

青森県環境保健センター研究報告

Bulletin
of
Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment

No.8 1997

青森県環境保健センター

は じ め に

平成8年度の研究報告をお届けいたします。

報文は6編で、その内訳は微生物部2編，理化学部1編，公害部3編となっています。

報文のキーワードはShiga toxin-producing *Escherichia coli*, c-JUN, glutathione S-transferase, Neuroblastoma, transparency, zooplankton, thiobencarb, trihalomethaneなどで、その内容は感染症学，検査測定，免疫組織化学，湖沼汚染機構，農薬の挙動，汚染化学物質の生成に関するものであり，それぞれ興味ある内容のものとなっていますのでご一読を賜れば幸いに存じます。

研究テーマについては業務の性格上，地域性を重視しつつも広く社会的な課題にも着目し，研究を推進していくべきものと考えています。

受け身の検査機関から，社会の中で発生するさまざまな事象に対し自らの判断で行動し科学的に答えの出せる機関へ脱皮できるよう願っています。

ご指導，ご鞭撻を賜れば幸甚に存じます。

1998年2月

青森県環境保健センター

所長 内 山 日出夫

目 次

I 報 文

青森県内における志賀毒素産生性大腸菌（STEC）による感染症学

—1993年～1997年9月—

岡 典子 野呂キョウ 筒井 理華 大友 良光 1

クロフィブレートで誘発されたマウス肝前癌病巣の glutathione S-transferase

分子種とc-JUNの免疫組織化学

三浦 啓徳 佐藤 公彦 土田 成紀 畑山 一郎 6

HPLCによる尿中VMA・HVA・クレアチニン同時測定法の検討

石川 和子 下山 純子 金田 量子 12

十和田湖における透明度と生物群集の変遷

三上 一 高村 典子 奈良 忠明 15

ベンチオカーブの水田における挙動及び河川への流出状況

石塚 伸一 工藤 健 大久保英樹 27

公共用水域におけるトリハロメタン生成能の測定と解析

石塚 伸一 34

II ノ ー ト

青森県におけるサルモネラ・エンテリティディスの疫学

野呂キョウ 大友 良光 41

III 他誌投稿抄録 43

IV 学会等発表抄録 45

CONTENTS

I Original Articles

Epidemiology on infection with shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> (STEC) in Aomori —From 1993 to September, 1997— Noriko OKA, Kyo NORO, Rika TUTUI and Yoshimitu OTOMO	1
Immunohistochemistry of molecular species of glutathione S-transferase and c-JUN in mouse liver precancerous lesions induced by clofibrate Hironori MIURA, Kimihiko SATO, Shigenori TUTIDA and Ichiro HATAYAMA	6
Estimation of the levels of VMA, HVA and creatinine in urine by simultaneous determination method with HPLC Kazuko ISHIKAWA, Junko SHIMOYAMA and Ryoko KANEDA	12
Transparency and changes in biological communities in Lake Towada Hajime MIKAMI, Noriko TAKAMURA and Tadaaki NARA	15
Behaviors of thiobencarb in fields and its tun-off into rivers Shin-ichi ISHIZUKA, Ken KUDOH and Hideki OHKUBO	27
Measurement and analysis of trihalomethane formation potential in public water area Shin-ichi ISHIZUKA	34
II Note	
Epidemiology on <i>Salmonella</i> Enteritidis in Aomori Kyo NORO and Yoshimitu OTOMO	41
III Summaries of Other Publications	43
IV Abstracts of Presentation in Society Meetings	45

I 報 文

青森県内における志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) による感染症学 —1993年～1997年9月—

岡 典子 野呂キョウ 筒井 理華 大友 良光

1993年から1997年9月までに青森県内で発生した志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 感染症の発生状況をまとめる一方、分離33菌株の血清型別、PCR法による志賀毒素遺伝子 (*stx1*, *stx2*) と大腸粘膜のA/E障害関連遺伝子 (*eaeA*) の検出および一部の菌株についてパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) による解析を行った。その結果、STEC感染例は8月前後をピークに年々増加傾向にあり、最近では高齢者にも見られる。血清型は、O157:H7/HNMが26株と多く、最近ではO26:H11 (4株)、O103:H2 (2株)、O121:H19 (1株) と多様化している。O157は*stx1*と*stx2*両方保有が23株、*stx2*単独保有が3株、O26は3株が*stx1*単独、1株が両方保有、O103は2株が*stx1*単独、O121は*stx2*単独を保有していた。*eaeA*は全ての菌株が保有していた。平成9年8月に、同一地域で同時期に発生した2事例のPFGE解析でイエバエの媒介が示唆された。

Key words : Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O157:H7, PCR, Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), EHEC, VTEC

1. はじめに

志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: 以下STECと略す。他に、腸管出血性大腸菌: EHEC, ベロ毒素産生性大腸菌: VTECとも呼ばれる。) による感染症は世界的にも問題になっており、わが国においても平成8年5月以降、各地で集団および散发事例が相次いで発生している。STECは、赤痢菌の産生する志賀毒素と非常によく似ている毒素 (志賀毒素Stx1, Stx2) を産生し、特に血清型O157においては溶血性尿毒症症候群 (HUS) を併発し死に至る場合もあり、特に注意を要する病原菌である。青森県内においてもSTECによる集団発生はないものの、8年度から現在に至るまでに33件 (平成9年9月末現在) の感染症例が相次いで発生しており、二次感染を防ぐための感染ルート及び感染源の究明が必要とされる場所である。

今回、著者らは、県内で分離されたO157, O26, O103等STECの*stx1*, *stx2*, *eaeA*遺伝子検出状況とパルスフィールド電気泳動法による遺伝子解析により、本県のSTEC発生の疫学的特徴を考察したので報告する。

また、感染源が推測されるに至ったO157感染事例についても併せて報告する。

2. 実験方法

2・1 検 体

平成5～9年度 (平成9年9月末現在) までに青森県内で分離し、保存されているO157等STEC33株を用いた。

2・2 毒 素 型

遺伝子学的検査方法 (PCR法) による志賀毒素 (*stx1*, *stx2*) 遺伝子の検出並びに免疫学的方法 (RPLA法, デンカ) による当該毒素の検出を行った。PCR法用のプライマーは市販のものを用いた (TAKARA)。

2・3 病原性遺伝子 (*eaeA*遺伝子) 保有状況

PCR法により、ヒト大腸粘膜上皮細胞の病変に関与する外膜タンパク質、インチミンを規制する*eaeA*遺伝子¹⁾の検出を行った。

2・4 パルスフィールドゲル電気泳動法 (pulsed-field gel electrophoresis: 以下, PFGEと略す)

国立感染症研究所の方法に準じ、図1の流れに従って実施した²⁾⁻⁵⁾。即ち、平板培地上で培養後の被検菌を、200 μ lの水に、McFarland 1位になるように懸濁させた。次に、等量の溶解させた1% Low melting agarose (Bio-Rad) を加え、攪拌後、プラグ・モールド (Bio-Rad) に入れ、氷上で20分放置して固めた。このプラグを、1mg/ml lysozyme (和光純薬) 含有0.5M EDTA, pH8.0 (和光純薬, 遺伝子工学研究用) 1ml中に入れて、37 $^{\circ}$ Cで3時間以上震盪しながらインキュベートして、菌体の細胞壁を溶かした。次に、溶液を0.1% proteinase K (SIGMA), 1% sodium lauroyl sarcosine (和光純薬) 含有0.5M EDTA, pH8.0, 1mlに交換し、50 $^{\circ}$ Cで一晩震盪しながらインキュベートし、蛋白を分解した。

表1 志賀毒素産生性大腸菌の血清型と毒素型（平成5～9年度）

血清型	毒素型 (H5～H9)			年度別			
	stx1	stx2	stx1&stx2	H5	H6	H8	H9
O157:H7	—	3	22	1	—	11	13
O157:HNM	—	—	1	—	1	—	—
O26:H11	3	—	1	—	—	1	3
O103:H2	2	—	—	—	—	—	2
O121:H19	—	1	—	—	—	—	1
Total	5	4	24	1	1	12	19

反応後、プラグを取り出し、半分に切断し、その一片を1mM PMSF (phenyl methyl sulfonyl fluoride) (和光純薬, 生化学用) を含むTE (10mM Tris, 1mM EDTA, pH8.0) 1ml中に入れ、震盪しながら50℃で30分間、インキュベートし、この操作を更に一回行い、proteinase Kを失活させた後、TE 1mlに換え、氷上で30分間震盪した。

その後、TEを捨て、酵素処理のためのbuffer (50mM Tris-HCl, 10mM MgCl₂, 100mM NaCl) (Boehringer Mannheim) 200μlに換え、氷上で30分間震盪した後、制限酵素XbaI (TAKARA) 含有酵素処理のためのbuffer 100μlに換え、37℃で一晩反応させた。反応後、酵素液を0.5×TBE 200μlに換え、PFGE用ゲル (1% Pulsed field certified agarose (Bio-Rad)) にセットするまで4℃で保存した。PFGE装置は、Bio-Rad社のCHEF-DR IIIを用いた。泳動用緩衝液は0.5×TBEで10℃に設定した。泳動条件は、6V/cm定電圧、4 to 8 sec (linear lamp) で11時間、8 to 50 sec (linear lamp) で9時間に設定し、角度は60℃とした。

DNA試料の調製

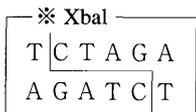
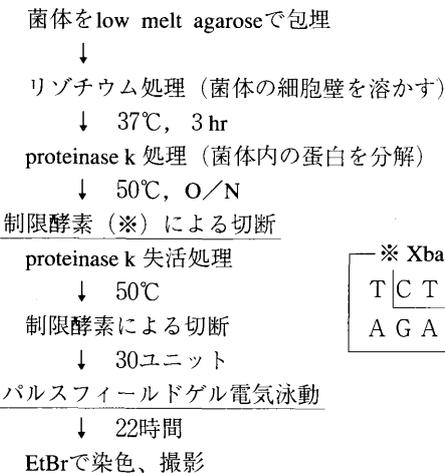


図1 PFGE実験操作フロー

泳動後、ゲルを0.2μg/mlのエチジウムブロマイド液に30分間程度入れて染色した。

DNAサイズマーカーにはλ ladder (Bio-Rad) を用いた。

3. 結果と考察

3・1 H8, 9年度の発生状況

3・1・1 STECの血清型と毒素型

本県におけるSTECの血清型及び毒素型を表1に示した。H8年度および9年度に最も多く分離された血清型はO157:H7で、それぞれ91% (11/12), 68% (13/19) を占めていた。昨年度と今年度の違いは、数が増加していること (H9年度分については、9月現在の状況であるが、昨年度の1.5倍にのぼっている)、また、血清型O157以外のいわゆるnon-O157についても、昨年度のO26:H11に加え、O103:H2⁶⁾ およびO121:H19が新たに分離されていることである。これは、昨年度、「腸管出血性大腸菌感染症」が伝染病予防法において指定伝染病となったことにより、検査方法のより一層の整備が行われたため、non-O157 STECによる感染事例も少なからず報告されるようになったと考えられる。

また、O157については、stx1+stx2の両毒素を保持している率が高いが (88%)、他の血清型のもはstx1単独の傾向を示している。また、今年分離されたstx2単独産生菌であるO121:H19については、全国的に未報告の血清型である。

なお、すべての菌株について、ヒト腸管に病変をもたらすeaeA遺伝子を保有していた。

3・1・2 検出年齢

検出年齢分布は、“0-9歳”の幼児から小学校中学校にかけてが最も多く、全体の51%を占めている (表2参照)。しかしながら、H9年度の特徴は、60歳以上の発生もあることから、STEC感染が必ずしも若年層に限らなくなってきている。

3・1・3 月別発生状況

表3からもわかるように、6～9月にかけて集中して

表2 志賀毒素産生性大腸菌検出の年齢

年齢(歳)	人数	年度別			
		H 5	6	8	9
0-9	17	-	1	7	9
10-19	4	-	-	1	3
20-29	1	-	-	1	-
30-39	6	-	-	3	3
40-49	0	-	-	-	-
50-59	1	1	-	-	-
60-69	2	-	-	-	2
70-79	1	-	-	-	1
80~	1	-	-	-	1
Total	33	1	1	12	19

表3 志賀毒素産生性大腸菌月別発生状況
(分離菌株数)

月	H 5	H 6	H 8	H 9
4	-	-	-	2
5	-	-	-	-
6	-	-	1	-
7	-	1	2	3
8	-	-	2	12
9	-	-	3	2
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	1	-	-	-
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	4	-
Total	1	1	12	19

いるが、9年度は、特に8月に集中していた(全体の63%)。この8月の12株には、次に述べる感染源が推測されるに至った事例の菌株5株が含まれている。

3・1・4 居住地別分布

STECが分離された患者等の居住地別分布をみると全国的に分布しており、地域による偏りは特にみられない。

3・2 感染源が推測されるに至ったO157同一感染事例について

平成9年8月中旬、県内のある地域で、O157感染患者の発生が相次いで確認された。

●事例1

1歳の女兒から*stx1+stx2*の両毒素型O157が検出された。親戚関係が一同に会した直後の発生であったので、患者の両親の他、集まったところの検便も実施

したが、その結果、両親といこの女兒1人からも両毒素型のO157が検出された。

●事例2

事例1と同時期に、同地域に住む64歳の女性からも両毒素型O157が検出された。

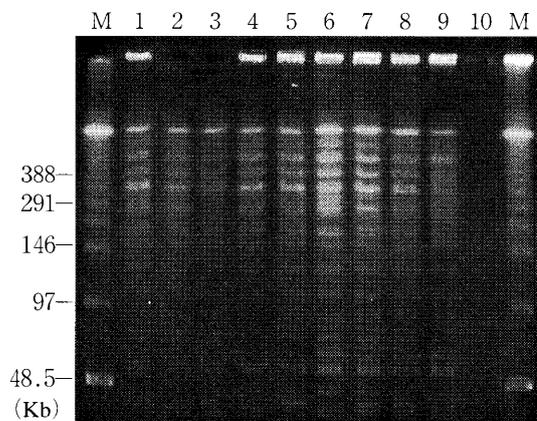


図2 PFGE fingerprints of *E. coli* O157 strains.

Lane 1: 事例1の患者, Lane 2: 事例2の患者,
Lane 3: 事例1の母, Lane 4: 事例1の父,
Lane 5: 事例1の従姉, Lane 6: 他事例,
Lane 7: 事例1の患家の敷地内におけるハエ,
Lane 8: 事例1の患家の家畜便, Lane 9: 大阪府堺市の株,
Lane 10: Negative control

事例1の一同が会した場所と事例2の家とは直線距離にして350mほどしか離れておらず、また、2つの事件の発症時間がほとんど同じであること、そして、事例1の患家では家畜を飼育していること(井戸から最寄りの畜舎まで約7m)から関連性が疑われたため、敷地内の家畜便とハエからの分離を試みたところ、糞便とハエからO157(両毒素型および*eaeA*保有)が分離された。なお、同時に実施した井戸水については陰性であった。

そこで、遺伝子学的にヒト由来株と家畜便、ハエ由来株の関連を検討する目的で、*Xba I*消化DNAのPFGEパターンを比較検討した結果、ほとんど類似のパターンを示し(図2参照)、事例1、2はO157:H7による同一感染事例であり、両世帯に共通する食品は無いことから、その感染源は家畜便である可能性の高いことが示唆された。

自然界には多くの遺伝子型の異なるO157が存在していることが推定されるが、検出されたO157についてPFGEによる遺伝子解析の結果が一致した場合、感染源に何らかの関連性があるか、あるいは同じ菌種による二次感染の可能性のあることが示唆される。

そこで、PFGEによる遺伝子解析は、病原因子及び感染経路が克明に解析できる可能性が高く、感染源及び感染経路の疫学的調査において、大変有用と考えられ、現

在では、各種分子疫学手法の中では標準的な手法となっており、各地で用いられている⁷⁾⁻⁹⁾。

しかしながら、所要時間が5～7日を要すること、検査行程や泳動条件の検討にある程度熟達が必要なことなど研究室的な要素が多く、迅速性にかける点では問題点も多い。

1日で同様の良好な結果が得られる方法¹⁰⁾が報告されている。今後、本手法により多様な分離菌株を迅速かつ正確にタイピングし、集団発生はさることながら散発の際の感染源の解明や二次感染の防止により効果的に解析できるよう検討を加えていきたい。

4. ま と め

県内でこれまで分離されたSTEC株の特徴として、以下のことがわかった。

- 1) すべての菌株が*eaeA*を保有するとともに、O157(*stx1+stx2*)が圧倒的に多かった。
- 2) 最近ではO157以外のSTEC(O26, O103, O121)も徐々に報告されており、毒素型は*stx1*単独または*stx2*単独の傾向である。
- 3) 検出年齢も若年層が主流だったが、高齢者にもみられてきた。
- 4) PFGEによるDNA解析の結果、今年8月に発生した2事例の感染源は患者の家畜の便であり、ハエが媒介した可能性の高いことが示唆された。

なお、本調査にあたり、貴重な情報及び御助言を賜りました国立感染症研究所、秋田県衛生科学研究所、検体採取等に協力頂いた保健所等関係各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 八柳潤ら：腸管集合性大腸菌耐熱性エンテロトキシン-1 (EAST-1) 遺伝子を保有する、食中毒様事例由来病原血清型大腸菌；感染症学雑誌，第70巻，第1号，73-79.
- 2) HIDEMASA IZUMIYA. et al. : Molecular Typing of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Isolates in Japan by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. J. Clin. Microbiol., **35**, 1675-1680, 1997.
- 3) 資料『腸管出血性大腸菌O157の検出・解析等の技術研修会』：国立感染症研究所細菌部（平成9年）
- 4) T. J. BARRETT. et al. : Laboratory Investigation of a Multistate Food-Borne Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 by Using Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Phage Typing. J. Clin. Microbiol., **32**, 3013-3017, 1994.
- 5) C. ANDREW CARSON. et al. : *Escherichia coli* O157:H7 Restriction Pattern Recognition by Artificial Neural Network. J. Clin. Microbiol., **33**, 2894-2898, 1995.
- 6) <情報> 志賀毒素産生性大腸菌O103:H2による家族内感染（青森県環境保健センター）～病原微生物検出情報；国立感染症研究所，Vol.18, No.7 (No.209)，1997年7月発行
- 7) <情報> 保育園で発生した腸管出血性大腸菌O157:H7による集団感染事例（千葉県立衛生研究所）～病原微生物検出情報；国立感染症研究所，Vol.18, No.12，1997年12月発行
- 8) パルスフィールドゲル電気泳動法による腸管出血性大腸菌O157の遺伝子解析；京都市衛公研年報，**63**，122-124，1997.
- 9) パルスフィールド電気泳動とRAPD法による腸管出血性大腸菌O157:H7の型別；愛媛衛研年報，**58**，1-4，1996.
- 10) ROMESH K. GAUTOM : Rapid Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocol for Typing of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Gram-Negative Organisms in 1 Day. J. Clin. Microbiol., **35**, 2977-2980, 1997.

Abstract

EPIDEMIOLOGY ON INFECTION WITH SHIGA TOXIN-PRODUCING *Escherichia coli* (STEC) IN AOMORI — From 1993 to September, 1997 —

Noriko OKA¹, Kyo NORO¹, Rika TUTUI¹, Yoshimitu OTOMO¹

Investigation was made on the occurrence of infection with STEC in Aomori prefecture from 1993 to September, 1997. On the other hand, the 33 strains thus isolated were subjected to the classification depending on the serotype and the detection of Shiga toxin gene type (*stx1*, *stx2*) and A/E disorder-relative gene (*eaeA*) on the colon mucosa by the PCR method. Also, some of these strains were analyzed by the pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) method. The results of the investigation point out that STEC-infection cases have been increasing year by year with showing the peak around August each year. In recent years, aged patients are also observed. Regarding the serotypes, O157:H7/HNM is detected most frequently (26 strains). Recently, the diversification of the serotypes is observed, i.e., O26:H11 (4 strains), O103:H2 (2 strains) and O121:H19 (1 strain). Among the O157 strains, 23 strains carry both of *stx1* and *stx2* while 3 strains carry *stx2* alone. Three O26 strains carry *stx1* alone while one carries both of these genes. Two O103 strains carry *stx1* alone and the O121 strain carries *stx2* alone. All of these strains carry *eaeA*. As the result of the PFGE analysis, it was suggested that mediation by house fly might be responsible for 2 cases occurring in the same area in August, 1997.

key words : Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O157:H7, PCR,
pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), EHEC, VTEC

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment.

クロフィブレートで誘発されたマウス肝前癌病巣の glutathione S-transferase分子種とc-JUNの免疫組織化学

三浦 啓徳 佐藤 公彦¹ 土田 成紀¹ 畑山 一郎

非遺伝子毒性発癌剤のペルオキシソーム増殖剤クロフィブレートで誘発した雄B6C3F1マウスの肝前癌病巣におけるglutathione S-transferase (GST) 分子種と癌遺伝子産物c-JUNの発現を免疫組織化学的に検討した。45週間の0.5%クロフィブレート混餌投与で誘発した肝前癌病巣では、 α クラスのGST-Iとペルオキシソーム酵素enoyl CoA hydratase (ECH)が著明に減少し、病巣の陰性マーカーとしての有用性が明らかにされた。遺伝子毒性発癌剤で誘発された病巣のマーカーc-JUNはクロフィブレートの場合には発現が認められず、マーカーとしては無効であった。

一方、遺伝子毒性発癌剤であるdiethylnitrosamineで誘発した肝前癌病巣にはc-JUNの強い発現が認められたが、その系にクロフィブレートを5週間投与することでc-JUNの発現は著明に抑制された。この結果は、クロフィブレート誘発マウス肝前癌病巣のc-JUN発現はクロフィブレートにより抑制されており、クロフィブレートの投与停止でc-JUNが発現してくることを示唆する。

Key words : chemical carcinogenesis, mouse liver, clofibrate, glutathione S-transferase, c-JUN, immunohistochemistry

1. 目 的

実験動物における肝化学発癌の過程は、initiation, promotionおよびprogressionのステージに分割することができる。Initiationに続くpromotionの段階で、癌細胞の前駆細胞である前癌細胞から構成される前癌病巣や肥大性結節が現われ、progression過程を経た後、それらの細胞群の中から癌細胞が発生してくる¹⁾。従って、癌の初期発生機構の解析には前癌細胞の高感度で特異的な検出法の確立が重要となる。マウスの肝発癌機構の解析は、前癌細胞や微小な前癌病巣の有効な検出法がなかったためにラットに比べて遅れていた。

Glutathione S-transferase (GST, EC 2.5.1.18) は、種々の求電子性化合物のグルタチオン抱合反応を触媒する酵素活性に加えてペルオキシダーゼ活性、イソメラーゼ活性を持つほか、ステロイドやビリルビンの結合蛋白としての作用を有する多機能蛋白である²⁾。GSTは、基質特異性の異なる多くの分子種から構成されているが、遺伝子構造、蛋白質の一次構造、免疫学的交叉性から動物の種を越えて α , μ , π , θ のクラスに分類される^{3, 4)}。マウスの肝にはGST-I (α クラス), GST-II (π クラス) およびGST-III (μ クラス) の三種の主要GST分子種が存在する⁵⁾。我々は、diethylnitrosamine (DEN) で誘発した雄マウスの肝前癌病巣に、GST分子種のうちGST-IIの発現低下が、また、癌遺伝子産物c-JUNの発現

増加を確認し、各々マウス前癌病巣の免疫組織化学的マーカーとなることを明らかにした^{6, 7)}。さらに、3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene (3'-MeDAB) やN-ethyl-N-nitrosourea (ENU) のような遺伝子毒性発癌剤で誘発した場合にもDENと同様にGST-II陰性病巣やc-JUN陽性病巣が確認されることから、これらの蛋白は遺伝子毒性発癌剤で誘発されたマウス肝前癌病巣の有効な免疫組織化学的マーカーとなることを報告した⁸⁾。

発癌物質は、上記の遺伝子毒性発癌剤と非遺伝子毒性発癌剤の2種に大別される。非遺伝子毒性発癌剤のペルオキシソーム増殖剤クロフィブレートは、げっ歯類の肝細胞にenoyl CoA hydratase (ECH) のような長鎖脂肪酸の分解に関与する酵素を含む細胞内小器官ペルオキシソームの増殖を促進する。ペルオキシソーム内の脂肪酸分解過程で発生する活性酸素の一つ過酸化水素は、さらに反応性に富む水酸化ラジカルへと変換されて遺伝子に障害を与え、最終的に遺伝子障害の蓄積により細胞の癌化が生ずる⁹⁾。

GST-IIおよびc-JUNは、遺伝子毒性発癌剤によるマウス肝前癌病巣同様、非遺伝子毒性発癌剤で誘発した病巣の有効なマーカーとなるかどうか明らかにすることは重要である。そこで今回、雄B6C3F1マウスに、非遺伝子毒性発癌剤であるクロフィブレートを長期投与して誘発した肝前癌病巣のGST分子種およびc-JUNの発現に関して免疫組織化学的に検討した。

1 : 弘前大学医学部第二生化学

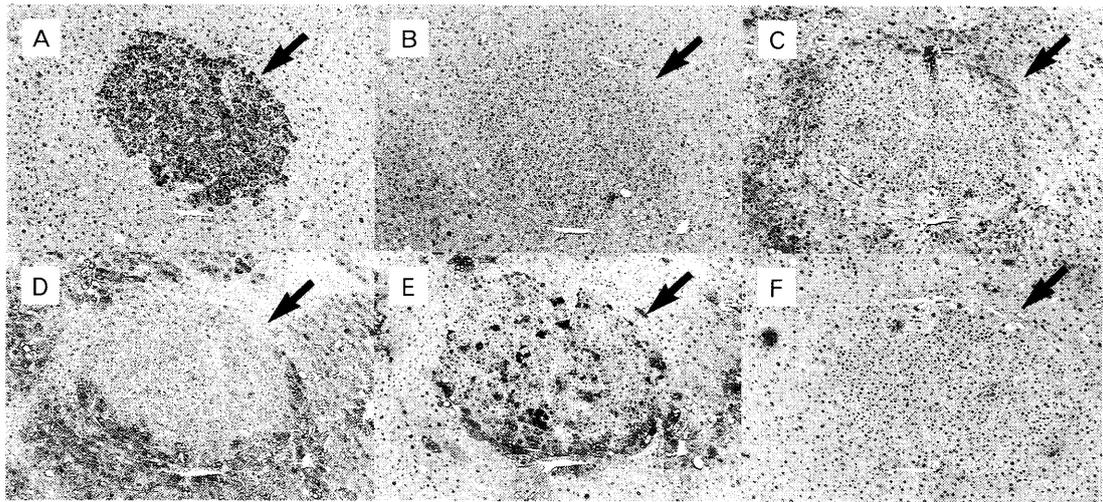


図1 DENで誘発したマウス肝前癌病巣におけるGST分子種, c-JUNおよびECHの免疫組織化学.
 (A) c-JUN, (B) ECH, (C) GST-I, (D) GST-II, (E) GST-III, (F) GST-Ya.
 矢印は病巣を示す。

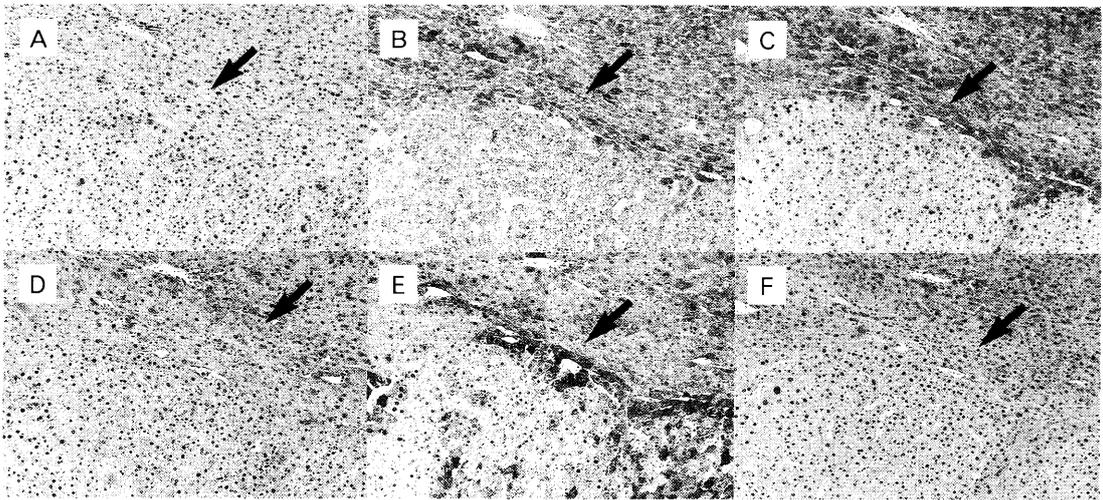


図2 クロフィブレートで誘発したマウス肝前癌病巣におけるGST分子種, c-JUNおよびECHの免疫組織化学.
 (A) c-JUN, (B) ECH, (C) GST-I, (D) GST-II, (E) GST-III, (F) GST-Ya.
 矢印は病巣を示す。

2. 材料と方法

2.1 試薬

クロフィブレート (2-(4-chlorophenoxy) isobutyric acid ethyl ester) は東京化成から購入した。ペクタステインABC-POキットと3,3'-diaminobenzidine (DAB) は、各々フナコシと和光純薬から入手した。マウスGST-I, GST-II, GST-IIIに対する抗体は既報⁹⁾のように作られた。ラットGST-YaおよびラットECHに対する抗体は、各々Satohら¹⁰⁾の方法とYokoyamaら¹¹⁾の方法で作成された。c-JUN抗体 (Ab-1) はOncogene Science社から購入した。他の試薬は市販の製品を用いた。

2.2 マウス肝化学発癌

チャールスリバー社から購入した雄C3H/Heマウスと雌C57BL/6の交配によりB6C3F1マウスを得た。肝前癌病巣は、5週齢の雄B6C3F1マウスに45週間0.5%クロフィブレートを混餌投与して誘発した。エーテル麻醉下で断頭瀉血後、摘出した肝臓を3mm厚の組織片にして冷アセトンで3日間固定した。ベンゼン置換、パラフィン包埋に続いて、6 μ m厚の切片を作成した。DENによる肝化学発癌は既報⁹⁾の通りに行い、同様の操作でパラフィン切片を作成した。

2.3 免疫組織化学

免疫組織化学はavidin-biotin-peroxidase complex (ABC)法¹²⁾で行った。組織切片のキシレンによる脱パラ後、エ

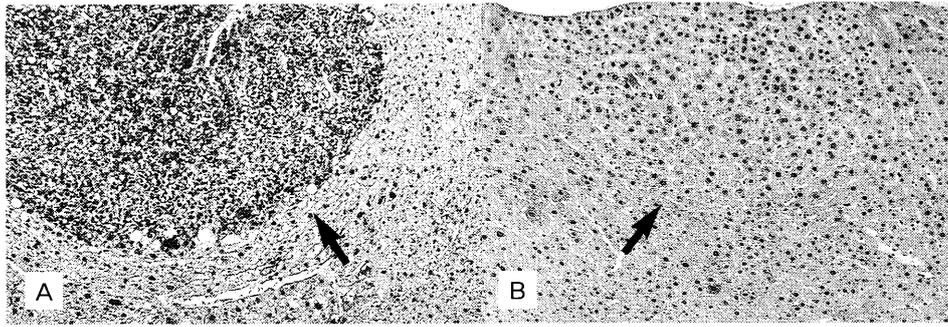


図3 クロフィブレートによるDEN誘発マウス肝前癌病巣のc-JUN発現抑制。
 (A) DEN投与後24週のマウス肝前癌病巣のc-JUN,
 (B) DEN投与後20週から0.5%クロフィブレートを
 5週間投与したマウスの肝前癌病巣のc-JUN. 矢印は病巣を示す.

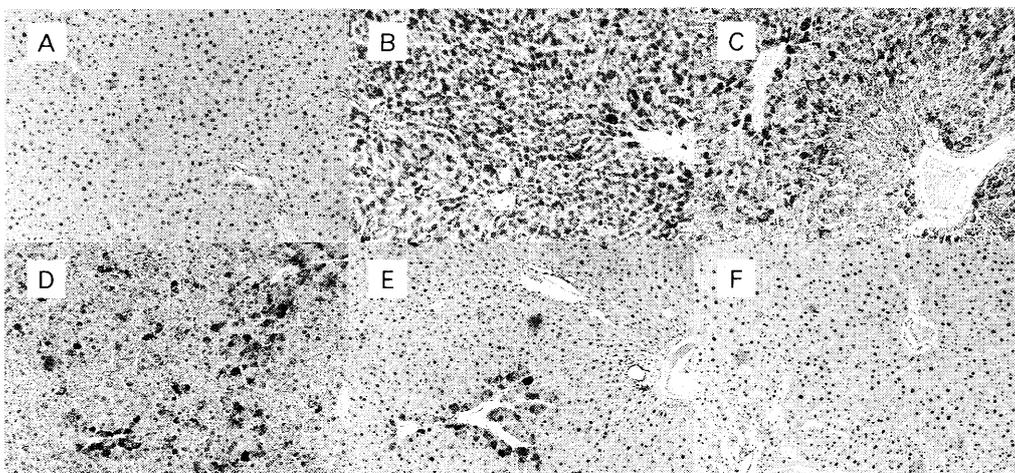


図4 クロフィブレート投与停止に伴うECH発現の低下.

(A) 正常マウス肝, (B) クロフィブレート投与14日, (C) クロフィブレート投与停止3日,
 (D) クロフィブレート投与停止5日, (E) クロフィブレート投与停止7日,
 (F) クロフィブレート投与停止14日.

表1 DEN及びクロフィブレート誘発マウス肝前癌病巣におけるGST分子種とc-JUNの発現

	DEN	クロフィブレート
GST-I	-	3-
GST-II	2-	-
GST-III	+, -	+, -
GST-Ya	不変	不変
c-JUN	3+	+, -
ECH	不変	2-

- : 病巣が陰性, + : 病巣が陽性,
 +, - : 陰性と陽性の病巣が共存.

タノール置換, 過酸化水素/メタノールによる内因性ペルオキシダーゼの不活性化操作に続いて, 1次抗体による処理を行った。1次抗体としてのc-JUN抗体は,

phosphate buffered saline (PBS) で10倍希釈して使用した。それ以外の抗体は3,000倍希釈で用いた。2次抗体以降の操作は, ベクタステインABC-POキットを用いて行った。発色は, DABを基質としたペルオキシダーゼ反応による。対比染色にはリリーマイヤーのヘマトキシリンを使用した。

3. 結 果

遺伝子毒性発癌剤DEN投与24週で誘発した雄B6C3F1マウスの肝前癌病巣のGST分子種の発現に関して免疫組織化学的に検討した結果, 図1に示すように, α クラスのGST-IとGST-Yaおよび μ クラスのGST-IIIには顕著な変化は認められなかった。既報のように, π クラスのGST-IIは病巣で陰性であったが, c-JUNは病巣に局在して強い発現を示した。ペルオキシソーム酵素ECHには変

化なかった。

次に、非遺伝子毒性発癌剤のペルオキシソーム増殖剤クロフィブレートによるマウス肝前癌病巣のGST分子種、ECH及びc-JUNの発現について調べ、DEN発癌の場合と比較検討した。図2に示すように、GST-II、GST-III、GST-Yaには著明な変動は確認されなかった。一方、GST-Iの免疫染色は病巣を陰性巣として検出することができた。また、ラットでの報告のように、ECHはマウスでも陰性マーカーとして有効であった。しかし、遺伝子毒性発癌剤の場合と異なり、c-JUNはクロフィブレート発癌による肝前癌病巣には発現してこなかった。DEN発癌とクロフィブレート発癌における各GST分子種、c-JUN及びECHの発現パターンを表1に示す。以上の結果は、現在のところ遺伝子毒性発癌剤と非遺伝子毒性発癌剤で誘発されたマウス肝前癌病巣に共通の免疫組織化学的マーカーはなく、それぞれ使い分けなければならないことを示す。

c-JUNがクロフィブレートで誘発した肝前癌病巣に発現してこないのは、病巣の性質として発現能力がないのか、またはクロフィブレートがc-JUNの発現機構を抑制しているのか、明らかにすることは重要である。そこで、上述のDEN発癌系の20週後から0.5%クロフィブレートを5週間投与してc-JUNの病巣における発現変化を検討した。その結果、図3に示すように、c-JUNはDEN発癌系の病巣では強い発現を示すのに対し、クロフィブレートを投与した系では著明な発現抑制が観察され、正常部との区別が困難となった。この結果は、クロフィブレートがマウス肝前癌病巣におけるc-JUNの発現機構を阻害していることを示す。従って、c-JUNの発現機能が抑制状態にあるクロフィブレート発癌系の病巣では、クロフィブレート投与を停止することでc-JUNが発現してくることが期待される。そこで、クロフィブレートの影響がどの程度の期間で解消されるか、ECHの発現を指標として検討した。0.5%クロフィブレートを2週間マウスに投与した後、基礎食に変更し経時的にECH発現の推移を観察した。図4のように、クロフィブレート投与2週で、マウス肝全体にECHの強い発現が見られたが、その発現はクロフィブレート投与停止で徐々に減少し、2週間後には正常肝と同様の低い染色性を示した。この結果は、クロフィブレートの影響を完全に除くには、少なくとも2週間を要することを示す。

4. 考 察

マウス肝のGST-IIは、生理的にはテストステロンにより発現が調節されており、雄マウスで雌の10倍以上の発現している。我々は、GST-IIは種々の遺伝子毒性発癌剤で誘発した雄マウス肝前癌病巣で顕著な発現低下を

示すことから病巣の有効なマーカーとなることを報告した⁶⁾。しかし、微小な病巣の検出には陽性マーカーの方が有用性が高い。最近、c-JUNが遺伝子毒性発癌剤で誘発した雌雄のマウス肝前癌病巣に著しく発現してくるため、極めて有効な免疫組織化学的マーカーとなることが明らかにされた⁷⁾。しかし、本研究結果は、GST-IIとc-JUNは非遺伝子毒性発癌剤クロフィブレートで誘発したマウス肝前癌病巣のマーカーとはならないことを示した。クロフィブレート発癌における肝前癌病巣の検出にはGST-Iが有効であることから、全化学発癌物質のマウス肝前癌病巣の検出にはc-JUNとGST-Iの併用が現在のところ最も有効であると思われる。

クロフィブレート発癌による前癌病巣にc-JUNが検出されないのは、クロフィブレートの病巣におけるc-JUN発現機構の抑制によることが、DEN発癌系へのクロフィブレート短期投与実験系の結果から推測された。クロフィブレートは、細胞内の受容体peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) に結合し、acyl CoA oxidaseやECHのようなペルオキシソーム酵素の遺伝子上流にあるエンハンサーperoxisome proliferator response element (PPRE) を介してその遺伝子を活性化する¹³⁾。一方、c-JUNはその遺伝子上流にc-JUNとc-FOSの複合体AP-1が結合するO-tetradecanoyl phorbol 13-acetate responsive element (TRE) 配列を介して遺伝子活性化を発現する¹⁴⁾。しかし、クロフィブレートの結合したPPARは、c-JUNと蛋白質間の介合能をもち、相互の遺伝子転写機能を抑制し合うことが*in vitro*で報告されている¹⁵⁾。この現象は*in vivo*でも生ずることが、本研究から示唆された。クロフィブレートの遺伝子活性化作用は、2週間程で消失することがECHを指標として確認されたことから、現在、クロフィブレート発癌系により肝前癌病巣をもつマウスからクロフィブレート投与を停止することで、病巣にc-JUNが発現してくるかどうか検討を進めている。

5. 文 献

- 1) Farber, E. : Hyperplastic areas, hyperplastic nodules, and hyperbasophilic areas as putative precursor lesions. *Cancer Res.*, **36**, 2532-2538, 1976.
- 2) Tsuchida, S. et al : Glutathione transferase and cancer. *CRC Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **27**, 337-384, 1992.
- 3) Mannervik, B. et al : Identification of three classes of cytosolic glutathione S-transferase common to several mammalian species : Correlation between structural data and enzymatic properties. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.*, **82**, 7202-7206, 1985.
- 4) Hiratsuka, A. et al : A new class of rat glutathione

- S-transferase Yrs-Yrs inactivating reactive sulfate esters as metabolites of carcinogenic arylmethanols. *J. Biol. Chem.*, **265**, 11973–11980, 1990.
- 5) Hatayama, I. et al : Developmental and hormonal regulation of the major form of hepatic glutathione S-transferase in male mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **140**, 581–588, 1986.
 - 6) Hatayama, I. et al : Sex-dependent expression of class pi glutathione S-transferase during chemical hepatocarcinogenesis in B6C3F1 mice. *Carcinogenesis*, **14**, 537–538, 1993.
 - 7) Nakano, H. et al : c-JUN expression in single cells and preneoplastic foci induced by diethylnitrosamine in B6C3F1 mice : Comparison with the expression of pi class glutathione S-transferase. *Carcinogenesis*, **15**, 1853–1857, 1994.
 - 8) 三浦啓徳, 他 : 遺伝子毒性発癌剤で誘発したマウス肝前癌病巣におけるクラス π glutathione S-transferase II および核内癌遺伝子c-JUNの発現. 青森県環境保健センター研究報告, **6**, 46–50, 1995.
 - 9) Ashby, J. et al : Mechanistically-based human hazard assessment of peroxisome proliferator-induced hepatocarcinogenesis. *Hum. Exp. Toxicol.*, **13**, S 1–S117, 1994.
 - 10) Satoh, K. et al : Identification of heterogeneous and microheterogeneous subunits of glutathione S-transferase in rat liver cytosol. *Arch. Biochem. Biophys.*, **242**, 104–111, 1985.
 - 11) Yokoyama, Y. et al : Lack of peroxisomal enzyme inducibility in rat hepatic preneoplastic lesions induced by mutagenic carcinogens : Contrasted expression of glutathione S-transferase P form and enoyl CoA hydratase. *Carcinogenesis*, **14**, 393–398, 1993.
 - 12) Hsu, S. M. et al : Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques : A comparison between ABC and unlabelled antibody PAP procedures. *J. Histochem. Cytochem.*, **29**, 577–580, 1981.
 - 13) Isseman, I. et al : Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, **347**, 645–650, 1990.
 - 14) Sassone-Corsi, P. et al : fos-associated cellular p39 is related to nuclear transcription factor AP-1. *Cell*, **54**, 553–560, 1988.
 - 15) Sakai, M. et al : Suppression of rat glutathione transferase P expression by peroxisome proliferators : Interaction between JUN and peroxisome proliferator-activated receptor α . *Cancer Res.*, **55**, 5370–5376, 1995.

Abstract

Immunohistochemistry of Molecular Species of Glutathione S-transferase and c-JUN in Mouse Liver Precancerous Lesions Induced by Clofibrate

Hironori MIURA¹, Kimihiko SATOH², Shigeki TSUCHIDA², and Ichiro HATAYAMA¹

The liver precancerous lesions in male B6C3F1 mice were induced by clofibrate which is one of peroxisome proliferators and nongenotoxic carcinogens, and the expressions of molecular species of glutathione S-transferase (GST) and an oncogene product, c-JUN in the lesions were immunohistochemically examined. In the liver precancerous lesions induced by feeding the mice with a 0.5% crofibrate-containing food for 45 weeks, α -class GST-1 and a peroxisomal enoyl CoA hydratase (ECH) were remarkably decreased, which indicates the usefulness of these proteins as negative markers of the lesion. c-JUN, which is a marker protein of the lesions induced by the genotoxic carcinogen, was not expressed in the case of the lesions induced by clofibrate, which indicates that it is useless as a marker. On the other hand, the strong expression of c-JUN was observed in liver precancerous lesions induced by diethylnitrosamine which is a genotoxic carcinogen, but the expression of c-JUN in the series was considerably suppressed by administering clofibrate to the mice for 5 weeks. These results suggest that the expression of c-JUN in the mouse liver precancerous lesions induced by clofibrate is suppressed by clofibrate and thus the expression of c-JUN in the lesions would be initiated after stopping the administration of clofibrate.

Key words : chemical carcinogenesis, mouse liver, clofibrate, glutathione S-transferase, c-JUN, immunohistochemistry

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment.

2 : Second Department of Biochemistry, Hirosaki University School of Medicine.

HPLCによる尿中VMA・HVA・クレアチニン同時測定法の検討

石川 和子 下山 純子 金田 量子

従来の神経芽細胞腫 (Neuroblastoma: NB) マス・スクリーニングにおいては、バニールマンデル酸 (Vanillylmandelic acid: VMA) とホモバニリン酸 (Homovanillic acid: HVA) はHPLCにより、またクレアチニン (Creatinine: CRE) はJaffe法により定量されてきたが、現在ではHPLCによるVMA, HVA, CREの同時測定が可能となっている。そこで、従来法と我々の同時測定システムにおけるCRE値を比較し、VMAとHVAのカットオフ値の見直しを行った。

6カ月児尿ろ紙のJaffe法によるCRE値は15.7mg/dlである一方、HPLC法では15.0mg/dlとわずかに低い値を示した。コントロール尿を用いたVMA, HVA, CRE濃度の日内変動や日差変動はいずれも2%以下と少なかった。5,600の検体の測定値をもとに算出したVMA/CRE ($\mu\text{g}/\text{mg}$) およびHVA/CRE ($\mu\text{g}/\text{mg}$) の平均±標準偏差 (M±SD) は、各々9.80±1.92, 17.64±3.21となった。これらの結果から、定められたカットオフ値M+2.5SDを、VMAは従来の18を15 $\mu\text{g}/\text{mg}$ CREに、またHVAは29を26 $\mu\text{g}/\text{mg}$ CREに変更した。

Key words: Neuroblastoma, Mass screening, VMA, HVA

1. はじめに

神経芽細胞腫 (Neuroblastoma: 以下NB) は、小児期の悪性腫瘍の中で、白血病に次いで多く、早期に発見すると大部分が治癒することから、昭和59年からマス・スクリーニングの対象疾患となった¹⁾。本県においてもNBマス・スクリーニングは、昭和59年12月から開始され²⁾、いままで14人の患者が発見された。

NBは、カテコールアミン産生性の腫瘍で、尿中のカテコールアミンの最終代謝産物である、バニールマンデル酸 (Vanillylmandelic acid: 以下VMA)、およびホモバニリン酸 (Homovanillic acid: 以下HVA) を定量することでスクリーニングができる。また、クレアチニンの最終代謝産物クレアチニン (Creatinine: 以下CRE) は、通常の状態では1日に尿中に排泄される量が一定であり変動が少ないことから³⁾、VMA, HVA値は、CRE濃度で補正して示されている。

これまでの検査法では、VMAとHVAは高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography: 以下HPLC) で、CREはJaffe法で定量されているが、現在ではVMA, HVA, CREのHPLCによる同時測定が可能となっている。しかし、使用機種、カラム等、全国的に検査システムが統一されていないのが現状である。

そこで今回、我々が用いているNBマス・スクリーニングに関して検討すると共にカットオフ値の見直しを行った。また、Jaffe法および本法によるCRE値について比較検討した。

2. 材料と方法

2. 1 材料

6カ月児NBマス・スクリーニングの尿ろ紙と市販のコントロール尿 (BIO・RAD社) を使用した。VMA, HVAはSIGMA社、CREは和光純薬の製品を用いて自家製標準液とした。

2. 2 分析システム

表1に示すように、従来法では、VMA, HVAは、ShimpackNB-VMAカラム、クーロケム5100A電気化学検出器 (ESA社)、島津製作所で販売している神経芽細胞腫マス・スクリーニング用移動相 (7%アセトニトリル/リン酸緩衝液) を用いて、島津製作所のHPLCで定量した。また、CRE定量には、アルカリ溶液中でピクリン酸と反応して赤橙色の化合物を形成する反応を利用したJaffe法を用いた³⁾。

一方、同時測定法ではVMA, HVAの定量は、従来法と同じであるが、CREは紫外可視分光光度計検出器を使用し、波長235nmで定量した。

表1 分析方法

	本 法	従 来 法
カラム	Shimpack NB-VMA	
移動相	神経芽細胞腫マス・スクリーニング用移動相 (島津製作所)	
検出器	電気化学検出器 (クーロケム5100A)	
クレアチニン測定	UV-235nm	Jaffe法

2.3 カットオフ値の設定

尿中のVMA, HVA濃度をCRE比で算出し, 平均値(M)+2.5×標準偏差(SD)をカットオフ値として設定した。

3. 結 果

3.1 Jaffe法とHPLC法との比較

6カ月児の尿ろ紙を用いて, Jaffe法とHPLC法によるCRE値の比較を行った。結果は図1に示すように相関係数(r)=0.999と良好な相関性が認められた。平均値はHPLC法で15.0mg/dℓ, Jaffe法で15.7mg/dℓとHPLC法でわずかに低値を示した。

3.2 VMA・HVA・CRE同時測定法についての検討

(1) CREの直線性

自家製標準液を用いて, 25~200mg/dℓの範囲でCRE値をピークの高さで測定した。結果は図2のように, 良好な直線性を示した。

(2) コントロール尿測定値の日内変動

コントロール尿1, 2を日常検査検体の最初と最後に組み入れ2回ずつ測定し, 25日間測定分について, 日内変動をしらべた。コントロール尿1のVMA, HVA, CRE濃度の変動(CV)の平均は, それぞれ1.7, 1.5, 1.4%と良好な値を示した。コントロール2も同様であった。また, VMA, HVA, CRE濃度のCV値が10%を越えた日があった。これは, オートサンプラーの偶発的な注入誤差が考えられ, 日常の検体の中で発見するのは難しいが, CRE補正後のCV値は, VMA/CREが1.4%, HVA/CREが1.1%で, 注入誤差による影響は少なかった。

(3) コントロール尿測定値の日差変動

コントロール尿1, 2を検査日毎に測定し, 25日間の日差変動をみた。その結果を表2に示す。コントロール尿1, 2共にVMA, HVAのCV値は2%以下と良好な値を示した。CRE補正値のCVは, さらに低い値を示した。

(4) カットオフ値の検討

2台のHPLCで合計5,600検体を測定し, カットオフ値を求めた。

値がM±3×SDを越えた検体を棄却, これを繰り返して, MとSDを求めた。

VMA/CRE, HVA/CREのM±SDは, それぞれ9.80±1.92, 17.64±3.21μg/mgで, M+2.5SDはそれぞれ14.6, 25.7μg/mgであった。

これらの結果により, カットオフ値を現行のVMAを18から15μg/mgCRE, HVAを29から26μg/mgCREとすることとした。

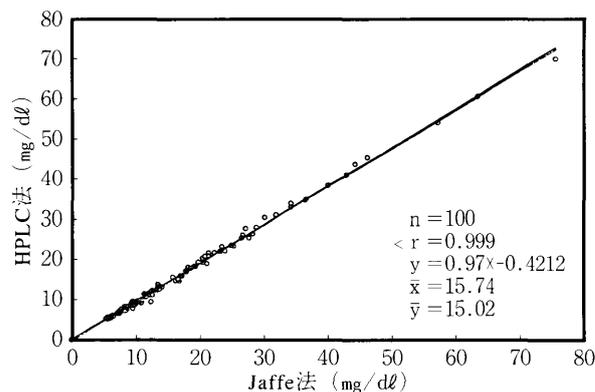


図1 HPLC法とJaffe法との相関

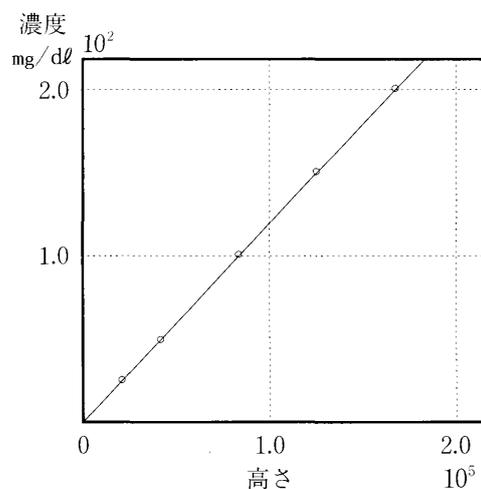


図2 CREの直線性

表2 コントロール尿の日差変動

<コントロール尿1>

	VMA (μg/ml)	HVA (μg/ml)	CRE (μg/ml)	VMA/CRE (μg/mlCRE)	HVA/CRE (μg/mlCRE)
平均	1.85	2.51	21.23	8.75	11.81
SD	0.03	0.03	2.27	0.10	0.09
CV (%)	1.42	1.20	1.07	1.14	0.07

<コントロール尿2>

	VMA (μg/ml)	HVA (μg/ml)	CRE (μg/ml)	VMA/CRE (μg/mlCRE)	HVA/CRE (μg/mlCRE)
平均	7.69	8.17	65.52	11.74	12.47
SD	0.13	0.14	6.81	0.13	0.11
CV (%)	1.72	1.66	1.04	1.11	0.85

4. 考 察

青森県におけるNBマス・スクリーニングは、昭和59年12月からVMAスポット法による定性法で開始された。昭和60年9月からは一次検査をVMAスポット法で、二次検査をVMA、HVAは蛍光検出器を使用したHPLC法、クレアチニンはJaffe法で行った。平成2年8月より一次・二次検査とも検出器が蛍光検出器から電気化学検出器を使用するHPLC法になった。そして、平成9年度からは、VMA・HVA・CRE同時測定法の導入という変遷をたどってきた。

今回、報告した同時測定法は、1検体の測定が1回の注入で済むために従来法よりCRE補正值の誤差が小さく、高い精度および再現性を示した。又、操作が簡易でカラム1本、移動相1種類で測定が可能であり、経済性の面からも有用性が高い。

このように、神経芽細胞腫マス・スクリーニング検査のHPLC機器の自動化が進められることにより、検査技術の差が縮まり精度向上が期待できる。

しかし、マス・スクリーニング検査システムが全国的に統一されていない現在、採尿方法等少しずつ統一することにより外部精度管理実施が制度化されるよう期待する。

文 献

- 1) 社会福祉法人、恩賜財団母子愛育会編：神経芽細胞腫スクリーニング精度管理、(中央出版)、10-21, 1994.
- 2) 下山純子ほか：青森県における神経芽細胞腫マス・スクリーニングの実績、青臨技会誌、第19巻、64-68, 1994.
- 3) 社会福祉法人、恩賜財団母子愛育会編、改訂版：神経芽細胞腫マス・スクリーニング。(中央出版)、142-147, 1989.

Abstract

ESTIMATION OF THE LEVELS OF VMA, HVA AND CREATININE IN URINE BY SIMULTANEOUS DETERMINATION METHOD WITH HPLC

Kazuko ISHIKAWA¹, Junko SHIMOYAMA¹ and Ryoko KANEDA¹

In the conventional neuroblastoma (NB) mass screening, vanillylmandelic acid (VMA) and homovanillic acid (HVA) are determined by HPLC while creatinine (CRE) is determined by the Jaffes method. However, it becomes possible today to simultaneously determine VMA, HVA and CRE by HPLC. Thus, the CRE data obtained by the conventional method were compared with those obtained by the simultaneous determination method developed by us and the cut-off values of VMA and HVA were reviewed.

When determined by the Jaffes method, CRE content in a filter paper immersed in the urine of an infant aged 6 months was 15.7mg/dl. In contrast, the value determined by the HPLC method was slightly lower, i.e., 15.0mg/dl. VMA, HVA and CRE concentrations determined with the use of control urine samples showed each little changes (2% or less) within a day or from day to day. The means \pm standard deviations (M \pm SD) of VMA/CRE (μ g/mg) and HVA/CRE (μ g/mg) calculated by using 5,600 specimens were respectively 9.80 \pm 1.92 and 17.64 \pm 3.21. Based on these results, the definite cut-off values (M + 2.5SD) were changed from 18 to 15 μ g/mg CRE (in the case of VMA) and from 29 to 26 μ g/mg CRE (in the case of HVA).

Key words : Neuroblastoma, Mass screening, VMA, HVA

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment.

十和田湖における透明度と生物群集の変遷

三上 一 高村 典子¹⁾ 奈良 忠明²⁾

十和田湖ではCODが環境基準値 (AA類型: 1 mg/ℓ以下) を超えた1986年前後にヒメマス¹⁾の主要な餌と考えられている大型の動物プランクトンであるヤマヒゲナガケンミジンコ (*Acanthodiatomus pacificus*), ハリナガミジンコ (*Daphnia longispina*) が減少する一方, 小型のゾウミジンコ (*Bosmina longirostris*) が優先し, ヒメマス漁獲量の落ち込みとワカサギの大発生が認められている。十和田湖ではヒメマス漁獲量が多いと透明度が良く, ヒメマス漁獲量が少ないと透明度が低下する傾向にある。透明度はヒメマス漁獲量, ヒメマス雌親魚平均体重, 大型の動物プランクトンと, CODはワカサギ漁獲量, 小型の動物プランクトンと関連していることから十和田湖の水質は水プランクトン-魚を含めた食物連鎖の影響を強く受けていることが示唆された。ヒメマスとワカサギは動物プランクトンを餌にしているが, ワカサギはヒメマスに比べてより小さな動物プランクトンを捕食できるといわれていることから, 十和田湖での透明度の低下とCODの上昇はワカサギが大型の動物プランクトンのみならず大型の動物プランクトンの幼生をも捕食するため, 優先している小型の動物プランクトンに捕食されない大型の植物プランクトンが増殖したためと考えられる。

key words : transparency, zooplankton, kokanee, pond smelt & food chain.

1. はじめに

湖はその地域に住み, 利用する人々により様々な価値をもつが, 年間300万人が訪れる県内有数の観光地である十和田湖は「神秘的湖水とヒメマス」に象徴されるように清澄な湖水と安定したヒメマス漁獲量の確保が最も望まれるものと考えられる。

しかしながら, 十和田湖では, 1986年以降環境基準AA類型 (COD 1 mg/ℓ以下) を達成できず水質汚濁の進行が懸念されている。

一方, この時期にヒメマスの主要な餌と考えられている大型の動物プランクトンであるカイアシ類ヤマヒゲナガケンミジンコ (*Acanthodiatomus pacificus*), 枝角類ハリナガミジンコ (*Daphnia longispina*) が減少し, 小型の動物プランクトンである枝角類ゾウミジンコ (*Bosmina longirostris*) が優占するとともに, ほぼ相前後してヒメマス漁獲量が急激に落ち込むとともにワカサギが大繁殖していることから, 十和田湖では水質, 動物プランクトン及び魚類の変遷には何らかの関連があることが示唆されている。

ここで, 十和田湖の生産性ということに視点を当ててみると, 環境サイドでは生産性が低く, 透明度が高く, CODが低いことが, 水産サイドでは生産性が高く, 漁

獲量が多いことが望まれ, それぞれの立場で求める良好な湖の在り方が異なる。このためか, 両者の間には十和田湖という同じフィールドを調査研究対象としながら, 水質汚濁と湖沼生態系との関連性が議論されたことが殆どないのが現状である。

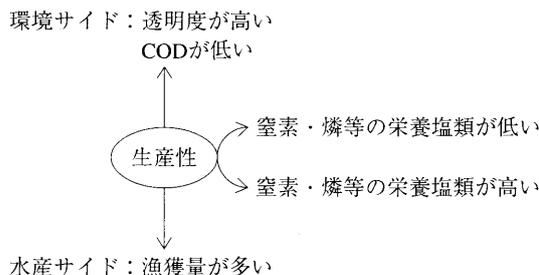


図1 環境・水産サイドからみた湖の望ましいモデル

しかしながら, 十和田湖では環境, 水産サイドでは次のような

- (1) 水質: 公共用水域測定計画による湖内9地点の定期モニタリング (1回/月: 4~11月)
- 機関: 青森県環境保健センター (青森県公害センター) 秋田県環境技術センター
- 項目: 透明度, pH, DO, COD, SS, 大腸菌群数, T-N, T-P, Chl-a等

1: 国立環境研究所
2: 青森保健所

表1 十和田湖の諸元

緯度	40° 28′	流域人口(人)*	693
経度	140° 53′	戸数(戸)	361
成因	二重カルデラ	流入河川	8
海拔高度(m)	400	流出河川	1
湖面積(km ²)	61.06	牛頭数密度(頭/H)*	0.02
流域面積(km ²)	128.6	豚頭数密度(頭/H)*	0
最大水深(m)	327.0	鶏頭数密度(頭/H)*	0
平均水深(m)	71.0	水田面積率(%)*	0.9
湖周囲(km)	48.1	畑地面積率(%)*	0.3
湖容積(km ³)	4.19	山林面積率(%)*	98.4
滞留時間(年)	8.5	その他面積率(%)*	0.4

(2) 水産：ヒメマス資源対策事業として

青森県内水面水産試験場

- ・ヒメマス漁獲量調査
- ・放流稚魚調査
- ・集荷場魚体調査
- ・回帰親魚調査
- ・試験刺網調査
- ・その他(ワカサギ調査)等

秋田県水産振興センター

- ・動物プランクトン調査
- ・胃内容物調査等

等の調査が20年以上の長期間に亘り実施され、現在に至っている。

但し、環境、水産サイドの長期モニタリングでは

- (1) 十和田湖での水質汚濁の主要な因子である継続的な植物プランクトン調査が行われていないこと。
- (2) 植物プランクトン増殖の栄養塩類である窒素・燐に係る主要な発生源と考えられる流入河川、降雨(雪)、事業場からの負荷量調査が殆ど行われていないこと。
- (3) 水収支が明らかでない。

等、今後の課題が多く残されているが、20年以上に亘る長期間の環境、水産サイドのデータを総合的に解析することは十和田湖の水質汚濁機構を理解し、保全対策を構築するうえで極めて有用と考えられる。

ここでは環境、水産サイドで永年蓄積されたデータを用いて、十和田湖を象徴する透明度と動物プランクトン、魚を中心とした生き物との関係について報告する。

2. 調査方法

使用したデータは以下のとおりである。

環境サイド：

青森県：公共用水域測定結果(1973~89年度)。

青森県：公共用水域及び地下水の水質測定結果(1990~95年度)。

水産サイド：

十和田湖ふ化場協議会：十和田湖資源対策事業調査報告書(1972~85年度)。

青森県内水面水産試験場：事業概要(1982~84年度)。

青森県内水面水産試験場：事業報告書(1985~95年度)。

秋田県内水面水産指導所：秋田県内水面水産指導所事業報告書 第13~17号(1986~90年度)。

秋田県水産振興センター：秋田県水産振興センター事業報告書(1991~93年度)。

3. 概況

対象とした十和田湖は湖面積が61.06km²、湖面積を除く集水域は67.54km²の二重式カルデラ湖で、山林が

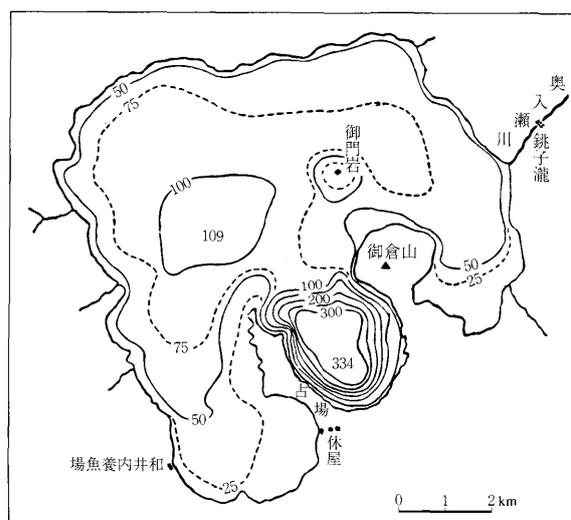


図2 十和田湖の湖盆形態(吉村, 1937年)

98.4%を占めている。最大水深は田沢湖（423.4m）、支笏湖（359.3m）に次いで中湖の327m、平均水深が71.0mで、宇樽部川、休屋全面地区に水深0～20mの遠浅が僅かに広がるほかは、残りは湖岸から急激に落ち込むという典型的なカルデラ湖特有の湖盆形態を有している。

十和田湖には大小72河川が流入するといわれているが、このうち、銀山川、大川岱川、鉛山川、宇樽部川、神田川等8河川が主要な流入河川で、東岸の奥入瀬川は唯一の流出河川である。北東岸の青撫では水力発電取水が行われているが、過大な取水は湖水を低下させ、ヒメマスの天然産卵床を干上がらせることから、基準水面を400mとし、1.667m（5尺5斗）を最高下限とする覚書が結ばれている（表1、図2）。

3. 結果と考察

3・1 透明度

十和田湖湖水の清澄さを象徴する指標の一つが透明度である。吉村によると、1932年頃の透明度は21mであった¹⁾とされるが、近年、水質汚濁の進行に伴い透明度の低下が指摘されている。

ここで、日本の主要な湖沼と十和田湖の透明度を比較すると、1985年当時で全国10位に位置している²⁾。この間、十和田湖だけでなく全国的に湖沼の汚濁が進行していることから、現状における十和田湖の透明度の位置付けはほぼ同じものと考えられる。

表2 日本の湖沼の透明度

順位	湖沼名	透明度 (m)	所在地
1	摩周湖	25.0	北海道
2	然別湖	19.5	北海道
3	倶多楽湖	19.0	北海道
4	支笏湖	18.0	北海道
5	赤沼	16.5	青森県
6	パンケトウ	15.9	北海道
7	中禅寺湖	13.5	栃木県
8	洞爺湖	13.0	北海道
9	本栖湖	12.7	山梨県
10	十和田湖	12.5	青森県

十和田湖における水質測定は1972年から公共用水域測定計画により青森県と秋田県の両県が実施している。1972年度は透明度が観測されていないことから、ここでは1973～95年までのおよそ20年間にわたる湖心における透明度の経年変化をみた。

透明度が最も高いのは1978年7月の23.0mで、最も低いのは1975年8月の3.5mが記録されている。透明度の年平均値をみると、1970年代初頭には13～14mであった

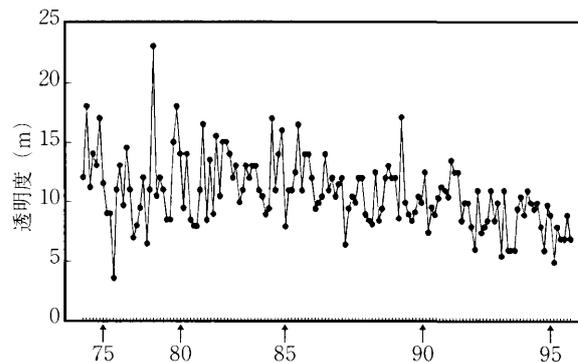


図3 十和田湖湖心における透明度の変遷 (1973～95年)

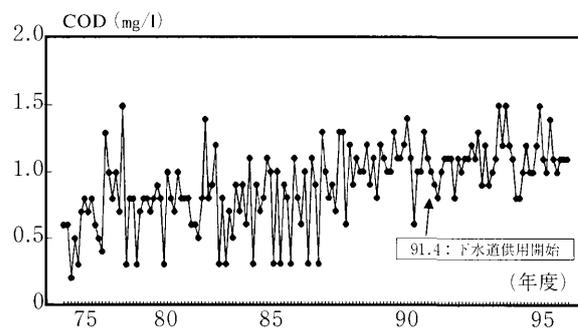


図4 十和田湖湖心におけるCODの経年変化 (1974～95年)

透明度は漸次低下し、1990年代以降は透明度が10mを下回る状況にある（図3）。

3・2 COD

十和田湖の水質で最も問題となる一つは透明度の低下とともに、CODが環境基準（AA類型：1 mg/l）を越えることにある。

ここでは公共用水域測定計画に基づき実施している水質調査結果により（1974～95年）、湖心でのCODの経年変化をみると、1980年代初頭まではCODは1 mg/lを越える場合はあるが、概ね、CODは低いレベルで推移していることがわかる。

一方、1982～89年頃にCODが悪化し、この時期にはほぼ直線的に増加する傾向が認められている。湖沼におけるCODの増加は植物プランクトンの増殖に由来することから、この時期に植物プランクトンの増殖が大きくなったことが考えられるが、十和田湖における植物プランクトンの経年調査は秋田県水産振興センターによるネット引きのデータしかなく、この間の植物プランクトンの挙動に関する情報が少ないのが現状である。

1990年代以降、CODはほぼ横ばいの状態にあるが、CODは依然として1 mg/lを上回る状況にあることから水質の改善の傾向は認められていない（図4）。

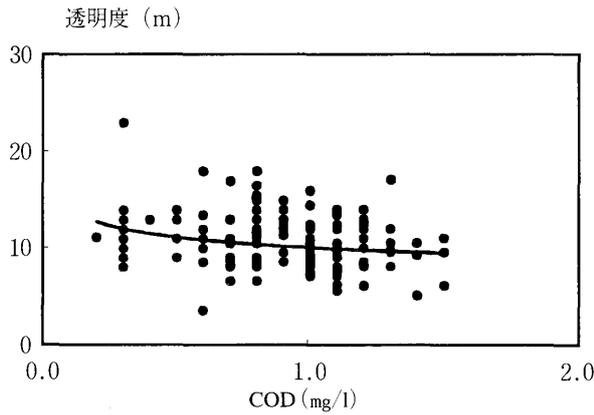


図5 十和田湖における透明度とCODの関係
(1973~95年)

1991年に特定環境保全公共下水道の一部共用開始された以降、CODは横這いの傾向にあることから下水道の効果によると考えられるが、顕著なCODの減少が認められないようである。

近年、湖沼ではBODをはじめとする発生源対策が行われているにもかかわらず、難分解性有機物による湖水のCODの上昇が観測されている³⁾。現在、十和田湖ではこのような難分解性有機物による汚濁について何ら考慮されていないが、下水道が完備されても期待されたようなCODの低下が認められない場合には、十和田湖でも湖水の有機物成分について考慮する必要があるかもしれない。

CODが上昇すると、透明度が低下することから湖心における透明度と表層のCODの関係をみると(図5)。

$$\log(\text{Tr}) = -0.154 \times \log(\text{COD}) + 1.004$$

(n=148 R²=0.053)

Tr: 透明度 (m), COD: (mg/l)

上式より、十和田湖の環境基準値(AA類型)であるCOD 1 mg/lの時の透明度は約10mとなるから、十和田湖ではCODの環境基準値を満たすためには透明度が常時10m以上であることが一応の目安になるものと思われる。また、十和田湖の水質汚濁があまり進行していない1930年代初頭の透明度が21.0mであることから、十和田湖での透明度は最大でも20mを上回ることはないものと考えられる。

3・3 観光客の推移

それでは、何故、1982~89年頃にCODが急激に上昇したのが問題になるが、残念ながら十和田湖では主な流入負荷源と考えられる河川や生活雑排水調査が殆ど行われていないのが実情である。

十和田湖は国立公園で開発等による土地改変が厳しく制限されているため自然系由来の流入負荷量にあまり変

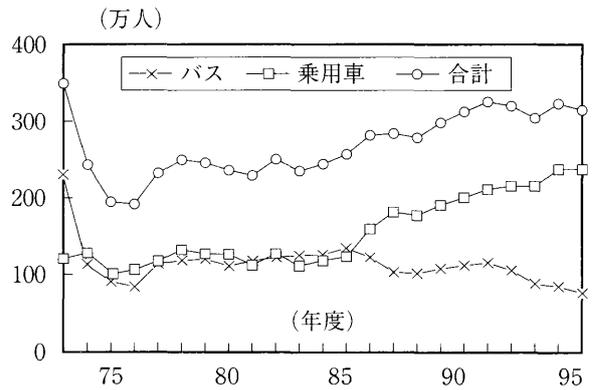


図6 十和田湖における観光客の入込み数の推移
(1973~95年)

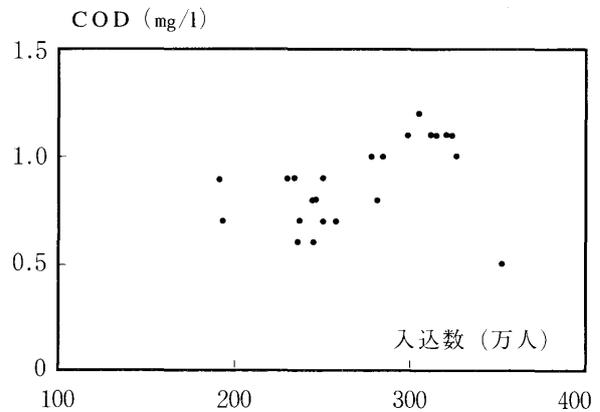


図7 CODと観光客の入込み数の関係
(1973~95年)

わりなく、人為的な流入量の増加が汚濁の主要因と考えられる。ここでは、青森県観光白書より観光客の入込数の推移をみると、CODが環境基準値を越えた1986年頃に春~秋季間だけの観光から通年観光になったことが記載されている。通年観光が始まる前は冬期間には汚濁負荷量が少なくCODが低い、通年観光とともに冬期間に観光客が増大したことが汚濁の要因と考えられた。

ここで、通年観光が開始された以降の冬期間における観光客の推移をみると、2~3万人で、それまでとは大きな変化がないことから(図6)、流入汚濁負荷量の増加は春~秋季の観光客の増加によるものと考えられる(図7)。

3・4 窒素・磷及びクロロフィル a

植物プランクトン増殖の栄養塩類である窒素・磷の経年変化をみると、両者ともに高い値が見受けられるものの多くは下限値か、もしくは下限値付近の低いレベルで推移している。ここ2、3年は下限値を超えることが多くなり、両者ともに上昇する傾向にあるようである(図8、9)。

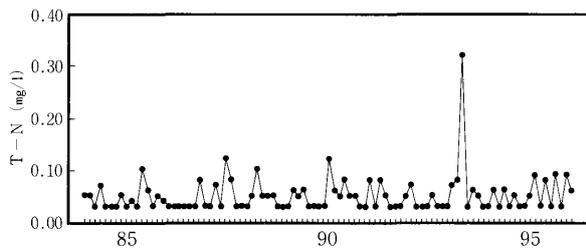


図8 十和田湖湖心におけるT-Nの経年変化
(1984~95年)

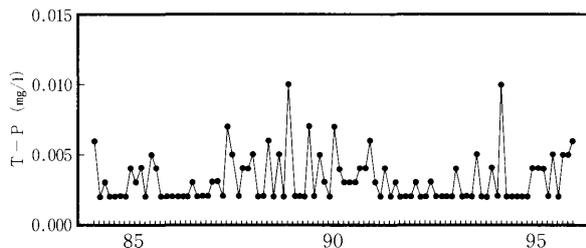


図9 十和田湖湖心におけるT-Pの経年変化
(1984~95年)

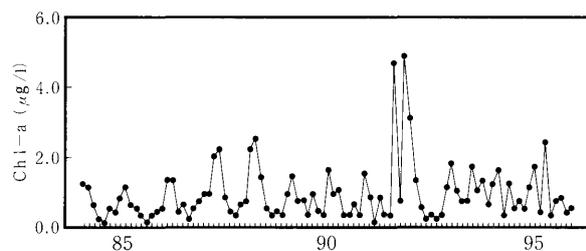


図10 十和田湖湖心におけるクロロフィル-a
の経年変化 (1984~95年)

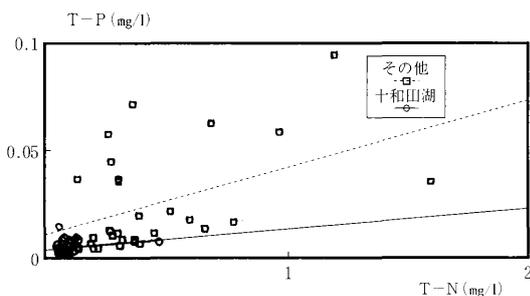


図11 十和田湖における窒素・燐の分布状況
(1995~96年)

植物プランクトン現存量の指標であるクロロフィル-aの経年変化をみると、概ね、低いレベルで推移している(図10)。

一般に、湖では窒素・燐による富栄養化が大きな問題となっている。十和田湖と同様に貧栄養湖として知られている中禅寺湖では1982年に渦鞭毛藻であるウログレナ

(*Uroglena americana*)による淡水赤潮の発生が報告されて以来、毎年のようにウログレナによる淡水赤潮が発生している。ここで、ウログレナが発生した当時の中禅寺湖と現在の十和田湖の水質を比較すると、十和田湖では窒素が中禅寺湖に比べて低いほかはCOD、燐及びクロロフィル-a濃度ともにウログレナが発生した当時の中禅寺湖に類似している⁴³⁾ことから、十和田湖でも淡水赤潮が発生の可能性を内在していると考えられる。

次に、十和田湖での窒素・燐の分布状況を見ると、十和田湖と他の湖沼群では一次回帰式の傾きが異なっており⁵⁾、その要因を把握する方法として降雨(雪)、河川や湧水等に由来する窒素・燐収支を把握する必要がある(図11)。一次回帰式の傾きの差がT-N/T-Pにも反映しており、その平均値は18.1(4.0~58.8)であった。多くの湖沼では植物プランクトン増殖の制限因子は燐であるとされているが、T-N/T-Pから判断すると、十和田湖では植物プランクトン増殖の制限因子は窒素であり、例えば、AGP試験等による確認が必要である。

また、T-N/T-Pは出現する植物プランクトンの優占種を決める重要な因子とされていることから、十和田湖での低いT-N/T-Pは他の湖沼群とは異なる独特な植物プランクトン群集の形成をもたらすことが考えられる。これと同時に植物プランクトンは湖の生物生産量を支える一次生産者の役割を担っていることから、十和田湖の望ましい管理の仕方を考えるうえで、植物プランクトンをはじめとする生物モニタリングが今後の重要な課題になるものと考えられる。

3・5 動物プランクトンの経年変化(1978~94年)

十和田湖で出現する動物プランクトンはヒメマスの主要な餌と考えられているヤマヒゲナガケンミジンコ、ハリナガミジンコをはじめとする10種ほどで、小久保(1951年)が指摘しているように種類が少なく、量的にも乏しいことが特徴である。

主要な動物プランクトンの経年変化を年平均値によりみると、ヒメマスの主要な餌と考えられている大型のカイアシ類ヤマヒゲナガケンミジンコ(*Acanthodiptomus pacificus*:体長は雌1.6~1.9mm,雄1.3~1.6mm)は1981年に最も多く4.87個/mlで、1989年に一時的に増加したほかは、1985年度以降低いレベルで推移している。

一方、カイアシ類の幼体であるコペポーダもヤマヒゲナガケンミジンコとほぼ似た挙動を示し、1985年度以降は極めて低いレベルで推移している(図12)。

ヤマヒゲナガケンミジンコと同様にヒメマスの主要な餌といわれている枝角類ハリナガミジンコ(*Daphnia longispina*:体長は雌が1.2~3.0mm,雄は1.0~1.8mm)についてみると、1980~81年と1989~91年に出現のピークがみられている。

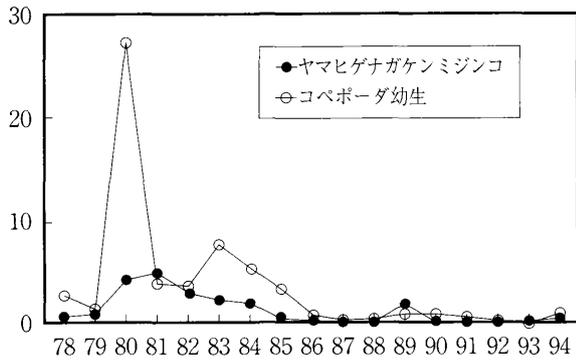


図12 ヤマヒゲナガケンミジンコとコペポーダ幼生の経年変化 (1978~94年)

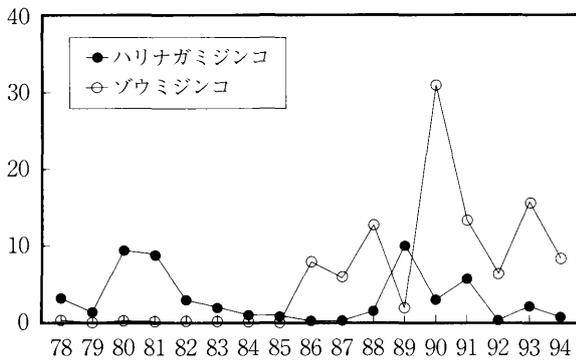


図13 ハリナガミジンコとゾウミジンコの経年変化 (1978~94年)

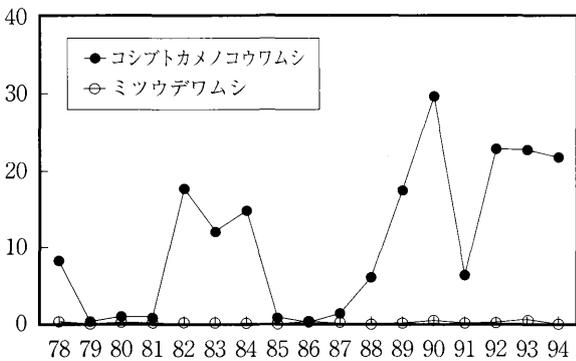


図14 コシブトカメノコウワムシとミツウデワムシの経年変化

特に、1989~91年にはヤマヒゲナガケンミジンコが少ないにもかかわらず、ヒメマスの漁獲が一時的に回復していることからヒメマス漁獲の回復にはハリナガミジンコの出現が必要であると考えられる。

一方、同じ小型の枝角類ゾウミジンコ (*Bosimina longirostris*: 体長は雌が0.5mm前後、雄は0.3~0.4mm) は1986年以前には極めて低いレベルであったが、CODが環境基準値を越えた1986年には急激に増加し、主要な

動物プランクトン種の一つになっていることから (図13)、プランクトン相の変化と水質の変化が密接に関連していることが示唆される。

ワムシ類ではコシブトカメノコウワムシ (*Keratella quadrata*: 体長100~130 μ m) が1980年代以降に出現した種であるが、1985~88年を除いては増加が著しい動物プランクトンである。ミツウデワムシ (*Filinia terminalis*) は出現回数、固体数ともに少ない (図14)。

3・6 魚類調査結果

十和田湖における漁獲量は十和田湖増殖漁業協同組合により掌握されているが、ヒメマスとワカサギが総漁獲量の大半を占めていることから、漁協扱いの主要な魚類はヒメマスとワカサギの2種と考えてよい。

ヒメマスとワカサギの漁獲量の経年変化をみると、1974~84年まではヒメマスが主な魚類で、漁獲量が順調な伸びをみせ、1983年にはヒメマスの漁獲量は75トンとそれまでの最高の漁獲量であった。1986年にはヒメマスの漁獲量はほぼ1/10に激減し、1989~91年には一時漁獲量が回復したものの依然として漁獲量は低いレベルで推移している。

ワカサギは1925年に放流されたことが記録されているが、1982年に19尾が確認されるまでその棲息が報告され

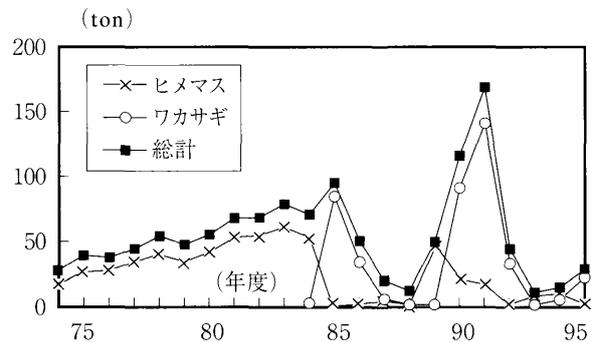


図15 十和田湖における漁獲量の経年変化 (1974~95年)

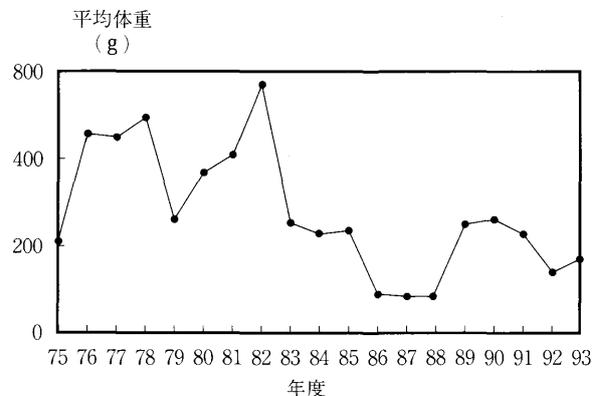


図16 十和田湖におけるヒメマス雌親魚の平均体重 (1975~93年)

ていなかった。翌1983年に宇樽部地区の小川でワカサギの産卵行動が認められ、1984年には湖岸全域での産卵行動が確認され、小型定置網により4,000kgほどが採捕された。

翌1985年には大繁殖し、漁獲量はおよそ85トンとなるが、翌年以降の漁獲は2～3年毎に不漁、豊漁を繰り返していることから、1985年以降の漁獲量は極めて不安定な状況にある(図15)。

一方、ヒメマス雌親魚の平均体重をみると、1982年には最も重く569gあったが、1993年には1/3以下の171gとなり、漁獲量の低迷とともに小型化が進んでいる(図16)。

但し、ここで十和田湖の魚を考えるうえで大きく問題

になるのは、

- (1) 漁種、漁獲量ともに漁協扱いのデータであり、漁獲量については遊漁者や民宿等による自家消費量が不明。
- (2) 漁協扱いの漁種は商業ベースに乗る漁種が主で、その他の魚、例えば、沿岸帯で最も多く認められるイトヨをはじめとする他の漁種が不明(1996年：森私信)の2点が大きな課題である。

十和田湖では魚が動物プランクトン、植物プランクトンの種や量に大きく影響しているが、これらの関係を明らかにするためには生息する魚種、食性、生息場等の解明が必要不可欠と思われる。

表3 透明度と生物相との関係(1978～93年：n=16)

	透明度	COD	ヒメマス	体重	ワカサギ	総漁獲量	Acan.	COPE	Dap.	Bos.	fil.	Ker.
透明度	1.00											
COD	-0.81	1.00										
ヒメマス	0.60	-0.44	1.00									
体重	0.52	-0.35	0.72	1.00								
ワカサギ	-0.08	0.17	-0.40	-0.19	1.00							
総漁獲量	0.34	-0.16	0.20	0.25	0.81	1.00						
Acan.	0.35	-0.35	0.75	0.61	-0.41	0.04	1.00					
COPE	0.27	-0.51	0.40	0.34	-0.23	0.02	0.64	1.00				
Dap.	0.07	0.06	0.50	0.44	-0.06	0.21	0.67	0.46	1.00			
Bos.	-0.64	0.64	-0.49	-0.38	0.52	0.20	-0.51	-0.34	-0.14	1.00		
fil.	-0.41	0.34	-0.49	-0.23	0.53	0.22	-0.38	-0.24	-0.24	0.55	1.00	
Ker.	-0.49	0.58	0.03	0.04	0.09	0.05	0.20	-0.26	-0.07	0.53	0.45	1.00

() : r>0.62は危険率1%で有意

() : r>0.50は危険率5%で有意

4. 十和田湖の水質汚濁機構

十和田湖ではCODが環境基準値(AA類型：COD 1 mg/l以下)を超えた1986年頃に、ヒメマスの主要な餌と考えられている大型の動物プランクトンであるヤマヒゲナガケンミジンコ、ハリナガミジンコが減少し、小型の動物プランクトンであるゾウミジンコが優占している。

これと相前後してヒメマス漁獲量の急激な落込みとワカサギの大繁殖が認められている。このように、十和田湖では水—プランクトン—魚の変化がほぼ同時期に起こっていることから、これら3者を巡る生態系は相互に関連しているといえる。

ここでは、長期モニタリングデータとして環境指標：透明度、COD

水産指標：

- (1) 魚類のデータとして
ヒメマス漁獲量、ヒメマス雌親魚の平均体重、ワカサギ漁獲量、ヒメマスとワカサギの総漁獲量
- (2) 動物プランクトンのデータとして
ヤマヒゲナガケンミジンコ(Acan.)、コペポータ(COPE)、ハリナガミジンコ(Dap.)、ゾウミジンコ(Bso.)、ミツウデワムシ(Fil.)、コシブトカメノコウワムシ(Ker.)

の12項目を用いて、十和田湖の水質汚濁機構解明を行った。各項目間の相関関係をみると、透明度と正の相関が認められるものはヒメマスとヒメマスの主要な餌と考えられる大物の植物プランクトンに関する因子が、負の相関が認められるものはCODと小型の動物プランクトン

表4 主成分分析結果

	Z 1		Z 2		Z 3	
	4.97		2.05		1.97	
	0.41		0.59		0.75	
透明度	0.33	0.74	0.15	0.22	0.38	0.54
COD	-0.32	-0.72	-0.26	-0.37	-0.33	-0.46
ヒメマス	0.37	0.82	-0.23	-0.33	-0.06	-0.08
体重	0.30	0.67	-0.29	-0.41	0.03	0.04
ワカサギ	-0.22	-0.48	-0.24	-0.34	0.53	0.75
総漁獲量	0.01	0.03	-0.36	-0.51	0.57	0.79
Acan.	0.36	0.81	-0.28	-0.39	-0.18	-0.25
COPE	0.28	0.63	-0.16	-0.23	-0.04	-0.06
Dap.	0.21	0.47	-0.48	-0.69	-0.16	-0.22
Bos.	-0.36	-0.79	-0.28	-0.39	0.01	0.02
fil.	-0.29	-0.65	-0.21	-0.30	0.16	0.22
Ker.	-0.21	-0.46	-0.37	-0.53	-0.33	-0.46

に関する因子が抽出されるようである (表3)。

主成分分析 (原データを用いた) の結果, 第1主成分としてヒメマス漁獲量, ヤマヒゲナガケンミジンコ, 透明度, ヒメマス雌親魚の平均体重, コペポーダ, ハリナガミジンコが正の値で, ゾウミジンコ, COD, ミツウデワムシ, ワカサギ漁獲量, コシブトカメノコウワムシが負の値で抽出された。第1主成分はヒメマスとワカサギの食性に関する因子と考えられる。第2主成分として, 透明度が正の値で, 他は総て負の値で抽出されたことから第2主成分は透明度に関する因子と考えられる。第3主成分として総漁獲量とワカサギ漁獲量が正の値で抽出されたことから十和田湖での魚類生産に関する因子と考えられる (表4)。

次に, 第1主成分と第2主成分をプロットすると, ヒメマスとワカサギを中心とする2つのグループに分けられるようである。ヒメマスを中心とするグループには大型の動物プランクトンであるヤマヒゲナガケンミジンコ, ハリナガミジンコ, ヤマヒゲナガケンミジンコ等の幼生であるコペポーダとヒメマス雌親魚平均体重がプロットされる。一方, 透明度もZ1方向で正であることからみると, 餌である大型の動物プランクトンが豊富にあるとヒメマスの魚体が大きく漁獲量も多くなり, 透明度も良くなることを意味しているものと思われる。ワカサギを中心とするグループには小型の動物プランクトンであるゾウミジンコ, コシブトカメノコウワムシ, ミツウデワムシとCODがプロットされることから, 小型の動物プランクトンが豊富にあるとワカサギが繁殖し, CODが上昇することになることから, 透明度やCODが

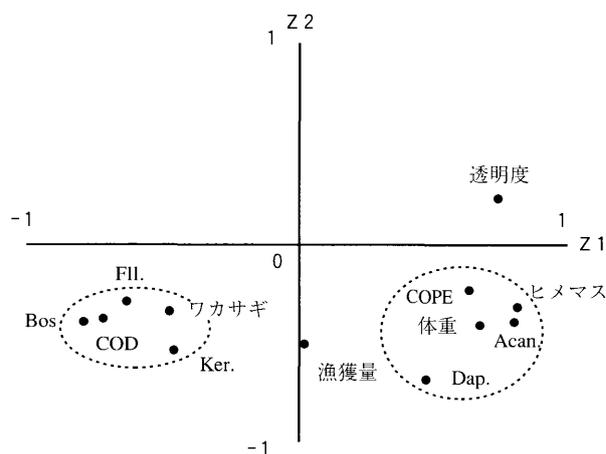


図17 主成分分析結果

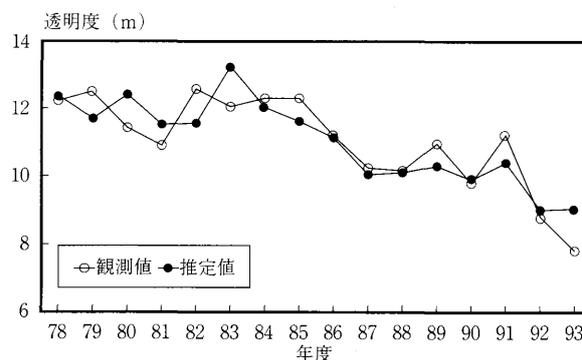


図18 透明度と生物群集との関係

生物群集の影響を強く受けていることがわかる (図17)。

次に透明度を目的変数として生物群集の関係を重回帰分析 (変数増減法) により検討すると, ステップ1では

表5 重回帰分析の結果（変数増減法）

項目	ステップ1		ステップ2		ステップ3	
	回帰係数	偏F値	回帰係数	偏F値	回帰係数	偏F値
COD	-6.29	26.50	-5.27	17.39	-6.12	22.37
ヒメマス			0.019	3.35	0.023	5.18
コペポータ					-0.060	2.73
定数	16.7		15.3		16.1	
R	0.81		0.85		0.88	
R	0.78		0.80		0.82	
AIC	43.9		42.3		41.0	

注) R：重相関係数
R：自由度調整済重相関係数
AIC：赤池の情報量基準
導入基準値=2.0 赤池の情報量基準=42.3
導入基準値：2.0
目的変数：透明度

CODが、ステップ2ではヒメマス漁獲量が、ステップ3ではコペポータが説明変数として採用されている。ステップ2では重相関係数Rが0.85と高く、説明変数としてCOD、ヒメマス漁獲量という十和田湖の現状、或いは、十和田湖が現在抱えている問題点を象徴する説明変数が抽出されていることから、ここではステップ2の重回帰式を採用した。その結果、

$$\text{透明度 (m)} = -5.27 \cdot \text{COD (mg/l)} + 0.019 \times \text{ヒメマス漁獲量 (トン/年)} + 15.3$$

となり、観測された透明度の推定透明度を図示すると、概ね、両者は類似した変動パターンを示していることから、十和田湖ではヒメマス漁獲量の回復が透明度の上昇とCODの低下を招くといえる（図18）。

それでは何故、十和田湖ではヒメマスが殖えると透明度が上昇し、CODが低下するのか？また、何故、ワカサギが殖えると透明度が低下し、CODが上昇するのか？

ヒメマス、ワカサギはともに動物プランクトンを餌にしているが、ここでは動物プランクトンのサイズに着目してみると、ヒメマスが大型の動物プランクトン(0.6mm以上)を捕食するが、小型の動物プランクトンを捕食できないとされている。これに反して、ワカサギは大型の動物プランクトンを捕食するばかりでなく、より小型の動物プランクトン(0.6mm以下)をも捕食できるといわれている⁹⁾。

湖では植物プランクトンが動物プランクトンに食べられ、動物プランクトンが魚に食べられるという食物連鎖系が成り立っていることから、湖の水質汚濁の要因である植物プランクトンの種と量はこれを食べる動物プランクトンによって決まることになる。また、この動物プランクトンの種と量はこれを食べる魚の影響を強く受けて

いることは明らかである。

ここで、十和田湖でヒメマスが多く漁獲されていた時期の生態系を考えると、この時期には大型の動物プランクトンであるヤマヒゲナガケンミジンコやハリナガミジンコが多く出現している。大型の動物プランクトンが多く出現するのはヒメマスが小型の動物プランクトンを捕食できないため大型の動物プランクトンの幼生が生き残り、成長するためである。これらの大型の動物プランクトンは小型の植物プランクトンのみならず、大型の植物プランクトンであるネットプランクトンをも効率良く捕食するため、湖内では植物プランクトン量が少なく、結果として透明度の上昇とCODの低下を招いたものと考えられる（図19-a）。

一方、何故ワカサギが1985年頃から急激に殖えたかが不明であるが、ワカサギが多い時期の生態系を考えると、この時期に大型の動物プランクトンが減少し、小型の動物プランクトンであるゾウミジンコが多く出現している。

この時期に大型の動物プランクトンが減少した原因として、ワカサギがヒメマスよりも小さい動物プランクトンを捕食できることである。すなわち、ワカサギがヒメマスの餌である大型の動物プランクトンだけでなく、大型のハリナガミジンコの幼生やヤマヒゲナガケンミジンコの幼生であるノープリウス幼生、コペポータをも捕食するため、大型の動物プランクトンの消滅を招いたものである。優占した小型の動物プランクトンは小型のピコプランクトンやナノプランクトンを捕食するが、大型のネットプランクトンを捕食出来ず、湖水に残った大型の植物プランクトンが増殖した結果、透明度の低下とCODの上昇が起こる¹⁰⁾ものと考えられる。また、ワカサギ漁獲量がヒメマス漁獲量に比較して多いのはワカサ

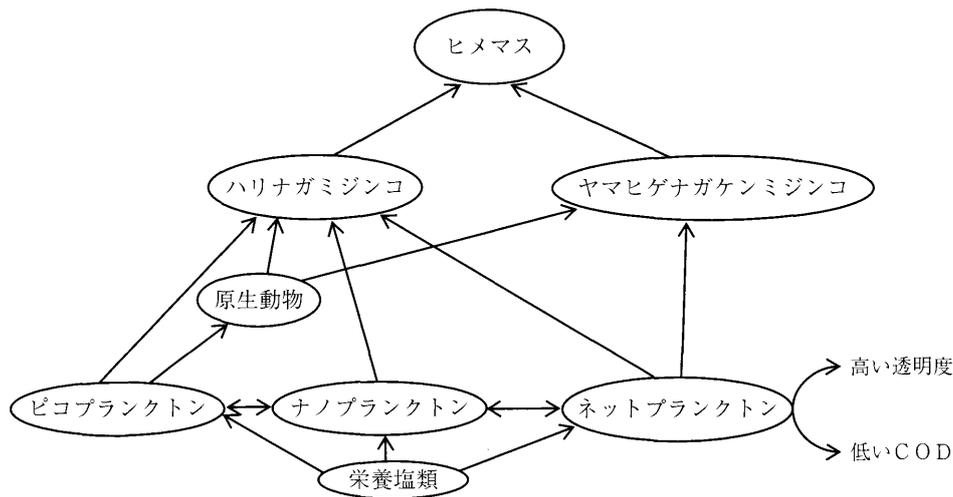
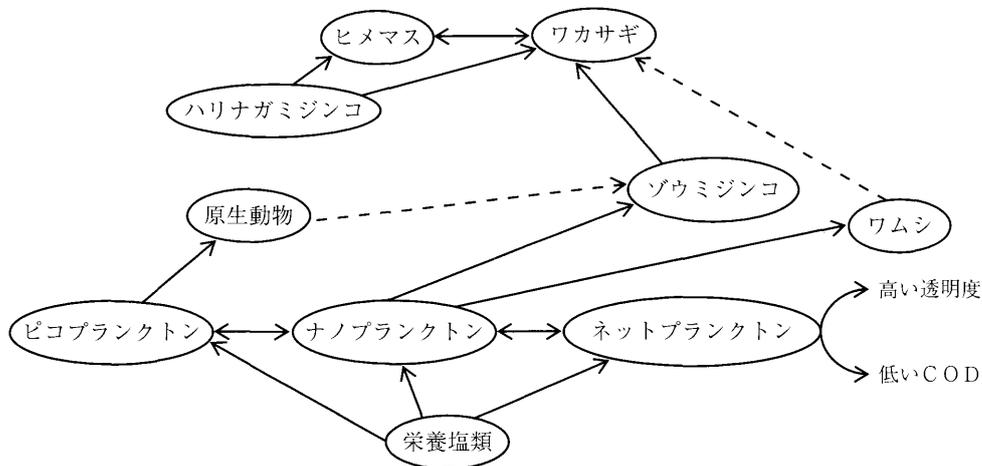


図19-a ヒメマスが優占している十和田湖における連鎖と透明度、CODの関係



注) ピコプランクトン：0.2～2 μ mの微少な植物プランクトン、ナノプランクトン：2～20 μ m、ネットプランクトン：20 μ m以上の大型植物プランクトン

図19-b ワカサギが優占している十和田湖における連鎖と透明度、CODの関係

ギがヒメマスが餌として捕食できない小型の動物プランクトンをも捕食するためと考えられる(図19-b)。

以上のことから十和田湖での水質汚濁要因としてワカサギの移入の経緯は不明であるが、ワカサギが動物プランクトン相の小型化を引き起こし、その結果として、小型の動物プランクトンが捕食できない大型の植物プランクトンが増殖したためと考えられることから、大型の動物プランクトンの回復が十和田湖の水質改善、保全のために必要であると同時にヒメマス漁獲量の回復にも繋がるものと考えられる。これは十和田湖では河川や降雨等から流入する窒素・燐によって増殖する植物プランクトンを動物プランクトン、更に、ヒメマスに変換して湖内

から持ち去ることであり、このためには適正なヒメマス生産量を求め、ワカサギの駆除を含めた魚の管理が必要になるものと思われる。

5. ま と め

十和田湖は1986年以降、環境基準値(AA類型：COD 1 mg/l以下)を超えるとともに透明度の低下とヒメマス漁獲量の不振が大きな問題となっていることから、青森県では1995～97年の3カ年間に国立環境研究所と水質汚濁機構解明調査を実施している。

一方、青森県と秋田県の両県では20年以上に亘り、環境及び水産サイドの立場で水質調査、魚類調査及び動物

プランクトン調査を行っている。今回、主にこれらの長期モニタリング調査データを用いて十和田湖の水質汚濁機構解明を試みた。

その結果、

- (1) CODは1980年代初頭から徐々に高くなり、1986年にはCODが環境基準値 $1 \text{ mg}/\ell$ を超えて以来、水質の改善をみないまま現在に至っている。
- (2) 1970年代に透明度は13~14mであったが、近年、10mを超えることは稀である。
- (3) 窒素・磷、クロロフィル a とともに低いレベルで推移しているが、磷は「淡水赤潮」が発生するレベルにあり、今後の注意が必要である。
- (4) 動物プランクトン調査ではヒメマスが多く漁獲されていた時期には大型の動物プランクトンであるヤマヒゲナガケンミジンコやハリナガミジンコが多く出現し、ワカサギが多く漁獲された以降では小型の動物プランクトンであるゾウミジンコが優占している。
- (5) 十和田湖では透明度はヒメマス漁獲量や餌である大型の動物プランクトンと関連し、CODはワカサギ漁獲量と小型の動物プランクトンと関連していることから十和田湖の水質は動物プランクトン魚の影響を強く受けていると考えられる。
- (6) 十和田湖の水質はワカサギが殖えた以降に悪化しているが、これはワカサギがヒメマスに比べてより小型の動物プランクトンを餌にすることから大型の動物プランクトンが減少した結果、小型の動物プランクトンが増殖したためと考えられる。
- (7) 十和田湖の水質改善・保全にはハリナガミジンコ等の大型の動物プランクトンを回復させることが必要であり、これは同時にヒメマス漁獲量の回復に繋がるものと考えられる。
- (8) 大型の動物プランクトンを回復させるためには魚を管理することが必要で、このためにはワカサギの駆除が必要かもしれない。
- (9) 十和田湖では流入する窒素・磷負荷量を植物プランクトンから動物プランクトンへ、動物プランクトンから魚へと食物連鎖系を通して負荷量収支に見合うよう

に効率良く転換し、これを湖外に持ち去ることが水質の改善・保全のために重要と考えられる。

これらの結果はこれまで環境サイドと水産サイドで行われている長期モニタリング調査の結果をまとめたものである。これまで十和田湖では環境サイドと水産サイドは十和田湖という同じフィールドを調査対象としながら、お互いに連携がないままに調査を行っている。十和田湖の水質の汚濁要因は植物プランクトンの増殖によることは明らかであるが、植物プランクトンの種と量は動物プランクトンと魚の影響を強く受けていることが今回の調査で判明した。

これは今後の十和田湖の水質改善・保全は環境サイドのみの問題ではなく、水産サイドを含めた総合的な調査・解析、対策が必要なことを示している。

文 献

- 1) 吉村信吉：湖沼学—増補版，生産技術センター，1976.
- 2) 環境庁編：日本の湖沼環境—第3回自然環境保全基礎調査，1989.
- 3) 福島武彦，他：湖沼の有機物指標，水環境学会誌第20巻，第4号，238-245，1997.
- 4) 小山次郎，他：中禅寺湖の富栄養化防止に関する調査研究（第4報）—鉛直方向の湖内水質と植物プランクトン相について，栃木県公害研究年報 第8号 18-24 昭和59年10月.
- 5) 高村典子，他：日本の湖沼34水域の栄養塩レベルと最近，ピコ植物プランクトン，鞭毛藻（虫）および繊毛虫の密度の関係，陸水学雑誌 57巻3号 1996.
- 6) TAKAMURA, N et al (1988) Did a drastic change in fish species from kokanee to pond smelt decrease the secchi disc transparency in the oligotrophic Lake Towada, Japan?. Can. J. Fish. Aquat. Sci. (in press) .
- 7) 高村典子：魚が湖を変える—中国東湖と十和田湖を例に一．平成9年度国立環境研究所研究発表会.

Abstract

TRANSPARENCY AND CHANGES IN BIOLOGICAL COMMUNITIES IN LAKE TOWADA

Hajime MIKAMI¹, Noriko TAKAMURA², Tada-aki NARA³

In lake Towada, large zooplanktons *Acanthodiptomus pacificus* and *Daphnia longispina*, which are probably the major foods for kokanees, have been decreased while small sized *Bosimina longirostris* is becoming predominant since 1986 when COD exceeded the standard level (AA type : not more than 1mg/ℓ) . As a result, there arise a decrease in the kokanees catch and the appearance of a great number of pond smelts. In lake Towada, there is a tendency that the transparency is lowered with a decrease in the kokanee catch. The transparency relates to the kokanee catch, the average body weight of adult female kokanees and large zooplanktons, while COD relates to pond smelt catch and small zooplanktons. These facts suggest that the qualities of water in lake Towada are largely affected by the food chain including water, planktons and fishes. Although kokanees and pond smelt prey zooplanktons, it is said that pond smelt can prey smaller zooplanktons compared with kokanees. It is therefore considered that the decrease in the transparency and the increase in COD in lake Towada are caused by the fact that pond smelts prey not only large zooplanktons but larvaes of these planktons and, as a result, large photoplanktons not grazed by the predominant small zooplanktons have been proliferating.

key words : lake, transparency, zooplankton, kokanee, pond smelt & food chain.

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment.

2 : National Institute for Environmental Studies.

3 : Aomori Public Health Center.

ベンチオカーブの水田における挙動及び河川への流出状況

石塚 伸一 工藤 健 大久保英樹

ベンチオカーブの水田における挙動及び河川への流出状況を調査した。田面水の濃度は、散布直後に $860\mu\text{g}/\ell$ と最も濃度が高くなり、その後急激に濃度が低下しながら1週間後には $110\mu\text{g}/\ell$ になった。散布後5週間までは数 $\mu\text{g}/\ell$ 検出され、2ヶ月程経過すると検出されなくなった。田面水における半減期は約2日であった。蟹田川下流部では散布期間中は数 $\mu\text{g}/\ell$ レベルで検出され、1週間後には散布盛期の1/10程度に減少した。散布から1ヶ月程度まではなお微量検出されていた。蟹田川流域全体のベンチオカーブ使用量は 39.8kg であり、蟹田川下流部における流出量は 1.54kg であることから、流出率は3.9%であった。今回の調査結果から、河川への農薬流出抑制対策は、第一に農薬の適正使用量を遵守すること、第二に散布後3～5日程度は落水やかけ流しを行わないこと及び降雨時に水田から田面水がオーバーフローしないように十分水管理することが重要であることが分かった。

Key words : thiobencarb, pesticide, run-off, paddy field, water pollution

1. はじめに

農地で散布された農薬は、環境中に拡散・移動して公共用水域に入る。

ベンチオカーブはその使用状況や公共用水域における検出状況等から、平成5年3月環境庁告示第16号¹⁾により環境基準項目に追加された。

青森県の平成6～7年度の公共用水域におけるベンチオカーブの検出状況をみると²⁻³⁾、農業排水の流入している河川では環境基準値は超えていないものの、 $<0.001\sim 0.006\text{mg}/\ell$ と数 $\mu\text{g}/\ell$ のオーダーで検出され

ていた。

除草剤ベンチオカーブの散布は季節的なものであり、公共用水域において年数回の測定では実態が把握しきれない。

そこで今回、水田水における農薬の残留性、河川への流出状況を把握することを目的として本調査を実施した。

ベンチオカーブは稲に対する薬害が少なく、ノビエなどに有効な一発処理除草剤として、広く水田に使用されており、ウルフェース等の商品名で販売されている。

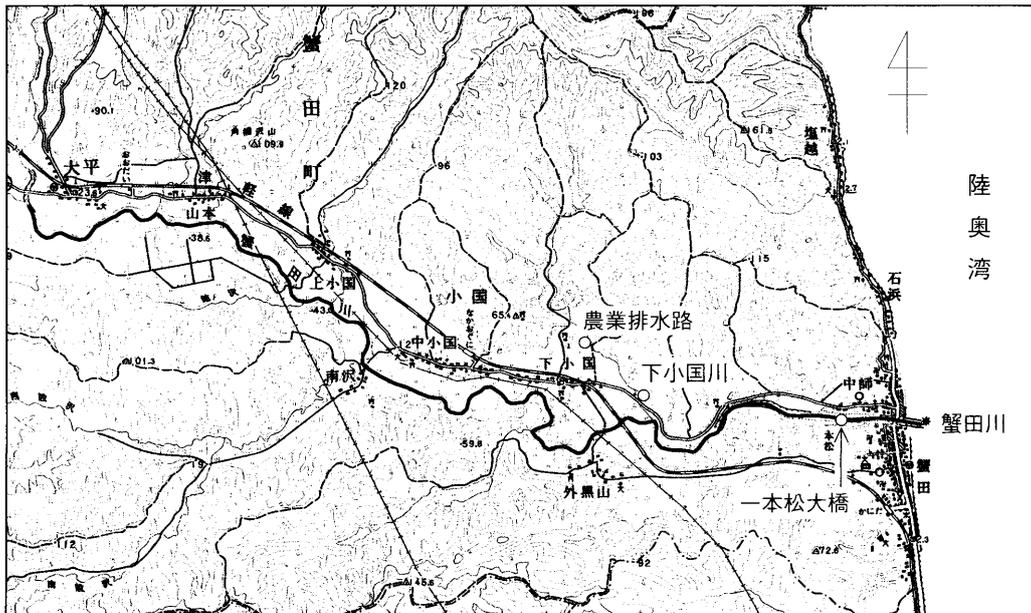


図1 調査地点図

2. 方 法

2・1 調査地域

調査地域は蟹田町の蟹田川流域水田である。蟹田川流域水田の農業排水は、農業排水路から小河川をへて最終的には蟹田川に注いでいる。

調査地域を図1に示す。

2・2 調査年月日

調査期間は平成8年5月～8月である。

農薬の散布前、散布期間、散布後の期間毎に農薬が検出されなくなるまで調査を実施した。

2・3 分析方法

固相抽出-GC/MS法により分析を行った。

フローシート及び分析条件を図2、表1に示す。

サンプル水	500mℓ
固 相	セツパック PS-2 加圧通水
水分除去	遠心分離 3000rpm 20min 窒素パージ
溶 出	アセトン 5mℓ セツパックドライを直列に連結
濃 縮	窒素パージ
1mℓ 定容	
GC/MS分析	

図2 分析フローシート

表1 GC/MS条件

分 析 機 器	島津QP-1000EX
キャリアーガス	ヘリウム
カ ラ ム	DB-1 (J&W) 30m*0.32mm 膜厚0.25μm
注 入 口 温 度	200℃
カ ラ ム 温 度	100℃ - (20℃/min) - 200℃ - (5℃/min) - 250℃ (5min)
インターフェイス温度	250℃
注 入 量	1μℓ
定 量 イ オ ン	257
確 認 イ オ ン	100, 72

ベンチオカーブの保持時間の近辺に可塑剤DBPが検出され妨害となることがあるので、定量イオンにはm/z 257を用い、m/z 100は確認イオンとした。

2・4 流出率算定方法

蟹田川下流部においてベンチオカーブ濃度及び河川水量を測定し流出量を求めた。また、蟹田川流域水田全体のベンチオカーブ使用量を調査し、(1)式により流出率を求めた。

$$\text{流出率} = \Sigma \text{検出濃度} * \text{河川水量} / \text{散布量} * 100 \dots (1) \text{式}$$

3. 結果及び考察

3・1 調査対象物質の物理化学的性状⁴⁾

ベンチオカーブはカーバメイト系の除草剤であり、その物理定数、毒性、水溶解度、沸点等の物理化学的性状は表2のとおりである。

表2 ベンチオカーブの物理化学的性状

分 子 式	C ₁₂ H ₁₆ Cl ₂ NO ₂
分 子 量	257.8
融 点	3.3℃
蒸 気 圧	2.2Pa (23℃)
沸 点	126~129℃ (0.008mmHg)
水 溶 解 度	30mg/ℓ (20℃)
l o g . P o w	3.42
ラット経口LD ₅₀	920mg/kg
環 境 基 準 値	0.02mg/ℓ以下

3・2 調査地区の概要

蟹田地区は青森県津軽半島中央部にあり、東は陸奥湾に面し、西は中山山脈を頂く臨海山村である。東西に蟹田川が流れ、この流域の扇状地に水田が開けている。蟹田川は2級河川であり、その流域面積は110km²である。

この地域の水田土壌の種類は細粒強グライド、土性は軽塩土である。

周囲は山地でゴルフ場はなく、ベンチオカーブは水田以外では使用されていない。

なお、蟹田地区は、中規模河川の流域水田であり、農業散布量が把握しやすく、また河川への流出量の把握しやすいことなどから調査地域として選定したものである。

調査地点は水田、農業排水路、下小国川（農業排水路流入後の橋）、蟹田川（一本松大橋）である。

3・3 調査期間中の気象状況⁵⁾

調査地区において、ベンチオカーブは6月中旬に散布された。6月の気象状況は、前半高気圧に覆われ晴れの

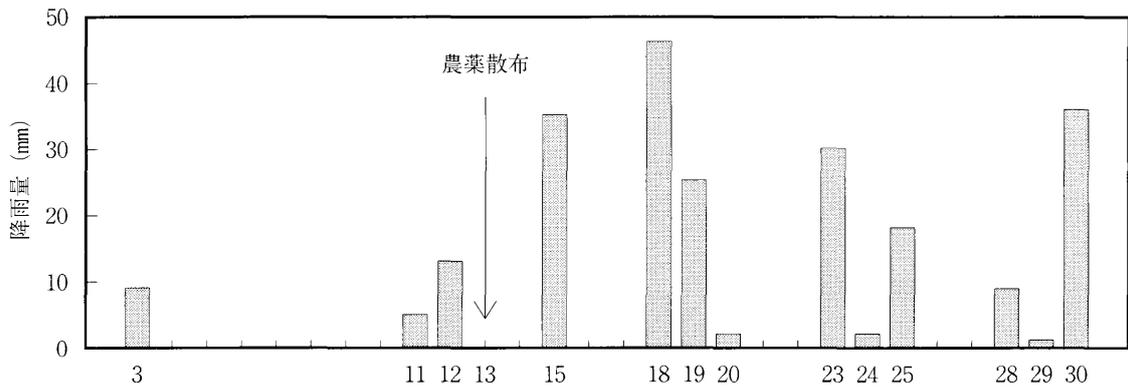


図3 蟹田地区における平成8年6月降雨量 (mm)

日が多かったが、後半には低気圧の通過や梅雨前線の北上に伴い天気はぐずつき、降水量は全般に多かった。降雨量の旬計は上旬が9mm、中旬が126mm、下旬が96mmであった。

農薬散布後の蟹田地区における降水量は、図3に示すとおり、15日は35mm、18日は46mm、19日は25mm、23日には30mm、25日には18mm、30日には36mmであった。

3・4 田面水の農薬濃度変化

調査地区においては、ベンチオカーブを5%含有する粒剤のウルフエースが使用され、散布機を背中に担いで地上から散布する方法がとられていた。

一般にウルフエースの散布時期は、田植え後5日～10日後とされ、標準散布量は10a当たり3kgとなっている。

今回、20aの水田にウルフエースが8kg散布された水田について調査を実施した。田面水の濃度変化を図4に示す。

散布直後に860 $\mu\text{g}/\text{l}$ と最も濃度が高くなり、その後急激に濃度が低下しながら、散布1週間後には110 $\mu\text{g}/\text{l}$ になった。散布後5週間位までは数 $\mu\text{g}/\text{l}$ の濃度であり、2ヶ月程経過すると検出されなくなった (<0.1 $\mu\text{g}/\text{l}$)。

水田に散布されたベンチオカーブが、全量溶解したとして田面水の濃度を算出してみると約0.3g/lであった。ただし、ベンチオカーブの飽和濃度は0.03g/lであるから、全量溶解することはない。

今回の調査結果から最高濃度は散布直後の860 $\mu\text{g}/\text{l}$ であるから、飽和濃度には達していなかった。

3・5 田面水における挙動⁶⁾

水田に散布された農薬は、植物への吸収、土壌への吸着、微生物分解、光分解、大気への蒸発などによって減少する。また、紫外線を吸収する化合物は光分解を受けやすく、ヘンリー定数が大きいと大気へ蒸発しやすい性質を持つ。土壌への吸着は有機物含有量、粘土鉱物の種類及び含有量に関係があると言われている。

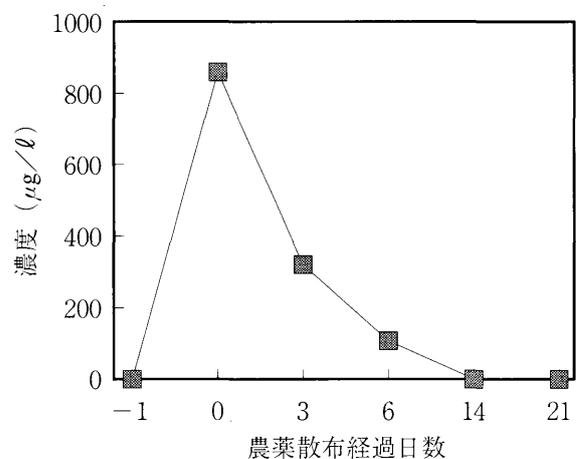


図4 田面水におけるベンチオカーブ濃度

ベンチオカーブは、pH5～9の精製水中(21℃)では30日間安定であるが、環境水中では微生物により分解されることが知られている。

また、光に安定であるが、土壌に吸着しやすく、更に塩素処理でクロロベンズアルデヒドに容易に分解される性質がある。

今回の田面水における経時変化をもとに(2)式により半減期を算定すると約2日であった。

$$N(t) = N(0) e^{-\lambda t}$$

$$\lambda = \ln 2 / T_{1/2} \dots \dots \dots (2) \text{式}$$

N(t) : t日後の濃度

N(0) : 初期濃度

λ : 分解定数

$T_{1/2}$: 半減期

水中での半減期は2～12日との報告値があり⁷⁾、同様の結果であった。

3・6 排水路の農薬濃度変化

水田から流出した農薬は最初農業排水路に注がれる。

散布された水田の排水路における検出状況を見ると、検出期間は4～5日程度であり、その濃度レベルは数 $\mu\text{g}/\ell$ であった。

排水路における濃度変化を図5に示す。

なお、調査水田地点上流の排水路からもベンチオカーブが検出され、排水路において流出率を求めるのは困難であった。

3・7 小河川における濃度変化

農業排水路が最初に流下する小河川として下小国川を選定しベンチオカーブ濃度変化を調査した。

図6に示すとおり、ベンチオカーブの検出期間は4～5日程度であり、その濃度レベルは数 $\mu\text{g}/\ell$ であった。

流量の小さい河川であるから排水路の影響を強く受け、排水路とほとんど同じ濃度レベルであった。

3・8 大河川の濃度変化

小河川が最終的に流下する大河川として蟹田川を選定し、流出率を求めるため、蟹田川の下流部（一本松大橋）においてベンチオカーブ濃度、河川流量を測定した。濃度変化を図7に示す。

散布盛期で数 $\mu\text{g}/\ell$ レベルで検出され、1週間後に散布盛期の1/10程度に減少した。散布から1ヶ月経過すると検出されなくなった（ $<0.1\mu\text{g}/\ell$ ）。

小河川では検出期間が4～5日程度と短期間であるのと対照的に、大河川では検出期間が約1ヶ月であった。

これは、流域水田全体では散布時期がある幅をもっており、大河川にはいくつかの小河川が流入してくるため、小河川に比較して検出期間が長いのであろう。

3・9 田面水と河川水の濃度比較

今回の調査結果から、農薬濃度は概ね、田面水は mg/ℓ レベル、河川水は $\mu\text{g}/\ell$ レベルと言えよう。

農薬は河川へ流出すると河川水で希釈されるので、田面水と河川水中の濃度比から希釈率を求めてみると、散布盛期において約1000倍希釈という結果であった。

3・10 県内の農薬使用状況

県内全体における水田除草剤は、初期除草剤としてプレチラクロール、一発処理除草剤としてベンチオカーブ、メフェナセット等が主に使用されている。

剤型としては粒剤の他にフロアブルと言われている液剤も最近使用されるようになってきた。

ベンチオカーブはCNP（平成6年3月使用禁止）の代替品としても用いられているため水田除草剤として最も多く用いられている。

3・11 蟹田川流域で使用された農薬

この地区における農薬の使用形態は、購入量をその年にほとんど使い切ってしまうことから、使用量は販売量から推定した。

蟹田川流域で平成8年散布用として販売されたウルフ

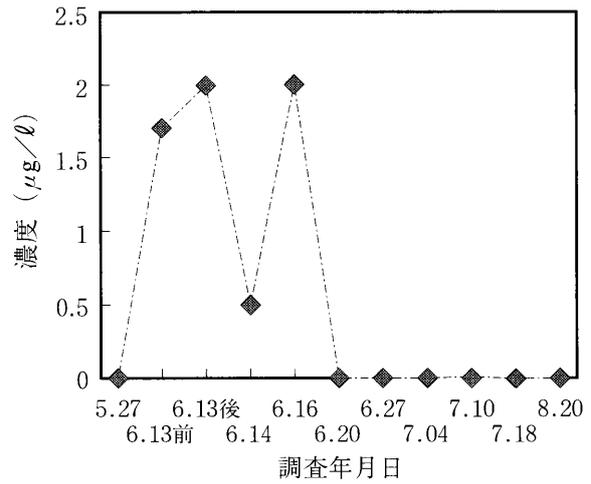


図5 農業排水路におけるベンチオカーブ濃度

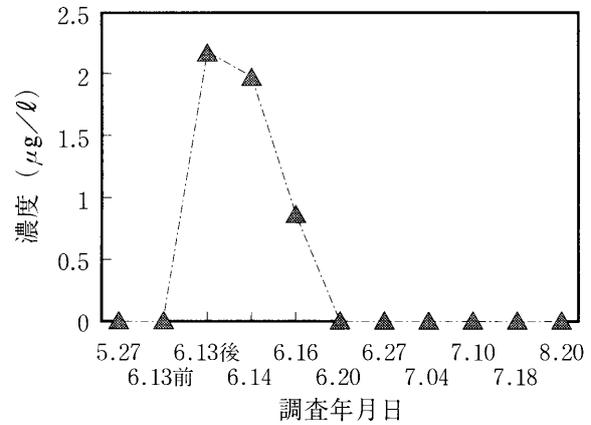


図6 下小国川におけるベンチオカーブ濃度

エースは796kgで、ウルフエースには5%のベンチオカーブが含まれているため、ベンチオカーブ原体として39.8kg販売、使用されたことになる。なお、この地区においては、ウルフエース以外にソルネット、ブローダックス、アクト、アワード、マメットS、ワイダー、マサグラン、クサメッツフロアブル等が使用されていた。

3・12 流出率の算定及び流出抑制対策

流出率は蟹田川下流部において算定することとした。これは、調査水田では掛け流しを行っておらず、また、水田自体からの漏水量の把握は困難であること、更に調査水田排水路の上流からもベンチオカーブが検出され排水路においては流出率算定が不正確となることなどから、流出量をマクロ的に把握することとし、蟹田川下流部で測定することとしたものである。

前述のとおり、蟹田川流域全体のベンチオカーブ使用量は39.8kgである。

次に、蟹田川の水量と濃度から流出量を算出、積算し

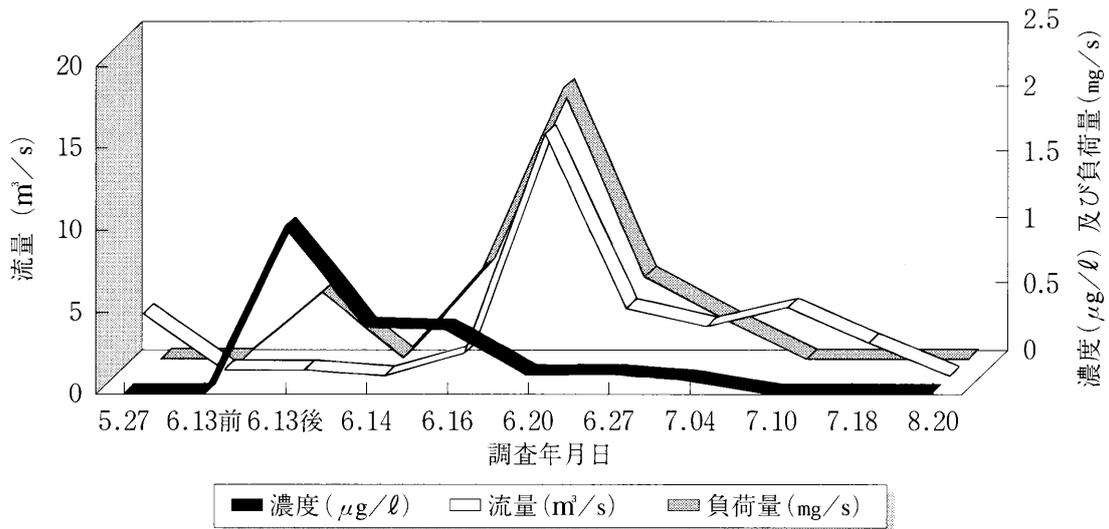


図7 蟹田川におけるベンチオカーブ濃度，流量，負荷量

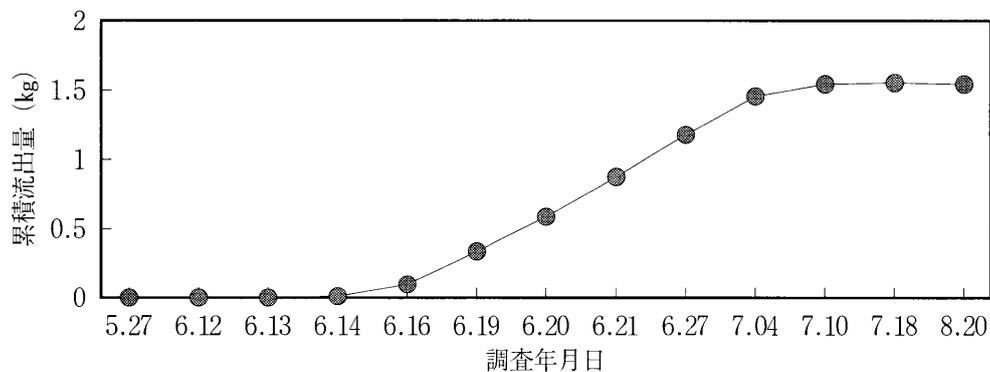


図8 蟹田川におけるベンチオカーブ流出量累積曲線

たところ1.54kgとなった。ここで水量は流速に日数を乗じ、採水を行っていない日については前後の採水日の平均を用いた。なお、灌漑水にはベンチオカーブは含まれていなかった。

図7に流出負荷量の日変化を示す。

図7より、流出負荷量の極大値は農業濃度の高い時と河川水量の大きい時であることが分かる。

従って、流出抑制対策の第一は、適正散布量を遵守することである。田面水の濃度調査から、限量以上散布しても溶解量は増えず、一定以上の除草効果は期待できない。

次に、水田からの流出を抑制することである。そのためには、降雨時に水田の水管理を十分に行うことである。特に、田面水中の濃度の高い散布後2週間の水管理が重要となる。具体的には、この期間、降雨により水田から田面水がオーバーフローしないようにすること及び、落水やかけ流しを行わないことが必要である。

なお、砂質土壌など水田土壌の種類によっては水田からの漏水に伴い流出することも考えられるので土地改良も効果があろう。

4. ま と め

(1) 田面水の農業濃度変化

20 aの水田にウルフェース8kg散布された水田における田面水の濃度は、散布直後に860 $\mu\text{g}/\ell$ と最も濃度が高くなり、その後、急激に濃度が低下しながら、1週間後には110 $\mu\text{g}/\ell$ になった。散布後5週間間は数 $\mu\text{g}/\ell$ 検出され、2ヶ月程経過すると検出されなくなった(<0.1 $\mu\text{g}/\ell$)。

田面水中では飽和濃度には達していなかった。

今回の田面水における経時変化から半減期を算定すると約2日であった。

(2) 排水路の農業濃度変化

散布された水田の排水路における検出状況を見る

と、検出期間は4～5日程度であり、その濃度レベルは数 $\mu\text{g}/\ell$ であった。

(3) 小河川における濃度変化

小河川として設定された下小国川においては、検出期間は4～5日程度であり、その濃度レベルは数 $\mu\text{g}/\ell$ であった。

流量の小さい河川であるから排水路の影響を強く受け、排水路とほとんど同じ濃度レベルであった。

(4) 大河川の濃度変化

大河川として設定された蟹田川では散布盛期では数 $\mu\text{g}/\ell$ レベルで検出され、1週間後に盛期の1/10程度になった。散布盛期から1ヶ月経過すると検出されなくなった ($<0.1\mu\text{g}/\ell$)。

(5) 田面水と河川水の濃度比較

今回の調査結果から、農薬散布盛期において、農薬濃度は概ね、田面水は mg/ℓ レベル、河川水は $\mu\text{g}/\ell$ レベルであり、河川水の希釈倍率は約1000倍であった。

(6) 流出率の算定

蟹田川流域全体のベンチオカーブ使用量は39.8kgであり、蟹田川下流部における流出量は、1.54kgであった。従って流出率は3.9%となった。

(7) 水田からの農薬流出抑制対策

河川への農薬流出抑制の最大のポイントは農薬の適正量散布及び散布後2週間の水管理である。特に降雨時に水田から田面水がオーバーフローしないように水管理することや、散布後3～5日程度は落水やかけ流しを行わないことが重要である。

文 献

- 1) 環境庁：水質汚濁に係る環境基準の一部を改正する件，環境庁告示第16号，平成5年3月8日。
- 2) 青森県：公共用水域水質測定結果，平成6年度。
- 3) 青森県：公共用水域水質測定結果，平成7年度。
- 4) 環境庁水質保全局水質規制課：環境水質分析法マニュアル，33，初版，環境化学研究会，筑波，1993。
- 5) 日本気象協会青森支部：青森県気象月報，平成8年6月。
- 6) 金澤純：農薬の環境科学，合同出版，東京，1992。
- 7) 丹保憲仁，他：公共用水域における開放系使用化学物質の動態及び安全性に関する研究，9-1～9-22，平成2年度環境庁環境保全成果集。

Abstract

BEHAVIORS OF THIOBENCARB IN PADDY FIELDS AND ITS RUN-OFF

Shin-ichi ISHIZUKA¹, Ken KUDOH¹ and Hideki OHKUBO¹

Studies were made on the behaviors of thiobencarb in paddy fields and its run-off into rivers. The thiobencarb concentration in the paddy field water attained the maximum level ($860 \mu\text{g}/\ell$) immediately after the application, then rapidly lowered and reached $110 \mu\text{g}/\ell$ after 1 week.

Thiobencarb was detected at a level of several $\mu\text{g}/\ell$ within 5 weeks following the application. Two months after the application, thiobencarb was not detected any more ($<0.1 \mu\text{g}/\ell$). Its half-life in the paddy filed water was about 2 days. In the downstream area of Kanita river, thiobencarb was detected at a level of several $\mu\text{g}/\ell$ during the application period. One week thereafter, the thiobencarb concentration was lowered to about 1/10 of the maximum level, though it was detected in a trace amount for about 1 month following the application. The dose of thiobencarb used in the whole Kanita river basin amounted to 39.8kg, while 1.54kg of thiobencarb was detected in the downstream area of this river. That is, the run-off rate was 3.9%. The results of the present studies indicate that the run-off of a pesticide into rivers can be regulated by applying the pesticide in a strictly controlled dose; performing neither drainage of pounded water nor water sprinkling within 3 to 5 days after the application; and fully managing water to prevent overflow of paddy filed water during a sudden shower.

key words : thiobencarb, pesticide, run-off, paddy field, water pollution

¹ : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment.

公共用水域におけるトリハロメタン生成能の測定と解析

石塚 伸一

トリハロメタン生成能の測定法及び生成予測の検討を行ったところ次のとおりであった。トリハロメタン生成能の測定にあたって、残留塩素が存在したままヘッドスペースオートサンプラーを用いると、加熱操作でプロモホルム、ジブロモクロロメタンが生成するので、アスコルビン酸を添加し、妨害を除去する必要があった。有機物含量の指標である260 μm における吸光度とトリハロメタン生成量には、有意な相関関係がみられた。公共用水域における総トリハロメタン生成量の平均値は約40 $\mu\text{g}/\ell$ であり、100 $\mu\text{g}/\ell$ を超えた検体はなかった。一般にダム湖において濃度が高い傾向にあり、これはダム湖ではフミン質が多いことと関連があると考えられる。またトリハロメタン生成能に季節変化は認められなかった。生成したトリハロメタン濃度の高い順はクロロホルム、プロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、プロモホルムであり、その濃度比はおおよそ6:3:1:0であった。

Key words : trihalomethane formation potential, ultraviolet absorption (260 μm), precursor, chlorination, water pollution

1. はじめに

トリハロメタン生成能 (THMFP) は、その水が持つトリハロメタン (THM) の潜在的な生成量のことであり、試料水を一定の条件において塩素処理を行った後に生成したトリハロメタン濃度で表す。

THMとはメタンの水素の3個が塩素、ヨウ素、臭素などのハロゲン原子で置換されたものであり、「特定水道利水障害の防止のための水道水源水域の水質の保全に関する特別措置法 (平成6年法律9号, 平成6年5月10日施行)」(水道水源法)ではこのうちクロロホルム、プロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、プロモホルムの4種類の濃度を総計して総トリハロメタン量としている。

THMは、水道原水の浄水処理に伴い、水中に含まれるフミン質等の有機物質が塩素と反応して副次的に生成する有害物質であることから、近年注目されている。

本県においても、水道水源として利用されている公共用水域の汚濁状況を把握するため、水道水源法に基づき平成7年度より、THMFPを測定している。

今回、測定法の検討及び生成能の予測等について検討を行った。

2. 方法

2.1 調査地点

当所管内の水道水源として利用されている表1の5地点で調査を実施した。

2.2 調査年月

平成7年度~平成8年度に、各地点年4回、季節毎に調査を実施した。

表1 測定地点

水域名	地点名
津刈川	鍋倉 (津刈ダム下)
山田川	新小戸六ダム
堤川	下湯ダム下
横内川	水道取水口上流
虹貝川	第二清川橋

2.3 試薬・器具・装置

NaClO溶液 和光純薬製を2mgCl/mlに希釈して使用した。
(使用時に有効塩素濃度を測定して調製した。)

トリハロメタン標準原液 和光純薬製

GC/MS 島津製作所製 QP-5000

HSオートサンプラー パーキンエルマー製 HS40

2.4 分析方法¹⁻³⁾

公共用水域におけるトリハロメタン生成能の測定方法については、「平成6年7月14日付け環水管第49号、環水規第163号、特定水道利水障害の防止のための水道水源水域の水質の保全に関する特別措置法」についての「別紙トリハロメタン生成能の測定方法」に示され、その後、平成7年6月、「環境庁告示第30号特定排水基準に係るトリハロメタン生成能の検定方法」(公定法)が告示されたのに伴い、公共用水域の水質についてもこの検定方法に準ずることと改正された。

今回、公定法に準じ、試料水にNaClOを添加し、pHを7.0 \pm 0.2に調整した後、20度で24時間放置後、残留塩素濃度が1~2mg/lの試料水について、ヘッドスペース/GC/MS法によりトリハロメタン類を測定した。

また、有機物濃度の指標として、No5Cの濾紙で濾過した濾液について、1 cm石英セルを用いて260 μ mにおける吸光度 (UV₂₆₀) を測定した。なお、溶解性物質の測定にあたっては、通常は0.45 μ mのメンブランフィルターを用いて濾過しているが、ここでは操作の簡便性を考慮し、No5Cの濾紙を用いた。

2・5 分析操作概要

トリハロメタン生成能測定には次の(1), (2), (3)に示すNaClO添加予備試験, NaClO添加本試験, トリハロメタン測定 of 3段階の分析操作がある。

(1) NaClO添加予備試験

試料水
|
NaClOを段階的に添加
|
pH調整 7.0 \pm 0.2
|
DO測定ビン 20度で1時間放置
|
残留塩素濃度の測定
|
遊離残留塩素 1 mg/lに対応する塩素添加量の決定

(2) NaClO添加本試験

試料水
|
NaClOを段階的に添加
|
pH調整 7.0 \pm 0.2
|
DO測定ビン 20度 24 \pm 2時間放置
|
残留塩素濃度の測定
|
遊離残留塩素 1~2 mg/lに対応する試料水の選択

(3) トリハロメタン測定

遊離残留塩素 1~2 mg/lに対応する試料水
|
HS/GC/MS分析

3. 結果及び考察

3・1 トリハロメタン前駆物質⁴⁻⁵⁾

測定対象THMの物理化学的性状を表2に示す。

トリハロメタンは、生成原因物質すなわち前駆物質に

表2 THMの物理化学的性状

物質名	分子量	沸点 (°C)	密度 (g/ml)	水道水質基準 (mg/l)
クロロホルム	119.39	61.2	1.498	0.06以下
ブロモジクロロメタン	163.83	90.1	2.006	0.03以下
ジブロモクロロメタン	208.29	120	2.26	0.1以下
プロモホルム	252.75	149.6	2.902	0.09以下
総トリハロメタン				0.1以下

塩素and/or臭素が反応し生成する。なお、臭素の方が塩素より反応性が高いといわれている。

前駆物質には、フミン質、藻類の細胞外生成物、細胞の分解産物などの自然由来のもの、下水、し尿、工場排水、生活排水などの人為的な汚染物由来のものがある。

トリハロメタン生成反応に及ぼす因子には、反応温度、pH、反応時間、塩素添加量などがある。そこで、次にこれらの反応因子について検討した。

3・2 残留塩素濃度とトリハロメタン生成能

公定法では、遊離残留塩素が1~2 mg/lの試料水についてトリハロメタンを測定することになっている。そこで、残留塩素濃度がトリハロメタン生成能に及ぼす影響をみるため、残留塩素濃度を変化させてトリハロメタンの生成能を測定した。結果を図1に示す。

残留塩素濃度が高くなるにつれて、総トリハロメタン濃度が高くなる傾向にあるが、残留塩素0.8~2.0ではほぼ同じであった。

物質毎にみると図1のとおり残留塩素が増加するに従ってクロロホルムは増加し、ジブロモクロロメタンは減少する傾向がみられた。

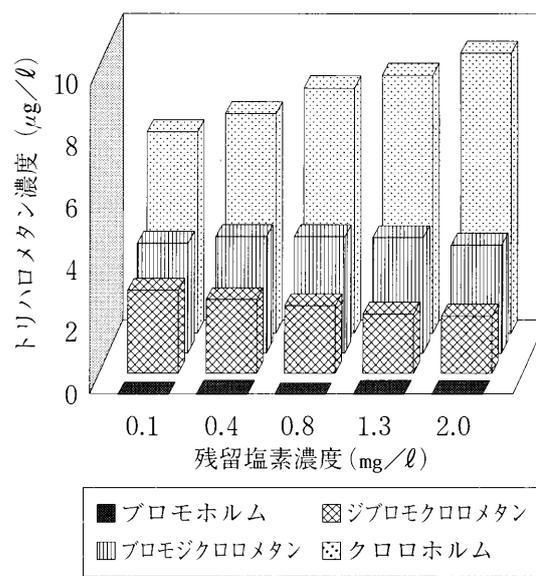


図1 トリハロメタン生成量に対する残留塩素の影響

3・3 pH調整の影響

調査地点の内、「堤川の下湯ダム下」は温泉湧水の影響を受けてpHが3~4の酸性水である。

そこで、トリハロメタン生成能測定における液性の影響をみるために、下湯ダム下について、pHを調整したものとしないものについて比較した。その結果、表3のとおり、酸性ではトリハロメタン生成量が極端に少ない結果が得られ、酸性では反応性が極めて低かった。

このように、pHの影響は大きいので、pH調整が重要である。

3・4 ヘッドスペース測定操作中におけるTHM生成

今回、トリハロメタンの測定にHSオートサンプラーを用いた。

このHSオートサンプラー固有の操作として、試料水にNaClを添加し、60度で30分間加熱する工程がある。

この分析工程が、トリハロメタン測定にどのような影響を与えるのかを検討した。

試料水にアスコルビン酸を添加しない時と添加した時を比較すると表4のとおりであった。アスコルビン酸を添加せず、残留塩素を消去しないで測定を行うと、この工程でプロモホルム、ジプロモクロロメタンが生成した。クロロホルム、プロモジクロロメタン濃度はほとんど同じであった。

残留塩素の影響により、Brの数が多き化合物の順、すなわち、プロモホルム、ジプロモクロロメタン、プロモジクロロメタン、クロロホルムの順に生成濃度が高くなった。

表3 トリハロメタン生成能に及ぼすpH調整の影響
(測定地点：下湯ダム下、単位： $\mu\text{g}/\ell$)

物質名	pH調整有	pH調整無
クロロホルム	50	0.3
プロモジクロロメタン	2.6	0.5
ジプロモクロロメタン	0.9	0.5
プロモホルム	<0.2	<0.2
総トリハロメタン生成量	53.5	1.3

表4 トリハロメタン生成能に及ぼす残留塩素の影響
(アスコルビン酸添加時濃度/無添加時濃度) (n=27)

物質名	平均	標準偏差
クロロホルム	0.88	0.10
プロモジクロロメタン	0.72	0.16
ジプロモクロロメタン	0.38	0.24
プロモホルム	0.08	0.15

従って、HSオートサンプラー固有の分析工程において経時的にトリハロメタンが生成するので、残留塩素1mgにつきL(+)アスコルビン酸を10~20mg添加し残留塩素を完全に消去する必要がある。

一方、トリハロメタンの測定に溶媒抽出法を用いると、加熱操作を行うことなく、測定対象物質をヘキサン層に抽出してしまうため、分析工程で経時的にトリハロメタンが生成することはない。

3・5 トリハロメタン生成能の予測

3・1の前駆物質で述べたように、トリハロメタンの生成には水中の有機物含量と密接な関係がある。

この有機物は多数の種類物質から成り立っていることから、それぞれの前駆物質を一つ一つ直接測定することは困難である。

そこで、フミン質等の生物難分解性の有機物含量の指標としてよく用いられている260nmにおける吸光度(UV_{260})からTHMFPの予測を試みた。

図2に示すように、有意な相関関係がみられた。ただし、THMFPは未濾過液、一方、 UV_{260} は濾過液の測定値であり、THMFPはSS分の影響を受けることによりある程度ばらついているものと考えられる。

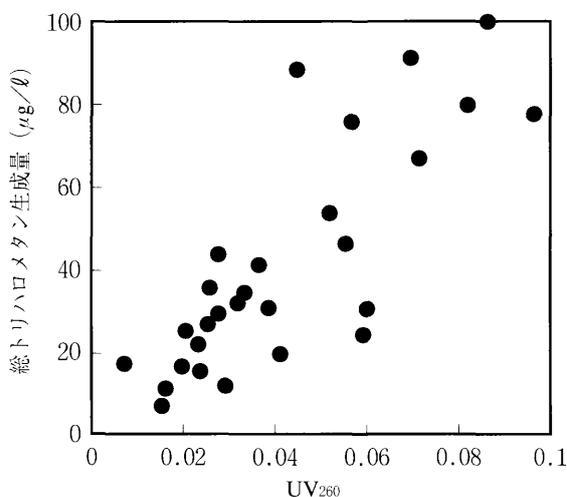


図2 UV_{260} と総トリハロメタン生成量の関係

3・6 塩素添加量の推定

公定法では、遊離残留塩素が1~2mg/ℓの試料水のTHMFPを測定することとなっている。

塩素を消費するものには、還元性無機物(亜硝酸性窒素、第一鉄イオン)、アンモニア性窒素、アミノ酸、有機窒素化合物、その他の有機物がある。特に、アンモニアを含む時には塩素消費量のパターンに不連続点があるので、遊離残留塩素が結合残留塩素より多いことを確認する必要がある。

予備試験において残留塩素添加量を推定するものの、この塩素添加量の推定が、煩雑な操作となっている。そこで、添加量の目安となる指標を検討した。

まず、「NaClO添加予備試験における1時間後の残留塩素から推定したもの」(1時間推定値)と「NaClO添加本試験において選択された遊離残留塩素1~2mg/ℓに対応する試料水」(24時間値)の比較を行った。図3に頻度分布を示す。

これより、塩素消費量に不連続点のない場合は、本試験におけるNaClO添加量は「1時間値+1.0ml」までで十分であることが分かった。

次に、UV₂₆₀から塩素添加量の推定ができないか検討した。

UV₂₆₀と本試験における添加量の関係のみたところ、図4に示すような関係がみられ、ある程度の目安になるものと思われる。

3・7 事業場放流水が流入する河川水のTHM

公定法では、はじめから試料水に含まれているトリハロメタン類もTHMFPに含めることとされている。

一般に公共用水域においては、試料水中にトリハロメタンの含まれていることはあまり見受けられなかったが、塩素滅菌を行っている工場・事業場の排水が放流されている地点では留意する必要がある。

そこで、尿尿処理場排水及び放流地点直下の河川水を測定した。その結果、放流水及び放流地点直下の公共用水域からトリハロメタンが検出された。例を表5に示す。

従って、採水びんには密封容器を用いる必要があった。

表5 事業場排水及び排水流入河川中のトリハロメタン濃度

物質名	T排水 T河川 N排水 N河川			
	(単位:μg/l)			
クロロホルム	33	3.8	8.3	0.2
プロモジクロロメタン	7.6	0.9	2.7	<0.2
ジプロモクロロメタン	1.1	<0.2	0.4	<0.2
プロモホルム	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
トリハロメタン合計量	41.7	4.7	11.4	0.2

(注 T排水: T尿尿処理場排水
T河川: T尿尿処理場排水流入河川)

3・8 トリハロメタンの揮散

トリハロメタンは揮散しやすい物質であることから、容器移し替え操作による揮散の程度を検討した。

その結果、NaClO添加本試験において選択された試料について、室温で容器移し替えを行った後測定したところ、表6に示すとおり、各トリハロメタン濃度は約10~20%減少した。

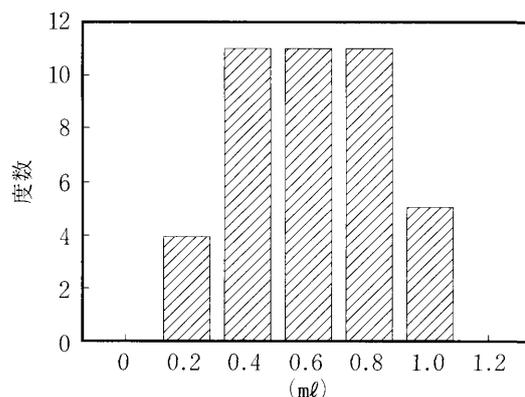
成分ごとにみると沸点が61度とTHMの中で一番低いクロロホルムが最も揮散しやすかった。

従って、揮散防止に十分留意する必要がある。

3・9 室内、試薬からのコンタミ

当所の建物内でクロロホルムを用いる分析作業等があり、pH調整等に手間取っていると室内でクロロホルム等のコンタミを受ける可能性がある。

そこで、試料水の性状に応じ、中性領域の試料水の



本試験と予備試験の添加NaClOの差

図3 塩素添加量の推定

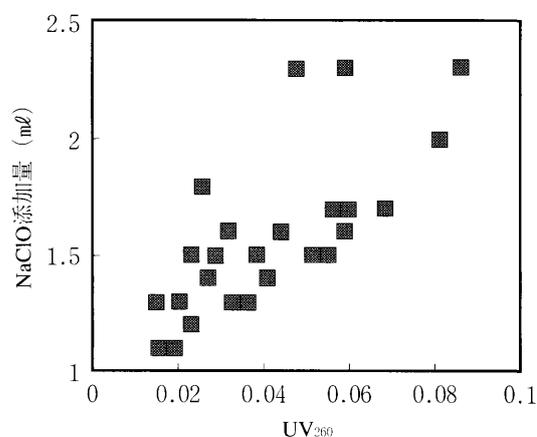


図4 UV₂₆₀とNaClO添加量

表6 トリハロメタンの揮散

(n=10)

物質名	容器移し替え後の濃度比
クロロホルム	0.81
プロモジクロロメタン	0.85
ジプロモクロロメタン	0.92
プロモホルム	0.91

pH調整には緩衝液の添加のみの操作とする等の作業迅速化の配慮が必要である。

また、試薬や水からのコンタミにも注意する必要がある。NaClO 2 mgCl/mlの総トリハロメタン含量を測定したところ30μg/lという事例もあった。

3・10 総トリハロメタン濃度及び組成比

水道水源法においては、指定地域制をとっており、本県では地域指定はされていないのでTHMFPの評価はできないが、参考として表1の水道水質基準と比較すると、測定地点における総トリハロメタン生成量の平均値は約

40 $\mu\text{g}/\ell$ であり、100 $\mu\text{g}/\ell$ を超えた検体はなかった。⁶⁻⁷⁾ 度数分布を図5に示す。

トリハロメタンを物質毎にみると、図6に示すように、濃度の高い順はクロロホルム、プロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、プロモホルムであり、その濃度比は約6：3：1：0であった。

水道水質基準と比較してみるとクロロホルムが水道水質基準を超えている検体もあった。

物質間の相関関係をみるため、相関係数行列を求めたところ表7のとおりであった。Brの入った化合物間で高い相関関係がみられた。

なお、海水の混入する感潮河口部の河川水（青森市、赤川）で測定したところ、クロロホルム、プロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、プロモホルムの比率は、4：3：1.5：1.5とBrの数の多い化合物の比率が高くなっていた。

表7 トリハロメタン間の相関係数行列

物質名	CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂
プロモジクロロメタン	0.488		
ジブロモクロロメタン	0.085	0.818	
プロモホルム	0.002	0.567	0.897

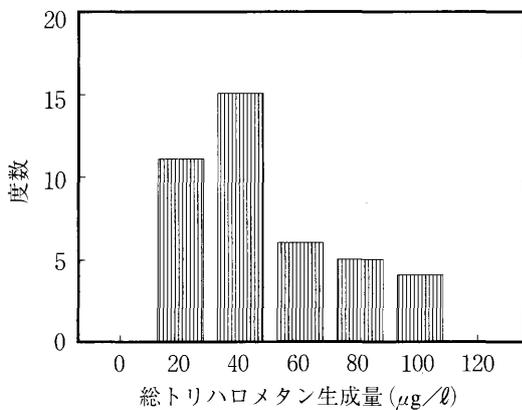


図5 総トリハロメタン生成量の度数分布

3・11 測定地点ごとのTHMFPの特徴

これまで、トリハロメタン生成条件について検討してきたが、次に測定地点ごとのTHMFPの特徴を考察した。

総トリハロメタン生成量の最も高い地点は小戸六ダム、次いで鍋倉の順であり、一般にダム湖において濃度が高い傾向にあった。これはダム湖ではフミン質が多いことと関連があると考えられる。ただし「下湯下」はダム湖であるが酸性水という特殊な条件にあるので、総ト

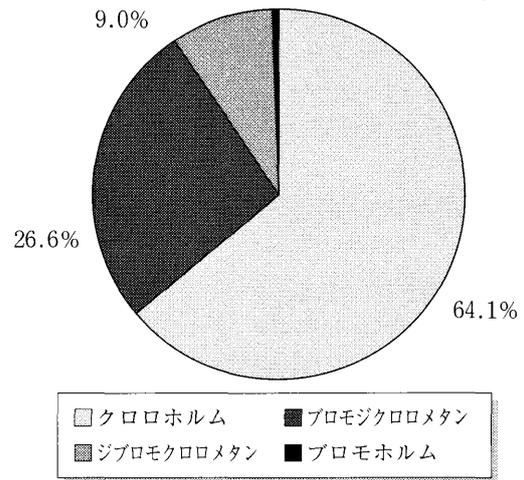


図6 総トリハロメタン生成量の構成比

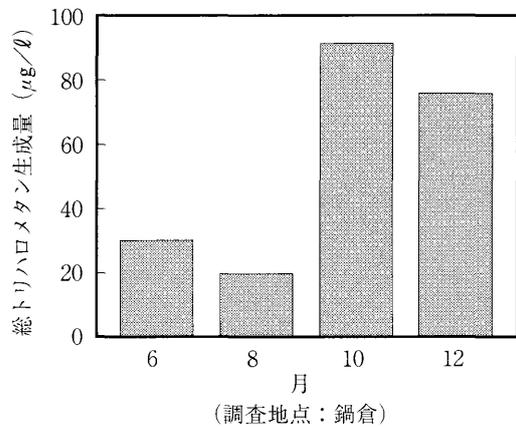


図7 総トリハロメタン生成量の季節変化

リハロメタン生成量は低かったと考えられる。

物質の組成でみると、新小戸六ではブrom化合物が他地点より多く検出されたのが特徴である。

3・12 トリハロメタン生成能の季節変化

トリハロメタン生成能を季節別にみると季節変化は認められなかった。秋、冬に濃度の高い例を図7に示す。

これは、トリハロメタン生成能には、河川の水温よりも前駆物質の種類や量の方が影響が大きいことを示しているものと思われる。

4. ま と め

(1) 残留塩素濃度とトリハロメタン生成能

残留塩素濃度が高くなるにつれて、総トリハロメタン量が高くなる傾向にあるが、残留塩素0.8～2.0 mg/ℓではほぼ同じであった。

物質毎にみると残留塩素が増加するに従ってクロロホルム生成量が増加した。

(2) pH調整の影響

酸性ではトリハロメタン生成量が極端に少なく、反応性が低くなることが確認された。

酸性の公共用水域の場合、pH調整に特に留意が必要である。

(3) ヘッドスペース測定操作中におけるTHM生成

HSオートサンプラー固有の分析工程でプロモホルム、ジブロモクロロメタンが生成した。クロロホルム、プロモジクロロメタンはほとんど同じであった。

Brの数が多き化合物ほど影響が大きい。残留塩素1mgにつきL(+)アスコルビン酸10~20mg添加することで妨害を除去できる。

(4) THMPFの予測

前駆物質を一つ一つ測定することは困難であることから、有機物含量の指標として260nmにおける吸光度(UV₂₆₀)を用いてTHMPFの予測を試みたところ、有意な相関関係がみられ、ある程度予測可能であった。

(5) 塩素添加量の推定

本試験におけるNaClO添加量は「予備試験(1時間時)添加量+1.0mℓ」までで十分であることが分かった。

また、UV₂₆₀と「本試験におけるNaClO添加量」の関係のみたところ、UV₂₆₀からNaClO添加量についてある程度の目安をつけることができた。

(6) 事業場放流水が流入する河川水のTHM

尿尿処理場排水及び放流地点直下の河川水を測定したところ、トリハロメタンが検出された。

従って、採水びんには密封容器を用いる必要がある。

(7) 総トリハロメタン生成量及び組成比

当所管内公共用水域の総トリハロメタン生成量の平均値は約40μg/ℓであり、100μg/ℓを超えた検体はな

かった。

トリハロメタンを物質毎にみみると濃度の高い順はクロロホルム、プロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、プロモホルムであり、その濃度比はおおよそ6:3:1:0であった。

(8) 測定地点ごとのTHMPFの特徴

一般にダム湖においてトリハロメタン生成量が高い傾向にあった。これはダム湖ではフミン質が高いことと関連があると考えられる。物質の組成で見ると、「新小戸六」地点はブロム化合物の検出されるのが特徴であった。

(9) トリハロメタン生成能の季節変化

トリハロメタン生成能に季節変化は認められなかった。トリハロメタン生成能には河川の水温よりも前駆物質の種類や量の影響が大きいことを示しているものと思われる。

文 献

- 1) トリハロメタン生成能に係る分析方法マニュアル、環境庁水質保全局水質規制課、平成8年3月。
- 2) 環境庁告示第30号、特定排水基準に係るトリハロメタン生成能の検定方法、平成7年6月。
- 3) 石塚伸一、等：ヘッドスペース/GC/MS法による水中揮発性有機化合物の一斉分析、青森県環境保健センター研究報告、6、71-78、1995。
- 4) 丹保憲仁編著、水道とトリハロメタン、技報堂出版、東京、1983。
- 5) 米国環境保護庁編、真柄泰基監訳、飲料水とトリハロメタン制御、公害対策技術同友会、東京、1985。
- 6) 青森県：公共用水域水質測定結果、平成7年度。
- 7) 青森県：公共用水域水質測定結果、平成8年度。

Abstract

MEASUREMENT AND ANALYSIS OF TRIHALOMETHANE FORMATION POTENTIAL IN PUBLIC WATER AREA

Shin-ichi ISHIZUKA¹

I examined a method for measuring trihalomethane formation potential and a method for estimating the formation thereof. Now, the results will be reported. When a head space autosampler containing chlorine remaining in sample water was used in the measurement of the trihalomethane formation potential, bromoform and dibromochloromethane were formed upon heating. Thus, it was necessary to add ascorbic acid to prevent the disturbance. The ultraviolet absorption at 260 nm serving as an indication of the organic matter content significantly correlated to the amount of trihalomethanes formed. The average total trihalomethane formation potential concentration in public water area was about $40\mu\text{g}/\ell$ and no sample showed a concentration exceeding $100\mu\text{g}/\ell$. In general, water in dam lakes showed high trihalomethane formation potential. This is seemingly because dam lake water contains much fomic substances. The trihalomethane formation potential showed no change from season to season. The trihalomethanes thus formed included, in the order of concentration, chloroform, bromodichloromethane, dibromochloromethane and bromoform at a concentration rate of about 6 : 3 : 1 : 0.

Key words : trihalomethane formation potential, ultraviolet absorption (260nm), precursor, chlorination, water pollution

¹ : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment.

II ノ ー ト

青森県におけるサルモネラ・エンテリティディスの疫学

野呂キョウ 大友 良光

Epidemiology on *Salmonella* Enteritidis in Aomori

青森県内で発生した(1987年5月から1995年10月)食中毒事件由来サルモネラ・エンテリティディス(以下SE)と医療機関の散発下痢症(1989年から1995年)SEについてファージ型別(PT)プラスミド保有状況, 薬剤感受性の各試験を行った。その結果, PTでは9種類の型が確認され食中毒菌株は事例毎にほぼ同一を示し, 4型, 1型, 34型などが多かった。プラスミドについては一事例の非保有株以外は, ほぼ同大のものを1つ保有していた。薬剤感受試験は, 1992年の食中毒菌株がSMとTCに耐性であった他はすべて8剤(SM, TC, KM, NA, CP, CER, GM, ABPC)に感受性であった。本県では他県に先がけて新しいPTが出現すること, また集団食中毒に先行して散発剤が見られることが判明した。

Key words : *Salmonella* Enteritidis, phage type, plasmid

はじめに

1987年, イングランドとウェールズで急増したサルモネラ・エンテリティディス(*Salmonella choleraesuis* subspecies *choleraesuis* serovar *Enteritidis*, 以下SE)による急性胃腸炎事例は瞬く間に世界中に拡大し, 日本でも1989年からSEの食中毒及び散発患者が増加し, 1992年にはSE食中毒が食中毒数の第一位となった。この原因食品の多くは鶏卵及びその加工品である。すなわち, SEは感染鶏の卵巣から卵黄内に, あるいは鶏ふん等の付着した卵殻から卵内に汚染し, 以後の不適切な取り扱いによりヒトに発病可能な菌数に増加する。本県でも1994年からSE食中毒数が急増している。そこで, 食中毒事件由来SEと医療機関の散発下痢症患者由来SEについて, サルモネラの疫学マーカーとして用いられるファージ型別, プラスミド保有状況, 薬剤感受性の各試験を行い, SE食中毒の疫学について考察したので報告する。

表1 食中毒由来 *Salmonella* Enteritidis 菌株の疫学マーカー試験成績

発生年月日	発生地	患者数	疫学マーカー試験成績					
			ファージ型		プラスミド		薬剤耐性	
			菌数	成績	菌数	成績	菌数	成績
1987.5.3	中里町	2	7	4	7	-	7	-
1992.4.21	八戸市	11	29	1,7a	29	+	29	SM・TC
1994.9.2	弘前市	15	41	13a	2	+	2	-
1994.9.18	十和田湖町	38	9	4	1	+	1	-
1994.9.18	東北町, 他	61	2	4	1	+	1	-
			計		40		40	
1995.8.4	弘前市	2	7	4				
1995.8.29	八戸市	2	5	1				
1995.9.3	浪岡町	3	5	5				
1995.9.4	鯉ヶ沢町	3	7	4				
1995.9.26	三沢市	45	6	4				
1995.10.2	木造町	17	7	4				
合 計			125					

方 法

1. 使用菌株

1) 食中毒由来菌株

1987年5月から1995年10月までに発生した11件の食中毒事件で著者らが分離・保存していた125菌株を使用した。食中毒起因菌の検索はすべて当センターで実施しているため, 使用菌株は本県のSE食中毒由来菌のすべてをカバーするものである(表1)。

2) 医療機関由来菌株

全国の地方衛生研究所と国立予防衛生研究所で実施し

ている「病原微生物検出情報業務」にご協力願っている県内の5医療機関をはじめ, 他の医療機関の細菌検査担当者のご厚意により恵与された散発下痢症患者由来の66菌株を使用した(表2)。

2. ファージ型別

食中毒由来SEのファージ型(PT)別検査は, 1992年6月の厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知に基づき国立予防衛生研究所で実施されているが, 今回は散発患者菌についても実施していただいた。

表2 散発下痢症患者由来 *Salmonella* Enteritidis 菌株の
ファージ型別成績

分離年	菌数			ファージ型別菌数								
	弘前市	八戸市	青森市	4	1	34	5	9a	13a	8	7a	UT
1989	4	3	1	1		2						1
1990	7	7		2		3				1		1
1991	7	5	2	6				1				
1992	18	6	10	2	9	6	1		1			1
1993	6	4	2	1	5							
1994	7	7		2	2				2			1
1995	17	12		8	3		6					
合計	66	44		29	16	6	6	2	2	1	1	3

3. プラスミド検出

使用菌株のうち食中毒菌40株と散発患者菌40株についてミニプレップ法¹⁾に準じて実施した(表1, 2)。

4. 薬剤感受性

プラスミド検出に供した菌株について、NCCLS規格に準拠した濃度ディスク法(日水, 昭和ディスク)で測定した。使用培地は感受性測定ブイヨン及び感性ディスク用培地-N(ともに栄研), 使用薬剤はストレプトマイシン(SM), テトラサイクリン(TC), カナマイシン(KM), ナリジクス酸(NA), クロラムフェニコール(CP), セファロリジン(CER), ゲンタマイシン(GM), アミノベンジルペニシリン(ABPC)の8剤であった。

結 果

1. ファージ型別

9種類のファージ型(1, 4, 5, 7a, 8, 9a, 13a, 34, UT)が確認された(表1, 2)。食中毒菌株は事例毎にほぼ同一型を示したが, 1992年の八戸市事例では鶏卵からヒト由来と同様なPT1, 他にPT7aも同時に確認された。散発患者菌株は全国的なファージ型の出現状況²⁾と酷似し, PT4, PT34, PT8は1989年から1990年の早い時期に出現した。また, 本県の食中毒では1992年八戸市³⁾でのPT1, 1994年弘前市でのPT13a⁴⁾, さらに1995年浪岡町でのPT5など全国に先駆けて新しいファージ型が出現する傾向が見られた。

2. プラスミドの保有状況

食中毒菌株のうち1987年のものはプラスミドを保有しなかったが, 他はすべてほぼ同じ大きさの一つのプラスミドを有した。散発患者菌株は半数が食中毒菌株と同様なプラスミドを有した。

3. 薬剤感受性

1992年の食中毒菌株がSTとTCに耐性であった他はすべて感受性であった。

ま と め

サルモネラ感染症の疫学調査手段として分離菌の生物型別, ファージ型別, 薬剤感受性試験, そしてプラスミドプロファイルが用いられ大きな役割を果たしている。今回行ったSEの調査ではファージ型別が最も有益な情報をもたらした。現在SEは14種のファージで47の型に細分され, イギリスでは約80%がPT4, アメリカ合衆国ではPT8と13a, 東欧ではPT1が主流で²⁾, わが国ではPT4に代わってPT1が主役となりつつある。SEの鶏卵汚染は, 種鶏の時にすでに感染していた鶏の卵巣汚染に起因していると言われている。わが国では種鶏を年間100万羽ほど海外から輸入していることから, SEのファージ型の種類は種鶏の輸入先とその輸入量を反映していると言える。本県のSEのファージ型は, 種類と出現時期は年単位で見れば国内の状況と変わらないが, 全国に先駆けて新しくバラエティーに富むものが出現している。これは本県が全国有数の養鶏場を有するためと考えられる。したがって, 本県は常にSE汚染の危険性にさらされていると言える。

国内のSE汚染鶏卵の頻度は5千~1万個に1個と言われている。しかし, 本県では1992年の八戸市³⁾例と1995年浪岡町事例で関連鶏卵約100~200個に1個の割合でSE汚染が確認され, しかもこれらの卵殻の多くにヒビがみられたことは誠に憂慮すべきことと思われる。このような鶏卵がなぜ流通したのか, その原因について徹底した調査が必要である。

文 献

- 1) 宇佐美美穂子, 山尾一針, 谷和花子, 丸山敬: 大腸菌のプラスミドの簡便な調整法—ミニプレップ—生化学, 63, 1349-1351, 1991.
- 2) 中村明子: *Salmonella* Enteritidisの疫学, モダンメディア, 40, 301-307, 1994.
- 3) 大友良光, 豊川安延: 青森県八戸市で発生した鶏卵が汚染源と見られる *Salmonella* Enteritidis食中毒, 病原微生物検出情報, 13, 246-247, 1993.
- 4) 大友良光, 野呂キョウ, 佐藤真理子, 伊藤とし子, 深尾隆史: わが国初の *Salmonella* Enteritidis ファージ型13a菌による集団食中毒, 病原微生物検出情報, 116, 3, 1993.

Ⅲ 他誌投稿抄録

他誌投稿抄録

鶏卵が汚染源と見られる *Salmonella* Enteritidis 大規模集団食中毒 大友良光, 野呂キョウ, 三上稔之, 佐藤孝, 木村将人¹, 三橋一史¹, 磯島 隆¹: 病原微生物検出情報月報, 17, 5, 8-9, 1996.

1996年2月11日, 青森市内のホテルの結婚披露宴で「伊勢えびの黄味焼」を摂食した753名中427名が下痢, 腹痛, 発熱等の食中毒症状を呈した。当該食品および発病者便からフェージ型4の*Salmonella* Enteritidisが分離された。当該残置食品3検体中の菌量はそれぞれ1g当たり 3.0×10^3 , 4.0×10^3 , 1.2×10^3 であった。また, 使用した同一ロットの残置鶏卵138個中1個から同菌が分離された。

1: 青森保健所

鶏卵調理食品による *Salmonella* Enteritidis 集団食中毒 大友良光, 野呂キョウ, 三上稔之, 佐藤 孝, 竹内正子¹, 原田邦弘¹: 病原微生物検出情報月報, 17, 7, 9-10, 1996.

1996年4月16日, 上北郡野辺地町内の旅館での宴会に出席した115名中63名が下痢, 腹痛, 発熱等の食中毒症状を呈した。発病者便並びに関連食品中「エビのパン焼き」のパン部位と「ホタテ黄味焼き」の黄味部位から多数のフェージ型4の*Salmonella* Enteritidisが分離された。また, 使用した同一ロットの残置鶏卵114個中3個から同菌が分離された。その菌数は3個とも50未満であった。

1: 八戸保健所

IV 学会等発表抄録

学会等発表抄録

湧き水飲用による *Yersinia enterocolitica* O3 菌の集団感染 大友良光, 野呂キョウ, 三上稔之, 豊川精三¹: 第13回エルシニアの生態学研究会, 東京都, 1996, 10, 19.

1994年7月17日, 上北郡野辺地町で, 湧き水を直接あるいは麦茶として飲用した小中学生121名中52名が腹痛, 下痢, 発熱, 嘔吐等の食中毒症状を呈し, 発病者, 2名から *Yersinia enterocolitica* O3 菌が分離された。患者8名について血清抗体価を調査したが上昇は認められなかった。また, 免疫学的には湧き水が原因とされたが湧き水からは当該菌は分離されなかった。

1: 十和田保健所

腸炎エルシニア血清型O8菌によるヒト感染症の発生状況 大友良光, 野呂キョウ: 第31回青森県環境保健部職員研究発表会, 青森市, 1997, 1, 31.

1995年まで49名の腸炎エルシニア血清型O8菌感染症者を確認した。発生のピークは7月で, 同一家族内感染の2名を除き47名は散発例であった。発生はこれまで津軽地域に限られていたが, 近年, 六ヶ所村, 秋田県などでも見られる。患者の性差は無く, 15才以下が44名と多く, 主な症状は発熱, 腹痛であった。他に虫垂摘出等の外科治療3名, 臀部皮膚潰瘍1名あったが, すべて抗生物質治療がなされ死者は確認されていない。

Echovirus9感染で誘導されるアポトーシス細胞の *in situ* 検出 三上稔之, 佐藤 孝, 佐藤允武, 畑山一郎: 第37回日本臨床ウイルス学会, 宮崎市, 1996, 5, 16-17.

TUNEL法はechovirus 9 (E9) 感染に伴い早期に誘導される微量のアポトーシス細胞の定量的評価に有用であることから, 細胞内酸化をもたらずbuthionine sulfoximine (BSO) のE9誘導アポトーシスに対する有効抑制濃度に関して検討した。その結果, E9のGMK細胞への感染48時間後に検出されるアポトーシス細胞は20%である一方, 100 μ MBSO処理により2%と激減した。また, BSOのアポトーシス抑制の経時的観察から, 感染24時間後には抑制効果が認められ, 感染40および48時間後にはその効果は顕著になった。さらに, E9誘導アポトーシスの抑制に関するBSOの濃度依存実験から, BSOは100 μ Mで完全な抑制効果を持つことが判明した。これらの結果は, BSOによる細胞内酸化はE9増殖の初期の段階に影響を与えていることを示唆する。

Echovirus 9 (E9) 誘導アポトーシスの細胞内酸化による抑制: *in situ* 検出による検討 三上稔之, 佐藤 孝, 佐藤允武, 畑山一郎: 第50回日本細菌学会東北支部総会, 盛岡市, 1996, 8, 29-30.

(要旨省略: 本誌学会発表抄録「Echovirus9感染で誘導されるアポトーシス細胞の *in situ* 検出」参照)

Echovirus 9 (E9) 誘導アポトーシスの *in situ* 検出と細胞内酸化による抑制 三上稔之, 佐藤 孝, 佐藤允武, 畑山一郎: 平成8年度青森県環境保健部職員研究発表会(31集), 青森市, 1997, 1, 31.

(要旨省略: 本誌学会発表抄録「Echovirus9感染で誘導されるアポトーシス細胞の *in situ* 検出」参照)

エコーウイルス9誘導アポトーシスのレドックス制御— *in situ* における検討— 三上稔之, 佐藤 孝, 佐藤允武, 畑山一郎: 第125回弘前医学例会, 弘前市, 1997, 2, 14.

(要旨省略: 本誌学会発表抄録「Echovirus9感染で誘導されるアポトーシス細胞の *in situ* 検出」参照)

井戸水から分離されたD群赤痢菌(ゾネ菌)の諸性状に関する研究 野呂キョウ, 大友良光, 佐藤 孝, 長利徳興, 新岡顕尚, 畑山一郎: 青森県環境保健部職員研究発表会 青森市, 1997, 1, 31.

平成8年4月, 弘前市内でD群赤痢菌(ゾネ菌)による1名の赤痢患者が発生し患者が使用していた井戸水から分離された井戸水由来菌と患者便由来菌について諸性状を比較し, また, 井戸水における当該菌の生残性試験を行った。その結果, 生物化学的性状は共に一致し, 血清学的にも *Shigella sonnei* 1相と同定され, 薬剤感受性試験は, SMとTCに耐性であった他はすべて感受性であった。また2種類の共通したプラスミドを保有し, PCR法による侵入性遺伝子 (*invE*) も両方保有していた。4 $^{\circ}$ C, 20 $^{\circ}$ Cにおける井戸水由来菌の生残性試験は, 保存2ヶ月までは変動が見られなかったが, 3, 4ヶ月と経過するにつれて20 $^{\circ}$ Cでは1オーダー4 $^{\circ}$ Cでは2ヶ月で1オーダー, 6ヶ月で21オーダーと減少した。

青森県におけるサルモネラ・エンテリティディスの疫学 野呂キョウ, 大友良光: 第16回青森県感染症研究会, 弘前市, 1996, 7, 20.

近年, サルモネラ・エンテリティディス (以下SE)

が食中毒の原因菌として注目を集めている。本県でも1994年からSE食中毒数が急増している。そこで食中毒事件由来SEと医療機関の散発下痢症患者由来SEについてファージ型別（PT）、プラスミド保有状況、薬剤感受性の各試験を行った。その結果、PTでは9種類の型が確認され食中毒菌株は事例毎にほぼ同一を示し、4型、1型、34型などが多かった。プラスミドについては一事例の非保有株以外は、ほぼ同大のものを1つ保有していた。薬剤感受性試験は、1992年の食中毒菌株がSMとTCに耐性であった他はすべて8剤（SM、TC、KM、NA、CP、CER、GM、ABPC）に感受性であった。今回の調査で本県では他県に先がけて新しいPTが出現すること、また集団食中毒に先行して散発例が見られることが判明した。

サルモネラ食中毒関連鶏卵のサルモネラ汚染状況 野呂キョウ、大友良光、三上稔之、佐藤 孝、佐藤允武：第50回日本細菌学会東北支部総会，盛岡市，1996，8，29。

近年、鶏卵が汚染源と見られるサルモネラ食中毒が増加しているため食中毒発生時に関連鶏卵を採取して、当該菌の汚染実態調査を行った。1992年4月から、1996年4月に青森県内で発生したサルモネラ食中毒5事例について合計706個の鶏卵を採取し、検査を行った。その結果、汚染率は1.4～5.2%と高率であったが、汚染菌数は低いものと思われた。5事例とも原因菌と同一の血清型、PT菌が分離された。割卵後、そのまま37℃で24時間放置でも良好な検出数を示した。汚染鶏卵農場は多岐にわたり汚染の広域化と定着化が危惧された。

青森県における神経芽細胞腫マス・スクリーニングについて 石川和子、下山純子、金田量子、佐藤允武：平成8年度青森県環境保健部職員研究発表会，青森市，1997，1，31。

青森県での過去5年間の神経芽細胞腫マス・スクリーニングの受検者数は64,951人で、11人が神経芽細胞腫と診断された。また、青森県小児慢性特定疾患に認定されている事例で、マス・スクリーニング以外で発見された神経芽細胞腫患児は、7名であった。

本県における先天性代謝異常検査等の成績について 下山純子、石川和子、金田量子、野呂キョウ、佐藤允武：平成8年度青森県環境保健部職員研究発表会，青森市，1997，1，31。

青森県における新生児マス・スクリーニング事業は、先天性代謝異常症等を早期発見、早期治療し、障害の発現を防止することを目的として、昭和53年7月から開始されている。

事業開始から平成8年3月までの約18年間の検査成績についてまとめた結果、受検者数331,367名のうち、262名が要精密検査と判定され、医療機関における精密検査によりヒスチジン血症、ガラクトース血症、クレチン症、先天性副腎過形成症等が発見された。

しかし、精密検査対象者の中には診断結果が不明な例もあることから、本県の追跡調査体制の確立ならびにスクリーニング委員会の設置が早急に望まれる。

HIV-1 および2のPolymerase Chain Reaction法による遺伝子検出 佐藤 孝、三上稔之、佐藤允武、畑山一郎：第16回青森県感染症研究会，弘前市，1996，7，20。

HIV-2のLTR、env、pol領域に対するprimerを用いて検出用DNAを鋳型としたHIV-2のnested PCRによる迅速検出について検討した。各々のprimerは、HIV-1とは結合せずHIV-2 DNAを特異的に増幅させた。また増幅DNA断片は、理論値と一致し各々374bp、510bp、337bpであった。特にpol領域のPCRでは1コピーのDNAが検出可能であった。さらにdigoxigenin (DIG) 標識したpolのPCR産物をプローブとしたsouthern hybridizationにより検出感度はさらに増大したことから、両方の併用はHIV-2の検出に加えてHIV-1とHIV-2の鑑別に有効であることが判明した。

魚介類中の有機スズ化合物の分析法—アルキル化について— 葛西正毅、高橋政教：青森県環境保健部職員研究発表会，青森市，1997，1，31。

公定法（平成6年2月25日付衛乳第20号）では、有機スズ化合物の標準溶液はエタノールで作成し、使用時にn-ヘキサンに希釈することになっている。当所では使用時希釈をエタノールで作成した標準溶液をガスクロマトグラフで測定したところ、標準ピークが検出されない例が認められた。そこで溶媒をn-ヘキサン及びジエチルエーテルに変えたところ良好な成績が得られた。そこで、グリニア反応によるアルキル化について検討した結果、エタノール溶液ではアルキル化反応が十分行われていないことが示唆された。

GPCクリーンアップ法を用いた食品中の残留農薬分析

法の検討(2) 古川章子, 高橋政教: 青森県環境保健部職員発表会, 青森市, 1997, 1, 31.

農産物中の多成分農薬一斉分析のためにはGPCクリーンアップ法が有用であることを前回報告した。今回はその分析方法の中の液・液分配抽出法をケムエルトカラム抽出法に変え, より迅速で簡易な前処理法について検討した。その結果, 操作の短縮化, 有機溶媒の少量化, 使用するガラス器具の削減化, 分析時間の短縮化など分析法の簡略化が可能になった。この方法をリング, 玄米, 長いも及びホタテガイに適用し, 67農薬(有機塩素系, 有機リン系, 含窒素系, ピレスロイド系)について添加回収試験を行った結果, 59農薬については多成分スクリーニング法として日常分析に充分適用出来るものと考えられた。

水道水源における農薬の検出状況 村上淳子, 今井美代子, 野村真美, 平出博昭: 第35回日本薬学会東北支部大会, 仙台市, 1996, 10, 20.

主要河川を水道水源としている6水系12地点の浄水場の原水及び浄水について, 平成3年度から7年度にかけてのべ21回農薬(殺虫剤, 殺菌剤, 除草剤)の検出状況を調査した。その結果, 水質基準に定められているチウラム, シマジンはすべて不検出であった。ベンチオカーブは原水では最大0.003mg/l検出されたが, 浄水では基準値0.02mg/lに対し, 最大で0.0006mg/l検出されただけであった。また, 平成6年度から使用禁止になったCNPも検出されなかった。

Phenobarbitalによるマウス肝c-Junの誘導 三浦啓徳, 広内康彦¹, 榎本 眞¹, 佐藤公彦², 土田成紀², 畑山一郎: 第55回日本癌学会総会, 横浜市, 1996, 10, 10-12.

Phenobarbital (PB) のB6C3F1マウスへの短期投与により, 中心静脈周囲の肝細胞に前癌病巣と同程度の強さでc-Junが誘導された。このことは, PBを用いたマウス肝化学発癌系ではc-Junは前癌病巣のマーカーとならないことを示す。

- 1: 食品農医薬品安全性評価センター
- 2: 弘前大学医学部第2生化学

Phenobarbitalの短期投与によるマウス肝c-Junの発現 三浦啓徳, 高橋政教, 畑山一郎: 青森県環境保健部職員発表会, 青森市, 1997, 1, 31.

(要旨省略: 本誌学会発表抄録「Phenobarbitalによるマウス肝c-Junの誘導」参照)

Phenobarbital及びPCBによるマウス肝c-Jun誘導の免疫組織化学 三浦啓徳, 佐藤公彦¹, 土田成紀¹, 畑山一郎: 第125回弘前医学会総会, 弘前市, 1997, 2, 14.

(要旨省略: 本誌学会発表抄録「Phenobarbitalによるマウス肝c-Junの誘導」参照)

- 1: 弘前大学医学部第2生化学

食品中の保存料の前処理法の検討 木村淳子, 高橋政教: 青森県環境保健部職員研究発表会, 青森市, 平成9, 1, 31.

食品中の保存料分析の前処理法として, 公定法においては水蒸気蒸留法が用いられている。水蒸気蒸留法は検体処理に長時間を要し, 使用器具も多い等欠点がある。従来より甘味料分析の前処理に用いられている透析による方法が簡便でしかも一度に多数の検体処理ができるため, 保存料(ソルビン酸, 安息香酸, デヒドロ酢酸)について検討を行った結果, 84%~94%と高い回収率が得られた。

さらに高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により甘味料(サッカリンナトリウム)及び保存料の同時分析法の検討を行った結果, 各成分の相互分離が良く15分以内に全て溶出した。

従ってサッカリンナトリウム, ソルビン酸, 安息香酸, デヒドロ酢酸について透析法による前処理を行った後, 高速液体クロマトグラフィーで同時分析を行なうことにより日常分析に充分適用可能である。

青森県における酸性降水物の特徴 早狩進, 松尾章, 村野健太郎¹: 第37回大気環境学会, 堺市, 1996, 9, 24.

青森県内で週単位のバルク捕集を継続している都市部, 太平洋側, 日本海側, 山岳地帯の4地点の1991~1994年度間の降水データを元に解析したものであるNO₃⁻/nssSO₄²⁻比の季節変化を調べ, 降水量とpHの関係, 降水量と非海塩総沈着量の関係について夏季と冬季を比較した結果, 夏季には地域汚染の影響によって地域差がみられ, 冬季には大陸からの影響が4局全体に及んでいることを示していた。

- 1: 国立環境研究所

全国酸性雨調査(25) —酸性雨ダイアグラムによるイオン組成の特徴— 早狩進: 第37回大気環境学会, 堺市, 1996, 9, 24

全国公害研協議会酸性雨調査研究部会の部会員とし

て、全国公害研協議会による第2次全国酸性雨調査の平成7年度結果について解析を分担したものである。トリリニア・ダイアグラムを元に考案した酸性雨ダイアグラムを用いて解析した結果、陰イオン組成の中では、冬季に nss-Cl^- の比率が0~60%までの広がりを持ち、冬季の融雪剤の影響が考えられること、陽イオンの中では、夏季には NH_4^+ が、冬季には nss-Ca^{2+} が H^+ イオンの中和に寄与していることを明らかにした。

青森県における事業場排水中の窒素・リンについて
工藤 健：北海道・東北ブロック公害研研究連絡会議、郡山市、1996、10、24~25。

平成5年4月から平成8年6月にかけて、県内の特定事業場の排水463検体（283事業場）について、窒素及びリンの濃度を調査した。その結果、窒素濃度は全平均値 $17\text{mg}/\ell$ で、し尿処理施設及び水産食料品製造業が高く、リン濃度は全平均値 $6.3\text{mg}/\ell$ で、水産食料品製造業が高くなっている。また、負荷量は、下水道終末処理施設の窒素が突出して高く、リンについては下水道終末処理施設、し尿処理施設及び水産食料品製造業の3業種が高く、特に水産食料品製造業が注目される。

宇曾利山湖（恐山湖）の水環境 三上 一：日本陸水学会第61回札幌大会講演要旨集、p.61（1996）

pH3.4~3.8の強酸性湖である宇曾利山湖（恐山湖）における水環境について調査した。その結果、水温の鉛直分布は、春季には水深10m前後で水温躍層の形成とDOの低下が認められるが、秋季は水温、DOともに表層から下層まではほぼ同じで、両者には季節遷移が認められた。栄養塩類である窒素・リンの鉛直分布をみると、硝酸態窒素は秋季になるにつれて増加するが、6月の水深10m層では全リンは鉄、ヒ素とともに底泥から溶出が認められた。また、この層ではクロロフィル-aが植物プランクトン増殖が盛んに行われていることが示唆された。

陸奥湾における窒素・リンの実態調査 三上 一：第23回全国環境保全・公害防止研究発表会（1996年10月24~25日）

陸奥湾は「窒素、または、リンが海洋性植物プランクトンの著しい増殖のおそれのある海域」として指定されたことから、窒素・リンに係る環境基準類型指定のため、流入53河川、94事業場及び湾内における窒素・リンの実態調査を行った。その結果、青森市郊外の一部の河川では生活雑排水により、窒素・リンが著しく高い河川が認めら

れた。事業場のうち、一部の水産製品製造業ではリン濃度、負荷量ともに、大規模処理施設であるし尿処理施設、下水道終末処理施設では窒素・リンの負荷量が高いことから、これらの施設では窒素・リンの削減対策が望まれる。陸奥湾の窒素・リンをみると、湾中央部では両者ともに低いが、一部の港湾部では窒素・リンが高くなることから、これらの港湾部では窒素・リン削減対策が必要になるかもしれない。

十和田湖のプランクトン調査—その背景と調査結果の概要— 三上 一、高村典子¹、謝 平²、伯耆晶子³、石塚伸一、工藤 健、桶田幾代、大久保英樹：青森県環境保健部職員発表会（1997年1月30日）

十和田湖ではCODが1986（昭和61）年に環境基準を超えて以来、水質汚濁が改善されないでいる。このため、水質汚濁機構解明と水質保全のため、国立環境研究所と1995~97年の3ヶ年間、共同研究として実施している。

ここでは、およそ20年間にわたる水、動物プランクトン及び魚類の変遷と1995~96年度の調査結果について概観した。その結果、十和田湖では水質、動物プランクトン及び魚類の変化はほぼ同時期に起こっており、水質は植物プランクトン→動物プランクトン→魚類を巡る食物連鎖の影響を強く受けていることが示唆された。

- 1) 国立環境研究所
- 2) 中国科学院水生生物研究所
- 3) 奈良女子大学

地域環境を考える—宇曾利山湖（恐山湖）を例にして—
三上 一：平成8年度試験研究機関連絡協議会発表会 青森市 1997年2月25日。

pH3.4~3.8の強酸性湖である宇曾利山湖（恐山湖）における水質、底質及び生物を巡る物質循環、生態系について概観した。宇曾利山湖は数千年前からほぼ現在と同じ環境であったともいわれているが、底質中のヒ素、水銀は著しく高いにもかかわらず、ヒ素、水銀を高濃度に蓄積する蘇苔類が繁茂する等、独特の生態系が形成されている。水温の季節遷移に伴い、リン、ヒ素等の循環や植物プランクトン相にも季節遷移が認められた。植物プランクトン相は極めて貧弱であるが、条件が整えば富栄養化が起こる可能性があるため注意が必要である。

酸性湖沼の陸水学的調査研究（Ⅳ）—宇曾利山湖（恐山湖）の植物プランクトン— 三上 一：第31回日本水環境学会年会講演集、（1997年3月）

pH3.4~3.8の強酸性湖である宇曾利山湖（恐山湖）

における植物プランクトン調査及びAGP^M（混合培養）試験を実施した。その結果、出現した植物プランクトンは*Eunotia*属、*Cyclotella.sp*等の珪藻類が主で、春季には多く、夏季に少なくなり、秋季には再び多くなり、季節遷移が認められた。湖心での鉛直分布は水温躍層が形成される6月には水深が深くなるとともに、多くなった。AGP^M（混合培養）では燐、鉄を添加したとき、AGP^Mが多くなることから、燐、鉄が増殖の制限因子と考えられた。また、窒素、燐、鉄の同時添加ではAGP^Mが最も多くなることから、強酸性湖である宇曽利山湖は栄養条件を整えば、富栄養化の進行が懸念される。

津軽、下北地区の降下ばいじん経年変化について 野澤直史、坂本正昭¹、松尾 章：平成8年度青森県環境保健部職員研究発表会、青森市、1997、1、31

昭和61年度から平成7年度までの10年間のデボジットゲージ法による降下ばいじん調査結果をもとにpH、降下ばいじん量等の経年変化について検討した。

その結果、pHは津軽地区で下降しているが、下北地区は、ほぼ横ばいであった。また、pH、不溶解性成分にスパイクタイヤの減少に伴う影響がみられた。

1：環境政策課

Tritium concentrations of surface waters in Rokkasho-mura : K. Tonosaki, H. Kudoh, H. Kimura¹ : 6th international conference on low level measurements of actinides and longlived radionuclides in biological and environmental samples : Cherbourg (France), 1996, 9 - 13.

青森県六ヶ所村では日本原燃株により原子燃料サイクル施設の立地が進められている。施設周辺には、淡水湖である鷹架沼と汽水湖である尾駈沼の二つの異なったタイプの湖沼がある。この地域の河川水中トリチウム濃度は、1～2 BqL⁻¹であり、降水より高く、比較的トリチウムレベルの高い地下水の流入が考えられた。鷹架沼の湖沼水中トリチウム濃度は、0.6～1.5BqL⁻¹であり、降水より高く、表面水は流入する河川水とほぼ同じレベルであった。尾駈沼の湖沼水中トリチウム濃度は、採取時期や採取地点によらず、塩分と高い相関がみられたことから、降水の影響は小さく、河川水と海水の混合割合に大きく影響を受けているものと考えられた。

1：県原子力環境対策室

編集委員

石塚 伸一 石川 和子 大友 良光
小山田久美子 工藤 和利 工藤 透
今 武純 三上 一 安田 徳彦

青森県環境保健センター研究報告

(平成九年度)

平成10年2月発行

編集 〒030-0913 青森市東造道1-1-1
発行 TEL 0177-(36)5411
青森県環境保健センター
所長 内山日出夫
印刷 〒030-0003 青森市石江字三好120の20
(株)こがわ
TEL 0177-(66)2345(代)

(環境保護の為、再生紙を使用しています。)