

Comparison of the Air Temperature Measured on Site Using Forcibly and Naturally Aspirated Shelters

Masahide AIKAWA*, Takatoshi HIRAKI, and Jiro EIHO

Atmospheric Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 3-1-27, Yukihiro-cho, Suma-ku, Kobe, 654-0037, Japan

A comparison of air temperature data collected on site using forcibly aspirated and naturally aspirated shelters clarified the differences and their causes. The air temperature measured using a naturally aspirated shelter was approximately 0.4 °C higher than that measured using a forcibly aspirated shelter. The diurnal difference in the air temperature due to the difference in the shelter was larger than the nocturnal one, which was presumably due to the strong solar radiation. The strong wind may have accounted for the small difference in air temperature. When employing a naturally aspirated shelter in the survey of the air temperature, the wind speed and amount of solar radiation should be taken into consideration in analyzing the data.

I INTRODUCTION

The urban heat island phenomenon has been studied worldwide with the objective of limiting thermal pollution in urban areas¹⁻⁶⁾. When studying the urban heat island phenomenon, the air temperature should be measured. Various types of equipment are used for measuring the air temperature. The Japan Meteorological Agency currently employs a forcibly aspirated shelter when measuring air temperature. The use of this shelter for air temperature measurements provides the most precise data but requires electricity at the point of use. On the other hand, the use of a naturally aspirated shelter is convenient when long-term monitoring at many sites is conducted or when monitoring is conducted at a site where it is difficult to secure a power supply.

Some fundamental studies to evaluate shelters have been conducted at experimental sites⁷⁻⁸⁾. In contrast, in the present study, we compared and analyzed air temperature data collected in the survey to mitigate the heat island phenomenon in order to evaluate the air temperature data collected at actual monitoring sites. The findings are reported below.

II MATERIALS AND METHODS

1 Survey sites and air temperature measurement

Air temperatures were measured at two sites (A and B) in the southern part of Nishinomiya City, Hyogo Prefecture, Japan. Nishinomiya City is located between Osaka City (population 2,634,000/ 222 km²) and Kobe City (population 1,520,000/ 551 km²). The southern part of Nishinomiya City is an intensive industrial zone with dense population that is categorized as urban. The locations of the sites are shown in Fig. 1. Site A is approximately 150 m away from Site B. The elevations of the two sites are 0 m above sea level. The condition for the measurement of air temperature is summarized as follows:

大気環境部

*別刷請求先：〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27
兵庫県立健康環境科学研究センター
大気環境部 藍川 昌秀

Site A: The air temperature was measured on the concrete roof of a four-story building (about 17 m above the ground) using a forcibly aspirated shelter. The air temperature was measured using a thermometer certified by the Japan Meteorological Agency. The air temperature measured at Site A is identified as reference data because a forcibly aspirated shelter was used.

Site B: The air temperature was measured on the ground (about 1.5m above ground) where a thermometer shelter was installed. The thermometer shelter was naturally aspirated. The air temperature was measured using a thermometer calibrated with a thermostat.

2 Wind velocity

The wind velocity was measured at Site A. The condition for the measurement of wind velocity is summarized as follows: the wind velocity was measured on the concrete roof of the same building (about 25m above ground) as that used for the air temperature measurement using an ultrasonic anemometer.

3 Survey period and data acquisition

Data measured from July – October 2005 were used for analyses. All of the parameters were measured hourly.

III RESULTS AND DISCUSSION

1 Comparison of the air temperatures measured at two sites

1.1 For all data

Figure 2 shows the relationship of the air temperature measured at Site B with that at Site A. The slope was 1.03, which is quite close to the 1:1 line, and the intercept was 0.23, showing that the air temperature at Site B was 0.23°C higher than that at Site A. Taking the difference in the height of the measurement sites (17m and 1.5m above the ground) into account, a difference of 0.23°C can be concluded to be quite small.

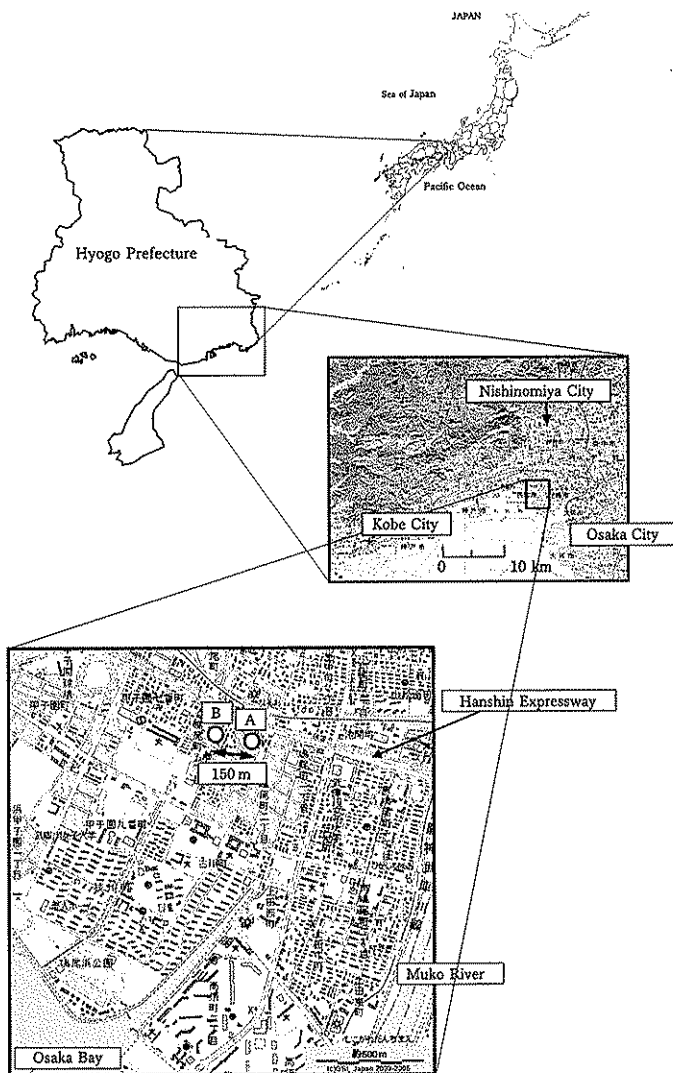


Figure 1 Location of survey sites.

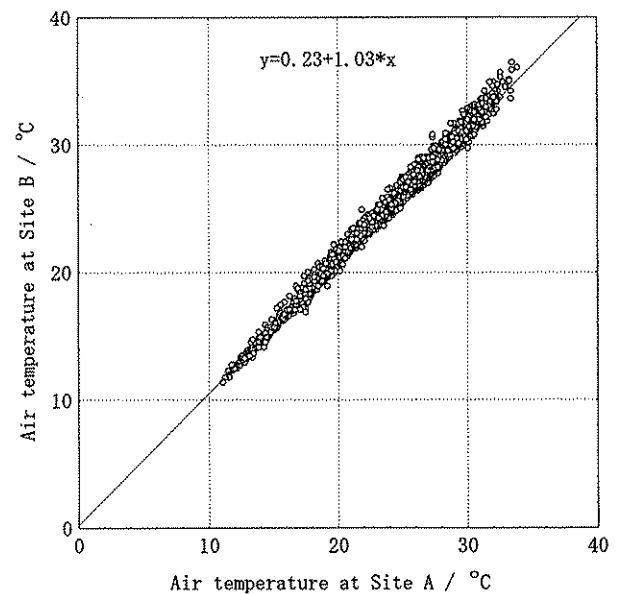


Figure 2 Relationship of the air temperature measured at Site B with the air temperature measured at Site A for all data.

1.2 For diurnal and nocturnal data

Figure 3 shows the diurnal and nocturnal relationships of the air temperature at Site B with the air temperature at Site A. The slopes in the diurnal and nocturnal relationships were 1.02 and 1.01, respectively, approximately the same and quite close to the 1:1 line, while the diurnal and nocturnal intercepts were 0.72 and 0.50, respectively; thus the diurnal air temperature tends to be measured higher than the nocturnal air temperature at Site B.

In addition, as for the diurnal air temperature, the variation from the approximation curve was larger than the nocturnal air temperature.

2 Difference in the air temperatures measured at two sites

2.1 For all data

Figure 4 shows the relationship of the difference in the air temperatures due to the difference in the shelter (Site B – Site A) with the air temperature at Site A. The difference in the air temperature tends to be larger as the air temperature increases.

2.2 Diurnal variation

Figure 5 shows the diurnal variation of the difference in the air temperatures due to the difference in the shelter. A clear diurnal change, namely, a larger difference and variation in daytime than at nighttime, was observed.

This would be due to following reasons:

- (1) Solar radiation is strong during the day.
- (2) A thermometer shelter with natural aspiration, i.e., a naturally aspirated shelter, has a larger heat capacity.
- (3) Aspiration is insufficient in the naturally aspirated shelter under some conditions.

Aspiration in a naturally aspirated shelter is dependent on the natural wind. Therefore, the wind velocity could be used as a factor to evaluate the aspiration efficiency. This will be mentioned in the next section.

2.3 Dependence on wind speed

2.3.1 For all data

Figure 6 shows the relationship of the difference in the air temperatures due to the difference in the shelter (Site B – Site A) with the wind speed at Site

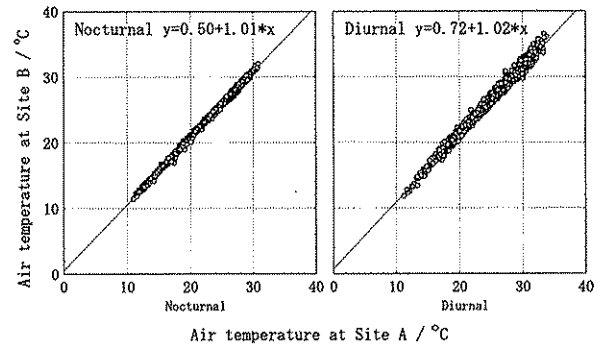


Figure 3 Diurnal and nocturnal relationships of air temperature at Site B with the air temperature at Site A.

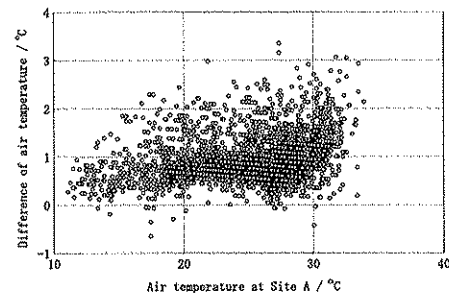


Figure 4 Relationship of the difference in air temperatures due to the difference in shelter (Site B – Site A) with the air temperature at Site A.

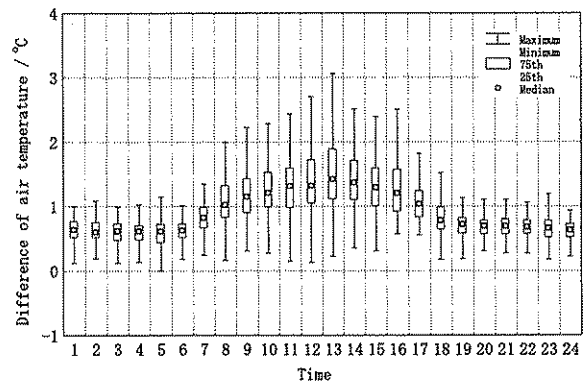


Figure 5 Diurnal variation of the difference in air temperatures due to the difference in shelter (Site B – Site A) .

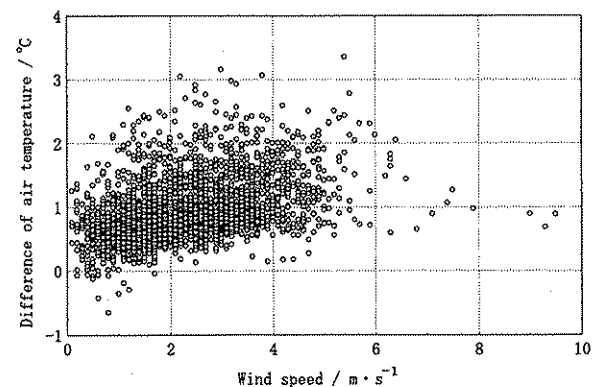


Figure 6 Relationship of the difference in air temperatures due to the difference in shelter (Site B – Site A) with the wind speed at Site A.

A. A strong wind (> 7 m/s) makes the difference in the air temperatures small, presumably due to effective ventilation by the strong wind. On the other hand, a moderate wind velocity (2 m/s $<$, < 6 m/s) provides a larger difference, while a weak wind velocity (< 2 m/s) provides a relatively smaller difference, although the weak wind velocity is supposed to lead to insufficient ventilation. This will be reported later in detail.

2.3.2 For diurnal and nocturnal data

Figure 7 shows diurnal and nocturnal relationships of the differences of the air temperature due to the difference in the shelter with the wind speed. Abundant data with a difference of more than 1°C were observed in the diurnal relationship, while few data with a difference of more than 1°C were observed in the nocturnal relationship.

Figure 8 shows histograms of the diurnal and nocturnal wind speed. The weak wind speed (< 2 m/s) accounted for 31.2% in the nocturnal histogram, while the weak wind speed accounted for only 17.7% . The reasons that the weak wind velocity provides a relatively smaller difference although the weak wind velocity is supposed to lead to insufficient ventilation could be explained by the following two observations:

- (1) The nocturnal proportion of the weak wind speed is larger than the diurnal one.
- (2) The nocturnal difference in the air temperatures due to the difference in the shelter is smaller than the diurnal one.

IV CONCLUSIONS

The air temperatures measured by using forcibly aspirated and naturally aspirated shelters were compared. The air temperatures collected in the survey of the urban heat island phenomena were used. The air temperature measured using a naturally aspirated shelter was approximately 0.4°C higher than that measured using a forcibly aspirated shelter. The diurnal difference in the air temperature due to the difference in the shelter was larger than the nocturnal one. The strong wind may have accounted for the small difference in air temperature.

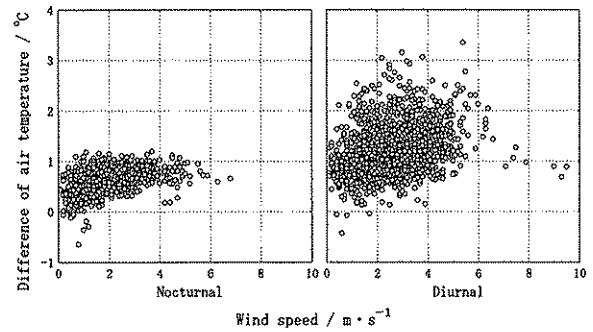


Figure 7 Diurnal and nocturnal relationships of the differences in air temperature due to the difference in shelter with the wind speed.

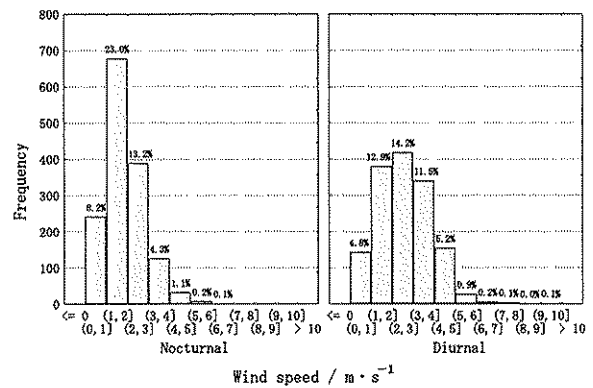


Figure 8 Histograms of the diurnal and nocturnal wind speed. (a~b) shows more than a and not more than b.

V ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to Professor Dr. Masakazu Moriyama of Kobe University for his support with the calibration of the thermometer.

REFERENCES

- 1) Oke, T.R.: City size and the urban heat island. *Atmospheric Environment* 7, 769-779 (1973) .
- 2) Oke, T.R. and Maxwell, G.B.: Urban heat island dynamics in Montreal and Vancouver. *Atmospheric Environment* 9, 191-200 (1975) .
- 3) Gotoh, T.: Relation between heat islands and NO_2 pollution in some Japanese cities. *Atmospheric Environment* 27B, 121-128 (1993) .
- 4) Saitoh, T.S., Shimada, T. and Hoshi, H.: Modeling and simulation of the Tokyo urban heat island. *Atmospheric Environment* 30, 3431-3442 (1996) .

- 5) Yamashita, S.: Detailed structure of heat island phenomena from moving observations from electric tram-cars in metropolitan Tokyo. *Atmospheric Environment* 30, 429-435 (1996) .
- 6) Oke, T.R., Spronken-Smith, R.A., Jauregui, E. and Grimmond, C.S.B.: The energy balance of central Mexico City during the dry season. *Atmospheric Environment* 33, 3919-3930 (1999) .
- 7) Ushiyama M. eds. How to investigate local climate, Kokon shoin, Tokyo, 2000, 12 pp. (in Japanese)
- 8) Aikawa, M., Hiraki, T. and Eiho, J.: Preliminary study on measurement of air temperature for monitoring of heat island phenomenon. *Bulletin of the Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences* 2, 51-55 (2006) .

「原著」

強制通風型シェルター及び自然通風型シェルター
を用い測定された気温データの比較

藍川 昌秀* 平木 隆年 英保 次郎

要 約

強制通風型シェルター及び自然通風型シェルターを用い測定された気温データを比較・検討した結果、両データの差及びその原因が明らかとなった。自然通風型シェルターを用いて測定された気温は強制通風型シェルターを用いて測定された気温よりも約0.4℃高かった。両データの差は夜間よりも昼間に大きく、これは昼間の強い日射によると考えられた。また、風速が大きくなると両データの差は小さくなった。自然通風型シェルターを気温測定調査に用いる場合には、データを解析する際、風速及び日射量を考慮に入れる必要がある。

[ノート]

兵庫県における悪性新生物による死亡の特徴

沖 典男

Characteristics of Deaths from Malignant Neoplasms in Hyogo Prefecture

Norio OKI

Project Planning and Information Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan

Mortality data of major cancer in Hyogo Prefecture were analyzed about both temporal and geographical variations. The age-adjusted death rates of cancer revealed decreases in stomach cancer and uterus cancer, while lung, liver and colorectal cancer showed increases. As a result, cancers for lung, stomach and liver were major cancer for males in Hyogo Pref. in 2000, and cancers for stomach, colorectal and lung was major for females.

The lung cancer mortality rates were stable in many birth cohorts for males of age 55-74. The stomach cancer mortality rates decreased at late birth-cohorts for less than 85 years old age groups (both sexes), while the rates of colorectal cancer for over 40 years old males increased at late birth-cohorts. The liver cancer mortality rates showed a peak in birth cohorts of 1926-1935 for 45-69 years old males, and similar peak was observed for over 55 years old females.

Empirical Bayes estimate of standardized mortality ratio (EBSMR) of liver cancer revealed high tendency in the cities and towns close to Seto inland sea. The result on correlation analysis using EBSMRs of major cause of death showed significant correlation between liver cancer, hepatitis C, cirrhosis, colon cancer, lung cancer and some other cancers. And it was thought that these results might have been caused from the natural history of liver cancer incidence and the lifestyle with smoking and drinking.

I はじめに

わが国の全死因死亡率は人口高齢化のため1983年ごろから緩やかな上昇を続けている。しかし年齢調整死亡率は低下しており、年齢構成の影響を取り除いた死亡の状況は改善傾向にあると考えられる¹⁾。死因別死亡数では悪性新生物(がん)が1981年以降最も多くなり、2004年のがんによる死亡数は全死亡数の31%を占めている。このため国は1984年に「対がん10カ年総合戦略」事業を開始した。そしてがん罹患率および死亡率の激減を目指す「第3次対がん

10カ年総合戦略」事業(2004年開始)に引継ぎ現在に至っている²⁾。

これに対して兵庫県のがん死亡数は全国より3年早い1978年に死亡原因の第1位となった。がん死亡数はその後も増加を続け、2004年の全死亡数に占めるがん死亡数の割合は全国とほぼ同じ32%となっている。兵庫県は1987年に「ひょうご対がん戦略」事業を開始した。そして事業の評価・見直しを行いながら新たな事業に継続し、現在に至っている。

以上のように、がん対策は兵庫県において極めて重要な課題である。そして有効な対策の検討には県民のがん死亡に関する特徴を正確に把握する必要がある。ここでは兵庫県におけるがん死亡指標の経年変化、年齢別・出生年代別特性、地域特性などについて記述疫学的に解析した。

企画情報部

*別刷請求先：〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29
兵庫県立健康環境科学研究所センター
企画情報部 沖 典男

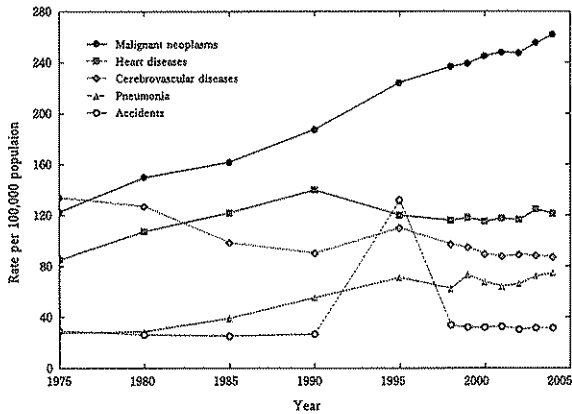


Fig.1 Time-trends of mortality for leading causes of death in Hyogo Pref. (1975-2004)

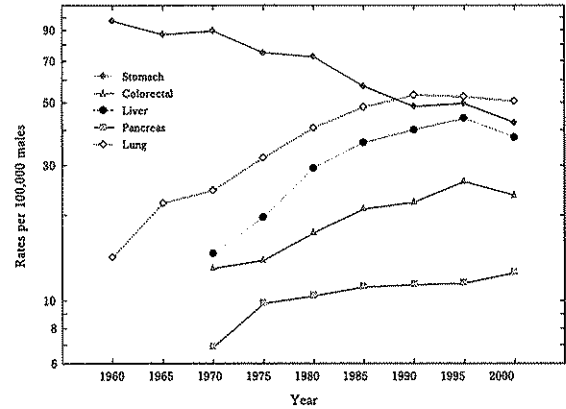


Fig.2 Time-trends of age-adjusted death rates of cancer for major sites, male, Hyogo Pref. (1960-2000)

II 材料と方法

兵庫県における1960～2004年の人口動態統計死亡データと日本人人口データを解析用資料とした。県民の死亡に関する記述疫学的解析では、最初に、主要死因別死亡率と部位別がん年齢調整死亡率の経年変化を観察した。次に、兵庫県で問題が大きいと考えられる部位別がんの年齢階級別・出生年代別死亡率の特徴を検討した。最後に、部位別がん標準化死亡比(SMR)の経験的ベイズ推定値(EBSMR)³⁾を市町別に求め、疾病地図を作成して各死因の地域特性を検討した。地域特性の検討ではSMRの検定結果も参考にした。EBSMRを用いた解析では、地域相関分析による死因間の関連性も検討した。

年齢調整死亡率、年齢階級別死亡率など指標値の算出に年齢階級別日本人人口データが必要な指標では、国勢調査年のみを観察の対象年とした。市町別EBSMRの値は、1998～2002年の死亡データと2000年国勢調査年齢階級別日本人人口データから、全国男女を標準集団として算出した。EBSMR算出の対象市町は2000年10月1日現在の88市町である。観察期間中の死因は第7回～10回修正国際疾病傷害死因分類(ICD-7～ICD-10)に準拠しており、経年的比較が困難な死因や年により解析できない死因も含まれている。

III 結果および考察

1. 主要死因別死亡率および主要部位別がん年齢調整死亡率の推移

Fig.1に兵庫県における主要死因別死亡率(人口10万対)の推移を示す。悪性新生物死亡率は1978年に

脳血管疾患を抜き死亡原因の第1位となった。1995年は震災のため不慮の事故死亡率が上昇したが、その後は例年と同程度の値で推移している。2004年の死因別死亡率は悪性新生物、心疾患、脳血管疾患、肺炎、不慮の事故の順であり、全国の順位と同様である。

Fig.2およびFig.3に、主要な部位別がん年齢調整死亡率の推移を性別に示す。全がんの年齢調整死亡率は図に示していないが、男性では1995年まで上昇し2000年に低下している。女性の全がん年齢調整死亡率は1960年より1965年が僅かに上昇したが、1965年以降は低下を続けている。

Fig.2から明らかなように、男性の場合は、1985年以前に最も高かった胃がん年齢調整死亡率が経年的低下を続け、2000年の年齢調整死亡率は肺がん、胃がん、肝がん、大腸がん、膵臓がんの順となっている。肺がん年齢調整死亡率は1990年まで上昇した後、1995年以降は緩やかに低下している。肝がんと大腸がんの年齢調整死亡率は1995年まで上昇し、2000年は低下に転じている。膵臓がん年齢調整死亡率は観察期間中緩やかに上昇を続けているが、肺がん、胃がん、肝がんの値に比べると1/3以下となっている。

女性の部位別がん年齢調整死亡率(Fig.3)では、1970年以前に高い値で推移していた胃がんと子宮がんが経年的低下を続け、肺がん、肝がん、大腸がんなどは逆に上昇している。この結果、2000年の年齢調整死亡率は胃がん、大腸がん、肺がん、肝がん、乳房がんの順となっている。なお、大腸がん年齢調整死亡率は1995年以降低下しており、肺がんおよび肝がんも1995年まで上昇した後2000年は低下に転じている。乳房がん年齢調整死亡率は観察期間中上昇を続けている。

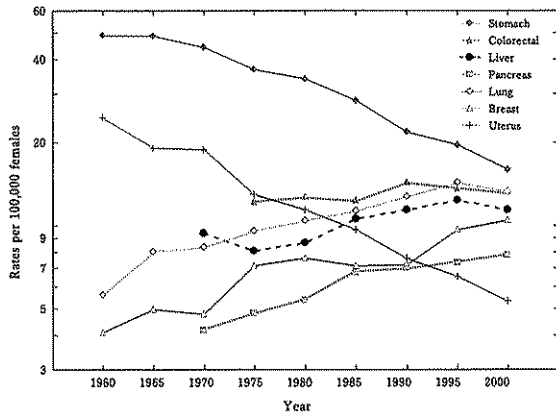


Fig.3 Time-trends of age-adjusted death rates of cancer for major sites, female, Hyogo Pref. (1960-2000)

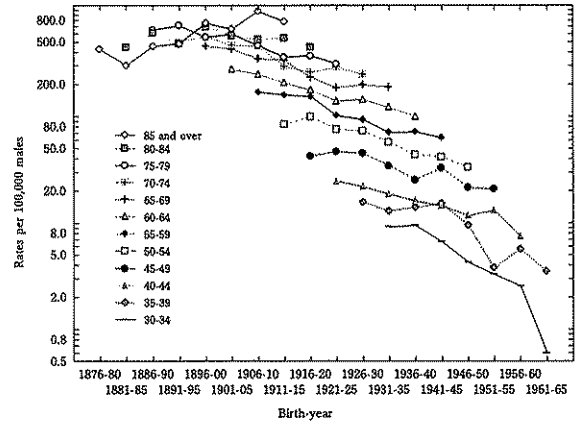


Fig.5 Age-specific mortality of stomach cancer by birth-year (1876-1965), male, Hyogo Pref.

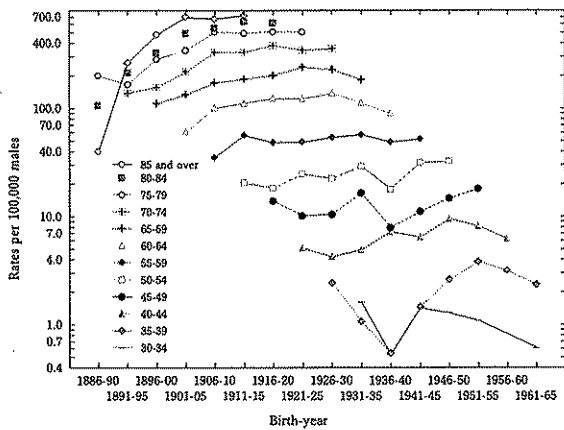


Fig.4 Age-specific mortality of lung cancer by birth-year (1886-1965), male, Hyogo Pref.

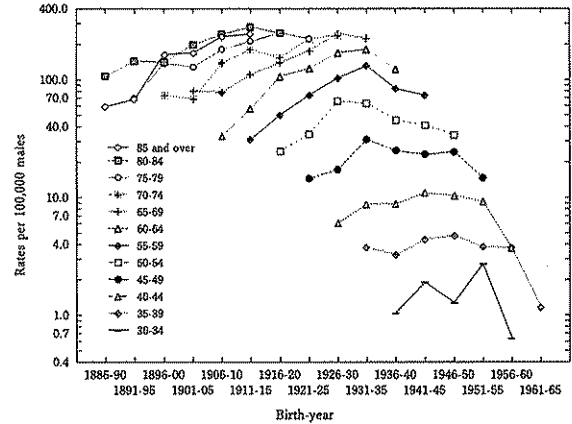


Fig.6 Age-specific mortality of liver cancer by birth-year (1886-1965), male, Hyogo Pref.

以上のように、兵庫県における部位別がん年齢調整死亡率は男女で順位が異なるものの、肺がん、胃がん、肝がんおよび大腸がんが高い。このため以下では、これら4種類のがんに焦点を当ててそれぞれの特徴を検討した。

2. がん死亡率の年齢階級別・出生年代別特性

2.1 肺がん

Fig.4に、男性の年齢階級別・出生年代別肺がん死亡率を示す。75歳以上では1906～1910年以降の出生年代で死亡率が高い。55～74歳では出生年代による死亡率の変化が少ない。この年齢層の死亡率は、ピークに向けて緩やかに上昇した後緩やかに低下している。54歳以下の死亡率は1936～1940年出生年代で落ち込みを見せた後、再び上昇している。女性の場合は死亡率のバラツキが大きく、明らかな傾向がみられなかった。

以上は兵庫県の肺がん死亡率に関する特徴であるが、津熊らは地域がん登録事業に基づくがん罹患の動向から、最近の出生年代ほど肺がん罹患率が増加

しており、1990年代に緩やかになった日本の肺がん年齢調整罹患率は再び増加する可能性が高いと報告している⁴⁾。

2.2 胃がん

Fig.5に、男性の年齢階級別・出生年代別胃がん死亡率を示す。図から明らかなように、85歳未満では遅く生まれた年代程死亡率が低くなっている。女性の場合も同様の傾向を示しており、生活習慣・ライフスタイルなどの変遷に伴う影響が推測される。

2.3 肝がん

Fig.6に、男性の年齢階級別・出生年代別肝がん死亡率を示す。45～69歳の年齢階級では1926～1935年生まれで死亡率がピークを示している。35～44歳では1941～1950年生まれにピークがみられる。70歳以上では1926～1930年より出生が早い程死亡率が低い。女性の場合は肝がんによる死亡数が少ないためバラツキが大きいが、55歳以上では男性と同様の傾向がみられる。

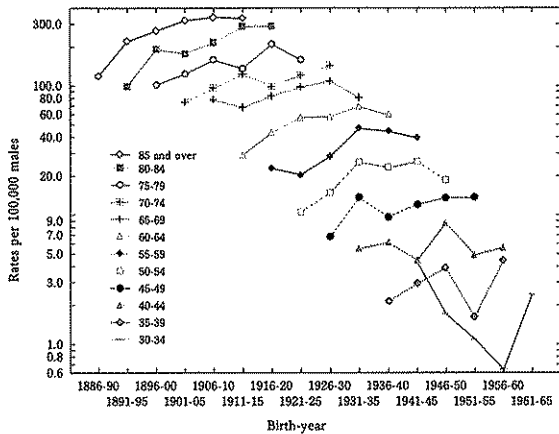


Fig.7 Age-specific mortality of colorectal cancer by birth-year (1886-1965) , male, Hyogo Pref.

津熊らは日本の肝がん罹患データの解析から本研究と同様の結果を提示し、近年上昇した肝がん罹患率はC型肝炎に起因すると推測している⁵⁾。

2.4 大腸がん

Fig.7に、男性の年齢階級別・出生年代別大腸がん死亡率を示す。40歳以上の年齢階級では出生年の遅い年代で死亡率が高い。女性の場合は出生年による死亡率の変動が小さい。

地域がん登録データに基づく解析では、大腸がん年齢調整罹患率は増加傾向が顕著であること、35～84歳のどの年齢階級でも出生年が最近になるほど罹患率が增大すること、などの結果が報告されている⁴⁾。

3. 部位別がん EBSMR の地域特性と各死因間の関連性

部位別がんの地域特性を検討する前に、全県の死因別 SMR の特徴を観察した。全県の SMR が男女とも全国平均 (SMR=100) より有意 ($p < 0.05$) に高いがんは肝がん (男 SMR=133, 女 SMR=131), 肺がん (男 SMR=108, 女 SMR=110), 胃がん (男 SMR=103, 女 SMR=105) である。この他の部位では、女性の食道がん (SMR=115) が全国平均より有意に高い。

部位別がん EBSMR の地域特性は主要ながん全てで検討したが、ここでは肺がん, 胃がん, 肝がんの疾病地図のみを示す。また、死因別 EBSMR の地域相関分析から、これら3種類のがんと他の死因の関連性について検討した。

3.1 部位別がんの地域特性

全がん EBSMR (以下、疾患名の後の EBSMR を省略する) は男女とも阪神南, 神戸, 中播磨の瀬戸内

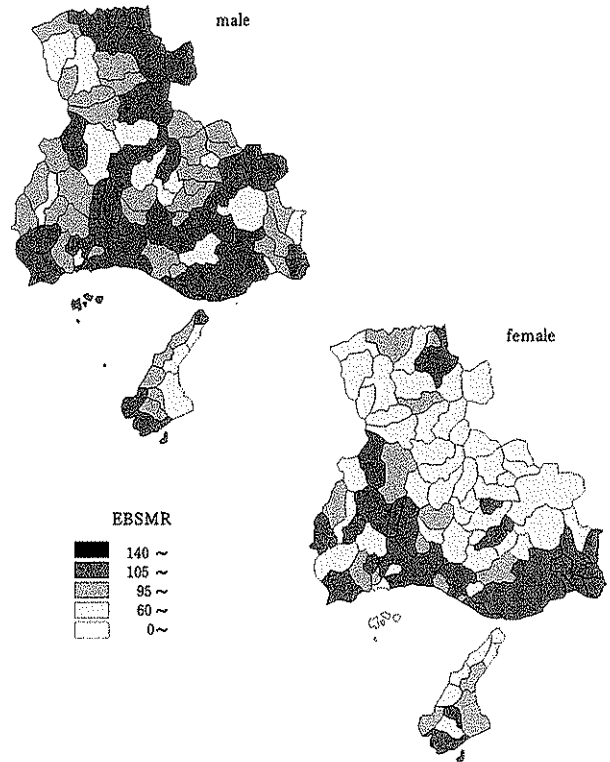


Fig.8 Map of empirical Bayes estimate of standardized mortality ratio (EBSMR) for lung cancer, Hyogo Pref. (1998-2002)

海に隣接する都市部で高く、男性の東播磨, 西播磨でも高い傾向がみられる。

肺がんは男女とも阪神南と神戸で高く、男性では東播磨と中播磨, 女性では阪神北にも高い市町がある。さらに男性の場合は、比較的高い市町が西播磨や但馬を含む県下全域に広がっている (Fig.8)。

胃がんは男女とも阪神南で高く、男性では神戸, 女性では中播磨でも高い。ただし、EBSMR の比較的高い市町は但馬や丹波を含む県下全域に散在している (Fig.9)。

肝がんの高い市町は男女とも西播磨に多く、阪神南, 神戸, 中播磨など瀬戸内海隣接地域に高い市町が多い。この他では阪神北と淡路にも高い市町がある (Fig.10)。

食道がんは、女性では神戸, 阪神南・北, 東播磨の都市部に高い市町が多い。男性の場合も同様の地域で相対的に高い。

この他のがんでは、男性の結腸がんが阪神南と神戸で高い。直腸がんは男性では但馬と淡路, 女性では神戸に高い市町がある。膵臓がんは男性では北播磨と但馬, 女性では北播磨と西播磨に高い市町がある。女性の乳房がんは神戸, 子宮がんは淡路に高い市町がある。

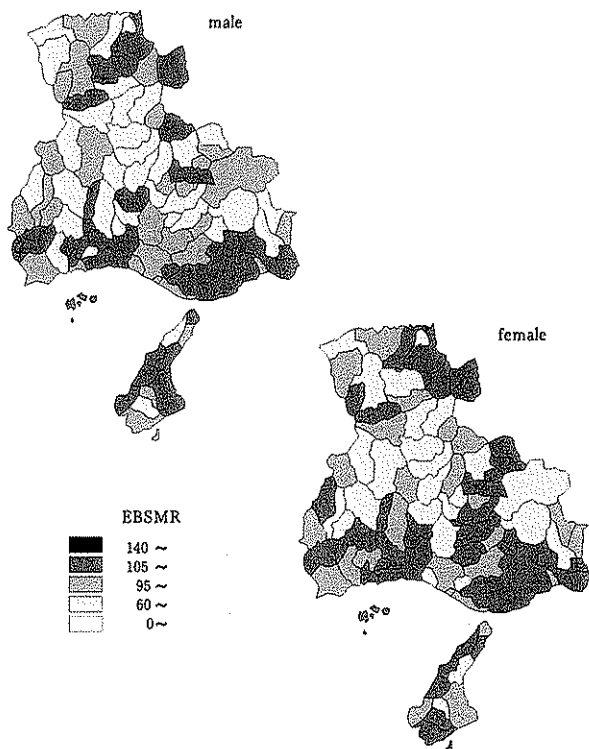


Fig.9 Map of empirical Bayes estimate of standardized mortality ratio (EBSMR) for stomach cancer, Hyogo Pref. (1998-2002)

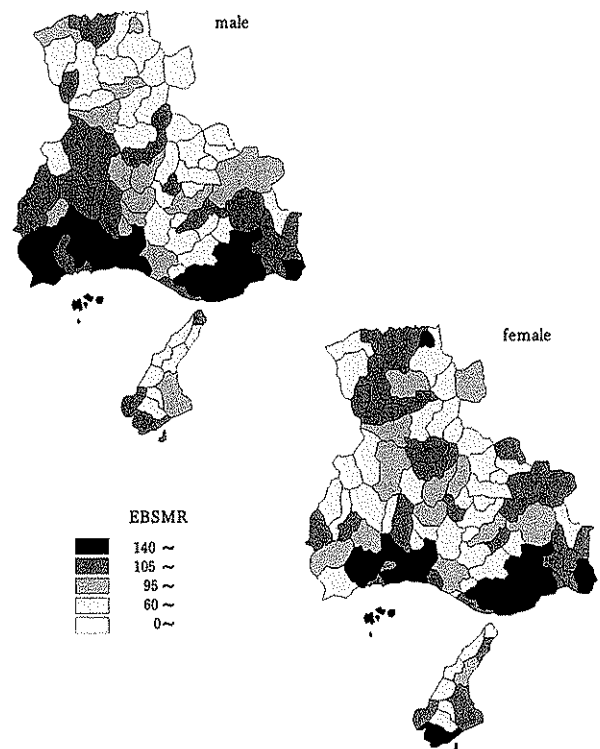


Fig.10 Map of empirical Bayes estimate of standardized mortality ratio (EBSMR) for liver cancer, Hyogo Pref. (1998-2002)

Table 1 Correlation coefficients of empirical Bayes estimate of standardized mortality ratio between stomach cancer, liver cancer, lung cancer and other cause of death, Hyogo Pref. (88 cities and towns)

Cause of death	Male			Female		
	Stomach cancer	Liver cancer	Lung cancer	Stomach cancer	Liver cancer	Lung cancer
Hepatitis B	0.097	0.153	0.204	-0.061	0.152	0.070
Hepatitis C	0.144	0.559***	0.175	-0.035	0.362***	0.215*
Oesophagus cancer	0.123	0.188	0.210*	0.055	0.220*	0.432***
Stomach cancer	1	0.210*	0.157	1	0.038	-0.071
Colon cancer	0.152	0.336**	0.247*	0.132	0.200	0.243*
Rectum cancer	0.157	0.015	-0.044	0.006	0.115	0.094
Liver cancer	0.210*	1	0.332**	0.038	1	0.353***
Pancreas cancer	0.040	0.251*	0.257*	0.206	0.042	-0.026
Lung cancer	0.157	0.332**	1	-0.071	0.353***	1
Breast cancer	-	-	-	-0.011	0.132	0.159
Uterus cancer	-	-	-	0.004	0.102	0.335**
Diabetes mellitus	0.108	0.096	0.335**	0.057	0.026	0.207
Hypertensive diseases	-0.021	-0.058	0.033	0.018	-0.047	0.001
Heart diseases	0.034	0.202	0.218*	-0.013	0.196	0.171
Cerebrovascular diseases	-0.025	-0.028	0.223*	0.073	-0.121	-0.192
Cirrhosis(Alcohol is excluded.)	0.198	0.434***	0.180	0.223*	0.190	0.178
Other liver diseases	0.044	-0.022	0.123	0.000	0.217*	0.030
Renal failure	0.241*	0.284**	0.243*	0.354***	0.067	0.151

***p<0.001, **P<0.01, *p<0.05.

3.2 胃がん、肝がん、肺がんと他の死因の関連性

Table 1に、胃がん、肝がん、肺がんと他の死因のEBSMRによる地域相関分析の結果を示す。ここでは3種類のがんの危険因子に注目したため、肺炎、不慮の事故、交通事故、自殺などとの相関係数は表から除いている。

Table 1で男女とも有意な相関が認められるのは胃がん、腎不全の関係、肝がん、C型肝炎、肝疾患（男性はアルコール性を除く肝硬変、女性はその他の肝疾患）および肺がんの関係、肺がん、食道がん、結腸がんおよび肝がんの関係である。相関分析の結果は相関する死因が同じ地域に多いことを示すに過ぎ

ないが、肝がんとC型肝炎および肝疾患の相関は肝炎ウイルス感染から肝がん発症に至る自然史⁶⁾に対応していると考えられる。肺がんと食道がん、結腸がんおよび肝がんの相関では、喫煙、飲酒、食物などの生活習慣要因がこれらの疾患の危険因子であることから⁷⁾、疾患の発生に生活習慣が関係している可能性が考えられる。

IV 要 旨

兵庫県における悪性新生物による死亡の経年変化、地域特性について解析した結果、以下のことがわかった。

胃がんと子宮がんの年齢調整死亡率は経年的に減少し、肺がん、肝臓がん、大腸がんは経年的に増加した。この結果、2000年の年齢調整死亡率は、男性は肺がん、胃がん、肝がんの順、女性は胃がん、大腸がん、肺がんの順となっていた。

55～74歳の男性の肺がん死亡率は出生年代による変化が少なかった。胃がん死亡率は、男女とも遅く生まれた年代で低下していた。45～69歳男性の肝がん死亡率は1926～1935年生まれがピークを示し、55歳以上の女性でも同様のピークが観察された。大腸がん死亡率は、40歳以上の男性では、遅く生まれた年代で高くなっていた。

肝がんのEBSMRは西播磨、阪神南、神戸、中播磨など瀬戸内海隣接地域に高い市町が多かった。死因別EBSMRによる地域相関分析の結果では肝がんとC型肝炎および肝疾患が有意に相関していた他、肺がんと食道がん、結腸がん、肝がんなどが有意に相関していたが、これらの結果には肝がん発症の自然史や、喫煙や飲酒などの生活習慣が関係している可能性が考えられた。

文 献

- 1) 厚生統計協会：国民衛生の動向。厚生指標・臨時増刊，43-55，厚生統計協会，東京（2005）
- 2) 「がんの統計」編集委員会：がんの統計2005，4-8，がん研究振興財団，東京（2006）
- 3) 丹後俊郎：疾病地図と疾病集積性・疾病指標の正しい解釈をめざして。公衆衛生研究，48，84-93（1999）
- 4) 津熊秀明，味木和喜子，大島明：わが国のがん罹患動向，癌と化学療法，31，840-846（2004）
- 5) 津熊秀明，田中英夫：我が国におけるウイルス性肝疾患の疫学・特にB型・C型慢性肝疾患の現状。最新医学，59，1869-1876（2004）
- 6) 津熊秀明：ウイルス肝炎の自然史と発がん。公衆衛生，69，790-797（2005）
- 7) 富永祐民：がんの危険因子。日本疫学会編，疫学ハンドブック・重要疾患の疫学と予防，9-13，南江堂，東京（1998）

セレウス菌およびウエルシュ菌が同時に分離された 集団食中毒の分子疫学解析

榎本美貴^{1*} 西海弘城¹ 辻 英高¹ 坪谷嘉子² 稲田幸司郎² 山岡政興¹

Molecular epidemiological analysis of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* isolated simultaneously in a food poisoning outbreak

Miki ENOMOTO^{1*}, Hiroki NISHIUMI¹, Hidetaka TSUJI¹, Yoshiko TSUBOTANI², Koushirou INADA²
and Masaoki YAMAOKA¹

¹ Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health
and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan
and ² Nishinomiya City Public Health Center

Food poisoning occurred at the meeting held in Nishinomiya City in July 2005. About 500 of 565 participants ate the same lunch. A total of 108 patients developed symptoms such as diarrhea and abdominal pain. The median incubation period was 11.5 hours. *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* were isolated from patients' stool specimens and *B.cereus* was also isolated from leftover lunch and stool specimens from two cooks. In view of toxin and the PFGE pattern, *B.cereus* could not be proven to be the cause of this case. But it seemed reasonable to regard *C.perfringens* as the causative agent of this outbreak because *C.perfringens* type A strains carrying chromosomal enterotoxin gene were isolated from 6 (55%) of 11 patients and showed all the same PFGE pattern.

I はじめに

2005年7月に西宮市で開催された集会で食中毒が発生し、108名が下痢、腹痛等の症状を呈した。弁当材料からセレウス菌 *Bacillus cereus* が検出され、有症者の糞便からは主にセレウス菌とウエルシュ菌 *Clostridium perfringens* が検出された。

セレウス菌はバチルス属に属する好気性の芽胞形成桿菌で、土壌をはじめ河川水等の自然環境、食料、飼料等に広く分布し、人や家畜の消化管内にも存在する。セレウス菌食中毒は、症状により嘔吐型と下痢型の2つのタイプに分けられる。嘔吐型は食品内

で菌が増殖する際に産生された嘔吐毒によって発症する食物内毒素型食中毒であり、潜伏時間は1～5時間で嘔吐を主徴とする。一方、下痢型は食品内で増殖した菌が摂食され、腸管内で増殖する際に産生された下痢毒によって起こる生体内毒素型食中毒である。潜伏時間は8～16時間と長く、水様性下痢、腹痛が主症状である¹⁾。

ウエルシュ菌は、クロストリジウム属に属する偏性嫌気性の桿菌で芽胞を形成する。ヒトや動物の腸管内、土壌、下水、塵埃など自然界に広く常在する。ウエルシュ菌は α 、 β 、 ϵ 、 ι 毒素の産生能によって、AからE型菌までの5型に分類される。食中毒原因菌の大部分は α 毒素のみを産生するA型に属する。ウエルシュ菌食中毒の起因为物質は、菌が腸管に達し芽胞を形成する時に産生するエンテロトキシンである。ウエルシュ菌食中毒は、菌の摂取によって発症する生体内毒素型食中毒に分類され、潜伏時間

¹ 感染症部 ² 西宮市保健所

* 別刷請求先：〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29
兵庫県立健康環境科学研究所
感染症部 榎本美貴

は 8 ~ 24 時間, 主症状は下痢と腹痛であり, 下痢型のセレウス菌食中毒と類似している^{2) 3)}.

セレウス菌およびウエルシュ菌は自然環境から頻りに検出されるため, 食中毒事例において原因菌として特定するためには, 症状および疫学事項を考慮し, 原因食品や患者糞便から分離された菌株の毒素産生能やパルスフィールド電気泳動 (PFGE) 等による遺伝子型の一致を認めることが必要である.

そこで今回検出されたこれらの菌が食中毒に関与したのかを明らかにするため, それぞれの菌株について, 主に毒素産生性と PFGE による遺伝子解析を行ったのでその結果について報告する.

II 材料と方法

1. 事例概要

2005 年 7 月, 西宮市で開催された集会で食中毒が発生した. この集会には近畿 2 府 4 県から 565 名が参加し, 昼食に 500 食の幕の内弁当が用意された. 症状のあった者は 108 名で, 共通して喫食した食品は幕の内弁当のみであった. 患者の主症状は下痢 105 名 (97.2%), 腹痛 70 名 (64.8%) で, 嘔気, 嘔吐 18 名 (16.7%) も認められた (Fig.1). 平均潜伏時間は 11.5 時間であり, 患者の半数以上が喫食後 12 時間以内に発症していた.

2. 使用した菌株の由来

西宮市保健所では, 弁当材料, 冷蔵庫内や調理器具等のふき取り, 弁当を提供した飲食店の調理従事者の糞便, 有症者の糞便について, 食品衛生検査指針³⁾に従い食中毒起因菌の検査を行った. 弁当材料については, 一般細菌数と食中毒起因菌を疑う菌の菌数についても検査した. ただし, 酢の物は検体量不足のため一般細菌数の検査はできなかった. また, 他市在住の有症者の糞便検査は患者の住所地を管轄する保健所等が行った. 検査に使用した菌株は, 我々が検出したものと他機関から分与されたものを使用した.

3. 黄色ブドウ球菌および大腸菌の病原因子の検出

黄色ブドウ球菌のエンテロトキシンの検出には, 逆受身ラテックス凝集反応による検査キット SET-RPLA (デンカ生研) を使用した. 大腸菌のペロ毒素の検出は, 逆受身ラテックス凝集反応による検査キット VTEC-RPLA (デンカ生研) と PCR 法で行った.

4. ウエルシュ菌の血清型別試験

耐熱性 A 型ウエルシュ菌免疫血清 (デンカ生研) を用いて Hobbs 型別試験を行った.

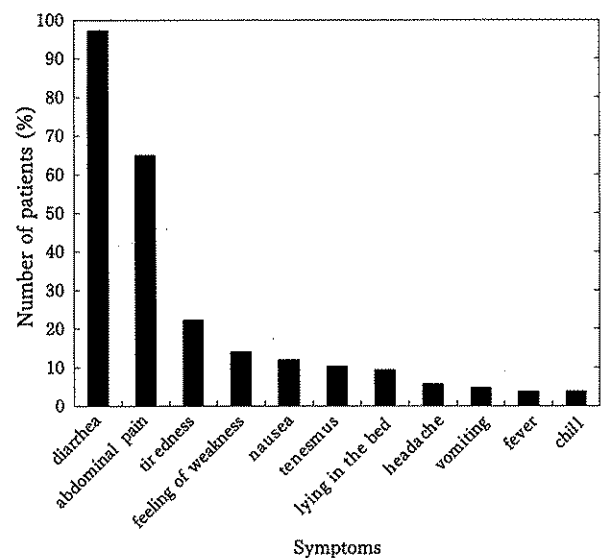


Fig.1 Patients' symptoms

5. PCR 法によるセレウス菌およびウエルシュ菌の毒素遺伝子検出およびセレウス菌エンテロトキシンの免疫学的検出

検査材料から分離されたセレウス菌について, 嘔吐毒であるセレウリド合成遺伝子及び, 下痢毒である NHE (non hemolytic enterotoxin) と HBL (hemolysin BL) の産生遺伝子 *nhe* (A, B および C) と *hbl* (A, C および D) の有無を PCR 法で調べた. 遺伝子の検出に使用したプライマーを Table 1 に示した.

ウエルシュ菌の主要毒素 (α , β , ϵ , ι 毒素) は Table 2 に示すプライマーを用いて, PCR 法で増幅した. エンテロトキシン産生遺伝子は市販のプライマー (Takara) を用いて, PCR 法で増幅した. エンテロトキシン産生遺伝子が検出された菌株については, Table 2 に示すプライマーを用いて, PCR 法により, 遺伝子が染色体上, あるいはプラスミド上にコードされているかを調べた. 反応液は, (1 ×) Ex-Taq buffer, 200 μ M dNTP Mixture, 5 μ M 5' および 3' プライマー, 0.625U Ex-Taq となるように調整し, これに DNA 試料液を 2.5 μ L 加え, 全量を 25 μ L とした. 目的遺伝子の増幅はエチジウムブロマイドを含む 1% アガロースゲル電気泳動で確認した.

セレウス菌のエンテロトキシンの検出には, 逆受身ラテックス凝集反応による検査キット CRET-RPLA (デンカ生研) を使用した.

6. PFGE による染色体切断パターンの解析

セレウス菌は LB 培地で一晚振盪培養したもの, ウエルシュ菌は TGC 培地で一晚静置培養したものを集菌し, 滅菌蒸留水で洗浄した. その後, 滅菌蒸留水に再懸濁し, 等量の 1% 低融点アガロースと混合して, プラグモールドに注入・固化し, ゲルブロックを作製

Table 1 PCR primers for *B.cereus* used in this work

Target Gene	Name	Primer Sequence(5' →3')	PCR product (bp)	Reference
<i>cereulid</i>	CesF1	GGT GAC ACA TTA TCA TAT AAG GTG	1271	4
	CesR2	GTA AGC GAA CCT GTC TGT AAC AAC A		
<i>nheA</i>	nheA 344 S	TAC GCT AAG GAG GGG CA	500	5
	nheA 843 A	GTT TTT ATT GCT TCA TCG GCT		
<i>nheB</i>	nheB 1500 S	CTA TCA GCA CTT ATG GCA G	770	5
	nheB 2269 A	ACT CCT AGC GGT GTT CC		
<i>nheC</i>	nheC 2820 S	CGG TAG TGA TTG CTG GG	582	5
	nheC 3401 A	CAG CAT TCG TAC TTG CCA A		
<i>hbla</i>	HBLA-N	GCT AAT GTA GTT TCA CCT AGC AAC	873	6
	HBLA-C	AAT CAT GCC ACT GCG TGG ACA TAT AA		
<i>hb1C</i>	HBLC-N	AAT AGG TAC AGA TGG AAC AGG	399	6
	HBLC-C	GGC TTT CAT CAG GTC ATA CTC		
<i>hb1D</i>	HBLD-N	AAT CAA GAG CTG TCA CGA AT	439	6
	HBLD-C	CAC CAA TTG ACC ATG CTA AT		

Table 2 PCR primers for *C.perfringens* used in this work

Target Gene	Name	Primer Sequence(5' →3')	PCR product(bp)	Reference
α toxin	CPA Forward	GTT GAT AGC GCA GGA CAT GTT AAG	402	7
	CPA Reverse	CAT GTA GTC ATC TGT TCC AGC ATC		
β toxin	CPB Forward	ACT ATA CAG ACA GAT CAT TCA ACC	236	7
	CPB Reverse	TTA GGA GCA GTT AGA ACT ACA GAC		
ϵ toxin	CPE Forward	ACT GCA ACT ACT ACT CAT ACT GTG	541	7
	CPE Reverse	CTG GTG CCT TAA TAG AAA GAC TCC		
ι toxin	CPI Forward	GCG ATG AAA AGC CTA CAC CAC TAC	317	7
	CPI Reverse	GGT ATA TCC TCC ACG CAT ATA GTC		
plasmid-borne <i>cpe</i>	MET-1.5F	CTC AGA GTT AGG AGC TAG CCC AAC CC	3300	8
	CPE-up	CCT AAT ATC CAA CCA TCT CC		
chromosomal <i>cpe</i>	CPE-4.5F	CAG TCC TTA GGT GAT GGA	2100	8
	IS1470F	AAC TAA ATA GGC CTA TAA ATA CC		

した。ブロックは1mg/mL リゾチームと3U/ μ L ムタノリシンを含む溶菌液に入れ、37°Cで20時間保温した。次にProteinaseK溶液(1% N-Laurylsarcosine, 1mg/mL ProteinaseK, 0.5M EDTA, pH8.0)に入れ替え、50°Cで一晩保温し、蛋白を分解した。溶菌後、1mg/mLのPefablocSCで同酵素を不活化し、制限酵素 *Sma* IでDNAを切断し^{9) 10)}、電気泳動を行った。泳動はGene Path Strain Typing System(日本バイオ・ラッド)を用い、泳動条件は、0.5 × TBE buffer, 電圧6V/cm, パルスタイム5.3 ~ 34.9秒, 泳動時間20時間で行った。泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、切断パターンを比較した。

Table 3 Isolation of *B.cereus* and *C.perfringens* from samples

Source	Number of samples	<i>B.cereus</i> (%)	<i>C.perfringens</i> (%)
food	13	12 (92.3)	0 (0.0)
swab	15	1 (6.7)	0 (0.0)
feces from cooks	10	2 (20.0)	0 (0.0)
feces from patients	52 ¹⁾	11 ²⁾ (21.2)	13 ³⁾ (25.0)

1) inspected in 15 laboratories

2) isolated in 6 laboratories

3) isolated in 6 laboratories

III 結果

1. 検査材料からの菌の検出

弁当食材の一般細菌数は $1.5 \times 10^5 \sim 6.6 \times 10^8$ CFU/g であった。セレウス菌は検査した弁当材料の中で酢の物を除くすべての食材から検出され、菌数は 10^2 CFU/g 以下から 1.1×10^7 CFU/g であった。また、冷蔵庫内部の棚のふき取りからもセレウス菌が検出された。調理従事者は、集会の参加者と同じ弁当を食べており、2人からセレウス菌が分離されたが、2人とも無症状であった。有症者糞便52検体からセレウス菌は11件、ウエルシュ菌は13件分離された。セレウス菌とウエルシュ菌の両方が検出された有症者糞便は5検体あった。ウエルシュ菌は弁当材料、ふき取り、調理従事者の糞便からは分離されなかった (Table 3)。他の食中毒起因菌として有症者糞便から黄色ブドウ球菌が2件、大腸菌が2件検出されたが、これらの菌株はいずれも食中毒の原因となる病原因子を保有していなかった。

2. セレウス菌の毒素産生性

供試したセレウス菌は30菌株であるが、このうち弁当材料からの16株は12食材から分離されたもので、有症者糞便のうちb機関からの5株は1検体から検出されたものである。毒素遺伝子の検出およびエンテロトキシン産生の結果を Table 4 に示した。

セレウス菌30株のうち、21株からセレウリド合

成遺伝子が検出された。その内訳は食材由来14株、ふきとり由来1株、調理従事者由来2株および患者由来4株だった。この菌株が検出された有症者の中で、嘔気、嘔吐の症状を呈したものはなかった。

3種類のNHE関連遺伝子すべてが、弁当材料由来15株、冷蔵庫ふき取り由来1株、調理従事者由来2株、患者由来9株から検出された。弁当材料の1株および患者由来株2株からは3種類のNHE関連遺伝子のうちのいずれかしか検出されなかった。

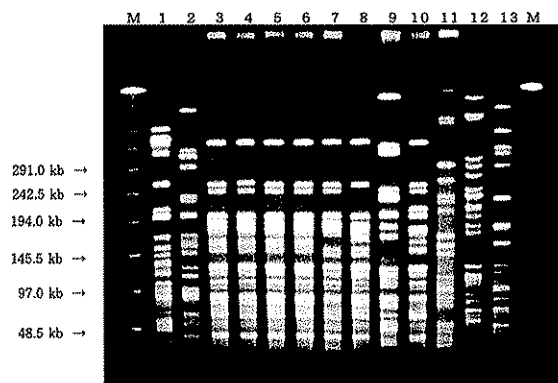


Fig.2 PFGE patterns of *Sma* I - digested genomic DNA of *B. cereus* isolates.

lane 1 : pattern B-1, lane 2 : pattern B-2, lane 3 ~ 6 : pattern B-3, lane 7 : pattern B-4, lane 8 : pattern B-5, lane 9 : pattern B-6, lane 10 : pattern B-7, lane 11 : pattern B-8, lane 12 : pattern B-9, lane 13 : ATCC 14579, lane M : λ ladder size marker (Cambrex Bio Science). The origin of isolates is as following, lane 1 ~ 3 : food, lane 4 : a swab, lane 5 ~ 6 : cooks' feces, lane 7 ~ 12 : patients' feces

Table 4 Characteristics of *B.cereus* strains isolated from samples

Source	Number of isolates	Laboratory	emetic toxin (celeulid)	Toxin ¹⁾						PFGE pattern	
				enterotoxin			CRET-RPLA ²⁾ (test kit)				
				NHE complex			HBL complex				
<i>nhe</i> A	<i>nhe</i> B	<i>nhe</i> C	<i>hbl</i> A	<i>hbl</i> C	<i>hbl</i> D						
food	1 ³⁾	a	-	+	+	+	+	+	+	128	B-1
	1 ³⁾	a	-	-	+	-	-	+	+	4	B-2
	14 ³⁾	a	+	+	+	+	-	-	-	0	B-3
a swab of a refrigerator's shell	1	a	+	+	+	+	-	-	-	0	B-3
feces from cooks	2	a	+	+	+	+	-	-	-	0	B-3
	1	a	-	+	+	+	-	-	-	0	B-4
feces from patients ⁴⁾	3 ⁵⁾	b	+	+	+	+	-	-	-	0	B-5
	2 ⁵⁾	b	-	+	+	+	+	+	+	128	B-6
	1	c	+	-	+	+	-	-	-	0	B-7
	3	d	-	+	+	+	-	-	-	0	B-8
	1	d	-	+	-	+	-	-	-	0	B-9

1) The toxin genes were detected by PCR. +, positive. -, negative.

2) The indices from 0 to 128 corresponded to the last supernatant dilution rate (among 1/2 serial dilutions) for which enterotoxin remained detectable. According to the manufacturer's instructions, strains with an index of 0 were considered negative.

3) Sixteen strains were isolated from 12 food samples.

4) *B.cereus* strains were isolated from patients' feces in 6 laboratories. Eleven strains were obtained from 4 laboratories.

5) Five strains were isolated from a single patient's feces.

Table 5 Characteristics of *C.perfringens* strains isolated from samples

Source	Number of isolates	Laboratory	Hobbs type	Toxin ¹⁾					PFGE pattern
				α toxin	β toxin	ϵ toxin	ι toxin	enterotoxin	
feces from patients ²⁾	3	e	NT ³⁾	+	-	-	-	-	C-1
	6	a,b,e	Type 4	+	-	-	-	+ ⁴⁾	C-2
	1	e	NT	+	-	-	-	-	C-3
	1	c	Type 9	+	-	-	-	-	C-4

1) The toxin genes were detected by PCR. +, positive. -, negative.

2) *C.perfringens* strains were isolated from patients' feces in 6 laboratories. Eleven strains were obtained from 4 laboratories.

3) non-typable

4) All enterotoxin genes were encoded on the chromosome.

HBL 関連遺伝子は、弁当材料 1 株および患者由来 2 株からのみ 3 種類すべてが検出された。他の検体からは、弁当材料由来 1 株から *hblC* と *hblD* が検出されたが、それ以外からはいずれの遺伝子も検出されなかった。

CRET-RPLA は、食材由来 2 株および患者由来 2 株が陽性を示し、HBL 関連遺伝子の結果と一致した。*hblC* と *hblD* が検出された弁当材料由来 1 株では、陽性を示した最高希釈倍数は 4 倍であったが、3 種類の HBL 関連遺伝子がすべて検出された食材由来 1 株および患者由来 2 株では 128 倍であり、高いエンテロトキシン産生量を示した。

弁当材料 12 検体からの 16 菌株および b 検査機関の有症者糞便 1 検体からの 5 菌株を検査した結果、同じ検体から毒素産生能の異なる菌株が分離された。

3. 制限酵素によるセレウス菌の染色体切断パターンの解析

セレウス菌 DNA を *Sma* I で切断後、PFGE による解析を行った結果を Fig.2 に示した。PFGE は全部で 9 パターンを示した。このうち、弁当材料 14 菌株、ふき取り 1 菌株、調理従事者の糞便 2 菌株は同一の PFGE パターン、B-3 であった。有症者糞便の中で B-4、B-5 及び B-7 のパターンを示した菌株は B-3 と完全に一致したものではなかったが、類似性は極めて高かった。他の有症者糞便の菌株のパターンは B-3 とは明らかに異なっていた。

4. ウエルシュ菌の血清型別および毒素産生性

患者便 11 検体から分離された 11 株を供試して Hobbs の血清型別を行った結果、Hobbs 4 型が 6 菌株、Hobbs 9 型が 1 菌株あり、他の 4 株は型別不能であった。また、11 株はすべて、 α 毒素産生遺伝子を持つ A 型ウエルシュ菌であった。エンテロトキシン産生遺伝子 (*cpe*) の有無を調べた結果、Hobbs 4 型の 6 菌株が陽性を示し、これらの菌株の *cpe* はすべて染色体上にコードされていた (Table 5)。

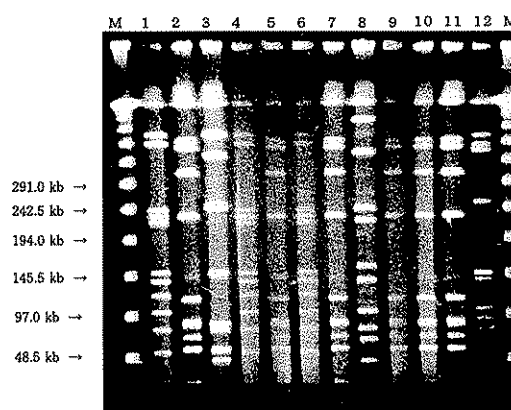


Fig.3 PFGE patterns of *Sma* I - digested genomic DNA of *C.perfringens* isolates from patients' feces.

lane 1,4,6: pattern C-1, lane 2,5,7,9~11: pattern C-2, lane 3: pattern C-3, lane 8: pattern C-4, lane 12: ATCC 13124, lane M: λ ladder size marker (Cambrex Bio Science).

5. 制限酵素によるウエルシュ菌の染色体切断パターンの解析

ウエルシュ菌 DNA を *Sma* I で切断した PFGE 解析を Fig.3 に示した。11 株の PFGE は異なる 4 つのパターンに分かれた。エンテロトキシン遺伝子を保有する 6 菌株はすべて同一の PFGE パターン、C-2 であった。エンテロトキシン遺伝子を保有しない菌株は 3 つのパターンに分類された。

IV 考 察

セレウス菌の病原因子は、耐熱性毒素である嘔吐毒 (セレウリド) と易熱性毒素である下痢毒 (エンテロトキシン) の 2 種類に分けられる。セレウリドは、20°C で産生性が高く、その発現には通気条件が必要であることが知られている¹¹⁾。嘔吐毒の遺伝子を持つセレウス菌が検出された有症者の中に嘔気、嘔吐の症状を呈したものがいなかったのは、これらの菌株が食品中でセレウリドの発現の条件を満たしていなかったためと推測される。

一方、エンテロトキシン活性を示す毒素は複数

あると考えられており、そのうち NHE と HBL はそれぞれ3種類のタンパク質で構成されている。NHEを構成するタンパク質 NheA, NheB, NheC は *nheA, nheB, nheC* 遺伝子に、HBLを構成するタンパク質 B_{L1} および L₂ は *hblA, hblD, hblC* 遺伝子にコードされている¹²⁾。Beecher と Wong¹³⁾ は、エンテロトキシン検出キットである CRET-RPLA は *hblC* によりコードされているエンテロトキシン HBL の L₂ コンポーネントを検出していると報告している。本事例において、CRET-RPLA により、HBL 関連遺伝子を持つ食材由来と患者糞便由来の4菌株において、エンテロトキシンが検出された。NHE と HBL はそれぞれのコンポーネント単独でも弱い活性が観察されるが、3つのコンポーネントを持ち、さらにそれらの相互作用によって、最大の活性を発揮すると考えられている¹⁴⁾。*hblC* と *hblD* のみが検出された弁当材料由来株のエンテロトキシン産生量が、3種類の HBL 関連遺伝子がすべて検出された菌株と比較すると少なかったのは、このことを示唆している。

セレウス菌による消化器症状は、食品中で1gあたり10⁶個から10⁸個に増殖した多数のセレウス菌を摂取することによって引き起こされる¹⁾。この事例では、PFGEパターンが同一のセレウス菌が弁当材料13検体から12検体という高率で検出され、菌量も最高で1.1×10⁷ CFU/g 検出された。また、調理従事者2名のPFGEパターンは食材と完全に一致し、患者糞便から検出された菌株の中で、弁当材料のPFGEパターンと類似するパターンを示すものもあった。しかし、患者糞便から検出された菌株には弁当材料とPFGEパターンが完全に一致するものはなく、多様性を示したため、セレウス菌によるこの事例への関与は証明できなかった。

A型ウエルシュ菌のうち、エンテロトキシン遺伝子の保有あるいはエンテロトキシンの産生能は、6%以下の菌株でしか認められていないことが報告されている¹⁵⁾¹⁶⁾。家畜や健康保菌者から分離された株など、ヒトの食中毒事例に由来しない株においては、プラスミド上にエンテロトキシン遺伝子が存在する¹⁷⁾。一方、染色体上にエンテロトキシン遺伝子を持つ菌株は、プラスミド上にエンテロトキシン遺伝子を持つ菌株よりも、熱に抵抗性があり¹⁸⁾、食中毒事例に由来する株の多くが染色体上にエンテロトキシン遺伝子を持つ¹⁹⁾。今回、ウエルシュ菌は、弁当食材、ふき取りからは検出されなかったが、患者から分離された11株はすべてA型ウエルシュ菌であり、そのうちの6菌株(55%)は染色体上にエンテロトキ

シン産生遺伝子を持っており、血清型も全て同一であった。異なる検査機関で異なる患者から分離された6菌株のPFGE型もすべて一致したことより、今回の食中毒にウエルシュ菌が関与していた可能性は高いと考えられる。

今回弁当を提供した施設では、通常弁当の製造をしておらず、調理作業場等の清掃も不十分であった。弁当は午前3時から調理が開始され、すべてのおかずの盛り付けが終了したのは午前11時であった。当日喫食された弁当の中の食品はすべて保存されておらず、保存自体も適切ではなかったことなどから、結果として食材からの原因菌の特定には至らなかったが、食品を長時間室温に放置していたことにより菌が増殖し汚染が広がり、今回の食中毒につながったと推測される。

V まとめ

2005年7月に西宮市で開催された集会で食中毒が発生し、参加者565名のうち約500名が提供された幕の内弁当を食べ、108名が下痢、腹痛等の症状を呈した。平均潜伏期間は11.5時間であった。ほぼ同数の有症者の糞便からセレウス菌とウエルシュ菌が検出された。弁当材料からセレウス菌が検出されたが、有症者の糞便から検出された菌株とPFGEパターンは一致せず、セレウス菌のこの事例への関与は証明されなかった。しかし、染色体上にエンテロトキシン遺伝子を保有するA型ウエルシュ菌は、有症者11名のうち6名から検出され、すべて同一のPFGEパターンを示したことから、ウエルシュ菌が関与していた可能性は高いと考えられた。

謝辞

菌株の分与および有益な情報をいただいた加古川健康福祉事務所検査室、東大阪市環境衛生検査センター、大阪市立環境科学研究所、奈良市保健所の諸氏に深謝いたします。

文献

- 1) 品川那汎: *Bacillus cereus*, 坂崎利一編, 食水系感染症と細菌性食中毒, p.304-335, 中央法規出版, 東京(1991)
- 2) 植村興: *Clostridium perfringens*, 坂崎利一編, 食水系感染症と細菌性食中毒, p.282-303, 中央法規

- 出版, 東京 (1991)
- 3) 厚生労働省監修: 食品衛生検査指針 微生物編, p.297-306, 社団法人 日本食品衛生協会, 東京 (2004)
 - 4) Ehling-Schulz, M., Vukov, N., Schulz, A., Shaheen, R., Andersson, M., Martlbauer, E. and Scherer, S. : Identification and partial characterization of the nonribosomal peptide synthetase gene responsible for cereulide production in emetic *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 105-113 (2005)
 - 5) Hansen, B. M. and Hendriksen, N. B. : Detection of enterotoxigenic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains by PCR analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 185-189 (2001)
 - 6) Rowan, N. J., Caldow, G., Gemmell, C. G. and Hunter, I. S. : Production of diarrheal enterotoxins and other potential virulence factors by veterinary isolates of *Bacillus* species associated with nongastrointestinal infections. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 2372-2376 (2003)
 - 7) Yoo, H.S., Lee, S.U., Park, K.Y. and Park, Y.H. : Molecular typing and epidemiological survey of prevalence of *Clostridium perfringens* types by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **35**, 228-232 (1997)
 - 8) Wen, Q., Miyamoto, K. and McClane, B.A. : Development of a duplex PCR genotyping assay for distinguishing *Clostridium perfringens* type A isolates carrying chromosomal enterotoxin (*cpe*) genes from those carrying plasmid-borne enterotoxin (*cpe*) genes. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 1494-1498 (2003)
 - 9) Liu, P.Y., Ke, S.C. and Chen, S.L. : Use of pulsed-field gel electrophoresis to investigate a pseudo-outbreak of *Bacillus cereus* in a pediatric unit. *J. Clin. Microbiol.*, **35**, 1533-1535 (1997)
 - 10) Johansson, A., Aspan, A., Bagge, E., Baverud, V., Engstrom, B.E. and Johansson, K.E. : Genetic diversity of *Clostridium perfringens* type A isolates from animals, food poisoning outbreaks and sludge. *BMC Microbiol.*, **6**, 47 (2006)
 - 11) Haggblom, M. M., Apetroaie, C., Andersson, M. A. and Salkinoja-Salonen, M. S. : Quantitative analysis of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*, produced under various conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 2479-2483 (2002)
 - 12) 品川那汎, 重茂克彦: セレウス菌 (*Bacillus cereus*) エンテロトキシン, 櫻井 純, 本田 武司, 小熊 恵二編, 細菌毒素ハンドブック, p.47-54, サイエンスフォーラム, 東京 (2002)
 - 13) Beecher, D. J. and Wong, A. C. : Identification and analysis of the antigens detected by two commercial *Bacillus cereus* diarrheal enterotoxin immunoassay kits. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 4616-4616 (1994)
 - 14) Lund, T. and Granum, P. E. : Comparison of biological effect of the two different enterotoxin complexes isolated from three different strains of *Bacillus cereus*. *Microbiol.*, **143**, 3329-3336 (1997)
 - 15) Daube, G., Simon, P., Limbourg, B., Manteca, C., Mainil, J. and Kaeckenbeeck, A. : Hybridization of 2,659 *Clostridium perfringens* isolates with gene probes for seven toxins (alpha, beta, epsilon, iota, theta, mu, and enterotoxin) and for sialidase. *Am. J. Vet. Res.*, **57**, 496-501 (1996)
 - 16) Kokai-Kun, J. F., Songer, J. G., Czeczulin, J. R., Chen, F. and McClane, B. A. : Comparison of western immunoblots and gene detection assays for identification of potentially enterotoxigenic isolates of *Clostridium perfringens*. *J. Clin. Microbiol.*, **32**, 2533-2539 (1994)
 - 17) Collie, R. E. and McClane, B. A. : Evidence that the enterotoxin gene can be episomal in *Clostridium perfringens* isolates associated with non-food-borne human gastrointestinal diseases. *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 30-36 (1998)
 - 18) Sarker, M.R., Shivers, R.P., Sparks, S. G., Juneja, V.K. and McClane, B.A. : Comparative experiments to examine the effects of heating on vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* isolates carrying plasmid genes versus chromosomal enterotoxin genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 3234-3240 (2000)
 - 19) Miyamoto, K., Wen, Q. and McClane, B. A. : Multiplex PCR genotyping assay that distinguishes between isolates of *Clostridium perfringens* type A carrying a chromosomal enterotoxin gene (*cpe*) locus, a plasmid *cpe* locus with an IS1470-like sequence, or a plasmid *cpe* locus with an IS1151 sequence. *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 1552-1558 (2004)

[ノート]

兵庫県におけるウエストナイル熱対策の一環として実施した蚊の捕集調査

押部智宏¹ 福永真治¹ 廣田義勝² 近平雅嗣¹

Field Survey of Mosquito Associated with Control Measures to West Nile Fever in Hyogo Prefecture

Tomohiro OSHIBE^{1*}, Masaharu FUKUNAGA¹, Yoshikatsu HIROTA²,
Masatsugu CHIKAHIRA¹¹ Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences² Diseases Control Division of Hyogo prefectural government

We investigated the distribution of mosquitoes to prepare for the invasion of West Nile virus (WNV) to Hyogo prefecture. Mosquito sampling was carried out in this research center and the 13 public health centers. A total of 2,090 mosquito females were collected during the survey period, and they were classified 5 species; *Culex pipiens*, *Aedes albopictus*, *Cx. tritaeniorhynchus*, *Anopheles sinensis*, and *Ae. togoi* in order of the number. Two dominant species, *Ae. albopictus* and *Cx. pipiens*, amounted 99.8% of the collected mosquitoes around this research center. WNV and Japanese encephalitis virus were not detected from the collected mosquitoes by RT-PCR. We identified the source of vertebrate blood by PCR-RFLP and sequencing portions of the cytochrome b gene of mitochondrial DNA. Notably, *Cx. pipiens* had sucked blood from both humans and sparrows. This result suggests that *Cx. pipiens* is an important bridge vector from birds to humans in Hyogo prefecture, Japan.

I はじめに

ウエストナイル熱は従来アフリカ, 西アジア, ヨーロッパの地域で散発的に患者が発生していたが, 1999年に米国で初めての患者が確認されてからは急速に流行が拡大し, 2003年にはアラスカを除く北米大陸のほぼ全域に広がった^{1,2)}. この病原体であるウエストナイルウイルス(WNV)は自然界において多種の鳥類と蚊の間で感染環が形成されており^{1,2)}, この感染環に関わる動物種としてアオカケス, カラス, スズメなどの野鳥とイエカ, ヤブカ属の蚊が特に重要とされている^{2,3)}. これらの鳥類や蚊は国内の都市部

でもごく普通に見られることから, WNVが国内に侵入した場合, 米国と同様に流行が急速に拡大することが予想される.

WNVの侵入時の対策としては媒介蚊の防除を行うことにより, できるだけ蚊の分布密度を減らすことが最も有効である⁴⁾. 具体的には蚊の発生源の除去や殺虫剤の散布が挙げられるが, このような作業をより効果的に行うには蚊の分布状況の把握が不可欠である. しかし, 人口が集中する市街地における蚊の分布調査について, これまでほとんど行われていないのが現状である.

本調査では, 県内市街地での蚊の種やその分布状況を把握してWNV侵入の際の防除対策に資することを目的として, 県内14ヶ所で蚊の捕集調査を実施した. また捕集蚊についてWNV保有状況, およびチトクロームb遺伝子解析によって蚊が吸血した動物を推定したので併せて報告する.

1 感染症部 2 兵庫県疾病対策課

* 別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29
兵庫県立健康環境科学研究センター
感染症部 押部 智宏

II 材料と方法

1. 実施期間及び蚊の捕集地点

1.1. 研究センターの定期捕集調査

2005年6月1日から11月9日まで、県立健康環境科学研究センター（神戸市兵庫区）敷地内（Fig. 1）の2ヶ所を定点として、合計92回蚊を捕集した。

1.2. 県内14ヶ所の一斉捕集調査

県疾病対策課の「ウエストナイル熱対策蚊捕獲試験実施要領」に基づき、2005年7月25日～28日および9月23日の2日間、研究センターおよび県内13ヶ所の健康福祉事務所敷地内（Fig. 1）を一斉捕集定点と定め、蚊の捕集を行った。各事務所では研修を受けた担当職員が蚊の捕集および雌雄判別を行った後、雌蚊のみを研究センターへ搬入した。宝塚健康福祉事務所については、1回目の調査を8月4日に実施した。なお、研究センターで行った本調査のデータは上記の定期調査（7月25日、9月23日分）の結果を再掲した。

2. 蚊の捕集

誘引剤にドライアイスを使用して、CDCライトトラップ（鵬図商事）で蚊を捕集した。トラップは午後4時頃に設置し、翌日の午前9時頃（約17時間）に回収した。

3. 蚊の種の同定

捕集した蚊は吸血する雌蚊のみに分別し、弓指ら⁹⁾の簡易同定表に基づき同定した。またアカイエカとチカイエカについては外見上区別ができないため、すべてアカイエカ（*Culex pipiens*）として分類した。

4. 検体の前処理

捕集蚊を定点および種類別として、50匹を1プー

ル（1検体）とし、1種類の捕集蚊が50匹に満たない場合でも1検体として供試した。1プール分をそれぞれマイクロチューブに入れ、これに0.2%ウシ血清アルブミン加里ン酸緩衝液を750 μ l加えマルチビーズショッカー（安井器械）で破碎した。

5. WNVおよび日本脳炎ウイルス遺伝子の検出

4.で調製した乳剤の遠心上清から、QIAamp Viral RNA Mini kit（QIAGEN）を用いてRNAを抽出、これを鋳型としてRT-PCRを行った。PCRの増幅領域はWNVのE領域、およびWNVと日本脳炎ウイルスで共通の塩基配列を持つNS3領域を対象とした。プライマーはウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル（国立感染症研究所）⁶⁾に記載の配列を使用した。

6. チトクロームb遺伝子解析による蚊が吸血した動物種の推定

4.で調製した乳剤の遠心上清から、QIAamp DNA Mini kit（QIAGEN）を用いてDNAを抽出しPCRに用いた。PCRにはミトコンドリアDNA内のチトクロームb遺伝子領域（約358bp）を増幅するプライマー^{7,8,9,10)}を用いた。このPCR産物を制限酵素 *Alu I*, *Hae III*, *Hinf I*（日本ジーン）で切断し、2%アガロースで電気泳動した（PCR-RFLP法）。得られたRFLPパターンからBraviら⁷⁾の方法に準じて、ヒトおよびイヌ、ネコ、ニワトリ、その他の動物種を判定した。また、必要に応じてPCR産物の塩基配列をダイレクトシーケンス法で決定し、BLAST検索により動物種を同定した。

7. 神戸の気象観測データ

神戸の平均気温、降水量および平年値の気象観測データは気象庁ホームページ上の公表データを使用した。



Fig. 1 Map of the 14 fixed trapping points of mosquitoes Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences (this research center) (Kobe) and 13 public health center

III 結果

1. 蚊の捕集調査

研究センター定点で定期的に行った蚊の捕集状況を Table 1, 県内14ヶ所の一斉捕集の結果を Table 2, 3 に示した。全調査期間を通じて、捕集された蚊は5種2,090匹であった。

1.1. 研究センター定点の定期捕集調査

研究センター定点（Table 1）では全期間で3種1,734匹が捕集された。構成はアカイエカが990匹（57.1%）と最も多く、次いでヒトスジシマカ（*Aedes albopictus*）が740匹（42.7%）で、この2種（以下優占2種）で全捕集数の99.8%を占めていた。

Table 1 Number of collected mosquitoes at the fixed trapping point of this research center. (from June to November)

Month	Collection No.	Collection days	Collection Number /Collection days	Mosquito species		
				<i>Ae. albopictus</i>	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>
Jun.	431	18	23.9	39	392	
Jul.	386	16	24.1	129	257	
Aug.	384	21	18.3	241	140	3
Sept.	345	18	19.2	260	84	1
Oct.	188	16	11.8	71	117	
Nov.	0	3	0			
Total	1734	92	18.8	740 (42.7%)	990 (57.1%)	4 (0.2%)

Table 2 Number of collected mosquitoes at the 14 fixed trapping points (25 ~ 28 July, 2005)

Region	Trapping point	Total no.	Mosquito species				
			<i>Ae. albopictus</i>	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	<i>An. sinensis</i>	<i>Ae. togoi</i>
Hanshin	Ashiya	4		4			
	Takarazuka	59	39				
	Itami	5	4	1			
East Harima	Kobogawa	1		1			
	Akashi	11	3	8			
North Harima	Yashiro	39	2	5	31	1	
Center Harima	Fukusaki	12		9		3	
West Harima	Tatsuno	1		1			
	Ako	6		3	3		
	Toyooka	12	9	3			
Tajima/Tanba	Wadayama	9	1	3		5	
	Kabara	3	1	1			1
	Sumoto	17	3	14			
Kobe	Research center	28	13	15			
Total		187	75 (40%)	68 (36%)	34 (18%)	9 (4.8%)	1 (0.5%)

Table 3 Number of collected mosquitoes at the 14 fixed trapping points (September 23, 2005)

Region	Trapping point	Total no.	Mosquito species				
			<i>Ae. albopictus</i>	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	<i>An. sinensis</i>	<i>Ae. togoi</i>
Hanshin	Ashiya	6	6				
	Takarazuka	1	1				
	Itami	7	7				
East Harima	Kobogawa	74	73	1			
	Akashi						
North Harima	Yashiro	1	1				
Center Harima	Fukusaki	65	3	16	29	17	
West Harima	Tatsuno	4	2	2			
	Ako	4	2	2			
	Toyooka	12	5		7		
Tajima/Tanba	Wadayama	16	15				1
	Kabara	1	1				
	Sumoto	6	4	2			
Kobe	Research center	27	26	1			
Total		254	146 (56%)	24 (11%)	36 (16%)	17 (7.6%)	1 (0.4%)

その他にコガタアカイエカ (*Cx. tritaeniorhynchus*) が 4 匹捕集された。合計 92 回の調査回数で、1 調査日あたり蚊の捕集数の平均は 18.8 匹であった。捕集数が最も多かった調査日は 6 月 28 日の 82 匹で、他の調査日は 0 匹 ~ 54 匹の範囲で推移し、調査日毎の捕集数に大きなばらつきがみられた (Fig.2)。

1 調査日当たりの平均捕集数 (Fig.3) を月別で比較すると、ヒトスジシマカの捕集数は月平均気温が 25°C 以上の 7,8,9 月で増加傾向が見られ、25°C 以下となった 10 月に急激に減少した。また、この優占 2 種の構成比を比較すると、6,7 月はアカイエカの割合が

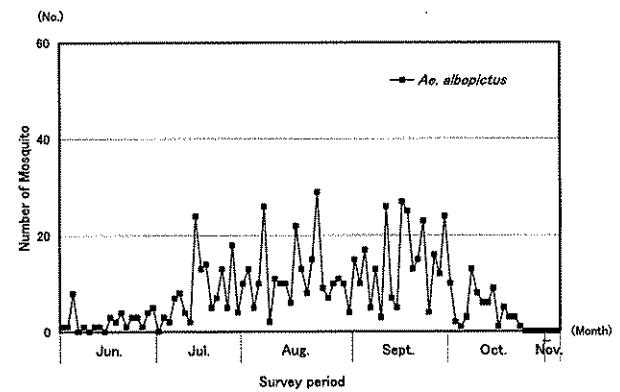
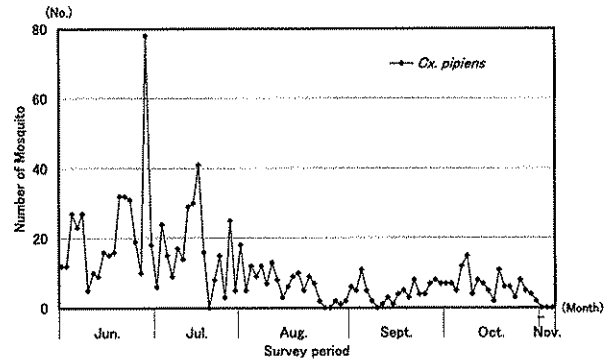


Fig.2 Number of collected Mosquito per collection day at fixed trapping point of this research center

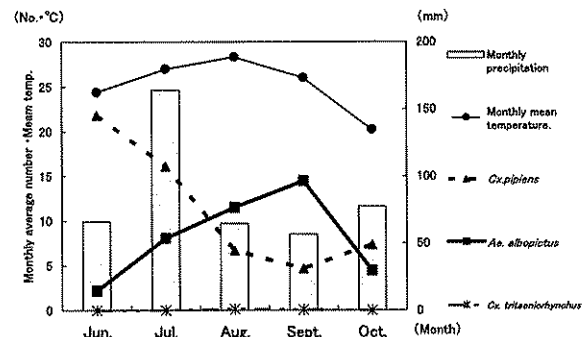


Fig.3 Average number of collected mosquitoes per month, mean temperature, and precipitation at the fixed trapping point of this research center

高かったが、8,9 月にはヒトスジシマカが高くなり、10 月はアカイエカが高率になった。これは 10 月のヒトスジシマカが激減した反面、アカイエカは微増したことにより、相対的なアカイエカの増率となった。

1.2. 県内 14 定点の蚊の一斉捕集調査

7 月実施分では、全体で 187 匹捕集された (Table 2)。構成はヒトスジシマカが 75 匹 (40%)、アカイエカが 68 匹 (36%) で、優占 2 種が全捕集数の 76% を占めていた。また、これら優占 2 種 (いずれかの 1 種のみを含む) のみが捕集されたのは 9 定点で、他種の蚊が捕集されたのは社の定点でコガタアカイエ

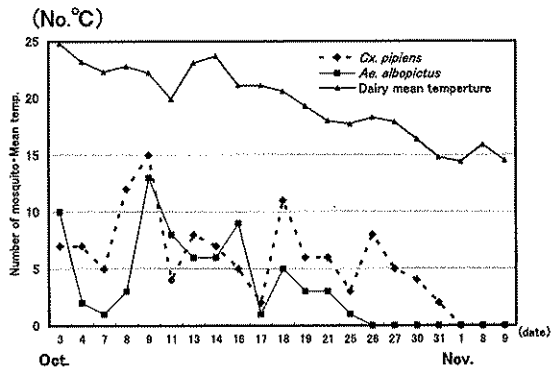


Fig.4 Seasonal changes of number of collected mosquitoes at the fixed trapping point this research center

カとシナハマダラカ (*Anopheles sinensis*), 福崎および和田山でシナハマダラカ, 赤穂でコガタアカイエカ, 柏原でトウゴウヤブカ (*Ae. togoi*) であった。4種39匹の蚊が捕集された社では, コガタアカイエカが優占2種よりも多く31匹(79%)であった。

9月実施分 (Table 3) では全捕集数は224匹で, ヒトスジシマカが146匹(65%)アカイエカが24匹(11%)となり, 優占2種が全捕集数の76%を占めており, 7月の調査と同率であった。優占2種のみ(いずれかの1種のみを含む)が捕集されたのは10定点であった。また, 他種の蚊が捕集されたのは, 福崎でコガタアカイエカおよびシナハマダラカ, 豊岡でコガタアカイエカ, 和田山でトウゴウヤブカであった。今回の調査で2回共に優占2種のみ(いずれかの1種のみを含む)が捕集されたのは, 阪神地域3定点, 研究センター, 加古川, 龍野および洲本の7定点であった。また, 優占2種の構成比では, ヒトスジシマカの割合が7月より9月が高かった。研究センター定点における定期調査でも同様の結果が得られた。

2. 蚊の捕集数の推移

研究センター定点における蚊の捕集数の推移を平均気温と共に Fig.3 および Fig.4 に示した。6月から上昇した平均気温は8月以降徐々に低下し, 10月18日以降は20°C以下となった。気温の低下と並行してヒトスジシマカは9月をピークに減少し, 10月26日以降は捕集されなくなった。アカイエカも気温の低下と共に捕集数が減少し, 日平均気温が15°C以下となった11月1日以降は捕集されなくなった。

3. WNV および日本脳炎ウイルス遺伝子の検出

捕集したすべての蚊について RT-PCR 法で, WNV および日本脳炎ウイルスの有無を検査したが, すべての検体からはこれらのウイルス遺伝子は検出されなかった。

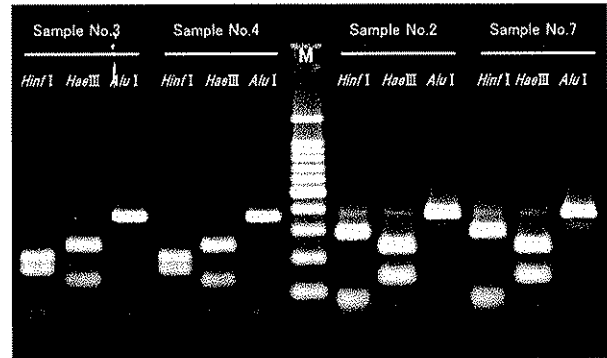


Fig.5 PCR-RFLP patterns of cytochrome b (cytb) gene digested with *Hinf* I, *Hae* III, *Alu* I. Sample nos.3,4 are Human. Sample nos.2,7 are other animal. M:100bp ladder marker

Table 4 Estimated result of mosquito bloodmeals sources by cytochrome b gene

Mosquito species	Collecting time	Trapping points	Bloodmeals source	
			Human (<i>Homo sapiens</i>)	Sparrow (<i>Passer montanus</i>)
<i>Cx. pipiens</i>	June to October	Research center	9	5
<i>Cx. pipiens</i>	From 25 to 28 on July	Ashiya · Itami	1	
<i>Cx. pipiens</i>	September 23	Kakogawa · Fukusaki	1	
<i>Ae. albopictus</i>	June to October	Research center	8	
<i>Ae. albopictus</i>	September 23	Kakogawa	1	
<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	From 25 to 28 on July	Yashiro · Ako	1	
<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	September 23	Fukusaki · Toyooka	1	
<i>An. sinensis</i>	September 23	Fukusaki	1	

4. チトクローム b 遺伝子領域を用いた蚊が吸血した動物種の調査

PCR 法でチトクローム b 遺伝子が検出されたのは, 4種の蚊由来の28検体であった。これらのPCR産物を3種類の制限酵素で切断して得られたRFLP解析では, ヒトのパターンが23検体で認められた (Fig.5)。他の5検体はすべて同パターンであったが, Braviらが分類するいずれの動物種のRFLPパターンにも属さなかった (Fig.5)。このうちの2検体についてPCR産物から塩基配列を決定し相同性を検索したところ, 2検体共に *Passer montanus* (スズメ) cytochrome b gene の塩基配列 (accession no. AY228073) と一致した。このことから残りの3検体についても, 吸血した動物はスズメと推定した。これらの結果を合わせると, 16検体のアカイエカの11検体はヒトから吸血しており, 残りの5検体はスズメから吸血したと推定された。ちなみに, これらのスズメから吸血したアカイエカはすべて研究センターで捕集したものであった。その他ヒトスジシマカ, コガタアカイエカ, シナハマダラカが吸血した動物はすべてヒトと推定された (Table 4)。

IV 考 察

6月から11月にわたる研究センター定点の捕集調査の結果から、神戸市兵庫区に位置するセンター周辺の市街地ではアカイエカとヒトスジシマカが全体の99.8%を占めており、極めて単純な蚊の分布相であることが明らかとなった。兵庫県と隣接する大阪府が平成15年度に府内の市街地17ヶ所で行った調査⁵⁾では、1442匹中アカイエカが746匹(51.7%)、ヒトスジシマカが648匹(44.9%)と報告されており、これらを合わせると96.6%を占めており、この2種の分布やその構成比は我々の結果と一致していた。

今回14定点で行った2回の調査結果でも、優占2種が全捕集数の76%を占めており、さらに7定点では優占2種あるいはこのうちの1種しか捕集されなかったことから、県内の大半の市街地でもこの2種が優占的に分布していると考えられた。一方、社と福崎定点については優占2種の割合が低く、他の種が捕集されたことから、他定点とは異なる蚊の分布相が形成されているものと思われ、詳細な調査が必要である。

研究センター定点の調査日毎の捕集データでは、日によって大きなばらつきが見られた(Fig.3)。これはトラップ周辺の局所的な風の変化が影響していると思われる。このため捕集調査に際しては風向、風の強弱、吹きだまりなど風の動きを考慮して複数の箇所にトラップを設け、捕集も複数回を行う必要があると思われる。

研究センター定点における調査月毎の捕集データでは、月によって優占2種の構成比に変化が見られたが、14定点の7月、9月の調査でも同様の変化が認められた(Fig.4)。今回、我々が明らかにしたこの現象が毎年繰り返されるパターン化したものであれば、月によって重点的に防除する蚊種を絞り込むことで、より効率の良い防除が可能になることが考えられる。このパターンを明らかにするには、経年的なデータの蓄積や更なる調査を行っていく必要があると思われる。

蚊の捕集数の消長のデータ(Fig.5)から、日平均気温が20°C以下となった10月18日以降は、日平均気温の低下にほぼ依存して優占2種の捕集数が減少し、15°C以下となった11月1日以降はすべての蚊が捕集されなくなった。このため日平均気温15°C以下を指標として野外での蚊の活動の終息を把握できると考えられる。

今回捕集したすべての蚊からはWNV遺伝子は検

出されなかった。兵庫県内には国内最大のコンテナポートである神戸港があり、外国からの大型船舶が頻繁に出入りするため、他地域と比べWNVの侵入リスクが高く、死亡鳥を含めたWNVの侵入を監視する必要がある。

ミトコンドリアDNA内のシトクロームb遺伝子領域を用いた蚊が吸血した動物の調査では、28検体中23検体(82%)がヒトを吸血源としていることが判明した(Table 4)。ヒトが主な吸血源となったのは、市街地におけるヒトと野生動物の分布密度の違いを反映した結果であると考えられる。WNVは鳥類と蚊によって感染環が形成されており、特にスズメはWNVの増幅能力が高いとされている³⁾。今回の調査で、県内市街地のアカイエカがヒトとスズメの双方を吸血源としていたことから、アカイエカは野鳥で流行するWNVをヒトに伝播する橋渡しをするブリッジベクターとして働くことが明らかとなった。

今後は、今回得られたデータを踏まえ特に14定点を中心とした全県的な捕集調査の充実を図ることで、県下市街地での蚊の分布状況を把握するための基礎的データを蓄積していく必要があると考えられた。

謝 辞

本調査の遂行に当たり蚊の捕集、同定法、ウイルス検査法等の技術的な研修、指導をしていただきました大阪府立公衆衛生研究所弓指孝博先生、青山幾子先生、本調査の企画調整、総括をしていただきました県疾病対策課、県生活衛生課の関係者の方々、本調査にご協力いただきました芦屋、宝塚、伊丹、加古川、明石、社、福崎、龍野、赤穂、豊岡、和田山、洲本健康福祉事務所の健康増進課および薬務・生活衛生課の関係者の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) 倉根一郎：ウエストナイル熱。日本ウイルス学会誌,53,1-6 (2003)
- 2) 今井長兵衛：ウエストナイルウイルスの米国侵入と流行実態。生活衛生, 48, 252-260 (2004)
- 3) Komar, N. Langevin, S. and Hinten, S. : Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg Infect Dis* ,9,311-322 (2003)
- 4) 小林陸生他：ウエストナイル熱媒介蚊に関するガイドライン, p1 - 15, 国立感染症研究所, 東京

(2003)

- 5) 弓指孝博, 瀧幾子, 斎藤浩一, 西村平和, 石田誠良, 大竹徹, 奥野良信: 大阪府におけるウエストナイル対策に関する蚊のサーベイランス (平成15年度報告). 大阪府公衛研所報, 42, 57-63 (2004)
- 6) 高崎智彦, 倉根一郎: ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル Ver.4, p.7, 国立感染症研究所, 東京 (2005)
- 7) Bravi, C. M., Liron, J. P., Mirol, P. M., Ripol, M. V., Peral-Garcia, P. and Giovambattista, G.: A simple method for domestic animal identification in Argentina using PCR-RFLP analysis of cytochrome b gene. *Legal Medicine*, 6, 246-251 (2004)
- 8) Lanzilao, I., Burgalassi, F., Fancelli, S., Settimelli, M. and Fani, R.: Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of mitochondrial cytb gene from species of dairy interest. *J AOAC Int*, 88, 128-35 (1995)
- 9) Boakye, D. A., Tang, J., Truc, P., Merriweather, A. and Unnasch, T. R.: Identification of bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. *Med Vet Entomol*, 13, 282-287 (1999)
- 10) Meece, J. K., Reynolds, C. E., Stockwell, P. J., Jenson, T. A., Christensen, J. E. and Reed, K. D.: Identification of mosquito bloodmeal source by terminal restriction fragment length polymorphism profile analysis of the cytochrome B gene. *J Med Entomol*, 42, 657-67 (2005)

[ノート]

キャピラリー電気泳動による魚肉中ヒスタミン及びチラミンの同時分析

祭原ゆかり* 三橋隆夫 市橋啓子

Simultaneous Analysis of Histamine and Tyramine in Fish by Capillary Electrophoresis

Yukari SAIHARA*, Takao MITSUHASHI and Keiko ICHIHASHI

Health Science Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan

A simple and rapid method for determining histamine and tyramine in fish was developed by capillary electrophoresis. Samples were homogenized with 5% trichloroacetic acid, filtered and subjected to capillary electrophoresis. Histamine and tyramine were well separated from other co-extracted components using phosphate buffer pH 3.5. Identification was performed on the basis of the migration time and the absorption spectrum obtained with a photodiode array detector. The recoveries of spiked histamine and tyramine in fish were $102 \pm 2.6\%$ and $101 \pm 2.0\%$, respectively. The determination limits were both 1.0mg/100g in the samples.

I はじめに

魚肉の腐敗に伴い、魚肉中のアミノ酸から生成されるヒスタミンやチラミンは、アレルギー様食中毒の原因物質となることが知られている。ヒスタミンはアレルギー様食中毒の主体で、必須アミノ酸であるヒスチジンが、脱炭酸酵素を有する細菌により分解されて生じる。また、チロシンの分解により生じるチラミンは、ヒスタミンの作用を増強させることが知られており、ヒスタミン含有量が少ない場合でも、チラミンが共存すると食中毒が起こりうる¹⁾。ヒスタミンが主原因の食中毒は毎年のように全国で発生しており、その試験には一般にHPLC法^{2,3)}が用いられている。ところが、この方法は前処理としてクлинаップ及び誘導体化の複雑な操作を伴い、長時間を要する欠点がある。食中毒事件などに即時に対応するためには、より迅速で簡便な試験法が求

められている。このため近年では、前処理が簡便で迅速なキャピラリー電気泳動を利用した分析法^{4,7)}が開発されている。しかし、それらの方法は主にヒスタミンを分析対象としており、チラミンの測定については殆ど検討されていない。そこで我々は、魚肉中のヒスタミン及びチラミンの同時分析にキャピラリー電気泳動法の適用を試みたところ、良好な結果が得られたので報告する。

II 材料と方法

1. 試料

兵庫県神戸市内の小売店で販売されていた生の魚類5種(アジ, カツオ, サバ, イワシ及びマグロ)を用いた。

2. 試薬及び試液

ヒスタミン標準品は和光純薬工業(株)製のヒスタミン(特級)、チラミンは東京化成工業(株)のチラミン塩酸塩(特級)、その他の試薬などは市販の特級品を用いた。ヒスタミン標準品50.0mgを精製水で全量を50mLとし、ヒスタミン標準原液(1mg/mL)とした。チラミン塩酸塩標準品63.3mgを精製水で全

健康科学部

*別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29
兵庫県立健康環境科学研究所センター
健康科学部 祭原ゆかり

量を50mLとし、チラミン標準原液（チラミンとして1mg/mL）とした。各標準原液を精製水で適宜希釈して標準溶液を調製した。

泳動緩衝液はリン酸水素ニナトリウム・12水を精製水に溶かして0.025Mの溶液を作成し、リン酸（原液）を加えてpHを調整した。

精製水はMilli-Q純水製造装置（ミリポア社製）により調製したものを用了。

3. 装置及び測定条件

装置：大塚電子（株）製 CAPI-3300

キャピラリー：内径75 μ m, 長さ80cm（有効長68cm）のヒューズドシリカ管

試料導入：加圧法（5kpa, 3秒）

キャピラリー温度：35 $^{\circ}$ C

印加電圧：25kV（Positive）

検出器：フォトダイオードアレイ（検出波長215nm, 測定可能波長範囲190~600nm）

泳動緩衝液：0.025Mリン酸水素ニナトリウム水溶液をリン酸でpH3.5に調製

キャピラリーのプレコンディショニング：試料注入ごとに0.1M水酸化ナトリウム溶液及び泳動緩衝液で各2分間のフラッシング

4. 試料溶液の調製

試料溶液はトリクロロ酢酸（TCA）を用いる抽出法²⁾で調製した。細切した魚肉5.0gに5% TCA20mLを加え、ホモジナイザーで均一化した後、5% TCAを加えて全量50mLとした。次いで5分間振とうした後、10分間放置し、ろ紙（ADVANTEC, No.5A）を用いてろ過した。ろ液を更にメンブランフィルター（孔径0.45 μ m）でろ過し、試料溶液とした。

5. 定性及び定量

ヒスタミン及びチラミンの定性は、標準溶液及び試料溶液における各成分の移動時間及びUVスペクトル（205~300nm）を比較することにより判定した。定量は標準溶液でのピーク面積を用いて各成分の検量線を作成し、試料溶液中の各濃度を算出した。

III 結果および考察

1. UVスペクトルと測定波長

本法の分析対象物質であるヒスタミン及びチラミンの構造をFig. 1に示した。標準溶液におけるヒスタミンとチラミンの各ピークをフォトダイオードア

レイ検出器で測定したところ、Fig. 2のUVスペクトルが得られた。両成分のUVスペクトルは比較的類似しており、ヒスタミンは212nm付近、チラミンでは225nmと275nm付近に吸収極大が認められた。これより本法での測定波長は、両成分の同時測定に適した215nmを選んだ。

2. 泳動緩衝液 pH の影響

2.1 標準溶液

キャピラリー電気泳動では、各成分の移動時間は泳動緩衝液のpHに依存するため、pHの選択が重要となる。ヒスタミン及びチラミンは塩基性アミンであるため、酸性領域の泳動緩衝液が適している。酸性領域の泳動緩衝液として一般的なリン酸系緩衝液を用いて、標準溶液の測定におけるpHの影響を調べた（Fig. 3）。pHが2.5~5の範囲では、pHの上昇につれてヒスタミンとチラミンの移動時間は短く

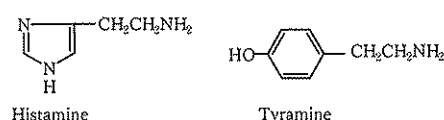


Fig.1 Structures of histamine and tyramine

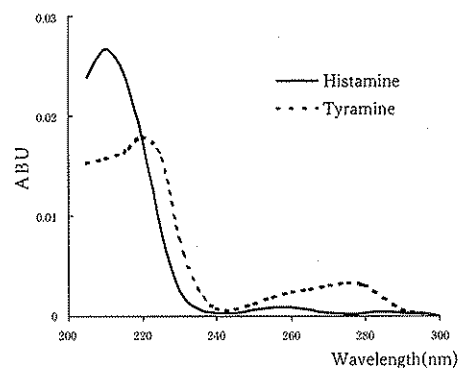


Fig.2 UV spectra of histamine and tyramine
The concentrations of histamine and tyramine were both 50 μ g/mL

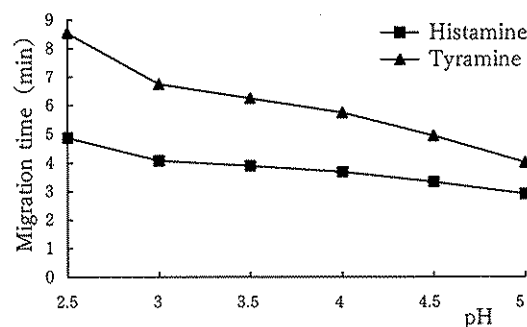


Fig.3 Effects of buffer pH on migration time

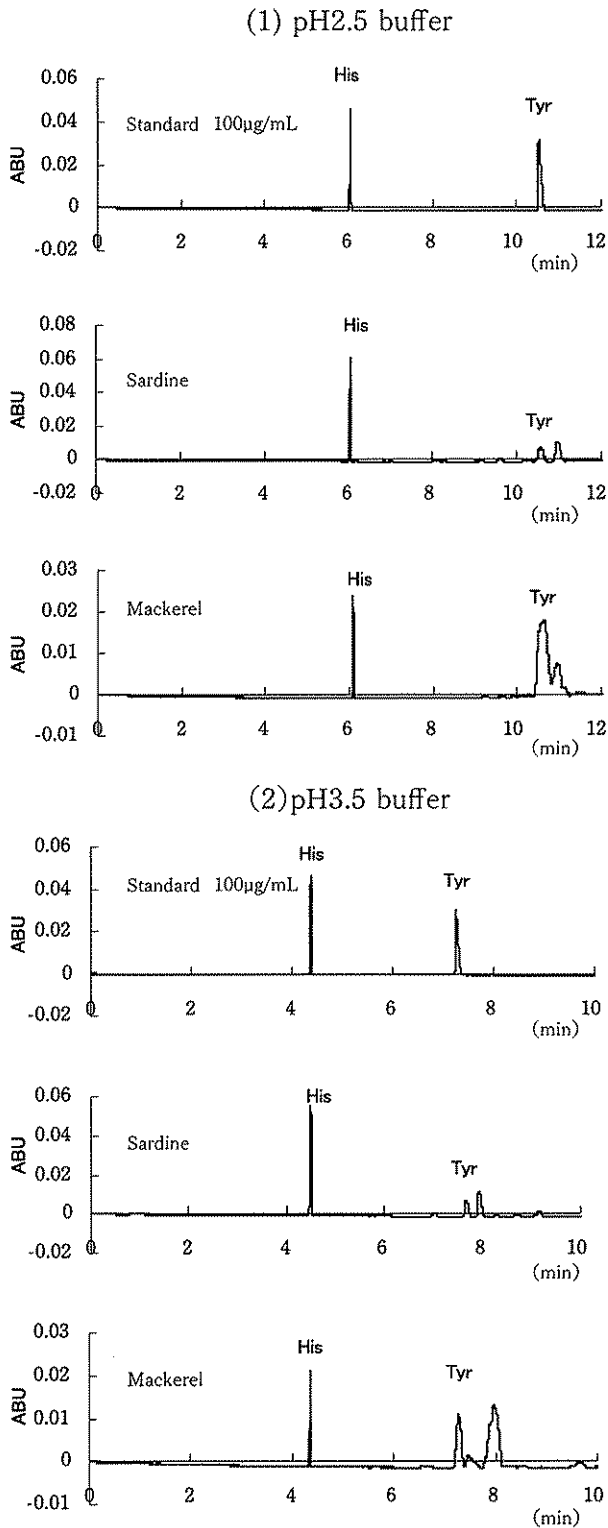


Fig.4 Electropherograms of standard and fish samples (pH 2.5, 3.5)
 His : Histamine, Tyr : Tyramine.
 Fish samples were preserved for 3 days at 35°C.
 Capillary : Fused silica tube , 80cm × 75µm id.
 Voltage : positive 25kV, Detection : 215nm
 Running buffer : 25mM phosphate buffer (pH 2.5 and 3.5)

なり、両者の移動時間の差も小さくなった。なお、酸性領域の泳動緩衝液中ではチラミンは1価、またヒスタミンは2価の陽イオンの状態となり得るため⁴⁾、陰極側の検出器にはヒスタミン、チラミンの順で到達する。

2.2 試料溶液

5種魚肉（アジ、カツオ、サバ、イワシ及びマグロ）の試料溶液について pH の影響を調べた結果、pH の値によっては問題点が認められた。泳動緩衝液の pH が 4.0 以上では、試料成分の凝固が原因と考えられるキャピラリーの詰まり現象が頻繁に起こった。また pH が 2.5 程度と低い場合、イワシ以外の 4 魚種ではチラミンの測定に妨害が認められた。標準溶液とイワシ及びサバの試料溶液の測定例を Fig. 4 に示した。pH2.5 の場合、イワシではチラミンのピークがほぼ分離していたのに対して、サバなど 4 魚種ではチラミンのピークに試料成分のピークが重なった。チラミンと重なる試料成分は不明であるが、移動時間が比較的短いことから、正に荷電している成分と推定される。一方、pH を 3.5 に上げることにより、全ての魚種でチラミンと試料成分のピークの重なりが解消された。これより、本法の泳動緩衝液 pH を 3.5 とした。なお、測定時間をさらに長くすると試料成分の他のピークが幾つか現われるが、分析時間を短縮するため測定時間は 10 分間とし、キャピラリー内の溶液を強制的に排出した。

3. 検量線

ヒスタミン及びチラミンそれぞれ 5 ~ 50 µg/mL の範囲で検量線を作成したところ (Fig. 5), 良好な直線性を示した。相関係数はヒスタミン及びチラミン共に 0.998 であった。

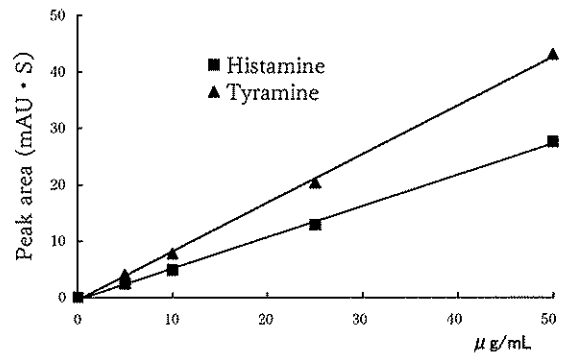


Fig.5 Calibration curves for histamine and tyramine

4. 添加回収実験

ヒスタミン及びチラミンを含まないことを確認した魚肉（アジ）5gに、ヒスタミン及びチラミンを試料濃度が各10.0mg/100gになるよう添加し、本法に従って操作して回収率（各5試行）を求めた。それぞれの回収率は102 ± 2.6%及び101 ± 2.0%と良好な値であった。なお、本法の定量下限値はヒスタミン及びチラミン共に1.0mg/100gであり、HPLC法²⁾の5.0mg/100g及び2.0mg/100gと比較して高感度な測定が可能であった。

5. HPLC法との比較

イワシ及びアジを室温で5日間放置したものを試料とし、本法とHPLC法²⁾で測定し、その測定値を比較した（Table 1）。本法とHPLC法の測定結果は、ほぼ一致しており本法の信頼性が確認された。

6. 魚肉中のヒスタミン及びチラミン含有量の測定

5種魚肉をミンチ状にしたものを35°Cの恒温槽の中で保存し、0~4日間のヒスタミン及びチラミン含有量の経時変化を本法により測定した（Table 2）。いずれの試料においても、抽出及びろ過操作の簡単な前処理で両成分の定量が可能であった。ヒスタミ

ンについては、全ての魚種で含有量が増加し、特にカツオは顕著であり3日後に1,000mg/100gを超過した。その含有量は最大値となった後、減少する傾向が3試料で認められた。試料である5種の魚類は赤身魚に分類され、ヒスタミンの前駆物質であるヒスチジンの含有量が多く、高濃度のヒスタミンが産出されやすいことが報告されている⁸⁾。なお、魚肉中のヒスタミン含有量が100mg/100gを超えると食中毒の危険性が高くなる²⁾。

チラミンは、含有量増加の程度がヒスタミンと比べて小さく、全ての試料で100mg/100gを超えるものはなかった。またマグロでは4日後においても、その生成が認められなかった。チラミンもヒスタミンと同様に魚種による生成量の違いが大きいと報告⁹⁾されているが、今回の調査でも同様の傾向であった。ヒスタミンやチラミンは細菌の作用により産出されるため²⁾、試料に当初付着していた細菌の種類や量などが保存後の増加量に大きく影響すると考えられる。

IV 要 旨

1. pH3.5のリン酸泳動緩衝液を用いることにより、魚肉中のヒスタミン及びチラミンの同時測定が

Table 1 Comparative results of histamine and tyramine contents in fish samples by capillary electrophoresis(CE) and HPLC methods²⁾

Sample*	(mg/100g)			
	Histamine		Tyramine	
	CE method	HPLC method	CE method	HPLC method
Sardine (iwashi)	403 ± 23	389 ± 41	65.9 ± 1.5	69.6 ± 5.4
Horse mackerel (aji)	67.0 ± 2.2	68.7 ± 3.9	38.2 ± 2.4	36.9 ± 4.7

* Fish samples were preserved for 5 days at room temperature.

Datas are expressed as means ± SD for 3 trials.

Table 2 Change of histamine and tyramine contents of fish samples with time

Period (day)	(mg/100g)									
	Horse mackerel (aji)		Bonito (katsuo)		Mackerel (saba)		Sardine (iwashi)		Tuna (maguro)	
	His.	Tyr.	His.	Tyr.	His.	Tyr.	His.	Tyr.	His.	Tyr.
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	ND	ND	31	ND	157	ND	381	37	334	ND
2	25	12	847	ND	183	69	328	46	564	ND
3	84	39	1,120	15	38	65	292	64	563	ND
4	68	44	1,200	18	64	68	288	81	529	ND

ND : < 1.0mg/100g, His : Histamine, Tyr : Tyramine.

Samples were preserved at 35°C.

可能になった。本法でのヒスタミン及びチラミンの添加回収率は、ほぼ100%と良好な値であった。また定量下限値は、共に1.0mg/100gであり、HPLC法(5.0mg/100g及び2.0mg/100g)よりも高い感度を有していた。

2. 本法は、クリンアップや誘導体化などの前処理の操作が不要であり、簡便で迅速であった。特に食中毒事件など、試験結果が早急に求められる場合には有効に適用できると考えられる。

文 献

- 1) 細貝祐太郎, 松本昌雄監修: 食品安全セミナー1, 食中毒, p.216-227, 中央法規出版, 東京 (2001)
- 2) 日本薬学会: 衛生試験法・注解, p.180-181, 金原出版, 東京 (2005)
- 3) 樋田俊英, 後藤成一, 局 伸男, 金並和重, 曾根聡子, 神田尚徳: 高速液体クロマトグラフィーによる魚介類加工品中のヒスタミンの定量. 大分県衛生環境研究センター年報, 27,60-61 (1999)
- 4) Mopper, B., Sciacchitano, J.C.: Capillary zone electrophoretic determination of histamine in fish. J. AOAC Int., 77, 841-884 (1994)
- 5) Liao, W., Paek, H., Mabuni, C., Amgold, S. and Soliman, M.: Use of capillary electrophoresis with UV detection as a screening method to determine histamine in fish samples. J. Chromatogr. A, 853, 541-544 (1999)
- 6) 中嶋昌徳, 杉山明子: キャピラリー電気泳動を利用した魚介類中のヒスタミン迅速分析法について. 食衛誌, 40, 285-290 (1999)
- 7) 青山幸二, 小野雄造, 石黒瑛一: キャピラリー電気泳動による魚粉中ヒスタミンの定量. 飼料研究報告, 28, 51-58 (2003)
- 8) 長橋照子, 小澤 茂, 関口恭一: マグロにおける不揮発性腐敗アミン類の消長. 群馬県衛環研年報, 28, 73-77 (1996)
- 9) 鈴木 裕, 泉 広栄, 泉 紀子, 大西孝司, 四月朔日富司子: 魚介加工品中のヒスタミン含量とその保存中変化及び調理加熱による影響. 石川衛公研年報, 25, 292-300 (1988)

GC/MS を用いたジイソプロピルナフタレンの高感度測定法の開発

鈴木元治* 松村千里 中野 武

Development of High Sensitive Analytical Method for Diisopropylnaphthalene by GC/MS

Motoharu SUZUKI*, Chisato MATSUMURA and Takeshi NAKANO

Environmental Safety Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 3-1-27 Yukihira-cho, Suma-ku, Kobe, 654-0037, Japan

High sensitive analytical method for Diisopropylnaphthalene (DIPN) was developed by GC/MS. Contamination of DIPN was minimized due to the reduction of instruments and analysis time in pre-treatment. Detection limit and quantitation limit of this method were 0.71ng/L and 1.8ng/L. From this method, 8 isomers of DIPN were assigned and approximately ten times higher sensitivity than previous methods was obtained. This method was suitable for the analysis of DIPN in environmental water samples.

I はじめに

ジイソプロピルナフタレン (DIPN) は、ナフタレンの2つの水素原子がイソプロピル基に置換された構造をしており (Fig.1), ポリ塩化ビフェニル (PCB) の代替品として1970年頃からインク溶剤や熱媒体油など様々な分野で使用されている。しかしながらDIPNは、難分解性かつ高蓄積性であるため^{1, 2)}, 2004年には化学物質審査規制法 (化審法) の第一種監視化学物質に指定された。日本での2004年度のDIPNの製造・輸入・使用量は608トンである。

DIPNには各種の生体影響があり、魚類に対する急性毒性は、OECD分類基準ではtoxicに相当する (ヒメダカに対するLC₅₀が4.3mg/L)。また、慢性影響として実験動物の肝臓肥大化や染色体異常の誘発などが報告されている³⁾。このようなことから、DIPNの健康や環境への影響が懸念されており、DIPNの汚染状況を把握することが求められている。

DIPNの環境調査は、環境省により1975年、1977年及び1980年に全国の水質、底質及び魚類を対象として行われた⁴⁾。当時の調査結果では、他府県の一部の底質及び魚類からそれぞれ1.9~190ng/g及び0.52~48ng/g検出され、兵庫県の測定地点であった姫路沖の水質、底質及び魚類からは全て検出されなかった。また、すべての地域の水試料からはDIPNが検出されなかった。当時の水試料に対する測定下限は10ng/L程度であり、環境水中のDIPNの動態を詳細に把握するためには更に高感度の測定方法が必要であった。また、当時の測定条件ではDIPNの異性体を十分に同定することができなかった^{4, 6)}。

そこで、今回はガスクロマトグラフ質量分析器 (GC/MS) を用いて、環境水中の極めて低濃度で存在するDIPNに対して検出可能な測定感度を持ち、異性体をすべて同定できるDIPNの測定方法の開発を試みた。

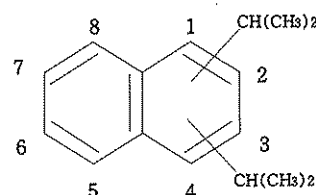


Fig.1 Constitutional formula of DIPN

安全科学部

* 別刷請求先: 〒654-0037 神戸市須磨区平町 3-1-27
兵庫県立健康環境科学研究所
安全科学部 鈴木 元治

II 方 法

1. DIPN の標準および試薬

DIPN の標準液は、工業用の高純度 DIPN 原液をヘキサン溶媒に希釈して作成した。DIPN の異性体別の標準液は、Table1 に示したものを、それぞれヘキサン溶媒に希釈して作成した。2,6-DIPN 及び 2,7-DIPN の標準は東京化成より購入し、その他は Dr.Robert. Brzozowski (ICRI) 及び杉 義弘博士 (岐阜大学) から提供頂いた。

ヘキサン、ジクロロメタン (DCM) 及びアセトン は、残留農薬・PCB 試験用 (5000 倍濃縮) を用いた。塩化ナトリウム及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験用を用いた。硫酸 (>95%) は、試薬特級を用いた。これらは、すべて和光純薬より購入した。精製水は、純水装置 Elix の純水 (> 3MQ・cm) (Millipore 社) をヘキサン振とうにより不純物を更に除去して用いた。

固相吸着剤の検討には、Envi-18 及び Florisil (500mg in 8mL Glass Tube, SPELCO), PS2, C18 及び PS-Air (Sep-Pak Plus, Waters), C18 粉末 (BONDESIL) を用いた。

2. 使用機器

振とう器は、SR-2w (TAITEC 社) を用いた。濃縮器は EYEL4 (TOKYO RIKAKIKAI 社), Syncore (BUCHI 社), ターボバップ LV 及び II (Zymark 社) を用いた。ガスクロマトグラフ (GC) は、HP5890 (Agilent 社), 質量分析器 (MS) は JMS-AM II 150 (JEOL 社) を用いた。カラムは、Table2 に示した 3 本のカラムを検討した。

3. GC/MS の測定条件及び測定手順

GC/MS の測定条件は 剣持ら⁵⁾ を参考に、Table3 のように設定した。DIPN の定量は、すべての異性体の合計面積と内標準 (HCB-¹³C₆) との面積比から求めた。定量イオンは m/z 212 とした。

測定方法の基本手順は Fig.2 に示した。Fig.2 におけるヘキサン抽出とは、以下の操作をいう。すなわち、試料水 1L を採取した 1L 試薬瓶に直接ヘキサン 10mL を添加し、振とう器に逆さまにセットして 10 分間振とうする。静置後に精製水を加えることでヘキサン層を瓶口まで上昇させ、パスツールピペットでヘキサン層を分取する。

4. 検出下限、定量下限及び添加回収試験

検出下限 (MDL), 定量下限 (MQL) 及び添加回収試験の方法は、環境省の「化学物質環境実態調査の手引き (平成 17 年 3 月)」に従った。MDL 及び MQL は、精製水 1L に DIPN1ng を添加し、7 回測定した結果の標準偏差より求めた。添加回収試験は、精製水、河川水及び海水それぞれ 1L に DIPN10ng 及び 20ng を添加して 3 回測定し、その回収率を求めた。

5. 環境水試料の測定

姫路沖、揖保川及び神戸市の都市河川である妙法寺川から試料水 1L を採取し、Fig.2 に従って測定した。

Table 1 Standards of DIPN isomers

pure	2,6-DIPN	>99%
pure	2,7-DIPN	>95%
pure	1,3-DIPN	99.5%
pure	1,5-DIPN	99.1%
mixture1	1,3-DIPN	57%
	1,7-DIPN	40%
mixture2	1,3-DIPN	2.0%
	1,7-DIPN	2.7%
	2,3-DIPN+X	0.4%
	2,6-DIPN	31.9%
	2,7-DIPN	43.8%
	1,6-DIPN	15.8%
	1,4-DIPN	1.5%
	1,5-DIPN	1.9%

Table 2 Columns for peak isolation of DIPN isomers

Column	Liquid phase	Film thickness (µm)	Bore size (mm) × length (m)
Wax-10 (Supelco)	Polyethyleneglycol (polar)	0.25	0.32 × 30
Ultra-2 (Agilent)	5% difenylsiloxane (non-polar)	0.33	0.2 × 25
Equity-5 (Supelco)	5% difenylsiloxane (non-polar)	0.25	0.25 × 30

Table 3 Operating conditions of GC/MS

GC:HP-5890 II / MS:JMS-AM II	
Inj. mode: Splitless (Purge 1.5min)	
Inj. temp.: 270 °C	Inj. volume: 2 µL
Carrier gas: Helium (1.5mL/min)	
Ion source temp.: 210°C	Interface temp.: 240°C
Ionization: 70eV, 300 µA	
Detection mode: SIM	
Oven:	
50°C (1min) → 20°C/min → 100°C → 5°C/min → 210°C → 20°C/min → 270°C (1min)	

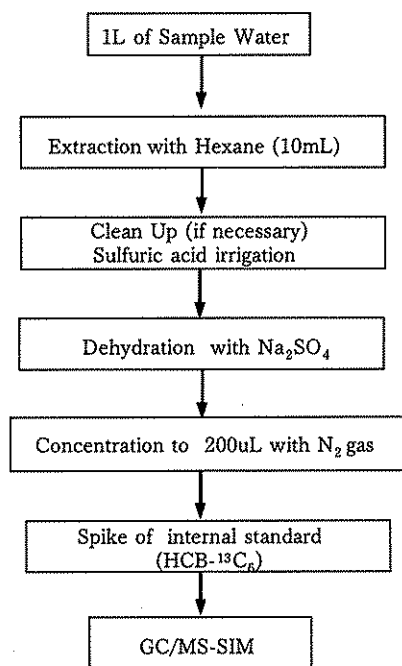


Fig.2 Sample preparation method for DIPN analysis.

III 結果及び考察

1. 異性体の分離及び同定

DIPNには構造上10種の異性体が存在する。1,2-DIPN及び1,8-DIPNの存在割合は、イソプロピル基の立体障害により他の異性体に比べて特に低い⁷⁾。そのため、それらを除く8種の異性体の分離及び同定を検討した。

最初に、異性体ピークの変離に適したカラムの選別について検討した。用いたカラムは、高極性カラムとしてWax-10、低極性カラムとしてUltra-2及びEquity-5であり、詳細はTable3に示した。Ultra-2及びEquity-5は膜厚が異なり、それぞれ0.33 μm 及び0.25 μm である。Wax-10の膜厚はEquity-5と同じく0.25 μm である。それぞれのカラムを用いてDIPN標準液100 $\mu\text{g/L}$ を測定した。

Fig.3にそれぞれのカラムにより測定したクロマトグラムを示す。Wax-10及びUltra-2では異性体ピークがそれぞれ8本検出された。しかし、Ultra-2ではピークのリーディング及び重なりが生じた。Ultra-2と同じ極性であるEquity-5では、ピークの著しい重なりによってピークが6本しか検出されず、膜厚の薄いものでもピークの重なりは改善しなかった。DIPNは $\log\text{Pow}4.90^8)$ であり、極性が低いため、これまでDIPNの測定には極性の低いカラムが用いられていた⁴⁻⁶⁾。しかしながら、本測定条件により異性体ピークを良好に分離できたのはWax-10であり、他

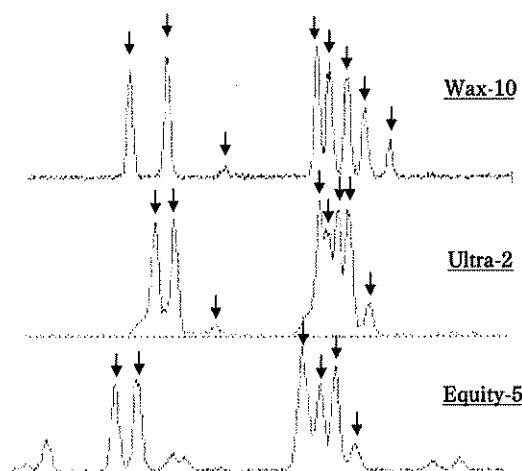


Fig.3 Separated DIPN isomer peaks by columns.

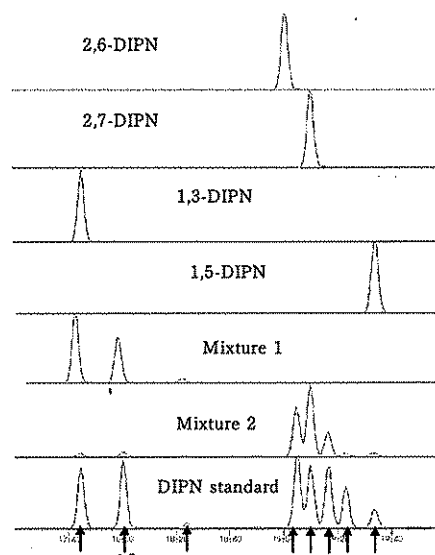


Fig.4 Chromatogram of DIPN isomers

のカラムよりも極性の高いカラムであった。このことは、Brzozowskiらの結果と一致した^{9,10)}。これらの結果から、カラムにはWax-10を用いることとした。

次に、DIPNの異性体ピークを同定するため、Table1に示した異性体別の標準液をそれぞれ測定した。クロマトグラムをそれぞれFig.4に示す。純度の高い2,6-, 1,3-及び1,5-DIPN標準液の検出強度は、同じ濃度ではほぼ同じであり、本測定条件でのDIPNの異性体の感度は同じことが分かった。これらの標準液の測定により、DIPN標準液の8つの異性体ピークは、保持時間の早い順から1,3, 1,7, 2,3, 2,6, 2,7, 1,6, 1,4及び1,5-DIPNと同定した。ただし、2,3-DIPNについてはBrzozowskiら^{9,11)}を参考に同定した。本条件によって1,2-及び1,8-DIPN以外の存在割合の高いすべての異性体を同定することができた。

2. 固相吸着剤における DIPN のコンタミネーション

試料の前処理として、固相抽出方法の検討を試みたが、固相吸着剤に DIPN のコンタミネーションが認められた。Table4 に検討に用いた吸着剤中のコンタミネーション量を示す。ガラスチューブやカートリッジに固相吸着剤が詰められているタイプでは、吸着剤の種類に関わらずコンタミネーション量は多かった。C18 カートリッジを C18 粉末と容器に分解して、それぞれに含まれる DIPN をヘキサンで抽出し測定した。その結果、粉末及び容器ともに DIPN が検出され、C18 粉末のコンタミネーション量は特に多いことが分かった。このことから、製造の過程で吸着剤に DIPN が吸着されていることが考えられた。

検討した6種すべての吸着剤からコンタミネーションが確認され、これらは DCM やアセトンを用いて洗浄してもすべて取り除くことは出来なかった。そのため、固相抽出方法は前処理には不適とし、溶媒抽出法を選択した。

3. バックグラウンドの低減の検討

DIPN の測定感度を上げるには、DIPN のバックグラウンドの低減が必要であった。そこで、溶媒抽出法におけるバックグラウンドの低減を検討した。検討した項目は、試料量（精製水 1, 2 及び 3L）、溶媒（ヘキサン、ジクロロメタン）、抽出容器（分液ロート、1L 試薬瓶）、溶媒量（10, 50, 100, 150mL）及び濃縮方法（窒素吹付け、真空気化）である。検討した項目以外はすべて Fig.2 の通りとした。また、クリーンアップには最もコンタミネーションの少ないと考えられる硫酸洗浄を行った。

結果を Table5 に示す。最もコンタミネーションが少なかったのは 1L 試薬瓶を用いる方法であった。そのバックグラウンドは、クリーンアップを行わない場合では 0.1 ± 0.1 ng であり、行った場合でも 0.6 ± 0.2 ng であった。この方法は当センター独自の方法であり、検討した中で処理行程が最も短く、使用器具及び溶媒量が最も少なかった。コンタミネーションの増加の原因は、別報¹²⁾ に示すようにラボ内のあらゆる場所に付着している微量の DIPN との接触頻度の増加によるものと考えられる。

また、DIPN は疎水性が高いため、採水した瓶の壁に DIPN が付着残留しやすい。1L 試薬瓶に精製水 1L を入れ DIPN を 1.5ng を添加して実験した結果では、瓶の内壁に DIPN が約 40% 残留した。そのため、採水瓶から抽出器具に試料水を移し変えると、採水瓶の壁を洗浄するための溶媒が更に必要となる。

Table 4 Contamination of DIPN in solid phase adsorbent.

Solid phase adsorbent		Contamination* (ngDIPN)
Envi-18	500mg in 6mL Glass Tube (SUPELCO)	1000
Florisil	500mg in 6mL Glass Tube (SUPELCO)	100
PS2	Sep-Pak Plus(Waters)	10~100
C18	Sep-Pak Plus(Waters)	10
PS-Air	Sep-Pak Plus(Waters)	10~100
C18 adsorbent	1g (BONDESIL)	1

*order of magnitude

Table 5 Contamination of DIPN in pre-treatment.

Extraction vessel	Solvent	Solvent volume(ml)	Concentration method	Sample volume(L)	DIPN (ng)	N (times)
1L glass bottle	Hexane	10	N ₂ blowing	1	0.1±0.1	3
				1	0.6±0.2*	4
			100+50**	N ₂ blowing	1	2.4±0.6
Separating funnel	Hexane	50	evaporation	2	1.8	1
				3	2.2±0.9	2
	DCM	100+50**	N ₂ blowing	1	2.3	1
				50+50**	evaporation	1

*with clean up

** The sample is extracted twice.

以上のことから、前処理には 1L 試薬瓶を用いたヘキサン抽出法を選択し、試料を他の容器に移しかえずに抽出を行うこととした。

4. 検出下限、定量下限及び回収率

検出下限値 (MDL) 及び添加回収試験の結果を Table6 及び Table7 に示す。回収率は、いずれの水試料においても 90% 以上であり、良好であった。クリーンアップなしの MDL は 0.28ng/L となり、クリーンアップありの MDL は 0.71ng/L となった。一般的に、夾雑物を取り除くためにクリーンアップは必要であるが、明らかにきれいな試料水に対してはクリーンアップを行わないほうが DIPN のコンタミネーションが少ないため、高い測定感度を得られた。クリーンアップを行った場合でも本法の測定感度は従来法^{4,6)} の 10 倍以上であった。

5. 環境水試料への適用

開発した測定方法を海水及び河川水試料に適用し、DIPN を測定した。海水試料は姫路沖から採取し、河川水試料は揖保川及び妙法寺川から採取した。それぞれの水試料中の DIPN のクロマトグラムを Fig.5 に示す。なお、ここでは水試料に対する本測定方法の適正をみるための結果のみを示しており、地点の汚染状態などの考察については、別報¹²⁾ に示すこととする。

姫路沖の海水からは、DIPN が trace レベルで検出

Table 6 MDL and MQL of DIPN.

	with clean up	
sample(L)	1.0	1.0
concentration(ng/L)	1.0	1.0
Blank	0.24	0.35
result1	0.87	1.4
result2	0.94	1.4
result3	0.91	1.1
result4	0.72	1.3
result5	0.83	1.7
result6	0.87	1.4
result7	0.83	1.2
AVE. (ng/L)	0.85	1.4
STDEV (ng/L)	0.07	0.18
MDL (ng/L)*	0.28	0.71
MQL (ng/L)**	0.72	1.8
CV (%)	8.4	13

$$*MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

$$**MQL = \sigma_{n-1} \times 10$$

Table 7 Recovery of DIPN Analysis.

Sample	DIPN Amount (ng)	Times	Conc. in vial (μ g/L)	Recovery (%)	STDEV (%)
Distilled water	-	1	trace	-	-
	10	3	58.0	116	1.4
Sea water	-	1	3.97	-	-
	10	3	55.5	111	14
River water	-	2	5.33	-	-
	20	3	91.5	91.5	11.4

された。揖保川の河川水からは、DIPN が 1.8ng/L 検出された。妙法寺川下流の河川水は 4 回測定し、そのうち 1 回のみ DIPN が 2.1ng/L 検出され、残りは trace レベルで検出された。Fig.5 には、DIPN が 2.1ng/L 検出された試料のクロマトグラムを示した。これらの結果から、本測定方法によって今までの測定方法では検出することができなかった水試料中の極微量の DIPN を測定することが可能となった。

妙法寺川の河川水の検出濃度にばらつきがみられたのは、妙法寺川の河川水は他の水試料に比べてにごりや浮遊物が多かったためと考えられる。生物や底質には、DIPN が 0.1 ~ 100ng/g のオーダーで存在することが報告されているため⁹⁾、それらの混入が検出濃度に影響すると考えられる。そのため、SS の多い水試料を測定するには注意が必要である。

また、姫路沖の海水からは妨害ピークが検出された。この妨害ピークは、2,7-DIPN の保持時間あたりに検出され、スキャンモードで測定すると、そのマススペクトルから DIPN ではない別の炭化水素であることが分かった。妨害ピークを排除するため、いくつかの検討を行ったが、現在のところ、妨害ピークの由来源も特定できていない。そのため、このような妨害ピークを排除することが今後の課題である。

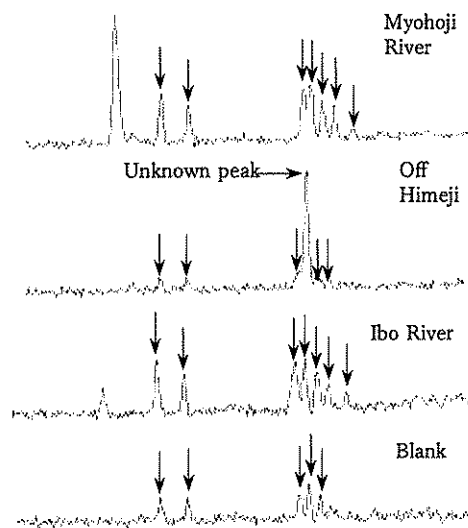


Fig.5 DIPN Chromatograms for River water and Sea water samples.

IV まとめ

GC/MS を用いて環境水中の DIPN の測定方法を検討した。キャピラリーカラムに PEG 製の Wax-10 を用いることにより、DIPN の存在割合の高い 8 種の異性体をすべて同定し、定量することができた。前処理として、採水した瓶内で少量のヘキサン (10mL) により抽出することで、DIPN のコンタミネーションを最小限にした。検出下限は 0.71ng/L となり、従来法の 10 倍以上の感度を得た。本測定方法は、水試料中の DIPN の測定に有用であると考えられた。

謝辞

本研究にあたり、測定方法の開発に協力頂きました環境省の関係者の方々、標準試料を提供頂きました Dr. Robert. Brzozowski (Industrial Chemistry Research Institute) 及び杉 義弘教授 (岐阜大学) に感謝いたします。

文献

- 1) 羽賀孝英, 尾崎邦雄: 化学物質の水中における微生物分解性試験. 新潟県公害研究所研究報告, 9, 50-53 (1984)
- 2) 通産省化学品安全課監修, 化学品検査協会編, 化審法の既存化学物質安全性点検データ集, 日本化学物質安全・情報センター (1992)
- 3) 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質対策室監修, 平成 9 年度既存化学物質安全性点検結果 (概要) Vol.7

- 4) 環境庁環境保健部環境安全課監修, 化学物質と環境 (1980)
- 5) 平成9年度 化学物質分析法開発調査報告書, 環境庁 環境保健部 環境安全課, 176 (1998)
- 6) 児玉剛則: 水中のジイソプロピルナフタレンの分析. 愛知県公害調査センター所報, No.9, 34-39 (1981)
- 7) Brzozowski, R., Dobrowolski, J., Jamroz, M. H., Skupinski, W. : Studies on diisopropylnaphthalene substitutional isomerism. *Journal of Molecular Catalysis A*, Chemical 170 (2001).
- 8) Hazardous Substances Data Bank (HSDB) , U.S.National Library Medicine (1996)
- 9) Brzozowski, R., Skupinski, W., Jamroz, H., M., Skarzynski, M., Otwinowska, H. : Isolation and identification of diisopropylnaphthalene isomers in the alkylation products of naphthalene. *Journal of Chromatography A*, 946 (2002).
- 10) Brzozowski, R. : Shape-selectivity in diisopropylnaphthalene synthesis or analytical error? *Appl Catal A Gen.*, Vol.272, 1/2 215-218 (2004)
- 11) Jamroz, M. H., Brzozowski, R., Dobrowolski, J. C., : Search for IR spectral features of less-abundant diisopropylnaphthalenes based on comparison of theoretical and experimental spectra. *Spectrochim Acta PtA.*, Vol. 60A, 1/2, 371-375 (2004)
- 12) 鈴木元治, 松村千里, 中野武: GC/MS を用いた環境中のイソプロピルナフタレン類及びメチルナフタレン類の測定. 兵庫県立健康環境科学研究所センター紀要第3号, (2006) (投稿中)

GC/MS を用いた環境中のイソプロピルナフタレン類およびメチルナフタレン類の測定

鈴木元治* 松村千里 中野 武

Measurement of Isopropyl naphthalenes and Methyl naphthalenes in the Environment by GC/MS

Motoharu SUZUKI*, Chisato MATSUMURA and Takeshi NAKANO

*Environmental Safety Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and
Environmental Sciences, 3-1-27 Yukihira-cho, Suma-ku, Kobe, 654-0037, Japan*

Homologues of Methyl naphthalenes (MeNs) and Isopropyl naphthalenes (IPNs) including Diisopropyl naphthalene (DIPN) in the environment were analyzed using originally developed GC/MS method. Homologue proportion of MeNs was almost same each other among the sediment, fish and air samples. Concentration levels of MeNs were lower than those in the previous surveys. In IPNs, DIPN was detected mainly in the environmental samples. From the survey of Ibo river, one of loading sources for DIPN was speculated to be the wastewater containing the ink of newspaper from paper recycling factory.

I はじめに

ジイソプロピルナフタレン (DIPN) は、PCB の代替品として、1973 年頃からインク溶剤や熱媒体など、様々な用途で使用されてきたが、難分解性かつ高蓄積性であることから^{1, 2)}、健康や環境への影響が懸念されている。DIPN の環境調査は、1970 年後半に計 3 回行われており³⁾、一部の地域の底質及び魚類から DIPN の汚染が確認されている。DIPN の主な汚染源は古紙再生工場と言われているが、その調査例は少ない^{4, 5)}。

PCB 代替品には、DIPN の他にもイソプロピルナフタレン (MIPN) 及びトリイソプロピルナフタレン (TIPN) が使用されている。DIPN を含めたこれらのイソプロピルナフタレン類 (IPN 類) は、芳香族炭化水素 (PAHs) の一種であり、それぞれの構造は Fig.1 に示すとおりである。TIPN は、DIPN と同様

に難分解性かつ高蓄積性であり、MIPN も同じような性質をもっている。しかしながら、これら IPN 類の環境中の動態はほとんど知られておらず、TIPN はその測定方法も報告されていないのが現状である。

一方、同じナフタレン系の PAHs のひとつに、メチルナフタレン類 (MeN 類) がある。MeN 類には、メチルナフタレン (MeN)、ジメチルナフタレン (DMeN) 及びトリメチルナフタレン (TMeN) があり、それぞれの構造は Fig.2 に示すとおりである。MeN 類もまた様々な用途で使用されている。しかし、MeN 類は石油類にも含まれており、それらの燃焼による大気拡散があるため、IPN 類とは環境中の動態が異なっていると考えられる。MeN 及び DMeN は、1985 年及び 1999 年に各地の水質、底質⁶⁾ 及び大気⁷⁾ から検出されており、定期的な環境調査が求められている。これらのことから、当センターでは 2006 年に環境水を対象とした DIPN の高感度の測定方法を開発した⁸⁾。そこで、開発した DIPN の測定方法を IPN 類および MeN 類に適用し、兵庫県における河川水、海水、底質、生物および大気中の IPN 類および MeN 類を調査した。また、IPN 類については、古紙再生工場による汚染状況を揖保川を対象に調査した。

安全科学部

* 別刷請求先：〒654-0037 神戸市須磨区行平町 3-1-27
兵庫県立健康環境科学研究所センター
安全科学部 鈴木 元治

II 方 法

1. 試薬

MIPN, DIPN 及び TIPN の標準液は, それぞれ工業用の原液をヘキサン溶媒に希釈して作成した. MeN, DMeN 及び TMeN の標準液は, 東京化成より購入した異性体別の標準液をそれぞれヘキサンにより希釈し, 混合して用いた. ただし, TMeN は入手可能であった 1,4,5-TMeN, 2,3,5-TMeN 及び 2,4,5-TMeN のみを用いた. ヘキサン及びアセトンは, 残留農薬・PCB 試験用 (5000 倍濃縮), 塩化ナトリウム及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験用, 硫酸 (>95%) は試薬特級をそれぞれ和光純薬より購入した. 精製水は, 純水装置 Elix の純水 (>3MQ・cm) (Millipore 社) をヘキサン振とうにより精製したものをを用いた.

2. 試料の採取

調査対象は, 河川水, 海水, 大気, 底質, 生物および市販の新聞紙とした. 試料を採取した地点を Fig.3 に示す. 河川水試料として, 2006 年 5 月に揖保川の 3 つの地点 (地点 A, 地点 B 及び地点 C) から河川水 1 L を採取した. 地点 A は, 揖保川の河口から約 10km 上流にある. 地点 B は, 古紙再生工場からの排水がある排水路にあり, この排水路は地点 A の約 2km 下流で揖保川と合流している. 地点 C は, その合流地点から約 1.5km 下流にある. 海水試料として, 2005 年 10 月に姫路沖から海水 1 L を採取した.

底質試料として, 2006 年 3 月に揖保川の地点 A (底質 A) と地点 A から約 6km 下流の地点 D (底質 D) から底質を採取し, それぞれ湿泥 20g を試料とした. 生物試料として, 数年前に姫路沖より採取して冷凍保存していた数匹のスズキの身を混合し, 20g を試料とした. 大気試料として, 2006 年 4 月に当センターの建物内及び屋上の大気をエアポンプにより約 3 日間, 計 13.0 ~ 15.3m³ 吸引し, 固相吸着カートリッジ PS-Air に対象物質を吸着させた. PS-Air は, あらかじめアセトンでよく洗浄後, 真空乾燥させた後に用いた.

また, 新聞紙については市販されて数日経過した新聞紙の 1 面の 1/8 (1.2g) を細かく切断して試料とした.

3. 試料の前処理

河川水及び海水については別報⁸⁾に従った. 底質, 生物及び新聞紙は, 剣持ら⁹⁾を参考にして, KOH/

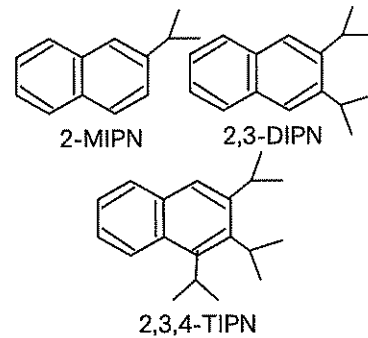


Fig.1 Constitutional formula of IPNs (MIPN, DIPN and TIPN) .

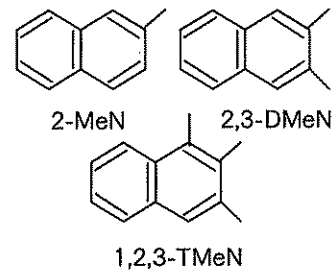


Fig.2 Constitutional formula of MeNs (MeN, DMeN and TMeN) .

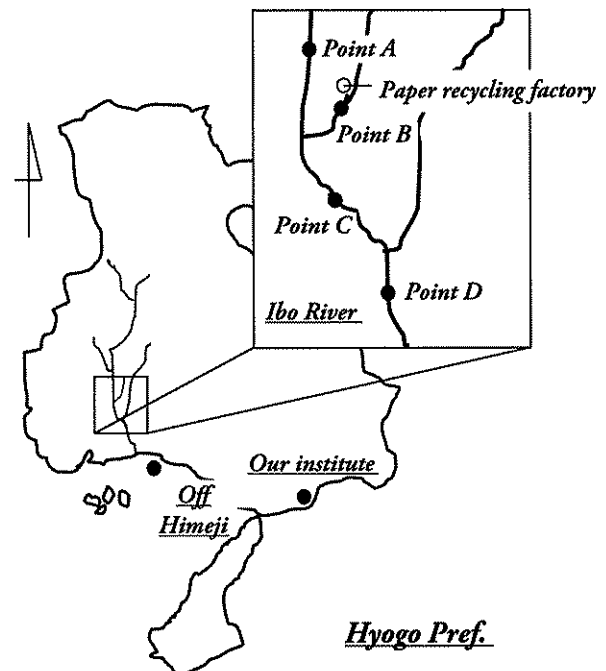


Fig.3 Map of sampling points.

MeOHにより約12時間アルカリ分解した。分解中は、試料を入れたコニカルピーカーをアルミ箔により遮光した。抽出液をヘキサンに転溶し濃縮後、5%含水シリカゲルによりクリーンアップを行った。大気試料は、PS-Airからジクロロメタン10 mLにより抽出した。

4. GC/MSの測定条件

ガスクロマトグラフ (GC) には HP5890 (Agilent 社), 質量分析器 (MS) には JMS-AMII150 (JEOL 社) を用いた。カラムは, Supelcowax-10 (0.32mm × 30m, 0.25 μ m; Supelco 社) を用いた。GC/MS の測定条件は別報⁸⁾に従った。定量は, それぞれ全ての異性体の合計面積と内標準 (HCB-¹³C₆) の面積の比から求めた。MIPN, DIPN 及び TIPN, MeN, DMeN 及び TMeN の定量イオンをそれぞれ m/z 170, 212, 256, 142, 156 及び 170 とした。

III 結果及び考察

1. IPN 類および MeN 類の異性体ピークの同定

IPN 類及び MeN 類の混合標準液のクロマトグラムを Fig.4 に示す。MeN, DMeN 及び TMeN の異性体は, 購入した異性体別の標準をそれぞれ測定することにより同定した。DIPN の異性体は別報⁸⁾を参考に同定した。MIPN 及び TIPN については, それぞれ 2 つ及び 6 つの異性体ピークを確認した。TIPN の異性体は同定することが出来なかったが, MIPN の異性体は Brzozowski ら¹⁰⁾を参考に同定した。それぞれ, 同定した異性体は図に示したとおりである。

2. 環境試料中の IPN 類及び MeN 類

各試料の測定結果を Table1 に示す。なお, 環境水中の MeN 類は測定していない。環境水は, SS の濃度によって測定値がばらつくことが予想された。そのため, 測定は同じ地点につき 2~3 回行ったが, 値がよく一致したため, ここではその平均値を示した。水試料中の DIPN 以外の測定については, 精度の検討を十分に行っていないため, 測定結果をオーダーレベルで示すこととした。

IPN 類では, DIPN はすべての試料から検出されたが, MIPN はすべての試料から不検出であり, TIPN は底質 A から 100ng/g, 生物 (スズキ) から 0.1ng/g のオーダーで検出されただけであった。

揖保川水中の DIPN は, 地点 A からは trace レベル, 地点 B からは 110ng/L, 地点 C からは 1.8ng/L 検出

された。また, 揖保川の河口に近い姫路沖の海水中の DIPN は trace レベルであった。地点 B は揖保川に合流する古紙再生工場の排水路にある。更に, 別に測定した新聞紙からは DIPN のみが 100ng/g のオーダーで検出された。これらのことから, 古紙として回収された新聞紙中の DIPN が古紙再生工場からの排水によって排出され, 揖保川の汚染源のひとつとなっていることが推察された。

一方, 揖保川の底質からは, 底質 D だけでなく底質 A から DIPN が 1ng/g のオーダーで検出された。古紙再生工場の上流に位置する地点 A の底質からも DIPN が検出された原因は不明である。姫路沖の生物試料 (スズキ) からは, DIPN が 1ng/g のオーダーで検出された。底質及び生物試料中の DIPN の濃度レベルは, 過去の全国調査³⁾と同程度であった。

当センターの建物内及び屋上で測定した大気試料からは, DIPN がそれぞれ 10 ng/m³ 及び 1 ng/m³ のオーダーで検出された。建物内の濃度が屋上に比べて高かった理由として, DIPN がインクジェットプリンタなどのインク溶剤に使用されている^{11,12)}ことから, インク由来の DIPN が飛散している可能性が示唆された。

MeN 類は底質及び生物試料から 0.1 ng/g のオーダーで検出された。大気試料からは, MeN および DMeN が 10 ng/m³ のオーダーで検出され, TMeN は屋内のみで 0.1 ng/m³ と低く, いずれも DIPN と同様に屋上に比べて建物内の濃度の方が高かった。底質及び大気中から検出された MeN 及び DMeN の濃度は, 1985 年及び 1998 年の全国調査結果^{6,7)}と比べて低い濃度レベルであった。1998 年の当センターにおける大気中の MeN 及び DMeN の濃度 (各異性体の中央値の合計) は, それぞれ 420 ng/m³ 及び 139 ng/m³ であり, 当時より濃度レベルが減少していることが確認された。

試料中の MeN 類及び IPN 類のそれぞれの存在割合を Fig.5 に示す。底質, 生物, 大気中の MeN 類については, MeN と DMeN の割合が高く傾向が類似していた。一方, IPN 類については, TIPN の割合が高かった地点 A の底質を除き, ほとんどの試料では DIPN が主成分であった。

IPN 類および MeN 類の現在の汚染レベルはすぐに健康被害を生じる程度ではなかった。しかし, これらの使用量が日本では毎年数百トンあり, IPN 類の性質が難分解性や高蓄積性であることや MeN の広範囲な汚染状況を考えると, 今後も定期的な環境調査が必要と考えられる。

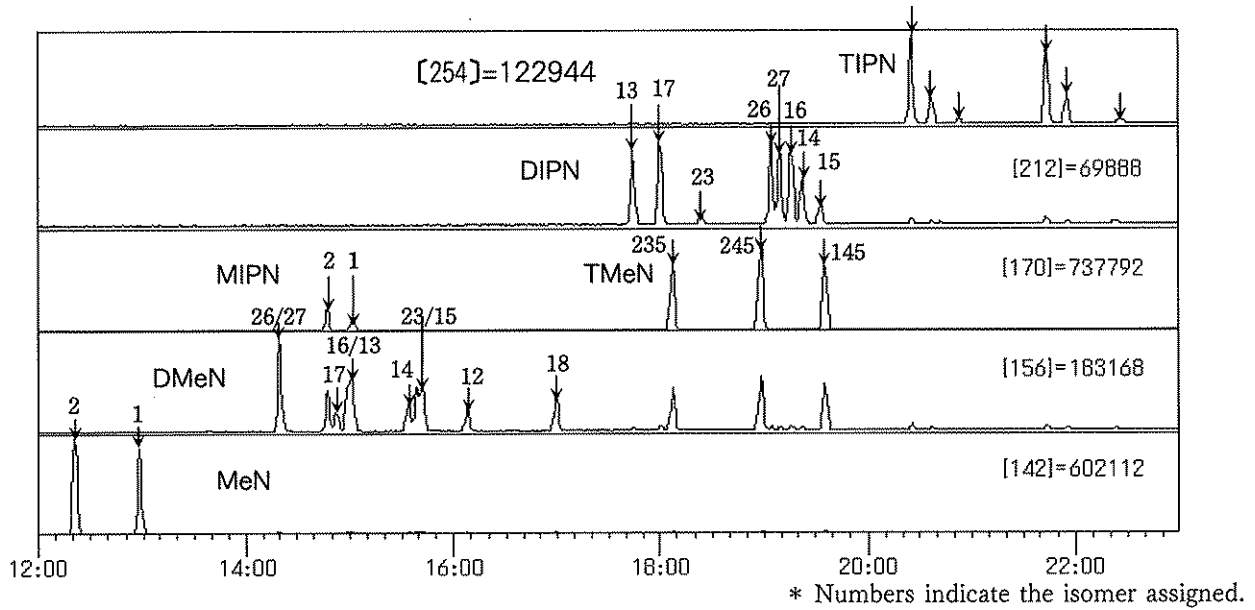


Fig.4 GC/MS chromatogram for standard mixture of IPNs and MeNs

Table 1 Concentration of IPNs and MeNs in several samples.

sample		concentration						
media	sampling point	Isopropyl-naphthalenes			Methylnaphthalenes			unit
		MIPN	DIPN	TIPN	MeN	DMeN	TMeN	
River water	Ibo river A	N.D.	trace	N.D.	-	-	-	ng/L
	B	N.D.	110	N.D.	-	-	-	ng/L
	C	N.D.	1.8	N.D.	-	-	-	ng/L
Sea water	Off Himeji	N.D.	trace	N.D.	-	-	-	ng/L
Sediment	Ibo river A	N.D.	1*	100*	0.1*	0.1*	0.1*	ng/g
	D	N.D.	1*	N.D.	0.1*	0.1*	0.1*	ng/g
Fish(sea bass)	Off Himeji	N.D.	1*	0.1*	0.1*	0.1*	0.1*	ng/g
Air	indoor	N.D.	10*	N.D.	10*	10*	0.1*	ng/m ³
	the roof of institute	N.D.	1*	N.D.	10*	10*	N.D.	ng/m ³
Newspaper	-	N.D.	100*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	ng/g

*order of magnitude

3. 検出された IPN 類及び MeN 類の異性体パターン
 検出された TIPN および MeN 類の異性体パターンは、すべての試料で標準混合液と同様であった。一方、DIPN は試料によって異性体パターンが異なっていた。

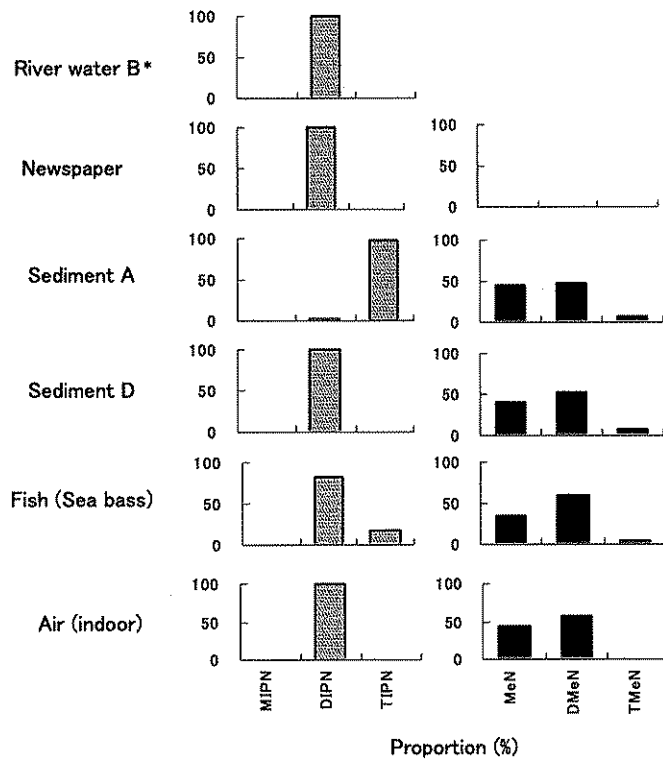
各試料から検出された DIPN のクロマトグラムを Fig.6 に示す。各試料からは 8 つの DIPN の異性体が確認できた。河川水、大気、底質 D および新聞紙中の DIPN の異性体パターンは標準試料として用いた工業用の原液と類似していた。一方、底質 A および生物試料(スズキ)の異性体パターンは、他の試料と異なっていた。底質 A は相対的に 1,3, 1,7-DIPN が少なく、生物試料は相対的に 1,7, 2,6 及び 2,7-DIPN が少なかった。その原因については、次の 2 つが考えられる。

1 つは、汚染源の違いである。DIPN は、製造方法

によって異性体の構成比が変化する¹³⁾。地点 A は、古紙再生工場の上流に位置していたため、汚染源が異なっていたことが考えられる。

2 つは、保存及び前処理における変化である。底質および生物試料は、他の試料の保管が数日であったのに比べて数ヶ月～数年と保管期間が長かった。更にこれらの試料は前処理過程が長いいため、保存及び前処理の過程でなんらかの変質が生じたことが考えられる。また、生物体内や微生物の代謝による DIPN 異性体の組成の変化が考えられるが、ラット体内では異性体の分解は同程度¹⁴⁾との報告があることを考慮すれば、その可能性は低い。

以上のような 2 つの原因が考えられるが、DIPN の異性体の組成についてはまだ十分に研究されておらず、本研究においても底質及び生物試料の測定数が少ないため、今後データを蓄積して原因を解明することが必要である。



* MeNs were not analyzed.

Fig.5 Proportions of IPNs and MeNs in several samples.

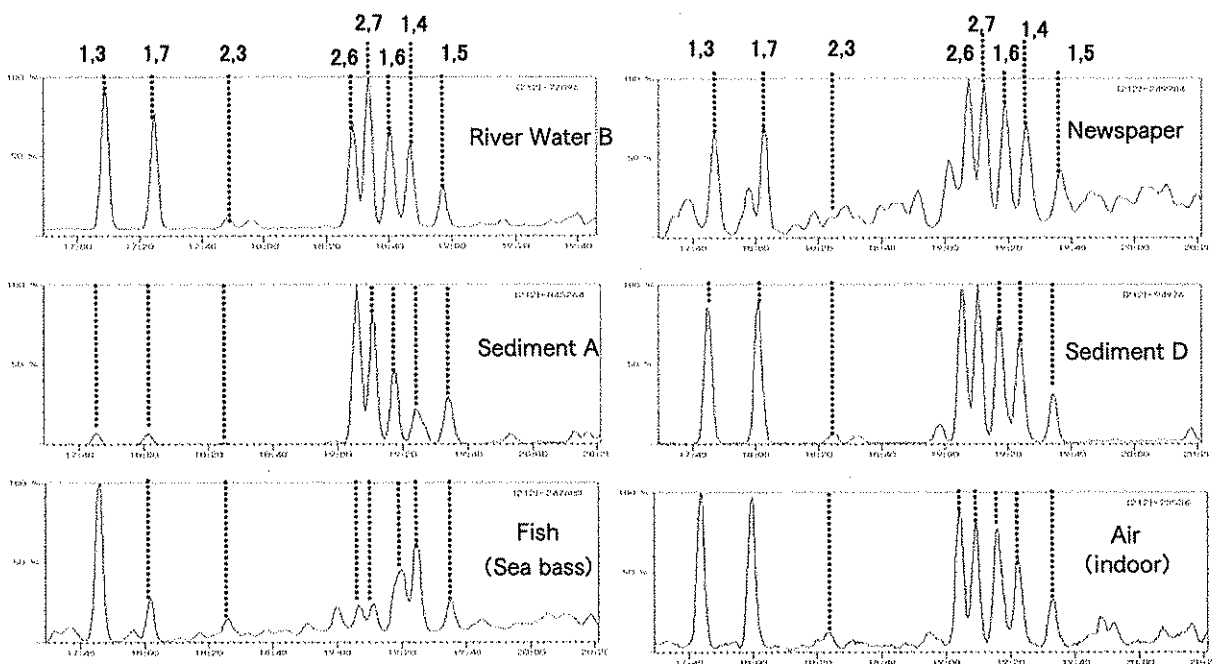


Fig.6 DIPN chromatograms for several samples.

IV まとめ

開発した高感度の DIPN 測定方法を用いて、環境中の IPN 類および MeN 類を調査した。その結果、IPN 類では、MIPN はすべて不検出であった。DIPN は、環境水、底質、生物および大気中から検出され、兵庫県下における DIPN の広範囲な汚染が確認された。更に、新聞紙及び古紙再生工場の排水から DIPN が多く検出されたことから、これらが DIPN の汚染源となっていることが推察された。TIPN は、一部の底質から多く検出されたが、その原因は不明であった。

MeN 類では、底質、生物（スズキ）及び大気中の MeN, DMeN 及び TMeN の検出傾向が類似し、その濃度レベルは過去の調査よりも低かった。

謝 辞

本研究にあたり、試料の採取にご協力を頂きました西播磨県民局環境課の関係者の方々に感謝いたします。

文 献

- 1) 羽賀孝英, 尾崎邦雄: 化学物質の水における微生物分解性試験. 新潟県公害研究所研究報告, 9, 50-53 (1984)
- 2) 通産省化学品安全課監修, 化学品検査協会編, 化審法の既存化学物質安全性点検データ集, 日本化学物質安全・情報センター (1992)
- 3) 環境庁環境保健部環境安全課監修, 化学物質と環境 (1980)
- 4) 羽賀孝英, 尾崎邦雄, 富永泰子: 新潟理化学, 10, 43 (1984)
- 5) Hamm, U., Bobek, B., Goettsching, L.: Material Balancing of Undesirable Organic Substances in Recovered Paper Processing. *Rev ATIP*, Vol.56, 4, 18, 24-26, 28-30 (2002)
- 6) 環境庁環境保健部環境安全課監修, 化学物質と環境 (1985)
- 7) 環境庁環境保健部環境安全課監修, 化学物質と環境 (1999)
- 8) 鈴木元治, 松村千里, 中野武: GC/MS を用いたジイソプロピルナフタレンの高感度測定法の開発. 兵庫県立健康環境科学研究所センター紀要第3号, (2006) (投稿中)
- 9) 平成9年度 化学物質分析法開発調査報告書, 環境庁環境保健部環境安全課, 176 (1998)
- 10) Brzozowski, R.: Shape-selectivity in diisopropylnaphthalene synthesis or analytical error? *Appl Catal A Gen.*, Vol.272, 1/2 215-218 (2004)
- 11) Canon KK, Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 82 03 872 (1982); C.A., 96 (1982) 201403q
- 12) Fuji Photo Film Co., Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 58 111 050 (1984); C.A., 100 (1984) 200907w.
- 13) Brzozowski, R., Skupinski, W., Jamroz, H., M., Skarzynski, M., Otwinowska, H.: Isolation and identification of diisopropylnaphthalene isomers in the alkylation products of naphthalene. *Journal of Chromatography A*, 946 (2002).
- 14) Hasegawa, H., Sato, M., Tsuruta, H.: A toxicological study of di-idopropylnaphthalenes (KMC) and 1-phenyl-1-xylyl-ethanes (SAS). I. Distribution and disappearance of KMC and SAS in rats. *Ind Health.*, Vol. 20, 3, 237-246 (1982)

[ノート]

人工干潟における有機態窒素の無機化に対する二枚貝の寄与

宮崎 一*

Contribution of Clams to Mineralization of Organic Nitrogen in the Artificial Tidal Flat

Hajime MIYAZAKI*

Water Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 3-1-27 Yukihiro-cho, Suma-ku, Kobe, 654-0037, Japan

The weight of individual group and population of clams, and inorganic nitrogen were monitored in the Amagasaki artificial tidal flat. They showed so high capacity to mineralize nitrogen that the concentrations in the sea water of ammonium or dissolved inorganic nitrogen increased under the abundant clams. When oxygen deficient water mass killed almost all of them there, the capacity got the severe damage, therefore the concentrations of them were decreased. It is necessary to build up the material circulation system supported by various creatures including seaweeds, fishes, and benthoses for the effective use of mineralized it to improve the coastal environment.

I はじめに

長年にわたり陸域からの大量の汚濁（栄養塩）負荷を受けてきた大阪湾は国内で最も富栄養化が進行した閉鎖性海域である。ここでは、栄養塩類の蓄積により植物プランクトンの過剰増殖が認められ、増殖後、枯死体として沈降することにより植物プランクトンは酸素を消費する有機汚濁負荷に変わり、底層の貧酸素化を引き起こす。貧酸素化は沿岸域の生物を大量にへい死させ、生物による物質循環を崩壊させる。また、沿岸に密集する垂直護岸は干潟等の自然海岸が本来保持する多様な生物の生息場を奪い物質循環の修復を困難にしている。

このような環境悪化に対する修復手法を研究するため、財団法人国際エメックスセンターが環境省の補助を受け、人工干潟を尼崎港内に造成し（以下、

人工干潟とする）、当センターを含む産学官の複数の機関の連携の下、環境修復のための実証試験がなされた¹⁾²⁾。

一連の試験の中で我々は、生物による物質循環の修復による環境修復を目的として、ろ過食性を通じて水質浄化に寄与する二枚貝であるアサリに着目し調査研究を行ってきたが、アサリが物質循環に寄与するもう一方の様式である栄養塩類の無機化については、過剰な栄養塩類が存在する人工干潟では未だ継続的な知見は少ない。

本報ではこのことに鑑み、人工干潟における溶存態窒素をモニタリングし、人工干潟内で自生しているアサリによる有機態窒素の無機化への寄与について検討したので報告する。

水質環境部

* 別刷請求先：〒 654-0037 神戸市須磨区行平町 3-1-27
兵庫県立健康環境科学研究所センター
水質環境部 宮崎 一

II 調査方法

1. 人工干潟の概要

Fig.1 に調査地点および人工干潟概要図を示す。人工干潟の形状規模は長さ約 32m, 幅約 8m であり, 両岸をコンクリート壁の垂直護岸と石積み傾斜護岸に囲まれている。干潟前面に砂留潜堤 (OP ((OSAKA PELL; 大阪湾最低干潮位)) +0.3m) を設置し, OP+1.0m の高さまで 1/50 勾配にて砂を撒き造成したものである。このような形状から, 海水の交換は人工干潟の前面方向のみに起こる。

砂は 2002 年 3 月に新規に搬入した清浄な砂 (調査開始以降含泥率 3% 未満で推移) である。全リン, 全窒素等の栄養塩, および全有機炭素 (TOC; Total Organic Carbon), 強熱減量 (IL; Ignition Loss) の有機物指標値は, 貧酸素化が見られない播磨灘等の海域の底質と同程度に低く³⁾, 調査開始時には底質による大量の酸素消費は考えられない状態である。

2. 試料採取方法および分析方法

調査期間としては, 2004 年 10 月から 2006 年 6 月まで, 1 ヶ月に 1 回程度の頻度でモニタリング調査を行った。なお, 全調査期間を通じて人工干潟内で水深が 2m を超えることはなかったため, 水質調査の水深は表層とした。調査地点としては, 人工干潟において潜堤からの距離が 6m, 横方向から見た中間地点において採水および底質中のアサリの採取を行った。

表層水はポリエチレン製ビンに直接採水し, クーラーボックス中で冷蔵保存の上, 試料水として実験室へ持ち帰った。試料水の 500ml をあらかじめ 450°C で 4 時間加熱処理したガラス繊維濾紙 (GF-C; Whatman 社製) によりろ過し, ろ過水を 3 態窒素 (アンモニア態窒素 (NH₄-N), 亜硝酸態窒素 (NO₂-N), 硝酸態窒素 (NO₃-N)) の分析に供した。水質に関しては, 水温, 塩分, 3 態窒素を測定した。

水温と塩分は, アレック電子 (株) 製クロロテック (model ACL208-DK) により現地測定を行った。

3 態窒素については工場排水試験方法 JISK0102 に従い分析を行った⁴⁾。また, 3 態窒素の和から溶存態無機窒素 (DIN; Dissolved Inorganic Nitrogen) を計算値として算出した。

アサリについては, 自然に近い生存様式での窒素の無機化に対する二枚貝の寄与を調査するため, かご内での飼育型養成は行わず, 2002 年度 9 月以降人工干潟内部で自生しているアサリを以下に記述する

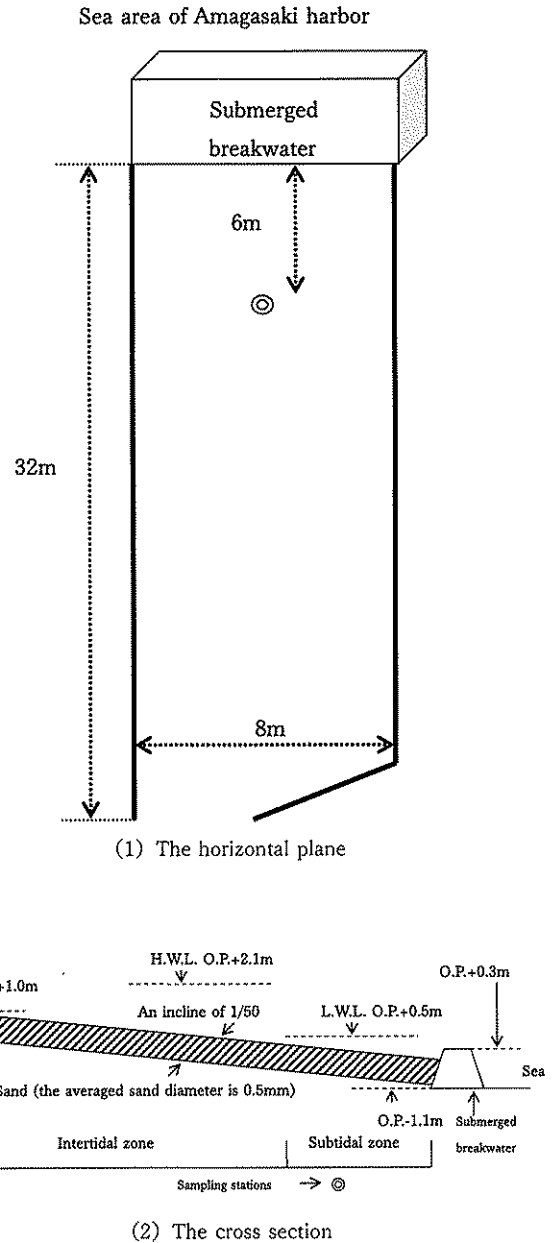


Fig.1 Schematic view of the artificial tidal flat in Amagasaki experimental site (O.P. means the lowest water level in Osaka bay.)

方法で採取の上, 調査を行った。スコップを用いて縦 20cm, 横 20cm, 表層 5cm (体積 2,000cm³) の底質を 3 回採取 (採取面積 = 0.02m × 0.02m × 3 = 0.12m²) し, 網目が 1mm のふるいにかけた後, ふるい上に残ったアサリをポリ塩化ビニル製容器に入れクーラーボックス中で冷蔵保存の上, 実験室へ持ち帰った。実験室において個体数を計数し, 上皿天秤 (Shimadzu BX-320S) により殻付き湿重量を測定した。湿重量の合計値を測定月の個体群重量値 (g/0.12m²) とした。

III 結果

1. アサリの個体群重量・個体数量の経時変化

Fig.2 にアサリの個体群重量・個体数量と $\text{NH}_4\text{-N}$ および DIN の経時変化を示した。

アサリの個体群重量は、秋季（2004年10月）から冬季（2004年12月）への自然な減少（調査実施年度に着底、成長した新規個体（稚貝）の加入と複数年生存・成長した個体の死亡を通じての世代交代による減少）が認められた。春季（2005年2月）からは増加に転じ、2005年6月には年間最高値（449 g/0.12m²）に達した。しかしながら、当海域において例年夏季（7月または8月）に頻発する海水の貧酸素化によりアサリの大量死（Fig.2 中の破線により時期を示す。）が発生し、2005年8月に個体群重量は 0 g /m²にまで落ち込んだ。その後は、自然増殖による稚貝の加入のためゆるやかに増加したが、前年同月値までには回復できなかった。

アサリの個体数は個体群重量と同様の変化を示すが、大量死後の回復については、個体群重量と比較して早く、2006年6月には調査期間を通じて最高値であった2005年6月の106個体/0.12m²の92%である98個体/0.12m²にまで回復した。このことは、アサリは砂中に生息する移動性の少ない埋性生物であることから、個体数の回復は、成体の外部海域からの移入ではなく、卵の孵化により発生したアサリの浮遊幼生が人工干潟内へ着底することに由来する稚貝の自然増殖により起きることを意味している。

2. 溶存態窒素濃度の経時変化

$\text{NH}_4\text{-N}$ については、一定量のアサリの現存量（79 g/0.12m²または25個体/0.12m²）が認められた2004年10月から2005年6月まで0.76mg/Lを超える高い濃度を示した。しかしながら、大量死以後は、低濃度で推移し、前年同時期の濃度までの回復は認められなかった。一方、データは示さないが $\text{NO}_2\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ については、 $\text{NH}_4\text{-N}$ において認められたアサリの現存量との関係は認められなかった。このことは、アサリの排泄物中における $\text{NO}_2\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度が $\text{NH}_4\text{-N}$ と比較して微量であるため、これらの海水中の濃度変化はアサリの現存量と随伴しなかったことが理由であると考えられる。3態窒素($\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$) の和から成る DIN については、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の影響で大量死前は高濃度で推移し、大量死後は低濃度に留まった。また、アサリの大量死の前後での溶存態窒素濃度を比較すると大量死後、明ら

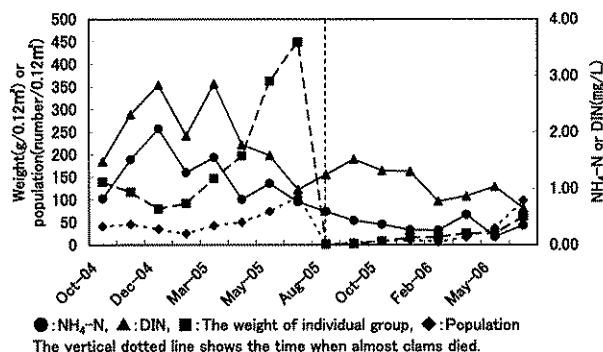


Fig.2 Change of the weight of individual group and population of clams, $\text{NH}_4\text{-N}$, and DIN in the artificial tidal flat

かに $\text{NH}_4\text{-N}$ と DIN に減少が認められ海水中の窒素濃度変化に対するアサリの影響の大きさが示された。

IV 考察

窒素は生物にとって必須の元素であることは、生体の構成物質であり、生化学反応の中核を担う酵素の主成分であるタンパク質の構成元素であることから論を待たない。一方、今回調査フィールドとした人工干潟が位置する尼崎港内を含む閉鎖性海域では、産業や生活廃水に由来する陸域からの過剰な窒素の流入が、過剰なリンの流入と相伴って富栄養化を引き起こしている。このような両面性を有する窒素であるが正常な生態系においては、生物による利用と排泄を通じて停滞することなく循環している。軟体動物である二枚貝（アサリ）は、ろ過食性により植物プランクトン、デトリタスを捕食することで有機態窒素を取り込み、無機態の $\text{NH}_4\text{-N}$ として窒素を排出することで物質循環に寄与している。同様のことは島根県宍道湖における二枚貝であるヤマトシジミについて認められている⁹⁾。この窒素は藻類、植物プランクトンにより利用されることにより、生物による物質循環に取り込まれることになる。今回の結果から、アサリによる有機態窒素の無機化は人工干潟内でも機能していることが認められ、また、その無機化容量は窒素分の濃度が高い富栄養化海域の $\text{NH}_4\text{-N}$ および DIN 濃度に明瞭な変化を与えるほど大きいものであった (Table 1)。

なお、 $\text{NO}_2\text{-N}$ および $\text{NO}_3\text{-N}$ については、アサリからの直接の排泄量が $\text{NH}_4\text{-N}$ と比較して微量であるため影響は認められなかった。しかしながら、富栄養化海域で頻発する貧酸素化によりアサリの大量死が起きると、無機化の担い手であるアサリがいなくなり $\text{NH}_4\text{-N}$ および DIN の減少が認められた。このこ

Table 1 Comparison of the mean concentration (mg/L) of NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N, and DIN (dissolved inorganic nitrogen) in the sea water in the artificial tidal flat before and after the massive death of clams

	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	DIN
Before	1.33	0.08	0.65	2.06
After	0.36	0.09	0.62	1.07

とから、生物の生存への脅威となる貧酸素化の防止の重要性が示された。また、無機化されたNH₄-Nが生物に取り込まれず、海水中に残留しては硝化細菌による硝化(NH₄-N → NO₂-N → NO₃-N)を通じた溶存酸素の消費が増大すること、あるいは植物プランクトンの異常増殖による赤潮の発生のような環境悪化に繋がるため、藻類、魚類、ベントス等を含めた多様な生物による物質循環の確立が必要である。

V まとめ

1. 尼崎港内において造成された人工干潟において、アサリによる有機態窒素の無機化が認められた。
2. 貧酸素化により無機化の担い手であるアサリの大量死が起きると、NH₄-NおよびDINの減少が認められた。
3. 無機化された窒素が有効に活用されるためには、藻類、魚類、ベントス等を含めた多様な生物による物質循環の確立が必要である。

文 献

- 1) 環境省補助事業, 2001年度環境技術開発等推進事業[実用化研究開発課題], 閉鎖性海域における最適環境修復技術のパッケージ化(環境修復技術のベストミックスによる物質循環構造の修復)研究開発成果報告書, 6-8~6-10, 6-30~6-37, 6-79~6-107, 財団法人国際エメックスセンター(2002)
- 2) 環境省補助事業, 2002年度環境省委託業務結果報告書, 閉鎖性海域における最適環境修復技術のパッケージ化(環境修復技術のベストミックスによる物質循環構造の修復)研究開発成果報告書, 5-1~5-7, 5-13~5-30, 財団法人国際エメックスセンター(2003)

- 3) 2001年度環境省委託業務結果報告書, 瀬戸内海環境情報基本調査-播磨灘・燧灘・別府湾-(資料編), 45-65, 77-93, 105-121, 社団法人瀬戸内海環境保全協会(2002)
- 4) 工場排水試験方法 JIS K 0102, 日本規格協会, 東京, 143-162, 166-184(1998)
- 5) 中村 由行:閉鎖性沿岸域の生態系と物質循環(10) 富栄養化した汽水域における栄養塩循環と水質分布に関わる懸濁物食性二枚貝の効果, 海洋と生物, 26(2), 168-176(2004)

謝 辞

本調査研究は(財)国際エメックスセンターが環境省から受託したプロジェクト研究「閉鎖性海域における最適環境修復技術のパッケージ化」の一環として行いました。

なお、現地調査においては、地元関係者の方々のご理解とご協力を頂いたことに感謝します。

Evaluation of the Data Acquisition Frequency in Air Temperature Measurements

Masahide AIKAWA*, Takatoshi HIRAKI and Jiro EIHO

Atmospheric Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 3-1-27, Yukihiro-cho, Suma-ku, Kobe, 654-0037, Japan

The comparison of the air temperature measured on the hour and the mean air temperature of three data, i.e., the air temperature measured hourly, the air temperature at 15 minutes past the hour, and that at 15 minutes before the hour, demonstrated that hourly data acquisition provided reliable data when the air temperature was surveyed. On the other hand, a clear diurnal variation was observed in the difference between the air temperature measured hourly and the mean air temperature of three data, presumably due to the strong solar radiation in the daytime, which suggests the possibility that the air temperature measured on the hour shows a deviated value in some situations.

I INTRODUCTION

The urban heat island phenomenon has been studied worldwide with the objective of limiting thermal pollution in urban areas¹⁻⁶⁾. The Hyogo prefectural government has also constructed a monitoring network for the survey of the air temperature. The Hyogo prefectural government uses hourly air temperature as the basis for its data set. The hourly air temperature represents an instantaneous hourly value. The air temperature always fluctuates; therefore, the hourly air temperature may indicate a deviated value. On the other hand, the Hyogo prefectural government measures the air temperature every 15 minutes in practice using a thermometer equipped with a data logger, showing the possibility of using the air temperatures measured at 15 minutes past the hour and/or at 15 minutes before the hour to correct the air temperature measured hourly. The objective of the

present paper is to evaluate the availability of a non-corrected air temperature, i.e., the air temperature measured hourly, by comparing it with the mean air temperature of three data, i.e., the air temperature measured on the hour and the air temperatures at 15 minutes past the hour and at 15 minutes before the hour. The findings are reported below.

II MATERIALS AND METHODS

1 Air temperature measurement

The air temperature was measured at an elementary school in the southern part of Nishinomiya City, Hyogo Prefecture, Japan. Nishinomiya City is located between Osaka City (population 2,634,000/ 222 km²) and Kobe City (population 1,520,000/ 551 km²). The southern part of Nishinomiya City is thus characterized by intensive industrial development and dense populations, which also categorize it as an urban area. The location of the site is shown in Fig. 1. The air temperature was measured by a thermometer calibrated with a thermostat. The thermometer was installed in a thermometer shelter (about 1.5 m above the ground). The thermometer shelter was naturally aspirated. The air temperature data was stored in a

大気環境部

* 別刷請求先：〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27
兵庫県立健康環境科学研究所センター
大気環境部 藍川 昌秀

data logger. The air temperature was measured at the survey site every 15 minutes including on the hour. The air temperature measured in July and August 2005 was used for the evaluation in this study.

2 Data evaluation and statistical analysis

The air temperature measured hourly was compared with the mean air temperature of three data, i.e., the air temperature measured on the hour and the air temperatures at 15 minutes past the hour and at 15 minutes before the hour. The t-test was used for the comparison of the air temperature measured hourly with the mean air temperature of three data.

III RESULTS AND DISCUSSION

1 Correlation

Figure 2 shows the relationship of the air temperature measured hourly with the mean air temperature of three data. The slope and interception were 0.99 and 0.16, respectively, showing that the air temperature measured on the hour was quite close to the mean air temperature of the three data. On the other hand, the variation between the air temperature measured hourly and the mean air temperature of the three data was larger at higher air temperature than at lower one.

2 Statistical analysis

2.1 Histogram

Figure 3 shows a histogram of the difference between the air temperature measured hourly and the mean air temperature of three data. Figures 3 (a), (b), and (c) show the histogram for all data, the nighttime data (19:00-6:00), and the daytime data (7:00-18:00), respectively. Seventy-eight percent of the data was distributed within $0 \pm 0.10 \text{ }^\circ\text{C}$, and 88 % was within $0 \pm 0.20 \text{ }^\circ\text{C}$ for all data. Ninety-six percent of the data was distributed within $0 \pm 0.10 \text{ }^\circ\text{C}$, and 99% was within $0 \pm 0.20 \text{ }^\circ\text{C}$ for the nighttime data, while only 60% of the data was distributed within $0 \pm 0.10 \text{ }^\circ\text{C}$, and 78% was within $0 \pm 0.20 \text{ }^\circ\text{C}$ for the daytime data, which shows that the daytime variation was larger than that in the night. This will be reported in detail in Section 3 Diurnal variation in III results and discussion.

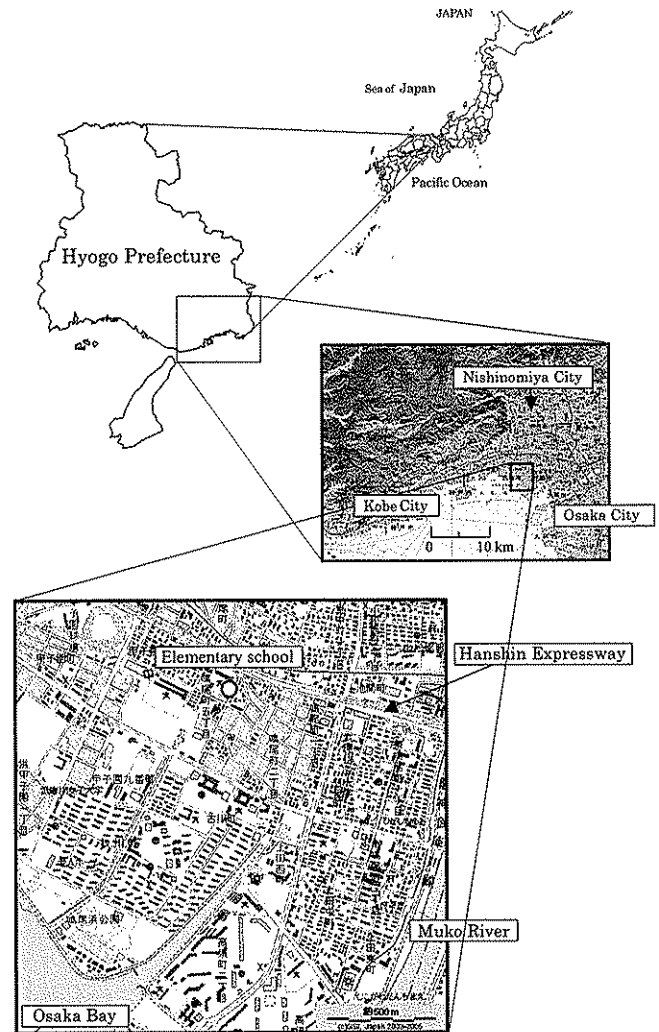


Figure 1 Location of the survey site.

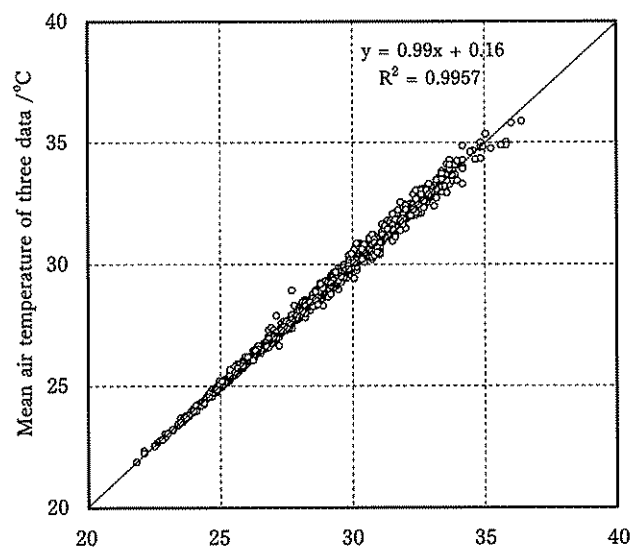


Figure 2 Relationship of the air temperature measured hourly with the mean air temperature of three data, i.e., the air temperature measured on the hour and the air temperatures at 15 minutes past the hour and at 15 minutes before the hour.

2.2 T-test

The difference in the air temperature measured hourly and the mean air temperature of the three data was statistically analyzed. The F-test gave evidence that there was no statistically significant difference ($p > 0.05$) between the air temperature measured hourly and the mean air temperature obtained from the three data. Therefore, the t-test with a postulated identical variance was used to analyze the difference between the air temperature measured hourly and the mean air temperature of the three data. The t-test gave evidence that there was no statistically significant difference ($p > 0.05$) between the air temperature measured hourly and the mean air temperature obtained from the three data.

3 Diurnal variation

Figure 4 shows the diurnal variation of the difference between the air temperature measured hourly and the mean air temperature of three data. A clear diurnal change, namely, a larger difference and variation in the day than at night, was observed. Similar diurnal variations of the difference in the air temperatures due to the difference in the shelter used for measuring the air temperature were observed⁷⁾. Reasons for the diurnal variation from the viewpoint of (1) strong solar radiation in the daytime, (2) the heat capacity of the shelter, and (3) the aspiration efficiency will be presented⁷⁾.

Strong solar radiation (1) is a common factor in the current study, while the reasons presented in (2) and (3) are mainly related to differences in the shelter. The larger variation occurring in the daytime than that at night, as shown in Fig. 4, demonstrated that the fluctuation of the air temperature was larger in the day than at night due to the strong solar radiation.

IV CONCLUSIONS

The air temperature measured hourly and the mean air temperature of three data, i.e., the air temperature measured on the hour and the air temperatures at 15 minutes past the hour and at 15 minutes before the hour, were compared and studied from the viewpoint of appropriate data acquisition frequency when surveying the air temperature. No statistically

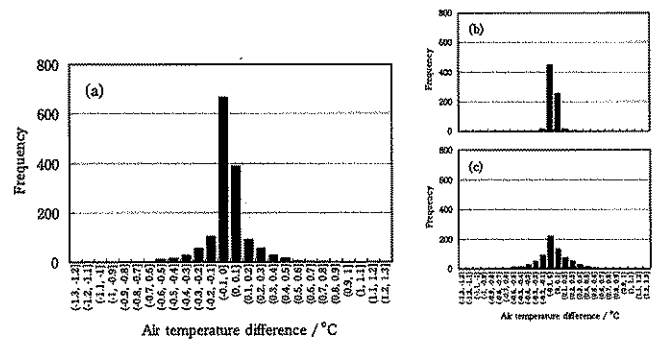


Figure 3 Histogram of the difference in the air temperature measured hourly and mean air temperature of three data, i.e., the air temperature measured on the hour and the air temperatures at 15 minutes past the hour and at 15 minutes before the hour. (a), (b), and (c) are for all data, the data for the nighttime, and the data for the daytime, respectively. (a–b) shows more than a and not more than b.

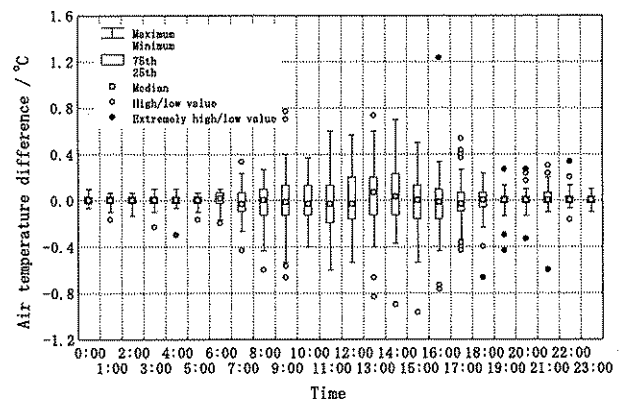


Figure 4 Diurnal variation of the difference in the air temperature measured hourly and the mean air temperature of three data, i.e., the air temperature measured on the hour and the air temperatures at 15 minutes past the hour and at 15 minutes before the hour.

The high and low values are defined as follows:

High value $> 75^{\text{th}}$ percentile $+ 1.5 \times (75^{\text{th}}$ percentile $- 25^{\text{th}}$ percentile) ,

Low value $< 25^{\text{th}}$ percentile $- 1.5 \times (75^{\text{th}}$ percentile $- 25^{\text{th}}$ percentile)

The extremely high and low values are defined as follows:

Extremely high value $> 75^{\text{th}}$ percentile $+ 3.0 \times (75^{\text{th}}$ percentile $- 25^{\text{th}}$ percentile) ,

Extremely low value $< 25^{\text{th}}$ percentile $- 3.0 \times (75^{\text{th}}$ percentile $- 25^{\text{th}}$ percentile)

significant difference ($p>0.05$) was observed between the air temperature measured hourly and the mean air temperature of the three data. On the other hand, a clear diurnal variation was observed in the difference between the air temperature measured hourly and the mean air temperature of the three data, indicating that the correction of the air temperature on the hour by the air temperatures at 15 minutes past the hour and at 15 minutes before the hour is necessary and effective in some situations.

V ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to Professor Dr. Masakazu Moriyama of Kobe University for his support with the calibration of the thermometer.

REFERENCES

- 1) Oke, T.R.: City size and the urban heat island. *Atmospheric Environment* 7, 769-779 (1973) .
- 2) Oke, T.R. and Maxwell, G.B.: Urban heat island dynamics in Montreal and Vancouver. *Atmospheric Environment* 9, 191-200 (1975) .
- 3) Gotoh, T.: Relation between heat islands and NO₂ pollution in some Japanese cities. *Atmospheric Environment* 27B, 121-128 (1993) .
- 4) Saitoh, T.S., Shimada, T. and Hoshi, H.: Modeling and simulation of the Tokyo urban heat island. *Atmospheric Environment* 30, 3431-3442 (1996) .
- 5) Yamashita, S.: Detailed structure of heat island phenomena from moving observations from electric tram-cars in metropolitan Tokyo. *Atmospheric Environment* 30, 429-435 (1996) .
- 6) Oke, T.R., Spronken-Smith, R.A., Jauregui, E. and Grimmond, C.S.B.: The energy balance of central Mexico City during the dry season. *Atmospheric Environment* 33, 3919-3930 (1999) .
- 7) Aikawa, M., Hiraki, T. and Eiho, J.: Comparison of the air temperature measured on site using forcibly and naturally aspirated shelters. *Bulletin of the Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences* submitted.

「ノート」

気温測定における1時間間隔測定の妥当性の評価

藍川 昌秀* 平木 隆年 英保 次郎

要 約

各正時に測定された気温と各正時を含むその前後15分のデータを平均した気温を比較・検討した結果、各正時に測定されたデータが信頼性の高いデータであることが示された。一方、各正時に測定された気温と各正時を含むその前後15分のデータを平均した気温の差には、昼間に差が大きくなるという明瞭な日変化があり、昼間の強い日射によると考えられた。このことから、昼間、各正時に測定された気温データには誤差が含まれる可能性があることが示唆された。

Availability and Limitation of Alcohol Thermometer in a Survey of Air Temperature

Masahide AIKAWA*, Takatoshi HIRAKI and Jiro EIHO

Atmospheric Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 3-1-27, Yukihiro-cho, Suma-ku, Kobe, 654-0037, Japan

This study examines the use of an alcohol thermometer in an environmental education program related to a heat island survey. The air temperature measured by an alcohol thermometer showed a very high linear correlation with that measured by a thermometer calibrated with a thermostat, showing that it is possible to use an alcohol thermometer in an environmental education program related to a heat island survey. Alcohol thermometers, however, must be corrected before starting a survey program.

I INTRODUCTION

Heat islands are receiving worldwide attention as the focus of surveys and studies¹⁻⁴⁾. Environmental issues are extremely important aspects of the curricula for elementary and junior high school programs. The phenomenon of urban heat islands is one of the environmental issues most closely affecting our daily life. The air temperature can be easily measured. Thus, we planned a joint investigation campaign with an elementary school to measure the air temperature. Through this type of joint investigative study, a desired result would be an increased interest and awareness of environmental issues.

If the data obtained from such a study happens to be scientifically valid, this type of campaign could contribute to an increased understanding of the environment. This is because a considerable amount of data would be collected during such a study. Many types of equipment are used for measuring air temperature. The Japan Meteorological Agency currently employs a forcibly aspirated shelter in

the network of the Japan Meteorological Agency when measuring the air temperature. When a forcibly aspirated shelter is used to measure the air temperature, the most precise data are obtained; however, the instrument requires electricity for its use. On the other hand, the measurement of the air temperature under conditions when adequate equipment and materials were not accessible was evaluated⁵⁾. Budget limitations did not permit the purchase of the equipment and materials needed for a comprehensive study. Therefore, before starting the campaign, we tried to examine the availability of data acquired through the same type of thermometer as that used in the campaign. The findings are reported below.

II MATERIALS AND METHODS

1 Air temperature measurement

1.1 Research site and period

In March 2006, air temperatures were measured at one six-story building, the Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences. The air temperature was measured inside a naturally aspirated thermometer shelter placed on the roof (about 25 m above ground). The roof where the thermometer shelter was placed was covered with a waterproof

大気環境部

* 別刷請求先：〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27
兵庫県立健康環境科学研究センター
大気環境部 藍川 昌秀

sheet.

1.2 Thermometer

Air temperatures were measured by three kinds of thermometers (type I: Thermo Recorder TR-72U, T&D Corporation, Nagano, Japan; type II: Alcohol thermometer (measurement range 0-50°C), AS ONE CORPORATION, Osaka, Japan; type III: Alcohol thermometer (measurement range -20-100°C), AS ONE CORPORATION, Osaka, Japan). Alcohol thermometer is at a low price. It is, therefore, suitable for the investigation that needs a lot of measurement points. The air temperature measured by the Thermo Recorder TR-72U (type I) was calibrated with a thermostat; thus, the type I thermometer was concluded to provide more controlled air temperature than the air temperature measured by the type II and type III thermometers.

The measurement resolution of the Thermo Recorder TR-72U was 0.1°C. The measurement accuracy of Thermo Recorder TR-72U was ± 0.3°C. The scale of an alcohol thermometer at the minimum was 1°C. The temperature was read by viewing to one-tenth of a scale at the minimum. Alcohol thermometers such as type II and type III thermometers are cheap enough to use in an environmental education program related to a heat island survey.

2 Data acquisition

Instantaneous air temperatures measured at 10:00 and 14:00 JST were evaluated.

III RESULTS AND DISCUSSION

1 Correlation

Figure 1 shows the relationships of the air temperature measured by the type II and type III alcohol thermometers with the air temperature measured by the type I thermometer. The correlation coefficients of the linear regression were $R^2 = 0.997$ (slope: 1.01; intercept: -1.7) and $R^2 = 0.996$ (slope: 1.06; intercept: -2.9) for type II and type III thermometers, respectively; thus, both type II and type III alcohol thermometers have a very high linear correlation with the type I thermometer. On the other hand, the intercepts were -1.7 and -2.9 for type II and

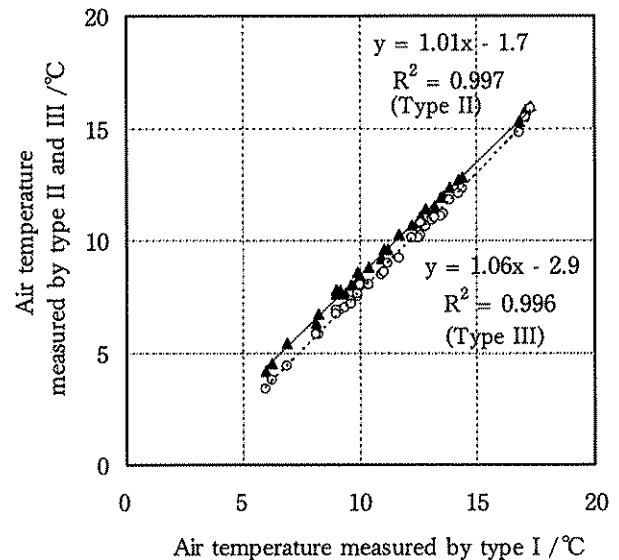


Figure 1 Relationships of the air temperature measured by the alcohol thermometer type II (solid line) and type III (dotted line) with the air temperature measured by the thermometer type I.

type III thermometers, respectively, which is mentioned and discussed in detail in the following section.

2 Availability of an alcohol thermometer in an environmental education program

2.1 Error

2.1.1 Linearity

As shown in section 1 Correlation in III results and discussion, both type II and type III alcohol thermometers had a very high linear correlation with the type I thermometer; therefore, it is possible to correct the air temperature measured by type II and type III thermometers.

2.1.2 Intercept

The intercepts in the linear regression were -1.7 and -2.9 for type II and type III thermometers, respectively, showing that the intercept must be considered when alcohol thermometers are used in an environmental education program related to a heat island survey. In the present preliminary study, all thermometers were set in the thermometer shelter. Nevertheless, the measured air temperature showed intercepts of -1.7 and -2.9. In addition, there was a difference of 1.2 (= 2.9 - 1.7) between type II and type III thermometers. The intrinsic error of the device and the error in the measurement are the

chief causes of the difference. The intrinsic error of the device might be, however, the main reason for the difference because we read the temperature by viewing to a one-tenth of a scale at the minimum. The intrinsic error must be corrected before the survey starts; otherwise, the results of the survey may not be worthy of evaluation.

2.2 Correction

When the air temperature distribution is surveyed, it is necessary to measure the air temperature at the same time based on the Japan Standard Time. It is possible to measure the air temperature at the same time when the air temperature is measured automatically by a device which has a timer function. When an alcohol thermometer is used in an environmental education program related to a heat island survey, the air temperature, however, will be measured by a person by viewing. It is desirable to measure the air temperature at the planned time. In reality, it will be difficult to measure the air temperature at the planned time under various circumstances. In such a case, when analyzing the results, the air temperature actually measured at the various times needs to be corrected to the planned time. The Hyogo prefectural government has fortunately constructed a monitoring network which measures air temperatures at 15-minute intervals. Using the 15-minute-interval air temperatures measured by the Hyogo prefectural government as controlled air temperature data will make it possible to correct the air temperature measured in an environmental education program related to a heat island survey.

IV CONCLUSIONS

The air temperature was measured by three kinds of thermometers: one was calibrated with a thermostat (the controlled air temperature), and the others were alcohol thermometers. The air temperatures measured by the alcohol thermometers had a very high linear correlation with the controlled air temperature, and the intercepts in the linear regression were -1.7 and -2.9. The main cause of the intercepts is the intrinsic error of the device, not

the error in the measurement. It is possible to use alcohol thermometers in an environmental education program related to a heat island survey when alcohol thermometers are corrected before the survey is started.

V ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to Professor Dr. Masakazu Moriyama of Kobe University for his support with the calibration of the thermometer.

REFERENCES

- 1) Oke, T.R.: City size and the urban heat island. *Atmospheric Environment* 7, 769-779 (1973) .
- 2) Jones, P.D., Groisman, P.Ya., Coughlan, M., Plummer, N., Jamason, N., Wang, W.-C. and Karl, T.R.: Assessment of urbanization effects in time series of surface air temperature over land. *Nature* 347, 169-172 (1990) .
- 3) Easterling, D.R., Horton, B., Jones, P.D., Peterson, T.C., Karl, T.R., Parker, D.E., Salinger, M.J., Razuvayev, V., Plummer, N., Jamason, P. and Folland, C.K.: Maximum and minimum temperature trends for the globe. *Science* 277, 364-367 (1997) .
- 4) Gallo, K.P., Owen, T.W., Easterling, D.R. and Jamason, P.F.: Temperature trends of the U.S. historical climatology network based on satellite-designated land use/land cover. *Journal of Climate* 12, 1344-1348 (1999) .
- 5) Aikawa, M., Hiraki, T. and Eiho, J.: Preliminary study on measurement of air temperature for monitoring of heat island phenomenon. *Bulletin of the Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences* 2, 51-55 (2006) .

〔ノート〕

気温測定調査におけるアルコール温度計の利用の有効性と限界

藍川 昌秀* 平木 隆年 英保 次郎

要 約

ヒートアイランド現象調査を通じた環境教育におけるアルコール温度計の利用可能性について検討した。アルコール温度計により測定した気温は恒温槽で校正した温度計により測定した気温と高い直線相関を示した。このことからアルコール温度計はヒートアイランド現象調査を通じた環境教育に十分使用できると考えられる。但し、使用するアルコール温度計は校正した後に使用することが求められる。

六甲山系渓流水における大腸菌の検出状況について

竹田洋子* 駒井幸雄 梅本 諭

Pollution by *Escherichia coli* in stream water in Mount Rokko

Yoko TAKEDA*, Yukio KOMAI and Satoshi UMEMOTO

Water Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of
Public Health and Environmental Sciences, 3-1-27 Yukihiro-cho,
Suma-ku, Kobe, 654-0037, Japan

I はじめに

大腸菌群数は生活環境に関わる環境基準項目の一つであり、ふん便汚染の指標として位置づけられている。兵庫県内の環境基準の「類型あてはめ」がなされた河川における大腸菌群の検出状況（平成15年度）を見ると、水道1級および自然環境保全を利用目的としたAA類型（環境基準値：50MPN/100mL以下）の千種川、矢田川、および岸田川は、いずれも年間12回の測定のうち89～100%は環境基準値を超える状況にある。また、A類型河川（環境基準値：1000MPN/100mL以下）については、地点ごとに見た環境基準を越える検体数の割合を平均すると79%となり、B類型河川（環境基準値：5000MPN/100mL以下）では平均45%となった¹⁾。

しかし、大腸菌群には、ヒトをはじめとした哺乳類や鳥類の大腸に生息し、ふん便汚染に直接関わる大腸菌以外の、グラム陰性桿菌である *Citrobacter* 属、*Enterobacter* 属、および *Klebsiella* 属などが含まれている。これらは土壌中にも生息しているため、大腸菌群の試験結果のみでふん便汚染を的確に評価することは難しいと指摘されている²⁾。

一方、水浴場水質判定基準では、大腸菌群数ではなくふん便性大腸菌群数が使われている¹⁾。また、

水道水質基準についてみると、これまでふん便汚染指標水質項目として公共用水域の環境基準と同じく大腸菌群数が使われていたが、2004年の水道法改正において見直しがなされた。その中で、大腸菌群数はふん便汚染の指標性が低いことと、迅速・簡便な大腸菌の培養技術である特定酵素基質培地法が確立されたとの理由により、大腸菌群数に代えて大腸菌が採用されることになった³⁾。

こうした経緯を踏まえれば、公共用水域においても水質の環境基準項目にふん便汚染の指標として大腸菌群数を用いることの妥当性を改めて議論する必要があると思われる。

そこで、兵庫県南東部に位置する六甲山系全域の渓流河川を対象に、人為的汚染を受けていないと思われる地点を選定し、大腸菌群および大腸菌についての年間を通じた調査を行い、空間的および季節的な検出状況の変動を明らかにすると共に、ふん便汚染指標としての大腸菌群と大腸菌の関係について検討したので報告する。

II 調査地域の概要

六甲山系（標高931m）は、兵庫県南東部に位置し神戸市、芦屋市、西宮市、宝塚市にまたがる東西約30km、南北約10kmの山地である。

六甲山系の多くは瀬戸内海国立公園の区域に指定されているが、一方でホテル、保養所、別荘が立地し、植物園、ゴルフ場、人工スキー場、キャンプ場などの各種観光施設がある。また、六甲山の南部は神戸

水質環境部

* 別刷請求先：〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27
兵庫県立健康環境科学研究センター
水質環境部 竹田洋子

市から大阪湾沿いにまたがる阪神工業地帯に接している。1970年代には、山中の諸施設からの排水による溪流河川の水質汚濁が大きな問題となった。このため、各施設の排水対策がとられ、その水質は大きく改善されている⁴⁾。

III 調査方法

1. 調査地点, 採水および分析方法

河川調査は、図1に示すように六甲山系のほぼ全域にわたる溪流河川を対象とした。その上流に人家やレジャー施設等がないことを確認し、排水等による人為的汚染の影響がないと思われる42～59地点を選定し、2003年10月～12月、2004年3月～5月、7月～8月、2005年2～3月、および5～6月の季節ごとに5回実施した。また、湧水については、図1に示す17地点を対象として2005年6月、および12月に測定した。

大腸菌群数および大腸菌数用の水試料は、滅菌ビンに直接採取し、クーラーボックスに入れ、水質分析用の水試料はポリビンに採水した。

大腸菌群数および大腸菌数の測定は、水道水質基準で用いられている特定酵素基質酵素法(MMO-MUG法)で行った。MMO-MUG法による大腸菌数の測定精度については、同時再現性を溪流河川水の5回の平行分析により検討したところ、菌数が77MPN/100mL～360MPN/100mLのところでのC.V.値が22～27%であったが、54MPN/100mLではC.V.値として9%であった。また、本調査では試料の希釈を行わなかったため、2400MPN/100mL以上については計測できなかつたため、全て>2400MPN/100mLと表記した。なお、大腸菌群数と大腸菌数の定量下限値はいずれも2MPN/100mLであるため、それ以下は不検出とした。

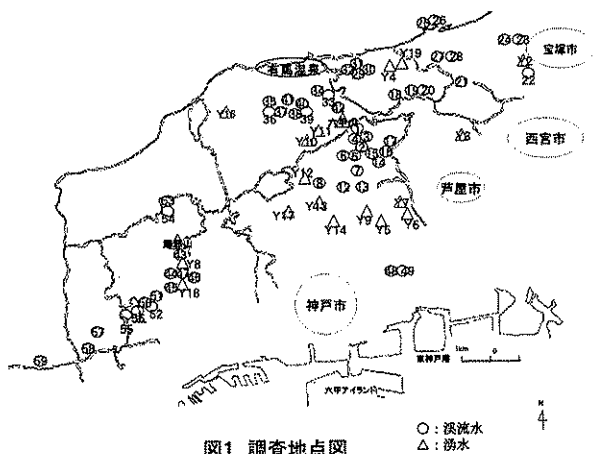


図1 調査地点図

○: 溪流水
△: 湧水

この他、pH、EC(電気伝導率)、SS(懸濁物質)、TOC(有機体炭素)は、常法に従って測定した。

IV 結果と考察

1. 溪流河川における大腸菌群数の検出状況

全地点での大腸菌群数、大腸菌数、pH、EC、TOCおよびSSの測定値を表1-1、1-2に示す。

六甲山系の溪流河川は全て環境基準の類型指定はされていないので大腸菌群数についても環境基準は適用されない。そこで、便宜的に測定結果を、AA類型の基準(50MPN/100mL以下)、A類型(1000MPN/100mL以下)、B類型(5000MPN/100mL以下)の3区分を援用して分類した。表2に大腸菌群の検出状況をまとめて示す。

表2に示すように、大腸菌群の検出範囲は3～>2400MPN/100mLであり、すべての地点で検出され、1000MPN/100mLを越える地点も多く見られた。調査時期によって検出状況は異なり、2003年10月～12月の場合には50MPN/100mL以下の地点の割合は2%(1地点)であった。しかし、2004年7月～8月には50MPN/100mL以下の地点は見られなかった。一方、2005年2月～3月の場合には、50MPN/100mL以下の地点が71%を占めており、1000MPN/100mL以上は1地点のみであった。このように、大腸菌群数は、全体としてみると2005年2～3月よりも少ないが、2004年3～5月、2003年10～12月の順に多くなり、2004年7～8月は検出される地点数と大腸菌群数の値はもっとも多くなった。各時期の調査は2～3ヶ月にまたがっているものの、4回の調査時期の水温には明らかな差があり、大腸菌群数は水温の高い夏期には多く、低い冬期には少なく、春と秋はその中間的な傾向を示していた。

次に、大腸菌群の水平的な分布状況について、大腸菌群数の分布のうち、比較的検出例の多かった夏期のもを例にとり図2(2004年7月～8月)に示す。1000MPN/100mL以上の地点は、神戸市の市街地側になる南斜面と、北東部に多く見られた。また、50MPN/100mL以下の地点は、六甲山最高峰周辺に分布しており、2004年7～8月を除いた他の時期にも同様な傾向にあった。一方、2004年7～8月の場合には、全体的に検出される大腸菌群の数も多くなり、最高峰周辺でも1000MPN/100mL以上の地点が認められた。

このように、六甲山全域に存在する溪流河川の全ての調査地点において大腸菌群は年間を通して常時

検出されており、旧水道水質基準に従えば全て飲用に不適と判定されることがわかった。また、環境基準値を評価基準とした場合には、AA 類型や A 類型も満たさず B 類型に属することになる地点が多くみられた。

神戸市では 1972 年から、六甲山系の住吉川等の上

流と下流の各 2 地点で年 1～2 回の水質調査を行っている。このうち清冽とされる住吉川の場合、大腸菌群数は 1972 年度～2004 年度の 32 年間において不検出～220MPN/100mL であった。経年変動に一定の傾向は認められず、調査地点は異なるものの本報の結果と同様の範囲となっていた。

表1-1 全地点の測定値

河川	地点	地点番号	年/月	pH	EC mS/m	TOC mg/L	SS mg/L	大腸菌群数 MPN/100mL	大腸菌数 MPN/100mL
塩谷川	宝塚	22	03/11	6.86	14.3	0.85	0.0	2400	<2
			04/03	7.17	14.7	0.88	0.2	190	<2
			04/07	6.98	13.8	0.66	0.0	490	3.1
			05/02	6.89	14.6	0.59	0.1	21	<2
			05/05	7.18	15.5	1.67	0.0	250	<2
赤子谷右	23		03/11	7.37	10.2	1.52	21.3	2400	150
			04/03	7.75	11.5	1.16	1.1	19	<2
			04/07	7.65	10.3	1.22	2.0	410	4.1
			05/02	7.65	10.4	0.71	0.4	35	<2
			05/05	7.85	12.5	2.17	0.4	190	<2
赤子谷左	24		03/11	7.23	8.28	1.44	2.0	2000	15
			04/03	7.65	9.12	0.93	0.7	70	<2
			04/07	7.64	8.28	0.82	1.0	690	5.2
			05/02	7.54	8.37	0.65	0.9	13	<2
			05/05	7.78	9.68	1.84	0.0	110	<2
太田川	蓮葉峽	25	03/11	7.21	9.78	2.02	0.7	1600	15
			04/03	7.36	6.56	2.63	0.8	78	<2
			04/07	7.73	11.1	1.79	0.3	340	<2
			05/02	7.53	9.38	1.09	0.2	37	<2
			05/05	7.69	11.3	2.33	0.0	220	<2
蓮葉峽東	26		04/03	7.29	5.10	1.89	0.6	330	<2
			04/07	8.17	17.1	1.36	0.2	>2400	13
			05/02	7.80	11.8	1.21	0.0	390	<2
			05/05	8.18	16.8	1.61	0.2	1300	25
			04/03	7.11	16.9	0.86	0.0	16	<2
大谷	28		04/07	7.07	16.3	0.70	0.0	870	<2
			05/02	6.53	20.4	0.53	0.3	23	<2
			05/05	7.26	21.2	0.97	0.0	130	<2
			04/03	7.77	13.6	0.85	6.3	93	<2
			04/07	7.74	12.1	0.66	0.0	>2400	<2
鹿頭谷	27		05/02	7.44	14.5	0.61	0.0	3.0	<2
			05/05	8.08	13.7	1.16	0.4	290	26
			03/11	7.36	15.3	1.20	0.8	>2400	7.5
			04/03	7.86	15.3	1.80	0.3	60	2.0
			04/07	7.70	14.8	0.85	0.0	200	2.0
逆瀬川	逆瀬川	21	05/02	7.73	16.5	0.72	0.2	44	<2
			05/05	7.86	17.2	1.92	0.0	99	<2
			03/11	7.44	10.0	1.44	0.2	2400	72
			04/03	7.80	10.9	1.30	0.0	110	4.1
			04/07	7.92	10.0	0.90	0.1	920	10
仁川	水無下流	20	05/02	7.73	10.4	0.71	0.1	11	<2
			05/05	8.04	12.1	1.73	0.0	170	<2
			03/11	7.26	7.86	1.35	1.3	2400	<2
			04/03	7.62	7.67	1.21	0.3	110	<2
			04/07	7.82	7.98	0.85	0.2	770	<2
水無流	19		05/02	7.56	7.66	0.60	0.3	35	<2
			05/05	7.87	8.63	1.89	0.0	310	<2
			03/11	6.93	5.45	1.45	2.4	650	11
			04/03	7.28	5.71	1.20	0.2	46	2.0
			04/07	7.23	5.02	0.83	1.0	650	<2
水無小谷	18		05/02	7.17	5.31	0.64	0.4	6.3	<2
			05/06	7.26	5.67	1.16	0.2	210	2.0
			04/03	7.64	11.5	1.74	0.0	4.1	<2
			03/11	7.41	9.14	0.89	0.0	390	<2
			04/03	7.64	9.00	1.16	0.0	12	<2
船坂谷	29		04/07	7.87	9.20	0.79	0.0	78	<2
			05/02	7.64	9.10	0.71	0.4	3.1	<2
			05/05	7.86	9.99	1.15	0.0	32	<2
			04/03	7.41	8.20	1.03	0.0	28	<2
			03/11	7.34	8.70	1.47	4.4	1100	3.1
船坂川	船坂横谷	30	04/03	7.54	8.06	1.11	0.0	27	<2
			04/07	7.71	8.61	0.64	0.0	920	<2
			05/02	7.51	8.37	0.64	0.4	18	<2
			05/05	7.73	9.49	1.01	0.0	57	<2
			03/11	7.12	7.63	0.83	0.1	>2400	28
船坂下谷	31		04/03	7.27	7.23	0.92	0.3	56	<2
			04/07	7.40	7.04	0.58	0.0	240	3.1
			05/02	7.26	7.09	0.54	0.2	42	<2
			05/05	7.40	7.22	0.94	0.0	14	<2
			04/07	7.74	11.5	0.81	0.0	730	<2
十八丁川	白水峽	32	05/02	7.65	11.2	0.64	0.1	3.1	<2
			05/05	7.68	12.3	1.68	0.0	24	<2
			03/11	7.62	11.7	1.10	0.9	920	2.0
			04/03	7.74	11.9	0.97	0.3	44	<2
			04/08	7.88	11.9	0.76	0.0	520	<2
瑞宝寺谷右	33		05/02	7.65	11.1	0.66	0.3	15	<2
			05/05	7.89	11.9	1.74	0.1	140	<2
			03/11	7.36	9.25	1.09	0.3	400	<2
			04/03	7.63	9.30	1.23	0.3	45	<2
			04/08	7.62	9.32	0.78	0.0	270	<2
有馬川	瑞宝寺谷左	34	05/02	7.55	9.14	0.62	0.4	3.0	<2
			05/05	7.67	9.84	1.74	0.0	45	<2
			03/10	6.70	4.74	1.21	2.9	980	<2
			04/03	7.04	5.32	0.86	1.1	110	<2
			04/08	7.29	4.53	0.78	0.7	820	58
魚屋道	42		05/02	7.05	4.68	0.66	0.7	190	<2
			05/05	6.94	4.54	1.05	0.1	1300	290

河川	地点	地点番号	年/月	pH	EC mS/m	TOC mg/L	SS mg/L	大腸菌群数 MPN/100mL	大腸菌数 MPN/100mL
紅葉谷	紅葉谷		03/10	7.22	7.73	1.07	3.5	520	<2
			04/03	7.45	7.44	0.99	0.5	150	<2
			03/10	-	-	-	-	170	<2
			03/10	7.05	8.15	0.72	3.6	120	<2
			04/03	7.45	6.80	1.35	0.3	99	<2
紅葉谷M1	36		04/08	7.72	7.42	1.27	0.5	520	17
			05/02	7.53	7.17	0.66	0.6	25	<2
			05/05	7.78	7.78	2.16	0.0	63	<2
			04/03	7.49	7.70	1.14	0.7	40	<2
			04/08	7.80	8.30	0.82	0.4	290	<2
紅葉谷M2	37		05/02	7.64	7.95	0.53	0.5	17	<2
			05/05	7.85	8.20	1.92	0.3	69	<2
			04/03	7.59	7.97	1.32	0.3	96	6.3
			04/08	7.83	9.17	1.18	1.2	160	<2
			05/02	7.64	8.68	0.67	0.4	22	<2
紅葉谷M3	38		05/05	7.93	9.10	2.07	0.3	23	<2
			04/03	7.58	8.01	1.24	0.4	45	2.0
			04/08	7.83	8.29	1.00	1.1	340	4.1
			05/02	7.60	7.89	0.60	0.6	16	<2
			05/05	7.74	8.25	1.99	0.5	29	<2
紅葉谷M4	39		04/03	-	-	-	-	32	<2
			04/08	7.89	8.51	0.91	0.0	690	10
			05/02	7.64	8.52	0.55	0.3	7.3	<2
			05/05	7.81	10.8	1.86	0.0	190	<2
			04/03	7.69	8.66	2.14	0.0	33	<2
紅葉谷M5	40		04/08	7.88	11.2	1.56	0.1	550	<2
			05/02	7.62	10.4	0.75	0.1	6.3	<2
			05/05	7.95	12.7	2.46	0.0	26	<2
			03/11	7.52	11.0	1.38	0.2	440	<2
			04/03	7.67	10.3	1.70	0.2	59	<2
湯槽谷	35		04/08	7.74	10.6	1.05	0.0	340	12
			05/02	7.68	10.4	0.96	0.2	5.2	<2
			05/05	7.77	11.3	2.23	0.0	36	<2
			03/10	7.28	9.60	0.97	0.0	330	<2
			04/03	7.70	10.2	0.79	0.0	11	<2
奥池	17		04/07	7.75	9.70	0.66	0.0	110	<2
			05/02	7.62	9.93	0.61	0.2	16	<2
			05/05	7.66	10.8	0.99	0.0	57	<2
			03/10	7.49	8.13	0.95	0.0	330	2.0
			04/03	7.58	8.99	1.66	0.1	26	<2
蛇谷左	15		04/07	7.70	8.30	0.73	0.4	520	2.0
			05/02	7.57	8.48	0.62	0.3	17	<2
			05/05	7.78	9.23	1.83	0.0	130	2.0
			04/03	7.67	11.2	1.02	0.0	150	3.6
			04/07	7.74	10.8	0.70	0.2	2000	6.3
蛇谷下左	16		05/02	7.80	10.9	0.52	0.9	330	2.0
			05/05	7.83	12.0	1.68	0.5	390	<2
			04/05	7.92	11.3	1.06	1.1	160	2.0
			04/07	7.91	11.7	0.84	2.4	610	5.2
			05/02	7.82	11.5	0.65	0.5	32	<2
東おたふく山	14		05/05	7.93	12.8	1.95	1.4	55	<2
			03/10	6.87	10.1	1.00	7.2	610	3.1
			04/03	7.19	9.47	1.16	3.3	68	<2
			04/08	7.27	10.7	0.97	3.3	920	16
			05/02	7.17	10.7	0.71	0.5	12	<2
黒岩	2		05/06	7.26	11.0	1.38	0.7	550	64
			03/10	7.09	8.36	0.95	0.0	730	<2
			04/03						

表1-2 全地点の測定値

河川	地点	地点番号	年/月	pH	EC mS/m	TOC mg/L	SS mg/L	大腸菌群数 MPN/100mL	大腸菌数 MPN/100mL
三條谷	6		03/10	7.31	7.95	1.00	0.8	1900	2.0
			04/03	7.65	8.06	1.02	1.3	170	<2
			04/07	7.62	7.92	1.03	0.8	390	<2
			05/03	7.67	8.09	0.81	0.4	32	5.2
			05/05	7.62	8.64	1.88	0.9	40	<2
	7		03/10	7.32	7.58	1.09	0.0	660	<2
			04/03	7.69	8.68	1.17	1.2	550	21
			04/07	7.79	8.00	0.96	0.6	770	2.0
			05/03	7.63	8.14	0.63	0.2	31	<2
			05/05	7.70	9.13	1.77	0.8	220	4.1
			04/03	7.29	6.12	1.93	3.0	1400	48
			04/07	7.44	6.33	1.70	4.1	>2400	54
			05/03	7.42	6.76	0.80	0.3	150	<2
			05/05	7.39	7.20	2.74	1.0	650	<2
			04/03	7.73	9.7	1.80	6.6	580	8.5
住吉川	13	雨ヶ峰	04/07	7.87	10.9	3.24	1.7	190	<2
			05/03	7.80	11.8	0.68	0.7	73	<2
			05/05	7.75	11.8	2.33	5.6	37	<2
			04/03	7.85	10.2	1.06	4.5	1300	25
			04/07	7.94	10.5	0.79	1.8	1400	24
	8	水晶谷	05/03	7.92	10.8	0.58	0.3	50	4.1
			05/05	7.88	11.4	1.85	1.4	580	<2
			04/07	7.25	22.3	1.19	2.7	>2400	<2
			04/06	7.67	15.2	2.77	6.6	>2400	82
			04/07	7.69	19.0	2.82	30.9	>2400	340
中野谷川	48	岡本	05/02	7.59	14.7	1.17	2.6	820	340
			05/06	7.86	21.9	2.67	5.4	>2400	6.3
			05/02	-	-	-	-	520	25
			05/06	7.82	21.2	2.24	4.8	2400	130
			03/11	7.31	7.95	3.17	0.3	>2400	14
	44	青谷右①	04/04	7.38	9.14	2.10	0.4	440	3.1
			04/07	7.49	9.26	2.02	0.0	2000	3.1
			05/03	7.30	9.33	1.10	0.3	150	5.2
			05/06	7.54	9.39	2.54	0.4	1400	3.1
			05/03	7.14	8.58	1.03	3.0	89	3.1
青谷川	45	青谷右2	04/03	7.48	12.1	1.61	0.1	80	<2
			03/11	7.34	8.96	3.27	0.0	1200	<2
			04/04	-	-	1.66	-	140	<2
			05/03	7.44	9.39	1.20	0.0	66	<2
			05/06	7.65	10.9	2.35	0.1	2000	<2
	46	青谷左1	04/04	7.28	8.91	1.38	0.4	140	<2
			04/07	7.05	8.97	1.31	0.2	410	<2
			05/03	7.28	8.92	0.85	0.0	24	<2
			05/06	7.33	9.74	1.75	0.0	210	2.0
			04/04	7.36	12.4	3.09	1.3	550	5.2
47	青谷左2	04/07	7.23	12.5	3.56	5.8	610	<2	
		05/03	7.06	12.3	1.45	0.3	42	<2	
		05/06	7.10	11.7	1.69	0.0	550	<2	
		04/04	7.32	11.7	1.63	1.1	480	3.1	
		04/07	7.19	12.2	1.78	0.8	2000	<2	
	49	甲南女子大	05/03	7.14	11.3	0.78	0.3	48	<2
			03/11	7.50	11.2	4.45	0.6	2400	5.2
			03/11	7.26	7.75	2.18	0.3	420	3.1
			03/11	6.34	4.77	2.19	0.0	100	2.0
			04/03	6.69	5.23	1.60	0.1	89	<2
かわうそ池	53	右	04/08	6.25	4.72	2.69	0.0	1300	25
			05/03	6.85	5.78	1.61	0.0	31	<2
			05/06	6.57	6.01	2.05	0.0	1000	<2
			03/11	6.61	5.09	2.21	0.0	770	<2
			04/03	7.11	5.30	1.63	0.2	2400	200
	54	左	04/08	6.73	5.17	2.88	1.7	>2400	98
			05/03	6.91	5.22	0.97	0.0	240	<2
			05/06	6.84	5.30	2.00	0.0	210	<2
			03/11	5.95	5.38	1.61	0.0	400	<2
			04/03	7.04	5.80	1.21	0.3	170	<2
生田川	50	苧川右	04/08	6.43	5.10	1.94	0.6	2000	91
			05/03	6.59	5.49	0.72	0.0	35	<2
			05/06	6.89	6.3	1.29	0.0	410	2.0
			03/11	7.37	12.0	2.15	0.2	>2400	48
			04/04	7.48	13.1	1.96	3.2	>2400	4.1
	51	苧川左①	04/08	7.55	12.3	2.79	2.5	>2400	54
			05/02	7.41	13.0	0.97	0.0	190	2.0
			05/06	7.64	14.3	2.53	-	>2400	36
			03/11	7.76	15.4	4.05	-	>2400	59
			04/04	8.02	21.7	3.42	0.4	1300	4.1
52	苧川左②	04/08	7.81	15.1	2.27	6.8	>2400	110	
		05/02	7.70	15.5	0.80	0.2	410	5.2	
		05/06	8.05	17.6	1.67	0.5	58	<2	
		03/11	-	-	2.14	0.9	>2400	190	
		04/04	7.90	16.4	1.32	4.9	1200	84	
59	鳥原川	04/08	7.92	17.5	5.10	0.7	>2400	56	
		05/02	7.81	20.2	1.44	0.1	170	3.1	
		05/06	8.03	21.2	5.19	0.3	2000	10	

地点	地点番号	年/月	pH	EC mS/m	TOC mg/L	SS mg/L	大腸菌群数 MPN/100mL	大腸菌数 MPN/100mL
塩尾寺谷	Y2	05/06	6.73	7.74	1.29	-	20	<2
塩尾寺	Y3	05/06	7.16	5.49	1.35	-	140	5.2
		05/12	7.20	5.34	0.36	-	7.5	<2
清水谷	Y19	05/06	7.22	5.77	0.87	-	210	19
		05/12	7.45	6.26	0.26	-	75	<2
船坂谷	Y4	05/06	7.40	7.59	1.06	-	110	<2
		05/12	7.38	8.14	0.26	-	11	<2
宝泉水	Y7	05/06	8.01	18.4	0.76	-	350	<2
		05/12	8.01	18.7	0.27	-	38	<2
宝珠水	Y5	05/06	7.23	6.62	0.93	-	47	<2
		05/12	7.14	6.64	0.27	-	14	<2
大谷温泉	Y9	05/06	7.18	7.42	1.13	-	77	<2
		05/12	7.53	7.79	0.36	-	58	<2
吉高神社	Y10	05/06	6.38	5.15	1.16	-	>2400	<2
		05/12	6.87	3.84	0.39	-	3.1	<2
紅葉谷	Y11	05/06	7.30	6.50	1.17	-	11	<2
		05/12	7.13	7.99	0.96	-	44	<2
石切道	Y12	05/06	7.53	8.15	0.38	-	650	<2
		05/12	7.53	8.15	0.38	-	650	<2
五助えん	Y13	05/06	7.10	8.90	0.94	-	120	<2
		05/12	7.78	9.48	0.38	-	4.1	<2
堀下	Y14	05/06	7.93	16.7	0.94	-	170	<2
		05/12	8.16	16.7	0.45	-	400	<2
西山谷	Y17	05/06	7.55	30.4	0.82	-	>2	<2
		05/12	8.20	31.8	0.24	-	>2	<2
遙山峽	Y16	05/06	7.67	11.3	0.83	-	16	2.0
		05/12	7.67	11.5	0.28	-	8.5	<2
青谷道上部	Y8	05/06	7.28	12.3	0.86	-	10	<2
		05/12	7.67	11.7	0.3	-	6.3	<2
青谷下社	Y18	05/06	7.15	11.4	1.85	-	200	<2
		05/12	7.63	10.8	0.58	-	91	<2
真備アルプス水取えん堀上	Y21	05/12	7.78	20.1	0.46	-	81	<2

--欠測

表2 大腸菌群の検出状況について(%)

大腸菌群数 MPN/100mL	2003年 10~12月	2004年 3~5月	2004年 7~8月	2005年 2~3月	2005年 5~6月
2~50	2	29	0	71	20
51~1000	50	54	60	28	62
>1000	48	17	40	2	18

2. 渓流河川における大腸菌数の検出状況

大腸菌の検出状況をまとめて表3に示す。なお、便宜的に大腸菌群数と同じ区分とした。大腸菌は全地点の33~79%において検出されず、調査期間を通して1000MPN/100mLを超える地点はなかった。検出地点の割合は2004年7~8月に多いが、2005年2~3月には少ない結果となり、大腸菌群数と同様に水温の変動に対応した検出状況を示した。

次に、大腸菌群数と同一地点における大腸菌数の分布状況について、大腸菌が最も多くの地点で検出された2004年7月~8月を代表例として図3に示す。大腸菌数の区分は大腸菌群数と同じである。大腸菌が比較的よく検出された地点は神戸市市街地側に認められた。特に大腸菌が多く検出された地点は、神戸市市街地側の西部に位置する鳥原川の支流(1000MPN/100mL)、生田川水系の支流となる再度東谷(330MPN/100mL)、および東部にある中野谷川(340MPN/100mL)であった。しかし、これらの3地点の上流域のいずれにおいても人為的汚濁源は認められなかった。また、51MPN/100mL以上の大腸菌数は、生田川水系の源流となるかわうそ池上流地点と桜谷源流部、生田川の東にある苧川などのほ

か、六甲最高峰周辺（魚屋道、東おたふく山、雨ヶ峠）の各地点においても検出された。大腸菌数が2～51MPN/100mL 検出された地点は、六甲山の東部と南部、あるいは南斜面と北斜面といった地理的な違いに関わらず広く分布し不検出の地点と混在していた。

このように、大腸菌の検出状況は、全地点で検出された大腸菌群とは大きく異なる状況にあった。

3. 大腸菌群数と大腸菌数の関係

大腸菌群数と大腸菌数の相互関係を図4に示す。図4からわかるように、大腸菌群数と大腸菌数との間には一定の関係は認められない。しかし、大腸菌群数が1000MPN/100mL 以下の場合、大腸菌はほとんど検出されていない。大腸菌群数が1000MPN/100mL を越え2400MPN/100mL 未満の範囲では、大腸菌の不検出の地点が大部分を占めるとはいえ検出される地点もあり、さらに>2400MPN/100mL が検出された地点では、その大部分において大腸菌も検出される結果となった。

このように、A類型の環境基準値である1000MPN/100mL 以下と少ない場合における大腸菌群数の指標性は低く、ふん便汚染の有無の判定は困難であることが示唆された。また、大腸菌群と大腸菌の関係からみて大腸菌群によるふん便汚染指標としての評価を行うことには問題のあることが示された。

4. 湧水における大腸菌群と大腸菌の検出状況

表1-2に示すように、調査を行った各17ヶ所の湧水中の大腸菌群数は、2005年6月の場合は不検出～>2400MPN/100mL、2005年12月では不検出～650MPN/100mL であった。

この2回の調査を通じて1000MPN/100mL 以上の大腸菌群数を検出したのは吉高神社（st.Y10）の6月における1回のみであった。吉高神社の12月の結果は3.1MPN/100mL であり、2回の調査を通じて唯一大腸菌群数が不検出であった西山谷（st.Y17）について少なく、調査時期による差が極端に大きかった。しかし、他の水質項目については2回の調査結果に大きな違いは認められず、SSの測定していないが採水時に濁り等は観察されていないため、大腸菌群数がこのように多くなった原因は不明であった。

6月の調査では約半数の8地点が77MPN/100mL～350MPN/100mL の範囲にあり、7地点は50MPN/100mL 未満であり、不検出の地点は上述の西山谷のみであった。

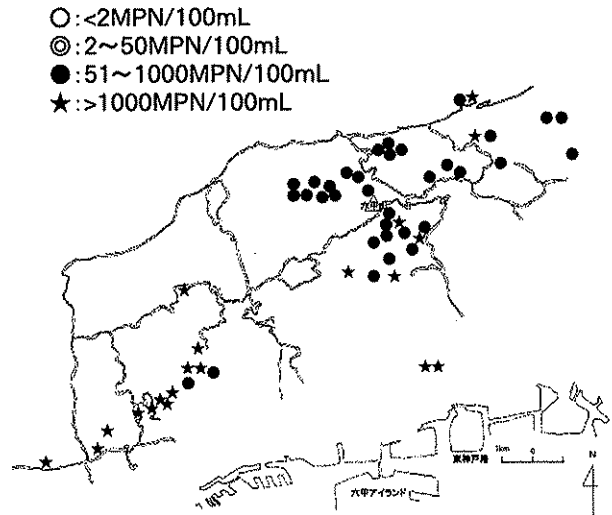


図2 2004.7~8月大腸菌群数分布

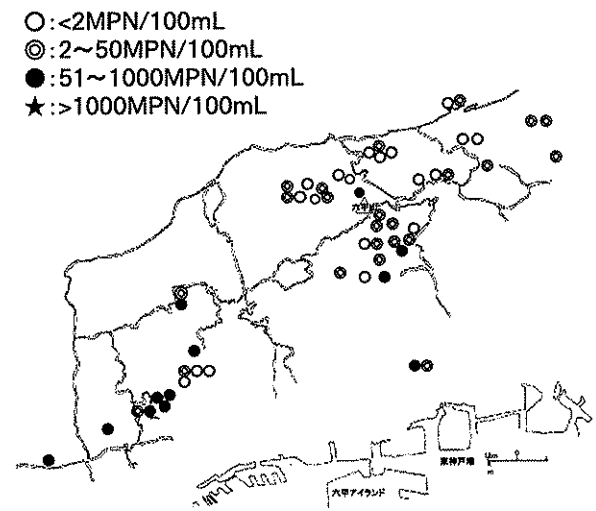


図3 2004.7~8月大腸菌数分布

表3 大腸菌の検出状況について(%)

大腸菌数 MPN/100mL	2003年 10~12月	2004年 3~5月	2004年 7~8月	2005年 2~3月	2005年 5~6月
<2	40	56	33	79	67
2~1000	60	44	67	21	33
>1000	0	0	0	0	0

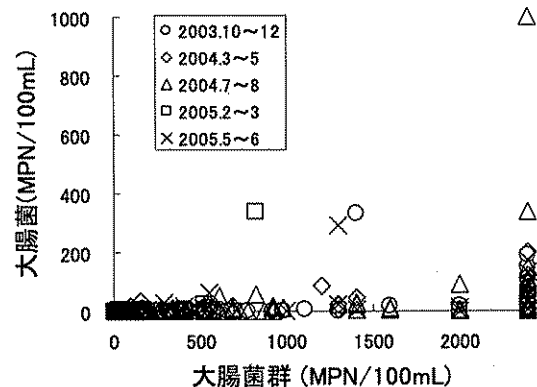


図4 大腸菌群数と大腸菌数の関係

全体としては、6月に比べて12月が値の小さい結果を示し1000MPN/100mLを越える地点はなかった。一方、石切道(st.Y12)や五助堰堤下(st.Y14)は、それぞれ650MPN/100mLと400MPN/100mLであり、6月よりも高い値を示す結果となった。

次に、大腸菌数をみると、2005年6月は13地点で不検出であり、残りの3地点(鷺林寺:Y3, 清水谷:Y19, 逢山峡:Y16)において2.0MPN/100mL~19MPN/100mLであった。2005年12月の場合は、15地点で不検出であり、塩尾寺谷(st.Y2)のみが2.0MPN/100mLとなった。

このように大部分の湧水は、季節を問わず大腸菌が検出されておらず、渓流河川水とは異なった状況にあった。なお、大腸菌が検出された湧水と渓流水の地点は一致していないため、検出された湧水とその近くの渓流河川水との関係を明らかにするには至らなかった。

5. 六甲山の渓流水における大腸菌汚染の評価

大腸菌群と大腸菌は水温の高い夏期に多く水温の低い冬期には少なくなり、特に大腸菌については不検出の地点が増えていたが、逆に増加する地点もあるように一定の傾向は認められなかった。浄化槽排水や生活排水による人為的汚染があると仮定すれば、水温に対応した季節変動があるとしても全体の大腸菌群数や大腸菌数のレベルはさらに高くなると思われる。人為的汚染以外の要因が影響していると推察される。

一方、流域に全く汚濁源が無い渓流河川においても大腸菌が検出されたことは、大腸菌は「ヒトのふん便汚染指標」として用いることができないことを示している。西田ら⁶⁾や濱中ら⁹⁾はM-FC法を使った調査において、人為的汚染の認められない森林域の河川水にふん便性大腸菌が検出され、特に降雨時の高濁度時には増加することから、彼らはそのソースとして土壌細菌の可能性を示唆した。

大腸菌は、ヒト以外のほ乳類や鳥類のふん便に含まれるためヒト由来かどうかの判定は重要である。人為的な汚染の有無については、十分留意して調査地点を選定すると共に、目視ではあるが現地において周辺の状況およびハイカーのふん便の有無を確認することで影響はないと判断した。ヒト以外のほ乳類については、調査地点の流域に家畜はいないものの大型野生動物としてはイノシシが多数生息している。しかし、生息数や分布についての情報は得られておらず、その他の小動物や鳥類についての影響は

さらに不明である。

岡山ら⁷⁾は、大腸菌がヒトのみならずほ乳類や鳥類のふん便からも検出されるが現行の方法ではその区別が不可能であることから、宿主動物ごとに特異的なqPCRプライマーを設計しそれを使ったReal-Time PCR法による解析によって、ヒト、ウシ、ブタから由来する大腸菌の区別と評価の手法を開発している。この手法は、ある程度大腸菌が存在するような河川水を対象として検討をされており、その有効性が示されている。渓流水のように大腸菌数が少ない場合の適用については今後の検討課題になると思われるが、将来的にはこうした遺伝子的な手法による大腸菌汚染の評価が不可欠になると思われる。

V まとめ

六甲山系全域の渓流河川を対象に、大腸菌群および大腸菌についての年間を通じた調査を行い、以下の結果を得た。

1. 大腸菌群の検出範囲は3~>2400MPN/100mLであり、すべての地点で検出され、水温の高い夏期には多く、低い冬期には少なく、春と秋はその中間的な傾向を示し、神戸の市街側になる南斜面と北東部に多く検出された。
2. 大腸菌数は不検出~1000MPN/100mLの範囲で変動しており、検出されなかった地点は33~79%あり、大腸菌群数と同じく水温の変動に対応した検出状況を示した。
3. 湧水の大腸菌群は1ヶ所を除いて季節に関係なく検出されたが、大腸菌については4地点(17地点中)で検出された。これらについては人為汚染以外の汚染に起因することが示唆された。
4. 大腸菌群と大腸菌の関係から大腸菌群によるふん便汚染指標としての評価を行うことに問題のあることが示され、環境基準項目としての大腸菌群についての見直しが必要であると考えられる。

文 献

- 1) 兵庫県：水質汚濁等に関する測定結果等。環境白書平成16年度版、資料編(CD-ROM)(2005)
- 2) 日本水道協会：糞便性指標。上水試験法(2001年版)、解説編,837(2001)
- 3) 第4回厚生科学審議会生活環境水道部会：水質基準の見直し等について。水質管理専門委員会報告(配布資料),11-17(2003.4.28)

- 4) 神戸市環境局：六甲山渓流水調査．平成 16 年度環境水質，107-109 (2005)
- 5) 西田継，濱中克哉，松本嘉孝，藤田昌史：水文現象に駆動される源流域の大腸菌動態．第 39 回日本水環境学会年会講演集，26 (2005)
- 6) 濱中克哉，芳賀弘和，藤田昌史，西田継：山地源流域における大腸菌と浮遊物質の流失特性．第 40 回日本水環境学会年会講演集，480 (2006)
- 7) 岡山紀子，Olga SAVICHTCHEVA，伊藤司，岡部聡：Real-Time PCR 法による新規糞便性汚染指標の開発と妥当評価．第 39 回日本水環境学会年会講演集，210 (2005)