

昭和61年度

愛媛県立衛生研究所年報

第 48 号



愛媛県立衛生研究所



目 次

I 研究報告

ハワイ因子と関連する小球形ウイルスの流行	1
愛媛県における神経芽細胞腫検査	5
血清中遊離H L A 抗原	9
宇和島湾におけるビタミンB ₁ , ビタミンB ₁₂ , アルカリフォスフォターゼ活性の挙動について	13
水道水の異臭味対策等に関する基礎的研究	21
愛媛県内の水道水中の無機成分の調査	27
SEP-PAK C ₁₈ カートリッジによるカルバリルの定量	39

II 資 料

過去3年間における食品等の細菌検査成績	43
昭和61年度伝染病予測調査	44
愛媛県特定流行性疾患調査成績	47
昭和61年度先天性代謝異常検査成績	49
昭和61年度神経芽細胞腫検査成績	49
愛媛県産野菜・果実等の残留農薬分析調査成績(県行政検査)	50
昭和61年度食品添加物使用実態調査(県行政検査)	51
昭和61年度鉱泉分析成績	52
昭和61年度松くい虫防除薬剤空中散布に伴う調査について(県行政検査)	53

III 抄 錄

他誌発表論文	55
学会発表	56

IV 公衆衛生技術研究集会(第1回)

V 機構および業務概要

VI 業務実績

1 微生物病理部の概要	67
2 衛生試験部の概要	70

VII 技術研修指導、研究発表の状況

ハワイ因子と関連する小球形ウイルスの流行

山下 育孝 大瀬戸 光明 桑原 広子
奥山 正明* 井上 博雄 石丸 啓郎**

はじめに

我々は、1980年以来行っている小児急性胃腸炎の病原サーベランスにおける電子顕微鏡検査により、毎年ロタウイルス、アデノウイルスに次いで直径が30-35 nmの小球形ウイルス(30-35 nm粒子)を多く検出してきた。特に、1984年11月から12月の間には、それらの粒子による急性胃腸炎の流行を把握した。¹⁾

今回、この小球形ウイルスについて、その大部分が血清学的に同一のものであると認められ、また、ハワイ因子感染血清を用いた免疫電顕により、ハワイ因子と共に抗原性を有することを認めたので報告する。

材料と方法

1. ウィルス抗原

現在までに検出した30-35 nm粒子のうち、1984年11月から12月の間の24例と1月から6月の間の8例および1985年、86年のそれぞれ15例、29例を用いた。

2. 供試血清

札幌医科大学浦沢博士より分与されたハワイ因子(志願者免疫)、ノーウォークウイルス(テンパンジ免疫)に対する感染組血清を用いた。また、愛媛県において1979年2月末に、小学校で集団発生した音更ウイルス関連粒子による嘔吐下痢症の患者組血清および1982年1月に29名の会食者の内24名(82.5%)に胃腸症状を示し、潜伏期間が平均33時間であった食中毒様集団発生例の患者組血清を用いた。

3. 電子顕微鏡検査(EM)

前報¹⁾の方法に従って実施した。

4. 免疫電顕法(IEM)

供試血清を0.01Mリン酸緩衝液で75倍あるいは100倍に希釈し、56°C 30分間非動化した後、25000回転1

時間遠心した。この上清とウイルス浮遊液を等量混合し、37°Cで1時間、室温で1時間反応させた後、2%リンタングステン酸で染色し鏡検した。反応の程度はウイルス粒子の凝集および粒子に対する抗体の付着状態により、陰性0から陽性1+~3+と判定した。

5. 浮上密度の測定

Bishopの方法³⁾に準じて粗精製したものを塩化セシウム密度勾配遠心法により35000回転16時間遠心し、0.3 mlずつ14分画に採取し、それぞれの密度と粒子数を測定した。

結果

1. 30-35 nm粒子とその浮上密度

1984年11月から12月の嘔吐下痢症の流行期に検出した小球形ウイルスの電顕像を図1に示した。

検出したウイルス粒子は、直径が30-35 nmで辺縁に毛状の突起構造を有する球形ウイルスである。

また、比較的糞便材料の多いウイルスNo.1719を用いて、塩化セシウム中の浮上密度を測定したもの図2に示した。その結果、30-35 nm粒子の浮上密度は、1.37~1.40 g/cm³で、ピークは1.38~1.39 g/cm³であった。これは、ノーウォークウイルスやハワイ因子等の小球形ウイルスの浮上密度とはほぼ同じであった。

2. 30-35 nm粒子のIEMによる抗原性の検討

1984年11月から12月の間に検出した30-35 nm粒子のうちの5例と他の胃腸炎ウイルス感染血清ならわちハワイ因子、ノーウォークウイルス、音更ウイルスおよび食中毒様集団発生例の患者組血清を用いて、IEMによる血清学的検索を行った結果を表1に示した。

ハワイ因子感染血清は、検査した5例すべての30-35 nm粒子に対して有意な抗体上昇を示した。また、すべてのウイルスが82-21血清とも同様に有意な反応を示した。一方、ノーウォークウイルス感染血清と音更ウイルスの組血清は、5例のどのウイルス粒子に対しても有意な抗体上昇は示さなかった。

このことから、これら5例のウイルスが、ハワイ因

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

*現 愛媛県健康増進センター 松山市末広町1

** 石丸小児科医院 松山市三番町6丁目5

子に血清学的に関連するウイルスであることがわかった。また、82-21血清は、ハワイ因子の診断用血清として用いることができると考えられた。

そこで、82-21血清および同一集団発生時の他の組血清82-19を用いて、1984年11月から12月に検出した30-35 nm粒子13例についてIEMを行った。その結果表2に示すように、ウイルスNo.1839を除く12例は、すべて82-21血清に対して有意な抗体上昇を示し、30-35 nm粒子の大部分が同じ血清型であることが認められ、この期間に流行した下痢症の主病原がハワイ因子に関連するウイルスであったことがわかった。

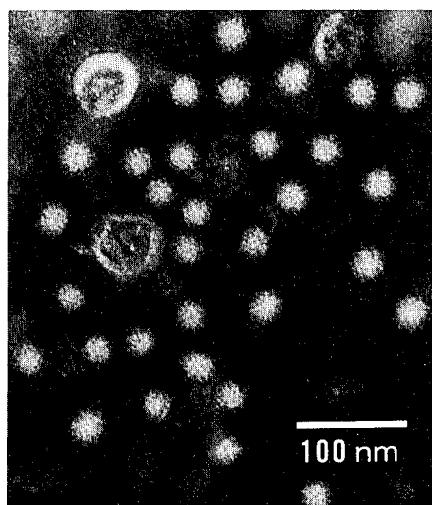


図1 急性胃腸炎患者の糞便から検出された30-35 nm粒子のEM像

3. 30-35 nm粒子のその後の動向

1984年11月から12月に流行したウイルスのその後の動向を見るために、82-21血清を用いて、1985年から1986年に検出した30-35 nm粒子について調べた。表3に示すように、1985年は15例検出し、そのうち比較的ウイルス量の多い6例についてIEMを行い4例(67%)に有意な抗体上昇を認めた。1986年は14例中6例(43%)に有意な反応を認め、1984年11月から12月の流行期以降も同じ血清型のウイルスが流行していることがわかった。1986年は8例(57%)が有意な反応を示さず、異なる血清型のウイルスも同時に流行していることも認められた。

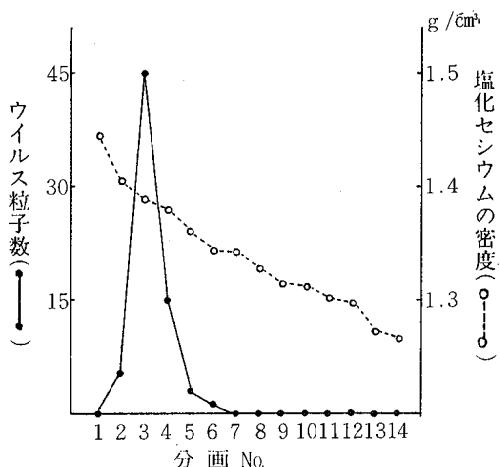


図2 30-35 nm粒子の塩化セシウム密度勾配遠心による浮上密度の測定

表1 免疫電顕による30-35 nm粒子と他の胃腸炎ウイルス組血清との反応

ウイルス	組血清		Hawaii因子*		82-21**		Norwalkウイルス*		音更ウイルス***	
	感染前	感染後	急性期	回復期	感染前	感染後	急性期	回復期	感染前	感染後
1719	0	2-3+	0	3+	0	0	1-2+	1-2+		
1774	0-1+	2+	0	2+	0	0	2	2		
1778	0-1+	3+	0	3+	0	0	1-2+	1-2+		
1797	0	2-3+	0	3+	0	0	NT	NT		
1889	0	3+	0	3+	0	0	1+	1+		

NT: not tested

* 札幌医科大学 浦沢博士より分与を受けた

** 1982年の愛媛における食中毒様集団発生時の患者組血清

*** 1979年の愛媛における音更ウイルス関連粒子による嘔吐下痢症集団発生時の患者組血清

表2 30-35 nm粒子と1982年の食中毒様集団発生例の患者組血清との反応

ウイルス	組血清		82-21 (F,21)		82-19 (F,31)	
	急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期
1719	0	3+	NT	NT		
1774	0	2+	0	2+		
1778	0	3+	1+	3+		
1797	0	3+	NT	NT		
1889	0	3+	NT	NT		
1625	0-1+	3+	NT	NT		
1633	1+	3+	0	3+		
1710	0	2-3+	NT	NT		
1720	0	2+	1+	3+		
1725	0	2+	NT	NT		
1753	0	2-3+	NT	NT		
1839	1+	1-2+	NT	NT		
1878	0	3+	1+	3+		

NT : not tested

考 察

我々は、形態学的に直径が30-35 nmで辺縁に毛状の突起構造を有する球形粒子をすべて便宜的に30-35 nm粒子として分類しているが、1984年11月から12月の間に検出した30-35 nm粒子は82-21血清を用いたIEMにより、その大部分が同じ血清型であると考えられた。さらにこの粒子は、ノーウォークウイルスや音更ウイルスの組血清とは有意な反応を示さず、ハワイ因子感染血清に対して有意な抗体上昇を示し、本粒子とハワイ因子が同一あるいは類似した抗原性を持つことが判明した。

ハワイ因子は、1971年3月にホノルルの家族内で発生した急性胃腸炎から検出されたウイルスで、直径が26-27 nmで塩化セシウムによる浮上密度が1.37~1.39 g/cm³の球形粒子である⁴⁾。主要な症状は、嘔吐下痢、食欲不振、頭痛、倦怠感であった。潜伏期は44時間で24~36時間で症状は回復した。また、志願者への投与実験でその病原性は証明されている⁵⁾。我々のウイルスを検出した患者の症状は、嘔吐、下痢が主徴で、その持続期間は約48~72時間であり、Wyattらの報告と類似していた。Thornhillら⁴⁾は粒子の直径を26-27 nmとしているが、我々のウイルス粒子の直径は30-35 nmであった。この違いは、ThornhillらがIEMにより粒子を検出する方法を用いているためと考えられる。実際、Caul、Appleton⁶⁾は、ノーウォークウイルス、ハワイ因子等の直径を30-35 nmに分類している。

表3 ハワイ因子関連粒子のその後の動向

年	EM 検出数	IEM		
		検査数	陽性数	率(%)
1984	32	13	12	92
1985	15	6	4	67
1986	29	14	6	43
計	76	33	22	67

以上のことから、我々の30-35 nm粒子は、形態学的血清学的に、ハワイ因子と関連するウイルスであったといえる。また、1984年11月から12月には、広範な地域の小児の間で、嘔吐下痢症の主病因としてハワイ因子と関連するウイルスが流行したことが示された。ハワイ因子と関連するウイルス粒子の流行が確認されたのは、わが国では最初である。

さらに、1982年の食中毒様集団発生例の患者組血清が、ハワイ因子関連粒子に対して、有意な抗体上昇を示したこと、この集団発生の病原がハワイ因子関連粒子によるもので、愛媛においては1982年にすでに浸淫していたものと考えられる。1985年1986年にも同じ血清型のウイルスが散発的に検出されたことを考慮すれば、このウイルスは当地においてかなり広く流行しているものと思われた。また、ハワイ因子感染血清と同じ反応を示したこの食中毒事例由来の患者組血清は、ハワイ因子の診断用血清として用いることができると考えられた。

最近、厚生科学研究費補助金特別事業「公衆衛生微生物検査における精度管理に関する研究」班の「下痢症ウイルスに関する検討委員会（山崎修道委員長）」において、東京、大阪、愛媛の各都府県で検出された小球形ウイルス粒子相互の共通抗原性をIEMで調べる共同実験を行った。その診断血清の1つに我々の組血清を提供した。その結果、東京で検出した小球形ウイルス粒子の1つが、我々のウイルス粒子と同じ抗原性を持っていることが示された。

ハワイ因子関連粒子と判明した東京のウイルスは、安東ら⁷⁾が便宜上命名している血清型の第11群のウイルスであった。この第11群は、1984年から1986年にかけてのカキ関連食中毒例のうちの約半数に関連していたことが報告されており、愛媛県と同様、この時期の主要な流行ウイルスであったことが推測された。

のことから、ハワイ因子関連粒子は、愛媛県のみでなく日本各地に浸淫し、毎年発生している嘔吐下痢

症や食中毒の病因になっているものと考えられる。

まとめ

1. 1984年11月から12月の間に、わが国で初めてハワイ因子関連ウイルスの流行を確認した。
2. 1982年の食中毒様集団発生例の患者組血清は、このウイルスに対して有意な抗体上昇を示し、ハワイ因子関連粒子の診断用血清として用いることができると考えられた。
3. このハワイ因子関連粒子は、塩化セシウム中の浮上密度が $1.38 \sim 1.39\text{g/cm}^3$ であった。
4. このウイルスは、1984年以降も散発的に流行していることが示された。

謝 辞

ハワイ因子とノーウォークウイルスそれぞれの感染

血清を分与していただいた札幌医科大学 浦沢博士に深く感謝いたします。

本報告の要旨は第61回日本感染症学会総会(東京都)において発表した。

文 献

- 1) 山下育孝他:愛媛衛研年報, 46, 9-12 (1985)
- 2) 大瀬戸光明:病原微生物検出情報, 26, 1 (1982)
- 3) Bjshop, R.F. et al.: Lancet. i, 149-151 (1974)
- 4) Thornhill, T.S. et al.: J.Infect. Dis., 135 20-27 (1977)
- 5) Wyatt, R.G. et al.: J. Infect. Dis., 129 709-714 (1974)
- 6) Caul, E.O. and Appleton, H.: J. Med. Virol., 9, 257-265 (1982)
- 7) 安東民衛他:食品と微生物, 4, 103-114 (1987)

愛媛県における神経芽細胞腫検査

齊藤 健 高松公子 篠原信之 井上博雄

はじめに

神経芽細胞腫マス・スクリーニングは、腫瘍を早期に発見し、適切な治療をほどこすことを目的に沢田^{1~3)}によって実施された。また、この検査は、昭和59年度から厚生省補助事業として全国的に実施され、愛媛県においても昭和59年度から検査を開始した。ここでは、愛媛県における実施状況と検査結果についてまとめた。

材料と方法

材料は、昭和60年1月から62年7月までに検査を実施した31799名の尿紙尿である。

検査方法は、一次検査をDip法(定性法)⁴⁾、二次検査を高速液体クロマトグラフ(定量法)⁵⁾⁶⁾で実施している。

結果と考察

1) 愛媛県における小児腫瘍の内訳

小児腫瘍の実態を把握するため、昭和53年から

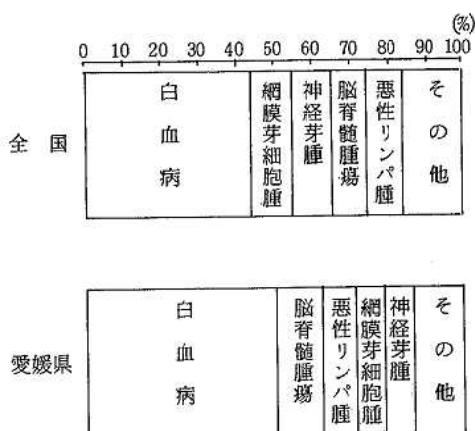


図1 登録からみた小児悪性腫瘍

58年的小児慢性特定疾患治療研究事業(愛媛県保健環境部資料)と昭和49年から53年の小児慢性疾患全国調査(厚生省)の分布を図1に示した。

愛媛県では、全国同様に白血病患者が多く50%を占め、次いで脳腫瘍、悪性リンパ腫であった。神経芽腫の患者は、全国の10%に比べて3.8%と少なかった。

2) 神経芽細胞腫検査事業内容

図2は、神経芽細胞腫検査事業の内容である。検査対象は、県内の生後6~7カ月乳幼児である。検査用尿紙は、保健所および市町村が実施している健康診査において配布している。保護者によって乳幼児から採尿された検査用尿紙は当所へ直接郵送され、検査が実施されている。検査結果は、一次検査(初回検査)で陰性(異常が認められなかったもの)については通知せず、二次検査(再検査)の場合のみ全て保護者へ通知している。再検査の結果、陽性(異常が認められたもの)は、各保健所を通じて専門の医療機関で受診するように指導している。

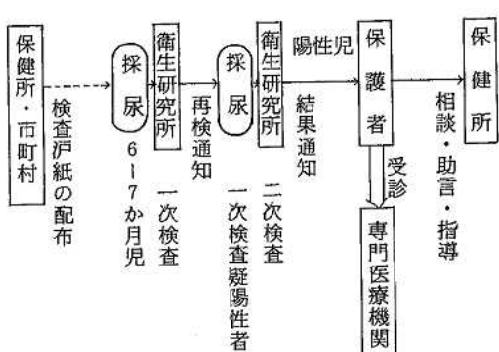


図2 神経芽細胞腫事業図

3) 神経芽細胞腫の検査法

現在、当所が実施している検査内容は、図3のとおりである。一次検査は、ジアゾカップリング反応を用いたDip法によって判定を行っている。VMA（バニールマンデル酸）標準溶液 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を示す検体を疑陽性と判定し、二次検査の対象としている。

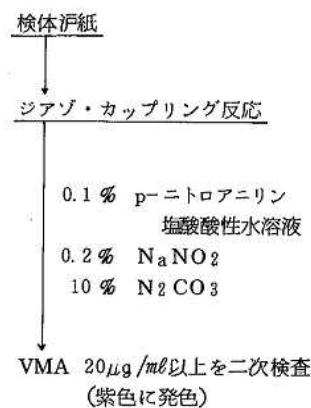
二次検査は、検体涙紙から尿を抽出し、pH調整、酢酸エチル抽出、蒸発乾固したものを用いている。高速液体クロマトグラフでは、VMA（バニールマンデル酸）、VLA（バニール乳酸）、HVA（ホモバニリン酸）の定量を行い、尿のクレアチニン値によって補正し、検査値として判定している。

4) 神経芽細胞腫検査のカットオフ値

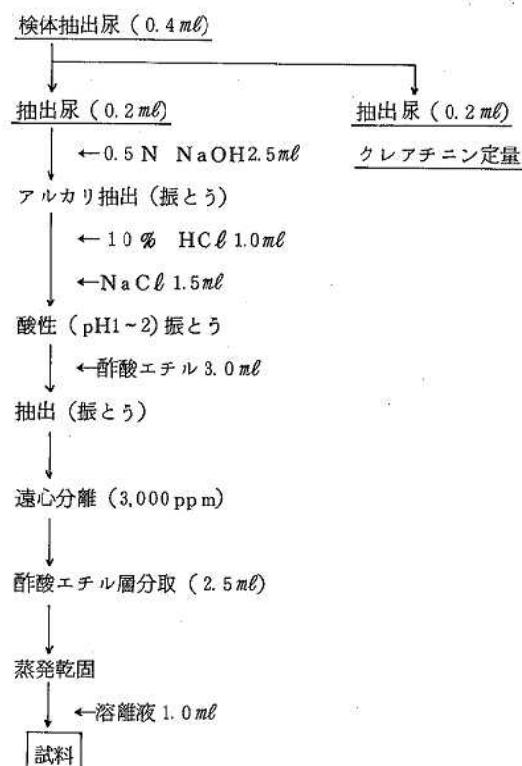
カットオフ値（判定の基準となる値）は、検査機関における採尿方法、尿の処理方法、検査機器によって異なるため検討してみた。尿の濃度は、個人差、日内

変動があるためクレアチニン濃度でみると図4のように対数正規分布を示した。平均値は $17.7\text{mg}/\text{dl}$ 、標準偏差は $12.1\text{mg}/\text{dl}$ であった。クレアチニン濃度とVMAの絶対量の相関は、クレアチニン $5\text{mg}/\text{dl}$ 以下（低クレアチニン）の検体を除くと良好な1次相関がみられ、相関係数は0.842、直線式を求めるとき $y = 7.84x + 17.46$ であった（図5）。また、クレアチニン濃度とHVAの絶対量の相関は0.677とVMAほど強い相関を示さなかった。現在、VMAやHVAの定量を行う場合、絶対量を用いるより、クレアチニン比によるろ紙尿量をスクリーニングの指標⁷⁾としている。しかし、低クレアチニン尿では、よい相関が得られなかった。また、クレアチニンとの関係を示す $y = ax + b$ の式では、クレアチニン濃度 x が小さくなるほど b の影響大きく、誤差も大きくなつた。したがつて当所では、クレアチニン $5\text{mg}/\text{dl}$ の検体は全て再採尿を依頼した。クレアチニン比によるろ紙尿中VMAのヒストグラムは

一次検査（Dip 法）



二次検査（高速液体クロマトグラフ法）



試料 $10\mu\text{l}$ を高速液体クロマトグラフに注入する。

図3 神経芽細胞腫検査法

図6のような正規分布を示し、平均は $10.5 \mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{クレアチニン}$ （以下Cr）、標準偏差は $4.1 \mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{Cr}$ であった。この結果よりVMAのカットオフ値を $\bar{x} + 2 \text{ S.D.}$ とすると、VMA $18 \mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{Cr}$ であった。クレアチニン比によるろ紙尿中のHVAのヒストグラムは図7のようになり、平均は $15.6 \mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{Cr}$ 、標準偏差は $9.5 \mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{Cr}$ 、 $\bar{x} + 2 \text{ S.D.}$ は $34.6 \mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{Cr}$ であった。これをクレアチニン比のHVA量の平方根ヒストグラムに変換すると図8のように正規分布を示した。平均は 3.80 、標準偏差は 1.29 、 $\bar{x} + 2 \text{ S.D.}$ は 6.38 で、クレアチニン比のHVAに直すと $40.7 \mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{Cr}$ であった。この結果、HVAのカットオフ値は $40 \mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{Cr}$ とした。

5) 神経芽細胞腫検査結果

昭和60年1月より62年7月までの実施状況は表1に示した。検査依頼のあった31799名に対して一次検査を実施し、3401名(11%)が二次検査となった。このうち3012名に対して二次検査を実施、8名のスクリーニング陽性者をみつけた。このうち2名が医療機関の精密検査によって神経芽細胞腫患者と診断された。

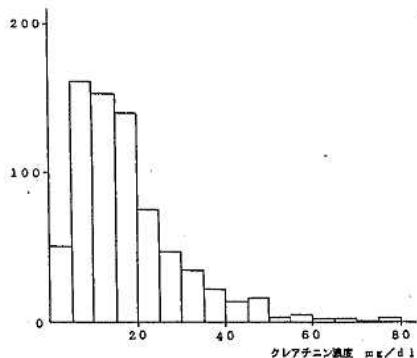


図4 ろ紙尿中のクレアチニンヒストグラム

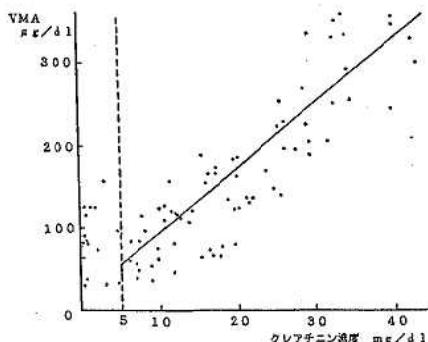


図5 ろ紙尿中のクレアチニン濃度とVMA値の相関

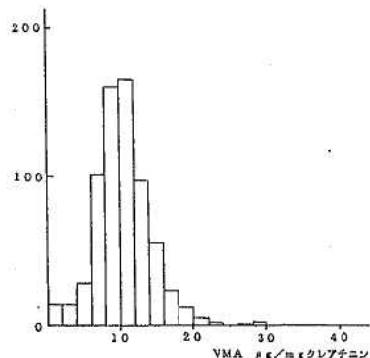


図6 ろ紙尿中のVMAヒストグラム

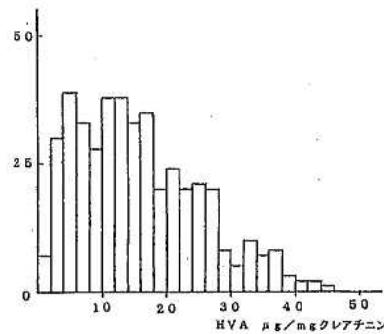


図7 HVAのヒストグラム

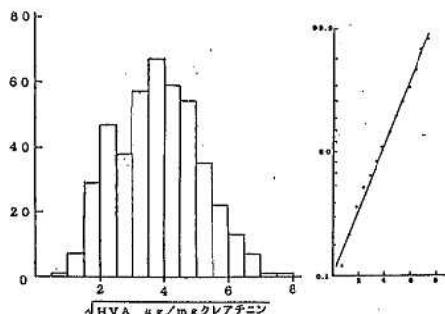


図8 ろ紙尿中のHVAヒストグラム

表1 神経芽細胞腫検査実施状況

年度	1次検査数	陽性率(%)	2次検査数	陽性	患者数
59*	2,829	150 (5.3%)	118	0	0
60	12,059	1,152 (9.6%)	1,035	1	0
61	12,500	1,599 (12.8%)	1,369	4	1 (StageIV)
62**	4,411	500 (11.3%)	490	3	1 (StageIII)
計	31,799	3,401 (10.7%)	3,012	8	2

* S.60.1～S.60.3

** S.62.4～S.62.7

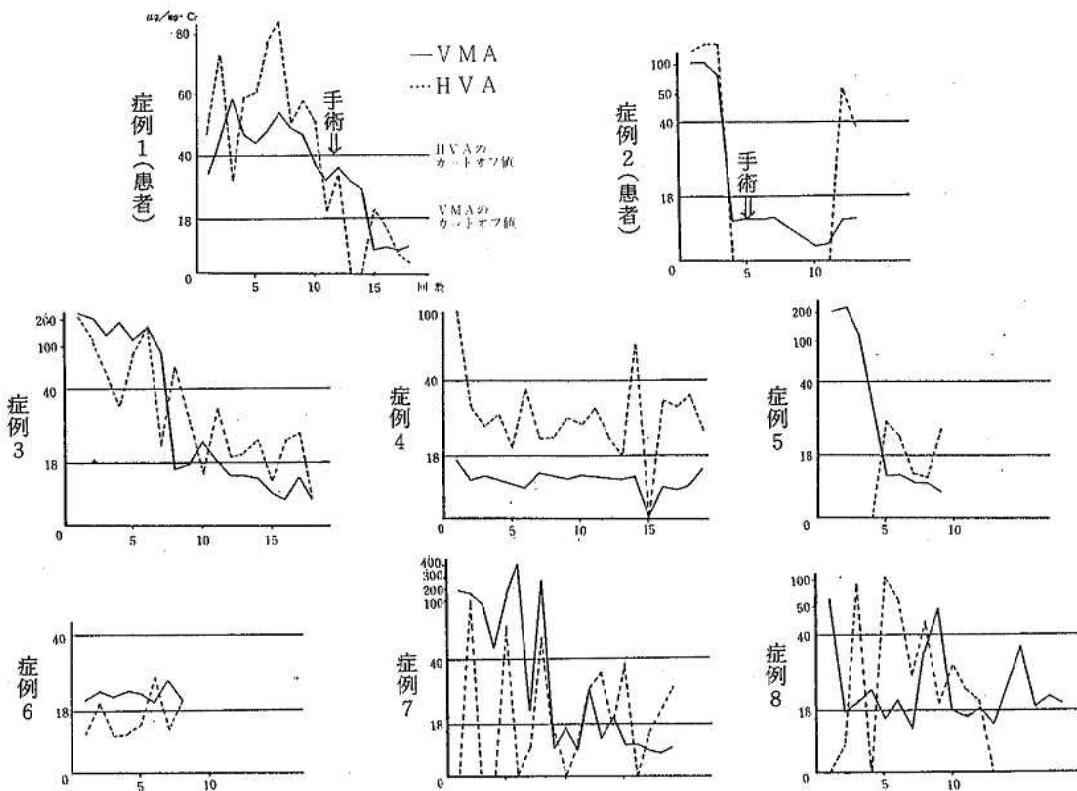


図9 検査陽性者の検査経過

図9には、当所の検査陽性後、検査入院した8名の原尿におけるVMA・HVAの検査経過を示した。

症例1の乳幼児は体重9550g(入院時)の男子で、VMA 44.8 µg/mg·Cr, HVA 73.3 µg/mg·Cr, VLA検出せずの検査値を示した。医療機関における精密検査では、腰部交感神経節に病巣をもつStage IVBと診定された。

症例2の乳幼児は体重7090g(入院時)の女子で、VMA 107.5 µg/mg·Cr, HVA 172.3 µg/mg·Cr, VLA検出せずの高い検査値を示した。また、医療機関における精密検査では、腹部交感神経節に病巣をもつStage IIIと診定された。

症例3から6の乳幼児は、VMA・HVAの検査においてカットオフ以上の値を示したが、医療機関の検査では異常が認められなかった。

症例7から8の乳幼児は、クレアチニン濃度が低いため、クレアチニン比のVMA量が大きく変化する値を示している。しかし、医療機関の精密検査では、異常が認められなかった。

異常の認められなかった乳幼児は、現在でも医療機関に通院し、経過をみている。

まとめ

- 1) 昭和60年1月より62年7月の間、依頼のあった31799名に対して検査を実施し、8名のスクリーニング陽性者をみつけた。そのうち2名が神経芽細胞腫であった。
- 2) 二次検査の結果をもとにカットオフ値($\bar{x} + 2S$)を求めるとき、VMA 18 µg/mg·Cr, HVA 40 µg/mg·Crであった。

文献

- 1) 沢田淳：小児科Mook, 26, 226-242 (1982)
- 2) 沢田淳：癌の臨床, 28 (6), 681-687 (1982)
- 3) 沢田淳：小児保健研究, 42 (5), 453-459 (1983)
- 4) 中田利一他：日本公衆衛生誌, 30, 227-233 (1983)
- 5) 宮川富三雄：蛋白質核酸酵素, 26 (9), 1089-1098 (1981)
- 6) T.G. Rosano, et al.: Clinic, Chem., 25 (4), 550-554 (1979)
- 7) 花井潤師他：札幌市衛生研究年報, 11, 41-47 (1983)

血清中遊離HLA抗原

宮岡信恵 木下幸正 高見俊才 井上博雄

はじめに

ヒトの主要組織適合抗原であるHLA抗原は、腎臓移植や骨髄移植の際の組織適合性検査として役立つ一方疾患の内因をさぐる遺伝マーカーとして諸種疾患との相関についての研究が重ねられてきた。このHLA抗原はヒトのはとんど全ての有核細胞上に存在する膜抗原で、現在リンパ球の細胞障害試験により同定されているが、細胞膜上ばかりでなく血清中にも遊離抗原としてクラスI抗原が存在することが報告されている¹⁾²⁾。この血清中遊離抗原を用いてHLA抗原の同定を目的として研究する過程において、血清中にはクラスI抗原のみでなくクラスII抗原も存在することを確認し、血清中遊離HLA抗原がクラスI、クラスIIとともに細菌に吸着することをみいだしたので報告する。

材料と方法

血清中遊離HLA抗原は、抗HLA抗体を保有しな

い健常人の血清を抗原血清として用い、HLA抗血清のリンパ球細胞障害阻止テストにより確認した。HLA抗血清は段階希釈を行い、細胞障害のみとめられた最終希釈倍数を抗血清力価単位とし、細胞障害阻止テストには2単位の抗血清を用いた。リンパ球細胞障害阻止テストは抗原血清1μlに抗血清2μlを加え、室温で1時間incubate後3×10%mlに調整した標的細胞を1μl加えた。標的細胞は末梢血リンパ球を用い、クラスI抗原の同定にはT細胞、クラスII抗原にはB細胞を用いて、後はNIH microlymphocytotoxicity test法³⁾に従った。

血清中遊離抗原の細菌への吸着はSalmonella typhimurium(以下Sal. typhimuriumと略す)を用いて検討し、図1に示すように、抗原血清と細菌をincubateした上清でのリンパ球細胞障害阻止の消失とその沈査-HLA Binding Bacteria(以下HBBとよぶ)でのHLA抗血清の吸収により確認した。

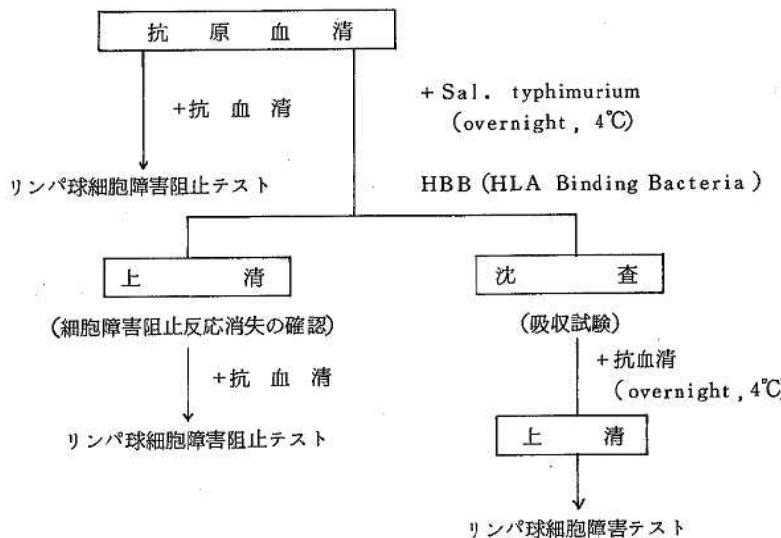


図1 血清中遊離HLA抗原の細菌への吸着

表1 血清中遊離HLA抗原のリンパ球細胞障害阻止テストによる同定

抗血清	標的細胞	-	抗原血清				
			+	1	2	4	6 (希釈)
I	A 2	A 2	8 ¹⁾	1	6	8	8
	A 2 4	A 2 4	8	2	8	8	8
	B 51+w 52	B w 52	8	1	1	4	8
	B w 54+w 55	B w 54	8	1	1	6	8
	B w 60+w 61+13	B w 60	8	1	6	8	8
	B w 61	B w 61	8	1	1	2	2
II	D R 1	D R 1	6	1	1	1	6
	D R 2	D R 2	8	1	1	6	8
	D R 4	D R 4	8	1	6	8	8
	D R w 8	D R w 8	8	1	1	1	2
	D Q w 1	D Q w 1	6	1	1	1	1

1) Cytotoxicity Scores 1 (~10%), 2 (10~20%), 4 (20~40%),
6 (40~80%), 8 (80~100%)

表2 HLA抗原の細胞への吸着—リンパ球細胞障害阻止反応の消失—

抗血清	標的細胞	-	抗原血清								
			吸収前	+	吸収後						
			1	2	4	6	(希釈)				
I	B 51+w 52	B w 52	8 ¹⁾	1	1	4	6	1	4	8	8
	B w 54+w 55	B w 54	8	1	1	6	8	1	8	8	8
	B w 60+w 61+13	B w 61	8	1	1	1	1	1	1	1	8
II	D R 1	D R 1	6	1	1	1	6	6	6	6	6
	D R 2	D R 2	8	1	1	6	8	8	8	8	8
	D R 4	D R 4	8	1	6	6	8	6	8	8	8
	D R w 8	D R w 8	8	1	1	1	4	1	4	6	8
	D Q w 1	D Q w 1	6	1	1	1	1	6	6	6	6

1) Cytotoxicity Scores 1 (~10%), 2 (10~20%), 4 (20~40%),
6 (40~80%), 8 (80~100%)

表3 HLA抗原の細菌への吸着 —HBBによるHLA抗血清の吸収—

抗 血 清	抗原血清	Bacteria			HBB		
		1	2	4	1	2	4 (希釈)
A 2	A 2	8 ¹⁾	1	1	4	1	1
ク A 2 6	A 26	8	8	1	6	1	1
ラ B 7	B 7	8	8	8	8	8	1
ス I Bw 60 + w 61 + 13	Bw 60	8	8	6	1	1	1
	Bw 61	8	8	6	1	1	1
ク DR 1	DR 1	6	1	1	1	1	1
ラ DR 2	DR 2	8	6	1	1	1	1
ス II DQw 1	DQw 1	6	6	1	1	1	1

1) Cytotoxicity Scores 1 (~10%), 2 (10~20%), 4 (20~40%), 6 (40~80%), 8 (80~100%)

Sal. typhimuriumは5%細菌浮遊液20μlをベックマンチューブにとりPBSで洗浄した後、その沈査に抗原血清20μl加えて搅拌し、4℃, overnight incubateした。その遠心上清を用いてリンパ球細胞障害阻止テストを行い、HBBはPBSで洗浄後、20μlの抗血清を加えて4℃, overnight incubateした後その遠心上清を用いてリンパ球細胞障害テストを行い、抗血清の吸収を確認した。

結果

血清中遊離のHLAクラスI抗原がリンパ球細胞障害阻止テストにより同定されることはすでに知られている⁴⁾が表1に示すように、クラスI抗原のみでなくクラスII抗原も血清中遊離抗原として存在しており、リンパ球細胞障害阻止テストにより確認できた。クラスI抗原はA2, A24, B51, Bw54, Bw60, Bw61、クラスII抗原はDR1, DR2, DR4, DRw8, DQw1について検討した結果を表1に示した。テストの結果はCytotoxicity Scoreで示しており、一番左のスコアが抗原血清を加えないコントロールでその右側がリンパ球細胞障害阻止テストの結果である。クラスI抗原ではA2, A24, Bw60が抗原血清原液で細胞障害阻止が観察され、Bw54は抗原血清2倍希釈、Bw52は4倍、Bw61は6倍以上希釈してもなお細胞障害阻止がみられた。一方クラスII抗原についても、DR4は抗原血清原液のところで、DR1

は4倍希釈、DRw8, DQw1は6倍以上希釈しても同定可能であった。データとして示してはいないが、コントロールとして標的細胞、HLA抗血清の特異性と異なるHLA抗原を保有する抗原血清を用いてリンパ球細胞障害阻止テストを行ったところ細胞障害は阻止されずこの反応がHLA特異的であることがわかった。

表2は抗原血清をSal. typhimuriumとincubateした上清でのリンパ球細胞障害阻止テストの結果である。表1同様結果はCytotoxicity Scoreで示しており、抗原血清(+)をコントロールとし、(-)で抗原血清を用いたリンパ球細胞障害阻止テストの結果を示し、Sal. typhimuriumとのincubate前後で比較した。クラスI抗原では、Bw52, Bw54, Bw61についてみると、Bw52の抗原血清2倍希釈と4倍希釈、Bw54の2倍、Bw61の6倍希釈のところで細菌とincubate後の抗原血清において細胞障害の阻止がみられなくなった。クラスII抗原についてもDR1, DR2, DR4, DRw8, DQw1についてみると、DRw8の抗原血清原液を除くと、細胞障害阻止の観察されたところ全てで細胞障害の阻止が消失した。

抗原血清とincubate後の細菌(HBB)によるHLA抗血清の吸収実験の結果を表3に示した。抗原血清未処理のSal. typhimuriumで吸収した抗血清のCytotoxicity ScoreならびにHBBで吸収した抗血清のCytotoxicity Scoreを示した。HLAクラスI抗原、クラスII抗原ともに枠で囲んだところにおい

てHLA抗血清の各特異性が吸収されたのが観察できた。クラスI抗原ではA2, A26, B7, Bw60, Bw61, クラスII抗原ではDR1, DR2, DQw1においてHBBにより細菌とincubateした抗原血清と同一の特異性を有する抗血清が吸収された。一方 incubateした抗原血清と異なる特異性の抗血清は吸収されなかった。

考 察

血清中遊離HLAクラスI抗原がリンパ球細胞障害阻止テストにより確認されることは古くから知られている¹⁾が、この結果よりクラスI抗原のみでなくクラスII抗原も同定されることがわかった。リンパ球細胞障害阻止テストは、抗HLA抗体を血清中の遊離HLA抗原で吸収することにより、リンパ球細胞障害がおこらなくなるのを確認する方法である。しかし阻止反応は抗HLA抗体が吸収された場合のみでなく、実験系に抗補体作用を有する物質が含まれているときにもみられる。しかしながら、microlymphocytotoxicity test法では補体は過剰に存在することと、この反応が抗原血清の保有するHLA抗原に対応する特異性の抗血清を特異的に吸収することより、リンパ球細胞障害阻止テストは血清中遊離HLA抗原により抗HLA抗体が吸収されるためにみられる反応であるといえる。

遊離HLA抗原を含んでおり、リンパ球細胞障害阻止をおこす抗原血清をSal. typhimuriumとincubateすることにより細胞障害の阻止がみられなくなった。これは血清中の遊離HLA抗原のSal. typhimuriumによる吸収、つまり遊離HLA抗原がSal. typhimuriumに吸着したと考えられる。また、このHLA抗原を吸収した後のSal. typhimuriumで抗HLA抗血清の吸収実験を行ったところ、抗原血清のHLA抗原と同一の特異性の抗血清のみ吸収され、異なる特異性の抗血清は吸収されないことからも、Sal. typhimuriumにHLA抗原が吸着していることがうかがえる。

細菌へのHLA抗原分子の吸着は、血清中遊離HLA抗原の濃縮作用に有用であり、また簡単なHLA抗原固相化を可能とするため、血清中遊離HLA抗原によるHLA検査の開発に資するものと思われる。

文 献

- 1) J. J. Van Rood et al.: *Histocompatibility Testing* 483-485 (1970)
- 2) J. P. Allison et al.: *J. Immunol.*, 118, 1004-1009 (1977)
- 3) Terasaki, P. I. et al.: *Nature*, 204, 978-1000 (1964)
- 4) Brian D. Tait et al.: *Tissue Antigens* 17, 129-135 (1981)

宇和島湾におけるアルカリフォスファターゼ活性 ビタミンB₁・ビタミンB₁₂の挙動について

大瀧 勝 篠崎由紀 石丸尚志
芝 信明* 中島庄一

はじめに

瀬戸内海における赤潮は、昭和40年頃からその規模が広域化、長期化し愛媛県沿岸についても豊後水道を中心に三瓶・吉田・宇和島湾などで発生し、大きな社会問題となっている。この赤潮発生機構解明のため、環境庁の事業として海域別に赤潮プランクトンを限定し、現地調査及び室内培養実験を行い、赤潮発生防止対策の基礎資料を作成することを目的に、昭和57年度から5ヶ年計画で「赤潮対策調査」が実施された。

最終年度の昭和61年度は、*Gymnodinium* 赤潮を対象に、豊後水道の愛媛県宇和島湾・大分県臼杵湾について調査が行われた。本県では表1に示す項目が3機関で調査・分析され、重回帰・主成分・クラスター分析等の多変量解析が行われた。当所では、アルカリフォスファターゼ活性、ビタミンB₁、ビタミンB₁₂等の項目を分担分析したのでその結果を報告する。

表1 分析項目と担当機関

項目	機関名
塩分、アンモニア態窒素、亜硝酸態窒素 硝酸態窒素、全窒素、リン酸態リン、 全リン、溶解性鉄、溶解性マンガン、 含水率*、COD*	愛媛県公害 技術センター
PH、DO、ビタミンB ₁ 、ビタミンB ₁₂ 、 アルカリフォスファターゼ活性	愛媛県立 衛生研究所
クロロフィルa、フェオフィチン プランクトン、粒度分布、酸化還元電位* TOC*、培養実験	愛媛県 水産試験場

* 底質調査時の項目

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

* 現 愛媛県保健環境部環境保全課

調査の概要

図1に示す宇和島湾の3地点(st-1, st-2, st-3)で、7月1日から8月18日にかけて週1回計8回の時系列調査を行なった。また、*Gymnodinium* 赤潮発生時の8月18日には、st-4で11:40から4時間ごと計7回の通日調査を行なった。調査項目と採水した層や日時は表2のとおりである。

分析方法

PH(ガラス電極法)、DO(ウインクラー・アジュ化ナトリウム変法)はJISの方法によった。アルカリフォスファターゼ活性は、フェニルリン酸ナトリウムを基質とし、生成したフェノール量を比色する方法、ビタミンB₁は*Cryptococcus*による¹⁾、ビタミンB₁₂は*Lactobacillus*による²⁾バイオアッセイ法によった。図2~4にそれぞれの分析法を示す。

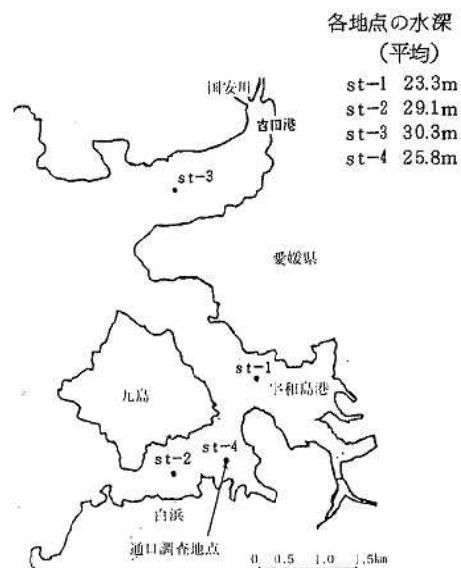


図1 宇和島湾調査地点

結 果

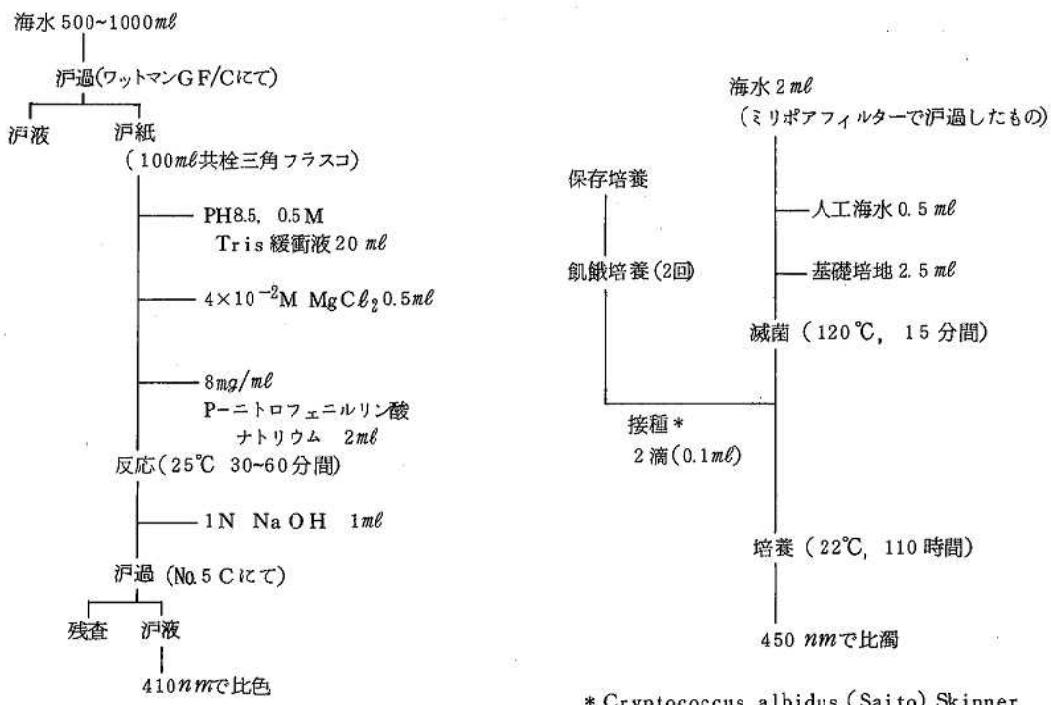
時系列調査及び通日調査の各項目の結果を表3, 4に示す。また宇和島市の降水量を図5に、通日調査に

ついての経時変化を図6に示す。

表2 項目と調査した地点の層および調査日

項 目	層 *	時系列調査	通 日 調 査
PH, DO	0m, 5m, 10m, 20m, B-1m	7/1, 8, 15, 22	8/18 11:40 8/19 3:30
アルカリフォスファターゼ		7/29, 8/5, 12, 18	15:40 7:40
ビタミンB1	0m, 10m, B-1m	7/8, 22, 8/5, 18	19:30 11:15
ビタミンB12			23:30

* 層の数字は海面からの水深の層をB-1は底から1mの高さの層を表わす。



● 検量線はP-ニトロフェノールで作成

図3 ビタミンB₁の分析法

図2 アルカリフォスファターゼ活性分析法

1. 時系列調査

1) PH: 最大値は7月1日st-2の0m層及びst-3の0m層, 20m層で8.5, 最小値は7月29日st-1, st-2のB-1m層で8.0を示した。各地点とも0m層で高い傾向がみられたが、全地点、全層とも調査期間を通じ、大きな変動はみられなかった。

2) DO: 最大値は7月1日st-3の0m層で10.8 mg/l, 最小値は7月22日st-3のB-1m層で0.1 mg/l(定量限界値)未満であった。各地点とも0m層で高い傾向がみられ、上下層間の差もみられたが、降雨の影響のある7月8日、15日は、いずれの層も5.8~7.7mg/lの範囲であり、上下層間の差があまりみられなかった。8月12日st-2の20m層では、0m層と同値の9.7mg/lと高い値を示し、溶存酸素の高い水塊の存在が考えられた。また7月22日st-3のB-1m層では、0.1mg/l未満と貧酸素状態となつた。

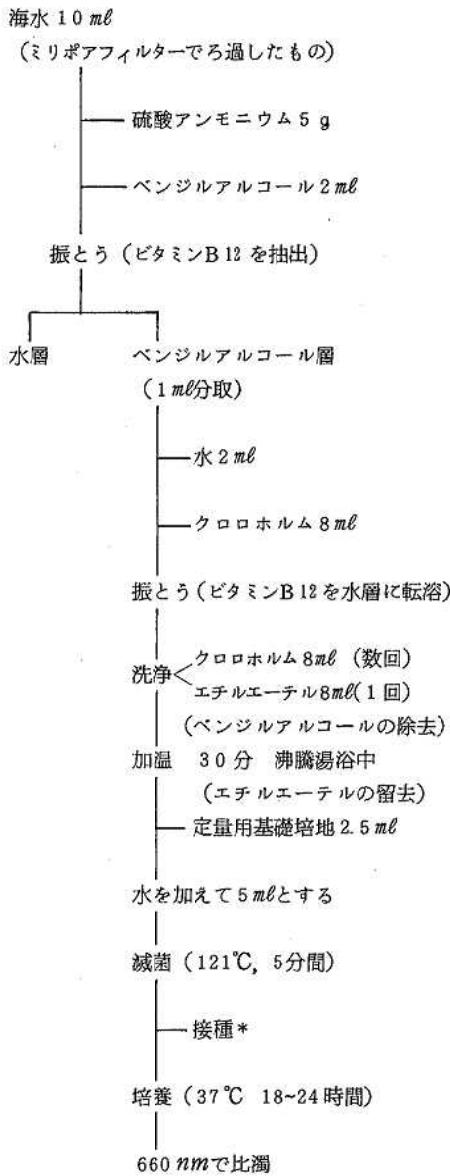
3) アルカリフォスファターゼ活性: 最大値は7月8日st-3の0m層で $2,600 \times 10^{-9}$ mole/l・分、最小値は7月8日のすべての地点の20m層、B-1m層等で 20×10^{-9} mole/l・分(定量限界値)未満であった。各地点とも、0m層、5m層で高い値を示し、変動も大きかった。8月12日st-2の20m層では、 760×10^{-9} mole/l・分と比較的高い値を示し、DOと同様、水塊の存在が考えられた。8月5日st-3の0m層では、 68×10^{-9} mole/l・分と底層と同程度の低い値となつた。

4) ビタミンB1: 最大値は7月22日st-2の0m層で0.44 μg/l, 最小値は7月8日、22日のすべての地点のB-1m層で0.05μg/l(定量限界値)未満であった。各地点とも、0m層が高く、下層になるにしたがって低下する傾向がみられた。

5) ビタミンB12: 最大値は8月18日st-1の0m層で0.023μg/l, 最小値は7月8日のst-1, st-2の0m層及び7月22日のすべての地点の0m層、B-1m層、8月5日のすべての地点の全層等で、0.002μg/l(定量限界値)未満であった。0.023μg/lを示したほかは、比較的低い値で変動し、ビタミンB1のような成層傾向はみられなかった。

2. 通日調査

1) PH: 0m層では、8月18日15:40に最大値8.9を示したが、その他の時刻では、おおむね8.5で変動していた。日中は下層付近まで8.2以上を示し、18日19:30から19日7:40までは19日3:30を除いて、5m層より下層はすべて8.1であった。



* *Lactobacillus leichmanni*

図4 ビタミンB12の分析法

表3 時系列調査結果

採水日 項目・層	7/1			7/8			7/15			7/22			7/29			8/5			8/12			8/18			
	st-1	st-2	st-3	st-1	st-2	st-3	st-1	st-2	st-3	st-1	st-2	st-3	st-1	st-2	st-3	st-1	st-2	st-3	st-1	st-2	st-3	st-1	st-2	st-3	
PH	0	8.4	8.5	8.5	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.3	8.2	8.3	8.3	8.3	8.3	8.2	8.2	8.3	8.2	8.4	8.3	8.2	8.4	8.4	
	5	8.3	8.3	8.4	8.1	8.2	8.3	8.2	8.2	8.3	8.2	8.2	8.3	8.2	8.2	8.2	8.3	8.2	8.3	8.1	8.2	8.3	8.1	8.2	8.3
	10	8.1	8.4	8.2	8.1	8.2	8.2	8.2	8.2	8.3	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.1	8.1	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2
	20	8.2	8.4	8.5	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.3	8.2	8.1	8.2	8.1	8.2	8.1	8.2	8.3	8.1	8.3	8.2	8.1	8.2	8.2	8.2
	B-1	8.2	8.1	8.3	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.0	8.0	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.2
DO	0	9.6	8.9	10.8	7.1	6.6	6.8	7.7	6.3	7.6	8.6	7.5	7.7	10.7	9.3	8.8	8.3	7.0	7.7	8.8	9.7	8.0	9.2	9.8	10.3
	5	7.6	7.0	7.7	6.0	5.8	7.2	7.0	6.2	6.9	7.6	6.2	7.4	8.0	8.3	8.1	7.4	6.1	7.1	9.0	7.7	8.1	6.3	6.6	7.4
	10	6.9	6.9	6.8	6.1	6.0	6.3	7.1	6.6	6.7	6.3	6.3	6.5	8.2	7.7	7.7	6.2	6.5	6.5	7.1	7.7	7.1	6.0	6.3	6.8
	20	6.6	8.2	6.9	6.3	6.3	6.6	6.6	6.9	7.1	6.4	5.0	5.6	4.6	6.7	7.4	6.0	6.3	6.0	4.6	9.7	7.0	5.4	6.2	6.8
	B-1	6.6	5.2	6.7	6.6	5.8	6.5	6.5	6.8	6.4	5.7	ND	5.1	4.8	4.9	5.6	5.9	6.0	6.5	5.9	6.1	5.6	5.7	6.3	
アルカリ活性	0	540	520	630	220	320	2600	430	210	300	610	580	960	970	730	520	490	470	68	1900	720	240	1600	590	380
	5	560	730	760	210	330	210	72	240	93	350	300	560	120	990	350	450	160	180	1200	990	900	600	300	640
	10	490	430	100	26	35	190	31	50	41	150	62	210	360	230	120	120	57	64	480	420	220	140	140	250
	20	53	590	53	ND	ND	ND	29	26	ND	54	50	29	450	310	370	110	77	ND	170	760	53	57	61	97
	B-1	91	81	40	ND	ND	ND	33	ND	ND	32	46	ND	59	34	150	37	34	42	210	39	58	71	57	41
ビタミンB1	0				0.14	0.13	0.27				0.15	0.44	0.32				0.14	0.14	0.17				0.18	0.21	0.22
	10				ND	0.05	0.09				0.07	0.12	0.10				0.12	0.06	0.09				0.07	0.07	ND
	B-1				ND	ND	ND				ND	ND	ND				0.06	0.06	0.08				0.08	0.06	0.07
ビタミンB12	0				ND	ND	0.002				ND	ND	ND				ND	ND	ND				0.023	0.004	ND
	10				0.002	ND	0.003				0.002	0.002	ND				ND	ND	ND				0.0050	0.003	0.003
	B-1				0.002	0.002	0.002				ND	ND	ND				ND	ND	ND				0.005	0.004	ND

表4 通日調査結果

時刻 項目・層	8/18				8/19				単位
	11:40	15:40	19:30	23:30	3:30	7:40	11:15		
PH	0	8.6	8.9	8.4	8.5	8.5	8.5	8.6	◦ DO
	5	8.3	8.5	8.1	8.1	8.3	8.1	8.2	mg/l
	10	8.3	8.3	8.1	8.1	8.2	8.1	8.2	◦ アルカリ活性
	20	8.2	8.3	8.1	8.1	8.1	8.1	8.2	× 10 ⁻⁹ mole/l · 分
	B-1	8.2	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	◦ ビタミンB1
DO	0	11.2	14.8	11.4	11.1	9.8	9.9	12.9	μg/l
	5	5.5	10.2	6.3	6.3	7.8	4.9	5.1	◦ ビタミンB12
	10	5.9	5.7	5.6	5.3	5.0	5.3	5.1	μg/l
	20	4.0	6.0	5.7	5.6	5.4	5.3	4.6	◦ ビタミンB12
	B-1	4.9	3.4	5.1	3.8	5.3	5.2	3.8	μg/l
アルカリ活性	0	3600	1000	490	540	410	11000	260	
	5	670	520	1900	390	370	390	620	
	10	130	150	300	140	150	130	110	
	20	130	59	76	74	49	100	52	
	B-1	37	54	ND	130	33	160	58	
ビタミンB1	0	0.26	0.14	0.58	0.25	0.19	0.34	0.41	
	10	0.05	0.07	0.27	0.08	0.06	0.09	0.45	
	B-1	0.06	ND	0.12	ND	ND	0.10	0.15	
ビタミンB12	0	0.008	0.015	0.013	0.005	0.007	0.021	0.009	
	10	ND	0.005	ND	0.005	0.004	0.004	0.002	
	B-1	ND	0.006	ND	0.004	0.004	0.003	0.007	

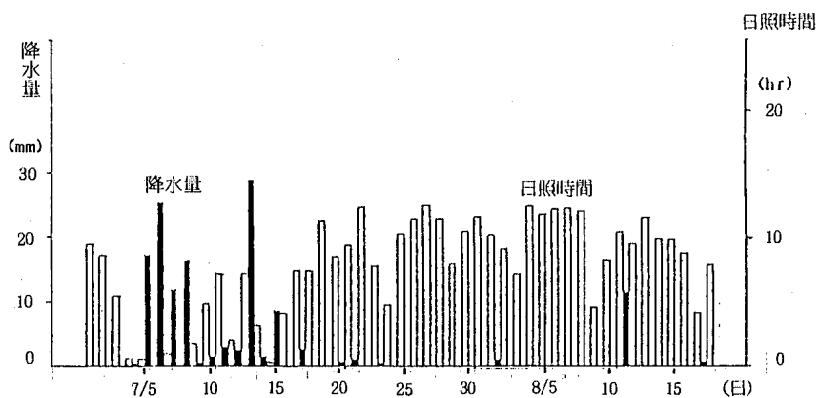


図 5 宇和島市の降水量

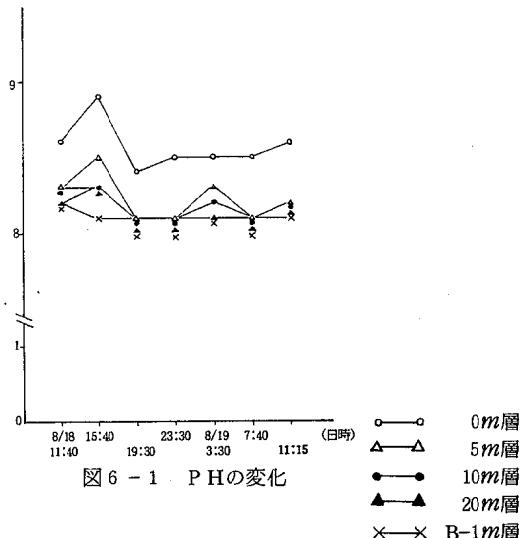


図 6-1 PHの変化

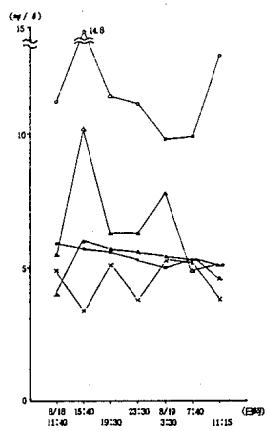


図 6-2 DOの変化

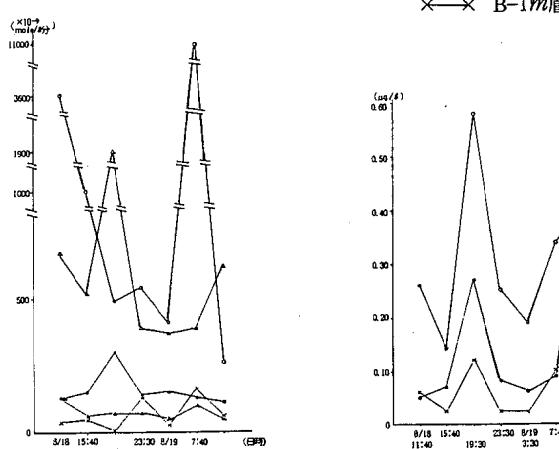


図 6-3 アルカリフィオスファターゼ活性の変化

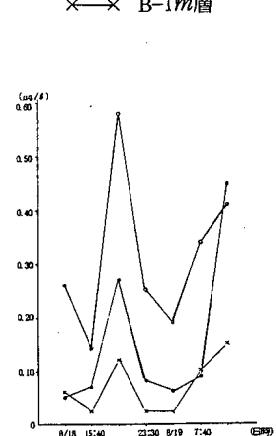


図 6-4 ビタミンB1の変化

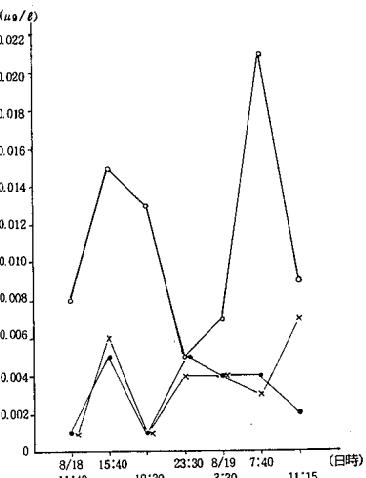


図 6-5 ビタミンB12の変化

図 6 通日調査における各項目の変化

2) DO : 0m層では、8月18日15:40に最大値14.8mg/lと時系列調査時に測定されなかった高い値を示した。また19日3:30, 7:40には低下し、11:15には12.9mg/lと再び上昇した。5m層では、18日15:40に10.2mg/lと高くなつたが、いずれの時刻においても、0m層に比べ、約5mg/l程度の濃度低下がみられた。その他の層では、約5~6

mg/lの範囲で変動していたが、18日15:40, 23:30, 19日11:15には4mg/l以下の低い値であった。

3) アルカリファスファターゼ活性：時系列調査時と同様、0m層、5m層で高い値を示し、変動も大きかった。0m層では、18日11:40, 15:40に $1,000 \times 10^{-9}$ mole/l・分以上であったものが、19:

表6 時系列調査における各項目間の単相関表

	SAL	PH	DO	NH ₄	NO ₂	NO ₃	D-TN	PO ₄	D-TP	d-Fe	d-Mn	CHL	PHEO	ALP	V-B1	V-B12
WT	0.09	0.27	0.52	0.16	-0.79	-0.25	0.16	-0.52	-0.39	-0.28	0.23	0.16	0.17	0.23	0.41	0.33
	SAL	-0.07	-0.13	-0.20	-0.06	-0.92	-0.61	0.19	0.06	0.06	0.03	-0.70	-0.12	-0.50	-0.39	0.05
	PH	0.52	-0.30	-0.06	-0.01	0.12	-0.35	-0.14	0.12	-0.03	0.41	0	0.24	0.56	-0.04	
	DO	-0.03	-0.37		0	0.19	-0.50	-0.36	-0.37	-0.02	0.45	0.14	0.38	0.55	0.24	
	NH ₄	-0.07	0.22	0.56	0.46	0.58	-0.22		0.18	0.32	-0.07	0.30	-0.05	0.70		
	NO ₂	0.29	0.02	0.55	0.54	0.24		0	-0.07	-0.13	-0.13	-0.42	-0.42			
	NO ₃	0.66	-0.02	0.14	-0.10		0	0.58	0.04	0.33	0.22	-0.04				
	D-TN	0.05	0.31	-0.21	0.01	0.66		-0.06	-0.06	0.57	0.25	0.36				
	PO ₄	0.88	0.21	0.05	-0.32	-0.27		-0.11	-0.51		0.31					
	D-TP	0.18	0.06	-0.02	-0.24	0.22		-0.27	0.46							
	d-Fe		-0.21	-0.10	-0.09	-0.10		0	-0.16							
	d-Mn		-0.11	-0.07	-0.07	-0.11										
	CHL		0.20	0.58	0.60	0.20										
	PHEO		0.07	0.10	-0.14											
	ALP		0.62	0.41												
	V-B1		0.06													

N = 36 (3地点3層(0m, 10m, B-1m) 4回)

xx : 危険率 1% (0.42)

x : 危険率 5% (0.33)

表7 通日調査における各項目間の単相関表

	SAL	PH	DO	NH ₄	NO ₂	NO ₃	D-TN	PO ₄	D-TP	d-Fe	d-Mn	CHL	PHEO	ALP	V-B1	V-B12	Gymno
WT	-0.20	0.76	0.84	-0.82	0.24	-0.37	0.36	0.17	0.37	0.18	-0.49	0.54	-0.43	0.40	0.61	0.61	0.45
	SAL	-0.24	-0.31	0.19	-0.24	0.16	-0.16	-0.16	-0.23	-0.44	0.14	-0.22	-0.01	-0.01	-0.24	-0.37	-0.18
	PH	0.95	-0.63	0.69	-0.13	0.71	0.43	0.70	0.61	-0.17	0.76	-0.52	0.37	0.42	0.66	0.74	
	DO	-0.71	0.57	-0.27	0.59	0.36	0.61	0.51	-0.30	0.72	-0.53	0.34	0.58	0.67	0.67	0.68	
	NH ₄	-0.09	0.42	-0.17	0.05	-0.16	-0.14	0.68	-0.33	0.24	-0.14	-0.55	-0.35	-0.26			
	NO ₂	0.11	0.71	0.40	0.70	0.85	0.15	0.58	-0.25	0.14	0.02	0.40	0.66				
	NO ₃	0.06	0.04	0.02	0.08	0.26	-0.09	0.20	-0.07	-0.43	-0.32		-0.02				
	D-TN	0.81	0.95	0.74	0.13	0.92	-0.41	0.58	0.14	0.69	0.93						
	PO ₄	0.91	0.47	0.28	0.88	-0.24	0.77	0.13	0.76	0.89							
	D-TP	0.73	0.14	0.96	-0.34	0.67	0.17	0.78	0.98								
	d-Fe	0.03	0.61	-0.18	0.01	-0.05	0.40	0.66									
	d-Mn	0.01	-0.04	0.08	-0.45	0.03	0.07										
	CHL	-0.40	0.72	0.34	0.85	0.99											
	PHEO	-0.26	-0.48	-0.35	-0.36												
	ALP	0.30	0.71	0.69													
	V-B1	0.44		0.26													
	V-B12			0.80													

N = 21 (3層(0m, 10m, B-1m) 7回)

xx : 危険率 1% (0.55)

x : 危険率 5% (0.43)

表8 記号と項目

記号	項目
WT	水温
SAL	塩分
PH	PH
DO	溶存酸素
NH ₄	アンモニア態窒素
NO ₂	亜硝酸態窒素
NO ₃	硝酸態窒素
D-TN	溶存態全窒素
PO ₄	リン酸態リン
D-TP	溶存態全リン
d-Fe	溶存態鉄
d-Mn	溶存態マンガン
CHL	クロロフィルa
PHEO	フェオフィチン
ALP	アルカリフオスファターゼ活性
V-B1	ビタミンB1
V-B12	ビタミンB12
Gymno	Gymnodinium nagasakiense

30から19日3:30までにはば 500×10^{-9} mole/ ℓ ・分に低下し、19日7:40には最大値の $11,000 \times 10^{-9}$ mole/ ℓ ・分に上昇した。しかし、11:40には 260×10^{-9} mole/ ℓ ・分と低い値となった。5m層では、18日19:30に $1,900 \times 10^{-9}$ mole/ ℓ ・分と0m層よりも高い値となった。その他の層では、 300×10^{-9} mole/ ℓ ・分以下で推移し、大きな変動はみられなかった。

4) ビタミンB1:0m層では、18日19:30に最大値 $0.58 \mu\text{g}/\ell$ を示したが、23:30、19日3:30にはおよそ $0.2 \mu\text{g}/\ell$ に低下した。しかし、19日7:40、11:15には、およそ $0.4 \mu\text{g}/\ell$ と再び上昇した。10m層では、0m層より低濃度であるが、同様な変動がみられ、19日11:15には0m層より高い $0.45 \mu\text{g}/\ell$ となった。B-1m層でも、上層と同様な傾向がみられたが、 0.05 未満~ $0.15 \mu\text{g}/\ell$ の範囲で大きな変動はみられなかった。

5) ビタミンB12:0m層では、18日15:40に $0.015 \mu\text{g}/\ell$ 、19日7:40に最大値 $0.021 \mu\text{g}/\ell$ を示した。また18日23:30には $0.005 \mu\text{g}/\ell$ と低い値を示したが、時系列調査時よりも高い濃度で変動していた。その他の層では、 0.002 未満~ $0.007 \mu\text{g}/\ell$ の範囲で変動していた。

考 察

今回の調査では表1に示すとおり、アルカリフオスファターゼ活性、ビタミンB1、ビタミンB12等を分担分析を行っているので、これらの項目を中心考察を行なった。なお、表6に時系列調査、表7に通日調査の各項目間の単相関表を、表8にその記号と項目を示す。

1) アルカリフオスファターゼ活性について

両調査を通じて、逆転した層がみられるが、総じて表層が高く、下層が低い傾向がみられた。特に通日調査時の0m層で、 $11,000 \times 10^{-9}$ mole/ ℓ ・分と最高の値を示した。また日没後は、0m層、5m層に活性の低下がみられた。多賀³⁾によると、アルカリフオスファターゼ活性とリン酸とは一定レベル（リン酸として $7 \mu\text{g}/\ell$ ）までは、正の相関があると報告されている。しかし、時系列調査では、リン酸として $7 \mu\text{g}/\ell$ と低い値を示したが、相関はみられなかった（ $r = -0.11$ ）。通日調査では、2回（18日15:40、 $7.2 \mu\text{g}/\ell$ 、19日7:40、 $10.2 \mu\text{g}/\ell$ ）をのぞき、 $7 \mu\text{g}/\ell$ 以下であり相関がみられた（ $r = 0.77$ ），このようにリン酸との相関は明らかではないが、時系列調査時にクロロフィルa（ $r = 0.58$ ）と、通日調査時にクロロフィルa（ $r = 0.72$ ）、Gymnodinium（ $r = 0.69$ ）と相関がみられ、アルカリフオスファターゼ活性は、プランクトンの増殖に大きく影響しているものと思われる。

2) ビタミンB1について

両調査を通じて、下層ほど濃度が低下する傾向がみられた。また時系列調査時にクロロフィルa（ $r = 0.60$ ）PH（ $r = 0.56$ ）、DO（ $r = 0.55$ ）と、通日調査時にDO（ $r = 0.58$ ）と相関がみられた。次にプランクトンとの相関をみると、Gymnodiniumとは $r = 0.26$ となり相関がみられなかった。しかし、Gymnodiniumをのぞく Skeletonema, Leptocylindrus, Chaetoceros 等の硅藻類の総数とは、時系列調査時（ $r = 0.33$ ）、通日調査時（ $r = 0.58$ ）とも有意な相関がみられた。西島によると¹⁾高知県浦の内湾では、ビタミンB1は、定量限界未満から $2.14 \mu\text{g}/\ell$ の範囲で検出され、また多くの赤潮プランクトンの要求量は、およそ $0.1 \sim 0.5 \mu\text{g}/\ell$ 程度と報告されている。今回の調査では、定量限界未満から $0.58 \mu\text{g}/\ell$ の範囲で検出されており、赤潮形成との関連は充分に考えられる。

3) ビタミンB12について

時系列調査では、8月5日まであまり顕著な変動はみられなかったが、赤潮発生時の8月18日には、各

地点とも増加の傾向がみられた。通日調査では、日中に比較的高濃度に検出された。また *Gymnodinium* との相関係数は $r = 0.80$ となり有意な相関がみられた。西島によると¹⁾ 赤潮発生には約 $0.010 \mu\text{g}/\ell$ 以上のビタミンB12 高濃度水域の形成が重要であると報告されている。今回の調査では、両調査を通じ計4回、 $0.01 \mu\text{g}/\ell$ 以上検出されただけであるが、定量限界未満がら $0.023 \mu\text{g}/\ell$ の範囲で検出されており、ビタミンB1と同様赤潮形成との関連が考えられる。

まとめ

1. PHは、時系列調査では、各地点、各層とも変動はなく、8.0~8.5の範囲であった。また、DO、ビタミンB1と相関がみられた。通日調査では、0m層が高く、DO、ビタミンB12、*Gymnodinium*と相関がみられた。
2. DOは、時系列調査では、B-1m層で $0.1 \text{ mg}/\ell$ 未満を示した他は、5~10 mg/ℓ の範囲であった。相関は、アルカリフォスファターゼ活性、ビタミンB1にみられた。通日調査では、0m層で $10\sim15 \mu\text{g}/\ell$ と比較的高い値を示し、PH、アルカリフォスファターゼ活性、ビタミンB1、ビタミンB12と相関がみられた。

3. アルカリフォスファターゼ活性は、0m層、5m層で高く変動も大きかった。時系列調査では、クロロフィルaと相関がみられた。通日調査では、日没後に活性の低下がみられ、クロロフィルa、*Gymnodinium*と相関がみられた。

4. ビタミンB1は下層ほど低濃度で成層をなしていた。時系列調査では、クロロフィルa、PH、DO、アルカリフォスファターゼ活性と相関がみられた。通日調査では、DOと相関がみられた。

5. ビタミンB12は、時系列調査では $0.023 \mu\text{g}/\ell$ の高い値を示したが、その他は変動はみられなかった。相関はアルカリフォスファターゼ活性とにみられた。通日調査では、アルカリフォスファターゼ活性、*Gymnodinium*と相関がみられた。

なお、本調査におけるデータや解析については、昭和61年度環境庁委託業務結果報告書、赤潮対策調査—豊後水道一、およびデータ編に報告されている。

文 献

- 1) 西島敏隆：高知大学農学部紀要、43 (1985)
- 2) 古城方知他：醸酵工学、62(4) 171~179 (1984)
- 3) Taga, N., Kobori, H.: Mar. Biol., 49, 223 (1978)

水道水の異臭味対策に関する基礎的研究

石丸尚志 大瀧勝 篠崎由紀
芝信明* 中島庄一

はじめに

近年、水源の富栄養化が原因と思われる水道水の異臭味問題が増加している。異臭味の発生は、昭和30年代後半から増加がみられ40年代に入って全国的な広がりを見せてきたが、愛媛県においては大都会に見られるような大規模かつ広域的な発生はみられていない。しかし、異臭味発生や水道ろ過池の目つまり等、水質障害の事例は増加しつつある。特に、島しょ部においては、慢性的な水不足のため、ため池等を水道水源としているが、柑橘類への施肥に伴う窒素の流亡など、無機塩類の増加が報告¹⁾されており、水道水源(貯水池)の富栄養化は進行しているものと思われる。

こうした状況下で現在県内の水道水源の窒素・燐等の濃度は把握されておらず、今後の水道障害増加が予想されるため、現況の富栄養化因子としての栄養塩、生物相等の把握は重要と考えられる。

また近年国の施策として、「おいしい水」の供給を目指した答申²⁾や、「水道水源における窒素・燐等の測定について」の通知³⁾により異臭味対策は推進されつつある。

そこで本研究では、愛媛県下の水道水源として利用されている貯水池のうち、地域特性の異なる2貯水池について1年間化学的・生物学的調査研究を実施した。それにより、富栄養化による異臭味発生機構の一端を明らかにし、飲料用水源の水質保全及び、浄水処理のための基礎資料を提供することを目的とし調査研究を実施したので報告する。

調査対象・期間・方法等

次の2貯水池をモデルに、生物化学的調査を実施し異臭味発生との関連に若干の考察を加えた。

- 1) 調査対象：島しょ部(M町M簡易水道K貯水池)
有効貯水量 4万m³、最大水深 7m
陸地部(T町T貯水池 I市上水道他水源)
有効貯水量 910万m³、最大水深 56m
共に領家帶の地質区分に属する。

- 2) 調査期間：昭和61年4月から62年3月までの

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目284

*現 愛媛県保健環境部環境保全課 松山市一番町4丁目2

2ヶ月毎に計6回採水

3) 調査方法

対象貯水池の最大水深の地点で、上層(0.5m深)、中層(最大水深の1/2深)、下層(底から1mの深)及び、流入河川水について調査を実施した。

○採水器：バンドン採水器

○分析項目及び方法

ア 汚濁指標としての項目

COD (CODMn : JISK 0102)

BOD (BOD₅ : JISK 0102)

D-O (ウインクラーアジ化ナトリウム変法)

透明度(セッキ円板法)

臭気度(TO:上水試験方法)

色度、濁度(比色法:上水試験方法)

イ 栄養塩類

総窒素(以下Nと記す) 総リン(以下Pと記す)(環境庁告示法)

リン酸態リン、ケイ酸(上水試験方法)

ウ 水質特性関係項目

水質組成: Na, K(炎光光度法) Ca, Mg(EDTA法)

SO₄(EDTA法) CO₃(中和滴定法)

Cl, NO₃-N, 総硬度(上水試験法)

電気伝導率(電気伝導度計)

金属類: Fe, Mn, Zn, Cu, Cd, Pb(原子吸光法)

エ 生物調査他

藻類(検鏡法)クロロフィルa(アセトン抽出三波長法)

pH(pH計), 気温, 水温, 水深, 流量

調査結果及び考察

1. 島しょ部ため池について

本貯水池は、昭和59年から異臭味を発し、60年8月中旬、町が間欠空気揚水筒を設置したが、その前後および61年4月から62年3月までの水質測定値について表1, 2、図1, 2に示す。

2. 陸地部貯水池について

本貯水池は、広域水道の水源として利用されている大規模貯水池である。今までに異臭味は発生していない。表3, 4、図3, 4に調査結果を示す。

表1 K野水池の水質変化(汚濁項目、栄養塩類)

	60年8月	9月	61年4月	6月	8月	10月	12月	62年2月
臭気度 (度)	上層 61	30	5	15	18	30	299	14
	中層 14	30	4	7	18	30	200	18
	下層 30	18	5	15	40	30	30	14
色 度 (度)	谷 水	4	7	4	2	400	2	
	河川水	7	4	1	91	2		
	河川水	2	15	10	40	17		
D O (mg/l)	上層 9.0	7.7	10.6	8.5	8.9	10.4	11.2	
	中層 3.0	7.6	10.4	7.9	8.8	8.4	11.2	
	下層 2.6	3.0	10.2	7.3	8.3	9.4	9.9	
P H 値 (mg/l)	谷 水	9.6	8.1	7.2	10.1	11.1	11.1	
	河川水	9.0	8.3	7.8	9.6	9.8	10.9	
	河川水	7.0	7.1	7.6	8.6	7.9	7.8	
C O D (mg/l)	上層 12.4	7.8	4.8	5.3	4.4	5.0	4.7	
	中層 5.2	6.1	4.1	5.0	5.5	5.4	5.2	
	下層 5.2	6.3	3.9	5.2	5.0	5.3	4.0	
T - N (mg/l)	谷 水	7.9	3.2	4.3	1.9	3.7	5.0	
	河川水	7.9	3.1	3.5	4.8	3.0		
	河川水	1.74	1.89	1.13	2.24	0.98	0.99	
T - P (mg/l)	中 層	1.74	1.62	2.58	0.96	2.00	0.94	
	下 層		1.52	2.27	1.50	2.16	1.01	
	谷 水	1.35	0.82	2.44	2.51	0.75	2.16	
S i O 2 (mg/l)	河川水	3.11	1.84	4.59	2.41	2.88	1.42	
	谷 水	0.089	0.085	0.156	0.133	0.160	0.065	
	河川水	20.57	19.07	25.60	24.40	22.76		

表2 K野水池水質変化(水質組成関係項目)

	60年4月	6月	8月	10月	12月	62年2月
Na (mg/l)	上 層	17.85	13.50	15.25	16.65	17.90
	中 層	17.77	13.25	14.45	17.30	17.90
	下 層	18.50	13.40	15.85	17.35	17.95
K (mg/l)	谷 水	15.90	12.80	15.20	16.15	16.40
	河川水	18.20		17.10	21.25	19.70
	河川水					18.75
Ca (mg/l)	上 層	1.74	1.66	1.79	2.07	1.94
	中 層	1.64	1.60	1.78	2.04	1.95
	下 層	1.60	1.60	1.84	2.07	1.62
C l (mg/l)	谷 水	1.38	1.36	1.66	1.36	2.41
	河川水	2.21		1.80	2.08	2.57
	河川水					1.74
S O 4 (mg/l)	上 層	20.52	15.31	19.72	22.13	22.20
	中 層	20.84	15.47	20.12	21.80	22.20
	下 层	20.08	15.23	19.64	21.72	23.25
H C l (mg/l)	谷 水	17.84	12.99	16.91	14.75	15.63
	河川水	21.08		26.69	27.09	23.53
	河川水					
C O 2 (mg/l)	上 層	13.05	11.06	14.00	12.76	13.90
	中 層	14.18	11.06	13.80	13.19	14.46
	下 層	15.03	11.34	13.00	12.47	14.61
N O 3 - N (mg/l)	谷 水	12.76	11.20	14.60	11.63	12.48
	河川水	15.31		14.90	16.02	17.87
	河川水					15.60
S O 4 (mg/l)	上 層	33.33	32.37	29.11	35.73	38.23
	中 層	34.68	31.60	31.99	33.72	36.98
	下 層	32.76	30.64	34.29	33.62	34.01
F e (mg/l)	谷 水	31.41	30.45	28.72	26.32	27.86
	河川水	35.35		32.29	48.32	44.98
	河川水					37.18
T - N (mg/l)	上 層	1.46	1.89	0.60	1.17	0.96
	中 層	1.43	2.11	0.96	1.16	0.94
	下 層	1.36	2.08	1.02	1.15	0.98
M n (mg/l)	谷 水	2.41	2.51	0.71	1.23	1.36
	河川水	2.73				
	河川水					
F e (mg/l)	上 層	0.18	0.12	0.12	0.18	0.12
	中 層	0.16	0.12	0.12	0.17	0.11
	下 層	0.14	0.18	0.15	0.21	0.55
S i O 2 (mg/l)	谷 水	0.19	0.26	0.21	0.33	0.13
	河川水	0.37		7.00	0.47	1.14
	河川水					0.99
T - P (mg/l)	上 層	0.005	0.030	0.620	0.041	0.032
	中 層	0.004	0.030	0.660	0.033	0.029
	下 層	0.005	0.040	0.750	0.036	0.028
S i O 2 (mg/l)	谷 水	0.002	0.020	0.020	0.020	0.010
	河川水	0.019		0.348	0.071	0.050
	河川水					

表3 T貯水池の水質変化(汚濁項目,栄養塩類)

表4 T貯水池の水質変化(水質組成関連項目)

項目	61年4月	6月	8月	10月	12月	62年2月	項目	61年4月	6月	8月	10月	12月	62年2月
臭気度 (度)	上層 30	14	4	30	14	3	Na (mg/l)	上層 5.47	5.58	5.92	5.90	5.96	5.33
	中層 4	7	22	61	10	7	中層 5.53	4.78	5.43	5.82	5.34	5.27	
	下層 5	2	40	61	30	40	下層 5.57	5.97	6.18	6.12	5.96	5.23	
河川水	上層 4	14	22	30	5	22	河川水	4.62	4.47	5.03	4.88	4.38	4.37
	中層 14	4	10	4	6	3	上層 0.66	0.80	0.89	0.89	0.79	0.69	
	下層 8	4	10	2	7	3	中層 0.70	0.70	0.96	0.88	0.80	0.67	
色度 (度)	上層 27	6	9	21	77	3	下層 0.72	0.85	1.30	0.97	1.10	0.67	
	中層 10.7	10.8	8.7	10.0	10.0	12.6	河川水	0.56	0.57	0.79	0.61	0.53	0.46
	下層 9.6	7.1	2.3	5.0	8.5	11.1	上層 11.78	11.10	12.42	12.10	12.67	12.55	
DO (mg/l)	上層 7.4	1.9	1.5	0.4	0.1未満	10.4	Ca (mg/l)	中層 13.83	10.82	12.02	13.14	13.07	12.63
	中層 10.6	8.9	8.9	11.0	12.0	11.5	下層 13.75	14.63	14.83	13.95	14.35	12.71	
	下層 8.1	9.2	8.1	7.4	7.2	7.6	河川水	11.06	10.14	11.94	8.90	11.94	11.42
pH値	上層 7.2	7.0	6.6	6.9	7.1	7.5	C ℓ (mg/l)	上層 4.68	4.40	4.50	4.54	3.83	3.83
	中層 6.9	6.7	6.8	6.7	6.8	7.3	中層 4.96	3.55	4.50	4.40	3.97	3.69	
	下層 7.5	7.4	7.5	7.6	7.6	7.6	下層 4.54	1.84	5.40	4.25	4.40	3.97	
COD (mg/l)	上層 1.6	3.5	3.0	1.5	1.2	1.3	河川水	4.82	3.97	4.70	3.83	4.11	3.12
	中層 1.0	1.6	2.1	2.6	1.0	1.4	上層 9.03	8.74	8.74	9.80	7.01	7.01	
	下層 1.1	2.6	3.5	3.0	3.3	1.4	SO4 (mg/l)	中層 8.26	6.72	7.01	7.78	4.51	8.55
T-N (mg/l)	上層 1.7	1.8	1.1	4.5	0.4	0.8	下層 9.51	5.57	0.10	0	2.69	8.45	
	中層 0.71	0.96	0.52	0.71	0.52	0.58	河川水	7.30	6.05	6.44	16.23	7.97	5.86
	下層 0.63	0.60	1.10	0.46	0.60	0.64	上層 0.64	0.62	0.52	0.71	0.52	0.58	
T-P (mg/l)	上層 0.77	1.14	2.16	1.26	1.81	0.60	NO3-N (mg/l)	中層 0.56	0.60	0.77	0.54	0.60	0.64
	中層 0.011	0.027	0.011	0.018	0.021	0.012	下層 0.51	0.54	0.44	0.36	1.81	0.58	
	下層 0.84	0.58	0.68	0.31	0.55	0.51	河川水	0.77	1.14	2.16	1.26	1.81	0.60
SiO ₂ (mg/l)	上層 0.015	0.030	0.020	0.007	0.021	0.007	上層 0.08	0.04	0.08	0.08	0.12	0.10	
	中層 0.008	0.012	0.006	0.007	0.013	0.009	中層 0.05	0.06	0.22	0.13	0.21	0.12	
	下層 0.011	0.027	0.011	0.018	0.021	0.012	下層 0.07	0.79	2.29	1.30	2.84	0.11	
PO4-P (mg/l)	上層 0.016	0.018	0.008	0.006	0.005	0.008	河川水	0.26	0.21	0.17	0.12	0.08	0.07
	中層 10.45	9.81	10.54	13.08	14.37	12.20	上層 0.001	0.005	0.030	0.030	0.085	0.020	
	下層 10.85	10.78	9.83	13.14	14.30	12.20	Mn (mg/l)	中層 0.001未満	0.020	0.354	0.122	0.238	0.020
河川水	上層 12.10	11.81	10.64	13.01	14.59	12.20	下層 0.015	3.50	6.56	4.46	4.33	0.050	0.001未満
	中層 0.015	0.020	0.005	0.005	0.007	0.005	河川水	0.001	0.020	0.084	0.000	0.020	0.000未満
	下層 0.009	0.014	0.011	0.013	0.014	0.010	河川水	0.013	0.006	0.005	0.007		

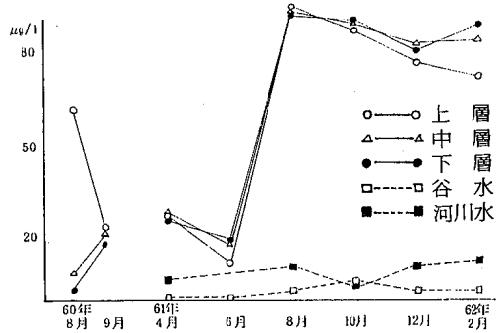


図1 クロロフィルaの変化(K貯水池)

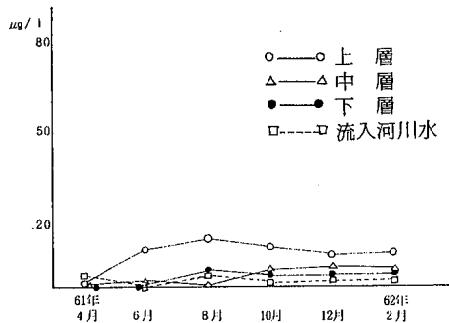


図3 クロロフィルaの変化(T貯水池)

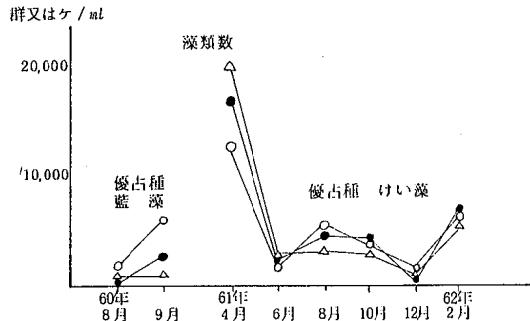


図2 藻類数の変化 (K貯水池)

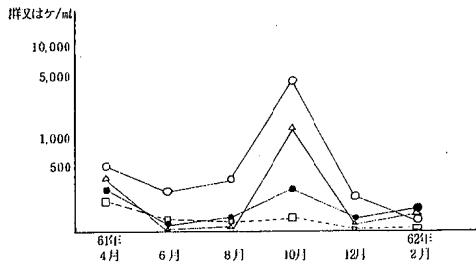


図4 藻類数の変化 (T貯水池)

表5 生物相

貯水池	層別	60年8月	9月	61年4月	6月	8月	10月	12月	62年2月
K 貯 水 池	上層	Aphanizomenon Ceratium	Calothrix Cerasium Synedra	Asterionella Melosira Scenedesmus	Melosira Synedra Scenedesmus	Melosira Synedra Scenedesmus	Synedra Melosira Asterionella	Asterionella Synedra Melosira	Asteriorella Synedra Melosira
	中層	Aphanizomenon Ceratium	Calothrix Cerasium Synedra	Asterionella Melosira Synedra	Melosira Synedra Scenedesmus	Melosira Synedra Asterionella	Melosira Synedra Asterionella	Asterionella Synedra ヒメマルケイソウ	Asterionella Synedra Melosira
	下層	Aphanizomenon	Calothrix Synedra	Asterionella Melosira Synedra	Melosira Synedra	Melosira Synedra	Melosira Synedra Asterionella	Synedra Asterionella Melosira	Asterionella Synedra Melosira
	谷水			Navicula Pinnularia	Synedra	ケイソウ類	優占種なし	Melosira	Synedra Nitzschia Navicula
	河川水			Asterionella Melosira		Melosira Synedra	優占種なし	Asterionella	Nitzschia Asterionella
T 貯 水 池	上層			Synedra Melosira Dinobryon	Scenedesmus Melosira	Elakatothrix Tetraedran Peridium	Dinobryon ヒメマルケイソウ Peridium	Chrollera ミカズキモ Melosira	ヒメマルケイソウ Peridium Nitzschia
	中層			Synedra Melosira Dinobryon	Scenedesmus Melosira	Elakatothrix Melosira Peridium	Dinobryon ヒメマルケイソウ Melosira	Paramecium スタウラスツルム	ヒメマルケイソウ Melosira Nitzschia
	下層			Melosira Navicula Synedra	Melosira ウズオビムシ Synedra	Melosira Peridium	Dinobryon Melosira ヒメマルケイソウ	スタウラスツルム	ヒメマルケイソウ Melosira Synedra
	河川水			Melasira Synedra	Melosira Synedra	Synedra	Melosira Synedra	クチビルケイソウ	Nitzschia

3. 島しょ部ため池の水質変化について

M町は、臭気を除去するために昭和60年8月に間欠空気揚水筒⁴⁾を設置した。その1ヶ月後には、表1に見られるように水質改善がなされた。設置前後の臭気

度は、上層及び中層で減少し、臭気の種類も昭和61年4月からは、かび臭から藻臭にと変化し12月に上昇は示したが、浄水中に臭気はみられなかった。

その原因は、池内が完全混合状態になったことが挙

げられ、60年8月には上層29.0°C→下層20.5°Cと差がみられたものが、設置後には上層28.0°C→下層26.0°Cと差がなくなってきた。翌年4月以降は各層での差がない状態が続いている。

色度は藻類、Fe、Mn等の影響を受けるが、臭気度と同様各層で差がみられなくなった。

D Oについては、設置前、中・下層で 3mg/l 以下の貧酸素状態であったが、池内循環の影響を最も受け、設置直後の60年9月には循環の効果がまだ不十分であったが、61年には均一化し、年間を通して飽和度100~110%の過飽和となった。

p H値については、設置前は藻類の生物活動の影響から上層で高く、中層・下層で低い傾向にあったが、設置後は各層とも7~8と均一化してきている。

CODについては、藻類の垂直分布、流入汚濁の混合状態の差により、上下層で差があったが、完全混合により池内では均一化し、BODについても同様であった。透明度は1m内外で、間欠空気揚水筒設置とは無関係であった。濁度についても同様に無関係であった。

○栄養塩類

N及びPは、年間を通じ各層とも判定域($N > 0.20$, $P > 0.02$)⁵⁾を越え、富栄養状態にあった。季節変動は流入水質に合わせて起こり、施肥の時期との関連が考えられる。(集水面積86万m²中3万m²が果樹園である)

藻類に利用されやすいリン酸態リン、ケイ酸については、池内優占種がケイ藻類であるため、ケイ藻類に利用されやすいケイ酸が、ケイ藻の増殖時に池内で減少しているが、リン酸態リンについては、藻類との関連は顕著にみられなかった。

○水質組成関連項目

地質・海水の影響を受けるNa, Ca, Clについて、流入水質の変動に応じて変化するが、島しょ部に位置しているが、海水の影響はみられず、Na·Clについて、季節および層別の変動もみられなかった。

N·Pと同様施肥の影響を受けるK, SO₄, NO₃-Nについては、流入水質に施肥の時期との関連が考えられる。

他の主要成分であるCa, Mg, CO₃については各層間での差はみられず、水量の多少により濃度変化を示す程度であった。

Feについては、流入水中の濃度は高いが、底質に蓄積されたFe, Mn類は還元状態とならないため溶出せず、水道原水としては充分利用できる安定した水質を示した。その他の金属Zn, Cu, Cd, Pbについては、いずれも微量で飲料水質基準以下であった。

○生物相の変化について

藻類を代表するクロロフィルaについては、揚水筒

設置後には、各層間の差がなくなった。しかし、翌年にはクロロフィルaが各層で増加している。このことは、表5にみられるように、緑藻類の増加によるものと思われる。

60年8月には、藍藻類(Aphanizomenon)が優占種であったが、9月(設置後)には別の種の藍藻(Calothrix)が優占となった。このことから異臭味発生源は、間欠空気揚水筒設置前の優占種であるAphanizomenon等の藍藻であると考えられる。

上層での臭気度、藻類、環境要因の相関関係について検討したところ、表6に示すように明確な相関は示さなかった。

表6 K池上層での相関関係

	藻類数	臭気度	クロロ フィルa	D O	T-N	T-P	SiO ₂
藻類数	1000						
臭気度	-0.486	1.000					
クロロ フィルa	-0.134	0.078	1.000				
D O	-0.038	0.428	0.054	1.000			
T - N	-0.064	-0.444	-0.467	-0.015	1.000		
T - P	-0.092	-0.591	-0.158	0.076	-0.035	1.000	
SiO ₂	0.017	0.040	-0.132	-0.051	-0.030	-0.026	1.000

4. 陸地部貯水池の水質変化について

夏期に成層状態(上層水温27.0°C→下層8.0°C)を形成することにより、下層での貧酸素に起因する現象があらわれている。冬期から春期にかけての循環期にはいずれの調査項目についても、各層間での差がなくなっている。

臭気度は、循環期には上層の藻臭を中心に30度以下で推移する。成層期には中層から下層にかけての腐敗臭が支配的となるが、好気処理により除去可能であり、また現在は取水が上~中層にかけて行われているため、浄水での異臭味問題は生じていない。

色度は、成層期に下層でのFe, Mnの溶出を反映し下層で高くなっている。D Oの変化からも、このことは確認できる。

D Oは、6月から12月迄は下層で 2mg/l 以下の貧酸素状態であり、中層でも8月には 3mg/l 以下の貧酸素状態となる。上層は一年を通じ、飽和状態にある。

p H値は、夏期上層で高い程度で、循環期には各層ともほぼ同じ値である。

CODについては、流入水に多少の変動はみられるが、池内では $2\sim 3\text{mg/l}$ とほぼ一定値であった。BODについても同様であった。透明度も季節変化がなく1年を通じ $2\sim 3\text{m}$ であった。濁度もほとんど変化なかった。

◦栄養塩類

Nに関しては、富栄養状態に達しているが、Pに関しては富栄養状態でないため、藻類増殖の制限となる可能性を持つ。下層の貧酸素のため、夏期には生物体の遺骸の分解によると思われるNの増加が発生しているが、Pについては蓄積量が少ないため増加していないものと考えられる。このことは、貯水池の容量に比して、集水域に汚濁源が少ないため、特に人为的要因によるPについては、顕著な流入がみられないからである。

リン酸態リン、ケイ酸についても低濃度で推移し、ケイ藻類の影響を受けていないことは、生物相の優占種とその数からも推測される。

◦水質組成関連項目

海水・風送塩の影響を受けにくい山間部に位置するため、Na・Cl ℓ については貯水池中も流入水中も低濃度であり変動も少ない。

Caについては地質の影響を受け各層、流入水中での変動はなく 10 mg/ ℓ 程度で推移している。

下層で SO₄ が、成層期に減少するのは、嫌気状態となり、SO₂ 又は Sまでに還元されていることが、腐敗臭との関連から考えられる。

またその時期に生物体の分解により溶出したNは、DOの上昇とともにNO₃-Nとなり、12月に上昇している。Kについても、施肥との関連性はうかがえない。

他の主要成分であるMg, CO₃についても、上下層間での差が大きいことが、K池との違いである。

流入水に存在するFe, Mnは各々 0.2 mg/ ℓ , 0.05 mg/ ℓ 以下と低濃度であるが、底質に蓄積されたものが還元状態時に溶出してきていることが示唆される。

Feが多量に底質から溶出するにもかかわらず、同時にPが増加しないことから、底質へのリンの蓄積量は少量であることが推定される。

他の金属 Zn, Cu, Cd, Pbについてはいずれも低濃度で、水質基準以下であった。

◦生物相の変化について

上層以外では、藻類の数は少数のためクロロフィルaの値も小さい。成層期には上層で増加するが、下層では嫌気状態のため原生動物が見出される程度である。

優占種はケイ藻の他に緑藻類が見出され、K池と比較して多様性の大きいことが特徴的である。

淡水赤潮の原因生物である Peridium が見出されており、制限要因の増加により大増殖の可能性も考えられる。

まとめ

1. 島しょ部ため池

(1) 間欠式空気揚水筒の設置により、原水中のかび臭は消失し生息する藻類の優占種も藍藻類からケイ藻類へと変化し、臭気もカビ臭から藻臭へと変化し、浄水中に異臭は発生せず、問題となることがなくなった。

(2) ため池内の水質は完全混合状態となり、上中下層での垂直分布はみられない。

(3) ため池では、栄養塩は過飽和状態にあり、底泥への蓄積が着実に進んでいている。そのため水質管理においては、底質からの溶出を抑える対策が適切と推察される。

(4) 臭気度、藻類数、環境条件の間には、明確な閾値関係は見られないので、今後は藻類の培養等により臭気発生生物、非発生生物の分類を行う必要がある。

2. 陸地部大貯水池

(1) 富栄養化は未だ進展しておらず、中~貧栄養状態にある。異臭味も発生していない。

(2) 春から秋にかけて成層を形成し、中層から下層にかけては貧酸素がもたらす嫌気的寡縛気による現象が生じている。

(3) 流入河川には、栄養塩類、汚濁成分は少なく、供給量は貯水池容量に比して小さいためPの蓄積量は少ない。

(4) 底質には、栄養塩が着実に蓄積されている。底質からの溶出を抑える方策を施す必要性が示唆される。

(5) 生物相は多様性に富んでおり、数は小数であるが淡水赤潮の原因生物も存在しているので、継続的な生物相の把握が必要である。

3. 兩貯水池の比較を行うことにより、異臭味発生の原因としては、特定の原因生物(藻類)の増殖に必要な環境の充足が挙げられる。また栄養塩が制限量以上存在し、池内循環がなく嫌気的寡縛気が保たれることが必要である。

そのため水質管理においては、流入水の汚濁制御を行うとともに、池内では底質からの溶出防止対策として、底質のしゅんせつ・深層ばく気などが必要であり、栄養塩及び生物相の常時監視がそのために有効な情報をもたらす。

今回の調査結果は、県下の類似する貯水池についても適用して、今後の飲料水の安定供給を図るための基礎資料となるものと思われる。

文 献

- 1) 真木強他：愛媛衛研年報, 36, 16-20 (1974)
- 2) 生活環境審議会(厚生大臣諮問機関)「高普及時代を迎えた水道行政の今後の方向について」(1985)
- 3) 厚生省生活衛生局水道環境部長通知：衛水106号(1985.6.1)
- 4) 佐伯有常他：用水と廃水, 16, 6, 12-18 (1974)
- 5) 社団法人日本水質汚濁研究協会編：湖沼環境調査指針, 221-243 (1982)

愛媛県内の水道水中の無機成分の調査

篠崎由紀 石丸尚志 大瀬勝 中島庄一

はじめに

従来水道水については、水道事業者により、水道法に基いた定期的な水質検査と、適切な維持管理が行われ、安全で良質な飲料水が供給されている。

しかし近年になって異臭味等、水道原水の汚濁の進行が各地で危惧される一方、おいしい水や健康に良い水に対する人々の関心が高まってきている。

また飲料水中の無機成分と人の健康に関しては、従来から疫学的な調査が種々なされ、脳卒中・心臓疾患成人病等、またそれら死亡率との間に深い関係があることが指摘されてきた¹⁾²⁾。

それらのことと鑑み、当所では、昭和58年から3カ年に渡り、県内各水道水の特性を明らかにし、

今後、愛媛の水道水のデータベースとなるよう、調査を実施したので報告する。

調査方法

県下68市町村の299の上水道及び簡易水道について、昭和58年11月から昭和61年3月の3カ年に渡り、調査を実施した。今回の調査水道施設の給水人口が、各市町村の全給水人口の80%以上となるように施設を選定し、採水地点は原則として水道事業者が、定期検査を実施している、末端給水栓とした。

分析項目は、25項目であり、分析方法とともに表1に示している。

表1 分析結果と分析方法 (単位mg/l)

項目	平均値	最大値	最小値	標準偏差	分析方法
PH	7.0	8.4	5.9	0.42	比色法
総硬度	60.7	282.0	8.0	33.99	EDTA法
蒸発残留物	117	564	24	67.36	重量法
SiO ₂	14.2	39.3	5.30	5.36	モリブデン青法
Na	9.5	70.4	1.6	8.38	炎光光度法
K	1.1	5.1	ND	0.86	炎光光度法
Ca	17.4	93.1	2.0	10.24	EDTA法
Mg	4.1	15.6	ND	2.81	EDTA法
Cℓ	12.0	129.6	1.8	13.36	モール法
CO ₃	25.0	90.5	2.9	12.72	中和滴定法
SO ₄	17.6	103.3	ND	14.66	EDTA法
NO ₃ -N	1.5	10.1	ND	1.71	吸光光度法
F	0.08	0.9	ND	0.15	アリザリンコンプレクソン法
B	0.02	0.22	ND	0.03	クルクミン法
Fe	0.04	0.70	ND	0.07	原子吸光光度法
Zn	0.032	0.41	ND	0.06	原子吸光光度法
Cu	0.007	0.16	ND	0.01	原子吸光光度法
Pb		0.024	ND		原子吸光光度法
Cd		ND	ND		原子吸光光度法
T-Cr		ND	ND		原子吸光光度法
T-Hg		ND	ND		還元気化法
As		ND	ND		グッドツァイト法
T-P		0.127	ND		モリブデン青法
Mn		0.140	ND		原子吸光光度法
Se		ND	ND		螢光光度法

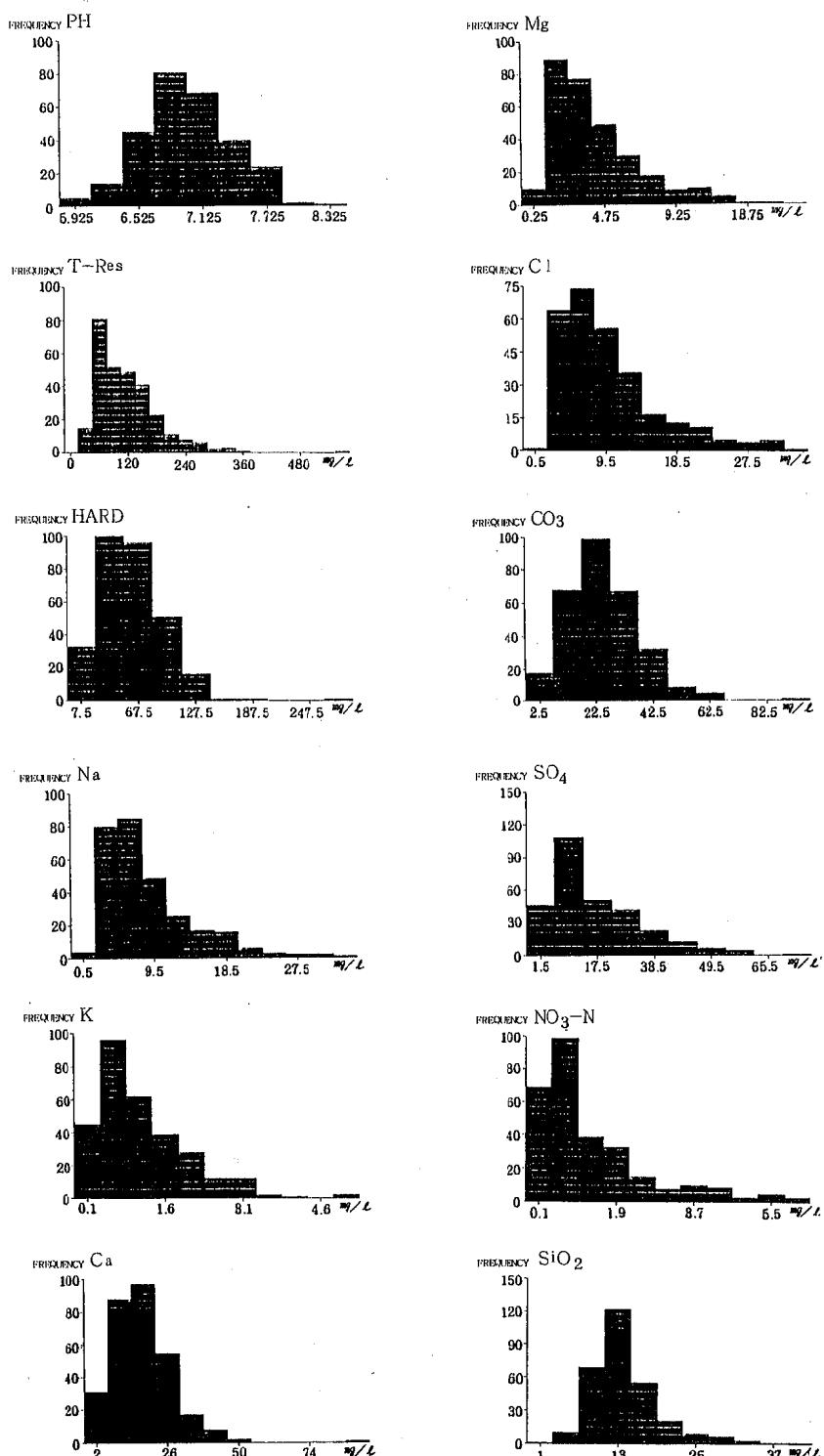


図1 水道水中の無機成分のヒストグラム

結果と考察

各分析項目の最大値、最小値、平均値、標準偏差を表1に、そのヒストグラムを図1に示した。なお299水道水の分析結果は表3に示した。

1. 各分析項目について

(1) PH

平均値は7.0で全国平均値³⁾(昭和55年全国地方衛生研究所集計値、以下同じ)7.0と同じ値を示しており、その範囲は、5.9~8.4であった。すべて水質基準(5.8~8.6)に適合している。

(2) 総硬度

平均値は 60.7mg/l で、その範囲は、 $8.0 \sim 282.0\text{mg/l}$ であった。水道法の基準(300mg/l 以下)を越えているものはなかった。

Threshの硬度による分類⁴⁾によれば、極めて軟水(50mg/l 以下)は42.8%,かなり軟水($50\sim100\text{mg/l}$)は46.2%を占め 100mg/l 以上の硬水側は33件で11%を占めるのみであり、高縄半島沿岸部とその島しょ部に多く見られた。

(3) 蒸発残留物

平均値は 117mg/l でその範囲は $24\sim564\text{mg/l}$ であった。最高値を示した水道は、総硬度でも最高値を示し、島しょ部の花こう岩地帯に水源を持ち、地質的な要因が大きいものと考えられる。平均値は、全国平均値 126mg/l より低い値を示している。

(4) SiO₂

平均値は 14.2mg/l でその範囲は $5.30\sim39.3\text{mg/l}$ であり、全国平均値の 20.7mg/l に比較し、低い値を示している。

(5) Na

平均値は 9.5mg/l でその範囲は、 $1.6 \sim 70.4\text{mg/l}$ である。全国平均値の 12.6mg/l に比較して低い値を示している。

(6) Cl

平均値は 12.0mg/l でその範囲は $1.8 \sim 129.6\text{mg/l}$ であり、水質基準である 200mg/l を越えるものではなく、全国平均値 16.7mg/l に比べて低い値を示している。海水影響が考えられる島しょ部、海岸線地域で高く、山間部では 10mg/l 以下の低い値が目立っている。

(7) K

平均値は 1.1mg/l で、全国平均値 1.8mg/l にくらべ低い値を示し、その範囲は $ND(0.1\text{mg/l}) \sim 5.1\text{mg/l}$ である。

(8) Ca

平均値は 17.4mg/l で、全国平均値 15.0mg/l より高い値を示し、その範囲は $2.0 \sim 93.1\text{mg/l}$ である。

(9) Mg

平均値は 4.1mg/l で、全国平均値 4.0mg/l とはほぼ近い値を示し、その範囲は $ND(0.1\text{mg/l}) \sim 15.6\text{mg/l}$ である。

(10) CO₃

平均値は 25.0mg/l であり、その範囲は $2.9 \sim 90.5\text{mg/l}$ である。

(11) SO₄

平均値は 17.6mg/l でその範囲は $ND(0.2\text{mg/l}) \sim 103.3\text{mg/l}$ である。全国平均値 15.6mg/l より高い値を示し、島しょ部あるいは平野部で高い値が多くみられる。

(12) NO₃-N

平均値は 1.5mg/l でその範囲は $ND(0.01\text{mg/l}) \sim 10.1\text{mg/l}$ で水道法基準(10mg/l)を越えるものが1件検出された。全国平均値の 1.24mg/l に比較して高い値を示している。

(13) F

平均値は 0.08mg/l でその範囲は $ND(0.05\text{mg/l}) \sim 0.9\text{mg/l}$ である。水源を広島花崗岩類を主要岩石とする領家帶⁵⁾にもつ、高縄半島や島しょ部では全域で 0.1mg/l 以上の値を検出し、水道法の基準を越えるものが1件あった。

(14) B

その範囲は $ND(0.005\text{mg/l}) \sim 0.22\text{mg/l}$ の範囲であった。

(15) Fe

$ND(0.01\text{mg/l}) \sim 0.70\text{mg/l}$ の範囲であり、水道法の基準 0.3mg/l を越えたものが5件あった。

平均値は 0.04mg/l で全国平均値 0.036mg/l とはほぼ近い値を示している。

(16) Zn

平均値は 0.032mg/l で範囲は $ND(0.003\text{mg/l}) \sim 0.41\text{mg/l}$ であり、全国平均値 0.0357mg/l とはほぼ近い値を示している。 0.1mg/l 以上を示したものが、全体の7.4%ある。

(17) Cu

平均値は 0.007mg/l で、範囲は $ND(0.001\text{mg/l}) \sim 0.16\text{mg/l}$ であった。全国平均値の 0.0046mg/l に比較してわずかに高い値を示している。

(18) Pb

範囲は $ND(0.001\text{mg/l}) \sim 0.024\text{mg/l}$ であり、検出率は22.6%である。

(19) T-P

範囲は $ND(0.06\text{mg/l}) \sim 1.27\text{mg/l}$ であり、検出率は22.6%である。

表2 水道水源別の分析値

(単位mg/ℓ)

区分	地表水				地下水				混合水			
	最大値	最小値	平均値	標準偏差	最大値	最小値	平均値	標準偏差	最大値	最小値	平均値	標準偏差
PH	8.4	6.0	7.1	0.38	7.7	5.9	6.7	0.31	7.6	6.0	7.0	0.41
総硬度	282.0	8.0	50.0	31.15	159.0	21.2	76.4	29.24	185.0	30.9	82.3	42.58
蒸発残留物	564	24	91	54.42	347	50	159	66.47	264	74	151	57.81
SiO ₂	27.5	5.3	12.9	3.87	39.3	5.5	16.6	6.9	21.5	8.6	15.0	3.18
Na	60.8	1.6	7.2	6.56	70.4	1.7	13.3	10.18	24.3	4.1	11.7	5.56
K	3.9	ND	0.8	0.69	5.1	0.4	1.7	0.88	2.7	0.3	1.3	0.59
Ca	93.1	2.0	14.5	9.764	45.1	5.6	21.7	8.4	53.9	9.1	23.7	13.27
Mg	12.1	ND	3.3	2.24	15.6	1.3	5.4	3.03	12.3	1.5	5.7	3.44
Cl	129.6	1.8	9.5	12.25	107.6	3.3	16.3	14.98	31.6	3.9	13.7	7.71
CO ₃	63.2	2.9	21.9	11.46	60.1	8.5	28.7	11.17	90.5	13.9	36.0	20.16
SO ₄	103.3	ND	12.6	11.58	88.5	4.1	26.1	16.01	51.3	7.1	22.0	11.95
NO ₃ -N	5.7	ND	0.8	0.82	10.1	0.2	2.7	2.25	5.6	0.6	1.9	1.40
F	0.5	ND	0.05	0.10	0.9	ND	0.12	0.20	0.4	ND	0.11	0.14
B	0.15	ND	0.02	0.03	0.22	ND	0.03	0.03	0.03	ND	0.01	0.85
Fe	0.70	ND	0.03	0.07	0.56	ND	0.04	0.08	0.06	ND	0.03	0.02
Zn	0.410	ND	0.032	0.06	0.375	ND	0.035	0.06	0.096	ND	0.020	0.02
Gu	0.05	ND	0.004	0.005	0.16	ND	0.01	0.016	0.03	ND	0.01	0.009
Pb	0.024	ND			0.007	ND			0.001	ND		
Cd	ND	ND			ND	ND			ND	ND		
T-Cr.	ND	ND			ND	ND			ND	ND		
T-Hg	ND	ND			ND	ND			ND	ND		
As	ND	ND			ND	ND			ND	ND		
T-P	0.18	ND			0.41	ND			1.27	ND		
Mn	ND	ND			ND	ND			ND	ND		
Se	ND	ND			ND	ND			ND	ND		

(2) Mn

範囲はND(0.01mg/ℓ)～0.14mg/ℓであり、検出率は11.2%である。

(2) Cd, T-Cr, T-Hg, As, Se

これら5項目は、すべて検出されなかった。

2. 原水の違いによる水質

次に299水道施設の原水の内訳は、海水淡水化プラント1施設を除いて、地表水181ヶ所、地下水99ヶ所、その他混合しているものが18ヶ所の3グループに大きく分類できる。各グループごとの分析値は表2のとおりである。

PHについてみると、地表水を原水とする水道水は平均値は7.1、その範囲6.0～8.4であり、地下水(平均値6.7、範囲5.9～7.7)に比べ低い値を示している。

またその他の項目の平均値は、すべて地下水が高い値を示している。地中では、溶解作用が促進される⁶⁾といわれており、今回の調査結果もそのことを示唆し

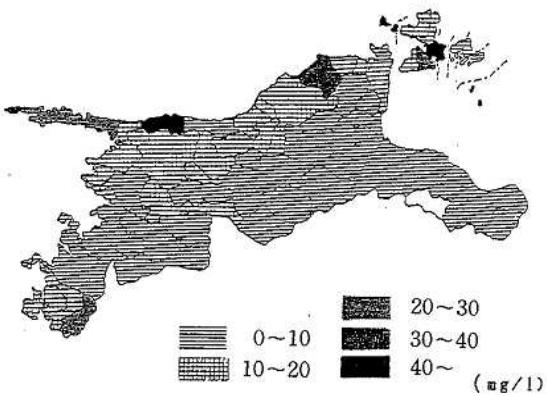
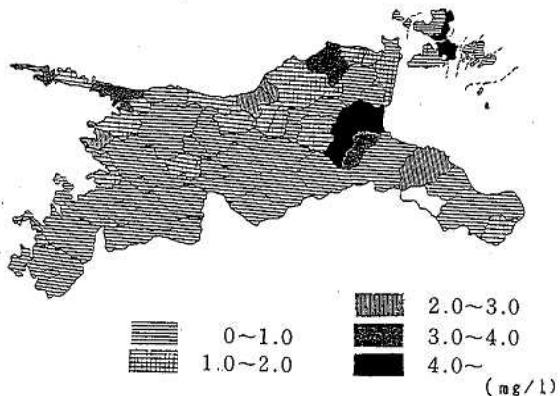
ており、水道水が原水の影響を受けているものと考えられる。なお混合水は、ほとんどのものが、両者の値の間にあり、やや地下水に近い値を示している。

3. 市町村別の無機成分の分布

県内の水道水の地域特性をみるために、市町村の代表値を求めた。このことについては前報⁷⁾により報告したので、その方法に基づき、今回はClとNO₃-Nについての市町村別濃度分布を図2～3に示している。

Clについては、関前村・伯方町・長浜町で40mg/ℓ以上の値を示し、伊予灘に臨む市町村、島しょ部及び南宇和の地域で10～40mg/ℓの分布になる。東予地方から山間部にかけては、10mg/ℓ以下の低い値を示した。

NO₃-Nについては、伯方町、上浦町、丹原町で4mg/ℓを越える値を示し、南宇和郡、松山周辺地域、東予地域等で3.0～4.0mg/ℓの値がみられる。果樹栽培や農耕の盛んな地域で、高い濃度分布が見られる。



まとめ

愛媛県下の水道水中の無機成分濃度を把握するため、末端給水栓 299ヶ所から採水し、分析を実施した結果、次のことが明らかになった。

1. 今回、分析を実施した 25 項目の無機成分のうち Ca , $\text{NO}_3\text{-N}$ は全国平均値と比較すると高い値を示しまた SiO_2 , Na , K , Cl は低い値を示した。
2. 地下水を原水とする水道水は、地表水を原水とする水道水に比較し、PH以外の項目について、いずれも高い値を示した。
3. 水道水中の Cl , $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の地域特性について検討するため、各市町村における代表値をみると、比較的高い値を示す市町村は、海岸線に位置していた。
4. F , $\text{NO}_3\text{-N}$, Fe については、水道法に基づく水質基準に抵触するものがみられたが、これらの項目はいずれも、地形、地質等の地域属性が強く、各地域の実情に応じた対処が必要であると考えられる。
5. Cd , T-Cr , T-Hg , As , Se はすべて検出限界以下であった。

以上、県内水道水中の無機成分濃度の把握を検討し

た。今後、今回の調査結果は、水道水の適切な維持管理あるいは、健康と飲料水との関係等について考察するにあたり、有効な基礎データとして活用できるものと思われる。

本調査にあたり、市町村及び保健所の水道担当者の方々に多大のご協力をいただいたことを、深謝するとともに、公害技術センター菊田主任研究員、今治中央保健所田頭主査及び、県環境保全課芝主査ら前環境科職員により、この結果が得られたことを申し添えます。

文 献

- 1) 小林純：水の健康診断、岩波書店（1973）
- 2) 橋本継他：水処理技術、26, 8, 9-12 (1985)
- 3) 地方衛生研究所全国懇親会：健康と飲料水中の無機成分に関する研究、昭和57年3月
- 4) 厚生省環境衛生局水道環境部監修：上水試験方法 日本国水道協会（1978）
- 5) 永井浩三他：愛媛の地質、有限会社トモエヤ（1967）
- 6) 半谷高久：水質調査法、丸善（1982）
- 7) 芝信明他：60年度愛媛衛研年報、47, 19-22 (1986)

表 3 水道水中の無機成分析結果

シグマ	アイトウ	シーラウ	シーケンス	PH	HARD	T-Resin	O2	Na	K	Ca	Mg	T-I	C1	C03	S04	N03	F	B	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd	T-Cr	T-Hg	As	T-P	Mn	Se		
アダチカツチ・アキラ	40314	27.9	96.7	136	13.5	4.72	0.8530	28	5.142	156	5.6052	44	8.50	0.5780	10.13	0.0056	0.1470	0.0040	0.002	0	0	0	0	0.12	0	0	0	0	0		
アカハラ	38914	27.5	96.5	75	9.6	2.86	0.4417	54	3.101	266	4.9725	10.82	3.99	0.0050	0.0050	0.0020	0.0020	0.0020	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
ヒカル	32714	27.6	94.0	64	9.2	2.58	0.3616	75	2.961	150	4.3325	4410	33	0.44	0.05	0.005	0.0050	0.0030	0.001	0	0	0	0	0	0	0	0.17	0	0		
ヒカル	18514	27.9	112.3	138	15.0	3.40	0.6230	70	8.672	408	5.8256	9.111	110	1.06	0.050	0.070	0.030	0.0300	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	18514	27.4	38.6	60	13.5	2.76	0.35	9.56	3.590	901	4.1917	31	8.31	0.23	0.05	0.005	0.0050	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
ヒカル	15914	27.4	27.5	66	13	8	3.92	0.36	7.19	2.320	729	5.5311	10	7.49	0.75	0.050	0.050	0.050	0.0300	0.0040	0.002	0	0	0	0	0	0	0.09	0	0	
ヒカル	15914	27.8	85.9	141	19.2	5.07	0.28	4.44	3.621	954	6.1738	9.713	26	2.46	0.050	0.070	0.01	0.01	0.0040	0.0040	0.001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ヒカル	11014	27.5	74.8	107	13.5	4.76	0.6325	67	2.61	1719	5.1138	7.719	31	0.32	0.05	0.050	0.050	0.02	0.0230	0.0030	0.001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ヒカル	0	0.7	6.6	85	13.5	3.51	0.4817	56	3.651	341	5.1029	4.010	37	0.48	0.050	0.120	0.0630	0.005	0	0	0	0	0	0	0	0.18	0	0			
ヒカル	0	0.7	0.35	62	17.4	3.56	0.3611	34	1.630	864	5.8115	356	6.72	0.99	0.050	0.100	0.050	0.006	0	0	0	0	0	0	0	0.17	0	0			
ヒカル	0	0.7	30.9	70	13.6	3.37	0.4114	99	3.281	175	4.5445	156	7.97	0.54	0.05	0.005	0.005	0.006	0.001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	12	0.6	5.74.4	123	15.1	9.25	2.0020	12	5.881	9.4114	8.892	2.59	0.050	0.03	0.0050	0.0030	0.003	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	12	0.6	7.85.0	136	16.1	110.25	1.9423	41	4.472	9.615	6.6028	2.028	63	2.17	0.10	0.080	0.040	0.010	0.006	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ヒカル	12	0.7	2.91.1	115	10.4	14.75	2.0122	29	5.592	5.1416	7.735	3.330	37	2.07	0.050	0.150	0.025	0.0030	0.007	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ヒカル	12	0.6	7.82.0	124	19.8	10.0	1.9322	44	6.322	12.412	7.630	0.0228	43	1.96	0.050	0.030	0.030	0.0070	0.004	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0	0		
ヒカル	12	0.6	6.71.2	109	13.7	8.50	1.9720	44	4.911	8.4414	1.822	7.422	32	2.61	0.050	0.060	0.040	0.0100	0.0060	0.014	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0	0	
ヒカル	12	0.6	6.71.8	112	19.5	8.50	1.9119	96	5.351	8.8712	9.024	8.4423	44	2.22	0.050	0.100	0.010	0.0080	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0	0		
ヒカル	12	0.6	6.61.8	88	15.1	5.75	1.7918	52	3.791	15.32	9.082	5.6221	52	1.75	0.50	0.04	0.055	0.0070	0.006	0.024	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ヒカル	12	0.6	4.62.0	97	16.5	7.60	1.8218	12	4.081	5.171	1.3422	0.8821	190	1.77	0.50	0.040	0.010	0.0070	0.005	0.003	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ヒカル	17912	0.6	8.31.2	49	13.7	4.85	0.78	7	3.110	8.54	7.3712	7.8	5.57	1.19	0.50	0.05	0.050	0.0030	0.005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	40314	27.0	1.8	99	15.4	10.35	1.8317	96	4.131	7.7315	6.6022	2.022	86	1.70	0.50	0.050	0.030	0.0120	0.006	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	14	27.0	31.9	54	14.0	3.15	0	8.34	2.600	767	4.4015	0.0	0.19	0.38	0.05	0.0050	0.700	1.100	0.004	0.001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ヒカル	14	27.2	35.6	62	16.5	4.45	0.10	9.0	2.040	9.08	4.9619	0.02	3.65	0	0.050	0.020	0.020	0.2100	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	154112	27.2	74.5	135	8.6	6.72	0.8417	68	7.391	1.8041	6.6232	7.7623	0.05	1.86	0.50	0.040	0.110	0.0220	0.005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	456112	27.2	71.6	127	8.6	5.55	0.701	55	6.761	5.691	8.923	4.022	19	1.61	0.50	0.050	0.030	0.0070	0.006	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	10871	27.4	33.2	103	11.7	7.08	0.7415	19	6.591	13	0.024	10.313	83	1.31	0.50	0.05	0.030	0.0060	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	6531	27.4	48.3	88	12.0	4.26	0.5615	87	5.741	5.157	8.793	0.0417	00	1.71	0.50	0.050	0.020	0.0030	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ヒカル	98115	07.2	59.2	103	12.8	4.38	0.3916	27	4.521	3.84	9.9623	4.017	0.00	0.60	0.05	0.0050	0.020	0.0050	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

(1) ジョウは上水道、カンは簡易水道、レイは条例水道を意味する。

(1) ジョウは上水道、

卷之三

深井戸水 21
地下水 2.
表流水 1.
ダム湖沼水 11

22 滴井水 12 河川水

卷之二

13 極水

14 溪水

15 潤水

（六）二十歲以後的智力發展：智力的發育在二十歲以後，

(3) テニダ申の〇ほ横田限界以下を懸床しつひとおりである。

K 0.01 :Mg 0.01 :SO₄ 0.2

E 0.05 : B 0.005 : Fe 0.005

Table 1. Summary of the results of the simulation study.

Zn 0.003 Cu 0.001. Fb 0.001

Cd 0.0005; T-Cr 0.005; T-Hg 0.0005

$$\Delta_2 = 0.0005 \cdot T - P \cdot 0.006 \cdot M_F - 0.001$$

AS 2003 : 11.08.1994 / 6

Se 0.002 (单晶)
Mg/ b)

SEP-PACK_{C₁₈}カートリッジによるカルバリルの定量

関谷 安正 西原伸江 島田喜文
森 喜一 中島庄一

はじめに

現在、カルバリルは食品衛生法で残留基準の定められている唯一のカーバメイト系農薬であり、残留基準は、野菜等16品目に対して、パレイショ0.1 ppm、その他の農作物1.0 ppmである。その定量法における精製は、有機溶媒で抽出したのち、シリカゲルやフローリジルを充填したカラムに供する方法が、主に用いられているが、この方法では、有機溶媒を多量に使用し、溶出時間も長くかかる欠点がある。

また、ガスクロマトグラフィー(GC)による分析¹⁾は、主に誘導体化法が行われるが操作は煩雑である。それに対し高速液体クロマトグラフィー(HPLC)²⁾³⁾は、操作が簡便で分析時間も短縮できるが、誘導体化法に比較して低感度であり、実際の試料について分析するには、試料により妨害物の影響を受け易く、定量が困難な場合がある。

近年、農薬の精製に簡便性、迅速性をはかるため、Sep-pak C₁₈ カートリッジ等のミニカラム⁴⁾⁻⁷⁾を用いる報告が多く見られる。

今回、我々はカルバリルの定量を残留基準のある16品目のうち、玄米等14品目についてSep-pak C₁₈ カートリッジを用い精製後、HPLCによる定量を検討したところ良好な結果を得たので報告する。

方法及び装置

1. 試料

残留基準のある16品目のうち14品目(キャベツ、ハクサイ、ホウレンソウ、大根、大根葉、玄米、夏みかん、夏みかん外果皮、ナシ、ブドウ、リンゴ、モモ、ミカン、パレイショ)すべて市販品を用いた。

2. 試薬

カルバリル標準原液(1000ppm)：カルバリル標準品(99%以上:和光純薬工業製)100mgをメタノール100mlに溶解した。標準液は適宜メタノールで希釈調製した。

各種有機溶媒: 残留農薬分析用

Sep-pak C₁₈カートリッジ: Water Assoc. 社製
使用前にメタノール5ml、水20mlの順に湿润洗浄
処理した。

3. 装置

高速液体クロマトグラフ:島津LC-3A型

ガスクロマトグラフ:島津GC-8A
ECD(⁶³Ni)

高速ホモジナイザー: ヤマト科学LK-21型

4. 分析操作

4.1 試料からの抽出

野菜・果実: 図1に示したとおり、細切した試料20gを遠沈管にとりエチルエーテル100mlを加え、3分間ホモジナイズした。遠沈後、残査にエチルエーテル80mlを加え同様に操作し、合わせた沪液を留去後、n-ヘキサン50mlで溶解し、5%NaCl溶液を加え振とう後n-ヘキサン層をとり、脱水、乾固しメタノール4mlで溶解し、試料溶液とした。

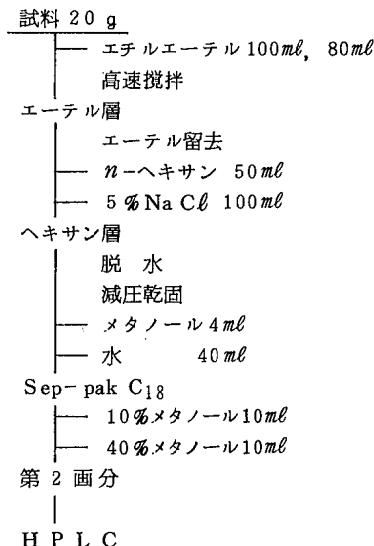


図1 カルバリルの試験法

玄米：粉末とした試料 20 g に水 10 mL を加え、温潤させた後エチルエーテル 100 mL で振とう抽出し、残渣にエチルエーテル 80 mL を加え、再度振とう抽出を行い以下、野菜と同様に処理し試料溶液とした。

4.2 試料溶液の精製

試料溶液に水 40 mL を加え、Sep-pak C₁₈ カートリッジに吸着させ、10%メタノール溶液 10 mL で洗浄後、40%メタノール溶液 10 mL で溶出させ、HPLC 用試験溶液とした。

4.3 HPLC 測定条件

カラム：Zorbax ODS(Φ4.6 mm × 25 cm)

移動相：メタノール-水 (1:1)

カラム温度：48 °C

流速：1 mL/min

検出波長：225 nm

感度：0.04 AUFS

注入量：20 μL

結果及び考察

1. 抽出溶媒の検討

抽出溶媒の種類について検討したところ、アセトン-ナ-ヘキサン混合溶媒では、抽出率は低くエチルエーテル、メタノール、ジクロルメタンでは、何れも抽出率は良好で差はなかったので、操作の容易なエチルエ

ーテルを用いた。しかし、エーテル抽出後、カートリッジに吸着処理すると図2のとおり夾雑物が多く溶出され定量困難であった。

また、厚生省法⁸⁾(Draft)によるアセトン抽出からジクロルメタンへ再抽出し、凝固液による精製後、カートリッジで処理しても夾雑物は、除去出来なかつた。

そこで、エーテル抽出後、エーテルを留去し n-ヘキサンで溶解し 5% NaCl 溶液で水洗することにより図3のとおり夾雑物は除去出来た。

2. Sep-pak C₁₈ カートリッジの溶出液の検討

カルバリル 5 μg を含む 10%メタノール溶液をカートリッジに通し、カルバリルを吸着させ溶出液のメタノール濃度を変え、各画分を分取し回収率を検討したところ図4に示したように 100%メタノール溶液では 2 mL で、カルバリルが 100% 溶出した。以下、カルバリル全量溶出するメタノール濃度は、50% 溶液で 6 mL、40% 溶液 10 mL、30% 溶液 20 mL、20% 溶液では、最初の 20 mL まで全く溶出されず全量溶出させるのに 80 mL 必要であった。また、10% 溶液では 300 mL でも全く溶出されなかつた。

以上の結果、メタノール濃度が高いほど溶出液は、少量で溶出されるが、実試料では 50% 以上になると夾雑物が溶出された。50% メタノール溶液では、大

図2 エーテル抽出後直接カートリッジ処理した大根のクロマトグラム

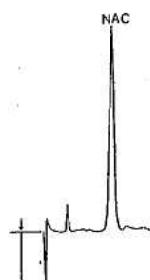


図3 大根のクロマトグラム

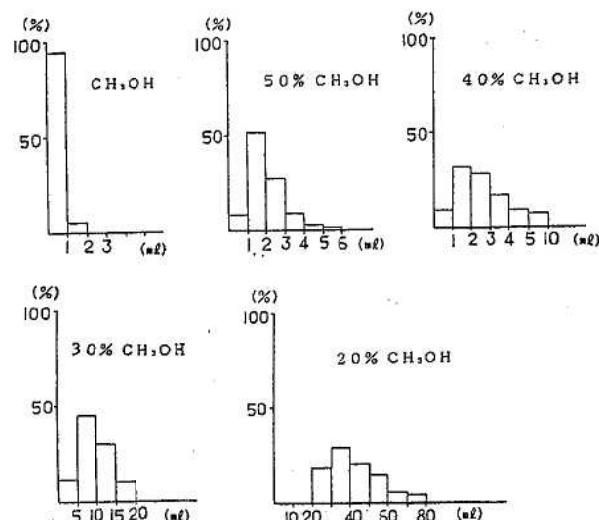


図4 メタノール濃度と溶出率の関係

根、キャベツ、ハクサイは夾雑物が溶出されそれ以外の試料では夾雑物は溶出されなかった。40%メタノール溶液は、今回使用したすべての試料に夾雑物が溶出されず、また、回収率も50%メタノール溶液で92%，40%メタノール溶液で94%であったので、溶出液には40%メタノール溶液の使用が最適であった。

3. 精製溶液のガスクロマトグラフィーへの適用

Sep-pak C₁₈ カートリッジにより精製したHPLC用試験溶液をGC(TFA化)による分析への適用について検討した。

図1に示したとおり処理したHPLC用試験溶液を濃縮乾固し、エチルエーテル1mlに溶解し、無水トリフルオロ酢酸0.2mlを加え充分振とう後、密栓して暗室に室温で一夜放置した。次いで、これにヘキサン4mlを加えて充分振とうした後、水洗、脱水を行い希釈して、ECD-GCに注入したところ、従来のカラムクロマトグラフィーによる方法と同様に良好な結果が得られた。

GCの測定条件

カラム管：ガラス管(3mm×2m)

充てん剤：3%OV-17

カラム温度：200°C

注入口温度：280°C

検出器温度：280°C

キャリアーガス流量：窒素 50 ml/min

まとめ

大根等14品目にカルバリル5μg添加し、回収試験を行った結果、妨害となるピークはすべてに認められず回収率はいずれも90%以上であった。

図5に示したように、脂肪分の多い玄米も脱脂することなく容易に分析できた。

本定量法の検出限界は0.02 ppmである。

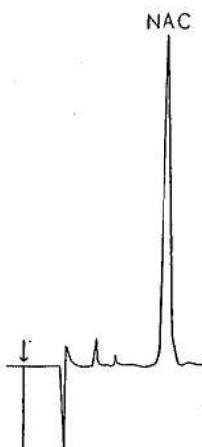


図5 玄米のクロマトグラム

今回の結果から、Sep-pak C₁₈ カートリッジを用いる本定量法は、多種類の試料についても適用でき、簡便性、迅速性のうえから効果的な方法であり、GC分析においても試料の精製に十分適用できた。

文 献

- 1) 後藤真康：残留農薬分析法，112-125 ソフトサイエンス社(1980)
- 2) J. F. Lawrence : J.A.O.A.C., 61, 872 (1978)
- 3) C. F. Aten : J. Agric. Food Chem., 25, 1362 (1977)
- 4) 角田紀子：衛生化学，29(4), 206 (1983)
- 5) 玉川勝美： 同上，32(3), 153 (1986)
- 6) 外海泰秀： 同上，33(3), 206 (1987)
- 7) R. J. Bushway : Journal of Chromatography, 211, 135 (1981)
- 8) 厚生省生活衛生局食品化学課：残留農薬分析法，29-34 (1986)