

3 調査研究

3・1 報 文

1) 熊本県内の日本脳炎ウイルス疫学調査について

大迫英夫 吉岡健太 戸田純子 日高直子^{※1}
原田誠也 西村浩一 鎌田龍星^{※2} 沢辺京子^{※3}

要 旨

ブタの日本脳炎ウイルス (JEV) の抗体調査の結果、本県における JEV 活動時期は主に 8 月～9 月であった。ブタと蚊から分離された JEV のエンベロープ遺伝子領域の系統樹解析で、韓国の蚊分離株 (2012 年) と熊本県のブタ分離株 (2009 年, 2010 年) の塩基配列が一致した。一方、大陸飛来性コガタアカイエカ (Ct) 調査の結果、3 個体が大陸型 Ct と判定された。また、Ct のミトコンドリア DNA の COI 遺伝子 PCR 産物の酵素処理後の切断パターンで日本型 Ct と大陸型 Ct の識別が可能であることが明らかとなった。

キーワード： 日本脳炎, ブタ, E 領域, コガタアカイエカ, CO I 遺伝子

はじめに

日本脳炎 (Japanese encephalitis : JE) は、主にコガタアカイエカ (*Culex tritaeniorhynchus* : Ct) によって媒介され、フラビウイルス科の日本脳炎ウイルス (*Japanese encephalitis virus* : JEV) によっておこるウイルス感染症であり、ヒトに重篤な急性脳炎をおこす。ブタが主な増幅動物である。ヒトの発病率は、100～1000 人に 1 人程度と考えられているが、いったん脳炎症状を起こすと、致死率は 20～40%前後と高く、回復しても半数程度は重度の後遺症が残るため、ワクチン接種や蚊の吸血を防ぐなどの感染防止対策が重要である。日本でのヒトの JE 発生は、近年、年間数名程度であるが、厚生労働省が実施している日本脳炎感染源調査では、西日本の多くの県で、夏場にブタでの JEV の新鮮感染が認められ、JEV の活動はいまだに活発である。また、2004 年から 2014 年までの都道府県別患者数は、熊本県が 10 名と最も多い状況である。

熊本県では、毎年 7 月～9 月にブタ血清の JEV 抗体検査を実施し、新鮮感染を示す 2-メルカプトエタノー

ル (2ME) 感受性抗体の検出と赤血球凝集抑制 (HI) 抗体保有率が 50%以上認められた時点で、県内に JE に対する注意喚起を行ってきたが、近年、注意喚起が患者発生後になる場合がある。

JEV はエンベロープ (E) 遺伝子領域で I～V 型に分類される。日本では 1990 年以前は III 型が主に検出されていたが、1990 年以降は I 型が主に検出されている。検出される主な遺伝子型が変化した原因は明らかにされていないが、海外の JEV 分離株と日本の分離株との比較から、なんらかの方法で海外から移入してきている可能性が指摘されている。その方法の一つとして JEV に感染した蚊が持ち込むことが考えられる。

近年、沢辺らの調査¹⁾により、ミトコンドリア DNA の *Cytochrome oxidase subunit I* (Co I) 遺伝子の解析により、中国大陸からの Ct 飛来が報告されている。

そこで、近年注意喚起が患者発生後になることから、県民に対して JE の適時的注意喚起の時期を科学的根拠に基づき見直すため、熊本県内での JEV

※1 現熊本県県南芦北振興局保健福祉環境部 ※2 山口大学共同獣医学部 ※3 国立感染症研究所

活動状況の調査を実施し、海外から JEV が侵入しているかを確認するため、大陸飛来性 Ct の JEV 保有の調査を行ったので報告する。

材料と方法

・**ブタ血清**：2009 年～2014 年の日本脳炎感染源流行予測調査事業で 7 月中旬～9 月上旬に週 1 回県内のと畜場で採取したブタ血清 1282 検体 (2011 年は 4 月～9 月) について、常法²⁾により HI 抗体価と 2ME 感受性抗体価を測定した。JEV 遺伝子検査は、ブタ血清から QIAamp ViralRNA Mini Kit で RNA を抽出し、cDNA 作成後、Real time PCR 法³⁾で行った。ウイルス分離には Vero9013 細胞を用いた。また、分離された JEV の E 領域の 1500 塩基について、シーケンス解析を実施した。

・**蚊の調査**：2012 年～2013 年 (期間：4～9 月に週 1 回 CO²トラップ設置時間：日没前～翌日午前中) に 3 か所の県内豚舎で捕獲された蚊約 23,000 個体 520 プール (捕獲場所と種類毎に 100 個体までを 1 プールとした) 及び 2013 年～2014 年の 7～9 月に熊本県農業研究センターに設置してある、稲の害虫であるウンカ類の飛来予測用ネットトラップで捕獲された蚊 13 個体を検査材料とした。JEV 遺伝子検査、ウイルス分離及び遺伝子解析はブタ血清と同様の方法で行った。さらに、国内型 Ct と大陸型 Ct を識別するため、ネットトラップ捕獲蚊は脚部から QIAamp DNA Mini Kit で DNA を抽出後、CO I 遺伝子をターゲットとした PCR⁴⁾を実施し、増幅産物の塩基配列を系統樹解析を実施した。また、大陸型 Ct が捕獲された日の風向をアメリカ海洋大気局 (NOAA) の HYSPLIT MODEL で確認した。さらに、大陸型 Ct の簡易識別法を検討するため、大陸型及び国内型 Ct の CO I 遺伝子 PCR 増幅産物に制限酵素 Hap II 及び Bcn I を 37℃30 分作用させ、切断パターンを比較した。

結果及び考察

・ブタ血清の JEV 抗体検査結果及び遺伝子検査結果

ブタ血清の JEV の HI 抗体陽性数、PCR 陽性数及び分離数を表 1 に示した。8 月～9 月に HI 抗体陽性数、PCR 陽性数及び JEV 分離数が多いことがわかった。JEV の新鮮感染を示す豚血清中の HI 抗体陽性率及び 2ME 感受性抗体陽性率を表 2 に示した。7 月の 3 回目以降の検査で 2ME 感受性抗体が認められ、遅くとも 3 回目以降の検査では、HI 抗体陽性率が 50% 以上になった。これらのことから、熊本県内では主に 7 月中旬以降から JEV の活動が始まり、8～9 月が最もブタ体内で

JEV が増殖する時期であることが分かった。一方、ブタの飼育地域別で HI 抗体陽性率を比較したところ、U 地域 (図 1-a) は 7 月下旬～8 月上旬には、HI 抗体陽性率が 50% 以上になるが、H 地区 (図 1-b) は年度によりバラツキはあるが、抗体は認められるが、抗体保有率が低い、又は抗体保有率が上昇する時期が 8 月下旬～9 月上旬になるなど、ブタの飼育地域毎で抗体価の推移に特徴が認められた (図 1)。西村ら⁵⁾は、2010 年 7 月～2011 年 3 月までのブタ血清中の JEV 抗体検査の結果から、ブタ飼育農場の豚舎構造などの飼育環境や周囲の環境の違いなどによる蚊の発生状況が JEV の抗体価の違いに影響していると推察している。今回の調査でも、U 地域と H 地域のように地域により、ある程度の JEV の活動時期に地域毎の流行パターンが認められ、豚舎周辺の環境要因が蚊の発生状況に影響し、JEV 抗体価の変動パターンに影響していることが推察された。

これらの調査結果を基に、熊本県の JE 注意喚起基準を U 地域のような JEV の HI 抗体陽性率が早期に上昇する地域のブタ血清を検査対象とし、従来基準 (2ME 感受性抗体の検出と HI 抗体陽性率が 50% 以上) から新基準 (HI 抗体陽性個体の確認又は JEV 遺伝子の確認した時) に変更した。

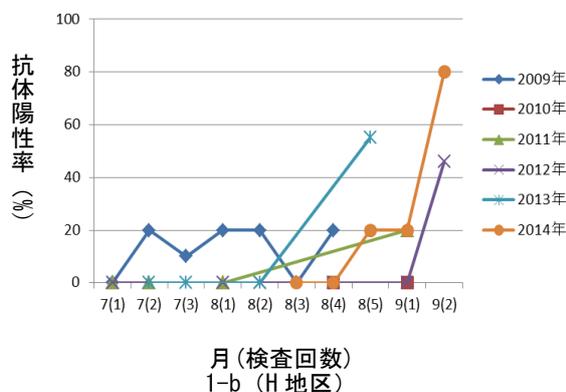
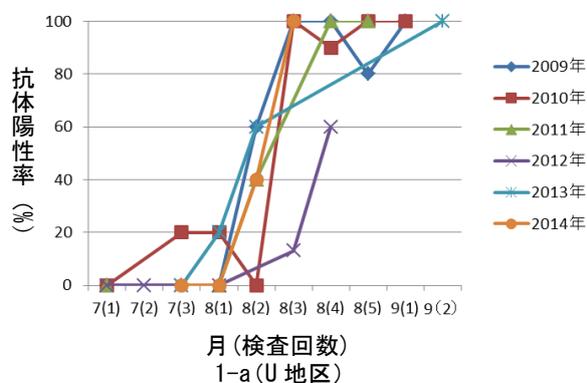


図 1 ブタ HI 抗体陽性率

・養豚場捕獲蚊の JEV 遺伝子検査結果

蚊は、約 22,700 個体採取され、そのうち約 20,000 個体が Ct であった(図 2)。月別では、8 月が最も多く全体の 58%を占めた(図 3)。PCR 検査は 520 検体検査し、28 検体が PCR 陽性となり、8 月に捕獲された 2 検体から JEV が分離された(表 3)。10 月までは Ct が捕獲されているが、10 月に JEV 遺伝子は確認されていない。Ct は秋以降に生まれた個体は、吸血及び繁殖行動が抑制されることが知られており、Ct が JEV を保有したまま越冬することは難しいと思われる。しかし、冬場でのブタの JEV 発生の報告⁶⁾や 12 月にイノシシから JEV が分離された報告⁷⁾もある。Ct が活動しない時期のこれらの事例には Ct 以外の蚊の関与が考えられた。

熊本県では JE 患者が 2004～2014 年までの間に、10 名発生しており、その発生時期は 8～9 月であり、ブタと蚊の JEV 活動状況と時期的に重なっている。原田ら⁸⁾は、熊本県での 2004～2010 年の自然感染率は 1.5%であると報告している。自然感染率は不明であるが、2010 年以降も熊本県内で、JE 患者が発生しているため、自然感染が持続していると思われる。

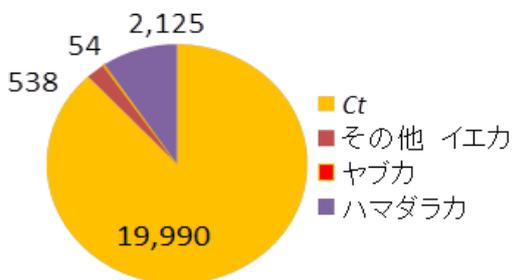


図 2 養豚場捕獲蚊の種類

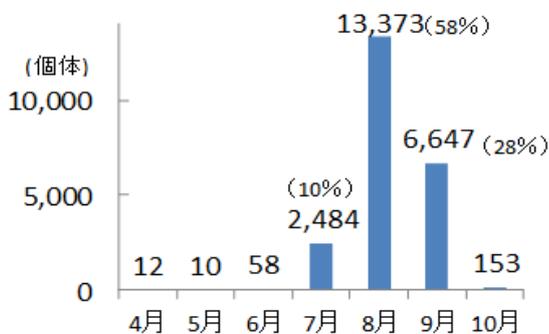


図 3 養豚場捕獲蚊の月別捕獲結果

・ネットトラップ捕獲蚊検査結果

ウシカ飛来予測用のネットトラップで、2013 年に 8 個体、2014 年に 5 個体の Ct が捕獲された(表 4)。これら 13 個体の JEV 遺伝子検査は陰性であった。一方、これらの CO I 遺伝子を系統樹解析した結果、2013 年の 7 月と 9 月の各 1 個体及び 2014 年 8 月の 1 個体が大陸型 Ct のクラスターに分類された(図 6)。大陸型 Ct 遺伝子を持つ蚊が捕獲された日の気流を確認したところ、2013 年 7 月と 2014 年 8 月は中国大陸南岸から、2013 年 9 月は朝鮮半島南岸からの気流があったことが確認された。沢辺らのグループの調査¹⁾でも、佐賀県や壱岐でこれら大陸型遺伝子を持つ Ct が確認されている。Ct は、蚊の中では飛翔能力が高いことが実験で証明されており¹⁾、気流にもよるが、大陸方面から飛来することは十分可能である。

大陸型 Ct 2 個体と日本型 Ct のクラスターに分類された蚊の CO I 遺伝子 PCR 産物(図 4)に制限酵素 Hap II 及び Bcn I を作用させると、大陸型 Ct のみ切断された(図 5)。Ct の CO I 遺伝子 PCR 産物を制限酵素処理することで、大陸型と日本型 Ct の識別が可能であることがわかった。制限酵素処理は遺伝子解析よりも、効率的に多検体処理が可能である。この制限酵素処理による飛来性 Ct の確認は多検体の遺伝子を確認する場合のスクリーニング方法として十分活用できると考えられた。

・JEV 分離株系統樹解析結果

ブタ及び蚊から分離された JEV の E 領域系統樹解析の結果、分離株は全て I 型であった。また、熊本県の蚊分離株 (Mo/kumamoto/284/2012) が韓国蚊分離株 (Mo/South Korea/2010/JN587259) と同じクラスターに分類され、E 領域の相同性は 99%であった。さらに、この韓国で蚊から分離された株と熊本県でブタから分離された株 (Sw/kumamoto/125/2010, Sw/Kumamoto/94/2009) の E 領域の塩基配列が一致した(図 7)。JEV はこれまでの多くの研究者の調査結果から、海外から侵入してくる JEV とその地域で感染環を形成している JEV がいると考えられる。JEV の海外からの飛来については、南方からの渡り鳥の調査⁹⁾が過去に行われているが、著しく高い中和抗体を認めた個体の報告はあるが、ウイルス分離までには至っていない。今回の調査で捕獲された大陸性 Ct の遺伝子を持つ Ct からは JEV 遺伝子は確認されなかったが、韓国の蚊から分離された JEV と熊本県内のブタから分離された JEV の E 領域が一致したこと、及び大陸型 Ct が県内で確認されたことから、JEV が国内に侵入してくるルートとして、JEV を保有した蚊が飛来してくる可能性も考えられた。

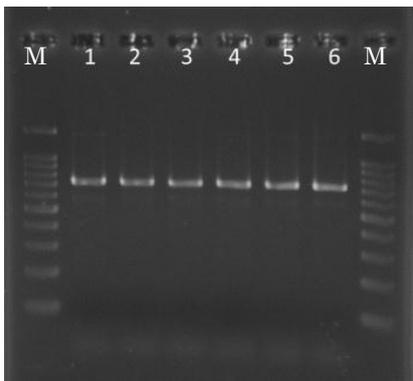
表3 養豚場捕獲蚊の月別 JEV 検査結果

月	2012		2013		合計	
	検体数 (PCR 陽性数)	分離数	検体数 (PCR 陽性数)	分離数	検体数 (PCR 陽性数)	分離数
4月			3(1)		3(1)	
5月			1(1)		1(1)	
6月	2		3(2)		5(2)	
7月	75		17(2)		92(2)	
8月	227(9)	1	50(8)	1	277(17)	2
9月	79(2)		35(3)		114(5)	
10月	19		9		28	
計	402(12)	1	118(16)	1	520(28)	2

表4 ネットトラップ蚊の捕獲結果

	7月	8月	9月	10月	計
2013年	3(1)	0	4(1)	1	8(2)
2014年	0	2(1)	1	2	5(1)

():大陸型 Ct



大陸型 Ct : 1, 2 日本型 Ct : 3, 4
 シナハマダラカ : 5 ユスリカ : 6 M: マーカー

図4 CO I 遺伝子 PCR 泳動結果

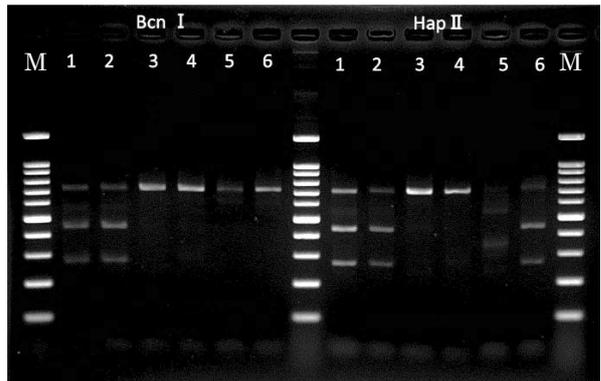


図5 CO I 遺伝子制限酵素処理後の泳動結果

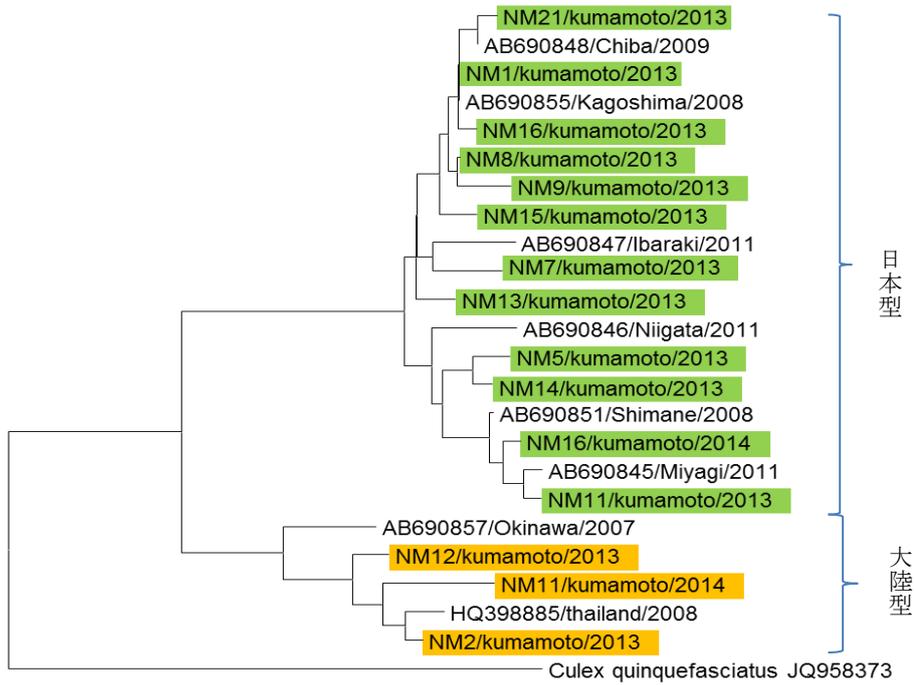


図 6 Ct の COI 遺伝子系統樹解析

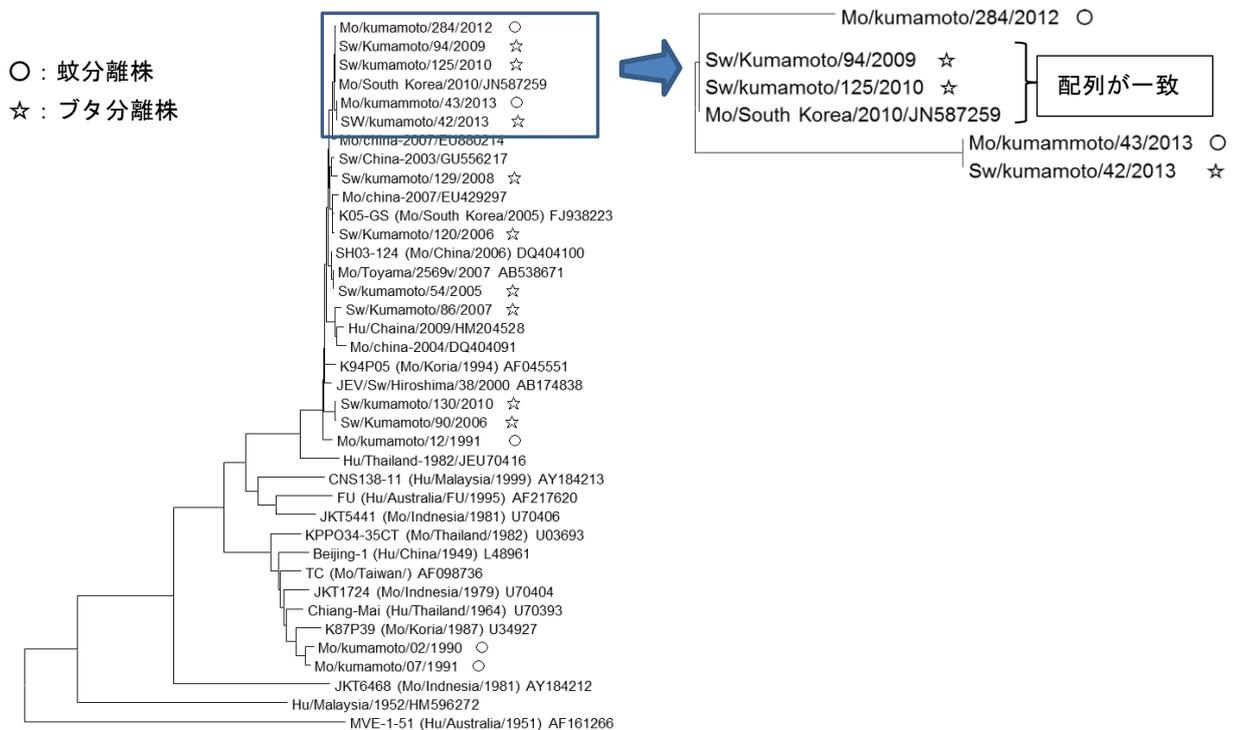


図 7 JEV の E 遺伝子領域の系統樹解析結果

まとめ

熊本県内では主に7月中旬以降から JEV の活動が始まり、8~9月が最もブタ体内で JEV が増殖する時期であることが分かった。ブタの JEV 抗体検査で、ブタの飼養地域毎で抗体価の推移に特徴が認められた。今回の調査結果を基に、熊本県の JE 注意喚起基準を JEV の HI 抗体陽性率が早期に上昇する地域のブタ血清を検査対象とし、従来基準（2ME 感受性抗体の検出と HI 抗体陽性率が 50%以上）から新基準（HI 抗体陽性個体の確認又は JEV 遺伝子の確認した時）に変更した。

分離された JEV の E 領域系統樹解析の結果、韓国蚊分離株（Mo/South Korea/2010/JN587259）と熊本県でブタから分離された株（Sw/Kumanoto/125/2010 Sw/Kumamoto/94/ 2009）の E 領域の塩基配列が一致した。

ネットトラップ捕獲 Ct の 3 個体が大陸型 Ct に分類され、熊本県内で大陸性 Ct 飛来を確認した。JEV 遺伝子はこれらから検出されなかったが、JEV の系統解析結果及びネットトラップ捕獲 Ct の結果から、JEV を保有した蚊が飛来してくる可能性が考えられた。また、Ct の CO I 遺伝子 PCR 産物に制限酵素 Hap II 及び Bcn I を作用させると、大陸型 Ct のみ切断されることから、制限酵素処理は、飛来性 Ct の確認のための、スクリーニング方法として十分活用できると考えられた。

文献

- 1)化学療法の領域：vol.30.No2.(2014)
- 2)厚生労働省：感染症流行予測調査事業検査術式（2002）
- 3)高崎智彦：厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）平成 20 年度分担研究報告書 81-84（2009）
- 4) Folmer O, et all , Molecular Marine Biology and Biotechnology. 1994;3:294-297
- 5)西村浩一，清田直子，原田誠也：熊本県保健環境科学研究所報 No40. (2010)
- 6)山西重機：日本獣医師会雑誌 48, p.803（1995）
- 7)冬季に捕獲されたイノシシからの日本脳炎ウイルスの分離 IASR.Vol. 30 p. 156-157: 2009 年 6 月
- 8)高崎智彦：厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）平成 20 年度~平成 22 年度 総合報告書 34-39（2011）
- 9) 旭興正：日本細菌学雑誌，8(3)，(1953)

2) LC/MS/MS を用いた畜水産物中動物用医薬品等の

迅速一斉分析法の検討(第3報)

松本理世 飛野敏明 西名武士 宇梶徳史 濱本愛 村川弘

要旨

マラカイトグリーン類及びテトラサイクリン系抗生物質を含む広範囲の畜水産物中動物用医薬品等の迅速一斉分析法の開発を目的として、ギ酸含有アセトニトリル及びエチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液による抽出後、LC/MS/MS を用いた定量分析法の検討を行った。

また、上記分析法について、15種類の畜水産物試料を用いて、妥当性評価ガイドラインに準拠した妥当性評価試験を行った結果、152成分中140～148成分が目標値に適合し、良好な結果が得られた。

キーワード：動物用医薬品等、LC/MS/MS、マラカイトグリーン類、テトラサイクリン系抗生物質

はじめに

本県では、食の安全・安心の確保に資するため、平成17年度からLC/MS/MSを用いた畜水産物中動物用医薬品等の一斉分析を開発¹⁾(以下、「従来法」という。))し、食品衛生法等に基づき収去検査等を実施してきた。

しかし、従来法では、水産物で検出頻度の高いマラカイトグリーン類(以下「MG類」という。))及び畜水産物で広く用いられているテトラサイクリン系抗生物質(以下、「TC類」という。))は、抽出効率等が十分でない場合が多く、別途個別分析法にて対応する必要があるため、これら一連の検査に約2～3日を要していた。

そこで今回、MG類及びTC類を含む広範囲の動物用医薬品等の迅速一斉分析法の開発を目的に、ギ酸含有アセトニトリル及びエチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液(以下、「EDTA含有クエン酸緩衝液」という。))による抽出後、精製操作を行わず、希釈した溶液をLC/MS/MSを用いた定量分析法(以下、「希釈法」という。))の検討を行った。

また、希釈法について、動物用医薬品等152成分を対象に「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」³⁾(以下、「ガイドライン」とい

う。))に準拠した妥当性評価を行ったところ、良好な結果が得られたので報告する。

実験方法

1 試薬等

1.1 標準品

標準品は林純薬工業製、関東化学製、和光純薬工業製、Dr.Ehrenstorfer GmbH製、Sigma-aldrich製、Riedel-de Haen 製を用いた。

1.2 混合標準溶液

各標準品を秤量し、メタノール、アセトン、アセトニトリル(一部ジメチルスルホキシド、水等を添加)に溶解後、混合したものに市販混合標準液(和光純薬工業製PL-1-3及びPL-2-1)を加え、さらにメタノール及び水でメタノール：水=9：1となるように希釈し、100ng/mLの混合標準溶液を調製した。

1.3 その他の試薬等

- ・メタノール：和光純薬工業製、HPLC用
- ・アセトニトリル：和光純薬工業製、HPLC用

- ・ギ酸：和光純薬工業製，LC/MS用
- ・酢酸アンモニウム：和光純薬工業製，試薬特級
- ・ろ過フィルター：GL Sciences 社製(0.2 μ m, 25N)
- ・ポリプロピレン製バイアル：GL Sciences社製
- ・EDTA 含有クエン酸緩衝液：クエン酸 21.0g を水に溶かして 1000mL とした(第 1 液)。リン酸二ナトリウム 71.6g を水に溶かして 1000mL とした(第 2 液)。エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 1.86g に第 1 液 307mL と第 2 液 193mL を加えて混和し，溶解した。

2 LC/MS/MS測定条件

LC：Nexera X2 (島津製作所社製)

- ・注入量：5 μ L
- ・分離カラム：GL Sciences 社製
InertsustainC18 PEEK (2.1 \times 150mm, 3 μ m)
- ・カラムオープン温度：40 $^{\circ}$ C
- ・移動相：A 液(水)，B 液(メタノール)，C 液(1%ギ酸)，D 液(250mM 酢酸アンモニウム)
- ・グラジエント条件：表 1 のとおり

MS/MS：TRIPLE QUAD5500(AB SCIEX 社製)

- ・イオン化法：ESI
- ・分析モード：sMRM(ポジティブ，ネガティブ同時取込み)

表 1 グラジエント条件

min	A(%)	B(%)	C(%)	D(%)	Flow (mL/min)
0	98	0	1	1	0.4
0.5	78	20	1	1	0.4
19.9	8	90	1	1	0.4
20	0	98	1	1	0.4
25	0	98	1	1	0.4
25.1	98	0	1	1	0.4
30	98	0	1	1	0.4

3 試料

試料には，分析対象の動物用医薬品等が含まれないことを確認したフグ，ブリ，ウナギ，ウナギ素焼き，エビ，コイ，タイ，ニジマス，牛肉，鶏肉，豚肉，馬肉，馬肝臓，牛乳及び鶏卵を，フードプロセッサーで細切し，以下の処理を行った。

3.1 添加回収試験用試料

3で均質化した試料5.0 g を100 mLPP遠沈管にとり，

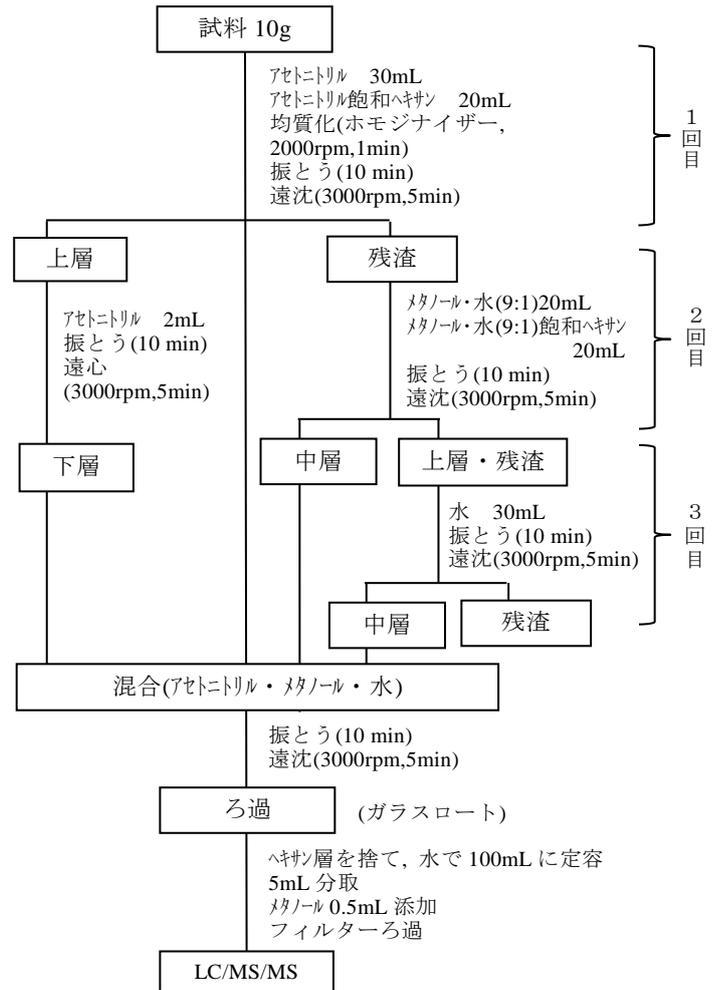


図 1 従来法分析フロー

混合標準溶液を0.01 μ g/gとなるように添加し，30分間静置したものを添加回収試験用試料とした。

3.2 妥当性評価試験用試料

3で均質化した試料5.0 g を100 mLPP遠沈管にとり，混合標準溶液を0.01 μ g/g(MG類については0.002 μ g/g)となるように添加し，30分間静置したものを妥当性評価試験用試料とした。

4 前処理法の検討

4.1 MG類抽出効率向上のための検討(ギ酸含有アセトニトリルを用いた抽出の検討)

従来法では，低極性動物用医薬品を対象としたアセトニトリル抽出(1回目抽出)及びメタノール抽出(2回目抽出)並びに高極性動物用医薬品を対象とした水抽出(3回目抽出)に加え，脱脂を目的としたヘキサンによる液-液分配を行ってきた(図1)。このため，MG類は抽出過程でのマラカイトグリーン(以下，「MG」という。)からロイコマラカイトグリーン(以下，「LMG」という。)への変換や分解⁴⁾及び脱脂過程でのヘキサンへの移行⁵⁾によ

り回収率が悪化したと推察された。

そこで、これらの問題を解決するため、従来法を基本とし、脱脂操作を除いたうえで、千葉らの報告⁴⁾を参考に、1回目及び2回目抽出にギ酸含有アセトニトリルを用いることとし、そのギ酸添加濃度の検討を行った。

4.2 TC類抽出効率向上のための検討 (EDTA含有クエン酸緩衝液を使用した抽出の検討)

上記のとおり、従来法ではTC類を含む高極性動物用医薬品を対象に、水抽出(3回目抽出)を行っていたが、いくつかの試料において、良好な回収率が得られなかった。これは、試料中の金属イオンとTC類がキレート⁹⁾を形成することにより、抽出効率の低下やLC/MS/MS測定における測定効率の低下等が起ることによると考えられた。

そこで、TC類のキレート形成を抑制することを目的に、通知試験法等⁶⁻⁹⁾を参考に従来法における3回目抽出にEDTA含有クエン酸緩衝液を用いることとし、その適用性を検討した。

4.3 その他 (PPバイアルの検討)

従来法では、畜水産物試料の種類によってニューキノロン系を含む数種類の動物用医薬品で検量線が2次式を描き、回収率が120%を超過するなど、回収率異常が起こることがあり、分析精度の面から問題があった。

これらの原因として、試験溶液充填バイアル中での分析対象物質の分解、吸着等¹⁰⁾が考えられたため、その対策として、ポリプロピレン製バイアル(以下「PPバイアル」という。)の適用性を検討した。

5 妥当性評価試験

5.1 妥当性評価方法

4の検討結果から作成した希釈法について、動物用医薬品等152成分を対象として、分析者2名、2併行5日間の添加回収試験を実施し、ガイドラインに基づき真度、併行精度及び室内精度の評価を行った。

5.2 希釈法

3.2の試料5.0gに0.2%または2%ギ酸アセトニトリル(フグ、ブリ、ウナギ、牛肉、鶏肉、豚肉、馬肉、馬肝臓、牛乳、鶏卵は0.2%、ウナギ素焼き、エビ、コイ、タイ、ニジマスは2%)15mLを加え、1分間ホモジナイズ(15000~20000rpm)する。これを、3000rpmで5分間遠心分離し、上澄みを50mLのメスフラスコ中にガラスロートを用いてろ過する。また、残渣に0.2%または2%ギ酸アセトニトリル10mLを加え、5分間振とうし、3000rpmで5分間遠心分離後、上澄みを先のメスフラスコにガラスロートを用いてろ過し合わせる。さらに、先の残渣にEDTA

含有クエン酸緩衝液15mLを加え、5分間振とうし、3000rpmで5分間遠心分離後、上澄みを先のメスフラスコ中にガラスロートを用いてろ過し合わせ、水を加え、正確に50mLに定容したものを試料抽出液とする。この試料抽出液2.5mLを正確に分取し、メタノール水混液(9:1)0.25mLを加え混和する。これを0.2µm非水系マイクロフィルターでろ過し、PPバイアルに充填したものを試験溶液とする。なお、検量線は、マトリックス試料からの抽出液2.5mLに、メタノール水混液(9:1)で希釈した、0.1, 0.5, 1, 5, 10, 40, 100 ng/mLの混合標準溶液0.25mLを加え、フィルターろ過したものを検量線用マトリックスマッチ標準溶液(0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 4, 10ng/mL)とする。

結果及び考察

1 前処理法の検討

1.1 MG類抽出効率向上のための検討 (ギ酸含有アセトニトリルを用いた抽出の検討)

MG類の抽出効率向上を目的に、1回目及び2回目抽出に用いる溶媒を検討するに当たり、まず、千葉らの報告⁴⁾に示された0.2%ギ酸含有アセトニトリルを用いた抽出によるMG類の添加回収試験を、MG類が使用される可能性のある水産物試料8種類(フグ、ブリ、ウナギ、ウナギ素焼き、エビ、コイ、タイ及びニジマス)を対象に行った。その結果、表2に示すとおり、LMGはすべての試料でガイドラインに示される回収率の目標値(70~120%、以下「回収率の目標値」という。)が得られたが、MGはいくつかの試料で回収率が50%前後と低く、この条件では水産物の種類によってはMG類の変換や分解が抑制できないと考えた。

そこで、広範囲の水産物においてMG類の変換や分解を抑制できる動物用医薬品等の一斉分析条件を検索するために、先の検討において、MGの回収率が特に低

表2 0.2%ギ酸含有アセトニトリル抽出における添加回収試験結果

ギ酸添加濃度	0.2%	
	MG	LMG
試料		
フグ	77.9	106.7
ブリ	84.4	100.2
ウナギ	89.7	103.2
エビ	47.7	97.6
コイ	50.9	98.7
タイ	61.6	95.3
ニジマス	65.5	97.8
ウナギ素焼き	54.9	103.5

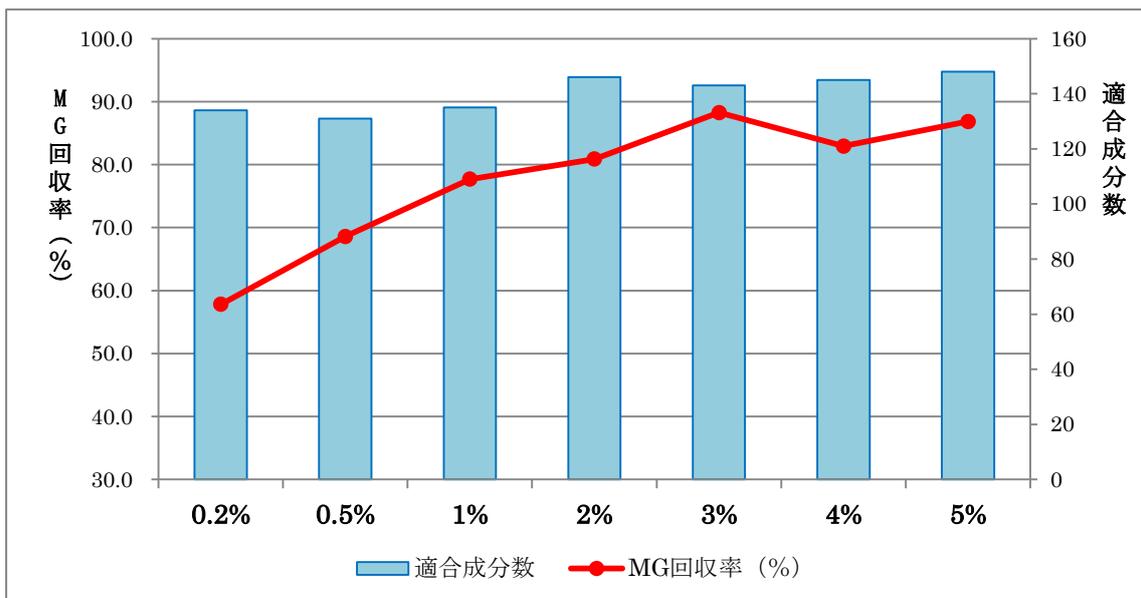


図2 ギ酸添加濃度の変化によるMG回収率と目標値適合成分数の比較

表3 0.2%及び2%ギ酸含有アセトニトリル抽出における添加回収試験結果の比較

ギ酸 添加濃度	0.2%		2%	
	MG	LMG	MG	LMG
試料				
フグ	77.9	106.7	93.1	146.6
ウナギ	89.7	103.2	108.9	—
ブリ	84.4	100.2	89	76.2
エビ	47.7	97.6	83.9	101.1
コイ	50.9	98.7	76.1	99.1
タイ	61.6	95.3	90.9	98.7
ニジマス	65.5	97.8	89.2	91.8
ウナギ素焼き	54.9	103.5	84.8	94.6

—：定量不能

かったエビ試料について、抽出溶媒に7濃度(0.2%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%)のギ酸含有アセトニトリルを用いて、MG類を含む動物用医薬品等152成分を対象とした添加回収試験(n=1)を実施した。その結果、図2のとおり、MGの回収率は、ギ酸添加濃度の上昇に伴い向上し、ギ酸添加濃度2%以上で回収率の目標値を十分に満たす結果が得られ、また、他の動物用医薬品等についてもギ酸濃度による回収率の低下等の影響がみられなかった。これらの結果に加え、ギ酸濃度の上昇による操作性や機器への影響等も考慮し、2%ギ酸含有アセトニトリルを用いた抽出により、MG類を含む動物用医薬品等の一斉分析が可能であると考えられた。

次に、エビ試料以外の水産物試料への適用性を調べるため、上記水産物試料8種類を用いたMG類の添加回

収試験(n=1)を実施した。その結果及び前述の0.2%ギ酸含有アセトニトリルを用いた抽出によるMG類の添加回収試験の結果比較を表3に示す。

表3に示すとおり、ギ酸添加濃度2%において、ブリ、エビ、コイ、タイ、ニジマス及びウナギ素焼きでは、MG類は回収率の目標値を満たす結果が得られたが、その他の水産物ではLMGが回収率の目標値を満たさなかった。また、ギ酸添加濃度0.2%においては、フグ、ウナギ及びブリでは回収率の目標値を満たす結果が得られたが、その他の水産物ではMGが回収率の目標値を満たさなかった。このように水産物の種類によって大きな差がみられた原因は、抽出過程でのMG類の挙動が非常に不安定であり、水産物中のマトリックス成分の差異により、MG類の変換や分解の起こりやすさが異なるためと推察され、単一の条件ではすべての水産物においてMG類の変換や分解を抑制できる一斉分析条件は困難であると考えられた。一方で、今回用いたすべての水産物において0.2%又は2%ギ酸含有アセトニトリル何れかでMG類が目標値を満たしたことから、水産物の種類によってギ酸添加濃度を選択することにより、MG類を含む動物用医薬品等の一斉分析が可能であることが示唆された。

以上のことから、1回目及び2回目抽出に用いる溶媒は、フグ、ウナギ、ブリについては0.2%ギ酸含有アセトニトリルを、また、エビ、コイ、タイ、ニジマス及びウナギ素焼きについては2%ギ酸含有アセトニトリルを選択することとした。

なお、畜産物(牛肉、鶏肉、豚肉、馬肉、馬肝臓、牛

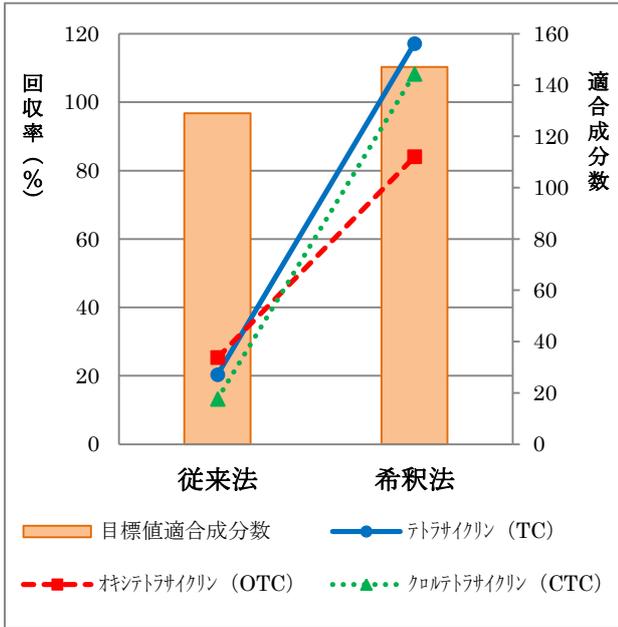


図3 従来法と希釈法における目標値適合成分数及びTC類の回収率の比較

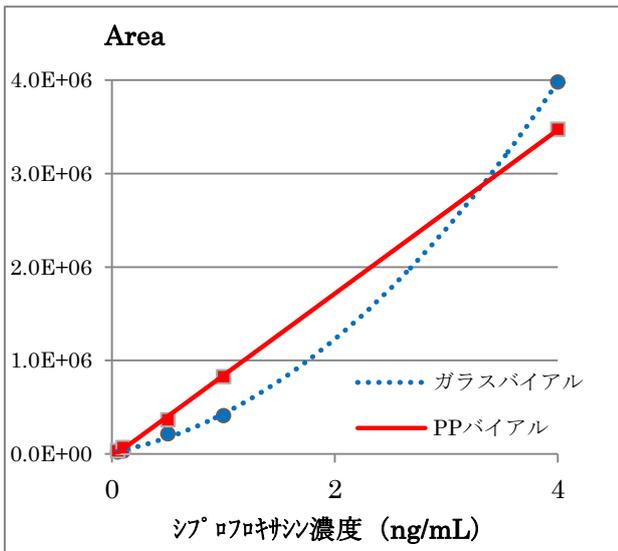


図4 充填バイアルの違いによるニューキノロン系動物用医薬品(シプロロキサシン)の検量線の変化

乳及び鶏卵)については、MG類の検査の必要性が低いことから、0.2%ギ酸含有アセトニトリルを選択した。

1.2 EDTAを使用した抽出の検討

EDTA含有クエン酸緩衝液の適用性を確認するため、従来法においてTC類の回収率が特に低かった鶏卵試料を用い、TC類を含む動物用医薬品等152成分を対象に、従来法における3回目抽出に、EDTA含有クエン酸緩衝液を用いた方法にて添加回収試験を実施し、従来法での添加回収試験結果との比較を行った。その結果、図3のとおり、EDTA含有クエン酸緩衝液を用いることにより、TC類の回収率が大幅に上昇し、また、他の動物用

医薬品等についてもEDTA含有クエン酸緩衝液を用いたことによる回収率の低下等の影響がみられず、その適用性が確認できた。

1.3 その他(試験溶液充填バイアルの検討)

試験溶液充填バイアル中での分解、吸着等の影響を調べるため、各濃度(0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 4, 10ng/mL)の混合標準溶液を作成し、ガラスバイアル及びPPバイアルに充填し、それぞれLC/MS/MSに5μl注入し検量線を作成し比較した。その結果、図4に示すとおりガラスバイアルでは一部のニューキノロン系動物用医薬品等において検量線が2次を描いたが、PPバイアルでは良好な直線性が得られた。このことから、試験溶液充填にPPバイアルを用いることで、分解、吸着等が抑制され、これまで回収率異常がみられていた動物用医薬品等の分析精度が向上すると考え、試験溶液充填にPPバイアルを用いることにした。

以上の結果から、1回目、2回目抽出にギ酸含有アセトニトリルを、3回目抽出にEDTA含有クエン酸緩衝液を用い、試験溶液をPPバイアルに充填してLC/MS/MSを用いて定量する希釈法を作成した(図5)。

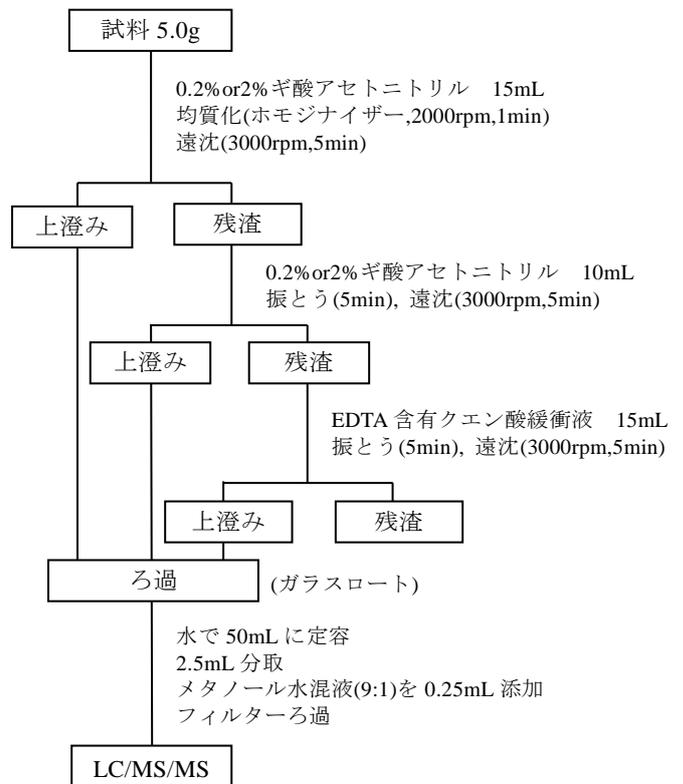


図5 希釈法分析フロー

表4 MG類, TC類の回収率及び目標値適成分数

試料	MG	LMG	OTC	CTC	TC	適成分数
フグ	78.2	113.2	86.6	74.3	100.7	146
ブリ	88.3	73.5	73.3	77.7	98.6	146
ウナギ	75.8	87.2	85.6	79.7	115.3	140
ウナギ素焼き	87.0	97.5	82.7	76.4	102.9	142
エビ	92.0	94.0	86.5	85.2	89.1	148
コイ	85.3	92.7	74.8	84.3	92.3	148
タイ	82.9	108.4	87.4	74.3	105.1	147
ニジマス	90.8	74.2	82.8	86.0	93.1	147
牛肉	61.4	20.1	78.0	72.5	115.3	140
鶏肉	74.7	86.6	84.4	73.6	109.6	142
豚肉	74.1	87.3	85.3	81.1	89.8	140
馬肉	79.3	54.5	92.8	81.7	92.5	141
馬肝臓	80.8	79.9	78.2	75.6	98.8	144
牛乳	102.3	111.4	106.1	82.7	112.6	146
卵	99.5	113.3	80.7	103.5	115.7	147

2 妥当性評価試験

希釈法について、15種類の畜水産物試料を用いて妥当性評価ガイドラインに準拠した妥当性評価試験を行った。表4にすべての畜水産物のMG類、TC類の回収率及び目標値(真度70~120%, 併行精度<25, 室内精度<30)適成分数を、表5に一部の畜水産物(ウナギ及び鶏卵)における妥当性評価試験結果を示す。表4, 5に示すとおり、152成分中140~148成分が目標値を満たし、また、MG類はすべての水産物で、TC類はすべての畜水産物で目標値を満たしたことから、希釈法は広範囲の動物用医薬品等及び畜水産物に適用できることが確認できた。

なお、希釈法は、脱脂操作を含む精製操作を行っていないため、試験溶液中の夾雑物の影響による選択性や再現性の低下が懸念されたが、今回用いた畜水産物試料ではこれらの現象は確認されなかった。

また、馬肝臓についても良好な結果が得られたことから、筋肉試料のみでなく内臓試料についても適用可能であることが示唆された。

さらに、今回の検討を通して約3ヶ月間にわたり約1000サンプルをLC/MS/MSに注入したが、分析カラムの劣化や感度の低下は発生しなかったことから、長期間を通しての検査業務に適用できるものと考えられる。

まとめ

MG類及びTC類を含む広範囲の畜水産物中動物用医薬品等の迅速一斉分析法の開発を目的として、ギ酸含有アセトニトリル及びEDTA含有クエン酸緩衝液による抽出後、精製操作を行わず、そのままLC/MS/MSを用いて定量する希釈法の検討を行った。

また、希釈法について、15種類の畜水産物試料を用いてガイドラインに準拠した妥当性評価を行った結果、152成分中140~148成分が目標値を満たし、MG類はすべての水産物で、TC類はすべての畜水産物で目標値を満たす良好な結果が得られた。

従来法では、MG類及びTC類については十分な回収率が得られず、これらの個別検査を含め一連の検査に2~3日を要していたが、希釈法においては、MG類及びTC類を含む広範囲の動物用医薬品等の検査が可能であり、また、使用する溶媒等も少なく、かつ、操作が簡便なためその前処理時間も1回の試験当たり1時間半程度と非常に短いことから、畜水産物中動物用医薬品等の迅速一斉分析法として有効な手法と考えられる。

謝辞

本研究にあたり、検討用HPLCカラム試供品の提供をいただいた、ジーエルサイエンス株式会社に深謝します。

表5 妥当性評価試験結果

No	成分名	鶏卵				ウナギ			
		真度 (%)	精度(%)		評価	真度 (%)	精度(%)		評価
			併行	室内			併行	室内	
1	2-Acetylamino-5-nitrothiazole	102.3	4.2	4.2	○	115.7	8.4	8.4	○
2	5-Propylsulfonyl-1H-benzimidazole-2-amine	101.2	7.2	7.2	○	94.6	2.6	6.7	○
3	Albendazole	94.0	1.7	2.6	○	104.9	3.2	3.2	○
4	Azaperone	105.5	3.5	4.7	○	114.4	15.5	20.2	○
5	Altrenogest	93.0	4.4	5.9	○	104.6	14.0	14.2	○
6	Amprolium	93.6	4.8	6.3	○	96.1	4.6	6.5	○
7	Isoprothiolane	98.5	1.3	1.3	○	107.5	1.4	2.0	○
8	Isometamidium	94.5	8.4	8.4	○	88.1	15.1	15.1	○
9	Ivermectin	89.6	7.6	7.6	○	101.7	7.4	7.4	○
10	Ethopabate	99.3	1.3	2.3	○	101.6	14.9	14.9	○
11	EprinomectinB1a	97.6	6.9	6.9	○	107.3	7.4	7.4	○
12	Epoxiconazole	92.6	3.8	3.8	○	95.2	10.5	13.1	○
13	EM_8,9Z	95.6	1.8	1.8	○	101.6	2.4	2.4	○
14	EM_B1a	98.5	2.2	2.2	○	101.1	2.8	3.3	○
15	Erythromycin	104.3	1.7	1.8	○	107.3	2.4	5.3	○
16	Ciprofloxacin	102.3	2.3	2.4	○	94.5	6.0	6.9	○
17	Enrofloxacin	103.4	2.6	3.2	○	103.1	7.3	7.3	○
18	Oxacillin	105.1	7.9	7.9	○	113.1	12.1	13.0	○
19	Oxabetrinil	101.8	1.5	1.5	○	105.6	1.7	2.1	○
20	Oxytetracycline	80.7	8.5	8.5	○	85.6	4.3	4.3	○
21	Chlortetracycline	103.5	4.7	4.7	○	79.7	5.3	10.6	○
22	Tetracycline	115.7	5.6	5.6	○	115.3	4.3	4.3	○
23	Oxibendazole	85.2	6.8	7.0	○	94.7	5.9	5.9	○
24	Oxolinic acid	104.8	3.0	3.0	○	113.3	23.4	23.9	○
25	Ofloxacin	109.9	4.3	4.3	○	102.5	5.0	5.5	○
26	Olaquinox	—	—	—	×	—	—	—	×
27	Orbifloxacin	102.8	2.7	4.2	○	106.6	3.9	4.4	○
28	Ormetoprim	105.3	5.0	5.0	○	105.8	3.3	3.9	○
29	Oleandomycin	106.8	10.3	10.9	○	92.7	12.2	16.8	○
30	Carazolol	91.6	6.3	8.2	○	100.5	26.0	28.1	×
31	Carprofen	94.4	4.7	5.1	○	93.5	4.0	5.4	○
32	Xylazin	102.6	2.3	2.3	○	104.3	3.0	3.7	○
33	Cloxacillin	97.4	6.9	11.0	○	—	—	—	×
34	Cloquintocet-mexyl	106.0	2.1	2.1	○	106.9	2.8	2.8	○
35	Closantel	92.4	3.3	3.5	○	100.0	5.4	5.4	○
36	Clostebol	95.7	5.5	5.5	○	102.9	7.5	7.5	○
37	Clopidol	107.3	5.3	5.3	○	106.5	6.1	6.1	○
38	Clorsulon	96.4	10.2	11.0	○	109.7	18.8	18.8	○
39	Chlorhexidine	81.3	2.7	4.8	○	75.8	8.9	12.3	○
40	Chlormadinone	98.4	2.1	2.1	○	107.5	1.6	1.8	○
41	Ketoprofen	102.8	3.4	3.4	○	108.1	7.3	7.3	○
42	Alfa-Trenbolone	101.6	2.8	3.9	○	107.4	1.8	2.7	○
43	Beta-Trenbolone	99.7	2.8	4.0	○	109.4	3.5	3.5	○

No	成分名	鶏卵				ウナギ			
		真度 (%)	精度(%)		評 価	真度 (%)	精度(%)		評 価
			併行	室内			併行	室内	
44	Melengestrol acetate	93.7	3.3	3.3	○	109.2	2.4	3.8	○
45	Sarafloxacin	106.2	3.1	3.8	○	100.7	6.4	6.4	○
46	Diaveridine	109	3.4	3.5	○	105.3	2.1	2.2	○
47	Diclazuril	103.8	10.7	10.7	○	100.2	18.5	18.5	○
48	Dicyclanil	102.1	8.3	8.3	○	99.8	7.4	7.6	○
49	Dinitolmide	96.1	10.6	17.3	○	123.7	18.9	20	×
50	Difloxacin	98.5	3.2	4.9	○	98.3	5.3	8.1	○
51	Josamycin	98.2	4.5	4.8	○	103	4.1	5.9	○
52	Cyromazin	82.8	12.8	12.8	○	—	—	—	×
53	Neospiramycin	98	2.9	2.9	○	99.6	5.9	6.2	○
54	Spiramycin	98.3	5.1	5.1	○	109.3	30.5	32.1	×
55	Sulfaethoxypyridazine	102.4	2.2	2.2	○	106.5	7.3	7.3	○
56	Sulfaquinoxaline	103.5	6.3	8	○	118	12.7	16.2	○
57	Sulfachlorpyridazine	92.9	9.1	9.1	○	96	5.8	6.5	○
58	Sulfadiazine	103.2	4.1	4.1	○	109	6.3	6.3	○
59	Sulfadimidine	97.2	3.7	5.1	○	103	3.6	6.2	○
60	Sulfadimethoxine	99.9	1.8	4.1	○	119.2	11.5	15.6	○
61	Sulfacetamide	107.1	2.3	2.9	○	105.7	3.1	3.1	○
62	Sulfathiazole	104.9	4.2	4.9	○	102.4	5.7	6	○
63	Sulfadoxine	102.2	2.9	2.9	○	105	3.8	3.8	○
64	Sulfatroxazole	105.3	3.9	3.9	○	104.2	4.4	4.4	○
65	Sulfanitran	99.6	9.5	9.7	○	164.2	19.8	19.8	×
66	Sulfapyridine	93.2	3.2	5.6	○	108	6	6	○
67	Sulfabromomethazine	100.9	2.3	4.5	○	113.6	7.9	8.2	○
68	Sulfabenzamide	102.2	3.3	3.3	○	104.4	5.2	5.2	○
69	Sulfamethoxazole	106.8	2.9	4.8	○	108.8	5.8	5.8	○
70	Sulfamethoxypyridazine	102.2	6.5	6.5	○	97.9	6.2	6.2	○
71	Sulfamerazine	102.1	5.8	5.8	○	105.6	5	6	○
72	Sulfamonomethoxine	107	5.3	5.3	○	105.4	3.1	3.4	○
73	Sulfisozole	103.6	3	3	○	106.9	2.5	4.1	○
74	Zeranol	99.6	13.9	17.2	○	119.3	13.1	13.1	○
75	Tylosin	108.2	1.9	1.9	○	109.9	3.8	6.6	○
76	Danofloxacin	102.2	4.5	4.5	○	102.7	8	8	○
77	Thiabendazole	99.9	2	2.7	○	109.2	34	34	×
78	Thiabendazole metabolite	97.1	7	7	○	98	7.5	7.5	○
79	Tiamulin	105.5	1.2	1.3	○	111.5	1.9	4.4	○
80	Thiamphenicol	109.4	13.6	13.6	○	115.7	6.8	11.9	○
81	Tilmicosin	105.7	2.8	4.5	○	111.3	5.8	5.8	○
82	Dexamethason	101.6	4.6	8.1	○	109.2	7.5	7.5	○
83	Decoquinat	88.2	2.4	4.2	○	97.5	2.5	3.5	○
84	Temephos(Abate)	101	1.2	2.3	○	102.5	2.3	2.6	○
85	Doramectin	94.6	4.2	5.4	○	115.7	6.9	7.5	○
86	Triclabendazole	97.2	2.8	2.8	○	105.4	3.1	3.9	○

No	成分名	鶏卵				ウナギ			
		真度 (%)	精度(%)		評 価	真度 (%)	精度(%)		評 価
			併行	室内			併行	室内	
87	Triclabendazole metabolite	80.7	12.8	19.7	○	118.3	12.5	12.5	○
88	Trichlorfon(DEP)	103.4	1.3	1.6	○	110.1	3.3	3.3	○
89	Tribromsalan	89.4	6.4	7.9	○	97.7	7.3	7.3	○
90	Tripeleennamine	103.2	3	3	○	115.2	5.7	8.5	○
91	Trimethoprim	106.1	4.5	5.8	○	103.4	4.5	5.1	○
92	Toltrazuril	96.5	19.9	19.9	○	95.4	9.2	16	○
93	Tolfenamic acid	93.9	4.9	4.9	○	104.6	3	3.6	○
94	Nicarbazin	94.9	4.3	4.3	○	109.3	3.7	4	○
95	Nafcillin	95.9	1	1.5	○	103.6	2.4	3.8	○
96	Nalidixic acid	102.8	0.8	1.6	○	115.7	6.5	7.5	○
97	Nitarson(Nifuroxazide)	—	—	—	×	—	—	—	×
98	Nitroxylnil	—	—	—	×	—	—	—	×
99	Novobiocin	91.6	41.9	41.9	×	106.7	16.8	18.9	○
100	Norfloxacin	105.4	5.5	5.5	○	101.4	6.4	6.4	○
101	Halofuginone_lactate	100.5	6.2	6.2	○	114.2	6.3	11.3	○
102	Bithionol	83.2	8.3	8.3	○	112	8.5	10.6	○
103	Hydrocortison	101.9	2	3.3	○	113.1	3.2	4.4	○
104	Pyrantel	99.2	4.7	4.7	○	102.6	4.9	4.9	○
105	Pyrimethamine	104.1	3.1	3.2	○	106.6	28.1	28.1	×
106	Famphur	106.7	2.8	2.8	○	110.5	1.7	4.8	○
107	Fenitrothion	101.3	14.8	14.8	○	109.1	7.3	8.3	○
108	PenicillinV	113.7	9.7	9.7	○	116	12.9	13.1	○
109	Fenobucarb(BPMC)	99.8	1.1	1.1	○	108	1.2	2.3	○
110	Praziquantel	99.7	1.8	1.8	○	108.2	2	2.9	○
111	Flamprop_methyl	92.5	2.6	3.3	○	103.4	1.4	3.6	○
112	Prifinium	98.3	4.5	5.5	○	116.8	5.7	5.7	○
113	Flunixin	92.2	1.6	1.6	○	104.2	7.2	9.2	○
114	Flubendazole	106.4	4.1	4.1	○	110.9	12.6	12.6	○
115	Flumequine	109.8	1.7	1.7	○	115.7	5.4	6.3	○
116	Prednisonlone	103.4	3.7	3.7	○	111.3	2.8	5.3	○
117	Brotizolam	103.4	2.2	2.2	○	110.4	2.8	2.9	○
118	Propaquizafop	96.6	1.8	1.8	○	101.2	2.8	2.8	○
119	Propoxur	106.6	2.7	2.7	○	115.1	4.9	6.8	○
120	Florfenicol	101.1	10.5	10.5	○	112.7	17.2	17.2	○
121	Permethrin_cis	90.1	3.7	3.8	○	92.5	2.2	4.9	○
122	Permethrin_trans	87.6	4.1	5.6	○	95.8	3.3	5.6	○
123	PenicillinG	96.6	4.5	4.5	○	108.4	7.2	9.6	○
124	Benzocaine	96.9	4	4.2	○	111.6	20.9	23.7	○
125	Boscalid	103	8	8	○	116.9	10.2	10.2	○
126	Mafoprazine	105	2.3	2.3	○	114.2	16.8	17.8	○
127	Marbofloxacin	103.2	5.5	5.5	○	107.1	4.3	4.3	○
128	Miloxacin	110.6	4.4	4.4	○	111.7	20.9	23.3	○
129	Methylprednisolone	92.3	4.3	4.6	○	101.5	3.5	7.1	○

No	成分名	鶏卵				ウナギ			
		真度 (%)	精度(%)		評 価	真度 (%)	精度(%)		評 価
			併行	室内			併行	室内	
130	Mefenpyr_diethyl	93	2	4.3	○	99.1	2.6	4.4	○
131	Mebendazole	104.1	1.4	2	○	110.8	1.5	4	○
132	Meloxicam	97.9	2.1	2.7	○	103.7	2.8	6.7	○
133	Menbutone	98.1	3	3	○	105	3.6	4.1	○
134	Moxidectin	94	4.2	5	○	110.9	6.7	7.1	○
135	Monensin	101.5	5.2	5.2	○	112.8	3.2	3.2	○
136	Morantel	100.1	4.5	4.8	○	101.8	3.7	4.4	○
137	Lasalocid	70.5	2.1	2.7	○	94.9	6.5	6.5	○
138	Rifaximin	101.3	2.9	2.9	○	103.6	4.9	5	○
139	Lincomycin	101.2	3.8	3.8	○	104.2	4	4	○
140	Levamisole	106.3	3.2	3.2	○	104.1	3.1	3.1	○
141	Robenidine	93.1	3.3	3.3	○	97.3	3.6	3.7	○
142	Warfarin	92.9	7.4	7.4	○	117.7	5.9	5.9	○
143	Glycyrrhizic_acid	—	—	—	×	—	—	—	×
144	Leucomalachite Green	113.3	1.6	2.3	○	75.8	5.1	8	○
145	Malachite Green	99.5	3.2	3.2	○	89.7	3.1	4.1	○
146	Oxfendazole	104.8	4.6	4.6	○	115.7	5.3	7.7	○
147	Febantel	104.3	1.2	1.8	○	108.8	1.5	1.5	○
148	Fenbendazole	100.3	3.2	3.2	○	105.2	2.3	2.3	○
149	Oxfendazole_sulfone	104.9	6	6	○	114.1	8	9.1	○
150	Canthaxanthin	76.2	22.2	23.2	○	93.5	10.3	10.7	○
151	Pirlimycin	102.9	9.5	9.5	○	108.5	11.4	11.4	○
152	Ractopamine	92.8	5.9	5.9	○	98.5	7.3	7.3	○
合計			147				140		

文献

- 和久田俊裕, 西名武士, 増永ミキ, 飛野敏明: 熊本県保健環境科学研究所報, **35**, 39-44 (2005).
- 村川弘, 福島孝兵, 飛野敏明: 熊本県保健環境科学研究所報, **39**, 21-25 (2009).
- 「食品中に残留する農薬等に関する妥当性評価ガイドラインの一部改正について」厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: 平成22年12月24日付け食安発第1224第1号.
- 千葉美子, 吉田直人, 高橋祐介, 濱名徹: 宮城県保健環境センター年報, **29**, 50-53(2011).
- 大熊紀子, 氏家愛子, 千葉美子, 吉田直人, 濱名徹: 宮城県保健環境センター年報, **28**, 101-102 (2010).
- 藤田和弘, 伊藤嘉奈子, 高山正彦, 丹野憲二, 村山三徳, 齊藤行生: 食品衛生学雑誌, **37**, 222-225(1996).
- 藤田和弘, 伊藤嘉奈子, 高山正彦, 丹野憲二, 村山三徳, 齊藤行生: 食品衛生学雑誌, **38**, 12-15(1997).
- 村山三徳, 齋藤行生: 食品衛生研究, **46**, 7-15(1996).
- 「食品中に残留する農薬, 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」厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知別添: 平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号.
- 久保記久子, 中村正規: 福岡市保健環境研究所報, **35**, 110-115(2009).

3) LC/MS/MS を用いた食品中不揮発性腐敗アミン類の 迅速一斉分析法の検討

西名 武士 飛野 敏明 宇梶 徳史 濱本 愛
松本 理世 増永 ミキ 野田 康平 村川 弘

要旨

食中毒の迅速な原因究明に資するため、8種の不揮発性腐敗アミン類を対象に、試料を20%トリクロロ酢酸及び精製水で抽出・希釈し、LC/MS/MSで測定する迅速一斉分析法の検討を行った。また、上記分析法について、8種の水産物試料等を用いた妥当性評価試験を行ったところ、各成分とも「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の目標値を満たす良好な結果が得られたことから、本法は食品中不揮発性アミン類の迅速一斉分析法として有効な手法であると考えられる。

キーワード：LC/MS/MS, 不揮発性腐敗アミン類, 迅速一斉分析法, 食中毒

はじめに

不揮発性腐敗アミン類（以下「アミン類」という。）は、食品中でタンパク質やアミノ酸が微生物的腐敗により分解¹⁻³⁾される過程で生じる食中毒の原因物質である。アミン類による食中毒は、赤身魚やその加工品で発生しやすく^{4), 5)}、顔面紅潮、じんましん、頭痛等のアレルギー様症状を呈し、その主体はヒスタミンとされ、国内の化学物質性食中毒の中では最も発生件数が多い。

なお、アミン類のうちヒスタミンは、我が国においては食品衛生法に基づく基準値は設定されていないが、国際食品規格委員会（以下「Codex」という。）をはじめ、EU、米国、カナダ等において水産物の基準値等が設定されており、その取扱いが規制されている。

一方で、ヒスタミン以外のアミン類については、明確な基準値等は設定されていないものの、アミン類を原因とする食中毒のメカニズムは不明な点が多く、これらについてもアレルギー様症状の発現や増強等が示唆されているなど、ヒスタミン以外の影響因子の評価の必要性が指摘されている^{4), 6)}。このことから、近年

ヒスタミン以外のアミン類の一斉分析法についても多くの手法が報告されている⁷⁻¹³⁾。

なお、アミン類は、その生成源が食品由来であり、食品中に一定程度存在しているため、食中毒の原因検索においては、その存在の有無だけではなく、定量値と食中毒濃度域との比較及び腐敗の程度の評価が必要となる。このため、アミン類の分析法は、その定量値の正確性が要求され、真度、精度等の妥当性が確認されている手法が求められる。

当所では、アミン類を原因としたアレルギー様食中毒の主体であるヒスタミンの迅速分析法（以下「従来法」という。）を開発^{14), 15)}し、食中毒発生時の原因検索分析を行ってきたが、分析対象成分がヒスタミンのみであり、ヒスタミン以外のアミン類の評価ができなかった。さらに、従来法はマトリックス一致標準溶液を使用した定量法を用いていたが、食中毒の原因となり得る食材は多岐にわたり、原因食材と同種で、かつ、ヒスタミンが含有されていないマトリックス用食材の確保は困難であることから、突発的に発生する食中毒に対応する原因検索分析法としては不十分であっ

た。

また、食品中のアミン類の一斉分析法としては、衛生試験法・注解に示されているダンシルクロリド誘導体化 HPLC 法¹⁶⁾が広く知られているが、対象アミン類等の誘導体化が必要なため操作が煩雑であり、検体によっては妨害ピークの出現により精製操作が必要な場合があるなど迅速性の面で問題がある。

そこで、今回、迅速な食中毒発生時の原因検索及びヒスタミン以外の影響因子の評価も可能な分析法の開発を目的に、8種のアミン類（アグマチン、カダベリン、スペルミジン、チラミン、トリプタミン、ヒスタミン、フェネチルアミン及びプトレシン）を対象に、迅速一斉分析法（以下「本法」という。）の検討を行った。

さらに、本法について、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」¹⁷⁾（以下「ガイドライン」という。）に基づく妥当性評価試験を行ったところ、良好な結果が得られたので報告する。

実験方法

1 分析対象アミン類

アレルギー様症状の発現や増強等が指摘されているアグマチン、カダベリン、スペルミジン、チラミン、トリプタミン、ヒスタミン、フェネチルアミン及びプトレシン並びにヒスタミンの前駆物質であるヒスチジンを分析対象とした。なお、ヒスチジンについては、食中毒の直接的な原因物質ではなく、また、元来水産物中に多量に含まれているため、含量のモニターのみを行うこととし、前処理の検討及び妥当性評価試験においては評価対象から除外した。

2 試薬等

2.1 標準品

標準品は、アグマチン、スペルミジン、チラミン、ヒスタミン、フェネチルアミン及びプトレシンは和光純薬工業製、カダベリンは関東化学製、トリプタミンはSigma-aldrich製を用いた。

2.2 混合標準溶液

各標準品を秤量後、0.1N塩酸に溶解して1000mg/Lの混合標準原液を調製し、これを適宜精製水で希釈したものを混合標準溶液とした。

2.3 その他の試薬等

アセトニトリル：和光純薬工業製（HPLC用）

0.1N塩酸：和光純薬工業製（局方一般試験法用）

トリクロロ酢酸：和光純薬工業製（試薬特級）

ろ紙：ADVANTEC東洋（株）製（NO.5C, 150mm）

ろ過フィルター：GL Sciences製（水系クロマトディスク,13N,0.45 μ m,）

ポリプロピレン製バイアル：GL Sciences製

3 試料

3.1 前処理検討用試料

分析対象のアミン類が不検出(<0.5mg/100g)であることを確認した水産物（アジ、イワシ、サケ、サバ、マグロ）の切り身及び水産物加工品（アジ塩焼き、アジ煮付け、アジフライ）をそれぞれフードプロセッサで細切したものをを用いた。

3.2 妥当性評価試験用試料

Codexにおける水産物等のヒスタミン腐敗基準（10mg/100g）を参考に、上記3.1で示した試料に10mg/100gとなるように混合標準溶液を添加し、30分間放置したものをを用いた。

3.3 経時変化測定用試料

上記3.1で示した水産物試料を25℃で0時間、12時間、1日、2日、3日、5日間放置したものをを用いた。

4 LC/MS/MS測定条件

LC：Nexera X2（島津製作所社製）

・注入量：10 μ L

・分離カラム：Merck社製ZIC®-pHILIC(2.1 \times 50mm, 5 μ m)

・カラムオープン温度：40℃

・移動相：A液(精製水), B液(アセトニトリル), C液(1%ギ酸), D液(250mM酢酸アンモニウム)

・グラジエント条件：表1のとおり。

MS/MS：TRIPLEQUAD5500(ABSCIEX社製)

・イオン化法：ESI(positive)

・イオン化条件：CUR(20psi),CAD(7psi),TEM(600℃),

・GAS1(70psi),GAS2(50psi),IS(4500V),EP(10V)

・分析モード：sMRM(測定条件は表2のとおり。)

5 分析法

3で調製した試料1.0gに20%トリクロロ酢酸5mL及び精製水20mLを加えてホモジナイズし、ろ紙を用いてろ過後、精製水で50mLに定容する。これを精製水で200倍希釈後、1mL分取し、0.1mLの精製水を添加後、ろ過フィルターを用いてろ過したものを試験溶液とする。なお、検量線は、混合標準原液を5, 50, 100, 200及び500 μ g/Lになるように精製水で希釈し、それぞれ0.01%トリクロロ酢酸1mLに0.1mL添加後、フィルターろ過したものをを用いる(最終濃度0.5, 5, 10, 20及び50 μ g/L)。

表 1 LC グラジエント条件

min	A(%)	B(%)	C(%)	D(%)	flow (mL/min)
0	55	40	5	0	0.4
3	0	5	75	20	0.4
8	0	5	75	20	0.4
8.1	55	40	5	0	0.4
15	55	40	5	0	0.4

表 2 MS/MS 測定条件

Compound	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)
Agmatine	131.1	71.9	36	19
	131.1	59.9	36	15
	131.1	114	36	15
Cadaverine	103.1	86	56	15
	103.1	69	56	20
	103.1	103.1	56	5
Histamine	112.1	94.6	51	17
	112.1	95.1	51	19
	112.1	40.9	51	35
Histidine	156.1	109.9	21	19
	156.1	93	21	29
	156.1	55.9	21	41
Phenylethylamine	122.1	105.1	16	17
	122.1	76.9	16	35
	122.1	79	16	30
Putrescine	89.1	71.9	46	11
	89.1	71.9	46	5
	89.1	89.2	46	5
Spermidine	146.1	72.2	61	19
	146.1	112.1	61	11
	146.1	129	61	10
Tryptamine	161.1	117	36	31
	161.1	144.1	36	15
	161.1	114.8	36	41
Tyramine	138.1	120.8	31	13
	138.1	76.8	31	37
	138.1	50.7	31	59

結果及び考察

1 LC カラム及び測定条件の検討

LC/MS/MS を用いた分析では、選択性、感度、精度等を確保するために、対象化合物を再現性良く保持・溶出できる LC カラム及び測定条件を選択することが

重要となる。

従来法では、分析対象であるヒスタミンが高極性化合物であり、HPLC 分析で広く用いられる逆相クロマトグラフィーではカラムでの保持が困難なことから、親水性相互作用クロマトグラフィー（以下「HILIC」という。）を用い、その特性に鑑みて、保持時間の変動等の再現性の低下を防止するためイソクラテックモードにて測定を行っていた。

しかし、今回対象としたアミン類は、その極性の範囲が広く、イソクラテックモードですべてのアミン類を保持・溶出できる条件は困難と考えられた。なお、従来法にて用いた HILIC カラムである Merck 社製 ZIC-pHILIC の充填剤は、多孔性ポリマー基材にスルホベタイン型の両性イオン型官能基を共有結合させたものであり、親水性相互作用に併せて静電的相互作用による保持・溶出が期待できる。このことから、従来法と同様に ZIC-pHILIC を用い、親水性相互作用及び静電的相互作用を利用し、段階的にアミン類を保持・溶出させるため、精製水、アセトニトリル、ギ酸及び酢酸アンモニウムを用いた 4 液混合グラジエントモードによる測定条件を検討した。その結果、表 1 に示した条件により今回対象としたアミン類すべてにおいて良好なピーク形状が得られた（図 1）。

なお、HILIC カラムは、その固定相表面の水和層¹⁸⁾の安定化が不十分であった場合、保持時間の変動等再現性低下が生じることが知られている。今回の測定条件では、測定中に LC カラム内の溶媒及び塩組成の変化が生じ、上記保持時間の変動等再現性低下が懸念されたため、繰り返し測定（50 µg/L, n=5）による測定再現性の評価を行った。その結果を表 3 に示す。

表 3 に示すとおり、保持時間の変動 (RSD%) は 0.10~0.38%, ピーク面積の変動 (RSD%) は 0.62~4.07% であり、食中毒の原因検索分析に用いる測定条件としては十分な再現性が得られた。

また、定量範囲を確認するため、今回対象としたアミン類の各濃度の混合標準液（0.5, 5, 10, 20 及び 50 µg/L）を本条件で測定（n=5）し、得られた検量線の相関係数及び定量限界に対応する濃度（0.5 µg/L、以下「下限値」という。）から得られるピークの S/N 比を求めた。その結果を表 4 に示す。

表 4 に示すとおり、今回対象としたアミン類は、下限値の S/N 比がガイドラインに示されている定量限界の指標値（S/N 比 ≥ 10）を満たしており、また、測定範囲 0.5~50 µg/L において良好な相関（r=0.9997~0.9999）が得られたことから、0.5~50 µg/L の範囲で定量が可能であることが確認できた。

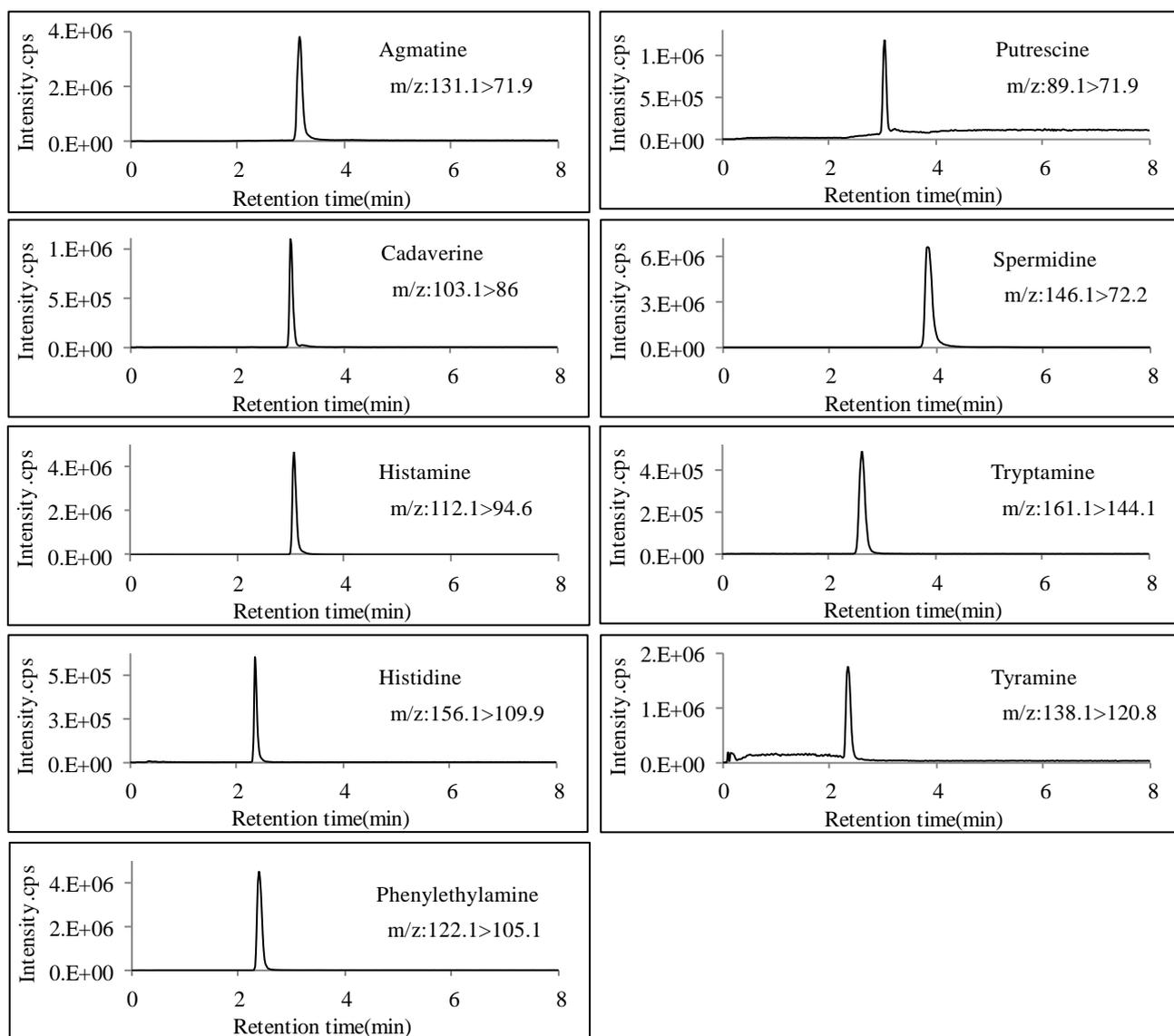


図1 分析対象アミン類のクロマトグラフ (測定濃度: 50 μ g/L)

表3 測定再現性の評価結果

Compound	Rtime		Area	
	Ave.	RSD (%)	Ave.	RSD (%)
Agmatine	3.11	0.13	4.8E+06	2.98
Cadaverine	2.98	0.14	1.1E+06	1.86
Histamine	3.02	0.14	4.2E+06	2.14
Histidine	2.35	0.38	4.6E+05	3.58
Phenylethylamine	2.41	0.37	5.6E+06	1.21
Putrescine	3.01	0.12	9.1E+05	4.07
Spermidine	3.74	0.10	1.1E+07	2.34
Tryptamine	2.63	0.41	7.5E+05	1.87
Tyramine	2.37	0.36	2.0E+06	0.62

表4 検量線の相関係数及び定量下限濃度の S/N 比

Compound	Correlation coefficient (r)	Signal/Noise ratio
Agmatine	0.9998	43.9
Cadaverine	0.9997	94.3
Histamine	0.9999	80.3
Histidine	0.9999	92.1
Phenylethylamine	0.9999	267.8
Putrescine	0.9997	25.2
Spermidine	0.9997	143.4
Tryptamine	0.9998	84.8
Tyramine	0.9999	17.7

2 前処理の検討

2.1 希釈倍率の検討

LC/MS/MS を用いた分析では、試験溶液中の夾雑物の影響により、目的成分のイオン化抑制又はイオン化促進（以下「マトリックス効果」という。）が起こり、その測定強度が変動するため、特に精製操作を行わない前処理法においては定量分析の障害となる。このため、従来法では、試験溶液と標準溶液中のマトリックス効果を等しくすることを目的に、マトリックス一致標準溶液を用いていたが、前述のとおり食中毒の原因検索分析法としては、マトリックス一致標準溶液の使用は現実的ではない。なお、一般的にマトリックス効果は、試験溶液中のマトリックス量が多いほど大きくなるため、試験溶液の希釈により試料由来のマトリックス効果を低減することができると考えられた。

そこで、マトリックス効果が無視できる希釈倍率を

検索するため、3.1 前処理検討用試料を従来法で抽出し、その抽出液を各段階（100, 1,000, 5,000, 10,000 倍）に希釈した後、1mL 分取し、100 μ g/L の混合標準溶液を 0.1mL 添加したものと、これと同濃度の混合標準溶液との LC/MS/MS 測定ピーク面積（以下「測定強度」という。）を比較（n=1）し、希釈倍率とマトリックス効果の検証を行った。その結果を図 2 に示す。

図 2 に示すとおり、各成分とも 100 倍及び 1,000 倍希釈でマトリックス効果と思われる測定強度の増減がみられたが、希釈倍率の上昇に伴い、各成分ともすべての試料において強度比が 100% に近づき、10,000 倍希釈では強度比がほぼ 100% となった。このことから、前処理に際しては、試料を 10,000 倍以上希釈することでマトリックス効果が無視できると考えられ、マトリックス一致標準溶液を使用しない広範囲の水産物等を対象とした定量分析が可能であると推察された。

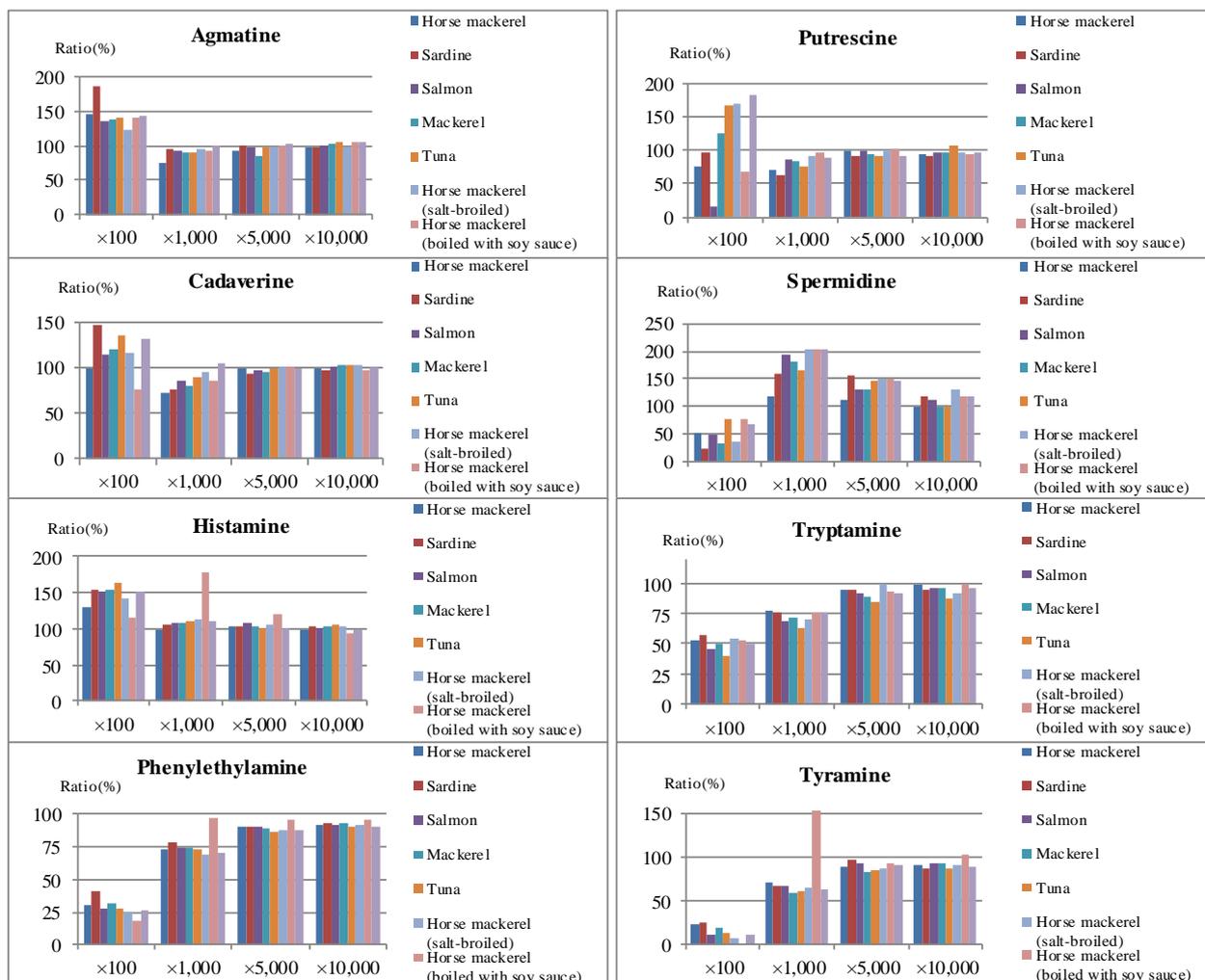


図 2 マトリックス効果の検証

なお、試料を 10,000 倍希釈した場合の定量下限値は、先の検討で設定した下限値から換算して 0.5mg/100g となる。これは、食中毒を引き起こす可能性があると考えられるヒスタミン濃度 (5mg/100g)⁴⁾ の 10 分の 1 であり、アミン類を対象とした分析法としては十分と考えられる。

2.2 試験溶液充填バイアルの検討

今回の検討に際して、一部のアミン類(アグマチン、スペルミジン、ヒスタミン及びプトレシン)において、バイアル充填後の時間経過に伴い測定強度が低下する現象がみられた。これは試験溶液充填バイアルにガラスバイアルを用いていたため、ガラス中のシラノール基に塩基性を有するアミン類が吸着したものによると考えられた。このため、ポリプロピレン製バイアルを用いることにより、吸着を抑制できると考え、ポリプロピレン製バイアルとガラスバイアルの試験溶液(混合標準溶液 10µg/L)充填直後の測定強度と 1~10 時間後の測定強度との比較 (n=1) を行い、安定性の評価を行った。その結果を図 3 に示す。

図 3 に示すとおり、ガラス製バイアルでは、充填後直ちに測定強度が減少し、充填 10 時間後には 1/10 程度に減少したが、ポリプロピレンバイアルでは充填後 10 時間を経過しても測定強度に大きな変化は見られず、吸着とみられる現象が確認されなかったため、試験溶液はポリプロピレン製バイアルに充填することとした。

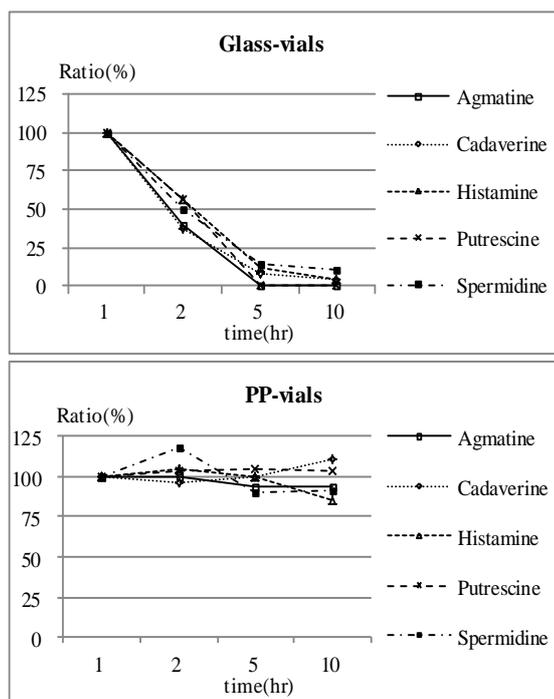


図 3 バイアル中の安定性評価試験

以上の検討結果を踏まえ、また、更なる迅速化のため、従来法において行っていたホモジナイズ後の 30 分間の静置及び遠沈操作を省略し、不揮発性腐敗アミン類の迅速一斉分析法(本法)を作成した(図 4)。

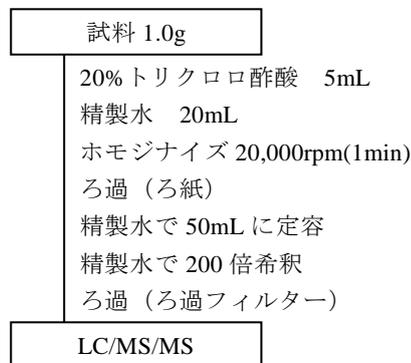


図 4 本法の分析フロー

3 妥当性評価試験

本法について、8 種のアミン類を対象に 3.2 妥当性評価試験用試料を用いて、ガイドラインに基づき、分析者 2 名、2 併行 5 日間の添加回収試験を実施し、真度、併行精度及び室内精度を算出した。その結果を表 6 に示す。

表 6 に示すとおり、8 種の水産物試料等での評価結果は、アグマチンで真度 (88.4~99.8%)、併行精度 (3.0%~5.9%) 及び室内精度 (4.1%~6.6%)、カダベリンで真度 (95.1~107.2%)、併行精度 (2.2%~5.7%) 及び室内精度 (3.1%~6.0%)、ヒスタミンで真度 (91.5~104.4%)、併行精度 (1.5%~8.6%) 及び室内精度 (2.8%~8.6%)、フェネチルアミンで真度 (88.8~97.8%)、併行精度 (1.4%~6.9%) 及び室内精度 (2.2%~6.8%)、プトレシンで真度 (82.7~96.7%)、併行精度 (3.4%~7.3%) 及び室内精度 (4.3%~7.9%)、スペルミジンで真度 (100.2~119.4%)、併行精度 (3.5%~8.0%) 及び室内精度 (4.7%~10.7%)、トリプタミンで真度 (85.4~96.5%)、併行精度 (2.2%~6.8%) 及び室内精度 (2.2%~6.8%)、チラミンで真度 (82.9~92.9%)、併行精度 (1.2%~6.3%) 及び室内精度 (1.8%~6.3%) となり、今回対象としたすべてのアミン類でガイドラインに示される添加濃度 0.1mg/kg<の目標値(真度:70~120%、併行精度:10%>、室内精度:15%>)を満たす良好な結果が得られた。

このことから、本法は、今回用いた水産物試料等に適用できるとともに、マトリックス効果や水産物及びその加工の種類の違いによる真度の不良等も認められなかったため、多くの水産物及び水産物加工品に適用できると推察される。

表 6 妥当性評価試験結果

Horse mackerel				Sardine			
Compound	Trueness (%) ^{*1}	RSDr (%) ^{*2}	RSDwr (%) ^{*3}	Compound	Trueness (%) ^{*1}	RSDr (%) ^{*2}	RSDwr (%) ^{*3}
Agmatine	96.9	4.2	5.5	Agmatine	93.4	4.7	4.7
Cadaverine	107.2	2.7	4.6	Cadaverine	101.5	4.4	4.4
Histamine	104.4	2.7	3.3	Histamine	99.2	4.0	5.0
Phenylethylamine	97.8	2.5	2.6	Phenylethylamine	95.1	3.6	3.9
Putrescine	96.6	4.7	6.9	Putrescine	96.7	6.0	6.0
Spermidine	119.3	3.7	5.3	Spermidine	119.4	7.0	7.9
Tryptamine	96.5	2.2	2.3	Tryptamine	89.8	4.4	4.4
Tyramine	88.2	1.2	1.8	Tyramine	85.9	4.5	4.5

Salmon				Mackerel			
Compound	Trueness (%) ^{*1}	RSDr (%) ^{*2}	RSDwr (%) ^{*3}	Compound	Trueness (%) ^{*1}	RSDr (%) ^{*2}	RSDwr (%) ^{*3}
Agmatine	99.8	4.8	4.9	Agmatine	97.8	4.9	5.0
Cadaverine	106.3	2.8	3.1	Cadaverine	104.3	4.3	5.8
Histamine	99.5	8.6	8.6	Histamine	100.5	3.4	4.0
Phenylethylamine	97.7	3.3	3.3	Phenylethylamine	94.0	2.5	2.8
Putrescine	94.5	4.3	4.3	Putrescine	96.1	5.6	5.6
Spermidine	119.4	4.7	5.8	Spermidine	118.0	8.0	8.0
Tryptamine	94.3	4.4	4.4	Tryptamine	91.9	2.2	2.2
Tyramine	92.9	3.3	3.3	Tyramine	86.2	3.9	3.9

Tuna				Horse mackerel(salt-broiled)			
Compound	Trueness (%) ^{*1}	RSDr (%) ^{*2}	RSDwr (%) ^{*3}	Compound	Trueness (%) ^{*1}	RSDr (%) ^{*2}	RSDwr (%) ^{*3}
Agmatine	91.6	5.9	6.6	Agmatine	95.8	3.0	4.1
Cadaverine	99.4	5.7	6.0	Cadaverine	104.3	2.2	3.2
Histamine	97.0	5.9	6.2	Histamine	101.2	1.5	2.8
Phenylethylamine	88.8	6.8	6.8	Phenylethylamine	90.6	1.4	2.2
Putrescine	91.9	7.3	7.3	Putrescine	96.0	4.4	4.4
Spermidine	114.0	3.5	4.7	Spermidine	112.3	4.4	4.7
Tryptamine	85.4	6.8	6.8	Tryptamine	92.9	3.5	3.5
Tyramine	82.9	6.3	6.3	Tyramine	86.9	2.6	2.6

Horse mackerel(boiled with soy sauce)				Horse mackerel(deep-fried)			
Compound	Trueness (%) ^{*1}	RSDr (%) ^{*2}	RSDwr (%) ^{*3}	Compound	Trueness (%) ^{*1}	RSDr (%) ^{*2}	RSDwr (%) ^{*3}
Agmatine	88.4	5.4	9.6	Agmatine	92.4	5.4	5.4
Cadaverine	95.1	5.3	5.4	Cadaverine	102.1	3.0	4.3
Histamine	91.5	5.0	5.0	Histamine	99.7	4.0	4.0
Phenylethylamine	94.7	1.4	2.6	Phenylethylamine	94.2	2.3	2.3
Putrescine	82.7	7.2	7.7	Putrescine	93.6	3.4	6.4
Spermidine	100.2	7.5	10.7	Spermidine	107.0	6.8	6.8
Tryptamine	94.1	2.2	2.2	Tryptamine	92.1	2.8	3.1
Tyramine	88.1	3.6	4.3	Tyramine	84.4	1.4	3.6

*1 Mean recovery rates(%)

*2 RSD(%) of repeatability

*3 RSD(%) of within-laboratory repeatability(n=2×5)

4 アミン類の経時変化

前述のとおり、アミン類は、食中毒の原因検索において、その定量値と食中毒濃度域との比較及び腐敗の程度の評価が必要となる。なお、食中毒濃度域に関しては、過去の事例⁴⁾を参考に評価することになるが、腐敗の程度については、水産物の種類毎にアミン類の含有量が異なるため、アミン類の生成と腐敗の関係に関するデータの集積¹⁹⁻²³⁾が必要となる。

そこで、当該データの集積に資するため、3.3 経時変化測定用試料について、本法を用いてアミン類の定量 (n=1) を行った。その結果を表 7 に示す。

表 7 に示すように、アミン類は、0~5 日の日数経過に伴い、水産物の種類によって以下の特徴的な挙動を示した。

アジでは、トリプタミン以外のすべてのアミン類が検出された。なお、カダベリン及びヒスタミンは高濃

表 7 アミン類の経時変化 (単位 : mg/100g)

Sample	Days	Agm	Cad	Him	Phm	Put	Spd	Tpm	Tym	Hid
Horse mackerel	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	480
	0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	480
	1	0.6	28	130	ND	ND	ND	ND	2.9	150
	2	ND	36	580	2.0	ND	ND	ND	2.7	2.7
	3	ND	74	380	10	ND	ND	ND	1.3	1.4
	5	ND	350	430	45	1.0	0.9	ND	22	4.8
Sardine	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	540
	0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	520
	1	29	84	110	7.6	ND	ND	0.6	16	240
	2	43	200	770	12	ND	ND	1.1	27	120
	3	53	290	890	22	29	ND	2.5	41	15
	5	50	270	720	22	63	ND	2.8	39	75
Salmon	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	41
	0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	50
	1	ND	12	0.6	ND	14	ND	ND	0.7	23
	2	ND	70	8.9	ND	310	ND	ND	40	23
	3	ND	190	1.6	ND	550	ND	ND	56	29
	5	ND	460	25	ND	600	ND	ND	52	20
Mackerel	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	900
	0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	870
	1	ND	1.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	770
	2	ND	62	100	ND	110	1.1	ND	3.1	500
	3	ND	240	415	3.6	350	ND	ND	47	270
	5	ND	370	510	6.1	420	ND	0.7	29	50
Tuna	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1000
	0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	910
	1	ND	1.5	6.0	ND	ND	ND	ND	ND	830
	2	ND	23	170	ND	37	1.7	ND	ND	350
	3	ND	47	240	ND	150	2.4	ND	1.3	440
	5	ND	140	470	ND	260	2.5	ND	2.1	70
Agmatine : Agm	Cadaverine : Cad	Histamine : Him	Histidine : Hid	Phenylethylamine : Phm						
Putrescine : Put	Spermidine : Spd	Tryptamine : Tpm	Tyramine : Tym							

度 (100mg/100g 以上) 検出された。また、カダベリン、フェネチルアミン及びプトレシンについては、日数を経るごとにその濃度が増加したが、アグマチン及びヒスタミンについては、それぞれ 1 日目及び 2 日目を境に減少する傾向を示した。

イワシでは、スペルミジン以外のすべてのアミン類が検出された。なお、カダベリン及びヒスタミンは高濃度 (100mg/100g 以上) 検出された。また、アグマチン、フェネチルアミン、プトレシン及びトリプタミンについては、日数を経るごとにその濃度が増加したが、カダベリン、ヒスタミン及びチラミンについては、3 日目を境に減少する傾向を示した。

サケでは、カダベリン、ヒスタミン、プトレシン及びチラミンが検出された。なお、カダベリン及びプトレシンが高濃度 (100mg/100g 以上) 検出された。また、カダベリン、ヒスタミン及びプトレシンについては、日数を経るごとにその濃度が増加する傾向を示したが、チラミンは 5 日目に減少した。

サバでは、アグマチン以外のすべてのアミン類が検出された。なお、カダベリン、ヒスタミン及びプトレシンが高濃度 (100mg/100g 以上) 検出された。また、カダベリン、ヒスタミン及びプトレシンについては、日数を経るごとにその濃度が増加したが、チラミンは 5 日目に減少した。

マグロでは、カダベリン、ヒスタミン、プトレシン、スペルミジン及びチラミンが検出された。なお、カダベリン、ヒスタミン及びプトレシンが高濃度 (100mg/100g 以上) 検出された。また、検出されたすべてのアミン類で日数を経るごとにその濃度が増加した。

なお、今回、ヒスタミンの前駆物質であるヒスチジンの定量を併せて行った。ヒスチジンは、すべての水産物においてヒスタミン濃度の増加に伴い濃度が減少する傾向を示し、また、ヒスチジンの濃度が比較的低かったサケについては、検出されるヒスタミンの濃度が比較的低濃度であるなど、その濃度には明確な相関がみられた。

アミン類の生成量は、腐敗過程に関与する脱炭酸酵素の種類や活性度等に支配される¹⁶⁾ことから、水産物の種類、生育環境、個体差、部位、保存状態等によってその濃度は大きく異なると考えられる。一方で、今回のデータに見られるように、アミン類は水産物の種類によって、時間経過に伴いそれぞれ特徴的な検出傾向及び挙動を示すことから、今後、これらのデータを集積することにより、定量的な腐敗の程度の評価が可能となることを期待できる。

ま と め

食中毒の迅速な原因究明に資するため、8 種の揮発性腐敗アミン類を対象に、試料を 20% トリクロロ酢酸及び精製水で抽出・希釈し、LC/MS/MS で測定する迅速一斉分析法の検討を行った。また、本法について、8 種の水産物試料等を用いた妥当性評価試験を行ったところ、各成分ともガイドラインの目標値を満たす良好な結果が得られた。

本法は、多くの水産物及び水産物加工品において 8 種類のアミン類を同時に分析・評価することができ、また、マトリックス一致標準溶液を用いないため、突発的に発生する食中毒に対して対応が可能である。さらに、使用する溶媒等が少なく分析にかかる費用も安価で、かつ、操作が簡便なため、その前処理時間も 1 検体当たり 30 分程度と短いことから、アミン類を原因とする食中毒発生時の原因検索分析法として非常に有効な手法であると考えられる。

文 献

- 1) E.Karmas, J.L.Mietz : Lebensm.Wiss.Technol, 11, 333-337 (1978) .
- 2) 観公子, 牛山博文, 新藤哲也, 齊藤和夫 : 食品衛生学雑誌, 46(3), 127-132 (2005) .
- 3) 後藤哲久, 佐藤吉朗, 吉田充 : 食品危害要因その実態と検出法, (株) テクノシステム, 343-349 (2014) .
- 4) 登田美桜, 山本都, 畝山智香子, 森川馨 : 国立衛研報, 127, 31-38 (2009) .
- 5) FAO, WHO : “joint FAO/WHO Expert Meeting on the Public Health Risks of Histamine and Other Biogenic Amines from Fish and Fishery Products “ (2012) .
- 6) 井部明広 : 東京都健康安全研究センター研究年報, 55, 13-22 (2004) .
- 7) 竹内 浩, 一色博, 澤田陽子, 林克弘, 前田千恵, 原有紀, 竹川雄太, 村田 将, 志村恭子 : 三重保環研年報, 14, 41-45 (2012) .
- 8) 山口玲子, 宮本廣 : 千葉市環境保健研究所年報, 18, 56-60 (2011) .
- 9) 柿木康宏, 山下梓, 宮本靖久, 鴨脚毅, 望月直樹 : 分析化学, 60(2), 157-162 (2011) .
- 10) V.Gianotti, U.Chiuminatto, E.Mazzucco, F.Gosetti, M.Bottaro, P.Frascarolo, M.C.Gennaro : Journal of Chromatography A, 1185, 296-300 (2008) .
- 11) 大月史彦, 肥塚加奈江, 林隆義, 山本淳 : 岡山県環境保健センター年報, 34, 99-103 (2010) .
- 12) 坂本智徳, 赤木浩一, 樋脇弘 : 食品衛生学雑誌, 51(3), 115-121 (2010) .

- 13) 中里光男, 小林千種, 山嶋裕季子, 立石恭也, 川合由華, 安田和男: 東京都立衛生研究所研究年報, **53**, 95-100 (2002) .
- 14) 吉田達雄, 濱田寛尚, 吉元秀和, 飛野敏明, 村川弘: 熊本県保健環境科学研究所報, **40**, 20-24 (2010) .
- 15) Tatsuo Yoshida, Hirotoshi Hamada, Hiroshi Murakawa, Hidekazu Yoshimoto, Toshiaki Tobino, Kei Toda : ANALYTICAL SCIENCES, **28**, 179-182 (2012) .
- 16) 日本薬学会: 衛生試験法注解, 199-201 (2010) .
- 17) 厚生労働省: 平成 22 年 12 月 24 日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知, 食安発 1224 第 1 号.
- 18) MERCK KGaA: “A Practical Guide to HILIC” , p. 4 (2008) .
- 19) 前田彰, 棚橋高志, 横井岳志, 伊藤正純, 田中豊, 山田貞二, 鶴田益清, 林樹: 愛知県食品衛生検査所平成 14 年度愛知県食品衛生監視員研修会資料.
- 20) 永山敏廣, 田村行弘, 真木俊夫, 観公子, 直井家壽太, 三島太一郎: 衛生化学 **31**, 362~370 (1985) .
- 21) 山中英明, 松本美鈴: 食品衛生学雑誌, **30**(5), 396~400 (1989) .
- 22) 山中英明, 塩見一雄, 菊池武昭: 食品衛生学雑誌, **30**, 170-174 (1989) .
- 23) 厚生省生活衛生局監修: “食品衛生検査指針理化学編” , 269~279 (1991) .

4) 大気環境測定車による熊本県内の大気環境調査

-PM_{2.5}による大気汚染状況（平成26年1月～平成27年3月）-

古澤 尚英 宮本 俊

要旨

大気汚染常時監視測定局が設置されていない地域での微小粒子状物質による大気汚染状況を把握し、注意喚起地域区分の妥当性の判断資料とすることを目的として、大気環境測定車に微小粒子状物質（PM_{2.5}）自動測定機を搭載し、平成26年1月～平成27年3月にかけて4地点で調査を行ってきた。その結果、測定地点は近隣の大気汚染常時監視測定局と高い相関を示し、注意喚起地域区分として現行の区分が妥当であることが確認された。また、距離が近い地点でも地域内汚染によって異なる濃度挙動を示していたことが分かった。

キーワード：大気環境測定車，微小粒子状物質，注意喚起地域，地域内汚染

はじめに

近年、大気中の微小粒子状物質（以下、PM_{2.5}）について関心が高まっており、全国的にPM_{2.5}自動測定機の設置が進み、大気汚染常時監視局（以下、測定局）においてPM_{2.5}の監視が行われている。熊本県では、平成24年度からPM_{2.5}自動測定機を設置し、平成27年1月時点では県下26地点で定期的にPM_{2.5}の監視が行われている。また、環境省による、PM_{2.5}の注意喚起のための暫定的な指針の設定¹⁾に基づき、県内を4つの地域に分類した注意喚起地域区分が設定された。

このような中、平成25年12月に大気環境測定車(以下、

測定車)にPM_{2.5}自動測定機を搭載し、平成26年1月から県内各地で大気環境調査を行っている。

調査の目的は、測定局の設置されていない地点でのPM_{2.5}の汚染状況を把握し、注意喚起地域区分の妥当性の判断資料とすることである。今回は平成26年1月～平成27年3月に測定車を用いて調査した4地点及び熊本県内測定局のPM_{2.5}測定結果を比較、解析したので報告する。

調査方法

1 大気環境測定車による環境調査

測定車を平成26年1月～平成27年3月にかけて、測定

表1 大気環境測定車による調査地点

調査地点	大気環境測定車設置場所	標高(m)	調査期間	注意喚起地域区分
山都	上益城郡山都町大字下市184-1道の駅「通潤橋」	450	平成26年1月15日～2月16日	県央地域
小国	阿蘇郡小国町2685-1小国町運動広場	467	平成26年4月25日～6月12日	県北地域
多良木	多良木町大字多良木土手下多良木役場職員駐車場横空地	160	平成26年10月18日～12月16日	県南地域
八代市泉	八代市下岳3000八代市運動広場	219	平成26年12月19日～3月11日	県南地域

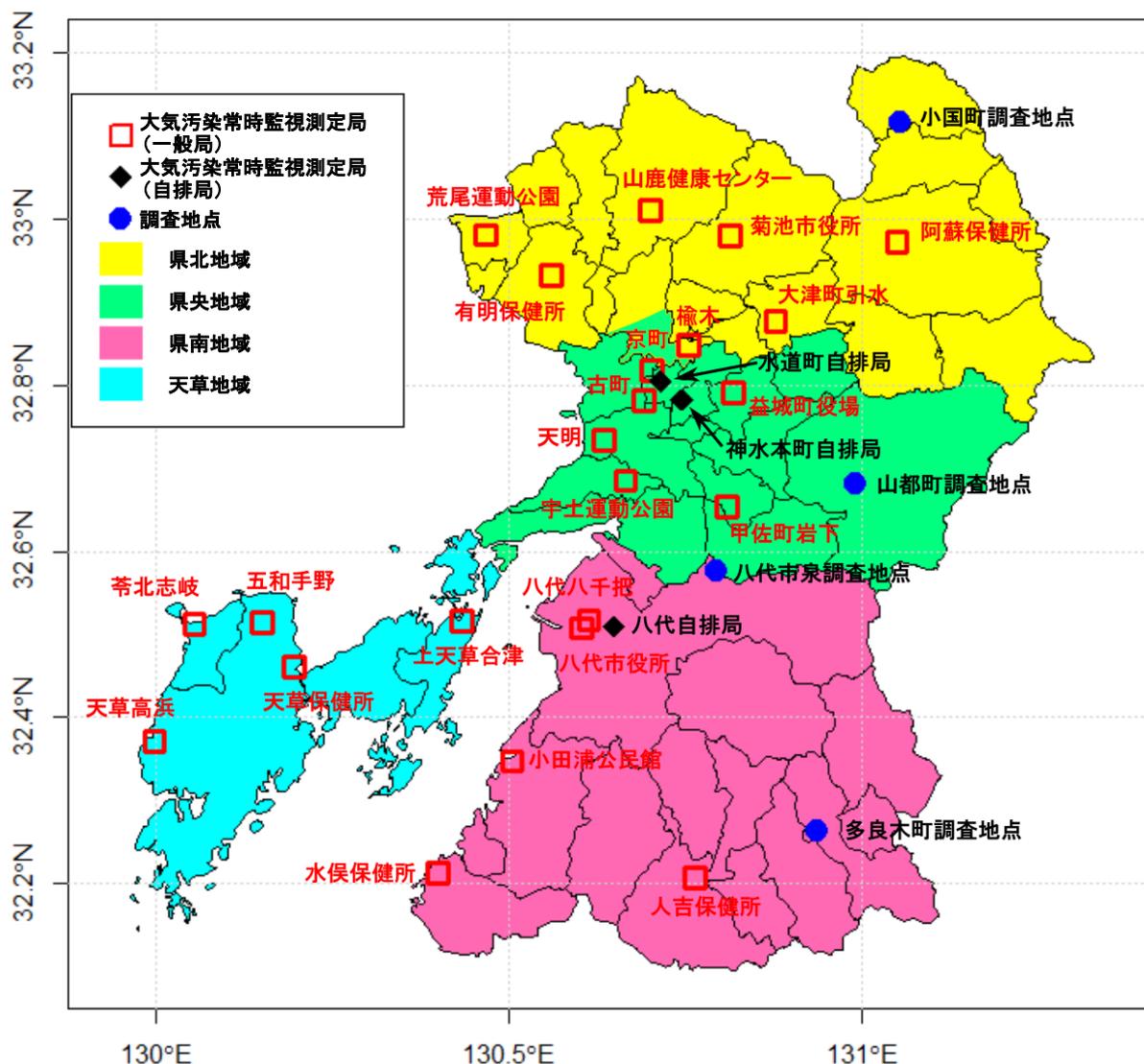


図1 PM_{2.5}注意喚起地域区分（～平成27年2月）

※平成27年3月に熊本市内の大気汚染常時監視測定局の再配置が完了し、県北地域及び県央地域の一部が変更された。

局が設置されていない、山都町、小国町、多良木町及び八代市泉の4市町に設置して調査を行った。調査地点を表1に示す。山都及び多良木は近隣は住宅や商店などで人や車の往来がある地点であり、小国及び八代市泉は屋外のグラウンドを有する運動広場の駐車場で、住宅地が少ない地点であった。

山都、小国、八代市泉の3地点とも都市部から離れた地点であり、周囲を山林に囲まれている。多良木については1000m級の山に周囲を囲まれた、人吉盆地の東部に位置する地点であった。

測定車に搭載したPM_{2.5}自動測定機は紀本製PM-712であり、測定局には、堀場製APDA-375Aが5局、東亜ディーケーケー製FPM-377が9局、サーモフィッシャー製FH62C14が7局、紀本電子製PM-712が5局設置されている。

測定車による調査地点及び測定局を示し、併せて熊本県のPM_{2.5}注意喚起地域区分を図1に示す。地図の作成にはESRIジャパンの全国市区町村界データを使用しており、表示には統計解析環境R(V3.2.0)のmaptoolパッケージを用いた。

2 解析方法

PM_{2.5}に係る環境基準は1日平均値(1日平均値の年間98%値)35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下(短期基準)、1年平均値(1日平均値の平均値)15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下(長期基準)と定められており、両者とも長期的評価(有効測定日数250日以上)を行うこととなっている²⁾。また、注意喚起のための暫定的な指針となる値として1日平均値70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ が示されている¹⁾。

今回の調査期間は、最大で3か月程度であったことと注意喚起地域区分の妥当性の検証が目的であったこ

とから、解析には調査地点（4 地点）及び測定局（26 地点）のデータを用いて 1 日平均値の最大値（以下、期間最大値）、平均値（以下、期間平均値）及び測定車を設置した注意喚起地域（以下、PM_{2.5} 区域）の常時監視局（以下、区域測定局）における 35 μg/m³ 超過日（以下、高濃度日）の日数を求めた。

熊本県では PM_{2.5} の濃度が、5 時～7 時の 3 時間平均値で 85 μg/m³、または 6 時～19 時の間で各時間帯における 1 時からの平均値（日中の現在情報）で 70 μg/m³ を超過した場合、図 1 に示す地域区分ごとに注意喚起が出される。また、地域内の全ての局の 1 時間値が 2 時間連続して 70 μg/m³ 未満になった場合注意喚起は解除され、19 時以降も注意喚起が継続している場合、翌午前 0 時をもって自動解除となる。ただし、当日の午前 1 時から各時間帯までの 1

時間値の平均値が 70 μg/m³ を超過している場合は、注意喚起を継続することとなっている。

解析に用いたデータは大気汚染常時監視（テレメータ）システムから速報値を取得した。なお、平成 27 年 2、3 月に熊本市の測定局設置場所の一部再配置等により、古町及び天明の 2 局は八代市泉の調査期間の一部で欠測となった。

注意喚起地域類似性の検証には 1 日平均値、5~7 時の 3 時間平均値及び 1~12 時の 12 時間平均値を算出し、これから最小二乗法による回帰分析を行った。このことから、調査地点のデータが、区域測定局の変動内にあるかどうかを確認し、また、区域測定局から計算した 95 パーセント予測区間と調査地点のデータについて比較した。なお、新たに観測を行うデータの 95% が存在すると予測される範囲を 95 パーセント予測区間という。

表 2 調査地点における大気汚染状況
※網掛け■は調査地点

順位		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
山都町 調査 (県央地域)	期間最大値 (μg/m ³)	山都 67.6	楡木 61.7	水道町自 排局 61.3	益城町 役場 60.8	京町 57.5	古町 49.3	天明 47.5	神水本町 自排局 46.7	宇土運動 公園 46.5	甲佐町 岩下 40.3
	期間平均値 (μg/m ³)	水道町自 排局 24.3	益城町 役場 22.9	京町 21.8	楡木 21.3	山都 20.4	天明 20.1	神水本町 自排局 18.1	宇土運動 公園 17.9	古町 17.7	甲佐町 岩下 16.2
	35 μg/m ³ 以上 (高濃度日)日数	京町 7	水道町自 排局 7	益城町 役場 7	楡木 5	古町 5	神水本町 自排局 5	天明 5	山都 5	宇土運動 公園 4	甲佐町 岩下 2
順位		1	2	3	4	5	6	7			
小国町 調査 (県北地域)	期間最大値 (μg/m ³)	山鹿健康 センター 55.7	有明 保健所 55.4	菊池市 役所 48.9	荒尾運動 公園 48.4	大津町 引水 43.0	小国 41.8	阿蘇 保健所 38.2			
	期間平均値 (μg/m ³)	山鹿健康 センター 23.3	荒尾運動 公園 22.6	有明 保健所 21.7	菊池市 役所 20.6	大津町 引水 19.6	小国 17.7	阿蘇 保健所 15.8			
	35 μg/m ³ 以上 (高濃度日)日数	山鹿健康 センター 9	荒尾運動 公園 7	有明 保健所 7	菊池市 役所 5	大津町 引水 4	小国 4	阿蘇 保健所 3			
順位		1	2	3	4	5	6	7			
多良木町 調査 (県南地域)	期間最大値 (μg/m ³)	八代 八千把 46.4	八代 市役所 40.6	水俣 保健所 35.5	八代 自排局 35.1	人吉 保健所 33.7	小田浦 公民館 33.5	多良木 29.4			
	期間平均値 (μg/m ³)	八代 八千把 19.7	八代 自排局 17.7	八代 市役所 16.4	人吉 保健所 16.4	多良木 16.2	小田浦 公民館 15.7	水俣 保健所 15.0			
	35 μg/m ³ 以上 (高濃度日)日数	八代 八千把 2	八代 自排局 1	八代 市役所 1	水俣 保健所 1	小田浦 公民館 0	人吉 保健所 0	多良木 0			
順位		1	2	3	4	5	6	7			
八代市泉 調査 (県南地域)	期間最大値 (μg/m ³)	八代 八千把 46.6	八代 自排局 40.7	人吉 保健所 39.7	八代 市役所 39.4	小田浦 公民館 38.5	八代市泉 33.9	水俣 保健所 33.7			
	期間平均値 (μg/m ³)	八代 八千把 22.3	八代 自排局 19.8	小田浦 公民館 18.0	人吉 保健所 17.6	八代 市役所 17.2	水俣 保健所 15.8	八代市泉 14.9			
	35 μg/m ³ 以上 (高濃度日)日数	八代 八千把 11	八代 自排局 5	小田浦 公民館 4	人吉 保健所 2	八代 市役所 1	水俣 保健所 0	八代市泉 0			

表3 1日平均値が35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した日の1日平均値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
網掛け■は1日平均値が35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過日

調査期間	泉北地域										泉南地域										天草地域												
	荒瀬運動公園	若明健康所	山鹿健康所	山鹿健康所センター	新井市役所	大津町健康所	大津町引水	小国	新井	吉野	水瀬町健康所	神水本町健康所	天明	岩崎町役場	宇土運動公園	甲斐町岩下	山形	八代八千代	八代自衛隊	八代市役所	小田運動公園	水瀬健康所	人妻健康所	多良木	八代市	上野台	津北	五和	平野	平野			
山都町調査 (黒北地域)	17日	375	380	351	302	408	382	408	437	336	263	298	373	316	299	278	228	263	287	280	297	263	347	312	344	360	319						
	18日	456	499	495	411	508	617	575	489	613	467	475	608	438	403	484	421	436	414	397	353	365	254	308	315	318	308						
	30日	335	311	285	310	343	364	326	395	296	304	354	310	256	394	318	310	308	293	299	222	319	408	373	412	443							
平成26年2月	1日	383	389	329	263	323	433	439	407	471	384	412	448	386	282	414	446	419	391	424	426	327	300	368	333	384	373						
	3日	402	417	428	483	492	522	526	493	567	446	447	550	465	393	676	460	470	437	486	477	417	335	531	435	435	504						
	18日	338	326	357	306	285	286	333	336	300	378	305	325	312	277	268	293	272	258	296	258	278	250	298	269	298	278						
平成26年5月	22日	357	373	364	325	276	328	258	367	374	360	430	357	348	371	372	307	388	351	367	356	368	324	305	364	328	370	356					
	23日	270	279	238	203	172	163	306	302	288	347	308	288	330	319	257	340	299	334	359	318	278	273	321	277	312	295						
	27日	339	333	305	278	175	227	180	347	367	323	420	310	281	294	216	365	335	311	350	341	247	325	412	402	430	475						
小国町調査 (黒北地域)	28日	388	408	401	323	270	313	303	365	408	317	431	355	317	332	286	379	350	313	370	321	308	409	370	393	501	416						
	29日	413	439	437	410	355	370	359	457	445	397	491	430	408	455	412	480	465	468	435	428	350	369	505	377	485	506						
	30日	406	410	434	386	360	392	418	455	403	394	465	433	388	430	425	353	460	388	462	441	454	375	366	433	346	428	446					
平成26年6月	31日	484	470	486	460	344	412	375	502	480	444	528	482	422	471	458	413	466	413	448	458	436	457	412	442	390	448	447					
	1日	466	554	557	489	382	430	414	495	473	429	518	460	401	510	456	413	449	400	428	408	363	448	368	381	361	394	364					
	2日	296	339	544	288	180	246	225	315	323	267	349	302	266	329	200	257	208	254	205	205	231	172	260	207	210	197						
平成26年10月	8日	363	383	425	435	238	306	256	384	353	275	361	309	245	378	392	287	294	283	297	267	257	221	220	216	235	265	185					
	18日	348	308	313	242	182	256	314	410	286	343	323	339	339	345	263	484	345	406	335	365	337	294	236	225	253	266	237					
	20日	361	347	365	243	172	233	224	198	253	295	277	265	287	293	249	195	192	185	172	183	185	168	132	145	238	169	135					
平成26年11月	30日	416	375	335	265	203	256	340	326	321	373	344	341	351	317	286	340	298	286	252	270	227	193	236	267	272	297	253					
	31日	425	392	346	247	138	290	356	331	327	398	334	338	289	309	165	291	234	259	201	188	195	133	210	259	313	160						
	8日	484	418	385	461	237	321	474	414	411	477	426	414	488	362	330	378	351	342	311	284	308	239	255	274	318	328	243					
平成26年12月	24日	301	272	292	294	200	289	392	347	268	383	293	293	330	240	211	296	275	226	199	188	244	128	173	174	195	207	155					
	28日	321	276	297	319	213	274	347	321	272	361	281	318	326	268	219	284	253	231	213	188	193	171	186	150	208	205	160					
	29日	303	292	314	283	235	302	362	340	286	365	300	331	303	294	233	268	242	238	243	215	237	187	223	220	255	243	226					
平成27年1月	30日	399	357	393	371	322	387	495	417	379	474	400	430	427	392	320	409	373	331	357	306	302	323	303	327	321	330	357					
	31日	300	280	369	297	272	273	342	351	312	402	314	338	353	277	245	306	268	223	253	240	282	220	251	223	248	253	268					
	10日	344	315	337	351	358	405	381	374	345	428	338	374	397	330	323	345	316	307	314	284	274	286	306	318	319	321	325					
平成27年2月	11日	299	320	348	373	262	337	410	370	330	424	317	337	403	272	293	335	321	298	293	301	318	321	298	243	272	302	264					
	14日	360	287	263	222	142	148	280	296	241	338	278	325	290	244	242	301	275	245	210	113	189	135	182	152	192	193	98					
	17日	294	290	336	345	275	333	375	350	320	391	279	320	388	283	315	362	333	297	385	298	310	306	288	253	314	318	304					
平成27年2月	19日	330	308	285	275	282	302	344	336	304	379	308	337	338	262	251	351	308	280	341	289	270	246	321	291	329	333	315					
	20日	373	342	380	350	320	349	435	383	376	460	385	390	439	340	300	392	356	309	284	270	353	299	261	210	220	241	210					
	21日	525	390	370	429	269	302	461	419	391	478	424	465	492	380	335	466	407	394	346	314	397	275	291	280	289	316	265					
平成27年2月	28日	285	240	218	248	215	285	283	296	272	358	291	294	295	266	212	303	303	281	272	382	346	223	239	237	275	272	290	301				
	5日	355	334	343	400	333	404	397	396	354	437	327	360	436	381	381	372	365	328	376	323	350	339	293	343	328	355	350	329				
	16日	436	381	344	343	253	245	382	339	344	405	354	368	300	222	324	324	269	262	225	236	337	215	222	244	242	262	223					
平成27年2月	17日	295	291	286	285	234	303	371	300	270	334	278	313	281	280	271	374	315	281	305	273	271	268	294	300	303	309	319					
	18日	370	353	351	348	302	344	371	373	300	409	308	379	320	320	320	396	357	323	351	337	318	310	335	344	359	371	335					
	23日	250	232	224	222	190	258	313	306	300	360	300	286	250	223	286	387	290	238	259	237	198	247	222	298	265	255	325					
平成27年2月	24日	248	255	240	248	170	226	275	261	350	275	283	246	283	246	158	215	336	221	250	203	189	185	196	250	238	288	289					
	25日	252	259	242	208	134	200	321	292	353	329	305	248	205	205	205	403	310	272	260	203	184	179	190	200	207	225	183					

回帰分析には統計解析環境 R (V3.2.0) の lm () 関数を用いており、95 パーセント予測区間は、predict (interval = "prediction", level=0.95) 関数を用いて計算した。

調査結果

1 調査地点における PM_{2.5} 大気汚染状況

調査地点及び区域測定局の 1 日平均値における期間最大値、期間平均値及び高濃度日の日数を表 2 に示す。また、県内の測定局で 1 日平均値が 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過 (以下、35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過) した日を表 3 に示す。

表 2 より、期間平均値は山都：20.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、小国：17.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、多良木：16.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、八代市泉：14.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

山都の期間平均値は区域測定局における期間平均値の平均的な値をとっていたが、山都の期間最大値は 67.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、区域測定局よりも高かった。一方で、山都の高濃度日の日数は 5 日であり、区域測定局と同程度であった。

小国町、多良木町及び八代市泉調査において、区域測定局と近い値が観測されていたが、調査地点の期間最大値及び期間平均値は低い値であり、高濃度日の日数も区域測定局に比べて少なかった。多良木及び八代市泉は高濃度日がなかった。

これらのことから調査地点の期間最大値、期間平均値、高濃度日日数は PM_{2.5} 区域と近い値を示していたことが分かった。

2 県内の大気汚染状況

表 3 より、山都町及び小国町の調査期間において、高濃度日になった日は県内全域の測定局で 1 日平均値が 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過していた。また、高い濃度が観測さ

れにくい県北地域の阿蘇保健所、県央地域の甲佐町岩下及び県南地域の人吉保健所及び天草地域でも 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過日が観測された。

この期間の高濃度日について全球のエアロゾル輸送モデル SPRINTARS⁴⁾ の数値シミュレーション結果を確認したところ、PM_{2.5} に加え硫酸塩及び SO₂ ガスの移流が予測されていた。通常、PM_{2.5} 濃度は自動車排ガス等の影響を強く受け^{5)、6)}、都市部で高濃度になりやすいが⁷⁾、この期間は越境移流による広域的な汚染が関与し、山都や天草地域のような場所でも濃度の上昇があったと推測された。

多良木町及び八代市泉の調査期間において 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過日は比較的人口の多い市町村等、特定の地域で多かった。県内の広範囲で 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 超過があった日は、SPRINTARS の予測結果で PM_{2.5}、硫酸塩及び SO₂ ガスの移流が予測されており、平成 27 年 1 月以降は土壤粒子の移流も予測され、越境移流の影響があったと推測された。

このように、山都町及び小国町の調査期間は広域的な濃度の上昇が多く、逆に多良木町及び八代市泉の調査期間は地域ごとの濃度の上昇が多かった。また、広域的に濃度の上昇が見られたときは、越境移流の影響が考えられた。

3 高濃度事例

各調査期間に 1 日平均値の最大値が 70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過した日はなかったが、県の定める基準に到達したことで PM_{2.5} 区域に注意喚起が出された事例が 2 回あった。この 2 事例の 1 時間値の時系列図を図 2、図 3 に示す。図中のデータは各地域の代表点 (有明保健所、阿蘇保健所、益城町役場、八代八千把、人吉保健所、苓北志岐)、区域測定局及び測定車を示す。

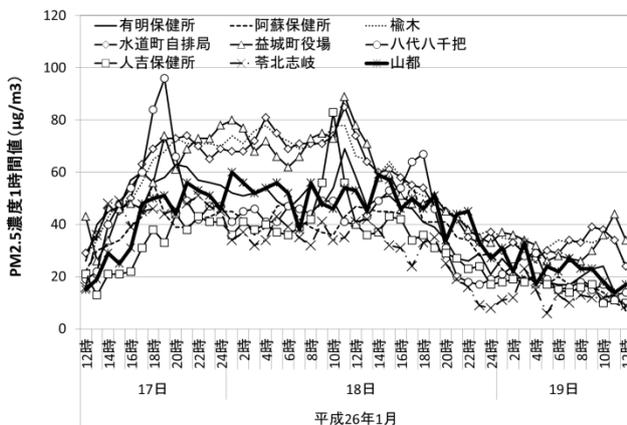


図 2 平成 26 年 1 月 17 日～19 日
期間の PM_{2.5} 1 時間値時系列図
(山都町調査期間)

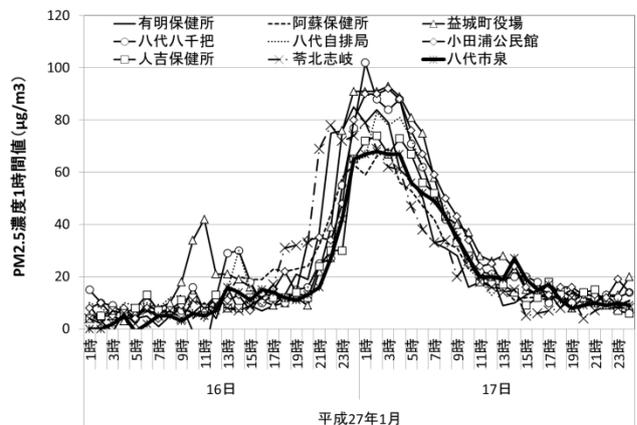


図 3 平成 27 年 1 月 16 日～17 日
期間の PM_{2.5} 1 時間値時系列図
(八代市泉調査期間)

表 4 1 時間値による調査地点と大気汚染常時監視測定局との相関係数
※網掛け■は区域測定局

注意喚起地域区域	大気汚染常時監視測定局	山都	小国	多良木	八代市泉
県北地域	荒尾運動公園		0.762	0.444	0.649
	有明保健所	0.794	0.780	0.437	0.706
	山鹿健康センター	0.755	0.762	0.462	0.739
	菊池市役所	0.819	0.837	0.495	0.742
	阿蘇保健所	0.865	0.911	0.539	0.784
	大津町引水	0.841	0.839	0.496	0.786
県央地域	楡木	0.836	0.841	0.471	0.757
	京町	0.839	0.813	0.484	0.760
	古町	0.855	0.804	0.464	
	水道町自排局	0.835	0.815	0.483	0.750
	神水本町自排局	0.843	0.824	0.489	0.715
	天明	0.812	0.785	0.478	
	益城町役場	0.809	0.770	0.525	0.768
	宇土運動公園	0.815	0.760	0.513	0.702
	甲佐町岩下	0.840	0.815	0.480	0.839
県南地域	八代八千把	0.812	0.740	0.536	0.791
	八代自排局	0.763	0.703	0.542	0.801
	八代市役所	0.851	0.761	0.527	0.764
	小田浦公民館	0.836	0.696	0.499	0.798
	水俣保健所	0.843	0.736	0.548	0.783
	人吉保健所	0.792	0.778	0.724	0.777
天草地域	上天草合津	0.815	0.761	0.498	0.795
	苓北志岐	0.780	0.688	0.374	0.662
	五和手野	0.763	0.661	0.428	0.713
	天草保健所	0.801	0.708	0.454	0.742
	天草高浜	0.770	0.697	0.376	0.677

平成 26 年 1 月 18 日 (図 2) に、県央地域の楡木、水道町自排局及び益城町役場の 3 局で 1~6 時の 6 時間平均値が $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過したため、6 時 30 分に県央地域に注意喚起が行われた。この時は、前日 17 日昼過ぎから濃度が上昇し、18 日の昼過ぎまで高い濃度が維持されており、同日の 15 時 30 分に解除された。県内全域で濃度の上昇は確認されたが、特に県央地域で高い濃度が観測されており、広域的な汚染と地域内汚染の両方の影響が考えられた。

平成 27 年 1 月 17 日 (図 3) は、県南地域の八代八千把、八代自排局、小田浦公民館の 3 局で 1~6 時の 6 時間平均値が $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超過したため、6 時 30 分に県南地域に注意喚起が行われた。また、この日は県内全域 (県北地域、県央地域及、県南地域、天草地域) で注意喚起が行われていた。この時は、16 日の夜遅くから 17 日の未明にかけて濃度が上昇した。17 日の明け方から濃度が低下し、17 日の 10 時 30 分までに全地域の注意喚起が解除された。県内全域で高い濃度が観測されており、越境移流による広域的な汚染の影響が示唆された。

4 調査地点と注意喚起地域との類似性の検証

$\text{PM}_{2.5}$ の 1 時間値は測定機器で差がある³⁾ため、単純に比較することはできないが、急激な濃度の増減も調査地点の特徴として評価するために、調査地点と測定局との 1 時間値による相関係数の比較を行った (表 4)。

調査地点と区域測定局との比較では、相関係数が山

都:古町 (0.855)、小国:阿蘇保健所 (0.911)、多良木:人吉保健所 (0.724)、八代市泉:八代自排局 (0.801) で最も大きかった。

山都は県央地域と高い相関があったが、他地域の測定局との相関も良く、全体的に相関係数が 0.755 以上の値であった。また、多良木は他の調査地点に比べ他地域との相関係数が低く、人吉保健所との相関係数のみ 0.724 で高かった。これは多良木と人吉保健所が人吉盆地の中にあり、他の測定局と隔たった地域にあることが影響していると考えられた。

全体的に区域測定局は他の注意喚起区域の測定局と比べて調査地点と良好な相関を示していた。しかし、山都及び八代市泉と最も相関係数が高かったのは山都:阿蘇保健所 (0.865)、八代市泉:甲佐町岩下 (0.839) であり、 $\text{PM}_{2.5}$ 区域以外の測定局と最も高い相関があった。

調査地点と区域測定局との 1 日平均値における関係を図 4 に示す。図 4 では X 軸に調査地点、Y 軸に区域測定局をとっており、図中の実線は調査地点の $\text{PM}_{2.5}$ 濃度を示している。また、破線で囲まれた領域は区域測定局から計算した 95 パーセント予測区間を示している。

図 4 より、直線は 4 地点の調査全てで区域測定局データプロット内にあり、調査地点と区間測定局は似た挙動を示していた。また、直線は 95 パーセント予測区間内を通過していた。5~7 時平均値及び 1~12 時平均値は 1 日平均値による結果とほぼ同様の結果が得られたが、1 日平均値より高濃度側にプロットがあり、ばらつきがあった。

1 日平均値の結果について詳しく見ると、小国町及び八代市泉調査は、区域測定局は 95 パーセント予測区間の幅が狭く、調査地点と高い相関が見られた。しかし、実線は 95 パーセント予測区間の中心よりも下側に位置しているため、区域測定局では調査地点の濃度レベルは低かったことが分かる。

山都町調査では区域測定局のばらつきが大きく、95 パーセント予測区間の幅が他の調査に比べて大きかった。特に高濃度側で実線が区域測定局のプロットより上側に位置していた。これは表 2 で見られた、山都の期間最大値は区域測定局で最も大きく、また、期間平均値は区域測定局と同程度であったことを表したものである。

多良木町調査の濃度レベルは他の調査期間に比べて濃度レベルは低く、区域測定局に多少ばらつきがあった。

各調査はばらつきや濃度レベルに違いが見られたものの、区域測定局と良い相関関係が見られ、注意喚起地域区分は適切に区別されていることが確認された。

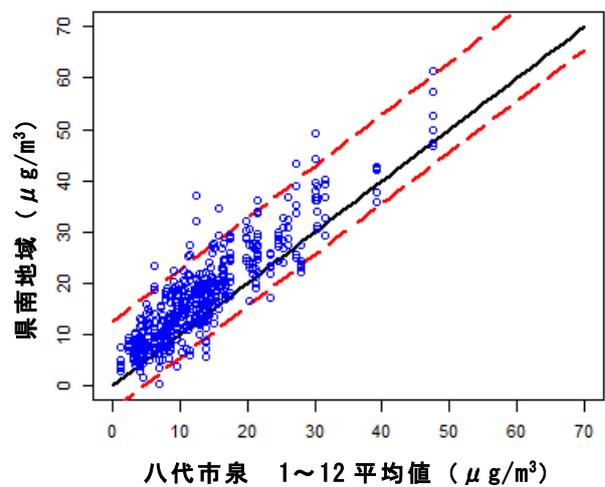
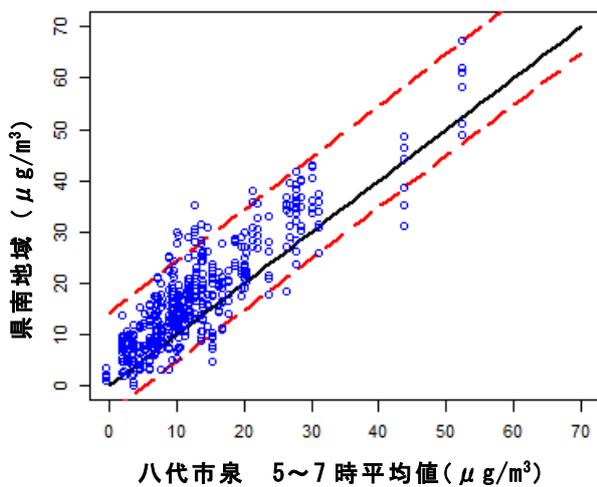
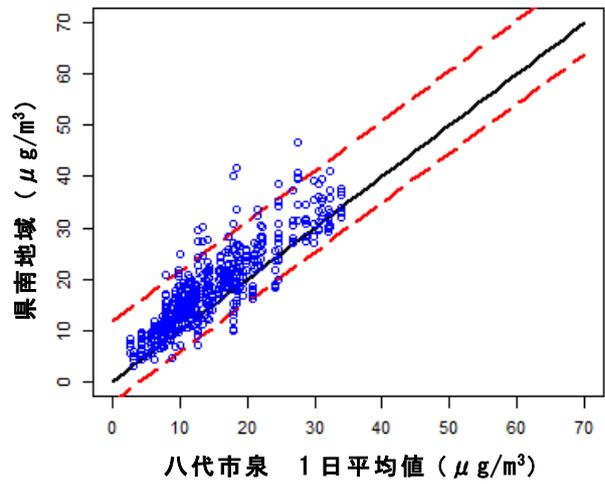
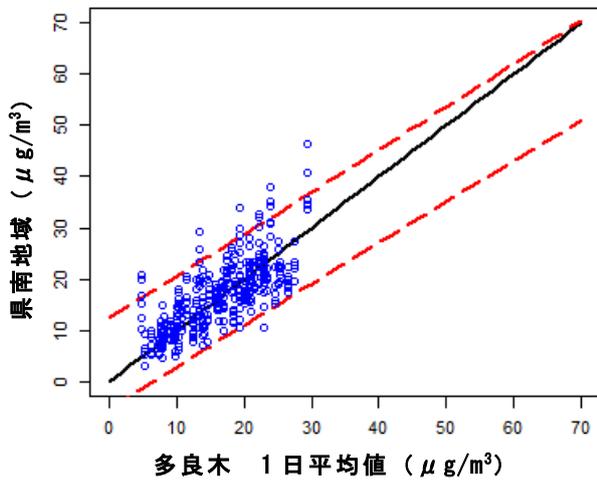
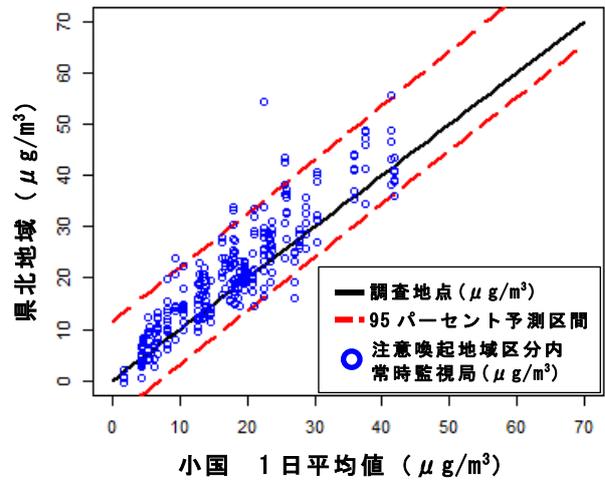
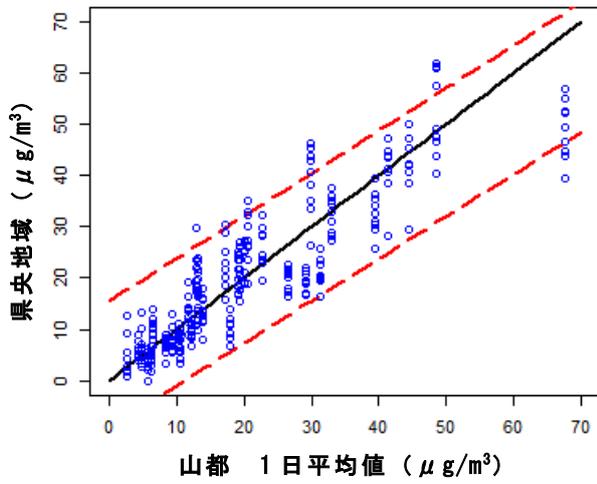


図4 調査地点と区域測定局との関係

※5~7時平均値及び1~12時平均値による結果は、代表として八代市泉の結果のみ示す。

上・中段：日平均値，下段左：5~7時平均値，下段右：1~12時平均値

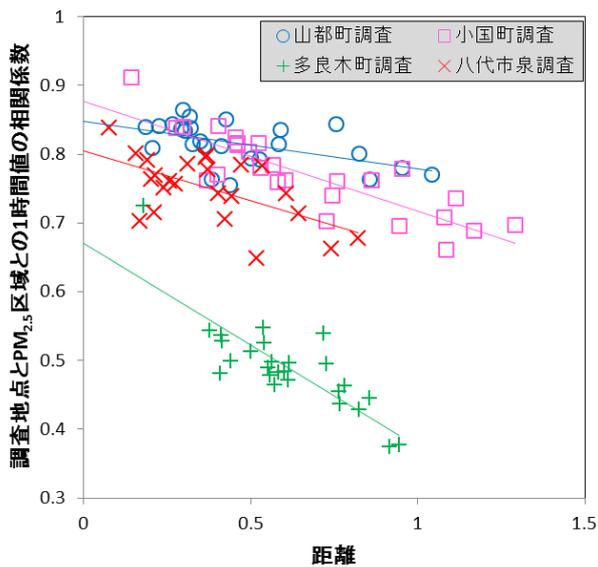


図5 地点間距離と1時間値相関係数との関係
※直線は、調査期間ごとの回帰直線を表す

5 調査期間における熊本県内のPM_{2.5}濃度レベル

これまでの解析で、調査地点はPM_{2.5}区域と高い類似性を示していたことが分かった。しかし、山都と阿蘇保健所及び八代市泉と甲佐町岩下は異なる注意喚起地域に区分けされているにもかかわらず、最も高い相関を示していた(表4)。地図上では、山都と阿蘇保健所は熊本県の東側の山間部にあり周囲の環境が似ており、地点間の距離が比較的近い。また、八代市泉と甲佐町岩下は地点間の距離が最も近いところにあった。このことは、久恒らによる名古屋市の調査結果においても同様のことが報告されている⁸⁾。

調査地点と測定局とのPM_{2.5}1時間値の相関係数を、調査地点と測定局の距離についてプロットしたものを図5に示す。距離は地点の緯度・経度(度)をもとに、平面上の2地点を結ぶ長さとして計算しており、図中の直線は調査期間ごとの回帰直線を表している。

図5から、PM_{2.5}濃度の相関係数は距離と負の相関があり、距離が遠くなるほどPM_{2.5}濃度挙動の関係が低くなることが確認された。

調査期間ごとの特徴を見ると、山都町調査では回帰直線の傾きが小さく、県内全域で濃度挙動に差があまりなかったことが分かる。

小国町調査では、距離が最も近い阿蘇保健所が回帰直線より上側にプロットされており、それ以外の測定局と差が見られた。これは阿蘇山周辺にある小国及び阿蘇保健所が他の測定局と隔たった地域にあることが影響していると考えられた。

多良木町調査では、距離が最も近い人吉保健所の相関係数が回帰直線より大きく上方にプロットされて

おり、それ以外の測定局の相関係数と差が見られた。また、他の調査期間に比べて回帰直線の傾きが大きかった。このことは先述した人吉市、多良木町周辺が人吉盆地の中にあり、他の測定局と異なる地域にあることによると考えられる。

八代市泉調査では地理的に県の中心付近での測定となったため、調査地点からの距離が他の調査期間より短く、ばらつきが大きかった。

これらのことから、距離に応じた相関関係は熊本県内でも成り立っているが、地域内汚染の影響が強く表れていると考えられた。

各調査期間における調査地点及び測定局の期間平均値($\mu\text{g}/\text{m}^3$)を地図上にプロットしたものを図6に示す。

各調査期間において、県央地域の熊本市付近を中心に期間平均値は高い値を示していた。また、県北地域の西側及び八代市の一部でもやや高い値を示していた。一方で、県北地域の東部、県南地域及び天草地域はやや低い値を示していた。このことは各調査の濃度レベルの大小に関係なく、ほぼ同じ傾向を示していた。このため、図6のPM_{2.5}濃度分布は県内の地域内汚染の影響を示していると考えられる。

熊本市、益城町及び八代市に隣接する宇土運動公園、甲佐町岩下及び大津町引水では、やや低い値を示しており、都市部との濃度差が大きかった。このため、地域内汚染の影響は狭い範囲にのみ現れると推測された。

まとめ

平成26年1月～平成27年3月にかけて山都町、小国町、多良木町及び八代市泉において測定車によるPM_{2.5}濃度調査を行い、PM_{2.5}区域との大気汚染の状況、相関及び濃度レベルを検証し、次のことが分かった。

- ・環境基準の評価に準じた、期間最大値、期間平均値及び高濃度日数について区域測定局と近い値を示していた。
- ・調査地点と区域測定局との1日平均値、5~7時平均値及び1~12時平均値は類似性が高いことが分かった。
- ・熊本県の注意喚起地域区分は、適切に区分けされていた。
- ・測定局間の1時間値相関係数と距離との関係には負の相関が見られた。また、地域内汚染の影響が強く見られた。
- ・期間平均値は図6において地域内汚染の影響を表しており、都市部とそれ以外の地域で濃度に差が見られた。

文献

- 1) 環境省：注意喚起のための暫定的な指針の判断方法の改善について（第2次）。
- 2) 環境省：微小粒子状物質に係る環境基準について（平成21年9月9日告示）。
- 3) 板野泰之，日置正，菅田誠治，大原利真：大気環境学会誌，50（2），123-129（2015）。
- 4) SPRINTARS 開発チーム：SPRINTERS アーカイブ (<http://sprintars.riam.kyushu-u.ac.jp/archivej.html>) 。
- 5) 山神真紀子，鈴木秀夫，長谷川就一，中島寛則，平生進吾，若松伸司：大気環境学会誌，43（5），273-283（2008）。
- 6) 岸浩稔，竹内渉，沢田治雄：生産研究，63（4），437-441（2011）。
- 7) 荒木真，岩崎香季，嶋寺光，山本浩平，近藤明：大気環境学会誌，50（1），35-43（2015）。
- 8) 久恒邦裕，山神真紀子：大気環境学会誌，50（2），107-116（2015）。

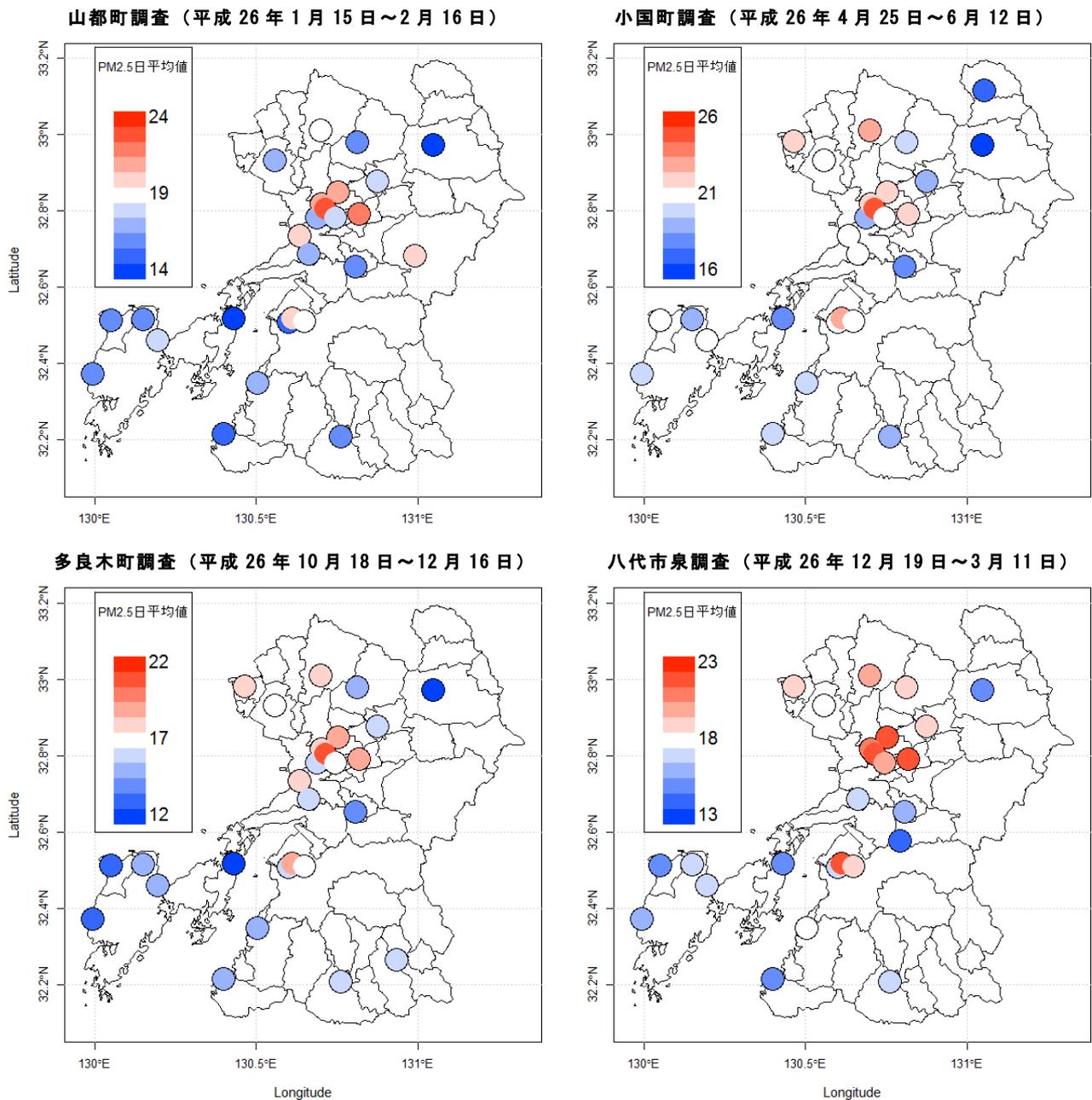


図 6 常時監視測定局と調査地点の PM_{2.5} 期間平均値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

5) 成分調査結果を用いた PM_{2.5} に対する越境移流/地域発生の影響の解析

豊永悟史 出納由美子 北岡宏道

要旨

平成 25 年度に熊本県内 3 地点と長崎県の離島 2 地点で実施された微小粒子状物質 (PM_{2.5}) 成分調査結果を比較したところ、県内の汚染状況について次の 3 点が明らかになった。(1) 越境移流の影響を受けた成分 (SO₄²⁻, As, Se), 地域発生の影響を受けた成分 (NO₃⁻, OC, Soot-EC) が存在し、越境移流と地域発生が複合的に影響していた。(2) 一部の無機元素成分は宇土運動公園局で高い傾向が見られ、NO₃⁻は益城町役場局と神水自排局で高い傾向が見られる等地域的な違いが見られた。(3) 高濃度事例解析の結果、越境移流が主要因の事例と越境移流/地域発生が複合的に影響した事例の 2 パターンが存在することが示された。

キーワード：微小粒子状物質 (PM_{2.5})、地域特性、越境移流、高濃度事例解析

はじめに

微小粒子状物質 (以下、「PM_{2.5}」という。) は疫学調査で死亡率等の有意な上昇を引き起こす可能性が指摘されており¹⁾、日本でも全国的に環境基準を超過していることから²⁾、大気環境行政上の重要な課題の一つとなっている。その高濃度汚染原因の一つとして、経済発展が著しいアジア大陸からの越境移流が考えられている。特に九州においては、その影響が大きいことが指摘されており^{3, 4)}、PM_{2.5}削減対策の検討のためには、越境移流と地域発生の影響の定量的把握が必要不可欠である。

離島と都市部の PM_{2.5} 質量濃度、あるいは成分濃度を比較することで、越境移流と地域発生の影響を把握する試みがなされているが^{5, 6)}、熊本県内において、定量的な解析が行われた例はほとんどなく、その実態は明らかになっていない。そこで本研究は、環境省のガイドライン⁷⁾に基づき、全国の自治体で実施されている成分調査のデータを活用し、熊本県内と地域的な発生源の影響をほとんど受けないと考えられる長崎県の離島の成分調査結果を比較することで、①PM_{2.5}成分

に対する越境移流、地域発生の影響の定量的な把握、②各地域の PM_{2.5} 成分の特徴の解析、③高濃度事例の発生要因の推定を試みた。

調査・解析方法

1 解析対象地点及びデータの概略

図 1 に調査地点の位置関係を示した。解析対象としたのは、熊本県内の 3 地点 (宇土運動公園局、益城町役場局、神水自排局; 以下、それぞれ「宇土」、「益城」、「神水」という。) と長崎県の離島 2 地点 (国設五島酸性雨測定局、国設対馬酸性雨測定局; 以下それぞれ「五島」、「対馬」という。) において平成 25 年度の夏～冬の 3 季節に各 2 週間実施された PM_{2.5} 成分調査結果である。夏季のみ地点間で調査期間が異なっており、宇土と益城は 7/30～8/12、残りの 3 地点では 7/25～8/7 に実施された。秋季と冬季には 10/23～11/5、1/22～2/4 に全地点で調査が実施された。なお、採取は全地点で 10 時に開始され、地点により異なるが、翌日の 9 時～10 時の間に試料回収・設置が行われた。本文及び図中で示す試料採取期間や PM_{2.5} 質量濃度の日平均値、成

分濃度等の日付は特に説明がない限り試料採取開始日としている。宇土と益城は熊本県，神水は熊本市，五島と対馬は環境省が調査を実施している。神水，五島，対馬は環境省 HP で公表されているデータ⁸⁾を解析に使用した。

成分はイオン，炭素，無機元素に分けられる。イオンは Na^+ ， Mg^{2+} ， NH_4^+ ， Ca^{2+} ， K^+ ， SO_4^{2-} ， NO_3^- ， Cl^- の 8 成分を全地点で分析しており，解析対象とした。炭素は，元素状炭素 (EC) をフラクション別に 2 種類に分類した Char-EC・Soot-EC⁹⁾ 及び有機炭素 (OC) を解析対象とした。Char-EC はバイオマス燃焼の指標，Soot-EC は自動車排ガスの指標になると考えられている^{9, 10)}。なお，神水は炭素の測定を行っていない。無機元素は，地点により分析対象成分が異なっており，検出下限値未満が多い成分も含まれる。全地点で共通して分析しており，全期間の 1/4 以上で測定値が得られている 9 成分 (Al, V, Mn, Fe, Zn, As, Se, Ba, Pb) を解析対象とした。なお，Na, Ca, K はイオンと重複しているため，イオンの値を用いて評価することとした。

2 PM_{2.5} 質量濃度の日平均値の取扱い

神水，五島，対馬は，成分調査で 23～24 時間採取したフィルターを標準測定法¹¹⁾で秤量して得られた質量濃度を「日平均値」とした。宇土，益城は自動測定機の PM_{2.5} 質量濃度の 1 時間値を，試料採取時間に合わせて 23 時間 (11 時～翌 9 時) 平均した値を「日平均値」とした。標準測定法の値と自動測定機の値は，日単位で比較した場合には，等価性を持つことが示されており，同等に評価して問題ないと判断した¹²⁾。

3 常時監視データおよび気象解析

常時監視データの解析には熊本県内および五島と対



図 1 解析対象地点の位置関係

馬の PM_{2.5} 質量濃度の 1 時間値を使用した。気塊の由来と移流経路を求める解析手法として，後方流跡線解析 (NOAA Hysplit model) を用いた。本報の後方流跡線図はすべて NOAA の HP¹³⁾から入手した気象データ (GDAS) を用いて，Trajstat (気象解析ソフト¹⁴⁾) で作成したものである。宇土を起点とし，起点高度は 1000m，遡及時間は 72 時間とした。なお，気象データ (GDAS) は「4 高濃度事例解析」の混合層高度の解析にも使用した。また，天気図は，気象庁ホームページより入手したものを使用した。

結果及び考察

1 PM_{2.5} 質量濃度の日平均値の経時変化

図 2 に PM_{2.5} 質量濃度 (日平均値) の経時変化を示

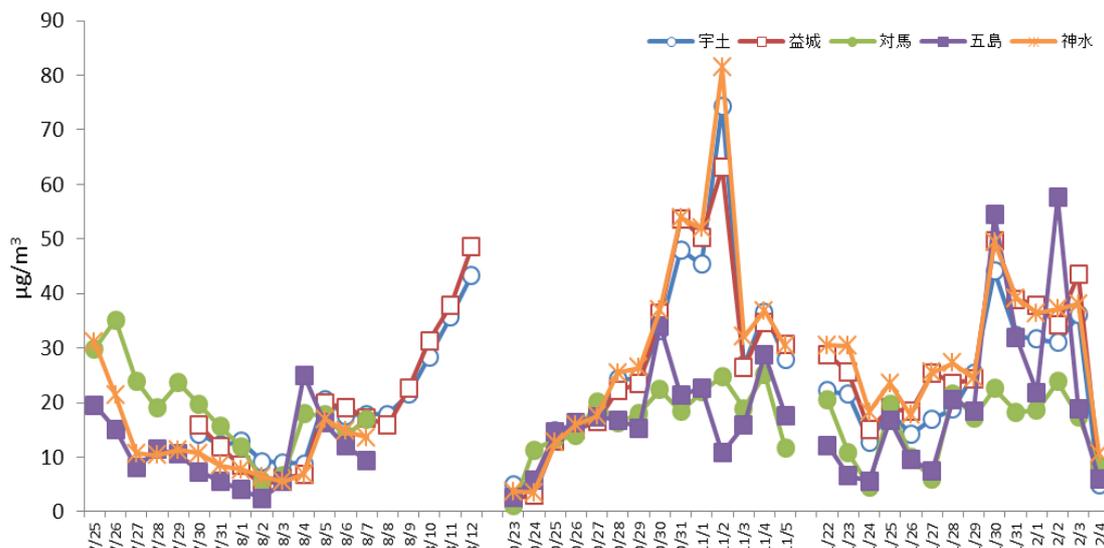


図 2 PM_{2.5} 質量濃度 (日平均値) の経時変化

した。変動傾向は全体的には地点間で類似していたが、秋と冬は離島に比べて県内の濃度レベルが高い傾向が見られた。また、冬季は県内3地点でも濃度レベルの差が見られ、神水と益城が全体的に宇土よりも高い傾向が見られた。

2 PM_{2.5}の主要な成分組成

図3に各成分の平均濃度を示した。平均した期間は、全ての調査地点でデータが存在する7/30~8/7, 10/23~11/5, 1/22~2/4（これらの期間をまとめて、以下、「同一期間」という。）である。PM_{2.5}質量濃度と解析対象成分の濃度の合計値との差は不明分として示している。いずれの地点でもPM_{2.5}質量濃度へ占める割合

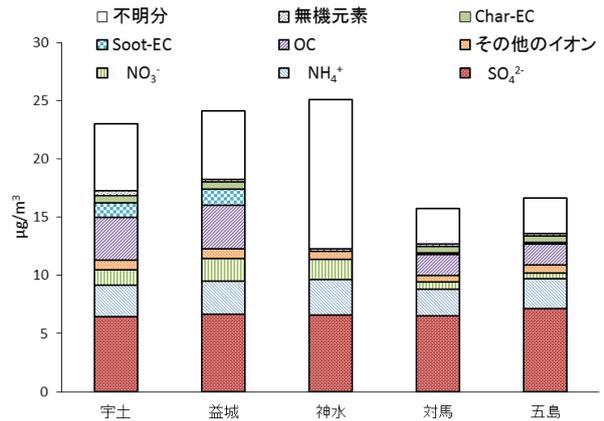
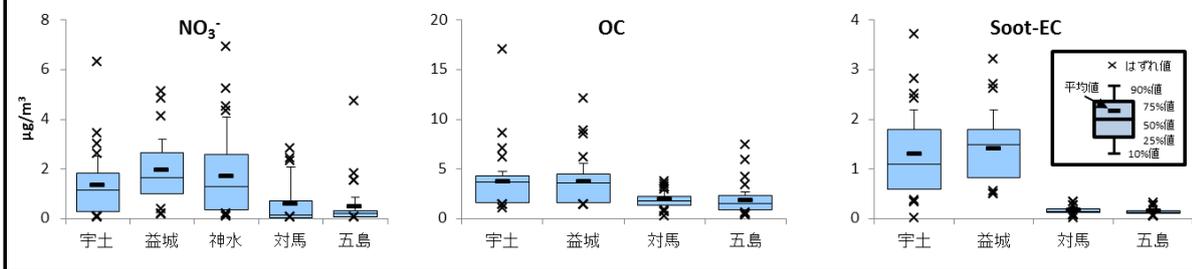
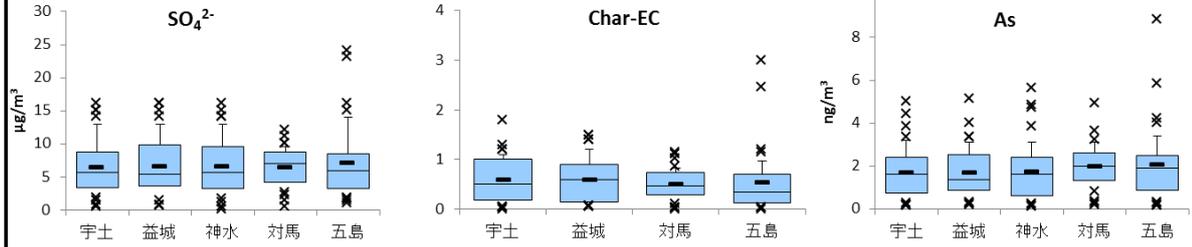


図3 同一期間の平均成分濃度

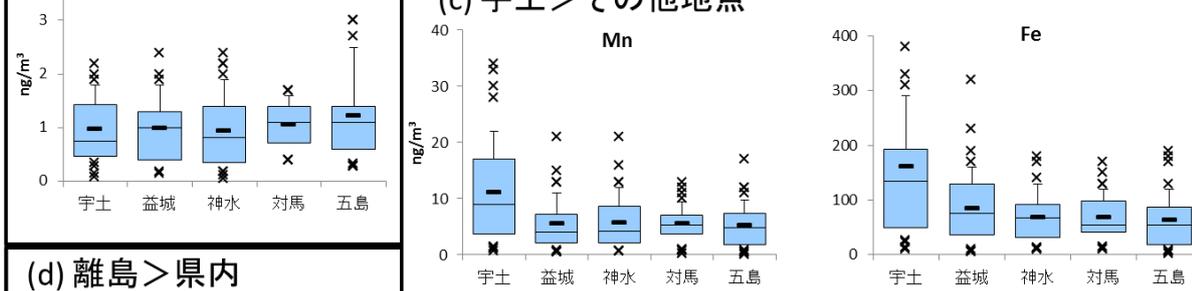
(a) 県内 > 離島



(b) 県内 ≒ 離島



(c) 宇土 > その他地点



(d) 離島 > 県内

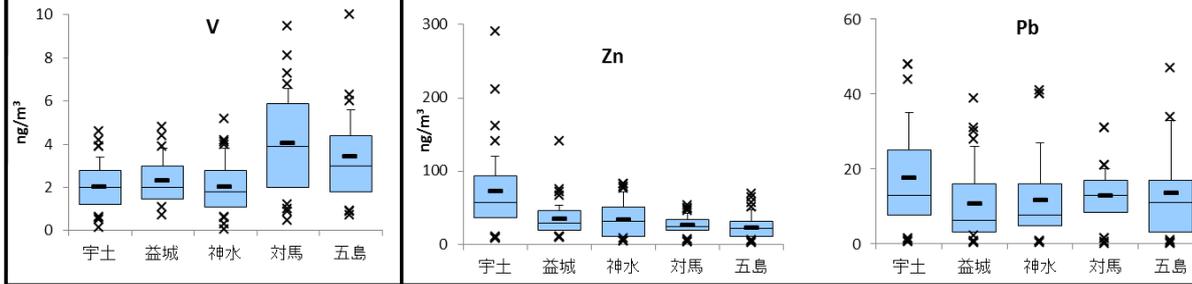


図4 同一期間の成分別濃度レベル比較

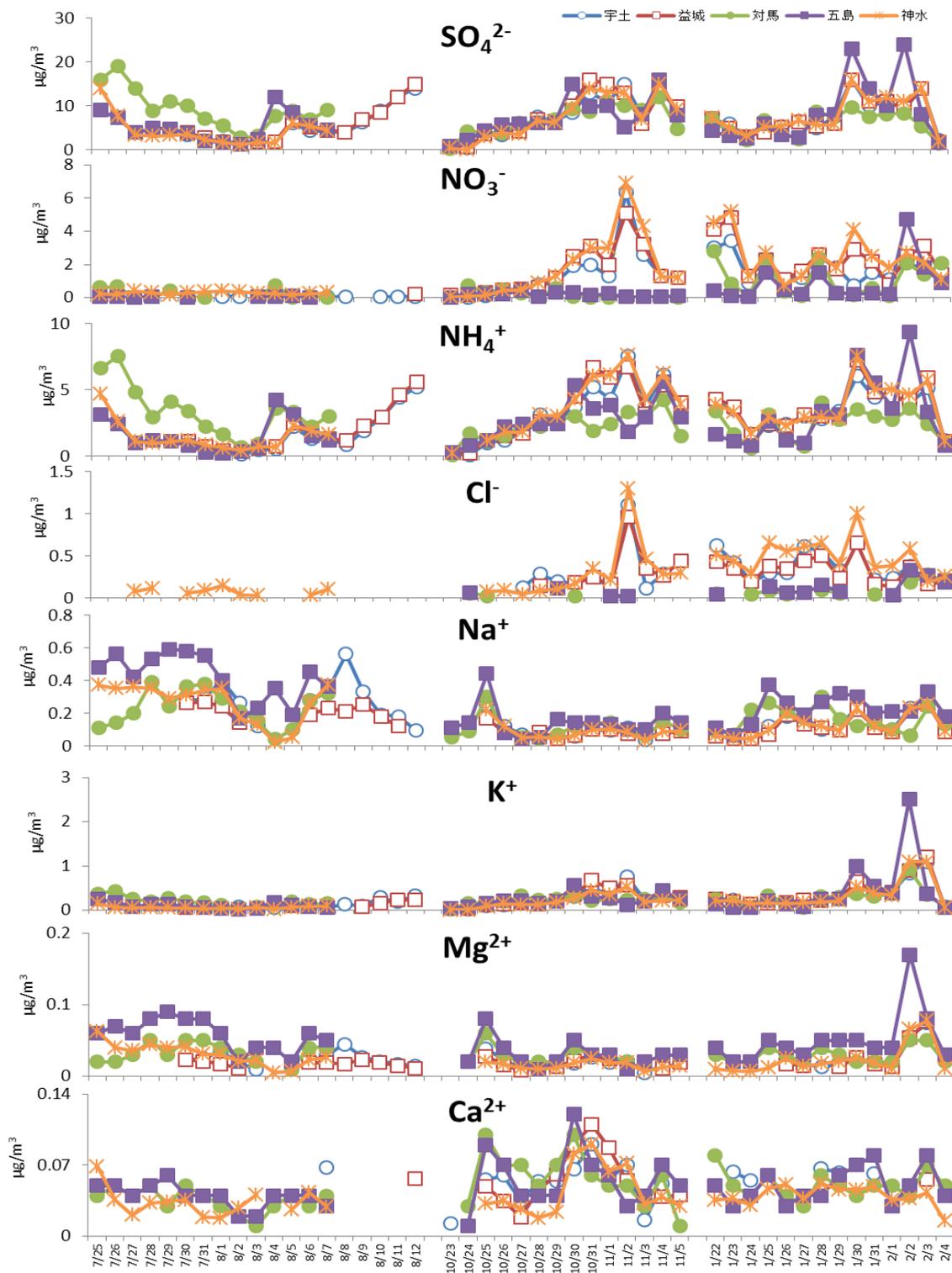


図5 イオン成分濃度の経時変化

が大きい成分は NO_3^- , SO_4^{2-} , NH_4^+ , OC, Soot-EC (神水は OC, Soot-EC 未測定) であった。これらの成分は一般的に $\text{PM}_{2.5}$ の主要成分とされており、過去に行われた国内の観測結果とも同様の傾向を示している¹⁵⁾。

また、 SO_4^{2-} はどの地点でもほぼ同程度の濃度なのに対して、 NO_3^- は県内3地点で高い傾向が見られた。未測定の神水を除くと、OC, Soot-EC についても同様に高い傾向が確認できた。このため、離島では相対的に

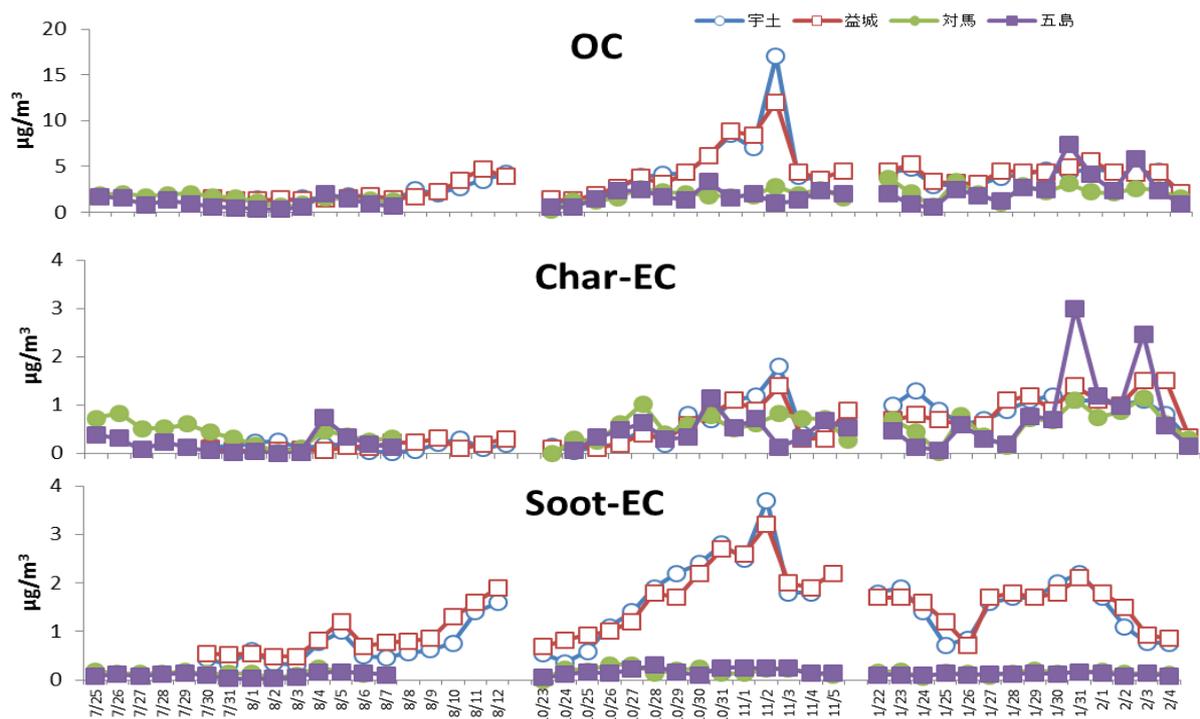


図6 炭素成分濃度の経時変化

SO₄²⁻が占める割合が高く、質量濃度の約40%を占めていたが、県内3地点では26~28%となっており、組成が異なっていた。

3 成分濃度レベルと経時変化の比較

PM_{2.5} 質量濃度及び各成分について地点間の濃度レベルを比較した。濃度レベルは、同一期間についてパーセンタイル値による比較を行い、基本的に10, 25, 50, 75, 90の5つのパーセンタイル値のすべてが高い(あるいは低い)場合を「濃度差がある」と判断した。なお、地点ごとに1/4以上が検出下限値未満である成分は解析対象から除外し、炭素成分については、未測定の新水を解析対象から除外した。

濃度レベルの地点差の代表的なパターンの例を図4に示した。宇土、益城が離島よりも高い濃度レベルを示した成分として、NO₃⁻、OC、Soot-ECが挙げられる一方、SO₄²⁻、As、Se、Char-ECは地点間の明確な差は認められなかった(図4a, b)。これは、前者の成分では地域発生の影響が強いことを、後者では越境移流の影響が強いことを示唆する結果である。この傾向は新水と離島を比較した場合も、未測定の炭素成分(OC、Char-EC、Soot-EC)を除けば同様であった。このことは、経時変化で比較した場合にも、前者の成分は五島と県内3地点では異なる挙動を示し、後者はChar-EC以外では類似した挙動を示したことから支持される

(図5~7)。Char-ECは、特に冬季の経時変化が、五島と宇土、益城で異なっており、地域発生と越境移流の両方の影響を受けている可能性が考えられた(図6)。また、NO₃⁻は益城と新水が宇土よりも若干高い濃度レベルを示した(図4a)。NO₃⁻は地域発生の影響の指標と考えられており³⁾、地域的な発生源の影響を反映しているものと推測される。粒子中NO₃⁻濃度は粒子生成の相手となるアンモニアガス(NH₃)濃度や気温にも影響されることから¹⁶⁾、これらの影響も含めて、今後検討していく必要がある。

無機元素のうち、Mn、Fe、Zn、Pbは、宇土が他の地点に比べて高い濃度を示す傾向が見られた(図4c)。Fe、Mnについては土壌由来の影響も考えられるが、4元素ともに人為的排出の影響を受けるため^{17, 18)}、周辺の工業施設等の影響が想定される。ただし、無機元素は一般的にPM_{2.5}質量濃度に占める割合は小さく¹⁹⁾、PM_{2.5}質量濃度及びその他の成分について、宇土が他の地点に比べて特に高い傾向は見られないことから、これらの無機元素濃度に影響した発生源がPM_{2.5}質量濃度に与える影響は小さいものと予想される。

Vは離島の方が県内3地点よりも高い傾向を示しており、特徴的であった(図4d)。この傾向は、特に夏に顕著であり、いずれの時点でも離島が高い値を示していた(図7)。Vは重油燃焼の指標¹⁸⁾とされており、

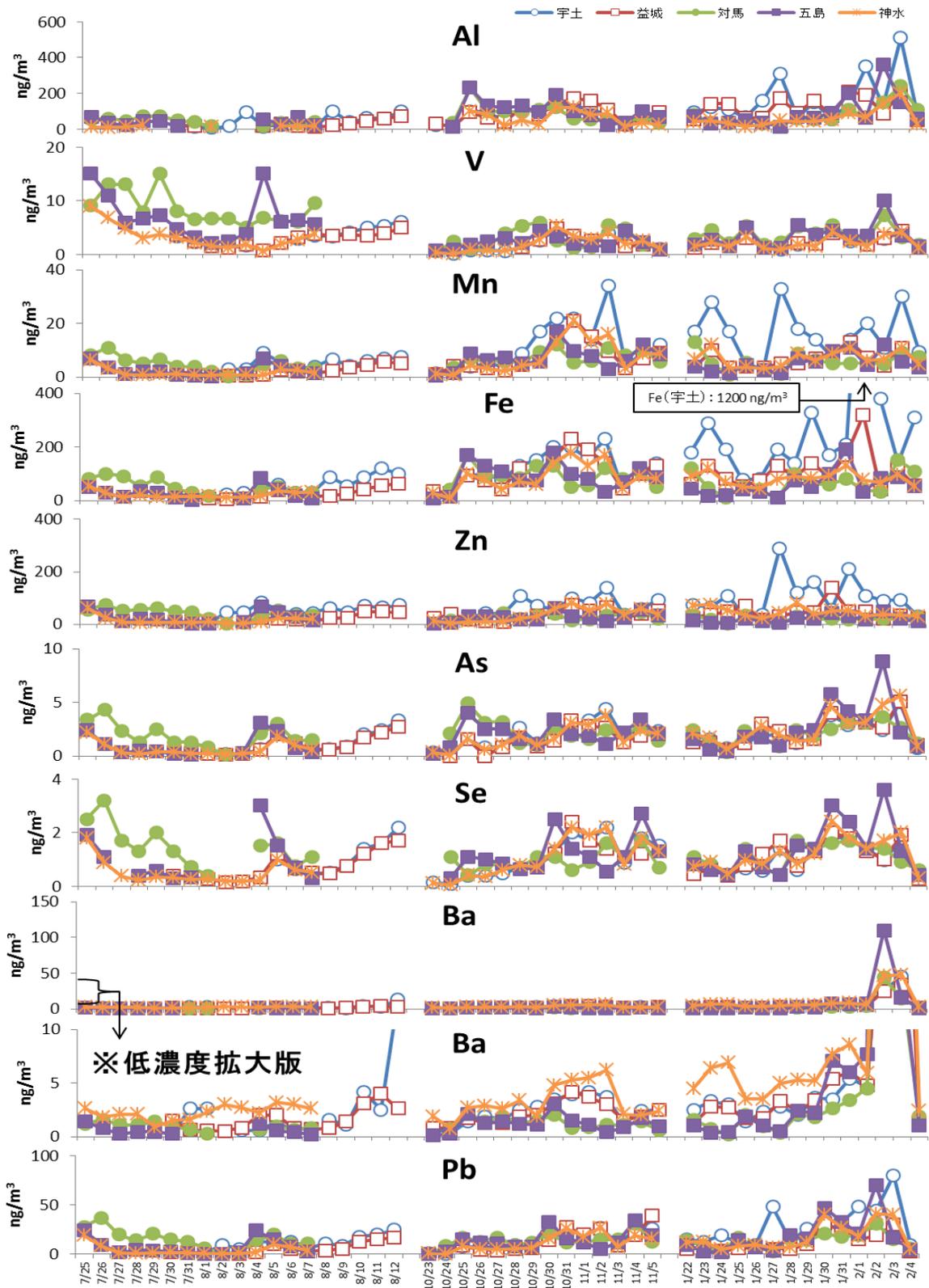


図7 無機元素成分濃度の経時変化

アジア大陸の工業由来の排出や周辺を航行する船舶の影響が想定される。

4 高濃度事例解析

図2に示したPM_{2.5}質量濃度(日平均値)は、既述

のとおり成分調査に合わせた平均値である。このため、厳密に環境基準値との関係を論ずることはできないが、短期の環境基準である1日平均値35 μg/m³(日平均値の年間98%値で評価)を目安として、同一期間について

て県内3地点のうち1地点以上が超過した日を高濃度日と定義した。同一期間のほとんどの高濃度日は多地点同時かつ複数日に渡って観測されていることから、それぞれをまとめて期間 A (10/30~11/4)、期間 B (1/30~2/3) として解析を行った。なお、対馬は期間 A の時点では PM_{2.5} 質量濃度 (1 時間値) の観測が開始されていなかったため、高濃度事例解析では五島と県内3地点の比較を中心に考察した。

(1) 期間 A (10/30~11/4)

PM_{2.5} 質量濃度 (1 時間値) の変化を見ると、10/30 の 12 時頃から五島で PM_{2.5} 質量濃度の上昇が見られ、15 時頃からは県内3地点でも濃度上昇が確認できた (図 8)。その後 11/1 にかけては、五島では濃度が減少したものの、概ね 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 程度の濃度で推移し、県内3地点は概ね 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上の濃度が持続した。この間の天気図及び後方流跡線は、高気圧の東進に伴う大陸由来の気塊の流入を示しており (図 9a)、越境移流の影響を受けていたと推測された。

11/2 の 12 時頃以降は、五島の PM_{2.5} 質量濃度が減少傾向に転じたが、県内3地点は PM_{2.5} 質量濃度が上昇し、宇土は 11/2 の 17 時~11/3 の 1 時頃にかけて 1 つのピークが確認できた。益城は、11/2 の 18 時頃と 11/3 の 5 時頃に 2 つのピークが確認された。神水は 11/2 の 21 時頃と 11/3 の 2 時頃にピークが見られ、その後は減少した (図 8)。天気図によると、九州は高気圧の背面に位置しており、南西方向からは前線が接近していた (図 9b)。後方流跡線は主に太平洋側からの気塊の流

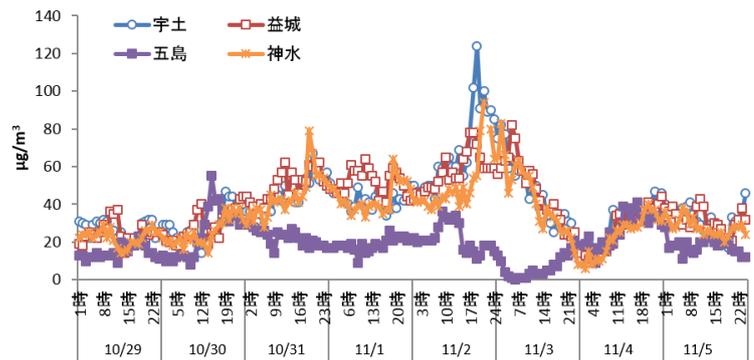


図 8 期間 A の PM_{2.5} 質量濃度 (1 時間値) の経時変化

入を示しており、県内3地点のみで濃度上昇が生じていたことから、地域発生の影響が考えられた。

11/3 の 7 時~24 時にかけては前線の通過に伴って、気圧の低下と少量の降雨が確認され、PM_{2.5} 質量濃度は県内全域で減少した。その後、11/4 の 22 時頃にかけては離島と県内3地点の全域で再び濃度上昇が見られた (図 8)。この期間は前線通過に伴って大陸由来の気塊が流入していたと考えられ (図 9c)、越境移流の影響が強かったものと考えられた。

県内3地点の各成分の挙動に着目すると、一部例外があるものの、2 つのパターンに分けられた。各パターンの代表的な例を図 10 に示した。パターン①は 10/31~11/2 の期間に濃度が高い状態が続くパターンであり、SO₄²⁻、As、Se 等が該当する (図 5, 7, 10a)。変動はあるものの、濃度レベルは概ね横ばい傾向であり、11/3 に一端濃度が減少した後、11/4 にもピークを示す成分が多い。これらの成分の多くは、五島におい

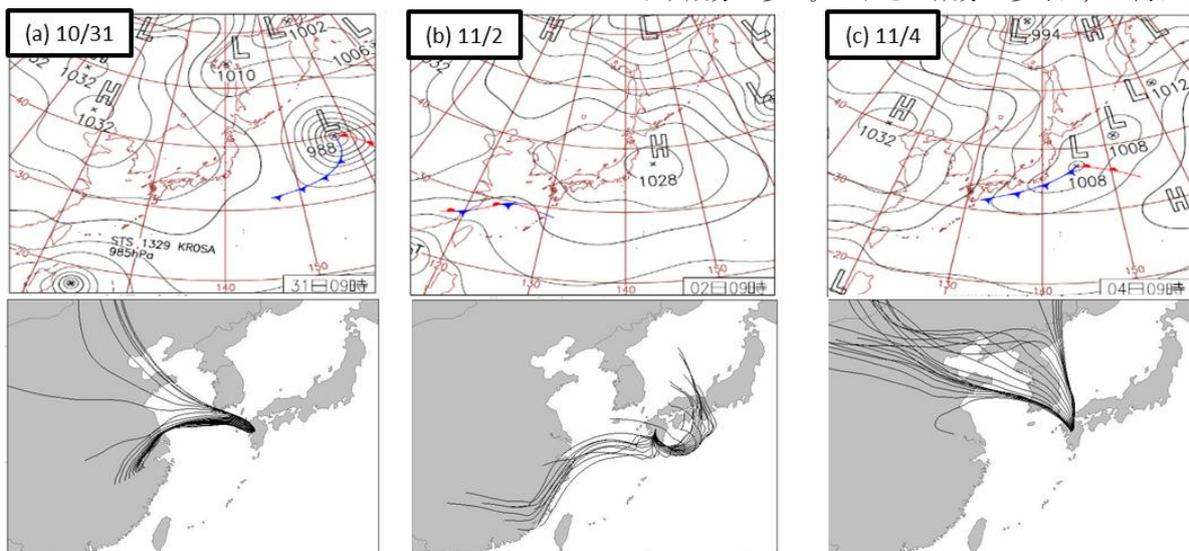


図 9 期間 A の天気図 (午前 9 時) および各日 10 時~翌 9 時まで 1 時間毎の後方流跡線

て 10/30 にピークを示し、その後は減少する傾向が確認できた。パターン②は 10/31 と 11/2 の両方に濃度ピークが認められるものの、後者が明らかに大きい値を示すパターンであり、NO₃⁻、Soot-EC、OC 等が該当する (図 5, 6, 10b)。五島ではこれらの成分の濃度上昇は確認できず、濃度レベルも明らかに県内 3 地点の方が高い値を示していた。

該当する成分の種類から、パターン①は、主に越境移流の影響と考えられ、10/31 に越境移流してきた汚染気塊がその後 11/2 にかけて滞留したことを示唆している。一方で、パターン②は主に地域発生による影響を示していると推測され、11/2 にかけて影響が強くなったことを示唆していると考えられた。これは、Mn、Fe、Zn が地域発生の影響が強いと考えられる宇土のみでパターン②を示したことからも支持される (図 7c)。

11/2 にかけて地域発生の影響が強くなった気象的要因の一つとして、混合層高度の低下が考えられた。気象データ (GDAS) によると、11/2~3 の宇土の混合層高度は、日中でも 400m 以下と低くなっていた (図 11)。混合層とは、鉛直方向に混合する大気層であり、日中は地表が暖められるため、通常は高度 1000m 付近まで発達し、地表付近の汚染物質を拡散させる役割を果たす。今回の事例では、混合層高度が低い状態となったため、越境移流してきたものに加えて、地域発生した汚染物質も滞留しやすくなり、PM_{2.5} の濃度上昇が生じたと考えられた。

以上の結果から、本事例の高濃度要因は次のように推測できた。まず、10/31 頃から県内には越境移流が影響していた。その後、11/2 にかけて混合層高度が低下したことにより、県内においては先の越境移流の影響が持続すると同時に、地域発生の影響が強くなり、複合的に PM_{2.5} の濃度上昇を引き起こした。その後、11/4 にかけては前線の通過に伴い、新たな越境移流が生じ、濃度上昇が確認された。

(2) 期間 B (1/30~2/3)

PM_{2.5} 日平均値は 1/29 頃から上昇傾向であり、1/30~2/3 にかけて神水で 35μg/m³ を超過し、2/2 以外は益城でも同様に超過が確認された。一方で宇土は 1/30 と 2/3 のみで超過が確認された (図

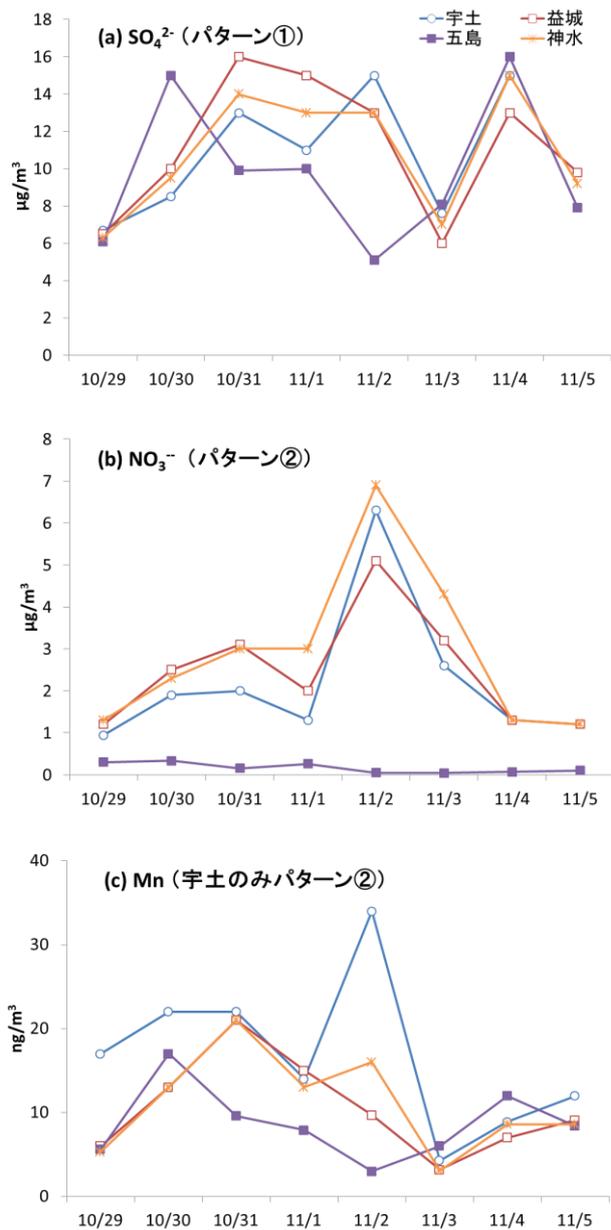


図 10 期間 A の成分濃度経時変化の代表例

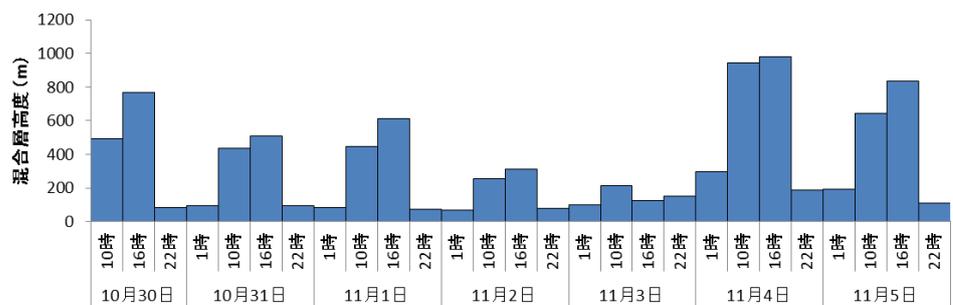


図 11 宇土における混合層高度の経時変化

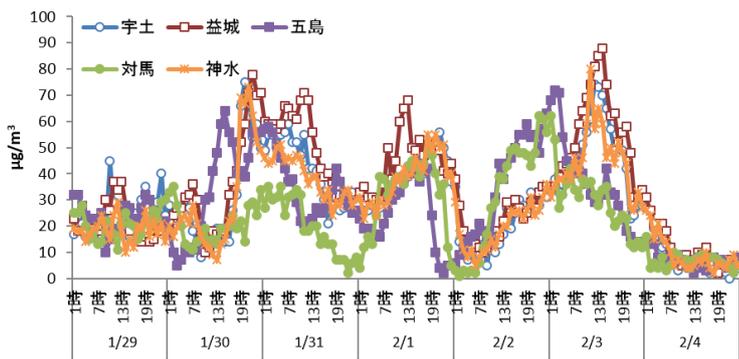


図 12 期間 B の PM_{2.5} 質量濃度 (1 時間値) の経時変化

2). PM_{2.5} 質量濃度の 1 時間値は五島と県内 3 地点で、時間的なずれはあるものの、類似した挙動を示した。濃度レベルは五島に比べると県内 3 地点がやや高い傾向が見られたものの、概ね同程度であった (図 12)。1/30 の午前中と 2/2 の午後~2/3 にかけては、前線を伴う低気圧が通過しており、大陸由来の気塊が流入していることから、1/30~31 と 2/3 の濃度上昇はこれに対応していると考えられた (図 13a, c)。また、1/31 午後~2/1 にかけては高気圧が通過しており、後方流跡線もこれに対応して大陸からの移流を示した (図 13b)。2/1 の濃度上昇はこの移流に対応していると考えられる。以上のことから、本事例は越境移流の影響を強く受けた事例であり、3 回の移流イベントが生じていたと考えられた。

成分濃度の経時変化の代表的な例を図 14 に示した。県内 3 地点の成分濃度について見ると、SO₄²⁻、NH₄⁺、

Se 等の成分濃度について、前線通過による移流イベントに対応する 1/30~31 と 2/3 にピークが見られ、両期間の濃度レベルは同程度であった (図 14a)。一方で、K⁺、Mg²⁺、Ba は後者の期間の濃度レベルが明らかに大きく、挙動が離島と県内 3 地点で類似していることから、越境移流の影響を受けたものだと考えられた (図 14b)。この結果は、前線通過による 2 つの越境移流イベントの化学的性質が明らかに異なっていたことを示している。一般的に、K⁺はバイオマス燃焼、Mg²⁺は海塩や土壌、Ba は土壌やブレーキダスト等の影響を受けると考えられているが、いずれも越境移流時の挙動についての情報は限られている。現時点で化学的性質が異なった要因を明らかにするのは難しいが、今後もイベントごとの特徴を詳細に解析していく必要がある。

まとめ

各地点の越境移流の影響や地域特性の把握及び高濃度要因の推定を目的として、平成 25 年度に熊本県内 3 地点 (宇土、益城、神水) 及び長崎県の離島 2 地点 (五島、対馬) で実施された PM_{2.5} 成分調査の結果を解析した。

離島と県内 3 地点の各成分の濃度レベルの比較から、越境移流の影響が強いと推定される成分 (SO₄²⁻、As、Se 等) と地域発生の影響が強いと推定される成分 (NO₃、OC、Soot-EC 等) が存在することが示され、

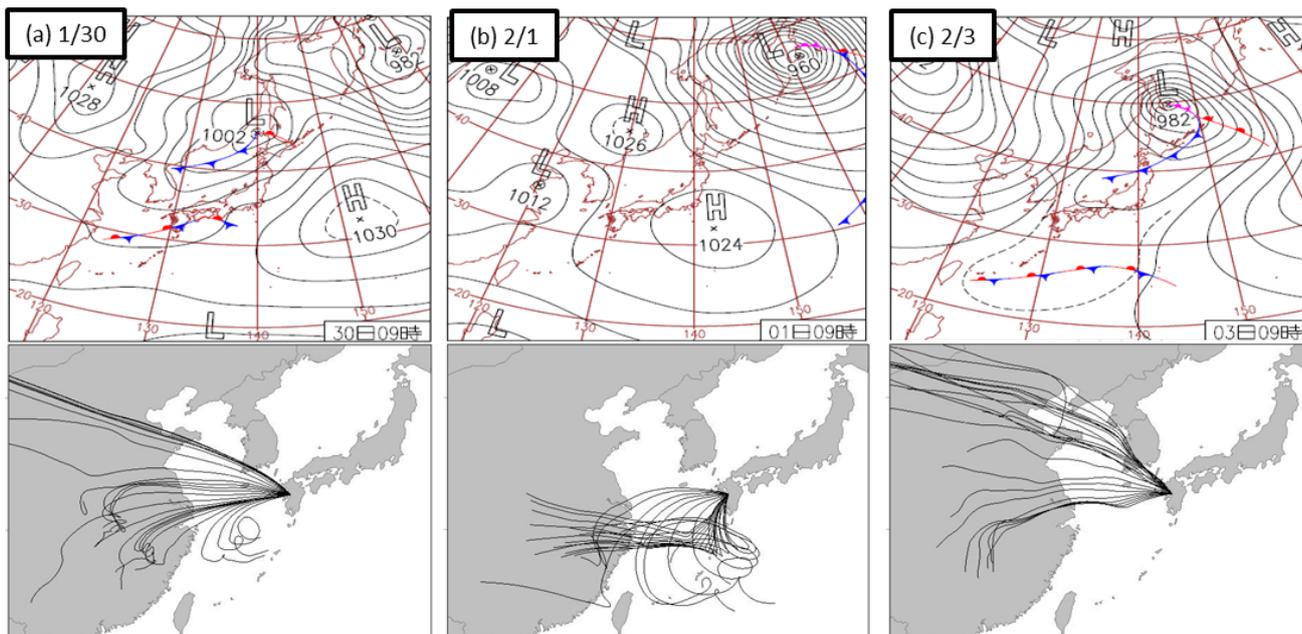


図 13 期間 B の天気図 (午前 9 時) および各日 10 時~翌 9 時まで 1 時間毎の後方流跡線

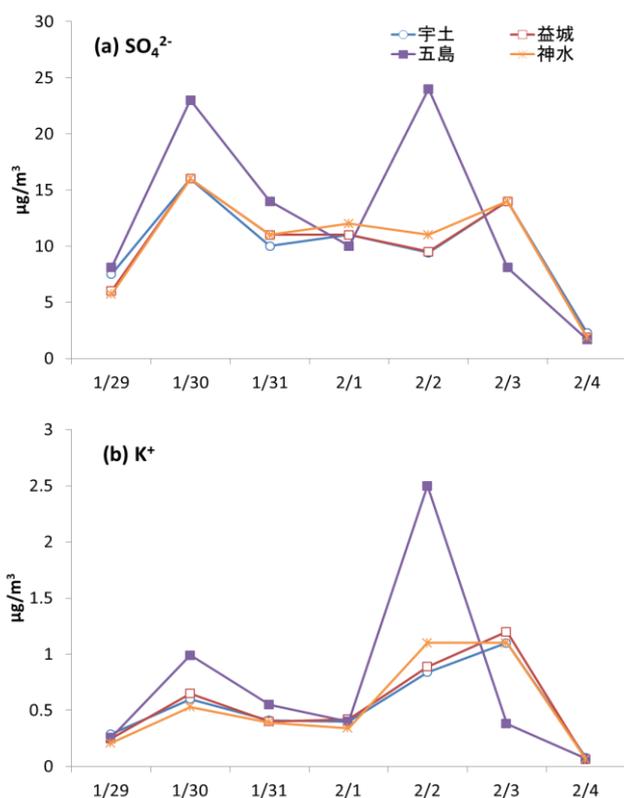


図 14 期間 B の成分濃度経時変化の代表例

県内の $\text{PM}_{2.5}$ が越境移流と地域発生両方の影響を複合的に受けている状況が明らかになった。

また、県内でも地点により汚染状況が異なっていたことが示された。宇土では一部の無機元素の濃度が益城と神水に比べて高く、逆に NO_3 は益城と神水の濃度が高い傾向が見られた。これらの特徴は周辺の地域的な発生源の影響を反映していると考えられ、今後も注視すべき点だと言える。

高濃度事例解析を行ったところ、越境移流が主要因の事例と越境移流/地域発生が複合的に影響した事例の 2 パターンが存在することが示された。今後、このような複合的事例の発生頻度を把握していくことが削減対策を検討する上で重要と考えられた。

文献

- 1) 武林亨, 朝倉敬子, 山田睦子: 大気環境学会誌, **46** (2), 70-76 (2011).
- 2) 板野泰之, 大原利眞, 山神真紀子, 大野隆史, 長田

- 健太郎, 武直子, 菅田誠治: 大気環境学会誌, **48** (3), 154-160 (2013).
- 3) 兼保直樹, 佐藤圭, 高見昭憲, 秀森丈寛, 松見豊, 山本重一: エアロゾル研究, **29** (S1), 82-94 (2014).
- 4) 鈴木亮太, 吉野彩子, 兼保直樹, 高見昭憲, 林政彦, 原圭一郎, 渡辺泉, 畠山史郎: 大気環境学会誌, **49** (1), 15-25 (2014).
- 5) 山本重一, 下原孝章, 濱村研吾, 山本勝彦, 谷口延子, 山崎敬久, 長谷川就一, 三田村徳子, 長田健太郎, 田村圭, 家合浩明, 小林優太, 菅田誠治, 大原利眞: 第 54 回大気環境学会年會要旨集, 226 (2013).
- 6) N. Kaneyasu, S. Yamamoto, K. Sato, A. Takami, M. Hayashi, K. Hara, K. Kawamoto, T. Okuda, S. Hatakeyama: *Atmos. Environ.*, **97**, 416-425 (2014).
- 7) 環境省: 微小粒子状物質 ($\text{PM}_{2.5}$) の成分分析ガイドライン (平成 23 年 7 月).
- 8) 環境省: 微小粒子状物質 ($\text{PM}_{2.5}$) 測定データ <http://www.env.go.jp/air/osen/pm/monitoring.html>
- 9) Y.M. Han, J.J. Cao, S.C. Lee: *Atmos. Chem. and Phys.*, **10**, 595-607 (2010).
- 10) 関口和彦, 木下勝利史, 桜井健治, 金庚煥, 王青躍, 萩野浩之: エアロゾル研究, **29** (S1), 55-65 (2014).
- 11) 環境省: 環境大気常時監視マニュアル第 6 版, 105-120 (平成 22 年 3 月)
- 12) 環境省: 等価性評価の結果について http://www.env.go.jp/air/osen/pm/parallelexam/results_b.html (2015.5.13 アクセス)
- 13) NOAA Air Resources Laboratory: <http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT.php>
- 14) Y. Q. Wang, X. Y. Zhang, R. R. Draxler: *Environ. Model. & Soft.*, **24**, 938-963 (2009).
- 15) 坂本和彦: ペトロテック, **34** (3), 193-197 (2011).
- 16) 熊谷貴美代, 田子博, 飯島明宏, 小澤邦壽, 坂本和彦: 大気環境学会誌, **45** (1), 10-20 (2010).
- 17) 真室哲雄, 溝畑朗, 久保田寅英: 大気汚染学会誌, **15** (2), 69-76 (1980).
- 18) 溝畑朗, 真室哲雄: 大気汚染学会誌, **15** (5), 198-206 (1980).
- 19) 関口和彦: 大気環境学会誌, **45** (4), 54-60 (2010).

6) 熊本市周辺畑地における土壌溶出試験

—ボーリングコア試料を使用したイオン成分・重金属成分溶出試験—

永田 武史 前田 敏孝 藤本 貴大* 上本 清次**

要 旨

硝酸性窒素の地下水への浸透状況を把握するために、合志市竹迫及び熊本市戸島の畑地のボーリング調査で得られたコア試料を入手し、イオン成分及び重金属成分の溶出試験を実施した。硝酸イオン溶出量の深さ方向に対する分布について地点間に違いが現れ、戸島においては深さ 7.5m 以上における溶出量が竹迫と比較して大きい傾向を示した。重金属成分については鉄、アルミニウム等の溶出量が深さ 6.5m 以上で増大した。この変化は土壌の性状によるものと考えられた。

キーワード：硝酸性窒素，土壌溶出試験，ボーリングコア試料

はじめに

熊本市周辺では生活用水のほぼ 100%を地下水に依存しているが、近年、過剰な施肥、家畜排せつ物の不適正な処理水等が原因と推測される、地下水中の硝酸性窒素等の上昇が見られ、環境基準を超過する事例も見られる^{1),2)}。地下水中の硝酸性窒素汚染への対策が喫緊の課題となっているが、有効な対策を実施するためには、汚染物質の地下水への浸透状況を把握することが重要である。

平成 26 年 11 月、熊本県環境保全課及び国立大学法人熊本大学大学院自然科学研究科水文学・嶋田研究室が合志市竹迫及び熊本市戸島において不攪乱土壌ボーリングによるボーリングコア試料の採取を実施した。その際採取された土壌試料の一部を入手することができたため、硝酸性窒素削減対策に資する基礎資料を得ることを目的として、土壌の溶出試験を行ったので、その結果について報告する。

調査地点

図 1 に調査地点及び名称を示す。今回の調査は合志市竹迫地区及び熊本市東区戸島地区の畑地(各 1 地点。以下それぞれ「竹迫」及び「戸島」と記す。)で実施さ



図 1 調査地点

れた。調査地点の概況は次のとおりであった。

1 竹迫

調査地点は、合志市役所近くの飼料用のトウモロコシ畑であり、周辺の畑地ではトウモロコシのほか麦も栽培されている。土地所有者によると調査地点ではトウモロコシを年 3 回収穫しており、調査時は、収穫の直後であった。トウモロコシの栽培に際し、酪農で得

*現健康福祉部健康危機管理課

**現健康福祉部薬務衛生課

られた家畜ふん尿や化学肥料が使用されているが使用量等の詳細な情報については得られていない。

2 戸島

調査地点及び周辺は飼料用のトウモロコシ畑であり、春から秋にかけてトウモロコシを栽培し、秋・冬から春にかけてイタリアンライグラス（牧草）を栽培している。土地所有者によると、トウモロコシ栽培の前（5月頃）に酪農で得られた家畜ふん尿を散布し、さらに、余剰の家畜ふん尿がある場合は牧草栽培前にも散布しているとのことであった。

調査試料

本調査は、平成26年11月10日（竹迫）及び11月11日（戸島）に実施された不攪乱土壌ボーリングで得られたコア試料の一部を分取し、溶出試験の試料とした。竹迫では地表から深さ15mで礫の割合が大きくなり、戸島では地表から14mで水を含んだ非常に軟弱な土壌になったため、それより深い試料の採取は実施されなかった。

両地点のボーリング柱状図を図2に示す。竹迫の土壌の性状は、深さ1.3mまでは黒ボク状であり、そこから深さ3.8mまでは赤ボク状であった。また、深さ5mから深度9mまでは水分を含む（乾燥減量31~40%）粘土質であり、深さ9mから15mにかけては直径2~5mmの軽石を含む、比較的含水量が少ない（乾燥減量21~25%）砂状であった。戸島の土壌の性状は深さ1.4mまでは黒ボク状であり、そこから深さ3.4mまでは赤

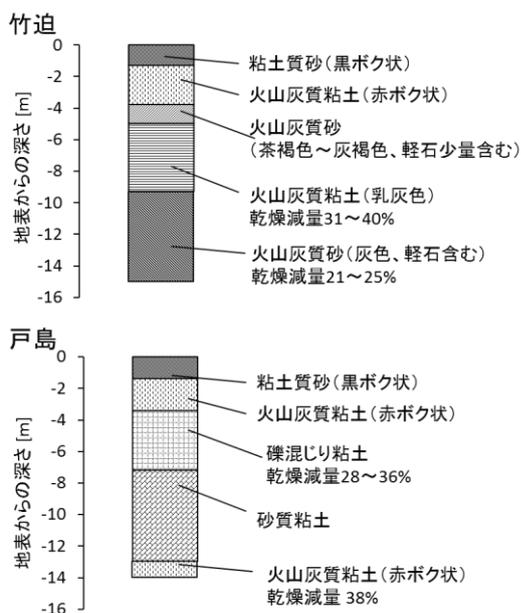


図2 調査地点の柱状図

ボク状であった。そこから深さ7m付近にかけては、直径2~10mmの礫を含み、水分を含む（乾燥減量28~36%）粘土状であり、深さ7m付近から13mにかけて直径2~40mmの軽石を含む砂質粘土であった。深さ13mから14mにかけては水分を含む（乾燥減量38%）赤ボク状の粘土であった。

調査方法

試料は、ボーリングで採取されたコアを表層から1mごとに区切り、区切ったコアからなるべく均一になるように100g程度分取したものである。現地でジッパー付きポリ袋に入れ、保冷して本研究所に搬入し、-20℃で保存した。解凍後、網目2mmのふるいにかけて小石等を取り除いたものを分析用試料とした。

図3に調査フローを示す。調査方法はイオン成分に関しては茨城県が作成した土壌・作物栄養診断マニュアル³⁾、重金属成分に関しては土壌の汚染に係る環境基準⁴⁾で指定された方法を参照した。試料約10gを純水100mLと混合し、マグネチックスターラーで30分間緩やかに攪拌して、無機成分を溶出させた。溶出液の孔径0.45μmのメンブランフィルターでろ過したものに含まれるイオン成分(Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, F⁻, Cl⁻, NO₂⁻, Br⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻)の濃度をイオンクロマトグラフ法で測定した。

また、試料約10gをpH5.8~6.3に調整した純水100mLと混合し、振とう幅5cm、振とう回数200回/分で6時間水平振とうさせた後、3,000回転/分で遠心分離したものの上澄み部分を孔径0.45μmのメンブランフィルターでろ過したものに含まれる重金属類を、

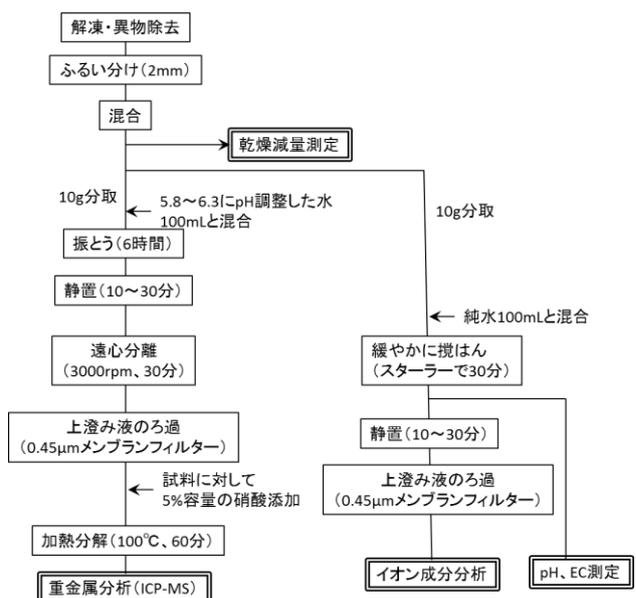


図3 調査フロー

誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) 法により分析した。

各イオン成分等の分析結果については、溶出液中の濃度に溶出液体積を乗じ、乾試料重量で除することで算出される、乾試料 1g あたり溶出量 ($\mu\text{g/g}$) で表す。

結果及び考察

1 イオン成分等

1.1 pH

採取した土壌の深さに対する、pH の測定結果を図 4 に示す。なお、測定結果の深さの表記について、例えば 0m から 1m のコアから分取した検体については深さ 0.5m と表記する (以下同様)。

竹迫では、pH は深くなるにつれて、上昇する傾向が見られた。深さ 0.5m では pH が 6.18 であったが深さ 2.5m から 5.5m の範囲では 6.5 程度であり、8.5m より深い試料では 7.03~7.16 の範囲であった。

戸島では、深さ 0.5m で 6.52 であったが深さ 1.5m から 4.5m の範囲の試料は 6.3 程度であり、7.5m から 12.5m の範囲では 6.90~7.07 の範囲であった。深さ 13.5m の試料は pH が比較的高く、7.52 を示した。

1.2 電気伝導度 (EC)

EC の測定結果を図 5 に示す。両地点とも深さ 1.5m にピークがあり、深さ 2.5m からは減少傾向を示した。

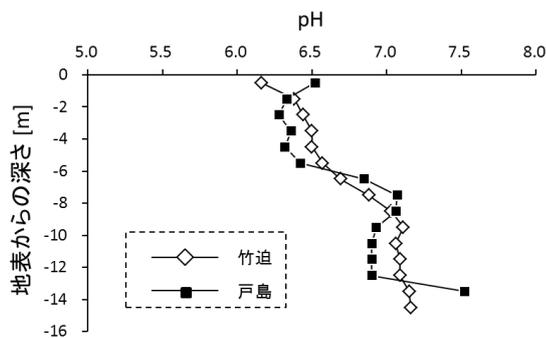


図 4 溶出液 pH の深さ方向の分布

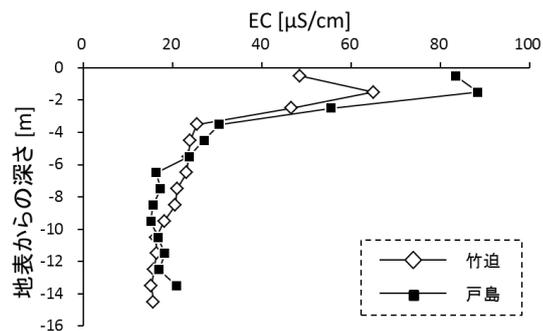


図 5 溶出液 EC の深さ方向の分布

深さ 1.5m までは竹迫と比較して、戸島が 2 倍程度の値を示したが、深さ 4.5m 以上では両地点ともほぼ同程度の値となった。

1.3 陽イオン成分

採取した試料の深さに対する、各イオン成分の分析結果を表 1 及び図 6~図 8 に示す。

図 6 に示すように、 K^+ は深さ 0.5m において竹迫で $116\mu\text{g/g}$ 、戸島で $243\mu\text{g/g}$ と最大値を示し、深くなるにしたがい、一旦急速に減少した後、深さ 10m 付近で緩やかな上昇に転じ、竹迫では深さ 14.5m で $10.9\mu\text{g/g}$ 、戸島では深さ 13.5m で $19.0\mu\text{g/g}$ であった。

Ca^{2+} 、 Mg^{2+} は両地点とも深さ 1.5m の溶出量が最大であり、深くなるにしたがって溶出量が急激に減少する傾向が見られた。 Na^+ については両地点とも表層が低く、深さ 2.5m から 4.5m にかけて比較的溶出量が大きい領域が現れた。

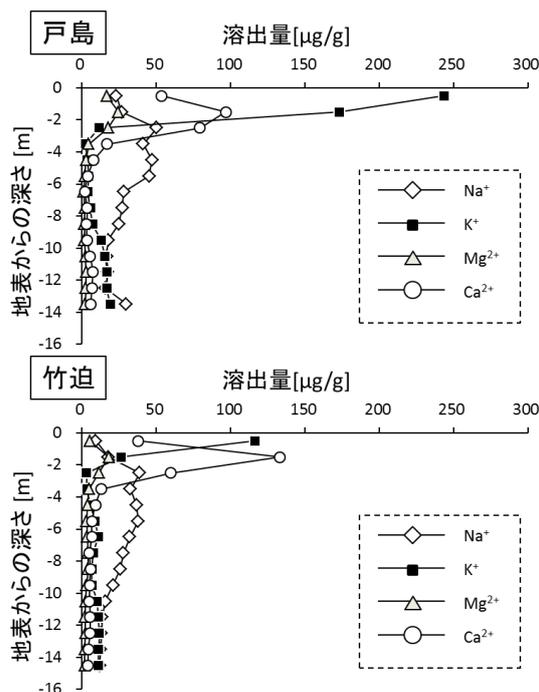


図 6 陽イオン成分 (NH_4^+ 除く) 溶出量の深さ方向の分布

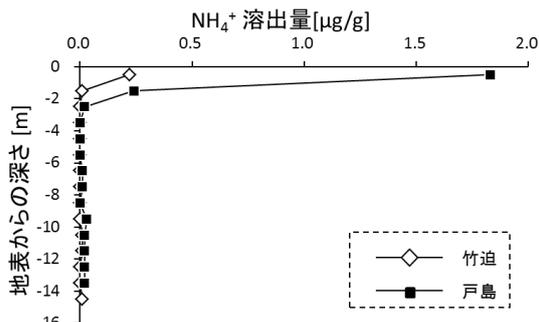


図 7 NH_4^+ 溶出量の深さ方向の分布

図 7 に示すように、 NH_4^+ は、竹迫では、深さ 0.5m で $0.22\mu\text{g/g}$ であったものが深さ 1.5m で $0.01\mu\text{g/g}$ となり、深さ 2.5m 以上ではほぼ検出されなかった。戸島では、深さ 0.5m で $1.83\mu\text{g/g}$ であったのが深さ 1.5m で $0.24\mu\text{g/g}$ となり、その後急激に低下し、深さ 2.5m 以上では $0.03\mu\text{g/g}$ 未満を示した。

1.4 陰イオン成分

図 8 に示すように、 SO_4^{2-} は、両地点とも深さ 1.5m で最大値を示した。深くなるにしたがって、溶出量が低下し、竹迫では深さ 9.5m から、戸島では深さ 7.5m からはほぼ一定の溶出量となった（竹迫； $15.6\sim 20.2\mu\text{g/g}$ 、戸島； $0.32\sim 1.56\mu\text{g/g}$ ）。

NO_3^- は、竹迫では深さ 0.5m において溶出量が最大 ($121\mu\text{g/g}$) になり、深さ 2.5m 以上の試料では $0.60\sim 14.4\mu\text{g/g}$ の範囲で推移した。戸島では深さ 1.5m で溶出量が最大 ($176\mu\text{g/g}$) になり、2.5m で $75.1\mu\text{g/g}$ と低下し、3.5m より深い試料では $30.2\sim 62.5\mu\text{g/g}$ の範囲で横ばいの値を示した。

Cl^- は、竹迫では深さ 1.5m 及び 7.5m に溶出量のピーク ($23.1\mu\text{g/g}$ 及び $11.2\mu\text{g/g}$) があり、深さ 8.5m 以上になると、緩やかに低下した。戸島では、深さ 0.5m で溶出量が最大 ($28.1\mu\text{g/g}$) となり、深くなるにしたがって溶出量が低下し 3.5m より深い試料では $6.11\sim 8.56\mu\text{g/g}$ の範囲でほぼ横ばいの値を示した。

イオン成分の分析の結果、特に NO_3^- について地点

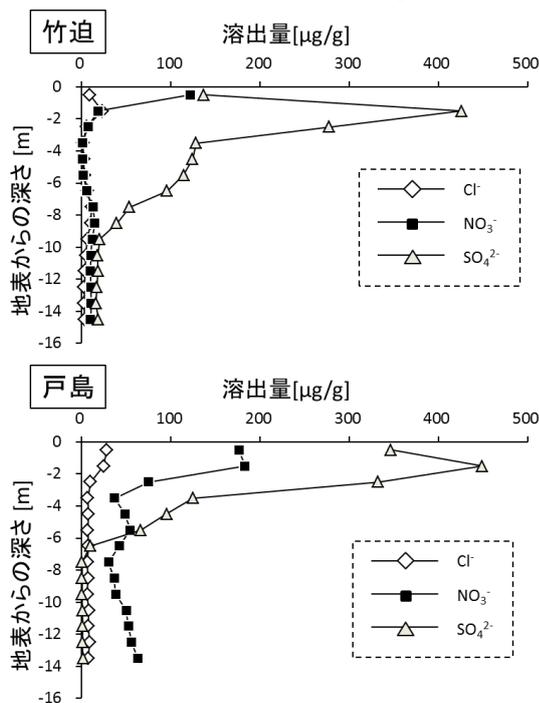


図 8 陰イオン成分 (Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-}) 溶出量の深さ方向の分布

間の違いが現れた。これらの違いが現れた要因についてははっきりしないが、畑地における施肥の使用状況や深さ 7.5m 以上における地質の違い（竹迫では火山灰質砂であるのに対し、戸島では砂質粘土）が考えられる。戸島については、深さ 7.5m 以上の NO_3^- 溶出量が $30.2\sim 62.5\mu\text{g/g}$ と、竹迫と比較して高い濃度が維持されていることから、硝酸性窒素の地下水への影響が懸念された。

表 2 に主なイオン成分間の相関係数を示す。両地点とも、 NO_3^- が K^+ , NH_4^+ , NO_2^- , F^- 及び Br^- との間にそれぞれ高い相関係数が得られた。それに加えて、戸島の NO_3^- は Cl^- との間に高い相関が得られた。

NO_3^- と K^+ , Cl^- との関係を図 9 及び図 10 に示す。特に NO_3^- と Cl^- との関係には両地点間の違いが見られ、竹迫では相関係数が 0.258 であったのに対して戸島では 0.980 であった。 Cl^- は家畜ふん尿に豊富に含まれることから施肥における家畜ふん尿の割合の違いが NO_3^- と Cl^- の関係の違いに現れている可能性が示唆された。

2 重金属類

主要重金属類 (Al, Fe, Cu, Zn, Cr, Mn 及び B) の分析結果を表 3, 図 11 及び図 12 に示す。なお、溶出量の算出方法はイオン成分の場合と同じである。

図 11 及び図 12 に示されるように、Al 及び Fe につ

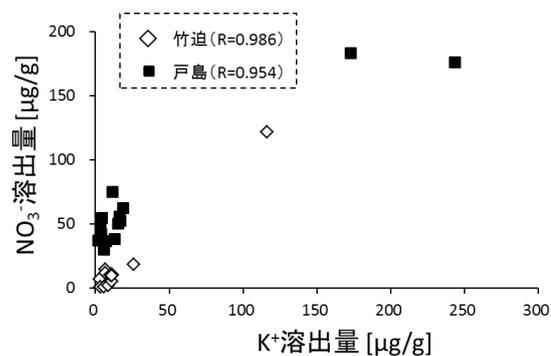


図 9 K^+ と NO_3^- との関係

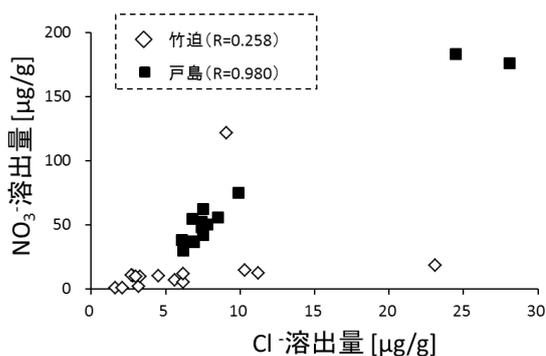


図 10 Cl^- と NO_3^- との関係

いては、両地点とも深さ 5.5m までほとんど検出されなかったが、深さ 6.5m から急激に溶出量が増大し、深さ 8.5m から 9.5m にかけて極大を示した。戸島においては、その後深さ 13.5m でさらに急激に溶出量が上昇した。その他の金属については Cu, Zn, Cr, Mn は溶出量の変化が Fe, Al に概ね追従した。しかし、B は両地点とも表層が最も高く、深さ 2.5m 以上ではほとんど検出されなかった。

両地点での重金属類の溶出量が深度 6.5m 以降で急に上昇した理由としては以下のことが考えられた。金属類の溶出は、6 時間の振とう溶出を行っており、その際、Fe 及び Al を主成分とする粒径 0.45 μ m 未満のコロイド粒子が溶出し、検液を孔径 0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過した後でもコロイド粒子が検液中に残存したと考えられた。なお、土壌の柱状図(図 2)に示す通り、竹迫では 5.0m、戸島では 7.2m 及び 13.0m の深さで土壌の性状が変化しており、重金属類の溶出結果はその変化に関連していると考えられた。

主要重金属成分間の相関係数(ただし、戸島の深さ 13.5m のデータについては除く)について、表 4 に示す。両地点とも B については、他の成分との相関係数は低い値を示したが、それ以外の成分間については、0.75 以上の値を示した。これは、溶出液に含まれていた鉄・Al を主成分とするコロイド粒子に B 以外の金属成分が吸着していたことによるものと推測される。

既往の研究により鶏ふん堆肥では Zn が、また牛ふん堆肥や豚ふん堆肥では Cu や Zn の濃度が高く、地表面に蓄積するとされているが^{5)~8)}、今回の調査で得られた銅及び亜鉛の溶出量の深さに対する分布をみると、両地点とも地表から深さ 3.5m 以内における溶出量は小さく、土壌中でのこれらの金属の蓄積は確認されなかった。

まとめ

合志市竹迫及び熊本市東区戸島で得られたボーリングコア試料の溶出試験を行い、pH, EC, イオン成分並びに金属類を分析した。pH は両地点とも深くなるに従い、緩やかに上昇した。EC は、両地点とも表層よりも深さ 1.5m で最大になった後、深さ 3.5m にかけて値が急減し、その後ほぼ一定値で推移した。イオン成分の溶出量は、概ね戸島の方が竹迫より高めの傾向であった。また、その深さに対する分布は両地点で類似していたが、NO₃⁻ と他のイオン成分との相関関係には差が認められた。NO₃⁻ は深さにおける分布パターンは類似していたもの、深さ 7.5m 以上では、竹迫が概ね 9.9

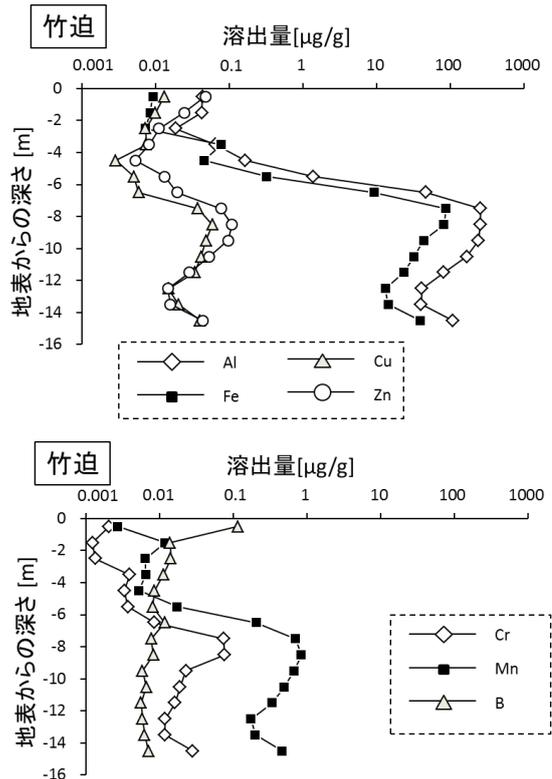


図 11 主要金属溶出量の深さ方向の分布 (竹迫)

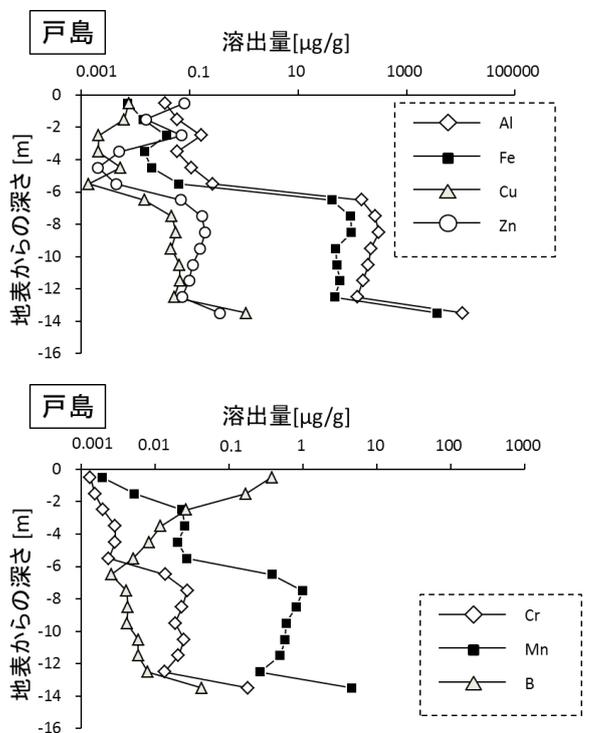


図 12 主要金属溶出量の深さ方向の分布 (戸島)

~14.4 μ g/g の範囲であったのに対して、戸島では、30.2 ~62.5 μ g/g の範囲であった。

主要重金属類について、両地点とも深度 5.5m までは、ほとんど検出されず、深さ 6.5m 以上で急激に溶出量が上昇し、8.5m から 9.5m にかけて極大を示した。溶出量の変化は主に土質に起因する粒径 0.45 μ m 未満のコロイド粒子の溶出によるものと考えられた。

今回の調査結果により、畑地土壤中に含まれる硝酸性窒素などの無機成分の含有量はその土地の地質、畑地の利用形態及び施肥の状況等により違いが現れることが明らかになった。このような調査を重ね、データを蓄積することによって、これらの要因と土壤中に含まれる硝酸性窒素との含有量との関係が解明されることが期待される。

謝辞

本調査の実施にあたっては、国立大学法人熊本大学大学院自然科学研究科水文学・嶋田研究室及び熊本県環境保全課の多大なご協力をいただきました。担当者の方々に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 熊本県：熊本地域硝酸性窒素削減計画，(2005).
- 2) 熊本県：平成 25 年度水質調査報告書（公共用水域

及び地下水），(2014).

- 3) 茨城県：土壌・作物栄養診断マニュアル，(1997).
- 4) 環境省：土壌の汚染に係る環境基準，環境庁告示第 46 号，平成 3 年 8 月 23 日
- 5) 加藤直人：家畜ふん堆肥の特徴と施用技術について，平成 19 年度耕畜連携たい肥利用推進研修会資料，(http://www.maff.go.jp/tokai/seisan/tikusan/manure/pdf/manure191019_4.pdf)
- 6) 環境省：農用地における土壌中重金属等の蓄積防止に係る管理基準について，環水土第 149 号，昭和 59 年 11 月 8 日
- 7) 板橋直：亜鉛を含む資材の農業利用に伴う環境影響，第 27 回土水研究会「食の安全，農業環境問題におけるトレードオフを克服する」資料，平成 22 年 2 月 25 日
- 8) 茨城県：畑土壌における家畜ふん堆肥連用による重金属の蓄積，平成 13 年度茨城県農業総合センター農業研究所 研究成果 (<http://www.pref.ibaraki.jp/nourinsuisan/noken/seika/h13notpdf/h13seika.html>).

表 1 土壤溶出液における pH, EC, 各イオン成分の溶出量

竹迫

深さ [m]	乾燥減量 [%]	pH	EC (μs/cm)	溶出量 [μg/L]											
				Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻
-0.5	41.5	6.16	48.4	9.19	0.22	116.3	5.2	37.9	3.3	9.1	0.25	0.05	121.6	136.8	0.15
-1.5	50.0	6.38	64.9	17.9	0.01	26.2	18.1	133.1	1.3	23.1	0.03	0.01	18.2	425.4	0.00
-2.5	42.5	6.44	46.5	38.8	0.00	3.0	11.4	59.8	0.8	5.6	0.02	0.01	7.1	277.3	0.00
-3.5	36.7	6.50	25.4	32.6	0.00	3.2	4.7	12.8	0.6	1.6	0.01	0.00	0.6	128.2	0.00
-4.5	39.9	6.50	23.9	36.6	0.00	5.7	3.8	9.0	0.7	2.1	0.02	0.00	0.6	124.2	0.00
-5.5	39.0	6.57	23.5	37.7	0.00	8.8	3.0	6.6	0.6	3.2	0.01	0.00	2.0	114.3	0.03
-6.5	37.5	6.69	23.1	32.0	0.00	11.0	3.5	6.6	0.7	6.2	0.03	0.00	5.3	95.5	0.22
-7.5	33.5	6.88	20.9	27.9	0.00	7.6	3.9	4.9	0.8	11.2	0.02	0.00	12.6	53.5	0.41
-8.5	31.1	7.03	20.5	25.7	0.00	6.6	4.0	5.6	0.8	10.3	0.00	0.01	14.4	39.3	0.33
-9.5	25.5	7.11	18.1	20.8	0.00	6.7	3.1	5.2	0.7	6.2	0.00	0.01	11.8	20.2	0.28
-10.5	23.9	7.06	16.3	15.7	0.01	10.1	2.3	4.9	0.5	4.5	0.00	0.01	10.3	17.8	0.29
-11.5	21.2	7.09	16.3	13.5	0.01	10.9	2.1	5.4	0.3	3.3	0.00	0.01	9.9	18.2	0.21
-12.5	22.2	7.09	15.8	13.0	0.00	11.5	2.2	5.3	0.3	2.8	0.00	0.00	10.4	16.9	0.13
-13.5	22.0	7.15	15.1	12.6	0.00	11.1	1.8	4.3	0.2	2.7	0.00	0.01	10.6	15.6	0.13
-14.5	22.0	7.16	15.7	11.9	0.01	10.9	1.8	4.1	0.2	3.0	0.00	0.01	9.9	18.5	0.22

戸島

深さ [m]	乾燥減量 [%]	pH	EC (μs/cm)	溶出量 [μg/L]											
				Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻
-0.5	48.6	6.52	83.3	23.0	1.83	243.4	16.7	53.5	2.0	28.1	0.24	0.07	176.2	346.5	0.04
-1.5	49.2	6.33	88.3	26.7	0.24	173.1	24.4	96.7	1.1	24.5	0.08	0.06	183.0	448.9	0.00
-2.5	48.3	6.28	55.5	50.3	0.02	11.4	17.5	79.3	0.9	9.9	0.02	0.02	75.1	332.1	0.00
-3.5	36.0	6.36	30.4	41.2	0.00	2.2	4.5	16.9	0.4	6.8	0.01	0.01	37.0	124.4	0.00
-4.5	35.9	6.32	27.0	47.1	0.00	3.6	2.9	7.7	0.4	7.4	0.00	0.01	48.2	95.3	0.05
-5.5	34.6	6.42	23.6	45.1	0.00	4.4	1.8	3.7	0.4	6.8	0.01	0.02	54.4	66.0	0.07
-6.5	28.2	6.85	16.2	28.1	0.01	3.7	1.2	1.8	0.6	7.5	0.01	0.01	41.8	9.5	0.32
-7.5	24.1	7.07	17.2	27.0	0.01	5.6	1.8	3.4	0.6	6.2	0.01	0.01	30.2	0.3	0.23
-8.5	26.4	7.06	15.6	24.7	0.00	7.1	1.5	3.0	0.7	6.9	0.00	0.01	36.4	0.3	0.39
-9.5	26.0	6.93	15.0	17.5	0.03	12.8	1.6	3.3	0.4	6.1	0.01	0.01	38.1	0.3	0.16
-10.5	28.5	6.90	16.7	16.5	0.02	15.5	2.3	5.5	0.3	7.8	0.02	0.02	50.0	0.5	0.22
-11.5	30.3	6.90	18.1	17.4	0.02	16.8	2.8	7.3	0.3	7.4	0.09	0.02	52.4	0.9	0.21
-12.5	31.7	6.90	16.9	15.8	0.02	16.5	2.6	6.5	0.2	8.5	0.03	0.02	55.9	0.5	0.16
-13.5	38.3	7.52	20.8	29.6	0.02	19.0	2.0	6.0	0.9	7.5	0.05	0.02	62.5	1.5	0.65

表 2 イオン成分間の相関係数 (斜字は 0.9 以上を示す)

竹迫

	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻
Na ⁺												
NH ₄ ⁺	-0.410											
K ⁺	-0.450	0.987										
Mg ²⁺	0.171	0.043	0.127									
Ca ²⁺	-0.015	0.164	0.261	0.974								
F ⁻	-0.178	0.923	0.933	0.323	0.394							
Cl ⁻	-0.123	0.161	0.271	0.782	0.795	0.425						
NO ₂ ⁻	-0.263	0.978	0.974	0.143	0.240	0.960	0.229					
Br ⁻	-0.529	0.932	0.919	0.117	0.241	0.849	0.230	0.875				
NO ₃ ⁻	-0.461	0.987	0.986	0.087	0.206	0.930	0.258	0.965	0.946			
SO ₄ ²⁻	0.304	0.096	0.171	0.964	0.939	0.369	0.666	0.217	0.105	0.104		
PO ₄ ³⁻	-0.338	-0.013	-0.039	-0.470	-0.479	-0.088	0.071	-0.082	0.055	0.061	-0.631	

戸島

	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻
Na ⁺												
NH ₄ ⁺	-0.170											
K ⁺	-0.209	0.871										
Mg ²⁺	0.175	0.497	0.763									
Ca ²⁺	0.240	0.386	0.665	0.989								
F ⁻	0.036	0.849	0.860	0.701	0.631							
Cl ⁻	-0.126	0.820	0.987	0.839	0.755	0.851						
NO ₂ ⁻	-0.291	0.923	0.884	0.546	0.441	0.803	0.837					
Br ⁻	-0.176	0.805	0.974	0.804	0.719	0.812	0.978	0.866				
NO ₃ ⁻	-0.075	0.726	0.954	0.881	0.812	0.809	0.980	0.786	0.979			
SO ₄ ²⁻	0.324	0.531	0.753	0.978	0.963	0.713	0.830	0.533	0.782	0.862		
PO ₄ ³⁻	-0.358	-0.235	-0.309	-0.524	-0.518	-0.077	-0.369	-0.155	-0.320	-0.356	-0.607	

表 3 土壌溶出液における主要金属成分の溶出量

竹迫

深さ [m]	溶出量[μ g/L]						
	Al	Fe	Cu	Zn	Cr	Mn	B
-0.5	0.043	0.009	0.013	0.047	0.002	0.003	0.115
-1.5	0.042	0.008	0.010	0.024	0.001	0.012	0.014
-2.5	0.019	0.007	0.007	0.011	0.001	0.006	0.014
-3.5	0.065	0.077	0.007	0.008	0.004	0.006	0.011
-4.5	0.164	0.045	0.003	0.005	0.003	0.005	0.008
-5.5	1.37	0.322	0.005	0.013	0.004	0.017	0.008
-6.5	46.9	9.16	0.006	0.019	0.008	0.203	0.012
-7.5	257	86.7	0.038	0.077	0.075	0.693	0.008
-8.5	256	81.5	0.059	0.108	0.075	0.832	0.008
-9.5	242	43.2	0.048	0.096	0.023	0.668	0.006
-10.5	167	32.0	0.041	0.053	0.019	0.485	0.007
-11.5	81.6	23.2	0.034	0.029	0.016	0.333	0.006
-12.5	41.0	13.1	0.015	0.015	0.012	0.172	0.006
-13.5	40.0	14.3	0.020	0.016	0.012	0.197	0.006
-14.5	107	39.0	0.040	0.043	0.028	0.458	0.007

戸島

深さ [m]	溶出量[μ g/L]						
	Al	Fe	Cu	Zn	Cr	Mn	B
-0.5	0.035	0.007	0.008	0.081	0.001	0.002	0.379
-1.5	0.060	0.014	0.006	0.016	0.002	0.005	0.168
-2.5	0.164	0.037	0.002	0.071	0.002	0.023	0.026
-3.5	0.058	0.015	0.002	0.005	0.003	0.025	0.012
-4.5	0.108	0.020	0.005	0.002	0.003	0.020	0.008
-5.5	0.264	0.063	0.001	0.004	0.002	0.026	0.005
-6.5	148	42.0	0.015	0.069	0.014	0.379	0.003
-7.5	264	92.6	0.046	0.167	0.027	0.992	0.004
-8.5	309	95.1	0.055	0.192	0.023	0.803	0.004
-9.5	221	49.5	0.045	0.156	0.019	0.589	0.004
-10.5	197	51.4	0.065	0.113	0.025	0.572	0.006
-11.5	156	59.5	0.066	0.098	0.020	0.489	0.006
-12.5	124	47.4	0.051	0.072	0.013	0.260	0.008
-13.5	10840	3698	1.10	0.354	0.179	4.50	0.042

表 4 主要金属成分間の相関係数（斜字は 0.9 以上を示す）

竹迫

	Al	Fe	Cu	Zn	Cr	Mn	B
Al							
Fe	0.946						
Cu	0.931	0.881					
Zn	0.910	0.849	0.883				
Cr	0.878	0.982	0.817	0.784			
Mn	0.982	0.949	0.961	0.884	0.894		
B	-0.229	-0.218	-0.200	0.098	-0.204	-0.262	

戸島

	Al	Fe	Cu	Zn	Cr	Mn	B
Al							
Fe	0.999						
Cu	0.997	0.997					
Zn	0.777	0.774	0.796				
Cr	0.982	0.981	0.988	0.862			
Mn	0.969	0.968	0.975	0.889	0.996		
B	-0.040	-0.038	-0.051	-0.113	-0.115	-0.141	

7) 菊池地域における地下水中の無機成分と井戸深さとの関係

永田 武史 前田 敏孝 藤本 貴大* 小笹 康人 上本 清次**

要 旨

菊池地域の湧水及び井戸水における、無機成分間の相関及び無機成分と井戸深さとの関係について調査した。被圧地下水の湧出とみられる湧水については F^- 、 Na^+ 、 B 、 As などの成分が比較的豊富に含まれており、帯水層の違いによって溶存成分の濃度に違いが生じる傾向が現れた。また、菊池市旭志地区の井戸水において、高い濃度の硝酸性窒素が検出された地点の周辺では、井戸深さと F^- 、 Li 、 As との間の相関係数が高く、また、硝酸性窒素濃度は井戸深さに対して負の相関関係が見られた。

キーワード：地下水，湧水，硝酸性窒素，井戸深さ，相関係数

はじめに

菊池地域を含む熊本市周辺では、生活用水のほぼ100%を地下水に依存しているが、近年、過剰な施肥や家畜排せつ物等の不適切な処理等が原因と推測される、地下水の硝酸性窒素の上昇がみられ、環境基準を超過する事例も見られる^{1),2)}。硝酸性窒素による地下水の汚染の状況を把握するためには、湧水や井戸水などの地下水を調査し、地下水中の硝酸性窒素濃度の分布を把握することが不可欠である。熊本県では平成7年以降、熊本県内の地下水における硝酸性窒素濃度の調査を実施するとともに^{3)~8)}、平成16年度に熊本地域硝酸性窒素削減計画を策定し汚染の拡大を防止する対策に取り組んできた。

しかしながら、井戸水の調査にあたっては、ボーリング調査等を実施するには費用等の制約があり、既設の井戸を調査対象にせざるを得ず、調査を実施するうえで必要となる井戸深さ、ストレイナーの位置等の情報が十分に得られないといった問題がある。これらの情報が不足しているため、地下における硝酸性窒素の分布の把握が十分ではない状況である。

筆者らはこれまで、上益城地域及び熊本市地域の湧水の成分を分析し、湧水の地域によって、溶存する成分濃度が異なり、その差異は帯水層の違いに由来すると考えられることを報告した⁹⁾。筆者らはその結果か

ら、県内の他の地域でも帯水層と溶存成分の濃度について同様の関係が現れ、また、これらの成分が湧水や井戸水の帯水層の深さを示す指標となりうるのではないかと考えた。

今回、主に菊池地域の地下水（湧水及び井戸水）の採水を実施し、溶存している無機成分と湧水の湧出形態、井戸深さ等との関係について調査した。

調査地点

本報では、実施時期及び調査地区の違いによって区別した以下の3件の調査について報告する。

- 1) 平成26年5月に、菊池地域（主に菊池市七城地区周辺）及び熊本市の一部の湧水を対象にした調査（以後、湧水調査と表記する）。
- 2) 平成27年1月から同年2月にかけて、菊池市旭志地区の湧水及び井戸水を対象にした調査（以後、旭志地区調査と表記する）。
- 3) 平成27年1月から同年2月にかけて、合志市合志地区の井戸水を対象にした調査（以後、合志地区調査と表記する）。

1 湧水調査

*現健康福祉部健康危機管理課

**現健康福祉部薬務衛生課

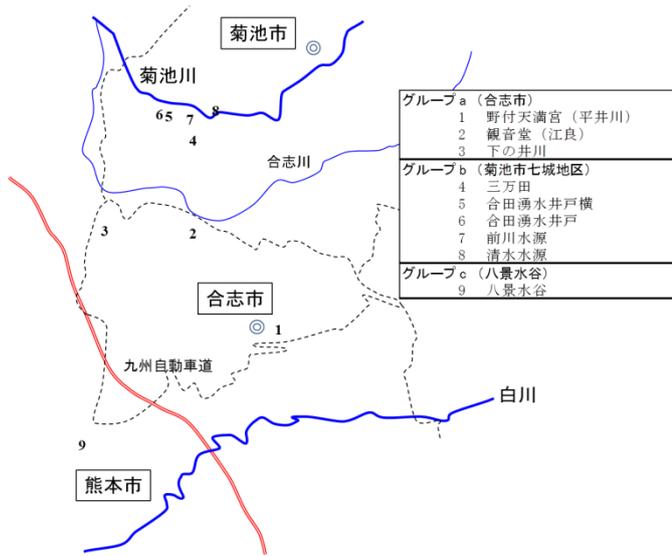


図1 調査地点（湧水調査）

図1に湧水調査(9地点)の概略図及び名称を示す。地点については、平成22年に実施した調査¹⁰⁾及び荒牧らの文献¹¹⁾を参考にした。採水は平成26年5月29日に実施した。調査を行った湧水について、地点により3つのグループに分類した(グループa:合志市, No.1~3, グループb:菊池市七城地区, No.4~8, グループc:熊本市八景水谷, No.9)。

2 旭志地区調査

図2に調査地点の概略図を示す。また、表1に地点の概要(井戸深さ等)を示す。地点数は27(湧水10地点, 井戸水17地点)であり、平成27年1月26日, 1月29日及び2月4日に環境保全課, 菊池保健所及び菊池市によって採水された。

3 合志地区調査

図3に調査地点の概略図を示す。また、表2に地点の概要(井戸深さ等)を示す。地点数は30であり、全て井戸であった。旭志地区調査と同様に平成27年1月26日, 1月29日及び2月4日に環境保全課, 菊池保健所及び合志市によって採水された。

調査項目及び分析方法

調査項目は、pH, EC(導電率), 陽イオン(Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺), 陰イオン(F⁻, Cl⁻, NO₂⁻, Br⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, HCO₃⁻), 重金属類(21種類), SiO₂であった。

旭志地区調査及び合志地区調査については、それらに加えて溶存酸素, 酸化還元電位(ORP), PO₄³⁻につ

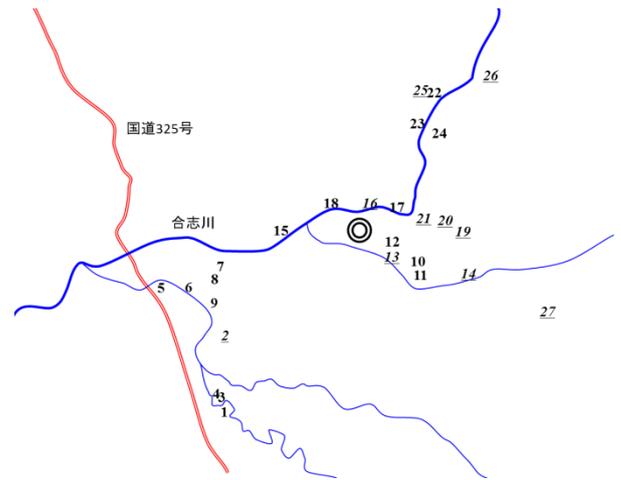


図2 調査地点（旭志地区調査）
下線・斜字は湧水を示す。

表1 調査地点概要（旭志地区調査）

No.	種類	井戸深さ [m]	海拔(推定) [m]
1	井戸水	15	102
2	湧水	-	97
3	井戸水	9	99
4	井戸水	13	104
5	井戸水	100	84
6	井戸水	不明	89
7	井戸水	18	92
8	井戸水	140	92
9	井戸水	150	93
10	井戸水	10	125
11	井戸水	9.5	125
12	井戸水	7	120
13	湧水	-	120
14	湧水	-	143
15	井戸水	10	95
16	湧水	-	102
17	井戸水	35	107
18	井戸水	14	100
19	湧水	-	139
20	湧水	-	126
21	湧水	-	116
22	井戸水	3	133
23	井戸水	5	127
24	井戸水	6	132
25	湧水	-	132
26	湧水	-	143
27	湧水	-	190

いて分析した。

溶存酸素はウィンクラー-アジ化ナトリウム変法, pH, EC, ORPは電極法, HCO₃⁻, PO₄³⁻を除くイオン成分はイオンクロマトグラフ法, HCO₃⁻は硫酸滴定法, PO₄³⁻及びSiO₂はそれぞれモリブデン青法及びモリブ

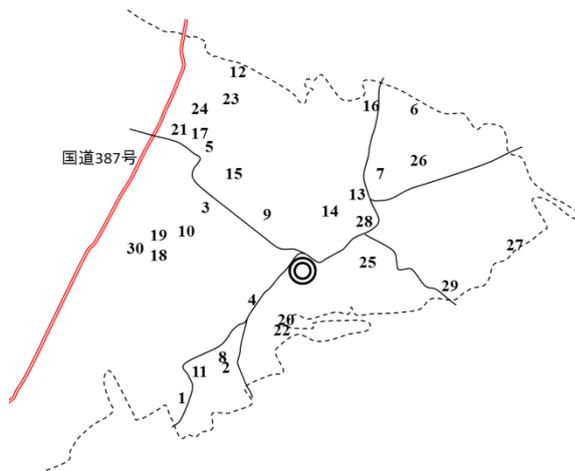


図3 調査地点（合志地区調査）

表2 調査地点概要（合志地区調査）

No.	井戸深さ [m]	ストレーナー 位置[m]	海拔（推定） [m]
1	43	20-40	63
2	75	50-72	69
3	100	40-45, 45-50	71
4	120	65-70, 76-87, 97-114	88
5	60	30-60	57
6	10		110
7	79	60-70	112
8	6		69
9	80	60-80	76
10	100	50-60	73
11	67	25-45	71
12	80	45-70	69
13	118	50-118	96
14	118	49-118	89
15	8		64
16	127	30-120	101
17	60	20	59
18	111.7	71-109	79
19	94.8	51.5-79, 90-95.5	68
20	100	88-100	95
21	70	30	51
22	120	93-115	86
23	90	40-80	57
24	15		52
25	12		97
26	130	80-85, 91-96	120
27	200	139-194	139
28	100	84-96	89
29	100	80	110
30	101	46-57, 62-95	68

※ 調査地点は全て井戸水

デン黄法により求めた。重金属成分については、誘導結合プラズマ質量分析（ICP-MS）法で分析を行った。

結果及び考察

1 湧水調査

1.1 水質の概要（トリリニアダイアグラム）

各成分の分析結果を表3に示す。また、イオン成分の分析結果に基づき、トリリニアダイアグラムで表現したものを図4に示す。

トリリニアダイアグラムが示すように、グループ a の湧水はアルカリ土類非炭酸塩型の性質を示した。一方、グループ b のうち3地点（No.5, No.6, No.8）及びグループ c（No.9）については、陽イオンにおけるアルカリ土類の比率が比較的高く、アルカリ土類の比率と同程度であった。

一般に地下水が深層の帯水層にあり、地下における滞留時間が長くなると、地下水質がアルカリ土類炭酸塩型からアルカリ炭酸塩型に移行する¹²⁾。島野は湧出の形態により、七城地区周辺の湧水群を被圧地下水の湧出と分類している¹³⁾。また八景水谷も湧出量が豊富なことから被圧地下水の湧出と考えられる。これらの湧水には地下における滞留時間が比較的に長い地下水が含まれていると考えられる。

1.2 グループ間における成分濃度の差異について

今回調査した範囲では、グループ間で差異が顕著に現れたものがあつた。F⁻、SO₄²⁻、Na⁺、Li、B、As、Se 及び硝酸性窒素（NO₃-N）の各グループの平均値を表4に示す。特に、F⁻、Na⁺、Li、B、As においてグループ間で特徴的な差異が現れた。これらの成分はグループ b、グループ c で比較的高い濃度が高い傾向が見られた。このことは、1.1 で記述したとおりグループ b

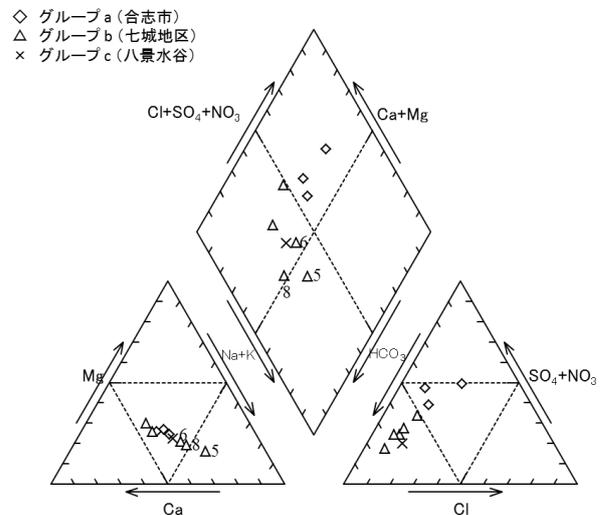


図4 トリリニアダイアグラム（湧水調査）

表4 グループごとの各成分の平均値 (湧水調査)

	F ⁻ (mg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)	Na ⁺ (mg/L)	Li (μg/L)	B (μg/L)	As (μg/L)	Se (μg/L)	NO ₃ -N (mg/L)
グループ a	0.03	13.2	12.0	1.0	9.4	0.37	0.22	7.8
グループ b	0.20	9.4	16.8	2.8	127.4	1.40	0.17	4.3
グループ c	0.13	6.5	18.0	5.5	163.6	1.09	0.19	3.9

及びcは被圧地下水の湧出であり、これらの成分は深い帯水層の地下水に比較的豊富に含まれるものであると示唆された。

F⁻, Na⁺, 及びAsの関係については、菊池川下流の玉名市川崎地区に関する調査例¹⁴⁾がある。この調査では、調査地域の井戸水のF⁻濃度とAsとの間に正の相関(0.74)があり、また、Asが検出された井戸では陽イオンにおけるNa⁺の比率が高く、アルカリ炭酸塩型を示したと報告されている¹⁴⁾。

筆者が以前、被圧地下水の湧出と考えられる下六嘉湧水群及び江津湖周辺の湧水群の水質について、F⁻, SO₄²⁻, B, As, Se等の成分の濃度が他地域の湧水と比較して高かったことを報告⁹⁾した。今回の調査地点と下六嘉湧水群及び江津湖周辺の湧水群を比較するとF⁻, B, Asについてはグループb及びcの湧水は江津湖周辺と同程度かそれを上回る濃度で含まれていた。一方、SO₄²⁻, Seについては、グループb及びcの濃度は江津湖周辺と比較して高くなかった。

1.3 各成分の相関について

湧水9地点について、主要成分の相関係数を表5に示す。グループb及びcで比較的豊富に含まれていた成分(F⁻, Na⁺, B, As)間の相関係数が0.8以上と高い傾向を示した。例として、F⁻とNa⁺との関係を図5に、F⁻とAsとの関係を図6に示す。

2 旭志地区調査

表5 主な成分間の相関係数 (湧水調査)

※斜字は本文内で言及

	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Li	B	As	Se	Sr	NO ₃ -N
Na ⁺	-0.184	-0.388	-0.354	0.897	0.062	-0.333	0.679	0.332	0.827	0.896	0.396	-0.413	-0.097
K ⁺		0.491	0.591	-0.507	0.781	0.533	-0.717	-0.749	-0.581	-0.520	0.203	0.890	0.913
Ca ²⁺			0.984	-0.624	0.475	0.571	-0.217	-0.368	-0.459	-0.581	-0.181	0.631	0.375
Mg ²⁺				-0.613	0.592	0.551	-0.303	-0.453	-0.471	-0.590	-0.229	0.733	0.485
F ⁻					-0.312	-0.456	0.748	0.430	0.894	0.984	0.284	-0.690	-0.396
Cl ⁻						0.030	-0.439	-0.396	-0.267	-0.375	-0.121	0.769	0.861
SO ₄ ²⁻							-0.330	-0.560	-0.459	-0.347	0.316	0.509	0.189
HCO ₃ ⁻								0.716	0.829	0.801	0.153	-0.767	-0.676
Li									0.676	0.437	-0.081	-0.724	-0.688
B										0.880	0.167	-0.697	-0.505
As											0.359	-0.704	-0.460
Se												-0.223	0.143
Sr													0.772

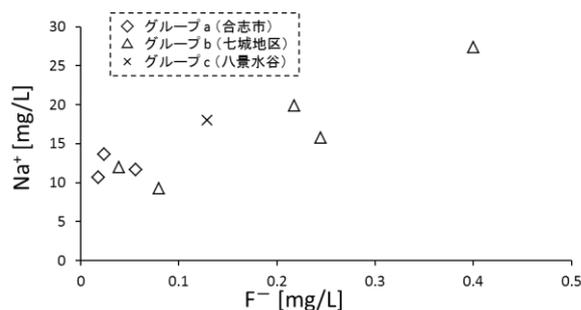


図5 F⁻とNa⁺との関係(湧水調査)

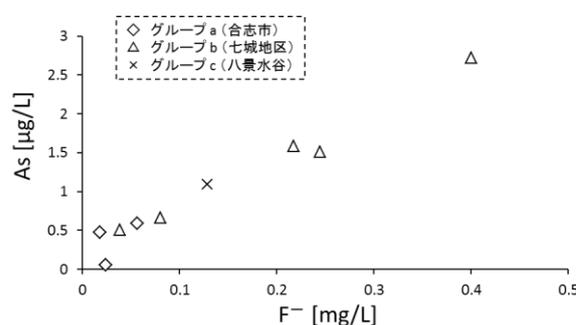


図6 F⁻とAsとの関係(湧水調査)

2.1 水質の概要(トリリニアダイアグラム)

各成分の分析結果の平均値, 最大値, 最小値を表6に示す。また、イオン成分の分析結果に基づき、トリリニアダイアグラムで表現したものを図7に示す。トリリニアダイアグラムが示すように、湧水は全てアルカリ土類炭酸塩型に分類された。また、井戸水の大部分はアルカリ土類炭酸塩型あるいはアルカリ土類非炭酸塩型を示した。しかし、地点No.9だけはアルカリ炭酸塩型を示した。No.9は、井戸が深く、地下における滞留時間が比較的長い深層地下水が含まれている可能性が示唆された。

表 6 各成分の平均値，最大値及び最小値
(旭志地区調査)

調査日	H27.1.26, H27.1.29, H27.2.4		
	平均値	最大値	最小値
水温(°C)	16.6	20.2	12.0
pH	7.1	8.0	6.4
EC(μ S/cm)	171	309	85
ORP(mV)	252	291	201
DO (mg/L)	7.8	9.4	4.1
Na ⁺ (mg/L)	9.6	28.3	4.7
NH ₄ ⁺ (mg/L)	< 0.1	< 0.1	< 0.1
K ⁺ (mg/L)	4.7	16.8	1.1
Ca ²⁺ (mg/L)	13.3	22.0	5.8
Mg ²⁺ (mg/L)	4.5	7.7	1.5
F ⁻ (mg/L)	0.09	0.57	0.03
Cl ⁻ (mg/L)	6.2	14.7	2.1
NO ₂ ⁻ (mg/L)	< 0.03	< 0.03	< 0.03
Br ⁻ (mg/L)	0.024	0.054	0.006
NO ₃ ⁻ (mg/L)	19.5	46.7	1.1
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	9.6	24.2	1.4
HCO ₃ ⁻ (mg/L)	45.3	102.4	13.9
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0.014	0.053	0.000
NO ₃ -N (mg/L)	4.4	10.5	0.2
Li (μ g/L)	0.9	7.3	0.0
B (μ g/L)	32.5	436.9	2.0
Al (μ g/L)	20.3	237.9	0.9
V (μ g/L)	3.8	13.1	0.3
Cr (μ g/L)	0.13	0.68	0.02
Mn (μ g/L)	1.77	15.74	0.00
Fe (μ g/L)	30.7	218.4	1.5
Ni (μ g/L)	0.08	1.70	0.00
Cu (μ g/L)	1.77	16.38	0.00
Zn (μ g/L)	5.52	35.67	0.00
As (μ g/L)	0.25	1.52	0.00
Se (μ g/L)	0.04	0.19	0.00
Rb (μ g/L)	10.9	26.3	4.6
Sr (μ g/L)	133.0	259.2	44.8
Mo (μ g/L)	0.15	1.56	0.00
Cd (μ g/L)	0.00	0.04	0.00
Sb (μ g/L)	0.02	0.13	0.00
Cs (μ g/L)	0.08	0.30	0.00
Ba (μ g/L)	9.4	22.6	1.4
Pb (μ g/L)	0.10	0.75	0.00
U (μ g/L)	0.11	0.76	0.00
SiO ₂ (mg/L)	33.4	59.3	15.4

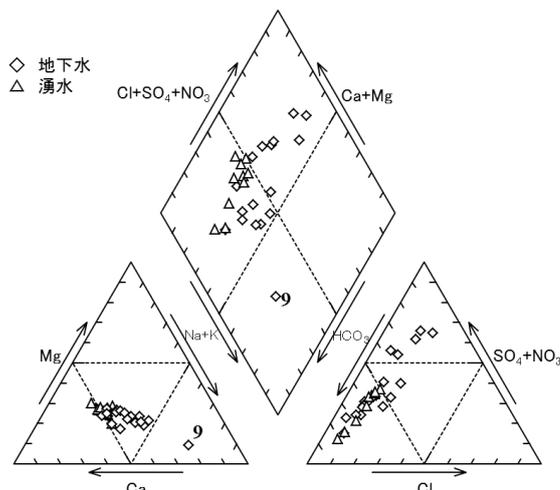


図 7 トリリニアダイアグラム (旭志地区調査)



図 8 NO₃-N の分布 (旭志地区調査)

2.2 硝酸性窒素の分布について

硝酸性窒素 (NO₃-N) の濃度の分布を図 8 に示す。今回の調査で NO₃-N 濃度が環境基準 (10mg/L) より高かったのは井戸水 1 地点 (No. 7) であり, 7~10mg/L の範囲にあったのが井戸水 2 地点 (No. 10, No. 15), 湧水 1 地点 (No. 2) であった。調査地区の西側に, NO₃-N 濃度が比較的高い地点が多くなる傾向がみられた。

2.3 各成分の相関について

今回調査した 27 地点について, 主要成分の相関係数を表 7 に示す。本調査では F⁻, Na⁺, Li, B, As 間の相関係数が 0.8 以上の高い傾向を示した。これらの成分は湧水調査の結果でも記述したとおり, 深い帯水層の地下水に比較的多く含まれると考えられた。例として, F⁻ と Na⁺ との関係を図 9 に, F⁻ と As との関係を図 10 に示す。

表 7 主な成分間の相関係数(旭志地区調査)

※斜字は本文内で言及

	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Li	B	V	As	Se	Sr	PO ₄ ³⁻	SiO ₂	NO ₃ -N	
Na ⁺	0.239	0.337	0.305	0.855	0.446	0.683	0.622	0.833	0.850	0.379	0.726	0.455	0.313	0.103	0.334	0.133	
K ⁺		0.114	0.267	0.017	0.477	0.407	-0.001	-0.031	0.025	-0.248	0.039	0.358	0.686	0.203	0.253	0.138	
Ca ²⁺			0.926	0.075	0.580	0.360	0.460	0.109	0.274	-0.332	0.010	-0.197	0.646	-0.072	0.265	0.574	
Mg ²⁺				-0.007	0.666	0.411	0.352	0.037	0.187	-0.464	-0.101	-0.175	0.792	-0.171	0.222	0.597	
F ⁻					0.004	0.367	0.674	0.966	0.929	0.677	0.818	0.567	-0.088	0.203	0.257	-0.122	
Cl ⁻						0.620	0.020	-0.018	0.158	-0.464	-0.118	-0.130	0.834	-0.313	-0.076	0.672	
SO ₄ ²⁻							0.051	0.358	0.405	-0.137	0.305	0.235	0.652	-0.126	0.151	0.387	
HCO ₃ ⁻								0.684	0.679	0.504	0.650	0.292	0.011	0.376	0.579	-0.222	
Li									0.914	0.702	0.823	0.518	-0.084	0.160	0.356	-0.156	
B										0.461	0.626	0.354	0.062	0.079	0.203	0.052	
V											0.750	0.509	-0.575	0.386	0.343	-0.578	
As												0.683	-0.142	0.432	0.600	-0.345	
Se													-0.034	0.671	0.426	-0.274	
Sr															-0.219	0.125	0.597
PO ₄ ³⁻																0.614	-0.438
SiO ₂																	-0.400

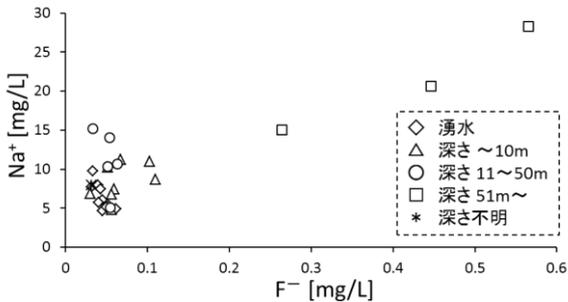


図 9 F⁻と Na⁺との関係(旭志地区調査)

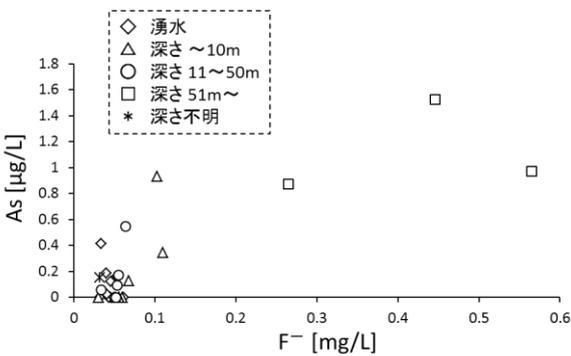


図 10 F⁻と As との関係(旭志地区調査)

表 8 旭志地区 No. 7 及び周辺 5 地点における井戸の深さ, NO₃-N と主な成分間の相関係数
※斜字は絶対値が 0.8 以上

	井戸深さ	NO ₃ -N
Na ⁺	0.646	-0.511
K ⁺	-0.408	0.454
Ca ²⁺	-0.464	0.656
Mg ²⁺	-0.534	0.721
F ⁻	0.812	-0.743
Cl ⁻	-0.655	0.844
SO ₄ ²⁻	0.186	-0.008
HCO ₃ ⁻	0.520	-0.437
Li	0.805	-0.748
B	0.534	-0.395
V	0.959	-0.993
As	0.954	-0.958
Se	0.824	-0.927
Sr	-0.736	0.914
PO ₄ ³⁻	0.922	-0.897
SiO ₂	0.946	-0.821
NO ₃ -N	-0.931	

2.4 高濃度 NO₃-N 検出地点周辺における, 井戸深さと各成分濃度との関係について

環境基準(10mg/L)を超える NO₃-N を検出した井戸(No.7)の周辺の井戸について, 井戸深さのデータがある井戸及び湧水(No.7 及び周辺 5 地点, No.2, 5, 8, 9, 15)の井戸深さと, NO₃-N 及びその他の成分間の相関を調べた。

井戸深さと主要成分との相関係数を表 8 に示す。深い帯水層に含まれると推測された成分のうち, F⁻, Li,

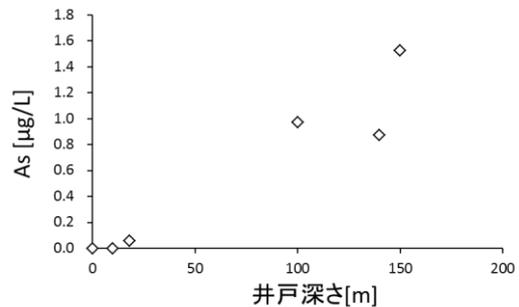


図 11 旭志地区 No. 7 及び周辺 5 地点における井戸深さと As との関係

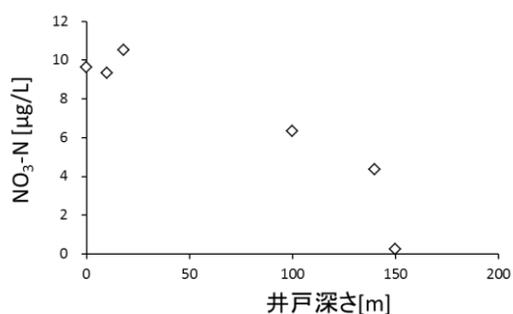


図 12 旭志地区 No. 7 及び周辺 5 地点における井戸深さと NO₃-N との関係

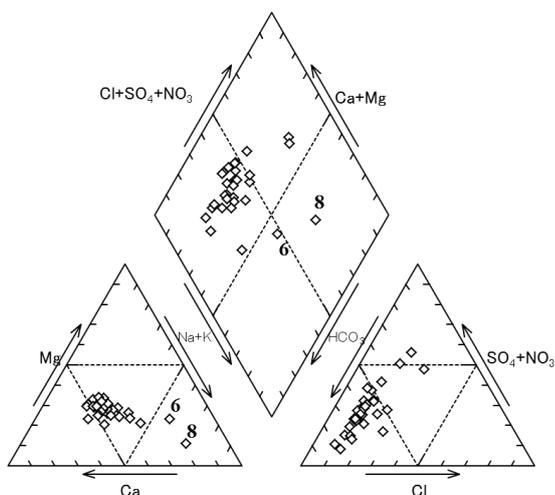


図 13 トリリニアダイアグラム (合志地区調査)

As については、6 地点の井戸深さと高い相関が得られた。例として井戸深さと As との関係を図 11 に示す。井戸深さと As との間の相関係数は 0.954 であり、この場合の両側検定危険率は 0.3% であった。井戸深さは、これらの成分の他にさらに V、PO₄³⁻、SiO₂ との相関係数も 0.9 以上であった。ただし、V、PO₄³⁻、SiO₂ の 3 成分は調査全体 (27 地点) では他成分 (F 等) との相関係数は高くなかった (表 7)。

NO₃-N と井戸深さとの間には負の相関関係が見られた (相関係数 -0.931, 両側検定危険率 0.7%)。両者の関係を図 12 に示す。

6 地点の NO₃-N と各成分濃度との相関を表 8 に併せて示す。NO₃-N は Cl との相関係数が高く (相関係数 0.844, 両側検定危険率 3.5%), NO₃-N は Cl を多く含む家畜ふん尿に由来する可能性があることが示唆された。また、NO₃-N と As、V との間には負の相関がみられた。

これらの結果より、以下のことが推測された。NO₃-N

表 9 各成分の平均値, 最大値及び最小値 (合志地域調査)

調査日	H27.1.26, H27.1.29, H27.2.4		
	平均値	最大値	最小値
水温 (°C)	17.6	21.2	15.4
pH	7.3	7.7	6.7
EC (μ S/cm)	256	536	138
ORP (mV)	247	286	207
DO (mg/L)	8.4	11.4	4.5
Na ⁺ (mg/L)	12.2	20.8	6.7
NH ₄ ⁺ (mg/L)	< 0.1	< 0.1	< 0.1
K ⁺ (mg/L)	6.3	22.1	0.9
Ca ²⁺ (mg/L)	21.2	49.4	5.8
Mg ²⁺ (mg/L)	8.3	20.7	2.1
F ⁻ (mg/L)	0.05	0.16	0.02
Cl ⁻ (mg/L)	12.0	26.9	5.8
NO ₂ ⁻ (mg/L)	< 0.03	< 0.03	< 0.03
Br ⁻ (mg/L)	0.056	0.244	0.011
NO ₃ ⁻ (mg/L)	26.6	83.5	4.0
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	9.3	29.1	0.6
HCO ₃ ⁻ (mg/L)	80.2	159.2	25.8
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0.016	0.029	0.006
NO ₃ -N (mg/L)	6.0	18.8	0.9
Li (μ g/L)	1.6	4.8	0.1
B (μ g/L)	36.4	239.5	3.6
Al (μ g/L)	19.8	217.7	0.4
V (μ g/L)	3.4	7.6	0.7
Cr (μ g/L)	0.22	0.51	0.06
Mn (μ g/L)	6.98	49.89	0.00
Fe (μ g/L)	75.3	488.1	1.5
Ni (μ g/L)	0.24	2.82	0.00
Cu (μ g/L)	2.54	24.05	0.02
Zn (μ g/L)	33.75	324.20	1.03
As (μ g/L)	0.50	1.34	0.00
Se (μ g/L)	0.14	0.50	0.02
Rb (μ g/L)	14.8	31.7	0.4
Sr (μ g/L)	208.8	567.9	54.7
Mo (μ g/L)	0.05	0.26	0.00
Cd (μ g/L)	0.01	0.16	0.00
Sb (μ g/L)	0.04	0.09	0.01
Cs (μ g/L)	0.08	0.33	0.00
Ba (μ g/L)	14.4	47.6	0.6
Pb (μ g/L)	0.42	2.41	0.00
U (μ g/L)	0.76	5.12	0.01
SiO ₂ (mg/L)	44.4	63.4	15.2

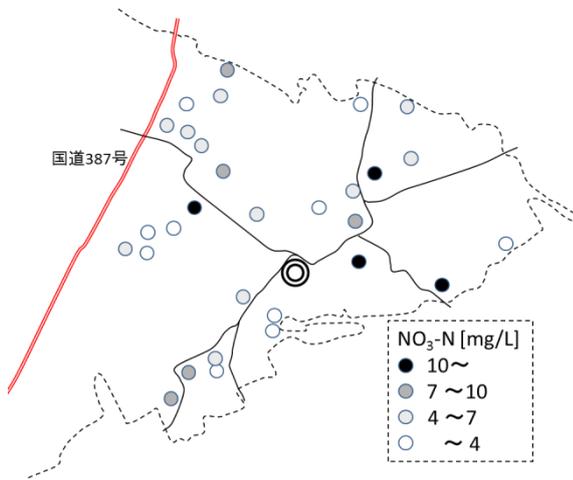


図 14 硝酸性窒素の分布（合志地区調査）

の汚染は主に地下の浅い帯水層に広がり、深い帯水層までは到達していない。したがって No.9 のような深い井戸では、As、V 等を含む深い帯水層の地下水によって浅い帯水層の NO₃-N が希釈・混合されていると考えられた。

3 合志地区調査

3.1 水質の概要（トリリニアダイアグラム）

各成分の分析結果の平均値、最大値、最小値を表 9 に示す。また、イオン成分の分析結果に基づき、トリリニアダイアグラムで表現したものを図 13 に示す。トリリニアダイアグラムが示すように、井戸水の大部分はアルカリ土類炭酸塩型あるいはアルカリ土類非炭酸塩型を示した。しかし、No.6 及び No.8 については陽イオンにおけるアルカリ類の比率が高く、アルカリ土類を上回った。この 2 地点の井戸深さは 10m 及び 6m と浅く、旭志地区とは異なる傾向だった。No.6 については、K⁺の濃度が湧水調査、旭志地区を含めた全地点で最も高く、著者らが実施した畑地の土壌溶出試験¹⁵⁾

において、K⁺は地表近くの浅い層に高い濃度で含まれることから、No.6 については地表の土壌の影響を受けているものと推測された。No.8 については、Na⁺の割合が高かったが、湧水調査や旭志地区で関連して検出された F⁻、Li、B、As などの成分の濃度は特に高くなく、アルカリ類の比率が高い理由については不明である。

3.2 NO₃-N の分布について

今回の調査で得られた NO₃-N 濃度の分布を図 14 に示す。合志地区では 30 地点中 4 地点（No.3, 7, 25, 29）で環境基準の 10mg/L を超過し、No.7 で最も高い濃度（18.8 mg/L）が検出された。また、5 地点（No. 1, 11, 12, 15, 28）で 7~10mg/L の範囲であった。図 14 に示すように、硝酸性窒素が高い濃度で検出された井戸の位置は分散しており、地理的な傾向は明確には現れなかった。また、硝酸性窒素が 7mg/L を超過した 9 地点のうち、No.15, 25 を除く 7 地点において、井戸の深さが 40m 以上であり、旭志地区と異なる傾向を示した。

3.3 各成分の相関について

合志地域における、各成分の相関係数を表 10 に示す。本調査では旭志地区と異なり、Li と B の間ではやや高い相関係数（0.857）を示したものの、F⁻、Na⁺、As 等間の相関係数は高くなかった。Li と B との関係を図 15 に示す。両物質とも No.18, 19, 30 で Li、B の濃度がほぼ同じ濃度だった。この 3 地点は 300m 程度しか離れておらず、井戸深さも 94.8m~111.7m とほぼ同じであった。この 3 地点の井戸水は同一の帯水層から採取された地下水である可能性が高いと推測された。

3.4 井戸深さと NO₃-N 濃度との関係について

合志地区における、井戸深さと NO₃-N との関係を図

表 10 主な成分間の相関係数(合志地区調査)

	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Li	B	V	As	Se	Sr	PO ₄ ³⁻	SiO ₂	NO ₃ -N
Na ⁺	0.392	0.232	0.296	0.243	0.523	0.437	0.192	0.250	0.199	0.000	-0.003	0.069	0.443	0.013	0.395	0.254
K ⁺		-0.091	0.117	0.367	0.227	0.456	-0.093	-0.009	-0.073	-0.020	-0.027	0.088	0.399	-0.115	0.498	0.233
Ca ²⁺			0.949	-0.536	0.603	-0.032	0.844	0.044	-0.046	-0.246	-0.302	0.173	0.817	-0.417	0.032	0.540
Mg ²⁺				-0.461	0.642	0.004	0.803	0.074	-0.061	-0.239	-0.304	0.223	0.882	-0.421	0.202	0.650
F ⁻					-0.130	0.100	-0.375	0.210	0.175	0.199	0.511	-0.180	-0.277	0.363	0.069	-0.320
Cl ⁻						0.375	0.323	0.147	-0.033	0.027	-0.094	-0.077	0.599	-0.253	0.185	0.382
SO ₄ ²⁻							-0.216	-0.127	-0.235	-0.024	-0.100	0.217	0.215	0.003	0.316	-0.129
HCO ₃ ⁻								0.284	0.272	-0.152	-0.050	0.365	0.612	-0.264	0.082	0.228
Li									0.857	0.562	0.623	0.130	-0.152	0.143	0.200	-0.257
B										0.354	0.412	0.177	-0.250	0.078	-0.016	-0.290
V											0.479	-0.235	-0.366	0.637	0.470	-0.355
As												-0.136	-0.359	0.355	0.125	-0.561
Se													0.131	-0.232	0.069	-0.052
Sr														-0.408	0.289	0.700
PO ₄ ³⁻															0.440	-0.424
SiO ₂																0.067

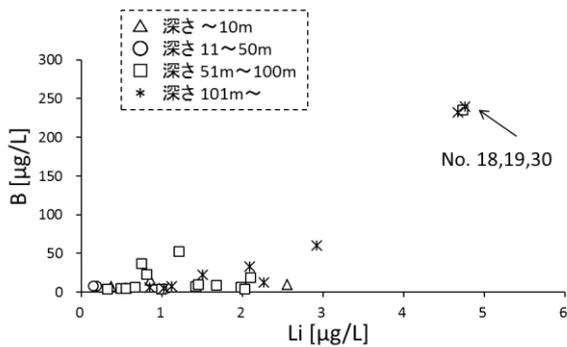


図 15 Li と B との関係（合志地区調査）

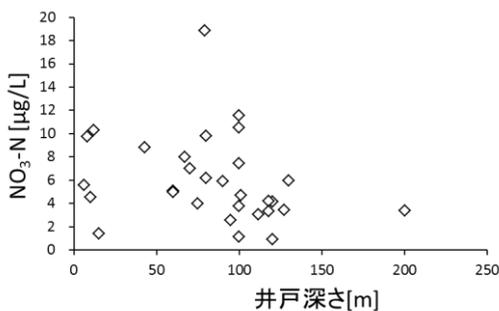


図 16 井戸深さと硝酸性窒素濃度との関係（合志地区調査）

16 に示す。図 16 に示す通り、井戸深さと NO₃-N との間の相関係数は高くなかった (-0.251)。旭志地区の場合と異なり、3.2 で記述したとおり深さ 40m 以上の井戸でも NO₃-N が 7mg/L 以上の濃度で検出され、最も高い濃度（No.7, 18.8mg/L）の井戸では深さが 79m であった。

合志地区で旭志地区との違いが現れた理由ははっきりしない。その要因として、熊本市北部地区では難透水層の切れ目や薄くなっている箇所、NO₃-N が第二帯水層などの深い帯水層に移動しているとみられる事例が報告されており¹⁾、合志地区でもそのような現象が発生している可能性があること、さらに、井戸掘削時に難透水層を貫通し、その井戸の管壁を通して NO₃-N が深い帯水層に移動している可能性が考えられる。

合志地区の場合、旭志地区と比較して、硝酸性窒素が高い濃度で検出された井戸の分布が分散しているおり、硝酸性窒素の地下での分布の把握のためには、より範囲を狭くして、地点数を増やすなどの詳細な調査の必要性が示された。

まとめ

本報では平成 26 年度に実施した湧水調査、旭志地区調査、合志地区調査について報告した。

菊池市七城地区周辺での湧水調査の結果、被圧地下水の湧出であると考えられている湧水では水中の F⁻、Na⁺、B、As の濃度が比較的高く、前報⁹⁾と同様に帯水層の違いによるものであると考えられた。

旭志地区調査の結果でも、F⁻、Na⁺、Li、B、As 間の相関係数が高く、井戸の帯水層による溶存成分の濃度の違いが反映されていると考えられた。硝酸性窒素が比較的高い濃度で検出された井戸の周辺において、井戸深さと、これらの成分との関係について検討した結果、井戸深さと F⁻、Li、As との間の相関係数が高く、また、NO₃-N は井戸深さに対して負の相関が得られた。この結果により、この地域の NO₃-N は主に浅い帯水層に多く含まれていて、深い井戸では深い帯水層の As 等を含む地下水によって希釈されていることが示唆された。

合志地区調査結果では、上述成分のうち、Li、B、以外では高い相関係数は見られなかった。また、NO₃-N が高い地点が分散しており、NO₃-N と井戸深さとの間に高い相関関係は見られなかった。これらの結果から旭志地区と異なり、NO₃-N の汚染が、深い帯水層まで到達している可能性が示唆された。

今回の調査結果では、七城地区周辺の湧水及び旭志地区では帯水層の違いによる溶存成分の濃度の違いが現れ、F⁻、Na⁺、Li、B、As 等が帯水層や井戸深さを表す指標とありうるということが示唆された。一方合志地区では No. 18, 19, 30 における Li、B の関係のように限られた範囲では溶存成分が井戸深さを表す指標となる可能性があると考えられた。

謝辞

本報における、旭志地区調査及び合志地区調査につきましては、熊本県環境保全課の地下水概況調査事業に付随して行われ、熊本県環境保全課、熊本県菊池保健所、菊池市及び合志市によって調査地点の検討及び採水が実施されました。各所属の担当者の方々に深く感謝いたします。

引用文献

- 1) 熊本県：熊本地域硝酸性窒素削減計画、(2005)。
- 2) 熊本県：平成 25 年度水質調査報告書（公共用水域及び地下水）、(2014)。
- 3) 小笹康人，廣畑昌章，吉永敏之，福留清秀，松岡良三：熊本県保健環境科学研究所報，25,35 (1995)。
- 4) 廣畑昌章，松崎達哉，藤田一城，小笹康人，松岡良三：熊本県保健環境科学研究所報，26,59 (1996)。

- 5) 廣畑昌章, 松崎達哉, 藤田一城, 松下 裕, 松岡良三: 熊本県保健環境科学研究所報, 27,71 (1997).
- 6) 廣畑昌章, 松崎達哉, 藤田一城, 松下 裕, 松岡良三: 熊本県保健環境科学研究所報, 27,77 (1997).
- 7) 廣畑昌章, 藤田一城, 永村哲也, 松下 裕, 松岡良三: 熊本県保健環境科学研究所報, 28,60 (1998).
- 8) 廣畑昌章, 藤田一城, 永村哲也, 松下 裕, 松岡良三: 熊本県保健環境科学研究所報, 28,66 (1998).
- 9) 永田武史, 藤本貴大: 熊本県保健環境科学研究所報, 43,101 (2013).
- 10) 永田武史, 小笹康人, 廣畑昌章: 熊本県保健環境科学研究所報, 41,102 (2011).
- 11) 荒牧一利, 田中浩二, 古江研也, 米田 正: “水は伝える熊本の湧泉”, 熊本の湧泉研究会(2004).
- 12) 水収支研究グループ編: “地下水資源・環境論 – その理論と実践–”, p.152, (1993), 共立出版.
- 13) 島野安雄: 文星紀要, 12, A3-A36 (2000).
- 14) 山口勝也, 樋口義則, 松岡良三: 熊本県保健環境科学研究所報, 31,99 (2001).
- 15) 永田武史, 前田敏孝, 藤本貴大, 上本清次: 熊本県保健環境科学研究所報, 44, (67-74) (2015).

表3 各成分の濃度（湧水調査）

地点番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
地点名	野付天満宮	観音堂(江良)	下の井川	三万田	合田湧水井戸横	合田湧水井戸	前川水源	清水水源	八景水谷
調査日	H26.5.29								
水温(°C)	19.0	19.9	21.5	19.1	20.7	21.3	18.4	19.1	19.9
pH	6.5	6.9	6.9	6.6	7.3	7.4	7.2	7.3	7.2
EC(μ S/cm)	271	199	225	286	244	243	178	172	236
Na ⁺ (mg/L)	13.6	11.7	10.6	11.9	27.4	19.9	9.2	15.8	18.0
NH ₄ ⁺ (mg/L)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
K ⁺ (mg/L)	8.9	6.6	7.5	6.5	5.6	6.0	4.2	4.1	5.1
Ca ²⁺ (mg/L)	18.0	13.1	16.8	23.8	11.8	15.4	14.5	10.7	16.4
Mg ²⁺ (mg/L)	7.7	5.2	6.2	9.8	4.5	5.8	5.2	3.8	6.1
F ⁻ (mg/L)	0.02	0.06	0.02	0.04	0.40	0.22	0.08	0.24	0.13
Cl ⁻ (mg/L)	19.4	9.8	7.5	11.2	9.3	9.4	5.3	5.1	11.5
NO ₂ ⁻ (mg/L)	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03
Br ⁻ (mg/L)	0.073	0.027	0.080	0.083	0.069	0.069	0.028	0.020	0.068
NO ₃ ⁻ (mg/L)	52.7	22.6	28.6	22.3	22.5	24.4	16.5	10.1	17.5
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	8.0	12.2	19.5	17.2	8.7	9.6	5.7	5.5	6.5
HCO ₃ ⁻ (mg/L)	30.8	42.6	46.3	66.7	85.9	79.8	63.3	71.2	82.6
NO ₃ -N (mg/L)	11.9	5.1	6.5	5.0	5.1	5.5	3.7	2.3	3.9
Li (μ g/L)	0.4	1.6	1.1	1.5	2.1	3.3	2.4	4.6	5.5
B (μ g/L)	9.0	10.1	9.2	64.8	232.8	112.4	22.9	204.0	163.6
Al (μ g/L)	31.8	129.6	35.7	1.3	5.7	107.7	4.4	19.0	1.9
V (μ g/L)	0.6	3.4	2.4	2.7	6.3	4.8	5.5	7.1	5.2
Cr (μ g/L)	0.11	0.67	0.20	0.27	0.30	0.39	0.16	0.14	0.22
Mn (μ g/L)	11.55	3.47	1.99	0.16	0.31	2.05	0.36	1.71	0.11
Fe (μ g/L)	24.5	63.3	23.2	1.6	9.6	67.8	9.7	38.0	1.9
Ni (μ g/L)	0.17	0.13	0.11	0.23	0.08	0.10	0.06	0.63	0.09
Cu (μ g/L)	0.41	0.53	0.37	0.44	0.29	0.34	0.32	0.74	0.32
Zn (μ g/L)	1.57	2.04	1.68	1.47	6.00	1.37	2.36	2.48	1.15
As (μ g/L)	0.06	0.59	0.47	0.51	2.72	1.58	0.67	1.51	1.09
Se (μ g/L)	0.14	0.06	0.45	0.04	0.34	0.27	0.10	0.11	0.19
Rb (μ g/L)	26.6	18.0	10.9	9.8	14.2	15.1	13.4	11.7	14.7
Sr (μ g/L)	309.3	253.4	200.0	255.8	119.4	145.1	113.7	82.7	141.7
Mo (μ g/L)	0.02	0.27	0.16	0.12	0.30	0.20	0.16	0.39	0.26
Cd (μ g/L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Sb (μ g/L)	0.01	0.06	0.05	0.04	0.05	0.04	0.04	0.05	0.05
Cs (μ g/L)	0.12	0.44	0.02	0.01	0.09	0.11	0.35	0.29	0.55
Ba (μ g/L)	43.4	21.4	16.7	23.3	13.0	12.6	9.0	6.7	10.5
Pb (μ g/L)	0.11	0.11	0.06	0.04	0.06	0.09	0.04	0.05	0.03
U (μ g/L)	0.02	0.16	0.34	0.55	0.30	0.24	0.20	0.17	0.31
SiO ₂ (mg/L)	25.2	48.6	58.6	57.8	54.8	55.5	50.5	49.7	48.4