

奈良県の一般環境における大気粉じん中六価クロムの濃度調査

杉本 恭利・吉田 実希・山本 真緒・中西 誠

Survey of Hexavalent Chromium in Atmospheric Dust in Nara Prefecture

SUGIMOTO Kiyotoshi・YOSHIDA Miki・YAMAMOTO Mao and NAKANISHI Makoto

緒言

クロム化合物には環境中に存在し得るイオン種として、三価と六価のクロム化合物が知られている。三価クロム化合物は人の代謝に関係するなど必須元素であるが、六価クロム化合物は発がん性を有する有害な物質である。したがって、大気中の物質の有害性を評価する上では、クロム化合物の中でも六価クロム化合物の存在量を把握することがより重要である。都道府県等は、「大気汚染防止法第22条の規定に基づく大気汚染の状況の常時監視に関する事務の処理基準について」に基づき、健康リスクがある程度高いと考えられリスト化された優先取組物質(23物質)の常時監視を行っている。クロムは、「六価クロム化合物」及び「クロム及び三価クロム化合物」が指定されているが、これまで「六価クロム化合物」の測定法が定まっていなかったことから、当面は「クロム及びその化合物」(以下、T-Cr)として測定する事となっていた。2019年3月、環境省より大気粉じん中の六価クロム(以下、Cr⁶⁺)の測定法についてのマニュアル(以下、マニュアル)が示されたことを受け、奈良県における大気粉じん中のCr⁶⁺の濃度域を明らかにするために、測定法の検討及び実サンプルの測定を行った。また、PM_{2.5}中のCr⁶⁺も併せて測定した。

方法

1. 測定方法の確認

分離装置としてメトローム社製 IC-930 コンパクト(ノンサプレッサ方式)、検出器として Agilent Technologies 社製 ICP/MS Agilent7900 を用いて、Cr⁶⁺の測定を行った(表1)。純水を用いて調製した標準液(0.01~1 ng/ml)及びマニュアルに従って作成したアルカリ含浸ろ紙の抽出液を用いて調製した標準液(0.05~1 ng/ml)を測定し、検量線の直線性及び傾きの確認を行い、装置定量下限値及び方法定量下

限値の算出を行った。また、実試料の検液に0.5 ng/ml相当の標準液を添加し回収率を求めた。

2. ろ紙(No.5C)中のクロム(T-Cr)含有量の確認

アルカリ含浸ろ紙に用いるろ紙について、マニュアルには「本測定で使用するフィルタには、その原材料のパルプに僅かながら含まれているクロムが残留しており、そのクロムが保管中にアルカリ含浸フィルタ内で酸化されて六価クロムとなる可能性がある。」と記載されている。そこで、未処理のろ紙とマニュアルに従って作成したアルカリ含浸ろ紙(図1)について、T-Cr含有量の確認を行った。ろ紙は、ADVANTEC社製 No.5C(47mm)で同一ロットの物を使用した。前処理は「有害大気汚染物質測定方法マニュアル」に記載の圧力容器法(B.多元素同時測定)に準じて行い、ICP/MS法にて測定を行った。

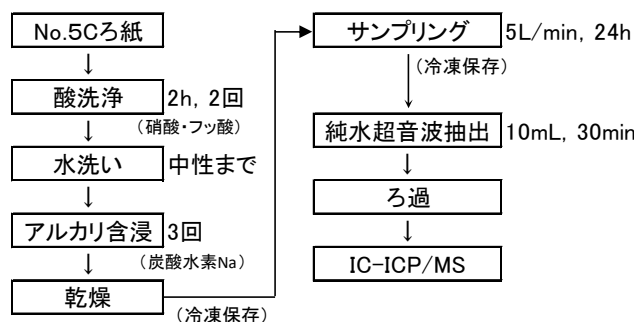


図1 アルカリ含浸ろ紙作成手順及び測定手順

表1 測定条件

IC 930 コンパクト IC Flex Oven/Deg(メトローム)	
溶離液	0.1 mol/L NH ₄ NO ₃ (pH 9)
流速	0.2 mL/min
試料注入量	100 µL
カラム温度	30 °C
カラム	Metrosep Carb 2-100/2.0
ICP-MS Agilent7900	
測定質量数	m/z=52
取込み時間	10 分
セルガス	He

3. 実態調査

2019年度の有害大気汚染物質調査の採取日（月に1回）に合わせ、桜井局（奈良県保健研究センター屋上）においてCr⁶⁺及びT-Crをサンプリング、測定し、その濃度域の確認を行った。

Cr⁶⁺の試料採取は、マニュアルに準じて作成したアルカリ含浸ろ紙をオープン型フィルタホルダに装着し、ムラタ計測器サービス株式会社製ポータブルDC サンプラ MCAS-DC を用いて 5 L/min で 24 時間吸引して行った。その際、多段型のニールフィルタホルダーにインパクト（PM_{2.5} 用）を装着し、PM_{2.5} に分粒した Cr⁶⁺ のサンプルも併行して採取し IC-ICP/MS 法にて測定した（図 1）。

T-Cr の試料採取は、石英繊維フィルタ（PALL 社製 2500QAT-UP）をハイボリュームサンプラー（紀本電子工業（株））に装着し約 1000 L/min で 24 時間吸引して行った。また、PM_{2.5} に分粒した T-Cr 用のサンプルは PTFE 製フィルタ（PALL 社製 Teflo）を用い、ムラタ計測器サービス（株）製 MCAS-SJ にて 30 L/min, 23.5 時間採取し、ICP/MS 法にて測定した（表 2 参照）。

表 2 捕集方法及び測定方法一覧

測定項目	分粒	ろ紙	吸引条件	測定方法
全粒子中 Cr ⁶⁺	なし	アルカリ含浸ろ紙(5C) φ47mm	5L/min×24h	水抽出 IC-ICP/MS
PM _{2.5} 中 Cr ⁶⁺	PM _{2.5} インパクト	アルカリ含浸ろ紙(5C) φ47mm	5L/min×24h	水抽出 IC-ICP/MS
全粒子中 T-Cr	なし	石英繊維フィルタ 20×25cm	1000L/min ×24h	酸分解 ICP/MS
PM _{2.5} 中 T-Cr	PM _{2.5} インパクト	PTFE 製フィルタ φ47mm	30L/min ×23.5h	酸分解 ICP/MS

結果と考察

1. 検量線・定量下限値・回収率

純水を用いて調製した標準液で Cr⁶⁺ の検量線を作成したところ（図 2）、R² 値 0.999 以上と良好な直線性が得られた。また、0.01 ng/ml 標準液を 5 回繰り返し測定し、装置定量下限値を求めたところ、0.007 ng/ml (0.009 ng/m³) であった（溶液の濃度 ng/ml から m³ あたりの濃度 ng/m³ への換算は、大気捕集量を 7.2 m³、抽出量を 10 ml として算出）。以上から、参考にするべき Cr⁶⁺ の基準としてマニュアルに記載されている EPA

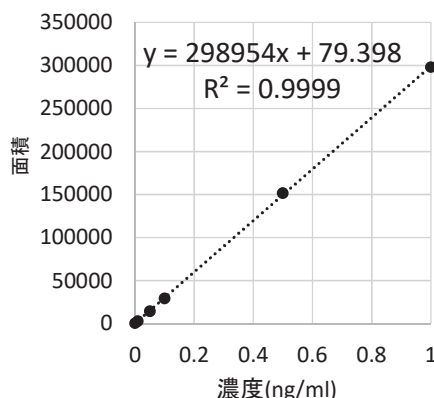


図 2 純水で調製した検量線

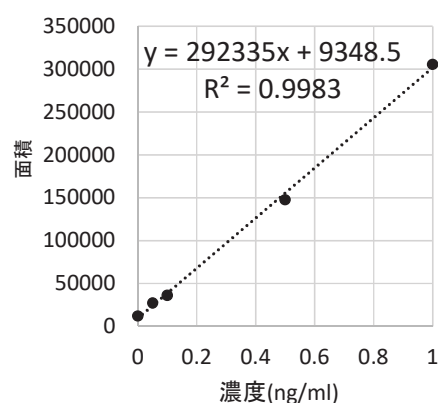


図 3 BL 抽出液で調製した検量線

（米国環境保護庁）の 10⁻⁵ リスクレベル基準 0.80 ng/m³ の 10 分の 1 を十分満足する装置定量下限値が得られていることを確認した。

次に、アルカリ含浸ろ紙のブランク抽出液を用いて標準液を調製し検量線を作成した（図 3）。純水で調製した検量線と比較したところ、傾きは 298954（純水）と 292335（抽出液）でほぼ変化はなく、抽出液中のマトリックスによる感度変化はほぼ無いと考えられた。また、実サンプルの検液に 0.5 ng/ml 相当の標準液を添加し回収率を求めたところ、96～107% (n=3) と良好な結果が得られた。

アルカリ含浸ろ紙のブランク抽出液を 5 回繰り返し測定し、操作ブランク値及び方法定量下限値 (10σ) を求めた。方法定量下限値は 0.047 ng/ml (0.065 ng/m³) で目標定量下限値 0.08 ng/m³ を下回ることを確認した。操作ブランクの平均値は 0.042 ng/m³ であった。これは、目標定量下限値 0.08 ng/m³ と比べ約 2 分の 1 と比較的大きい値を取ることから、ろ紙の作成時や測定時にブランク値が大きくなるよう注意を払う必要がある。

2. ろ紙中のクロム(T-Cr)含有量

未処理のろ紙とマニュアルに従って酸洗浄したろ紙について、T-Cr含有量を測定したところ、未処理のろ紙は12.4 ng/枚 (1.7 ng/m³)、酸洗浄後のろ紙は5.8 ng/枚 (0.8 ng/m³) と、酸洗浄を行っても、未処理のろ紙に対し約半分 (47%) が除去できずに残っていることが確認された。残存している T-Cr は捕集・保管・試験操作中に Cr⁶⁺に変化する可能性があることから、前処理操作には注意を要する。

3. 実態調査

毎月1回桜井局にて、全粒子中の T-Cr・Cr⁶⁺、PM_{2.5}中の T-Cr・Cr⁶⁺の4種類のサンプリングを行い測定した。測定結果を表3、図4に、総クロム量に対する Cr⁶⁺

の比率を表4に示す。先行研究³⁾によると全粒子中の Cr⁶⁺の一般環境濃度レベルは、0.01~0.32 ng/m³、また、全粒径中の Cr⁶⁺と粒径3.3μm以下の粒子中の Cr⁶⁺濃度の比は70%とある。今回の全粒子中の Cr⁶⁺測定結果は、<0.065~0.18 ng/m³とその範囲内にあった。また、全粒子中の Cr⁶⁺と PM_{2.5}中の Cr⁶⁺の比も平均61% (49~76%) と概ね同様な結果が得られた。全粒子中の T-Cr と Cr⁶⁺の比は平均3.0%、PM_{2.5}中の T-Cr と Cr⁶⁺の比は平均6.0%と PM_{2.5}中の Cr⁶⁺の存在比の方が高かった。

図5に全粒子中の T-Cr に対する Cr⁶⁺の散布図を示す。試料数が限られているため、断定はできないが、両者は比較的強い相関関係を示した。そこで、両者が強い関係にあると仮定し、全粒子中の T-Cr と Cr⁶⁺の比を過

表3 実試料の測定結果

採取日	(ng/m ³)			
	全粒子 T-Cr	全粒子 Cr ⁶⁺	PM _{2.5} T-Cr	PM _{2.5} Cr ⁶⁺
2019/3/5	4.9	0.10	1.3	<0.065
2019/4/4	4.2	0.11	1.4	0.075
2019/5/8	7.9	0.18	2.2	0.091
2019/6/4	3.8	0.14	1.2	0.068
2019/7/4	2.4	0.14	1.1	0.090
2019/8/8	4.2	0.11	1.4	0.085
2019/9/5	<2.4	<0.065	<0.32	<0.065
2019/10/1	<2.4	0.070	0.4	<0.065
2019/12/10	3.6	0.075	2.0	<0.065
2020/1/16	<2.4	<0.065	0.7	<0.065
2020/2/6	<2.4	<0.065	0.4	<0.065
2020/3/5	<2.4	<0.065	0.4	<0.065
最大	7.9	0.18	2.3	0.091
最小	<2.4	<0.065	<0.32	<0.065
平均	2.9	0.09	1.1	0.051

表4 実試料の測定結果(比率)

採取日	(%)		
	全粒子中 Cr ⁶⁺ / 全粒子中 T-Cr	PM _{2.5} 中 Cr ⁶⁺ / PM _{2.5} 中 T-Cr	PM _{2.5} 中 Cr ⁶⁺ / 全粒子中 Cr ⁶⁺
2019/3/5	2.1	-	-
2019/4/4	2.7	5.4	65
2019/5/8	2.3	4.1	51
2019/6/4	3.6	5.8	49
2019/7/4	5.9	8.5	63
2019/8/8	2.6	6.2	76
2019/9/5	-	-	-
2019/10/1	-	-	-
2019/12/10	2.1	-	-
2020/1/16	-	-	-
2020/2/6	-	-	-
2020/3/5	-	-	-
最大	5.9	8.5	76
最小	2.1	4.1	49
平均	3.0	6.0	61

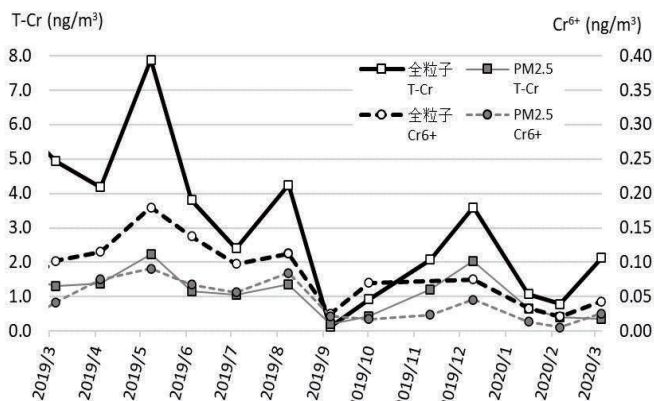


図4 実試料の測定結果

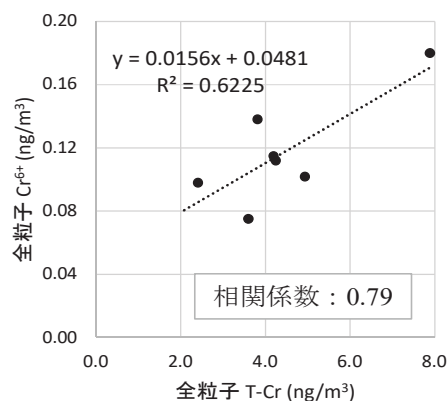


図5 全粒子中 Cr⁶⁺と全粒子中 T-Cr の散布図

去 (2013年4月～2019年3月) のT-Crに乘じCr⁶⁺の値を算出した (図6, 7). 比の平均値3.0%を用いた場合のCr⁶⁺は, 最大0.23 ng/m³, 平均0.081 ng/m³であった. 比の最大値5.9%を用いた場合でもCr⁶⁺は, 最大0.46 ng/m³, 平均0.16 ng/m³とEPAの10⁻⁵リスクレベル基準0.80 ng/m³を越えることはなかった.

まとめ

大気粉じん中のCr⁶⁺濃度を調査するため, その分析法(IC-ICP/MS法)について検討を行い, 桜井局 (一般環境局) において有害大気汚染物質調査日 (毎月1回) に合わせ採取測定を行った. 桜井局におけるCr⁶⁺濃度は, 定量下限値未満～0.18 ng/m³, 平均0.11 ng/m³と参考となる基準 (0.80 ng/m³) に対し十分低い値である事がわかった. 全粒子中のCr⁶⁺とT-Crには比較的強い相関関係が成立し, その比の平均は3.0%であった.

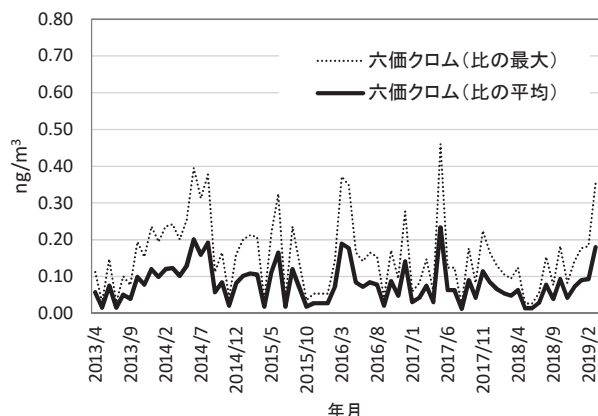


図6 全粒子中Cr⁶⁺濃度の推定値 (2013/4～2019/3)

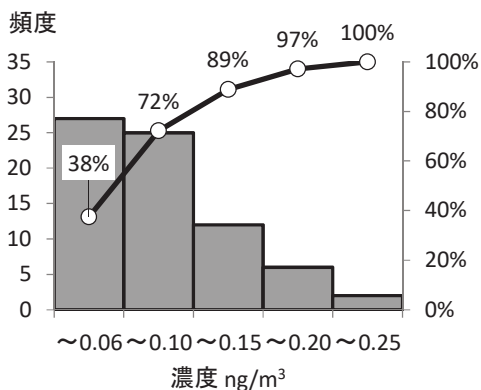


図7 全粒子中Cr⁶⁺濃度の推定 ヒストグラム (2013/4～2019/3)

また, 捕集に用いたろ紙には元々クロムが含有されており, 精度良く測定を行うには, ろ紙中の残存クロム濃度の低減が重要である事がわかった.

今回測定を行ったのは1地点でデータ点数も少ないため, 今後は他地点も含めデータを積み重ねていく事が重要である.

参考文献

- 1) 環境省: 大気汚染防止法第22条の規定に基づく大気汚染の状況の常時監視に関する事務の処理基準 (平成13年5月21日環管大第177号、環管自第75号)
- 2) 環境省: 有害大気汚染物質等測定方法マニュアル、(平成31年3月改訂)
- 3) 小林剛: 高リスク大気中六価クロムの極微量分析技術の高度化・評価活用と発生源・発生機構解明, 科学研究費助成事業研究成果報告書 (2013)

奈良県における有害大気汚染物質濃度の経年変化

山本 真緒・吉田 実希・杉本 恭利・中西 誠

Long-term Trend of the Concentrations of Hazardous Air Pollutants in Nara Prefecture

YAMAMOTO Mao・YOSHIDA Miki・SUGIMOTO Kiyotoshi and NAKANISHI Makoto

緒言

有害大気汚染物質は、大気汚染防止法第2条第15項にて「継続的に摂取される場合には人の健康を損なうおそれがある物質で大気の汚染の原因となるもの(ばい煙、特定粉じん及び水銀等を除く。)」と規定されている。これらの物質は、健康被害の未然の防止の見地から、行政は物質の有害性、大気環境濃度等に関する基礎的情報の収集整理に努めるとともに、事業者等は自主的に排出等の抑制に努めることが期待されるものであり、低濃度ではあるが、長期曝露によって人の健康を損なうおそれがあると考えられ、有害大気汚染物質の対策について平成8年度より制度化された。これを受け同年10月「有害大気汚染物質に該当する可能性がある物質」として234物質、その中でも有害性の程度や大気環境の状況等に鑑み健康リスクがある程度高いと考えられる物質として、22の「優先取組物質」がリスト化され、平成10年度から、大気汚染防止法に基づき、地方公共団体において優先取組物質のモニタリングが本格的に実施されてきた。その後、平成22年10月「有害大気汚染物質に該当する可能性がある物質」として248物質、「優先取組物質」として23物質に見直され、現在に至っている¹⁾。

当県でも、平成9年10月にVOC9物質の測定を開始し、現在21物質のモニタリングを毎月実施している。未実施2物質のうちダイオキシン類は、ダイオキシン類対策特別措置法に基づき別途年2~4回のモニタリングを実施している。「六価クロム化合物」及び「クロム及び三価クロム化合物」については形態別分析方法が確立されていなかったことから「クロム及びその化合物」として測定している。

今回、測定を開始してから20年が経過したのを機に、県内における有害大気汚染物質濃度の経年変化を取りまとめたので報告する。

方法

1. 測定地点

測定地点は、平成10年度から現在に至るまで、3地点で行っており、一般環境地点として、一般大気測定天理局(以下、天理局)、固定発生源付近地点として、大和郡山市昭和浄水場(以下、郡山局)、沿道地点として、自動車排ガス測定樫原局(以下、樫原局)で実施してきた。いずれも奈良盆地内に位置している。図1に測定地点の位置図を示す。天理局は、河川の土手沿いに構えており、周辺は田畑が多く広がる地域である。郡山局は、約70企業が立ち並ぶ昭和工業団地内にあり、機械機器、金属製品製造業や食品製造業などが多く占める地域に属している。また北部0.3kmには西名阪自動車道があり、自動車排ガス局の要素も持ち合わせている。樫原局は、国道24号線沿いに立地し、併せて南0.8kmには大和高田バイパスがある。



図1 測定地点の位置図

表 1 測定項目および測定地点

	H9	H10	H11	H12	H13-H15	H16-H23	H24-H25	H26-H30	
VOCs類	アクリロニトリル								
	塩化ビニルモノマー								
	クロホルム								
	1,2-ジクロロメタン								
	ジクロロメタン	T,G,K	T,G,K	T,G,K	T,G,K	T,G,K	T,G,K	T,G,K	
	テトラクロロエチレン								
	トリクロロエチレン								
	1,3-ブタジエン								
	ベンゼン								
	トルエン							T,G,K	T,G,K
塩化メチル									
酸化エチレン				T	T,K	T,K	T,K	T,K	
重金属類	水銀及びその化合物		G	T	T	T,G	T,G	T,G,K	
	ニッケル化合物								
	ヒ素及びその化合物								
	ベリリウム及びその化合物		T	G	T	T	T,G	T,G	T,G,K
	マンガン及びその化合物								
クロム及びその化合物									
ALD類	アセトアルデヒド		T,G	T,K	T,K	T,K	T,K	T,K	
	ホルムアルデヒド								
	BaP		T,G	T,K	T,K	T,K	T,K	T,K	

T: 天理局, G: 郡山局, K: 橿原局

2. 評価期間、評価対象物質および測定方法

各局における年度別の測定物質について表 1 に示した。各物質の測定方法については、環境省による有害大気汚染物質測定方法マニュアルに則って測定を実施した²⁾。

今回、経年変化の評価期間として取り上げるのは、年間通して測定を実施した平成 10 年度から平成 30 年度の 21 年間とした。

揮発性有機化合物類 (以下、VOCs 類) は、まず 9 物質を平成 9 年度 10 月から、平成 22 年 10 月の物質の見直しにより、平成 24 年度からトルエンと塩化メチルの測定を追加して、キャニスター採取による GC/MS 法で実施している。酸化エチレンは、平成 12 年 10 月から測定を開始し、現在天理局および橿原局にて、誘導体生成捕集による GC/MS 法で実施している。

重金属類の中で、水銀及びその化合物は、平成 11 年 10 月から実施し、現在は 3 局で金アマルガム捕集による加熱気化冷原子吸光法により実施している。またその他の金属類 5 物質に関しては、平成 10 年から実施し、現在は石英ろ紙捕集による誘導結合プラズマ質量分析法で 3 局にて測定を行っている。

アルデヒド類 (以下、ALD 類) 2 物質は、平成 11 年 10 月から実施し、現在は天理局と橿原局にて、誘導体生成捕集による HPLC 法にて実施をしている。

多環芳香族炭化水素のベンゾ [a] ピレン (以下、BaP) は、平成 11 年度から実施し、現在は天理局および橿原局にて、石英ろ紙捕集による HPLC 法で実施している。

測定開始早期のデータは、年度を通した結果でないことも多く、また、測定局も現在の局と異なっている場合も多くみられ、測定データの安定性という面から除外する事とした。これらの理由から、VOCs 類は平成 10 年度、ALD 類と BaP は平成 12 年度、酸化エチレンは平成 14 年度、重金属類は平成 16 年度からの評価対象とした。

3. PRTR 法届出及び届出外排出量との比較

有害大気汚染物質 21 物質について、「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律」(以下、PRTR 法) に基づく平成 30 年度の全国及び奈良県における届出排出量、届出外排出量 (推計値) (基準年である平成 16 年度の値との増減を含む) を用い、測定値の推移との比較を行った。

結果と考察

1. 経年変化

21 物質について、年間平均値による経年変化のグラフを図 2 に示す。環境基準値、指針値を現時点超過している物質はない。測定開始時の平成 10 年度には

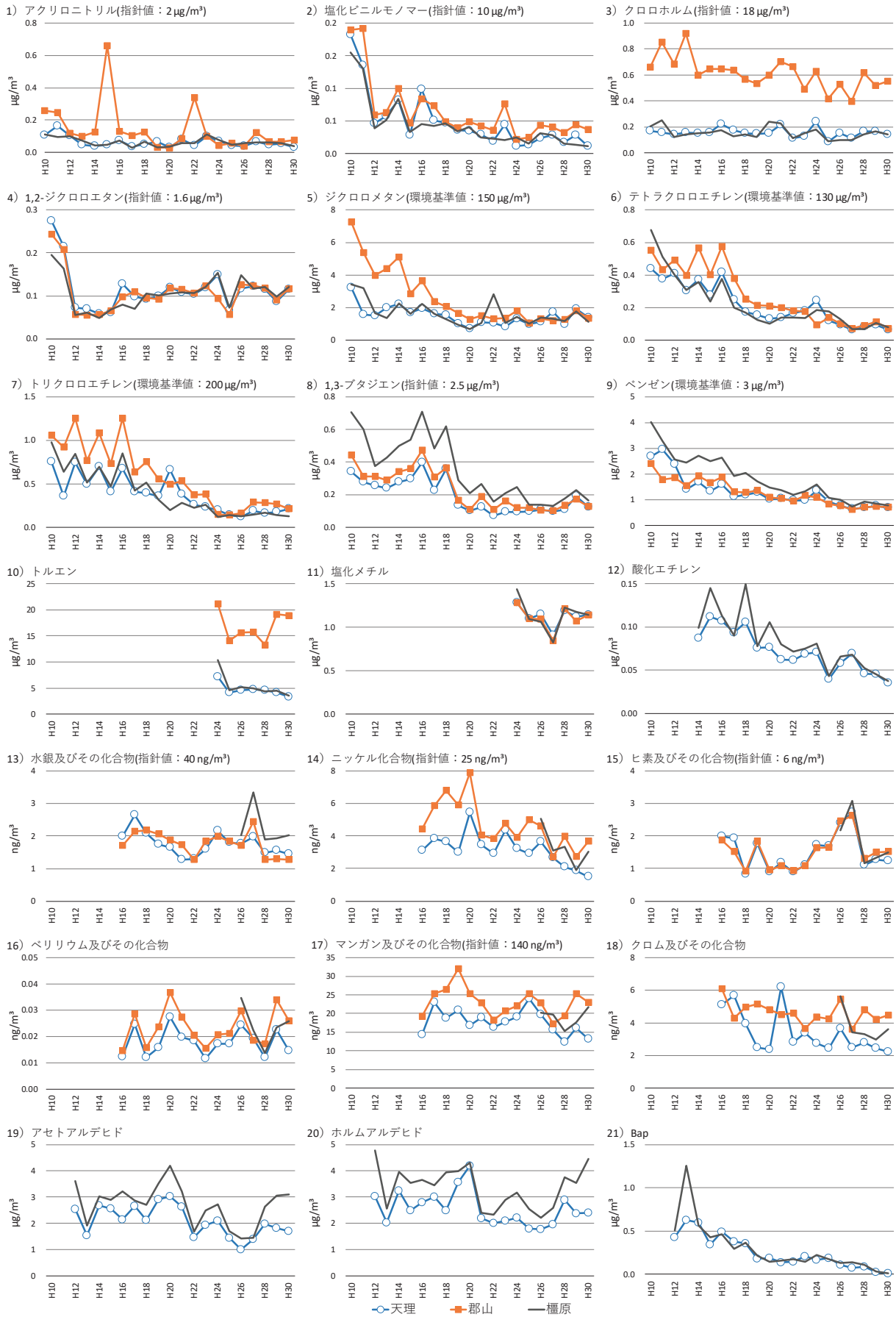


図2 調査物質の年間平均値での経年変化

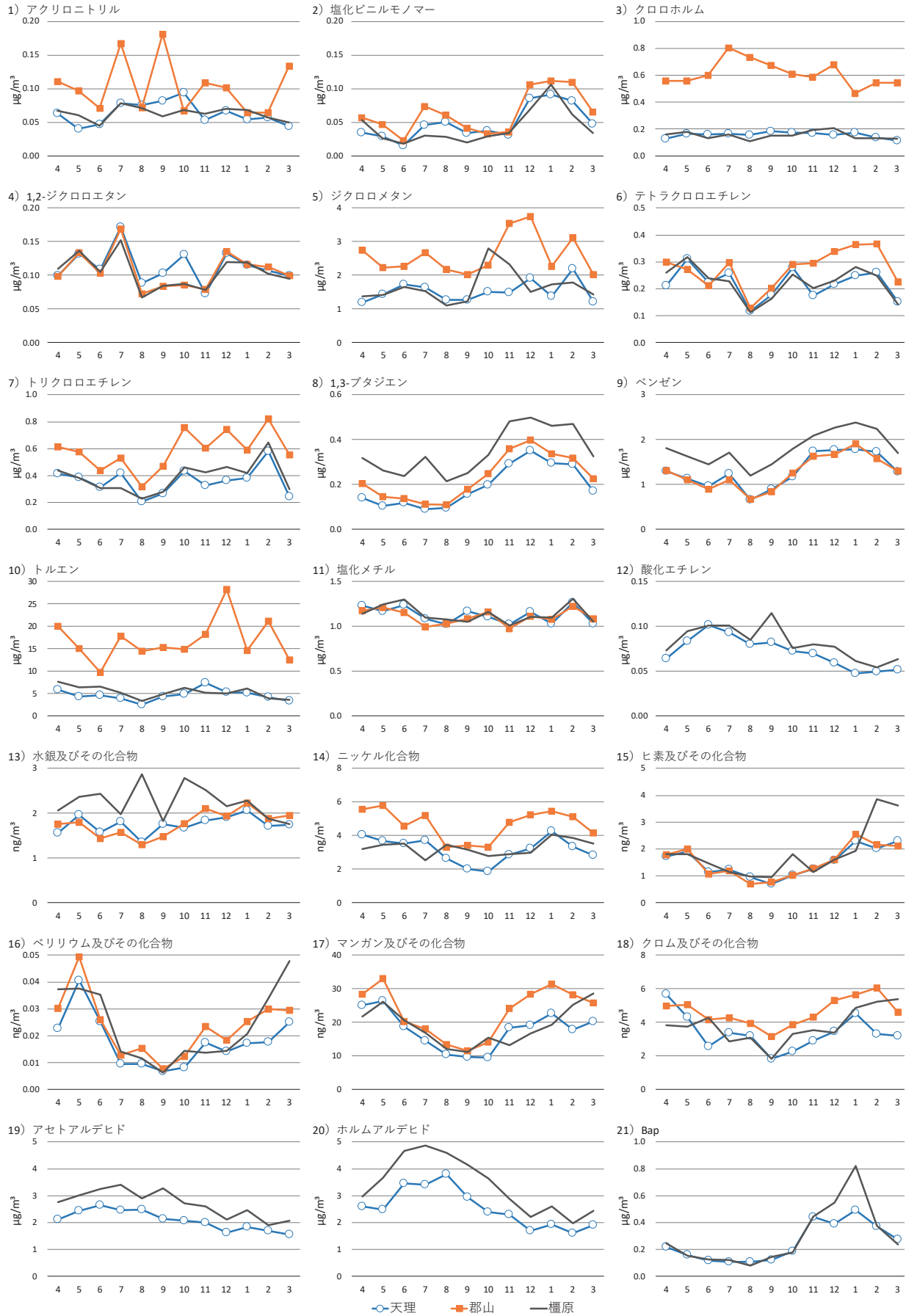


図3 調査物質の月別平均による濃度変化

ベンゼンが環境基準を超過していたが、現在は環境基準値未満に改善されている。

全体の経年傾向としては、VOCs 類及び BaP が減少傾向、重金属類及び ALD 類は横ばい傾向である。具体的には、県内全体で経年的に減少している物質として、2) 塩化ビニルモノマー、5) ジクロロメタン、6) テトラクロロエチレン、7) トリクロロエチレン、8) 1,3-ブタジエン、9) ベンゼン、12) 酸化エチレン、21) BaP であり、平成 12 年頃に VOCs 等は大幅に減少、平成 18 年度から 22 年頃までは徐々に濃度減少をたどり、その後は低い水準で濃度推移している。VOCs に関しては、平成 16 年に中央環境審議会から、法規制と自主的取組の適切な組み合わせによる VOCs 排出抑制対策を行い、VOCs 排出量を平成 22 年度までに平成 12 年度比で 3 割程度削減することが目標とされ、平成 18 年 4 月から規制を開始したことによる減少、また自動車からの排出物質に関しては、ディーゼル車に対する規制などの成果であると考えられた⁷⁾。

郡山局 (固定発生源付近) で濃度が高い水準で現れた物質として、1) アクリロニトリル、3) クロロホルム、5) ジクロロメタン、6) テトラクロロエチレン、7) トリクロロエチレン、10) トルエン、14) ニッケル化合物、16) ベリリウム及びその化合物、17) マンガン及びその化合物、18) クロム及びその化合物であった。特に 3) クロロホルムは、如実に他地点と異なった傾向を見せており、これは測定地点が浄水場である事が関係していると推察する。水の塩素消毒処理の過程でのフミン質などの有機物と消毒に用いられる塩素剤に含まれるハロゲン元素が反応し、トリハロメタンが生成され、生成されたトリハロメタンの約 8 割がクロロホルムを占めるとされている⁸⁾。そのため、郡山局の高濃度値は塩素消毒を用いる事により揮発した間接的汚染が考えられた。

橿原局 (沿道) で濃度が高い水準で現れた物質として、8) 1,3-ブタジエン、9) ベンゼン、19) アセトアルデヒド、20) ホルムアルデヒドであった。これら物質については、「大気汚染防止法第 22 条の規定に基づく大気の汚染状況の常時監視に関する事務の処理基準」で自動車からの排出が予想されるとされ、自動車影響によるものであると考えられた⁹⁾。

重金属類は、経年の傾向は見られず、18) クロム及びその化合物以外の 5 物質については郡山局が若干高い傾向を見せているものの、地点間で傾向は似通っ

ていた。特に、15) ヒ素及びその化合物に関しては地域間濃度差がほぼ見られなかった。ヒ素に関しては、近年でも高濃度になる事例が確認されており、中国などの大陸からの越境汚染や瀬戸内海周辺の近隣工場の石炭燃焼による汚染などが流入している可能性も過去の研究で報告されているため、奈良盆地内での濃度差はないと考えられた⁵⁾⁹⁾。18) クロム及びその化合物は、天理局と郡山局で異なった傾向を示していること、また郡山局では同濃度で推移していることから、郡山局付近の固定発生源による経常的な汚染がある可能性が示唆された。

11) 塩化メチルは、測定年数が短い、地域差がないと考えられた。

2. 月別傾向

次に評価物質の月間平均による濃度変化について、図 3 に示す。月別の傾向を検証するため、各年月の値として、年平均値に対して、一桁以上高い値を示した測定値については解析から除外した。

季節による特徴的な変動が見られた物質としては、秋から冬にかけて濃度上昇した 2) 塩化ビニルモノマー、8) 1,3-ブタジエン、9) ベンゼン、21) BaP などがあり、13) 水銀及びその化合物以外の重金属類に関しては、夏期は低濃度となる傾向を示した。

一方、ALD 類 2 物質は春期から夏期に濃度上昇する傾向を示し、上述した物質群とは逆の傾向を示した。ALD 類は、オキシダント濃度と同様の傾向を示すことが分かっており、光化学反応がアルデヒド類の生成・消滅に大きく関与することから、夏期に濃度上昇するオキシダントと同様の変化を示したと推察された⁷⁾。

3. PRTR 法届出及び届出外排出量との比較

有害大気汚染物質 21 物質についての PRTR 法での平成 30 年度の a) 奈良県及び b) 全国の届出排出量、届出外排出量 (推計値) を表 2 に示した⁹⁾。また、平成 16 年度を 100%としたときの平成 20 年度、25 年度、30 年度の移動量の割合を合わせて表 2 に示した。BaP は、PRTR 法の対象物質でないので評価の対象外とし、ニッケル化合物は、「ニッケル」と「ニッケル化合物」で、クロム及びその化合物は、「クロム及び三価クロム化合物」と「六価クロム化合物」で評価した。

奈良県においては、マンガン及びその化合物以外の届出対象 21 物質は、大気へ排出量が大半を占めていた。また、平成 30 年度結果において、全国における奈良県の移動量の割合は、テトラクロロエチレンを除いて、

表2 有害大気汚染物質のPRTR法での移動量(平成30年度)および移動量の経年増減

a) 奈良県

物質名	物質番号	届出排出量 (kg/年)			届出外排出量(推計値) (kg/年)			県内移動量 合計(kg/年)	増減(H16基準年)			
		大気	水域 土壌 埋立	小計	事業者	家庭	移動体		小計	H20	H25	H30
1 アクリロニトリル	9	0	0	0	0	107	-	107	83%	66%	38%	
2 塩化ビニルモノマー	94	0	0	0	0	-	-	0	-	-	-	
3 クロロホルム	127	490	0	490	663	1167	-	1830	2320	80%	92%	90%
4 1, 2-ジクロロエタン	157	0	2	2	35	-	-	35	37	135%	225%	185%
5 ジクロロメタン	186	41480	2	41482	16274	-	-	16274	57756	92%	53%	41%
6 テトラクロロエチレン	262	22200	2	22202	1079	-	-	1079	23280	85%	34%	227%
7 トリクロロエチレン	281	29030	3	29033	2716	-	-	2716	31749	47%	131%	74%
8 1, 3-ブタジエン	351	0	0	0	476	404	10394	11274	11274	76%	33%	23%
9 ベンゼン	400	1514	2	1515	13211	330	67464	81006	82521	92%	60%	51%
10 トルエン	300	233276	0	233276	143128	9812	310243	463183	696459	81%	46%	45%
11 塩化メチル	128	0	0	0	未推計	-	-	-	-	-	-	-
12 酸化エチレン	56	0	0	0	168	-	-	168	168	46%	13%	4%
13 水銀及びその化合物	237	0	1	1	18	-	-	18	19	10%	20%	190%
14 ニッケル	308	0	0	0	0	-	-	0	0	31%	0%	0%
14 ニッケル化合物	309	0	0	0	530	-	-	530	530	98%	41%	43%
15 砒素及びその無機化合物	332	0	9	9	3	-	-	3	12	82%	91%	109%
16 ベリリウム及びその化合物	394	0	0	0	未推計	-	-	-	-	-	-	-
17 マンガン及びその化合物	412	200	4557	4757	5	-	-	5	4762	87%	76%	94%
18 クロム及び三価クロム化合物	87	0	80	80	38	-	-	38	118	30%	7%	10%
18 六価クロム化合物	88	0	80	80	67	-	-	67	147	19%	7%	6%
20 ホルムアルデヒド	411	3122	0	3122	2896	498	39272	42666	45788	70%	37%	31%
21 アセトアルデヒド	12	0	0	0	450	1899	15201	17550	17550	70%	37%	28%

b) 全国

物質名	物質番号	届出排出量 (kg/年)			届出外排出量(推計値) (kg/年)			全国移動量 合計(kg/年)	増減(H16基準年)			
		大気	水域 土壌 埋立	小計	事業者	家庭	移動体		小計	H20	H25	H30
1 アクリロニトリル	9	114335	4872	119207	21	12503	-	12525	131732	50%	38%	26%
2 塩化ビニルモノマー	94	156693	4628	161321	1382	-	-	1382	162703	40%	26%	27%
3 クロロホルム	127	232599	32100	264699	43097	45659	-	88755	353454	53%	43%	27%
4 1, 2-ジクロロエタン	157	181312	2133	183444	2725	-	-	2725	186169	47%	34%	31%
5 ジクロロメタン	186	9747937	4543	9752480	1980460	-	-	1980460	11732940	70%	49%	47%
6 テトラクロロエチレン	262	622989	1001	623990	142523	-	-	142523	766513	64%	41%	29%
7 トリクロロエチレン	281	2504856	1417	2506274	484875	-	-	484875	2991149	74%	59%	50%
8 1, 3-ブタジエン	351	61872	1811	63683	32865	47253	1001841	1081959	1145642	65%	31%	22%
9 ベンゼン	400	614329	6642	620971	908886	38598	5666805	6614290	7235261	71%	50%	43%
10 トルエン	300	49754396	36747	49791143	19802334	979380	22141309	42923023	92714166	74%	50%	49%
11 塩化メチル	128	977973	4602	982575	0	-	-	0	982575	46%	44%	28%
12 酸化エチレン	56	132562	4550	137111	60041	-	-	60041	197153	92%	54%	45%
13 水銀及びその化合物	237	96	466	562	3057	-	-	3057	3619	33%	30%	60%
14 ニッケル	308	1887	690	2577	285	-	-	285	2862	28%	1%	1%
14 ニッケル化合物	309	2030	124039	126069	81550	-	-	81550	207619	55%	47%	44%
15 砒素及びその無機化合物	332	1480	1051485	1052964	1304	-	-	1304	1054269	14%	16%	17%
16 ベリリウム及びその化合物	394	0	2	2	868	-	-	868	869	148%	112%	121%
17 マンガン及びその化合物	412	48428	1532938	1581366	4051	-	-	4051	1585417	75%	35%	18%
18 クロム及び三価クロム化合物	87	4422	146054	150477	6539	-	-	6539	157015	14%	24%	24%
18 六価クロム化合物	88	186	11675	11861	6380	-	-	6381	18241	22%	7%	7%
20 ホルムアルデヒド	411	248916	16594	265510	444058	58146	5022541	5524746	5790255	65%	39%	37%
21 アセトアルデヒド	12	44762	14636	59398	62209	221814	1785271	2069294	2128692	65%	41%	32%

0.02%~1.14%となっていた(テトラクロロエチレンは、3.0%)。奈良県での移動量が多い物質は、順にトルエン、ベンゼン、ジクロロメタン、ホルムアルデヒド、トリクロロエチレンであった。これは、全国における移動量の上位物質と一致していた。平成16年時からの増減に関しても、全国では平成16年度に比べて平成30年度では多くの物質で5割から3割程度まで削減されており、奈良県では例えばジクロロメタン、1,3-ブタジエン、ベンゼン、トルエン、酸化エチレンなどVOCs類及びALD類を中心に全国レベルと同程度の減少傾向を示していた。以上から、各有害大気汚染物質

の全国的な移動量の減少が有害大気汚染物質測定における測定値の経年減少の一端であると考えられた。減少していた物質の多くは、自動車影響で排出される物質であり、国における自動車排ガス抑制施策が効果を奏している可能性がある。

一方、県内移動量で減少が見られなかった物質(クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、テトラクロロエチレン、重金属類)については顕著な減少傾向は確認できなかった。1,2-ジクロロエタン及び重金属類は、いずれも他の物質より移動量が少ないことから、評価が正確とは言えないが、クロロホルムは、国の減少幅に対

して県では乏しく、近年でも減少幅は少ない。これは、奈良県でのクロロホルムの汚染に関しては、家庭からの水道等を介した排出が大半を占めており、減少させる事は難しい為であると考えられた。

テトラクロロエチレンは、平成 30 年度に県内移動量が急増した。これは県内金属製品製造業を営む事業者による届出によるもので、平成 28 年度よりトリクロロエチレンからの転用を行った結果であった⁸⁾。しかし、事業所の所在地は県南部に属しており、測定地点から大きく離れていることから、測定値には影響は認められなかった。今後も PRTR 法の結果と比較し、有害大気汚染物質の測定結果を評価することは有益であると考えられた。

まとめ

県内で平成 10 年度より実施している有害大気汚染物質測定結果について、平成 10～30 年度結果を取りまとめ、年間変動、月間変動について解析を行った。その結果、重金属類以外の物質において、概ね減少傾向を示していた。これは、PRTR 法の移動量の減少傾向とも一致しており、有害大気汚染物質の排出削減対策として、自動車排ガスや工場などの発生源の対策が講じられるなど、官民共同での対策の結果であると考えられた。

今後も調査を続けていく上で、継続した評価を続けていく必要がある。

参考文献

- 1) 環境省水・大気環境局大気環境課；有害大気汚染物質対策，
<https://www.env.go.jp/air/osen/law/yugai.html>
- 2) 環境省水・大気環境局大気環境課；有害大気汚染物質測定方法マニュアル(2019)，
<http://www.env.go.jp/air/osen/manual2/>
- 3) 中西準子，他；詳細リスク評価書シリーズ 15 クロロホルム，29 (2008)
- 4) 環境省水・大気環境局大気環境課；大気汚染防止法第 22 条の規定に基づく大気汚染状況の常時監視に関する事務の処理基準(2001)
- 5) 浅野勝佳，他；奈良県景観・環境総合センター年報，3，35-39 (2015)
- 6) 山本真緒，他；大気環境学会年会講演要旨集，57，353 (2016)
- 7) 中西準子，他；詳細リスク評価書シリーズ 11 アセトアルデヒド，73-75 (2008)
- 8) 環境省環境保健部環境安全課；PRTR インフォメーション広場，
<http://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/index.html>

奈良県内河川中の大腸菌群数検査における分析法比較

浦西 克維・山下 浩一

A validation Study of the Three Different Coliform Tests in the Rivers, Nara Prefecture

URANISHI Katsushige・YAMASHITA Hirokazu

緒言

公共用河川における大腸菌群数は、生活環境項目として、昭和45年5月に追加され、水域の利用目的(類型)に応じた環境基準値が設定されている。大腸菌群数はそれ自体が人の健康を阻害するものとして扱われるわけではないが、水域における糞便汚染は公衆衛生上の問題であり、その指標として、温血動物の腸管内に常在する通性嫌気性菌の中で最も数の多い大腸菌が選択された。しかし、環境基準設定当時の培養技術では、大腸菌のみを検出する技術はなく、大腸菌が有する5つの生化学性状の全て備える細菌群(大腸菌群)をもって大腸菌の代わりとされた(環境省,2018)¹⁾。また、大腸菌群数を分析する方法は、「最確数による定量法」と定められ、BGLB 醗酵管を用いて試験を行う旨記載(環境庁告示第59号 別表2 生活環境の保全に関する環境基準(河川)備考4,以下、「告示法」と記載)されている。

しかし、大腸菌群とされる細菌類は糞便と直接関係のない自然環境に存在する細菌類も含まれ、水質を大腸菌群数で評価した場合、糞便汚染を的確に捉えられない問題を抱えている。一方、環境基準設定以後の分析技術の進歩により、酵素基質培地のような目的菌のコロニーを着色で鑑別する特異性の高い培地が開発され、大腸菌単体の菌数を分析することも可能となっている。そのため、他法令では基準となる項目を大腸菌群から大腸菌への改定される流れがある。例えば、水道水質基準では平成16年4月の水道法の水質基準改定の際に、大腸菌群から大腸菌が新たに糞便汚染の指標となった。また、遊泳プールの衛生基準も平成19年5月に大腸菌群数から大腸菌の有無に改定された。なお、現行の環境基準は大腸菌群数、水道水質基準は大腸菌、水浴場の水質判定基準は糞便性大腸菌群数であり、それぞれの基準項目は統一されていない。

そこで、本報では、奈良県内河川における大腸菌群

数および大腸菌数について、告示法を含む複数の方法を用いて測定し、分析方法や使用する培地による結果を比較したので報告する。

方法

2019年奈良県内河川において滅菌瓶に採水された33検体の試料を用いた。試料中の大腸菌群数の分析には、表に示す3種の方法を用いた。大腸菌は、コリラート-18培地を用いた Quanti-Tray 法(以下、QT法)とクロモアガーECC培地を用いた疎水性格子付きメンブランフィルター法(以下、HGMF法)の2種類の方法により測定した。以降にQT法、HGMF法の概要について記載する。コリラート-18(アイデックス ラボラトリーズ株式会社(以下、アイデックス社)製)は、上水の告示法である MMO-MUG 培地(製品名:コリラート)の改良型であり、培養時間が24時間から18時間まで短縮されている。大腸菌群の検出には、大腸菌群が特異的に保有する酵素(β -ガラクトシダーゼ)の分解活性により、酵素基質である ONPG(o-ニトロフェニル- β -D-ガラクトピラノシド)が黄変するのを利用する。同培地には、大腸菌を検出する酵素基質として MUG(4-メチルウムベリフェリル- β -D-グルクロニド)も含まれ、大腸菌が特異的に持っている酵素(β -グルクロニターゼ)により MUG を分解させて生じる物質を紫外線照射することにより、蛍光で大腸菌の有無を確認することができる。同培地と Quanti-Tray/2000 というアイデックス社製の菌計数専用トレイ(計数範囲1~2419.6 MPN)を用いることにより大腸菌群と大腸菌を同時に計数した。

HGMF法は、環境省の水浴場水質等調査における疎水性格子付きメンブランフィルター法(HGMF法)を参考に、クロモアガーECC培地(クロモアガー社製)と疎水性格子付メンブランフィルター(HGMF)を用いて測定した(計数範囲1~104 MPN)。同培地は、ア

表 大腸菌群数および大腸菌数の分析法

測定項目	最確数法	培地	培養時間
大腸菌群	告示法	BGLB培地	48時間
	QT法	改良型 MMO-MUG培地 (コリラート-18)	18時間
	HGMF法	クロモアガー-ECC	24時間
大腸菌	QT法	改良型 MMO-MUG培地 (コリラート-18)	18時間
	HGMF法	クロモアガー-ECC	24時間

イデックス社製と組成は異なるが、検出原理は同じく、培地に酵素基質が含まれており、大腸菌群・大腸菌が各々特異的に保有する酵素により基質が分解され、大腸菌のコロニーは青色に、大腸菌群は赤色に発色し菌種を明瞭に区別できる。HGMFは正方形のフィルター内に縦40×横40の疎水性格子による区画が施され、青のみの区画を大腸菌、赤色および青色区画の総数を大腸菌群として、次式により計測した。

$$a = \left[N \ln \left(\frac{N}{N-x} \right) \right] \times \frac{100}{V} \quad (\text{式1})$$

ここで、a：試料100 mL中の大腸菌(群)数、N：区画の総数(1600)、x：発色した区画の総数、V：ろ過に用いた試料の量(mL)を表す。

なお、各分析法の培養温度は36±1°C、培養時間は、告示法は48時間、QT法は18時間、HGMF法は24時間培養により判定した。

結果と考察

1. 大腸菌群数

告示法に対して、他の2法(QT法とHGMF法)の結果を比較したものを図1に示す。告示法で計測した大腸菌群数は大半が1,000~100,000 MPN/100mLの範囲に分布していた。また、告示法とQT法およびHGMF法で計測した大腸菌群数はファクター2(告示法の1/2~2倍)の範囲内に収まっており、両者の相関関係も良好であった。HGMF法に対するQT法による大腸菌群数を比較にしたものを図2に示す。両法の結果は、ファクター2(HGMF法の1/2~2倍)の範囲内に収まっており、相関関係も良好であったが、総じて、QT法による大腸菌群数の方が高く計測される傾向を示した。QT法は、培地の違いに加え、メンブランフィルターによる吸引ろ過等の行程は存在しないため、水中に存在する細菌へのストレスが比較的低い状態で、培養へと移行することができる。これらの手法の違いが計測数の違いに関係している可能性が考えられた。

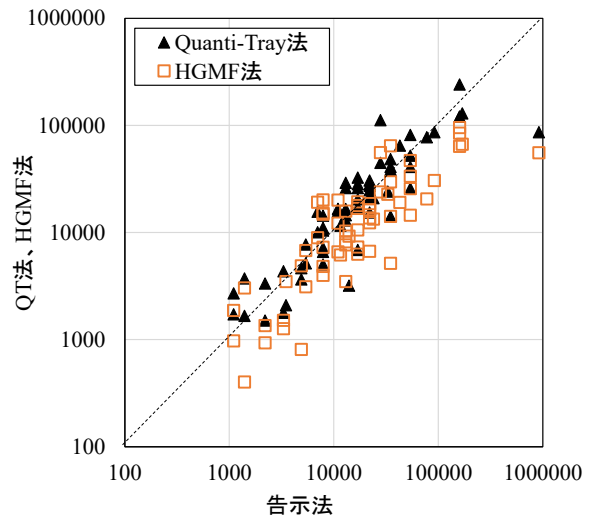


図1 3種の方法による大腸菌群数の比較

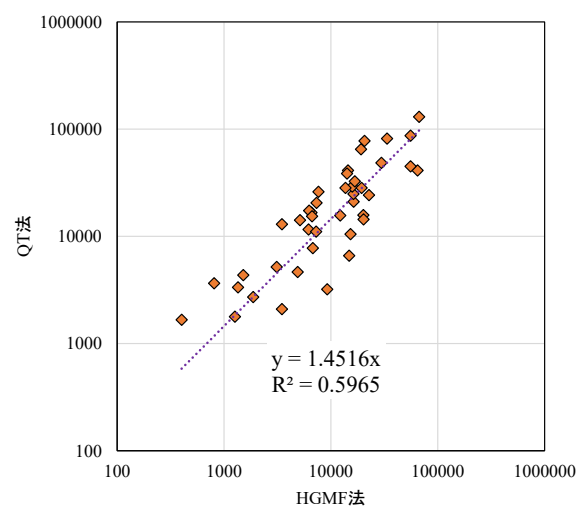


図2 HGMF法、QT法による大腸菌群数の比較

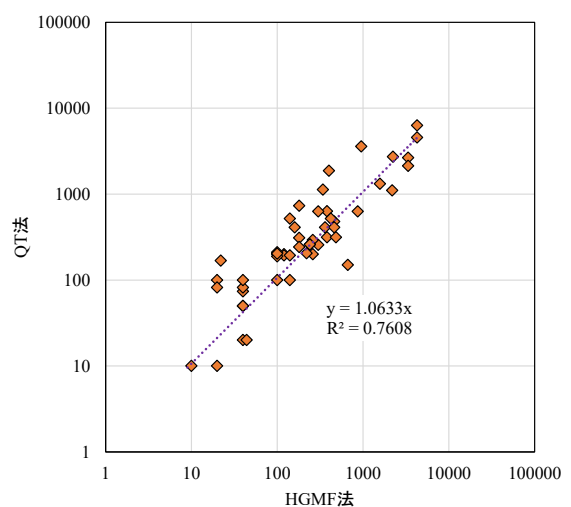


図3 HGMF法とQT法による大腸菌数の比較

2. 大腸菌数

HGMF 法と QT 法による大腸菌数を比較したものを図 3 に示す。両法の結果は、大腸菌群数と同様にファクター2 (HGMF 法に対し、QT 法の結果が (1/2~2 倍) の範囲内に収まっており、相関関係も良好であった。また、QT 法による大腸菌数の方が HGMF 法よりも、やや高く計測される傾向にあった。大腸菌群数に占める大腸菌数の割合は、HGMF 法で 0.3~22%、QT 法で 0.2~10%とやや分布に乖離はあるが、大腸菌数の検出割合が高くなる検体については、共通していた。

まとめ

奈良県内河川における大腸菌群数および大腸菌数について、告示法を含む 3 種の最確数法を用いて測定し、結果を比較した。3 種の方法による結果はファクター2 の範囲内に収まっており、一定の整合性が見られた。告示法は細菌の培養に 48 時間を必要とする。また、告示法は前日までに培地調製等をしておく必要があるが、作業コストがより多く発生する。万が一、再検査となった場合、検体の再採取を含めて検討する必要があるが、QT 法および HGMF 法を代替法として利用すれば、検体の再採取の回避が可能である。さらに、

これら 2 法は 18 時間培養もしくは 24 時間培養で判定が可能で迅速性にも優れている。一方、検査にあたり、3 法共通して検知可能な範囲内に試料を適宜希釈することが必要であり、QT 法および HGMF 法は検査にかかる試薬、消耗品等のコストが高いという短所がある。特に、大腸菌群数の予測がつかない検体に対して、希釈倍率を変えた複数の試験を行う場合、これら 2 法については作業コストを含めた判断が必要となることには留意が必要である。

謝 辞

QT 専用シーラー (Model A-01) を用いた大腸菌および大腸菌群数の計測については、アイデックスラボトリーズ株式会社水診断事業部様に多大なご協力をいただきました。

参考文献

- 1) 環境省: 中央環境審議会水環境部会 生活環境項目環境基準専門委員会(第 9 回) 資料 (2018), https://www.env.go.jp/council/09water/post_102.html (2020. 4. 30 アクセス)

河川水中に混入した土砂等に伴う水質試験結果への影響評価(第2報)

浦西 克維・浦西 洋輔・山下 浩一

Influence of Mixed Soil Particles in the River Water Samples on Metal Ion Concentrations

URANISHI Katsushige・URANISHI Yosuke and YAMASHITA Hirokazu

緒言

河川等の採水については、採水日前において比較的晴天が続き水質が安定している日を選び¹⁾、底質の巻き上げ等による汚染を防止しつつ²⁾、実施する必要がある。しかし、突発的に発生する事故等における採水では、現場の状況を的確に把握し原因追求と対応策を検討する必要があるため、採水日の自由度が減少する。そのため、採水日当日の気象条件、水量等によっては、採水された水への土砂等異物混入が避けられない状況も考えられる。土砂には自然的な要因(土壌物質に吸着、鉱物に固有する等)で重金属類(鉛、ヒ素、カドミウム、六価クロム、セレン、水銀、フッ素、ホウ素等)が含まれる場合があり³⁾、これら異物が混入した状態で水質試験を実施した場合、水質汚濁の要因を誤って判断してしまう可能性がある。前報⁴⁾では浮遊物質量(SS)が概ね20 mg/L以上の懸濁した試料を対象に、ろ過によりこれら微量の土砂等の除去方法及び除去した場合の水質試験結果への影響について検討した。今年度は平常時に採水された懸濁状態にない河川水試料を中心に、ろ過手法と水質検査結果との関係を調査した。分析は、日本工業規格工場排水試験方法(JIS K0102)に定めるICP質量分析法による金属成分の試験方法に準じて実施した。なお、フッ素、ホウ素、ヒ素は本来、重金属には該当しないが、我が国の土壤汚染対策法第2条第1項に定める第二種特定有害物質(重金属等)として定められている⁵⁾ため、ここでは重金属等として取り扱う。

方法

1. 試料

2019年度内に採取した県内の河川水を試料として用いた。

2. 試薬等

標準溶液の調製には、混合標準原液としてSPEX社製XSTC-622(10 µg/mL, 5%硝酸ベース)を用いた。内標準溶液は富士フィルム和光純薬(株)製のビスマス標準液(100 µg/mL, 5%硝酸ベース)、ベリリウム標準液(100 µg/mL, 5%硝酸ベース)、イットリウム標準液(1000 µg/mL, 5%硝酸ベース)を用いた。試料の希釈等には小松電子(株)製のうびゅあKE-0147Aで作製した超純水を用いた。硝酸は富士フィルム和光純薬(株)製の硝酸(1.42)を用いた。

試料のろ過には東洋濾紙(株)製の親水性PTFEタイプのメンブランフィルターDISMIC-13HP(0.20 µm)および、溶解性鉄、溶解性マンガン分析(JIS K 0102)で用いられる5Cろ紙(公称孔径1 µm)を用いた。

3. 試料の調製

試料は富山化学工業(株)製2Lペットボトルに採水した。採水した試料の一部は、異物の除去効果を確認するためメンブランフィルターもしくは5Cろ紙でろ過し、ろ過済試料として使用した。ろ過していない試料を含むすべての試料と空試験用の超純水各50 mLは、SCP SCIENCE社製ポリプロピレン製デジチューブに採取し、硝酸濃度が1.0%(500 µL)となるように硝酸を加えた。これらを密栓後、100°C沸騰水浴中で20分間酸分解した。放冷後、全ての試料をメンブランフィルターでろ過し、試験溶液とした。なお、試料の採水、採取、ろ過の各工程において、試料保管容器、フィルター類等に残留する重金属等の汚染防止を図るため、試料による共洗いを実施した。

4. 試料の測定

Agilent Technology社製ICP-MS 7900を用い、内部標準法により定量した。内標準物質(IS)は、各測定対象元素と質量数の近いものを選定した。装置の測定条件、測定項目をそれぞれ表1, 2に示す。懸濁した検体中の重金属類の分析は15成分(ホウ素(B), アルミニ

ウム (Al), クロム (Cr), 鉄 (Fe), マンガン (Mn), ニッケル (Ni), 銅 (Cu), 亜鉛 (Zn), ヒ素 (As), セレン (Se), モリブデン (Mo), カドミウム (Cd), アンチモン (Sb), 鉛 (Pb), ウラン (U)) を対象とした。検量線はブランク (0), 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10, 50, 100, 500, 1000 ng/mL の範囲で作製し, 検出濃度を含む 3 点以上の検量線濃度を定量に用いた。解析対象とした項目の定量下限値を表 3 に示す。

表 1 ICP-MS の測定条件

ICP-MS	Agilent ICP-MS 7900
RF Power	1550 W
Sampling depth	8 mm
Carrier gas flow	1.05 L/min
Time for integral calculus	1 sec
Integral calculus	3 times

表 2 測定項目

element	B	Al	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn
mass number	11	27	52	55	56	60	63	66
IS ^{**}	Be	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
mass number (IS)	9	89	89	89	89	89	89	89
collision gas	He	He	He	He	He	He	He	He

element	As	Se	Mo	Cd	Sb	Pb	U
mass number	75	78	95	111	121	208	238
IS ^{**}	Y	Y	Y	Y	Y	Bi	Bi
mass number (IS)	89	89	89	89	89	209	209
collision gas	H ₂	H ₂	He	He	He	He	He

^{**}IS: Internal Standard

結果と考察

複数の重金属成分が検出した河川水試料 (表 3 に示す 10 試料) を解析対象とした。SS が最も高かったのは, 河川 7 の 26 mg/L で, 次いで河川 10 の 14 mg/L であった。これらの河川水中の Al, Mn, Fe 濃度は他の河川水と比較して高い値を推移しており, 浮遊物質中に高濃度の金属成分が含有している可能性が示唆された。以降では, 5C ろ紙およびメンブランフィルターのろ過による異物除去効果について考察する。

1. 5C ろ紙による異物除去効果

表 4 (a) に 5C ろ紙でろ過した場合の金属成分の残存比 (河川水ろ過後の検出濃度/河川水中の検出濃度) を示す。一部の項目についてはろ過により定量下限値未満となったため, 残存比は [定量下限値/検出濃度] 未満として表中に記載した。B, Sb, U については, いずれの河川水においてもろ過の有無による濃度変化は確認できなかった (残存比 \approx 1.0)。一方, Al, Mn, Fe については, 当該成分を検出した全試料でろ過後の濃度が大きく減少 (各成分の平均残存比は 0.4~0.55) した。また, Cu, Zn については SS が比較的高い河川

(河川 7 : SS = 26 mg/L, 河川 10 : SS = 14 mg/L) において残存比が大きく減少する結果となった。As については数%程度, 濃度減少する傾向を示したものの, Al, Mn, Fe のように大きく残存比は変動しなかった。

2. メンブランフィルターによる異物除去効果

表 4 (b) にメンブランフィルターでろ過した場合の金属成分の残存比を示す。B, Sb, U については, 5C ろ紙の場合と同様, いずれの河川水においてもろ過の有無による濃度変化は確認できなかったが, 5C ろ紙の場合と異なり, それ以外の全ての成分について残存比の減少が確認された。以下では個別成分の結果について述べる。Al, Fe については, 5C ろ紙の場合よりも残存比は大きく減少 (平均残存比は, Al で 0.40 から 0.28, Fe で 0.55 から 0.22 に減少) した。Mn についても定量下限値以上を検出した河川 5, 河川 9 では 5C ろ紙以上に残存比が減少していることが確認された。Cu, Zn については 5C ろ紙の場合と異なり, SS が比較的高い河川 (河川 7, 10) 以外でも残存比が大きく減少する結果を示した。As も同様に多くの河川において残存比が 10%以上減少する結果を示した。前報⁴⁾においても, 概ね SS が上昇するに伴い, ろ過による金属成分の残存率が減少することが確認されており, SS の数値は異なるものの本結果も概ね整合していることが確認された。

まとめ

平常時に採水した河川水試料を対象に, ろ過操作が重金属類濃度に与える影響を評価した。重金属類 15 成分を対象にろ過の有無による濃度変化を比較したところ, 下記について明らかにした。

- ① 河川水試料 10 検体を対象に, ろ過手法別に異物除去効果の比較をおこなったところ, 5C ろ紙よりも, メンブランフィルターによるろ過の異物除去効果が大きかった。
- ② 特に Al, Mn, Fe はろ過による残存比の変動が大きく, メンブランフィルターによるろ過では残存比の平均値で 0.22 程度まで低下した。
- ③ 前報⁴⁾の結果と同様, 概ね SS が上昇するに伴い, ろ過による残存比が小さくなる傾向がみられた。

本報においては, 混入した異物の特定には至っていないが, ろ過による異物除去が検査結果に少なからず影響を与えることが明らかとなった。特に, As, Cd, Pb は人の健康の保護に関する環境基準が設定されている物質であり, 環境モニタリングにおいて数値に著しい変動がないか注意深く監視しておく必要

表3 河川水から検出された重金属類 (単位: ng/mL, 検出された項目のみ記載)

	SS (mg/L)	11 B [He]	27 Al [He]	55 Mn [He]	56 Fe [He]	63 Cu [He]	66 Zn [He]	75 As [H ₂]	121 Sb [He]	238 U [He]
河川1	1未満	52	8.0	-	-	-	-	0.5	-	-
河川2	2	24	19	19	65	2.5	3.2	0.6	-	-
河川3	1未満	37	7.9	-	13	1.1	-	0.3	-	-
河川4	3	-	22	26	94	-	-	0.1	-	-
河川5	4	21	35	71	400	3.6	3.0	0.6	-	-
河川6	7	63	48	65	330	4.0	4.7	1.2	-	-
河川7	26	40	180	150	410	8.5	31	1.3	1.1	-
河川8	8	110	89	54	170	3.6	5.7	1.6	-	0.20
河川9	3	45	24	80	180	3.7	8.8	0.8	-	-
河川10	14	210	100	100	540	4.8	17	1.1	12	-
定量下限値	1	10	0.1	10	10	1.0	1.0	0.1	1.0	0.20

表4 ろ過した河川水から検出された重金属類の残存比

(河川水ろ過後の検出濃度/河川水中の検出濃度): (a) 5C ろ紙、(b) メンブランフィルター

(a) 5Cろ紙 (1 μm)

	SS (mg/L)	11 B [He]	27 Al [He]	55 Mn [He]	56 Fe [He]	63 Cu [He]	66 Zn [He]	75 As [H ₂]	121 Sb [He]	238 U [He]
河川1	1未満	0.9	0.46	-	-	-	-	0.94	-	-
河川2	2	1.2	0.22	< 0.52	0.44	1.1	0.8	1.1	-	-
河川3	1未満	1.1	0.47	-	0.82	1.1	-	1.1	-	-
河川4	3	-	0.27	< 0.38	0.39	-	-	1.3	-	-
河川5	4	1.2	0.48	0.68	0.71	1.1	1.1	0.94	-	-
河川6	7	1.1	0.31	< 0.15	0.48	1.0	0.89	0.90	-	-
河川7	26	1.2	0.25	0.28	0.42	0.65	0.38	0.93	1.0	-
河川8	8	1.0	0.70	0.32	0.53	1.1	0.70	1.0	-	1.0
河川9	3	1.1	0.63	0.92	0.70	1.1	1.3	0.92	-	-
河川10	14	1.1	0.23	0.28	0.45	0.83	0.5	0.93	1.0	-
平均値		1.1	0.40	0.50	0.55	1.0	0.81	1.0	1.0	1.0

(b) メンブランフィルター (0.20 μm)

	SS (mg/L)	11 B [He]	27 Al [He]	55 Mn [He]	56 Fe [He]	63 Cu [He]	66 Zn [He]	75 As [H ₂]	121 Sb [He]	238 U [He]
河川1	1未満	1.0	0.35	-	-	-	-	0.85	-	-
河川2	2	1.0	0.15	< 0.52	0.17	0.85	0.65	1.0	-	-
河川3	1未満	1.0	0.21	-	0.16	0.94	-	0.87	-	-
河川4	3	-	0.09	< 0.38	0.25	-	-	0.89	-	-
河川5	4	1.0	0.34	0.21	0.29	0.86	0.36	0.82	-	-
河川6	7	1.0	0.16	< 0.15	0.18	0.85	0.42	0.81	-	-
河川7	26	1.0	0.16	< 0.06	0.19	0.52	0.22	0.88	0.92	-
河川8	8	1.0	0.66	< 0.18	0.21	0.83	0.40	1.0	-	1.0
河川9	3	1.0	0.48	0.80	0.39	0.94	0.89	0.82	-	-
河川10	14	1.0	0.16	< 0.10	0.14	0.70	0.30	0.84	1.0	-
平均値		1.0	0.28	0.51	0.22	0.81	0.46	0.87	1.0	1.0

がある。当日の気象条件等から採水時に異物が混入してしまった場合、重金属類の濃度を過剰に見積もってしまう可能性があることに留意する必要がある。今後も調査を継続し、検査結果の信頼性の向上に努める予定である。

参考文献

- 1) 昭和46年9月30日付け環水管30号環境庁水質保全局長通知「水質調査方法」
- 2) 環境省環境保健部環境保全課：化学物質環境実態

調査実施の手引き(平成27年度版), (2016)

- 3) 和田信一郎：土壌中における重金属類の動態, 地球環境, 15(1), 15-21(2010)
- 4) 浦西克維, 浦西洋輔, 山下浩一：奈良県景観・環境総合センター研究報告, 6, 33-36 (2019)
- 5) 環境省：土壌汚染対策法の概要,
https://www.env.go.jp/water/dojo/gl_ex-me/pdf/01_chpt1.pdf

イマザリル等防かび剤5成分の分析における前処理方法の検討

川辺 千明・浦西 洋輔・浦西 克維・山下 浩一

Examination of Pretreatment Method in Analysis of Five Components of Fungicides Including Imazalil

KAWABE Chiaki・URANISHI Yosuke・URANISHI Katsushige and YAMASHITA Hirokazu

緒言

柑橘類やバナナなどの果実を輸入する際、長時間の輸送貯蔵中に発生するかびを防ぐことが重要となる。かびの発生を防止するために収穫後に使用される防かび剤は、日本で指定添加物として規制されている。防かび剤のうち、昭和46年にジフェニルが食品添加物として指定され、その後昭和52年にオルトフェニルフェノール、昭和53年にチアベンダゾール、平成4年にイマザリル、平成23年にフルジオキシニル、平成25年にアゾキシストロビンとピリメタニル、平成30年にプロピコナゾールが順次指定された²⁻⁵⁾。

果実類中や食品中に含まれる防かび剤の分析法については、既に複数報告されている⁶⁻⁷⁾。しかし、環境水中に存在する防かび剤の分析法については、公に定められた分析法はない。

そこで、高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計(LC-MS/MS)で高感度に検出が可能なイマザリル、チアベンダゾール、フルジオキシニル、アゾキシストロビン、ピリメタニルの5種類の防かび剤(表1)について、環境水中からの同時分析をおこなうために、最適な前処理方法について検討した。特に、前処理で使用する固相カートリッジの選定について詳細な検討を行ったので報告する。

方法

1. 標準品および試薬等

イマザリル、アゾキシストロビン標準品はPESTANAL製、チアベンダゾール、フルジオキシニル標準品は富士フィルム和光純薬工業(株)製残留農薬試験用、ピリメタニル標準品はDr.Ehrenstorfer GmbH製を用いた。各標準物質をそれぞれメタノールに溶解し1,000 µg/mLの標準原液とした。検量線作成には、各標準

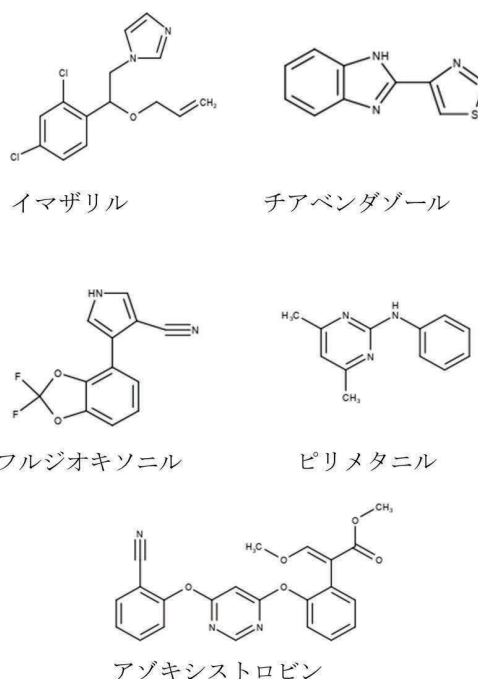


図1 防かび剤5成分の構造式

原液をメタノールで適宜希釈し、0.1 µg/L~100 µg/Lの検量線用混合標準液を作成した。

メタノールは富士フィルム和光純薬工業(株)製高速液体クロマトグラフ用、酢酸アンモニウムは富士フィルム和光純薬工業(株)製特級、精製水は超純水製造装置Milli-Q Reference(MERCK MILLIPORE製)により精製した超純水を用いた。

2. 器具、装置、測定条件

固相カートリッジは、ジーエルサイエンス(株)社製InertSep PLS-2(270 mg, 6 cc)(以下、PLS-2)、Waters社製Oasis HLB(200 mg, 6 cc)(以下、HLB)、Waters社製Oasis HLB Prime(200 mg, 6 cc)(以下、HLB Prime)、Agilent社製Bond Elute C18(500 mg, 6

cc) (以下, Bond Elute C18), ジーエルサイエンス (株) 社製 InertSep C18 (500 mg, 6 cc) (以下, InertSep C18) を用いて検討を行った。

LC-MS/MS は Waters 製 ACQUITY UPLC-Xevo TQ MS を使用した。LC-MS/MS による測定条件を表 1, SRM 条件を表 2 に示した。

表 1 LC-MS/MS 分析条件

LC-MS/MS	
LC system	Waters Acquity UPLC system
カラム	Waters ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm 2.1 mm × 100 mm
移動相	A: 5 mmol/L 酢酸アンモニウム in 水 B: メタノール
グラジエント 条件	A: 90% (0 min) → 20% (2 min) → 10% (3 min) → 10% (6 min) → 5% (6.1 min) → 5% (11 min) → 90% (11.5 min) → 90% (15 min)
流量	0.3 mL/min
カラム温度	40°C
注入量	5 μL or 1 μL
MS/MS system	Waters Xevo TQ MS
イオン化法	IMZ, TBZ, Az, Py : ESI-Positive FLD : ESI-Negative
測定モード	SRM
キャピラリー電圧	3.00 kV
Desolvation温度	500°C
ソース温度	150°C
APIガス	650 L/Hr

表 2 LC-MS/MS での SRM 条件

物質名	プレカーサー	プロダクト	コリジョン
	イオン	イオン	エネルギー
	(m/z)	(m/z)	(eV)
イマザリル	(定量用)	298.82	158.9
	(確認用)	298.82	69.01
チアベンダゾール	(定量用)	202.03	131.04
	(確認用)	202.03	174.99
フルジオキソニル	(定量用)	246.90	125.90
	(確認用)	246.90	179.90
アズキシストロビン	(定量用)	404.01	344.12
	(確認用)	404.01	372.08
ピリメタニル	(定量用)	200.03	106.98
	(確認用)	200.03	82.04

3. 固相カートリッジの検討

1) 分画試験

精製水に混合標準液を 100 μg/L となるように添加した試料について, ポリマー充填剤 3 種 (PLS-2, HLB, HLB Prime), シリカゲル系充填剤 2 種 (Bond Elute C18, InertSep C18) の計 5 種類の固相カートリッジを用いて分画試験を行った。あらかじめアセトニトリル, 精製水各 10 mL を順次注入して活性化, 洗浄した固相カートリッジに 10 mL/min で試料水 200 mL を通水した。通水終了後の固相カートリッジを精製水 10 mL で洗浄

した後, 3000 rpm で 5 分間遠心分離し, 15 分間窒素ガスを吹き付けて固相中の水分を除去した。その後, アセトニトリルまたはメタノールを用いて溶出した。アセトニトリル溶出については 10 mL までは 2 mL ずつ分画し, その後は 15 mL まで 5 mL 溶出した。メタノール溶出については 10 mL までは 1 mL ずつ分画し, その後は 15 mL まで 5 mL 溶出した。アセトニトリル溶出液については 40 °C 以下で窒素ガスを吹き付けて濃縮した後, メタノールで 1 mL に定容したものを LC-MS/MS 測定用溶液とした。メタノール溶出については溶出液をそのまま LC-MS/MS 測定用溶液とした。なお, 装置注入量は 5 μL とした。

2) 添加回収試験

固相カートリッジ別の精製効率を比較するため, 高マトリックス試料 (類型 D 相当の河川水, BOD 値 7.5 mg/L 程度) を用いた添加回収試験を実施した。固相カートリッジはポリマー充填剤 2 種 (PLS-2, HLB), シリカゲル系充填剤 1 種 (Bond Elute C18) の計 3 種類の固相を用い, 溶出溶媒はアセトニトリル (溶出量 6 mL) とメタノール (溶出量 4 mL) とした。アセトニトリル溶出液は濃縮後メタノール 1 mL に転溶した。メタノール溶出液は 1 mL まで濃縮した。LC-MS/MS への注入量は 5 μL および 1 μL とし, 試料中マトリックスの効果を検証した。

3) 装置注入量による IDL 値の影響

装置注入量を過度に減少させると, 目的物質の感度低下を招くため, IDL (装置検出下限) 値等へも影響があると考えられる。そのため, 装置注入量と注入液濃度を変えて IDL 試料換算値を算出し, 安定した精度で測定が可能な条件について検討を行った。

結果と考察

1. 分画試験

分画試験の結果を表 3-1~3-5 示す。溶出溶媒がメタノールの場合, いずれの測定対象物質も 4 mL の溶出で添加量の 80 %以上が回収できた。すなわち, 検討した全ての固相カートリッジにおいて測定対象物質の保持を確認した。一方, 溶出溶媒がアセトニトリルの場合, 固相カートリッジの充填剤によって測定対象物質が溶出するタイミングが大きく変動した。PLS-2 および HLB では 6 mL 程度の溶出で添加量の 80 %以上が回収されたが, HLB Prime では 6 mL 以降の分画において測定対象物質が溶出した。また, Bond Elute C18 ではイマザリルは回収できず, InertSep C18 でもイマザリルを 80 %以

表 3-1 イマザリルのミニカラム別溶出試験, 添加回収試験結果

ミニカラム	溶媒	分取量 [mL] ○ : 80%回収率					添加回収率 (%) (n=1)		比率 : ①/② (Matrix効果)
		0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-15	①5 μ L注入	
InertSep PLS-2	アセトニトリル						94.6	104.7	0.90
OASIS HLB							83.3	95.6	0.87
OASIS HLB Prime							-	-	-
Bond Elute C18							0.9	0.7	-
InertSep C18							-	-	-
		溶出量 : 6mL							
InertSep PLS-2	メタノール						72.8	76.2	0.96
OASIS HLB							78.1	89.4	0.87
OASIS HLB Prime							-	-	-
Bond Elute C18							80.3	88.7	0.91
InertSep C18							-	-	-
		(データなし) 溶出量 : 4mL							

表 3-2 フルジオキシソニルのミニカラム別溶出試験, 添加回収試験結果

ミニカラム	溶媒	分取量 [mL] ○ : 80%回収率					添加回収率 (%) (n=1)		比率 : ①/② (Matrix効果)
		0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-15	①5 μ L注入	
InertSep PLS-2	アセトニトリル						96.8	104.9	0.92
OASIS HLB							90.6	99.0	0.92
OASIS HLB Prime							-	-	-
Bond Elute C18							91.2	103.7	0.88
InertSep C18							-	-	-
InertSep PLS-2	メタノール						73.5	75.6	0.97
OASIS HLB							81.1	90.1	0.90
OASIS HLB Prime							-	-	-
Bond Elute C18							88.0	98.6	0.89
InertSep C18							-	-	-
		(データなし)							

上回収するのに、溶出溶媒を 10 mL 程度必要とした。固相抽出後の濃縮操作をなるべく簡便化させることも踏まえると、溶出溶媒を多く必要とする HLB Prime と InertSep C18, またイマザリルを回収できない Bond Elute C18 は本分析法の前処理法には適さず、PLS-2 および HLB が前処理法に用いるのに望ましいと判断された。

2. 添加回収試験

添加回収試験の結果を表 3-1~表 3-5 に示す。溶出溶媒別に結果を比較すると、いずれの測定対象物質についても、メタノールよりアセトニトリルの方が、添加回収率が高くなる傾向を示した。ただし、Bond Elute C18/アセトニトリル溶出は、分画試験と同様、イマザリルを回収できなかった。また、各測定対象物質に共通して、InertSep

PLS-2/アセトニトリル溶出の添加回収率が最も高くなる傾向を示した。

装置注入量については、全ての物質に共通して、装置注入量が少ない (5 μ L よりも 1 μ L の) 条件で添加回収率が改善した。四ノ宮[®]は、LC-MS/MS を用いてアゾキシストロビンを含む農薬 42 成分を対象に河川水中農薬分析におけるマトリックス効果について検証し、30~50% のイオン化抑制を示す試料液は 5 倍希釈することにより 10% 未満の抑制にできることを報告している。以上から、装置注入量が添加回収率に影響を与えた原因としては、添加回収試験に用いた高マトリックス試料による測定対象物質へのイオン化阻害 (イオンサプレッション) の影響が考えられた。

表 3-3 アゾキシストロビンのミニカラム別溶出試験, 添加回収試験結果

ミニカラム	溶媒	分取量 [mL] ○ : 80%回収率						添加回収率 (%) (n=1)		比率 : ①/② (Matrix効果)
		0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-15	①5 μ L注入	②1 μ L注入	
InertSep PLS-2	アセトニトリル							86.6	104.1	0.83
OASIS HLB								74.9	97.0	0.77
OASIS HLB Prime								-	-	-
Bond Elute C18								83.1	89.9	0.92
InertSep C18								-	-	-
InertSep PLS-2	メタノール							62.6	74.0	0.85
OASIS HLB								63.8	85.3	0.75
OASIS HLB Prime								-	-	-
Bond Elute C18								75.2	96.6	0.78
InertSep C18		(データなし)						-	-	-

表 3-4 チアベンダゾールのミニカラム別溶出試験, 添加回収試験結果

ミニカラム	溶媒	分取量 [mL] ○ : 80%回収率						添加回収率 (%) (n=1)		比率 : ①/② (Matrix効果)
		0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-15	①5 μ L注入	②1 μ L注入	
InertSep PLS-2	アセトニトリル							69.8	97.6	0.72
OASIS HLB								43.3	72.0	0.60
OASIS HLB Prime								-	-	-
Bond Elute C18								58.1	87.4	0.66
InertSep C18								-	-	-
InertSep PLS-2	メタノール							46.5	68.8	0.68
OASIS HLB								40.1	72.2	0.56
OASIS HLB Prime								-	-	-
Bond Elute C18								48.4	84.7	0.57
InertSep C18		(データなし)						-	-	-

表 3-5 ピリメタニルのミニカラム別溶出試験, 添加回収試験結果

ミニカラム	溶媒	分取量 [mL] ○ : 80%回収率						添加回収率 (%) (n=1)		比率 : ①/② (Matrix効果)
		0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-15	①5 μ L注入	②1 μ L注入	
InertSep PLS-2	アセトニトリル							98.2	103.6	0.95
OASIS HLB								86.1	96.7	0.89
OASIS HLB Prime								-	-	-
Bond Elute C18								95	104.4	0.91
InertSep C18								-	-	-
InertSep PLS-2	メタノール							66.3	69.5	0.95
OASIS HLB								76.4	85.6	0.89
OASIS HLB Prime								-	-	-
Bond Elute C18								88.4	95	0.93
InertSep C18		(データなし)						-	-	-

表4-1.

装置注入量5 μL でのIDL試料換算値 (ng/L)

物質名 \ 注入液濃度	0.1 $\mu\text{g/L}$	0.2 $\mu\text{g/L}$	0.5 $\mu\text{g/L}$	1 $\mu\text{g/L}$
イマザリル	0.36 (9.7)	0.50 (6.2)	0.58 (2.7)	0.90 (2.1)
チアベンダゾール	0.47 (14)	0.29 (3.7)	0.68 (3.2)	1.1 (2.7)
フルジオキシニル	0.54 (11)	0.87 (11)	0.92 (4.5)	2.3 (5.8)
アゾキシストロビン	0.23 (7)	0.38 (4.9)	0.58 (2.9)	0.73 (1.8)
ピリメタニル	0.38 (13)	0.70 (9.4)	0.68 (3.4)	0.76 (1.8)

表 4-2.

装置注入量1 μL でのIDL試料換算値 (ng/L)

物質名 \ 注入液濃度	0.5 $\mu\text{g/L}$	1 $\mu\text{g/L}$
イマザリル	1.0 (5.3)	2.1 (5.1)
チアベンダゾール	0.91 (4.2)	1.7 (4.0)
フルジオキシニル	4.5 (21)	7.4 (18)
アゾキシストロビン	1.5 (7.1)	1.6 (3.9)
ピリメタニル	2.3 (11)	2.6 (6.5)

()は変動係数CV%

なお、メタノール溶出した検液には試料中マトリックス由来と思われる着色が見られたが、アセトニトリル溶出では着色は確認できなかった。両溶媒の溶出した検液いずれも、装置注入量を減少させることで添加回収率が改善したことに加え、アセトニトリル溶出と比べてメタノール溶出の添加回収率が低いことから、メタノール溶出の方が検液中により多くのマトリックス成分を溶出させていたと考えられた。

3. 装置注入量によるIDL値の影響

本分析に用いたLC-MS/MSの注入液濃度別のIDL試料換算値(ng/L)を表4-1(装置注入量5 μL)、表4-2(装置注入量1 μL)に示す。

化学物質環境実態調査の手引き⁹⁾では、IDLの算出には、検量線作成用の最低濃度(S/N=10程度)の標準溶液を用いることとなっている。装置注入量1 μL では、全ての測定対象物質について、注入液濃度0.5 $\mu\text{g/L}$ 以上でしかIDL算出の目安であるS/N=10を満たさなかった。またこの時、フルジオキシニルについてはCV(変動係数)が21%と大きくなった。

一方、装置注入量5 μL では、全ての測定対象物質について、注入液濃度0.1 $\mu\text{g/L}$ でS/N=10を満たし、CVも10%前後であった。よって全ての測定対象物質で安定した精度で測定が可能で、装置注入量5 μL 、注入液濃度0.1 $\mu\text{g/L}$ でIDLを測定することとした。

なお、2.の添加回収試験において、マトリックス効果により装置注入量1 μL の方が高い添加回収率結果が得られている。そのため、マトリックス量を減らすことを目的に最終検液量を1 mLから5 mLへ変更(試料水を100倍濃縮から20倍濃縮に変更)し、装置注入量は安定した精度で測定可能な5 μL とした。

まとめ

環境水中に含まれるイマザリル、チアベンダゾール、フルジオキシニル、アゾキシストロビン、ピリメタニルの同時分析をおこなうにあたり、前処理法について詳細な検討を行った。その結果、固相カートリッジはInertSep PLS-2、溶出溶媒はアセトニトリル、最終検液量は5 mL(20倍濃縮)、装置注入量5 μL が本分析法における最適条件であることがわかった(図2)。

今後は奈良県内河川における防かび剤の存在実態を明らかにするため、イマザリル等5成分について環境実態調査を行う予定である。

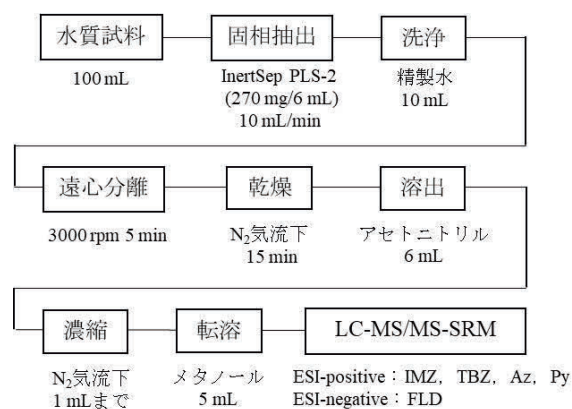


図2 最終分析フローチャート

参考文献

- 1) 東京都福祉保健局 HP :
<https://www.fukushihoken.metro.tokyo.lg.jp/shokuhin/s-hokuten/bokabizai.html>, 2020年3月閲覧
- 2) 一般財団法人東京顕微鏡院 HP :
<https://www.kenko-kenbi.or.jp/science-center/foods/top-ics-foods/17003.html>, 2020年3月閲覧

- 3) 平成25年8月6日付食安発0806第1号告示：「食品衛生法施行規則の一部を改正する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について」
- 4) 平成30年7月3日付生食発0703第1号告示：「食品衛生法施行規則の一部を改正する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について」
- 5) 南谷巨昭，廣澤智子，上保美奈，他：岐阜県保健環境研究所所報，27，1-14(2019)
- 6) 氏家あけみ，紙本佳奈，上田淳司，他：香川県環境保健研究センター所報，13，58-61(2014)
- 7) 吉岡直樹，林幸子，稲田忠明：食品衛生学雑誌，56(5)，228-232(2015)
- 8) 四ノ宮美保：環境科学，26(4)，191-201(2016)
- 9) 環境省環境保健部環境保全課：化学物質環境実態調査実施の手引き，平成27年度版