

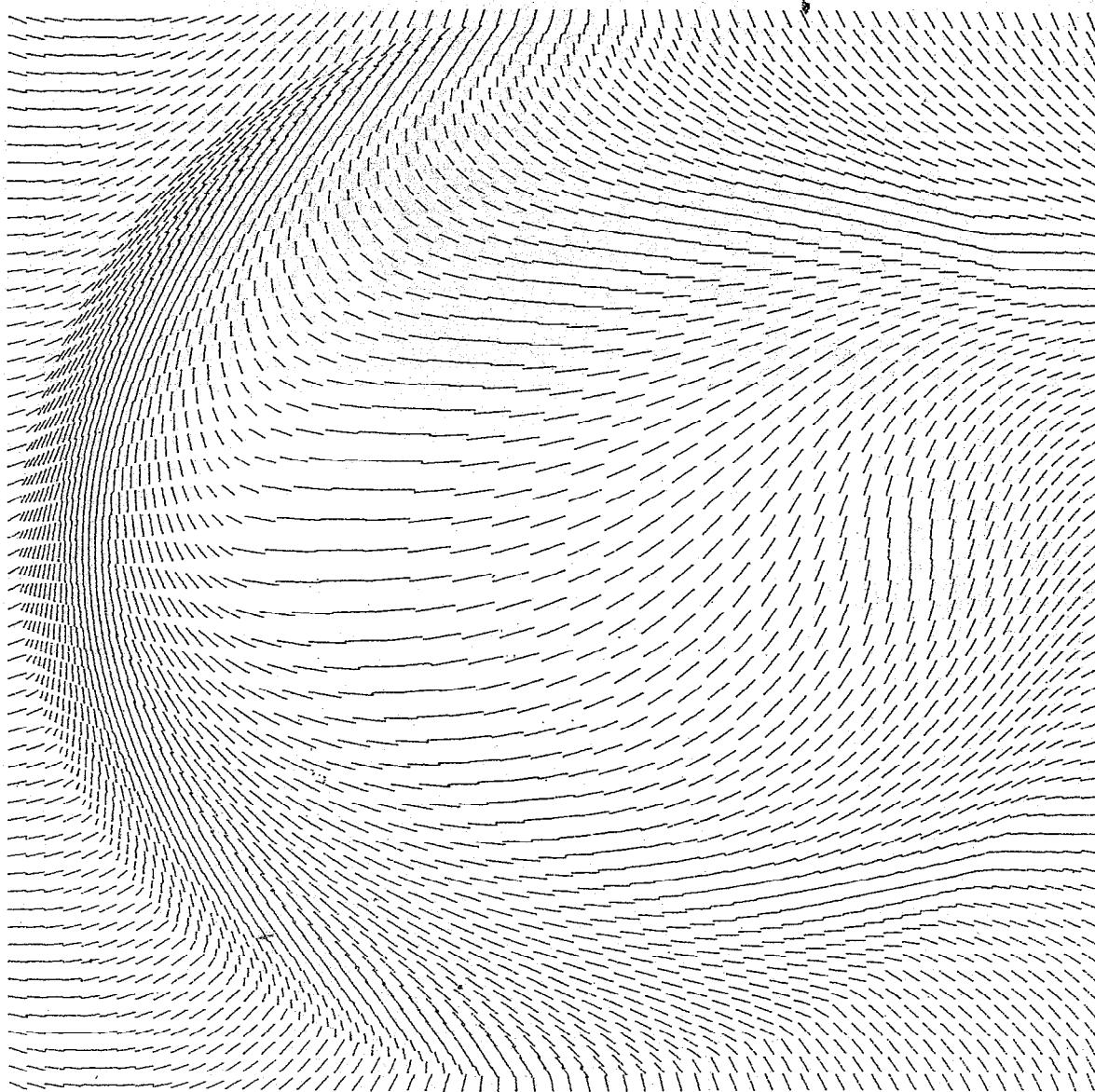
ISSN 0917-3331
CODEN:MEKNEH

宮崎県衛生環境研究所年報

第9号（平成9年度）

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

No. 9 (1997)



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	5
4 予算及び決算（平成9年度）	9
(1) 歳入予算及び決算額調	9
(2) 歳出決算額調	9
5 主要備品等	10
6 試験検査業務実績	14
7 各部事業概要	16
8 講師派遣及び研修指導	43
9 施設見学等	44
10 学会、研修、講習への参加	45
11 研究発表会	47
12 宮崎県衛生環境研究所職員名簿	48

II 誌上発表・学会発表

誌上発表・学会発表	51
-----------	----

III 調査研究

1 宮崎県において1993～1997年に発生した小児散発下痢症の原因菌の検索	57
2 宮崎県における <i>Salmonella</i> Corvallisの分離状況及び薬剤耐性について	61
3 宮崎県内で採取された <i>Leptotrombiculidium scutellare</i> (タテツツガムシ) からの <i>Orientia tsutsugamushi</i> の検出	65
4 宮崎県における <i>Orientia tsutsugamushi</i> の抗原型別恙虫病患者数の変動	69
5 宮崎県における1997年の感染症発生動向調査事業	75
6 固相抽出法を用いたHPLCによる茶浸出液中の残留農薬一斉分析法	81
7 宮崎県内における環境放射能調査（第10報）	87

8	宮崎県内における酸性雨調査	91
9	亜酸化窒素濃度調査結果（第2報）	97
10	魚毒性の高い農薬27種の一斉分析の検討	103
11	砒素による地下水汚染事例	117

II 誌上発表・学会発表

<誌上発表>

- ・吉野修司, 山本正悟, 川畠紀彦, 糸数清正^{*1}
急性出血性結膜炎におけるPCR-Stringent Microplate Hybridization法を用いたエンテロウイルス70の検出

感染症学雑誌 72 (2), 136-141, 1998

*¹沖縄県衛生環境研究所

急性出血性結膜炎(AHC)患者からのEnterovirus 70(EV70)の分離は困難である。このためエンテロウイルスに共通なプライマーを用いたRT-PCR法によるEV70の検出と、Stringent Microplate Hybridization(SMH)法による同ウイルスの型別について検討した。あわせて標準株 J 670 / 71と宮崎、沖縄の両県で流行したEV70をSMH法で比較し、さらにAHCの別の起因ウイルスであるCoxsackievirus A24 variant(CA24v)について標準株EH24 / 70と千葉、宮崎両県での流行株の比較をSMH法と交差中和試験で試みた。

1990年に宮崎県で流行したAHC患者の結膜ぬぐい液34件、1994年に沖縄県で流行したAHC患者の結膜ぬぐい液10件を用い、対照としてRD-18S細胞で増殖させたEV70の標準株を用いた。その結果、宮崎県で集められた結膜ぬぐい液34件中26件(76%)、沖縄県の10件中9件(90%)から得られたPCR産物はSMH法で全てEV70と型別され、この方法は分離困難なEV70の迅速検出に有用であると思われた。また、SMH法を用いた株間の比較は、約25年前に分離された標準株と現在の株をプローブとした場合にEV70、CA24vともに反応性に違いが生じ、ウイルスの変異を裏付ける結果となった。

- ・吉野修司, 山本正悟, 川畠紀彦

Caco- 2 細胞を用いたインフルエンザウイルスの分離
感染症学雑誌 72 (4), 347-351, 1998

インフルエンザウイルスの分離におけるヒト結腸腺癌由来細胞であるCaco- 2 細胞の有用性について検討した。

1996年～1997年の流行期に宮崎県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%)のインフルエンザウイルスが分離され、1991年～1997年の流行期にMDCK細胞で分離されたインフルエンザウイルスA型、B型の各亜株すべてがCaco- 2 細胞でも分離された。また、Caco- 2 細胞ではトリプシンを添加しない維持培地でインフ

ルエンザウイルスを分離できた。

Caco- 2 細胞はトリプシンを添加した培地を必要とせず、エンテロウイルス等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の正確な流行状況の把握に有用であると思われる。

- ・八木幸夫^{*1}, 山本正悟, 吉家清貴^{*2}, 野田伸一^{*3}

鹿児島県北部大隅地区におけるツツガムシ病の臨床的血清学的検討

感染症学雑誌, 71 (12), 1193-1198, 1997

*¹鹿児島県福山町医療法人三幸会八木クリニック

*²鹿児島大学医学部細菌学教室

*³鹿児島大学医学部医動物学教室

鹿児島県北部大隅地区のツツガムシ病患者を対象に、ツツガムシ病リケッチャ各株に対する血清抗体価の測定を行い、浸淫するリケッチャの血清型の検討を行った。34名の患者のうち19名(55.9%)がKawasaki株に、13名(38.2%)がKuroki株に最も高い抗体価を示した。また、2名(5.9%)の患者は最も高い抗体価を示す株を特定できず、このうち1名はGilliam株、Kato株及びKuroki株の4株に、他の1名はGilliam株とKawasaki株の2株に同程度の血清抗体価を示していた。この地区では、ツツガムシ病リケッチャはKawasaki型とKuroki型が分布し、Kawasaki型が優勢であることが示唆された。10病日以内の治療前の患者についてCRP、白血球数、血小板数、GOT、GPTおよびLDHを比較したが、Kawasaki型とKuroki型の両群の患者でいずれにも有意差は認められなかった。

- ・吉野修司, 山本正悟, 木添和博, 八木利喬, 川畠紀彦
感染症発生動向調査事業におけるCaco- 2 細胞を用いたインフルエンザウイルスの分離

病原微生物検出情報 Vol.19 No.8, 1998

Caco- 2 細胞はヒト結腸腺癌由来細胞で、エンテロウイルス等のウイルスに対し感受性が良いことが知られているが、インフルエンザウイルスA型、B型に対してもMDCK細胞と同等かそれ以上の感受性を示し、さらに、トリプシンを添加しない通常の維持培地を用いても力価の高いウイルスが得られることを確認した。さらに、平成9年度の宮崎県の感染症発生動向調査事業において分離検出されたウイルスは合計268株であるが、このうち24種類、250株(93.2%)のウイルスがCaco- 2 細胞で分離同定されており、分離さ

れたウイルスのうち、冬期にインフルエンザ様患者からECHO30が、麻疹ワクチン接種後肺炎とされた患者からインフルエンザA(H3)が、それぞれCaco-2細胞で分離されており、いずれも患者情報からMDCK細胞、B95a細胞だけを用いた場合には分離できなかったと思われる事例を経験した。

感染症発生動向調査事業では特定ウイルスの検出を目的としないため、感受性の広い細胞の使用が望まれる。この点、Caco-2細胞は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るため、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。

・川畠紀彦、吉野修司、浜田惠亮^{*1}

宮崎県住民における抗HTLV-1抗体の分布調査

宮崎県医師会雑誌、21：112-116、1997.

^{*1}県立宮崎病院小児科

宮崎県在住一般住民の抗Human T-lymphotropic virus I (HTLV-1) 抗体の保有状況調査を平成4年度にMT-2細胞を用いた間接蛍光抗体法を使用して実施した。総数3,254について調査を行い、当県での抗体保有率は12.6%であり、高いHTLV-1の浸淫状況が改めて確認できた。次に年齢別の抗体保有状況調査では、50歳代を境にして低年齢層で男女差のない比較的低く緩やかな増加を示す保有率の推移が見られたのに対して、高年齢層でも一定した低い保有率を持つ地域とそれとは対照的に加齢に伴い急激に保有率の高まる地域があることが判った。更に、抗体陽性者の抗体価調査から、抗体価の分布は年齢、性別群内で概ね均一であるが、高年齢層で低年齢層に比し高い値を取る者の割合が高いことも示された。以上の現象は、各世代での抗体保有率は出生コホートに依存するという考え方と矛盾するものではないと解釈されたが、高年齢層での女性優勢の要因や50歳代を境にした前後世代での保有率の差に影響した要因の検討が今後の問題点として残されている。また、住民間の抗体保有率については出生コホート効果のみでは十分な解釈は出来ず、複雑な要因が介在しているものと考えられた。

・福島成彦^{*1}、吉田精作^{*1}、堀伸二郎^{*1}、西宗高弘^{*2}、小町喜男^{*3}、牛尾房雄^{*4}、川井信子^{*5}、市橋彰厚^{*6}、今中雅章^{*7}、佐伯清子^{*8}、小野和則

ヒト糞便中の遊離胆汁酸の分析方法の検討

大阪府立公衆衛生研究所報、第35号、83-89、1997

^{*1}大阪府立公衆衛生研究所食品衛生部食品化学課、

^{*2}大阪府立公衆衛生研究所（現 武藏丘短期大学）、

^{*3}大阪府立公衆衛生研究所、^{*4}東京都立衛生研究所、

^{*5}大阪市立環境科学研究所、^{*6}尼崎市立衛生研究所（現 尼崎市美化環境局）、^{*7}岡山県環境保健センター、^{*8}山口県衛生公害研究センター（現 山口県宇部保健所）

不溶性、水溶性食物纖維の摂取による、ヒト糞便中遊離胆汁酸の影響を明らかにするために糞便中の遊離胆汁酸の定量法を検討した。本法は熱エタノール抽出後、PHP-LH20カラムクロマトグラフィーにより分画する、トータル胆汁酸の分析方法にシリカゲルカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップ操作を加えた。

その結果、中性脂溶性物質の除去操作を省略しても、夾杂物質の妨害が軽減され大量サンプルの分析が可能となった。

さらに、この方法により7分析機関において3回の精度管理を実施した結果、ガスクロマトグラフの検出器にECDを用いた場合の分析値は変動率が高かったが、FIDを用いた場合の変動率が低かったことから、本分析法には変動率が低いキャピラリーGC-FIDシステムが有効であることが判明した。

<学会発表>

・河野喜美子、山田 亨、八木利喬

抗酸菌検査について

第23回九州衛生公害技術協議会

(平成9年11月、鹿児島市)

抗酸菌を同定するにあたり、従来の性状試験法は、慣れない者にとっては、時間もかかり、かつ正確性に不安があったが、ハイブリダイゼーションの導入により短時間で正確に行うことができるようになった。当所に同定依頼された抗酸性染色陽性菌株34株（平成7年度7株、8年度24株、9年9月までの3株）をハイブリダイゼーション同定キット（DDHマイコバクテリア極東）で検査した結果、20株が同定された。すなわち、*M.tuberculosis* 5株、*M.intracellulare* 8株、*M.avium* 3株、*M.chelonae* 2株、*M.kansasii* 1株、および*M.fortuitum* 1株である。残りの14株は同定できず、本方法で同定可能な菌種（18菌種）以外の非病原性難歴性の抗酸菌と判定した。このことより、件数が少ないので正確なことは言えないが、検診で見つかる抗酸菌は多菌種にわたることが予想される。

・角板照貴^{*1}, 山本正悟

愛知県で分離された有毒フトゲツツガムシの性比について

*¹愛知医科大学寄生虫学教室

第50回日本衛生動物学会

(1998年4月23日～25日, 高知市)

愛知県小原村大倉で採集されたフトゲツツガムシから5コロニー(5/74)の*Orientia tsutsugamushi*保有コロニーを分離した。これらが保有するリケッチャはモノクローナル抗体を用いて同定した結果、Karp型と同定された。この有毒ツツガムシは雌が雄に優先して出現したため3代目の成虫を用いて雌雄の出現状況を調べた。この結果、国内の他の地域のフトゲツツガムシで見られるような雄の出現頻度より東南アジアの他の種で見られるような低い頻度であった。出現した4個体の雄はすべてリケッチャを保有していた。しかし4世代から雄の頻度が高くなり5世代目にはリケッチャが見られなくなった。

LotNo.	満腹落下数	成虫数	雌	雄	不明
8	142	92	92	0	0
11	123	104	100	3	1
20	140	87	85	1	1
25	93	52	52	0	0

・吉野修司, 山本正悟, 木添和博

Caco-2細胞を用いたインフルエンザウイルスの分離
全国衛生微生物技術協議会第19回研究会

(平成10年7月, 千葉市)

ヒト結腸腺癌由来細胞であるCaco-2細胞を用いたインフルエンザウイルス分離の有用性について
MDCK細胞を用いた場合との比較検討を行った。

1996年～1997年の流行期に宮崎県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%), 1997～1998年の流行期に集められた咽頭ぬぐい液128件のうちMDCK細胞で71株(55%), Caco-2細胞で76株(59%)のインフルエンザウイルスが分離され, 1991年～1997年の流行期にMDCK細胞で分離されたインフルエンザウイルスA型, B型の各亜株すべてがCaco-2細胞でも分離された。また, Caco-2細胞ではトリプシンを添加しない維持培地でインフルエンザウイルスを分離でき, 初代で分離できたインフルエンザウイルスのHA価の平均は $2^{6.8} \sim 2^{7.2}$ であった。

Caco-2細胞はトリプシンを添加した培地を必要

とせず, エンテロウイルス等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の正確な流行状況の把握に有用であると思われる。

・吉野修司, 山本正悟, 木添和博

Caco-2細胞を用いたインフルエンザウイルスの分離
第23回九州衛生公害技術協議会

(平成9年11月, 鹿児島市)

ウイルスの分離に関して, ヒト結腸腺癌由来細胞であるCaco-2細胞がインフルエンザウイルスに対してMDCK細胞と同等かそれ以上の感受性を示すこと, 過去にMDCK細胞で分離されたインフルエンザウイルスA型, B型の亜株に対しても良好な感受性を示すこと, トリプシンを添加しない通常の維持培地を用いてもMDCK細胞より力価の高いウイルスが得られることを確認し, Caco-2細胞がエンテロウイルス等だけでなくインフルエンザウイルスを分離同定するのにも有用な細胞であると見いだした。

・小坂妙子, 小野和則, 山本雄三, 武田 攻

HPLCによる残留農薬一斉分析法
第23回九州衛生公害技術協議会

(平成9年11月, 鹿児島市)

アセトニトリル抽出, 固相抽出カラムC18, SAX, PSA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。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, 不溶性物質の除去と共に水溶性物質や脂肪の除去をかねることができ, 良好的な精製効果が得られた。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。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%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。

・富山典孝, 河野謙一, 関屋幸一, 杉本貴之, 河野和子, 小畠聰子^{*1}

流出油による水質汚濁事例とその識別分析について
第24回環境保全・公害防止研究発表会

(平成9年10月, 沖縄県)

*¹現 県立延岡病院

昨年度末から当県内で多発した流出油による環境水

等の汚濁事例では、各事例で試料の性状に応じた分析法を検討し、適用しなければならなかった。

動植物油と鉱物油との識別は、油状物等の高濃度試料ではIRカードを用い、わずかに油臭がする程度の低濃度試料では、四塩化炭素抽出後、50mmCaF₂セルを用いてFTIR法により分析し、1750cm⁻¹付近での吸収の違いからその識別が可能であり、識別下限値は、四塩化炭素抽出液で約10mg / ℥であった。

鉱物油の識別は、高濃度のものは、GC-FID法で分析し、種類ごとにn-パラフィンが特徴的に検出されることから識別を行った。

低濃度で油臭のするものはHS-GC/MS法により、油臭がしないものは、溶媒抽出後、濃縮し、GC/MS法により分析した。模擬汚染水をHS-GC/MS法で分析した結果、保持時間の後半で若干異なるピークパターンを示したが、ガソリンと他の油との区別は明確であるものの、その他の油種間の区別は困難であった。

また、その模擬汚染水を42時間放置して測定した結果、各成分ピークの減少率はどの油種もほぼ同程度であり、汚染からある程度の時間経過があってもその検出パターンは同一であることが認められた。

さらに、土壤に吸着したA重油から通水により溶出してくる成分は、流出分画によって異なっていた。従って、流出油が土壤に浸透し、降雨等により地下水中に溶出した場合の汚染事例では、この点を考慮する必要があると考えられた。

・杉本貴之、関屋幸一

底生動物による清武川の水質評価及び季節的変動

第23回九州衛生公害技術協議会

(平成9年11月12日、鹿児島市)

県中央部を流れる清武川について、底生動物の棲息状況と理化学的項目による水質調査を季節的な変動も含め実施した。

底生動物の棲息結果から得られたASPT値、理化学的項目ともに下流域より、上流域の方が良好な結果であり、季節的には冬期に良好な水質結果を示した。ASPT値と富栄養化指標であるT-N、T-Pとの相関は低かったが、ECとの相関は高かった。流域の人口密集地と他の地域との間に大きな数値的相違は見られなかった。

III 調查研究

宮崎県において1993～1997年に発生した小児散発下痢症の原因菌の検索

河野 喜美子・山田 亨・八木 利香

Detection of causative agents of sporadic infantile diarrhea in 1993–1997

Kimiko KAWANO, Toru YAMADA, and Toshitaka YAGI

Abstract

Detection of causative agents of diarrhea from fecal samples of sporadic infantile diarrhea patients was attempted during 5 years from 1993 to 1997 in Miyazaki Prefecture. Consequently, the various causative organisms of diarrhea were detected in 173 samples (25%) of 684 samples. Over 5 years, *Campylobacter* was isolated with the highest frequency of 9–16 % of samples. All of *Campylobacter* isolates were *Campylobacter jejuni*. *Salmonella* was isolated with the second highest frequency of 6–7 % of samples. *S. Enteritidis* has increased remarkably since 1996. Enteropathogenic *Escherichia coli* was also detected every year at the isolation rate of around 3 % on average. Of the rest, *Staphylococcus aureus* was isolated at the rate of 1–3 %, and only one strain each of *Vibrio parahaemolyticus* and *Aeromonas hydrophila* was isolated in 5 years.

However, none of the causative agents of diarrhea were detected in 511 samples (75%) of 684 samples. Raising the detection rate is a subject in the future.

Key words : diarrhea, *Campylobacter*, *Salmonella*, Enteropathogenic *E. coli*

はじめに

近年問題になっている出血性大腸菌やサルモネラ・エンテリティデスを始めとし下痢症の原因菌は多彩である。そこで過去5年間に、小児散発下痢症患者より分離した細菌についてまとめたので報告する。

材料と方法

1. 材 料

1993～1997年の感染症発生動向調査協力病院のうち小児科から寄せられた感染性下痢症患者の便684検体を材料とした(Table 1, Table 2)。

2. 方 法

1) 下痢原因菌の分離

検査項目は病原性大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター、黄色ブドウ球菌、エロモナス、プレジオモナス、およびビブリオ類とした。分離は増菌培養は行わ

ず直接分離だけを行い、SS, DHL, TCBS (またはビブリオ寒天), CCDA, MSEY, CT-SMAC (またはクロモアガー) の6種類を用いた。また病原性大腸菌の検索にはPCR法を併用した。

2) 血清型別試験

抗血清はすべて市販のもの(デンカ生研)を用い、試験は使用書通りに実施した。

3) 各種毒素の検出

市販の毒素検出用キットを用いた。ただし病原性大腸菌についてはPCR法による毒素遺伝子の検出を併用した。

4) PCR法

出血性大腸菌のベロ毒素(VT), 毒素原性大腸菌の耐熱性毒素(ST), 易熱性毒素(LT), および侵入性大腸菌の侵入関連遺伝子(invE)を検出するためのPCRは、腸管出血性大腸菌迅速検査法技術研修会マニュアルのとおりに行った¹⁾。

Table. 1 Detection of causative bacteria of sporadic infantile diarrhea in 1993-1997, by year

Year	Number (Number/Number of samples, %)					
	1993	1994	1995	1996	1997	Total
Samples	32	88	115	242	207	684
Positive samples	8 (25.0)	33* (37.5)	30* (26.0)	57* (23.5)	45* (21.7)	173* (25.3)
Isolates						
<i>Campylobacter</i>	3 (9.3)	12 (13.6)	19 (16.5)	31 (12.8)	23 (11.1)	88 (12.9)
<i>Salmonella</i>	3 (9.3)	12 (13.6)	6 (5.2)	15 (6.2)	14 (6.8)	50 (7.3)
<i>E. coli</i>	2 (6.2)	7 (8.0)	3 (2.6)	7 (2.9)	4 (1.9)	23 (3.4)
<i>S. aureus</i>		3 (3.4)	3 (2.6)	4 (1.7)	6 (2.9)	16 (2.3)
Others			1 (0.9)	1 (0.4)		2 (0.3)
Total	8	34	32	58	47	179

* : They contained the samples that two type of organisms were isolated simultaneously from.

Table. 2 Detection of causative bacteria of sporadic infantile diarrhea in 1993-1997, by month

Month	Number (Number/Number of samples, %)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Samples	26	17	39	30	34	69	114	91	71	58	76	59	684
Positive samples	4	2	3 *	8	12	21	30	30 *	15	19 *	20 *	9	173
	15.4	11.8	7.7	26.7	35.3	30.4	26.3	33.0	21.1	32.8	26.3	15.3	25.3%
Isolates													
<i>Campylobacter</i>	1	2		5	7	8	15	17	7	7	13	6	88
	3.8	11.8		16.6	20.6	11.6	13.2	18.9	9.9	12.1	17.1	10.2	12.9%
<i>Salmonella</i>			2	1	3	6	5	10	6	12	4	1	50
			5.1	3.3	8.8	8.7	4.4	11.0	8.5	20.6	5.3	1.7	7.3%
<i>S. aureus</i>	3			2	1	2	1	1	1	2	2	1	16
	11.5			6.7	2.9	2.9	0.9	1.1	1.4	3.4	2.6	1.7	2.3%
<i>E. coli</i>			2		1	4	8	4	1		2	1	23
			5.1		2.9	5.8	7.0	4.4	1.4		2.6	1.7	3.4%
Others						1	1						2
						1.4	0.9						0.3%
Total	4	2	4	8	12	21	30	32	15	21	21	9	179

* : They contained the samples that two type of organisms were isolated simultaneously from.

結果および考察

1. 1993～1997年の年次別下痢原因菌分離状況

1993～1997年の5年間に持ち込まれた小児散発下痢症患者便の年次別の分離結果をTable 1に示した。5年間を通して毎年分離1位を示したのはカンピロバクターで、小児下痢症の原因菌の十数%を占めた。次に多かったのがサルモネラで平均して6～7%の分離率を示した。また近年話題の多い病原性大腸菌も、平

均3%前後ではあるが毎年検出されている。その他黄色ブドウ球菌が1～3%分離され、また腸炎ビブリオ、*Aeromonas hydrophila*が5年間でそれぞれ1例ずつ検出された。

しかし検体数684件のうち分離陽性検体数は173件(25.3%)で、残りの511検体(約75%)の検体は原因菌の検出ができなかった。

2. 月別菌分離状況

1993～1997年の月別の下痢原因菌分離状況を表2に

示した。検体依頼数は7～8月に多く、2～3月に非常に少ないが、このことは臨床的に細菌性下痢症が疑われる患者の発生の時期を反映しているのであろう。カンピロバクターは冬に検体数の減少により分離数は減少したが、分離率は年間を通して十数%で月による変動が少なかった。これに対してサルモネラは検体数の多い夏場に分離率も最も高かった。

3. カンピロバクターの分離

1993～1997年の5年間に分離されたカンピロバクター88株はすべて*Campylobacter jejuni*であった。

4. 分離サルモネラの血清型

1993～1997年に分離されたサルモネラの血清型を表3に示した。1996年から*S.Enteritidis*がそれまで多かった*S.Infantis*を抜いて、断然1位を占めるようになった。ただし宮崎県では近年健康保菌者から*S.Corrallis*が高率に分離されており、健康者検索では*S.Enteritidis*は第2位に甘んじている。なお*S.Corrallis*による患者発生は現在のところ宮崎県では見られない。

5. 病原性大腸菌の血清型

病原性大腸菌は23株(3.4%)分離された(Table 4)。出血性大腸菌(VTEC)分離株10株(1.5%)のうち、O157:H7が6例(0.9%)と最も多く分離され、O26:H11が3株(0.4%)、O114:H19が1株分離された。また成人の下痢症患者において海外旅行関連でよく検出される毒素性大腸菌(ETEC)は今回小児を対象としたため1株しか分離されなかった。病原血清型大腸菌

(EPEC)についてはまだ病原因子が明らかでないので文献上このグループに属する血清型の菌をEPECとした。このうちO111:H21(3株分離、0.4%)、O126:H27(2株分離、0.3%)はHep 2細胞に凝集性付着をする大腸菌であった。

6. 黄色ブドウ球菌のエンテロトキシン型

黄色ブドウ球菌は分離されてもそれだけでは下痢症の原因菌と決定することはできないので、原則として本菌が優性に検出されかつエンテロトキシンを産生するものを下痢原因菌と推定した。ただしエンテロトキシン検査を行っていないものもある。分離した15株の黄色ブドウ球菌のうちエンテロトキシン検査を行った9株はAD型が3株、B型が1株、C型が3株、D型が2株であった(Table 5)。

7. その他の分離菌

5年間でわずか1株ずつ分離された菌が2株あった。1株は水様性・出血性下痢および37.0°Cの発熱を呈した患者から分離された*Aeromonas hydrophila*で、分離培地上に純培養状に分離され他の下痢原因菌が検出されなかったことより、本患者の下痢は*A.hydrophila*により引き起こされたものと推定した。他の1株は、水様性・出血性下痢および37.6°Cの発熱を呈した患者から検出された腸炎ビブリオ(O2:K3)である。腸炎ビブリオは食中毒の原因菌として重要な菌であるが当所においては小児散発下痢症患者からの分離は今回初めてであった。

Table 3 Serotypes of *Salmonella* isolates

Serotype	Year	Number (Number/Number of samples, %)					
		1993	1994	1995	1996	1997	Total
Samples		32	88	115	242	207	684
Isolates, Total		3 (9.4)	12 (13.6)	6 (5.2)	15 (6.2)	14 (6.8)	50 (7.3)
<i>S.Thompson</i>		1 (3.1)	1 (1.1)	1 (0.9)		1 (0.5)	4 (0.6)
<i>S.Miyazaki</i>		1 (3.1)					1 (0.1)
<i>S.Blegdam</i>		1 (3.1)					1 (0.1)
<i>S.Infantis</i>			7 (8.0)	2 (1.7)	2 (0.8)	1 (0.5)	12 (1.8)
<i>S.Enteritidis</i>				2 (1.7)	10 (4.1)	11 (5.3)	25 (3.7)
<i>S.Litchfield</i>				2 (2.3)			2 (0.3)
<i>S.Paratyphi B</i>					1 (0.9)		1 (0.1)
<i>S.Typhimurium</i>						1 (0.4)	1 (0.1)
<i>S.Agonia</i>						1 (0.4)	1 (0.1)
<i>S.Haifa</i>						1 (0.4)	1 (0.1)
<i>S.Tennessee</i>						1 (0.5)	1 (0.1)

Table.4 Serotypes of Enteropathogenic *E.coli* isolates

Samples	Serotype	Number (Number/Number of samples, %)					
		1993	1994	1995	1996	1997	Total
Isolates	Total	32	88	115	242	207	684
VTEC	0157:H7	2 (6.3)	7 (8.0)	3 (2.6)	7 (2.9)	4 (1.9)	23 (3.4)
	026:H11		4 (4.5)		1 (0.4)	1 (0.5)	6 (0.9)
	0114:H19		1 (1.1)		2 (0.8)		3 (0.4)
ETEC	OUT*	1 (3.1)					1 (0.1)
EPEC	086a:H27	1 (3.1)		2 (2.3)		1 (0.5)	1 (0.1)
	0111:H21				1 (0.9)		1 (0.1)
	055:H7				1 (0.9)		1 (0.1)
	0119:H2				1 (0.9)		1 (0.1)
	0119:HNM**					1 (0.5)	1 (0.1)
	0126:H27				1 (0.9)	1 (0.5)	2 (0.3)
	026:HNM					2 (0.8)	2 (0.3)
	044:H34					1 (0.4)	1 (0.1)

* : Untyped

** : Non motility

Table.5 Enterotoxin type of *Staphylococcus aureus*

		Enterotoxin Type,		Number of isolates			
		1994	1995	1996	1997		
Enterotoxin C	3	Enterotoxin AD	1	Enterotoxin AD	1	Enterotoxin D	1
		Enterotoxin B	1	Enterotoxin : NT**	3	Enterotoxin AD	1
		Enterotoxin D	1			Enterotoxin : NT*	4
Total	3	Total	3	Total	4	Total	6

* : Not tested

まとめ

小児下痢症の主要な原因菌として今回カンピロバクター、サルモネラ、および病原性大腸菌が分離された。その他黄色ブドウ球菌も分離されることがあり、毒素等の証明より、これが原因となる場合も考えられた。しかし下痢原因菌のうちビブリオ属の菌はほとんど分離されず、684検体中わずかに腸炎ビブリオが1株、*Aeromonas hydrophila*が1株分離されただけであった。

また今回、下痢原因菌が分離されたのは684例中173検体(25%)だけで、あとの511株(75%)では原因菌が分離されず原因不明となったことは問題であろう。ウィルス性や原虫等細菌以外による場合も一部考えられるが、このことも含めて、原因不明を少なくしていくことが今後の課題である。

謝辞

検査材料を提供して下さいました永山小児科院長先生、貴島小児科院長先生、わたなべ小児科院長先生、並びに県立宮崎病院小児科の先生方に深謝いたします。

文献

1) 厚生省生活衛生局食品保健課監修：腸管出血性大腸菌迅速検査法技術研修会マニュアル。国立感染症研究所細菌部、1991。

宮崎県における*Salmonella* Corvallisの分離状況及び薬剤耐性について

山田 亨・河野 喜美子・八木 利喬

Isolation of *Salmonella* Corvallis in Miyazaki Prefecture
and investigation of drug-resistance patterns of the isolates

Toru YAMADA, Kimiko KAWANO, and Toshitaka YAGI

Abstract

Isolation of *S. Corvallis* from fecal samples in Miyazaki Prefecture was attempted, and prevalence of *S. Corvallis* in Miyazaki Prefecture was investigated.

In addition, drug-resistance patterns of 162 isolates from healthy carriers from 1993 to June 1998 were examined.

The *S. Corvallis* strain was first detected in Miyazaki Prefecture in 1993 in healthy carriers. Since then, *S. Corvallis* has made up about 20%~30% of *Salmonella* strains isolated from healthy carriers every year. However, these organisms have never been detected in patients in our laboratory and therefore the pathogenicity of these organisms is still uncertain.

The drug-resistance test (SM, ST, CP, TC, NELX, FOM, GM, KM, CEZ, IPM, ABPC, NA) was examined using 12 drugs. The overall resistance rates were as follows ; TC, 102 strains (63.0%) ; SM, 96 strains (59.3%) ; ST, 10 strains (6.2%). The resistant isolates were classified into 4 types of drug-resistance patterns. The overall number of isolates in each resistant pattern and the rate (%) to *S. Corvallis* isolates were as follows. SM, 2 strains (1.2%) ; TC, 7 strains (4.3%) ; SM・TC, 84 strains (51.9%) ; SM・CT・ST, 10 strains (6.2%).

Key words : *Salmonella* Corvallis, healthy carrier, drug-resistance

はじめに

Salmonella Corvallisは、宮崎県において食品、給食従事者の定期検便等、いわゆる健康保菌者からの高い割合で分離される、非常に特異的なサルモネラである。

また、海外においては、イギリスで1993年以降ヒトからの分離例が毎年50例前後報告され、その動向が注目されている¹⁾。

一方、国内では、1996年まで、宮崎県での健康保菌者由来の分離報告以外はほとんど報告は無かったが、1997年7月、8月と東京都内でたてつづけに、*S. Corvallis*を原因菌とした集団食中毒が2件発生した¹⁾。

このことにより、*S. Corvallis*による患者発生が明らかになり今後、宮崎県においても本菌による食中毒事

件や患者の発生が懸念されるところである。

このような現状において、宮崎県における*S. Corvallis*の分離状況と、本菌の特徴を把握するために薬剤感受性試験を行い、年次別に比較検討したので報告する。

材料と方法

1. 調査対象

今回調査の対象としたのは、1989年～1998年の6月までの、過去約10年間に分離されたサルモネラ患者由来株240株、健康保菌者由来株1033株である。

2. 材 料

1) 患者由来株

患者由来株については、感染症発生動向調査事業の

各検査定点・協力病院からの散発事例と保健所からの食中毒患者より分離同定した菌株、及び宮崎市郡医師会臨床検査センター及び都城健康サービスセンターから細菌検査の依頼のあった検体より分離同定した菌株を材料とした。

2) 健康保菌者由来株

保菌者分離株としては、学校、保育所、飲食店等の給食及び調理従事者を対象に、保健所や民間の検査所等で行なっている定期検便で分離され、当研究所で同定した菌株を材料とした。

3. 検体からの分離方法

各検査定点・協力病院、保健所、並びに民間の検査所より依頼のあった検体（便）を常法²⁾に従って検査し、その結果サルモネラと同定された菌株について血清型別試験を行なった。

4. 血清型別試験

常法²⁾に従い、市販のサルモネラ診断用免疫血清（デンカ生研）を用いて行った。

なお、当研究所において血清型別不能であった菌株については、国立感染症研究所に型別を依頼した。

5. 薬剤耐性試験

供試菌株として *S. Corvallis* が分離され始めた、1993年から1998年6月までの約6年間の健康保菌者由来株162株を使用し、市販のセンシ・ディスク(BBL)を用いたディスク法で行なった。

供試薬剤は、ストレプトマイシン(SM),スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤(ST),クロラムフェニコール(CP),テトラサイクリン(TC),ノルフロキサシン(NFLX),ホスホマイシン(FOM),ゲンタ

マイシン(GM),カナマイシン(KM),セファゾリン(CEZ),イミペネム(IPM),アンピシリン(ABPC),ナリジクス酸(NA)の12種類を用いた。

結 果

1. *S. Corvallis* の分離状況

1) 過去10年間における *S. Corvallis* 分離状況の推移

1989年～1998年6月の過去約10年間に分離された、サルモネラ全体における *S. Corvallis* の占める割合の推移を、Fig. 1 に示した。

この *S. Corvallis* は、1993年に宮崎市在住の福祉関係者から分離されたのが県内最初であり、その後次々と分離され始め結局その年のサルモネラ86株中、20株(23.3%)を占め、分離株数第1位となった。それ以来、毎年20%～30%前後の非常に高い割合を保持している。

しかし、県内では本菌による下痢患者からの分離はまだ確認されておらず、現在のところ健康保持者からの分離が非常に多いという状況である。

2) 健康保菌者由来株における *S. Corvallis* の占める割合の年次別推移

S. Corvallis が、分離され始めた1993年から1998年6月までの約6年間の、健康保菌者由来株全体において *S. Corvallis* の占める割合の年次別推移を Fig. 2 に示した。

S. Corvallis は、健康保菌者由来株に占める割合も高く、特に1996年以降30%前後と非常に高い分離率を保持している。

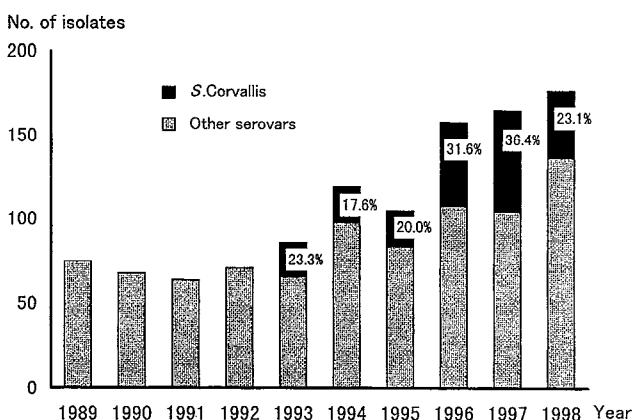


Fig.1 Annual change of the proportion of *Salmonella* Corvallis in *Salmonella* species isolated from 1989 through June 1998

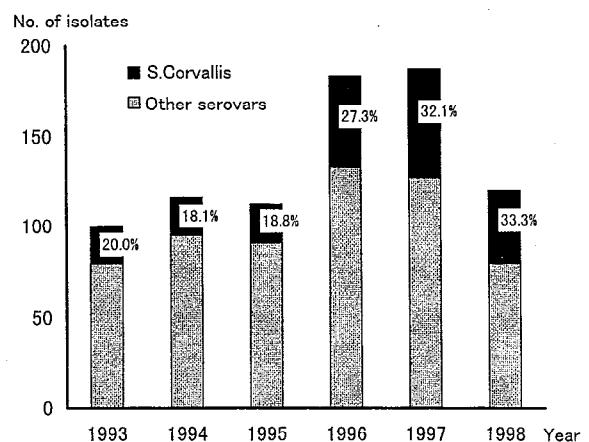


Fig.2 Annual change of the proportion of *Salmonella* Corvallis in *Salmonella* species isolated from healthy carriers from 1993 through June 1998

2. 供試菌株の薬剤耐性試験成績

1) 年次別薬剤耐性株出現状況

薬剤耐性株の出現状況と各薬剤に対する耐性率を、年次別にTable 1に示した。

1993年と翌年の1994年の2年間は、耐性株は皆無であった。しかし、1995年にはSM, TCに耐性株が出現し始め1996年には、割合は低いがSTにも耐性株が現れ始めた。すなわち、SM, TCは1996年80%を越える出現状況を示し、翌年の1997年も同様の結果であった。1998年になるとSTの耐性株は姿を消したが、SM, TCの耐性株はほぼ100%に近い状況となっている。

ちなみに1993年～1995年の前半の3年間は、耐性株

の出現率は14.0%（56株中8株）であるに対し、後半の1996年～1998年の3年間にかけては90.5%（105株中92株）の出現状況であった。

2) 薬剤耐性株の耐性パターン

耐性株103株の全耐性パターンを年次別にTable 2に示した。

耐性パターンは、4パターンに別れた。各年次において、ST単剤の耐性株は全く無く、SM単剤、TC単剤の耐性株の割合も非常に少なかった。SM・TC・STの3剤耐性株も1996年～1997年にかけて15%前後現れたが、1998年6月現在0%である。主要出現パターンは、SM, TCの2剤耐性株で年々増加の著しい傾向にある。

Table.1 Drug-resistance of *S. Corvallis* strains isolated from 1993 through June 1998 in Miyazaki Prefecture

Year of isolation	No. of isolates	No. of resistants (%)	No. of isolates resistant to each drug (%)											
			SM	ST	CP	TC	NELX	FOM	GM	KM	CEZ	IPM	ABPC	NA
1993	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1994	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1995	19	8(42.1)	4(21.2)	0	0	8(42.1)	0	0	0	0	0	0	0	0
1996	36	31(86.1)	30(83.3)	6(16.7)	0	30(83.3)	0	0	0	0	0	0	0	0
1997	29	25(86.2)	24(82.8)	4(13.8)	0	25(86.2)	0	0	0	0	0	0	0	0
1998	40	39(97.5)	38(95.0)	0	0	39(97.5)	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	162	103(63.6)	96(59.3)	10(6.2)	0	102(63.0)	0	0	0	0	0	0	0	0

Table.2 Drug-resistance of *S. Corvallis* strains isolated from 1993 through June 1998 in Miyazaki Prefecture

Resistance pattern	No. of resistants							Total
	1993	1994	1995	1996	1997	1998		
SM				1(2.8%)	1(3.4%)			2(1.2%)
TC			4(21.0%)	1(2.8%)	1(3.4%)	1(2.5%)		7(4.3%)
SM TC			4(21.0%)	23(72.2%)	19(65.5%)	38(95.0%)		84(51.9%)
SM TC ST				6(16.7%)	4(13.8%)			10(6.2%)
Total※	0/20	0/18	8/19	31/36	25/29	39/40		103/162

※ No. of resistant strains / No. of strains examined

考 察

近年、全国的にサルモネラ食中毒患者が急増しており、その大半がS.Enteritidisによるものである。

宮崎県においても食中毒および感染性下痢症の患者から分離されるサルモネラは、約8割以上がS.Enteritidisであり、健康保菌者においても分離株の約2割がS.Enteritidisである。しかし、健康保菌者から最も多く分離されるサルモネラは、S.Corrallisである。特に1996年以降は3割近く分離されており、今後も増加傾向にあると思われる。

また、耐性株については分離当初の1993年～1994年までは、耐性菌は皆無であったのが、徐々に耐性株が増え始め1998年では40株中39株(97.5%)耐性株が出現している。その主要パターンは、SM,TCの2剤耐性株であるが、今後更に分離株が増加すれば新たな耐性株の出現も予想され、耐性パターンも変化すると思われる。

現在、S.Corrallisによる集団食中毒や、感染性下痢症患者の予防対策を目的とした感染源調査を、都農・高崎・都城の各食肉検査所の方々に御協力いただき実施中である。また、食品を中心とした感染ルート等の調査も検討中である。更に、分離株の解析において、薬剤耐性の他に、プラスミドやパルスフィールド等を取り入れ疫学マーカーとして、感染源や感染ルートの解明に役立てていきたい。

謝 辞

検査材料の提供に御協力いただいた各医療機関ならびに各保健所の皆様に深謝いたします。また血清型別不能な検体について、血清型別試験を実施して下さった国立感染症研究所の田村和満博士に深謝いたします。

協力医療機関名及び検査機関

貴島小児科、永山小児科、徳田内科小児科、わたなべ小児科、県立宮崎病院、国立宮崎医科大学病院、国立療養所宮崎東病院、宮崎市郡医師会検査センター、都城健康サービスセンター、宮崎県健康づくり協会予防医学事業部。

協力保健所

小林保健所、高鍋保健所、日南保健所、延岡保健所、日向保健所、都城保健所、中央保健所。

文 献

1) 横山敬子、小畠浩魅、畠山 薫、他：1997年に都内で発生したS.Corrallisによる集団下痢症2事例の疫学的・細菌学的検討。

第18回日本食品微生物学会、東京、1997.

2) 善養寺浩、坂井千三、寺山 武、他：腸関係病原菌の検出法。第4版、P171-191、医学書院、1985。

宮崎県内で採取された *Leptotrombidium scutellare* (タテツツガムシ) からの *Orientia tsutsugamushi* の検出

山本正悟・浦上 弘^{*1}・木添和博・吉野修司

Detection of *Orientia tsutsugamushi* from *Leptotrombidium scutellare* Collected
in Miyazaki Prefecture

Seigo YAMAMOTO, Hiroshi URAKAMI^{*1}, Kazuhiro KIZOE, and Syuji YOSHINO

^{*1} Department of Microbiology, Niigata College of Pharmacy

Abstract

The causative agent of Tsutsugamushi disease in Miyazaki Prefecture is the Kawasaki and Kuroki type of *Orientia tsutsugamushi*. *Leptotrombidium scutellare* has been assumed to be a vector of these agents from the epidemiological study performed from 1981 to 1984. However, this hypothesis has not yet been confirmed.

The detection of *Orientia tsutsugamushi* in larval mites of *Leptotrombidium scutellare* collected at four sites in Miyazaki Prefecture (Yamada-cho, Takajo-cho and Miyakonojo-city) were attempted by the immunofluorescent staining method using type specific monoclonal antibodies against the Kawasaki and Kuroki type.

The agent of *Orientia tsutsugamushi* was detected in one of 1600 larval mites of *Leptotrombidium scutellare* collected at one site in Yamada-cho. Since a mixed monoclonal antibody against the Kawasaki and Kuroki type was used as the primary antibody, the antigenic type of this agent could not be confirmed.

It is clarified that *Leptotrombidium scutellare* is the vector of Kawasaki or Kuroki type in Miyazaki Prefecture. However, a positive agent rate in larval mites of *Leptotrombidium scutellare* is estimated to be low at this site.

Key words : *Orientia tsutsugamushi*, *Rickettsia tsutsugamushi*, *Leptotrombidium scutellare*, Vector

はじめに

恙虫病は *Orientia tsutsugamushi* (Ot) による急性熱性疾患で、日本で分離される Ot には Gilliam, Karp, Kato, Kawasaki, Kuroki, Shimokoshi 型などいくつかの抗原型のあることが知られている。また、恙虫病は Ot を保有するツツガムシで媒介され、東南アジアでは *Leptotrombidium* (L.) *deliense*, L. *arenicola*, L. *fletcheri* の 3 種が、日本では L. *pallidum* (フトゲツツガムシ), L. *scutellare* (タテツツガムシ), L. *akamushi* (アカツツガムシ) の 3 種

が主な媒介種とされ¹⁾、アカツツガムシは、古典的ツツガムシ病の減少に伴って近年殆ど採取されなくなつたが、古典的恙虫病を夏期に媒介すると考えられ、タテツツガムシとフトゲツツガムシは近年流行している新型恙虫病の主な媒介種と考えられている。また、川森ら²⁾は静岡県内の Kawasaki 型 Ot 流行地のタテツツガムシおよび Karp 型 Ot 流行地のフトゲツツガムシからそれぞれ Kawasaki 型および Karp 型の Ot を分離し、多村ら³⁾は自然界から採取したフトゲツツガムシの未吸着幼虫から Gilliam および Karp 型の Ot を分離しているが、これらの事実やその他の疫学情法から、

*1 新潟薬科大学

微生物学教室

KawasakiおよびKuroki型Otはタテツツガムシ, GilliamおよびKarp型Otはフトゲツツガムシ, Kato型Otはアカツツガムシにより媒介されるという仮説がたてられている¹⁾.

一方, 宮崎県の恙虫病の病原体はKawasakiおよびKuroki型Otであり, 1981~1984年にかけて実施したツツガムシに関する調査⁴⁾からタテツツガムシが媒介すると想定しているが, マウス接種法によるタテツツガムシからのOtの分離は成功しておらず, 実証されていない.

今回, 患者が感染したと推定された地点でタテツツガムシを採取し, 蛍光抗体法により1個体ごとにOtの検出を試みた結果, 1個体からOtが検出されたので報告する.

材料と方法

1. タテツツガムシの採取

1) 採取地点

1996年度に罹患した患者に推定感染地に関する聞き取りを行い, 山田町(1地点), 高城町(1地点)および都城市(2地点)の計4地点を選定した(図1).

なお, 山田町と高城町の推定感染地はKawasaki型に, 都市の推定感染地はKuroki型に感染した患者からの指摘により選定した. また, 山田町の調査地点は栗林, その他の調査地点は人家周辺の雑木林であった.

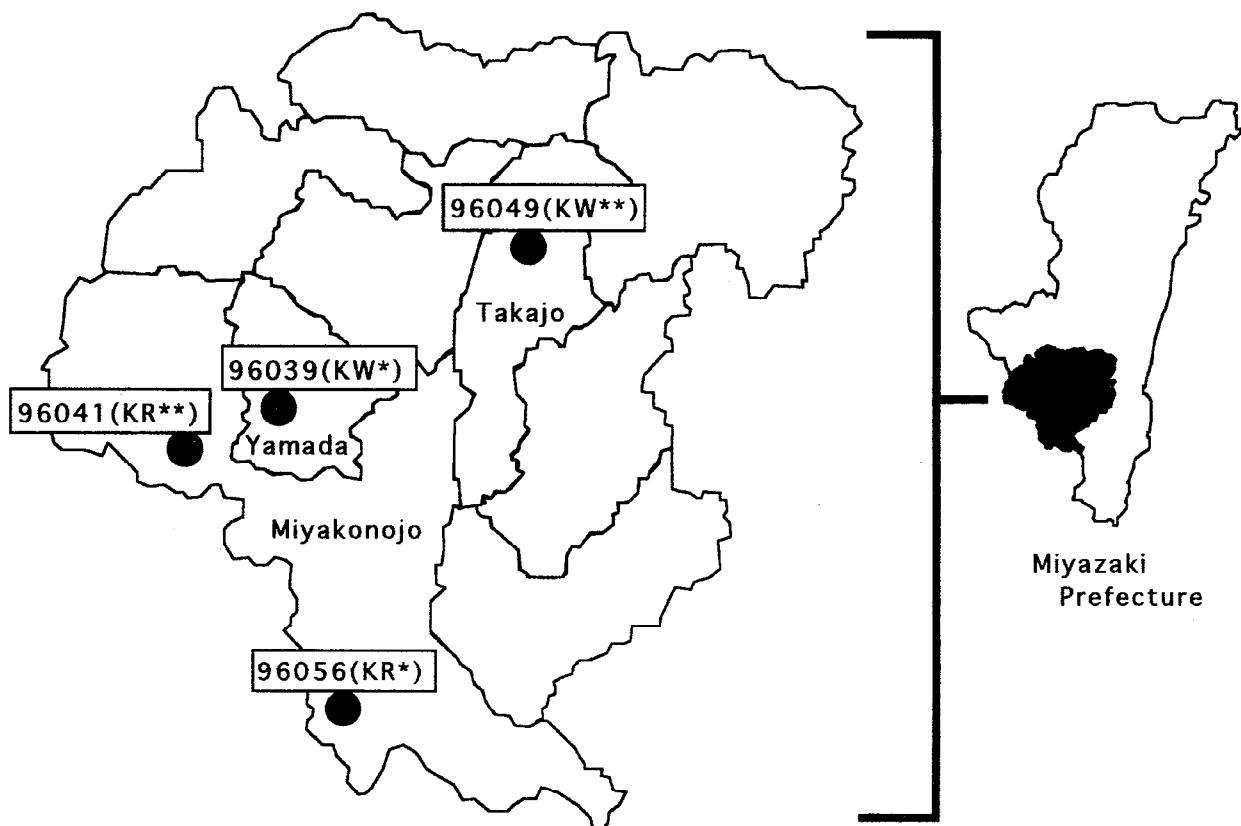


Fig.1 The sites trombiculid mites were collected.

Symbol ● indicate the site where mites were collected. Each number (96039, 96041, 96049, 96056) indicate the patient presumed to be infected in each site. KW* and KR* indicate that Kawasaki and Kuroki type of *Orientia tsutsugamushi* was isolated from each patient, respectively. KW** and KR** indicate that each patient was presumed to be infected with Kawasaki or Kuroki type by the result of immunofluorescent test using paired sera.

2) ツツガムシの採取および同定

地表におけるタテツツガムシおよびアカツツガムシ未吸着幼虫の選択的採取法であるベーカライト板法⁵⁾に準じ、ベーカライト板の代わりに黒布を用いてツツガムシを採取した。採取したツツガムシは保存瓶に吸引して集め、使用するまで-80°Cで保存した。また、ツツガムシの同定は佐々らの方法⁶⁾により行った。

2. 蛍光抗体法による*Orientia tsutsugamushi*の検出

浦上らの方法⁷⁾に準じて行った。概略は以下の通りである。

1) 抗原の作製

まず、ツツガムシをスライドグラス上に並べた後、もう1枚のスライドグラスで挟んでツツガムシをつぶし、体液をスライドグラスに付着させた。ついで、剥がした2枚のスライドグラスに、それぞれ接着剤を塗布したスライドグラスを重ねて塗布面にツツガムシの外殻を回収した後、体液を付着させたスライドグラスを四塩化炭素で固定して抗原とした。抗原は使用するまで-30°Cで保存した。また、回収した外殻をツツガ

ムシの同定に用いた。

2) 蛍光抗体法

神奈川県衛生研究所の古屋らと共同で作製したKawasaki型特異的モノクローナル抗体(417)とKuroki型特異的モノクローナル抗体(55-12)⁸⁾をそれぞれ最終濃度8単位に混合したものを一次抗体として用いた。二次抗体には4単位に希釈したFITC標識抗マウスimmunoglobulinヤギ血清(Tagö社製)を用いた。また、各抗体は2%に牛胎児血清を加えたPBS(-)で希釈した。また、一次抗体を反応させる前に、この希釈液を抗原に室温で10分間反応させた。観察は透過型蛍光顕微鏡を用いBV励起法により行った。

結 果

山田町、高城町および都城市(2地点)の4地点からそれぞれ1600, 118, 956および1153個体のタテツツガムシが採取され、山田町の栗林で採取されたタテツツガムシ1600個体中1個体からOtが検出された(表1)。

Table.1 Detection of *Orientia tsutsugamushi* from *Leptotrombidium scutellare*

District(site)	Patient No.*	Date of collection	No. of samples	No. of positive samples	positive rate(%)
Yamada(Yamada)	96039	6/Nov./1997	1600	1	0.06
Takajo(Arimizu)	96049	11/Dec./1997	118	0	
Miyakonojo(Sekinoo)	96041	4/Dec./1997	956	0	
Miyakonojo(Umekita)	96056	16/Dec./1997	1153	0	

考 察

恙虫病の流行地で、媒介ツツガムシの種を明らかにすることは、その地域の恙虫病の実体を把握する上で重要である。今回、蛍光抗体法を応用することによりタテツツガムシが宮崎県内での媒介種であることが明らかになった。しかし、一次抗体としてKawasaki型およびKuroki型特異的モノクローナル抗体の混合抗体を用いたため、この地点のタテツツガムシがいずれの型を媒介しているかを特定することはできなかった。

今回行った蛍光抗体法では個々のツツガムシからOtを検出でき、この方法が媒介種の決定およびOt保有率の調査に有用であることが確認された。しかし、

実施した抗原作製法では1個体のツツガムシについて2枚の抗原スライドしか得られない。今後、この限定された抗原を用い、Otのスクリーニングから型別まで行えるようにする必要がある。また、染色されたOt粒子から抽出されたDNAを用い、PCR法によるOtの型別を試みたが、特異的なbandは検出されなかった(未記載)。染色されたOt粒子を材料としたPCR法についても検討の余地があると思われる。

タテツツガムシのOt保有率はフトゲツツガムシに比べて低く、約0.2%と報告されている⁹⁾。山田町の採取地点におけるタテツツガムシのOt保有率は0.06%(1/1600)で、宮崎県内におけるタテツツガムシのOt保有率もかなり低い可能性が示唆された。

文 献

- 1) 多村 憲：恙虫病と恙虫病リケッチャ：特にリケッチャの伝搬機構と抗原型の多様性。衛生化学, 41(3), 179-193, 1995
- 2) Fumihiko Kawamori, Masato Akiyama, Masaaki Sugieda, Takashi Kanda, Sousuke Akahane, Kimito Uchikawa, Yoshitsugu Yamada, Nobuo Kumada, Yumiko Furuya, Yoshiya Yoshida, Seigo Yamamoto, Norio Ohashi, Akira Tamura : Use of monoclonal antibodies against *Rickettsia tsutsugamushi* Kawasaki for serodiagnosis by enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol., 30(11), 2824-2846, 1992
- 3) 多村 憲：リケッチャ・ツツガムシの病原因子。日本細菌学雑誌, 43(3), 629-639, 1988
- 4) 川畠紀彦, 山本正悟, 河野喜美子, 中原藤正: 宮崎県における恙虫病に関する調査(5). 宮崎県衛生研究所報, Vol27, 27-32, 1985
- 5) 佐々 學: 第6章 採取, 標本作製並びに飼育法。佐々 學 編, 恙虫と恙虫病, 69-79, 1956
- 6) 佐々 學: 第7章 幼虫の検索と解説。佐々 學 編, 恙虫と恙虫病, 81-196, 1956
- 7) 浦上 弘, 多村 憲: 蛍光抗体法によるツツガムシ内リケッチャの垂直伝播率の測定とリケッチャ血清型の検索。日本細菌学雑誌, 51, 234, 1997
- 8) Furuya Y., Yamamoto S., Otsu M., Yoshida Y., Ohashi N., Murata M., Kawabata N., Tamura A. and Kawamura A. Jr. : Use of monoclonal antibodies against *Rickettsia tsutsugamushi* Kawasaki for serodiagnosis by enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol., 29, 340-345, 1991b
- 9) Kawamura A. Jr.: Species of vector mites. In : Kawamura A. Jr., Tanaka H., Tamura A., ed. *Tsutsugamushi disease*. Tokyo University Press, Tokyo, 159-176, 1995

宮崎県における*Orientia tsutsugamushi*の抗原型別恙虫病患者数の変動

山本正悟・木添和博・吉野修司

Annual Change of Incidence of each Tsutsugamushi Disease Caused by Kawasaki or Kuroki Type of *Orientia tsutsugamushi* in Miyazaki Prefecture from 1991 to 1997 (Fiscal year)

Seigo YAMAMOTO, Kazuhiro KIZOE, and Syuji YOSHINO

Abstract

Although, the number of reported cases of the new type of Tsutsugamushi disease had increased again in Japan since 1974, the incidence of this type of Tsutsugamushi disease has decreased from 1992 in Japan and from 1994 in Miyazaki Prefecture. It is most likely that the number of vector mites which carry *Orientia tsutsugamushi* (Ot) is related to this decrease in the reported cases. However, the reason of this decrease in the incidence has not been explained. Since the correlation between the vector mite and the antigenic type of Ot was reported, the change in the incidence of each Tsutsugamushi disease caused by each type of Ot was searched by the seroepidemiological method to get the back ground data for the survey of vector mites.

Only the number of patients infected with the Kawasaki type of Ot has remarkably decreased from 1994 in Miyazaki Prefecture. In the six districts (Kobayashi, Nojiri, Takasaki, Takaoka, Nichinan and Kushima), the cases infected with the Kawasaki type and those with the Kuroki type have decreased from 1994. However, in the Miyakonojo and Takaoka district the decrease of Kawasaki type patients and the increase of Kuroki type patients was confirmed. On the contrary, the increase of Kawasaki type patients and the decrease of Kuroki type patients was confirmed in the Yamada district.

It is suggested that, in Miyazaki Prefecture, the annual change of incidence of Tsutsugamushi disease is mainly related to the number of patients infected with the Kawasaki type. The distribution of vector mite colonies and that of the rate of mite carrying Ot in each colony may have changed considerably from 1994 in Miyazaki Prefecture.

Key words : *Orientia tsutsugamushi*, *Rickettsia tsutsugamushi*, Tsutsugamushi disease

はじめに

恙虫病は、ダニ媒介性のリケッチア症で、便宜的に、第二次世界大戦中まで新潟・秋田・山形の3県で猛威をふるったアカツツガムシ媒介性の夏期に発生する古典的恙虫病と、1946年の富士山麓での発生を機会に明らかになったタテツツガムシあるいはフトゲツツガムシ媒介性の秋～春に発生する新型恙虫病に分類される¹⁾。また、恙虫病の病原体*Orientia tsutsugamushi* (Ot)²⁾にはGilliam, Karp, Katoの3抗原型の存在

が知られていたが、これらに加え、Shimokoshi, Kawasaki, Kurokiの新たな抗原型の存在が明らかになり³⁾、宮崎県ではKawasaki型およびKuroki型による恙虫病が発生している⁴⁾。

一方、古典的恙虫病は1960年代に入り激減し、近年、年間数名の発生にとどまっているが、同様に激減した新型恙虫病は1974年から北海道を除く日本各地で急増し再流行感染症として問題になっている。また、その患者数は1984年には957名にまで増加し、その後も年間数百名の発生を維持しているものの、1992年以降減

少傾向にあり⁵⁾、宮崎県でも1994年以降患者数が減少してきた。しかし、この患者数減少の原因については依然として不明であり、また、総患者数の減少という傾向は把握されているものの、その内容に関する解析は充分行われていない。

今回、患者数の変動を抗原型別に明らかにすることを目的として、1991年度から1997年度にかけて宮崎県内で血清学的に恙虫病と確認された患者を対象とし、血清疫学調査を行ったので報告する。

材料と方法

1. 恙虫病患者

1991年4月から1998年3月にかけて宮崎県内で感染・発症し、血清診断あるいは臨床診断により恙虫病とされた患者596名中、後述の間接蛍光抗体法による血清診断により恙虫病と確認された患者（確認患者）422名を対象とした。

2. 血清診断および感染症の推定

血清診断は、既報⁴⁾の方法に従い、L929細胞で増殖させたKarp, Kato, Gilliam, KawasakiおよびKuroki株を抗原として、間接蛍光抗体法により行った。

また、既報⁴⁾の方法と同様に、抗体価が他の株に比べて特定の株で2倍以上高い場合、患者はこの特定の抗原型のOtに感染したと推定した。以下、感染したと推定される抗原型を推定抗原型と略す。

3. 血清疫学的調査

1) 年度別患者数の集計

患者発生数の推移を確認するために、年度別に患者数を集計した。なお、宮崎県の場合、例年11月をピークとして10月から3月にかけて患者の発生が集中するため、年度別に集計を行った。また、1983～1990年度にかけて発生した患者についてもあわせて集計した。

2) 推定抗原型による患者数の集計

各抗原型に感染した患者数の推移を確認するために、各年度の確認患者について、推定抗原型ごとに患者数を集計し、その割合を算定した。

3) 地区別・推定抗原型による患者数の集計

1991～1997年度について、各年度ごとに患者数に対する確認患者数の割合（確認率）を集計した結果、各年度の確認率にはばらつきが見られた（表1）。また、患者が毎年100名以上発生した1991～1993年度と50名程度であった1994～1997年度の2つのグループに分け、グループ間の確認率を比較した結果、それぞれ72%と69%で、確認率はほぼ一致していた（表1）。このため、各発生地区について、1991～1993年度と1994～1997年度の2期間の間で推定抗原型ごとに患者数の変動を検討することとした。また、対象地区として、これら2期間における確認率の差が10%未満であった6地区

（小林市、野尻町、高崎町、山田町、高岡町、串間市）および10%以上の差はあるが、確認率の上昇した3地区（高原町、都城市、日南市）を選定した（表2）。

Table.1 The confirmation rate of Tsutsugamushi disease from 1991 to 1997 (fiscal year).

Fiscal year	No. of patient	No. of patient	Rate of confirmation (%)
		confirmed by immunofluorescent test	
1991	135	87	64
1992	111	75	68
1993	124	105	85
1997-1993	370	267	72
1994	61	41	67
1995	52	30	58
1996	55	35	64
1997	58	49	84
1994-1997	226	155	69

Table.2 Comparison of the confirmation rate of Tsutsugamushi disease between 1991–1993 and 1994–1997 in the endemic district.

District	Fiscal year	No. of patient	No. of patient confirmed by IF	Rate of confirmation(%)
Kobayashi	1991–1993	43	33	77
	1994–1997	24	19	79
Nojiri	1991–1993	20	17	85
	1994–1997	5	4	80
Takasaki	1991–1993	15	13	87
	1994–1997	5	4	80
Takaharu	1991–1993	17	14	82
	1994–1997	5	5	100
Miyakonojo	1991–1993	46	34	74
	1994–1997	39	36	92
Yamada	1991–1993	11	9	82
	1994–1997	10	9	90
Takaoka	1991–1993	16	11	69
	1994–1997	9	7	78
Kushima	1991–1993	28	24	86
	1994–1997	11	10	91
Nichinan	1991–1993	33	24	73
	1994–1997	12	11	92

結 果

1. 宮崎県における年度別患者数の推移

患者は1984年度以降急増し、1985年度には189名にまで達し、1993年度までは年間100名程度発生していたが、1994年度以降は毎年50名程度まで半減した（図1）。

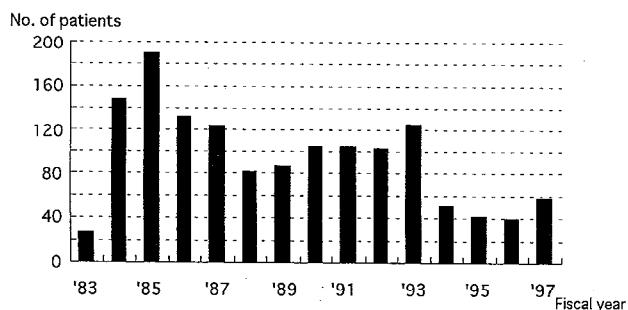


Fig.1 Annual change of incidence of Tsutsugamushi disease in Miyazaki Prefecture from 1983 to 1997 (fiscal year).

2. 宮崎県における推定抗原型別患者数および推定抗原型別比率の年度推移

1994年度以降、Kawasaki型に感染した患者の大幅な減少が見られた。しかし、Kuroki型の感染による患者数には1993年度の一時的な増加を除き大きな変動はなかった（図2）。

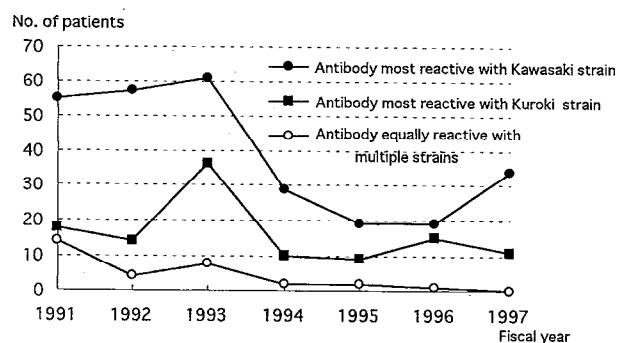


Fig.2 Annual change of incidence of Tsutsugamushi disease according to the Kawasaki and Kuroki type of *Orientia tsutsugamushi* in Miyazaki Prefecture from 1991 to 1997 (fiscal year).

患者数が減少し始めた1994年度以降、Kuroki型に感染した患者の割合が増加する傾向がみられ、1991年度の21%に対し1996年度には42%と大幅に增加了。また、1997年度には若干患者数が増加し、Kuroki型による患者の比率は24%にまで減少した(図3)。

3. 発生地区における推定感染型別患者数の推移

1991~1993年度と1994~1997年度の2期間の間で推定感染型別患者数の変動を検討した結果、小林市、野尻町、高崎町、高原町、日南市、串間市ではKawasaki型とKuroki型による患者数がいずれも減少し、都城市と高岡町ではKawasaki型の患者数は減少しKuroki型の患者数は増加傾向を示した。また、

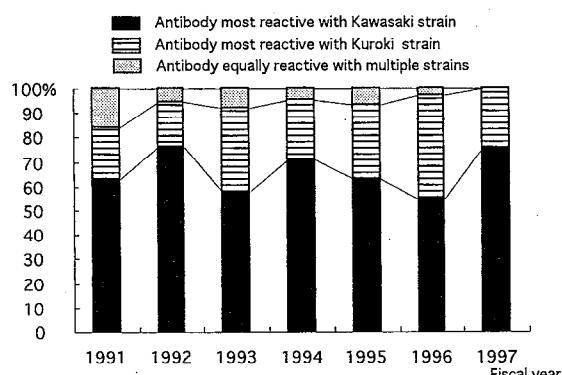


Fig.3 Annual change of the proportion of *Tsutsugamushi* disease according to the Kawasaki and Kuroki type of *Orientia tsutsugamushi* in Miyazaki Prefecture from 1983 to 1997 (fiscal year).

山田町ではKawasaki型の患者数が増加してKuroki型の患者数は減少した(図4)。

考 察

1960年代以降の古典的恙虫病患者数の激減は、発生地である河川敷の植生の変化、農地化、地形の変化、あるいは改修によると考えられている¹⁾。しかし、1960年代後半からの新型恙虫病患者数の激減の原因は不明で¹⁾、さらに、1992年以降の新型恙虫病患者数の減少の原因も分かっていない。また、総患者数の減少という傾向は把握されているものの、その内容に関する解析は充分に行われていない。

患者数減少の原因として、医師の経験が蓄積され、臨床診断を基に有効な抗生物質が即用いられるようになり、報告されなくなった可能性もあるが、確かに減少しているという医師からの情報(私信)もあり、このことが患者数減少の基本的原因とは考えにくい。我々はリケッチャを保有するベクターの数(リケッチャを保有するコロニー数あるいはリケッチャ保有コロニー内での保有ベクター数)や分布の変動が患者数に基本的に影響していると想定し、ベクターに関する調査の必要性を感じている。一方、ツツガムシの種とそれが保有するリケッチャの抗原型との間には一定の関係が認められ、KawasakiおよびKuroki型とタテツツガムシ、GilliamおよびKarp型とフトゲツツガムシ

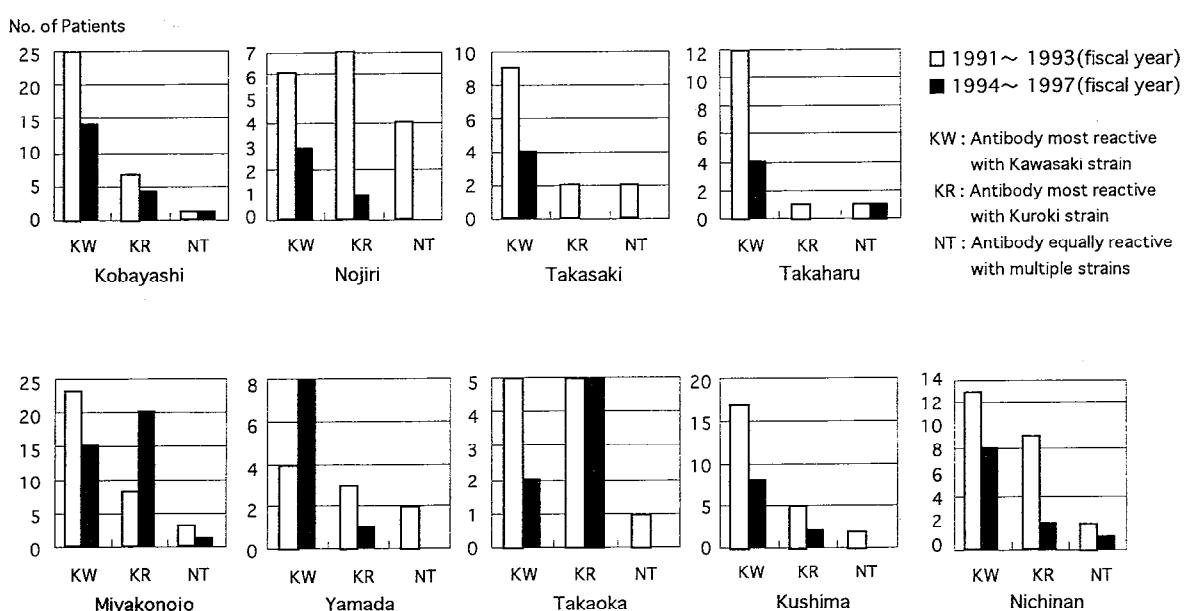


Fig.4 Change of incidence of *Tsutsugamushi* disease caused by the Kawasaki and Kuroki type of *Orientia tsutsugamushi* in endemic district.

という関係が考えられており⁶⁾、さらに、各ツツガムシ種が複数の系統からなる可能性もある。また、近年のツツガムシからのリケッチャの分離結果⁶⁾から推定すると、一般的に、一つのコロニーは一種の抗原型を伝搬すると考えるのが妥当と思われる。従って、ベクターの調査を行う際には、感染した抗原型を基にした調査地区における患者数の変動を把握しておく必要がある。

以上の様な観点から、1991～1997年度に宮崎県内で発生した患者について、感染した抗原型別に患者数の変動を検討した結果、1) 宮崎県全体における患者数の変動はKawasaki型の感染の頻度に依存し、2) 主としてKawasaki型による感染機会の減少によって1994年度以降患者数が減少傾向にあること、3) Kawasaki型とKuroki型を媒介するツツガムシのコロニーの分布あるいはコロニー中の病原体保有率が1994年から変化し、その変化は地区により異なる可能性のあることが示唆された。今後、このような傾向を考慮して媒介ツツガムシに関する調査を行いたい。

文 献

- 1) Kawamura A. Jr : Tsutsugamushi disease in Japan : New prospectives. In : Kawamura A.Jr, Tanaka H., Tamura A., ed. *Tsutsugamushi disease*. Tokyo University Press, Tokyo, 10-17, 1995
- 2) Tamura, A., N. Ohashi, H. Urakami, and S. Miyamura : Classification of *Rickettsia Tsutsugamushi* in a new genus, *Orientia* gen. nov., as *Orientia tsutsugamushi* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 45 : 589-591, 1995
- 3) Kawamura A. Jr : Antigenic Variants of *Rickettsia Tsutsugamushi*.
In : Kawamura A. Jr, Tanaka H., Tamura A., ed. *Tsutsugamushi disease*. Tokyo University Press, Tokyo, 10-17, 1995
- 4) 山本正悟, 川畠紀彦, 大浦恭子, 村田道里, 南嶋洋一：宮崎県における恙虫病患者由来の*Rickettsia tsutsugamushi*の抗原型とその分布. 感染症学雑誌, 63(2), 109-117, 1989
- 5) つつが虫病1991-1995. 病原微生物検出情報, 18 (9), 1-2, 1997
- 6) 多村 憲：恙虫病と恙虫病リケッチャ：特にリケッチャの伝搬機構と抗原型の多様性. 衛生化学. 41 (3), 179-193, 1995

宮崎県における1997年の感染症発生動向調査事業

— 病原体検出報告 —

吉野修司・木添和博・山本正悟

Reports on the Finding of Infectious Agents under the Surveillance System
in Miyazaki Prefecture, 1997.

Syiji YOSHINO, Kazuhiro KIZOE, and Seigo YAMAMOTO

Abstract

In the detection of infectious agents, of the total 478 samples collected from sentinel hospitals, clinics and cooperative medical institutions, 209 viruses were isolated in Miyazaki Prefecture, 1997. (*Chlamydia trachomatis* are included for statistical reasons.) The most isolated viruses were echovirus 9.

It is known that echovirus 9 causes a rash and aseptic meningitis and it was isolated in Miyazaki Prefecture in 1994 and 1997. In 1994 and 1997, the total isolation of echovirus 9 numbered 136. Of these isolates, those with age recorded numbered 89. Among these 89 cases, we investigated the relationship between ages and clinical symptoms. A tendency was seen that the rate of rash occurrences was higher among younger (0–4 years) rather than older (over 4 year) children. In contrast, the rate of aseptic meningitis was higher among the older rather than the younger children.

It is well known that echovirus 30 causes aseptic meningitis too. Of echovirus 30 isolated in Miyazaki Prefecture, 90% were from aseptic meningitis patients. The possibility that echovirus 30 is a neurotropic virus is suggested by this fact.

Even though, the type of enterovirus isolated from cases of aseptic meningitis usually alters every year, the echovirus 30 was prevalent during the three years from 1989 to 1991. In addition, the 1997 epidemic was different from the usual epidemic, in that the peaks of isolation of echovirus 30 were seen after the summer. Therefore, attention should be paid to future outbreaks.

Key words : Echovirus 9, Echovirus 30, surveillance system

はじめに

結核・感染症サーベイランス事業は昭和61年から実施されているが、平成9年12月5日付で「サーベイランス」という名称が「発生動向調査」に改められ、本事業は結核・感染症発生動向調査事業となった。また、今後の感染症の発生・拡大に備えた事前対応型行政を構築するため本事業の整備・確立が進められており、その一環として患者発生状況、病原体検索ともコンピュータオンライン・システムが導入され、情報処

理の円滑な推進が図られている。

宮崎県における1997年の病原体検索では、検査定点およびそれ以外の協力医療機関より478件の検体が搬入され209株のウイルスが分離同定された(Table 1).

今回、分離されたウイルスのうち分離数の比較的多かったインフルエンザウイルス、エコーウィルス9型、エコーウィルス30型について解析を行ったので報告する。なお、下痢症の検索は電子顕微鏡で、クラミジア感染症の検索は直接蛍光抗体法によって行っているが、統計の便宜上、ウイルス分離の範疇に含めてある。

Table.1 Isolation number of viruses in Miyazaki Prefecture, 1990–1997.

Virus	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	Total
Adenovirus 1								4	4
Adenovirus 2								3	3
Adenovirus 3		3		1	1			1	6
Adenovirus 6				1			3		4
Adenovirus 7							2	1	3
Adenovirus 11		1							1
Adenovirus -NT					1				1
Coxsackievirus A 2		11						2	13
Coxsackievirus A 4				6					6
Coxsackievirus A 5				2					2
Coxsackievirus A 9				3		1	1		13
Coxsackievirus A 10		1	3						4
Coxsackievirus A 16	1		2	18	1	51		7	80
Coxsackievirus A 24v				29					29
Coxsackievirus B 1		4						8	12
Coxsackievirus B 3						3		1	4
Coxsackievirus B 4				1					1
Coxsackievirus B 5								1	1
Echovirus 5								6	6
Echovirus 6			1		1			1	3
Echovirus 7							1		1
Echovirus 9					65			71	136
Echovirus 11		5	5	2	5				17
Echovirus 16			2			9			11
Echovirus 18					1				1
Echovirus 22				1			1	4	6
Echovirus 25								1	1
Echovirus 30		21		3				20	44
Poliovirus 1							1		1
Poliovirus 2								1	1
Poliovirus 3								1	1
Enterovirus 71	2			18	27		31	3	81
Picornavirus -NT			3				1		4
Herpes simplex virus 1			2		3	2	3	5	15
Influenza virus A H1			7				12		19
Influenza virus A H3	1	10	8	9	5			20	53
Influenza virus B			9	9		6		20	44
Influenza virus -NT				1					1
Measles virus		9							9
Mumps virus		1		1			1	1	4
Rotavirus				1				7	8
Astrovirus								4	4
Norwalk virus								3	3
Reovirus -NT						1			1
<i>C.trachomatis</i>	5	7	2	7	5	1	5	5	37
Total	9	53	69	99	120	78	62	209	699

NT : Not typed

材料と方法

1. 分離材料

髓液は検体をそのまま用い、咽頭ぬぐい液、眼瞼結膜ぬぐい液、水疱は細胞培養用維持培地〔1%牛胎児血清加Eagle's MEM(日本製薬)にペニシリン、ストレプトマイシンをそれぞれ100単位、 $100\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ の割合で加えたもの〕に浮遊させ、3000rpm 5分間遠心した上清を用いた。便は細胞培養用維持培地で10~20%乳剤とした後、3000rpm 5分間粗遠心し、遠心上清を有機溶媒処理して10000rpm30分間遠心した上清を用いた。また、検体は接種時まで-80°Cで保存した。

2. 細胞

細胞はCaco-2, Vero, HeLaの3種類を用いた。また、コクサッキーA群が疑われる場合は乳のみマウス、麻疹ウイルスが疑われる場合はB95a細胞をそれぞれ追加して分離を試みた。なお、インフルエンザウイルスはCaco-2細胞で分離できる¹⁾が、新型ウイルスの可能性等を考慮し、従来どおりMDCK細胞も併用した。

3. 分離方法

分離は96穴マイクロプレート法で行った。単層培養したCaco-2, Vero, HeLaの各細胞をFig. 1に示すようにレイアウトし、各穴に25~30ulずつ検体を接種して36°C30分間吸着後、維持培地を100ulずつ加え、CO₂インキュベーターで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が出現しなかったものはウイルス分離陰性とした。

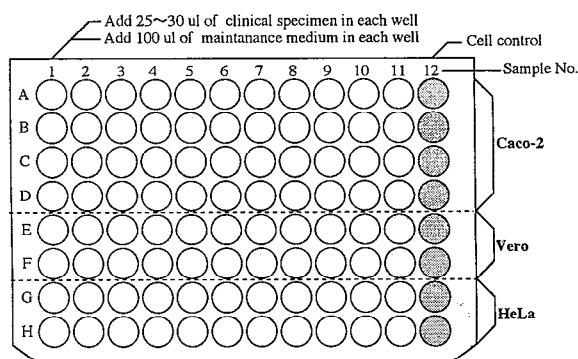


Fig.1 Layout of 96 well microplate for the virus isolation from clinical specimens.

Table.2 Monthly changes of isolation number of viruses in Miyazaki Prefecture, 1997.

Virus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Adenovirus 1						2	1				1		4
Adenovirus 2						1	1				1		3
Adenovirus 3									1				1
Adenovirus 7										1			1
Coxsackievirus A 2						1	1						2
Coxsackievirus A 9						1	1	3	1	1		1	8
Coxsackievirus A 16						2	3	1	1	1			7
Coxsackievirus B 1						3	1	4					8
Coxsackievirus B 3									1				1
Coxsackievirus B 5									1				1
Echovirus 5						2	3	1					6
Echovirus 6									1				1
Echovirus 9						1	4	19	20	15	9	2	71
Echovirus 22						1	2		1				4
Echovirus 25									1				1
Echovirus 30									1	3	4	7	20
Poliovirus 2							1						1
Poliovirus 3										1			1
Enterovirus 71			2						1				3
Herpes simplex virus 1						1	1	1			2		5
Influenza virus A H3	14	2	1								3		20
Influenza virus B			3	9	5	3							20
Mumps virus											1		1
Rotavirus	1	1	2			2					1		7
Astrovirus											4		4
Norwalk virus	2										1		3
Chlamydia trachomatis	2	1				1	1						5
Total	19	6	6	10	16	19	35	27	26	15	16	14	209

4. 同定方法

同定は、中和試験、補体結合試験、赤血球凝集抑制試験、ラテックス凝集試験、直接蛍光抗体法、電子顕微鏡法により行った。

結 果

Table 2 に月別ウイルス分離状況を、Table 3 に臨床症状別ウイルス分離状況を示した。また、分離数の比較的多かったインフルエンザウイルス、エコーウィルス9型、エコーウィルス30型について以下のような結果であった。

1. インフルエンザウイルス

冬期に流行したインフルエンザウイルスはA香港型であったが、春～初夏にかけてインフルエンザウイルスB型が流行し、6月に提出された検体からもウイルスが分離され、季節はずれの様相を呈した。なお、全国的には散発的にB型変異株(B/Victoria/2/87類似株)が分離された²⁾、宮崎県では分離されなかった。また、分離されたインフルエンザウイルスのうち呼吸器症状以外に発疹を伴ったものが2件、脳脊髄炎を起こしたもののが1件あった。

2. エコーウィルス9型

夏季には発疹症患者から種々のエンテロウイルスが分離され、特にエコーウィルス9型が多く分離された。

Table.3 Isolation number of viruses by clinical condition in Miyazaki Prefecture, 1997.

Clinical condition	Virus	No. of isolations
Respiratory system disease	Adenovirus 1	4
	Adenovirus 2	2
	Adenovirus 3	1
	Adenovirus 7	1
	Coxsackievirus B 1	4
	Echovirus 30	2
	Influenza virus A H3	18
	Influenza virus B	19
Skin mucous membrane system disease	Adenovirus 2	1
	Coxsackievirus A 2	2
	Coxsackievirus A 9	8
	Coxsackievirus A 16	7
	Coxsackievirus B 1	2
	Coxsackievirus B 3	1
	Coxsackievirus B 5	1
	Echovirus 5	6
	Echovirus 9	60
	Echovirus 22	4
	Echovirus 25	1
	Poliovirus 2	1
	Enterovirus 71	3
	Herpes simplex virus 1	5
	Influenza virus A H3	1
	Influenza virus B	1
Central nervous system disease	Coxsackievirus B 1	2
	Echovirus 6	1
	Echovirus 9	11
	Echovirus 30	18
	Influenza virus A H3	1
Digestive disease	Mumps virus	1
	Poliovirus 3	1
	Rotavirus	7
	Astrovirus	4
	Norwalk-like virus	3
Apparatus urogenitatis disease	<i>Chlamydia trachomatis</i>	5
Total		209

エコーウイルス9型は1994年にも流行しており、エコーウイルス9型分離総数に対する月別分離数の割合を調べると1994年・1997年のいずれの年も、宮崎県・全国とともに7月前後が分離のピークであった(Fig. 2)。また、エコーウイルス9型は無菌性髄膜炎患者からも分離されたが、1997年に宮崎県で分離された71件のうち、無菌性髄膜炎患者からの分離は11件(15%)であった。さらに、1994年と1997年に宮崎県で分離されたエコーウイルス9型136件のうち患者の年齢が記載されていた89件について発疹と無菌性髄膜炎の割合を年齢別に調べたところ、発疹を呈した患者のほとんどが2歳以下であったのに対し、無菌性髄膜炎を呈した患者の多くは4歳以上であった(Fig. 3)。

3. エコーウイルス30型

1997年に宮崎県で分離されたエコーウイルス30型は90%が無菌性髄膜炎の患者から分離され、残り10%が呼吸器疾患の患者から分離された。また、エコーウイルス30型は1991年にも流行しており、分離されたウイルスの割合を月別に調べると、1991年の流行では他の

エンテロウイルスと同じく7月前後が分離のピークであったが、1997年の流行は通常と異なり、ピークが大きく右にずれており、この傾向は全国の流行でも同様にみられた(Fig. 4)。

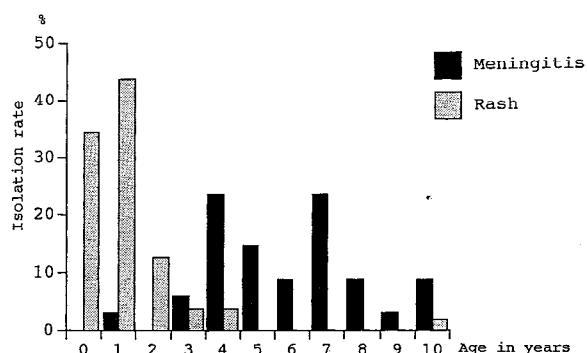


Fig.3 Relationship between ages and clinical symptoms of cases yielding echovirus type 9 in Miyazaki Prefecture.
Each culm shows the proportion of isolates in all the echovirus type 9 isolates.

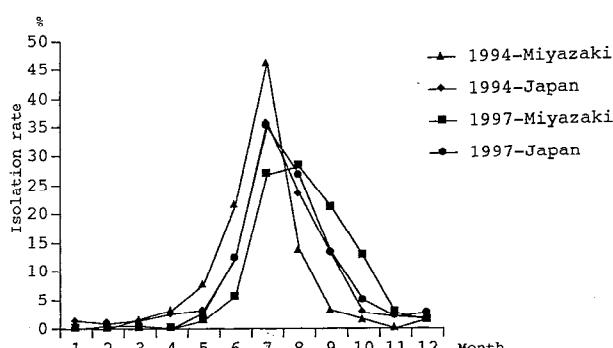


Fig.2 Monthly changes of isolation rate of echovirus type 9 isolated in 1994 and 1997.
The isolation rate indicates the proportion of monthly isolates in all the echovirus type 9 isolates.

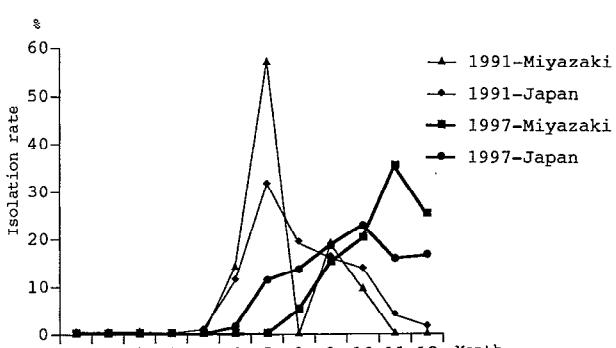


Fig.4 Monthly changes of isolation rate of echovirus type 30 isolated in 1991 and 1997.
The isolation rate indicates the proportion of monthly isolates in all the echovirus type 30 isolates.

考 察

宮崎県における1997年の病原体検索ではエコーウイルス9型が最も多く分離された。エコーウイルス9型は発疹症と無菌性髄膜炎を起こすことが知られており、1997年7月～12月の間に報告された全国の情報では分離されたエコーウイルス9型のうち無菌性髄膜炎が45%を占めていた³⁾。なお、宮崎県ではエコーウイルス

9型が無菌性髄膜炎の患者から分離された割合は15%と全国に比べ有意に低く、これは搬入された検体の患者年齢、もしくは臨床症状に偏りがあったためと思われる。また、エコーウイルス9型は病状の好発年齢に偏りがあることが明らかとなった。すなわち、発疹は0～4歳の低年齢層で多くみられるのに対し、無菌性髄膜炎は年齢層が高い傾向がみられ、0歳児に無菌性髄膜炎を起こしやすいコクサッキーウィルスB群⁴⁾と

は対照的で興味深い。これらのことから、エコーウィルス9型は乳幼児期に罹患すれば発疹程度ですが、幼学童期に罹患すると無菌性髄膜炎のような重篤な病態を呈しやすいウイルスである可能性があり³⁾、兄弟・姉妹間など同胞間での感染に注意を要する。

エコーウィルス30型も無菌性髄膜炎を起こすことが知られている。1997年7月～12月の間に報告された全国の情報では分離されたエコーウィルス30型のうち無菌性髄膜炎が87%を占め³⁾、宮崎県でも無菌性髄膜炎の患者から分離された割合が90%であることから、エコーウィルス30型は神経親和性の強いウイルスであることが推測される。また、エンテロウイルスの多くは7～8月を中心として分離されるが、1997年のエコーウィルス30型は全国的にみても分離のピークが大きく右にずれて越年することが予測され、過去にエコーウィルス30型が1989年、1990年、1991年と3年連続して流行した経緯を併せて考えると、エコーウィルス30型の今後の動向に注意を払うべきと思われる。

謝　　辞

1997年の結核・感染症発生動向調査事業におきまして検体材料を提供していただいた各協力医療機関に深謝いたします。

協力医療機関

県立延岡病院、県立宮崎病院、古賀総合病院、小林市立市民病院、田崎皮膚科医院、都農町国民健康保険病院、徳田内科・小児科、永山小児科、平塚医院、フタバ皮膚科形成外科医院、三宅小児科医院、都城市郡医師会病院、宮崎医科大学医学部付属病院小児科、宮崎生協病院、わたなべ小児科

文　　献

- 1) 吉野修司、山本正悟、八木利喬:Caco-2細胞を用いたインフルエンザウイルスの分離. 宮崎県衛生環境研究所年報, 8, 59-62, 1996.
- 2) 国立感染症研究所: 1996 / 97シーズン後期のインフルエンザB型ウイルスの流行. 病原微生物検出情報, Vol.18, No. 5, 1997.
- 3) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, Vol. 19, No. 1, 1998.
- 4) 国立感染症研究所:<特集>コクサッキーB群ウイルス1981～1994. 病原微生物検出情報, Vol. 16, No. 8, 1995.
- 5) 国立感染症研究所: 発疹症患者からのエコーウィルス9型の分離. 病原微生物検出情報, Vol.15, No. 10, 1994.

固相抽出法を用いたHPLCによる茶浸出液中の残留農薬一斉分析法

小坂妙子・小野和則・山本雄三・武田攻

HPLC Simultaneous Analysis of Pesticides in Tea with Solid-Phase Extraction

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

Abstract

A simultaneous analytical method by high performance liquid chromatography (HPLC) was studied for the determination of 13 pesticides in tea using solid-phase extraction cartridges. The pesticides in tea were extracted with boiling water. The extract was applied to the solid-phase extraction cartridges and eluted with dichloromethane. The eluates were evaporated to dryness and dissolved with acetonitrile. The pesticides were determined by HPLC. The recoveries of pesticides were 60–110%. The limits of quantification and detection were 0.5 ppm. The concentrations were 1/70-1/20 of the residual standards of the Food Sanitation Law.

The stability of the standard solutions during storage under cold and dark at 100 ppm was investigated. Eleven pesticides were stable for thirty days. Triflumizole decreased to 82% and iprodione decreased to 0%. Both of the pesticides decreased rapidly during storage under room temperature.

Key words : pesticides ; simultaneous determination ; solid-phase extraction ; tea ; HPLC

はじめに

農産物中の農薬の残留基準は、平成10年3月1日付で新たに23農薬が追加され、現在161農薬に対して設定されている。その残留農薬試験法をみると、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によるものが漸増し、40農薬となっているが、告示法ではN-メチルカルバメイト系農薬を除き、個別的な分析法がほとんどである。

試験検査の迅速化のためのHPLCによる一斉分析方法は、アセトニトリル抽出-ミニカラム精製法¹⁾やC18固相抽出法²⁾、ゲル浸透クロマトグラフ法(GPC)³⁾等の報告があり、著者らもアセトニトリル抽出及びC18-SAX-PSAミニカラム精製法⁴⁾について昨年報告した。

しかし、これらのHPLCによる一斉分析方法は果実や野菜が対象となっており、茶試料については報告が少ない。

茶(抹茶を除く)は、告示法では沸騰水による浸出

液について分析することに定められているが、多量のタンニン等のポリフェノール類が含まれているため、茶浸出液を有機溶媒で抽出すると著しく乳化して液層の分離が困難であり、告示法等多くは酢酸鉛で除タンニンする方法が採られている。しかし、酢酸鉛は分析後の廃棄物の適正な処理が必要となり、器具等の洗浄後の排水にも注意しなければならない。また、農薬によっては沈殿物に吸着し、回収率が落ちる⁵⁾ものもある。

そこで、茶浸出液を固相抽出カラムで抽出する方法を用いた分析方法について検討することとした。固相抽出カラム抽出法は、上水試験法⁶⁾に採用され、すでに食品中の残留農薬^{7) 8)}などの抽出に適用されている。今回、HPLCのUVで測定される農薬の中で誘導体化の必要なものを除く11農薬について固相抽出カラム抽出法を適用し、一斉分析法の検討を行った。

また、平成9年度より導入されている業務管理基準(GLP)により試験検査を実施する上で、標準液の保存方法や使用期限等は重要な事項となっており、検査

標準作業書に明記することになっている。有機リン系や有機塩素系農薬など比較的以前から残留基準の設定されているものについての報告^②があるが、試験法に安定性に新たに設定された農薬は資料が少ない。そこで今回、試験対象とした各農薬標準溶液の安定性についても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茶 6 検体を用いた。

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、イプロジオン代謝物、エトフェンプロックス、クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、シラフルオフェン、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、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン、ヘキシチアゾクスの13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：各農薬標準品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。

標準原液をメタノールで希釈し、5 ppmの混合溶液を調整し、添加回収試験用標準溶液とした。

3) 試薬等

アセトニトリル、メタノール：高速液体クロマトグラフィー用

ジクロロメタン、アセトン、ヘキサン、石油エーテル、無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用

塩化ナトリウム及び塩酸：試薬特級

Excellpak SPE-UNI (500mg), Excellpak SPE-GLF (500mg) :横河アナリティカルシステム社製で、予めメタノール6ml、水10mlでコンディショニングしておく。

Accu BOND ODS-C18 (1000mg) :J&W社製で、予めメタノール6ml、水10mlでコンディショニングしておく。

Bond Elut SAX (500mg), Bond Elut PSA (500mg) :バリアン社製で、SAXの下にPSAを連結して用い、予めアセトン-石油エーテル (1:2) 10mlでコンディショニングしておく。

Sep-Pak Florisil (500mg) :ウォターズ製を用い、

予めアセトン-ヘキサン(1:4)10mlでコンディショニングしておく。

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-10 A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

真空式ポンプロータリーエバボレーター：柴田科学, Buchi製

5. 分析操作

1) 試験溶液の調整

試料9gを100°Cの水540mlに浸し、5分間放置した後、ろ過する。この茶浸出液60mlを予めコンディショニングした固相抽出カラムに負荷した。固相抽出カラムを15分間減圧吸引により脱水し、固相中の水分をほとんど除去した後ジクロロメタン10mlで溶出した。無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧下で溶媒を除去し、アセトニトリルで2mlに定容し、HPLC用試験溶液とした。

2) 添加回収試験溶液の調整

茶浸出液60ml(試料1g相当)に農薬混合標準液(5ug/ml) 2mlを添加し、1)の操作を行った。

3) 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: 2mM K₂HPo₄:CH₃CN(70:30)

B: CH₃CN

Gradient : Time 0→45→55→70 min
B 30→60→90→90 %

Flow rate : 1ml/min

Sample : 20 μl

Column Temp. : 40°C

Detector : SHIMADZU SPD-M10A

結 果

1. HPLC条件

HPLC条件について検討した。

昨年米と野菜の試料で検討した²⁾ 10mMリン酸二水素カリウム-アセトニトリル混液A液(70:30)、B液(20:80)でのグラジェントでは新基準に追加されたシラフルオフェンの溶出が非常に遅れ、その他の農薬も分離ができないものがあった。

そこでB液のアセトニトリルの濃度を高める必要があった。アセトニトリル-水ではトリフルミゾール代謝物のピークがブロードになり茶成分との分離が不十分だったため、A液を2 mMリン酸二水素カリウム-アセトニトリル混液(70:30)、B液をアセトニトリルでのグラジェントで農薬の分離と分析時間を検討した。

その結果Table 1に示す条件が最適であった。5 ppm標準混合液のクロマトグラムをFig. 1に示す。

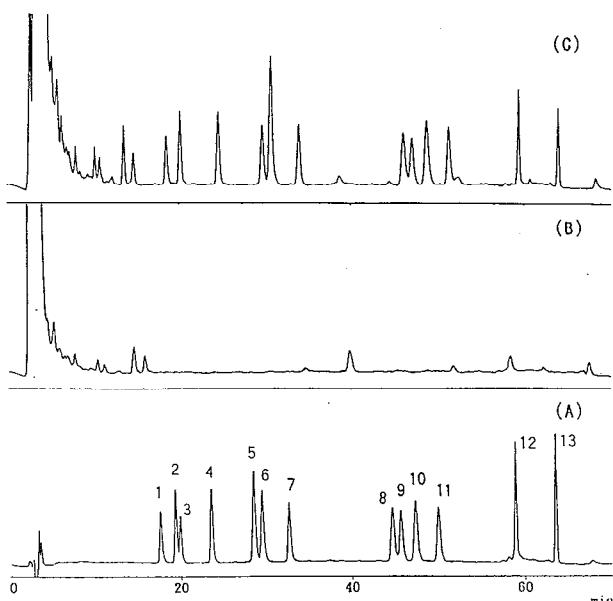


Fig. 1 HPLC chromatograms of standard solution and tea extract using SPE-GLF

(A) standards at 5ppm

- 1:triflumizole metabolite,
- 2:diflubenzuron, 3:iprodione,
- 4:tebufenozide, 5:triflumizole,
- 6:iprodion metabolite, 7:hexaflumuron,
- 8:hexythiazox, 9:flufenoxuron,
- 10:fenpyroximate, 11:chlorfluazuron,
- 12:ethofenpurox, 13:silafluofen

(B) extract of unspiked tea

(C) extract of spiked with standrds

2. 固相抽出カラムによる抽出の検討

茶浸出液の有機溶媒による抽出は、液層のエマルジョンや除タンニン操作によるトリフルミゾール等回収率の低下、酢酸鉛の適正な処理の必要性等の問題点があり、固相抽出カラムによる抽出を検討した。

カラムは上水試験法で用いられているODS固相抽出カラムC18とスチレンジビニルベンゼン/メタクリレート系ポリマー固相抽出カラムであるSPE-UNI, SPE-GLFを用いた。

C18は茶浸出液(pHは6.3~6.7)をそのままカラムに負荷するとシラフルオフェンが保持されず、流出した。そこで10%, 30%になるように塩化ナトリウムを加えて溶解し負荷したところと保持率は上がった。30%では試料が粘稠性が出て、抽出速度が遅くなり、速度調整が困難であったため、10%になるように塩化ナトリウムを加えて負荷することとした。SPE-UNI, SPE-GLFは1 mol/l 塩酸溶液で茶浸出液をpH3.5~4.5に調整した。

固相抽出カラムの溶出液については、カラムに水溶液である茶浸出液を負荷するため、アセトニトリル等極性の高い方がカラム内を均一に通過し農薬の溶出率が高いと考えたが、極性の高い溶媒ではカラムに保持された多量の茶成分も同時に溶出され、濃縮すると多量に不溶物が析出した。そこでカラムを15分間吸引により脱水し、ジクロロメタンを用いて溶出した。

次にミニカートリッジの場合は保持能力が小さいため、試料負荷量について検討した。茶浸出液30ml, 60ml, 90mlに各農薬を10 µg添加し、3種類の固相抽出カラム(SPE-UNI, SPE-GLF, ODS-C18)に負荷し、回収率を求めた。結果をTable 2に示す。農薬ではシラフルオフェンが負荷量による回収率の影響が大きく、60ml, 90mlと増加するに従ってシラフルオフェンの回収率が低下し、負荷量は60mlまでが適当だった。カラムの抽出率はSPE-UNIが若干低かった。また、C18は流出速度が遅く吸引する必要があったが、SPE-UNI及びSPE-GLFは吸引せずに定速的に溶出した。

3. 精製の検討

今回、Sep-Pak FlorisilとLuke-II法で用いられているSAX-PSAミニカラムについて検討した。

固相抽出した試験溶液の溶媒を除去し、残渣物をアセトン1 mlで溶解後、Sep-Pak Florisilの場合はヘキサン4 mlをSAX-PSAの場合は石油エーテル2 mlを加え、負荷溶液とした。残渣物をアセトンで溶解する

Table 2 Effect of applied volume on recoveries of pesticides

Pesticide	volume cartridge recovery	30ml			60ml			90ml		
		C18	UNI	GLF (%)	C18	UNI	GLF (%)	C18	UNI	GLF (%)
Chlorfluazuron		95	92	92	87	77	81	73	76	79
Diflubenzuron		97	104	97	90	87	88	81	86	93
Ethofenprox		108	110	104	98	76	78	78	98	101
Fenpyroximate		97	94	96	84	79	80	88	100	98
Flufenoxuron		93	90	97	85	77	81	79	90	90
Hexaflumuron		96	87	96	83	82	81	87	88	96
Hexythiazox		99	94	98	80	79	79	88	92	93
Iprodione metabolite		95	95	97	93	86	88	91	91	97
Silaflufen		72	65	77	76	46	61	48	47	58
Tebufenozide		90	89	91	92	89	92	87	89	94
Triflumizole		72	74	77	69	77	77	60	69	74
Triflumizole metabolite		97	105	93	100	52	69	94	84	92

Samples were spiked with 10ng of each standard

Data are means for 2 trials

操作をしないと、残渣物の塊ができ、農薬の溶解が妨げられ、回収率が極端に低下した。

Sep-Pak Florisil又はSAX-PSAで精製したクロマトグラムとSPE-GLFで固相抽出し、精製操作をせずそのまま測定したクロマトグラムをfig. 2 に示す。 SAX-PSAよりSep-Pak Florisilの方が精製効果が高かったが、農薬を測定するリテンションタイム内では精製操作を加えない場合と大きな差は見られなかった。

茶試料については、固相抽出カラムによる抽出後、そのままHPLC測定を行うことでスクリーニング法として十分使用できると思われた。この分析法の検出限界はすべての農薬について0.5ppmであり、残留基準の1/70～1/20の濃度であった。

4. 標準液の安定性

今回試験対象とした13農薬の標準溶液の安定性について検討を行った。

メタノールで各々100ppmに調整した農薬標準液を冷蔵庫内(4°C)で遮光条件下で1ヶ月間保存し、変化をみた。イプロジオン、イプロジオン代謝物、トリフルミゾールを除く10農薬については減少は認められず、安定であった。また、10農薬のうち平成9年以前より基準があり1年間にわたり冷蔵庫内(4°C)で遮光条件下で保存したクロルフルアズロン、ジフルベンズロン、エトフェンプロックス、フェンピロキシメート、

テブフェノジド標準液についても合わせて測定したが安定であった。

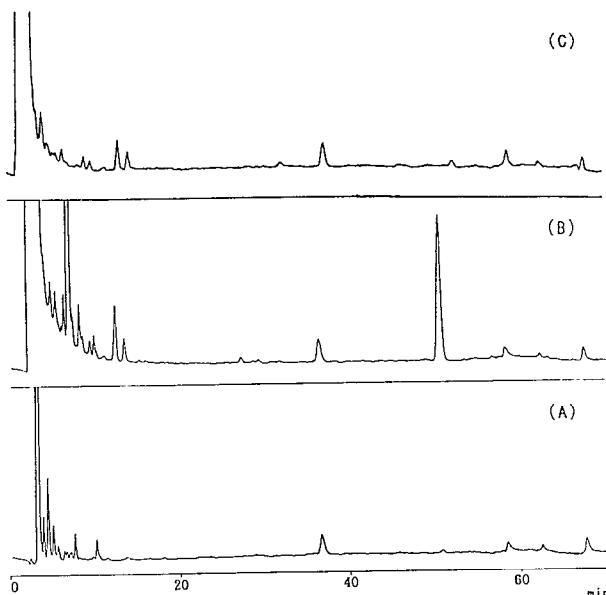


Fig. 2 Effect of clean-up by florisil and SAX-PSA cartridges on HPLC chromatograms of tea extract

- (A) after clean-up by florisil cartridge
- (B) after clean-up by PAX-PSA cartridges
- (C) without clean-up

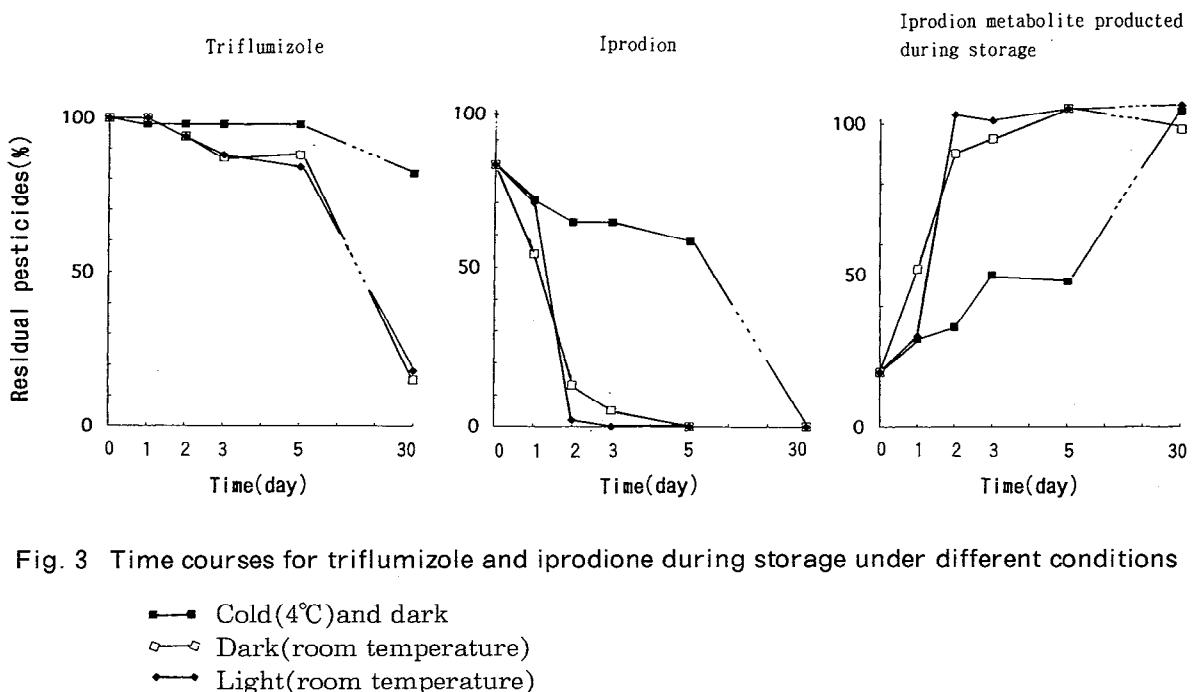


Fig. 3 Time courses for triflumizole and iprodione during storage under different conditions

- Cold(4°C) and dark
- △ Dark(room temperature)
- ▲ Light(room temperature)

保存中変化のあったイプロジオン、イプロジオン代謝物、トリフルミゾールについては、これらの100 ppm標準液を(1)室温で遮光、(2)室温で非遮光、(3)冷蔵庫内(4°C)で遮光の3種類の保存条件下での経日変化をみた。(1)、(3)については茶褐色ねじ口びんに、(2)は透明試験管に保存した。その結果をfig. 3に示す。

イプロジオンは標準液を調整した数時間後に測定しても12%代謝物が検出され、冷蔵遮光でも1週間で40%に減少し、室温では遮光、非遮光に関わらず急速に減少し、3日目でほぼ消失してしまった。イプロジオンは不安定でイソプロピル基とジクロロフェニル基が置換された代謝物になる⁹⁾とされるが、イプロジオンの減少に反比例してイプロジオン代謝物が増加した。その結果イプロジオン代謝物は農薬標準液を混合して測定すると経日的に増加したが、イプロジオン代謝物単独で測定すると増減は見られず、安定していた。トリフルミゾールは冷蔵遮光で1ヶ月後に約80%に減少し、経日的に徐々に減少した。トリフルミゾールの主代謝物である4-chloro- α , α , α -trifluoro-N-(1-amino-2-propoxyethylidene)-o-toluidineではなく、別の分解物がトリフルミゾールの減少と反比例的に検出された。室温では遮光、非遮光に関わらず同速度で1ヶ月後に約20%に減少し、温度の影響が大きいことを示した。トリフルミゾール代謝物については安定していた。

今回の試験において13農薬中11農薬については安定

性があったが、今後さらに長期間の試験が必要と考えられる。また、イプロジオン、トリフルミゾールについては、標準原液の用時調整と調整後の管理に注意を必要とする。

まとめ

1. 茶浸出液中の農薬を固相抽出カラムで抽出し、HPLCにより測定する残留農薬の一斉分析法及び標準液の安定性について検討を行った。
2. C 18 , SPE-GLF固相抽出カラムを用い、茶浸出液60mlで回収率が60~110%と良好であった。
3. 固相抽出法では水溶性物質の除去をかねることができ、良好な精製効果も得られ、他のカラムによる精製を加える必要が少ないと考えられた。
4. 検出限界はすべての農薬について0.5ppmであり、残基標準の1/70~1/20での分析が可能であったため、農薬のスクリーニング法として十分使用できる。
5. 13農薬中イプロジオン、トリフルミゾールを除く11農薬については安定性があったが、イプロジオン、トリフルミゾールについては、標準原液の用時調整が必要であり、また調整後も管理に注意を要する。安定性試験については、今後さらに長期間の確認を行う予定である。

文 献

- 1) 外海泰秀, 津村ゆかり, 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法, 食品衛生学雑誌, 39, 13-25, 1998
- 2) 小坂妙子, 小野和則, 山本雄三, 武田攻:HPLC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, 8, 82-87, 1996
- 3) 星野揚二, 徳丸雅一: 固相抽出法による防かび剤の簡易分析法について, 第72回食品衛生学会講演要旨集, 10-11, 1996
- 4) 大熊和行, 小川正彦, 阪本晶子, 佐藤誠, 志村恭子, 松本正, 坂井亨: GC/MS-SIM及びPDA-HPLCを用いた農産物中残留農薬の迅速分析法, 第34回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 42, 1997
- 5) 農薬残留農薬分析法研究班: 最新農薬の残留分析法, 368-369, 570-572, 653-655, 中央法規出版, 1995
- 6) 厚生省生活衛生局水道環境部: 上水試験方法, 1993年度版, IV-4 有機物
- 7) 水越一史, 遠藤友紀子, 岩田仁, 國寄明子, 渋谷隆, 前川吉明: 茶浸出液中の残留農薬の簡易一斉分析法, 第73回食品衛生学会講演要旨集, 39, 1997
- 8) 平原親, 成田美加子, 岡本浩一郎, 三好智子, 宮田昌弘他: 農薬標準液の経時的安定性について, 衛生化学, 40, 393-398, 1994
- 9) 厚生省生活衛生局食品化学課: 第3回食品残留農薬分析法講習会講義資料, 91, 1994

宮崎県における環境放射能調査（第10報）

押川智子・小田耕一^{*}・前田武

Radioactivity Monitoring Data in Miyazaki Prefecture (X)

Tomoko OSHIKAWA, Kouiti ODA, and Takeshi MAEDA

Abstract

Environmental and dietary radioactivity has been monitored in Miyazaki Prefecture since July 1988. In this paper, we are reporting the radioactivity survey data from 1997.

Gross β radioactivity in rain samples collected in Miyazaki Prefecture was at a usual level. We detected Cesium-137 in dry fallout, soil, radish, 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 25.6–55.2 nGy/h using a monitoring post and 50–56 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9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ー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

していく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 壤：圃場より採取した上層及び下層の土壤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 MAR-21) 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9年度は、総量3066.1mmの降雨があり、102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7回分の降水試料についても異常値は認められなかった。

大気浮遊塵、降下物及び土壤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8試料から検出された。検出された試料は、土壤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3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28.0nGy/h、サーベイメータによる測定結果が52.2nGy/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 取 年 月	降 水 量 (mm)	降水の定時採取(定時降水)				月間降下量 (MBq/km ²)	
		放射能濃度(Bq/l)					
		測定数	最低値	最高値			
平成9年	4月	121.8	11	N.D	1.4	30.0	
	5月	95.3	9	N.D	N.D	N.D	
	6月	477.6	10	N.D	N.D	N.D	
	7月	228.3	11	N.D	N.D	N.D	
	8月	331.6	11	N.D	N.D	N.D	
	9月	473.8	5	N.D	4.4	3.3	
	10月	219.8	5	N.D	N.D	N.D	
	11月	100.0	5	N.D	N.D	N.D	
	12月	116.1	6	N.D	N.D	N.D	
平成10年	1月	416.6	10	N.D	N.D	N.D	
	2月	326.4	7	N.D	1.6	47.5	
	3月	158.8	12	N.D	2.6	129.2	
年間値	3066.1	102	N.D	4.4	N.D~129.2		
前年度までの過去3年間の値	—	272	N.D	7.1	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		前年度までの		その他検出された人工放射性核種	単位
				平成9年度の値 最低値	最高値	過去3年間の値 最低値	最高値		
大気浮遊塵	宮崎市	H9.4～H10.3	4	N.D	N.D	N.D	N.D		mBq/m ³
降下物	"	H9.4～H10.3	12	N.D	N.D	N.D	0.095		mBq/km ²
陸水 蛇口水	"	H9.6, H9.12	2	N.D	N.D	N.D	N.D		mBq/l
土 0-5cm	佐土原町	H9.8	1	7.8 562	7.8 490	9.1 660		Bq/kg乾土	mBq/km ²
壤 5-20cm	"	"	1	7.6 787	5.8 950	8.3 1120		Bq/kg乾土	mBq/km ²
精 米	"	H9.8	1	N.D	N.D	N.D		Bq/kg精米	
野 大 根 高鍋町		H9.11	1	0.04	N.D	0.076		Bq/kg	
菜 ホウレン草	"	"	1	N.D	N.D	0.06		Bq/kg生	
茶 川南町, 都城市	H9.5	2	0.2	1.8	2.0	2.9		Bq/kg乾物	
牛 乳 高原町	H9.8, H10.2	2	N.D	N.D	N.D	N.D		Bq/kg	
日 常 食 宮崎市, 高千穂町	H9.6, H9.12	4	N.D	0.076	0.027	0.15		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	モニタリング点			サーベイータ (nGy/h)
	最低値	最高値	平均値	
平成9年 4月	26.2	41.5	27.4	56
5月	25.9	35.0	27.3	50
6月	25.7	48.0	28.2	50
7月	25.6	36.3	26.9	50
8月	25.8	38.8	27.3	52
9月	25.9	53.6	28.2	50
10月	26.2	48.5	27.9	50
11月	26.1	42.7	28.2	54
12月	26.0	55.2	28.4	54
平成10年 1月	26.1	52.6	29.2	52
2月	26.0	49.7	28.3	56
3月	26.0	44.5	28.2	52
年 間 値	25.6	55.2	28.0	50～56
前年度までの 過去3年間の値	10.0*	20.8*	11.5*	50～58**

*旧機種(アロマ製MAR-11型)での測定値(単位: cps)

**平成8年度より機種変更のため平成8年度のみの測定値

平成9年度における宮崎県内の降水、大気浮遊塵、降下物、蛇口水、土壤、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37回環境放射能調査研究成果論文抄録集（平成6年度）
- 2) 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）
- 3) 科学技術庁：第39回環境放射能調査研究成果論文抄録集（平成8年度）

宮崎県内における酸性雨調査

— 平成 9 年度観測結果 —

山 田 音由記・齋 藤 信 弘^{*1}・山 田 和 史
小 畑 聰 子^{*2}・平 崎 勝 之・弓 削 洋 一

Investigation of Acid Rain in Miyazaki Prefecture
— Observations in the Fiscal Year 1997 —

Otoyuki YAMADA, Nobuhiro SAITO, Kazufumi YAMADA, Satoko KOBATA,
Masayuki HIRASAKI, and Yoichi YUGE

Abstract

Acid rain in Miyazaki Prefecture was investigated through the fiscal year 1997 without alteration of the observatories. The annual average pH of the year showed 4.76. The monthly average pH value of the whole sample varied from 4.26 to 5.95. The lowest pH 4.06 was observed in May in Miyakonojo City.

The total amount of deposition of ionic components in the year was highest among the last three years. The average NSS(non sea salt) content ratio of the year was 16.2%. The ratio of $\text{NO}_3^-/\text{nss-SO}_4^{2-}$, with an average of 0.39, varied from 0.31 to 0.51. The ratio of $(\text{NH}_4^++\text{nss-Ca}^{2+})/(\text{NO}_3^-+\text{nss-SO}_4^{2-})$ ranged from 0.42 to 0.83, with an average of 0.60. The amount of the neutralizing component nss-Ca²⁺ exceeded slightly that of the other component HH₄⁺ in Nobeoka contrary to the trend of the previous year.

The detection frequencies of F⁻ in the samples showed the same value as that of the last year, and it could be regarded that the monthly deposition amount of F⁻ correlates roughly with that of "volcanic nss-SO₄²⁻"(nss-SO₄²⁻-NO₃⁻).

The average ratio of the "volcanic nss-SO₄²⁻" to the whole nss-SO₄²⁻, the considerable amount of which is thought to be brought by the volcanic activities of Mt. Sakurajima, was estimated approximately to be 61% on the assumption that the value of nss-SO₄²⁻/NO₃⁻ is equal to 1.0 in the noneruptive states of the volcano.

Key words : acid rain, pH, anion, cation, deposition of ionic components

はじめに

前年度に引き続き今年度も県内の 5 地点において観測・調査を実施したのでその結果を報告する。

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 9 年 3 月 31 日から平成 10 年 4 月 1 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提示されている方法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

前年度に引き続いて延岡（延岡保健所）、椎葉（椎葉村役場）、衛環研、鰐塚山頂および都城（都城保健所）の計5地点で実施した。

調査結果および考察

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。前年度と同一の5地点の降雨量に関しては全体として前年度に比較して若干多かったがほぼ同じ程度の状況にあり、6月～9月の期間にまとまって降雨があったほか冬季の1、2月においても前年度よりやや多かった。台風については、6月と7月及び8月にそれぞれ1回ずつの接近と、6月と9月に8号及び19号の上陸があった。

2 降水の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

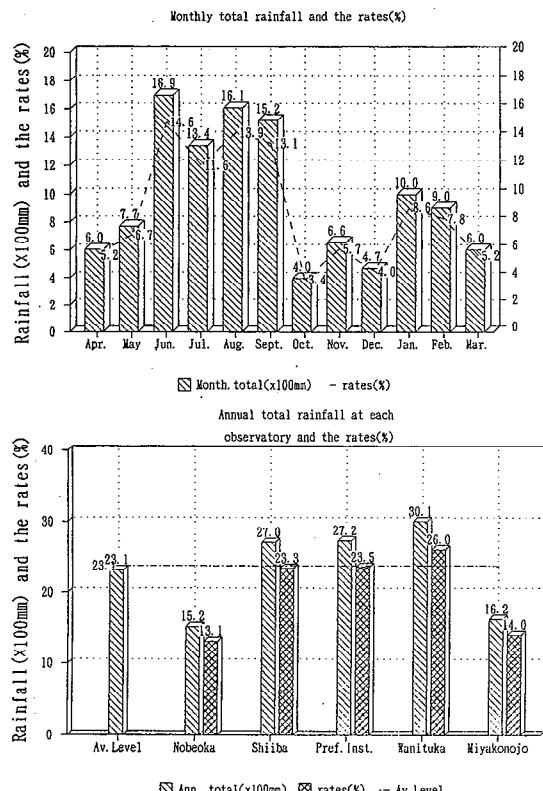


Fig. 1 Total rainfall at each observatory, monthly rainfall and their rates (%)

移状況をFig. 2に示す。5地点の年間総平均値は4.76であり、昨年度よりはわずかに減少したがほぼ横ばい状況にあると言つてよい。また、1試料単位のpHでは4.0を下回る値はなかったが低い値としては都城市（都城保健所）において5月に4.06、当研究所で4月に4.14等が観測されている。

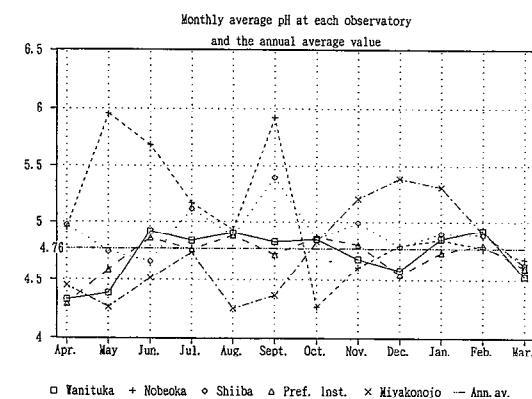


Fig. 2 Monthly change in pH at each observatory

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。今年度も山間地域に位置する椎葉で最も低い値を示したが、5地点における3年間の平均値としては前年度の降下量を上回り最も多い年となった。

また、イオン降下量中のNSSについてみると、Fig. 4に示すとおり、全体としては前年度と類似の含有率パターンを示したが数値的にはこれまでの傾向と異なり、都城よりも椎葉の割合が若干高かった。NSSの平均割合は1昨年度の約30%、昨年度の約20%よりもさらに低く今年度はこれまでで最低の16%であった。

酸性化成分間の比 $\text{NO}_3^-/\text{nss-SO}_4^{2-}$ はFig. 5に示すとおり当衛環研で最も高く鰐塚山で最も低い値を示し平均値では0.39とやや高い値を示した。また、酸性化の寄与率を示す酸性化成分間の比 $\text{NO}_3^-/(\text{nss-SO}_4^{2-}+\text{NO}_3^-)$ は7年度から22%, 26%, 28%と少しづつ NO_3^- の割合が高くなりつつあるが nss-SO_4^{2-} が2倍以上多く、約72%を占め、酸性化の主要因であることには変わりない。

中和成分については $\text{NH}_4^+/\text{nss-Ca}^{2+}$ で見るとFig. 6に示すとおり、これまでの傾向と異なり、延岡において nss-Ca^{2+} が NH_4^+ を若干上回り0.98を示したが他地点ではすべて NH_4^+ が優勢であり平均値でも1.90と高かった。

$\text{PN/PA} \{ (\text{NH}_4^+ + \text{nss-Ca}^{2+}) / (\text{nss-SO}_4^{2-} + \text{NO}_3^-) \}$ は Fig. 6 に見るとおり延岡と都城で高かったが、平均値としては 0.60 で昨年度と変わらなかった。

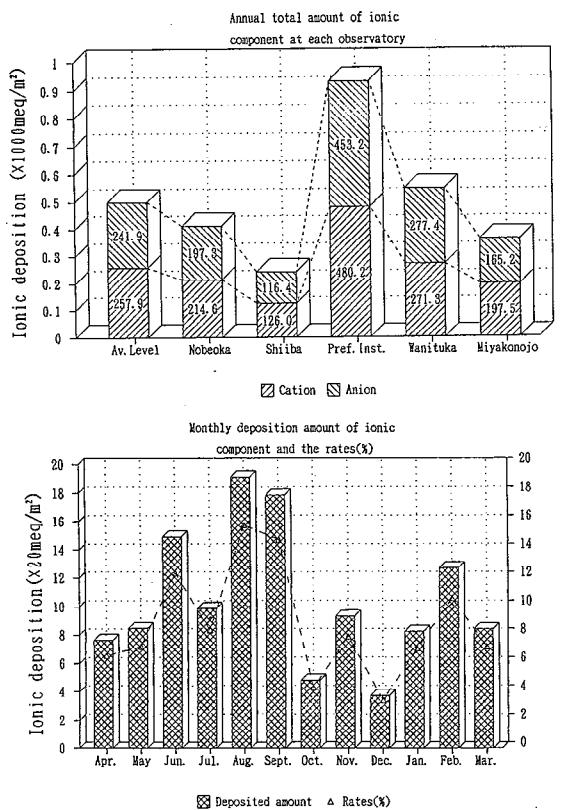


Fig. 3 Total amount of deposition of ionic components at each observatory and the monthly change

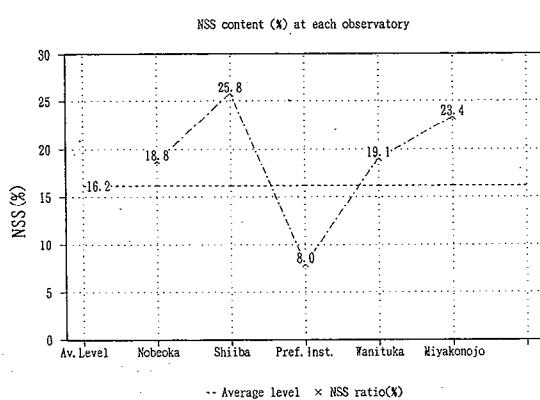


Fig. 4 NSS content ratios (%) at each observatory

4 その他

桜島火山の噴火・爆発回数は昨年度よりはやや多く 145 回観測されており⁶⁾、火山性ガスの影響のひとつと考えられる F^- の検出回数は昨年度と同数の 84 回あった。1991 年から同一の 4 地点について、 F^- の検出

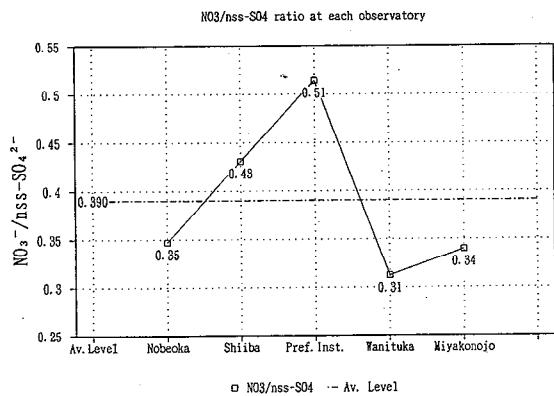


Fig. 5 $\text{NO}_3^-/\text{nss-SO}_4^{2-}$ ratio at each observatory

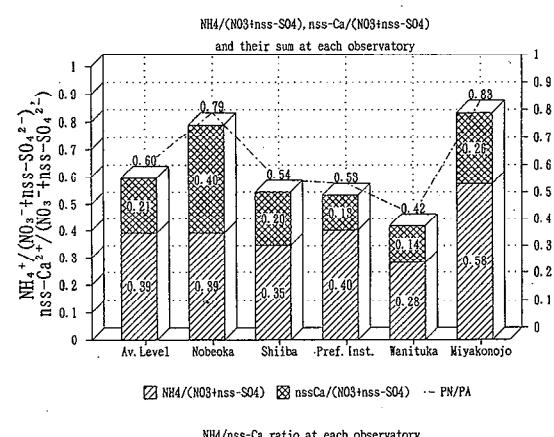


Fig. 6 $\text{NH}_4^+/\text{(NO}_3^- + \text{nss-SO}_4^{2-})$, $\text{nss-Ca}^{2+}/(\text{NO}_3^- + \text{nss-SO}_4^{2-})$ and $\text{NH}_4^+/\text{nss-Ca}^{2+}$ at each observatory

回数と桜島火山の噴火・爆発回数との変化を Fig. 8 に示すが、大雑把にみてかなり高い相関関係があるものと見てよいであろう。

nss-SO_4^{2-} のかなりの部分が桜島の火山活動により供給されているのではないか⁴⁾ と言うことについて

は前報において³⁾ふれたところであるが、どの程度の割合を占めるものかとすることについて全国公害研協議会の酸性雨調査研究部会が報告⁵⁾したところによると火山由来のSO₄²⁻の試算方法として、噴火前のnss-SO₄²⁻/NO₃⁻がほぼ1.0となる（ただし北部九州の値として）ことを基にして非噴火時のnss-SO₄²⁻をNO₃⁻×1.0に等しいと置いて次式

火山由来SO₄²⁻=nss-SO₄²⁻-(NO₃⁻×1.0)
によりその沈着量及び割合の算出が試みられている。
今回、同じ手法により本県内5地点における状況について試算してみた。その結果はTable 1に示すが、

Table 1 Volcanic nss-SO₄²⁻ content (%) in Total nss-SO₄²⁻

Observatory	Nobeoka	Shiiba	Pref. Inst.	Wanituka	Miyakonojo
Volcanic nss-SO ₄ ²⁻ (%)	65	57	49	69	66

全平均値ではnss-SO₄²⁻の約61% (T-SO₄²⁻の約50%) を占めている。火山の非噴火時のnss-SO₄²⁻/NO₃⁻を1.0と置くことについては、問題が無いわけではない。非噴火時のnss-SO₄²⁻の中には噴火（爆発）を伴わない通常の放出に基づくnss-SO₄²⁻もある程度含まれていると考えられるからである。実際に、非噴火時の九州南西部のnss-SO₄²⁻/NO₃⁻の値は2.7となっており火山に近い地点では通常活動による放出部分が上乗せされているものと考えられる。

一方、Fig. 7, Fig. 8に見るとおりF⁻の沈着量とnss-SO₄²⁻及びnss-SO₄²⁻-NO₃⁻の沈着量間並びにF⁻の検出頻度と桜島火山の活動（爆発・噴火回数）間にも相関関係の存在を見ることができる。火山からのnss-SO₄²⁻の寄与率の算出についてはnss-SO₄²⁻/NO₃⁻比を基にする場合、1.0あるいは1.0以外のどのような値の設定が妥当かまた前述のF⁻との相関関係を定量的取扱いに利用して沈着量割合等の算出を試みることができないかなどさらに検討してみたい。

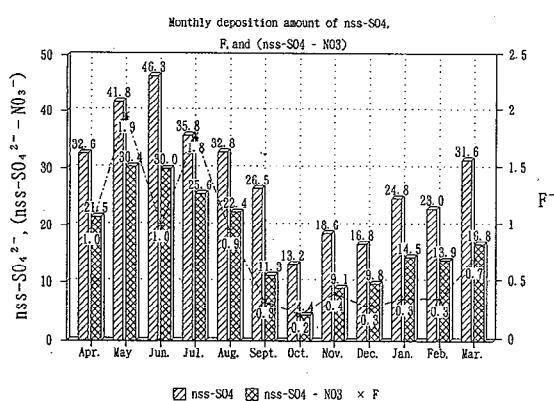


Fig. 7 Correlation between monthly amount of F⁻, nss-SO₄²⁻ and nss-SO₄²⁻-NO₃⁻ deposited

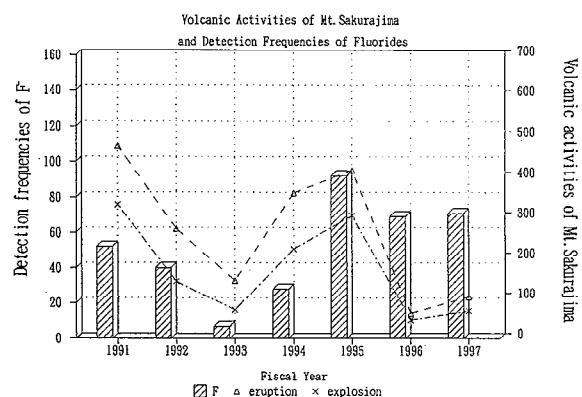


Fig. 8 Annual change of volcanic activities of Mt. Sakurajima and detection frequencies of F⁻ at the same four observatories

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並びに3年間に亘って試料採取装置の設置等について便宜を図っていただいた椎葉村役場環境衛生課の方々に感謝申し上げます。

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, 斎藤信弘, 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, 斎藤信弘, 山田和史, 小畠聰子, 迫田勝藏：宮崎県内における酸性雨調査, 宮崎県衛生環境研究所報, 8, 94-97, 1996
- 4) 藤田慎一：火山活動と環境の酸性化, 大気汚染学会誌, 28, 72-90, 1993
- 5) 全国公害研協議会酸性雨調査部会：第二次酸性雨全国調査報告書（平成7年度）, 21, 178-221, 1996
- 6) (財)日本気象協会南九州センター：桜島火山状況

亜酸化窒素濃度調査結果（第2報）

—一般環境及び発生源周辺の亜酸化窒素濃度調査—

山田和史・山田音由記・齋藤信弘^{*1}
平崎勝之・小畠聰子^{*2}・弓削洋一

Survey of Atmospheric Nitrous Oxide (II)

—Measuring the Concentrations of Nitrous Oxide in the Environment
and Around Chemical Plants in Miyazaki Prefecture—

Kazufumi YAMADA, Otoyuki YAMADA, Nobuhiro SAITO, Masayuki HIRASAKI,
Satoko KOBATA, and Youichi YUGE

Abstract

Nitrous oxide (N_2O) is well known as "laughing gas", and is used as an anesthetic. N_2O is one of the greenhouse gases and destroys the stratospheric ozone layer. There is a chemical plant which is one of the large emission sources of N_2O in Miyazaki Prefecture.

A study of concentrations of N_2O in the environment and around the chemical plant was continued from 1995.

The concentration of N_2O in environment was between 299 and 321 ppb in the first survey which was carried out in May and June 1997 and between 299 and 339 in the second survey in January 1998. The maximum concentration (1220 ppb) was measured at the point about 1 kilometer south from the plant.

Key words : nitrous oxide, chemical plant

はじめに

本県には、亜酸化窒素(N_2O)の大規模発生源の一つとされる化学工場があり、高濃度の N_2O の排出が確認され、周辺環境への影響が懸念された。そこで、平成7年度と8年度に一般環境並びに発生源周辺での N_2O 濃度の調査を実施した¹⁾。その結果、一般環境中では、310から316 ppbと文献値²⁾に近い濃度であったが、発生源周辺で高濃度の N_2O が測定された。そのため、一般環境と発生源周辺で確認のための調査を平成9年度にも行ったので、その結果について報告する。

調査方法

1 調査時期

1回目の調査は、平成9年5月27日から6月5日までの間に、県内の一般環境と発生源周辺について試料の採取を行った。

また、2回目の調査は、平成10年1月8日から9日に県北地域の一般環境と発生源周辺の調査を行った。

2 調査地点

一般環境では、工業地域として延岡市及び日向市、商業地域として宮崎市及び都城市、田園地域として都城市郊外、山間地域として鰐塚山山頂付近を調査地域とした。

調査地点は、原則として、大気汚染常時監視測定期とし、測定期のない地域はその地域を代表するよう

地点を選んだ。

発生源地域については、工場敷地境界付近で10地点（発生源を中心として半径500m程度の円内）、周辺地域で6地点（発生源からの距離約1～5km程度）で試料を採取した。

3 試料採取方法

試料は、前回と同様にダイアフラムポンプを用いて、サンプリングラインを試料空気で充分置換した後、テドラー袋（10ℓ容）に採取し、遮光保存して分析に供した。

なお、保存中のアーティファクトを防ぐため、試料採取の際、過塩素酸マグネシウム管を通して水分の除去を行った。

4 分析方法

亜酸化窒素分析キット（株島津製作所製）を装着した電子捕獲検出器(ECD)付きガスクロマトグラフ(GC)に試料3mlを導入し分析を行った。

分析条件をTable 1に示す。

標準ガスとしては、315ppbのN₂O（日本酸素製、バランスガス：空気）を用いた。

Table 1 Condition of gas chromatograph

Instrument	Shimadzu GC-14A
Detector	ECD Current 1nA Range 10 ¹
Column	Porapack Q 2mmφ × 2m
Temperature	Column 60°C Injection 100°C Detector 300°C
Carrier gas	Ar 5% / CH ₄ 1.9kg / m ³

結果及び考察

5月から6月にかけての一般環境中及び発生源地域でのN₂O濃度は、Fig. 1に示すように299～321ppbであった。

また、発生源周辺でのN₂O濃度は、Fig. 2に示すように302～315ppbと一般環境中濃度とほとんど変わらなかった。前回の調査結果と差異が認められなかったため、工場に確認したところ、5月9日から6月2日まで工場が停止していたことがわかった。

前回の調査で観測された高濃度の地点は、やはり工場から排出されたN₂Oの影響であることが示唆された。

1月には、県北地域について調査を行った。

1月9日の調査結果は、Fig. 3に示すように、発生源地域以外の県北地域のN₂O濃度は、299～339ppbであった。

Fig. 4とFig. 5に示した風向風速からわかるように、風向風速が一定していないことからN₂Oが十分拡散されていると考えられる。

これと対照的に翌日の9日には、Fig. 6とFig. 7に示したように、北寄りの風が強く発生源の南1kmの地点で1220ppbという高濃度のN₂Oが観測された。

点煙源拡散式³⁾に基づいて拡散計算を行った結果をFig. 8に示す。この図から風速1～8m/Sで拡散された場合、発生源から200～300m離れた地点で最大着地濃度8000～38000ppbとなることがわかる。また、風速8m/Sでも1km離れた地点でのN₂O濃度が、2000ppbとなっており、これまでの調査で観測された高濃度の地点が存在する可能性をこの計算結果は示している。

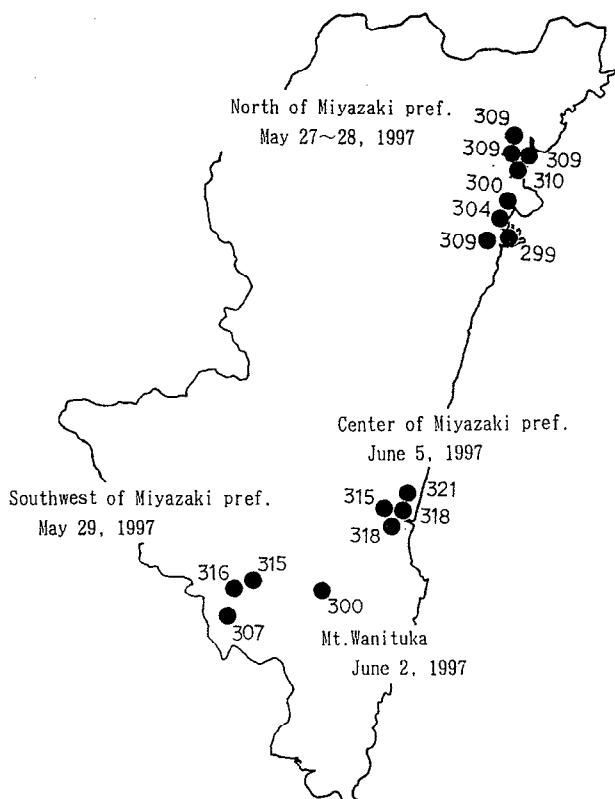


Fig. 1 Concentration of environmental N₂O (Unit : ppb)

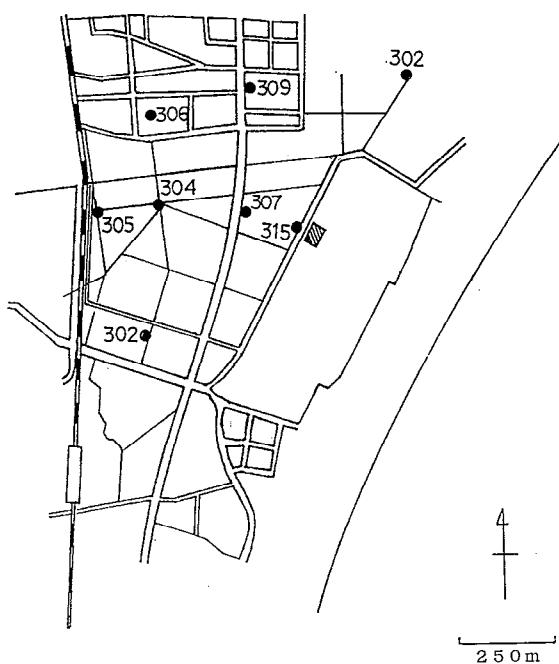


Fig. 2 Concentration of N_2O around N_2O emission source(Unit : ppb) Sampling : May 27~28, 1997

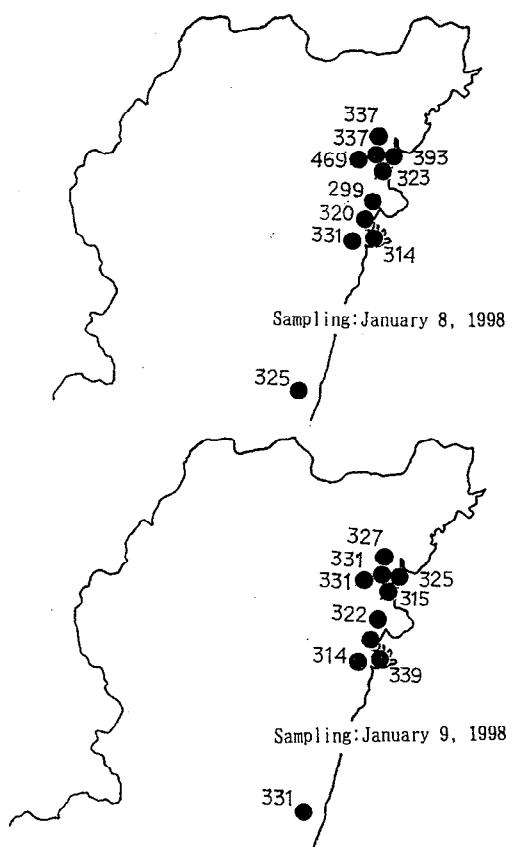


Fig. 3 Concentration of environmental N_2O (Unit : ppb)

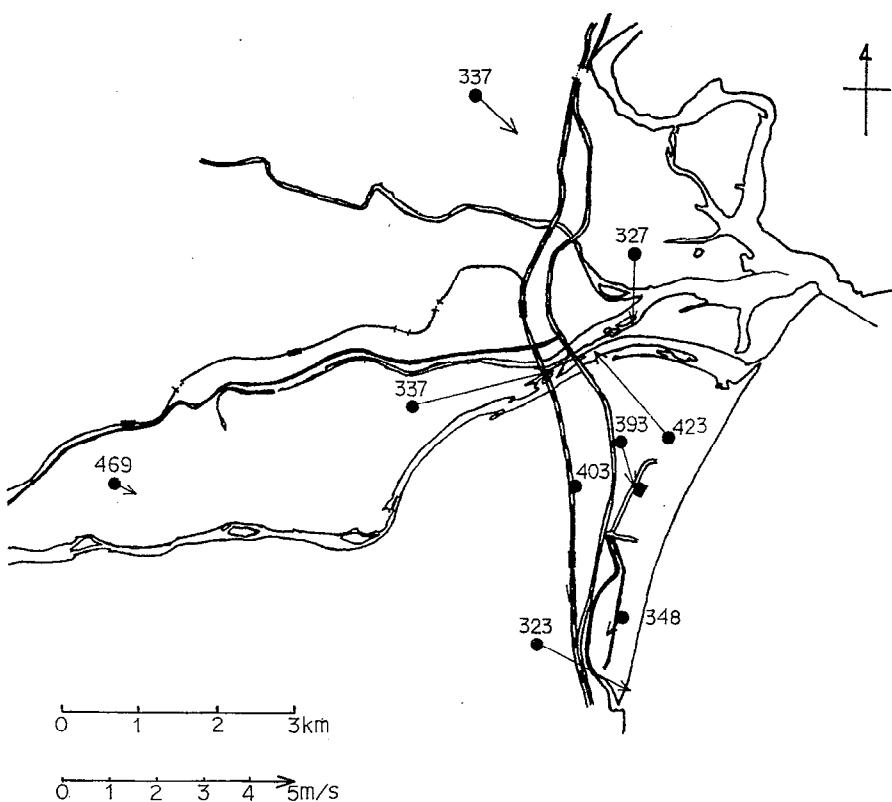


Fig. 4 Concentration of N_2O around N_2O emission source(Unit : ppb) Sampling : January 8, 1997

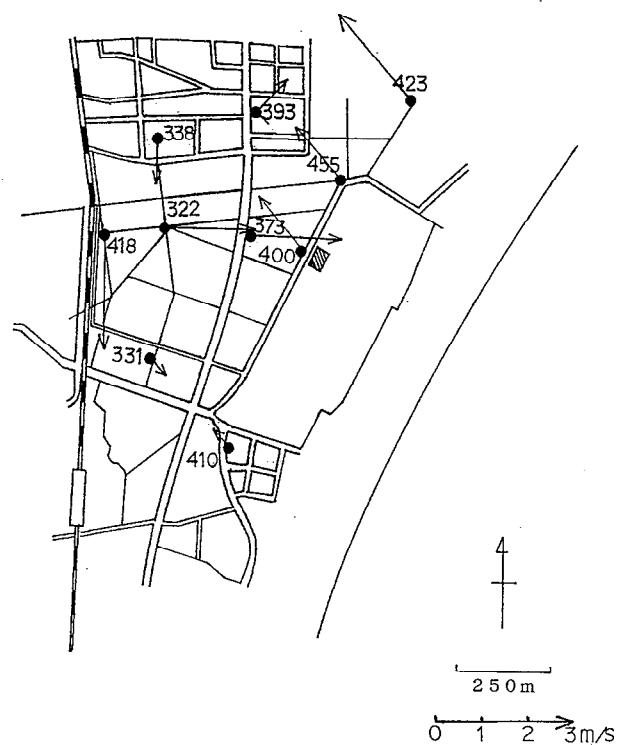


Fig. 5 Concentration of N_2O around N_2O emission source(Unit : ppb) Sampling
: January 8, 1997

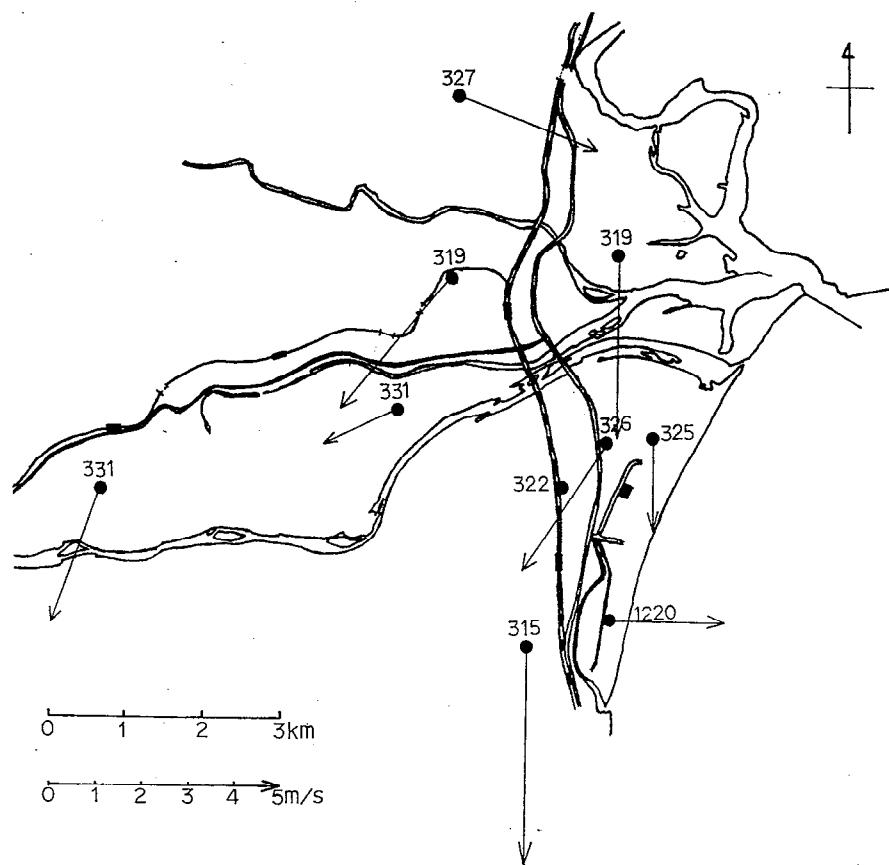


Fig. 6 Concentration of N_2O around N_2O emission source(Unit : ppb) Sampling
: January 9, 1997

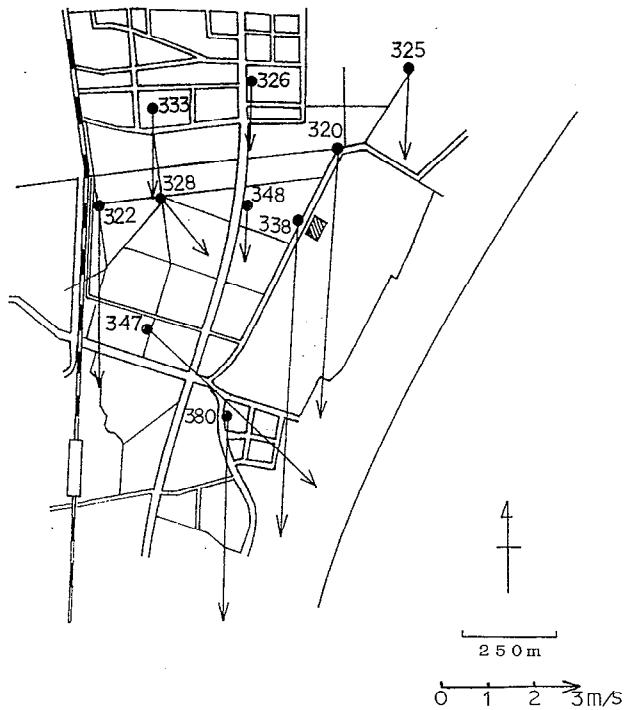


Fig. 7 Concentration of N_2O around N_2O
emission source (Unit : ppb) Sampling
: January 9, 1997

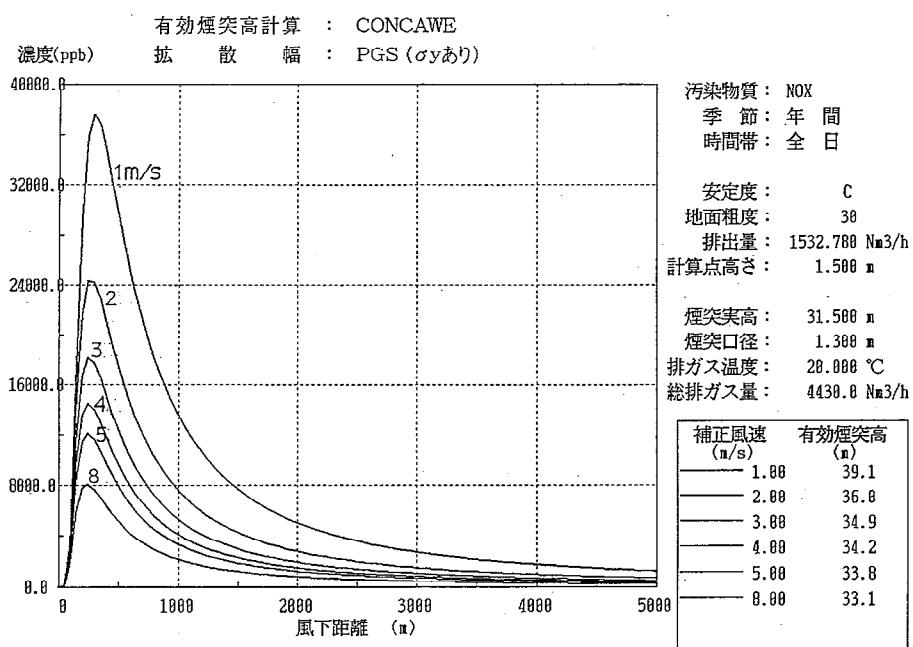


Fig. 8 Calculated concentration by plume model

ま と め

一般環境及び発生源周辺でのN₂O濃度調査を行った。

発生源周辺では、高い濃度のN₂Oが観測される地点があることが確認された。

また、発生源である化学工場において、N₂Oの排出量削減計画があることから、削減後のN₂O濃度についても調査したいと考えている。

参考文献

- 1) 山田和史、山田音由記、齋藤信弘ら：宮崎県
- 2) 玉置元則、平木隆年：大気汚染学会誌、18、275
-285、1988
- 3) 環境庁大気保全局大気規制課編：窒素酸化物総量規制マニュアル〔増補改訂版〕、199

魚毒性の高い農薬27種の一斉分析の検討

富山典孝・河野謙一・関屋幸一
杉本貴之・河野和子・小畠聰子¹

Studies on Simultaneous Analysis of 27 Poisonous Pesticides in Water for Fish

Noritaka TOMIYAMA, Ken'ichi KOHNO, Kouich SEKIYA, Takayuki SUGIMOTO,
Kazuko KAWANO, and Satoko KOBATA

Abstract

Simultaneous analysis method by GC/MS for 27 kinds of poisonous pesticides in water sample for fish by solvent extraction with dichloromethane and solid-phase extraction used octadecyl bonded silica cartridge (tC18) or polystyrene divinyl benzene copolymer cartridge (PS-2) was studied to investigate the cause of fish mortality accidents.

Excellent extraction recoveries with dichloromethane from river water were obtained for the pesticides investigated except for carbosulfan and sulfate-benzoepin.

Recoveries with the solid-phase extraction from pure water were more than 60% for 13 pesticides, less than 60% for 14 pesticides. Especially, pesticides of synthetic pyrethroids were very poor recoveries.

The cases of these poor recoveries was studied on changing additional solvent with standard pesticide in the water, passing speed through the cartridge, pH and method to solve the pesticides in it.

However, a good result to be adapted to the practical fish mortality accident wasn't reached.

Key words : dead fish, pesticide, solid-phase-extraction, GC/MS

はじめに

魚類の変死事故に係る河川水等や魚体の検体が、年間3~10件の割合で当所に搬入され、その原因究明を実施している(Table 1)。

魚類の変死原因としては、酸素欠乏から酸・アルカリ、有害金属、シアン、フェノール、残留塩素、農薬等の化学物質及び熱水に至るまで多種類におよぶことが知られているが、ほとんどの事例が現地調査の状況や変死魚体の眼球や表皮からの出血などの観察結果から、農薬類がその原因物質として推察される場合が多い¹⁾。

そこで、河川水や魚体中に残留している魚毒性の高い農薬の分析を実施することが必要となる。

魚毒性の高い農薬としては、1994年現在の登録農薬

では、魚毒性がB-s,Cのものや魚毒性が極端に高いとして水質汚濁性農薬に指定されているものは、53種類存在する²⁾。これらの農薬のうち、食品中の残留農薬分析法³⁾を参考にしてGC/MSによる一斉分析が可能と思われる27種類の農薬を選択し、河川水等の水質試料から一斉分析する手法を確立することを目的に溶媒抽出法及び固相抽出法について、基礎的な検討を行ったので報告する。

方 法

1 分析対象物質

分析対象物質は、有機りん系が6種類、カーバメート系が2種類、有機塩素系が2種類、合成ピレスロイド系が11種類、ジニトロアニリン系、スルフエン酸誘

¹*現 県立延岡病院

Table 1 The cases of incidents of dead fish (April, 1993~May, 1997)

年度	件数	推定原因による内訳
平成5年度	6	ベンゾエピン剤によると推定されたもの4件、推定困難2件
平成6年度	8	ベンゾエピン剤によると推定されたもの2件、クロロタロニル剤によると推定されたもの1件、推定困難5件
平成7年度	6	ベンゾエピン剤によると推定されたもの4件、推定困難2件
平成8年度	10	ベンゾエピン剤によると推定されたもの3件、テブフェンピラド、ペルメトリン剤によると推定されたもの1件、推定困難6件
平成9年度	3	クロロタロニル剤によると推定されたもの1件、フェンプロパトリン剤と推定されたもの1件、PAPと推定されたもの1件

導体、フタルイミド系、ピラゾール系、ピリダジノン系及びその他がそれぞれ1種類の合計27種類を分析対象物質とした。(Table 2) .

2 試葉及び標準液の調製

1) 試葉

農薬標準品；残留農薬試験用

内部標準物質;p-ターフェニルd₁₄, ベンゾ(e)ピレン

それぞれ0.1mg / lと0.2mg / lを含む内部標準液(ヘキサン溶液)を調製した.

メタノール；残留農薬試験用 メタノール300

n-ヘキサン；残留農薬試験用 ヘキサン300

ジクロロメタン；残留農薬試験用 ジクロロメタン300

酢酸エチル；残留農薬試験用 酢酸エチル300

塩化ナトリウム；残留農薬試験用

無水硫酸ナトリウム；残留農薬試験用

以上は、和光純薬工業株式会社製を使用した。

カートリッジ型固相抽出剤;Sep-PakプラスtC18, PS-2, OasisTMHLB, Waters社製

2) 標準液の調製

a) 各成分の標準液の調製

各成分単体を0.025g精秤し、アセトンに溶解して50mlにした(500mg / l溶液) .

b) 混合標準液の調製

各成分の500mg / l標準液をそれぞれ混合し、感度に応じて(Fig. 1), 1 mg / l系列, 2 mg / l系列, 4 mg / l系列及び10mg / l系列を含む(Table 3) 混合標準液をアセトン又はメタノール溶液として調製した。

3 装置

GC/MS：島津製作所製 QP5000

装置条件をTable 4に示した。また、各成分の10mg / l混合溶液をSCAN分析(Fig. 1)し、GC/MS-SIM測定における定量及び確認イオンのm/zを決定した(Table 3)。なお、定量は、内標準法によって行った。

固相抽出装置；Sep-Pakコンセントレーター, Waters社製

4 溶媒抽出における回収率の測定

純水又は河川水500mlに標準混合液(アセトン溶液)を1ml添加したもの(添加濃度は、Table 5参照)に、塩化ナトリウム25gを入れ、ジクロロメタン100mlと50mlで2回抽出した。この抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後、0.1%ジエチレングリコールアセトン溶液を0.5ml入れ、ロータリーエバボレーターで約2.5mlまで濃縮後、内部標準液0.5mlを入れた10mlスピット型試験管に移し入れ、窒素ガスで0.5mlまで濃縮して、GC/MSで測定した。

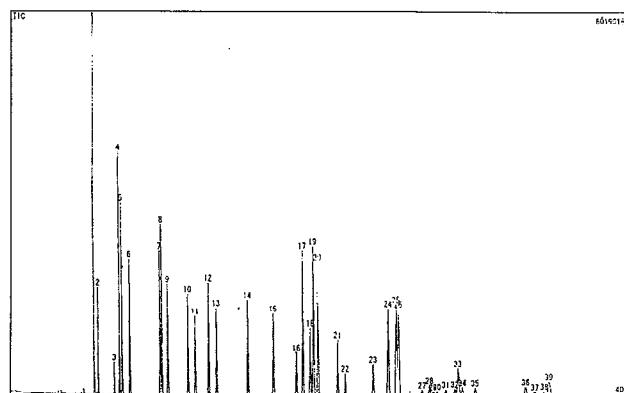


Table 2 List of pesticides selected as target compounds

No.	農薬名	分類	用途	魚毒性 ^{a)}	LC50 mg/l ^{a)}			水溶解度 ^{a)} pH	オクタノール・ 水分配 係数 ^{a)}	蒸気圧 ^{a)} mPa	分子量		
					コイ	ニシマス	ブルーギル	mg/l		℃			
1	fenobucarb(BPMC)	カーボン系	殺虫剤	B-s	0.25			660	3.18	1.6	20	207.3	
2	trifluralin	エトロゲン系	除草剤	B-s	0.72	0.011(48h)	0.089(96h)	7.20	0.221	5.08	9.5	25	335.5
3	diazinon	有機リン系	殺虫剤	B-s	1.6(96h)	0.08	0.052	40	3.15	18.6	20	304.3	
4	tefluthrin	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C		0.00006	0.00013(96h)	0.02	5.42	8	20	418.7	
5	chlorothalonil(TPN)	有機塩素系	殺菌剤	C	0.05	0.049	0.062	0.9	4.34	0.076	25	265.9	
6	dichlofuanid	スルホン酸誘導体	殺菌剤	C		0.01	0.03(96h)			0.016	20	333.3	
7	chlorpyrifos	有機リン系	殺虫剤	C		0.003	0.0033(96h)	1.4	4.70	2.7	25	350.6	
8	ACN		除草剤	B-s	0.7(48h)			16000	1.48	0.06	25	207.6	
9	phenthroate	有機リン系	殺虫剤	B-s	0.11(48h)			11	2.89	5.3	40	320.4	
10	captan	スルホン系	殺菌剤	C			0.072(96h)		2.79	<1.3	25	300.6	
11	benzoepin	有機塩素系	殺虫剤	指定*1	0.0072	0.002		0.32	4.58	1.33	25	406.9	
12	profenofos	有機リン系	殺虫剤	C		0.08	0.3(96h)	28	4.44	0.124	25	373.6	
13	calbosulfan	カーボン系	殺虫剤	B-s		0.015		0.3	3.30	0.041	25	380.5	
14	bifenthrin	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C		0.00015	0.00035	0.1	4.86	0.024	25	422.9	
15	EPN	有機リン系	殺虫剤	B-s	0.3	0.21	0.37(96h)	0.13	3.85	0.13	25	323.3	
16	fenpropathrin	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C	0.0031	0.001	0.002	0.014	5.54	0.73	20	349.4	
17	tebfenpyrad	ピラゾール系	殺虫剤	C	0.073(48h)			2.8	0.66	<0.01	25	333.8	
18	cyhalothrin	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C		0.00054(96h)		0.004	6.80	0.001	20	449.9	
19	pyraclofos	有機リン系	殺虫剤	C	0.028			33	2.85	0.0016	20	360.8	
20	permethrin	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C	0.024	0.009		0.2	4.72	0.0013	20	391.3	
21	pyridaben	ビリジン系	殺虫剤・殺菌剤	C	<0.5(96h)	1.1	1.8	0.012	6.37	0.25	20	364.9	
22	cyfluthrin	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C	0.022	0.0006	0.0015(96h)	7.2	2.2	3.92	<1	20	434.3
23	cypermethrin	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C	0.0026	0.0078		0.2	6.60	0.19	20	416.3	
24	flucythrinate	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C		0.00032	0.00071	0.5	2.08	0.0012	25	451.4	
25	fenvalerate	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C	0.0013	0.0036	0.00088	0.0001	5.01	0.019	20	419.9	
26	fluvalinate	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C	0.0048	0.0029(48h)		0.002	5.52	<0.013	25	502.9	
27	tralomethrin	合成ピレスロイド系	殺虫剤	C		0.0016	0.0043(96h)	70	2.58	1.7E-8	25	665.0	

Table 3 Monitor ion of pesticides

イオンセット No.	農薬 No.	ピーク No.	農薬名	モニターイオン m/z	内標 No.	混合標準液の濃度 mg/ℓ
1	1	1	fenobucarb(BPMC)	121	150	1 1.0
	2	2	trifluralin	306	264	1 1.0
	3	4	diazinon	179	137	1 2.0
2	4	5	tefluthrin	177	197	1 1.0
	5	6	cholrothalonil(TPN)	266	264	1 2.0
	6	7	dichofluanid	123	167	1 1.0
3	7	8	chlorpyrifos	197	314	1 2.0
	8	9	ACN	207	172	1 4.0
	9	10	phenthioate(PAP)	274	125	1 1.0
	10	11	captan	79	149	1 10.0
4	11	12	α-benzoepin	195	241	1 4.0
	IS-1	(IS)	p-terphenyldi4	244	122	1 1.0
	12	13	profenofos	208	337	1
5	11	14	β-benzoepin	195	237	1 4.0
	12	15	sulfate-benzoepin	272	387	1 4.0
	13	16	carbosulfan	160	118	1 2.0
	14	17	bifenthrin	181	166	1 2.0
6	15	18	EPN	157	169	1 4.0
	16	19	fenpropothrin	97	181 265	1 4.0
	17	20	tebfenpyrad	171	318	1 4.0
7	18	21	cyhalothrin(1)	181	197 208	1
		22	cyhalothrin(2)	181	197 208	1 10.0
	19	23	pyraclofos	360	194	2 4.0
8	20	24	cis-permethrin	183	163	2 1.0
		25	trans-permethrin	183	163	2 1.0
	21	26	pyridaben	147	117	2 1.0
		27	cyfluthrin(1)	199	206 226	2
	22	28	cyfluthrin(2)	199	206 226	2
		29	cyfluthrin(3)	199	206 226	2 10.0
		30	cyfluthrin(4)	199	206 226	2
9		31	cypermethrin(1)	163	181 209	2
	23	32	cypermethrin(2)	163	181 209	2
		33	cypermethrin(3)	163	181 209	2 10.0
		34	cypermethrin(4)	163	181 209	2
	24	33	fluicythrinate(1)	199	157	2 4.0
		35	fluicythrinate(2)	199	157	2
IS-2	(IS)	benzo(e)pilen		252	125	2 -
	25	36	fenvalerate(1)	167	125	2
10		39	fenvalerate(2)	167	125	2 10.0
	26	37	fluvalinate(3)	250	252	2
		38	fluvalinate(4)	250	252	2 4.0
11	27	40	tralomethrin	181	209 253	2 10.0

注) 農薬名末尾記載の括弧書き数字は、異性体のため複数に分かれたピークの検出順を示している

Table 4 Operating condition of GC/MS

Gas chromatograph Column Temperature	GC17A BPX5 0.22mm×0.25m×25μm Oven; 50°C(2min)-30°C/min-200°C (0min)-4°C/min-260°C(20min) Injection port; 280°C Interface; 260°C He(1.1ml/min 85kpa) Splitless(purge off; 2min) QP5000 Ionization voltage; 70ev Ionization current; 60μA Scan range; m/z 50-500 Scan interval; 0.5sec
Carrier gas Injection mode Mass spectrometer	

5 各単位操作における回収率の測定

1) ロータリーエバポレーター濃縮による回収率

200mLナス型フラスコに混合標準液の10倍希釀液1mLとジクロロメタン150mLを入れ、ロータリーエバポレーターで約2.5mLまで濃縮（真空度400±30hPa 湯浴35±1°C）し、10mLスピッツ型試験管に移し、内部標準液を加え、ジクロロメタンで5mLに定容して、濃縮処理しない同濃度の標準液と比較して、各成分の回収率を算出した。

2) 窒素吹き付け濃縮による回収率

10mL試験管に混合標準液の10倍希釀液を1mL入れ、ジクロロメタンで5mLに定容後、濃縮装置のブロック温度を36°Cとし、3種類の方法により窒素ガスを穏やかに吹き付け、同濃度のジクロロメタン溶媒の標準液と比較して、各成分の回収率を算出した。

- a) 完全に乾固するまで濃縮した後、内部標準液を0.5mL添加したもの
- b) 乾固寸前まで濃縮した後、内部標準液を0.5mL添加したもの
- c) はじめから内部標準液を0.5mL入れておき、約0.3mLまで濃縮し、ジクロロメタンで0.5mLに定容したもの

また、ジクロロメタンに代えて酢酸エチルを用い、ブロック温度を40°Cとして、同様に回収率を算出した。

3) 無水硫酸ナトリウムを使用した脱水操作による回収率

10mL試験管に混合標準液の10倍希釀液を1mL入れ、ジクロロメタンで5mLに定容後、無水硫酸ナトリウム4gを入れ、手で2~3分間、振とう後、上澄みを測定し、同濃度のジクロロメタン溶媒の標準液と比較して、各成分の回収率を算出した。

6 固相抽出法による回収率の測定

1) 固相抽出法による回収率

試料500mLに混合標準液（アセトン溶液）1mLを加え（添加濃度は、Table 7参照）、手で振とう攪拌後、ジクロロメタン3mL、メタノール3mL、水5mLでコンディショニングしたtC18及びPS-2固相カートリッジに、流量15mL/minで通水した。

通水終了後、10mLの純水で容器を洗い、その洗浄液も固相に通水した後、吹き出し式ポンプで水滴が出なくなるまで空気を通気し、ジクロロメタン3mL又は酢酸エチル3mLで目的成分を溶出した。この溶出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後、10mL試験管に移し入れ内部標準液で5mLとして試験液とした。これを同濃度の

標準液とともに測定し、各成分の回収率を算出した。

2) 固相通過液中の各成分濃度

1) で各固相へ通水した後の通過液を溶媒抽出法で測定し、通過液中の各成分濃度を測定することで、使用した固相への保持等を検討した。

3) 添加標準液中の溶媒量による回収率への影響の検討

10mLの試験管に混合標準液（メタノール溶液）10mLを入れ、窒素ガスで1mLまで濃縮した後、純水1Lにこの濃縮液20μLを添加したもの、同濃縮混合標準液を10倍にメタノールで希釀し、純水1Lに200μL添加したもの及び、100倍にメタノールで希釀し、純水1Lに2000μL添加したもの（以上、添加濃度はTable 8参照）の3種類を十分手で振とう攪拌し、さらにスターラーで10分間攪拌した。これらの3種類の試験液のそれぞれ500mLを、メタノール3mL、水10mLでコンディショニングしたPS-2固相カートリッジに、流量10mL/minで通水し、酢酸エチル3mLを用い目的成分を溶出した。溶出液を内部標準液0.5mLを入れたスピッツ型試験管に移し、窒素ガスを吹き付け0.5mLとしてこれを同濃度の標準液とともに測定し、試験液中の有機溶媒量による影響を検討した。

4) 通水速度の違いによる回収率の検討

純水2000mLに混合標準液（メタノール溶液）2mLを加え（添加濃度は、Table 9参照）手で振とう攪拌後、500mLづつビーカーに分取し、メタノール3mL、水5mLでコンディショニングしたPS-2固相カートリッジに、流速を2, 5, 8及び11mL/minにコンセントレーターを調整して通水した。

通水終了後、純水10mLで容器を洗浄し、その洗浄液も固相に通水した後、吹き出し式ポンプで水滴が出なくなるまで空気を通気し、酢酸エチル3mLで溶出した。以下3)と同様に測定し（最終液量1mL）、通水速度の違いによる各成分の回収率を算出した。

5) 試験液のpHの違いによる回収率の検討

純水2000mLに混合標準液（メタノール溶液）0.2mLを加え（添加濃度は、Table 10参照）手で振とう攪拌後、500mLづつビーカーに分取し、(1+10)塩酸又は(1+10)水酸化ナトリウム溶液でpHを3, 5, 7及び9に調整し、メタノール3mL、水10mLでコンディショニングしたPS-2固相カートリッジに、流量15mL/min~20mL/minで通水した。

以下、4)と同様に操作し（最終液量0.5mL）、試験液のpHの違いによる各成分の回収率を算出した。

6) 添加農薬の溶解促進及びpH調整後のPS-2固相抽出とその他の固相剤の検討

10mLの試験管に混合標準液(メタノール溶液)10mLを入れ、窒素ガスで1mLまで濃縮して、純水2Lに40μL添加したもの(添加濃度は、Table 11参照)を十分手で振とう攪拌し、さらにスターラーで10分以上攪拌して4つのビーカーに500mLづつ取り、2つはpH3に調整後、メタノール3mL、水10mLでコンディショニングしたPS-2固相カートリッジに、残りの2つはpH調整なしに同様にコンディショニングしたOasis固相カートリッジに、流量10mL/minでそれぞれ通水した。以下、4)と同様に操作し(最終液量0.5mL)、それぞれの固相の通過液についても溶媒抽出法で各成分を抽出し、これらを同濃度の標準液とともに測定することで回収率を算出した。

7) 添加農薬の溶解促進、試験液を入れた容器への吸着及び固相からのアセトン溶出についての検討

4本の共栓付き500mLガラス容器と2個のビーカーに純水500mLを入れ、混合標準液(メタノール溶液)100μLをそれぞれ添加し(添加濃度は、Table 12参照)、スターラーでの攪拌及び超音波による溶解促進を取り入れた3種類の試験液を調製し、PS-2固相カートリッジに流量10mL/minでそれぞれ次の方法で通水した。

a) 共栓付きガラス容器の試料液2本を農薬の溶解促進としてスターラー攪拌45分、超音波15分を行い、固相への通水はスターラーで攪拌しながら行い、通水終了後の洗浄は、純水20mLを容器に入れ十分振とう洗浄後、洗浄液も固相に通した。

b) a)と異なる点は、超音波による農薬の溶解促進は行わず、固相への通水は攪拌をしない静置したままの方法で行った。

c) 2個のビーカー中の試料液は、農薬の溶解促進としてスターラー攪拌60分を行い、通水終了後は純水10mLで駆込みピペットを使用しビーカーの壁面を洗浄、洗浄液も固相へ通す今まで行ってきた方法とし、以下、4)と同様に操作した。

また、それぞれの通過液は、溶媒抽出法により測定し、通過液中の各成分の量を算出、a)及びb)に使用した共栓付きガラス容器は、ジクロロメタン10mLと5mLの2回容器内を洗浄し、濃縮後に測定して各成分の容器内への吸着量を算出した。

結果と考察

1 各単位操作における回収率の測定

1) ロータリーエバポレーター濃縮による回収率

溶媒抽出において、ロータリーエバポレーターによる濃縮操作を行う際の各成分の回収率について検討した。キーパーのジエチレングリコールを入れていないにもかかわらず、カルボスルファンを除いておおよそ90%以上の回収率を示し、濃縮時における揮散や分解等はないと考えられた。(Table 5)

カルボスルファンは、水中で加水分解することが知られており(半減期 25°Cで < 1 hr/pH 4, 22 hr/pH 6)³⁾、水溶液中で分解したものと考えられた。また、クロロタロニルは、標準液の繰り返し測定の変動係数も12%とやや大きく、定量イオンのm/z=266のピーク後半に不純物のピークが重なっており分離できていなかったことから回収率が130%近くになったものと推察される。なお、しばらく分析を続けてカラムの状態がよくなってくると分離するようになったためピーク処理時に気を付ければ改善できた。

2) 窒素吹き付け濃縮による回収率

溶媒抽出法や固相抽出法において、窒素ガスによる濃縮を行う際の各成分の回収率をジクロロメタン溶液と酢酸エチル溶液について検討した。両溶液とも完全に乾固させたもの、乾固寸前のもの及び0.5mLまで濃縮したものについて検討した結果、大きな差はないが、ジクロロメタン溶液では、保持時間の早いBPMC、トリフルラリン、クロロタロニル及びACNにおいて、乾固するほどやや回収率が劣る傾向があり、酢酸エチル溶液の方が比較的良好な回収率を示し、ばらつきもやや小さかった(Table 5)。

3) 無水硫酸ナトリウムを使用した脱水操作による回収率

溶媒抽出法や固相抽出法において、抽出液や溶出溶媒中の脱水のために行う無水硫酸ナトリウムによる脱水操作における各成分の回収率を検討したが、ほとんど100%近くであり吸着等の問題はなかった。

2 溶媒抽出法における回収率の測定

純水及び河川水を使用したジクロロメタン抽出法による添加回収試験の結果、カルボスルファン及びベンゾエピンスルフェートを除き70%以上の回収率を示しほぼ良好であった(Table 6)。カルボスルファンは、全く検出されておらず、前述したように水中で加水分解したものと考えられる。また、ベンゾエピンスル

フェートは、長時間における標準液の繰り返し測定において、変動係数が大きくかつ感度が低下する傾向にあったので、このことが回収率が低下した原因と考えられるが、改善策については今後の検討が必要である。

3 固相抽出法による回収率の測定

溶媒抽出法に比較し、操作上簡便な固相抽出法について検討してみた。固相は、分離目的成分が多岐に渡る場合に使用する選択性の比較的低いODS系のtC18とポリスチレン系のPS-2を使用した。

1) 固相抽出法による回収率

tC18及びPS-2ともに27種類のうち14種類の成分

が50%以下の回収率であり、特に保持時間の遅いビフェントリン以降の9種類については、10%以下で極端に悪い回収率であった(Table 7)。

また、ジクロロメタンで溶出したものと酢酸エチルで溶出したものとを比較しても上記の傾向は変わらなかった。

以降の固相抽出法の検討では、固相剤はPS-2を使用し、規制物質のジクロロメタンの使用を削減するという意味合いから溶出液は酢酸エチルを用いた⁵⁾。

2) 固相通過液中の各成分濃度

tC18及びPS-2それぞれの通過液を溶媒抽出法に

Table 5 Variation of recoveries of pesticides by treatent of concentration and dehydration

ピ-ク No.	農薬名	添加濃度 $\mu\text{g}/\ell$	ロ-クリー-エバボレーターによる濃縮操作に係る回収率%(n=2)	無水硫酸ナトリウムによる脱水操作に係る回収率%(n=3)	ジクロロメタン溶液の窒素灰による濃縮操作に係る回収率%(n=2)			酢酸エチル溶液の窒素灰による濃縮操作に係る回収率%(n=2)		
					完全乾固	乾固前	0.5mlまで	完全乾固	乾固前	0.5mlまで
1	fenobucarb(BPMC)	0.2	108	103	77	74	97	89	87	91
2	trifluralin	0.2	96	97	79	83	102	90	92	98
3	diazinon	0.4	87	92	112	118	105	98	98	105
4	tefluthrin	0.2	101	100	94	94	98	91	95	98
5	chlordathalonil(TPN)	0.4	131	120	64	58	82	97	98	102
6	dichlofuanid	0.2	101	99	94	94	104	102	103	110
7	chlorpyrifos	0.4	98	100	106	104	102	96	96	105
8	ACN	0.8	102	99	67	62	96	90	81	90
9	phenothoate(PAP)	0.2	107	104	108	108	111	93	79	77
10	captan	2	104	103	104	105	103	93	86	90
11	α -benzoepin	0.8	105	104	93	90	94	93	96	99
12	profenofos	0.8	105	104	98	95	102	98	93	102
13	β -benzoepin	0.8	106	105	97	94	96	97	96	100
14	benzoepin-sulfate	0.8	112	109	85	73	73	111	112	117
15	calbosulfan	0.4	58	99	117	125	98	86	80	80
16	bifenthrin	0.4	90	92	124	123	108	98	94	99
17	EPN	0.8	98	101	109	113	103	96	92	96
18	fenpropathrin	0.8	89	93	115	118	106	99	94	105
19	tebfenpyrad	0.8	95	97	117	115	103	96	91	98
20	cyhalothrin		94	96	113	119	104	101	96	107
21	cyhalothrin	2	94	97	115	118	104	101	98	105
22	pyraclofos	0.8	104	108	104	116	109	102	96	106
23	cis-permethrin	0.2	89	91	108	111	104	102	98	99
24	trans-permethrin	0.2	90	90	108	110	105	102	99	101
25	pyridaben	0.2	96	97	97	97	103	94	93	95
26	cyfluthrin(1)		100	97	94	93	103	101	99	101
27	cyfluthrin(2)		100	99	101	104	104	105	101	124
28	cyfluthrin(3)	2	98	98	97	102	102	103	100	107
29	cyfluthrin(4)		88	94	101	104	102	103	100	107
30	cypermethrin(1)		95	96	99	101	103	103	99	104
31	cypermethrin(2)	2	82	101	100	109	91	101	100	105
32	cypermethrin(3)		92	94	104	109	100	100	94	102
33	cypermethrin(4)		94	97	102	107	101	100	97	106
34	flucythrinate(1)	0.8	93	96	101	106	102	102	100	107
35	flucythrinate(2)		97	94	103	105	103	94	93	96
36	fenvalerate(1)	2	93	96	98	97	98	97	95	97
37	fenvalerate(2)		95	102	93	94	101	100	101	103
38	fluvalinate(1)	0.8	102	101	95	96	103	98	99	102
39	fluvalinate(2)		104	96	102	105	103	100	98	105
40	tralomethrin	2	96	96	94	95	99	101	100	104

注) 農薬名末尾記載の括弧書き数字は、異性体のため複数に分かれたピークの検出順を示している。

より各成分の濃度を求め、添加量に対する固相通過率(%)を算出した。通過液中の存在量が低いのに回収率が悪いものと通過液中に多く存在して明らかに固相に保持されていないものに分けられた(Table 7)。

前者は、デフルトリン(合成ピレスロイド系)、カルボスルファン(カーバメート系)、ピリダベン(有機リン系)の3種類であり、後者は、ジニトロアニリン系の1種類及びピレスロイド系の12種類であった。

今回、固相通過液中の濃度を測定するにあたって、やや高濃度に標準液を添加したことを、事前に把握すべきだったのだが、3種類の農薬で水溶性度以上の添

加であったことが後で分かった。これらのシハロトリン、フェンバレレート及びフルバリネットについては、今後再検討が必要であるが、その他の農薬で回収率が悪いことについて、オクタノール・水分配係数や水溶解度との明確な相関はないように考えられた(Table 2)。

一般に固相抽出法において、固相への保持率が悪い場合の原因として次のことが考えられる。⁶⁾

- コンディショニング実施の確認
- コンディショニング後に固相が乾燥していないかの確認

Table 6 Recovery of pesticides from pure water and river water

ピーク No.	農薬名	添加濃度 $\mu\text{g/l}$	純水 (n=3)		河川水 (n=3)	
			回収率 %	CV%	回収率 %	CV%
1	fenobucarb(BPMC)	0.2	100	3.0	116	0.7
2	trifluralin	0.2	81	7.7	95	3.5
3	diazinon	0.4	103	1.2	111	1.1
4	tefluthrin	0.2	80	2.5	87	6.1
5	cholrothalonil(TPN)	0.4	92	3.8	92	1.2
6	dichlofuanid	0.2	118	1.4	120	2.1
7	chlorpyrifos	0.4	103	1.1	108	1.6
8	ACN	0.8	73	26.4	90	8.3
9	phenthioate, PAP	0.2	100	10.1	101	3.2
10	captan	2	76	1.0	84	2.2
11	α -benzoepin	0.8	83	3.1	84	0.6
12	profenofos	0.8	98	0.5	106	1.4
13	β -benzoepin	0.8	87	1.2	90	1.5
14	benzoepin-sulfate	0.8	63	9.1	57	4.6
15	calbosulfan	0.4	9	89.6	35	38.2
16	bifenthrin	0.4	103	2.0	105	1.0
17	EPN	0.8	98	4.4	102	3.0
18	fenpropothrin	0.8	101	3.8	106	3.2
19	tebfenpyrad	0.8	92	1.3	96	2.1
20	cyhalothrin(1)	■	95	6.2	102	4.3
21	cyhalothrin(2)	■	94	5.7	100	4.9
22	pyraclofos	0.8	116	10.3	150	7.4
23	cis-permethrin	0.2	116	3.8	127	1.4
24	trans-permethrin	0.2	120	8.5	136	0.8
25	pyridaben	0.2	101	8.3	122	4.5
26	cyfluthrin(1)	■	98	5.1	105	2.5
27	cyfluthrin(2)	■	110	8.4	117	11.5
28	cyfluthrin(3)	■	108	7.8	110	12.1
29	cyfluthrin(4)	■	99	5.3	111	4.7
30	cypermethrin(1)	■	101	6.9	110	2.4
31	cypermethrin(2)	■	72	8.8	72	5.2
32	cypermethrin(3)	■	93	7.2	95	9.2
33	cypermethrin(4)	■	93	8.0	100	4.9
34	flucythrinate(1)	■	97	7.3	106	4.7
35	flucythrinate(2)	■ 0.8	90	6.7	99	2.9
36	fenvalerate(1)	■ 2	91	5.2	101	3.9
37	fenvalerate(2)	■ 2	89	6.0	95	4.9
38	fluvalinate(1)	■ 0.8	91	3.8	94	2.7
39	fluvalinate(2)	■ 2	92	1.5	95	1.1
40	tralomethrin	2	100	2.5	106	5.1

注) 農薬名末尾記載の括弧書き数字は、異性体のため複数に分かれたピークの検出順を示している。

c) 試料溶液のpH調整

d) 試料溶液中に有機溶媒が含まれている場合は混合比を下げる。

e) 試料の通水速度が速すぎる場合は2 ml/min以下で行う

a及びbについては、ジクロロメタン、メタノール、水でコンディショニングを確実に行っており、水を通水した後、時間を置かずに続けて試料を通水したので、固相が乾燥したとは考えられない。

従って、まず添加回収試験で純水に添加する標準液の溶媒について以下に検討した。

また、水中に農薬を添加して溶解させるときの溶解性に問題があり、添加した農薬が懸濁しているのか、沈殿又は水表面に浮遊しているのかにより回収率に違いが生じる⁷⁾ことも今回の回収率が悪い要因の1つではないかと考えられた。

3) 添加標準液中の溶媒量による回収率への影響の検討

試験液へ添加する標準液中の溶媒量による固相保持率の変化を検討するため、添加回収試験において、純水への農薬添加に係る溶媒のメタノール添加量を変えて検討した。なお、農薬の溶解を促進させるため攪拌時間を多くとった。

純水1 l中に添加した混合標準液中のメタノールを20 μl, 200 μl及び2000 μlと変えて回収率を検討した結果、前述した極端に回収率の悪い13種類の農薬（カルボスルファンを除く。）では、溶媒量による回収率の差はほとんどなかった(Table 8)。また、トラロメトリノ以外は、1)の試験に比べ全体的に回収率がやや向上したのは、添加した農薬の量が少なかつたことや農薬を添加した試験水を十分攪拌したことで溶解が促進されたためとも考えられた。

Table 7 Recovery comparison from pure water by solid-phase extraction (tC18, PS-2)

ピーク No.	農薬名	水溶解度 ³⁾ μg/l	添加濃度 μg/l	tC18 による回収率 % (n=2)			PS-2 による回収率 % (n=2)		
				ジクロロタン溶出	酢酸エチル溶出	通過液	ジクロロタン溶出	酢酸エチル溶出	通過液
1	fenobucarb(BPMC)	660000	2	102	90	0	81	91	0
2	trifluralin	221	2	44	50	1	40	51	2
3	diazinon	40000	4	84	84	0	70	85	0
4	tefluthrin	20	2	29	27	25	21	27	34
5	chlordathalonil(TPN)	900	4	111	84	0	76	81	0
6	dichlofuanid		2	91	85	0	71	85	0
7	chlorpyrifos	1400	4	79	70	0	62	71	1
8	ACN	1600000	8	62	59	27	73	78	0
9	phenthroate, PAP	11000	2	72	76	0	60	75	0
10	captan		20	89	80	0	71	80	0
11	α-benzoepin	320	8	89	80	0	71	80	1
12	profenofos	28000	8	86	78	0	70	79	0
13	β-benzoepin	320	8	90	82	0	72	81	1
14	benzoepin-sulfate		8	136	73	0	76	67	0
15	calbosulfan	300	4	19	23	1	16	20	0
16	bifenthrin	100	4	5	8	87	3	10	86
17	EPN	130	8	70	65	0	61	66	1
18	fenpropothrin	14	8	30	29	28	22	29	39
19	tebfenpyrad	2800	8	68	67	0	62	69	0
20	cyhalothrin(1)		4	5	7	73	3	9	73
21	cyhalothrin(2)		20	4	7	72	3	8	73
22	pyraclofos	33000	8	74	79	0	64	81	0
23	cis-permethrin	200	2	8	11	72	4	12	73
24	trans-permethrin	200	2	8	11	66	5	12	69
25	pyridaben	12	2	25	31	8	23	31	14
26	cyfluthrin(1)		6	6	66	3	7	67	
27	cyfluthrin(2)	2200	2	5	7	76	3	8	74
28	cyfluthrin(3)			6	7	66	3	8	70
29	cyfluthrin(4)			6	7	67	3	9	70
30	cypermethrin(1)			5	7	70	3	8	72
31	cypermethrin(2)	200	20	5	6	71	3	8	72
32	cypermethrin(3)			5	7	64	3	9	72
33	cypermethrin(4)			5	8	69	3	11	71
34	flucythrinate(1)	500	8	4	6	75	2	7	74
35	flucythrinate(2)			5	5	75	2	6	72
36	fenvalerate(1)	0.1	20	3	4	81	1	5	77
37	fenvalerate(2)			2	4	82	1	5	79
38	fluvalinate(1)			3	3	90	1	5	76
39	fluvalinate(2)	2	8	3	3	92	1	4	77
40	tralomethrin	70000	20	2	2	134	1	4	104

注) 農薬名末尾記載の括弧書き数字は、異性体のため複数に分かれたピークの検出順を示している。

Table 8 Recovery comparison by solid-phase extraction (PS-2) according to the amount of additional solvent

ピーク No.	農薬名	水溶解度 ³⁾ $\mu\text{g}/\ell$	添加濃度 $\mu\text{g}/\ell$	添加回収試験水中の異なるメタノール濃度($\mu\text{l}/\ell$)による回収率%(n=1)		
				20	200	2000
2	trifluralin	221	0.2	70	61	66
4	tefluthrin	20	0.2	42	35	35
16	bifenthrin	100	0.4	20	16	20
18	fenpropathrin	14	0.8	49	42	40
20	cyhalothrin(1)	4	2	22	18	21
23	cis-permethrin	200	0.2	31	26	34
25	pyridaben	12	0.2	53	49	51
26	cyfluthrin(1)	2200	2	26	25	29
30	cypermethrin(1)	200	2	25	23	27
34	flucythrinate(1)	500	0.8	20	19	24
36	fenvaleate(1)	0.1	2	19	15	20
38	fluvalinate(1)	2	0.8	13	10	14
40	tralomethrin	70000	2	7	5	8

注) 農薬名末尾記載の括弧書き数字は、異性体のため複数に分かれたピークの検出順を示している。

4) 通水速度の違いによる回収率の検討

通水速度による回収率の変化を検討するため、通水速度を2, 5, 8及び11ml/minにそれぞれ調整し、回収率を測定した。当試験において調製した添加回収試験用の水溶液は、農薬添加後、手で振とう攪拌しただけで十分溶解させていなかったせいか、回収率が全

体的に悪い結果となった。通水速度2~5ml/minにするとやや回収率がよくなる傾向はあるが、回収率を抜本的に改善するような大きな変化はなかった(Table 9)。2~5ml/minの通水速度は試料500mlを通水する場合に250分~100分を要するため、分析時間を考慮すると現実的でなく、通水速度は10ml/min

Table 9 Recovery comparison by solid phase extraction according to the speed of the concentrator

ピーク No.	農薬名	水溶解度 ³⁾ $\mu\text{g}/\ell$	添加濃度 $\mu\text{g}/\ell$	各通水速度における回収率 % (n=1)			
				2ml/min	5ml/min	8ml/min	11ml/min
2	trifluralin	221	0.2	36	46	45	44
4	tefluthrin	20	0.2	18	23	23	24
16	bifenthrin	100	0.4	6	5	5	4
18	fenpropathrin	14	0.8	20	24	23	22
20	cyhalothrin(1)	4	2	7	6	5	5
23	cis-permethrin	200	0.2	11	11	10	7
25	pyridaben	12	0.2	26	32	30	26
26	cyfluthrin(1)	2200	2	10	10	9	9
30	cypermethrin(1)	200	2	11	9	6	5
34	flucythrinate(1)	500	0.8	10	9	6	6
36	fenvaleate(1)	0.1	2	8	5	7	4
38	fluvalinate(1)	2	0.8	4	5	3	1
40	tralomethrin	70000	2	2	3	1	1

注) 農薬名末尾記載の括弧書き数字は、異性体のため複数に分かれたピークの検出順を示している。

が最低ラインとして考えたほうがよいのではないかと思われた。

5) 試験液のpHの違いによる回収率の検討

試験液のpHを約3, 5, 7及び9に調整し回収率を測定した。1) や4) に比べ純水に添加した農薬の溶解を促進させるため攪拌時間を多くとったことと添加設定濃度が低いことから、回収率が全体的に比較的よい結果となった。(Table 10)。

試験液のpHの違いによる回収率については、pHを低く調整することによってやや高い回収率となつたが、抜本的な回収率の改善策とはならなかつた。

6) 添加農薬の溶解促進及びpH調整後のPS-2 固相抽出とその他の固相剤の検討

水中に添加する溶媒の量を極力少なくし、水中への溶解を促進するため十分振とう攪拌した後に10分以上のスターラー攪拌、pHも3に調整してPS-2 カートリッジへ通水した。また、Oasis固相にはpH調整なしで通水し、それぞれの通過液は溶媒抽出により各成分の濃度を測定した。その結果、PS-2 固相では、テフルトリンを除き50~60%までの回収率を得ることができ、通過液中にも検出されないか数パーセントしか検出されず固相にほとんど捕捉されたか又は、試料液を入れた容器に吸着されているかが考えられた。Oasis

固相では、pHの調整をしなかつたためか、あるいは固相剤の性質なのかPS-2に比べ回収率が小さかった(Table 11)。

7) 添加農薬の溶解促進、試験液を入れた容器への吸着及び固相からのアセトン溶出についての検討

添加農薬の溶解促進のため攪拌時間をさらに長くしたことと、超音波を用いたこと、容器への吸着防止に攪拌しながら通水したこと、固相からの溶出を親水性のあるアセトンに変更したことにより、回収率がどのように変化するかを検討した結果、まず、どの試験においても通過液中の存在は、数パーセント以下でありほとんど存在しなかつた。次に容器への吸着については、静置通水した場合、容器への吸着量は無視できないほどであったが、攪拌通水の場合、その吸着量は少なかつた。しかしながら、固相からの回収率は、他の2つの方法で行ったものとほとんど変わらなかつた(Table 12)。

このことは、通水後の固相の乾燥や溶出溶媒の問題があるのではないかと示唆されたが、アセトンによる溶出を行つたにもかかわらず回収率が悪いのは、固相剤へ吸着したもののが極端に溶出しにくくなるのではないかと考えられた。

Table 10 Recovery comparison by solid phase extraction according to the solution pH

ピーク No.	農薬名	水溶解度 ^{a)} μg/ℓ	添加濃度 μg/ℓ	試験液のpHの違いによる回収率 % (n=1)			
				pH 3	pH 5	pH 7	pH 9
2	trifluralin	221	0.1	60	61	70	65
4	tefluthrin	20	0.1	53	47	45	37
16	bifenthrin	100	0.2	58	38	35	29
18	fenpropathrin	14	0.4	70	63	57	48
20	cyhalothrin(1)	4	1	42	34	31	20
23	cis-permethrin	200	0.1	54	48	46	38
25	pyridaben	12	0.1	75	62	55	51
26	cyfluthrin(1)	2200	1	58	45	41	31
30	cypermethrin(1)	200	1	47	43	40	35
34	flucythrinate(1)	500	0.4	42	35	32	24
36	fenvalerate(1)	0.1	1	44	40	32	36
38	fluvalinate(1)	2	0.4	47	41	34	21
40	tralomethrin	70000	1	33	12	18	10

注) 農薬名末尾記載の括弧書き数字は、異性体のため複数に分かれたピークの検出順を示している。

Table 11 Recovery comparison by solid phase extraction according to the best condition

ピーク No.	農薬名	水溶解度 ³⁾ $\mu\text{g}/\ell$	添加濃度 $\mu\text{g}/\ell$	PS-2による回収率 %		Oasisによる回収率 %	
				固相溶出(n=2)	通過液(n=1)	固相溶出(n=2)	通過液(n=1)
2	trifluralin	221	0.2	60	0	57	0
4	tefluthrin	20	0.2	34	1	31	5
16	bifenthrin	100	0.4	63	6	18	64
18	fenpropathrin	14	0.8	56	0	49	5
20	cyhalothrin(1)	4	2	53	3	23	38
23	cis-permethrin	200	0.2	53	3	31	39
25	pyridaben	12	0.2	56	7	51	13
26	cyfluthrin(1)	2200	2	46	0	28	42
30	cypermethrin(1)	200	2	49	0	26	31
34	flucythrinate(1)	500	0.8	46	0	23	32
36	fenvalerate(1)	0.1	2	50	3	19	46
38	fluvalinate(1)	2	0.8	58	6	13	70
40	tralomethrin	70000	2	61	6	9	81

注) 農薬名末尾記載の括弧書き数字は、異性体のため複数に分かれたピークの検出順を示している。

Table 12 Recovery comparison of pesticides

ピーク No.	農薬名	水溶解度 $\mu\text{g}/\ell$	添加濃度 $\mu\text{g}/\ell$	a)攪拌通水(共栓付きガラスびん使用)による回収率 %(n=1)			b)静置通水(共栓付きガラスびん使用)による回収率 %(n=1)			c)静置通水(ピ-カ-使用)による回収率 %(n=1)				
				容器吸着	固相溶出	通過液	合計	容器吸着	固相溶出	通過液	合計	固相溶出	通過液	
2	trifluralin	221	0.2	0	49	0	49	0	64	0	64	43	0	43
4	tefluthrin	20	0.2	3	12	7	22	11	16	2	29	13	0	13
16	bifenthrin	100	0.4	4	42	9	55	25	34	6	65	42	4	46
18	fenpropathrin	14	0.8	3	40	2	45	12	42	0	54	41	0	41
20	cyhalothrin(1)	4	2	4	35	6	45	25	32	3	60	34	2	36
23	cis-permethrin	200	0.2	5	40	7	52	28	36	4	68	40	2	42
25	pyridaben	12	0.2	4	38	7	49	11	46	0	57	44	1	45
26	cyfluthrin(1)	2200	2	4	34	7	45	27	27	0	54	28	0	28
30	cypermethrin(1)	200	2	5	37	7	49	32	33	3	68	36	0	36
34	flucythrinate(1)	500	0.8	4	39	6	49	35	36	0	71	37	0	37
36	fenvalerate(1)	0.1	2	6	34	9	49	28	30	4	62	35	0	35
38	fluvalinate(1)	2	0.8	6	20	9	35	26	28	9	63	37	5	42
40	tralomethrin	70000	2	5	48	9	62	27	45	5	77	54	6	60

注) 農薬名末尾記載の括弧書き数字は、異性体のため複数に分かれたピークの検出順を示している。

ま と め

魚類の変死に係る突発事故に対応するため、魚毒性の高い27種類の農薬について、溶媒抽出法と固相抽出法を用いて基礎的な検討を行った。

溶媒抽出法を検討した結果、カルボスルファンを除き回収率も良好であり、現実的に魚類変死の突発事故時の分析手法として採用することが可能であると考えられた。

また、より操作が簡便な固相抽出法を検討したが、特にピレスロイド系農薬が極端に回収率が悪い結果となり、その原因を検討したところ、水溶解度が極端に低いものがあるため添加回収試験における農薬の溶解には注意しなければならないこと、極性が低いためか容器等への吸着も無視できないことやpHを酸性側に調整することで、回収率を若干ではあるが向上させることができたが、抜本的な改善策まで見出すことができなかった。今後、原因を検討し、実試料における回収率を検討してからでないと、突発事故等に対応した分析法としては採用できない。

当面、魚類の変死に係る突発事故に対する魚毒性の高い農薬のスクリーニングについては、ジクロロメタンを使用した溶媒抽出法で対応していくことになるが、現在のところ抽出溶媒としてジクロロメタン以外については、抽出率等の問題からこれに変わるものを見あたらないので、ジクロロメタンの使用量の削減について検討していきたい。

今回、固相抽出法による回収率が悪いことについてその原因究明の報告をしたが、固相抽出法の適用法に不慣れであることや通常のルーチン業務の中で時間を

割いての実験であるため、十分な検討ができないこともあり満足のいく結果が報告できなかった。

クリーンアナリシスの立場からジクロロメタンを使用しない分析法の検討や今回検討した魚毒性の高い農薬以外について一斉分析へ追加していくこと並びに魚体中に残留するこれらの農薬の分析方法についても検討する必要性があり、今後も機会あるたびに実施していきたいと考えている。

文 献

- 1) 河野謙一、野口辰美、関屋幸一、岩切 淳、杉本美喜：魚類のへい死事故に関する調査、宮崎県衛生環境研究所報、3, 97-102, 1991.
- 2) 農薬ハンドブック1994年版編集委員会：農薬ハンドブック1994年版、509-659
- 3) 農薬残留分析法研究班：最新農薬の残留分析法、中央法規出版。
- 4) 金澤 純：農薬の環境特性と毒性データ集、合同出版。
- 5) 大橋則雄、土屋悦輝、笹野英雄、濱田 昭：固相抽出法による水中農薬の一斉分析における酢酸エチルの利用、衛生化学、40, 292-297, 1994.
- 6) 日本ウォーターズ(株)マーケティング部、佐々木俊哉：固相抽出法を用いた前処理法、食品と開発、32, No.10, 15-19.
- 7) 小原裕三、石井康雄：こまったことはありませんか？「水中の残留農薬の分析」、(社)日本食品衛生学会第75回学術講演会 講演要旨集、33-39.

砒素による地下水汚染事例

杉本貴之・関屋幸一・富山典孝
河野和子・河野謙一・小畠聰子^{*1}

The ground water pollution case by the arsenic

Takayuki SUGIMOTO, Koichi SEKIYA, Noritaka TOMIYAMA, Kazuko KAWANO,
Ken'ichi KOHNO, and Noriko KOBATA

Abstract

On the ground water general condition investigation in 1997, we detected 0.008mg per liter of arsenic in ground water inside Miyazaki city.

It detected the arsenic which exceeds 0.01mg per liter after we implemented the investigation of circumference in several ground waters.

Therefore, we implemented investigating the artificial pollution source but the pollution factor wasn't found.

Next, it found that the pH was high and that the ground water which detected arsenic after we investigated a natural factor was a water quality with a high concentration of Calcium and Carbonic ion.

Also, like a geological feature, there were many Calcium and it found that there was organic substance in the aquifer where arsenic was detected.

The arsenic pollution this time depends on arranging the condition of the arsenic to melt by the area from above result.

Key words : arsenic, ground water, water pollution

はじめに

砒素の地下水に係る規制は、平成元年に水質汚濁防止法の有害物質に規定され、常時監視及び地下浸透規制の対象となったことに始まっている。その後、平成5年に公共用水域の水質環境基準が改正されたことに伴い、評価基準値が0.05mg / ℓから0.01mg / ℓとなり、この値が平成9年3月に地下水質環境基準値に規定され現在に至っている。

本県においても、このような砒素を含めた有害物質の地下水における規制強化に伴い、平成元年度より県内全域において地下水概況調査を計画的に実施している。

今回、本調査において、宮崎市内の地下水から地下水環境基準に近い砒素(0.008mg / ℓ)が検出されたため、周辺井戸水の調査を実施したところ、複数の井戸から0.01mg / ℓを超える砒素を検出した。

県としては、この結果を受け、直ちに当所及び管轄保健所等による周辺調査を実施した。その結果、当地区及び周辺地域に砒素を含む物質を取り扱う工場、事業場及び砒素含有農薬を使用する田畠は存在せず、また周辺に砒素を含有する泉質の温泉も存在しなかった。

これらの調査結果から、今回の砒素汚染の原因是自然由来の可能性が高いと考えられ、その原因を究明するため周辺地下水及び地質等の調査を実施したので、その概要を報告する。

調査方法

1 調査対象区域

地下水評価基準を超える砒素を検出した井戸周辺

2 調査項目及び方法

1) 周辺地下水等の調査

調査対象区域内の井戸76地点から採水した地下水試料について、無機イオン及び重金属等23項目(Table 1)の水質測定を実施した。(Fig. 1)

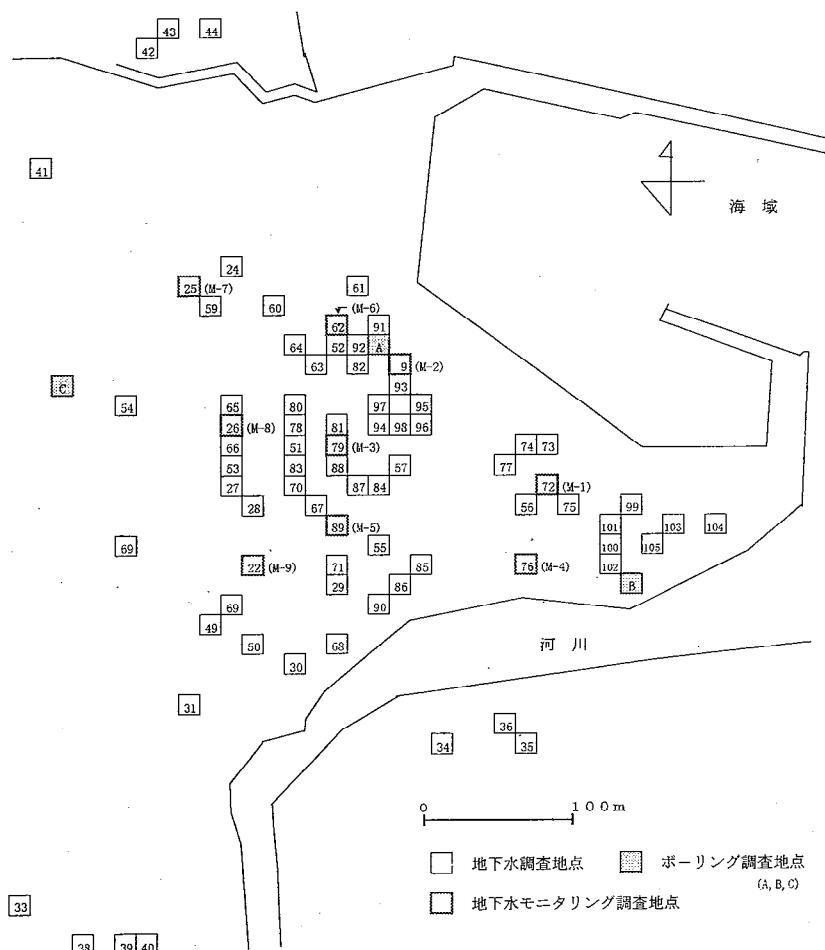


Fig. 1 Location of sampling points

Table 1 The analytical methods of ground water

項目		分析方法
水温		棒状温度計
pH		ガラス電極法
溶存酸素	(DO)	上水試験法 JIS K 0102
電気伝導率	(EC)	滴定法
酸化還元電位	(Eh)	上水試験法 電極法
陰イオン	Cl^- , NO_3^- -N, SO_4^{2-} ,	上水試験法 イオンクロマトグラフ法
栄養塩	PO_4^{3-} -P, NH_4 -N	JIS K 0102 オートアナライザ-比色法
炭酸水素イオン	HCO_3^-	鉱泉試験方法 滴定法
金属類	As	上水試験法 水素化物発生原子吸光法
"	Na, K, Ca, Mg, Fe, Cr, Mn, Cu, Zn	" フレーム原子吸光法
"	Pb, Cd	" ICP 法

Table 2-1 Analytical results of ground waters

No.	水温 °C	pH	Eh mV	EC μS/cm	DO mg/l	HCO ₃ ⁻ mg/l	Cl ⁻ mg/l	SO ₄ ²⁻ mg/l	NO ₃ -N mg/l	PO ₄ -P mg/l	NH ₄ -N mg/l
24	17	7.6	517	541	7.9	229	21	21	1.9	<0.2	<0.1
25	17	7.6	519	648	6.0	290	20	29	1.7	2.0	<0.1
26	16	8.1	493	428	8.0	267	13	15	3.6	1.8	<0.1
27	16	7.8	521	427	8.5	192	11	12	2.9	3.4	<0.1
28	17	7.8	513	511	9.4	217	14	14	5.8	3.3	<0.1
29	17	7.7	524	462	7.9	212	10	8.5	3.5	1.9	<0.1
30	17	7.8	524	466	8.5	182	19	13	4.7	1.9	<0.1
31	15	7.9	521	386	9.1	180	15	8	1.3	1.2	<0.1
32	15	7.6	539	458	8.2	204	16	21	0.6	1.6	<0.1
33	15	7.8	526	476	6.1	186	18	17	5.1	1.2	<0.1
34	17	7.2	540	757	1.9	302	39	57	0.7	0.4	<0.1
35	17	7.4	537	645	6.9	293	23	20	4.5	0.4	<0.1
37	16	7.5	540	437	7.4	146	24	16	4.5	<0.2	<0.1
38	16	7.2	545	342	6.9	76.3	27	17	5.7	1.4	<0.1
39	17	7.5	536	673	9.2	253	35	34	8.2	<0.2	<0.1
40	17	7.1	526	246	8.0	67.1	14	19	1.2	0.3	<0.1
41	18	7.6	520	513	7.0	205	23	17	4.4	<0.2	<0.1
42	18	7.8	513	608	3.8	281	31	14	0.2	<0.2	<0.1
43	17	6.9	547	443	3.2	208	10	20	0.9	<0.2	<0.1
44	17	7.3	539	579	5.8	208	20	64	1.0	-	-
49	18	7.8	531	470	8.8	198	13	15	2.0	1.3	<0.1
50	19	7.9	505	486	8.7	190	18	10	3.8	2.5	<0.1
51	18	7.7	512	519	6.8	204	21	13	4.6	2.0	<0.1
52	19	7.9	503	467	7.4	171	17	11	4.3	3.6	<0.1
53	20	7.7	515	482	8.8	195	13	13	3.7	2.2	<0.1
54	18	7.4	533	368	9.1	116	21	12	5.3	2.3	<0.1
55	19	7.8	517	486	8.5	235	14	9.4	5.2	3.1	<0.1
56	20	7.9	512	447	9.7	165	22	8.5	6.6	5.4	<0.1
57	20	7.9	511	475	7.7	184	24	11	4.1	3.5	<0.1
59	21	7.7	534	613	9.0	226	27	24	4.1	0.9	<0.1
60	22	7.6	529	738	4.3	299	29	32	3.0	0.6	<0.1
61	21	8.0	514	755	6.4	289	28	31	4.6	0.6	<0.1
62	21	7.8	526	736	7.4	279	31	28	3.6	0.7	<0.1
63	22	7.7	517	580	5.0	217	25	26	2.1	2.2	<0.1
64	22	7.8	379	502	1.2	144	32	36	<0.1	0.8	4.3
65	22	7.6	510	628	7.1	232	29	27	3.0	3.2	<0.1
66	22	7.8	509	596	8.9	193	30	21	5.5	1.9	<0.1
67	21	7.9	505	504	8.0	167	27	18	3.2	3.1	<0.1
68	23	7.9	511	493	8.8	175	29	13	1.8	2.9	<0.1
69	22	7.8	523	655	8.6	238	29	18	5.4	3.6	<0.1
70	22	7.8	520	566	8.8	195	28	19	3.5	1.0	<0.1
71	23	8.0	511	487	9.8	183	19	8	4.3	5.6	<0.1
72	22	8.0	504	579	4.3	167	33	20	5.3	2.6	<0.1
73	22	8.0	498	704	4.0	171	41	29	8.1	2.1	<0.1
74	22	8.0	497	686	4.4	184	36	29	7.3	1.1	<0.1
75	22	8.0	498	559	6.0	152	29	18	7.0	1.3	<0.1
76	23	7.8	516	725	7.5	210	31	36	7.1	2.7	<0.1
77	23	8.0	509	571	6.5	160	33	18	5.3	4.2	<0.1
78	22	7.8	508	611	8.4	198	26	16	5.3	2.3	<0.1
79	22	7.9	502	552	8.2	180	22	13	4.8	3.1	<0.1
80	21	7.7	518	628	8.0	210	29	14	4.4	3.0	<0.1
81	21	7.9	507	672	5.9	248	25	22	3.1	2.7	<0.1
82	21	8.1	499	523	6.9	189	14	11	2.0	1.7	<0.1
83	22	7.9	511	584	8.4	184	20	15	6.9	2.5	<0.1
84	22	7.9	518	501	7.8	183	25	17	2.7	4.6	<0.1
85	23	7.9	515	686	7.7	229	34	26	5.4	2.4	<0.1
86	22	7.7	528	648	8.0	229	30	20	5.6	4.2	<0.1
87	22	7.8	526	763	8.8	288	31	27	4.5	2.6	<0.1
88	22	7.9	520	503	7.9	180	24	21	1.9	3.1	<0.1
89	22	8.0	515	560	8.6	187	27	18	5.5	2.4	<0.1
90	23	8.1	510	599	8.8	206	25	16	4.7	2.9	<0.1
91	23	7.8	521	699	6.3	274	28	31	3.8	1.2	<0.1
92	23	8.0	503	691	7.8	251	27	32	2.9	1.1	<0.1
93	23	7.9	512	613	6.1	195	29	31	6.4	3.9	<0.1
94	23	8.3	491	873	8.4	170	41	30	10.9	2.4	<0.1
95	23	7.9	513	650	7.3	198	34	22	4.9	4.3	<0.1
96	23	7.9	512	579	8.6	154	30	18	8.4	4.7	<0.1
97	23	7.8	519	608	7.9	187	27	25	4.7	3.7	<0.1
98	23	7.8	519	614	7.5	229	28	20	3.8	4.9	<0.1
99	22	8.1	497	601	6.6	152	30	19	7.0	1.6	<0.1
100	22	8.0	501	587	5.8	177	28	17	6.5	1.5	<0.1
101	22	8.1	499	540	5.3	150	19	11	8.2	0.8	<0.1
102	22	7.9	497	718	4.3	183	51	24	4.5	0.9	<0.1
103	22	8.0	500	654	5.6	187	39	19	6.3	0.7	<0.1
104	22	8.2	493	509	6.0	140	54	32	2.2	0.4	<0.1
105	23	7.9	504	689	6.4	178	40	31	2.7	1.2	<0.1

Table 2-2 Analytical results of ground waters

No.	As mg/l	Ca mg/l	K mg/l	Na mg/l	Mg mg/l	Cr mg/l	Mn mg/l	Fe mg/l	Cu mg/l	Zn mg/l	Cd mg/l	Pb mg/l
24	<0.005	66	6.4	17	7.3	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
25	<0.005	76	7.8	19	11	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
26	<0.005	52	9.0	12	4.3	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
27	0.006	49	10	12	5.1	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
28	0.008	56	16	17	7.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
29	0.009	52	17	13	5.4	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
30	<0.005	45	15	40	5.8	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
31	<0.005	51	9.4	10	4.8	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
32	<0.005	57	9.0	15	6.2	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
33	0.007	59	23.4	11	5.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
34	<0.005	101	11.2	22	8.8	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
35	<0.005	92	6.9	15	7.7	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
37	<0.005	40	29	17	4.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
38	<0.005	29	3.3	17	5.9	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
39	<0.005	96	5.9	21	6.6	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
40	<0.005	20	3.3	3.3	2.4	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
41	<0.005	61	3.8	19	7.4	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
42	0.009	66	8.5	30	7.6	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
43	<0.005	55	4.0	10	7.9	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
44	<0.005	78	2.8	16	6.1	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
49	<0.005	53	11	10	4.7	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
50	<0.005	34	20	26	5.6	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
51	0.013	52	14	17	5.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
52	0.016	44	14	14	4.9	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
53	0.007	66	9.9	18	4.4	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
54	<0.005	42	7.2	10	4.7	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
55	0.011	54	12	19	5.7	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
56	0.007	50	7.9	13	4.9	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
57	0.013	47	12	17	5.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
59	0.005	49	5.7	15	6.1	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
60	<0.005	57	6.4	18	7.2	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
61	<0.005	59	5.6	16	9.1	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
62	0.005	69	6.2	15	10	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
63	0.010	43	6.1	15	4.9	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
64	<0.005	18	8.5	38	3.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
65	0.005	43	6.4	16	4.3	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
66	0.007	61	10.3	16	5.7	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
67	0.009	37	12.3	16	4.3	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
68	0.008	45	11.4	14	4.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
69	<0.005	50	14.1	15	6.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
70	0.008	35	12.9	20	4.9	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
71	0.007	47	13.4	4.5	4.4	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
72	0.022	36	8.5	9.0	6.8	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
73	0.025	40	8.7	9.7	8.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
74	0.027	42	9.9	9.0	8.4	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
75	0.025	29	6.2	6.9	7.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
76	0.011	43	10.3	8.4	7.8	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
77	0.010	34	8.2	7.5	5.9	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
78	0.014	40	9.8	19	4.8	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
79	0.018	32	12.8	6.8	5.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
80	0.014	42	9.0	5.5	5.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
81	0.011	50	5.8	18	7.7	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
82	0.017	36	5.9	19	5.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
83	0.012	35	11.2	7.4	4.6	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
84	0.014	27	11.4	6.7	4.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
85	0.010	42	11.7	11	8.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
86	0.010	37	12.8	8.6	5.2	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
87	0.012	40	11.4	13	7.7	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
88	0.012	30	12.2	6.9	4.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
89	0.009	35	10.0	6.8	5.1	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
90	<0.005	45	10.1	7.6	3.6	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
91	0.011	53	5.6	5.8	8.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
92	0.006	48	5.2	5.7	7.0	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
93	0.017	45	9.0	6.9	7.6	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
94	0.009	61	9.4	7.6	7.8	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
95	0.010	60	9.4	7.0	7.8	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
96	0.007	42	5.8	6.2	4.4	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
97	0.011	37	9.0	5.9	6.9	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
98	0.011	44	7.0	6.6	5.7	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
99	0.015	30	6.2	9.4	7.3	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
100	0.012	32	6.9	7.9	7.6	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
101	0.011	34	5.2	6.2	6.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
102	0.011	40	11.3	12	12	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
103	0.009	32	8.1	9.5	10	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
104	<0.005	22	5.7	8.4	9.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005
105	0.015	38	9.8	10	9.5	<0.005	<0.005	<0.03	<0.1	<0.1	<0.001	<0.005

2) 周辺地下水のモニタリング調査

地下水の経時変化を把握するため、砒素を含む10項目について、1)の調査によって砒素検出濃度が0.01mg / ℓ以上 の井戸3点(M-1～3), 0.005mg / ℓから0.01mg / ℓまでの井戸3点(M-4～6), 0.005mg / ℓ以下の井戸3点(M-7～9)の計9井戸を選択し、平成9年8月から平成10年2月までの間、2カ月毎に砒素を含む15項目(As, 水温, DO, pH, HCO₃⁻, EC, Eh, Cl⁻, NO₃-N, PO₄-P, SO₄²⁻, Na, K, Ca, Mg)について測定を実施し、水質の経時的な変化を調査した。

3) ポーリングによる地質調査

調査区域内(Fig. 1)のA,B,C計算3地点をポーリング可能な深度まで掘削し、地質や帶水層等を確認した。また、得られたコアから一定深度毎に試料を分取し、As, Na, K, Ca, Mg, Fe(6項目)について含有量試験を、As, pH, EC, NO₃-N, PO₄-P, Ca, Fe(7項目)について溶出試験を実施した。

調査結果及び考察

1 周辺地下水等の調査

Table 2に示す結果を基に、次に示す内容について解析を行い、地下水の化学的特性を検討した。

1) 砒素とその他の項目の相関(Table 3)

砒素を含む15項目(As, DO, pH, HCO₃⁻, EC, Eh, Cl⁻, NO₃-N, PO₄-P, SO₄²⁻, Na, K, Ca, Mg)の相関を算出した。その結果、砒素と0.3以上の有意な相関が見られたのはNO₃-N, Ca, pHであった。

今回の結果は、地下水中的砒素濃度が、pHに依存すると同時にアルカリ性側ではCa濃度が低くなるにつれて高くなっている、金子ら⁹⁾の調査結果と一致した。

他の項目間ではEhとNH₄-N, HCO₃⁻とCaの間に0.7以上の相関が見られた。

2) 砒素濃度別の関連項目値(Table 4)

1)と同様の試料について砒素濃度をA≤0.005mg / ℓ, 0.005mg / ℓ < As ≤ 0.01mg / ℓ, 0.01mg / ℓ < Asの3段階に分類し、pH等14項目の平均値及び濃度範囲を算出した。

その結果、pHは全体的に8程度とアルカリ性側にあり、高濃度の砒素を含む地下水になるほどCaが低い濃度であり、PO₄-Pは逆に高い濃度を示していた。

Table 3 The correlation coefficient during the analytical items

As	1														
pH	0.525	1													
Eh	-0.277	-0.55	1												
EC	0.259	0.226	-0.047	1											
DO	-0.164	0.163	0.32	-0.276	1										
HCO ₃	-0.164	-0.147	0.276	0.608	-0.118	1									
Cl ⁻	0.291	0.322	-0.284	0.605	-0.355	-0.038	1								
SO ₄	-0.124	-0.279	0.029	0.592	-0.493	0.387	0.443	1							
NO ₃ -N	0.428	0.393	-0.05	0.311	0.218	-0.199	0.283	-0.129	1						
PO ₄ -P	0.258	0.25	0.002	-0.008	0.401	-0.047	-0.126	-0.234	0.24	1					
NH ₄ -N	-0.147	0.008	-0.766	-0.075	-0.397	-0.139	0.081	0.196	-0.237	-0.114	1				
Ca	-0.348	-0.439	0.458	0.348	-0.051	0.713	-0.15	0.417	-0.101	-0.106	-0.199	1			
K	0.095	0.137	0.026	-0.175	0.239	-0.091	-0.141	-0.337	0.066	0.149	-0.028	-0.105	1		
Na	-0.139	-0.282	-0.172	-0.126	-0.19	0.171	-0.134	0.066	-0.363	-0.331	0.429	0.162	0.025	1	
Mg	0.091	0.015	0.105	0.642	-0.43	0.434	0.503	0.464	0.122	-0.285	-0.2	0.336	-0.248	0.114	1
	As	pH	Eh	EC	DO	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₃ -N	PO ₄ -P	NH ₄ -N	Ca	K	Na	Mg

Table 4 The analytical results according to the detection concentration of the arsenic

As検出濃度	項目	pH	Eh	EC	D0	HCO ₃	Cl	SO ₄	NO ₃ -N	PO ₄ -P	NH ₄ -N	Ca	k	Na	Mg
As≤0.005mg/l	平均値	7.6	521	549	7	215	24	25	3.2	1.3	0.16	55	8.6	16	6.4
n=27	範 囲	6.9 ~ 8.2	379 ~ 547	246 ~ 762	1.2 ~ 9.2	67 ~ 354	10 ~ 54	7.9 ~ 63	0.1 ~ 8.2	0 ~ 4.9	0 ~ 4.3	18 ~ 117	2.8 ~ 28	7.6 ~ 40	2.4 ~ 11
0.005mg/l<As ≤0.01mg/l	平均値	7.9	513	571	7.8	197	26	18	4.7	2.7	0.01	48	11	18	6.3
n=22	範 囲	7.7 ~ 8.3	491 ~ 528	427 ~ 873	3.8 ~ 9.8	154 ~ 281	10 ~ 41	8.2 ~ 32	0.18 ~ 11	0 ~ 5.6	0 ~ 0.06	32 ~ 66	5.2 ~ 23	4.5 ~ 139	4.3 ~ 11
As>0.01mg/l	平均値	7.9	509	600	6.8	194	27	20	5	2.5	0	40	9.4	10	6.7
n=27	範 囲	7.7 ~ 8.1	497 ~ 526	467 ~ 763	4 ~ 8.8	150 ~ 288	14 ~ 51	9.4 ~ 36	1.9 ~ 8.2	0.8 ~ 4.9	0 ~ 0.06	27 ~ 54	5.2 ~ 14	5.5 ~ 19	4.5 ~ 12

3) 地下水の水質組成と主要溶存イオン比

1) と同様の試料について水質組成及び流動の進行度による水質の変化を確認するため、地下水中の主要イオン(Na,K,Mg,Cl,SO₄,Ca,HCO₃)によるシュティフダイヤグラムを砒素濃度別及び一定間隔の地点において作成した。(Fig. 2)

結果として、今回調査した地下水は、石灰岩地帯の地下水に見られる溶存イオン中のCaとHCO₃の優勢な水質であること、高濃度の砒素が検出された海岸線に近い地区の地下水になるほどHCO₃の溶存イオンに占める比率が低くなることがわかった。流動性については、調査範囲が1km未満と狭いこともあり、進行の程度は確認出来なかった。

4) 砒素濃度別水質の分類

砒素濃度別の地下水の水質を分類するため、3)で示した主要溶存イオンの測定結果を基にキーダイヤグラム(Fig. 3)を作成した。

その結果、類型としては0.005mg / lより高い砒素が検出された地下水はすべて河川水や、浅い層の地下水など流動性のある水質を示すI型(アルカリ土類炭酸塩)に該当すること、砒素が0.005mg / l未満の地下水については、I型のなかでもII型やIII型に近いものがあるなど、水質にばらつきのあることがわかった。

5) 砒素濃度とpH値、酸化還元電位(Eh)の関係(Fig. 4, 5)

砒素の地層から地下水への溶出に大きく影響するpHと酸化還元電位(Eh)について、それぞれ検出した砒素濃度と比較した結果、pHが7.6以上のアルカリ性側の地下水から砒素が多く溶出し、Ehは砒素の溶出の有無に関わらず+500mV前後という高い値であることがわかった。

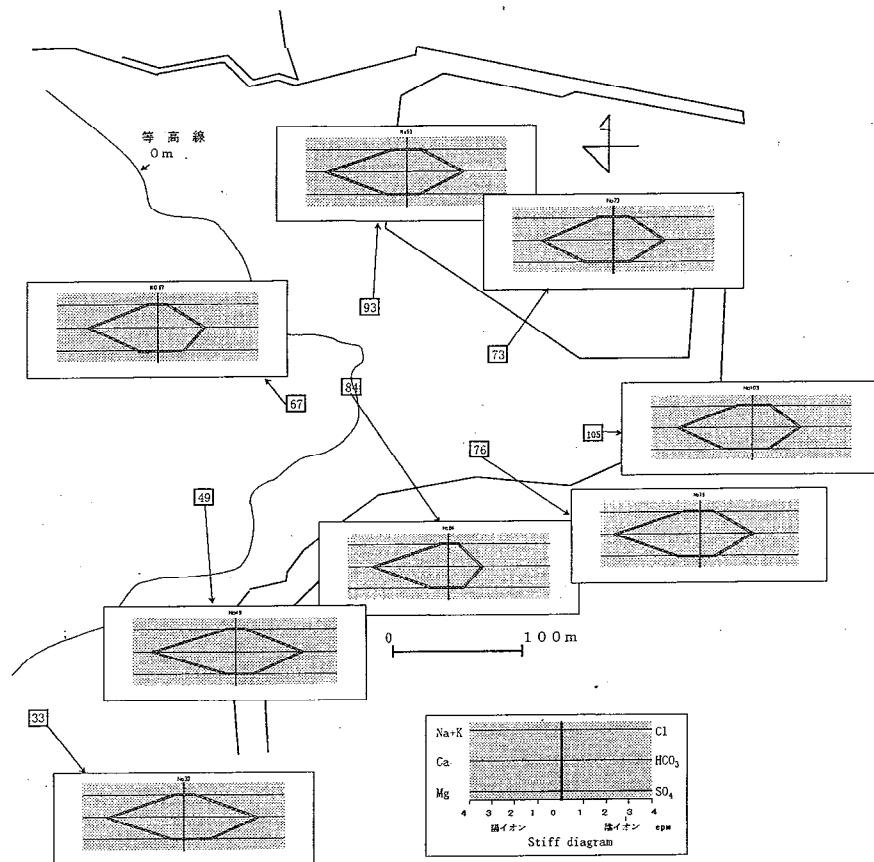
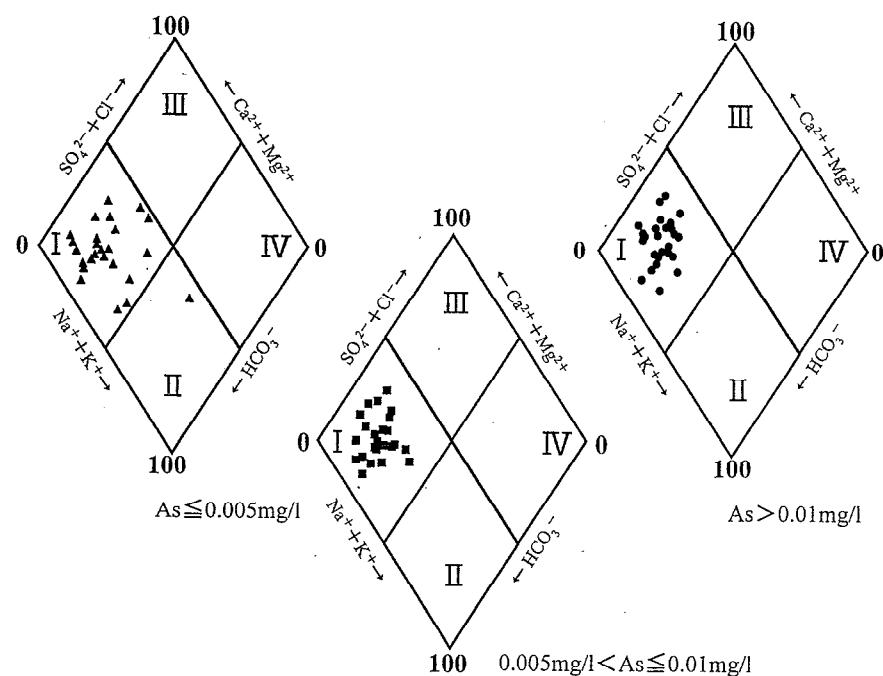


Fig. 2 The ground water quality constitution according to the collected spots



区分	I	II	III	IV
水質	carbonate hardness	carbonate alkali	non-carbonate hardness	non-carbonate alkali
地下水の種類	循環型の供給型不圧地 下水、浅層地下水	停滞性被圧地下水、深 層地下水	温泉水,	温泉水、海水や化石塩 水の混入した地下水

Fig. 3 The key diagrams according to the arsenic concentration

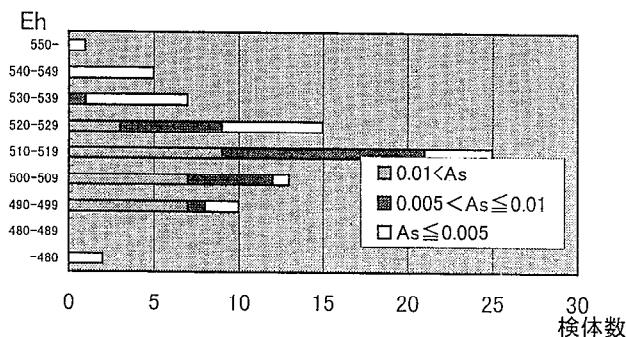


Fig. 4 The relationship between the arsenic concentration and the pH value

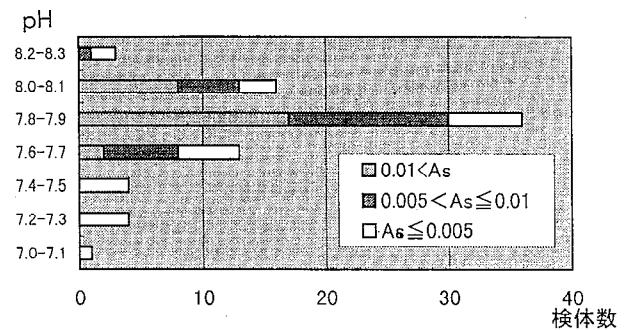


Fig. 5 The relationship between the arsenic concentration and the Eh value

2 周辺地下水のモニタリング調査

調査結果をTable 5に示した。

Fig.1に示すM-1からM-9までの計9井戸について2ヶ月毎に水質調査を実施した結果、水温とEhが12月、2月の冬期に大きく下がった以外は、砒素を含めて各項目の測定値に大きな変化は見られなかった。

このことから、この地域の地下水の水質が一定の範囲で推移していること、当地区の砒素汚染が一時的なものでないことがわかった。

3 ポーリングによる地質調査

1) 地層等の調査

調査結果を各地点別の柱状図(Fig. 6)に示した。

当該地区的地質は、第四紀完新世以降の沖積層²⁾で主に礫、砂、シルト及び粘土で構成されており、宮崎平野のほとんどを占めている地質と同一のものであり、実際ポーリングによる調査において得られたコアについても、3地点とも表土を除き、ほとんどが貝殻片を多く含む砂、シルトが主要な構成成分となっていた。

また、地下水位については帶水層が2.5~5.8mの間に存在していることがわかった。それ以降の深度の地層及び帶水層については、機材の性能上確認することが出来なかった。

2) 土壤(ボーリングコア)試料調査

a) 土壤試料中の含有量(Table 6)

ボーリング調査によって得られたコアから一定深度毎に分取した試料中の砒素含有量は11.0mg / kgから24.0mg / kgの範囲にあった。

また、その他の金属類については、Caについて、表層の盛土より下層において200g / kgから300g / kgという値を示した。これらの地層からは、多量の貝殻片が肉眼でも確認出来た。

b) 土壤試料からの溶出試験(Table 7)

試験の結果、地下水中的砒素濃度が高かったB地点の第1帶水層に該当する地層から0.005mg / lより高い濃度の砒素溶出が見られた。

その他の項目については、Caの溶出が含有量に比例し多く、イオン類ではPO₄-Pが帶水層において高い溶出値を示した。

また、地下水中的砒素濃度が高かったB地点の帶水層において、表土の溶出値を超える高い値のTOCが検出され、海産魚介類等の堆積に起因する有機物の存在が考えられた。

Table 5 The results of the ground water monitoring investigation

pH				水温 °C				DO mg/l							
採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	
M-1	7.9	7.9	7.9	7.7	M-1	25	23	20	19	M-1	4.8	7.8	7.3	7.9	
M-2	7.9	7.9	7.8	7.8	M-2	24	22	14	11	M-2	4.2	6.2	7.0	8.5	
M-3	7.8	7.8	7.7	7.8	M-3	24	23	17	19	M-3	7.3	7.8	7.4	7.9	
M-4	7.7	7.8	7.7	7.9	M-4	23	23	20	18	M-4	6.8	8.0	7.3	8.9	
M-5	7.9	7.9	7.9	7.9	M-5	24	23	18	15	M-5	8.4	8.9	9.1	9.2	
M-6	7.7	7.9	7.9	8.0	M-6	25	24	14	14	M-6	6.9	7.6	8.4	9.0	
M-7	7.3	7.3	7.7	7.7	M-7	25	24	18	15	M-7	4.9	3.7	5.3	6.3	
M-8	8.1	7.8	8.0	8.0	M-8	24	24	15	11	M-8	7.0	8.2	8.0	8.7	
M-9	7.9	7.9	7.9	7.9	M-9	25	23	15	13	M-9	8.6	9.7	9.9	9.7	
EC $\mu\text{s}/\text{cm}$				Eh mV				$\text{HCO}_3^- \text{ mg/l}$							
採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	
M-1	564	388	411	395	M-1	441	498	295	302	M-1	169	153	150	156	
M-2	632	440	511	513	M-2	480	490	292	300	M-2	232	204	211	211	
M-3	493	398	450	359	M-3	493	497	299	303	M-3	171	171	186	174	
M-4	651	597	579	566	M-4	489	494	302	286	M-4	229	241	228	235	
M-5	556	470	479	475	M-5	482	500	301	293	M-5	198	212	204	217	
M-6	695	442	529	408	M-6	503	497	291	290	M-6	278	238	238	211	
M-7	733	607	536	464	M-7	518	521	310	301	M-7	315	320	285	256	
M-8	593	472	420	404	M-8	473	499	288	286	M-8	214	220	177	186	
M-9	422	312	396	319	M-9	479	496	312	282	M-9	153	150	201	150	
Cl mg/l				$\text{SO}_4^- \text{ mg/l}$				$\text{NO}_3^- \text{ N mg/l}$							
採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	
M-1	25	22	- - -	31	M-1	20	17	- - -	14	M-1	6.1	6.2	5.6	5.6	
M-2	25	19	- - -	32	M-2	25	20	- - -	32	M-2	4.9	4.0	5.3	7.2	
M-3	19	17	- - -	14	M-3	16	19	- - -	14	M-3	4.7	4.9	5.2	3.8	
M-4	25	25	- - -	34	M-4	41	35	- - -	36	M-4	9.4	11	8.5	9.8	
M-5	22	20	- - -	25	M-5	17	17	- - -	17	M-5	6.5	7.1	6.4	2.3	
M-6	24	17	- - -	18	M-6	28	14	- - -	16	M-6	4.8	2.0	2.9	1.3	
M-7	18	18	- - -	19	M-7	27	27	- - -	16	M-7	4.9	3.0	2.9	5.1	
M-8	21	20	- - -	23	M-8	28	24	- - -	20	M-8	3.4	5.0	4.9	2.9	
M-9	19	11	- - -	15	M-9	10	8.0	- - -	6.4	M-9	3.4	3.5	2.7	2.7	
PO ₄ -P mg/l				Ca mg/l				Mg mg/l							
採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	
M-1	2.1	2.2	2.5	2.7	M-1	42	36	50	44	M-1	8.1	7.3	7.5	7.6	
M-2	2.3	2.8	2.2	2.9	M-2	55	44	69	61	M-2	9.3	8.1	8.3	9.7	
M-3	2.6	3.2	2.2	3.3	M-3	40	36	51	39	M-3	5.6	5.7	6.0	5.4	
M-4	2.2	3.0	2.7	2.9	M-4	59	50	75	71	M-4	10	11	11	11	
M-5	1.7	2.1	2.1	2.2	M-5	49	48	60	59	M-5	6.9	6.7	6.9	7.1	
M-6	1.5	1.8	2.0	2.3	M-6	74	53	83	61	M-6	10	8.0	10	7.6	
M-7	0.48	0.38	0.20	0.44	M-7	86	71	79	68	M-7	9.6	11	11	8.2	
M-8	1.9	2.6	2.5	2.9	M-8	62	54	68	58	M-8	5.4	5.9	6.1	5.1	
M-9	4.4	5.7	5.9	5.7	M-9	41	30	61	41	M-9	4.5	4.3	4.4	4.2	
Na mg/l				K mg/l				As mg/l							
採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	採水年月日	9708	9710	9712	9802	
M-1	19	13	17	14	M-1	13	11	11	11	M-1	0.014	0.016	0.018	0.002	
M-2	18	17	19	20	M-2	11	10	10	9.2	M-2	0.011	0.018	0.020	0.014	
M-3	14	14	15	15	M-3	18	16	16	15	M-3	0.009	0.007	0.017	0.011	
M-4	20	20	21	18	M-4	15	16	17	14	M-4	0.006	<0.005	0.015	0.006	
M-5	16	16	18	17	M-5	17	14	15	13	M-5	0.006	<0.005	0.006	0.009	
M-6	11	13	15	11	M-6	7.8	8.4	8.8	4.7	M-6	<0.005	0.002	0.004	0.006	
M-7	12	14	14	13	M-7	7.5	9.3	9.8	5.8	M-7	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	
M-8	12	13	14	12	M-8	12	11	12	9.4	M-8	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	
M-9	7.5	7.4	7.6	7.6	M-9	14	13	14	12	M-9	<0.005	<0.005	<0.005	0.005	

調査No. A		孔内水位 GL-3.95m		
標高	深度	色調	土質	記事
5.28	0.2	灰色	砂利	0.5m/m程度の円礫
		灰褐色	盛土 シルト混り 細粒砂	上部草根混入 僅かに中粒砂を含む
	2.8	灰褐色	貝殻混り 中粒砂	細粒砂を含む 貝殻片混入 僅かにシルトを含む
		暗灰褐色	礫混り 中粒砂	GL-3.95m 旧河庄堆積物 ϕ 2~30m/m の円礫を含む 貝殻片混入
	4	暗茶灰色	強風化砂岩・泥岩 風化礫	砂岩・表面に酸化 鉄付着 泥岩風化
		暗灰色	中粒砂	僅かに風化礫 含む
	5.15	リーブ灰色	強風化泥岩	新第三紀宮崎層群 砂岩、泥岩互層
		リーブ灰色	強風化泥岩	

調査No. C		孔内水位 GL-5.80m		
標高	深度	色調	土質	記事
10	0.2	灰色	砂利	0.5m/m程度の円礫
		茶褐色	礫混り 細粒砂	2-5m/m程度の砂 岩礫主体 瓦片混入 僅かにシルトを含む
	3.4	茶褐～ 灰褐色	シルト混り 中粒砂	貝殻片混入 二次シラスを含む
		茶灰色	砂礫	5-20m/mの砂岩
	5	茶褐色	細～中粒 砂	GL-5.80m 貝殻片混入 下部、砂岩、泥岩 風化礫混入
		灰茶色	砂岩、泥 岩互層	新第三紀宮崎層群 砂岩、表面に酸化 鉄付着 泥岩風化

調査No. B		孔内水位 GL-2.50m		
標高	深度	色調	土質	記事
3.88	2.4	茶褐色	盛土 シルト混り 細粒砂	上部草根混入 僅かに中粒砂を含む
		茶褐～灰褐色	貝殻混り 中粒砂	GL-2.50m 中粒砂を含む 細粒砂 貝殻片混入 GL-4m付近より 臭気あり
1.28	5			

Fig. 6 The geological feature situation according to the boring Investigation

Table 6 The results of the content experiment in soil

項目		As	Fe	Ca	K	Na	Mg
採取地点名	深度 m	含有量	含有量	含有量	含有量	含有量	含有量
		mg/kg	10 ³ mg/kg				
A	1.5-2	13	55	1.7	3.2	2.5	4.5
	3-3.5	19	28	330	4.4	4.4	7.2
	4.5-5	11	11	99	3.4	2.9	3.7
	5-5.5	15	23	230	5.5	4.1	6.9
	5.5-6	12	17	240	4.0	2.3	6.7
B	1.5-2	15	29	1.5	3.4	4.4	4.4
	2.5-3	15	19	150	5.3	2.6	5.7
	3.5-4	19	22	170	6.3	3.4	6.6
	4-4.5	24	21	200	4.1	2.5	5.8
	4.5-5	19	15	350	3.3	3.1	6.7
C	2-2.5	19	23	45	3.7	1.3	3.7
	4-4.5	22	16	260	5.2	3.9	3.0
	5-5.5	16	21	280	4.7	1.8	4.5
	6.5-6.9	11	20	210	4.0	2.0	4.9

注) 1 環境庁水質保全局作成「底質調査方法」により、検液を調製後、分析。

注) 2 試料として、乾燥試料 1 g を使用。

注) 3 乾燥土壤当たりで表示

Table 7 The results of the elution experiment

項目		As	N0 ₃ -N	P0 ₄ -P	pH	EC	TOC	Ca	Fe
採取地点名	深度 m	溶出量	溶出量	溶出量	測定値	測定値	溶出量	溶出量	溶出量
		mg/l	mg/l	mg/l		μS/cm	mg/l	mg/l	mg/l
A	1.5-2	<0.005	0.06	3.1	7.2	24	1.89	4.2	0.66
	3-3.5	<0.005	0.03	0.8	9.2	82	0.73	27	0.10
	4.5-5	0.006	0.04	4.7	9.2	76	0.61	22	0.34
	5-5.5	0.007	0.15	2.1	9.4	89	0.53	27	0.13
	5.5-6	0.005	0.22	0.8	9.3	97	0.35	26	0.10
B	1.5-2	<0.005	0.03	1.2	7.8	37	1.20	5.3	1.8
	2.5-3	<0.005	1.2	4.9	9.2	104	0.49	26	0.20
	3.5-4	0.007	1.6	2.3	9.2	106	0.58	28	0.17
	4-4.5	0.010	0.15	3.1	8.9	116	1.86	36	0.52
	4.5-5	0.007	0.02	2.6	9.2	92	1.62	32	0.21
C	2-2.5	<0.005	0.06	11	9.1	67	0.65	27	0.15
	4-4.5	<0.005	0.07	1.9	8.3	70	0.54	31	0.04
	5-5.5	<0.005	0.31	5.3	9.1	75	0.50	31	0.05
	6.5-6.9	<0.005	0.42	1.5	9.3	76	0.38	28	0.06

注) 1 試料については、環境庁告示第46号「土壤の汚染による環境基準について」の検液作成方法に基づき調製後、分析。

まとめ

今回、宮崎市内の地下水から基準を超える砒素を検出したことを受け、その原因を究明するため調査を実施した結果、次のようなことが明らかになった。

砒素が高濃度に検出された地区の地下水の化学的特性は、経時的な変動が少なくpHが全体的に8前後と砒素の溶出しやすいアルカリ性であり、 Eh , HCO_3^- が多いI型（アルカリ土類炭酸塩）であること、地層的には貝殻片等を多く含む堆積物から構成され、その結果、Caの含有量が多いこと、地下水中の砒素濃度が高いかった地点の帶水層に該当する地層に表土と同程度の有機物が存在していることなどがわかった。

今回の場合、以上のような砒素を溶出しやすい条件を当地区が満たしており、結果として環境基準値である0.01mg/lを超える砒素が地下水に溶出したものと考えられた。

参考文献

- 1) 堀内清司：陸水の化学, 79-89, 学会出版センター, 1992
- 2) 村田明広：宮崎県地質図, 5, 緑川地図印刷(株), 1997
- 3) 半谷高久：日本環境図譜, 112-114, 共立出版(株)
- 4) 石黒靖尚, 大野健治, 鳥羽峰樹, 近藤紘之：環境中のヒ素及びその形態, 第23回環境保全・公害防止研究発表会講演集, 59, 1996
- 5) 高橋秋彦：筑後川流域のヒ素による地下水汚染について, 佐賀県環境センター所報, 11, 42-43, 1995
- 6) 佐藤市子, 田島幸治, 中熊秀光, 小西鐘朗：熊本地域における地下水からのヒ素検出事例について, 第18回環境保全・公害防止研究発表会講演要旨集, 1991
- 7) 中島宣雅：ヒ素による地下水汚染の現状と地下水質環境基準, 水環境学会誌, 20, 7, 2-5, 1997. 7
- 8) 近藤紘之：福岡県県南地域地下水のヒ素汚染の概況, 水環境学会誌, 20, 7, 438-442, 1997
- 9) 金子恵美子, 菅野直：仙台市内の井戸水調査(第2報) -ヒ素について-, 仙台市衛生試験所所報, 9, 174-178, 1979
- 10) 金子恵美子, 菅野直：仙台市内の井戸水調査(第3報) -主要溶存成分について-, 仙台市衛生試験所所報, 9, 179-187, 1979
- 11) 金子恵美子, 菅野直：仙台市内の井戸水調査(第4報) -硬度と他成分との関連について-, 仙台市衛生試験所所報, 9, 188-195, 1979
- 12) 福岡県県南地域地下水汚染原因等検討委員会：福岡県県南地域地下水汚染原因等調査報告書, 1996. 3
- 13) 斎藤明男, 矢島久美子, 橋口洋一郎：井戸からのヒ素検出事例について, 群馬県衛生環境研究所年報, 29, 86-89, 1997
- 14) 木村哲久, 松原英隆, 大石義也, 福本洋一, 岡崎章：福岡市東部とヒ素汚染地区における地下水と地質との関係について, 福岡市保健環境研究所報, 22, 79-82, 1997
- 15) 中杉修身, 柴田康行, 西川雅高, 真柄泰基, 相沢貴子, 安藤正典：98有害金属の形態別分析技術の開発と地下水汚染機構解明に関する研究, 環境保全研究成果集(II), 1997

宮崎県衛生環境研究所年報（第9号）

平成10年9月

編集・発行 宮崎県衛生環境研究所

〒889-2155

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

<http://www.ipe.pref.miyazaki.jp>

印 刷 所 有限会社 大淀総合印刷

〒880-0024

宮崎市祇園2丁目92番2

TEL 宮崎 (0985) 29-6655

FAX 宮崎 (0985) 29-6643
