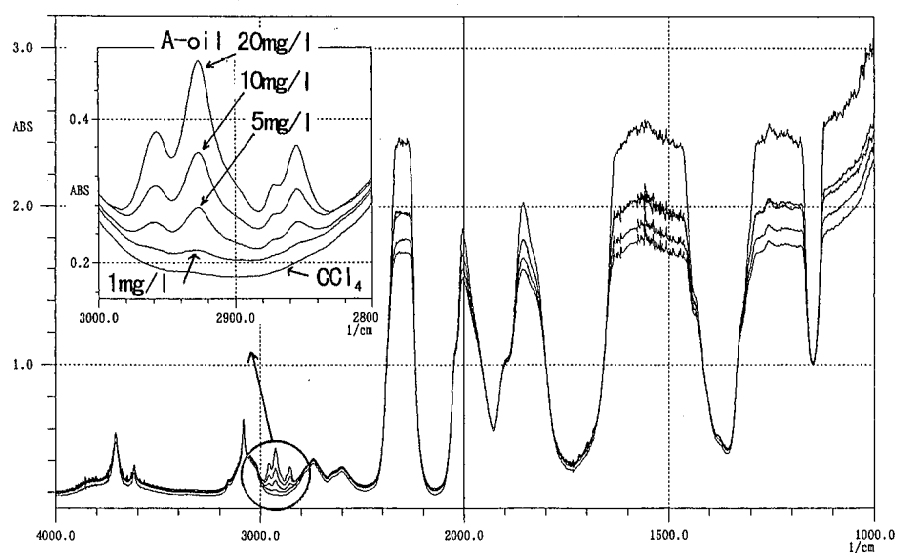
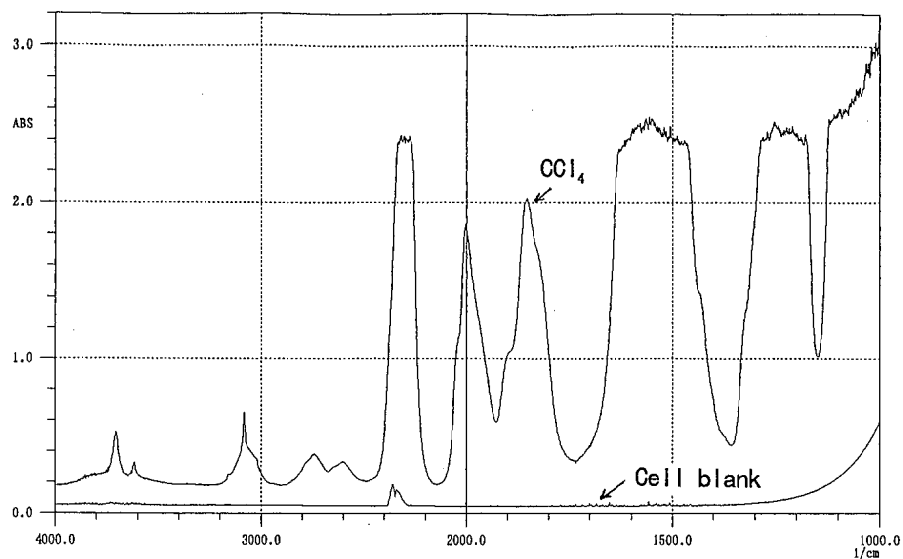


Fig. 3 Infrared absorption spectrum of A heavy oil

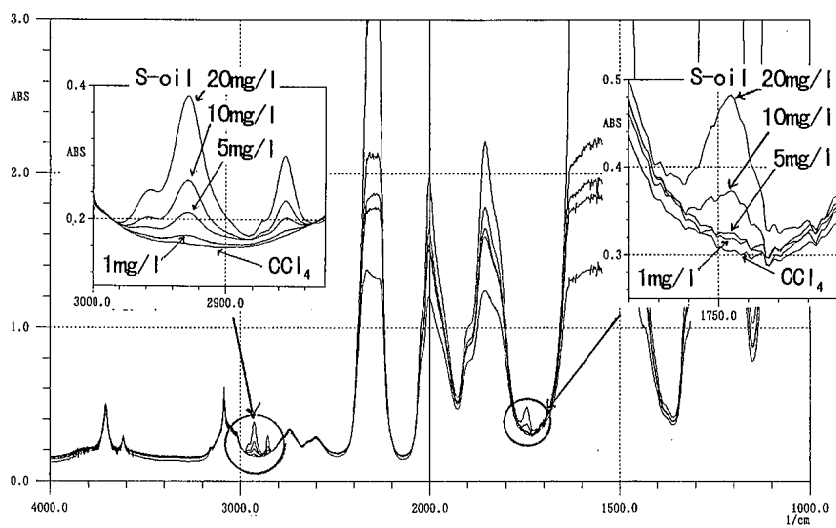


Fig. 4 Infrared absorption spectrum of Salad oil

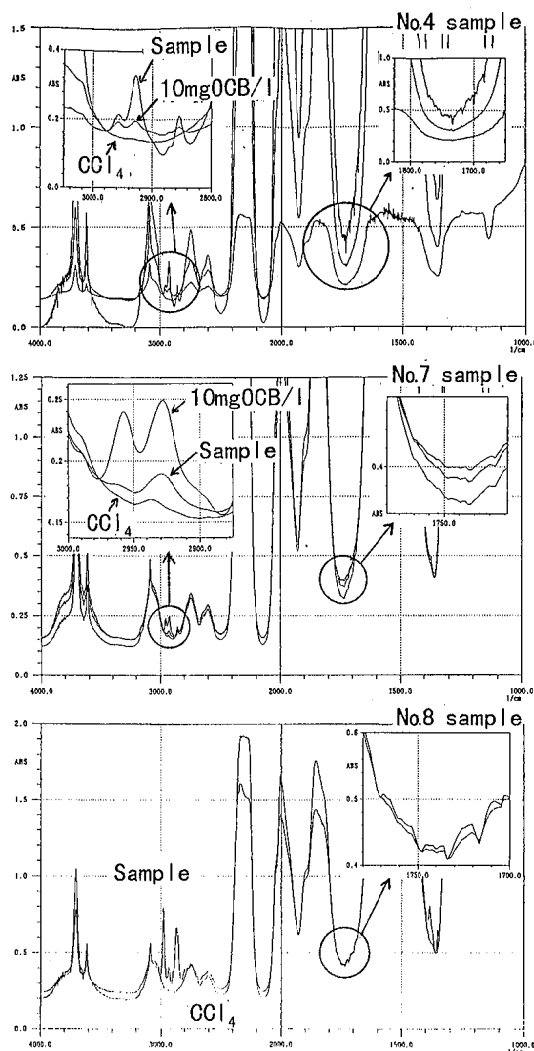


Fig. 5 Infrared absorption spectrum of No. 4, No. 7, and No. 8 sample

事例4と事例8はその濃度が10mgOCB/l以上あり、かつ、 1750cm^{-1} 付近の吸収がなかったので鉱物油と推定された。

3) 鉱物油と動植物油の混合物の識別

今回の試料では、両者の混合物らしき試料はなかったが、その識別を行うには、極性物質である動植物油を除去して 2925cm^{-1} 付近の吸収があるか否かで判断をする必要がある⁵⁾。

そこで、鉱物油としてA重油、動植物油としてサラダオイルを使用し、それぞれの単体及び混合液の四塩化炭素溶液をフロリジルカラムに通し、その処理を行う前後での 1750cm^{-1} 付近と 2925cm^{-1} 付近の吸収スペクトルの変化を測定した結果(Fig. 6, Table 3), サラダオイルが混在しているものは、フロリジル処理によって 1750cm^{-1} 付近の吸収スペクトルが消失し、かつ、その濃度に相当する 2925cm^{-1} 付近の吸収スペクトルのピーク高が減少したが、A重油に相当する 2925cm^{-1} 付近の吸収スペクトルの変化はなかった。

このようにして、フロリジルカラム処理により混合物か否かの推定ができることを確認した。

なお、使用したフロリジルカラムの極性物質に対する吸着可能量については、検討していないが、濃度の高い試料でも、20mgOCB/l程度に希釈すれば、この方法により識別できると考えられた。

3 高濃度鉱物油の識別分析(GC-FID法)

油状物や油水が完全に分離しているような高濃度の試料の場合、油そのものをヘキサン溶液としてGC-FID法による識別を行った。

1) 各種鉱物油のGC-FIDパターン

各種鉱物油(ガソリン、灯油、軽油、A重油、2サイクルエンジンオイル、4サイクルエンジンオイル)のGC-FIDによるパターンを測定した結果(Fig. 7), ガソリンでは、ベンゼン、トルエン、キシレン及びトリメチルベンゼン等と推定されるピークが保持時間の早い段階で検出され、灯油、軽油及びA重油ではその主要構成成分であるn-パラフィンのピークがそれぞれ特徴的に検出された。

Table 3 The variation of IR spectrum by treatment with florisil column

No.	A 重油 の 濃度 mg / l	サラダオイルの濃度 mg / l	フロリジル処理	2925cm^{-1} 付近 の 吸 収 ピーク 高 さ mm	1750cm^{-1} 付近 の 吸 収 ピーク 高 さ mm
1	20	0	未 処 理	32	0
			処 理 後	30	0
2	20	20	未 処 理	61	31
			処 理 後	30	0
3	0	20	未 処 理	29	31
			処 理 後	3	0

また、4サイクルエンジンオイルでは保持時間の遅いところにベースの山ができ、潤滑油は、シクロパラフィンの集合体で炭素数が多いため、個々のピークにならずぎざぎざした山になったと考えられた⁶⁾。

2サイクルエンジンオイルではC10付近からC15付近までのn-パラフィンのピークと4サイクルエンジンオイルと似た保持時間の遅いところにベースの山ができ、灯油と4サイクルエンジンオイルとの混合物のようなパターンとなった。

なお、GC-FID法での識別には、1000mg/l程度の濃度が必要であり、高濃度の油分の識別にしか使用できなかった。

2) 試料の識別結果

a) 試料中に浮上分離した油分

事例6の河川水中に油分が完全に分離し浮上していた試料は、n-ヘキサンで抽出して希釈後、GC-FID法で分析し、n-パラフィンの検出パターンを標準液と比較することによって識別した結果(Fig. 8)，原因箇所と推定された上流にあった重油タンクから採取したA重油のパターンと類似していた。

b) 湧出した油状物

事例3の建設工事現場から油状物が湧出した事例では、外見上は黒く、油本体そのものと考えられたが、GC-FID法で分析してみると軽油かA重油の変質したものであろうと推定された(Fig. 9)。

そこで、まず簡易な燃焼試験を実施し、燃焼したので、潤滑油ではないと推定され、次に各種油の比重が異なることから、簡易な比重測定を実施した結果、A重油の比重に近かったので、A重油に類似したものと推定した。

c) オイルマット吸着油

事例1のオイルマット吸着油のヘキサン抽出液を、GC-FID法で分析した結果(Fig. 10)，保持時間の後半でベースラインに山ができるパターンとなり、4サイクルエンジンオイルのパターンと類似しており、前報で潤滑油、絶縁油又は、工作油等と推定した結果を裏付けるようなデータが得られた。

4 低濃度鉱物油の識別分析(HS-GC/MS法、溶媒抽出-濃縮-GC-FID法及び同GC/MS法)

1) 透明で油臭のする程度の試料の識別

油分の浮上分離もなく、透明で油臭のするような低濃度の試料の場合、その水溶性成分に着目し、HS-GC/MS法で識別を行った。

a) 各種鉱物油の水溶性成分のHS-GC/MS分析

水溶性成分から油種の識別を行う方法は、ガソリン、灯油、軽油、及びA重油についてパージトラップ-GC/MS法で識別する方法⁷⁾や海水中への軽質油の溶解成分についてヘッドスペース法及び吸着法によるGC-FID法で識別する方法⁸⁾が検討されている。

そこで、水溶性成分をHS-GC/MS法で分析し、汚染油を識別できないか試みた。井水を想定し、ミネラルウォーター1Lを6本のガラスビンに入れ、ガソリン、灯油、軽油、A重油、2サイクルエンジンオイル、及び4サイクルエンジンオイルをそれぞれ1ml添加、1時間緩やかに振とう後、油水を分離させるため20時間放置し、各種油の模擬汚染水を調製した。

その中間層を採水して10倍に希釈後、HS-GC/MS法で測定、各ピークの同定を行い、各種油の測定結果を比較したところ(Fig. 11)，4サイクルエンジンオイルの場合、模擬汚染水は少し濁っていたにも係わらず、何も検出されなかった。

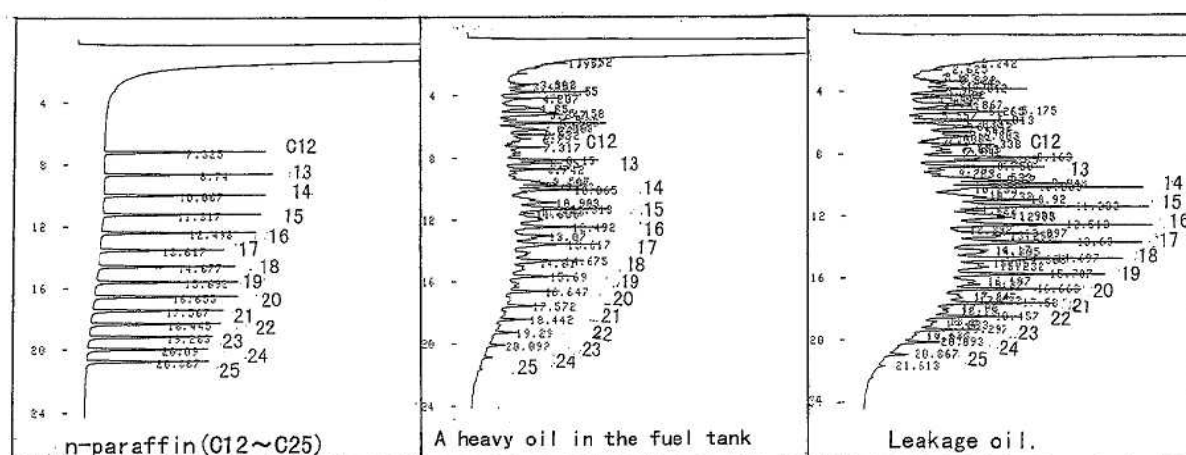


Fig. 8 GC-FID chromatograms of No. 6 sample

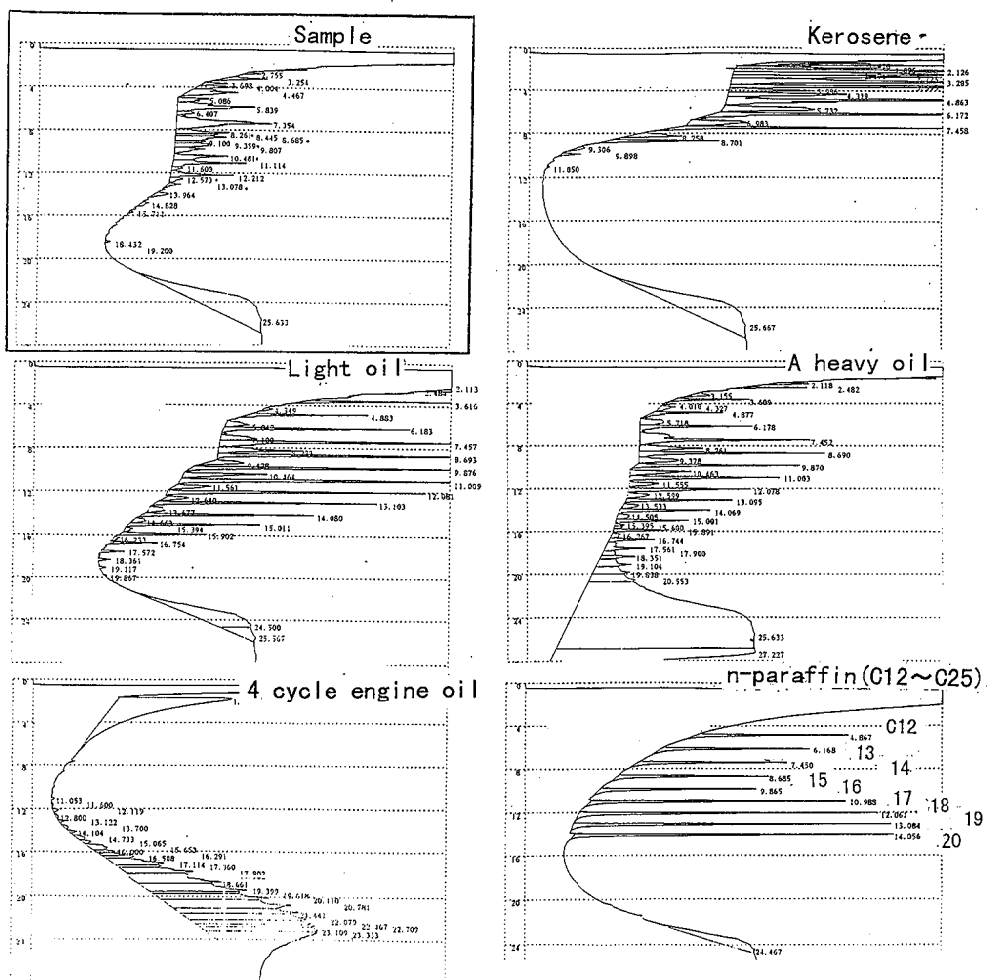


Fig. 9 GC-FID chromatograms of No. 3 sample and variety oils

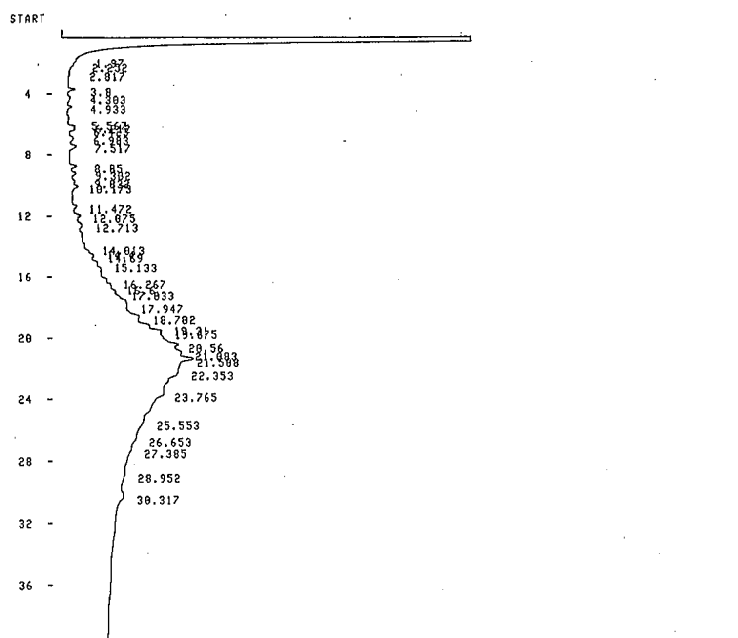


Fig. 10 GC-FID chromatograms of No. 1 sample

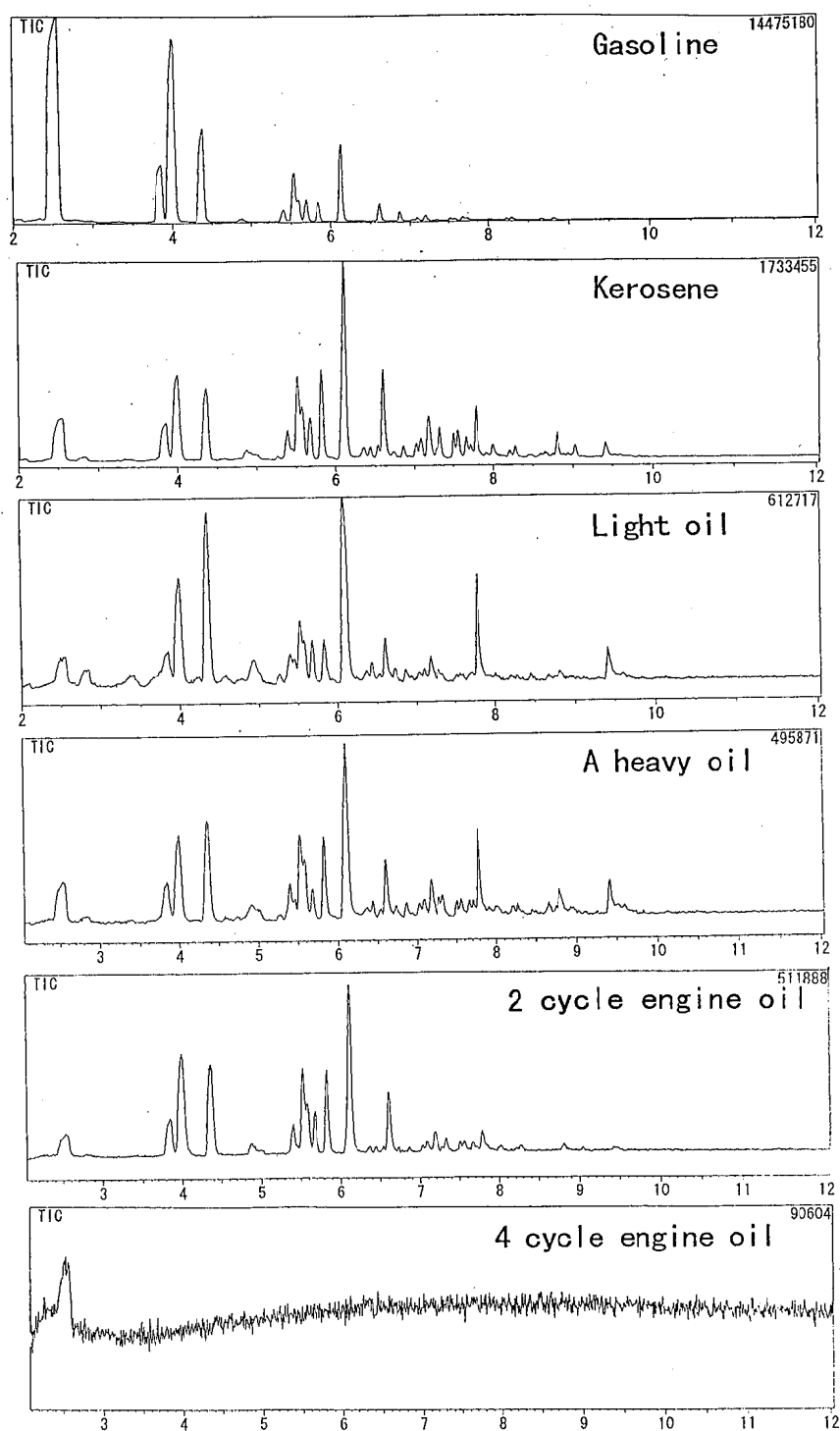


Fig. 11 HS-GC-MS chromatograms of variety oils in water

その他の油の場合、保持時間の前半で、トルエン、キシレン及びトリメチルベンゼンなどが同様に検出され、後半では各油で若干異なるピークパターンを示した。

山中ら⁷⁾のパージトラップ-GC/MS法では、A重油

等はナフタレン環を有する化合物が検出されていたが、今回は、検出されなかった。

これは、パージトラップ法の方が試料中の成分を強制的に揮発するので、ある程度高沸点成分もヘッドスペース法よりはっきりと検出しやすいためか、又は

模擬汚染水の調製条件により溶解成分の濃度等が異なるのではないかと考えられた。

後者は、ミネラルウォーター100mlにA重油1 μ lを添加し、振とう後に数十分間放置して前述の調製条件と異なったものを測定した結果(Fig. 14)、後半のピークがより検出されたことからそう考えられた。

いずれにしても、今回行った実験からは、ガソリンと他の4種の油との区別は明確であるが、灯油、軽油、A重油及び2サイクルエンジンオイルの区別は困難であった。

中でも、2サイクルエンジンオイルは、前項のGC

-FID法で灯油等と4サイクルエンジンオイルの混合物のようなものと述べたが、HS-GC/MS法で識別する場合、揮発成分のみの分析であるため灯油等との区別が付きにくいので注意が必要である。

また、ガソリン、灯油、軽油及びA重油における各模擬汚染水の間水約300mlを三角フラスコにとり $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ にエアコンで調製した部屋に放置し、42時間後のパターンと比較した結果(Fig. 12)、どの油も各成分ピークの減少率はほぼ同様であり、ある程度、汚染からの時間経過があってもその検出ピークパターンは同一であることが認められた。

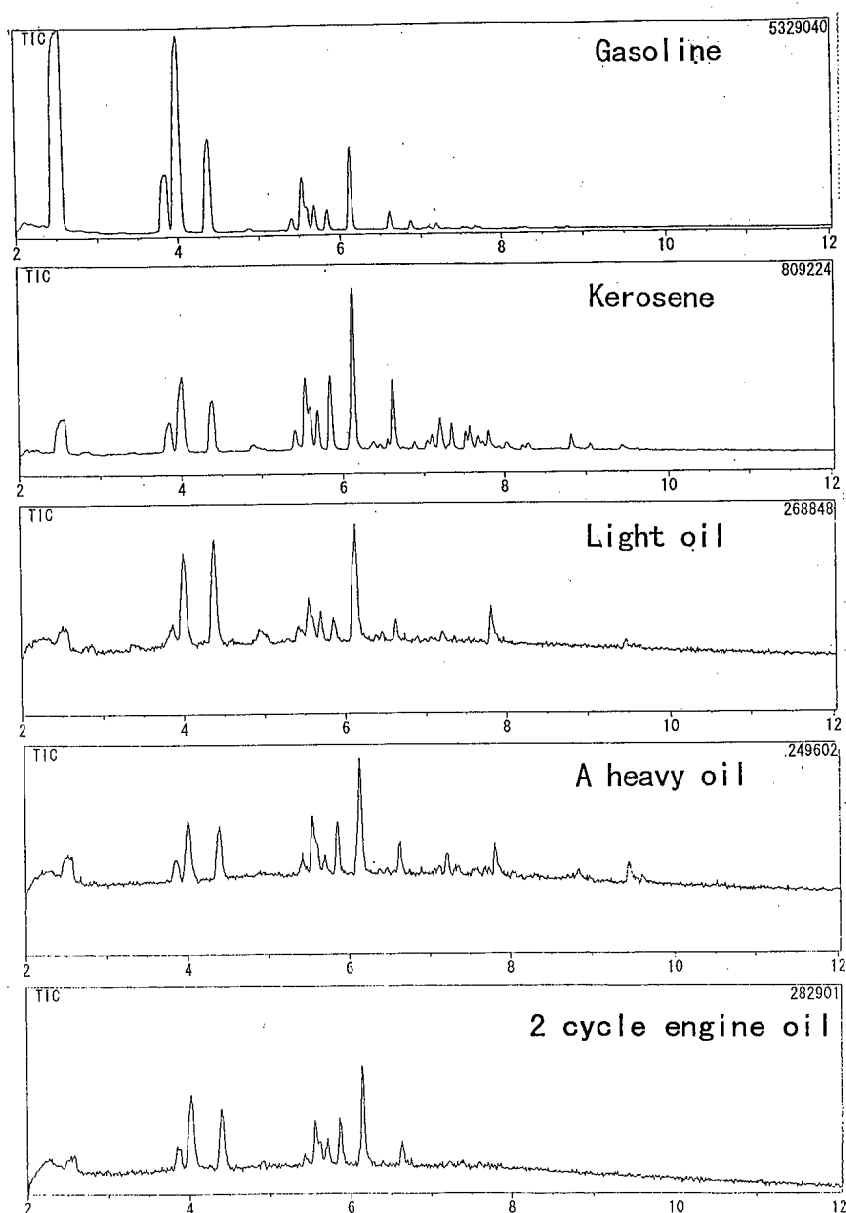


Fig. 12 HS-GC-MS chromatograms of variety oils in water after keeping for 42 hours at $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ room temperature

b) 試料の測定結果

ア) 油臭のする井水の場合

事例5の原因不明の油臭がする井水の場合に、HS-GC/MS法により分析した結果(Fig. 13), トリメチ

ルベンゼンやエチルメチルベンゼンが検出された以降の保持時間にピークが検出されなかったのでガソリン臭ではないかと推定された。

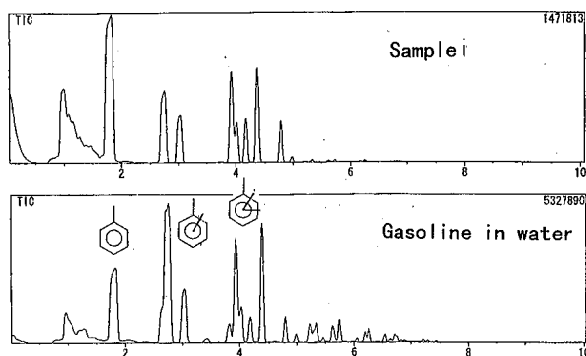


Fig. 13 HS-GC-MS chromatograms of No. 5 sample

イ) A重油に汚染された油臭のする井水の場合

事例2の場合、現場の調査結果から近くのハウスボイラー用燃料タンクからA重油が漏れ、土壤に浸透、降雨により井水が汚染されたと推定された。試料は、油膜等がなく比較的きれいではあるが、油臭がしていたものも含まれていた。

従って、まず、HS-GC/MS法を使用して汚染された井水の臭いがA重油の成分と一致するか否かを検討した。

A重油1 μ lをミネラルウォーター100mlに添加し、振とう後しばらく放置した溶液の中間水と試料の汚染井水とをHS-GC/MS-SCAN法で分析し、各ピークの同定を行った結果(Fig. 14)を比較検討した。

汚染井戸の各ピークは、トリメチルベンゼンやエチルメチルベンゼンが検出された以降の保持時間にA重油の水溶性成分と一致したピークが検出され、油臭はA重油により汚染されたのが原因と推定された。

次に、汚染井水から検出された各ピークがA重油の水溶性成分の一部であったのは、土壤への吸着等が要因ではないかと考えられた。そこで、土壤に吸着したA重油がどのように溶出してくるのかを検討した。

まず、土壤を当所に隣接した畑から採取し、風乾後、2mmメッシュのフルイをかけ、カラム(径10mm, 長さ180mm)に充填、アセトンとn-ヘキサンで洗浄後、A重油を約1ml滴下し土壤に吸着させ1日放置した。

次に、カラムにミネラルウォーターを通水し、初流分から10mlを1分画として同様に第4分画まで採取して、HS-GC/MS-SCAN法で同定を行った結果

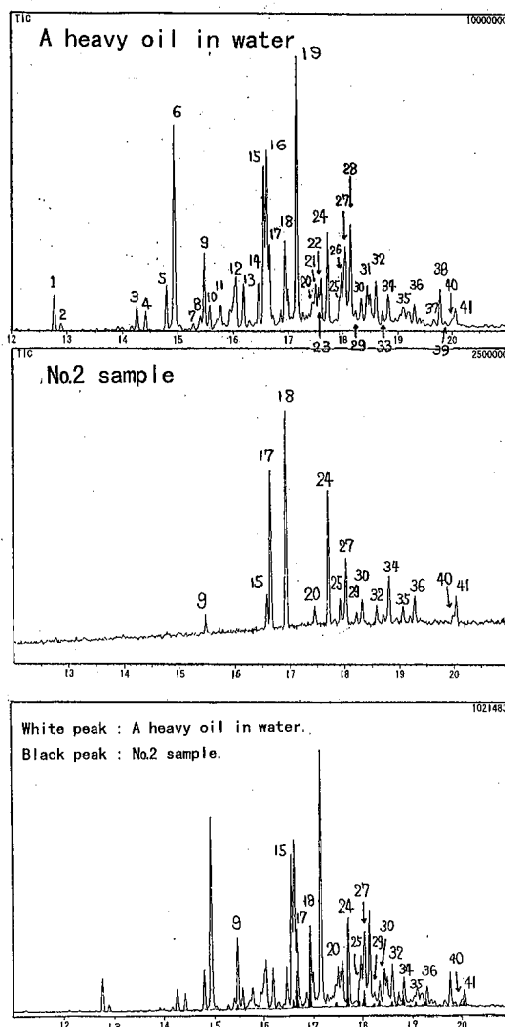


Fig. 14 Comparison of HS-GC-MS chromatograms of A heavy oil in water and No. 2 sample

(Fig. 15), ベンゼン, トルエン, キシレンなどが溶出されて来たが, ベンゼンのピークは第2分画で最大に, トルエンは後の分画になるに従って次第に大きくなり, エチルベンゼン及びキシレンは第3分画から溶出し始め次の分画ではさらに大きくなった。

このように土壤に吸着されたA重油から溶出してくる成分は, A重油を水と接触させた場合の溶出成分とは異なる溶出パターンをとるのではないかと示唆され, 土壤に吸着した油の溶出による汚染事例では, この点を考慮し, 識別を行う必要があると考えられた。

2) 油臭がなく油膜が認められた程度の試料の識別

事例7や事例8のように河川に油膜が認められた程度の低濃度の場合, 溶媒抽出-GC-FID法では, 感

度不足のため特徴的なパターンが得られなかった。そこで, 濃縮することを考え, 油分が濃縮により揮散しないかを検討し, 事例8では, ジエチルエーテルで抽出・濃縮してGC/MS-SCANによる識別を行ったがジエチルエーテルによる不純物が検出される問題点があった。

a) 窒素ガス濃縮による揮散の検討

C12~C25までのn-パラフィン溶液20mg/lヘキサン溶液を10ml試験管に1ml入れ, 0.1% ジエチレングリコール/アセトン溶液(以下, 「DEG溶液」と略す。)0.5mlを添加したものとししないものを, それぞれヘキサンで10mlにし, 38℃に加温, 窒素ガス(圧力0.65kg/cm)で濃縮した。その際, 約0.5ml残したものと乾固させたものをn-ヘキサンで1mlに定容した溶液を調製した。

これらの調製液とn-パラフィン20mg/lヘキサン溶液をGC-FID法で分析し, それぞれのピーク高さから窒素ガス濃縮による揮散の程度を検討した。

その結果(Fig. 16)について, 各n-パラフィンピークを各液のC24のピーク高を1として, その相対高さで表わすと(Table 4), 乾固させた時間が長いほど低分子量の成分(C12~C16付近)ほど揮散してしまうことが認められ, 乾固させなければ, DEG溶液の添加の有無に係わらず揮散の程度はあまり変わらなかった。

次に, 同様に, 各種油の標準品(ガソリン, 灯油, 軽油, A重油)のヘキサン溶液について, 濃縮による揮散を測定したが(Fig. 17), DEG溶液の添加の有無に係わらず, どの油も大きな変化はなかった。

なお, DEG溶液の添加は, 保持時間の早い段階でGCクロマト上にピークが現れること, 及びその添加の有無によりクロマトパターンに大きな変化がないことから, 添加しなくても支障はないのではないかと考えられた。

抽出溶媒の選択については, 別に四塩化炭素溶液を調製し, 同様に濃縮し, 約0.5ml残しn-ヘキサンで1mlに定容し測定した結果(Fig. 16, Table 4), n-ヘキサンの時に比べると, 低分子量成分の揮散する程度がさらに大きかった。

四塩化炭素は, n-ヘキサンに比べ沸点が高く(四塩化炭素: 76.6℃, n-ヘキサン: 68.74℃)⁹⁾ 蒸気圧も低いと考えられ, 抽出溶媒の選択には, 沸点の低いものが望ましいと考えられた。

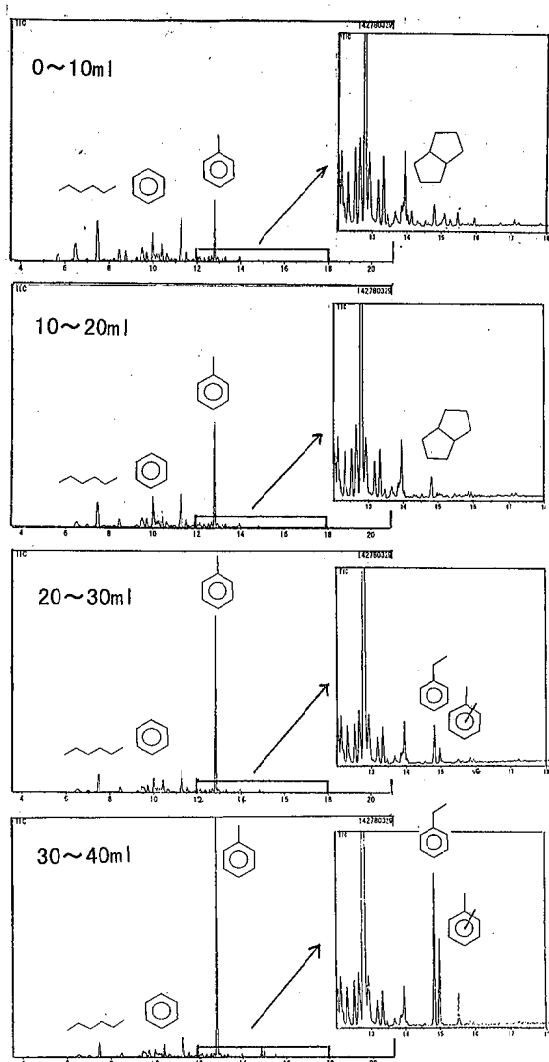


Fig. 15 The variation of HS-GC/MS chromatograms of elution test from soil adsorbed A heavy oil

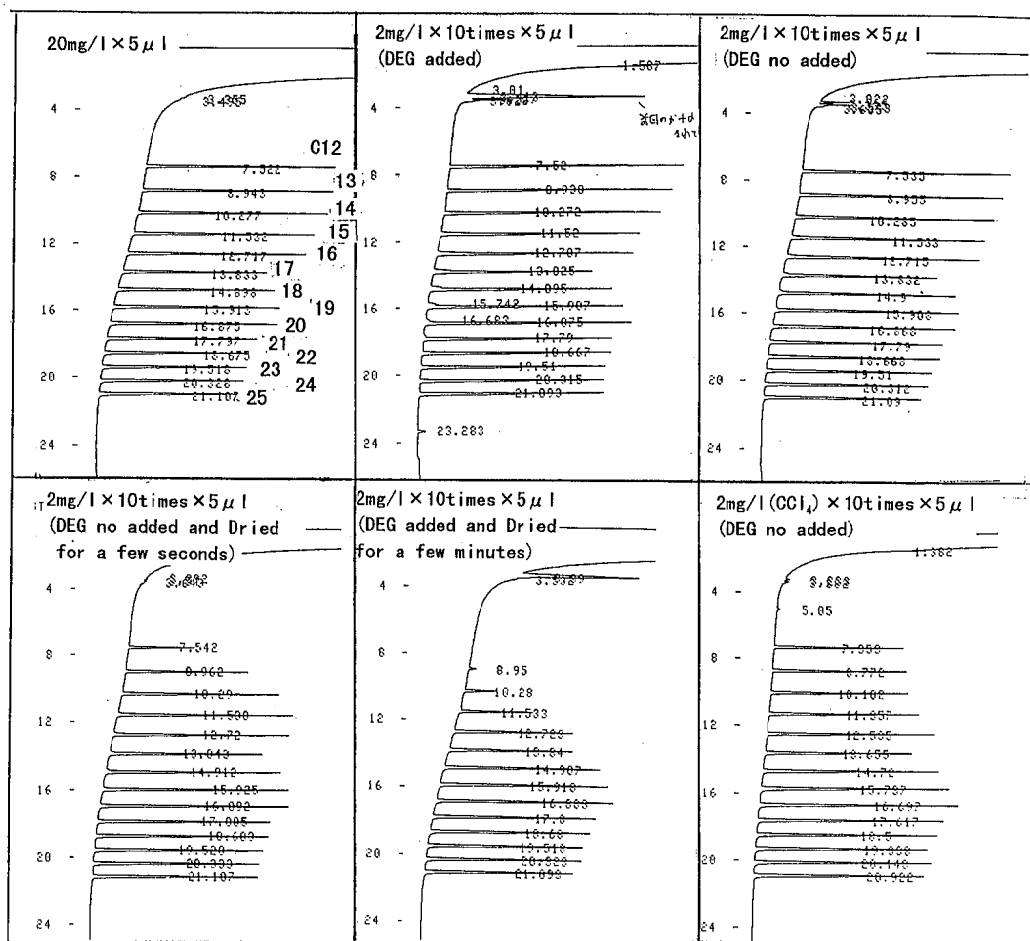


Fig. 16 The variation of GC-FID chromatograms of n-paraffin hydrocabons ($C_{12}\sim C_{25}$) by treatment of concentration with N_2 gas

Table 4 The variation of GC-FID chromatograms of paraffin hydrocarbons by treatment of concentration with N_2 gas

n-paraffin	20mg/l $\times 5\mu l$	2mg/l $\times 10$ 倍濃 縮 $\times 5\mu l$ (DEG無 添加)	2mg/l $\times 10$ 倍濃 縮 $\times 5\mu l$ (DEG添 加)	2mg/l $\times 10$ 倍濃 縮 $\times 5\mu l$ (DEG添 加, 乾固数秒)	2mg/l $\times 10$ 倍濃 縮 $\times 5\mu l$ (DEG添 加, 乾固数秒)	2mg/l(CCl_4) $\times$ 10倍濃縮 $\times 5\mu l$ (DEG無添加)
C12	1.12	1.03	1.03	0.32	0	0.58
C13	1.12	1.05	1.04	0.62	0.04	0.62
C14	1.12	1.07	1.05	0.82	0.18	0.66
C15	1.11	1.08	1.06	0.93	0.40	0.72
C16	1.12	1.09	1.07	1.01	0.70	0.83
C17	0.92	0.90	0.89	0.86	0.74	0.76
C18	1.04	1.02	1.02	1.00	0.94	0.93
C19	1.10	1.05	1.04	1.04	1.05	1.07
C20	1.13	1.08	1.07	1.08	1.09	1.07
C21	1.03	1.01	0.97	1.01	1.02	1.00
C22	1.03	1.02	0.99	1.02	1.02	1.01
C23	1.01	1.01	0.99	1.00	1.01	1.00
C24	1.01	1.00	0.99	1.00	1.00	1.00
C25	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

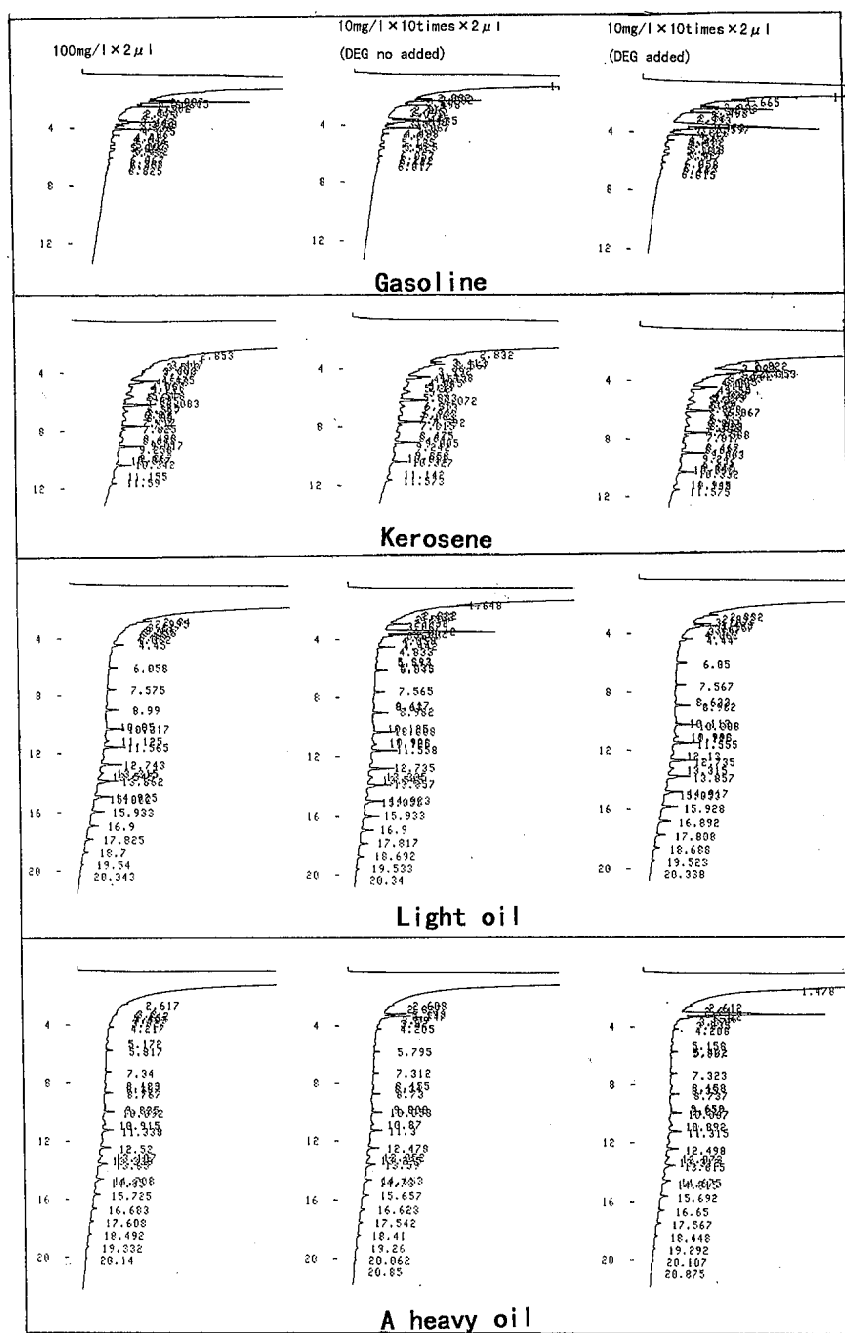


Fig. 17 The variation of GC-FID chromatograms of various oils by treatment of concentration with N_2 gas

b) ジエチルエーテル抽出・濃縮による問題点

事例8の河川水に油膜が認められた程度の低濃度試料では、前述の結果を踏まえ、抽出溶媒に沸点が低く飽和蒸気圧が高いジエチルエーテルを使用して抽出を行い、ロータリーエバポレーターで注意して約10mlまで濃縮後、窒素ガスでさらに濃縮し、最終的に500倍濃縮液を調製した。

この濃縮液をGC-FID法で分析すると、保持時間の早い段階で多数のピークが検出され(Fig. 18)、ガソリンのピークパターンと一見類似していたが異なっ

ていた。

そこで、この液をGC/MS-SCAN法で分析した結果(Fig. 19)、多数のエーテル化合物が同定され、使用したジエチルエーテル中の不純物の疑いが生じたので、抽出に使用した同じジエチルエーテルを同様にして500倍に濃縮し、ピークの同定を行った結果(Fig. 19)、多数のエーテル化合物のピークが検出され、ジエチルエーテルによる抽出・濃縮の場合、その不純物が無視できなかった。

2) HS-GC/MS-SCANによる代表的な汚染成分の定量

事例2のA重油に汚染された井水では、汚染源の近くに上水道の取水口があったため、周辺の汚染の程度を把握する必要があった。

この汚染事例ではA重油特有のn-パラフィンが検出されず、一般に行う各n-パラフィンのピークによ

る定量はできなかった。

そこで、採水された6個所の井水等について、A重油による水溶性成分の一種である1, 3, 5-トリメチルベンゼンをHS-GC/MS-SIM法で定量し、汚染の程度の比較を行った結果(Table 6), ごく近辺の井水のみが汚染されていたためと推定された。

Table 6 Quantitative analyses of 1,3,5-trimethyl benzene

No.	試料の種類	臭気(常温)	1, 3, 5-トリメチルベンゼン濃度 mg/l
1	井水	油臭	0.0055
2	井水	〃	0.00008
3	井水	無臭	0.00006
4	井水	無臭	<0.00003
5	井水	無臭	<0.00003
6	上水道取水口付近の 河川水	無臭	<0.00003

まとめ

流出油による各汚濁事例では、依頼された試料で汚染状況や試料の性状が異なり、それぞれに応じた分析方法をとる必要があった。各識別方法を検討し、各事例に摘要した結果について報告したが、その結果をまとめると、次のようになる。

1 鉱物油と動植物油の識別分析

高濃度の試料(油状物)を識別する場合には、IRカードを使用したIR法を実施し、 1750cm^{-1} 付近の吸収スペクトルから鉱物油と動植物油とを識別することができた。

低濃度の試料を識別する場合には、水溶性成分を四塩化炭素で抽出し、 CaF_2 セルを使用したIR法を実施し、同様に鉱物油と動植物油とを識別することができ、その識別下限値は四塩化炭素抽出液レベルで約 10mg/l であった。

さらに、鉱物油と動植物油の混合物であるかの確認には、 20mg/l 程度の四塩化炭素溶液を調製して、フロリジルカラム処理を行い、 1750cm^{-1} 付近の吸収スペクトルの消失に対して 2925cm^{-1} 付近の吸収スペクトルの変化から混合物であるか否かの識別ができることを確認した。

2 高濃度鉱物油の識別分析

高濃度鉱物油(油状物)の場合、n-ヘキサン溶液のGC-FID法によりn-パラフィンの検出パターンから識別する方法が可能であった。また、エンジンオイルなどの潤滑油は、検討した油の種類が少なかったが、重油等との区別はn-パラフィンのパターンが検出されず、保持時間の後半でベースラインが山になることからある程度識別できるのではないかと考えられた。

なお、土壌吸着等により変質した油分は、燃焼試験、比重測定等の補助的な識別分析を行い、その識別を実施する必要があった。

3 低濃度鉱物油の識別分析

低濃度鉱物油の場合、その水溶性成分をHS-GC/MS法により同定し識別するには、ガソリンとその他の油はある程度明確に識別できるが、それ以外の油では困難であった。しかしながら、どのようにして油に汚染されたかの条件により、その水溶性成分が異なることが考えられ、今後の検討が必要である。

また、事例によっては、汚染原因と考えられる油の水溶性成分と比較識別することも有効であった。

油臭がなく現場で油膜が認められた程度のものについては、低沸点溶媒により抽出・濃縮し、GC-FID法又はGC/MS法で識別する方法も検討したが、抽出

溶媒の選択等、今後検討すべき問題が残った。

4 汚染の程度比較

汚染の程度比較のために、油分の定量方法としてノルマルヘキサン抽出物質と四塩化炭素抽出物質を実施した。ノルマルヘキサン抽出物質は、低沸点の油分が測定されないことから、四塩化炭素抽出物質の方が汚染の程度を比較するには有効と考えられた。

また、汚染油の主な成分を定量することによりその比較を実施することも一つの方法として活用できると考えられた。

文 献

1) 富山典孝, 河野謙一, 関屋幸一, 杉本貴之, 安藤ゆかり: 流出油の識別について, 平成7年度宮崎県衛生環境研究所報, 127~136, 1995.

2) JIS K0102-1993, 24, ヘキサン抽出物質.

3) JIS K0102-1993, 25, 四塩化炭素抽出物質.

4) 日本海洋学会編: 海洋汚染調査法, 158-203, 恒星社厚生閣, 1979.

5) 日本化学会編: 炭化水素, 110-113, 丸善.

6) 吉村廣三: 海洋の油汚染と分析法, 環境と測定技術, 47-58, 1987.

7) 山中栄美, 萩尾一真, 松原英隆: 鉱物油の水溶性成分のGC/MS法による分析, 第22回九州衛生地方衛生公害技術協議会抄録, 23-24, 1996.

8) 海上保安庁総務部海上保安試験センター: 排出軽質油の識別手法の開発に関する研究, 昭和56年度環境保全研究成果報告, (96-1) - (96-25).

9) 志田正二: 化学辞典, 森北出版(株).

10) 渡部欣愛, 柏平伸幸, 桐田久和子, 牧野和夫: 明解 環境分析技術手法, 264-265, しらかば出版.

宮崎県衛生環境研究所年報（第 8 号）

平成 9 年 9 月

編集・発行 宮崎県衛生環境研究所

〒889-21

宮崎市学園木花台西 2 丁目 3 の 2

TEL 宮崎 (0985) 58-1410

FAX 宮崎 (0985) 58-0930

印刷所 有限会社 大淀総合印刷

〒880

宮崎市祇園 2 丁目 92 番 2

TEL 宮崎 (0985) 29-6655

FAX 宮崎 (0985) 29-6643
