

3 調査研究

3・1 報文

1) 熊本県で主に眼疾患から検出されたアデノウイルスの 分子疫学解析 (2008 年度～2013 年度)

吉岡 健太 日隈 陸太郎*1 清田 直子*2 西村 浩一*3 原田 誠也

要旨

流行性角結膜炎 (EKC) 等の主な原因ウイルスであるヒト・アデノウイルス (HAdV) の流行型を把握するため、2008 年度から 2013 年度の間に検出された HAdV の分子疫学解析を行った。その結果、12 の型が検出され、特に 3 型、4 型、8 型、37 型、53 型、54 型、及び 56 型の検出率が高かった。また、4 型、8 型、37 型、及び 53 型で流行の年次変化がみられた。

なお、52 型以降の新型 HAdV では、2008 年度に 54 型が検出され、2010 年度から 53 型及び 56 型も検出されはじめた。これらの新型 HAdV による EKC の臨床症状は他の型より重症で、治療が長引く傾向にあった。

キーワード：流行性角結膜炎，アデノウイルス，新型アデノウイルス

はじめに

当所は感染症発生動向調査事業として、眼科定点から提供された臨床検体のウイルス検査を行っている。眼科疾患のうち、五類感染症定点把握疾患の一つである流行性角結膜炎 (以下「EKC」という。) は、主にヒト・アデノウイルス (以下「HAdV」という。) の感染によって発症する疾患である。HAdV は直径約 80nm、正 20 面体構造のエンベロープを持たない 2 本鎖 DNA ウィルスで、2008 年までは 51 種類の型が存在し、A～F の 6 種に分類されていた。しかしその後、新たな型が次々と報告され、現在 68 種類¹⁾ となり、さらに胃腸炎由来の 52 型が G 種とされたため、種も A～G の 7 種となっている^{1), 2)}。HAdV の種と引き起こす疾患には明瞭な関連性がみられ、EKC からは従来 D 種の 8 型、19 型、37 型、E 種の 4 型、及び B 種の 3 型などがよく検出されていたが、近年は 53 型^{3), 4)}、54 型^{5), 6)}、及び 56 型^{7), 8)}といった新型 HAdV が検出され、D 種に分類されることが報告されている。

眼科領域における HAdV の型同定は、従来、分離されたウイルスと眼疾患を起こしやすい HAdV に対する 10 種

程度の抗血清との中和試験で行われていたが、近年は、PCR法で増幅したDNAの制限酵素切断パターンで型別する方法⁹⁾、PCR法で増幅されたhexon遺伝子の部分配列を解読することにより型別する方法¹⁰⁾、増幅されるDNAのサイズがHAdVの型ごとに異なるように設計したマルチプレックス-PCR法によって型別する方法¹¹⁾などの遺伝学的方法も行われている。しかし、新型HAdVには、複数のウイルスの遺伝子が組み変わるにより生じたキメラウイルスが多数含まれており、53型はhexon領域が22型、fiber領域が8型、及びpenton領域が37型、54型はfiber領域が8型、56型はhexon領域が15型、penton及びfiber領域が9型である。これらのウイルスを正確に型判定するためには、フルゲノム (約36,000bp) の塩基配列を決定する方法が最も確実であるが、現在、当所が保有しているサンガー法によるキャピラリーシーケンサーでフルゲノムの塩基配列を決定することは容易ではない。そこで、簡易型別法として開発されているゲノムのhexon、fiber及びpenton領域の一部をそれぞれPCR法で増幅し、塩基配列を決定する方法¹²⁾により実施した。

本研究では、眼科の臨床検体から検出された HAdV

*1 日隈眼科医院 *2 現熊本県南広域本部芦北地域振興局保健福祉環境部 *3 現熊本県北広域本部阿蘇地域振興局保健福祉環境部

を中和試験や遺伝学的方法で型別し、流行型の年次変化と型内の遺伝学的変異及び型による臨床症状の相違について解析を行ったので報告する。

材料及び方法

1) 検査材料

2008 年 4 月から 2014 年 3 月の間に、EKC あるいは結膜炎等の臨床診断名で眼科定点から提供された結膜ぬぐい液 460 件を検査材料とした。

2) 検査方法

① ウイルス分離及び中和試験による型別：A549 細胞及び RD-18S 細胞を用い、HAdV の分離を行った。その後、HAdV 抗血清（1～8 型、11 型、19 型及び 37 型：デンカ生研または国立感染症研究所配布）による中和試験で型を決定した。また、下記の遺伝子検査法も併用して型別を行った。

②PCR 法による遺伝子検査及びダイレクトシーケンス法による型別：2008 年 4 月から 2010 年 7 月までの咽頭ぬぐい液 130 件から分離された株は中和試験のみで型別を行った。残りの咽頭ぬぐい液 330 件は、ウイルス分離と並行して、咽頭ぬぐい液から直接 DNA を抽出し、HAdV のスクリーニング用として Xu ら¹³⁾ の Ad1/Ad2 プライマーによる PCR 法でゲノム DNA の hexon C4 領域を増幅後、アガロースゲル電気泳動により目的遺伝子の増幅バンド(482bp)を確認した。なお、ウイルスは分離できず、遺伝子のみが検出された検体や、中和法で分離株の型決定ができず、新型 HAdV が疑われた株は、再度 Takeuchi ら¹⁴⁾ の S28/S52 プライマーによる PCR 法で hexon loop1 領域を、Xu ら¹³⁾ の 6 対の種特異的プライマーを用いたマルチプレックス PCR 法で fiber 領域を、及び Fujimoto ら¹⁴⁾ の penton PCR 用プライマーで penton 領域をそれぞれの PCR 条件で増幅した。増幅バンドを精製後、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、BLAST 検索及び MEGA5.0 を用いた近隣結合法による分子系統樹で型を判定した。

③ 臨床情報の収集：HAdV の型による臨床症状等の相違を調査するため、検体添付の患者情報を参考にするとともに、病原体定点である眼科医院から直接情報を収集した。

検査成績

1) HAdV の検出状況

眼科の臨床検体 460 件中 192 件（41.7%）から、12

種類の型の HAdV が検出された。型の内訳は、37 型が 55 件（28.6%）、56 型が 33 件（17.1%）、53 型が 21 件（10.9%）、3 型が 18 件（9.3%）、8 型が 17 件（8.8%）、4 型及び 54 型が各 16 件（8.3%）、11 型が 5 件（2.6%）、19 型が 2 件（1.0%）、1 型、6 型及び 34 型が各 1 件（0.5%）、型別不明（NT）が 6 件（3.1%）であり、新型である 53 型、54 型及び 56 型は合計 70 件（36.4%）であった。臨床診断名別にみると、EKC と診断された 257 件では、163 件（63.4%）から HAdV が検出され、37 型を筆頭に、3 型、4 型、8 型、53 型、54 型及び 56 型の検出率が高かった。一方、結膜炎等と診断された 203 件では、29 件（14.3%）から HAdV が検出され、56 型の検出率が比較的高かった（表 1）。

2) 流行型の年次変化

4 型、8 型、37 型及び 53 型に流行の年次変化がみられた。4 型は 2012 年度、8 型は 2013 年度に検出率が増加した。37 型は毎年度検出されているが、特に 2008 年度～2009 年度及び 2013 年度の検出率が高かった。53 型は 2010 年度から検出され始めたが、初年度が最も高率に検出された（表 2、図 1）。

3) 月別検出状況

各型の検出数は年度により異なり、定まったパターンはみられなかった（図 2）。

4) 年齢別検出状況

20 代～40 代をピークとして、0 歳から 70 歳以上まで幅広い年齢層から検出されたが、92.7%（178 件/192 件）が 20 代以上からの検出であり、20 歳未満からは非常に少なかった（図 3）。

5) 系統樹解析

ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した一部の株について、hexon、fiber、及び penton 領域の分子系統樹解析を行った。その結果、各型ごとに明瞭なクラスターを形成した。クラスター内の塩基配列の違いはほとんど認められなかったが、4 型（fiber 領域）、8 型（hexon 領域、penton 領域）及び 56 型（penton 領域）で、検出年度によりわずかな違いがみられ、サブクラスターを形成した。なお、キメラウイルスとされる 53 型は hexon 領域が 22 型、fiber 領域が 8 型及び penton 領域が 37 型と同一のクラスターに分類された。また、54 型は fiber 領域のみ 8 型のサブクラスターとして分類され、56 型は hexon 領域が 15 型、fiber 領域及び penton 領域が 9 型と同一のクラスターに分類された（図 4-a,b,c）。

表 1 臨床診断名別アデノウイルス検出状況（2008～2013 年度）

	流行性 角結膜炎		結膜炎等		合計	
検体数	257		203		460	
HAdV 1 型			1	(3.4)	1	(0.5)
HAdV 3 型	16	(9.8)	2	(6.8)	18	(9.3)
HAdV 4 型	13	(7.9)	3	(10.3)	16	(8.3)
HAdV 6 型	1	(0.6)			1	(0.5)
HAdV 8 型	15	(9.2)	2	(6.8)	17	(8.8)
HAdV 11 型	4	(2.4)	1	(3.4)	5	(2.6)
HAdV 19 型	1	(0.6)	1	(3.4)	2	(1.0)
HAdV 34 型	1	(0.6)			1	(0.5)
HAdV 37 型	50	(30.6)	5	(17.2)	55	(28.6)
HAdV 53 型	19	(11.6)	2	(6.8)	21	(10.9)
HAdV 54 型	16	(9.8)			16	(8.3)
HAdV 56 型	25	(15.3)	8	(27.5)	33	(17.1)
HAdV NT	2	(1.2)	4	(13.7)	6	(3.1)
検出数	163		29		192	
検出率	63.4%		14.3%		41.7%	

※（ ）内は各型の検出数/検出数（％）

表 2 型別・年度別アデノウイルス検出数

	2008 年度	2009 年度	2010 年度	2011 年度	2012 年度	2013 年度	合計
検体数	94	21	63	62	97	123	460
HAdV 1 型					1		1
HAdV 3 型	4		6	2		6	18
HAdV 4 型				1	13	2	16
HAdV 6 型			1				1
HAdV 8 型				1	1	15	17
HAdV 11 型	2		2	1			5
HAdV 19 型					2		2
HAdV 34 型				1			1
HAdV 37 型	17	7	3	1	3	24	55
HAdV 53 型			12	3	3	3	21
HAdV 54 型	4			5	7		16
HAdV 56 型			9	9	8	7	33
HAdV NT	1			2	2	1	6
検出数	28	7	33	26	40	58	192
検出率（％）	29.8	33, 3	48.5	41.9	41.2	47, 2	41.7

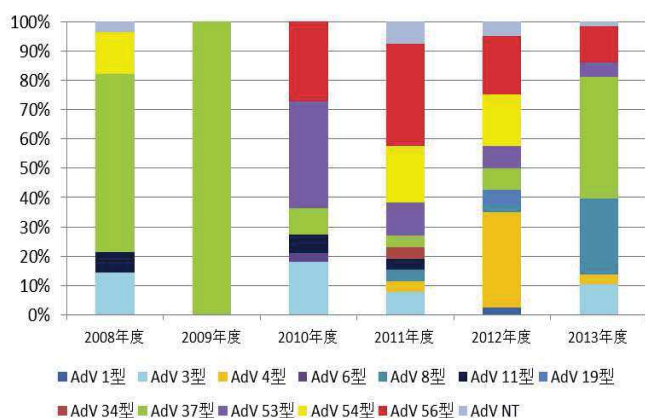


図1 型別・年度別アデノウイルス検出割合

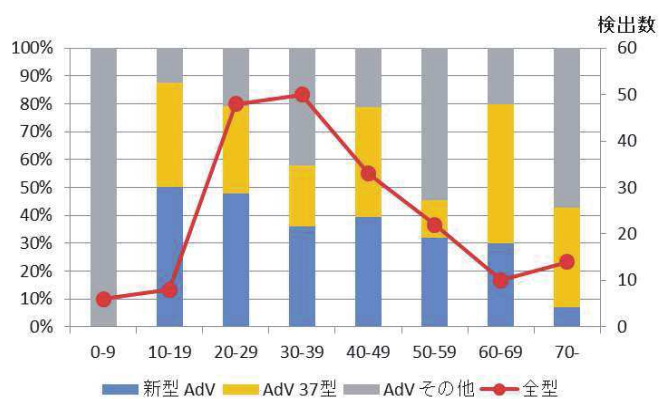


図3 年齢別アデノウイルス検出状況

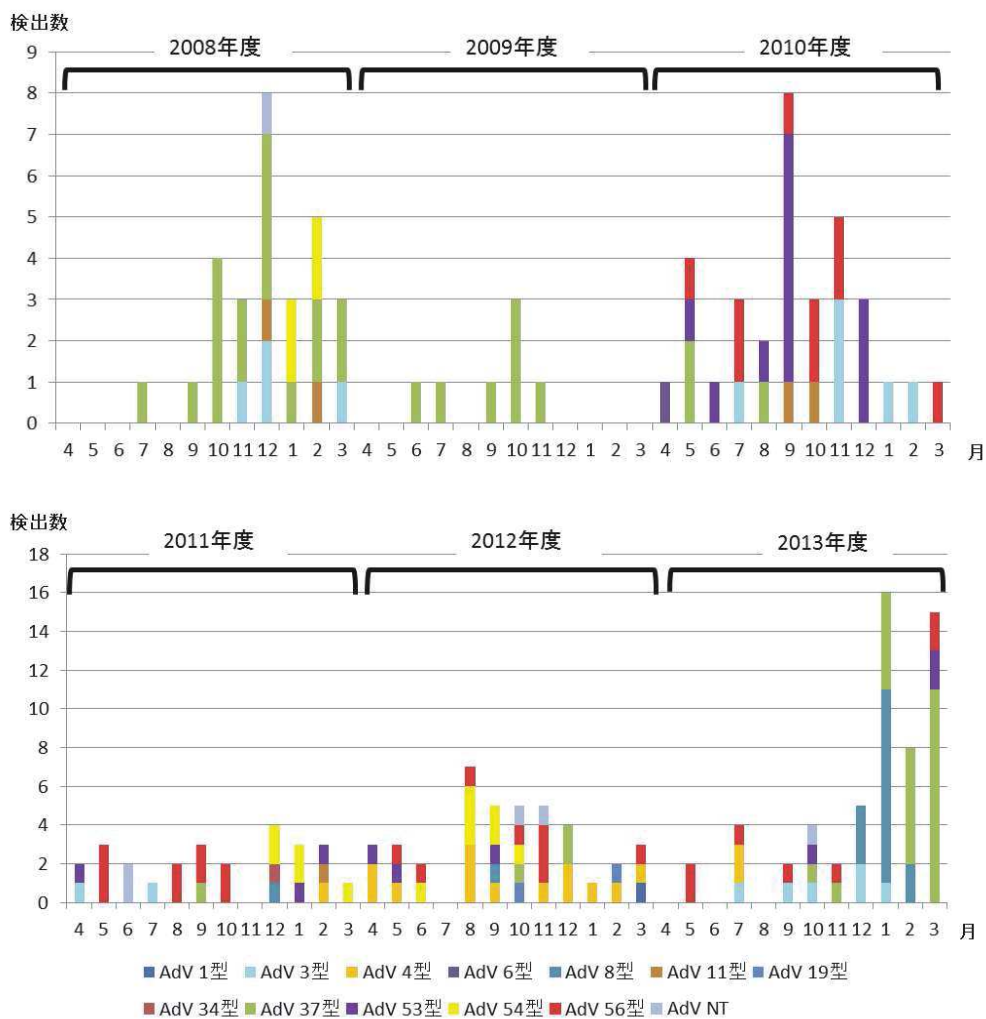


図2 月別アデノウイルス検出状況

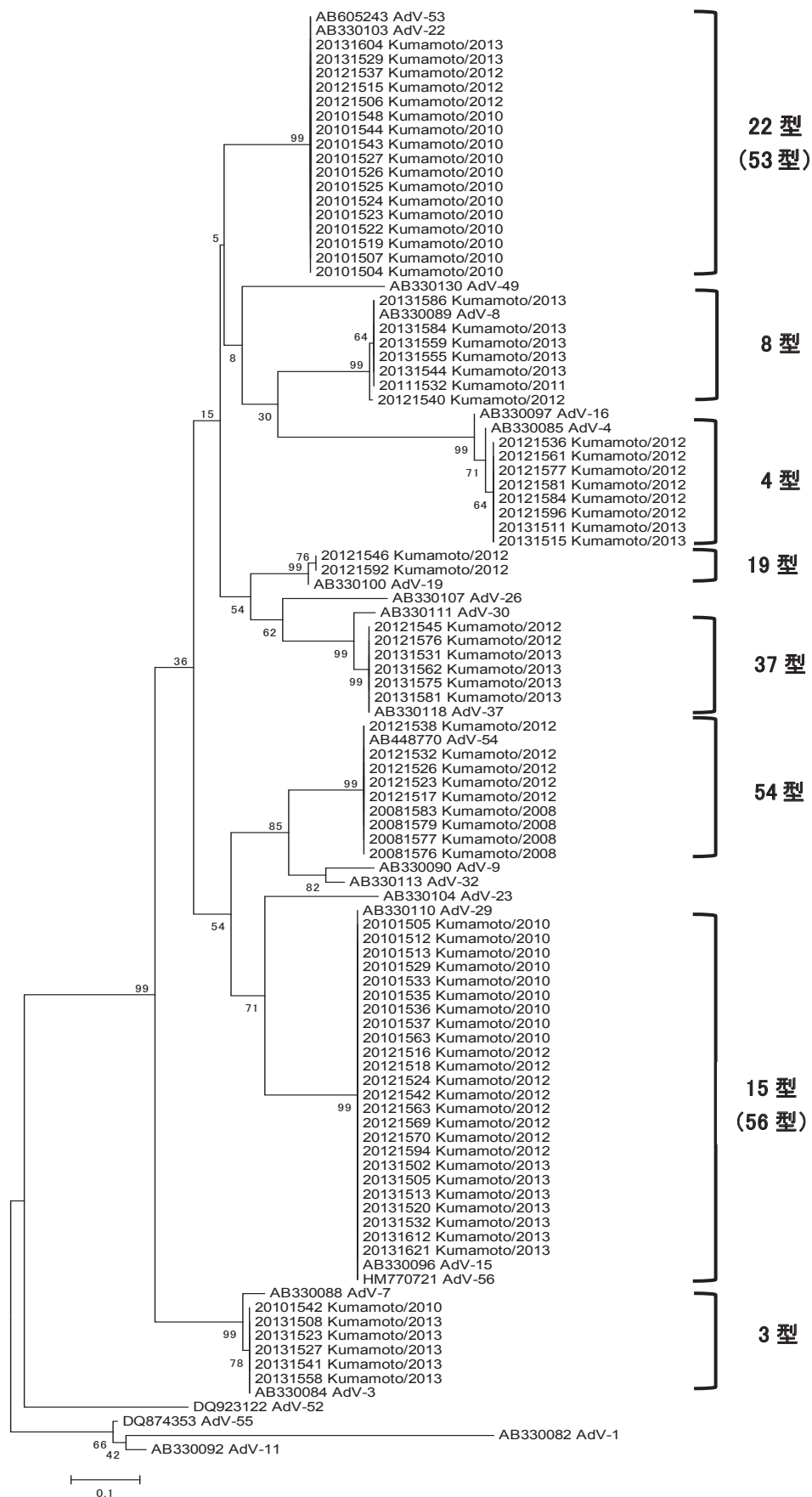


図 4-a hexon 領域の分子系統樹

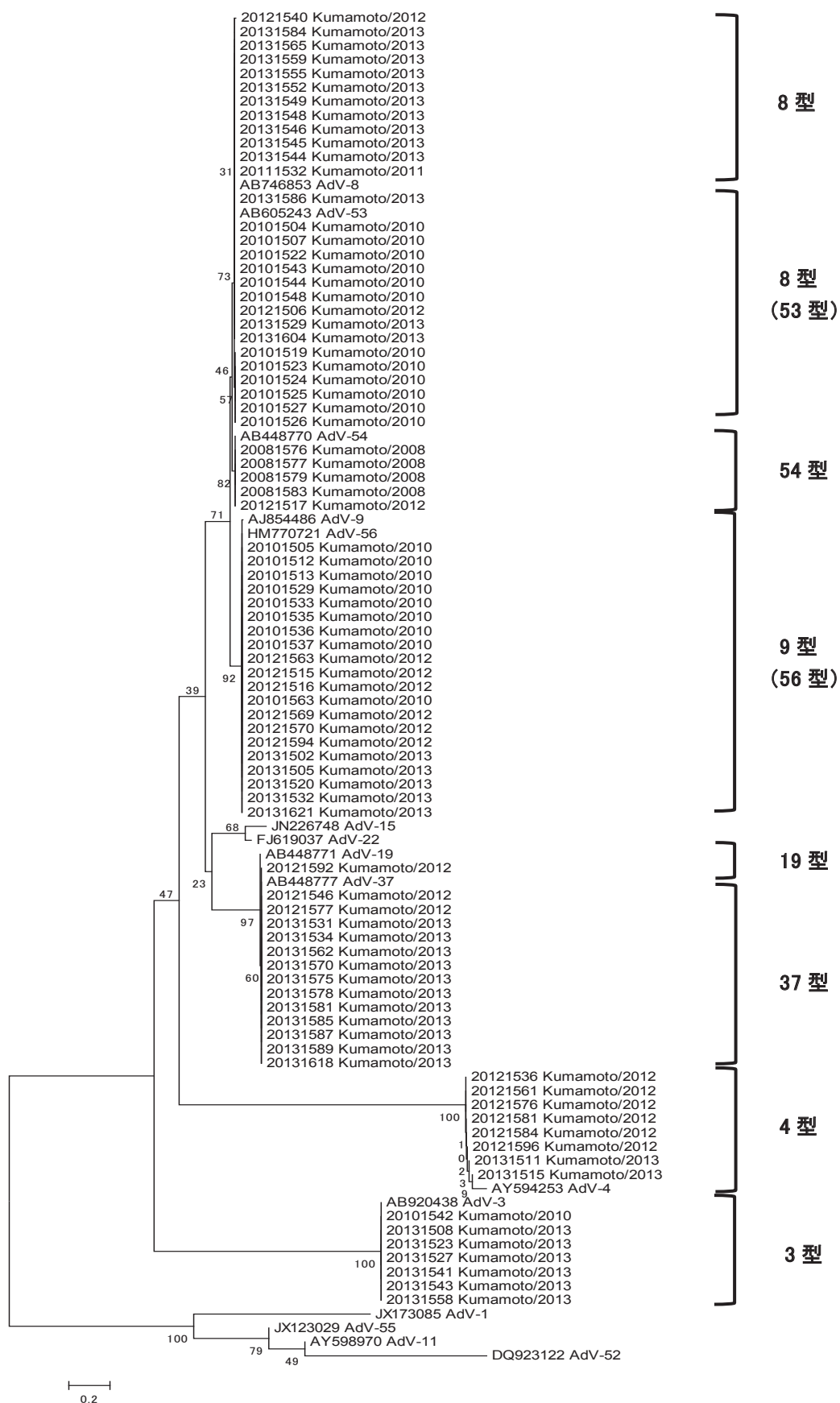


図 4-b fiber 領域の分子系統樹

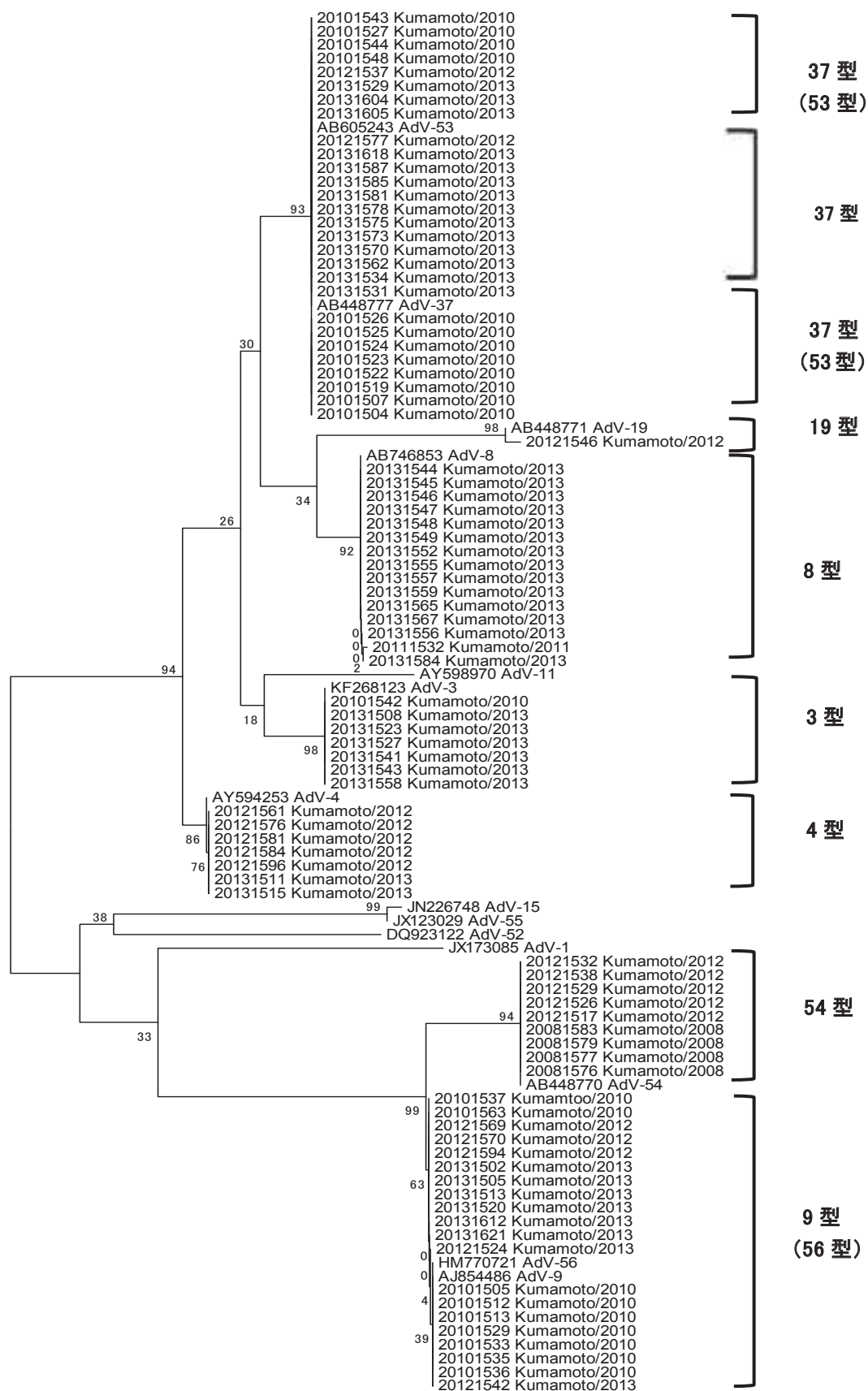


図 4-c penton 領域の分子系統樹

表3 ウイルス分離とPCR法の比較(件数)

	PCR(+)	PCR(-)	合計
分離(+)	123	0	123
分離(-)	27	180	207
合計	150	180	330

6) 新型 HAdV の中和試験における交差反応

新型 HAdV はいずれの型も 8 型と交差反応が認められ、HAdV 抗血清で細胞変性効果 (CPE) が抑制される傾向を示した。しかし、実際の 8 型 HAdV と比較すると抑制の弱い株が多く、中にはほとんど抑制の認められない株も観察された。

7) ウイルス分離と PCR 法の比較

両方の検査法を併用した臨床検体 330 件について、検査法ごとの検査成績を比較すると、ウイルス分離では 123 件 (37.3%) から分離され、PCR 法ではそれらをすべて含む 150 件 (45.4%) から検出された (表 3)。

また、ウイルス分離のみで検査した 2008 年 4 月から 2010 年 7 月までの 130 件から 42 株の HAdV が分離され、これらの検体はすべて PCR 陽性であり合計すると、ウイルス分離により 460 件中 165 件 (35.9%) から HAdV が分離された。PCR 法ではこれらをすべて含む 192 件 (41.7%) から HAdV が検出された。なお、ウイルス分離陰性・PCR 陽性となった HAdV の型は、3 型が 1 件、8 型が 14 件、53 型が 2 件、54 型が 6 件、型不明 (NT) が 4 件であった (データ未掲載)。

8) HAdV の型による臨床症状の相違

病原体定点の眼科医院から得られた情報によると、新型 HAdV による EKC の臨床所見は、他の型による EKC より重症な結膜充血を示す例が多く、さらに角膜障害も多い傾向が認められる。また、治癒までに要する期間は、新型及び 37 型で 17~18 日間、その他の型で約 12 日間程度であった。

考 察

EKC の原因となる HAdV の型は、E 種の 4 型、B 種の 3 型及び 11 型等を除くと、主に D 種であり、これまで全国的に 8 型、19 型、37 型などが流行を繰り返してきた。今回、2008 年度から 2013 年度までに、眼科の臨床検体から検出された HAdV の分子疫学解析を行ったところ、12 の型が検出され、EKC と診断された臨床検体から 3 型、4 型、8 型、37 型、53 型、54 型、及び 56 型が多数検出された。特に、4 型及び 8 型は、近年ほとんど検出されていなかったが、4 型は 2012 年度に、8 型は 2013 年度に急増した。Fujimoto ら¹⁵⁾も、

長年ほとんど検出されなかった 8 型による EKC が、2011 年に川崎市で突然散発性に集団発生した事例を報告していることから、これらの型は、まだ EKC の重要な原因ウイルスであり、集団免疫の低下により、大流行を起こす可能性が示唆された。

新型 HAdV のうち、53 型は 2010 年度に初めて検出されたが、検出件数の 36.3% (12 件/33 件) を占め、その後毎年度検出されている。kaneko ら³⁾は、53 型は 1996 年から国内で普通に検出されるようになったが、実際は 1980 年代に EKC から分離されていた類似ウイルスから進化した可能性があるとして述べている。

54 型は、Ishiko ら^{5), 16)}によると、2000 年に神戸及び浜松の EKC 患者から検出され、2001 年には本県の患者からも検出されている。その後、今回の調査で 2008 年に検出されるまで、その動向は不明であるが、54 型は 8 型の抗血清と交差があり、8 型同様、細胞培養による CPE の発現が遅いことから、8 型と誤同定されている可能性が考えられた。

56 型は、Kaneko ら⁶⁾によると、本県を含む国内 7 道県で 2008 年度に採取された EKC の検体 102 件中 11 件から検出され、このうち 2 件は本県で採取された検体から検出されている。なお、この 2 件は当所ではウイルスが分離できなかったため、今回の検査成績には含まれていない。以後、2010 年度から毎年度検出され、現在では EKC から検出される主要ウイルスの一つとなっている。

これら 3 種の新型 HAdV はキメラウイルスであり、中和試験において、多くの株で 8 型抗血清との交差反応がみられ、従来の HAdV 抗血清を用いた中和反応では型別決定が困難であることが示された。したがって、今後は、ゲノムの 3 領域の一部を増幅して塩基配列を決定する簡易型別法やフルゲノム解析で型別を行う必要がある。

また、分子系統樹解析の結果、各型の HAdV は、hexon, fiber, penton の 3 領域とも、型ごとに明瞭なクラスターを形成した。さらに、Shimada ら¹⁰⁾や Hiroi ら¹⁷⁾の分析結果と同様、各クラスター内では標準株と各株が非常に高い相同性を示した。しかしながら、分離年度によるわずかな違いでサブクラスターを形成した株もみられたことから、HAdV は各領域の塩基配列を保ちながらもわずかに変異し、流行を繰り返している可能性が示唆された。

HAdV の検査法に関して、梶原ら¹⁸⁾はウイルス分離では 30.4%であった陽性率が、PCR 法では 73.9%と、約 2.4 倍高感度になったと報告している。今回、我々

の調査では、ウイルス分離のみ行った 2008 年度と 2009 年の陽性率は 30%程度であったが、PCR 法を併用した 2010 年度以降は各年度 40%以上となり、幾分検出率が向上した。ウイルスを分離し保存しておくことは、将来の詳細な解析のために必要不可欠であるが、ウイルスが分離された検体はすべて PCR 法で検出されたことから、流行状況を迅速に調査するためには、時間と手間にかかるウイルス分離より、PCR 法の方が簡便で効率的な方法であることが示された。

また、型による臨床症状の相違を調査したところ、新型による EKC は症状の重症化、治癒期間の延長が認められたが、これは、新型 HAdV が近年流行し始めたことにより、新型 HAdV の抗体の保有者が少ないことも一因であると推察された。

以上のことから、わずかながらも遺伝子の変異や遺伝子の組み変わった新型 HAdV の流行等が認められることから、今後も引き続き調査を継続することが重要である。

まとめ

眼科定点で主に EKC から検出される HAdV の分子疫学型解析を行ったところ、本県でも流行型の年次変化がみられ、4 型、8 型、37 型、及び 53 型で流行年度が確認された。2008 年度から、新型 HAdV が検出されはじめ、これらの型による EKC は従来の型より重症で治療が長引く傾向が認められた。

また、新型 HAdV では、交差反応により従来の HAdV 抗血清を用いた中和試験が困難であることから、hexon, fiber, 及び penton の 3 領域のシーケンスによる型決定が必須となった。なお、今回行った 3 領域の遺伝子解析により、HAdV は、各領域の塩基配列を保ちながらもわずかに変異し、流行を繰り返している可能性が示唆された。今後も、引き続き調査を継続することが重要である。

文献

- 1) Ghebremedhin B., : European Journal of Microbiology and Immunology 41, 26–33 (2014).
- 2) Jones MS 2nd, Harrach B, Ganac RD, Gozum MM, DelaCruz WP, Riedel B, Pan C, Delwart EL, Schnurr DP: J. Virol 81, 5978–5984 (2007).
- 3) Kaneko H, Aoki K, Ishida S, Ohno S, Kitaichi N, Ishiko H, Fujimoto T, Ikeda Y, Nakamura M, Gonzalez G, Koyanagi KO, Watanabe H, Suzutani T.: J Gen Virol. 92(Pt 6):1251-9 (2011).
- 4) Walsh Michael P, Chintakuntlawar Ashish, Robinson Christopher M, Madisch Ijad, Harrach, Bala' zs, Hudson Nolan R., Schnurr David, Heim Albert, James Chodosh, Seto Donald, Jones Morris S : PLoS ONE 4 (2009) .
- 5) Ishiko H, Shimada Y, Konno T, Hayashi A, Ohguchi T, Tagawa Y, Aoki K, Ohno S, Yamazaki S. J Clin Microbiol,46(6):2002-8 (2008) .
- 6) Kaneko H, Suzutani T, Aoki K, Kitaichi N, Ishida S, Ishiko H, Ohashi T, Okamoto S, Nakagawa H, Hinokuma R, Asato Y, Oniki S, Hashimoto T, Iida T, Ohno S : Br J Ophthalmol 95, 32–36 (2011).
- 7) Robinson CM, Singh G, Henquell C, Walsh MP, Peigue-Lafeuille H, Seto D, Jones MS, Dyer DW, Chodosh J. : Virology. 20,409(2),141-7 (2011) .
- 8) Kaneko H, Aoki K, Ohno S, Ishiko H, Fujimoto T, Kikuchi M, Harada S, Gonzalez G, Koyanagi K O, Watanabe H, Suzutani T : J Clin Microbiol.49, 484–490 (2011) .
- 9) Saitoh-Inagawa W, Oshima A, Aoki K, Itoh N, Isobe K, Uchio E, Ohno S, Nakajima H, Hata K, Ishiko H: J Clin Microbiol., 4, 2113-2116. (1996).
- 10) Shimada Y, Ariga T, Tagawa Y, Aoki K, Ohno S, Ishiko H : J Clin Microbiol.42(4),1577-1584 (2004) .
- 11) Banik U, Adhikary AK, Suzuki E, Inada T, Okabe N. : J Clin Microbiol.43(3):1064-8 (2005) .
- 12) 国立感染症研究所編：病原体検出マニュアル（咽頭結膜熱・流行性角結膜炎検査，診断マニュアル，第 2 版）(2012).
- 13) Xu W, McDonough MC, Erdman DD : J. Clin. Microbiol., 38, 4114-4120. (2000).
- 14) Takeuchi S, Itou N, Uchio E, Aoki K, Ohno S : J Clin Microbiol.,37, 1839-1845(1999).
- 15) Fujimoto T, Matsushima Y, Shimizu H, Ishimaru Y, Kano A : Jpn.J.Infect.Dis.,65, 260-263. (2012)
- 16) Ishiko H, Aoki K : J Clin Microbiol.47, 2678–2679 (2009) ,
- 17) Hiroi Satoshi, Morikawa Saeko, Takahashi Kazuo, Komano Jun, Kase Tetsuo : Jpn. J. Infect. Dis., 66, 436-438 (2013) .
- 18) 梶原淳睦，濱崎光宏，江藤良樹，千々和勝己，鬼木信乃：福岡県保健環境研究所年報，29, 96–99, (2002) .

2) 健康危機に対応した加工食品中の農薬迅速分析法の検討

山本 理世 吉田 達雄* 西名 武士 飛野 敏明 村川 弘

要旨

健康危機に対応した加工食品中の農薬迅速分析法の開発を目的として、当所で開発した農産物中残留農薬迅速分析法（SFE-GC/MS 法及び溶媒抽出-LC/MS/MS 法）の加工食品への適用について検討した。

SFE-GC/MS 法にアセトニトリル／ヘキサン分配を加えることにより、加工食品中に多量に含まれる脂質を効果的に除去することができ、溶媒抽出-LC/MS/MS 法と合わせて農薬 555 成分中 540 成分について良好な回収率（回収率 50～200 %，RSD<30）が得られた。本法は加工食品中の農薬混入事件事故の原因究明に非常に有用な手法であると考えられる。

キーワード：加工食品，農薬迅速分析，SFE，GC/MS，LC/MS/MS

はじめに

平成20年に中国産冷凍餃子に混入した農薬メタミドホス（有機リン系殺虫剤）を原因とする中毒事例が発生し、また、平成25年12月には冷凍食品に混入した農薬マラチオン（有機リン系殺虫剤）により、全国で健康被害の訴えが相次ぐなど加工食品の安全性が大きな社会問題となっている。

一般的に農薬による中毒は、その特性上健康被害が比較的短時間で現れ、重篤な場合が多く、加工食品に混入された場合その社会的影響も大きいことから、被害拡大の防止、患者の早期治療等の観点から迅速な原因物質の特定が求められる。また、混入が想定される農薬は数百種類に上ることから、当所においても健康危機に対応した加工食品中の農薬迅速分析法の確立が急務となっている。

当所では、超臨界流体抽出（SFE）-GC/MS法¹⁾（以下「SFE-GC/MS法」という。）と溶媒抽出-LC/MS/MS法²⁾を併用した農産物中残留農薬迅速分析法を研究・開発しているが、脂質の影響を受けにくいLC/MS/MS

での分析に対し、GC/MSでの分析は脂質の影響を受けやすく、SFE-GC/MS法は一般に脂質を多量に含有する加工食品への適用は困難であると考えられた。

そこで今回、SFE-GC/MS法に脂質の除去を目的として、アセトニトリル／ヘキサン分配を加えた分析法（以下「改良法」という。）の検討を行い、さらに改良法と溶媒抽出-LC/MS/MS法を併用した迅速分析法（以下「併用法」という。）の加工食品への適用性を確認した。

また、併用法について、農薬555成分を対象に「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」³⁾（以下「検出法事務連絡」という。）に基づく性能評価を行ったところ、良好な結果が得られたので報告する。

実験方法

1 試薬

農薬標準品は林純薬工業製、関東化学製、和光純薬工業製、Dr.Ehrenstorfer GmbH製、sigma-aldrich製を用い、アセトン又はメタノールにより適宜希釈して標準溶液

* 現熊本県北広域本部鹿本地域振興局農林部

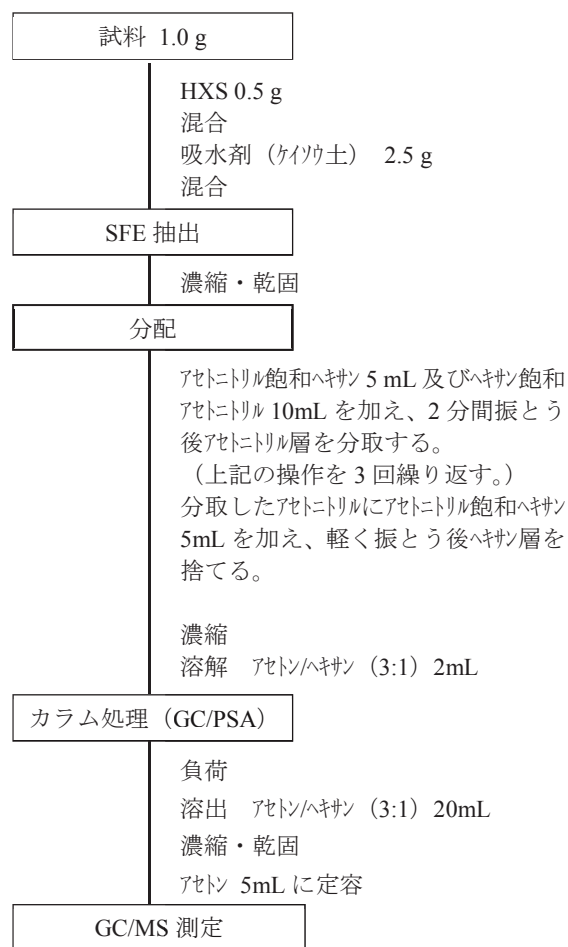


図 1 改良法フロー

とした。

2 試料の調製

分析対象農薬が不検出であることを確認した市販の冷凍ピザ（主な原材料：小麦粉，ナチュラルチーズ，ソフトサラミソーセージ，野菜，トマトペースト，米粉，植物油脂）を乳鉢中で粉砕・均質化したものを用いた。

2.1 改良法用試料

GC/MS分析対象農薬381成分の農薬標準混合溶液を，均質化した試料に 0.5 mg kg^{-1} の濃度となるように添加し，改良法用試料とした。

2.2 溶媒抽出-LC/MS/MS法用試料

LC/MS/MS分析対象農薬294成分の農薬標準混合溶液を，均質化した試料に 0.4 mg kg^{-1} の濃度となるように添加し，溶媒抽出-LC/MS/MS法用試料とした。

なお，GC/MS及びLC/MS/MS測定対象農薬には重複する成分が120成分含まれるため，測定対象農薬成分数は合計555成分となった。

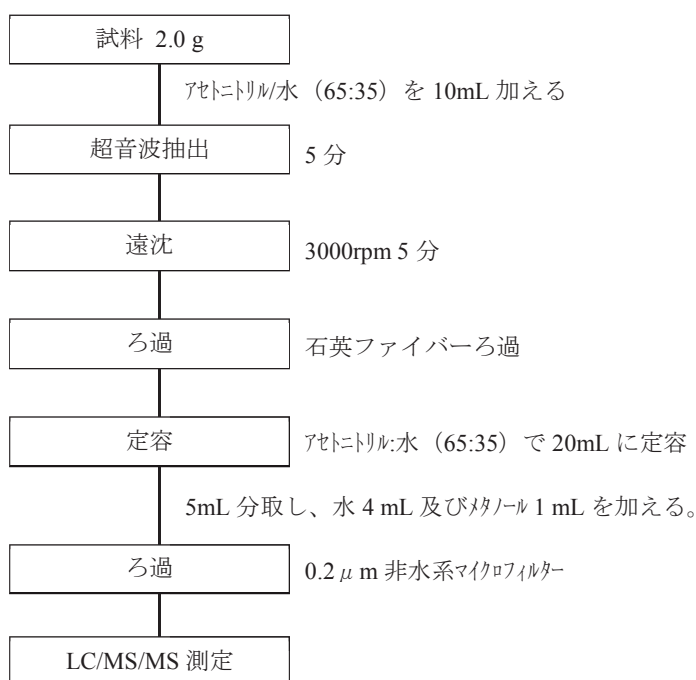


図 2 溶媒抽出-LC/MS/MS 法フロー

3 改良法による測定

3.1 改良法用試験溶液調製

2.1 で調製した試料1.0gに1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム（HXS）0.5 gを加え混和した。これに吸水剤（ケイソウ土）2.5 gを加え，スパーテルで碎きながら混和した後，抽出容器に入れ，超臨界流体抽出（40℃，2000 psi，リストリクター温度60℃，スタティック15分，ダイナミック15分，CO₂流量3～4 mL min⁻¹，捕集溶剤：アセトン）を行った。抽出物をアセトン20 mLで捕集した後，エバポレーターで減圧濃縮し，窒素気流下で乾固した。乾固した抽出物をアセトニトリル飽和ヘキサン5 mLに溶解し，ヘキサン飽和アセトニトリル10 mLを加え，2分間振とうした。下層部（アセトニトリル層）を分取後，再度ヘキサン飽和アセトニトリル10 mLを加えた。

同様の操作を3回繰り返し，分取溶液をすべて合わせた。分取溶液にアセトニトリル飽和ヘキサン5 mLを加え，軽く振とうし，上澄み（ヘキサン層）を除去後，

エバポレーターで減圧濃縮した。残渣をアセトン/ヘキサン (3:1) 混液2 mLに溶解し、あらかじめ同混液15 mLでコンディショニングを行ったGC/PSA (GL Science製, 300 mg/ 500 mg/ 6 mL) ミニカラムに負荷し、同混液20 mLで溶出した。この溶出液をエバポレーターで減圧濃縮、窒素気流下で乾固後、アセトン5 mLで定容し、試験溶液とした (図1)。

3. 2 GC/MS測定条件

GC : 7890A(Agilent)

MS : 5975C(Agilent)

カラム : Agilent 社製 HP-5MS

(長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 μ m)

昇温条件 : 80°C(2 min)-30 °C/min-180°C(10min)- 2 °C/min- 200°C-3 °C/min-280°C(8min)

注入口温度 : 250°C

注入量 : 4 μ L

イオン化法 : 電子衝撃イオン化 (EI) 法

注入方法 : パルスドスプリットレス

MS イオン源温度 : 250°C

MS 四重極温度 : 150°C

4 溶媒抽出-LC/MS/MS法による測定

4. 1 溶媒抽出-LC/MS/MS法用試験溶液調製

2.2 で調製した試料 2 g にアセトニトリル/水混液 (65:35) 10 mL を加え、超音波抽出を 5 分間行い、3,000 rpm で 5 分間遠沈し上澄みをろ過した。残留物にアセトニトリル/水混液 (65 : 35) 10 mL を加え、同様に抽出しろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトニトリル/水混液 (65 : 35) を加えて正確に 20 mL に定容し、試料抽出液とした。

試料抽出液5 mLを正確に分取し、これに蒸留水4mL及びメタノール1 mLを加え混和した。これを0.2 μ m 非水系マイクロフィルターでろ過し、試験溶液とした (図2)。

4. 2 LC/MS/MS 測定条件

LC : Nexera X2 (島津製作所製)

注入量 : 10 μ L

分離カラム : InertsustainC18(2.1×150 mm, 3 μ m)

ガードカラム : InertsustainC18(3.0×10 mm, 3 μ m)

カラムオープン温度 : 40°C

移動相 : A 液(0.1 %ギ酸, 2.5 mM 酢酸アンモニウムを含む蒸留水), B 液(0.1 %ギ酸, 2.5 mM 酢酸アンモニウムを含むメタノール)

グラジエント条件 : 表 1 のとおり。

MS/MS : TRIPLE QUAD5500(AB SCIEX 社製)

イオン化法 : ESI

表 1 LC/MS/MS グラジエント条件

時間 (min)	A 液 (%)	B 液 (%)	流速 (mL/min)
0	98	2	0.4
0.5	98	2	0.4
1	70	30	0.4
15	2	98	0.4
20	2	98	0.4
20.01	98	2	0.4
30	98	2	0.4

分析モード : sMRM (農薬成分数が多いため、ポジティブモードとネガティブモードの 2 系列に分けて取り込みを行った。)

結果及び考察

併用法での添加回収試験 (n=3) により得られた回収率の平均値及び相対標準偏差 (RSD) を表 2 に示した。これらの値について、検出法事務連絡で示された性能評価の目標値 (回収率 50~200 %, RSD< 30, 以下「目標値」という。) に基づき評価したところ、改良法による GC/MS 測定農薬は 381 成分中 340 成分、溶媒抽出-LC/MS/MS 法による LC/MS/MS 測定農薬は 294 成分すべてで目標値に適合しており、GC/MS 測定農薬と LC/MS/MS 測定農薬の重複する成分を除くと、555 成分中 540 成分が目標値に適合しており、良好な結果が得られた。

次に、併用法と検出法事務連絡に示された「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法-3」(以下「第3法」という。) との添加回収試験 (n=3) の結果の比較を行った (表3)。その結果、GC/MS, LC/MS/MS とともに併用法の方が第3法に比べ良好な結果が得られ、合計で約70成分多く分析可能であった。また、図3に示すとおり、GC/MS分析において、第3法はベースラインが高く、大きな妨害ピークが検出されたが、改良法については良好なピーク形状が得られた。

なお、冷凍食品のマラチオン混入事件では、全国で約1000検体の検査が行われており、本県でも改良法により15検体の検査を行った。その結果、改良法は今回の検討に用いた冷凍ピザ以外に、冷凍照り焼きからあげやグラタンにも適用可能であることが確認されたことから、併用法についても広く加工食品に適用可能であることが示唆された。

表3 併用法と第3法の適合成成分数

分析法	GC/MS (381 成分)	LC/MS/MS (294 成分)	合計 (555 成分)
併用法	340	294	540
第3法	310	246	469

まとめ

加工食品への相次ぐ農薬混入事件を受け、当所においても健康危機管理対応のため、加工食品中の農薬迅速分析法の検討を行った。従来の SFE-GC/MS 法にアセトニトリル/ヘキサン分配を追加することにより脂質を効果的に除去することができ、LC/MS/MS 法と併

せると 555 成分中 540 成分が目標値に適合し、良好な結果が得られた。また、第3法と比較しても約 70 成分多く分析が可能であり、夾雑物の影響も少なかった。

以上により、本法は脂質を多量に含む加工食品に対して適用可能であり、かつ検査に要する時間も1日程度と短いことから、加工食品中の農薬混入事件事故における迅速な原因究明に非常に有用な手法であると考えられる。

文献

- 1) 村川弘, 吉田達雄, 吉元秀和, 飛野敏明: 熊本県保健環境科学研究所報, 37, 29-35, 2007年
- 2) 福島孝兵, 増永ミキ, 宮原喜子, 飛野敏明: 熊本県保健環境科学研究所報, 37, 36-39, 2007年
- 3) 厚生労働省: 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」, 平成25年3月26日.

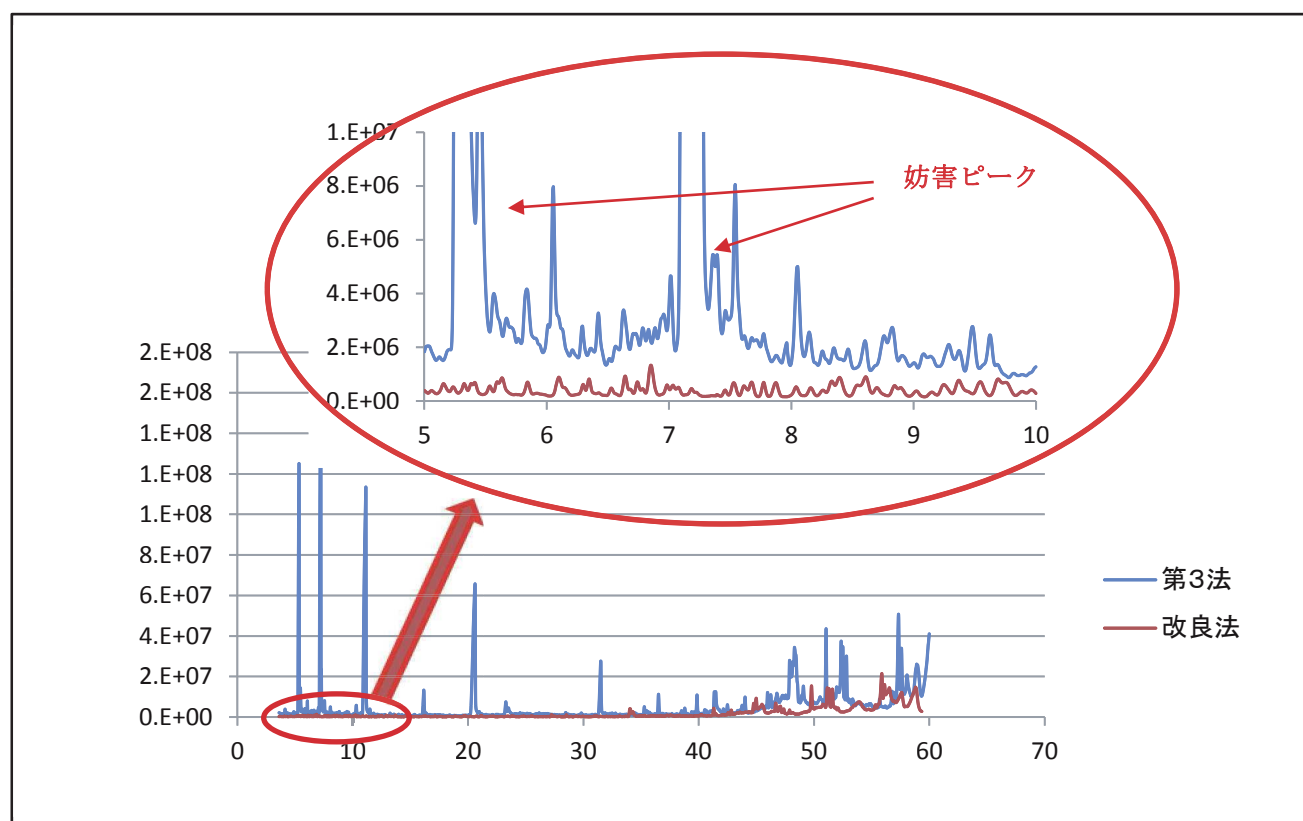


図3 改良法と第3法のクロマトグラム（TIC）の比較

表 2 添加回収試験結果

農薬名	回収率	RSD (%)	測定	農薬名	回収率	RSD (%)	測定
1-ナフタレン酢酸	82.7	3.9	LC/MS/MS	アセタミフ リト [®]	103.3	1.2	LC/MS/MS
2, 3, 5-トリメタカルブ [®]	91.3	4.0	GC/MS	アセトクロール	90.1	8.0	GC/MS
2, 4-D	93.5	1.7	LC/MS/MS	アセフェート	92.9	4.8	LC/MS/MS
2, 4-ジ [®] クロロアニリン	67.1	2.4	GC/MS	アゾ [®] キシストロビ [®] ン	108.1	2.9	LC/MS/MS
2, 6-ジ [®] クロロヘ [®] ンサ [®] ミト [®]	23.3	5.2	GC/MS	アトラジ [®] ン	87.0	10.0	GC/MS
3, 4, 5-トリメタカルブ [®]	95.9	2.2	GC/MS	アニラジ [®] ン	94.7	15.9	LC/MS/MS
4-クロルフェノキシ酢酸	78.2	1.5	LC/MS/MS	アニコホス	101.6	5.3	LC/MS/MS
cis-メトコナゾ [®] ール	109.4	7.8	LC/MS/MS	アバ [®] メクチン B1a	100.9	5.3	LC/MS/MS
DBEDC	104.7	5.4	LC/MS/MS	アミトラズ [®]	67.4	7.0	GC/MS
EPN	86.9	4.3	GC/MS	アミノカルブ [®]	89.7	1.2	GC/MS
EPTC	100.3	4.5	LC/MS/MS	アミノカルブ [®] 分解物	81.8	7.2	GC/MS
MCPA	93.7	2.7	LC/MS/MS	アメトリン	84.5	7.3	GC/MS
MCPB	95.5	2.8	LC/MS/MS	アラクロール	81.1	3.4	GC/MS
MPMC	88.5	0.4	GC/MS	アラニカルブ [®]	98.3	8.6	LC/MS/MS
o, p'-DDT	78.9	4.6	GC/MS	アラマイト	95.0	6.3	LC/MS/MS
p, p'-DDD	82.6	9.0	GC/MS	アルシ [®] カルブ [®]	104.2	3.8	LC/MS/MS
p, p'-DDE	72.3	10.7	GC/MS	アルト [®] キシカルブ [®]	88.3	8.0	LC/MS/MS
p, p'-DDT	73.3	4.5	GC/MS	アルト [®] リン	48.6	4.6	GC/MS
swep	88.5	5.6	GC/MS	アレスリン 1	88.2	7.8	GC/MS
TCMTB	113.6	12.5	LC/MS/MS	アレスリン 2	87.2	1.0	GC/MS
trans-メトコナゾ [®] ール	109.9	8.6	LC/MS/MS	イオト [®] スルフロ [®] ンメチル	104.7	0.7	LC/MS/MS
XMC	85.9	0.7	GC/MS	イサゾ [®] ホス	89.6	6.2	GC/MS
α -BHC	84.8	1.5	GC/MS	イソウロン	108.9	7.2	LC/MS/MS
β -BHC	80.8	4.6	GC/MS	イソカルボ [®] ホス	89.3	6.1	GC/MS
γ -BHC	83.7	4.2	GC/MS	イソキサジ [®] フェンエチル	94.7	4.8	LC/MS/MS
δ -BHC	81.4	3.2	GC/MS	イソキサチオン	88.5	3.2	GC/MS
α -エント [®] スルファン	77.7	9.4	GC/MS	イソキサチオンオキシソ [®] ン	0.0	0.0	GC/MS
β -エント [®] スルファン	86.2	8.7	GC/MS	イソキサフルトール	103.7	5.7	LC/MS/MS
エント [®] スルファンサルフェート	74.4	5.3	GC/MS	イソフェンホス	85.2	2.9	GC/MS
α -クロルフェンビ [®] ンホス	86.4	6.9	GC/MS	イソフェンホスオキシソ [®] ン	93.7	3.4	GC/MS
β -クロルフェンビ [®] ンホス	86.1	4.7	GC/MS	イソブ [®] ロカルブ [®]	87.4	5.3	GC/MS
アイオキシニル	97.0	2.5	LC/MS/MS	イソブ [®] ロチオラン	84.9	7.8	GC/MS
アクリナトリン 1	101.3	1.7	GC/MS	イソブ [®] ロハ [®] リン	81.2	3.2	GC/MS
アクリナトリン 2	79.9	4.5	GC/MS	イナヘ [®] ンフイト [®]	125.1	9.0	LC/MS/MS
アサ [®] コナゾ [®] ール	87.1	5.4	GC/MS	イブ [®] ロジ [®] オン	121.5	10.6	LC/MS/MS
アサ [®] メチホス	156.5	7.7	LC/MS/MS	イブ [®] ロジ [®] オン	90.2	10.1	GC/MS
アシフルオルフェン	95.4	3.0	LC/MS/MS	イブ [®] ロジ [®] オン代謝物	79.9	13.3	GC/MS
アシヘ [®] ンゾ [®] ラル-S-メチル	93.3	0.8	LC/MS/MS	イブ [®] ロハ [®] リカルブ [®]	108.6	11.1	LC/MS/MS
アシ [®] ムスルフロ [®] ン	105.1	2.2	LC/MS/MS	イブ [®] ロベ [®] ンホス	85.7	2.5	GC/MS
アシユラム	93.0	10.7	LC/MS/MS	イマサ [®] キン	112.9	5.8	LC/MS/MS
アシン [®] ホスエチル	88.1	3.8	GC/MS	イマサ [®] メタヘ [®] ンズ [®] メチルエステル	79.6	6.5	GC/MS
アシン [®] ホスメチル	116.5	3.9	LC/MS/MS	イマサ [®] モックスアンモニウム塩	91.8	5.0	LC/MS/MS
アセキノシル	51.2	1.8	LC/MS/MS	イマサ [®] リル	112.5	7.6	LC/MS/MS

農薬名	回収率	RSD (%)	測定
イミダクロプリド	100.2	3.2	LC/MS/MS
イミペニコナゾール	107.4	3.7	LC/MS/MS
イミペニコナゾール脱ヘンシール	144.6	7.4	LC/MS/MS
インタノフエン	113.0	6.2	LC/MS/MS
イントキサカルブ	98.4	0.7	LC/MS/MS
ウニコナゾール P	81.4	3.2	GC/MS
エスプロカルブ	76.8	4.6	GC/MS
エタメツルフロメチル	102.8	0.4	LC/MS/MS
エチオフェンカルブ	90.5	5.5	GC/MS
エチオン	86.0	6.0	GC/MS
エチクロセート	88.9	4.2	LC/MS/MS
エチプロール	86.9	4.3	GC/MS
エディフェンホス	91.3	0.4	GC/MS
エトキサゾール	86.3	4.6	GC/MS
エトキシスルフロ	104.5	2.6	LC/MS/MS
エトフェンプロックス	84.4	3.4	LC/MS/MS
エトフメセート	86.3	4.5	GC/MS
エトプロホス	84.1	4.7	GC/MS
エトヘンサニト	103.2	2.3	LC/MS/MS
エトリジニアゾール	56.0	3.5	GC/MS
エトリムホス	75.2	4.5	GC/MS
エボキサコナゾール	110.8	6.9	LC/MS/MS
エマメクチン安息香酸塩 8, 9Z	100.5	6.8	LC/MS/MS
エマメクチン安息香酸塩 B1a	99.1	6.1	LC/MS/MS
エマメクチン安息香酸塩 B1b	101.1	2.2	LC/MS/MS
エマメクチン安息香酸塩 アミノ B1a	101.1	11.1	LC/MS/MS
エマメクチン安息香酸塩 アミノ B1b	102.7	11.8	LC/MS/MS
エマメクチン安息香酸塩ホルミルアミノ B1a	98.0	5.4	LC/MS/MS
エマメクチン安息香酸塩メチルホルミルアミノ B1a	90.8	6.8	LC/MS/MS
エマメクチン安息香酸塩メチルホルミルアミノ B1b	119.1	10.1	LC/MS/MS
エンドリン	81.2	2.9	GC/MS
オキサジニアゾン	87.0	5.9	GC/MS
オキサジキシル	120.7	1.4	LC/MS/MS
オキサジクロメホン	92.1	1.4	LC/MS/MS
オキサミル	81.3	7.9	LC/MS/MS
オキシカルボキシ	102.6	1.4	LC/MS/MS
オキシフルオルフェン	82.1	5.1	GC/MS
オキサホコナゾールフルアル酸塩	133.7	10.7	LC/MS/MS
オリサストロビン(原体)	117.5	2.7	LC/MS/MS
オリサストロビン 5Z	102.5	4.1	LC/MS/MS
オリザリン	104.2	2.7	LC/MS/MS
オルトフェニルフェノール	80.5	2.9	GC/MS
カスサホス	76.6	7.5	GC/MS
カフェンストロール	86.2	2.7	GC/MS
カブタフォル分解物	75.7	0.6	GC/MS

農薬名	回収率	RSD (%)	測定
カブタホール	0.0	0.0	GC/MS
カルタップ	102.1	7.8	LC/MS/MS
カルハルリル	108.8	6.1	LC/MS/MS
カルフェントラソニエチル	83.4	1.7	GC/MS
カルブプロミト	94.3	0.7	GC/MS
カルヘタミト	0.0	0.0	GC/MS
カルヘンタシム	102.6	3.8	LC/MS/MS
カルボキシ	80.8	6.3	GC/MS
カルボスルファン	80.1	1.8	GC/MS
カルボフラン	86.0	3.0	GC/MS
キサロホップエチル	104.6	2.9	LC/MS/MS
キナルホス	82.5	6.2	GC/MS
キノキシフェン	81.5	3.4	GC/MS
キノクラミン	69.8	7.8	GC/MS
キノメチオナート	76.8	19.8	LC/MS/MS
キャブタン	0.0	0.0	GC/MS
キントセン	63.0	16.1	GC/MS
クミルロン	116.0	0.6	LC/MS/MS
クレソキシムメチル	97.7	4.6	LC/MS/MS
クレトシム	116.1	3.2	LC/MS/MS
クロキントセットメキシル	92.6	7.6	LC/MS/MS
クロジナホッププロパルキル	102.3	5.0	LC/MS/MS
クロジナホップ酸	106.7	8.4	LC/MS/MS
クロチアニジン	97.0	6.7	LC/MS/MS
クロビラリト	96.8	9.1	LC/MS/MS
クロフェンセット	110.0	0.3	LC/MS/MS
クロフェンテジン	85.0	3.2	LC/MS/MS
クロブロッ	92.7	0.7	LC/MS/MS
クロマジン	82.9	6.0	GC/MS
クロマフェノジト	106.8	6.5	LC/MS/MS
クロメトキシニル	79.4	3.5	GC/MS
クロメブロッ	94.2	8.5	LC/MS/MS
クロランスラムメチル	107.0	8.7	LC/MS/MS
クロリタゾン	88.9	6.6	LC/MS/MS
クロリムロンエチル	103.7	1.8	LC/MS/MS
クロルスルフロ	123.7	4.7	LC/MS/MS
クロルタールジメチル	84.8	5.0	GC/MS
クロルニトロフェン	84.2	3.6	GC/MS
クロルビリホス	83.8	8.4	GC/MS
クロルビリホスメチル	85.8	6.6	GC/MS
クロルフェナニル	85.1	7.9	GC/MS
クロルブファム	92.6	20.6	LC/MS/MS
クロルフルアズロン	91.1	5.4	LC/MS/MS
クロルブロファム	81.7	1.4	GC/MS
クロルメコート	141.1	5.9	LC/MS/MS

農薬名	回収率	RSD (%)	測定	農薬名	回収率	RSD (%)	測定
クロロクロン	116.2	1.9	LC/MS/MS	シフルトリン 3	81.3	4.4	GC/MS
クロロタロニル	0.0	0.0	GC/MS	シフルトリン 4	83.3	3.9	GC/MS
クロロネブ	73.7	4.9	GC/MS	シフルフェナミト	108.3	2.9	LC/MS/MS
クロロベンジレート	88.5	6.9	GC/MS	シフルフェニカン	103.7	4.9	LC/MS/MS
サイネビリン 1	82.9	9.3	GC/MS	シフルベンズロン	82.7	4.7	GC/MS
サイネビリン 2	88.4	5.9	GC/MS	シフルメトフェン(原体)	98.4	7.0	LC/MS/MS
サリチオン	83.3	6.8	GC/MS	シフルメトフェン代謝物 B1	85.7	0.7	LC/MS/MS
シアゾファミト	119.6	5.7	LC/MS/MS	シプロコナゾール	83.9	2.5	GC/MS
シアナジン	73.4	2.9	GC/MS	シプロジニル	97.0	7.2	LC/MS/MS
シアノフェンホス	93.4	2.2	GC/MS	シペルメトリン 1	86.2	4.0	GC/MS
シアノホス	92.3	5.4	GC/MS	シペルメトリン 2	83.6	3.6	GC/MS
シアフェンチウロン	0.0	0.0	GC/MS	シペルメトリン 3	79.2	7.2	GC/MS
シアフェンチウロン分解物 1	30.5	2.7	GC/MS	シペルメトリン 4	77.4	9.1	GC/MS
シエトフェンカルブ	85.8	4.0	GC/MS	シペレリン	93.2	1.4	LC/MS/MS
シオキサカルブ 1	76.7	2.5	GC/MS	シマジン	92.5	6.6	GC/MS
シオキサカルブ 2	87.4	1.7	GC/MS	シメコナゾール	107.5	8.3	LC/MS/MS
シオキサチオン	103.6	17.0	LC/MS/MS	シメタメトリン	87.5	3.5	GC/MS
シクラニルト	95.8	4.5	LC/MS/MS	シメチリン	93.6	3.4	GC/MS
シクロエート	113.4	14.8	LC/MS/MS	シメチリモール	99.3	4.2	LC/MS/MS
シクロキシジム	107.6	5.7	LC/MS/MS	シメチリンホス	84.8	11.8	GC/MS
シクロシメット 1	82.3	3.9	GC/MS	シメタミト	82.6	6.2	GC/MS
シクロシメット 2	83.9	2.1	GC/MS	シメトエート	80.8	5.6	GC/MS
シクロスラム	103.3	2.0	LC/MS/MS	シメトモルフ(E)	117.3	4.9	LC/MS/MS
シクロフェンチオン	78.9	6.1	GC/MS	シメトモルフ(Z)	108.3	3.9	LC/MS/MS
シクロフルアニト	75.1	15.2	LC/MS/MS	シメトリン	79.7	5.3	GC/MS
シクロプロトリン	82.2	2.5	LC/MS/MS	シメビレート	100.1	5.5	GC/MS
シクロヘニル	55.8	4.4	GC/MS	シモキサニル	96.2	2.5	LC/MS/MS
シクロホップメチル	89.1	5.7	GC/MS	シラフルオフェン	58.8	1.7	LC/MS/MS
シクロラン	86.9	5.5	GC/MS	シンメチリン	88.0	7.8	GC/MS
シクロルブロップ	95.2	4.1	LC/MS/MS	スピノサト A	106.1	2.1	LC/MS/MS
シクロルボス	147.5	13.1	LC/MS/MS	スピノサト D	102.3	2.0	LC/MS/MS
シコホル	83.1	1.4	GC/MS	スピロキサミン	109.0	6.5	LC/MS/MS
シスルボトン	74.6	5.8	GC/MS	スピロシクロフェン	92.5	2.9	LC/MS/MS
シチオヒル	72.9	1.3	GC/MS	スピロメシフェン(原体)	102.3	1.5	LC/MS/MS
シノテフラン	101.5	1.1	LC/MS/MS	スピロメシフェン代謝物	109.8	2.6	LC/MS/MS
シハロトリン 1	86.0	7.2	GC/MS	スルフェントラジン	127.5	10.9	LC/MS/MS
シハロトリン 2	84.1	3.1	GC/MS	スルプロホス	81.6	4.5	GC/MS
シハロホップフチル	90.8	3.4	GC/MS	スルホスルフロン	106.2	3.1	LC/MS/MS
シフェナミト	100.9	7.4	GC/MS	セクブメトン	87.2	3.3	GC/MS
シフェニル	45.9	6.5	GC/MS	セトキシジム(原体)	95.2	2.0	LC/MS/MS
シフェニルアミン	76.6	6.9	GC/MS	ソキサミト	94.1	7.2	LC/MS/MS
シフェノコナゾール	107.1	2.1	LC/MS/MS	ターハシル	51.9	8.5	GC/MS
シフェンゾート	101.4	3.6	LC/MS/MS	タiazin	80.5	3.4	GC/MS
シフルトリン 1	81.6	9.8	GC/MS	タiazレート	105.6	3.3	LC/MS/MS
シフルトリン 2	81.1	2.1	GC/MS	タイムロン	111.3	5.4	LC/MS/MS

農薬名	回収率	RSD (%)	測定	農薬名	回収率	RSD (%)	測定
チアクロフプリト	100.0	6.5	LC/MS/MS	トリアレート	67.0	6.0	GC/MS
チアシニル	99.7	6.6	LC/MS/MS	トリクラミト	92.9	10.5	LC/MS/MS
チアゾピル	122.8	1.4	LC/MS/MS	トリクロピル	93.2	2.4	LC/MS/MS
チアベンタゾール	102.1	2.7	LC/MS/MS	トリクロルホン	112.0	2.1	LC/MS/MS
チアメトキサム	94.6	2.9	LC/MS/MS	トリシクラゾール	111.7	1.0	LC/MS/MS
チオジカルブ	103.4	9.5	LC/MS/MS	トリコナゾール	104.5	0.7	LC/MS/MS
チオシラム	95.8	2.0	LC/MS/MS	トリテモルフ	99.0	4.5	LC/MS/MS
チオファネート	114.3	1.2	LC/MS/MS	トリネキサハックエチル	115.2	2.8	LC/MS/MS
チオファネートメチル	98.7	0.8	LC/MS/MS	トリブホス	77.7	4.2	GC/MS
チオベンカルブ	77.4	3.3	GC/MS	トリフルスルフロメチル	108.1	14.9	LC/MS/MS
チオメトン	80.1	3.0	GC/MS	トリフルミゾール	105.2	2.0	LC/MS/MS
チフエンズルフロメチル	116.3	2.4	LC/MS/MS	トリフルミゾール代謝物	82.3	3.1	GC/MS
チフルサミト	93.0	4.1	GC/MS	トリフルムロン	102.3	2.7	LC/MS/MS
テイルトリン	79.6	5.9	GC/MS	トリフルラリン	81.0	2.3	GC/MS
テクナゼン	66.0	5.1	GC/MS	トリフロキシストロビン	90.0	8.3	GC/MS
テクロフタラム	94.3	3.2	LC/MS/MS	トリフロキシスルフロ	103.2	3.6	LC/MS/MS
テスメディファム	106.9	2.4	LC/MS/MS	トルクロホスメチル	83.1	5.4	GC/MS
テスメトリン	82.1	2.6	GC/MS	トルフェンピラト	86.2	0.3	GC/MS
テトラクロルピンホス	86.6	1.0	GC/MS	ナフロアニリト	85.6	3.2	GC/MS
テトラコナゾール	109.3	7.6	LC/MS/MS	ナフロハミト	88.9	4.6	GC/MS
テトラジホン	81.0	10.2	GC/MS	ナレト	74.5	4.0	LC/MS/MS
テトラメトリン 1	91.1	2.0	GC/MS	ニコスルフロ	113.0	3.0	LC/MS/MS
テトラメトリン 2	84.5	2.8	GC/MS	ニテンピラム	98.6	5.6	LC/MS/MS
テニルクロール	90.0	4.1	GC/MS	ニトラリン	73.1	0.5	GC/MS
テフコナゾール	87.8	1.8	GC/MS	ニトロタールイソプロピル	81.2	2.1	GC/MS
テフチウロン	134.5	10.0	LC/MS/MS	ノハルロン	108.4	7.4	LC/MS/MS
テフフェノシト	102.8	8.7	LC/MS/MS	ノルフルラゾン	112.7	4.1	LC/MS/MS
テフフェンピラト	93.1	9.7	LC/MS/MS	ハクロフトラゾール	108.5	4.0	LC/MS/MS
テフラロキシシム 1	95.3	8.0	LC/MS/MS	ハミトチオン	105.4	2.3	LC/MS/MS
テフラロキシシム 2	120.3	15.3	LC/MS/MS	ハミトチオンスルホン	97.9	1.4	LC/MS/MS
テフルトリン	77.4	0.7	GC/MS	ハラチオン	85.2	2.6	GC/MS
テフルベンズロン	89.1	7.8	LC/MS/MS	ハラチオンメチル	87.8	2.6	GC/MS
テメトン-S-メチル	134.2	21.5	LC/MS/MS	ハルフェンプロックス	75.1	1.3	GC/MS
テルタメトリン 1	86.3	1.8	GC/MS	ハロキシホップ	111.6	8.2	LC/MS/MS
テルタメトリン 2	83.8	5.3	GC/MS	ヒオレスメトリン	88.4	8.2	LC/MS/MS
テルブカルブ	85.6	5.9	GC/MS	ヒコリナフェン	95.4	7.0	LC/MS/MS
テルブトリン	85.5	5.0	GC/MS	ヒテルタノール	102.5	6.6	LC/MS/MS
テルブホス	77.8	4.2	GC/MS	ヒフェナセート	74.9	6.7	GC/MS
テルブメトン	86.3	5.1	GC/MS	ヒフェノックス	86.5	1.8	GC/MS
トラルコキシシム	100.8	5.8	LC/MS/MS	ヒフェントリン	79.2	5.7	GC/MS
トラロメトリン	82.8	9.9	LC/MS/MS	ヒヘロニルブトキシト	89.7	7.5	GC/MS
トリアシメノール	106.3	11.9	LC/MS/MS	ヒヘロホス	87.2	4.1	GC/MS
トリアシメホン	109.8	5.2	LC/MS/MS	ヒメキサゾール	104.7	4.1	LC/MS/MS
トリアスルフロ	123.7	1.0	LC/MS/MS	ヒメトロシシ	87.2	3.8	LC/MS/MS
トリアゾホス	86.2	3.2	GC/MS	ヒラクロストロビン	108.1	0.9	LC/MS/MS

農薬名	回収率	RSD (%)	測定	農薬名	回収率	RSD (%)	測定
ビ°ラクロニル	104.4	5.6	LC/MS/MS	フェンハ°レレート 2	88.0	2.0	GC/MS
ビ°ラクロホス	84.1	2.8	GC/MS	フェンビ°ロキシメート(E)	99.6	1.7	LC/MS/MS
ビ°ラソ°キシフェン	80.4	2.8	GC/MS	フェンビ°ロキシメート(Z)	96.6	2.1	LC/MS/MS
ビ°ラソ°ホス	87.6	5.1	GC/MS	フェンブ°コナソール	86.2	7.7	GC/MS
ビ°ラソ°リネート	102.6	1.7	LC/MS/MS	フェンブ°ロハ°トリン	85.1	5.7	GC/MS
ビ°ラフルフェンエチル	91.3	5.9	GC/MS	フェンブ°ロビ°モルフ	35.2	3.8	GC/MS
ビ°リタ°フェンチオン	92.9	7.7	LC/MS/MS	フェンヘキサミト°	0.0	0.0	GC/MS
ビ°リタ°ベン	80.8	1.7	GC/MS	フェンメテ°イファム	111.5	6.0	LC/MS/MS
ビ°リタ°リル	53.3	2.9	LC/MS/MS	フサライト°	84.5	6.3	GC/MS
ビ°リチオハ°ックナトリウム塩	94.4	7.4	LC/MS/MS	ブ°タクロール	84.3	3.6	GC/MS
ビ°リフェノックス 1	83.1	3.7	GC/MS	ブ°タフェナシル	101.6	4.6	LC/MS/MS
ビ°リフェノックス 2	84.6	4.1	GC/MS	ブ°タミホス	89.6	2.6	GC/MS
ビ°リフタリト°	107.5	5.6	LC/MS/MS	ブ°チレート	101.9	19.7	LC/MS/MS
ビ°リフ°チカルブ°	64.5	0.6	GC/MS	ブ°ビ°リメート	82.5	0.2	GC/MS
ビ°リフ°ロキシフェン	83.0	3.5	GC/MS	ブ°ブ°ロフェジ°ン	92.2	1.5	LC/MS/MS
ビ°リミカーブ°	104.7	3.1	LC/MS/MS	フラチオカルブ°	105.8	1.0	LC/MS/MS
ビ°リミシ°フェン	84.7	2.4	GC/MS	フラムブ°ロップ°メチル	94.5	4.3	LC/MS/MS
ビ°リミノハ°ックメチル-E	90.0	5.8	GC/MS	フラムブ°ロップ°メチル	90.8	7.2	GC/MS
ビ°リミノハ°ックメチル-Z	91.4	4.8	GC/MS	フラメトビ°ル	90.3	1.1	GC/MS
ビ°リミホスメチル	85.6	11.9	GC/MS	フリラソ°ール	100.5	6.0	LC/MS/MS
ビ°リメタニル	87.4	2.9	GC/MS	フルアクリビ°リム	84.2	6.4	GC/MS
ビ°レトリン	91.3	3.4	LC/MS/MS	フルアシ°ナム	92.1	1.8	LC/MS/MS
ビ°ロキロン	80.9	4.1	GC/MS	フルオメツロン	111.1	10.6	LC/MS/MS
ビ°ンクロソ°リン	83.0	7.8	GC/MS	フルキンコナソ°ール	103.3	4.1	LC/MS/MS
ファミキサト°ン	78.4	3.2	GC/MS	フルシ°オキソニル	16.6	8.7	GC/MS
フィブ°ロニル	77.7	12.6	GC/MS	フルシトリネート 1	82.1	4.3	GC/MS
フェナミホス	86.4	4.6	GC/MS	フルシトリネート 2	71.7	4.9	GC/MS
フェナリモル	87.0	5.0	GC/MS	フルシラソ°ール	89.5	4.5	GC/MS
フェニトロチオン	87.0	3.7	GC/MS	フルスルファミト°	96.4	3.2	LC/MS/MS
フェノキサニル 1	92.6	4.6	GC/MS	フルチアセットメチル	108.7	4.1	LC/MS/MS
フェノキサニル 2	88.9	2.1	GC/MS	フルトラニル	96.9	6.9	GC/MS
フェノキサブ°ロップ°エチル	90.6	3.8	GC/MS	フルトリアホール	88.5	5.3	GC/MS
フェノキシカルブ°	105.3	1.5	LC/MS/MS	フルハ°リネート 1	83.4	1.7	GC/MS
フェノトリン 1	79.0	4.8	GC/MS	フルハ°リネート 2	79.5	1.6	GC/MS
フェノトリン 2	78.3	5.0	GC/MS	フルフェナセット	118.2	4.9	LC/MS/MS
フェノフ°カルブ°	82.7	1.3	GC/MS	フルフェノクスロン	98.2	4.5	LC/MS/MS
フェリムゾ°ン-E	79.8	1.3	GC/MS	フルフェンビ°ルエチル	118.2	4.5	LC/MS/MS
フェリムゾ°ン-Z	80.9	3.5	GC/MS	フルヘ°ンシ°アミト°	113.1	8.0	LC/MS/MS
フェンアミト°ン	104.5	5.3	LC/MS/MS	フルミオキサジ°ン	92.8	3.1	GC/MS
フェンクロルホス	77.6	5.7	GC/MS	フルミクロラックハ°ンチル	85.7	4.4	GC/MS
フェンスルホチオン	92.1	2.6	GC/MS	フルメツラム	104.2	5.5	LC/MS/MS
フェンチオン	105.6	4.2	LC/MS/MS	フルリト°ン	111.8	1.0	LC/MS/MS
フェントエート	88.4	5.4	GC/MS	フルロキシビ°ル	76.1	1.7	LC/MS/MS
フェントラサ°ミト°	99.1	1.2	LC/MS/MS	ブ°レチラクロール	87.7	3.9	GC/MS
フェンハ°レレート 1	83.4	4.5	GC/MS	ブ°ロクロラス°	83.6	2.0	GC/MS

農薬名	回収率	RSD (%)	測定	農薬名	回収率	RSD (%)	測定
プロシミドン	81.9	3.7	GC/MS	ベンコナゾール	107.8	2.8	LC/MS/MS
プロチオホス	77.6	4.2	GC/MS	ベンシクロン	93.2	3.5	LC/MS/MS
プロニカミド [*] (原体)	101.5	2.3	LC/MS/MS	ベンゾ [*] ヒ [*] シクロン	111.2	1.1	LC/MS/MS
プロニカミド [*] 代謝物 TFNA	96.2	1.4	LC/MS/MS	ベンゾ [*] フェナップ [*]	104.0	3.6	LC/MS/MS
プロニカミド [*] 代謝物 TFNG	82.1	6.2	LC/MS/MS	ベンタ [*] イオカルブ [*]	87.6	5.5	GC/MS
プロバ [*] キサ [*] ホップ [*]	95.5	5.7	LC/MS/MS	ベンチアバ [*] リカルブ [*] イソプロ [*] ロビ [*] ル	106.4	9.2	LC/MS/MS
プロバ [*] クロール	84.3	8.8	GC/MS	ベンテ [*] イメタリン	78.0	2.5	GC/MS
プロバ [*] ニル	106.4	11.7	LC/MS/MS	ベントキサゾ [*] ン	117.2	11.2	LC/MS/MS
プロバ [*] ホス	85.8	6.6	GC/MS	ベンフラカルブ [*]	85.0	6.1	GC/MS
プロバ [*] モカルブ [*]	100.9	4.3	LC/MS/MS	ベンフルラリン	77.7	2.4	GC/MS
プロバ [*] ルキ [*] ット 1	82.5	2.6	GC/MS	ベンフレセート	87.8	6.2	GC/MS
プロバ [*] ルキ [*] ット 2	94.8	3.4	GC/MS	ホサロン	85.4	2.4	GC/MS
プロビ [*] コナゾ [*] ール	109.2	3.5	LC/MS/MS	ホスカリト [*]	84.4	4.1	GC/MS
プロビ [*] サ [*] ミト [*]	78.4	5.1	GC/MS	ホスチアセ [*] ート	110.2	1.8	LC/MS/MS
プロビト [*] ロシ [*] ャスモン	101.5	4.8	LC/MS/MS	ホスファミト [*] ン-1	94.1	1.3	GC/MS
プロファム	83.8	2.1	GC/MS	ホスファミト [*] ン-2	86.6	3.6	GC/MS
プロフェノホス	100.0	7.2	LC/MS/MS	ホスメット	87.9	5.9	GC/MS
プロヘキサシ [*] オンカルシウム塩	89.8	2.2	LC/MS/MS	ホノホス	82.6	6.4	GC/MS
プロヘ [*] ナゾ [*] ール 1	80.3	2.4	GC/MS	ホメサフェン	96.7	1.9	LC/MS/MS
プロヘ [*] ナゾ [*] ール 2	86.5	6.1	GC/MS	ホルクロルフェニユロン	109.9	8.0	LC/MS/MS
プロボ [*] キスル	90.5	7.7	GC/MS	ホルヘ [*] ット	80.0	3.1	GC/MS
プロマシル	139.8	2.2	LC/MS/MS	ホルヘ [*] ット分解物	81.2	9.0	GC/MS
プロメカルブ [*] 1	76.7	12.8	GC/MS	ホレート	70.3	3.0	GC/MS
プロメカルブ [*] 2	93.4	2.1	GC/MS	マラオキシロン	88.9	7.4	GC/MS
プロメトリン	84.0	5.0	GC/MS	マラチオン	87.3	2.8	GC/MS
プロメトン	88.2	6.6	GC/MS	マイクロブ [*] タニル	107.7	5.8	LC/MS/MS
プロモキシニル	96.6	1.4	LC/MS/MS	メカルバ [*] ム	101.7	6.8	LC/MS/MS
プロモブ [*] チト [*]	81.7	7.8	GC/MS	メコブ [*] ロップ [*]	91.8	1.5	LC/MS/MS
プロモブ [*] チト [*] 脱臭素体	79.2	6.7	GC/MS	メソミル	98.9	1.3	LC/MS/MS
プロモブ [*] ロビ [*] レート	84.6	6.1	GC/MS	メソミルオキシム	98.0	2.4	LC/MS/MS
プロモホス	82.6	3.8	GC/MS	メタアルデ [*] ヒト [*]	102.5	2.1	LC/MS/MS
プロモホスエチル	79.3	5.5	GC/MS	メタクリホス	79.5	3.7	GC/MS
フロラズラム	87.9	6.3	LC/MS/MS	メタヘ [*] ンス [*] チアズ [*] ロン	96.6	11.5	LC/MS/MS
ヘキサクロロベンゼ [*] ン	38.6	1.4	GC/MS	メタミト [*] ホス	92.4	1.8	LC/MS/MS
ヘキサコナゾ [*] ール	102.1	7.8	LC/MS/MS	メタミトロン	95.9	1.5	LC/MS/MS
ヘキサシ [*] ノン	139.4	5.7	LC/MS/MS	メタラキシル	83.3	2.7	GC/MS
ヘキサシ [*] ノン	51.2	10.8	GC/MS	メチオカルブ [*]	84.6	5.7	LC/MS/MS
ヘキサフルムロン	107.3	2.2	LC/MS/MS	メチタ [*] チオン	85.9	3.7	GC/MS
ヘキシチアゾ [*] クス	90.9	8.0	LC/MS/MS	メチルタ [*] イムロン	0.0	0.0	GC/MS
ヘナラキシル	95.1	5.4	GC/MS	メトキシクロール	88.1	5.7	GC/MS
ヘノキサコール	94.3	7.5	GC/MS	メトキシフェノシ [*] ト [*]	114.6	1.2	LC/MS/MS
ヘブ [*] タクロル	73.4	5.0	GC/MS	メトブ [*] レン	65.1	1.2	GC/MS
ヘブ [*] タクロルエボ [*] キサイト [*]	72.5	4.8	GC/MS	メトブ [*] ロトリン	85.3	5.8	GC/MS
ヘルメトリン 1	78.0	4.1	GC/MS	メトミノストロビ [*] ン-Z	96.4	3.4	GC/MS
ヘルメトリン 2	81.3	3.1	GC/MS	メトミノストロビ [*] ン-E	87.3	5.2	GC/MS

農薬名	回収率	RSD (%)	測定
メトラクロール	82.8	5.8	GC/MS
メトリフ [®] シ [®] ン	86.3	7.5	GC/MS
メトルカルブ [®]	82.9	3.9	GC/MS
メハ [®] ニヒ [®] リム	86.9	5.5	GC/MS
メビ [®] コートクロリト [®]	146.4	1.9	LC/MS/MS
メビ [®] ンホス	78.7	4.5	GC/MS
メフェナセット	86.6	4.7	GC/MS
メフェンヒ [®] ルジ [®] エチル	101.3	6.3	LC/MS/MS
メブ [®] ロニル	87.9	3.0	GC/MS
モノクロトホス	91.1	4.4	LC/MS/MS
モノリニユロン	106.4	3.9	LC/MS/MS
モリネート	105.7	9.9	LC/MS/MS
ラクトフェン	92.7	15.2	LC/MS/MS
リニユロン	94.3	8.9	GC/MS
リムスルフロン	103.0	6.4	LC/MS/MS
ルフェスロン	105.1	2.9	LC/MS/MS
レスメトリン 1	79.9	1.6	GC/MS
レスメトリン 2	81.8	4.6	GC/MS
レナシル	96.1	11.2	LC/MS/MS

3) 多地点同時テープろ紙成分分析による PM_{2.5} 高濃度事例解析

ー全国初の注意喚起事例を対象にー

豊永 悟史 村岡 俊彦* 北岡 宏道

要 旨

2013 年 3 月 5 日に熊本県は全国初となる PM_{2.5} に係る注意喚起を行い、大きな注目を集めた。この事例について、PM_{2.5} の高濃度化要因を明らかにすることを目的として、県内 5 か所の大気汚染常時監視測定局から回収したテープろ紙の成分分析を実施した。その結果、県内全域で越境移流の影響を受けた事例だったと考えられたが、内陸部と九州西岸に位置する遠隔地ではその寄与が異なっていたことが明らかとなった。特に 3 月 5 日の午前中については、内陸部において地域汚染の影響もあったと考えられた。また、越境移流の寄与が異なった要因の一つとして、内陸部における地上付近の安定層形成が影響していた可能性が示された。

キーワード：微小粒子状物質 (PM_{2.5})，成分分析，越境移流，地域汚染

はじめに

微小粒子状物質（以下、「PM_{2.5}」という。）は疫学調査で死亡率等の有意な上昇を引き起こす可能性が指摘されており¹⁾、世界的に注目されている大気汚染物質である。日本でも 2013 年 1 月に中国北京市で大規模高濃度イベント²⁾が発生したことにより、社会的に大きな関心を持たれるようになった。これを契機として、2013 年 2 月末に環境省が主催した専門家会合が、短期的な高濃度時の対応策として注意喚起のための暫定的な指針値を示した³⁾。

熊本県は 2013 年 3 月 5 日に全国初となる PM_{2.5} に係る注意喚起を行っており、大きな注目を集めた。この事例においては、県内全域で越境移流の影響を受けた可能性があるものの、九州西岸に位置する遠隔地（天草地域沿岸部）と県内内陸部で PM_{2.5} 濃度の挙動が異なっていたことが確認されたことから、地域汚染の影響も指摘されている⁴⁾。

本研究ではこの全国初の注意喚起事例について、特

に遠隔地と内陸部における PM_{2.5} 濃度挙動の違いを明らかにすることを目的として、大気汚染常時監視データ及びテープろ紙成分分析を用いた解析を試みた。

調査方法

1 調査地点及び常時監視データ解析

PM_{2.5} 自動測定機が設置されている一般局のうち、県内の状況を広く把握できるように内陸部として、荒尾市役所局（以下、「荒尾」という。）、益城町役場局（以下、「益城」という。）、八代市役所局（以下、「八代」という。）、水俣保健所局（以下、「水俣」という。）の 4 地点を選定した。遠隔地としては、後述するように地域汚染の影響が小さく、九州西岸に位置する苓北志岐局（以下、「苓北」という。）1 地点を選定した。

常時監視データ解析として、この 5 地点で測定された PM_{2.5}、SO₂、NO_x の 1 時間値を解析に使用した。また、比較のため、長崎県の離島であり、地域的な汚染の影響がほとんどないと考えられる五島局（以下、「五

* 現熊本県環境局環境生活部環境保全課

島」という。)のSPMとSO₂の1時間値データも国立環境研究所と地方環境研究所の共同で行われているII型共同研究のメンバーサイト^{5) 6)}より入手して使用した。これらはすべて速報値である。図1に調査対象とした地点の位置関係を示した。

各地点の大気汚染の状況は2012年度の年平均値⁷⁾に基づき比較すると、次のように特徴づけることができる。PM_{2.5}濃度の年平均値は、測定日数不足のため評価対象外であった水俣以外について、荒尾、益城、八代の3局では21.0~19.3 μg/m³だったのに対して、苓北は15.3 μg/m³と低い値を示した。自動車排ガスなどの地域的に排出される大気汚染物質であるNO₂⁸⁾の年平均値は荒尾、益城、八代が0.08~0.011 ppmだったのに対して、水俣と苓北はそれぞれ0.003 ppmと0.002 ppmと低い値を示した。以上の比較から、荒尾、益城、八代の3地点は相対的に地域汚染の影響が強く、水俣と苓北は地域汚染の影響が小さいと考えられた。

2 気象解析

気象解析のため、天気図及び地上の気象観測データを解析に使用した。内陸部と遠隔地の気象条件の比較のため、内陸部の代表点として熊本地方気象台、遠隔地の代表点として牛深特別地域気象観測所(以下、「牛深」という。)の気温及び風向風速等の気象データを解析に使用した⁹⁾。また、高層気象との比較のため、高地の代表点として高度約1000 mに位置する阿蘇山特別地域気象観測所(以下、「阿蘇」という。)についても風向風速のデータを使用した。これら3地点については図1にその位置を示している。また、大気汚染物質の移流経路を求める解析手法として後方流跡線解析(NOAA HYSPLIT モデル)¹⁰⁾を使用した。

3 成分分析

1で述べた5局のPM_{2.5}自動測定器のうち、益城についてはAPDA-375(堀場製作所)であり、他4局についてはFPM-377(東亜DKK)であった。いずれの測定器もPTFEテープろ紙(APDA-375:TFH-01, FPM-377:AP-50)を使用しており、イオン成分と金属成分の分析が可能である。回収したテープろ紙のうち、2013年3月4日~5日までの計48時間分を成分分析に供した。

テープろ紙のPM_{2.5}捕集スポットの半分をイオン成分分析用に、残りの半分を金属成分分析用とし、6時間分を1試料とした。分析は大気中微小粒子状物質(PM_{2.5})成分測定マニュアル¹¹⁾を参考に次の手順で行った。

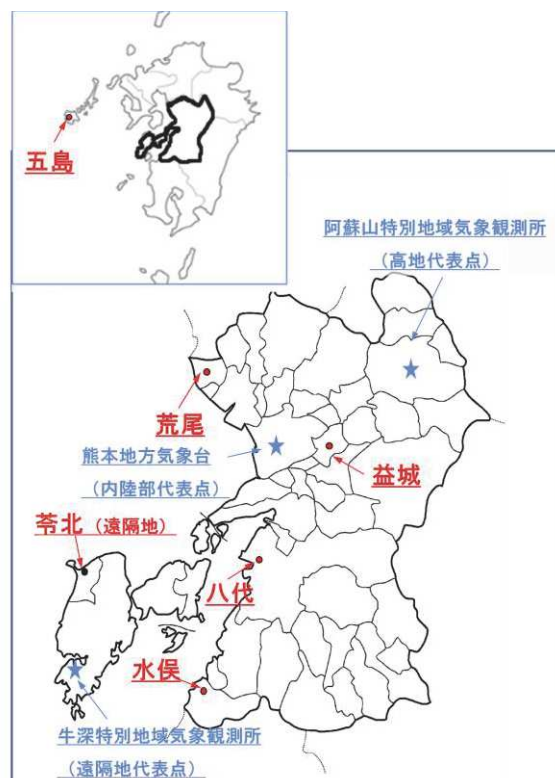


図1 調査地点及び気象官署

イオン成分分析は、超純水15 mLで20分間の振とうにより抽出を行い、孔径0.45 μmのフィルターでろ過後にイオンクロマトグラフ(DX-500, ダイオネクス)で分析を行った。分析対象イオンはNa⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, NH₄⁺, SO₄²⁻, NO₃⁻, Cl⁻の8種である。

金属成分分析は、試料容器に短冊状に刻んだフィルターを入れ、HNO₃ 5 mL, H₂O₂ 1 mL, HF 1 mLを添加して、マイクロ波試料調製装置(Multiwave 3000, パーキンエルマー)により、概ね200℃で20分以上の分解を行った。試料容器を蒸発用ローター(EVAP8, パーキンエルマー)に再装填し、マイクロ波試料調製装置を用いて加熱・濃縮後、5% HNO₃で20 mLに定容した。試料溶液はICP-MS(7500ce, アジレント)で元素の定性・定量を行った。分析対象元素はBe, Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Ag, Cd, Sb, Ba, Tl, Pb, Th, Uの25種である。

各分析において、ろ紙の未使用部分から試料と同面積を採取し、ブランク試料(各n=3)とした。ブランク試料は本試料と同様に分析を行い、標準偏差の3倍を検出下限値とした。

なお、分析に使用したテープろ紙は通常1ヶ月単位で交換・回収されているものであり、捕集後も長期間

常温で放置されることになるため、揮発性が高い NO_3^- , NH_4^+ , Cl^- の分析結果については相対的な比較のための参考値として取り扱うこととした。

結果及び考察

1 常時監視データと気象データの解析結果

(1) 常時監視データ解析結果

3月3日～6日の $\text{PM}_{2.5}$, SO_2 , NO_x 濃度の経時変化を図2に、五島のSPMと SO_2 濃度を図3に示した。4日～5日の高濃度期間の $\text{PM}_{2.5}$ の挙動は既報⁴⁾ のとおり、遠隔地とその他の地域で異なる傾向を示した(図2a)。遠隔地の代表点である苓北は4日8時～12時頃(以下、期間①)、15時～22時頃(以下、期間②)、4日24時～5日5時頃(以下、期間③)にピークが見られる3つ山型の挙動が見られた。 SO_2 に関しても同様の挙動が確認できたが、 NO_x については増減が小さく、 $\text{PM}_{2.5}$ と一致した挙動は見られなかった(図2b, c)。 SO_2 は中国がアジア最大の排出国であり¹²⁾、長距離輸送される場合もある¹³⁾ ことから、これは越境移流の影響を示唆する結果だと考えられる。また、五島のSPM及び SO_2 について見ると、苓北よりも3～5時間程度早い時間で一致した挙動を示しており、期間①と期間③に対応するピークが確認できた(図3)。なお、期間②に対応するピークは欠測のため明確には確認できないが、前後の挙動は一致している。地域的な汚染の影響がほとんどない五島の挙動は越境移流によるパターンを示していると考えられることから、期間①～③の苓北の挙動は主として越境移流の状況を反映したものだ判断された。

内陸部4地点の $\text{PM}_{2.5}$ の変動を見ると、期間②については4地点ともに濃度上昇が見られたが、期間③については、濃度が高い状態が持続しているものの苓北のような明確なピークは見られず、その後5日6時～12時頃(以下、期間④)にピークが見られた。 SO_2 の変化を見ると、期間②については $\text{PM}_{2.5}$ も連動した上昇が確認できるが、期間③及び期間④についてこのような濃度上昇は見られなかった。 NO_x については、期間②では明確な変動は見られないものの、特に八代と益城においては期間③から断続的に濃度上昇しており、期間④でピークが確認できた。調査方法1で述べたように NO_x は地域汚染の指標となることから、期間③～④にかけての NO_x の上昇は何らかの地域的な汚染の蓄積を示している可能性がある。

以上のことから、特に期間③～④にかけての $\text{PM}_{2.5}$ 及び他の常時監視項目の挙動が遠隔地と内陸部で異な

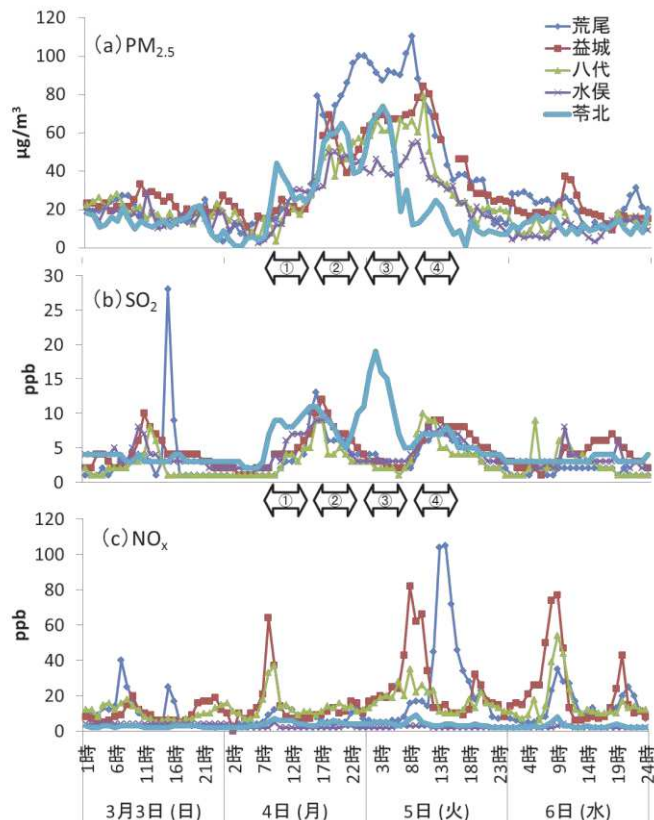


図2 県内5地点の $\text{PM}_{2.5}$ (a), SO_2 (b), NO_x (c) 濃度の経時変化

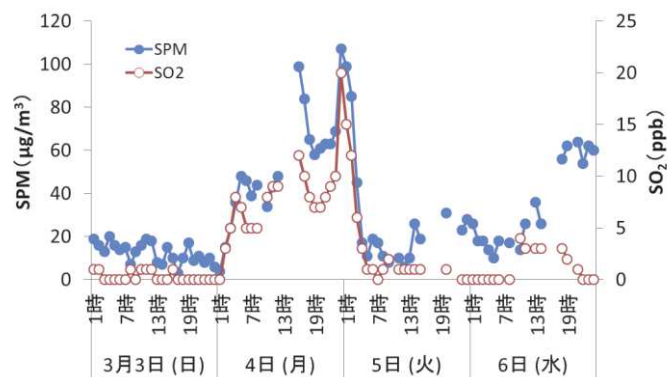


図3 五島のSPMと SO_2 濃度の経時変化

っており、それぞれの地域で高濃度化メカニズムが異なっていたことが示唆された。

(2) 気象解析結果

苓北の高度1000 mを起点とした後方流跡線及び地上天気図を図4、図5に示す。

期間①と②に対応する4日9時及び18時の流跡線はいずれも大陸方向からの流入を示唆していた。気圧配置は高気圧が東進してきたことを示しており、大陸性高気圧の周辺流¹⁴⁾により大気汚染気塊が流入した可能性が考えられた。

期間③については、5日3時の流跡線は大陸方向からの移流を示しており、越境移流が生じていた可能性が高い。しかしながら、1で述べたように遠隔地と内陸部で高濃度化メカニズムが異なっていた可能性が考えられるため、気温等の地上の気象観測データによる解析を行った。

内陸部代表点の熊本と遠隔地代表点の牛深の気温と湿度の変化を図6に示した。熊本の気温は4日17時頃から5日7時まで一貫して下がり続け、7時には1.6℃と低い値を示した。湿度は気温の低下にともなって上昇を見せ、24時以降は80%以上の高い値を示した。これに対して牛深の気温は17時～20時まで一時的に減少するものの、21時よりまた上昇に転じ3時頃までは10℃以上を示した。また、湿度も20時から21時にかけて56%から40%とやや急激な減少を示したことから、21時ごろから遠隔地の気塊の性質が変化していたと考えられる。これは苓北において期間③のPM_{2.5}及びSO₂濃度の上昇が始まった時間とほぼ一致しており、後方流跡線の結果も考慮すると遠隔地に新たな汚染気塊が越境移流してきたことを示している。一方で内陸部については、典型的な夜間の気温低下及び湿度上昇が確認できることから、この汚染気塊の影響はほとんど受けなかったと推察される。

牛深、熊本に加えて高度約1000m地点の阿蘇の風向風速の変化を図7に示した。牛深においては気温・湿度の変化が見られた21時頃から、西北西の風が吹いており、その後も5日4時頃まで、西北西～北北西の風が卓越していた。熊本では風速が弱く、風向も一定方向を示していなかったことから、気温と湿度の変化で示されたように遠隔地とは異なる気塊の影響下にあったと考えられる。また、気温が低く、風速が弱かったことから地上付近に安定層が形成されていた可能性が高いと考えられた。これに対して、阿蘇の風向風速は牛深と一致した挙動が確認できたことから、内陸部においても高層では遠隔地と同じ気塊の影響を受けていたと考えられた。以上の結果から、期間③に大陸から輸送された汚染気塊は遠隔地に移流し、その後内陸部で形成されていた安定層の上層を通過したものと推察された。

期間④については、後方流跡線は大陸の汚染地域よりも北を通過しており、混合層のはるか上層である3000m以上の高度を通過していたことから、この時の

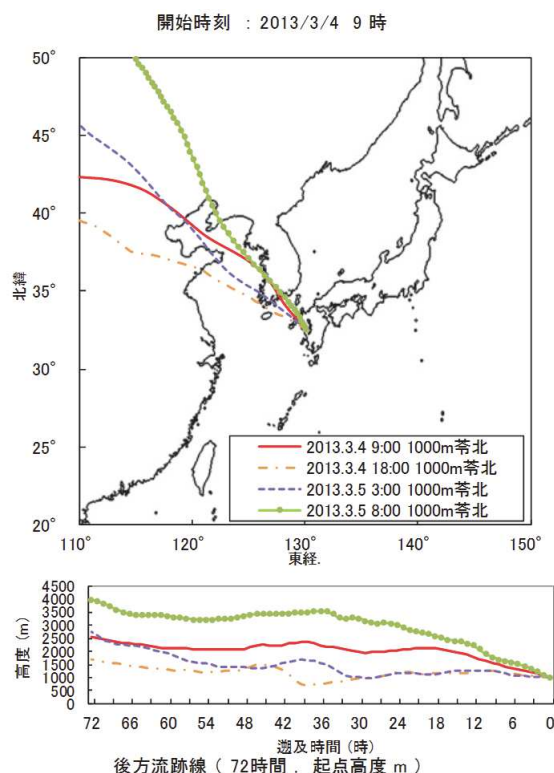


図4 後方流跡線図（苓北、高度1000m起点）

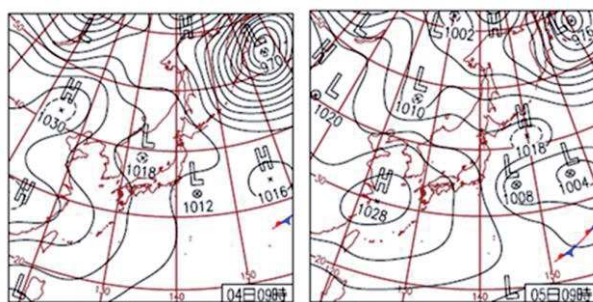


図5 地上天気図（3月4日(左)、5日(右)）

気塊が汚染されていたとは考えにくい。地上天気図ではこの期間高気圧が接近しており、高気圧中心部での大気の沈降が生じていたと考えられる。また、内陸部においては、既述のように気温は低く（図6）、気象庁の記録によると天気は快晴だったことから、放射冷却による接地逆転層が形成されていた可能性が高いと考えられる¹⁵⁾。接地逆転層内の大気は混合・拡散しにくい状態になるため、地域汚染の影響を受けやすくなる。一方で、期間④の遠隔地の気温は最低でも7.2℃と内陸部に比べて高く、接地逆転層が形成されていたとは考えにくいことから、上述の汚染されていない気塊の流入を受けてPM_{2.5}濃度が減少したものと推察された。

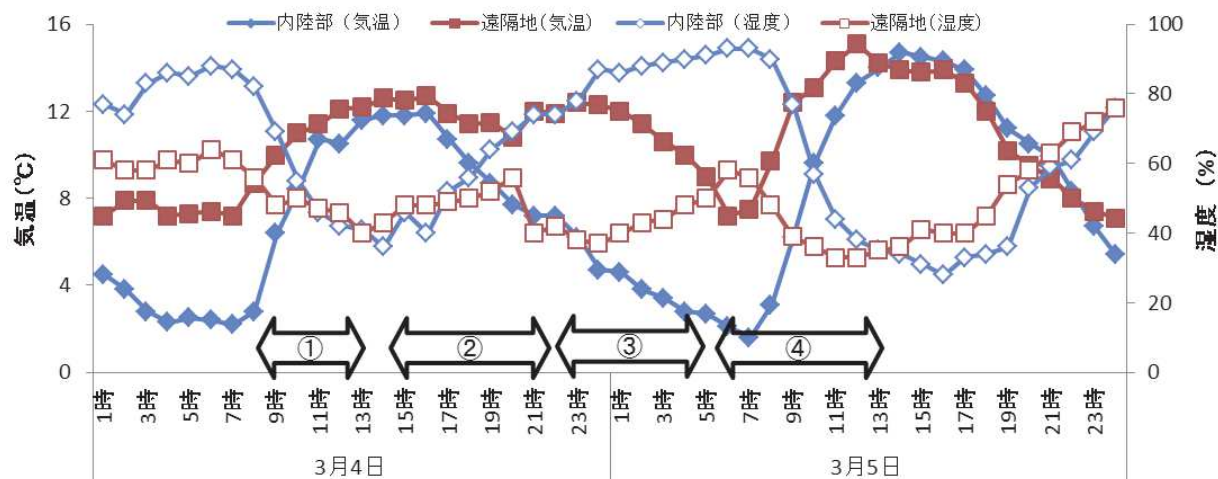


図6 内陸部と遠隔地における気温と湿度の経時変化

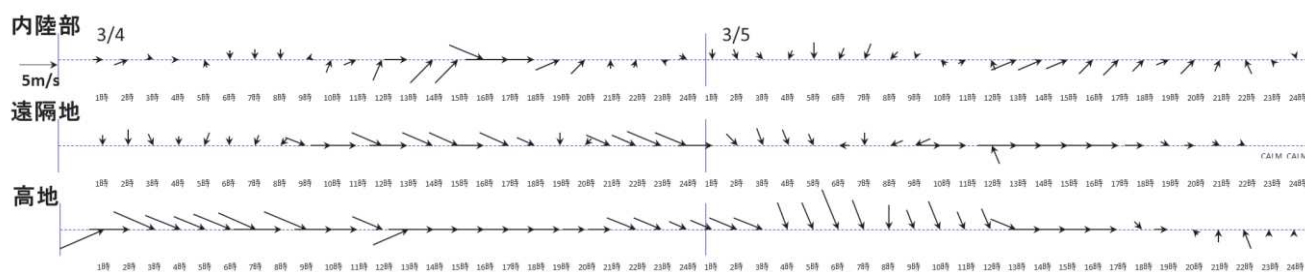


図7 内陸部、遠隔地及び高地における風向風速の経時変化

2 テーブル紙成分分析結果

(1) イオン成分濃度の変化

イオン成分のうち、 SO_4^{2-} と NO_3^- の濃度、6時間平均の $\text{PM}_{2.5}$ 濃度の経時変化を図8に示した。時間帯が完全に一致するわけではないものの、1で示した期間①～④に次のように対応させながら、各イオンの挙動を整理する。

期間①：4日7時～12時

期間②：4日13時～18時、19時～24時

期間③：5日1～6時

期間④：5日7時～12時

SO_4^{2-} について見ると、期間①は荅北が内陸部4地点よりも高い値を示しており、遠隔地のみが越境移流の影響を受けていた可能性が高いことを示している。その後期間②については全地点で濃度上昇が見られた。さらに内陸部では期間③、期間④と SO_4^{2-} 濃度はほぼ横ばいであったが、荅北については濃度が減少する傾向が見られた。

NO_3^- について見ると、荒尾、益城、八代について、期間②から濃度上昇が始まり、期間④で最大値を示す傾向が見られた。また、水俣と荅北については全て検出下限値未満の値であった。

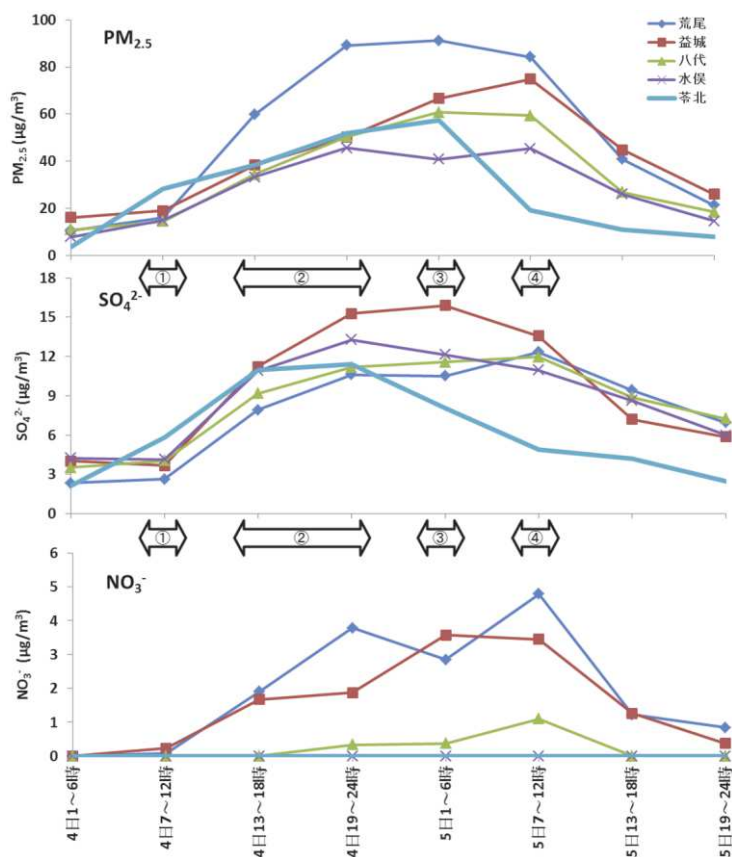


図8 $\text{PM}_{2.5}$ 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 濃度の経時変化

これは調査方法 3 で述べたとおり揮発の影響も考えられるが、相対的に見て益城、八代、荒尾の 3 地点に比べて苓北、水俣の NO_3^- 濃度が低かったことを示している。

SO_4^{2-} を越境移流の指標¹⁶⁾、 NO_3^- を地域汚染の指標¹⁷⁾として考えた場合、 SO_4^{2-} の挙動から、期間②に県内全域に越境移流した $\text{PM}_{2.5}$ は、内陸部では期間③～④にかけて滞留していたと解釈できる。一方で NO_3^- の挙動は期間③～④にかけての地域汚染の影響を示唆する結果であり、苓北と水俣については相対的にその影響が小さかったと解釈することができる。これは 1 の結果とも矛盾しない。

(2) 金属成分濃度の変化

金属成分濃度の経時変化

分析した金属成分のうち、概ね検出下限値以上の値が得られた V, Zn, As, Cd, Pb, Mn の 6 元素の濃度変化を図 9 に示す。なお、荒尾の Zn については分析結果から、コンタミネーションが疑われたため欠測扱いとした。

苓北においては期間③に対応する 5 日 1 時～6 時に 6 元素すべてで最大値を示しており、 $\text{PM}_{2.5}$ 濃度の推移と一致していたが、元素間の挙動の違いは小さかった。一方で内陸部 4 地点についてみると、期間②と③に対応する 4 日 13～24 時と 5 日 7 時～12 時にピークを示す元素（荒尾、益城、水俣の V、益城の As 等）と 5 日 7 時～12 時に最大値を示す元素（益城、八代の Zn、

Cd, Pb）が多く見られたが、地点ごとに必ずしも一定の挙動を示すわけではなく、地域汚染の影響を受けている可能性が高いと考えられた。

金属成分濃度比

大気中粒子の発生源の指標として金属成分濃度比が多く用いられている^{18), 19)}。ここでは代表的な金属成分濃度比である Pb/Zn 比と As/V 比を用いた解析を試みた。

Pb は有鉛ガソリンの規制が進んでいる日本に比べて中国の排出量が多いと言われており、越境移流の指標とされている¹⁸⁾。Zn は鉄鋼工業や都市廃棄物焼却炉など多様な発生源から排出されており、一般的な大気汚染元素と考えられている^{20), 21)}。このため越境移流の影響を受けた場合、Pb/Zn 比が相対的に高くなると言われている^{18), 22)}。一方で As は石炭燃焼の指標となり、V は石油燃焼の指標となることから、As/V 比は石炭使用量の多い中国では日本より高い値を示すと考えられる²¹⁾。これらの元素比はいずれも越境移流の影響を受けた際に相対的に高い値を示すと考えられ、地域汚染と越境汚染の影響度合いの定性的な指標と考えることができる。

図 10 に益城、八代、苓北の Pb, Zn の濃度と濃度比を示した。県内全域で越境移流の影響を受けたと考えられる期間②の 4 日 19～24 時の Pb/Zn 比を各地点で比較すると、益城 0.76 (Pb : 31 ng/m^3 , Zn : 41 ng/m^3)、八代 0.80 (Pb : 25, Zn : 31)、苓北 0.83 (Pb : 31, Zn :

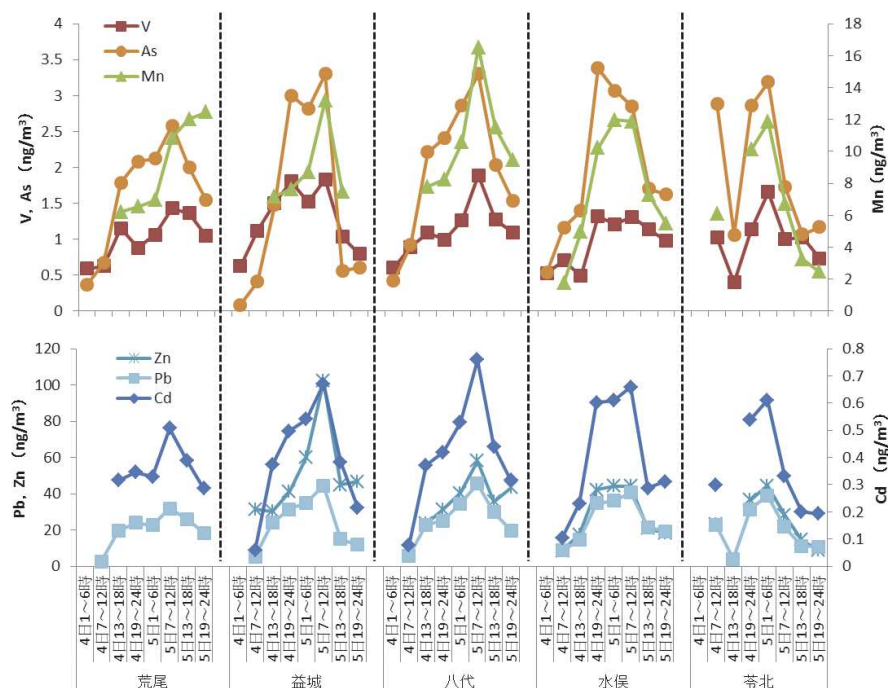


図 9 金属濃度の経時変化

注) 検出下限値未満は空白とした

37) と比較的近い値を示していたが、その後の期間③から④にかけては異なる変化を示した。益城の Pb 濃度は 35 から 45 ng/m^3 (期間③から④) であるのに対して、Zn 濃度は 60 から 102 ng/m^3 と大幅な上昇を見せ、Pb/Zn 比は 0.58 から 0.44 と減少を見せた。八代と苓北の Pb/Zn 比は期間③から期間④にかけて、近い値 (期間③ 0.85, 0.88 ; 期間④ 0.78, 0.76) を示していたが、八代では両元素の濃度が上昇したのに対し、苓北では減少を示した。1 で述べたとおり、期間③以降の新たな越境移流の内陸部への影響はほとんどなかったと考えられることから、益城及び八代での Pb/Zn 比の変動は地域汚染の影響によるものと解釈できる。以上の結果から、益城においてはこの期間③～④にかけて Zn の寄与が大きい排

出源の影響を強く受けていた可能性が高い。また、八代については、Pb/Zn 比だけをみると苓北に近い値を示していたが、苓北とは異なり期間④にかけて Pb, Zn 両方の濃度が上昇していたことから、越境移流の影響による濃度上昇ではなく、Pb と Zn を排出する地域的な発生源の影響だと推察された。

図 11 には益城、八代、苓北の As, V の濃度と濃度比を示した。期間②について見ると、4 日 19~24 時の As/V 比は、益城 1.7 (As : 3.0 ng/m³, V : 1.8 ng/m³)、八代 2.4 (As : 2.4, V : 0.99)、苓北 2.6 (As : 2.9, V : 1.1) と八代と苓北は比較的近い値を示していたが、益城に

ついては、他 2 地点よりも As/V 比が小さかった。この違いには地域的な特徴が影響していた可能性が考えられる。越境移流の影響を受ける前の 4 日 1~12 時は As と比較すると V の濃度が高くなっており (As/V : 0.14~0.37)、八代 (0.70~1.0) と比較しても顕著であった。このことから、益城は相対的に V 濃度が高い地域特性があるために、越境移流の影響を受けた場合にも他の地点と同レベルまで As/V 比が上昇しなかったと推察される。期間③についてみると、益城と八代は両元素ともに濃度はほぼ横ばいで As/V 比も 1.9 と 2.3 と期間②とほぼ同じであった。一方で苓北は V 濃度の上

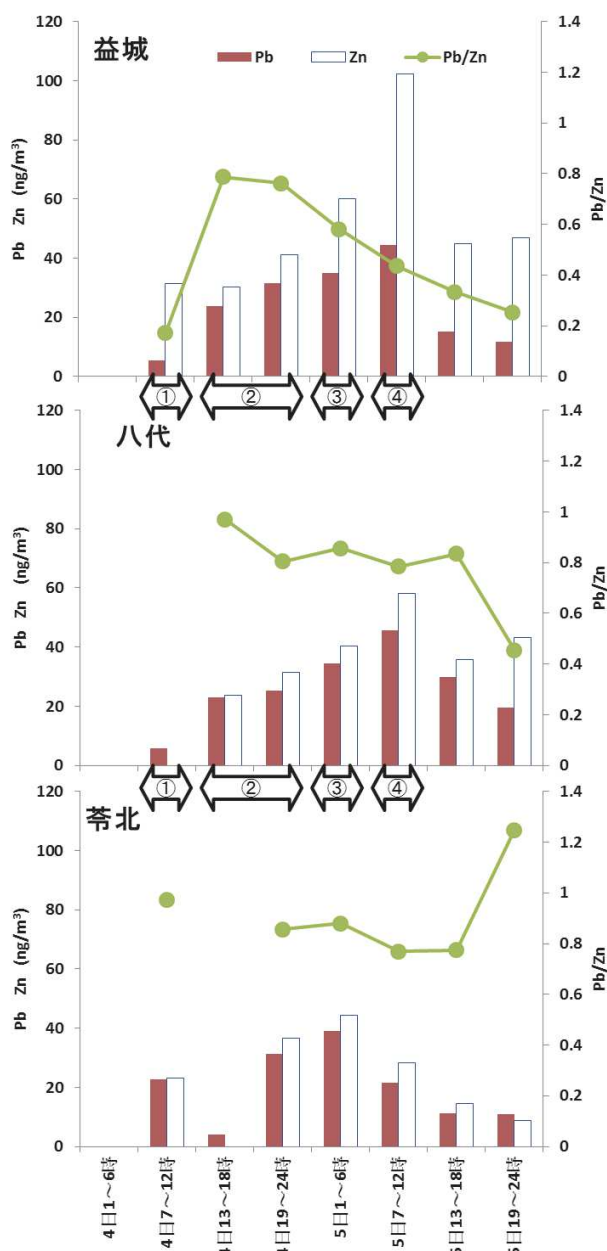


図 10 Pb/Zn 比の経時変化

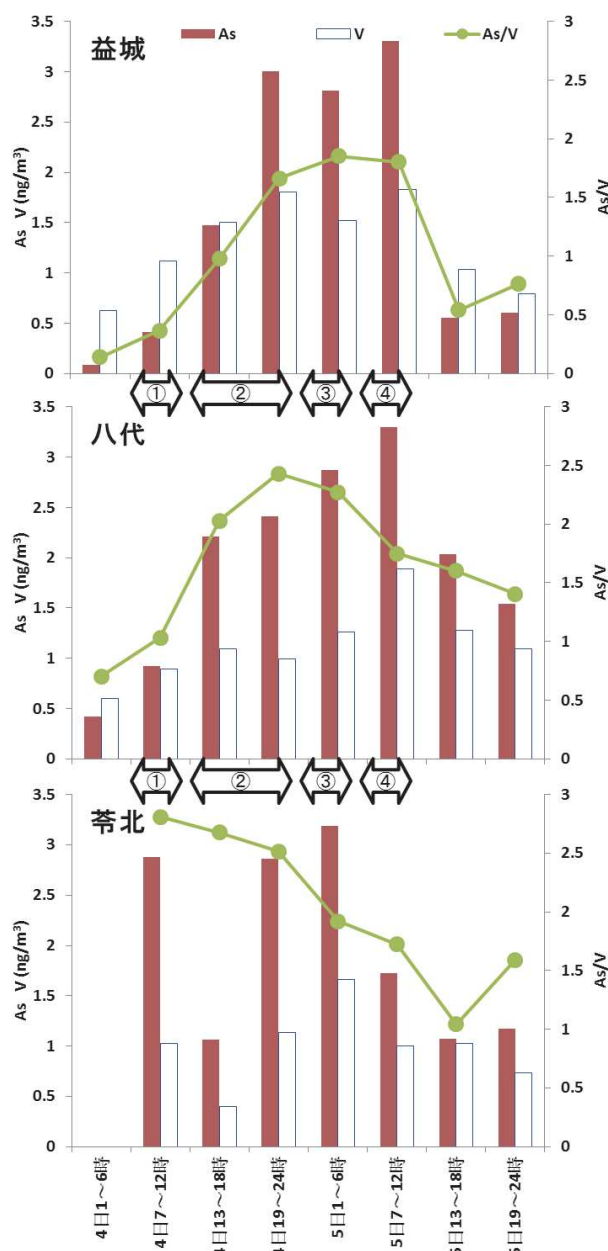


図 11 As/V 比の経時変化

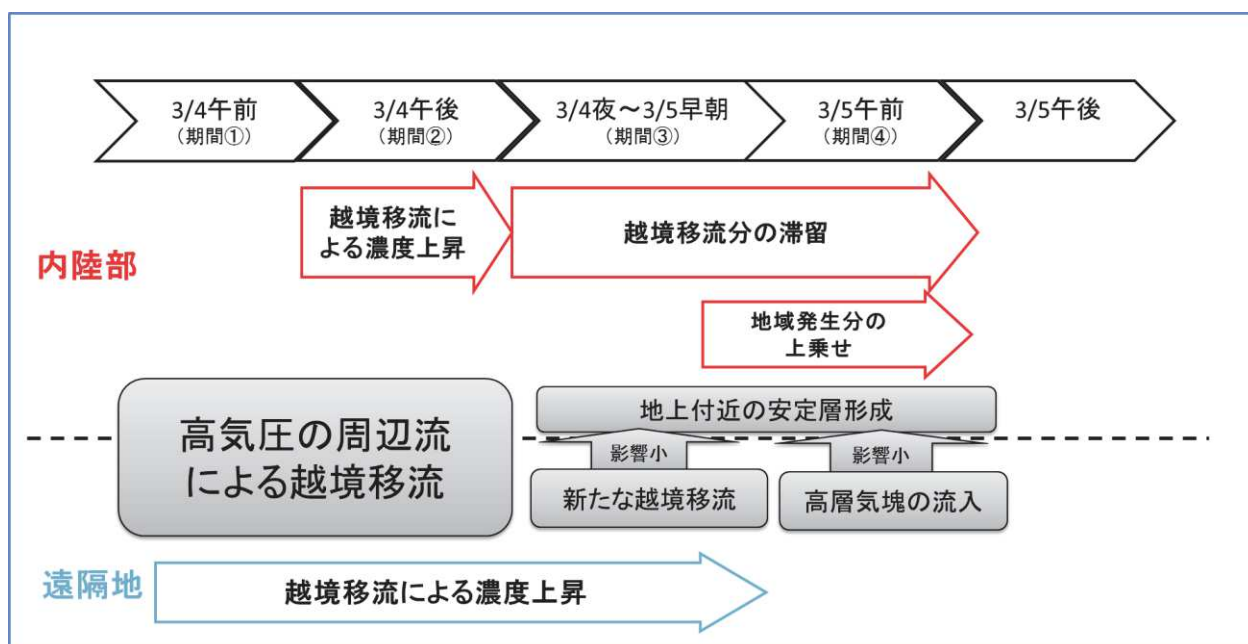


図 12 高濃度化メカニズム

昇幅が As よりも大きく、As/V 比は 1.9 に減少を示した。このように期間③において、苓北と内陸部で As/V 比の変動が異なるという結果は、遠隔地のみで新たな越境移流の影響を受けていたとする既述の解釈を支持している。さらに期間④では、益城は As、V とともに上昇、苓北は減少に転じるが、As/V 比はそれぞれ 1.8 と 1.7 と期間③からあまり変化がなかった。これに対して八代では、As、V 濃度ともに上昇するものの、その上昇幅は V が大きく、As/V 比は 1.7 と減少を見せた。この結果は八代において石油燃焼などの V の寄与が大きい排出源の影響を受けていた可能性を示唆している。

Pb/Zn 比と As/V 比からそれぞれ地域的な汚染の影響を受けていた可能性が示されたが、今回の事例だけでは特定の汚染源にまで言及することは難しいと考えられる。今後の成分調査による地域的な汚染源特性の解明が期待される。

3 高濃度化メカニズム

1 及び 2 の解析結果から推定された高濃度化メカニズムを図 12 に示した。詳細は以下の通りである。

- ・ 4 日午前（期間①）に越境移流してきた汚染気塊は遠隔地だけに影響し、内陸部には影響しなかった。
- ・ 4 日午後（期間②）に再び越境移流が生じ、県内全域に影響を及ぼした。
- ・ 4 日夜～5 日早朝（期間③）においては新たな越境移流が生じ、遠隔地に影響を及ぼした。この越境移流気塊は、内陸部の地上付近に形成されていた安定層の上層を通過したと考えられ、内陸部では 4 日午後に移流してきた汚染気塊が滞留していたと考えら

れた。また、 NO_3^- や金属成分濃度の挙動から、地点によっては地域汚染の影響が強くなっていた可能性が高いと考えられる。

- ・ 5 日午前（期間④）では、高層から汚染されていない気塊が流入したことで遠隔地の $\text{PM}_{2.5}$ 濃度は減少したが、内陸部においては接地逆転層が形成されていたため、この気塊の影響は受けずに期間②に移流してきた汚染気塊の滞留分に期間③から蓄積された地域汚染が上乗せされる形で影響し、高濃度状態が持続したと考えられた。

ま と め

2013 年 3 月 4 日～5 日にかけての高濃度事例について、常時監視データ及びテープろ紙成分分析結果により、内陸部と遠隔地で越境移流の寄与割合が異なっていたことが明らかになった。

遠隔地では地域汚染の寄与は小さかったと推察されたが、内陸部で地点によっては特に 5 日午前においては越境移流の滞留分に上乗せする形で地域汚染の寄与があったと考えられた。金属成分濃度比から益城において Zn、八代においては V を指標とする発生源の影響が示唆されたが、今回のデータだけで発生源の特定は難しいと考えられた。今後の成分調査により各地域の汚染特性を明らかにしていく必要がある。

越境移流の寄与割合が異なった要因の一つとして内陸部における地上付近の安定層形成が影響していたと考えられた。一般的に沿岸部に比べて内陸部の方が地上付近に安定層が形成されやすいとされており²³⁾、越境移流の寄与が異なる事例は普遍的に生じている可能

性がある。遠隔地と都市部の同時観測により、越境移流の寄与を評価する試み^{17), 24)}が行われているが、遠隔地は沿岸部に位置することが多いと予想される。より正確な評価のためには本研究で明らかになったような地域的な気象条件の違いを考慮すべきだと考えられる。

文 献

- 1) 武林亨, 朝倉敬子, 山田睦子: 大気環境学会誌, **46** (2), 70-76 (2011).
- 2) S. Yonemochi, X. Chen, P. Miao, S. Lu, K. Oh, N. Umezawa: *Journal of Japan Society for Atmospheric Environment*, **43**, 140-144 (2013).
- 3) 微小粒子状物質 (PM_{2.5}) に関する専門家会合: 最近の微小粒子状物質 (PM_{2.5}) による大気汚染への対応 (平成 25 年 2 月).
http://www.env.go.jp/air/osen/pm/info/attach/rep_20130227-main.pdf
- 4) 豊永悟史, 村岡俊彦, 北岡宏道: 第 54 回大気環境学会年会要旨集, 222 (2013).
- 5) 国立環境研究所 HP: 平成 25 年度地方環境研究所等との共同研究応募課題一覧
<http://www.nies.go.jp/kenkyu/chikanken/kadai/h25.html>
- 6) II 型共同研究メンバーサイト
<https://project.nies.go.jp/c-ox/forum/>
- 7) 熊本県環境生活部: 大気・化学物質・騒音等環境調査報告書第 48 報, 3-21 (平成 25 年 10 月).
- 8) 環境庁大気保全局大気規制課監修: 浮遊粒子状物質汚染予測マニュアル (1997).
- 9) 気象庁 HP: 過去の気象データ検索
<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>
- 10) NOAA HYSPLIT model :
<https://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT.php>
- 11) 環境省: 大気中微小粒子状物質 (PM_{2.5}) 成分測定マニュアル (平成 25 年 6 月).
- 12) T. Ohara, H. Akimoto, J. Kurokawa, N. Horii, K. Yamaji, X. Yan, T. Hayasaka, *Atmospheric Chemistry and Physics*, **7** (3), 4419-4444 (2007).
- 13) T. Nagatani, M. Yamada, T. Kojima, D. Zhang: *Asian Journal of Atmospheric Environment*, **6** (1), 41-52 (2012).
- 14) 鵜野伊津志, 若松伸司, 植田洋匡, 村野健太郎, 酒巻史郎, 栗田秀實, 薩摩林光, 寶来俊一: 大気環境学会誌, **32** (6), 404-424 (1997).
- 15) 小倉義光: 一般気象学, 75-77 (1984).
- 16) 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** (3), 173-179 (2008).
- 17) 兼保直樹, 佐藤圭, 高見昭憲, 秀森丈寛, 松見豊, 山本重一: エアロゾル研究, **29** (S1), 82-94 (2014).
- 18) 日置正, 中西貞博, 向井人史, 村野健太郎: エアロゾル研究, **21** (2), 160-175 (2006).
- 19) 畠山史郎, 新垣雄光, 渡辺泉, 張代洲: エアロゾル研究, **29** (S1), 95-109 (2014).
- 20) 溝畑朗, 真室哲雄: 大気汚染学会誌, **15** (5), 198-206 (1980).
- 21) 日置正, 紀本岳志, 長谷川就一, 向井人史, 大原利真, 若松伸司: 大気環境学会誌, **44** (2), 91-101 (2009).
- 22) 辻昭博, 日置正: 大気環境学会誌, **48** (2), 82-91 (2013).
- 23) 森口實, 千秋鋭夫, 小川弘: 環境汚染と気象—大気環境アセスメントの技術—, 43-66 (1990).
- 24) 山本重一, 下原孝章, 濱村研吾, 山本勝彦, 谷口延子, 山崎敬久, 長谷川就一, 三田村徳子, 長田健太郎, 田村圭, 家合浩明, 小林優太, 菅田誠治, 大原利真: 第 54 回大気環境学会年会要旨集, 226 (2013).

有機フッ素化合物（PFCs）と直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（LAS）の同時分析法の開発及び農薬分析への適用性の評価

※農薬の回収率データの一部に誤りがありましたので修正しました（平成 27 年 2 月 20 日）。

中堀 靖範

要旨

有機フッ素化合物（PFCs）と直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（LAS）の同時分析法の開発を検討した結果、和光純薬製 PFC II を用いることで PFCs と LAS を同時分析できることがわかった。さらに、農薬分析への適用性を評価した結果、多くの農薬で良い回収率が得られた。本分析法を用いることで、採水や分析に係る労力やコストを削減し、多くの物質を同時に調査できることが明らかとなった。

キーワード：LC/MS/MS，PFCs，LAS，農薬，固相抽出

はじめに

有機フッ素化合物（以下「PFCs」）には、ペルフルオロオクタンスルホン酸（以下「PFOS」）と骨格炭素鎖の異なる類縁化合物（以下「PFS」）、ペルフルオロオクタ酸（以下「PFOA」）と骨格炭素鎖の異なる類縁化合物（以下「PFA」）があり、特にPFOS及びPFOAは撥水剤や界面活性剤等の様々な製品に使用されてきた^{1),2)}。しかし、環境中に放出された際の毒性や生物蓄積性が問題視され、PFOSは残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約（POPs条約）の指定物質に追加された。日本においても化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律で第一種特定化学物質として規制されている。近年では、PFOSやPFOAの代替物質として利用が進む骨格炭素鎖の短い類縁化合物や、微生物分解によりPFOSやPFOAを生成する可能性がある骨格炭素鎖の長い類縁化合物の環境中濃度も重要視されている^{3),4)}。

また、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（以下「LAS」）は陰イオン界面活性剤の1種で、化学物質排出把握管理促進法の第一種指定化学物質に指定されており、平成 25 年 3 月には水生生物保全に係る水質環境基準にも追加された。以上のことから、農薬と同様にPFCsやLASによる環境汚染の実態調査が近年

表 1 分析対象物質及びMRM条件

区分	炭素数	略記号	定量イオン (m/z)	コリジョン 電圧 (V)
PFS	4	PFBS	299→80	37
	6	PFHxS	399→80	46
	7	PFHpS	449→80	45
	8	PFOS	499→80	46
	10	PFDS	599→80	47
PFA	4	PFBA	213→169	11
	5	PFPeA	263→219	9
	6	PFHxA	313→269	9
	7	PFHpA	363→319	10
	8	PFOA	413→369	9
	9	PFNA	463→419	13
	10	PFDA	513→469	12
	11	PFUdA	563→519	12
	12	PFDoA	613→569	11
	13	PFTTrDA	663→619	15
	14	PFTeDA	713→669	15
LAS	8	C8-LAS	269→183	34
	10	C10-LAS	297→183	37
	11	C11-LAS	311→183	38
	12	C12-LAS	325→183	36
	13	C13-LAS	339→183	38
	14	C14-LAS	353→183	41

積極的に行われており、これらの分析法の簡素化は調査を行う上で重要であると考える。

ここで、PFCsのJIS試験法⁵⁾、LASの告示法⁶⁾、農薬の多成分同時分析法⁷⁾について着目すると、いずれも固相抽出で前処理を行いLC/MS/MSで測定する分析法であり、分析操作が酷似している。また、特にPFCsとLASは目標定量下限値が小さく微量分析が要求されるものの、分析操作の過程で器具等からコンタミしやすく、ブランクのコンタミレベルを低減するのが難しい等の共通する課題がある^{8),9)}。PFCs、LAS、農薬を同時に前処理することができれば、多くの物質を一度に調査することができ、さらに採水や前処理、測定等の労力や時間、コスト等の大幅な削減が期待できる。

PFOS、PFOA、LASを同時に前処理しLC/MSで個別に測定する手法は既に報告¹⁰⁾されている。そこで、今回は上記のJIS試験法及び告示法を参考に16種のPFCsとLASを同時に前処理してLC/MS/MSで測定する同時分析法を検討し、さらに農薬の定量分析への適用性について評価したところ、良好な結果が得られたので報告する。

実験方法

1 分析対象物質

本研究では表1に示したPFCsとLASに加え、129種の農薬(表8)を分析対象とした。また、使用した標準品は表2のとおりである。

2 分析法の検討

1の分析対象物質について、蒸留水を用いた添加回収試験により、固相抽出カートリッジ(以下「SPEカートリッジ」)の選定や通水時のpHの検討及び農薬分析への適用性を評価した。

3 添加回収試験液の調整

分析対象物質が検出されないことを確認した蒸留水500mLに、表2の標準品を用いて調整した中間混合標準液(PFCs(20µg/L)、LAS(C10~C14-LAS合計1,242µg/L)、農薬(100~800µg/L))を0.5mL添加して調整した。(添加回収試験液の濃度は表7, 8に示したとおり。)

4 定量方法

PFCs及び農薬は絶対検量線法で、LASはC8-LASを用いた内部標準法でLC/MS/MSにより定量した。

5 LC/MS/MS 測定条件

LCは島津製作所製Nexera、MS/MSは島津製作所製LCMS-8030を使用し、測定条件は表3~5のとおりとした。なお、PFCsとLASのMRM条件は表1に示した。

表2 使用標準品一覧

区分	メーカー名及び製品名
PFS	Wellington Laboratories PFS-MXA
PFA	Wellington Laboratories PFC-MXA
LAS	関東化学株式会社(オクチルベンゼンスルホン酸ナトリウム標準液, LAS標準原液) 和光純薬工業株式会社(テトラデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム標準液)
農薬	Dr.Ehrenstorfer(クロラントラニリプロール, トリフロキシスルフロキサトリウム塩, プロジアミン, フルベンジアミド, ヘキサコナゾール, メトコナゾール,) 和光純薬工業株式会社(フルポキサム)
上記以外の農薬	関東化学株式会社 農薬混合標準液24,53,54,58,60,65

表3 PFCs 及び LAS 分析 LC 条件

装置	島津製作所製Nexera
移動相	A液: 10mM酢酸アンモニウム B液: アセトニトリル
グラディエント条件	A:B=75:25(0~0.25min)→65:35(0.25~1.5min) →60:40(1.5~3min)→50:50(3~4.5min) →40:60(4.5~6.5min)→30:70(6.5~8.5min)
流速	0.4mL/min
試料注入量	5µL
分析カラム	GL-Science製Inertsil Swift (2.1×100mm; 3µm)
トラップカラム	島津製作所製ゴーストトラップDS-HP (2.1×30mm)

表4 農薬分析 LC 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(0~2.1min) → 54:46(2.1~7.5min) → 49:51(13.5min) → 59:5(19min)
流速	0.3mL/min
試料注入量	5µL
分析カラム	GL-Science製ODS-3 (2.1×100mm; 3µm)
トラップカラム	島津製作所製ゴーストトラップDS-HP (2.1×30mm)

表5 MS/MS 条件

装置	島津製作所製LCMS-8030
イオン化法	PFCs及びLAS分析 ESI Negative 農薬分析 ESI Positive / Negative
ネブライザーガス流量	3.0L/min
ドライイングガス流量	15.0L/min
インターフェイス電圧	3.5kV
検出器電圧	1.8kV

結果及び考察

1 LC/MS/MS 測定メソッドの検討

表 1, 3, 5 で示した測定条件により得られた PFCs と LAS のクロマトグラムを図 1 に示した。検出時間帯が重なるピークがあるが、イオン化阻害等の影響は相互に無いことを確認した。

PFCs と LAS の LC/MS/MS 測定では、専用の移動相溶媒が販売されていることからわかりやすく、装置や移動相由来のコンタミが特に問題となりやすく、本研究でも装置ブランクに PFOA や C11-LAS, C12-LAS のコンタミが検出された。しかし、トラップカラムをサンプラーの前に取り付けることで、これらのコンタ

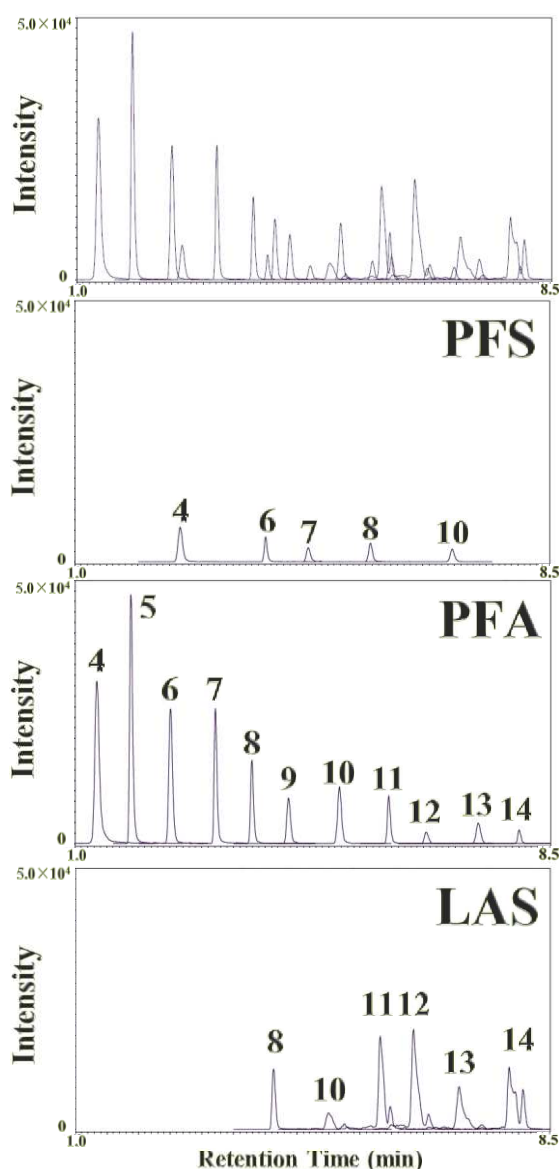


図 1 PFCs と LAS の同時測定クロマトグラム
(図中の数字は炭素数を示す)

ミを移動相から除去できることがわかった (図 2)。なお、トラップカラムの代わりに分析カラムを装着するディレイ (リテンションギャップ) カラムも検討し、有効な手法であることを確認したが装着後の圧力やグラディエントが変化するため、このような影響のないトラップカラムを採用した。

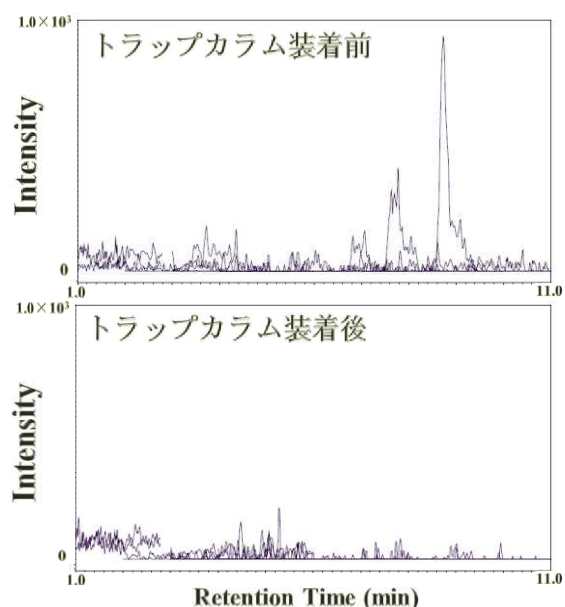


図 2 トラップカラム装着前後のクロマトグラム

2 分析法の検討

2-1 SPE カートリッジの選定

LAS の定量分析では、オクタデシルシリルやスチレンジビニルベンゼン等を用いた逆相系の SPE カートリッジが広く用いられている。また、PFCs の JIS 試験法 (付属書 A)⁵⁾ に掲載の SPE カートリッジには、逆相系のものとアニオン交換系 (以下「AE 系」) のものがある。そこで、本研究では逆相系と AE 系の数種の SPE カートリッジについて、PFCs と LAS の添加回収試験を実施し、回収率を比較した。また、通水時の pH が抽出効率に影響するため、通水時の pH についても併せて検討した。その結果を表 7 に示す。

逆相系の SPE カートリッジでは、通水時の pH が中性の場合、炭素鎖の短い PFBS や PFPeA のような高極性物質の回収率が低いことがわかった。これらの物質は通水時の pH を酸性にするほど回収率が増加したが、炭素鎖の長い PFDS や PFTeDA, LAS 等の低極性物質の回収率が低下した。また、PFBA は酸性にしても十分な回収率が得られなかった。以上の結果から、逆相系の SPE カートリッジでは全ての PFCs と LAS を良い回収率で得ることは難しいことがわかった。

表 6 逆相系及び AE 系カートリッジの PFCs と LAS の回収率の比較
(図中の網掛けは回収率が 70%未満であることを示す)

区分	炭素数	略記号	逆相系			逆相系			AE系			AE系		
			カートリッジA			カートリッジB			カートリッジC			PFC II		
			pH=6	pH=3	pH=2	pH=6	pH=3	pH=2	pH=6	pH=3	pH=2	pH=6	pH=3	pH=2
PFS	6	PFBS	0.0%	114.3%	94.1%	6.2%	96.7%	76.0%	96.7%	104.9%	97.1%	106.5%	107.9%	102.0%
	8	PFOS	91.0%	105.7%	96.0%	85.3%	98.9%	75.7%	89.4%	91.4%	79.2%	105.2%	109.5%	99.3%
	10	PFDS	102.5%	95.2%	66.5%	80.4%	85.1%	68.5%	75.9%	79.1%	57.2%	101.4%	92.4%	82.1%
PFA	4	PFBA	4.3%	4.3%	4.4%	0.0%	0.1%	5.3%	92.1%	53.2%	39.8%	56.0%	73.6%	63.6%
	5	PFPeA	5.4%	36.3%	29.6%	2.2%	35.3%	71.2%	92.0%	59.7%	54.4%	75.3%	77.2%	70.2%
	13	PFTTrDA	66.8%	63.6%	34.4%	83.8%	64.1%	60.5%	54.4%	57.9%	39.6%	76.8%	74.1%	68.9%
	14	PFTeDA	71.8%	59.7%	35.9%	88.3%	74.5%	57.6%	80.8%	64.2%	54.8%	77.8%	72.6%	70.2%
LAS	10	C10-LAS	106.0%	95.7%	50.1%	107.1%	79.5%	84.0%	102.4%	72.1%	55.7%	97.2%	93.3%	94.4%
	13	C13-LAS	100.2%	85.2%	46.3%	100.0%	75.3%	78.0%	92.2%	62.0%	45.3%	102.6%	99.7%	92.5%

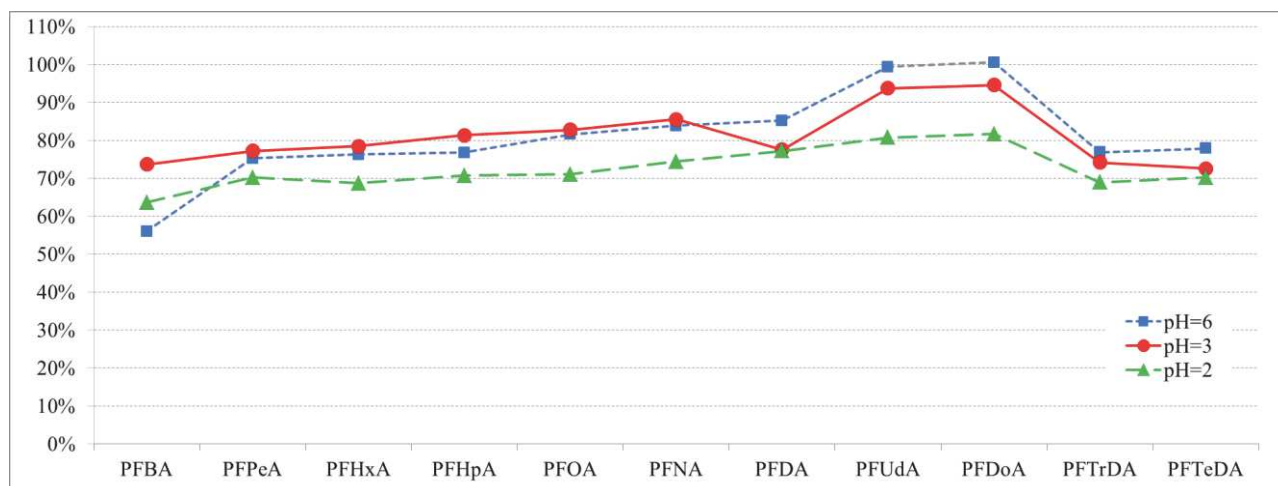


図 3 通水時 pH=6, 3, 2 における PFC II の PFA の回収率の比較

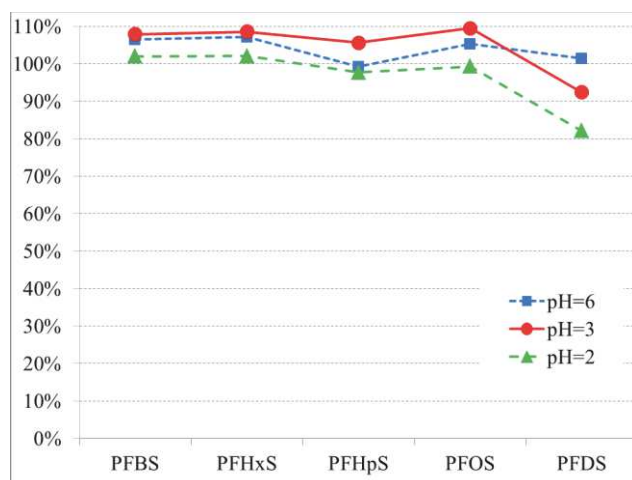


図 4 通水時 pH=6, 3, 2 における PFC II の PFS の回収率の比較

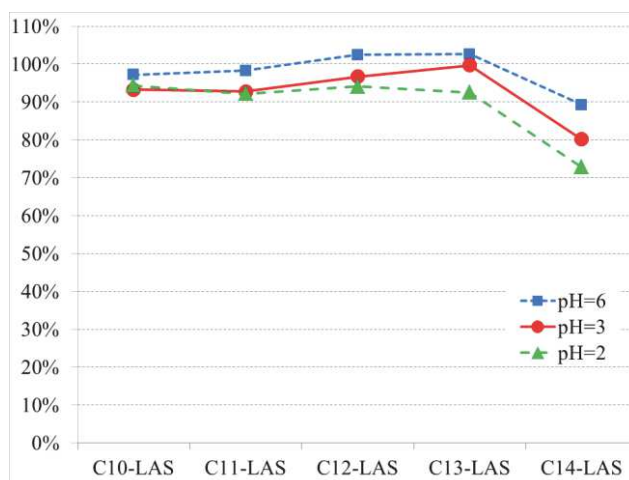


図 5 通水時 pH=6, 3, 2 における PFC II の LAS の回収率の比較

一方で、PFCs の分析で多く用いられている AE 系の SPE カートリッジについて検討した結果、和光純薬製 PFC II で概ね良好な結果が得られることがわかった。PFC II は AE 系と逆相系のコンビネーションポリマーが用いられているため、PFCs や LAS のような広い極性を持つ物質群でも良好な回収率が得られたと推測される。以上のことから、本研究の SPE カートリッジには PFC II を採用することとした。

ただし、PFC II を用いる際に注意しなければならないのが LAS のコンタミである。SPE カートリッジには LAS のコンタミが含まれており⁸⁾、特に AE 系の SPE カートリッジは事前コンディショニングを十分に行っても LAS のコンタミを除去しにくい性質があるため、数 ppt 程度の微量な LAS の定量には正の誤差が生じる点に注意が必要である。

2-2 PFC II を用いた場合の pH 調整

PFC II の通水時の pH を 6, 3, 2 とした際の PFCs と LAS の回収率を図 3～5 に示した。酸性で高極性物質の回収率が高く、低極性物質の回収率が低い傾向は逆相系ポリマーと同じであるが、逆相系ポリマーに比べて低極性物質の回収率低下は抑えられており、pH が 3 程度までであれば酸性で通水しても中性とほぼ変わらない良好な回収率が得られることがわかった。これは低極性物質が AE 系ポリマーに保持されていることが原因であると考えられる。以上のことから、本研究での通水時の pH は 3 とした。

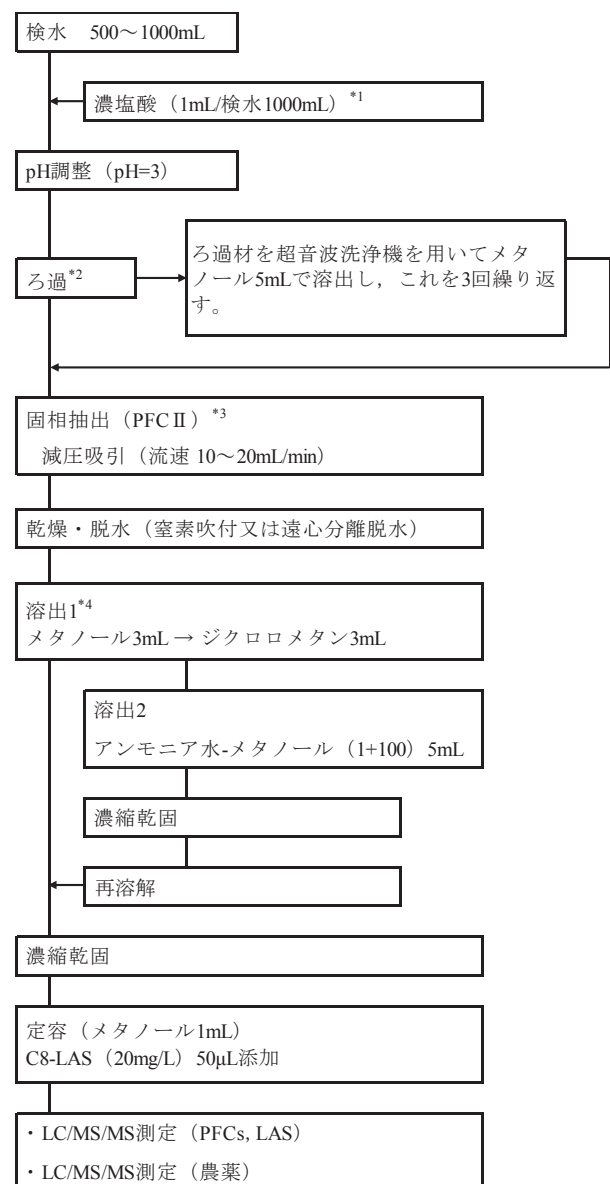
2-3 分析フロー

2-1 及び 2-2 の結果を踏まえ、PFCs と LAS の同時分析法の分析フローを図 6 のとおりとした。また、本分析フローによる PFCs と LAS の回収率等を表 7 に示した。JIS 試験法⁹⁾及び化学物質環境実態調査実施の手引き¹¹⁾によると、添加回収試験における回収率の許容範囲を PFCs は 70～125%、LAS は 70～120% としており、本分析フローにより全ての PFCs と LAS を良好な回収率で分析できることがわかった。

3 農薬分析への適用性の評価

前述した PFCs と LAS の同時分析法は、逆相系ポリマーを含む SPE カートリッジに酸性で通水するため農薬分析にも適用できる可能性が高い。そのため表 8 に示した 129 種の農薬について本分析法による添加回収試験を実施した。なお、アルカリ性溶液で溶出すると一部の農薬が分解する恐れがあるため、最初にメタノールとジクロロメタンで逆相系ポリマーに保持された物質を溶出した後、アンモニア水-メタノールで AE 系

ポリマーに保持された物質を溶出させた。それぞれの溶出液は個別に濃縮乾固して、再溶解後に前処理液をあわせて定容した。化学物質環境実態調査実施の手引きでは農薬の添加回収試験における回収率の許容範囲を 70～120% としており、今回の検討では 129 種の農薬のうち 111 種で良好な回収率が得られた (表 8)。以上の結果から、図 6 に示した分析フローにより PFCs や LAS と同時に多くの農薬の前処理も可能であることがわかった。



*1 ただちに分析が行えない場合のみ生分解抑制のために行う。

*2 懸濁物質によりSPEカートリッジが目詰まりする恐れがある場合のみ行う。

*3 事前コンディショニング (アンモニア水-メタノール (1+100) 10mL → メタノール 10mL → 水 10mL) を行ったものを用いる。

*4 農薬等を同時に前処理した場合のみ。

図 6 PFCs, LAS, 農薬の同時分析フロー

結論

PFCs と LAS を同時に前処理し、LC/MS/MS で定量分析する同時分析法を検討した結果、和光純薬製 PFC II を用いることで良好な結果が得られた。また、本分析法で 129 種の農薬の回収試験を行った結果、111 種で良好な回収率が得られた。このことから本分析法により、採水や分析に係る労力やコストを大幅に削減し、多くの物質を同時に調査できることが明らかとなった。

表 7 PFCs と LAS 同時分析フローの回収率

区分	炭素数	略記号	添加 回収 濃度 (μg/L)	回収率	
				平均(%)	RSD(%)
PFS	4	PFBS	0.02	107.9%	9.3%
	6	PFHxS	0.02	108.6%	5.3%
	7	PFHpS	0.02	105.6%	10.5%
	8	PFOS	0.02	109.5%	7.2%
	10	PFDS	0.02	92.4%	12.0%
PFA	4	PFBA	0.02	73.6%	6.6%
	5	PFPeA	0.02	77.2%	8.7%
	6	PFHxA	0.02	78.5%	5.2%
	7	PFHpA	0.02	81.3%	4.6%
	8	PFOA	0.02	82.7%	5.1%
	9	PFNA	0.02	85.5%	5.2%
	10	PFDA	0.02	77.5%	3.7%
	11	PFUdA	0.02	93.7%	7.4%
	12	PFDoA	0.02	94.5%	6.2%
	13	PFTTrDA	0.02	74.1%	8.4%
	14	PFTeDA	0.02	72.6%	5.4%
	10	C10-LAS	0.1	93.3%	7.6%
	11	C11-LAS	0.32	92.7%	5.7%
	12	C12-LAS	0.322	96.7%	6.0%
LAS	13	C13-LAS	0.23	99.7%	9.7%
	14	C14-LAS	0.251	80.2%	6.6%

表 8 同時分析フローによる回収率 1

農薬名	添加回 収濃度 (μg/L)	回収率	
		平均(%)	RSD(%)
2,4-D	0.1	113.4%	9.0%
Acetamiprid	0.1	98.0%	4.0%
Aldicarb	0.1	14.0%	-
Anilofos	0.1	101.0%	5.3%
Aramite	0.25	74.0%	10.4%
Asulam	0.1	29.2%	-
Azamethiphos	0.1	114.0%	3.8%
Azinphos-methyl	0.1	100.2%	12.4%
Azoxystrobin	0.4	84.9%	13.6%
Bendiocarb	0.1	56.2%	-
Bensulfuron-methyl	0.1	98.7%	3.7%
Bensulid(SAP)	0.1	96.1%	7.1%
Bentazon	0.1	94.4%	3.3%
Benzo fenap	0.1	97.9%	12.8%
Boscalid	0.2	99.9%	9.2%
Butafenacil	0.1	106.6%	7.2%
Butamifos	0.1	86.9%	16.9%
Cafenstrole	0.1	100.7%	5.9%
Carbaryl (NAC)	0.2	75.0%	10.6%
Carbofuran	0.2	71.4%	5.4%
Carpropamid	0.2	103.2%	9.4%
Chromafenozide	0.1	105.8%	4.8%
Chlorantraniliprole	0.1	104.2%	6.3%
Chloridazon	0.1	76.8%	16.4%
Chloroxuron	0.1	103.1%	4.7%
Clofentezine	0.1	74.4%	10.8%
Clomeprop	0.1	111.9%	3.7%
Cloquintocet-mexyl	0.1	90.3%	15.7%
Clothianidin	0.1	88.2%	4.6%
Cumyluron	0.2	110.2%	7.1%
Cycloate	0.1	10.3%	-
Cyclosulfamuron	0.1	98.7%	7.7%
Cyflufenamid	0.1	102.7%	13.2%
Cyproconazole	0.1	104.2%	6.8%
Cyprodinil	0.1	89.8%	10.6%
Daimuron	0.2	95.5%	3.0%
Diallate	0.1	9.3%	-
Diazinon	0.1	41.4%	-
Difenoconazole	0.1	103.0%	12.7%
Diffubenzuron	0.1	104.5%	4.4%
Dimethirimol	0.1	21.9%	-
Dimethomorph	0.1	104.0%	3.0%
Epoxiconazole	0.1	102.2%	9.6%

表 8 同時分析フローによる回収率 2

農薬名	添加回収濃度 (μg/L)	回収率	
		平均(%)	RSD(%)
Ethoxysulfuron	0.1	106.9%	6.2%
Fenamidone	0.1	97.4%	4.9%
Fenobucarb	0.1	37.6%	-
Fenoxaprop-ethyl	0.1	108.5%	17.7%
Fenoxycarb	0.1	100.8%	5.8%
Fenpyroximate	0.1	79.6%	5.4%
Fenthion	0.1	53.0%	-
Fenthion-sulfoxide	0.1	107.2%	12.5%
Ferimzone	0.1	82.8%	2.9%
Fipronil	0.1	98.0%	9.1%
Flazasulfuron	0.2	100.5%	2.5%
Flufenacet	0.1	88.7%	10.6%
Flufenoxuron	0.1	81.3%	9.1%
Flupoxam	0.1	96.0%	16.8%
Fluridone	0.1	100.9%	4.2%
Flutolanil	0.1	108.3%	4.3%
Fulbendiamide	0.1	112.3%	14.7%
Furametpyr	0.1	113.7%	7.9%
Furathiocarb	0.1	93.4%	17.1%
Halosulfuron-methyl	0.3	105.4%	11.3%
Hexaconazole	0.1	106.6%	15.8%
Hexaflumuron	0.1	112.0%	5.4%
Hexythiazox	0.1	88.3%	15.0%
Imazalil	0.1	54.5%	-
Imidacloprid	0.1	90.4%	18.3%
Indanofan	0.1	105.4%	10.1%
Indoxacarb	0.1	93.9%	5.2%
Iprodione	0.8	11.8%	-
Iprovalicarb	0.1	108.2%	6.9%
Isoprothiolane	0.1	94.7%	9.4%
Isoxathion	0.1	100.6%	6.0%
Linuron	0.1	93.6%	12.4%
Lufenuron	0.1	83.5%	3.0%
Mecoprop	0.2	96.4%	8.0%
Mepanipyrim	0.1	95.6%	9.9%
Mepronil	0.1	103.2%	4.8%
Metalaxyl	0.1	90.9%	10.9%
Methabenzthiazuron	0.1	73.1%	0.9%
Methiocarb	0.1	103.2%	2.5%
Methomyl	0.2	6.9%	-
Methoxyfenozide	0.1	110.9%	6.5%
Metconazole	0.1	101.8%	12.0%
Monolinuron	0.1	47.5%	-

表 8 同時分析フローによる回収率 3

農薬名	添加回収濃度 (μg/L)	回収率	
		平均(%)	RSD(%)
Naproanilide	0.1	104.3%	4.5%
Novaluron	0.1	71.1%	8.1%
Oryzalin	0.1	91.5%	3.3%
Oxamyl	0.1	18.2%	-
Oxaziclomefone	0.2	103.5%	9.4%
Oxycarboxin	0.1	78.6%	14.5%
Pencycuron	0.2	94.9%	13.5%
Pendimethalin	0.1	54.4%	-
Phenmedipham	0.1	107.9%	14.1%
Pirimicarb	0.1	73.8%	6.6%
Probenazole	0.1	70.4%	7.2%
Prodiamine	0.1	84.9%	5.6%
Propaquizafop	0.1	110.3%	3.8%
Propiconazole	0.1	102.8%	7.3%
Propyzamide	0.1	71.2%	11.0%
Pyraclostrobin	0.1	98.6%	10.1%
Pyrazolate	0.1	106.3%	4.5%
Pyributicarb	0.1	93.2%	6.0%
Pyriftalid	0.1	104.3%	10.9%
Quizalofop-ethyl	0.1	101.5%	13.3%
Siduron	0.2	107.6%	5.4%
Simazine	0.1	65.3%	-
Simeconazole	0.1	92.1%	11.5%
Tebuconazole	0.1	113.8%	8.6%
Tebufenozide	0.2	104.7%	3.7%
Tebuthiuron	0.1	76.0%	5.1%
Teflubenzuron	0.1	109.9%	15.6%
Terbucarb	0.1	76.0%	12.4%
Tetrachlorvinphos	0.1	109.9%	15.3%
Tetraconazole	0.1	109.7%	10.6%
Thiabendazole	0.1	26.8%	-
Thiamethoxam	0.2	86.8%	4.3%
Thifluzamide	0.1	112.6%	10.7%
Thiodicarb	0.2	100.0%	8.0%
Thiuram	0.1	39.9%	-
Triclopyr	0.3	106.8%	6.6%
Tricyclazole	0.1	96.0%	3.2%
Tridemorph	0.1	81.4%	14.6%
Trifloxystrobin	0.1	86.0%	13.0%
Trifloxysulfuron-sodium	0.1	106.8%	5.1%
Triflumizole	0.1	85.2%	5.5%
Triflumuron	0.1	98.8%	16.3%
Triticonazole	0.1	106.1%	15.4%

参考文献

- 1) J. P. Giesy, K. Kannan: *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1339-1342 (2001)
- 2) J. P. Giesy, K. Kannan : *Environ. Sci. Technol.* , **36**, 146A-152A (2002)
- 3) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室：化学物質の環境リスク評価，第6巻 (2008)
- 4) K. Prevedouros et al. : *Environ. Sci. Technol.* , **40**, 32-44 (2006)
- 5) JIS K 0450-70-10 (2011)
- 6) 環境省水・大気環境局水環境課：環境省告示30号付表12，平成25年3月27日
- 7) 環境省：環境省水・大気環境局長通知，環水大土発第 1306181 号，平成 25 年 6 月 18 日
- 8) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：化学物質と環境 平成15年度化学物質分析法開発調査報告書，113-126 (2004)
- 9) 谷保佐知，羽成修康，堀井勇一，山下信義：Synthesiology, **15**, 261-274 (2012)
- 10) 田原るりこ：北海道立総合研究機構環境・地質研究本部環境科学研究センター所報，1，39-46 (2011)
- 11) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：化学物質環境実態調査実施の手引き（平成20年度版），119 (2009)
- 12) 谷澤春名，大関由利子，佐々野僚一：第17回環境化学討論会要旨集，554-555 (2008)