

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.7 1996

青森県環境保健センター

は じ め に

平成7年度の研究報告をお届けいたします。

報文は10編で、その内訳は微生物部3編、理化学部2編、公害部3編、放射能部2編となっています。

報文の主なキーワードはapoptotic cell, mass screening, SRSV, residual pesticides, c-JUN, cis-1, 2-DCE, gamma-ray, tritium, acid precipitation, phytoplanktonなどであり、生体、検査・分析、疫学、地下水、湖沼、電算処理、放射線など多様な分野にわたるものでありますのでご一読を賜れば幸いに存じます。

当所も発足以来7年が経過しようとしていますが、関係各位のご支援のもと、平成8年度は食品検査に係る信頼性の確保を図るためのシステム並びに施設の整備に重点的に取り組むなど、総体として機能の向上が図られつつあります。

社会の高齢化、生態系の破壊という現代社会が抱える二つの大きな課題に対し、今後、疫学部門の整備、環境問題への社会的・経済的視点からの取組みの推進に努力していく所存でありますのでご指導、ご鞭撻を賜れば幸甚に存じます。

平成9年1月

青森県環境保健センター

所長 内 山 日出夫

目 次

I 報 文

細胞内酸化によるEchovirus 9誘導apoptosisの抑制

– apoptosis細胞の*in situ*検出 –

三上 稔之 佐藤 孝 佐藤 允武 畑山 一郎 1

青森県における新生児マス・スクリーニング18年間の成績

下山 純子 石川 和子 金田 量子 野呂キョウ 佐藤 允武 5

Echovirus 30の遺伝子導入によるウイルス増殖

佐藤 孝 三上 稔之 佐藤 允武 畑山 一郎 10

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 14

フェノバルビタールおよびポリ塩化ビフェニルによるマウス肝c-JUN誘導の免疫組織化学的検討

三浦 啓徳 高橋 政教 畑山 一郎 21

分解反応モデルを用いた水中有機塩素化合物の挙動解析

石塚 伸一 工藤 健 大久保英樹 25

積雪による大地からの γ 線のしゃへい効果

庄司 博光 奥野 直子 佐々木 守 野田 正志 33

六ヶ所村における陸水中トリチウム濃度調査(Ⅲ)

– 尾駸沼における季節変動について –

外崎久美子 工藤 英嗣 木村 秀樹 39

国設酸性雨測定所気象ロガーデータの活用について

早狩 進 松尾 章 43

小川原湖の植物プランクトン(第2報) – 調査地点ごとの出現状況 –

工藤 精一 小山田久美子 神 正志 柴田 幸伸 荒関 治
奈良 忠明 51

II ノ ー ト

下痢性貝毒検査における遊離脂肪酸の影響とその除去法の検討

堀内 諭 古川章子 高橋政教 59

III 他誌投稿抄録 63

IV 学会等発表抄録 65

CONTENTS

I Original Articles

Inhibition of Echovirus 9-Induced apoptosis by intracellular oxidation - Detection of apoptotic cells <i>in situ</i> - Toshiyuki MIKAMI, Takashi SATOH, Nobutake SATOH and Ichiro HATAYAMA	1
Achievement of neonatal mass-screening in Aomori prefecture in 18 Years Junko SHIMOYAMA, Kazuko ISHIKAWA, Ryoko KANEDA, Kyo NORO and Nobutake SATOH	5
Viral proliferation by Echovirus 30 gene transfer Takashi SATOH, Toshiyuki MIKAMI, Nobutake SATOH and Ichiro HATAYAMA	10
Discussion on the analysis of residual pesticides in foods by using GPC clean up method (2) Akiko KOGAWA and Masanori TAKAHASHI	14
Immunohistochemical detection of c-JUN in mouse livers treated with Phenobarbital and Polychlorinated biphenyl Hironori MIURA, Masanori TAKAHASHI and Ichiro HATAYAMA	21
Analysis on behaviors of chlorinated hydrocarbons in water by using degradation reaction model Shin-ichi ISHIZUKA, Ken KUDOH and Hideki OHKUBO	25
Shielding effect of snow cover on γ -ray from the earth Hiromitsu SHOJI, Naoko OKUNO, Mamoru SASAKI and Masashi NODA	33
Tritium concentrations of surface water in Rokkasho Village (III) Kumiko TONOSAKI, Hideshi KUDOH and Hideki KIMURA	39
Utilization of weather logger data of national acid precipitation station Susumu HAYAKARI and Akira MATSUO	43
Phytoplanktons in lake Ogawara (II) - Appearance in each test point - Seiichi KUDOH, Kumiko OYAMADA, Masashi JIN, Yukinobu SHIBATA, Osamu ARAZEKI and Tadaaki NARA	51

II Notes

Studies on the influence of free fatty acids on determination of diarrhetic shellfish
poison and the methods for eliminatoin

Satoshi HORIUCHI, Akiko KOGAWA and Masanori TAKAHASHI 59

III Summaries of Other Publications 63

IV Abstracts of Presentation in Society Meetings 65

I 報 文

細胞内酸化によるEchovirus9誘導apoptosisの抑制 — apoptosis細胞の *in situ* 検出 —

三上 稔之 佐藤 孝 佐藤 允武 畑山 一郎

TUNEL法はechovirus9 (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す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。

Key words : redox, echovirus 9, apoptotic cell, TUNEL method.

1. はじめに

細胞内の酸化還元 (レドックス) 状態の変化は、ウイルスの感染・増殖に大きな影響を与えることがHIVにおいて報告されている。ウイルスの感染機構や宿主の反応機構の解明はウイルス学的重要性のみならず、治療面における有効な情報を与えるものと考えられる。我々は *in vitro*でのエンテロウイルス属のechovirus9 (E9;Hill株) 感染によりcytopathic effect (CPE;細胞変性) に先立ちアポトーシスが誘導されることを電気泳動的にDNAの断片化として確認した。¹⁾ また、buthionine sulfoximine (BSO) を用いて生体内の還元剤グルタチオン (GSH) の合成を阻害し細胞内を酸化状態にすることでE9感染・増殖およびアポトーシス誘導を抑制することをCPEの観察と電気泳動法により明らかにした。²⁻³⁾ しかし、この方法は全細胞中の20%がアポトーシスを生じている時に初めて有効であるため、感染早期の微量のアポトーシス検出には無効である。Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) - mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) 法⁴⁾ はアポトーシス細胞の *in situ* 検出のために開発された方法である。我々は、biotinの代わりにdigoxigenin (DIG) を導入したTUNEL法の変法⁵⁾ がE9感染により早期に誘導される微量のアポトーシス細胞の定量評価に有効であることを示唆した。⁷⁾ そこで今回、同法を用いてE9誘導アポトーシスのBSOによる抑制効果に関して検討した。

2. 材料と方法

2・1 試薬

Tissue Culture Chamber/SlidesはMILES社から、Eagleのminimum essential medium (EMEM) は日水製

薬から、ApopTag;in situ apoptosis kitはoncor社から、3, 3'-diaminobenzidineは和光純薬から、牛胎児血清 (FBS) は大日本製薬から、リリーマイヤーヘマトキシリンは武藤化学薬品から、buthionine sulfoximine (BSO) はシグマ社から各々入手した。

2・2 ウイルス感染

感染ウイルス量は50% tissue culture infectious dose (TCID₅₀) として表された。8wellのTissue Culture Chamber/Slidesを用い、10% FBSを含むEMEM中で1.2 \times 10⁴個のアフリカミドリザル腎細胞を (GMK) を5% CO₂, 37°C下で3日間培養した後、1% FBSを含むEMEM中360 μ lに100TCID₅₀のE9 (Hill株) を各40 μ l加えて5% CO₂, 35°Cで感染実験を行った。

2・3 BSO処理

BSOは細胞培養2日目に培養液に添加され、3日目にウイルス感染操作がなされた。BSOは実験終了時まで培養液に含まれていた。

2・4 アポトーシス細胞の *in situ* 検出

細胞は10%ホルマリン緩衝液で10分間の固定後、自然乾燥された。以下の操作はApopTagを用いて行われた。⁶⁾ スライド標本はPBSで5分間2回の洗浄の後、20 μ g/mlのproteinase Kで15分間処理された。5分間の2%過酸化水素/PBSでの処理に続いてTdTによるDIG結合dUTPの3' DNA末端標識が37°Cで60分間行われた。Peroxidase結合DIG抗体による30分の抗原抗体反応、3, 3'-diaminobenzidineを基質とした発色反応の後、リリーマイヤーヘマトキシリンで対比染色を行った。アポトーシス細胞の出現率は1000個の細胞を観察して算出された。

3. 結 果

E9感染でのGMK細胞のDNAのアガロースゲル電気泳動から180bpを基本としたラダーが確認され、E9はアポトーシスを誘導することが示された。一方、100 μ MBSO添加でラダーの出現は認められず、E9誘導アポトーシスの抑制が観察された(図1)。しかし、本法ではアポトーシスの定量的評価は不能であるため、*in situ*によるアポトーシス細胞の検出を検討した。図2に示すように、未感染細胞におけるアポトーシス細胞の出現率は1%であるのに対し、100TCID₅₀のE9感染48時間後には20%と激増した。一方、100 μ MBSO処理による細胞内酸化に伴い、アポトーシス細胞の出現は2%とほぼ完全に抑制された。

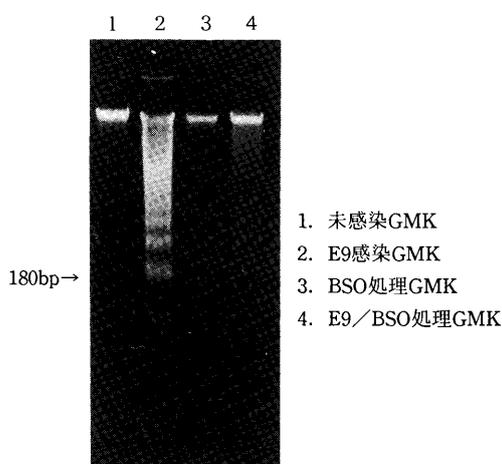


図1. E9感染GMK細胞DNAの電気泳動

次に、BSOによるE9誘導アポトーシス抑制の経時的推移に関して調べた。100 μ MBSOを用いた場合、図3のように、感染16時間後には、未感染細胞、E9感染細胞およびE9/BSO処理細胞は共に約1%のアポトーシス細胞出現率を示し、有意の差は認められなかった。しかし、感染24時間後には、E9感染細胞が2%のアポトーシス細胞を示すのに対し、E9/BSO処理細胞では1%と若干の抑制が観察された。さらに、感染40および48時間後では、E9感染系のアポトーシス細胞出現率は各々14%および22%と漸増していく一方、E9/BSO処理系は1%とほぼ完全な抑制を示した。この結果は、BSOはウイルス感染過程の極めて初期からその増殖に伴うアポトーシスの誘導を抑制していることを示唆する。

つづいて、アポトーシス細胞の出現に対するBSOの濃度依存抑制効果に関して検討した。図4に示すように、E9感染48時間後には15%のアポトーシス細胞が確認されたが、10 μ MBSOで7%、50 μ Mで3%、100および200 μ Mで1%とアポトーシス細胞の数は減少していった。

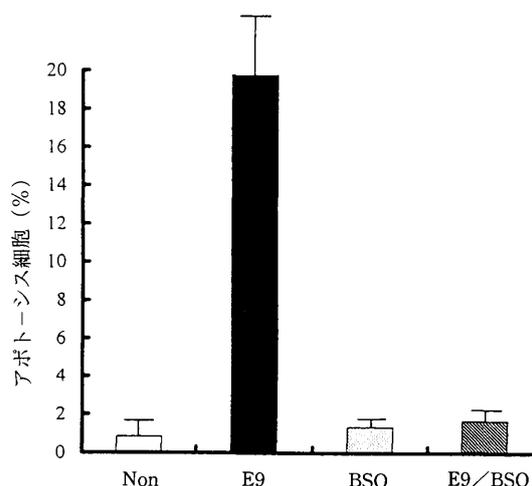


図2. E9誘導アポトーシスのBSOによる抑制
BSOは100 μ M濃度で使用され、E9感染後48時間でアポトーシス細胞の出現を測定した。

このことは、未感染細胞におけるアポトーシス細胞は1%であることから、BSOは100 μ Mで100TCID₅₀のE9によるアポトーシス細胞誘導を完全に抑制することを示す。

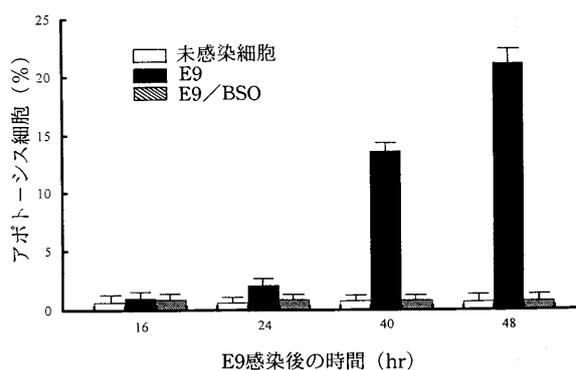


図3. BSOによるE9誘導アポトーシス抑制の経時的推移
BSOは100 μ M濃度で使用された。

4. 考 察

BSOによる細胞内酸化はE9感染に伴うアポトーシス誘導を顕著に抑制することをDNAの電気泳動から明らかにしてきたが、その抑制率の評価は困難であった。しかし、DIGを用いたTUNEL法によるアポトーシス細胞の*in situ*検出はその定量的評価に有効であることが我々によって示唆された。⁷⁾本研究では、本法によりE9誘導アポトーシスは100 μ MのBSOで完全に抑制されることが明かにされた。またウイルス感染・増殖の極めて早期にBSOは作用していることが示唆された。

アポトーシス細胞の*in situ*検出法は、E9のみならず

CPEを誘導する他のウイルスの分離培養における早期の検出に応用可能であると考えられる。しかし、未感染細胞においても1%のアポトーシス細胞が検出されることや、UV照射や活性酸素によるDNA切断実験によってもアポトーシス細胞として判断されることからアポトーシス誘導実験には十分に注意を払う必要がある。

E9によるアポトーシスの誘導機構としては、E9感染細胞培養上清にアポトーシス誘導能は認められないことから、これまで報告されてきたFas抗原のような因子の関与は考え難い。むしろ、ウイルスの増殖そのものが細胞内のアポトーシス発現経路のスイッチを入れるものと考えられる。プラス鎖の一本鎖RNAからなるE9遺伝子は、RNA依存性RNA合成酵素であるレプリカーゼにより複製されることから、BSOのE9誘導アポトーシスの抑制機構としては酸化状態におけるレプリカーゼの不活性化が想定される。

謝 辞

稿を終えるにあたり、貴重な御助言をいただきました、弘前大学医学部細菌学講座中根明夫教授並びに講座の先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) 三上稔之, 他: エンテロウイルス感染によるアポトーシスの誘導, 青森県環境保健センター研究報告, **5**, 5-7, 1994.
- 2) 三上稔之, 他: Buthionine sulfoximineによるエンテロウイルスの増殖抑制, 臨床とウイルス, **22**, S38, 1994.

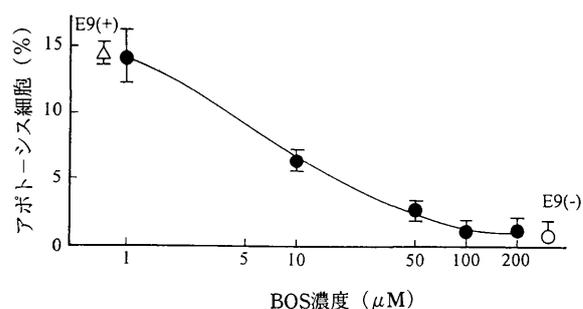


図4. E9誘導アポトーシスの抑制におけるBSO濃度依存性
△はE9感染細胞, ○は未処理GMK細胞, ●はE9と各濃度のBSOで処理された細胞を示す。

- 3) 三上稔之, 他: エンテロウイルスによるアポトーシス誘導の細胞内レドックス制御, 臨床とウイルス, **23**, S58, 1995.
- 4) Gavrieli, Y. et al: Identification of programmed cell death *In Situ* via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell Biol.*, **119**: 493-501, 1992.
- 5) Gold, R. et al.: Differentiation, between cellular apoptosis and necrosis by the combined use of *in situ* tailing and nick translation techniques. *Lab Invest.*, **71**, 219-225, 1994.
- 6) Manufacturer's instructions for ApopTag: *In Situ* Apoptosis Detection Kit (Oncor, Inc.).
- 7) 三上稔之, 他: エコーウイルス感染によるアポトーシスの細胞レベルでの検出, 青森県環境保健センター研究報告, **6**, 14-16, 1995.

Abstract

**INHIBITION OF ECHOVIRUS 9-INDUCED APOPTOSIS
BY INTRACELLULAR OXIDATION
– Detection of Apoptotic Cells in situ –**

Toshiyuki MIKAMI¹, Takashi SATO¹, Nobutake SATO¹ and Ichiro HATAYAMA¹

The TUNEL method is useful in the quantitative evaluation of a minor amount of apoptotic cells which are induced in association with the infection with echovirus 9 (E9) at the early stage. Thus, examination was made on the effective inhibitory concentration of buthionine sulfoximine (BSO) causing intracellular oxidation on E9-induced apoptosis. As a result, apoptotic cells were detected at a ratio of 20% 48 hours after the infection of GMK cells with E9. When treated with 100 μ M of BSO, in contrast, the ratio of apoptotic cells was drastically reduced to 2%. The inhibition of apoptosis by BSO was monitored with the passage of time. Thus the inhibitory effect was observed 24 hours after the infection and became evident 40 and 48 hours after the infection.

Further, the BSO concentration dependency of the inhibition of E9-induced apoptosis was tested and it was thus found out that BSO exerted a complete inhibitory effect at a concentration of 100 μ M. These results suggest that intracellular oxidatoin by BSO would affect the early stage of the proliferation of E9.

Key words : redox, echovirus9, apoptotic cell, TUNEL method.

¹ : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Enviroment.

青森県における新生児マス・スクリーニング18年間の成績

下山 純子 石川 和子 金田 量子 野呂キョウ 佐藤 允武

青森県における新生児マス・スクリーニングでは、昭和53年7月から平成8年3月までの約18年間に、262名が精密検査が必要と判定された。そして、医療機関における精密検査でヒスチジン血症11名、ガラクトース血症10名、先天性甲状腺機能低下症35名および先天性副腎過形成症2名が発見された。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り、本県の追跡調査体制は確立されていないというのが現状である。追跡調査を円滑に行うために、スクリーニング委員会の設置が早急に望まれる。

Key words : neonatal mass-screening, inborn errors of metabolism, Aomori Prefecture

1. はじめに

先天性代謝異常 (inborn errors of metabolism) とは遺伝子変異により代謝過程に障害が生ずることをいう。代謝物質の分析法の進歩により、現在では先天性代謝異常症の数は400以上も発見され、そのうち150以上の疾患の酸素欠損部位が明らかにされている。¹⁾

フェニルケトン尿症 (phenylketonuria, 以下PKU)、メープルシロップ尿症 (maple syrup urine disease, 以下MSUD)、ホモシスチン尿症 (homocystinuria, 以下HCU)、ヒスチジン血症 (histidinemia, 以下HIS) およびガラクトース血症 (galactosemia, 以下GAL) はアミノ酸や糖質を代謝する酵素の先天性の欠損ないし活性低下のため、放置すると主に知能障害を来す疾病である。また、先天性甲状腺機能低下症 (congenital hypothyroidism, 通称クレチン症, 以下CH) は甲状腺の発生過程に障害があり、甲状腺が欠損または形成不全を起こし、先天性の甲状腺ホルモンの欠乏によって、知能障害、発育不全を呈する。さらに、先天性副腎過形成症 (congenital adrenal hyperplasia, 以下CAH) では副腎皮質におけるステロイドホルモンの産出過程に参与する酵素が先天性に欠損し、皮膚色素沈着、男性化現象、末梢循環不全、ショック等がみられる。

そこで、新生児マス・スクリーニングは、上記疾患の早期発見、早期治療により障害の発現を防止することを目的とし、都道府県、指定都市の事業として全国的な規模で実施されることになった。本県の新生児マス・スクリーニング事業は昭和53年7月から開始された。対象疾患はPKU、MSUD、HCU、HISおよびGALの5疾患である。さらに、昭和55年度からCH、平成元年度からはCAHの2疾患が追加された。

一方、全国的な調査によると、マス・スクリーニング

で発見されたHISの大部分の症例は治療を必要としないことがわかった。^{2, 3)} この報告を受けて、平成4年8月には対象疾患からHISを削除するよう厚生省通知があり、本県でも同年10月からHISが除外され、現在は計6疾患についてスクリーニングを行っている。

今回、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ので報告する。

2. 対象および方法

2・1 対象

昭和53年7月から平成8年3月までの間に県内の医療機関から送付された新生児の乾燥濾紙血液を対象とした。

2・2 新生児マス・スクリーニングシステム

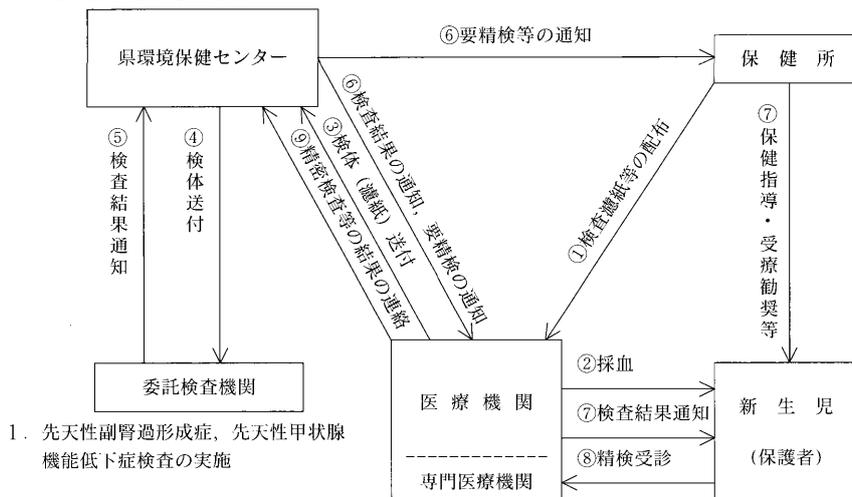
本事業は実施要綱⁴⁾に基づいて行われ、そのフローチャートを図1に示した。

2・3 方法

PKU、MSUD、HCUおよびHISはガスリー法により各々フェニルアラニン、ロイシン、メチオニンおよびヒスチジンを測定した。GALはペイゲン吉田法によるガラクトース測定とポイトラー法によるガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ活性測定の二法を併用した。カットオフ値は表1に示した通りである。

CHは昭和55年4月から昭和63年3月までRIA法、昭和63年4月からEIA法により甲状腺刺激ホルモン (TSH) を測定した。CAHはEIA法により17-ヒドロキシprogステロンを測定した。カットオフ値は表1のとおりであるが、初回即精検値はCHが $30\mu\text{U}/\text{ml}$ 以上、CAHが $50\text{ng}/\text{ml}$ 以上と定められている。なお、CHおよびCAHの検査は外部委託している。

1. 検体のチェック
2. 先天性代謝異常検査の実施



1. 先天性副腎過形成症、先天性甲状腺機能低下症検査の実施

図1 新生児マス・スクリーニングのフローチャート

表1 対象疾患および検査方法

対象疾患	測定物質	検査方法	カットオフ値
フェニルケトン尿症 (PKU)	フェニルアラニン	ガスリー法	4 mg/dl
メープルシロップ尿症 (MSUD)	ロイシン	ガスリー法	4 mg/dl
ホモシスチン尿症 (HCU)	メチオニン	ガスリー法	1.5mg/dl
ヒスチジン血症 (HIS)	ヒスチジン	ガスリー法	6 mg/dl
ガラクトース血症 (GAL)	ガラクトース	ベイゲン吉田法	6~8mg/dl
	ガラクトース-1-リン酸-ウリジルトランスフェラーゼ	ポイトラー法	蛍光がないものを陽性とする
先天性甲状腺機能低下症 (CH)	甲状腺刺激ホルモン (TSH)	EIA法	9μU/ml, 上位5%タイル
先天性副腎過形成症 (CAH)	17-ヒドロコルチコステロン (17-OHP)	EIA法	10ng/ml, 上位5%タイル

*先天性甲状腺機能低下症 (CH) および先天性副腎過形成症 (CAH) の2項目は外部委託している。

3. 結 果

青森県の出生数は、図2に示したように、昭和53年度が22,443人、平成7年度が14,283人と17年で約6割に減少している（昭和53～55年度の出生数は昭和53～55年の人口動態から引用し、他は年度の出生数で表示した）。

一方、新生児マス・スクリーニングの受検者数は、7月に事業が開始された昭和53年度から昭和58年度頃までは増加傾向を示していたが、それ以降は減少傾向に転じている。受検率（受検者数/出生数）でみた場合、里帰り分娩と思われる県外居住者を含むため、100%を越えている。

平成7年度に受付した検体を居住地別に示すと、図3

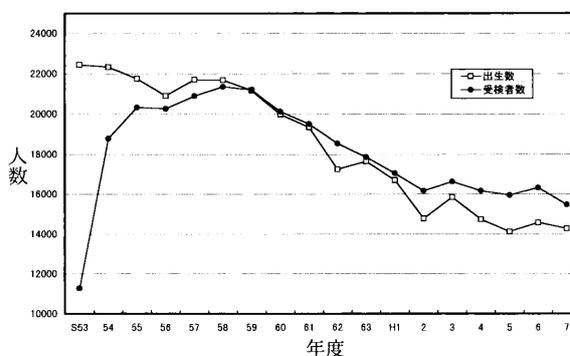


図2 出生数および受検者数

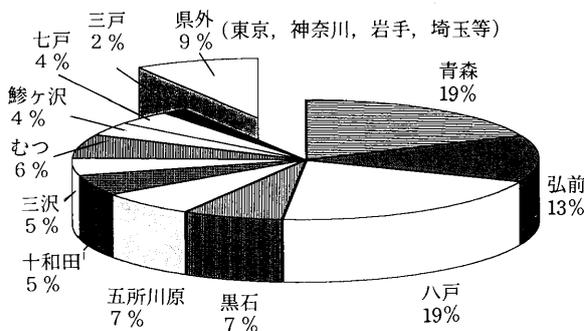


図3 居住地別検体数 (平成7年度)

の通り、県外居住者の割合は約9%あり、東京都、神奈川県、岩手県、埼玉県の順に多かった。

図4には過去8年間の採血医療機関数の推移を示した。公立医療機関数はほとんど変化がみられなかったが、私立医療機関数が減少していた。

スクリーニングの検査結果は表2の通りであった。昭和53年7月から平成8年3月までのPKU, MSUD, HCU およびGAL検査の受検者数は331, 367名、昭和53年7月

から平成4年9月までのHIS検査受検者数は268,471名であり、再採血を依頼した数は5項目合わせて2,287名であった。このうち、PKU検査で1名、HCU検査で4名、HIS検査で23名およびGAL検査で59名の計87名が精密検査の対象となった。表3に示したように、医療機関における精密検査によって、HIS 11名およびGAL 10名が診断され、他に良性高フェニルアラニン血症1名が発見された。また、CH検査では昭和55年4月から平成8年3月までの受検者数が292,832名で、再採血依頼数は1,295名、精密検査対象者は131名であった。このうち35名が医療機関においてCHと診断され、その他甲状腺ホルモン不応症1名、甲状腺ホルモン結合蛋白欠損症3名および同低下症3名が発見された。CAHでは平成元年4月から平成8年3月までの受検者数が113,615名で、再採血依頼数は1,080名、精密検査対象者は45名であった。このうち2名が医療機関においてCAHと診断された。なお、6疾患の精密検査対象者のうち24名については、当センターで診断結果を把握できなかった。

4. 考 察

青森県における新生児マス・スクリーニングが昭和53年7月から開始されて約18年が経過した。出生数の減少とともに受検者数も年々減少し、さらに検体を送付する採血医療機関が集中化する傾向にあった。

当センターにおけるスクリーニングではPKU疑1名、HCU疑4名、HIS疑11名およびGAL疑59名の計87名、委託検査機関におけるスクリーニングではCH疑131名およびCAH疑45名の計175名（1名が重複）、総計262名が要精密検査と判定された。医療機関における精密検査でHIS 11名、GAL 10名、CH35名およびCAH 2名が診断された。患者発見率は各々1/24,406、1/32,396、1/8,367および1/56,808で全国の患者発見率⁵⁾と比較すると、GALを除き低頻度の発見率であった。

新生児マス・スクリーニングで発見され、正しく治療管理されている症例はほぼ良好な成果が得られていることが厚生省心身障害研究班（現在は母子愛育会総合母子保健センター）の全国的な追跡調査によって明らかにされている。^{2, 3, 6)}さらに、この調査結果に基づいて治療指針の見直しが行われている。³⁾

追跡調査の重要性はスクリーニング開始当初から指摘され、各自治体ごとに患者情報を把握することが求められている。³⁾本県の現状は、転居先不明等の理由により追跡が中断することがあり、体制はまだまだ確立されていない。追跡調査を円滑に行うために、行政機関、医療機関および検査機関で組織するスクリーニング委員会の設置が早急に望まれる。

また、治療は一生にわたるため、次第に医療機関が

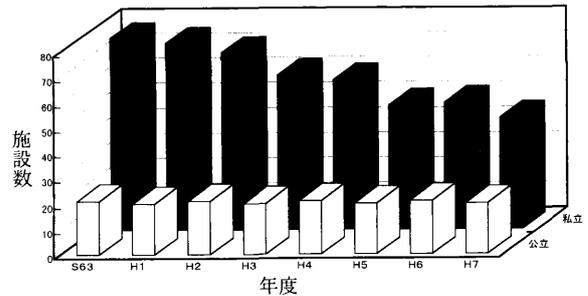


図4 医療機関数の推移

表2 検査結果

疾患名	受検者数	再採血依頼数	精密検査依頼数
フェニルケトン尿症 (PKU)			1
メープルシロップ尿症 (MSUD)	331,367		0
ホモシスチン尿症 (HCU)		2,287	4
ガラクトース血症 (GAL)			59
ヒスチジン血症 (HIS)	268,471		23
先天性甲状腺機能低下症 (CH)	292,832	1,295	131
先天性副腎過形成症 (CAH)	113,615	1,080	45

* PKU, MSUD, HCU, GAL

HIS ; 昭和53年7月～平成8年3月
 CH ; 昭和53年7月～平成4年9月
 CH ; 昭和55年4月～平成8年3月
 CAH ; 平成元年4月～平成8年3月

表3 医療機関における精密検査結果

精密検査数	精密検査結果	人数	患者発見率	患者発見率(全国)*	
87	ヒスチジン血症	11	1/24,406	1/10,700	
	ガラクトース血症	10	1/32,396	1/40,100	
	Duarte型	12			
	4-エピメラゼ欠損症				
	原因不明				
	型不明	16			
	良性高フェニルアラニン血症		1	1/323,968	
	一過性高ヒスチジン血症	1			
	一過性高メチオニン血症	1			
	一過性高ガラクトース血症	11			
新生児肝炎、肝障害	4				
不明	9				
正常	39				
131	先天性甲状腺機能低下症	35	1/8,367	1/5,300	
	甲状腺欠損、無形成	21			
	甲状腺形成不全				
	異所性甲状腺				
	ヨード有機化障害				
	型不明	26			
	甲状腺ホルモン不応症		1	1/292,832	
	甲状腺ホルモン結合蛋白欠損症		3		
	甲状腺ホルモン結合蛋白低下症	3	1/48,805		
	一過性高TSH血症	24			
一過性高TSH血症及び高T3血症	1				
一過性甲状腺機能低下症	4				
一過性高TSH血症疑	2				
高TSH血症疑	1				
観察中	6				
死亡(心不全、極小未熟児)	2				
正常	49				
45	先天性副腎過形成症	2	1/56,808	1/17,600	
	観察中	2			
	不明	4			
	死亡(心不全、極小未熟児)	1			
	正常	36			

* 昭和52～平成6年度、CH昭和54～平成6年度、CAH昭和63～平成6年度（厚生省児童家庭局）
 上記以外の疾患の患者発見率 PKU: 1/81,000, MSUD: 1/474,600, HCU: 1/176,000

ら離れていく症例の増加が報告されている。^{3, 6)} 患者や家族を精神的に支援し、治療に対して前向きな姿勢で取り組めるよう関係機関の協力体制を強化すべきと思われる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、検査の充実にご尽力されてきた先輩諸氏の貴重な資料を参考にさせていただいたことを申し添えとともに、定量検査を実施していただいている杏林大学の成瀬 浩先生、渡辺倫子先生、先天性甲状腺機能低下症検査等にご協力いただいている弘前大学医学部小児科の横山 雄教授はじめ担当各位ならびに本事業の関係各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 成瀬 浩, 他: 新生児マススクリーニングハンドブック, 南江堂, 東京, 1989.
- 2) 青木菊麿: 特集 長期生存例における諸問題 アミノ酸代謝異常症, 小児科別冊, **33**, 1-9, 1992.
- 3) 青木菊麿: マス・スクリーニングで発見された先天代謝異常症の治療・追跡体制, 日本マス・スクリーニング学会誌, **4**, 27-28, 1994.
- 4) 青森県: 先天性代謝異常検査等実施要綱, 昭和55年4月7日 青公衛第41号 (平成4年9月16日青健推第764号一部改正).
- 5) 厚生省児童家庭局母子保健課: 先天性代謝異常検査及びB型肝炎母子感染防止事業実施状況, 特殊ミルク情報, **31**, 84-85, 1995.
- 6) 青木菊麿, 他: 特殊ミルク共同安全開発事業のあゆみ, 24-33, 社会福祉法人恩賜財団母子愛育会総合母子保健センター特殊ミルク事務局, 東京, 1993.
- 7) 高橋雅子, 他: 富山県における先天性代謝異常及び甲状腺機能低下症の患者追跡調査, 日本マス・スクリーニング学会誌, **2**, 29-38, 1992.
- 8) 榎 和子, 他: 山形県における先天性代謝異常等精密検査受診者および神経芽細胞腫検査で発見された患児の追跡調査, 日本マス・スクリーニング学会誌, **5**, 47-51, 1995.
- 9) 山本昌三, 他: 先天性代謝異常検査事業について, 青森県衛生研究所報, **16**, 43-45, 1979.
- 10) 山本昌三, 他: 青森県における先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)のマス・スクリーニングについて, 青森県衛生研究所報, **18**, 39-43, 1981.
- 11) 奈良みどり, 他: 青森県における先天性代謝異常症のマス・スクリーニングについて(昭和55年度), 青森県衛生研究所報, **18**, 44-45, 1981.
- 12) 荻野幸男, 他: 青森県における先天性代謝異常症のマス・スクリーニングについて(昭和56年度), 青森県衛生研究所報, **19**, 41-42, 1982.
- 13) 野呂キョウ, 他: 先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング実施状況について(昭和57年度), 青森県衛生研究所報, **20**, 38-39, 1983.
- 14) 工藤久美子, 他: 先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング実施状況について(昭和58年度), 青森県衛生研究所報, **21**, 54-55, 1984.
- 15) 野呂キョウ, 他: 先天性代謝異常症等のマス・スクリーニングについて(平成元年度), 青森県環境保健センター業務年報, **1**, 17-19, 1991.

Abstract

**ACHIEVEMENT OF NEONATAL MASS-SCREENING IN
AOMORI PREFECTURE IN 18 YEARS**

Junko SHIMOYAMA¹, Kazuko ISHIKAWA¹, Ryoko KANEDA¹, Kyo NORO¹ and Nobutake SATO¹

By the neonatal mass-screening performed in Aomori Prefecture, 262 infants were judged to need to have close examinations within about 18 years from July 1978 to March 1996. As the results of the close examinations in medical institutions, there were found out 11 patients with histidinemia, 10 with galactosemia, 35 with inborn hypothyroidism and 3 with inborn adrenal hyperplasia. However, the results of the close examinations remain unknown in some cases. Namely, the follow-up study system has not been established well in Aomori Prefecture. To smoothly perform the follow-up study, it is urgently required to organize a screening committee.

Key words : neonatal mass-screening, inborn errors of metabolism, Aomori Prefecture

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment.

Echovirus30の遺伝子導入によるウイルス増殖

佐藤 孝 三上 稔之 佐藤 允武 畑山 一郎

小型球形構造ウイルス (small round structured virus : SRSV) と同様の増殖機構を持つechovirus30 (E30) 遺伝子のlipofectamineを用いたHeLa細胞への導入に伴うウイルスの増殖について検討した。E30の遺伝子RNAはCTAB法によって抽出され、希釈系列により種々の量のRNAがlipofectamineと混和された後、confluentな状態にあるHeLa細胞に添加された。TCID₅₀から換算して8x10⁶のウイルスからのRNAの導入では、培養4日後にウイルスの増殖を示すところの細胞変性 (cytopathic effect : CPE) が観察された。さらに、遺伝子導入でCPEの観察されなかった8x10³の希釈系列でも、凍結融解後の継代実験によりCPEが認められた。その際には電子顕微鏡でウイルス粒子の存在も確認された。この結果は、lipofectamineを用いた遺伝子導入によるウイルス増殖法は、現在のところ培養困難であるSRSVに適用可能であることを示唆する。

Key word5 : echovirus 30, SRSV, RNA, transfection, viral propagation

1. はじめに

*In vitro*での培養が不可能なため血清診断等による同定が困難であるウイルスの1つに小型球形構造ウイルス (small round structured virus : SRSV) がある。本ウイルスに感染すると食中毒様症状である下痢性胃腸炎が発症する¹⁾が、上記のように培養困難のため多くは原因不明として処理されている。SRSVの培養が可能になれば、抗原に使用しての血清診断、抗体の作成および特異抗体を用いてのELISA法など、SRSVの検査診断にとって大きな進展が期待される。SRSVは、プラス (+) 鎖の一本鎖RNAを遺伝子として含んでおり²⁾、感染後、遺伝子はそのまままRNAとして機能して複製に必要なRNA依存性RNA合成酵素 (レプリカーゼ) を作る。レプリカーゼは、+鎖RNAを鋳型にして短時間にマイナス (-) 鎖RNAを合成する一方、合成された-鎖RNAを元に+鎖RNAを合成する結果、+鎖RNAを遺伝子として有する大量のSRSV粒子が生ずる。従って、現在、宿主細胞の受容体の問題等による感染の不成立が培養を困難にしていると考えられているSRSVでは、細胞への遺伝子導入^{3,4)}により*in vitro*での継代が可能となると思われる。

Echovirus30 (E30) は、SRSV同様、+鎖の1本鎖RNAを遺伝子とするウイルスで、主として経口感染により腸管で増殖する⁵⁾。臨床的には大部分、発熱、夏風邪様症状もしくは無症状で終わるが、中には上気道疾患、下気道疾患、中枢神経疾患 (無菌性髄膜炎、肺炎、麻痺)、粘膜・皮膚の疾患、筋炎などを起こすことが知られている。今回、SRSVに先立ち、*in vitro*での増殖も可能なE30の遺伝子導入によるウイルス増殖に関して検討した。

2. 材料と方法

2・1 試薬

Polyethylene glycol 6000は関東化学、OPTI-MEMとlipofectamineはGIBCO社、hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) はSIGMA社から各々購入した。

2・2 ウイルスの調整

8x10⁸のE30に10%濃度でpolyethylene glycol 6000を加え、40,000rpm、15分の超遠心操作で沈澱にウイルスを回収した。TCID₅₀から見て、回収率の低下は殆どなかった。

2・3 RNAの調整

E30からのRNAの抽出は、CTAB法⁶⁾によった。超遠心操作により濃縮されたウイルスは、1 mg/mlのproteinase Kによる37℃、30分間の蛋白分解後、温室で5分間の2%CTABによる処理を受けた。フェノール/クロロフォルム操作に続いて、RNAはエタノール沈殿として回収された。

2・4 RNAの細胞への導入

TCID₅₀から換算して8x10⁸のE30に由来するRNAを20μlのOPTI-MEMに溶かす一方、lipofectamine 1.5μlを含む10μlのOPTI-MEMを用意し、それらを混合した。30分間放置後、80μlのOPTI-MEMと共に96穴microtiter plateでconfluentな状態にあるHeLa細胞に加え、37℃にて培養した。5時間後、2%牛胎児血清 (FBS) を含むEagle's minimum essential medium (EMEM) を100μl添加し、さらに24時間後に、1% FBSを含む200μlのEMEMに培地交換し35℃で培養を続けた。ウイルスの増殖は、CPEで評価された。RNAの希釈系列での遺伝子導入実験の場合は、希釈液としてOPTI-MEMを用いた。

表1 種々のE30ウイルス量による遺伝子導入CPEの誘導

		遺伝子導入に使用したウイルス数 (x8)						
		10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ⁴	10 ⁵	10 ²
CPE	遺伝子導入	+	+	+	-	-	-	-
	培養上清※	+	+	+	+	+	+	-

※遺伝子導入細胞の凍結融解・遠心上清をHeLa細胞に接種

2・5 電子顕微鏡観察

コロジオン膜張付メッシュ (400メッシュ:日新EM) に2 μ lのウイルス試料を2分間接触させ、2%リンタングステン酸によるネガティブ染色を行った。電子顕微鏡はJEM-1200EXII (日本電子データム) を用いた。

3. 結 果

E30由来の精製RNAの希釈系列をつくり lipofectamineによる遺伝子導入をHeLa細胞を用いて行った。8x10⁶のウイルス粒子に相当するE30RNAの導入により4日目にはCPEが観察された。CPEは、希釈系列の8x10⁶まで確認された。培養系では、通常、最初の感染でCPEが見られなくとも、培養細胞の凍結融解で細胞内から放出した成熟したウイルスの再度の感染でCPEが生ずることが知られている。そこで、遺伝子導入でCPEの観察されなかった希釈系列のHeLa細胞を凍結融解し、その培養遠心上清のCPE誘導能を検討した。遠心上清100 μ l用いてHeLa細胞におけるCPEの発生を検討した結果、表1に示すように、遺伝子導入時にはCPEの認められなかった8x10³相当のウイルスからのRNAのところまでがCPEを誘導した。図1に、その時のCPEが生じている細胞を示す。RNA抽出段階でのウイルス粒子の残存は、lipofectamineなしの系でCPEが生じなかったことか

ら否定された。また、lipofectamineのみではCPEは確認されなかった。

次に、遺伝子導入により、実際に成熟したウイルス粒子が検出されるかどうか電子顕微鏡で調べた。図2に示すように、8x10³のウイルスのRNA導入後の凍結融解細胞遠心上清の添加でCPEの生じた系にはE30粒子が確認された。

4. 考 察

+鎖の一本鎖RNAを遺伝子として持つE30の遺伝子導入により成熟したウイルス粒子が得られた。この技術は、一鎖RNAを遺伝子とするウイルスにおいては、遺伝子導入後レプリカーゼ蛋白が合成されないため、応用できないが、E30と同様な増殖機構を有するウイルスには応用可能であると考えられる。

SRSVは培養が困難であるため、その同定にはもっぱら便材料での電子顕微鏡観察が用いられている。現在は polymerase chain reaction (PCR) 法など遺伝子検出による同定法が活用されてきているが、当該ウイルスには多岐にわたるゲノムの変異が認められ、確実に検出できるプライマーの設定など多くの課題が残されている。HIV、HSV、rotavirusなどの感染の診断には、抗原検査や抗体検査が日常的に用いられている。SRSVにおいて

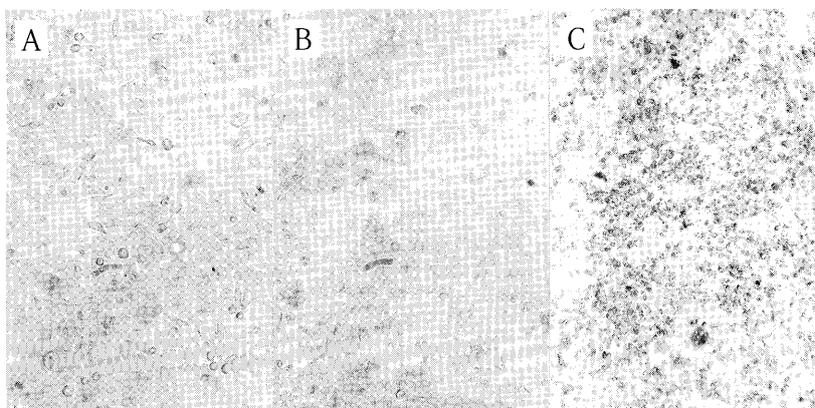


図1 E30RNAのHeLa細胞への導入に伴うCPEの発現。

(A) は未処理HeLa細胞, (B) はlipofectamineのみ,

(C) はRNAをlipofectamine処理して遺伝子導入した培養4日後の細胞を示す。

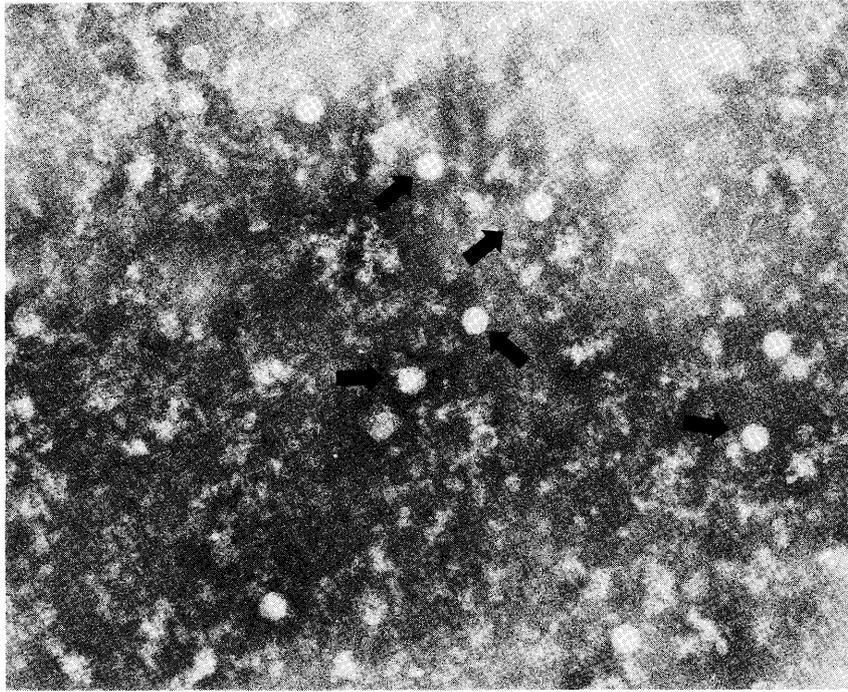


図2 E30の電子顕微鏡写真。
E30の遺伝子導入によって作られたウイルス粒子を示す（矢印）。
倍率は60,000倍。

も同様の検査法が使用されることが望ましいが、そのためには大量のウイルスを確実に入手可能な方法を確立しておくことが重要である。今回、E30のRNA導入実験により成熟したウイルス粒子が得られたことから、E30同様に+鎖RNAをもつSRSVに関しても現在、検討をすすめている。

5. 文 献

- 1) 多ヶ谷勇, 他: ウイルス実験学各論 (丸善), 127-155, 1989.
- 2) 宇田川悦子: 臨床とウイルス, **23** (suppl) 184-189, 1995.
- 3) Ball, L. A. et al: Replication of nodamura virus after transfection of viral RNA into mammalian cells in culture. *J. Virol.*, **66**, 2326-2334, 1992.
- 4) Ouahabi, A. E. et al: Double long-chain amidine liposomemediated self replicating RNA transfection. *FEBS Lett.*, **380**, 108-112, 1996.
- 5) 加藤四郎, 他: 病原ウイルス学 (金芳堂), p 329-359, 1989.
- 6) Jiang, X. et al: Detection of Norwalk virus in stool by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, **30**, 2529-2534, 1992.

Abstract

VIRAL PROLIFERATION BY ECHOVIRUS 30 GENE TRANSFECTION

Takashi SATO¹, Toshiyuki MIKAMI¹, Nobutake SATO¹ and Ichiro HATAYAMA¹

We have examined viral proliferation accompanying the transfection of echovirus 30 (E30) gene, which has a proliferation mechanism similar to that of small round structured virus (SRSV), into HeLa cells with the use of lipofectamine. E30 gene RNAs were extracted by the CTAB method, mixed at various ratios with lipofectamine by serial dilution and then added to confluent HeLa cells. When 8×10^6 viral RNAs, calculated from $TCID_{50}$, were transferred, cytopathic effect (CPE) indicating the viral proliferation was observed on the day 4 of the incubation. Even in the dilution lot of 8×10^3 wherein no CPE was observed in association with the gene transfection, CPE was found out in the subculture test following freeze-thawing. In this case, electron microscopic observation clarified the existence of virions. These results suggest that viral proliferation by gene transfection with the use of lipofectamine might be applicable to SRSV which can be hardly incubated today.

Key words : echovirus 30, SRSV, RNA, transfection, viral proliferation.

¹ : Aomori prefectural Institute of Public Health and Environment.

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

農産物中の多成分農薬一斉分析のためにはGPC(ゲル浸透クロマトグラフィー)クリーンアップ法が有用であることを前報で報告した。今回は前報で報告した分析方法の中の液・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。

この方法をりんご、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。

Key words : simultaneous analysis, residual pesticides, gel permeation chromatography, chemelut column

1. はじめに

農薬の規格基準が平成4年以降順次改正され、現在130種類以上の農産物について108農薬の基準が設定されている。この基準は今後も更に増加する見込みである。

このような多くの農薬を検査するためには、簡易で迅速な多成分一斉分析法の開発が必要である。

一般に、農薬分析は測定妨害物質をできるだけ除去することを目的とした各種の精製操作が繰り返され複雑な分析法となっている。このため、通常は多種、多様な有機溶媒やガラス器具を使用することになり、分析に長時間を要することになる。分析の迅速化、簡易化については近年多数の研究報告があり¹⁻¹⁰⁾、それをもとに昨年度、多成分一斉分析のためのGPC(ゲル浸透クロマトグラフィー)クリーンアップ法を試みた結果、農産物中の色素及び油脂成分の除去に有効な精製手段であることが認められた。¹¹⁾

今回は、前報¹¹⁾で報告した分析方法の中の液・液分配抽出法を、脱水操作及び分液ロートが不要なケイソウ土カラム抽出法¹²⁻¹⁶⁾に変えて、さらに簡便で迅速な前処理法の検討を行った。その結果、若干の知見を得たので報告する。

2. 実験方法

2・1 試料

玄米、りんご、長いも、ホタテガイの4種類を用いた。

2・2 試薬

(1) 農薬標準品

(a) 有機塩素系農薬(18) : α -、 β -、 γ -、 δ -BHC, pp'-DDE, pp'-DDT, pp'-DDD, エンドリン, デイルドリン, アルドリン, ヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシド, キャプタン, ジコホール, ジクロ

フルアニド, カプタホール, クロルベンジレート, メトキシクロル

(b) 有機リン系農薬(21) : EPN, エディフェンホス, エトプロホス, エトリムホス, キナルホス, クロルピリホス, α -クロルフェンビンホス, β -クロルフェンビンホス, ジクロルボス, ダイアジノン, テルブホス, トリクロルホン, パラチオン, パラチオンメチル, フェニトロチオン, フェンチオン, マラチオン, プロチオホス, ピリミホスメチル, チオメトン, アジンホスメチル

(c) ピレスロイド系農薬(10) : シハロトリン, シベルメトリン, デルタメトリン, トラロメトリン, ピレトリン, フルシトリネート, フルバリネート, ペルメトリン, フェンバレレート, シフルトリン

(d) 含窒素系農薬(18) : エチオフェンカルブ, カルバリル, クロルプロファム, チオベンカルブ, フルトラニル, プレチラクロール, ペンダイメタリン, メトリブリジン, メプロニル, キノメチオネート, クロフェンテジン, ジェトフェンカルブ, ビテルタノール, プロピコナゾール, メフェナセット, エスプロカルブ, レナシル, フェナリモル

これらの標準品は和光純薬(株), 林純薬(株), ジーエルサイエンス(株)及びナノゲン社製を用いた。

(2) 農薬標準溶液

各農薬の1000ppmアセトン溶液を作製し、これらを原液とした。検量線用標準溶液は、系統別に次のような濃度範囲に原液を混合し、アセトン又はヘキサンで適宜希釈して調整した。

有機塩素系(0.1-0.2) ~ (0.01-0.02) ppm, ヘキサン溶液

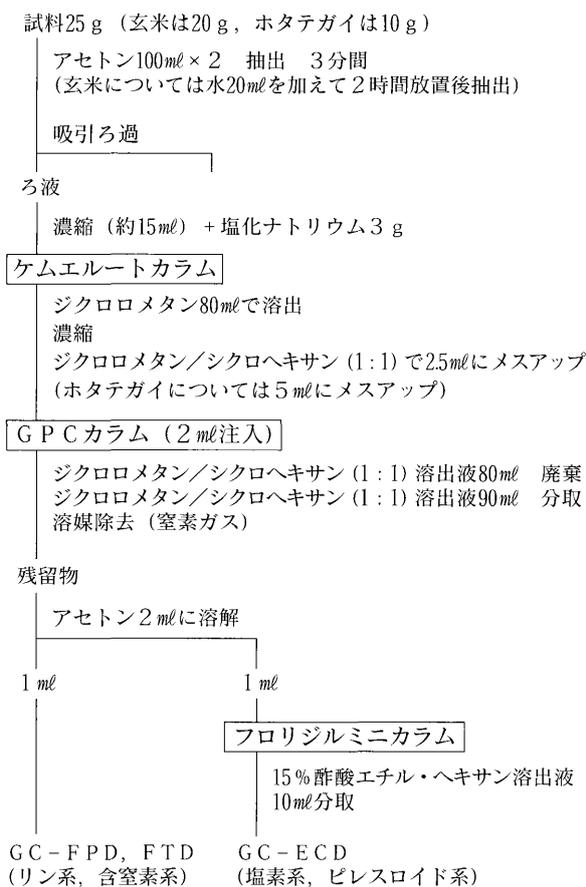


図1 農産物中の残留農薬分析法

有機リン系 (0.25 - 0.5) ~ (0.025 - 0.05) ppm, アセトン溶液

含窒素系 (1.0 - 6.0) ~ (0.1 - 0.6) ppm, アセトン溶液

ビレスロイド系 (0.2 - 3.0) ~ (0.02 - 0.3) ppm, ヘキサン溶液

また、添加回収試験には、検量線用標準溶液の2倍濃度のアセトン溶液を調整し、その1mlを添加した。

(3) 各種有機溶剤：和光純薬(株)の残留農薬試験用を用いた。

(4) フロリジルミニカラム：フロリジルセップパックス (ウオーターズ)

(5) ろ過助剤 (セライト545)：和光純薬(株)

(6) 塩化ナトリウム：関東化学(株)製残留農薬試験用

(7) 多孔性ケイソウ土カラム：パリアン社製ケムエルト (CE1020)

2・3 装置

前報¹⁾と同じである。

2・4 試験溶液の調整法

図1に分析のフローを示した。

(1) 抽出操作

均一化した試料25gをとりアセトン100mlを加えてバ

イオロンで3分間攪拌抽出し、ろ過助剤4gを積層したロートで吸引ろ過した。残留物にアセトン100mlを加えて同様に処理した後、ろ液を合わせてロータリーエバポレーターで約15mlに減圧濃縮した。なお、玄米については、ケムエルトカラムへの過負荷を避けるため試料20gを用い、蒸留水20mlを加えて2時間放置後アセトンで抽出した。また、ホタテガイについては試料量は10gとした。

(2) ケイソウ土カラム抽出法

濃縮液に塩化ナトリウム3gを加え、軽く振り混ぜて溶かした後カラムに注ぎ、カラムに浸透、分散させる。約10分間放置後、濃縮容器をジクロロメタンで洗浄し、洗液をカラムに注ぎ流下させる。この操作を数回繰り返し溶出液80mlを分取した。これをロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、窒素気流中で約1mlに濃縮後、シクロヘキサンを加え、ジクロロメタン/シクロヘキサン (1:1) 混液2.5mlとした。次いで遠心分離を行い、上澄みを用いた。

(3) GPCによるクリーンアップ操作

溶出溶媒はジクロロメタン/シクロヘキサン (1:1) 混液を用い、その流量は5ml/minとした。

上記濃縮液の2mlをGPCカラムに注入し、最初の溶出液80mlは廃棄し、次ぎの溶出液90mlを分取した。

ただし、ホタテガイについては、有機塩素系12農薬のみの測定であったため、最初の溶出液100mlは廃棄し、つぎの溶出液70mlを分取した。

分取した溶液はロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、窒素気流中で乾固した後、アセトン2mlに溶解してリン系及び含窒素系農薬のGC分析をおこなった。

(4) ミニカラムによるクリーンアップ操作

塩素系及びビレスロイド系農薬については、検液のアセトン1mlを乾固させた後、15%酢酸エチル/ヘキサン混液1mlに溶解しフロリジルミニカラムに負荷した。次いで同溶媒による溶出液10mlを分取し、乾固後ヘキサン1mlに溶解してGC分析を行った。

2・5 ガスクロマトグラフの測定条件

前報¹⁾と同じである。

3. 結果及び考察

3・1 ケムエルトカラム溶出条件の検討

(1) カラム負荷量の検討

アセトン抽出後の濃縮した液をカラムに保持し、かつ十分なドライゾーン (脱水層) を確保する液量について検討した。

すなわち、農薬標準溶液1ml (有機リン系のアセトン溶液) に蒸留水を加えて15, 20, 25, 30mlとした溶液を各々カラムに注入し、10分間放置後ジクロロメタン90

mlを溶出してドライゾーンの長さ及び回収率を測定した(表1)。その結果、30mlでは回収率がやや低下したが15~25mlではほとんど回収率に差がみられなかった。また、ドライゾーン(脱水層)については、注入量が増加するにつれて短くなり30mlでは4~5mmであった。そこで、濃縮後の液量は脱水効果を考慮してドライゾーンの長い15mlとすることにした。

(2) 抽出溶媒量の検討

系統別農薬標準溶液1ml(アセトン溶液)に蒸留水14ml及び塩化ナトリウム3gを加えて溶解した溶液をカラムに負荷後、酢酸エチルで溶出し、10ml毎の農薬溶出量を求めた。表2に含窒素系農薬の場合を示した。10ml画分には約40~70%が溶出したが、20ml画分では10%台となりその後徐々に溶出量が減り80mlまでにはほとんど溶出し終えた。同様な傾向は他の農薬系においても認められたことから抽出溶媒量を80mlとした。

(3) 抽出溶媒の種類を検討

系統別農薬標準溶液1ml(アセトン溶液)に蒸留水14ml及び塩化ナトリウム3gを加えて溶解した溶液をカラムに負荷後、酢酸エチル又はジクロロメタン80mlで溶出し、溶媒の違いによる農薬回収率の比較を行った。結果を表3に示した。ただし、有機塩素系のクロルベンジレート、カプタホール、メトキシクロルは分析の都合上、ピレスロイド系に含めてGC分析を行った。

その結果、リン系のチオメトン、含窒素系のエチオフェンカルブは酢酸エチルでは全く溶出されなかったが、ジクロロメタンではそれぞれ55.7、98.3%であった。

また、リン系のテルブホス、フェンチオンはジクロロメタンでは70%以上であったが、酢酸エチルでは50%未満であった。しかし、ジクロロメタンの場合でも時により40~50%台を示す等データのバラツキが大きく、これら農薬の揮発性、分解性が要因と考えられる。

表1 カラム負荷量別農薬回収率(%)
(有機リン系農薬の場合)

農 薬 名	負 荷 量 (ml)			
	15	20	25	30
トリクロルホン	35.4	35.5	33.8	18.6
エトプロホス	105.9	98.4	103.1	94.4
ダイアジノン	90.2	86.6	89.9	83.0
テルブホス	45.8	46.2	44.5	42.2
エトリムホス	89.1	87.4	91.3	83.5
ピリミホスメチル	84.3	81.3	83.2	77.8
クロルピリホス	84.4	81.6	81.9	77.6
フェンチオン	55.1	55.2	55.1	55.4
プロチオホス	84.8	81.8	80.6	77.0
マラチオン	87.6	84.7	88.9	82.8
パラチオンメチル	92.3	90.2	95.5	88.8
フェニトロチオン	90.2	85.7	91.1	85.2
パラチオン	84.4	82.0	84.7	80.9
エディフェンホス	83.6	73.1	75.0	75.1
E P N	114.1	106.2	110.0	101.4
アジンホスメチル	94.9	89.5	90.7	88.1
ドライゾーンの長さ (mm)	14~18 16~19	5~7 6~7	8~9 10~11	4~5 4~5

回収率は2回測定の平均値

ピレスロイド系Bグループの4農薬(シフルトリン、フルシトリネート、フェンバレレート、トラロメトリン)はジクロロメタンでは40%台、酢酸エチルでも60%前後とどちらの溶媒でも低い回収率であったが、これについては再度検討を要する。

この他に、酢酸エチルにおいては塩素系の α -BHC、ヘプタクロル、アルドリンが60%未満を示し、ジクロロメタンではアルドリンが60%台を示したが、上記以

表2 カラムからの農薬溶出状況(含窒素系農薬の場合)

農 薬 名	酢 酸 エ チ ル の 溶 出 画 分 (ml)									合計 (%)
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	
クロフェンテジン	57.4	13.2	6.2	2.7	0	0	0	0	0	79.5
エスプロカルブ	48.8	14.1	7.4	4.0	2.4	1.9	1.5	0	0	80.1
ジエトフェンカルブ	63.2	16.1	7.0	2.6	1.2	0	0	1.6	0	90.1
ペンディメタリン	43.8	13.5	7.0	3.9	2.3	1.8	1.7	0.9	1.3	75.6
フルトラニル	58.6	15.7	7.8	3.4	1.9	1.2	0.8	0	0	90.3
プロピコナゾール	68.3	16.6	9.5	4.1	2.1	0.6	0	0	0	101.2
レナシル	68.6	16.5	6.2	0	0	0	0	0	0	91.3
ピテルタノール	68.8	16.2	9.4	2.8	1.3	1.3	0	0	0	99.8
メフェナセット	61.4	15.9	8.5	3.0	1.2	0	0	0	0	90.0

表3-(I) 系統別農薬のGPC, ケムエルトコラム及び実試料における添加回収率

農薬名	GPC 回収率	ケムエルトコラム回収率		GC保持 時間 (min)	添加濃度 (ppm)			回収率 (%) ¹⁾				検出限界 (ppm)			
		ジクロロメタン	酢酸エチル		2)	3)	4)	りんご	玄米	長いも	ホタテガイ	2)	3)	4)	
有機塩素系				DB-1											
<i>α</i> -BHC	87.9	88.7	59.6	6.818	0.008	0.01	0.02	65.8	97.0	38.1	81.7	0.001	0.0012	0.0025	
<i>β</i> -BHC	97.0	104.8	94.0	7.287	0.008	0.01	0.02	89.5	102.9	88.3	94.6	0.001	0.0012	0.0025	
<i>γ</i> -BHC	93.7	93.2	70.7	7.841	0.008	0.01	0.02	82.5	93.3	55.5	96.4	0.001	0.0012	0.0025	
<i>δ</i> -BHC	95.2	104.3	95.0	8.098	0.008	0.01	0.02	92.3	93.9	83.6	92.7	0.001	0.0012	0.0025	
ヘプタクロル	94.7	72.3	54.2	11.573	0.008	0.01	0.02	77.1	87.9	61.3	84.6	0.001	0.0012	0.0025	
ジクロロフルアニド	100.0	92.5	92.1	12.45	0.016	0.02	0.04	94.2	N D	37.9	- ⁵⁾	0.002	0.0025	0.005	
アルドリリン	79.9	62.9	52.4	12.879	0.008	0.01	0.02	76.2	83.1	59.6	79.3	0.001	0.0012	0.0025	
キャプタン	108.9	87.1	85.7	13.804	0.016	0.02	0.04	122.4	N D	75.0	-	0.002	0.0025	0.005	
ヘプタクロルエポキシド	97.9	85.0	83.6	14.097	0.008	0.01	0.02	96.6	85.1	81.4	92.1	0.001	0.0012	0.0025	
ディルドリン	99.5	90.3	92.1	15.936	0.008	0.01	0.02	91.0	83.6	93.4	97.3	0.001	0.0012	0.0025	
pp-DDE	97.1	89.6	84.6	16.137	0.008	0.01	0.02	94.1	82.8	123.7	93.1	0.001	0.0012	0.0025	
エンドリン	102.6	94.3	119.3	16.412	0.008	0.01	0.02	95.8	94.1	95.4	99.8	0.001	0.0012	0.0025	
pp-DDD	100.2	90.1	88.1	17.103	0.008	0.01	0.02	89.4	78.0	89.2	94.6	0.001	0.0012	0.0025	
pp-DDT	102.6	102.9	106.9	18.18	0.008	0.01	0.02	98.4	58.0	78.4	95.2	0.001	0.0012	0.0025	
ジコホール	106.6	99.3	124.8	19.557	0.016	0.02	0.04	111.4	101.3	99.1	94.7	0.002	0.0025	0.005	
有機リン系				DB-210											
(Aグループ)															
トリクロロホン	83.1	91.9	75.7	3.484	0.02	0.025		114.9	93.3	98.2		0.0025	0.0031		
ジクロロボス	71.2	97.8	91.8	8.948	0.02	0.025		77.2	45.5	73.1		0.0025	0.0031		
エトプロホス	93.5	83.4	95.3	12.569	0.02	0.025		94.1	95.3	79.8		0.0025	0.0031		
ダイアジノン	94.5	78.7	78.0	12.947	0.02	0.025		98.3	90.2	79.0		0.0025	0.0031		
テルブホス	77.5	71.6	25.2	13.096	0.02	0.025		69.7	15.3	24.3		0.0025	0.0031		
エトリムホス	96.2	79.7	82.3	13.542	0.02	0.025		93.8	90.2	80.3		0.0025	0.0031		
ピリミホスメチル	99.1	79.7	71.7	14.782	0.02	0.025		94.0	92.7	80.8		0.0025	0.0031		
クロルピリホス	98.0	85.5	85.2	15.121	0.02	0.025		100.2	97.6	82.4		0.0025	0.0031		
フェンチオン	87.2	77.3	41.7	15.598	0.02	0.025		83.3	2.8	17.2		0.0025	0.0031		
プロチオホス	98.9	89.6	92.5	16.499	0.02	0.025		96.5	99.2	93.1		0.0025	0.0031		
マラチオン	96.6	79.1	82.4	16.613	0.02	0.025		98.5	101.4	91.6		0.0025	0.0031		
パラチオンメチル	88.5	78.7	88.9	16.706	0.02	0.025		97.0	87.0	78.5		0.0025	0.0031		
フェントロチオン	96.8	81.6	101.1	17.017	0.02	0.025		95.8	96.0	89.3		0.0025	0.0031		
パラチオン	94.6	87.1	106.7	17.442	0.02	0.025		94.7	89.8	85.1		0.0025	0.0031		
エディフェンホス	100.2	82.1	88.3	19.156	0.02	0.025		102.7	95.1	96.7		0.0025	0.0031		
EPN	101.2	90.6	124.4	21.479	0.02	0.025		97.3	98.8	87.1		0.0025	0.0031		
アジンホスメチル	98.5	83.9	87.5	22.636	0.02	0.025		109.6	95.8	91.6		0.0025	0.0031		
(Bグループ)															
チオメトン	41.8	55.7	N D	12.758	0.04	0.05		8.3	N D	N D		0.005	0.0062		
キナルホス	102.2	90.4	84.3	16.534	0.02	0.025		83.8	79.6	77.9		0.0025	0.0031		
<i>α</i> -クロルフェンビンホス	103.6	91.0	98.7	17.019	0.02	0.025		91.4	85.0	86.9		0.0025	0.0031		
<i>β</i> -クロルフェンビンホス	104.6	91.9	99.9	17.312	0.02	0.025		90.7	87.8	87.0		0.0025	0.0031		

1) 回収率は2回測定の前平均値 2) りんご、長いものとき 3) 玄米のとき 4) ホタテガイのとき 5) 測定せず

外の農薬については両溶媒ともすべて70%以上であった。全体的にはジクロロメタンの方が酢酸エチルより高い回収率を示した。

さらに、酢酸エチルの場合には、カラム表面に塩化ナトリウムが析出し、溶出が困難なことが多かった。以上の結果よりその後のGPC操作の溶出液とも共通するジクロロメタンを用いることとした。

3・2 実試料における添加回収試験

りんご、玄米、長いも、ホタテガイに一定濃度の系統別農薬標準溶液1mlを添加して1時間放置した後、図1に示した方法により操作し各農薬の添加回収率を求めた。結果を表3に示した。

作物の種類にかかわらず回収率が低いのはリン系のチオメトン、含窒素系のクロフェンテジン、エチオフェン

表3-(2) 系統別農薬のGPC、ケムエルトカラム及び実試料における添加回収率

農 薬 名	G P C 回収率	ケムエルトカラム回収率		G C 保持時間		添加濃度		回 収 率 (%) ¹⁾			検 出 限 界	
		ジクロロメタン	酢酸エチル	(min)	(min)	(ppm)	(ppm)	りんご	玄 米	長いも	(ppm)	(ppm)
含窒素系				DB-17		2)	3)				2)	3)
(Aグループ)												
クロフェンテジン	84.6	99.7	86.0	7.014		0.24	0.3	19.4	23.9	16.9	0.03	0.0375
エスプロカルブ	97.3	87.8	80.6	13.775		0.08	0.1	84.6	68.6	77.2	0.01	0.0125
ジエトフェンカルブ	97.2	96.3	89.5	14.016		0.24	0.3	89.5	66.5	102.4	0.03	0.0375
ペンディメタリン	98.0	87.7	86.5	14.681		0.16	0.2	81.1	81.7	74.4	0.02	0.025
フルトラニル	98.8	89.5	99.1	15.986		0.48	0.6	102.5	96.4	98.3	0.06	0.075
プロピコナゾール	98.8	92.7	102.1	17.732	17.802	0.2	0.25	98.7	105.2	92.9	0.025	0.0312
レナシル	97.0	110.9	86.7	19.211		0.16	0.2	103.4	94.7	92.3	0.02	0.025
ピテルタノール	98.9	93.3	98.6	21.546	21.879	0.4	0.5	98.2	101.5	93.9	0.05	0.0625
メフェナセット	100.3	89.8	104.0	22.13		0.2	0.25	96.7	97.9	96.8	0.025	0.0312
(Bグループ)												
クロルプルファム	96.2	97.7	102.8	10.723		0.16	0.2	83.2	86.6	70.9	0.02	0.025
エチオフェンカルブ	100.1	98.3	N D	13.756		0.16	0.2	15.1	N D	N D	0.02	0.025
メトリブジン	96.8	88.2	87.6	14.069		0.08	0.1	84.2	63.5	50.1	0.01	0.0125
チオベンカルブ	96.2	88.5	86.6	14.303		0.08	0.1	98.3	88.3	82.3	0.01	0.0125
カルバリル	125.6	122.8	105.0	14.587		0.16	0.2	123.2	106.3	95.2	0.02	0.025
プレチラクロール	94.7	87.6	96.4	15.668		0.16	0.2	91.9	87.4	80.3	0.02	0.025
キノメチオネート	90.5	93.3	92.4	16.09		0.08	0.1	80.3	95.1	64.7	0.01	0.0125
メプロニル	98.3	93.1	97.2	17.67		0.48	0.6	92.3	93.5	91.1	0.06	0.075
フェナリモル	95.3	94.0	103.5	21.699		0.16	0.2	91.7	103.7	82.4	0.02	0.025
ピレスロイド系				DB-1		2)	3)				2)	3)
(Aグループ)												
クロルベンジレート※	102.2	97.5	100.4	8.127		0.16	0.2	100.6	81.4	116.6	0.02	0.025
カプタホール※	115.4	91.4	111.0	8.678		0.016	0.02	107.3	N D	21.8	0.002	0.0025
メトキシクロル※	105.8	100.7	102.3	9.261		0.016	0.02	97.6	90.8	66.7	0.002	0.0025
シハロトリン	87.4	106.8	109.7	9.875	10.027	0.04	0.05	63.5	67.2	70.0	0.005	0.0062
ベルメトリン	101.9	102.7	104.8	10.579	10.684	0.24	0.3	100.3	81.2	67.1	0.03	0.0375
シベルメトリン	104.7	105.0	111.2	11.347	11.435	0.08	0.1	86.6	83.6	61.9	0.01	0.0125
				11.54								
フルバリネート	88.4	109.0	113.0	12.495	12.556	0.04	0.05	62.7	63.7	59.9	0.005	0.0062
デルタメトリン	125.1	104.8	110.7	12.897		0.02	0.025	82.5	81.6	50.7	0.0025	0.0031
(Bグループ)												
ピレトリン	55.7	90.6	80.2	7.99	8.386	0.16	0.2	46.7	55.4	49.1	0.02	0.025
				8.507	9.759							
				10.245	10.407							
シフルトリン	100.8	44.3	56.7	11.087	11.171	0.08	0.1	75.9	65.8	81.4	0.01	0.0125
				11.283								
フルシトリネート	95.0	49.2	60.4	11.555	11.74	0.08	0.1	69.8	67.7	77.7	0.01	0.0125
フェンバレレート	104.9	44.0	57.2	12.194	12.399	0.08	0.1	76.2	71.9	81.6	0.01	0.0125
トラロメトリン	137.7	48.5	64.6	12.914		0.16	0.2	82.4	73.9	89.6	0.02	0.025

1) 回収率は2回測定の平均値 2) りんご、長いものとき 3) 玄米のとき ※有機塩素系農薬

カルブ、ピレスロイド系のピレトリンで、玄米、長いものではチオメトン、エチオフェンカルブは全く検出されなかった。チオメトンについては、ケムエルトカラム及びGPCの単一操作においてもそれぞれ55.7、41.8%と低い回収率であり操作中に酸化体になったものと考えられる。

エチオフェンカルブについてもGPC操作中（シクロヘ

キサン・酢酸エチル（1：1）溶出）にスルホキシド体に変化したと報告されているが¹⁷⁾、今回行ったこれらの単一操作では高い回収率を示していることから、検査開始からGC測定までの期間が長すぎたことも添加回収率の低い要因の一つと考えられる。

また、作物の種類によって回収率が大きく異なっている農薬は、塩素系のジクロロフルアニド、キャプタン、カ

プタホール、リン系のテルブホス、フェンチオンの5農薬であった。

このうち、塩素系の3農薬は、玄米ではすべてND、長いものではジクロフルアニド、カプタホールがどちらも40%未満であるのに対し、りんごではすべて90%以上の高い回収率を示した。これは農薬が作物成分によってホモジナイズ及び抽出時に分解しているものと考えられる。^{17, 18)}

リン系のテルブホス、フェンチオンもこれら3農薬と同様に、玄米、長いもにおいては30%未満の低い値を示したが、りんごにおいては約70~80%台であった。しかし、テルブホス、フェンチオンは同一作物でもデータのばらつきが大であり、3・1(3)で述べたように揮発性、分解性の高いことが原因と考えられる。

また、長いもについては、塩素系の α -、 γ -BHC、アルドリル、含窒素系のメトリブジン、ピレスロイド系のフルバリネート、デルタメトリンが、他の作物に比較して低い回収率を示したが、長いもの成分が原因かどうか検討する必要がある。

この他に、玄米においてはジクロロポスが50%未満の低い回収率であったが、上記以外の農薬についてはどの作物においてもすべて60%以上を示し、中でも、りんごは4農薬を除きすべて60%以上の回収率であった。

ピレスロイド系の4農薬(シフルトリン、フルシトリネート、フェンバレレート、トラロメトリン)については、ケムエルトカラム操作における回収率は低かったが実試料においてはすべて60%以上の回収率であり、これについては試料によるマトリックスの影響が考えられる。

ホタテガイについては、有機塩素系の12農薬のみ分析したが、すべて79%以上の回収率であった。

本法における検出限界は、有機塩素系では0.001~0.005ppm、有機リン系では0.0025~0.0062ppm、含窒素系では0.01~0.075ppm、ピレスロイド系では0.002~0.0375ppmであり、8農薬(ジクロフルアニド、キャブタン、テルブホス、フェンチオン、チオメトン、クロフェンテジン、エチオフェンカルブ、カプタホール)以外の農薬については、日常分析に用いる多成分スクリーニング法として充分有用な方法であると考えられた。

4. ま と め

食品衛生法で残留基準が告示された農薬64種類を含む67種類の農薬(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、ケムエルトカラムとGPCクリーンアップを用いた多成分一斉分析法の検討を行った。

(1) ケムエルトカラムを用いた液・液分配抽出法によ

り以下の操作を簡略化できた。

① 脱水操作の必要がなく、分液ロートが不要。

② 抽出時のエマルジョン生成もなく、分析時間及び有機溶媒が節約できる。

(2) りんご、玄米、長いも、ホタテガイを用い、本法による添加回収試験を行った結果、りんごでは63農薬ですべて60%以上の回収率が得られ、玄米、長いもにおいても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使用可能であると考えられる。

5. 文 献

- 1) L. Kadenczki, et al. : *J. AOAC Int.*, **75**, 53-61, 1992.
- 2) H. M. Lott, et al. : *J. AOAC Int.*, **76**, 67-72, 1993.
- 3) A. R. Long, et al. : *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **74**, 493-496, 1991.
- 4) A. R. Long, et al. : *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 423-426, 1990.
- 5) F. J. Schenck, et al. : *J. AOAC Int.*, **77**, 102-106, 1994.
- 6) D. R. Erney, et al. : *J. High Resol. Chromatogr.*, **18**, 59-62, 1995.
- 7) A. DiMuccio, et al. : *J. Chromatogr.*, **643**, 363-368, 1993.
- 8) M. L. Hopper : *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**, 731-734, 1988.
- 9) J. Manes, et al. : *J. Chromatogr.*, **642**, 195-204, 1993.
- 10) Y. Pico, et al. : *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1610-1615, 1995.
- 11) 古川章子, 他 : 青森県環境保健センター研究報告, **6**, 35-45, 1995.
- 12) 山本 優, 他 : GPC及びExtrelutカラムを用いた食品中残留農薬分析の簡易化について, 第29回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 72-73, 1992.
- 13) 農薬残留分析法研究班, 最新農薬の残留分析法, 16, 1995.
- 14) 権田倫恵子, 他 : 第12回農薬残留分析研究会講演資料集, 1-3, 1998.
- 15) 大久保まり, 他 : 第12回農薬残留分析研究会講演資料集, 6-10, 1998.
- 16) 飯島和昭, 他 : 第19回日本農薬学会講演要旨集, 140, 1994.
- 17) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会 : 食品衛生研究, **45**, 9, 31-49, 1995.
- 18) 外海泰秀, 他 : 衛生化学, **38**, 3, 270-281, 1992.

Abstract

**DISCUSSION ON THE ANALYSIS OF RESIDUAL PESTICIDES IN
FOODS BY USING GPC CLEAN UP METHOD (2)**

Akiko KOGAWA¹ and Masanori TAKAHASHI¹

In the previous paper, we reported that the GPC (gel permeation chromatography) clean up method was useful in the simultaneous analysis of multicomponent pesticides in agricultural products. In this paper, the liquid-liquid partition extraction employed in the analytical method reported in the previous paper was substituted by the chemelut column extraction method so as to discuss a quicker and easier pretreatment. As a result, it became possible to simplify the analytical process, i. e., shortening the operation time, reducing the amounts of the organic solvents to be employed, requiring less glass instruments, shortening the analysis time, etc.

This method was applied to apple, unpolished rice, Chinese yam and scallop and an addition/recovery test was performed by using 67 pesticides (organochlorine, organophosphorus, organo nitrogen and pyrethroid pesticides). Based on the results, it is considered that this method is sufficiently usable in daily analysis by the multicomponent screening of 59 pesticides.

Key words : Simultaneous analysis, Residual pesticides, Gel permeation chromatography, Chemelut column.

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment.

フェノバルビタールおよびポリ塩化ビフェニルによるマウス肝 c-JUN誘導の免疫組織化学的検討

三浦 啓徳 高橋 政教 畑山 一郎

9種類の発癌物質、発癌プロモーター、薬物のB6C3F1マウスへの短期投与による癌遺伝子産物c-JUNの肝における誘導に関して免疫組織化学的に検討した。そのうち、phenobarbital (PB) と polychlorinated biphenyl (PCB) は、中心静脈周辺の肝実質細胞にc-JUNを強く誘導した。PBとPCBのc-JUN誘導能には性差は認められなかった。また、diethylnitrosamine (DEN) で誘発したマウス肝前癌病巣にはc-JUNが発現するが、DENとPBを併用した肝化学発癌系では前癌病巣に加えて、同程度の強さで中心静脈周辺の肝細胞が染色された。このことは、c-JUNはPBを用いた発癌系では肝前癌マーカーとはならないことを示す。

Key words : c-JUN, phenobarbital, PCB, mouse liver, immunohistochemistry

1. はじめに

マウスは、遺伝子的、染色体学的にヒトと高い類似性をもつため、ヒトの発癌機構解析や発癌物質のスクリーニングのため使用されている。なかでも特に、量的に扱いやすいことから肝臓が発癌の対象臓器として用いられている。化学発癌の過程では、まず発癌物質により正常細胞が遺伝子に変異を生じて前癌細胞へと変化する。次に、種々の内因性あるいは外因性因子の作用によって前癌細胞は増殖して前癌病巣となり、その細胞群の中から癌細胞が発生すると考えられている。従って、癌化の機構解明には、発癌過程で早期に発生する前癌病巣における分子レベルでの変化を明らかにする事が重要である。また、発癌物質のスクリーニングのためにも前癌病巣の検出法の確立が必要である。しかし、マウス肝前癌病巣の有用な免疫組織化学的マーカーはなく、その開発が待たれていた。

我々は、diethylnitrosamine (DEN) で誘発した雄マウスの肝前癌病巣は解毒酵素glutathione S-transferase II (GST-II) 陰性巣として、雌マウスでは逆に陽性巣として免疫組織化学的に検出されることを報告してきた¹⁾。しかし、前癌マーカーとしてはGST-IIのように病巣の表現型に性差があるのではなく、雄雌の病巣を陽性巣として検出できるものが望ましい。近年、我々は、遺伝子毒性肝発癌剤であるDEN、3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene (3'-MeDAB) およびN-ethyl-N-nitrosoureaの単独投与で誘発した雄雌のマウス肝前癌病巣には核内癌遺伝子産物c-JUNが特異的に発現することを見い出し、c-JUNがマウス肝前癌の優れた免疫組織化学的マーカーとなることを報告した²⁻⁴⁾。しかし、薬物や毒物による短期誘導に

関して検討することは、c-JUNの前癌マーカーとしての有用性を評価する上で重要である。そこで今回、発癌剤、発癌プロモーター、抗酸化剤など9種の化合物のc-JUN誘導能に関して免疫組織化学的に検討した。

2. 材料と方法

2・1 試薬

PBは三共、butylated hydroxyanisole、 β -naphthoflavone、3'-MeDABは和光純薬、clofibrateは東京化成、propylthiouracilはシグマ社から購入した。3-methylcholanthreneはイーストマンコダック社、sudan IIIはナカライテスクから各々購入した。PCBはKanechlor500を用いた。ベクタステインABC-POキットはフナコシから入手した。

2・2 動物

日本クレアから購入した7週齢の雄C3H/Heと雌C57BL/6の交配によりB6C3F1マウスを作り、7週齢で実験に使用した。

2・3 薬物投与

表1に示すように、PB (0.05%), butylated hydroxyanisole (0.75%), clofibrate (0.5%), 3'-MeDAB (0.6%) は2週間の混餌投与であった。propylthiouracil (0.05%) は飲料水に混入し2週間投与した。 β -naphthoflavone (200mg/kg)、3-methylcholanthrene (20mg/kg)、PCB (150mg/kg)、sudan III (160mg/kg) は腹腔内1回投与で各々48時間、4日、5日、48時間後に屠殺し実験に供した。また、DENによるマウス肝化学発癌は、既報の通りであった¹⁾。DENとPBを併用した発癌系はHirouchiらに従った⁵⁾。

表1 種々の化合物のマウス肝c-Jun誘導能

化 合 物	投 与 量	投 与 期 間	c-JUN
Phenobarbital	0.05 %	2 W	2 +
β -naphthoflavone	200mg/kg.ip	48 h	-
3-methylcholanthrene	20mg/kg.ip	4 d	-
PCB	150mg/kg.ip	5 d	2 +
Butylated hydroxyanisole	0.75 %	2 W	-
Clofibrate	0.5 %	2 W	-
3'-MeDAB	0.6 %	2 W	-
Sudan III	160mg/kg.ip	48 h	-
Propylthiouracil	0.05 %	2 W	-

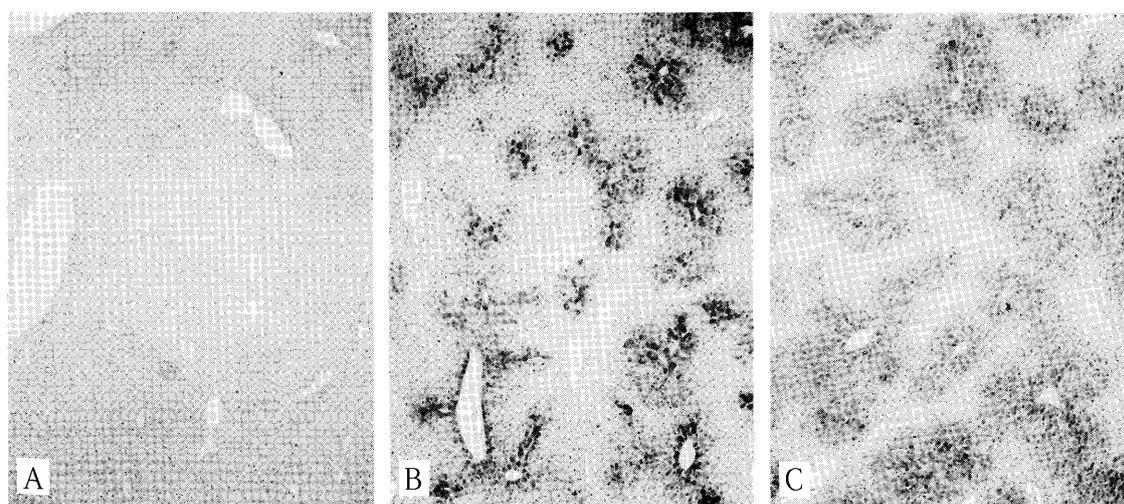


図1 PBおよびPCB投与マウス肝におけるc-JUNの免疫組織化学。
(A)正常マウス肝, (B)PB投与マウス肝, (C)PCB投与マウス肝。

2・4 免疫組織化学

マウスはエーテル麻酔下で断頭により屠殺された。屠殺後、すぐに肝臓を2mm厚に切りだし、冷アセトンに3日間固定した後、ベンゼンに置換してからパラフィンに包埋した。免疫組織化学はavidin-biotin-peroxidase-complex (ABC) 法⁶⁾を用い、6 μ m厚のパラフィン切片上で行われた。第1抗体としてOncogene Science社のc-JUN抗体 (Ab-1) をPBSで10倍希釈して用いた。対比染色はリリーマイヤーのヘマトキシリンによった。

3. 結 果

発癌剤、発癌プロモーター、抗酸化剤など9種の化合物の雄B6C3F1マウス肝c-JUNの誘導能に関して免疫組織化学的に検討した。結果は表1のように、phenobarbital (PB) と polychlorinated biphenyl (PCB) が強いc-JUN誘導活性を示した。図1にその典型的な発現パターンを示

す。図1Aのように、正常マウス肝ではc-JUNは検出されなかった一方、PB (図1B) は中心静脈周辺の肝細胞にc-JUNを強く誘導した。また、PCB (図1C) もPBと同様の部位にc-JUNを誘導した。次に、PBとPCBのc-JUN誘導は同一機構によるのか或いは異なる機構によるのか検討した。PBとPCBの同時投与によるc-JUNの発現は相加的であった (データ未発表) ことから、両者は異なる機構を介してc-JUNを誘導するものと思われた。PBおよびPCBによるマウス肝c-JUNの誘導は、雌マウスにおいても同様に観察された。

マウスの肝化学発癌では、DEN単独投与の系が頻用されているが、DENとPBの併用系も良く使われているため、両系におけるc-JUNの発現を比較した。図2Aのように、DEN単独投与系ではc-JUNは前癌病巣に局在して検出された。それに対し、DENとPBの併用系による肝化学発癌では、c-JUN前癌病巣に加えて同等の強さで中

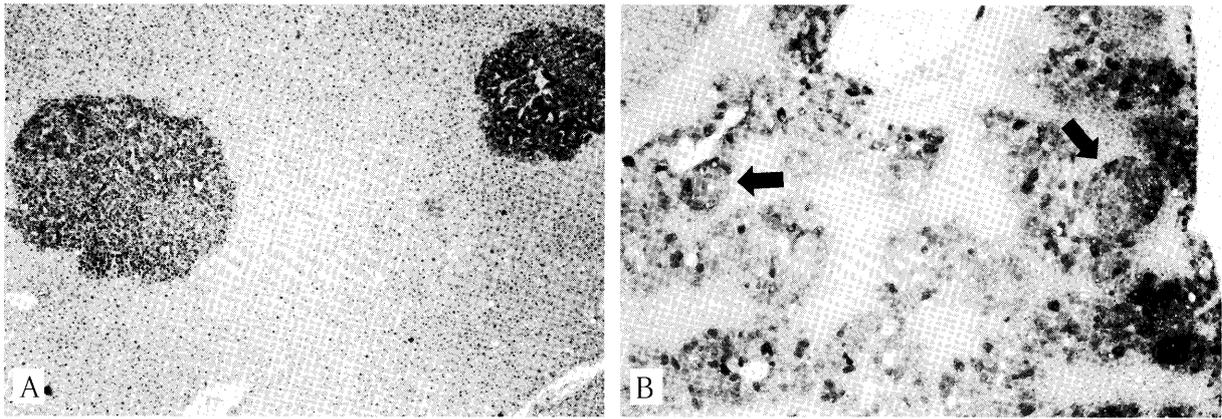


図2 DENとPCBの併用系で誘発した前癌を含むマウス肝におけるc-JUNの免疫組織化学. (A)DENで誘発した肝前癌病巣, (B)DENとPB併用系で誘発した肝前癌病巣. (B)の矢印は病巣を示す.

心静脈周辺の肝細胞に誘導されたため、病巣の検出は困難であった。この結果は、PBを併用した発癌系の場合にはc-JUNはマウス肝前癌の免疫組織化学的マーカーとしては無効であり、注意を要することを示している。

4. 考 察

マウスは、遺伝子的、染色体学的にヒトと非常に近いことからヒトの癌研究に使用されてきたにもかかわらず、マウス肝臓の前癌マーカーとして有用性の高いものは知られていなかった。我々は最近、c-JUNが遺伝子毒性発癌剤で誘発したマウス肝前癌の免疫組織化学的マーカーとして高い有用性をもつことを報告した。しかし、本研究において、PBはマウス肝の中心静脈周辺にc-JUNを強く誘導することから、PBを用いた発癌系で誘発したマウスの肝前癌ではc-JUNはマーカーとして無効であることが判明した。このことから、マウス肝前癌マーカーとして現在のところ最も優れているのはc-JUNであるが、さらに種々の薬物、毒物等で容易に発現誘導を受けない様なマーカーを開発する必要がある。

PBとPCBは肝発癌プロモーターであり、いずれもcytochrome P450を誘導する。同じP450の誘導物質であるβ-naphthoflavoneや3-methylcholanthreneはc-JUNを誘導しないことから、P450とc-JUNの発現誘導には関連性がないものと考えられる。PBは細胞内にあるPB結合蛋白と結合して、種々の遺伝子の5'上流に存在する塩基配列barbie box (ATCAAAAGCTGGAGG) に連結しそれらの遺伝子を活性化すると考えられている⁷⁾。マウスc-jun遺伝子5'上流にはAAGAAAAGGAGAAGAというbarbie box類似の配列があり⁸⁾、そこを介しての発現が想定される。また、PCBの場合はAh受容体と複合体を形成し、c-jun遺伝子5'上流のxenobiotics response element (XRE : GCGTG) に結合して遺伝子の活性化を促すものと考え

られる。PBとPCBは相加的なc-JUN誘導効果を示すことから、両者はbarbie box類似配列とXREの協調的作用をもってc-jun遺伝子を活性化するものと考えられる。それに対して、遺伝子毒性発癌剤で誘発された前癌におけるc-JUNの発現は、TPA responsive element (TRE : TGAGTCA) を介したもので、PBやPCBのc-JUN誘導機構とは異なっているものと思われる。

謝 辞

DENとPB併用系で誘発した前癌病巣を含むマウス肝を恵与された食品農医薬品安全性評価センターの榎本真博士および広内康彦博士に深謝致します。また、本研究をすすめるにあたっての貴重な御助言に対し弘前大学医学部第2生化学教室土田成紀教授および佐藤公彦助教授に感謝致します。

文 献

- 1) Hatayama, I. et al : Sex-dependent expression of class pi glutathione S-transferase during chemical hepatocarcinogenesis in B6C3F1 mice. *Carcinogenesis*, **14**, 537-538, 1993.
- 2) 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.
- 3) Miura, H. et al : Expression of c-Jun and glutathione S-transferase II (GST-II) in mouse hepatic foci induced by genotoxic carcinogens. 54th Ann. Meet. Jpn. Cancer Assoc. (Abstract), 76, 1995.
- 4) 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-

- transferaseIIおよび核内癌遺伝子c-Junの発現. 青森県環境保険センター研究報告, **6**, 46-50, 1995.
- 5) Hirouchi, Y. et al : An immunohistochemical study on the proliferative, preneoplastic and neoplastic hepatocellular lesions by short-and mid-term experiments in mice exposed to hepatocarcinogens. *J.Toxicol.Pathol.*, **9**, 249-261, 1996.
- 6) 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.
- 7) Liang, Q. et al : The role of barbie box sequences as cis-acting elements involved in the barbiturate-mediated induction of cytochrome P450_{BM-1} and P450_{BM-3} in *Bacillus megaterium*. *J. Biol.Chem.*, **270**, 4438-4450, 1995.
- 8) Han, T. et al : Mapping of epidermal growth factor-, serum-, and phorbol ester-responsive sequence elements in the c-jun promoter. *Mol.Cell.Biol.*, **12**, 4472-4477, 1992.

Abstract

Immunohistochemical Detection of c-JUN in Mouse Livers Treated with Phenobarbital and Polychlorinated biphenyls

Hironori MIURA¹, Masanri TAKAHASHI¹ and Ichiro HATAYAMA¹

The induction of c-JUN by nine substances such as carcinogens and tumor promoters, was immunohistochemically investigated in male B6C3F1 mouse livers. Among those, phenobarbital (PB) and polychlorinated biphenyls (PCB) strongly induced c-JUN in the hepatocyte around the central vein. The induction of c-JUN by PB and PCB was also observed in female mice. Furthermore, the expression of c-JUN was compared with preneoplastic hepatic foci of mice induced by diethylnitrosamine (DEN), and DEN plus PB. c-JUN was specifically expressed in DEN-induced foci, while during hepatocarcinogenesis by DEN plus PB, the oncogene was expressed in the perivenous region as well as in the hepatic foci. This result indicates that c-JUN is not useful as an immunohistochemical marker of hepatic foci for carcinogenesis with the use of PB.

Key words : c-JUN, phenobarbital, mouse liver, immunohistochemistry

¹ : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment

分解反応モデルを用いた水中有機塩素化合物の挙動解析

石塚 伸一 工藤 健 大久保英樹

地下水の有機塩素化合物を調査したところ、テトラクロロエチレン (PCE), トリクロロエチレン (TCE), cis-1,2-ジクロロエチレン (c-1,2-DCE) が検出され、これらの物質間に強い関連性が認められた。c-1,2-DCEは工場・事業場で使用されていないことから、分解反応によって生成したものと考えられる。PCEは分解反応によって濃度が減少するため、見かけ上、汚染状況が改善されたように見える。しかし、PCE濃度減少に見合った分のTCE, c-1,2-DCEが生成しており、これら分解生成物の方が元のPCEより毒性が強いことから、分解生成物も含めて、総合的に汚染状況を解析・評価する必要がある。分解反応モデルを用いることによって、PCE濃度減少の要因解析、汚染源同一性の検討、過去及び将来のPCE濃度推定が可能となった。

Key words : behavior of chlorinated hydrocarbons, degradation reaction model, tetrachloroethylene, cis-1, 2-dichloroethylene, water pollution

1. はじめに

地下水の有機塩素化合物については、従来、テトラクロロエチレン (PCE), トリクロロエチレン (TCE), 四塩化炭素 (CCl₄), 1,1,1-トリクロロエタン (MC) の4物質を中心に測定が実施され、それぞれの物質ごとに、環境基準をクリアしているかどうかという観点から評価されてきた。

平成5年3月8日に水質に係る環境基準が改正¹⁾されたのを機に、当県においても平成6年度より、cis-1,2-ジクロロエチレン (c-1,2-DCE), trans-1,2-ジクロロエチレン (t-1,2-DCE), ジクロロメタン (DCM), 1,1-ジクロロエチレン (1,1-DCE) 等の環境基準追加項目や要監視項目についても測定を実施してきた。

これら追加物質の検出状況を見ると、c-1,2-DCEの検出される検体がいくつか見受けられた。工場・事業場における有機塩素化合物使用状況を調査したところ、c-1,2-DCEは使用されていなかった。

c-1,2-DCEについてはPCE, TCEの分解生成物という報告があり²⁾、また、元の物質のPCE, TCEより毒性が強いともいわれている。このことは、単に個々の物質毎に環境基準値の適否状況を見るのではなく、分解生成物も含めた総合的な解析・評価が必要であることを示している。

そこで、今回、分解反応モデルを用いて、水中有機塩素化合物の挙動について検討したので報告する。

2. 方 法

2・1 分析方法

有機塩素化合物はヘッドスペース/GC/MS法により分析を行った。測定条件は既報のとおりである。³⁾

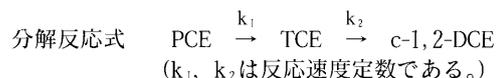
2・2 解析データ

解析には、平成6～8年度における本県地下水定期モニタリング調査地点^{4・5)}及び有機塩素化合物使用工場の排水水質データ等を用いた。

分解反応検討対象物質はPCE, TCE, c-1,2-DCEである。

2・3 解析方法

解析に用いたPCE分解反応モデルの概要は次のとおりである。^{6・8)}



このモデルは、PCEがTCEを経てc-1,2-DCEまで分解する反応を、連続一時反応式で近似するものであり、いくつかの室内実験でこの分解反応が確認されている。この反応式から分かるように、PCEの分解にあたっては次の関係が成立している。

- (1) PCE, TCE, c-1,2-DCEのモル濃度和は反応の全期間で一定である。
- (2) 時間の経過とともにPCEは分解消失し、その減少分に相当するモル量のTCE, c-1,2-DCEが生成する。

ここで分解生成物をも考慮して、総PCE濃度、PCE分解進行率を次式のように定義すると、(1)の関係より反応の全期間で総PCE濃度が一定であるという関係が得られ

る。また、(2)の関係より、反応が進行するにつれPCE分解進行率が大きくなるという関係が得られる。

$$\text{総PCE濃度} = \text{PCE濃度} + \text{TCE濃度} + \text{c-1,2-DCE濃度}$$

$$\text{PCE分解進行率} = \frac{(\text{TCE濃度} + \text{c-1,2-DCE濃度}) \times 100}{\text{総PCE濃度}}$$

3. 結果及び考察

3・1 有機塩素化合物の検出状況

PCE等の物理定数、毒性、水溶解度、沸点等の物理化学的性状は表1のとおりである。⁹⁾

表1 物理化学的性状

物質名	PCE	TCE	c-1,2-DCE
分子量	165.58	131.40	96.5
比重	1.623	1.465	1.282
沸点(°C)	121.2	86.7	60.63
蒸気圧(mmHg(20°C))	18.5	69.0	208
水溶解度(mg/l(25°C))	1503	1100	3500
ラットの経口LD50(g/kg)	13	4.92	0.77
環境基準値(mg/l)	0.01	0.03	0.04

解析にあたり、まず有機塩素化合物の検出状況を見ると、表2のとおり、最も高い濃度の検出されているのは、PCEであり続いて、c-1,2-DCE、TCE、CCl₄、MCであった。また、PCEは広い濃度範囲で検出された。

3・2 検出タイプの分類

検出された主たる物質によって、次のとおり、PCE型、TCE型、CCl₄型に分類できた。また、いくつかの物質が混在して検出される混合型もあった。

- PCE型：主としてPCEが検出されるタイプ
- TCE型：主としてTCEが検出されるタイプ
- MC型：主としてMCが検出されるタイプ
- CCl₄型：主としてCCl₄が検出されるタイプ
- 混合型：各物質が混在して検出されるタイプ

環境水の検出物質パターンを図1に示す

この中で、PCE型ではPCEと同時にTCE、c-1,2-DCEも検出されることが多く、TCE型では同時にc-1,2-DCEの検出されるケースの多いことが特徴であった。

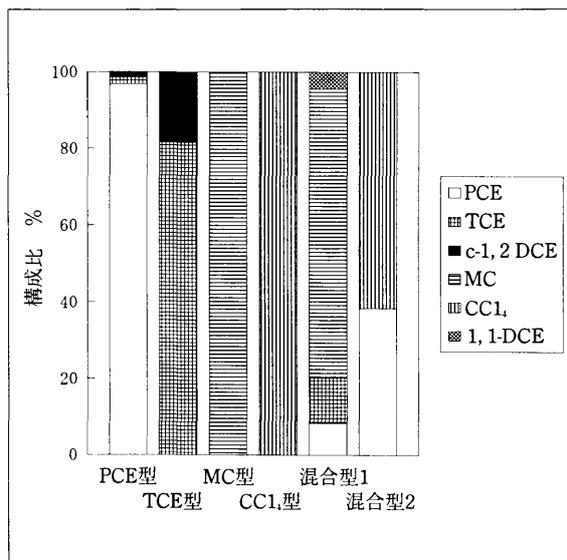


図1 環境水の検出物質パターン

3・3 検出物質の組み合わせ状況

そこで、物質間の関連性をみるため、相関係数を算出した。相関係数行列を表3に、散布図の例を図2、3に示す。

表2 基礎統計量及び度数分布表 (n=109)

濃度(μg/l)	PCE	TCE	c-1,2-DCE	t-1,2-DCE	MC	CCl ₄	1,1-DCE	DCM
～ 0.1	35	60	83	105	84	96	103	107
0.1 ～ 1	36	34	14	4	18	9	6	16
1 ～ 10	23	8	9	0	7	3	0	1
10 ～ 50	12	7	2	0	0	1	0	0
50 ～ 100	0	0	1	0	0	0	0	0
100 ～ 200	1	0	0	0	0	0	0	0
200 ～	2	0	0	0	0	0	0	0
最大	420	49	71	0.3	4.3	21	0.6	1.7
最小	0	0	0	0	0	0	0	0
平均	11	1.9	1.5	0	0.2	0.3	0	0.1

表3 相関係数行列 (n=109)

物質名	PCE	TCE	c-1,2-DCE	t-1,2-DCE	MC	CCl ₄
PCE						
TCE	0.35*					
c-1,2-DCE	0.82*	0.63*				
t-1,2-DCE	0.62*	0.83*	0.88*			
MC	-0.07	0.24	0.05	0.15		
CCl ₄	-0.04	-0.04	-0.03	-0.03	-0.04	
1,1-DCE	0.04	0.61*	0.31*	0.47*	0.79*	-0.03

* : 危険率 1 % 有意

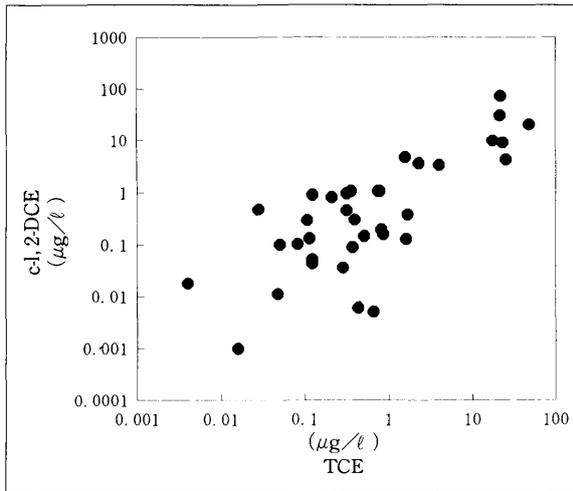


図2 TCEとc-1,2-DCEの散布図

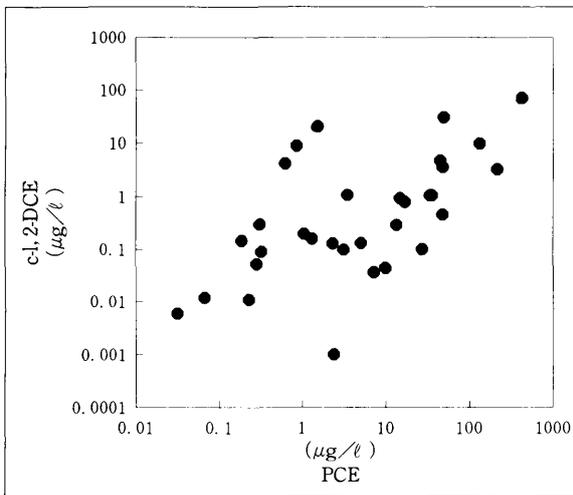


図3 PCEとc-1,2-DCEの散布図

以上、検出状況、検出物質の組み合わせ状況から、PCE、TCE、c-1,2-DCE間に強い関連性が認められた。

3・4 環境中における分解過程

c-1,2-DCEは工場・事業場で使用されていない(3・10節参照)にもかかわらず環境中から検出されており、この物質は分解反応によって生成したものと考えられ

る。

そこで有機塩素化合物の環境中における分解状況を調べてみると、有機塩素化合物は、塩素数を減らしながら分解していくことが報告されており²⁾、PCEは嫌気条件下で(地下水は一般に嫌気条件にある)主として、TCEを経て、c-1,2-DCEに分解されていくと報告されている。

また、MCは、嫌気条件下で1,1-ジクロロエタン、クロロエタンを経て分解が進行していくと報告されている。

PCE、TCE、MCの環境中での分解経路は図4のとおりである。

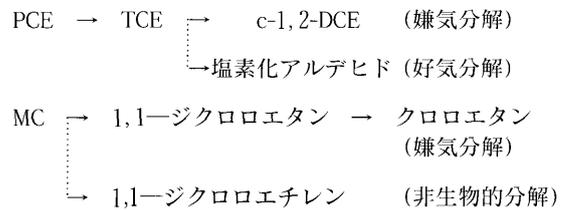


図4 分解経路図

3・3節で、PCE、TCE、c-1,2-DCE間に強い関連性がみられたことは、調査地点においてPCEがTCEやc-1,2-DCEへ分解していることを示唆しているものと思われる。

また、1,2-ジクロロエチレンの立体異性体であるcis体とtrans体の検出状況をみると、その比率(cis/trans)は約100~300という結果であった。

立体化学的には、不安定であるcis体の方が安定なtrans体より多いこと、また立体選択的に反応が進行していることから、この分解反応には微生物が関与しているものと思われる。

3・5 総PCE濃度

PCEは分解によっても減少するため、PCE濃度の減少は見かけ上、汚染状況が改善されたようにみえる。そこ

で、2・3節で定義した総PCE濃度を用いて、同一地点の経年変化をみると図5、6のとおりであった。

KO地点において、PCEは減少しているがc-1,2-DCEは増加しており、総PCE濃度としては大きな変化はない。

NE地点において、平成6年度から7年度において、PCEは減少しているがc-1,2-DCEは増加している。

これらの結果から、単にPCEの濃度だけで汚染状況を評価できないことが分かる。

また、表1に示すとおり、毒性はc-1,2-DCEの方がPCEより大きいことから、有機塩素化合物の汚染状況については、分解生成物も含めて、総合的に評価すべきであることが分かった。

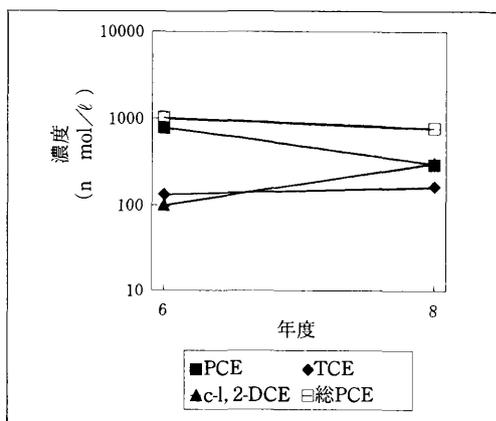


図5 KO地点の総PCE変化

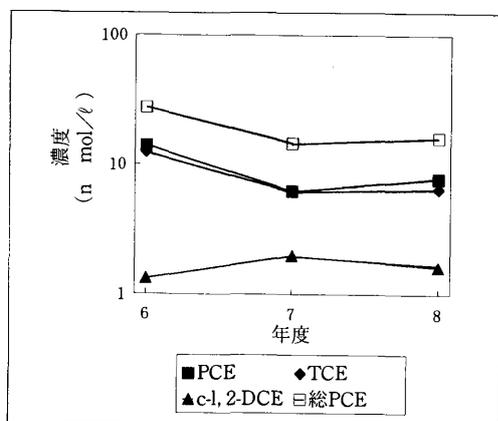


図6 NE地点の総PCE変化

3・6 P-T分類図によるPCE型とTCE型の分類

距離的に近接した地点において、汚染原因物質がPCEの場合とTCEの場合の2つのタイプの混在していることがあり、発生源の推定や汚染状況を把握する上でこれらのタイプを判別することが重要である。そこで、これらを判別するため、P-T分類図を用いて検討した。⁶⁻⁸⁾

P-T分類図は、横軸をTCEモル濃度百分率、縦軸をc-1,2-DCEモル濃度百分率にとった散布図であり、次の

ような特徴的な性質を有している。すなわち、TCE型の場合は、3・11節で後述するように、TCEモル濃度百分率とc-1,2-DCEモル濃度百分率の和は常に100になるので、P-T分類図において点(100, 0)と点(0, 100)を結ぶ直線上に分布する。一方、点(100, 0)と点(0, 100)を結ぶPCE分解モデルから導かれる理論線上に円弧状に分布する場合はPCE型と判定される。⁶⁻⁸⁾

図7、8にP-T分類図の例を示す。

図7より、KS地区において、SA地点はPCE型に、KU地点はTCE型に分類される。

次に、図8より、HM地区において、MA地点はPCE型、NE地点はPCE-TCE混合型と分類される。

これらの検討の結果、P-T分類図からPCE型とTCE型、及びPCE-TCE混合型の3つのグループに分離でき、同一地区内において発生源の異なるグループに判別することができた。

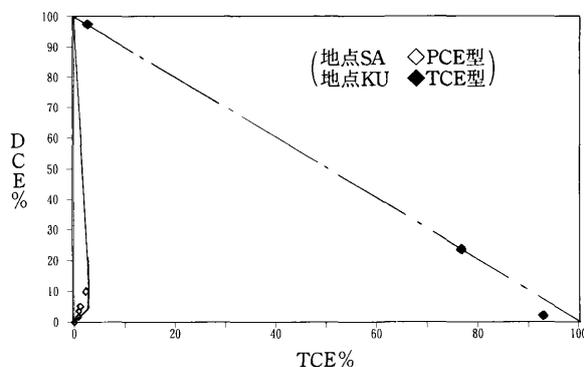


図7 KS地区P-T分類図

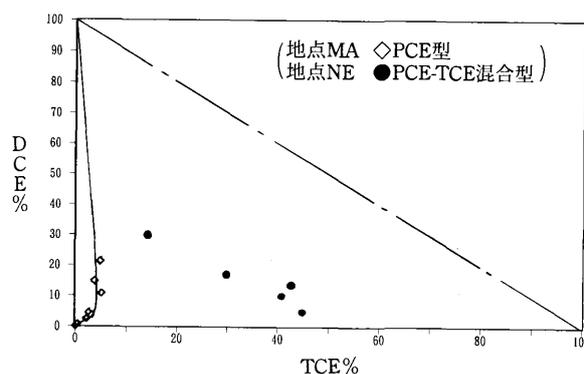


図8 HM地区P-T分類図

3・7 分解進行率

3・5節で、総PCE濃度という指標で汚染状況をみた。その結果、PCE濃度の減少は見かけ上、汚染状況が改善されたように見えることがあることを指摘した。そこで、3・6節P-T分類図からPCE型とされた地区について分解の様子をもう少し詳しく検討することとした。

PCE濃度は希釈効果及び分解効果によっても減少する。すなわち、総PCE濃度が減少し、分解進行率に変化がない場合は、他から流入してきた地下水により希釈されているものと考えられ（希釈効果）、分解進行率が増加している場合は、分解によるものと考えられる（分解効果）。

この観点から、TA地区の3地点について、分解状況を検討してみた。分解進行率を計算してみると、それぞれ80.9, 95.2, 98.1%と3地点とも80%以上であり、かなり分解の進んでいる地区であった。次に、分解経過状況をみると、図9のとおりであった。分解反応モデル理論曲線に良く適合し、PCE濃度の減少は分解によるものであることが分かった。そこで、総PCE濃度一定の関係から、調査時期の総PCE濃度から汚染当時のPCE濃度を推定することが可能となる。地点1における調査時のPCE濃度は0.016 $\mu\text{mol}/\ell$ であったが、元々のPCE濃度は0.333 $\mu\text{mol}/\ell$ と算出された。このように、分解進行率、総PCE濃度という指標を用いることによって、過去に遡って汚染初期時の濃度を推定することが可能となった。

同様に、将来の濃度を予測することも可能であり、地点1において最終的にはPCEは全て分解されて消失し、c-1,2-DCEが0.333 $\mu\text{mol}/\ell$ になると予測される。

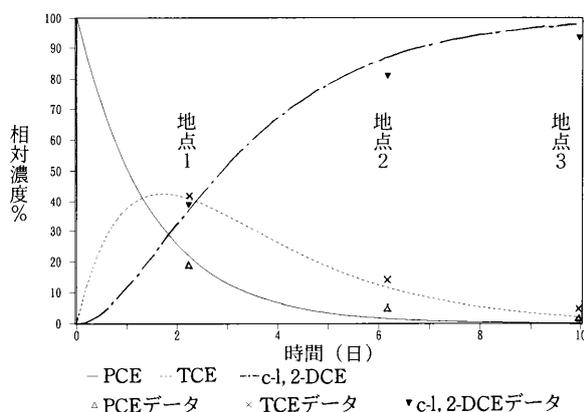


図9 TA地区分解経過状況

3・8 分解反応速度定数の比

次に、PCE分解反応は、前段と後段の2段階の反応から構成されている。そこで前段、後段のどちらの反応が速いのかということ、KS地区において検討した。 $r=k_2/k_1$ とすると、二宮らの開発した解析マクロプログラム⁶⁻⁸⁾を用いて、 r の推定が可能であり、計算の結果、KS地区の r は61.4であった。すなわち、この地区ではTCEからc-1,2-DCEに分解する方がPCEからTCEへ分解する速度より約60倍速いことが分かった。

他の地区において r を算出してみると一般に r は1より大きかった。

すなわち、環境中におけるPCE分解反応において、TCEからc-1,2-DCEに分解する反応の方が、PCEからTCEへ分解する反応より速い様子が分かった。

3・9 分解経過日数

二宮らの開発した解析マクロプログラムを用いると、PCEがほぼ完全にc-1,2-DCEに分解する日数を10日間と仮定して、その条件下における相対的な分解経過日数を求めることができる。KS地区において計算してみると、表4に示すとおり、0~0.26日と分解初期段階にあることが分かった。次にTA地区について分解経過日数をみると、図9より、それぞれ2.23日、6.17日、9.96日であり、分解の進んだ地点もあることが分かった。

このように、分解経過日数は調査地区毎に異なっており、この違いは時間経過の違いや微生物の生息状況など土壌環境の違いによるものと思われる。

表4 KS地区の分解経過日数

地点 No	1	2	3	4	5	6	7
t (day)	0.05	0.09	0.00	0.26	0.00	0.00	0.13

3・10 発生源排水への分解モデルの適用

これまで、環境水における分解状況を検討してきた。次に検討対象水質を発生源排水とし、これに分解反応モデルを適用してみた。

発生源排水への分解モデルの検討にあたって、まず、工場・事業場における有機塩素化合物の使用状況、排出状況を見ると、次のとおりであった。

本県における有機塩素化合物の年間使用量（平成5年度）を調査したところ、テトラクロロエチレンが約75t、

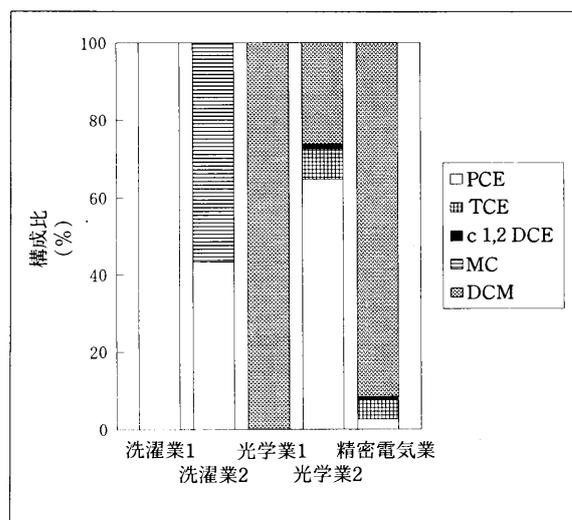


図10 排水の検出物質パターン

トリクロロエチレンが約61t、1,1,1-トリクロロエタンが約40t、ジクロロメタンが約55tとなっており、c-1,2-DCEは使用されていなかった。

業種別に排水の特徴をみるため、各物質の構成比をもとに検出物質パターン図を作成したところ図10のとおりであった。各業種の主要な排出物質をみると、クリーニング業からはPCEとMC、レンズ・光学業からはDCM、PCE、TCE、精密電気機器業からは、DCM、TCE、PCE、が排出されていた。業種別の特徴がでており、環境汚染について発生源との関連を検討する際に有用と思われる。なお、クリーニング排水の場合、同時にトリハロメタン類や1,4-ジクロロベンゼンの検出されている例があり、漂白剤、防虫剤の使用を反映しているものと思われる。

クリーニング排水の分解進行率の計算結果を表5に示す。

地下水と違い、排水の場合は排出されてからの時間的経過が少ないので、一般に分解進行率は低いものの、中には数%程度分解の進んでいる例もみられた。

表5 クリーニング排水の分解進行率

工場 No	PCE (mol%)	TCE (mol%)	c-1,2-DCE (mol%)	総PCE ($\mu\text{mol}/\ell$)	分解進行率 (%)
1	96.8	1.8	1.4	0.17	3.2
2	99.9	0.1	0	1.1	0.1
3	100	0	0	1.5	0
4	100	0	0	0.07	0
5	99.9	0.1	0	0.48	0.1
6	99.4	0.6	0	0.02	0.6
7	93.6	2.8	3.6	0.19	6.4
8	99.8	0.2	0	0.29	0.2

3・11 TCE型、MC型

TCE型の場合はPCE分解モデルの後段の、TCEからc-1,2-DCEへ変換する反応が分解式になるので、新たに次のTCE型の場合の計算式を定義した。

総TCE濃度 = TCE濃度 + c-1,2-DCE濃度

TCE分解進行率 = c-1,2-DCE濃度 \times 100 / 総TCE濃度

P-T分類図でTCE型と分類されたHK地点について総TCE濃度、TCE分解進行率を算出してみると、表6のとおりであった。

平成6年度と平成7年度を比較すると総濃度は約半分に減少し、TCEとc-1,2-DCEのモル濃度%はほとんど同じであり、分解進行率もほとんど同じであった。従って、

表6 HK地点の分解進行率

年度	TCE (mol%)	c-1,2-DCE (mol%)	総TCE ($\mu\text{mol}/\ell$)	TCE分解進行率 (%)
6	63.5	36.5	0.59	36.5
7	65.5	34.5	0.28	34.5

この間のTCEの減少は積効果によるものと考えられる。

次に1,1-DCEの検出状況を見ると、MCと同時に検出されていることが多く、これらの物質間の相関係数は0.79と関連性が認められた。1,1-DCEがMCの非生物的分解反応によるものかどうかについては、まだ検出例が少ないこともあり、今後の課題である。

4. まとめ

1. 有機塩素化合物の検出状況

地下水の有機塩素化合物の検出状況は、検出される主たる物質によって、PCE型、TCE型、MC型、CCl₄型及び混合型に分類できた。検出される物質の組み合わせから、PCE、TCE、c-1,2-DCE間に強い関連性が認められた。

2. 分解生成物

c-1,2-DCEは工場・事業場で使用されていないにもかかわらず環境中から検出されており、分解反応によって生成したものであると考えられる。

3. 総PCE濃度

分解反応によってPCE濃度が減少し、c-1,2-DCEが生成している場合、PCE濃度が減少していることから、見かけ上、汚染状況が改善されたように見える。しかし、毒性はc-1,2-DCEの方がPCEより強いことから、単にPCE濃度だけで汚染状況を評価するのではなく、分解生成物も含めて、総PCE濃度の観点から、総合的に解析・評価する必要があった。

4. 希釈効果、分解効果

総PCE濃度と分解進行率を考え合わせることで、PCE濃度減少が希釈効果によるものか、分解効果によるものか判別ができた。

5. P-T分類図

P-T分類図からPCE型、TCE型、混合型の3つのグループに分離でき、同一地区内の発生源の違うグループの分別を行う事が可能となった。

6. 初期濃度、将来濃度の推定

分解モデルにより、過去に遡って汚染初期時の濃度を推定したり、また将来の濃度を予測することが可能であった。

7. 速度定数の比

環境中におけるPCE分解反応において、TCEからc-1,2-DCEに変化する反応の方が、PCEからTCEへ変化

する反応より速いことが分かった。

8. 分解進行率

調査地区によって分解の進行度合いが異なっており、この違いは時間経過や微生物の生息状況などの、土壌環境の違いによるものと思われる。

9. 発生源排水の分解状況

発生源排水の場合は、排出されてからの時間的経過が少ないため、一般に分解進行率は低いものの、中には数%程度分解の進んでいる例もみられた。

10. TCE型の分解

TCE型の場合はPCE分解モデルの後段の、TCEからc-1,2-DCEへの反応が分解式になる。P-T分類図によりTCE型と判断された地点については、PCE型とは別に総TCE濃度、TCE分解進行率を用いて検討する必要がある。

謝 辞

本研究を行うにあたり、解析マクロプログラムを提供していただいた横浜市環境科学研究所の二宮勝幸氏に深く感謝します。

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、環境庁公示第16号、平成5年3月8日。
- 2) 矢木修身，等：揮発性有機塩素化合物の微生物による分解、除去、水環境学会誌，**15**，493-498，1992
- 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) 青森県：公共用水域水質測結果，平成6年度
- 5) 青森県：公共用水域水質測結果，平成7年度
- 6) 二宮勝幸，等：テトラクロロエチレンの分解反応モデル用いた地下水汚染解析方法，水環境学会誌，**15**，822-827，1992
- 7) 二宮勝幸，等：分解反応モデルによるテトラクロロエチレンおよびその分解物質の挙動解析，水環境学会誌，**16**，742-746，1993
- 8) 二宮勝幸，等：分解反応モデルを用いたテトラクロロエチレンによる汚染地下水の評価，水環境学会誌，**17**，383-389，1994
- 9) 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，初版，環境化学研究会，筑波，1993

Abstract

ANALYSIS ON BEHAVIORS OF CHLORINATED HYDROCARBONS IN WATER BY USING DEGRADATION REACTION MODEL

Shin-ichi ISHIZUKA¹, Ken KUDOH¹ and Hideki OHKUBO¹

Tetrachloroethylene (PCE), trichloroethylene (TCE) and cis-1,2-dichloroethylene (c-1,2-DCE) were detected by an examination on organochlorine compounds in groundwater and these substances closely related to each other. It is considered that c-1,2-DCE is formed by degradation reactions, since this substance is not used in plants or workshops. The PCE concentration is lowered due to degradation reactions as if the contamination were improved. However, TCE and c-1,2-DCE are formed with the decrease in the PCE concentration and these degradation products are more toxic than the starting PCE. It is, therefore, necessary to totally analyze and evaluate the contamination involving these degradation products. Use of degradation model makes it possible to analyze factors for lowering PCE concentration, identify the pollution sources and estimate the PCE concentrations in the past and future.

Key words : behavior of chlorinated hydrocarbons, degradation reaction model, tetrachloroethylene, cis-1,2-dichloroethylene, water pollution

¹ : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment

積雪による大地からの γ 線のしゃへい効果

庄司 博光 奥野 直子 佐々木 守 野田 正志

青森市及び六ヶ所村において、積雪による大地からの γ 線のしゃへい効果を把握するため、空間放射線、積雪量、大気中ラドン娘核種濃度の測定を行った。NaI (TI) シンチレーションモニタによる線量率測定値から、自己汚染成分、宇宙線成分、大気中ラドン娘核種による寄与線量を差し引き、土壤中水分によるしゃへい効果を考慮した結果、積雪水量と大地からの γ 線線量率のしゃへいファクタの関係は、理論計算値とよく一致した。

Key words : snow cover, shielding effect, dose rate, water equivalent

1. はじめに

原子燃料サイクル施設に係る環境モニタリングの一環として、県及び事業者である日本原燃(株)は、平成元年4月から、空間放射線の測定を実施している。モニタリングステーションの連続モニタ、熱蛍光線量計(TLD)及びモニタリングカーによる空間放射線の測定結果には、測定地点及び測定時期による差異がみられており、今後のモニタリング結果を評価する上で、その変動要因を把握しておくことが必要となってきた。

そこで、平成5、6年度には、測定地点での空間放射線の特性を把握するため、空間 γ 線スペクトル測定と周辺土壤中の放射性核種濃度の測定を実施した。¹⁾

今回は、季節変動の大きな要因である、積雪による大地から γ 線のしゃへい効果を把握するため、調査を行ったので、その結果を報告する。

2. 調査方法

2・1 調査地点

周囲に建築物等のない広い平坦地であることを条件に、また、地域によって積雪量が大きく異なることを考慮し、青森市雲谷(海拔約165m)及び六ヶ所村千歳平(海拔約85m)の2地点を選定した。

2・2 調査時期及び調査回数

平成7年11月の無雪期に1回と、平成7年12月～平成8年3月の積雪期に4回の計5回の調査を実施した。

2・3 調査項目及び調査方法

(1) 空間 γ 線スペクトルの測定

可搬型のGe半導体検出器を地上高(積雪期においては雪面上)1mに設置し、空間 γ 線スペクトルを3000～9000秒間測定した。

(2) 空間線量率の測定

可搬型ポスト(アロカMAR-561)を、空間 γ 線スペク

トルを測定したGe半導体検出器の位置に設置し、空間線量率を600秒間測定した。

測定器の仕様は次のとおり。

検出器：2" Φ × 2" NaI (TI) シンチレーション検出器
測定エネルギー範囲：50keV～ ∞ (3MeV以上は3MeVとして線量計算)

温度特性：外気温 - 10～40℃の範囲内において線量率指示変動は $\pm 10\%$ 以内)

(3) 土壌の採取及び測定

ステンレス製採土器(50mm Φ , 300mm深)を用いて、検出器直下及びそこから3～5m離れた地点の土壌を十字形に計5ポイント採取し、混合した試料について、 γ 線放出核種の測定を行った(無雪期の1回のみ実施)。

また、検出器直下から採取した試料については、層別(5cm毎)に土壤中水分の測定を行った。

(4) 積雪の採取及び測定

土壌と同じ5ポイントにおいて、積雪の深さと密度を測定し、積雪水量($g \cdot cm^{-2}$)を求めた。積雪深は、ステンレス製スケールを雪中に差し込んで測定し、雪の密度は、ステンレス製円筒(105mm Φ)を雪中に埋め込んで採取した雪の重量とその体積から算出した。

(5) 大気中ラドン娘核種濃度の測定

測定地点の大気を約30 $l \cdot min^{-1}$ の流量で10分間吸引し、メンブランフィルタ(孔径0.8 μm , 60mm Φ)上に、ラドン娘核種を採取した。このフィルターの α 放射能を、現地において、ZnS (Ag) シンチレーションカウンタで、時間をかけて3回計測し、大気中のRaA (Po-218), RaB (Pb-214), RaC (Bi-214)の濃度を求めた。今回は、空間線量率に寄与するRaBとRaCの検出感度を上げるため、集じん後1～5分、5～30分、30～60分の計数値から濃度を算出した。

表1 解析に使用した調査の内容

調査No.	地点名	調査期	測定年月日	調査項目				
				空間γ線スペクトル	空間線量率	土壤中放射性核種濃度	土壤中水分	大気中ラドン娘核種濃度
A-0	青森市雲谷	無雪期	H.7.11.21	○	○	○	○	○
A-1	"	積雪期	H.7.12.12	○	○	-	○	○
A-2	"	積雪期	H.8.3.7	○	○	-	○	○
A-3	"	積雪期	H.8.3.13	○	○	-	-	○
R-0	六ヶ所村千歳平	無雪期	H.7.11.14	○	○	○	○	○
R-1	"	積雪期	H.8.1.11	○	○	-	○	○
R-2	"	積雪期	H.8.2.8	○	○	-	○	○

○：測定 -：測定せず

3. 結果及び考察

3・1 解析に使用したデータ

青森市雲谷及び六ヶ所村千歳平の両地点で、無雪期と積雪期を合わせ、合計10回の調査を実施した。しかし、今回の調査は、“積雪によって大地からのγ線がどの程度しゃへいされるのか”を実測することを目的としているため、降雪があり測定中に場の放射線量が変化したと考えられる調査結果は除外した。今回の解析に使用した調査の内容を表1に示す。

3・2 土壌の測定結果

(1) 土壌中の放射性核種濃度

調査地点で採取した土壌を、乾燥細土 (<2mm) にしてγ線放出核種濃度を測定した結果を表2に示す。土壌中の核種濃度は、これまでの調査結果¹⁾と同じレベルであり、U系列、Th系列、K-40の濃度比は、青森市雲谷及び六ヶ所村千歳平で、それぞれU系列：Th系列：K-40 = 1：1.3：16及びU系列：Th系列：K-40 = 1：1.3：13であった。

(2) 土壌中水分

土壌中水分の測定結果を図1に示す。0～30cm層の

表2 土壌中放射性核種濃度測定結果

(単位：Bq/kg乾)

核種	地点	
	青森市雲谷	六ヶ所村千歳平
Bi-214	11.8	16.8
Pb-214	13.6	18.9
Ac-228	17.0	24.5
Tl-208	6.2	8.6
K-40	204	235
Cs-137	10.4	0.86

注) Bi-212からTl-208への分岐比は0.36である。

土壌を採取し5cm毎に測定した6個のデータの平均値、最大値、最小値を、調査毎にプロットしたものである。平均値は青森市雲谷において37～41%、六ヶ所千歳平において29～33%であり、積雪の有無による差はあまりみられなかった。また、5cm毎に分けた層毎のばらつきも大きくなかった。

3・3 積雪の測定結果

5ポイントで測定した積雪深、雪の密度及び積雪水量の結果を、積雪期の調査毎に、図2に示す。

今回の調査は、積雪深：4～135cm、積雪水量：1.8～50.5g・cm²の積雪状況でデータを集めることができた。

各調査におけるポイント毎のばらつきは小さく、積雪分布は、ほぼ均一であったと考える。

雪の密度は0.18～0.45g・cm³となった。調査No. A-2及びA-3は、3月の調査で比較的暖かかったことと、積雪が約1.3mと厚かったことが影響して、密度が大きくなったものとする。また、R-1は、積雪の下部が氷結していたために密度が大きくなり、地表面の水を十分採取できなかったためにばらつきも大きくなったものとする。

また、調査No.A-2は、積雪深のばらつきは小さいが、雪の密度、積雪水量のばらつきが大きくなっている。採

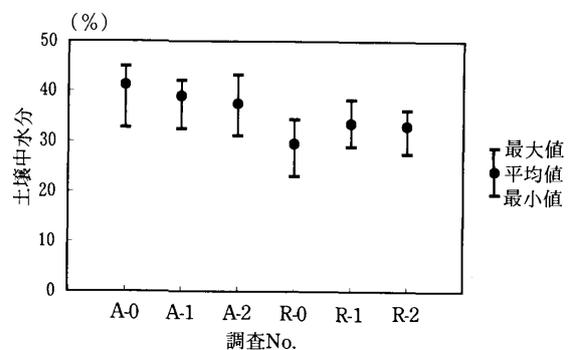


図1 土壌中水分の測定結果

取が不十分だったことや、約1.3mの積雪の中に融雪の通り道のようなものがあったこと等が推定されるが、原因は不明である。

3・4 大気中ラドン娘核種濃度測定結果

RaB及びRaCの大気中濃度は、それぞれ0.8~3.3Bq・m⁻³及び1.1~3.7Bq・m⁻³であり、両者は、各調査においてほぼ放射平衡にあった。

3・5 空間γ線スペクトルの測定結果

Ge半導体検出器を用いた空間γ線スペクトル測定結果を、HASL-258²⁾等に基づくIN-SITU分析プログラムにより解析することで、線量率に換算することが可能である。しかし、この方法は積雪時のファクタが考慮されていないことから、今回の調査結果については、無雪期及び積雪期のピーク計数率の比較を行った

積雪期におけるピーク計数率相対値（無雪期のピーク計数率を1とした）と積雪水量の関係を図3に示す。いずれの核種についても、積雪水量の増加に伴い、ピーク計数率が減少する傾向がみられる。

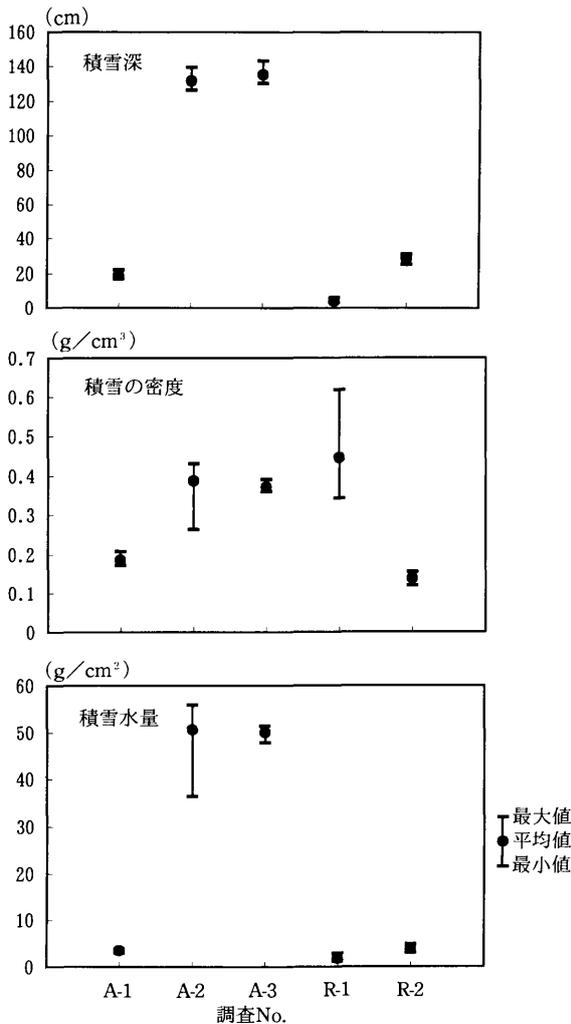


図2 積雪の測定結果

Tl-208, Ac-228, K-40については、積雪によるしゃへい効果が顕著にみられ、積雪水量が約50g・cm⁻²となったA-3, A-4の調査時（約9000秒間測定）には、Th系列であるTl-208, Ac-228のピークは検出されず (<3σ)、K-40の1.46MeVのピーク計数率も無雪期の約3%まで減少した。一方、Pb-214, Bi-214については、しゃへい効果があり認められず、大気中等のラドン娘核種の影響と考える。

3・6 空間線量率の測定結果

(I) 大地からのγ線線量率の算出

NaI (TI) シンチレーションモニタによる測定値には、検出器の自己汚染成分や宇宙線成分の他に、大地以外からのラドン及びその娘核種からの線量率寄与も含まれている。積雪による大地からのγ線線量率のしゃへい効果を評価するため、これらの寄与を次の方法により差し引いた。

- ① 検出器の自己汚染成分は、しゃへい体中でのK-40の1.46MeVのピーク計数率を測定することで、また、宇宙線成分は、3MeV以上の計数率を測定することで、推定可能であるが、ここでは長岡らの報告値³⁾を用いて補正を行った。自己汚染成分については、使用したモニタの検出器が2" Φ×2" 円筒型であり、結晶窓ガラス、光電子増倍管窓ガラスの材質が硼珪酸ガラスであることから、0.61nGy・h⁻¹とした。また、宇宙線成分については、モニタが3MeV以上の計数を3MeVとして線量計算していることと、調査地点の標高が高くないことから、海面レベルの5nGy・h⁻¹とした。
- ② 大気中ラドン娘核種濃度と線量率の関係については、Beck⁴⁾や藤元⁵⁾の報告例がある。ここでは、RaBとRaCがほぼ放射平衡にあったことから、両者の平均値

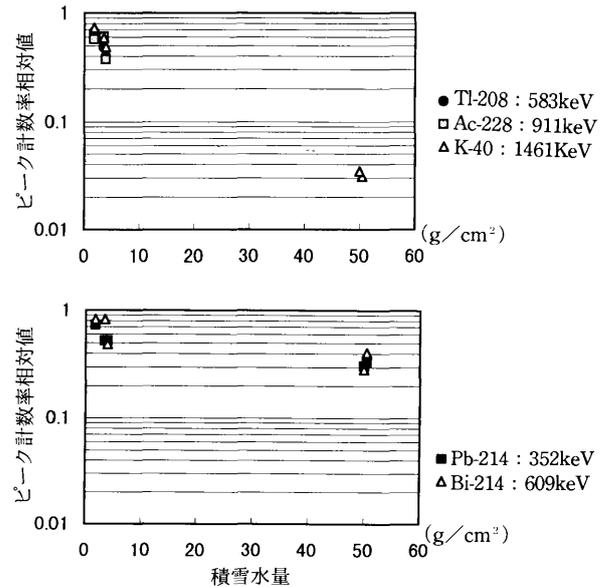


図3 積雪水量とピーク計数率相対値の関係

を大気中ラドン娘核種濃度とし、長岡ら^{6,7)}と同様 $1\text{Bq}\cdot\text{m}^{-3}$ あたり $0.47\text{nGy}\cdot\text{h}^{-1}$ の換算定数を用いて線量率寄与を評価した。

以上の補正を行い、各調査毎の線量率の構成を算出した結果を図4に示す。積雪期の全線量率は、無雪期に比べ、青森市雲谷で33~88%、六ヶ所村千歳平で68~82%と減少した。その内訳をみると、大気中ラドン娘核種の寄与線量は $0.63\sim 1.6\text{nGy}\cdot\text{h}^{-1}$ と変動は小さく、全線量率の減少は、ほとんどが積雪による大地からのγ線のしゃへいが原因と考えられる。積雪水量が約 $50\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ となった調査No.A-2、A-3では、大地からの線量率は無雪期の4~8%まで減少していた。

(2) 積雪によるしゃへい効果

積雪による大地からのγ線のしゃへいに関する計算・実測には、長岡ら^{6,7)}や藤元⁸⁾の報告例がある。ここでは、長岡ら⁶⁾が、モンテカルロ法による土-雪-空気3層系でのγ線挙動計算から求めたしゃへいファクタと、今回の調査による実測値の比較を次のように行った。

- ①前述のようにNaI (TI) シンチレーションモニタによる測定値から、自己汚染成分、宇宙線成分、大気中ラドン娘核種からの寄与線量を差し引いたものを、大地からのγ線線量率とした。
- ②長岡らの計算は、土壤中水分を0%と仮定したものである。大地からのγ線線量率は、土壤中の水分によってもしゃへいされることから、無雪時の大地からのγ線線量率を水分0%での値に換算した。

土壌への水の混入は、水の重量の分だけ、土壌密度を増加させ、比放射能を減少させる^{8,9)}と考え、次の式を用いた。

$$X = X_0 (1 - M/100)$$

X : 水分M%の線量率

X₀ : 水分0% (乾燥時) の線量率

M : 土壤中水分 (%)

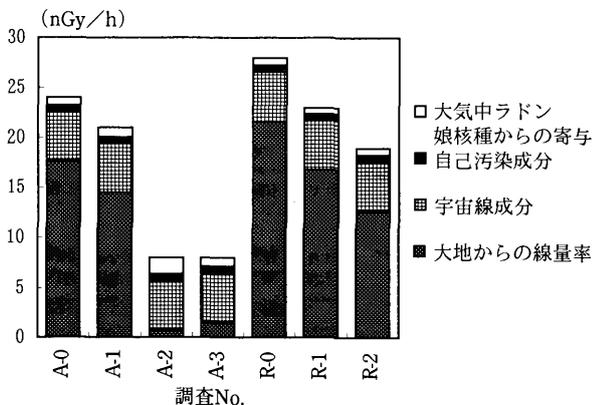


図4 NaI (TI) シンチレーションモニタによる空間線量率の構成

③積雪期の土壌中水分は、長岡ら⁷⁾と同じ手法を用い“土壌中水分によるしゃへいファクタ”と“積雪によるしゃへいファクタ”が等しくなるような積雪水量に換算した。青森市雲谷の水分:37~41%及び六ヶ所村千歳平の水分:29~33%は、それぞれ $5.1\sim 5.9\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 及び $3.7\sim 4.4\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ の積雪水量に相当し、実際の積雪水量に加算した。

今回の調査No.R-1のように土壌と積雪の境界面が氷になった場合などは、積雪を完全に採取することは容易ではない。しかし、採取しきれなかった雪を、土壌とともに採取し、水分を積雪水量に換算することで、しゃへい効果については問題なく評価ができたと考えられる。

以上のような補正を行った積雪水量(土壌中水分含む)としゃへいファクタ(無雪時の土壌中水分0%の線量率を1とした相対値)の関係を図5に示す。種々の積雪水量に対するしゃへいファクタという意味ではデータ数が少ないものの、実測値は長岡らの理論計算値とよく一致しており、今回の測定方法や補正法等は、概ね妥当なものであったと考える。

(3) 評価上の考慮すべき事項

積雪による大地からのγ線のしゃへい効果を評価するための今回の調査において、測定・解析上考慮すべき点がいくつかある。

- ①積雪期の空間線量調査地点は、雪面上1mであるため、線量率の理論計算地点(地上1m)とは、高さが異なる。
- ②線量率を理論計算している土壌と、調査地点の土壌とは、密度及び放射性核種組成が必ずしも一致しない。
- ③NaI (TI) シンチレーションモニタの測定値の自己汚染成分と宇宙線成分を実測できなかった。
- ④大地からの線量率を算出する際に、大気中のラドン娘核種からの寄与線量は差し引いているが、雪中、雪表面のラドン娘核種の寄与は考慮していない。
- ⑤測定器等による大地からのγ線のしゃへい効果について

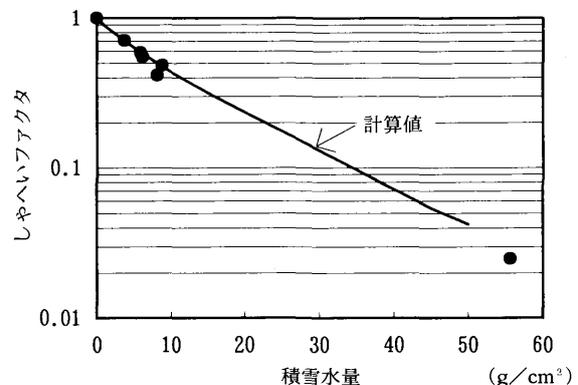


図5 積雪水量と線量率相対値の関係

ては考慮していない。

①, ②については, 土壌中の放射性核種が均一分布している状態であれば, 地表面付近の高さ, 土壌の密度, 土壌中の核種組成の若干の差異は, 線量率にほとんど影響を与えない^{6, 8, 9)}とされているので, 評価上問題ないと考える。③~⑤については, 今後, 調査する際には検討が必要である。

4. ま と め

積雪による大地からの γ 線のしゃへい効果を把握するため, 青森市雲谷及び六ヶ所村千歳平において, 空間放射線や積雪量等の調査を実施し, 次の結果が得られた。

- (1) 積雪期の調査は, 積雪深: 4~135cm, 積雪の密度: $0.18\sim 0.45\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$, 積雪水量: $1.8\sim 50.5\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ の積雪状況で行ったが, 各調査における積雪分布は, ほぼ均一であった。
- (2) 大気中ラドン娘核種濃度の測定結果は, RaA: $0.8\sim 3.3\text{Bq}\cdot\text{m}^{-3}$, RaB: $1.1\sim 3.7\text{Bq}\cdot\text{m}^{-3}$ で, 両者はほぼ放射平衡にあった。また, これらによる寄与線量は, $0.63\sim 1.6\text{nGy}\cdot\text{h}^{-1}$ と推定された。
- (3) Th系列核種, K-40については, 積雪によるしゃへい効果が顕著にみられたが, U系列核種については, しゃへい効果があまりみられず, 大気中等のラドン娘核種の影響と考えられた。
- (4) NaI (TI) シンチレーションモニタの測定値から算出した大地からの γ 線線量率のしゃへいファクタと, 土壌中水分を換算し加算した積雪水量の関係は, 理論計算値とよく一致した。

5. 文 献

- 1) 庄司博光, 他: 六ヶ所村及びその周辺地域における空間放射線特性調査, 青森県環境保健センター研究報告, **6**, 86-91, 1995
- 2) H.L.Beck, et al.: In Situ Ge (Li) and NaI (TI) Gamma-Ray Spectrometry, HASL-258, 1972.
- 3) 長岡和則, 他: 空間 γ 線量測定について, 日本分析センター広報No.27, 63-76, 1995.
- 4) H.L.Beck: Gamma Radiation From Radon Daughters in the Atmosphere, *Journal of Geophysical Research*, **79**, 2215-2221, 1974.
- 5) Kenzo Fujimoto: External Gamma Exposure to Radon Progeny in Indoor Air, *Journal of Nuclear Science and Technology*, **22**, 1001-1010, 1985.
- 6) 長岡鋭, 他: 積雪による地殻 γ 線線量率の減衰, 保健物理, **23**, 309-315, 1988.
- 7) 長岡鋭, 他: 積雪による地殻 γ 線線量率の減衰(II), 保健物理, **27**, 113-121, 1992.
- 8) 藤元憲三: 大地からの γ 線に対する雪の遮蔽効果, 保健物理, **21**, 3-8, 1986.
- 9) 高田和正, 他: 環境パラメータによるガンマ線場変動の考察, JAERI-M 84-101, 1984.

Abstract

**SHIELDING EFFECT OF SNOW COVER ON γ -RAY
FROM THE EARTH**

Hirimitsu SHOJI¹, Naoko OKUNO¹, Mamoru SASAKI¹ and Masashi NODA¹

To understand the shielding effect of snow cover on γ -ray from the earth, measurement was made on space radiation, snow cover and atmospheric radon daughter nuclear species concentration in Aomori city and Rokkasho village. The shielding effect by the water contained in the soil was evaluated by subtracting the contribution dose due to self-pollution components, cosmic ray components and radon daughter nuclear species from the dose rate data measured by using an NaI (TI) scintillation monitor. As a result, the relation between the water equivalent to the snow cover and the shielding factor of γ -ray from the earth well agreed with the theoretical data.

Key words : snow cover, shielding effect, dose rate, water equivalent

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment

六ヶ所村における陸水中トリチウム濃度調査 (Ⅲ) —尾駁沼における季節変動について—

外崎久美子 工藤 英嗣 木村 秀樹¹

原子燃料サイクル施設に最も近接している尾駁沼の湖沼水中トリチウム濃度の季節変動を把握する目的で、湖沼水、河川水及び海水等のトリチウム濃度調査を実施した。尾駁沼に流入する二又川の河川水と海水中のトリチウム濃度にはほとんど季節変動がみとめられず、また、湖沼水に対する降水の影響は小さいと推測された。尾駁沼の湖沼水中トリチウム濃度は、採取時期および採取地点に関わらず、塩分と高い相関がみられ、二又川の河川水と比較的トリチウム濃度の低い海水の混合割合によって大きく変動すると考えられる。

Key words : tritium, salinity, lake water, negative correlation, nuclear fuel recycling complex

1. はじめに

原子燃料サイクル施設、六ヶ所再処理工場稼働時の環境中トリチウムの影響評価を行う上で、現在の湖沼水、河川水等のバックグラウンドレベルを把握し、陸水環境でのトリチウムの挙動を評価しておくことは重要である。前報^{1,2)}では、施設周辺に位置する尾駁沼、鷹架沼とこれらの湖沼に流入する河川において、融雪期と夏期にトリチウム濃度調査を実施し、トリチウムの分布状況を比較検討した。今回は、施設に最も近接した尾駁沼の湖沼水中トリチウム濃度の季節変動を把握するために、尾駁沼の湖沼水及び流入する河川水を一月毎に採取し、調査を実施した。また、これらに関連するものとして、沿岸海水、降水及び地下水についても調査を行った。

2. 調査方法

2・1 調査地点および調査時期

湖沼水、河川水及び沿岸海水の調査地点(図1)は、二又川河口部(F-8)、尾駁沼西部(O-1)、尾駁沼心部(O-6)、尾駁沼開口部(O-10)及び沿岸海域(S)の5地点とし、調査は1995年5月~12月の一月毎に実施した。

これらの湖沼水と河川水に密接に関係する降水と地下水についても同様の調査を行った。降水は六ヶ所村内の千歳平において一月毎に、地下水は尾駁において1993年~1995年の3ヶ月毎に採取し試料とした。採取深度は約97mである。

2・2 試料採取方法

湖沼水は表面水および底層水(湖底から約50cm上層)

を約3ℓ採取した。底層水の採水には離合社のバンドン採水器を用いた。河川水は同時期に表面水約3ℓを流心から採取した。海水は表面水を、地下水は井戸からポンプでくみ上げて採取した。

2・3 調査内容

調査項目は次のとおりである。

- ① 河川水、湖沼水、海水、降水および地下水のトリチウム濃度
- ② 河川水、湖沼水および海水の塩分

2・4 分析測定方法

トリチウム分析は、尾駁沼の湖沼水と海水は電解濃縮を、河川水、降水および地下水は蒸留を行った後、試料水40gを分取し、AQUASOL-2(New England Nuclear社)60mlと混合後、100mlテフロンバイアルを用いて液体シンチレーションカウンタ(Aloka(株)LSC-LB I~III)で

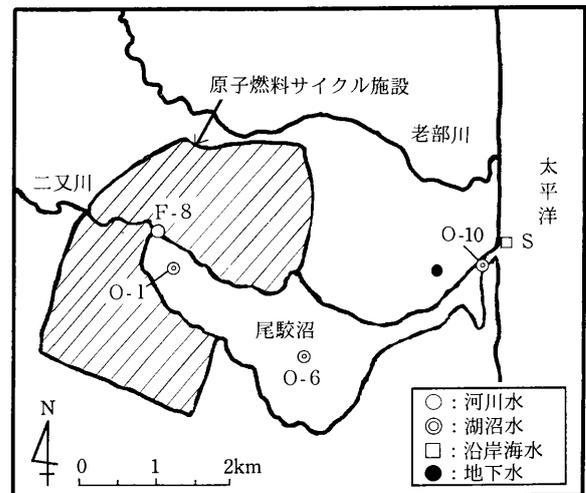


図1 環境水の採取地点

1 : 県原子力環境対策室

表1. 地下水中³H濃度 (Bq/l)

採取年月	1993	1994	1995
1月	-	2.6 ± 0.18	2.0 ± 0.21
4月	2.1 ± 0.28	2.3 ± 0.19	2.0 ± 0.21
7月	2.3 ± 0.25	2.1 ± 0.26	2.1 ± 0.20
10月	1.9 ± 0.25	2.5 ± 0.23	2.0 ± 0.20
平均	2.1	2.4	2.0

500~1000分測定した。電解濃縮法によるトリチウム分析は(財)日本分析センターに委託した。

塩分の測定はサリノメータにより行った。

3. 結果と考察

3・1 環境水中トリチウム濃度の季節変動

(1) 地下水

尾駁の地下水中トリチウム濃度を表1に示す。トリチウム濃度は、約97m深では1.9~2.6Bq/lであり、採取時期による大きな変化はみられなかった。1995年5月~12月の降水中平均トリチウム濃度は、0.69Bq/lであった。このことから、この地域には、現在の降水よりトリチウムレベルの高い地下水の存在が考えられる。井上ら³⁻⁵⁾、宮本ら⁶⁾は、同地域にフォールアウトレベルが高かった頃の降水を多く含む帯水層があることを報告している。

(2) 河川水

図2に二又川河口部(F-8)の河川水中トリチウム濃度の変化を示す。河川水中トリチウム濃度は、季節変動が小さく、前報^{1,2)}と同じレベルであったことから、尾駁沼に流入する河川水のトリチウム濃度は時期によらずほぼ一定であると推測された。また、河川水中トリチウム濃度は1~2Bq/lと降水より高いことから、これらの河川水には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る。

(3) 沿岸海水

図3a, 3bに沿岸海域(S)の海水中トリチウム濃度および塩分の変化を示す。トリチウム濃度は、若干高い値を示す時もあるが、季節変動は小さく、ほぼ同じレベルで推移していた。塩分はトリチウム濃度と逆の傾向を示しており、トリチウム濃度が高い値を示した時は塩分は低い値を示した。

(4) 湖沼水

図4a, 4bに尾駁沼湖心部(O-6)の湖沼水のトリチウム濃度および塩分の変化を示す。この地点は、沼の最深处であり、前報¹⁾の夏期の調査結果で表面水と底層水との間の差が最も大きかった地点である。トリチウム濃度は、0.37~0.93Bq/lであり、季節変動がみられる。層間の違いは時期によって異なるが、底層水は表面水よ

³H濃度 (Bq/l)

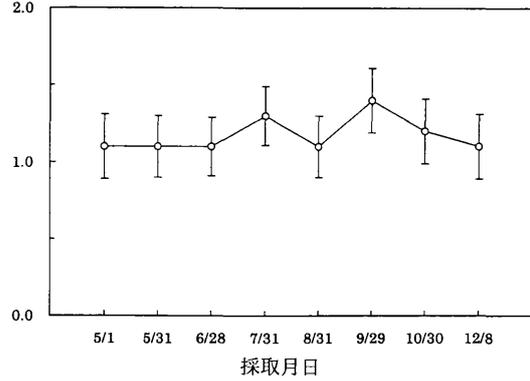


図2 二又川河口部(F-8)の河川水中³H濃度の変化

³H濃度 (Bq/l)

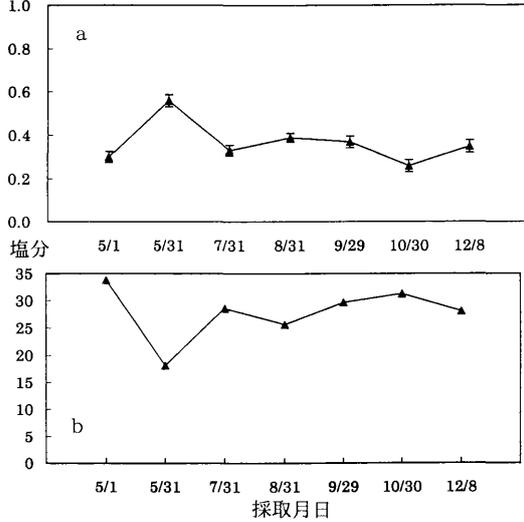


図3 沿岸海域(S)の海水中³H濃度(a)と塩分(b)の変化

³H濃度 (Bq/l)

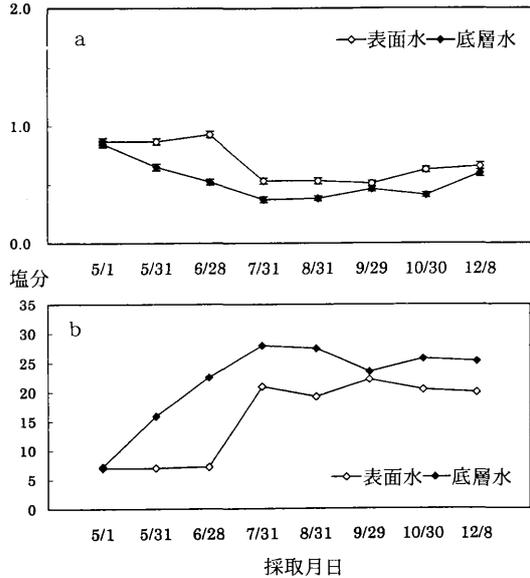


図4 尾駁沼湖心部(O-6)の湖沼水中³H濃度(a)と塩分(b)の変化

り低い傾向にあった。塩分においても季節変動がみられ、底層水でその傾向が大きかったことから、湖沼への海水の流入量に季節変動があると考えられる。

3・2 湖沼水の塩分とトリチウム濃度の関係

尾駱沼は海洋の潮汐により海水が流入する汽水湖であることから、湖沼水は、河川水、降水および海水によって構成される。降水の影響を把握するために、1995年5月～12月の調査結果から、河川水および降水からの尾駱沼へのトリチウムの日平均流入量を試算した。降水は直接尾駱沼流域へ降下したものと仮定した。

河川水（二又川）の日平均流入量

＝日平均流量×平均トリチウム濃度

日平均流量： $5 \times 10^4 \text{m}^3/\text{d}^{7)}$

平均トリチウム濃度：1.2Bq/ℓ（1995年5～12月）

降水の日平均流入量

＝尾駱沼への日平均降水量×平均トリチウム濃度

尾駱沼面積：3.71km²

千歳平の降水量：702.5mm（1995年5～12月）

平均トリチウム濃度：0.69Bq/ℓ

上式から算出したトリチウムの日平均流入量は、河川水では60Bq/ℓ、降水では7Bq/ℓであった。降水から尾駱沼へのトリチウム供給量は、河川水の約1/8～1/9と小さく、降水による湖沼水への影響は河川水に比べて小さいと思われる。

また、前報^{1,2)}で尾駱沼の湖沼水の塩分とトリチウム濃度の間に高い相関が認められたことから、湖沼水中トリチウム濃度は比較的トリチウム濃度の低い海水による希釈が考えられた。

図5に1995年5月～12月に採取した二又川の河川水、尾駱沼の湖沼水、沿岸海水および海水²⁾のトリチウム濃度と塩分の関係を示す。この期間の湖沼水は図4に示すような季節変動を示したが、トリチウム濃度と塩分には

高い相関が認められた。また、図5に示した回帰直線の式が前報^{1,2)}とほぼ同じ式となったことから、湖沼水中トリチウム濃度と塩分には採取時期及び採取地点によらず同様の相関があることが推定される。これらのことから、尾駱沼の湖沼水中トリチウム濃度は、降水による影響が小さく、二又川の河川水と比較的トリチウムレベルの低い海水の混合比に比例して変動すると推測された。

4. ま と め

尾駱沼に流入する二又川の河川水のトリチウム濃度は、年間をとおしてほぼ同じレベルであり、降水より高かった。このことから、比較的トリチウム濃度の高い地下水の流入が考えられた。

尾駱沼に流入する沿岸海水のトリチウム濃度は、季節変動は小さく、比較的低いレベルで推移していた。

尾駱沼の湖沼水のトリチウム濃度と塩分には季節変動がみとめられたが、これらの間には、採取時期や採取地点に関わらず、高い相関がみられた。このことから、尾駱沼の湖沼水中トリチウム濃度は、降水の影響は小さく、二又川の河川水と海水の混合割合の変化に影響を受けているものと考えられる。

文 献

- 1) 外崎久美子，他：六ヶ所村における陸水中トリチウム濃度調査（Ⅰ），青森県環境保健センター研究報告5，45-50，1994。
- 2) 外崎久美子，他：六ヶ所村における陸水中トリチウム濃度調査（Ⅱ），青森県環境保健センター研究報告6，120-133，1995。
- 3) 井上義和，他：環境中のトリチウムの測定調査，NIRS-R-23，55-64，1992。
- 4) 井上義和，他：環境中のトリチウムの測定調査，NIRS-R-28，60-65，1993。
- 5) 井上義和，他：環境中のトリチウムの測定調査，NIRS-R-30，43-49，1994。
- 6) K. Miyamoto：The Study of a Hydrological Model and its Parameters Using Data on the Distribution of Hydrogen Isotopes. Improvement of Environmental Transfer Models and Parameters., 226-236，1996。
- 7) （財）環境科学技術研究所：青森県における放射性物質の分布等に関する調査（平成3年度）

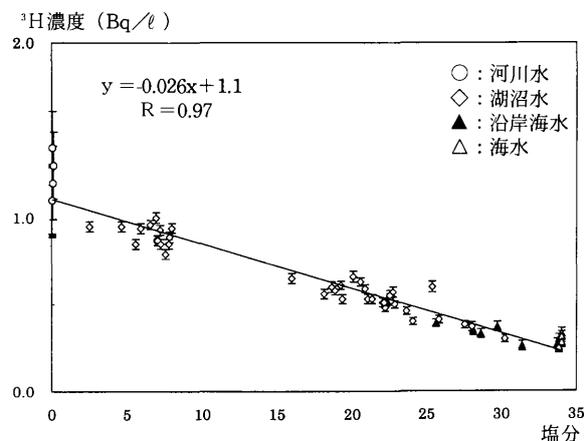


図5 1995年5月～12月の二又川の河川水、尾駱沼の湖沼水および沿岸海水と1994年4月、10月の海水の塩分と³H濃度の関係

Abstract

**Tritium Concentrations of Surface Water in Rokkasho Village (Ⅲ)
- Seasonal Variations of Tritium Concentration in Obuchinuma Lake -**

Kumiko TONOSAKI¹, Hideshi KUDOH¹ and Hideki KIMURA²

In order to know the seasonal variations of tritium concentrations in Obuchinuma Lake near Rokkasho nuclear fuel recycling complex, we investigated tritium concentrations of water samples taken from Obuchinuma Lake, Futamata River and the sea etc. Tritium concentrations in the river and the sea, flowing into Obuchinuma Lake, were almost consistent, and it is supposed that the lake water has been only slightly influenced by precipitation. Tritium concentration in the lake had a good negative correlation with salinity at any sampling point and any sampling period. We consider that the tritium concentration in lake water depends on the ratio of the seawater and the river water of Futamata River.

Key words : tritium, salinity, lake water, negative correlation, nuclear fuel recycling complex

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment

2 : Aomori Prefectural Atomic Energy Environmental Control Office

2. 気象ロガーデータの特徴

気象ロガーデータは日単位のデータファイルの中に1時間値、日代表値、月代表値が図1に示したフォーマットで収録され、停電や機器停止等があればそれらの情報が/4~/8のヘッダーを付けて随時挿入される仕様になっている。

それによって、以下のような特徴を持っている。

- (1) 1時間値の後には0.5mm毎の降雨の出現時刻を記録している。
- (2) 10秒毎にサンプリングしたデータを元に、日代表値には日単位の、月代表値には月単位の風向頻度(%)を記録している。
- (3) 日代表値には1降雨の開始終了時刻を記録している。

しかしながら、このデータを環境庁に送付するに当たってデータのスクリーニングを行う場合や、このデータを解析に活用しようとする場合には、以下のような扱いにくさを持っている。

- (1) 図1のフォーマットに示すとおり、区切りのないテキストファイルであるため、そのままでは市販の表計算ソフトに取り組むのが困難である。
- (2) 1日1ファイルとなっているが、連続してデータをチェックしたい場合には1日毎にファイルを読み込む必要があり可読性を悪くしている。年間365個のファイルを取り扱うのも不便である。
- (3) 雨量0.5mm毎の時刻出力が1時間値の後に追加される仕様になっているが、1時間に数10mmの雨量があると、1レコードが何行にもわたるため更に可読性を悪くし、データを取り扱うソフトの作成にあたって扱いにくいものとなっている(図2参照)。
- (4) 日代表値に雨の降り始めと降り終わりの時刻が表示

```
/1199607271400SW 06.3000.0000.0
/1199607271500SW 06.0000.0000.0
/1199607271600SW 05.1000.0000.0
/1199607271700SW 05.1000.0000.0
/1199607271800SW 06.9000.0000.0
/1199607271900SW 06.2002.0002.018:18SW 07.218:27SW 07.018:37SW 07.518:44SW 06.8
/1199607272000SW 05.9001.5003.519:21SW 05.919:46SW 06.419:55SW 06.0
/1199607272100WSW03.2005.5009.020:02SW 05.920:10SW 05.620:17SW 04.120:24SW 04.32
0:26SW 04.720:28SW 05.120:30SW 05.220:38SW 04.720:51SW 04.220:56SW 03.720:58SW0
3.4
/1199607272200SW 04.1013.0022.021:00WSW03.021:04SW 02.621:07SW 02.621:09SW 02.82
1:12SW 03.121:14SW 03.021:15SW 03.021:16SW 02.921:17SW 02.921:18SW 02.621:21SW 0
2.321:27SW 01.721:29SW 01.821:31SW 02.121:39SW 03.221:42SW 03.321:43SW 03.521:44
SW 03.621:44SW 03.521:45SW 03.721:46SW 03.621:46SW 03.721:47SW 03.821:47SW 03.92
1:49SW 04.121:53SW 04.0
```

図2 エディタによるロガーデータの表示例

される仕様になっているが、降雨が何日か継続した場合、日付が入っていないために何日前からの継続なのか判断できない。(平成8年度始めにメーカーによって改造完了)

- (5) データロガーの値を強制的に欠測扱いにしたい場合、欠測のマークとしてそのデータの全桁を#でうめる仕様になっているが、データの頭を#で置き換えただけでも欠測とみなす仕様であれば、手作業で処理する場合に効率的である。

以上のように、このファイルの仕様は、全国から集められた後一括処理することだけに主眼を置いた仕様と思われる。

したがって、受託側の試験研究機関で活用するためには、何らかのコンバートが必要である。

3. 酸性雨ロガーデータ回収システムの仕様

上記の(1)~(3)についてはできるかぎりソフトで吸収せざるを得ないので、当初N88BASICで日単位のファイルをマージしながらCSVフォーマットの月間ファイルに変換するシステムを作成した。

しかしながら、Windowsとは異なる独自の操作体系を強いるMS-DOS上のソフトであること、できあがったデータファイルは改めて表計算ソフトを起動してから読み込む必要があること等のため、操作性の悪いものであった。

そこで、表計算ソフトのマクロの一種であり、表計算ソフトExcelにあたかも元々備わった機能であるかのように、Excelのメニューに取り込んで使えるアドイン³⁾ソフトに作り直したものである。

以下にその使用方法について記す。

3・1 アドインのインストール方法

あらかじめファイルマネージャーまたはエクスプローラを用いて、アドインソフト（国設DL31.XLAあるいは国設DL95.XLA）をExcelフォルダの下のLibraryフォルダにコピーするだけでインストールが完了する。

3・2 Excelにおけるアドインの登録方法

- (1) Excelを起動し、Excelの「ツール」メニューの「アドインマネージャー」（Windows95の場合「アドインの登録と管理」）をクリックすると「アドインの登録と管理」ダイアログボックスが現れる。
- (2) ダイアログ上の登録アドインのリストに「酸性雨ロガーデータ回収」が見つかったならば、そのチェックボックスにチェックマークを入れ「OK」をクリックする。それによってアドインが使えるようになる。（リストに無い場合は「参照」ボタンをクリックすると、「ファイルの参照」ダイアログが現れるので、3・1のインストール方法で格納したフォルダとファイル名を指定すると、「アドインの登録と管理」ダイアログの中の登録アドインのリストの中に「酸性雨ロガーデータ回収」が登録される。）
- (3) 「ツール」メニューのプルダウンメニューの一番下に「酸性雨ロガーデータ回収」が追加され、それをクリックすると酸性雨ロガーデータ回収システムが立ち上がる。

図3 抽出データの設定ダイアログ

3・3 Excelにおけるアドインの登録解除方法

チェックマークを付けたままでExcelを終了すると、次にExcelを起動するときに、自動的にそのアドインソフトが読み込まれ、使える状態で立ち上がる。

但し、遅いパソコンではその組み込みに時間がかかるため、起動が重くなるという欠点があるので、そのアドインソフトを使う一連の作業が終了したら、こまめに登録からはずすことが望ましい。

アドインのはずし方は、登録方法の(1)と同じく「アドインの登録と管理」ダイアログを表示させて、登録アドインの中の「酸性雨ロガーデータ回収」のチェックボックスのチェックマークを消去すれば、次回のExcel起動時にアドインの自動登録は行われなくなる。

なお、登録アドインのメニューから「酸性雨ロガーデータ回収」のタイトルはなくなるので、必要なときにチェックマークを再度付ければその場でアドインが使える状態になる。

3・4 酸性雨ロガーデータ回収システムの操作方法

- (1) Excelを起動して、あらかじめ1年分の酸性雨ロガーデータを取めたフロッピーをディスク装置に入れ、回収データを書き込むための既成のファイルか新規ファイルを展開する。
- (2) 既成ファイルの場合、回収データを書き込むシートの始点に当たるセルにカーソルを置く。

年月日	時	風向	風速	雨量	累積
1994/4/28	16	WSW	3.1	0	0
1994/4/28	17	W	3.3	0	0
1994/4/28	18	WSW	3.2	0	0
1994/4/28	19	SW	3.8	0	0
1994/4/30	19	WSW	10.5	0	0.5
1994/4/30	20	W	9.2	0	0.5
1994/4/30	21	W	8.3	0	0.5
1994/4/30	22	WSW	6.9	0	0.5
1994/4/30	23	WSW	6	0	0.5
1994/4/30	24	WSW	6	0	0.5

図4 1時間値表

年月日	最多風向	最大風速	平均風速	降水量	NNE	NE	ENE	NNW	N	Caln	欠測	降雨開始日	開始時	降雨終了日	終了時
1996/9/1	ENE	10.2	6.2	35.5	0	11.2	88.8	0	0	0	0				
1996/9/2	ENE	7.7	3.2	0.5	1.8	10.8	46.5	1	1.4	0.5	0	1996/8/31	7:44	1996/9/1	23:21
1996/9/3	WSW	11.9	5.6	0	0.4	0.6	0	0.9	0.4	0	0				
1996/9/4	ENE	8.2	3.3	0	4.9	12.5	43.7	0	0	1.2	0	1996/9/4	1:15	1996/9/4	6:36
1996/9/27	WSW	15.9	8	0	1.3	0.1	0.1	4	0.9	0	0	1996/9/27	1:32	1996/9/27	4:48
1996/9/28	WSW	11.7	7.1	0	0	0	0	0.1	0	0.3	0				
1996/9/29	WSW	9.4	4.8	0	0	0	0	0	0	0.6	0				
1996/9/30	ENE	4	2.4	0	5.9	24.1	51.8	0	0	0	0				

図5 日代表値表

年月	最多風向	最大風速	平均風速	降水量	NNE	NE	ENE	E	W	WNW	NW	NNW	N	Cal	欠測
1996年4月	WSW	17.5	7.8	234.5	0.3	3.5	17.6	3.7	0.7	0.2	0.1	0.2	0.2	0	0
1996年5月	ENE	23.5	6.4	366	1	5.1	31	2.7	0.4	0.1	0.2	0.4	0.4	0	0
1996年6月	ENE	11.6	5.7	73.5	0.6	7.4	65.3	1.5	0.1	0.1	0	0.1	0.1	0	0
1996年7月	SW	13.8	5.4	156.5	0.2	3.7	32.2	2.8	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0	0
1996年8月	ENE	14.8	5.5	41.5	0.7	6.7	60	3.7	0.4	0.4	0.2	0.2	0.3	0	0
1996年9月	WSW	15.9	5.5	17.5	0.6	4.2	24	9	1.7	0.5	0.3	0.1	0.1	0	0
1996年10月	WSW	23.3	6.4	91.5	0.9	5.6	16	5.6	2.4	1	0.7	0.5	0.5	0	0

図6 月代表値例

国設酸性雨測定所気象月報(風向)

1995年10月									観測局：青森県竜飛							
	1時	2時	3時	4時	5時	6時	7時	8時	19時	20時	21時	22時	23時	24時	Max	Cal
1日	SW	-	E	E	E	ENE	SW	1								
2日	ENE	S	SW	SW	WSW	WSW	WSW	ENE	0							
3日	WSW	WSW	WSW	WSW	WSW	W	WSW	W	SW	WSW	SW	SSW	E	ENE	WSW	0
4日	NE	NE	NE	ENE	ENE	NE	ENE	ENE	WSW	WSW	WSW	WSW	WSW	WSW	NE	0
5日	W	W	WSW	WSW	WSW	W	WSW	WSW	WSW	W	WSW	WSW	WSW	WSW	WSW	0
6日	WSW	WSW	WSW	WSW	W	WSW	WSW	0								
7日	W	W	W	W	W	W	W	W	WSW	WSW	WSW	WSW	SSE	S	WSW	0
29日	E	ENE	ESE	E	E	ENE	E	E	SW	ENE	NE	S	SW	SW	ENE	0
30日	W	W	SW	W	SW	SSW	SW	SW	WSW	SW	SSW	SW	SW	SW	SW	0
31日	SW	W	WSW	WSW	WSW	WSW	WSW	WSW	SW	SW	SW	W	WSW	WSW	SW	0
Max	SW	W	WSW	WSW	WSW	WSW	SW	ENE	WSW	WSW	WSW	WSW	WSW	WSW	WSW	
Cal	1	0	0	0	1	0	1	1	0	2	0	0	0	0		8
						NNE	NE	ENE	NW	NNW	N	Cal				
風向頻度						7	52	121	13	8	8					

国設酸性雨測定所気象月報(風速)

1995年10月									観測局：青森県竜飛							
	1時	2時	3時	4時	5時	6時	7時	8時	19時	20時	21時	22時	23時	24時	Max	Ave
1日	4.4	4.0	3.6	3.9	4.6	3.6	2.6	3.2	1.4	0.0	2.1	2.5	2.4	2.9	4.6	3.2
2日	4.0	4.5	4.4	4.6	4.0	3.8	3.8	3.0	2.2	3.2	3.8	8.6	7.4	9.4	9.4	4.5
3日	11.5	10.2	11.8	11.6	11.4	9.0	10.9	7.1	2.2	2.8	1.6	0.4	3.2	3.1	12.4	7.2
4日	6.4	7.0	6.5	5.4	3.0	2.7	2.8	2.5	4.8	5.0	3.0	4.5	4.6	6.7	7.0	3.8
5日	7.1	8.1	7.1	8.9	7.8	8.1	5.8	4.7	14.8	14.7	17.5	18.5	19.5	18.1	19.5	9.3
6日	17.7	17.4	17.6	19.5	23.2	22.5	21.6	22.5	12.8	11.3	10.9	10.3	11.0	8.7	23.2	15.9
7日	12.4	15.5	12.9	10.8	11.1	10.8	10.4	10.9	7.6	6.0	5.6	2.8	1.0	1.3	15.5	8.9
29日	3.1	2.6	1.3	2.0	2.1	3.4	1.0	1.5	0.4	1.3	0.8	1.2	3.7	3.9	3.9	2.4
30日	8.0	7.7	3.0	4.1	2.7	2.2	2.7	2.6	6.5	1.6	0.8	4.8	4.6	3.2	8.0	4.3
31日	4.9	13.1	13.0	9.3	11.7	9.9	9.2	8.1	2.8	2.8	2.7	10.2	13.5		13.5	5.8
Max	18.3	17.4	17.6	19.5	23.2	22.5	21.6	22.5	19.6	16.9	18.2	18.5	19.5	18.1	23.2	
Ave	5.5	5.9	5.4	5.7	5.8	5.5	5.2	5.3	5.1	4.8	5.0	5.6	5.7	4.6		5.4
						NNE	NE	ENE	NW	NNW	N	Cal				
平均風速						1.2	2.8	3.4	1.6	1.8	1.3	0.1				

国設酸性雨測定所気象月報(降水量)

1995年10月									観測局：青森県竜飛							
	1時	2時	3時	4時	5時	6時	7時	8時	19時	20時	21時	22時	23時	24時	Max	Sum
1日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	2.5
3日	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0.5	0.5	1	1.5	1.5	4.5
4日	10	4	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	10.0	15.5
5日	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	2
6日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
7日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
29日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	1.5	0	1.5	2
30日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0.5
31日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5	0.5	0	0	6.0	15.5
Max	10	4	2	2.5	2.5		0.5		1.5	1.5	1.5	7.5	3	3	10.0	
Sum	15.5	8.5	3	3.5	2.5		0.5		4.5	4	3.5	12	10	7.5		112
						NNE	NE	ENE	NW	NNW	N	Cal				
降水頻度							9	12				2				

図7 風向・風速・降水量月報

- (3) 登録方法(3)に示した「ツール」メニューの最下行に表示された「酸性雨ロガーデータ回収」をクリックすると図3の「抽出データの設定」ダイアログが現れる。
- (4) 「抽出データの種類」を1時間値、日代表値、月代表値の中からマウスで選択する。1時間値の場合は、更に月報出力の有無を設定する。
- (5) 出力先を「NewSheet」か(2)でアクティブになっているシートから選択する。アクティブシートを選ぶと、(2)でカーソルの置かれたセル番地が自動的に表示される。
- (6) 必要に応じて、観測局名を入力する。
- (7) (4)から(6)までは、既定値のままでもよければ設定不要なので、必要なものだけ設定し「OK」をクリックする。
- (8) 次にファイル選択ダイアログが表示されるので、ファイルのあるフォルダの中の先頭のファイルを指定すると、順次日データファイルを読み込み出力先のシートに格納される。

3・5 アドインによる出力例

1時間値、日代表値、月代表値を選択した場合には、それぞれ図4～6に示した表として出力される。

また、月報を選択すると、図7に示した風向、風速、降水量の月報が新しいシートにまとめて出力される。

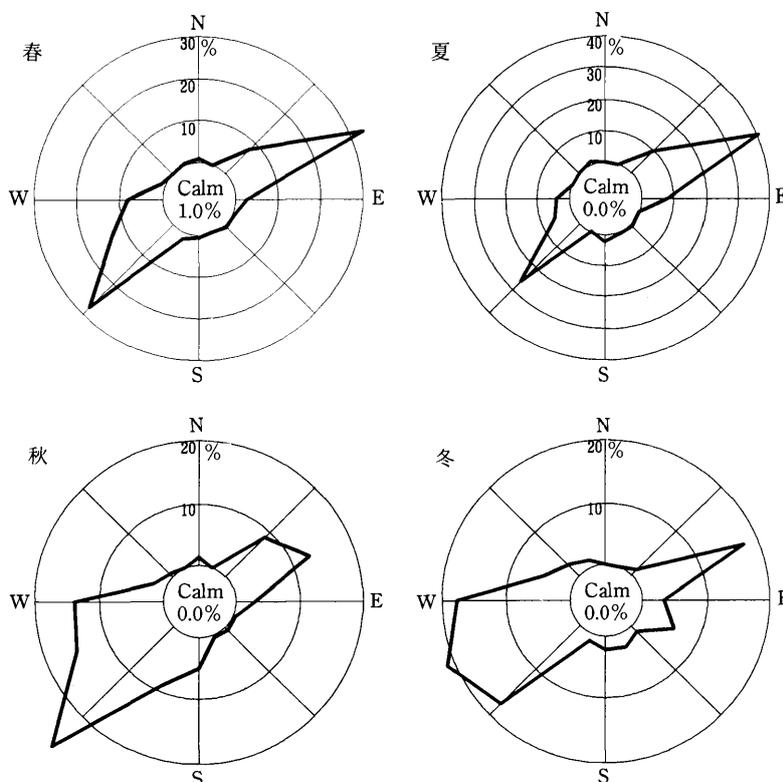


図8 降雨時風配図

4. 回収データの利用例

酸性雨ロガーデータ回収システムによって出力された1時間値、日代表値、月代表値、月報（風向、風速、降水量）は次の様な利用が可能である。

4・1 1時間値

1時間値には時刻毎の降水量が0.5mm単位で記録されているので、1年間の1時間値から降雨のあった時刻のデータだけを抽出することによって、降雨時風配図（図8）が作成できる。

季節単位で処理すれば、季節別に風向別降雨頻度の特徴を把握することができる。1時間値の縦長の表または風向月報の一部分から風向頻度をカウントするために「風向頻度表作成」アドインを作成した。これによって例えば酸性雨測定局点検日の10時から、2週間後の9時までの風向頻度も求めることが可能である。

更に、その風向頻度表を元に風配図を描く「風配図作成」アドインも作成済みである。

4・2 日代表値

日代表値には1日毎の風向頻度（%）が保存されているので、1時間値と同じように降雨日だけを抽出し、その風向頻度の平均値を元に降雨日風配図が作成可能であり、これによって季節変化や晴天時との比較が可能である。

この場合は、1時間値と違ってすでに10秒間隔のサ

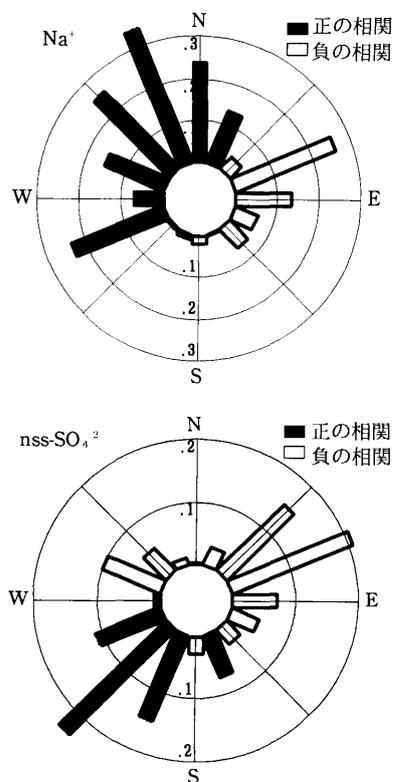


図9 Na⁺, nss-SO₄²⁻濃度との風向相関図

ンプリングによる1日単位の風向頻度が収録されているので、1日毎、週毎でも風配図が作成可能である。作成には同じく「風配図作成」アドインを利用する。

また、降雨日の風向頻度の日変化と、その時の降水成分の濃度または沈着量との相関をとれば、風向と降水成分の関連を調べることができる。

例えば、降水成分の Na^+ や nss-SO_4^{2-} 濃度と風向頻度の相関をとった図9によると、 Na^+ 濃度ではN~NWやWSWの風向頻度と、 nss-SO_4^{2-} 濃度の場合はSWの風向頻度と有意な相関が見られた。

相関係数を求めるには、Excelの組み込み関数(CORREL)を用いるが、風向相関図の作成には「風配図作成」アドインを用いる。

日代表値には、転倒樹型の0.5mm単位の日降水量が記

録されているが、一方降水自動捕集装置でも1日毎に捕集された降水の量を記録してあるので、両者の差が気象条件によってどのような特徴を持っているか把握することも大事である。例えば、降水量の差と風向、風速との関係を調べた図10によると東西の風で降水量の差が逆転する傾向が見られた。この図のE系とはENE、Eを、W系とはW、WSW、SWをまとめたものである。

4・3 月代表値

数年分の月代表値があれば、数年分月毎の風速や降水量を平均化し、月別平均風速パターンや平均降水量パターンが把握でき、ある年が例年より降水量の多い年か、少ない年か評価が可能となる。

また、月代表値を用いて自己相関解析を行うと、図11のようなオートコログラムが作成でき、周期性の有無

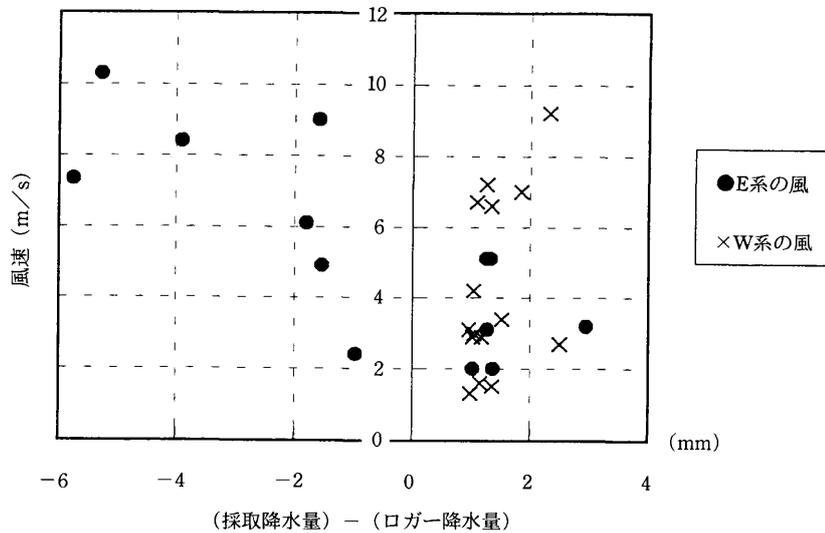


図10 降水量の差と風向、風速の関係

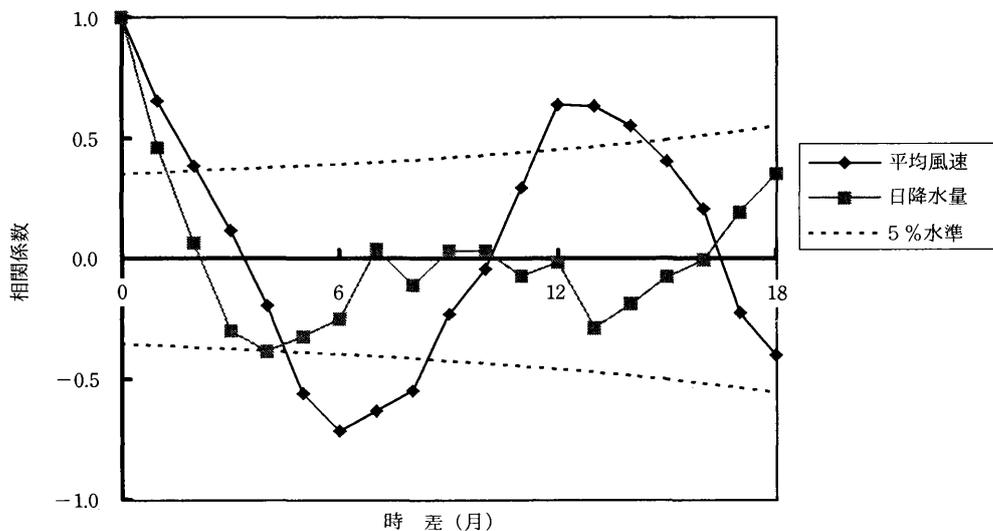


図11 風速、降水量のコレログラム

を統計的に判定できる。図からは月平均風速の頻度には6ヶ月目で極小、12ヶ月目で極大となる強い周期性がみられるが、月降水量には周期性がみられないことがわかる。この解析には「自己相関解析」アドインを用いる。

4・4 月 報

風向、風速、降水量の月報は、データ保存用として適しているだけでなく、可読性がいいのでデータスクリーニングにも最適であり、日最大値等と記録紙とを照合することによって異常値が無いか確認できる。

月報の下部には月間風向別頻度や月間風向別平均風速、月間風向別降水頻度を出力する。それらを元に月間風向別降水確率の算出や「風配図作成」アドインによって、風向別平均風速付き風配図の作成も可能である。

月間風向頻度及び月間最大風速、月間平均風速、月間降水量の値は、月代表値が何らかの事情で欠測となった場合や月の途中からの集計値しか得られない場合にデータ補完用として用いることができる。

以上、気象ロガーデータを単にそのまま環境庁に報告するのではなく、「酸性雨ロガーデータ回収」アドインで回収したデータを、「風向頻度表作成」、「風配図作成」、「自己相関解析」等のアドインを用いて解析することによって、保守点検者の目を通してスクリーニングを行うことが可能となり、より精度の高いデータとして活用できるようになるものと期待される。

Excelアドインは他のWindowsアプリケーションと同じ操作性で、Excel元々の機能のように使ってもらえるという利点がある。また、MS-DOSの表計算ソフトのマクロに較べると、VisualBasicと同じ言語仕様であるソースリストは可読性が格段に向上しており、デバッグ機能も豊富で、Excelの組み込みダイアログも自作のアドインに組み込める等、アドインの開発及び後々の改造も容易であるという特徴を持っている。「酸性雨ロガーデータ回収」アドイン以外のソフトは汎用性があり、Excelで読み込めるデータであれば解析可能である。

ここに取り上げたアドイン以外にも、降水や地下水等の水質データを元にトリリニア・ダイアグラムが作成できる「酸性雨ダイアグラム解析⁴⁾」アドインや、主成分分析または因子分析の因子負荷量から負荷量散布図を作成する「負荷量散布図」アドイン、99個の変数にまで対応して縦型及び横型のデンドログラムが作成できる「クラスター分析」アドイン等が作成済みであり、それらのアドインも含めてフロッピーディスクによって提供可能である。

今後は、月報等によるデータスクリーニング結果を、

元の気象ロガーデータに直接反映させるアドインを開発したいと考えている。

5. ま と め

- (1) 国設酸性雨測定所に降水自動捕集装置とともに設置された気象観測装置のデータロガーに収録されたデータをExcelの中から操作することによってExcelのワークシート上に表計算データとして回収できるExcelアドインソフト「酸性雨ロガーデータ回収」アドインを開発した。
- (2) (1)によって得られる1時間値から降雨時だけを抽出し、「風向頻度表作成」アドインと「風配図作成」アドインを用いることによって、降雨時風配図作成が可能である。
- (3) 日代表値から降雨日だけを抽出後「風配図作成」アドインを用いることによって、降雨日風配図の季節変化や晴天日風配図との違い等を調べることができる。
- (4) 同じ降雨日の風向頻度の時系列と、降水成分の時系列との間の相関係数に対して「風配図作成」アドインを用いれば、風向相関図が作成でき、降水成分濃度と風向の関連を調べることができる。
- (5) 数年分の月代表値を元に「自己相関解析」アドインを用いれば、周期性の検討が可能となる。
- (6) 月報からは、風向別平均風速付風配図が作成でき、月代表値が欠測の場合の補完情報が得られる。

謝 辞

今回、各種アドインソフトを作成するにあたり貴重なアドバイスをいただいた(財)地球環境産業技術研究機構の江阪忍氏はじめ「降水試料自動捕集装置等の精度研究」検討委員会の各委員の方々に謝意を表します。

文 献

- 1) (社)日本環境技術協会：降水試料自動捕集装置等の精度に関する研究平成6年度環境委託業務結果報告書、平成7年3月
- 2) 大気環境学会酸性雨分科会・酸性雨研究会：酸性雨自動測定機に関する検討会報告書、81、平成8年3月
- 3) 相沢文雄：ExcelVBAマクロハンドブック
- 4) 早狩進：酸性雨解析におけるイオン組成の表現方法の検討－トリリニア・ダイアグラムの応用－、青森県環境保健センター研究報告、6、59-64、1995

Abstract

**UTILIZATION OF WEATHER LOGGER DATA OF NATIONAL
ACID PRECIPITATION STATION**

Susumu HAYAKARI¹ and Akira MATSUO¹

It is difficult to process the weather logger data recorded by the meteorological observation apparatus in National Acid Precipitation as it is. So, we have developed an Excel Add-In Application "Acid Precipitation Logger Data Recovery" by which the hourly, daily and monthly data can be directly recovered on the work sheet of Excel. Besides, it is possible to form a wind rose or an anemoscopic correlation chart or discuss the periodicity with add-in applications for forming "anemoscopic frequency chart", "wind rose", "auto-correlation analysis", etc.

Key words : Microsoft Excel, Visual Basic for Applications, add-in application, acid precipitation

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment

小川原湖の植物プランクトン (第2報)

— 調査地点ごとの出現状況 —

工藤 精一 小山田久美子 神 正志
柴田 幸伸 荒関 治 奈良 忠明

汽水湖である小川原湖の植物プランクトンについて、調査地点ごとの解析を行った結果、総出現種数は河口付近で多く、藻類別構成比率では各測点とも珪藻類が6割以上を占めていた。

また、各測点とも総細胞数の季節変動パターンは夏期を中心とする山型を示すことが多かったが、冬期のレベルが経年的に増加する傾向にあった。さらに、藍藻類と緑藻類の構成比率は低いが、緑藻類は細胞数及び細胞数の構成比率とも経年的に増加傾向にあるところから、わずかながら富栄養化の進行を窺わせた。

Key words : Lake Ogawara, phytoplankton, brackish water

1. はじめに

小川原湖の植物プランクトンについては、前報¹⁾で湖全体の出現状況の把握を行った結果、珪藻類の出現種が多く、細胞数でも高い出現数を占めていることがわかった。また、富栄養化の進行に伴って増加すると考えられる藍藻類や緑藻類の出現種数は少ないが、緑藻類の細胞数については多少増加傾向もみられた。

今回は、調査地点ごとの藻類別出現種数、藻類別細胞数の差異、経時変化等についての調査結果をまとめたものである。

2. 調査方法

2・1 調査地点

調査地点は、前報と同様のSt.1 (上層及び下層)、湖心部のSt.4 (上層、中層及び下層)、St.6 (上層及び下層)の3地点である。(図1)。

採取水深は、各地点の上層が0 m、St.1下層が約9 m、St.4中層が10 m、St.4下層が約23 m、St.6下層が約10 mである。(各下層は底泥上1 mから採取した。)

なお、本報では、地点とはSt.1、St.4及びSt.6を示し、測点とはSt.1上層、St.1下層等の層別の地点を示すこととする。

2・2 解析データ

前報と同様の採取方法及び分析により得られた植物プランクトンの昭和58年度から平成5年度まで11年間のデータについて解析を行った。

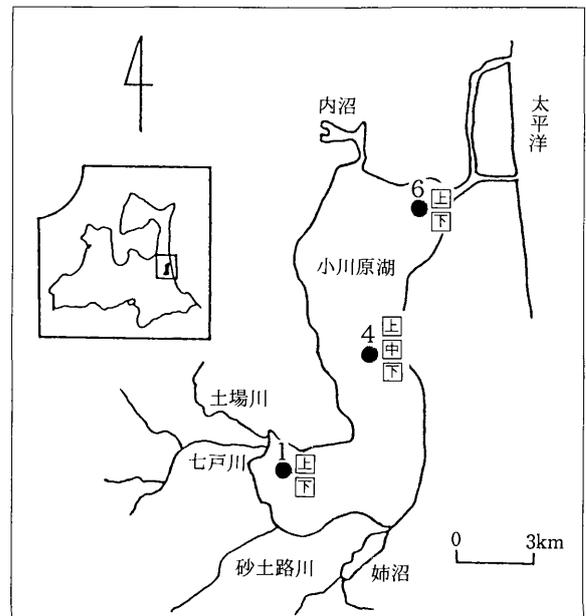


図1 調査地点

3. 結果及び考察

3・1 出現種数の差異及び変動

(1) 出現種数の差異

調査地点ごとの藻類別総出現種数(昭和58年度以降の11年間に出現した種類数)を図2に示す。

地点別の総出現種数は、珪藻類の出現種数の増減に左右され、珪藻類の多いSt.1は200種以上で他の地点よりも総出現種数が多かった。また、層別の違いをみるとSt.1では、上層>下層であるが、St.4、St.6は上層<下層でありSt.1とは逆の傾向を示した。

次に、藻類別構成比率を図3に示す。

各地点で6割以上を珪藻類が占めていたが、珪藻類が比較的少ないSt.4及びSt.6では、藍藻類及び緑藻類の比率がSt.1よりやや高めであった。藍藻類では上層と下層との差は明瞭ではないが、緑藻類では各地点で上層>下層であった。

なお、St.4下層は、負酸素水塊の嫌気性状態にある²⁾が、St.4上中層との藻類別総出現種数及び藻類別構成比率の大きな違いはみられなかった。

(2) 出現種数の変動

各地点の上層の出現種数の経時変化を図4に示す。

これによると、総出現種数は、St.1上層がSt.4上層とSt.6上層よりも全体に高いレベルで推移していた。上層の季節変動パターンは、St.4上層とSt.6上層では春期(4~5月)に出現種数が多く、夏期(6~8月)に減少し、その後、秋期から冬期(9~12月)に多くなる比較的似たパターンがみられた。しかし、St.1上層はこれらと異なり、夏期に出現種数が多くなるパター

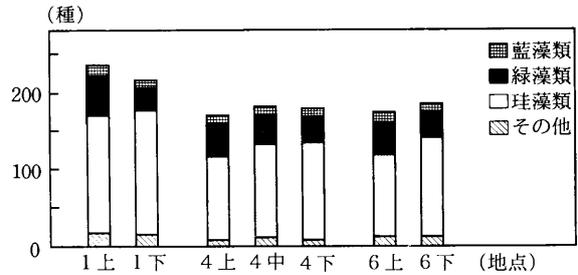


図2 調査地点別の藻類別総出現種数

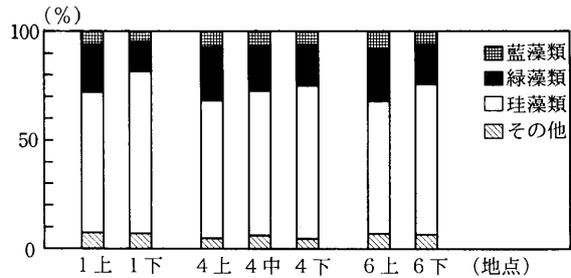


図3 調査地点別の藻類別構成比率(出現種数)

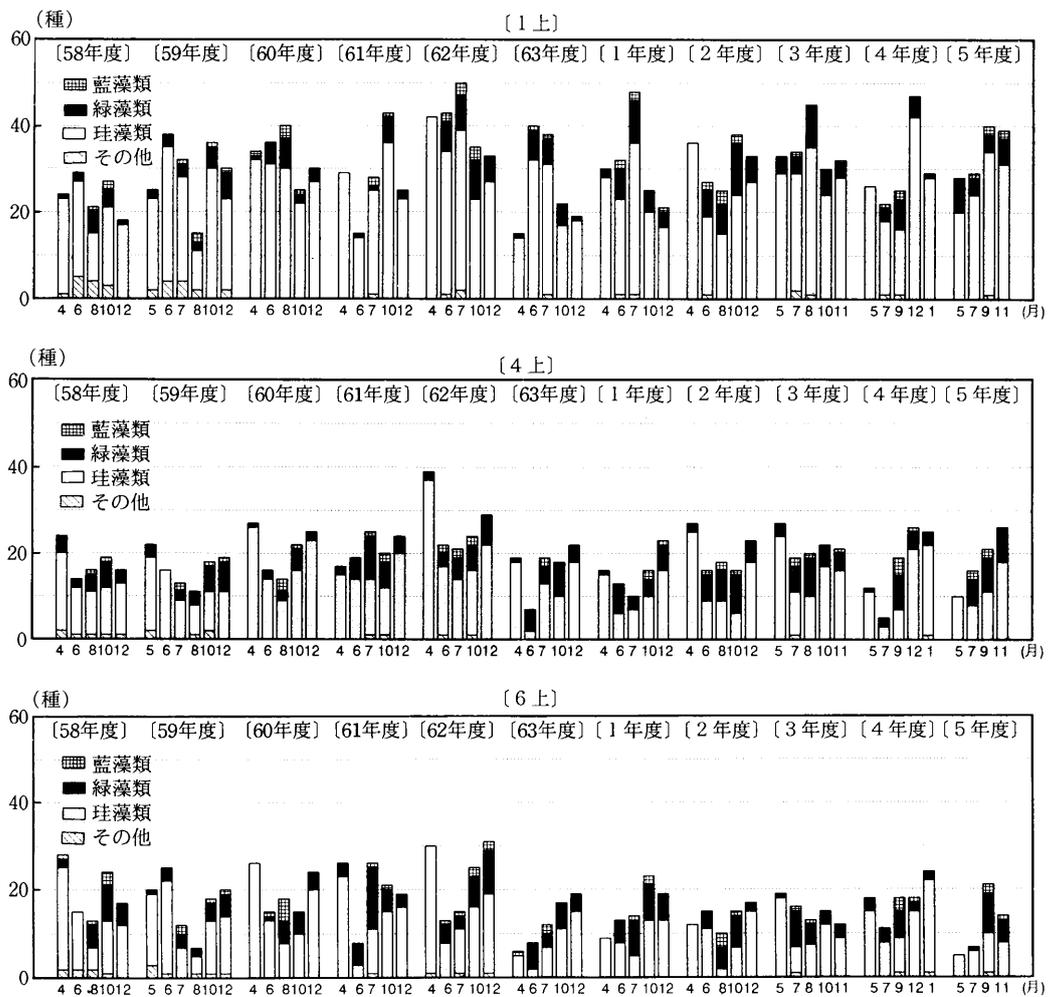


図4 調査地点(上層)別の出現種数の経時変化

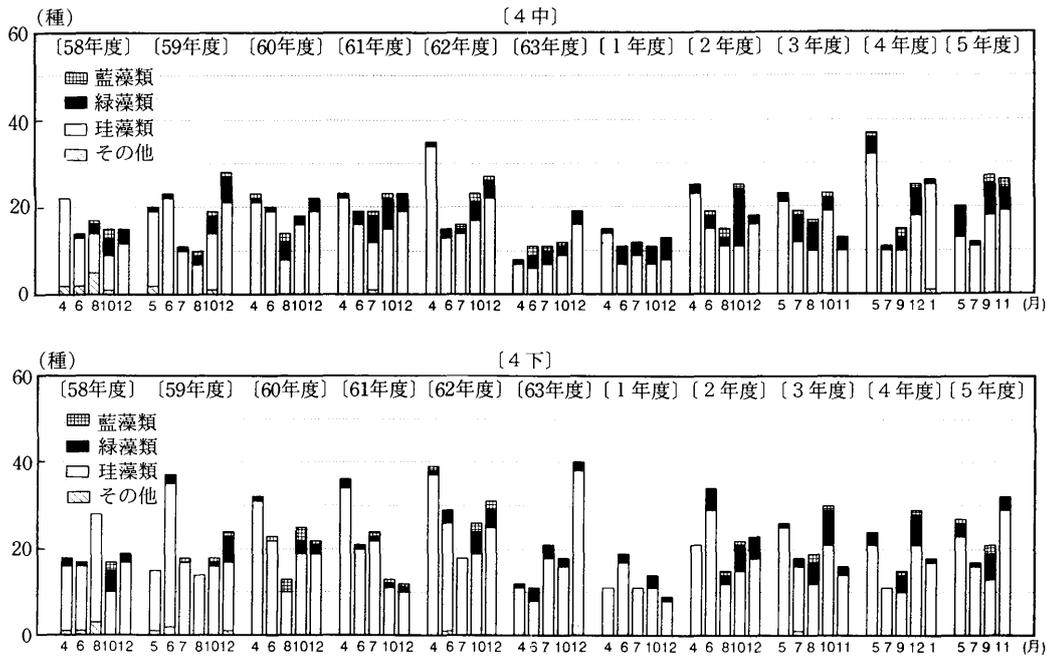


図5 St.4中下層の出現種数の経時変化

ンを示すことが多かった。また、昭和62, 63年度、平成元年度はSt.4上層及びSt.6上層とのパターンの違いが顕著であり、同一水域においても出現種数が大きく異なることを示している。

経年的には各測点とも昭和63年度の総出現種数が少なく、St.4上層とSt.6上層では平成元年度も総出現種数が少ない傾向がみられた。

なお、各測点とも藍藻類及び緑藻類の出現種数は春期に少なく、夏期を中心に増加する傾向にあるが、冬期に藍藻類では春期なみに減少するのに対して、緑藻類では春期ほどには減少せず、両者に消長の差がみられた。経年的には藍藻類及び緑藻類の明瞭な増減傾向はみられなかった。

さらに、層別の出現種数の変動パターンをみるため、湖心部のSt.4中下層の出現種数の経時変化を図5に示す。

図4に示したSt.4上層と図5のSt.4中下層を比較すると季節的には大きな差異はみられず、夏期に総出現種数が少なくなるパターンは同じである。特に、昭和60, 62年度及び平成3, 4年度では各層が類似したパターンを示した。しかし、下層では上中層に比較し出現種数のバラツキが大きい年度もあり、同層が停滞性の強い貧酸素水塊という特殊な水環境であることが影響していることを窺わせる。

3・2 細胞数の差異及び変動

(1) 細胞数の差異

調査地点ごとの藻類の細胞総数（昭和58年度以降の

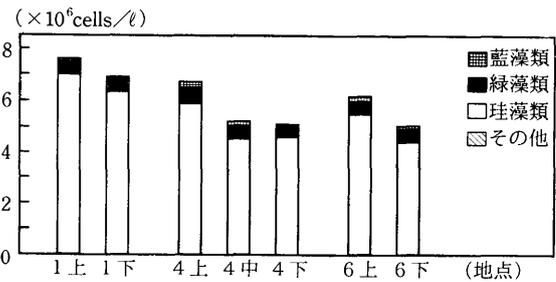


図6 調査地点別の細胞総数

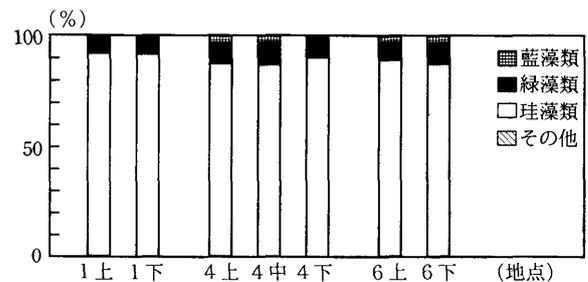


図7 調査地点別の藻類別構成比率（細胞総数）

11年間の細胞数の総数)を図6に示す。

細胞総数はSt.1 > St.4 ≥ St.6の順で高く、各地点とも上層 > (中層) > 下層の順となっており、大部分を占める珪藻類の細胞数に左右される結果となっている。

St.1で細胞数の多い要因は、河口付近のため河川からの栄養塩類が供給され珪藻類が増殖していることが考えられる。

また、藍藻類の細胞数は、St.1及びSt.4で上層 >

(中層) > 下層となっているが、緑藻類の細胞数はSt. 4で多少、上層 > 下層の傾向がみられるだけでSt. 1及びSt. 6では上下層にあまり差異がなかった。

細胞総数の藻類別構成比率を図7に示す。

各測点とも珪藻類が90%前後を占め、藍藻類は5%以下、緑藻類は10%前後であった。珪藻類が多いSt. 1では、St. 4とSt. 6と比較し藍藻類と緑藻類の構成比率は低く、両者を合わせても10%以下であった。

さらに、St. 4で上中下層を比較すると、下層は上中層より藍藻類と緑藻類を合わせた構成比率が多少低い傾

向がみられ、水深の差による光の影響が考えられる。

(2) 細胞数の変動

調査地点による総細胞数の経時変化の変動パターンをみるため、対数表示し各測点別に図8に示す。

総細胞数は、冬期から春期にかけて増大し夏期で最も高く秋期に低下し冬期に最も低くなるという山型の季節変動パターンを示すことが多かった。このパターンは、前述したように各測点の細胞総数に占める珪藻類の構成比率が高いことから、珪藻類の変動を反映しているとみられる。また、総細胞数は冬期のレベルが最も低くなる

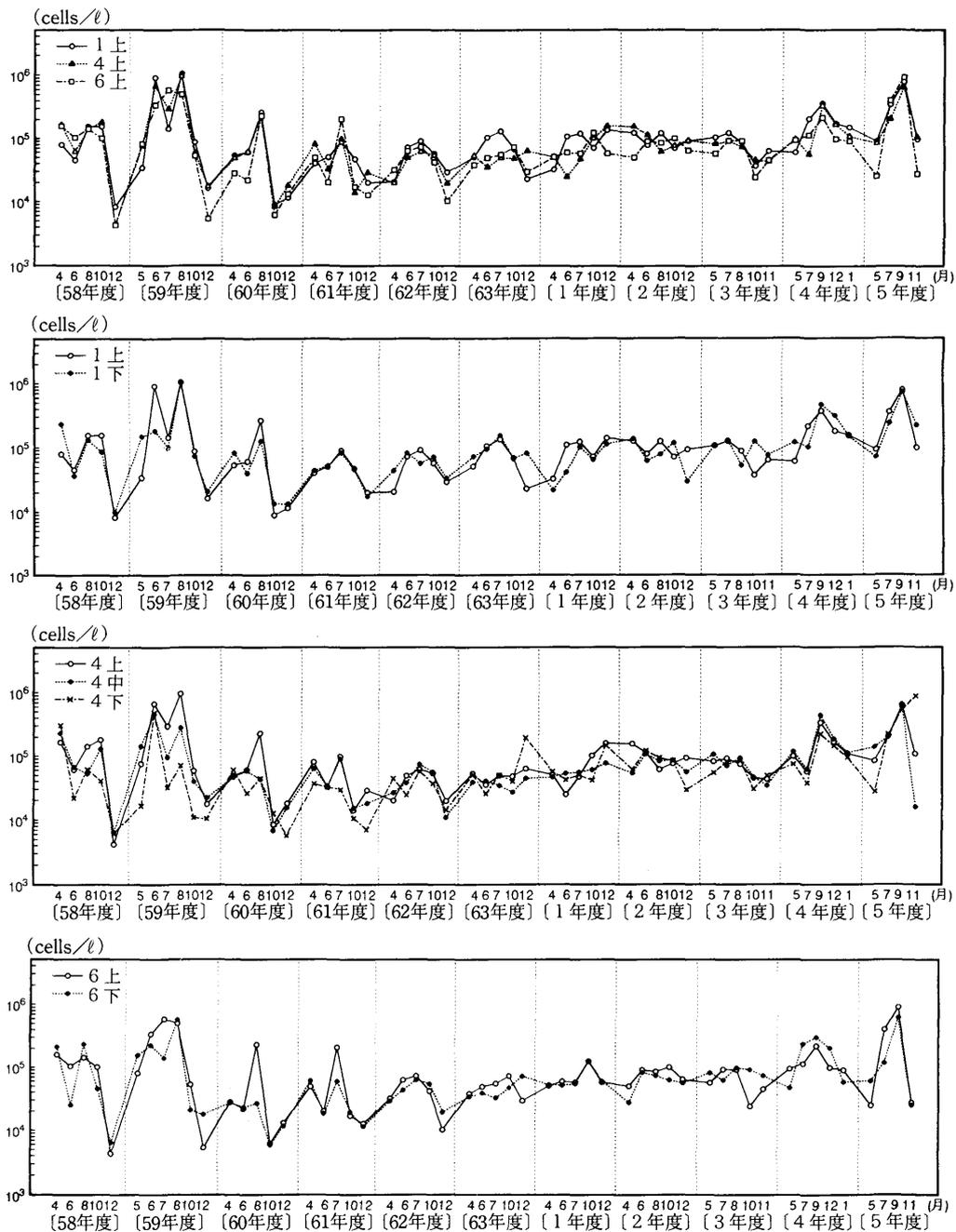


図8 総細胞数の経時変化 (対数表示)

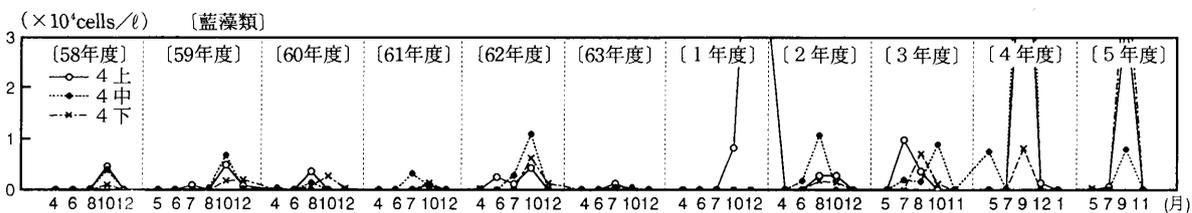
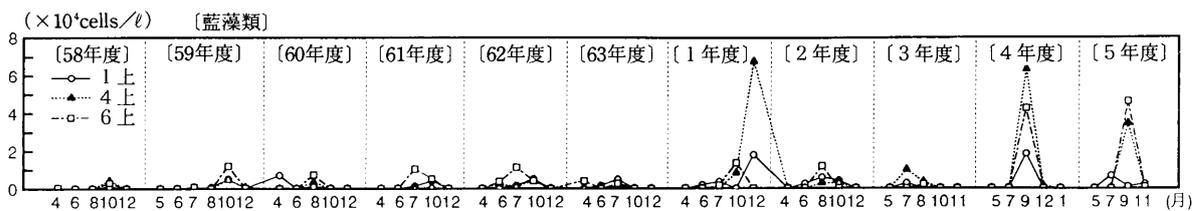


図9 藍藻類の細胞数の経時変化

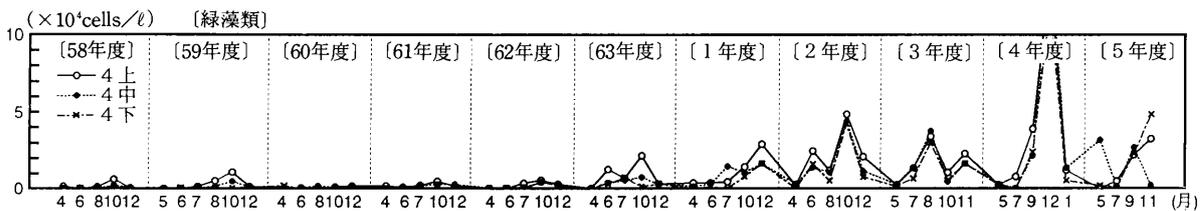
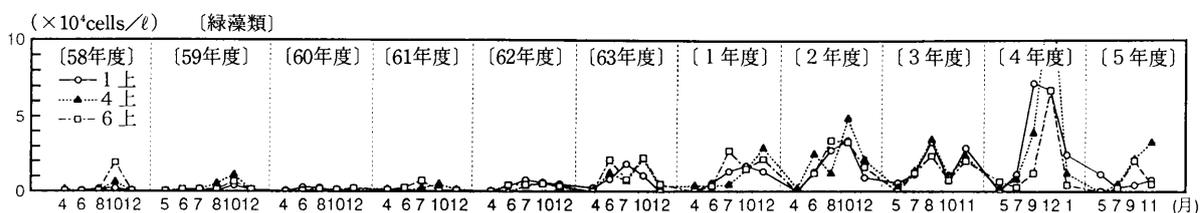


図10 緑藻類の細胞数の経時変化

が各測点とも経年的に徐々に増加する傾向がみられた。

次に、富栄養化の進行と関連する藍藻類及び緑藻類の細胞数（実数）について各地点の上層及びSt.4上中下層の経時変化を図9、10に示す。

藍藻類の上層の細胞数についてみると、各年度でのピークは、ほとんどがSt.4あるいはSt.6であった。なお、ピークとなる時期は、7～10月で、時には12月にもピークが現れる場合もあるが、季節変動は、春期に少なく、夏期～秋期に多くなるパターンが多くみられた。

一方、緑藻類については、各測点とも類似したレベルを示し、季節変動は、春期に細胞数が少なく夏期～秋期に増加する変動パターンを示しながら、経年的に増加する傾向がみられた。このことは、わずかながら富栄養化が進行しつつあることを示していると考えられる。

St.1、St.4、St.6の上層及びSt.4の中下層における藻類別細胞数の構成比率の経時変化を図11、12に示す。

各地点の上層の珪藻類は大部分を占め、100%を占める月もみられた。藍藻類の構成比率は秋期に高くなる季節変動パターンが多かった。緑藻類では、春期に低い比率を示しているが、夏期～秋期に増加する季節的な傾向がみられた。経年的にみると、藍藻類では明瞭な変化はみられないが、緑藻類では、平成4年12月のSt.4上中下層で80%以上を占めるケースもみられ、徐々に構成比率が増加する傾向にあると考えられる。

さらに、St.4の藍藻類及び緑藻類の上中下層での構成比率の経時変化をみると藍藻類は下層で上層より低い比率を示す傾向にあり、平成元年12月では上層と中下層で、平成4年9月は上中層と下層で明瞭な違いがみられた。これらは、藤本らが述べている藍藻類の優占率が深度が深くなるにつれ低下する³⁾という全国の湖沼の傾向と類似していた。また、緑藻類の構成比率は、上中下層で春期に低い比率を示すほぼ同様の経時変化がみられた。

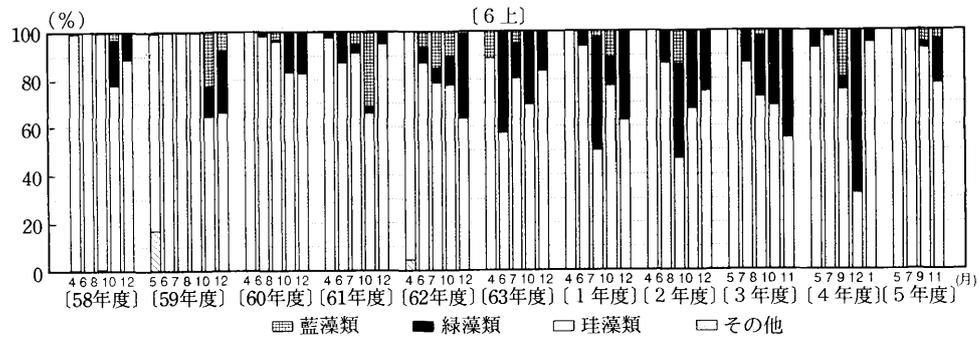
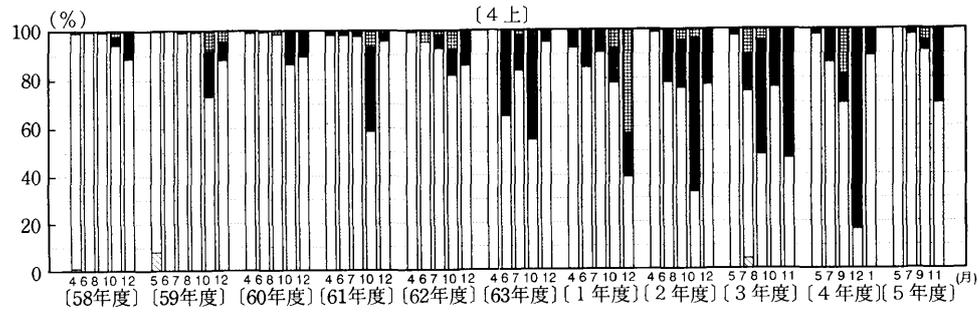
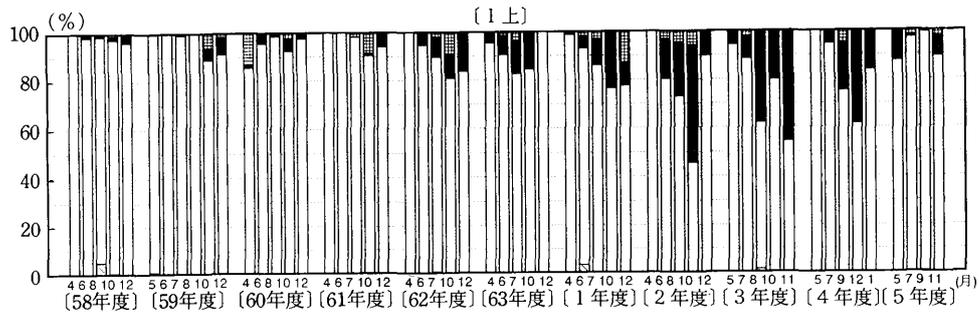


図11 調査地点(上層)別の藻類別構成比率(細胞数)の経時変化

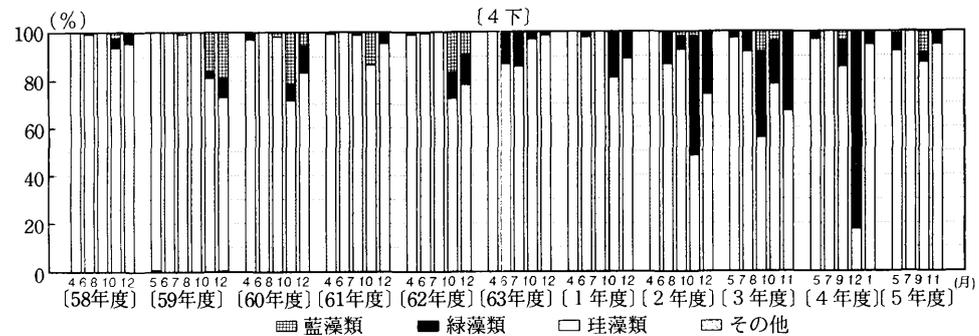
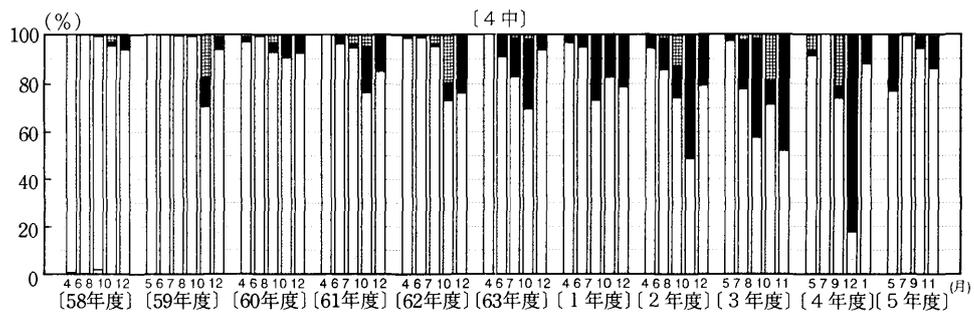


図12 St.4中下層の藻類別構成比率(細胞数)の経時変化

4. ま と め

汽水湖である小川原湖の植物プランクトンについて、調査地点ごとの出現種数及び細胞数、それらの構成比率を解析し次の知見を得た。

- (1) 調査地点ごとの総出現種数は、 $St.1 > St.6 \geq St.4$ の順であり、各地点で珪藻類が6割以上を占めていた。
- (2) 調査地点ごとの細胞総数は、9割前後を占める珪藻類に左右され、河口付近のSt.1で多く、各地点とも上層で多かった。なお、各測点の藍藻類及び緑藻類は両者を合わせても1割前後であった。
- (3) 総細胞数は、各測点とも夏期を中心とする山型の季節変動パターンを示すことが多かったが、冬期の細胞数は経年的に増加する傾向がみられた。
- (4) 緑藻類の細胞数と構成比率も経年的に徐々に増加する傾向がみられたことから、わずかながら富栄養化の進行を窺わせた。
- (5) 湖心部の貧酸素水塊の嫌気性状態にあるSt.4の下層は、出現種数で上中層と層別の大きな違いはみられないが、細胞総数は上層より少なく、藍藻類の構成比率も低かった。

文 献

- 1) 工藤精一，他：小川原湖の植物プランクトン－湖全体の出現状況－，青森県環境保健センター研究報告，**6**，97-102，1995.
- 2) 工藤精一，他：小川原湖湖心部における水質の鉛直分布，全国公害研究誌，**19** (3)，2-7，1994.
- 3) 藤本尚志，他：全国湖沼データの解析による藍藻類の優占化と環境因子との関係，水環境学会誌，**18**，901-908，1995.
- 4) 滋賀県立衛生環境センター：琵琶湖のプランクトンデータ集（植物プランクトン），1985年3月.
- 5) 青木啓子，他：北潟湖の水質と植物プランクトンについて（第2報），福井県公害センター年報，**17**，115-124，1987.
- 6) 奈良忠明，他：汽水小川原湖の水質環境と植物プランクトン，青森県公害センター所報，**7**，46-54，1985.

Abstract

**PHYTOPLANKTONS IN LAKE OGAWARA (No.2)
- Occurrence circumstances in each Research Point -**

Seiichi KUDO¹, Kumiko OYAMADA¹, Masashi JIN¹, Yukinobu SHIBATA¹,
Osamu ARAZEKI¹ and Tadaaki NARA¹

Phytoplanktons were analyzed at each research point in Lake Ogawara with brackish water. As a result, a large number of species appeared in total at the mouth of the river. Regarding the composition ratio of algae, diatom algae amounted to 60% or above at every point.

Seasonal changes in the total cell number showed an arched curve with a peak in summer in most points. However, the total cell number level in winter showed a tendency to increase year by year. Although the composition ratios of blue-green and green algae were low, green algae showed a tendency to increase in both of cell number and composition ratio which indicated that eutrophication has been progressing slowly.

Key words : Lake Ogawara, phytoplankton, brackish water

1 : Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment

Π ノ ー ト

下痢性貝毒検査における遊離脂肪酸の影響とその除去法の検討

堀内 諭 古川 章子 高橋 政教

Studies on the Influence of Free Fatty Acids on Determination of Diarrhetic Shellfish Poison and the Methods for Elimination.

産卵期ホタテガイの生殖巣について下痢性貝毒検査を行った結果、マウスに対する致死毒性が検出された。その後の調査により、高濃度に含有する遊離脂肪酸の影響である可能性が高いことが示唆された。さらに、下痢性貝毒と遊離脂肪酸の分別法についても検討を行った。試料アセトンで抽出して溶媒除去した後、n-ヘキサン・85%メタノール・1%酢酸で分配し、n-ヘキサン層と含水メタノール層に分けることにより、大部分の遊離脂肪酸と下痢性貝毒を分けることができた。

key words : scallop, free fatty acid, diarrhetic shellfish poison

1. はじめに

公定法¹⁾による下痢性貝毒では、試料に含有する遊離脂肪酸(以下、FFA)が貝毒と同様なマウス毒性を示すことが報告されている²⁾。本県でも2月~3月に採捕されたホタテガイ(5月2日まで冷凍保存)の生殖巣について、公定法に準じて下痢性貝毒検査を行ったところ、マウスに対する毒性が検出された。

そこで、FFA濃度を測定して、その毒力を計算式により算出し、さらに、下痢性貝毒(以下、DSP)とFFAの分別法の検討を行った。その結果、若干の知見を得たので報告する。

2. 方 法

2・1 試 料

陸奥湾産ホタテガイのうち、平成7年2月~3月に採捕し、冷凍保存したもの及び5月に採捕したものの生殖巣を用いた。

2・1 FFA 濃度の測定方法^{3) 4)}

測定方法を図1に示した。生殖巣(冷凍保存したものは解凍後)20gをアセトン抽出し、エーテル・水による分配を行い、エーテル層を定容とした後その一部を取り、ジアゾメタンでメチル化し、ガスクロマトグラフ法により測定した。ただし、定量はヘプタデカン酸メチル(メチルC17)を標準物質とした。

ガスクロマトグラフィー条件

ガスクロマトグラフィー装置：島津GC-9A(FID検出器)

カラム管：内径3mm, 長さ2m(ガラス製)

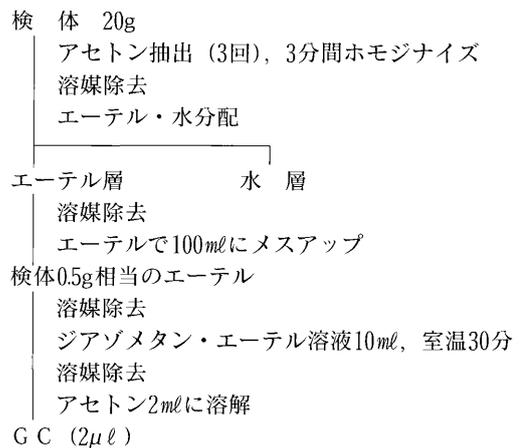


図1 FFAの測定方法

充填剤：Diasolid ZF (80~100メッシュ)

カラム温度：210℃

注入口温度：250℃

キャリアーガス：ヘリウム (0.6ml/min.)

2・2 液液分配法

液液分配法の検討は、分配に用いる溶媒を変えることにより行った。なお、安元の方法⁵⁾を参考にした。この結果、最適と思われる測定方法について図2に示した。

生殖巣(冷凍保存したものは解凍後)20g, または中腸腺50gをアセトン抽出し、溶媒除去した後、n-ヘキサン・85%メタノール・1%酢酸で分配し、n-ヘキサン層(FFA画分とする)と含水メタノール層(DSP画分とする)に分けた。それぞれの画分について溶媒除去後、上記FFA濃度の測定方法に従ってFFA濃度を測

定した。ただし、F F A 含量は2つの画分に存在する F F A の合計量に対する百分率 (%) で示した。

マウスによる毒性試験はそれぞれの画分について溶媒除去した後、1% Tween60含有生理食塩水で適量にメスアップし、1 ml を体重16~20gのddy系雄マウスに腹腔内投与した (図3)。

3. 結果及び考察

3.1 F F A の定量

ホタテガイ生殖巣の F F A 含量測定結果を表1に示す。

検体には公定法に準じて行った下痢性貝毒試験でマウス毒性を示したNo.24, No.26, No.28, 示さなかったNo.2及びコントロールとして当日採捕された生貝を使用した。その結果, No.24, No.26, No.28, にはそれぞれ6.42mg/g, 5.75mg/g, 5.69mg/gと高濃度の F F A が含まれていた。No.2では4.70mg/g, コントロールでは0.30mg/gであった。計算による F F A (純粋なもの) マウス毒性⁶⁾ は No.24, No.26, No.28でそれぞれ0.49MU/g, 0.46MU/g, 0.40MU/g, No.2及びコントロールではそれぞれ0.36MU/g, 0.02MU/gであった。

3.2 液液分配法の検討

7種類の溶媒について、液液分配を行った場合の F F



図2 液液分配法による F F A 濃度測定法

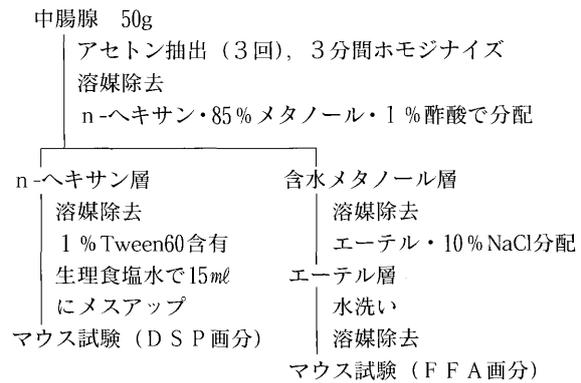


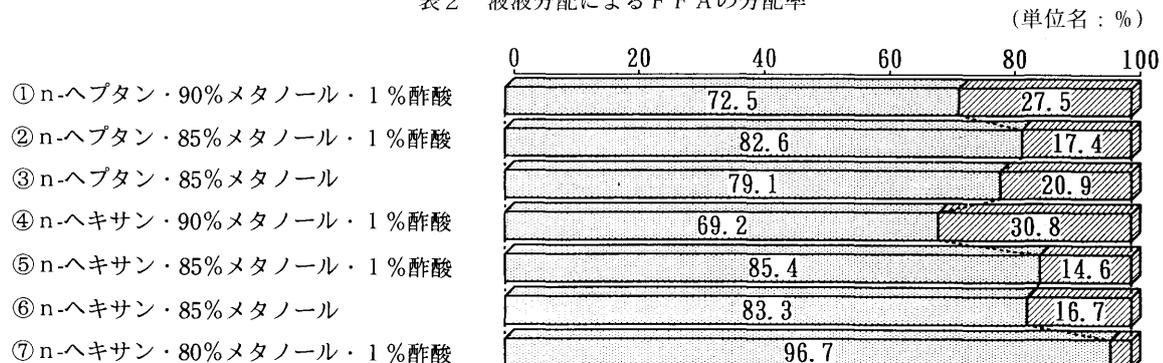
図3 液液分配法によるマウス試験法

表1 ホタテガイ生殖巣の F F A 測定結果

検体No.	採捕年月日	搬入年月日	F F A (mg/g)											総 F F A (mg/g)	計算によるマウス毒力 (MU/g)
			C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:4}	C _{20:5}	C _{22:6}			
24	7. 2. 28	7. 5. 2	0.29	1.28	0.43	0.38	0.46	0.06	0.25	0.14	1.66	1.47	6.42	0.49	
26	7. 2. 28	7. 5. 2	0.44	1.19	0.42	0.33	0.39	0.04	0.16	0.06	2.10	0.62	5.75	0.46	
28	7. 2. 28	7. 5. 2	0.42	1.22	0.46	0.35	0.39	0.05	0.23	0.11	1.47	0.99	5.69	0.40	
2	7. 2. 10	7. 5. 2	0.24	0.82	0.39	0.17	0.34	0.05	0.17	0.09	1.17	1.26	4.70	0.36	
コントロール	7. 5. 16	7. 5. 16	0.02	0.07	0.03	0.02	0.03	N D	0.01	0.01	0.05	0.06	0.30	0.02	

毒力 (MU/g) = (C_{18:1}) × 0.035 + (C_{18:2}) × 0.083 + (C_{18:3}) × 0.167 + (C_{20:4}) × 0.185 + (C_{22:6}) × 0.083⁶⁾
 ただし、(C_{18:1}) (C_{18:2}) (C_{18:3}) (C_{20:4}) (C_{22:6}) は生殖巣 1gあたりの各脂肪酸mgを示す。

表2 液液分配による F F A の分配率



■ F F A 画分中の F F A 含量
 ▨ D S P 画分中の F F A 含量

表3 液液分配法によるマウス試験結果 (値はすべて中腸腺当たり毒力)

分 配 溶 液	公定法による毒力 (MU/g)	D S P 画分の毒力 (MU/g)	F F A 画分の毒力 (MU/g)
⑤ n-ヘキサン・85%メタノール・1%酢酸	1.5~2.0	1.0~1.5	0.3未満
⑦ n-ヘキサン・80%メタノール・1%酢酸	1.5~2.0	0.3~0.4	0.75~1.0

Aの分配率を表2に示す。その結果、n-ヘキサン・80%メタノール・1%酢酸(⑦とする)での分配が96.7%と最も効率が良く、次いで、n-ヘキサン・85%メタノール・1%酢酸(⑤とする)の85.4%、n-ヘキサン・85%メタノールの85.3%であった。

しかし、F F Aをほとんど含まない中腸腺を用いて、マウスによるバイオアッセイを行った結果、⑦の方法ではD S PもF F A分離が出来ないことが分かった。⑤の方法ではF F Aが分離出来ないことが分かった。⑤の方法ではF F A画分へのD S Pの移行はほとんど認められなかった(表3)。

なお、標準品が入手出来なかったため、H P L Cを用いたD S Pの定量は行わなかった。

4. ま と め

- (1) 産卵期ホタテガイの生殖巣について下痢性貝毒検査を行ったところ、マウスに対する毒性が検出された。
- (2) F F Aが毒性の原因物質である可能性が高いことが示唆された。
- (3) n-ヘキサン・85%メタノール・1%酢酸を用いた液液分配法が、F F AとD S Pの分配に有効であると思われる。

5. 文 献

- 1) 厚生省環境衛生局乳肉衛生課：下痢性貝毒検査法，昭和56年5月。
- 2) T. Takagi, et al : Toxic Effect of Free Unsaturated Fatty Acids in the Mouse Assay of Diarrheatic Shellfish Toxin by Intraperitoneal Injection, Bull Japan. Soc. Sci. Fish., **50**, 1413-1418, 1984.
- 3) 青森県水産増殖センター：昭和61年度重要貝毒化対策事業報告書(毒化予知手法開発研究)，昭和59年3月
- 4) 藤野安彦：生物化学実験法9脂質分析法入門，I版，139-140，学会出版センター，東京，1985
- 5) 安元健：昭和62年度重要貝毒化対策事業中間報告，昭和63年3月30日。
- 6) Toru Takagi, et al. : Toxic Effect of Free Unsaturated Fatty Acids in the Mouse Assay of Diarrheatic Shellfish Toxin by Intraperitoneal Injection, Bullrtin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. **50** (8), 1413-1418, 1984.

Ⅲ 他誌投稿抄録

他誌投稿抄録

ノーウォークウイルス関連遺伝子が検出された急性胃腸炎の2集団発生事例 佐藤允武, 三上稔之, 木村淳子, 大友良光, 野呂キョウ, 畑山一郎, 菊地裕子¹, 竹内正子²: 病原微生物検出情報月報, 16(5)5, 1995.

1994年12月8日, 三戸保健所管内の保育所及び1995年2月23日八戸保健所管内の料理店で集団発生した急性胃腸炎について病原検索を行った。その結果, 2事例ともに食中毒菌は陰性であったが, 発病者便等についてさらに電子顕微鏡, 細胞培養法及びPCR法により検査を行ったところ, ノーウォークウイルス関連SRSSV遺伝子がPCR法により2事例から検出された。本検査法は当該ウイルスの検査に極めて有用と考える。

- 1: 三戸保健所
- 2: 八戸保健所

Epidemiology of *Yersinia enterocolitica* serovar 0:8 infection in the Tugaru area in Japan.

Y. Ohtomo, Y. Toyokawa, M. Saito¹, M. Yamaguchi¹, S. Kaneko², T. Maruyama³: Contrib Microbiol Immunol. Basel. Karger, 13, 48-50, 1995.

1987年10月から1994年1月にかけて, 青森県津軽地区で患者31名から *Yersinia enterocolitica* serovar 0:8 菌が分離された。分離菌は生物型がWautersの1型で各種の病原性状が陽性, そして病原性プラスミドを保有していた。感染源はすべて不明であったが, 患者の疫学的調査により本菌の感染源としてブタ肉, イヌ, 野生動物, そして沢水の関与が推測された。

- 1: 弘前市医師会成人病検診センター
- 2: 東京都立衛生研究所
- 3: 国立公衆衛生院

国内産ブタからの病原性 *Yersinia enterocolitica* 血清型 08 菌の分離例 大友良光, 豊川安延¹, 金子誠二², 丸山 務³: メディヤサークル, 41, 8-13, 1996

Yersinia enterocolitica 及び *Y. pseudotuberculosis* の分布を調査するため, 市販ブタ肉, と畜場で解体されたブタの小腸末端部, ネズミ, 河川水, 沢水, 湧水について菌分離を行ったところ, ブタ小腸末端部50検体中3検体から病原性を有する *Yersinia enterocolitica* 血清型 08 菌が分離された。

- 1: エヌ・エス環境科学コンサルタント
- 2: 東京都立衛生研究所
- 3: 国立公衆衛生院

IV 学会等発表抄録

学会等発表抄録

結核菌と非定型抗酸菌のpolymerase chain reactionによる鑑別 畑山一郎, 大友良光, 野呂キョウ, 川村千鶴子¹, 中村敏彦¹: 第15回青森感染症研究会, 青森市, 1995, 7, 29

結核菌特異的プライマーを用いたPolymerase chain reaction (PCR) 法により標準株結核菌の372bpDNAが特異的に増幅された。一方, 抗酸菌共通プライマーを用いた場合には, 結核菌および非定型抗酸菌に共通した620bpDNAの増幅が確認された。これらのプライマーは他の口内細菌とは反応しなかった。また, digoxigenin標識プローブによるサザンハイブリダイゼーションは約1,000倍の増感効果をもたらした。これらの結果は, 本プライマーによるPCRとサザンハイブリダイゼーションは結核菌と非定型抗酸菌の迅速鑑別同定に有効であることを示す。

1: 青森県立中央病院臨床検査部

遺伝子増幅法による結核菌の検出 畑山一郎, 大友良光, 野呂キョウ, 川村千鶴子¹, 中村敏彦¹: 平成7年度青森県環境保健部職員研究発表会, 青森市, 1996, 2, 2

(要旨省略: 本誌学会発表抄録「結核菌と非定型抗酸菌のpolymerase chain reactionによる鑑別」参照)

1: 青森県立中央病院臨床検査部

混合プライマーを用いたRT-PCR法によるNorwalk virusの検出 佐藤允武, 斎藤幸一¹, 木村淳子, 三上稔之, 畑山一郎, 川名林治²: 第36回日本臨床ウイルス学会, 東京都, 1995, 6, 1~2

冬季に集団発生する食中毒様ウイルス性胃腸炎の主な病原の一つと考えられているNV関連SRSV遺伝子について, 散発の急性胃腸炎から得られたSRSVを用い, RT-PCR法により検討を行った。その結果, NV35, 36, 51, 3の4つのプライマーの組み合わせで検出率8~80%の成績を得たが, これら4つを合わせた混合プライマーが84%と最も効率よくNV関連SRSV遺伝子を検出したことより, スクリーニングとしてこの混合プライマーを用い, 疑わしい検体を個別のプライマーで確認する方法が経済的, 且つ, 効率のと考えられた。

1: 岩手県衛生研究所

2: 社会保険いわて健康管理センター

ノーウォークウイルス関連SRSV遺伝子の検出法の検討とその応用 佐藤允武, 木村淳子, 三上稔之, 野呂キョウ, 大友良光, 畑山一郎, 竹内正子¹, 菊地裕子²: 青森県環境保健部職員研究発表会, 青森市, 1996, 2, 2

SRSV感染症の診断に開発したRT-PCR法を原因不明として処理された急性胃腸炎の2集団発生事例に応用したところ, いずれからもNV関連SRSV遺伝子が検出された。本検査法はSRSVの診断に極めて有用と考える。

1: 八戸保健所

2: 三戸保健所

混合プライマーを用いたRT-PCR法によるNorwalk virus関連SRSV遺伝子の検出とその応用 佐藤允武, 木村淳子, 三上稔之, 野呂キョウ, 大友良光, 畑山一郎, 斎藤幸一¹, 川名林治², 竹内正子³, 菊地裕子⁴: 第15回青森感染症研究会, 青森市, 1995, 7, 29

(要旨省略: 本誌学会発表抄録「ノーウォーク関連SRSV遺伝子の検出法の検討とその応用」参照)

1: 岩手県衛生研究所

2: 社会保険いわて健康管理センター

3: 八戸保健所

4: 三戸保健所

青森県内のカット野菜工場における細菌検査成績 大友良光, 野呂キョウ: 第69回日本食品衛生学会学術講演会, 東京都, 1995, 5, 17

青森県内の二つのカット野菜工場で, 原材料の処理から製品に至るまで継時的に各工程の野菜, 使用水を採取するとともに, 製造者の手指, 製造用器具機材, 床等をふき取り採取し, 生菌数, 大腸菌群, ふん便系大腸菌, セレウス菌, リステリア菌の汚染状況を調査した。また落下細菌の検査も行った。その結果, 病原菌による汚染はみられなかったが, 原材料における著しい生菌数と大腸菌群の汚染, カット野菜の低い洗浄効果, モヤシ, アルファルハ, カイワレダイコンなどの工場内栽培野菜が工場内汚染に関与していることが示された。病原菌は検出されなかった。

国内産ブタからの病原生Yersinia enterocolitica血清型O8菌の分離例 大友良光, 豊川安延, 野呂キョウ, 金子誠二¹: 第12回エルシニアの生態学研究会, 弘前市, 1995, 8, 3

(要旨省略: 本誌の他誌抄録の同一題名参照)

1: 東京都立衛生研究所

エルシニア・エンテロコリチカ血清型O8菌の疫学 大友良光：平成6年度青森県環境保健部職員研究発表会，青森市，1995，2，3

病原生プラスミドを保有するエルシニア・エンテロコリチカ (*Yersinia enterocolitica*) 血清型O8菌 (以下O8菌) の感染源を追究する目的で，市販食肉の他，月毎に野生小動物，環境水，土壌について保菌調査を行い，本菌のヒトへの感染ルートについて考察した。ノネズミと環境水から菌が分離されたことにより，感染源の一つにノネズミが挙げられ，しかもその感染ルートに環境水が関与することが強く示唆された。

エンテロウイルスによるアポトーシス誘導の細胞内レドックス制御 三上稔之，木村淳子，佐藤允武，畑山一郎：第36回日本臨床ウイルス学会，東京都，1995，6，1-2

echovirus 9 (E9) を含む6種のエンテロウイルスのアポトーシス誘導能に関して検討した。また，buthionine sulf oximine (BSO) による細胞内酸化がE9によるアポトーシス誘導を抑制することを明らかにしたが，他のエンテロウイルスにおいては抑制効果が見られるかどうか検討した。結果，E9同様PV3，EV71，CB5，CA10，16はすべてアポトーシスを誘導したことから，エンテロウイルス属に共通したアポトーシス誘導機構の存在が示唆された。細胞内酸化をもたらすBSOはE9，PV3，CB5，CA10，CA16感染によるアポトーシス誘導を抑制したが，EV71には無効であった。この結果は，細胞内レドックスに感受性を異にするウイルス由来のシグナルが，エンテロウイルスのアポトーシス誘導に関与していることを示唆する。

エンテロウイルス感染で誘導されるアポトーシスの細胞内酸化による抑制 三上稔之，佐藤允武，畑山一郎：第49回日本細菌学会東北支部総会，秋田市，1995，8，31-9，1

EchovirusのApoptosis誘導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：第123回弘前医学例会，弘前市，1996，2，16

(要旨省略：本誌学会発表抄録「エンテロウイルスによるアポトーシス誘導の細胞内レドックス制御」参照)

HIV検査の現状と今後の問題 三上稔之：第36回東北臨床衛生検査学会，秋田市，1995，10，20-21

AIDS患者は1981年に確認され，その病原体であるHIV

は1983年から1984年にかけて分離培養が可能になった。それ以後，HIV感染を調べるため血液のHIV抗体スクリーニング検査が世界各国において行われるようになった。

我が国では厚生省の指針に基づきスクリーニング検査は粒子凝集 (PA) 法，酵素抗体 (EIA) 法で，また，スクリーニング検査で陽性の場合の確認試験は蛍光抗体法 (IFA)，ウエスタンブロット (WB) 法で行っている。今後の問題としてスクリーニング，確認試験の検査キットが多数市販され，また，PCRの検査キットも市販されている事などから，多くの検査方法を併用することが望まれるが検査の目的や検査機関に即した対応が必要である。また，検査を実施するに当たり，感染防御のための施設の整備など考慮する必要がある。

そう菜等の細菌汚染 野呂キョウ，大友良光：第69回日本食品衛生学会学術講演会，東京都，1995，5，17

食品衛生法で微生物規格基準の無い食品における細菌汚染を調査するため，そう菜類12品目94検体，洋菓子6検体の合計100検体について，生菌数，大腸菌群数，食中毒起因菌の検索を行った。その結果，生菌数が1g当たり 10^5 個以上された検体は，加熱そう菜33.3%，非加熱そう菜79.2%，弁当92.3%，洋菓子66.7%であった。また，大腸菌群とセレウス菌の検出率は生菌数が多い食品ほど高い傾向にあった。病原菌は検出されなかった。

昨年度の県内における食中毒発生状況一分離菌の病原性状況一 野呂キョウ，大友良光，三上稔之，佐藤允武，畑山一郎，下山純子，石川和子：第15回青森県感染症研究会，青森市，1995，1，29

平成6年度に発生した12件の細菌性食中毒の起因菌の病原性状等を検査し，各事件例の疫学について細菌学的に検討を加えた。

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：平成6年度青森県環境保健部職員研究発表会，青森市，1995，2，3

食中毒事件由来 (*Salmonella choleraesuis* subspecies *choleraesuis* serovar Enteritidis，以下SE) と医療機関の散発下痢患者由来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結果，ファージ型別の情報が最も有益であった。ちなみに，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とが判明した。

Polymerase Chain Reaction法による Human Immunodeficiency Virus-2の検出 佐藤 孝, 三上稔之, 佐藤允武, 畑山一郎: 平成7年度青森県環境保健部職員研究発表会, 青森市, 1996, 2, 2

LTR, env, polに対するprimerを用いて, 検出用DNAを鋳型としたhuman immunodeficiency virus-2 (HIV-2)のnested polymerase chain reaction (nested PCR)による迅速検出について検討した。LTR, env, pol領域のprimerはHIV-1とは結合せずHIV-2DNAを特異的に増幅させた。LTR, env, polの増幅DNA断片は, 理論値と一致して各々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。また, digoxigenin (DIG) 標識したpolのPCR産物をプローブとしたsouthern hybridizationにより, PCRの検出感度はさらに増大したことから, 両法の併用は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。

GPCクリーンアップを用いた食品中の残留農薬分析法の検討 古川章子, 高橋政教: 第34回日本薬学会東北支部大会, 山形市, 1995, 10, 15

食品衛生法改正に伴う規制対象農薬及び農産物の増加に対処するため, 74農薬の多成分一斉分析法について検討した。抽出からクリーンアップまでの操作を一本化し, さらにクリーンアップ法としてGPC (ゲル浸透クロマトグラフィー) を用いた結果, 妨害物質である色素, 脂肪等の除去も容易で, 操作も簡略化出来た。

この方法をリンゴ, 玄米, しじみ, ホタテガイ等に適用した結果, 窒素系農薬の5農薬 (オキサミル, エチオフェンカルブ, メトルブジン, クロフェンチジン) では50%未満の低い回収率であったが, その他の農薬ではすべて60%以上の回収率が得られ, 多成分一斉分析法として充分適用出来るものと考えられる。

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浄水場の原水及び浄水について, 農薬の検出状況を調査した結果, 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。

遺伝子毒性発癌剤で誘発されたマウス肝前癌病巣におけるc-JunとGlutathione S-transferase II (GST-II)の発現変化 三浦啓徳, 中野 創¹, 佐藤公彦¹, 土田成紀¹, 畑山一郎: 第54回日本癌学会総会, 京都市, 1995, 10, 3-5

Diethylnitrosamine, 3-methyl-4-dimethylaminoazobenzene, N-ethyl-N-nitrosoureaの3種の遺伝子毒性発癌剤で誘発した雄マウスの肝前癌病巣では, 免疫組織化学的に薬物代謝酵素GST-IIは, いずれも陰性であるのに対し, 雌の場合には逆に陽性巣として確認された。一方, 癌遺伝子産物c-Junは雌雄の前癌病巣において陽性であった。このことは, c-Junは, 遺伝子毒性発癌剤で誘発した肝前癌病巣の優れた免疫組織化学的マーカーであることを示す。

1: 弘前大学医学部第2生化学

マウス肝前癌病巣におけるGlutathione S-transferase IIとc-Junの発現変化 三浦啓徳, 高橋政教, 畑山一郎: 平成7年度青森県環境保健部職員研究発表会, 青森市, 1996, 2, 2

(要旨省略: 本誌学会発表抄録「遺伝子毒性発癌剤で誘発されたマウス肝前癌病巣におけるc-JunとGlutathione S-transferase II (GST-II)の発現変化」参照)

遺伝子毒性発癌剤で誘発されたマウス肝前癌病巣のc-JunとクラスPi glutathione S-transferase IIの免疫組織化学的検討 三浦啓徳, 畑山一郎, 中野 創¹, 佐藤公彦¹, 土田成紀¹: 第123回弘前医学会例会, 弘前市, 1996, 2, 16

(要旨省略: 本誌学会発表抄録「遺伝子毒性発癌剤で誘発されたマウス肝前癌病巣におけるc-JunとGlutathione S-transferase II (GST-II)の発現変化」参照)

1: 弘前大学医学部第2生化学

黒石扇状地における地下水質の地球化学的検討 石塚伸一, 工藤真哉, 佐藤真理子: 第22回環境保全・公害防止研究発表会, 横浜市, 1995, 11, 28-29

黒石扇状地における地下水質について, 地球化学的な

検討を行った結果は次のとおりであった。井戸の深度が深い程、pHはアルカリ側になっており、また HCO_3^- 濃度が大きくなっていった。浅井戸は深井戸より、 NO_3^- 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 濃度が大きかった。深度別の水質組成は、深度が1000m（温泉）でNa- HCO_3 型、深度100m（深井戸）でCa- HCO_3 型、深度5～30m（浅井戸）では地域によって異なり、Na-Cl型やCa- HCO_3 型などであった。市街地西側の浅井戸で、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 濃度が高く、東側で HCO_3^- 濃度が高くなっていった。浅井戸の水質組成は、東側がCa- HCO_3 型、西側がNa-Cl型であった。市街地の南東側から流れてきた地下水は流下に伴い、市街地の地表から NO_3^- 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} の供給を受け、その濃度を増しながら北西側に流下しているものと考えられる。地表からの NO_3^- 等は、深井戸までは達していなかった。河川の近くでは、河川伏流水の影響を受けているものがあつた。

固相抽出／高速液体クロマトグラフィー法による水中農薬の多成分同時分析 石塚伸一、佐藤真理子、対馬和浩：平成7年度青森県環境保健部職員研究発表会、青森市、1996、2、2

水中農薬の固相抽出／高速液体クロマトグラフィー法を用いた多成分同時分析について検討した。試料水のpHを3.5に調整した後、測定対象物質をポリマー系の固相カートリッジで抽出し、次にアセトニトリル3mlで溶出させた。その後、エンドキャッピング高純度シリカODSを分離カラムとし、アセトニトリル／リン酸緩衝液（pH2.8）を溶離液に用い、フォトダイオードアレイ検出器付きHPLC分析装置で多成分同時分析を行った。検量線は、HPLC注入絶対量で2ng～100ngまで直線性があつた。2ng注入時の変動係数（ $n = 3$ ）は、いずれの物質も1.2～2.1%であつた。この方法により添加回収試験を行ったところ、いずれの物質の回収率もほぼ90%以上、変動係数は10%以下と良好であつた。この方法により、分析の効率化が図られると同時に、人体及び環境に有害である有機溶媒の使用量も大幅に低減することができた。

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

In the vicinity of the nuclear fuel cycle facilities in Rokkasho-mura, two types of lakes are located. One is a brackish lake, "Obuchinume Lake", and the other is a freshwater lake, "Takahokonuma Lake". Tritium concentrations in the river waters ranged 1～2 Bq L⁻¹, and were higher than in the precipitation in Rokkasho-mura. It is supposed that the groundwater with higher level of tritium inflows into rivers. Tritium concentrations in Takahokonuma lake ranged 0.6～1.5 Bq L⁻¹. Tritium concentrations in the surface layer was observed no different from that in the inflow rivers. Tritium concentrations in Obuchinuma Lake had a good negative correlation with salinity at any sampling points and periods. We consider that the lake water of Obuchinuma Lake would not be much influenced by precipitation, and depends on the ratio of seawater and Futamata River inflowing into the lake.

1 : Aomori Prefectural Atomic Energy Environmental Control Office

青森県における酸性雨の現状 早狩 進、松尾 章：平成7年度青森県環境保健部職員研究発表会、青森市、1996、2、2

ろ過式簡易採取装置を用いた酸性雨調査を継続している環境保健センター、八甲田山、鱈ヶ沢、六ヶ所の4地点について、平成3～6年度までの結果を元に季節的、地域的特性について解析を加えた。

pHの年平均値では、鱈ヶ沢で上昇傾向、環境保健センターで下降傾向が見られた。Naイオンは内陸の高地にある八甲田山でも冬季に上昇する季節変化が見られた。nss- SO_4^{2-} 沈着量も、冬季に上昇する傾向が見られ、本州日本海側に共通な特徴として大陸から季節風によつてもたらされた可能性が強い。

小川原湖の植物プランクトン—湖全体の出現状況— 工藤精一、小山田久美子、神 正志、柴田幸伸、早狩敏男：平成7年度青森県環境保健部職員研究発表会、青森市、1996、2、2

汽水湖である小川原湖の植物プランクトンについて、昭和57年度から12年にわたる調査結果をもとに、種組成、種類数の経時変化、主な出現種、優占種等の湖全体の状況について解析した。

その結果、種組成は、珪藻類が全ての年度で60～80%を占めており、主な出現種は、*Cocconeis plasentula*、*Diatoma elongatum*、*Cyclotella* sp. などの珪藻類であつた。

た。また、アオコ発生時に優占する藍藻類の*Microcystis*や*Anabaena*属の細胞数は非常に少なく、淡水赤潮の原因となる渦鞭毛藻類の*Peridinium*やカビ臭の原因となる藍藻類の*Oscillatoria*も少ない。

清浄地域と都市域の降水特性—名久井岳と八戸市の比較— 工藤隆治, 工藤精一, 関野正義: 第36回大気環境学会, 東京都, 1995, 11, 3-5

青森県南地域の年加重平均pHが³, 全国的にみて高く推移している要因について検討した。

その結果, 平成5年度において名久井岳では, NH_4^+ , nss-K^+ による H^+ の減少が大きく, NO_3^- , nss-SO_4^{2-} による H^+ の増加が小さいことにより, pHが高くなっていたことが示された。また, 八戸市では, nss-SO_4^{2-} による H^+ の増加に対し, NH_4^+ , nss-Ca^{2+} による H^+ の減少が特に大きいことにより, pHは5.81と全国でも高い値となっていたことが示された。さらに, 八戸市では都市活動, 海域の影響を受けていることが明らかになった。

クロマツ花粉のCODへの影響について 神 正志: 平成7年度環境保健部職員研究発表会, 青森市, 1996, 2, 2

平成6年度の白浜海水浴場の水質調査時に, 通常よりも高いCOD値が検出され, クロマツの花粉による影響が考えられた。そのため, クロマツ花粉のCOD値への影響を検討した。

その結果, 微量のマツ花粉でもCOD値に対する影響は大きく, 水浴場の調査はマツ花粉の発生時期をさけることが望ましいと考えた。

正月中における八戸市の大気汚染状況 坂上素一: 第21回北海道・東北ブロック公害研究連絡会議, 1995, 11, 1. 盛岡市

中小企業が稼動しない正月期間中の大気汚染物質濃度を把握しておくことは, バックグラウンド濃度の基礎試料として重要である。今回, 八戸市内の大気汚染常時監視局のうち八戸市庁局, 第二魚市場局, 八戸保健所局の SO_2 , NO_x , SPM測定結果について検討を加えた結果, 工業地帯からの影響の少ない八戸保健所の元日における日平均値, SO_2 0.002ppm, NO_x 0.016ppm, SPM0.014mg/ m^3 が八戸市のバックグラウンド濃度と考えられた。

編集委員

石塚 伸一 伊藤 博 工藤 英嗣
三上 稔之 神 正志 野澤 直史
堀内 論

青森県環境保健センター研究報告

(平成八年度)

平成9年1月発行

編集発行 〒030 青森市東造道1-1-1
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 青森市大字幸畑字松元73
(株)コーセイ印刷
TEL 0177-(38) 2311(代)

(環境保護の為、再生紙を使用しています。)