

5) ダイエット用健康食品に含まれる医薬品成分の迅速一斉分析法の開発

濱田寛尚 山本理世 吉田達雄 飛野敏明 村川 弘

要 旨

過去に、国内においてダイエット用健康食品から検出された事例がある医薬品 18 成分について、イソクラティック分析を用いた LC/MS/MS による迅速一斉分析法を検討した。検討した分析条件による、市販の健康食品及び生体試料（血清）を用いた添加回収試験において、良好な結果が得られた。また、シブトラミンを含有する健康食品の本分析法による定量値と通知試験法による定量値とを比較したところ、同等の定量値が得られた。これにより、本分析法は、医薬品 18 成分について有効な迅速一斉分析法であることが明らかとなった。

キーワード：健康食品，医薬品，LC/MS/MS，イソクラティック

はじめに

痩身・強壮効果を標榜した健康食品や、ダイエットを目的に個人輸入される「ホスピタルダイエット」と称される製品の中には医薬品成分が含有されるものがあり、当該製品によると考えられる健康被害事例が多数報告されている¹⁾。また、「合法ハーブ」と称した指定薬物を含有する製品も全国的に流通しており、違法薬物による摘発事例も増加傾向にある。本県においても、平成 22 年 2 月に医薬品成分を含有する健康食品を摂食したことにより、県民が健康被害を受けた事例や、平成 23 年 10 月には本県内のハーブ専門店において、指定薬物 JWH-251 を含有する製品を販売していたとして経営者らが摘発された事例があり、こうした無承認無許可医薬品及び指定薬物の検査体制の強化が急務となっている。

健康食品中の痩身用又は強壮用医薬品成分の分析については、試料から目的成分をメタノール等により抽出し、逆相系カラムを使用した高速液体クロマトグラフィーによる一斉分析法が多数報告されている²⁻⁶⁾。しかしながら、前述の一斉分析法における分析操作は簡便であるが、LCでのグラジエント分析の際、カラムの

安定化に時間がかかるため、1 試料当たり 45 分程度の測定時間を要し、分析開始から測定終了までに 12 時間程度の時間が必要となる。しかしながら、健康危機発生時には迅速な原因究明が求められるため、さらに測定時間を短縮する必要がある。

そこで、本調査研究では、健康危機発生時の分析体制をより強化するため、過去にダイエット用健康食品等で検出事例がある医薬品のうち、18成分（国内未承認医薬品、向精神薬、緩下剤、利尿剤、血糖降下剤等）の迅速一斉分析法を開発することを目的とし、LCの測定時間を短縮できるイソクラティック分析、化合物の選択性が高い液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計（LC/MS/MS）を利用した分析方法により検討を行った。検討方法は、市販の健康食品等を試料として、標準品の添加回収試験により行った。さらに、本分析法の実試料への適用性を確認するため、本県において過去にシブトラミン等の含有が確認された健康食品を用いて、本分析法及び「シブトラミンの分析法について」（平成15年4月11日付け医薬監麻発第041104号厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課長通知）に示されている方法（以下「通知試験法」という。）による定量を併せて行ったと

ころ、同等の定量値が得られたので報告する。

実験方法

1 試薬

1.1 標準品

マジンドール、フェンフルラミン、オリストット (SIGMA)、ピサコジル、(±)クロルフェニラミン (FLUKA)、シブトラミン塩酸塩一水和物標準品、脱 N-ジメチルシブトラミンくえん酸塩標準品、(±)フルオキセチン (和光純薬工業 (株) 高速液体クロマトグラフ用)、N-ニトロソフェンフルラミン (和光純薬工業 (株) 薬理研究用)、フェノールフタレイン、ヒドロクロロチアジド (和光純薬工業 (株) 試薬特級)、塩酸プロプラノロール (和光純薬工業 (株) 局方一般試験法用)、グリベンクラミド、ジアゼパム、フロセミド、フェノバルピタールナトリウム (和光純薬工業 (株) 生化学用)、フェンテルミン、ジオクチルスルホサクシネートナトリウム (東京化成 (株))

1.2 混合標準液

1.1 の各標準品を秤量後、メタノールに溶解して標準原液を調製後、これらを混合し、50mg/ (ネガティブモード測定成分: 500 mg/) となるようにメタノールで調製し、混合標準溶液とした。

1.3 その他

その他試薬: HPLC 用、特級を使用した。

限外ろ過膜: セントリカット超ミニ (1 万分画)

2 試料

乳糖 0.1g 又は分析対象の医薬品成分を含まないことを確認した市販の健康食品 (タブレット型) をメノウ乳鉢で粉碎、均一化したもの 0.1g に 50µg (ネガティブモード測定成分: 500µg) の添加量で混合標準溶液を添加後、窒素気流下で乾固し、添加回収試験用試料とした。また、シブトラミンを含有する健康食品 (4 種類ともカプセル剤) については、各々 3 カプセル分の内容物を合わせ、メノウ乳鉢で粉碎、均一化したものを試料とした。

血清試料については、添加量が血清 1m に対して 200ng 又は 50ng (ネガティブモード測定成分: 2,000 又は 500ng) となるように混合標準原液を添加し、30 分放置したものを添加回収試験用血清試料とした。

3 LC/MS/MS 測定

3.1 LC/MS/MS 測定用試験液調製

2 で調製した試料 0.1g にメタノール 10m を加え、10 分間超音波抽出後、3,000rpm で 5 分間遠心分離し、

上清を採り、残渣に再度メタノール 10m を加え同様の操作を行い、上清を合わせメタノールで 100m に定容し、抽出原液とした。この抽出原液を 50%メタノール溶液で適宜希釈し、非水系フィルター (GL クロマトディスク 25N 0.45µm, GL Sciences 製) を用いてろ過したものを LC/MS/MS 測定用試験液とした (図 1)。

また、血清試料については、添加回収試験用血清試料を蒸留水で 25 倍希釈したものを限外ろ過し、そのろ液をメタノールで 2 倍希釈する方法 (血清分析法)、及び同試料 0.1m にメタノールを 0.9m 加えて遠心分離後、上清 200µ にメタノールを 0.3m、蒸留水を 0.5m 加え、限外ろ過する方法 (血清分析法) により LC/MS/MS 測定用試験液を作成した (図 2)。

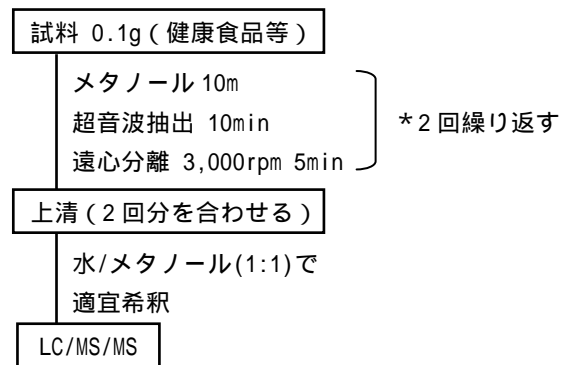


図 1 健康食品等の分析フロー

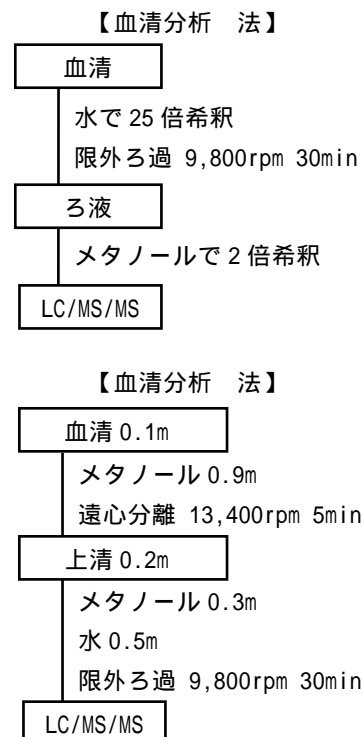


図 2 血清の分析フロー

3.3 LC/MS/MS 測定条件

高速液体クロマトグラフ：Waters 社製 Waters2795
 タンデム型質量分析装置：Waters 社製 Quattro Premier
 分析カラム：東ソー社製 TSK-gel VMPak-25(内径 2.0mm，長さ 150mm，粒子径 7 μ m)

LC/MS/MS の測定条件は表 1 及び表 2 に示した。なお，添加回収試験においては絶対検量線及び無添加試料液を使用したマトリックス一致検量線により定量を行い，実試料の試験においては絶対検量線により定量を行った。

表 1 LC/MS/MS測定条件

LC 条件	
カラム	TSKgel VMPak-25 2.0×150mm，7 μ m (東ソー)
移動相	A=水 B=メタノール C=500mM 酢酸アンモニウム D=0.5% ギ酸
移動相組成	A:B:C:D=18:80:1:1
流量	0.15m /min
カラム温度	40
注入量	4 μ
測定時間	10min
MS/MS 条件	
イオン化方法	ESI (ポジティブ，ネガティブモード)
キャピラリー電圧	ポジティブ:3.45kV，ネガティブ:2.8kV
ソース温度	120
デゾルベーション温度	350
コーンガス流量	100 /hr
デゾルベーションガス流量	1,000 /hr
測定モード	MRM

表 2 MRM条件

	定量イオン			定性イオン		
	MRM trace(m/z)	CV(V)	CE(eV)	MRM trace(m/z)	CV(V)	CE(eV)
ESI(ポジティブモード)						
マジンドール	285.30 > 43.86	40	25	285.30 > 101.85	40	45
シブトラミン	280.30 > 124.70	20	25	280.30 > 138.70	20	20
脱N-ジメチルシブトラミン	252.20 > 124.60	15	20	252.20 > 138.70	15	20
フェンフルラミン	232.20 > 158.70	15	20	232.70 > 186.70	15	15
N-ニトロソフェンフルラミン	261.20 > 158.70	15	20	261.20 > 186.70	15	15
オリスタット	496.37 > 319.10	25	15	496.37 > 113.74	25	25
フェンテルミン	150.00 > 90.60	15	15	150.00 > 132.70	15	10
フェノールフタレイン	319.20 > 224.80	35	20	319.20 > 196.90	35	35
ピサコジル	362.30 > 183.70	35	35	362.30 > 225.80	35	15
フルオキセチン	310.29 > 43.88	20	10	310.29 > 147.88	20	10
クロルフェニラミン	275.22 > 230.04	25	20	275.22 > 166.92	25	40
プロブラノロール	260.28 > 115.80	30	20	260.28 > 182.80	30	20
グリベンクラミド	494.10 > 368.90	20	20	494.10 > 168.70	20	40
ジアゼパム	285.18 > 193.06	35	35	285.18 > 153.98	35	25
ESI(ネガティブモード)						
フロセミド	329.06 > 204.72	20	20	329.06 > 284.68	20	20
ヒドロクロロチアジド	296.01 > 268.70	40	20	296.01 > 204.72	40	20
ジオクチルスルホサクシネート	421.18 > 80.56	30	30	421.18 > 226.66	30	20
フェノバルピタール	231.28 > 188.04	30	10	231.28 > 84.86	30	25

4 シブトラミンの GC/MS 測定

4.1 GC/MS 測定用試験液調製

通知試験法に準拠して行った。2 で調製した試料 0.2g に、10%アンモニア水 1m を添加し混和後、*t*-ブチルメチルエーテル 5m を添加し、10 分間振とう抽出後、3,000rpm で 10 分間遠心分離し、有機層を採る。残渣に再度 *t*-ブチルメチルエーテル 5m を加え、同様の操作を行い、有機層を合わせ減圧乾固後、メタノールで 100m に定容し、抽出原液とした。この抽出原液をメタノールで適宜希釈し、3 と同様にフィルターをろ過したものを通知試験法用試験液とした。

また、3 で得られた抽出原液をメタノールで適宜希釈し、同様にフィルターをろ過したものをメタノール抽出による GC/MS 用試験液とした。

4.2 GC/MS 測定条件

GC: 7890A(Agilent), MS:5975C(Agilent)

カラム: HP-5MS, 0.25mm × 30m, 膜厚:0.25 μm

昇温条件: 80 (2分)-10 /分-280 (18分)

流量: 1m /min (定流量モード)

注入口温度: 250, 注入力: 4μ

注入方法:パルスドスプリットレス

MS イオン源温度: 230, MS 四重極温度: 150

結果及び考察

1 分析条件の検討

痩身用医薬品成分等の一斉分析に関する報告においては、目的成分をメタノールで抽出し、逆相系カラムと LC/MS/MS とを併用した分析方法が多い²⁻⁶⁾。しかしながらこうした一斉分析法では、LC でのグラジエント分析の際、カラムの安定化に時間がかかるため、1 測定当たりの測定時間が 45 分程度は必要となる。さらには、汎用性の高い逆相系カラムを使用した報告においても、一部の医薬品成分で検量線の直線性が低い場合もある。

このため、より短時間で、かつ直線性が高い検量線が得られる条件を検討した。本調査研究では、イソクラティック分析による方法を試み、各種 HILIC 系カラム (Zic-pHILIC, Inertsil amide, PC-HILIC) にて検討を行ったが、一部の医薬品成分でシャープなピークが得られない、R.T. が遅い、などの理由で断念した。その後、分子篩作用、陽イオン交換作用、分配作用を併せ持つ TSKgel VMPak-25 (東ソー社製) を使用し、水:メタノール: 500mM 酢酸アンモニウム:0.5% 酢酸=18:80:1:1 の移動相条件下でのイソクラティック分析を検討したところ、18 成分が全て 10 分以内に溶出し、ピーク形状も良好であった。これに加え、測定用試験液の溶媒組成について、水:メタノール=75:25, 50:50, 0:100 の組成

で検討を行ったところ、ほとんどの医薬品成分において、溶媒組成による影響は少なかったが、オリスタットについては図 3 に示すとおり、メタノール含量が高い場合及び水含量が高い場合にはピーク形状に影響があった。このため、測定用試験液の溶媒組成については、水:メタノール=50:50 とした。

また、絶対検量線においては、0.5 ~ 50μg/ (ネガティブモード測定成分: 10~500μg/) の範囲で良好な直線性 ($R^2 > 0.999$) が得られた。

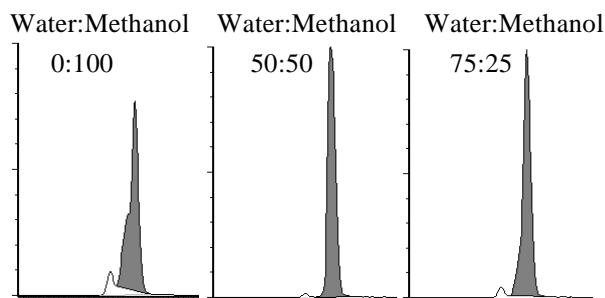


図3 オリスタット標準品のMRMクロマトグラムにおけるピーク形状比較(オリスタット 0.2ng)

2 添加回収試験

抽出溶媒については、井上⁷⁾の報告を始め、痩身用医薬品成分の分析に汎用されること²⁻⁶⁾、及び LC/MS/MS で当該医薬品成分が検出された場合に GC/MS による定性分析を併せて行うことを考慮し、メタノールを用いることとした。また、乳糖を試料として用いた添加回収試験において、メタノールによる抽出を 4 回行い、抽出回毎の回収率の結果を図 4 に示した。フルオキセチンを除くすべての医薬品成分が 3 回目以降では検出されなかったため、メタノールによる抽出回数は 2 回行うこととした。

痩身用医薬品成分を含有する健康食品、医薬品製剤であるホスピタルダイエット等の分析を想定し、市販の健康食品及び乳糖を用いて添加回収試験(n=3)を行ったところ、その回収率は表 3 に示すとおりとなり、良好な結果が得られた。また、絶対検量線及びマトリックス一致検量線による回収率の比較により、一部の医薬品成分ではマトリックス成分によるイオン化への影響があると考えられた。しかし、前述の添加回収試験における添加量は、試料 0.1g に対して 50μg 又は 500μg であり、医薬品としての用量の 10 分の 1 以下となるため、実試料の定量分析では、より測定試料の希釈が必要となり、マトリックス成分によるイオン化への影響がより低減されると考えられる。このことから、実試料の定量分析には、絶対検量線を用いることとした。

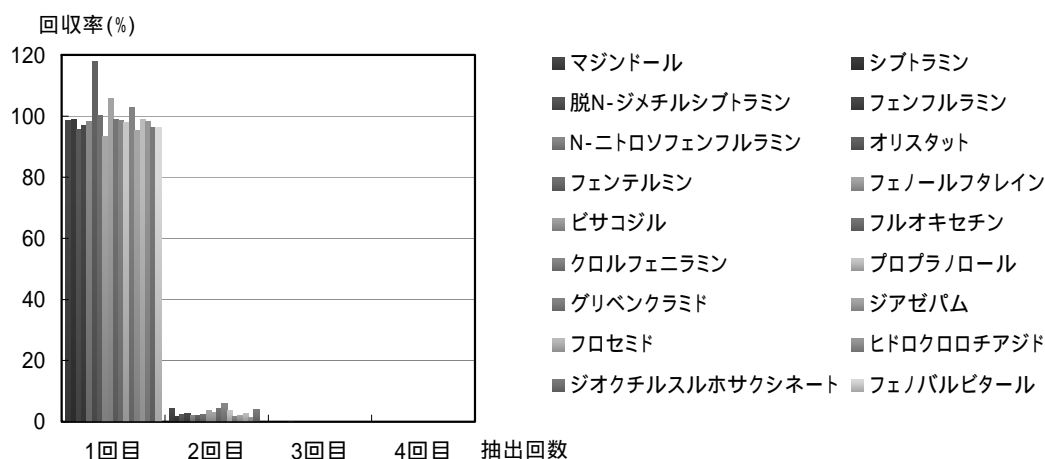


図4 抽出回数の検討結果

表3 添加回収試験結果

添加回収試験試料	乳糖				市販健康食品			
	検量線	絶対検量線		マトリックス一致検量線	絶対検量線法		マトリックス一致検量線	
医薬品成分名	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)
マジンドール	81.8	8.0	101.9	8.3	73.2	6.2	104.0	8.7
シブトラミン	108.5	2.7	99.0	2.7	106.7	0.7	97.1	0.7
脱N-ジメチルシブトラミン	109.7	0.4	94.9	0.4	115.4	2.4	99.7	2.4
フェンフルラミン	106.9	1.0	96.6	0.9	107.1	1.1	106.1	1.1
N-ニトロソフェンフルラミン	102.5	2.0	92.3	2.0	102.6	1.7	96.8	1.7
オリスタット	79.6	5.4	90.7	5.5	87.6	14.7	126.5	14.8
フェンテルミン	103.9	1.0	93.5	0.9	103.1	2.2	104.4	2.3
フェノールフタレイン	103.3	2.1	97.5	2.2	102.5	0.6	98.9	0.6
ピサコジル	99.0	0.7	99.9	0.7	88.0	3.7	95.2	2.0
フルオキセチン	106.6	1.1	97.7	1.1	106.8	1.8	107.3	1.9
クロルフェニラミン	124.1	2.5	101.4	2.5	134.3	6.8	119.9	6.7
プロプラノロール	98.5	2.7	90.9	2.7	100.5	2.0	100.7	2.1
グリベンクラミド	99.7	1.4	95.8	1.4	103.6	1.4	98.2	1.4
ジアゼパム	107.1	1.8	93.4	1.7	104.0	2.7	104.2	2.7
フロセミド	92.7	8.0	82.6	8.0	100.5	4.3	97.1	4.3
ヒドロクロロチアジド	98.4	1.7	90.8	1.6	124.4	4.5	96.4	4.5
ジオクチルスルホサクシネート	115.1	4.0	94.5	3.9	115.6	5.7	94.4	5.6
フェノバルビタール	118.5	1.2	89.1	1.2	120.3	11.0	101.7	11.1

回収率は試行回数:3の平均値

3 実試料への適用性試験

本分析法の定量性を確認するために、平成22年2月に本県で発生した健康被害事例において、シブトラミン及びフェンフルラミンの含有が確認された無承認無許可医薬品4種類(A~D:いずれもカプセル状のもの)を用いて実試料への適用性試験を行った。シブトラミンについては、通知試験法及び本分析法(以下「LC/MS/MS法」という。)での定量値を比較したところ、表4に示すとおり、試料A~Dすべてにおいて通知試験法とLC/MS/MS法とで同等の値が得られた。また、フェンフルラミン(試料D)については、メタノール抽出後にGC/MSで定量する方法(GC/MS法)及び本分析法での定量値を比較したところ、それぞれ8.4mg/cap(RSD:0.9%),9.4mg/cap(RSD:6.5%)となり、近い値が得られた。さらに、試料Dからは、健

康被害が発生した当时には分析対象としていなかった「フェノールフタレイン」及び「プロプラノロール」がそれぞれ1.1mg/cap,6.1mg/cap検出された(表5)。

これらのことから、本分析法は、健康食品中の医薬品成分一斉分析法として有用であることが確認された。

表4 実試料によるシブトラミン定量値の比較

試験法	通知試験法		LC/MS/MS法	
	平均値* (mg/cap)	RSD(%)	平均値* (mg/cap)	RSD(%)
A	7.3	2.6	8.0	6.8
B	3.1	7.8	3.1	6.0
C	4.6	6.0	5.3	8.5
D	1.2	4.0	1.1	7.4

*試行回数:3

表5 試料Dの分析結果

試験法	LC/MS/MS 法	
	平均値 [*] (mg/cap)	RSD(%)
医薬品成分名		
フェンフルラミン	9.4	6.5
プロプラノロール	1.1	6.3
フェノールフタレイン	6.1	4.1

*試行回数:3

4 生体試料(血清)を用いた添加回収試験

医薬品成分を含有するダイエット用健康食品による健康被害が発生した際、当該患者の血清中には高濃度の医薬品成分が存在することが考えられる。このため、血清中の医薬品成分分析に本分析法が適用できるかについても添加回収試験により検討した。

本所では、血清中のテトロドトキシン分析において、試料中のマトリックス成分によるイオン化への影響を低減するため、試料を50倍希釈したのち、限外ろ過により蛋白質を除去する前処理法を報告している⁸⁾。この方法を参考に、血清試料を水で25倍希釈し、限外ろ過したる液をメタノールで2倍希釈したものを測定試料としてLC/MS/MSで測定したところ(血清分析法)、18成分中6成分しか検出できず、十分な回収率が得られたものはフェンテルミン、ヒドロクロロチアジド及びフェノバルビタールの3成分のみであった。改善策として、メタノールによる抽出を試みたところ(血清分析法)、表6に示すとおりオリスタット以外の医薬品成分を検出することができ、オリスタット及びピ

サコジル以外の医薬品成分については、良好な回収率が得られた。

また、血清分析法における2つの添加回収試験(添加量:200ng及び50ng(ネガティブモード測定成分:2,000ng及び500ng))における回収率はほぼ同じ傾向にあった。そのうち、脱N-ジメチルシブトラミン、フェンフルラミン、N-ニトロソフェンフルラミン、ジアゼパム及びフロセמידにおいては負のマトリックス効果が、フェノバルビタールにおいては正のマトリックス効果が影響していることが考えられた。

医薬品成分は個々の結合率で蛋白質と結合するため、血清試料での添加回収試験結果に大きく差が見られたと考えられる。しかしながら、血清中の蛋白質と結合していない医薬品成分が主に薬効を発揮すること、中毒症状を呈する場合には相当量の医薬品成分が血清中に存在することが考えられることから、患者血清中の医薬品成分のスクリーニング分析においても、本分析法が有用であると考えられた。

まとめ

健康危機管理体制を充実させるため、ダイエット用健康食品中から検出された事例のある医薬品18成分について、測定機器にLC/MS/MSを、分析カラムにTSKgel VMpak-25を用いた迅速一斉分析法を検討した。検討した分析条件のもと、市販の健康食品及び生体試料(血清)を用いて添加回収試験を行った結果、良好な結果が得られ、シブトラミンを含有する健康食品の本分析

表6 血清を用いた添加回収試験結果

抽出方法	血清分析法		血清分析法			
	200 ng (*:2,000ng)		200 ng (*:2,000ng)		50 ng (*:500ng)	
添加量						
検量線	絶対検量線	マトリックス一致検量線	絶対検量線	マトリックス一致検量線	絶対検量線	マトリックス一致検量線
医薬品成分名						
マジンドール	4.0 (13.4)	4.3 (13.9)	66.5 (2.1)	74.2 (2.1)	70.7 (1.4)	78.7 (1.6)
シブトラミン	-	-	37.6 (12.7)	45.7 (11.7)	42.7 (9.6)	51.8 (9.5)
脱N-ジメチルシブトラミン	-	-	60.1 (3.7)	82.8 (3.6)	55.5 (5.2)	83.8 (4.7)
フェンフルラミン	12.6 (6.2)	19.3 (5.6)	70.7 (6.1)	101.9 (7.4)	75.7 (2.8)	112.9 (2.6)
N-ニトロソフェンフルラミン	-	-	42.0 (6.7)	68.0 (6.8)	45.1 (10.5)	69.0 (11.2)
オリスタット	-	-	-	-	-	-
フェンテルミン	80.2 (1.4)	96.9 (1.4)	79.7 (2.8)	96.3 (2.8)	79.7 (4.6)	98.3 (4.4)
フェノールフタレイン	-	-	62.4 (4.3)	80.9 (2.1)	67.7 (14.6)	74.7 (11.0)
ピサコジル	-	-	5.3 (5.6)	8.9 (9.0)	7.5 (4.7)	13.1 (7.6)
フルオキセチン	-	-	78.2 (5.1)	87.3 (5.2)	83.9 (4.0)	93.3 (4.0)
クロルフェニラミン	16.7 (12.7)	13.3 (14.5)	120.0 (1.0)	115.2 (1.1)	142.0 (3.4)	127.0 (3.8)
プロプラノロール	-	-	74.5 (1.7)	84.9 (1.7)	77.5 (3.6)	89.6 (3.5)
グリベンクラミド	-	-	74.2 (5.3)	91.8 (1.8)	78.3 (7.7)	90.6 (8.2)
ジアゼパム	-	-	65.1 (5.0)	94.3 (4.3)	63.4 (10.0)	92.0 (9.9)
フロセמיד*	-	-	106.9 (1.3)	96.7 (6.1)	66.5 (5.2)	98.8 (4.6)
ヒドロクロロチアジド*	109.5 (1.6)	100.8 (1.6)	101.3 (6.0)	93.4 (5.9)	88.6 (7.5)	88.5 (6.6)
ジオクチルスルホサクシネート*	-	-	81.4 (1.4)	85.6 (1.4)	86.5 (4.4)	91.1 (4.4)
フェノバルビタール*	144.1 (9.1)	111.5 (5.9)	118.3 (6.3)	91.7 (6.5)	93.8 (4.3)	66.7 (6.6)

数値は回収率(%)の平均値(試行回数:3) ()内はRSD(%)を記載

法による定量値と、通知試験法による定量値とを比較した結果、同等の定量値が得られた。また、医薬品 18 成分を同時に分析することが可能となったため、健康危機発生時には分析対象としていなかった医薬品成分を検出することができた。さらに、逆相系カラムを使用したグラジエント分析では、1 試料あたり 45 分程度の測定時間を要するが、本分析法では、1 試料あたりの測定時間が 10 分であり、測定時間を 4 分の 1 程度に短縮することができた。

生体試料（血清）を使用した添加回収試験においては、メタノールによる抽出と限外ろ過を組み合わせることで、オリスタット及びピサコジル以外の 16 成分について、良好な回収率が得られた。

これらのことから、本分析法は、検討した医薬品 18 成分について非常に有用な迅速一斉分析法であると考えられた。

文 献

- 1) 厚生労働省ホームページ:無承認無許可医薬品情報
<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/musyounin.html>
- 2) 赤木理恵, 味戸一宏, 金成徹, 川田好徳, 鈴木昭彦,

竹村悦子, 斎藤和男: 福島県衛生研究所報, 24, 47-50 (2006).

- 3) 伊達英代, 豊田安基江, 寺内正裕, 杉村光永, 松尾健, 齋池千恵子: 薬学雑誌, 128(5), 811-817 (2008).
- 4) 小山和志, 月岡 忠, 田口泰久, 山本明彦, 宮澤正徳, 岩松巳佳子, 中野文夫, 白石 崇: 長野県環境保全研究所報, 6, 21-26 (2010).
- 5) 井上 智, 秦野真澄, 小笠原光憲, 金本 昭, 大瀬戸光明, 井上博雄: 愛媛県立衛生環境研究所年報, 6, 34-38 (2003).
- 6) 熊坂健一, 宮澤真紀, 松阪綾子, 麻生順子, 小島 尚: *Chromatography*, 31, 77-86 (2010).
- 7) 蓑輪佳子, 岸本清子, 坂本美穂, 門井秀郎, 坂本義光, 守安貴子, 濱野朋子, 中江 大: 東京都健康安全研究センター年報, 62, 115-120 (2011).
- 8) 吉元秀和, 飛野敏明, 濱田寛尚, 吉田達雄, 村川 弘: 熊本県保健環境科学研究所報, 40, 50-53 (2010).

6) 阿蘇地域における光化学オキシダント濃度調査

村岡 俊彦 林 英明 北岡 宏道

要 旨

光化学スモッグ発令地域における発令局との光化学オキシダント(以下「O_x」という)濃度類似性の検証を目的として、南阿蘇村白水(以下「白水」という)及び高森町上色見(以下「高森」という)において、大気環境測定車によりO_xの調査を行った。調査結果によれば、白水及び高森は、相関性、O_x日最大濃度到達時間、濃度レベル共に現行発令局である益城町役場局よりも、阿蘇保健所局の方に明確な類似性が見られた。このことから、両地域が属する南阿蘇地域の発令局としては、阿蘇保健所局が適切であると判断された。

キーワード：光化学オキシダント，光化学スモッグ注意報発令地域，南阿蘇

はじめに

平成18年6月には熊本県観測史上初の光化学スモッグ注意報が発令され、平成19年には計7回(4日間計7地域)など、最近、本県においても高濃度の光化学オキシダント(以下「O_x」という)が観測されるようになり、社会問題となっている。この様な背景の下、これまで、光化学スモッグ注意報等の発令地域は、大気汚染常時監視局が所在する市町村域が対象であったが、平成20年2月に熊本県環境審議会で策定された「光化学スモッグ緊急時対策基本方針」に基づき、平成20年4月に県下全域に発令対象地域(12地域区分)が拡大された。さらに、平成21年6月に、新たに阿蘇保健所局等の大気汚染常時監視局が4局増設されたことに伴い、発令対象地域が16地域区分となった。

南阿蘇村及び高森町は、標高1000m前後の阿蘇外輪山に囲まれた東西約18km、南北約25kmの広大なカルデラの中にあり、カルデラの中央付近に位置する高岳(標高1592m)等阿蘇五岳の南側に位置する。

このため、これら山岳の影響で北側の地域とは大気汚染物質の流入等の挙動が異なることが予想されたこ

とから、その発令地域区分は「南阿蘇地域」に属しているが、その発令局は益城町役場局とされており、発令局から離れた地域となっている。そこで、平成22年度から、環境保全課の依頼により、南阿蘇村及び高森町において、O_x濃度が高濃度となる春季に、大気環境測定車(以下「測定車」という)によるO_x濃度調査を行い、発令局(益城町役場局)とのO_x濃度類似性の検証を行ったので報告する。

調査方法

1 南阿蘇村調査

平成22年5月1日～6月17日、平成23年4月20日～6月30日の期間にかけて、図1に示す標高464mの南阿蘇村大字吉田1700-1「南阿蘇村白水体育館」(以下「白水」という)に測定車みどり世号を設置し、光化学オキシダント(O_x)、窒素酸化物(NO、NO₂、NO_x)及び風向・風速を測定した。なお、O_x、NO-NO₂-NO_x計は湿式である。

2 高森町調査



図1 調査地点

標高 671m の高森町大字上色見 1388「高森町上色見総合センター」(以下「高森」という)に測定車みどり世号を設置し、光化学オキシダント(Ox)、窒素酸化物(NO,NO₂,NO_x)、及び風向・風速を測定した。なお、Ox、NO-NO₂-NO_x計は乾式である。

3 後方流跡線解析, 気象データ

大気汚染物質の移流経路を求める解析手法として国立環境研究所地球環境研究センターのMETEX¹⁾のデータを用い、阿蘇外輪山(東経 131 度,北緯 33 度)を起点とした後方流跡線(起点高度 1500m, 遡及時間 72 時間)を作成した。また、阿蘇山測候所の風向風速データを気象庁ホームページより入手し、解析に利用した。なお、風向風速ベクトルの作成は早狩氏作成の解析ソフトを使用した²⁾。

結果及び考察

1 発令局との類似性の検証

Ox に関する発令局との類似性を検証する場合、最も重要となるのは、光化学スモッグ注意報等発令に至る様な高濃度Oxとなった際のOx濃度及びその時刻について、発令局と対象地域間でどの程度の類似性があるかどうかを検証することである。

そこで、白水・高森において日最大Ox濃度が80ppb以上となった日について、次の検証を行った。

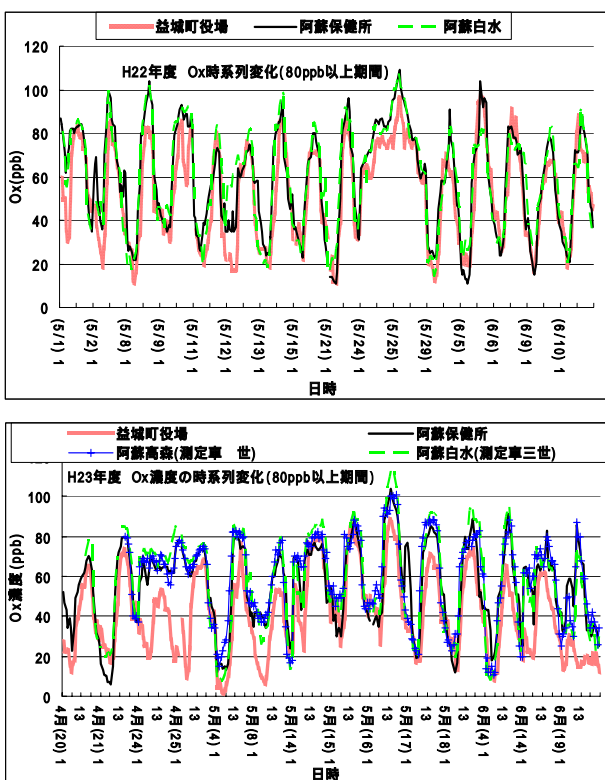


図2 平成 22 年度(上)、平成 23 年度(下)調査の高濃度期間における Ox 時系列変化

平成 23 年 4 月 21 日 ~ 6 月 30 日にかけて、図 1 に示す

- ・Ox 濃度挙動の類似性については、Ox 濃度相関係数にて検証
- ・高濃度 Ox となる時刻について、日最大濃度に到達した時刻の差にて検証
- ・高濃度時の Ox 濃度レベルについて、日最大濃度の差(Ox 濃度に対する濃度差の割合として評価)にて検証

(1) Ox 濃度挙動の類似性の検証

白水・高森の Ox 日最大値が 80ppb 以上となった期間の Ox 時系列変化グラフを示す(図2)。益城町役場局は白水・高森・阿蘇保健所局よりも Ox 濃度が低いレベルを推移する傾向にあること、並びにその変動パターンも幾分異なっていることが分かる。

白水・高森 Ox の各常時監視局との相関係数を表1、2に示した。相関係数は、白水・高森共に全調査期間及び最大値が 80ppb 以上となった期間のいずれにおいても、阿蘇保健所局 > 益城町役場局の順番であり、阿蘇保健所と高い相関を示した。

(2) 高濃度 Ox となる時刻の検証

白水・高森の Ox 日最大値が 80ppb 以上となった日

表1 平成22年度調査における白水と各常時監視局 Ox 濃度の相関係数

南阿蘇村白水(測定車 世号)			
全測定期間		白水Ox日最大>80ppbの測定日	
局	相関係数	局	相関係数
阿蘇保健所	0.8990	阿蘇保健所	0.9330
大津町引水	0.8309	益城町役場	0.8781
小田浦公民館	0.8247	上天草合津	0.8751
益城町役場	0.8218	楡木	0.8699
楡木	0.8153	小田浦公民館	0.8698
錦ヶ丘	0.8131	錦ヶ丘	0.8665
上天草合津	0.8131	宇土運動公園	0.8552
甲佐町岩下	0.8111	河浦	0.8546
水俣保健所	0.8047	八代市役所	0.8546
京町	0.8015	甲佐町岩下	0.8534
古町	0.7986	菊池市役所	0.8518
菊池市役所	0.7953	山鹿健康センタ	0.8509
山鹿健康センタ	0.7883	大津町引水	0.8458
宇土運動公園	0.7874	天明	0.8453
河浦	0.7871	天草保健所	0.8426
天草保健所	0.7835	古町	0.8406
天明	0.7800	京町	0.8340
八代市役所	0.7686	苓北木場	0.8322
苓北志岐	0.7671	水俣保健所	0.8303
苓北木場	0.7665	有明保健所	0.8150
有明保健所	0.7650	苓北志岐	0.8033
人吉保健所	0.7316	荒尾市役所	0.7343
荒尾市役所	0.6876	人吉保健所	0.7316

について、白水・高森の Ox 日最大となった時刻(日最大到達時刻)と各測定局の日最大到達時刻の差[白水(高森)日最大到達時刻 - 各局日最大到達時刻]の絶対

表2 平成23年度調査における白水・高森と各常時監視局 Ox 濃度の相関係数

阿蘇高森(測定車 世号)				阿蘇白水(測定車 世号)			
全測定期間		Ox日最大>80ppbの測定日		全測定期間		Ox日最大>80ppbの測定日	
阿蘇白水測定車 世	0.9441	阿蘇白水測定車 世	0.9333	阿蘇高森(測定車 世)	0.9441	阿蘇高森(測定車 世)	0.9333
阿蘇保健所	0.8964	阿蘇保健所	0.8829	阿蘇保健所	0.9228	阿蘇保健所	0.9145
宇土運動公園	0.7649	大津町引水	0.8195	大津町引水	0.8665	大津町引水	0.8456
益城町役場	0.7717	上天草合津	0.7718	楡木	0.8305	宇土運動公園	0.8272
河浦	0.7544	甲佐町岩下	0.7663	小田浦公民館	0.8277	上天草合津	0.8188
菊池市役所	0.7936	宇土運動公園	0.7562	菊池市役所	0.8274	天明	0.8167
京町	0.7612	苓北木場	0.7457	錦ヶ丘	0.8249	楡木	0.8166
錦ヶ丘	0.7802	天明	0.7441	益城町役場	0.8248	甲佐町岩下	0.8081
古町	0.7809	益城町役場	0.7437	甲佐町岩下	0.8214	益城町役場	0.7974
甲佐町岩下	0.7848	楡木	0.7396	水俣保健所	0.8200	錦ヶ丘	0.7973
荒尾市役所	0.7367	小田浦公民館	0.7355	古町	0.8199	小田浦公民館	0.7966
山鹿健康センター	0.7452	菊池市役所	0.7221	天明	0.8183	京町	0.7801
小田浦公民館	0.8056	錦ヶ丘	0.7197	京町	0.8117	天草保健所	0.7792
上天草合津	0.8003	苓北志岐	0.7193	苓北木場	0.8108	菊池市役所	0.7717
人吉保健所	0.7396	天草保健所	0.7155	上天草合津	0.8079	古町	0.7695
水俣保健所	0.8060	河浦	0.7028	苓北志岐	0.8048	人吉保健所	0.7638
大津町引水	0.8154	水俣保健所	0.6974	天草保健所	0.8000	河浦	0.7593
天草保健所	0.7969	人吉保健所	0.6932	宇土運動公園	0.7978	苓北木場	0.7587
天明	0.7894	古町	0.6879	山鹿健康センター	0.7860	有明保健所	0.7491
八代市役所	0.7588	京町	0.6810	河浦	0.7817	苓北志岐	0.7376
有明保健所	0.7374	有明保健所	0.6775	有明保健所	0.7779	水俣保健所	0.7318
苓北志岐	0.8140	山鹿健康センター	0.6673	八代市役所	0.7770	山鹿健康センター	0.7312
苓北木場	0.8090	八代市役所	0.6575	人吉保健所	0.7749	八代市役所	0.7024
楡木	0.7758	荒尾市役所	0.5976	荒尾市役所	0.7603	荒尾市役所	0.6885

阿蘇高森・白水いずれかでOx日最大>80ppbの測定日

表3 平成22年度(左)、平成23年度(右)調査における白水・高森と各常時監視局の
Ox日最大到達時刻差平均 (単位:hr)

南阿蘇村白水(測定車 世号)		阿蘇高森(測定車 世号)		阿蘇白水(測定車 世号)	
局	Ox日最大濃度到達時刻差平均	局	Ox日最大濃度到達時刻差平均	局	Ox日最大濃度到達時刻差平均
阿蘇保健所	0.9	阿蘇保健所	1.2	阿蘇保健所	1.3
上天草合津	2.1	阿蘇白水(測定車三世)	1.7	阿蘇高森(測定車 世)	1.7
甲佐町岩下	2.2	苓北木場	2.7	苓北木場	2.5
宇土運動公園	2.3	苓北志岐	3.4	人吉保健所	3.1
天草保健所	2.4	人吉保健所	3.7	苓北志岐	3.1
天明	2.6	天草保健所	3.8	天草保健所	3.2
苓北木場	2.6	古町	3.8	天明	3.3
荒尾市役所	2.6	天明	3.8	河浦	3.4
小田浦公民館	2.6	宇土運動公園	3.9	宇土運動公園	3.5
大津町引水	2.6	大津町引水	3.9	水俣保健所	3.6
山鹿健康センター	2.7	荒尾市役所	4.0	古町	3.7
八代市役所	2.7	水俣保健所	4.0	小田浦公民館	3.8
河浦	2.8	有明保健所	4.1	甲佐町岩下	3.8
苓北志岐	2.8	菊池市役所	4.1	荒尾市役所	3.8
有明保健所	2.9	河浦	4.1	京町	3.8
益城町役場	3.0	山鹿健康センター	4.2	有明保健所	3.9
菊池市役所	3.1	小田浦公民館	4.2	菊池市役所	3.9
檜木	3.1	上天草合津	4.3	大津町引水	3.9
京町	3.2	益城町役場	4.3	檜木	4.0
水俣保健所	3.3	八代市役所	4.5	上天草合津	4.0
錦ヶ丘	3.4	甲佐町岩下	4.5	錦ヶ丘	4.1
古町	3.6	錦ヶ丘	4.6	益城町役場	4.1
人吉保健所	3.6	檜木	4.7	八代市役所	4.1
		京町	4.8	山鹿健康センター	4.3

表4 平成22年度(左)、平成23年度(右)調査における白水・高森と各常時監視局のOx日最大濃度差の割合

日最大値差の割合の平均値(%)	日最大値差の割合の平均値(%)				
	阿蘇高森(測定車 世号)		阿蘇白水(測定車 世号)		
南阿蘇村白水					
阿蘇保健所	5.8	阿蘇保健所	3.3	阿蘇高森(測定車 世)	8.6
菊池市役所	6.1	菊池市役所	9.0	阿蘇保健所	9.2
大津町引水	6.6	京町	9.3	菊池市役所	11.2
天草保健所	7.1	阿蘇白水(測定車三世)	9.3	天草保健所	12.9
苓北志岐	7.7	錦ヶ丘	9.8	京町	13.0
檜木	7.9	天草保健所	10.3	古町	14.6
小田浦公民館	8.8	大津町引水	11.4	苓北志岐	15.1
水俣保健所	9.9	古町	11.6	錦ヶ丘	15.1
上天草合津	10.1	檜木	12.3	大津町引水	15.5
甲佐町岩下	10.2	甲佐町岩下	13.5	有明保健所	15.7
有明保健所	11.5	上天草合津	13.5	上天草合津	16.1
八代市役所	12.3	苓北木場	15.2	檜木	16.9
益城町役場	12.3	水俣保健所	15.4	水俣保健所	17.2
苓北木場	12.4	小田浦公民館	15.9	甲佐町岩下	17.8
河浦	14.2	宇土運動公園	16.0	人吉保健所	18.1
山鹿健康センター	15.0	苓北志岐	17.2	小田浦公民館	18.1
古町	15.3	天明	17.6	苓北木場	18.6
京町	15.3	荒尾市役所	18.5	宇土運動公園	21.0
宇土運動公園	15.5	有明保健所	19.2	荒尾市役所	21.5
天明	15.6	河浦	21.1	天明	22.4
錦ヶ丘	16.0	山鹿健康センター	23.3	益城町役場	24.6
荒尾市役所	18.3	益城町役場	26.4	河浦	24.8
人吉保健所	26.7	人吉保健所	35.3	山鹿健康センター	33.3
		八代市役所	36.2	八代市役所	34.8

高森・白水のOx日最大値が80ppb以上となった日について、高森・白水のOx日最大濃度に対する各測定局の日最大濃度差の割合

$$\left[\frac{\text{高森(白水)Ox日最大濃度} - \text{各局日最大濃度}}{\text{高森(白水)Ox}} \right]$$
の絶対値を算出し、対象日を通しての平均を求め、高森・白水それぞれのOx日最大濃度からの各局のズレの程度を評価した。

値を算出し、対象日を通しての平均を求め、白水・高森それぞれの Ox 日最大到達時刻からの各局の差の程度を評価した(表 3)。この結果、Ox 日最大値到達時刻について、白水・高森との差が最も小さい測定局は阿蘇保健所局(0.9~1.3 時間の差)であり、一方現行発令局である益城町役場局との差は 3~4.3 時間であった。

(3) 高濃度時の Ox 濃度レベルの検証

白水・高森の Ox 日最大値が 80ppb 以上となった日について、白水・高森の Ox 日最大濃度に対する各測定局との日最大濃度差の割合 [(白水(高森)Ox 日最大濃度 - 各局日最大濃度) / 白水(高森)Ox 日最大濃度] の絶対値を算出し、対象日を通しての平均を求め、白水・高森それぞれの Ox 日最大濃度からの各局の差の程度を評価した(表 4)。この結果、Ox 日最大濃度について白水・高森との差が最も小さい測定局は阿蘇保健所局であり、3.3~9.2%の差であった。

一方、現行発令局である益城町役場局との差は、12.3~26.4%であった。

(4) 発令局との類似性検証の結果

白水・高森は、現行発令局である益城町役場局よりも、阿蘇保健所局の方に、相関性、Ox 日最大濃度到達時間、濃度レベル共に明確な類似性が見られた。益城町役場局は、最大濃度到達時刻が白水・高森よりも平均 3~4.3 時間ずれ、最大濃度も平均 12.3~26.4%ずれていた。これらのことから、白水・高森を含む南阿蘇地域の発令局としては、阿蘇保健所局が適切であると判断された。

2 南阿蘇地域と益城局の Ox 濃度挙動の相違に関する解析

白水・高森の Ox 濃度挙動が、益城町役場局よりも阿蘇保健所局に類似する要因について解析した結果、以下の知見が得られた。

(1) NO による Ox 自己消費

Ox の 9 割は O₃とされているが、O₃は、NOが存在すると O₃+NO → O₂+NO₂ の反応により自己消費される。南阿蘇地域と益城町役場局を比較すると、熊本市近郊である益城町役場局は自動車等による NO 排出量が南阿蘇地域よりも多いことから、上記により Ox が自己消費されている可能性がある。

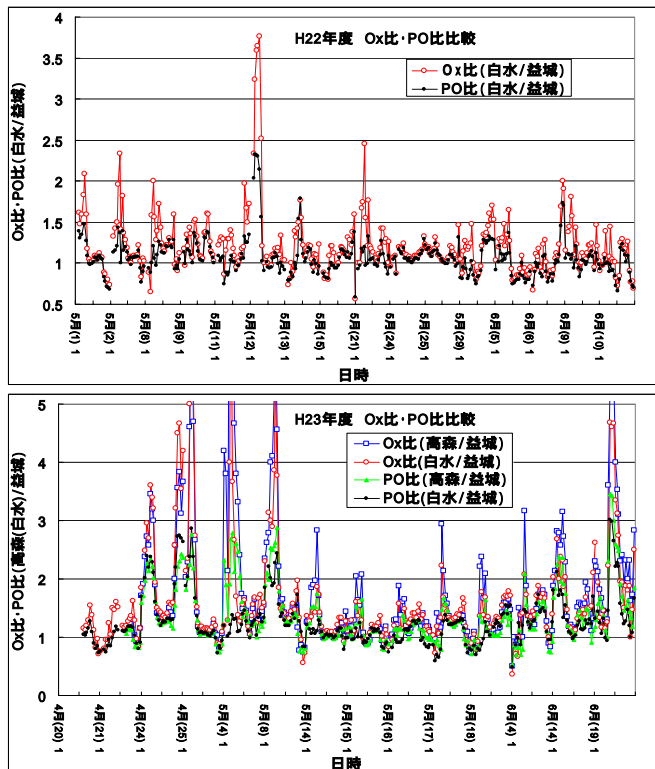


図3 平成 22 年度(上) 平成 23 年度(下)調査の高濃度期間での白水・高森と益城局の Ox 比・PO 比の時系列変化

そこで、この影響を検討するため、NOにより消費された O₃量まで含めた保存量であるポテンシャルオゾン(以下「PO」という)を次式により求め、評価を行った³⁾。

$$PO = Ox + NO_2 - 0.1 \times NOx$$

白水・高森の Ox 日最大値が 80ppb 以上となった期間の白水(高森)と益城町役場局との Ox 比[白水(高森)Ox/益城町役場局 Ox]、PO 比[白水(高森)PO/益城町役場局 PO]時系列変化グラフを示した(図 3)。Ox 比と比較すると、明らかに PO 比は Ox 比より小さくなる傾向があることから、PO で見ると、益城町役場局と白水・高森との濃度差が幾分か小さくなるのが分かる。

このことから、熊本市近郊にある益城町役場局は、NO による Ox 自己消費が多いため、Ox 濃度が低くなる傾向にあることが、白水及び高森の両地域との Ox 濃度差の一因と考えられた。

(2) 夜間の Ox 濃度挙動(標高による影響)

夜間の高濃度事例を示した図 4 から、白水、高森及び阿蘇 HC の阿蘇地域にて、地理的に離れた苓北志岐局と類似した夜間の Ox 濃度挙動が見られることが分

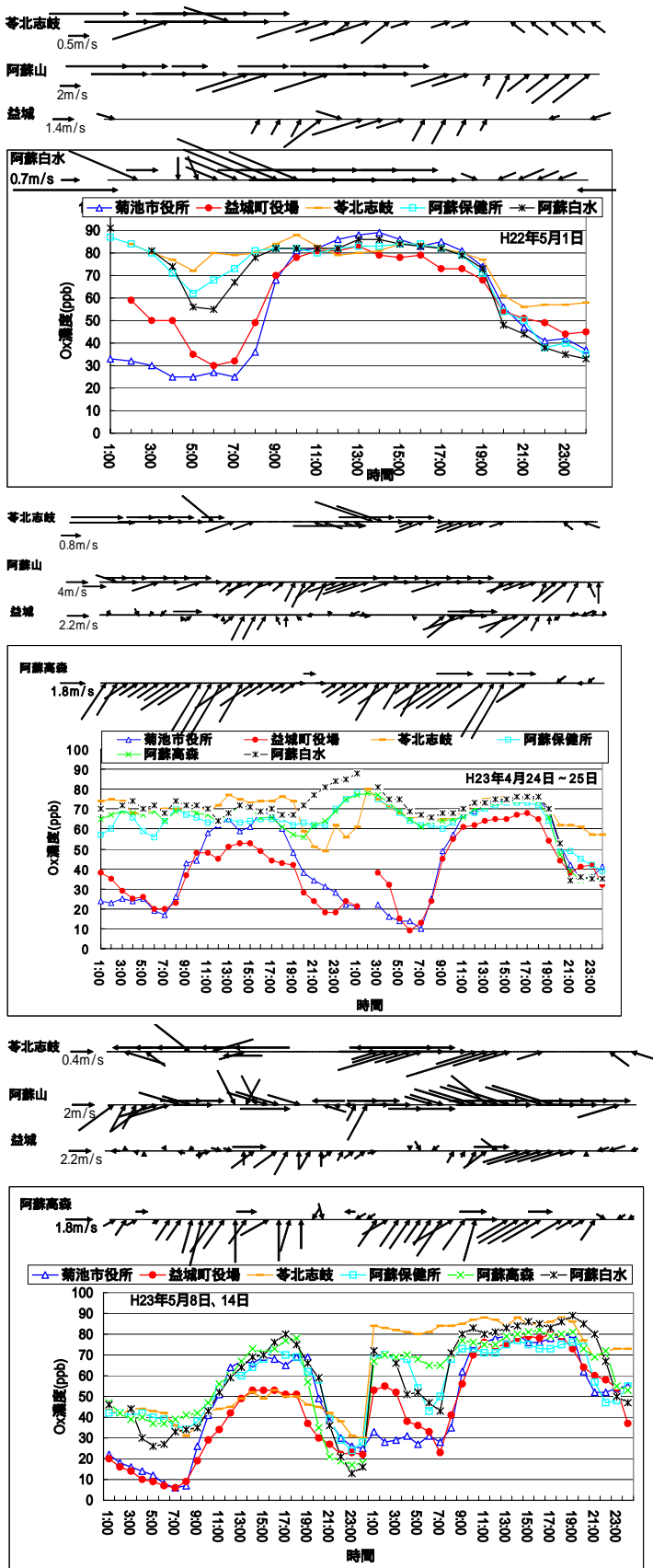


図4 平成22年度5月(上段)、平成23年度4月(中段)、平成23年度5月(下段)調査におけるOx夜間・早朝高濃度事例

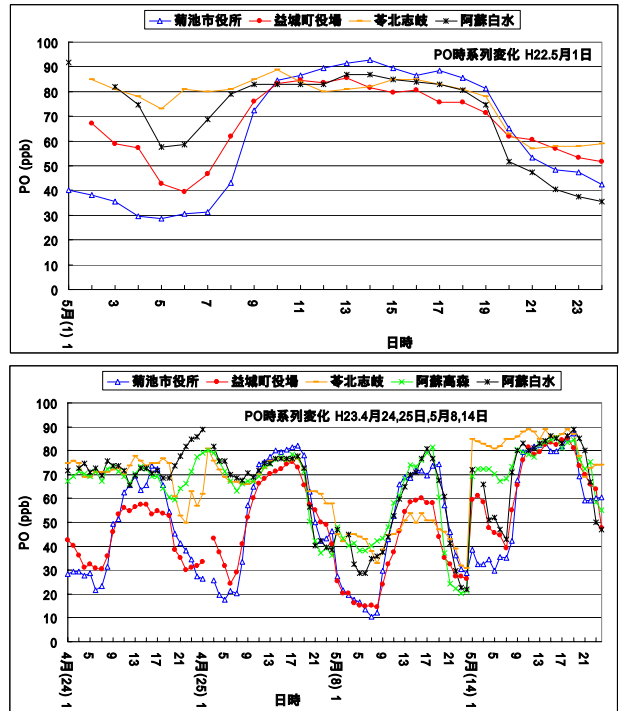


図5 平成22年度(上段)、平成23年度(下段)調査における夜間・早朝高濃度時のPO挙動

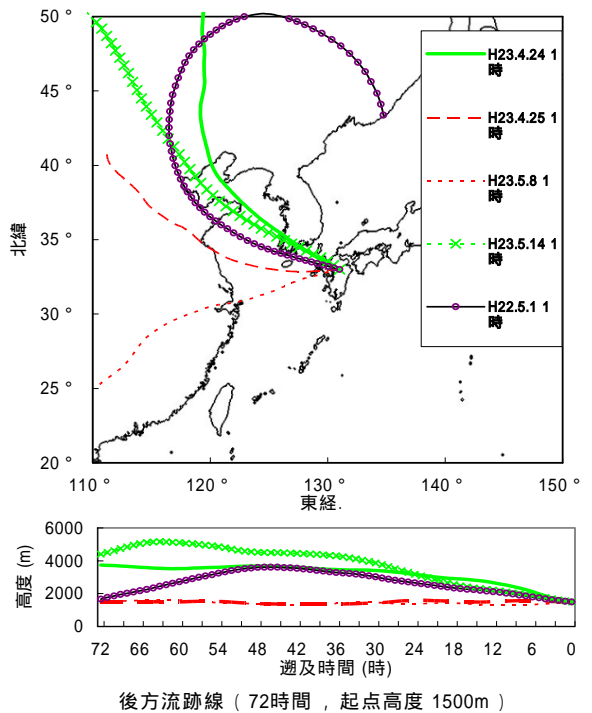


図6 各高濃度日における後方流跡線

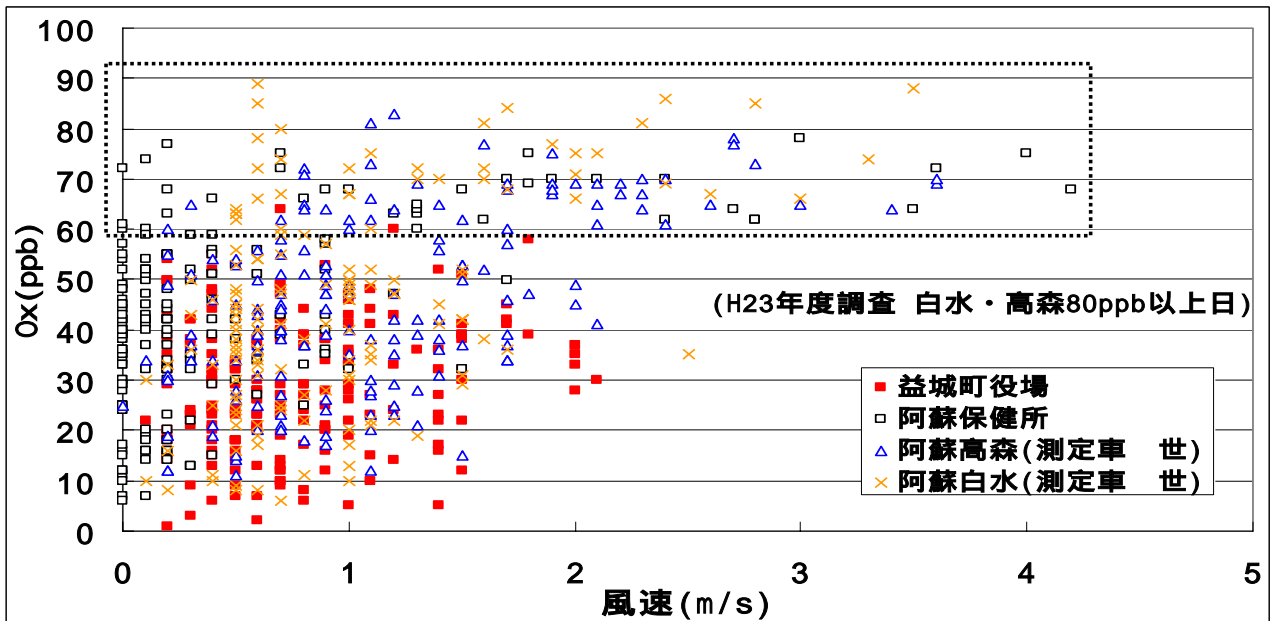


図7 平成23年度高濃度日における風速とOx濃度

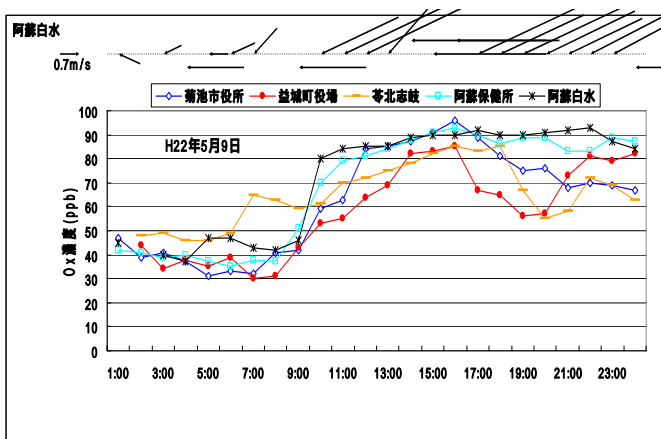


図8 平成22年度調査における東寄りの風の際の高濃度事例(5月9日)

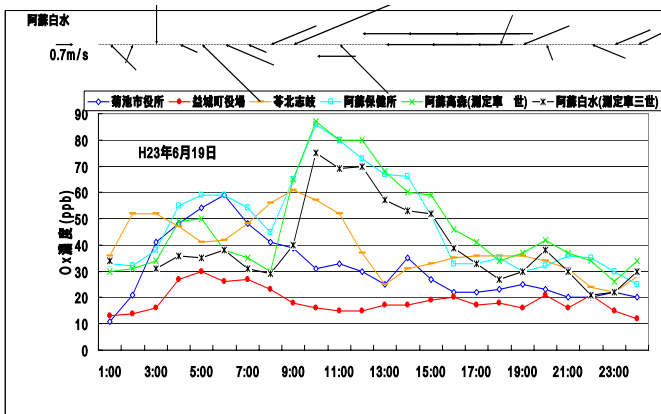


図9 平成23年度調査における東寄りの風の際の高濃度事例(6月19日)

かる。この期間のPO濃度の時系列変化(図5)にも同様の挙動が見られることから、この阿蘇地域における夜間高濃度Ox挙動は、先に述べたNOによるOx自己消費以外の要因であると考えられる。

図6に示した各高濃度日の午前1時における後方流跡線は、これらの期間に大陸からの気塊が流入していたことを示している。

夜間高濃度となった時間帯の風向ベクトルから(図4)、阿蘇地域の地点の挙動は、益城町役場局と全く異っており、標高1142mの阿蘇山測候所と同様のパターンを示していることから、同時帯の阿蘇地域では上層の一般風の影響を強く受けていたものと考えられる。

苓北志岐は夜間に高濃度となることが多いが、これは天草西海岸に位置するため、越境移流による気塊が流入しやすいためと考えられる。阿蘇地域においても同様の挙動が見られたのは、大陸から移流した高濃度Oxを含む一般風が、沿岸から地表を通過する際に、より高い高度で通過したため、標高の高い阿蘇地域で他地域よりもその影響を受けやすくなり、Ox濃度が高くなったものと推測された。

また、白水・高森のOx日最大値が80ppb以上となった高濃度日における午後8時~午前8時の夜間・早朝の時間帯における風速とOx濃度の散布図を見ると(図7)、阿蘇地域では益城町には見られない比較的強い風速が観測されており、この風速時のOx濃度が60ppb以上を示していた。

このことから、標高の高い阿蘇地域では、夜間・早朝に、越境移流等による高濃度Oxを含む一般風の

影響を受け、風速が通常のこの時間帯と比較して強くなった際に O_x 濃度が高くなる傾向にあることが分かる。

このような標高によるものと推測される夜間の O_x 濃度挙動も白水及び高森の両地域と益城町役場局の O_x 濃度挙動の差の一因と推測された。

(3) 東寄りの風の際の O_x 濃度挙動

図 8.9 に示すように、白水、高森及び阿蘇 HC の阿蘇地域は、東寄りの風が卓越する気象状況の際に、他地域よりも O_x 濃度が高濃度となる事例が平成 22,23 年度のいずれにおいても見られた。この要因として、東方向から気塊が流入した際に、阿蘇地域は、地理的（位置、標高）にその影響を受けやすい可能性が考えられた。

まとめ

大気常時監視局から離れた地域である南阿蘇地域の南阿蘇村白水及び高森町上色見において、南阿蘇地域が属する光化学スモッグ発令地域における発令局（益城町役場局）との O_x 濃度類似性の検証を目的として、大気測定車により、光化学 O_x の調査を行った。

1 白水・高森は、現行発令局である益城町役場局よりも、阿蘇保健所局の方に、相関性、O_x 日最大濃度到達時間、濃度レベル共に明確な類似性が見られた。このことから、南阿蘇地域の発令局としては、阿蘇保健所局が適切である。

2 白水・高森が、益城町役場局よりも阿蘇保健所局に類似する理由の一つとして、熊本市近郊にある益城町役場局は、自動車等による NO 排出量が白水及び高森の両地域よりも多いことから、NO による O_x 自己消費が多いため、O_x 濃度が低くなる傾向にあることが考えられた。

3 2 の理由に加えて、阿蘇地域においては、次の 2 点の地理的要因、標高が比較的高い（標高約 500m）こと、県内の他地域と比較して東寄りの風が吹く気象状況の際に他地域より高濃度となる事例が発生することがあることが O_x 挙動の特徴を形成している可能性が推察された。

なお、今回の調査・解析結果を基に、平成 24 年度より、南阿蘇村及び高森町の光化学スモッグ注意報等発令対象地域の区分は、阿蘇地域に編入され、その発令局は阿蘇保健所となった。

文献

1) METEX (Meteorological Data Explorer) : 国立環境研究所地球環境研究センター

2) 早狩進：気象解析アドイン

(<http://www.jomon.ne.jp/~hayakari/>)

3) 大原利真編：光化学オキシダントと粒子状物質等の汚染特性解明に関する研究-国立環境研究所と地方環境研究所との C 型共同研究最終報告(平成 19～21 年度)，国立環境研究所研究報告第 203 号，p.159(2010)。

7) 熊本県における光化学オキシダント濃度の現状と動向（～2009）

豊永 悟史 林 英明 北岡 宏道

要 旨

県内の光化学オキシダント（以下「Ox」）濃度の経年変化、季節変化およびその地域差を明らかにすることを目的として、県内5か所の常時監視局について1988～2009年度のデータ解析を行った。2001年度以降のOx濃度は全地点で増加傾向にあり、これは越境移流などによる広域的な汚染の影響と窒素酸化物濃度の減少によるオゾンの自己消費抑制が主な要因であると推察された。また、菊池市役所局については他測定局と異なる挙動を示していることから、この地域のみが影響を受けるメカニズムの存在が示唆された。

キーワード：光化学オキシダント，ポテンシャルオゾン，経年変化，季節変化

はじめに

2006年6月に熊本県での観測史上初の光化学スモッグ注意報が発令される等、最近、本県においても高濃度の光化学オキシダント（以下「Ox」）が観測されるようになり、社会問題となっている。

九州地域におけるOx濃度の上昇要因として、大陸からの汚染物質の移流が大きく影響していることが、硫酸イオン濃度・後方流跡線による解析及びシミュレーション結果から指摘されており^{1,2)}、対策は困難な状況である。また、2010年度の環境基準達成率は一般環境大気測定局・自動車排ガス測定局ともに0%となっており、今後も同様の状態が続く可能性がある³⁾。

このような状況から、今後も継続したモニタリングを行うとともに、過去のデータを解析して県内におけるOxの大気汚染状況を把握しておくことが重要だと考えられる。

本研究では、Ox濃度の経年変化・季節変化から県内Oxの変動傾向を把握することを目的として、解析を行った。

調査方法

1 調査地点

県内の状況を広範囲に把握でき、継続的に測定されている局として、熊本市を除き県北、県央、県南、県西、県東からそれぞれ1局を選定した。選定5局の位置図を図1に示した。

八代市役所局（県央）・荒尾市役所局（県北）周辺は人口も比較的多く、用途地域指定もそれぞれ商業地域・準商業地域に指定されており、人為活動の盛んな地域だといえる。一方で、水俣保健所局（県南）・菊池市役所局（県東）は住居地域に指定されており、比較的郊外に位置している。苓北志岐局（県西）は、未指定地域となっており、海に面した立地で、他地点に比べて自然に恵まれた場所だといえる。

2 調査期間

調査期間は1988年～2009年度とした。なお、各測定局により測定開始時期が異なっており、全局で測定を実施するようになったのは1998年度以降である（表1）。

各図で示している 1998 年度以前の平均はその時点で測定していた全測定局の平均値であるが、便宜上 5 局平均として表記した。

3 Ox 濃度等

解析には、1988 年～2009 年の熊本県内の大気汚染常時監視局による Ox、二酸化窒素（以下「NO₂」）、窒素酸化物（以下「NOx」）濃度等の常時監視データ（確定値）を使用した。なお、データの集計・解析には II 型共同研究メンバーサイトより入手した大気時間値集計・解析プログラムを使用した⁴⁾。

また、NOx による影響を把握するために、ポテンシャルオゾン（以下「PO」）を解析に使用した。

Ox の 9 割は O₃ とされているが、O₃ は、NO が存在すると O₃+NO→O₂+NO₂ の反応により自己消費される性質があり、NO により消費された O₃ 量まで含めた保存量が PO である。PO は文献 5) に従い次式により算出した。

$$[PO]=[Ox]+[NO_2]-0.1 \times [NOx]$$

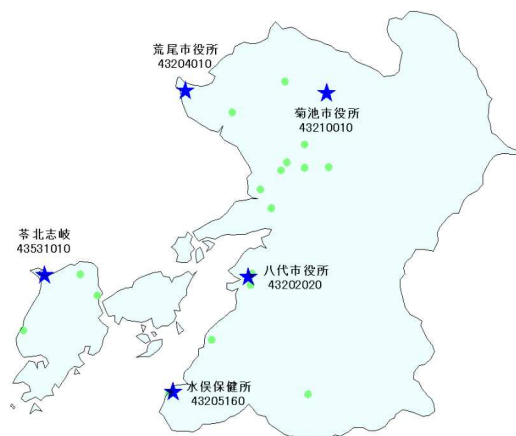


図 1 測定局の配置図（★：選定 5 局 ●：一般局）

※局名の下に数字は国立環境研究所が定めた測定局コード

表 1 選定 5 局の Ox・NOx 測定開始年度

測定局名	Ox測定開始年度	NOx測定開始年度
荒尾市役所局	1988～	1988～
菊池市役所局	1998～	1998～
八代市役所局	1994～	1988～
苓北志岐局	1993～	1993～
水俣保健所局	1992～	1988～

結果及び考察

1 Ox 経年変化

(1) Ox 年平均値の経年変化

図 2 に Ox 年平均値の経年変化を示した。5 局平均で見ると、2001 年にかけては横ばいあるいは減少する傾向（1988-2001 年度傾き：0.01）が見られたが、その後は緩やかな上昇傾向（2001-2009 年度傾き：1.12）となっていた。測定局別に見た場合でも概ね同様の傾向を見せており、これは県内全域に共通する特徴だといえる。

また、地点間の濃度は、全期間を通じて高い順に、苓北志岐局（全期間平均値：35.6ppb）＞菊池市役所局（28.4ppb）・水俣保健所局（29.1ppb）＞荒尾市役所局（22.6ppb）・八代市役所局（22.3ppb）となっていた（図 3）。このことから各測定局の地域的な特性により、濃度差が生じていることが示唆された。

(2) 高濃度 Ox の発生状況

Ox については環境基準（1 時間値が 60ppb 以下）が定められている⁶⁾。各測定局における環境基準を超過する高濃度 Ox の出現率（60ppb 以上の Ox 出現時間/総測定時間×100）を図 4 に示した。

5 局平均で見ると、Ox 年平均値の経年変化（図 2）と同様に 2001 年度以降に上昇傾向（2001-2009 年度傾き：0.84）が見られ、近年高濃度 Ox が発生しやすくなっていることが示唆された。

測定局ごとに見ると、概ね菊池市役所局の出現率が最も高く、年平均値とは異なる傾向を示した。この傾向は、100ppb 以上の出現率で見ると、より明確に確認でき、特に 2006 年度以降について顕著であった（図 5）。このことから菊池市役所局ではバックグラウンドレベルは低いものの、単発的に高濃度 Ox が発生する特徴があるものと推察された。

苓北志岐局は 2003・2004 年度に出現率が急上昇し、その後減少したが、2006～2009 年度にかけて再び出現率が上昇している。このことから苓北志岐局は、多地点に比べて年度ごとの変動が大きい傾向にあると考えられた。

荒尾市役所局・八代市役所局については年平均値同様に他地点に比べて低い出現率で推移した。水俣保健所局については 2005 年以降の出現率は高くなっているものの、概ね 5 局平均と同程度の値で推移していた。

(3) PO を用いた解析

図 6 に PO 年平均値の経年変化を示した。5 局平均

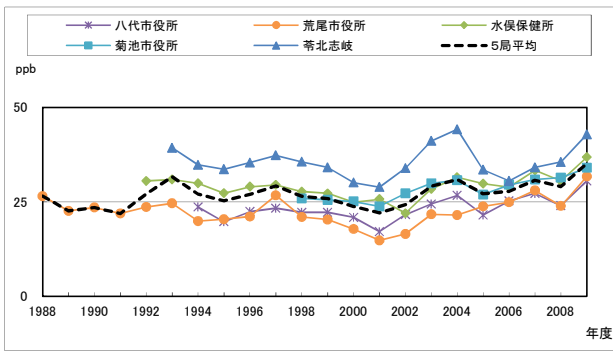


図2 1988～2009年度の0x濃度（年平均値）の変化

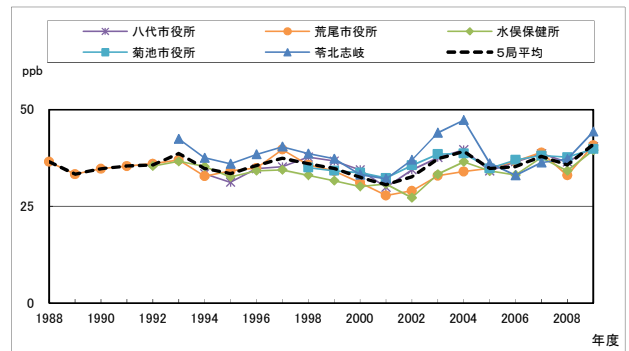


図6 1988～2009年度のP0濃度（年平均値）の変化

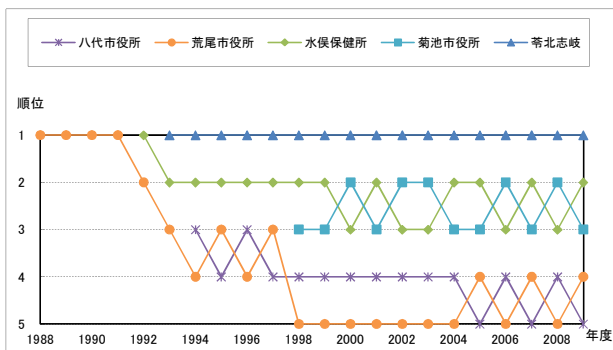


図3 1988～2009年度の0x濃度順位の推移

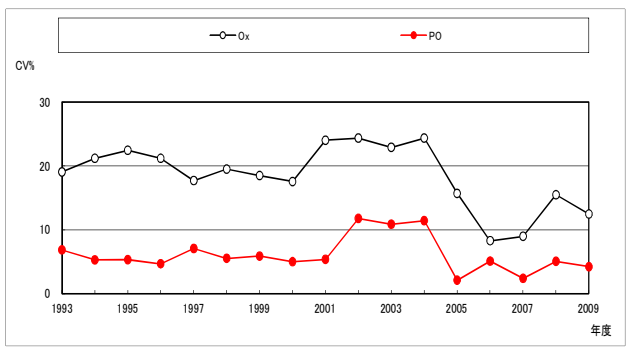


図7 0xとP0濃度の地点間の変動係数（CV%）の変化

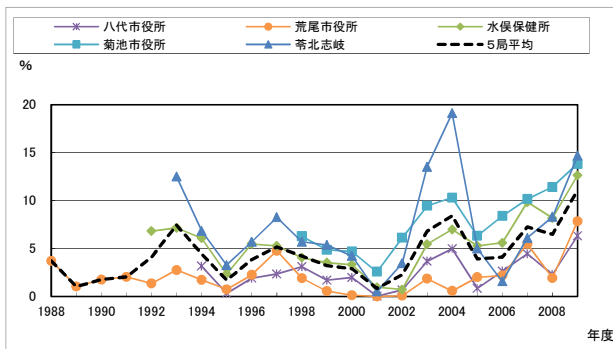


図4 0x濃度60ppb以上の出現率の推移

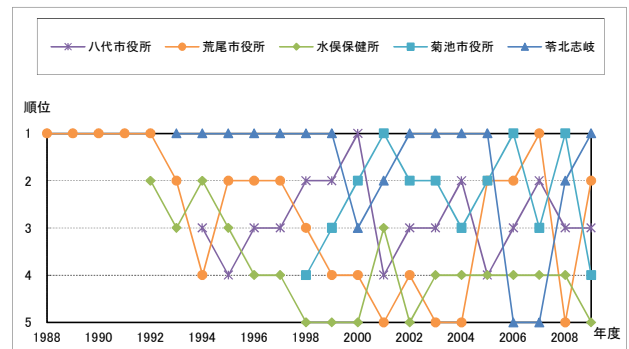


図8 1988～2009年度のP0濃度順位の推移

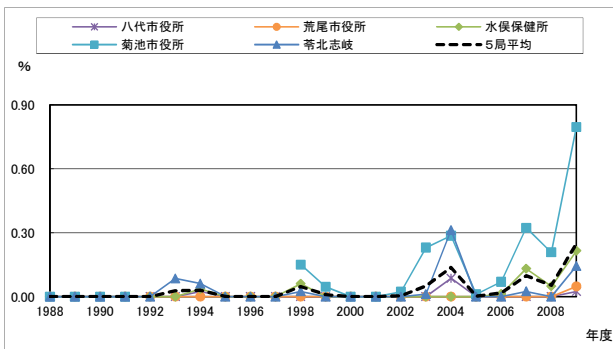


図5 0x濃度100ppb以上の出現率の推移

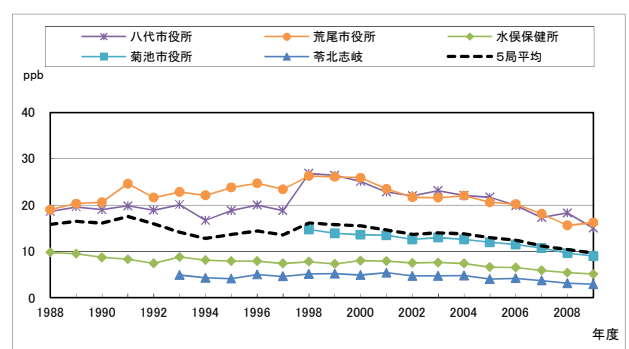


図9 1988～2009年度のNOx濃度（年平均値）の変化

は O_x に比べて高い値で推移しているが、変動パターンは概ね O_x と一致し、2001 年度以降の上昇傾向（2001-2009 年度傾き：0.80）も確認できた。このことから、2001 年度以降に県内で広域的に O_x 負荷量が増加していると考えられた。

3 局以上で測定を開始した 1993 年度以降（表 1）について、年度ごとの測定局間の変動係数（CV%）を図 7 に示した。変動係数は常に $O_x > PO$ で推移しており、経年的には $O_x \cdot PO$ ともに減少傾向であり、特に 2005 年度以降は低い値を示した。また、測定局間の濃度順位を見ると、全体的には O_x 同様に荅北志岐が 1 位となる傾向にあるが、近年特に順位の入替わりが激しくなっており、 O_x では生じていた測定局間の差が見られなくなっていることがわかる（図 8）。これらのことから、 O_x 年平均値で見られた測定局間の差は O_x 負荷量の違いよりも NO_x による O_3 の自己消費量を強く反映した結果だと考えられる。また、この測定局間の差が減少傾向にあるのは、 NO_x 年平均値が減少傾向（図 9）にあることが影響していると解釈できる。この解釈は NO_x 年平均値が、荒尾市役所局・八代市役所局 > 菊池市役所局 > 水俣保健所局 > 荅北志岐局と O_x 年平均値とはほぼ逆の順位を示すことから支持される。

以上のことから、近年の O_x 濃度上昇の主要因は広域的な O_x 負荷量の増加と O_3 自己消費量の減少であると考えられた。また、 O_3 自己消費量の減少は、近年の測定局間の差の減少にも影響していることが示唆された。

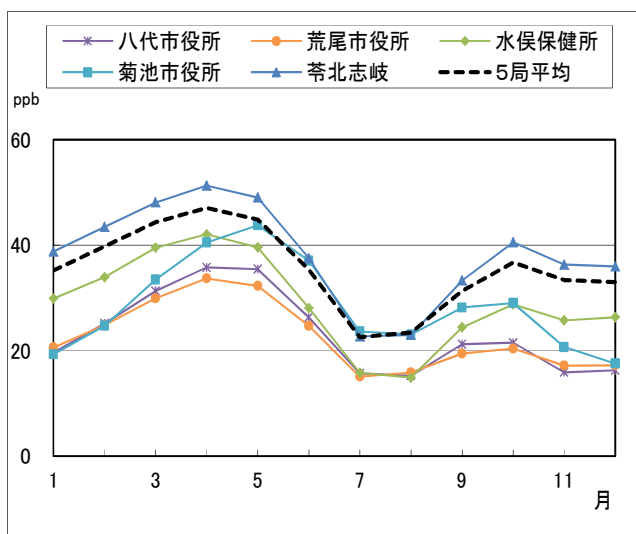


図 10 O_x 濃度（月平均値）の経月変化

2 O_x 濃度の季節変化

(1) O_x 濃度の月平均値の変化

図 10 に 1988～2009 年度の O_x 月平均値経月変動を示した。全地点について、 O_x 月平均値は春と秋に極大を持つ「春+秋」型の季節変動を示した。このような変動パターンは九州地方では一般的に見られるものであり、春季及び秋季の大陸からの越境移流や春季の成層圏オゾン降下などのオキシダント発生源の影響⁷⁾及び 6 月～7 月にかけての梅雨の長期間降雨、夏期の太平洋高気圧などの気象要因の影響を受けたものだと考えられる。また、そのパターンは、極大を示す時期に着目すると地点ごとに次の 3 種類に分類できた。

<パターン①：水俣保健所・荅北志岐局>

春季は 4 月に、秋季は 10 月に極大を示した。

<パターン②：八代市役所・荒尾市役所局>

春季は 4～5 月に、秋季は 9～10 月に幅広の極大を示した。

<パターン③：菊池市役所局>

春季は 5 月に極大を示し、秋季は 9～10 月に幅広の極大を示した。

(2) PO を用いた解析

図 11 は PO 濃度月平均値の経月変化である。これを見ると、測定局間の差は明らかに小さくなっており、 NO_x の影響により差が生じていたことが示唆された。春季は菊池市役所局のみが 5 月に極大を示し、その他の測定局は 4 月に極大を示した。また、秋季は全測定局で 10 月が極大となった。以上のことから菊池市役所局以外の地点ではパターン①が本来の O_x 負荷量から生じるパターンであり、パターン②の傾向と秋季にお

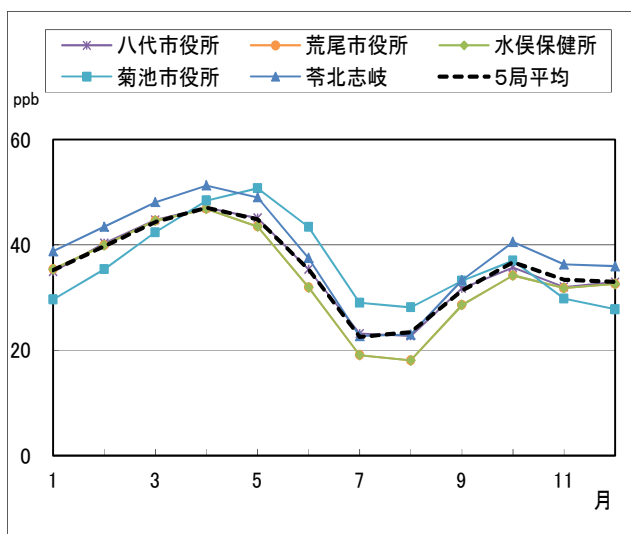


図 11 PO 濃度（月平均値）の経月変化

けるパターン③の傾向は NOx に影響されたものだと考えられた。

また、菊池市役所局は Ox・PO 濃度ともに 5 月に極大を示したことから、この時期に Ox 負荷量が多い特徴があると推察された。

ま と め

県内における Ox の経年変化・季節変化等の変動傾向を明らかにすることを目的として、PO や NOx 濃度を用いた解析を行った。

- 1 Ox 年平均値は 2001 年度以降上昇傾向にあり、これは越境汚染などによる広域的な汚染の拡大と NOx 負荷量の減少による O₃ 自己消費抑制が主な要因だと推察された。
- 2 Ox 月平均値は春と秋に極大を示す「春+秋」型の変動パターンを示した。PO も同様のパターンを示したことから、これは Ox 負荷量を反映したのと考えられた。
- 3 Ox の経年変化及び季節変化における測定局間の差は、全体的には O₃ 自己消費量に大きく影響を受けたものであると考えられた。また、菊池市役所局については、他局と異なる傾向を示しており、特異的な Ox 発生源の存在など、この地域のみが影響を受けるメカニズムの存在が示唆された。

文 献

- 1) 岩本真二, 大石興弘, 田上四郎, 力寿雄, 山本重一 : 大気環境学会誌, **43**, 173 (2008) .
- 2) 大原利眞, 鶴野伊津志, 黒川純一, 早崎将光, 清水厚 : 大気環境学会誌, **43**, 198 (2008) .
- 3) 環境省 : 平成 22 年度大気汚染状況報告書, p.57-67(2012).
- 4) II 型共同研究「PM2.5 と光化学オキシダントの実態解明と発生源寄与評価に関する研究」基本解析グループ : 大気時間値集計・解析プログラム (II 型研究メンバーサイト <https://project.nies.go.jp/c-ox/forum/>)
- 5) 大原利眞編 : 光化学オキシダントと粒子状物質等の汚染特性解明に関する研究-国立環境研究所と地方環境研究所との C 型共同研究最終報告 (平成 19~21 年度), 国立環境研究所研究報告第 203 号, p.159-168 (2010).
- 6) 環境省 : 大気の汚染に係る環境基準について (1973)
- 7) 大原利眞編 : 日本における光化学オキシダント等の挙動解明に関する研究 -国立環境研究所と地方環境研究所との C 型共同研究最終報告 (平成 16~18 年

度), 国立環境研究所研究報告第 195 号, p.137-154 (2007).

8) 多成分同時分析法におけるチオファネートメチル, チオファネートの回収率向上の検討

中堀 靖範 大津 一哲

要旨

チオファネートメチル及びチオファネートは、固相抽出カートリッジカラムを使用した多成分同時分析法で分解が進行しやすく、回収率が低下しやすいため、その原因と改善策を検討した。その結果、溶出液の濃縮中及び固相抽出カートリッジカラムへの通水中に分解が進行していることがわかった。改善策として、溶出液を濃縮せずに定容すること、試料にエチレンジアミン四酢酸ナトリウム及びL(+)-アスコルビン酸ナトリウムを添加することで十分な回収率が得られることがわかり、この手法により多成分同時分析法をチオファネートメチル及びチオファネートの定量に適用できることがわかった。

キーワード：LC/MS/MS，農薬，固相抽出カートリッジカラム，チオファネートメチル，チオファネート

はじめに

ベンゾイミダゾール系農薬のチオファネートメチル(以下「TM」という。)及びチオファネート(以下「TE」という。)は殺菌剤として広く用いられ、それぞれカルベンダジム(以下「MBC」という。), エチル 2-ベンゾイミダゾールカルバマート(以下「EBC」という。)へ

分解しやすい性質を持つ¹⁾。そのため「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針」(以下「指針」という。)の多成分同時分析法を用いてTM及びTEを分析する場合、使用する固相抽出カートリッジカラム(以下「固相カラム」という。)の種類によっては分解が進行しやすい²⁾。

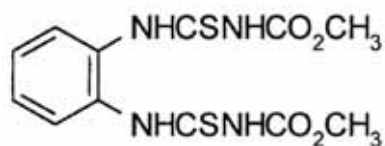


図1 チオファネートメチル(TM)

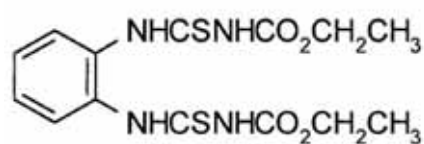


図2 チオファネート(TE)

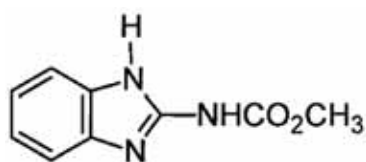


図3 カルベンダジム(MBC)

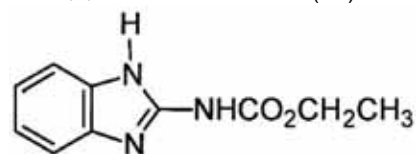


図4 エチル 2-ベンゾイミダゾールカルバマート(EBC)

このような分解が起きることによる問題点として、以下 ~ のような事項があげられる。

指針のTMの個別分析法では分解生成物のMBCの濃度をTMの濃度に換算し、別途定量したTMの濃度に加算して総量を求めることとしている。しかし、TM及びTEはMBC及びEBCを経由しない分解も起きる³⁾ことが知られており、分解生成物を換算したとしても、TM及びTEは分解が起きるほど回収率が低下しやすくなる。

ペノミルのように速やかにMBCへと加水分解する農薬があるため、検出されたMBC全てをTMの濃度に換算すると実際とは異なる濃度となる恐れがある。

EBCの標準品は市販されていないため、TEの分解生成物のEBCが検出されても正確には定量できず、TEの濃度に換算することができない。

このような問題から、指針におけるTMの分析は液-液抽出の個別分析法が指定されているが、本研究ではTM及びTEを含む様々な農薬を多成分同時分析法で定量分析するため、TM及びTE自体の回収率を向上させる手法を検討したところ、良好な結果が得られたので報告する。

実験方法

指針の「排出水に係る標準分析方法(多成分同時分析法)」に準じて分析を実施した。ただし、本報告では固相カラムの溶出液にアセトニトリルのみを用い、試験液の濃度は5ppbとした。なお、固相カラムは、A社製の製品a、b(逆相系コンビネーションポリマー、充填量60, 200, 500mg)及びB社製の製品c(逆相系コンビネーションポリマー、充填量60, 150, 500mg)を使用した。

表1 LC分析条件

装置	島津製作所製Nexera
移動相	A液:0.1%ギ酸 B液:アセトニトリル
グラディエント条件	A:B=75:25(0min) 52:48(1.5~4min) 40:60(4~7min) 5:95(7~9min)
流速	0.3m /min
試料注入量	2μ
カラム	GL-Science製Inertsil ODS-3(2.1×100mm;2μm)

表2 MS/MS分析条件

装置	島津製作所製LCMS-8030
イオン化法	ESI Positive
ネブライザーガス流量	3.0 /min
ドラインガス流量	15.0 /min
インターフェイス電圧	3.5kV
検出器電圧	1.8kV
定量イオン	MBC(192.0 160.2), EBC(206.0 160.1) TM(342.8 151.2), TE(371.0 151.0)
確認イオン	MBC(192.0 132.2), EBC(206.0 134.1) TM(342.8 93.2), TE(371.0 86.0)

結果及び考察

1 濃縮及び定容方法

固相カラムからの溶出液を濃縮する際のTM及びTEの分解の程度を調べるため、TMを50ppb含むアセトニトリル溶液5mlを、窒素吹き付け装置又は減圧濃縮装置により0.5mlまで加熱濃縮し、再度5mlまで定容した際のTM及びMBCの濃度変化を調べた。図5に結果を示したとおり、特に窒素吹き付け装置を用いた場合に分解が進行しやすく、濃縮時間が長くなるほど分解しやすいことがわかった。また、減圧濃縮器を用いた場合も、わずかに分解が進行し、緩やかな窒素吹き付けにより乾固させると、さらに分解することがわかった。そのため、TM及びTEを含む農薬分析では、目的物質の予測濃度や分析装置の検出下限値を勘案したうえで、5~10mlで定容できるように固相カラムから溶出し、濃縮せずにLC/MS/MSで測定を行うことが適当と考えられる。なお、やむを得ず濃縮が必要である場合は、減圧濃縮装置を用い、窒素吹き付けによる乾固は行わない方が良く考えられる。

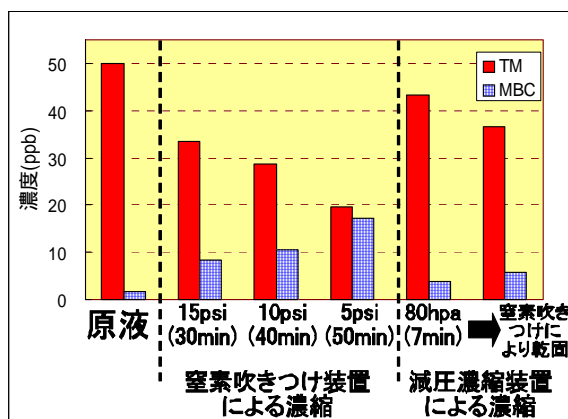


図5 濃縮によるTMの分解量

2 固相カラム通水中の分解メカニズム

固相カラム通水中のTM及びTEの分解抑制のため、使用する固相カラムの充填量は少ない方が良くとされている²⁾。今回検討した固相カラムa、b、cについてTM及びTEの添加回収試験を行ったところ、図6、7に示すとおり、充填量が多くなるほど回収率が低下する文献と同様の結果が得られた。しかしながら、逆相系の固相カラムに保持されにくいMBCやアシュラム、オキシ銅のような農薬種は固相カラムの充填量が少ないほど回収率が低くなりやすく、これらの農薬を含む多成分同時分析においては、最低でも150~200mgの充填量を有する固相カラムの使用が必要であり、充填量の多い固相カラムでTM及びTEの分解をいかに抑制す

るかが課題となる。

ここで、TM 及び TE の固相カラム通水中の分解メカニズムを解明するため、同じ充填量の固相カラムに TM の負荷量を変えて回収率を調べた。その結果、図 8 に示すとおり負荷量が多いほど回収率が向上した。固相カラムを用いた一般的な農薬分析においては負荷量が多いほど固相カラムに保持されにくくなり、回収率が低下する傾向にあるが、それとは逆の傾向と言える。

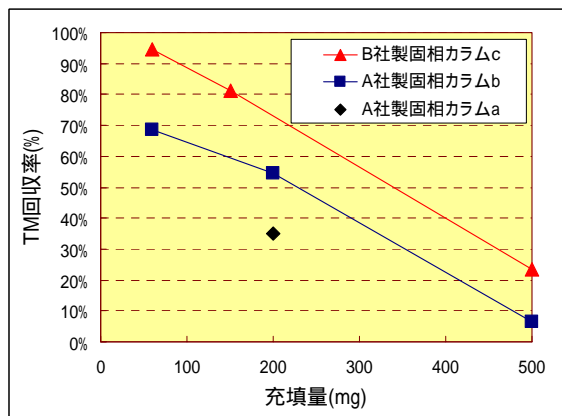


図 6 固相カラムの充填量と TM の回収率

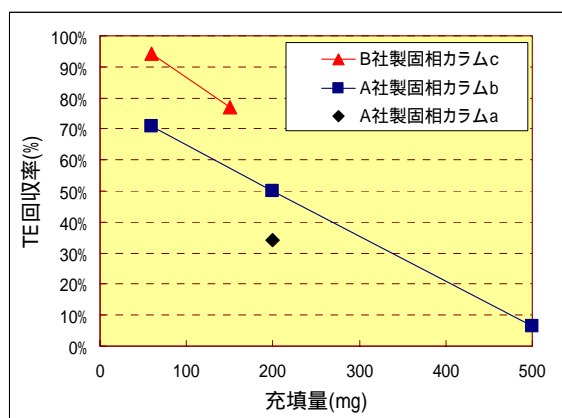


図 7 固相カラムの充填量と TE の回収率

これは、図 9 に示すとおり、TM の負荷量が増加しても損失量があまり増加しないため、見かけ上、負荷量を増やすほど回収率が増加していることがわかる。このことから、TM 及び TE の分解のほとんどは、最初にかかる一定量で起きていることが示唆された。

3 固相カラムの酸処理による分解抑制の検討

一般的に固相カラムには金属不純物が微量に含まれることから、この金属不純物が TM 及び TE の分解を引き起こしているのではないかと推測した。この推測に基づき、固相カラムの酸処理による不純物除去を検討した。方法としては、固相カラムをアセトニトリル(10ml)及びメタノール(10ml)でコンディショニングした後に、希釈した酸(25ml)を流した。その後、メタノール、水で十分に置換した後、通常の試験操作を行った。酸処理の検討には、硝酸(1+10)、塩酸(1+10)、硫酸(1+10)を用い、その結果を図 10 に示した。いずれの固相カラムを用いた場合も、ほぼ全てが酸処理により回収率が改善されており、特に塩酸(1+10)を用いることで回収率を大きく改善できた。しかしながら、図 11、12 に示すとおり、塩酸(1+10)処理を行った場合でも、

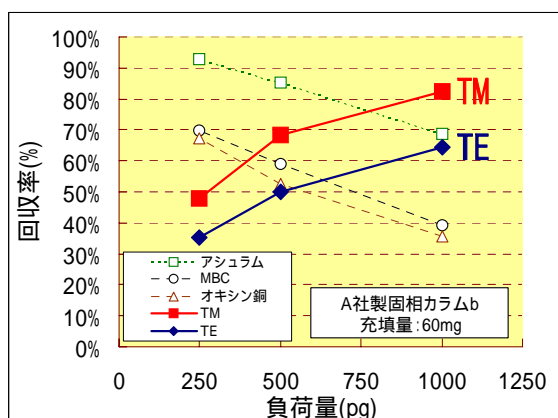


図 8 農薬の負荷量と回収率の変化

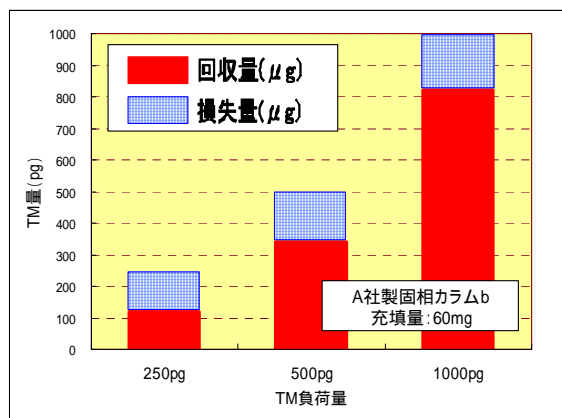


図 9 TM の負荷量と損失量

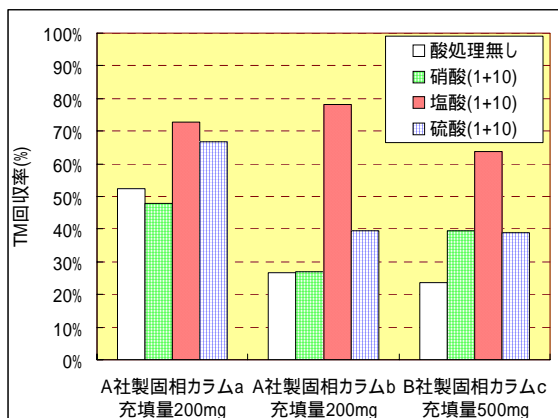


図 10 酸処理による TM 回収率の改善効果

充填量 200mg 以上の固相カラムでは十分には改善されないことがわかった。

この固相カラムの酸処理の検討において、溶出された金属不純物を特定するため、酸処理液の重金属分析を行ったところ、Al, Zn, Fe, Ni 等の金属が微量に検出されたが、含有量が極めて少なく製品やロットによりバラツキがあったため、分解の原因物質の特定には

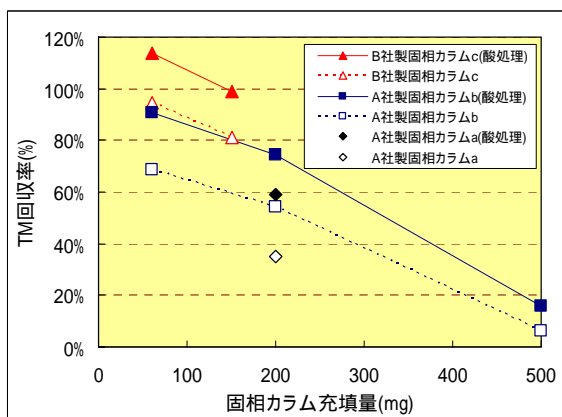


図 11 酸処理による TM 回収率改善効果

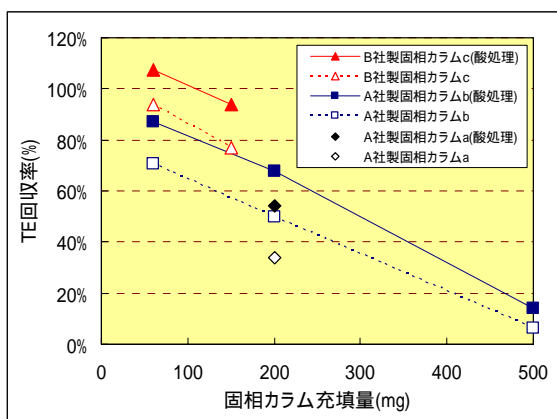


図 12 酸処理による TE 回収率改善効果

至らなかった。しかし、検討した 3 種の酸全てで回収率の改善効果が確認されたことから、TM 及び TE を分解するような金属不純物が固相カラムに含まれていることが推測された。

4 マスキング剤、還元剤添加による分解抑制の検討

固相カラムの酸処理による金属不純物除去では改善効果が少なかったため、マスキング剤を添加し、金属不純物による分解を抑制する手法について検討した。水質管理目標設定項目で示される一斉分析法⁴⁾では、試料にエチレンジアミン四酢酸ナトリウム（以下「EDTA-2Na」という。）を添加する方法が用いられている。これを参考に、EDTA-2Na添加量によるTM及びTEの回収率の変化を調べた。その結果、図 13 に示すとおり、EDTA-2Naの添加量の増加に伴い、TM及びTEの回収率はある程度増加したものの、50%程度で頭打ちし、十分には改善されないことがわかった。

一方、指針の TM 個別分析法では、液-液抽出時の TM 分解抑制のため L(+)-アスコルビン酸ナトリウム（以下「SL-A」という。）を添加しており、また、試

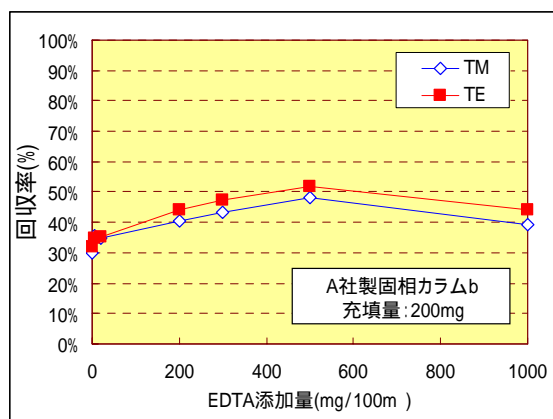


図 13 EDTA-2Na 添加量と TM 及び TE の回収率

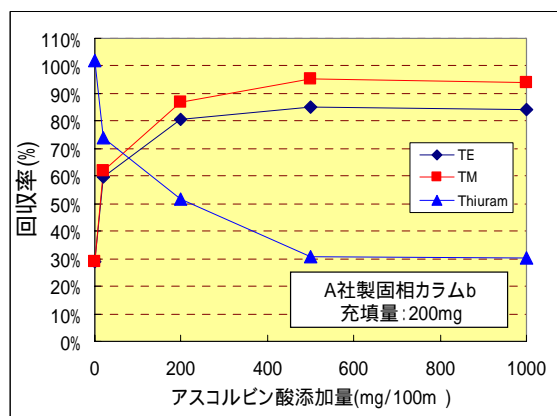


図 14 アスコルビン酸添加量と TM 及び TE, チウラム回収率

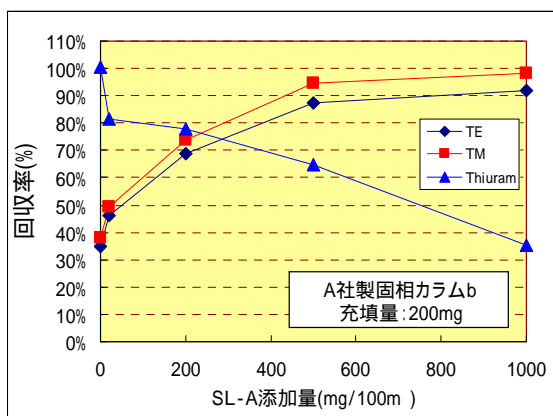


図 15 SL-A 添加量と TM 及び TE, チウラムの回収率

料や溶出液にアスコルビン酸を添加することで、TMの分解抑制や分解したTMを再生成する手法も報告されている²⁾。ここで添加しているSL-Aやアスコルビン酸は、TMの酸化的な分解を防ぐ還元剤としての役割を果たしていると考えられる。これに関連して、前述の固相カラムの酸処理において、硫酸、硝酸よりも塩酸処理の効果が大きかったことも、塩酸の還元作用が影響している可能性がある。このことから、試料へのSL-A、アスコルビン酸のそれぞれの添加量によるTM及びTEの回収率の変化を調べた。その結果、図14、15に示すとおり、どちらも添加量の増加に伴いTM及びTEの回収率が向上し、充填量150~200mgの固相カラムでも十分な回収率を得ることができた。

しかし、この方法を用いた場合、同図に示したとおり還元剤存在下で分解されるチウラムのような農薬は、添加量が増えるほど回収率が低下してしまう。この分解を防止するため、添加する還元剤は分解作用がより小さいSL-Aが適していると言える。また、SL-A添加によるチウラムの分解抑制策を検討した結果、図16~18に示すとおり、SL-Aに加えてEDTA-2Naを添加することで、チウラムの分解を抑制したまま、TM及びTEの回収率を向上させることができた。EDTA-2Na及びSL-Aの添加量は図14、15のデータより、試料100mlあたり0.5gずつの添加が適量であると推測されるが、図16~18に示すとおり、TM及びTEの分解量やSL-A添加によるチウラムの分解量は使用する固相カラムの種類により増減するため、添加量の最適化をあらかじめ試験しておくことが望ましいと考えられる。

以上を踏まえ、多成分同時分析法を図19に示すフローの通りに変更することで、TM及びTEの定量に適用できることがわかった。

まとめ

固相カラムを使用した多成分同時分析法で起きるTM及びTEの分解や回収率の低下の原因と改善策を検討した。その結果、TM及びTEの分解は主に溶出液の濃縮中と固相カラム通水中に起きていることがわかった。改善策として、溶出液を濃縮せずに定容すること、試料にEDTA-2NaとSL-Aを添加することで十分な回収率を得られることがわかり、この手法により多成分同時分析法をTM及びTEの定量に適用できることがわかった。

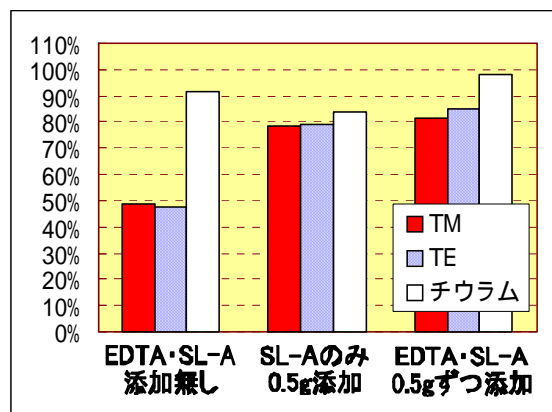


図16 EDTA及びSL-A添加によるTM及びTE、チウラム回収率の変化 (A社製固相カラム a 充填量 200mg)

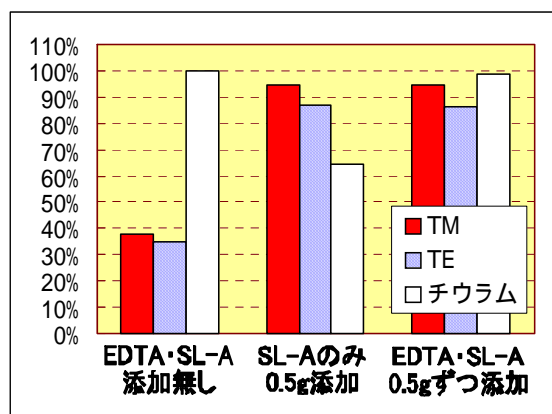


図17 EDTA及びSL-A添加によるTM及びTE、チウラム回収率の変化 (A社製固相カラム b 充填量 200mg)

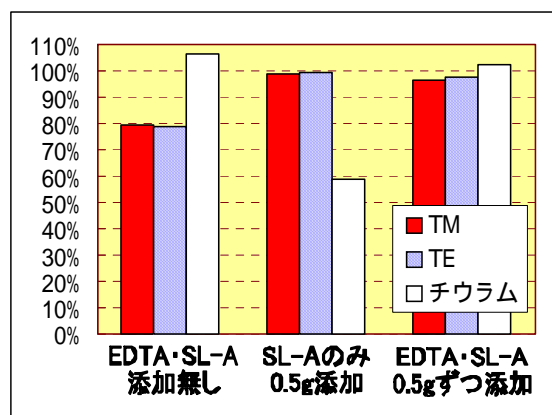


図18 EDTA及びSL-A添加によるTM及びTE、チウラム回収率の変化 (B社製固相カラム c 充填量 150mg)

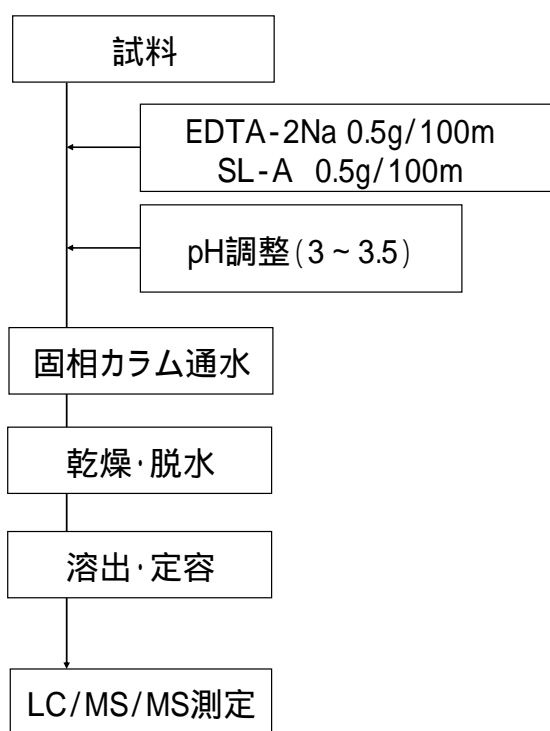


図 19 TM 及び TE を含む多成分同時分析フロー

文献

- 1) M. Nakamura, Y. Furumi, F. Watanabe, K. Mizukoshi, M. Taniguchi, S. Nemoto : *Food Hyg. Saf. Sci.*, **52**, 148-155 (2010).
- 2) 化学物質と環境 平成 18 年度化学物質実態調査報告書, 795-809 (2006) .
- 3) Y. Soeda, S. Kosaka , T. Noguchi : *Agric. Biol. Chem.* **36**, 931 (1972).
- 4) 厚生労働省健康局水道課長通知, 健水発第 1010001 号, 平成 15 年 10 月 10 日付