

Shizuoka-Ken Kankyō Eisei Kagaku  
Kenkyūsho Hōkoku 51(2008)  
ISSN 1343-246X

# 静岡県環境衛生科学研究所報告

平成20年度

Bulletin  
of  
Shizuoka Institute of  
Environment and Hygiene

No.51 2008

静岡県環境衛生科学研究所

## は し が き

近年、我が国では新型インフルエンザやノロウイルス等の感染症、野菜の残留農薬、いわゆる健康食品、違法ドラッグ及び環境汚染物質などによるヒトの健康や環境に及ぼす影響が危惧されています。

当研究所では、環境、保健衛生について、静岡県が直面している課題や将来予想される課題に関して、「安全と安心を感じることのできる社会」の確立を目指して、感染症、食品、医薬品、環境影響及び消費生活に関する調査・研究を行っており、また、環境、保健衛生、消費生活関係の行政検査や、医療機関からの依頼による細菌培養検査や医薬品等の検査、河川や湖沼における水質事故、大気汚染事故、炭素菌などの生物テロ、いわゆる健康食品による健康被害、重症急性呼吸器症候群（SARS）などの環境や健康の危機の発生に対し、高度な技術を生かした緊急時の分析・解析を行い、県民の生命を守っております。

また、大学や他の研究機関等との共同研究も積極的に行っており、ファルマバレー構想関連創薬探索研究として「創薬の構造最適化等に関する研究」、課題研究として「天空ダム富士山―富士山を巡る健全な水循環確保に関する研究―」、共同研究として「マイクロガスセンサを利用した小型 GC 分析装置の開発と適合性に関する研究」等の研究を行っております。

この他にも、県民生活に密着した問題や将来問題化しそうな課題について、一般研究として、県民の期待に応えるよう日ごろから調査・研究に努めており、その実施に当たっては、学識経験者からなる外部評価委員会の評価を受けながら、効果的・効率的な推進とレベルアップに努めています。

ここに、平成 20 年度の調査・研究の成果を「静岡県環境衛生科学研究所報告」No51 号としてまとめましたので、御高覧の上、御批判、御指導をいただければ幸いです。

平成 22 年 1 月

静岡県環境衛生科学研究所長 佐藤英世

# 目 次

## 論 文

### 微生物部

- 1 結核菌の遺伝子解析と疫学調査への応用  
……………杉山寛治, 神田 隆, 高橋奈緒美 ……………1
- 2 患者と家畜由来病原菌の薬剤耐性動向調査および遺伝子検査を用いた薬剤耐性菌の新たな迅速検査法に関する研究 –ヒト由来 STEC の血清型, Stx 型および薬剤感受性 (2003~2007) –  
……………廣井みどり, 飯田奈都子, 原田哲也, 川森文彦, 高橋奈緒美,  
神田 隆, 杉山寛治, 増田高志……………5
- 3 静岡県における性感染症 (STD) の実態調査  
……………三輪好伸, 稲吉 恵, 山田俊博, 足立 聡, 増田高志……………9
- 4 食品からのノロウイルスの高感度検出方法の検討  
……………足立 聡, 飯田奈都子, 山田俊博, 三輪好伸, 増田高志……………13

### 医薬食品部

- 5 既存医薬品の不純物プロファイル管理手法の確立 –プロカイン塩酸塩を例に–  
……………上村慎子, 尾藤孝弘, 水野くみ子, 黒見公一, 上野千恵, 栗田浩幸,  
前田有美恵, 小和田和宏, 坂根弓子, 山本政利, 西澤雅彦……………17
- 6 いわゆる健康食品中の医薬品成分の LC/MS による迅速分析 (第 2 報)  
–ケミカルドラッグ及び油性食品への適用の検討–  
……………栗田浩幸, 尾藤孝弘, 水野くみ子, 上村慎子, 前田有美恵, 西澤雅彦 21
- 7 カカオ含有率に着目したチョコレートの成分等に関する調査  
……………小林千恵, 相曾いずみ, 前田有美恵, 西澤雅彦……………27
- 8 高速溶媒抽出を用いた畜産物中残留農薬一斉分析法の効率化の検討  
……………小郷沙矢香, 前田友幸, 影山知子, 中島美穂, 前田有美恵, 西澤雅彦… 31

### 環境科学部

- 9 静岡県内の河川の各種受容体導入酵母アッセイによる内分泌かく乱活性の評価  
……………今津佳子, 金子亜由美, 河合 渉  
独立行政法人国立環境研究所 白石不二雄, 中島大介, 鎌田 亮…………… 37

10	地下水汚染時に必要な地域の資料収集・整理と汚染の予測 —富士山周辺の資料収集とモデル化— ……………村中康秀……………	43
11	学校施設における室内アルデヒド類濃度に関する研究 ……………久米一成, 深澤 均 静岡県立大学 大学院生活健康科学研究科 林凌……………	59
12	マイクロガスセンサを利用した小型GC分析装置の開発と適用性に関する研究 ……………山下晶平, 久米一成, 河合 渉 矢崎総業株式会社 技術研究所 豊田和弘, 荘田隆博, 伊東祐介, 植松彰一……………	65
<b>大気・水質部</b>		
13	石綿含有成型板等の解体等作業による建築解体現場周辺の大気中石綿濃度に関する研究 ……………江本勇治, 尾澤義昭……………	71
14	NO <sub>x</sub> 及びNMHC(非メタン炭化水素)がO <sub>x</sub> 生成に与える影響について ……………篠原英二郎……………	77
15	新たな幹線道路供用に伴う周辺環境への影響に関する研究 ……………太田良和弘, 中西隆之, 篠原英二郎……………	81
16	N式パッシブサンプラーによる簡易大気汚染測定手法の実用化の検討 ……………中西隆之, 江本勇治, 太田良和弘……………	87
17	森林形態が河川環境に及ぼす影響に関する研究 ……………内山道春, 小池明, 青木一永, 清水直美, 瀧本俊晴……………	93
<b>他誌に発表した論文</b> ……………		99
<b>学会・研究会の報告</b> ……………		100
<b>表彰等</b> ……………		103



# CONTENTS

## PAPERS

### Department of Microbiology

- 1 Genetic Analysis for *Mycobacterium tuberculosis* Isolates and their Application to Epidemiological Research  
Kanji SUGIYAMA, Takashi KANDA and Naomi TAKAHASHI ----- 1
  
- 2 Study on Antibiotic Susceptibility in Bacterial Isolates of Patients and Domestic Animal Origin, and Development of a Rapid Genetic Analysis for Detection of Antimicrobial Resistance Genes  
—Serovar, Stx Type and Antibiotic Susceptibility of STEC Isolated from Humans (2003—2007)—  
Midori HIROI, Natsuko IIDA, Tetsuya HARADA, Fumihiko KAWAMORI, Naomi TAKAHASHI, Takashi KANDA, Kanji SUGIYAMA and Takashi MASUDA ----- 5
  
- 3 A Survey of STD in Shizuoka Prefecture  
Miwa YOSHINOBU, Megumi INAYOSHI, Toshihiro YAMADA, Satoshi ADACHI and Takashi MASUDA-----9
  
- 4 Study on Highly Sensitive Detection Method for Norovirus from Foods  
Satoshi ADACHI, Natsuko IIDA, Toshihiro YAMADA, Yoshinobu MIWA and Takashi MASUDA-----13

### Department of Drug and Food Science

- 5 Establishment of Control Methods by Impurity Profile of Existing Drugs  
— Study on Procaine Hydrochloride as an Example —  
Mitsuko KAMIMURA, Takahiro BITO, Kumiko MIZUNO, Kohichi KUROMI, Chie UENO, Hiroyuki KURITA, Yumie MAEDA, Kazuhiro OWADA, Yumiko SAKANE, Masatoshi YAMAMOTO and Masahiko NISHIZAWA -----17
  
- 6 Rapid Analysis of Drugs in Health Foods Using LC/MS (2)  
— Study of Application to Chemical Drugs and Fatty Foods —  
Hiroyuki KURITA, Takahiro BITO, Kumiko MIZUNO, Mitsuko KAMIMURA, Yumie MAEDA and Masahiko NISHIZAWA -----21

7	Ingredient and Other Things of Chocolatenoticed Percentage of Cacao Content Chie KOBAYASHI, Izumi AISO, Yumie MAEDA and Masahiko NISHIZAWA-----	27
8	Study of the Efficiency Improvement of Simultaneous Analytical Method for Pesticide Residues in Livestock Product using Accelerated Solvent Extractor Sayaka OGO, Tomoyuki MAEDA, Tomoko KAGEYAMA, Miho NAKASHIMA, Yumie MAEDA and Masahiko NISHIZAWA-----	31

### Department of Environment Science

9	Evaluation of Endocrine Disrupting Activities on Multiple Receptor of River Water Samples in Shizuoka Prefecture Measured by Recombinant Yeast Assays Yoshiko IMAZU, Wataru KAWAI, Ayumi KANEKO, Fujio SHIRAIISHI, Daisuke NAKAJIMA and Ryo KAMATA -----	37
10	Collecting and Organizing Data on a Regional Scale for Simulation of Groundwater Pollution Yasuhide. MURANAKA-----	43
11	Research on the indoor aldehydes concentration at schoolrooms Kazunari KUME, Hitoshi Fukazawa and Lin Lin g-----	59
12	Development of Portable Gas Chromatograph with a Sensor Based on Catalytic Combustion and Application to the Measurement of VOCs in Indoor Environment Shohei YAMASHITA, Kazunari KUME, Wataru KAWAI, Kazuhiro TOYODA Takahiro SHODA, Yusuke ITO and Shoichi UEMATS -----	65

### Department of Pollution Control

13	Study on Airborne Asbestos Concentration at Building Dismantlement Sites with Asbestos Containing Materials Yuji EMOTO and Yoshiaki OZAWA -----	71
14	Effects of NO <sub>x</sub> and NMHC to Concentraition of Photochemical Oxidant Eijirou SHINOHARA -----	77

15	Research on Air Pollutants to the periphery environment by the construction of a new trunkroad Kazuhiro OHTARA, Takayuki NAKANISHI and Ei jiro SHINOHARA -----	81
16	Examination of utilization of Simple Sampling Method of Air pollution by N-type Passive Sampler Takayuki NAKANISHI, Yuji EMOTO and Kazuhiro OHTARA -----	87
17	A Study for Effect of River' s Environment by the Form of Forest Michiharu UCHIYAMA, Akira KOIKE ,Kazunaga AOKI,Naomi SHIMIZU and Toshiharu TAKIMOTO -----	93

<b>SUMMARIES OF PAPERS IN OTHER PUBLICATIONS</b> -----	99
--	----

<b>PRESENTATIONS AT CONFERENCES AND/OR SOCIETY MEETINGS</b> -----	101
---	-----

<b>COMMENDATION</b> -----	104
---------------------------	-----

## 結核菌の遺伝子解析と疫学調査への応用

微生物部 微生物スタッフ 杉山寛治, 神田 隆, 高橋奈緒美

Genetic Analysis for *Mycobacterium tuberculosis* Isolates and their Application to  
Epidemiological Research

Kanji SUGIYAMA, Takashi KANDA and Naomi TAKAHASHI

結核の集団感染発生時の感染源調査や、流行株の存在の確認等の疫学調査に用いられる結核菌の遺伝子解析法として、従来法の RFLP 法に替えて、1~2 日で結果が得られ、数値化、データベース化が容易な VNTR (高変異反復配列多型) 法の確立を図り、RFLP 法と同様な解析能を有する JATA (12)-VNTR 法の採用を決定した。

病院から収集した結核患者分離株に JATA (12)-VNTR 法を応用し、その解析能と菌株の異同を確認した。また、保健所からの依頼で、同一施設で生活する海外留学生の結核患者 2 名の分離株の異同を JATA (12)-VNTR 法で調べ、両者が別株であり、施設内での集団発生ではないことを明らかにした。さらに、当所に凍結保存してあった、2 年の間隔をおいて発症した動物園の偶蹄類動物の母子のヒト型結核菌 DNA の VNTR プロファイルを比較したところ、ほぼ同一であったことから、同一菌株による母子感染であったことが判明した。このように、今回使用した VNTR 法は、結核蔓延状況の確認や感染源調査等の分子疫学的解析に使用でき、今後の結核対策に役立つと思われる。

Key words: VNTR 法, 遺伝子解析, 結核菌, 疫学調査

VNTR method, genetic analysis, *Mycobacterium tuberculosis*, epidemiological research

### はじめに

静岡県は、70 歳以上の高齢者の結核発生率が全国に比較して多く (患者の 6 割近く)、高齢者人口の増加に伴い、医療機関や高齢者施設での集団感染の防止が課題となっている。本研究は、結核菌の遺伝子解析法の確立を図り、結核の集団感染発生時の感染源調査や、流行株の存在の確認等の疫学調査に応用することを目的としている。

結核菌の遺伝子解析法として、従来は RFLP (制限酵素断片長多型) 法が使われているが、結果を得るまで 1~2 週間要するなど緊急時の検査には向かない。そこで、RFLP 法に替えて、1~2 日で結果が得られ、数値化、データベース化が容易な VNTR (高変異反復配列多型) 法の確立を図ったので報告する。

### 材料および方法

結核菌の遺伝子解析法として、RFLP 法と同様な解析能を有する JATA (12)-VNTR 法<sup>1)</sup>を採用した。

結核菌の DNA 調製は小川培地をオートクレーブで滅菌後、凝固水と菌塊を回収し遠心上清を PCR 用の検体とした。JATA (12)-VNTR の PCR 法の反応液の調製と反応条件を図 1 に示した。

テンプレート DNA	1 $\mu$ l
20 $\mu$ M プライマー	各 0.5 $\mu$ l ずつ
2.5mM dNTPs	2 $\mu$ l
2 $\times$ GC buffer I	10 $\mu$ l
蒸留水	5.9 $\mu$ l
Ex Taq	0.1 $\mu$ l

94 $^{\circ}$ C	5 分	} 35 サイクル
94 $^{\circ}$ C	30 秒	
63 $^{\circ}$ C	30 秒	
72 $^{\circ}$ C	3 分	
72 $^{\circ}$ C	7 分	

図 1 PCR 法の反応液の調製と反応条件

静岡県環境衛生科学研究所  
(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)  
Shizuoka Institute of Environment and Hygiene  
(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

PCR増幅液は、TBE緩衝液を用いた3% NuSieve 3:1 Agarose ゲルで電気泳動を行い、PCR産物の分子量を測定した。VNTRのコピー数の換算は前田らの報告<sup>1)</sup>によった。

ついで、県の西部地区のA病院で2006～2007年に分離された散発結核患者由来28菌株を用い、JATA(12)-VNTR法を実施し、その解析能と菌株の異同を調べた。

また、保健所からの依頼を受け、同一施設で生活する海外留学生の結核患者2名の分離株の異同をJATA(12)-VNTR法で調べた。

さらに、当所に凍結保存してあった、2年の間隔において発症した動物園の偶蹄類動物の母子由来のヒト型結核菌<sup>2)</sup>2株のDNAのVNTRプロファイルと比較した。

### 結果および考察

結核は、ヒトからヒトへの結核菌の飛沫感染、接触感染などの感染経路で伝播する。面接等の疫学調査だけでは曝露と感染の因果関係を把握しにくいことから、その防疫対策には結核菌の分子疫学的解析が有効な手段となる。今回用いたVNTR法はその分子疫学的解析法のひとつで、RFLP法に比べ、より迅速に結果が得られるため、患者間の感染の有無を判断でき、集団発生の早期発見、接触者検診での感染経路の特定など、個々の感染事例への即応を可能にする検査法といえる。

VNTR法は、細菌の遺伝子群が移動や欠損した時に残る数十塩基のDNAの繰り返し配列(Tandem Repeat: TR)数を測定する方法で、結核菌の染色体遺伝子内にはこれらの領域が40ヶ所以上存在し、中でも変化に富む領域を標的としたPCR産物の大きさ(TR数の違い)から、菌の違いを区別することができる<sup>3)</sup>。

そこで、県の西部地区の病院で分離された散発結核患者由来28菌株についてVNTR法を実施したところ、それらの株のVNTRプロファイルは異なっており、その解析能の高さが示された。また、保健所依頼の、同一施設で生活する海外留学生の結核患者2名の分

離株(A株、B株)の異同をJATA(12)-VNTR法で調べたところ、表1に示したように、A、B株とも増幅のあった10箇所(下線)のうち、下線で示した5箇所(下線)でリピート数が異なっており、両者が別株であり、施設内での集団発生ではないことが明らかとなった。

さらに、当所に凍結保存してあった、2年の間隔において発症した動物園の偶蹄類動物の母子由来のヒト型結核菌DNAのVNTRプロファイルと比較したところ、図2に示すように、ほぼ同一であったことから、同一菌株による母子感染であったことが判明した。このように、今回用いたVNTR法による結核菌の遺伝子解析法は、結核蔓延状況の確認や感染源調査等の分子疫学的解析に使用でき、今後の結核対策に役立つと思われる。

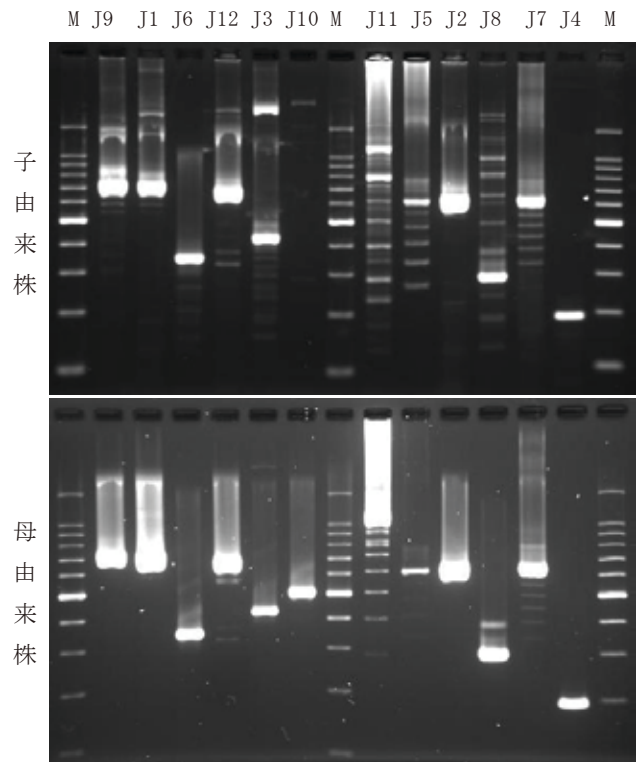


図2 偶蹄類動物の母子由来ヒト型結核菌DNAのVNTRプロファイル M:マーカー, J1～J12: JATAプライマーによる増幅部位

表1 同一施設内で発生した結核患者2名分離菌株の繰り返し配列部におけるリピート数

	JATA2	JATA3	JATA4	JATA5	JATA 7	JATA8	JATA9	JATA10	JATA11	JATA12
A株	3	<u>3</u>	3	<u>6</u>	7	<u>3</u>	<u>2</u>	7	<u>1</u>	3
B株	3	<u>4</u>	3	<u>3</u>	7	<u>4</u>	<u>5</u>	7	<u>2</u>	3

## まとめ

結果を得るまで1～2週間要するRFLP法に替えて、1～2日で結果が得られ、数値化、データベース化が容易なVNTR法の確立を図り、RFLP法と同様な解析能を有するJATA(12)-VNTR法の採用を決定した。

病院から収集した結核患者分離株にJATA(12)-VNTR法を応用し、その解析能と菌株の異同を確認した。また、保健所からの依頼で、同一施設で生活する海外留学生の結核患者2名の分離株の異同をJATA(12)-VNTR法で調べ、両者が別株であり、施設内での集団発生ではないことを明らかにした。さらに、当所に凍結保存してあった、2年の間隔をおいて発症した動物園の偶蹄類動物の母子のヒト型結核菌DNAのVNTRプロファイルを比較したところ、ほぼ同一であったことから、同一菌株による母子感染であったことが判明した。

今回用いたVNTR法を結核蔓延状況の確認や感染源調査等の分子疫学的解析に応用し、今後の結核対策に役立てていきたい。

## 謝 辞

結核菌株の収集にご協力いただいた袋井市民病院および西部保健所の皆様に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 前田伸司他：国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)分析システム，結核，**83**(10)，673-678(2008)
- 2) 塩沢寛治他：PCR法によるパラフィン包埋組織からの病原細菌遺伝子の検出，静岡県衛生環境センター報告，**37**，25-27(1994)
- 3) Supply, P. et al.: Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. Mol. Microbiol., **36**, 762-771 (2000)



## 患者と家畜由来病原菌の薬剤耐性動向調査および

### 遺伝子検査を用いた薬剤耐性菌の新たな迅速検査法に関する研究

#### — ヒト由来 STEC の血清型, Stx 型および薬剤感受性 (2003~2007) —

微生物部 微生物スタッフ 廣井みどり, 飯田奈都子, 原田哲也\*,  
川森文彦, 高橋奈緒美, 神田 隆,  
杉山寛治, 増田高志

Study on Antibiotic Susceptibility in Bacterial Isolates of Patients and Domestic Animal Origin,  
and Development of a Rapid Genetic Analysis for Detection of Antimicrobial Resistance Genes  
— Serovar, Stx Type and Antibiotic Susceptibility of STEC Isolated from Humans (2003-2007) —

Midori HIROI, Natsuko IIDA, Tetsuya HARADA, Fumihiko KAWAMORI,  
Naomi TAKAHASHI, Takashi KANDA, Kanji SUGIYAMA and Takashi MASUDA

2003~2007 年度に分離されたヒト由来志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 229 株について血清型別, 志賀毒素 (Stx) 型別および 16 薬剤を用いた薬剤感受性試験を実施した. 1987~2002 年の調査と比べ薬剤感受性菌の著明な減少はみられなかったが, 薬剤耐性パターンの多様化, 4 剤耐性以上を示す株の増加や, ナリジクス酸耐性でニューキノロンに低感受性を示す株, AmpC 過剰産生菌と考えられる株が分離され, 今後も薬剤耐性菌の出現について注視する必要があると考えられた.

Key words: 薬剤感受性試験, 志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 0157, ナリジクス酸耐性, AmpC 過剰産生  
Antibiotic susceptibility test, shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) 0157,  
Nalidixic acid resistance, AmpC hyperproduction

#### はじめに

腸管出血性大腸菌 (shiga toxin-producing *Escherichia coli*, 以下 STEC) 感染症は, 志賀毒素を産生する大腸菌が感染して起こる疾病で, 血便を伴う激しい下痢を起こす. 10~100 個程度の摂取でも発症し, 10 歳以下の小児および高齢者では症状が重くなり, 溶血性尿毒症症候群 (HUS) を続発し, 最悪の場合には死亡するケースもある<sup>1)</sup>. また, 食中毒における病原体としても, 他の病原体による事件と比較して, 患者数に対して死者数が多いことで知られる. 腸管出血性

大腸菌感染症患者等発生状況 (静岡県疾病対策室) によると, 静岡県の感染者数は静岡県における STEC 0157 による最初の患者発生があった 1987 年から 2002 年までは, 1997 年の 67 名が最も多かったが<sup>2)</sup>, 2005, 2006, 2008 年の感染者は 100 名前後となっており, 全国的な傾向と同様に静岡県においても漸増傾向が見られた. また, 1990 年代に比べ, 国内における牛の STEC 0157 保菌率も増加しており, 耕地への汚染拡大も懸念されている<sup>3)</sup>. このような背景から, 感染の危険性は高まってきていると考えられる. 静岡県におけるヒト由来 STEC の薬剤感受性は, 増田ら<sup>2)</sup>により 1987~2002 年まで報告されている. そこで今回は, 前回 16 年間 (1987~2002 年) と最近 5 年間の血清型, 志賀毒素型および薬剤感受性の比較, および薬剤耐性菌の出現状況の把握を目的とし, 2003~2007 年について検

---

静岡県環境衛生科学研究所  
(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)  
Shizuoka Institute of Environment and Hygiene  
(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)  
(\*: 現 大阪府立公衆衛生研究所)



表1 腸管出血性大腸菌供試株の血清型と毒素型

血清型	志賀毒素型			計	%
	Stx1	Stx2	Stx1/2		
O157:H7	3	45	131	179	78.2
O157:H-	1		2	3	1.3
O26:H11	30			30	13.1
O26:H-	2			2	0.9
O26:HUT	1			1	0.4
O111:H-	3		2	5	2.2
O121:H19		3		3	1.3
O103:H2	1			1	0.4
O103:H51	1			1	0.4
O165:H-		1		1	0.4
OUT:H-	1	1		2	0.9
OUT:HUT		1		1	0.4
計	43	51	135	229	

討した.

材料および方法

1 材料

過去5年間(2003~2007年)の県内ヒト由来 STEC 分離株のうち入手できた229名の菌株を供試した.

2 方法

1) 血清型別および志賀毒素(Stx)型別検査

血清型は常法に従い病原大腸菌免疫血清(0群血清およびH血清:デンカ生研)を用いて決定した.志賀毒素(Stx)型はVTEC-RPLA(デンカ生研)を用いた逆受身ラテックス凝集反応法とO157(ベロ毒素1型,2型遺伝子)One Shot PCR Typing Kit(タカラバイオ)を用いたPCR法によりStx1(VT1産生),Stx2(VT2産生),Stx1/2(VT1/2両産生)を決定した.

2) 薬剤感受性試験

薬剤感受性はアンピシリン(ABPC),クロラムフェニコール(CP),カナマイシン(KM),ストレプトマイシン(SM),ST合剤(ST),テトラサイクリン(TC),ナリジクス酸(NA),ゲンタマイシン(GM),ホスホマイシン(FOM),シプロフロキサシン(CPFX),セフトキシム(CTX),セフトキシム(CXM),セフポドキシム(CPDX),セフトジジム(CAZ),アズトレオナム(AZT),セフトリアキソン(CTRX)の16薬剤についてClinical Laboratory Standards Institute(CLSI)の方法に準じてディスク拡散法(Kairby-Bauer法:BD Sensi-Discとミューラー・ヒントンII寒天培地を用いた方法)により行った<sup>4,5)</sup>.さらに,FOMおよびCPFXについてはEtest(AB BIODISK)を用いて最小発育阻止濃度(MIC)を測定した.

3) 基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌の確認試験

CPDX耐性を示した株についてはCLSIのディスク拡散法に準じ試験した.使用ディスクは,CPDX(10μg),CTX(30μg)およびCAZ(30μg)の単剤ディスク(BD)およびそれらとクラブラン酸(CVA;10μg)との合剤ディスク(栄研)の6種類を用い,それぞれ単剤と合剤の阻止円径を比較して合剤ディスクの阻止円径が5mm以上拡大したものをESBL産生株とした.

4) PCR法によるβ-ラクタマーゼ遺伝子の検出

ディスク法によりESBL産生菌と判定された株について,Kojimaら<sup>6)</sup>のプライマーを用いたPCR法により,β-ラクタマーゼ遺伝子(*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX-M-2</sub>, *bla*<sub>CTX-M-9</sub>, *bla*<sub>PSE-1</sub>, *bla*<sub>CMY-1</sub>, *bla*<sub>CMY-2</sub>, *bla*<sub>FOX</sub>)の検出および*ampC*遺伝子のプロモーター領域の増幅を試みた.

表2 静岡県のSTEC分離株の薬剤耐性パターン(2003-2007)

耐性薬剤数	薬剤耐性パターン	O157					小計	O26 O111 その他 2003-2007			小計	合計
		2003	2004	2005	2006	2007						
7	ABPC, CP, KM, SM, ST, TC, NA							1			1	1
6	ABPC, CP, KM, SM, TC, NA									1	1	1
5	ABPC, CP, KM, SM, TC ABPC, KM, SM, ST, TC					1	1			1	1	1
4	ABPC, CP, KM, TC CP, KM, SM, TC ABPC, KM, SM, TC							1		3	3	3
3	ABPC, SM, TC ABPC, SM, ST ABPC, CXM, CPDX CP, SM, TC					3	3			1	1	1
2	ABPC, SM, FOM ABPC, SM, TC CP, TC TC, GM TC	1	1				2			1	1	2
1	SM, NA	4	2	1		1	8	1		4	4	12
0				2	1		3	3		3	3	3
								1		1	1	3
									2	2	2	2
		5	20	50	38	50	163	14	2	7	23	186
	合計	10	23	53	40	56	182	33	5	9	47	229

表3 STEC 0157 (182株) および026 (33株) のMIC分布

薬剤	血清型	MICの範囲	(μg/ml)	
			MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
FOM	O157	0.125~16	1	2
	O26	0.5~128	16	32
CPFEX	O157	0.004~0.032	0.016	0.032
	O26	0.008~0.25	0.016	0.032

*ampC* 遺伝子のプロモーター領域の増幅産物の塩基配列は、ダイレクトシーケンス法により決定し、*E. coli* K-12 strain LA5<sup>7)</sup> と塩基配列を比較した。

## 結 果

### 1 血清型別および志賀毒素(Stx)型別検査

薬剤感受性試験に供した 229 株の血清型および志賀毒素(Stx)型を表1に示した。0 群型による株数は O157 が 182 株 (79.5%) と最も多く、以下 O26 が 33 株 (14.4%)、O111 が 5 株 (2.2%)、その他の 0 群型が 6 株 (2.6%)、0 群型別不能 (OUT) が 3 株 (1.3%) であり、全国的な集計結果と同様に O157、O26、O111 が上位を占めた。

また毒素型では、O157:H7・Stx1/2 が 131 株、O157:H7・Stx2 が 45 株、O26:H11・Stx1 が 30 株と主要な分離株で 90% を占めた。

### 2 薬剤感受性試験

供試した 229 株の薬剤感受性試験結果を表2に示した。16 薬剤いずれにも耐性を示さなかった株が 186 株あり、残りの 43 株がいずれかの薬剤に耐性を示した。耐性を示した株は O157 で 182 株中 19 株 (10.4%)、O26 で 33 株中 19 株 (57.6%)、O111 で 5 株中 3 株 (60%)、その他の 0 群型で 9 株中 2 株 (22.2%) あった。薬剤耐性パターンは 19 種類に分けられた。4 剤耐性以上を示した株は O157 で 1 株 (ABPC/KM/SM/ST/TC 5 剤耐性) あったのに対して、O26 では 5 株 (ABPC/CP/KM/SM/ST/TC/NA 7 剤耐性が 1 株、ABPC/CP/KM/TC 4 剤耐性が 1 株、CP/KM/SM/TC 4 剤耐性が 3 株) と O157 に比べ、多剤耐性株の出現率が高かった。

薬剤耐性パターンは、SM/TC 2 剤耐性が 12 株 (O157 : 8 株、O26 : 4 株) と最も多かった。

なお、同一の集団感染および家族内感染事例患者からの分離株は 4 つの集団では同一の耐性パターンであったが、3 つの集団では異なるパターンを示した (TC 耐性と感受性; ABPC/KM/SM/ST/TC 耐性と感受性; CP/TC/SM 耐性、CP/TC 耐性および ABPC/FOM 耐性)。

STEC 0157 および O26 の FOM と CPFEX に対する MIC 分布を表3に示した。MIC<sub>90</sub> により比較すると、FOM において、O157 は 2 μg/ml、O26 は 32 μg/ml で O157 の方が O26 に比べ、感受性が高い傾向が認められた。CPFEX では感受

性の違いは認められなかった。また、O111:H- (2 株)、O26:H11 (1 株)、OUT:H- (1 株) で NA 耐性が認められ、これらの株はすべて CPFEX に対して MIC が 0.25~0.5 μg/ml と他の感受性株に比べて高く、低感受性を示した。

### 3 基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌の確認試験

薬剤感受性試験の結果、O26:H- (1 株) が ABPC/CXM/CPDX 3 剤耐性であったため、ESBL 産生確認試験を行ったところ、阻止円径は、CPDX : 阻止円なし、CPDX/CVA : 12mm、CTX と CTX/CVA : 24mm、CAZ : 17mm、CAZ/CVA : 19mm であり、CPDX に対してのみ陽性を示した。

### 4 PCR 法によるβ-ラクタマーゼ遺伝子の検出

上記の 1 株について PCR 法により β-ラクタマーゼ遺伝子の検出を試みたが、*ampC* 遺伝子のプロモーター領域のみ増幅された。増幅産物を解析したところ、AmpC 過剰産生と関連しているとされる塩基配列の変異が -42 (C→T)、-18 (G→A)、-1 (C→T)、および +58 (C→T) に認められた。

## 考 察

今回、供試した 229 株の血清型および志賀毒素型は、概して全国的な集計と同様の傾向であったが、病原体検出情報(国立感染症研究所)によると近年全国的には O26 の増加傾向が認められるが、それに比べて静岡県では O157 の割合は 10% 程度高く、O26 の割合は 10% 程度低い傾向が認められた。増田ら<sup>2)</sup>による静岡県における 1987~2002 年の調査 (O157 : 69.8%、O26 : 19.3%) と比べても、2003~2007 年は O157 の割合の増加と、O26 の割合の減少が認められ、全国的な現象と逆の傾向が認められた。

薬剤感受性試験では、1987~2002 年までの調査と比べて薬剤耐性菌出現率の増加の傾向は認められなかった。今回の調査では、前回の調査で用いたトリメトプリム (TMP) は使用せず、前回と共通の薬剤に CXM、CPDX、CAZ、AZT、CTX を加えたために単純に比較できないが、前回の調査で TMP 耐性は 1 株、今回の調査で加えた薬剤に耐性の株も 1 株であったため、薬剤変更の影響は少ないと考えられる。

O157 においては、使用薬剤すべてに感受性を示した株の割合が前回の調査の 69.3% (160/231) から今回は 89.6% (163/182) に増加しており、それ以外の血清型では 47.7% (41/86) から 48.9% (23/47) とほとんど変化はなかった。しかし、前回の調査期間が 16 年間だったのに対し、今回は 5 年と短いにもかかわらず、薬剤耐性パターンは 19 種類あり、前回の 12 種類から増加していた。また、4 剤耐性以上を示した株が前回では 2.2% (7/317) であったのに対し、3.9% (9/229) と増加していた。さ

らに、NA 耐性株も前回は 0.6% (2/317) だったが今回は 1.7% (4/229) と増加傾向が認められ、チフス菌や赤痢菌において問題となっている NA 耐性・ニューキノロン剤低感受性株と同様の耐性を示していた。NA 耐性・ニューキノロン剤低感受性株の耐性機構はプラスミド性因子によると示唆する報告があり、プラスミド性因子である *qnr* gene を保有する株の解析で、ドナー (分離株) やトランスコンジュガント (分離株から接合伝達によりプラスミドを獲得した株) の中には、CPFX に対し 0.25~0.5  $\mu$ g/ml の MIC を示した株も報告されていることから<sup>8,9)</sup>、さらに確認が必要と思われた。プラスミドの水平伝播により、腸管出血性大腸菌感染症治療薬の一つであるニューキノロン系薬<sup>10)</sup>に低感受性を示す株の増加が懸念される。低感受性株が増加すれば、高度耐性変異株の出現が助長されることになる。また、O157 よりも O26 の方が FOM に対する MIC や多剤耐性菌の出現率が高い傾向にあり、FOM 耐性株も 1 株認められた。ニューキノロン系薬および FOM は治療薬の一つであることから、家畜におけるこれらの薬剤の使用は耐性菌の増加をもたらす危険性が考えられる。今後はニューキノロン低感受性株や FOM 耐性株について、プラスミド性耐性因子の確認などを行い、耐性機構の解析を行っていききたい。

ESBL 産生菌確認試験の結果、CPDX にのみ陽性反応を示した O26:H- について遺伝子解析を行ったところ、AmpC 過剰産生と関連のある遺伝子変異が認められ、表現型も Class C  $\beta$ -ラクタマーゼ産生と思われる性状を示した。今回の遺伝子変異は、染色体上に存在するため、水平伝播するプラスミド性因子よりも拡散しにくいと考えられるが、セフェム系薬剤による選択圧が原因となり増加する可能性が考えられる。また、O26:H11 については既に基質拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株も確認されている<sup>11,12)</sup>。ペニシリン系薬やセフェム系薬は腸管出血性大腸菌感染症の治療に用いられることはないが、術後感染症の予防等ヒトの治療に幅広く用いられており、耐性菌の増加は大きな影響を与えられ、今後も出現状況を監視していくことが必要と考えられる。

#### 謝 辞

本研究を実施するにあたり、県内の健康福祉センター、疾病対策室の関係者の方々に御協力をいただき深く感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 坂崎利一：食水系感染症と細菌性食中毒，269-270，中央法規出版，東京（2000）
- 2) 増田高志他：静岡県におけるヒト由来志賀毒素産生

- 性大腸菌の血清型，志賀毒素型，薬剤感受性および O157 のフェージ型（1987~2002 年），日食微誌，**21**，1，44-51（2004）
- 3) 伊藤武：腸管出血性大腸菌 O157 による食中毒の現状・検証・対策，食品衛生研究，**56**，9，9-16（2006）
- 4) Clinical and Laboratory Standards Institute：Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests；Approved standard M2-A9.，CLSI，Wayne，PA（2006）
- 5) Clinical and Laboratory Standards Institute：Performance standards for antimicrobial susceptibility testing；Seventeenth informational supplement. Document M100-S17.，CLSI，Wayne，PA（2007）
- 6) Kojima A, et al.：Extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002: Report from the Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring program, Antimicrob Agents Chemother, **49**，3533-3537（2005）
- 7) Olsson O, et al.：ampC  $\beta$ -lactamase hyperproduction in *Escherichia coli*: natural ampicillin resistance generated by horizontal chromosomal DNA transfer from *Shigella*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **80**，7556-7560（1983）
- 8) Jacoby G A, et al.：Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance, Antimicrob Agents Chemother, **47**，2，559-562（2003）
- 9) Wang M, et al.：Emerging plasmid-mediated quinolone resistance associated with the *qnr* gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States, **48**，4，1295-1299（2004）
- 10) 日本感染症学会，日本化学療法学会：抗菌薬使用のガイドライン，129-133，協和企画，東京（2005）
- 11) Ishii Y, et al.：Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing shiga toxin gene (*stx*<sub>1</sub>)-positive *Escherichia coli* O26:H11：a new concern, J. Clin. Microbiol., **43**，3，1072-1075（2005）
- 12) Kon M, et al.：Cefotaxime-resistant shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26:H11 isolated from a patient with diarrhea, J. J. A. Inf. D., **79**，3，161-168（2005）

## 静岡県における性感染症 (STD) の実態調査

微生物部 微生物スタッフ 三輪好伸, 稲吉 恵, 山田俊博,  
 足立 聡, 増田高志

A Survey of STD in Shizuoka Prefecture

Miwa YOSHINOBU, Megumi INAYOSHI, Toshihiro YAMADA,  
 Satoshi ADACHI and Takashi MASUDA

性感染症は、近年若年層を中心にその拡がり社会問題となっている。中でも性器クラミジア感染症は最も感染者が多く、不妊などの後遺障害の発生や現状の感染症発生動向調査では実態を把握しきれていないといった問題点が指摘されている。そこで、静岡県内における性器クラミジア感染の実態を把握するため、感度・特異性に優れ手技が簡単で短時間で結果が出せるクラミジア・クリアビューを使用して、県内4保健所で行っているHIV検査受診者を対象に検査を希望する者についてクラミジア抗原検査を実施した。平成19年においては2/42(4.8%)、女性だけの集計では2/32(11.1%)に陽性が確認された。また、F短期大学の学生でクラミジア・淋菌検査を希望する者について、核酸増幅法による抗原検査を行ったところ、女生徒1/19(5.3%)にクラミジア陽性が確認された。まだ調査件数は少ないが、静岡県内にも性感染症が確実に浸淫しており、今後とも継続調査をし、早期発見・治療につなげる必要があると思われた。

Key words: 性感染症, クラミジアトラコマトィス, 淋菌

Sexually Transmitted Disease, *Chlamydia Trachomatis*, *Neisseria Gonorrhoeae*

### はじめに

性感染症 (Sexually transmitted disease : STD) とは性行為に伴う性的接触を介して感染、伝播する感染症である。STDには10種類以上の疾患があり、梅毒をはじめ細菌性疾患では淋菌感染症、性器クラミジア感染症が、ウイルスによるものでは性器ヘルペス、尖圭コンジローマ、エイズ、肝炎などがあり、その他原虫による膣トリコモナス症、真菌による性器カンジダ症、寄生虫による毛ジラミなどがある。近年、性行動開始年齢の低下により若年層にSTDが広がっており、特に蔓延しているクラミジア、淋菌感染症は感染しても臨床症状が軽く、無症状なことも多いため、治療せずに放置され感染が拡大し

やすいという特徴をもっている。また、感染者は不妊等の後遺障害またはHIV (Human Immunodeficiency Virus) に感染しやすくなるなどの重篤な合併症をもたらすこと、および現行の感染症発生動向調査だけでは、実態を把握しきれていないことが問題点として指摘されている。その反面、正しい知識と行動で予防が可能であること、早期発見、早期治療で治癒又は重症化の防止が可能であることから、感染の可能性がある人々への啓発が最も重要である。

静岡県では、各保健所においてHIV抗体、梅毒、HCV (Hepatitis C Virus)、HBV抗原検査を無料で行っているが、今回それにクラミジアトラコマトィス抗原検査を加えるためHIV抗体検査受診者を対象に希望者に対して簡易キットではあるが迅速性に優れ比較的特異性が高いクラミジアクリアビューを使用し検査を行い、実用性を検証した。また、県内の2大学において希望者および学園祭のエイズ予防啓発キャンペーン時に希望者を募りク

---

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene  
 (4-27-2, Kita-ando, Shizuoka 420-8637, Japan)



ラミジアトラコマティスおよび淋菌の核酸増幅法 (PCR) による抗原検査を行ったので報告する。

材料および方法

1 簡易キットを使用したクラミジアトラコマティス抗原検査

静岡県内の4ヶ所の保健所(東部, 富士, 中部, 西部)において, HIV 検査受診者を対象にクラミジアトラコマティス抗原検査を希望する者について, 男性では尿, 女性では自己採取用の膣ぬぐい綿棒による検体について約1時間で判定可能なクラミジアクリアビューを使用し検査を行った。平成18年11月にはHIV検査受診者71名中38名(53.5%), 平成19年6月には76名中42名(55.3%)の希望者に対し検査を行った。今回使用したキットの測定原理は, Immunochromatography 法による酵素抗体法で, クラミジア抗原はディスク上の抗クラミジアリポ多糖体(LPS)マウスモノクローナル抗体を固定したラテックスと結合し, Ag-Ab コンプレックスを形成する。その後移動してレザルトウインドウに固定してある抗クラミジアモノクローナル抗体に捕捉され, Ab-Ag-Ab のサンドイッチ型のコンプレックスを形成しラインを生じることで陽性と判定される仕組みである。操作方法や結果の判定はキットの操作手順に従い行った。

2 核酸増幅法(PCR)を使用したクラミジアトラコマティスおよび淋菌検査

静岡県内のF大学短期学部において平成20年11月に, 蔓延するSTDの重要性を示し, 検査希望者のあった女性19名, S大学においては11月に行われた学園祭のエイズ予防啓発キャンペーン時にSTDのパフレットを配り検査希望者のあった女性4名, 男性2名について検査を行った。男性は初尿, 女性においては自己採取用の膣ぬぐい綿棒による検体を提出してもらい, PCR法によるクラミジアトラコマティスおよび淋菌抗原検査(アンプリコアSTD-1クラミジア・トラコマティス/ gonorrhea: ロッシュ)を行った。このキットの測定原理は, PCR法によりクラミジア・トラコマティスおよび淋菌それぞれに特有な部位をターゲットに核酸増幅を行い, それぞれの菌に特異的なDNAプローブを用いた核酸ハイブリダイゼーション法により, 両DNAを検出するものである。操作方法や結果の判定はキットの操作手順に従い行った。

結果

1 保健所における男女別クラミジア検査

表1に示すように, 平成18年11月に行ったHIV検査受診者男性43名, 女性28名の計71名のうちクラミジア検査希望者は男性27名(62.8%), 女性11名(39.3%)の合計38名(53.5%)であった。平成19年6月では

表1 男女別クラミジア検査結果

平成18年	性別	HIV検査数	クラミジア検査		
			検査数(%)	陽性数(%)	陰性数(%)
	男性	43	27(62.8)	0	27(100)
	女性	28	11(39.3)	0	11(100)
	計	71	38(53.5)	0	38(100)

平成19年	性別	HIV検査数	クラミジア検査		
			検査数(%)	陽性数(%)	陰性数(%)
	男性	44	24(54.5)	0(0)	24(100)
	女性	32	18(56.3)	2(11.1)	16(88.9)
	計	76	42(55.3)	2(4.8)	40(95.2)

HIV検査受診者男性44名, 女性32名の合計76名のうち, クラミジア検査希望者は男性24名(54.5%), 女性18名(56.3%)の合計42名(55.3%)であり, 前年より女性の希望者が7名(17%)増えていた。検査結果は平成18年は陽性は無かったが, 平成19年は女性2名の陽性者が見られ, 女性だけの集計では11.1%, 男女合わせた集計では4.8%の結果であった。

表2 年齢別・男女別クラミジア検査結果(平成19年)

年齢層	性別	HIV検査数	クラミジア検査		
			検査数	陽性数	陰性数
<20	男	0	0	0	0
	女	0	0	0	0
20~29	男	15	6	0	6
	女	23	13	2	11
30~39	男	13	9	0	9
	女	5	3	0	3
40~49	男	9	4	0	4
	女	4	2	0	2
50~59	男	6	5	0	5
	女	0	0	0	0
60~69	男	0	0	0	0
	女	0	0	0	0
≥70	男	1	0	0	0
	女	0	0	0	0
計		76	42	2	40

平成19年の年齢別・男女別クラミジア検査数は, 表2に示すように, HIV検査受診者は20歳代から70歳以上と幅広いものであったが, 大半は20歳代から30歳代であり, 陽性と判定された2名はいずれも20歳代の女性であった。

表3 保健所別クラミジア検査結果

保健所	HIV検査実施回数	HIV検査数	クラミジア検査		
			検査数(%)	陽性数(%)	陰性数(%)
東部	3	24	17(70.8)	1(5.9)	16
富士	1	10	7(70.0)	0(0)	7
中部	1	17	9(52.9)	1(11.1)	8
西部	2	25	9(36.0)	0(0)	9
計	7	76	42(55.3)	2(4.8)	40

平成19年の保健所別クラミジア検査数は, 表3に示すように, 県内の東部, 富士, 中部, 西部の4保健所で実施されたHIV検査実施回数の違いにより受診者数の違いがあるが, クラミジア検査希望者パーセントが36%から71%と保健所により大きな開きがあった。また, クラミジア陽性者は, 東部保健所1名と中部保健所1名であった。

## 2 F 短期大学におけるクラミジア・淋菌検査

県内 F 短期大学は 1 学年 68 名、2 学年 83 名の合計 151 名の生徒数で、男女内訳は男性 35 名、女性 116 名と女生徒が比較的多い大学である。表 4 に示すようにこの大学で実施したクラミジア検査数は女性徒 19 名で男子生徒の希望者は無かった。年齢は短大 1 年生と 2 年生で 18 歳から 20 歳であった。検査希望者は 2 年生が大半であったが、クラミジア陽性者は 1 名 (5.3%) で、18 歳の短大 1 年の女生徒であった。淋菌の陽性者は見られなかった。

表 4 F 短期大学におけるクラミジア・淋菌検査結果

	検査数	18歳	19歳	20歳
女性	19	3	4	12
男性	0	—	—	—
クラミジア陽性数	1(5.3%)	1	0	0

	検査数
女性	19
男性	0
淋菌陽性数	0

## 3 S 大学におけるクラミジア・淋菌検査

県内の S 大学において行われた学園祭の会場で、エイズ予防啓発キャンペーンの折にクラミジア検査希望者を募ったところ、表 5 に示すように女性 4 名、男性 2 名の合計 6 名の希望者があった。学園祭ということで学生だけでなく一般の希望者もあり、年齢の幅は大きいもののクラミジア・淋菌共、陽性者は見られなかった。

表 5 S 大学学園祭におけるクラミジア・淋菌検査結果

	検査数	20歳代	30歳代	40歳代	50歳代	60歳代
女性	4	3	—	1	—	—
男性	2	—	1	—	—	1
クラミジア・淋菌陽性数	0	0	0	0	0	0

## 考 察

平成 11 年 4 月から施行された、「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律 (感染症法)」では、5 類感染症の定点把握疾病として性器クラミジア感染症、性器ヘルペスウイルス感染症、尖圭コンジローマ、淋菌感染症および全数把握疾病として梅毒、ヒト免疫不全症候群の発生動向調査が行われている。1992 年のエイズに対する認識が高まった影響で性感染症も減少したが、

その不安や関心が薄れるとともに 1996 年から再び増加に転じてきている<sup>1)</sup>。2002 年以降、様々な啓蒙活動の成果もあり STD の減少傾向が見られるが、依然として性器クラミジアおよび淋菌感染症が大半を占めており、特に若年者層に拡がりを見せている<sup>2)</sup>。疾患別に見ると、女性の性器クラミジア感染症と男性の淋菌感染症が増えており、なかでも女性患者の増加が注目されている。これらの臨床病態が無症状か比較的軽微なので、放置されやすく女性では子宮頸管炎、不妊症あるいは妊娠中では、胎児や新生児に悪影響を与える場合がある<sup>3)</sup>。男性では尿道炎、精巣上体炎あるいは重篤な合併症になる可能性があり、男女共通な治療が行われないと周囲に感染を広げてしまう危険性もある。

静岡県においては、18 年度から各保健所において HIV 抗体、梅毒、HCV、HBV 抗原検査を無料で行っているが、STD の中でも最も感染力が強く、罹患率の高い性器クラミジア感染症について実態を把握し、HIV 迅速検査と併行実施可能なクラミジア検査体制の整備を検討した。検査には大きく抗体検査と抗原検査があり、すでに HIV 検査にクラミジア検査を導入している自治体は多く、そのほとんどは血清抗体検査を行っている<sup>4)</sup>。血清抗体検査は、HIV 検査の血清を流用できるメリットはあるが、治療後の残存抗体による偽陽性の出現および検査所要時間などから HIV 迅速検査との併行実施には不適切と考えた。また日本性感染症学会の性感染症ガイドライン<sup>5)</sup>において性器クラミジア感染症のための検査にはクラミジア抗原検査を第一に選択すると記されており、PCR など高感度・高特異性のものもあるが、HIV 検査などの結果即日返しの実情を踏まえ、検査所要時間が短く操作も簡便で、簡易クラミジア抗原検出キットの中でも、実績・信頼性の高いクラミジアクリアビュー (ユニパス社)<sup>6)</sup> を使用し検査を行った。

他県の自治体で行われている HIV 受診者および妊婦におけるクラミジア抗原検査の陽性率は 10~20%前後と報告されている<sup>7)</sup>。今回の調査では、平成 18 年に行ったものでは陽性は見られなかったが、平成 19 年に行ったものでは男女合わせて 4.8% (2/42)、女性だけにおいては 11.1% (2/18) の陽性率であった。今回用いた検査法は、属特異的モノクローナル抗体による EIA (酵素免疫) 法を利用したもので、迅速で簡便であり保健所で行っている HIV 検査など、即日結果返しにも十分対応でき実用的であると思われた。しかし、その反面核酸増幅法などに比べると検出感度が低く、特に女性の場合は自己採取法のため検体採取が適切に行われないうちに正しい結果がでないことがある。またクラミジア感染症は、特に 10 歳~20 歳代の若年層の女性に多い疾患であるが、HIV 受

診者は20歳代以上で、まだPR不足などもありHIV受診者の30～60%の検査希望者数であった。また検体採取が男性では尿であるのに対し、女性では膣ぬぐい液の自己採取のため抵抗感があり受診者が少なかったと思われた。

今回はもう一つのテーマである、大学生におけるクラミジア・淋菌感染症について調査を行った。蔓延するSTDの中でもクラミジア感染症および淋菌感染症の占める割合は大きく、年齢層も10歳代から20歳代に感染が広がっている<sup>8)</sup>こともあり、県内の大学に依頼し、検査を希望する学生に対し調査を行った。F短期大学は77% (116/151) が女性徒であるが、検査希望者は女性19名と少なく、自己採取法に抵抗感が強かったものと思われた。また保健所で行うHIV受診者と違い単独検査なので、簡易キットではなく、感度・特異性の高い核酸増幅法による検査法を用い検査を試みた。今回使用したPCR法のキットはクラミジア・トラコマティスについてはプラスミドDNA上の特定部位を増幅し、その検出感度は2EB/assayで、淋菌については染色体DNA上の特定部位を増幅し、その検出感度は10CFU/assayで特異性は極めて高いとされている<sup>9)</sup>。結果、クラミジア検査で1/19 (5.3%) が陽性となった。他機関のデータ<sup>7)</sup> と比べ少し低い結果であったが、STDについてさらに認識を高め、理解力を深めた上で検査件数を高める必要があると痛感した。淋菌検査では陽性者は無かったが、淋菌感染症は淋菌によって引き起こされ、性器クラミジア感染症に次いで患者数報告が多い疾患である<sup>3)</sup>。今回は男子生徒の希望者が無かったが、特に若年層の男子に淋菌感染症が広がっていることを考えると、協力を得られるようさらなる啓蒙教育が必要と思われる。また、治療に関しては淋菌の薬剤耐性化が問題化しており、このような遺伝子の組換え現象は口腔内に常在する他のナイセリア属菌と淋菌の間で起こったことであり、咽頭や口腔内に感染した淋菌が除菌されず、長期に存在する事により淋菌の耐性化が起こったものと考えられている<sup>10)</sup>。

最近の性感染症の特徴は、無症候化、若年化、女性優位化であり、これらの特徴の背景には性の自由・多様化と性行動開始の早期化などの性行動の変化という社会的な問題が存在している。このSTDの蔓延を抑えるためには、継続的に検査を行い正確に実態を把握し、特に若年層に対して知識・認知度を高めるよう広く一般に情報公開、啓蒙していく必要があると思われる。

## 文 献

- 1) 橋戸円：性感染症 (STD) の最近の動向, 産科と婦人科, 7, 825-831 (2005)
- 2) 松田静治:性感染症の最近の動向, 臨床とウイルス, 36 (5), 361-367 (2008)
- 3) 熊本悦明 他:日本における性感染症 (STD) サーベイランス 2001 年度調査報告, 日本性感染症学会誌, 13, 147-167 (2002)
- 4) 石黒裕紀子 他:横浜市における Chlamydia trachomatis 感染症の動向, 横浜衛研年報, 45, 63-67 (2006)
- 5) 日本性感染症学会:性感染症 診断と治療ガイドライン 2002 年度版 (2002)
- 6) 甲田雅一 他:Chlamydia trachomatis 抗原検出キット クリアビュー・クラミジア MF の男性尿試料を用いての評価, 臨床と微生物, 25 (1), 95-100 (1998)
- 7) 藤原道久 他:妊婦における Chlamydia trachomatis および Neisseria gonorrhoeae 検出率の年次推移: 17 (1), 122-126 (2006)
- 8) 本田まりこ:若者の性感染症, 36 (5), 368-371 (2008)
- 9) 熊本悦明 他:PCR 法による C. trachomatis 及び N. gonorrhoeae 同時診断キット (アンプリコア STD-1 クラミジアトラコマティスおよびナイセリアゴノレア) の基礎的, 臨床的検討, 日本性感染症学会誌, 6, 1, 51-71 (1995)
- 10) 松本哲朗 :耐性淋菌 医学のあゆみ, 209, 541-544 (2004)

## 食品からのノロウイルスの高感度検出方法の検討

微生物部 微生物スタッフ 足立 聡, 飯田奈都子, 山田俊博,  
 三輪好伸, 増田高志

Study on Highly Sensitive Detection Method for Norovirus from Foods

Satoshi ADACHI, Natsuko IIDA, Toshihiro YAMADA,  
 Yoshinobu MIWA and Takashi MASUDA

食品から高感度にノロウイルスを検出することを目的とし、抽出された微量の RNA からリアルタイム PCR 法による定量までの過程で検出感度を高める方法を検討した。まず市販 3 社のリアルタイム PCR 試薬について検出感度と安定性を比較したが、差はみられなかった。次に QuantiTect Whole Transcriptome Kit (QIAGEN) によって精製 RNA から cDNA を増幅したところ、 $2.92E+03$  コピー/ $\mu$ l 以上の RNA 濃度では、増幅しない場合に比べて Ct 値が大幅に短縮したが、それ以下の濃度では検出されず、微量な RNA 濃度では検出することが困難であった。RNeasy MinElute Cleanup Kit (QIAGEN) により抽出 RNA をクリーンアップおよび濃縮したところ、キットを使用しない場合に比べて Ct 値が短縮 (平均 2.4) し、実測値も増加したことから、本キットの使用は有効と考えられた。

Key words: ノロウイルス, 食品, リアルタイム PCR, 全トランスクリプトーム増幅, RNA クリーンアップ  
 norovirus, food, realtime PCR, whole transcriptome amplification, RNA cleanup

### はじめに

ノロウイルス(NV)による食中毒や感染性胃腸炎は、主に冬季に流行・多発し、その予防対策が大きな課題となっている。厚生労働省食中毒統計<sup>1)</sup>によると、全国における最近 5 年間の NV 食中毒事件数は、病因物質別で第 2 位であり、また患者数では第 1 位を占めている。静岡県においても平成 16 年以降、NV 事件数は毎年第 1 位であり、患者数でもおよそ第 1 位 (平成 19 年は第 2 位) である<sup>2)</sup>。NV による食中毒の感染経路は、汚染二枚貝を生あるいは加熱不十分なまま喫食した場合、NV に感染した調理従事者によって汚染された食品を介して感染する場合の二通りが考えられており、近年では二枚貝が関与しない後者の事例が大部分を占めている。しかし、NV の感染に必要なウイルス量は 10 ~ 100 個程度と微量で、原因食品中の汚染ウイルス量は少ないと考えられること、また食品成分由来の PCR 阻害物質等の影響により、ウイルス回収率が低下する

ことから、これまで実際に推定原因食品から NV が検出された報告事例はごく僅かであり、感染経路の詳細な究明を困難にしている。したがって、食品から簡易かつ高感度に NV を検出する方法を確立する必要がある、このことは平成 19 年の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒部会においても提言されている。最近、中腸腺をアミラーゼ処理<sup>3)</sup>、細菌添加培養処理<sup>4)</sup> することにより、二枚貝からの検出率が向上すること、また SDS などの界面活性剤処理<sup>5)</sup>、免疫学的濃縮<sup>6)</sup> が食品の前処理に有用であることが報告された。本研究では、抽出された微量の RNA からリアルタイム PCR による定量までの過程で検出感度を高める方法について検討した。

### 材料および方法

#### 1 NV G II 陽性プラスミド DNA

国立感染症研究所より分与され、滅菌蒸留水で段階希釈したものを検量線作製用標準液として使用した。

#### 2 供試ウイルス液

過去に静岡県環境衛生科学研究所にて NV 遺伝子型 G II / 4 (片山らの遺伝子型別法<sup>7)</sup> による) が検出された感染性胃腸炎患者の 100% 糞便乳剤を供試ウイルス液

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)



とした。

### 3 供試食品

過去に静岡県環境衛生科学研究所にて NV 遺伝子型 G II/16 (片山らの遺伝子型別法<sup>7)</sup>による) が検出された韓国産アカガイを供試食品とした。

### 4 リアルタイム PCR 試薬の比較検討

Taq Man Universal PCR Master Mix (ABI), EXPRESS qPCR Supermix with Premixed ROX (Invitrogen), Premix Ex Taq™ (TaKaRa) の 3 種類の試薬を用いて, NV G II 陽性プラスミド標準液 5 μl をリアルタイム PCR により定量した。厚生労働省通知「ノロウイルスの検査法について」(平成 15 年 11 月 5 日付け食安監発第 1105001 号)に基づき, プライマーは COG2F/R, プロローブは RING2AL-TP を用い, 反応液の調整および反応条件は各社のプロトコールに従って実施した (表 1)。リアルタイム PCR 反応装置は AB7500 (Applied Biosystems) を使用した。検量線はプラスミド DNA を階段希釈した標準液 (1.0E+05~1.0E+01 コピー/5 μl) を用いて作製し, 2 重測定を 2 回繰り返した。また 5 コピー標準液を 5 重測定し, Ct 値およびバラツキを比較した。

### 5 RNA からの全トランスクリプトーム増幅キットの検討

供試ウイルス液 300 μl より MagExtractor™-viral RNA- (TOYOBO) を用いて RNA を抽出した後, QIAamp RNA Blood Mini Kit (QIAGEN) および RNase-Free DNase Set (QIAGEN) を用いて RNA のクリーンアップおよび DNase 分解を行った。精製 RNA は滅菌蒸留水を用いて 10 倍階段希釈し, 希釈された各 RNA 液は SuperScript VIL0™ cDNA Synthesis Kit (Invitrogen, 以下 VIL0) による逆転写反応 (20°C 10 分→42°C 60 分→99°C 5 分→4°C) 後, リアルタイム PCR により定量した。次に, 階段希

釈された各精製 RNA は, QuantiTect Whole Transcriptome Kit (QIAGEN, 以下 QWT) により全トランスクリプトームを増幅し, 増幅産物を 10 倍希釈したものについてリアルタイム PCR により定量した。これを 3 回繰り返した。全トランスクリプトーム増幅は逆転写反応 (37°C 30 分) →反応停止 (95°C 5 分) →逆転写反応 (37°C 30 分) →反応停止 (95°C 5 分) →ライゲーション (22°C 2 時間) →増幅 (30°C 8 時間) →全酵素不活化 (95°C 5 分) →冷却 (4°C) の条件で実施した。各反応ステップには ASTEC PC808 (ASTEC) を使用した。

### 6 RNA クリーンアップおよび濃縮用キットの検討

供試食品 5 検体より中腸腺を摘出し, PBS (-) 9ml を加え, 磁性メタルにより破砕したものを乳剤とした。この乳剤に α-アミラーゼ 25mg を加え, 37°C で 1 時間保持した (15 分おきに攪拌)。続いて HCFC141b を等量加え, よく攪拌後, 10,000rpm, 20 分間冷却遠心した。得られた水相を別の容器に移し, ポリエチレングリコール 6,000 を 8%, NaCl を 21mg/ml になるように加え, 室温で 2 時間攪拌した。その後, 10,000rpm, 20 分間冷却遠心し, 上清をアスピレーターで吸引除去して沈渣のみとし, 300 μl の滅菌蒸留水で再浮遊させた。浮遊液は 10,000rpm, 20 分間冷却遠心し, 上清を RNA 抽出用液とした。上清 140 μl より QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出後 (溶出液量 60 μl), RNeasy MinElute Cleanup Kit (QIAGEN) を用いて RNA をクリーンアップおよび濃縮した (溶出液量 14 μl)。cDNA は Random Primer (Amersham Biosciences), SuperScript II RT (Invitrogen) を用いて 42°C 60 分の逆転写反応を行うことによって作製し, このうち 5 μl をリアルタイム PCR により定量した。なお, 抽出 RNA (溶

表 1 各社試薬における反応液組成と反応条件

ABI	μ l	Invitrogen	μ l	TaKaRa	μ l
DW	16.34	DW	16.34	DW	15.34
TaqMan Mix	25	EXPRESS qPCR SuperMix	25	PremixEX Taq(2X)	25
COG2F(50μ M)	0.4	COG2F(50μ M)	0.4	COG2F(50μ M)	0.4
COG2R(50μ M)	0.4	COG2R(50μ M)	0.4	COG2R(50μ M)	0.4
RING2AL-TP(4μ M)	2.86	RING2AL-TP(4μ M)	2.86	RING2AL-TP(4μ M)	2.86
cDNA or Plasmid DNA	5	cDNA or Plasmid DNA	5	ROX Reference Dye II	1
Total vol.(1反応)	50	Total vol.(1反応)	50	cDNA or Plasmid DNA	5
<b>&lt;Cycling Program&gt;</b>		<b>&lt;Cycling Program&gt;</b>		<b>&lt;Cycling Program&gt;</b>	
50°C for 2min		50°C for 2min		95°C for 30sec	
95°C for 10min		95°C for 2min		45 cycles of :	
45 cycles of :		45 cycles of :		95°C for 5sec	
95°C for 15sec		95°C for 15sec		56°C for 34sec	
56°C for 1 min		56°C for 1 min			

出液量 60 μl) をクリーンアップおよび濃縮せずに cDNA を合成, 定量したものを対照とした.

## 結 果

### 1 リアルタイム PCR 試薬の比較検討

各試薬について, 2 重測定を 2 回繰り返した時 (n=4) の DNA 量と Ct 値の相関は, いずれも R<sup>2</sup>=0.999 以上と良好であった. また, 各 DNA 量に対する平均 Ct 値を比較したところ, いずれも低コピー数ではバラツキがやや大きくなったが, 3 種の試薬間にほとんど差は見られなかった. さらに 5 コピーの DNA 量を測定したところ, いずれも Ct 値は類似しており, バラツキ度合いもほとんど変わらなかった (表 2). したがって, これ以降のリアルタイム PCR 反応試薬には, 反応所要時間が最も短い Premix Ex Taq を採用した.

### 2 RNA からの全トランスクリプトーム増幅キットの検討

供試ウイルス液より抽出精製した RNA を 10<sup>-5</sup> まで 10 倍段階希釈し, VILO によって合成した cDNA と QWT により調整した cDNA について, 各々定量し比較した. VILO で合成した cDNA は RNA 希釈倍率 10<sup>-5</sup> (2.92E+03 コピー/μl 濃度の RNA に相当; VILO により合成した cDNA を定量した時の実測値から換算) まで定量され, 希釈倍率と実測値との相関は良好であった.

一方, QWT により調整した cDNA は, 希釈倍率 10<sup>-2</sup> までは VILO により合成した cDNA に比較し, Ct 値は大幅に短縮され, 定量値もおおよそ 1,000 倍以上に増加した. しかし, 希釈倍率が 10<sup>-3</sup> 以上になると, ほとんど検出されなくなった (表 3).

### 3 RNA クリーンアップおよび濃縮用キットの検討

対照材料から NV GII が検出されたのは 5 検体中 4 検体であったが, RNeasy MinElute Cleanup Kit を使用した場合は 5 検体すべてから検出された. また, Ct 値は平均で 2.4 サイクル短縮され, 実測値でも 3.9 倍増加し, 両者に有意差 (p<0.01, Mann-Whitney Utest) が見られた (表 4).

表4 RNeasy MinElute Cleanup Kit を使用した場合としない場合の Ct 値と実測値 (コピー/5 μl)

検体No.	使用なし		使用あり	
	Ct値	実測値	Ct値	実測値
1	36.66	3.6E+01	34.06	1.5E+02
2	36.86	3.2E+01	34.22	1.4E+02
3	37.30	2.5E+01	35.11	6.8E+01
4	37.13	2.8E+01	34.42	1.2E+02
5	ud	0	33.04	2.6E+02

※ud: undetected

表2 各社試薬によりプラスミド DNA を測定した時の平均 Ct 値

コピー数 /5μl	平均Ct値±標準偏差		
	ABI	Invitrogen	Takara
1.0E+01	37.19±0.50	36.40±0.63	36.39±0.17
1.0E+02	33.42±0.32	33.17±0.25	33.31±0.11
1.0E+03	30.00±0.19	29.83±0.12	30.13±0.02
1.0E+04	26.60±0.10	26.37±0.18	26.62±0.06
1.0E+05	23.13±0.05	23.34±0.01	23.40±0.06
5.0E+00	38.71±0.82	38.21±0.28	38.76±0.90

※5.0E+00 コピーは 5 重測定 (n=5) し, 1.0E+01~05 コピーは 2 重測定を 2 回実施 (n=4)

表3 VILO および QWT により調整した cDNA を定量した時の Ct 値と実測値 (コピー/5 μl)

希釈倍率	QuantiTect Whole Transcriptome				VILO	
	1回目	2回目	3回目	平均		
10 <sup>0</sup>	Ct値	9.10	7.09	6.98	7.72	19.54
	実測値	3.65E+09	1.57E+10	1.70E+10	1.21E+10	1.91E+06
10 <sup>-1</sup>	Ct値	11.40	13.59	11.66	12.22	22.83
	実測値	6.90E+08	1.42E+08	5.71E+08	4.16E+08	1.77E+05
10 <sup>-2</sup>	Ct値	17.07	21.00	18.56	26.27	26.27
	実測値	1.14E+07	6.62E+05	7.69E+06	1.14E+07	1.46E+04
10 <sup>-3</sup>	Ct値	U.D	U.D	37.12	U.D	29.70
	実測値	0	0	5.65	0	1.22E+03
10 <sup>-4</sup>	Ct値	U.D	U.D	U.D	U.D	32.71
	実測値	0	0	0	0	1.38E+02
10 <sup>-5</sup>	Ct値	U.D	U.D	U.D	U.D	36.08
	実測値	0	0	0	0	1.20E+01

※ud: undetected

## 考 察

リアルタイム PCR 検査法は高感度であり、短時間に結果が得られることから、NV 検査における検査法の主流である。厚生労働省通知では ABI 社の試薬、リアルタイム PCR 反応装置による測定条件が示されており、実測値が 10 コピー以上を陽性と判定することになっているが、他社製の試薬を用いた場合の検出感度・安定性については明確でない。通常の PCR 法の場合、DNA ポリメラーゼの違いによって検出感度が異なる場合が見られることから、今回 3 社のリアルタイム PCR 試薬について NV GII の検出感度を比較検討した。その結果、3 社試薬間に差は見られなかった。しかし、TaKaRa 社製の試薬が、最も短時間に他社製試薬と同等な結果が得られることは有利であった。

次に、リアルタイム PCR 法に持ち込むテンプレート濃度を上げることにより検出感度を向上させることを目的として、抽出 RNA から全トランスクリプトーム増幅キットにより cDNA を調整する方法を検討した。本キットは 10ng 程度の精製 RNA から逆転写、ライゲーション後、等温でゲノム増幅ができる Multiple Displacement Amplification (MDA)<sup>8)</sup> を利用して全領域を均一に増幅するものであるが、ウイルス RNA からの増幅に有用であるかどうかは不明であった。そこで、キャリア RNA を使用しないキットによりウイルス RNA を抽出精製し、増幅キットにより cDNA を増幅させ定量したところ、 $2.92E+03$  コピー/ $\mu$ l の RNA 濃度までは Ct 値が短縮し、実測値も 1,000 倍以上に増加した。しかし、それ以上希釈した場合には増幅されなかった。したがって、本キットを使用して微量の RNA を検出させることは困難と考えられた。

アカガイから抽出した RNA を、RNeasy MinElute Cleanup Kit を使用してクリーンアップおよび濃縮したところ、使用しない場合に比べて Ct 値が短縮され、実測値も平均で 3.9 倍（濃縮率は理論上、約 4 倍）の増加を示したことから、本キットによる操作過程での RNA 損失はほとんどないと思われた。また、対照試料では不検出であったものが、本キット使用により検出されたことから、試料由来の PCR 阻害成分が除外された可能性も考えられた。したがって、本キットの使用は検出率の向上に効果的である可能性が示され、今後はさらに被検数を増やして検証していく必要があると思われた。

## 文 献

1) 厚生労働省ホームページ：食中毒・食品監視関連情報 <http://www.mhlw.go.jp/topics/shokucyu/>

- 2) 静岡県厚生部：平成 19 年静岡県の食中毒，(2008)
- 3) 野田 衛他：カキからのノロウイルス検出におけるアミラーゼ処理の有用性(2)，日本ウイルス学会第 55 回学術集会，(2007)
- 4) 秋場哲哉他：細菌添加培養処理におけるカキなどからのノロウイルス検出率の向上，食品衛生学雑誌，**49**(6)，407-10(2008)
- 5) 武田直和：厚生労働科学研究費補助金「食品中のウイルス制御に関する研究」平成 19 年度総括・分担研究報告書，(2008)
- 6) Kobayashi S. et al. : Immunomagnetic capture RT-PCR for detection of norovirus from foods implicated in a foodborne outbreak, *Microbiol Immunol.*, **48**, 201-204(2004)
- 7) 片山和彦：ノロウイルスの遺伝子型，<http://idsc.nih.go.jp/pathogen/refer/noro-kaisetui.html>
- 8) Seiyu H. et al. : Unbiased whole genome amplification directly from clinical samples, *Genome Res.*, **13**, 954-964(2003)

## 既存医薬品の不純物プロファイル管理手法の確立 ープロカイン塩酸塩を例にー

医薬食品部 医薬食品スタッフ 上村 慎子, 尾藤 孝弘, 水野 ぐみ子,  
黒見 公一<sup>\*1</sup>, 上野 千恵, 栗田 浩幸,  
前田 有美恵, 小和田 和宏<sup>\*2</sup>, 坂根 弓子<sup>\*3</sup>,  
山本 政利<sup>\*4</sup>, 西澤 雅彦

Establishment of Control Methods by Impurity Profile  
of Existing Drugs

- Study on Procaine Hydrochloride as an Example -

Mitsuko KAMIMURA, Takahiro BITO, Kumiko MIZUNO,  
Kohichi KUROMI, Chie UENO, Hiroyuki KURITA,  
Yumie MAEDA, Kazuhiro OWADA, Yumiko SAKANE,  
Masatoshi YAMAMOTO and Masahiko NISHIZAWA

日本薬局方（以下、日局）「プロカイン塩酸塩」をモデルとし、薄層クロマトグラフィー（以下、TLC）法での限度試験から分解物や未反応原料等の不純物を対象とした質的・量的測定への変更を目的に、液体クロマトグラフィー（以下、HPLC）による試験条件を検討し、原末と注射液製剤について不純物プロファイルを作成した。HPLC法の採用により広範囲な極性の不純物について限度値以下でも数値による管理が可能となった。また、注射液製剤から分解生成物が検出され、製剤についても不純物の把握は品質管理上有用と考えられた。

Key words : プロカイン塩酸塩, 不純物プロファイル, 既存医薬品  
procaine hydrochloride, impurity profile, existing drug

### 緒言

医薬品の安全性に関わる不純物について、新医薬品に関してはガイドライン<sup>1-2)</sup>が定められ、量的、質的な管理がされることになっている。一方、既存原薬の不純物管理方法は、従来からのTLC法による限度試験によるものが大半で、既存製剤では不純物の規格が設定されていないものも多い。これらについて質的・量的な不純物管理を行うには、

新たに試験法の検討が必要となる。しかし、既存医薬品では、その多くが安全性に重大な懸念を持たれることなく使用されてきた実績があり、また、数が多く、規格変更に伴う作業量も膨大となることから、対応が遅れている。

県内医薬品製造業者への調査から、不純物による副作用等が長期にわたり報告されていない既存医薬品について、実情を踏まえた不純物管理の方向性を示すことが必要と考えられた。

そこで、既存医薬品について、HPLC法による不純物分析法と不純物プロファイルを利用する不純物管理の手法を検討した。

### 方法

#### 1 試料

- (1) 原末：日局プロカイン塩酸塩：1製品
- (2) 注射液製剤：日局プロカイン塩酸塩注射液1%：先発

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

\*1： 県民部環境局生活環境室

\*2： 富士健康福祉センター

\*3： 厚生部生活衛生局薬事室

\*4： 中部健康福祉センター

品 1 製品および後発品 2 製品

(3) 試薬は特級以上のものを使用した。

## 2 試料溶液および標準溶液の調製

原末を 1% 水溶液とし、水/アセトニトリル混液 (95:5) で 10 倍希釈し、試料溶液とした。

また、注射液製剤を水/アセトニトリル混液 (95:5) で 10 倍希釈し、試料溶液とした。

試料溶液を水/アセトニトリル混液 (95:5) でそれぞれ 2000 倍に希釈し、それぞれの標準溶液とした。標準溶液のプロカイン塩酸塩濃度は  $0.5 \mu\text{g/mL}$  で、試料溶液の 0.05% にあたる。

## 3 不純物標準溶液の調製

p-アミノ安息香酸 (和光純薬工業㈱製, 特級) 20mg をアセトニトリルに溶かし 20mL とした。これを水/アセトニトリル混液 (95:5) で順次希釈し、 $0.1 \mu\text{g/mL}$  ~  $0.02\text{mg/mL}$  とした。

p-ニトロ安息香酸 (和光純薬工業㈱製, 特級) 20mg をアセトニトリルに溶かし 20mL とした。これを水/アセトニトリル混液 (95:5) で希釈し、 $0.5 \mu\text{g/mL}$  とした。

## 4 測定

(1) グラジエント法

HPLC: 島津製作所㈱製 LC-10Avp シリーズ

カラム: 関東化学㈱製 Mightysil RP18GP Aqua, 内径 4.6mm, 長さ 15cm, 粒子径  $5 \mu\text{m}$

検出器: フォトダイオードアレイ (PDA) 検出器 (モニター波長 290nm)

カラム温度:  $40^\circ\text{C}$

流量:  $1\text{mL/min}$

移動相: A 液および B 液を表 1 に示す割合で混合した。

A 液: アセトニトリル, B 液:  $0.05\text{mol/L}$  酢酸・酢酸アンモニウム緩衝液 (pH4.0)

注入量:  $5 \mu\text{L}$

表 1 グラジエント法における移動相混合比

分析時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0	5	95
30	95	5
35	95	5
40	5	95
55	5	95

(2) 日局注射液の定量法

日局プロカイン塩酸塩注射液の定量法に準じた。

HPLC: 島津製作所㈱製 LC-10Avp シリーズ

カラム: 和光純薬工業㈱製 Wakosil-II 5C18GP, 内径 6.0mm, 長さ 15cm, 粒子径  $5 \mu\text{m}$

検出器: PDA 検出器 (モニター波長 254nm)

カラム温度:  $40^\circ\text{C}$

流量:  $0.8\text{mL/min}$

移動相:  $0.1\%$  1-ペンタンスルホン酸ナトリウム含有  $0.05\text{mol/L}$  リン酸二水素カリウム試液 (pH3.0) およびメタノール混液 (4:1)

注入量:  $5 \mu\text{L}$

分析時間: 60 分間

(3) 不純物の定量

p-アミノ安息香酸については主成分に対し  $0.01 \sim 2\%$  ( $0.1 \mu\text{g/mL} \sim 0.02\text{mg/mL}$ ) の範囲で検量線を作成し、その他の不純物ピークは標準溶液の主ピークの面積を 0.05% としてそれぞれピーク面積により定量した。

## 結果および考察

### 1 分析対象不純物の設定

日局<sup>3)</sup>の純度試験では、類縁物質としてプロカインの分解物である p-アミノ安息香酸が規定されている。また、プロカインの合成は p-アミノ安息香酸を出発原料とする方法と p-ニトロ安息香酸を出発原料とする方法がある<sup>3)</sup>ことから、混入しうる不純物として、p-アミノ安息香酸と p-ニトロ安息香酸を分析対象とした。

これらについて、日局で規定される類縁物質 p-アミノ安息香酸の TLC 試験での限度値である「プロカインに対し 0.05%」となるよう試料溶液相当のプロカイン塩酸塩溶液に添加し、検出および分離の確認を行った。

### 2 グラジエント法での不純物分析

試料溶液に相当するプロカイン塩酸塩、限度値に相当する p-アミノ安息香酸および p-ニトロ安息香酸の代表的なクロマトグラムを図 1(1)に示した。p-アミノ安息香酸とプロカインの間に未知ピークが検出され、p-アミノ安息香酸と未知ピークの分離度は 5.9、未知ピークとプロカインの分離度は 7.0 であった。また、プロカインと p-ニトロ安息香酸の分離度は 12.7 であった。分離度 1.5 以上で完全に分離しているとされることから、p-アミノ安息香酸と p-ニトロ安息香酸のピークは、プロカインのピークと十分分離したと判断された。

p-アミノ安息香酸の検量線は  $0.1 \mu\text{g/mL} \sim 0.02\text{mg/mL}$  の範囲で相関係数は 0.9999 と良好な直線性を示した。また、添加回収率と併行精度 ( $n=9$ ) は  $0.5 \mu\text{g/mL}$  でそれぞれ 97 ~ 121% および 6.1% であり、不純物の確認に十分であると考えられた。



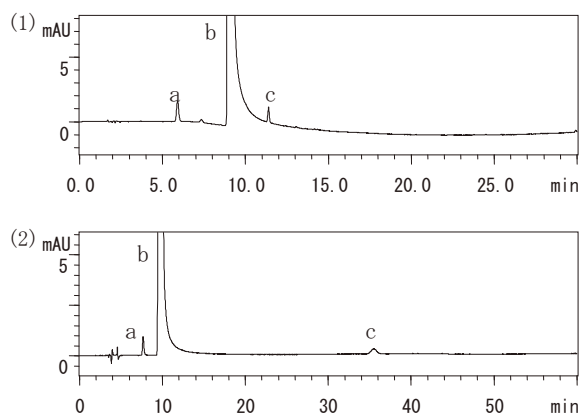


図1 プロカイン塩酸塩とその不純物のクロマトグラム  
 (1) グラジエント法  
 (2) 注射液定量法 (検出波長 254nm)  
 a) p-アミノ安息香酸(0.5  $\mu$ g/mL)  
 b) プロカイン(1mg/mL)  
 c) p-ニトロ安息香酸(0.5  $\mu$ g/mL)

### 3 注射液定量法での不純物分析

p-アミノ安息香酸と p-ニトロ安息香酸のピークが検出され、隣接する p-アミノ安息香酸とプロカインのピークの分離度は 5.9 であった。代表的なクロマトグラムを図 1(2)に示した。p-アミノ安息香酸に比べ、p-ニトロ安息香酸のピークは保持時間約 35 分と遅く、半値幅は 0.7 分とブロードなピークとなったが、JIS K-0124<sup>4)</sup>に従い、0.5  $\mu$ g/mL での 3 回の標準偏差から求めた検出下限値は 0.1  $\mu$ g/mL であり、限度値 0.5  $\mu$ g/mL の検出は可能と判断された。

p-アミノ安息香酸の検量線は 0.1  $\mu$ g/mL $\sim$ 0.02mg/mL の範囲で相関係数は 0.9999 と良好な直線性を示した。また、添加回収率と併行精度 (n=9) は 0.5  $\mu$ g/mL でそれぞれ 100 $\sim$ 111%および 3.2%, 0.01mg/mL でそれぞれ 94 $\sim$ 99%, 1.5% であり、不純物の定量に十分であると考えられた。

分析時間 60 分間のうちに分析対象とした p-アミノ安息香酸および p-ニトロ安息香酸は検出されたが、すべての未知不純物が溶出するのに必要な分析時間は不明であった。また、HPLC の特性上、保持時間が遅くなるほどピーク高さは低く、ピーク幅は広くなり、ピーク検出が困難となるため、未知の不純物混入の可能性のある原薬の不純物試験には本試験法は適切でないと考えられた。

### 4 検出波長および感度係数の検討

化合物により検出に適した波長が異なり、不純物の見落とすを防ぐため、グラジエント法では複数の波長でのピーク検出が可能となる PDA 検出器を使用した。ただし、不純物の定量計算は、プロカインの吸収極大波長である 290nm で実施した。プロカインに対する p-ニトロ安息香酸の検

出感度の比は高さ、面積ともに 0.7 であり、標準溶液のピーク面積との比で定量する場合には感度係数 1.4 を乗ずる必要があった。なお、ピークの検出は 0.05%濃度で十分可能であった。

### 5 注射液製剤および原末における不純物分析

#### (1) 不純物分析結果

グラジエント法による原末 1 製品と 1%注射液製剤 3 製品の不純物分析結果を表 2、表 3 に示した。原末においては p-アミノ安息香酸は検出されず、主ピークに対し 0.01%の未知不純物ピークが検出された。注射液製剤においては 0.31 $\sim$ 1.8%の p-アミノ安息香酸および主ピークに対し 0.01 $\sim$ 0.02%の未知不純物ピークが検出された。

#### (2) ICH ガイドラインの準用

日米 EU の三極による医薬品規制調和国際会議 (ICH) で作成されたガイドラインには、新医薬品の不純物ガイドライン (Q3A-R : 原薬, Q3B-R : 製剤)<sup>1-2)</sup>と原薬 GMP ガイドライン (Q7A)<sup>3)</sup>がある。Q7A では、既存原薬の不純物についての記載においては、不純物プロファイルの作成に当たり、不純物の検出レベルは、新規原薬の Q3A-R と同様の 0.05 $\sim$ 0.10%レベルが適切とされる。一方、不純物の同定については、長期使用実績があり、過去に安全性に関する問題が指摘されていない場合には、その使用実績から安全性が担保されているとみなして既知の不純物に関しては、存在量にかかわらず構造決定を必要とはされていない。しかし、不純物プロファイル設定のために新たに HPLC 法を設定した場合には、新規不純物については不純物ガイドライン Q3A-R の安全性確認の閾値に応じた取り扱いが適当とされている。

これらのガイドラインによると、プロカイン塩酸塩の最大 1 日投与量は 1g であることから Q3A-R の報告の閾値は 0.05%であり、今回原末から検出された不純物はいずれも

表 2 プロカイン塩酸塩の不純物プロファイル

保持時間(分)	成分名	濃度(%)
5.9	p-アミノ安息香酸	不検出
7.2	未知不純物 1	0.01*
12.4	未知不純物 2	0.01*

表 3 プロカイン塩酸塩注射液の不純物プロファイル

保持時間 (分)	成分名	濃度(%)		
		製品 A	製品 B	製品 C
5.9	p-アミノ安息香酸	1.8	0.32	0.31
7.3	未知不純物 1	0.01*	0.01*	0.01*
12.4	未知不純物 2	0.02*	0.02*	0.02*

\* : Q3A-R または Q3B-R の報告閾値以下

報告の必要がない。また、これらの不純物は、試験法を TLC から HPLC による方法へ変更したことで、新たに検出された未知不純物であるが、Q3A-R の安全性確認の閾値 (0.10%) 以下であった。

一方、既存製剤については基準が示されていないため、新規原薬と既存原薬の関係を製剤に当てはめ、新規製剤の基準から既存製剤の基準を仮定すると、報告の閾値は Q3B-R と同様に 0.1% となり、既知の不純物に関しては構造決定や同定の必要はないが、HPLC 法への変更で新たに検出された不純物については Q3B-R と同様に構造決定および安全性確認の閾値は 0.2% となる。今回注射液製剤 3 製品から検出された既存不純物の p-アミノ安息香酸は、報告を要する濃度であるが、使用実績から安全性が担保されているとみなされ、また、p-アミノ安息香酸以外の不純物は、HPLC に変更したことで新たに検出された未知不純物であるが、報告の閾値以下で、安全性確認も不要と考えられた。

### (3) 品質管理における不純物管理

今回原末において検出された不純物は報告の必要のない濃度レベルであったが、定量的分離分析法である HPLC 法による不純物分析を行うことで TLC 法での限度試験よりも低濃度領域での数値による評価が可能となり、傾向分析やアラートレベルの設定が可能となる点で有用と考えられた。なお、原末の不純物試験においては、移動相の極性を幅広く変化させて極性の異なる不純物をすべて溶出させるグラジエント法が必要と考えられた。

一方、注射液製剤は日局において不純物についての規格が設定されていないが、新医薬品の製剤では製造工程又は保存中に生成する分解生成物の規格値を設定しなければならないとされ、また、プロカインから分解生成物である p-アミノ安息香酸の生じる速度は水溶液の pH により変化することが知られているので、その分解物の量を把握することは製剤の品質管理上有用と考えられた。その際、有効成分の定量方法の HPLC 条件を準用することが可能であり、日常の品質管理において定量と同時に分解物測定が可能と考えられた。

## まとめ

日局「プロカイン塩酸塩」をモデルとして、分解物や未反応原料等の広範囲な不純物を測定対象とした質的・量的測定への変更を目的に、HPLC による試験条件を検討し、市販の原末と注射液について、不純物プロファイルを作成

した。

HPLC 法の採用により広範囲な極性の不純物について限度値以下でも数値による管理が可能となった。また、注射液製剤から分解生成物が検出され、製剤についても不純物の把握は品質管理上有用と考えられた。

不純物プロファイルは、その同等性の評価により、品質の恒常性を確保するための有用な手法であり、効率的な不純物分析および不純物プロファイルによる管理が医薬品の品質確保に役立つことが期待される。

## 謝辞

本研究の実施に当たり、不純物管理の現状についての調査にご協力をいただいた県内医薬品製造所に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬局審査管理課長通知「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインの改定について」、平成 14 年 12 月 16 日付け医薬審発第 1216001 号
- 2) 厚生労働省医薬局審査管理課長通知「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインの改定について」、平成 15 年 6 月 24 日付け医薬審発第 0624001 号
- 3) “第十五改正日本薬局方解説書”，日本薬局方解説書編集委員会編，(株)廣川書店，東京，2006，C-3749～3755
- 4) JIS ハンドブック 49 化学分析，日本規格協会編，(財)日本規格協会，東京，2006，788-790
- 5) 厚生労働省医薬局長通知「原薬 GMP のガイドラインについて」，平成 13 年 11 月 2 日付け医薬発第 1200 号
- 6) 医薬品の品質確保一増補改訂 2006一，奥田晴宏，清原孝雄，小嶋茂雄編，(株)エル・アイ・シー，東京，2006
- 7) 最新薬事規制/三極申請に対応した不純物規格・試験法設定の具体的対応，大谷淑郎ら，(株)技術情報協会，東京，2006

## いわゆる健康食品中の医薬品成分の LC/MS による迅速分析 (第 2 報)

### —ケミカルドラッグおよび油性食品への適用の検討—

医薬食品部 医薬食品スタッフ 栗田浩幸, 尾藤孝弘, 水野くみ子,  
 上村慎子, 前田有美恵 西澤雅彦

Rapid Analysis of Drugs in Health Foods Using LC/MS (2)  
 - Study of Application to Chemical Drugs and Fatty Foods -

Hiroyuki KURITA, Takahiro BITO, Kumiko MIZUNO,  
 Mitsuko KAMIMURA, Yumie MAEDA and Masahiko NISHIZAWA

健康危機管理の一環として, LC/MS 法による指定薬物の一斉分析法について検討した結果, 当研究所で確立した医薬品成分の一斉分析法が適用できることが判明した. 本法は, メタノール抽出のみの簡易な操作で実施可能なため, 健康危害発生時には, 医薬品成分に加えて, 指定薬物のスクリーニングが迅速に実施できる体制となった.

また, 油性食品の脱脂操作として, アセトニトリル/ヘキサン分配を酸性条件下で行うことで, 広範囲の医薬品成分を高回収率で精製できることが示された.

Key words: LC/MS, ケミカルドラッグ, 油性食品, 健康危機管理

LC/MS, chemical drug, fatty food, health risk management

#### はじめに

医薬品, 食中毒, 感染症, 飲料水その他何らかの原因により生じる住民の生命や健康の安全を脅かす事態に対し, その発生予防, 拡大防止, 治療に関する業務を行う健康危機管理は公衆衛生行政の重要な柱のひとつである. そして, 万が一の健康危害の発生時に, その原因を究明することは, 地方衛生研究所の役割であり, 健康危害の拡大防止のために, 迅速な対応が求められる.

このため, 当研究所では, 医薬品成分については, すでに, LC/MS 法<sup>1)</sup>および TLC 法<sup>2)</sup>によるスクリーニング法を構築し, 緊急時の迅速対応を図っているが, 医薬品の混入事例は, 時代とともにその成分は変わり, それに合わせて分析対象化合物を拡大する必要がある. 特に, 若年層でのファッション感覚での濫用が社会問題化したトリプタミン誘導体等のケミカルドラッグ系

指定薬物(以下, 「ケミカルドラッグ」という。)は, その麻薬様の薬理作用から, 健康危害発生時には, 迅速に対応する必要があるが, LC/MS 法で他の医薬品成分と同時に分析することが求められた. しかし, これらのケミカルドラッグには, 構造が類似した多数の化合物が存在することから, これらを精度よく迅速に分析することがスクリーニング法と同一条件で可能か検証する必要があった.

また, 食品の形態が多様化し, いわゆる健康食品に, 油性基材を用いるソフトカプセル様のものが多くなっているが, これらは, 本スクリーニング法や厚生労働省の通知法<sup>3)</sup>で示されるメタノール抽出では, 分散不良による抽出効率の低下や多量の油脂を分析機器に供することによる分析装置のトラブルが懸念された.

そこで, ケミカルドラッグ等新たな医薬品成分についてスクリーニング法の適用拡大を検討した結果, 良好な結果が得られた. また, いわゆる健康食品に頻繁に含有される医薬品成分について, 液液分配による脱脂法の基礎検討をしたところ, 若干の知見が得られたので, 併せて報告する.

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)



## 実験方法

### 1 試薬

2C-C, 2C-E, 4FMP, 5MeO-AMT, 5MeO-DALT, 5MeO-DET, 5MeO-DPT, 5MeO-MIPT, DIPT は厚生労働省から入手した。シルデナフィルクエン酸塩, タダラフィルは, 国立薬品食品衛生研究所から入手した。4MPP 二塩酸塩は Aldrich 製試薬, クロルプロマジンは ICN 製試薬, シブトラミン塩酸塩は LKT 製試薬, フェンフルラミン塩酸塩, マジンドールは, sigma 製試薬, グリベンクラミド, N-ニトロソフェンフルラミン, メラトニンは和光純薬製試薬, アミノタダラフィルは合成したもの<sup>4)</sup>を使用した。

各標準品は, 原則としてメタノールに溶解させ, 0.5mg/mL の溶液を調製し, 標準原液とした。

その他試薬は特級以上のものを使用した。

### 2 LC/MS装置および分析条件

装置: Waters Quattro Micro API (Waters)

カラム: Atlantis dC18 2.1×150mm, 3μm (Waters)

移動相: 10mMギ酸アンモニウム (pH3.5) とアセトニトリルのグラジエント

グラジエント条件 (アセトニトリル%) : 0min (2.5%) → 15min (40%) → 25min (70%) → 27min (90%)

流速: 0.2mL/min (40°C)

注入量: 2μL

イオン化法: ESI±

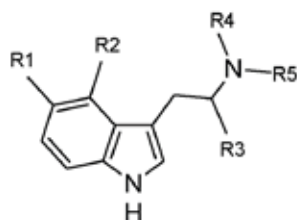
コーン電圧: ±20V, ±55V

測定モード: プリカーサースキャン法

測定範囲:  $m/z=100\sim800$

### 3 ESI-MS分析

標準原液を10mM酢酸アンモニウム/アセトニトリル混液 (1:1) で希釈し, 10μg/mLの標準溶液とした。フローインジェクション法により, コーン電圧とコリ



Compound	R1	R2	R3	R4	R5
5MeO-AMT	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	H
5MeO-DALT	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>
5MeO-DET	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
5MeO-DMT	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
5MeO-DPT	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
5MeO-MIPT	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
DIPT	H	H	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>

図1 トリプタミン系化合物の構造式

ジョン電圧を決定し, プリカーサーイオン, プロダクトイオンを測定した。

イオン化法: ESI±

### 4 Rf値の測定

既報<sup>2)</sup>に従い標準化した次の4条件のRf値を測定した。

1) プレート: HPTLCシリカゲルF<sub>254</sub>, 展開溶媒: 酢酸エチル/メタノール/28%アンモニア水混液 (85:10:5)

2) プレート: HPTLCシリカゲルF<sub>254</sub>, 展開溶媒: シクロヘキサン/トルエン/ジエチルアミン (65:25:10)

3) プレート: シリカゲルF<sub>254</sub>, 展開溶媒: メタノール

4) プレート: シリカゲルF<sub>254</sub>, 展開溶媒: 酢酸エチル/メタノール/25%アンモニア水混液 (85:10:5)

### 5 HPLC装置および分析条件

装置: LC-10シリーズ (島津製作所)

検出波長: 210nm

カラム: Capcell Pak C18 MG II 3×150mm, 5μm (資生堂)

移動相: 10mMギ酸アンモニウム (pH3.5) とアセトニトリルのグラジエント

グラジエント条件 (アセトニトリル%) : 0min (1%) → 10min (80%) → 13min (90%)

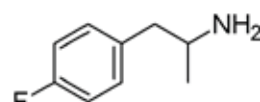
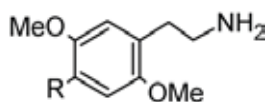
流速: 0.6mL/min (40°C)

注入量: 5μL

### 5 添加回収試験

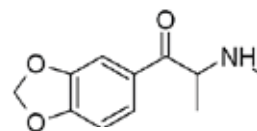
食品への添加回収試験は, 20μg/mLの標準品のメタノール溶液1mLを量り, 減圧乾固し, 試料100mgを加えた。これにメタノール1mL加え超音波で5分間処理し, 抽出液を0.45μmのメンブランフィルターでろ過したものをLC/MSで分析した。

脱脂操作における添加回収試験は, 20μg/mLの標準品のメタノール溶液1mLを量り, 減圧乾固し, これ



4FMP

compound	R
2C-C	C1
2C-E	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
2C-I	I
2C-T-4	SCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>



Methylone

図2 フェネチルアミン系化合物の構造式

をアセトニトリル等極性有機溶媒 1mL 加えた後、ヘキサン等非極性有機溶媒 2mL を加えて攪拌し、非極性有機溶媒の洗浄を 2 回行った後、極性有機溶媒を減圧乾固し、残渣をメタノール 1mL で溶解し HPLC で分析した。

## 結果および考察

### 1 ケミカルドラッグ等のスクリーニング

ケミカルドラッグは、麻薬等の構造の一部を変えた化学物質であり、平成 21 年 3 月現在指定薬物にトリプタミン系 12, フェネチルアミン系 17, ピペラジン系 3 物質が指定されている。今回は、厚生労働省から入手できたトリプタミン系化合物 6, フェネチルアミン系化合物 3 計 9 物質についてスクリーニング法を検討した (図 1, 2)。併せて、無承認無許可医薬品として問題となったものの、スクリーニング試験が未実施であった、アミノタダラフィルとメラトニンについて、スクリーニング法を検討した。

なお、比較のため、前報で検討したトリプタミン系化合物 5Meo-DMT, フェネチルアミン系化合物 2C-I, 2C-T-4 および Methylone のデータを再掲する。

#### 1) LC/MS 分析条件の検討

LC/MS による分析条件を設定するため、各化合物のマススペクトルとイオン化の最適コーン電圧をフローインジェクション法により決定した (表 1)。また、スクリーニングは、広汎な化合物を対象に、±20V および ±55V の 4 条件でのプリカーサーキャン法で行うため、各物質をこの条件で分析し、得られたピークの保持時間とその強度から解析対象とするマスクロマトグラムのコーン電圧を決定した (表 1)。なお、これら

の値は、装置のソフトウェアに入力することで、半自動で当該物質のピークを積分し、混入の有無を迅速に判断できるようになる。

全ての物質で、良好なクロマトグラムが得られ、モニターイオンとして、分子イオン ( $[M+1]^+$ ) を選択することが可能なため、分子量が同じで、保持時間が近接した 5MeO-DET と 5MeO-MIPT を除き、LC/MS により得られる保持時間と分子量の情報により、容易に物質の推定が可能であり、ファーストスクリーニングとして十分な能力を有すると判断された。なお、5MeO-DET と 5MeO-MIPT は、プロダクトイオンも同様のスペクトルであったため、LC/MS では、これらを分別することは困難であった。さらに、GC/MS 法でも保持時間やマススペクトルが類似するため<sup>5)</sup>、これらに該当するピークが検出された場合、構造解析が必須であると考えられた。

#### 2) TLC によるスクリーニング

シリカゲル TLC は分解能は低いものの、逆相 LC とは異なる分離機構であり、また、複数の *R<sub>f</sub>* 値を組み合わせることで、物質の推定が可能と考えられたことから、ケミカルドラッグについて、既報<sup>2)</sup>により標準化した 4 条件での *R<sub>f</sub>* 値を測定した。この結果、LC 同様 5MeO-DET と 5MeO-MIPT が 4 条件で近接した *R<sub>f</sub>* 値となった (表 2)。これに加えてフェネチルアミン系の 2C-C, 2C-E, 2C-I および 2C-T-4 が 4 条件で近接した *R<sub>f</sub>* 値となった (表 2)。以上のことから、今回検討した TLC 条件では、ケミカルドラッグの推定はできず、ファーストスクリーニングとしては得られる情報が不足すると判断された。従って、TLC の利用としては、LC/MS で検出さ

表 1 ケミカルドラッグ等の LC/MS 分析条件

compound	保持時間	至適イオン化条件			モニターイオン		スクリーニング条件	
		ESI+/-**	cone	colligen	precaser	product	cone	m/z
2C-C	17.0	+	20	15	216	199	+20	216
2C-E	19.0	+	20	15	210	193	+20	210
2C-I*	18.3	+	20	15	308	291	+20	308
2C-T-4*	19.8	+	20	15	256	239	+20	256
4FMP	13.8	+	20	15	154	109	+20	154
methylone*	12.2	+	25	15	208	160	+20	208
5MeO-AMT	14.6	+	15	10	205	188	+20	205
5MeO-DALT	18.6	+	20	15	271	110	+20	271
5MeO-DET	16.3	+	20	15	274	86	+20	247
5MeO-DPT	19.8	+	25	15	275	114	+20	275
5MeO-DMT*	14.0	+	20	15	219	174	+20	219
5MeO-MIPT	16.5	+	20	15	247	86	+20	247
DIPT	18.7	+	25	20	245	144	+20	245
aminotadalafil	22.4	+	25	15	391	269	+20	391
melatonin	18.1	±	20	15	233	174	+20	233

\*) 文献1からの再掲

\*\*+) ; ポジティブモード, ± ; 両モードでイオン化

表2 ケミカルドラッグのRf値

compound	Rf value (×100)			
	1**	2**	3**	4**
2C-C	38	6	7	34
2C-E	41	10	8	36
2C-I*	39	7	6	36
2C-T-4*	40	9	8	37
4FMP	49	16	14	42
methylone*	59	25	26	55
5MeO-AMT	37	0	9	33
5MeO-DALT	82	20	69	76
5MeO-DET	65	17	14	59
5MeO-DPT	82	24	32	75
5MeO-DMT*	53	10	11	48
5MeO-MIPT	64	16	13	58
DIPT	81	28	14	76

\*:文献2からの再掲

\*\* : 実験方法の展開条件番号

れた物質の確認手段とすることが望ましいと考えられた。

しかし逆に、構造未知の新規化合物を同定する場合においては、構造既知の化合物の Rf 値との比較をすることで、基本骨格を推定することが可能となり、NMR 等による構造確認の効率化に有効な手段となると考えられた。

### 3) 添加回収試験

前報<sup>1)</sup>と同様、粉碎した混合茶葉(試料A)とラズベリー果汁含有健康食品(試料B)に、20 μg/g となるようにケミカルドラッグ等を添加し、メタノールで抽出した液をLC/MSのスクリーン法で分析し、回収率を求めた。

試料Bのメラトニンを除き、回収率は70%以上の良好な回収率であった(表3)。試料Bのメラトニンの回収率も60%以上はあり、定量には問題があるが、スクリーニングとしては、問題ないと考えられた。

表3 添加回収試験結果

compound	試料	
	A	B
2C-C	92.2	94.2
2C-E	99.9	92.0
4FMP	79.1	90.2
5MeO-AMT	106.0	108.1
5MeO-DALT	95.7	81.5
5MeO-DET	98.3	94.8
5MeO-DPT	98.9	99.8
5MeO-MIPT	101.1	94.0
DIPT	94.9	86.0
aminotadalafil	99.6	73.8
melatonin	97.4	60.7

本法は、非常に簡便な方法であり、また、他の医薬品成分と同時に分析可能なことから、健康危害発生時に迅速に対応できると考えられた。

## 2 油性食品の前処理の検討

近年、食品工業技術の発展、生活様式の多様化、食薬区分の規制緩和等により、いわゆる健康食品を中心にソフトカプセル状の食品が多く見られる。これらの食品は、エキス成分を油性基材とともにゼラチン剤皮に充填したものであり、本法や厚生労働省通知の指定薬物分析法<sup>3)</sup>であるメタノール抽出では、試料の分散性が悪く抽出効率の低下が懸念された。また、試料溶液に混入する多量の油脂を分析装置に供することは、装置の損傷のおそれがあった。そこで、ヘキサン/アセトニトリル分配による脱脂操作を検討した。

また、医薬品成分は、指定薬物および近年健康食品への混入事例が多い向精神薬等の中から、2C-C, 4MPP, 5MeO-AMT, クロロプロパミド, フェンフルラミン, グリベンクラミド, イブプロフェン, ケトプロフェン, マジンドール, N-ニトロソフェンフルラミン, シブトラミン, シルデナフィル, タダラフィルを選択した。

まず、通常の方法で、これらの物質についてヘキサン/アセトニトリル分配を行ったところ、フェンフルラミンの回収率は43%、シブトラミンは回収されなかった。その他の物質の回収率は75%以上で問題はなかった(表4)。この原因を検討した結果、これらの物質のヘキサン/アセトニトリル分配は、極性基の解離が影響していると考えられ、アセトニトリルの酸・塩基性に依存することが判明した。すなわち、アセトニトリルにアンモニアを添加すると、ヘキサン層に分配され回収できず、ギ酸を加えて酸性とすることで、アセ

表4 ヘキサン/アセトニトリル分配の回収率

compound	アセトニトリルの液性	
	無処理	1%ギ酸
2C-C	93	100
4MPP	86	98
5MeO-AMT	94	96
chlorpropamide	86	100
fenfluramine	43	97
glibenclamide	91	96
ibuprofen	80	83
ketoprofen	96	96
mazindol	92	101
N-nitrosofenfluramine	75	78
sibtramine	0	96
sildenafil	95	96
tadalafil	101	98

トニトリル層へ分配され回収率が向上した。そして、シブトラミンにおいては、回収率 90%以上とするには、ギ酸 1%の添加が必要であった（図3）。そこで、ギ酸 1%添加アセトニトリルとヘキサンによる液液分配を試みた結果、今回検討した 13 物質全てで 75%以上の回収率が得られた（表4）。本条件では、酸性化合物の回収率低下が懸念されたが、スルホニルウレア系糖尿病薬（クロルプロパミド、グリベンクラミド）およびプロピオン酸系消炎鎮痛剤（イブプロフェン、ケトプロフェン）の回収率も問題なかった。また、油脂は中性であることから、この条件においても脱脂効率は低下することなく、高範囲の医薬品成分を対象に、高回収率で精製できる前処理と考えられた。

なお、有機溶媒の種類の変更について、アセトニトリルをメタノールに、ヘキサンをヘプタンに変えても、回収率にほとんど影響はなかった。

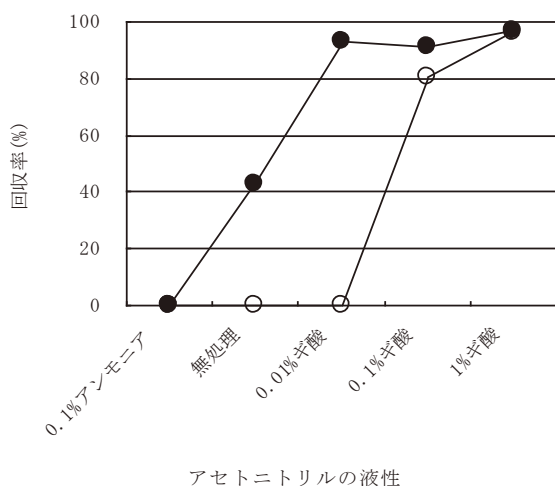


図3 ヘキサン／アセトニトリル分配に及ぼす液性の影響

●：フェンフルラミン，○：シブトラミン

### まとめ

- 1 指定薬物について、当研究所で確立した医薬品成分の一斉スクリーニング法の適用を検討した結果、良好な結果であり、従来の医薬品成分に加え、指定薬物も同時に分析可能なことが示された。
- 2 ソフトカプセル等油性基材を使用した試料に対し、酸性としたアセトニトリル／ヘキサン分配により、高回収率で広範囲の医薬品成分の精製が可能なが示された。

### 文献

- 1) 栗田浩幸他：いわゆる健康食品中の医薬品成分のLC/MSによる迅速分析，静岡県環境衛生科学研究所報告，**49**，31-35（2006）
- 2) 栗田浩幸他：いわゆる健康食品中の医薬品成分の二次元展開 TLCによるスクリーニング試験，薬学雑誌，**128**，487-493（2008）
- 3) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬課長通知：指定薬物の分析法について，薬食監麻発第 0521002 号，平成 19 年 5 月 12 日
- 4) H. Kurita et al: Identification of Aminotadarafil and its Stereoisomers Contained in Health Foods Using Chiral Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, Journal of Health Science, **54**, 310-314 (2008)
- 5) 花尻（木倉）瑠璃他：指定薬物の分析 Part I :GC-MS 及び LC-MS, 薬学雑誌, **128**, 971-979 (2008)



## カカオ含有率に着目したチョコレートの成分等に関する調査

医薬食品部 医薬食品スタッフ 小林千恵, 相曾いずみ, 前田有美恵,  
西澤雅彦

Ingredient and Other Things of Chocolate  
noticed Percentage of Cacao Content

Chie KOBAYASHI, Izumi AISO, Yumie MAEDA  
and Masahiko NISHIZAWA

県民の食生活の向上および健康増進に役立てるため、健康への効果が注目されている高比率にカカオを含むチョコレート成分等を調査した。カカオ含有率の異なるチョコレートについて、カカオ豆に含有され、気管支拡張作用等の薬理作用のあるテオブロミン、カフェインについて成分分析を行ったところ、カカオ含有率が高くなるほどこれらの含有量が増加する傾向が見られた。また、栄養成分である脂質量を調べると、チョコレートに多量に含まれていることがわかり、カカオ含有率が高くなるにつれて脂質量も増加する傾向にあった。糖類を分析すると、多量に砂糖が含まれている銘柄があった。

チョコレートの摂取については、カカオポリフェノールの効果のみに注目するのではなく、前述の成分の摂取量についても考慮し、バランスよく栄養を取り入れるように心がける必要があると考えられた。

Key words: カカオ, チョコレート, テオブロミン, カフェイン  
Cacao, Chocolate, Theobromine, Caffeine

### はじめに

チョコレートは、2人に1人の割合で週に1日以上購入する程の人気の高い食品である<sup>1)</sup>。従来、チョコレートのカカオ含有率は、ミルクチョコレートにおいて30%~40%程度であった<sup>2)</sup>。しかし、カカオポリフェノールの効果として動脈硬化の予防、がん予防への期待、ストレスに対する抵抗力やダイエット効果等が注目されてから、カカオ含有率が50%を大きく超える商品が販売されている<sup>2)</sup>。

今回、消費者にチョコレート摂取に関する留意点について情報提供するため、高比率にカカオを含有するものを中心に、カカオ含有率の異なる市販のチョコレートのテオブロミン、カフェイン、脂質、糖類等について調査したので報告する。

### 試料および方法

#### 1 試料

静岡市内で市販されている表1に示す13銘柄のチョコレートを対象とした。銘柄No.1~10は、カカオ60%以上の高比率にカカオを含むものとし、結果を比較するためNo.11~13は、従来からあるカカオ50%未満のチョコレートとした。

#### 2 試薬

テオブロミン(和光純薬工業㈱)、カフェイン(和光純薬工業㈱)、スクロース(関東科学㈱)、マルトース(関東科学㈱)、フルクトース(関東科学㈱)、グルコース(関東科学㈱)、ラクトース(関東科学㈱)

その他の試薬は、特級またはそれ以上のものとした。

---

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)



**表1** 調査対象

銘柄No.	カカオ%	原産国	カカオ又はポリフェノールについての記載
1	99	フランス	
2	88	ドイツ	
3	86	フランス	
4	86	日本	○
5	77	ドイツ	
6	76	フランス	
7	72	日本	○
8	70	日本	○
9	63	日本	○
10	62	日本	○
11	48	ベルギー	
12	36	日本	○
13	35	日本	○

### 3 方法

#### 1) 表示

##### ①原材料

JAS 法に基づく原材料表示の記載方法から、高比率にカカオを含むチョコレートと従来のものについてそれぞれにおける主要な原材料を調査した。

##### ②カカオポリフェノールに関する記載

カカオポリフェノール分析値、または従来品とのカカオポリフェノール値の比較についての記載の有無を調べた。

#### 2) テオブロミン、カフェインの抽出

ポリフェノール含有食品の商品テスト結果（国民生活センター（平成12年5月）<sup>3)</sup>を参考に抽出を行った。試料 0.5g に水 2ml を加え湯煎で懸濁液とした後、ヘキサンで脱脂を行った。エバポレーターでヘキサンを除いた後、50%エタノール 30ml を加え、30 分間超音波抽出した。その後、50%エタノールで 50ml に定容したものを遠心分離（1500rpm, 5 分間）した。上清をメンブランフィルター（0.45 μm）でろ過したものを液体クロマトグラフィー（以下 HPLC）用試料とした。

#### 3) 糖類の抽出

栄養表示基準の糖類分析法<sup>4)5)</sup>に準じ抽出を行った。対象成分は、スクロース、マルトース、フルクトース、グルコース、ラクトースとした。

試料 0.5g に水 30ml を加え、湯煎で懸濁液とした後、30 分間超音波抽出した。50ml に定容し、ろ紙（No. 5B）で不溶物をろ過した後、ろ液をメンブランフィルター（0.45 μm）でさらにろ過したものを HPLC 用試料とした。

#### 4) 脂質の抽出

栄養表示基準の酸分解法<sup>6)</sup>に準じ抽出を行った。

試料 0.5g にエタノール 2ml を加えて懸濁し、濃塩酸 10ml を加え、75°C で 30 分インキュベートした。そこへジエチルエーテル 25ml と石油エーテル 25ml を加え振とうした。その後水層を取り出し、ジエチルエーテル:石油エーテル混液（1:1）を 40ml 加え振とうし、エーテル混液層を回収した。さらに水層にジエチルエーテル:石油エーテル混液（1:1）を 30ml 加え振とうし、同様に全エーテル混液層を回収した後、溶媒を留去し、100°C で一時間乾燥後、重量を測定した。

### 4 HPLC 測定条件

#### 1) テオブロミン、カフェインの測定

ポリフェノール含有食品の商品テスト結果（国民生活センター（平成12年5月）<sup>3)</sup>に準じ、HPLC による測定を以下のとおり行った。なお、本法による定量下限値は 5 μg/ml である。

カラム: Mightysil RP-18 Aqua (4.6mm×150mm, 関東化学株), 移動相: A 液 (20mM リン酸塩緩衝液 (pH3.0)) および B 液 (リン酸塩+40%アセトニトリル緩衝液 (pH3.0)) [試料注入時から 10 分後まで A:B=80:20, 10~60 分で A:B=30:70 にリニアグラジエント], カラム温度: 40°C, 流量 1.0ml/min, 検出器: フォトダイオードアレイ検出器 (205nm)

#### 2) 糖類の測定

栄養表示基準の糖類分析法<sup>4)5)</sup>に準じ、HPLC による測定を以下のとおり行った。なお、本法による定量下限値は 1.0mg/ml 未満である。

カラム: Mightysil NH<sub>2</sub> (4.6mm×250mm, 関東化学株), 移動相: アセトニトリル:水=75:25, カラム温度: 26°C, 流量: 1.0ml/min, 検出器: 屈折率検出器

### 結果および考察

#### 1 表示

##### 1) 原材料

原材料表示は JAS 法により重量の多いものから記載することになっている。銘柄 No. 1~10 のカカオ含有率 60%以上 のものは、カカオマスが主原料であり、カカオ 50%未満の銘柄 No. 11~13 は、砂糖が主原料であることがわかった。

##### 2) カカオポリフェノールに関する記載

チョコレート 13 銘柄のうち製造メーカーが日本の銘柄である No. 4, 7~10, 12, 13 については、パッケージにカカオポリフェノールに関する記載が見られた。No. 4 と 7 については、カカオポリフェノールの従来品との比較量について記載があり、No. 8~10, 12, 13 にはカカオポリフェノールの自社分析値があった。以上から、日本の銘柄については、消費者の関心があるポリフェノールについて強調していることが伺えた。

## 2 テオブロミン、カフェインの含有量

各銘柄のカカオ含有率に対するチョコレート100gあたりのテオブロミン、カフェインの含有量を比較した(図1, 図2)。テオブロミンは、カカオに含まれるアルカロイドであることから、カカオ含有率が高い銘柄ほどチョコレート中の含有量が増加する傾向がみられた。また、カカオ含有率が50%を超えるチョコレート(No. 1~10)は、従来からの含有率のチョコレート(No. 11~13の平均値)よりも1.8倍から3.8倍のテオブロミンが含まれていた。

カフェインについては、テオブロミンよりも含有量は少ないが、テオブロミンと同様にカカオの含有率が高くなるほど、チョコレート中の含有量も増加する傾向がみられた。カフェインも同様にカカオ含有率に着目して比較するとNo. 1~10の方が(No. 11~13の平均値)よりも1.4倍から3.0倍多く含まれていた。

テオブロミンおよびカフェインは、気管支喘息等の治療薬として使用されているテオフィリンと同じキサンチン誘導体であり(図3)、作用の大きさは異なるが、気管支拡張作用、心筋興奮作用、利尿作用等がある。テオフィリンの使用者は、他のキサンチン系薬剤の使用により相互作用が発現する可能性がある<sup>7)</sup>ことから、高比率にカカオを含むチョコレートの摂取も同様に注意が必要と考えられる<sup>8)</sup>。

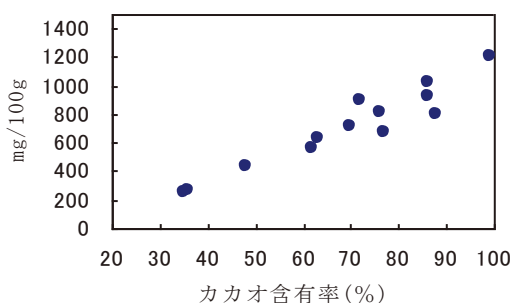


図1 テオブロミン

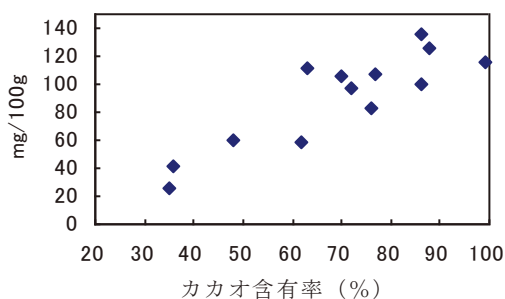


図2 カフェイン

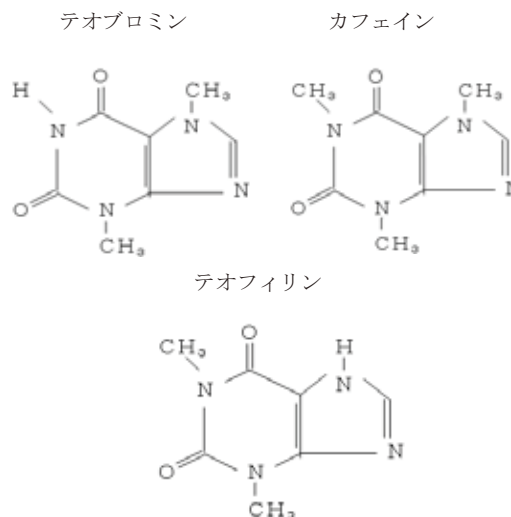


図3 キサンチン誘導体の構造式

## 3 糖類の含有量

図4に調査したチョコレートに含まれる糖類を示した。

チョコレートに含まれる主要な糖はスクロースであった。マルトース、フルクトース、グルコースについては、いずれの銘柄も定量下限値未満であった。ラクトースは、銘柄No. 10に含まれていた。

原材料で使用されている糖類がスクロースであることは、原材料表示から読み取れた。また、原材料表示からNo. 10, 13については、乳製品が含まれており、No. 10においてラクトースが検出されたのは、乳製品由来のものと考えられる。

銘柄別に糖類の含有量を比較したところ、銘柄No. 1から10のカカオ含有率60%を超えるものは、カカオ含有率が高くなるほど含有量は少なくなった。カカオ含有率が高いものは甘味が少なく、カカオ含有率が低くなるにつれて、糖類の含有量が高くなり、甘味を増した商品になると考えられた。一方、銘柄No. 11から13のカカオ含有率50%未満のものは、カカオ含有率に関係なく、銘柄によって含有量は異なる結果となった。含有量はNo. 11が最も多く、チョコレート100gあたり50.4g含まれており、重量の半分が砂糖であった。No. 11を100g摂取すると、糖類のみで約200kcalのエネルギーを摂取することとなるため、過剰摂取に注意が必要と考えられる。

## 4 脂質量

チョコレートに含まれる脂質量を図5に示した。銘柄別に含有量を比較すると、最も多く含まれていたのがNo. 2の50.2gであり、最も少なかったのがNo. 11の31.6gであった。No. 1~No. 10のカカオ含有率60%以上のものは、含有率50%未満のものよりも1.1~1.6倍含有量が多く、カカオの比率が高くなる程、含有量は増加する傾向にあった。チョコレートは、従来からあるミルクチョコレートにおいても乳製品由来の乳脂肪とココアバターを含む<sup>9)</sup>ため脂質の含



有量が多いと考えられる。また、カカオ含有率が高くなるにつれて脂質量が増加する傾向にあるのは、カカオ由来のココアバター含有量が増加するためと考えられる。

食事摂取基準において、30～49歳の身体活動レベルが「ふつう」の女性における総脂質の食事摂取基準は、400kcal/日以上 500kcal/日未満である。今回調査したチョコレートを一日に100g摂取すると284kcal～452kcalのエネルギー量となった。13銘柄中5銘柄がチョコレートの脂質のみで一日に摂取する総脂質の食事摂取基準を満たすこととなり、チョコレートからの脂質の過剰摂取に注意が必要であると考えられる。

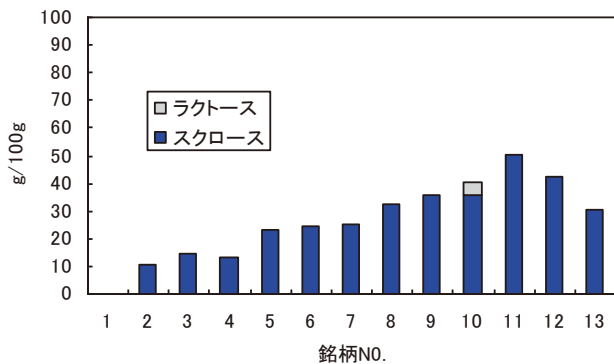


図4 糖類

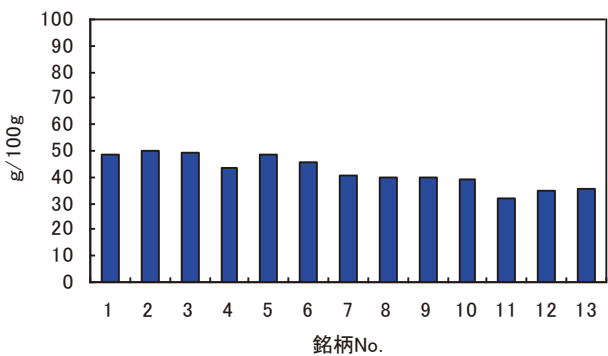


図5 脂質

まとめ

カカオ含有率の異なるチョコレートの成分等を比較したところ、チョコレート摂取において、薬理作用および栄養面から以下のとおり留意すべき点が示唆された。

薬理作用の面において、チョコレートを摂取することによりテオブロミンおよびカフェインについても体内に取り入れることになるため、テオフィリンを服用している人は、チョコレートの多量摂取や、高比率にカカオを含むチョコレートの摂取に注意が必要である。

栄養摂取面では、チョコレートは脂質によるエネルギーが高い食品であり、高比率にカカオを含むほどその傾向が

高いことがわかった。また、糖質については高比率にカカオを含むほどエネルギーへの影響は少ないが、銘柄によっては含有量が多く影響が高いものもあった。

今回調査したチョコレートの栄養表示および脂質量から、平成17年6月に農林水産省と厚生労働省が作成した「食事バランスガイド」<sup>10)</sup>中の菓子・嗜好飲料等から摂取するエネルギー、一日200kcalを目安にすると、チョコレートの摂取量は、一日約30gが目安となる。

ポリフェノールの効果のみに注目するのではなく、食事のバランスを考慮し、チョコレートを食生活に上手にとりいれたいと考える。

参考文献

- 1) 榊生活情報センター：食生活データ総合統計年報 2006, 「2005年10月調査, 全国iモードユーザーの男女対象」, 190 (2006)
- 2) 日本経済新聞デジタルメディア：「カカオ比率高いチョコが好調」, 「NEED」2006年2月8日記事
- 3) 国民生活センター, 平成12年5月：ポリフェノール含有食品の商品テスト結果, 51-52 (2000)
- 4) 新開発食品保健研究会監修：早わかり栄養表示基準, 153-157 (2006)
- 5) 荘村多加志：栄養表示のための成分分析のポイント, (財)日本食品分析センター, 65-73 (2007)
- 6) 荘村多加志：栄養表示のための成分分析のポイント, (財)日本食品分析センター, 17-19 (2007)
- 7) (財)日本医薬情報センター：JAPIC 医療用医薬品集 2009, 1492-1499
- 8) エーザイ(株)ホームページ：テオフィリン使用情報Q&A
- 9) Michelle Prewira, Sheryl A. Barringer, Effects of processing and ingredients on milk chocolate quality, *Food & Food Ingredients J. Jpn.*, **213**(8), 737-748
- 10) 農林水産省ホームページ：「食事バランスガイド」ってなに？～あなたの食事は大丈夫～

## 高速溶媒抽出を用いた畜産物中 残留農薬一斉分析法の効率化の検討

医薬食品部 医薬食品スタッフ

小郷沙矢香, 前田友幸, 影山知子  
 中島美穂, 前田有美恵, 西澤雅彦

Study of the Efficiency Improvement of Simultaneous Analytical Method  
 for Pesticide Residues in Livestock Product using Accelerated Solvent Extractor

Sayaka OGO, Tomoyuki MAEDA, Tomoko KAGEYAMA,  
 Miho NAKASHIMA, Yumie MAEDA and Masahiko NISHIZAWA

高速溶媒抽出装置 (Accelerated Solvent Extractor, 以下 ASE) は, 高温・高圧下で, さまざまな固体試料から分析の対象となる物質を溶媒抽出する装置である. 畜産物中の残留農薬一斉分析の効率化を図るため, 抽出法に ASE を用いて, 迅速化および自動化の検討を行った. その結果, ASE 法は抽出溶媒が削減され, 抽出時間の短縮および抽出操作の自動化により検査の省力化も図ることができた. また, 添加回収試験を行ったところ, 各試料とも約 8 割の農薬で回収率が 70~120% の範囲となり, 本法は, 効率的で迅速なスクリーニング法と考えられた.

Key words: 高速溶媒抽出装置, 一斉分析, 残留農薬, 畜産物

Accelerated Solvent Extraction, simultaneous analysis, pesticide residue, livestock product

### はじめに

高速溶媒抽出装置(ASE) (図 1) は, 高温・高圧下で, 様々な固体試料から分析の対象物質を効率よく溶媒抽出する装置である. 極性溶媒である水やメタノールから非極性溶媒のヘキサン等まで幅広い種類の溶媒を使用することができ, 装置の利点として, 抽出処理に係る全ての操作を自動で行うことにより, 操作工程のバラツキを抑えることが可能となる. また, 近年, 農産食品中の残留農薬分析への応用が検討されている<sup>1)~3)</sup>.

厚生労働省から通知されている「GC/MS による農薬等の一斉試験法(畜水産物)」<sup>4)</sup> (以下通知法)において, 抽出操作はホモジナイザーによる方法であるが, 畜産物の場合, 筋肉繊維やタンパク質などが刃の内部に入り込むため, その除去や刃の洗浄に多くの労力が必要となる.

そこで, ASE を用いて, 抽出法の迅速化および自動化を検討することにより, 畜産物中の残留農薬一斉試験の効率化を図った.

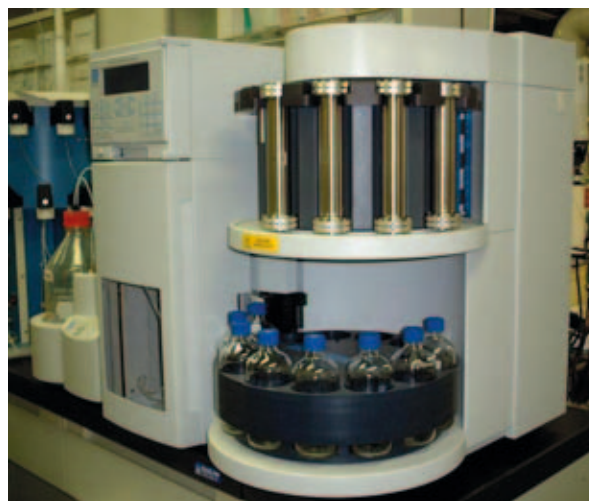


図 1 ASE 装置

### 分析方法

#### 1 試料

県内で流通されている畜産物のうち, あらかじめ農薬が残留しないことを確認した牛, 豚, 鶏の筋肉および脂肪を試料とした.

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

## 2 試薬等

標準品および標準液は市販の残留農薬分析用農薬標準品またはカスタム混合標準液を用い、その他の試薬については残留農薬分析用または特級を使用した。

固相抽出カラムは GL サイエンス社のエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500mg) (以下 PSA カラム) InertSep PSA 500mg/20mL を用いた。

## 3 検討対象農薬

有機リン系農薬 6 種 (クロルピリホス, クロルピリホスメチル, ダイアジノン, パラチオン, フェニトロチオンおよびメチダチオン), 有機塩素系農薬 17 種 ( $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,  $\delta$ -BHC, *op'*-DDT, *pp'*-DDD, *pp'*-DDE, *pp'*-DDT, アルドリン, エンドリン, クロルフェナピル, デイルドリン, トリフルラリン, フェンプロパトリン, ヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシド A およびヘプタクロルエポキシド B) の合計 23 種を対象とした。

## 4 標準添加試料の調製

細切した試料 20g (脂肪は 5g) に対し, 検討対象農薬 23 種の混合標準液をそれぞれ 0.1ppm になるように添加し, 標準添加試料を調製した。

## 5 装置および条件

### 1) ASE

抽出条件は農産食品からの残留農薬分析の報告<sup>2),3)</sup>を参考に, 以下のとおりとした。

装置: DIONEX 社製 ASE-300

抽出セル容量: 33mL

抽出溶媒: アセトン・ヘキサン(1:3)

オープン温度: 100°C

抽出圧力: 1500psi

セル昇温時間: 5min

静置時間: 5min

フラッシュ容量: 50%

### 2) ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC)

装置: 島津製作所製 LC-10Avp 高速液体クロマトグラフ分取システム

カラム: Shodex CLNpak EV-2000AC (20.0mm i. d. × 300mm)

ガードカラム: Shodex CLNpak EV-G AC (20.0mm i. d. × 100mm)

移動相: アセトン・シクロヘキサン(1:4)混液

流速: 5mL/min

カラム温度: 40°C

注入量: 5mL

モニター波長: 254nm

分取時間: 11.9~31.3分

3) GC/MS/MS

装置: バリアン社製 Varian CP-3800/1200

カラム: VF-5MS ( $\phi$  0.25mm × 30m, 0.25  $\mu$ m)

カラム温: 50°C (1min) - 25°C/min - 125°C - 10°C/min - 300°C (6min)

注入口温度: 260°C

イオンソース温度: 230°C

インターフェース温度: 280°C

注入法: パルスドスプリットレス (パルス圧: 40psi, 1min パージオフ時間: 1min)

注入量: 2  $\mu$ L

イオン化法: EI

MS 測定条件: MRM

## 6 試験溶液の調製

細切した試料 20g (脂肪は 5g) に, ハイドロマトリクス (珪藻土, バリアン社製) を適量加えて混合し, 試料全量を抽出セルに充填した (脂肪の場合はガラスビーズも詰め, 抽出セルの 8 割まで満たした)。この抽出セルをトレイに設置し, 5 の 1) の項に示す条件で抽出を行い, それぞれ抽出液を得た。有機層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し, 無水硫酸ナトリウムをろ別した。ろ液を 40°C 以下で濃縮し, 溶媒を除去した後, 残留物を 20mL (脂肪は 25mL) のアセトン・シクロヘキサン(1:4)混液に溶解した。

得られた溶液を毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離し, その上澄液 5mL を GPC 用カラムに注入し, アセトン・シクロヘキサン(1:4)混液で溶出した。溶出液をあらかじめアセトン・シクロヘキサン(1:4)混液でコンデショニングを行った PSA カラムにそのまま注入し, 全溶出液を合わせて濃縮し, 溶媒を除去した。残留物をアセトン・ヘキサン(1:1)混液に溶かし, 正確に 1mL (脂肪は 0.5mL) としたものを試験溶液とした。

## 結果および考察

### 1 GC/MS/MS 測定条件の検討

プリカーサーイオンは  $m/z$ 100 以上で高い感度が得られるものを選択し, コリジョンエネルギーを 5~40eV の範囲で変化させ, 相対的に高い感度が得られたイオンをプロダクトイオンとした。このプリカーサーイオン・プロダクトイオンの対は, 定量用と確認用として 2 セットずつ選択した。これらイオンの 3~6 項目を 1 グループとし, 合計 5 グループに分けて測定することにした。各農薬の保持時間および測定条件を表 1 に示した。

表1 農薬の保持時間および測定条件

セグメント	農薬名	保持時間 (min)	測定条件				
			定量イオン		確認イオン		コリジョンエネルギー(eV)
			Q1	Q3	Q1	Q3	
1	トリフルラリン	11.017	306 >	206	306 >	264	15
	α-BHC	11.632	219 >	145	219 >	183	20
	β-BHC	12.156	219 >	145	219 >	183	20
	γ-BHC	12.324	219 >	145	219 >	183	20
	ダイアジノン	12.383	179 >	137	304 >	179	20(10)
	δ-BHC	12.902	219 >	145	219 >	183	20
2	クロルピリホスメチル	13.422	286 >	241	286 >	271	30(25)
	ヘプタクロル	13.758	272 >	235	272 >	237	15
	フェントロチオン	14.038	277 >	109	277 >	260	10
	クロルピリホス	14.312	314 >	258	314 >	286	15
	アルドリン	14.503	263 >	193	263 >	228	30
	パラチオン	14.509	291 >	109	291 >	137	10
3	ヘプタクロルエポキシドB	15.263	353 >	263	353 >	282	15
	ヘプタクロルエポキシドA	15.324	183 >	119	183 >	155	10
	メチダチオン	15.632	145 >	58	145 >	85	15
4	pp'-DDE	16.340	246 >	176	246 >	211	25
	ディルドリン	16.495	263 >	193	263 >	228	25
	クロルフェナピル	16.553	247 >	227	328 >	247	25(20)
	エンドリン	16.886	263 >	193	263 >	228	25
5	op'-DDT	17.169	235 >	165	235 >	199	25(20)
	pp'-DDD	17.201	235 >	165	235 >	199	25(20)
	pp'-DDT	17.841	235 >	165	235 >	199	25(20)
	フェンプロバトリン	18.813	265 >	181	265 >	210	25(10)

\*( )内のコリジョンエネルギーは定量イオンと異なる場合に使用する確認イオン用のものである

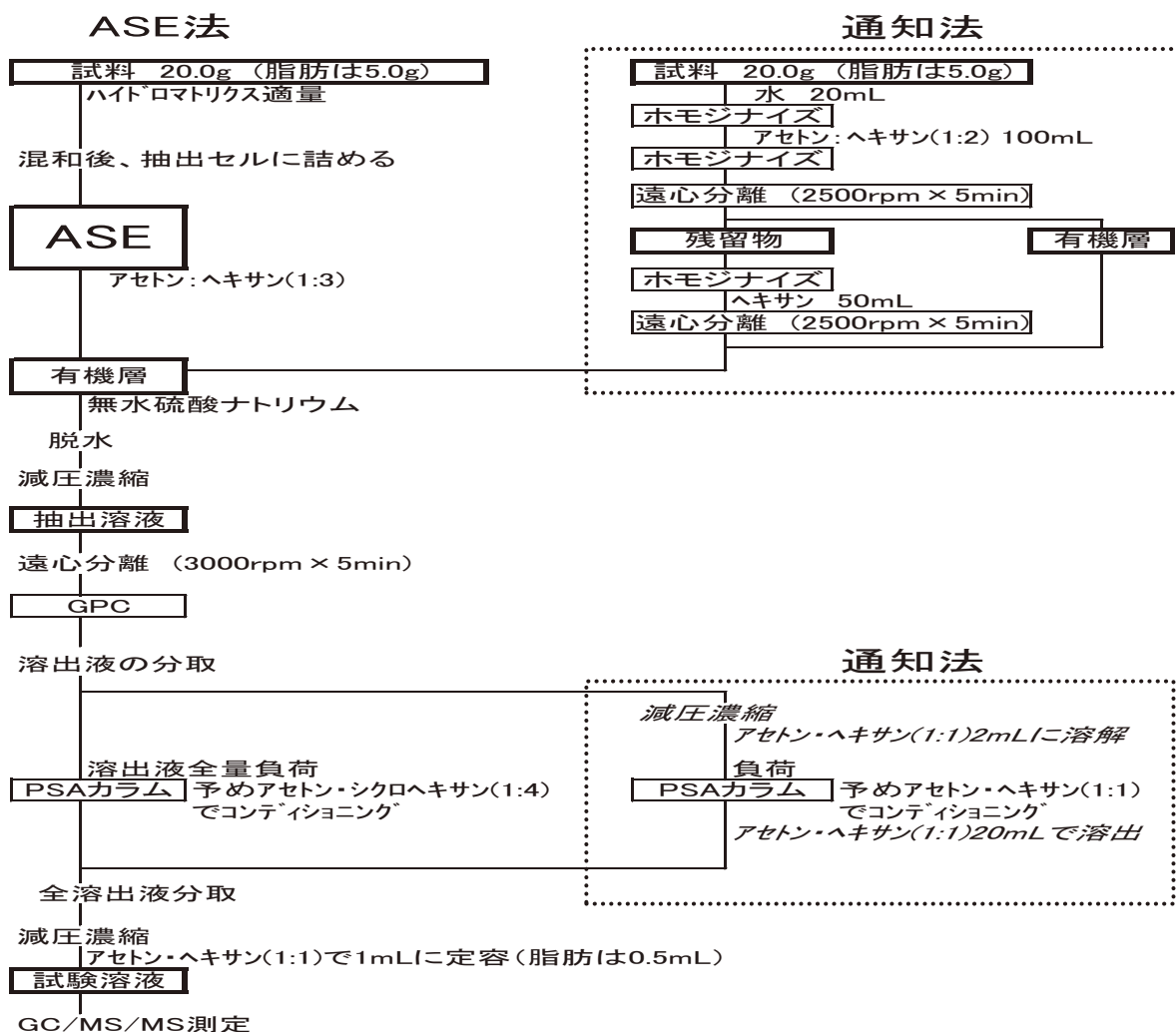


図2 ASE法および通知法による畜産物中残留農薬分析フローシート

## 2 抽出法について

ASE法と通知法の抽出方法の違いを図2に示した。有機溶媒使用量は、通知法では1検体に合計150mLが必要であるが、ASE法では5の1)の項の抽出条件下で約40mLであり1/3以下に減少した。また抽出時間は、通知法ではホモジナイズを3回と遠心分離を2回行うため1検体あたり約35分を要していたが、ASE法では約17~20分となり、操作時間も短縮した。さらに当所ではシャフト型のホモジナイザーを用いていたため、検体ごとに刃の洗浄が必要であり、多検体を処理する場合は極めて煩雑であった。ASE法ではこの操作が不要となり検査の省力化につながった。その上、すべての操作を自動で行うため、抽出時間中に次の工程の準備等を行うこと、また夜間運転もでき、効率的に検査を進めることが可能となった。

## 3 精製法について

本法はGPCからの溶出液をPSAに全量注入するため、通知法に比べ、カラム注入前の濃縮および乾固の手間を省略した方法である。

そこで、精製効果を通知法と本法で比較するため、豚の脂肪（ブランク試料）について、通知法のとおりPSAカラム処理した溶液と本法の最終溶液をGC/MS EI-Scanで測定した。

なお、通知法のPSAカラム処理は、GPC後の溶出液を濃縮し、アセトン・ヘキサン(1:1)混液2mLで溶かしたものを、予めアセトン・ヘキサン(1:1)混液10mLでコンデショニングしたPSAカラムに注入し、アセトン・ヘキサン(1:1)混液20mLで溶出させた。この溶出液の溶媒を除去し、残留物をアセトン・ヘキサン(1:1)混液に溶かし、正確に0.5mLとした(図2)。

豚の脂肪のGPC後の溶液(PSA精製前)を測定したトータルイオンクロマトグラム(TIC)を図3-1に示した。本法のPSA精製後のTIC(図3-2)ではPSA精製前の脂肪酸等の大きな夾雑ピーク(図3-1のa, b, cおよびd)は消失し、通知法のPSA精製後のTIC(図3-3)とほぼ同じパターンのクロマトグラムが得られた。

本法はカラム注入前の操作を省略しても十分な精製効果が得られ、精製法においても操作時間が短縮し、効率化を図ることができた。

## 4 添加回収試験

試料に対して各農薬の濃度が0.1ppmとなるように添加して行った回収試験の結果(n=3)を表2に示した。回収率は60.9~125.7%、相対標準偏差(RSD)は1.2~23.2%の範囲となった。このうち農薬23種中18種において、いずれの試料とも回収率が70~120%の範囲内でRSDが20%以下となり、良好な結果が得られ、本法はスクリーニング法としての活用が可能であると思われた。

### まとめ

畜産物中の残留農薬一斉試験の効率化を図るため、ASEを用いた抽出法を検討した。

ASE法は抽出時間の短縮および抽出操作の自動化により検査の省力化を図ることができた。また、このASE法は抽出溶媒が削減され、さらに密閉系での抽出であることから、ホモジナイズ法と比較して作業者への溶媒暴露が少ないことも期待できた。

精製法についても工程が省略され、検査全体が簡易化された。また添加回収試験の結果も良好であった。

以上から、本法は通知法に比較して効率的で迅速なスクリーニング法と考えられた。

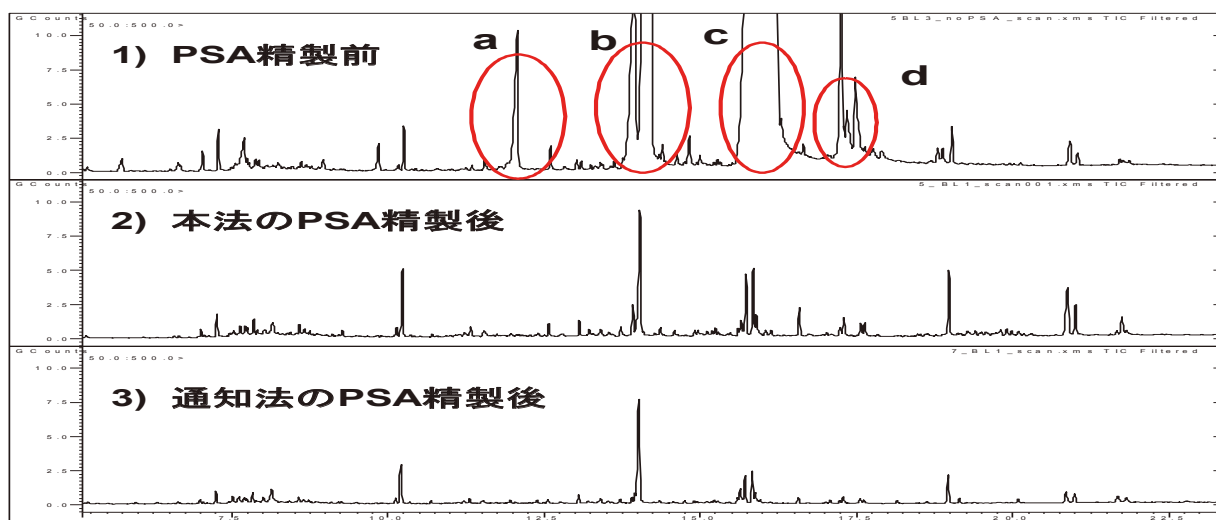


図3 本法と通知法の精製効果の比較 (TIC)



表 2 添加回収試験 (n=3) による回収率 (%) と RSD (%)

農薬名	牛の筋肉		豚の筋肉		鶏の筋肉		牛の脂肪		豚の脂肪		鶏の脂肪	
	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD
α-BHC	107.9	3.9	94.6	5.3	79.1	15.9	118.0	12.6	95.7	11.4	118.5	7.7
β-BHC	92.9	3.3	87.7	14.6	83.5	11.1	107.0	12.6	78.3	9.9	96.5	7.7
γ-BHC	95.5	2.0	92.5	7.4	83.9	13.1	105.7	14.3	76.3	2.7	89.3	6.6
δ-BHC	96.3	2.8	87.5	13.3	84.0	10.2	104.0	13.8	87.3	16.2	112.3	1.9
op'-DDT	65.5	4.1	69.0	12.4	63.1	4.2	70.3	11.9	72.0	21.8	62.5	1.6
pp'-DDD	66.3	4.4	69.3	15.6	60.9	2.0	70.3	11.9	74.0	23.2	64.7	2.5
pp'-DDE	75.3	4.6	75.2	11.0	71.7	2.7	82.3	12.6	74.8	16.4	73.8	2.4
pp'-DDT	73.9	6.1	76.9	14.5	62.7	9.7	76.3	9.9	78.7	18.6	70.8	2.5
アルドリソ	100.2	11.6	89.4	4.6	111.8	7.1	104.3	10.6	82.3	8.7	77.7	16.5
エンドリン	90.3	5.8	91.5	13.8	114.7	1.5	97.3	10.6	84.7	19.3	83.0	16.2
クローピリホス	101.8	8.7	87.0	12.0	100.4	4.3	112.0	10.2	84.0	7.0	97.3	6.6
クローピリホスメチル	117.5	8.4	98.4	9.7	109.3	8.7	120.0	14.7	92.5	19.6	119.3	7.1
クローフェナピル	78.0	4.4	77.1	16.2	104.2	2.3	85.3	14.6	64.2	19.6	62.2	17.3
ダイアジノン	111.6	4.2	99.7	7.8	90.6	8.8	125.7	9.8	98.0	6.5	116.0	4.9
ディルドリン	80.7	2.9	82.3	13.6	105.6	3.4	91.3	10.6	88.5	11.0	72.5	5.4
トリフルラソ	88.9	6.5	79.3	8.0	102.0	18.5	103.7	13.9	113.3	3.1	119.8	11.5
パラチオン	98.5	7.8	89.3	9.8	83.9	6.8	102.0	10.5	89.8	8.0	98.8	2.9
フェニトロチオン	113.8	9.8	97.2	9.4	99.0	6.2	119.7	10.3	92.0	14.1	89.8	5.8
フェンプロパトリン	74.1	7.4	74.0	15.2	88.7	1.2	75.7	10.8	85.2	19.7	79.3	7.8
ヘプタクロル	97.8	8.6	88.9	6.5	107.3	15.9	105.7	11.0	90.8	4.1	112.0	3.5
ヘプタクロルエポキシドA	91.1	5.1	88.7	7.1	88.6	5.4	94.7	11.5	70.7	9.0	71.2	2.8
ヘプタクロルエポキシドB	87.3	8.0	83.9	9.0	70.0	12.7	96.3	7.9	78.2	4.8	74.3	7.4
メチダチオン	95.1	6.4	84.5	13.4	95.2	2.5	111.0	9.6	91.7	4.5	93.8	5.7

\* 数値は n=3 の平均値

## 文 献

- 1) 日本ダイオネクス(株)広報宣伝課:高速溶媒抽(ASE)法による食品中残留農薬の抽出, ダイオネクス ASE レポート, AS005-0059 (2002)
- 2) 横山玲子他:農産食品中の残留農薬一斉分析法における高速溶媒抽出法の予備的検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 48, 45-50 (2005)
- 3) 寺田久屋他:LC/MS/MS による加工食品中のカルバメート系農薬分析法, 食品衛生学雑誌, 47, 3, 125-135 (2008)
- 4) 平成 17 年 11 月 29 日付け食安発第 1129002 号「食品に残留する農薬, 飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について(一部改正)」



## 静岡県内の河川の各種受容体導入酵母アッセイ による内分泌かく乱活性の評価

環境科学部環境科学スタッフ 今津佳子, 金子亜由美, 河合 渉  
 独立行政法人国立環境研究所 白石不二雄, 中島大介, 鎌田 亮

Evaluation of Endocrine Disrupting Activities on Multiple Receptor of River Water Samples  
 in Shizuoka Prefecture Measured by Recombinant Yeast Assays

Yoshiko IMAZU, Wataru KAWAI, Ayumi KANEKO,  
 Fujio SHIRAIISHI, Daisuke NAKAJIMA and Ryo KAMATA

エストロゲン受容体等を導入した遺伝子組換え酵母を用い、発現するレポーター酵素を化学発光測定法により計測する酵母アッセイ法は、化学物質の当該受容体への結合活性を簡便かつ迅速に測定できる手法で、水環境試料に対しても、フロリジルカラムを用いる簡単な分画操作により活性妨害物質を分離して測定することが可能となり、簡便かつ鋭敏な環境測定用アッセイ系として、内分泌かく乱活性の測定に有効であることが示された。

そこで、本法を用い、静岡県内ほぼ全域の河川水の内分泌かく乱活性を明らかにすることを目的として県内 32 河川についてヒト・エストロゲン受容体 (hER), メダカ・エストロゲン受容体 (medER), レチノイン酸受容体 (RAR) およびアリルヒドロカーボン受容体 (AhR) への結合活性を平成 19 年～20 年に調査した。その結果、県内平均値は、白石らが実施した全国調査 (平成 19 年; 13 都道府県 80 河川や平成 20 年; 16 都道府県 106 河川) の平均値と比べ同程度～1/3 以下であった。また、hER, medER および AhR に対する結合活性が県内でも高めであったばう僧川流域について別途調査したところ、一部を除き、下流部に比べ上流部において高い活性が認められた。

Key words: バイオアッセイ, エストロゲン受容体, レチノイン酸受容体, アリルヒドロカーボン受容体  
 bioassay, estrogen receptor, retinoic acid receptor, aryl hydrocarbon receptor

### はじめに

化学物質による内分泌かく乱作用が生態系へ与える影響の有無が注目されてからこれまで、化学物質の内分泌かく乱活性を測定する様々な方法が試みられてきた<sup>1,2)</sup>。hER 遺伝子や medER 遺伝子等を導入した酵母を用いた化学発光測定法により計測する白石らが改良した酵母アッセイ法<sup>1-4)</sup>は、簡便かつ迅速に受容体に対する化学物質の結合活性を測定できる手法として注目され、既にその手法により数百の化学物質のエストロゲン受容体結合活性が測定・公表<sup>4,5)</sup>されている。一方、環境試料の測定においては、特定の化学物質のみによる作用は想定しがたく、複数の化学物質が多重

的に作用して促進される場合や、逆に試料に含まれる化学物質の毒性やアンタゴニスト活性の影響を受け、アゴニスト活性が抑制される場合があり、単一の固相抽出法だけでは本来目的とするアゴニスト活性を測定・評価することは困難であった。

しかし、フロリジルカラムを用いた簡便な分画操作を適用することにより、環境試料に含まれるアゴニスト活性の妨害物質の影響を排除し測定を行うことが可能であることが白石らにより報告された<sup>4,7,8)</sup>。

そこで本研究では、静岡県内ほぼ全域の河川水の内分泌かく乱活性をバイオアッセイにより明らかにすることを目的としてフロリジル分画法を用いて県内 32 河川について hER, medER, RAR および AhR への結合活性を調査した。

### 調査方法

#### 1 試料採取

図 1 に示す県内 32 河川の末端を調査地点とし、平成

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)





図1 調査対象河川

19年9～11月および平成20年6～9月に各河川の表流水を採取した。また流域調査として、ぼう僧川末端および上流部の計6地点(図6参照)を平成20年12月に採取した。試料水は1Lずつ3本のガラス瓶に取り4℃で保存した。

2 測定方法

1) 試薬・器具

- メタノール, ヘキサン, ジクロロメタンおよびアセトン: 残留農薬・PCB試験用(濃縮5000)
- ジメチルスルホキシド: 蛍光分析用
- ガラス繊維ろ紙: グレードGF/C, (直径47mm, ワットマン製)
- 固相ディスク: エムポアディスク C18FF(直径47mm, 3M製)

フロリジルカラム: ボンドエルト-FL(500mg/3ml, バリアン製)

2) 固相抽出

1Lの試料水を, ガラス繊維ろ紙を用いてろ過して懸

濁物質を除去し, 10mlの酢酸:メタノール:水(1:9:90)を加え液性を酸性側にした。

続いて, あらかじめメタノール 20ml および蒸留水 20ml でコンディショニングした固相ディスクに吸引マニホールドを用いて通水した。固相ディスクは精製水で洗浄し, 38℃で1.5時間乾燥後, -20℃以下で冷凍保存した。固相ディスクからの溶出にあたっては, 再度38℃で乾燥し, メタノール3mlで2回溶出し, 溶出液を窒素気流下で濃縮乾固した(以下, C18-MeOH 試料という)。

3) フロリジルカラムによる分画調製

C18-MeOH 試料をヘキサン:ジクロロメタン(3:1)約1mlに溶解・懸濁させ, フロリジルカラム(コンディショニング条件:ヘキサン約2.5ml×2回)に重層後, まず, ヘキサン:ジクロロメタン(3:1)約2.5mlで2回溶出し極性の低い画分を得た。次に, 10%アセトン・ジクロロメタン溶液約2.5mlで2回溶出し, 中程度の極性の画分を得, 最後に, メタノールで溶出し, 極性が比較的高い画分を得た(以下 FL-MeOH 画分という)。それぞれの画分は, 窒素気流下で濃縮乾固し, 活性測定時にジメチルスルホキシドに溶解して用いた。

4) 受容体結合活性の測定

hER 結合活性は hER 遺伝子導入酵母アッセイ(hER Y. A.)<sup>2-4,6)</sup>, medER 結合活性は medER 遺伝子導入酵母アッセイ(medER Y. A.)<sup>2,4,9)</sup>, RAR 結合活性は RAR 遺伝子導入酵母アッセイ(RAR Y. A.)<sup>10)</sup>, そして AhR 結合活性は AhR 遺伝子導入酵母アッセイ(AhR Y. A.)<sup>10,11)</sup>による白石らの方法で測定した。このうち hER Y. A., medER Y. A. および RAR Y. A. は酵母ツーハイブリッド・アッセイ法に分類される<sup>10)</sup>。また, 一般毒性を発光細菌毒性試験<sup>3,12)</sup>により測定した。

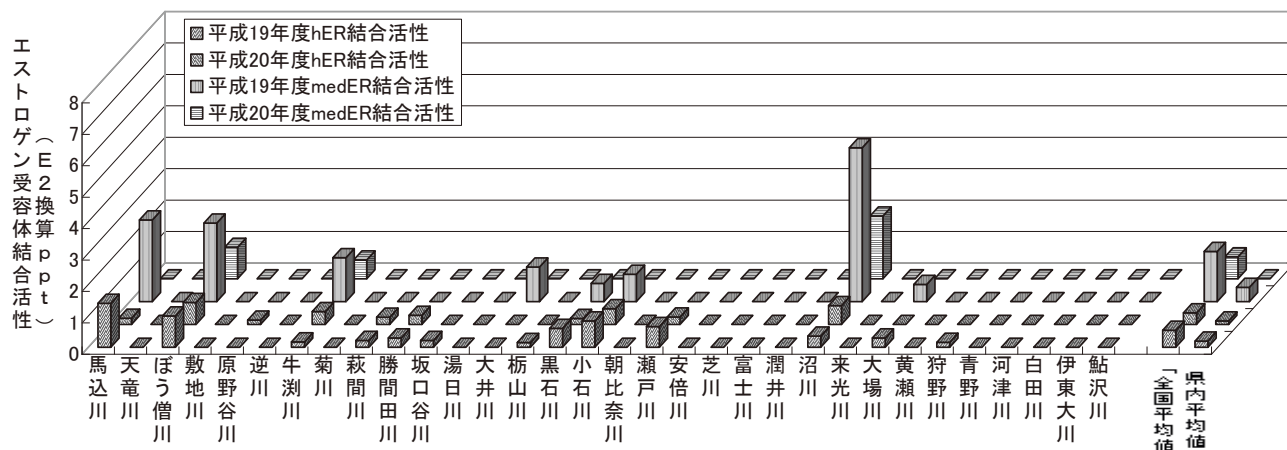


図2 各河川の hER 結合活性および medER 結合活性

## 結果と考察

### 1 河川ごとの各種受容体結合活性

本調査と同年度に、白石らは13都道府県80河川(平成19年度)<sup>10)</sup>～16都道府県106河川(平成20年度)について同様の受容体結合活性の調査(以下、「全国調査」という)を実施している。「全国調査」の結果およびその平均値(以下、「全国平均値」という)と比較検討して県内32河川の結果を評価した。

#### 1) エストロゲン受容体結合活性

図2に今回調査した32河川個々のhER結合活性およびmedER結合活性を県内平均値と「全国平均値」とともに示した。活性は17β-エストラジオール(E2)に換算したppt (ng/L)濃度で示した。

二年間のべ64地点で、hER結合活性の検出率は36%、medER結合活性の検出率は17%だった。また、県内平均値を同年度の「全国平均値」と比較すると1/3～1/2以下であった。県内河川の結果を生物への影響という観点から評価すると、単純にそのまま比較することはできないが、鱧迫によるメダカに対するE2の暴露実験の結果<sup>13)</sup>から推測すると、メス化の指標のひとつであるピテロジェニンの誘導を引き起こす濃度レベルではないと考えられる。

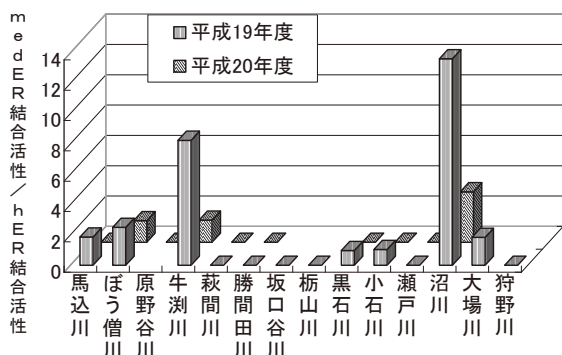


図3 hER結合活性に対するmedER結合活性の比

#### 2) hER結合活性に対するmedER結合活性の比

hER Y. A. と medER Y. A. を併用する利点として、hER Y. A. は、medER Y. A. に比べて内因性のリガンド(受容体等に特異的に結合する物質)のE2に約4倍鋭敏に応答するアッセイ系であり、逆にmedER Y. A. はノニルフェノール、ビスフェノールA等工業系エストロゲン様物質や植物エストロゲン等の外因性のリガンドに対して鋭敏に応答する<sup>2,9)</sup>。そのため、同一試料で、medER結合活性がhER結合活性に比べ高い場合は、外因性リガンドが含まれている可能性が高いことが推察される。

そこで、hER結合活性が検出された地点についてhER結合活性に対するmedER結合活性の比を図3に示した。

図2および図3に示した各河川のER結合活性の結果から、河川の特徴を以下のように分類できた。

- ① 外因性リガンドが存在する可能性がある河川  
沼川, 牛久保川, ぼん僧川, 馬込川および大場川
- ② 内因性リガンドが主である可能性がある河川  
黒石川, 小石川および瀬戸川
- ③ hER結合活性がmedER Y. A. の検出下限値未満でどちらともいえない河川  
原野谷川, 萩間川, 勝間田川, 坂口谷川, 栃山川および狩野川

#### 3) RAR結合活性

図4に今回調査した32河川のRAR結合活性を県内平均値および「全国平均値」と共に示した。

活性は全トランスレチノイン酸(ATRA)濃度に換算し、pptで示した。

二年間のべ64地点でのRAR結合活性の検出率は52%だった。また、県内平均値は同年度の「全国平均値」と比較すると1/2以下であった。

RARに対するリガンドの一つであるATRAは、胎児期における過剰な曝露により奇形を引き起こすことが知られている<sup>14)</sup>。また、様々な工業系化学物質がRAR結

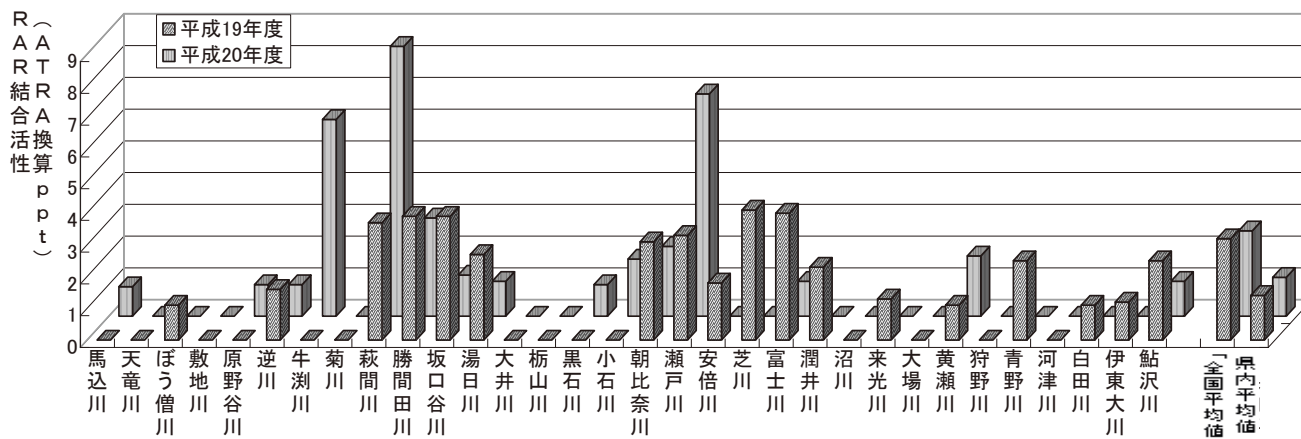


図4 各河川のRAR結合活性

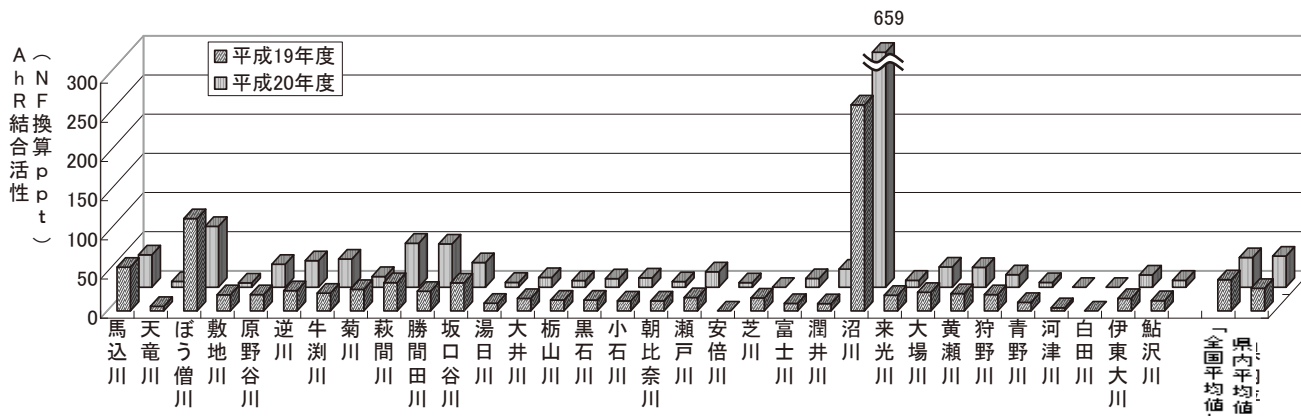


図5 各河川のAhR結合活性

合活性を有することが Kamata らにより報告されている<sup>15)</sup>。一方、白石らによる平成19年度の「全国調査」の結果では、河川中の藻類からRAR結合活性を有する物質が遊離していることも示唆されている<sup>10)</sup>。

#### 4) AhR結合活性

図5に今回調査した32河川のAhR結合活性を県内平均値および「全国平均値」とともに示した。活性はβ-ナフトフラボン(NF)濃度に換算し、pptで示した。

二年間のべ64地点でのAhR結合活性の検出率は92%だった。また、県内平均値は同年度の「全国平均値」と比較すると同程度か、それ以下であった。

AhRは、薬物代謝酵素(チトクロームP450等)の誘導に関連する受容体であり、現在のところ内因性リガンドが不明であるが、種々の芳香族多環炭化水素が結合活性を示し<sup>16)</sup>、ダイオキシン類が強い結合親和性を示すことから別名ダイオキシン受容体とも言われている。また、生体試料から見出されたインディルビンやこの物質に構造が類似した藍染料成分のインジゴもこの受容体に対しダイオキシン類に匹敵する結合活性を有している<sup>17)</sup>ことが知られている。

## 2 「県内上位」の活性が検出された河川の状況について

県内32河川の活性は、県内5位以内でも「全国平均値」未満の場合があり、その場合は活性が高いとはいえないと考えられる。そのため、受容体の種類ごとに『結合活性が①2年連続で県内5位以内、かつ②同年度の白石らによる「全国平均値」を超えた』河川を「県内上位」の河川と位置づけ、それらの河川の状況と活性の関係について考察する。

### 1) 馬込川について

当河川はAhR結合活性が「県内上位」であった。

その原因ははっきりしないが、県西部地区は、輸送機械関連産業や繊維産業が盛んであり、当河川には直接または下水処理場を経由して処理水の流入がみられ

る。

なお、この河川は、AhR結合活性が「県内上位」であった他の河川と同様に、ダイオキシン類特別措置法に基づき、定期的にダイオキシン類の測定がおこなわれており、平成19年度の結果では、いずれの河川の水質も環境基準値1pg-TEQ/L未満であった<sup>18)</sup>。

### 2) 萩間川について

この河川はRAR結合活性が「県内上位」であった。

RAR結合活性については、「全国調査」において藻類から遊離するとされた活性<sup>10)</sup>と同様に当河川でもFL-MeOH画分から検出されている。活性が「県内上位」となった原因は活性物質が特定できていないため不明だが、流域では茶の生産が盛んで、農業用のため池や製茶工場、清涼飲料水の工場等もある。

### 3) 勝間田川について

この河川はRAR結合活性が「県内上位」であった。

萩間川と同様、この活性はFL-MeOH画分に検出されている。活性が「県内上位」となった原因は不明だが、流域は、茶の栽培が盛んで、農業用のため池や製茶工場等がある。

### 4) 小石川について

当河川はhER結合活性が「県内上位」であった。

hER結合活性を示すE2等の内因性リガンドは、尿中に排泄され、下水処理場等の処理水からも検出される<sup>19)</sup>。

採水地点の上流域(支流含む)に、下水道未整備地域がある。hER結合活性とmedER結合活性の比から考えて、このhER結合活性の大部分は、浄化槽等の汚水処理施設由来の内因性リガンドによるものと考えられる。

### 5) 沼川について

当河川はmedER結合活性およびAhR結合活性が「県内上位」であった。

採水地点は製紙工場を中心とした工業地帯に位置し、medER結合活性として強い活性を示すビスフェノール

A等の物質がたびたび検出されている。ビスフェノールAは、渡邊らの調査において、西暦1999年以前に製造された感熱紙に多く含まれ、古紙再生工場の放流水から検出される場合が指摘されている<sup>20-22)</sup>。hER結合活性とmedER結合活性の比から考えて、この河川には、工場からの処理水に存在するエストロゲン受容体に対する外因性リガンドが流入していることが考えられる。

AhR結合活性については、当河川は感潮河川であり、採水地点では、満潮時に川をさかのぼった田子の浦港の海水や富士地域の工業地帯の専用排水路である岳南排水路沼川吐口からの水の影響を受けやすい。そのため、製紙工場を中心とした工場の放流水に含まれる各種化学物質が流入して高い活性を示すに至ったと考えられる。平成19年度の「全国調査」においても、最高レベルの活性を示した河川は、製紙工場放流水の影響を受けている河川であった<sup>10)</sup>。

なお、当河川の水質も、ダイオキシン類の環境基準値は下回っている<sup>19)</sup>。

#### 6) ぼう僧川について

当河川はhER結合活性、medER結合活性およびAhR結合活性が「県内上位」であった。

採水地点の上流域(支流含む)に、下水道未整備地域があり、これらの地域の水洗化は浄化槽が担っている。また、ぼう僧川の支流である旧ぼう僧川には、流域下水道の放流水も流入し、上流部には工業団地や単独の工場の処理水が流入している。

hER結合活性とmedER結合活性の比から推測すると、エストロゲン受容体に対する内因性リガンドと外因性リガンドの両方を含むと考えられる。

当河川のAhR結合活性については、馬込川と同様に当河川も県西部に位置し、流域では輸送機械関連産業および繊維産業が盛んであり、この河川に直接または下水処理場を経由して処理水の流入がみられる。

なお、当河川もダイオキシン類の水質測定結果は環境基準値を下回っている<sup>18)</sup>。

#### 7) ぼう僧川流域調査について

hER結合活性、medER結合活性およびAhR結合活性の3種類の受容体に対する結合活性が「県内上位」であったぼう僧川について、流域の末端および上流部の計6地点で4種類の受容体に対する結合活性を別途調査した。流域調査地点の位置関係の略図を図6に、各受容体への結合活性を表1に示した。

上流部では、一部を除き6月に採水したぼう僧川末端の採水地点の活性に比べ、高めの数値を示した。なお、採水時に流量は測定していないが、前年度の12月の公共用水域の水質測定時の結果では、地点Bの約

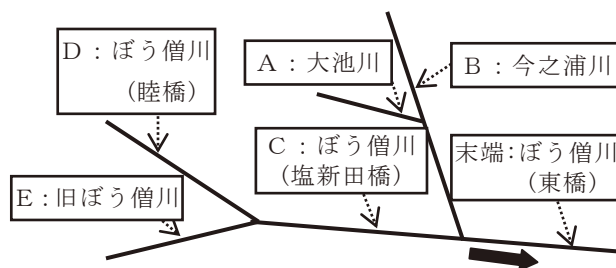


図6 ぼう僧川流域調査地点の位置関係略図

表1 ぼう僧川上流部河川水の受容体結合活性

採水地点	採水月	hER結合活性 (E2換算 ppt)	medER結合活性 (E2換算 ppt)	RAR結合活性 (ATRA換算 ppt)	AhR結合活性 (NF換算 ppt)
末端	6月	0.7	1.0	<0.8	78
	12月	0.3	2.5	0.6	90
A	12月	0.7	2.7	12	140
B	12月	0.5	3.2	1.3	108
C	12月	0.7	2.7	1.3	150
D	12月	1.2	3.1	0.9	176
E	12月	4.1	7.2	1.6	70

1km上流側の水質測定地点とぼう僧川末端の水質測定地点での流量の比は1:6程度であった<sup>23)</sup>。

最も上流側の地点Dは、AhR結合活性が6地点中最も高かった。この上流側に工場からの放流水が流入する支流があり、これらの放流水の影響を受けていると考えられる。

地点Eは、AhR結合活性は河川末端とあまり変わらなかったが、hER結合活性とmedER結合活性が最も高く、県内32河川の最大値を超えていた。この地点は流域下水道および都市下水路の放流水の流入地点の上流だが、放流口との距離が近い影響を受けている可能性がある。

支流にある地点Bと本流にある地点Cは活性の傾向が似ているが、地点CのほうがややAhR結合活性が高めであった。

地点Aは、RAR結合活性が6地点中最も高く、同年度の県内32河川の最大値を超えていた。活性の原因は不明だが、採水地点は農業地帯の下流部であり、採水時には流量が少なかった。

#### まとめ

静岡県内ほぼ全域の河川水の内分泌かく乱活性を明らかにすることを目的として県内32河川についてhER、medER、RARおよびAhRへの結合活性を調査した

その結果、県内32河川の末端付近の活性の平均値は、



同年度の「全国平均値」と比較して同程度～1/3 以下であった。活性が「県内上位」の6河川について、流域の状況と活性の関係について考察を試みた。

また、hER 結合活性, medER 結合活性および AhR 結合活性の3種類の受容体に対する結合活性が「県内上位」であったぼう僧川流域について別途調査したところ、一部を除き、下流部より上流部で活性が高めであった。

今後、ぼう僧川の上流部で試料採取を行い、受容体結合活性を有する物質を検索する計画である。

## 文 献

- 1) 白石不二雄：内分泌攪乱物質の環境計測手法としてのバイオアッセイ, 全国環境研会誌, **27**, 4, 214-219 (2002)
- 2) 国立環境研究所編集委員会編：環境ホルモンの新たな計測手法の開発と環境動態に関する研究（内分泌攪乱化学物質総合対策研究）平成 11～13 年度, 25-50, 独立行政法人 国立環境研究所, 茨城 (2002)
- 3) 白石不二雄他：酵母 Two-Hybrid System による簡便なエストロゲンアッセイ系の開発, 環境化学, **10**, 1, 57-64 (2000)
- 4) 国立環境研究所編集委員会編：内分泌かく乱化学物質及びダイオキシン類のリスク評価と管理プロジェクト（終了報告）平成 13～17 年度, 5-17, 独立行政法人 国立環境研究所, 茨城 (2006)
- 5) 化学物質エストロゲン活性データ Ver.1—ラット肝 S9 代謝試験を含むアゴニストとアンタゴニスト試験結果—291 化学物質—, <http://www.nies.go.jp/archiv-edc/estrogen/index.html>
- 6) 深澤均他：酵母ツーハイブリッド・アッセイ法におけるエストロゲン活性測定の環境水質への応用, 全国環境研会誌, **27**, 4, 233-239 (2002)
- 7) 白石不二雄他：環境水のエストロゲン活性モニタリングのための新しい試料調製法の提案, 第 15 回環境化学討論会講演要旨集, 492-493, (2006)
- 8) 深澤均他：製紙工場排水のエストロゲン活性測定におけるフロリジルカラム処理の効果とその要因, 第 15 回環境化学討論会講演要旨集, 496-497, (2006)
- 9) 白石不二雄他：メダカのエストロゲン受容体遺伝子導入酵母を用いるエストロゲンアッセイ法の水環境試料への適用, 第 12 回環境化学討論会講演要旨集, 58-59 (2003)
- 10) 白石不二雄他：In vitro バイオアッセイを用いる河川水の曝露モニタリングに関する基礎的研究—その 1；日本の 13 都道府県 80 河川水試料の調査—, 第 17 回環境化学討論会講演要旨集, 594-595, (2008)
- 11) Miller, C.A. III : Expression of the Human Aryl Hydrocarbon Receptor Complex in Yeast, J. Biol. Chem., **272**, 52, 32824-32829 (1997)
- 12) 白石不二雄他：酵母を用いたエストロゲン・アンタゴニストアッセイ系の開発と有機スズへの応用, 環境化学, **11**, 1, 65-73 (2001)
- 13) 鎌迫典久：内分泌攪乱作用の計測手法としての水生生物（メダカ）を用いる in vivo バイオアッセイ, 全国環境研会誌, **27**, 4, 220-226 (2002)
- 14) Rothman, K. J. et al : Teratogenicity of High Vitamin A Intake, The New England J. of Medicine, **333**, 21, 1369-1373 (1995)
- 15) Kamata, R. et al. : Screening and detection of the in vitro agonistic activity of xenobiotics on the retinoic acid receptor, Toxcol. In vitro, **22**, 4, 1050-1061 (2008)
- 16) 八木孝司他：酵母を用いた哺乳動物の多環芳香族炭化水素応答系の構築, 環境変異原研究, **25**, 61-67 (2003)
- 17) Adachi, J. et al : Indirubin and Indigo Are Potent Aryl Hydrocarbon Receptor Ligands Present in Human Urine, J. Biol. Chem., **276**, 34, 31475-31478 (1997)
- 18) 静岡県県民部環境局生活環境室：平成 19 年度 大気汚染及び水質汚濁等の状況, 87-93 (2008)
- 19) 国土交通省都市・地域整備局下水道部：平成 12 年度 下水道における内分泌攪乱化学物質に関する調査報告書(案), 17-25 (2001)
- 20) 渡邊雅之他：離解処理により古紙から発生するビスフェノール A 等の化学物質の分析とエストロゲン活性, 環境化学, **14**, 1, 65-71 (2004)
- 21) 渡邊雅之他：田子の浦港における水質中の感熱紙由来の化学物質の濃度, 第 14 回環境化学討論会講演要旨集, 112-113 (2005)
- 22) 渡邊雅之他：BPA およびその代替物質の環境中挙動の解析, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **49**, 77-82 (2006)
- 23) 静岡県県民部環境局生活環境室：平成 19 年度 静岡県公共用水域及び地下水の水質測定結果, 271-272, 静岡県県民部環境局生活環境室, 静岡 (2008)

# 地下水汚染時に必要な地域の資料収集・整理と汚染の予測 —富士山周辺の資料収集とモデル化—

環境科学部 環境科学スタッフ 村中康秀

Collecting and Organizing Data on a Regional Scale for Simulation of Groundwater Pollution

Yasuhide MURANAKA

富士山周辺の地域を対象に降水量、涵養量、地下水位、地質、汚染事例等のデータを収集し、富士山周辺地域の地下水流動の概要を明らかにするとともに、地下水流動解析により現状あるデータの問題点を抽出した。

富士山周辺地域に関する資料は多くあると考えられているが、地下水流動に関するものは多いとは言えない。今回、富士山周辺における地下水流動解析により実測地下水位と汚染事例の再現ができたが、高標高部における降水量、涵養量、地下水位、富士山西麓における地質についての情報が少ないことが明らかとなり、引き続き詳細な研究調査が必要と考えられた。

Key words: 地下水汚染, シミュレーション, 富士山  
Groundwater pollution, Simulation, Mt. Fuji

## はじめに

これまで、静岡県において、有害物質による地下水汚染事例が多数あり、特に有機塩素系化合物については、詳細な調査（地下水定点調査）が行われている。初期の汚染発

生時には、汚染に関するデータが少なく、モデル化が困難と考えられていた。しかし、現在では、汚染発生から時間が経過し、時系列データを含め多くのデータが集積されてきている。



図1 地下水採取規制地域と地下水汚染地域

静岡県環境衛生科学研究所  
(〒420-8637, 静岡市葵区北安東4-27-2)  
Shizuoka Institute of Environment and Hygiene  
(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

また県内11カ所の地下水利用対策協議会で安全揚水量の妥当性や塩水化対策のため、年1カ所の割合で地下水利用実態調査を実施し、地質、地下水位のデータを基に地下水



流動解析を行っている。なお、これらの協議会は「静岡県地下水の採取に関する条例」による条例指定地域と自主的に協議会を設置し地下水の適正利用を図っている自主規制地域がある。

図1にこれまでの静岡県における有害物質による地下水汚染事例<sup>1)</sup>の位置と地下水の適正利用を図っている地域<sup>2)</sup>を示す。有害物質による地下水汚染地域と地下水利用規制地域が重複する地域もある。

本研究では、以前にはモデル化が困難と考えられた地域において、関連データを収集し、地下水の流動についてモデル化し検討を行うこととした。

ここでは、富士山周辺の地域を対象に降水量、涵養量、地下水位、地質、汚染事例等のデータを収集し、富士山周辺地域の地下水流動の概要を明らかにするとともに、地下水流動解析により現状あるデータの問題点を抽出した。

## 調査方法

### 1 富士山周辺地域の水循環に関する資料収集

#### 1) 富士山周辺地域の現状

富士山周辺の生活・産業は富士山に蓄えられた豊かな地下水・湧水に依存しており、生活用・産業用のほとんどの用水を地下水から取水している。またその良質かつ豊富な地下水が、住民生活を支え富士市における製紙業など地域産業を支える基幹的要素となっている。

西・南麓は人口38万人<sup>3)</sup>で、生活用水14万トン/日<sup>4)</sup>、工業用水52万トン/日<sup>5)</sup>となっている。東麓は人口53万人<sup>3)</sup>で生活用水23万トン/日<sup>4)</sup>、工業用水23万トン/日<sup>5)</sup>となっている。この他に養魚用水、農業用水がある。生活用水では西・南・東麓において地下水にほぼ全量依存している。工業用水では西・南麓においては55%<sup>5)</sup>、東麓においてはほぼ全量地下水に依存<sup>5)</sup>している。なお工業用水における地下水依存率は、日本平均では25%<sup>6)</sup>であり、本県では55%<sup>5)</sup>である。

当地域は立地・利便性に優れるため企業進出が続いており、これに伴い地下水の新たな需要が見込まれている。

最近10年間で西・南・東麓124,773haのうち、涵養域である農地や森林3,996ha減り、宅地等となっている<sup>7,8)</sup>。

昭和35年から始まった地下水の過剰揚水に伴う岳南地域の塩水化は「地下水の採取の適正化に関する条例」（昭和43年）、「静岡県地下水の採取に関する条例」（昭和53年）により進行が改善傾向にあるものの解消には至っていない<sup>2)</sup>。

ない<sup>2)</sup>。

地下水以外の供給源確保のため、昭和40年頃、富士市内には、東駿河湾工業用水道、富士川工業用水道の2つの工業用水道、三島市周辺では柿田川工業用水道が敷設され、それぞれ70万トン/日<sup>9)</sup>、10万トン/日<sup>10)</sup>が供給されている。

富士山周辺での湧水量の減少は継続し、湧水64箇所のうち37箇所が枯渇し<sup>11)</sup>、周辺住民の洗濯場や神社、親水公園の湧水池の枯渇が見られている。

#### 2) 水文気象環境

##### ① 降水量

富士山とその周辺地域の降水量分布についてはいくつかの観測・研究例がある。図2は30ヶ年平均の年降水量の分布<sup>12)</sup>を示したものである。御殿場を中心とした富士山の東麓、天守山地の東～南東側斜面において降水量が特に多い。富士山の南麓や西麓での降水量も比較的多いが、対照的に河口湖から富士吉田にかけての北麓では少ない傾向である。東麓の標高500m以上の地域での年降水量は2,750mmを超えており、特に標高1,250m付近の太郎坊では4,850mm/年とされている<sup>13)</sup>。山頂付近の年降水量は3,000mmを超えていると言われていた<sup>14)</sup>、強風のため雨滴の捕捉が難しく、その正確な値については現在のところ不明であり富士砂防事務所等で検討されている<sup>15,16)</sup>。

山麓の代表的地点の降水量観測結果がまとめられている



図2 富士山とその周辺地域における年平均降水量の分布<sup>12)</sup>

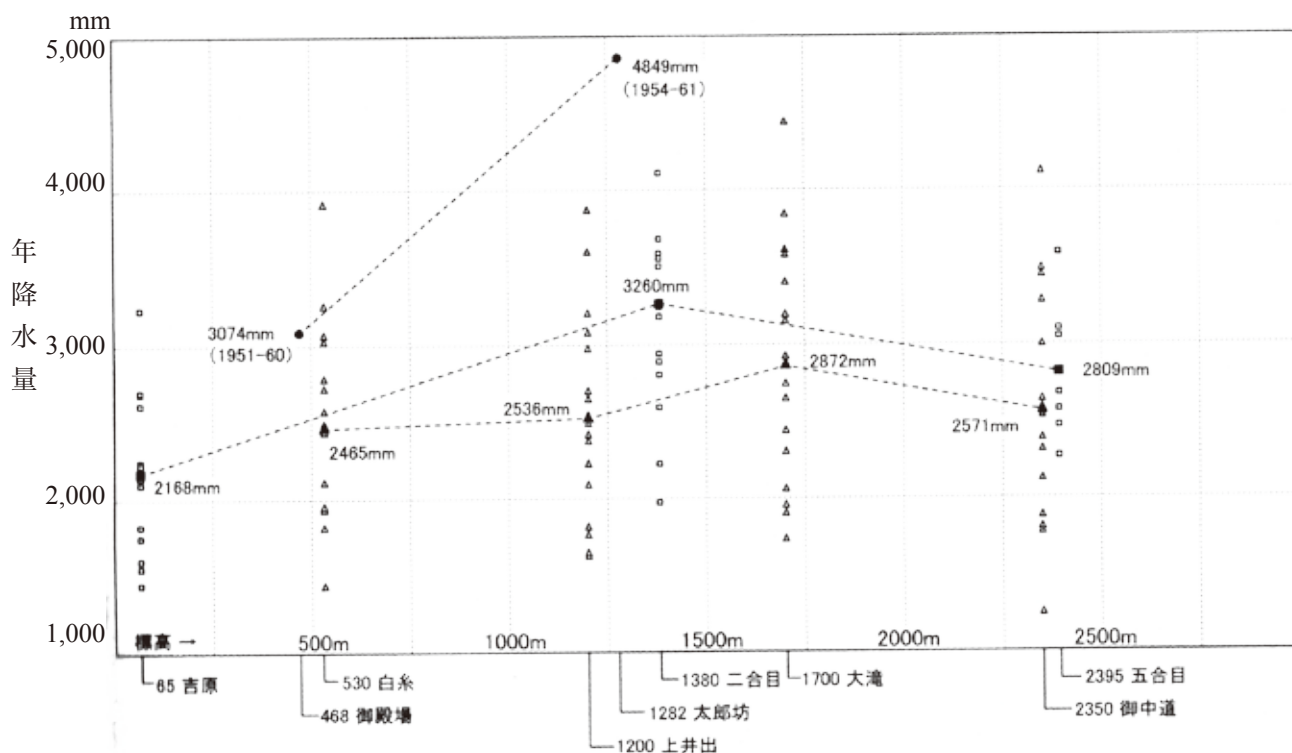


図3 富士山の東・西・南側斜面の年降水量と平均値<sup>17)</sup>

東側斜面の年降水量●は藤村<sup>13)</sup>による。西側斜面の年降水量△と南側斜面の年降水量□は国交省富士砂防事務所の観測 (H1-16) による。平均値はそれぞれ●▲■で示す。なお、吉原、白糸は静岡県気象月表による。

<sup>17)</sup> 東側の御殿場 (標高468m) で年2,835mmと最も多く、ついで、西側の白糸 (標高530m) で年2,275mm, 南側の吉原 (標高65m) で年2,098mm, 最も少ないのが北側の河口湖 (標高860m) で年1,565mmの順になっている。また、国交省富士砂防事務所の平成1~16年の観測 (図3) によると、西側の御中道 (標高2,350m) では年1,200-4,100mm, 平均年2,571mm, 南側の五合目 (標高2,395m) では年2,200-3,600mm, 平均年2,809mmが得られているが、70日前後の欠測が毎年のように見られるため、西側・南側の中腹では年3,000mmを越す可能性も高い<sup>17)</sup> と考えられている。

東麓の降水 (水蒸気) は主に相模湾から、南麓と西麓の降水 (水蒸気) は駿河湾から、富士山北麓の降水 (水蒸気) は主に相模湾からであり、北麓では年降水量が顕著に少ない理由は、富士山東麓における水蒸気団の斜面上昇によってまず東麓で大量の水蒸気が降水として失われてしまい、その先の河口湖を中心とした北麓はいわゆる雨陰 (山陰) に置かれるためと考えられている<sup>18)</sup>。

一年を5月~10月の夏期とそれ以外の冬期に区分すると、年降水量の65~73%が夏期にもたらされる。北麓の河口湖、上九一色の両観測点では、年降水量に占める夏期の降水の割合は70%を超えている。また、東麓の御殿場や西麓の白糸観測点でも70%近い高い値を示す。南~南東麓の観

測点である吉原や三島では相対的に低い値を示すが、それでも夏期の降水が65%程度を占めている<sup>18)</sup>。このことから、富士山麓における地下水の主涵養期は5月から10月の夏期であり、この期間にもたらされる梅雨や台風による大雨が富士山の地下水形成に主として貢献しているものと考えてよいとしている<sup>17,18)</sup>。

## ② 蒸発量

降水の酸素同位体比年平均値と標高の関係を示す降水線と涵養標高を正確に推定できる局地起源の地下水の酸素同位体比年平均値と標高の関係を示す地下水涵養線との違いから、降水が山麓において浸透する際に生じる蒸発率が推定されている<sup>18)</sup>。植生からの蒸散による損失は加味していない。降水線と地下水涵養線との間の $\delta^{18}O$ 値の差に基づく富士山の北麓と南麓における蒸発率 (降水量に占める蒸発損失量の割合) は、標高3,600mの山頂部での蒸発率は2%と算定された。一方、北麓の蒸発率は12% (標高3,000m) ~ 28% (標高1,000m), 南麓では12% (標高3,000m) ~ 24% (標高600m) と算定された。富士山では南北両山麓とも標高が低くなるほど蒸発率は増加している。また、同一標高で比較すると、北麓での蒸発率の方が南麓での蒸発率より大きいことが明らかとなっている<sup>18)</sup>。

また、西麓の富士宮市全域 (標高100m付近から山頂まで

を含む)における蒸発散量は降水の24%程度と見積もられている<sup>19)</sup>。

③ 涵養量

芝川と潤井川の流量観測から富士山への涵養量が推定されている<sup>20)</sup>。富士山麓にはいくつかの河川が知られるが、このうち芝川と潤井川の流量の合計は、富士山西側斜面の湧水の総量を表しているとし、2つの河川について1993年8月から1994年8月まで1年間の流量が観測された。その結果、2つの河川流量は、芝川町橋本で芝川の平均流量95万m<sup>3</sup>/日、富士宮市黒田で潤井川の平均流量149万m<sup>3</sup>/日が得られ、この両者の値の合計244万m<sup>3</sup>/日から、西側の天守山地からの流入量19万m<sup>3</sup>/日と芝川・潤井川流域の地下水の取水

量48.6万m<sup>3</sup>/日を除いて、西側斜面の涵養量は合計1日あたり176万m<sup>3</sup>と推定されている<sup>20)</sup>。

西側斜面の涵養量を基に面積比と降水量比から他の斜面の涵養量が推定されている<sup>20)</sup>。富士山の底面積を旧期溶岩流の分布にもとづいて東西南北(EWSN)に4区分し、それぞれの面積はN246km<sup>2</sup>、E243km<sup>2</sup>、S160km<sup>2</sup>、W224km<sup>2</sup>、計873km<sup>2</sup>であり(図4)、それぞれの区域の代表的降水量観測地として、御殿場2,789mm、白糸2,232mm、吉原2,148mm、河口湖1,526mmを用い、面積比と降水量比から西側斜面の涵養量176万m<sup>3</sup>/日に対して、北側斜面は0.75倍の132万m<sup>3</sup>/日、東側斜面は1.35倍の238万m<sup>3</sup>/日、南側斜面は0.96倍の120万m<sup>3</sup>/日と推定されている(表4参照)<sup>20)</sup>。

また1963~1993年の黄瀬川・大場川水系における湧水量と地下水取水量との和は毎年170万m<sup>3</sup>/日程度で一定であった。流域の降水量による補正を行うと1985年頃から減少し、市街化等地下浸透能の低下によると指摘されている

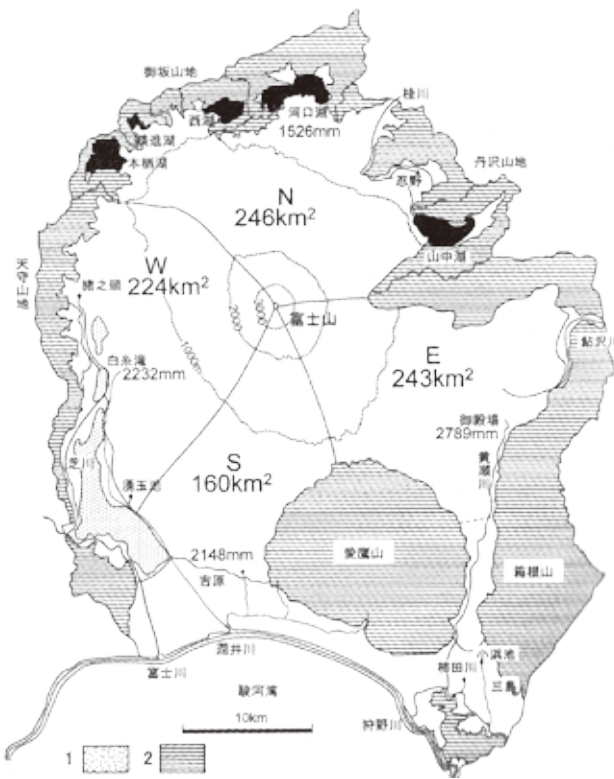


図4 新富士旧期溶岩流の分布に基づく富士山の東西南北4区分とそれぞれの底面積、および山麓の代表的降水量と山麓の河川<sup>20)</sup>

1. 古富士泥流層 2. 周辺山地の富士山側斜面

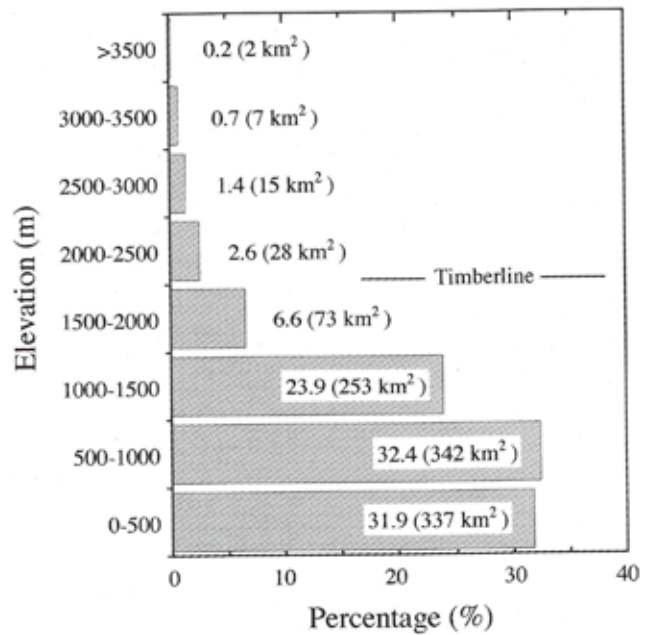


図5 富士山の標高別面積分布<sup>18)</sup>

表1 富士山周辺における河川流量<sup>22)</sup>

位置	河川名	観測所名	流域面積 (km <sup>2</sup> )	比流量 (m <sup>3</sup> /sec/100km <sup>2</sup> )						
				最大	豊水	平水	低水	渇水	最小	年平均
東麓	黄瀬川	大倉	281.0	430.8	-	1.4	0.9	0.5	0.1	2.3
	潤井川	黒田	105.8	44.3	-	12.2	10.5	7.8	7.4	12.0
西麓	芝川	猪之頭	77.0	23.5	8.6	7.5	6.7	6.2	6.1	8.0
北麓	桂川	明見	191.0	13.6	6.0	5.1	4.7	4.3	4.0	5.4



21) .

④ 河川流量

富士山周辺の河川流量を表1<sup>22)</sup>に示す。特徴的なことは、比濁水流量と比最小流量が大きく比最大流量が小さいことであるが、黄瀬川においては比最大流量が大きく降水が貯留されず、すぐに流出してしまう傾向が強い<sup>22)</sup>とされている。

3) 富士山の地下水・湧水のメカニズム

① 富士山の地下水と水理地質

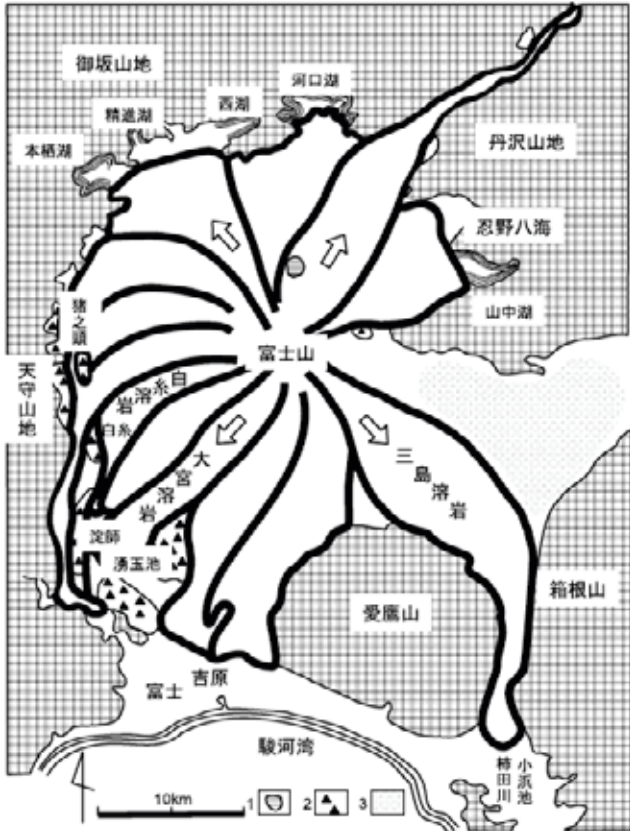


図6 富士山の新富士旧期溶岩流の分布と山麓の主な湧水<sup>20)</sup>  
1. 小御岳火山 2. 古富士泥流 3. 御殿場泥流

大型の成層火山である富士山は、玄武岩質の岩石からなる標高3,776mの円錐形をした活火山である。富士山域の面積は、黄瀬川流域を含むと約1,000km<sup>2</sup>におよぶ。このうち標高1,500m以下の山麓が全面積の約90%を占める<sup>18)</sup>。森林限界は2,000~2,400m付近にあるが<sup>14)</sup>、それ以上の亜高山帯や高山帯が占める割合は全体の5%以下にすぎないことが明らかとなっている(図5)<sup>18)</sup>。

富士山の周辺には御坂山地、天守山地、丹沢山地が位置しており(図4)、これらの地域は新第三紀中新世の海底火山噴出物や堆積岩によって構成されている<sup>23,24)</sup>。現在の富士山の下には古富士火山、小御岳火山が存在し(図7)、新富士火山(狭義の富士山)の噴出物の厚さは最大1,500m足らずとされている。富士山の斜面には標高1,700~1,800m付近に地形傾斜の変換点がある。これより高いところでは何枚もの新富士火山新期~中期の粘性の高い溶岩が火山灰やスコリアと互層して、急傾斜の斜面を形成している<sup>24)</sup>。低標高部には、古富士泥流、新富士火山旧期溶岩類、山麓扇状地堆積物が緩斜面を形成している。ちなみに、富士宮地区や三島地区では、新富士火山噴出物は40~60m程度の厚さとされている<sup>25)</sup>。

透水性に富む新富士火山噴出物の下に位置する古富士火山は、大規模な面的な広がりをもつ難透水性の火山泥流(古富士泥流)である。このため、現在の富士山は、巨視的に見れば新富士火山噴出物が地下水を溜める帯水層であり、受け皿となる古富士火山の上に乗っているという構造をしていると考えられている<sup>20)</sup>。

三島楽寿園小浜池、柿田川、富士宮浅間大社湧玉池、白糸の滝、猪之頭湧水、忍野八海など古くから有名で規模の大きな湧水の位置と新富士旧期溶岩流<sup>23)</sup>をプロット(図6)すると大きな湧水の位置は溶岩流の末端にあると考えら

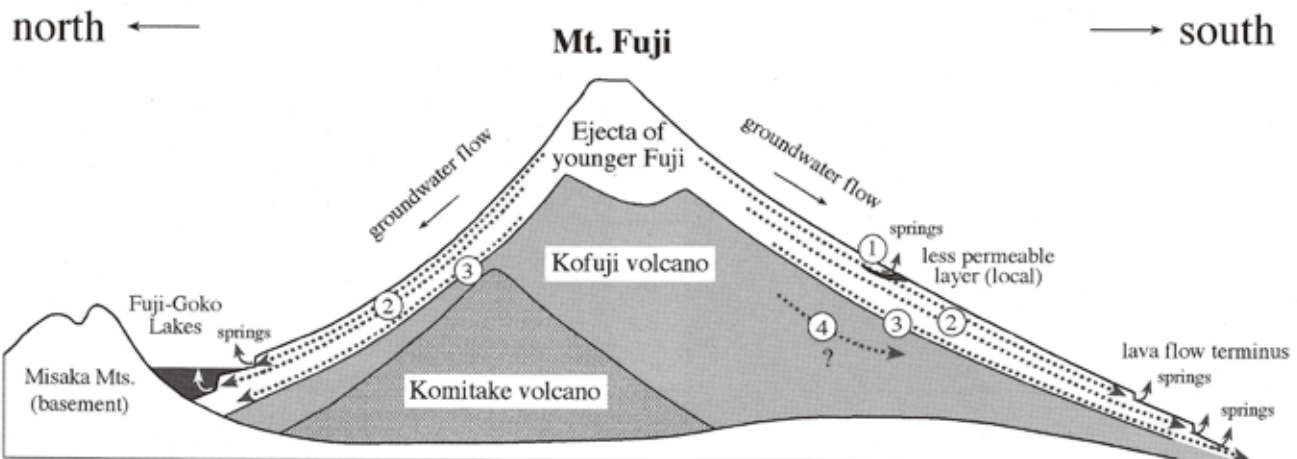


図7 富士山の模式断面図と地下水流動系<sup>18,20)</sup>

図中の番号については本文参照

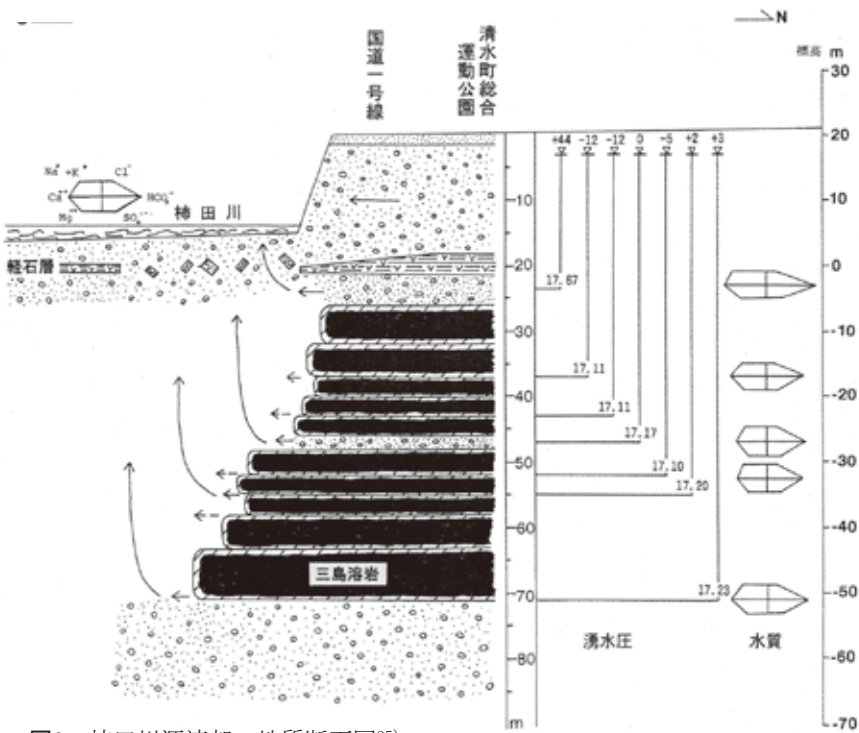


図8 柿田川源流部の地質断面図<sup>25)</sup>  
 ▽は湧水圧の高さ，ヘキサダイアグラムはその層位の湧水の水質を示す

れている<sup>20)</sup>。

また断面の様子を図7に模式的に示した<sup>18, 20)</sup>。地下水は古富士火山の上を斜面下方へと流れ、山麓下部で一部が湧水として湧出する(図7の②③)。このような古富士泥流と新富士火山噴出物との境界部に形成された湧水の代表例としては、白糸の滝を挙げることができる。さらに、新富士火山噴出物も一様ではなく、溶岩流(厚さは数mから60m程度)や火山灰層、火山砂礫層やスコリア層が何重にも重なって構成されている。地下水は、主に溶岩流のクリンカー部、節理、さらには火山砂礫層、スコリア層を通じて斜面方向へと流動する。新富士火山噴出物である溶岩流の末端に位置する

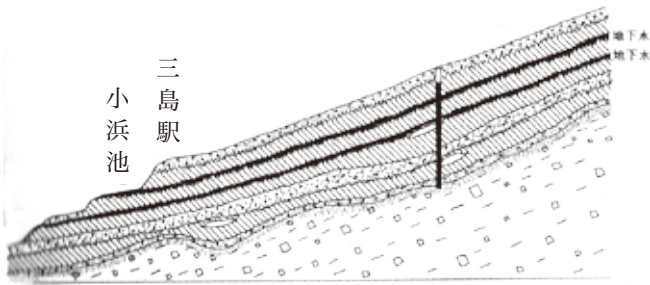


図9 三島溶岩層間の被圧地下水の流れ<sup>26)</sup>

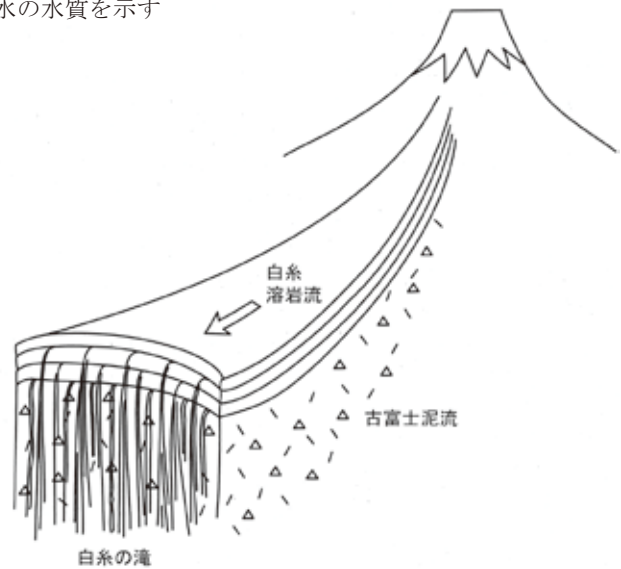


図11 白糸の滝の湧出メカニズムのスケッチ<sup>17)</sup>

湧玉池、柿田川、忍野八海などの湧水は、このようなメカニズムによって形成されていると考えられている<sup>20)</sup>。

柿田川<sup>25)</sup>、三島楽寿園小浜池<sup>26)</sup>、富士宮浅間大社湧玉池<sup>27)</sup>、白糸の滝<sup>17)</sup>ではボーリング調査等の詳細な調査がある。

御殿場から三島に至る、愛鷹山と箱根山にはさまれた南北の谷間は、やや平坦な台地で、その上を黄瀬川が流れている。この台地は新富士旧期溶岩流の1つ、三島溶岩がつくる台地である。三島溶岩は現在の山頂あたりから約35kmにわたって三島まで流下したもので、三島湧水群も柿田川もこの三島溶岩の末端に位置し、小浜池や水泉園では溶岩の間から湧水している。

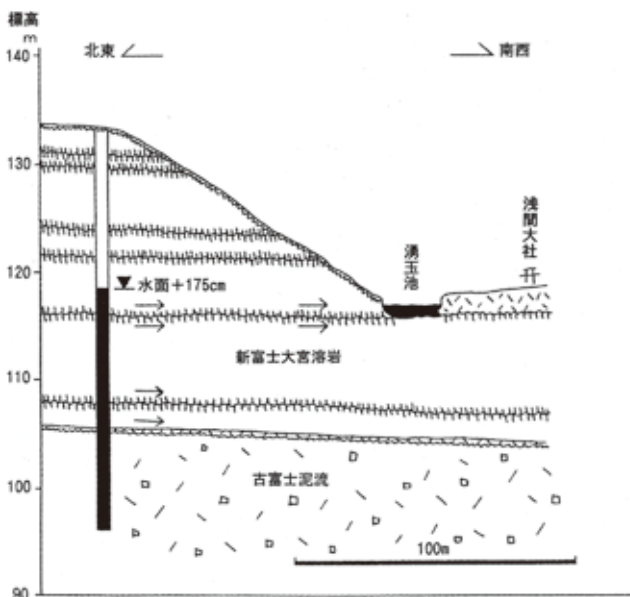


図10 大宮(富士宮)溶岩の構造と湧玉池の湧水<sup>27)</sup>  
 ここでは溶岩層は7層からなり、下位に古富士泥流層がある  
 矢印は地下水の流れを示す





図12 富士山西南・東麓の地下水位等高線図<sup>32, 33, 34, 35)</sup>  
数値は等高線の標高 (m)

柿田川は国道1号線のすぐ南側の湧水が水源となり、狩野川に合流する長さわずか1.2kmの川であるが、100万m<sup>3</sup>/日以上の豊富な湧水が流れている。水源のすぐ北側、清水町運動公園においてボーリング調査が実施された(図8)<sup>25)</sup>。地表から深さ25mまでは沖積砂礫層で、深さ20mのところに天城側火山カワゴ平の約300年前の噴火で飛来した軽石の層がはさまれている。深さ25mから70mまでは10層の三島溶岩層があり、その下はまた砂礫層になっている。これら溶岩層の間のクリンカー部分と下位の砂礫層の水頭はいずれも同じで標高17m程度と確認された<sup>25)</sup>。

このような湧水の状況は小浜池<sup>26)</sup>(図9)、湧玉池<sup>27)</sup>(図10)、白糸の滝<sup>17)</sup>(図11)でも同様であった。

北麓の富士五湖も、青木ヶ原溶岩流や鷹丸尾溶岩流(いずれも新富士火山新期溶岩類)などを通じて地下水が供給されている。潜水カメラを使った調査によって、西湖の湖底に露出した溶岩流の末端からは常に地下水が湧き出ていることが確認されている<sup>28)</sup>(図7の③)。

なお、柿田川の水は溶岩層の間の被圧地下水が主である

が、そのほかに、表層砂礫層中の表層自由地下水、軽石層の下の被圧地下水、溶岩層の下の砂礫層の被圧地下水、と何系統かの地下水が混ざり合ったものとしている<sup>27)</sup>。

一方、落合<sup>29)</sup>、池田<sup>30)</sup>、村下<sup>31)</sup>らは新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水で、西南麓では富士市街、東麓では東海道付近の沖積低地で加压層が存在するとしている。岳南地域<sup>32, 33)</sup>および黄瀬川地域地下水利用実態調査<sup>34, 35)</sup>においても新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水として扱っている。

図12に岳南地域<sup>32, 33)</sup>および黄瀬川地域地下水利用実態調査<sup>34, 35)</sup>における富士山西南・東麓の地下水位等高線図を示した。これらも不圧地下水で、いずれも南から北もしくは富士山頂に向かうに従い地下水位は高くなり700mとなっている。

富士山麓の標高800m以下を「豊水域」としている。より標高の高い山麓は、「無水域」(標高2,000m以上)あるいは「乏水域」(標高80~2,000m)に区分される<sup>22)</sup>。無水域と乏水域は、もたらされた降水が浸透・透過して地下水を



補給する涵養帯の役目を果たしている。粘土化した火山灰層あるいは緻密な溶岩流が局所的に難透水層の役目を果たす場合などには、無水域や乏水域にも湧水が形成される<sup>18)</sup> (図7の①)。

最近の調査の結果から、これまで難透水層と考えられてきた古富士泥流層や古富士火山溶岩中にもかなり豊富な地下水があることがわかってきた<sup>36)</sup> (図7の④)。新富士火山噴出物中の地下水と比較して流速は遅く、また水質・同

位体組成も異なる<sup>37)</sup>。

② 滞留時間と透水係数

小浜池、柿田川、湧玉池でトリチウム<sup>3</sup>H (半減期12.4年) 濃度を分析し5.0T.U.程度で滞留時間は15年程度と見積もられた<sup>17)</sup>。降水中トリチウム濃度は1953年以降原水爆実験により増加し、1963-64年は1,000T.U.とピークになり、やがて低下し2000年頃の降雨には5T.U.前後が含まれるようになった。

図13<sup>29)</sup>に三島溶岩流の裾野市伊豆島田における断面と流速を示した。アイソトープ流速計による調査から伊豆島田の地下水の平均流速を400m/d (162万m<sup>3</sup>/d)とし富士山から30kmの到達時間を2.5ヶ月と推定し、1965-67年の調査時の地下水や湧水のトリチウム濃度から1954年以降 (滞留時間10年以下) の降水起源であるとしている<sup>29)</sup>。その後の1968-91年の24年間の調査では伊豆島田における地下水流動量は144-196万m<sup>3</sup>/dであった<sup>38)</sup>。

一方、馬原ら<sup>39)</sup>は<sup>3</sup>H-<sup>3</sup>Heによる年代測定により柿田川湧水の滞留時間を10年とし、伊豆島田-柿田川間6kmの滞留時間は1年でこの間の実流速は16m/dと見積もっており、落

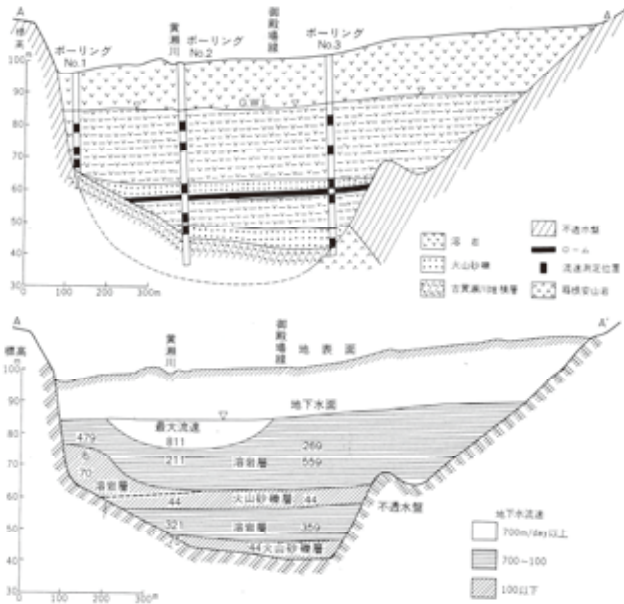


図13 三島溶岩流の断面と流速<sup>29)</sup>

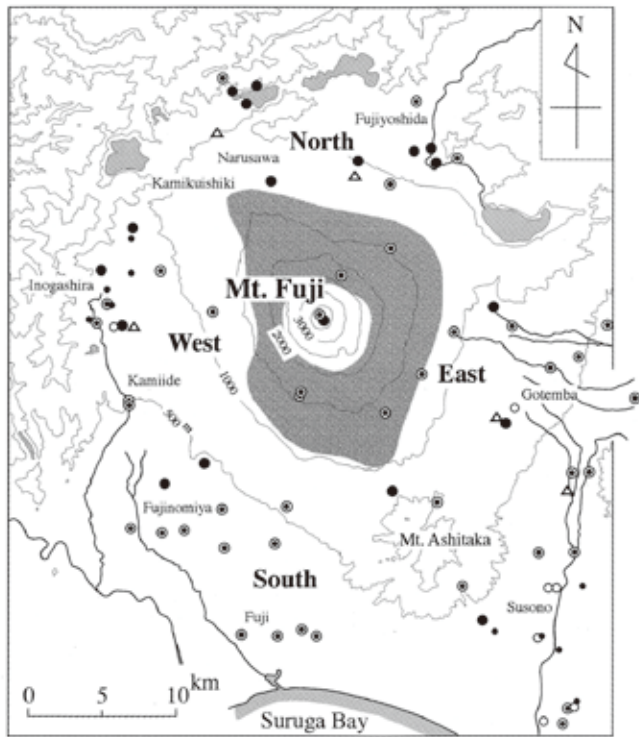


図14 同位体から求めた富士山の地下水の平均涵養標高分布<sup>18)</sup>



図15 富士山北西における有機塩素化合物の流れ<sup>42)</sup>

合<sup>38)</sup>の富士山から30kmの到達時間2.5ヶ月を否定している。吉岡ら<sup>40)</sup>は地下水の流れをピストン流ではなく混合して湧出するものとしてトリチウム濃度から滞留時間を30年前後のものもあると推定している。

### ③ 涵養標高

富士山のそれぞれの山麓の地下水の平均涵養標高は、地下水のもつ $\delta^{18}O$ 値に対応する地下水涵養線上の標高値から得られる。すなわち、図14<sup>18)</sup>において、東麓、南麓、西麓および北麓の地下水の平均涵養標高はそれぞれ1,250~2,200m, 1,100~2,000m, 1,600~2,250m, 1,400~2,700mと求められた。同全体図から、森林限界(標高2,000~2,400m付近)をほぼ上限とする山麓の中腹部にもたらされる降水が、富士山の地下水の涵養にとって最も重要であると同時に、標高2,500m付近から頂上にかけての山体上部が、地下水の涵養に対しては量的に大きな役割を果たさないことを示している<sup>18)</sup>。

標高2,800~2,900m以上の地域では地下浅部に永久凍土が広がっている<sup>41)</sup>。鉛直下方に水を通さないこの永久凍土の存在が、山麓上部での降雨浸透・地下水涵養プロセスになんらかの影響を及ぼしている可能性がある。

### ④ 富士山北西麓の地下水流動

富士山北西麓における有機塩素化合物による地下水汚染調査の結果、図15のとおり芝川・潤井川間に分水嶺があり、富士山北から流れてきた有機塩素化合物は猪之頭を通り、白糸の滝を經由して芝川方面に流れたと推定された<sup>42)</sup>。なお岳南地区地下水実態調査では白糸の滝東側の地下水は潤井川沿いに南下すると考えられている<sup>32,33)</sup>。

### ⑤ 富士山周辺におけるモデル化

岳南地区地下水実態調査では富士宮市から富士市にかけての全域で準三次元モデルを用いて解析されている<sup>33)</sup>。黄瀬川地域地下水利用実態調査では黄瀬川流域をタンクモデルを用いて解析されている<sup>35)</sup>。富士山北麓では疑似三次元地下水流動解析が実施されている<sup>43)</sup>。

## 2 地下水流動解析による実測地下水位と汚染事例の再現

### 1) 対象とする地域及び帯水層

対象とする地域は、図16のとおり富士山西・南・東麓とした。飽和・不飽和浸透方程式をオイラー法(ガラーキン法)、移流分散方程式をオイリアン・ラグランジアン法を用いて三次元地下水流動解析<sup>44)</sup>を行った。格子サイズは500m×500mとし地表面の標高は数値地図50mメッシュ(標

高)<sup>45)</sup>によった。

巨視的に見れば新富士火山噴出物が地下水を溜める帯水層である<sup>20)</sup>ことから、新富士火山噴出物を対象帯水層とした。涵養標高が図14から2,000m前後である<sup>18)</sup>ことから標高2,000m以下を解析範囲とした。落合<sup>29)</sup>、池田<sup>30)</sup>、村下<sup>31)</sup>らは新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水であるとし、岳南地域および黄瀬川地域地下水実態調査において新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水として扱っている。また三島溶岩の溶岩層の間のクリンカー部分と下位の砂礫層の水頭はいずれも同じで標高17m程度であり<sup>27)</sup>、黄瀬川・大場川水系における湧水量と地下水取水量との和の減少は、市街化等地下浸透能の低下によるとの指摘<sup>21)</sup>から新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水として扱った。

新富士火山噴出物の基底面は岳南地域<sup>32,33)</sup>および黄瀬川地域地下水利用実態調査<sup>34,35)</sup>によった。新富士火山噴出物の基底面は基本的には図6のように富士山頂側から山麓側に下っていく。東麓は箱根山に当たり、小山町側と三島市側に分かれて低くなる。西麓では猪之頭の北の根原地区から猪之頭の東側、白糸の滝、大石寺、富士宮市街の南を通過して富士市街西北まで古富士火山噴出物の尾根が存在し、猪之頭の東側や白糸の滝西側等では地表面に現れているが、その他では新富士火山噴出物に覆われている<sup>46)</sup>(図6、図17)。

古富士火山噴出物の尾根のため岳南地区地下水利用実態

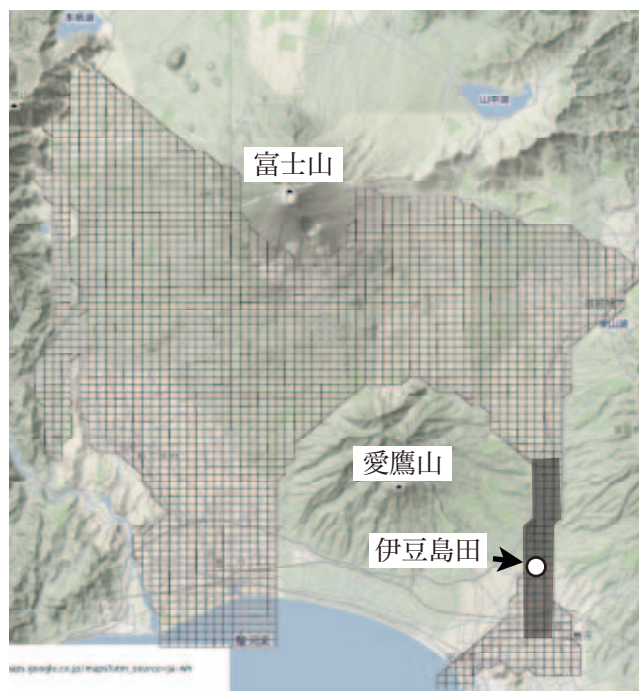


図16 モデル化対象地域  
メッシュで覆われた範囲：対象地域  
■：透水係数を1.0cm/secとした範囲  
(落合<sup>38)</sup>、馬原ら<sup>39)</sup>の報告から)



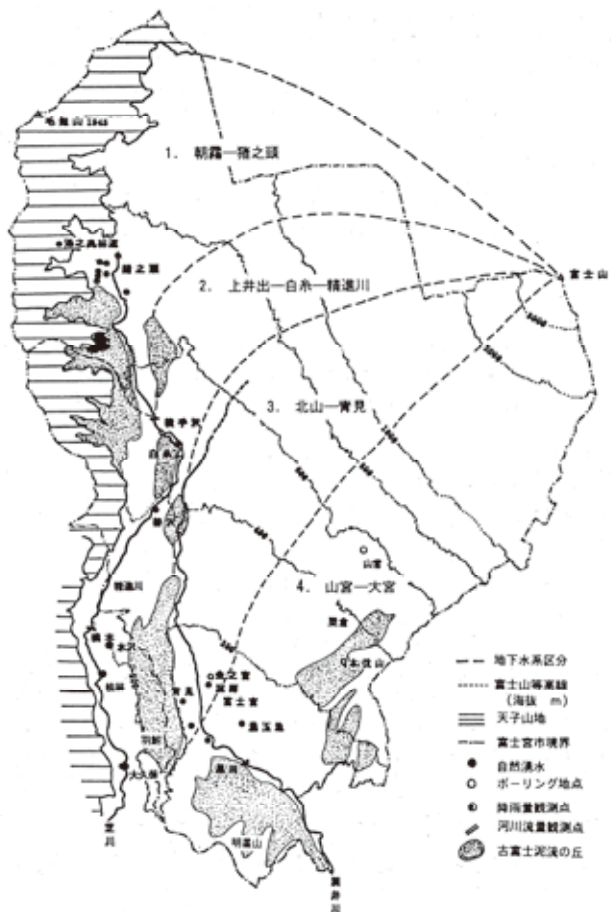


図17 富士山西麓の地下水系と古富士泥流<sup>46)</sup>

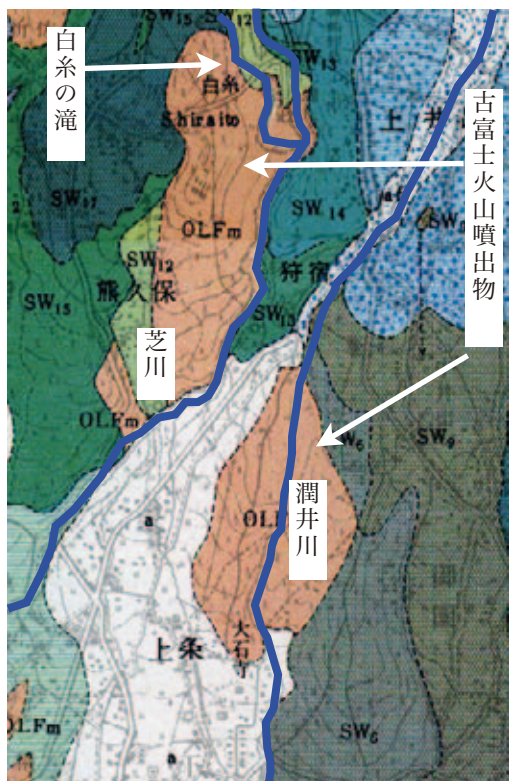


図18 白糸の滝周辺地質図<sup>47)</sup>

表2 新富士火山噴出物の透水係数<sup>32, 33, 34, 35)</sup>

地層名	透水係数 (cm/sec)
新規火山砂礫層	$3.0 \times 10^{-2} \sim 7.0 \times 10^{-2}$
古期溶岩	$5.0 \times 10^{-3} \sim 2.0$

表3 三島溶岩流の伊豆島田における透水係数

報告	透水係数 (cm/sec)
落合 <sup>38)</sup>	1.5~2.8
馬原等 <sup>39)</sup>	$5.7 \times 10^{-1}$

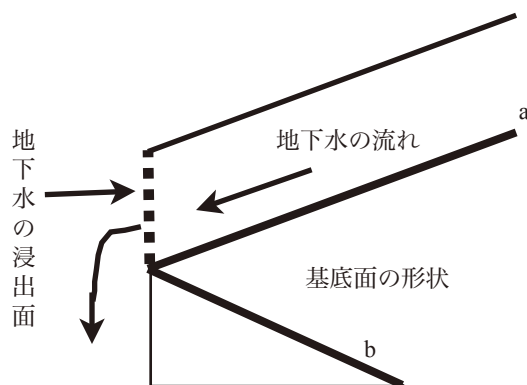


図19 白糸の滝周辺の断面図

調査<sup>32, 33)</sup> では白糸の滝東側の地下水は潤井川沿いに南下すると考えられていた。しかし富士山北西における有機塩素化合物地下水汚染調査<sup>42)</sup> の結果、富士山北西から流れてきた有機塩素化合物は猪之頭を通り、白糸の滝を經由して芝川方面に流れたことが明らかとなった(図15)。また白糸の滝周辺の地質図<sup>47)</sup> (図18) によると潤井川西側には沖積層があり古富士火山噴出物を過ぎると芝川沿いに大きく広がっていることから古小富士火山噴出物の南側には谷地形の存在が推察された。このため白糸周辺の小富士火山噴出物の南側の新富士火山噴出物基底面を谷地形とした。

また河川は定水頭境界とした。外部境界付近には定水頭境界とした芝川、潤井川、黄瀬川、大場川、鮎沢川等河川があり、天守山地からは $19 \text{万m}^3/\text{日}$ <sup>20)</sup>、愛鷹山からは $16 \text{万m}^3/\text{日}$ 、箱根山からは $25 \text{万m}^3/\text{日}$ <sup>21)</sup> と富士山における涵養量の10%程度と少ないため境界は不透水境界とした。地表面に古富士火山噴出物が現れているのは地域は対象領域とせず、その境は不透水境界とした。白糸の滝には浸出面境界を設定した。

2) 涵養量

涵養量は、降水量から蒸発散量と表面流去水を差し引い

表4 河川流量から求めた涵養量<sup>20)</sup>と換算降水量

	面積 (km <sup>2</sup> )	降水量 (mm/y)	地下水揚水量を差し引く場合		地下水揚水量を差し引かない場合	
			①涵養量 (万m <sup>3</sup> /d)	①換算降水量 (mm/y)	②涵養量 (万m <sup>3</sup> /d)	②換算降水量 (mm/y)
東麓	243	2,789	238	3,575	305	4,581
黄瀬川流域	166	2,789	163	3,575	208	4,581
西麓	224	2,232	176	2,868	225	3,666
南麓	160	2,148	120	2,738	155	3,528
北麓	246	1,562	132	1,959	173	2,566

①換算降水量は①涵養量<sup>20)</sup>を面積で割った値

②涵養量は河川流量から地下水揚水量を差し引かない値で、②換算降水量は②涵養量を面積で割った値

たものである。表面流去水は土壌物理性や傾斜から見積もることも可能であるが、降水量や蒸発散量の把握についてはこれからの課題と成っている。土<sup>20)</sup>は河川流量から涵養量を推定しており、表4に涵養量と換算降水量を示した。涵養量は河川流量から天守山地からの流量と地下水揚水量を差し引いているが、地下水を揚水した上での河川流量であるため差し引く必要がないとすれば東麓で305万m<sup>3</sup>/日、うち黄瀬川流域では208万m<sup>3</sup>/日、西麓では225万m<sup>3</sup>/日、南麓では155万m<sup>3</sup>/日、北麓では173万m<sup>3</sup>/日となる。1963～1993年の黄瀬川・大場川水系における湧水量と地下水取水量との和は毎年170万m<sup>3</sup>/日程度で一定である<sup>21)</sup>ことや、1968～91年の24年間の調査から伊豆島田における地下水流動量は144～196万m<sup>3</sup>/dで平均170万m<sup>3</sup>/dあること<sup>29,38)</sup>から、地下水流動解析に用いた涵養量は表4に示した②換算降水量の東西南麓の平均値3,925mmとした。

3) 検討項目

① 富士山周辺における地下水の流動についてモデル化

富士山周辺における地下水の流動についてモデル化するため新富士火山噴出物の古期溶岩における平均的な透水係数を求めた。

岳南地域<sup>32,33)</sup>および黄瀬川地域地下水利用実態調査<sup>34,35)</sup>でまとめられた透水係数を表2に示した。また三島溶岩流の伊豆島田における透水係数を落合<sup>38)</sup>、馬原ら<sup>39)</sup>の報告から算出し表4に示した。帯水層の主体をなす新富士火山噴出物の古期溶岩において三島溶岩流の伊豆島田周辺の透水係数は表3から1.0cm/sec程度と考えられる(図16)が、それより上流側の富士山周辺の透水係数は $5.0 \times 10^{-3} \sim 2.0 \text{cm/sec}$ と幅がある。 $3.0 \times 10^{-2} \text{cm/sec}$ 、 $2.0 \times 10^{-2} \text{cm/sec}$ 、 $1.0 \times 10^{-2} \text{cm/sec}$ と異なる透水係数から地下水位を求め、地下水位の実測値に合う平均的な透水係数を求めた。

② 富士山北西麓における汚染事例の再現

岳南地区地下水実態調査において、白糸の滝の北の東西断面図における新富士火山噴出物基底面は白糸の滝の湧出する高さよりも低い。図11に白糸の滝の湧出に関する図があるが、このような形状では富士山北西麓における有機塩素化合物による地下水汚染調査の結果(図15)にはなりにくいと考えられたため白糸の滝周辺の基底面の適切な形状について検討した。すなわち図19に示したように白糸の滝周辺の新富士火山噴出物基底面が湧出している白糸の滝の高さよりも(a)高い場合と(b)低い場合とで物質の流れる経路に影響を与えるか検討した。富士宮市北部の県境に汚染源 $c/c_0=1$ の点を設定し縦分散長 $\alpha L=500\text{m}$ 、横分散長 $\alpha T=1\text{m}$ とし9,000日間計算した。有機塩素化合物は四塩化炭素であるため比重を1.584とした。

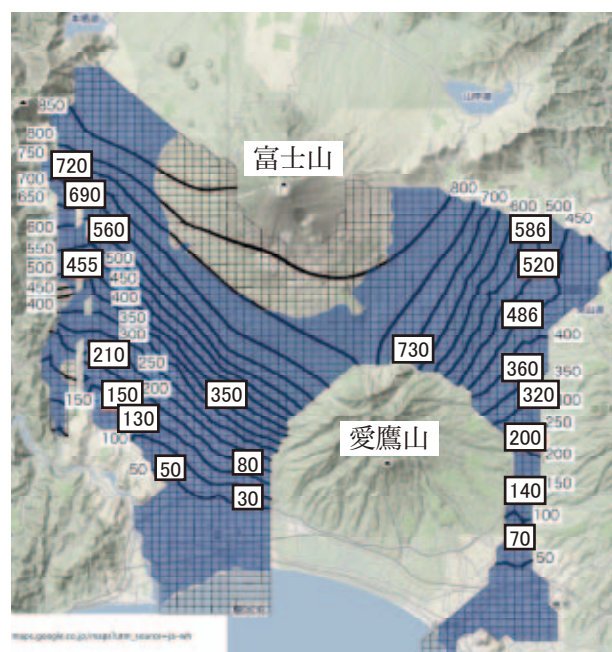


図20 富士山周辺における計算値による地下水面等高線図と地下水位実測値  
地下水位実測値は口内の値、単位はm



### 結果

#### 1 富士山周辺における地下水の流動におけるモデル化

三島溶岩流の伊豆島田周辺の透水係数は $1.0\text{cm/sec}$ とし、それより上流側の透水係数を $1.0 \times 10^{-2}\text{cm/sec}$ とした場合、地下水位は実測値と適合した（図20）。透水係数が $3.0 \times 10^{-2}\text{cm/sec}$ 、 $2.0 \times 10^{-2}\text{cm/sec}$ である場合、地下水位は低くなり、特に高標高位置における地下水位は実測値と適合しなかった（図略）。このため、平均的な透水係数としては $1.0 \times 10^{-2}\text{cm/sec}$ 程度が適当と考えられた。

#### 2 富士山北西麓における汚染事例の再現

基底面の形状aでは猪之頭方面から流下してきた物質のほとんどが白糸の滝に流出してしまい白糸の滝の東側を流れて芝川沿いに流れることはなかった（図略）。一方 基底面の形状bでは猪之頭方面から流下してきた物質は、富士山北



図21 富士山北西麓における汚染事例の再現  
白糸の滝周辺の基底面の形状が図19の形状bの場合  
×印は有機塩素化合物高濃度地点  
数値は有機塩素化合物高濃度地点の濃度を1とした場合の濃度

西麓における有機塩素化合物による地下水汚染調査の結果（図15）と同じく白糸の滝の東側を流れて芝川沿いに流れ、汚染事例を再現できた（図21）。白糸の滝周辺では断面bのような形状の方が適切と考えられた。

### 考察

#### 1 涵養量について

涵養量は、降水量から蒸発散量と表面流去水を差し引い

たものである。表面流去水は土壌物理性や傾斜から見積もることも可能であるが、降水量や蒸発散量の把握についてはこれからの課題と成っている。土<sup>20)</sup>は河川流量から涵養量を推定しているが、1963～1993年の黄瀬川・大場川水系における湧水量と地下水取水量との和は毎年170万 $\text{m}^3$ /日程度で一定である<sup>21)</sup>ことや、1968～91年の24年間の調査から伊豆島田における地下水流動量は144～196万 $\text{m}^3$ /dで平均170万 $\text{m}^3$ /dある<sup>29,38)</sup>ことから、最も確からしい涵養量を見積もっていると考えられる。

また、河川流出量から見積もった涵養量<sup>20)</sup>は表4に示したように富士山麓における降水量より多い。図5に示したように標高1,000m以下で60%以上の面積を占めている<sup>18)</sup>ことから、高標高部における降水量は格段に多いことが推察される。

これまで観測していない富士山東麓の流域やこれまでよりも高標高部の小流域において河川流量を観測すれば、タンクモデル<sup>45)</sup>等を用いた解析により、より正確な涵養量を把握できると考えられる。

しかし、河川流量から涵養量を求めることは既に涵養された量を知ることで、予測に結びつけることは困難である。汚染範囲を予測するという面から、高標高部における正確な降水量の把握は必要不可欠であると考えられた。

#### 2 富士山の地下水・湧水のメカニズムについて

富士山の地下水・湧水のメカニズムについては、滞留時間について若干、意見は異なるものの<sup>17,29,38,40)</sup>以下のように考えられている。

透水性に富む新富士火山噴出物の下に位置する古富士火山は、大規模な面的な広がりを持つ難透水性の火山泥流（古富士泥流）である。このため、現在の富士山は、巨視的に見れば新富士火山噴出物が地下水を溜める帯水層であり、受け皿となる古富士火山の上に乗っているという構造をしている<sup>20)</sup>。地下水は古富士火山の上を斜面下方へと流れ、山麓下部で一部が湧水として湧出する（図7の②③）。このような古富士泥流と新富士火山噴出物との境界部に形成された湧水の代表例としては、白糸の滝、湧玉池、柿田川、忍野八海などの湧水は、このようなメカニズムによって形成されていると考えられている<sup>20)</sup>。このことは、三島楽寿園小浜池<sup>25)</sup>、柿田川<sup>26)</sup>、富士宮浅間大社湧玉池<sup>27)</sup>、白糸の滝<sup>17)</sup>等の調査で裏付けられていると考えられる。

また 落合<sup>26)</sup>、池田<sup>27)</sup>、村下<sup>28)</sup>らは新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水であるとし、岳南地域および黄瀬川地域

地下水実態調査において新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水として扱っている。また三島溶岩の溶岩層の間のクリンカー部分と下位の砂礫層の水頭はいずれも同じで標高17m程度であり<sup>25)</sup>、黄瀬川・大場川水系における湧水量と地下水取水量との和の減少は、市街化等地下浸透能の低下によるとの指摘<sup>21)</sup>から新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水として考えて良いと考えられた。

これらのことから、新富士火山噴出物を対象帯水層とし新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水として扱い、地下水の流動についてモデル化と汚染事例の再現を試みた。解析の結果、地下水位実測値と整合性のある地下水面等高線図が得られ(図20)富士山北西麓における物質の流れも再現できた(図21)ことから、新富士溶岩流内の地下水を対象とした水利用や汚染については、新富士火山噴出物を対象帯水層とし新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水として扱って良いと考えられた。

一方、今回の富士山北西麓の汚染事例の解析から、新富士火山噴出物の基底面の形状により物質の流れが異なり基底面の形状の重要性が明らかとなった。富士山西麓では猪之頭の北の根原地区から猪之頭の東側、白糸の滝、大石寺、富士宮市街の南を通過して富士市街西北まで古富士火山噴出物の尾根が存在し猪之頭の東側や白糸の滝西側等では地表面に現れているが、その他では新富士火山噴出物に覆われており(図6, 図17)<sup>20, 46)</sup>、西麓の富士火山噴出物の基底面の形状は複雑である。

今回のモデル化の過程から考えられた基底面の形状把握の重要な地域を列挙すると、①富士宮市北部の根原地区、②富士宮市白糸の滝の周辺、③富士市側の愛鷹山との境界の地域、④柿田川周辺が挙げられる。

①は富士山から流下した地下水が猪之頭に流れるものと白糸の滝に向かうものとに分岐する地区である。

②は富士山北西麓の物質の流れの解析の対象とした地区である。解析結果から白糸の滝西側も物質が流れて芝川に達する可能性が示された。地下水汚染調査では、この地区は未調査であった。白糸の滝西側は地下水の流れが遮られるような基盤面の形状であるのか、単に地下水汚染調査では白糸の滝西側を通る経路を把握できなかったのか明らかとなる。

③は富士市の今泉湧水群等多くの湧水群の上流に位置し、富士市の工業用揚水として多く使われている重要な地区である。

④は柿田川湧水や小浜池等がある重要な地域である。箱根山と愛鷹山との距離が伊豆島田付近を境に広がり、富士山から流下してきた地下水の末端で箱根山と愛鷹山からの地下水も加わってくる地域であり、基底面の形状、とりわけ深さにより箱根山と愛鷹山からの地下水の流入量が決定されると考えられる。

富士山周辺の地盤の透水係数は表2に示したように幅が大きい。またこれらは人為的活動のあるところとなるので、富士山の裾野にあたる地域の値となる。三島溶岩流の透水係数は2つの報告<sup>38, 39)</sup>から1.0cm/sec程度と考えられた(表3)が、これも伊豆島田という富士山の裾野にあたる地域である。今回の地下水流動解析から富士山周辺の地盤の平均的な透水係数は $1 \times 10^{-2}$ cm/sec程度と見積もられた。また地下水が存在する範囲は標高1,400m付近までとなった。この高さから山麓の湧水群までの滞留時間を計算するとおよそ20年程度となり、これまでの報告の10~30年<sup>17, 39, 40)</sup>と同程度となった。玄武岩溶岩層の中心部はゆっくりと緻密に冷え固まって水も透さず、表層と下底はクリンカー状になり、高所へ行くほど溶岩層はより薄く、より傾き、クリンカー部分が多くなるという溶岩層の構造から、高所ほど降雨と雪融け水は溶岩層間に入り易いと考えられており<sup>14, 19, 26)</sup>、正確な高標高部における涵養量や地下水位を把握することができれば、より正確な透水係数の同定やシミュレーションが可能であると考えられる。

富士山周辺地域に関する資料は多くあると考えられているが、地下水流動に関するものは多いとは言えない。今回、富士山辺地域の水循環に関する資料を基に地下水流動等をモデル化した。換言すれば総合化したことになるが、この作業により現状で不足している情報が明らかとなった。富士山周辺における地下水流動解析による地下水位や汚染事例の再現を通じ、高標高部における降水量、涵養量、地下水位、富士山西麓における地質についての情報が少ないことが明らかとなり、引き続き詳細な研究調査が必要と考えられた。

また富士山周辺における現状から持続的な水利用が必要であり、今後の予想される気象変動を踏まえれば健全なる水循環の確保に向けた研究が必要と考えられた。

#### まとめ

富士山周辺の地域を対象に降水量、涵養量、地下水位、地質、汚染事例等のデータを収集し、富士山周辺地域の自然系の水循環の概要を明らかにするとともに、地下水流動



解析による地下水位や汚染事例の再現により現状あるデータの問題点を抽出した。

1 富士山のように高く大きな山体において涵養量を推定するには河川流量から推定する方法が、最も確からしい方法と考えられた。これまでよりも高標高部の小流域において河川流量を観測すれば、タンクモデルの使用により、より正確な涵養量を把握できると考えられる。

しかし、汚染範囲を予測するという面から、高標高部における正確な降水量の把握は必要不可欠であると考えられた。

2 新富士火山噴出物を対象帯水層とし新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水として扱い、地下水の流動についてモデル化し実測地下水位と汚染事例の再現できた。これらことから、新富士溶岩流内の地下水を対象とした水利用や汚染については、新富士火山噴出物を対象帯水層とし新富士溶岩流内の帯水層は不圧地下水として扱って良いと考えられた。正確な高標高部における涵養量や地下水位を把握することができれば、より正確な透水係数の同定やシミュレーションが可能であると考えられた。

3 新富士火山噴出物の基底面の形状により物質の流跡が異なり、基底面の形状の重要性が明らかとなった。基底面の形状把握の重要な地域を列挙すると、①富士宮市北部の根原地区、②富士宮市白糸の滝の周辺、③富士市側の愛鷹山との境界の地域、④柿田川周辺が挙げられる。

以上のことから、富士山周辺地域に関する資料は多くあると考えられているが、地下水流動に関するものは多いとは言えない。今回、富士山周辺における地下水流動解析による地下水位や汚染事例の再現を通じ、降水量、涵養量、高標高部における地下水位、富士山西麓における地質についての情報が少ないことが明らかとなり、引き続き詳細な研究調査が必要と考えられた。

## 謝 辞

本研究を実施するにあたり、御指導いただきました(独)産業技術総合研究所丸井敦尚氏、山梨県環境科学研究所内山高氏に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) 静岡県県民部：平成19年度静岡県公共用水域及び地下水の水質測定結果，静岡(2008)
- 2) 静岡県県民部：地下水調査報告書（平成19年版），静岡(2008)
- 3) 静岡県企画部：平成20年静岡県推計人口年報，静岡(2009)
- 4) 静岡県県民部：平成18年静岡県の水道の現況，静岡(2008)
- 5) 静岡県企画部：平成18年度工業統計調査報告書-静岡県の工業-，静岡(2008)
- 6) 経済産業省：平成18年度工業統計調査報告書，東京(2008)
- 7) 静岡県都市住宅部：平成9年静岡県静岡県の土地利用，焼津(1999)
- 8) 静岡県建設部：平成19年静岡県静岡県の土地利用，静岡(2009)
- 9) <http://www.pref.shizuoka.jp/kigyousuido/tousun/tousunshisetunogaiyou.html>
- 10) <http://www.pref.shizuoka.jp/kigyousuido/kakitagawa/kakitagawashisetunogaiyou.html>
- 11) <http://www1.fuji-tokoha-u.ac.jp/~fujikawa/groundwater/report1.htm>
- 12) 木澤 綏他：富士山自然の謎を解く，253，NHKブックス，東京(1969)
- 13) 藤村郁雄：富士山の気象，「富士山」富士山総合学術調査報告，211-345，富士急，富士吉田(1971)
- 14) 宮脇昭他：富士山の植物たちー典型的な垂直分布と火山植生ー，富士山，277-294，同文書院，東京(1992)
- 15) [http://www.hrr.mlit.go.jp/library/kenkyukai/h18/pdf/a/a\\_22.pdf](http://www.hrr.mlit.go.jp/library/kenkyukai/h18/pdf/a/a_22.pdf)
- 16) <http://www.mlit.go.jp/chosahokoku/h19giken/program/kadai/pdf/ippan/ippan1-05.pdf>
- 17) 土隆一：富士山の地下水・湧水，富士火山，375-387，山梨県環境科学研究所，富士火山，389-405，富士吉田(2007)
- 18) 安原正也他：富士山の地下水とその涵養プロセスについて，富士火山，389-405，山梨県環境科学研究所，富士吉田(2007)
- 19) 北川光雄：富士火山とその周辺地域における水文環境と水文地形，研修報告書，129，静岡英和女学院短大，

- 静岡(1992)
- 20) 土隆一：富士山の地下水涵養量について，地下水技術，**46**(6)，1-10，東京(2004)
- 21) 土隆一：三島市の地下水とその涵養，三島市地下水涵養方策研究報告書，**4**，55-74，静岡(1998)
- 22) 山本荘毅：富士山とその周辺の陸水，「富士山」富士山総合学術調査報告，251-209，富士急，富士吉田(1971)
- 23) 津屋弘達：富士山の地形・地質，1-49，富士急，富士吉田(1971)
- 24) 土隆一：静岡県内の地形と地質—静岡県地質図1/20万(2001年改訂版)説明書—，内外地図，東京(2001)
- 25) 土隆一：柿田川湧水のメカニズムと小浜池．三島市小浜池湛水調査研究報告書 [その3]，21-25，三島市，三島(1993)
- 26) 土隆一：富士山三島溶岩の構造と地下水—楽寿園小浜池湧水の地質学的考察—，三島市小浜池保存調査に関する報告書，137，三島市，三島(1985)
- 27) 土隆一：富士山のどこに地下水があるのか—その知られざるメカニズムを探る—，富士山，225-249，同文書院，東京(1992)
- 28) 丸井敦尚他：富士山北麓西湖の水質と湖底湧水，ハイドロロジー（日本水文科学会誌），**25**，1-12，東京(1995)
- 29) 落合敏郎：三島溶岩流中の岩罅地不水に関する研究—溶岩流断面における地下水の流速分布と間ゲキ率ならびに地下水流動量の算定—，地下水学会誌，**11**(1)，7-16，東京(1970)
- 30) 池田喜代治：静岡県富士市における地下水の水質の研究，地下水学会誌，**24**(2)，77-93，東京(1982)
- 31) 村下邦夫：本邦における地下水の塩水化，地質調査所月報，**33**(10)，479-530，東京(1982)
- 32) 静岡県：平成6年度岳南地域地下水利用実態調査，静岡(1994)
- 33) 静岡県：平成7年度岳南地域地下水利用実態調査，静岡(1995)
- 34) 静岡県：平成18年度黄瀬川地域地下水利用実態調査，静岡(2007)
- 35) 静岡県：平成19年度黄瀬川地域地下水利用実態調査，静岡(2008)
- 36) 山本荘毅：富士山はゆたかな湧き水の宝庫である，富士山，197-217，同文書院，東京(1992)
- 37) 中井信之・菊田直子・土隆一：富士山及び周辺の地下水・河川水の安定同位体組成とその水文科学への応用，ハイドロロジー（日本水文科学会誌），**25**，71-81，東京(1995)
- 38) 落合敏郎：岩か地下川の地下水流出量とその経年変化，東富士の地下水解析，83-114，リーベル出版，東京(1995)
- 39) 馬原保典他：三島溶岩流内地下水の年代測定について，地下水学会誌，**35**(3)，201-215，東京(1993)
- 40) 吉岡龍馬他：同位体組成から推定される地下水の流動系について—三島市及びその周辺地域を例にして—，地下水学会誌，**35**(4)，271-285，東京(1993)
- 41) 樋口敬二他：富士山頂の永久凍土と気象条件，日本気象学会，気象研究ノート，**118**，97-106，東京(1974)．
- 42) 木下佳彦他：四塩化炭素による地下水汚染について，第31回日本水環境学会年会講演集，307，札幌(1997)．
- 43) 丸井敦尚：富士山北麓の地下水流動に関する数値実験，富士山の地下水流動系の研究，74-84，筑波大，つくば(1995)
- 44) 西垣誠他：飽和・不飽和領域における物質移動を伴う密度依存地下水流の数値解析手法に関する研究，土木学会論文集，**No.511III-30**，135-144(1995)
- 45) 数値地図50mメッシュ(標高)—日本II—，国土地理院，つくば(2001)
- 46) 土隆一：富士宮市の地形・地質と水資源，37-55，富士宮市，富士宮(1996)
- 47) 富士火山地質図，(独)産業技術総合研究所地質調査総合センター，つくば(2002)
- 48) 菅原正巳：流出解析法，83-114，共立出版，東京(1972)



## 学校施設における室内アルデヒド類濃度に関する研究

環境科学部 環境科学スタッフ 久米一成 深澤 均  
静岡県立大学 大学院生活健康科学研究科 林 凌

Research on the indoor aldehydes concentration at schoolrooms

Kazunari KUME, Hitoshi Fukazawa and Lin Ling

小学校の特別教室でホルムアルデヒドが高濃度となった原因を探るため、四季を通じた室内アルデヒド類濃度調査、発生源探索調査等を実施した。

閉鎖室内でのホルムアルデヒド濃度変化は、室内温度が 24℃以下であった春季、秋季および冬季では時間経過による濃度上昇はみられなかったのに対し、室温が 30℃を超えた夏季ではホルムアルデヒドの急激な濃度上昇がみられ、四季を通じて大きな濃度変動が無かったアセトアルデヒドやアセトンとは、異なる挙動を示していた。

音楽室内でホルムアルデヒドを放出する発生源の探索では、机、ピアノ等の室内に持ち込まれた器材からは、天井や壁など建築部材より高い放散速度を観測したが、器材の表面積が室内に占める割合は天井等に比べて相対的に小さいことから、室内の放散量全体に占める割合は相対的に高くはなかった。

Key words: シックスクール, ホルムアルデヒド, 高速液体クロマトグラフ  
Sick school, Formaldehyde, HPLC

### はじめに

近年、化学物質による室内汚染とそれに伴う健康影響が「シックハウス症」と呼ばれ、深刻な社会問題となっている。

そこで当研究所では、既築家屋内の有害化学物質の計測・評価を行い、安全性の高い居住環境の創出を目的として平成 17 年度から 3 ヶ年に渡り「居住環境中の有害化学物質の低減化に関する研究」をテーマにしたプロジェクト研究を実施した<sup>1-3)</sup>。

プロジェクト研究小課題の中で平成 17, 18 年度に実施した公共施設(268 地点)の有害化学物質汚染実態調査の結果では、ホルムアルデヒドの室内濃度指針値を超えた 19 地点中 17 地点が学校の施設であり、これらの施設は毎年夏季に濃度が上昇し、冬季は濃度が減少する傾向がみられた<sup>4-5)</sup>。これら施設については、発生源調査を実施しその原因の究明を行ったが<sup>6)</sup>、未解明

の部分も多く、有効な対策の実施を難しくしていた。

そこで本研究では、学校特別教室で夏季に高濃度となる原因を究明し今後の室内汚染物質の低減対策の資料を得るため、四季を通じた詳細な調査を実施し、いくつかの知見が得られたので報告する。

### 調査方法

#### 1 試薬

ホルムアルデヒド等 3 種のカルボニル化合物と DNPH との反応により得られた 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン標準物質は、和光純薬工業製のものをを用いた。捕集した環境試料中のジニトロフェニルヒドラゾンの抽出等で用いたアセトニトリルおよび HPLC 移動相として用いた緩衝液 A (メタノール 99.7%), 緩衝液 B (メタノール 70%) も、いずれも和光純薬工業製のものをを使用した。

なお、蒸留水は、さらに Millipore (MQ gradient-A10) を用い精製して使用した。

#### 2 使用機器と分析条件

カルボニル化合物の分析には、日本分光 2000plus シリーズ高速液体クロマトグラフ (HPLC) を使用し、検

出器は UV-2077 Plus を用いて、カラム温度は 35℃ に設定し、UV/VIS Detector 360mm でヒドラゾン類の検出を行った。なお分離カラムには、和光純薬工業製 Wakosil-DNPH-II (4.6mm×150mm) を用いた<sup>7)</sup>。

### 3 調査場所

静岡市内の 2 小学校の特別教室（音楽室、パソコン室等）において、春季（平成 20 年 5 月 18 日と 31 日）、夏季（平成 20 年 8 月 5～6 日と 13～14 日）、秋季（平成 20 年 11 月 13 日と 29 日）および冬季（平成 21 年 3 月 4 日と 7 日）の四季におけるアルデヒド濃度変化や室内における高さ別アルデヒド濃度分布調査等を実施した。

ホルムアルデヒドを高濃度で観測した音楽室等では、天井、壁、床等の建築部材および机、楽器等の持ち込まれた器材についてホルムアルデヒドヒド放散量を調査し、室内で高濃度となる原因について調査を行った。

なお、参考として屋内調査と併行して屋外調査を実施した。

### 4 試料の採取

#### 4.1 室内濃度調査

室内濃度調査では、和光純薬工業製 (Presep-C) アクティブサンプラーを用いて柴田科学製のミニポンプ (MP-Σ150S) により 1 L/min の捕集速度で試料採取を行った。

授業が行われていない特別教室で、教室の窓を 30 分開放・換気後、室内を閉鎖し、閉鎖後 0 時間後と 5 時間後に 30 分間の試料採取を行った。なお、音楽教室等一部の調査地点では、閉鎖後 0 時間から 1 時間毎に 5 時間後まで試料採取を実施し、経時濃度変化を調査した。

室内の高度別濃度調査では、柴田科学製 DNPH パッシブサンプラーを専用の架台に取り付けて室内の中央に 1 日 (24 時間) 設置し、試料採取を行った。

各調査終了後は、専用のアルミ袋に密封後、冷凍保存した。トラベルブランクサンプルは、10 検体に 1 本の割合で実施し、また、同一地点で 2 サンプル試料採取する二重測定を 10 調査地点毎に実施し、サンプルと同様の処理を実施した。

#### 4.2 発生源探索調査

ホルムアルデヒドの室内濃度が高かった音楽室内で図 1 に示したパッシブサンプラーを組み込んだ局所空気採取装置 (内容量: 約 300mL (100mm×100mm×38mm))

を用いて、床・壁・天井等の建材や机・ピアノ等の搬入器材に対して、24 時間同時に試料採取し、各測定面における放散物質の捕集量を比較することで発生源の特定を行った<sup>6)</sup>。

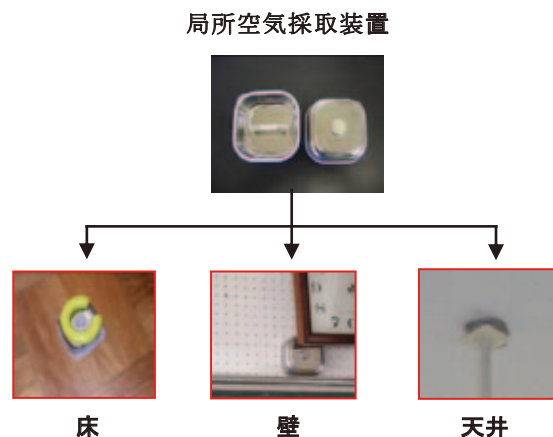


図 1 発生源探索手法

### 5 前処理

試料採取したサンプラー用カートリッジから捕集剤を試験管に取り出し、30%アセトニトリル水溶液 2mL を加え、1 分間攪拌抽出後、アドバンテック社製のテフロンフィルター (DISMIC-13HP) を用いてろ過したものを検体とした。

### 6 分析

カルボニル化合物と DNPH との反応で生成したヒドラゾン類の分離分析は、HPLC/吸光光度法により行った。低濃度のカルボニル化合物も定量できるように、高感度分析手法として、30%アセトニトリル溶液試料 400 μL を HPLC へ注入を行う大量注入法で行った。移動相は緩衝液 A (メタノール 70%)、緩衝液 B (メタノール 99.7%)、アセトニトリルおよび水 (精製純水) の 4 溶媒系でグラジエント分析により、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドおよびアセトンの 3 物質について定量を行った<sup>7)</sup>。

### 結果および考察

#### 1 季節別濃度変化

A 小学校 (パソコン室、音楽室) と B 小学校 (音楽室) で、教室を 30 分間の換気後、閉鎖状態における 0 時間後と 5 時間後のホルムアルデヒド、アセトアルデヒドおよびアセトンの季節別 (春: Sp, 夏: Su, 秋: Au, 冬: W) 濃度結果を表 1 に示す。

ホルムアルデヒドとアセトアルデヒドには、



表 1 特別教室における季節別濃度

調査地点	採取時間	春季調査			夏季調査			秋季調査			冬季調査			
		F.A.	A.A.	Ace.	F.A.	A.A.	Ace.	F.A.	A.A.	Ace.	F.A.	A.A.	Ace.	
A 小学校	パソコン室	0hr	11.5	4.18	7.24	19.4	24.4	2.53	4.20	1.46	4.62	5.49	2.50	10.9
	パソコン室	5hr	20.0	4.46	6.41	72.7	22.8	15.5	10.9	4.35	21.4	7.36	2.74	9.71
	音楽室	0hr	10.4	5.35	1.80	36.8	4.82	6.53	3.67	2.45	3.00	8.29	5.80	9.02
	音楽室	5hr	20.9	14.3	1.88	141	17.4	17.9	23.1	14.7	8.59	18.7	12.7	12.0
B 小学校	音楽室	0hr	7.35	5.31	14.9	76.0	1.42	9.23	12.7	4.79	9.65	8.13	3.01	13.2
	音楽室	5hr	72.0	14.0	23.0	218	34.9	26.0	34.7	15.9	24.8	14.5	6.68	13.9

※F.A. :ホルムアルデヒド A.A. :アセトアルデヒド Ace. :アセトン (μg/m<sup>3</sup>)

室内濃度指針値（以下指針値）<sup>8)</sup>として 100 μg/m<sup>3</sup>と 48 μg/m<sup>3</sup>が設定されているが、今回の調査で指針値を超える高濃度を観測したのは、夏季調査のホルムアルデヒドで、A 小学校音楽室：141 μg/m<sup>3</sup>と B 小学校音楽室：218 μg/m<sup>3</sup>の 2 回で他の季節では指針値を超えることはなかった。

アセトアルデヒドでは、指針値を超えた地点はなく、アセトンと同様に四季とも大幅な濃度上昇はみられず、ホルムアルデヒドのみが特異な挙動を示していた。

なお、季節別の屋外ホルムアルデヒド濃度変動は、A 小学校で 0.49 μg/m<sup>3</sup>（春）から 3.33 μg/m<sup>3</sup>（夏）、B 小学校で 1.52 μg/m<sup>3</sup>（秋）から 2.78 μg/m<sup>3</sup>（夏）でいずれも同じ調査日の室内濃度よりも低く、屋外からの影響は認められなかった。

A 小学校音楽室での季節毎の 0 時間後と 5 時間後の濃度変化を図 2 に示す。アセトアルデヒドおよびアセトンの 0 時間から 5 時間後の濃度は、四季を通じてそれぞれ 2.45 μg/m<sup>3</sup>～17.4 μg/m<sup>3</sup>、1.8 μg/m<sup>3</sup>～17.9 μg/m<sup>3</sup>で大きな濃度上昇はみら

れなかった。一方、ホルムアルデヒドは夏季を除く三季では 3.67 μg/m<sup>3</sup>～23.1 μg/m<sup>3</sup>と他の物質と同様にさほど濃度上昇がみられなかったのに対し、夏季では 36.8 μg/m<sup>3</sup>から 141 μg/m<sup>3</sup>と大幅な濃度上昇がみられた。

このことは、アセトアルデヒドおよびアセトンは、室内に大きな発生源はないが、ホルムアルデヒドは室内に発生源があり、夏季においてその発生源からホルムアルデヒドの放散が急激に上昇したことが推測された。

## 2 閉鎖室内での経時濃度変化

閉鎖室内における詳細なホルムアルデヒド濃度変化を探るため、音楽室（A 小学校）において 30 分間換気後、0, 1, 2, 3, 5 時間閉鎖状態でのホルムアルデヒド濃度調査を実施した。四季におけるホルムアルデヒド室内濃度（実線）と室温（点線）の経時変化結果を図 3 に示す。

室温がほとんどの時間帯で 20℃以下であった秋季（13.9℃～20.6℃）および冬季（11.6℃～15.5℃）では、ホルムアルデヒドの濃度上昇はほとんどなかった。また室温が常に 20℃を超えていた春季（21.3℃～23.6℃）もホルムアルデヒドの濃度上昇は小さく、これら三季でのホルムアルデヒド濃度はほとんど同じ範囲内で推移していた。

一方夏季では、32.2℃から 35.5℃の室温変化で 36.8 μg/m<sup>3</sup>から 141 μg/m<sup>3</sup>と大きく濃度上昇を示していた。湿度は、四季を通じて 50%前後で時間変動も数%と大きな変動がみられなかったことから、ホルムアルデヒドの発生源からの放散量は、温度の影響が強く関係し、室温が 25℃～32℃の間で温度上昇による室内部材からのホルムアルデヒドの急激な放散が起こると推測された<sup>9)</sup>。

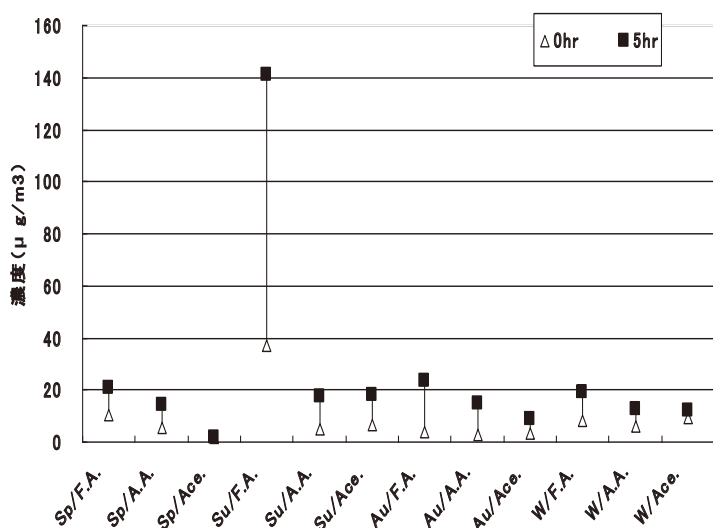


図 2 季節別濃度変化

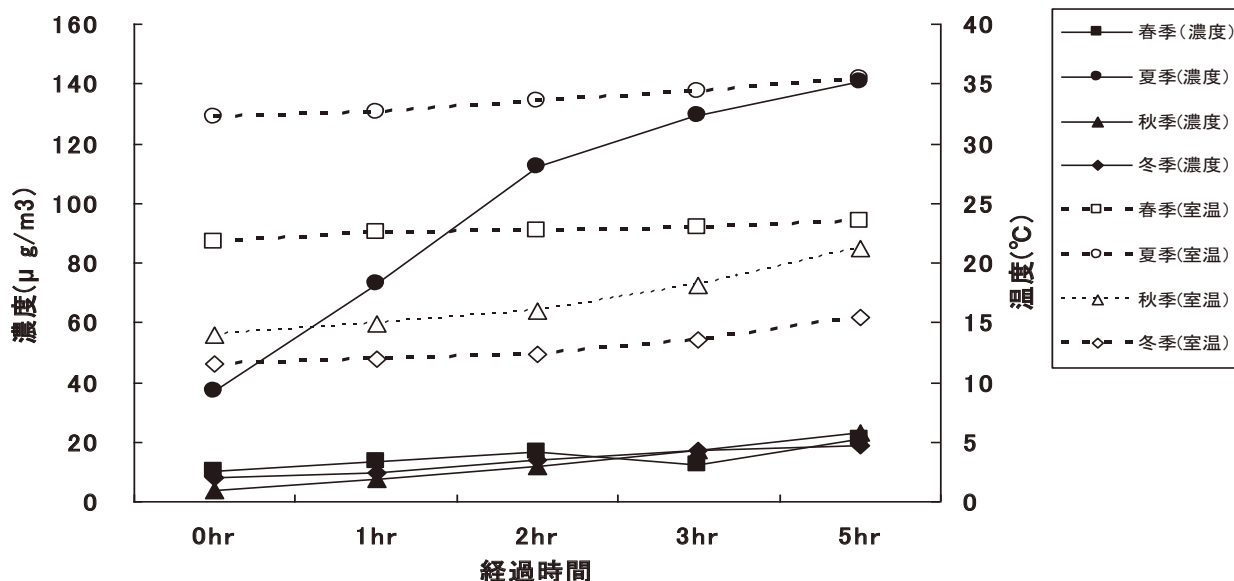


図3 室内でのホルムアルデヒド濃度と室温の季節別経時変化

### 3 発生源探索調査

高濃度を観測した夏季（8月13日～14日）の音楽室内（A小学校）において、ホルムアルデヒドの発生源を探索するため、室内の天井、壁、床の表面建築部材および音楽室に持ち込まれたピアノ、オルガン、机等の器材の表面に局所採取装置を24時間設置し（13時40分～翌日13時40分）、各面からのホルムアルデヒド放散量を測定した。

なお、比較のため、机、ピアノ、オルガンの器材については、表面処理が異なる表面・裏面、上面・下面での測定を、また壁、床については、構造体が異なる部位(図1参照)についてもそれぞれホルムアルデヒド放散量を測定した。

各面からの  $1\text{m}^2 \cdot 1\text{hr}$  当りの放散速度に換算した結果を図4に示したが、最も放散速度が高かったのは、ピアノ（下面）が  $670\ \mu\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$  で次いで机（裏）： $579\ \mu\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 、壁（穴あり）： $535\ \mu\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$  の順であった。また、オルガン（下）も  $507\ \mu\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$  と4番目に高かったことから、持ち込まれた器材からのホルムアルデヒドの放散が室内ホルムアルデヒド濃度の上昇に影響していることが伺えた。なお、これらの器材では、表面や上面などと比べ裏面や下面での放散速度が2倍（オルガン）から9倍（ピアノ）と高かったことから、接着剤として使用されているホルムアルデヒドが、主に表面処理されていない部位から放散されたものと推測された。

また、壁や床でも、壁（穴空き）、床（木枠境）からの

放散速度が、壁（穴無し）、床（木枠内）と比較して1.3倍～1.6倍高かったことから建材内部からホルムアルデヒドが放散しやすい部位での放散速度が高くなったものと考えられた。

各部位からのホルムアルデヒド放散速度と各部材等の面積から計算した放散量では、部材面積が最も広い天井（ $85\text{m}^2$ ）が  $1170\ \mu\text{g}$  で、全体の約40%を占めていたが、放散速度が最も高かった机（ $20\text{m}^2$ ）では  $280\ \mu\text{g}$  で全体の約10%で室内の放散量全体に占める割合は相対的に高くなかった。

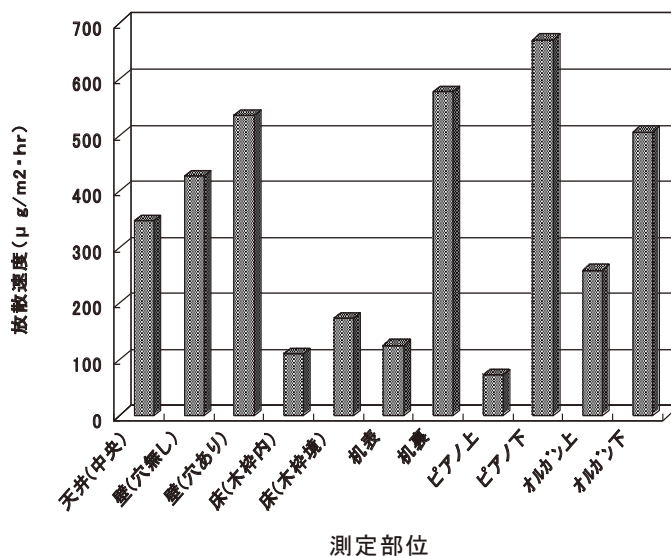


図4 夏季調査における各部材からの放散速度

#### 4 室内濃度垂直分布

ホルムアルデヒド濃度が高くなる夏期において、室内でのホルムアルデヒドの濃度分布を探るため、音楽室（A 小学校）中央部の床からの天井までの高度別にパッシブサンプラーを設置し（A 調査：10 時-15 時，B 調査：15 時-翌 10 時），ホルムアルデヒド濃度の分布調査を実施した．その結果を図 5 に示す．

A 調査および B 調査ともに床から 1.5m 以上の上層地点と比べて，児童が活動する 0m から 1.0m 付近でホルムアルデヒド濃度が高かった．また，3.0m 地点でのホルムアルデヒド濃度は 2.0m 地点より高かったことから，机や天井など音楽室内の発生源からのホルムアルデヒドの放散が室内の濃度分布に影響した可能性が考えられた．

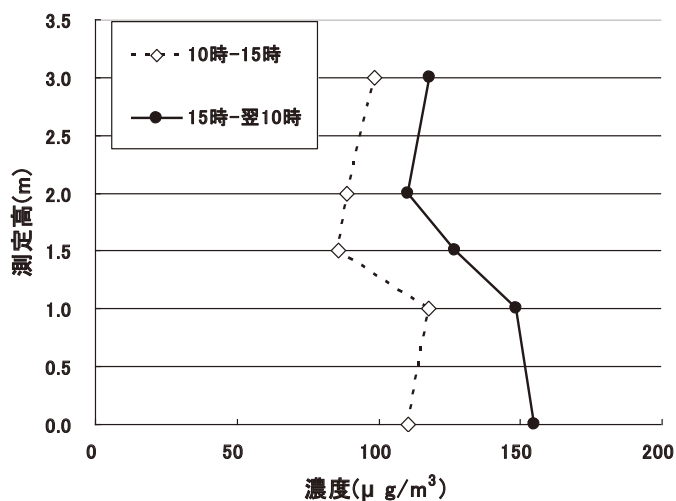


図 5 夏季調査における測定高別ホルムアルデヒド濃度結果

#### まとめ

小学校の特別教室でホルムアルデヒドが高濃度となった原因を探るため，四季を通じた室内アルデヒド類濃度調査，発生源探索調査等を実施し，ホルムアルデヒドが高濃度となる原因を解明した．

ホルムアルデヒドは，夏季に室内濃度が上昇し指針値を超える調査地点がみられたが，春季，秋季および冬季では大きな濃度上昇はみられなかった．

アセトアルデヒドとアセトン，四季を通じて大幅な濃度上昇がなかったことから，特別教室にはこれらを室内の放散させる発生源は少ないことが推測された．

閉鎖室内でのホルムアルデヒド濃度の経時変化では，室内温度が 24℃以下であった春季，秋季および冬季では時間経過による濃度上昇はみられなかったのに対し，室温が 30℃を超えた夏季に急激な濃度上昇がみられ，室温

が 25℃～32℃の間で温度上昇による室内部材からのホルムアルデヒドの急激な放散が起こると推測された．

ホルムアルデヒドを放出する発生源の探索では，机，ピアノ等室内に持ち込まれた器材で天井や壁など建築部材より高い放散速度を観測したが，部材の表面積の広さが天井等に比べて相対的に小さいことから，室内の放散量全体に占める割合は相対的に高くはなかった．

今回の調査により小学校の特別教室におけるホルムアルデヒドが高濃度となる実態や要因が明らかになったことから，特別教室でのホルムアルデヒド低減対策の推進が期待される．

#### 文献

- 1) 久米一成他：公共施設における室内アルデヒド類濃度に関する研究，平成 17 年度室内環境学会総会講演要旨集，194-195(2005)
- 2) 久米一成他：個人住宅における室内アルデヒド類濃度に関する研究，第 15 回環境化学討論会講演要旨集，640-641(2006)
- 3) 久米一成他：室内化学物質汚染と居住者の症状に関する研究，平成19年度室内環境学会総会講演要旨集，48-49 (2007)
- 4) 久米一成他：パッシブサンプラーを用いた室内空気中の揮発性有機化合物に関する研究，平成 18 年度室内環境学会総会講演要旨集，76-77(2006)
- 5) Kazunari KUME, et al: A study on indoor and outdoor air pollution by using passive samplers, China-Japan International Symposium on Indoor Air Pollution and Control, 13-15 (2007)
- 6) 久米一成他：ホルムアルデヒド高濃度室内での発生源探索とその対策手法について，第 17 回環境化学討論会講演要旨集，704-705(2008)
- 7) 久米一成他：パッシブサンプラー捕集／溶媒抽出／大量試料導入 HPLC 法を用いたカルボニル化合物の室内外濃度調査に関する研究，室内環境学会誌，10(3)，107-120(2007)
- 8) 厚生労働省：室内空気中の化学物質の室内濃度指針値および標準的測定方法等について(2002)
- 9) 久米一成他：学校施設における室内アルデヒド類濃度に関する研究，第 20 年度室内環境学会総会講演要旨集，98-99(2008)



## マイクロガスセンサを利用した 小型GC分析装置の開発と適用性に関する研究

環境科学部 環境科学スタッフ 山下晶平, 久米一成, 河合 渉  
矢崎総業株式会社 技術研究所 豊田和弘, 荘田隆博, 伊東祐介,  
植松彰一

Development of Portable Gas Chromatograph with a Sensor Based on Catalytic Combustion  
and Application to the Measurement of VOCs in Indoor Environment

Shohei YAMASHITA, Kazunari KUME, Wataru KAWAI,  
Kazuhiro TOYODA Takahiro SHODA, Yusuke ITO  
and Shoichi UEMATSU

室内の揮発性有機化合物(VOC)の気中濃度を,物質ごとに簡易に現場で測定出来る装置の開発を目的として,平成18年度より吸着燃焼式マイクロガスセンサを用いた可搬型GC分析装置試作機の開発を行ってきた.今回,厚生労働省によるVOCの室内濃度指針値を目安として,試作機の濃度レベルによる検出特性等を調べ,最終的に実際の室内において測定を行った.その際,装置による測定結果を評価するための比較として,従来法であるアクティブサンプリングを併行し,GC/MSによる定量値から気中濃度を算出した.測定対象とした室内において主にトルエンが検出され,試作機による測定値と従来法による測定値はよく一致した.

Key words: 揮発性有機化合物, センサ, ガスクロマトグラフ, 室内空気質

volatile organic compound, sensor, gas chromatograph, indoor air quality

### はじめに

近年,化学物質過敏症やシックハウス症候群が社会問題化し,それらを引き起こす疑いのある物質のひとつとして,揮発性有機化合物(VOC)が指摘されている<sup>1,2)</sup>.このため,厚生労働省による室内空気汚染に係わるガイドラインをはじめとして,国土交通省による住宅の品質確保の促進等に関する法律および建築基準法の改正,文部科学省による学校環境衛生の基準の改訂等,国の室内空気汚染対策に係る施策の見直しが過去十数年の間に行われてきた.

一方,室内空気中の化学物質モニタリングにおけるサンプリング手法として,従来から捕集用サンプラー

に吸引ポンプを接続して捕集するアクティブサンプリング法や化学物質の拡散原理を利用して吸着捕集するパッシブサンプリング法<sup>3)</sup>が採用されている.しかし,これらの方法はGC/MSやHPLC等,機器分析による定量が必要であり,一連の作業として,サンプリングに数時間から1日,輸送に数時間,分析に数日程度と,作業量・時間共に多大であり,それらに伴うコストも無視することができない.また,これらの方法は専門的な知識・技術を必要とするため,調査が必要な場合には,計量証明事業所等,分析機関に依頼することが通例となっている.特に一般家庭において室内の化学物質汚染状況を把握する機会はかなり限定的であり,化学物質への暴露に対する居住者自身による効果的な対策の実施について,極めて困難な状況にあるといえる.また,作業環境においても同様の理由からモニタリングは,ある一定期間ごとに行うケースが殆どで,緊急事態に対する早期発見等,被害拡大防止の予備的措置

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)



としては十分とは言い難い。このような理由から、現場で簡易に VOC を測定するための装置あるいは技術の開発が望まれている。

VOC センサの開発動向としては、合成高分子被膜による水晶振動子<sup>4)</sup>、金属酸化物半導体<sup>5)</sup>、光ファイバー<sup>6)</sup>等、様々な機構を用いたガスセンサが開発されている。しかし、室内には多くの化学物質が比較的低濃度で複合した状態で存在する 경우가多く、ガスセンサ単体では物質に対する選択性がないために、複合ガスに対して、それらの濃度の合算として検出してしまう。また、センサ感度は物質間において差があるために、組成の異なるガスに対して濃度を比較することが困難なことや、有害性の有無にかかわらず検出する全ての物質の合算としてしまうこと等から、本来の目的に沿った正確な測定が困難な場合も多い。一方、一般的に有用とされる化学物質も室内環境中に存在する場合があるので、このような時に化学物質の種類を把握し、その中から有害性の高い物質を個々に検出し濃度を求めていくことが室内環境保全において重要である。

本研究の装置試作機に用いたガスセンサは、従来から可燃性ガスの検出に広く利用されている接触燃焼式センサにガス濃縮機能を付与した吸着燃焼式センサであり、通常のセンサでは検出が困難な ppb レベルのガスに対しても有効である。ただし、ppb レベルのガスを高感度で検出するためには、さらに濃縮機構が必要であり、また物質を選択的に検出するためには分離機構が必要となる。そこで、低濃度の VOC でも簡易に現場で個別に測定出来る装置の開発を目的として、平成 18 年度より吸着燃焼式マイクロガスセンサを用いた可搬型 GC 分析装置試作機の開発を実施してきた。今回、厚生労働省による VOC の室内濃度指針値を目安として、試作機の濃度レベルによる検出特性等を調べ、最終的に実際の室内において測定を行うことで、実環境測定への適用性について検討したので報告する。

## 方法

### 1 対象物質

厚生労働省による室内濃度指針値が設定されている物質のうち、トルエン、エチルベンゼン、*o*-キシレン、スチレンを測定対象物質とした。なお、本研究に先立ち、実環境中における空気質について予備調査したところ、酢酸ブチルが高濃度で検出された箇所が認められたことから、これも対象とした。また、トルエンの室内濃度指針値 0.07ppm を目安として、測定濃度範囲を 0.02~2ppm に設定した。

### 2 試薬

トルエン:インフィニティピュア(和光純薬工業(株)製)、エチルベンゼン:試薬特級(和光純薬工業(株)製)、*o*-キシレン:試薬特級(和光純薬工業(株)製)、スチレン、モノマー:試薬特級(和光純薬工業(株)製)、酢酸ブチル:試薬特級(関東化学(株)製)、VOCs 混合標準液:室内環境測定用(関東化学(株)製)、Toluene-*d*<sub>8</sub>:内部標準試薬(シグマアルドリッチ(株)製)、二硫化炭素:作業環境測定用(和光純薬工業(株)製)

二硫化炭素は蒸留したものを用いた。GC/MS による分析に関して、Toluene-*d*<sub>8</sub> 標準試薬 50μl を二硫化炭素に添加して 100ml とすることで、内部標準液(1mg/l)を調製した。

## 3 装置

### 1) GC 分析装置原理試作機

本装置は、固相吸着剤を充填したガラス管に VOC を捕集し、濃縮する濃縮ユニット、複合する VOC を分離するカラムユニットおよび吸着燃焼式センサを搭載した検出ユニットを組み合わせることで空気中の VOC を定性定量する装置である。同センサは MEMS (Micro Electro Mechanical systems) 技術を駆使し、極小かつ低熱容量とする(図 1)ことで、通常のセンサでは検出が困難な ppb レベルでの検出を可能にした<sup>7,8)</sup>。

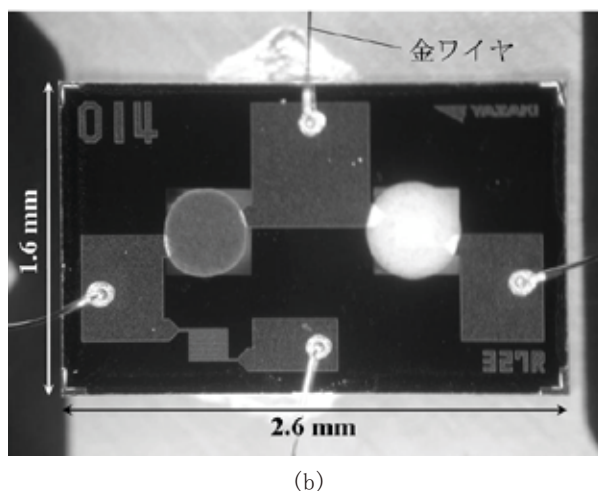
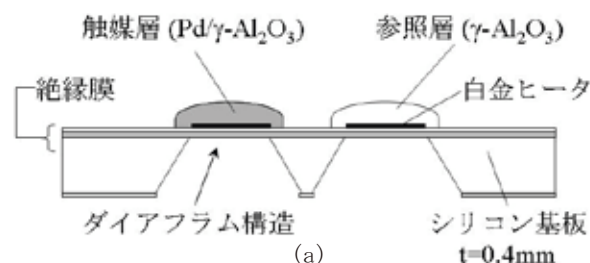


図 1 吸着燃焼式ガスセンサ  
(a) 断面図, (b) 上面写真

またキャリアガスとして、大気をシリカゲルおよび活性炭に流通させることでフィルタリングを行った清浄空気を用いた。試作機の概要を図2に示す。

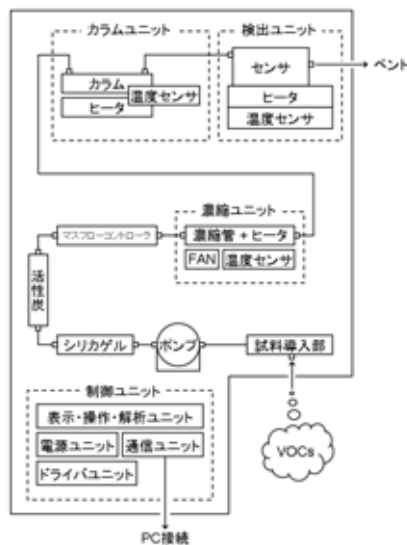


図2 GC分析装置試作機概要図

本装置は、以下に示す5つのモードを有し、図3のフローに従って分析を行う。

- ① イニシャライズ  
電源投入時にカラム、濃縮管温度、流量設定他、各制御パラメータの初期化を行う。
- ② クリーニングモード  
装置に残留するVOCを清浄空気でパージする。
- ③ 待機モード  
サンプリングに備えて、流路切り替え、濃縮管の冷却を行う。
- ④ サンプリングモード  
測定対象となる大気を吸引し、濃縮管に捕集する。
- ⑤ 分析モード  
捕集したVOCを濃縮管より加熱脱離させ、カラムにより分離後、各VOCをセンサで検出する。

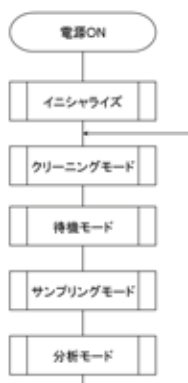


図3 試作機による分析フロー

濃縮ユニットにおける濃縮管は、内径4mmのガラス管にTenax TA (60/80メッシュ、シグマアルドリッチ(株)製)を100mg充填したものを用いた。サンプリングモードにおける濃縮管による捕集は流速40ml/min、捕集時間25minで行った。捕集時の温度を60℃、またVOCの加熱脱離時の温度は280℃に設定した。

カラムユニットにおけるカラムは市販のDB-WAX (0.53mm×30m, df:1.00μm, J&W Scientific Inc.製)をカットして長さ4mとしたものを用いた。カラム温度は常時40℃に設定した。分析モードにおいて、濃縮部から脱離したVOCをカラムに導入するためには、脱離ガスの打ち込み機構が必要となることから、手動による電磁弁の流路切り替え機構を設け、切り替えスイッチを押している間だけ濃縮管内にキャリアガスが流通して脱離ガスがカラムに導入されるようにした。なお一連の分析において、キャリアガスである清浄空気の流速は5ml/minとした。

検出ユニットのセンサによるVOCの検出は1secごと、30min、計1800回実行するよう設定し、検出ピークの面積は、それら1secごとのベースラインからの強度を積算することで算出した。

2) 従来法における測定機器

GC分析装置試作機による測定結果を評価するために、比較として従来の測定手法であるアクティブサンプリングを併行した。この時、以下の機器を用いた。

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) : JMS-Q1000GC/K9 (日本電子(株)製)、アクティブサンプリング用カートリッジ: ORB0-101 (Carbotrap 20/40メッシュ、シグマアルドリッチ(株)製)、サンプリングポンプ: SP208-1000Dual II (ジーエルサイエンス(株)製)

GC/MSによる分析条件を表1に示す。

表1 GC/MS分析条件

Column	EQUITY-1, 0.25mmx60m, df:1.00μm
Oven	35℃, (5min) to 100℃ at 3℃/min to 250℃ at 8℃/min (5min)
Inj.	250℃
Det.	MSD, scan range 35-350amu, transfer line 250℃
Flow	He, 1.0ml/min, constant, set at 35℃
Injection	1.0μl, split 10:1
Liner	Single tapered
Source Temp.	220℃

## 結果および考察

### 1 加熱脱離した VOC ガスのカラムへの打ち込み時間

本装置は測定時間短縮のため、捕集ガスをカラムへ全量導入せず、その一部を導入する方式を選択した。カラムで VOC を分離するためには、所定時間、VOC ガスをカラムに打ち込む必要があるが、この打ち込み時間が短いとセンサによる検出感度が不足し、逆に長いとピーク分離が不十分となるため、打ち込みに最適な時間を調べた。ガスバッグ (Flek-Sampler, 近江オドエアサービス(株)製) にトルエンを純空気希釈して 0.05ppm に調製したものを試料ガスとして用い、試作機による検出ピーク強度および面積を調べた(図 4)。

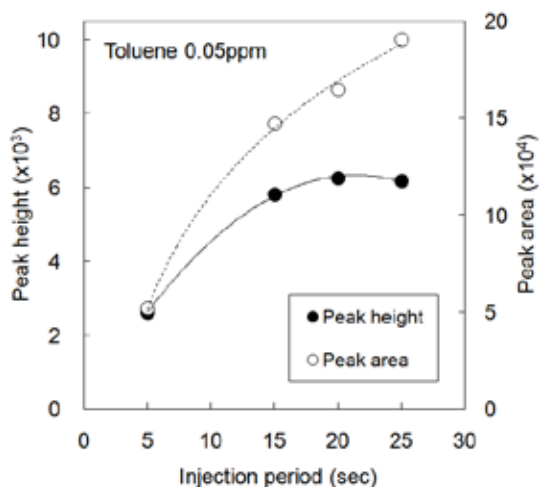


図 4 VOC 打ち込み時間によるピーク強度と面積

この結果、打ち込み時間が長いほどピーク面積が高くなるのに対して、ピーク強度は 15~20sec の打ち込み時間において最大となり、それ以上打ち込み時間を長くしてもピークがブロードになってしまうことが分かった。そこで、試作機の打ち込み時間は 15sec として装置評価を行うことにした。

### 2 濃縮ユニット吸着剤の耐久性

本装置は低コスト化の一環として、キャリアガスに窒素やヘリウムといったボンベ等の器材が必要な不活性ガスを用いず、測定現場の大気をシリカゲルおよび活性炭でフィルタリングすることで清浄空気をキャリアとする方式を取って選択した。濃縮管は VOC 脱離時やクリーニングモードにおいて、280℃ と高温加熱された状態で清浄空気を流通させる。これにより、特に濃縮ユニットの吸着剤の酸化による劣化が懸念された。そこで図 5 に示す実験系により一定時間ごとの Tenax TA の劣化状態を調べた。

試作機において濃縮部をキャリアガスが流通するのはクリーニングモード、サンプリングモードおよび分

析モードである。この中でクリーニングモードは最も過酷な条件であり、キャリア流速 40ml/min, 加熱温度 280℃ (1 サイクルにつき 10min) であることから、これを試験条件とした。劣化状態の判定指標として、トルエンの添加回収率を一定時間ごとに調べた。方法としては、ガスバッグ (Flek-Sampler, 近江オドエアサービス(株)製) にトルエンを純空気希釈して 1ppm に調製したものを試料ガスとして用い、Tenax TA を充填した濃縮管およびアクティブサンプラー ORB0-101 を個別にサンプリングポンプ SP208-1000Dual II に接続し、それぞれ流速 100ml/min で同じ試料ガスを 11 捕集した。この ORB0-101 によるトルエン捕集量を 100% 捕集量と定義した。一方、試料ガス捕集後の Tenax TA については、図 5 の実験系に再度設置後、A の部位に別途用意した ORB0-101 を接続し、30min 保持した状態で、耐久試験と同じ条件により脱離したトルエンを回収した。100% 捕集量に対して、この捕集量の割合をトルエン回収率とした。

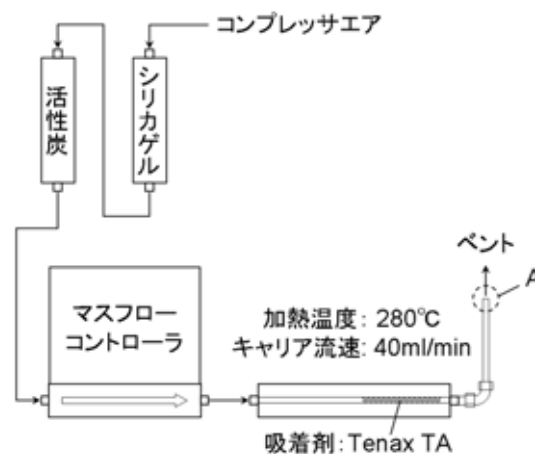


図 5 耐久試験における実験系

この結果、回収率は 600 時間経過後も試験開始時とほぼ同様で、一連の回収率の平均は 89.4% と、トルエン回収率に関しては劣化の影響が殆ど認められなかった。なお、この試験において、試験開始当初から Tenax TA の酸化劣化による微量の芳香族類の酸化物とみなされるマススペクトルが認められたが、耐久試験の経過時間にかかわらず量はほぼ一定しており、今回濃度レベルの目安とするトルエン 0.07ppm 相当の VOC の検出において妨害とならないレベルであった。

### 3 試作機の VOC 検出における濃度特性

試作機による VOC 検出における濃度特性を調べるために、0.02~2ppm の濃度範囲の試料ガスを調製した。

対象とした 5 物質（方法，1 参照）について，同じ濃度レベルの混合ガスを試料ガスとし，試作機により検出した．この時，エチルベンゼンと酢酸ブチルのピークが重複してしまい，本試作機搭載のカラムでは分離が困難であることが分かった．このため，今回は予備調査時に検出された酢酸ブチルを優先することとし，この時点でエチルベンゼンは対象から除外した．試作機による VOC の分離状況を示すため，一例として，約 2ppm の 4 物質の混合ガスについて検出したクロマトグラムを図 6 に示す．

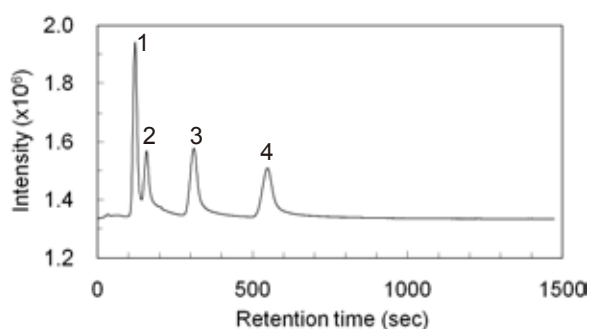


図 6 試作機により検出した VOC のクロマトグラム  
1: トルエン, 2.0ppm, 2: 酢酸ブチル, 1.9ppm, 3: *o*-キシレン, 1.8ppm, 4: スチレン, 1.7ppm (各濃度は GC/MS により定量)

また，1つの濃度につき，3回サイクル測定することで，繰り返し精度についても調べた．その結果，設定濃度範囲において各々3回測定したピーク面積値の RSD が概ね 5%以内であった．また，ピークトップにおける保持時間に関しては，トルエンで 5sec 程度，その他の 4 物質に関しては 5~10sec 程度の変動が認められた．

次に，各濃度に対するピーク面積をプロットした結果，4 物質共に線形近似よりも二次近似による相関が高かった．本装置は簡易測定装置という位置付けから，2 点校正が妥当であると考えられる．そこで，濃度域 I として 0.02~0.1ppm，濃度域 II として 0.1~2ppm と，測定濃度域を分割し，それぞれ線形近似した．この結果，4 物質共に I，II いずれの濃度域においても  $R^2$  が 0.98 以上と高く，2 点校正により定量可能と判断した．

#### 4 試作機による実環境測定

本研究の目的である試作機による実環境測定への適用性評価のために，フィールド試験を実施した．試験において，試作機によるサンプリングと同時に，従来法としてアクティブサンプリングを併行し，測定結果

を比較することで評価した．サンプリングの概要を表 2 に示す．なお今回，濃度レベルの目安を室内濃度指針値としたことから，家具製造工場 A において，塗装ブース等，VOC の発生源付近でのサンプリングを避け，比較的 low 濃度であることが予想される①および②の 2 地点を選定した．

表 2 フィールド試験におけるサンプリングの概要

	試作機	従来法
捕集剤	Tenax TA (装置内蔵)	ORBO-101
捕集速度	40ml/min	500ml/min
捕集時間	25min	
対象地点	①家具製造工場 A 製品搬出用通路 ②家具製造工場 A 木質パネル仕上げ工程 ③陶芸工房 B	
試験日	地点①および②	2009年2月17日
	地点③	2009年2月20日

試験の結果，いずれの地点においても主にトルエンが検出された．但し，地点①において，トルエン以外に，酢酸ブチル，エチルベンゼン，*m*, *p*-キシレン等が検出されたが，これらについては試作機カラムによる分離が不十分であったためにピークが重複して定量できなかった (図 7)．

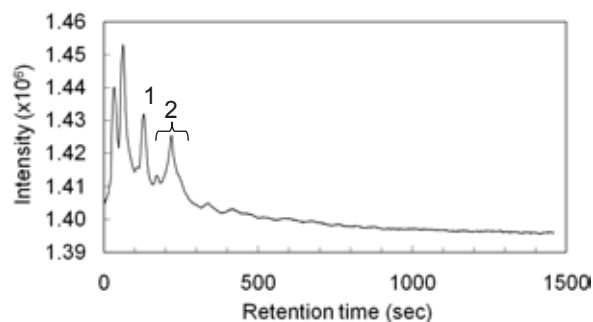


図 7 試作機による検出クロマトグラム (地点①)

1: トルエン, 0.019ppm, 2: 酢酸ブチル, 0.019ppm, エチルベンゼン, 0.008ppm, *m*, *p*-キシレン, 0.008ppm, 他による複合ピーク (各濃度は GC/MS により定量)

しかし，感度としては十分検出可能なレベルであり，分離能を改善する条件あるいは手段を見出すことができれば，このような物質に対応可能であると考えられた．また，現場での聴き取り調査によりアセトンと酢酸エチルの使用を確認した．今回 4 物質のみを測定対象としたため，その他の物質について試作機による定



量はできなかったが、図7のピーク1よりも保持時間の短い2つのピークがこれらに該当するものと推定された。

ここで、全3地点において検出されたトルエンの測定結果について、試作機測定値と従来法による測定値を比較した。なお、地点③では、素焼きの陶器に釉薬をかける前処理として、トルエンを溶剤とする撥水剤を使用していた。撥水剤の使用時間は約1時間で、この後、室内の換気効果によるトルエンの濃度減衰をモニタリングするため、測定は4サイクル繰り返した。

この結果、トルエンについて0.02~2ppm以上の広い濃度範囲で、従来法による測定値とよく一致した(表3)。また、地点③の測定では4回目の測定において試作機のトラブルにより欠測となったものの、地点①でこれと同じ濃度レベルで従来法による結果と一致していることから、室内の換気等による濃度変化のモニタリングにも十分適用可能であることが分かった。

表3 トルエン濃度測定結果の比較 (ppm)

対象地点番号	試作機測定値	従来法測定値
①	0.021	0.019
②	2.4	2.6
③ (1回目)	1.3	1.2
〃 (2回目)	0.24	0.21
〃 (3回目)	0.099	0.10
〃 (4回目)	欠測	0.019

次に、従来法との相関について、表3の結果をグラフにまとめた(図8)。この結果、 $R^2$ が0.99以上と、試作機によるトルエン濃度の測定に関して、十分な精度を確認した。

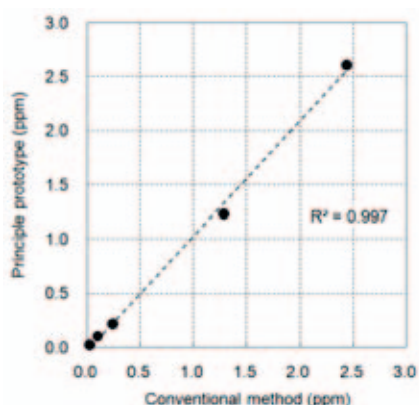


図8 トルエン濃度における従来法との相関

まとめ

トルエン、酢酸ブチル、*o*-キシレン、スチレンに対する試作機の濃度検出特性を調べ、定量範囲を0.02~

0.1ppm および 0.1~2ppm と 2段階に設定することで、各濃度範囲において線形近似出来ることを確認した。これにより試作機の校正は2点で簡易校正した。フィールド試験の結果、トルエンについては0.02ppm程度の低濃度域から2ppm以上の高濃度域まで、従来法による結果と良く一致し、オンサイト測定機として十分な精度を有することを確認した。しかし、一部の地点で観測された低濃度の酢酸ブチル、エチルベンゼン、*m, p*-キシレンについては分離が不十分で、定量が困難だった。多種類のVOC測定に対応するためには、今後、分離能改善のための技術開発が必要である。

謝辞

フィールド試験に関して、御協力いただいた静岡県工業技術研究所 櫻川智史氏に深謝します。

文献

- 1) Redlich, C.A. et al. : Sick-building syndrome, *Lancet*, 349, 1013-1016 (1997)
- 2) Wolkoff P. et al. : Organic compounds in indoor air—their relevance for perceived indoor air quality?, *Atmospheric Environment*, 35, 4407-4417 (2001)
- 3) Seethapathy S. et al. : Passive sampling in environmental analysis, *Journal of Chromatography A*, 1184, 234-253 (2008)
- 4) Sugimoto I. et al. : Classification and characterization of atmospheric VOCs based on sorption/desorption behaviors of plasma polymer films, *Sensors and Actuators B*, 124, 53-61 (2007)
- 5) Lee D.-S. et al. : Fabrication and characteristics of SnO<sub>2</sub> gas sensor array for volatile organic compounds recognition, *Thin Solid Films*, 416, 271-278 (2002)
- 6) Silva L.I.B. et al. : Development of a fluorosiloxane polymer-coated optical fibre sensor for detection of organic volatile compounds, *Sensors and Actuators B*, 132, 280-289 (2008)
- 7) Sasahara T. et al. : Development of a ppb-level sensor based on catalytic combustion for total volatile organic compounds in indoor air, *Sensors and Actuators B*, 126, 536-543 (2007)
- 8) 江頭 誠他:吸着燃焼式マイクロガスセンサ, マテリアルインテグレーション, 21, 87-92 (2008)



## 石綿含有成型板等の解体等作業による 建築解体現場周辺の大気中石綿濃度に関する研究

大気水質部 大気・騒音環境スタッフ 江本勇治, 尾澤義昭

Study on Airborne Asbestos Concentration at Building Dismantlement Sites  
 with Asbestos Containing Materials

Yuji EMOTO and Yoshiaki OZAWA

建築物解体等工事現場周辺の大気中石綿濃度を把握するため、石綿の同定が可能な分析走査電子顕微鏡により大気中石綿濃度を測定した。

その結果、石綿含有吹付け材が施工されていない建築物を解体する際にも周辺大気中に石綿が飛散していることが明らかになったが、その濃度は N.D. ~ 2.8 本/L と石綿含有吹付け材除去工事時の周辺濃度 N.D. ~ 520 本/L よりも十分低く、環境に及ぼす影響は低いと考えられた。建築物解体工事現場からの石綿繊維の飛散の原因として、石綿含有成型板等の破碎作業、石綿含有吹付け材の除去時の取り残しが推定された。

また、石綿含有吹付け材除去工事現場の負圧集塵機出口と前室入口からの石綿漏洩率はともに高く、負圧集塵機出口よりも前室入口の方が石綿漏洩濃度は高くなる傾向が示唆され、その濃度は管理濃度を超えることがありうるということが明らかになった。

Key words: アスベスト, 建築物解体現場, アスベスト含有建材, 走査電子顕微鏡,  
 エネルギー分散型元素分析装置  
 Asbestos, Building Dismantlement Site, Asbestos Containing Material,  
 Scanning Electron Microscopy, Energy Dispersive X-ray Spectrometer

### はじめに

石綿は天然鉱物繊維で、耐熱性、断熱性、保温性、防音性、耐薬品性等の物理化学特性に優れており、また、安価であることから、化学工業、自動車産業などはもとより、建築材料として昭和 30 年代から様々な用途に使用されてきた。欧米では 1940 年代に石綿の大量消費が始まったが、石綿暴露後 20~50 年経過した労働者の中に肺がんや中皮腫を発病させることが 1970 年代初頭に明らかにされてから<sup>1)</sup>、1970 年代にはその使用は急速に減少し、1990 年代中頃にはほとんどの国で使用を止めた。一方、わが国では、高度経済成長期の始まりとともに 1960 年代から急激に使用量が増加し、

1970 年頃から 1990 年頃まで年間 20~30 万トン使用されたが、1990 年代から急速に減少し 2004 年に使用が禁止された。この間、約 1000 万トンの石綿が消費され、そのうちの約 80%が建築材料に使用されたと推定されている<sup>2)</sup>。この時期に施工された建築物が築後 20~50 年程度経過し、石綿含有建築材料を使用した建築物の解体等工事が今後も増加が予想されること、また、石綿含有建築材料の排出量のピークが 2016 年頃にくると予測されていること<sup>2)</sup>から、建築物の解体等工事に伴う石綿暴露防止対策が今後も重要となる。

建築物に使用されている石綿含有建築材料は、飛散の程度から①吹付け材②保温材・断熱材等③成型板等の 3 種類に区別することができる。飛散の程度が高い吹付け材や保温材・断熱材等の解体等工事は、大気汚染防止法や石綿障害予防規則等により作業基準や届出義務が規定され、また、立入検査等により厳しく管理されている。一方、成型板等は施工状態のままでは石綿の飛散はほとんど無いため、石綿含有成型板解体工事

静岡県環境衛生科学研究所  
 (〒420-8637, 静岡市葵区北安東 4-27-2)  
 Shizuoka Institute of Environment and Hygiene  
 (4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

の作業基準は吹付け材より厳しくなく、法律による届出義務もないが、切断や破碎の際は石綿が飛散すると考えられること、また、使用量が吹付け材より圧倒的に多いことから、石綿含有成型板解体工事現場からの石綿の飛散による環境影響が懸念される。

海外では、石綿含有成型板が使用された建築物解体工事現場周辺の大気中石綿濃度は分析透過電子顕微鏡により調査を行っており、数本/L程度と報告されている<sup>3)</sup>。しかし、わが国では、飛散性が著しい石綿含有吹付け材除去作業時の大気中石綿濃度測定は石綿飛散監視として全国各地で行われているが、これまでに国内で使用された石綿含有建築材料の大半を占める石綿含有成型板が使用されている建築物解体工事現場において、石綿の種類と同定可能な方法による大気中石綿濃度測定はほとんど行われていない。社団法人住宅生産団体連合会が行った建築物解体工事現場における調査では、石綿含有成型板を使用した建築物を解体する際、散水等による湿潤化や極力原形を留めたままの手作業による取り外し等、同連合会が発行した「低層住宅石綿取扱ガイド」<sup>4)</sup>に示してある適切な作業手順、方法で解体作業を行った場合の分散染色法による大気中石綿濃度を測定しており、その結果、適切な作業により解体作業を行えば石綿濃度は定量下限未満であると報告されている<sup>5)</sup>。しかし、このような解体方法では、重機による解体方法と比較して解体作業の時間や作業員数が多く要することから、業として行う解体工事に取り入れることは困難な場合が多いと考えられる。

そこで、飛散の程度が異なった建築材料である石綿含有成型板と石綿含有吹付け材が使用されているそれぞれの解体等工事現場において、建築物解体等工事現場周辺の大気中石綿濃度の把握するため、業として行っている建築物解体等工事について、石綿の種類を同定可能な分析走査電子顕微鏡により工事現場周辺の大気中石綿濃度を測定したので、その結果について報告する。

## 調査方法

### 1 解体建築物および石綿含有吹付け材の状況調査

建築物解体等工事現場において、目視および作業者への聞き取りにより、建築年代、建築構造、解体方法、粉じん飛散防止対策、石綿種類、含有率等の調査を行った。

### 2 建築物解体等工事現場周辺における試料採取法

#### 1) 使用機器：

エアースンプラー；MODEL AL-200T (OCT SCIENCE)

バッテリー；BU-200 (OCT SCIENCE)

フィルター；φ47mm メンブレンフィルター

(セルロースエステル；MILLIPORE)

フィルターフォルダー；φ47mm 用オープンフェース

(柴田科学㈱)

#### 2) 採取条件：

採取場所；①建築物解体工事現場の敷地境界周辺

；②除去工事現場の負圧集塵機出口および

前室入口前面から1m以内の地点(図1)

採取時間；連続4時間

吸引流量；10L/min

捕集空気量；2400L

採取日；平成19年5月～20年12月

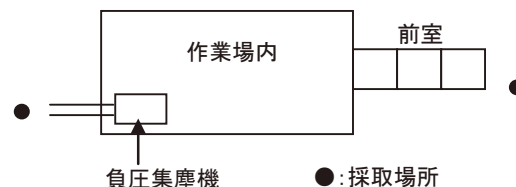


図1 試料採取場所の概要

### 3 大気中粉じん濃度の測定法

メンブレンフィルターを温度25℃、湿度50%の恒温恒湿室に一昼夜静置し、精密天秤により試料採取前のメンブレンフィルターを秤量した。試料採取後も同様にメンブレンフィルターを秤量し、試料採取後の質量から試料採取前の質量を差し引いた質量を粉じん量とし、空気捕集量から大気中粉じん濃度を求めた。なお、精密天秤は電磁力平衡型天秤 XS205DU (メトラー・トレド㈱)を使用した。

### 4 石綿繊維の分析法

採取した試料について、位相差顕微鏡法と分析走査電子顕微鏡法により石綿繊維数濃度を測定した。計数ルールは、位相差顕微鏡法ではアスベストモニタリングマニュアル(第3版)(環境省水・大気環境局大気環境課 平成19年5月改訂)<sup>6)</sup>(以下、マニュアルとする)に従い、分析走査電子顕微鏡法では、位相差顕微鏡法に準じ、長さ5μm以上かつ幅3μm未満でアスペクト比3以上の繊維状粒子を計数対象繊維とした。

#### 1) 使用機種：

位相差顕微鏡(以下「PCM」とする)；

80iTP-DPH (㈱ニコン)

走査電子顕微鏡(以下「SEM」とする)；

JSM-7001F(日本電子㈱)

エネルギー分散型元素分析装置(以下「EDS」とする)

; XFlashシリコンドリフト検出器QuanTax(Bruker)

2)使用条件:

PCM; 400倍

SEM; 加速電圧 15kV、照射電流 12pA、真空度 9.6E-5Pa

EDS; 測定時間 100s

3)分析走査電子顕微鏡試料の前処理法

マニュアルのカーボンペースト含浸法により、メンブランフィルターを走査電子顕微鏡の試料台に固定し、カーボン蒸着を施した。

4)PCM法の試料観察法

マニュアルに従い50視野計数した。その時の検出下限値は0.11本/L、定量下限値は0.30本/Lであった。

5)分析走査電子顕微鏡の試料観察法

3)で前処理された試料を江本らの方法<sup>7)</sup>に従い、1000倍率の反射電子像で計数視野を順次移動させ繊維状粒子を探索し、繊維状粒子が観察されたら二次電子像に切り替えて、数千~数万倍程度の高倍率で繊維状粒子の形状を観察するとともに、EDS分析を行い繊維の組成を確認し石綿の種類を同定した。観察視野数は107視野とし、そのときの検出下限値は0.38本/Lで、定量下限値は1.0本/L<sup>8)</sup>であった。

### 結果および考察

#### 1 解体建築物の状況

建築物解体工事現場11件の調査を行った。そのうち、9件はコンクリート造の建築物で、2件は木造であった。建築年代は、昭和30年代後半から昭和50年代後半までと幅広かった。また、石綿含有吹付け材が施工されている建築物については、大気汚染防止法等の作業基準に従い除去した後、解体工事を行った(表1)。解体方法は、重機による解体は11件中10件で、手作業による取り壊しを行っている解体現場は1件のみであった。

表1 調査建築物の概要と調査時の天候

場 所	建築物の構造	建築年代	石綿含有吹付け材 <sup>1)</sup>	調査時の天候		
				天気	風向	風速(m/s)
1	木造	S30年代後半	無	晴/曇	SW	5.0
2	コンクリート造	S40年頃	有	曇/晴	SW	0.8
3	コンクリート造	S40年代前半	有	曇	SE	1.5
4	コンクリート造	S40年代前半	有	晴	SW	3.2
5	コンクリート造	S47年頃	有	曇	SW	3.7
6	コンクリート造	S48年頃	有	晴	SW	2.7
7	木造	S40年代後半	無	曇	SE	2.1
8	コンクリート造	S52年頃	有	晴	SE	3.3
9	コンクリート造	S50年代前半	無	曇	SE	2.8
10	コンクリート造	S50年代前半	無	晴	SW	3
11	コンクリート造	S50年代後半	無	曇	SE	2.2

1)「有」の建築物については、作業基準に従い除去した後解体工事を行った。

た。飛散防止対策は、主として散水が行われていたが、11件中2件は散水作業を行っていなかった。また、鉄板や防音シート等による養生は11件中3件しか行われていなかった(表2)。

#### 2 大気中粉じん濃度

建築物解体工事現場周辺の大気中粉じん濃度の最大値は、0.12~4.3mg/m<sup>3</sup>であった。飛散防止対策として、養生シートで解体工事現場周辺を覆っている現場の大気中粉じん濃度は0.12, 0.23, 0.45mg/m<sup>3</sup>と、飛散防止対策が散水のみでの解体工事現場の0.79~4.34 mg/m<sup>3</sup>と比較して濃度は低かった(表2)。

室内実験で石綿含有成型板を破砕した際に飛散する石綿繊維量は、散水により90%程度抑制できると報告している<sup>8)</sup>が、本研究では、散水による粉じんの飛散防止効果は不明瞭であった。本研究では、鉄板や厚手の防音シート等による建築物解体工事現場周辺の養生は、粉じん抑制効果が高いことが明らかになった。

表2 建築物解体中の大気中粉じん濃度

場 所	大気中粉じん濃度(mg/m <sup>3</sup> )	解体方法	飛散防止対策 <sup>1)</sup>	
			散水	養生
1	0.50	小型重機	×	×
2	1.5	大型重機	×	×
3	0.45	手作業	○	○
4	4.3	大型重機	○	×
5	—	大型重機	○	×
6	0.79	大型重機	○	×
7	0.99	大型重機	○	×
8	3.2	大型重機	○	×
9	0.12	大型重機	○	◎
10	1.9	大型重機	○	×
11	0.23	大型重機	○	◎

1) ◎:優れた対策を講じている(養生:鉄板等)。

○:対策を講じている。

×:対策を講じていない。

### 3 建築物解体工事現場周辺の大気中石綿濃度

解体工事現場 11 件中 6 件で、周辺大気中に石綿繊維が検出された。そのうち、4 件は定量下限を超えた濃度であり、最高濃度は 2.8 本/L であった(表 3)。確認された石綿繊維の種類はクリソタイル、クロシドライト、トレモライトの 3 種類であった(図 2、3、4)に電子顕微鏡像の例を示す)。また、トレモライトは石綿が確認された 6 件全てに含まれていた(表 3)。

位相差顕微鏡法により計数された石綿濃度と分析走査電子顕微鏡法による石綿濃度の間には、有意な相関関係はみられなかった(図省略)。

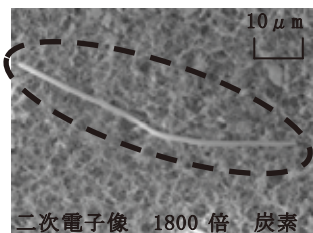


図 2 検出された  
クリソタイル繊維

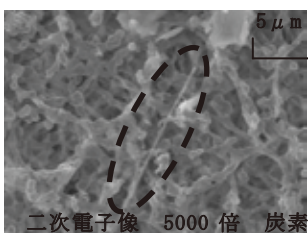


図 3 検出された  
クロシドライト繊維

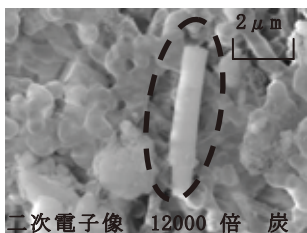


図 4 検出された  
トレモライト繊維

表 3 建築物解体中の大気中石綿等濃度

場 所	敷地境界付近の大気中				
	位相差顕微鏡法		走査電子顕微鏡法		
	石綿 濃度 (本/L)	総繊維 数濃度 (本/L)	石綿 濃度 (本/L)	検出された 石綿の種類	総繊維 数濃度 (本/L)
1	1.6	5.8	1.1	クリソタイル トレモライト	7.9
2	0.45	9.3	N.D. <sup>1)</sup>	—	7.6
3	0.91	1.5	N.D.	—	2.3
4	3.3	12	N.D.	—	5.7
5	2.7	5.3	2.8	クリソタイル クロシドライト トレモライト	12
6	2.3	3.3	2.6	クリソタイル トレモライト	4.9
7	3.2	19	1.9	トレモライト	7.9
8	2.2	10	<1.0 <sup>2)</sup>	トレモライト	11
9	0.45	1.4	N.D.	—	2.3
10	0.68	2.5	<1.0	トレモライト	6.8
11	0.68	1.0	N.D.	—	2.3

1)N.D.は検出されず。検出下限値は0.38本/L。

2)定量下限値未満。定量下限値は1.0本/L。

### 4 石綿含有吹付け材の状況

18 件の工事のうち、2 件の工事は石綿が含有しているとみなして工事が行われていた。クリソタイルのみの含有が確認された工事は 10 件、アモサイトは 3 件、クロシドライトは 1 件で、クリソタイルとアモサイトの 2 種が含有している工事が 2 件であった(表 4)。

表 4 吹付け材の石綿含有の状況

場所	石綿含有吹付け材		
	面積(m <sup>2</sup> )	含有石綿種類	含有率(%)
12	913.0	クリソタイル	定性
13	1040.0	みなし	
14	754.0	クリソタイル	1.2
15	846.1	アモサイト	50
16	550.0	クロシドライト	35
17	602.5	クリソタイル	48
18	2016.0	クリソタイル	13.9
19	480.0	クリソタイル	0.8
20	10531.0	アモサイト	26.6
21	1048.0	アモサイト	26
22	825.2	クリソタイル	0.1< <sup>1)</sup>
23	734.4	クリソタイル	42
24	2037.3	クリソタイル	0.2
25	1100.0	みなし	
26	630.0	クリソタイル	0.1<
27	3696.0	クリソタイル	20.7
28	1637.7	クリソタイル アモサイト	定性
29	2720.0	クリソタイル アモサイト	1.7 5.2

1)分散染色顕微鏡による定性分析で 0.1%以上の石綿含有と判断したもの。

### 5 負圧集塵機出口と前室入口付近の石綿濃度

負圧集塵機出口で石綿が検出されなかった工事は 17 件中 5 件、前室入口では 17 件中 4 件であったが、除去工事 12 および 14 では負圧集塵機出口と前室入口ともロックウールが検出され、ともに試料採取場所周辺にロックウールを発生させるものが存在しなかったことから、12、14 についても石綿含有吹付け材に含有していたロックウールが漏洩したと推察される。12、14 も漏洩事案としてみなすと、漏洩が確認された件数は負圧集塵機出口では 17 件中 14 件(82%)、前室入口では 17 件中 15 件(88%)、定量下限値を超えた石綿等濃度が定量された件数は、負圧集塵機出口で 10 件(59%)、前室入口で 14 件(82%)と高い確率で石綿等の漏洩が確認された。確認された石綿濃度範囲は負圧集塵機出口では<1.0~30 本/L、前室では<1.0~520 本/Lで、定量下限値以上の測定値を平均した石綿濃度は、負圧集塵機出口で 12.5 本/L、前室入口で 76 本/Lであった。また、負圧集塵機出口または前室入口で石綿が検出され



た15箇所の工事現場のうち、負圧集塵機出口の石綿濃度の方が高いのは、23、24、25、29の4箇所のみであり、その濃度差は2本/L程度と大きな差はみられなかった。一方、前室入口付近の石綿濃度の方が高い場合、負圧集塵機出口の石綿濃度との差は数本～数百本/Lと、負圧集塵機出口の石綿濃度が高い場合より濃度の差は大きかった。さらに、前室付近の石綿濃度のうち、15、21については石綿除去作業場内に適用される管理濃度150本/Lを大幅に超えていた（表5）。

これらのことから、工事箇所により濃度の高低はあるものの、石綿含有吹付け材除去工事現場の負圧集塵機出口と前室入口からの石綿漏洩率はともに高く、これらの場所から石綿の漏洩が起こった場合、負圧集塵機出口よりも前室入口の方が石綿漏洩濃度は高くなる傾向が示唆され、その濃度は管理濃度を超えること

がありうるということが明らかになった。

### まとめ

建築物解体等工事現場周辺の大気中石綿濃度の把握するため、石綿の同定が可能な分析走査電子顕微鏡により大気中石綿濃度を測定した。

その結果、石綿含有吹付け材が施工されていない建築物を解体する際にも周辺大気中に石綿が飛散していることが明らかになったが、その濃度はN.D.～2.8本/Lと石綿含有吹付け材除去工事時の周辺濃度N.D.～520本/Lよりも十分低く、1件1件の解体工事が環境に及ぼす影響は低いと考えられた。建築物解体工事現場からの石綿繊維の飛散の原因として、石綿含有成型板等の破碎作業、石綿含有吹付け材の除去時の取り残しが推定された。

表5 負圧集塵機出口及び前室入口付近の石綿濃度

場 所	負圧集塵機出口付近			前室入口付近		
	石綿 濃度 (本/L)	繊維状粒子 の種類	種別石綿 等濃度 (本/L)	石綿 濃度 (本/L)	繊維状粒子 の種類	種別石綿 等濃度 (本/L)
12	N.D. <sup>1)</sup>	(ロックウール)	2.6	N.D.	(ロックウール)	2.6
13	N.D.	N.D.	N.D.	3.0	アモサイト クロシドライト	2.6 0.38 <sup>3)</sup>
14	N.D.	(ロックウール)	0.38	N.D.	(ロックウール)	1.1
15	25	アモサイト	25	290	アモサイト	290
16	7.9	クロシドライト	7.9	12	クロシドライト アモサイト	9.8 1.9
17	<1.0 <sup>2)</sup>	トレモライト	0.38	<1.0	トレモライト	0.38
18	N.D.	N.D.	N.D.	1.5	クリソタイル アモサイト	1.1 0.38
19	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
20	1.1	アモサイト	1.1	2.3	アモサイト	2.3
21	30	アモサイト	30	520	アモサイト	520
22	—	—	—	3.8	アモサイト クリソタイル トレモライト	2.6 0.76 0.38
23	<1.0	トレモライト	0.76	—	—	—
24	1.1	トレモライト	1.1	N.D.	N.D.	N.D.
25	18	トレモライト	18	16	トレモライト クリソタイル クリソタイル	11 5.2 5.2
26	<1.0	トレモライト	0.38	6.0	アモサイト (ロックウール)	0.76 1.5
27	2.3	クリソタイル	2.3	16	クリソタイル アモサイト	16 36
28	25	アモサイト	25	39	クリソタイル トレモライト	1.5 1.5
29	2.3	トレモライト アモサイト	1.9 0.38	1.9	トレモ アモサイト	1.1 0.76

1)N.D.は検出されず。検出下限値は0.38本/L。

2)定量下限値未満。定量下限値は1.0本/L。

3)種別石綿等濃度は定量下限未満の測定値を実測値で記した。

また、本研究では、鉄板や厚手の防音シート等による建築物解体工事現場周辺の養生は、粉じん抑制効果が高いことが明らかになった。

さらに、石綿含有吹付け材除去工事現場の負圧集塵機出口と前室入口からの石綿漏洩率はともに高く、負圧集塵機出口よりも前室入口の方が石綿漏洩濃度は高くなる傾向が示唆され、その濃度は管理濃度を超えることがありうるということが明らかになった。

### おわりに

石綿含有吹付け材等を除去する特定粉じん排出等作業において、使用機器等の管理不備で石綿が周辺に漏洩した場合の大気中石綿濃度と比較して、建築物解体工事現場周辺の石綿濃度は比較的低いことが明らかになったことから、環境に及ぼす影響は大きくないと考えられる。しかし、今後予想される建築物解体工事件数は多いことから、石綿障害予防規則に定められた作業基準を遵守することや低層住宅石綿取扱ガイドに記載された適切な作業方法等を可能な限り取り入れること、また、解体工事現場周辺に養生を設置することなどで解体工事現場からの環境影響を低く抑えることが必要と考えられる。

### 謝 辞

走査電子顕微鏡の分析で大変お世話になった環境省環境調査研修所の藤森教官をはじめ、研修所の皆様に心より感謝の意を表します。また、建築物解体工事現場の選定等に尽力していただいた静岡県東部、中部、西部健康福祉センターの職員の方々に心より感謝の意を表します。

### 文 献

- 1) IARC : IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Some Inorganic and Organometallic Compounds Vol. **2**, IARC, Lyon, France (1973)
- 2) 独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構編：有害アスベストの蓄積フロー解析による革新的削減ツールに関する調査研究(2006)
- 3) Robert A. Perkins, John Hargesheimer, and Walter Fourie : Asbestos Release from Whole-Building Demolition of Buildings with Asbestos-Containing Material Journal of Occupational and Environmental Hygiene **4** 889-894(2007)
- 4) 社団法人住宅生産団体連合会編：低層住宅石綿取扱ガイド改訂第**3**版(2007)

- 5) 社団法人住宅生産団体連合会編：低層住宅の解体工事におけるアスベスト(石綿) 気中濃度測定結果報告書(2006)
- 6) 環境省水・大気環境局大気環境課編：アスベストモニタリングマニュアル(第**3**版)(2007)
- 7) 江本勇治、藤森英治、中村勇児、竹内浄：分析走査電子顕微鏡による建築物解体等工事現場周辺における大気中石綿濃度測定法の検討 大気環境学会誌投稿中
- 8) 斎藤邦彦、福井博、高橋通正、小山恒人：アスベスト含有建材の解体等に伴うアスベストの飛散並びにその防止技術の検討 神奈川県環境科学センター研究報告 **30** 82-83 (2007)

## NO<sub>x</sub> および NMHC (非メタン炭化水素) が O<sub>x</sub> 生成に与える影響について

大気水質部 大気・騒音環境スタッフ 篠原英二郎

Effects of NO<sub>x</sub> and NMHC to Concentration of Photochemical Oxidant

Eijirou SHINOHARA

光化学オキシダントは環境基準未達成が継続している物質であり、静岡県においても他の常時監視項目とは異なり年平均値が1980年代から常に上昇している物質である。

そこで光化学オキシダント生成の原因物質といわれている NO<sub>x</sub> と NMHC の月別、季節別相関や NMHC-O<sub>x</sub> の相関、PO と NO<sub>x</sub>・NMHC との相関等を詳細に把握することにより、NO<sub>x</sub>・NMHC が光化学オキシダント生成に与える影響について検討した。

Key words: 光化学オキシダント, 窒素酸化物, 非メタン炭化水素  
Photochemical oxidant(O<sub>x</sub>), Nitrogen oxides (NO<sub>x</sub>), Non-methane hydrocarbon (NMHC)

### はじめに

静岡県における大気常時監視は、燃料を燃焼することにより生じるばいじんや燃料に含まれる硫黄分による二酸化硫黄の濃度を監視する目的で1970年代に開始された。

その後監視項目が追加され、現在は二酸化硫黄(SO<sub>2</sub>)、窒素酸化物(NO<sub>x</sub>)、一酸化炭素(CO)、浮遊粒子状物質(SPM)、光化学オキシダント(O<sub>x</sub>)、非メタン炭化水素(NMHC)が常時監視されている。

このうち O<sub>x</sub> は、測定開始以来、全国的に環境基準未達成が継続している物質であり、特に近年は日最高濃度が夕方に出現する傾向もみられ、さらに日没後にも注意報発令レベルの高濃度が観測されるなど、その出現パターンが従来と比べ大きく変化している。

そこで、O<sub>x</sub> 生成の原因物質といわれている NO<sub>x</sub> と NMHC についてこれまでの観測データから NO<sub>x</sub>-O<sub>x</sub> 相関や NMHC-O<sub>x</sub> の相関、PO (ポテンシャルオゾン) との相関関係等を詳細に把握することにより、NO<sub>x</sub> と NMHC 経年変動が、静岡県の大気汚染濃度の出現にどの程度関与しているか検討した。

### 調査方法

静岡県テレメータシステムに蓄積されている O<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub> (NO, NO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>), NMHC のデータから各平均値(年平均値, 月平均値, 6-9時平均値, PO([PO]=[O<sub>3</sub>]+[NO<sub>2</sub>]-0.1×[NO<sub>x</sub>]))、経年変動および O<sub>x</sub> との相関を検討した。また、NMHC の解析には PRTR 調査データや VOC 測定データも使用した。

なお、各物質の濃度は JIS に定める大気自動測定器により測定したものである。

### 結果および考察

#### 1 環境濃度の経年変化

常時監視測定項目のうち SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, CO, SPM, O<sub>x</sub> については環境基準が定められ、NMHC については指針値が定められている。

図1に一般局における環境濃度の年平均値の経年変化を示す。O<sub>x</sub> 以外の物質の年平均値は1970年代から現在まで一様に減少していることが分かる。

これは、この間に大気汚染防止対策として実施された工場排ガス中のばい煙排出規制や燃焼技術の発展、自動車排ガス規制、燃料中の硫黄分の削減等により大気中に排出される一次汚染物質が減少したことによるものである。

特に SO<sub>2</sub> は1980年までに大幅に減少し、現在は SO<sub>2</sub> の環境汚染は見られないレベルに達している。

また、O<sub>x</sub> 生成の原因物質といわれている NO<sub>x</sub> と

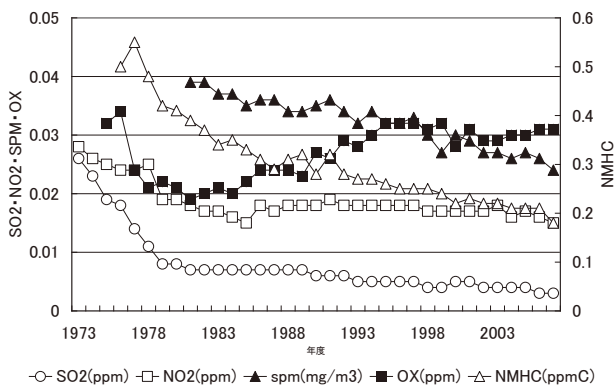


図 1 年平均値による環境濃度の経年変化(一般局)

NMHC も経年的に横ばいか減少しているが汚染が解消されたと評価できるまでには至っていない。

一方、1980 年代半ばまでは他の物質と同様に減少していた O<sub>x</sub> は、その原因物質濃度が低下しているにもかかわらず、1983 年度に底のピークを示した後上昇を続け、測定開始当時の濃度まで戻っており、なんと改善されていなかった。

### 2 O<sub>x</sub> 注意報発令回数の経年変化

O<sub>x</sub> 濃度が 0.12ppm を超え、高濃度状態が継続した時に情報提供される O<sub>x</sub> 注意報の発令日数と延べ発令地区数の経年変化を図 2 に示す。

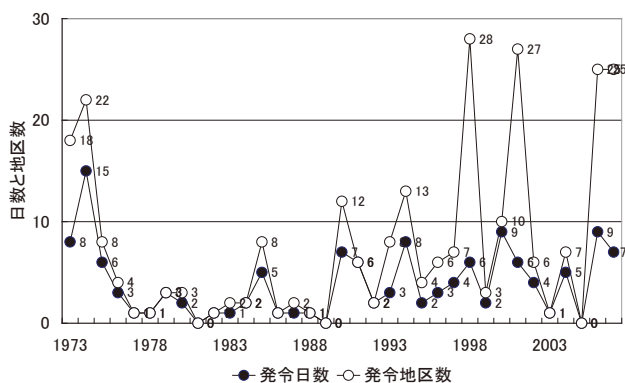


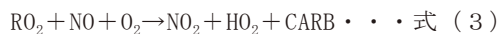
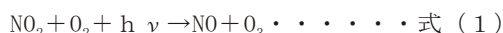
図 2 O<sub>x</sub> 注意報発令日数と延べ発令地区数

高濃度の出現頻度を示す O<sub>x</sub> 注意報発令日数は年平均値の経年変化と同様に、1980 年代に底を示した後再度増加している。また、延べ発令地区数も増加していることから、近年の O<sub>x</sub> 濃度は高濃度出現回数の増加にとどまらず汚染の広域化も示している。

### 3 O<sub>x</sub> と NO<sub>x</sub>, NMHC の関係

大気自動測定器で測定される O<sub>x</sub> のほとんどはオゾン (O<sub>3</sub>) であり、一般的に以下の式(1)と式(2)の反応、式(3)と式(4)が示す NMHC の過酸化ラジカル RO<sub>2</sub>および

HO<sub>2</sub> による NO から NO<sub>2</sub> への変換反応が加わることで O<sub>3</sub> 濃度が上昇することが知られている。<sup>1)</sup>



つまり、NO の酸化に O<sub>3</sub> 以外の過酸化ラジカルが使用された場合、O<sub>3</sub> は消費されず大気中に蓄積され続け高濃度になることが考えられる。

これらの反応は光化学反応であり、気温が高く紫外線が強い夏期に高濃度になりやすいといえる。

#### 1) O<sub>x</sub> と NO<sub>x</sub> の相関

大気中の NO<sub>x</sub> が増加すれば、式(1)により O<sub>3</sub> の生成が増加するが、同時に生成する NO により、式(2)が示す O<sub>3</sub>-NO 反応が進行し O<sub>3</sub> の分解に起きることが考えられる。図 3 に O<sub>x</sub> と NO<sub>x</sub> の年平均値による相関を示すが、O<sub>x</sub> と NO<sub>x</sub> には負の相関がみられている。

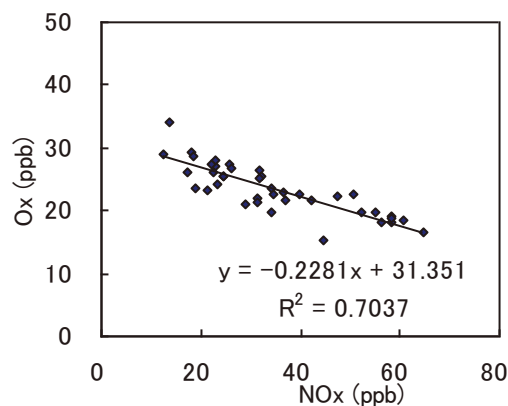


図 3 O<sub>x</sub>-NO<sub>x</sub> 年平均値による相関関係

図 4 に 1990~1994 年度、図 5 に 2002~2006 年度の O<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub> の月別平均濃度を示す。

図 4、図 5 とも O<sub>x</sub> は 4~5 月に最大ピークがあり冬期に減少、NO<sub>x</sub> は冬期に最大ピークがあり夏期に減

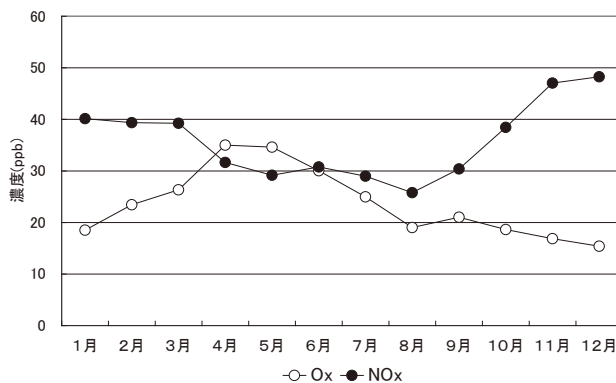


図 4 O<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub> の月別濃度(1990~1994 年度)

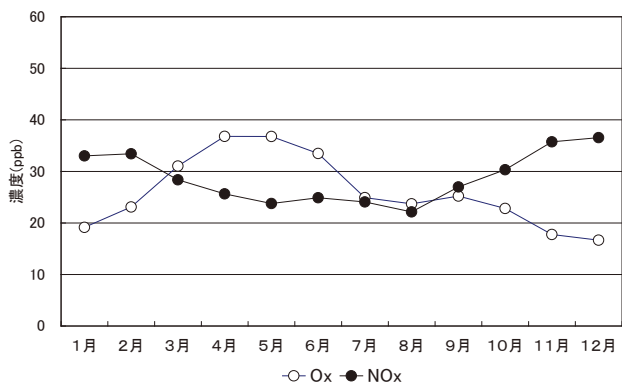


図 5 O<sub>3</sub>, NO<sub>x</sub> の月別濃度 (2002～2006 年度)

少している。これは季節的な特性に変化は見られていないことを示している。前述した図 3 にみられる O<sub>3</sub> と NO<sub>x</sub> が示す負の相関には O<sub>3</sub>-NO 反応による O<sub>3</sub> の減少に加え季節的な特性も含んでいることも考える必要があるだろう。

一方、濃度レベルをみると、O<sub>3</sub> は近年である 2002～2006 年度の方が上昇し、NO<sub>x</sub> は減少していることが分かる。

また、4～5 月の O<sub>3</sub> と NO<sub>x</sub> の濃度差が拡大、冬期の濃度差が減少していることも近年の特徴であり、これらの変化が O<sub>3</sub> 出現パターンの変化に関係していることも考えられる。

### 2) PO (ポテンシャルオゾン) について

前項で述べたように O<sub>3</sub> は NO との反応で容易に分解されることから、PO (ポテンシャルオゾン) を用いることで NO による分解による影響を確認した。

図 6 に示すように PO 濃度は年々増加していることから、NO<sub>x</sub> 濃度の減少や NO による分解を加味しても O<sub>3</sub> の上昇は継続していることが考えられる。

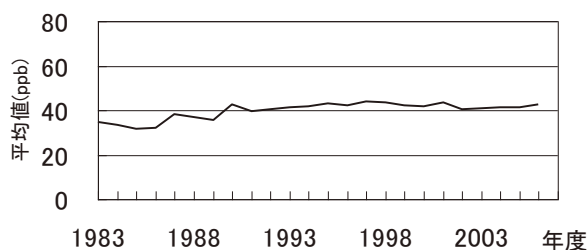


図 6 PO の年間推移

### 3) NMHC/ NO<sub>x</sub> 比について

一方、NO<sub>x</sub> と NMHC の関係については、NMHC/ NO<sub>x</sub> 比が 10 より高い時には O<sub>3</sub> の最高濃度が NO<sub>x</sub> 濃度に依存し、低い時には NMHC 濃度に依存することが報告されている<sup>1)2)3)</sup>。

O<sub>3</sub> 年平均値が上昇し始めた 1983 年度以降の静岡県

における NO<sub>x</sub>, NMHC 濃度 (6～9 時平均値) と NMHC/ NO<sub>x</sub> 比の経年変化を 図 7 に示す。

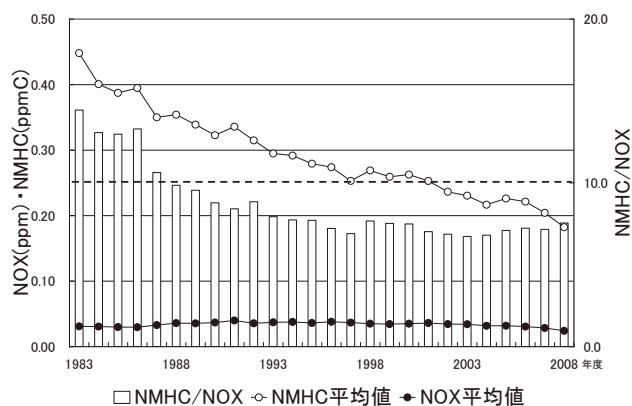


図 7 NO<sub>x</sub>, NMHC 濃度と NMHC/ NO<sub>x</sub> 比

日最高値に影響を与える 6～9 時平均値でみると、NMHC は単純に減少しているが NO<sub>x</sub> はほとんど横ばいであり、NMHC/ NO<sub>x</sub> 比は 2002 年度以降は 10 以下で推移している。このことから、静岡県では O<sub>3</sub> の最高濃度が NO<sub>x</sub> 濃度よりも NMHC 濃度に依存していることが考えられる。

環境中の NMHC は数百種類存在し、O<sub>3</sub> の生成に関与する過酸化ラジカルを発生するといわれているが<sup>4)</sup>、個々の炭化水素成分の過酸化ラジカル生成量の実態はまだ十分には明らかにされていない。

### 4) VOC データおよび PRTR 調査結果について

この NMHC を構成する炭化水素類の一部は、VOC 調査として常時監視されているが、わずかに十数種類にとどまっている。

また、大気中への炭化水素類の排出規制も VOC 規制がようやく始まったばかりであり、環境濃度の改善は今後の課題である。

VOC 成分の一つであるホルムアルデヒドの静岡県内の環境中濃度を 図 8 に示すが、ここ数年ほとんど減少していないことがわかる。

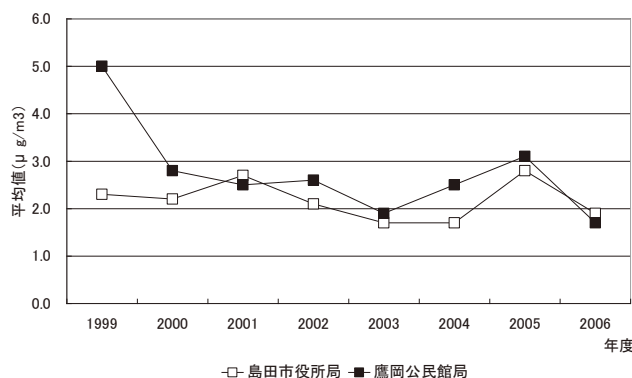


図 8 環境中のホルムアルデヒド濃度



一方、化学物質の大气中への放出についてはPRTR調査が2002年度から実施されており、環境負荷を考えるには貴重なデータであるといえる。

表1は2004～2006年度のPRTR調査で届出のあった上位5自治体の大气への排出量である<sup>5)6)7)</sup>。

表1 PRTR届出排出量(単位:トン/年)

順位	2004年度		2005年度		2006年度	
1	愛知県	21,735	愛知県	19,806	静岡県	17,500
2	静岡県	18,600	静岡県	18,367	愛知県	17,304
3	埼玉県	14,559	埼玉県	13,952	埼玉県	12,514
4	茨城県	11,418	茨城県	11,178	神奈川県	9,283
5	神奈川県	10,847	神奈川県	10,285	兵庫県	8,605

(大气への排出量)

PRTR調査は2002年度から実施され、静岡県の大气への排出の届出量は徐々に減少傾向を示しているが、調査開始当初から常に上位に位置しており、2006年度には全国トップになっている。また、大气に排出される物質はさまざまな化学物質であるが、トルエン、キシレン、塩化メチレンで全排出量の70%を占めていることが報告されている。

まとめ

静岡県テレメータシステムに蓄積されている大气常時監視データ、VOCデータおよびPRTR調査結果を解析した結果、以下のことが判った。

- 1) 静岡県の大气常時監視の結果、Ox以外の物質の年平均値は一様に減少していた。
- 2) Oxの年平均値は1980年代当初に最低濃度を示した後、増加していた。
- 3) Ox注意報発令日数は、年平均値と同様に再度増加していた。また、汚染の広域化もみられ延べ発令地区数も増加していた。
- 4) OxとNOxの年平均値には負の相関がみられた。
- 5) Oxの月平均値は春季(4～5月)に、NOxの月平均値は冬季(12～1月)に最大ピークを示す季節的な特性を示している。
- 6) OxとNOxの負の相関を評価する時はそれぞれの季節的な特性を加味する必要がある。
- 7) 春期のOxとNOxの濃度差は拡大、冬期の濃度差が減少していることも近年の特徴であり、Ox出現パターンの変化に関係していることも考えられる。
- 8) PO濃度は年々増加しており、NOx濃度の減少やNOによるO<sub>3</sub>の分解反応を加味してもO<sub>3</sub>濃度の上昇は継続していた。
- 9) NMHC/NOx比の経年変化をを6-9時平均値で求めたところ、2002年度以降、10以下で推移していたことから、近年の静岡県ではOxの最高濃度がNOx濃度よりもNMHC濃度に依存していると考えられた。

10) 炭化水素類の排出規制はVOC規制がようやく始まったばかりであり、環境中濃度はほとんど減少していない。

今後、環境中に存在するNMHCについて、個々の炭化水素成分がO<sub>3</sub>の生成に関与する過酸化ラジカルをどの程度発生するかを明らかにすることが重要な課題である。

文献

- 1) 板野泰之：都市大气における光化学オキシダント問題の新展開,生活衛生, **50**(3), 115-122 (2006)
- 2) H. Akimoto, M. Hoshino, G. Inoue and M. Okuda: Photochemical Ozone Formation Nitrogen Oxide-Dry Air System. Environ. Sci. Technol. **13**(1), 53-58 (1979)
- 3) 若松伸司, 鶴野伊津志, R. A. Wadden: 非メタン炭化水素の発生源組成分布と光化学反応性の研究, 国立公害研究所報告, **61**, 7-27 (1984)
- 4) 中嶋吉弘他: OHラジカル寿命観測による都市大气質の診断II-東京都心部における総合観測-, 大气環境学会誌, **44**(1), 33-41 (2009)
- 5) 静岡県:平成16年度PRTR報告書,環境部生活環境室, 2006
- 6) 静岡県:平成17年度PRTR報告書,環境部生活環境室, 2007
- 7) 静岡県:平成18年度PRTR報告書,環境部生活環境室, 2008

## 新たな幹線道路供用に伴う周辺環境への影響に関する研究

大気・水質部 大気・騒音環境スタッフ 太田良和弘, 中西隆之, 篠原英二郎

Research on Air Pollutants to the periphery environment by the construction of a new trunkroad

Kazuhiro OHTARA, Takayuki NAKANISHI and Eijiro SHINOHARA

新しい幹線道路供用により交通量の増加が見込まれる沼津市江原町交差点およびその周辺地域において、大気環境測定車等による大気環境調査を実施し、交通量の変化に伴う沿道および周辺環境への影響を検討した。江原町交差点における NOx 等の大気常時監視項目およびベンゼン等の揮発性有機化合物濃度は、2000 年度に実施した調査結果と比較してほぼ全ての物質が減少傾向を示しており、大気環境が改善していることが確認された。

江原町交差点を含む金岡地域は、他地域と比較して NOx 濃度が特異的に高濃度を示しているが、固定発生源および主要幹線道路別の環境負荷を試算すると国道 1 号線の環境負荷が最も大きく、当該地区の NOx 濃度へ支配的に寄与していることが確認された。

金岡地域においてバイパスの全面開通による NOx とベンゼンの濃度変化について推計した結果、バイパス沿線で顕著な濃度増加が見込まれるものの環境基準は超過しないことが推定された。

Key words: 窒素酸化物, 揮発性有機化合物, 移動発生源, 暴露・リスク評価大気拡散モデル (ADMER)  
 nitrogen oxides (NOx), volatile organic compounds (VOCs), mobile source, ADMER

### はじめに

沼津市江原町は、国道 1 号線（以下、R1）と県道 162 号線（通称リコー通り；以下、K162）および県道 22 号線（三島富士線；以下、K22）が複雑に交差する地点で、2005 年度版静岡県道路交通センサス<sup>1)</sup>によれば県内でも交通量の多い地域である。この江原町交差点の南側約 300m には沼津市金岡小学校大気常時監視測定局があり、従来から一般環境測定局としては窒素酸化物濃度が高い状況にある<sup>2)</sup>。

2000 年度に実施した江原町交差点における自動車排出ガス影響調査では、既設の自動車排出ガス測定局と比較して、窒素酸化物、浮遊粒子状物質、揮発性有機化合物についてより高い汚染状況を確認した。

国土交通省は、沼津市内の国道 414 号および R1 からの大気環境負荷を監視するため、2005 年度に沼津市岡一色と沼津市大諏訪に自動車排出ガス測定局を設置している<sup>3)</sup>。

一方、国道 246 号は東京都から神奈川県を經由し東名高速道路沼津インター南交差点に至る一般国道であるが、2009 年 3 月現在、同交差点から沼津市東熊堂までのバイパス延長工事が実施されており、2007 年 9 月に花園町までの一部区間が供用開始された。この道路が開通したことにより従来の東熊堂から江原町交差点までの K22 を經由することにより沼津インター付近から沼津市街地までのバイパス道路となり、江原町付近の交通状況が大きく変化することが想定される。本研究では、大気環境測定車、パッシブサンプラー等により大気環境調査を実施し、交通の変化に伴う大気環境への影響を実態把握することを目的とした。さらに、産業技術総合研究所が開発した暴露・リスク評価大気拡散モデル (ADMER)<sup>4, 5)</sup>によりバイパス全面開通による環境負荷の影響を予測し、実態調査による実測値と推計値から推計手法の妥当性を検証するとともにバイパス全面開通による環境負荷の影響を予測したので得られた知見について報告する。

### 調査方法

#### 1 調査地点

沼津市江原公園交差点を中心とし、沼津市金岡小学

校測定局を含む半径 300m 付近を大気環境調査地域と設定した。測定地点および主要道路の概要を **図 1** と **表 1** に示した。

**図 1** 中 A の江原公園交差点（以下、江原公園）に大気環境測定車を設置し、大気汚染常時監視項目の連続測定した。さらに、**図 1** 中 A～D でパッシブサンプラーによる測定を実施した。また、**図 1** 中 A～C では、それぞれ R1 と K22、市道 232 号（以下、C232）および K162 の交通量調査を実施した。なお、交通量は静岡県警交通管制センターの交通情報収集用感知器による R1 と K162 の交通量連続データおよび最新の交通センサデータ<sup>1)</sup>を基本とし、今回、実施した交通量調査は、感知器およびセンサの整合性と大型車混入率の把握を目的としたものである。



図 1 大気環境調査地域概要

## 2 調査期間および調査項目

調査期間等および調査項目の概要をそれぞれ **表 1** と **表 2** に示した。調査期間については、自動測定器での 1 時間値連続測定以外に、調査項目により採取期間が異なるため、窒素酸化物暴露量（以下、DNOx）については I～II 期の長期間平均値、揮発性有機化合物（以下、VOCs）については①～②期の 24 時間平均値のように区別した。大気汚染物質の採取高さは全項目地上高 3m に統一し、風向風速は地上高 7m とした。DNOx は N 式パッシブサンプラーを SUS 製シェルター内にクリップで固定し、暴露採取後、超純水で抽出しイオンクロマトグラフ法で定量した<sup>6)</sup>。

VOCs は、キャニスターを地面に設置する場合は 3m の SUS 製サンプリング管を利用し、測定局舎屋上に設置する場合はキャニスター設置ケース（ジーエルサイエンス製）を利用した。測定項目、採取および分析方法の詳細は既報のとおりである<sup>7)</sup>。

## 調査結果および考察

### 1 大気環境濃度

#### 1) 大気常時監視項目

大気環境測定車による江原公園の大気環境調査結果と周辺測定局との期間平均値比較を **表 3** に示した。江原公園の大気環境は窒素酸化物を除き各項目とも低い

表 1 調査概要

地点記号	調査地点名	緯度	経度	調査項目	調査期間
A	江原公園	北緯35度7分31秒	東経138度51分64秒	常時監視全項目, VOCs, DNOx	【自動測定器】'08/10/27~12/19
B	金岡測定局	北緯35度7分9秒	東経138度51分38秒	NOx, SPM, VOCs, DNOx	【DNOx】I 期:'08/10/28~11/26
C	金岡小学校	北緯35度7分10秒	東経138度51分45秒	VOCs, DNOx	II 期:'08/12/1~12/19
D	高尾山	北緯35度7分24秒	東経138度51分41秒	VOCs, DNOx	【VOCs】①10/27~28, ②12/18~19

表 2 調査項目概要

調査項目	略号	測定方法(対応規格等)	測定頻度
二酸化硫黄	SO <sub>2</sub>	紫外線蛍光法(JIS B7954)	
浮遊粒子状物質	SPM	β線吸収法(JIS B7956)	毎時間
オキシダント	Ox	紫外線吸収法(JIS B7959)	連続測定
窒素酸化物	NO <sub>2</sub> , NO, NOx	化学発光法(JIS B7955)	
一酸化炭素	CO	NDIR法(JIS B7953)	
炭化水素	NMHC, CH <sub>4</sub> , THC	FID法(JIS B 7958)	
風向・風速	WD, WS	風車型パルス式(気象業務法)	
窒素酸化物暴露量	DNOx	N式サンプラー-IC法	2~4週間
揮発性有機化合物	VOCs	容器減圧採取-GCMS法(「マニュアル」)	24時間

注)「マニュアル」は有害大気汚染物質測定方法マニュアルをさす

濃度水準で推移し、全ての項目で環境基準未満であった。窒素酸化物については2000年度調査（以下、前回調査）時にNO<sub>2</sub>の日平均最高値が62ppbを示し環境基準を超過していたが、今回調査では日平均最高値が40ppbで高い濃度水準であるものの環境基準は超過していなかった。前回調査との比較においては、全ての項目で明確な濃度低下が確認され大気環境の改善がみられた。

一方、江原公園と周辺測定局との比較では、窒素酸化物、COおよびNMHCが高い濃度水準を示したが各項目とも道路沿道では特徴的に高濃度となる物質で、同じ道路沿道の自排三島局との比較では窒素酸化物を除き濃度水準はほぼ等しかった。窒素酸化物については

明らかに濃度水準が高く、近隣の金岡測定局においても一般環境測定局でありながら自排三島局よりもNOが高濃度となり、金岡地域の窒素酸化物が特徴的に高い濃度水準であることが示唆された。

2)揮発性有機化合物

金岡地域のVOCs調査結果を表4に示した。VOCsは大気環境基準等が制定されているベンゼン等9物質を含む43物質について測定したが、上記の9物質と自動車排出ガスに高濃度に含有するトルエンおよびキシレンの結果のみ抜粋した。江原公園のVOCsは全ての項目について環境基準値等より低い濃度レベルであった。今回と前回調査の比較においては、前回調査でベンゼンが環境基準を大幅に超過する濃度水準であったが、

表3 国道1号沿線（A江原公園）の大気環境測定結果と周辺測定局との期間平均値比較

		比較期間 2008.10.28~12.18(期間分抜粋;2000年調査は2000.10.11~11.8)								
地点		SO <sub>2</sub>	SPM	NO	NO <sub>2</sub>	NO <sub>x</sub>	CO	O <sub>x</sub>	NMHC	
		ppb	μg/m <sup>3</sup>	ppb	ppb	ppb	ppm	ppb	ppmC	
A 江原公園	【2008年調査】									
	期間平均値	2	18	68	28	97	0.6	7	0.21	
	日平均最高値	3	39	113	40	149	1.0	22	0.42	
	時間最高値	6	96	250	58	287	2.3	48	1.11	
A 江原公園	【2000年調査】									
	期間平均値	11	54	112	42	154	1.2	13	0.44	
	日平均最高値	24	98	178	62	226	1.9	23	0.77	
	2000.10.11~11.8	時間最高値	60	147	295	97	351	3.6	61	2.47
B 金岡測定局		—	11	28	21	50	—	—	—	
	勤労青少年ホーム	期間平均値	4	16	8	17	25	—	21	0.17
	愛鷹中学校	—	16	24	19	42	—	—	—	
	自排三島	—	18	18	26	66	0.5	—	0.25	

表4 国道1号沿線（A江原公園）と周辺測定局の大気環境濃度（期間平均値）の比較

調査対象	単位: DNO <sub>x</sub> , DNO <sub>2</sub> (ppb), VOCs(μg/m <sup>3</sup> )							
	A 江原公園		B 金岡局	C 金岡小	D 高尾山	自排三島局	基準値等	全国平均(2007年度)
	2008年	2000年						
DNO <sub>x</sub>	85	—	51	48	48	48	—	—
DNO <sub>2</sub>	39	—	30	31	28	28	60	—
塩化ビニルモノマー	0.028	0.043	0.025	0.024	0.026	0.021	10	0.081
1,3-ブタジエン	0.38	0.82	0.28	0.24	0.20	0.39	2.5	0.19
アクリロニトリル	0.43	0.63	0.46	0.48	0.36	0.064	2	0.10
ジクロロメタン	2.4	6.0	2.4	2.5	2.5	1.7	150	2.3
クロロホルム	0.15	0.30	0.11	0.12	0.15	0.38	18	0.21
1,2-ジクロロエタン	0.18	0.24	0.19	0.19	0.19	0.10	1.6	0.15
トリクロロエチレン	0.22	1.2	1.3	1.1	0.18	0.29	200	0.76
テトラクロロエチレン	0.12	0.48	0.13	0.12	0.12	0.12	200	0.25
ベンゼン	2.5	6.1	2.0	1.7	1.5	2.4	3	1.5
トルエン	15	33	19	16	11	11	—	—
キシレン	5.7	11	5.7	5.7	3.8	5.0	—	—

注1)測定値は期間平均値(有効数字2桁)

注2)自排三島局の数値は2008年10月~12月調査の期間平均値(3回測定算術平均値)

注3)全国平均:2007年度地方公共団体等における有害大気汚染物質モニタリング調査結果について(2008年12月12日環境省水・大気環境局大気環境課)



今回は明確な濃度低下がみられ環境基準は超過していなかった。ベンゼンの濃度低下は、近年全国的な傾向としてみられており、主に自動車排出ガスの触媒処理等による効果と考えられる。VOCsの濃度低下は、測定対象成分全てに明確に認められ、PRTR法に代表される適正な化学物質管理の効果等が考えられる。

一方、江原公園と金岡地域内の他の測定地点との比較では、1,3-ブタジエンおよびベンゼンが高い濃度水準を示したが双方とも道路沿道では特徴的に高濃度となる物質で、同じ道路沿道の自排三島局との比較では濃度水準はほぼ等しかった。

**2 大気環境濃度の推計**

金岡地域に特徴的な高濃度水準の窒素酸化物の環境負荷を評価するため、産業技術総合研究所が開発した暴露・リスク評価大気拡散モデル (ADMER) <sup>4, 5)</sup> により移動発生源および固定発生源の推計排出量から現状の大気濃度を推計した。また、将来的にバイパス道路が供用された場合の環境濃度への適否についても検討した。推計は前回調査で環境基準超過の実績のあるNOxおよびベンゼンについて行い、得られた推計大気濃度(以下、推計値)を今回調査の実測大気濃度(以下、実測値)により妥当性を評価した後、同一手法でバイパス供用による交通量の変化を加味して推計濃度を算出し、環境基準の適否を判定した。なお、推計値と比較する実測値はDN0xおよびベンゼンとし、それぞれ表4に示した。

1) 移動発生源からの汚染物質推計排出量

推計に用いた交通状況データを表5に示した。なお前述したとおり交通量データは感知器、最新センサデータからの実測値および文献値であるが、C232とK405については、センサデータおよび今回実施した実測交通量調査から推計した交通量である。また、貨物混入率は、センサの大型車混入率から実測交通量調査により独自に決定したバス混入率を減算した大型貨物車の混入率を示し、普通貨物車は普通車としている。これらの交通状況から独自に算出した移動発生源のNOxおよびベンゼンの排出係数および排出係数から

表5 大気環境濃度の推計に用いた交通状況データ

路線	略号	24時間交通量 <sup>1)</sup>		昼夜率	貨物混入率%		バス混入率%
		平日	休日		平日	休日	
国道1号	R1	69436	55137	—	20	5	0.5
東沢田線	K162	21215	19694	—	4	1.5	1
市道232号	C232	11871	11020	—	4	1.5	1
三島富士線	K22	10063	7166	1.37	4	1.5	1
学園通り	K405	23007	15820	1.42	4	1.5	1

注1) 24時間交通量のうち昼夜率を示したものは昼間12時間交通量から算出した

求めたそれぞれの排出量を表6に示した。なお、排出係数算出に用いた排出原単位は、環境省排出原単位(2005年度; NOx[平均車速20km])<sup>8)</sup>および東京都の報告値(2004年; ベンゼン[東京都走行パターンの平均])<sup>9)</sup>である。さらに、大気拡散に用いる気象データはADMER独自の安定度計算を必要とし、入力データが煩雑となることからADMERに標準で搭載されている2006年データの10~12月分の気象データを採用した。

推計した排出量をみると、NOxおよびベンゼンは、路線別ではR1の排出量が際だって多く、曜日別では休日よりも平日の排出量(いずれも一日当たり)の方が多いことがわかる。一方、車種別の排出量では、各路線ともNOxについては貨物、ベンゼンについては普通車の排出量が多い結果となった。これらの結果から、NOxについてはR1を走行する大型貨物車の汚染負荷が最も大きいことがわかり、NOx・PM法による大型車の排出負荷の低減により環境改善が期待できる。一方、ベンゼンについては普通車の排出ガスの改良による排出負荷の低減、あるいは、パークアンドライド施策の推進による環境改善が期待できる。

2) NOxの大気環境濃度

表6で示した移動発生源からの各路線別の排出量をADMERのサブグリッド排出量として入力し、各路線別の移動発生源からのNOx推計寄与濃度を算出した。この時、各路線を便宜上100mメッシュの面源発生源の連続帯とした。さらに、固定発生源については大規模発生源のみを対象とし、環境省の大気汚染物質排出量総合調査(2005年度実績)から沼津市内の全施設をADMER

表6 移動発生源からのNOxおよびベンゼンの推計排出量

路線	略号	NOx <sup>1)</sup> 排出係数	NOx排出量(kg/km/day)						ベンゼン <sup>2)</sup> 排出係数						
			平日	休日	全日	普通	貨物	バス	平日	休日	全日	普通	貨物	バス	
国道1号	R1	1.10	82.7	23.6	74.3	8.2	64.4	1.6	2.63	187.4	116.6	177.3	104.0	71.3	2.0
東沢田線	K162	0.38	8.5	5.4	8.0	3.0	4.0	1.0	2.08	44.4	39.3	43.7	38.0	4.5	1.2
市道232号	C232	0.38	4.7	3.0	4.5	1.7	2.3	0.6	2.08	24.9	22.0	24.5	21.3	2.5	0.7
三島富士線	K22	0.39	4.0	2.0	3.7	1.4	1.9	0.5	2.08	21.1	14.3	20.1	17.5	2.1	0.6
学園通り	K405	0.39	9.2	4.3	8.5	3.1	4.3	1.0	2.08	48.2	31.6	45.8	39.8	4.8	1.3

注1) NOx排出係数(単位:g/台・km)は文献値に、平日・休日割合、貨物およびバス混入率を加味して算出した

注2) ベンゼン排出係数(単位:mg/台・km)は文献値に、平日・休日割合、貨物およびバス混入率を加味して算出した



のサブグリッド排出量 100m メッシュの点源発生源として入力し、NOx 推計寄与濃度を算出した<sup>5)</sup>。これらの個別の寄与濃度と合算値（推計値）および実測値を表 7 に示した。さらに、バイパス供用後の将来予測値を便宜上、K405 の交通量が全て K162 に移行したものと仮定して、上記の合算値から K405 寄与分を除き、新たに K162 に加味して表 7 に示した。また、調査地域を含む広域の推計濃度コンター図を図 2 に示した。

実測値と推計値は高尾山を除きほぼ同等であった。高尾山については、近隣で道路工事前の埋蔵物発掘調査を実施していたため工事車両の影響を受け実測値が増加したと考えられ推計手法の妥当性は概ね確認された。個別の計算値では、固定発生源の寄与は全地点 1% 以下で、移動発生源寄与と比較して無視できるものであった。濃度コンター図でも大規模発生源周辺は高濃度地点がみられるものの、実測 4 地点は道路影響を明示している。路線別では、全地点で R1 が最も寄与が大きく、江原公園で 92%、比較的寄与割合が小さい金岡測定局でも 62% であった。前述したとおり、R1 の排出負荷は大型貨物車に代表されるものであり、今後低減化が期待される。将来予測については、大型貨物の東西移動の変化は変わらず、普通車の南北移動の増加が見込まれるため最も高濃度である江原公園でも NO<sub>2</sub> で 43ppb（増加分 8ppb）の予測値にとどまり、環境基準は超過しないと推定される。

3) ベンゼンの大気環境濃度（濃度単位  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）

NOx と同様の手法で移動発生源および固定発生源か

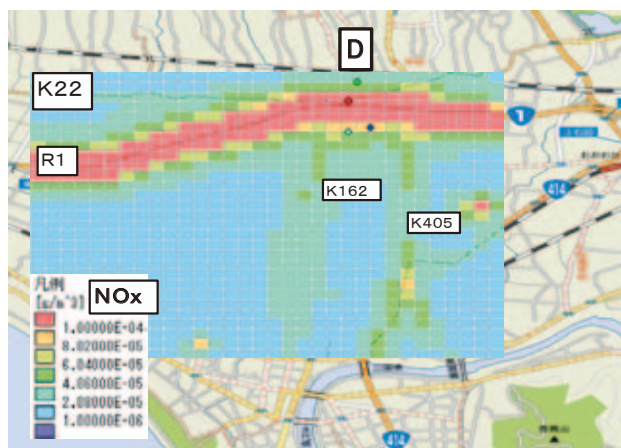


図 2 ADMER による沼津市の推計濃度 (NOx)

らのベンゼン推計寄与濃度を算出した結果を表 8 に示した。なお、固定発生源の情報源は経済産業省の PRTR 排出量（2005 年度実績）とした。実測値と計算値の比較では全地点で計算値が低く評価され、較差が 0.9~1.3 であった。ベンゼンについては小規模群小発生源の寄与が大きいことがいわれており、ADMER による他の事例<sup>10)</sup> ではバックグラウンド濃度として 1.0 を加算している。今回の推計でもこの値を採用し付加すれば、実測値と推計値がほぼ同等となるため推計手法の妥当性は概ね確認された。個別の計算値では、固定発生源の寄与は全地点 6% 以下で、移動発生源寄与と比較して無視できるものであった。路線別では、全地点で R1 が最も寄与が大きく、江原公園で 77%、比較的

表 7 ADMER による沼津市金岡地区の推計濃度 (NOx)

地点	実測値 DNOx	計算値NOx							将来予測 <sup>1)</sup>	
		全体	固定	R1	K162	C232	K22	K405	NOx	NO <sub>2</sub> <sup>2)</sup>
A 江原公園	85	87	0.1	80.1	3.8	1.5	1.7	0.7	107	43
B 金岡局	51	54	0.2	33.4	5.7	5.3	0.7	1.9	58	23
C 金岡小	48	50	0.2	32.1	13.4	2.9	0.5	1.4	63	25
D 高尾山	48	39	0.1	40.7	1.0	1.5	1.9	0.7	51	21

注1) 将来予測は、K405が全てK162に流入したものと仮定した

注2) NO<sub>2</sub>/NOxの存在比を0.4として算出した

表 8 ADMER による沼津市金岡地区の推計濃度 (ベンゼン)

地点	実測値 ベンゼン	計算値ベンゼン							将来 予測 <sup>1)</sup>
		全体	固定	R1	K162	C232	K22	K405	
A 江原公園	2.5	1.3	0.03	1.00	0.16	0.04	0.03	0.04	1.5
B 金岡局	2.0	0.72	0.04	0.36	0.01	0.08	0.02	0.06	0.77
C 金岡小	1.6	0.69	0.04	0.41	0.17	0.06	0.02	0.05	0.82
D 高尾山	1.5	0.52	0.03	0.36	0.03	0.03	0.04	0.03	0.65

注1) 将来予測は、K405が全てK162に流入したものと仮定した

寄与割合が小さい金岡測定局でも 59%あった。NO<sub>x</sub> と同様に将来予測すると、最も高濃度である江原公園で増加分 0.2 を実測値に加味しても 2.7 の推計値にとどまり、環境基準は超過しないと推定される。

### まとめ

新しい幹線道路供用により交通量の増加が見込まれる沼津市江原町交差点およびその周辺地域において、大気環境測定車等による大気環境調査を実施し、交通量の増加に伴う道路沿道および周辺環境への影響を検討した。江原町交差点における NO<sub>x</sub> 等の大気常時監視項目とベンゼン等の揮発性有機化合物濃度は、2000 年度に実施した調査結果と比較してほぼ全ての物質が減少傾向を示しており、大気環境が改善していることが確認された。

江原町交差点を含む金岡地域は、他地域と比較して NO<sub>x</sub> 濃度が特異的に高濃度を示しているが、固定発生源および主要幹線道路別の環境負荷を試算すると国道 1 号線の排出負荷が最も大きく、中でも大型貨物車の寄与が高いため、NO<sub>x</sub>・PM 法の効果による環境改善が期待される。

金岡地域においてバイパスの全面開通による NO<sub>x</sub> とベンゼンの濃度変化について推計した結果、バイパス沿線で濃度増加が見込まれるものの環境基準は超過しないことが推定された。

今回の検討からバイパス供用により重大な健康被害に及ぶ環境悪化は見込まれないことがわかったが、推計の域は脱しないため、今後も当該地域の大気環境状況の把握に努め、バイパス供用後の濃度推移に留意する必要がある。

また、今回検討した濃度予測手法は入力する情報を変更することで、同一地点の経年変化予測や他地域の状況を推計する手法として活用が期待できる。今後も、幹線道路の変更や空港供用に伴う環境変化の把握等に活用し環境保全に努める。

### 謝辞

本研究を実施するにあたり、調査地点の選定や調査場所の提供等に御尽力いただいた沼津市環境政策課、沼津市金岡小学ならびに高尾山運営委員会の関係者の皆様に深謝いたします。また、貴重な情報を提供いただいた静岡県県民部生活環境室、静岡県警交通管制センターならびに国土交通省静岡国道事務所の各位に深謝いたします。

### 文献

- 1) 静岡県土木部道路企画室:平成 17 年度 道路交通センサス報告書 平成 19 年 3 月, 静岡(2007)
- 2) 静岡県県民部環境局生活環境室:平成 19 年度 大気汚染及び水質汚濁等の状況 平成 20 年 8 月, 静岡(2006)
- 3) 国土交通省静岡国道事務所ホームページ:  
<http://www.cbr.mlit.go.jp/shizukoku/>
- 4) 独立行政法人産業技術総合研究所ホームページ:  
AIST-ADMER Ver.2.5 操作マニュアル,  
<http://www.aist-riss.jp/software/admer/>
- 5) 東野晴行:暴露・リスク評価大気拡散モデル(ADMER)の開発,大気環境学会誌, **38**, 100-115(2003)
- 6) 中西隆之:N 式パッシブサンプラーを用いた簡易大気汚染測定手法の確立, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **50**, 123-128(2007)
- 7) 太田良和弘:大気中揮発性化合物の測定法の検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, **42**, 5-10(1999)
- 8) 環境省環境管理局:自動車排出ガス原単位及び総量算定検討調査, 東京(2005)
- 9) 村上雅彦:自動車排出ガス中の揮発性有機化合物(VOC)の排出実態, 東京都環境科学研究所年報, 49-56 (2004)
- 10) 吉門 洋:有害大気汚染物質高排出地域のモデル解析, 大気環境学会誌, **41**, 164-174(2006)

## N式パッシブサンプラーによる簡易大気汚染測定手法の実用化の検討

大気水質部 大気・騒音環境スタッフ 中西隆之, 江本勇治, 太田良和弘

Examination of utilization of Simple Sampling Method of Air pollution by N-type Passive Sampler

Takayuki NAKANISHI, Yuji EMOTO and Kazuhiro OHTARA

N式パッシブサンプリング法（N式パッシブ法）による大気中のガス状汚染物質の濃度算出において温度・湿度を考慮し補正を行いアクティブ法である自動測定器の測定結果と比較すると、両者の間に高い相関関係が得られ補正の効果が確認できた。また、気温が高くなる7～8月にかけてN式パッシブ法による二酸化窒素および窒素酸化物の捕集量が減少し、これまで想定されていた1ヶ月単位のサンプリング期間を短縮する必要があることがわかった。オゾンについては、同時期の1ヶ月単位のサンプリング期間内では捕集量の低減は見られなかった。

Key words: N式パッシブサンプラー, ガス状汚染物質, 窒素酸化物, オゾン  
N-type passive sampler, Gaseous Pollutants, Nitrogen oxide, Ozone

### はじめに

大気中のガス状汚染物質の測定には自動測定器などのアクティブ法が主流であるが、測定機器のコストが高いことに加え、電源確保が困難な場所や機材運搬に制約がある場所での導入は困難である。対して、パッシブ法は動力が不要で、携帯性やコスト面でアクティブ法より優れていることから、多地点同時サンプリングによる大気中のガス状汚染物質の濃度分布調査やアクティブ法のデータを補完する目的で使用されている。

パッシブ法のひとつであるN式パッシブ法は、大気汚染ガス捕集濾紙をテフロンシートで挟んだ簡易式のサンプラーであり、全国環境研協議会・第4次酸性雨全国調査において乾性沈着調査に使用されており、静岡県も調査に参加している。

既報<sup>1)</sup>では、3月から10月にかけて調査を行い、夏季の窒素酸化物類の測定結果において、アクティブ法とN式パッシブ法の結果に乖離が見られたことを報告した。今回、N式パッシブ法実施時の温度と大気汚染ガス捕集効率の関係に着目し、年間を通して調査を行い、実用化へ向けた条件設定を検討したので報告する。

### 調査方法

#### 1 調査期間および調査地点

調査期間は平成19年11月～平成20年12月に実施し、サンプリング期間は月の初めから終わりの約1ヶ月単位とした。調査地点を図1、位置情報を表1に示した。

#### 2 調査方法

パッシブサンプリングは、各調査地点の大気常時監視測定局の大気吸入口の脇にN式パッシブサンプラーのシェルターを設置して行った。パッシブサンプリング実施時の温度・湿度は、パッシブサンプラーを設置するシェルターの内部に電池内蔵式の温度・湿度測定用データロガーを設置して1時間毎のデータを収集した。なお、シェルターは遮光性のある金属製のものを使用した。

#### 3 測定方法および測定項目

N式パッシブ法の原理、大気濃度算出式およびN式パッシブサンプラーの作製方法は既報<sup>1)</sup>のとおりである。大気汚染ガス捕集濾紙は、O<sub>3</sub>とSO<sub>2</sub>捕集用としてNaNO<sub>2</sub>含浸濾紙、NO<sub>2</sub>捕集用としてトリエタノールアミン含浸濾紙、NO<sub>x</sub>捕集用としてトリエタノールアミン・PTIO含浸濾紙を使用した。

各項目の測定方法は、N式パッシブサンプラーから濾紙を取り出し超純水20mLで抽出した抽出液をイオンクロマトグラフ法で分析し、イオン成分の濃度から大気濃度を算出するものである<sup>1)</sup>。

静岡県環境衛生科学研究所  
(〒420-8637, 静岡市葵区北安東4-27-2)  
Shizuoka Institute of Environment and Hygiene  
(4-27-2, Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka, 420-8637, Japan)

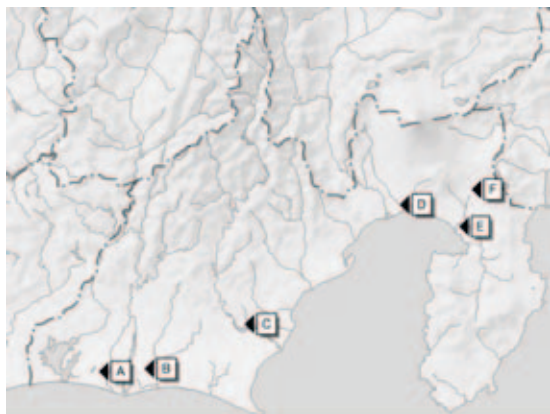


図1 調査地点

表1 調査地点概要

地点	名称	緯度	経度	用途地域	サンプリング期間	採取高
A	湖西	34.719	137.531	未指定	H19.11-H20.10	3.0m
B	磐田	34.719	137.850	住居地域	H19.11-H20.12	2.0m
C	島田	34.836	138.176	住居地域	H19.11-H20.12	3.0m
D	富士	35.154	138.678	工業地域	H19.11-H20.12	3.0m
E	沼津	35.096	138.866	住居地域	H19.11-H20.12	10m
F	裾野	35.197	138.914	未指定	H19.12-H20.10	3.0m

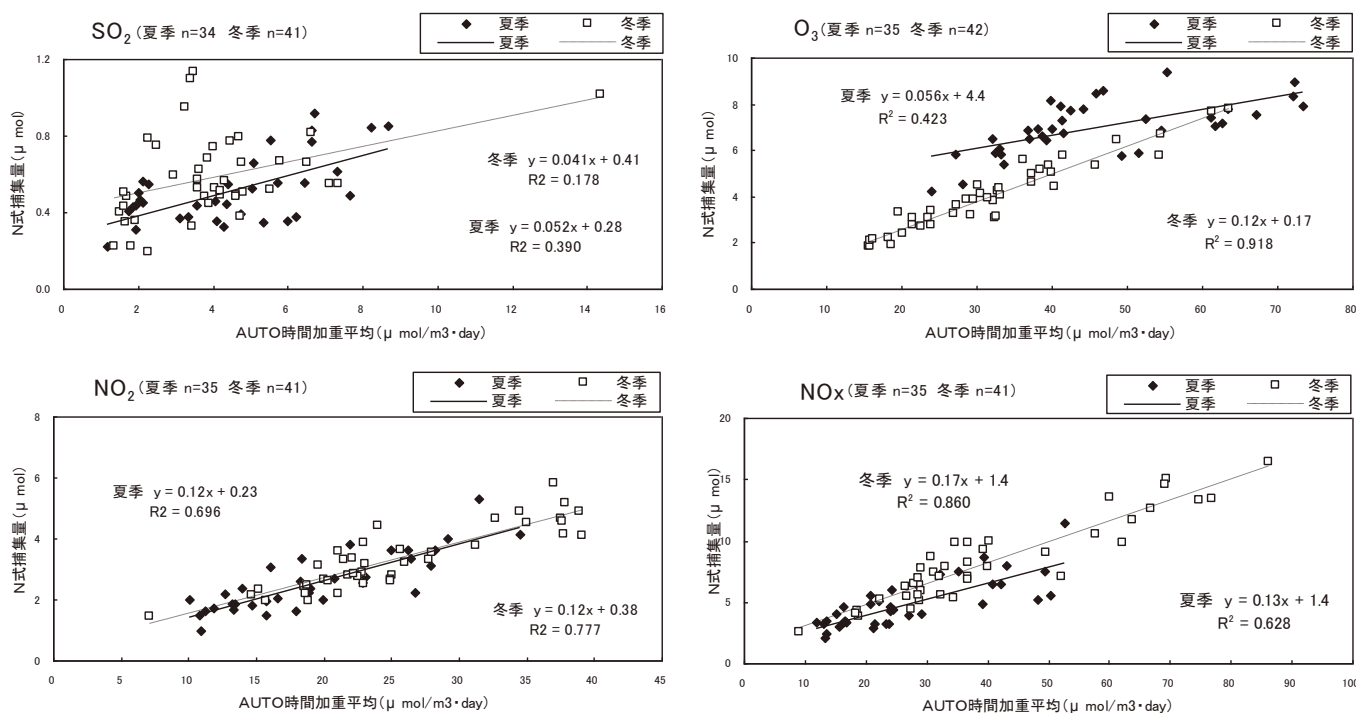


図2 N式パッシブサンプラーによるガス状物質捕集量と自動測定器時間加重平均との関係（夏季・冬季）

**結果および考察**

**1 N式パッシブサンプラーの大気汚染ガス累積捕集性**

パッシブ法においては測定期間中に対象となるガス成分を累積的に捕集する必要がある。既報<sup>1)</sup>において3月から10月の期間中にO<sub>3</sub>、SO<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、NO<sub>x</sub>の4成分についてアクティブ法との並行調査を行いSO<sub>2</sub>を除く3成分について累積的な捕集性およびアクティブ法との高い相関関係を確認した。今回、年間を通して測定を実施し、測定期間中の各大気汚染ガス平均濃度に曝露期間を乗じて算出した時間加重平均濃度と、N式パッシブサンプラーにより捕集したガス状成分捕集量との関係を図2に示した。解析の期間は夏季（4月～9月）、冬季（10月～3月）とした。

O<sub>3</sub>、NO<sub>2</sub>、NO<sub>x</sub>は夏季、冬季ともに1%の危険率で有意な相関が認められ、累積捕集性が確認できた。O<sub>3</sub>、NO<sub>x</sub>は夏季と冬季で回帰直線の傾きが異なり、温度の影響が考えられた。このことについては後述する。

SO<sub>2</sub>については既報の調査と同様に他の3成分に比べるとアクティブ法との相関性が低く、年間を通した調査においても明確な累積捕集性は確認できなかった。

**2 温度と大気汚染ガス捕集効率の関係**

表2に測定地点のシェルター内部の温度と湿度を示す。また、図3には図2で夏季と冬季で回帰直線の傾きに差が認められたO<sub>3</sub>とNO<sub>x</sub>について、月毎の平均気温と捕集効率(N式パッシブ法捕集量/アクティブ法時間加重平均値比)について示した。



表2 調査地点のシェルター内部の温度・湿度データ

項目	温度							湿度						
	湖西	磐田	島田	富士	沼津	裾野	平均	湖西	磐田	島田	富士	沼津	裾野	平均
H19.11	12.7	14.3	12.9	13.5	12.7	—	13.2	63.5	60.0	62.7	61.5	61.1	—	61.7
H19.12	8.2	9.2	8.0	8.8	8.5	7.1	8.3	66.3	58.8	61.3	62.1	61.1	70.8	63.4
H20.1	5.8	7.1	6.1	6.7	6.2	4.8	6.1	56.9	56.6	60.9	64.7	61.7	70.6	61.9
H20.2	5.5	6.7	5.5	7.0	6.6	5.1	6.1	53.0	44.1	40.2	49.4	47.2	51.5	47.6
H20.3	11.5	12.7	11.3	13.3	12.5	11.1	12.1	57.1	50.9	55.9	57.6	54.5	65.3	56.9
H20.4	16.9	17.8	16.3	18.0	17.2	16.2	17.1	64.5	62.9	66.3	66.4	62.1	73.4	65.9
H20.5	19.5	20.1	19.4	19.8	18.9	17.9	19.3	64.3	62.9	58.0	61.3	58.2	71.8	62.7
H20.6	22.7	23.0	21.9	22.5	21.7	21.1	22.2	71.8	73.3	72.8	72.8	68.7	84.0	73.9
H20.7	28.2	28.7	27.3	27.7	27.4	26.4	27.6	62.3	64.2	64.9	68.6	62.8	77.3	66.7
H20.8	—	28.6	26.8	28.0	27.0	26.3	27.3	—	59.7	62.5	61.7	59.3	73.1	63.2
H20.9	22.8	24.0	22.2	23.9	22.9	21.9	22.9	60.9	60.3	64.5	61.3	59.7	73.0	63.3
H20.10	—	19.9	18.4	20.5	20.1	18.2	19.4	—	50.3	55.2	53.6	53.0	62.9	55.0
H20.11	—	13.2	11.7	13.8	14.0	—	13.2	—	50.9	56.2	52.4	51.1	—	52.7
H20.12	—	9.9	8.3	9.8	10.7	—	9.7	—	43.1	50.9	49.3	58.7	—	50.5

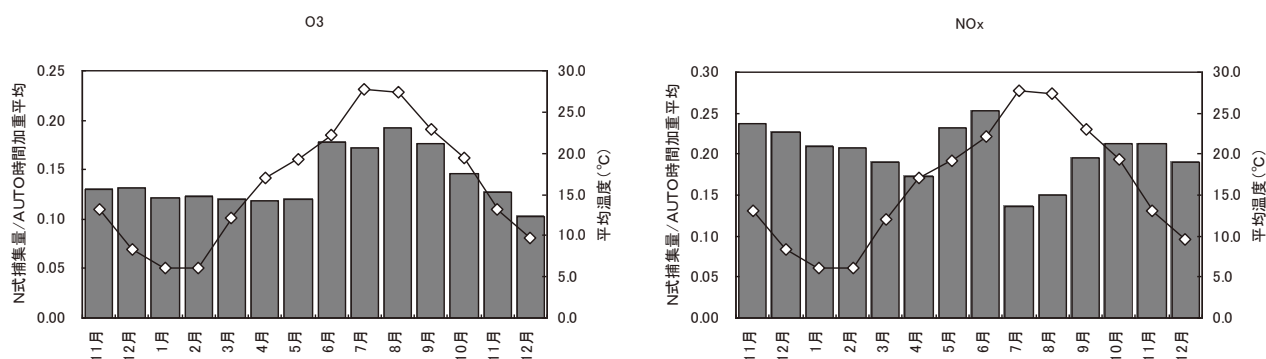


図3 捕集効率と平均温度の関係

捕集効率は温度の高低に関わらず一定であることが望ましいが、 $O_3$ では6月から9月に高い値となった。この期間は平均温度が  $20^\circ\text{C}$  を超えており、温度が  $O_3$  捕集濾紙中の硝酸イオンの生成に影響していることが考えられる<sup>2, 3)</sup>。図2において夏季(4月から9月)の回帰直線の傾き(捕集効率)は冬季より小さいが、6月から9月の値のみで計算するとその傾きは0.17であり、冬季よりも大きい値となる。

$NO_x$ の捕集効率は $O_3$ に比べてバラツキが見られ、特に6月と7月の差が大きかった。温度が特に高い7月、8月には図4に示したとおり全測定地点で $NO_x$ 捕集濾紙上に添加している $NO$ 酸化剤のPTIOの紫色が消失しており、 $NO$ が効率よく捕集されず、本来よりもN式パッシブ法による捕集量が低くなったためだと考えられる。PTIOの消失については大気中の $NO$ 濃度が7月、8

月より高い月でもPTIOの紫色は消失していないことから7月、8月のPTIOの消失は、 $NO$ の酸化剤として消費されたのではなく、高温による分解あるいは揮発であったと考えられる。

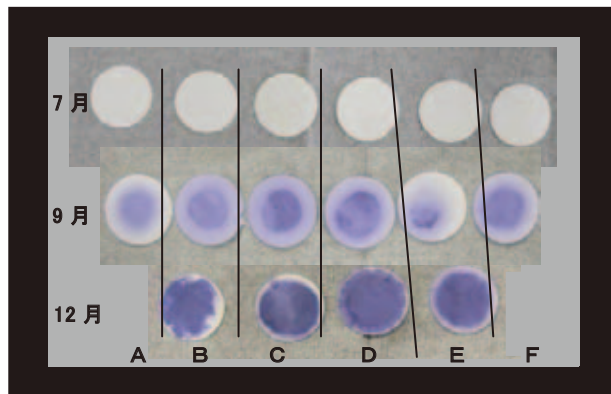


図4 調査地点・月別  $NO_x$  捕集濾紙 PTIO の消失状況



そこで、PTIO の消失が温度の影響によるものかどうか確認するため、図5のように NOx 捕集濾紙を大気圧下において純空気を充填した容器に入れ、オープン内を一定温度に保ち PTIO の消失状況を観察した。表3に測定地点の代表として島田地点の6月から10月のシェルターの内部温度の度数分布表を示したとおり PTIO の消失が確認された7月と8月においては35℃以上となる時間が他の月に比べ多く、また30℃以上となる時間も比較的多かったため、オープンの設定温度は30℃と35℃に設定した。濾紙は消失の状況を観察しながら24時間、48時間、96時間、168時間、240時間で回収した。PTIO の消失の状況は図6のとおりである。35℃では48時間後にはPTIOの紫色が薄くなり目視により消失が確認でき、168時間後にはほぼ完全に消失した。一方、30℃では168時間経過後も紫色がはっきりと残っていた。回収した濾紙は超純水で抽出し、波長545nmで吸光度を測定し、曝露0時間からの減少から残存率を求めた。図7にPTIOの残存率を算出した結果を示す。35℃では、残存率は開始24時間後までに急激に低下して約40%となり、その後徐々に低下し168時間後には約1%となった。30℃では時間の経過に比例して低下し、96時間後に約73%、168時間経過後は約55%が残存し、240時間後まで直線状に減少した。240時間後以降を外挿すると完全消失は約372時間後となる。表3のとおり島田地点では7月、8月にはシェルター内部の温度が35℃以上となる時間がそれぞれ170時間を超えており、上記の実験結果と合わせるとPTIOの消失に温度が関与していたことがわかった。

以上より、NOx 捕集濾紙を一般環境で使用する場合には、シェルターの内部温度の上昇を防ぐため直射日光を避けることや、温度をモニタリングしサンプリング期間を調整する必要があるとの結論を得た。

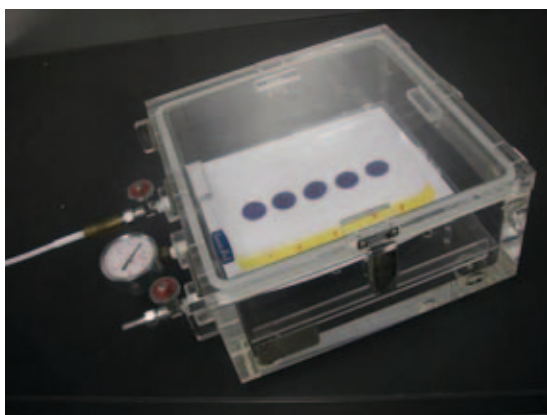


図5 NOx 捕集濾紙 PTIO の消失実験装置

表3 島田地点 シェルター内部温度の度数分布表

範囲	単位:時間				
	6月	7月	8月	9月	10月
0℃	0	0	0	0	0
5℃	0	0	0	0	0
10℃	0	0	0	0	22
15℃	0	0	0	6	107
20℃	205	7	0	200	400
25℃	380	261	360	320	202
30℃	84	342	284	100	37
35℃	5	160	157	23	0
40℃	0	21	16	0	0
合計(時間)	674	791	817	649	768
合計(日数)	28	33	34	27	32

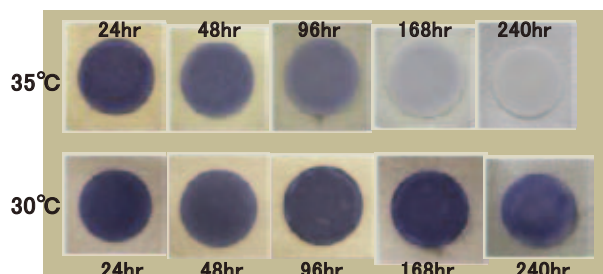


図6 温度別・PTIO 消失の状況

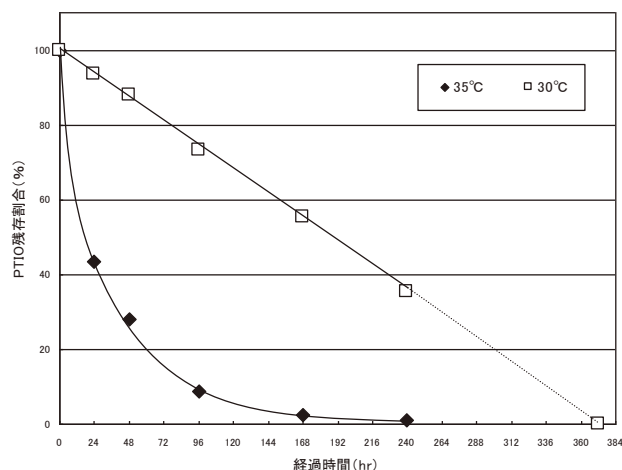


図7 温度と PTIO 残存率の時間推移

### 3 気温と湿度による補正の効果について

これまで述べてきたように、N式パッシブ法における大気中のガス状成分の捕集には温度が少なからず関与していると考えられる。従来、N式パッシブ法による大気中ガス状成分の濃度算出はパッシブサンプラーに捕集された捕集量と並行調査により測定したアクティブ法の測定値から求める実効サンプリング速度を用

いて行う方法であり，温度や湿度のデータは使用していない。既報において，N式パッシブ法によるガス状成分の捕集量に温度が関与している可能性があることが考えられたことから，今回，測定実施時にシェルター内部にN式パッシブサンプラーと温湿度計を設置し1時間毎のデータを記録し，温度と湿度を用いた補正の効果について検討した。

補正は，表2の温度・湿度のデータとN式パッシブサンプラーに捕集されたガス状成分の捕集量およびアクティブ法による測定値を用いて重回帰分析を行い各変数の係数を決定し，各大気濃度の算出式を作成した。換算式の各係数を表4に示す。各係数を比較すると，

これまでの考察のとおり  $O_3$  と  $NO_x$  ではパッシブサンプリングにおける温度の関与が比較的大きいことがわかった。 $NO_x$  については  $O_3$ 、 $NO_2$  と比べて湿度の関与する割合が小さいことが明らかになった。図8に補正実施後の大気濃度および従来の実効サンプリング速度による各大気濃度とアクティブ法による大気濃度をプロットした相関図を示す。 $NO$  濃度は  $[NO_x]-[NO_2]$  として求めた。補正の結果，すべての項目で回帰式の傾きが改善され補正の効果が確認できた。特に  $O_3$  では回帰式の傾きおよび相関係数ともに大幅に改善された。

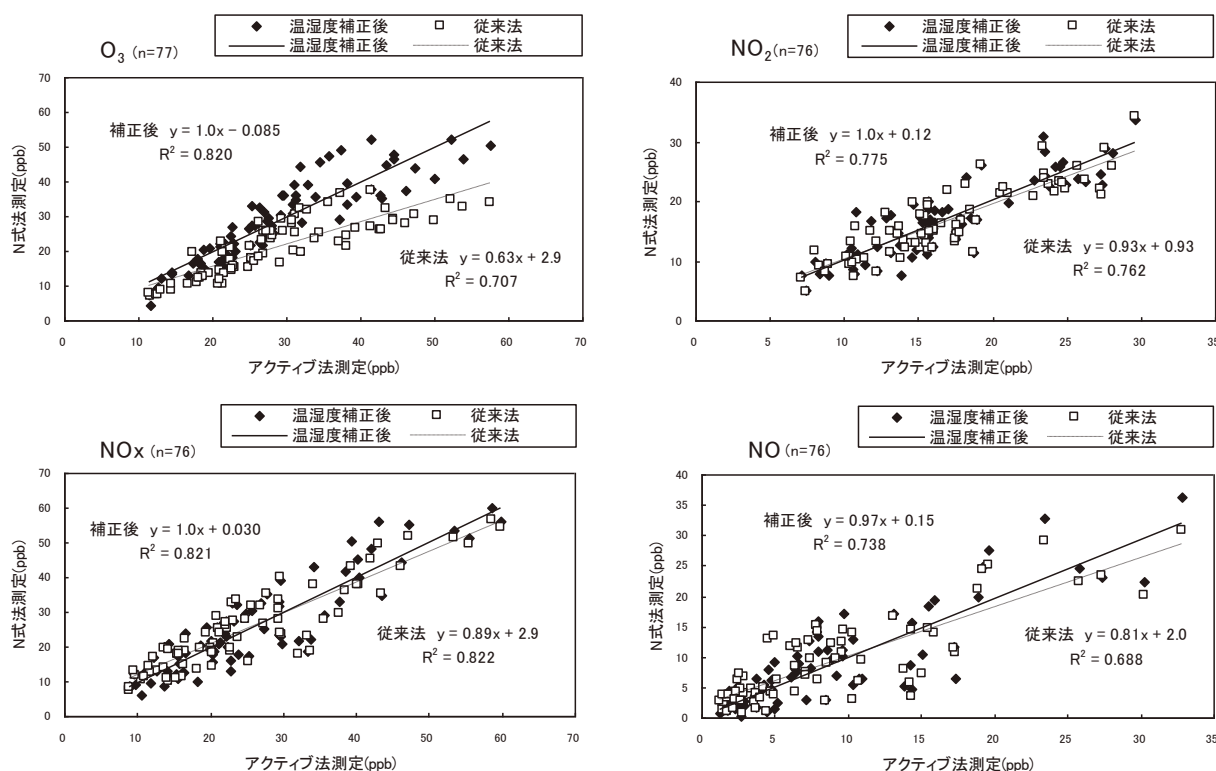


図8 計算方法別 N式パッシブ法とアクティブ法の相関関係

表4 濃度補正換算式の係数

項目	換算式の係数			
	a 捕集量	b 温度	c 湿度	d 切片
$O_3$	0.233	-0.751	-0.221	220
$NO_2$	0.214	0.226	-0.246	-53.8
$NO_x$	0.155	0.503	-0.066	-149

濃度換算式  $y = aX_1 + bX_2 + cX_3 + d$

y : 大気濃度 (ppb)

$X_1$ : 捕集量 ( $\mu \text{ mol}/\text{m}^2/\text{day}$ )  $X_2$ : 温度 (K)  $X_3$ : 湿度 (%)

#### 4 分割捕集と連続捕集の捕集量の比較

平成20年6月から9月に伊豆市修善寺において大気汚染測定車(以下,測定車)の屋根上で1ヶ月を前半・後半(約2週間毎)に分けた分割捕集と,1ヶ月の連続捕集を並行して実施し,分割捕集による累積捕集量と連続捕集量の比較を行った。結果は図9のとおりであり  $O_3$  は前半・後半曝露の捕集量合計と連続測定の捕集量に良い一致がみられ,1ヶ月の連続捕集に使用可能であることがわかった。 $NO_2$  については,7月に捕集量の低下が顕著に認められた。図2に示した測定局におけるアクティブ法との比較では夏季においても累積捕集性は良い相関を示しており,測定車において

捕集量に低下が起こった原因としては、測定車の屋根が金属製で銀色であり、日光の反射によって捕集濾紙の担持試薬が劣化したことによる影響が考えられる。サンプラーの設置場所による NO<sub>2</sub> の捕集量の低下については、床や屋根の材質・色による捕集量への影響が報告されている<sup>4)</sup>。NO<sub>x</sub> については測定期間中の NO 濃度は 2.8ppb と低濃度であり、NO の NO<sub>x</sub> への寄与が小さいと仮定すると、NO<sub>2</sub> 捕集量の低下による影響が大きいと考えられる。このように気温が高く日射の影響が強い時期には 1 ヶ月サンプリングでは捕集量の低下が大きい為、2 週間以内の分割捕集を行い、床の色・材質など考慮する必要がある。

**まとめ**

N 式パッシブ法とアクティブ法の並行試験を長期にわたり実施し、温度・湿度の関連性を検討し、実用化へ向けた条件検討を行うことを目的とする調査を行い以下のような結果を得た。

- 1 O<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub> において年間を通して累積捕集性が確認できた。累積捕集性については夏季（4 月～9 月）、冬季（10 月～3 月）に違いが認められ、温度による影響が考えられた。
- 2 NO<sub>x</sub> 捕集濾紙に添加する PTIO は 35℃ 以上の温度では顕著に消失することが確認された。7 月、8 月にはシェルター内部の温度が 35℃ 以上となることが多いことから、シェルターの温度上昇を防ぐように木陰に設置し、サンプリング期間を 2 週間以内に設定する必要がある。
- 3 O<sub>3</sub>, NO, NO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub> の濃度算出にあたり温度・湿度による補正の効果が確認でき、サンプリング時の温度・湿度のデータを採取することでよりアクティブ法に近い値を得ることが出来る。
- 4 NO<sub>2</sub> や NO<sub>x</sub> の測定については測定時に日光やその反射の影響を考慮し、設置位置や床などの材質について注意する必要がある。

**謝 辞**

本調査にあたり、サンプリング場所の提供に協力いただいた各市担当課の方々に深謝いたします。

**文 献**

- 1) 中西隆之他：N 式パッシブサンプラーを用いた簡易大気汚染測定手法の確立，静岡県環境衛生科学研究所報告，**50**，123-128（2007）
- 2) 中島寛則他：N 式パッシブサンプラーによるオゾンろ紙中の硝酸イオン量の地点差について，名古屋市環境科学研究所報，**35**，44-46（2005）
- 3) 平野耕一郎他：拡散型長期曝露サンプラー，横浜市公害研究所報，**15**，3-12（1991）

- 4) 北瀬勝他：パッシブ法によるオゾン測定に対する NO<sub>x</sub> の影響，大気環境学会年会講演要旨集，**45**，705（2004）

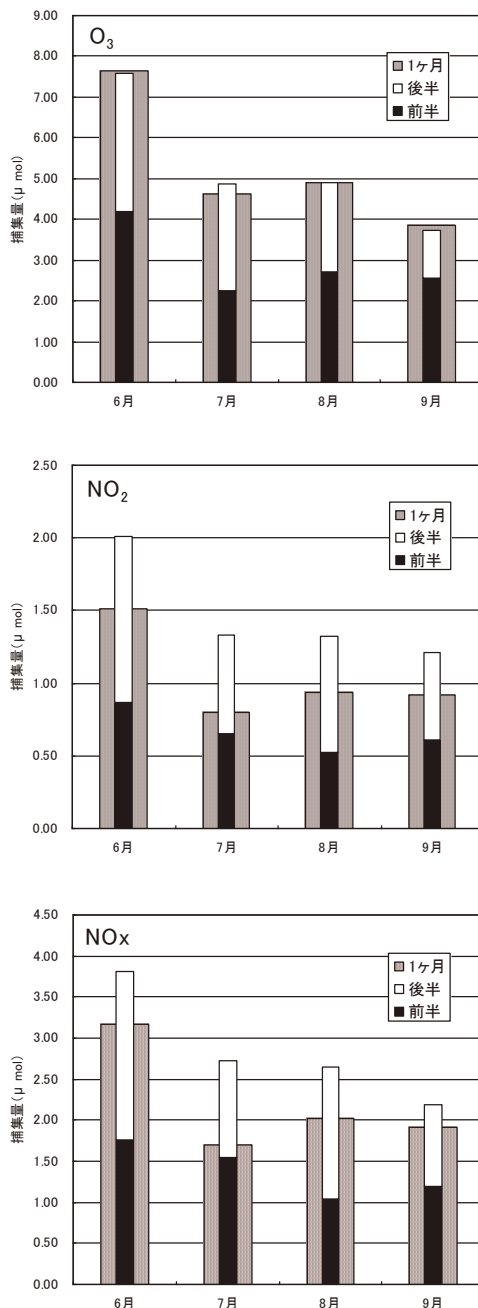


図9 分割捕集量と連続捕集量の比較

## 森林形態が河川環境に及ぼす影響に関する研究

大気・水質部 水質環境スタッフ 内山道春, 小池 明, 青木一永

清水直美, 瀧本俊晴

A Study for Effect of River's Environment by the Form of Forest

Michiharu UCHIYAMA, Akira KOIKE, Kazunaga AOKI,  
 Naomi SHIMIZU and Toshiharu TAKIMOTO

森林形態やその管理状況と森林からの汚濁負荷量との関連を明らかにするため、森林から流出する河川の水質を調査し、年間流出原単位の算出を行った。

森林からの年間流出原単位はCODで8.7~30.4kg/ha/年, T-Nで4.4~13.9kg/ha/年, T-Pで0.09~0.28kg/ha/年と算出された。森林を構成する樹種の違いによる河川水質への影響は明確ではなかったが、植栽された管理森林は強伐されて裸地を含む森林に対しCOD, T-N, T-Pの年間流出原単位で低く抑えられていた。一方、森林には降雨等による汚濁負荷を浄化する能力があると推察され、そのためには樹木により被植されていることが重要と考えられた。

Key words: 森林, 非特定汚染源, 原単位  
 forest, nonpoint source pollution, unit pollution load

### はじめに

県内の河川水質は、生活系や産業系などの特定発生源における排水対策の進捗により近年改善が進んでいるが、一方では土地利用に伴う非特定汚染源対策の重要性が高まっている。そこで、平成16年には「茶園」、18年には「水田」<sup>1)</sup>と、農地からの汚濁流出について調査を行い、茶園からの年間流出原単位を明らかにしてきた。

「森林」は農地等と比較するとその汚濁負荷量は小さいと予想される<sup>2)</sup>が、静岡県内の河川はその上流部の大部分が森林であり、かつ河川流域面積に対し大きな割合を占めることから、今回は「森林」について調査研究を行った。森林からの年間流出原単位の算出、森林形態や管理実態と汚濁流出の関連の解明を目標とし、森林から流出する河川水や降雨の水質調査・流量測定等を行った。2年間にわたる調査研究の結果、若干の知見が得られたので報告する。

### 調査方法

#### 1 河川調査

調査項目および分析方法を表1に示す。調査河川名とその流入域の構成樹種、人為管理の有無等の流域森林の状況を表2に、その位置を図1に示す。

水質調査は、測点1から5に示した調査地点において、平成19年4月から平成21年1月の間は月2回水質調査を実施した。測点6の調査地点においては、同期間に月1回水質調査を実施した。

#### 2 降雨水質調査

平成19年4月に測点1近傍の開けた場所において雨水集水装置を設置し、月1回、降雨の水質調査を実施した。平成20年4月に測点6にも雨水集水装置を増設し、同様に月1回、降雨の水質調査を実施した。

#### 3 年間流出原単位の算出

河川調査結果より年間流出原単位を試算し、樹種や人為管理の有無との関連を考察した。また降雨の水質と降水量から降雨等による負荷量を算出し、森林による汚濁浄化能力を評価した。



表1 調査項目および分析法

調査項目	分析法
流量	流量計
pH	ガラス電極法
EC	EC計
COD	酸性法
SS	環境庁告示付表9
TOC (全有機態炭素)	TOC計 (不揮発性有機体炭素)
T-N (全窒素)	ペルオキシニ硫化カリウム分解法
T-P (全リン)	ペルオキシニ硫化カリウム分解法
硝酸態窒素	紫外線吸光度法
リン酸態リン	モリブデン青吸光度法
硫酸イオン	イオンクロマトグラフ
塩素イオン	イオンクロマトグラフ
ナトリウムイオン	イオンクロマトグラフ
カルシウムイオン	イオンクロマトグラフ
カリウムイオン	イオンクロマトグラフ
マグネシウムイオン	イオンクロマトグラフ
アンモニウムイオン	イオンクロマトグラフ

表2 調査地点名および流域森林の状況等

測点	地点名	樹種構成	人為管理等	面積 (ha)
1	油山	針葉樹 80%	流域の約 30%が裸地	67.14
2	下平瀬	針葉樹 100%	管理森林	27.56
3	八重沢	針葉樹 60% 広葉樹 40%		58.41
4	不動の滝	針葉樹 60% 広葉樹 40%		26.66
5	足沢橋	針葉樹 30% 広葉樹 70%		100.10
6	日影沢	ほぼ広葉樹	管理なし	227.10

結果および考察

1 河川水質調査

1) 通年調査

通年調査の結果を表3及び図2に示す。

水質はpHでは平均7.7, 最小値6.8に最大値8.2と変動も小さかった。そのほかの測定値はCODで平均1.0mg/l (0.1~4.7mg/l), TOCで平均1.0mg/l (0.0~3.9mg/l), T-Nで平均0.53mg/l (0.04~1.6mg/l), T-Pで平均0.009mg/l (0.000~0.064mg/l) という値を示しており、水質は調査地点による差はあるものの調査期間を通じて変動は少なく、安定して良好であった。

硫酸イオンやナトリウムイオンなど陰イオン・陽イオン濃度も同様に、調査地点による差は見られたが、調査期間を通じて変動は少なかった。

表3 調査地点の平均水質 単位 mg/l (pHを除く)

	測点1	測点2	測点3	測点4	測点5	測点6*	平均
pH	7.4	7.6	7.9	7.7	7.7	7.8	7.7
COD	1.3	1.3	1.1	1.1	0.8	0.5	1.0
TOC	1.2	1.2	1.1	1.0	1.1	0.8	1.0
T-N	0.74	0.58	0.62	0.52	0.44	0.26	0.53
T-P	0.012	0.010	0.008	0.010	0.008	0.006	0.009
NO3-N	0.74	0.58	0.62	0.52	0.44	0.26	0.47
PO4-P	0.012	0.010	0.008	0.010	0.008	0.006	0.008
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	24.3	18.3	18.1	10.4	20.9	30.4	20.4
Cl <sup>-</sup>	1.6	1.3	1.3	1.4	1.1	0.6	1.2
Na <sup>+</sup>	5.9	4.2	4.2	3.1	3.5	3.9	4.1
Ca <sup>2+</sup>	9.6	13.6	20.8	8.7	13.5	17.3	13.9
K <sup>+</sup>	0.66	0.28	0.34	0.20	0.25	0.58	0.39
Mg <sup>2+</sup>	2.2	1.7	2.9	0.9	1.1	2.2	1.9

(平成19年4月~平成21年1月) n=43 (22\*)

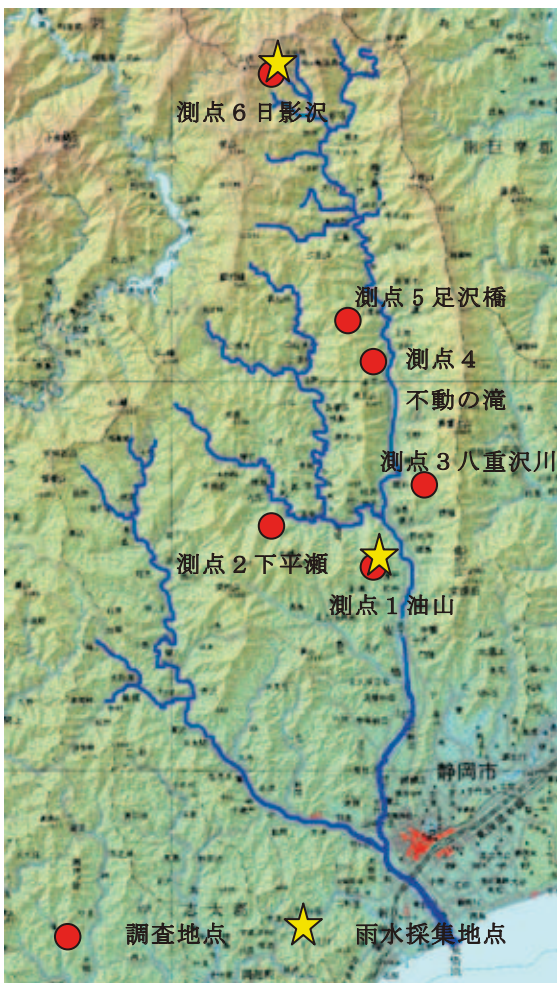


図1 測点の位置



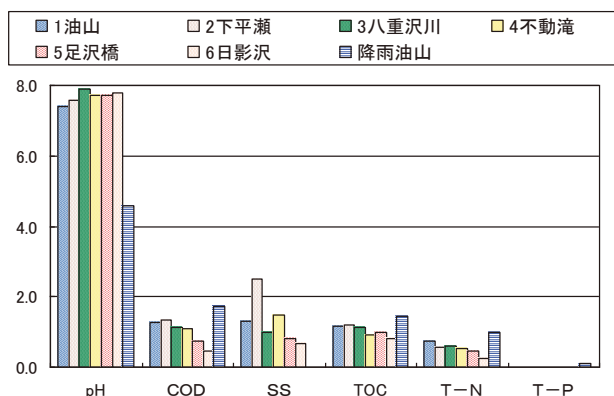


図2 調査地点および降雨の水質 単位 mg/l (pHを除く)

## 2 降雨水質調査

降雨水質調査における主な水質の通年変化を図3に示す。

調査地点1での降雨水質はpHは平均4~5, CODは2mg/l前後, TOCは1~3mg/l, T-Nは0.5~1mg/l, T-Pでは0.01~0.02mg/lの値を示していた。

しかし、平成20年1月から3月にかけて黄砂と思われる影響が現れ、この時期pHは7.5前後に、CODは2月に5mg/lへ、T-Nでは4.0mg/l前後に、T-Pでは0.6~0.8mg/lに測定値が上昇した。カルウムイオンも通常0.2mg/l未満の値を示していたが、この期間1.0から1.3mg/lまで濃度が上昇した。

また、調査地点が広域にわたるため調査地点6に降雨採取装置を増設して観察したところ、塩素イオン及びカルウムイオン濃度が多少低かったことを除き、調査地点1の結果とよく一致していた。このことから調査地点1の降雨水質調査結果が地域全体の降雨を代表するものとし、以下降雨のデータとして使用した。

表5 降雨の平均水質 単位 mg/l (pHを除く)

	測点1	参考値 <sup>3)</sup>	参考値 <sup>4)</sup>
pH	4.7	4.2	4.7
COD	1.8	—	—
TOC	1.5	—	—
T-N	1.13	—	—
T-P	0.114	—	—
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.7	1.8	2.64
Cl <sup>-</sup>	2.2	2.5	3.82
Na <sup>+</sup>	0.4	0.5	1.97
Ca <sup>2+</sup>	0.9	0.9	0.52
K <sup>+</sup>	0.29	0.21	0.18
Mg <sup>2+</sup>	0.10	0.11	0.26

(平成19年4月~平成20年11月) n = 18

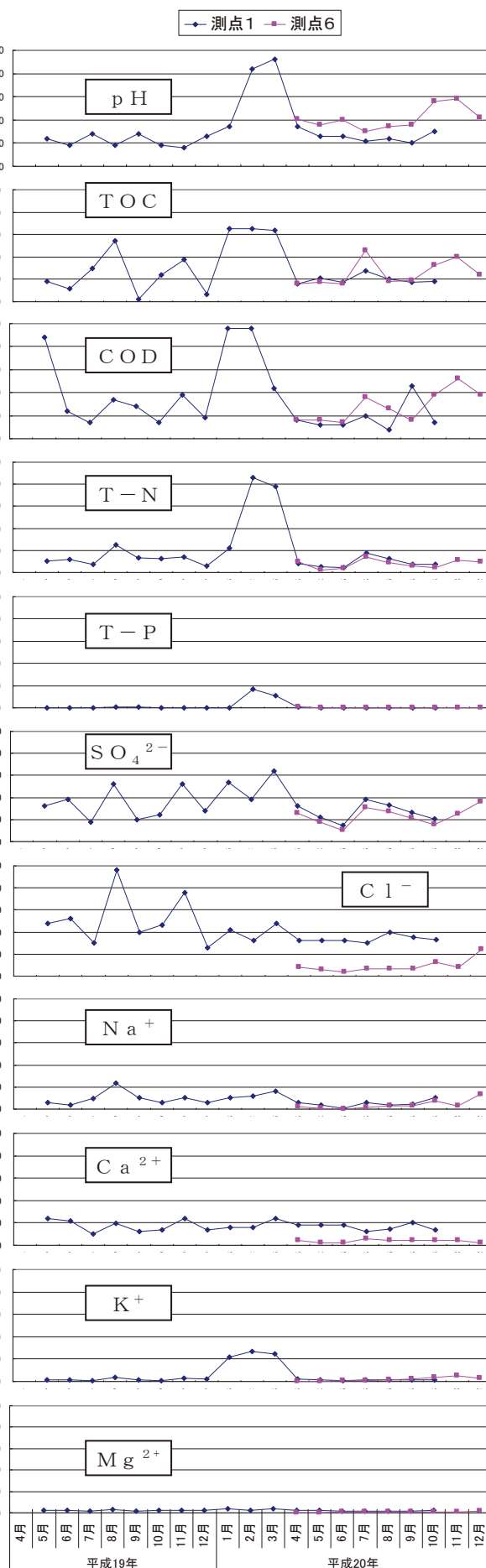


図3 測点1及び6における降雨水質の月別変動

### 3 年間流出原単位の試算

河川調査結果および表1の流域森林面積を用いて、下式により年間流出原単位を試算した。また同様に、降雨水質調査に降水量を乗じて大気・降雨等による負荷量も算出した。

$$\text{年間流出原単位 (kg/ha・年)} = \frac{\text{汚濁負荷量総計 (kg)}}{\text{調査期間 (日)}} \times \frac{365 \text{ (日/年)}}{\text{流域面積 (ha)}}$$

表6に示したとおり、森林からの年間流出原単位として COD8.7~30.5kg/ha・年、SS10.8~47.3 kg/ha・年、T-N4.4~13.9kg/ha・年、T-P0.08~0.28 kg/ha・年という値が求められた。

また、測点1における大気・降雨による負荷量として COD30.8kg/ha・年、T-N16.2kg/ha・年、T-P0.76 kg/ha・年と算出され、表7に示した。

表6 年間流出原単位 単位 kg/ha・年

	測点1	測点2	測点3	測点4	測点5	測点6
COD	30.5	21.6	29.5	25.9	8.7	14.2
SS	47.3	45.4	34.6	46.1	10.8	30.3
TOC	22.8	20.3	26.3	19.9	10.8	31.7
T-N	13.9	9.4	13.7	12.0	4.4	9.9
NO <sub>3</sub> -N	13.5	9.0	13.8	9.8	4.5	6.5
T-P	0.23	0.16	0.20	0.25	0.08	0.28
PO <sub>4</sub> -P	0.18	0.13	0.18	0.22	0.08	0.28
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	341.5	253.3	348.7	199.0	184.8	1003.2
Cl <sup>-</sup>	25.7	20.0	27.6	31.0	10.7	19.3
Na <sup>+</sup>	88.7	63.9	87.4	68.8	34.0	123.4
Ca <sup>2+</sup>	145.4	202.0	445.5	181.1	125.7	577.3
K <sup>+</sup>	10.8	4.5	7.3	4.3	2.5	20.5
Mg <sup>2+</sup>	33.1	26.1	61.8	19.6	10.9	77.9

表7 降雨等による汚濁負荷量 単位 kg/ha・年

	測点1	降雨参考値 <sup>5)</sup>	森林参考値 <sup>5)</sup>
COD	30.8		17.7
TOC	31.3		
T-N	16.2		3.9
NO <sub>3</sub> -N	11.0		
T-P	0.76		0.19
PO <sub>4</sub> -P	0.59		
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	34.7		
Cl <sup>-</sup>	50.0		
Na <sup>+</sup>	9.2		
Ca <sup>2+</sup>	17.8		
K <sup>+</sup>	3.3		
Mg <sup>2+</sup>	2.2		

#### 1) 構成樹種比率による年間流出原単位への影響

調査を行った測点の構成樹種の比率と年間流出原単位の相関を図4に示した。COD, SS, T-N, T-Pの各項目とも近似直線の寄与率R<sup>2</sup>は0.029から0.458と低い。樹種の違いによる河川水質への影響は小さく、樹種以外に大きな要因があると思われた。

$$\begin{aligned} \text{COD} : & y = -0.1589x + 28.876 \quad R^2 = 0.423 \\ \text{SS} : & y = -0.2672x + 47.771 \quad R^2 = 0.458 \\ \text{T-N} : & y = -0.0383x + 12.281 \quad R^2 = 0.147 \\ \text{T-P} : & y = 0.0003x + 0.184 \quad R^2 = 0.029 \end{aligned}$$

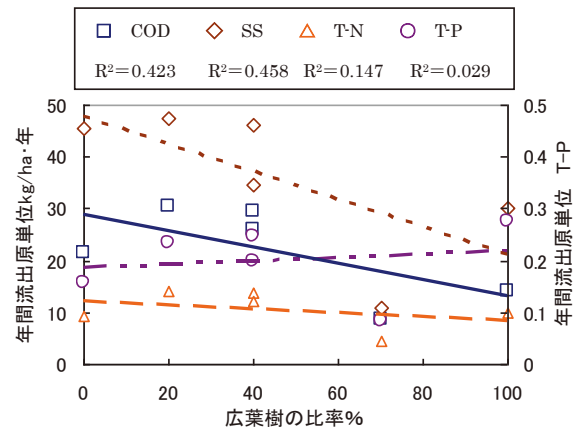


図4 樹種構成比率と年間流出原単位

#### 2) 伐採区の有無による年間流出原単位への影響

一般に「間伐遅れ」など管理不良となった森林においては下層植生の消失や地表面の露出が進み、表土の流出とともに汚濁負荷量の増大につながるとされている<sup>2)</sup>。今回の調査では人為管理の有無による比較区を設定できなかったため、森林内での伐採区の有無が与える影響を評価することとした。測点2を管理されすべて植栽された針葉樹林、測点1を約30%の伐採面積を持つ森林として比較を行った。

表8および図5に示したとおり、年間流出原単位はすべての項目で測点1は測点2を上回り、特にCOD, T-N, NO<sub>3</sub>-N, T-P, PO<sub>4</sub>-Pにおいて差が大きかった。また、対応する各測定期間の汚濁負荷量についてt検定を行った結果、T-N, NO<sub>3</sub>-N, T-P, PO<sub>4</sub>-Pにおいて5%水準で有意差ありとされた。よって、山林の管理において伐採による裸地面積の増大はNおよびPの汚濁負荷増大につながると推察された。

表 8 測点 2 および 1 の年間流出原単位の比較

	測点 2 kg/ha・年	測点 1 kg/ha・年	流出比率(%) 測点 2/測点 1	有意差
COD	21.6	30.5	70.9	5.1%
SS	45.4	47.3	96.0	12.16%
TOC	20.3	22.8	89.0	7.3%
T-N	9.4	13.9	67.2	あり 1.8%
NO3-N	9.0	13.5	66.8	あり 2.2%
T-P	0.16	0.23	67.4	あり 1.2%
PO4-P	0.13	0.18	69.8	あり 0.8%

表 9 測点 1 の河川水と降雨の汚濁負荷量

	降雨 kg/ha・年	河川水 kg/ha・年	流出比率(%) 河川水/降雨
COD	30.8	30.5	98.9
SS	—	47.3	—
TOC	31.3	22.8	72.8
T-N	16.2	13.9	86.0
NO3-N	11.0	13.5	123.1
T-P	0.76	0.23	30.7
PO4-P	0.59	0.18	31.2

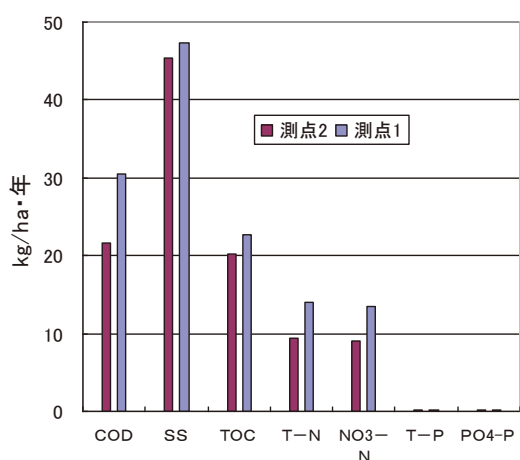


図 5 測点 2 および 1 の年間流出原単位の比較

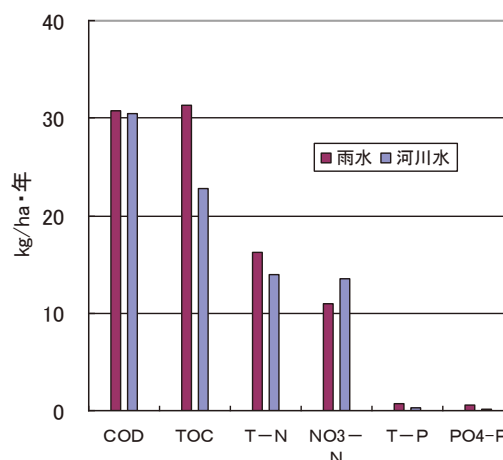


図 6 測点 1 の河川水と降雨の汚濁負荷量

### 3) 森林の水質浄化機能の考察

大気・降雨等からの負荷は、森林では雨水とともに森林内土壌に浸透・流下中に土壌微生物による分解等で浄化を受けるとされている<sup>2) 6)</sup>。そこで、測点 1 において同地点の雨水等による負荷量と森林からの年間流出負荷量を比較・検討した。

表 9 及び図 6 に示すとおり、降雨等による負荷量と年間流出負荷量は、COD においてほぼ同等であった。しかし、TOC と T-N、T-P、PO<sub>4</sub>-P では年間流出負荷量が下回り、その比率は TOC で 72.8%、T-N で 86.0%であった。T-P においては減少が特に顕著で比率は 30.7%であった。

以上より、森林には降雨等による汚濁負荷を一時的に貯留し緩衝する、または分解・浄化機能があると推察された。

### まとめ

森林形態やその管理状況と森林からの汚濁負荷を明らかにするため、森林から流出する河川の水質を調査し、年間流出原単位の試算を行った。得られた知見は以下のとおりであった。

1. 森林からの年間流出原単位は COD で 8.7～30.4kg/ha/年、T-N で 4.4～13.9kg/ha/年、T-P で 0.09～0.28kg/ha/年と試算され、流域森林の状況により差が表れた。
2. 森林を構成する樹種の違いによる河川水質への影響は明確ではなかった。
3. 完全に植栽された管理森林は強伐され約 30%裸地を含む森林に対し COD、T-N、T-P の年間流出原単位で低く抑えられた。
4. 森林には降雨等による汚濁負荷を緩衝する能力が確認され、そのためには樹木により被植されていることが重要と考えられた。

文 献

- 1) 瀧本俊晴他：非特定汚染源の水域への面的負荷量の評価とその削減対策, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 49, 83-86 (2006)
- 2) 武田育郎：水と水質環境の基礎知識, 126-131, 株式会社 オーム社 (2001)
- 3) 久米一成他：大気汚染物質による樹木への影響, 静岡県衛生環境センター報告, 35, 100 (1992)
- 4) 原弘：季刊化学総説 (陸水の化学), No. 14, 71, 学会出版センター (1992)
- 5) 日本水環境学会：湖沼水質保全対策効果検証基礎調査 環境庁委託業務結果報告書 (1992)
- 6) 田淵俊雄・高村義親：集水域からの窒素・リンの流出, 38-42, 財団法人 東京大学出版会 (1985)



## 他誌に発表した論文

### 環境科学部

- 1) Field evaluation of passive air samplers for monitoring volatile organic compounds in an industrial city in Japan

Kazunari Kume

Journal of Environmental Pollution Vol.153,

649-657 (2008)

Highly portable, sensitive, and selective passive air samplers were used to investigate ambient volatile organic compound (VOC) levels at multiple sampling sites in an industrial city, Fuji, Japan. We determined the spatial distributions of 27 species of VOCs in the cold season (March), warm season (May), and mild season (November) of 2004. In all three seasons, toluene (average concentration,  $14.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) was the most abundant VOC, followed by acetaldehyde ( $4.88 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ), and formaldehyde ( $2.61 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ). The spatial distributions for certain VOCs showed characteristic patterns: high concentrations of benzene and formaldehyde were typically found along major roads, whereas high concentrations of toluene and tetrachloroethylene (PCE) were usually found near factories. The spatial distribution of PCE observed was extremely consistent with the diffusion pattern calculated from Pollutant Release and Transfer Register data and meteorological data, indicated that passive air samplers are useful for determining the sources and distributions of ambient VOCs.

- 2) 施肥削減が進行する牧之原台地を集水域とした小河川、湧水および井水の硝酸性窒素濃度の推移

村中康秀

静岡県農林技術研究所研究報告第2号17~25 (2009)

施肥削減が進行している茶園が集積した台地とその周辺部の小河川、湧水、井水を長期 (6~12年間) にわたりモニタリングした。22 河川中 18 河川において環境基準値である  $10\text{mgN}/\text{L}$  の基準値を超過しており、22 河川中 17 河川で有意な硝酸性窒素濃度の減少が認められた。これは茶園での肥料削減の影響であると考えられる。硝酸性窒素流出量には減少傾向は認められなかった。湧水においても 9 地点中 7 地点で硝酸性窒素濃度の減少傾向が見られた。井水については有意な減少傾向を示した地点は 6 地点中 1 地点のみであった。

### 微生物部

- 1) 腸炎ビブリオ食中毒の変遷と現状

杉山寛治, 中口義次, 工藤由起子

化学療法の領域 Vol. 24 No. 7 57-66 (2008)

1995 年、アジアに出現した腸炎ビブリオの新クローン株 (血清型 O3:K6) は、日本、北米、南米、ヨーロッパへと感染を拡大し世界的な大流行を引き起こした。日本の腸炎ビブリオ食中毒も 1996 年頃から増加し、1998 年には患者数が 12,318 名、事例数が 839 件に激増する異常な事態となった。この時期に国内で採取された貝類 (岩ガキ、アサリ、アオヤギ)、海水、海泥から患者と同じ腸炎ビブリオ O3:K6 の新

クローン株が検出され、日本の湾岸海水域に新クローン株が定着し感染を引き起こしていると考えられた。1999 年以降は、行政が打ち出した数々の対策が奏功した可能性があり、腸炎ビブリオ食中毒の患者数は最盛期の 1/10 以下に減少した。しかし、海域などの腸炎ビブリオ汚染は続いているので、油断すれば、腸炎ビブリオ食中毒の再興もありうる。

- 2) Specific Detection of Viable *Legionella* Cells by Combined Use of Photoactivated Ethidium Monoazide and PCR/Real-Time PCR

Bin Chang, Kanji Sugiyama, Toshitsugu Taguri, Junko Amemura-Maekawa, Fumiaki Kura, and Haruo Watanabe

Applied and Environmental Microbiology 75, 147-153 (2009)

*Legionella* organisms are prevalent in manmade water systems and cause legionellosis in humans. A rapid detection method for viable *Legionella* cells combining ethidium monoazide (EMA) and PCR/real-time PCR was assessed. EMA could specifically intercalate and cleave the genomic DNA of heat- and chlorine-treated dead *Legionella* cells. The EMA-PCR assay clearly showed an amplified fragment specific for *Legionella* DNA from viable cells, but it could not do so for DNA from dead cells. The number of EMA-treated dead *Legionella* cells estimated by real-time PCR exhibited a  $10^4$ - to  $10^5$ -fold decrease compared to the number of dead *Legionella* cells without EMA treatment. Conversely, no significant difference in the numbers of EMA-treated and untreated viable *Legionella* cells was detected by the real-time PCR assay. The combined assay was also confirmed to be useful for specific detection of culturable *Legionella* cells from water samples obtained from spas. Therefore, the combined use of EMA and PCR/real-time PCR detects viable *Legionella* cells rapidly and specifically and may be useful in environmental surveillance for *Legionella*.

### 医薬食品部

- 1) 練り歯磨き中のジエチレングリコールの分析

上村慎子、水野くみ子、黒見公一、上野千恵、栗田浩幸、小和田和宏、山本政利

日本化粧品技術者会誌, 42(1), 36-39 (2008)

ガスクロマトグラフィー (GC) による練り歯磨き中のジエチレングリコール (DEG) の迅速かつ簡易な分析法を開発した。練り歯磨き中の DEG は、1,4-ブタンジオールを内標準物質として含有するメタノール溶液で超音波処理により抽出した。メタノール抽出液を遠心、ろ過した後、Inertcap 624 キャピラリーカラムを用いた GC により分析した。練り歯磨きに DEG を 0.1~1.0% 添加した場合の回収率は 99.4~103.6% であった。練り歯磨き中の DEG の定量限界は 0.05% であった。この方法は他の市販化粧品にも適用することができた。この分析法を用いて、旅館やホテルで使用される練り歯磨き 10 検体について分析し、2 検体から DEG を検出した。

## 学会・研究会の報告

### 環境科学部

- 1) ホルムアルデヒド高濃度室内での発生源探索とその対策手法について  
久米一成, 堀池利行, 本間信行, 山下晶平  
第 17 回環境化学討論会(神戸市)  
**2008. 6. 11~13(神戸)**
- 2) 室内における揮発性化合物放散速度の簡易測定法の開発  
山下晶平, 久米一成, 堀池利行, 本間信行  
第 17 回環境化学討論会(神戸市)  
**2008. 6. 11~13(神戸)**
- 3) 河川水中に含まれる家庭排水由来の化学物質  
金子亜由美  
しずおか環境森林フェア  
**2008. 11. 14(静岡)**
- 4) 下水処理場排水に含まれる医薬品・日用品等由来の化学物質調査  
金子亜由美, 河合 渉, 今津佳子  
第 35 回環境保全・公害防止研究発表会(広島市)  
**2008. 11. 18~19(広島)**
- 5) 植物被害から探る大気汚染  
久米一成  
静岡県立大学環境科学講座(静岡市)  
**2008. 11. 26(静岡)**
- 6) エチルターシャリーブチルエーテル(ETBE)の経口暴露経路のリスク評価  
神谷貴文, 吉田喜久雄, 納屋聖人, 飯田重樹,  
松本孝夫, 古宮耕二, 柴崎明  
日本リスク研究学会第 21 回年次大会  
**2008. 11. 29~30(吹田)**
- 7) 学校施設における室内アルデヒド類濃度に関する研究  
久米一成  
平成 20 年度室内環境学会総会(東京)  
**2008. 12. 1~2(東京)**
- 8) 静岡県内の河川の酵母アッセイ法による内分泌かく乱活性の調査  
今津佳子
- 平成 20 年度東海地区試験研究機関会議  
・化学物質分科会(浜松市)  
**2008. 12. 12(浜松)**
- 9) 静岡県内河川水の内分泌かく乱活性の調査  
今津佳子  
平成 20 年度しずおか環境調査研究推進連絡会(静岡市)  
**2009. 1. 30(静岡)**
- 10) 静岡市内のヤンバルトサカヤスデ発生状況について  
神谷貴文  
第 45 回静岡県公衆衛生研究会  
**2009. 2. 4(静岡)**
- 11) 富士山地域地下水・湧水調査について  
村中康秀, 神谷貴文, 深澤 均, 磯部卓文,  
萩原利明, 稲葉利和  
第 45 回静岡県公衆衛生研究会  
**2009. 2. 4(静岡)**
- 12) 居住環境中の揮発性有機化合物の低減化に関する研究  
久米一成, 林 凌, 深澤均  
第 24 回環境研究所交流シンポジウム(つくば市)  
**2009. 2. 18~19(つくば)**

### 微生物部

- 1) リケッチア関連感染症の早期診断法確立を目指した遺伝子検出法の検討  
川森文彦, 本田俊郎, 大橋典男  
第 16 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー  
**2008.6.1(和歌山)**
- 2) 浴槽水のレジオネラ対策と検査(特別講演)  
杉山寛治  
第 35 回日本防菌防黴学会  
**2008.9.11~12(浜松)**
- 3) 浴槽水を用いた核酸検出法と培養法の比較  
神田 隆, 高橋奈緒美, 杉山寛治, 泉山信司  
倉 文明, 遠藤卓郎  
第 35 回日本防菌防黴学会

2008.9.11~12 (浜松)

- 4) 食品、海水中の *tdh* 保有腸炎ビブリオ検査へのリアルタイム PCR の応用

杉山寛治, 高橋奈緒美, 神田 隆, 飯田奈都子,  
廣井みどり, 川森文彦, 増田高志  
第 42 回腸炎ビブリオシンポジウム  
2008.10.23 (富山)

- 5) Multiplex real-time RT-PCR 法によるつつが虫病  
リケッチアおよび紅斑熱群リケッチアの検出

川森文彦, 本田俊郎, 大橋典男  
第 26 回クラミジア研究会・第 15 回リケッチア  
研究会 合同研究発表  
2008.11.2 (岐阜)

- 6) 腸炎ビブリオ食中毒の変遷と遺伝子検査法の役割  
杉山寛治

第 29 回日本食品微生物学会学術総会  
2008.11.12 (広島)

- 7) 腸管出血性大腸菌 O26 および O157 の同時検出用  
選択分離培地に関する検討

川森文彦, 飯田奈都子, 廣井みどり,  
高橋奈緒美, 神田 隆, 杉山寛治, 増田高志  
第 29 回日本食品微生物学会学術総会  
2008.11.12 (広島)

- 8) 家畜糞便および食肉から分離した基質拡張型  $\beta$ -ラ  
クタマーゼ産生大腸菌の解析

廣井みどり, 原田哲也, 川森文彦, 高橋奈緒美,  
神田隆, 杉山寛治, 増田高志, 大橋典男  
静岡県立大学大学院生活健康科学研究科食品栄養科  
学専攻セミナー  
2008.12.15 (静岡)

- 9) 浴槽水を用いたレジオネラ属菌の核酸検出法と培養  
法の比較

神田 隆, 高橋奈緒美, 杉山寛治, 飯田奈都子,  
廣井みどり, 川森文彦, 増田高志  
第 45 回静岡県公衆衛生研究会  
2009.2.4 (静岡)

- 10) 食品、海水中の *tdh* 保有腸炎ビブリオ検査へのリアル  
タイム PCR の応用

杉山寛治, 高橋奈緒美, 神田 隆, 飯田奈都子,

廣井みどり, 川森文彦, 増田高志

第 45 回静岡県公衆衛生研究会

2009.2.4 (静岡)

- 11) 大腸菌 O26 および O157 の同時検出培地作製の試み

川森文彦, 飯田奈都子, 廣井みどり, 高橋奈緒美, 神  
田 隆, 杉山寛治, 増田高志  
第 45 回静岡県公衆衛生研究会  
2009.2.4 (静岡)

- 12) 県内で発生したサポウイルスによる集団胃腸炎事  
例

足立 聡, 山田俊博, 三輪好伸, 増田高志  
第 45 回静岡県公衆衛生研究会  
2009.2.4 (静岡)

- 13) 浴槽水を用いたレジオネラ属菌の核酸検出法と培養  
法の比較

神田 隆, 高橋奈緒美, 杉山寛治, 飯田奈都子,  
廣井みどり, 川森文彦, 増田高志  
第 21 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究  
部会  
2009.2.19~20 (横浜)

#### 医薬食品部

- 1) 染毛剤の知事承認申請書類審査における指導事例  
上村慎子

第 45 回全国薬事指導協議会総会  
2008.10.24 (富山)

- 2) 高速溶媒抽出装置を用いた食肉中の残留農薬抽出法  
の検討

小郷沙矢香  
第 45 回全国衛生化学技術協議会年会  
2008.11.13-14 (佐賀)

- 3) 危機管理における物質同定事例-タンクローリーか  
らの漏出物に関する調査-

水野くみ子  
第 45 回全国衛生化学技術協議会年会  
2008.11.13-14 (佐賀)

- 4) 乳児用おもちゃ

小林千恵  
平成 20 年度商品テスト技術・評価研究会

**2008. 11. 27 (神奈川県)**

- 5) 蛍光 X 線分析装置による有害金属迅速分析

栗田浩幸

第 41 回東海薬剤師学術大会

**2008. 12. 7 (愛知)**

- 6) 指定薬物のスクリーニング法の構築

栗田浩幸

第 45 回静岡県公衆衛生研究会

**2009. 2. 4 (静岡)**

- 7) 医療機器の規格違反事例について

水野くみ子

第 45 回静岡県公衆衛生研究会

**2009. 2. 4 (静岡)**

- 8) ヘッドスペース型ガスクロマトグラフ質量分析計  
による毒物・劇物分析法の検討

尾藤孝弘

第 45 回静岡県公衆衛生研究会

**2009. 2. 4 (静岡)**

- 9) 加工食品におけるアフラトキシン分析法の検討

前田友幸

第 45 回静岡県公衆衛生研究会

**2009. 2. 4 (静岡)**

- 10) 食品中の脂肪酸類について

相曾いずみ

第 45 回静岡県公衆衛生研究会

**2009. 2. 4 (静岡)**

- 11) カカオ含有率に着目したチョコレートの成分等につ  
いて

小林千恵

第 45 回静岡県公衆衛生研究会

**2009. 2. 4 (静岡)**

**大気・水質部**

- 1) 建築物解体現場周辺における大気中石綿濃度の測定

江本勇治,尾澤義昭

第 49 回大気環境学会年会

**2008.9.17 (金沢)**

- 2) 拡散型検知管による固定発生源周辺における VOC 測  
定

太田良和弘,篠原英二郎

第 49 回大気環境学会年会

**2008.9.18 (金沢)**

- 3) 大気汚染簡易測定手法の検討

中西隆之,江本勇治,太田良和弘

平成 20 年度全国環境研協議会

関東甲信静支部大気専門部会

**2008.9.26 (栃木)**

- 4) 猪鼻湖における水質汚濁物質流入量について

内山道春,小池 明,河合涉

平成 20 年度全国環境研協議会

関東甲信静支部水質専門部会

**2008.10.3 (川崎)**

## 表 彰 等

### 環境科学部

- 1) 全国環境研究協議会 関東甲信静支部長表彰  
平成 20 年 9 月 25 日  
深澤 均

### 微生物部

- 1) 第 45 回静岡県公衆衛生研究会第 3 分科会優秀賞  
「食品、海水中の tdh 保有腸炎ビブリオ検査へのリアルタイム PCR の応用」  
平成 21 年 3 月 6 日  
杉山寛治

### 医薬食品部

- 1) 独立行政法人医薬基盤研究所 「保健医療分野における基礎研究推進事業」 研究助成  
平成 20 年 4 月 1 日  
小郷尚久
- 2) 地方衛生研究所全国協議会 関東甲信静支部長表彰  
平成 20 年 7 月 10 日  
前田有美恵
- 3) ひとり一改革運動 県民サービス賞  
「農産食品中の残留農薬分析の迅速化」  
平成 21 年 3 月 25 日  
医薬食品部

### 大気・水質部

- 1) 水環境行政功労者大臣表彰  
平成 21 年 3 月 12 日  
三好 廣志



編集委員

杉山 文人（環境局技監兼副所長）  
瀧本 俊晴（環境科学部長）  
杉山 寛治（微生物部長）  
高橋 一則（医薬食品部長）  
鈴木 守正（大気・水質部長）  
鈴木 恒雄（企画調整課長）

静岡県環境衛生科学研究所報告  
(第 51 号)

平成 22 年 1 月

編集発行 静岡県環境衛生科学研究所  
静岡市葵区北安東 4 丁目 27-2  
電話 (054) 245-0201 (代)  
E-mail kanki@pref.shizuoka.lg.jp  
インターネットホームページ  
[http:// www6.shizuokanet.ne.jp/eikanctr](http://www6.shizuokanet.ne.jp/eikanctr)

印刷所 有限会社東海美術社  
静岡市葵区古庄 2 丁目 3-21  
電話 (054) 263-1700 (代)



**ともに創る、ゆたかな暮らし。**  
**静岡県 県民部**