

ANNUAL REPORT
OF
THE TOKUSHIMA PREFECTURAL INSTITUTE
OF
PUBLIC HEALTH
AND
ENVIRONMENTAL SCIENCES

徳島県保健環境センター年報



No.17 1999

刊 行 の こ と ば

徳島県保健環境センターは、昭和58年に衛生研究所と公害センターが統合し発足した公衆衛生部門における本県唯一の公的試験研究機関であります。現在、保健、環境両部を併せて10科1係の組織で有機的、かつ、個性的に調査研究がなされています。

ことに、保健衛生部門は戦後、衛生研究所として、結核、チフス、赤痢等各種の感染症に係る調査研究を主体とし、県民の衣、食、住の貧しい生活環境故に多発した各種伝染病対策を確定する上で、多大な貢献をして参りました。

この間、はや、50年の時間が経過した今日、我国の公衆衛生行政の根幹をなしてきた伝染病予防法、性病予防法、エイズ予防法の関係諸法が廃止され、新たに「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（平成10年）（いわゆる「感染症新法」という。）が、平成11年4月1日から全面施行されました。このことは、急速に進展する世界のグローバル化に伴い、広域的に行う物流及び人の移動に対応した新しい態勢の整備が必要であることを意味しております。保健衛生部門においては、今後益々システムティックな行政が問われております。

また、食品衛生関連では、民間立又は公設を問わず、各食品衛生検査機関の精度管理（GLP）制度の導入や、各地で発生しております毒物混入事件等に対する危機管理体制の整備等々、なお多くの課題を有しております。飲食物を介して人の体内に摂取するダイオキシン類や外因性内分泌攪乱物質（いわゆる環境ホルモン）等に係る調査研究も極めて重要な分野であることは言うまでもありません。

一方、環境保全部門においては、戦後国民が生理的要求として等しく求めた経済的復興は、衣、食、住等各般にわたる物資の供給政策とも相まって、大量生産、大量消費、大量廃棄の社会システムを構築し、その結果、昭和30年から40年代の高度成長期は、まさに全国に公害問題を拡大していきました。本県においても、昭和46年に衛生研究所内に公害対策部門が新設され、昭和49年には公害センターとして独立し、昭和58年に再び衛生研究所と統合され、今日に至るまでの間、本県における大気環境、水質環境、騒音公害等、生活環境の保全及びその改善対策において、多大な実績を残しております。研究員各位の努力と調査研究の成果は、時間経過とともに顕著に表れ、現状においては、昭和40年代に見られたような工場、事業場等を原因施設とする公害問題は殆んど解決され、本県域における大気、水質等の環境基準はほぼ達成されております。これからの環境保全施策においては、従来の公害問題に加えて、ダイオキシン類や外因性内分泌攪乱化学物質等、新たな対応が必要とされております。

いづれにしましても、当保健環境センターの果すべき役割は毎日のルーチンワークを的確に処理するとともに、各般にわたる調査研究を継続することによって、本県における公衆衛生行政の技術的中核機関として益々その力を発揮することが要請されております。

ここに、平成10年度の徳島県保健環境センターの概要を年報として、御報告申し上げます。諸賢の御批評がいただければ幸甚と存じます。

平成12年1月

徳島県保健環境センター

所 長 水 野 裕

目 次

刊 行 の こ と ば

I 徳島県保健環境センターの概要

1 沿 革	I
2 組織及び業務の概要	II

II 調 査 研 究

1 保 健 編

徳島県における先天性代謝異常症のマス・スクリーニング検査報告（第21報）	1
徳島県における集団胃腸炎患者からの小型球形ウイルス検出事例	5
GLPにおける分析業務改善活動事例について	11
環境水中におけるクリプトスポリジウム実態調査について	21

2 環 境 編

徳島県における二酸化炭素濃度について	27
徳島県における大気測定地点の類似性について	31
平成10年度における徳島県のオキシダント濃度について（第24報）	35
小さな航空機騒音の測定方法について	45
道路周辺における窒素酸化物分布調査	49
阿南市周辺の大気中水銀濃度の変動	53
パラワン島の河川環境について	57
保健環境センターにおける『夏休みこども実験室』の開催について	61
誘導結合プラズマ発光分析法による微量ほう素の定量に関する検討	69
示差走査熱量計を用いた微生物活性の測定に関する検討	73
橘港における海洋環境の時間および空間変動に関する研究	79
徳島の県南沿岸海域の水質について（II）	91

III 資 料

平成10年徳島県における結核・感染症サーベイランス結果について —検査情報—	99
徳島県で分離されたアデノウイルス7型の遺伝子型について	103

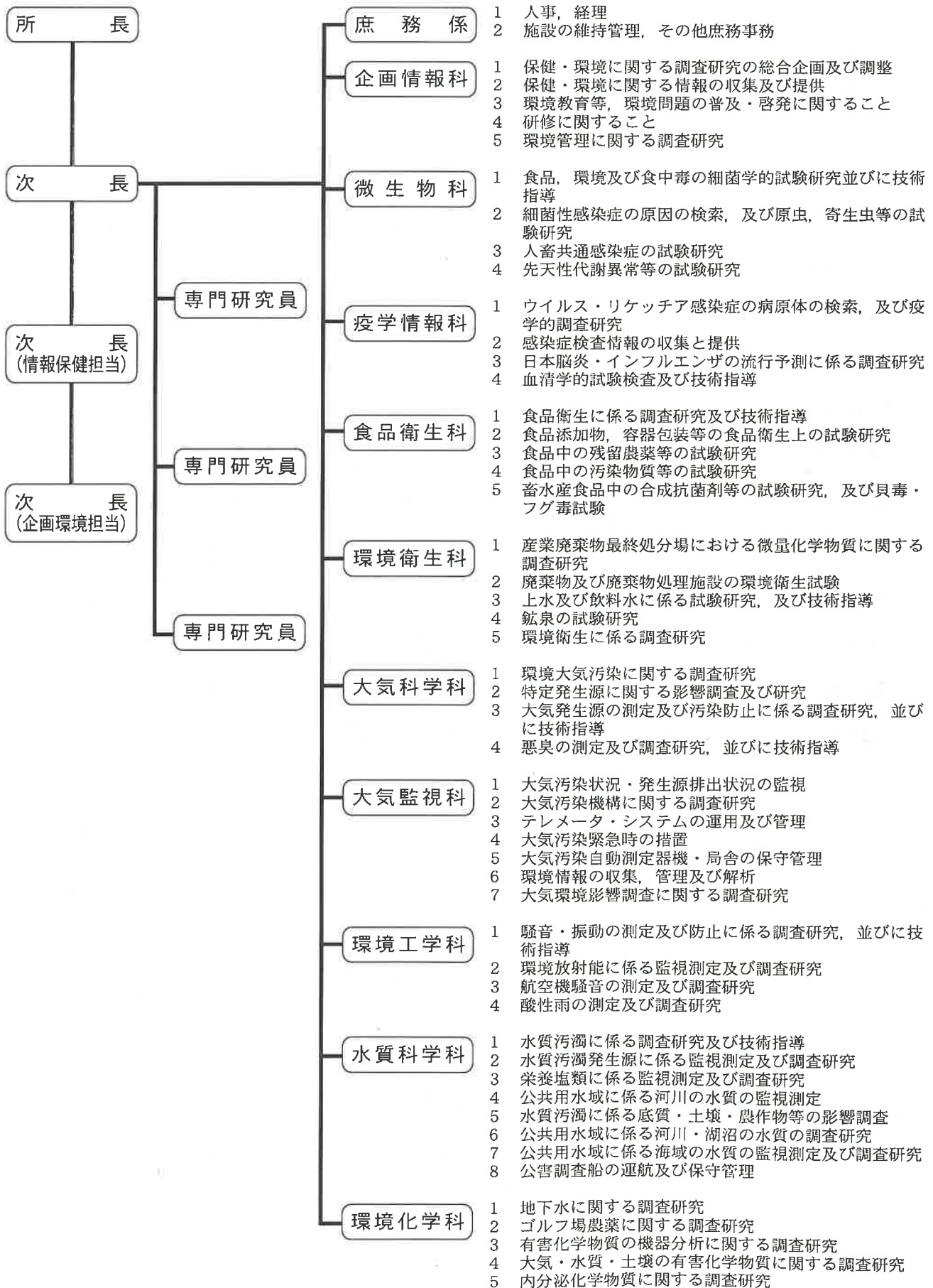
I 徳島県保健環境センターの概要

1. 沿革

大正10年	県庁舎内（徳島市幸町2丁目）に警察部の所管として衛生試験所発足
昭和5年	県庁舎新築（徳島市万代町1丁目）に伴い、衛生試験所は庁舎西棟に移転
昭和20年	戦災で焼失、戦後県庁舎内に化学試験関係復旧、細菌関係は徳島保健所に移管
昭和27年4月	徳島県衛生研究所（改称）設置、徳島市新蔵町3丁目に木造2階建新築
昭和38年4月	理化学科の一部業務を分離し、製薬指導所として独立
昭和46年4月	公害業務の激増に対応するため、衛生研究所内に公害第一科、公害第二科新設
昭和48年4月	公害試験業務充実のため、特殊公害科新設
昭和49年4月	公害関係が公害センターとして独立、現在地に新庁舎完成し、公害センター、衛生研究所入所
昭和54年4月	公害センターにテレメーター係新設
昭和58年4月	衛生研究所、公害センターが統合し、徳島県保健環境センターとして発足
昭和60年4月	水質業務の広域・専門化等に伴い、水質公害科を水質公害第一科、水質公害第二科に分科
昭和61年4月	大気業務の広域化等に伴い、大気公害科を大気公害第一科、大気公害第二科に分科
平成元年4月	テレメーター係を監視情報科に改組
平成2年4月	放射能棟完成
平成7年4月	大気関係を大気第一科、大気第二科、大気生活科に水質関係を水質第一科、水質第二科に改組
平成11年4月	企画情報科及び環境化学科を新設、大気関係を大気科学科、大気監視科、環境工学科に、水質関係を水質科学科に改組

2. 組織及び業務の概要

(平成11年4月1日現在)



地産地消における生産者側調査情報のマニピュレーション ——こしあろ検査報告(例)から——

II 調査研究

Hyogo Institute of Technology, Hyogo, Japan

Yoshiyuki Kato, Department of Applied Science, Hyogo Institute of Technology

Yoshitaka Kato, Department of Applied Science, Hyogo Institute of Technology

Abstract: This paper reports on the results of a survey of the manipulation of inspection information by producers in the local production and consumption system. The survey was conducted in the form of a questionnaire survey of producers in the local production and consumption system. The results of the survey are discussed in terms of the manipulation of inspection information by producers.

1. はじめに

地産地消は、地域経済の活性化や環境保全の観点から、近年注目を集めている。地産地消の推進には、生産者側からの積極的な参加が不可欠である。しかし、生産者側からの参加が、必ずしも地産地消の推進に繋がるとは限らない。

本稿では、地産地消の推進に貢献する生産者側の調査情報のマニピュレーションについて、こしあろ検査報告(例)から調査研究を行った。

こしあろ検査報告(例)は、生産者側からの調査情報であり、地産地消の推進に貢献する重要な情報である。

2. 調査方法

本調査は、生産者側からの調査情報(こしあろ検査報告(例))を調査対象とした。調査期間は、2019年10月1日から2020年3月31日までである。

調査対象は、地産地消の推進に貢献する生産者側からの調査情報(こしあろ検査報告(例))である。

3. 調査結果

本調査の結果、生産者側からの調査情報(こしあろ検査報告(例))は、地産地消の推進に貢献する重要な情報であることが明らかになった。

また、生産者側からの調査情報(こしあろ検査報告(例))は、地産地消の推進に貢献する重要な情報であることが明らかになった。

4. おわりに

本調査の結果、生産者側からの調査情報(こしあろ検査報告(例))は、地産地消の推進に貢献する重要な情報であることが明らかになった。

また、生産者側からの調査情報(こしあろ検査報告(例))は、地産地消の推進に貢献する重要な情報であることが明らかになった。

以上、本調査の結果、生産者側からの調査情報(こしあろ検査報告(例))は、地産地消の推進に貢献する重要な情報であることが明らかになった。

5. 参考文献

1. 地産地消推進協議会(2019)「地産地消推進ガイドライン」

2. 国土交通省(2019)「地産地消推進計画」

3. 農林水産省(2019)「地産地消推進計画」

4. 地産地消推進協議会(2019)「地産地消推進ガイドライン」

问	答
1. 世界上人口最多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	中国, 13.7 亿
2. 世界上人口第二多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	印度, 12.1 亿
3. 世界上人口第三多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	美国, 3.1 亿
4. 世界上人口第四多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	俄罗斯, 1.4 亿
5. 世界上人口第五多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	巴西, 1.9 亿
6. 世界上人口第六多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	印度尼西亚, 2.4 亿
7. 世界上人口第七多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	巴基斯坦, 1.7 亿
8. 世界上人口第八多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	尼日利亚, 1.7 亿
9. 世界上人口第九多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	孟加拉国, 1.5 亿
10. 世界上人口第十多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	墨西哥, 1.2 亿
11. 世界上人口第十一多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	埃及, 8200 万
12. 世界上人口第十二多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	法国, 6600 万
13. 世界上人口第十三多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	英国, 6200 万
14. 世界上人口第十四多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	德国, 8200 万
15. 世界上人口第十五多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	意大利, 6100 万
16. 世界上人口第十六多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	西班牙, 4600 万
17. 世界上人口第十七多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	日本, 1.2 亿
18. 世界上人口第十八多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	韩国, 4700 万
19. 世界上人口第十九多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	澳大利亚, 2200 万
20. 世界上人口第二十多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	加拿大, 3400 万
21. 世界上人口第二十一多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	沙特阿拉伯, 2800 万
22. 世界上人口第二十二多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	伊朗, 7500 万
23. 世界上人口第二十三多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	伊拉克, 3100 万
24. 世界上人口第二十四多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	土耳其, 7300 万
25. 世界上人口第二十五多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	希腊, 1100 万
26. 世界上人口第二十六多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	波兰, 3800 万
27. 世界上人口第二十七多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	乌克兰, 4600 万
28. 世界上人口第二十八多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	俄罗斯, 1.4 亿
29. 世界上人口第二十九多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	白俄罗斯, 950 万
30. 世界上人口第三十多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	哈萨克斯坦, 1600 万
31. 世界上人口第三十一多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	蒙古, 300 万
32. 世界上人口第三十二多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	尼泊尔, 2600 万
33. 世界上人口第三十三多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	不丹, 75 万
34. 世界上人口第三十四多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	老挝, 650 万
35. 世界上人口第三十五多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	柬埔寨, 1500 万
36. 世界上人口第三十六多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	泰国, 6500 万
37. 世界上人口第三十七多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	越南, 8000 万
38. 世界上人口第三十八多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	菲律宾, 9000 万
39. 世界上人口第三十九多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	马来西亚, 2900 万
40. 世界上人口第四十多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	印度尼西亚, 2.4 亿
41. 世界上人口第四十一多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	新加坡, 550 万
42. 世界上人口第四十二多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	文莱, 420 万
43. 世界上人口第四十三多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	东帝汶, 130 万
44. 世界上人口第四十四多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	东帝汶, 130 万
45. 世界上人口第四十五多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	东帝汶, 130 万
46. 世界上人口第四十六多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	东帝汶, 130 万
47. 世界上人口第四十七多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	东帝汶, 130 万
48. 世界上人口第四十八多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	东帝汶, 130 万
49. 世界上人口第四十九多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	东帝汶, 130 万
50. 世界上人口第五十多的国家是哪一个? 人口数量是多少?	东帝汶, 130 万

徳島県における先天性代謝異常症のマス・スクリーニング検査報告 (第21報)

徳島県保健環境センター

長尾 多祥・松原 育美・田中 章¹⁾

A Survey Report on the Mass-Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Tokushima Prefecture (XX I)

Kazuyoshi NAGAO, Ikumi MATUBARA and Akira TANAKA

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : マス・スクリーニング mass-screening, 先天性代謝異常症 inborn errors of metabolism, 先天性甲状腺機能低下症 congenital hypothyroidism, 先天性副腎過形成症 congenital adrenal hyperplasia

I はじめに

早期発見・早期治療により心身の障害発現を防止することができる疾患に対し、厚生省母子保健事業の一環として昭和52年10月から公費負担による新生児マススクリーニングが全国的に開始された。

本県においても、昭和53年7月から先天性代謝異常症、昭和56年4月から先天性甲状腺機能低下症、更に平成元年9月から先天性副腎過形成症を加え実施している。

本報では、平成10年度の実施状況及び結果について報告する。

II 方法

1 検体

本県で出生し、保護者が希望した新生児について「徳島県先天性代謝異常検査等採血要領」に従い、採血機関において採血された乾燥濾紙血液で、平成10年度に受理したもの。

2 対象疾患および方法

(1) アミノ酸代謝異常

フェニルケトン尿症、メイプルシロップ尿症、ホモシチン尿症

(一次検査：ガスリー法、確認検査：薄層クロマトグラフィー)

1) 徳島通信病院

(2) 糖質代謝異常

ガラクトース血症

(一次検査：ペイゲン法・ポイトラー法、確認検査：マイクロプレート法・薄層クロマトグラフィー)

(3) 内分泌代謝異常

先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎過形成症

(ELISA法：一次検査 TSH・17-OHP 直接法、確認検査：FT₄・17-OHP 抽出法)

先天性甲状腺機能低下症は、弘和薬品(株)臨床検査部に委託し実施した。

III 結果及び考察

1 実施状況

県下37採血機関より、里帰り分娩を含む7,786人の検査依頼があった。

マス・スクリーニングの目的である「早期発見・早期治療」上問題となるのは、検査不能の濾紙血液であり、検査日齢の遅れである。乾燥濾紙血液の不備状況は、採血後1週間を越えたもの7件(0.09%)、哺乳不良1件、重ね付け1件、汚染された検体1件、総件数10件(0.13%)と前年の15件(0.20%)に比して改善された。又濾紙への必要事項記載漏れ275件(3.53%)の内訳については、表-1に示したが、前年度と同様、性別、採血時体重の順に多く31件増加した。

疾患別検査状況を表-2に示した。再採血検査をした低出

生体重児71人(0.91%)を含む7,786人のうち、261人(3.35%)に再採血検査を実施した。先天性甲状腺機能低下症121人(1.55%)ガラクトース血症94人(1.21%)先天性副腎過形成症44人(0.57%)の3疾患の再検査数が多いが、先天性甲状腺機能低下症は、母体や新生児へのヨード含有消毒剤の影響が考えられ、特定病院への偏りが見うけられた。

又、ガラクトース血症の再検査数は、10件増加している。夏期において、トランスフェラーゼ微弱で再検査を実施し正常と判定された者が10件あり、このうち何件かは、濾紙血取り扱い不備と考えられ、採血機関への何らかの対応が必要であらう。

2 検査結果

表-3に要精密検査者20人の結果を示した。診断未確定者(疑)を含めると、肝機能障害による高ガラクトース血症2人、トランスフェラーゼ欠損症保因者2人、TBG減少症1人、先天性甲状腺機能低下症2人であった。

症例1は初回検査Gal1.5mg/dl, Gal-1-P11.2mg/dl, ポイトラー微弱, 再検査は, 0.6mg/dl, 9.5mg/dl, 再々検査0.5mg/dl, 4.5mg/dl微弱で精密検査となりGal1.4mg/dl,

表-1 濾紙記載漏れ状況

項	目	件数(%)
性	別	81(29.45)
出	生	0
出	生	1(0.36)
ほ	乳	44(16.00)
ほ	乳	28(10.18)
採	血	33(12.00)
採	血	60(21.82)
抗	生	23(8.36)
在	胎	5(1.82)
	計	275(246人)

表-2 疾患別検査状況(平成10年度)

疾患名	初回検査数	低出生 体重児数	再採血 検査数	精密検査数	患者数	患者発見率	
						徳島	全国
フェニルケトン尿症	7,786	71	0	0	0	1/63,500(190,520)	1/78,200
メイプルシロップ尿症	7,786	71	2	0	0	1/190,500(190,520)	1/461,300
ホモシスチン尿症	7,786	71	0	0	0	0(190,520)	1/175,600
ガラクトース血症	7,786	71	94	4	0	1/95,300(190,520)	1/36,000
先天性副腎過形成症	7,786	71	44	2	0	1/8,000(80,305)	1/16,500
先天性甲状腺機能低下症	7,786	71	121	14	2	1/4,800(162,382)	1/4,600

全国発見率 開始時~平成9年度

dl, Gal-1-P2.7mg/dl, トランスフェラーゼ欠損症保因者疑と診断された。症例4も初回, 再検査, 再々検査とGal-1-Pの値は下がってきたがポイトラーが弱く精密検査を受け, Gal10.9mg/dl, Gal-1-p2.2mg/dl, トランスフェラーゼ欠損症保因者疑いと診断された。

症例3は, 初回検査(6.4mg/dl, 4.9mg/dl, ポイトラー有)再検査(4.3mg/dl, 1.6mg/dl有)再々検査(10.4mg/dl, 1.3mg/dl有)となり精密検査をうけガラクトースは正常だったがGOT56, GPT33 LDH577と軽度の肝障害を認めて肝機能障害による高ガラクトース血症と診断された。症例11は, 母親が内服していた抗甲状腺剤が胎盤から移行して, 児の甲状腺を抑制していたと考え正常と診断された。

IV まとめ

平成10年度の新生児マス・スクリーニング受検者7,786のうち20人が精密検査を受診し, 先天性甲状腺機能低下症2人, トランスフェラーゼ欠損症保因者(疑)2人の4人が発見された。

稿を終えるにあたり, 御協力, 御助言をいただいた徳島大学附属病院, 徳島市民病院, 阿南共栄病院の小児科の各先生, 香川県衛生研究所の好井信子先生, 採血機関の諸先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) 松原育美他: 徳島県における先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング検査報告(第20報) 徳島県保健環境センター年報, No.16, 1-3(1998)
- 2) 特殊ミルク共同安全開発委員会: 特殊ミルク情報, No. 34(1998)

表-3 精密検査受診者結果

No.	性	生年月日	出生時体重 採血時体重	在胎週数	一 次 検 査		再 採 取 検 査		精 密 検 査 結 果
					採血日齢	結 果	採血日齢	結 果	
1	男	98.7.17	2266 2322	38	4	トランスフェラーゼ微弱 Gal 1.5 Gal-1-P 11.2	14,26	トランスフェラーゼ微弱, 微弱 Gal 0.6, 0.5 Gal-1-P 9.5, 4.5	トランスフェラーゼ欠損症保因者疑い
2	男	98.11.16	3664 3605	41	4	Gal 1.6 Gal-1-P 14.8	10	Gal 3.4 Gal-1-P 5.8	肝機能障害による高ガラクトース血症
3	男	98.12.10	3112 3014	41	5	Gal 6.4 Gal-1-P 4.9	14,43	Gal 4.3,10.4 Gal-1-P 1.6, 1.3	肝機能障害による高ガラクトース血症
4	男	99.1.23	3270 3160	41	5	トランスフェラーゼ弱 Gal 1.4 Gal-1-P 14.8	12,32	トランスフェラーゼ弱, 弱 Gal 1.6, 1.2 Gal-1-P 7.8, 3.7	トランスフェラーゼ欠損症保因者疑い
5	女	98.11.24	2306 2328	35	5	17-OHP(D)27.45 (E) 6.41	10	17-OHP(D)21.48 (E) 7.08	正常
6	女	99.3.9	1075 982	28	15	17-OHP(D)210.59 (E) 61.51			極低出生体重児
7	女	98.5.8	3962 3554	39	5	TSH 10.5 FT ₄ 1.26	11	TSH 34.8 FT ₄ 1.21	正常
8	女	98.6.6	3000 2992	41	5	TSH 19.6 FT ₄ 1.46	14	TSH 13.5 FT ₄ 1.27	正常
9	男	98.6.8	2760 2805	41	7	TSH 2.1 FT ₄ 0.72	22	TSH 0.9 FT ₄ 0.68	TBG 減少症
10	男	98.8.23	2936 2976	39	4	TSH 20.0 FT ₄ 1.80	11	TSH 19.5 FT ₄ 0.55	正常
11	女	98.9.11	2966 2734	35	4	TSH 166.8 FT ₄ 0.58			正常(母親 抗甲状腺剤服用)
12	男	98.9.17	999 1100	30	28	TSH 8.3 FT ₄ 0.80	67,89,95	TSH 9.1,10.4,9.8 FT ₄ 0.92,0.87,0.86	正常
13	女	98.10.26	3214 3098	41	4	TSH 18.9 FT ₄ 2.25	11	TSH 18.9 FT ₄ 2.38	正常
14	女	98.10.30	3222 3154	38	6	TSH 11.9 FT ₄ 1.94	15	TSH 16.6 FT ₄ 1.07	正常
15	男	98.12.7	2590 2600	39	8	TSH 50.5 FT ₄ 1.40			先天性甲状腺機能低下症
16	女	99.1.8	2785 2835	40	5	TSH 10.1 FT ₄ 2.33	17	TSH 12.0 FT ₄ 1.65	正常と思われる。(里帰り分娩)
17	男	99.1.13	2194 2280	38	5	TSH 18.0 FT ₄ 1.06	13	TSH 13.4 FT ₄ 0.97	正常
18	男	99.1.17	2805 2720	39	4	TSH 10.6 FT ₄ 1.91	12	TSH 15.6 FT ₄ 1.71	正常
19	女	99.1.20	2990 2900	38	5	TSH 12.7 FT ₄ 2.20	16	TSH 30.6 FT ₄ 0.87	先天性甲状腺機能低下症
20	女	99.3.8	3112 3116	39	5	TSH 50.0 FT ₄ 1.62			正常



徳島県における集団胃腸炎患者からの小型球形ウイルス検出事例

徳島県保健環境センター

嶋田 啓司・山本 保男・津島 明

Detection of Small Round-Structured Viruses in Outbreaks of Gastroenteritis Patient in Tokushima Prefecture

Keiji SHIMADA, Yasuo YAMAMOTO and Akira TUSHIMA

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : 小型球形ウイルス Small Round Structured Virus (SRSV), ウイルス性胃腸炎 Virus Gastroenteritis, RT-PCR 法 RT-PCR method

I はじめに

1997 (平成9) 年5月食品衛生法施行規則の一部改正に伴い、食中毒検査に小型球形ウイルス (以下SRSV¹⁾) をはじめとする各種ウイルス検査が実施されるようになった。従来SRSVによる急性胃腸炎発生は、冬季に多発するとされ、その原因としてカキの生食との関連が指摘されてきた²⁾。しかし最近では冬季以外に、カキの生食とは無関係に、SRSVが感染原因と考えられる集団胃腸炎事例も報告されるようになってきた。

徳島県においても1998年5月から1999年3月の間に、カキの生食と無関係な集団胃腸炎4事例において、SRSVが原因と考えられる結果が得られたので報告する。

II 患者発生状況

集団胃腸炎4事例において各管轄保健所による調査結果報告書を参考にし、患者発生状況及び有症者の臨床症状を、表1・表2にまとめた。

1 事例 I

1998年5月27日、徳島市内の飲食店において31名のグループが昼食会を催し、内21名が5月28日午前より食中毒症状を訴え、徳島保健所に通報された。主たる症状は嘔吐・吐き気・下痢・腹痛であり、潜伏時間は21~48時間であった。昼食会参加者全員が同一の定食を喫食しており、これが感染原因と推定された。

2 事例 II

1998年10月16日、徳島市内の事業所にて社員数名が食中毒症状を訴え、徳島保健所に通報があった。同保健所による喫食調査の結果、患者は全て10月13日の会議に出された徳島市内の飲食店で調理された弁当を食しており、また同時に製造された弁当を喫食した311名のうち109名に食中毒症状の発生が確認された。発症者に他の共通食が認められず、この施設が原因施設と判断された。主たる症状は嘔吐・下痢・腹痛であり、潜伏期は平均38時間であった。

3 事例 III

1998年10月15日、海部郡内の保育園にて園児及びその兄弟計41名が、10月14日午後4時頃より食中毒症状を呈していると、日和佐保健所に通報があった。主たる症状は嘔吐・下痢・腹痛・発熱であり、13日の給食が原因食品と推定された。潜伏時間は29~50時間であった。

4 事例 IV

1999年3月6日、鳴門市内の飲食店で調理された弁当を喫食したグループが同日夜より食中毒症状を訴え、さらに3月7日、同飲食店にて調理された弁当を喫食した2グループも同日より同様な症状を訴え、鳴門保健所に通報があった。同保健所による喫食調査の結果、3グループを合わせた喫食者数213名のうち77名に食中毒症状の発生が確認された。主たる症状は嘔吐・下痢・発熱・腹痛であり、発症者に他の共通食

表-1 集団胃腸炎事例 (1998. 5 ~1999. 3)

事例	発生年月日	原因施設	発生地区	喫食者数	有症者数	発症率(%)	推定原因食
I	1998.05.29	飲食店	徳島市	31	21	67.7	定食
II	1998.10.13	飲食店	徳島市	311	109	35.0	弁当
III	1998.10.14	保育所	海部郡	70	41	58.6	給食
IV	1999.03.06	飲食店	鳴門市	213	77	36.2	弁当

表-2 臨床症状

事例	有症者数	下痢		腹痛		発熱		嘔吐・嘔気		倦怠感		潜伏時間
		患者数	率(%)	患者数	率(%)	患者数	率(%)	患者数	率(%)	患者数	率(%)	
I	21	11	52.4	13	61.9	12	57.1	16	76.2	13	61.9	20~48
II	109	78	71.6	61	56.0	65	59.6	75	68.8	83	76.1	2~72
III	41	22	53.7	16	39.0	22	53.7	36	87.8	6	14.6	29~50
IV	77	51	66.2	53	68.8	41	53.2	59	76.6	49	63.6	2~73
合計	248	162	65.3	143	57.7	140	56.5	186	75.0	151	60.9	

は認められず、この施設が原因施設と判断された。潜伏期間は2~73時間とばらついていた。

III 検査対象

前記した4事例の有症者から提供された糞便(事例I 15検体・II 10検体・III 10検体・IV 17検体)及び吐瀉物(事例III 3検体)計55検体、各事例における調理従事者及び保母から提供された糞便(事例I 13検体・II 13検体・III 7検体・IV 5検体)計38検体、喫食調査により採取できた食材(事例I 5検体・II 採取できず・III 5検体・IV 9検体)計19検体、総計112検体を検査対象とした。

IV 検査方法

糞便及び吐瀉物はリン酸緩衝生理塩液(以下PBS(-))で10%乳剤とし、食材は1溶に対し5溶のPBS(-)を加えストマッカーで3分間ホモジナイズした後、遠心(10,000rpm20min)した。この上清に等量のクロロホルムを加え激しく混和後、遠心(3,000rpm20min)し、その上清を前処理検体としてRT-PCRを実施した。結果が陽性ものについてのみ電子顕微鏡で確認を行った(図-1)。

またロタウイルス、アデノウイルスの検出は、市販のラテックス凝集試薬(第一化学薬品)を使用し、糞便検体についてのみ添付使用説明書に従い実施した。

1 RNAの抽出

(1) 糞便、吐瀉物

市販の核酸抽出剤IsogenLS(ニッポンジーン)を用い、RNAを抽出した。IsogenLS0.75mlに前処理検体0.25mlを加え攪拌、5分間静置後クロロホルム0.2ml分注し、攪拌後5分間静置した。静置後遠心(10,000rpm10min)し、水層を全て新しいチューブに回収、核酸共沈剤とイソプロパノール0.5ml

を加え攪拌後、-80度で20分間静置した。静置後、遠心(10,000rpm10min)し、RNAを沈殿させた。沈殿したRNAは70%エタノールで洗浄し、乾燥後、滅菌再蒸留水10 μ lにて溶解、RT-PCRに供した。

(2) 食材

前処理検体を35%ショ糖溶液4mlを入れた遠心管に重層し、遠心(40,000rpm120min)した。沈渣を滅菌再蒸留水250 μ lに浮遊させ、一晚4度で溶解したものから上記方法にてRNAを抽出した。

2 RT-PCR法

RT-PCRの反応液は、RNA PCR Kit (AMV) Ver2.1(タカラ)を用い、添付使用説明書に従い調整後、ウイルスRNAを1 μ l加えた全容量100 μ lで実施した。反応条件は遺伝子増幅装置(アステックPC-800)を使用、RT反応を42度60分、99度5分間熱処理し、続いてPCR反応は最初の熱変性95度2分を行った後、熱変性95度30秒、アニーリング55度2分、伸長70度1分30秒で30サイクル増幅後、最後の伸長70度5分を実施した。用いたプライマーは、NV35/36、NV81/82、SR33/46の内2つを使用した。得られたPCR増幅産物は、3%アガロース、TAE緩衝液にて電気泳動後、エチジウムブロマイド染色し、紫外線照射下で特異バンドの確認を行った。

3 電子顕微鏡検査(以下EM検査)

前処理検体約7.0mlを、35%ショ糖液4mlを入れた遠心管に重層し、遠心(40,000rpm120min)した。沈渣を滅菌再蒸留水50 μ lで一晩4度にて溶解したものを試料とした。なおEM観察は徳島県食肉衛生検査所に依頼した。

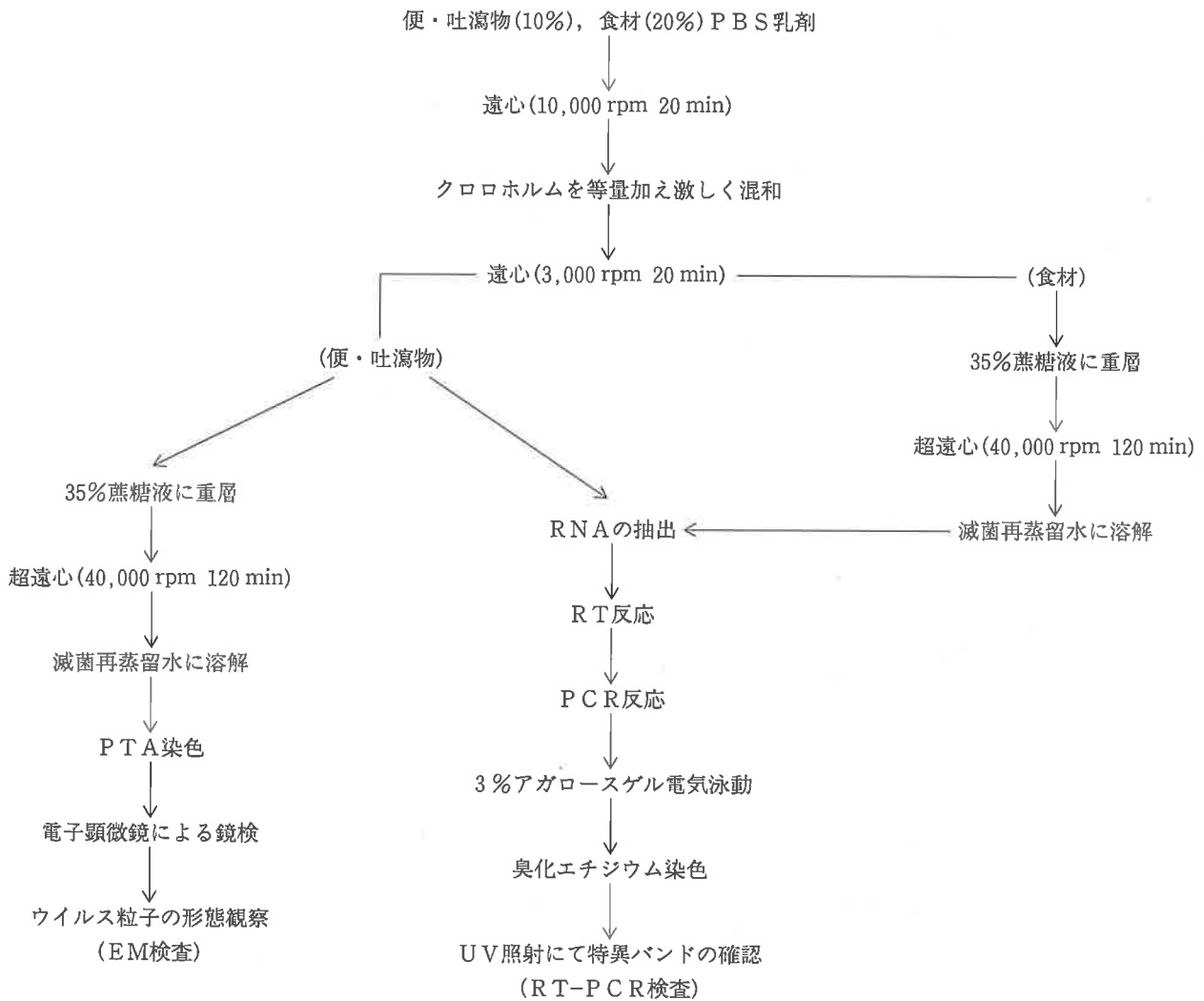


図-1 SRSV 検査手順

V 結果

1 糞 便

各事例糞便検体についての検査結果を表-3に示した。

全ての事例において、有症者から提供された糞便検体より、RT-PCR 検査で特異バンドが認められた(図-2)、陽性検体数は事例Iで15検体中11検体、事例IIは10検体中7検体、事例III、IVではそれぞれ10検体中9検体、17検体中7検体であり、その陽性検体からEM 検査においてウイルス粒子が確認された(図-3)。またロタウイルス、アデノウイルスは全検体

表-3 検査結果(糞便)

検査法 事例	P C R			E M	食中毒原因菌
	NV35/36	NV81/82	SR33/46		
I	-	/	+	+(4/10)※	検出せず
II	/	-	+	+(3/9)	検出せず
III	/	-	+	+(4/6)	検出せず
IV	/	+	-	+(4/7)	一部から検出

※ (陽性数/検査数)

検査したが、陽性検体は認められなかった。

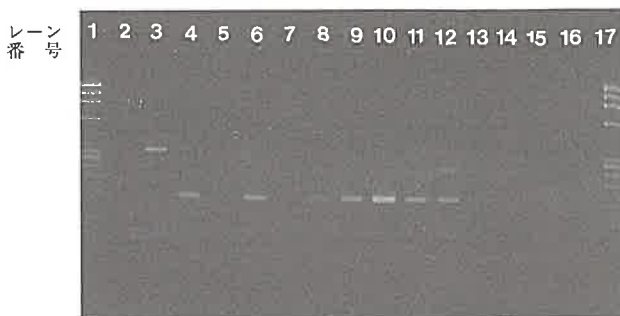
次に、今回集団胃腸炎を起こした原因施設従業員から提供された糞便検体の一部からも、同様の検査結果が得られた。RT-PCR 陽性検体数は事例Iで13検体中1検体、同様に事例IIで13検体中2検体、事例IIIでは7検体中2検体、事例IVは5検体中1検体であった。

2 吐 瀉 物

事例IIIの有症者園児からの吐瀉物3検体は、RT-PCR 検査陰性であった。

3 食 材

各事例から収去できた食材について RT-PCR 検査を実施したが、全ての検体で特異バンドは認められなかった。



レーン番号 1 : 分子サイズマーカー (ϕ ×174/Hae III digest)
 2 : 陰性コントロール
 3 : 陽性コントロール (NV81/82 330bp)
 4 : 陽性コントロール (SR33/46 123bp)
 5-16 : 事例III糞便検体 No 1-11
 17 : 分子サイズマーカー (ϕ ×174/Hae III digest)

図-2 RT-PCRパターン

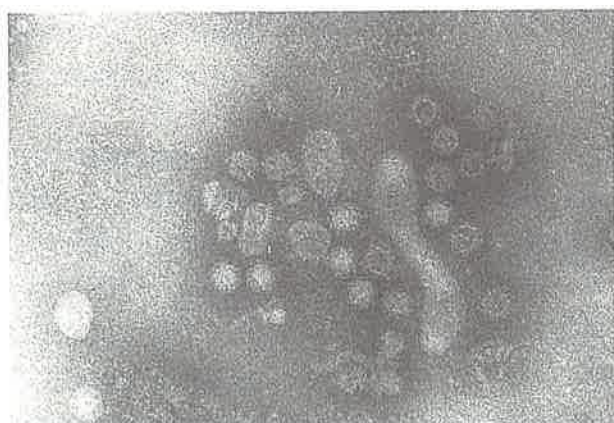


図-3 SRSV 電子顕微鏡像 (事例III糞便検体 No.2)

VI 考 察

Norwalk virus に代表される SRSV は、電子顕微鏡像での形態が類似する、粒径28~32nm、突起状構造物を有する一本鎖 RNA 型球形ウイルスの総称であり、近年分子生物学的研究によりカリシウイルス科に分類された^{1), 3)}。

食品衛生法施行規則が1997年5月に一部改正され、食中毒検査に SRSV をはじめとする各種ウイルス検査が義務づけられた。しかし SRSV は、未だ培養可能な細胞は確立されておらず、適切な感染実験動物系もないことから、診断は EM 法と PCR 法が一般的となっている。我々も1998年5月~1999年3月までの間に発生した集団胃腸炎4事例について、PCR 法、EM 法によるウイルス検索を実施したところ、全事例において採取できた有症者糞便の約半数から SRSV 遺伝子を検出した。

遺伝子解析の進展により、SRSV には様々な遺伝子型があり、現在まで数十種類の塩基配列が報告されている。また PCR 法で SRSV を検出する場合、用いるプライマーによって検出率が大きく異なることも報告されている⁴⁾。今回我々が経験した4事例においても、それぞれ二つの違ったプライ

マーを用いたが、全ての事例でどちらか一方のプライマーにしか反応しなかった。現在多くのプライマーが開発されつつあるが、全ての SRSV を検出するには至っていない。今後、多くの食中毒事例から SRSV を効率よく検出するために、プライマー選択の重要性が感じられた。

SRSV による急性胃腸炎の臨床症状として、腹痛、嘔吐、下痢を主訴とし、中等度の発熱 (37~38度) を伴い、特に嘔吐の発現率が高い。潜伏時間は12~48時間(平均36時間)、胃腸炎症状は加齢とともに軽減し、重篤化することもあるが、一般に予後は良好と報告されている³⁾。1990年9月から行われた「食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生全国実態調査」においても、非細菌性食中毒胃腸炎患者の臨床症状は、下痢 (95%)、嘔吐 (87%)、腹痛 (80%)、吐き気 (77%)、発熱 (69%) となっている⁵⁾。今回報告の4事例ともほぼ同様の臨床症状示し、特に吐き気、嘔吐の割合が高く、下痢、腹痛を主訴とし、発熱は中等度 (37~38度) であった。

今回報告の4事例において、糞便検体の約半数から SRSV 遺伝子が検出され、ラテックス凝集法でロタウイルス、アデノウイルスは検出されず、同時に実施された細菌検査で特定の食中毒原因菌は検出されなかったこと、また有症者の臨床症状とも考え合わせいずれも SRSV が原因であったと考えられた。しかし事例IVにおいては、一部の有症者糞便から何種類かの食中毒原因菌が検出され、また潜伏時間もばらつく傾向が見られたことより、混合感染の可能性も残された。

SRSV による急性胃腸炎の原因として、カキの生食との関連が多く報告されている^{2), 6)}。1997年1~11月迄に発生した食品媒介が疑われる胃腸炎集団発生事例報告では、SRSV 陽性事例の場合52%で生カキが原因食品と推定されている⁷⁾。今回報告の4事例全ての推定原因食に、カキは含まれておらず、採取できたわずかな推定原因食品の残品及び食材からも SRSV は検出されなかった。また一部の施設従業員の糞便から SRSV が検出されたが、これらは同じ推定原因食品を食しており、感染源、感染経路を特定することはできなかった。

近年、SRSV による集団胃腸炎発生は、カキの生食とは関係のない学校・福祉施設等においての大規模発生事例も多く報告されてきた^{8), 9)}。これらの事例は SRSV 自体の感染力の強さもさることながら、食品以外で糞便、吐瀉物を介してのヒトからヒトへの二次感染、また我々の生活環境自体が広く汚染されていることも考えられる。従って、このような SRSV による集団胃腸炎を予防するには、手洗い施設の完備、安全な食材の調理方法の徹底などの食品衛生対策だけでなく、施設給食従事者、介護職員の衛生教育を含めた予防マニュアル作り等、早急な予防対策の樹立が必要であると思われる。

VII ま と め

1998年5月から1999年3月までに徳島県にて発生した集団胃腸炎4事例から、RT-PCR法、EM法でSRSVを検出し、他の細菌検査、臨床症状とも考え合わせSRSVが原因であると考えられた。また推定原因食にカキは含まれておらず、食品の残品、食材からもSRSVは検出されず、感染源、感染経路を特定することは出来なかった。

最後に、SRSVの電子顕微鏡による形態観察に協力していただいた、徳島県食肉衛生検査所に深謝いたします。

参考文献

- 1) 安東 民衛：Small Round Structured Viruses (SRSV) -最近注目されている胃腸炎ウイルス-, モダンメディア, 36(8), 16-41 (1990)
- 2) 杉枝正明他：市販生食用カキ中腸腺におけるSRSV遺伝子の検出, 静岡県環境科学研究所報告, 39, 1-6 (1997)
- 3) 大石 功：胃腸炎ウイルスSRSVの最新の話題-SRSVからNorwalk-like viruses (NLV), ヒトカリシウイルスへ-, 感染・炎症・免疫, 29(1), 46-48 (1999)
- 4) 斎藤博之他：最近のSRSV流行事例における効果的なRT-PCR法の検討-秋田県, 病原微生物検出情報, 19, 5 (1998)
- 5) 厚生省「食品媒介性ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査」研究班：「最近5年間の食品媒介性胃腸炎集団発生全国実態調査」, 総合報告書, 1-38 (1995)
- 6) 入谷展弘他：平成8-9年度に大阪市内で発生した集団胃腸炎事件から検出した小型球形ウイルスの分子疫学, 大阪市立環科研報告, 60, 57-62 (1998)
- 7) 国立感染症研究所：<特集>ウイルス性胃腸炎集団発生, 病原微生物検出情報, 19(1), 1-2 (1998)
- 8) 斎藤博之他：老人施設内で集団発生したSRSV感染症に関する調査報告-秋田県, 病原微生物検出情報月報, 18, 131-132 (1997)
- 9) 入谷展弘他：SRSVが疑われた急性胃腸炎の施設内集団発生-大阪市, 病原微生物検出情報月報, 19, 3 (1998)



GLPにおける分析業務改善活動事例について

徳島県保健環境センター

堤 泰造・久米田慶子・西田 朋代
岡本 文彦*

Case Study of Managements toward Improved Laboratory Operations

Taizo TSUTSUMI, Keiko KUMEDA, Tomoyo NISHIDA and Fumihiko OKAMOTO

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : 検査業務管理基準 GLP

I はじめに

平成9年4月,食品衛生検査施設における業務管理基準(食品GLP)が施行され⁶⁾,GLPに基づく検査業務が義務づけられ,今日に至っている。

この間,関係機関のGLP組織や各種基準書類(管理標準作業書)の整備は進捗しているという情報は伝わっているが,実際の運用面に関する情報は少ない。

筆者らは,検査業務の合間の議論を通じて,「GLPとは,セルフコントロールの継続と責任の明確化を課せられたもの」という認識を得た。

こうした認識に至った経緯といくつかの活動事例を紹介して,広く情報を得る契機としたいと考えている。

II 活動事例

1 事例1 (アスコルビン酸分析)

(1) 経緯

- ① 平成7年11月,県内某保健所から苦情処理に関連して「清涼飲料水の酸化型及び還元型アスコルビン酸含量」の検査依頼を受けた。
- ② 検査受託時,食品衛生科の機器運用状況から,高速液クロ法を選択できず,一般に汎用されているヒドラジン法(図-1)により予備試験を実施した。
- ③ 検量線作成操作で得られた検量線はジグザグ状態で,

* 現 阿南保健所小松島支所

定量試験を実施できる状況ではなかった。

- ④ 苦情処理に係る検査であるため,短期間に結果を得なければならず,高速液クロ法への変更はできなかった。

(2) 改善活動

- ① 試験操作の失敗原因を検討した結果,次の2点に絞り込んだ。

ア) 硫酸添加操作の未熟

- (a) 「食品中の食品添加物分析法解説書」¹⁾には硫酸

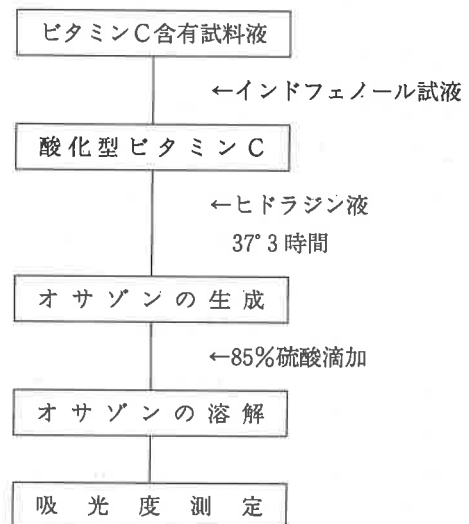


図-1 アスコルビン酸定量法(原理)
(ヒドラジン法)

添加時、急速に加えると反応液の温度が上がり有機物の一部が分解して着色する旨の注意事項が記載されている。

(b) 「衛生試験法・注解」²⁾には操作手順として、「硫酸溶液5.0mlを少しずつ滴加し、その都度少なくとも1分間氷水中でゆり動かして内容をよく混和、冷却する。」と記載されている。

(c) 「ビタミン分析法」³⁾には硫酸添加に関して「ピペットで添加する自信がなければビュレットを用いるとよい」と記載されている。

以上の記述から推定して硫酸添加操作には相当の熟練度が要求されると判断した。

イ) 分光計の操作ミス

予備試験で分光計操作時、50 μ l フローセルを装着したフローサンプラー（シッパ）を使用したか、硫酸が十分に吸引されず測定不能となった。

そのため、急きょ通常の分光セル(1cm)での測定

に切り替えた。

セル洗浄に問題が残りコンタミネーションが懸念された。

② 操作手順を次のように改善した。

ア) 手動による硫酸の添加は行わない。

(a) 硫酸の添加に滴下ロートを用いる。

(b) 試料液の容器を試験管から50ml 比色管に変更する。

(c) 試料液の攪拌にマグネチックスターラーを使用する。

以上をまとめ操作手順を次のように変更した。

「マグネチックスターラーに500ml ビーカーを置く。試料液の入った比色管にスターラチップを入れ、比色管の底部がビーカー底に接しないよう2~3mm 離してビーカー中に固定する。ビーカーに氷水を入れ、スターラチップを回転させて十分に試料液を冷やす。比色管中に滴下ロー

表-1 内部精度管理実施計画書（項目及び評価基準）

項	目
1	目的
2	試験期間
3	試験項目
4	試験品の種類
5	試験法
6	試験頻度
7	試験項目、試験品及び試験法を選じた理由等
8	対象となる検査実施標準作業書
9	内部精度管理実施に当たって行った検査実施標準作業書からの逸脱及び理由
10	試験実施に用いる検査実施標準作業書
11	試験担当者
12	精度管理用試験品の調製を行う者
13	試験担当者の勤務歴及び当該試験の経験
14	標準品添加量及び標準品添加方法
15	検査日及び検査日内の同一試料並行試験繰り返し回数
16	検査結果の評価方法（判断基準） 次の点について関係書類を精査し、必要に応じて試験担当者に関する質問を行った上で総合的に評価する。 1) 操作手順の実施内容・結果等の記録すべき事項が記載されているか。 2) 検査について十分な注意が払われ、問題点が提起されているか。 3) 定量値の算出に問題はないか。また、その過程が明記されているか。 4) 試薬管理簿、使用機器点検記録簿の記載に不備はないか。 5) 検査実施標準作業書、試薬等管理標準作業書及び機械・器具等管理標準作業書から逸脱した事実はないか。また、その記録が残されているか。 6) 精度管理試験液の測定値の変動係数が5%以内であること。 7) 標準添加回収率が90%以上であること。 8) 検出値のZスコア値がすべて2未満であること。

表-2 内部精度管理試験実施標準作業書

項	目	操作手順書 (個表)	操作記録表 (票)
1	検査項目		
2	試験品の種類		
3	試験法		
4	試験法の出典		
5	試験法の主な変更・追加事		
6	標準操作フローシート		操作フローシート
7	試験品等	試験液等管理表	左表に記入
8	試薬・試液	試液調製作業管理表	左表に記入
		試薬調製表	試薬調製記録表
9	機械・器具		
10	作業環境設定		
11	装置等の条件設定		装置等条件設定記録表
12	作業手順	作業手順 (総括)	
		測定液調製操作手順	試験液等管理表に記入
		測定操作手順	試験液等管理表に記入
13	結果の取扱い	結果の取扱い	検査結果集計表

トを挿入し、滴下ロートを固定する。予め水冷した85%硫酸溶液5mlを滴下ロートに入れ、コックを開いて徐々に硫酸溶液を滴下する。ほぼ全量の滴下が終わり滴下が止まると、スターラチップの回転を続け試料液を十分に冷やす。その後、コックを全開して残った硫酸溶液を一気に流し入れる。」

イ) 分光セルの洗浄等を詳細に規定する。

(a) セルへの液の注入・排出にはパストゥールピペットを用いる。

(b) セル洗浄液には85%硫酸溶液を用いる。

(c) 洗浄したセルに残存する硫酸溶液はエタノールで置換する。

セルの洗浄操作を次のように記述する。

「測定済みの液をパストゥールピペットで元の比色管に戻す。洗浄用硫酸溶液を注入しセル内壁を洗い、洗液を排出する。この操作を2回繰り返す。流し台に1ℓポリビーカーを置き、水道水を流入し続けておく。ここにセルを移し、流水上でエタノールを噴射させてセル中の硫酸を洗い流す。セルに汚れが認められる場合は、セルをエタノールで満たし綿棒で汚れを落とす。エタノールで濯ぎセルを乾かす。」

③ 改善した操作手順により再試験を実施した。

検量線作成操作及び試料予備試験において、安定した試験結果を得ることができた。

2 事例2 (内部精度管理)

(1) 経緯

① 事例1に関して議論した結果、次のような疑問や不備が明らかとなった。

ア) 「重要管理点とも言える部分の操作手順を変更した」としたが、これらの部分を変更したことのみで検査が改善されたかと即断してよいのか。

検査過程全体を評価してみても、他の操作過程でも不具合が生じていない事を示さない限り客観的な判断は下せないのではないか。

イ) たとえば、「85%硫酸の添加は試験管内の温度を10度以下に保つようにゆっくりと加える」という、「食品中の食品添加物分析法解説書」に記載された重要管理点についての要件を満たしていることが検証できていない。

ウ) 検査が改善されたという客観的な評価(評価基準)が示されていない。

このような点を整理し直さない限り「業務改善」とは言えないという結論になった。

② 平成9年10月「内部精度管理の実施方法の検討」に係る研究(平成9年度厚生科学研究「地方衛生研究所の試験機能強化に関する研究」の一環)に参加する機会があり、内部精度管理という枠組のなかで事例1を再整理することとした。

(2) 内部精度管理の実施計画

① 内部精度管理実施要項及び実施計画の策定

内部精度管理実施要項を策定し、これに基づき検査区分責任者が実施計画書を作成した。この計画書のな

かで検査結果の評価基準を明記し、区分責任者が検査員の評価を行い報告することとした。

② 内部精度管理実施計画書の内容

実施計画書の項目は、表-1のとおりである。また内部精度管理用に作成した操作手順書には、試薬の調達から検査結果の報告及び評価内容まで、すべての事項を文書化しかつ個表による記載も取り入れた。(表-2)

③ 試験品

ア) 陰性試験品が入手できないため、擬似試験溶液を使用した。

イ) 区分責任者は別の検査員に標準品添加試験液を調製させ、技能被験者には真値を伏せた状態で検査させた。

④ 検査記録の様式

記録様式はノート式(検査員の持つ実験ノート等)とせず、すべて手順書に対応するワークシートを事前に作成し、これに記入する方式を採用した。

ただし、このワークシートには差替え不可となる措置⁹⁾は施さなかった。報告時に区分責任者が確認署名する欄は設定した。

⑤ 重要管理点の事前検証の指示

操作手順書どおりに内部精度管理検査を実施する以外に、重要管理点(プロトコル)の検証を規定した。

(3) 操作手順書の作成

① 操作手順書の構成

表-2のとおり各項目を規定した手順書(記録表)を作成した。これは主要操作手順のみの記載では、試験操作全体の構成と検査の進行が分からないためである。

② 使用器具の変更

ア) 滴下ロートを15mmクロマト管(先端部分を内径2mmに絞った)に代えた。これは同型の滴下ロートが不足したためである。

イ) 50ml比色管を50mlベースなしメスシリンダーに代えた。これは器具ごとに硫酸滴下量が異なった場合、最終液量を統一するためである。

③ 操作フロー(表-3, 図-3)

硫酸添加を手動から滴下ロートによる半自動滴下に変更したため、この操作過程がパラレル化でき6試料同時並行進行が可能となった。

このため6試料を1ブロックの基本操作単位とし、3ブロックを時間差をつけて進行させる操作フローを設定した。

この操作フローは従来の手順書に明確な時間軸を設定した、いわば手際を要求したものであり、フローどおりに進行しなければ操作過程遂行に重大な支障が生

じ、最悪の場合測定不能の試料が出る恐れがあったが、この点も検査員の技能評価と考へ、実施に踏みきった。

(4) 内部精度管理の実施結果

① 重要管理点(プロトコル)の検証(図-2)

「85%硫酸の添加は試験管内の温度を10°以下に保つようにゆっくりと加える」を検証した。

条件設定では(a) 8~10秒ごとに1滴、(b) 4~5秒ごとに1滴の2通りで液温測定を行い、(a)の条件で10°以下に保持されることが検証できた。

なお、1滴から次の1滴までの間隔はデジタルメトロノーム(60c/min)の音を聞きながらカウントした。

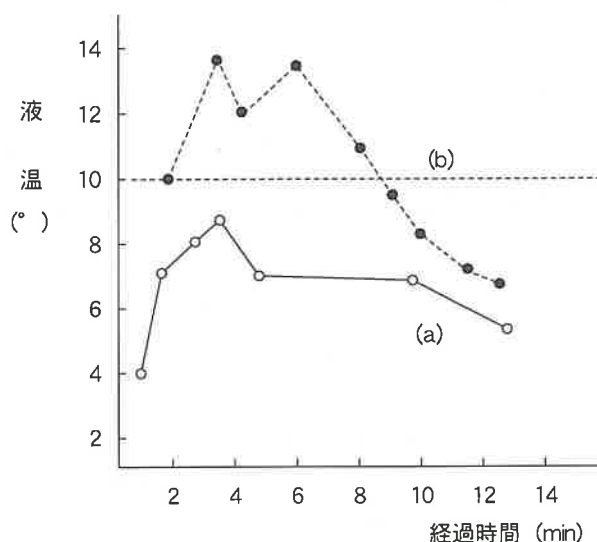


図-2 硫酸滴下時の液温変化
(記録表から転記した)

(a) : 1滴/8~10秒

(b) : 1滴/4~5秒

② 操作フロー

かろうじてすべての操作を遂行できたが、まったく時間的に余裕がなかった。

この原因は、試料液の調製室と分光測定室が離れていたにもかかわらず、これを考慮せず操作フローの時間配分を設定したことによると考えられた。

③ 技能評価

標準品を添加した試験品の5回の繰り返し測定において各評価指標は次のようになった。

ア) 変動係数 1.13% (評価基準5%以内)

イ) 添加回収率 94.4% (評価基準90%以上)

ウ) Zスコア値 0.23~1.36 (評価基準2以下)

(5) 文書化の効果

① 今回試行した文書化作業で、書類(A4版)は試験実施標準作業書が26ページ、記録書類が19ページに及んだ。

この種の作業を日常検査業務で行うことは現状では

困難である。

しかし、この作業によって、業務に対する「思い込み」や「あいまいさ」等が排除された。

また、自らの業務(検査業務の品質)に対し客観的な評価を受けるための材料を提示できたとも考える。

- ② 平成11年度食品衛生外部精度管理調査(保存料)において、同様の文書化を試行し、内部点検に活用する方法等を現在検討している。

3 事例3 (教育・研修)

(1) 背景

GLPに関する教育・研修事例について述べる前に当科の現状について説明する。

① 人事面

当科(食品衛生科)は食品衛生の理化学的検査を担当し、科長を含め3名で業務を行っている。

科長が理化学的検査区分責任者を担当しているが、検査実務を全く行わない状況ではない。

また、比較的短期間で人事異動があり、いわゆるベテラン検査員がおらず、試験検査経験が浅い状態で日常検査業務を行っている。

反面、特定の検査員にしかできない項目もなく、「だけれども、なんでも」できる環境を目指すことも可能である。

② 業務面

当科の年間検査件数(検体数)は、平成10年度155件であった。

「精度管理の一般ガイドライン」で規定する、週1回未満の頻度で実施する検査がほとんどで、「内部精度管理=検査ごとの添加回収試験」の状況が続いている。

③ 施設・設備面

試験室が手狭になり、器具・備品の収納場所がなくなりつつある。また機器室も同様で、機器の設置スペースがないために新しい機器の導入が困難となっている。

GLPに必要なデータ整理や書類作成のための場所が充分でなく、実験台の一隅で行うのが常習化している。

ガスクロ3台、液クロ1台、ガスマス1台が主要機器であり、検査に際して、機器の使用状況から、最適法を選択できない場合や機器の順番待ちなどが生じている。

④ 業務管理の経験

当科では、GLP施行時に初めて文書化を導入したわけではない。

平成2年から3年間当科で勤務した久米哲也主任研究員(当時)*の業務管理方法が当科の文書化のベースになっている。

試薬管理リストや器具管理手順の作成にとどまらず、試薬調達から結果・評価にいたるまで主要点が記載された文書が結果とともに検査ごとのファイルに保存されていた。

検査の都度これらの資料を参考にしてきたので、GLPにおける文書化の導入に違和感は感じなかった。

(2) GLPに関する教育・研修

① 記録の徹底

GLPの文書化に対応するため、次のようなスローガンを掲げ日常業務を行っている。

ア) 「鉛筆を使わない」

(a) すべての記録には三色ボールペンを使用する。

(b) ワープロで作成した記録用紙には、青色インクで記入する。

(記録原本と複写を区別するため)

(c) 修正すべき箇所は赤色で線を引き上部に赤色で訂正する。

イ) 「事前記録を心がける」

(a) 試薬調製時には、ラベルを作成した後で、調製操作を開始する。

(調製液をメスフラスコに入れたまま放置し、ラベルを貼り忘れ、調製内容が曖昧になる場合があるため)

(試薬等管理標準作業書で調製後保存容器に移しラベルを貼付すること、また、廃棄時貼付していたラベルを剥がし、廃棄を記録する用紙に貼付し直すこと、を規定している。)

(b) ガスクロ(島津クロマトパック使用)での試料液注入時、注入する試料内容・測定条件の変更事項・レポート番号・データファイル名等を注入前に記録する。分析終了後にチャートに書き入れることはしない。

(分析が終了しチャートが印刷された後、初めて記入するのであれば、すべての情報が盛り込まれない場合があるため)

ウ) 「失敗データも記録に残す」

(a) 失敗したデータを捨てて、成功した・都合の良いデータのみを残すことは行わない。

(b) 日本的な発想(「はずかしい」とか「良く見られない」)を排除していく。

(c) 失敗データ(失敗操作)とそこからのリカバリ(トラブルシューティング)が我々の財産であ

ることを認識させる。

② 文書化の習慣

文書化とは、検査実施作業標準書・試薬等管理標準作業書等の基準書類を整備することのみを意味するとは考えていない。

従来、検査員の経験や勘と呼ばれていた部分をできる限り文面に残すことも我々にとっては文書化である。

このような習慣を通して、各種マニュアルは「飾っておくだけのマニュアル」から「使うマニュアル」へと変わり、検査技能の向上や採用手法の変化に即応した改訂が可能になると考える。

③ 外部精度管理の参加方針

当科では、食品衛生外部精度管理調査に際し参加項目を2項目に絞っている。

担当者を指定した後、それぞれの調査試料送付前の約1ヶ月間を業務改善モデル期間と考え、日常業務の合間を利用して、外部精度管理調査項目ごとに具体的目標（操作手順の再評価等）を設定して業務改善の検討を行わせている。

このような活動によって、外部精度管理調査が単なるコンテスト参加にならないよう配慮している。

④ 業務改善モデル期間に実施した事例

ア) 平成10年度食品衛生外部精度管理調査（農薬）

(a) 目 標

平成8年度実施の外部精度管理調査（農薬）において、当科のデータは調査項目（プロチオホス、クロルピリホス、ダイアジノン、EPN）すべてでヒストグラム上高めの位置（正常レベル内）に分類された。

この原因を追求し、平成10年度調査の参考とすることを目標とした。

(b) 検討結果

追試験を実施したところ、ガスクロ測定で日内変動（感度上昇）が認められた。

測定条件を変更し、日内変動がないことを検証し、平成10年度の調査に採用した。

イ) 平成11年度食品衛生外部精度管理調査（保存料）

において、事例2と同様の文書化を試行し、内部点検に活用する方法等を現在検討している。

4 事例4（日常検査業務）

(1) 日常業務における文書化の状況

① 定型業務

たとえば、「あさりの貝毒検査」のような毎年同種の試験品を扱う業務を例にあげる。

ア) 検査実施計画書の作成

(a) 計画書は区分責任者が作成するか、検査員が作成し区分責任者が承認する。いずれの場合も担当外の検査員の確認を受ける。

(b) 計画書に記載する項目

表-4のとおり（検査により項目は異なる）

表-4 あさり貝毒検査実施計画

項 目	
1	検査日
2	検査項目 麻痺性 下痢性
3	検体 検体数 検体搬入日
4	収去担当 ○○保健所 氏名
5	検査担当 試験液調製 氏名 毒力測定 氏名
6	検査方法
7	試薬・器具 マウス 発注日 注文匹数等 納入日
8	作業環境
9	試験結果の取扱い
10	検査記録 毒性試験等操作記録表 (試験液調製, 毒力測定) 毒性試験用マウス管理表

イ) 検査実施状況の把握

実施計画書の右空欄または実施計画書のコピーに計画の変更事項（試験品数の増減、マウス発注の変更）などの状況を記載する。

これは、操作手順からの逸脱時の記録とは別のものなので、次回検査での計画作成の際に活用するためのものである。

ウ) 検査記録

定型業務では操作手順と記録スペースを一体化した記録用紙（ワークシート）をワープロ等で作成し用いている。

エ) 検査結果報告書の作成

検査結果を報告書にまとめる。

オ) 試験成績書

試験成績書の案文に検査実施計画書及び検査結果報告書を添付して所内決裁をとる。

カ) 注意事項

ここで重要なのは、計画書、報告書に特定の様式・書式・体裁等を厳密に定めていないことである。綿密な形式を定めても、三日坊主に終わってしまった事例をいろいろ経験してきたからである。

文書化の第1段階は、形式を決め書類をそろえることではなく、自分たちの定義したものを明確に意識づけることにある。

検査とは単に結果を得ることのみではなく、計画から報告までの過程を明らかにしておくことも検査業務であると認識していこうと考えている。

② 非定型業務

同一検査項目でも試験品の違いで検査実施過程が大きく左右される場合や苦情処理に係る検査では、事前に定めた作業手順書が十分に機能しないことがある。

この種のいわば非定型業務の文書化は次のように行っている。

ア) 検査実施計画書の作成

(a) 計画書は①と同様に作成する。

重要な検査案件については計画書の承認を部門責任者に求める。

(b) 計画書の記載項目は表-4等に準じ、必要に応じて項目を加除する。

この計画書に記載する検査方法(操作手順書)は、科員が協議したうえで計画書の作成者が選択する。

イ) 検査記録

非定型業務では、操作手順と記録スペースを一体化した記録用紙(ワークシート)をワープロ等で即座に作成できない場合がある。そのときには、次の方法によって処理している。

(a) 操作手順書の中の操作フローシート(必要に応じて注釈等も加える)をA4版罫紙に記載する。

(b) 試験品数に合わせた記録表を別の罫紙に作成する。

(c) フローシートを左に、記録表を右に並べてA4版に縮小コピーしたものをワークシートとし、専用クリップボードに挟んで使用する。

ウ) 検査実施

(a) 検査過程で計画書の内容から逸脱した場合は、区分責任者に報告し、承認後計画を修正する⁴⁾。

この間の事情は、検査記録等に赤字で明確に記述する。

(b) 分析を中断し、再度別法を選択し再検査しなければならない場合も、(a)と同様にする。

エ) 検査結果報告書の作成

検査結果表及びウ)の(a)、(b)の状況をまとめ報告書を作成する。

オ) 試験成績書

試験成績書の案文に検査実施計画書及び検査結果

報告書を添付して所内決裁をとる。

(2) 多項目検査における文書化の現状

① 残留農薬分析等多成分一斉分析では、特に測定データの解析過程で非常な手間がかかっており、他の単項目検査の文書化と同様に処理できていないのが現状である。

② 多成分一斉分析においても、試験品から検査結果の個々のデータに至るまで、すべての過程がトレーサブルでなければならない。

③ 現在、データ証査マニュアルを作成中で、このマニュアルに対応するデータ整理の手順化を検討している。

III おわりに

GLPとは本来、「自主的に業務管理の目標を決め、それを実施し、その結果を見直しながら、継続的に改善していく」活動である。

また、食品GLP施行後、人員増あるいは業務量の縮小が望めない状況のまま、文書化等に伴う業務量の負担を背負い込んでしまっているのも事実である。

今回紹介したような趣旨の活動は、さらに過度の負担を検査員に強いることになるが、試行錯誤を伴いながらも、また結果の良否によらず、継続させていかなければならないと考えている。

ISO9000、ISO14000の次に来るのはISO/IECガイド25であるとも言われている。

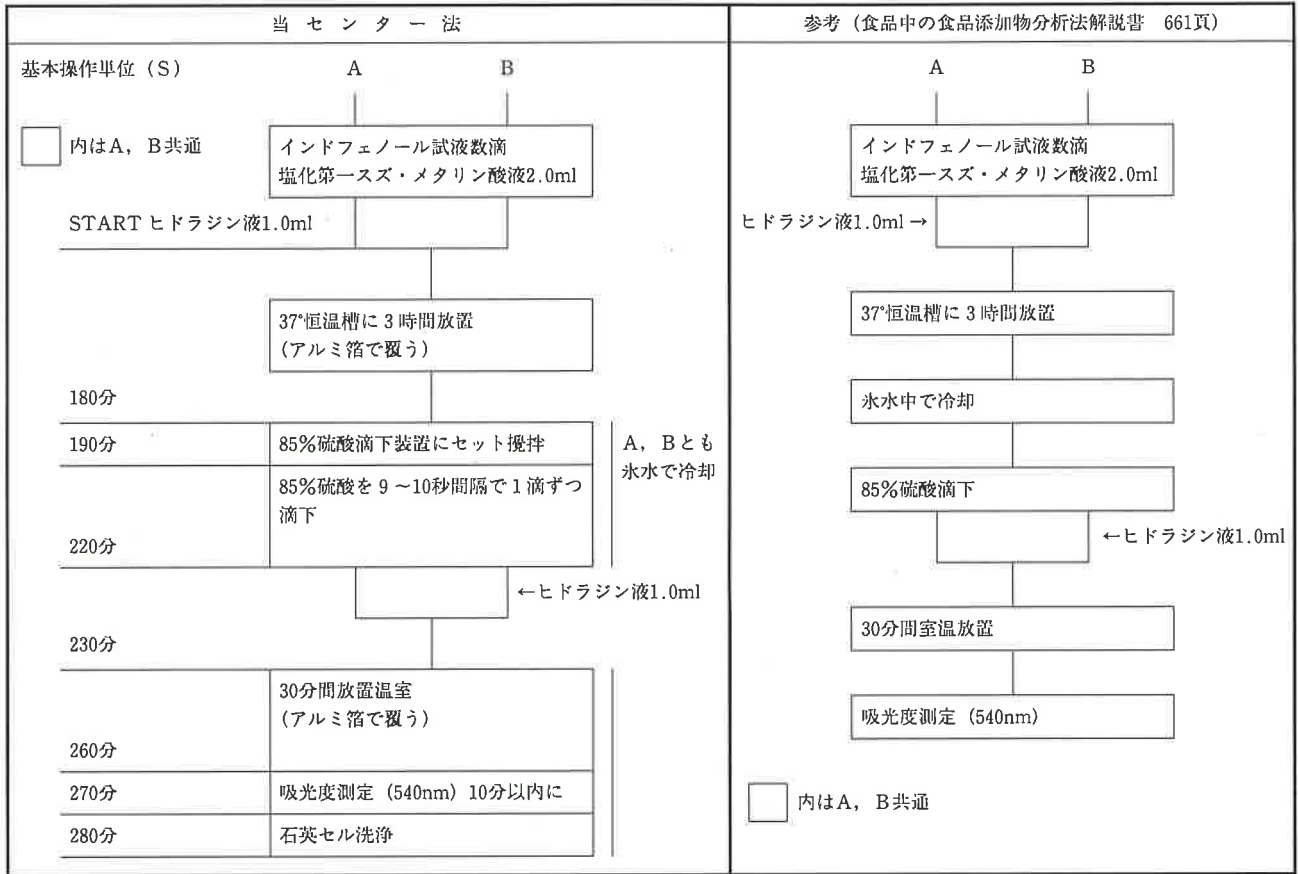
いずれにしても、規模の大小に関わらず、検査施設としての主体性の確保と情報開示が必須になる時代が到来してくる。

我々の考えに対するご意見、ご批判を頂くとともに、広く様々な観点からの情報を交換して頂きたいと願っている。

文 献

- 1) 谷村顕雄他監修：食品中の食品添加物分析法解説書，650-669，講談社（1992）
- 2) 日本薬学会編：衛生試験法・注解1990付追補，366-372，金原出版（1995）
- 3) 日本ビタミン学会編：ビタミンハンドブック③ビタミン分析法，135-143，化学同人（1989）
- 4) F.M. Garfield: Quality Assurance Principle for Analytical Laboratories, 2nd Edition, AOAC (1991)：宮原誠訳：分析試験室のための品質保証原則，AOAC(1997)
- 5) 厚生省通知，衛食第8号，平成9年1月16日
- 6) FDA, Guide to Inspections of Pharmaceutical Quality Control Laboratories, (1993)

表-3 標準操作フローシート

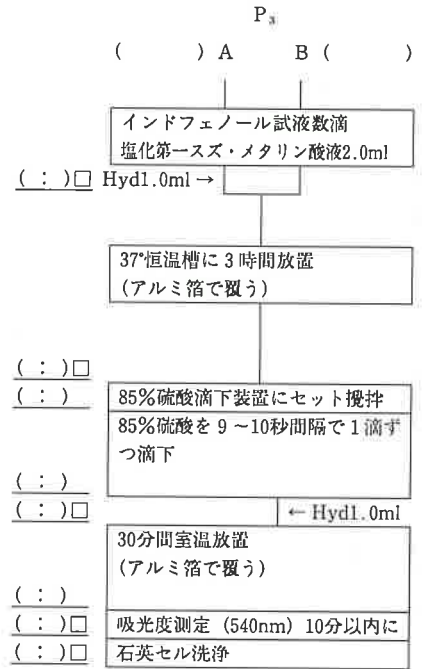
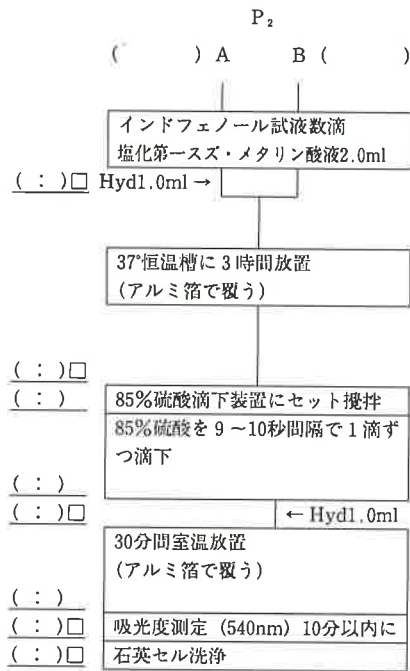
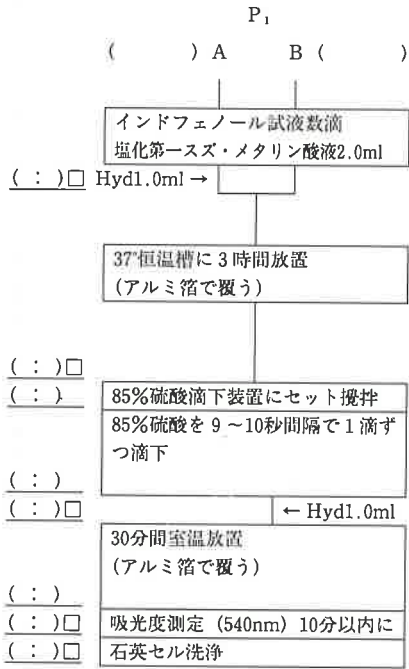


標準操作フローシート 2 / 4

	備 考 (注 釈 等)
定義	
1 標準操作フローは、測定液調製以降の操作手順を管理するためのもので、基本操作単位(S)並行操作単位(P)、時間差進行プログラム(T)から構成される。	
1) 基本操作単位(S)	
a 試験品から調製した試料液 (同一試料液をn回測定する場合は個々の液を指す。)	
b 検量線用に調製した標準希釈液	
c 陰性対照 (ブランク) として用いる試験液	
d 標準品を添加した試料液	d は、今回のSOPでは対象とならない。
2) a, b, c, d のいずれか1つの液を基本操作単位とする。(基本操作単位液)	
3) 基本操作単位液は、2mlずつA, B 2本の比色管に正確に量り採られ、測定液の調製の操作開始点となる。	
4) 並行操作単位(P)	
3つの基本操作単位液を2mlずつ量り採った6本の比色管を言う。	
これらは、同時に調製操作が行われ、同時に測定される。	
5) 時間差進行プログラム(T)	
2つ以上の並行操作単位を時間差をつけて進行させるため、並行操作単位内の操作時間の設定 (開始時刻及び終了時刻) 及び各並行操作単位の時間差の設定を行い管理する。	
2 並行操作単位は、基本操作単位の総数に応じて必ずしも6本の比色管でない場合もある。(2本又は4本)	

図-3 操作フローシート

作成 年 月 日
 確認 年 月 日



環境水中におけるクリプトスポリジウム実態調査について

徳島県保健環境センター

伊澤 茂樹・尾崎 宏実・岩佐 智佳

Fact-finding of Cryptosporidium and Giardia in The Environmental Water

Shigeki ISAWA, Hiromi OZAKI and Chika IWASA

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words: クリプトスポリジウム cryptosporidium, ジアルジア giardia, 間接蛍光抗体法 indirect fluorescent antibody method

I はじめに

クリプトスポリジウム (Cryptosporidium) は、孢子虫類コクシジウム目に属する寄生性の原虫であり、牛、馬、豚、犬、猫など哺乳類に広い宿主域を持っている。⁽¹⁻⁵⁾

ヒトへの感染は1976年に初めて報告され、⁽⁵⁾ 1980年代以降アメリカやイギリスでこの原虫による集団下痢発生例が知られるようになった。^(3, 4) 国内では1994年 (平成6年8月) に神奈川県平塚市の雑居ビルで集団発生し、初めてクリプトスポリジウムオーシストが検出された。1996年 (平成8年6月) には、埼玉県越生町で8,000人以上が下痢等の症状を示す大発生があった。⁽¹⁻⁴⁾

このため厚生省は、専門委員会を設置・検討し同年10月に「水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針」を定め、水道施設の維持管理の徹底と検査体制の整備を行うよう全国に通知した。⁽¹⁾

本県でも急遽機器整備等を行い、1997年 (平成9年) 6月から検査を開始し、1998年 (平成10年) 8月から社 徳島県薬剤師会検査センターで水道施設からの依頼検査業務を開始し、検査体制を整えた。

本報では、1997、1998年に調査研究として当センターで実施した検査結果の概要を報告する。

II 研究方法等

当センターで使用しているキットには、クリプトスポリジウムオーシスト及びジアルジア (*Giardia*) シストがはいっており同一方法で検査できる。

まず、文献からのクリプトスポリジウム及びジアルジアの特徴を抜粋して紹介する。

1 クリプトスポリジウム及びジアルジアの特徴

1) クリプトスポリジウム

- ヒトに感染するものは、クリプトスポリジウム パルブム (*C. parvum*) であり、大きさは4.5~5.4×4.2~5.0 μ mの楕円形で腸管に寄生する。
- 動物の胃に寄生するクリプトスポリジウム ミューリス (*C. muris*) は、大きさ6.6~7.9×5.3~6.5 μ mの楕円形であり、免疫不全患者はこれに感染するという報告もある。
- ヒトには経口的に感染し、4~5日ないし10日の潜伏期を経て腹痛を伴う水溶性下痢が3日~1週間続き、嘔吐や発熱を伴うこともある。患者の免疫機能が正常に働くと自然治癒する。
- 体内では、腸管内の微絨毛に侵入し無性生殖、有性生殖の両方で爆発的に増加するとともに自家感染も起こす。そして便とともに体外にオーシストとして排出され、ピーク時には1人1日約10億個ものオーシストが排出される。
- オーシストは塩素消毒に強く、大腸菌の24万倍の塩素抵抗を有するが冷凍や乾燥には弱く、アメリカでは水道水が汚染されたときには1分間以上煮沸してから飲むよう呼びかけている。
- 発症患者には有効な薬剤等はなく、輸液や栄養補給を行う対症療法がとられている。

2) ジアルジア

- ジアルジア ランブリア (*G. lamblia*) はランブル鞭毛虫とも呼ばれる鞭毛虫類に属する原虫で、シストの大きさは8~12×5~8 μ mの長楕円形である。
- クリプトスポリジウムと同じく経口的にヒトに侵入し、

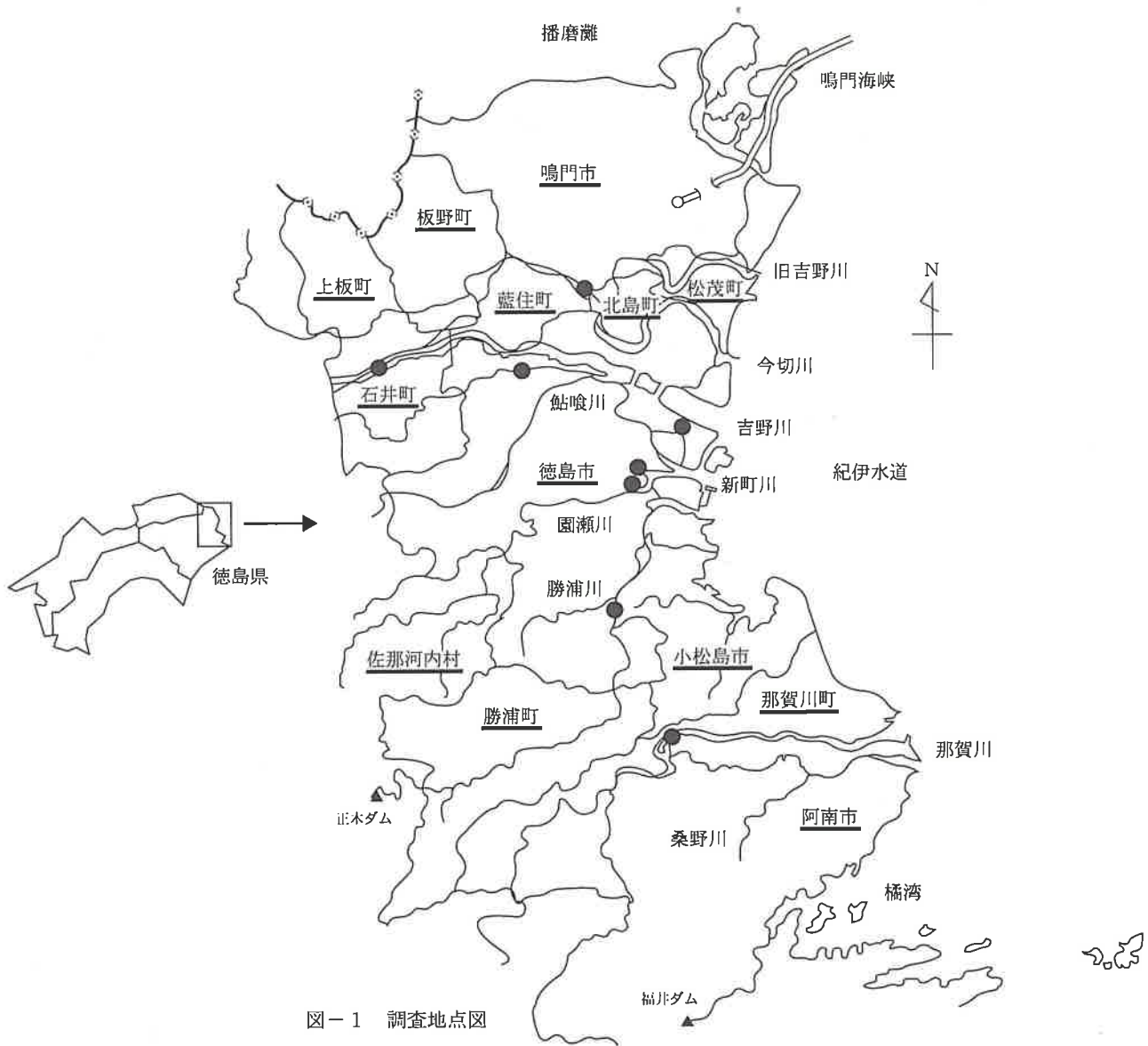


図-1 調査地点図

胃を通過すると洋ナン型の栄養体になり、十二指腸から小腸上部に寄生・定着する。主な症状は、下痢、腹痛で食欲不振や腹部膨満感などを訴える。健康な人では不顕性感染で終わることもある。

- ジアルジアは、熱帯・亜熱帯に多く世界中に分布しており日本では旅行者下痢症としての重要度が高い。
- ジアルジアも大腸菌の約2,300倍の塩素抵抗を有する。
本症の治療薬は、主としてニトロイミダゾール誘導体が用いられている。

2 調査地点

平成9年度は、主要な上水道及び要請等があった簡易水道の原水・浄水の検査を実施した。

図-1に平成10年度から調査を開始した河川の地点を示した。

3 調査器具等

- | | |
|-----------|---|
| 1) 顕微鏡 | 落射型蛍光・微分干渉顕微鏡 (ニコン: E600) |
| 2) 写真撮影装置 | ニコン: H-III-35M型 (平成11年度に画像処理装置が導入される。) |
| 3) マニホールド | 吸引ろ過用 STU6PN型 (プラスチック製: φ47mm 6連) 染色用 KM-6N型 (硬質ガラス製: φ47mm 6連) |
| 4) 真空ポンプ | 佐藤真空 DN-60型 |
| 5) 遠心分離器 | トミー精工 LC-122型 |
| 6) 恒温槽 | タバイ LG-122型 |
| 7) 検査キット | ハイドロフルオール・コンボ (EnSys社) |
| 8) 採水容器 | ポリタンク (10ℓ, 20ℓ) |

4 検査方法

厚生省が示した「水道に関するクリプトスポリジウムのオ

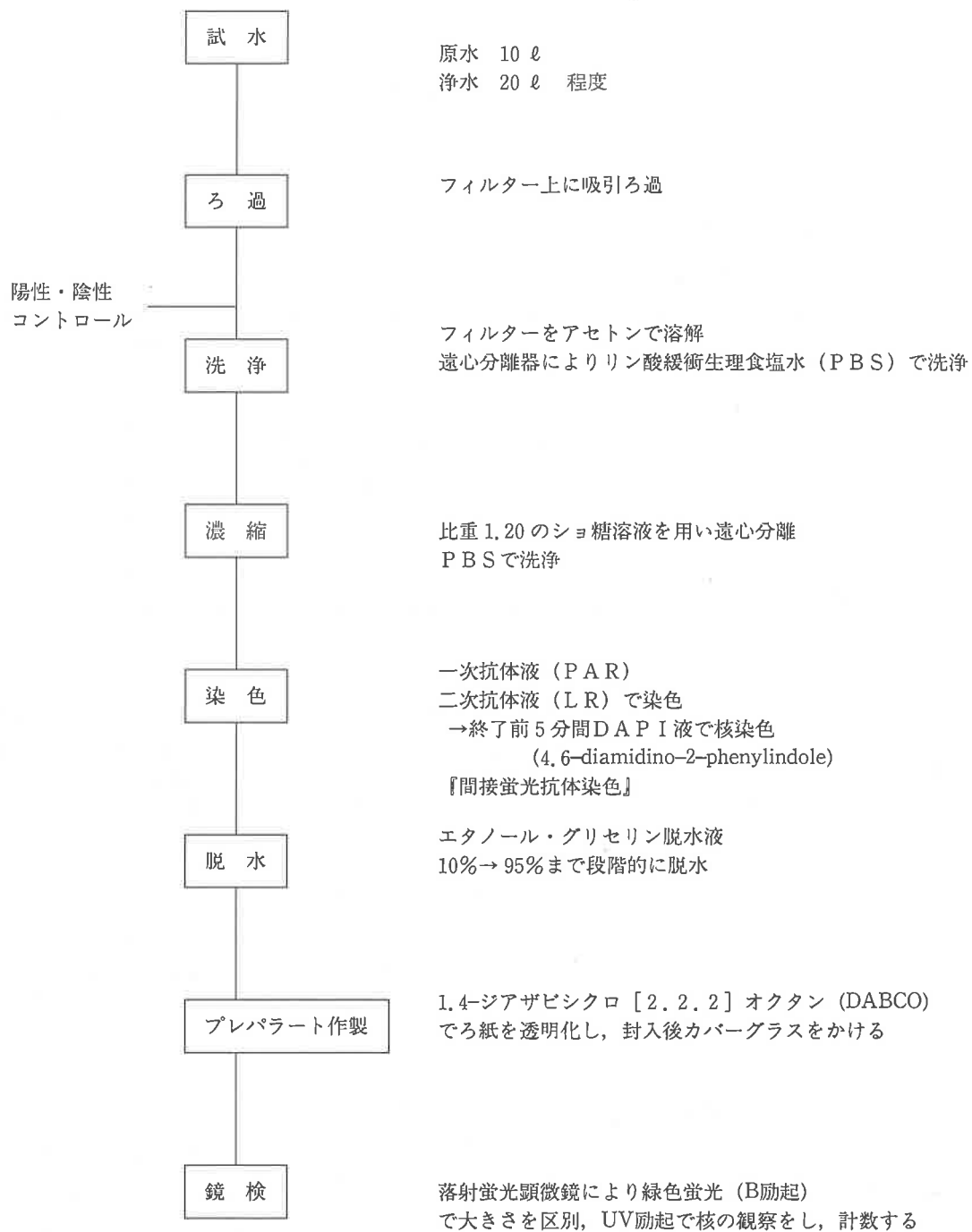


図-2 クリプトスポリジウム検査方法の概略

ーシストの検出のための暫定的な試験方法について」によった。

簡単なフローシートを図-2に示した。

当センターで行っている方法は、検水を直径47mmのメンブランフィルター上に吸引ろ過し、蔗糖による密度勾配遠沈法で分離・精製し、別のろ紙(直径47mm)上で間接蛍光抗体染色及び核染色を行い、脱水したのちスライドグラス上でろ紙をDABCO(1,4-ジアゾビスクロ-2,2,2-オクタン)封入液で半透明にしてプレパラートとし、B励起で緑色の蛍光観察及び紫外励起で青色の核を観察するものである。

III 研究結果と考察

1 水道水の検査(平成9年度)

平成9年度は、主要な上水道4カ所及び検査要請のあった簡易水道3カ所の原水・浄水と参考のため2河川の検査を実施した。この結果を表-1に示した。

この結果、クリプトスポリジウム、ジアルジアともに不検出であった。

浄水は、1カ所を除きろ紙2枚でほぼ20ℓの水がろ過できたが、原水は水道により大きく異なり、10ℓくらいろ過できる水道と1~2ℓしかろ過できない水道があった。河川水は、原水よりも少ない検水しかろ過できなかった。

表-1 平成9年度調査結果

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
試料名	新町川	A上水道 原水	A上水道 浄水	B上水道 原水	B上水道 浄水	神宮入江川	E簡易水道 原水	E簡易水道 浄水	F簡易水道 原水
採水日	平成9年 6月18日	7月14日	7月14日	7月14日	7月14日	7月14日	8月19日	8月19日	8月19日
ろ過水量(ℓ)	1.5	2.0	20	1.5	20	0.8	14	19.5	10.8
濃縮後液量(ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5
結果	クリプトス ポリジウム	不検出	"	"	"	"	"	"	"
	ジアルジア	不検出	"	"	"	"	"	"	"

No.	10	11	12	13	14	15	16
試料名	F簡易水道 浄水	C上水道 原水	C上水道 浄水	D上水道 原水	D上水道 浄水	G簡易水道 原水	G簡易水道 浄水
採水日	8月19日	11月4日	11月4日	11月4日	11月4日	平成10年 1月19日	1月19日
ろ過水量(ℓ)	20	10	18.5	10	20	1	5
濃縮後液量(ml)	5	5	5	5	5	5	5
結果	クリプトス ポリジウム	不検出	"	"	"	"	"
	ジアルジア	不検出	"	"	"	"	"

表-2 平成10年度調査結果

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
試料名	持井橋	野上橋	高瀬橋	大正橋	持井橋	野上橋	高瀬橋	大正橋	山城橋	沖須賀橋	大岡新橋	飯尾川橋
採水日	平成10年 7月21日	7月21日	7月28日	7月28日	11月30日	11月30日	11月30日	11月30日	平成11年 3月9日	3月9日	3月9日	3月9日
ろ過水量(ℓ)	20	20	8.4	2.65	18	20	20	10	2.55	1.22	2.0	2.5
濃縮後液量(ml)	8	8	6	6	6	6	6	6	5	5	5	5
染色ろ紙枚数	2	2	6	6	2※	1	2	2	4※	4	4	4
結果	クリプト スポリジウム	不検出	"	"	"	"	"	"	(1)	不検出	"	"
	ジアルジア	不検出	"	"	"	"	"	"	(5)	不検出	"	"

注) 1 染色枚数の※印は、各1枚ずつ試料を載せすぎたために検査できず。

2 山城橋の結果は、外殻のみの生物体である。

最初のうちは顕微鏡操作及び観察に時間がかかった。

2 河川水の検査 (平成10年度)

平成10年度は、(社)徳島県薬剤師会検査センターが機器整備を行い、当所で研修ののち水道施設からの依頼分析を実施できるようになった。

このため、当所ではその水源となる河川水中の実態調査を実施することとした。

主要な上水道の上流側の地点及び水道の利水はないが少し汚濁のある都市河川において、検査を実施した。この結果を表-2に示した。

この結果、利水のない都市河川1カ所においてクリプトスポリジウム(1個)とジアルジア(5個)と思われる個体が観察された。いずれも紫外外部励起での核染色はされず、内容物はなく外殻のみの個体であったため、写真撮影を行い陰性として扱った。

その他の検体はすべて不検出であった。

検体が河川水になると10~20ℓのろ過は困難になり、特に都市河川では1枚のろ紙で数百mlしかろ過できない状態であった。これは濁り及び藻類の存在のためである。

また、染色用のろ紙上に検体を多く載せると目づまりを起こし、以降の染色や脱水操作ができず検査不可能になった。

沈殿物の多い検体を試験方法どおりに検査すると、非常に多くのろ紙に分割して染色・脱水を行い、全てのろ紙を顕微鏡観察する必要があり、時間と労力の負担が大きくなると思えた。

3 核染色液の濃度条件の検討

平成10年に改正された「暫定的な試験方法」により、DAPI液(4,6-ジアミジノ-2-フェニルインドール)による核染色法が導入され、クリプトスポリジウムと確定するため有力であるとされた。

当所で現在実施している検査方法の条件を検討するため、標準コントロールを試料として各種条件下で染色・観察を実

施した。

1) 平成11年1月

- ①旧コントロール (1000倍希釈), アセトン接触, DAPI液 標準濃度
 - ②旧コントロール (1000倍希釈), アセトン接触, DAPI液 高濃度
 - ③新コントロール (1000倍希釈), アセトン接触, DAPI液 標準濃度
 - ④新コントロール (1000倍希釈), アセトン接触, DAPI液 中濃度
 - ⑤新コントロール (1000倍希釈), アセトン接触, DAPI液 高濃度
 - ⑥旧コントロール (1000倍希釈), アセトン非接触, DAPI液 標準濃度
 - ⑦旧コントロール (1000倍希釈), アセトン非接触, DAPI液 高濃度
 - ⑧新コントロール (1000倍希釈), アセトン非接触, DAPI液 標準濃度
 - ⑨新コントロール (1000倍希釈), アセトン非接触, DAPI液 中濃度
 - ⑩新コントロール (1000倍希釈), アセトン非接触, DAPI液 高濃度
- ※コントロールの新, 旧は冷蔵保存の長いものを旧とした。

※ DAPI 濃度は,

標準 (原液 $10\mu\text{l}$ を 50ml PBS に希釈)

中濃度 (原液 $10\mu\text{l}$ を 10ml PBS に希釈)

高濃度 (原液 $10\mu\text{l}$ を 5ml PBS に希釈)

2) 平成11年3月

- ①コントロール (200倍希釈), アセトン接触, DAPI液 中濃度
- ②コントロール (200倍希釈), アセトン非接触, DAPI液 中濃度
- ③コントロール (200倍希釈), アセトン非接触, DAPI液 標準濃度

これらの検体を観察した結果, 次のような感想を持った。

標準コントロールを同じように希釈しても観察される個体数はかなり異なる。これは, この検査方法の回収率が50%程度しかないといわれていることと一致する。

アセトン接触, DAPI液の濃度等条件を変えて検査・観察したが, あまりはっきりとした傾向は確認できなかった。核の染色状況も同一プレパラート上で異なり, 個体もろ紙上で同一方向ではないため定量的な把握は困難であるように思えた。

個体がろ紙上の撥水円の近くに集中したり, 脱水が強すぎて風船をつぶしたような個体になっていたりし, 技術的な問題点が観察された。しかし, これらの状況は最終的に顕微鏡で観察しないと判明しないため, 同じような標本を作るのは経験が重要な要素になる。

顕微鏡観察においても, ゴミと個体の区別, 視野を動かした後のピント合わせ, 低倍率 (200倍) と高倍率 (1000倍: 油浸) の切り替えながらの観察, 光による蛍光の減少等があり, この業務を行うには相当の熟練が必要であると思われる。

4 疑陽性個体の確認

社) 徳島県薬剤師会検査センターで検査業務を開始して間のない平成10年8月, 上水道原水の試料から陽性と思われるクリプトスポリジウム個体約10個が観察された。

これは初めてのケースであり, 著者も観察して陽性ではないかと思ひ, 浄水の検査や原水の再検査等を考えたが, それよりも早急に確認・確定する必要があると判断して, 早速神奈川県衛生研究所及び大阪市立大学にプレパラートを持参して, 専門家の観察を依頼した。

その結果, 大きさが若干大きく, 内容物の状態が異なるという見解で成績書をもらった上で陰性と判断した。

この時点で, DAPI液による核染色法を教えてもらい, 当所では顕微鏡に紫外部フィルターを装備していたため, 試薬を購入し早速核染色を実施するようにした。

最後に, 2年間の調査結果を通じて問題点等を考えると次のとおりである。

- 1) 水道の浄水は, 20l の検水を検査できる可能性が強いが, 原水や河川水の場合ろ過できる検水量が少ない。 10l 以上を検査しようとすれば, 染色枚数 (観察枚数) が非常に多くなり, 結果と労力を考えると実施可能な方法を取らざるを得ない場合がある。
- 2) 検査方法について, この方法は回収率が悪いといわれており, また, 観察試料の作成までの操作も長いので, 再現性のある検査が困難であるとともに技術的熟練が結果に大きく響くと思われた。
- 3) 検査の精度が最終的な顕微鏡観察でしか判断できず, 濃縮液量の半量を再検査するにしても時間がかかり, 1人あたりの処理検体数が制限される。
- 4) 顕微鏡観察では, ゴミと生物体の区別, 低倍率と高倍率レンズを切り替えながらの観察, 複数枚数の全部の観察等相当の熟練が必要であり, 特殊な作業となり一般的な検査方法とはなりがたい。
- 5) クリプトスポリジウム, ジアルジアともに, コントロール試料では核染色や内容物の観察が可能であるが, 実試料で著者が観察したものは, 外殻のみであり内容物は流出していた。これらは全く無視していいものか疑問が残る。

IV まとめ

平成9年度からクリプトスポリジウムの検査を開始し, 水道施設の原水・浄水及び河川水の調査を行った結果をまとめると次のとおりである。

- 1) 現在までの調査した地点では, クリプトスポリジウム, ジアルジアともに検出されず, 利水の無い都市河川1地点で内容物のない外殻が観察されただけであった。
- 2) 標準試料を用いて, いくつかの条件を変えて研究したが, はっきりとした研究結果は得られなかった。定量的に結果を把握するためには, 実験方法等を十分検討して実施する必要があることがわかった。
- 3) 現在の検査方法は, 他に方法がないため止むを得ないと

はいえ、操作や観察において熟練を要し、検査機関における同一レベルの検査は困難と思われる。より確実な一般的な検査方法の開発が望まれる。

- 4) この検査方法の重要性、住民生活に与える影響を考えると、情報の収集や技術的な向上に常に努めていく必要がある。

文 献

- 1) 厚生省：水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指

針，1996

- 2) 厚生省：水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針，1998

- 3) 平田強他：クリプトスポリジウム汚染と水道，水道協会雑誌，64巻12号，2-10 (1995)

- 4) 井関基弘：水系感染クリプトスポリジウム症の集団発生，日本水処理生物学会誌，32巻2号67-78 (1996)

- 5) 井関基弘：クリプトスポリジウム症，メディアサークル，Vol. 37No. 1, 11-19 (1992)

徳島県における二酸化炭素濃度について

徳島県保健環境センター

片田 正己・犬伏 宏行・中島 信博
立木 伸治

Carbondioxide Concentration in Tokushima Prefecture

Masami KATATA, Hiroyuki INUBUSHI,
Nobuhiro NAKAJIMA and Shinji TATSUKI

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : 二酸化炭素濃度 (Carbondioxide Concentration)

I はじめに

温暖化の主たる原因物質である二酸化炭素について、県下の現状を把握するため、漁山間部と市街部に自動測定機を設置し、地点間の濃度差を比較すると共に、季節変動等を調査する。

また、平成11年10月に火入れされた橘湾石炭火力発電所(四国電力70万kW, 電源開発1号基105万kW, 最終的には両社で280万kW)からは、表-1に示すように相当量の二酸化炭素の排出が予想されるため、この排出による周辺環境の濃度変化を調査する。

表-1 推定 CO₂排出量

年間発電条件
石炭使用量：約620万 t
稼働率(経済的連続負荷時：ECR) 70%
石炭中C分：61%
CO₂換算係数：3.67

日 本	本 県	石炭火力 (280万 kW)
H 9 年度	H 7 年度試算値	H13年1月売電開始予定時
12億3,100万 t	約814万 t	約1,400万 t

II 調査方法

1 調査地点

(1) 漁山間部：一般環境大気測定局由岐(海部郡由岐町)

採取口高さ約14m

県南部に位置し、東・西・北部を山に囲まれ、南部は太平洋に面した漁港となっている。

(2) 市街部：一般環境大気測定局徳島(徳島市新蔵町)

採取口高さ約14m

市の中心部の東に位置する住居・事務所等の多い地域であり、両地点間の距離は約34kmである。

2 測定装置

GIA-1000型：電気化学計器(株)製

測定方式：非分散赤外線吸収法

測定範囲：瞬間値 0~500/1000ppm

2レンジ手動切り換え

1時間平均値 0~500/1000ppm

2レンジ自動切り換え

応答時間：90%応答2分以内

自動校正：24時間に1回ゼロ・スパンの2点校正

吸引大気量：0.5L/min

除湿器：透過膜方式(本体内部)、電子クーラー(本体採取口入口、別注)

III 調査結果

1 並行運転等

(1) 由岐局において、平成9年4月から5月まで並行運転を行った結果、表-2及び図-1に示すように高い相関が得られ、2台の間に精度上の問題はないと考えられる。

(2) 6月に並行機を徳島局へ移動し、6月と7月について両局の相関を見た結果は表-2及び図-2に示すように相関は低い傾向であった。

表-2 並行運転等の結果 (ppm)

4月

	由岐 (正規分)	由岐 (並行分)
月平均	402	407
日平均 max	434	436
時間 max	463	466
時間 min	360	371
相関	$y = \text{正規}$ $x = \text{並行}$	相関係数 0.99 $y = 1.04x - 21.65$

5月

	由岐 (正規分)	由岐 (並行分)
月平均	391	393
日平均 max	418	425
時間 max	456	452
時間 min	353	356
相関	$y = \text{正規}$ $x = \text{並行}$	相関係数 0.93 $y = 1.02x - 9.76$

6月

	由岐	徳島
月平均	374	377
日平均 max	398	394
時間 max	461	430
時間 min	349	352
相関	$y = \text{正規}$ $x = \text{並行}$	相関係数 0.56 $y = 0.75x + 91.82$

7月

	由岐	徳島
月平均	379	372
日平均 max	403	386
時間 max	453	421
時間 min	348	352
相関	$y = \text{正規}$ $x = \text{並行}$	相関係数 0.60 $y = 0.98x + 11.36$

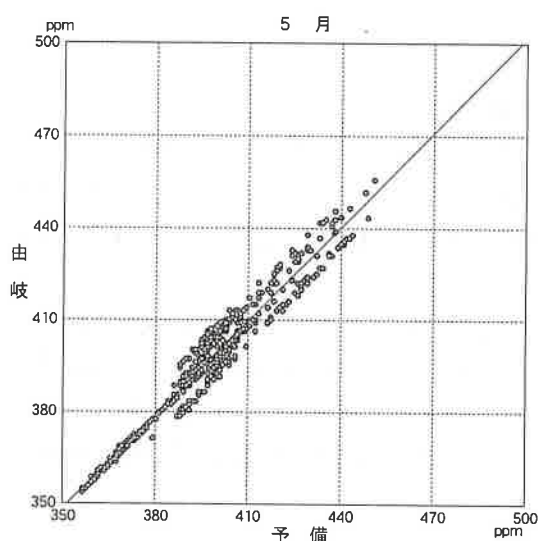
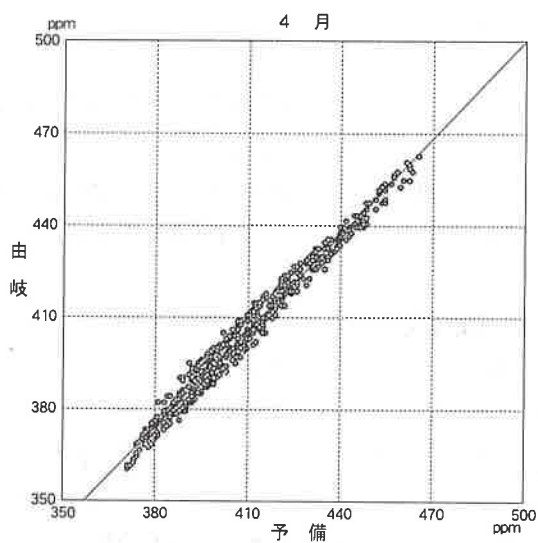


図-1 並行運転相関

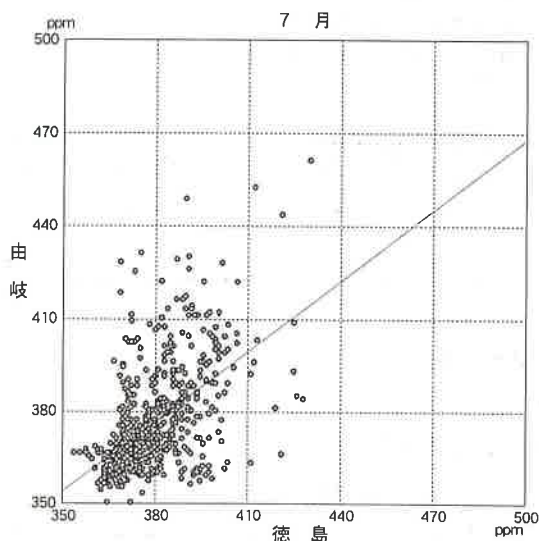
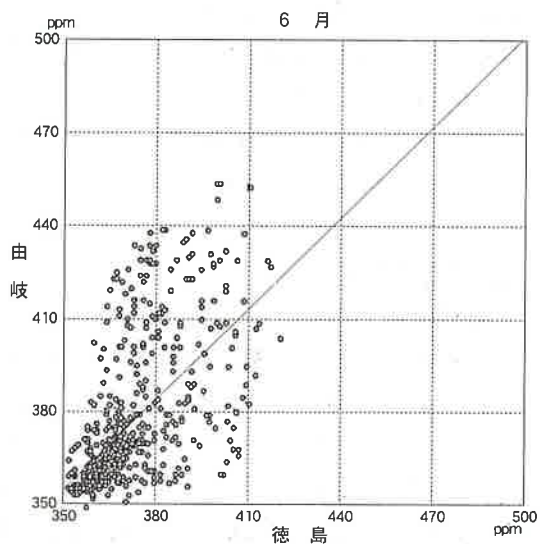


図-2 両局の相関

2 日平均値の推移

- (1) 並行運転時の日平均値の推移は、図-3に示すように濃度変化の傾向はよく一致している。
- (2) 6月～7月の日平均値の推移は、図-4に示すとおりであり、地点間の周辺条件の差が現れている。

3 時間別推移

由岐局の4月～5月の時間別平均値の濃度変化は、図-5に示すとおり、0～500ppmのスペンでは変化は殆ど見られな

期 間：平成10年（1998年）4月1日～平成10年（1998年）5月29日
測定局：由岐（由岐小学校）

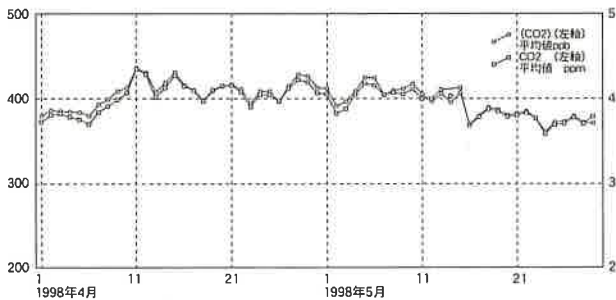


図-3 並行運転の経日変化

期 間：平成10年（1998年）4月1日～平成10年（1998年）5月29日
測定局：由岐（由岐小学校）

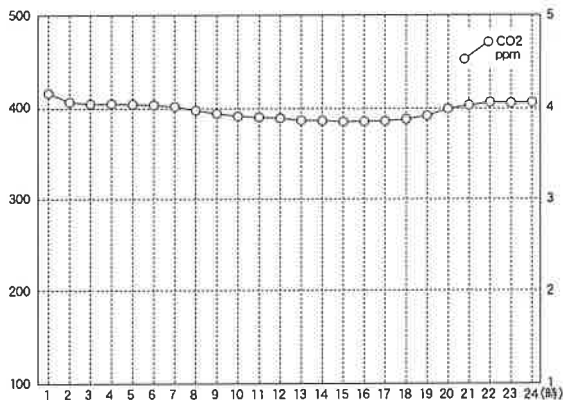


図-5 時間別濃度変化

いが、これを350～450ppmのスペンに拡大すると、昼間に低く夜間に高い傾向が見られ、これは植性による二酸化炭素の吸収・排出によるものと考えられ、この現象は徳島局でも同様であった。

4 風速との関連

6月～7月について、日平均風速と日平均濃度の関係について見た結果、図-6に示すように概ね逆相関の傾向があり、風の強さは徳島局が高くなっている。

期 間：平成10年（1998年）6月1日～平成10年（1998年）7月31日
項 目：二酸化炭素 平均値 単位：ppm

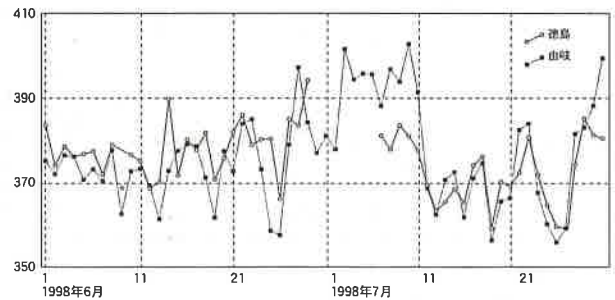


図-4 両局の経日変化

期 間：平成10年（1998年）4月1日～平成10年（1998年）5月29日
測定局：由岐（由岐小学校）

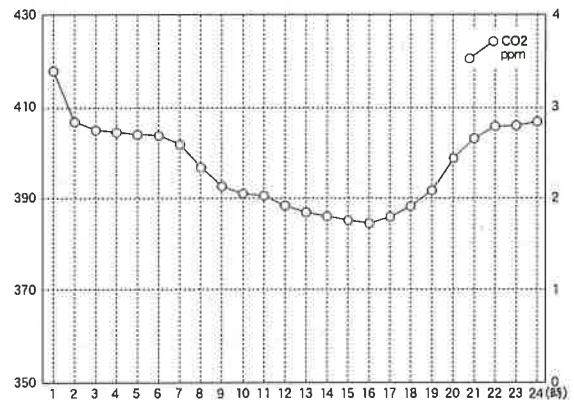


図-6 風速との関連

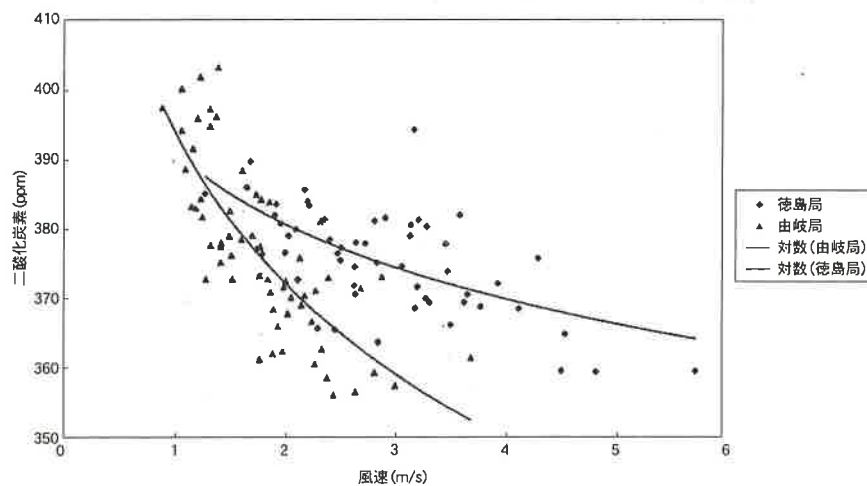


図-6 風速との関連

5 平成10年度の結果

両地点について、四季別時間濃度を比較すると、表-3に示すように、春季（3月～5月）・夏季（6月～8月）・秋季（9月～11月）は殆ど濃度に差は見られないが、冬季（12月～2月）は平均値で徳島局が約70ppm高くなっており、この原因については今後の結果を待ちたい。

表-3 H10年度の2地点の四季別時間濃度の比較（ppm）

季別	季 期	地点	最高値	最低値	平均値
春	3～5月	徳島	435	366	384
		由岐	444	355	388
夏	6～8月	徳島	430	352	377
		由岐	460	349	379
秋	9～11月	徳島	433	354	383
		由岐	415	348	375
冬	12～2月	徳島	450	443	444
		由岐	392	357	372

6 他府県等との比較

徳島・由岐両局の平成10年度の結果を他府県等の結果と比較して表-4に示す。

測定年度（地点数）が異なるため直接の比較は難しいが、概ね370ppm～390ppmの範囲内にあり、府県等の間に大きな差は見られていない。

表-4 他府県等との比較

府 県 等	地点数	測定年度	平均濃度（ppm）
京 都 府	4	H 5～8年度	383
埼 玉 県	2	H 4～8年度	378
横 浜 市	5	H 5～9年度	389
国 設 筑 波	1	S 62～H元年	370
愛 知 県	1	H 4年度	371
徳 島 県	2	H10年度	388

IV ま と め

一般環境大気測定局徳島と由岐において、平成9年度から二酸化炭素の連続測定を実施した結果、その濃度範囲・濃度変化等を知ることが出来た。

今後も引き続き測定を実施し、石炭火力発電所による濃度変化についても調査することとしている。

徳島県における大気測定地点の類似性について

徳島県保健環境センター

立木 伸治・中島 信博

Similarity of Air Monitoring Points in TOKUSHIMA Prefecture

Shinji TATSUKI and Nobuhiro NAKAJIMA

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : 二酸化硫黄 Sulfer Dioxide, 窒素酸化物 Nitrogen Oxide, 浮遊粒子状物質 Sus-pend Particulate Matters

I はじめに

徳島県では一般環境測定局22局で大気の常時監視を行っており、12地域に対して緊急時報の発令解除を行っている。現在、緊急時報発令対象区域における測定局一局あたりの面積は表-1のとおりであり、一局が監視する発令対象地域の面積差は最大で19.93倍となっている。

表-1 測定局1局あたりの面積

対象区域	区域面積(km ²)	測定局数	一局あたりの面積(km ²)
鳴門区域	135.24	1	135.24
松茂区域	13.10	1	13.10
藍住区域	16.27	1	16.27
北島区域	13.01	1	13.01
徳島市北部区域	17.25	1	17.25
徳島市区域	169.80	1	169.80
那賀川区域	18.65	2	9.33
羽ノ浦区域	8.52	1	8.52
阿南区域	252.12	4	63.03
鷲敷区域	29.79	1	29.79
由岐区域	23.16	1	23.16

そこで今回、現在まで当センターに蓄積されているデータを用い、測定地点の現状を把握するとともに、近接した測定地点に類似性があるかどうか検討したので報告する。

II 調査項目

測定地点は図-1のとおりである。類似性を検討した地点間は図中に矢印で示している。なお、22局のうち徳島市と阿南市が設置している6局は未測定項目があるので、今回の調査対象から除外した。類似性を検討するにあたって使用したデータは、昭和62年度から平成8年度までの10年間における二酸化硫黄、窒素酸化物、浮遊粒子状物質の月平均値を使用した¹⁾。使用したデータの測定方法は、二酸化硫黄が溶液導

電率法、窒素酸化物が吸光光度法、浮遊粒子状物質がβ線吸収法である。

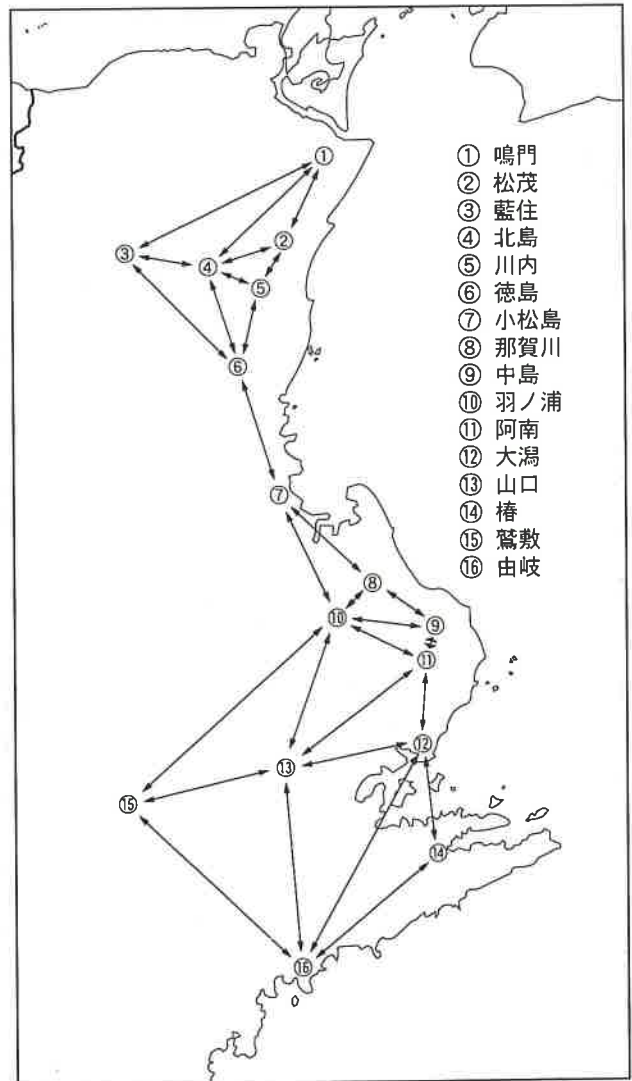


図-1 測定地点の設置場所

III 結 果

二酸化硫黄の測定値の相関を調べた結果は、図-2のとおりである。いずれの地点間も相関係数が0.7以下で、相関が強くあらわれたところはなかったが、松茂を中心とする地域と、羽ノ浦⑩-阿南⑪を中心とする地域にある程度の相関がみられた。また、羽ノ浦⑩-鶯敷⑬は地点間距離が長く、周囲の状況も大きく異なっているにもかかわらずある程度の相関がみられた。

測定地点が海岸に近接している大渦⑫と椿⑭はいずれの地点とも強い相関はあらわれなかった。全体的に強い相関が現れなかったのは、二酸化硫黄の測定値が小さいことが原因と考えられる。

窒素酸化物の測定値の相関を調べた結果は、図-3のとおりである。松茂②-北島④-川内⑤を中心とする地域と、羽ノ浦⑩-阿南⑪を中心とする地域に強い相関があらわれた。これらの地域は測定地点の周囲に主要な幹線道路があり、交通量も多い地域である。また、鳴門①から阿南⑪にかけての国道11号線と国道55号線の周辺にある測定地点での地点間相関が、道路に沿うような形であらわれていた。さらに、山口

⑬-鶯敷⑬や大渦⑫-椿⑭-由岐⑯のように自動車通行量の少ない山間部や海岸沿いの地域にも強い相関があらわれた。しかし、阿南⑪-大渦⑫のように主要発生施設からの距離が近い位置にあるものの、道路環境に違いのある地点間についての相関は弱かった。また、藍住③は近距離にある北島④、川内⑤との相関が弱く、距離の長い徳島⑥との地点間相関が強くあらわれた。

浮遊粒子状物質の測定値の相関を調べた結果は、図-4のとおりである。松茂②-川内⑤を中心とする地域と、羽ノ浦⑩-阿南⑪を中心とする地域に強い相関が見られた。また、海岸部にある大渦⑫-椿⑭-由岐⑯にも強い相関が見られた。また、地点間の相関係数が0.8以上のものは小松島⑦以南に集中していた。さらに、他の地点間においても相関係数はほとんどのものが0.7以上であり、広域的に相関があることがうかがえる。

全体的にみると、測定地点間の相関係数は浮遊粒子状物質が最も大きく、以下、窒素酸化物、二酸化硫黄の順で小さくなっている。

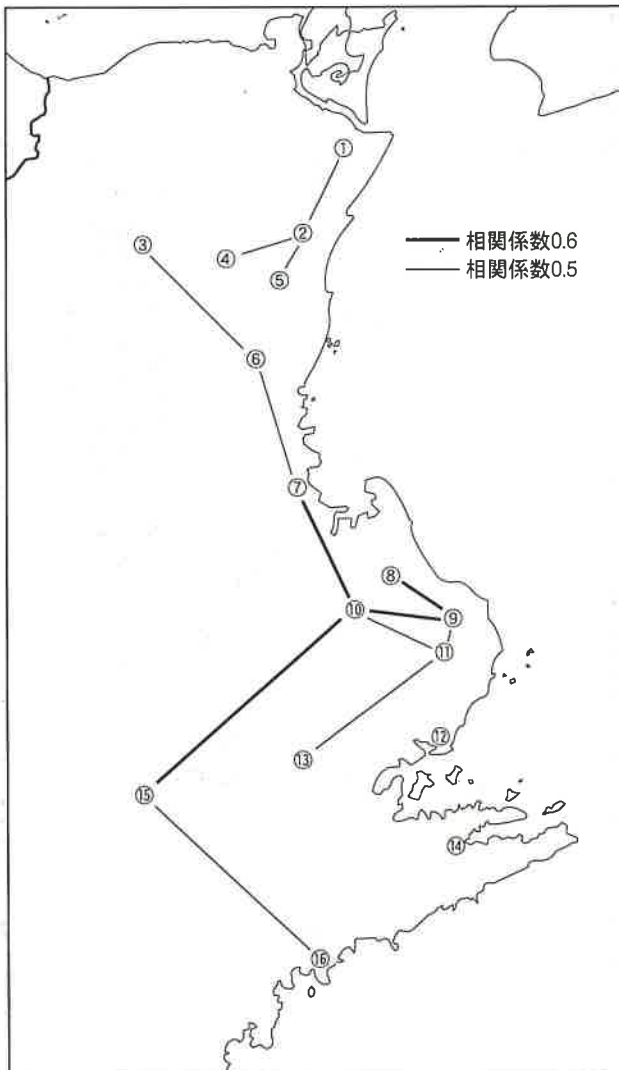


図-2 二酸化硫黄の地点間相関

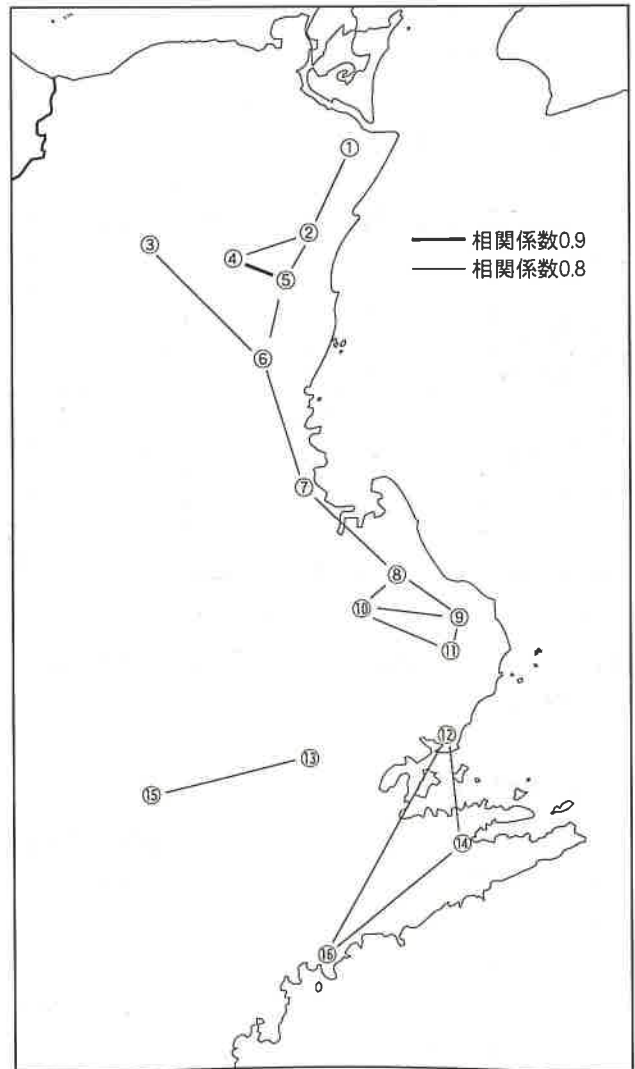


図-3 窒素酸化物の地点間相関

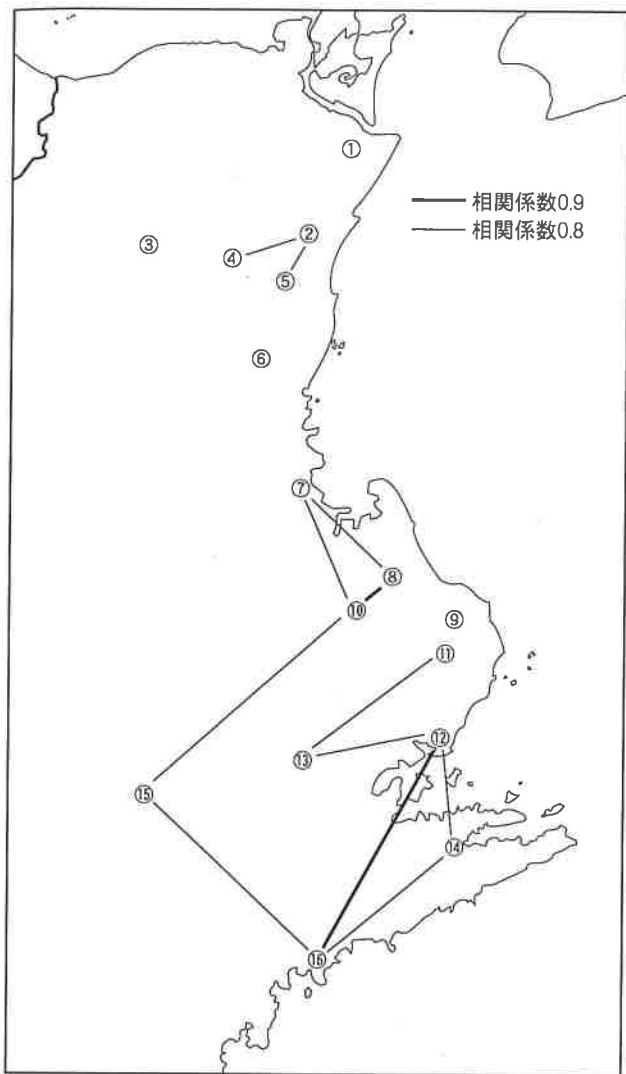


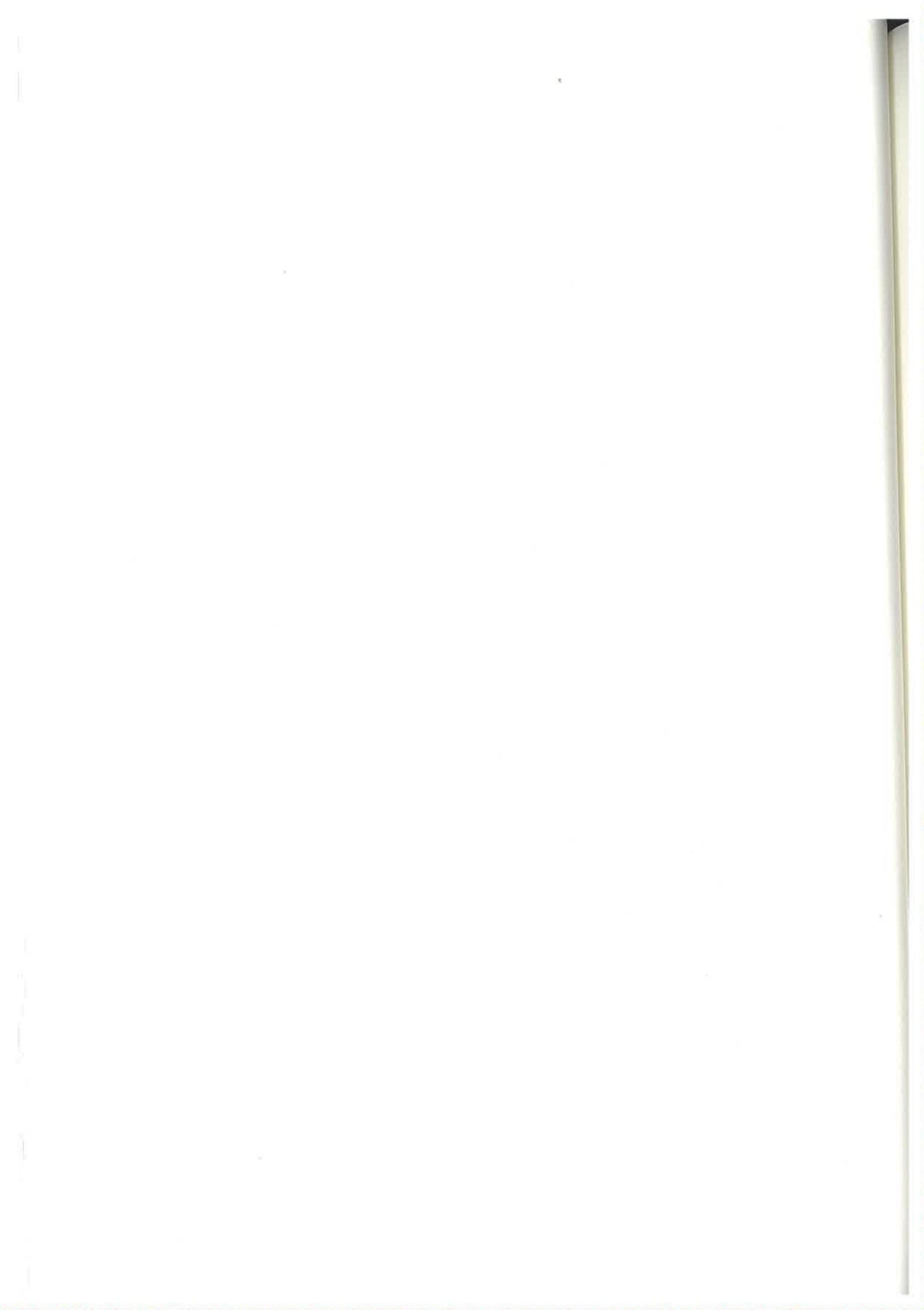
図-4 浮遊粒子状物質の地点間相関

IV まとめ

今回、これまでに蓄積してきたデータを用いて測定地点間の類似性を検討したが、県北部の松茂②-北島④を中心とする地域と、県南部の中島⑨-羽ノ浦⑩を中心とする地域においてある程度の類似性を見いだすことができた。しかし、ここ数年で徳島県は明石海峡大橋、徳島自動車道の開通等により発生源の状況に変化が生じている。測定環境の変化により測定値がどのように変化するのかこれからも注目していきたい。

文献

- 1) 徳島県保健環境センター：環境大気測定局測定結果報告書，昭和62年～平成8年



平成10年度における徳島県のオキシダント濃度について (第24報)

徳島県保健環境センター

高谷 良子・中島 信博・立木 伸治
片田 正己・犬伏 宏行・多田 久代

Oxidants Concentration in Tokushima Prefecture (XXIV)

Ryoko TAKAYA, Nobuhiro NAKAJIMA, Shinji TATSUKI,
Masami KATATA, Hiroyuki INUBUSHI and Hisayo TADA

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : オキシダント濃度 oxidants concentration, 緊急時報(注意報, 警報), emergency reports (warnings and alarms)

I はじめに

徳島県における平成10年度のオキシダント緊急時報は、注意報6日(8月5日, 8月20日, 8月21日, 8月22日, 9月10日, 9月11日)の発令があった。注意報の発令は、平成7年度以降4年連続であった。警報の発令はなかった。

平成10年度のオキシダント高濃度(以下、特に注釈のない限り「0.08ppm以上」をいう。)発生日は79日で、昨年度の88日を下回ったが、過去3番目であった。

全国的な状況を見ると²⁾、注意報の発令延日数は135日(22都府県)であり、昨年度の95日(20都府県)より40日増加している。警報の発令はなかった。

ここでは、平成10年度の徳島県のオキシダントの発生状況について報告する。

II 調査方法

1 測定地点

図-1に示すように16局で測定している。

2 測定方法

(1) オキシダント

電気化学計器(株)製 GXH-103型又は GUX-113型(乾式:川内局)を使用。中性ヨウ化カリウム溶液を用いる吸光光度法又は紫外線吸収法。

(2) 風向・風速

光進電気工業(株)製 MV-110PC-S型, MV-110PC型, MSV-

320型微風向風速計又は日本エレクトリックインスルメント製 N-262LV-2R 型微風向風速計を使用。

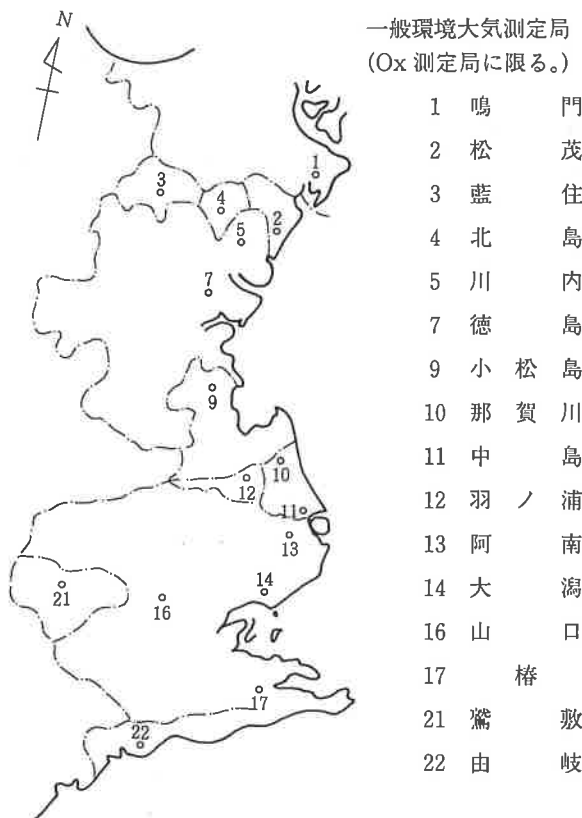


図-1 一般環境大気測定局位置図

III 調査結果及び考察

1 高濃度オキシダント等の発生状況

(1) 環境基準との対応状況

表-1に示すように、16局全局で環境基準(0.06ppm以下)を超える日がみられた。平成10年度において超過日数の多い上位3局は大湊局(150日)、椿局(150日)及び由岐局(137日)であった。図-2で測定局別に過去5年間の超過日数を示しているが、昨年度と比較して北部・中部区域は減少傾向、南部区域は上昇傾向である。各区域で、目立った増減があった局は、北島局が42日減、川内局が25日減、阿南局が61日増である。超過日数が100日以上となったのは16局中8局と、昨年度(11局)より減っている。

(2) 高濃度日の発生状況

① 発生日総数

表-2に示すとおり0.08ppm以上になった日数は79日、0.10ppm以上となった日数は31日、0.12ppm以上となった日数は11日あった。0.10ppm及び0.12ppm以上となった日数は過去10年間で最高であった。

表-3、4及び図-3に示すとおり、平成10年度の全国の注意報等の発令延日数は135日、大阪湾地域では33日であり、過去10年間の全国平均126日、大阪湾地域での平均20日より多い。平成10年度の発令最多都府県は大阪府の25日、次いで広島県の15日であった。

過去の状況と比べると、関東地域がやや減少し、それ以外

表-1 局別・月別高濃度オキシダント等発生状況(平成10年度)

区 分 局	0.06ppmを超えた日数										0.08ppm以上の日数										0.10ppm以上の日数										0.12ppm以上の日数									
	4	5	6	7	8	9	10	3	他	計	4	5	6	7	8	9	10	3	他	計	4	5	6	7	8	9	10	3	他	計	4	5	6	7	8	9	10	3	他	計
鳴門	13	17	15	14	18	13	5		95	2	10	4	5	9	6					36	2		2	5	3					12										1
松茂	17	19	14	13	16	10	6		95	2	8	2	3	7	5					27					3	1				4										1
藍住	12	20	15	12	14	9	4	1	87	1	9	3	4	6	5					28	1				2	2				5										0
北島	13	15	12	9	11	11	1		72	3	5	1	1	7	4					21						2				2										0
川内	13	18	14	15	19	11	5	2	101	3	9	5	4	10	6					37				1	6	3				10										3
徳島	6	12	10	11	14	10	3		66	6	6		3	6	6					21						3	3			6										1
小松島	15	15	5	4	8	10	7		64	5	6		1	5	5	1				23						2	3			5										0
那賀川	16	19	17	10	10	12	4	1	93	6	10	6	4	5	7					38	1		1	2	3					7										0
中島	19	20	14	13	15	10	5	3	101	4	10	4	2	5	5	1				31	2				3	2				7										0
羽ノ浦	17	20	15	17	15	11	8	7	111	3	10	4	4	6	6	1				34	1		1	3	4					9										0
阿南	20	20	13	15	17	10	8	11	121	8	11	5	2	6	5	1				38	2		1	3	2					8	1									1
大湊	22	19	15	18	19	13	15	10	150	10	10	7	8	9	9	2				55	1	2		1	3	5				12										1
山口	16	17	13	13	13	6	7	12	112	5	9	5	3	6	3					31	2				3	1				6										0
椿	24	20	19	21	20	11	8	15	150	13	14	12	5	10	6					60	3	7	3	2	6	2				23	2									4
鷺敷	15	17	9	6	10	11	4	4	79	3	8	2		5	5					23	2				1	1				4										0
由岐	18	18	18	16	19	15	12	11	137	8	9	8	6	10	9	2				52	1	1	1	5	5					13										2
計	256	286	218	207	238	173	102	77	1,634	76	144	68	55	112	92	8	0	0	555	4	23	4	10	50	42	0	0	0	133	0	3	0	0	10	6	0	0	0	19	

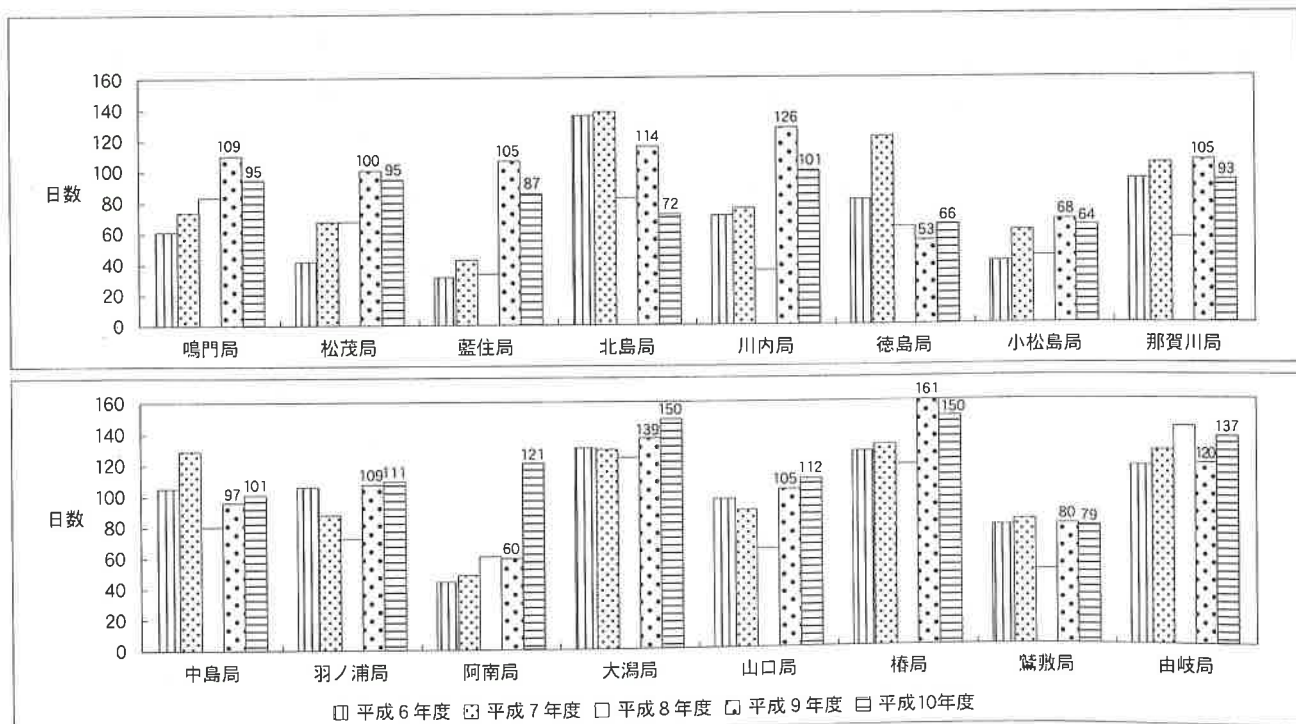


図-2 局別0.06ppmを超えた日数

の地域、特に大阪湾地域における上昇が目立っている。

表-4に各都府県における注意報等発令日数の推移を示す。

② 月別(16局全局)発生日数

表-2に示すとおり、平成10年度の県下全体の高濃度発生日数を月別に比較すると5月=8月>4月>6月>7月>9月>10月の順である。高濃度発生日数は過去10年間と比較すると、8月・9月が3倍、5月・6月・7月が2倍となっている。また0.10ppm以上発生日数は過去10年間の4倍、0.12

ppm以上発生日数は9倍となっている。

全国の注意報の発令状況(表-4)においても、平成10年度は出足が早く、4月に6日、5月に17日発令されている。全発令日数に占める4、5月の割合は過去5年間で最高である。

③ 局別発生日数

局別が高濃度日数を見ると、表-1に示すとおり、上位5局は椿局>大湊局>由岐局>那賀川局=阿南局となっている。

表-5 高濃度オキシダント発生時刻と時間数(平成10年度)

時刻(時)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	計
発生時刻延回数	—	0	0	1	0	0	0	0	0	3	24	83	107	104	105	65	37	19	3	2	0	2	0	0	555
(%)	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	4.3	15.0	19.3	18.7	18.9	11.7	6.7	3.4	0.5	0.4	0.0	0.4	0.0	0.0	100.0
発生中延時間数	—	0	0	1	0	0	0	0	0	3	27	109	214	288	371	377	323	258	130	50	39	31	16	3	2,240
(%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	1.2	4.9	9.6	12.9	16.6	16.8	14.4	11.5	5.8	2.2	1.7	1.4	0.7	0.1	100.0

(注) 1 表中「発生時刻延回数」とは、当該時刻において初めて高濃度(0.08ppm以上)となった局数の年間合計を示す。
2 表中「発生中延時間数」とは、当該時刻において高濃度である局数の年間合計を示す。

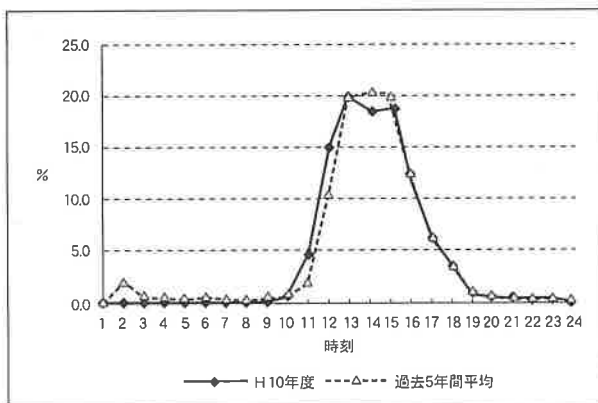


図-4 発生時刻延回数

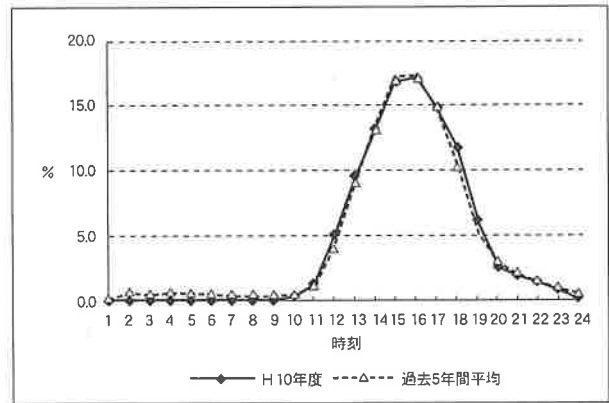


図-5 発生中延時間数

表-6 高濃度オキシダント発生前3日間及び当日の天候(平成10年度)

天候	晴	曇	雨	計
3日前(6時~18時)	30(38)	37(47)	12(15)	79
(18時~2日前6時)	38(48)	30(38)	11(14)	79
2日前(6時~18時)	38(48)	32(41)	8(10)	79
(18時~1日前6時)	39(49)	32(41)	8(10)	79
1日前(6時~18時)	40(51)	33(42)	6(8)	79
(18時~当日6時)	48(61)	26(33)	5(6)	79
当日(6時~18時)	47(59)	30(38)	2(3)	79

(注1) 徳島地方気象台の観測データに基づき作成したものである。
(注2) カッコ内は%を示す

表-7 高濃度オキシダント発生と日照時間(平成10年度)

日照時間	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10以上	計
時間	0.9	1.9	2.9	3.9	4.9	5.9	6.9	7.9	8.9	9.9		79
日数	2	0	3	5	4	5	6	2	6	11	35	79
(%)	2.5	0.0	3.8	6.3	5.1	6.3	7.6	2.5	7.6	13.9	44.3	100.0

(注) 徳島地方気象台の観測データに基づき作成したものである。

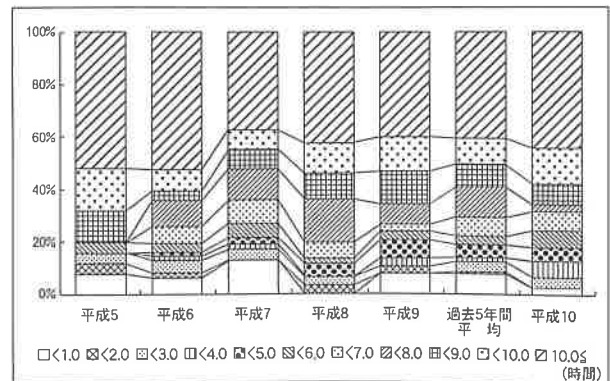


図-6 高濃度オキシダント発生と日照時間の経年変化

表-8 平成10年度 月別気象状況

項目 月	気 温 (°C)				降 水 量 (mm)				日 照 時 間 (hr)			
	10年度	平 年	平 年 との差	平年比 (%)	10年度	平 年	平 年 との差	平年比 (%)	10年度	平 年	平 年 との差	平年比 (%)
10年 4月	17.2	14.3	2.9	120.3	193.0	130.9	62.1	147.4	164.2	173.3	-9.1	94.7
5月	21.1	18.6	2.5	113.4	395.5	136.6	258.9	289.5	150.9	191.6	-40.7	78.8
6月	22.8	22.1	0.7	103.2	296.0	229.6	66.4	128.9	134.6	147.8	-13.2	91.1
7月	27.3	26.1	1.2	104.6	106.5	168.6	-62.1	63.2	202.2	190.2	12.0	106.3
8月	28.9	27.2	1.7	106.3	22.5	178.4	-155.9	12.6	221.7	213.3	8.4	103.9
9月	25.3	23.7	1.6	106.8	382.5	307.8	74.7	124.3	132.2	150.9	-18.7	87.6
10月	21.1	18.1	3.0	116.6	323.5	141.7	181.8	228.3	146.1	158.2	-12.1	92.4
11月	13.9	12.9	1.0	107.8	9.0	96.9	-87.9	9.3	154.8	145.9	8.9	106.1
12月	10.1	7.9	2.2	127.8	15.0	37.9	-22.9	39.6	170.1	154.1	16.0	110.4
11年 1月	6.7	5.4	1.3	124.1	10.0	46.7	-36.7	21.4	185.3	156.3	29.0	118.6
2月	6.3	5.7	0.6	110.5	29.0	56.3	-27.3	51.5	179.4	143.0	36.4	125.5
3月	10.5	8.7	1.8	120.7	93.5	83.1	10.4	112.5	117.6	169.2	-51.6	69.5

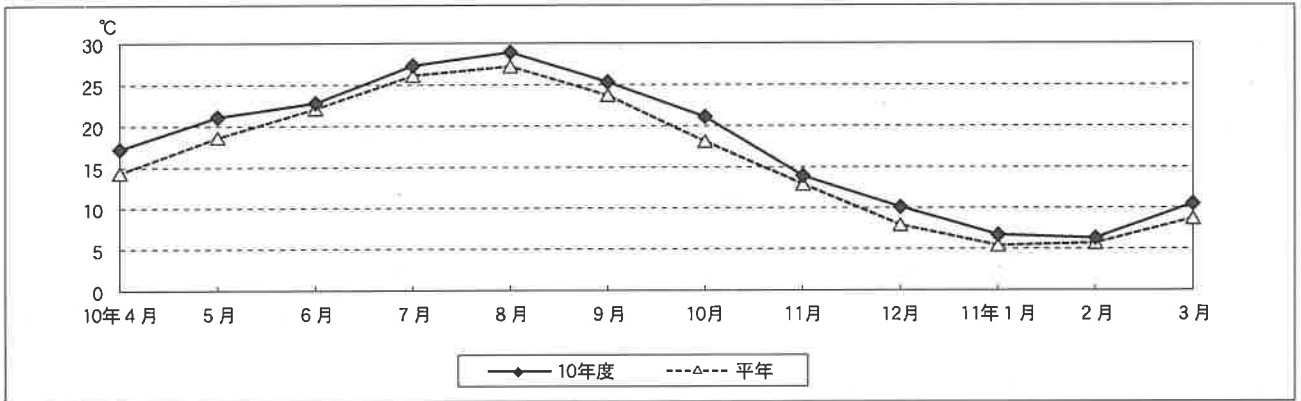


図-7 気温の状況

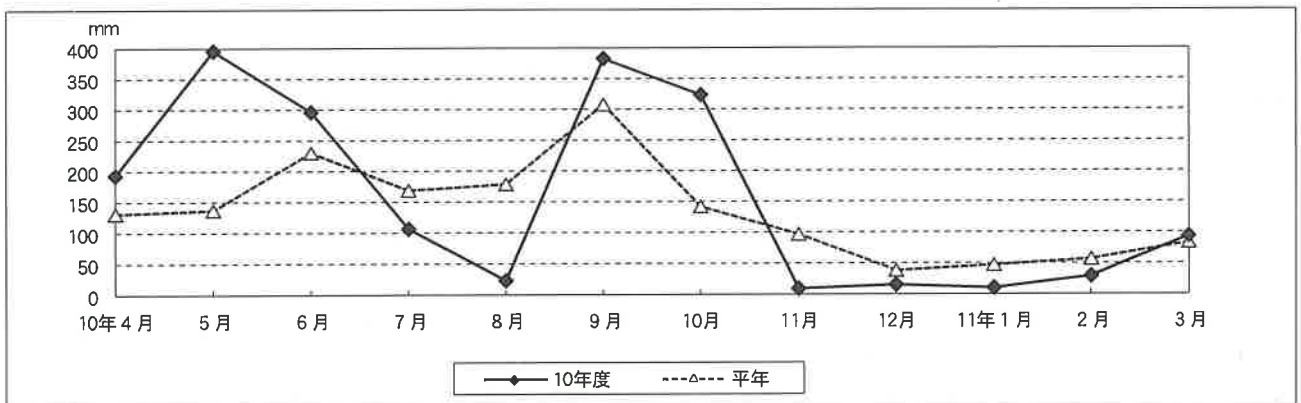


図-8 降水量の状況

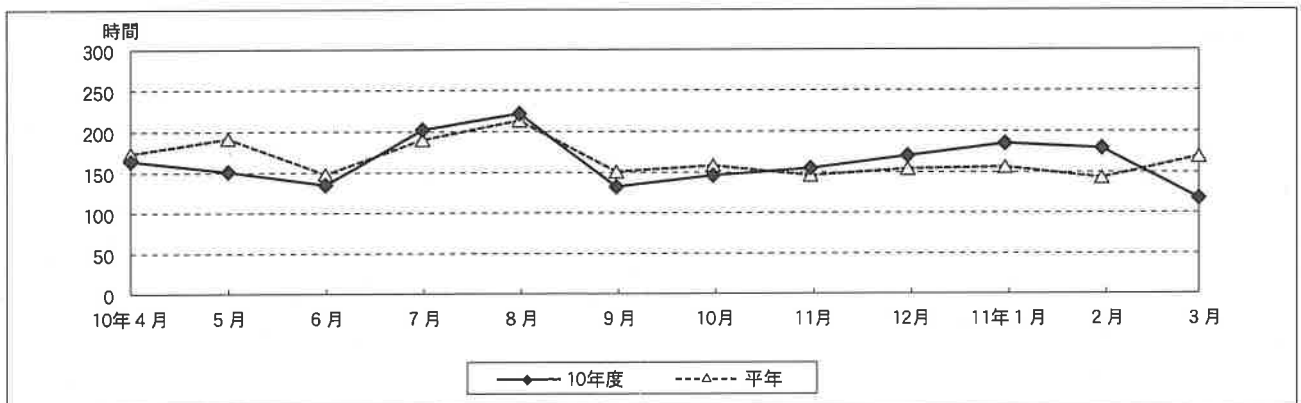


図-9 日照時間の状況

南部区域での発生が目立つ。

④ 発生時刻と時間数

表-5に示すとおり、初めて高濃度となった発生時刻延回数、13時>15時>14時>12時の順であり、発生中延時間数は、16時>15時>17時>14時となっている。

平成10年度と過去5年間平均を比較すると、図-4、5に示すとおり、発生中延時間はほとんど同じである。一方発生時刻は、ピーク時間は昨年度と同じ13時だが、11時~13時に初めて高濃度となった局の割合がわずかに増えている。つまり、オキシダントが過去5年間より早い時刻に高濃度となったことを示している。

2 高濃度オキシダントと気象の関係

(1) 天候との関連

平成10年度の高濃度発生日の天候は、表-6に示すとおりで、「当日・晴」が約60%あり、曇が約40%と平成9年度より多かった。日照時間は表-7、図-6に示すように、7時間以上が68%だった。

また、月別の気温・降水量・日照時間からみると³⁾、表-8、図-7~9に示すとおり、月平均気温は年間を通して0.6~3.0℃平年より高くなっていった。また降水量は、7月・8月・9月は9月中旬に台風が来るまで平年の10~60%と少なく、高濃度オキシダントが発生しやすい条件であった。しかし、5月は平年に比べ日照時間が少なく、降水量も多いに

もかわらず高濃度日が多く、高濃度発生日の約半数が曇りがちで、そのうち3日は降水も記録されている。

(2) 風向・風速との関連

高濃度発生時の風向は表-9に示すとおり、高い順にE(13.8%)、ESE(12.8%)、S(9.5%)、SSE(8.0%)となり、E~Sの90°の方角で50.5%を占めている。

高濃度発生時の風速は表-10、図-10に示すとおり、1.0~3.9m/sが中心で80.7%を占め、5.0m/s以上が2.8%になっている。過去5年間の平均割合は1.0~3.9m/sが中心で71.7%を占め、5.0m/s以上が10.6%で、平成9年度において前年度比較で低風速の割合が増加する傾向があったが、平成10年度はさらにその傾向が強い。

3 オキシダント濃度の状況

(1) 全体(16局全局)

全局の昼間の日最高値の年平均値は、表-11、図-11に示すとおり平成10年度は0.051ppmで、昨年度に続き過去最高となっている。月平均値を5年間平均値と比較すると、3月と4月で5年間平均値を下回った以外は全ての月で上昇しており、注意報の発令のあった8月で0.017ppm増加し、7月でも0.015ppm増加しているのが目立っている。この2ヶ月は昨年度と比較しても、8月は0.010ppm、7月は0.015ppm増加している。

表-9 高濃度オキシダント発生時の風向頻度(時間数)

(平成10年度)

風向 局名	N	NNE	NE	ENE	E	ESE	SE	SSE	S	SSW	SW	WSW	W	WNW	NW	NNW	主風向
鳴門	16	4	2	4	7	9	16	25	14	2					5	39	NNW~N,SE~S
松茂	11	7	1	4	16	34	5	9	1		1		1	4	9	10	NNW~N,E~ESE
藍住	16	11	5	7	18	12	5		1					4	4	4	N~NNE,E~ESE
北島	3	5	3	4	17	12	5	3	1					2	7	4	E~ESE
川内	11	14	1	3	29	39	11	13	2	1		1			3	27	E~SSE
徳島	4	1	2	10	15	12	11	6	8		1				2	10	ENE~SE
小松島	5	6	3	4	18	8	3	17	4	1					1	1	E~SSE
那賀川	10	7	19	19	10	3	10	10	20	24	5		3	2		2	N~E~SSW
中島	17	13	14	7	6	13	9	12	19	13	1	1	1		1	9	N~E~SSW
羽ノ浦	14	10	23	18	16	6	7	10	30	5		2	3	1	1	5	N~E~S
阿南	8	11	9	7	4	5	10	15	26	17	5	2	1	2		5	N~ENE,SE~SSW
大湊	2	2	13	15	23	44	17	19	29	9	16	14	11	2	5	1	NE~S~W
山口	2	4		3	22	27	7	4	2	2	16	3	1			6	E~ESE,SW
梶	1	2	7	35	81	27	7	21	36	32	33	13	14	3	3	4	ENE~S~W
鷺敷	4	6	5	5	9	19	4	2	1			1	2	7	1	1	E~ESE
由岐	20	11	11	5	10	10	13	9	13	42	49	3	1	0	1	3	N~S~SW
計	144	114	118	150	301	280	140	175	207	148	127	40	38	27	43	131	E~SE~S
(%)	6.6	5.2	5.4	6.9	13.8	12.8	6.4	8.0	9.5	6.8	5.8	1.8	1.7	1.2	2.0	6.0	

表-10 高濃度オキシダント発生時の風速頻度 (時間数) (平成10年度)

風速 局名	0.0 { 0.9 m/s	1.0 { 1.9 m/s	2.0 { 2.9 m/s	3.0 { 3.9 m/s	4.0 { 4.9 m/s	5.0 { 5.9 m/s	6.0 m/s 以上
鳴門	5	36	52	34	12	3	1
松茂	4	40	35	27	7		
藍住	6	44	33	3	1		
北島	2	12	32	14	6		
川内	4	26	44	37	18	14	10
徳島		25	29	14	12	2	
小松島	16	22	18	12	3		
那賀川	9	29	41	33	16	15	1
中島	5	29	37	25	18	14	5
羽ノ浦	8	28	40	35	25	10	5
阿南	6	37	24	26	20	12	2
大渦	24	86	72	27	8	4	1
山口	8	25	37	18	9	2	
椿	24	85	124	56	24	5	1
鶯敷	16	27	21	3			
由岐	33	96	57	10	5		
計	170	647	696	374	184	81	26
(%)	(8.0)	(30.4)	(32.7)	(17.6)	(8.6)	(1.6)	(1.2)

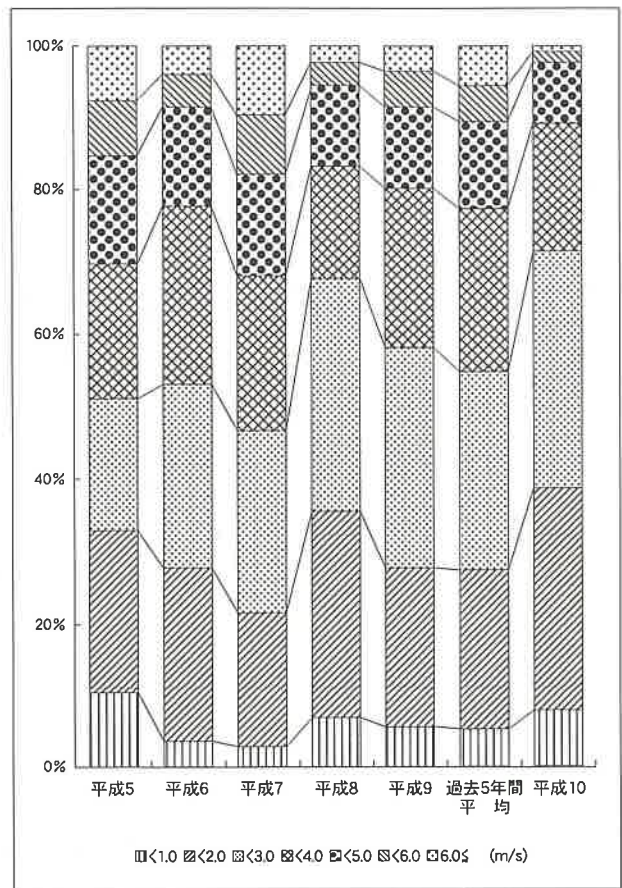


図-10 高濃度オキシダントと風速別出現頻度

表-11 全局のオキシダント昼間の日最高値の月平均値

単位：ppm

年度別	月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	平均
平成5年度		0.056	0.056	0.043	0.031	0.031	0.034	0.039	0.035	0.038	0.039	0.047	0.051	0.042
平成6年度		0.062	0.054	0.053	0.047	0.038	0.049	0.048	0.041	0.035	0.039	0.049	0.061	0.048
平成7年度		0.067	0.066	0.060	0.044	0.052	0.052	0.047	0.040	0.037	0.041	0.047	0.052	0.050
平成8年度		0.061	0.065	0.046	0.036	0.048	0.050	0.042	0.038	0.038	0.044	0.050	0.053	0.048
平成9年度		0.065	0.064	0.058	0.044	0.051	0.049	0.055	0.041	0.038	0.039	0.042	0.060	0.051
過去5年間平均		0.062	0.061	0.052	0.040	0.044	0.047	0.046	0.039	0.037	0.040	0.047	0.055	0.048
平成10年度		0.060	0.065	0.056	0.055	0.061	0.055	0.046	0.042	0.038	0.040	0.048	0.048	0.051

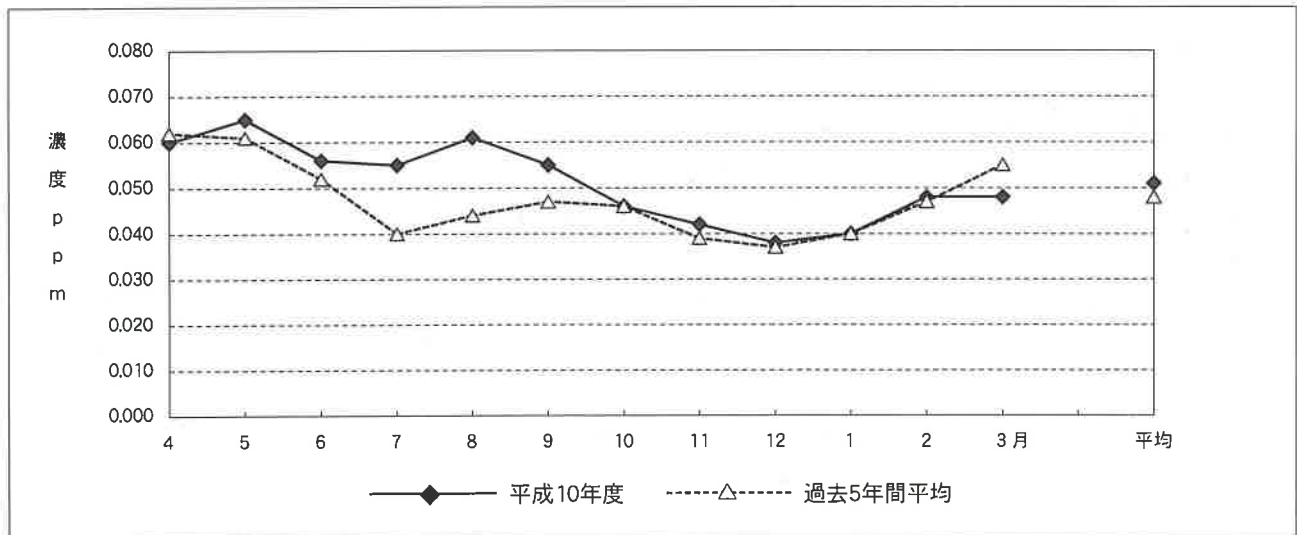


図-11 全局のオキシダント昼間の日最高値の月平均値

表-12 北部のオキシダント昼間の日最高値の月平均値

単位：ppm

年度別	月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	平均
平成5年度		0.053	0.051	0.040	0.028	0.028	0.030	0.033	0.032	0.035	0.035	0.043	0.049	0.038
平成6年度		0.057	0.052	0.053	0.046	0.039	0.047	0.043	0.038	0.031	0.035	0.042	0.057	0.045
平成7年度		0.063	0.064	0.060	0.045	0.052	0.050	0.047	0.034	0.032	0.036	0.042	0.049	0.048
平成8年度		0.057	0.063	0.043	0.035	0.047	0.046	0.033	0.034	0.033	0.041	0.047	0.048	0.044
平成9年度		0.061	0.062	0.057	0.044	0.055	0.048	0.053	0.038	0.034	0.036	0.040	0.057	0.049
過去5年間平均		0.058	0.058	0.051	0.040	0.044	0.044	0.042	0.035	0.033	0.037	0.043	0.052	0.045
平成10年度		0.055	0.063	0.052	0.052	0.062	0.054	0.043	0.037	0.033	0.035	0.041	0.042	0.047

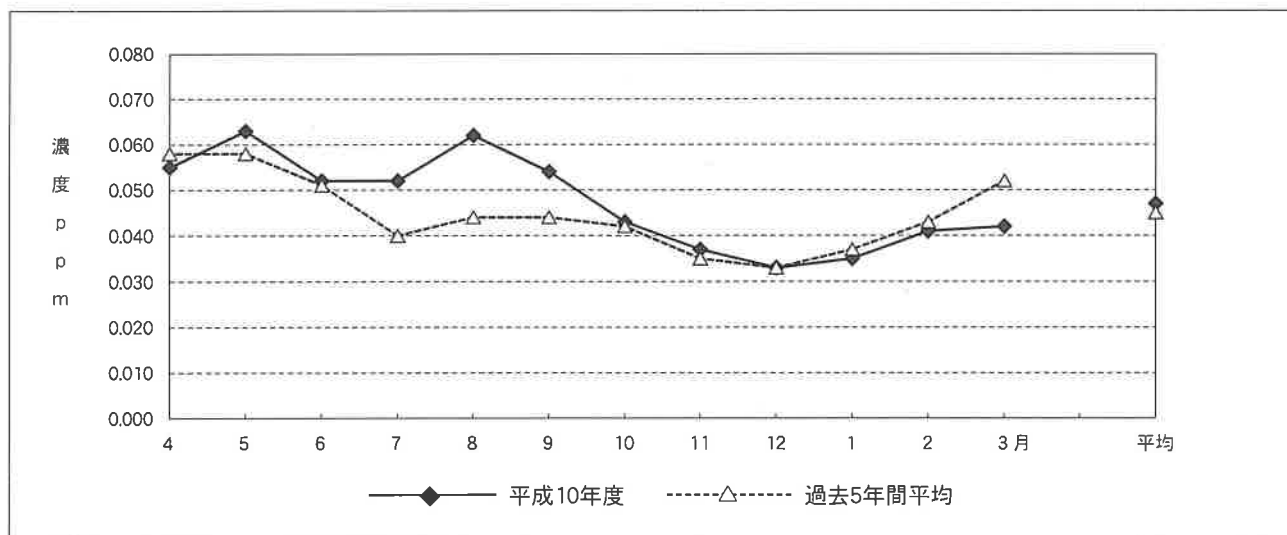


図-12 北部のオキシダント昼間の日最高値の月平均値

表-13 南部のオキシダント昼間の日最高値の月平均値

単位：ppm

年度別	月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	平均
平成5年度		0.059	0.060	0.046	0.033	0.033	0.038	0.044	0.038	0.040	0.042	0.050	0.053	0.045
平成6年度		0.066	0.056	0.054	0.048	0.038	0.050	0.051	0.044	0.038	0.042	0.053	0.063	0.050
平成7年度		0.071	0.068	0.061	0.043	0.051	0.054	0.047	0.046	0.042	0.045	0.052	0.055	0.053
平成8年度		0.064	0.067	0.047	0.037	0.048	0.053	0.048	0.041	0.041	0.047	0.053	0.056	0.050
平成9年度		0.068	0.066	0.059	0.043	0.048	0.049	0.057	0.043	0.040	0.041	0.043	0.062	0.052
過去5年間平均		0.066	0.063	0.053	0.041	0.044	0.049	0.049	0.042	0.040	0.043	0.050	0.058	0.050
平成10年度		0.064	0.067	0.059	0.057	0.061	0.056	0.049	0.046	0.042	0.045	0.054	0.053	0.054

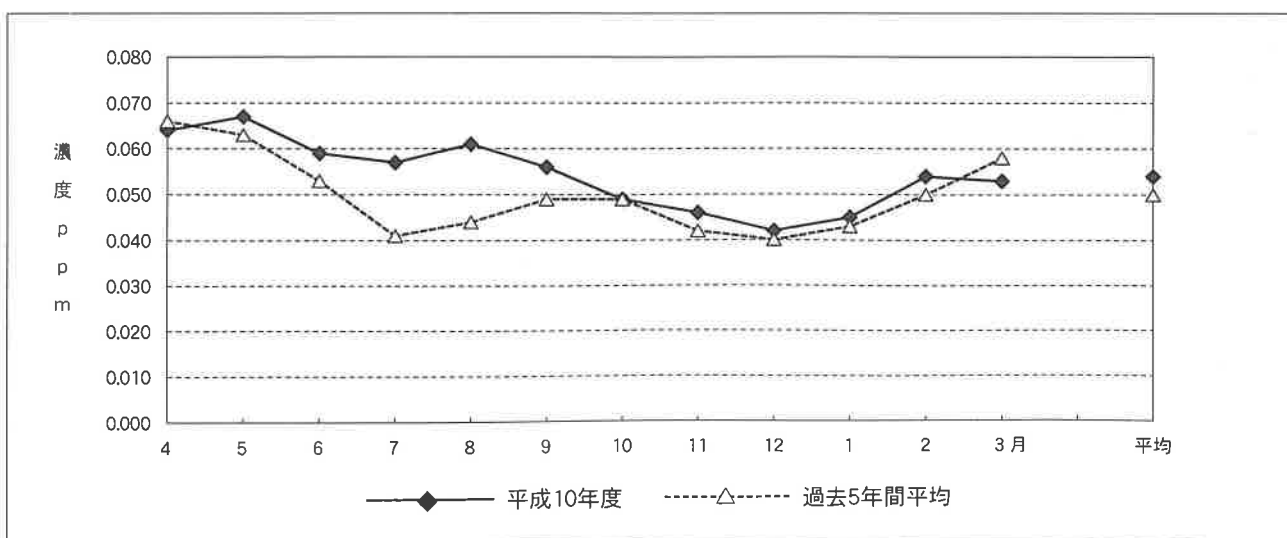


図-13 南部のオキシダント昼間の日最高値の月平均値

(2) 北部地域（鳴門局～小松島局）と南部地域（那賀川局～由岐局）

北部地域の昼間の日最高値の年平均は、表-12、図-12に示すとおり、平成10年度は0.047ppmであった。月別では、5月が一番高く0.063ppmを記録した。5年間平均と比べると5月～12月において高くなっているが、特に8月は0.018ppmも高くなっている。

同様のことを、南部地域と比較すると、表-13、図-13に示すとおり、昼間の日最高値の年平均は0.054ppmで、過去最高であった。月別では北部と同じく5月が最も高く0.067ppmを記録し、8月で5年間平均より0.017ppm高くなっている。

従来は南部地域が北部地域より10%程度高値を記録していたが、その差は小さくなっており、今年度では注意報が発令された8月と9月はその差がほとんどなくなっている。

IV まとめ

1 本県の平成10年度の高濃度オキシダント発生日数は79日であり、平成9年度の88日に続き高水準であった。

全国の平成10年度の注意報の発令日数は135日であり、昨年度より40日増加した。

2 本県の平成10年度の注意報の発生は8月に4回と9月に

2回あった。年間に6日の発令は過去最高である。

3 平成10年度の高濃度オキシダントが発生した時刻は、ピーク時刻は昨年度と同じ13時だが、11時～13時に高濃度に達した局が増えており、高濃度オキシダント発生時刻が早くなる傾向があった。高濃度であった時刻についてはほとんど同じであった。

4 昼間の日最高値の年平均値では、従来では南部地域が約10%程度高かったが、データの差は小さくなってきており、平成10年度では、特に高濃度発生月はほとんど差がみられない。

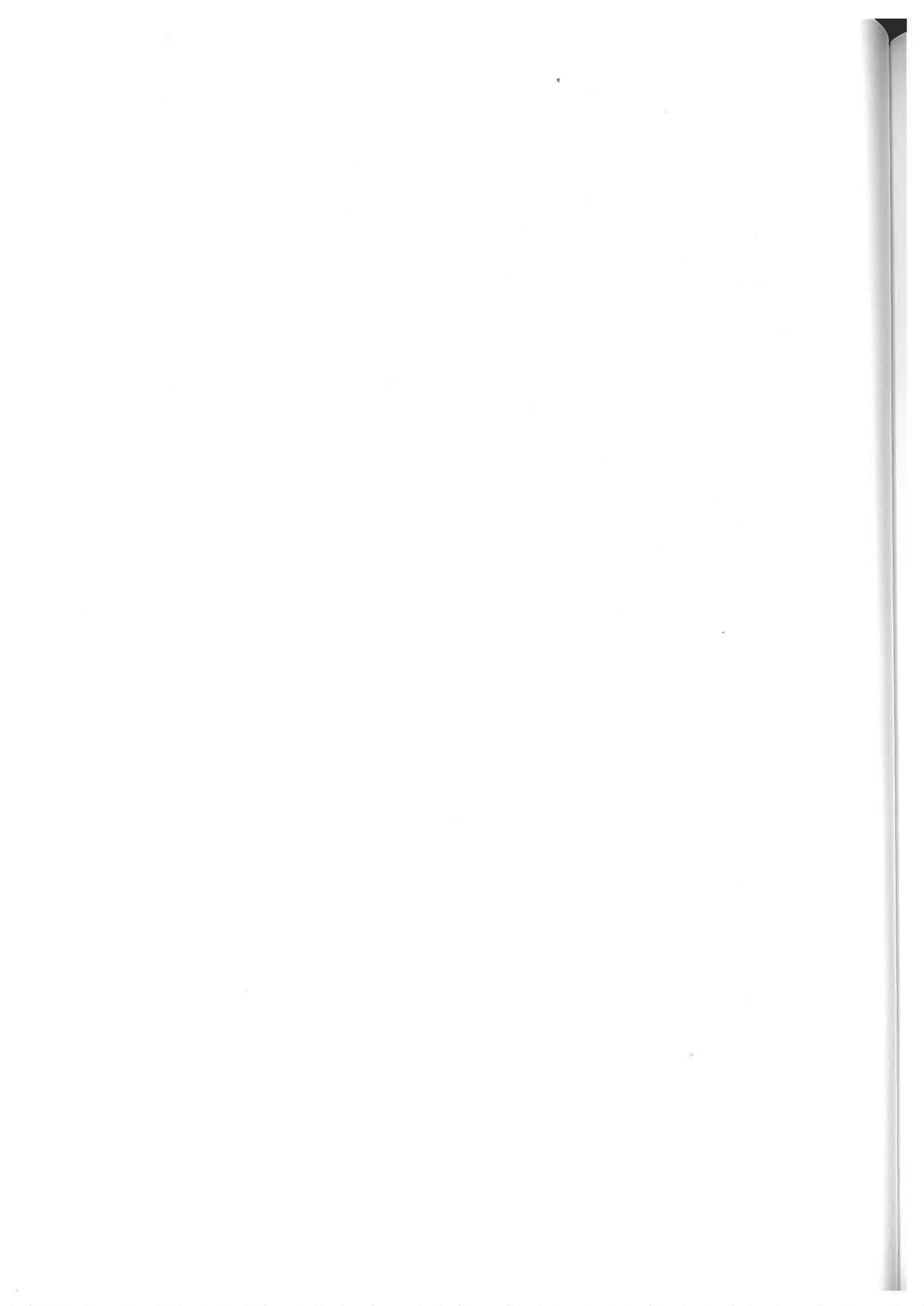
5 本県における高濃度オキシダント発生日数は増加傾向にあり、降雨の周期等の気象条件によっても注意報レベルの濃度になる可能性があるため、今後注意を要する。

文 献

1) 中島信博他：徳島県保健環境センター年報，16，43-50（1998）

2) 環境庁大気保全局企画課：光化学大気汚染関係資料（1998）

3) 日本気象協会徳島支部：徳島の気象，平成10年4月～平成11年3月



小さな航空機騒音の測定方法について

徳島県保健環境センター

森吉 通博

Studies on the Measurement of Low Level's Air Craft Noise

Michihiro MORIYOSHI

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : Lden (時間帯補正等価騒音レベル) Weighted equivalent sound level, L_{AE} (単発騒音暴露レベル) sound exposure level

I 緒言

関西空港の開港以来、徳島県内の広い範囲で、航空機による騒音の影響を受けている。比較的小さな騒音であるが、夜中に飛ぶことが多く、苦情も発生している。

この騒音の測定方法として、現在、人が現場にいて飛行機と確認しながら、騒音計で計測する方法を用いている。しか

し、飛行機は夜中も飛んでいるため、測定は1日中行わなければならない、大変な労力を要している。

そこで、今回、環境騒音実音モニター(リオン XT-10S型)を用いて、小さな航空機騒音を測定する方法を検討した。

II 調査方法

1 測定場所

図-1の1、図-1の2に測定地点を示した。関西空港には、06ルートと24ルートの2つの航空路があり、この地点は、両ルートの着陸航路のほぼ真下にある。

2 測定期間

平成11年4月28日～4月29日

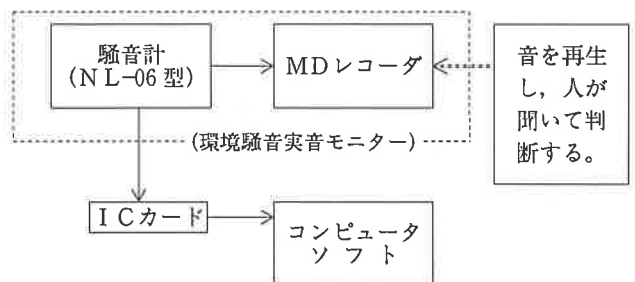
3 測定方法

(1) 測定機器

環境騒音実音モニター(リオン XT-10S)

これは、環境騒音測定用の機器として、最近、作られたものである。それを、今回は、航空機用として用いた。

(2) 測定手順



① 騒音計を24時間測定にセットする。

0.2秒間隔で騒音のデータを保存する。432000個のデータが記憶される。

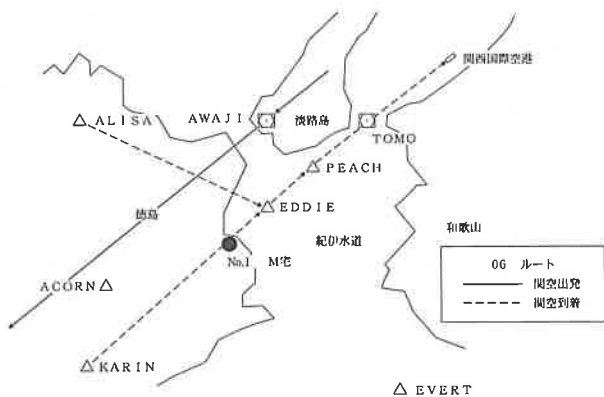


図-1の1 関空飛行ルート(06ルート)と測定地点(●印)

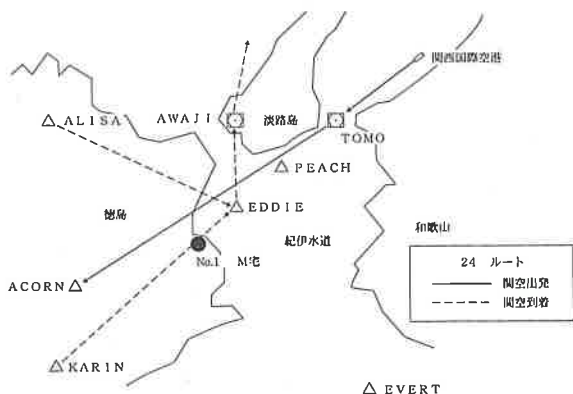


図-1の2 関空飛行ルート(24ルート)と測定地点(●印)

- ② MDレコーダを用い、騒音を24時間録音する。
MDレコーダの録音には、設定レベルが設けてあり55dB以上のデータだけを録音する。
- ③ 録音した騒音を再生し、音を人が聞いて航空機の音かどうか判断する。
- ④ ICカードを用いて432000個のデータをコンピュータに転送し、航空機騒音の単発暴露騒音レベル(L_{AE})を計算する。¹⁾

(3) 計算方法

次の式を用いて、時間帯補正等価騒音レベル(L_{den})を求める。²⁾

$$L_{den} = 10 \lg \frac{\sum_{10} \frac{L_{AE,di} + 5}{10} + \sum_{10} \frac{L_{AE,ei} + 5}{10} + \sum_{10} \frac{L_{AE,ni} + 10}{10}}{T/T_0}$$

- i : 各時間帯で観測標本の i 番目
- L_{AE,di} : 7時～19時の時間帯における i 番目の L_{AE}
- L_{AE,ei} : 19時～22時の時間帯における i 番目の L_{AE}
- L_{AE,ni} : 22時～7時の時間帯における i 番目の L_{AE}
- T₀ : 規準化時間 (1秒)
- T : 観測時間 (86,400秒)

III 調査結果

(1) 測定方法の検討

① 設定レベル

表-1 設定レベルの差による機器の状況

設定レベル	状況
60dB以上	航空機の音が50～60dBなので殆ど録音できない
55dB以上	
50dB以上	多くの音を録音するのでMDディスクが容量以上になる

設定レベルによる機器の状況を表-1に示した。60dBでは、殆ど録音できず、また、50dBでは、多く録音しすぎてMDディスクの容量が足らなくなる。この地点においては、55dBが最も適当と考えられる。

② 測定時間

騒音計やMDレコーダの容量が、24時間以上になると、使えなくなるので、測定時間は24時間とする。

何日間も、測定する場合は、ICカードやMDディスクを替える必要がある。

③ L_{AE}の求め方

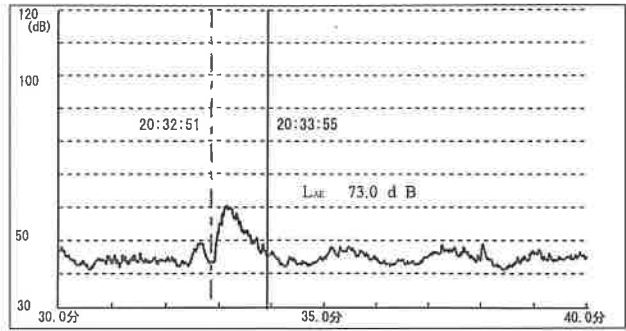


図-2 L_{AE}の求め方

図-2にL_{AE}の求め方を示した。432000個のデータの中で、航空機と判定した部分について図のように20時32分51秒から33分55秒の区間のデータをコンピュータによって計算させL_{AE}を算出する。この場合、L_{AE}73.0dBであった。

これを一つ一つの航空機について求め、最後にL_{den}を計算する。

(2) 関西空港の航空機によるL_{den}の測定結果

表-2にL_{den}の測定結果を示した。L_{den}は36.3dB、騒音の最大値L_{MAX}は60.3dB、航空機数は7であった。航空機数については、設定レベル以下では観測されないもので、実際の機数よりは少なくなっている。

L_{den} 36.3dBという値は、1日当り、平均すると等価騒音レベルの大きさが、36.3dBであることを示している。

表-2 L_{den}の測定結果

測定地点	測定日	L _{den}	L _{MAX}	航空機数
M宅	平成11年 4月28日 ～29日	36.3dB	60.3dB	7

(3) 関西空港の影響と他の空港の影響の違い

徳島県内は、徳島空港、小松島航空隊基地、関西空港の3つの空港の影響を主に受けており、表-3にその大きさを示した。

表-3 各空港のL_{den}の比較

測定地点	測定日	L _{den}	L _{MAX}
関西空港 (M宅)	平成11年 4月28日 ～29日	36.3dB	60.3dB
小松島航空隊 (排水場)	平成9年 6月10日	62.5dB	90.0dB
徳島空港 (I宅)	平成9年 7月25日	68.2dB	98.1dB

これは、平成9年に測定したデータをL_{den}に変換したものである。これらの地点は、通常、測定している地点のうち、最も、騒音の大きな地点を選んでおり、それぞれの地点を比較してみると、徳島空港が1番高く、続いて小松島航空隊基地、関西空港の順になっている。

しかし、騒音の苦情は、大きさだけでないと考えられ、関西空港の航空機の音は、最大で60.3dB程度であっても夜中に聞こえたりするので、眠られないなどの苦情が発生した。

(4) WECPNL について

各空港の WECPNL を表-4 に示した。小松島航空隊基地は、WECPNL の数値で表わせないので、数値は除いた。Lden の数値と比べると、それぞれ10dB より大きい値を示した。一般に次式の関係になると言われている。

$$\text{WECPNL} \approx \text{Lden} + 10$$

表-4 各空港の WECPNL の比較

測定地点	測定日	WECPNL	L _{MAX}
関西空港 (M 宅)	平成11年 4月28日 ~29日	46.3dB	60.3dB
小松島航空隊 (排水場)	平成9年 6月10日	—	—
徳島空港 (I 宅)	平成9年 7月25日	80.3dB	98.1dB

IV まとめ

航空機騒音の測定は、通常、自動測定機を用いている。しかし、小さな航空機騒音については、この機器では測定できないため、人が現地において騒音計を用いて計測しなければならない。

そこで、環境騒音実音モニターを用いて小さな航空機騒音を自動測定化する方法を考えた。

騒音の大きさは、50~60dB程度であるが、55dB未満の音は、周囲の音と混ざって判別しにくい点や航空機の音は、周囲の暗騒音より10dB以上の大きい音と定められている点などから、今回の調査では省略した。

文献

- 1) 騒音レベル測定方法 JIS Z 8731(1933)
- 2) 環境庁局長通達，平成2年9月13日，環大企第342号



道路周辺における窒素酸化物分布調査

徳島県保健環境センター

犬伏 宏行・片田 正己

Study on Distribution of the Concentration of Nitric Oxide around Road

Hiroyuki INUBUSHI and Masami KATATA

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Enviromental Sciences

Key words : 窒素酸化物 Nitric Oxide, サンプラー sampler

I はじめに

自動車排ガスの影響を監視するため平成5年度より国道11号線沿いの徳島市新蔵町徳島合同庁舎内に大気汚染物質の常時監視測定(自排ガス局)を実施しているが、あくまで1地点での測定であり、その地域の汚染物質の滞留状況や拡散状況を把握することはできない。

そこでNO、NO₂同時測定用サンプラーを用い国道11号線徳島本町交差点を中心に一酸化窒素と二酸化窒素の濃度分布調査を実施した。

II 調査方法

調査は徳島本町交差点を中心に約1000m×700m範囲内の60地点に憐小川商会製のNO、NO₂同時測定用サンプラーを、道路沿いの電柱や街路樹の地上約1.5m(人の鼻の位置)につるし24時間後に回収した。サンプラー中の吸収ろ紙を取り出し発色試薬を加え、その吸光度を測定しNO、NO₂の濃度を求めた。調査日時は、平成10年2月26日~27日、8月31日~9月1日及び平成11年1月26日~27日の3回実施した。調査日の天候は前日から降雨や強風のない比較的安定した日を選んだ。調査期間中の天候や気温及び新蔵町大気一般環境測定徳島局における主風向及び平均風速を表1に示した。

III 結果と考察

徳島本町交差点は徳島市で最も交通量の多い交差点であり、常時渋滞状況を呈している。北に進めば鳴門方面へ、南に進めば阿南方面へ、また西に進めば国道192号線に乗り石井鳴島方面へと向かう分岐点である。1日に通過する車両は約4400台と実測されており、朝夕の通勤時間は信号待ち自動車が4

方向で長い列をつくっている。

(1) NO、NO₂同時測定用サンプラー値と自動測定機値の比較

自排ガス局の採取口付近にサンプラーを5個並べ約24時間後に回収しNOとNO₂濃度を求め5個の平均値を、自動測定機(DKK社製湿式窒素酸化物測定装置)で測定しているNOとNO₂濃度の1時間値をサンプラーの暴露時間に合わせて平均濃度を求めた値と比較する。比較測定を調査日前後に合計4回行った。図1に得られた結果を示す。○—○はNOを、●—●はNO₂を、また横軸は自動測定機値、縦軸はサンプラー値を示す。それなりの直線性を持つてはいるが、NO、NO₂ともにサンプラー値が必ず高い値をもち、NOで120~160%、NO₂で100~160%大きかった。測定法の違いが起因しているものと思われる。

(2) 一酸化窒素濃度分布結果

一酸化窒素の濃度分布調査結果を調査日順に図2-1~図2-3に示す。3回の調査地点でのNOの出現範囲は

表-1 調査日における天候、気温、主風向および平均風速

調査日	天候	気温(°C)	主風向	平均風向(m/s)
H10.2.26 ~27	曇りのち晴れ	10.2	WNW	2.8
H10.8.31 ~9.1	曇りのち晴れ	27.1	N ~NW	3.2
H11.1.26 ~27	晴れのち曇り	8.3	WNW	3.9

2.9~195ppbであった。最高濃度を示した地点は、国道11号線西側沿い新蔵町徳島地方裁判所東南角交差点であった。次いで187ppb(徳島本町交差点北西角), 176ppb(徳島本町交差点南東角)の順に高濃度が見られた。

3回のどの調査も放送会館前からかちどき橋交差点まで国道11号線沿いに高濃度を示す濃度分布が見られた。NOのNO₂への反応や風や対流により拡散されることより、自動車排ガスの供給が勝り11号線沿いに常時NOが滞留していると思われる。

しかし国道11号線から一步路地を入れば濃度が急に低くな

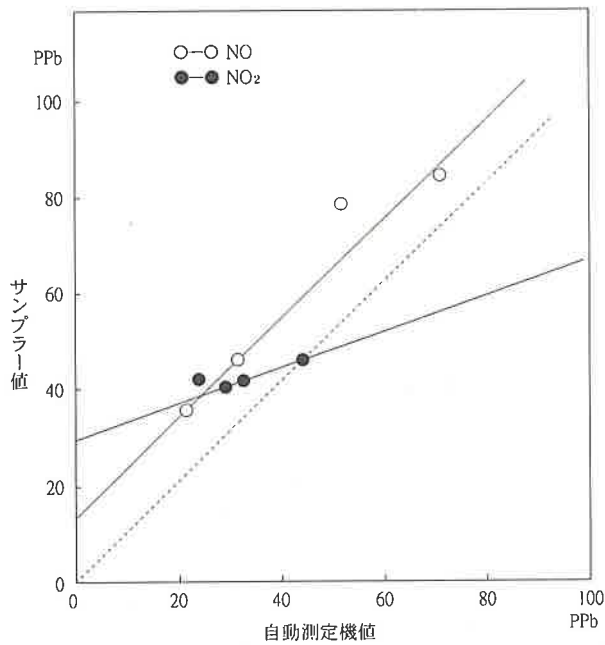


図-1 自動測定機値とサンプラー値の比較

り、濃度差のあまりない様な濃度分布をしていた。NOのNO₂への反応や公園や市役所前公園の広い空間がNOを拡散しているものと思われる。文化センター前北側交差点(立体交差点上)に散発的に少し高い濃度が見られることもあった。また夏冬の季節による顕著な濃度分布や変動は見られなかった。

(3) 二酸化窒素濃度分布結果

二酸化窒素の濃度分布調査結果を調査日順に図3-1~図3-3に示す。3回の調査でのNO₂濃度の出現範囲は11~56

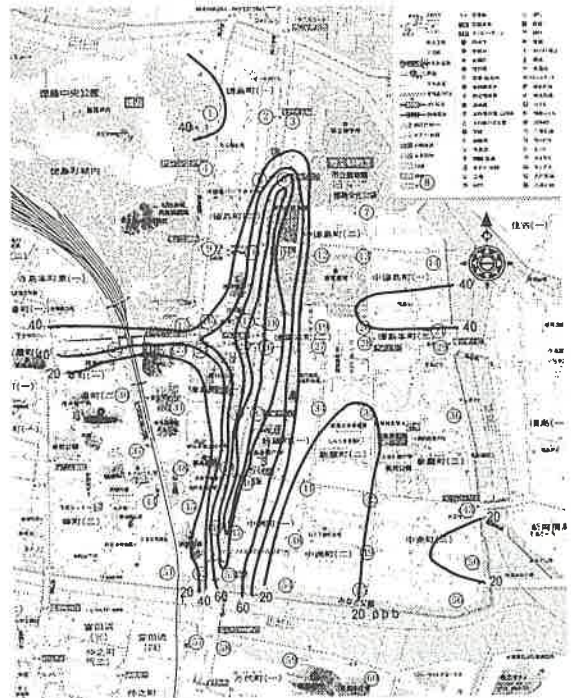


図-2-2 NO濃度分布図

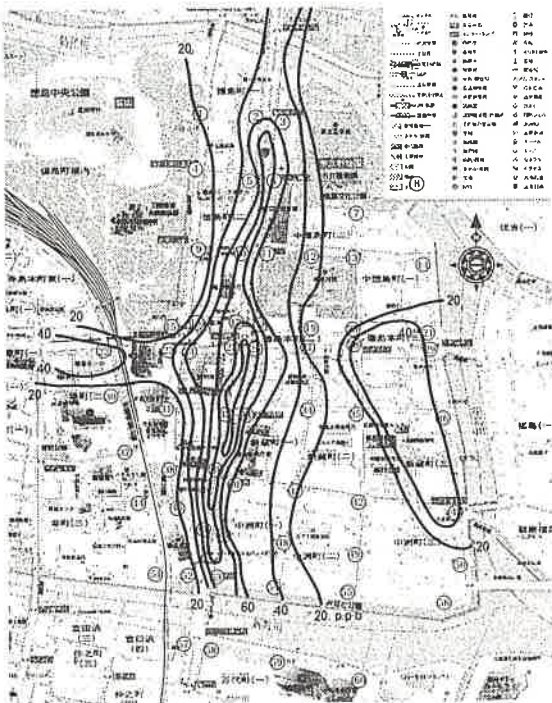


図-2-1 NO濃度分布図

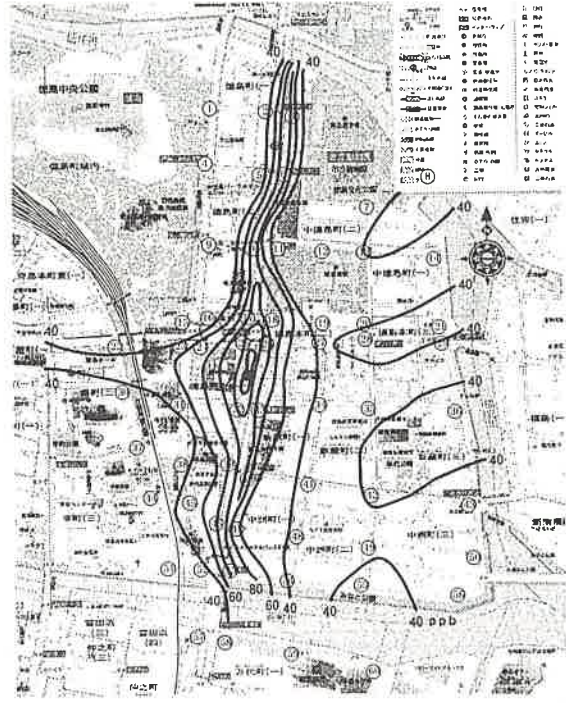


図-2-3 NO濃度分布図

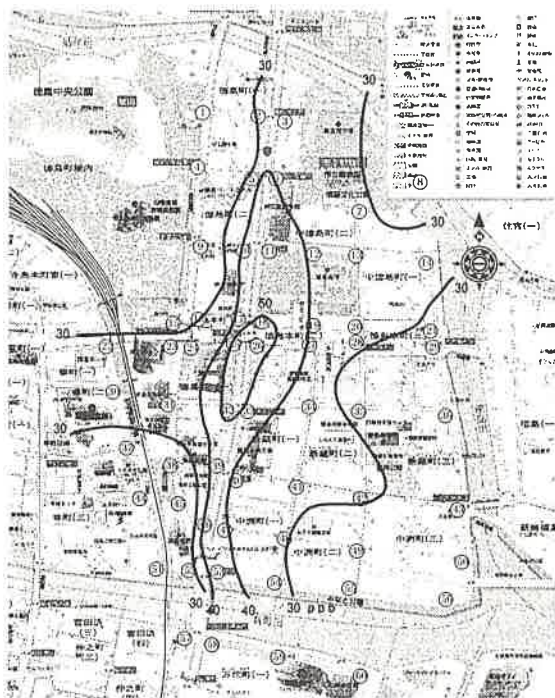


図-3-1 NO₂濃度分布図

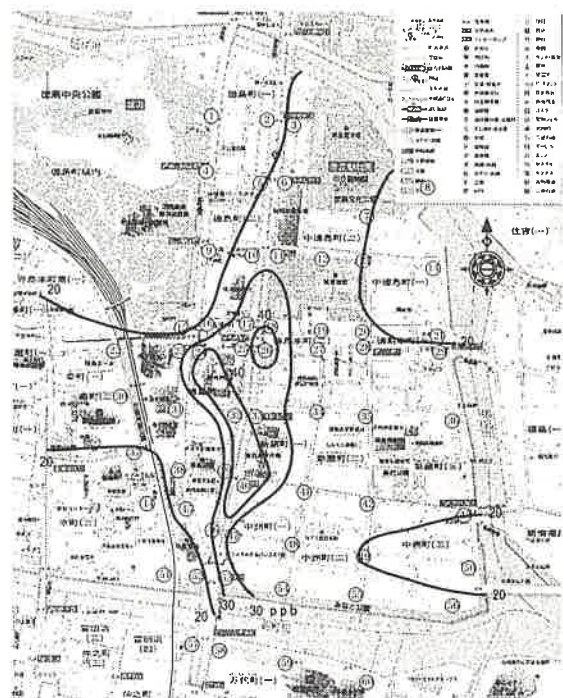


図-3-3 NO₂濃度分布図

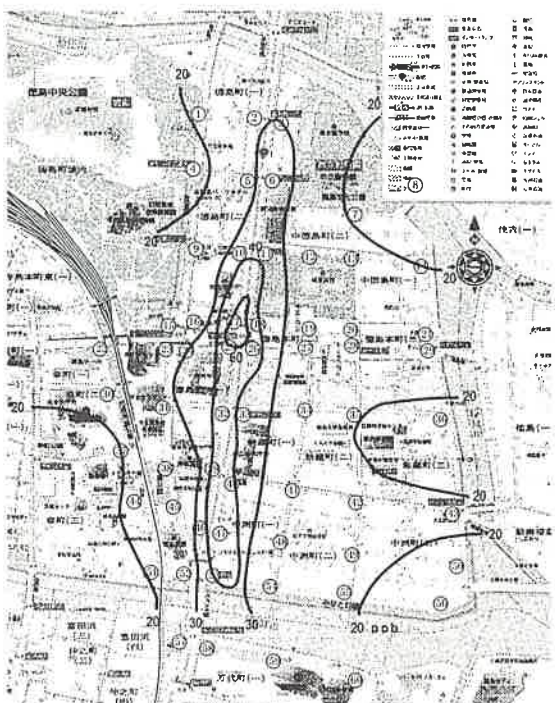


図-3-2 NO₂濃度分布図

ppb であった。NO₂の環境基準値はどの地点も満足していた。最高濃度を示した地点は、NOと同じ徳島本町交差点南東角地点や交差点北西角地点に見られた。NO₂もNO同様徳島本

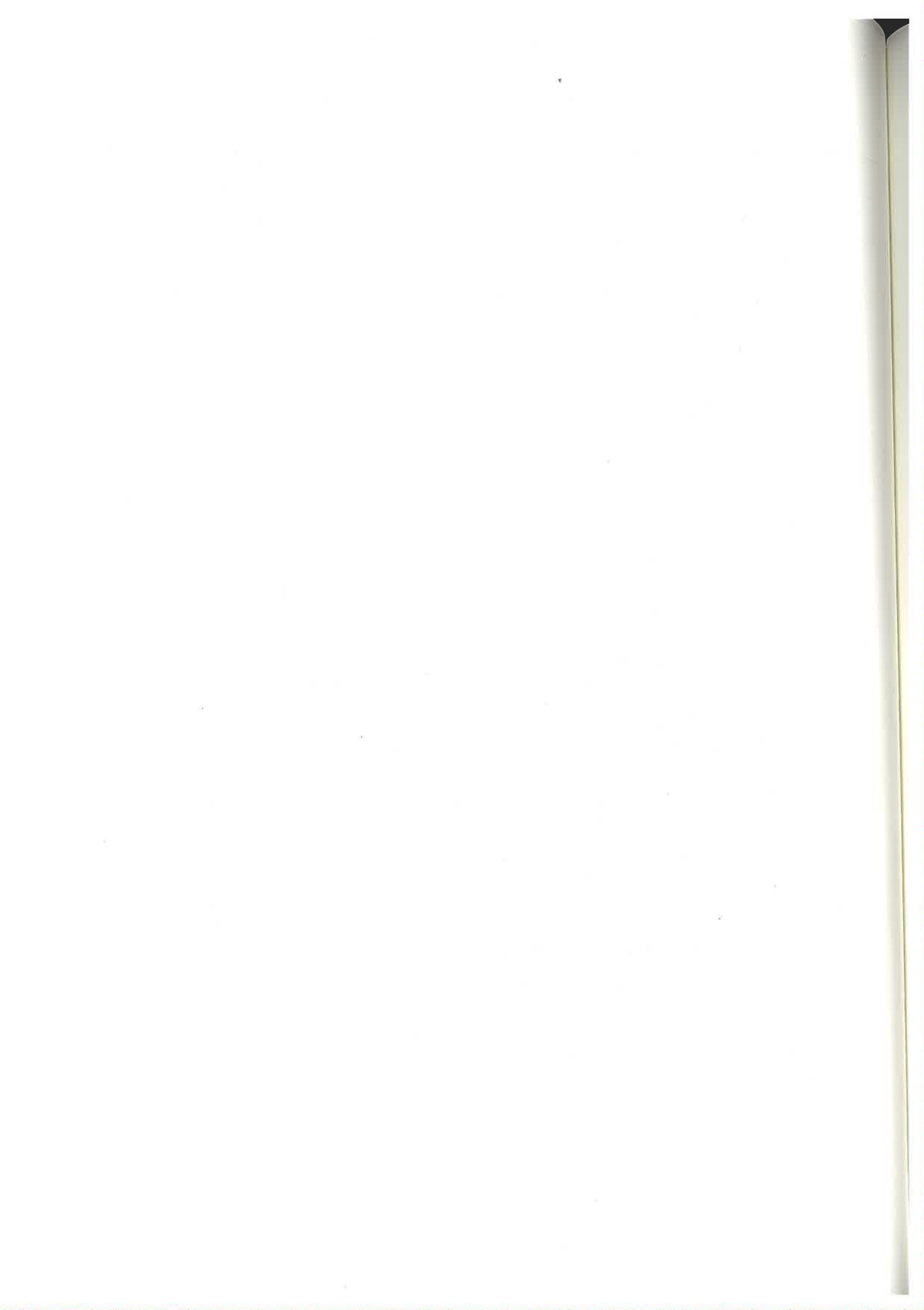
町交差点からかちどき橋交差点にかけての11号線沿いに高濃度分布が見られた。濃度差がNOに比べそれほど大きく、東側も西側も様な濃度分布を示した。

IV まとめ

国道11号線徳島本町交差点を中心に60地点で、NO、NO₂同時測定用サンプラーを用い一酸化窒素と二酸化窒素の濃度分布調査を実施した。その結果、次のことがわかった。

- (1) 自動測定値と比較すると、サンプラー値が約20%程度高い値を示した。
- (2) 3回の調査でのNOは2.9~195ppb、であった。NO₂は11~56ppbであった。
- (3) NO₂の環境基準値はどの地点も満足していた。
- (4) NO、NO₂の高濃度地点は11号線沿いに集中していた。
- (5) NO濃度は11号線沿いから一步路地を入ると急に濃度の低下が見られ、NO₂への反応や拡散が見られた。
- (6) NO₂濃度は様な濃度分布が見られた。

今後調査対象地域を変えたり、また徳島中央公園のような緑地帯がNOやNO₂濃度にどのくらい影響を与えているかを調査していきたい。



阿南市周辺の大気中水銀濃度の変動

徳島県保健環境センター

犬伏 宏行・片田 正己

Deviation of Atmospheric Mercury Concentration at Anan City Area

Hiroyuki INUBUSHI and Masami KATATA

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : 水銀濃度 atmospheric mercury concentration

I はじめに

大気中に漂う水銀は単独のガス状として90%以上存在するとされ⁽¹⁾, その大部分が陸(2.8万トン/年)と海(4.3万トン/年)から放出されるとされているが, 日本では十数年前までは乾電池や体温計および蛍光灯等に使用されている水銀約200(トン/年)が都市ゴミに混入し, 燃焼により大部分が大気中に放出されていたと報告されている。⁽²⁾しかし最近, 乾電池の非水銀化や回収あるいはゴミの分別化がなされ, ゴミの燃焼による水銀の大気中への放出は少ないと考えられる。

過去徳島県内の大気中の水銀濃度の測定は三宅らによる報告によると, 当センター屋上で1年間にわたって測定した結果, 年間平均濃度は3.6ng/m³であった。⁽⁴⁾今回, 阿南市橘町に建設された石炭火力発電所の稼働前の大気中の水銀濃度を把握することを目的に阿南市周辺に位置する大気監視測定局

の水銀濃度を測定し, 地点間変動や季節変動を考察したので報告する。

II 調査方法等

大気中水銀の測定は, 日本インスツルメンツ社製マーキュリーエアーマニター AM-2を用いて行った。調査地点は阿南市周辺の一般大気環境測定点阿南局, 中島局, 那賀川局及び山口局の4地点である。平成8年7月末から平成11年2月末までの延べ358日(3188時間値)にわたり4地点を1ヶ月を単位に測定した。

採取は地上約3mの高さの測定局舎の大気採取口から分配管を通して行った。測定条件は1時間周期(55分間大気吸引, 3分間測定)で吸引量を0.5L/minに設定した。

表-1 調査期間及び調査結果

局舎名		調査期間	日数	有効データ数	最大値	最小値	平均値	標準偏差	変動係数(%)
阿南局	全期間	H10.7.17~H11.2.25	148	3501	7.3	0.75	2.56	0.74	29
	夏	H10.7.17~8.31	46	1082	4.7	0.75	1.94	0.64	33
	秋	H10.9.1.~11.4.	65	1534	7.3	0.86	2.83	0.69	24
	冬	H11.1.19~2.25	37	885	6.0	1.5	2.85	0.44	15
中島局	全期間	H8.7.27~H9.3.7	86	1735	8.4	0.01	1.91	0.98	51
	夏	H8.7.27~9.11	47	824	8.4	0.01	1.56	1.2	76
	冬	H9.1.28~3.7	39	911	5.5	1.1	2.22	0.58	26
那賀川局	全期間	H10.11.4~H11.1.18	66	1535	5.4	0.57	2.48	0.65	26
	秋	H10.11.4~11.30	27	626	4.2	0.57	2.05	0.52	26
	冬	H10.12.1~H11.1.8	39	909	5.4	1.4	2.77	0.56	20
山口局	全期間	H9.5.29~H10.3.31	58	1362	7.9	0	1.38	0.85	62
	夏	H9.5.29~6.19	22	513	2.2	0.00	0.69	0.29	43
	春	H10.2.24~3.31	36	849	7.9	0.32	1.79	0.81	45
4局		H8.7.27~H11.2.25	358	8133	8.4	0.00	2.04		

III 結果と考察

1 各地点の水銀濃度と地点間変動及び季節変動

各地点の採取時期と得られた水銀濃度の1時間値の最大値、

最小値、標準偏差及び変動係数を表1に示した。また後述するが水銀濃度の季節変動をみるため調査時期を四季に区分し、各地点の平均値等を併せて表1に示した。

表-2 各地点における水銀高値(下注)と気象条件等

局名	年月日	季節	時刻	濃度 (ng/m ³)	風向	風速(m/s)	天候	気温(°C)	NOx	SO ₂	SPM	Ox	その他
中島局	H8.8.10	夏期	10:00	6.11	NNE	1.8	快晴	28.7	29	8	75	35	
			11:00	5.23	ENE	2.6			25	8	84	47	
			12:00	5.41	ENE	3.5			17	8	65	67	
			13:00	4.91	E	3.4			11	7	45	84	
	8.21	夏期	8:00	5.59	N	1.1	晴のち雨	25.7	12	3	83	18	
			9:00	5.92	NNE	1.6			12	3	118	31	
			10:00	5.51	E	2.5			16	4	137	42	
	8.29	夏期	9:00	5.14	N	2.7	曇り時々雨	25.5	19	4	108	-	
			10:00	5.82	NE	3.0			23	5	95	11	
			11:00	6.92	NNE	3.0			34	3	85	14	
	8.30	夏期	13:00	5.90	E	2.8	曇り	26.5	9	4	64	60	
			14:00	6.02	E	3.5			11	4	89	69	
			15:00	5.22	SE	4.8			11	5	118	70	
	9.4	秋期	10:00	5.51	NNE	2.7	晴	25.3	22	6	51	31	
	9.5	秋期	9:00	5.50	NNW	4.3	晴	26.6	19	6	120	28	
			10:00	5.80	NNW	3.2			14	6	75	39	
			11:00	7.65	N	3.5			19	7	96	46	
			12:00	5.92	N	3.8			11	8	46	63	
			13:00	6.01	NNE	3.2			11	8	52	74	
	9.6	秋期	11:00	7.15	E	3.7	晴	25.3	17	11	106	53	
			20:00	6.55	WSW	1.6			16	6	115	27	
	H9.2.16	冬期	2:00	5.40	NNW	7.6	曇り一時雨	7.8	55	9	37	2	
			3:00	5.32	NNW	6.4			49	9	23	2	
			4:00	4.88	NNW	6.1			45	9	4	9	
2.26	冬期	3:00	4.95	W	1.1	雨	9.6	108	11	73	7		
		5:00	5.14	NNW	4.5			98	14	84	6		
		6:00	5.34	NNW	4.9			98	15	73	6		
		7:00	5.21	WNW	1.6			119	13	89	8		
		8:00	5.54	NNW	4.8			129	13	99	8		
阿南局	H10.9.7	秋期	22:00	5.68	WNW	1.1	雨のち晴	24.0	20	1	64	22	
			23:00	5.53	W	0.9			18	1	46	19	
	9.9	秋期	22:00	4.93	NNW	2.4	晴	26.6	22	2	69	32	
	9.23	秋期	12:00	5.46	NNE		曇り	24.7	73	7	39	16	
	10.14	秋期	16:00	7.25	SSE		曇り一時雨	23.3	5	0	49	43	
	10.26	秋期	18:00	5.10	NNW	1.8	曇り	17.8	33	2	29	19	
			19:00	6.22	NW	1.8			49	3	76	7	
	10.29	秋期	10:00	7.19	-	-	晴	19.5	28	3	68	20	
	10.30	秋期	18:00	5.20	-	-	曇り時々晴	17.9	71	3	178	11	
	H11.1.31	冬期	20:00	6.02	W	2.3	晴	5.9	32	3	11	18	
2.21	冬期	1:00	4.85	WNW	3.2	晴一時曇り	3.6	6	3	10	-		
2.22	冬期	1:00	5.30	NW	3.3	晴	5.5	3	1	17	-		
那賀川局	H10.12.26	冬期	22:00	4.49	NW	2.4	晴一時曇り	9.6	19	3	16	19	
	12.27	冬期	10:00	4.61	NW	3.3	うす曇り 曇り	8.9	22	4	36	21	
			11:00	4.67	NNW	2.8			22	5	23	26	
	H11.1.6	冬期	15:00	4.61	NNE	1.7	曇り	8.3	40	10	39	20	
			16:00	5.21	N	4.8			36	11	21	22	
			20:00	4.79	WSW	1.9			82	11	60	5	
21:00			4.52	WSW	0.8	57			13	56	4		
1.7	冬期	10:00	5.42	NNW	4.8	曇り一時雨	8.4	28	11	56	20		
山口局	H10.3.20	春期	16:00	4.25	NNW	6.2	曇り時々雨	14.1	7	3	39	38	
	3.29	春期	12:00	5.12	ESE	3	晴	15.2	18	11	65	49	
			13:00	4.50	E	2.7			24	14	85	53	
			16:00	7.94	SW	1.8			5	7	83	63	
			17:00	7.31	SW	2			7	7	94	62	
			18:00	5.11	N	1.3			6	6	85	57	
			19:00	4.34	W	1.2			17	9	84	36	

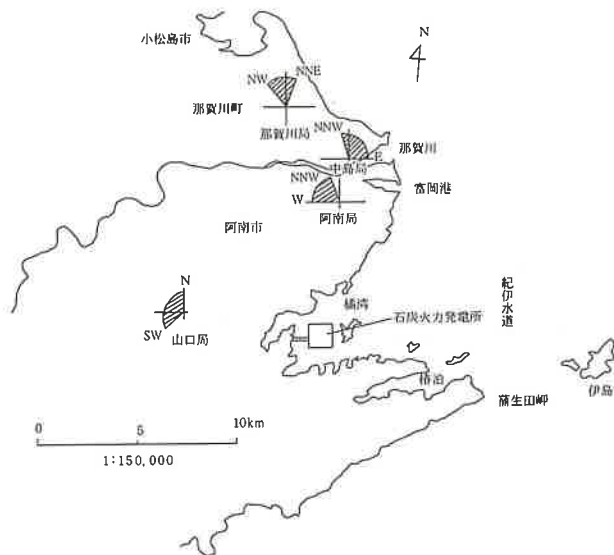


図-1 高値出現時における風向別模式図

阿南局の濃度範囲は7.3~0.75ng/m³、平均値は2.6ng/m³、中島局の濃度範囲は8.4~0.01ng/m³、平均値は1.9ng/m³、那賀川局の濃度範囲は5.4~0.57ng/m³、平均値は2.5ng/m³及び山口局の濃度範囲は7.9~0.0ng/m³、平均値は1.4ng/m³であった。4地点の全調査期間中の平均水銀濃度は2.0ng/m³であった。局別にみると阿南局と那賀川局がよく一致しており、4局中最も大きく、次いで中島局、山口局の順になった。平均値が最も大きかった阿南局と最も小さかった山口局の濃度差1.2ng/m³の原因は、両局は直線距離10km程度しか離れておらず、阿南局は市街地に位置しているのに比べ山口局は山間田園部に位置することの違いだけであるから、2地点間の濃度差は人為的発生量の差に起因しているものと考えられる。山口局の水銀濃度は奈良県の清浄地域における大気中の水銀濃度1.5ng/m³⁽¹⁾と同程度であった。

次に連続して測定を続けていると、1時間値だけあるいは連続した日の同じ時間帯に、突発的に水銀濃度が高値を示すことがある。この理由を調べるため、平均値プラス標準偏差(s)の3倍以上の1時間値を高値とし、表1の各地点の平均値+3×(s)を求めた。例えば阿南局では2.6+3×(0.74)=4.8ng/m³以上の値を高値とし、この値以上を示した時の日時と時間帯及びNOxやSO₂などの大気汚染物質項目や気温天候などの気象条件を併せて表2に示した。ちなみに中島局は4.9、那賀川局は4.4、山口局は3.9ng/m³以上が高値となった。阿南局は全測定3501時間中12時間(出現率0.3%延べ10日)に、中島局は最も多く1735時間中29時間(出現率1.7%延べ9日)に、那賀川局は1535時間中8時間(出現率0.5%延べ4日)に、山口局は1362時間中7時間(出現率0.5%延べ2日)に高値が見られた。

風向別による高値出現の傾向をみるため図1に各地点での風向別出現数を模式図的に示した。阿南局ではNNWからW系が、中島局ではNNWからE系が、那賀川局ではNNE

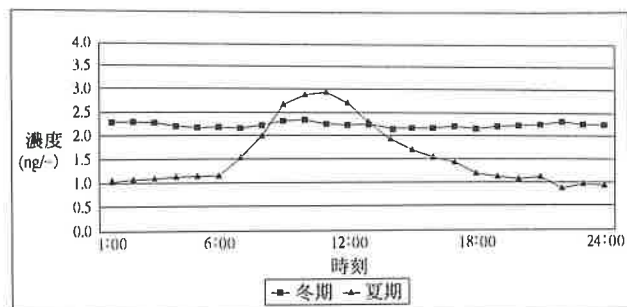


図-2 中島局の夏期と冬期の時刻変動

からNW系が、また山口局ではSWからN系が主風向時に水銀濃度の高値が出現していることがわかった。即ち、今回測定地点では水銀濃度が高値を示したときは主にNEからWの比較的狭い範囲の風が吹いていたことがわかった。このことは地上の風向が上空風と一致していないことが多いが、火電が本格的に稼働し始める時に阿南局や中島局の水銀濃度を継続してモニターしていくことは重要と思われる。また、NOxやSO₂の大気汚染物質項目と高値出現傾向との明確な相関性はみられなかった。

次に水銀濃度の季節による変動をみると表1から、明らかにどの地点も夏期における平均値が小さく、冬期における平均値が大きくなった。この傾向は大気汚染物質であるNOxやSO₂と同様な傾向であり、その原因は、夏期は気温上昇による土壌や海からの水銀放出が促進されたり、ゴミ等の燃焼ガスからの大気中への放出されることより、夏期特有の上昇気流による大気の拡散が水銀濃度を低下させるほうが平均すると優先しており、逆に冬期は上空の安定層が大気を包み込み水銀濃度を増加させていると考えられる。

2 水銀濃度の日内変動

1日の時刻別の変動即ち日内変動を地点別、季節別に求めた。典型的なケースとして中島局の夏期と冬期の日内変動を図2に示した。夏期は平成8年7月27日から9月11日までの47日間、冬期は平成9年1月28日から3月7日までの39日間に得られた結果である。夏期の平均濃度は1.6ng/m³、冬期の平均濃度はng/m³であり冬期が高濃度であった。しかし夏期は午前6時頃から気温上昇に伴い、大気中の水銀濃度も上昇し始め11時をピークに典型的なひと山変動パターンが見られた。一方冬期は一日中平均濃度2.2ng/m³付近でほとんど変動しないパターンを示した。夏期の朝から昼頃までの濃度上昇は上昇気流が起こる前の気温上昇し始めによる土壌からの大気中への放出量の増加であり、午後以降の濃度低下は海岸線に近い海風による大気の拡散による濃度低下と考えられる。

IV まとめ

水銀連続測定機を用い、阿南市を中心に4地点で大気中の

水銀濃度を測定した。その結果、次のことがわかった。

- (1) 阿南市周辺の大気中水銀濃度は4地点平均で2.0ng/m³であった。
- (2) 阿南局と那賀川局がほぼ同じ濃度で次いで中島局、山口局の順であった。
- (3) 阿南局と山口局の濃度差は人為的な差に起因していると思われる。
- (4) 突発的な高値は中島局で比較的多くみられた。
- (5) 夏期より冬期の水銀濃度がどの地点も高かった。大気

の安定性が起因していると考えられる。

V 文 献

- 1) 福崎紀夫：大気汚染学会誌, 21(1), 1-11(1986)
- 2) 松本光弘：大気汚染学会誌, 21(3), 253-257(1986)
- 3) 福崎紀夫：大気汚染学会誌, 20(6), 444-450(1985)
- 4) 三宅崇仁, 庄野修, 片田正己：徳島県保健環境センター年報, 10, 45-48(1992)

パラワン島の河川環境について

徳島県保健環境センター

大垣 光治・岩佐 智佳・高島 京子
有澤 隆文・小西 壽久

フィリッピン・パラワン州政府環境資源局

エドムンド ビラルス

Studies on the riveres of the Palawan

Mitsuharu Ogaki, Chika Iwasa, Kyoko Takashima, Takafumi Arisawa and Toshihisa Konishi
Tokushima Prefectural Center of Public Health & Environmental Sciences

Edmund Vilaruz

Environment and National Resources Office, Palawan Provincial Government

Abstract

平成8年度自治体職員協力交流事業として、フィリッピンのパラワン州政府からの研修生の受入れを行い、河川環境調査、大気汚染調査等について研修を行った。

彼によると、パラワン州では、現在まで川の水質調査等は全然行われていない。研修終了後には、河川調査を行い、できることなら、モニタリングシステムの確立を目指したいとの希望を持っていたこともあり、何らかの協力体制の確立を模索する中で、平成11年3月に、試行的に簡易な水質測定キット等を用いた、河川調査を実施する機会があったので、その概要を報告する。

Key words : フィリッピン Philippine islands, パラワン Palawan,
パック テスト PACK TEST

1 Do you know Palawan?

You may be heard THE UNDER GROUND RIVER in Palawan. This river is the longest and the most beautiful under ground river in the world . We can take a boat ride through the 8.2km.

1-1 Palawan (Fig.1)

Palawan lies west of the main chain of Philippine islands. It locates 240km southwest of Manila. It takes about an hour by air way from Manila domestic airport. Unspoiled serene Palawam is often referred to as the Last Frontier. It is truly a land that time forgot. The spectacular natural environment remains largely undeveloped. Sparkling clear waters, white beaches, rainforest and an underground river complement this natural harmony.

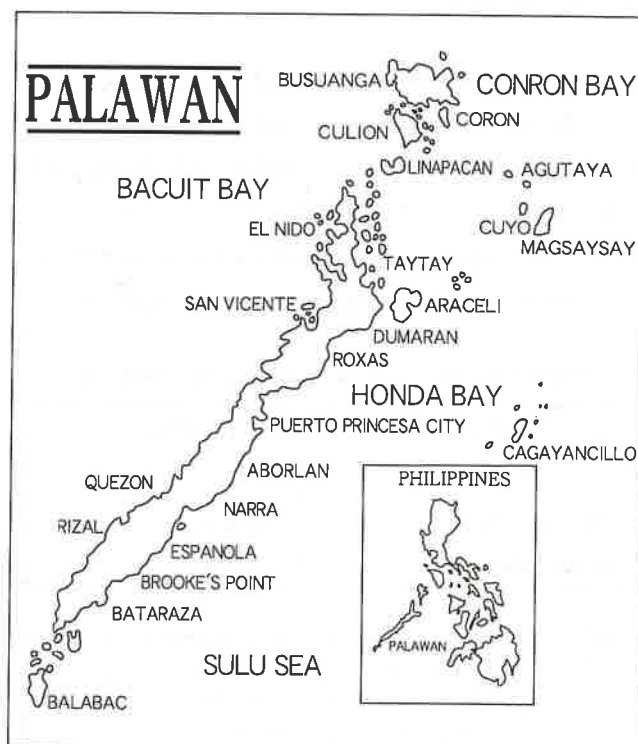


Fig.1 PALAWAN

Table. 1 Some main index of PALAWAN

Capital	Puerto Princesa City
Land Area	14,896km ²
Size	650km long
Population	640,486 in 124,928 households
Major Industries	Agriculture, Fisheries oil drilling, seaweeds
Major Agricultural Products	Rice, corn, coconut Mango, banana, peanut

1-2 Facts of Palawan (Table.1)

Palawan's land area is about 15,000km². It is the fifth largest island in the Philippines. Palawan spans 650km long and the main island alone is 425km. The population is 640,000 in 125,000 households.

The agriculture, fishery and forestry sector's employment share is 62% while employment in the services sector is 28%, the industrial sector being 10%. Especially, Agriculture is the mainstay of Palawan's economy. Principal agricultural products include rice, corn and coconut.

The Puerto Princesa city is the provincial capital. It lies in the heart of the long and narrow island of Palawan. It is bound on the west by the South China Sea and on the east by the Sulu Sea on the east.

2 Investigation

2-1 A summary of the investigation (Table.2, Fig.2)

We had an opportunity to investigate the three major rivers in the Southern part of Palawan in March 10th 1999. The rivers of the investigation are the Batang-Batang River, the Malatgao River and the Aborlan River. They are located in the municipalities of Abrorian and

Table. 2-1 Investigated rivers on May 10th, '99

rivers of invest	municipalities
Batang- Batang River	Narra
Malatgao River	Aborlan
Aborlan River	Aborlan

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> (1) Mountainous forested area (2) Upland agricultural areas (st. 1) (3) Vast agricultural areas (st. 2) (4) Built-up areas (st. 3) |
|---|

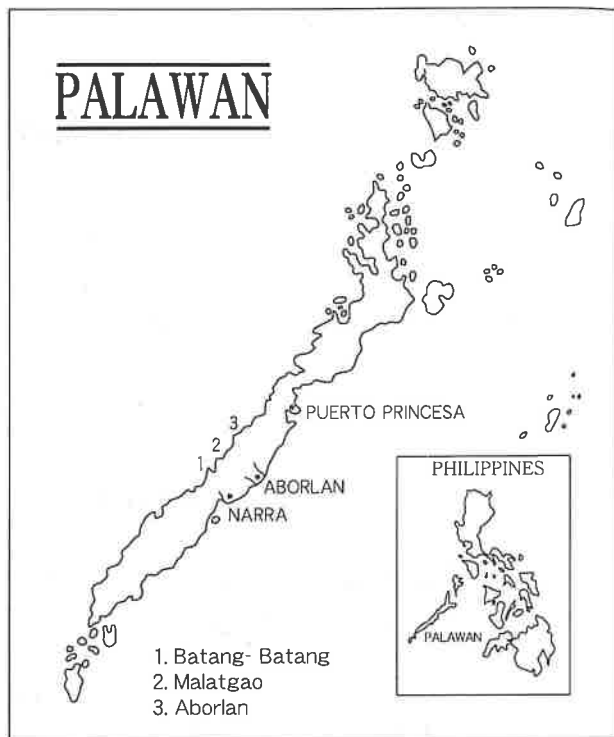


Fig.2 Investigated rivers

Narra. They are nearly 90km South of Puerto Princesa City. These rivers can be generally and similarly described as follows.

- (1) The run-off comes from mountainous forested area.
- (2) They pass through some areas partially cleared due to traditional practice of upland agricultural areas.
- (3) They also pass through vast agricultural areas.
- (4) They go through built-up areas before finally draining to the sea.

In order to achieve the study, we set the 3 monitoring points in each rivers. Namely, we selected each monitoring point from (2), (3) and (4) territory.

2-2 Testing method (Table.3, Fig.3)

When we had to test water quality elements, we should have done as many as possible. But these index had to be reduced due to the lack of funds and manpower. This time, we chose a couple of easily tested components at the site. And we sent some instruments separately by airway.

Components we tested were air temperature , water temperature, transparency, pH, COD, etc. pH and COD were tested by "PACK TEST". This PACK TEST results

Table. 3 Testing Methods (Field)

		Testing methods (Field)
station number		*
sampling time		*
weather		*
atomos. temp. (°C)		Thermometer with a scale of 37°C
water temp. (°C)		Thermometer with a scale of 37°C
transparency. (cm)		Transparency meter with a scale of 50cm
color		visual observation
pH		PACK Test (field test)
DO (mg/l)		*
BOD (mg/l)		*
COD (mg/l)		PACK TEST (field test)
SS (mg/l)		*

were not accurate indicators and might differ from JIS method. But these products could be popularly acceptable as the simplest and the most rapid tests for pollution researchers to use them.

2-3 Results of water quality survey (Table. 4,5,6,7)

(1) The location of sampling

- 1) Batang-Batang River (st.1, st.2, st.3)
- 2) Maltagao River (st.2, st.3)
- 3) Aborlan River (st.1, st.2, st.3)

(2) Time of sampling

March 10th, 1999 10:50-16:36

(3) List of variables

1) Field test

Air temperature, Water temperature, Transparency, Water color of the river, pH(PACK TEST), COD(PACK TEST)

2) Laboratory test

We tested the samples taken at st.2 on the Abrian river in the laboratory.

pH, COD, Turbidity, Electrical conductivity, Sodium ion, Potassium ion, Ammonia ion, Magnesium ion, Chloride ion, Nitrate ion, Sulfate ion, Cadmium, Zinc, Chromium ion(6+) , Total Mercury

In Japan, the environmental quality standards(EQS) were established as standards which should be maintained to protect the people's health and preserve the living environment. In the case of the standards for living environment, different values are applied according to the water-utilization purpose of the water area, but the standards for human health are applied uniformly to all public

Table. 4 Water Quality (Field Test)

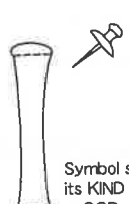
		Batang-Batang river		
station number		st.1	st.2	st.3
sampling time		12 : 08	10 : 50	11 : 23
weather		fine/fine	fine/fine	fine/fine
air temp. (°C)		33.5	34.0	30.0
water temp. (°C)		28.9	30.0	30.8
transparency. (cm)		50.0cm or more	50.0cm or more	50.0cm or more
color		very clear	clear	clear
pH		8.5	8.5	8.5
DO (mg/l)		*	*	*
BOD (mg/l)		*	*	*
COD (mg/l)		0.0	1.0	1.0
SS (mg/l)		*	*	*

KYORITSU
OPERATION MANUAL

COD (Chemical Oxygen Demand)
WAK-COD


By Permanganate Oxidizing Method
Measuring range: 0 - 10.0 mg/l
Calibration: Glucose Standard Solution

HOW TO USE




Symbol shows its KIND ← COD

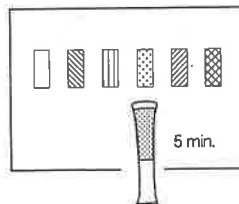
① Make a hole with a pin on the top end.



② Press out the inner air.



③ Suck up the sample wther about half into the tube like a fountain pen filler.



5 min.

④ Shake and make color comparison gfter 4-6min. Midway through the time, shake one or two times to mix up.

Fig.3 PACK TEST

Table. 5 Water Quality (Field Test)

Malatgao River			
station number		st.2	st.3
sampling time		14 : 38	15 : 10
weather		fine/fine	fine/fine
air temp. (°C)		32.0	31.0
water temp. (°C)		31.8	31.5
transparency. (cm)		50.0cm or more	*
color		clear	not so clear
pH		8.5	8.5
DO (mg/l)		*	*
BOD (mg/l)		*	*
COD (mg/l)		1.0	3.0
SS (mg/l)		*	*
reference			tidal area (mangrove palm)

Table. 6 Water Quality (Field Test)

Aborlan river			
station number	st.1	st.2	st.3
sampling time	16 : 12	15 : 50	16 : 36
weather	fine/fine	fine/fine	fine/fine
air temp. (°C)	30.2	30.8	29.0
water temp. (°C)	31.5	30.4	29.8
transparency. (cm)	9.0	33.0	18.5
color	turbid	turbid	grayish brown
pH	7.0	7.7	8.5
DO (mg/l)	*	*	*
BOD (mg/l)	*	*	*
COD (mg/l)	1.5	3.0	1.5
SS (mg/l)	*	*	*
reference	quarrying sand and gravel domestic sewage	quarrying sand and gravel domestic sewage	tidal area

Table. 7 River Water Quality

7-1 COD(mg/ℓ) (PACK TEST)

	st.1	st.2	st.3
Batang-Batang	0	1	1
Malatgao	**	1	3
Aborlan	1.5	3	1.5

7-2 EQS Category of COD

	st.1	st.2	st.3
Batang-Batang	AA	AA	AA
Malatgao	**	AA	B
Aborlan	A	B	A

water areas throughout nation. This time we tested for items (Cd, Pb, Cr⁶⁺ T-Hg) in the 23 items for human health. The values for the each items were ND (not detected).

As the environmental quality standards for living environment items, each level of pH, BOD, DO etc is established. As we could not test BOD on this survey, we compared the COD index we obtained to BOD index in the environmental quality

standards. Except tidal area in Malatgao river, all measured points are in category AA or A in the table of environmental quality standards.

3 Conclusion

We have mentioned our experiences in March 1999. We are happy to note that based on the data we analyzed, all the measured points except, the tidal area of Malatgao river are in category AA or A on the condition that the COD and BOD are much the same. We submitted our report to the Governor and the Municipal Mayors of Aborlan and Narra.

An author, Edmund Viaruz, submitted a draft project proposal entitled "Palawan Water Resources Conservation Project". Generally this project aims to conserve and protect the coastal and fresh surface water of the province.

Specifically its seeks to:

- (1) Identify the coastal and fresh surface waters of the province.
- (2) Determine the quality of water resources.
- (3) Classify the water resources according to their potential, specific and best usage.
- (4) Maintain the minimum conditions necessary to assure the suitability of water for its designated use or classification.

The project will cover twelve municipalities within mainland Palawan.

We would like to make all possible efforts to conserve and protect the Palawan water resources.

References

- 1) Japan international cooperation agency: Textbook for the group training course in environmental administration, fy 1996

保健環境センターにおける『夏休み子ども実験室』 の開催について

徳島県保健環境センター

環境教育推進班 小西 壽久・大野ちづ子・高島 京子
高谷 良子・堤 泰造・西野 泰裕
企画情報科 楠瀬 幸雄・岡本 在英

Junior Laboratory on summer vacation at the center of Public Health & Environmental Sciences

Sciences Ecological Training Group

Toshihisa KONISHI, Chizuko OHNO, Kyoko TAKASHIMA,
Ryoko TAKAYA, Taizo TSUTSUMI and Yasuhiro NISHINO

Planning and Information Section

Yukio KUSUSE and Arihide OKAMOTO

Tokushima Prefectural Center of Public Health and Environmental Sciences

We have been tackling the environmental education for a long time in the center of Public Health & Environmental Sciences. We support the Junior ECO club activities and environmental studies which elementary school or junior high school students or citizens request. And we made summer experiments and observations or survey with them.

On this summer vacation, "Junior Laboratory on summer vacation" was held at the center of Public Health & Environmental Sciences. The events considers of river water quality survey, measurement of NOx from car exhaust gas, water quality survey with aquatic organism and how to make postcards from milk pack. We intend to report about this events.

I) はじめに

近年、人々の生活が豊かになるにつれ、水質汚濁、地球温暖化、ゴミ問題等、様々な環境問題が顕在化し、環境についての人々の認識を高める必要性が求められてきた。

各地で、水質の測定や水生生物調査、大気汚染状態を測る簡易な実験、廃油石けんづくりなど、環境に関する催しが開催されるようになり、試験研究機関においても環境教育・環境学習の推進が重視されるようになってきた。

当保健環境センターにおいても、以前より環境教育に取り組み、子どもエコクラブや小・中学校、市民グループの要望に応じた環境学習を支援し、いろいろな実験、観察、調査と一緒に取り組んできたところである。

今回、夏休みに、川の水質調査、自動車排ガスの測定、水生昆虫の観察、牛乳パックによる手作りハガキなど、いろいろな実験を体験する『夏休み子ども実験室』を開催したので報告する。

II) 実施方法

1) 開催日時

平成11年8月28日(土)

午前9時30分から午前11時30分

2) 対象

小学校5、6年生(父兄同伴可)40名

3) 実験内容


実験にあたり、今回の『夏休み子ども実験室』の実験内容、関連情報を記載し、わかりやすくするとともに、行った実験結果や観察記録が残せるような記入形式のマニュアルを作成した。実験は、作成したマニュアルにそって、参加した全員が実験を体験できるように3つのグループに分かれ、それぞれのグループが順々に交代しながら実験を行った。

今日の実験メニュー

4階


研修室
環境クイズにチャレンジ
水生昆虫を観察しよう。
牛乳パックからはがきを作っちゃおう！

大気テレメータ監視室
徳島県の大気汚染がここで全部わかっちゃうよ



3階

水質実験室
水質調査をやってみよう
・まず水をくんで観察
・pHを測ってみよう
・パックテストで調べてみよう
・顕微鏡でプランクトンを観察しよう
・水をろ過してみよう




2階

事務室 立入禁止 (入っちゃダメ)

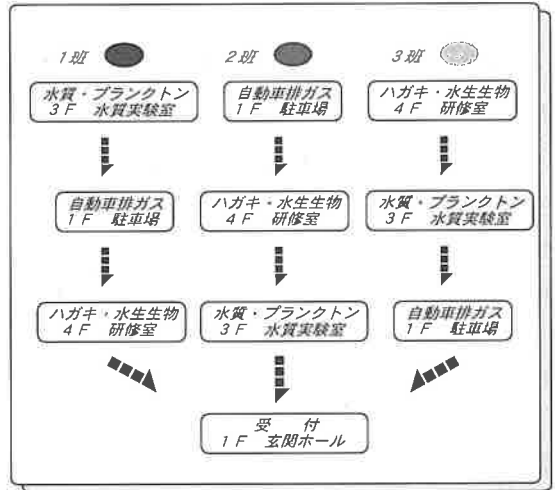
1階

自動車の排気ガスを調べよう
・自動車の排気ガスを集めてみよう
・検知管を使って濃度を測定
・アイドリングストップって何？
(ハイブリッドカーと普通自動車を比べてみよう)

玄関ホール 参加の受付をすませて、実験開始！



実験は、『今日の実験のメニュー』にあるように、
①水質調査をやってみよう。
②自動車の排気ガスを調べよう。
③水生昆虫を観察・牛乳パックでハガキを作ってみよう。
の3つの実験とパソコンを使った環境クイズ、大気テレメータ監視室の見学について行った。



①水質調査をやってみよう (3階 水質実験室)

センター近くを流れる新町川の水を実際に採水し、『夏休みこども実験室』用に作成したマニュアルにもとづいて現地での気温、水温、透視度、色相等を測定し、その結果を記録するようにした。

あわせて、プランクトンネットを用いて、プランクトンの採取を行い、採水した水と一緒に実験室に持ち帰り、下記の項目について実験・観察を行った。

項目	方法	調べること
pH	pH計	水の酸性・アルカリ性を調べ、植物プランクトンの影響などを見る。
COD	パックテスト	水の汚れ具合を調べる。
ろ過物	吸引ろ過	ろ過したろ紙を観察しきれに見える水もいろいろなものが混ざっていることを見る。
プランクトン	顕微鏡による観察	川にいるプランクトンを顕微鏡で観察する。

実験は、まず pH 計を用いて川の水を調べたが、pH の酸性、アルカリ性がどういうものを理解できるように、レモン汁、合成洗剤の pH を調べる実験も合わせて行った。

バックテストによる水質測定の実験は、多くの子供が今までに経験しているようだったが、水をろ過したり、顕微鏡を

覗いたりする操作は経験のない子供が多く、興味深く実験をしていた。

顕微鏡で覗いたプランクトンは、写真としてプリントアウトし、ろ過したろ紙も MS パウチで持ち帰れるようにした。

水質調査をやってみよう

1. ゆうなぎ棧橋から、採水しよう。



あぶないから、足もとに気をつけてね！！

*ゆうなぎ 徳島県 環境調査船
 全長 16.80m 総トン数 19トン
 全幅 4.20m 航海速力 18ノット
 深さ 1.85m

平成11年 8月28日 時 分

きょうの天気

気温 °C) 温度計ではかるう

水温 °C

色相 どのような色に見えるかな

透視度 cm 透視度計を使ってみよう

気づいたこと (ゴミはあったかな? 水の状態は?)

透視度計ってなに?



調べたい水を透視度計に入れ、真上から見ながら筒の下にあるコックを開き、水をへらしていきます。底の二重十字がはっきり見えてきたところでコックを閉じ、その時の水の高さを読みます。目盛りはcmで、透視度〇cmと表します。

プランクトンネットってなに?



水中にいるプランクトンを採集するための道具です。細かい網の目になっており水をこしながら、プランクトンを集めることができます。

1. 実験室で実験開始

pHをはかってみよう (pH計)

pHの値

pH (水素イオン濃度) は、水の酸性、中性、アルカリ性を示す数値です。

1 7 14
 酸性 ←中性→アルカリ性

pHは、水中生物の呼吸作用による二酸化炭素 (CO₂) の量によって左右される場合があり、夏の晴天時には、植物プランクトンの光合成によって、水中のCO₂が植物にとりこまれ、pHが9付近まで上昇する場合があります。



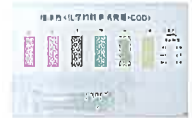
2. バックテストをしてみよう

バックテスト (COD: 化学的酸素要求量) で水のごれぐあいを調べよう。

CODの値 mg/l

水の汚れを知るうえで、とても重要な目安として水のなかの有機物の量があげられます。有機物には、プランクトンや家庭の台所やお風呂からの生活排水、家畜のし尿などがあります。水のなかに酸化力の強い試薬をいれると、酸化されやすい物質 (主に有機物) が酸化されていきます。CODは、この水のなかの有機物が酸化するときに必要な試薬 (マンガネ酸カリウム) の量を酸素の量に換算して表すものです。

バックテストの中には、(試薬 (過マンガン酸カリウム) と緩衝剤が入っていて、水を吸い込むと水のなかに含まれている有機物の量によって試薬と反応し色がつきます。この色を標準色と比べて値を知ります。



CODの汚れのめやす

0 ppm	汚染のないきれいな川
1 ppm以下	きれいな溪流、ヤマメ、イワナがすむ
1~2 ppm以下	雨水
2~5 ppm	少し汚染されている。生活排水や工場排水の流入がない河川でも、落ち葉や水草の分解で1~5ppm程度になることもある。比較的汚染に強いコイ、フナがすむ
2~10ppm	河川の下流の水
10ppm以上	下水、汚水



顕微鏡でプランクトンの観察



ろ過したろ紙をパウチ

②自動車の排気ガスを調べてみよう。

アイドリングストップの必要性と普通自動車と低公害車(ハイブリッドカー：プリウス)の排気ガスの濃度の違いをみて、大気を汚す度合いを理解してもらうため、検知管を用いて一酸化炭素、二酸化炭素、窒素酸化物、ベンゼンの測定を行った。

検知管の取り扱いは、小学校の教科書に取り上げられてい

るものの、実際に検知管の操作をするのは初めての様子だった。濃度の表現で、ppm やパーセントを使つての話となるため、理解しにくいところもあったようだが、濃度の数値を比較しただけでもハイブリッドカーの方が、低い数値であり、環境にやさしい自動車であることがわかったようだった。

自動車の排気ガスを調べよう

1. 自動車の排気ガスには、何が含まれているのかな？



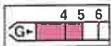
炭化水素(ベンゼン、トルエン、ヘキシルン等)
窒素酸化物、硫黄酸化物、鉛化合物
一酸化炭素、二酸化炭素、粒子状物質等

2. 検知管を使って実際に濃度を調べてみよう。

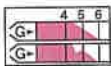
注意! ガラスで手を切らない、切り口に注意してね。



- ① チップカッターで両端をカットする。
- ② ガス採取器に検知管を通気方向に従って取り付ける。
- ③ 採取器のハンドルの赤点と赤点を合わせ、ハンドルを一気にいっぱいまで引いて、試料ガスを採取する。
- ④ インジケーターが、通気終了の位置になれば、ハンドルを90度回して元の位置にもどす。
- ⑤ 濃度を読みとる。



変色層の先端を読みます。
測定値 5



変色層の先端がななめの時は、中間で読みとってね。
測定値 5



自動車の排気ガスを集めます



測定した濃度結果(3班)

測定物質	普通自動車	ハイブリッドカー
窒素酸化物	200ppm	20ppm
一酸化炭素	0.6%	0.1%
二酸化炭素	8%	14%
ベンゼン	2ppm	1ppm



自動車排気ガスの測定

③水生昆虫を観察・牛乳パックでハガキを作ってみよう

実験前日に採集してきた勝浦川の水生昆虫を観察し、スケッチしたり、顕微鏡で覗いてトビケラ類、カゲロウ類のなかまを調べた。

前日の採集で、あまり多くの種類の昆虫を採集できなかったが、部屋の中で顕微鏡を覗いたり、スケッチをして、観察を楽しみながら行っていた。

また、牛乳パックでのハガきづくりは、市販の『はがきづくりセット』（柗はくぶん）を使って一人一人が実験できるようにした。限られた時間で実験をするため、最初のパルプづくりからは出来ないため、牛乳パックからのパルプづくりはあらかじめ用意しておき、パルプにするまでの途中の過程は、見本で示した。

水生昆虫を観察しよう

きれいな水の流れる川底の石には、たくさんの水生昆虫がすんでいます。いろいろな生き物を観察してみよう！



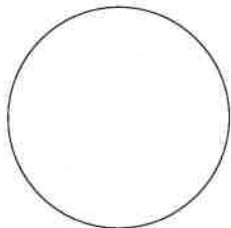
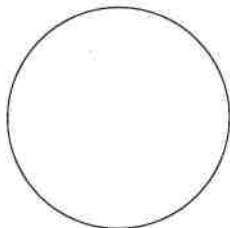
ヒゲナガカワトビケラ



エルモンヒラタカゲロウ



フタツメカワゲラ属



自分でも、スケッチしてみよう。



また、ただはがきを作るだけでなく、切り絵をすき込んだり、流し絵の具で模様をつけるなど、他ではないハガきづくりが出来るように工夫した。

実験終了後のアンケートで、子供たちがもっとも楽しんでいたのはこのコーナーで、夢中になりすぎて予定していた時間を超過してしまう子供もいて、次の実験に進むのが遅れたグループもあった。

④その他

実験以外にも、大気汚染のテレメータ監視状況を見学したり、パソコンを使った環境クイズ、環境に関するビデオの上映など、実験以外にも環境の学習ができるようなコーナーも設けた。



III アンケート調査結果について

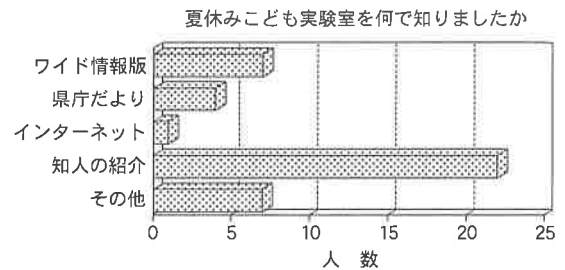
夏休み子ども実験室終了後、実験についてのアンケートを実施した。

参加人数、性別、学年構成は下記のとおりである。参加案内には、小学校5、6年生を対象としたが、兄弟やグループの参加の関係で低学年も参加希望があった。

参加人数	42名	男	18名	女	24名
学年	小学校1年	1名	小学校3年	4名	
	小学校4年	4名	小学校5年	23名	
	小学校6年	9名	教師	1名	

1) 今日の、『夏休み子ども実験室』があることを何で知りましたか？

徳島新聞（8/2）ワイド情報版	7名
徳島新聞（8/11）県庁だより OUR徳島	4名
インターネット 保健環境センター ホームページ	1名
知人の紹介	22名
その他（父母にすすめられて）	7名

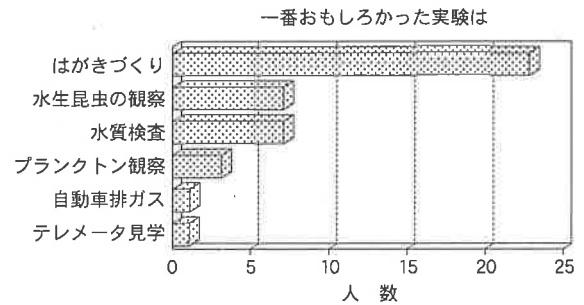


2) 今日の実験・観察をやってみて感じたことは？

おもしろかった	42名
あまりおもしろくなかった	0名
どちらでもない	0名

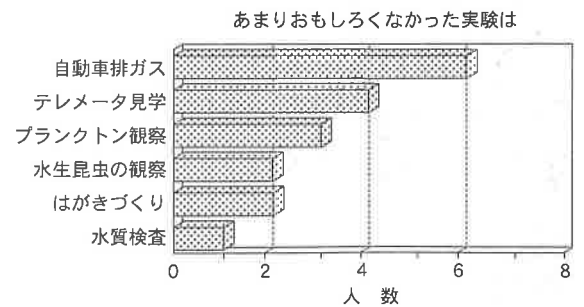
3) 一番おもしろかったことは？

牛乳パックを使った『オリジナルはがきづくり』	23名
水生昆虫の観察	7名
pH測定や、ろ過実験、パックテストなどの水質検査	7名
顕微鏡で見たプランクトン観察	3名
検知管を使った自動車排ガスの測定	1名
大気の汚れがわかるテレメータ監視状況の見学	1名



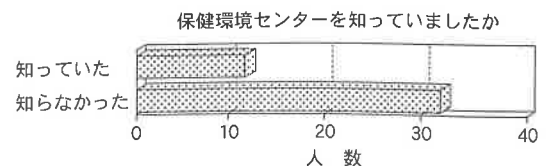
4) あまりおもしろくなかったのは

検知管を使った自動車排ガスの測定	6名
大気の汚れがわかるテレメータ監視状況の見学	4名
顕微鏡で見たプランクトン観察	3名
水生昆虫の観察	2名
牛乳パックを使った『オリジナルはがきづくり』	2名
pH測定や、ろ過実験、パックテストなどの水質検査	1名



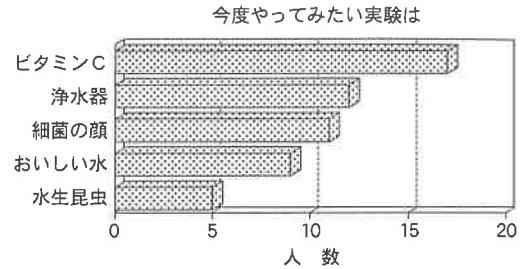
5) 保健環境センターのことは知っていましたか？

知っていた	11名
知らなかった	31名



6) センターでは、今後いろいろな実験教室を計画しています。次の中で参加してみたいものはどれですか？（複数回答）

ペットボトルのジュースの糖分、ビタミンCはどれくらい	17名
浄水器って、どれくらい水がきれいになる？	12名
お腹に悪い細菌って、どんな顔	11名
おいしい水の成分って、何がちがうんだろう。	9名
水生昆虫を採って、観察しよう	5名



7) 今日の実験についての感想、要望などがあれば書いて下さい。

- ・牛乳パックで作るハガキづくりは、リサイクルにもなるのでおもしろかった。
- ・実験をもっと増やして欲しい。
- ・いろいろな実験ができておもしろかった。また、やってほしいと思った。
- ・今まで知らなかったことがたくさんあったので、勉強になった。
- ・何か見たことがないものがたくさんあって、おもしろかった。来年も来てみたい。
- ・環境はとても大切なんだなと思った。こんな計画をまた立てて下さい。

2時間で多くの実験を企画したため、少々慌ただしい実験になったが、アンケートの内容を見る限り、参加した子供たちには、満足してもらえ実験が実施できた。

一番楽しかった実験が、牛乳パックによるハガキづくり、次が水生昆虫の観察となっているが、これは、ただ、ハガキを作るのではなく動物のシルエットを型抜きできる道具を利用して作った切り絵をハガキにすき込んだり、流し絵の具で模様をつけるという企画や、野外での水生昆虫の観察の雰囲気を実験室で体験できるようにするなど、少し工夫した企画を考えて実施できたからだと思われる。

IV 今後の課題

今回の『夏休みこども実験室』は、平成11年の組織の変更により出来た企画情報科の協力により実施できた。現在のところ、センターには特別な環境学習の施設がないため、準備に、時間と手間を要したが、今後はアンケートで要望のあったような項目を今後、実験のメニューに加え環境の分野だけではなく、保健の分野を含めた『子ども実験室』の開催を計画していきたい。

最後に、『夏休みこども実験室』を実施するにあたり、マニュアル作成では、インターネットからの情報やデジタルカメラの映像を盛り込んだり、印刷をカラーにするなど少しでもわかりやすいマニュアルづくりに努力し、後で見てもわかりやすいものとなるように努力する一方、観察用の水生昆虫や顕微鏡の準備、はがきづくり用の牛乳パック（パルプ）の下準備など大変だったところもあるが、環境教育推進班のメンバーだけでなくセンターの多くの職員の協力を得て、最初の試みとしては満足出来る内容が実施できた。

今後は、今回のアンケート調査で得られた結果を生かし、保健環境センターで実施している日々の実験や調査の内容を、環境分野に限らず保健分野においても体験学習ができるような内容を企画していきたい。そうすることによって、環境を大切にすることの必要性や保健衛生の業務の重要性を早くから理解してもらえれば幸いである。

参考文献

- 熊本県環境公害部環境保全課：川の水環境 調査のてびき (1995)
- 河辺 昌子：だれでもできるやさしい水のしらべかた (合同出版)
- 検知管 (ホームページ)
- : http://www.jsbc.go.jp/db/hp5/cs/csd_b2.html



誘導結合プラズマ発光分析法による微量ほう素の 定量に関する検討

徳島県保健環境センター

岩佐 智佳・高島 京子・井上弘一郎
大垣 光治

Studies on determination of trace amounts of boron by ICP - AES

Chika IWASA, Kyoko TAKASHIMA, Kouichirou INOUE and Mitsuharu OGAKI

Tokushima Prefectural center of Public Health and Environmental Sciences

Abstracts

We studied on determination of trace amounts of boron by ICP-AES. After that studying, we found that determination range was 0.02~8mg/l when we did pretreatment using plastic tools and measured by an internal standard method.

And we found we can use ion-exchanged water instead of A3 water.

As the results of survey of river water in Tokushima prefecture, we found the correlation ratio between boron concentrations and ion chlorine concentrations was $2.5\sim 2.7\times 10^{-4}$.

Key words : ほう素 boron, 誘導結合プラズマ発光分析法 ICP-AES, ふっ素 fluoride

I はじめに

ほう素、ふっ素は、平成5年に、要監視項目として指針値が示されたが、平成11年2月環境庁告示第16号¹⁾によって、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素とともに、環境基準健康項目へ移行した。

その際に、新たなラットの生殖毒性試験を基に、TDIの変更を行い、さらに厚生省が行ったマーケットバスケット調査の結果を踏まえて、ほう素の環境基準値は現行の指針値0.2mg/lから1.0mg/lに変更された。

そこで、今回、ほう素の分析法^{2),3),4),5)}の検討を行い、その確立した方法を用いて、徳島県の河川における環境濃度の実態把握を目的とした調査を行った。

日本海洋学会の海洋観測指針⁶⁾によると、海水中には、4.5mg/l程度のほう素が含まれており、海域には環境基準を適用しないこととしている。しかし、汽水域の場合には、この自然的原因で基準を超える可能性が考えられる。その場合の測定結果の評価についても検討した。

II ほう素の分析法の検討

ほう素の分析は、公定法では規格47.1(メチレンブルー吸光度法)もしくは、規格47.3(ICP発光分析法)に定める

方法、又は、付表7に掲げる方法(ICP質量分析法)と定められているが、今回は、規格47.3(ICP発光分析法)について、詳しく検討した。

1. 分析器具

ガラス器具からのほう素による汚染を防ぐため、すべてナールゲン研究用プラスチック製品を使用した。

シーリングキャップ付き沈殿瓶	250ml
ポリプロピレン製 メスフラスコ	50,100ml
ポリプロピレン製 メスシリンダー	50,100ml
ポリプロピレン製 ホールピペット	1,5,10ml
ポリプロピレン製 先端ピペット	1,5,10ml
ポリカーボネイト製 三角フラスコ	50ml

2. 前処理 (Fig.1)

規格47.3では、試料に懸濁物質が含まれる場合は、ろ過又は遠心分離によって除去することとされている。そこで今回は、ろ過途中での物質の混入を防ぎ、多量の試料を迅速に処理するために、約60mlの検水を、3000rpmで10分間遠心分離することとした。

遠心分離を行なった後、上澄み40mlを分取し、硝酸0.6mlを加えて0.2N硝酸溶液に調整し、ICP測定に供した。

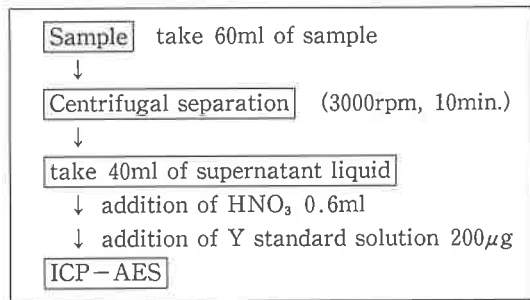


Fig.1 Flow chart of the improved JIS pretreatment

ICPの測定にあたっては、外乱による測定値のバラツキを小さくするため、規格47.3の注(8)の内標準法を用いることとし、そのため、測定用の検水に1000mg/lのイットリウム標準溶液を0.2ml加えた。

この溶液について、波長249.773nm(ほう素)と同時に371.029nm(イットリウム)の発光強度を測定し、ほう素とイットリウムとの発光強度の比を求めた。

3. 分析装置及び測定条件

ICP 発光分析装置は、セイコー電子工業(株)製 SPS4000型

- 分光器 マウント方式：ツェルターナ (真空型)
- 焦点距離：1 m
- 測光部 検出部：光電子増倍管
- 測光高さ：9.9mm
- ネブライザ：Concentric Glass Nebulizer
- アルゴンガス流量 キャリアガス 1.0 l/min
- プラズマガス 16.0 l/min
- 補助ガス 0.5 l/min
- 測定波長 ほう素 249.773nm
- イットリウム 371.030nm
- 予備噴霧 30秒
- 洗浄時間20秒

ほう素はメモリー効果が大きいので、1検体測定後、イオ

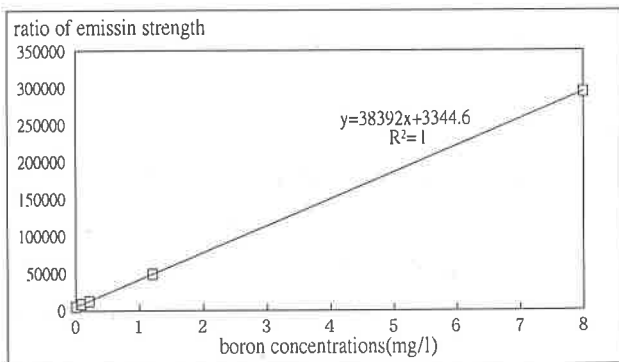


Fig.2 Comparison of boron concentrations measured by an internal standard method

ン交換水を十分噴霧してプラズマトーチ内が洗浄されたことを吸光度モニターで確認した後で次の検体測定を行なった。

4. 内標準法による検量線作成

規格注(8)に従い、波長249.773nm(ほう素)と同時に、371.030nm(イットリウム)の発光強度を測定し、ほう素濃度と発光強度比の関係から検量線を作成した。その結果を Fig. 2に示すが、今回の分析条件により、規格47.3に示されている定量範囲20~8000μg/lでの、ほう素濃度と発光強度比の比例関係が確認された。その際、空試験としては、石英ガラス又は金属製の蒸留器を用いて調整したA3の水を用いることが規定されている。しかし通常の実験室では入手が非常に困難なことから、今回はイオン交換水を代替品として使用した。この水を検水と同様に前処理を行ないICP測定を行なった発光強度比がTable 1である。

Table 1 Analytical results of blank test

Samples	ratio of emission strength
ion exchanged water	-0.009
distilled water	-0.011
tap water	0.007

この結果、前処理中の物質の混入は観測されず、今後、イオン交換水を空試験用の水として用いて差し支えないことがわかった。

また、測定中にわずかに0点がずれていくため、ここではマイナス値を示している。それを防ぐには、10検体に一度くらいブランクを噴霧したほうがよいと思われる。

III 徳島県内河川への適用とその結果

“II ほう素の分析法の検討”で述べたように、分析器具としてナルゲン研究用プラスチック製品を用いて前処理を行ない、イットリウムによる内標準法でICP分析を行なうことに



Fig.3 Surveyed points in the Tokushima Pref. rivers

より0.02mg/lの濃度まで定量できることが確認された。これは、環境基準として定められている値1.0mg/lの1/50である。

そこで、確立した分析法を用いて、徳島県内河川についてその濃度の測定を実施した。

1. 調査方法

1) 調査地点

徳島県下の18河川, 28地点 (Fig.3)

2) 調査時期

平成11年8月5日~31日の間に各地点1回

3) 調査項目

pH, DO, BOD, COD, SSの一般項目以外に, Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻, Br⁻及びふっ素について, イオンクロマトグラフ法により分析した。

2. 結果とその考察

28地点での各項目の測定結果を Table 2に示す。

ほう素についての分析を実施した28検体のうちの12検体は今回設定している0.02mg/l未満であった。検出された11地点での濃度は0.04mg/l~2.7mg/lであり、撫養川大里橋で環境基準値の1.0mg/lを超えていた。この地点は、河口部に近い汽水域であり、その塩素イオン濃度は10000mg/lであった。海水中の塩素イオンが18000~20000mg/l程度であることを考えると、海水の影響により基準値を超えて検出されたと判断される。

「汽水域等における「ふっ素」及び「ほう素」濃度への海水の影響程度の把握方法について (平成11年3月12日付け環水企第89-2号・環水管68-2号)⁷⁾」で、基準値を超えている可能性についての判断手法が示されているが、汽水域での人為汚染による影響を把握する手法については示されていない。

Table 2 Analytical results of rivers in Tokushima prefecture

name	surveyed points	data	time	items																		remarks
				pH	DO mg/l	BOD mg/l	COD mg/l	SS mg/l	Na mg/l	NH ₄ mg/l	K mg/l	Mg mg/l	Ca mg/l	Cl mg/l	NO ₂ mg/l	Br mg/l	NO ₃ mg/l	PO ₄ mg/l	SO ₄ mg/l	F mg/l	B mg/l	
吉野川	大川橋	8.17	11:45	7.0	9.5	0.7	1.1	1	1.7	0.01	0.43	1.0	5.5	1.6	<0.01	<0.2	0.62	<0.1	3.8	0.11	0.04	
銅山川	平和橋	8.17	12:08	7.7	8.4	0.9	1.3	<1	7.4	0.22	1.4	2.4	14.	6.5	0.02	<0.2	2.9	<0.1	14.	0.12	0.06	
旧吉野川	藍園橋	8.24	10:30	7.4	8.1	0.9	1.7	9	5.5	0.09	1.0	1.8	8.6	6.3	0.04	<0.2	2.4	0.18	7.6	0.09	<0.02	
撫養川	大里橋	8.24	11:30	7.7	5.7	0.9	2.4	2	6100.	<0.01	220.	730.	230.	10000.	<0.01	38.	0.95	3.0	1500.	2.0	2.7	tidal area
今切川	鯛浜橋	8.24	10:00	6.9	6.1	1.4	2.3	3	1600.	<0.01	60.	190.	74.	2700.	<0.01	10.	2.0	0.25	420.	0.50	0.73	tidal area
	河口	8.9	10:58	7.9	8.0	2.4	3.6	2	1200.	<0.01	46.	150.	68.	2300.	0.10	8.0	1.8	0.24	320.	0.35	0.58	tidal area
勝浦川	福原大橋	8.9	11:35	7.0	9.1	0.5	<0.5	1	2.4	0.08	0.35	1.4	7.2	2.1	<0.01	<0.2	1.0	<0.1	2.9	0.08	<0.02	
	江田潜水橋	8.9	13:50	7.3	9.0	0.8	0.9	3	3.1	0.04	0.59	1.5	6.9	2.8	<0.01	<0.2	2.0	<0.1	4.3	0.09	<0.02	
神田瀬川	西の口橋	8.9	10:25	6.6	8.6	1.1	1.4	2	7.3	0.10	1.0	3.5	12.	7.7	0.15	<0.2	3.8	0.27	10.	0.09	<0.02	
	神代橋	8.9	10:10	6.6	6.9	2.0	2.7	4	180.	<0.01	8.2	23.	19.	310.	0.08	1.1	3.5	0.27	62.	0.13	0.10	tidal area
		8.9	14:05	6.8	7.7	2.0	2.8	3	110.	0.81	5.7	15.	17.	170.	0.09	0.69	3.6	0.27	38.	0.11	0.10	tidal area
那賀川	蔭谷橋	8.26	11:30	7.8	9.5	0.5	1.0	2	2.7	0.03	0.47	1.2	9.8	1.9	<0.01	<0.2	0.48	0.13	3.3	0.07	<0.02	
	田野橋	8.26	12:10	8.1	9.7	0.6	0.9	1	3.9	0.07	0.51	1.3	9.3	3.7	0.02	<0.2	0.45	0.13	3.4	0.08	<0.02	
桑野川	桑野谷橋	8.26	10:40	7.3	9.1	0.9	1.6	2	19.	0.27	1.8	2.2	13.	10.	0.06	<0.2	3.3	0.27	27.	0.22	<0.02	
岡川	西方潜水橋	8.31	14:20	7.7	8.5	1.7	1.8	2	100.	1.45	1.0	3.5	17.	40.	0.21	<0.2	6.9	0.49	180.	0.21	0.08	
	文化橋	8.31	14:35	7.6	8.5	1.6	2.0	3	40.	0.76	1.1	11.	29.	83.	0.21	0.36	4.0	0.32	43.	0.12	0.06	
打樋川	天神橋	8.31	11:23	7.7	8.2	7.0	9.1	30	110.	0.80	8.2	28.	47.	210.	<0.01	0.80	<0.1	0.15	86.	0.29	0.17	tidal area
福井川	鉦打橋	8.31	13:35	8.4	8.7	1.5	2.7	4	6.5	0.10	0.94	1.2	4.0	6.3	0.02	<0.2	0.49	<0.1	4.5	0.06	<0.02	
	大西橋	8.31	12:45	6.7	6.9	1.1	1.9	6	9.9	0.16	1.2	1.9	8.0	10.	0.07	<0.2	1.9	0.13	7.7	0.09	<0.02	
椿川	加茂前橋	8.31	13:10	7.1	7.8	0.6	1.5	<1	9.7	0.07	1.5	1.7	7.9	9.5	<0.01	<0.2	1.5	0.21	7.4	0.20	<0.02	
日和佐川	永田橋	8.5	11:10	6.9	8.7	0.5	0.7	<1	4.7	0.06	0.62	0.74	2.9	4.1	0.02	<0.2	0.82	0.18	3.2	0.06	<0.02	
	厄除橋	8.5	11:23	7.1	9.0	<0.5	0.9	<1	250.	<0.01	10.	30.	13.	460.	<0.01	1.5	0.93	0.17	66.	0.11	0.16	tidal area
牟岐川	牟岐橋	8.5	11:55	7.3	8.9	<0.5	0.6	<1	4.9	0.03	0.65	0.79	2.9	4.4	<0.01	<0.2	0.65	<0.1	3.2	0.06	<0.02	
	中央橋	8.5	12:05	7.1	9.3	<0.5	0.8	<1	13.	0.07	1.0	1.5	3.2	17.	<0.01	<0.2	0.59	<0.1	5.0	0.09	<0.02	tidal area
海部川	吉野橋	8.5	13:12	7.3	9.0	<0.5	0.6	7	3.4	0.02	0.53	0.65	3.7	2.1	<0.01	<0.2	0.38	<0.1	3.2	0.05	<0.02	
	新海部川橋	8.5	13:32	7.1	8.9	<0.5	0.5	4	3.5	0.02	0.56	0.69	3.9	2.2	<0.01	<0.2	0.44	<0.1	3.3	0.07	<0.02	
母川	母川橋	8.5	13:23	7.1	9.1	<0.5	0.6	<1	4.9	0.02	0.68	1.0	4.6	3.4	<0.01	<0.2	0.60	<0.1	5.2	0.07	<0.02	
穴喰川	中角橋	8.5	13:48	7.3	9.0	<0.5	0.8	<1	4.7	0.02	0.63	1.0	2.8	3.4	<0.01	<0.2	0.45	<0.1	4.6	0.06	<0.02	
	穴喰橋	8.5	13:57	7.2	9.0	<0.5	0.8	<1	4.9	0.02	0.65	1.0	2.9	3.5	<0.01	<0.2	0.49	<0.1	4.7	0.06	<0.02	tidal area

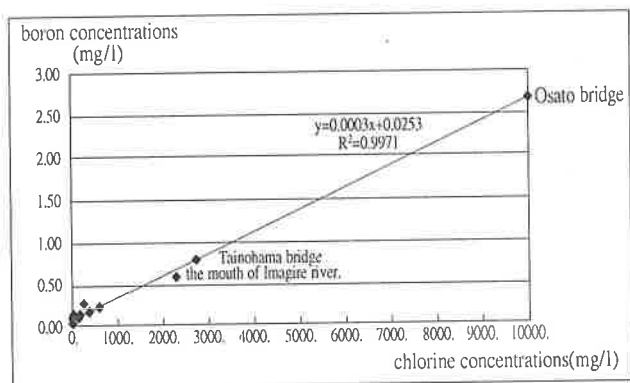


Fig.4 Correlation between boron concentrations and chlorine concentrations

で以下、考察してみる。

ほう素が検出された11検体について、塩素イオン濃度との比較を Fig.4に示す。ほう素濃度が0.1mg/lを超えている撫養川大里橋、今切川鯛浜橋及び河口の3地点についてその比率を見てみると、大里橋のほう素濃度(mg/l)と塩素イオン濃度(mg/l)の比は、 2.7×10^{-4} 、鯛浜橋は 2.7×10^{-4} 、河口は 2.5×10^{-4} でほとんど同じ比率である。

海水調査指針⁹⁾(1990年版)p.147に示されている“表8.2 海水中に含まれる微量元素の濃度”によると塩分35の海水の場合、塩素イオン濃度は 1.987×10^4 mg/l、ほう素濃度は4.5mg/lで、比率は 2.3×10^{-4} であり、我々が得た $2.5 \sim 2.7 \times 10^{-4}$ とほとんど同じ値である。このことより、大里橋、鯛浜橋、河口での測定値は、海水が淡水により希釈されたためであり、人為的な汚染ではないと考えられるが、あくまでこれは、標準的な海水から算出した比率である。今後、徳島県沿岸の海水について、塩分と塩素イオン濃度、及びほう素濃度を調査し、それらのデータを解析して汽水域のほう素の汚染の指標となる比率を求めていきたいと思っている。

今回、ふっ素については詳しくは解析しないが、環境基準

の0.8mg/lを超えていたのは、ほう素の場合と同様、撫養川の太里橋であった。

IV おわりに

ICP-AESを用いて、ほう素の分析に対する検討を行なったところ、分析器具としてプラスチック製品を用いて前処理を行ない、内標準法で分析することにより、0.02~8mg/lの範囲で定量可能なことが解った。

次に、空試験としては、A3の水のかわりにイオン交換水を使用することが可能であることもわかった。

また、この方法により、実河川水について調査したところ、自然由来の場合、汽水域でのほう素と塩素イオン濃度の比率は、 $2.5 \sim 2.7 \times 10^{-4}$ であることが解った。

文 献

- 1) 環境庁告示第14号：「水質汚濁に係る環境基準の一部を改正する件」, 平成11年2月22日
- 2) 日本規格協会：JIS K 0102工場排水試験方法 (1998), P185-187
- 3) 日本規格協会：詳解工場排水試験方法改訂3版 (1999), P327-333
- 4) 日本水道協会：上水試験方法 (1993), P260-262
- 5) 日本水道協会：上水試験方法解説編 (1993), P298-300
- 6) 日本海洋学会：海洋観測指針 (気象庁編) (1990), P147
- 7) 環水企第89-2号, 環水管第68-2号：「汽水域等における「ふっ素」及び「ほう素」濃度への海水の影響程度の把握方法について」, 平成11年3月12日
- 8) 紀 杉, 藪内智規, 他：分析化学 (Bunseki Kagaku), Vol48, No.10, 897 (1998)
- 9) 高村真知子：全国公害研協議会中国・四国支部第26回水質部会資料, 平成11年10月

示差走査熱量計を用いた微生物活性の測定に関する検討

徳島県保健環境センター

高島 京子

徳島大学工学部化学応用工学科

田村 勝弘

Study on microbial activity by differential scanning calorimeter

Kyoko TAKASHIMA

Center of Public Health & Environmental Sciences in Tokushima Prefecture

Katsuhiro TAMURA

Department of Chemical Science and Technology, The University of Tokushima

Key words : 示差走査熱量計 Differential Scanning Calorimeter, サーモグラム thermogram

I はじめに

現在、多くの微量の有害化学物質による環境の複合汚染が深刻化し、その存在が明らかになる度に大きな社会問題となっている。そして、我々が使用したり、すでに環境中に放出された有害化学物質の生態系に及ぼす影響が懸念されている。今回、高感度の熱量計を用いて、微生物の増殖や代謝に伴って発生する熱量を測定し、化学物質が生物や生態系に及ぼす影響を表す指標の1つとして代謝熱が利用できるか検討を行った。

今回は、モデル系として単一生物、単一化学物質の組み合わせで実験を行ったが、熱量は複合系についても支障なく測定を行うことができるため、実際の環境に即した生体影響評価に発展させることが可能である。今後、微生物の代謝熱の測定は、環境に対する化学物質の毒性評価法の有効な手段として期待できる。

なお、本報は、平成9年8月1日から平成10年1月31日までの日程で、徳島大学工学部化学応用工学科物質機能化学講座座界面化学研究室の田村勝弘助教授の指導の下で、「微生物を利用した環境汚染計測等」というテーマで受けた専門技術研修をまとめたものである。

II 実験方法

II-1 試薬等

- 1 TPN (tetrachloroisophthalonitrile),
和光純薬工業株式会社製 残留農薬試験用 農薬標準品
- 2 チウラム (tetramethylthiuramdisulfide),
和光純薬工業株式会社製 残留農薬試験用 農薬標準品
- 3 ジメチルスルフォキシド,
同仁薬化学研究所 和光純薬工業株式会社製
同仁ドータイトスペクトロゾール
- 4 塩化ナトリウム, 和光純薬工業株式会社製 試薬特級
- 5 塩化カリウム, 和光純薬工業株式会社製 試薬特級
- 6 トリプトン, Difco Laboratories 製
- 7 酵母エキス, Difco Laboratories 製
- 8 Nutrient Broth (NB), Difco Laboratories 製
- 9 標準寒天培地, 日水製薬株式会社製
- 10 D(+)-グルコース, 関東化学株式会社製 特級
- 11 ペプトン, ミクニ化学産業株式会社製
- 12 寒天粉末, 和光純薬工業株式会社製 試薬特級
- 13 脱イオン水, 水道水をイオン交換樹脂(カートリッジ純水器G-10型, オルガノ株式会社製)に通水し, 導電率 $0.2\mu\text{S}/\text{cm}$ 以下になったものを使用した。

II-2 供試菌

以下で示した菌類を用いて実験を行った。

- 1 大腸菌 *Escherichia coli* K12 OUT 8401
- 2 酵母 *Saccharomyces cerevisiae* IFO 10149
- 3 枯草菌 *Bacillus subtilis* ATCC 6633

II-3 培地等の調製

1 L Broth 培地 (LB 培地)

トリプトン1g, 酵母エキス0.5g, 塩化ナトリウム0.5g を100 ml の脱イオン水に溶解し, pH7.1に調整した。この溶液5ml をスクリュウキャップ付き試験管に分注し, オートクレーブを用いて121°C, 15分間滅菌した。

2 標準培地 (NB 培地)

NUTRIENT BROTH 8.0g を1 l の脱イオン水に溶解し, オートクレーブを用いて, 121°C, 15分間滅菌した。

3 標準寒天培地

標準寒天培地23.5g に1 l の脱イオン水を加え, オートクレーブを用いて, 121°C, 15分間加熱溶解滅菌した。次に, クリーンベンチ内で滅菌済みプラスチックシャーレにこの溶液を適量流し込み, 冷却固化させた。

4 生理食塩水

塩化ナトリウム4.5g, 塩化カリウム4.5g を1 l の脱イオン水に溶解し, オートクレーブを用いて121°C, 15分間滅菌した。

5 YPD 培地

グルコース20g, ペプトン20g, 酵母エキス10g を1 l の脱イオン水に溶解し, オートクレーブを用いて, 121°C, 15分間滅菌した。

6 YPD 寒天培地

YPD 培地の成分に2%の寒天粉末を加え, オートクレーブを用いて, 121°C, 15分間加熱溶解滅菌した。次に, クリーンベンチ内で滅菌済みプラスチックシャーレにこの溶液を適量流し込み, 冷却固化させた。

7 無菌水

脱イオン水を, オートクレーブを用いて121°C, 15分間滅菌した。

II-4 実験装置

1 DSC (differential scanning calorimeter)

本実験で使用した熱量計は, Calorimetry Science Corporation 社製の Multi-Cell Differential Scanning Calorimeter CSC-4100である。

DSC は, 熱量の測定や温度走査に伴う熱量の変化を, 設定されたプログラムに従って変化させながら測定する装置で, 結晶化や相変化(例えば融解), あるいは生体高分子であるタ

ンパク質のヘリックスコイル転移が試料の温度上昇に伴って起こり, この変化を熱量変化として捕らえ, 高感度, 高精度で測定する装置である。そして, この熱転移からエンタルピー, エントロピーあるいは, 自由エネルギー量の熱力学的データが求められる。本装置は, 生物試料の研究に適したカロリメーターとして供給されている。

本装置には, 試料容器として, 4個のアンプルが使用され, 内1個は, 対照として用いられるため, 同時に3つのサンプルの熱量変化を測定することが可能である。アンプルは, Hasseloy 製で本体とパッキンのついた蓋からなっており, 容量は1ml である。

このアンプル中に, 3種類のサンプルと対照としての無菌水を無菌的に0.8ml ずつ注入し蓋をする。アンプルをセルホルダー内に納め2重のカバーをした後前もって入力したプログラムに従って測定を行う。得られたデータは, μW 単位に換算し横軸を時間軸としてグラフ化される。グラフの形や面積等の値について検討する事によって, いろいろな情報を得ることが出来る。

装置の概要を次の Fig.A, B に示す。

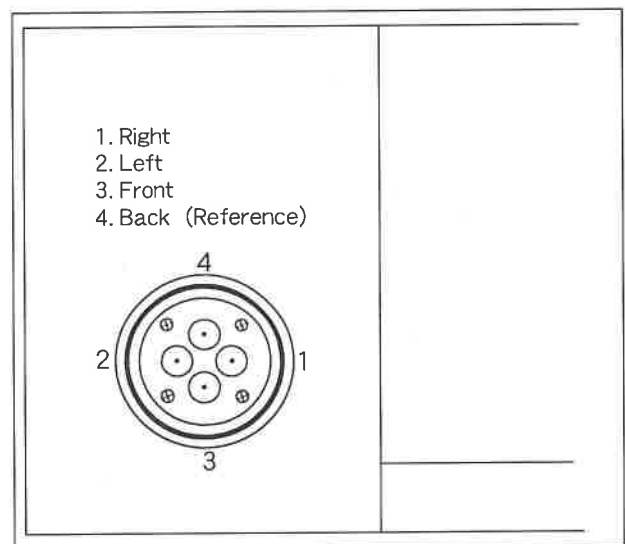


Fig. A セルの配置図

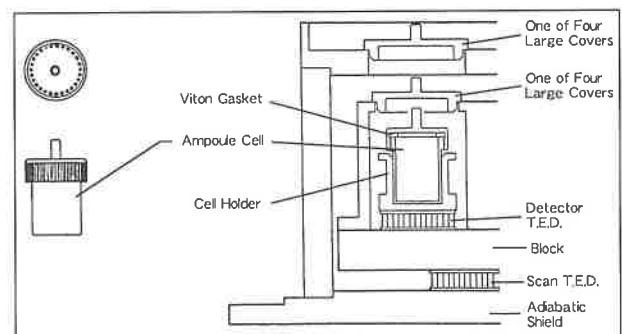


Fig. B DSC 装置内アンプル部模式図

II-5 実験操作

1 無菌操作

一連の操作は、すべてクリーンベンチ内で無菌操作により行った。その際、手指及びクリーンベンチ内は、ヒビテン添加の70%エタノール溶液で殺菌した。また、必要に応じて、ガスバーナーによる火炎滅菌を行った。

器具類は、131°Cで2時間、乾熱滅菌を行うか、または、121°Cで15分間、オートクレーブで高圧蒸気滅菌を行った。

2 菌株の保存

大腸菌、枯草菌は標準寒天、酵母は YPD 寒天で作成した斜面培地上で、冷蔵保存した。

3 生菌数の測定

大腸菌、枯草菌は生理食塩水、酵母は無菌水を用いて、定法通り10倍希釈法によって適当な濃度まで希釈した後、大腸菌、枯草菌は標準寒天培地、酵母は YPD 寒天培地上に、コンラージ棒を用いて塗布した後、大腸菌、枯草菌は、37°Cで24時間、酵母は、30°Cで72時間、インキュベーター内で培養し、増殖形成したコロニー数より生菌数 (cfu : colony forming units) を測定した。

4 OD₆₆₀の測定

培地の濁りから微生物の増殖度を測定する目的で、660nmにおける光学密度 (Optical density) を、使用した培地をリファレンスとして分光光度計を用いて測定した。

III 実験操作と結果

III-1 予備実験

熱量計を使用する前段階として、グラム陰性、通性嫌気性菌である大腸菌とグラム陽性、好気性菌である枯草菌、酵母の3種類の微生物を使って TPN を添加して静置培養を行い、OD₆₆₀の値から使用最適薬剤濃度を決定した。

TPN は、ジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解し、培地中のジメチルスルフォキシドの濃度が常に0.1%になるように薬剤添加を行った。

実験方法は、大腸菌と枯草菌については、保存培地から1白金耳菌体を接種した LB 培地を37°C、18時間静置培養した定常期菌体を、NB 培地で20倍に希釈した菌懸濁液に薬剤を添加した。菌懸濁液は、あらかじめ薬剤を注入した滅菌済100ml 三角フラスコに80ml 注入してから十分に攪拌した後、37°Cの恒温槽中に静置し、光学密度 (OD) を測定するために、一定時間ごとに4ml ずつ無菌的にサンプリングを行った。

酵母については、20ml の YPD 培地の入った50ml 三角フラスコに保存培地から1白金耳菌体を接種し、30°Cで、48時間から72時間振とうして前培養を行った後、20ml の YPD 培地の入った100ml 三角フラスコに1ml の前培養菌液を接種し、30°Cで、4時間振とう培養を行い対数期中期の菌体を得た。

初発菌数をそろえるために、この溶液の660nmにおけるODを測定し、YPD 培地で希釈して OD₆₆₀=0.4とした後、YPD 培地で100倍に希釈したものを菌懸濁液として使用した。この菌懸濁液について、30°Cの恒温槽を用いて、同様の操作を行った。

この結果、大腸菌は、0mg/l から8mg/l の TPN 添加で、次第に増殖速度が抑制され、酵母では、0mg/l から1mg/l の TPN 添加量で、誘導期の遅延が見られた。枯草菌においては、顕著な吸光度の上昇が見られず、静置培養による実験に向かないと思われたので、熱量計を使用する実験からは除くこととした。

実験結果は、Fig.1から Fig.3に示すとおりである。

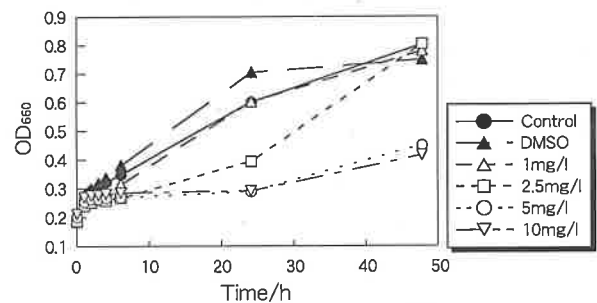


Fig. 1 大腸菌に TPN を作用させた時の OD₆₆₀ の変化

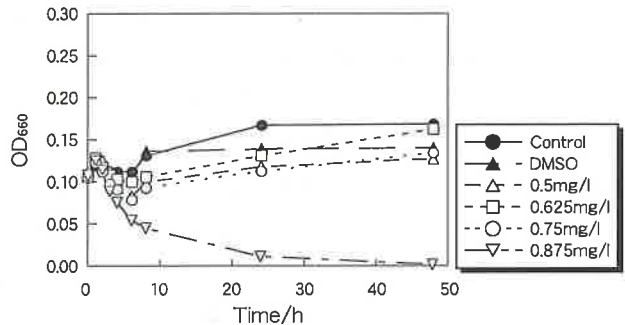


Fig. 2 枯草菌に TPN を作用させた時の OD₆₆₀ の変化

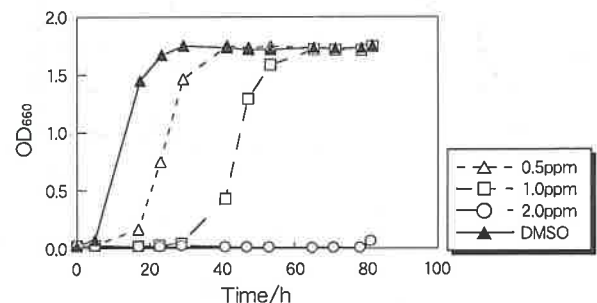


Fig. 3 酵母に TPN を作用させた時の OD₆₆₀ の変化

III-2 薬剤添加が OD₆₆₀, 生菌数, サーモグラムに及ぼす影響

熱測定で得られるサーモグラムが微生物のどのような挙動を表しているかを探るために、熱量計内の条件に近いと思われる静置培養により、OD₆₆₀, 生菌数の測定を、熱量計による測定に並行して行った。

1 大腸菌を使った実験

今回の実験では、酵母の培養条件にならって、対数期中期の菌懸濁液を用いることとした。

保存培地から、1白金耳菌体を移植したLB培地を、37°C、18時間静置して前培養を行い、得られた定常期菌体を、20mlのNB培地の入った100ml三角フラスコ内に1ml接種した後、37°C、2.5時間振とう培養して、対数期中期の菌体を得た。この菌液を、NB培地でOD₆₆₀=0.4に調整した後、NB培地で100倍に希釈して菌懸濁液とした。

予備実験と同様の方法で、菌懸濁液に薬剤の添加を行い、そのうち0.8mlを熱量計にセットして測定を行い、サーモグラムを得た。残りの菌懸濁液は、37°Cの恒温槽で静置培養を行い、一定時間毎に4mlずつ無菌的にサンプリングして、OD₆₆₀と生菌数の測定に使用した。この実験には、添加薬剤として、TPNに加えて、チウラムでも実験を行った。

2 酵母を使った実験

酵母の場合は、予備実験の方法に準じて菌懸濁液を得、大腸菌の実験と同様の方法で、30°Cの培養温度で、サーモグラム、OD₆₆₀、生菌数を得た。

これらの結果をFig.4からFig.11に示す。

Fig.4からFig.6は、大腸菌にTPNを作用させた時の、サーモグラム、OD₆₆₀、生菌数のグラフである。0~8mg/lの濃度範囲において、大腸菌の増殖速度が、薬剤によって阻害されていることが、OD₆₆₀、生菌数のグラフから確認できる。このときのサーモグラムは、薬剤濃度が増加するとともに、ピーク時間が遅くなり、ピーク高さも低くなっている。これは、サーモグラムが立ち上がる時の勾配が、薬剤濃度の増加に伴

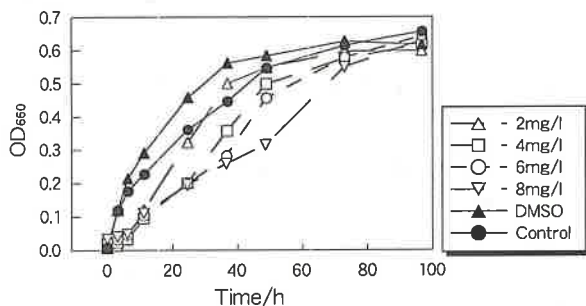


Fig. 4 大腸菌にTPNを作用させた時のOD₆₆₀の変化

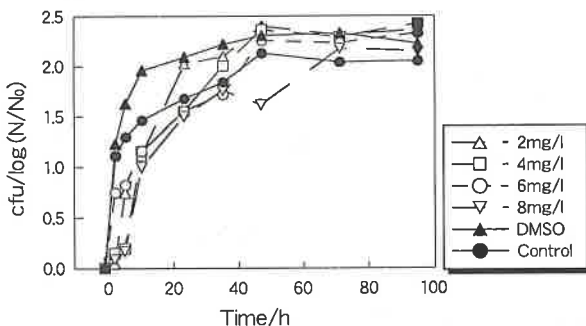


Fig. 5 大腸菌にTPNを作用させた時の生菌数の変化

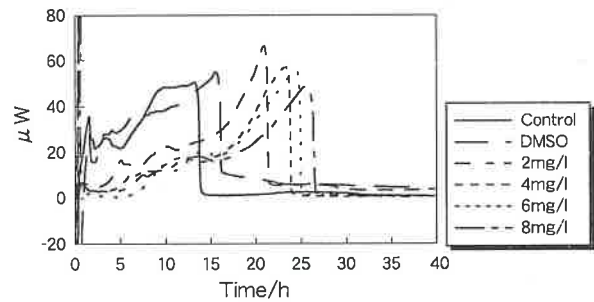


Fig. 6 大腸菌にTPNを作用させた時の増殖サーモグラム

い、緩やかになっているためであると思われる。

Fig.7とFig.8は、大腸菌にチウラムを作用させた時の、OD₆₆₀、生菌数のグラフである。薬剤としてTPNの代わりにチウラムを添加して同様の実験を行ったところ、OD₆₆₀のグラフより、大腸菌の増殖速度が薬剤によって阻害されるのではなく、誘導期の遅延効果が見られる事がわかった。このときの生菌数の変化を見ると、誘導期の遅延が見られる薬剤濃度において、初発菌数よりも生菌数がいったん減少してから増加に転じている事がわかった。これは、薬剤による殺菌作用によって大腸菌の一部が死滅し、生き残ったものが薬剤に対して馴化してから、増殖期に入るためであると考えられる。

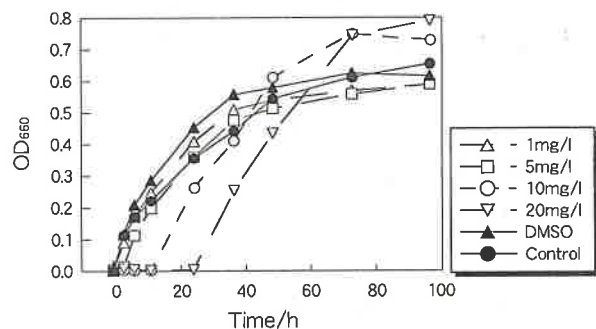


Fig. 7 大腸菌にチウラムを作用させた時のOD₆₆₀の変化

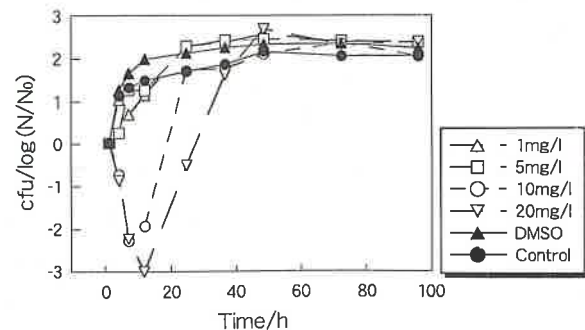


Fig. 8 大腸菌にチウラムを作用させた時の生菌数の変化

Fig.9からFig.11は、酵母にTPNを作用させた時の、サーモグラム、OD₆₆₀、生菌数のグラフである。この場合のOD₆₆₀、生菌数のグラフは、大腸菌にチウラムを作用させた時と同様の誘導期の遅延効果が見られた。この時のサーモグラムを見るとグラフの立ち上がる時間（発熱の起こり始める時間）が、薬剤濃度の増加とともに遅延しており、グラフの形

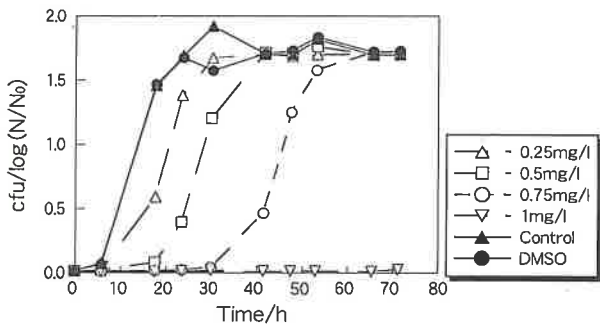


Fig. 9 酵母に TPN を作用させた時の OD₆₆₀ の変化

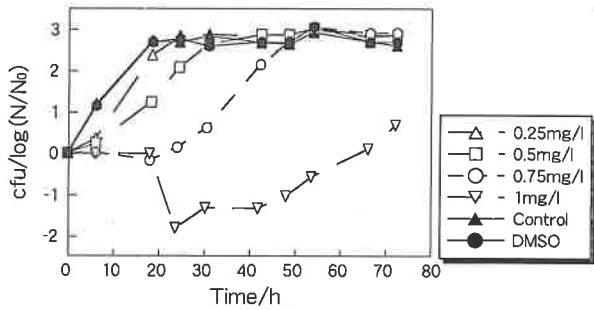


Fig. 10 酵母に TPN を作用させた時の生菌数の変化

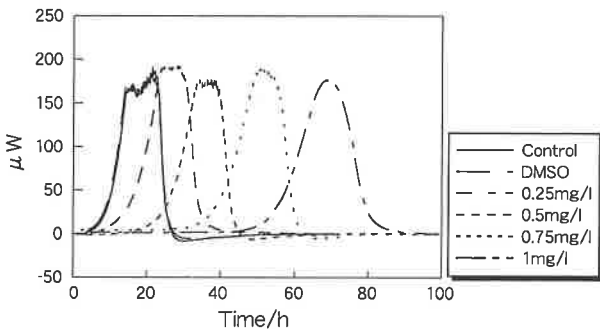


Fig. 11 酵母に TPN を作用させた時の増殖サーモグラム

は徐々にブロード化していることが分かった。

以上のことより、大腸菌や酵母に薬剤を作用させた時のサーモグラムの形状は、菌体の増殖過程を表現しており、グラフの勾配や、立ち上がり始める時間、グラフの面積を数値化することによって、薬剤の毒性や作用機構をあらわす指標となりうるということが分かった。

IV まとめ

以上の実験結果より、熱量計から得られた微生物の増殖サーモグラムは、他の方法に比べて精度が良く、連続的にデータが得られる事が分かった。サーモグラムの解析法を改良していけば、さらに多くの情報を得ることができる。

微生物や薬剤の種類によって、薬剤の作用機構に違いが現れることも分かった。今回は、単一の微生物に単一の薬剤を組み合わせる実験を行ったが、自然界には、汚染物質は単一の形で存在していることはなく、これらの物質同士の相互作用や相乗作用が現れる。一方、生態系も、微生物をはじめ多くの種が混在して生存している。熱量計は、生命活動に熱の出入りが伴っている事を考えると、化学物質が生き物に与える影響を総合的に見積もる手段として効力を発揮する事が出来ると考えられる。

文 献

- 1) 高橋克忠：細胞レベルの現象の熱測定、特に微生物細胞に対する薬剤作用の解析を中心に、熱測定, 18, 9 - 18 (1991)
- 2) 日本熱測定学会：第34回熱測定講習会テキスト、微生物活性の熱測定による計測とその応用 (1997)



橘港における海洋環境の時間および空間変動に関する研究

徳島県保健環境センター

有澤 隆文・林 修三・佐坂 克己
駒井 正弘・阿部 久一・大垣 光治

Temporal and Spatial Variations in Sea Water at Tachibana Bay

Takafumi ARISAWA, Shuzo HAYASHI, Katsumi SASAKA, Masahiro KOMAI, Hisakazu ABE and Mitsuharu OGAKI

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : 橘港 Tachibana Bay, 火力発電所 Steam Power Plant,
水質 Water Quality, クロロフィル a Chlorophyll a, 栄養塩類 Nutrients,
鉛直分布 Vertical Profile, 月別変化 Monthly Change
成層強度 Stratificative Strength

I はじめに

橘港小勝島では、国内最大級の出力(280万kW)を持つ石炭火力発電所が現在、一部試運転中であり、平成13年1月には操業開始を予定している。発電所の冷却水として使われる海水は小勝島の北部、南部から深層取水方式で取水され島の東部2カ所から温排水として水中放水される(図-1, 表-1)。

『橘湾水質予測調査 報告書』¹⁾によると

- 1) COD 拡散予測は、ほぼ全域で2mg/l以下
- 2) 温排水による表層での1℃上昇最大包括範囲の面積は8.1km²
- 3) 放水口から約300~400m離れた海面で約35~40cm/sの流速

になると予測している。

本報では、火力発電所放水口から約1.2km離れており最も温排水の影響を受けやすいと思われる環境基準点 St.2において水質の現状を把握することを目的とし、一般項目やクロロフィル、栄養塩等の鉛直分布や月別変化を明らかにした。

II 調査方法

調査地点 St.2(水深約15m)を図-2に示す。調査は平成9年~10年度の4月から3月にかけて月1回おこなった。項目は、水温、塩素量、DO、pH、COD、クロロフィル a (以下

Chl.a)、栄養塩類(T-N, T-P, NO₃+NO₂-N, NH₄-N, PO₄-P, SiO₂-Si)であり、分析方法はJIS K 0102や瀬戸内海広域総合水質調査(環境庁)等に準じた。なお、栄養塩類の分析はAuto Analyzer (BRAN+LUEBBE)でおこなった。採水は表層0.5m, 2.0m, 5.0m, 8.0m, 海底から-2mの底層の計5層である。ただしChl.aは表層、栄養塩類は表層(0.5m)と底層(海底から-2m)のみの採水であり、Chl.a、栄養塩類は平成10年1月に、T-N, T-Pは平成10年4月の底層のデータは欠測した。採水は本県環境調査船“ゆうなぎ”で行った。

III 調査結果

III-1 水温

橘港の表層水温は2月に最低水温約11℃、8月に最高水温約28℃を示すことがこれまでに報告されている²⁾。平成9年~10年の8月と9月にかけても表層水温が約28℃になり、2月には約11℃を示した(図-3)。

鉛直分布(図-4)では一般に表層が高い水温を示すか、あるいはほぼ底層と同じ水温を示した。気温が高くなる時期には表層で海面が温められ表層と底層で2~3℃の差がみられたが、11, 2月にはその温度差も1℃未満になった。

III-2 塩素量

表層の塩素量は1月に最高になり、5月から8月にかけて

低くなるのがこれまでに報告されている²⁾。

平成9年度の場合、表層で7月、12月、1月に低くなるが、底層で塩素量は17から18を示した(図-5)。平成10年度の場合、5月~7月にかけて表層で塩素量が16未満になり低くなったが、底層では17から18を示した。

平成10年5月のように表層で塩分躍層が顕著な時期以外は、表層で若干低くなるかあるいは底層とほぼ同じ値になり、その差も1未満であった(図-6)。

III-3 DO

表層のDO濃度は、冬期にかけて増加し、5月から11月にかけて7.5mg/l未満になることが報告されている²⁾。

鉛直分布を図-7に示す。5月には表層で約8mg/lから底層にいくにしたがって約7mg/lになり低くなった。8月には表層で約8mg/lを示したが、水深を増すたびDO濃度は低下し、底層で約5mg/lになり、その差も大きくなった。11月には全層をとおして約7~8mg/l、2月には約9mg/lになり表層と底層の差は小さくなった。

また、水温と塩分を用いWeissの式³⁾により表層・底層の月別の酸素飽和量(%)を求めた(図-8)。7月、8月には表層で過飽和になり120%を超えるが、逆に底層では80%未満になり未飽和になった。他の月では表層・底層ともに100%前後であった。

III-4 pH

平均8.2であることがこれまで報告されている²⁾。7月、8月の底層のpHは、8.1未満になり低い値を示すが、表層では8.2以上になり最も高くなった(図-9)。また、それ以外の月では表層・底層ともに8.0~8.3間の値を示した。

鉛直分布(図-10)では、8月に表層で高い値を示し深度を増すにつれ低くなった。他の月では表層と底層で大きな差はみられなかった。

III-5 COD

表層CODは、10月から4月までは、ほぼ一定に推移するが5月から9月にかけて若干高くなる傾向が報告されている²⁾。

平成9年度の6月、7月、8月、9月、11月、12月、平成10年度の7月、8月の表層において2mg/lを越えたが(図-11)、それ以外の月では表層・底層ともに約1mg/l~2mg/lの間で推移した。

一般に表層で高く、底層では低濃度になる傾向(図-12)があった。

III-6 Chl.a

過去の調査で、この地点のChl.a濃度は平均4.2mg/m³と報告されている⁴⁾。

図-13にChl.aの月別変化を示す。平成9年度は平均4.0mg/m³、0.8~11.7mg/m³で推移し、7月と9月に2つのピーク

をもった。平成10年度は平均5.1mg/m³、0.5~15.7mg/m³で推移し、6月、12月に2つのピークをもった。夏期に向け高くなり冬期には低くなる傾向を示した。平成9年7月のピークは*Skeletonema costatum*、平成10年6月には、*Chaetoceros spp.*、平成10年12月には、*Mesodinium rubrum*などのプランクトンが優占してみられた。

III-7 栄養塩類

T-Nの月別変化を図-14に示す。平成9年度の表層で平均0.21mg/l(0.15mg/l~0.31mg/l)、底層で平均0.22mg/l(0.16mg/l~0.27mg/l)、同様に平成10年度の表層で平均0.27mg/l(0.18mg/l~0.59mg/l)、底層で平均0.23mg/l(0.15mg/l~0.38mg/l)であった。平成10年12月にピークがみられたが、明確な季節変動はみられなかった。

T-Pの月別変化を図-15に示す。平成9年度の表層で平均0.018mg/l(0.012mg/l~0.032mg/l)、底層で平均0.023mg/l(0.016mg/l~0.038mg/l)、同様に平成10年度の表層で平均0.026mg/l(0.015mg/l~0.063mg/l)、底層で平均0.029mg/l(0.019mg/l~0.043mg/l)であった。T-Nと同様に平成10年12月にピークがみられたが、明確な季節変動はみられなかった。

NO₃+NO₂-Nの月別変化を図-16に示す。平成9年度の表層で平均0.031mg/l(0.002mg/l~0.122mg/l)、底層で平均0.038mg/l(0.018mg/l~0.074mg/l)、同様に平成10年度の表層で平均0.044mg/l(0.003mg/l~0.103mg/l)、底層で平均0.045mg/l(0.004mg/l~0.081mg/l)であった。7月、8月、9月に表層で枯渇していた。

NH₄-Nの月別変化を図-17に示す。平成9年度の表層で平均0.024mg/l(0.011mg/l~0.054mg/l)、底層で平均0.046mg/l(0.020mg/l~0.107mg/l)、同様に平成10年度の表層で平均0.055mg/l(0.015mg/l~0.110mg/l)、底層で平均0.043mg/l(0.012mg/l~0.072mg/l)であった。明確な季節変動はみられなかった。

PO₄-Pの月別変化を図-18に示す。平成9年度の表層で平均0.007mg/l(0.004mg/l~0.019mg/l)、底層で平均0.015mg/l(0.009mg/l~0.026mg/l)、同様に平成10年度の表層で平均0.011mg/l(0.004mg/l~0.020mg/l)、底層で平均0.016mg/l(0.009mg/l~0.027mg/l)であった。夏期に表層で濃度の減少がみられた。

SiO₂-Siの月別変化を図-19に示す。平成9年度の表層で平均0.21mg/l(0.04mg/l~0.57mg/l)、底層で平均0.28mg/l(0.06mg/l~0.58mg/l)、同様に平成10年度の表層で平均0.30mg/l(0.01mg/l~0.80mg/l)、底層で平均0.25mg/l(0.09mg/l~0.53mg/l)であった。平成10年度の5月~7月に表層で高い値がみられ、9月には枯渇した。

一般に栄養塩類の表層と底層の平均濃度は、年度をとおして大きな差はみられなかった。

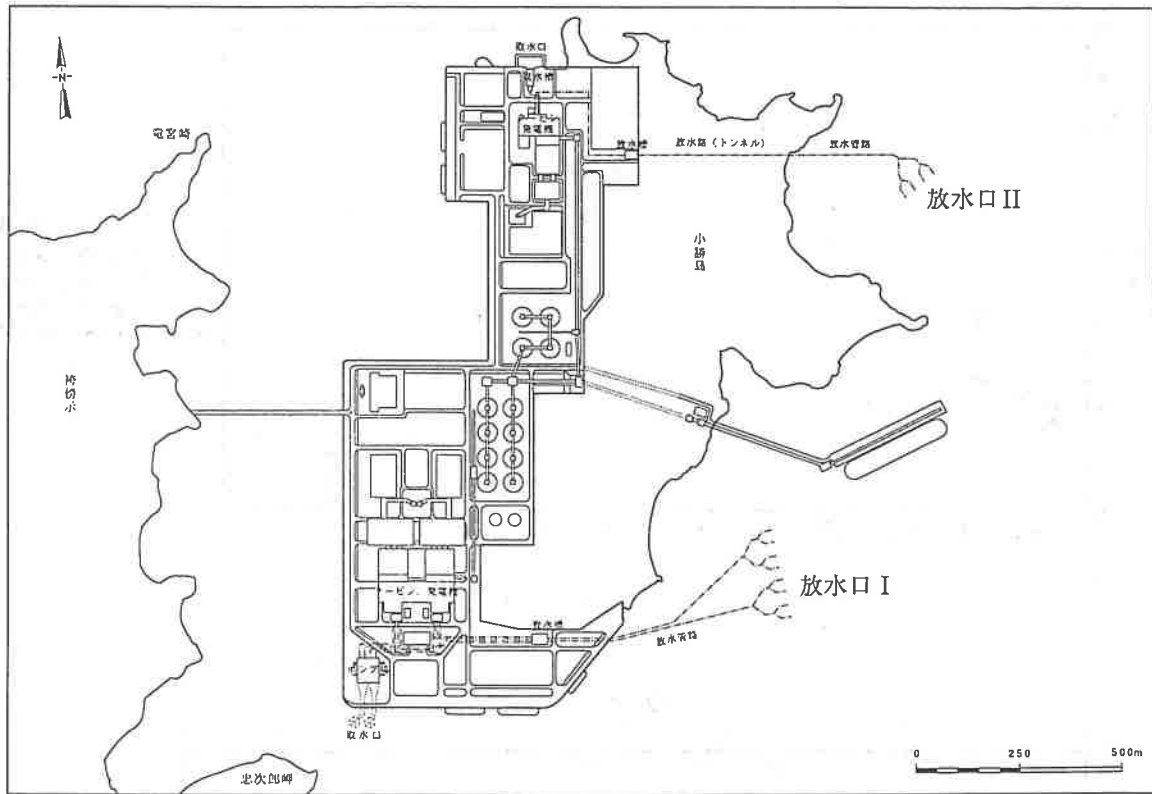


図-1 温排水の放水口

表-1 取放水設備の計画概要

項 目	石炭火力発電所	
	放水口 I	放水口 II
〔取水設備〕		
取水方式	深層取水 (管路)	深層取水 (カーテンウォール)
取水口数	2	1
使用水量	90.0m ³ /s	32.0m ³ /s
取水水深	D.L. -5.7~-9.5m	D.L. -7.0~-10.0m
取水速度	0.2m/s	0.2m/s
〔放水設備〕		
放水方式	水中放水 (管路)	水中放水 (管路)
放水温度	取水水温 + 7℃	取水水温 + 7℃
放水水深	D.L. -9m	D.L. -7m
放水流速	3m/s	3m/s
放水口数	8	4
放水管径	2.2m	1.9m
放水管設置間隔	30m	30m
放水管設置高さ	3m	3m

注：放水管設置高さは、海底面より放水管中心までの距離

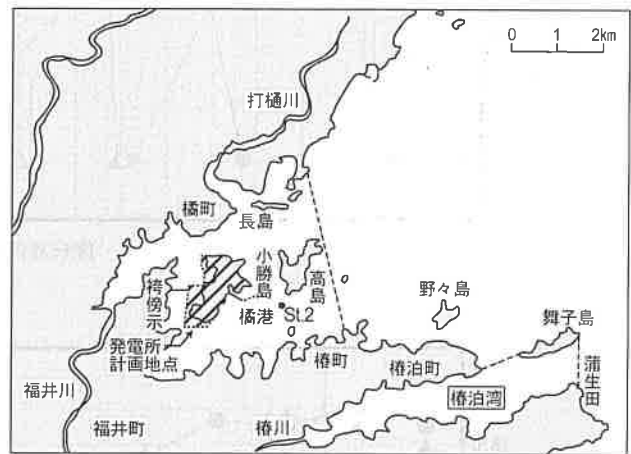


図-2 調査地点

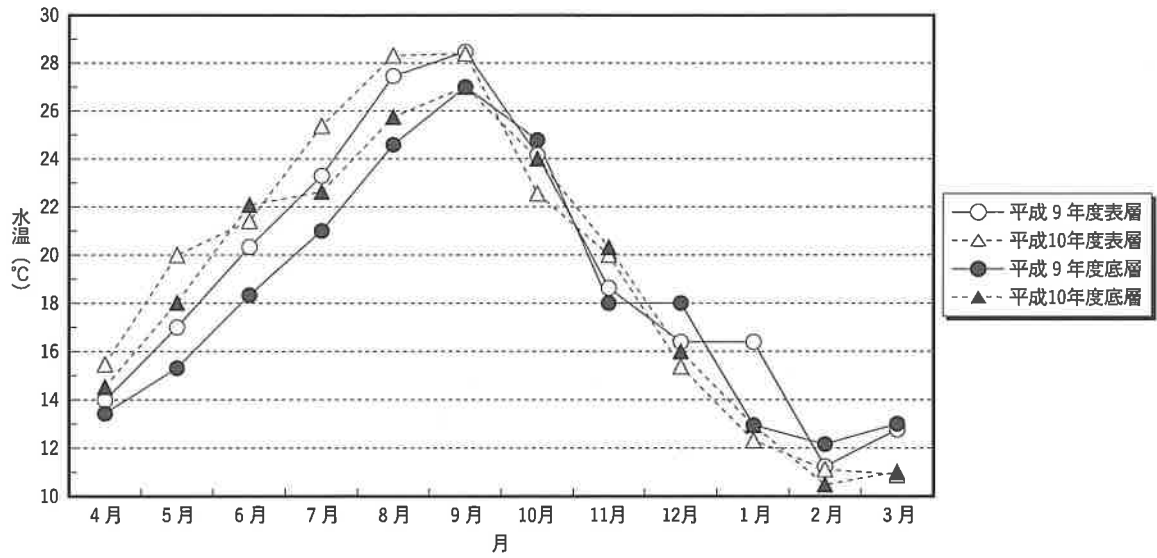


図-3 水温の月別変化

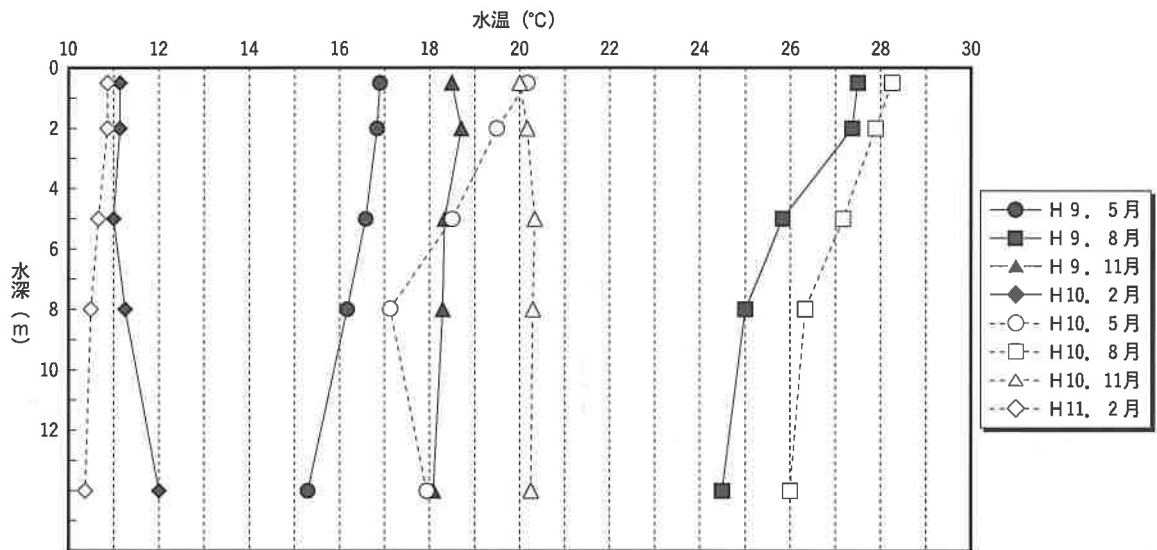


図-4 水温の鉛直分布

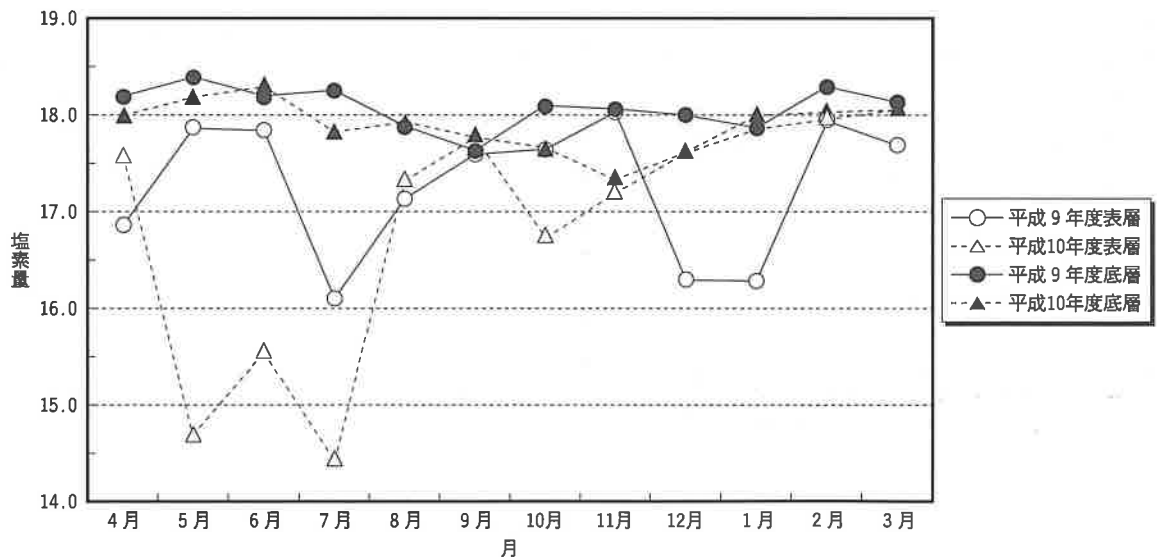


図-5 塩素量の月別変化

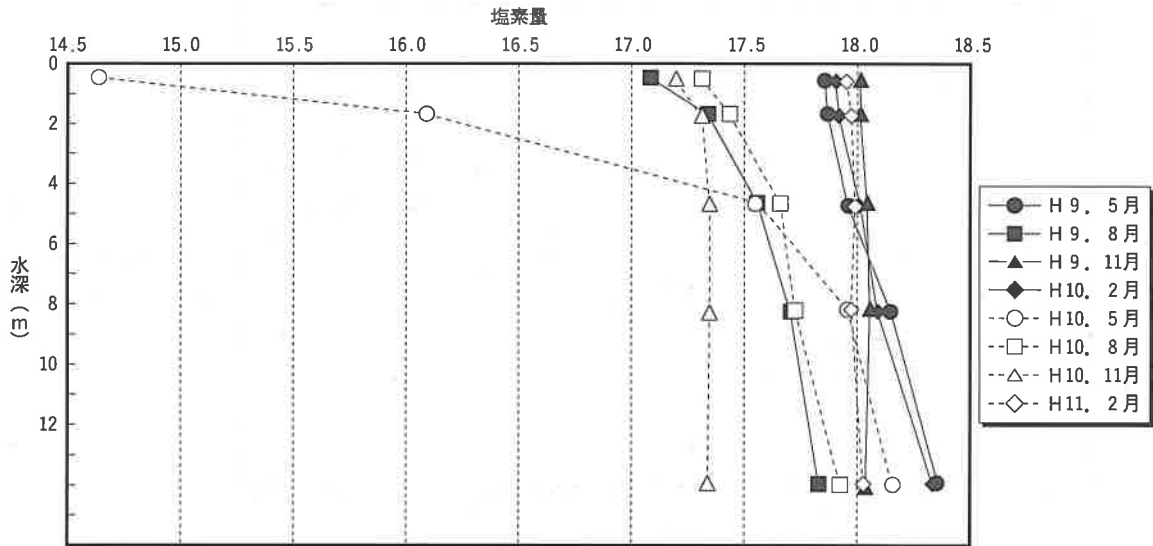


図-6 塩素量の鉛直分布

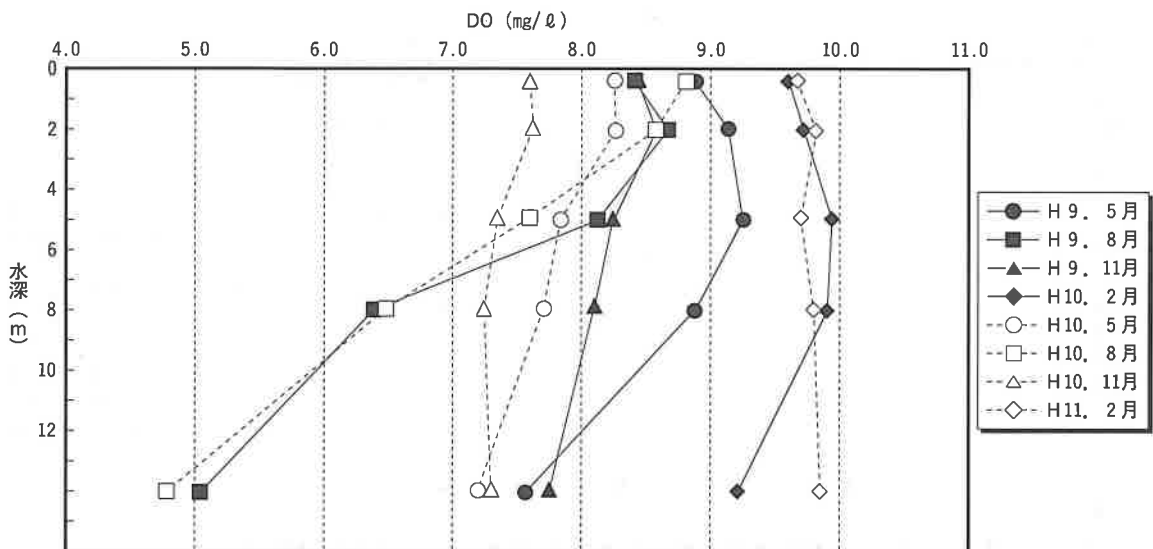


図-7 DOの鉛直分布

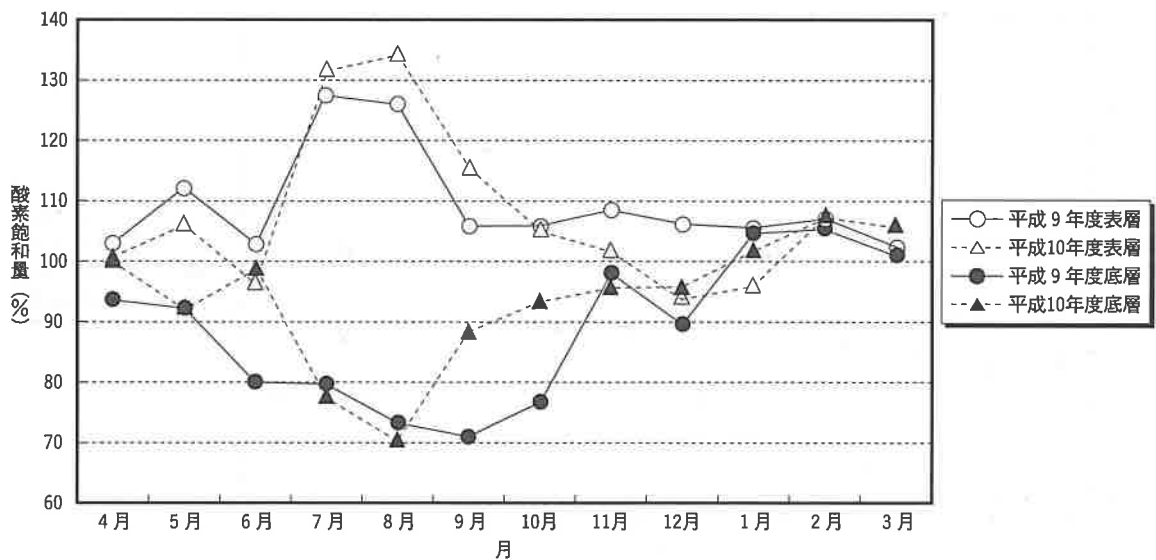


図-8 酸素飽和量の月別変化

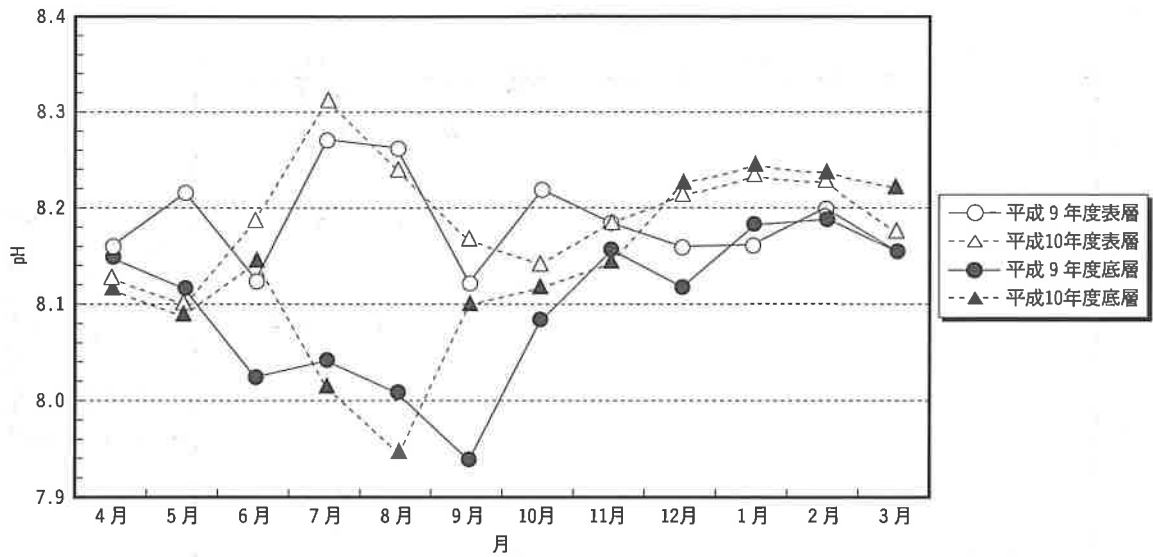


図-9 pHの月別変化

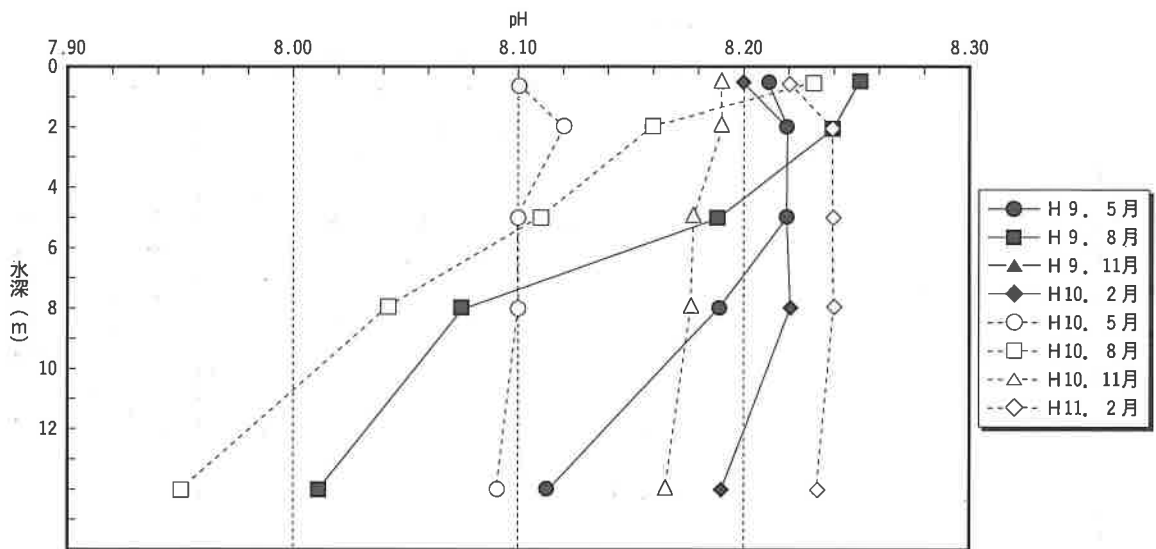


図-10 pHの鉛直分布

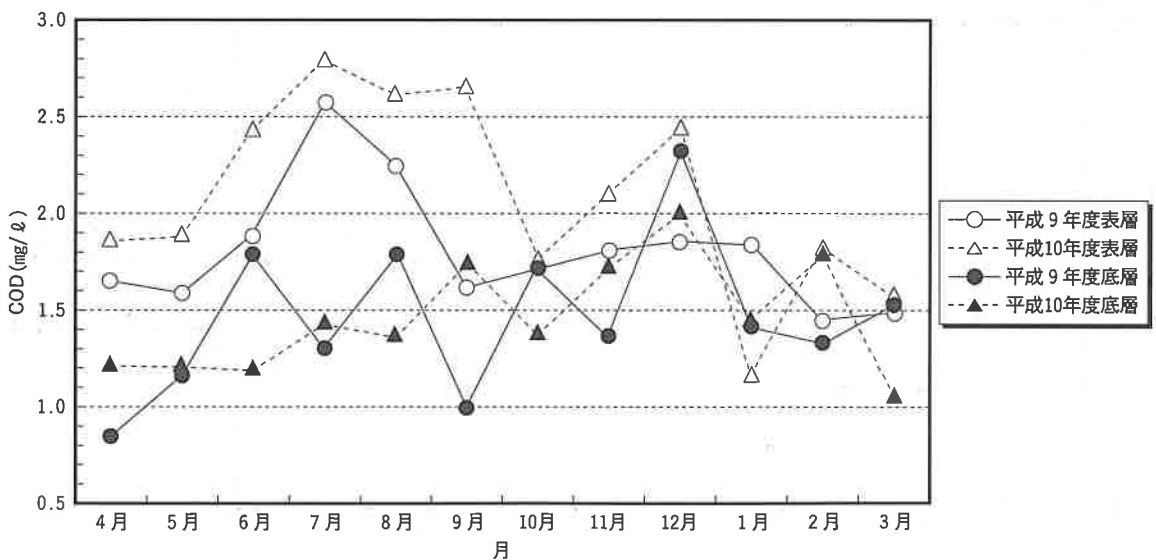


図-11 CODの月別変化

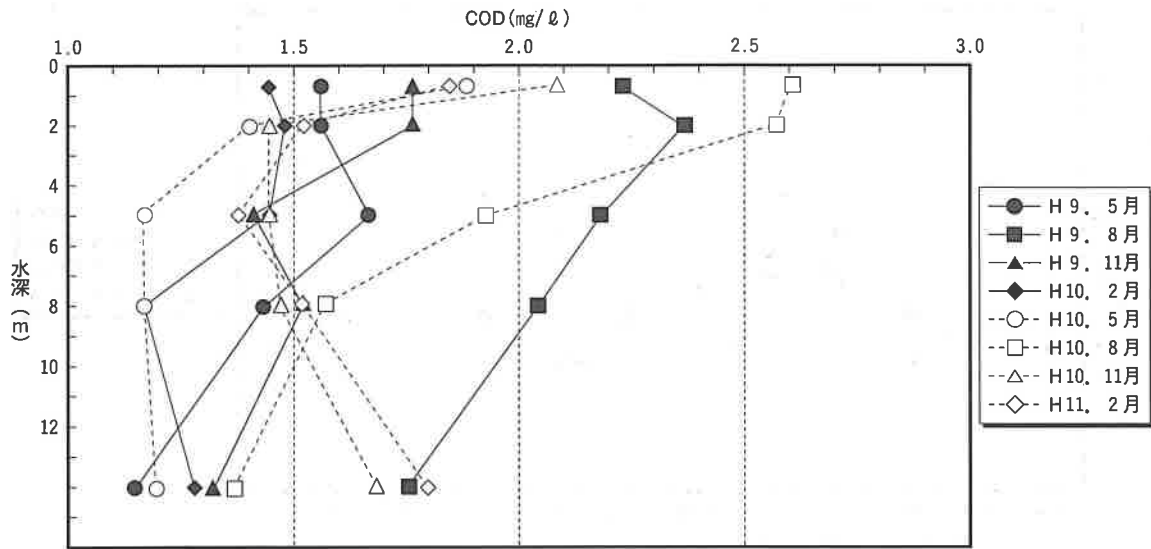


図-12 CODの鉛直分布

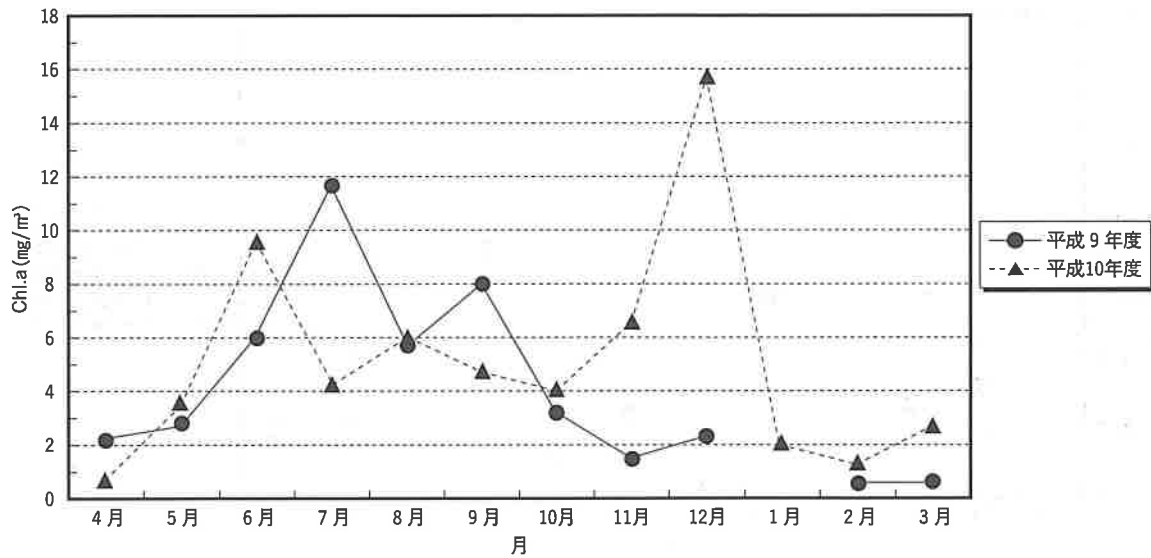


図-13 Chl.aの月別変化

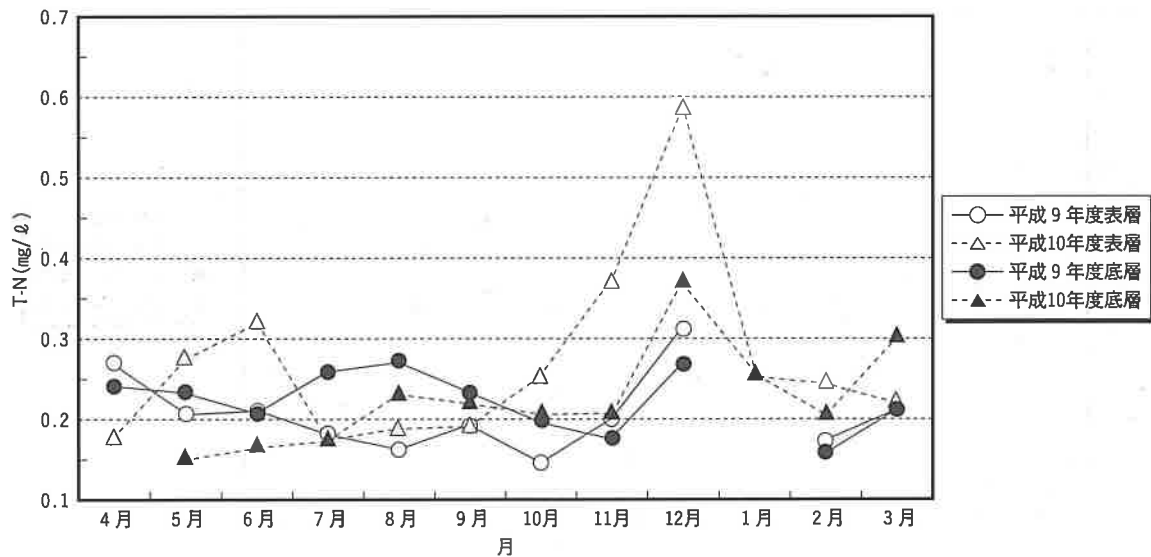


図-14 T-Nの月別変化

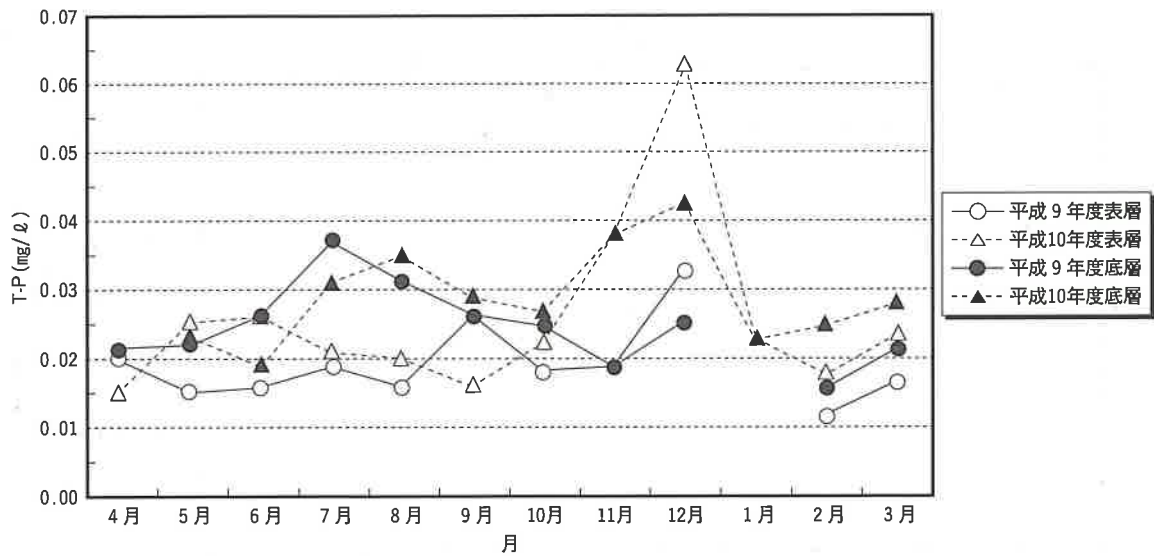


図-15 T-Pの月別変化

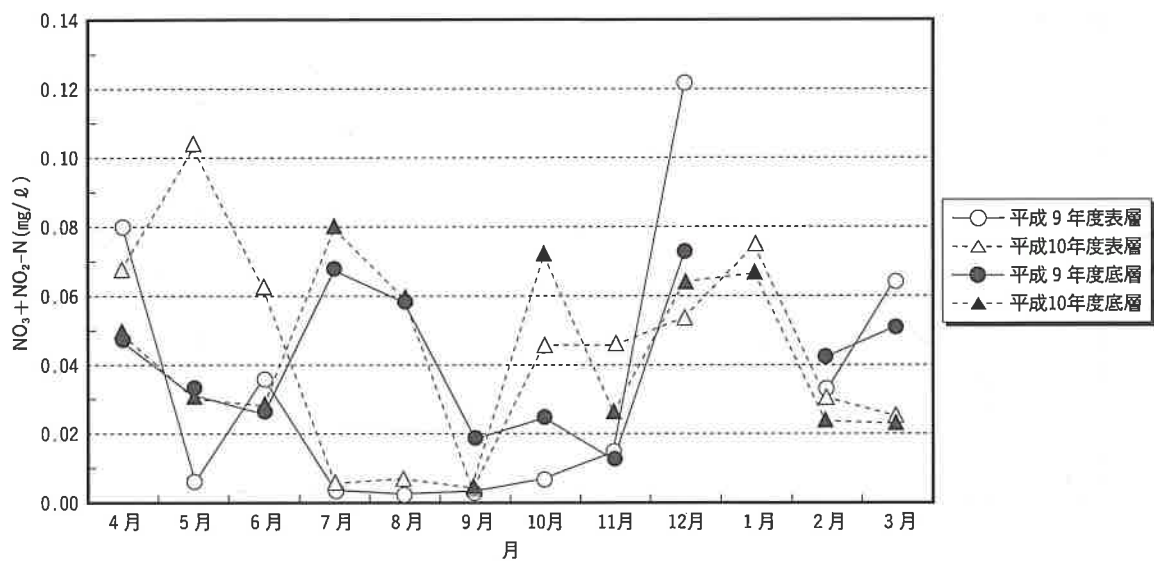


図-16 NO₃+NO₂-Nの月別変化

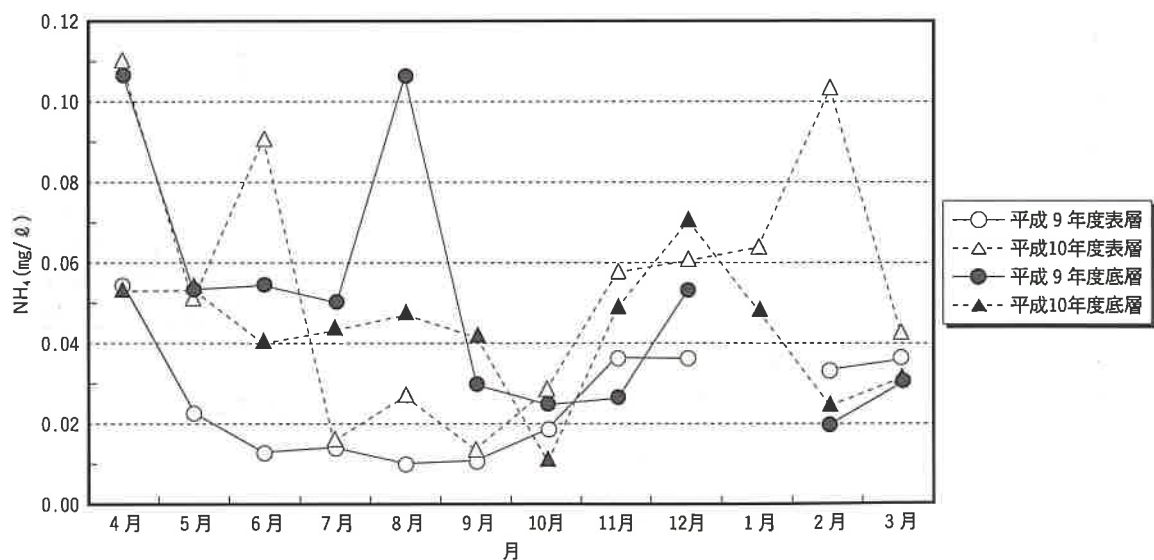


図-17 NH₄-Nの月別変化

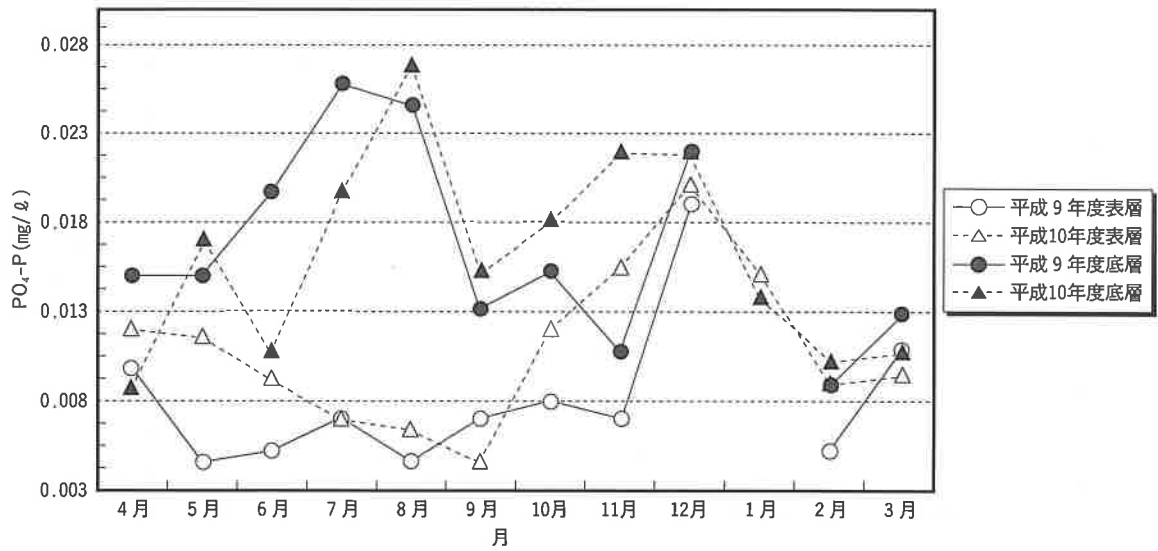


図-18 PO₄-P の月別変化

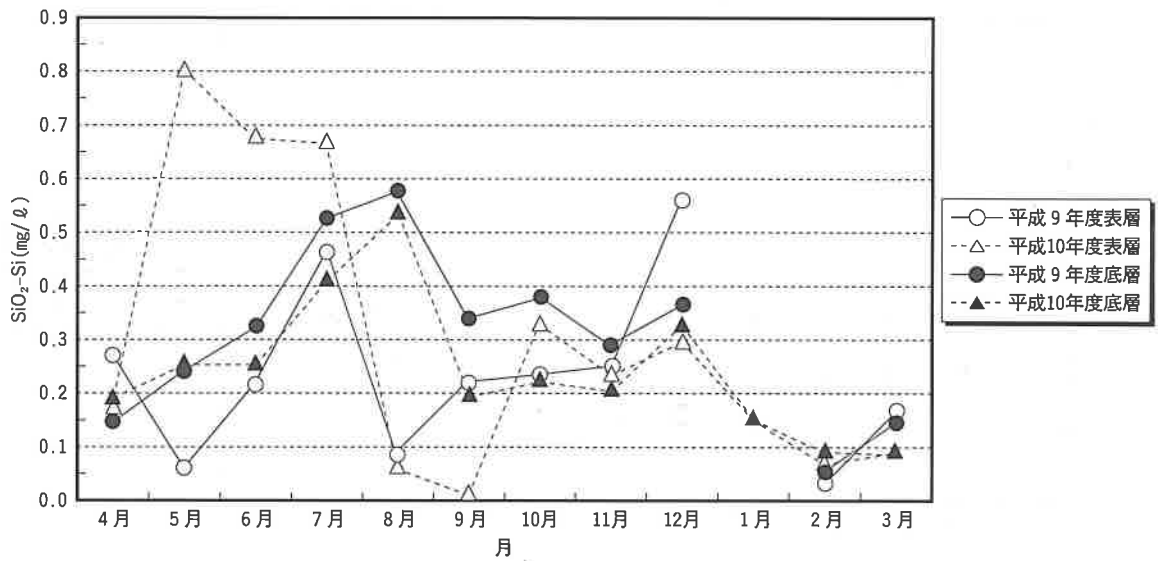


図-19 SiO₂-Si の月別変化

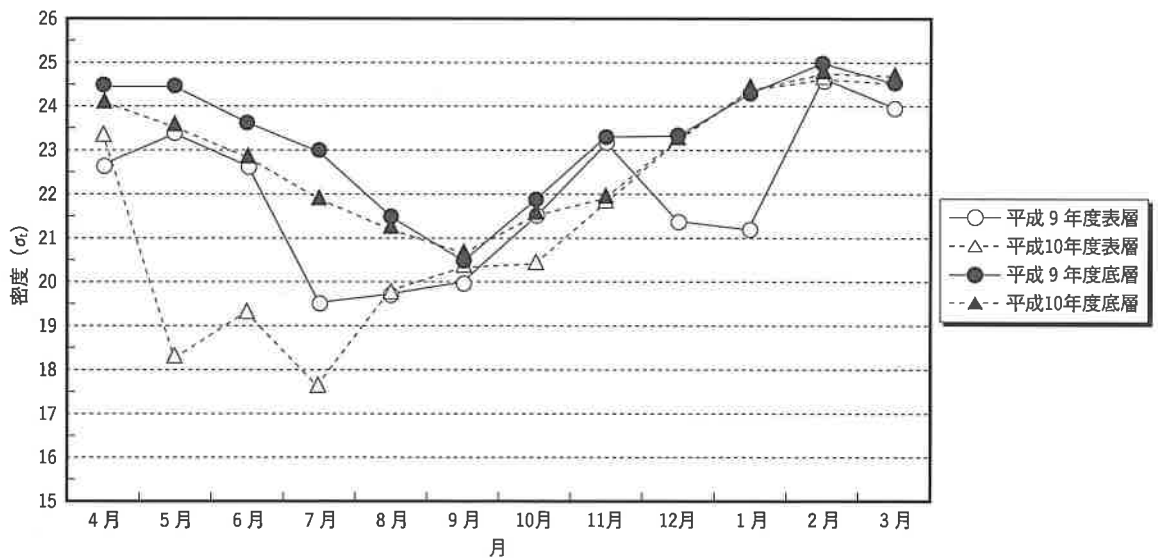


図-20 密度の月別変化

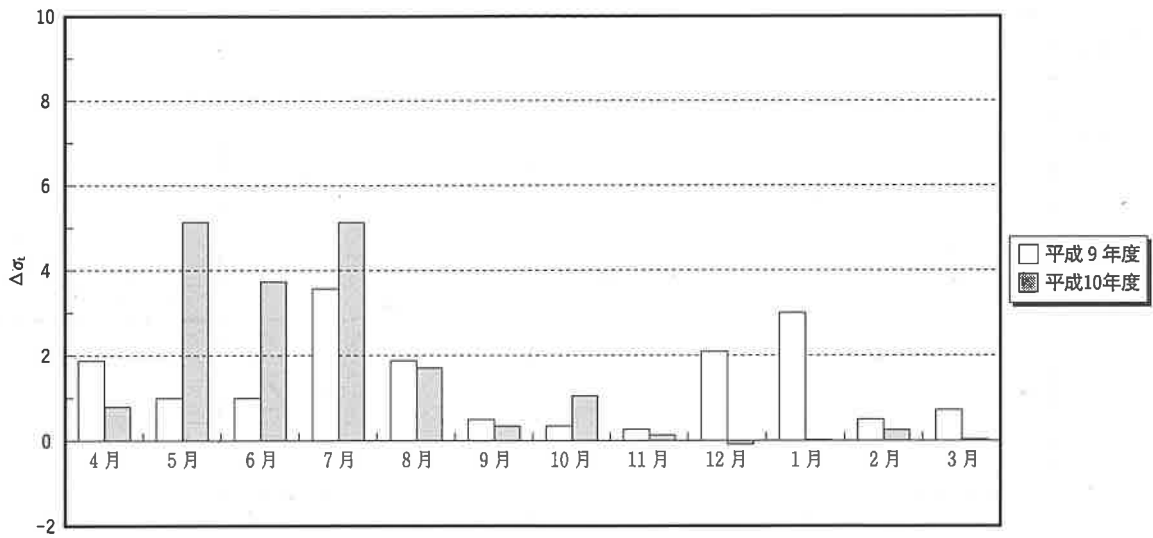


図-21 成層強度 ($\Delta\sigma$) の月別変化

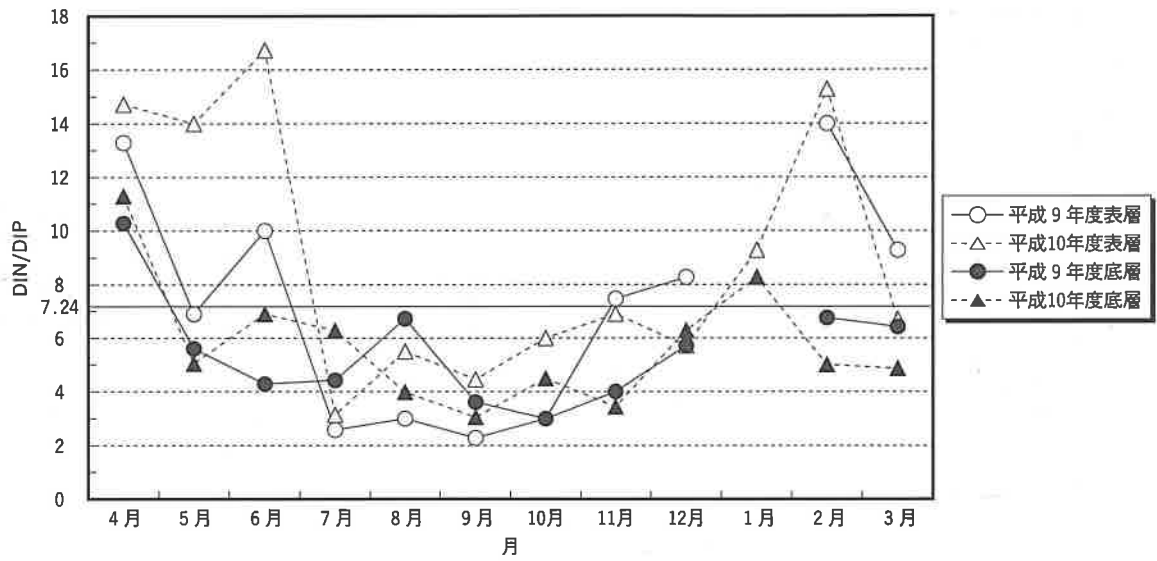


図-22 DIN/DIP の月別変化

IV 考 察

表層と底層の水温では $2^{\circ}\text{C} \sim 3^{\circ}\text{C}$ の温度差がみられる場合もあるが、おおむね表層と底層とでは温度差が小さかった。また塩素量も表層で低塩素量を示し、塩素量躍層が発達する場合もあるが、おおむね表層と底層においてその差は小さかった。

鉛直方向の水の混合状態を表す指標として水温と塩分の関数で表される密度(σ_t)がよく用いられる。表層と底層の σ_t を計算し⁵⁾、それらの月別変化を図-20に示す。平成9年度の表層では19.5~24.6、底層で20.4~25.0、同様に平成10年度の表層で16.7~24.8、底層では20.7~24.8で推移した。底層では2年とも大きな密度差はみられず、9月に最も低くなった。表層では平成9年度の7月、8月と平成10年度の5、6、7月に20未満になり低い密度を示し、底層との差が大きくなった。表層・底層の密度を、それぞれ σ_{ts} 、 σ_{tb} とし、これらの差である成層強度($\Delta\sigma_t$)⁶⁾の月別変化を図-21に示す。 $\Delta\sigma_t$ は次式で表せる。

$$\Delta\sigma_t = \sigma_{tb} - \sigma_{ts}$$

平成9年度の $\Delta\sigma_t$ は、7月、12月、1月に2以上を越えた。これらの月には塩素量・水温ともに表層・底層での差が他の月に比べ顕著であった。また平成10年の $\Delta\sigma_t$ は、5月、6月、7月に3以上を越えた。これら月は特に塩素量が低くなり塩素量躍層により水柱の鉛直混合が弱く、 $\Delta\sigma_t$ が高くなったものと思われる。しかし、この2ヶ年では、ともに陸水からの影響が少なければ $\Delta\sigma_t$ も小さく、表層・底層間で水交換が十分なされる可能性があるものと思われる。特に9月から海面が冷却される冬期にかけては $\Delta\sigma_t$ が最も低くなった。広島湾では $\Delta\sigma_t$ が7から14の高い値を示す夏期に貧酸素水塊を形成する⁷⁾と報告されている。橘港の場合、底層で夏期に酸素飽和量は最低になり70%を示したが、 $\Delta\sigma_t$ は6未満であり、広島でみられる、強い成層を形成しないため、底層で貧酸素化を生じなかったものと思われる。

温排水による流動変化は放水口近傍に限られることより、海象への影響は少ないとしている⁸⁾。St.2近傍では、亜表層域で 1°C の温度上昇が予測される⁹⁾ため、水温の関数で表せる密度($\Delta\sigma_t$)に影響をおよぼし、鉛直方向の水質分布が変化する可能性があると思われる。

CODは主に植物プランクトンの内部生産によって濃度上昇がみられる⁴⁾。夏期に表層でプランクトンの増殖によりCODも上昇し、光合成の活性化により酸素飽和量120%を越え、pHが上昇する傾向がみられた。

栄養塩は、平成10年度のように春期から夏期にかけて塩素量の低下により陸水から供給される場合もあるが、5月から9月にかけて表層では一般に植物プランクトンの取り込みにより枯渇する傾向があった。DIN($\text{NO}_3 + \text{NO}_2 - \text{N} + \text{NH}_4 -$

N)/DIP($\text{PO}_4 - \text{P}$)の月別変化を図-22に示す。N/P比(重量比)は平成9年度の表層で平均6.7(2.1~14.0)、底層で平均5.1(3.2~10.2)、同様に平成10年度の表層で平均9.0(3.1~16.9)、底層で平均5.8(3.1~11.3)であった。平成9・10年度の4月の表層・底層、平成9年の6月、11月、12月、2月、3月の表層、平成10年度の5月、6月、2月の表層、1月の表層・底層において、N/PのRedfield比(重量比)値である7.2を超え、PよりNの比率が高くなった。一般に夏期から秋期にかけて表層・底層ともにN/P比は低く、Pの比率が高くなったが、春期、冬期の表層でN/P比は高く、Nの比率が高くなる傾向がみられた。また、T-N、T-Pは平成10年度の表層で*Mesodinium rubrum*の赤潮による濃度極大がみられたが、いずれの年度も橘港の環境基準値・類型II(T-N:0.3mg/l, T-P:0.03mg/l)を満たしていた。

V ま と め

橘港では、春から夏期にかけての水温上昇、塩素量低下、内部生産によるCOD濃度、pHの上昇、栄養塩の枯渇がみられ、一般的な浅海域でみられる現象がみられた。 $\Delta\sigma_t$ も小さく、鉛直方向の水交換が十分なされていると思われる。

今後橘港の水質環境を把握するための調査を継続して行い、火電稼働時の資料とするとともに、さらにメモリ型のCTDを使用し温排水の拡散を水平・鉛直方向に調査することを計画している。

参考文献

- 1) 徳島県：橘湾水質予測調査 報告書、平成5年3月
- 2) 有澤 隆文他：徳島県保健環境センター年報、14、93-99(1996)
- 3) 日本海洋学会：海洋観測指針(気象庁編)(1990)
- 4) 有澤 隆文他：徳島県保健環境センター年報、16、71-75(1998)
- 5) 西村 雅吉編：海洋化学、産業図書
- 6) 柳 哲雄編：瀬戸内海の自然と環境、神戸新聞総合出版センター
- 7) 伊達 悦二他：全国公害研協議会中国・四国支部第26回水質部会資料(1999)
- 8) 四国電力・電源開発株式会社：修正環境影響調査書、平成6年1月



徳島の県南沿岸海域の水質について (II)

徳島県保健環境センター

林 修三・有澤 隆文・佐坂 克己・駒井 正弘・阿部 久一

The study of the south coast's water quality in Tokushima pref...

Shuzo HAYASHI, Takafumi ARISAWA, Katsumi SASAKA, Masahiro KOMAI and Hisakazu ABE

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

Key words : 水質基準点 monitorig points,
測定データ measureing data,
沿岸水質 coastal water quality,
化学的酸素要求量 chemical oxygen demand,
判別分析 discriminant analysis,
移動平均 moving average

I. はじめに

太平洋に面した徳島県の南沿岸部の水質は、先の報告²⁾で示したように黒潮流軸の室戸岬及び潮岬に離接岸に伴う外洋系水の流入と内海水の流入に影響されます。外洋系水(黒潮分岐流:芸東分岐流, 紀南分岐流)と紀伊水道から流れ込む内海水は、人口及び工場が少ない県南沿岸の水質負荷(化学的酸素要求量:COD値)に大きく影響しています。今回、内海水の代表である県南沿岸部最近接紀伊水道調査地点の水質調査結果と比較し県南沿岸部の水質負荷の動態について考察を行ったので報告する。

II. 調査地点, 調査項目

1 調査地点等

徳島県の県南沿岸海域と紀伊水道海域との調査区分は、菟生田岬と伊島を結ぶ線上で分けられる。県南沿岸海域水質調査地点は、菟生田岬南沿岸から高知県境にかけた海岸に沿った2マイル程度沖合いのKa-1, Ka-2とKa-3(水質環境基準のA類型)と、その海域において代表的な漁港で、比較的人口が集中し河川が流入する港湾口にKa-4, Ka-5とKa-6(補助点)である。また紀伊水道海域に属し県南沿岸部に最も近い調査地点であるki-8は、橘湾口にある。(図-1)

基準点のKa-1, Ka-2とKa-3は、水深が80~100mと海底谷に沿って深くなった地点で、一方, Ka-4, Ka-5とKa-6は、港

口の水深20m前後の地点である。またKi-8は、水深30m前後の地点である。

調査期間は、県南沿岸部は1976年度(昭和51年4月)から1996年度(平成7年3月)までの21年間、紀伊水道調査地点(Ki-8)は1978年度(昭和53年4月)から同1996年度まで18年間であった。

各調査地点において表層(0.5m)、中層(2m)を採取しCOD, DO, pH, 塩素量, 水温を測定した。



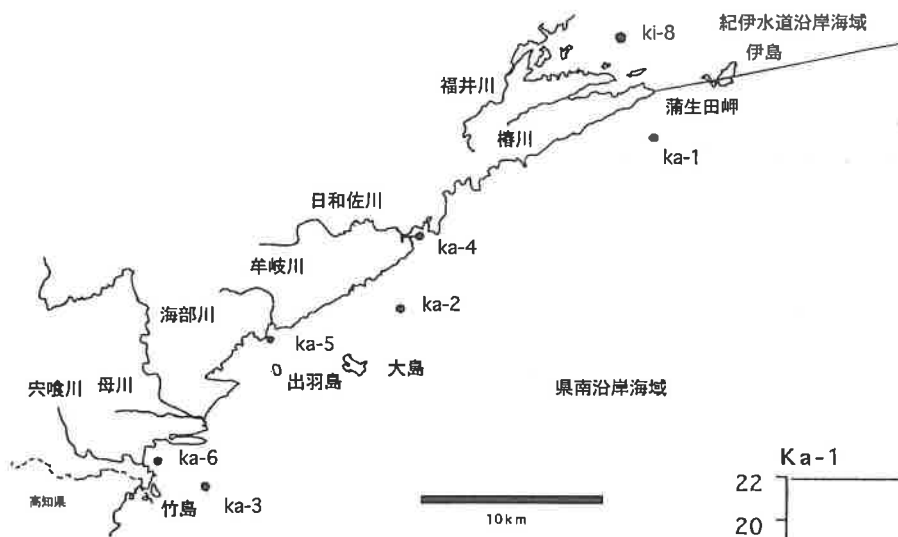


図-1 調査地点

2 測定方法

- (1) COD：JIS K 0102
- (2) DO：ウィンクラーアジ化ナトリウム変法
- (3) pH：ガラス電極 pH 計
- (4) 水温：棒状水銀温度計
- (5) 塩素量：サリノメーター（電気伝導度塩分計）
- (6) 透明度：30cm透明板（海洋観測指針）

3 データ処理方法

本報で使用した値は、調査地点において表層(0.5m)、中層(2m)を採水、分析し、得られた値の平均を使用した。また各地点での採水は、月1回の年12回行われているが、天候その他の理由で同じ月に重なったものは平均し、同月の値として扱った(よって、どちらか前後の月は欠測値)。また、潮の干満によるデータの分類、各地点の採水時間によるタイムラグ処理は行わなかった。COD値に関しては、報告下限値0.5mg/l以下の値は全て0.5mg/lとした。透明度に関してはKa-1、Ka-2とKa-3のみのデータとした。

本報において使用されるデータのうち、COD値、水温、塩素量、その他詳細については前報²⁾に掲載した。

なお、透明度については前報の補足として本報に記載した。

III 結果

1 透明度

図-2、3には透明度の月別(95%信頼区間付き)、年別平均値を示した。冬季に著しい透明度の増加がみられ、Ka-3、Ka-2において平均が18mにも上った。

また、各測定点における透明度の分布の特徴は、正規分布に各地点従い、固有な値を示した。(図-4、5)

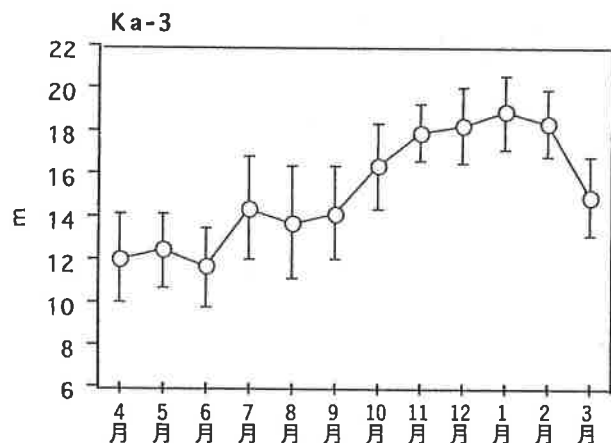
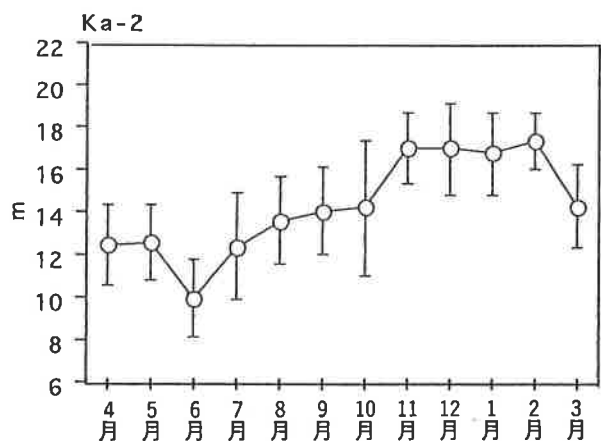
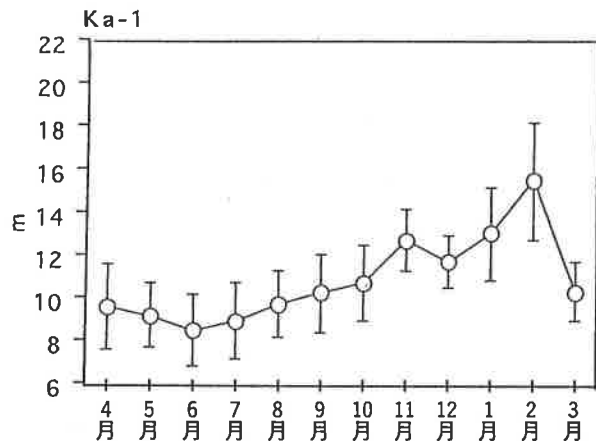


図-2 透明度の月別平均変化
(エラーバー：95%信頼区間)

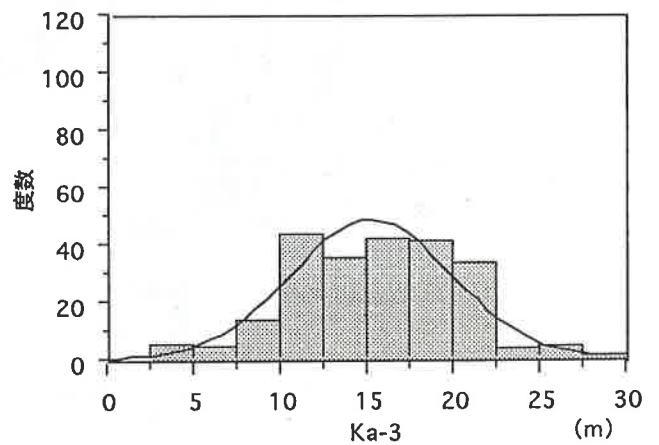
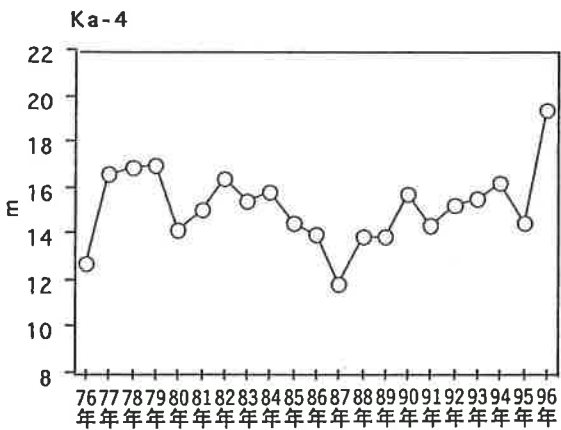
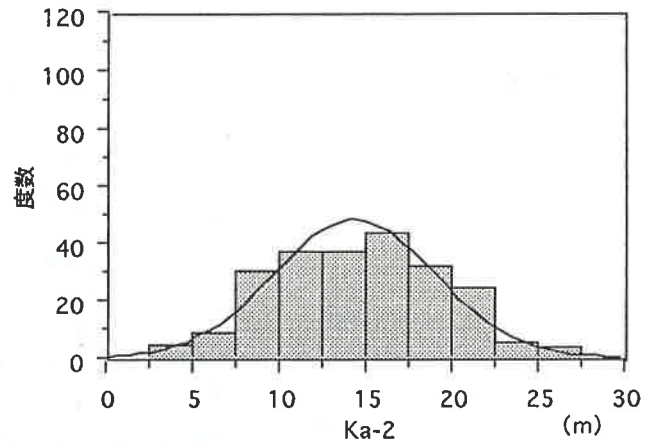
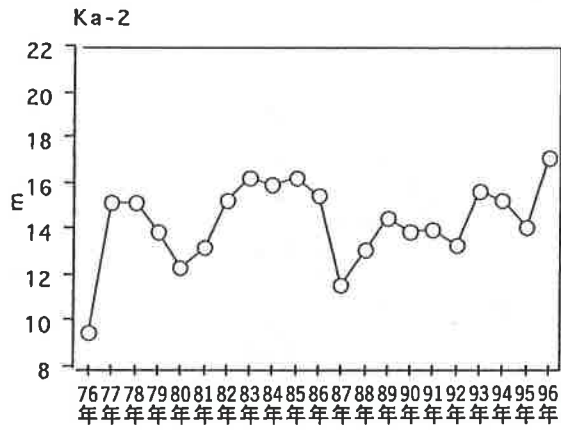
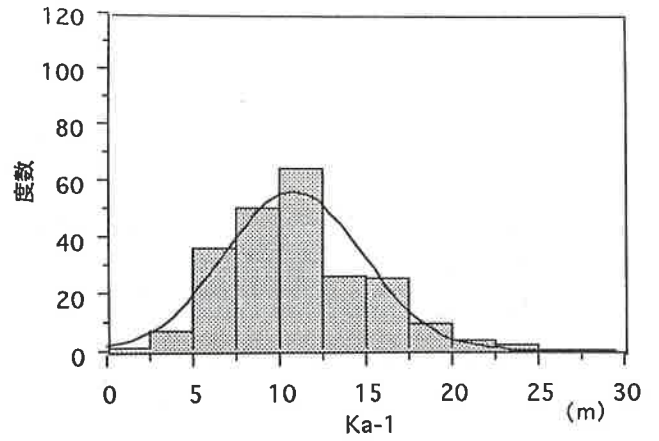
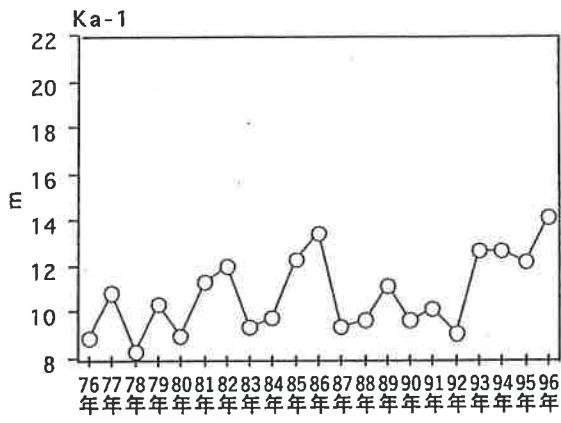


図-3 透明度の年度別平均変化

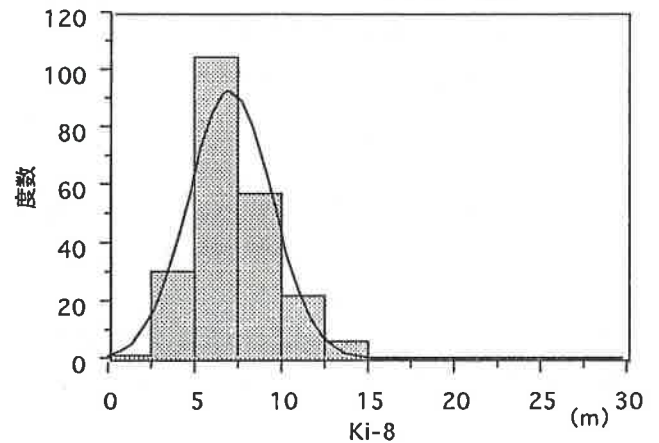
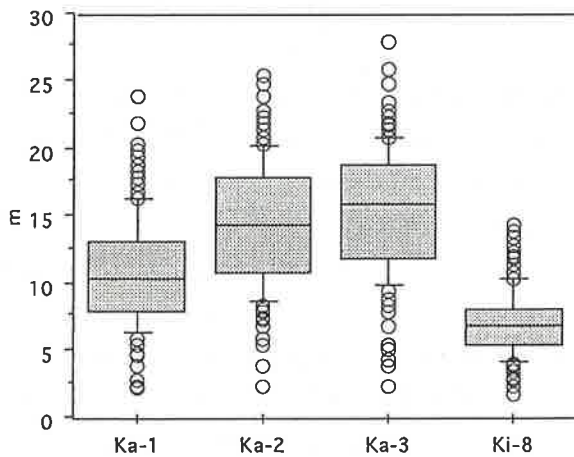


図-5 各地点における透明度の箱ひげ図

図-4 各地点における透明度のヒストグラム

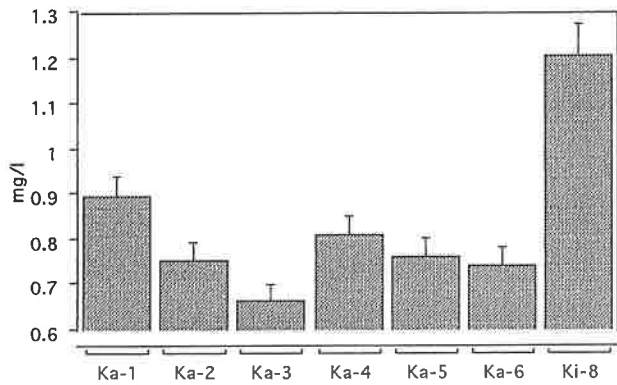


図-6 各地点における COD 値の平均
(エラーバー：95%信頼区間)

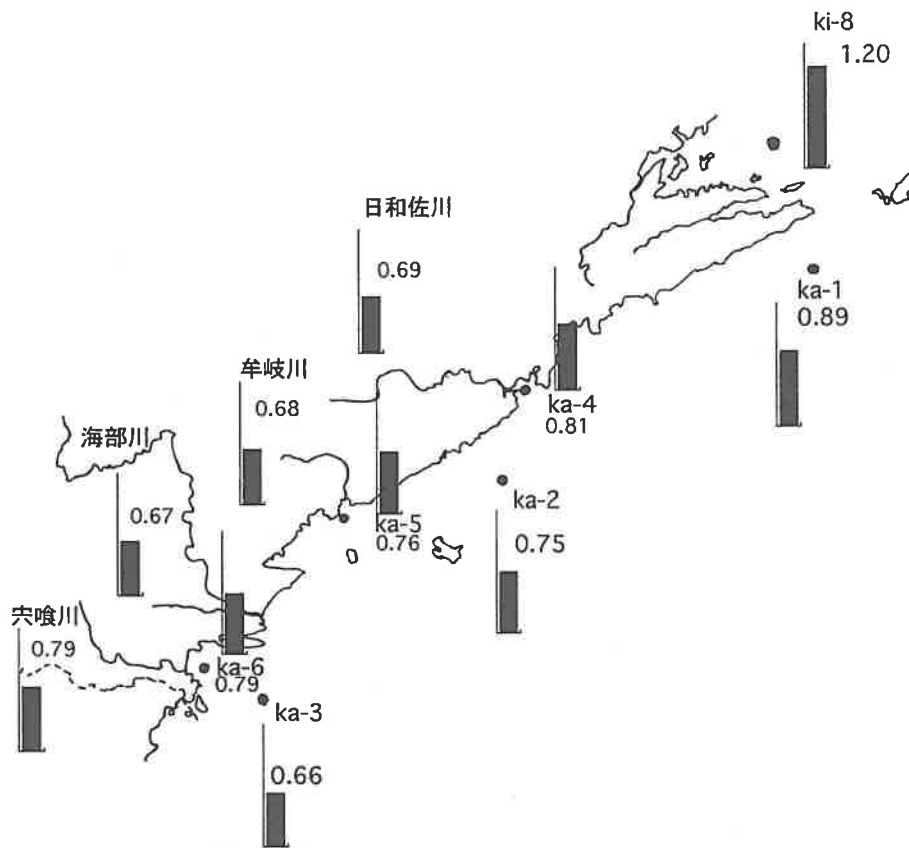


図-7 県南沿岸の平均 COD 値 (mg/l)

2 各地点の水質負荷状況

(1) 各調査地点の COD 値の特徴と相関

図-6, 7には各地点における COD 値の平均値を示した。地点が南に下がるにしたがい COD 値の低下がみられた。次に図-8には年度別平均値, 図-9には月平均値によるグラフを示し, 表-1, 2には, それぞれの平均値による相関行列を示した。月平均では Ki-8と Ka-1は良い相関を示したが, 年度平均においては, Ki-8は Ka-1に比べ Ka-3の方が良い相関の結果が得られた。さらに表-3には県南沿岸海域部の COD 値に影響を与えると考えられる因子との相関行列を示した。

沿岸部の水質に影響を及ぼす河川の流入, 事業場などの発

生源が無いこと, Ka-2の COD 値が, Ka-1と Ka-3の中間的な値をとることに加え, Ki-8との比較から, 県南沿岸の水質負荷は, 内海水と外海水の流れ込みが大きな影響を与えていることがわかった。特に水質負荷に関しては, 内海水(紀伊水道)からの流れ込みによる影響が大きいと思われる。

(2) COD 値の分布状況

次に各地点における COD 値の分布状況を箱ひげ図(図-10)に示した。各地点, 特有な値の分布を示した。次に外海水, 内海水の代表値である Ka-3と Ki-8, および Ka-1において五年区切り COD 値の分布状況を図-11に示した。各地点で最近において, 0.5から0.7mg/lの範囲で割合の低下がみられた。また Ki-8において1.3mg/l以上の割合の増加がみられ,

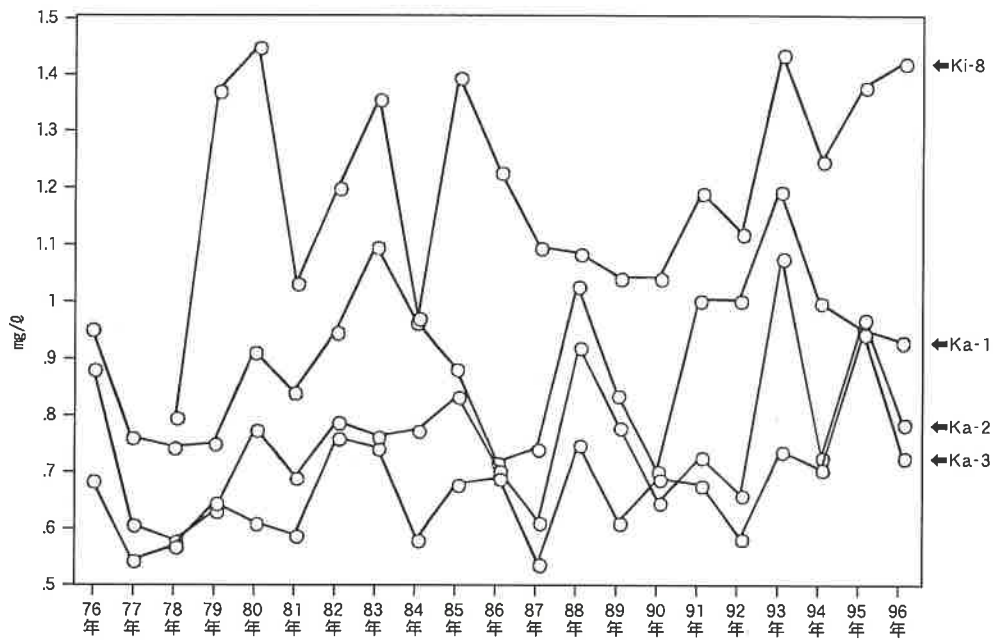


図-8 各地点における年度別平均 COD 値

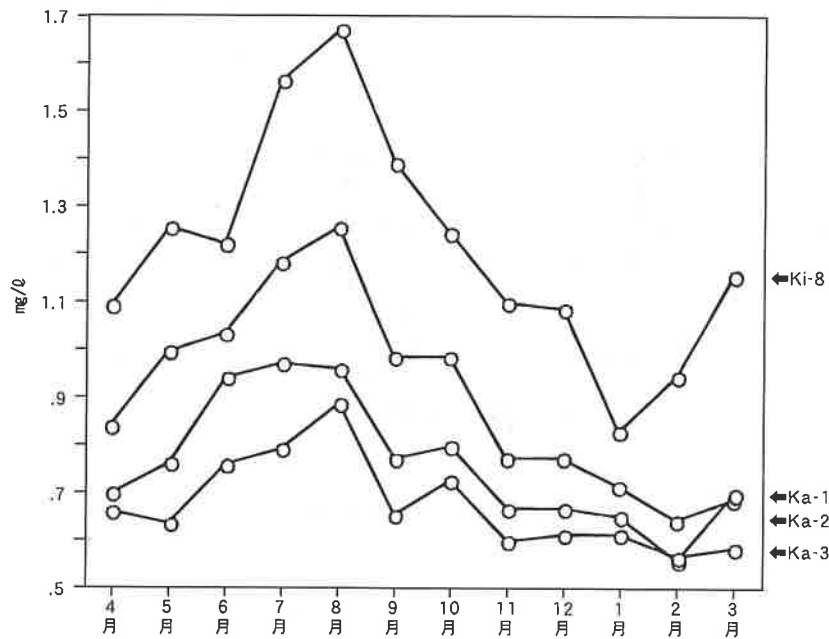


図-9 各地点における月平均 COD 値

それにともなった Ka-1, Ka-2の分布の変化がみられた。近年、内海水の負荷増大にともなう県南沿岸の水質への影響が少なからずあらわれていると思われる。

(3) 内海水流入にともなう県南沿岸の水質負荷動向

次に外洋水および内海水の流入による県南沿岸の水質負荷影響をみるため、判別分析(表-4)による分析を試みた。判別には表-5に示した COD, 塩素量, 水温そして透明度の値を使用し、内海水の代表である Ki-8と外洋水の影響が最も大きいと思われる Ka-3において、Ka-1と Ka-2の判別を試みた。図-12にマハラノビス汎距離による各地点の動向を12区間移動平均を用いて表した。値がプラスの場合は、Ki-8(内海水)の影響を、マイナスの場合は Ka-3(外洋水)の影響があ

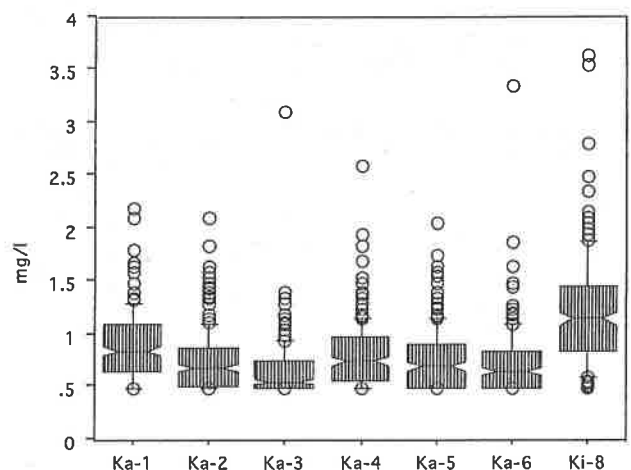


図-10 各地点における COD 値の箱ひげ図

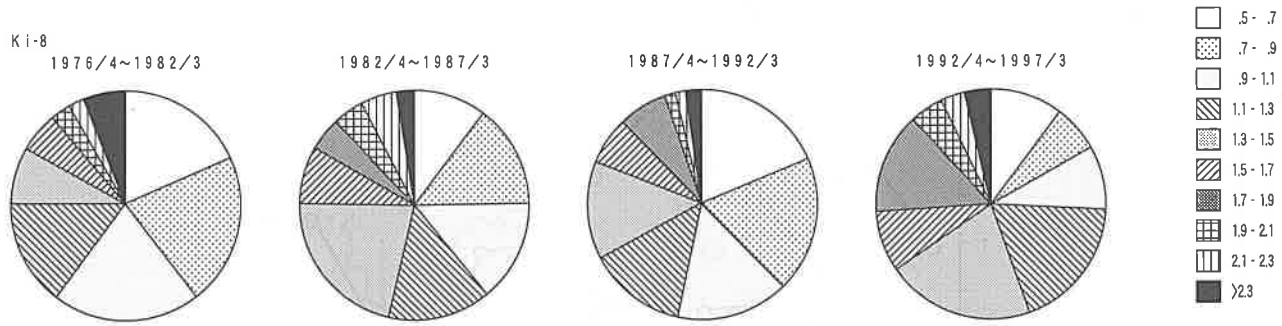
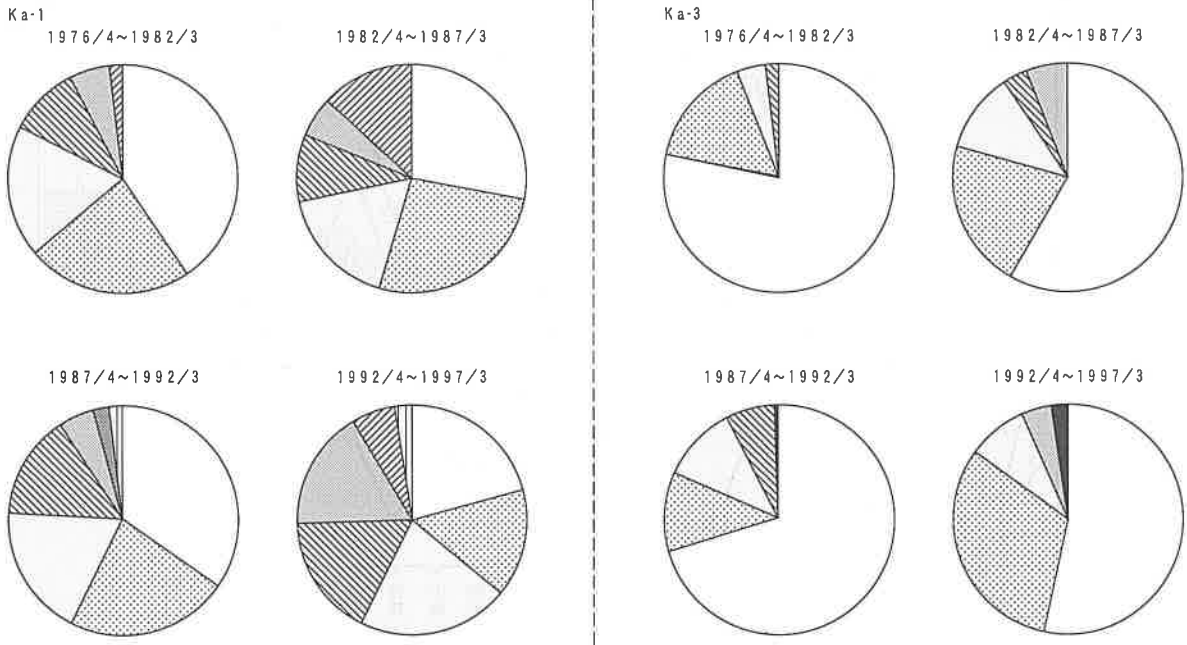


図-11 Ka-1, Ka-3, Ki-8における五年区切り COD 値の分布状況

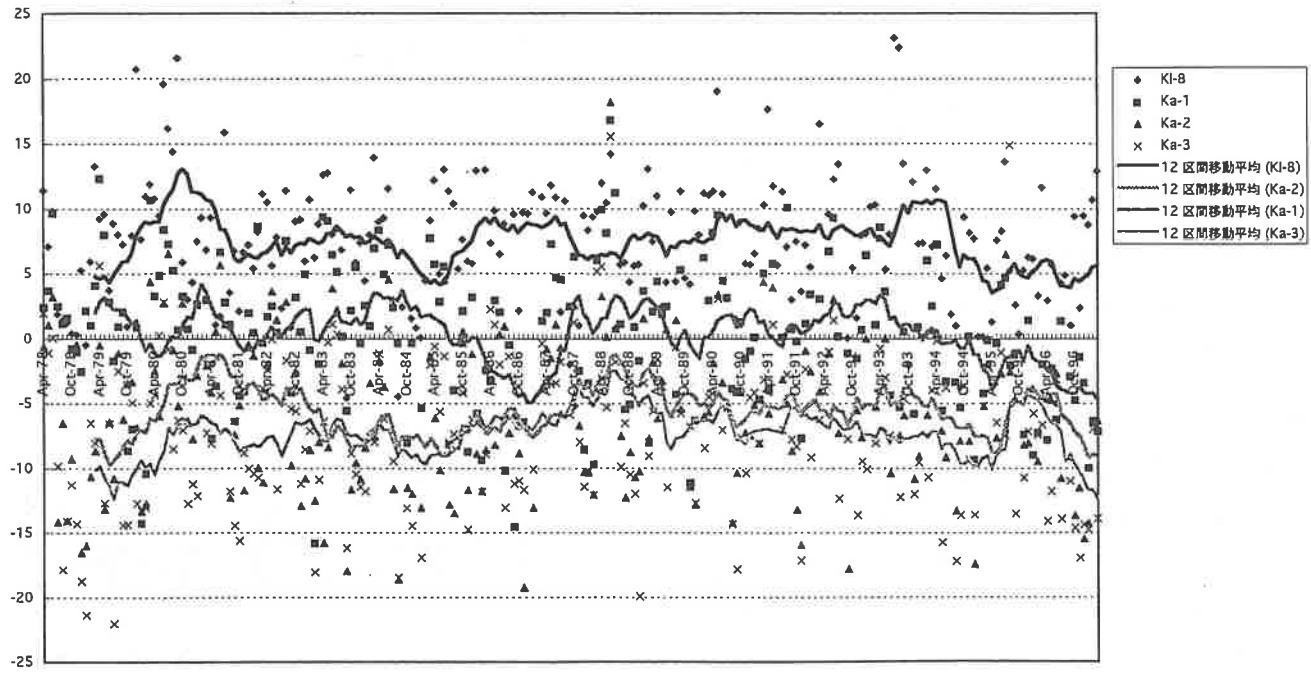


図-12 各地点 (Ka-1, Ka-2, Ka-3および Ki-8) におけるマハラノビス汎距離の12区間移動平均

ることを示す。Ka-1において、調査年月を通じKi-8(内海水)の影響が大きく、ときおり外洋水の流れ込みによる影響がみられた。またKa-2においては、外洋水の影響を大きく受けていることがわかった。この結果よりKa-1とKa-2の間において通年、水質負荷の境目があると思われる。

IV まとめ

上記の結果から県南沿岸海域の水質は、内海負荷水の流入による負荷影響を受けており、加え最近において内海水の負荷増加傾向に伴う県南沿岸の水質悪化が懸念される。

また、地球規模の気象変動現象の局在発源地として総合的な解析を行う上、黒潮の離接岸、水温上昇その他因子による県南沿岸海域の水質の負荷変動影響について詳細なさらなる調査が必要と思われる。

V 参考文献

- 1 徳島県：徳島県環境白書（1994）
- 2 林修三，有澤隆文，佐坂克己：徳島県保健環境センター年報，15，91（1997）

表-1 COD値月平均値による相関行列

	Ka-1	Ka-2	Ka-3	Ki-8
Ka-1	1.00			
Ka-2	0.94	1.00		
Ka-3	0.92	0.92	1.00	
Ki-8	0.91	0.85	0.82	1.00

表-2 COD値年度平均による相関行列

	Ka-1	Ka-2	Ka-3	Ki-8
Ka-1	1.00			
Ka-2	0.71	1.00		
Ka-3	0.41	0.67	1.00	
Ki-8	0.40	0.52	0.53	1.00

表-3 COD値（各月毎）に関し各因子との相関行列

	Ka-1	Ka-2	Ka-3	Ka-4	Ka-5	Ka-6	Ki-8	日和佐川	牟岐川	海部川	宍喰川	日和佐降水量	牟岐降水量	黒潮流軸(室戸)	黒潮流軸(潮岬)
Ka-1(COD)	1.00														
Ka-2(COD)	0.60	1.00													
Ka-3(COD)	0.47	0.62	1.00												
Ka-4(COD)	0.66	0.72	0.57	1.00											
Ka-5(COD)	0.48	0.56	0.51	0.55	1.00										
Ka-6(COD)	0.40	0.53	0.46	0.63	0.65	1.00									
Ki-8(COD)	0.38	0.30	0.21	0.23	0.15	0.12	1.00								
日和佐川(COD)	0.21	0.25	0.13	0.16	0.03	0.09	0.10	1.00							
牟岐川(COD)	0.08	0.08	0.15	0.10	-0.03	0.08	0.12	0.47	1.00						
海部川(COD)	0.05	0.12	0.10	0.07	0.12	0.08	0.02	0.40	0.44	1.00					
宍喰川(COD)	0.08	0.17	0.17	-0.01	0.10	0.14	0.06	0.47	0.43	0.37	1.00				
日和佐降水量(mm)	0.27	0.36	0.20	0.28	0.17	0.13	0.22	0.17	0.07	-0.07	0.12	1.00			
牟岐降水量(mm)	0.28	0.26	0.19	0.23	0.16	0.10	0.19	0.18	0.06	-0.07	0.09	0.92	1.00		
黒潮流軸距離(室戸)	-0.20	-0.19	-0.04	-0.17	-0.14	-0.11	-0.03	0.00	0.07	-0.02	-0.01	-0.10	-0.08	1.00	
黒潮流軸距離(潮岬)	-0.18	-0.20	-0.04	-0.15	-0.10	-0.08	-0.05	0.00	0.10	0.07	-0.01	-0.08	-0.07	0.51	1.00

表-4 判別分析データ

等分散有異差	あり
判別的中率	93.6%
誤判別率	8.64%

表-5 各地点における測定値の基本統計量

地点	項目	平均値	標準偏差	最小値	最大値	中央値	範囲	件数	欠測数
Ka-1	COD (mg/ℓ)	0.9	0.3	0.5	2.2	0.85	1.7	223	29
	塩素量 (%)	18.16	0.80	11.86	19.31	18.04	7.45	223	29
	水温 (°C)	18.9	4.8	8.6	28.6	18.4	20.1	223	29
	透明度 (m)	10.8	4.0	2.3	24.0	10.5	21.7	223	29
Ka-2	COD (mg/ℓ)	0.8	0.3	0.5	2.1	0.68	1.6	223	29
	塩素量 (%)	18.53	0.65	15.29	19.5	18.66	4.18	223	29
	水温 (°C)	20.4	0.3	10.8	29.1	19.7	18.3	223	29
	透明度 (m)	14.4	4.6	2.5	25.5	14.5	23	223	29
Ka-3	COD (mg/ℓ)	0.7	0.3	0.5	3.1	0.55	2.6	223	29
	塩素量 (%)	18.61	0.67	14.4	19.44	18.79	5.04	223	29
	水温 (°C)	21.1	4.2	11.6	29.6	20.8	18	223	29
	透明度 (m)	15.3	4.6	2.5	28.0	16.0	25.5	223	29
Ka-4	COD (mg/ℓ)	0.8	0.3	0.5	2.6	0.75	2.1	219	33
	塩素量 (%)	18.14	0.89	13.77	19.31	18.32	5.55	219	33
	水温 (°C)	19.69	4.6	10.0	29.4	19.3	19.4	219	33
	透明度 (m)	—	—	—	—	—	—	—	—
Ka-5	COD (mg/ℓ)	0.8	0.3	0.5	2.1	0.7	1.6	219	33
	塩素量 (%)	18.24	1.04	11.74	19.27	18.49	7.53	219	33
	水温 (°C)	20.3	4.5	11.4	29.6	19.6	18.3	219	33
	透明度 (m)	—	—	—	—	—	—	—	—
Ka-6	COD (mg/ℓ)	0.7	0.3	0.5	3.4	0.65	2.9	218	34
	塩素量 (%)	18.43	0.77	13.88	19.33	18.57	5.44	218	34
	水温 (°C)	20.8	4.4	12.3	29.7	20.2	16.8	218	34
	透明度 (m)	—	—	—	—	—	—	—	—
Ki-8	COD (mg/ℓ)	1.2	0.5	0.5	3.6	1.2	3.2	220	8
	塩素量 (%)	17.65	0.85	13.5	19.1	17.87	5.64	220	8
	水温 (°C)	17.8	5.5	7.1	28.3	18.02	21.2	220	8
	透明度 (m)	7.0	2.3	1.8	14.5	12.7	7.0	220	8

資 三

一、
二、
三、
四、
五、
六、
七、
八、
九、
十、
十一、
十二、
十三、
十四、
十五、
十六、
十七、
十八、
十九、
二十、
二十一、
二十二、
二十三、
二十四、
二十五、
二十六、
二十七、
二十八、
二十九、
三十、
三十一、
三十二、
三十三、
三十四、
三十五、
三十六、
三十七、
三十八、
三十九、
四十、
四十一、
四十二、
四十三、
四十四、
四十五、
四十六、
四十七、
四十八、
四十九、
五十、
五十一、
五十二、
五十三、
五十四、
五十五、
五十六、
五十七、
五十八、
五十九、
六十、
六十一、
六十二、
六十三、
六十四、
六十五、
六十六、
六十七、
六十八、
六十九、
七十、
七十一、
七十二、
七十三、
七十四、
七十五、
七十六、
七十七、
七十八、
七十九、
八十、
八十一、
八十二、
八十三、
八十四、
八十五、
八十六、
八十七、
八十八、
八十九、
九十、
九十一、
九十二、
九十三、
九十四、
九十五、
九十六、
九十七、
九十八、
九十九、
一百、

平成10年徳島県における結核・感染症サーベイランス結果について —検査情報—

徳島県保健環境センター

山本 保男・橋本 健二*・西野 泰裕
伊丹 幸子**・清水 俊夫・嶋田 啓司
津島 明

Key words : 感染症 infectious diseases, 病原微生物 pathogens, サーベイランス surveillance

I はじめに

昭和57年7月から結核・感染症サーベイランス事業が始まり、本県においても同年12月から患者数の収集・解析が始まった。検査情報については当センターが中心になり、昭和57年10月から開始された。昭和62年1月からは全国規模のオンラインシステムが確立され、迅速な情報の収集・解析、及び還元が図られている。

平成11年4月からは「感染症の予防と感染症の患者に対する医療に関する法律」（一般名：感染症予防法）が施行され、この法律に基づく感染症発生動向調査事業が開始された。本文においては、感染症予防法が施行されるまでの平成10年1月から平成11年3月までの徳島県結核・感染症サーベイランス事業の病原微生物検出状況を報告する。

II 検査材料及び方法

1 検査定点

検査定点を図-1に示した。検査定点が置かれていない地



図-1 結核・感染症サーベイランス検査定点

* 現 阿南保健所
** 現 県立中央病院

域で流行が発生した場合は、その地域の患者情報定点の医療機関に、随時、検査定点を依頼した。

2 病原微生物分離

病原微生物の分離は、基本的に成書¹⁾に従って実施した。ウイルス分離には、Vero, HEp-2, RD-18S, HEL, MDCK等の細胞を適時組み合わせて用いた。ウイルスの同定は原則として中和試験を用いたが、インフルエンザウイルスの同定は赤血球凝集抑制試験を用いた。インフルエンザ同定用抗血清はWHO インフルエンザ・呼吸器ウイルス協力センター（国立感染症研究所内）から分与を受けた。感染性胃腸炎患者糞便からのアデノウイルス、ロタウイルスの検出はラテックス凝集法も併用した。さらに、小型球形ウイルス(SRSV)の検出はANDOら²⁾のプライマーを用いて遺伝子増幅法(PCR)を実施した。

III 結果及び考察

1 月別病原微生物分離状況

平成10年1月から平成11年3月までの間に糞便、主に下痢便材料から消化器系伝染病及び食中毒菌を対象に検査した結果は、表-1に示すとおりである。12検体を検査した結果、7検体から病原菌を検出した。

表-1 細菌性下痢原因菌の検出状況

検査検体数	検査材料	病原菌検出検体数	検出病原体
12	便	7	カンピロバクター 1 黄色ブドウ球菌 4 ウエルシュ菌 2 腸管凝集粘着性大腸菌 2

検出した病原菌の内訳は、カンピロバクター1株、黄色ブドウ球菌4株、ウエルシュ菌2株、腸管凝集粘着性大腸菌2

表-2 月別ウイルス分離状況（平成10年1月～平成11年3月）

分離ウイルス	月 別	1998												1999			合 計	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
ポリオウイルス2型											1							1
コクサッキーウイルスA群9型						8	2											10
コクサッキーウイルスA群16型									2	4								6
エコーウイルス 3型						2	2	1	1									6
エコーウイルス 9型												2						2
エコーウイルス 17型												1						1
エコーウイルス 30型							1	5										6
ピコルナウイルス型別不能						3												3
アデノウイルス 1型														1				1
アデノウイルス 3型								1						2				3
アデノウイルス 5型								1										1
アデノウイルス 6型														1				1
アデノウイルス 7型										1								1
アデノウイルス型別不能						1				1								2
インフルエンザウイルスA香港型			5	2										26	3			36
インフルエンザウイルスB型															6	18		24
ムンプスウイルス				2	1	1	1	2		1					2	1		11
単純ヘルペスウイルス1型												2		2	1			5
小型球形ウイルス										4	2	2	1					9
ロタウイルス													1					1
分離陰性		8	46	18	9	5	21	29	1	23	18	11	30	23	26	40		308
合 計		8	51	20	11	6	36	37	11	30	24	18	32	57	38	59		438

表-3 臨床診断別ウイルス分離状況（平成10年1月～平成11年3月）

分離ウイルス	臨床診断名	感 染 性 胃 腸 炎	乳 児 嘔 吐 下 痢 症	無 菌 性 髄 膜 炎	脳 脊 髄 炎	発 疹 症	手 足 口 病	ヘルパン ギーナ	風 疹	流 行 性 耳 下 腺 炎	冬 期 感 冒 1月・3月・12月	冬 期 以 外 感 冒	肺 炎	そ の 他	合 計
ポリオウイルス2型		1													1
コクサッキーウイルスA群9型						10									10
コクサッキーウイルスA群16型							6								6
エコーウイルス 3型						2						4			6
エコーウイルス 9型								1				1			2
エコーウイルス 17型				1											1
エコーウイルス 30型		1		5											6
ピコルナウイルス型別不能						3									3
アデノウイルス 1型											1				1
アデノウイルス 3型											2	1			3
アデノウイルス 5型						1									1
アデノウイルス 6型											1				1
アデノウイルス 7型													1		1
アデノウイルス型別不能		1	1												2
インフルエンザウイルスA香港型											36				36
インフルエンザウイルスB型											24				24
ムンプスウイルス				10						1					11
単純ヘルペスウイルス1型						2								3	5
小型球形ウイルス		9													9
ロタウイルス			1												1
分離陰性		21	0	52	3	37	0	1	3	2	129	40	12	8	308
合 計		33	2	68	3	55	6	2	3	3	193	46	13	11	438

株であった。このうち同一検体より黄色ブドウ球菌とウエルシュ菌を検出したものが2検体あった。腸管凝集粘着性大腸菌の血清型は2件ともO111:HUTであり、PCR法でEAgg遺伝子を確認した。

ウイルスの月別分離状況を表-2に示した。438検体についてウイルス分離を行い128検体からウイルスが分離・検出された。平成10年は2月と3月にインフルエンザウイルスA香港型が分離された。春期から夏期にかけては流行性耳下腺炎の流行に伴い無菌性髄膜炎からムンプスウイルスが分離された。夏期にはコクサッキーウイルスA群9型・16型、エコーウイルス3型・30型を中心とするエンテロウイルスが分離された。秋期から冬期にかけてはPCR法で小型球形ウイルスが検出された。

平成11年1月から3月にかけては、インフルエンザウイルスのA香港型とB型が分離された。

2 臨床診断別ウイルス分離状況

感染性胃腸炎からは、33検体中12検体からウイルスが分離・検出された(表-3)。ポリオウイルス2型は平成10年10月に分離されたが、生ワクチン投与後2週間後の検体採取であることが確認された。アデノウイルス型別不能株は糞便乳剤からラテックス凝集法で検出されたが、細胞培養法では分離できなかった。小型球形ウイルスは全てPCR法での検出である。ANDOらのプライマーを使用し、SR33/46系からのみ検出された。

無菌性髄膜炎からは、68検体のうち16検体からウイルスが分離された。エコーウイルス30型は、8月に県南地方から分離された。平成10年は全国的にエコーウイルス30型による無菌性髄膜炎が流行したが、本県においては徳島市を中心とする県央地方からは同ウイルスは全く分離されなかった。ムンプスウイルスが分離された時期は、県下で流行性耳下腺炎が流行していた時期と重なっていた。無菌性髄膜炎の27%、脳炎の4.9%がムンプスウイルスに起因するという報告例⁹⁾もあり、流行性耳下腺炎が流行している時、その合併症に十分注意する必要がある。

脳・脊髄炎からはウイルスは分離されなかった。

発疹症からは55検体中18検体からウイルスが分離され、18検体中10検体からコクサッキーウイルスA群9型が分離された。主に県南地方から分離され、コクサッキーウイルスA群9型による発疹症が流行していたことが予想された。同ウイルスは徳島市内からは1株のみ分離された。

手足口病からは6検体全てからコクサッキーウイルスA群16型が分離された。全国的にも同ウイルスが多く分離されていた。

ヘルパンギーナからはエコーウイルス9型が1株分離された。

風疹からはウイルスは分離されなかった。

流行性耳下腺炎からはムンプスウイルスが1株分離された。

冬期感冒からは193検体中64検体からインフルエンザウイルス(A香港型、B型)が分離された。1997/98シーズンの全国的なインフルエンザ流行の特徴は、平成10年1月から2月の極めて短い期間に爆発的に全国的流行があったことである⁴⁾。本県においても1月の累計患者数が157人、3月の累計患者数が495人であるのに対し2月の累計患者数が2,463人であった。ウイルス分離状況も1月は分離されず、2月にインフルエンザウイルスA香港型が5株、3月初旬に同ウイルスが2株分離された。本県同様、全国的にもA香港型の単独流行であった。全国的な抗原分析の結果、1997/98シーズン用ワクチン株であるA/武漢/359/95類似株と、世界的に流行したA/シドニー/5/97類似株がほぼ同じ割合で分離されていた⁴⁾。本県においては、分離株全てA/武漢/359/95類似株であった。1998/99シーズンの全国的なインフルエンザの流行状況をウイルス分離状況からみるとA香港型が1月に流行し、2月3月とB型が流行した。本県のウイルス分離状況(表-2)からも同様な結果が得られた。分離株の抗原分析の結果、A香港型もB型もワクチン株(A/シドニー/5/97、B/三重/1/93)類似株であった。

冬期以外感冒のウイルス分離状況からは特徴的なことはみられなかったが、発疹症から分離されているエコーウイルス3型が夏期に4株分離された。このウイルスは全国的には分離数が少ないウイルスであった。

肺炎からはアデノウイルス7型が1株のみ分離された。アデノウイルス7型感染症は再興感染症として平成7年に分離されて以来、全国各地で分離されている。そのなかでも、平成8年に同ウイルスによる肺炎で死亡例がでたことでさらに注目されるようになった。本県における分離症例も重症肺炎からであった。本県分離株の遺伝子型はアデノウイルス7d変異株であった。

IV まとめ

平成10年徳島県結核・感染症サーベイランス事業の病原微生物検出状況から以下の結果が得られた。

1. 細菌性下痢原因菌は、12検体中7検体から8株分離され、カンピロバクターが1株、黄色ブドウ球菌が4株、ウエルシュ菌が2株、腸管凝集粘着性大腸菌が2株であった。
2. ウイルス検査については278検体中88検体からウイルスが分離・検出された。
3. 県南地方において無菌性髄膜炎の小流行がみられ、その原因ウイルスはエコーウイルス30型であった。全国的にもエコーウイルス30型による無菌性髄膜炎の大流行であったが、徳島市を中心とする県央地方からは全く分離されな

った。また、県南地方ではコクサッキーウイルスA群9型による発疹症の小流行もみられた。

4. 流行性耳下腺炎の流行期間中、ムンプスウイルス感染症の合併症として無菌性髄膜炎が多発した。
 5. 1997/98シーズンのインフルエンザの流行はA香港型単独による流行であった。1998/99シーズンのインフルエンザの流行は1月はA香港型、2月3月はB型による流行であった。両シーズンとも分離株はA香港型、B型ともワクチン類似株であった。
- (稿を終えるにあたり、本事業に御協力いただいています定点

医療機関の先生方に深謝いたします。)

文 献

- 1) 金井興美, 山崎修道他編: 微生物検査必携 (ウイルス・クラミジア・リケッチア検査, 第3版), 日本公衆衛生協会 (1987)
- 2) TAMIE ANDO et al: J. Clin. Microbiol., 33, 64-71 (1995)
- 3) 木村慶子: 小児科診療, 54, 845-852 (1991)
- 4) 病原微生物検出情報: 19, 272-273 (1998)

徳島県で分離されたアデノウイルス7型の遺伝子型について

徳島県保健環境センター

山本 保男・嶋田 啓司・津島 明

Key words : アデノウイルス7型 Adenovirus type7, 遺伝子型 Genome type, DNA 抽出 DNA extraction

I はじめに

アデノウイルス (Ad) による感染症は、血清型の違いにより呼吸器系、眼科系、消化器系など多彩な臨床症状を呈する。このようなアデノウイルス感染症のなかで、最近になり Ad7型感染症が再興感染症として注目されている。Ad7型は欧米では普遍的なウイルスであるが、我が国では1994年までは極めて希なウイルスであった。しかし、1995年に広島市で Ad7型の分離報告があり、その後全国的に分離報告がみられるようになった。¹⁾このような状況のなか、1996年、千葉県において基礎疾患を持つ乳幼児であるが Ad7型による肺炎による死亡例が確認され、さらに注目されることになった。

本県においても、1998年に初めて Ad7型が重症肺炎患者から分離され、その遺伝子型について検討したので報告する。さらに、遺伝子型の検討に先立ちアデノウイルス DNA の抽出方法についても若干検討したので併せて報告する。

II 材料及び方法

1. ウイルス分離

呼吸器不全、肝機能障害を伴う重症肺炎患者の咽頭拭い液、糞便をウイルス分離の材料とした。咽頭拭い液はそのまま濾過滅菌し、糞便は10%乳剤とし遠心上清を濾過滅菌した。濾過滅菌の前処理をした検体を HEp-2, RD-18S, Vero の各細胞に接種し、回転培養でウイルス分離を行った。アデノウイルスの同定は、国立感染症研究所・吉井博士より分与されたアデノウイルス型特異中和用抗血清で行った。

2. DNA 抽出材料の調製及び DNA の抽出

培養瓶 (培養面積75cm²) で培養した HEp-2 細胞に Ad-7 分離株を接種し、細胞変成が80%位まで進んだ状態から DNA 抽出材料を調製した (図-1)。

まず細胞を剝離・回収し、遠心分離を行い、上清と細胞に分けた。上清はクロロホルム処理後、ポリエチレングリコール6000 (PEG) と塩化ナトリウムを添加し、攪拌、遠心分離

した。沈査を0.5ml の PBS⁻で溶解し、DNA 抽出材料とした (材料1)。細胞分画は1ml の PBS⁻で懸濁した後2等分し、0.5ml の細胞懸濁液はそのまま DNA 抽出材料とした (材料2)。残り0.5ml の細胞懸濁液は凍結・融解を5回繰り返し遠心分離し、上清について材料1と同様にクロロホルム処理を行った後 DNA 抽出材料とした (材料3)。材料1~3についてラテックス凝集試薬 (第1化学薬品) でアデノウイルスの有無を確認した結果、材料1は陰性、材料2・材料3は陽性であった。

以上の材料について、市販のキット (DNA Extractor WB Kit : 和光純薬) を用いて DNA を抽出した (図-2)。アデノウイルス DNA は5'末端が末端蛋白質と共有結合しているため抽出過程で蛋白分解酵素処理過程があるキットを選択した。なお、材料2の抽出段階において、イソプロパノール添加時に宿主由来と思われる DNA 塊が現れたので、これを除去後抽出作業を継続した。抽出した DNA は50 μ l の再蒸留水で溶解後試験に用いた。

3. 制限酵素処理および電気泳動

Ad7分離株の遺伝子型を検討するため、Ad7DNA を制限酵素で処理し DNA 切断パターンを調べた。DNA 切断は BamH I, BstE II の2種類の制限酵素 (ニッポンジーン製) を使い、成書²⁾に準じて行った。電気泳動は0.7%アガロースゲル (和光1600) を使い、TAE 緩衝液 (40mM Tris-acetate, 1mMEDTA) で90v3時間行った。

III 結果

1. ウイルス分離

患児は1才男児で細菌性肺炎、マイコプラズマ肺炎を疑ったが抗生剤で症状改善せず、ウイルス性肺炎を疑った。患児の簡略な臨床経過は次のとおりである。平成10年8月31日から発熱し、9月1日から咳、9月2日から喘鳴が現れレントゲン検査の結果右肺に網状影が認められた。その後、右肺に

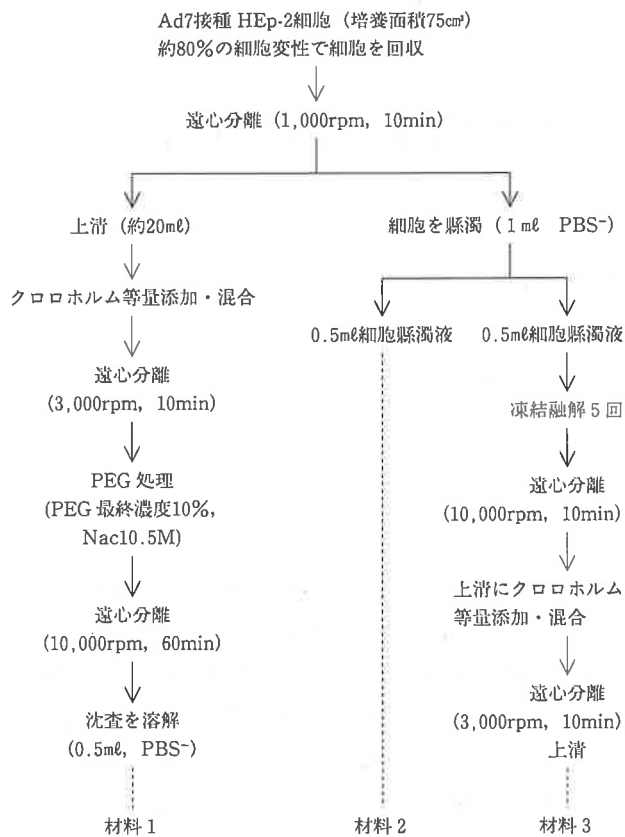


図-1 DNA抽出材料の調製

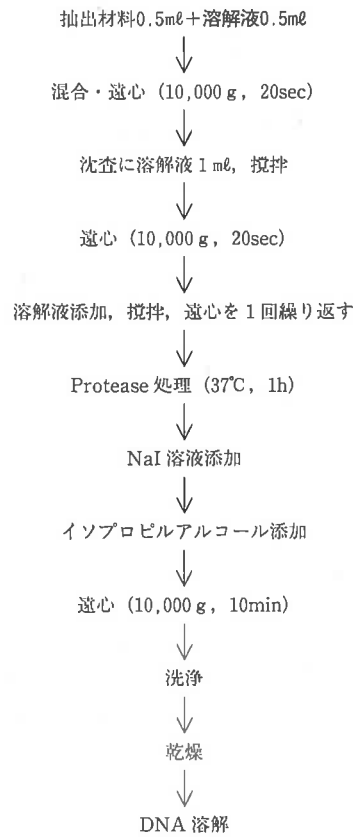


図-2 DNA抽出過程

胸水、左肺に浸潤影を認めた。臨床化学検査結果から肝機能障害、呼吸性アシドーシスを認めた。このような臨床経過を示した患児の発病後9日目の咽頭拭い液及び10日目の糞便から、HEp-2、RD-18Sの各細胞からAd7が分離された。分離株は、標準株抗血清で易中和性であった。

2. DNA抽出

抽出材料が異なるDNA(材料1~3)を用いて制限酵素BamH Iで処理した電気泳動像を図-3に示した。材料1は宿主細胞由来DNAの痕跡は認められず、ウイルスDNAの断片がかすかに認められた。材料2はウエル及び泳動レーン中に宿主細胞由来DNAのスミアがかなり認められるもののウイルスDNA断片は明確に認められた。材料3は宿主細胞由来DNAのスミアは全くみられず、材料2に比べ強く明確なウイルスDNA断片がみられた。以上の結果から、材料3のDNAを用いて、あらためてBamH I、BstE II処理を行った。

3. 制限酵素切断パターンによる遺伝子型別

制限酵素処理後の電気泳動像を図-4に示した。BamH Iについては既報³⁾⁴⁾を参照した結果、Ad7dと推定した。次にBstE IIの泳動像についても既報⁴⁾⁵⁾を参照した結果、Ad7dの約4300bpと約4000bpのDNA断片が消失し、新たに約8300bpのDNA断片が現れAd7d変異株と推定した。

さらに、実験の過程で細胞変性が進みすぎ、HEp-2細胞が完全に浮遊した状態のAd7接種細胞が得られたのでその

上清をPEG処理し、前記DNA抽出方法で抽出したDNAについて制限酵素処理し電気泳動した像を図-5に示した。その結果、泳動パターンは材料3から得られたパターンと同一であったが、ウエル、泳動レーン中ともに宿主細胞由来DNAのスミアがかなりみられた。

IV 考 察

アデノウイルスはウイルスが増殖しても細胞外へウイルスの放出が少なく、多くは細胞内で貯留されている。この性質を利用して感染細胞から直接ウイルスDNAを抽出する方法⁶⁾が各種疫学調査に利用されている。さらに、分子遺伝学の発展により核酸抽出剤も各種製品化された。今回我々は、Ad7の遺伝子型を検討するにあたり市販核酸抽出剤を用いて感染細胞からウイルスDNAを抽出した。今回我々が試みた抽出方法の中では、感染細胞を凍結融解して抽出したDNAが、宿主細胞由来DNAの影響を全くうけず明瞭なウイルスDNAが簡単・短時間に得られた。その理由としては化学的処理や過激な物理的処理に比べ必要以上に細胞が破壊されなかったこと、及び高速遠心で細胞断片をできるだけ沈殿させたことが考えられる。これに対し、感染細胞そのものを材料とした材料2では抽出過程で宿主由来と思われるDNA塊を除去したが、もし除去することなく抽出作業を進めていたならばもっとスミアがひどい泳動像になっていたことは十分予想される。またAd7は比較的高増殖性であるため宿主由来DNA量

に比べウイルス DNA 量が相対的に多い。低増殖性アデノウイルスの時はウイルス性 DNA が相対的に少ないため宿主由来 DNA の影響を強く受け判別しにくいことが予想される。材料 1 では宿主細胞由来 DNA の影響はみられないものの、ウイルス DNA も少なかった。これは完全な細胞変性が起こる前に細胞を剥離したため、培養上清中のウイルス量が少ないが細胞の傷みも少なかったためと思われる。これに対し、細胞変性が進みすぎた感染細胞上清を PEG 処理して DNA を抽出した材料では、培養上清中のウイルス量は多かったものの、破壊された細胞の断片も多く低速遠心で十分細胞断片が沈殿しなかったものと思われた。

さて、Ad7は制限酵素による DNA 切断パターンから10種類以上の遺伝子型が報告されており、おおむね各大陸毎に遺伝子型の異なるタイプが流行していることが知られている。中国では現在 Ad7d がドミナントな型であり、本邦の1995年以前の流行株は中国タイプと同じである。しかし1995年以降の分離株は Ad7d と制限酵素 BstE II でのみ区別できることを野田ら⁹⁾が報告し、Ad7c とした (後に、Ad7dv)⁷⁾。その後、稲田も1995年以降の国内分離株の大部分が野田らが報告した遺伝子型と同じであることを報告している。今回の我々の成績も、野田ら⁹⁾が報告した Ad7dv であることが強く示唆された。

1995年に Ad7が突如現れたときは新興感染症としてとらえる向きもあったが、現在では再興感染症として認識されている。西尾ら⁸⁾のレトロスペクティブな血清疫学調査による

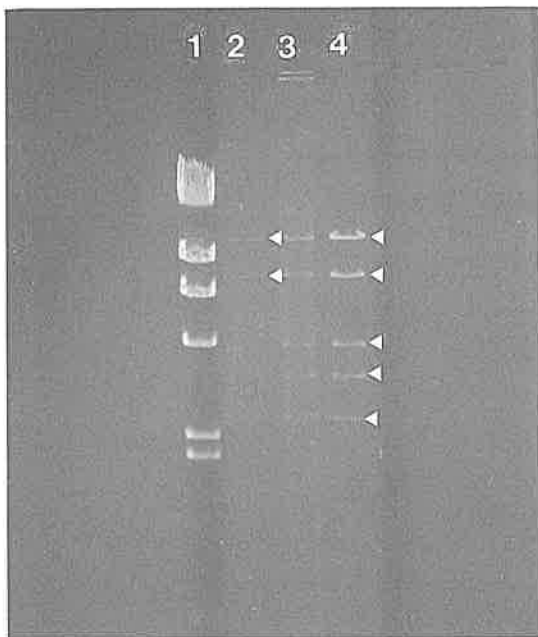
と、1990年代に採取された血清において30歳代までの Ad7抗体保有率は極めて低いながら40歳代では22%、50歳代では56%の高い抗体保有率を示していた。このことから、本邦においては約40年前は Ad7は普遍的なウイルスであったことが推測された。

現在、我が国では Ad7d 変異株が流行の主流であるが、南米で流行中で強毒株といわれる Ad7H も国内で分離され、低年齢層の低い抗体保有率と併せ今後の動向が注目される。



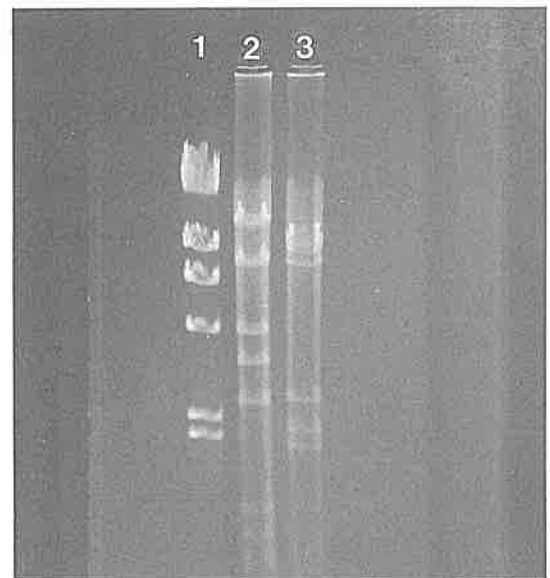
レーン 1 マーカー (λ DNA/Hind III)
 レーン 2 BamH I
 レーン 3 BstE II

図-4 Ad 7 分離株の DNA 切断パターン



レーン 1 マーカー (λ DNA/Hind III)
 レーン 2 材料 1 (Bam I)
 レーン 3 材料 2 (Bam I)
 レーン 4 材料 3 (Bam I)

図-3 抽出材料別 DNA 切断パターン



レーン 1 マーカー (λ DNA/Hind III)
 レーン 2 BamH I
 レーン 3 BstE II

図-5 PEG 処理後の DNA 切断パターン

V ま と め

徳島県において初めて分離されたアデノウイルス7型の遺伝子型、及び遺伝子型の検討に先立ちアデノウイルスDNAの抽出方法について検討した結果、次の知見が得られた。

1. 感染細胞から直接ウイルスDNAを抽出する方法ではかなり宿主細胞由来DNAの影響を受けたが、感染細胞を凍結融解後、遠心分離し上清から市販の核酸抽出剤を用いてDNAを抽出することにより宿主細胞DNAの影響を全く受けないウイルスDNAが簡単・短時間に得られた。
2. 徳島県で初めて分離されたアデノウイルス7型の遺伝子型はアデノウイルス7d変異株(Ad7dv)であった。

(稿を終えるにあたり、検体及び臨床症状を提供して下さいました徳島市民病院小児科、山下和子先生・中山 寛先生に深謝いたします。)

文 献

- 1) 病原微生物検出情報, 18, 1-2 (1997)
- 2) 井上 栄: 食品衛生検査指針追補 I, 26-33, 日本食品衛生協会 (1993)
- 3) G.Wadell: Curr.TOP.Microbiol. Immunol., 110, 191-220 (1984)
- 4) 稲田敏樹: 臨床とウイルス, 26, 205-215 (1998)
- 5) 野田 衛: 病原微生物検出情報, 17, 102-104 (1996)
- 6) N. Suzuki et al: Microbiol. Immunol., 1291-1301 (1981)
- 7) 荻野武雄: 臨床とウイルス, 26, 216-225 (1998)
- 8) 西尾 治 他: 感染・炎症・免疫, 28, 51-53, 医薬の門社 (1998)

平成11年度 徳島県保健環境センター年報No.17

平成12年1月発行

編集発行 〒770-0941 徳島市万代町5丁目71
徳島県保健環境センター
☎ (088) 625-7751
FAX (088) 625-1732

印刷所 〒770-8056 徳島市問屋町
徳島印刷センター
☎ (088) 625-0135

この徳島県保健環境センター年報は再生紙を使用しています。