

w/13le-1

東京都立衛生研究所

# 研究年報

ANNUAL REPORT  
OF  
TOKYO METROPOLITAN RESEARCH  
LABORATORY OF PUBLIC HEALTH



28-1

1977

東京衛研年報  
Ann. Rep. Tokyo Metr.  
Res. Lab. P. H.

## 序

最近、環境汚染物質の安全性など、保健衛生に関するいろいろな疑問が住民の側から投げかけられていて、今後ともそれは増えていく傾向にあります。

行政当局は提起された問題に対応しなければなりません、社会学的な問題は別として、公衆衛生の分野では特に人体に及ぼす影響に関する問題が多いので、衛生研究所に、参考資料の提供、助力・助言を求めてくるのが非常に増えて参りました。

ただ、日常痛切に感ずることは、これらの問題は科学的によく分っていないことが多すぎるということでもあります。そして、極めて身近な問題でさえ科学的調査・検討が充分なされていないことがあり、行政当局の要望・期待に応えられない場合があるのは残念なことであります。衛生研究所の業務に関連のある公衆衛生領域の学問の現状は、地域住民の期待する線からはほど遠いものであると感じさせられます。いたずらに基礎的な研究に走り、実際に必要な、面倒な調査・研究を敬遠することも、こういう事態を招く一つの原因であると思います。われわれはもっと足元の問題についての調査・研究を怠ってはならないと思います。

研究する者は俗事に超然としているのが当然と考えていた時代もあり、今でもそう考えている人もありますが、少なくとも公立試験研究機関に職を奉ずる科学者にはそのような考え方は許されないことであります。国民や地域住民のニーズに応えようとする姿勢がないならば、もはや公立試験研究機関としての存在の意義はないと考えてよいと思います。

何か問題があった場合には、いつでも、整理された引出しを開けて資料をとり出し、その解明・解決に応じ得るように、引出しの中味を質量ともに充実すべく、調査・研究を強化していくのがわれわれの責任であり使命であるといえましょう。

さて、以上のような考え方と背景の下に、当所で行われた最近の調査・研究の成果を研究年報第28号として完成できましたのは誠に喜びにたえないところであります。都合により第28—1号と第28—2号の2分冊としましたが、第28—2号は特に毒性部の研究業績をまとめたものであります。

本報告書の刊行に当っては編集委員諸氏の献身的な奉仕をいただきました。ここに深く感謝の意を表します。

1977年7月20日

東京都立衛生研究所長 辺野喜 正 夫

## 目 次

## 報 文

最近10年間に東京都で発生したブドウ球菌食中毒原因菌のコアグラゼ型と原因食品 .....寺山 武, 潮田 弘, 新垣正夫, 稲葉美佐子, 甲斐明美, 坂井千三.....	1
東京都内で捕獲されたイヌおよびネコからのサルモネラ検出状況 .....伊藤 武, 齊藤香彦, 稲葉美佐子, 坂井千三.....	5
市販食品における <i>Bacillus cereus</i> の汚染と分離菌株の性状および芽胞の耐熱性 .....楠 淳, 池島伸至, 新井輝義, 神 真知子, 入倉善久, 友成正臣, 伊藤 武, 坂井千三.....	11
しょう紅熱患者の免疫グロブリン値と ASO 抗体価について .....加納亮子, 村田以和夫, 飯村 達.....	15
夏季における市販生食用魚介類の細菌汚染の実態.....小久保彌太郎, 井草京子, 庭山邦子.....	22
塩素によるポリオウイルスの不活化.....矢野一好, 藪内 清, 柴田タツ美, 岩崎謙二, 辺野喜 正夫.....	27
腸内ウイルス感染の実態は握 (第9報) 1976年の東京都内3下水処理場下水からのウイルス分離試験成績 .....藪内 清, 矢野一好, 柴田タツ美, 岩崎謙二, 辺野喜 正夫.....	32
交差 HI 試験成績を基礎としたA香港型インフルエンザウイルス流行株の数量的分類.....岩崎謙二.....	35
1976年度の東京都における日本脳炎疫学調査 .....吉田靖子, 藪内 清, 横山庸子, 岩崎謙二, 三宅 勉, 永野清一郎, 三木 博.....	40
1968—1976年における都内飼育ブタからの日本脳炎ウイルス検出と分離株の抗原性状 .....吉田靖子, 藪内 清, 横山庸子, 岩崎謙二.....	44
1976年の東京都民における風疹ウイルス HI 抗体保有調査.....吉田靖子, 横山庸子, 岩崎謙二.....	49
走査型電子顕微鏡によるインフルエンザA型ウイルスの観察.....前本吾市, 伊藤忠彦.....	53
市販医療用医薬品の品質について (Ⅶ) シクランデレートカプセル .....重岡捨身, 宮武ノリエ, 上原真一, 田窪栄一.....	59
注射剤の pH と浸透圧.....下平彰男, 中島和雄.....	62
市販ガソリン中の四アルキル鉛および芳香族炭化水素について .....吉原武俊, 寺島 深, 遠山逸雄, 奥本千代美, 長嶋真知子, 渡辺四男也.....	66
家庭用品の衛生化学的研究 (第1報) ガスクロマトグラフィーによる塩化ビニル製品中のフタルスズ化合物 の分析法.....竹内正博, 伊藤弘一, 森 謙一郎, 原田裕文.....	69
家庭用品の衛生化学的研究 (第2報) 防災加工布に含まれる Tris (1-aziridinyl) phosphine oxide (APO) の分析法.....森 謙一郎, 西田茂一, 原田裕文.....	74
家庭用品の衛生化学的研究 (第3報) 繊維製品.....観 照雄, 植田忠彦, 水石和子, 西田茂一, 原田裕文.....	79
家庭用品の衛生化学的研究 (第4報) 家庭用エアゾル製品.....観 照雄, 植田忠彦, 原田裕文.....	84
原子吸光分析によるベリリウムの定量法.....山野辺秀夫, 鈴木助治, 山崎清子, 小泉清太郎, 原田裕文.....	90
高速液体クロマトグラフィーによる多環芳香族炭化水素の分析法.....鎌田国広, 観 照雄, 山添律子, 原田裕文.....	95
スズの原子吸光分析法.....江波戸攀秀, 原田裕文.....	100
東京都における水銀汚染の実態について (第4報) 魚介類中の水銀含有量調査 .....雨宮 敬, 竹内正博, 伊藤弘一, 江波戸攀秀, 原田裕文.....	104
東京都における PCB 汚染の実態について (第5報) 食品中の PCB 含有量調査 .....山崎清子, 山野辺秀夫, 鈴木助治, 小泉清太郎, 原田裕文.....	107
タバコ中の塩素系農薬について.....鎌田国広, 山添律子, 原田裕文.....	111
食品中の石油系炭化水素に関する研究 (第2報) 市販魚介類中の <i>n</i> -Paraffin の検出 .....西島基弘, 井部明広, 齊藤和夫, 高橋尚子, 上村 尚, 落合節子, 直井家寿太, 木村康夫.....	116
魚介類中の微量元素に関する基礎的研究 (第3報) スズキ体内のヒ素および重金属分布 .....安田和男, 勝木康隆, 上田 工, 直井家寿太.....	121
メチル水銀毒性緩和因子に関する研究 (第1報) 低濃度メチル水銀長期投与のラット体内水銀蓄積に及ぼす マグロ肉由来セレンの影響 .....西垣 進, 田村行弘, 真木俊夫, 嶋村保洋, 大井 玄, 関 比呂伸, 今野ヒロ子, 蓑輪佳子, 湯目邦雄, 直井家寿太.....	127
メチル水銀毒性緩和因子に関する研究 (第2報) 低濃度メチル水銀摂取時のラット胎盤通過に及ぼすマグ ロ肉由来セレンの影響.....田村行弘, 西垣 進, 真木俊夫, 嶋村保洋, 大井 玄, 関 比呂伸, 今野ヒロ子, 蓑輪佳子, 湯目邦雄, 直井家寿太.....	134

報 文

REPORTS

## 最近10年間に東京都で発生したブドウ球菌食中毒原因菌のコアグラゼ型と原因食品

寺山 武, 潮田 弘, 新垣 正夫  
稲葉 美佐子, 甲斐 明美, 坂井 千三

### Coagulase Types of *Staphylococcus aureus* from Food Poisoning Outbreaks and a Kind of Incriminated Foods

TAKESHI TERAYAMA\*, HIROSHI USHIODA\*, MASAO SHINGAKI\*,  
MISAKO INABA\*, AKEMI KAI\* and SENZO SAKAI\*

During the period of 1967-1976, a total of 347 outbreaks of staphylococcal food poisoning was reported in Tokyo. Of them, 188 outbreaks were confirmed serologically in our laboratory, as those outbreaks showed complete agreement on the coagulase types of the isolates both from incriminated foods and from patients.

As for the coagulase types of the causal *S. aureus*, 35 outbreaks were proved to be caused by the type II organisms, 36 outbreaks by type III, 26 by type VI and 91 by type VII respectively. However, none of the causal isolates belonged to the coagulase types I, IV, V or VIII was found throughout the investigation. Since 1971, food poisoning outbreaks caused by type VII organisms have been increasing gradually.

Incriminated foods of 141 (75.0%) outbreaks were found to be typical Japanese style processed foods being mainly composed of rice, i. e., 62 (33.0%) outbreaks by delivered luncheon with rice, 52 (27.7%) by Nigirimeshi (rice ball), 16 (8.5%) by Sushi and 11 (5.9%) by Japanese cake, 13 (6.9%) by bread, 5 (2.7%) by roast chicken and 14 (7.4%) other miscellaneous foods, respectively.

#### 緒 言

ブドウ球菌（以下ブ菌と略す）食中毒事件の疫学的調査に私どもの開発したコアグラゼ型別法<sup>1,2)</sup>を用い、汚染源の追求ならびにブ菌食中毒の決定に大いに役立ててきた<sup>3,4)</sup>。

ブ菌食中毒は他の細菌性食中毒と同様、6-9月の発生件数が最も多いが、近年ではほぼ年間を通じて発生がみられるようになってきた<sup>5)</sup>。喫食から発生まで短時間で、激しい嘔気、嘔吐、腹痛を訴え、発生率の高いのがブ菌食中毒の特徴であるが、昭和50年2月の日航ジャンボジェット機の機内食による国際的に注目を集めた食中毒事件以来、ブ菌食中毒に再び関心がもたれるようになってきた<sup>6,7)</sup>。

黄色ブ菌は自然界に広く分布しており、常に食品が汚染される可能性があり、汚染経路の遮断など、その防止策が難しく、本菌食中毒事件は依然として上昇傾向にある。

われわれは1964年以来本菌食中毒の原因菌のコアグラゼ型（以下コ型と略す）について検討しており、すでに1964年から5年間の成績については本誌に報告してき

たが、その後の10年間に東京都において発生したブ菌食中毒事件の原因菌の菌型、原因食品の種類、事件数と患者数などを集計し、本菌食中毒予防の基礎資料を得るため分析を試みたので報告する。

#### 材料および方法

##### 1. 調査対象事件例

1967年-1976年の10年間に東京都内で発生したブ菌食中毒事件347事例である。なお、原因菌の菌型、原因食品の詳細な調査対象には、原因食品、患者吐物、患者ふん便、調理環境拭取り材料など各種検査材料から検出された黄色ブ菌のコ型の一致をみた188事例を対象とした。

##### 2. 原因黄色ブ菌の分離培養法

マンニット食塩カンテン培地に卵黄を加えた MSEY カンテン平板を用いて行なった<sup>4)</sup>。

##### 3. コ型別法

善養寺<sup>1)</sup>らの方法およびその改良法<sup>2)</sup>によった。

#### 成 績

##### 1. ブ菌食中毒発生状況

東京都内において1967年-1976年の10年間に発生した

\* 東京都立衛生研究所微生物部細菌第一研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Number of Staphylococcal Food Poisoning Outbreaks and Patients during 1967-1976 in Tokyo

Year	Number of outbreaks	Number of patients
1967	22	603
1968	22	465
1969	25	346
1970	32	559
1971	38	772
1972	42	1,228
1973	43	701
1974	35	534
1975	53	451
1976	35	629

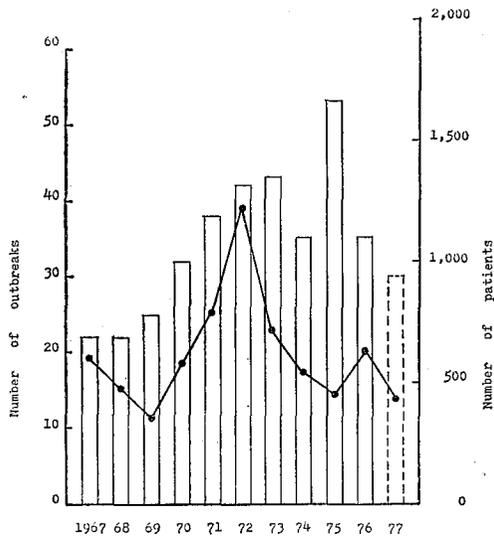


Fig. 1. Number of Staphylococcal Food Poisoning Outbreaks and Patients during 1967-1977 in Tokyo

ブ菌食中毒の年次別事件数とその患者数を Table 1 および Fig. 1 に示した。

なお、患者発生が都内にあり、発生場所が他府県の場合も菌検索を実施したものは事件数に加えた。

事件発生数は1967-1973年まで、増加の一途をたどり、1974年、1976年の事件数がわずかに少ないのを除き、上昇傾向にある。しかしながら、患者数は事件数とはあまり関わりのない数であることが注目される。すなわち、事件数に比して患者数が増加していないことは、家族内発生などの小規模事件が増加しているためであり、この

Table 2. Coagulase Types of Isolates of *Staphylococcus aureus* isolated from Staphylococcal Food Poisoning Outbreaks during 1967-1976 in Tokyo

Year	Number of outbreaks	Coagulase type of causal strain							
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1967	16		3	2			5	6	
1968	6		1	3			1	1	
1969	13		6	3			2	2	
1970	18		6	3			4	5	
1971	19		5	2			4	8	
1972	23		6	7			1	9	
1973	16		2	4			2	8	
1974	15		1	2			3	9	
1975	28		3	6			2	17	
1976	34		2	4			2	26	
Total	188		35	36			26	91	

ことは衛生知識の浸透などにより、それまでは食中毒として届け出されなかったような事例が取り上げられるようになったためであろう。

## 2. 原因黄色ブ菌のコ型

1967年-1976年の事件数および原因菌のコ型を Table 2 に示した。

1967年既報<sup>3)</sup>で述べた26事例での成績と同様、188事例の原因菌のコ型は変わらず、II, III, VIおよびVII型のみであった。しかしながら、注目されるのは、II, IIIおよびVI型菌による事例が各年次あまり差が認められないのに対し、VII型菌によるものは、1971年以降、徐々に増加し、1975年、1976年においては、各年次の事件発生数の前者は、60.7%、後者は76.4%を占めており、原因菌型のVII型への片寄りがみられたが、その原因については不明である。

## 3. 原因菌の菌型と原因食品の種類

原因食品をはじめ、関連検査材料から検出されたブ菌のコ型が一致した188例の原因菌型と原因食品の種類とその順位を Table 3 に示した。既報<sup>4)</sup>で述べた1969年までの55事例の集計でも、原因菌の菌型はII, III, VIおよびVII型に限定されており、今回の成績もまったく同様であった。

原因食品の集計成績では、第1位は“にぎりめし”(31%)であったが、今回の調査では順位が変わり、仕出し弁当類が第1位(62事例33%)であり、第2位が“にぎりめし”(52事例27.7%)であった。いなりずしを主体とする“すし類”が第3位(16事例8.5%)にあり、洋菓子の中でもカスタードクリームが関係しているものが第4位(15事例8.0%)であった。

Table 3. Coagulase Types of Isolates of *Staphylococcus aureus* isolated from Staphylococcal Food Poisoning Outbreaks during 1967-1976 in Tokyo

Incriminated food	Number of outbreaks (%)	Coagulase type of causal strain							
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Luncheon with rice	62 (33.0)		10	14			7	31	
Nigirimeshi (rice ball)	52 (27.7)		8	9			6	29	
Sushi	16 (8.5)		2	3			1	10	
Cake	15 (8.0)		5	3			1	6	
Bread	13 (6.9)		2	2			2	7	
Japanese cake	11 (5.9)		2	3			3	3	
Roast chicken	5 (2.7)		1				2	2	
Others	14 (7.4)		5	2			4	3	
Total	188 (100)		35	36			26	91	

原因食品の種類の変動が若干みられたが、その主なるものはわが国特有な食品で、調理後、喫食までに加熱処理のない食品であり、手指の直接触れる機会の多いものであった。

原因菌の型と原因食品の種類との関連性では、“にぎりめし”事例の原因菌の菌型にⅦ型が多く、52事例中29事例(55.7%)と半数以上がⅦ型であった。またすしにおいても16事例中10事例(62.5%)とⅦ型菌によるものが多く認められたが、他のⅢ型菌と食品の種類と関連性を有すると思われるものは認められなかった。

#### 考 察

細菌性食中毒の中で例年最も多い腸炎ビブリオ食中毒事例は最近わずかずつではあるが減少傾向にあることは、天候などにより自然環境の影響もみのがせない原因であろうが、その主たる原因は食品衛生指導の成果ではなかろうか。本食中毒の発生は生魚介類の喫食によることが一般市民の食品衛生意識の上に定着し、その衛生状態の判断、調理法、二次汚染の防止などがかなりの度合で浸透していることが近因と考えられる。

これに対して、ブ菌食中毒事件の発生は Fig. 1 に示したごとく、増加の傾向をたどることは、その衛生指導の難かしさ、予防対策の難かしさにある。自然界に広く分布する黄色ブ菌を原因菌とする本菌食中毒の予防対策としては、汚染をさせないことはもちろんであるが、中毒量に達するエンテロトキシン産生を阻止する。つまり、菌の増殖する温度、そして時間を与えないことである。食品の保存温度を10℃以下に保つ、調理後、喫食までの時間を可及的短かくするなどである。

原因食品の種類の変化が既報<sup>9)</sup>に比べてわずかに認められた。すなわち、55事例の原因食品の第1位は“にぎり

めし”，ついですし、洋菓子の順であったが、今回の調査では、幕の内弁当など弁当類が第1位、“にぎりめし”は第2位となるなどの変動がみられた。

しかしながら、10年前にみられたクリームパン、うぐいす豆などは見られなかった。

このような本食中毒の原因食品の年代における変化の一部は、食生活の変化や食品添加物の使用規制と関連しているものと推察される。近年、1位を占めている幕の内弁当、仕出し弁当については抜本的な改善策が望まれる。日航事件をはじめ、機内食、駅弁、仕出し弁当など集団食中毒発生の危険性のあるものの衛生管理は通常の衛生指導では不備であり、短時間に喫食までの作業工程の可能な能力のある施設のみに営業が許されるべきであり、適切な行政指導が望まれる。

ブ菌食中毒の疫学的調査に私どもの開発したコ型別法を応用し、役立ててきたことをたびたび報告<sup>3, 4)</sup>してきたが、他府県における本菌食中毒へのコ型別法応用の報告は数少ない。本報にも述べたごとく、食中毒原因菌の菌型は多数の事例について検討してきたが、コⅡ、Ⅲ、ⅥおよびⅦ型菌のいずれかによる事例のみで、他の型の事例が認められない。近年、大阪においてコⅣ型菌による食中毒事例が1例、品川<sup>9)</sup>により報告されているが、これまで北海道、岐阜県、宮崎県、山口県<sup>10)</sup>などの調査ではすべて前記4型に限定されている。しかしながら、自然界分離株についての実験的な検討では、どのコ型菌もエンテロトキシンを産生することを私どもは報告<sup>11)</sup>してきた。また、自然界にはすべてのコ型菌が分布しており、ほとんど片寄りのないことも報告した<sup>12)</sup>。

食品の種類、水分活性などと各コ型菌の増殖、エンテロトキシン産生性、産生量などの角度から、この問題を

今後追究してまいりたい。この問題の解決は、ブ菌食中毒予防対策の大きな鍵をにぎるものと思われる。

#### 結 論

1967年—1976年の10年間に東京都内で発生したブ菌食中毒の原因菌のコ型および原因食品の種類について検討した。

原因黄色ブ菌のコ型はⅡ、Ⅲ、ⅥおよびⅦ型に限られ、188事例中Ⅱ型菌によるもの35事例、Ⅲ型菌36事例、Ⅵ型菌26事例およびⅦ型菌91事例であった。1971年以後、Ⅶ型菌による事例が著明な増加を示した。しかしながら、コⅠ、Ⅳ、ⅤあるいはⅧ型菌による事例はまったく認められなかった。

原因食品では仕出し弁当類によるものが最も多く62事例(33.0%)、ついでにぎりめし52事例(27.7%)、すし16事例(8.5%)、洋菓子15事例(8.0%)、菓子パン—調理パン13事例(6.9%)、和菓子11事例(5.9%)、ローストチキン5事例(2.7%)およびその他の食品14事例(7.4%)などであった。1969年の調査成績と比べ、原因食品の順位に若干の入替えがみられたが、大きな差ではなかった。

#### 文 献

- 1) 善養寺 浩, 寺山 武: モダンメディア, 12, 20, 1966
- 2) 潮田 弘, 寺山 武, 坂井千三, 善養寺 浩: 東京衛研年報, 26-1, 1, 1975
- 3) 善養寺 浩, 寺山 武, 潮田 弘, 工藤泰雄, 坂井千三: 東京衛研年報, 19, 49, 1967
- 4) 善養寺 浩, 寺山 武, 潮田 弘, 五十嵐英夫, 丸山 務, 坂井千三: 食衛誌, 12, 311, 1971
- 5) 厚生省大臣官房統計情報部編: 伝染病および食中毒統計, 121, 1975
- 6) Center for Disease Control: MMWR., 24, 57, 1975
- 7) 厚生省環境衛生局食品衛生課編: 食品衛生研究, 25, 786, 1975
- 8) 鈴木 昭, 林 富子, 河西 勉: 衛生試験所報告, 47, 289, 1957
- 9) 品川邦汎, 中原正良, 国田信治: 大阪府立公衛研所報, 食品衛生編, 6, 13, 1975
- 10) 内藤春生, 川口信行, 河村昌人: 山口衛研所報, 11, 24, 1969
- 11) 寺山 武, 五十嵐英夫, 潮田 弘, 善養寺 浩: 食衛誌, 13, 549, 1972
- 12) 善養寺 浩, 寺山 武, 潮田 弘, 五十嵐英夫, 丸山 務: 食衛誌, 12, 501, 1971

## 東京都内で捕獲されたイヌおよびネコからのサルモネラ検出状況

伊藤 武\*, 齋藤 香彦\*, 稲葉 美佐子\*, 坂井 千三\*

### The Isolation of Salmonellae from the Mesenteric Lymphnodes and Intestinal Contents of Dogs and Cats

TAKESHI ITOH\*, KAHIKO SAITO\*, MISAKO INABA\* and SENZO SAKAI\*

During the period from 1974 through 1976, dogs and cats were subjected to determine the incidence of Salmonellae in their caecal contents, rectal contents and mesenteric lymphnodes. Dogs and cats had been caught within the Tokyo area or requested to be put into euthanasia by the Tokyo Metropolitan Dog Pound Office. The specimens were directly plated on SS agar medium and DHL agar medium, and enrichment culture were also made in strontium chloride broth medium. Consequently, Salmonellae was isolated from 89(15.5%) out of 574 dogs and 8 (2.6%) out of 310 cats. The frequency of the isolation of the organisms tends to be high in summer in both animals. It was also found that the isolation rate of the organisms in puppy (under one year old) was about 3 times higher than that of adult dogs. A total of 142 strains of Salmonellae was isolated from the animals, and they were typed into 26 serotypes. Of them, *S. typhimurium*, *S. schwarzengrund*, *S. heidelberg*, *S. thompson*, *S. infantis* and *S. panama* were the predominant types. Biotypes of 35 *S. typhimurium* obtained from the dogs were determined according to the method described by Cordano. They were typed to biotype a (20.6%), b (2.6%) and d (76.5%) respectively. Sensitivity test against Streptomycin, Chloramphenicol, Tetracycline, Kanamycin, Nalidixic acid and Aminobenzylpenicillin was performed on 142 strains.

Of them, 39 strains showed single drug resistance, and 51 strains multiple drug resistance.

#### 緒 言

東京都内におけるサルモネラ食中毒の発生は近年著しく増加し、しかも検出菌株の血清型の多様化傾向が認められる<sup>1)</sup>。

そこで、著者らは、本食中毒の予防を目的とし、これまでに健康人におけるサルモネラ保菌状況、市販食肉およびその加工品の本菌汚染調査、ならびに下水など本菌汚染実態を明らかにし報告してきた。

一方、愛がん用のカメのサルモネラ保菌率は極めて高くサルモネラ感染症の重要な感染源の一つであることを指摘した<sup>2)</sup>。

今回は、東京都内で捕獲されたイヌおよびネコを対象に本菌の保菌状況、検出菌の血清型ならびに薬剤感受性等について検討した。

#### 検査材料および方法

1. 調査対象 東京都犬管理事務所で1974年10月から1976年5月までに東京都内で捕獲し、あるいは、同所に安楽致死処分の依頼をされたイヌ574頭およびネコ310頭を対象に、これらの動物の腸間膜リンパ節、回盲部内容物および直腸内容物を被検材料とした。腸管内容物は

グリセリン保存液に採取し、また腸間膜リンパ節は無菌的に採取後、生理食塩液を加えてガラスホモジナイザーで乳剤とした。

2. サルモネラの分離・同定および血清型の決定 サルモネラの検出方法は、SS寒天およびDHL寒天での直接分離培養と Iveson らの塩化ストロンチュウム培地<sup>3)</sup>で37° 18-24時間増菌後、SS寒天とDHL寒天で分離培養を行った。

サルモネラの同定は Kauffman の方法<sup>4)</sup>に従った。

分離菌株のO群別は市販診断用抗O血清(東芝化学工業)を用い、スライド凝集反応により行った。H抗原の決定は Kauffman<sup>4)</sup>に従って自家調製した抗H因子血清を用い常法により行った。なお、H抗原の相誘導は、Jameson<sup>5)</sup>の方法に準拠した。

3. *S. typhimurium* の生物型別 *S. typhimurium* の生物型分類は Cordano<sup>6)</sup>らの基準に準拠した。すなわち、テトラチオン酸塩の還元性、イノシットおよびトレハロースの発酵性、d-酒石酸塩の利用性の4種の生化学的性状によって分類した。

なお、テトラチオン酸塩の還元性は Minor ら<sup>7)</sup>の方

\* 東京都立衛生研究所微生物部細菌第一研究科 160 東京都新宿区百人町 3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Incidence of Salmonella from Caecal and Rectal Contents and Mesenteric Lymphnodes of Dogs and Cats

Species of animal	Number of examined	Number of positive	Specimens			
			Caecal contents	Rectal contents	Mesenteric lymphnodes	
Dogs	574	89 (15.5%)	+	+	+	8
			+	-	+	4
			-	+	+	4
			-	-	+	40
			+	+	-	15
			+	-	-	11
			-	+	-	7
Cats	310	8 (2.6%)	+	+	+	1
			-	-	+	5
			+	-	-	2

Table 2. Frequency of Isolation of Salmonella from Dogs and Cats by Month

Species of animal	Month											
	Jan.	Feb.	Mar.	Apl.	May	June	July	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
Dogs	6/40	3/74	1/40	2/40	4/40	1/40	6/40	21/40	29/40	5/70	10/70	1/40
Cats	0/11	0/21	0/30	0/20	0/20		0/23	2/40	3/31	3/43	0/40	0/31

法に従った。イノシットとトレハロースの発酵性はバルジコーの基礎培地、d-酒石酸塩の利用性は、KP有機酸塩基礎培地（市販：栄研）を使用した。各生化学的性状は、37°培養で5日間観察した。

4. 薬剤感受性試験 各薬剤に対する感受性試験は、DST寒天（市販：oxoid）を用い、寒天平板希釈により最小発育阻止濃度（MIC）で求めた。供試した薬剤はストレプトマイシン（SM）、クロラムフェニコール（CP）、テトラサイクリン（TC）、カナマイシン（KM）、ナリデイクシン酸（NA）、アミノベンジルペニシリン（AB-PC）の6剤である。

#### 成 績

1. イヌおよびネコからのサルモネラ検出状況 東京都犬管理事務所で捕獲されたもの、あるいは殺処分の依頼を受けたイヌおよびネコからのサルモネラ検出成績はTable 1に示すごとく、イヌの場合574頭中89頭（15.5%）からサルモネラが検出された。検査部位別にみると腸管内容物および腸間膜リンパ節から同時に本菌が検出されたものが16例、腸管内容物のみ陽性が34例、腸間膜リンパ節のみ陽性が40例であった。ネコはイヌに比較してサルモネラの保菌率は低く、310頭中8頭（2.6%）が

陽性で、検査部位別では、腸管内容物と腸間膜リンパ節の両者から検出されたもの1例、腸間膜リンパ節のみ陽性が5例、腸管内容物のみ陽性が1例であった。

2. 月別検出状況 イヌおよびネコからのサルモネラの月別検出頻度をTable 2に示した。すなわち、イヌは年間を通じて検出されているが、特に8月では40頭中21頭（52.5%）、9月は40頭中29頭（72.5%）が陽性で他

Table 3. Frequency of Isolation of Salmonella from Dogs by Age

Age group (Years)	Number of examined	Number of positive (%)
Under 1	49	16 (32.7)
2	89	17 (19.1)
3	133	23 (17.3)
4	104	15 (14.4)
5	93	11 (11.8)
6	44	4 (9.1)
Over 6	62	3 (4.8)

Table 4. Serotype of Salmonellae Isolated from Dogs

Serotype	Caecal contents	Rectal contents	Mesenteric lymphnode	Total	
B	<i>S. typhimurium</i>	12	10	13	35
	<i>S. schwarzengrund</i>	8		10	18
	<i>S. heidelberg</i>	3	5	5	13
	<i>S. derby</i>	1		1	2
	<i>S. agona</i>			3	3
	<i>S. sofia</i>			1	1
	Untypable			1	1
C <sub>1</sub>	<i>S. thompson</i>	6	5	6	17
	<i>S. infantis</i>	3	1	6	10
	<i>S. tennessee</i>	1	1	2	4
	<i>S. oranienburg</i>			1	1
C <sub>2</sub>	<i>S. blockley</i>			1	1
	<i>S. newport</i>			1	1
	<i>S. nagoya</i>			1	1
	<i>S. bovis-morbificans</i>	1		2	3
	<i>S. litchfield</i>			1	1
	<i>S. chailey</i>			1	1
D	<i>S. enteritidis</i>	1	1	1	3
	<i>S. panama</i>	1		6	7
E <sub>1</sub>	<i>S. london</i>	1	1	3	5
	<i>S. meleagridis</i>	1	1		2
	<i>S. give</i>		1		1
	<i>S. anatum</i>			1	1
E <sub>2</sub>	<i>S. newbrunswick</i>			1	1
E <sub>4</sub>	<i>S. senftenberg</i>	1	1	2	4
K	<i>S. cerro</i>			1	1
S	<i>S. johannesburg</i>	1			1
Total		41	37	61	139

の月に比較して高率に検出された。ネコでは8—10月の期間のみ検出され、他の月では検出されなかった。

3. 年齢別保菌状況 イヌの場合には年齢別にサルモネラ保菌状況を検討した。その成績は Table 3 に示すごとく1歳以下のイヌの保菌率が最も高く、49頭中16頭(32.7%)がサルモネラを保菌していた。特に5カ月以下の幼犬が高く、その保菌率は35.3%で年齢が高くなるにつれて保菌率の減少傾向が認められた。

4. イヌおよびネコから検出されたサルモネラの血清型 イヌから検出されたサルモネラ139株の血清型は、Table 4 に示すごとく26型に型別された。このうち高頻度に検出された血清型は、*S. typhimurium* が139株中35株(25.2%)で最も多く、ついで*S. schwarzengrund* 18株(12.9%)、*S. thompson* 17株(12.2%)、*S. heidel-*

*berg* 13株(9.4%)、*S. infantis* 10株(7.2%)であった。これらの血清型は、本邦におけるサルモネラ食中毒患者から高頻度に検出される血清型と極めてよく一致している。また最近、散発下痢症患者からしばしば検出される*S. panama*<sup>1)</sup>もイヌから7株(5.0%)検出されている。

ネコ由来の10菌株の血清型は*S. bareilly* が3株、*S. infantis*、*S. heidelberg*、*S. nagoya* が各々2株、*S. derby*が1株であった。なお、イヌの場合89例からサルモネラが検出されているが、このうちの9例からは2種の血清型、1例からは3種の血清型のサルモネラが検出された。また、腸管内容物と腸間膜リンパ節の両者が陽性であった16例のうち10例は同一血清型、他の6例では検査部位により検出菌株の血清型が異なっていた。

5. イヌ由来 *S. typhimurium* の生物型

著者らは前報<sup>5)</sup>において, Cordano<sup>6)</sup>が提唱した *S. typhimurium* 生物型分類が本菌の疫学調査に充分応用できることを報告した。今回の調査ではイヌから検出された *S. typhimurium* とヒトや食品由来株の生物型を比較検討するためにイヌ由来の *S. typhimurium* の生物型分類を行った。イヌ由来株の生物型は a 型, b 型および d 型に型別され, d 型 (76.5%) が最も高率で, ついで a 型 (20.6%), b 型 (2.6%) であった。また, c, e, f, g, h 型に該当する菌株は全く検出されなかった (Table 5)。

6. イヌおよびネコ由来菌株の薬剤感受性試験 イヌおよびネコ由来のサルモネラ分離菌株 142 株について,

Table 5. Biotype of Strains of *S. typhimurium* Isolated from Dogs

Biotypes	TTR	Ino.	Tre.	d-Tar.	Number of Strains (%)
a	+	+	+	+	7(20.6)
b	+	-	+	+	1( 2.6)
c	+	+	-	+	
d	+	+	+	-	26(76.5)
e	+	-	+	-	
f	-	+	+	+	
g	-	+	-	-	
h	-	-	+	+	
Total					34

TTR : Tetrathionate reductase, Ino : Inositol  
Tre : Trehalose, d-Tar : d-Tartaric acid

Table 6. Antibiotics Resistant Pattern of Salmonella Isolated from Dogs and Cats

Serotype	No. of isolates	No. of sensitive	No. of resistant	Resistant pattern							
				S	T	K	S	T	S	T	K
B <i>S. typhimurium</i>	34		34	6	4		4	3			17
<i>S. schwarzengrund</i>	16	7	9	2	1	1	1	1			3
<i>S. heidelberg</i>	15	2	13	8	1		2	1	1		
<i>S. derby</i>	3	1	2	1				1			
<i>S. agona</i>	3	3									
<i>S. sofia</i>	1		1				1				
Untypable	1		1								1
C <sub>1</sub> <i>S. thompson</i>	17	8	9	2	3			1	1		2
<i>S. infantis</i>	12	6	6	5				1			
<i>S. tennessee</i>	4	2	2	2							
<i>S. balleilly</i>	3	2	1	1							
<i>S. oranienburg</i>	1	1									
C <sub>2</sub> <i>S. bovis-morbificans</i>	3	3									
<i>S. nagoya</i>	2	1	1						1		
<i>S. blockley</i>	1		1								1
<i>S. newport</i>	1	1									
<i>S. litchfield</i>	1	1									
<i>S. chailey</i>	1	1									
D <i>S. panama</i>	6	1	5							3	2
<i>S. enteritidis</i>	3	3									
E <sub>1</sub> <i>S. london</i>	4	2	2					1			1
<i>S. meleagridis</i>	2	1	1								1
<i>S. give</i>	1	1									
<i>S. anatum</i>	1	1									
E <sub>2</sub> <i>S. newbrunswick</i>	1		1	1							
E <sub>4</sub> <i>S. senftenberg</i>	3	1	2					1			
K <i>S. cerro</i>	1	1									
R <i>S. johannesburg</i>	1		1					1			
Total	142	50(35.2)	92(64.8)	29	9	1	8	11	6	28	

( ) : %, S : streptomycin, T : tetracycline, K : kanamycin

SM, TC, CP, KM, NA, AB-PC の6種の薬剤に対する感受性試験を Table 6 に示した。6薬剤のいずれかに耐性を示した菌株は142株中92株(64.8%)である。その耐性パターンは、単剤耐性では SM が29株 (31.5%), TC 9株 (8.7%), KM 1株 (1.1%) であった。また、多剤耐性は SM・TC の2剤耐性が8株(8.7%), SM・KM 11株 (12.0%), TC・KM 6株 (6.5%) であった。また、SM・TC・KM の3剤耐性が28株 (30.4%) 認められた。

### 考 察

東京都内におけるサルモネラによる集団食中毒例や散发下痢症患者は近年著しく増加している<sup>19)</sup>。その原因として食肉、鶏卵およびその加工品、家畜、家禽あるいは河川などの環境の高度なサルモネラ汚染が指摘されている。さらに愛がん動物も軽視できず、前報<sup>2)</sup>では愛がん用カメラもサルモネラ感染源として重要であることを報告した。今回は、東京都内で捕獲されたイヌについて調査したところ、イヌのサルモネラ保菌率は1952—1968年に村瀬ら<sup>10)</sup>、坂崎ら<sup>11)</sup>、勝部<sup>12)</sup>および松本ら<sup>13)</sup>によって調査された成績とほぼ同様で、15.5%であった。イヌのサルモネラ保菌は調査地域、年、あるいはイヌの種類によって変動することがすでに指摘されており、これらも考慮しなければならないが、その保菌率を月別に検討したところ、特に夏期に高い傾向が認められた。また年齢別では1歳以下の幼犬の保菌率が高く、イヌの場合もヒトの場合と同様に年齢によりサルモネラに対する感受性の違いがあると推察される。

ネコのサルモネラ保菌については、Smith ら<sup>14)</sup>の成績では2.5%、新井ら<sup>15)</sup>は1.3%と報告している以外ほとんど検討されていない。今回調査対象とした東京都内で捕獲されたネコは、前述のイヌとほとんど同様な環境で飼育されているにもかかわらず、そのサルモネラ保菌率はイヌよりも低く、2.6%であった。しかも、月別の調査でも夏～秋にのみ保菌が認められ、イヌの場合とはかなり異なった態度を示した。

イヌのサルモネラ保菌率は前述のごとく、従来調査された成績と極めて類似している。しかし、検出株の血清型は26型にも及び、血清型の多彩化とともに血清型の検出頻度に大きな変動が認められる。すなわち、1952—1954年の坂崎ら<sup>11)</sup>のイヌの成績では、*S. enteritidis* が最も多く、1968年の勝部<sup>12)</sup>の成績では *S. typhimurium* が高く、ついで *S. enteritidis*, *S. derby* が検出されていた。ところが今回の調査では *S. typhimurium* が圧倒的に高く、ついで *S. schwarzengrund*, *S. thompson*, *S. infantis*, *S. heidelberg* が認められ、*S. enteritidis*

はわずかに3株にすぎない。また、イヌやネコから検出されるサルモネラの血清型は、現在、東京都内でヒトのサルモネラ食中毒事例、散发下痢症患者あるいは健康保菌者から検出される血清型<sup>1)</sup>と極めて類似したパターンを示している。

つぎにイヌから最も多く検出された *S. typhimurium* について Cordano ら<sup>6)</sup>に従って生物型を検討した結果、ヒト由来の *S. typhimurium* の生物型と同一パターンを示した。このことはヒトのサルモネラ感染症に密接な関連のあることを示唆するものと考えられる。

一方、Bowmer<sup>16)</sup>はイヌによって子供がサルモネラに感染した例を報告しており、また最近、一家庭の家族6名がネコから感染したサルモネラ症も報告されている<sup>17)</sup>。Tanaka ら<sup>18,19)</sup>はイヌのサルモネラ保菌は一過性ではなく、本菌は腸管内のうち、回盲腸粘膜や腸管リンパに定着し長期間にわたって排菌を継続することを認めており、このような事実からイヌやネコと接触する機会の多い乳幼児は、これらの愛がん動物からのサルモネラ感染を受ける危険性も少なくないと考えられる。

### 結 論

イヌおよびネコのサルモネラ保菌状況を明らかにするため、1974—1976年にかけて東京都犬管理事務所等で捕獲され、あるいは殺処分依頼を受けたイヌおよびネコについて本菌の保菌状況を検討した結果、以下の成績が得られた。

1. イヌ 574 頭中89頭からサルモネラが検出され、その保菌率は15.5%であった。また検査部位別陽性率は回盲部内容物が6.6%、直腸内容物が5.9%、腸間膜リンパ節が9.6%であった。年齢別では1歳以下の幼犬が高い保菌率を示した。また、月別検出頻度をみると年間を通じて検出されているが特に8月と9月に高い検出率を示した。

2. ネコの場合は310頭中8頭(2.6%)からサルモネラが検出され、ネコの保菌はイヌのそれと比較して低い保菌率であった。月別検出は8—10月のみに検出され他の月ではまったく検出されなかった。

3. イヌおよびネコから検出されたサルモネラ149株の血清型は26型である。このうち、*S. typhimurium*, *S. schwarzengrund*, *S. thompson*, *S. heidelberg* が高頻度に検出された。

4. イヌ由来の *S. typhimurium* については Cordano らの生物型分類を行ったところ、a型が20.6%、b型2.6%、d型が76.5%の3型に分類された。この生物型は食中毒患者由来の *S. typhimurium* の生物型と同一パターンであった。

5. イヌおよびネコから分離されたサルモネラの薬剤感受性は142株中92株(64.8%)が耐性菌であった。耐性パターンは単剤耐性ではSMが29株, TCが9株, KMが1株であった。また, 多剤耐性はSM・TCの2剤耐性が8株, SM・KMが11株, TC・KMが6株, SM・TC・KMの3剤耐性が28株であった。

謝辞 本調査に多大なる御協力をいただいた東京都犬管理事務所の方々に深謝致します。

#### 文 献

- 1) 坂井千三, 伊藤 武, 丸山 務, 齋藤香彦, 善養寺 浩, 辺野喜 正夫: 東京衛研年報, 27, 16, 1976
- 2) 伊藤 武, 坂井千三, 加藤俊子, 上村知雄, 中村 義: 麻布獣医科大学研究報告, 1, 45, 1976
- 3) Iveson, J.B. and E.M. Mackay-Scollay: *J. Hyg.*, 67, 457, 1969
- 4) Kauffmann, F.: *The Bacteriology of Enterobacteriaceae*, 55, 1966, Munksgaard, Copenhagen
- 5) Jameson, J.E.: *Mon. Bull. Minist. Hlth. Lab. Serv.*, 20, 14, 1961
- 6) Cordano, A.M., C. Richard, and J. F. Vieu: *Ann. Inst. Pasteur.*, 121, 473, 1971
- 7) Minor, L. L.: *Ann. Inst. Pasteur.*, 113, 117, 1967
- 8) 伊藤 武, 津野正朗, 坂井千三, 善養寺 浩, 大橋 誠: 東京衛研年報, 26-1, 20, 1975
- 9) 松原義雄: 総合臨牀, 23, 2009, 1954
- 10) 村瀬信雄, 渡辺正太, 波岡茂郎: 日細誌, 9, 741, 1954
- 11) 坂崎利一, 波岡茂郎, 渡辺正太: 日細誌, 10, 833, 1955
- 12) 勝部泰次: メディヤサークル, 14, 327, 1969
- 13) 松本治康: 大阪府立大学紀要, 18, 73, 1966
- 14) Smith, H. W. and J. C. Cruickshank: *Bri. Med. J.*, 3, 1254, 1949
- 15) 新井養老, 川路利順, 辺野喜 正夫, 松井清治, 林田敏夫, 門野義雄, 秦 賢寿, 高野康郎: 日伝会誌, 29, 237, 1954
- 16) Bowmer, E. J.: *Amer. J. Med. Sci.*, 247, 467, 1953
- 17) 小谷 勉, 福田 充, 内田敦雄, 椋 達則, 亀家朗介, 杉村和子: 島根県環境保健大会研究発表, 1976, 島根
- 18) Tanaka Y., Katsube Y., and Imaizumi K.: *Jap. J. Vet. Sci.*, 38, 215, 1976
- 19) Tanaka Y., Katsube Y., and Imaizumi K.: *Jap. J. Vet. Sci.*, 38, 569, 1976

市販食品における *Bacillus cereus* の汚染と分離菌株の性状および芽胞の耐熱性

楠 淳<sup>\*1</sup>, 池島伸至<sup>\*1</sup>, 新井輝義<sup>\*1</sup>, 神真知子<sup>\*1</sup>  
入倉善久<sup>\*1</sup>, 友成正臣<sup>\*1</sup>, 伊藤武<sup>\*2</sup>, 坂井千三<sup>\*2</sup>

The Contamination of *Bacillus cereus* in Various Food and  
Biochemical Characteristics and Heat Resistance of Spores Isolated Strains

JUN KUSUNOKI<sup>\*1</sup>, NOBUYUKI IKEJIMA<sup>\*1</sup>, TERUYOSHI ARAI<sup>\*1</sup>, MACHIKO JIN<sup>\*1</sup>,  
YOSHIHISA IRIKURA<sup>\*1</sup>, MASAOMI TOMONARI<sup>\*1</sup>, TAKESHI ITOH<sup>\*2</sup>  
and SENZO SAKAI<sup>\*2</sup>

緒 言

*Bacillus cereus* は主として土壌や農作物に広く分布し、食品の腐敗菌として古くから知られていた。ところが、Hauge<sup>1)</sup> が1950年にノールウェーで、*B. cereus* を原因菌とする集団下痢症例を報告して以来、デンマーク、イタリア、イギリスなどの欧州各国や米国においても本菌による食中毒事例がしばしば報告されている<sup>2-6)</sup>。

しかし、本邦では本菌の食中毒起因菌としての関心が低いためか、本菌による食中毒の報告は極めてまれである。また諸外国での本菌食中毒例では、ミルク、アイスクリーム、ニワトリ肉の加熱調理食品やスープ、野菜の調理食品やスープ、ソーセージ、バナナソース、フライドライスなどの原因食品から *B. cereus* が  $10^5$ — $10^9$ /g 検出されている。諸外国と同様な食品は本邦でも常時市販されているが、これらの食品における *B. cereus* の汚染状況はまったく検討されていない。

そこで、著者らは本邦における *B. cereus* による食中毒解明の基礎的調査として、東京都内に市販されている食品を対象に本菌の汚染状況を検討したので、その成績について報告する。

調査対象および方法

1. 被検材料 1975年6月より1977年3月に、東京都内の食品製造業や食品販売店で製造あるいは販売されていた各種食品 2,922件を本調査の対象にした。その内訳は表1に示すごとく、魚介類および同加工品 515件、肉および同加工品 440件、生菓子類 488件、殻類 798件、野菜類 174件、複合調理食品（仕出し弁当など） 106件、冷凍食品 350件および香辛料 51件である。

2. 食品からの *B. cereus* の分離と同定 食品 10g を無菌的に秤量し、90mlの滅菌生理食塩液を加え、ホモジナイザーで乳剤とした。本乳剤を卵黄加CW寒天（日水製）に塗抹し、37°、18—24時間培養した。なお、分離培地の卵黄加CW寒天には田村<sup>7)</sup>に従ってポリミキシンBを50U/mlになるように添加した。本培地に発育した集落のうちレシチナーゼ陽性のやや spread する表面が粗造、灰白色の集落を釣菌し、普通寒天で純培養後、以下の各種の生化学的性状を検討し Smith<sup>8)</sup> や東<sup>9,10)</sup>に従って同定した。

検討した性状は、インドール反応、VP反応（VP半流動培地）、シモンズとクリステンゼン培地でのクエン酸塩利用性、硝酸塩還元性、尿素分解性、グラーゲン液化反応、カゼイン、澱粉およびエスクリンの加水分解性、羊赤血球に対する溶血性、レシチナーゼ、DNase、7%食塩加ペプトン水での発育、糖加アンモニウム培地<sup>8)</sup>によるブドウ糖、乳糖、マルトース、マンニット、アラビノースおよびキシロースの各炭水化物の分解性である。

3. *B. cereus* 生菌数の測定 食品中の *B. cereus* の生菌数測定は、前記の食品の乳剤を滅菌生理食塩液で10倍段階希釈し、各希釈液を50U/mlポリミキシンB黄卵加CW寒天2枚に0.1mlずつ滴下し、コンラージ棒で塗抹37°、48時間培養後、出現した *B. cereus* の集落を算定した。

4. 芽胞の熱抵抗性試験 供試菌をポテトデキストロス寒天（pH 7.2）で37°、7日間培養し、芽胞が90%以上形成されていることを顕微鏡で確認した後、その培養菌を滅菌生理食塩液に浮遊させ、芽胞数が  $10^6$ — $10^7$ /

\*1 東京都立衛生研究所多摩支所 190 東京都立川市柴崎町 3—16—25

\*1 Tama Branch Laboratory, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health 16—25, Shibazakicho 3 chome, Tachikawa, 190 Japan

\*2 東京都立衛生研究所微生物部細菌第一研究科 160 東京都新宿区百人町 3—24—1

\*2 Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health 24—1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

表 1. 各種食品からの *B. cereus* 検出と汚染菌数

被 検 材 料	検査 件数	陽性数(%)	1 g 当りの <i>B. cereus</i> 菌数		
			≤10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
魚 介 類					
さ し み	228	31 (13.6)	27	4	
蛋白ねり製品	287	9 (3.1)	9		
肉 類					
生 肉	133	2 (1.5)	2		
ハム, ソーセージ	307	11 (3.6)	11		
生 菓 子 類					
洋 菓 子	212	23 (10.8)	16	5	2
和 菓 子	276	16 (5.8)	14	2	
冷 凍 食 品					
フライ, コロッケ	107	10 (9.3)	7	1	2
蛋白ねり製品	46	3 (6.5)	3		
ぎょうざ, シューマイ	70	1 (1.4)	1		
そ の 他	127	8 (6.3)	8		
複合調理食品	106	3 (2.8)	3		
調 理 パ ン	264	17 (6.4)	16		1
お に ぎ り	30	3 (10.0)	3		
い な り ず し	47	3 (6.4)	3		
め ん 類	200	16 (8.0)	9	6	1
サ ラ ダ	174	7 (4.0)	5	2	
と う ぶ	257	144 (56.0)	52	70	22
香 辛 料	51	5 (9.8)		5	
計	2,922	312 (10.7)	189 (60.6)	95 (30.4)	28 (9.0)

mlとなるように調整した。この芽胞菌液 1 ml を 80° と 100° (煮沸) の各温度で一定時間加熱後、2 倍濃度の普通ブイヨンを等量加えて 37°, 18—24 時間培養し、菌の発育が認められた場合にはさらに卵黄加 CW 寒天で培養し、*B. cereus* の確認を行ない、耐熱性の有無を判定した。

#### 成績および考察

1. 市販食品の *B. cereus* 汚染状況 食品から *B. cereus* が分離された報告は極めて古く、Lawrence (1916年)<sup>11)</sup> は牛乳、Cheyney (1919年)<sup>12)</sup> は野菜の缶詰より本菌を分離している。また、諸外国では広範囲な食品について本菌の汚染調査がなされており、Nikodemusz<sup>13)</sup> はハンガリーで各種食品 27,000 件中、6.4% から、また Kim<sup>14)</sup> の米国における市販の乾燥食品の調査では 25% の検出率を示している。

今回、東京都内で、製造あるいは販売されていた食品 2,922 件を対象に *B. cereus* の汚染状況を検討したところ 312 件 (10.7%) から本菌が検出された。食品の種類別では、豆腐からの検出率が最も高率であり、257 件中 144 件 (56.0%) が陽性であった。ついで魚介類のさしみ 228 件中 31 件 (13.6%)、洋菓子 212 件中 23 件 (10.8%)、おにぎり 30 件中 3 件 (10.0%)、冷凍用フライやコロッケ

107 件中 10 件 (9.3%)、および香辛料 51 件中 5 件 (9.8%) であった。表 1 に示すごとく、その他、調査した食品すべてから *B. cereus* が検出され、本邦で市販されている食品も、諸外国の場合と同様に広範囲にわたって本菌に汚染されていることが明らかになった。

食品中の *B. cereus* の生菌数は、前述の本菌陽性食品 312 件中 189 件が食品 1 g 当り 10<sup>2</sup> 個あるいはそれ以下の菌数、95 件が 10<sup>3</sup> 個、28 件が 10<sup>4</sup> 個で、検出率の高い豆腐が生菌数も多い傾向が認められた。

Akimov<sup>15)</sup> は缶詰 (6.7%) やソーセージ (7.7%) の *B. cereus* 汚染を指摘しているが、今回の調査でも、長期間保存される魚介類のねり製品やハム、ソーセージから本菌が検出された。また、からし、とうがらし、わさびなどの香辛料からも本菌が高頻度に検出されており、Powers<sup>16)</sup> の警告のように、香辛料中の *B. cereus* は、調理された食品への汚染源として注目する必要があるであろう。

なお、Choudhery<sup>17)</sup> や Ionescu<sup>18)</sup> などの調査では、市販の乳製品は本菌の汚染率が高いことを報告しており、本邦で市販されている乳製品についても今後詳細に検討する必要があるであろう。

2. 分離菌株の生化学的性状 今回の調査で、食品か

表 2. 食品より検出された *B. cereus* の生化学的性状

性 状	陽性	陰性
インドール	0	484
VP 反応	484	0
シモンズのクエン酸塩	18	466
クリステンゼンのクエン酸塩	451	33
硝酸塩	398	86
尿素 (クリステンゼン)	40	444
ゲラチン	484	0
カゼイン	484	0
澱粉	484	0
エスクリン	465	19
カタラーゼ	484	0
レシチナーゼ	484	0
溶血性	484	0
DNase	484	0
7.0% NaCl 発育	423	61
ブドウ糖	484	0
乳糖	0	484
マルトース	483	1
マンニット	0	484
アラビノース	0	484
キシロース	0	484
運動性	484	0

供試菌株 484株

ら分離された 484 菌株の生化学的性状を表 2 に示した。供試菌株は、VP 反応、ゲラチンの液化性、カゼインと澱粉の加水分解性、カタラーゼ、レシチナーゼ、羊赤血球の溶血性、DNase および運動性はすべて陽性、インドール反応は陰性であった。炭水化物分解性では、ブドウ糖、マルトースを分解し、ラクトース、マンニット、アラビノース、キシロースは非分解であった。さらに 484 株のうち無作為に選んだ 175 株について他の炭水化物の分解性を検討した結果、トレハロースは全株 (100%)、グリセロールは 174 株 (99.4%)、サリシン 137 株 (78.2%)、シュクロース 168 株 (96.0%)、イノシトール 16 株 (9.1%)、マンノース 4 株 (2.2%)、ガラクトース 5 株 (2.9%) が陽性、ズルシット、ソルビット、アドニット、ラフィノース、ラムノースは全株とも陰性であった。

これらの諸性状は Krieg<sup>19)</sup>、Gilbert ら<sup>20)</sup> および Kim<sup>14)</sup> の成績と類似している。ただし、VP 反応陰性株、澱粉非分解株、レシチナーゼ非産生株、ラクトース分解株も報告されており、今後さらに多くの菌株につい

表 3. 食品由来 *B. cereus* の芽胞の熱抵抗性

由 来	供試菌株	加熱条件				
		80°		100°		
		30分	60分	5分	10分	30分
魚介類						
さしみ	46	46	45	15	11	6
蛋白ねり製品	14	13	13	8	7	1
肉類						
生肉	2	2	2	1	1	
ハム、ソーセージ	24	24	23	1	1	
生菓子類						
洋菓子	28	27	11	4	3	
和菓子	18	18	18	5	1	
冷凍食品						
フライ、コロッケ	17	17	17	6	5	3
蛋白ねり製品	6	6	6	2	2	2
ぎょうざ、シューマイ	1	1	1			
その他	9	9	9	3	2	1
複合調理食品	3	3	3			
調理パン	21	21	21	11	8	4
おにぎり	5	5	5			
いなりずし	4	4	4	1	1	1
めん類	29	28	28	14	10	5
サラダ	8	8	8	4	4	4
とうふ	229	226	224	176	140	78
香辛料	12	12	12	1	1	
計	484	470	450	252	197	105

て検討する必要がある。

東<sup>9,10)</sup> はクエン酸塩利用性、硝酸塩還元性、澱粉分解性、VP 反応、ゲラチン液化性を基準にした *Bacillus* 属の簡易な同定法を報告している。しかし、これらの性状は、今回の著者らの成績ではかなりのばらつきが認められるので、本菌の同定基準として必ずしも実用的でないと考えられる。

3. 分離菌株の芽胞の耐熱性 食品より分離した *B. cereus* 484 菌株については、生化学的性状の他に芽胞の熱抵抗性も検討した。その成績は表 3 に示すごとく、供試菌株 484 株中 470 株 (97.1%) の芽胞が 80°、30 分の加熱に抵抗性を示した。また 105 株 (21.7%) は 100°、30 分の加熱にも抵抗性が認められた。特に豆腐から検出された 229 株のうち 176 株の芽胞は 100°、5 分、82 株は 100°、30 分の加熱でも生残した。まためん類由来の 29 株中 5 株も 100°、30 分の加熱に耐性であった。

*B. cereus* 芽胞の 100° に対する D 値は 5 分であると報

告されており<sup>21)</sup>, また, Clegg ら<sup>22)</sup> や Vas ら<sup>23)</sup> は, 90°, 30分あるいは140°, 2秒の加熱に対しても抵抗性を示す *B. cereus* を認めていることより, *B. cereus* の芽胞の熱抵抗性は菌株による差異はあるにしても, かなり高いものと思われる。

最近, Taylor ら<sup>24)</sup> は食中毒由来の *B. cereus* の血清学的分類を試み, この血清型別は本菌食中毒の発生時あるいは本菌の生態学的研究の際に広く応用できることを示唆し, 寺山<sup>25)</sup> は Taylor ら<sup>24)</sup> の血清型以外に新血清型を追加している。さらに Spira ら<sup>26)</sup>, Glatz ら<sup>27)</sup>, Turnbull ら<sup>28)</sup> は *B. cereus* の腸炎起病性因子としてエンテロトキシンを指摘しており, 従って本調査で分離された *B. cereus* についても, 今後それらの点を検討する必要があらう。

### 結 論

本邦における *B. cereus* 食中毒解明の細菌学的基礎調査として, 1975年6月—1977年3月の間に, 東京都内で市販されている食品について *B. cereus* の汚染状況を検討したところ以下の成績を得た。

1. 東京都内に市販されていた食品2,922件中312件(10.7%)から *B. cereus* が検出された。食品の種類別では豆腐が最も高く257件中144件(56.0%)が陽性で, ついで魚のさしみ(13.6%), 洋菓子(10.8%), おにぎり(10.0%), 香辛料(9.8%)などであった。

2. 食品中に含まれていた *B. cereus* の生菌数は, 189件(60.6%)が $10^2$ 個/g以下, 95件(30.4%)が $10^3$ 個/g, 28件(9.0%)が $10^4$ 個/gであった。

3. 分離菌484株はレンチナーゼ, VP 反応, グラチンの分解, カゼインの分解, 澱粉の分解, 溶血性, ブドウ糖の利用および運動性が陽性であり, インドール反応, 乳糖, マンニット, アラビノース, キシロースの利用能は陰性であった。

4. 分離菌株484株について芽胞の熱抵抗性を検討したところ450株は80°, 60分の加熱でも生残し, そのうち105株(21.7%)は100°, 30分の加熱に対しても生残した。

### 参 考 文 献

- 1) Hauge, S : *Nord. hyg. Tidskr.*, 31, 189, 1950
- 2) Christiansen, O., S. O. Koch, and P. Madelung : *Nord. Vet. Med.*, 3, 194, 1951
- 3) Pisu, I. and L. Stazzi : *Nouvi Annali Ig. Microbiol.*, 1, 1, 1952
- 4) Midura, T., M. Gerber, R. Wood, and A. R.

- Leonard : *Publ. Hlth. Rep.*, 85, 45, 1970
- 5) Anon : *Brit. med J.*, 1, 189, 1972
- 6) Raevuori M., T. Kiutamo, A. Niskanen, and K. Salminen, : *J. Hyg.*, 76, 319, 1976
- 7) 田村利勝 : *メディアサークル*, 13, 225, 1968
- 8) Smith, N.R., R. E. Gordon, and F. E. Clark : *Aerobic sporeforming bacteria, U. S. Dep. Agric. Agriculture Monograph*, No. 16, 1952
- 9) 豊三 : *ニューフードインダストリー*, 4, 67, 1962
- 10) 豊三 : *ニューフードインダストリー*, 4, 61, 1962
- 11) Lawrence, J. S. and W. W. Ford : *J. Bact.*, 1, 273, 1916
- 12) Cheyney, E.W. : *J. Med. Res.*, 40, 177, 1919
- 13) Nikodemusz, I : *Zeit. Hyg.*, 145, 355, 1958
- 14) Kim. H.U. and J. M. Goepfert : *Appl. Microbiol.*, 22, 581, 1971
- 15) Akimov, A.M. : *Gig. Sanit.*, 34, 109, 1969
- 16) Powers, E.M., G. L. Thomas, and T. Brow : *J. Milk Food Technol.*, 39, 668, 1976
- 17) Choudhery, A. K. and E. M. Mikolajcik : *J. Dairy Sci.*, 54, 321, 1971
- 18) Ionescu, G., Ienistea, C., Ionescu, C., : *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, 11, 423, 1969
- 19) Krieg, A. : *J. Invert. Pathol.*, 12, 366, 1968
- 20) Gilbert, R.J. and A. J. Taylor : *Microbiology in agriculture, fisheries and food*, 197, 1976, Academic., England
- 21) Ingram, M. : *The baceraial Spore*, 549, 1969, Academic, England
- 22) Clegg, L.F.L., V. Sergeant, J. G. Franklin, and J. E. Auclairair : *Dairy Ind.*, 21, 128, 1956
- 23) Vas. K. and G. Proszk : *J. Appl. Bacteriol.* 20, 431, 1957
- 24) Taylor, A.J. and R. J. Gilbert : *J. Med. Microbiol.*, 8, 543, 1975
- 25) 寺山 武, 新垣正夫, 山田澄夫, 潮田 弘, 五十嵐英夫, 坂井千三 : 第33回日本食品衛生学会 5月, 1977年, 東京
- 26) Spira, W.M. and J. M. Goepfert : *Appl. Microbiol.*, 24, 341, 1972
- 27) Glatz, B.A. and J.M. Goepfert. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 32, 400, 1976
- 28) Turnbull, P.C.B. : *J. Clin. Patn.*, 29, 941, 1976

## しょう紅熱患者の免疫グロブリン値と ASO 抗体価について

加納 堯子\*, 村田 以和夫\*, 飯村 達\*\*

### Study on Serum Immunoglobulin and ASO Level of Scarlet Fever Patients

TAKAKO KANO<sup>H</sup>\*, IWAO MURATA\* and TATSU IIMURA\*\*

During the period from 1975 through 1976, a follow-up survey on the levels of serum immunoglobulin and anti-streptolysin O (ASO) titer was conducted on 121 sera obtained from 40 scarlet fever patients who had been hospitalized in Tokyo Metropolitan Toshima General Hospital. Serological methods applied for this study were single radial immunodiffusion, radialimmunoassay and Rantz-Randall methods. The results obtained were grouped by sex, age and their time course of the illness, and subjected to a statistic analysis. Throughout the 4 months of surveillance in each patient, the levels of IgA and IgG stayed in normal level, while IgM stayed in high level. Furthermore, IgM level of female patients were significantly higher than that of males. Six (15%) of 40 patients showed high level of IgE at the time of their hospitalization, but the amounts declined to normal level within a period of 3 months. Twenty eight (70%) patients showed significant increase in their ASO titer at the convalescence, however, rest of 12 patients showed their ASO titer of less than 12 Todd unit throughout the observation period.

溶れん菌の感染によって惹起される疾患はきわめて多彩な病像を呈するため、その感染成立、病状発現にはさまざまな因子の関与が想定されている。A群溶れん菌症の中で、病状発現は主として菌体外毒素によるものとされているしょう紅熱は、小児に好んで多発するところから宿主の免疫系の分化発達に係わる要因が大きいのと考えられている。近年、溶れん菌感染症の成立機転を解明してゆく過程において菌側の因子を検討した報告<sup>1-4)</sup> および宿主側の免疫応答性についての報告等<sup>5,6)</sup> が見られるが、しょう紅熱患者を主体とした観点から免疫応答を検討した積極的なデータはあまり見られない。私共は先ず40人のしょう紅熱患者を対象を選び、その病週を追って採血した血清の IgA, IgM, IgG, IgE 値および ASO 抗体価を追跡調査し、個体の免疫グロブリンや ASO 抗体価から免疫応答性を検討した。測定結果は、性、年令、病週別に、および同年令群の正常値との相互関係について推計学的に解析を行なった。

#### 材料および方法

1. 被検血清 1975年10月—1976年10月までに都立豊島病院に入院したしょう紅熱患者のうち40人を任意に抽出し、入院時、退院時(発症後3週間)、発症後約1カ

月、発症後3カ月、発症後4カ月に採血した計121検体の血清である。なお被検血清は全て当所の血清収集保存管理室に-70°Cで凍結保存されていたもので、使用に際し分与を受け使用直前に4°Cで融解した。

2. IgA, IgM, IgG 値の測定 Single Radial Immunodiffusion 法による定量法を採用した。測定に使用した Immuno plate は、MBL-plate (富士臓器製薬株式会社発売)を用い、plate への試料添加は micro-plate (Scientific Manufacturing Industries, U. S. A.), 沈降輪の直径は、ノギスを使用し0.1mm単位まで測定した。反応条件は、IgA, IgG は室温(約20°C)48時間; IgM は室温で72時間、それぞれ湿潤箱中で反応させた。測定値の各 IgA, IgM, IgG 定量値への換算は、3種類の MBL plate 用標準ヒト血清によって各 plate 毎に作製した標準曲線を用いてその濃度を読みとった。また必要があれば、生理食塩液で血清を希釈し、測定後、希釈倍数を乗じて濃度を求めた。

3. 血清 IgE 値の測定 測定方法は Radio Immunoassay (Radio Immuno Sorbent Test; RIST) による。測定試薬は IgE Test シオノギを用い、測定方法は、すべて使用説明書に準じた。測定器は、Auto-

\* 東京都立衛生研究所微生物部細菌第二研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

\*\* 東京都立豊島病院

Table 1. Time Course of Serum Immunoglobulin and ASO Levels in 40 Scarlet Fever Cases

sex	age	I			II			III			IV			V			
		mean factor	value	$\sigma$	n	mean value	$\sigma$	n									
male	5	IgA	2.101	0.193	5	2.132	0.229	5	2.300	0.132	3	2.412	0.000	1			
		IgM	2.265	0.258	5	2.248	0.205	5	2.318	0.302	3	2.328	0.000	1			
		IgG	3.029	0.151	5	3.070	0.172	5	3.112	0.100	3	3.033	0.000	1			
		IgE	1.805	0.154	5	1.672	0.101	5	1.767	0.140	3	1.672	0.000	1			
		ASO	1.463	0.636	5	1.664	0.914	5	1.640	1.109	3	1.000	0.000	1			
	6	IgA	2.262	0.211	7	2.281	0.085	5	2.329	0.154	7	2.210	0.064	2			
		IgM	2.257	0.158	7	2.303	0.130	5	2.380	0.142	7	2.356	0.016	2			
		IgG	3.046	0.131	7	3.027	0.040	5	3.067	0.096	7	3.082	0.031	2			
		IgE	2.137	0.579	7	2.259	0.560	5	2.023	0.451	7	0.026	0.615	2			
		ASO	1.123	0.257	7	1.619	0.837	5	1.871	0.843	7	1.960	1.358	2			
	7	IgA	2.142	0.254	5	2.077	0.054	3	2.225	0.220	3	2.129	0.200	2	2.322	0.000	1
		IgM	2.166	0.175	5	2.117	0.072	3	2.276	0.141	3	1.989	0.162	2	2.164	0.000	1
		IgG	3.020	0.168	5	3.022	0.093	3	3.136	0.029	3	2.922	0.146	2	2.940	0.000	1
		IgE	1.885	0.172	5	1.746	0.118	3	1.867	0.270	3	1.663	0.426	2	1.603	0.000	1
		ASO	1.184	0.818	5	2.663	0.513	3	2.239	1.075	3	1.960	1.358	2	1.000	0.000	1
11	IgA	2.322	0.264	5	2.427	0.160	5	2.282	0.139	5	2.244	0.210	4				
	IgM	2.121	0.265	5	2.051	0.121	5	2.083	0.207	5	1.966	0.209	4				
	IgG	3.162	0.126	5	3.174	0.121	5	3.117	0.103	5	3.094	0.048	4				
	IgE	2.074	0.607	6	2.102	0.409	5	2.228	0.245	5	2.121	0.497	4				
	ASO	2.364	0.361	6	2.572	0.317	5	2.566	0.378	5	2.728	0.438	4				
female	5	IgA	2.233	0.133	4	2.198	0.085	4	2.305	0.000	1	2.204	0.000	1			
		IgM	2.269	0.188	4	2.304	0.090	4	2.274	0.000	1	2.458	0.000	1			
		IgG	3.001	0.105	4	3.015	0.067	4	3.086	0.000	1	3.072	0.000	1			
		IgE	1.922	0.121	4	1.886	0.246	4	1.799	0.000	1	1.771	0.000	1			
		ASO	1.020	0.040	4	2.024	0.681	4	2.522	0.000	1	1.699	0.000	1			
	6	IgA	2.174	0.169	6	2.129	0.171	6	2.128	0.223	5	2.286	0.296	3			
		IgM	2.441	0.188	6	2.416	0.171	6	2.398	0.180	5	2.449	0.145	3			
		IgG	3.096	0.164	6	3.095	0.135	6	3.082	0.113	5	3.133	0.080	3			
		IgE	2.250	0.572	6	2.217	0.643	6	2.194	0.578	5	1.386	0.135	2			
		ASO	1.246	0.565	6	1.599	0.927	6	1.689	0.953	5	1.725	1.189	3			
	7	IgA	2.269	0.193	3	2.339	0.106	3	2.259	0.152	4	2.359	0.211	2			
		IgM	2.384	0.222	3	2.430	0.083	3	2.420	0.084	4	2.492	0.228	2			
		IgG	2.942	0.042	3	3.060	0.068	3	3.102	0.093	4	3.027	0.083	2			
		IgE	1.967	0.060	3	1.822	0.077	3	1.822	0.073	4	1.817	0.259	2			
		ASO	1.932	0.861	3	2.631	0.404	3	2.604	2.254	4	2.810	0.157	2			
11	IgA	2.250	0.190	3	2.297	0.204	3	2.152	0.280	2	2.279	0.000	1	1.954	0.000	1	
	IgM	2.434	0.205	3	2.469	0.217	3	2.567	0.161	2	2.104	0.000	1	2.389	0.000	1	
	IgG	3.152	0.067	3	3.104	0.094	3	3.055	0.024	2	3.017	0.000	1	3.017	0.000	1	
	IgE	1.751	0.511	3	1.630	0.393	3	1.829	0.610	2	1.519	0.000	1	1.447	0.000	1	
	ASO	2.301	0.273	3	2.521	0.230	3	1.699	0.989	2	2.522	0.000	1	2.796	0.000	1	

Note: n; No. of tested, I; at the time of hospitalization, II; 3 weeks after the onset of scarlet fever, III; 1 month after the onset of scarlet fever, IV; 3 months after the onset of scarlet fever, V; 4 months after the onset of scarlet fever

Table 2. Analysis of Variance (One-way layout) in Each Factor

Factor		IgA	IgM	IgG	IgE	ASO
Age		b 1.244	b 4.720**	b 3.770*	b 4.483**	a 13.931**
	5-6	d 0.418	d 2.797	d 1.096	d** 9.837	c 0.026
	5-7·8	0.259	0.016	0.185	0.061	** 11.784
	5-9·11	3.316	2.997	6.677*	2.643	** 21.667
	6-7·8	0.008	3.454	2.432	8.625**	** 16.327
	6-9·11	1.921	13.989**	3.348	2.279	** 30.005
7·8-9·11	1.761	2.673	9.556**	1.961	1.279	
Time course		f 0.369	f 0.465	f 0.802	f 1.140	e 2.540
	I-II	g 0.149	g 0.081	g 0.364	0.217	d* 6.255
	I-III	0.671	0.858	1.612	0.006	* 6.007
	I-IV	0.578	0.344	0.019	2.168	* 5.833
	I-V	0.332	0.015	0.970	2.477	0.252
	II-III	0.189	0.669	0.448	0.133	0.001
	II-IV	0.200	0.418	0.183	1.182	0.184
	II-V	0.478	0.005	1.387	2.011	0.094
	III-IV	0.735	1.678	0.922	1.843	0.155
III-V	0.716	0.122	1.969	2.365	0.100	
IV-V	0.738	0.038	0.941	0.859	0.221	
Sex	i 0.754	i 34.291**	i 0.043	0.405	h 0.022	

Note: I, II, III, IV, V; the same as defined in Table 1.

$F_{\phi_1}^1 = a; F_{\phi_2}^3 = b; F_{\phi_1}^4 = c; F_{\phi_2}^5 = d; F_{\phi_1}^6 = e; F_{\phi_2}^7 = f; F_{\phi_1}^8 = g; F_{\phi_2}^9 = h; F_{\phi_1}^{10} = i; F_{\phi_2}^{11} = j$

\*\* ;  $F(\phi_1, \phi_2, 0.01)$  \* ;  $F(\phi_1, \phi_2, 0.05)$

Gamma Scintillation Spectro Meter (Packard Type 5360) を使用した。

4. ASO 抗体価の測定 被検血清は使用直前に56C, 30分間非動化して測定に供した。使用試薬は SLO (栄研化学株式会社製), 血球は抗凝固剤入りヒトO型血球を用いた。測定方法は, 従来の溶血阻止を指標とする Rantz-Randall 法<sup>7)</sup> の半量法を実施し, ASO 抗体価は, 溶血阻止抗体希釈倍数をもって表わす Todd 単位で示した。

5. 測定値の統計処理 血清免疫グロブリン値および ASO 抗体価は単なる正規分布をせず常用対数に変換した後に正規分布をすることが知られている<sup>8,9)</sup>。そこで得られた測定値を常用対数に変換しその数値を用いて幾何平均値, 標準偏差を算出し, 更に分散分析 (一元配

置), 平均値の差の検定を行なった。なお平均値の差の検定に使用した免疫グロブリンの正常値は鳥羽ら<sup>10)</sup>によって測定された各年令の IgA, IgM, IgG 値を, および蒲生<sup>9)</sup>らによる IgE 値を使用して解析を行ない, また ASO 抗体価の12単位以下は10単位として算出した。

### 結 果

全測定値の性, 年令, 病週別の平均値, 標準偏差, 被検血清数および分散分析, 各水準間の平均値との差の検定, 相関分析の結果は Table 1-3 に示した。Table 4-6には高 IgE 値を示した6名の患者血清の結果, Table 7は正常値と各因子との比較結果を表わした。

1. 性別にみた IgA, IgM, IgG, IgE 値および ASO 抗体価 しょう紅熱患者血清の IgA, IgG, IgE 値および ASO 抗体価には性別による差が認められなかった。

Table 3. Correlation Coefficients among Each Factor in 40 Scarlet Fever Cases

	ASO	IgA	IgM	IgG	IgE
ASO				*	
IgA	0.133		**	**	
IgM	0.054	0.266		*	
IgG	0.206	0.404	0.248		*
IgE	0.014	0.031	0.055	0.231	

n = 120  $r = \begin{matrix} 0.01 & 0.05 \\ 0.254 & 0.195 \end{matrix}$  \*\*; P < 0.01 \*; P < 0.05

Table 4. Correlation Coefficients among Each Factor in 6 High IgE Cases

	ASO	IgA	IgM	IgG	IgE
ASO			**		
IgA	-0.242			**	
IgM	-0.543	0.022			
IgG	-0.222	0.672	0.259		
IgE	-0.116	-0.111	0.164	0.041	

n = 22  $r = \begin{matrix} 0.01 & 0.05 \\ 0.537 & 0.433 \end{matrix}$  \*\*; P < 0.01 \*; P < 0.05

Table 5. Time Course of Serum Immunoglobulin and ASO Levels in 6 High IgE Cases

Factor		IgA	IgM	IgG	IgE	ASO	
Time course	I	Mean value	2.173	2.239	3.095	2.847	1.754
		$\sigma$	0.799	0.203	0.150	0.183	0.799
		n	6	6	6	6	6
	II	Mean value	2.262	2.287	3.132	2.651	2.172
		$\sigma$	0.121	0.251	0.133	0.431	0.917
		n	6	6	6	6	6
	III	Mean value	2.190	2.276	3.121	2.616	2.172
		$\sigma$	0.118	0.239	0.101	0.128	0.919
		n	6	6	6	6	6
	IV	Mean value	2.178	2.239	3.102	2.253	2.409
		$\sigma$	0.104	0.137	0.396	0.452	0.941
		n	4	4	4	4	4
Age	6	Mean value	2.181	2.377	3.102	2.697	1.736
		$\sigma$	0.125	0.154	0.126	0.366	0.879
		n	14	14	14	14	14
	9-11	Mean value	2.241	2.060	3.133	2.492	2.740
		$\sigma$	0.099	0.086	0.084	0.314	0.188
		n	8	8	8	8	8
Sex	♂	Mean value	2.217	2.194	3.095	2.538	2.220
		$\sigma$	0.104	0.166	0.080	0.386	0.085
		n	16	16	16	16	16
	♀	Mean value	2.163	2.443	3.162	2.849	1.786
		$\sigma$	0.152	0.195	0.168	0.103	0.871
		n	6	6	6	6	6

n ; No. of tested

Table 6. Analysis of Variance (One-way Layout) in High IgE Cases

		IgA		IgM		IgG		IgE		ASO	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Time course	I - II	0.713		0.071		0.115		2.864		0.496	
	I - III		1.677		0.144		0.289		1.156		0.664
	I - IV		0.058		0.085		0.143		1.614		0.664
	II - III		0.001		0.000		0.010		8.521*		1.302
	II - IV		1.111		0.007		0.025		0.038		0.000
	II - V		1.257		0.116		0.146		3.831		0.170
	II - V		0.032		0.070		0.571		3.178		0.170
Age		1.349		2.844**		0.399		1.764		9.962**	
Sex		0.950		8.885**		1.641		3.813		1.123	

Note  $F_{\phi_1}^{\phi_2} = a : F_{18}^3$  b ;  $F_{18}^1$  \*\* ;  $F(\phi_1, \phi_2$  0.01)  
\* ;  $F(\phi_1, \phi_2$  0.05)

Table 7. Difference of Mean Value in Each Factor between Normal Children and Scarlet Fever Cases

Age		IgA	IgM	IgG	IgE
5	F	1.411	2.272**	2.037**	5.563**
	T	0.056	6.723**	0.848	-4.024**
6	F	1.726	1.719	1.553	7.848**
	T	0.698	9.696**	1.339	-1.860
7	F	2.106**	1.665	1.057	5.735**
8	T	-1.115	4.840**	0.763	-2.333*
	F	4.452**	4.034**	5.563	1.186
11	T	-1.016	2.925**	-4.020	-0.546

Note : F ; F test T ; T test

\*\* ;  $P < 0.01$

\* ;  $P < 0.05$

IgM値は、男女間において有意の差があり、女性のIgM値は有意に高く(片側検定)、高IgE値を示した6名(男性4名、女性2名)のIgM値も女性が高値を示した。

2. 年令別にみた IgA, IgM, IgG, IgE 値および ASO 抗体価 IgA 値を除いた各因子内で年令による有意の分散があり、IgM, IgE 値は Table 2 に示したような水準で各平均値間に有意の差があった。Table 7 に示したように被検血清の各因子平均値と正常値の間には分散があり、平均値の差の検定の結果、IgM 値は各年令において正常値より有意に高かった。

ASO 抗体価は、就学前と就学児童に相当する年令群との間に有意差があり、高 IgE 値の6名にも年令間に分散の差があった。すなわち高 IgE 値を示した患者は6才と9-11才のグループのみで5才、7-8才グループは正常値を示した。

3. 病週別にみた IgA, IgM, IgG, IgE 値および ASO 抗体価 Table 2, 6 に示した様に病週間における各因子の分散は ASO 抗体価のみが有意差を示し、ASO 抗体価は入院時と各病週間に差があった。高 IgE 値の6名は IgE 値を除いた各因子値に分散および病週間の差はないが、IgE 値は入院時と発症後3カ月値の間に有意差を示した。すなわち Fig. 1 に示したように6

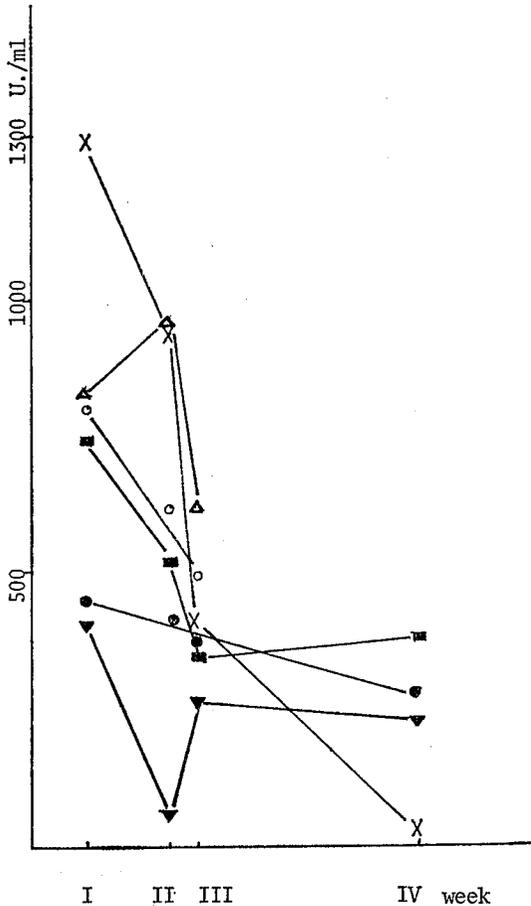


Fig. 1 Time Course of 6 High IgE Cases

I. II. III. IV.; the same as defined in Table 1.

名の最高 IgE 値は 1300 unit/ml で各々の最高 IgE 値は入院時の測定値であり、病週に従って類似の変動傾向を示した。

4. 相関関係にみた IgA, IgM, IgG, IgE 値および ASO 抗体価 各因子間における相関関係は Table 3, 4 に示した。IgG 値に対しては IgM, IgE 値および ASO 抗体価が正相関を示し、高 IgE 値の 6 名は、IgG 値と IgA 値正相関、ASO 抗体価と IgM 値が負の相関を示した。

#### 考 察

感染性疾患の発症機序を解明する場合には通常、菌側および宿主側の因子の検討が行なわれる<sup>1-6)</sup>。しょう紅熱患者における宿主の感染防禦の主体は液性免疫が関与するとされているが免疫応答に基づいた明確な報告は見られない。今回、私共は、しょう紅熱患者血清を用いて液性免疫機構の観点から検討を試みた。

測定した免疫グロブリン値は、IgM 値を除いて正常値に比較して低値又は選択欠損状態を示した例が認められなかった。

IgM 値は、全病週を通して、各年令において有意に高く、測定期間中その高値を持続し、4 カ月後に至っても減少傾向を示さなかった。一般にヒトの血清中の IgM 値は女性が高く、又、IgM 値は IgG 抗体の増加に伴って上昇することが多いとされている。今回の成績から病週による IgG 値の著明な増加は認められなかったが、ASO 抗体が主として IgG 抗体に属するものと言われていたので ASO 抗体価の上昇傾向から IgG 抗体も同様に上昇しているものと思われた。

ASO 抗体価は、今回の測定値中の 70% が ASO 抗体価の 1 管以上の上昇を示した。ASO 抗体価の非上昇例は、12 単位ないしはそれ以下の 12 名 (30%) で、測定期間中 ASO 抗体価の変動を示さず IgA, IgM, IgG 値も特に高値を示さなかったが、IgE 値については 2 名が高値を示した。この 12 名が溶れん菌菌体外毒素に対して本質的に非感受性であるのか、しょう紅熱類似の疾患であったのか、種々の要因が考えられるが今回の成績から判断は出来なかった。

Table 3 と Table 4 の成績は 40 人の ASO 抗体価と高 IgE 値 6 名の ASO 抗体価について各因子間との相関関係を示したものである。40 人の ASO 抗体価は IgG 値と正相関、高 IgE 値の 6 名は IgM 値と負相関を示した。この 6 名の患者は鳥羽<sup>10)</sup>の報告によれば、ASO 抗体価が IgM 分画から IgG 分画に移行する中間段階の初感染側に相当するものかもしれない。

病週間における ASO 抗体価の変動は、入院時に対応した各病週間で有意差があり、退院以降の週間に差がなく、発症後、約 3 週間で上昇し、測定期間中あまり変動を示さなかった。

しょう紅熱患者の IgE 値についての報告はあまり見られない。私共は、大國らの報告<sup>3,4)</sup> Rotta ら<sup>11)</sup>の報告、および数例のしょう紅熱患者の IgE 値測定の経験から、ヒトの溶れん菌感染症にも IgE 値上昇の可能性を推測し、しょう紅熱患者の血清 IgE 値を測定した。大部分のしょう紅熱患者の血清 IgE 値は低値であったが 6 名が著明に高い値を示し、Fig. 1 に示したようにその減衰は発症後 3 カ月の間に急速に正常値に近接した。

IgE 値、IgE 抗体価の増加、変動等は、各種アレルギー性疾患や寄生虫症に報告<sup>12,13)</sup>されているが、高 IgE 値を示したこれら 6 名の患者からはこれらの疾患を疑うような臨床検査成績は得られなかった。しかしこの内 2 名は、Amoxicillin, Ampicillin の使用後に薬疹の出現

をみ、又他の2名は血小板数が夫々504,000, 640,520の値を示した。なおこれらの患者のしょう紅熱の程度は全員、軽一中等度であった。現在、私共はこの6名のIgE抗体を確認するために<sup>125</sup>I-標識IgEを作成準備中であり、補体の関与、好塩基球の算定、Peptidoglycan抗体の測定を計画している。更に遺伝的素因が関与するものか、病原細菌感染に惹起される若年層のアレルギーか今後、Family Study解析も加えて検討する予定である。

#### まとめ

しょう紅熱患者の液性免疫を調査する目的で、しょう紅熱患者血清のIgA, IgM, IgG, IgE値および抗体価の測定を実施した。以下その結果を示した。

1. しょう紅熱患者のIgA, IgM, IgG, IgE値は、IgM値のみが著明に増加した。
2. IgM値は女性IgM値が有意に高く、年齢による差はあまり認められなかった。
3. IgM値は病週による変動を示さず発症後4カ月に至っても減少傾向を示さなかった。
4. ASO抗体価の上昇を示したのは全測定値の70% (28名)、非上昇例はすべて12単位ないしはそれ以下で全測定期間中変動を示さなかった。
5. ASO抗体価はIgG値と正相関を示したが、高IgE値6名はIgM値と負相関を示した。
6. 高IgE値を示した6名が見出され、そのIgE値は病週に従って急速に減少傾向を示し3カ月後に正常値

に近接した。以上の成績からしょう紅熱患者の液性免疫機構は、一般には良好に保持されている様に推測した。

謝辞 統計処理に御指導をたまわった当環境保健部長野牛弘先生、IgE測定に際し、御協力を戴いた三井記念病院の諸先生方に併せて感謝いたします。

#### 文 献

- 1) Ofek, I. *et al.*: *J. Exp. Med.*, 141, 990, 1975
- 2) Beachy, E. H. and I. Ofek: *J. Exp. Med.*, 143, 759, 1976
- 3) Ohkuni, H. *et al.*: *Int. Archs Allergy Appl. Immu.* 50, 123, 1976
- 4) Ohkuni, H. *et al.*: *Exp. Cell. Biol.* 44, 83, 1972
- 5) Cramer, M. *et al.*: *J. Clin. Invest.* 50, 642, 1972
- 6) Greenberg, L.J. *et al.*: *J. Exp. Med.*, 141, 935, 1975
- 7) Rantz, L. M. and E. Randall: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 59, 22, 1945
- 8) 蒲生鉄男: 日本小児科学会雑誌, 78, 222, 1974
- 9) 滝沢佐武郎: リウマチ, 9, 291, 1969
- 10) 鳥羽 剛 他: アレルギー, 21, 608, 1972
- 11) Rotta, J. *et al.*: *J. Inf. Dis.*, 123, 587, 1971
- 12) 未村正樹 他: 臨床免疫, 8, 807, 1976
- 13) 山口道也: アレルギー, 24, 120, 1975

## 夏季における市販生食用魚介類の細菌汚染の実態

小久保 弥太郎\*, 井 草 京 子\*, 庭 山 邦 子\*

### A Bacteriological Survey on Edible Raw Fish and Shellfish at the Retail Level in Summer

YATARO KOKUBO\*, KYOKO IGUSA\* and KUNIKO NIWAYAMA\*

During the period from July through September 1976, a total of 450 samples consisting of raw fish and shellfish was obtained from several "sushi" shops and retailers in Tokyo, and subjected for *V. parahaemolyticus*, standard plate count and coliforms. Enumeration of *V. parahaemolyticus* in specimens was made by a simple multiple tube technique with Arabinose-Colistin-Peptone-Water, according to the method described by Murakami et al. Of the specimens tested, 115 (22.5%) were found to be contaminated by *V. parahaemolyticus*, and 51 positive samples harbored less than  $10^2$  per 100g of the organisms. Among the specimens tested, shellfishes tended to show greater contamination by *V. parahaemolyticus* than the other types. Of the 808 isolates tested for their production of Kanagawa hemolysin, all strains were found to be Kanagawa negatives. And eighty six (44.3%) of 194 isolates were typed into 22 known K antigens. Standard plate counts of the specimens varied according to the samples tested, and 209 (46.4%) of the specimens showed the level of  $10^6$  per gram. Coliforms were detected from 421 (93.6%) of the samples, and 314 (69.8%) of them showed levels of greater than  $10^2$  per gram. No significant relationship was existed between *V. parahaemolyticus* contamination and total aerobic counts or numbers of coliforms.

#### はじめに

魚介類およびその加工品は、我が国で発生する全食中毒事件の原因食品のほぼ1/3を占め、なかでも生食用魚介類は、細菌性食中毒の過半数を占める腸炎ビブリオ食中毒の主要原因食品となっている<sup>1)</sup>。特に、夏季に流通する海産魚介類は、腸炎ビブリオによる一次汚染の可能性ないしは必然性があることから、その汚染を未然に定量的に把握しておくことが、腸炎ビブリオに対する種々の対策をたてるうえで必要である。すでに著者らは、市場に出荷された段階でのバカ貝およびアカ貝のむき身を対象に、年間を通じての腸炎ビブリオ汚染度を調査し、得られた結果を市場に搬入される生魚介類の衛生管理に応用したところ、腸炎ビブリオ食中毒予防上非常に有効であったことを報告した<sup>2)</sup>。

また、生食用魚介類は、加熱などの処理することなく、そのまま摂食される食品であることから、腸管系微生物はもちろんのこと、可能な限り細菌汚染の少ない新鮮なものでなければならぬ。

本報告では、夏季における流通末端の各種生食用魚介類、いわゆる「すし種」および「さしみ」計450検体を対象に、腸炎ビブリオ汚染の実態を調査し、あわせて一般生菌数ならびに大腸菌群汚染についても検討した。

以下、それらの成績について報告する。

#### 材料および方法

1) 市販生食用魚介類 1976年7月から9月の間に、都内のすし店舗ならびに魚介類小売店より採取したタコ、イカ、マグロおよび貝類などのすし種およびさしみ計450検体である。

2) 試料液の調製 検体10gに、pH7.2の滅菌リン酸緩衝生理食塩水90mlを加え、ストマッカー(Colworth社製)を用いて均質化したものを試料原液とし、それをさらに必要に応じて10倍段階希釈したものを試料液とした。

3) 腸炎ビブリオ菌数の測定 著者らの開発した方法<sup>3)</sup>により推定腸炎ビブリオ菌数を測定した。すなわち、試料原液は10mlずつ、希釈試料液は1mlずつを、

\* 東京都立衛生研究所生活科学部乳肉衛生研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in Fresh Fishes and Shellfishes

Specimens	No. of tested	No. of <i>V. parahaemolyticus</i> /100g				No. of negatives
		10-99	100-999	1000-9999	10000-	
Octopus	97	13(13.4)	5(5.2)		1(1.0)	78(80.4)
Cuttlefish	77	8(10.4)	7(9.1)		1(1.3)	61(79.2)
Tuna	201	24(11.9)	17(8.5)	4(2.0)	1(0.5)	155(77.1)
Shellfishes	56	5(8.9)	13(23.2)	4(7.1)	8(14.3)	26(46.5)
Others	19	1(5.3)	3(15.8)			15(78.9)
Total	450	51(11.3)	45(10.0)	8(1.8)	11(2.4)	335(74.5)

Note: Figures in the table indicate the number of samples found, and parentheses indicate per cent occupied.

段階的にそれぞれ3本ずつの6%食塩加ペプトン水(ポリペプトン10g, 食塩60g, 蒸留水1,000ml, pH 7.2)試験管に接種した。35°で18時間培養後, 菌の増殖が認められたものを, アラビノース・コリスチン・ペプトン水(L-アラビノース10g, 硫酸コリスチン50万単位, ポリペプトン10g, 食塩70g, フェノールレッド0.02g, 蒸留水1,000ml, pH 7.8), 試験管にそれぞれ一白金耳ずつ移殖し, 35°で24時間培養した。アラビノース分解を認めたものを推定腸炎ビブリオ陽性とし, 各希釈列の陽性試験管数から, 検体100g当りの推定腸炎ビブリオMPN値を求めた。

4) 一般生菌数の測定 各段階希釈試料液1mlずつを滅菌プラスチックシャーレに分注し, あらかじめ滅菌後50°に保持した標準寒天(栄研化学)15mlと混釈し, 35°で48時間培養後, 出現した集落数を計測して生菌数を算定した。

5) 大腸菌群の測定 各段階希釈試料液1mlずつを滅菌プラスチックシャーレに分注し, あらかじめ加温溶解後50°に保持したデソオキシコレート寒天(日水製菓)15mlと混釈し凝固させ平板とした後, 同一培地をその上に薄く重層し, 35°で24時間培養後, 出現した赤色集落数を大腸菌群数として計測した。

#### 試験成績

1) 腸炎ビブリオの汚染状況 各種生食用魚介類の腸炎ビブリオ汚染状況をTable 1に示した。

450検体中115検体(25.2%)から腸炎ビブリオが検出され, なかでも貝類は56検体中30検体(53.5%)陽性と高い検出率であった。これら陽性検体中51検体(44.3%)は $10^2/100g$ 以下と菌数値は低かったが,  $10^4/100g$ またはそれ以上のものも11検体あり, その大半が貝類であった。なお月別の汚染度の違いはあまり明確でなかったが, 8月の汚染が7および9月に比較してやや高いようであった。

次いで, MPN測定に用いたアラビノース・コリスチン・ペプトン水で陽性を示した試験管から, その一白金耳をTCBS寒天(栄研化学)平板に接種し, 分離菌について生物学的性状を調べて腸炎ビブリオを同定した。これら分離した腸炎ビブリオ計808菌株について, 神奈川現象発現の有無を検査したところ全株陰性であった。

また, 分離菌株のうちから無作為に選んだ計194菌株について, 市販血清(東芝化学)を用いて, それらの抗原型を調べた。その結果はTable 2に示したように, 全株とも1-11型のいずれかのO抗原に型別され, そのうちほぼ90%は1-5型に属した。しかし, K抗原に型別されたものは86菌株(44.3%)で, 22型にわたる広いK抗原分布を示し, K17, 32および42型は10菌株以上に認められたが, 大半は5菌株以下であった。なお, 検体の種類と抗原型との間に関連性は認められなかった。

2) 一般生菌数の分布 各種生食用魚介類の一般生菌数はTable 3に示したように,  $10^2/g$ 以下から $10^8/g$ 以上と広い範囲にわたっていた。しかし, そのうちほぼ80%の検体が $10^2-10^6/g$ の菌数値を示し, なかでも $10^6/g$ レベルのものが全検体の約半数を占めた。また,  $10^8/g$ またはそれ以上の汚染の著しいものも12例(2.7%)に認められた。なお検体の種類による汚染の違いはあまり認められず, わずかにイカが他のものに比較してやや菌数値が高い傾向がみられた。

一般生菌数と腸炎ビブリオ汚染の関係をみると, 両者の汚染度に相関性は認められなかったが, 腸炎ビブリオ陽性の115検体中105検体(91.3%)は, 一般生菌数 $10^5/g$ 以上であった。

3) 大腸菌群の汚染状況 各種生食用魚介類中の大腸菌群汚染はTable 4に示したように, 検体の種類に関係なく, いずれもほぼ90%以上が陽性であった。そのうち $10^2/g$ 以上の汚染を示したものが450検体中314検体(69.8%)あり,  $3,000/g$ 以上のものも109検体(24.2%)

Table 2. Results of Serological Typing Made on the Isolates

O Group	K Types																	Total							
	3	6	7	12	17	20	22	24	28	29	30	31	32	33	34	37	41	42	46	49	52	57	KUT		
1											3	11				1								18	33
2	2								9															11	22
3		3	2							3	4			1		6							1	24	44
4				1											6		10			2				10	29
5					12																			30	42
6																			5						5
7																									0
8						1	1																	2	4
9																									0
10										1												1		8	10
11																								5	5
Total	2	3	2	1	12	1	1	1	9	3	4	3	11	1	6	6	1	10	5	2	1	1	108	194	

Note : KUT indicates K untypable.

Table 3. Standard plate count Made on Fresh Fishes and Shellfishes

Specimens	No. of tested	Standard plate count/g						
		$\leq 10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$	$\geq 10^8$
Octopus	97	2(2.1)	3(3.1)	13(13.4)	31(32.0)	38(39.1)	6( 6.2)	4(4.1)
Cuttlefish	77			7( 9.1)	16(20.8)	44(57.1)	8(10.4)	2(2.6)
Tuna	201	4(2.0)		28(13.9)	63(31.3)	100(49.8)	4( 2.0)	2(1.0)
Shellfishes	56			5( 8.9)	23(41.1)	23(41.1)	4( 7.1)	1(1.8)
Others	19			4(21.1)	10(52.6)	4(21.1)		1(5.2)
Total	450	6(1.3)	3(0.7)	57(12.7)	141(31.3)	209(46.4)	22( 4.9)	12(2.7)

Note : Figures in the table indicate the number of samples found, and parentheses indicate per cent occupied.

Table 4. Incidence of coliforms in Fresh Fishes and Shellfishes

Specimens	No. of tested	No. of Coliforms/g				No. of negatives
		10-99	100-999	1000-2999	3000-	
Octopus	97	27(27.8)	36(37.2)	6( 6.2)	21(21.6)	7( 7.2)
Cuttlefish	77	16(20.8)	29(37.6)	11(14.3)	20(26.0)	1( 1.3)
Tuna	201	50(24.9)	66(32.8)	21(10.4)	48(23.9)	16( 8.0)
Shellfishes	56	8(14.3)	22(39.2)	6(10.7)	17(30.4)	3( 5.4)
Others	19	6(31.6)	2(10.5)	6(31.6)	3(15.8)	2(10.5)
Total	450	107(23.8)	155(34.5)	50(11.1)	109(24.2)	29( 6.4)

Note : Figures in the table indicate the number of samples found, and parentheses indicate per cent occupied.

に認められた。

なお、大腸菌群と腸炎ビブリオの汚染状況の間には相関性は認められず、大腸菌群陰性の29検体中10検体より腸炎ビブリオが検出され、そのうち2検体は腸炎ビブリオ菌数が $10^4/100\text{g}$ のレベルであった。

### 考 察

夏季の生食用魚介類の衛生学的品質を確保するために最も重要な課題は、“いかにしてそれらの腸炎ビブリオ汚染を防止するか”である。腸炎ビブリオは、夏季に本邦の沿岸海水の生態系を構成する細菌の1つとして広く分布している事実<sup>2-5)</sup>から、陸揚げされる時点で、魚介類はすでに汚染されている可能性が高い。このことは、生食用魚介類から、本菌の汚染を完全に排除することが非常に困難であり、本菌食中毒予防上、汚染の有無よりも、食中毒発症要因である汚染菌数をできるだけ低く抑制することが必要であることを示唆している。特に、市販のすし種およびさしみでは、陸揚げ直後の魚介類に比較して、一段と汚染度が増幅している可能性が高く、もし濃厚な腸炎ビブリオ汚染のある場合には、そのまま食中毒発症の原因食になる危険性を持っている。なかでも、今回の調査で、最も腸炎ビブリオ汚染の著しかった貝類は、都内発生の本菌食中毒の原因食として取り上げられる機会が多い。また、陸揚げ後一応ボイルしてあるはずのタコや、市場に入荷する段階では、そのほとんどが冷凍物であることから、それ自体の腸炎ビブリオ汚染の問題がないとされるマグロの肉片からも、本菌が約20%に検出された。これらも、食中毒の原因食となることが多く、山田<sup>6)</sup>も指摘しているように、流通過程および末端の店舗における取り扱いに、衛生管理上問題の多いことを示していた。

しかし、腸炎ビブリオの汚染菌数は、本菌陽性検体のほぼ半数が $10^2/100\text{g}$ 以下と、低い値であった。このような汚染度では、通常食品中の腸炎ビブリオ検査法として広く採用されている食中毒患者糞便からの分離法に準じて、TCBS寒天平板上に、試料の10倍懸濁液0.1mlを直接塗抹接種する方法<sup>7)</sup>では、汚染を見落してしまうことになる。また、直接塗抹法の場合、生食用魚介類のように、低温保存されていたものでは、汚染腸炎ビブリオが寒冷傷害を受けて、選択培地上での増殖が抑制され、実際よりもかなり低い数値しか得られないことがある<sup>8)</sup>。これらのことから、今回の調査で我々が採用したMPN法は、直接塗抹法に比較して多少手間がかかるが、より適確に腸炎ビブリオ汚染の実態を把握することができ、衛生管理上からも好ましいと考えられる。

Miyamoto らは<sup>9)</sup>、食中毒患者由来腸炎ビブリオの多

くは神奈川現象陽性株であり、起病性と密接な関連を持つが、海産魚介類由来株の大部分は神奈川現象陰性であったと報告し、この事実は、その後多くの追試者により確認されてきた。しかし、神奈川現象陽性株の汚染源は、現在なお全く不明である。今回の調査によっても、分離した腸炎ビブリオがいずれも神奈川現象陰性であったことから、病原性株の汚染源を知る手がかりは得られなかった。一方、血清型についてみても、1976年に発生した腸炎ビブリオ食中毒起因菌の主要菌型は、K7, 29, 54, 55などであったのに対し、著者らの調べた菌株中には、これらの抗原型は少なく、食中毒に関与した流行菌型との関連性も認められなかった。しかし、神奈川現象陰性株による食中毒例が報告されていること<sup>10,11)</sup>、および食中毒起因菌の血清型は多岐にわたっていることなどを考慮すると、少なくとも病原性株をも含めて、夏季に都内で流通している市販生食用魚介類の腸炎ビブリオ汚染の実態を把握しておく必要があり、今回の調査から、或る程度それを推測し得たと考える。

市販生食用魚介類中の腸炎ビブリオ汚染度と一般生菌数との関連性は、認められなかったが、腸炎ビブリオ陽性検体は概して一般生菌数の値も高く、90%以上が $10^5/\text{g}$ 以上の菌数値であった。このような結果と、すし種およびさしみは、そのまま摂食される生鮮食品であるので、一般生菌数の汚染許容範囲を $10^5/\text{g}$ 以下と設定したいところである。しかし、この基準値では、今回の成績が示すように、市販生食用魚介類の80%以上が食用不適となってしまうところから、現状ではせめて、一般生菌数を $10^6/\text{g}$ 以下に抑えるように、適確かつ強力な衛生指導が望まれる。

また、大腸菌群汚染についてみても、調査検体の70%から $10^2/\text{g}$ 以上の菌数が認められたことは、市販生食用魚介類の大半が、病原性腸内細菌の汚染を受ける危険性のあることを示唆していた。このことから、生食用魚介類の衛生対策として、腸炎ビブリオ汚染対策と併せて、腸内細菌汚染対策をも徹底させる必要があると考える。

### 要 約

1976年7—9月に都内のすし店舗ならびに魚介類小売店より採取した市販の生食用魚介類450検体を対象に、MPN法による腸炎ビブリオ、一般生菌数および大腸菌群の汚染実態調査を実施した。

その結果、115検体(22.5%)から腸炎ビブリオが検出され、なかでも貝類からの検出率が高かった。これら陽性検体のほぼ半数は、腸炎ビブリオ菌数が $10^2/100\text{g}$ 以下であった。また、これら検体から分離した腸炎ビブリオは、いずれも神奈川現象陰性株であり、それらの一

部について調べた抗原型は、広範囲のK抗原型分布を示し、菌型の片寄り認められなかった。

一般生菌数は、 $10^2/g$ 以下から $10^8/g$ 以上と広範囲の分布を示し、なかでも $10^6/g$ レベルのものが全検体のほぼ50%を占め、大腸菌群も全検体の90%以上から検出されるなど、市販の生食用魚介類の取り扱いに問題の多いことを認めた。

なお、腸炎ビブリオ汚染と、一般生菌数ならびに大腸菌群汚染度との間に、相関性は認められなかった。

#### 文 献

- 1) 厚生省環境衛生局食品衛生課：食品衛生研究, 26, (10), 850, 1976
- 2) 村上 一, 神保勝彦, 神崎政子, 小久保弥太郎, 春田三佐夫, 山田 満：食衛試, 16, 247, 1975
- 3) 児玉 威：“腸炎ビブリオ” 15. 海洋調査, 241, 1964, 一成堂
- 4) 大城俊彦：同上, 16. 自然分布, 263, 1964, 一成堂
- 5) 野口政輝：同上, 17. 生態調査, 289, 1964, 一成堂
- 6) 山田 満：食品衛生研究, 25(7), 540, 1975
- 7) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針 I 一検査法別, 123, 1973, 日本食品衛生協会
- 8) Murakami, H., K. Jinbo, M. Kanzaki, Y. Kokubo, M. Matsumoto, M. Haruta, M. Yamada, and A. C. Ghosh : *J. Tokyo Vet. Zootechn. Sci.* 23, 84, 1976
- 9) Miyamoto, Y., T. Kato, Y. Obara, S. Akiyama, K. Takizawa, and S. Yamai : *J. Bact.* 100(2), 1147, 1969
- 10) 善養寺 浩, 坂井千三, 工藤泰雄, 伊藤 武, 丸山 務：メヂヤサークル, 15, 82, 1969
- 11) 西尾隆昌, 浜屋倫民：兵庫県衛研報告, 6, 44, 1971

塩素によるポリオウイルスの不活化

矢野 一好\*, 藪内 清\*, 柴田 タツ美\*  
岩崎 謙二\*, 辺野喜 正夫\*

Inactivation of Type I Poliomyelitis Virus by Chlorination

KAZUYOSHI YANO\*, KIYOSHI YABUCHI\*, TATSUMI SHIBATA\*,  
KENJI IWASAKI\* and MASAO BENOKI\*

緒 言

一般に、クロリネーションによる微生物の不活化効果は、同一病原体であってもその水質の諸条件によって大きな変化がみられている<sup>1-4)</sup>。著者らは、ポリオウイルスを用いてウイルス濃度、塩素添加量と残留塩素、ウイルス浮遊液の水質条件を変えた組合せでのウイルス不活化実験を行ない、ポリオウイルスの不活化条件を検討した。

材 料

ウイルス CMK 細胞 (カニクイザル腎由来継代細胞) にポリオウイルス I 型弱毒株 (Lsc, 2ab 株) を接種し、CPE (細胞変性効果) 出現後、培養系をそのまま凍結融解し、3,000rpm 15分間遠心沈殿して粗大成分を除いた上清をウイルス原液とした。

ウイルス原液を細胞に接種後、CPE 出現直前に細胞維持液 (MEM) をリン酸緩衝液 (PBS) に交換し、完全 CPE 出現後凍結融解し、9,000rpm 15分間遠心沈殿した上清を部分精製ウイルス液とした。

塩素水 市販の次亜塩素酸ソーダを、イオン交換水を再蒸留し、さらに高圧滅菌 (121°20分間) した水で希釈し添加用塩素水とした。

三次処理水 K団地下水処理場の実験プラントで、二次処理水をさらに砂ろ過、オゾン処理、活性炭処理したものを三次処理水として用いた。同水の水質検査結果は、pH 7.4、浮遊物質 2mg/l、色度 6、濁度 0、TOC 17.3mg/l、アンモニア性窒素 7.89mg/l であった。ウイルス不活化実験には高圧滅菌 (121°20分間) 後使用した。

方 法

ウイルス不活化試験 容器の下部から試料採取ができるようにした特製 1l コルベンに所定濃度のウイルス浮遊液を 1l ずつ準備して、マグネチックスターラーでかくはんしながら塩素水を添加し、時間経過を追ってサンプルを採取した。ウイルス残存量測定用サンプルは、容

器の上部から 0.5ml ずつ、残留塩素測定用サンプルは、100ml ずつ下部から採取した。

残留塩素測定 時間経過を追って採取したサンプルについてヨウ素滴定法により測定し、測定値は、ppm であらわした<sup>5)</sup>。

残存ウイルス量の測定 各サンプルは、採取後ただちに N/10 テオ硫酸ソーダ液 0.1ml と MEM 0.4ml を添加して塩素の作用を中和した。残存ウイルス量は、96穴のマイクロプレート (Cook社製220-29ART) に培養した CMK 細胞を使用して、培養 1 週間後の CPE を指標に感染価 (TCID<sub>50</sub>/0.05ml) を測定した。

結果と考察

時間経過による残留塩素量の減少 蒸留水と 1/1,000 量の MEM を添加した蒸留水に計算値 0.5, 1.0, 2.0 ppm (final 濃度) の塩素水を添加し、所定時間経過後の残留塩素濃度を測定した。その結果を、表 1 に示した。蒸留水に塩素水を添加した場合の時間経過による塩素消費はほとんど認められない。しかし、MEM 添加蒸

表 1. 蒸留水と MEM における残留塩素濃度

時間 (秒)	塩 素 添 加 量					
	0.5ppm		1.0		2.0	
	蒸留水	MEM	蒸留水	MEM	蒸留水	MEM
30	0.48	0.43	0.95	0.83	1.88	1.69
180	0.49	0.39	1.01	0.77	1.87	1.63
420	0.48	0.32	0.90	0.73	1.74	1.39
720	0.46	0.31	0.99	0.66	1.88	1.36
1080	0.48	0.30	0.89	0.57	1.81	1.36
1440	0.49	0.28	0.90	0.56	1.59	1.30
1800	0.50	0.27	0.88	0.48	1.59	1.27
2400	0.48	0.24	0.82	0.47	1.59	1.18
平均値	0.48		0.92		1.74	
標準 偏差	0.01		0.06		0.13	

\* 東京都立衛生研究所微生物部ウイルス研究科 160 東京都新宿区百人町 3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku Tokyo, 160 Japan

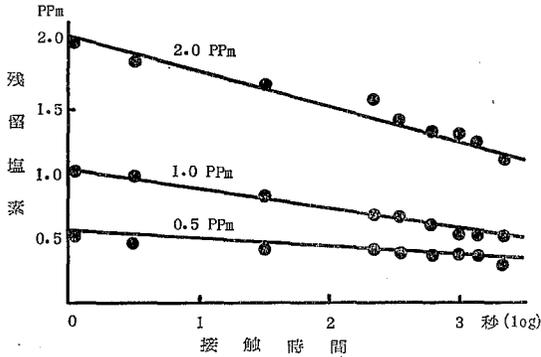


図 1. 残留塩素経時変化の回帰直線(MEM)

留水の場合、蒸留水に比べて時間経過による塩素消費があった。接触時間(秒)を対数値に換算し、MEM 添加蒸留水における残留塩素濃度と接触時間の関係を図示すると図1のようになる。それぞれの対応値は、ほぼ一直線上に並び、残留塩素濃度(ppm)と経過時間(対数値)の間には直線関係の成立することがわかった。実測値を基礎として最小二乗法により算出した残留塩素濃度(Y)と、経過時間(x)の回帰式は、 $Y = 0.55 - 0.08x$  (0.5 ppm 添加時)、 $Y = 1.09 - 0.17x$  (1.0ppm)、 $Y = 2.08 - 0.26x$  (2.0ppm) となった。添加塩素濃度の増加と共に回帰係数値は増大した。すなわち、1/1,000 量のMEM 添加蒸留水では、添加塩素の消費量が接触時間の対数値に比例して減少した。また、添加量が多いほど急速に減少した。

**塩素濃度とウイルス不活化** ウイルス原液を蒸留水で希釈して、ウイルス感染価がそれぞれ3.25, 2.25, 1.25 TCID<sub>50</sub>/0.05mlのウイルス液を調製し、MEM 培地成分

表 2. ウイルス濃度別、塩素濃度別、残存ウイルス量 (TCID<sub>50</sub>/0.05ml, log)

時間 (秒)	塩素添加量								
	0.5ppm			1.0			2.0		
0	3.25	2.25	1.25	3.25	2.25	1.25	3.25	2.25	1.25
30	3.0	2.0	0.75	2.0	1.75	*	.	.	.
180	3.0	1.75	0.75	2.0	1.5	.	.	.	.
420	2.75	1.75	1.0	1.5	1.0	.	.	.	.
720	2.75	1.75	0.75	2.0	1.25	.	.	.	.
1080	2.5	1.5	0.75	2.5	1.0	.	.	.	.
1440	2.5	1.25	0.5	2.0	0.75	.	.	.	.
1800	2.5	1.75	0.25	2.0	1.0	.	.	.	.
2400	2.25	1.5	0.25	2.0	0.75	.	.	.	.

\* TCID<sub>50</sub>/0.05ml ≤ 0  
MEM 浮遊ウイルス使用

が最終的に1/1,000量になるようにした。塩素添加量は、計算値で0.5, 1.0, 2.0ppmとし、各ウイルス濃度との組合せで実験した。塩素接触後時間経過ごとのウイルス感染価を測定し表2に示した。添加塩素量が2.0ppmのときは、全組合せにおいて、1.0ppmの場合には、原ウイルス量が1.25TCID<sub>50</sub>/0.05mlのときのみ30秒以下の接触で TCID<sub>50</sub>/0.05mlが0以下となった。ウイルス不活化傾向をみるために接触時間を対数値に換算し、感染価との相関係数値を算出してみると、約720秒接触までの範囲で強い正の相関がみられ、回帰直線を描くと実測値がほぼ一直線上にのることがわかった。実測値から算出した残存ウイルス量(Y)と、塩素接触時間(x)との回帰直線は、図2に示したとおりで、同一ウイルス量であっても塩素濃度によって不活化傾向に差がみられ、塩素濃度の高いほど急速に不活化された。すなわち、回帰係数は、塩素0.5ppm 添加時0.14~0.18, 1.0ppm 添加時0.43~0.50であった。

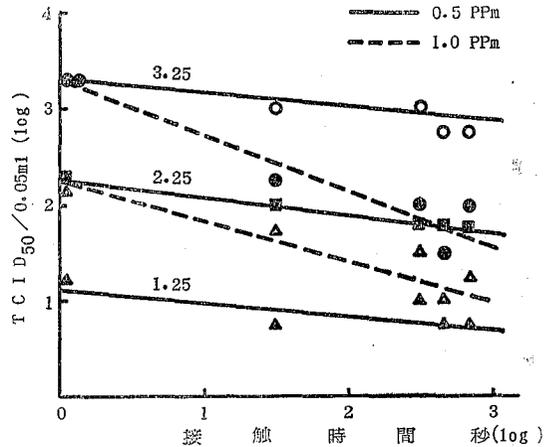


図 2. ウイルス濃度、塩素濃度別不活化回帰直線

**ウイルス不活化に及ぼす pH の影響** M/100 リン酸緩衝液を用いて pH ランク3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.5, 8.5, 9.0 (final pH) の検水を調製した。ウイルス液は、MEM に浮遊したものを1/1,000 量添加した。添加塩素量は、3.0ppmと1.5ppmの2段階とし、時間経過ごとの残留塩素濃度と残留ウイルス量を測定し結果を表3に示した。pH 上昇に伴ってウイルス不活化時間は、明らかに延長した。つまり、塩素3.0ppm 添加時 pH 6.5 以下では接触30秒以下で不活化されたが、7.5 以上では不活化するのに60~300秒を要した。塩素添加量 1.5ppm では pH の影響がより大きかった。実測値より算出した不活化回帰直線は図3に示した。pH 値の上昇と共に回帰係数値は小さくなり、pH 8.5 以上ではほとんど塩素の効果が期待できなかった。これは、塩素がアルカリ

表 3. pH 別, 残留塩素別, 残存ウイルス量  
(TCID<sub>50</sub>/0.05ml, log<sub>10</sub>)

時間 (秒)	pH							残留 塩素 ppm
	3.5	4.5	5.5	6.5	7.5	8.5	9.0	
0	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.00
30	•*	•	•	•	1.0	1.5	2.75	2.88
60	•	•	•	•	•	•	2.75	2.71
180	•	•	•	•	•	•	0.25	2.41
300	•	•	•	•	•	•	•	2.08
0	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	1.50
30	0.75	0.5	2.25	2.25	2.5	3.25	3.25	1.38
60	•	•	1.25	2.5	2.5	3.0	3.0	1.29
180	•	•	1.25	2.25	2.5	2.75	2.75	1.24
300	•	•	1.25	2.0	2.25	3.0	2.75	1.16
420	•	•	0.75	2.25	2.0	2.5	2.5	1.11
600	•	•	1.0	2.25	2.0	3.5	2.25	1.10
900	•	•	0.75	2.25	2.0	2.25	2.5	0.92
1200	•	•	0.75	2.0	2.0	2.25	2.5	0.82

\* TCID<sub>50</sub>/0.05ml ≤ 0  
MEM 浮遊ウイルス使用

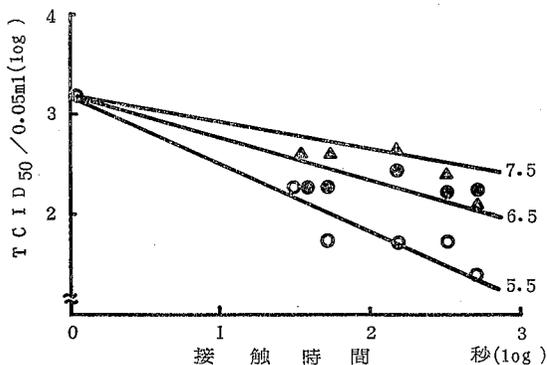


図 3. pH 別不活化回帰直線(塩素1.5ppm 添加)

側になるに従って HOCl が少なくなり不活化効果が低下したものとする<sup>2)</sup>。

三次処理水中のウイルス不活化 部分精製ウイルスを使用して, ウイルス不活化実験を行った。塩素を接触させ経時的に採取したサンプルの残留塩素濃度は, 表 4 に示したとおりで部分精製ウイルス加蒸留水では, 接触時間経過による塩素消費はないことがわかった。三次処理水では, 塩素添加量と残留塩素濃度の間に単純な相関はなく, 三次処理水自体による塩素消費の複雑さがうかがわれた。一方, 同一サンプルでの残存ウイルス量を表 5 に示した。培地成分を含んだ場合(表 2)に比較して, 培地成分が少なくなった部分精製ウイルスは, 塩素により

表 4. 塩素添加量と残留塩素濃度

時間 (秒)	塩素添加量			
	0.5 ppm	1.0	1.5	2.0
蒸留水				
30	0.53	0.80	1.16	1.96
60	0.45	0.84	1.17	1.72
180	0.43	0.84	1.17	1.66
300	0.46	0.82	1.19	1.71
420	0.43	0.84	1.17	1.59
600	0.40	0.88	1.18	1.59
900	0.38	0.76	1.02	1.54
1800	0.35	0.70	0.98	1.45
三次処理水				
30	0.31	0.66	1.01	1.35
60	0.26	0.59	0.98	1.32
180	0.21	0.55	0.99	1.40
300	0.11	0.57	0.91	1.32
420	0.18	0.62	0.90	1.28
600	0.05	0.60	0.88	1.30
900	0.05	0.56	0.81	1.38
1800	0.05	0.54	0.83	1.38

部分精製ウイルス添加後

表 5. 塩素添加量とウイルス残存量  
(TCID<sub>50</sub>/0.05ml, log<sub>10</sub>)

時間 (秒)	塩素添加量			
	0.5 ppm	1.0	1.5	2.0
蒸留水				
0	4.0	4.0	4.0	4.0
30	2.0	0.75	0.75	•
60	•*	•	•	•
180	•	•	•	•
300	•	•	•	•
420	•	•	•	•
600	•	•	•	•
900	•	•	•	•
1800	•	•	•	•
三次処理水				
0	4.0	4.0	4.0	4.0
30	3.5	3.75	3.75	3.5
60	3.5	3.5	3.0	3.25
180	3.5	3.25	3.5	2.75
300	3.25	3.0	3.5	2.75
420	3.5	3.0	3.25	2.5
600	3.5	2.75	2.75	2.75
900	3.25	2.75	2.5	2.5
1800	2.75	2.75	2.25	2.5

\* TCID<sub>50</sub>/0.05ml ≤ 0  
部分精製ウイルス使用

効率よく不活化された (0.5ppm 添加, 接触 60 秒). しかし, 三次処理水中のウイルスは, きわめて不活化されにくかった.

三次処理水に高濃度塩素量を添加したときの残留塩素濃度パターンとウイルス不活化について実験した. 残留塩素濃度および残存ウイルス量の測定ポイントは, 表2, 図2に示した不活化回帰直線を参考にして, 接触時間15分後と一定にした. 実験結果は表6に示した. ウイルスの不活化は, 蒸留水中で計算値 0.5ppm 以下, 三次処

表 6. 三次処理水中の残留塩素濃度とウイルスの不活化

塩素添加量 (ppm)	残留塩素		ウイルス感染価	
	蒸留水	三次処理水	蒸留水	三次処理水
0.0	0.00	0.00	4.0	3.5
0.5	0.43	0.18	•*	3.5
1.5	1.18	0.90	•	2.75
2.0	1.78	1.32	•	2.5
5.0	4.86	5.24	•	1.0
10.0	9.88	10.25	•	0.75
15.0	15.01	15.65	•	•
20.0	20.15	16.61	•	•
25.0	24.98	10.25	•	•
30.0	30.16	4.77	•	•
50.0	51.27	20.50	•	•
70.0	68.92	41.18	•	•
90.0	89.61	61.24	•	•
100.0	99.25	72.73	•	•

\* TCID<sub>50</sub>/0.05ml ≤ 0  
部分精製ウイルス使用 (接触15分)

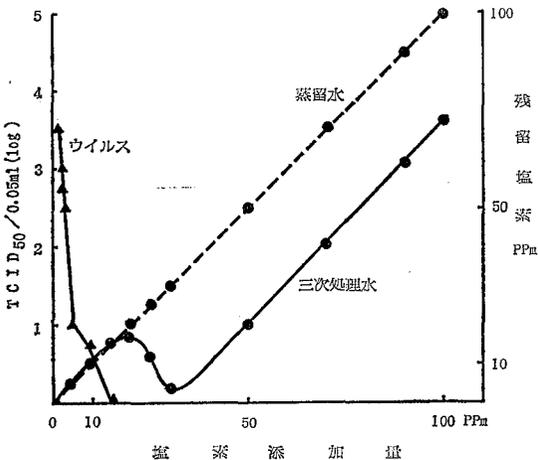


図 4. 塩素添加量と処理水中のウイルス不活化 (接触15分)

理水については計算値 15ppm の添加で不活化された. 塩素添加量と残留塩素量の関連は, 図4に示したとおりで, 蒸留水中の残留塩素濃度は, 添加量に全く比例した. しかし, 三次処理水中の残留量と添加量の関係は複雑であった. 塩素添加量の増大に従って一度残留量は低下し再び増大することがわかった. つまり, 20ppm 以上添加で残留量は減少し, 30ppm 添加時に 4.77ppm となる break point を生じた<sup>6)</sup>. それ以降約 30ppm 塩素要求された状態で添加量に比例した. 5ppm 添加時と 30ppm 添加時の残留塩素量はほぼ同一であるが, 5ppm 添加時 (5.24ppm 残留) ウイルスは不活化されず, 30ppm 添加時 (4.77ppm 残留) 不活化された.

これらのことは, 三次処理水中の塩素がその水質の差によってアンモニア分解に消費されたり, 結合塩素, 遊離塩素の形として, 存在したりするためであろうと考える. 従って, 下水等生物処理した廃水のクロリネーションは, 含有する溶解性有機物などにより, ウイルス不活化に必要な添加塩素濃度, 接触時間が大きく変動することを注意しなければならない<sup>7,8)</sup>.

結 論

塩素によるポリオウイルスの感染力不活化実験を行い以下の結論を得た.

1. ポリオウイルス I 型弱毒株培養液を蒸留水で希釈し, 塩素を添加後経時的に残存ウイルス量を測定した. 残存ウイルス量値と, 塩素接触時間の間に直線関係が成立した (接触時間約12分まで). 添加塩素量が高濃度 (1.0 ppm) の時回帰係数値は大きく (0.43—0.5), 低濃度 (0.5ppm) のとき小さかった (0.14—0.18). 1/1,000 量 MEM 加蒸留水中の残留塩素濃度は, 時間経過に比例して減少し, 経過時間の対数値をとると残留塩素量との間に直線関係が成立した.

2. ポリオウイルスの不活化に及ぼす pH 変化の影響は, 添加塩素濃度が低いほど著明であった. pH の上昇に伴い不活化効果が低下し, 不活化回帰直線の回帰係数値も小さくなった.

3. 部分精製し培地成分を除いたポリオウイルスは, 塩素添加量 0.5ppm, 接触60秒で不活化された (ウイルス量: 4.0TCID<sub>50</sub>/0.05ml, log).

4. 三次処理水中のポリオウイルスは, 15ppm 添加, 接触15分以内に不活化した. 残留塩素量は, 30ppm 添加時に最低値 4.77ppm を示し break point が認められた.

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「再生水のウイルス学的研究」として実施したものである.)

文 献

- 1) 滝 元男, 橋本らん子: 水処理技術, 18, 149, 1977
- 2) Murphy, K.L., R. Zaloum, and D. Fulford: *Water Research*, 9, 389, 1975
- 3) Glaze, W. H. and J.E. Henderson: *J.W.P.C.F.*, 47, 2511, 1975
- 4) 上野英世: 用水と廃水, 6, 801, 1964
- 5) 厚生省編: 衛生検査指針, 66, 1950, 協同医書出版
- 6) 日本薬学会編: 衛生試験法注解, 710, 1973, 金原出版
- 7) 金子光美: 環境技術, 5, 613, 1976
- 8) 池畑 昭: 環境技術, 5, 623, 1976

腸内ウイルス感染の実態は握 (第9報)

1976年の東京都内3下水処理場下水からのウイルス分離試験成績

藪内 清\*, 矢野一好\*, 柴田タツ美\*  
岩崎謙二\*, 辺野喜正夫\*

Epidemiological Survey on Enterovirus Infection (IX)

Virus Isolation made at Three Sewage Treatment Plants in Tokyo in 1976

KIYOSHI YABUUCHI\*, KAZUYOSHI YANO\*, TATSUMI SHIBATA\*,  
KENJI IWASAKI\* and MASAO BENOKI\*

緒言

われわれは、都民間に発生する腸管系ウイルス感染流行の実態を能率的には握する目的で、1967年以来ひきつづいて都内下水処理場において定期的に下水検体を採取して、ウイルス分離試験をおこなってきた。

前年までの検索成績は既に報告した。これを総括的に観察すると、下水中に出現するウイルスの種類および消長は、その地区住民の腸内ウイルス感染流行の実態をよく反映していること、また流行主体をなすウイルスの種類は毎年変ほうし、流行ウイルスの種類は単純な周期説のみでは説明がつかないことなどが明らかとなった<sup>1-7)</sup>。

本報では、1976年の年間検索成績およびポリオ生ワクチンいっせい投与後におけるウイルスの下水への出現状況を検討した成績についてのべる。

実験材料および方法

検体採取場所、採取方法、処理方法およびウイルス分離同定法はすべて既報に準じた<sup>1,3,7)</sup>。

実験成績および考察

各下水処理場で採取した下水からのウイルス分離成績を表1に示した。

落合処理場の60検体中27検体(45%)から計41株のウイルスを、砂町処理場の83検体中9検体(11%)から計9株のウイルスを、また三河島処理場の12検体中3検体(25%)から計3株のウイルスを分離した。

これらの検出ウイルスの種類別をみると表2のとおりで、アデノウイルスを除くと、例年のように特に高ひん度に分離されたウイルスはなく、各ウイルス共ほぼ平均して検出された。ただ、コクサッキーB群ウイルスについては、昨年の主流行ウイルスであった3型ウイルスに

混在して、同4型ウイルスが3年ぶりに検出された。レオ1型ウイルスは、わずかに1株分離されたのみであった。1972年以来ひきつづいて検出され、特に1975年にはほとんど年間を通じて高率に分離されたのと比較して、大きな変化であった。

年間の分離株総数は、過去5年間における最低をしめし、特に砂町処理場ではわずか9株のウイルスしか分離されなかった。

しかし、表3に示すように各ウイルスの季節的消長をみると、それぞれのウイルスによって明らかな特徴がみられた。まず、ポリオウイルスは毎年生ワクチンいっせい投与時期に一致して検出されるが、本年もその時期である5月および10-12月に検出された。この点について更に検討するため、都内2団地においてポリオ生ワクチン投与後の下水中に出現するポリオウイルスの消長を調査した。その結果を表4に示す。K団地は全人口7150名で、そのうちポリオ生ワクチン投与の対象者および接触感染者である3歳以下の乳幼児が469名(6.6%)という人口構成を有し、T団地は同じく2536名中349名(13.8%)の団地である。K団地では投与後17日目に検出されたのみであったがT団地では投与後6日目から38日目まで相当長期間にわたって検出された。このことは、2団地に居住する全人口に対する、生ワクチン投与を受け、また接触により感染を受けやすい3歳以下の乳幼児人口の占める比率の差による影響であろう。われわれがおこなった22名についての生ワクチン投与後の排出便中ウイルス量の追跡調査で、1週間後平均2.2TCID<sub>50</sub>/0.1ml、2週間後2.0、4週間後1.1であったことを考えあわせると、単に生ワクチン投与者数ばかりでなく、接触感染

\* 東京都立衛生研究所微生物部ウイルス研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

表 1. 東京都内で採取した下水からのウイルス分離試験成績 (1976年)

処理場	検体種類	採 取 時 期 (月)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
落 合	生水	導水渠	AD 5	AD2・6 AD	AD 6 AD		AD 3 AD P 2	AD		CB 4	CB 4	P 2	P 2
		高 段		AD5・6	AD 6 AD		AD3・6 P1・2			CB 4	CB 4	P 2	CB 3
		低 段	AD	AD	AD 5 AD Reo 1		AD P 3					P 2	P 3
	第2沈殿汚泥		AD 6	AD 6 AD				CB 3		CB 4			
	第2沈殿池処理水									CB 4			
砂 町	生水	砂町系					AD		CB 3	CB 3		P 3	
		木場系			AD								
	第2沈殿汚泥	砂町系								CB 4		P 2	
		木場系										P 2	
第2沈殿池処理水	砂町系												
放流水	木場系										CB 4		
三河島	沈殿汚泥		AD 5						CB 4			CB 3	

注：P 1 (2,3) = ポリオ 1 型 (2,3型) ウイルス, CB 3 (4) = コクサッキー B 群 3 型 (4 型) ウイルス,

AD 2 (3,5,6) = アデノ 2 型 (3,5,6型) ウイルス, AD = 型未同定アデノウイルス, Reo 1 = レオ 1 型ウイルス

— = 検査せず

表 2. 都内 3 下水処理場の下水から検出したウイルスの種類と株数

ウイルス	下水処理場			計
	落 合	砂 町	三河島	
P 1	1			1
" 2	6	2		8
" 3	2	1		3
CB 3	3	2	1	6
" 4	5	2	1	8
AD 2	1			1
" 3	2			2
" 5	3		1	4
" 6	7			7
AD	10	2		12
Reo 1	1			1
計	41	9	3	53

者数も考慮に入れる必要があろう。毎年生ワクチン投与時期に下水中に出現するポリオウイルスは、おそらく生ワクチン由来の弱毒ウイルスであろうと推定される。コクサッキー B 群ウイルスは 7 月から 12 月にかけて分離された。アデノウイルスは、1 月から 6 月にかけて分離され、ここ数年来都内における冬期の呼吸器疾患の病原と

表 3. 下水検体から検出したウイルスの月別消長

月	ポリオ ウイルス	コクサッキー B 群ウイルス	アデノ ウイルス	レオ ウイルス
1			○	
2			○	
3			○	○
4				
5	○		○	
6			○	
7		○		
8		○		
9		○		
10	○			
11	○	○		
12	○	○		

注：○ = ウイルスが分離されたことをしめす

して重要な位置をしめていることがうかがわれる。1975 年 9 月以降 76 年初頭にかけて発生した集団かぜ患者検体についてのウイルス学的血清学的検査の結果、76 年春のインフルエンザ A 型ウイルス流行にさきがけて、都内においてアデノウイルス感染症が存在したことが証明されている。以上のように、下水からのウイルス分離状況から各季節における都内の主な腸管系ウイルス汚染状況が

表 4. ポリオ生ワクチン投与後の  
下水中ポリオウイルスの消長

団 地 名	K	T
3歳以下の人口	469	349
全人口	7150	2536
(%)	(6.6)	(13.8)
生ワクチン 投与年月日	76・5・14	76・12・14
3	(-)	
6		P 3
生 ワ ク チ ン 投 与 後 の 日 数	10	(-)
13		P 2・3
17	P 2・3	
24	(-)	P 2・3
31	(-)	P 3
38		P 1・2・3
39	(-)	
45		(-)
52	(-)	
69		(-)

表 5. 培養細胞種類別のウイルス検出成績

ウイルス	継 代 細 胞					CMK
	FL	HeLa S 3	Hep 2	Vero 518	Vero #462	
ポ リ オ ウ イ ル ス	5	3	2	2	2	1
コ ク サ ッ キ ー B 群 ウ イ ル ス	5		4		1	4
ア デ ノ ウ イ ル ス	10	9	12			
レ オ ウ イ ル ス						1
計	20	12	18	2	3	6

注：検体数・Vero #462=74件。その他の細胞=155件

ほぼは握できる。

下水検体からのウイルス分離試験には、当研究室保有の6種の継代細胞を使用した。継代細胞別のウイルス検出成績を表5に示した。コクサッキーB群ウイルスおよびアデノウイルスはFL, HeLa S 3, Hep 2の各細胞での検出率が高く、ポリオウイルスはFL細胞での分離率ももっとも良好であったが、他の5種の細胞でも分離された。レオウイルスはCMK細胞でのみ分離された。分離ウイルスの種類が増加と分離率の向上を期待するためには、できるだけ多種類の細胞を使用することが望ましい。

過去10年間の検索成績の集積結果から、その排水地区

内住民間における主な腸管系ウイルス感染流行の実態は、下水中に出現するウイルス種類およびその消長経過を検索することによりは握できるので、今後もこの種の調査を続ける必要があると考える。

#### 結 論

1. 1976年1—12月に採取した下水検体155件についてウイルス分離試験をおこなった結果、39件(25%)から計53株のウイルスを検出した。その内わけは、ポリオウイルス12株(23%)、コクサッキーB群ウイルス14株(26%)、アデノウイルス26株(49%)、レオウイルス1株(2%)であった。

2. ポリオウイルスは春秋の生ワクチン投与時期に一致して検出された。ポリオ生ワクチン投与後の下水中へのポリオウイルス出現期間は、6—38日であった。下水排出地域の全人口に対する3歳以下の乳幼児の占める比率によって異った。

3. コクサッキーB群3型および4型ウイルスは7月から12月にかけて、アデノウイルスは1月から6月にかけて下水検体から検出された。それぞれのウイルス検出時期は、都内における感染流行実態を反映したものと考えられた。

4. レオ1型ウイルスは特に1972年および昨75年には年間を通じて高率に検出されたが、76年は3月に1株分離されたのみであった。

5. 下水からウイルスを分離する場合、分離ウイルスの種類が増加と分離率を向上させるために、できるだけ多種類の細胞を使用するのが望ましい。

#### 文 献

- 1) 岩崎謙二, 柏木義勝, 坂井富士子ら: 東京衛研年報, 20, 35, 1968
- 2) 岩崎謙二, 柏木義勝, 山田澄夫ら: 東京衛研年報, 21, 9, 1969
- 3) 岩崎謙二, 山田澄夫, 柳沢靖子, 佐々木憲子: 東京衛研年報, 22, 35, 1970
- 4) 岩崎謙二, 山田澄夫, 柳沢靖子, 矢野一好, 坂井富士子, 藪内 清, 根津尚光: 東京衛研年報, 23, 49, 1971
- 5) 岩崎謙二, 柳沢靖子, 矢野一好, 山崎 清, 坂井富士子, 藪内 清, 根津尚光: 東京衛研年報, 24, 53, 1972
- 6) 岩崎謙二, 柳沢靖子, 矢野一好, 山崎 清, 坂井富士子, 藪内 清, 根津尚光: 東京衛研年報, 25, 41, 1974
- 7) 矢野一好, 藪内 清, 岩崎謙二, 辺野喜 正夫: 東京衛研年報, 26-1, 77, 1975

交差 HI 試験成績を基礎とした A 香港型インフルエンザウイルス流行株の数量的分類

岩崎 謙 二\*

Numerical Classification of A/Hong Kong Influenzavirus Strains Made on the Basis of Cross HI Test

KENJI IWASAKI\*

緒 言

現在A型インフルエンザウイルスの1亜型として分類位置づけられているA香港型ウイルスは1968年にはじめて出現して以来、またたく間に全世界にまんえんし、ほとんど毎年同型ウイルスの感染流行が繰り返されてきた。その間に種々の抗原変異株が流行ウイルスとして検出されている<sup>1-4)</sup>。

インフルエンザウイルスの抗原変異は一般に交差HI試験の手法を利用して分析している。同一ウイルス抗原について幾つかの抗血清を物指しとした多次元的な測定試験がおこなわれているにもかかわらず、試験結果の解析に多次元的な手法が取り入れられなかったので、多くの報告例は直観的な解析に終っており、A香港型ウイルス流行株の免疫学的分類も未だ数量的に整理されていない。

著者は、ウイルス株のHA抗原性状を図式的に多面体中の空間の1点と理解する発想で多次元解析の導入を試みた。図1にはその基本である3次元の構図をしめした。ウイルス株間の抗原差異は空間2点の距離となり、その大小によって類似度が数量的に評価される。距離係数値を指標にして、Sokal and Sneathの連続群形成法<sup>5)</sup>を応用してA香港型ウイルス流行株の数量的分類をおこなった。

実験材料と方法

**A香港型ウイルス** 1968~77年のインフルエンザ流行時に採取した患者うがい液の、ふ化鶏卵培養をおこない分離したウイルス15株である。ウイルス株名は表1にしめした。HA抗原液はウイルス感染させた鶏卵漿尿液を生理的食塩液で希釈して調整作成した。抗原原液は4°に冷蔵した。

**A香港型ウイルス抗血清** ウイルス感染鶏卵漿尿液を成鶏の翼下静脈内に反復接種して免疫作成した。1週の注射間隔で4~5回注射をおこない、最終注射1週後に全採血して抗血清を分離採取した。接種ウイルス量は順次増量した<sup>3)</sup>。抗血清は-20°に凍結保存した。

**HI試験** 抗血清希釈0.025ml, HA抗原0.025ml, ニワトリ赤血球浮遊液0.05mlの微量法で常法<sup>6)</sup>に準拠しておこなった。同一抗血清内ばかりでなく、抗体価の異なる各血清間のHI価比較もできるように、血清ごとに免疫ウイルス株HI価に対する他株HI価の比率を算出し、相対HI価として抗体価表現をした。相対HI価の値は2の乗数値でしめした。

**平均距離係数** ウイルス株間の抗原差異の数量的表現に平均距離係数値を使った。図1にはウイルス株のHA抗原性状とHI価の関連がしめしてある。多面体にはさまざまな空間の中の1点という考え方をすれば、図1にしめした3次元の構図は4次元以上のそれと本質的には差がないはずである。各面からの距離は、それぞれの抗血清

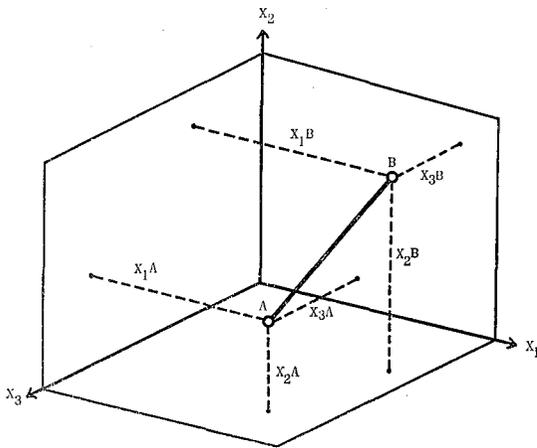


図1. A香港型ウイルス2株(A, B)のHA抗原性状の3次元的表现  
ウイルス株間の抗原的差異(平均距離係数)  
Dist. AB

$$= \sqrt{(X_{1A} - X_{1B})^2 + (X_{2A} - X_{2B})^2 + (X_{3A} - X_{3B})^2}$$

\* 東京都立衛生研究所微生物部ウイルス研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

表 1. A 香港型インフルエンザウイルス流行株の交差H I 試験成績

抗 原	抗血清 (ニワトリ番号と免疫ウイルス株名)														
	No. 161 愛	213 東	295 東	233 熊	217 東	289 東	256 東	255 東	267 東	268 東	274 東	276 東	272 山	270 ビ ク ア	299 熊
略号	知 2 /68	京 494 /72	京 494 /72	本 1 /72	京 452 /73	京 452 /73	京 364 F/73	京 825 /75	京 462 F/75	京 470 F/75	京 593 F/75	京 680 F/75	梨 20 /75	ト 3 /75	本 22 /76
A 愛知2/68	0	0	-1*	-1	-3	-2	-3	-1	-5	-6	-4	-4	-4	-4	-5
B 東京494/72	0	0	0	-1	-3	-2	-4	-1	-4	-4	-5	-5	-4	-5	-5
C 熊本1/72	-4	-4	-2	0	-3	-3	-2	-3	-6	-4	-3	-3	-2	-2	-4
D 東京452/73	-3	-3	-2	0	0	0	0	0	-5	-2	-2	-1	0	0	-1
E 東京364 F/73	-4	-4	-3	0	-1	-2	0	0	-5	-3	-2	-1	0	0	-1
F 東京825/75	-5	-4	-3	0	-2	-1	-1	0	-5	-3	-2	-1	0	0	-2
G 東京462 F/75	-5	-5	-6	-1	-3	-2	-1	-1	0	0	-1	0	0	0	0
H 東京470 F/75	-6	-6	-6	-1	-3	-3	-1	-1	-1	0	-1	0	0	0	0
I 東京593 F/75	-7	-7	-5	-2	-4	-3	-3	-2	-4	-3	0	-1	0	0	0
J 東京680 F/75	-6	-7	-4	-1	-3	-2	-2	-2	-2	-1	0	0	0	0	0
K 山梨20/75	-7	-7	-6	-3	-4	-3	-3	-3	-4	-3	-1	-2	0	0	-2
L ビクトリア3/75	-7	-7	-6	-2	-4	-4	-2	-2	-4	-3	-2	-1	0	0	-1
M 熊本22/76	-7	-7	-5	-2	-4	-3	-2	-3	-3	-1	-1	-1	0	0	0
N 東京659/77	-4	-4	-5	-1	-2	-2	-2	-2	-2	-1	0	-1	0	0	0
O 東京663/77	-5	-6	-7	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	-1	-2	-1	-1	0
抗血清略号	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o

\*: 免疫ウイルス株値に対する相対H I 価 (2<sup>9</sup>値)

との組合せで測定された相対H I 価値であり、それら各線分の交点が被検ウイルス株の抗原性状を表現する。ウイルス株間の抗原差異は空間2点の距離で数量的(距離の大小)ばかりでなく、質的(距離の方向性)にも表現される。平均距離係数値は実測の相対H I 価の値を資料として、図1に示した計算式を用いて算出した。

**A 香港型ウイルス株の数量的分類** 距離係数が小さければ小さいほど2つのウイルス株の抗原類似度は高いと判断する。距離係数値を指標にして抗原類似度の高いウイルス株群を、次から次とまとめてより大きな群を作りあげてゆく連続群形成法を応用して数量的分類をおこなった。連続群形成は、Sokal and Sneath の Weighted Pair-Group Method を採用しておこなった<sup>5)</sup>。数量計算は、コンピュータ HITAC 10-II を利用しておこない、同プログラム作成に際しては当研究所環境保健部長野牛弘博士の御援助を受けた。

**実験成績と考察**

A 香港型インフルエンザウイルス15株を抗原とし、同ウイルス株免疫ニワトリ血清15種を組合せておこなった交差H I 試験成績を表1に示した。表中に示した相対H I 価の値は3回の繰返し交差H I 試験成績の中から、2回以上一致した値を選出したものである。表1に

示した試験成績の直観的判断から、供試した15株ウイルスは3-4群に大別できるが相互の明確な線引きはきわめて難しい。このような判断結果は前報の場合<sup>7,8)</sup>とまったく同様であった。

表1の供試ウイルスA~Oの株は、いずれもa~oの15種抗血清を物指しとした15次元の抗原評価がなされているとみることが出来る。これら物指し抗血清の中に免疫反応上同一ないしきわめて類似したものがあれば、それら抗血清を統合整理しておく必要がある。

表1の実験成績から15株のウイルス抗原を物指しとして、15種の抗血清相互の平均距離係数値を算出し、その値を指標に連続群形成をおこなって、15抗血清の類似関係を整理すると図2のようになった。

免疫ニワトリの個体が異なると、たとえ同一ウイルス株抗原で免疫した血清であっても類似度が他株ウイルス抗原で免疫した血清との類似度より劣るものもあった。

供試の15種抗血清は距離係数値3.0レベルでは2群に、2.0レベルでは4群に、1.0レベルでは9群に類別整理された。

これら各レベルでの群別にしたがって選り出した2種、4種および9種の代表抗血清での相対H I 価を基数として、供試15株ウイルス相互の平均距離係数値を算出

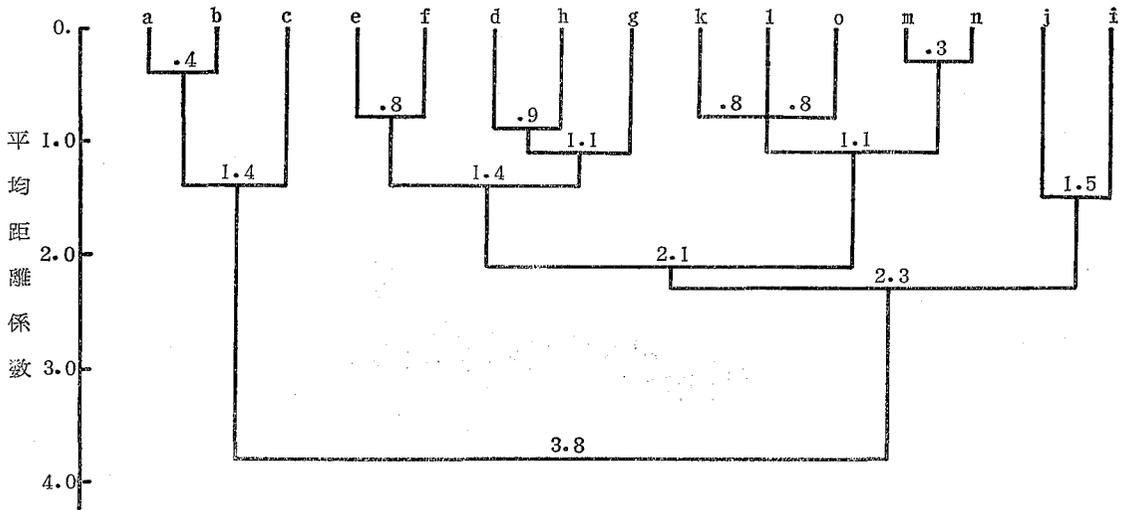


図 2. A 香港型ウイルス抗血清15種(a~o)のHI 反応類似関係図ウイルス15種(A~O)のデータを基礎にした分析結果

し、算出した距離係数値を指標に連続群形成をおこなって、15株ウイルス間の類似度を分析すると図3に示したようになった。

供試15株のウイルスが1968~72年の流行株、72~75年春までの流行株および75年秋以降の流行株の3群に類別される分析結果では、図3に示した3者の結果はきわめて類似したが、詳細にみれば抗血清数の多い解析結果ほど個々の株間の小さな抗原差異まで明らかにすることができた。

1975年秋以降の流行株はG、H株などいわゆる東京75型、I、K、L株などいわゆるビクトリア75型および両者の中間型に細分できた。77年春に患者うがい液から検出したN、O両株ウイルスは、東京75型およびビクトリア75型と若干の抗原差異のあることが示唆されたが、N、O両株ウイルスの抗血清での成績がないので結論は控える。

抗血清全例の交差HI試験成績を基礎にして、供試ウイルス15株相互の平均距離係数値を算出し、さらに連続群形成をおこなって、各ウイルス株間の抗原類似関係を分析すると図4のようになり、図3の分析結果とはやや異ったパターンをしめた。

図1に示した計算式から容易に理解されるように、平均距離係数値算出に物指しとなった各抗血清値の評価がすべて等比重の1としてとってあるため、供試抗血清の反応類似性分布に偏りがあれば、その影響が反映されて解析結果も変わってくることになる。

解析の結果をしめさなかったが、前記の群別にしながら選り出した代表抗血清の成績を基礎にした解析成績であっても、選り出された血清が異なれば若干の変動はさけられなかった。

図1に示した構図からも考えられるように、ウイルス株の抗原性状を表現する空間の点の位置づけは、点をかこむ平面からの垂直距離によっておこなわれているので、各平面の交差角度の変動は当然空間の点の位置づけおよび距離係数値にも影響をあたえることになる。これら平面の交差角度は抗血清中の抗体組成の関連度合によって変わってくると考えることができよう。

抗体反応の類似性群別にしながら選り出した一定の抗血清群での試験成績を物指しとして解析をおこなえば安定した結果が得られるので、ウイルス株のHA抗原組成の分析ではなく一定条件下でのHA抗原性状の類似性による数量的分類と考えれば本解析法は十分に実用の価値があると思う。

結 論

A 香港型インフルエンザウイルスのHA抗原性状は、選り出された幾つかの抗血清という物指しで測定されたHI価なる値で規制される多次元(空間)の点、またウイルス株間の抗原差異は空間2点の距離であるとの発想から、供試のA 香港型ウイルス15株の交差HI試験成績を基礎として株間相互の距離係数値を算出して、距離係数値の小さな株間ほど抗原類似性は高いという判断のもとに、類似性の高い株をまとめてより大きな群を作って

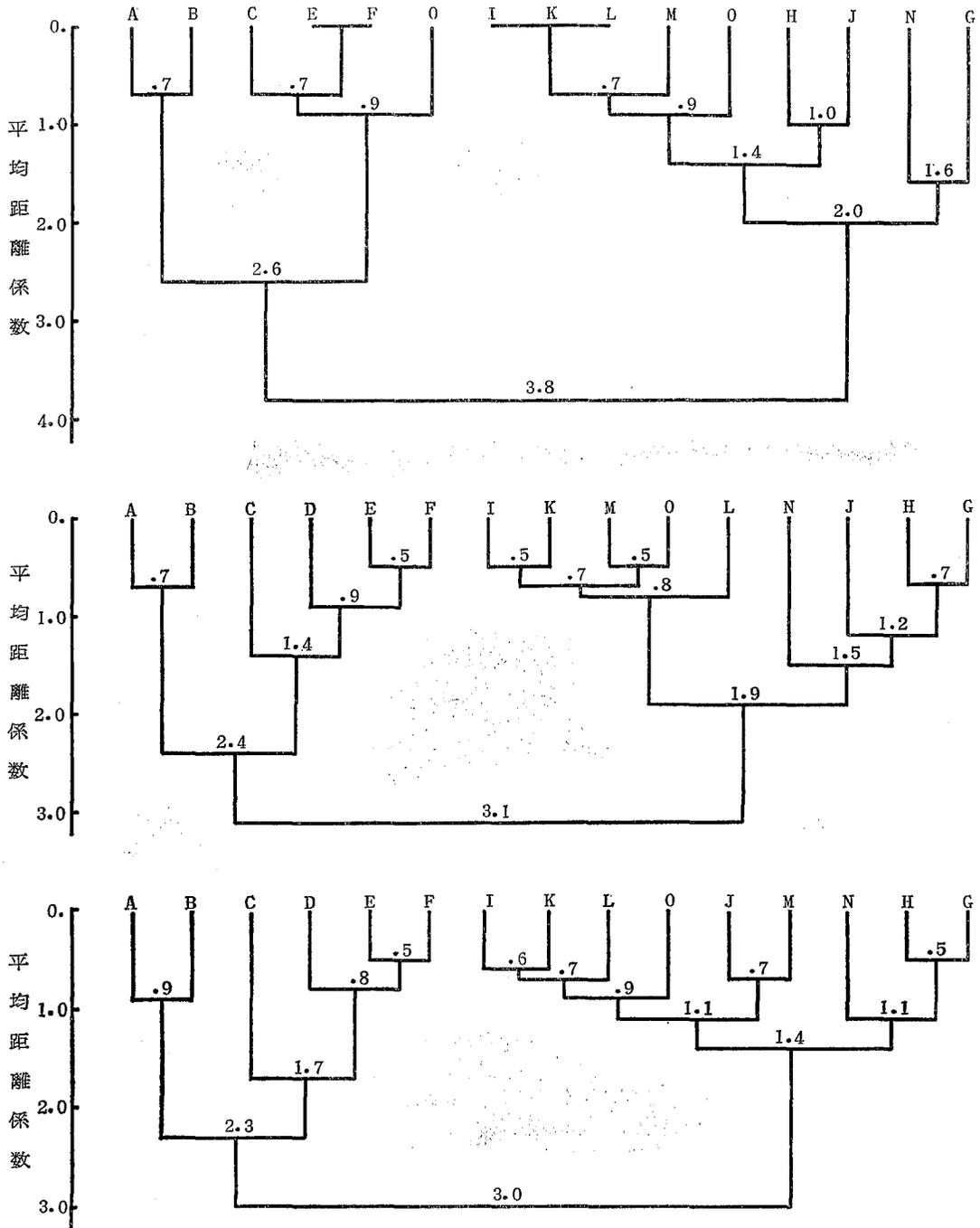


図 3. A 香港型ウイルス15株(A~O)のHA抗原類似関係図

上段: 2種抗血清(b, i)のデーターを基礎にした分析結果

中段: 4種抗血清(b, i, e, k)のデーターを基礎にした分析結果

下段: 9種抗血清(b, i, e, k, c, g, h, j, m)のデーターを基礎にした分析結果

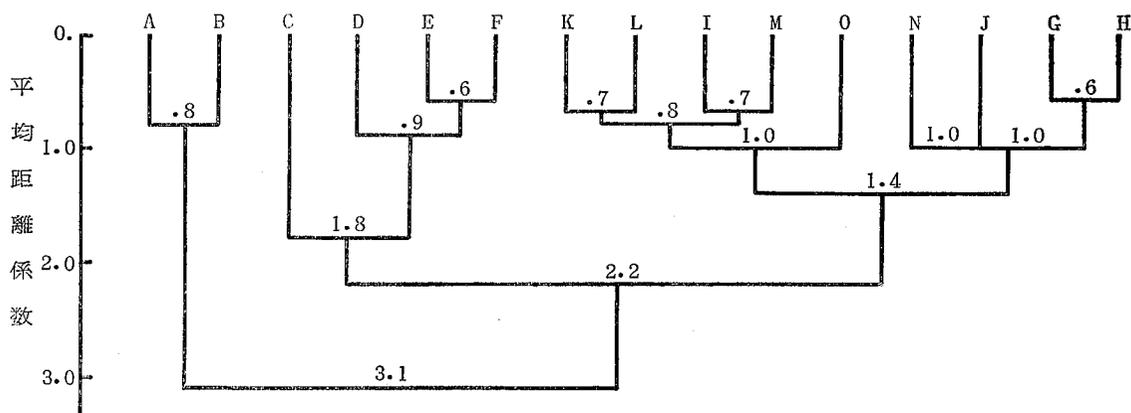


図 4. A 香港型ウイルス15株(A~O)のHA抗原類似関係図  
抗血清15種(a~o)のデータを基礎にした分析結果

ゆく連続群形成法を応用して数量的分類を試みた。

供試した15株ウイルスは1968~72年の流行株, 72~75年春までの流行株および75年秋以降の流行株の3群に大別できた。また各ウイルス株間のHA抗原類似度は距離係数値を物指しとして数量的に表現することができた。

距離係数値は選択した抗血清の組合せまた個体によっても変化するので, 安定した成績を得るためには一定の組合せ抗血清を使った試験成績での解析が必要であった。

ウイルス株のHA抗原性状の類似性を指標とした数量的分類法として本解析法は充分役立つと思う。

**謝辞** コンピュータのプログラム作成に当って種々御指導して下さいました当研究所環境保健部長野牛弘博士に深

謝します。

#### 文 献

- 1) 福見秀雄 他: ウイルス, 22, (4), 55, 1972
- 2) 庭山清八郎 他: ウイルス, 28, (4), 31, 1973
- 3) 岩崎謙二 他: 東京衛研年報, 26-1, 69, 1975
- 4) 岩崎謙二: パラメダイカル情報, 5, (10), 27, 1976
- 5) Sokal, R. R. and P. H. A. Sneath: *Principles of numerical Taxonomy*, 290, 1963, W. H. Freeman and Co., San Francisco
- 6) 福見秀雄, 武内安恵: 微生物必携, 491, 1966, 日本公衆衛生協会, 東京
- 7) 岩崎謙二 他: 日本医事新報, 2709, 43, 1976
- 8) 岩崎謙二 他: 臨床とウイルス, 4, 191, 1976

1976年度の東京都における日本脳炎疫学調査

吉田 靖子\*, 蘆内 清\*, 横山 庸子\*, 岩崎 謙二\*  
三宅 勉\*\*, 永野 清一郎\*\*, 三木 博\*\*

Epidemiological Survey of Japanese Encephalitis Virus in Tokyo in 1976

YASUKO YOSHIDA\*, KIYOSHI YABUCHI\*, YOKO YOKOYAMA\*,  
KENJI IWASAKI\*, TSUTOMU MIYAKE\*\*, SEIICHIRO NAGANO\*\* and HIROSHI MIKI\*\*

緒 言

われわれは都内における日本脳炎（以下日脳と略す）ウイルスの汚染状況を適確に知る目的で、1962年以来15年間にわたってと場ブタ血清の HI 抗体獲得率の経時的推移を観察するとともに、種々の疫学的調査を続けてきた<sup>1-3)</sup>。と場ブタ血清の抗体獲得は当該地区の日脳ウイルス汚染時期およびその度合をよく反映しているのので、1965年から厚生省は日脳の流行予測事業の一環として採用し、全国的規模で実施されることとなった。

一方都内における日脳患者は、最近減少の一途をたどり、特に1968年以降都内においてウイルス感染をうけたと推定できる日脳患者は1例も発生していない。しかしわれわれの調査から都内における日脳ウイルスの散布が毎年存在することは明らかなので、今後も日脳ウイルス汚染の監視を続ける必要があると考える。

本報は1976年度の調査成績である。

実験材料および方法

**患者血清** 1976年5月と9月に都内伝染病院に収容された脳炎症状患者2名から採取した計3件の血清であ

る。

**と場ブタ血清** 1976年1-12月に都下多摩地区の飼育ブタからと殺時に採取した血清計1,250件である。

供試血清は-20°に凍結保存した。

**HI 試験法**、コガタアカイエカの採集方法および分離同定試験 すべて既報に準じた<sup>1-3)</sup>。

検査成績および考察

**疑似日脳患者の血清学的検査成績** 1976年5・9月に脳炎症状を呈した2名3件の血清について日脳ウイルスに対する血清学的試験を行なった。その結果は表1に示したように、すべて日脳ウイルスの感染は否定された。

さらに日脳ウイルス以外で無菌性髄膜炎をおこす可能性のあるウイルスの中で、アデノ・ヘルペス・ムンプス・コクサッキーB群1-5型・ポリオ1-3型・エコー6型の抗原について検査したが、病因を明らかにすることはできなかった。検体採取の条件が不充分であったため、得られた試験結果の判定が極めて限定されたものとなった。

**と場ブタの日脳 HI 抗体獲得状況** 1976年1-12月に

表 1. 1976年度東京都に発生した疑似日本脳炎患者の血清学的検索成績

検体 No.	患者氏名	年 令	採 血 日	病 日	HI試験			C F 試験										
					日本脳炎		ポ リ オ	コクサッキーB群					ム ン プ ス	ア デ ノ	エ コ ー 6	ヘ ル ペ ス		
					中 山	JaGAR 01		日本 脳 炎	1	2	3	4					5	
2127	吉○順○	25 ♀	76. 5. 26	6	<10	<10	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8
2128			76. 5. 28	8	<10	<10	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8
3100	辺○義○	18 ♂	76. 9. 2	11	10	40	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4
3101			76. 9. 3 (リコール)	12	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4

\* 東京都立衛生研究所微生物部ウイルス研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

\*\*東京都多摩食肉衛生検査所

表 2. 1976年度東京都のと場ブタの日本脳炎HI抗体獲得状況

採月	血日	検査数	HI抗体価 (JaGAR 01)									陽性率% ( $\geq 1:10$ )	2ME感受性抗体保有率		ウイルス* 分離		
			<10	10	20	40	80	160	320	640	1280		$\geq 2560$	直接法%		透析法%	分
76.	1.21	50	43				1			1	1	2	2	14	29	0	0/43
	2.25	50	45				1			1		1	2	10	0		0/45
	3.24	50	46									2	2	8	0		0/46
	4.28	50	45							1	1	3	3	10	20	0	0/45
	5.27	50	50											0	0		0/50
	6.30	50	48										2	4	50	0	0/48
	7. 7	50	50											0	0		0/50
	14	50	50											0	0		0/50
	21	50	50											0	0		0/50
	28	50	37	8	3	2								26	15		0/37
8.	4	50	46	4										8	0		0/46
	11	50	50											0	0		0/50
	18	50	46	2	2									8	0		0/46
	25	50	47			1	2							6	67		0/47
9.	2	50	48	1	1									4	0		0/48
	8	50	50											0	0		0/50
	14	50	48	2										4	0		0/48
	22	50	50											0	0		0/50
	29	50	46	1	2			1						8	25		0/46
10.	6	50	50											0	0		0/50
	13	50	50											0	0		0/50
	20	50	50											0	0		0/50
	27	50	49	1										2	0		0/49
11.	24	50	49	1										2	0		0/49
12.	15	50	50											0	0		0/50

\* ウイルス分離は HI 抗体価 $< 1:10$ のものについて、乳のみマウスを用いておこなった。(陽性例/検査数)

採取した都内飼育ブタの経時的 HI 抗体獲得状況の調査結果を表 2 に示した。

7月28日採取血清50件中13件が HI 抗体陽性で、そのうちの2件に 2ME 感受性抗体が検出された。75年にくらべると1カ月も早い時期に抗体獲得があったが、その後は抗体獲得率が低下し、陽性ブタの抗体価も高いものは出現しなかった。8月25日および9月29日の採取血清の中に HI 価 40—160 倍を示したものが4件あり、その全例に 2ME 感受性抗体が認められたのみであった。

8—9月における抗体獲得率は低くまた保有抗体の価が低かったのに反して、1—4月の抗体獲得率は高く、かつ保有抗体の価も高いものが多かった。これら血清についてヨードアセトアミド透析法による 2ME 感受性抗体試験を行なった結果、有意の抗体価低下はみられなかった。冬季に検出された高い抗体価はいずれも75年8—10月頃の日脳ウイルス感染に起因したものと推察した。

同じ多摩地区内であっても飼育地が異なるとブタ集団

の HI 抗体獲得状況に明らかに差がみられた。抗体獲得が良好であった年次にはみられなかった現象である。このようなことから日脳ウイルス低汚染地域での汚染状況の把握には、より広域的にかつ試験頭数を増加して検査する必要があると考える。

1963年以降のと場ブタにおける年次別 HI 抗体獲得率 (JaGAR 01 株に対する HI 価 $\geq 1:10$ ) の推移を図示すると図 1 のようになる。

1963年から1976年にいたる各年の HI 抗体獲得状況は4つのパターンに大別できる。抗体獲得率から推定される都内の日脳ウイルス汚染度は年次が進むにしたがって低下した。

1968年以降の各年次では9月中旬ないし10月下旬に獲得率の上昇がみられたが、76年は7月下旬に上昇し、最高値26%を示した。最高値26%の内容をみると陽性ブタ13頭中11頭の HI 価は10—20倍で、40倍を示したものはわずかに2頭であった。HI 価40倍を示した2頭の抗体

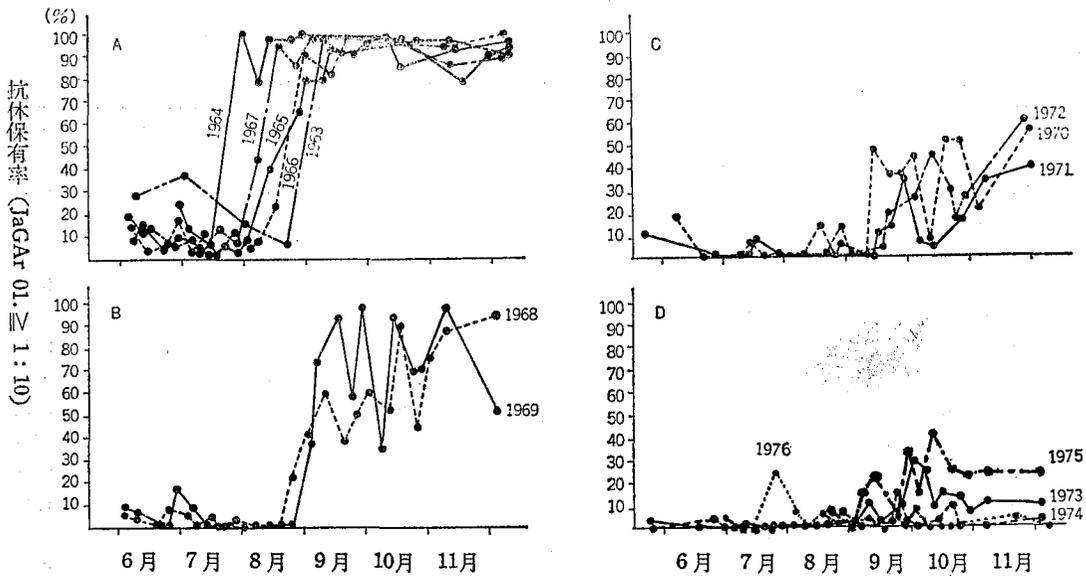


図 1. 東京都におけると場ブタの日本脳炎H I 抗体保有状況の年次別比較

表 3. 1976年度東京都のコガタアカイエカの消長

採 集	A			B			C			D			E		
	月	日	合	♀	ウイルス分	離	♀	ウイルス分	離	♀	ウイルス分	離	♀	ウイルス分	離
76.6.	29	0	0	(-)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7.	6	0	1	(-)	0	1	(-)	0	0	0	1	(-)	0	0
		13	0	1	(-)	0	2	(-)	0	0	0	2	(-)	0	0
		16	0	4	(-)	5	0				35	25	(-)	2	21
		20	1	0		3	3	(-)	0	0	8	5	(-)	0	2
		23	0	0		11	4	(-)	0	1	(-)	22	6	(-)	2
		27	2	4	(-)	1	3	(-)	0	0	37	27	(-)	0	5
		30							0	0	3	6	(-)	0	7
8.	3	1	1	(-)	0	5	(-)	0	0	0	2	(-)	1	3	
	5	1	5	(-)	2	0		0	0	0	0		0	7	
	10	0	0		0	0		0	0	0	1	(-)	0	0	
	13	0	0		0	0		0	0	0	0		0	0	
	17	0	9	(-)	0	3	(-)	0	0	0	5	(-)	0	2	
	20	0	7	(-)	0	8	(-)	1	0	0	14	(-)	0	5	
	24	0	2	(-)	0	0		0	0	0	0		0	0	
	27	0	0		0	0		0	0	0	0		0	0	
	31	0	5	(-)	0	5	(-)	2	0	1	0		0	7	
9.	7	0	1	(-)	0	0		0	0	0	0		0	0	
	14	0	1	(-)	0	1	(-)	0	0	0	2	(-)	0	10	
	21	0	2	(-)	0	2	(-)			0	0		0	0	
	28	0	0		0	0		0	0	0	1	(-)	0	0	
10.	5	0	0		0	0		0	0	0	1	(-)	0	0	
	12	0	0		0	0		0	0	0	2	(-)	0	0	
	19	0	0		0	1	(-)			0	0		0	0	
	26	0	0		0	0				0	0		0	0	

はいずれも 2ME 感受性を示した。HI 価 10 倍を示したブタが感染直後の抗体上昇途中であったか否かは、同一個体での経時的追跡が不可能であったため明らかにすることはできなかった。8 月以後のと場ブタにおける HI 抗体獲得率は 0—8% であり、都内の日脳ウイルス汚染は極めて低度であったと推測した。

1—12月に採取したと場ブタ血清のうち HI 価 10 倍以下のもの 1,195 件を乳のみマウスの脳内に接種してウイルス分離を試みたが、全例陰性であった。

**コガタアカイエカの採集結果** 当研究所および都心の某地区にライトトラップを設置して蚊を採集し、その経時出現消長を調査するとともに、採集した雌コガタアカイエカについてはウイルス分離試験を行なった。75年10月初旬に採集した蚊プール材料から日脳ウイルスを分離したので<sup>3)</sup>、76年は採集期間を1カ月延長して調査したが、その結果ウイルス分離は全例陰性であった。また衛研鶏舎におとりウサギをおいて HI 抗体獲得状況を調査したが、全例抗体上昇を認めなかった。

#### 結 論

1976年東京都の日脳の疫学的調査を行ない次の結論をえた。

- 1) 脳炎症状を呈して送院された患者 2 名計 3 件の血

清について抗体検査を実施したが、日脳ウイルスの感染は肯定できず、またその他のウイルスについても検査したが、病因を明らかにすることはできなかった。

- 2) 1976年1—12月に採取したと場ブタ血清の日脳 HI 抗体獲得調査では、7月下旬採取血清において最高値 (26%) を示し、2ME 感受性抗体が検出された。1968年以降の各年次にくらべて1—2カ月も早く 2ME 感受性抗体保有ブタが検出されたが、その後 HI 抗体獲得率は 0—8% の範囲で低迷した。また76年1—6月にかけて、HI 抗体価の高いブタが出現したが、ヨードアセトアミド透析法で確認したところ 2ME 感受性はなかった。

- 3) HI 抗体価陰性 (10倍以下) のと場ブタ血清 1,195 件およびコガタアカイエカの 51 プール材料からのウイルス分離はすべて陰性であった。

#### 文 献

- 1) 藪内 清, 坂井富士子, 伊藤忠彦, 岩崎謙二ら: 東京衛研年報, 25, 53, 1974
- 2) 柳沢靖子, 藪内 清, 伊藤忠彦, 岩崎謙二ら: 東京衛研年報, 26-1, 73, 1975
- 3) 吉田靖子, 藪内 清, 横山庸子, 岩崎謙二ら: 東京衛研年報, 27-1, 66, 1976

れの程度は空間の2点間の距離として表現する。用いる抗血清を定めておけば、常に同じレベルでの分析が可能である。使用した抗血清の数すなわち基点数によって距離値は変動するので、基点数で割った平均距離係数を使った。

1968—1975年の9・10月に採取したHI抗体陽性ブタ血清285件について、前記6株の分離日脳ウイルス抗原と中山・JaGAR 01株の計8株に対するHI価を測定し、8株の抗原に対する反応パターンがなるべく異質のものを18件選んだ。

各血清の抗体価は一律でないので実測値の表から各血清の反応パターンを比較することはむずかしい。各血清の最高値に対する比すなわち相対HI価で示すと容易で

ある。ブタ血清の分離日脳ウイルス株に対する相対HI価を表3に示した。

日脳分離ウイルス抗原分析時の基点血清を選出するため、相対HI価を基本にして18血清相互の平均距離係数を算出し、一番係数値の小さいもの同士を1つの群にまとめることをくり返して整理していくと図1のような結果になった。

18血清は大きく3群にわけられた。それぞれの群の中から最高値と最低値のひらきの大きいものを選び出して抗原分析用の使用抗血清とした。

選出した3血清(表3の\*印のついている血清)での相対HI価を基礎にして分離ウイルス相互の平均距離係数値を求め日脳ウイルス8株のHA抗原類似関係を整

ブタ血清No.

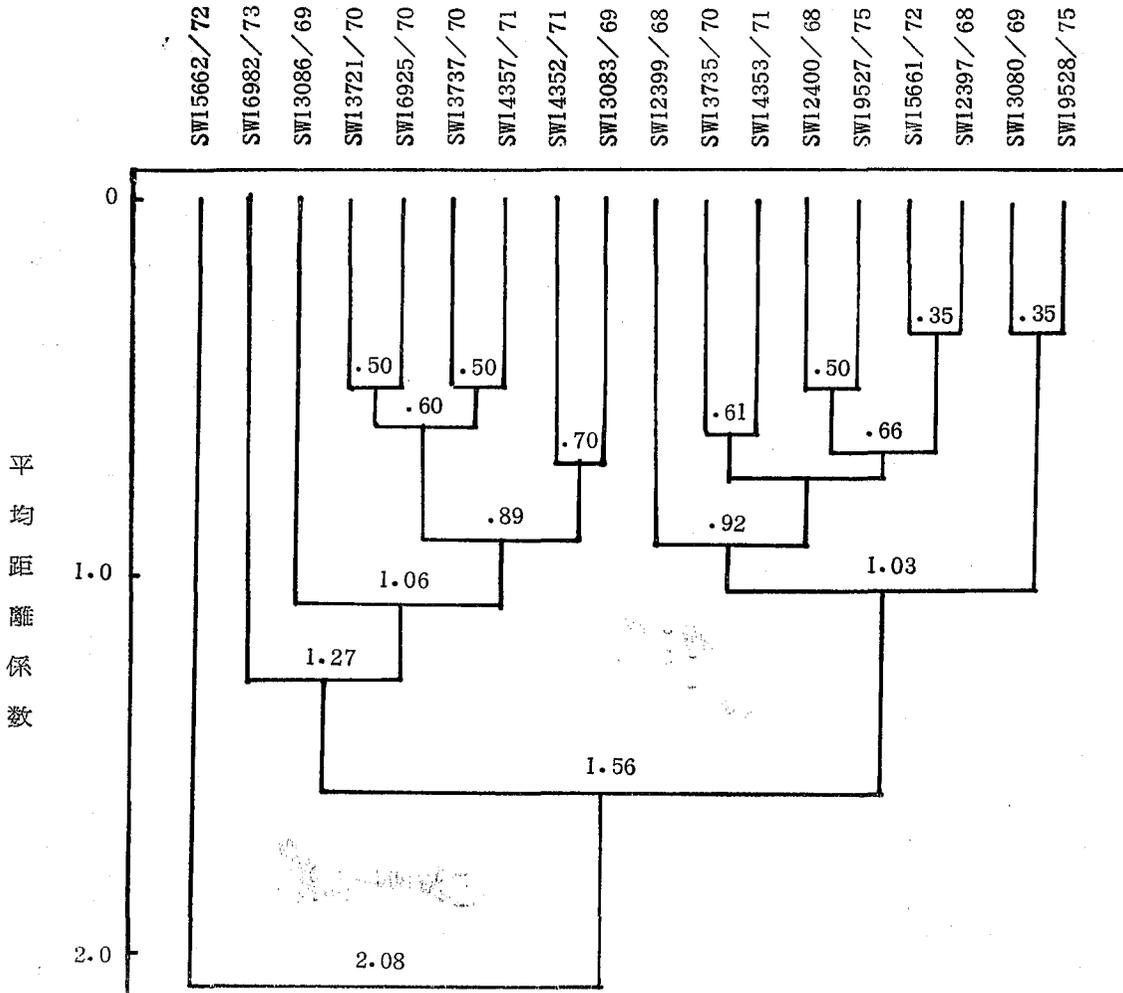


図1. 日脳ウイルス8株に対する相対HI価像比較によるブタ血清18件の類似関係図

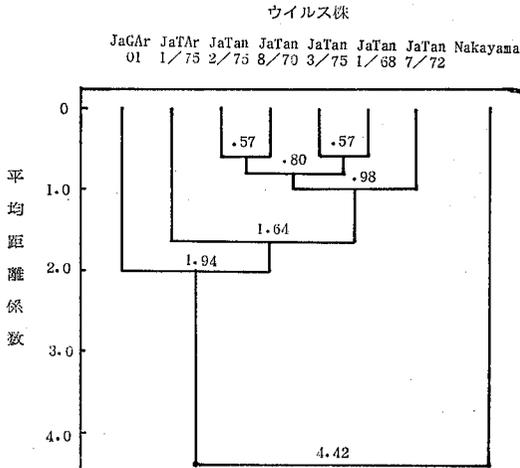


図 2. 感染ブタ血清 (SW 12399/68, 13721/70, 15662/72) での相対 HI 価像比較による日脳ウイルス 8 株の HA 抗原類似関係図

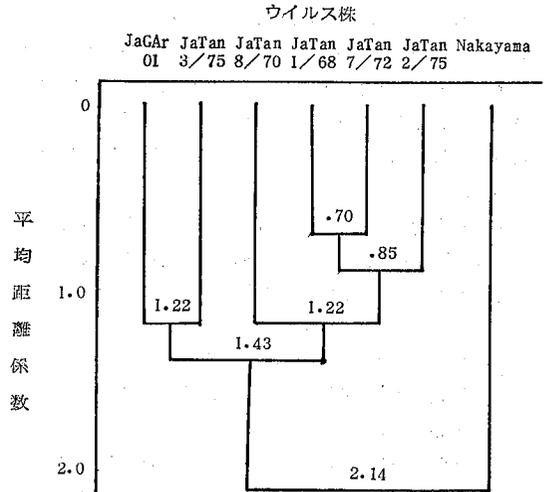


図 3. 感染ウサギ血清 (R422・423・424・432) での相対 HI 価像比較による日脳ウイルス 7 株の HA 抗原類似関係図

表 4. 感染ウサギ血清の分離日脳ウイルス株に対する相対 HI 価 (対最高値)

免疫ウイルス株	ウサギ番号	相 対 H I 価								群	
		JaTan 1/68	JaTan 8/70	JaTan 7/72	JaTan 2/75	JaTan 3/75	JaTAr 1/75	JaGAR 01	中山		
JaTan	1/68	422	-2	-1	-1	0	0		0	-2	B*
"	423		-2	-3	-2	-2	-2		0	-2	D*
JaTan	8/70	424	-2	-2	-1	-2	0		-1	-3	C*
"	425		-1	-1	0	0	0		0	-1	B
JaTan	7/72	426	-1	-1	0	-1	0		0	-2	C
"	427		-1	-2	-1	-2	0		0	-3	C
JaTan	2/75	428	-1	-1	-1	-2	0		0	-3	C
JaTan	3/75	430	-1	-1	-1	-1	-2		0	-2	C
JaTAr	1/75	432	-2	0	-2	-2	0	-2	-1	-4	A*
"	433		-1	-1	-1	-1	0	0	0	-2	C
JaTan	7/69	434	-1	-1	0	-1	0		0	-3	C
JaTan	1/70	435	-2	-2	-1	-2	0		-1	-3	C
JaTan	1/72	436	-2	-2	0	-2	-1		-1	-3	C
中山		413	0	0	0	-1	0		0	-1	B
"		415	-2	-1	-1	-2	0		-1	-2	C
"		418	-1	-1	0	-1	0		0	-1	B
JaGAR 01		416	0	-1	0	-1	0		0	-3	C
"		417	0	0	0	0	0		0	-3	B

理したところ図 2 のようになった。

平均距離係数値が一番大きく離れた中山・JaGAR 01 株が両端に、それぞれの分離ウイルス株は両者の中間型で JaGAR 01 株寄りのウイルス性状を示していることが推察された。

次に 18羽のウサギにそれぞれのウイルス感染マウス脳乳剤を接種して感染免疫血清を作成し、同血清を用いて前記同様の抗原分析を行なった。

感染ウサギ血清とウイルス抗原の交叉 HI 試験成績を表 4 に示した。

ブタ血清での分析同様平均距離係数値を算出し整理したところ4群に大別できた。最高値と最低値のひらきの大きい4血清(R422・R423・R424・R432,表4の\*印のついている血清)を用いて日脳ウイルス株のHA抗原性状比較を行ない、まとめた抗原類似関係図を図3に示した。

ブタの場合とはほぼ一致した結果が得られた。免疫ウイルス株が明確になっている実験感染血清を用いても、分離株間の性状の差は明らかにすることはできなかった。

### 結 論

日脳ウイルス低汚染時代におけるブタからの日脳ウイルス分離状況および分離ウイルスの抗原性状を比較検討し次の結論を得た。

- 1) 1968～1976年間に採取した日脳抗体陰性の都内飼育ブタ血清6143件から27株の日脳ウイルスを分離し、75年10月に採集した蚊のプール材料から1株の日脳ウイルスを分離した。
- 2) ブタの日脳HI抗体獲得率の高低とウイルス分離状況を対比すると、抗体獲得率の高かった1968・69年はウイルス検出期間が短かく、低かった70年以降の各年次

は8月下旬から10月下旬まで長期間にわたって、ウイルス分離が可能であった。

3) 分離ウイルス株の抗原性状を自然感染ブタ血清および実験感染ウサギ血清を用いて検討した結果、両者の結果はほぼ一致し分離日脳ウイルス株は中山・JaGAR 01株の中間型で、JaGAR 01株寄りのHA抗原性状を示した。

分離株間の構造の差は明らかにすることはできなかった。

### 文 献

- 1) 国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学・各論，丸善
- 2) 国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学・総論，丸善
- 3) 吉田靖子，藪内 清，横山庸子，岩崎謙二ら：東京衛研年報，28-1，40，1977
- 4) 吉田靖子，藪内 清，横山庸子，岩崎謙二ら：東京衛研年報，27-1，66，1976
- 5) 岩崎謙二：東京衛研年報，28-1，35，1977

1976年の東京都民における風疹ウイルス HI 抗体保有調査

吉田 靖子\*, 横山 庸子\*, 岩崎 謙二\*

**Incidence of HI Antibody against Rubella Virus  
among Inhabitants in Tokyo in 1976**

YASUKO YOSHIDA\*, YOKO YOKOYAMA\* and KENJI IWASAKI\*

緒 言

1975年春から夏にかけて関東以北の各地において風疹流行が始まり全国的に流行が拡大し、1976年になっても流行は終息しなかった。

1976年1—2月にかけて都内某高等看護学院においても風疹の集団発生があった。全学生から1年間に4回採血し風疹 HI 抗体価を測定して、同一個人における抗体価の変動および同集団における抗体保有状況の変動を調査した。

また都内および都下離島の一般住民血清について風疹 HI 抗体保有状況も調査したので報告する。

実験材料および方法

**被検血清** 1976年1月31日, 2月27日, 7月22日および77年1月14日計4回にわたって採取した都内某高等看護学院生徒血清のべ1,698件を実験に用いた。また76年5—7月にわたって採取した一般都民血清367件および

76年5—10月に採取した都下離島の一般住民血清278件についても検査した。

供試血清は-20°に凍結保存した。

**HI 試験** 既報に準じて行なった<sup>1)</sup>。

検査成績および考察

**某高等看護学院の風疹集団発生状況と抗体価の経時的変動** 1976年1—2月にかけて高等看護学院にて風疹の集団発生があり、学生の病院実習を控えていたため今後の患者発生を予測する目的で全学生から採血し HI 抗体価を検査した。同学院は18才からほぼ21才までの女子が在学しており、その多くは学院の寄宿舎に入っている。1976年1月の在校生は、361名でそのうち75名が臨床的に風疹と診断された<sup>2)</sup>。初発患者は76年1月28日に発生し、以後患者数は急増した。3月末になっても流行の終息はみられず、76年4月入学者の中にも患者が発生した。

1976年1月31日, 2月27日, 7月22日, 1977年1月14

表 1. 某看護学院における風疹 HI 抗体価の変動

学 年	採血月日	検査数	風 疹 HI 抗 体 価											抗 体 保 有 率 ( $\geq 1:8$ )
			<8	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	$\geq 4096$	
5 回 生 (76.3卒業)	76.1.31	113	26		6	10	25	13	24	4	4	1		77.0%
	2.27	95	16		4	6	6	25	26	7	3	2		83.2
6 回 生 (77.3卒業)	76.1.31	121	36	1	4	11	22	26	12	9				70.2
	2.27	118	26	1	2	6	13	29	20	11	5	5		78.0
	7.22	118	16		1	4	11	34	36	13	3			86.4
	77.1.14	115	16		2	9	23	35	36	4				86.1
7 回 生	76.1.31	125	27	2	5	9	26	20	15	13	5	2	1	78.2
	2.27	123	4		1	1	13	31	18	26	17	2	10	96.7
	7.22	108	2			2	11	31	35	17	6	2	2	98.1
	77.1.14	114	2			8	32	42	19	8	1	1		98.2
8 回 生	76.4.14	117	43	7	4	12	17	19	13	2				63.2
	7.22	118	41	2	2	6	11	25	20	11				65.3
	77.1.14	111	40	3	6	11	16	25	7	3				64.0
9 回 生	77.4.18	124	35	1	2	3	7	12	29	19	12	3	1	71.8

\* 東京都立衛生研究所微生物部ウイルス研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

日の計4回全学生から採血して風疹 HI 抗体価を測定した。その集計結果を表1に示した。

76年2月末までは7回生における患者発生率が高く、抗体陰性者のみを対象としたり患率も5・6回生にくらべてきわめて高率であった。これは学習内容などからみて学生同士が接触する機会が多く、濃厚感染の危険度が高かったためと考えられた<sup>2)</sup>。しかし、76年3月から7月にかけては9回生に多く発生した。

76年1月28日から7月22日までの間に、血清学的に風疹ウイルス感染の確認ができた58人についての HI 抗体価の経時的変動を表2に示した。

58名中51名の急性期血清では HI 価が8倍以下であった。急性期の HI 価が8—32倍であった7名も回復期には1024— $\geq$ 4096倍となり有意の抗体価上昇を示した。同一人について風疹に患後の HI 価の経過消長をみると、発症後1024— $\geq$ 4096倍と急上昇した HI 抗体価は、約半年後には256—512倍に、1年後には64—256倍に低下した。発症者および非発症者を含めて経時的採血が可能だった290名について HI 抗体価を測定し平均抗体価の変動をみた。その集計結果を表3に示した。

平均抗体価の経時的変動をみると、76年1月31日採血時の HI 価 $<8-16$ 倍 ( $n=<1-2$ ) のものは、流行後1カ月で急激に上昇した。特に7回生において4回の採血が可能であった97名のうち1月末に抗体価 $<8$ の19人

表2. 風疹患者58人の HI 抗体価の変動

風疹 HI 価	採 血 月 日			
	76.1.31	76.2.27	76.7.22	77.1.14
検査数	58*	57	46	41
<8	51	11**		
8	3	1**		
16	3			
32	1		1	1
64			1	7
128			5	15
256		5	19	13
512		7	10	3
1024		18	7	1
2048		5	1	1
$\geq 4096$		10	2	

\* 46人は76.1.27—76.2.11に発病。

\*\* 12人は76.3.11—76.7.22に発病。

は、1カ月以内に17人まで風疹にり患したため、1カ月後の平均抗体価は急上昇した。しかし、6カ月後には1/4に、1年後には1/8まで平均抗体価は減少した。5・6回生において1月末に抗体陰性であったものも、風疹流行後平均 HI 価が変動し、抗体陰性におけるり患率が高かったことがうかがわれる。しかし6回生においては76年7月22日に平均抗体価のピークがあり、患者発生

表3. 某看護学院生の風疹流行後の平均 HI 抗体価の変動

風疹流行前の HI 価 (76.1.31採血) $4 \times 2^n$	5 回生 (76.3卒業)		6 回生 (77.3卒業)			7 回生 (78.3卒業予定)					
	件数	1カ月後 (76.2.27)	件数	1カ月後 (76.2.27)	6カ月後 (76.7.22)	1年後 (77.1.14)	件数	1カ月後 (76.2.27)	6カ月後 (76.7.22)	1年後 (77.1.14)	
発症者	<1	7	7.8 $\pm$ 1.6*	17	3.9 $\pm$ 4.8	6.5 $\pm$ 0.8	5.3 $\pm$ 0.8	17	8.1 $\pm$ 1.4	6.1 $\pm$ 1.2	5.2 $\pm$ 0.3
	1	0		0				2	10.0 $\pm$ 0	8.0 $\pm$ 0	7.5 $\pm$ 0.7
	2	0		0				3	8.3 $\pm$ 1.5	7.0 $\pm$ 2.6	5.3 $\pm$ 1.5
非発症者	<1	15	<1	15	<1	<1	<1	2	<1	<1	<1
	1	0		0				0			
	2	5	3.0 $\pm$ 1.7	3	2.3 $\pm$ 0.6	3.0 $\pm$ 1.0	3.0 $\pm$ 0	2	2.5 $\pm$ 0.7	4.5 $\pm$ 0.7	3.0 $\pm$ 1.4
	3	8	3.5 $\pm$ 0.8	9	3.6 $\pm$ 0.5	4.1 $\pm$ 0.9	3.7 $\pm$ 1.1	7	4.3 $\pm$ 0.8	4.1 $\pm$ 0.7	3.6 $\pm$ 0.8
	4	16	4.8 $\pm$ 0.5	19	4.9 $\pm$ 0.9	5.0 $\pm$ 0.7	4.5 $\pm$ 0.7	20	4.6 $\pm$ 0.6	5.2 $\pm$ 0.7	4.4 $\pm$ 0.8
	5	16	5.5 $\pm$ 0.5	21	5.5 $\pm$ 0.8	5.7 $\pm$ 0.8	5.2 $\pm$ 0.8	15	5.4 $\pm$ 0.7	5.6 $\pm$ 0.6	4.6 $\pm$ 0.5
	6	20	5.9 $\pm$ 0.6	10	6.0 $\pm$ 0.5	5.8 $\pm$ 0.6	5.4 $\pm$ 0.8	13	6.3 $\pm$ 0.5	5.7 $\pm$ 0.9	4.8 $\pm$ 0.7
	7	0		8	7.0 $\pm$ 0.5	6.5 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 0.8	12	6.9 $\pm$ 0.3	6.6 $\pm$ 0.7	6.1 $\pm$ 0.7
	8	4	7.3 $\pm$ 0.9	0				3	8.7 $\pm$ 1.2	8.0 $\pm$ 1.0	6.3 $\pm$ 0.6
風疹患者**		76.1.28—2.27		76.1.28—2.27	10/121 (8.3%)			76.1.28—2.27	29/125 (23.2%)		
発生状況		7/115 (6.1%)		76.3.1—7.22	11/121 (9.1%)			76.3.1—7.22	1/125 (0.8%)		

\* 平均抗体値土標準偏差値

\*\* 流行期間とり患率 (患者数/在籍者数)

状況からも流行期間が長期であった。また平均抗体価の上昇値は7回生ほど大きくなく、ほとんどの抗体陰性者が風疹に罹患した7回生にくらべて、6回生はなお抗体陰性者が多く残った。

1月末に抗体価32—256倍のものは流行時多少の抗体価の上昇がみられたものの、1年経過した時点でも平均抗体価には変化が少なく、標準偏差値も非常に小さいことから、風疹 HI 抗体保有者にとって今回の流行に際して大きな影響はなかったと推察した。1月末で512—1024倍 (n=7, 8) の抗体保有者は、HI 価の経時的変動をみると減少の一途をたどったことから、同時点直前に患したものが存在していたと推察された。

同一学院内のしかも寮生活まで共にする学生間に生じた風疹集団発生に際して、かなりの規模の流行にもかかわらず学年およびクラスによってり患率には大きな差があった。

一般都民の風疹 HI 抗体保有状況 1976年5—7月に

採取した1—80才までの東京都に在住する367名の HI 抗体保有状況を表4にした。

年齢別に抗体保有を調査した結果、保有状況では明らかに30才以上の成人に抗体保有率は高かった。しかし0—14才までの採血者のうち多くの人が1976年2—3月頃に臨床的に風疹と診断されていたものが多く、したがって高い抗体価のものが多くなっていった。前回の調査<sup>1)</sup>にくらべて抗体保有率も上昇し、また高い抗体価をもっているものが多いところから、今回のこの風疹流行時には中学生・高校生においてもかなりのり患があったことが推察された。

離島々民の中学生・高校生・一般住民女性278名の血清について検索し、表5に示した。

都内の15—18才の年齢層の血清がなかったため検索できなかったが、10—14才にくらべても離島における抗体保有率はかなり低かった。また同一島内でも地区によって抗体保有率に差がみられた。しかし成人女性について

表 4. 健康都民における風疹 HI 抗体保有状況 (1976)

年令区分	検査数	風 疹 HI 抗 体 価										抗体保有率 ( $\geq 1:8$ )		
		<8	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048		$\geq 4096$	
0—4	52	16				1	10	14	6	4	1			69.2%
5—9	118	27				5	17	37	23	7	1	1		77.1
10—14	77	12				1	4	16	20	22	2			84.4
20—29	45	6		6	7	5	8	11	2					86.7
30—	75	1	4	11	10	21	15	9	3	1				98.7

表 5. 離島々民の年齢別風疹 HI 抗体保有状況

採血月日	地区	年齢	検査数	風 疹 HI 抗 体 価							抗体保有率 ( $\geq 1:8$ )			
				<8	8	16	32	64	128	256		512		
76. 5. 21	A島	15才	76	70				1	1	1	2	1		7.9%
		16	17	13				1	1	1		1		23.6
		17	34	24				2	2	3		2	1	29.4
		18	8	6				1				1		25.0
76. 7. 5	A島	16	48	41				1	2	1	3			15.7
		17	17	15				1						11.7
		18	1						1					
		25・27	2	1				1						
76. 10. 4	B島	中学生 (女)	11	9							2			18.2
		高校生 (女)	14	12					1		1			14.3
		一般住民 (女)	29	6	1	2	6	8	3	2	1	1		79.3
76. 10. 4	C島	一般住民 (女)	21	4		1	6	5	4			1	81.0	

は都内よりいくぶん低かったが、79—81%の抗体保有率を示していた。

#### 結 論

1976年1月に都内の某高等看護学院に風疹の集団発生があり、全学生における風疹 HI 抗体価の経時的変動を調査した。また一般都民の風疹 HI 抗体保有状況も調査した。

1) 都内の某高等看護学院において1976年1—2月にかけて風疹の集団発生があり、在校生361名のうち75名が臨床的に風疹と診断された。血清学的診断では58名に抗体の有意上昇が認められた。

2) 全校的な風疹患者発生は76年1月から7月まで続

いた。患者発生期間はクラスによって差異があった。すなわち患者数が短時間内に急増したクラスは2カ月、急増をみなかったクラスは6カ月間患者発生があった。

3) 一般都民の風疹 HI 抗体保有調査結果では、20才以上の年齢層は75年度より多少の保有率上昇がみられた。都内にくらべて離島中学生・高校生の保有率は低率であったが、一般成人はほぼ同率であった。

#### 文 献

- 1) 吉田靖子, 横山庸子, 岩崎謙二: 東京衛研年報, 27-1, 63, 1976
- 2) 深瀬須加子: 衛生局学会誌, No. 59, 26, 1977

走査型電子顕微鏡によるインフルエンザ A 型ウイルスの観察

前木 吾市<sup>\*1</sup>, 伊藤 忠彦<sup>\*2</sup>

Scanning Electron Microscopic Observation of  
A Type Influenza Virus Isolated in 1975

GOICHI MAEKI<sup>\*1</sup> and TADAHIKO ITO<sup>\*2</sup>

Morphological observation was made by the scanning electron microscope ASID attached to the JEM-100 B, on influenza A/Victoria 3/75 and A/Tokyo 470 F/75, which have been partially purified by the centrifugation. Virus particles adsorbed on chicken erythrocytes and an aggregate of the cells were also subjected for the observation. Results obtained are as follows: 1) Both spherical and filamentous viruses were remained in the supernatant fluid by the centrifugation of the crude virus suspension at 1,500 rpm, however, if it was centrifuged at 10,000 rpm for 30 minutes, almost of all the filamentous ones were sedimented. Spherical ones in the supernatant could be observed after the centrifugation at 38,000 rpm for one hour. 2) When chicken erythrocytes were added into a virus suspension in a concentration of 1%, both spherical and filamentous ones were adsorbed on the surface of the cells at 4°C. 3) The Cr shadowing, carbon and Au-pd evaporations applied on the samples which placed on a thin collodion membrane were proved to be a quite effective procedure for the preparation of the biological specimens.

緒 言

走査型電子顕微鏡（以下 SEM と略す）は、試料表面の立体像観察に優れている。しかし従来の透過型電子顕微鏡（以下 TEM と略す）に比較し、分解能が劣る。SEM の生物試料への応用として、これまで大、中型ウイルスの表面構造の観察や、赤血球表面に吸着されたミキソウイルスの観察などが期待されてきた。インフルエンザウイルスは 1,000 Å 前後の大きさがあり、一方性能のよい SEM ではその数分の一の分解能を保有するので、理論上からは十分な観察の可能性が考えられる。しかしながら SEM によるウイルス観察は、最近出現した高分解能の静電放射型 SEM によって初めて達成された<sup>1)</sup> という状況であり、一般 SEM で観察可能という認識はきわめて薄い。このことはウイルス試料が意外な程 SEM で観察しにくい性状をもつこと、したがって試料作製技法に開発の余地が多いことを示唆している。

たまたま 1975 年春、集団かぜの大流行があり、患者からインフルエンザ A 型の変異株が分離された。その A 型ウイルスを TEM で観察した結果では、球形粒子の外にフィラメント型のものを含み、形態学上からも変化に富んでいることを認めた<sup>2-4)</sup>。そこで比較的高性能に属す

る SEM を用い、分離後間もないインフルエンザ A 型株を対象に次の 4 点について検討した。その第 1 は遠心分離（部分遠心）によるウイルス粒子の消長、第 2 は赤血球表面に吸着させたウイルスの観察、第 3 は SEM 観察に適するウイルス試料作製法の開発、第 4 は電顕試料作製法と撮影条件の確立である。

実験材料および方法

実験材料：供試ウイルス株は北里研究所より分与された A/ビクトリア 3/75 および 1975 年 12 月に当所で集団かぜ患者より分離した A/東京 470 F/75<sup>5)</sup> の 2 株である。

ウイルス試料作製法

(1) 遠心分離法によるウイルス試料の作製

予め各ウイルス共培養鶏卵しょう尿液 150 ml を用意し、4°C 下でトリ赤血球を 2% の割合に加えウイルスを吸着させ、そのまま 20 分間放置後 1,500 rpm 5 分間遠心し、上清中の未吸着ウイルスに対しては同様な吸着処理を行なった。両沈さを一個所に集め、この沈さに生理食塩液を加えて 40 ml とし 37°C 10 分間加温。この上清を「粗製ウイルス液」と呼ぶことにする。粗製ウイルス液の精製方法は第 1 図に示す通りである。部分遠心の各ステップの上清、沈さをそれぞれ①—⑦に区分し、SEM 観察用試

<sup>\*1</sup> 東京都立衛生研究所生活科学部乳肉衛生研究科 160 東京都新宿区百人町 3-24-1

<sup>\*</sup> Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

<sup>\*2</sup> 微生物部ウイルス研究科

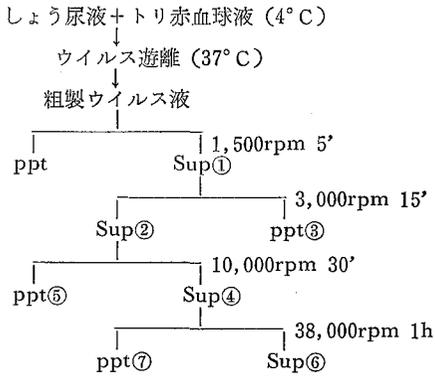


図 1. インフルエンザウイルスの遠心分離法

料とした。ピクトリヤ株については TEM 観察を併用した。

#### (2) ウイルスを吸着させたトリ赤血球試料の作製

Aピクトリヤ株のしょう尿液に対し、4°Cの低温下でトリ赤血球を加え試料作製を行った。赤血球1個当りの吸着ウイルスをできるだけ多くする意図の下に、トリ赤血球を極微量、0.5%、1%の割合に加えたもの3通りの試料を準備した。これらウイルス吸着済み赤血球を一度生理食塩液で洗い、セロファンチューブに移した後、約500mlの10%フォルマリン水にて一昼夜透析し観察に供した。

#### SEM 用試料作製法<sup>9)</sup>

試料台の代りとしてコロジオン支持膜を張った TEM 用 150 メッシュを使用した。この上に上記試料を白金耳で載せ、自然乾燥後蒸留水にて食塩結晶の除去を行う。位相差顕微鏡で支持膜および試料についてチェックする。支持膜として自製トリヤホールマイクログリッドを補助として用いた。薄目に Cr シェドウイングを施し、TEM 試料を兼ねたメッシュを作製した後、この表面にカーボン、金パラジウムの回転蒸着を行って SEM 観察に供した。

#### SEM による観察条件

機種は日本電子KK製 JEM-100B 付属の走査像観察装置 (EM-ASID) で、TEM と同一の照射レンズ系を共用しているので、細い電子プローブが得られ高解像型となっている。分解能は、トップエントリー方式の場合 100Å とされるが、当機種はサイドエントリー方式なので低下が見込まれる。試料の観察範囲は 2×11mm で、試料ホルダーは一方向だけの傾斜が可能なタイプである。SEM 観察条件として、加速電圧はすべて 20KV、電子電流 20-50μA、撮影倍率は CRT 上で 2-3 万倍、試料傾斜角度は主として 40° を用いた。撮影フィルムはネ

オバン S S、現像には軟調系のカテコール表面現象法を用いた。

#### 観察所見

観察ウイルス 2 株中では、同一の精製方法にも拘らず Aピクトリヤ株の方がシャープな像を示した。以下所見はピクトリヤ株についてのものである。

#### (1) 遠心精製によるフリーのウイルス像

図 1 における①-⑦試料のうち、多数のウイルス粒子が見出されたのは①、③、⑤、⑦の 4 試料である。これらの観察結果を写真 1-5 に示した。

①：1,500回転 5 分の上清 (写真 1)

③：3,000回転 15 分の沈さ (写真 2)

⑤：10,000回転 30 分の沈さ (写真 3, 4)

⑦：38,000回転 1 時間の沈さ (写真 5)

ウイルス粒子のきれいさを CRT の蛍光像および写真から判定すると、⑦が最良で以下①、③、⑤の順となった。⑦は超高速遠心の沈さであり、高純度精製の優位性を示している。①の 1,500 回転の粗製ウイルス液からは、球形ウイルス、フィラメント形ウイルスを共に観察できることが判った。その他雑菌、フ化鶏卵由来の細胞膜片などがみられた。②からは細胞膜片が数多く見られたが、沈降するウイルス粒子も予想外に多かった。⑤の 10,000 回転では、それまでに残っていたフィラメント形ウイルスの大部分が沈降した。この段階では粘濁な未知成分がウイルスと共に沈降し、凝集塊を形成し、当初ウイルス観察は困難を生じた。支持膜をマイクログリッドに切替え、TEM 観察を併用し、試料を希釈して辛うじてウイルスを見出すことができた。写真 3 はあとから希釈した試料について、コロジオン単膜上で撮り直しをして得たものである。

観察試料 7 種類のうち、残りの②、④、⑥からは、ウイルス粒子は確認されなかった。これらは何れも上清成分であり、ウイルスは濃縮されていない。④では試料中に粘濁な成分を含んでいることが認められた。

#### (2) ウイルスを吸着させたトリ赤血球像

この試料では、赤血球膜表面に多数の球形ウイルスおよびフィラメント形ウイルスを明瞭に認めることができた。結果を写真 7-10 に示した。写真 7, 8 はしょう尿液に対し、トリ赤血球を 1%、0.5% の割合に加えたものの比較作例である。写真 9, 10 は 1% からの作例である。固定剤に 10% フォルマリン水、乾燥に自然乾燥を用いた関係で、トリ赤血球の形状に変化がみられ、扁平化したものや核の浮いて見えるものなどが観察された。

一方、ウイルス吸着赤血球のうちで、膜表面が未知蛋白質成分でおおわれ、ウイルス粒子の観察がよく行えな

い赤血球も多数認められた。またウイルス吸着によってひき起される赤血球凝集反応は、試料ホルダーの構造が単純でメッシュが回転できないため、部分的な観察に止まった。

## 考 察

### (1) 遠心分離法によるフリーのウイルス像

遠心分離法による部分遠心各ステップの試料数は細かく数えると11種あり、両株で22種の多数が準備された。この中から7種ずつ、両株で14種を重点的に観察した。その結果を比較してみると両株の内容が非常によく似た傾向を示すことが判った。例えばウイルスの濃縮程度を示す出現頻度、きれいさとして試料の粘稠性に至る性質などの類似である。しかしAビクトリアのウイルス像が何故A東京/75よりも明確に観察できたのか、原因は明らかでない。ウイルスの株間によるものか、培養条件の微妙な差違によるものか興味深いところである。

第2の問題点は試料の粘稠性である。部分遠心④、⑤では何れも試料中に糖のようなべたつきの成分が含まれていることが判った。④では、支持膜上に載せた試料がメッシュを真下のオベクトグラスに固着させ、試料⑥ではウイルス観察を困難にさせるトラブルの発生をみた。もし粘稠性の原因がフ化鶏卵中の未知成分に由来するならば、この段階(10,000回転)付近でのウイルス精製は避けるべきであろう。

### (2) ウイルスを吸着させたトリ赤血球像

写真7, 8は、吸着ウイルス数の最も多い代表例で、実際に観察した他の赤血球における吸着ウイルスの平均数は、はるかに少数でバラツキもまた多かった。写真7, 8はまた、しょう尿液に加える血球の割合が1%と0.5%の間では、吸着ウイルス数に明瞭な差が出ることを示したものである。赤血球1個当たりの吸着ウイルス数を多くしたいときは、0.5%の割合より大幅に赤血球を減らせればよいことが推定される<sup>7)</sup>。大きな問題点は、赤血球表面をおおう未知成分の存在で、ウイルス吸着や凝集反応の模様を不明にしている状態が多数観察された。

### (3) SEM 用試料作製における問題点

本実験では試料台として、メッシュ上に張ったコロジオン単膜を用いたが、フリーのウイルスの観察では像の鮮鋭度が向上し、試料作製の能率が効果的であった。しかし強度の点に難があり、粘稠な性質をもつ⑥の遠心沈き試料では膜切れのトラブルを生じた。またウイルスを吸着した赤血球試料を載せた場合にも膜切れを生じた。自家製マイクログリッドは強度上は心配ないが、像の鮮鋭さが低下する欠点につきまといわれた。写真4, 6はマイクログリッド使用例で、特異なパターンがみられる。

最近になって、材料のトリヤホール樹脂がチャージアップし易く、そのためSEM像の鮮鋭度を低下させることも判ってきた<sup>8)</sup>。理想的なSEM用支持膜として、今後は、丈夫なカーボン膜の実用化を図る必要があろう。SEM試料作製の過程において、薄い支持膜の採用とCrシャドウイングの導入は独自のアイデアであり、本実験によりウイルス粒子の観察をより容易にする効果が確かめられた。

試料のチャージアップは、ウイルス吸着赤血球試料を高倍率観察する際に時折発生した。回転蒸着したカーボンによる試料への回り込みが不十分なためと推定されるが、回り込みのよいといわれるイオン・スパッタリングによる方法も今後の課題である。

今回の実験で試料中の食塩成分の除去は、慎重に対処せねばならない問題であることが理解された。SEM試料作製時にウイルス試料中から食塩を十分に除去することは案外難問であり、またSEM自体は解像力が低いため食塩粒子の識別を見誤り易い欠点がある。

## ま と め

JEM-100B電顕に付属の走査像観察装置(EM-ASID)を用いて、遠心分離法で精製したA型インフルエンザウイルス2株についてSEM観察を行った。またニワトリ赤血球に吸着させたウイルスの観察を試みた。得られた結果を次に示す。

(1) 遠心分離法によって得たフリーのウイルス粒子は、部分遠心の初期段階でもかなりきれいな状態でSEM観察できることが判った。必要なことは、遠心前にしょう尿液をトリ赤血球で吸着処理し、粗製ウイルス液に変えておくことである。

(2) しょう尿液をトリ赤血球で吸着させた試料では、多数のウイルスを吸着した赤血球膜表面を明瞭にSEM観察することができた。

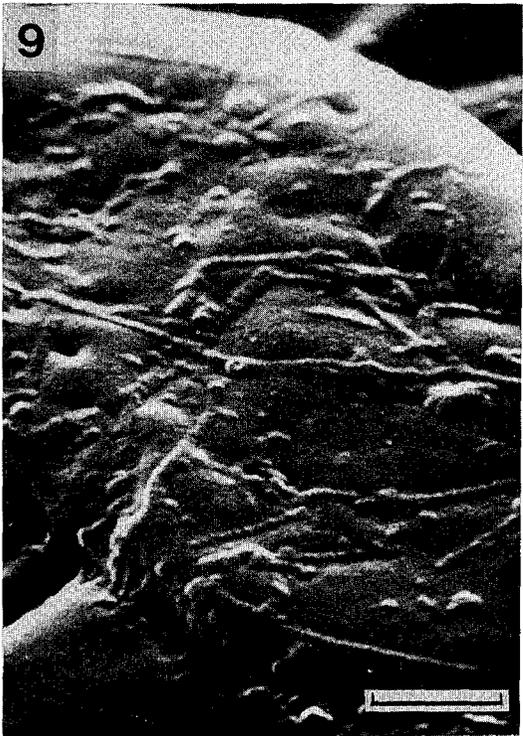
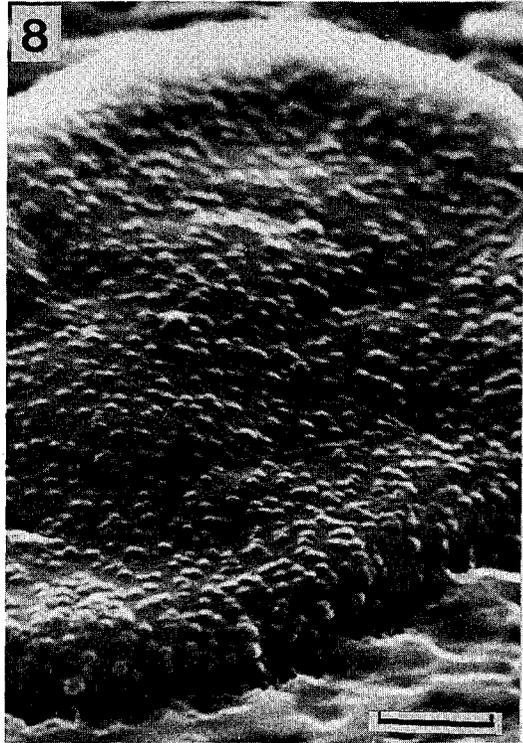
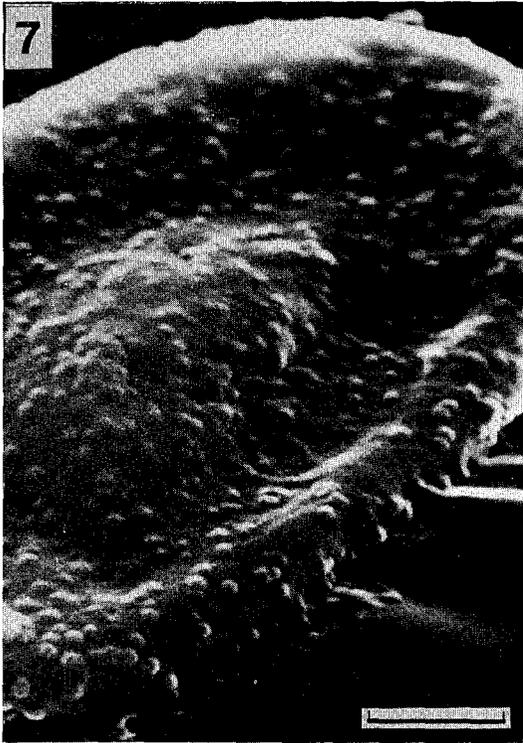
(3) 試料作製面において、薄い支持膜の採用とCrシャドウイングの導入等を図り、SEMによるミクソウイルス観察法の基礎を確立した。

謝 辞 本研究にあたり有益な助言を賜った秋田大学医学部天野保二博士並びにウイルス株の分与を賜った北里研究所ウイルス部五十嵐博士に感謝の意を表します。

(本研究の一部概要は日本電子顕微鏡学会第32回学術講演会1976年5月で発表した)

## 文 献

- 1) Tawara, J., F. Uno, and H. Kumon: *J. Electron Microsc. 25, 37, 1976*
- 2) Luria, S.E.: 一般ウイルス学, 松本稔訳, 第2版,



市販医療用医薬品の品質について(VI) シ克蘭デレートカプセル

重岡捨身\*, 宮武ノリエ\*, 上原真一\*, 田窪栄一\*

Quality Check of Drugs(VI) Cyclandelate Capsules

SUTEMI SHIGEOKA\*, NORIE MIYATAKE\*, SHIN-ICHI UEHARA\*  
and EIICHI TAKUBO\*

はじめに

市販医療用医薬品のうち、今回は脳末梢血流改善剤として使用されるシ克蘭デレート（以下CDと略す）カプセル中のCDの定量法についてガスクロマトグラフィー（以下GCと略す）による方法を検討したので報告する。

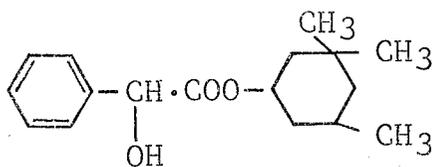


Fig. 1. Cyclandelate

CD (Fig. 1) はマンデル酸と3, 3, 5-トリメチルシクロヘキサノールのエステルで、特異な臭いと苦味のある白色粉末で、エーテルにきわめて溶けやすく、無水エタノール、石油エーテル、クロロホルムまたはアセトンに溶けやすく、水にほとんど溶けない。

CD は神経系を介せず血管平滑筋に直接作用して脳・冠・腎および四肢末梢の血管を拡張し、血流を増加させ、この作用は持続性があるため、脳動脈の硬化症、脳卒中の後遺症、末梢循環器障害等の治療に用いられる。

CD 原体または製剤中の CD を定量する方法としては、①一定過量のアルカリを加え、加熱して加水分解し、過量のアルカリを酸で逆滴定する方法、②紫外外部吸収による方法、があるが、アルカリ分解法では混在する遊離酸(マンデル酸)、その他の酸性物質も含めてCDとして定量してしまうことになり、エステル型のみを選択的に定量することはできず、また紫外外部吸収法では吸収がマンデル酸によるものであるため CD を選択的に定量

することは困難である。ことに製剤の場合は使用される賦形剤等の妨害も予想される。これらのことからエステル型のみを選択的に定量することを目的としてGCによる方法を検討した。

実験の部

1. 試料 CD カプセルは都内から収去された7社7種で、いずれも硬カプセル剤を PTP 包装したものである。

2. 試薬・試液 ビレン(和光純薬特級)、フェナントレン(東京化成1級)、内部標準液①ビレンの約0.6%アセトン溶液、②フェナントレンの約0.3%アセトン溶液、CD 標準品：製剤用原体の CD を水から2回再結晶し、減圧下、五酸化リンで48時間乾燥し、融点約51°のもので、この0.1%アセトン溶液を下記定量の項の条件でGCに注入し、単一のピークを示すものを標準品とした。

3. 定量法 標準液 CD 標準品約 200mg を精密に量り、アセトンを加え溶解し正確に 20ml とする。この液 2, 3, 4ml を正確にとり、それぞれに内部標準液①または②の 5ml を正確に加え、さらにアセトンを加えて 20ml とし、標準液とする。

試料液 試料の20カプセルをとり、その重量を精密に量ったのち、カプセルを開き内容物を注意して取り出し、空カプセルの重量を量り、前後の重量差からカプセルの内容物の平均重量を求める。とり出した内容物を乳ばちで均質な粉末とし、CDとして約30mg相当量を精密に量り、50ml の共栓遠心沈殿管に入れ、内部標準液①または②の 5ml を正確に加え、さらにアセトン 15ml を加えて 10 分間振とうしたのち遠心分離し、上澄液を試料液とする。

定量 標準液、試料液の 2μl を GC に注入し、内部標準物質と CD のピーク高比より 1 カプセル中の CD の量を求める。

\* 東京都立衛生研究所理化学部医薬品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

GC の条件：島津ガスクロマトグラフ 5AP<sub>3</sub>TF, カラム① 5% Silicon SE-30 Chromosorb W (AW-DMCS), 60-80mesh, 3mm×1.5m ② 10% Silicon F-50 Chromosorb W (AW-DMCS) 60-80mesh, 3mm×2m (以上日本クロマト工業製), カラム温度① 200° ② 230° 注入口温度：カラム温度より約 30° 高い一定温度, キャリヤーガス：N<sub>2</sub> 40ml/min H<sub>2</sub> 40ml/min 空気 0.9l/min

#### 定量法の検討

CD 原体の定量法<sup>1)</sup>として, 一定過量のアルカリ・エタノール溶液を加え, 加熱してマンデル酸と 3,3,5-トリメチルシクロヘキサノールに加水分解し, 過量のアルカリを酸で逆滴定する方法がある. この方法を製剤に応用する場合, 製剤からエーテルまたはクロロホルムで CD を抽出したのち溶媒を留去し, 残留物について原体と同様の方法で定量する. アルカリ分解法はエステル型の医薬品の原体または製剤の定量に広く応用されているが, この方法の問題点は①アルカリを一定過量加え加熱し, 加水分解したのち空气中の二酸化炭素の吸収を防ぐためソーダライム管を付けるかまたは窒素ガス置換をして冷却するが, これも二酸化炭素の吸収を防ぐには完全とは言えず, また操作が煩雑である. ②製剤に応用する場合には, その目的とする物質を溶解する適当な溶媒を加え, 振とうまたはソックスレー抽出を行い, さらに遠心分離またはろ過をくり返し, できるだけ澄明な液としたのち, 溶媒を留去し, 一定過量のアルカリを加え, 加熱

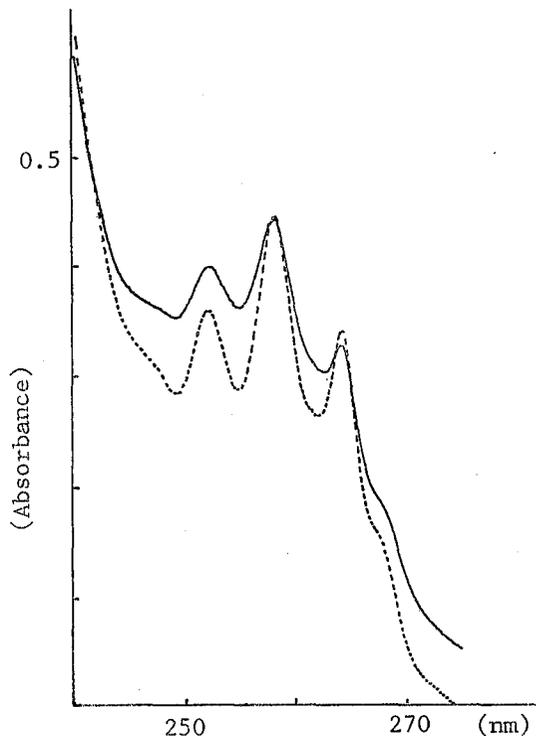


Fig. 2. Absorption Spectrum of Cyclandelate and DL-Mandelic acid  
— Cyclandelate  
--- DL-Mandelic acid  
about 350 μg/ml Solvent: Ethanol

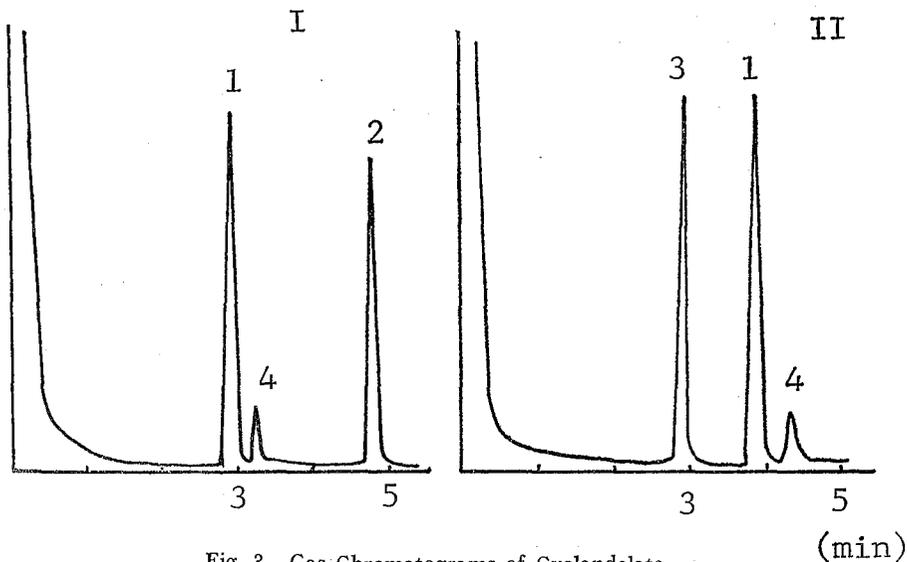


Fig. 3. Gas Chromatograms of Cyclandelate  
1. Cyclandelate, 2. Pyrene  
3. Phenanthrene, 4. Unknown  
I : Silicon SE-30, column temp. 200°  
II : Silicon F-50, column temp. 230°

して加水分解を行うが、遠心分離、ろ過では除去しきれない微細な賦形剤や、溶媒に移行してくる酸性物質がプラスに妨害する。また原体に混在する酸、および製剤化の際ならびにその後経時的に分解生成する遊離酸は、溶媒ではエステルと完全に分離することができず、プラスに妨害することとなる。CD の場合もエーテル、クロロホルム等の抽出では混在するマンデル酸を CD と完全に分離することができないため、CD のみを選択的に定量することは困難である。紫外部吸収による定量も考えられるが、CD の紫外部吸収 (Fig. 2) はマンデル酸に由来するものであり、前記の理由によって CD のみを選択的に定量することにはならない。また CD は白色光にばく露すると白色粉末が油状となり、Fig. 3 に示すピーク 4 (以下ピーク 4 物質とする) が増加し、このものもエーテル、クロロホルムに溶解し、CD との分離が困難なため妨害となる。これらのことから混在するマンデル酸、3,3,5-トリメチルシクロヘキサノールの妨害もなく、かつピーク 4 物質から CD を分離定量でき、短時間で多量の検体処理が可能な GC 法を検討した。また CD は単純なエステルであるため、前記 GC 条件以外の条件でも定量可能と考える。

**検量線・再現性：**CD 標準液をくり返し GC に注入した結果、原点を通る直線性のある検量線が得られ、再現性も良好である。

**カラムの選択：**Fig. 3 に示すとおり 2 種のカラムについて検討したが、いずれを用いても CD を白色光下に

ばく露した際生じるピーク 4 物質と CD は分離し、定量性も良好であった。またこの 2 種のカラムではマンデル酸、3,3,5-トリメチルシクロヘキサノールはいずれも妨害にならない。

#### 結果および考察

試料の 7 社 7 種につき試験した結果、いずれも CD の含量はそれぞれの製造承認書の規格に適合し、ピーク 4 物質もほとんど認められない。しかし CD カプセルを製造する際、CD 原体を白色光または殺菌灯下に長時間ばく露する可能性もあり、この際生じるピーク 4 物質および混在するマンデル酸、3,3,5-トリメチルシクロヘキサノールの妨害を受けず、CD のみを定量することを目的として GC 法を検討し一応の成果を得た。またピーク 4 物質の検索、生成条件等については引き続き検討する予定である。

**謝 辞** 本研究に際して貴重な原体を提供して下さいった武田薬品工業株式会社、日本化薬株式会社、また検体の収集にあたられた薬事監視員の方々に深謝します。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「医薬品の品質と安全性に関する研究」の一部として実施したものである)

#### 文 献

- 1) 日本公定書協会編：新医薬品とその試験法，181，1973，薬業時報社

## 注射剤の pH と 浸透圧

下平彰男\*, 中島和雄\*

### Surveys on pH and Osmotic Pressure of Commercial Injections

AKIO SHIMOHIRA\* and KAZUO NAKAZIMA\*

#### 緒 言

注射剤は、皮下あるいは粘膜を通して体内に直接適用する無菌の製剤であるが、最近血液または体液への物理的影響が問題視されている、赤石ら<sup>1)</sup>は日本における医療事故中第1位を占める注射事故を指摘し、各種注射剤の物理化学的性状を検討した結果、筋肉抱縮症発現の危険性を警告している。さらに押田ら<sup>2)</sup>は培養細胞に対する注射剤の影響を観察し、その細胞障害性を認めている。

一方、注射剤の pH はなるべく血清の pH に近いこと、浸透圧はなるべく血清と等張であること<sup>3)</sup>が望ましいとされているが、注射剤の溶解性、濃度、安定性の観点から、これらの生理的条件から離れた値を示さざるを得ないものが多く認められる。

今回われわれは市販注射剤 146 検体 (33社) について pH および浸透圧を測定し、さらに浸透圧測定法 (氷点降下法および蒸気圧法) について検討を行ない、若干の知見を得たので報告する。

#### 実 験 の 部

**試料** 昭和50~51年度における都の医薬品一斉収去検査に用いられた検体から市販注射剤 146 検体 (33社) を選び試料とした。

**試薬** 日本薬局方品および試薬特級を用いた。

**装置** 東亜電波 pH メーター-HM-5 A 型、アドバンス浸透圧計 W 型 (氷点降下法)、ウェスコ浸透圧計 5100 A 型 (蒸気圧法)、日立高速液体クロマトグラフ 633 型

**pH の測定** 日本薬局方一般試験法の pH 測定法により、試料約 2 ml をとり測定した。

**浸透圧の測定** 試料約 2 ml をとり氷点降下法により浸透圧を測定した。さらにそれぞれ注射剤中薬剤の含有量 (ただし添加剤を除く) に対応する溶液を調製し、その浸透圧を測定した。

**氷点降下法および蒸気圧法による浸透圧の比較** 塩酸ジフェンヒドラミン注射液、塩酸クロルプロマジン注射液、および硫酸アトロピン注射液の 3 検体について氷点

降下法および蒸気圧法により浸透圧を測定した。次に新たに塩酸ジフェンヒドラミン溶液、塩化ナトリウム溶液、およびベンジルアルコール溶液の 3 種を調製し、各 1 種単独、2 種混合、および 3 種混合の液について上記 2 法により浸透圧を測定した。

**ベンジルアルコールの定量** ベンジルアルコールをメタノールに溶解して 500~2500 ppm (500 ppm 段階) の液を調製し、各溶液 5  $\mu$ l について高速液体クロマトグラフィー (以下 HLC と略す) を行ない検量線求めた。次に検体をメタノールで 10 倍に希釈し検液とし、各溶液 5  $\mu$ l について HLC を行ない検量線からピーク高比法によりベンジルアルコールの含量を求めた。

**測定条件** カラム: ステンレス製 2.6 mm  $\times$  50 cm, 充填剤: 日立ゲル 3010, カラム温度: 室温, 溶離液: メタノール, 流速: 1 ml/min, 検出器: 紫外線吸光光度計 (波長 254 nm), 感度: 0.16 Absorbance unit full scale

#### 結 果 と 考 察

**pH** 注射剤の pH については既に幸保<sup>5)</sup>は数多くの市販品について調査した結果、中性附近が最も多く、pH 1 から pH 12 におよぶ幅広い分布を示し、酸性側の方がアルカリ性側より多いと報告している。今回の調査結果では、pH 5-6 が最も多く、それをピークとした前後の値の分布は幸保<sup>5)</sup>の結果に類似していた (図 1)。pH が中性附近から離れている注射液をみると (表 1)、pH 2-4 は硫酸バメタン注射液、硫酸スバルテイン注射液および塩酸プロカイン注射液で、pH 9-10 はアミノフィリン注射液であった。なお規格 pH 域に適合しない注射液が 3 検体あった。それらは塩酸ジフェンヒドラミン、2 検体、pH 3.8 および 6.4 (規格 pH 域 4.0-6.0)、臭化水素酸デキストロメトルファン注射液、1 検体、pH 6.7 (規格 pH 域 5.2-6.5) であった。元来、注射剤は薬効を期待して体内に直接適用するもので、その pH はなるべく血清の値に近いことが望まれてはいるが、既述のように酸性あるいはアルカリ性の強い注射剤がみられている。今後製剤学上の研究開発を待つと共に

\* 東京都立衛生研究所理化学部医薬品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

表 1. 市販注射剤の pH と浸透圧

薬効分類	品名	会社名	含量 %	pH		浸透圧 mOsm/kg	浸透 圧比
				規格 pH 域	測定値		
催眠鎮静剤	フェノバルビタール注射液	J	10	8.2—9.2	8.7	*	
"	"	J	20	8.2—9.2	8.7	*	
解熱鎮痛消炎剤	スルピリン注射液	D	10	5.0—8.5	6.8	726.6	2.6
"	"	TK	25	5.0—8.5	6.5	1625.0	5.8
"	"	F	50	5.5—7.0	6.2	2966.0	10.5
精神神経用剤	塩酸クロルプロマジン注射液	Y	0.5	4.0—6.5	5.6	248.0	0.9
"	"	G	0.5	5.0—6.5	6.0	172.8	0.6
局所麻酔剤	塩酸プロカイン注射液	U	0.5	3.3—6.0	3.8	250.2	0.9
"	"	K	1	3.3—6.0	3.9	337.3	1.2
"	"	X	1	3.3—6.0	4.8	65.6	0.2
"	"	D	2	3.3—6.0	4.4	126.0	0.4
鎮けい剤	硫酸アトロピン注射液	F	0.05	5.0—6.5	5.4	281.6	1.0
"	"	TN	0.05	5.0—7.0	5.5	284.2	1.0
抗ヒスタミン剤	塩酸ジフェンヒドラミン注射液	Q	1	4.0—6.0	3.8	283.2	1.0
"	"	R	1	4.0—6.0	6.4	258.4	0.9
"	"	R	1.5	4.0—6.0	6.0	272.4	1.0
"	"	TN	3	4.0—6.0	5.5	318.6	1.1
アレルギー用剤	グリシン・システイン・	TH	2・0.1・0.2	7.2—7.8	7.4	308.3	1.1
"	グリチルリチンモノアンモニウム注射液	P		6.0—7.4	6.7	689.2	2.4
"	"	TU		7.2—8.0	7.3	354.0	1.3
"	"	Q		8.0—10.0	9.1	117.7	0.4
強心剤	アミノフィリン注射液	E	2.5	8.0—10.0	9.6	122.7	0.4
血管拡張剤	硫酸バメタン注射液	TN	5	2.5—3.5	3.0	261.0	0.9
"	"	TI	5	2.5—3.5	3.2	390.6	1.4
子宮収縮剤	硫酸スバルティン注射液	Z	10	3.0—5.0	3.3	295.0	1.0
"	"	A	10	3.0—5.0	3.2	287.3	1.0
混合ビタミン剤	混合ビタミン注射液	S		4.5—5.3	4.7	385.6	1.4
"	"	TO		4.7—5.7	4.9	449.4	1.6
"	"	V		4.7—5.7	5.6	441.1	1.6
"	"	TA		4.5—5.3	5.1	465.2	1.6
"	"	W		4.7—5.7	5.2	291.6	1.0
解毒剤	チオ硫酸ナトリウム注射液	B	10	6.8—8.5	7.9	1082.0	3.8
習慣性中毒用剤	炭酸水素ナトリウム注射液	O	7	7.1—9.1	7.8	1485.5	5.3
鎮咳去たん剤	臭化水素酸デキストロメトर्फアン注射液	L	0.5	5.2—6.5	6.7	34.4	0.1
代謝性製剤	グルタチオン注射液	TI	6.7	3.5—5.5	4.7	398.0	1.4
"	グルクロン酸・アスコルビン酸注射剤	C	5・0.2	4.9—6.0	4.4	471.8	1.7
循環器官用剤	マンニトール注射液	N	20	5.0—7.0	5.6	1153.6	4.1
糖類剤	キシリトール注射液	E	5	4.5—7.5	6.4	344.3	1.2
"	ブドウ糖ビタミン B <sub>1</sub> 注射剤	X	5・0.001	6.0—7.5	4.5	290.6	1.0
たん白アミノ酸製剤	ソルビトール・アミノ酸注射剤	C	5・10	5.5—6.5	5.7	1182.9	4.2
"	"	C	5・3	5.5—6.5	5.7	570.4	2.0
"	アミノ酸注射剤	M	3	5.5—7.0	6.0	275.4	1.0
"	キシリトール・アミノ酸注射剤	M	5・3	5.5—7.0	6.1	669.6	2.4
血液代用剤	ソルビトール・電解質注射剤	M	5・0.9	5.5—6.5	5.9	540.0	1.9
"	塩化ナトリウム注射液	H	0.9	4.5—7.0	6.0	277.6	1.0

混合注射剤の含量%は品名欄の順に示した  
\* 測定不能

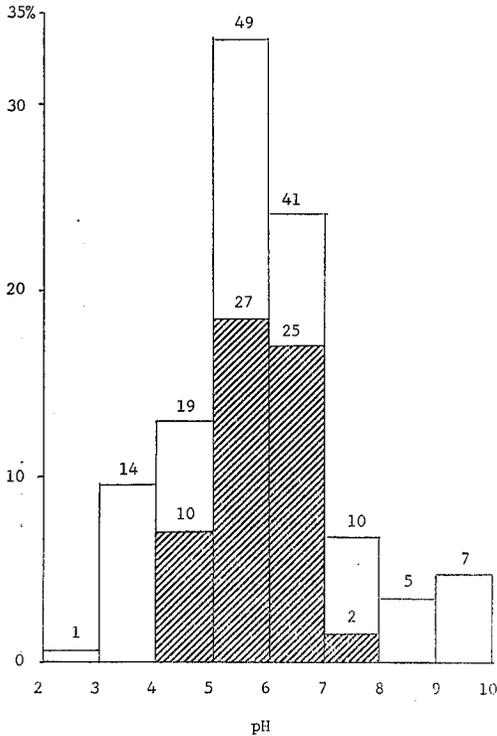


図 1. 市販注射剤のpH 146検体  
図中の数字は検体数, 斜線部は輸液

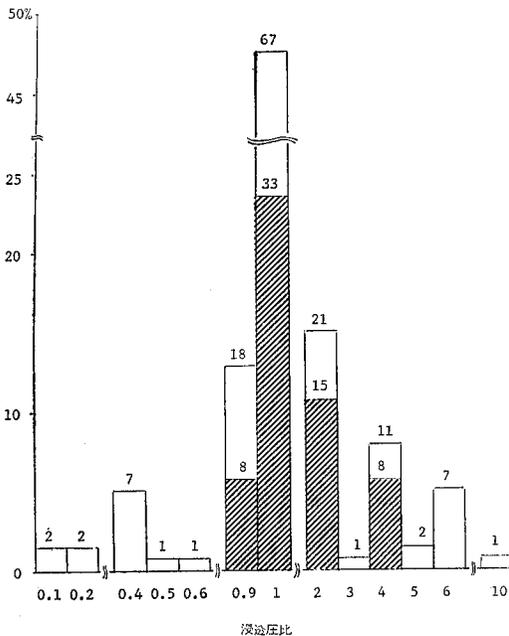


図 2. 市販注射剤の浸透圧比 141検体  
図中の数字は検体数, 斜線部は輸液

治療に際し, 十分な注意が必要と思われる。

**浸透圧** 注射剤の浸透圧は一般的に生理食塩液を1としてその比で表わされ, 能書に記すことになっている。幸保<sup>9)</sup>は市販注射剤の浸透圧を調査した結果, 浸透圧比1のものが群をぬいて多いと報告している。今回の調査でも同様な結果が得られた(図2)。また, 薬剤および含有量の関係から, 浸透圧比が1よりかなり離れているものがあった。浸透圧比の高いものは輸液を除いて, スルピリン注射液5.8および10.5, 炭酸水素ナトリウム注射液5.3, チオ硫酸ナトリウム注射液3.8であった。浸透圧の高いものは低くすることは困難であるが, 低いものは塩化ナトリウム等の等張化剤により等張化することが可能である。さらに同一薬剤の注射剤で浸透圧がかなり異なっているものがみられているので(表1), それぞれ薬剤の溶液を調製して, その浸透圧を測定し(表2), 比較検討した。その結果, 浸透圧比2以下が119検体あり, その中, 27検体は本来低張液であるが補正して等張化されていた。しかし等張化されていない注射剤が13検体あった。会社別によると, 16社中9社はすべての注射剤を補正しており, 6社はすべて未補正, 1社は注射剤により補正してあるものと未補正のものがあった。しかし, 未補正の注射剤の中には, 注射時に等張化して注射することが望ましいと能書に書かれたものもあった。浸透圧比が1から離れたものは, 輸液と混合される場合はほぼ輸液の値になるが, 筋注の場合は組織障害の危険が考え

表 2. 薬剤の浸透圧

薬 剤	含量%	浸透圧	mOsm/kg
塩化ナトリウム	0.9		282.1
スルピリン	10		580.0
塩酸クロルプロマジン	0.5		27.3
塩酸プロカイン	0.5		38.4
"	1		68.2
"	2		129.4
硫酸アトロピン	0.05		3.0
塩酸ジフェンヒドラミン	1		62.7
"	1.5		94.6
"	3		170.4
グリシン・シスチン・グリチルリチンモノアンモニウム混合液	2・0.1・0.2		289.0
アミノフィリン	2.5		110.0
硫酸バメタン	5		239.4
硫酸スパルティン	10		295.5
塩酸チアミン	0.5		39.0
キシリトール	5		342.7

混合薬剤の含量%は薬剤欄の順に示した

られ、治療上、注意が必要と思われる。

**輸液の pH および浸透圧** 静脈に大量に注入される輸液の pH と浸透圧の測定結果をみると、pH 5-8 が 64 検体中 54 検体 (84.4%) あり、ほぼ中性附近にあって問題はないと思われるが、pH 4-5 の 10 検体は、アルカリ性では不安定とされている塩酸チアミンまたはアスコルビン酸を含む輸液であった。浸透圧比 0.9-2 は 64 検体中 56 検体 (87.5%) あり、ほぼ等張に近いので問題はないと思われる。浸透圧比 4 の 8 検体は、術後などに高カロリー栄養輸液として用いられており、また血管内に直接投与されると、血液によりすみやかに希釈されるので、筋注の注射液に比較して問題にはならないと思われる。

**氷点降下法および蒸気圧法による浸透圧測定** 塩酸ジフェンヒドラミン注射液、塩酸クロルプロマジン注射液および硫酸アトロピン注射液の 3 検体について氷点降下法および蒸気圧法により浸透圧を測定した結果、前 2 者のみに大きな相違がみられた。そこで添加剤として比較的含量の多い塩化ナトリウムおよびベンジルアルコールによる影響を 7 種の調製溶液 (既述) によって調べた。

表 3. 氷点降下法および蒸気圧法による浸透圧の比較

品名又は薬剤	浸透圧		A.B. の 含量%
	氷点降下法	mOsm/kg 蒸気圧法	
塩酸ジフェンヒドラミン注射液	258.4	115	1.5
塩酸クロルプロマジン注射液	172.8	67	1.5
硫酸アトロピン注射液	284.2	296	0
1%D.H.	62.9	67	
0.5%NaCl	155.3	159	
2%A.B.	176.7	10	
1%D.H.+0.5%NaCl	218.6	231	
1%D.H.+2%A.B.	235.0	68	
0.5%NaCl+2%A.B.	343.4	170	
1%D.H.+0.5%NaCl+2%A.B.	403.8	233	

A.B. ベンジルアルコール  
D.H. 塩酸ジフェンヒドラミン

その結果、ベンジルアルコールによって浸透圧に大差を生ずることが認められた。また HLC によるベンジルアルコール定量結果から、前 2 者の検体はいずれもベンジルアルコールが含有されており、後者には含有されていなかった。これらのことから、上記 2 法による浸透圧測定値の相違は注射液中のベンジルアルコールの影響によるものと考えられる。

## 結 語

pH および浸透圧の値が血清の値に比較して著しくはなれている注射剤の適用が、直ちに筋肉抱縮症発現にむすびつくとは考えられないが、今回の実験結果から次のようなことが考えられた。

規格 pH 域に不適な pH 値を有する検体が 146 検体中 3 検体あり、品質管理の監視が必要と思われる。

浸透圧については、本来低張液である注射剤を等張液に補正しているものが 40 検体中 27 検体 (67.5%) あり、補正し得るものは補正しなければならないと思われる。

蒸気圧法による浸透圧測定はきわめて少量の検液で測定し得る利点があり、臨床検査などには実用的と思われるが、ベンジルアルコールなどの揮発性物質を含有する注射剤について測定することは適当ではないと思われる。

**謝辞** 今回の調査にあたり、試料収集に御尽力を賜った衛生局薬務部薬事衛生課の諸氏に感謝致します。

## 文 献

- 1) 赤石 英, 押田茂実, 高橋由美子: 第94回日本薬学会大会講演要旨集, (I), 173, 1974
- 2) 赤石 英, 押田茂実, 高橋由美子: 月刊薬事, 16, 901, 1974
- 3) 押田茂実, 高橋由美子, 赤石 英, 井田士朗: *ibid.*, 16, 1669, 1974
- 4) 日本薬剤師会編: 第六改訂調剤指針, 182, 1977, 薬事日報社
- 5) 幸保文治: 月刊薬事, 17, 1037, 1975
- 6) 幸保文治: *ibid.*, 18, 1055, 1976

市販ガソリン中の四アルキル鉛および芳香族炭化水素について

吉原 武俊\*, 寺島 潔\*, 遠山 逸雄\*  
奥本 千代美\*, 長嶋 真知子\*, 渡辺 四男也\*\*

Tetra Alkyl Lead and Aromatic Hydrocarbons in Commercial Gasoline

TAKETOSHI YOSHIHARA\*, KIYOSHI TERASHIMA\*, ITSUO TOYAMA\*,  
CHIYOMI OKUMOTO\*, MACHIKO NAGASHIMA\* and YOHYA WATANABE\*\*

緒 言

毒物および劇物取締法により特定毒物に指定されている四アルキル鉛は、ガソリン中にアンチノック剤として使用されている。しかし、昭和45年牛込柳町の自動車排ガスによる鉛問題を契機に、国は昭和46年同法を改正し、航空機用を除く一般用ガソリン中の四アルキル鉛含有量の限度を  $1.3\text{cm}^3/\text{l}$  から  $0.3\text{cm}^3/\text{l}$  に改めた。さらに昭和50年通産省の指導により、レギュラーガソリンが無鉛化され、その結果、四アルキル鉛の減少に伴い低下するオクタン価を高めるため、光化学スモッグ起因为物質とされている芳香族炭化水素の添加量の増加が懸念された<sup>1,2)</sup>。著者らは昭和45年以来現在まで薬務部の要請により市販ガソリン中の四アルキル鉛含有量について測定を続けてきたが、昭和47年以後はオクタン価を維持するために増量が予想される芳香族炭化水素の量と、低鉛化および無鉛化に伴い減少する四アルキル鉛の量との相関を検討すべく、主要な芳香族炭化水素5種をえらび、併せてその含有量を測定した。

実 験 の 部

試料 市販自動車用ガソリン

試薬・試液 特に記載するほかは試薬特級を用いた。

- 1) 鉛標準原液：硝酸鉛 165.4mg を水に溶かし、希硝酸 (1+1) 0.5ml を加え、水で 500ml とする。
- 2) 鉛標準溶液：鉛標準原液 10ml, 15ml, 20ml および 25ml を正確にとり、それぞれ支持電解液で 100ml とする。
- 3) 支持電解液：0.2N 塩化カリウム-1N 塩酸溶液。
- 4) 灯油：白灯油を蒸留、204-248° 留分を用いる。
- 5) 芳香族炭化水素標準溶液：Table 1 に示すヘキサソル溶液。

装置 く形波ポーラログラフイー：柳本P-8型、ガスクロマトグラフイー：柳本G-8型、島津GC-4BM型。

Table 1. Standard Solutions of Aromatic Hydrocarbons (%)

Compound	ST-1	ST-2	ST-3
Benzene	0.5	1.0	2.0
Toluene	1.0	2.0	4.0
<i>m, p</i> -Xylene	1.0	2.0	4.0
<i>o</i> -Xylene	1.0	2.0	4.0
<i>m, p</i> -Ethyltoluene	1.0	2.0	4.0
<i>o</i> -Ethyltoluene	0.5	1.0	2.0
1,3,5-Trimethyl benzene	0.5	1.0	2.0
1,2,4-Trimethyl benzene	1.0	2.0	4.0

四アルキル鉛の定量 15° で試料 5 ml を正確にとり、灯油 5ml および塩酸 5ml を加え、1時間煮沸還流する。冷後分液ロートに移し、塩酸層をケルダールフラスコにとる。冷却器および容器は水 5ml ずつで3回洗い、洗液はそのつど分液ロートに移し、油層を分離したのち、先の塩酸層に合し、硝酸湿式分解する。冷後支持電解液を用い 50ml の試料溶液とし、-0.5V 付近のポーラログラムをピーク高比法により定量し、JIS K. 2255 により四エチル鉛に換算する。

芳香族炭化水素の定量 次の操作条件で測定し、ピーク高比法により定量する。試料は必要に応じヘキサソルで希釈する。

1) 柳本G-8型 column: stainless column 3mm × 2.25m, 25% Dioctyl Sebacate, Shimalite 30-60 mesh, column temp.: 50-140° (rate 6°/min), detector temp.: 170°, carrier gas: N<sub>2</sub> 60ml/min, FID gas flow rate: H<sub>2</sub> 50ml/min, air 1.0l/min.

2) 島津GC-4BM型 column: glass column 3mm × 2.5m, 30% PEG 6000, Celite 545 60-80mesh,

\* 東京都立衛生研究所理化学部医薬品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

\*\* (現)東京都文京区小石川保健所

column temp.: 100-140° (rate 3°/min), detector temp.: 200°, carrier gas flow rate: N<sub>2</sub> 40ml/min, FID gas flow rate: H<sub>2</sub> 45ml/min, air 1.0l/min.

結果と考察

**四アルキル鉛** 昭和45年以後の四アルキル鉛含有量の推移は Fig. 1 に示すとおり、半込柳町問題直後の6月に送付されたレギュラーガソリンならびにプレミアムガソリンそれぞれ26種について測定した平均値は、前者で 0.17cm<sup>3</sup>/l、後者0.39cm<sup>3</sup>/l で、さらに7月に送付された同じく42種ずつについて測定した平均値は、それぞれ 0.12cm<sup>3</sup>/l および 0.25cm<sup>3</sup>/l で、この2カ月間に低鉛化へ移行した状況が明らかである。昭和46年1月に送付されたそれぞれ56種について測定した結果は、すべて同年7月に改正された基準値 (0.3cm<sup>3</sup>/l) 以下であった。さらに昭和50年にはレギュラーガソリンの無鉛化が実施され、51年に送付されたレギュラーガソリン27種について測定した結果により、その実態が確認された。

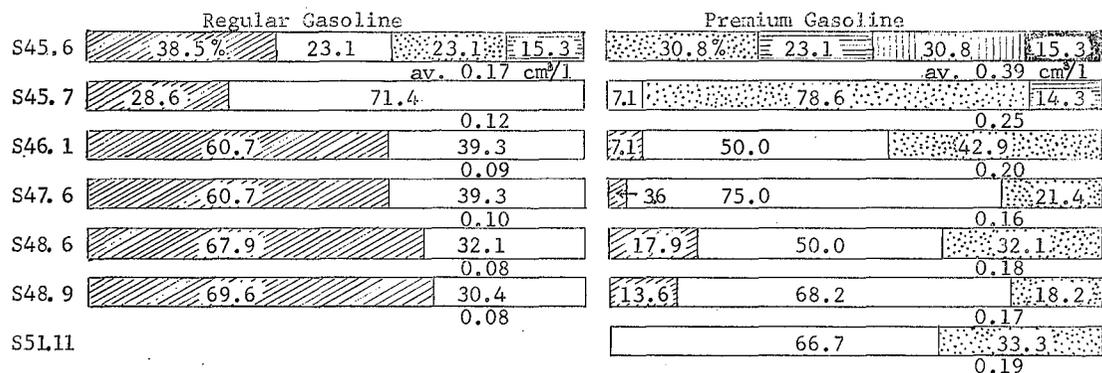
**芳香族炭化水素** 芳香族炭化水素についてはすでに低鉛化が実施された昭和47年から測定をはじめ、同年はベンゼン、トルエンおよびキシレンの含有量を測定し、48年以降エチルトルエンおよびトリメチルベンゼンを対象

に加えた。測定の結果、芳香族炭化水素の組成および含有率は Fig. 2 に示すごとく、プレミアムガソリンについては48年38種平均約35%、51年27種平均約32%、レギュラーガソリンにあつてはそれぞれ24%および22%で、なかに約50%に及ぶ高いものも認められた。特に注目すべきは光化学活性が強いとされている<sup>3)</sup> トルエンおよびキシレンの含有率はその他に比して高く、ガソリン中の芳香族炭化水素の70%をこの両者で占めていることである。

本来市販ガソリンは、直留ガソリン、接触分解ガソリンおよび接触改質ガソリンの混合によって調製され<sup>4)</sup>、この3者の比率いかんにより容易に成分変更が可能で、同一メーカーの製品であっても年度および販売先により異り、特定の傾向は認めがたい。昭和47年以後昭和51年にいたる期間、低鉛化および無鉛化に伴う芳香族炭化水素の含有率には見るべき変化はなく、四アルキル鉛と芳香族炭化水素の両者の間には相関は認められない。

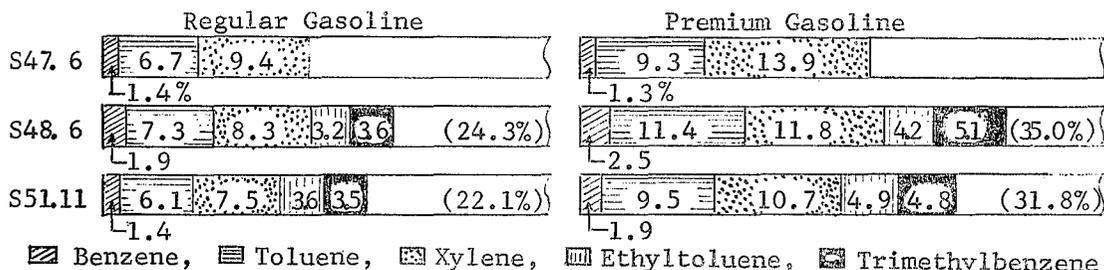
まとめ

1) 昭和45年6月から7月にかけて四アルキル鉛の含有量は大幅に減少し、低鉛化が認められた。また昭和50年無鉛化が実施されたレギュラーガソリンは、昭和51年の測定により四アルキル鉛を含有しないことが確認され



□ 0-0.10, □ 0.11-0.20, ▨ 0.21-0.30, ▩ 0.31-0.40, ▪ 0.41-0.50, ▫ 0.51-0.60 (cm<sup>3</sup>/l)

Fig. 1. Transition of Tetra Alkyl Lead



▨ Benzene, ▩ Toluene, ▪ Xylene, ▫ Ethyltoluene, ▬ Trimethylbenzene

Fig. 2. Transition of Aromatic Hydrocarbons

た。

2) 芳香族炭化水素は、レギュラーガソリンに比しプレミアムガソリンに約10%多く含まれていた。特にトルエンおよびキシレンの含有率はその他に比して高く、この両者で芳香族炭化水素の70%を占めた。

3) 低鉛化および無鉛化に伴う芳香族炭化水素の含有率の推移に見るべき変化は少く、著者らの予想に反して両者の間には相関はなかった。

謝辞 本研究にあたり、試料の収集にあたられた衛生局業務部薬事衛生課の方々に深謝致します。

(本研究の一部は、第50回東京都衛生局学会で発表した)

#### 文 献

- 1) 林 洋：化学工業，7，103，1972
- 2) 大平俊夫，久保田喜美雄ら：東京スモッグ生成機序・植物被害に関する調査研究会中間報告（東京スモッグに関する調査研究第2報），445，1972，東京都公害研究所
- 3) 加藤龍夫，伊藤忠志，花井義道，杉山若子：大気汚染研究，7，75，1972
- 4) 別冊化学工業，2，2，1958

家庭用品の衛生化学的研究 (第1報)

ガスクロマトグラフィーによる塩化ビニル製品中のブチルスズ化合物の分析法

竹内正博\*, 伊藤弘一\*, 森謙一郎\*, 原田裕文\*

Hygienic Chemical Studies on Household Necessities (I)  
Gaschromatographic Analysis of Butyl-Tin Compounds  
in Polyvinyl Chloride Products

MASAHIRO TAKEUCHI\*, KOICHI ITO\*, KENICHIRO MORI\*  
and HIROFUMI HARADA\*

A gaschromatographic method was developed for the analysis of dibutyl-tin and tributyl-tin compounds in daily necessities made of polyvinyl chloride (PVC). Samples were dissolved in 50ml of tetrahydrofuran under reflux for an hour. Dibutyl-tin and tributyl-tin compounds were extracted as the chlorides with 50ml of *n*-hexane from the solutions to which 100ml of 1N-hydrochloric acid was added previously, and determined by gaschromatography after the clean-up using Florisil column. Conditions of gaschromatography are as follows: 1.5% SE-30 on Chromosorb W (AW-DMCS), 60-80 mesh, 1m×3mmφ, 140°, N<sub>2</sub>; 60ml/min, detector; FID. Dibutyl-tin dichloride (DBT) is usually too thermolabile to determine by gaschromatography, however, it was found that DBT gives a sharp and reproducible peak under the column maintained acid by injection of hydrochloric acid. Therefore, in this procedure, 3μl of the final solutions was injected with 1μl of hydrochloric acid-acetone (1:10). The recovery and the coefficient of DBT were 93.8% and 3.2%, respectively.

緒 言

ポリ塩化ビニル (以下 PVC と略す) には成型加工工程や使用環境での劣化を防止するために、種々の化合物が安定剤として添加されている。このうちジアルキルスズ誘導体、とくにジブチルスズおよびジオクチルスズ誘導体は熱安定剤としてすぐれた性質を有しており、繊維、容器、包装材料等の家庭用 PVC 製品に広く使用されている。一般にジアルキルスズ誘導体はトリアルキルスズ誘導体に比べてかなり毒性が低く、ジオクチルスズ誘導体は無毒性安定剤として FDA によって認可されている。しかし、ジブチルスズ誘導体には生理活性を示すものもあり、アメリカ、イギリス、西ドイツ等の諸外国では、食品包装材料向け PVC 用安定剤に規準を設け、種類、品質、使用量および用途について規制措置をとっている。わが国でも厚生省の指導のもとに塩ビ衛生協議会が規準を作成し、自主規則を行なっている<sup>1)</sup>。

したがって、これらの有機スズ化合物については従来より種々の分析法が検討されているが<sup>2-8)</sup>、十分満足で

きる方法がなく、実用性の高い分析法の確立が必要である。以上の観点から、著者らは PVC 製品中のジブチルスズ誘導体ならびにそれらの不純物として混入する可能性がある毒性の高いトリブチルスズ誘導体のガスクロマトグラフィーについて検討し、良好な結果を得たので報告する。

実 験

1. 装 置

島津製 GC-5A 型 (水素炎イオン化検出器付き) ガスクロマトグラフ、日立製 EPI-G3 型赤外分光光度計および島津製 LKB-9000 型ガスクロマトグラフ質量分析計を使用した。

2. 試 薬

ジブチルスズジクロライド (以下 DBT と略す) 標準溶液: DBT (東京化成) 100.0mg を *n*-ヘキサンに溶かし、100ml とした。トリブチルスズジクロライド (以下 TBT と略す) 標準溶液: TBT (東京化成) 100.0mg を *n*-ヘキサンに溶かし、100ml とした。内部標準溶液:

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

*p,p'*-ジクロロビフェニル (ガスクロ工業) 100.0mg を *n*-ヘキサンに溶かし, 100ml とした. 塩酸・アセトン溶液: アセトン 10ml に塩酸 1ml を加え, 用時調製した. シリカゲル薄層: ワコーゲル B-5 を使用し, 常法によって作製した薄層を 105°, 1 時間活性化した. フロリジルカラム: 130°, 3 時間活性化した 60-100 メッシュのフロリジル (和光純薬) 3 g を *n*-ヘキサンに懸濁させ, 内径 1 cm, 長さ 20cm の活栓付きガラスカラムに流し込んで充てんし, その上に無水硫酸ナトリウム 1 g を積層させた. ジチゾン・クロロホルム溶液: ジチゾン (和光純薬) 10mg をクロロホルム 100ml に溶かした.

### 3. 操作法

1) 試験溶液の調製 試料 (PVC 製繊維, 容器, 包装材料等) を細切し, その一定量 (通常 1-5 g) を 200ml ナス型フラスコにとり, テトラヒドロフラン (以下 THF と略す) 50ml を加え, 還流冷却器を付けて水浴上で 1 時間加熱する. 冷後, 内容物を 300ml 分液ロートに移し,

少量の THF でフラスコを洗い前液に合せたのち, *n*-ヘキサン 50ml を加え混和する. ついで, 1N-塩酸 100ml を加え 5 分間激しく振り混ぜ, 必要ならば遠心分離したのち, 上層を分取する. ついで, ロータリーエボレーターを用いて 5ml 以下まで濃縮する. この濃縮液をフロリジルカラムに加え, 液面がカラムの上端にくるまで滴下し, 少量の THF で容器を洗い同様に操作したのち, *n*-ヘキサン・エチルエーテル (3:1) 30ml を 2ml/min の流速で流す. ついで, 流出液を集めながら *n*-ヘキサン・エチルエーテル・酢酸 (75:25:1) 50ml を 2ml/min の流速で流す. 流出液を Kuderna-Danish 濃縮器で 2ml 以下まで濃縮し, *n*-ヘキサンで 2ml に調整してから, 内部標準溶液 0.5ml を加え混和し, これを試験溶液とする.

2) 薄層クロマトグラフィーによる定性 試験溶液 5-10  $\mu$ l をシリカゲル薄層にスポットし, 酢酸・イソプロピルエーテル (1.5:100) で 10cm 展開する. ついで, ジチゾン・クロロホルム溶液を噴霧し, それによって発色したスポットの色調および Rf 値を標準物質のスポットと比較して判定する. Fig. 1 に DBT, TBT およびその他の有機スズクロライドの薄層クロマトグラムを示す.

3) ガスクロマトグラフィーによる定性 試験溶液 3  $\mu$ l をマイクロシリンジに吸込み, さらに塩酸・アセトン溶液 1  $\mu$ l を吸込んでから, ガスクロマトグラフに注入す

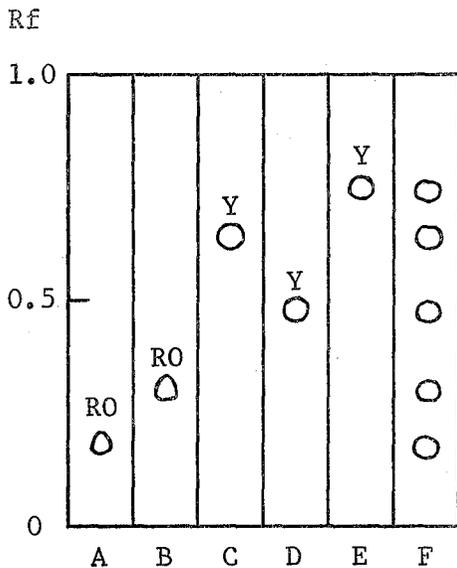


Fig. 1. Thin Layer Chromatogram of Organo-Tin Chlorides Visualised by Spraying of Dithizone in Chloroform

Layer: Wakogel B-5, Solvent: Isopropyl-ether · Acetic acid (100:1.5)

A: Dibutyl-tin dichloride (DBT)

B: Dioctyl-tin dichloride

C: Tributyl-tin chloride (TBT)

D: Triphenyl-tin chloride

E: Tricyclohexyl-tin chloride

F: Separation of A+B+C+D+E

RO=Reddish orange, Y=Yellow

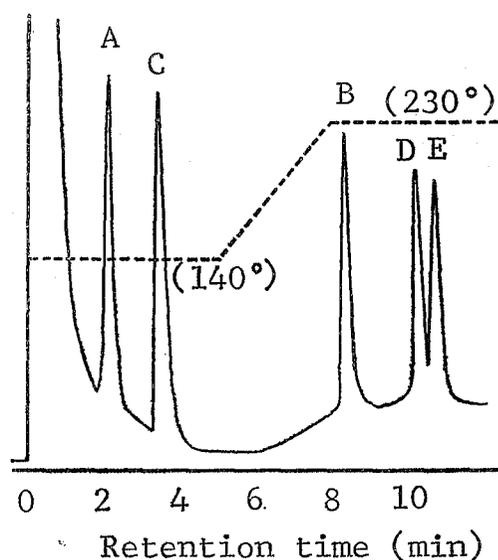


Fig. 2. Temperature Programmed Gas Chromatogram of Organo-Tin Chlorides

A-E: Same as in Fig. 1

Dotted line represents column temperature.

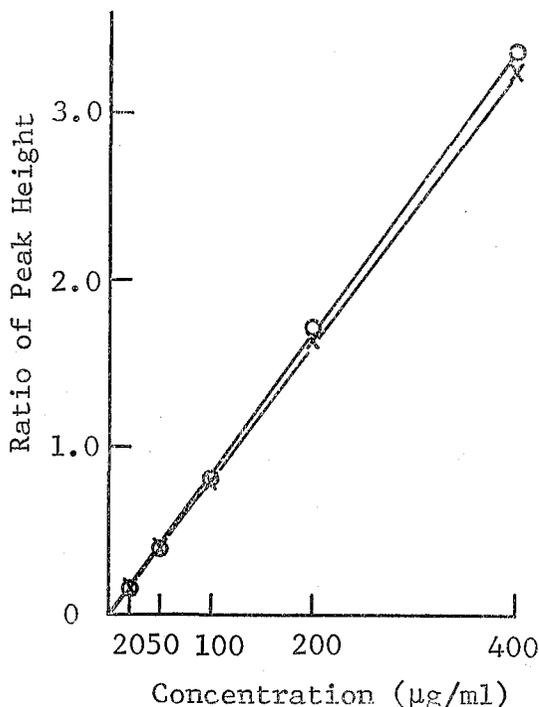


Fig. 3. Calibration Curves of DBT and TBT

×—× : DBT, ○—○ : TBT

Conditions of Gaschromatography —

Column : 1.5% SE-30 on Chromosorb W (AW-DMCS), 60-80mesh, 1 m × 3 mmφ, Temp. : 140°, N<sub>2</sub> : 60ml/min, Detector : FID, Internal standard : *p,p'*-Dichlorobiphenyl

る。得られたガスクロマトグラムから保持時間を求め、標準物質のそれと比較する。Fig. 2 に DBT, TBT およびその他の有機スズクロライドのガスクロマトグラムを示す。

4) ガスクロマトグラフィーによる定量 DBT および TBT 標準溶液をそれぞれ 0.2, 0.5, 1, 2, 4ml とり、これらに内部標準溶液 2ml を加えてから、*n*-ヘキサンで 10ml に調整し、検量線用の標準溶液系列とする。これらの 3μl をマイクロシリンジに吸込み、さらに塩酸・アセトン溶液 1μl を吸込んでから、ガスクロマトグラフに注入する。内部標準物質に対する DBT および TBT のピーク高比と濃度から作成した検量線を、そのときのガスクロマトグラフィー条件とともに Fig. 3 に示す。

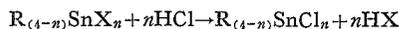
つぎに、試験溶液 3μl および塩酸・アセトン溶液 1μl を先と同様にガスクロマトグラフに注入し、内部標準物質に対する DBT および TBT のピーク高比を求め、検量線からそれぞれの濃度を求める。本操作による DBT

および TBT の定量限界はともに 10ng である。

#### 結果および考察

##### 1. ジブチルスズおよびトリブチルスズ誘導体の塩酸処理

ジブチルスズおよびトリブチルスズ誘導体は種々のエステル、オキサイド、水酸化物等として試料中に存在し、そのままでは一律に分析することはできない。しかし、これらの誘導体は塩酸と反応して塩化物を生成するので、DBT および TBT として分析することが可能となる。



そこで、これらの塩素化反応の最適塩酸濃度について検討した。ジブチルスズジアセテート 100mg をクロロホルム 10ml に溶かし、種々の濃度の塩酸 10ml と室温で 5 分間振り混ぜたのち、クロロホルム層をとり赤外線吸収スペクトルを測定した。ついで、トリブチルスズアセテートについても同様に行なった。

ジブチルスズジアセテートは 1335, 1380, 1600cm<sup>-1</sup> 附近に、トリブチルスズアセテートは 1310, 1375, 1640 cm<sup>-1</sup> 附近にそれぞれ強い吸収を示したが、0.1N 以上の塩酸で処理した場合のクロロホルム溶液にはこれらの吸収がまったく認められず、DBT および TBT と同一の吸収スペクトルを示した。そこで、これらのクロロホルム溶液をガスクロマトグラフ質量分析計およびガスクロマトグラフに注入し、定性および定量を行なったところ、ジブチルスズジアセテートは DBT に、トリブチルスズアセテートは TBT に定量的に移行していることが確認された。なお、ジブチルスズジラウレート、トリブチルスズラウレート等についても同様の結果を得た。

##### 2. ガスクロマトグラフ分離カラムおよび注入条件

分離カラム用液相として 2% Thermol-3, 1.5% SE-30, 2% OV-17, 1.5% OV-1+1.95% QF-1 等について検討したが、いずれの場合も DBT が極端にテーリングし、しかもピークの形状が再現性に乏しくそのままでは正確な分析ができなかった。しかし、ガスクロマトグラフに試験溶液または検量線用標準溶液を注入するときに、塩酸・アセトン溶液を合せて注入することによって DBT のテーリングを防止し、再現性のあるピークを得ることができた。これは担体の活性点に塩酸が吸着し、あとからくる DBT の吸着を阻止するためと考えられる。なお、このときの塩酸・アセトン溶液の注入量は 1μl で十分であった。Fig. 4 に標準溶液のみ注入した場合と、塩酸・アセトン溶液を合せて注入した場合のガスクロマトグラムを示す。

つぎに、ピークの再現性を確認するために、同一標準

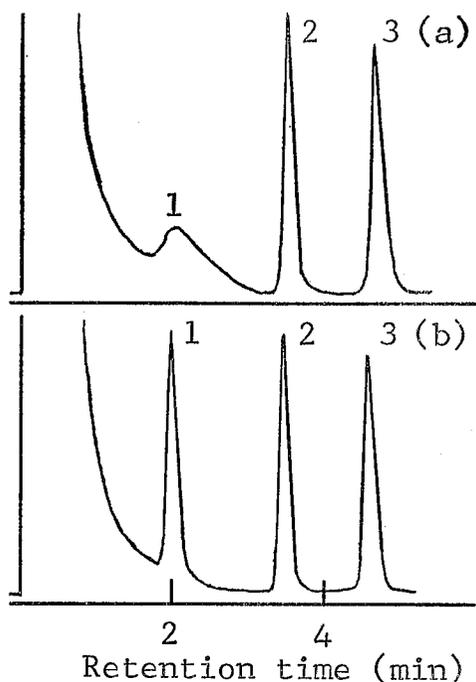


Fig. 4. Gas Chromatogram of Standard Solution  
 (a) : Injection  $3\mu\text{l}$  of standard solution  
 (b) : Injection  $3\mu\text{l}$  of standard solution together with  $1\mu\text{l}$  of HCl·Acetone (1:10)  
 1: DBT, 2: TBT, 3: *p, p'*-Dichlorobiphenyl

溶液を塩酸・アセトン溶液とともに20回注入し、内部標準物質に対する DBT および TBT のピーク高比を測定し、変動係数を求めたところ、前者が1.9%，後者が1.4%であり、ピークの再現性は良好であった。

### 3. 抽出条件

試料中の有機スズ化合物の溶出条件については詳しく検討されているので<sup>2)</sup>、ここでは試料中に存在するジブチルスズおよびトリブチルスズ誘導体の絶対量を求めることを目的とした。そこで、試料を THF に溶解したのち塩酸酸性とし、DBT および TBT として *n*-ヘキサンで抽出する方法を検討した。

PVC 製チューブ (内径 10mm, 肉厚 1mm) を細切し、その 2 g をナス型フラスコにとり、ジブチルスズジアセテートおよびトリブチルスズジアセテート各 10mg を含む THF 50ml を加え、試料が完全に溶けて均一になるまで水浴上で加熱した。冷後、内容物を分液ロートに移し、1N-塩酸 100ml を加えてから、*n*-ヘキサンで 5 分間抽出した。*n*-ヘキサン溶液をガスクロマトグラフに注入し得られた結果から、*n*-ヘキサンを 20ml 以上使用すれば添加したジブチルスズジアセテートおよびトリブチ

ルスジアセテートはそれぞれ DBT および TBT として、ほぼ定量的に回収できることがわかった。

### 4. クリーンアップ条件

試料中には DBT および TBT を定量するうえで支障となる種々の化合物が存在する。とくに、PVC 製品を試料とする場合は多量に共存するフタル酸エステル系可塑剤が DBT および TBT よりかなり遅れてガスクロマトグラム上に出現し、ベースラインを大きくドリフトさせるので、それらを除去することが必要となる。

以下、フタル酸エステルとしてジブチルフタレート (以下 DBP と略す) およびジエチルヘキシルフタレート (以下 DEHP と略す) を用い、それらを除去する方法としてシリカゲルおよびフロリジルを吸着剤とするカラムクロマトグラフィーについて検討した。

シリカゲルおよびフロリジル各 3 g を常法によってガラスカラム (20cm×1 cmφ) に充てんし、各カラムに DBT および TBT 標準溶液各 1ml を加え、さらに DBP および DEHP 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ヘキサン溶液各 1 ml を加えてから、*n*-ヘキサンを流速 2ml/min で流した。シリカゲルカラムの場合、DBT, DBP, DEHP は *n*-ヘキサン

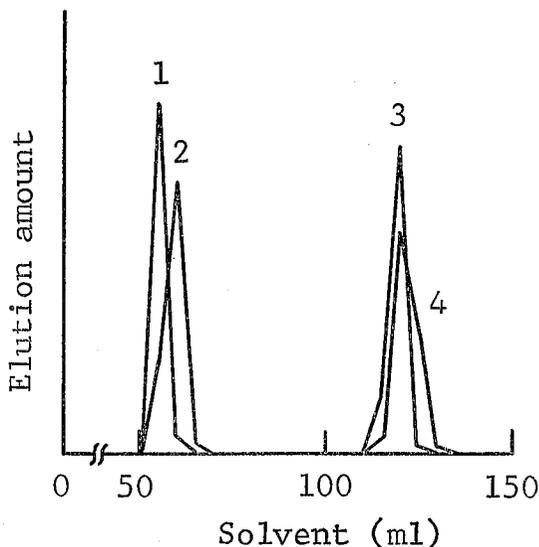


Fig. 5. Separation of DBT and TBT from Phthalates with Florisil Column

- 1: Di-2-ethylhexyl phthalate,  
 2: Dibutyl phthalate,  
 3: TBT, 4: DBT

Solvent—

0~50 (ml) : *n*-Hexane, 50~100 (ml) : *n*-Hexane·Ethyl ether (3:1), 100~150 (ml) : *n*-Hexane·Ethyl ether·Acetic acid (75:25:1)

Table 1. Recovery of DBT and TBT added to Samples

Samples	wt. (g)	Runs	DBT		TBT	
			Average (%)	C.V. (%)	Average (%)	C.V. (%)
PVC tube	2	6	93.8	3.2	95.4	3.0
PVC bottle	2	6	92.7	3.4	94.2	3.3

DBT, TBT : Added 1000 $\mu$ g

C.V. : Coefficient of Variation

Table 2. Content of DBT and TBT in Several Samples

Samples	wt.(g)	Runs	DBT(ppm)	TBT(ppm)
Textile, Polychlar (100)	1	3	1250	N.D.
Polychlar · Nylon (80 : 20)	1	3	872	N.D.
Bottle for cosmetics A	2	3	573	N.D.
B	2	3	15800	N.D.
Bottle for foods A*	2	3	N.D.	N.D.
B*	2	3	285	N.D.

N.D. : Not Detected

\* Large amount of dioctyl-tin dichloride was detected.

50mlを流しても溶出しなかったが、TBTが10~50mlの範囲に全量溶出しクリーンアップの目的を達成することができなかった。一方、フロリジルカラムの場合、Fig. 5に示すようにDBTおよびTBTをDBPおよびDEHPから完全に分離することができた。

#### 5. 添加回収

以上の結果に基づいて設定した定量法をPVC製のチューブおよびボトルに適用し、回収率を求めた。その結果をTable 1に示す。

はじめから試料中に存在するDBTおよびTBTと添加したものは存在状態が異なるため、添加回収率が良いからといって、試料からの抽出率が良いとは断定できない。しかし、分析過程で試料はTHFに溶けるので、もともと存在したものと添加したものと差がなくなり、Table 1の結果は試料からの回収率とみなし得るものと考えられる。本法によるDBTおよびTBTの回収率は良好であり、変動係数も十分満足できる。Table 2に種々のPVC製品中のDBTおよびTBTの定量結果を示す。

#### 結 論

PVC製品中のジブチルスズおよびトリブチルスズ化合物の分析法は、これまで種々検討されてはきたがよい方法がなく、とくに原理的には最適と考えられるガスクロマトグラフィーもカラム中での分解および再分配等の問題があり、DBTおよびTBTに対して単純には適用されなかった。今回、著者らはガスクロマトグラフィーを検討し、カラムを塩酸酸性に保持することによって、DBTおよびTBTをシャープな再現性のあるピー

クとして捕えることができた。本法は回収率および精度とも良好であり、簡便なDBTおよびTBTの分析法として満足できるものと考えられる。なお、本法ではとくにPVC製品中のDBTおよびTBTの絶対量を定量することを目的としたが、抽出操作を溶出操作にかえれば、溶出試験にも適用可能である。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「消費生活物資の衛生化学的試験法の設定に関する研究」として実施したものである)

#### 文 献

- 1) 塩ビ食品衛生協議会：塩化ビニル製食品包装に関するポジティブリスト
- 2) 塩ビ食品衛生協議会編：プラスチック添加剤の衛生性1, 178, 1970, 幸書房
- 3) Chapman A.H., M.W. Duckworth, and J. W. Price : *Brit. Plast.*, 32, 78, 1959
- 4) Stahl E., : *Thin-Layer Chromatography*, 2nd Ed. 664, 1969, Springer-Verlag, New York
- 5) 辰野 隆, 慶田雅洋, 田辺弘也, 川城 巖 : 食衛誌, 9, 488, 1968
- 6) 松田治和, 松田雄雄 : 工化, 63, 1960, 1960
- 7) Steinmeyer R.D., A. F. Fentiman, and E. J. Kahler : *Anal. Chem.*, 37, 520, 1969
- 8) 実 祐三, 工藤教寛, 佐藤 聖, 牛島豊彦 : 分化, 18, 169, 1969
- 9) 小嶋茂雄, 中村晃忠, 鹿庭正昭ら : 日本薬学会97年会講演要旨集, No. 3, 171, 1977

家庭用品の衛生化学的研究 (第2報)

防災加工布に含まれる Tris(1-aziridinyl) phosphine oxide (APO) の分析法

森 謙一郎\*, 西田 茂一\*, 原田 裕文\*

Hygienic Chemical Studies on Household Necessities (II)  
Identification of Tris (1-aziridinyl) phosphine oxide (APO)  
in Flame-Retardant Fabrics

KENICHIRO MORI\*, SHIGEKAZU NISHIDA\* and HIROFUMI HARADA\*

Tris (1-aziridinyl) phosphineoxide (APO), flame-retardant additive, in treated fabrics was analyzed by the methods of X-ray fluorescent spectrography (XRFS), thin layer chromatography (TLC) and gas chromatography equipped with flame photometric detector (GC-FPD). In practice, fabrics were screened by XRFS method, whether or not they have been containing phosphorus compounds (APO). APO was extracted with methanol from fabrics by refluxing for 30min. It was checked by TLC method with the plate coated with silica gel and the developing solvent of chloroform methanol (20:1). It appeared as dark spot (Rf value: 0.5) in I<sub>2</sub>-vapor chamber. The localized silica gel zone of APO was carefully scrapped off, and subsequently APO was extracted with methanol. Extract was injected in GC-FPD. Conditions of GC-FPD were as follows: glass on column: 2m×3mm i. d. with 2%PEG 20M on Chromosorb W AW DMCS, injection port temperature: 270°, column temperature: 120°, increase 10° per min to 250°, carrier gas: N<sub>2</sub> 60ml/min. The detection limit of APO was 2ng for GC-FPD.

緒 言

米国には可燃性織物法 (Flammable Fabric Act) があり、特に乳幼児の寝具類に防災加工を義務づけている。英国には人身を対象とした防災基準法がある。わが国では高層建築、地下街、旅館など公共施設で使用するカーテン、あるいは車両用カーテン、座席シート等一部のものが防災対象物に指定されているのみで、家庭用繊維製品の防災加工は、現在のところ義務づけられていない。しかし市販されているカーテン、敷物等には当該加工の旨が表示されたものも少なくない。この防災加工剤に関する衛生化学的報告は少なく、また加工の実態についてもあまり知られていない。

防災加工剤にはリン、ハロゲン、イオウ等を含有する有機防災剤、ホウ素などを主成分とする無機防災剤があり、これらのうちには近年発がん性が疑われた tris (1-aziridinyl) phosphineoxide (以下 APO と略す) がある。この APO の分析法に関する報告はほとんどなく、わずかに AATCC 法<sup>2)</sup>や中村ら<sup>3)</sup>の報告を見るにすぎない。そこで今回繊維製品中の APO の分析法を確立することを目的として、APO を用いた防災加工布を調

製し、これについてけい光X線分析法 (以下 XRFS と略す)、薄層クロマトグラフィー (以下 TLC と略す) および炎光光度型検出器付ガスクロマトグラフィー (以下 GC-FPD と略す) の適用を試みたところ二、三の知見が得られたので報告する。

実験方法

試薬 1) APO: 市販品を入手し得なかったため、Bestian<sup>4)</sup> および中村<sup>5)</sup> の方法に準じて調製した。(1) APO の合成; オキシ塩化リン 30g をベンゼン 100ml に溶解し、これにトリエチルアミン 60g を加える。この溶液を 0-5° に保ちスターラーでかく拌しながら、エチレンイミン (東京化成製) 25g をベンゼン 100ml に溶解した液を滴下する。約 1 時間反応させ、反応液はプフナーロートを用いてろ過し、ろ液を減圧濃縮する。残渣は減圧デシケーター中に一夜放置する。(2) APO の精製; シリカゲル (Wakogel C-100) 15g を内径 2cm のカラム管に二塩化メタン・メタノール混液 (40:1) で充填し、(1) で得た粗製 APO 1g を負荷する。二塩化メタン・メタノール混液 (40:1) により流速 2ml/min で溶出し、20ml から 80ml の画分を集め、無水硫酸ナトリウムで

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

脱水したのち、ろ過し、常温<sup>6)</sup>で減圧下溶媒を留去する  
 2) tetrakis hydroxymethyl phosphonium chloride  
 (以下THPC と略す): PFALTS & BAUER 社製,  
 3) ポリエチレン柔軟剤: 日華化学工業製, 4) TLC 用  
 プレート: Kieselgel H (MERCK 製) を用い常法に  
 より約0.25mmの薄層 (20×20cm) を調製し, 110°  
 で30分間活性化したものを使用する, 5) 展開溶媒: クロ  
 ロホルム・メタノール (20:1)

装置 1) けい光X線分析装置: 3063-P (理学電機  
 製) 管球 (Phillips 製), 2) ガスクロマトグラフ: GC-  
 5A, FPD-1A (島津製)

防災加工液の調製 APO を用いて防災加工を施す場  
 合, 繊維に APO を定着させるため種々の助剤を添加す  
 るが, 今回はつぎの4種の助剤を含有する処方液を調  
 製し実験に供した: 1) APO-THPC 加工液<sup>7)</sup> (APO-  
 THPC): APO・THPC・トリエタノールアミン・トリ  
 トンX-100・水 (15.7:17.3:4.3:0.2:62.5), 2)  
 APO・チオ尿素加工液<sup>8)</sup> (APO-TU): APO・チオ尿  
 素・ポリエチレン柔軟剤・トリトンX-100・水 (25:15  
 :3:0.2:56.8), 3) APO・リン酸第二アンモニウム加  
 工液<sup>9)</sup> (APO-DAP): APO・リン酸第二アンモニウム・  
 トリトンX-100・水 (15:10:0.5:74.5), 4) APO・  
 ホウフッ化亜鉛加工液<sup>6)</sup> (APO-ZBF): APO・ホウフッ  
 化亜鉛・トリトンX-100・水 (30:5:0.1:64.9)

防災加工布の調製 あらかじめ精製水で煮沸し乾燥し  
 た局方ガーゼを4種の防災加工液にそれぞれ1分間浸漬  
 する, つぎにこのガーゼを大型ろ紙にはさみ, 加圧して  
 余分な液を絞ったのち (絞り率約80%) 80-90°で5分  
 間乾燥する. 一般に防災加工布はこの乾燥後さらに,  
 145°以上で加熱処理をしたのち水洗を行なっている. 今  
 回は加熱あるいは水洗の不足した場合の APO 加工布に  
 ついても調査を行なう目的で, 上記の各加工布を三分  
 し, 100°, 120°, 145°で5分間加熱処理 (curing) を行  
 ない, さらにこれらを二分し, それぞれ一部は流水で1  
 時間洗浄後風乾し, 他の一部はそのまま試料とする.

XRFSによる加工布中のリンの定性試験 上記試料を  
 折りたたんで6枚重ねとし, サンプルホルダーに入れ直  
 径1cm窓を有するチタン製マスクでおおいけい光X線  
 分析装置に装着し, 次の条件で測定した. X-ray tube:  
 Cr-target, voltage: 50KV, current: 40mA, analysing  
 Crystal: GeおよびLiF, detector: scintillation counter  
 (H. V, 830V), Proportional counter (H. V, 1925  
 V), X-ray path: vacuum, pulse height analyser  
 : differential, base line: 100, Channel width:  
 200, full scale: 4Kcps

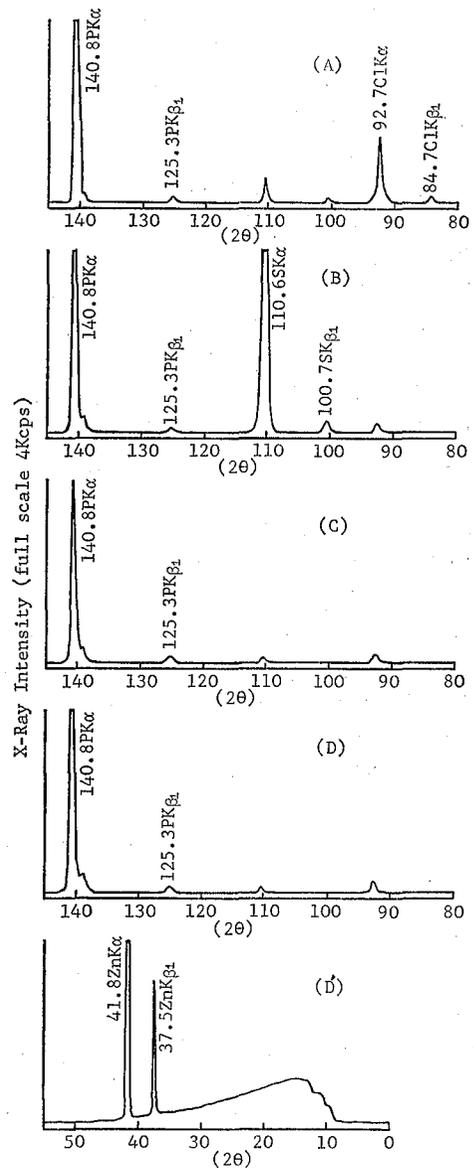


Fig. 1. X-Ray Fluorescent spectrogram of Gauze

Treated with APO

(A): treated with APO-THPC

(B): treated with APO-TU

(C): treated with APO-DAP

(D), (D'): treated with APO-ZBF

Each gauze was cured at 145° after the treat-  
 ment and washed with water.

(A)-(D): analysing crystal Ge, detector F-PC

(D'): analysing crystal LiF, detector SC

### APOの定性試験

1) 試験溶液の調製 細切した試料 2g を 300ml の丸底フラスコにとり、メタノール 100ml を加えたのち、還流冷却器をつけ水浴上で 30 分間<sup>3)</sup> 煮沸抽出する。つぎにこの液をガラスろ過器でろ過し、ろ液のメタノールをロータリーエバポレーターを用いて室温で留去する。残留物をメタノール 2ml に溶かし、これを TLC および GC-FPD 用の試験溶液とする。

2) TLC による APO の定性試験 試薬の項で調製したプレートの下端から 2.5cm の位置を原点とし、1% APO メタノール溶液、および 1) で得た試験溶液をそれぞれ 5—10 $\mu$ l ずつ等間隔に塗布する。風乾したのち試薬の項に記載した展開溶媒を用い、上昇法で 10cm 展開する。展開後風乾し、ヨウ素を入れた密閉容器中に放置し、ここに発色する各スポットの色調および Rf 値を APO のそれと比較して同定する。

3) GC-FPD による APO の定性試験 10ppm APO メタノール溶液 5 $\mu$ l を GC-FPD に注入し、得られたクロマトグラムから APO の保持時間を求める。さらに 1) で得た試験溶液についても同様な操作を行なう。測定条件はつぎのとおりである。充てん剤 2% PEG 20M, chromosorb W AW DMCS 80—100mesh, ガラスカラム管 0.3cm $\times$ 200cm, カラム温度(昇温法)120 $\rightarrow$ 250 $^{\circ}$  毎分 10 $^{\circ}$  上昇, 注入口温度 270 $^{\circ}$ , キャリアガス, 窒素 60ml/min, 水素流量 160ml/min, 空気流量 60ml/min, 検出器 FPD-P, Sens. 10<sup>2</sup>M $\Omega$ , Range 1.28V

### 結果および考案

**XRFS** 145 $^{\circ}$  の熱処理後十分に水洗した防災加工布 4 種の XRFS スペクトログラムを Fig. 1 に示したが、防災加工布 (A), (B), (C), (D) からそれぞれリンの  $K\alpha=140.8^{\circ}$  および  $K\beta_1=125.3^{\circ}$  が確認された。(A) では塩素の  $K\alpha=92.7^{\circ}$  および  $K\beta_1=84.7^{\circ}$  が確認されたが、これは THPC の塩素が残留していること、すなわち THPC が APO と共に不溶化物を形成しているものと推定される。(B) ではイオウの  $K\alpha=110.6^{\circ}$  および

$K\beta_1=100.7^{\circ}$  が確認されたが、これはチオ尿素が APO と反応し不溶化物を形成したものと考えられる。試料 (A), (B), (C), (D) には共に Ge 分光結晶を用いて、リン、イオウ、ハロゲンの  $2\theta$  を測定したが、(D) については更に LiF 分光結晶を用いて行なったところ (D') のスペクトログラムが得られ、亜鉛の  $K\alpha=41.87^{\circ}$  および  $K\beta_1=37.5^{\circ}$  を確認した。このことより試料 (D) ではホウフッ化亜鉛と APO が反応し、不溶化物を形成していることが明らかである。XRFS を防災加工布に適用し、加工主剤元素および助剤元素を見出すことは、防災加工法の系統を知るうえに役立つものと考えられる。なお市販のカーテン 12 種およびカーペット 10 種について本法を実施したところ、カーテン 4 種から  $PK\alpha=140.8^{\circ}$  を検出した。

**TLC** 今回の実験において薄層による APO の Rf 値は 0.5 でヨウ素浴での検出感度は 10 $\mu$ g であった。各試験溶液について TLC による APO の定性を行ない、加工布からの APO 溶出の有無を検討し、その結果を Table 1 に示した。これによると水洗した加工布すべてから溶出は認められなかったが、これは APO が非常に水に溶け易いため、遊離の APO が完全に除去されたのであろう。また高温で処理した場合にも溶出量の減少することが認められた。その原因としては加熱による APO の樹脂化、あるいは分解が考えられる。なお薄層への塗布操作において、原点を熱風乾燥すると APO は樹脂化

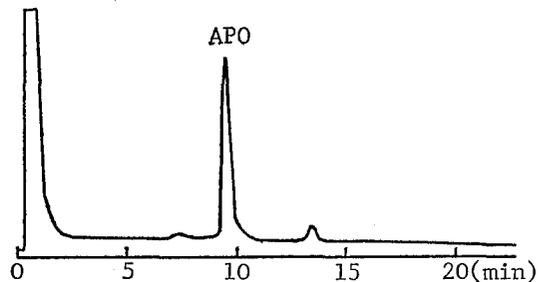


Fig. 2. Gas Chromatogram of APO

Table 1. Detection of APO in Treated Gauze on TLC

treatment material	APO-THPC			APO-TU			APO-DAP			APO-ZBF		
	100 $^{\circ}$	120 $^{\circ}$	145 $^{\circ}$	100 $^{\circ}$	120 $^{\circ}$	145 $^{\circ}$	100 $^{\circ}$	120 $^{\circ}$	145 $^{\circ}$	100 $^{\circ}$	120 $^{\circ}$	145 $^{\circ}$
Curing temp.												
washed*	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
non-washed	++	+	+	+	±	--	##	+	--	+	--	--

\*Each sample was washed with water after curing.

++, ##, + : detect, ± : slightly detect, -- : non detect

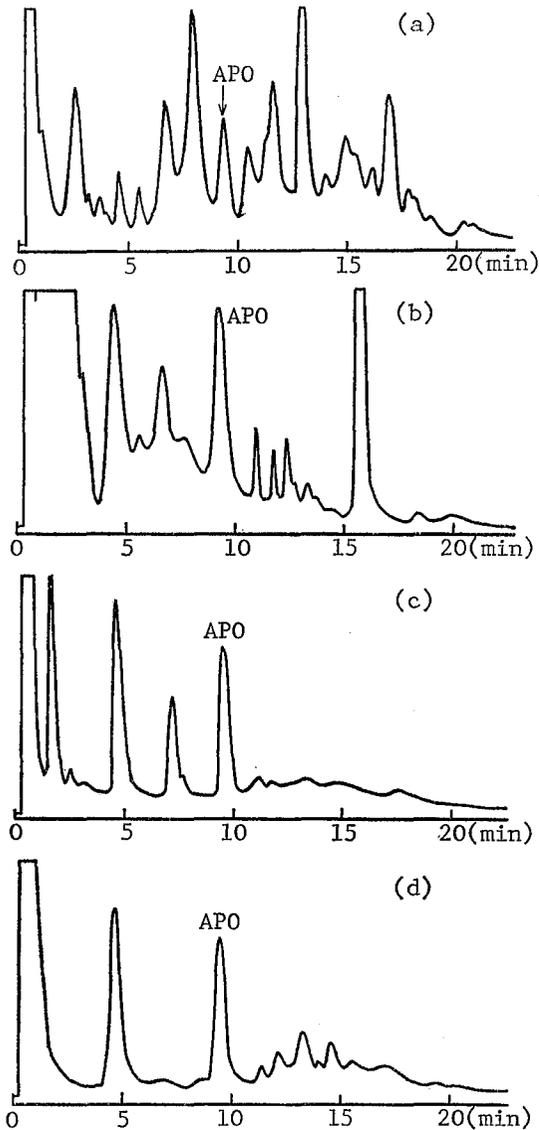


Fig. 3. Gas Chromatogram of APO in Treated Gauze

- (a) : treated with APO-THPC
- (b) : treated with APO-TU
- (c) : treated with APO-DAP
- (d) : treated with APO-ZBF

Each gauze was cured at 100° after the treatment and no washed with water.

Sample solution was prepared from extraction of APO with methanol.

し、展開不能となる場合のあることが認められた。

**GC-FPD** APOのGC-FPDクロマトグラムをFig. 2に示した。APOの保持時間は9分30秒で、シャープなピークを示した。各試験溶液のクロマトグラムから明らかにAPOの存在が確認されたのは、TLCの場合と同様に100°処理、未水洗試料(a), (b), (c), (d)であった。これらのクロマトグラムをFig. 3に示した。つぎに市販の防災加工布について適用を試みたが、この場合はメタノール溶出物が多く、直接GC-FPDを行なうことができなかった。そこでTLCによるクリーンアップを意図し、2枚の薄層にAPOおよび試験溶液(a), (b), (c), (d)をそれぞれ塗布し、同時に展開したのち一方をヨウ素浴で発色させAPOのRf値を確認したのち、他の薄層の同じRfの部分をかきとりメタノールで溶出する。この液についてGC-FPDを行なったところ、Fig. 2に示されたパターンと同様なクロマトグラムが得られた。なおXRFSにおいて $PK\alpha=140.8^\circ$ を検出したカーテン4種について、このTLCとGC-FPDの組合せによる方法を適用したところ、当該カーテンからの溶出はみられなかった。

GC-FPDによるAPOの検出限界は2ngであった。

#### 結 論

著者らが調製したAPO系防災加工布についてXRFS, TLC, GC-FPDを適用してAPOの分析を試み、つぎのことを明らかにした。1) 十分な熱処理および水洗したAPO加工布からは遊離APOは検出されなかった。2) XRFSを適用したところ $PK\alpha=140.8^\circ$ を確認し、APOがセルロースなどと反応して、布中に多量に存在することが認められた。またXRFSの適用により、加工布がリン系薬剤処理によるものか、他系のものであるかをすみやかに判別できる。これによってAPOの存在が予測でき、以後の操作の省力化に役立つ。3) メタノール抽出した試験溶液を直接GC-FPDに注入して得られたクロマトグラムは多数のピークがみとめられ、APOのピークを確認しにくい場合がある。特に市販の防災加工布の試験溶液は溶出物が多いため、粘稠となり、クロマト効果を著しく阻害する。このような場合TLCによる精製を行なうとAPOの良好なガスクロマトグラムが得られる。5) APOは反応性に富むため、分析操作における濃縮、乾燥はすみやかに行なう必要がある。現在カラムクリーンアップを含めたGC-FPDによる定量法を検討中である。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「消費生活物資の衛生化学的試験法設定に関する研究」として実

施したものである。)

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局家庭用品安全対策室：家庭用品安全対策関係資料集，58，1974
- 2) *Technical Manual of The American Association of Textile Chemists and Colorists* : 51, 78, 1975
- 3) 中村晃忠，小嶋茂雄，鹿庭正昭：第13回全国衛生化学技術協議会講演集，30，1976
- 4) Bestian, H. : *Annalen Der Chemie*, 566, 231, 1950
- 5) 中村晃忠：未発表
- 6) Drake, J.R., GL., L.H. Chance, J.V. Beninate, and J.D. Guthrie : *American Dyestuff Reporter*, 51, 272, 1962
- 7) Drake, J. R., GL., J. V. Beninate, and J. D. Guthrie : *ibid.* 50, 129, 1961
- 8) LeBlanc, R.B. : *Textile Research Journal*, 35, 341, 1965
- 9) Miles, T.D., F.A. Hoffman, and A. Merola : *American Dyestuff Reporter*, 49, 596, 1960

家庭用品の衛生化学的研究 (第3報) 繊維製品

観 照 雄\*, 植 田 忠 彦\*, 水 石 和 子\*  
西 田 茂 一\*, 原 田 裕 文\*

Hygienic Chemical Studies on Household Necessities (III)  
Textile Products

TERUO KAN\*, TADAHIKO UETA\*, KAZUKO MIZUISHI\*,  
SHIGEKAZU NISHIDA\* and HIROFUMI HARADA\*

A total of 100 samples consisted of 25 cloths and 75 commercial textile products was extracted with water and hydrochloric acid solution. The extracts were analyzed for formaldehyde, phenol, fluorescent whitener and organic mercury compounds. Wet digestion method was employed for the analysis of heavy metals in the samples. The results are as follows: 1) The concentration of formaldehyde was in the range from 39 to 196 ppm in 4 cloths and 24 to 63 ppm in 7 textile products. 2) Organic mercury compounds and cadmium were not detectable in any of the samples tested. 3) Tin was detected in the highest level of 810 ppm in treated cloth with flame retardants, and chromium was detected in the range from 260 to 1160 ppm in 4 samples of men's socks. 4) Fourteen of 25 cloths showed elution of fluorescent whiteners by the water extraction.

ま え が き

繊維製品の仕上加工法の発達は柔軟, 防しわ, 防虫, 防炎, 衛生, 増白など着やすさ, 美しさへの改良がなされている。その反面, これらの加工をほどこした繊維製品の着用によっておこる障害, 特に皮膚障害が社会問題になったり, またこれらの加工に使用された化学物質が人体に有害な作用をおよぼすと報告<sup>1)</sup>されている。昭和48年10月12日に「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」(以下「家庭用品法」と略す)<sup>2)</sup>が公布され, 暫定措置として樹脂加工などに使用されるホルムアルデヒド, 衛生加工に用いられる有機水銀化合物の2化学物質の使用が規制された。今回, 防虫, 増白, 柔軟あるいは防災などの加工がほどこされている布を入手し, これらについてホルムアルデヒド, 水銀化合物を分析するとともに, 現在時に規制をうけてはいないが, 鉛, 銅, スズ, クロムなどの重金属, フェノール, けい光増白剤, pHについて調査を行なった。そしてさらにその結果を参考として, 市販されている種々の繊維製品を選定, 入手し, これらについても同様な調査を行なったのであわせて報告する。

実 験 方 法

1. 試料 東京都内で昭和51年2-3月に入手した加工布25検体および昭和52年1月, 都内のデパートで購入した市販の繊維製品75検体を試料とした。加工布の内訳は防虫加工布4, けい光増白加工布8, 柔軟加工布6, 防炎加工布4, 難燃加工布3検体であった。また市販の繊維製品75検体は衣服として下着16, 寝着6, 外衣15, 靴下8, 手袋2, 衛生衣服付属品(おしめなど)8の計55検体と家庭用繊維製品として寝具3, カーテン5, カーペット10の計18検体および時計バンド2検体である。

2. 操作法

(1) ホルムアルデヒドの定量 「家庭用品法」のホルムアルデヒドの基準に従い, 細切した試料1gに100mlの水を加えたのち, 40°の水浴中で1時間抽出を行ない, この浸出液についてアセチルアセトン法によりホルムアルデヒドを定量する。

(2) 有機水銀化合物の定量 「家庭用品法」の水銀化合物の基準の項に準じ, 細切した試料1gに1mlの水と0.5N塩酸50mlを加え, 30分間放置したのち, さらに, 10mlの四塩化炭素を加えて5分間ほげしく振りまぜて放

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

表1. 加工布の調査結果

No.	標示の種類の加工	素材	色柄	ホルムアルデヒド ppm	有機水銀 ppm	鉛 ppm	カドミウム ppm	スズ ppm	銅 ppm	クロム ppm	pH	フェノール	けい光
1	防虫加工布	毛100%本モスリン(単衣)	白地, 黒柄	ND	ND	ND	ND	ND	3	39	6.60	ND	(+)
2	"	毛100%本モスリン(友仙)	ピンク, 柄物	ND	ND	ND	ND	ND	16	ND	5.25	ND	(+)
3	"	毛100% (八掛)	黄色	ND	ND	ND	ND	ND	5	ND	7.05	ND	(-)
4	"	毛100% (すそよけ)	白地	ND	ND	ND	ND	ND	6	ND	3.55	ND	(-)
5	けい光増白加工布	綿50%, ポリエステル50%	白平織地	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7.05	ND	(+)
6	"	綿100%	白平織地	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7.35	ND	(+)
7	"	綿100%	白地縞ストライプ平織地	104	ND	ND	ND	ND	2	10	6.80	ND	(+)
8	"	ポリエステル100%	白梨子地	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.40	ND	(+)
9	"	ポリエステル100%	白編地	196	ND	ND	ND	ND	1.6	ND	4.20	ND	(-)
10	"	アクリル100%	白編地	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.10	ND	(+)
11	"	アクリル70%, 毛30%	白ジョーゼット地	ND	ND	ND	ND	ND	2	ND	5.05	ND	(+)
12	"	毛100%	白ポプリン平織地	ND	ND	ND	ND	ND	4	ND	6.95	ND	(+)
13	柔軟加工布	綿90%, 絹10%	ベージュ平織地	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.90	ND	(-)
14	"	綿100%	赤プリント平織地	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	ND	6.85	ND	(-)
15	"	ポリエステル50%, 綿50%	ピンク無地平織地	39	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.80	ND	(-)
16	"	綿100%	焦茶別珍	ND	ND	ND	ND	ND	1.6	ND	7.05	ND	(-)
17	"	綿50%, ポリエステル50%	水色編地	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.70	ND	(+)
18	"	綿100%	ピンク無地平織地	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7.20	ND	(-)
19	防災加工布	綿100%	水色プリントネル地	71	ND	ND	ND	ND	1.4	ND	6.45	ND	(+)
20	"	ポリノジック100%	白平織地	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.40	ND	(+)
21	"	ポリノジック100%	白平織地	ND	ND	ND	ND	ND	2.8	ND	6.50	ND	(+)
22	"	タテ糸ビニロン, ヨコ糸ポリノジック	緑柄物	ND	ND	ND	ND	ND	64	ND	6.80	ND	(-)
23	難燃布	ポリクラーラル100%	黄色起毛平織地	ND	ND	5	ND	810	1	ND	6.80	ND	(-)
24	"	ポリクラーラル80%, ナイロン20%	紺パイル地	ND	ND	4	ND	420	0.6	ND	6.95	ND	(-)
25	"	ポリクラーラル85%, 綿15%	水玉プリント編地	ND	ND	3	ND	390	2	ND	7.05	ND	(+)

置する。分離した四塩化炭素層を分液ロートにとり、これに1%システイン・アセテート溶液を10ml加えて振りまぜたのち、静置してシステイン・アセテート溶液層を分取し、この液について還元気化-フレイムレス原子吸光法によって水銀の定量を行なう。

(3) 鉛、カドミウム、スズ、銅およびクロムの定量  
加工布については試料を細切し、その5gをフラスコにとり、5%塩酸50mlを加え、沸騰水浴中で30分間還流抽出する。冷後、ガラスろ過器(No. 3 G)を用いてろ過し、ろ液を試験溶液とする。また、市販の製品については試料1gをキルダールフラスコにとり、硫酸および過酸化水素を用いて加熱分解したのち、水を加えて正確に50mlとし、これを試験溶液とする。これらの試験溶液20mlをとり、以下衛生試験法中の有害性元素試験法<sup>3)</sup>の項に従って原子吸光法により鉛、カドミウム、スズ、銅およびクロムを定量し、試料重量あたりの含有濃度を求める。

(4) フェノール 細切した試料1gに水100mlを加え、40°の水浴中で1時間抽出を行ない、この浸出液について衛生試験法・飲食物用器具および玩具試験法の項に従ってフェノールの試験を行なう。

(5) pH (4)の項で調製した試験溶液についてガラス電極法によってpHを測定する。

(6) けい光増白剤 (4)の項で調製した浸出液50mlについて衛生試験法・飲食物用器具および玩具試験法<sup>4)</sup>の項に従いけい光増白剤溶出の有無を判定する。

#### 結果および考察

1. ホルムアルデヒド 加工布および市販製品についてホルムアルデヒドの測定を3回くり返して行ない、その平均値をそれぞれ表1、表2に示した。その結果、ホルムアルデヒドを検出した加工布は、全体の16%にあたる4検体で、その内訳はNo. 7から104ppm、No. 9から196ppm、No. 15から39ppm、No. 19から71ppmであった。また市販の衣服でホルムアルデヒドの溶出が認められたものは、婦人服の裏地4検体で、その溶出量の最高値は63ppm、最低値は24ppmであった。このほか市販のカーテン地3検体からも約30ppmのホルムアルデヒドの溶出が認められた。「家庭用品法」では下着、寝衣等のホルムアルデヒド基準値を75ppm以下と定めているので、加工布のNo. 7とNo. 9はこの基準値をこえていることになるが、ホルムアルデヒドは接触性皮膚炎の原因物質の1つであり、微量でも皮膚炎をおこすことは十分考えられるため、たとえ基準値をこえなくても、検出されることは好ましくない。

2. 有機水銀化合物 「家庭用品法」において、繊維

製品のうち有機水銀化合物の使用を禁止しているのは、おしめ、おしめカバー、下着、靴下などであるが、たとえ規制外のものであってもその毒性から考えて水銀化合物の使用はさげなければならない。今回入手した試料はほとんどが規制対象外のものであったが、上記の理由からその実態を把握する目的で水銀の分析を行なった。その結果を表1に示したが、有機水銀を溶出した試料は全くみられなかった。「家庭用品法」の質疑応答編によると、現在までの調査では有機水銀化合物の家庭用品への使用は数年前から中止されていると述べており、今回の測定結果もそのことを裏付けている。

3. 重金属 重金属について特に「家庭用品法」の規制はなされていないが、着色、殺菌、防災、熱安定性などの目的で繊維製品に対し金属化合物を使用する可能性があり、これらに関する基礎的な資料を得るため、鉛、カドミウム、スズ、銅およびクロムについて分析を行なった。その結果を表1に示した。

(1) 鉛 難燃布3検体から3-5ppmとごく微量の鉛の溶出を認めたが、他の試料からの溶出はみられなかった。

(2) カドミウム カドミウムを溶出する試料は全くみられなかった。

(3) スズ 鉛と同様に難燃布(ポリクラーラル繊維製品)から390-810ppmとかなり多量のスズの溶出が認められた。ポリクラーラル(市販名、コーテラン)繊維は塩化ビニルとポリビニルアルコールを重合させ、エマルジョン紡糸法を用いて製造する繊維であるため、おそらく製造工程中に安定剤としてスズ化合物がねり込まれたものと考えられる。

(4) 銅 銅を溶出した加工布は16検体で、全体の64%にあたり、そのうち緑色柄物のNo. 22は64ppmと加工布のなかでも最も高い値を示したが、このような繊維製品の銅の溶出は染色に使われている着色料に由来するものと考えられる。事実、市販製品中の銅含有量を測定したところ、表2および表3(銅含有量の高いものを記載する)に示すように、やはり銅を含有する製品はすべて柄物で染料を使用したものであった。

(5) クロム 加工布2検体から10-39ppmのクロムの溶出が認められた。クロムは古くから接触性皮膚炎の原因物質の1つとして知られており、クロムメッキあるいはクロムなめしを施した時計バンドによるカブレはしばしば問題になっている。今回行なった加工布の調査でクロムを溶出するものが数件みられ、加工剤としてクロムを使用していることが認められた。そこでさらにその使用量を調査する目的で市販製品中のクロム含有量を測

表 2. 市販の繊維製品の調査結果

織 維 製 品	検体数	ホルムアルデヒド ppm	重 金 属 ppm		
			スズ	クロム	銅
衣服 下 着 男子, 少年用	2	ND	ND	ND	ND
" 婦人, 少女用	11	ND	8	ND	2.9
" 子供, 幼児用	3	ND	ND	ND	ND
寝 着 男子, 少年用	2	ND	ND	ND	9
" 婦人, 少女用	2	ND	ND	ND	ND
" 子供, 幼児用	2	ND	ND	ND	18
外 衣 婦人, 少女用	14	11	ND	19	43
" 子供, 幼児用	1	ND	ND	ND	19
靴 下 男子, 少年用	5	ND	ND	522	4
" 婦人, 少女用	3	ND	ND	ND	ND
手袋, かわ製, 男子, 少年用	1	ND	ND	95	ND
" 合成皮革, 男子, 少年用	1	ND	9	ND	59
時 計 バ ン ド 男子, 少年用	2	ND	ND	151	24
衛生衣服付属品 おしめ	2	ND	ND	ND	ND
おしめカバー	5	ND	ND	ND	1.7
よだれ掛	1	ND	ND	ND	ND
家庭用繊維製品					
寝 具 毛布 (ベビー)	1	ND	ND	ND	6.5
タオルケット	1	ND	ND	ND	ND
オシメマット	1	ND	ND	ND	ND
カーテン	5	18	2360	ND	44
床敷物 (カーペット)	10	ND	ND	164	5

表 3. 市販の繊維製品中の銅含有量

品 名	色	柄	素 材	含有量 ppm
1 衣服 綿 ジャージ	緑	無 地	綿100%	400
2 婦人用ブラウス	緑	無 地	キュブラ100%	108
3 男子用手袋		黒	合成皮革	59
4 子供用パジャマ	水	色	綿100%	36
5 婦人用コート裏地	赤	色	キュブラ100%	33
6 子供用外衣	ピンク, プリント		綿100%	19
7 男子用パジャマ	緑	色	綿70, ポリエステル30%	18
8 時計バンド		黒		36
家庭用繊維製品				
9 カ ー テ ン	緑, 白チェック		綿100%	110
10 カ ー テ ン	緑 花	柄	アクリル, レーヨン	105
11 カ ー ペ ッ ト	青	色	毛100%	28

定し, 表 2 および表 4 (クロム含有量の高いものを記載する) に示した. この結果によると, カーペットなどの家庭用繊維製品を除いた衣料品全体のうちで, クロムを検出したものは男子用靴下が半数を占めており, またその含有量の多い順にみては靴下が上位にランクされている. 靴下は直接皮フに接するものであり, また今回クロ

ムを検出したものはすべてナイロン性のため吸湿性の悪さもあって, 使用者によっては十分皮フ炎をおこすおそれがあると思われる.

4. 水可溶性物質 加工布を水に浸漬して得られた浸出液について pH, フェノール, けい光増白剤の調査を行ない, その結果を表 1 に示した.

表4. 市販の繊維製品中のクロム含有量

品名	色柄	素材	含有量 ppm	
1 衣服 男子用靴下	グレー, 赤, 白の柄	毛, ナイロン	1160	ナイガイ
2 男子用靴下	エンジ, 黒柄	毛, ポリエステル, ナイロン	650	寺文
3 男子用靴下	グレー赤チェック	毛, ポリエステル, 絹	540	レナウン
4 婦人用ブラウス	茶色柄, デシン織	絹100%	260	
5 男子用靴下	グレー	毛, ポリエステル, ナイロン	260	ナイガイ
6 男子用手袋	黒	牛皮	95	
7 時計バンド	黒		158	
8 時計バンド	黒		144	
家庭用繊維製品				
9 カーペット	紅色	毛100%	840	カメイ
10 カーペット	茶色	毛100%	800	住吉

(1) pH いずれもほとんど中性に近い値を示しており、とくに問題となるものはみられなかった。

(2) フェノール すべての加工布から検出されなかった。

(3) けい光増白剤 わが国の天然および合成の衣料繊維でけい光増白加工の施されていない製品を見出すことは、ほとんど不可能といっても過言ではないと科学技術庁の調査資料に報告されている。このようなけい光増白剤は、その種類あるいは加工方法によって水に溶出するものもあるため、この点について調査を行ない、その結果を表1に示した。これによるとけい光増白剤の溶出が認められた加工布は14検体あり、全体の56%であった。けい光増白剤は種類も多く、なかには皮フ障害の原因となるものもあるため、今後この溶出したけい光増白剤の同定法などについて検討する予定である。

#### まとめ

防虫、けい光増白、柔軟、防炎、難燃などの加工を施した加工布25検体ならびに市販の繊維製品75検体について、衛生化学的調査を行なったところ、つぎの結果を得た。

1) ホルムアルデヒドは加工布4検体、市販製品7検体からそれぞれ検出し、「家庭用品法」の基準である75 ppm をこえたものは加工布の2検体であった。

2) 有機水銀およびカドミウムはいずれの試料からも検出されなかった。

3) 難燃布から微量の鉛と大量のスズの溶出が認めら

れたが、この場合スズは安定剤として繊維中にねり込まれたものと考えられる。

4) 市販の男性用靴下4検体から、かなり高濃度のクロムを検出したほか、婦人用ブラウス、カーペットなどからも検出した。クロムは皮フ炎の原因物質の1つであり、靴下、時計バンドなどは、直接皮フに触れているため、クロムによるカブレをおこす可能性がある。

5) ほとんどすべての繊維はけい光増白加工がなされているが、このけい光増白剤が水に溶出してくる加工布は25検体中14検体あった。このけい光増白剤のなかには皮フ障害をおこすおそれのあるものもあり、今後、溶出した増白剤の同定法について検討する予定である。

謝辞 本調査に御便宜をはかっていたいただいた東京都衛生局薬務部薬事衛生課家庭用品担当の方々へ深謝します。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「消費生活物資の衛生化学的試験法設定に関する研究」として実施したものである。)

#### 文献

- 1) 科学技術庁資源調査所：衣料処理剤に関する基礎調査資料，昭和48年5月18日
- 2) 厚生省環境衛生局企画課家庭用品安全対策室編著：家庭用品規制関係実務便覧，1975，第一法規出版 K.K.
- 3) 日本薬学会編：衛生試験法，269，1973，金原出版
- 4) *ibid.*, 497

家庭用品の衛生化学的研究 (第4報) 家庭用エアゾール製品

観 照 雄\*, 植 田 忠 彦\*, 原 田 裕 文\*

Hygienic Chemical Studies on Household Necessities (IV)  
Household Aerosol Products

TERUO KAN\*, TADAHIKO UETA\* and HIROFUMI HARADA\*

The ingredients of propellant and contents of heavy metals in household aerosol products (15 kinds, 81 samples) collected in Tokyo were determined by means of gas chromatography and infrared spectrometry, and of atomic absorption spectrometry. It was found that dimethylether, Freon 11, Freon 12, liquefied petroleum gas such as propane, n-butane and iso-butane, and vinylchloride were used as propellant. Of them, liquefied petroleum gas was the commonest in use, and vinylchloride (prohibited to use) was employed in some aerosol products for leather painting. Lead and tin were detected in liquid portion of aerosol products (maximum value: Pb 207 ppm in paint, Sn 706 ppm in aerosol spray cleaner).

ま え が き

エアゾール製品はその使用法がきわめて簡便であるため医薬品, 化粧品, 殺虫剤, 消臭剤あるいはクリーナーなど多方面に用いられているが, これらのうち一般消費者の生活の用に供されるものを家庭用エアゾール製品という。この家庭用エアゾール製品には種々のガスが噴射剤として使用されており, このうち塩化ビニルモノマー (以下塩化ビニルと略す) は肝臓等に対する発ガン性の問題から, 昭和48年10月12日に公布された「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」(以下, 「家庭用品法」と略す) によって使用が禁止されている。そこで著者らは家庭用エアゾール製品中の噴射ガス成分の実態を調査するため, 都内で入手した市販品についてガス成分の同定および定量を行なった。また同時に内容液剤中の重金属含有量の調査も行なったのでこれらの結果を報告する。

実 験 方 法

1. 試料 東京都内で昭和51年11月から昭和52年3月までの間に入手した家庭用エアゾール製品81検体を試料とした。その内訳は芳香消臭剤9, 防カビ消臭剤3, 塗料23, 防蟻剤1, ねずみよけ塗料1, カーワックス6, 台所・油おとし5, ガラス・家具みがき10, カーベッククリーナー4, 潤滑・防錆剤3, 静電美化剤2, 帯電防止剤2, 撥水剤5, 洗濯のり3, 部分洗濯剤4検体からなる15種81検体である。

2. 試薬 (1) 標準液化ガス i) プロパン, iso-ブタン, n-ブタン: 東京化成製。ii) 塩化ビニル: 東洋エアゾール製。iii) フレオン21: 日本フロロケミカル製。iv) プロパン, フレオン13, cis-2-ブテン: 日本酸素製。v) フレオン11, フレオン12, フレオン114, ジメチルエーテル: K.K.アリミノより分与されたもの。

(2) 鉛, スズ標準液: 和光製原子吸光分析用標準液を用いた。

(3) 充填剤: ジ-n-ブチルマレエトを25%の割合で, クロモソルブ W AW DMCS 60-80 メッシュにコーティングして用いた。

3. 装置 (1) ガスクロマトグラフ: 島津製GC-5A型, 熱伝導度型検出器付

(2) 赤外分光光度計: 日立製EPI-G3型

(3) 原子吸光分光分析計: パーキンエルマー社製403型と日本ジャレルアッシュ社製AA-8500型

4. 操作法 「家庭用品法」では塩化ビニルの同定法として, 赤外吸収スペクトルによる方法を採用しているが, 今回は他のガス成分の調査を行なうため, ガスクロマトグラフィーを用いて分析を行なった。そしてその結果, 塩化ビニルを検出したものについては赤外吸収スペクトル法によって確認することとした。

(1) ガスクロマトグラフィーによる噴射ガスの同定および定量 衛生試験法, 化粧品試験法の液化ガス<sup>1)</sup>の項に準拠した。すなわち, 試料をよく振とうしてから, エ

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

表 1. 噴射ガスガスクロマトグラフィー

化合物名	化学式	沸点	保持時間 分
Freon 13 (Monochlorotrifluoromethane)	CClF <sub>3</sub>	-81.4	1.91
Propane	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-42.1	2.49
Propene	CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>3</sub>	-47.7	2.56
Freon 12 (Dichlorodifluoromethane)	CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	-29.8	2.92
<i>iso</i> -Butane	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> CH	-11.7	3.11
Freon 114 (Dichlorotetrafluoroethane)	CClF <sub>2</sub> -CClF <sub>2</sub>	3.6	3.32
<i>n</i> -Butane	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-0.5	3.88
Dimethylether	CH <sub>3</sub> OCH <sub>3</sub>	-23.6	4.15
<i>cis</i> -Butene	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \\   \quad   \\ \text{HC} = \text{CH} \end{array}$	3.7	5.40
Vinylchloride	CH <sub>2</sub> =CHCl	-14.0	5.95
Freon 11 (Trichloromonofluoromethane)	CCl <sub>3</sub> F	23.8	11.08
Freon 21 (Dichloromonofluoromethane)	CHCl <sub>2</sub> F	8.9	17.06

アソル缶上部の押ボタンをはずし、噴射口に直接、注射筒(200ml, よこくち)のビニル管をつけたつつきぎをあて、空気が混入することに注意しながらそのまま軽く押す。噴射ガスの圧により注射筒内のきゆうしが押し上げられ、噴射ガスが採集される。この噴射ガスをガスサンプラーにとり、下記の測定条件によってガスクロマトグラフィーを行なう。

また別に各標準液化ガスについても試料の場合と同様な操作を行ない、ここに得られた試料と標準ガスのガスクロマトグラムの保持時間から噴射ガス成分の同定を行なう。さらに標準ガスの注入量を変えて得られたガスクロマトグラムのそれぞれのピーク高から検量線を作成し、これを基準にして、試料中の噴射ガスの定量を行なう。

ガスクロマトグラフィー測定条件 カラム: 25% ジ-*n*-ブチルマレエト クロモソルブ W AW DMCS 60-80メッシュ, 3mm×4m ガラスカラム, 温度 24°, 検出器: 熱伝導度型, ブリッジ電流 69mA, 温度 100°, 感度: 128mV, キャリヤーガス: ヘリウム 40ml/min, 注入量: ガス試料導入系(ガスサンプラー)による 1ml, 記録計: 記録紙速度 10mm/min

上記の測定条件で測定した標準液化ガスのガスクロマトグラムから得られた保持時間を表 1 に示した。

(2) 赤外吸収スペクトル法による塩化ビニルの同定

「家庭用品法」塩化ビニル<sup>2)</sup>の項に準じ、下記の測定条件で塩化ビニルの同定を行なった。

赤外吸収スペクトル測定条件 セル: 10cm ガスセル, スリット: N, レンジ: 2, スキャンスピード: ファースト

(3) 内容液剤中の重金属の定量 ①鉛 よく振とうした試料をビーカー内に噴射して内容液を捕集し、残留する噴射ガスを除去する目的で、数分間室温に放置したのち、これを試料溶液とする。

この試料溶液 3g を分解フラスコにとり、衛生試験法中有害性元素試験法に従い硫酸を用いた湿式分解法によって分解したのち、水を加えて正確に 50ml として試験溶液とする。この試験溶液 20ml をとり、衛生試験法、有害性元素試験法<sup>3)</sup>に従い、原子吸光法によって鉛を定量し、内容液剤中の含有量を求める。

②スズ ①の項で得た試料溶液 0.5g をとり、以下江波戸らのスズの定量法<sup>4)</sup>に従って定量し、内容液剤中のスズの含有量を求める。

#### 結果および考察

1. 噴射ガスの分析結果 15種81検体の試料について噴射ガスの測定を行ない、その結果を表 2 に示す。これによると今回検出された噴射ガスは 7 種類で、その内わけは塩化ビニル, フレオン 11, フレオン 12, ジメチルエーテル, プロパン, *n*-ブタンおよび *iso*-ブタンである。

表 2. 家庭用エアゾル製品の噴射ガス成分分析結果

品名	噴射ガス(%)								
	塩化ビニル	フロン 11	フロン 12	ジメチルエーテル	プロパン	n-ブタン	iso-ブタン		
1 芳香消臭剤	ウイザート	レモン				33	2	65	
2	ウイザート	リラ				36	2	62	
3	シャルダンエース	スズラン			53	2	31	16	
4	グレード	フラワー				46	36	18	
5	グレード	スズラン				37	39	24	
6	エア-ウイック	ナチュラル				37	39	24	
7	ケーター		17	83					
8	エア-ミリオン	ブーケ				43	2	37	18
9	エア-シャルダン	スカイグリーン				36	2	36	26
10 防菌, 防カビ消臭剤	シャルダン	クリーン				46	5	35	14
11	クイック	バンチ				41	4	36	19
12	ライゾール	スプレー			100				
13 塗料	アトミック	スプレー	ラッカー	黒		63	2	24	11
14	アトミック	塗料	スプレー			62	1	27	10
15	アサヒベンデラックス	アクリル	クリーム			54	23	16	7
16	アサヒベンデラックス	アクリル	黒			53	30	12	5
17	カラス	スプレー				54	25	16	5
18	カラス	スプレー	新雪			27	73		
19	エア-フラット					100			
20	ニッペホーム	ペイント	耐熱用			70	1	21	8
21	ホーム	ペイント	ラッカー			64	1	25	10
22	ホーム	ペイント	ラッカー	エメラルド		73	3	23	11
23	ニッペホーム	ペイント	ラッカー	オレンジ		65	2	22	11
24	耐熱塗料	おきつも	銀			100			
25	イサムカワゾール				84				
26	イサムカワゾール	つや出し				100			
27	イサムカワゾール	ホワイト				100			
28	イサムカワゾール	ブラウン				100			
29	イサムカワゾール	ブラウン			83				
30	イサムカワゾール	ブラック				100			
31	イサムカワゾール	レッド			84				
32	イサムカワゾール	レッド			82				
33	イサムカワゾール	レッド			85				
34	イサムカワゾール	レッド			83				
35	イサムカワゾール	レッド			84				
36 防蟻剤	サンプルザー	S				33	23	31	13
37	ねずみよけ塗料	アサヒベン				57	11	22	10
38	カーワックス	Heavy Duty Silicone			71		29		
39		Soft 99	スプレーワックス			61	2	24	13
40		Tire Leather	SPRAY		100				
41		ビッチ	クリーナー				51	33	16
42		カーワックス	カーローション	マッハ		100			
43		Furniture and Car	Polish		21	79			
44	台所・油おとし	オープン	クリーナー				4	96	

品名	噴射ガス(%)							
	塩化ビニル	フレオン 11	フレオン 12	ジメチルエーテル	プロパン	n-ブタン	iso-ブタン	
45		サンクリーン				41	39	20
46		イージーオフ オープンクリーナー				1	2	97
47		サンポール ホームクリーナー				49	34	17
48		換気扇 クリーナー			30	16	38	16
49	ガラス・家具みがき	イージーオフウインドクリーナー				1	3	96
50		レモンブレッジ			55	45		
51		ブレッジ				72	16	12
52		ニュークルー				49	28	23
53		グラスターソル				44	38	18
54		ガラスマイベットの				50	34	16
55		ガラスルック				50	33	17
56		ジョンボーイ				63	23	14
57		リンレイガラスクリーナー				43	32	25
58		レザークリーン				78	15	7
59	カーペットクリーナー	ジョンソングルー				50	28	22
60		リンレイシャンプークリーナー				47	33	20
61		プレストン				44	39	17
62		ホワイトラビットシャンプー				27	54	19
63	潤滑・防錆剤	ジップ		30	70			
64		スリッピー				31		
65		スベリカ		19	81	3	47	19
66	静電美化剤	フィットル				42		
67		シャインスプレー		18	82	3	36	19
68	帯電防止剤	デンキSニュー		28	72			
69		ポリケア Sタイプ				27	18	36
70	撥水剤	スコッチガード			100			
71		ニューデナベル				73	18	9
72		ジュエル バーディ 完全防水		16	84			
73		レインセイブ				35	5	40
74		白態印シリコン		14	86			
75	洗濯のり	ハイキーピング				33	47	20
76		イージーオフスピードスターチ					6	94
77		カンターチ				46	30	24
78	部分洗濯剤	カラクリン				50	34	16
79		ピリオド				68	19	13
80		エアーベンジン				61	25	14
81		ペトロン			38	6	37	19

これらのクロマトグラムを図1に示す。

(1) 塩化ビニル 図2に示すように試料番号25の皮革用染料であるイサムカワゾールから塩化ビニルが検出され、その含有量は84%であった。さらにこのことを確認するために赤外吸収スペクトルを測定したところ、図3に示すように、1620, 1600, 720, 710  $\text{cm}^{-1}$  の塩化ビニ

ル特有な吸収が認められた。

前述のように塩化ビニルは、発ガン性を有するため、「家庭用品法」によってその使用が禁止されている。そこでさらにイサムカワゾール10検体入手して再調査したところ、やはりブラウン2検体のうち試料番号29から83%の塩化ビニルが、また試料番号30から35までのレッ

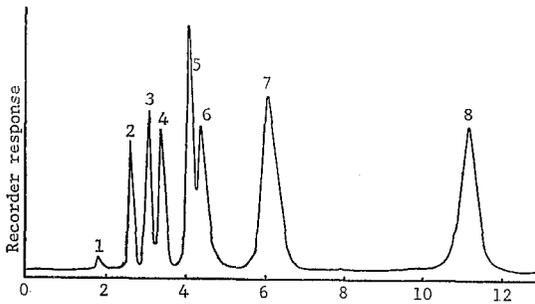


図 1. 標準液化ガスのガスクロマトグラム

- 1: 空気    2: プロパン    3: フレオン12  
 4: *iso*-ブタン    5: *n*-ブタン    6: ジメチルエーテル  
 7: 塩化ビニル    8: フレオン11

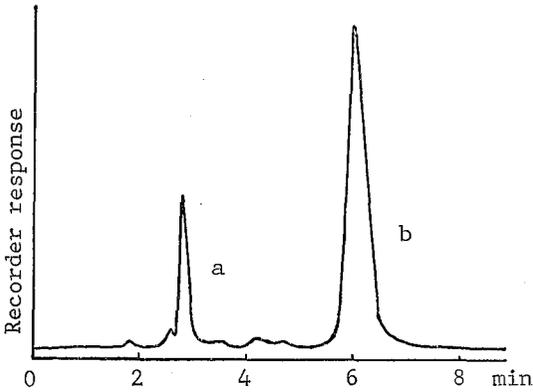


図 2. イサムカワゾールのガスクロマトグラム  
 ピーク a: 不明    b: 塩化ビニル

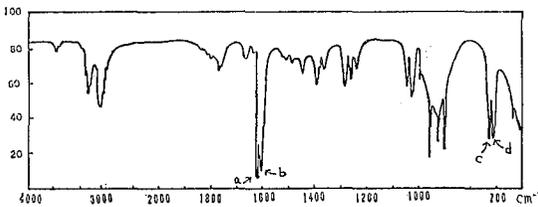


図 3. イサムカワゾールの噴射ガスの赤外吸収スペクトル

- a: 1620, b: 1600, c: 730, d: 700 $\text{CM}^{-1}$

ド5検体すべてから82-85%の塩化ビニルが検出され、明らかに基準に違反していることが認められた。またイサムカワゾールは法律によって義務付けられているガス成分の表示のないものもあり、表示があってもジメチルエーテルと表示して塩化ビニルを使用するなど粗悪品であった。

(2) 液化石油ガス(以下、LPGと略す) 本報の家庭

用エアゾル製品に使用されていた噴射ガス用のLPGは図1に示すようにプロパン、*n*-ブタンおよび*iso*-ブタンの炭化水素類であった。

噴射ガスとしてLPGだけを使用している製品は30検体、LPGとフレオンを混合している製品は11検体、LPGとジメチルエーテルを混合した製品は14検体であり、LPGを含有するエアゾル製品は全体の70%、55検体であった。用途別では台所・油おとし、ガラス・家具みがき、カーペットクリーナーおよび洗濯のりらがLPGだけを噴射ガスとして用いる傾向が見られた。

このように多くの家庭用エアゾル製品の噴射ガスとして用いられているLPGは可燃性ガスであることから、火気のない所での取り扱いように注意する必要がある。

(3) フレオン 噴射ガスとしてLPGについてよく用いられているフレオンを単独で使用している製品は12検体、LPGと混合して使用した製品は11検体であった。またLPGとの混合に用いられているフレオンはフレオン12であった。用途別ではカーワックス、潤滑、防錆剤、撥水剤のエアゾル製品にフレオンが多く使用されていた。

フレオンは安定性が高く、また人体に対する障害もない不燃性ガスであることが特色で、ひろく使用されているが最近アメリカでフレオンによる成層圏での障害を重視し、フレオンの使用を1979年以降禁止すると発表した。こんご日本においてもフレオンの使用が社会問題になるであろうと思われる。

(4) ジメチルエーテル 単独で使用した製品は7検体、LPGと混合して使用されている製品は14検体であった。

(5) 表示ガス イサムカワゾールの製品以外はすべて家庭用品品質表示法によって表示されたガス成分と測定結果が一致していた。

2. 内容液剤中の重金属 本報のエアゾル製品に用いられている容器はすべてサイドシームの金属缶であったが、サイドシームにはハンダが用いられているため、ハンダの成分である鉛やスズが内容液剤に溶出するおそれも考えられる。そこで内容液剤について金属を分析し、その結果を表3に示した。今回鉛の検出された試料は、全体の66%にあたる52検体で、その平均含有量は16ppmであり、このうち最も高い値は試料番号29イサムカワゾールの207ppmであった。一方スズの検出された試料は全体の30%にあたる24検体で、平均は35ppm最高値は試料番号48換気扇クリーナーの706ppmであった。これらの結果をみると鉛とスズの含有量に相関性がなく、サイドシームに用いたハンダはスズ含有量の高

表 3. 家庭用エアゾル製品内容液剤中の重金属分析結果

家庭用エアゾル製品	検体数	鉛 (ppm)			スズ (ppm)		
		最低	最高	平均値	最低	最高	平均値
1 芳香消臭剤	9	ND	— 82	20	ND	— 197	30
2 防カビ消臭剤	3	ND			ND	— 9	3
3 塗料	23	ND	— 207	47	ND	— 94	7.8
4 防蟻剤	1	ND			ND		
5 ねずみよけ塗料	1	0.3			ND		
6 カーワックス	6	ND	— 32	5.8	ND	— 175	29
7 台所・油おとし	5	0.5	— 1.2	0.9	7	— 706	201
8 ガラス・家具みがき	10	ND	— 7	1.4	ND	— 611	87
9 カーペットクリーナー	4	ND	— 0.6	0.3	ND	— 159	77
10 潤滑・防錆剤	3	ND	— 11	5	ND	— 11	4
11 静電美化剤	2	0.2	— 0.6	0.4	ND		
12 帯電防止剤	2	ND			ND		
13 撥水剤	5	ND	— 1.6	0.4	ND		
14 洗濯のり	3	ND			ND		
15 部分洗濯剤	4	ND	— 1.3	0.3	ND		

いものであったことが推定できる。

#### まとめ

1. 東京都内で入手した家庭用エアゾル製品について噴射ガス成分および重金属含有量を測定した。噴射ガスの測定はガスクロマトグラフィーによって行ない、塩化ビニルを検出した試料についてはさらに赤外吸収スペクトルによって確認した。また重金属については原子吸光法を用いて測定した。

2. 家庭用エアゾル製品15種81検体に使用されていた噴射ガスは、ジメチルエーテル、フロン11、フロン12、液化石油ガス（プロパン、*n*-ブタン、*iso*-ブタン）、塩化ビニルであった。これらのうちもっとも多くの製品に使用されていた噴射ガスは液化石油ガスであった。なおイサムカワゾールは「家庭用品法」で禁止されている塩化ビニルを噴射ガスとして使用しており、明らかに違反品であることが認められた。

3. 家庭用エアゾル製品の内容液剤から鉛とスズを検

出したが、それぞれの最高値は鉛が塗料の207ppm、スズが油おとしの706ppmであった。

謝辞 本調査に御便宜をはかっていただいた東京都衛生局薬務部薬事衛生課家庭用品担当の方々に深謝します。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「消費生活物資の衛生化学的試験法設定に関する研究」として実施したものである。)

#### 文 献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法，566，1973，金原出版
- 2) 厚生省環境衛生局企画課家庭用品安全対策室編著：家庭用品規制関係実務便覧，2020，1975，第一法規出版K.K.
- 3) 日本薬学会編：衛生試験法，269，1973，金原出版
- 4) 江波戸拳秀，原田裕文：東京衛研年報，28-1,100，1977

## 原子吸光分析によるベリリウムの定量法

山野辺 秀夫\*, 鈴木 助治\*, 山崎 清子\*  
小泉 清太郎\*, 原田 裕文\*

### Determination of Beryllium by Atomic Absorption Spectrophotometry

HIDEO YAMANOBE\*, SUKEJI SUZUKI\*, KIYOKO YAMAZAKI\*,  
SEITARO KOIZUMI\* and HIROFUMI HARADA\*

A sensitive method for the detection and determination of small amount of beryllium in foods by atomic absorption spectrophotometry, using acetylacetone as a chelating agent, was developed. Samples were digested with nitric acid, sulfuric acid and hydrogen peroxide. After neutralization of the digested solutions, interfering elements were masked with 10% sodium ethylenediaminetetraacetate solution and 50% potassium sodium tartarate solution. The sample solutions were extracted with 5% acetylacetone solution and methylisobutylketone at pH 7-8. The organic phase was introduced into nitrous oxide-acetylene flame at 234.9nm of beryllium hollow cathod lamp. The recovery of beryllium added to mackerel (Saba) meat at 0.2, 1.0 and 2.0 $\mu$ g level was in the range of 90.0-104.0% in average, and the coefficient of variation for 2.0 $\mu$ g level was 3.7%. The limit of detection was 0.005 ppm of beryllium. This method can be applied to the detection and determination of beryllium in cigarettes and foods such as fish, mushroom, seaweed and pulse.

#### 緒 言

ベリリウムは耐熱合金材料として原子炉, 航空機等に広く用いられ, 環境汚染の可能性が指摘されている。

ベリリウムの定量法には, 発光分光法<sup>1, 2)</sup>, 吸光々度法<sup>3-5)</sup>, けい光法<sup>6)</sup>, ガスクロマトグラフ法<sup>7)</sup>, 原子吸光法<sup>8, 9)</sup>などがある。これらの報告の多くは鉱物(合金, 岩石)を分析対象にしたもので食品および生物等の試料を対象にした報告<sup>10, 11)</sup>はわずかである。重松ら<sup>10)</sup>はアセチルアセトン(以下AAと略す)をキレート剤とし, クロロホルム抽出による吸光々度法によって海藻中のベリリウムを定量する方法を報告している。そこでわれわれはAAをキレート剤として, メチルイソブチルケトン(以下MIBKと略す)でベリリウムを抽出したのち, 原子吸光法によって定量する方法を検討し, 魚, タバコ等の実際試料に適用したところ良好な結果が得られたので報告する。

#### 実 験 の 部

**試薬** ベリリウム標準原液: ベリリウム(純度99.5%, 和光純薬KK)を100.0mgとり, 6N塩酸50mlに溶かし水を加えて100mlとする。ベリリウム標準溶液: 標準原液を水で希釈して1 $\mu$ g/mlの溶液を調製する。5%AA

溶液: アセチルアセトン5.0gを水に溶かして100mlとする。10%EDTA溶液: EDTA $\cdot$ 2Na $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O 10.0gを水に溶かして100mlとする。50%酒石酸カリウムナトリウム溶液: 酒石酸カリウムナトリウム50.0gを水に溶かして100mlとする。飽和硫酸アンモニウム溶液: 硫酸アンモニウムを加温した水に溶かし, 冷後沈澱が析出するまで硫酸アンモニウムを加えて飽和させ, 上澄液を用いる。フェノールレッド指示薬: 0.5%エタノール溶液。その他の試薬はすべて試薬特級品を使用した。

**装置** 原子吸光分析装置: 日本ジャーレルアッシュ社製 Model AA-8500型, (バーナーヘッド; 5cmの亜酸化窒素-アセチレンフレイム用 SN-63, 光源: バリアン社製ホローカソードランプ), 測定条件: 分析線234.9nm, ランプ電流20mA, バーナーの高さ13mm(輝線はバーナーの先端から10mmの高さにする), 亜酸化窒素ガス9.5l/min, アセチレンガス5.5l/min。

pHメーター: 日立堀場 M-5型 pHメーター

**試験溶液の調製** 試料3-5gを100mlのケルダールフラスコにとり, 硝酸10-20mlを加えておだやかに加熱し時々加熱をやめて過酸化水素2-5mlを加え, 再び加熱して有機物の大部分を分解したのち, 硫酸3-5mlを

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

加えて濃縮する。硫酸の白煙が生じたら加熱をやめ放冷したのち、硝酸 2—3ml を加えて再び加熱し同様に白煙がでるまで濃縮する。この操作を残液が透明になるまで繰り返して完全に分解する。さらに飽和シュウ酸アンモニウム溶液 5ml を加えて白煙がでるまで濃縮し、硝酸が完全に除去されるまでこの操作を 2—3 回行なう。放冷後、水 5ml を加えて試験溶液とする。

**定量法** 試験溶液にフェノールレッド溶液 2 滴を加え、液が橙色になるまでアンモニアを加えたのち、内容を 100ml のピーカーに移しケルダールフラスコを少量の水で洗い、洗液をさきのピーカーに合せる。これに 10% EDTA 溶液 5ml, 50% 酒石酸カリウムナトリウム溶液 10ml, 飽和硫酸アンモニウム溶液 10ml を加え、pH メーターを用いて pH を 7—8 に調整したのち、5% AA 溶液 1ml を加える。これを 100ml の分液ロートに移し、MIBK 5ml を加え振とう機を用いて 5 分間激しく振とう抽出する。静置後 MIBK 層を分取し、これを原子吸光分析用の試料溶液として、さきに述べた条件で吸光度を測定する。別にベリリウム標準溶液 (0.05—0.5  $\mu\text{g}$ ) を同様に操作して検量線を作成し、試料中のベリリウム含有量を求める。

#### 結果および考察

**抽出時の pH の影響** 本定法における AA-MIBK 抽出時の pH の影響について検討した。ベリリウム 2.0  $\mu\text{g}$  をとり水を加えて約 10ml としてから塩酸またはアンモニアを加えて種々の pH に調整し、これに 5% AA 溶液 1ml および MIBK 5ml を加え 5 分間振りませたのち、MIBK 層をとりベリリウムの吸光度を測定したところ、Fig. 1 に示すように pH 6—10 で一定となった。したがって、以後ベリリウム抽出時の pH を 7—8 とした。そ

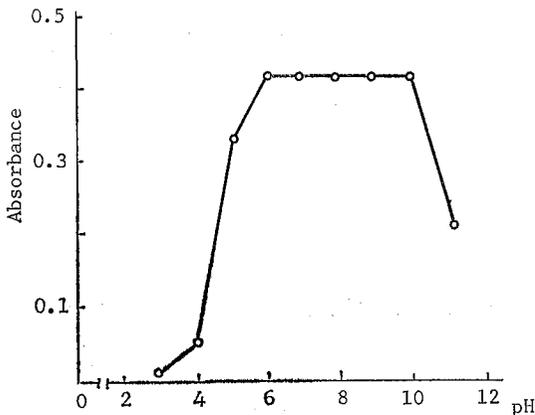


Fig. 1. Effect of pH on the Extraction of Beryllium

こで実際の定量操作を行なうときは、変色域 pH 6.4—8.2 (黄—橙—赤) のフェノールレッドを指示薬としてあらかじめアンモニアで中和し、さらに pH メーターで pH を 7—8 に調整してから 5% AA 溶液を加えることとした。

**AA 濃度の影響** 5% AA 溶液の添加量を決定するため、ベリリウム 2.0  $\mu\text{g}$  をとり、水を加えて約 10ml としてから pH を 7—8 に調整した。これに 0.1 から 1.2ml までの種々の量の 5% AA 溶液を添加し、MIBK 5ml を加えて 5 分間振りませたのち、MIBK 層をとりベリリウムの吸光度を測定したところ、Fig. 2 に示すように 5% AA 溶液 0.4ml—1.2ml の範囲で吸光度が一定になり、ベリリウムが完全に抽出されることが認められた。したがって 5% AA 溶液の添加量は 1.0ml とした。

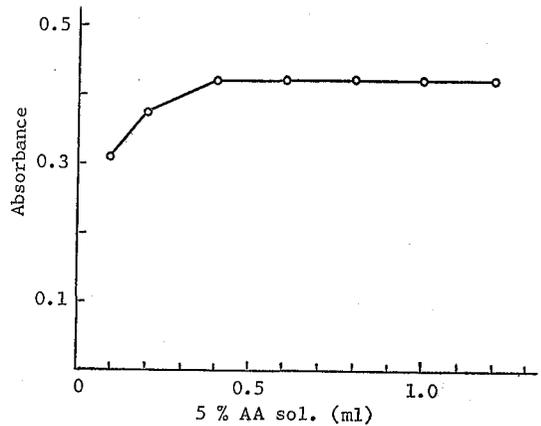


Fig. 2. Effect of Amount of Acetylacetone on the Extraction of Beryllium

**妨害イオン** 一般に動植物性の試料では  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  などがかかなり多量に含まれており、これらの金属イオンが AA とキレートをつくり、ベリリウムの測定値に影響をおよぼすことが考えられるので、各種の金属イオンの隠ぺいについて検討した。ベリリウム 2.0  $\mu\text{g}$  に対し各イオン 10—100mg を添加し隠ぺい剤として 10% EDTA 溶液 5ml および 50% 酒石酸カリウムナトリウム溶液 10ml を加え、pH を 7—8 に調整したのち、5% AA 溶液 1ml および MIBK 5ml を加え 5 分間振りませる。つぎに MIBK 層をとり吸光度を測定し、ベリリウムの回収量から各イオンの影響をしらべた。Table 1 に示すように 10% EDTA 溶液のみでは  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  がそれぞれ 50mg 共存すると隠ぺい効果が十分でないことが判った。また 50% 酒石酸カリウムナトリウム溶液では  $\text{Cu}^{2+}$  50mg,  $\text{Zn}^{2+}$  100mg,  $\text{Si}^{4+}$  5mg 以上共存すると隠ぺい効果が十分でなく負の誤差を生ずること

Table 1. Effect of Diverse Element on the Determination of Beryllium

Element	Element added (mg)	Be found ( $\mu\text{g}$ )		
		EDTA <sup>1)</sup>	Tart. K Na <sup>2)</sup>	EDTA <sup>1)</sup> + Tart. K Na <sup>2)</sup>
Cu (II)	50	2.11	0.20	2.04
	80	2.11	0.50	2.04
	90	2.38	0.43	1.69
	100	1.88	0.31	1.72
Pb (II)	100	1.91	1.83	2.15
Zn (II)	100	1.81	1.67	2.20
Mn (II)	100	1.96	1.88	2.15
Mg (II)	100	1.96	1.96	2.04
Fe (III)	100	1.91	1.88	2.15
Ca (II)	100	1.94	1.88	2.06
Al (II)	50	0.25	1.80	2.20
	100	0.98	0.85	1.83
Cr (III)	50	0.80	1.80	1.87
	100	0.89	1.70	1.77
Si (IV)	5	1.96	1.36	2.05
	8	1.91	0.64	1.72
	10	1.80	0.57	1.78

Be taken 2 $\mu\text{g}$ , 1) 5ml of 10% EDTA, 2) 10ml of 50% Tart. K Na

Table 2. Recovery of Beryllium Added to Some Materials

Sample	Sample taken (g)	Be added ( $\mu\text{g}$ )	N	Be found ( $\mu\text{g}$ )	Recovery ave. (%)
Fish					
mackerel (Saba)	5	0.2	3	0.18 — 0.19	93.5
	5	1.0	3	0.88 — 0.92	90.0
	5	2.0	3	1.97 — 2.13	104.0
horse-mackerel (Aji)	5	0.2	3	0.18 — 0.20	95.0
	5	1.0	3	0.96 — 0.99	97.0
	5	2.0	3	1.93 — 1.97	97.5
flatfish (Karei)	5	0.2	3	0.18 — 0.20	95.0
	5	1.0	3	0.85 — 0.88	87.0
	5	2.0	3	1.80 — 1.90	93.0
Pulse					
red bean (Azuki)	5	0.2	3	0.17 — 0.20	92.0
	5	1.0	3	0.88 — 0.98	93.3
	5	2.0	3	1.88 — 2.06	99.0
Seaweed					
sea tangle (Konbu)	5	0.2	3	0.16 — 0.21	90.0
	5	1.0	3	0.92 — 0.99	95.7
	5	2.0	3	1.77 — 1.94	94.2
Cigarette	3	0.2	3	0.17 — 0.19	91.5
	3	2.0	3	1.78 — 1.83	90.5

N : number of samples

が認められた。しかしこの両者を併用したところ各イオンに対し十分な隠ぺい効果が認められた。したがって隠ぺい剤として10% EDTA 溶液 5ml と50%酒石酸カリウムナトリウム溶液 10ml の両者を併用することにした。

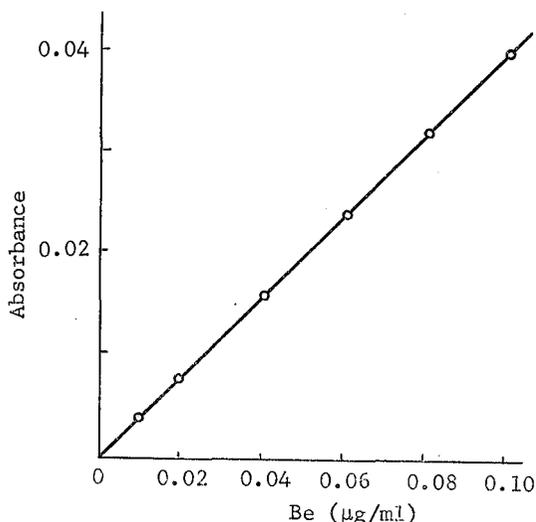


Fig. 3. Calibration Curve for Beryllium

**検量線** 上記定量法により、ベリリウムの検量線を作成したところ Fig. 3 に示すように0—0.1µg/mlの範囲で直線性を示し、また0.1—1.0µg/mlの範囲においても同様に良好な直線性が認められた。なお測定時のS/N比より本定量法の検出限界を求めたところ0.005ppmであった。

**添加回収実験** 本定量法を実際試料に適用するため添加回収実験を行ない、その結果を Table 2 に示した。

試料はサバ、アジ、カレイ、小豆、コンブおよびタバコを用いた。各試料3—5gをとり、ベリリウム0.2, 1.0, 2.0µgをそれぞれ添加して湿式灰化したのち、以下定量法にしたがって、操作し回収率を求めたところ、Table 2 に示すとおりサバ、アジ、カレイはそれぞれ平均で90.0—104.0%, 95.0—97.5%, 87.0—95.0%, 小豆は92.0—99.0%, コンブは90.0—95.7%, タバコは90.5—91.5%の良好な回収率が得られた。また本定量法の再現性をみるため、サバ5.0gにベリリウム2.0µgを添加して10回繰り返し回収実験を行なったところ、回収率は平均94.5%でその変動係数は3.7%であった。以上の結果から定量性および再現性が十分認められ、実際試料へ適用できることがわかった。

**実際試料中のベリリウムの測定** 魚類、乾物、タバコ等97検体の試料について本定量法にしたがってベリリウムの測定を行なった。その結果を Table 3 に示す。測定値が検出限界0.005ppm以下はtraceとした。これらの試料のうち、キノコ類のククラゲから0.038ppmを検出した。国産タバコは、13検体中12検体から検出し、最高0.030ppm、平均0.020ppmであった。外国産タバコは8検体全部から検出し、最高0.054ppm、平均0.039ppmであった。茶は6検体中4検体から検出し、最高0.014ppm、平均0.010ppmであった。Mechan<sup>11)</sup>らは、魚の場合、肉質部分より内臓に多くのベリリウムが含有されていると述べ、ボラについては平均で肉質0.21ppm、内臓0.54ppmであったと報告している。また、カツオ、スズキなどの肉質からも0.01ppm検出したと報告しているので、われわれも同種の魚について測定したがベリリウムは検出されなかった。また、豆、キノ

Table 3. Beryllium Content of Various Samples

Sample	N	Be content in wet material	
		Range (ppm)	Ave. (ppm)
Fish meat	40		nd
Fish gut	15		nd
Seaweed	3		nd
Sesame	2		trace
Mushroom	3	nd — 0.038	0.013
Kezuribushi	3		nd
Pulse	4		nd
Domestic cigarette	13	nd — 0.030	0.020
Foreign cigarette	8	0.032 — 0.054	0.039
Tea	6	nd — 0.014	0.010

N : number of samples, nd : not detected

コ、タバコからも0.01—0.25ppm 検出したと報告しているが今回の調査ではそれらの値を下まわっていた。

#### 要 約

1) アセチルアセトンを経絡剤として用い、メチルイソブチルケトンで抽出したのち原子吸光法を用いるベリリウムの定量法を確立した。検出限界は0.005ppmである。

2) 妨害イオンの除去はEDTAと酒石酸カリウムナトリウムを併用することにより容易に行なうことができた。また回収実験により本定量法の定量性、再現性は良好であった。

3) 本定量法を魚類、海草、豆類、タバコ等計97検体に適用したところ、国産タバコから最高0.030ppm、平均0.020ppm、外国産タバコから最高0.054ppm、平均0.039ppmのベリリウムを検出した。また、茶から最高0.014ppm、平均0.010ppmのベリリウムを検出した。

(本研究の概要は日本薬学会97年会1977年4月で発表した。)

#### 文 献

- 1) O'neil, R. L. : *Anal. Chem.*, 34, 781, 1962
- 2) Collins, A. G. and C. A. Pearson : *Anal. Chem.*, 36, 787, 1964
- 3) Hill, U. T. : *Anal. Chem.*, 30, 521, 1959
- 4) Silverman, L. and M. E. Shideler : *Anal. Chem.*, 31, 152, 1959
- 5) 堀内芳蔵, 西田 宏 : 分化, 18, 1401, 1969
- 6) Kirkbright, G. F., T. S. West, and C. Woodward : *Anal. Chem.*, 37, 137, 1965
- 7) Ross, W. D. and R. E. Sievers : *Talanta*, 15, 87, 1968
- 8) Peterson, E. A. : *At. Absorption Newslett.*, 8, 53, 1969
- 9) Ramakrishna, T. V., P. W. West, and J. W. Robinson : *Anal. Chimica. Acta.*, 39, 81, 1967
- 10) 重松恒信, 田伏正之, 磯島文雄 : 分化, 11, 752, 1962
- 11) Meehan, W. R. and L. E. Smythe : *Env. Sci. Tech.*, 1, 839, 1967

## 高速液体クロマトグラフィーによる多環芳香族炭化水素の分析法

鎌田 国広\*, 観 照雄\*, 山添 律子\*, 原田 裕文\*

### Analysis of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by High Speed Liquid Chromatography

KUNIHICO KAMATA\*, TERUO KAN\*, RITSUKO YAMAZOE\*  
and HIROFUMI HARADA\*

The separation and identification of ten polynuclear aromatic hydrocarbon was accomplished by means of high speed liquid chromatography (HSLC) equipped with UV and fluorescence detector. The conditions of HSLC were as follows: column: permaphase ETH 1m×2.1mm, i. d., mobile phase: methanol-water (1:1), flow rate: 1 ml/min, temperature: 50°. The fluorescence detection offered the advantages of effective separation and sensitivity over UV detection. This method was particularly applicable to the determination of 3,4-benzpyrene, and the calibration curve showed linearity from 0.1 to 1ng and the detection limit was 0.05ng.

#### 緒 言

多環芳香族炭化水素(以下 PAH と略す)の中には、3,4-ベンズピレン、ジベンズ(a, h)アントラセンなど発がん性を有するものが多く、また非発がん性の PAH でもピレン、フルオラセンのように3,4-ベンズピレンの発がん作用を促進させるものがある<sup>1,2)</sup>。現在、これらの発がん性および非発がん性の PAH はコールタール<sup>3)</sup>、タバコタール<sup>4)</sup>、カーボンブラック<sup>5)</sup>、大気浮遊粉じん<sup>6)</sup>、自動車排ガス<sup>7)</sup>、食品<sup>8)</sup> など生活環境をとりまくさまざまな物質から広く見出されている。PAH の分析法については、吸光度法<sup>9)</sup>、けい光分光光度法<sup>10,11)</sup>、カラムクロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー<sup>6,11)</sup>、ガスクロマトグラフィー<sup>12)</sup> などこれまで数多くの報告がなされている。

最近、PAH の新しい分析手法として特に高速液体クロマトグラフィー(以下 HSLC と略す)が注目をあびてきたが、その応用例の報告はいまだ少ない<sup>13-15)</sup>。そこで今回、多数の PAH のなかでも特に強い発がん性を有する3,4-ベンズピレンの HSLC による分析法について検討するとともに、その関連物質 9 種についても検討したところ、若干の知見が得られたので報告する。

#### 実 験 方 法

1. 試薬 PAH 標準物質: 3,4-ベンズピレン, トリフェニレン, ベンズ(a)アントラセン, フェナントレン, 2,3-ベンズトリフェニレンは東京化成 K.K. 製, ジ

ベンズ(a, h)アントラセン, フルオレセイン, アントラセン, ナфтаセン, ピレンは和光純薬 K.K. 製のものをを用いた。

PAH 標準溶液: 各 PAH 標準物質 1mg を精秤し、それぞれメタノールに溶かして 100ml とした。この溶液を目的の濃度に希釈して用いた。

その他の試薬はすべて試薬特級(和光純薬 K.K. 製)を用いた。

2. 装置 i) 榊島津デュボン 830 型高速液体クロマトグラフ(検出器 UV 254 nm 付)

ii) 榊島津製自記けい光分光光度計 RF-502

#### 3. 実験操作

3-1. HSLC 測定操作 試験溶液 10 $\mu$ l について、3-2. に示す条件で HSLC を行なう。なお検出器としては HSLC 本体に組み込まれてある 254nm UV 検出器(以下 HSLC-UV と略す)および UV 検出器セルの出口とけい光分光光度計のセルの入口をステンレススチールパイプで接続したけい光検出器(以下 HSLC-FP と略す)の二つの検出器を用いて同時に記録する。

3-2. HSLC の測定条件 カラム: Permaphase ETH, 1m×2.1mm i.d., 移動相: メタノール・水(1:1), カラム温度: 50°, カラム入口圧: 120kg/cm<sup>2</sup>, 流速: 1ml/min, 検出器: HSLC-UV, HSLC-FP,

#### 実験結果および考察

1. HSLC 測定条件の検討 10種の PAH 標準溶液に

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Conditions of High Speed Liquid Chromatography

Condition	Columns							
	1	2	3	3	4	5	5	6
Mobile phase	<i>n</i> -Hexane	<i>n</i> -Hexane	<i>n</i> -Hexane	CH <sub>3</sub> OH : H <sub>2</sub> O (1 : 1)	CH <sub>3</sub> OH : H <sub>2</sub> O (6 : 4)	<i>n</i> -Hexane	CH <sub>3</sub> OH : H <sub>2</sub> O (4 : 6)	CH <sub>3</sub> OH : H <sub>2</sub> O (6 : 4)
Column pressure (Kg/cm <sup>2</sup> )	80	30	35	120	50	30	80	80
Flow rate (ml/min)	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.8
Column temperature	20±2°	20±2°	20±2°	50°	50°	20±2°	20±2°	60°

Columns : 1. Zorbax SIL. 25cm., 2. Zipax PAM. 50cm., 3. Permaphase ETH. 100cm., 4. Zipax HCP. 50cm., 5. Zipax ANH. 50cm., 6. Permaphase ODS. 100cm.

ついて HSLC を行ない、カラム、カラム温度、移動相、流速、検出器などの検討を行なった。

1-1. カラム充てん剤の選択 Table 1 に示す分配型、逆相分配型の6種のカラム充てん剤を用いて PAH の HSLC を行ない、得られたクロマトグラムの保持時間、分離能、ピーク形などについて比較検討した結果、Permaphase ODS および逆相分配型として使用した場合の Permaphase ETH の2種類がほぼ満足できるパターンを示した。Fig. 1 にこれら2種のカラムを用いた場合のクロマトグラムを示したが、両者ともよい分離能を有していることがわかる。PAH の分離に関して Permaphase ODS を用いた報告<sup>13)</sup> は多くみられるが、ETH を用いた例はほとんどみられない。しかし今回の実験で得られた上記の2種のカラムを用いたクロマトグラムから、3,4-ベンズピレンの理論段数を算出して比較すると後者である ETH の方がよい分離能を示していることが認められたので、今回カラム充てん剤として Permaphase ETH を用いることとした。

1-2. 移動相について カラム温度 50°, 流速 1ml/min と固定した条件下で移動相組成メタノールと水の比を 3 : 7 から 7 : 3 に変化させたときの各 PAH の保持時間について検討し、これらのうち保持時間の近接していない5種類の PAH の結果を Fig. 2 に示した。ここでみられるように、移動相のメタノール含有量を減少させると各 PAH の保持時間は、いずれも大幅に増加し、PAH 相互の分離がよくなっている。このことは、Boden<sup>14)</sup> らが  $\mu$  Bondapac C 18カラムを用いて PAH の分離を検討した際にも同様の現象を認めている。そこで各 PAH が短時間でかつ良好な分離を示すメタノールと水の混合比について検討したところ、1 : 1 の組成において満足できることが認められたので移動相はメタノールと水の等量混液を用いることとした。

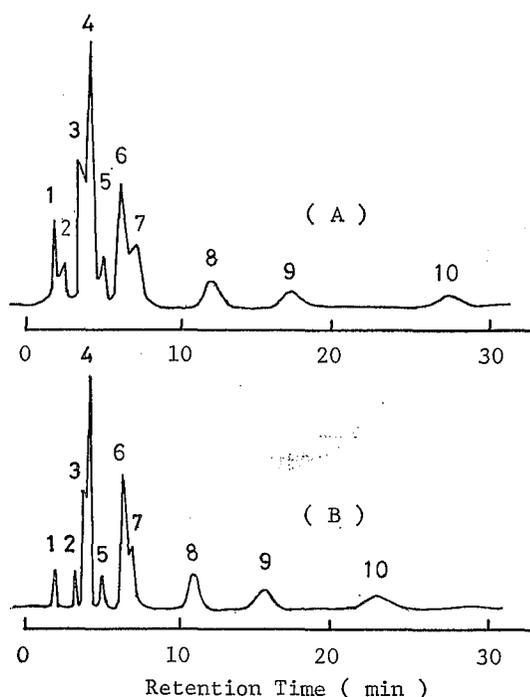


Fig. 1. Separation of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by High Speed Liquid Chromatography

(A) : Permaphase ODS,

(B) : Permaphase ETH

1 : Fluorescein, 2 : Naphthacene,

3 : Phenanthrene, 4 : Anthracene,

5 : Pyrene, 6 : Triphenylene,

7 : Benz( $\alpha$ )anthracene, 8 : 3,4-Benzpyrene,

9 : 2,3-Benztriphenylene,

10 : Didbenz(a,h)anthracene

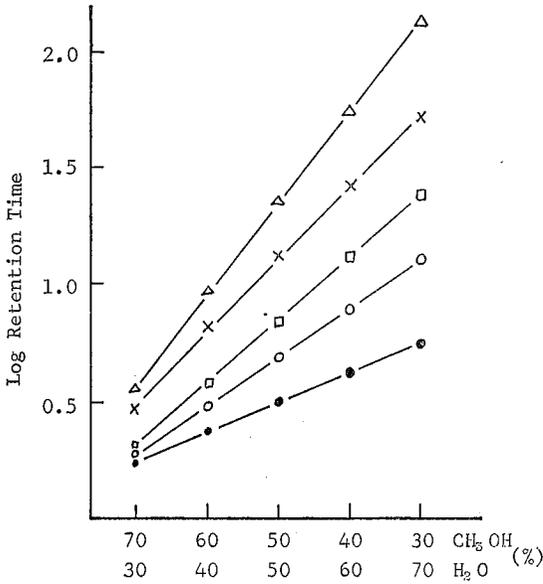


Fig. 2. Relation between Mobile Phase and Retention Time on Permaphase ETH Column  
 ●—● : Anthracene ○—○ : Pyrene  
 □—□ : Triphenylene ×—× : 3,4-Benzpyrene  
 △—△ : 2,3-Benztriphenylene

1-3. カラム温度について 流速 1ml/min, 移動相をメタノール・水 (1:1) に固定してカラム温度を40°から70°まで変化させたときの各 PAH の保持時間について検討し 1-2. の場合と同様に5種類の PAH の結果を Fig. 3 に示した。ここでみられるように、カラム温度と各 PAH の保持時間との間に直線関係が認められ、温度を高くすると保持時間が短くなり、そのため全体にピークの分離が悪くなる。そこで短時間でかつ、良好な分離が得られる温度条件について検討したところ、カラム温度 50°において満足できることが認められた。

1-4. 流速について 流速と保持時間の関係についても前述の 1-2. および 1-3. の場合と同様に検討を行なったが、流速の変化による保持時間への影響は移動相やカラム温度に比べて、非常に少ないことが認められたので、流速は 1ml/min に設定した。

1-5. 検出器について 今回使用した検出器は前述のように紫外外部吸収スペクトルおよびけい光スペクトルの2種類である。紫外外部吸収スペクトルについては吸収波長 254nm に固定した検出器を用いたが、けい光スペクトルについては各 PAH の励起、けい光波長がそれぞれ異なるため、つぎのような方法で各 PAH の励起、けい光波長を求めた。すなわち、前項の各条件に設定した HSLC に各 PAH を単独で注入し、UV 検出器でピー

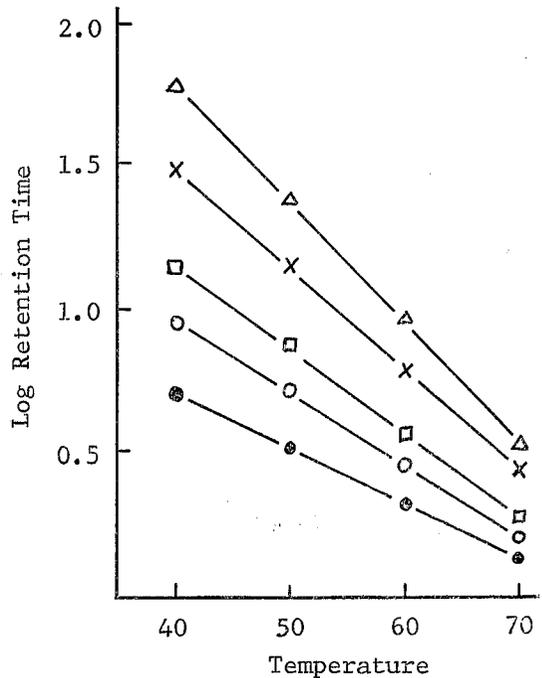


Fig. 3. Relation between Column Temperature and Retention Time on Permaphase ETH Column  
 ●—● : Anthracene ○—○ : Pyrene  
 □—□ : Triphenylene ×—× : 3,4-Benzpyrene  
 △—△ : 2,3-Benztriphenylene

クが最高を示したとき移動相の流れを止め、ついでこの UV 検出器の出口に接続させたけい光用セル中の PAH についてけい光分光光度計を操作して、励起、けい光波長をそれぞれ求めた。ここで求められた各 PAH の励起、けい光波長を Table 2 に示す。なおこの表においてカッコ内の数値は、けい光強度を比であらわしたものである。一般にけい光スペクトル法は紫外外部吸収スペクトル法に比較して高感度であり、それと同時に励起波長とけい光波長を設定することによって目的の化合物を選択的に検出できる場合が多い。そこで各 PAH それぞれを 10ppm含有するメタノール溶液について HSLC-UV と HSLC-FP を測定し Fig. 4 に示したが、その測定波長として UV は 254nm, FP は励起波長 384nm, けい光波長 405nm を用いた。ここにみられるように、UV では感度に差はあっても、10コのピークが検出されたのに対して、FP では 3,4-ベンズピレンのみが高い感度で測定された。

2. 検量線 以上10種の PAH について HSLC による分析法を検討し、各 PAH の分離同定法として十分満足できることを認めたが、さらにその定量性についても

Table 2. Spectral Maxima of PAH with HSLC-FP

Compound	Excitation maxima (nm)	Emission maxima (nm) (Ratio of intensity)
1. Fluorene	454, 469, 483	512
2. Naphtacene	285, 395, 416, 442	473, 506 (2 : 1)
3. Phenanthrene	326, 340, 357, 376	377, 399, 423 (3 : 3 : 1)
4. Anthracene	332, 348, 367, 382	383, 399, 423 (1 : 3 : 1)
5. Triphenylene	304	352, 362, 371 (5 : 1 : 2)
6. Pyrene	311, 327, 344	373, 383, 393 (4 : 1 : 2)
7. Benz( $\alpha$ )anthracene	321, 336, 354, 365	387, 409, 433 (7 : 5 : 1)
8. 3,4-Benzpyrene	298, 365, 384	405, 427, 455 (20 : 8 : 1)
9. 2,3-Benztriphenylene	363, 381	395, 417, 442 (12 : 7 : 1)
10. Dibenz(a, h)anthracene	327, 342, 352, 372	394, 403, 316, 440 (25 : 1 : 12 : 2)

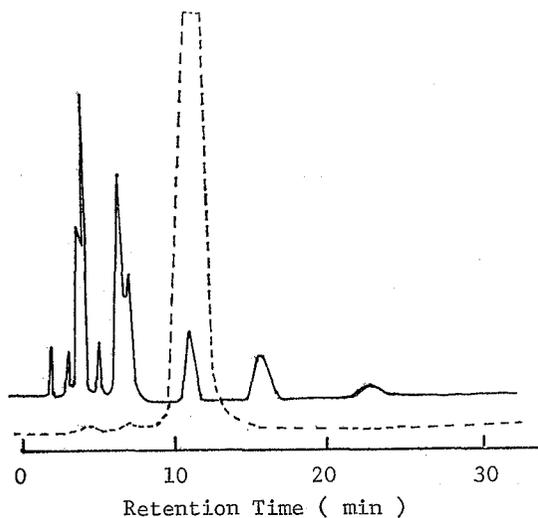


Fig. 4. Comparison between the Chromatograms of HSLC-UV and HSLC-FP

— : HSLC-UV (Range  $2 \times 10^{-2}$  AUFS)  
 ..... : HSLC-FP (Ex.  $\lambda = 384$  nm, slit 7,  
 Em.  $\lambda = 405$  nm, Slit 4)

検討を行なった。すなわち PAH として 3,4-ベンズピレンを用い、これについて前記 HSLC 測定操作に従って操作を行ない検量線を作製し、Fig. 5 に示す。ただし、HSLC-FP の場合の励起波長は 384nm、けい光波長は 405nm とした。Fig. 5 にみられるように UV では 10—100ng、FP では 0.1—1.0ng の範囲で、いずれも直線性を示している。またそれらの検出限界は S/N=3 とし

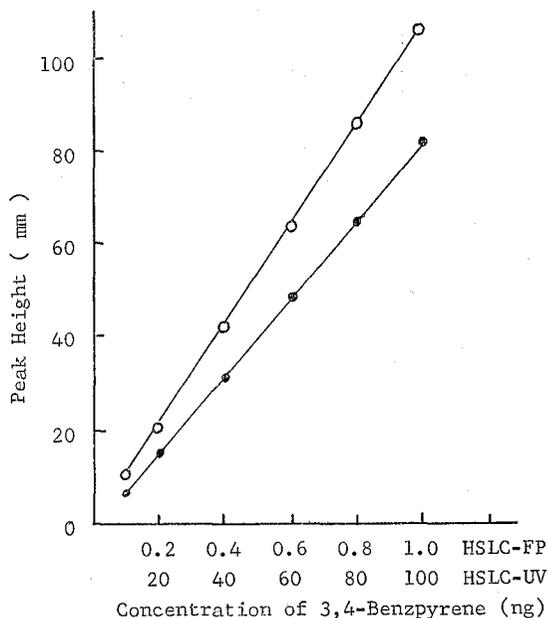


Fig. 5. Calibration Curves of 3,4-Benzpyrene

○—○ : HSLC-FP (Ex.  $\lambda = 384$  nm, Slit 7,  
 Em.  $\lambda = 405$  nm, Slit 4)  
 ●—● : HSLC-UV (Range  $2 \times 10^{-2}$  AUFS)

それぞれ 0.6ng, 0.05ng で、FP は UV の約 100 倍の感度を有していることが認められた。

今回著者らが多環芳香族炭化水素の高感度分析法について検討した目的は、近年 3,4-ベンズピレンを含有するとの理由で問題となっているカーボンブラックの分析を

行なうことにあった。そこで製造方法あるいは粒子の大きさの異なるカーボンブラック3種についてつぎの実験を行なった。すなわちカーボンブラック40gをとり、ソクスレー抽出器を用いて、ベンゼンで30時間抽出したのち、ベンゼン抽出液を1mlに濃縮し、この液についてHSLCを行なった。そのクロマトグラムをFig. 6に示

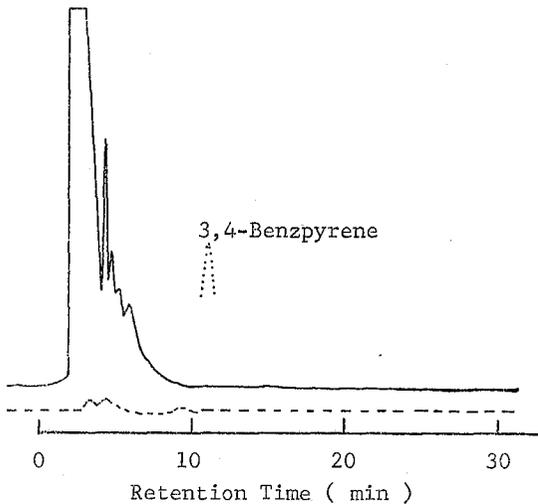


Fig. 6. High Speed Liquid Chromatogram of Carbon Black  
 —: HSLC-UV (Range  $2 \times 10^{-2}$  AUFS)  
 .....: HSLC-FP (Ex.  $\lambda=384$ nm, Slit 7, Em.  $\lambda=405$  nm, Slit 4)

すが、これからは3,4-ベンズピレンのピークはみられない。そこで添加回収実験を行なう目的で、カーボンブラック40gをソクスレー抽出器にとり、これに3,4-ベンズピレン100ngを少量のベンゼンに溶かして添加したのち、ベンゼンで30時間抽出し、この液を濃縮してHSLCを行なったところ、この濃縮液からも3,4-ベンズピレンはほとんど検出されなかった。そこで抽出液として塩化メチレン、メタノール、*n*-ヘキサン、アセトン、ピリジンを用いて同様に抽出操作を行なったが、これからも3,4-ベンズピレンは検出されなかった。このことはカーボンブラックの強い吸着性によるためであると考えられ、今後その抽出法について検討する予定である。

### 結 論

1. HSLC による多環芳香族炭化水素特に 3,4-ベン

ズピレンの分離は、カラム充てん剤として Permaphase ETH, 移動相メタノール・水 (1:1), カラム温度50°で満足すべき結果が得られた。

2. 3,4-ベンズピレンは、けい光検出器 (Ex.  $\lambda$  384 nm, Em.  $\lambda$  405 nm) を用いると高感度で検出され、その検量線は3,4-ベンズピレン量 0.1-1ng において直線性が認められ、その検出限界は 0.05ng であった。

3. カーボンブラック中の3,4-ベンズピレンを分析するため、ソクスレー抽出器を用いて添加回収実験を行なったところ、ほとんど抽出されないことがわかり、この点については今後検討する予定である。

### 文 献

- Wynder, E. L. and D. Hoffmann: *Nature*, 192, 1092, 1961
- 寺山宏, 松本光男: 化学発ガンと分子生物学, 14, 1967, 共立出版
- 松下秀鶴, 江角凱夫, 鈴木彰: 分析化学, 21, 1470, 1972
- Snook, M. E., W. J. Chamberlain, and R. F. Severson: *Anal. Chem.*, 47, 1155, 1975
- Lee, M. L. and A. H. Ronald: *ibid.*, 48, 1890, 1976
- 松下秀鶴, 江角凱夫, 山田郁夫: 分析化学, 19, 951, 1970
- 松下秀鶴, 嵐谷奎一, 中沢誠: 大気汚染研究, 9, 600, 1974
- 白石慶子, 白鳥つや子, 高畑英伍: 食衛誌, 14, 173, 1973
- Lijinsky, W., I. Domskey, and G. Mason: *Anal. Chem.*, 35, 952, 1963
- Papl, M., M. Stejskal, and J. Mostecky: *ibid.*, 47, 1947, 1975
- Pierce, R. C., M. Katz: *ibid.*, 47, 1943, 1975
- Lao, R. C., R. S. Thomas, and H. Oja: *ibid.*, 45, 908, 1973
- 松下秀鶴: 化学の領域, 28, 118, 1974
- Boden, H.: *J. Chromatog. Sci.*, 14, 391, 1976
- Krustulovic, A. M., D. M. Rosic, and P. R. Brown: *Anal. Chem.*, 48, 1383, 1976

## スズの原子吸光分析法

江波戸 擧 秀\*, 原 田 裕 文\*

### The Atomic Absorption Determination of Tin

KIYOHIDE EBATO\* and HIROFUMI HARADA\*

A simple method for the determination of tin by atomic absorption spectrophotometry with an air-hydrogen flame after extracting tin (II) iodide with benzene is described. The outline of the procedure is as follows: Twenty ml of sample solution adjusted acidity to 10 N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was taken into a separatory funnel. Two ml of HClO<sub>4</sub> and 2ml of 75%KI solution were added. Then tin iodide was extracted with 10 ml of benzene, shaken with 10 ml of 0.5 N-HCl for reextraction of tin, and the tin in the aqueous phase was determined by atomic absorption spectrophotometry. The limit of detection was 0.05 ppm of tin, the average recovery of tin added to canned and foods was 99.0%, and the coefficient of variation was 1.9%. The presence of more than hundred times as much heavy metals, except Cu, did not interfere the detection of tin by this method.

#### 緒 言

スズの定量法には比色法<sup>1-4)</sup>, ポーラログラフ法<sup>5)</sup>, 原子吸光光度法<sup>6-13)</sup>などがある。このうち比色法は, 感度の点では他の二法より優れているが, 操作がはん雑で再現性にもやや難点がみられ, またポーラログラフ法も感度および操作の点では満足できても, 金属水銀を多量に使用するため, 分析者の健康管理上問題がある。これに対して原子吸光光度法は, 操作の簡便性, じん速性および再現性にすぐれており, 感度の点では前記の二方法よりやや劣っているが, 多数の検体を処理するには最も適した方法といえる。さらに近年, この原子吸光光度法の感度は, 従来用いられているアセチレン-空気炎<sup>7-9)</sup>を水素-空気炎<sup>12-14)</sup>に変えることによって上昇することが見出され, その活用が期待されている。しかし, 水素-空気炎はフレーム温度が低く, 共存元素の干渉をうけやすい欠点があり, 試料によっては誤まった結果を得ることになる。そこで今回, このような共存物質による干渉作用を除くため, スズのヨウ化物を生成させたのち, ベンゼン抽出し, スズを塩酸に転溶させて原子吸光分析する方法について検討したところ, 満足できる結果が得られたので報告する。

#### 実験方法

**試薬** 硫酸, 硝酸は精密分析用を, その他の試薬は特級品を用い, また水はイオン交換樹脂を通した脱イオン水を用いた。

1) スズ標準溶液: 和光純薬(株)製原子吸光分析用スズ標準溶液(SnCl<sub>2</sub>: Snとして1,000ppm)を使用のつど希釈して用いる。2) 飽和シュウ酸アンモニウム溶液, 3) 75%ヨウ化カリウム溶液(用時調製): ヨウ化カリウム75gに水を加えて100mlとする。4) 10N硫酸, 5) 0.5N塩酸

**装置** 1) 原子吸光装置: 日本ジャーレルアツシュ社製AA-8500型, 2) バーナーヘッド: 水冷式10cmスリットバーナー, 3) 光源: ウェスチングハウス社製スズ中空陰極ランプ, 4) 記録計: 理科電機工業(株)製B-28 Mark II型

**試験溶液の調製** 試料5-10gをケルダールフラスコにとり, 硝酸10-20mlを加えておだやかに加熱し有機物の大部分を分解したのち, 硫酸5mlを加えて濃縮する。硫酸の白煙が生じたら放冷し, 硝酸2-3mlを加えて再び加熱し白煙が生ずるまで濃縮する。この操作を溶液が透明になるまでくりかえし行ない完全に有機物を分解する。さらに飽和シュウ酸アンモニウム5mlを加えて白煙の生ずるまで加熱し, この操作を2-3回くりかえし硝酸を完全に除去する。放冷後, 硫酸10mlを加え, さらに水を加えて全量を50mlとし, これを試験溶液とする。

**定量操作** あらかじめ酸濃度を10N硫酸に調整した試験溶液20mlを100mlの分液ロートにとり, これに75%ヨウ化カリウム溶液2ml, 60%過塩素酸2mlを加え

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

て混和したのち、ベンゼン 10ml を加えて3分間振とうする。静置して水層を除いたのち、ベンゼン層に60%過塩素酸 10ml を加え3分間振とうし、ベンゼン層の析出物を除去する。静置後、ベンゼン層を分取し、これに0.5N 塩酸 10ml を加え、ふたたび3分間振とうする。振とう後、ベンゼンが混入しないように注意して、0.5N 塩酸層をとり、これを原子吸光分析用試料液とする。測定条件は Table 1 に示す。

Table 1. Analytical Conditions of Tin

Wave length	224.6nm
Lamp current	8mA
Hydrogen flow rate	8.0 liter/min
Hydrogen gas pressure	0.4Kg/cm <sup>2</sup>
Air flow rate	6.0 liter/min
Air gas pressure	1.5Kg/cm <sup>2</sup>
Burner	slit burner

Instrument : Nippon Jarrell-Ash Model A-A 8500  
Type

#### 実験結果および考察

**スズのヨウ化物生成条件** 硫酸濃度とヨウ化カリウム添加量：スズの測定を障害する共存物質を除去する目的で、本法では試験溶液中のスズをヨウ化物として抽出しているが、この場合の至適硫酸濃度とヨウ化カリウム添加量について検討した。すなわち、5ppm のスズを含有する液の硫酸濃度を2, 4, 6, 8, 10N の5段階に調整し、これらの20ml に30, 45, 60, 75%の4段階に調整

したヨウ化カリウム溶液をそれぞれ2ml ずつ添加する。この液について前記の定量操作法にしたがい、操作してスズを定量した結果を Fig. 1 に示す。Fig. 1 に示すようにスズのヨウ化物生成は、硫酸およびヨウ化カリウムの濃度によりいちじるしく影響をうけるが、いずれも両者の濃度が高いほどヨウ化物の生成が良く、75%ヨウ化カリウム溶液を用いた場合は、硫酸濃度が6N以上であれば抽出率は96%以上となる。そこで本法では硫酸濃度を10Nとし、75%ヨウ化カリウム溶液 2ml を添加することとした。なお山畑<sup>2)</sup>はスズのヨウ化物生成にヨウ化ナトリウムを使用し、その反応時間を20分間としているが、ヨウ化カリウムを使用した場合の反応時間について検討したところ、放置時間に関係なく定量的にヨウ化物の生成が認められたので、ヨウ化カリウム添加後ベンゼンの抽出操作をただちに行なった。

**過塩素酸添加量**：スズのヨウ化物生成に際して、過塩素酸の存在が必要である。すなわち、5ppm のスズを含有する試験溶液を用い、これに過塩素酸を添加した場合と添加しない場合の両者についてスズの定量操作を行なったところ、過塩素酸が存在しない場合はその定量値が一定せず、バラツキがみられたが、過塩素酸が存在する場合は再現性よく定量値は一定であることが認められた。そしてこのときの過塩素酸添加量について検討した結果、60%過塩素酸を2ml 添加すればよいことがわかった。

**ベンゼン層の洗浄**：試験溶液からスズのヨウ化物を抽出したベンゼン層には析出した反応生成物が混入しており、これがスズの定量値に誤差を与えることが認められたが、この析出物は酸に溶解するため、ベンゼン層を酸で洗浄すれば、満足する定量値の得られることがわかった。この洗浄用の酸として塩酸、硫酸、硝酸を用いた場合には、ベンゼン中のスズがそれぞれの酸に移行し、定量値に大きなバラツキを生ずる。しかし、このとき40%以上の過塩素酸を用いると、定量値が一定となることが認められた。そこで本法では60%の過塩素酸 10ml を用いてベンゼン層の洗浄を行なうこととした。

**塩酸抽出条件** ベンゼン層からスズを逆抽出するための塩酸至適濃度を求めるため、塩酸溶液0-6Nの範囲で変動させ検討した結果を Fig. 2 に示す。Fig. 2 でみられるとおり塩酸濃度0.3-1Nの範囲で吸光度は最も高い値を示したため、スズの抽出用塩酸濃度を0.5Nとした。またこの場合、塩酸中に混入するベンゼンが原子吸光分析法によるスズの測定値におよぼす影響も考えられることから、ベンゼンを除去する目的で塩酸溶液を沸とう水浴中で10分間加温したところ、加温操作をしない場

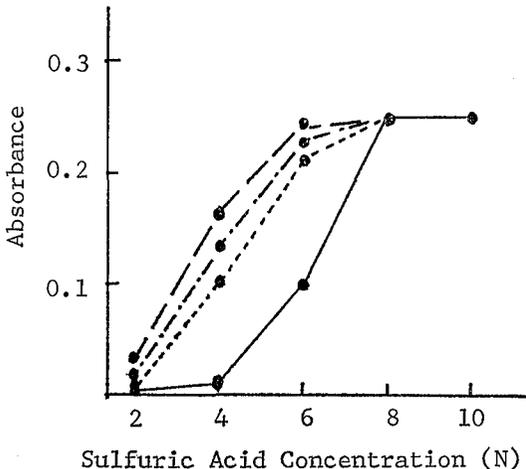


Fig. 1. Effects of Concentration of Sulfuric Acid and Potassium Iodide on Tin Absorbance Prepared Solution : 10 ppm of Tin

●- - - ● : 75% KI    ●- ···- ··· : 60% KI  
●······● : 45% KI    ●——● : 30% KI

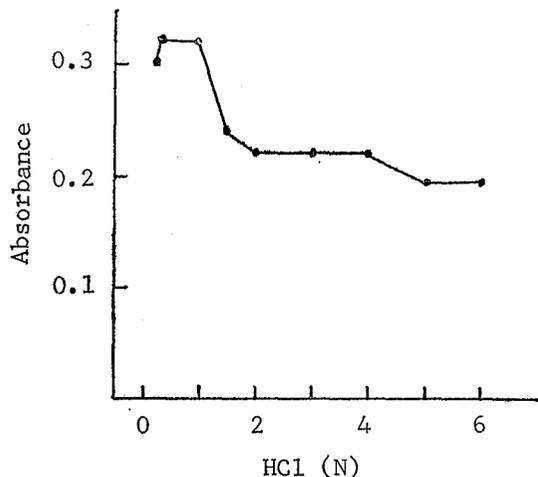


Fig. 2. Extraction of Tin by Hydrochloric Acid from Benzene Layer  
Prepared Solution : 10 ppm of Tin

合と比較して吸光度に差はみられず、一定値を示したため、ベンゼンによる障害はないことがわかった。つぎに振とう時間とスズの抽出量について検討したところ、振とう時間が1分間以上であれば吸光度が一定となることが認められたので、本法ではこれを3分間とした。

**共存物質の影響** 金属イオン：本定量法に対する各種金属イオンの障害について検討した結果はつぎのとおりである。すなわち、スズに対して  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{W}^{6+}$  の各100倍量を添加して定量操作を行なったところ、いずれもスズの定量に障害を及ぼさないことが認められた。しかし、 $\text{Cu}^{2+}$  はスズの100倍量の添加により吸光度に約10%の負の誤差を与えることがわかった。

Table 2. Recovery of Tin Added to Canned Foods by the Presented Method

Sample	Weight of samples (g)	Tin			
		Blank value (g)	Added ( $\mu\text{g}$ )	Found ( $\mu\text{g}$ )	Recovery (%)
Grape drink	5	5.0	30	34.0	97.1
Grape drink	5	2.7	30	32.4	99.1
Orange drink	5	2.7	30	32.4	99.1
Orange drink	5	43.0	30	74.3	101.8
Apple drink	5	36.0	30	62.0	94.0
Tomato juice	5	38.7	30	67.8	98.7
Tomato juice	5	19.5	30	50.0	101.0
Salted shrimp	5	52.4	20	81.5	98.9
Corn beef	5	4.0	30	33.0	97.1
Tuna flake	5	7.0	30	37.0	100.0

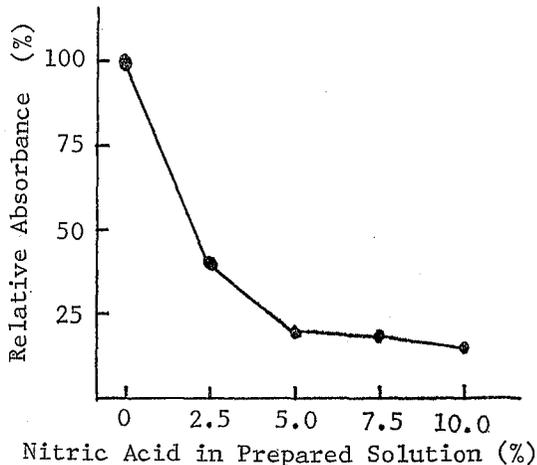


Fig. 3. Effect of Nitric Acid Concentration in Prepared Solution of 10 N Sulfuric Acid

酸：一般に金属を溶媒抽出する目的でキレート化するとき、硝酸イオンの存在が障害する場合が多いことから、本法についても硝酸イオンの影響を検討した。すなわち、スズを含有する試験溶液に各濃度の硝酸を添加してスズを定量したところ、Fig. 3に示すような結果が得られた。これによると試験溶液中に2.5%の硝酸が存在すると吸光度は約60%減少し、硝酸の共存によってスズの定量値にいちじるしい影響を与えるので硫酸硝酸湿式分解で試料を処理した場合は、試験溶液中の硝酸を完全に除去する必要がある。なお硝酸以外の酸による本法への障害はみられなかった。

**検量線** スズ標準溶液を希釈し、スズ0, 2, 4, 6, 8, 10ppmの標準系列を作成したのち定量操作の項により、それぞれ抽出操作を行ない、Table 1の測定条件により吸光度を求めて検量線を作成したところ、Fig. 4に示

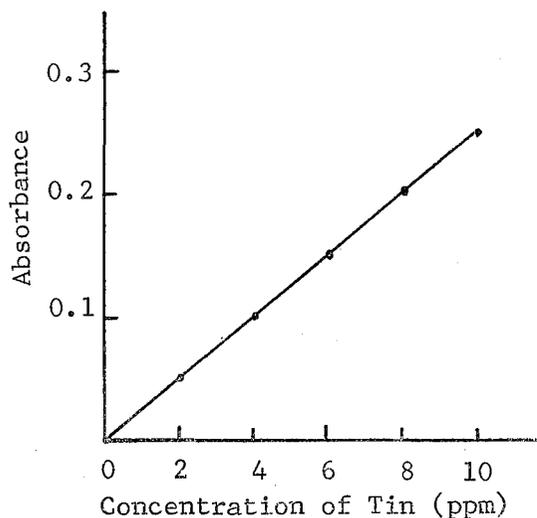


Fig. 4. Calibration Curve for Tin

すようにスズは0~10ppmの範囲で良好な直線性が得られ、その検出限界は0.05ppmであった。

**添加回収実験** 市販されている7種10検体のかん詰食品を用いて、スズの添加回収実験を行なった。すなわち、試料5gをとり、これにスズ30 $\mu$ gを添加したのち、前記試験溶液の調製の項にしたがって試験溶液を調製し、その一定量または全量を取り、スズを測定し回収率を求めた。Table 2より、実際試料へ適用した場合の平均回収率は99%であった。さらに本法の測定精度を確認するため、前記定量操作の項にしたがい、スズ10ppmを含む標準試験溶液を用いて10回くりかえし測定を行なったところ、吸光度の平均値0.31、標準偏差0.85、変動係数1.9%であった。

### 結 論

従来行なわれている原子吸光光度法によるスズの定量法は、感度の点で比色法、ポーログラフ法より劣っていたが、フレームとして水素-空気炎を用いることにより感度が上昇し、スズの微量定量法として十分活用できることが認められた。しかし、水素-空気炎の温度が比

較的低いため、共存する金属などの障害を受けやすい欠点がある。そこでこれら共存物質の障害を除去する目的で、試験溶液中のスズをヨウ化物としてベンゼン抽出し、さらにこのベンゼン中のスズを塩酸溶液に転溶させる方法について検討し、満足できる結果を得ることができた。すなわち、酸濃度を10N硫酸に調整した試験溶液に75%ヨウ化カリウム溶液2mlを加えたのち、ベンゼンを用いて抽出し、さらに0.5N塩酸で逆抽出することによりスズは精度よく定量でき、添加実験による回収率も平均99%、また10回くりかえし実験による変動係数も1.9%と良好な結果が得られた。

### 文 献

- 1) 中村幸男, 上和田幸子: 食衛誌, 14, 352, 1973
- 2) 山畑麗位子, 楠山 尚, 小西一生: 分化, 20, 223, 1971
- 3) 日色和夫, 田中 孝, 白井豊三, 山本勇麓: *ibid.*, 18, 363, 1969
- 4) Gregory, G. R. E. C. and P. G. Jeffery: *Analyst.*, 92, 293, 1967
- 5) 林 英夫: 分化, 18, 58, 1969
- 6) Price, W. J. and J. T. H. Roos: *J. Sci. Fd. Agric.*, 20, 437, 1969
- 7) 白石慶子, 葛原由章, 末永良二: 食衛誌, 13, 97, 1972
- 8) 佐藤直樹, 霍田克彦, 鎌田 勲, 成田静一, 虻川宏: *ibid.*, 14, 245, 1973
- 9) 松尾 力, 志田惇一, 中村長平: 分化, 20, 697, 1971
- 10) 寺島 滋: *ibid.*, 24, 319, 1975
- 11) Kahn, H.L. and J.E. Schallis: *At. Abs. Newslett.*, 7, 5, 1968
- 12) 鈴木健次郎, 森 光国: 食衛誌, 12, 4, 1971
- 13) 岡田敏史, 志村 博, 吉村 淳, 寺島敏雄: 衛生化学, 15, 351, 1969
- 14) Harrison W.W. and P.O. Juliano: *Anal. Chem.*, 41, 1016, 1969

東京都における水銀汚染の実態について (第4報)  
魚介類中の水銀含有量調査

雨宮 敬\*, 竹内正博\*, 伊藤弘一\*  
江波戸 學秀\*, 原田裕文\*

Survey of Pollution with Mercury in Tokyo (IV)  
Mercury Content of Fish and Shellfish

TAKASHI AMEMIYA\*, MASAHIRO TAKEUCHI\*, KOICHI ITO\*,  
KIYOHIDE EBATO\* and HIROFUMI HARADA\*

Fifty samples of fish and shellfish obtained at the Tokyo central wholesale market were analysed for both total and methyl mercury, in order to monitor mercurial pollution of the sea food. The highest levels detected were 1.79ppm of total mercury and 1.55ppm of methyl mercury in a Kinmedai (*Beryx splendens*). The fish species in which relatively high levels of total mercury were present were Akamadai (*Branchiostegus japonicus*), 0.20ppm; Kamasu (Barracuda, *Sphyræna japonica*), 0.32ppm; Kinki (*Sebastes macrochir*), 0.35 ppm; and Mutsu (*Scombroproops*), 0.46 ppm respectively. Deep-sea fishes had contained more amount of mercury than the fishes of continental shelf. In average most of fishes, other than the ones mentioned above, contained some around 0.10ppm of total mercury.

緒 言

著者らは食品汚染調査の一環として、魚介類中の総水銀 (T-Hg と略す) 量およびメチル水銀 (Me-Hg と略す) 量を調査し、すでに前報<sup>1-3)</sup>において報告したが、昭和51年度においてもひきつづき魚介類の水銀量を測定したので報告する。

実 験 方 法

1. 試料 昭和51年4月から52年3月までの1年間に東京中央卸売市場から搬入された魚介類で25種50検体である。

2. 操作および定量

2-1 総水銀 試料を厚生省通達<sup>5)</sup>にしたがってホモジナイズし、一定量を分解フラスコにとり還流冷却しながら硫酸湿式分解を行い、水銀分析計 (島津製 UV-201型) を用いて測定した。

2-2 メチル水銀 2-1でホモジナイズした試料の一定量に塩酸を加え、振とうして均一にしたのちベンゼンで抽出し、遠心分離を行い、システインで抽出したのち酸性としてベンゼンで再抽出してこれを ECD 付ガスクロマトグラフ (島津製 GC-5AP<sub>3</sub>EF型 <sup>3</sup>H 線源使用) で分析した。また一部の試料ではあるがベンゼンおよび

システイン抽出時にエマルジョンを形成して分析が困難となるものについては FDA 法を若干改良したアルカリ分解による方法<sup>4)</sup>を用いて同社製の機器で分析した。

結果および考察

実験の結果を Table 1 に示す。結果は前報<sup>1)</sup>の総水銀およびメチル水銀の回収率実験にしたがって補正した。

厚生省通達<sup>5)</sup>では魚の体長によって大型魚 (60cm 以上のもの)、中型魚 (20cm 以上 60cm 未満のもの)、小型魚 (20cm 未満のものおよび貝類) に分類している。

今回の調査に用いた試料は25種50検体で、その内訳は中型魚20種で、全体の80%を占め、残りは小型魚であった。大型魚については今回は調査を行わなかった。

今回の調査において、キンメダイおよびムツはいずれも暫定規制値をこえており、総水銀量はそれぞれ1.79 ppm, 0.46ppm であった。とくにキンメダイのそれは今回の調査結果中最高値であり、暫定規制値である0.40 ppm をはるかにうまわっていた。また、前3報<sup>1-3)</sup>においても、キンメダイの総水銀含有量の平均値は、0.74 ppm<sup>1)</sup>, 0.42ppm<sup>2)</sup>, 0.93ppm<sup>3)</sup> であり、いずれも高値であった。

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Mercury Content of Muscle in Fish and Shellfish

Sample Name	N	T-Hg (ppm)		Me-Hg (ppm)		Me-Hg/T-Hg (%)	
		Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean
1 Akaamadai <i>Branchiostegus japonicus</i>	10	0.12—0.32	0.20	0.09—0.27	0.16	68.4—91.7	80.0
2 Aji (Horse-mackerel) <i>Trachurus trachurus</i>	2	0.04—0.08	0.05	0.03—0.04	0.04	50.0—75.0	62.5
3 Isaki <i>Parapriatipoma trilineatum</i>	1	0.08		0.04		50.0	
4 Iwashi (Sardine) <i>Sardinops melanosticta</i>	5	0.02—0.03	0.03	0.01—0.03	0.02	33.3—100	63.3
5 Kamasu (Barracuda) <i>Sphyræna japonica</i>	2	0.29—0.34	0.32	0.21—0.27	0.24	72.4—79.4	75.9
6 Karei (Flatfish) <i>Limanda herzensteini</i>	1	0.08		0.07		87.5	
7 Kinki <i>Sebastolobus macrochir</i>	1	0.35		0.27		77.1	
8 Kinmedai <i>Beryx splendens</i>	1	1.79		1.55		86.6	
9 Konoshiro <i>Clupanodon punctatus</i>	1	0.02		0.01		50.0	
10 Saba (Mackerel) <i>Pneumatophorus japonicus</i>	3	0.13—0.17	0.15	0.10—0.12	0.11	62.5—92.3	73.2
11 Sawara <i>Scomberomorus nipponius</i>	1	0.08		0.06		75.0	
12 Sanma (Mackerel pike) <i>Cololabis saira</i>	1	0.06		0.05		83.3	
13 Suketoudara <i>Theragra chalcogramma</i>	3	0.03—0.17	0.09	0.02—0.14	0.07	66.7—82.4	71.9
14 Suzuki (Perch) <i>Lateolabrax japonicus</i>	1	0.09		0.07		77.8	
15 Takabe <i>Labracoglossa argentiventris</i>	2	0.13		0.10		76.9	
16 Hamachi <i>Seriola quinqueradiata</i>	1	0.08		0.06		75.0	
17 Hamo (Sea eel) <i>Muraenesox cinereus</i>	1	0.14		0.10		71.4	
18 Hirame (Flounder) <i>Paralichthys olivaceus</i>	1	0.09		0.07		77.8	
19 Hokke <i>Pleurogrammus azonus</i>	2	0.08—0.11	0.10	0.07		63.6—87.5	75.6
20 Houbou (Gurnard) <i>Chelidonichthys kumu</i>	2	0.06—0.13	0.10	0.04—0.12	0.08	66.7—92.3	79.5
21 Mutsu <i>Scombrop boops</i>	1	0.46		0.40		87.0	
22 Makogarei <i>Limanda yokohamae</i>	1	0.04		0.01		25.0	
23 Kaki (Oyster)	2	0.03		0.01—0.03	0.02	33.3—100	66.7
24 Surumeika <i>Todarodes Pacificus</i>	3	0.06—0.09	0.07	0.04—0.05	0.05	44.4—83.3	61.6
25 Shijimi (Corbicula)	1	0.03		0.01		33.3	

N : number of samples

また、ムツについての前3報<sup>1-3)</sup>における総水銀量の平均値は0.36ppm<sup>1)</sup>, 0.49ppm<sup>2)</sup>, 0.28ppm<sup>3)</sup>であり、今回も1検体ではあったが0.46ppmを示した。両種とも過去3年間の調査では水銀含有量が高かったので、現在暫定規制の対象から除外されてはいるものの、常時摂取することはやはりさけた方がよいとおもわれる。また、東京都は昭和51年5月21日付で体長30cm以下の静岡県出荷のムツについては水銀含有量が低値であるた

め、これらのものについて自主規制を解除した<sup>6)</sup>。今回調査したムツは体長50cmのもので同種のものとしては、大型に属し、同種間でも水銀含有量は魚体の大きさに比例するといわれている。

メチル水銀についてみると、やはりキンメダイが高値で1.55ppmを示し、ムツは0.40ppmであった。キンメダイおよびムツの総水銀量に対するメチル水銀量の割合はキンメダイ86.6%およびムツ87.0%と高値であっ

た。両種とも水深300—400mの深海に生息する深海魚であり、過去3年間の調査同様に水銀含有量は高値であった。また、中型魚として前述の2種について比較的高値を示したものはアカアマダイ、カマスおよびキンキで、アカアマダイは、10検体について調査したところ最高値0.32ppmの総水銀を検出した。昭和50年度<sup>2)</sup>の調査においても1検体ではあるが0.50ppmの総水銀および0.40ppmのメチル水銀を検出している。キンキはカサゴ科に属す深海魚で総水銀0.35ppm、メチル水銀0.27ppmを示した。また、カマスは前報においては比較的低値で0.10ppm程度であったが、今回は2検体について調査したところ総水銀0.29ppm、0.34ppmを検出し、平均値0.32ppmであった。さらにメチル水銀は0.21ppm、0.27ppmで、平均値0.24ppmを示した。前報<sup>1-3)</sup>において調査したカマスはほとんど30cm以下のもので、今回のものは35cmおよび40cmもあり、かなり同種のものとしては大型であった。前述の水銀量と体長の関係を顕著にあらわしている。また、その他の中型魚についてはとくに高値を示したものはみられず、0.20ppm以下であった。

つぎに小型魚および貝類についてみると、小型魚はアジおよびイワシを調査したところ、すべて0.10ppm以下であった。貝類においても同様であった。

前回<sup>1-3)</sup>と今回の調査において、年次の推移をみると中型魚および小型魚とも多少の増減はあるが、顕著な差異は認められなかった。

## ま と め

1. 今回の調査に用いた魚介類は25種50検体である。
2. キンメダイおよびムツは暫定規制値をこえており、とくにキンメダイの総水銀およびメチル水銀量は暫定規制値の約4倍であった。
3. アカアマダイ、カマス、キンキは比較的高値を示した。
4. 前報同様に深海魚は高値であった。また、その他のものは、すべて0.20ppm以下であった。

謝辞 本調査に御便宜をはかっていたいただいた東京都衛生局環境衛生部乳肉衛生課の方々には深謝いたします。

## 文 献

- 1) 伊藤弘一、竹内正博、江波戸學秀、雨宮 敬、原田裕文、戸谷哲也：東京衛研年報、25、141、1974
- 2) 雨宮 敬、竹内正博、伊藤弘一、江波戸學秀、原田裕文、戸谷哲也：東京衛研年報、26-1、129、1975
- 3) 雨宮 敬、竹内正博、伊藤弘一、江波戸學秀、原田裕文、戸谷哲也、松本 茂：東京衛研年報、27-1、122、1976
- 4) 竹内正博、江波戸學秀、伊藤弘一、雨宮 敬、原田裕文、戸谷哲也：東京衛研年報、25、133、1974
- 5) 厚生省環境衛生局長通達：48衛環乳第423号昭和48年8月6日
- 6) 東京都衛生局環境衛生部長通達：51衛環乳第193号昭和51年5月18日

東京都におけるPCB汚染の実態について (第5報)  
食品中のPCB含有量調査

山崎清子\*, 山野辺秀夫\*, 鈴木助治\*  
小泉清太郎\*, 原田裕文\*

Survey of Pollution with Polychlorinated Biphenyls in Tokyo (V)  
Polychlorinated Biphenyl Content of Foods

KIYOKO YAMAZAKI\*, HIDEO YAMANUBE\*, SUKEJI SUZUKI\*,  
SEITARO KOIZUMI\* and HIROFUMI HARADA\*

Polychlorinated biphenyls (PCBs) concentrations were determined by gas chromatography in 244 samples including 150 fish, 10 shellfish, 19 meats, 15 dairy products, 10 eggs, 10 food wrappers and 20 human milk collected in Tokyo area. The level of PCBs in fish meat and shellfish was determined to be 0.04 ppm in average with a range of 0.00 to 0.74 ppm. In human milk, 0.019 ppm of PCBs in average with a range of 0.008 to 0.034 ppm was detected, however, the other samples contained only quite a small amount of PCBs. The PCBs level in fish meat was confirmed to have progressively decreased since the beginning of this surveillance in 1973.

緒言

わが国でポリ塩化ビフェニール(以下PCBと略す)汚染が発見されてからすでに6年を経過し、この間に行なわれた様々な行政措置によってPCBによる新たな汚染がみられなくなり、一般の関心は薄らいで来た。しかし、PCBはその安定性により環境中に長期間とどまるため、人体にとり込まれる危険性は依然として高く、そのため汚染の経路を引き続き監視していく必要がある。そこで前報<sup>1-4)</sup>に続いて東京都におけるPCB汚染の実態を把握するため、主として食品中のPCB含有量について調査を行なったので報告する。

実験方法

調査試料は1976年4月より1977年3月までに東京都内の市場および小売店から入手した。その内訳は魚47種類150検体、貝5種類10検体、食肉6種類19検体、乳製品3種類15検体、鶏卵10検体、包装紙10検体、牛乳10検体および都内在住の産婦から提供された母乳20検体、計65種類244検体である。操作および定量は前報<sup>1-4)</sup>と同様に、原則として厚生省の統一分析法に基づいて行ない、アルカリ分解法による前処理ののち、ECDガスクロマトグラフィーを用いてPCBを測定した。

結果および考察

Table 1に魚類の結果を示す。可食部については150検体中105検体からPCBが検出され、検出率70%、平均値は0.04ppmであった。ただし0.005ppm未満は不検出とした。最高値はサバの0.74ppmで、これは遠洋魚のPCB暫定規制値である0.5ppmを越えるものであるが、サバ10検体のうち大きな値を示したものはこの1検体のみで、他は0.02-0.20ppm、平均0.06ppmと低く、この魚種全体の汚染を表わしているものではない。そのほか比較的高い値を示すものにはスズキ0.10-0.29ppm、平均0.20ppm、ボラ0.24-0.35ppm、平均0.30ppmがあるがいずれも暫定規制値以下である。検体数が比較的多い魚種について平均値を前報<sup>2-4)</sup>と比べたものをTable 2に示す。このうち特に大きな変動のあったものはコノシロで、可食部、内臓とも今回の値は過去3年間の数値を大きく下まわっている。またサバ、イワシも1973、74年度に比べて75、76年度は若干の減少がみられるが、アジ、ボラのPCB含有量にはほとんど変動がみられない。しかしTable 3に示すように各年度の魚全体の結果をみると、0.05ppm以下を示す試料の割合が1973年度から順に60%、74%、80%、85%と増え、平均値も1973年から順に0.15ppm、0.09ppm、0.06ppm、0.04ppmと低下し、明らかにPCBの減少傾向がみられる。

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Concentrations of PCB in Fishes

Sample	PCB concentration in fish meat (ppm wet wt.)			PCB concentration in internal organ (ppm wet wt.)		
	N	Range	Mean	N	Range	Mean
Ainame (rock trout, <i>Hexagrammos otakii</i> )	1		0.04	1		0.11
Aji (horse-mackerel, <i>Trachurus trachurus</i> )	8	0.00—0.18	0.04	8	0.00—1.08	0.17
Anago (conger, <i>Astroconger myriaster</i> )	3	0.01—0.24	0.09	3	0.00—0.34	0.11
Anko (angler, <i>Lophius litulon</i> )	2		0.00	2	0.02—0.42	0.22
Bora (gray mullet, <i>Mugil cephalus</i> )	2	0.24—0.35	0.30	2	0.24—0.82	0.53
Buri (yellow tail, <i>Seriola quinqueradiata</i> )	6	0.02—0.13	0.07	6	0.07—0.50	0.22
Gatora ( <i>Fugu rubripes chinensis</i> )	1		0.00			
Hamo (sea eel, <i>Muraenesox cinereus</i> )	5	0.00—0.01	0.01			
Hatahata (sandfish, <i>Arctoscopus japonicus</i> )	2		0.02	2	0.00—0.02	0.01
Hirame (flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i> )	2		0.00	1		0.02
Hokke (atka mackerel, <i>Pleurogrammus azonus</i> )	3	0.00—0.04	0.02	3	0.00—0.04	0.02
Houbou (gurnard, <i>Chelidonichthys kumu</i> )	1		0.01	1		0.02
Isaki (grunt, <i>Parapristipoma trilineatum</i> )	2		0.01	2		0.01
Ishimochi (croaker, <i>Argyrosomus argentatus</i> )	2		0.00	2		0.01
Iwashi (sardine, <i>Sardinops melanosticta</i> )	7	0.02—0.08	0.04	7	0.03—0.10	0.06
Kamasu (barracuda, <i>Sphyraena japonicus</i> )	2	0.03—0.31	0.17	2	0.32—0.41	0.37
Katsuo (bonito, <i>Katsuwonus pelamis</i> )	8	0.00—0.03	0.01	8	0.00—0.07	0.02
Kisu (sillaginoid, <i>Sillago sihama</i> )	2		0.02	2	0.12—0.28	0.20
Koi (carp, <i>Cyprinus carpio</i> )	4	0.00—0.01	0.01	4	0.00—0.08	0.04
Konoshiro (gizzard shad, <i>Clupanodon punctatus</i> )	1		0.08	1		0.08
Kuruma-ebi (prawn, <i>Peraeus japonicus</i> )	1		0.06			
Madai (red sea bream, <i>Chrysophrys major</i> )	9	0.00—0.01	0.00	9	0.00—0.29	0.05
Madara (Pacific cod, <i>Gadus macrocephalus</i> )	1		0.01	1		0.16
Mafugu (fugu, <i>Fugu vermicularis porphyreus</i> )	2		0.01			
Magarei (flat fish, <i>Limanda herzensteini</i> )	7	0.00—0.01	0.01	7	0.01—0.05	0.03
Maguro (tuna, <i>Thunnus thynnus</i> )	4	0.02—0.33	0.11	1		0.03
Makajiki (spearfish, <i>Tetrapturus mitsukurii</i> )	1		0.17			
Masu (trout, <i>Oncorhynchus masou</i> )	1		0.09			
Mebaru (gopher, <i>Sebastes inermis</i> )	3	0.02—0.03	0.02	3	0.19—0.50	0.33
Megochi ( <i>Callionymus valenciennesi</i> )	1		0.01	1		0.15
Mejina (opaleye, <i>Girella punctata</i> )	1		0.01	1		0.10
Menuke (rockfish, <i>Sebastes matsubarai</i> )	1		0.01	1		0.24
Murasoi ( <i>Sebastes pachycephalus pachycephalus</i> )	1		0.02	1		0.10
Mutsu (Japanese bluefish, <i>Scombrops boops</i> )	3	0.02—0.04	0.03	3	0.09—0.24	0.15
Saba (mackerel, <i>Pneumatophorus Japonicus</i> )	10	0.02—0.74	0.13	10	0.01—0.90	0.18
Sake (salmon, <i>Oncorhynchus kete</i> )	3		0.00	3		0.00
Sanma (mackerel pike, <i>Cololabis saira</i> )	4	0.01—0.02	0.02	4	0.02—0.04	0.03
Shiira (dorado, <i>Coryphana hippurus</i> )	2	0.01—0.04	0.03	2	0.02—0.14	0.08
Suketo-dara (walleye pollack, <i>Theragra chalcogramma</i> )	7	0.00—0.01	0.00	6	0.02—0.12	0.06
Surume-ika (sagittated calamary, <i>Todarades pacificus</i> )	6	0.00—0.01	0.00	6	0.06—0.21	0.12
Suzuki (perch, <i>Lataolabrax japonicus</i> )	3	0.10—0.29	0.20	3	2.06—4.52	3.44
Taisho-ebi (prawn, <i>Penaeus orientalis</i> )	1		0.00	1		0.04
Tobiuo (flying fish, <i>Prognichthys agoo</i> )	2	0.00—0.01	0.01	2	0.01—0.02	0.02
Unagi (eel, <i>Anguilla japonica</i> )	2		0.04	2	0.00—0.01	0.01
Watarigani ( <i>Portunus trituberculatus</i> )	2	0.00—0.01	0.01	1		0.02
Yari-ika (squid, <i>Doryteuthis bleekeri</i> )	2		0.00	2		0.00
Yoroitachiuo ( <i>Hoplobrotula armata</i> )	1		0.00	1		0.00

N : number of samples

Table 2. PCB Concentrations by Year (Mean Value, ppm)

Year Sample	1973		1974		1975		1976	
	f.m.	i.o.	f.m.	i.o.	f.m.	i.o.	f.m.	i.o.
Aji	0.03	0.37	0.03	0.20	0.05	0.11	0.04	0.04
Bora	0.40	0.33	0.53	2.23	0.44	0.83	0.30	0.53
Konoshiro	0.44	0.50	0.41	0.29	0.39	0.27	0.08	0.08
Saba	0.20	0.42	0.27	0.75	0.05	0.05	0.13	0.18
Iwashi	0.08	0.10	0.08	0.11	0.03	0.02	0.04	0.06
Suzuki	0.44	0.50	—	—	0.40	8.80	0.20	3.44

f.m. : fish meat, i.o. : internal organ

Table 3. PCB Concentrations in Fish by Year

Year		1973	1974	1975	1976
Fish Meat	Number of Samples	130	86	70	150
	Mean (ppm)	0.15	0.09	0.06	0.04
	Percentage of Samples (<0.05ppm)	60	74	80	85
Internal Organ	Number of Samples	108	78	63	128
	Mean (ppm)	0.68	0.25	0.37	0.18
	Percentage of Samples (<0.5ppm)	83	88	92	95

Table 4. PCB Concentrations in Dairy Products

Sample	N	PCB concentration in wet material (ppm)		PCB concentration in extractable fat (ppm)	
		Range	Mean	Range	Mean
		Butter	6	0.00—0.03	0.01
Process cheese	4		0.00	0.00—0.01	0.00
Modified milk powder	5		0.00		0.00
Milk	10		0.00	0.00—0.06	0.03

N : number of samples

Table 5. PCB Concentrations in Meats

Sample	N	PCB concentration (ppm wet wt.)	
		Range	Mean
Pork	5	0.00—0.02	0.01
Pig liver	2		0.00
Beef	3	0.01—0.02	0.01
Cow liver	2	0.00—0.03	0.02
Chicken	5	0.01—0.03	0.02
Chicken liver	2		0.01
Hen's egg	10	0.00—0.01	0.00

N : number of samples

内臓については128検体中107検体にPCBが検出され、検出率84%、平均値0.18ppmであった。これらのうち高い値を示したものはスズキ4.52ppm、アジ1.08ppm、サバ0.90ppm、ボラ0.82ppmである。全体的に高濃度のもは平均値でスズキの3.44ppm、ボラの0.53ppmであった。アジおよびサバについては高い値を示す1検体を除外すると平均値はそれぞれ0.04ppm、0.10ppmとなる。0.50ppm以下を示す試料の割合を年度毎に比較すると1973年度から順に83%、88%、92%、95%と内臓についても可食部と同様にPCB低濃度魚が増加し、平均値も低下する傾向がみられる。このように、魚類全般からみるとPCB汚染は減少の傾向にあるが、一部の魚

種では依然として比較的高濃度の PCB が検出されている。例えばボラ、コノシロ、スズキなどであるが、これらは Table 2 に示したように各年度とも可食部、内臓ともに PCB 含有量が高い。このことは他の研究機関等の調査<sup>5-8)</sup>でも同様な結果が報告されている。魚類の PCB 濃度を左右する因子は環境中の PCB 濃度、魚の食性、食餌量、脂肪量、採取する季節など数多くあるが、総合的にみてボラ、コノシロ、スズキなどは PCB の濃縮傾向が強い魚種であることが推定される。

さらに、従来から PCB 濃度が高いとされ、水産庁が自主規制の対象としていた東京湾のスズキについて追跡調査をする機会を得た。すなわち羽田沖および葛西沖で採取したスズキ12検体について PCB の測定を行なったところ、0.35—1.88ppm の範囲で検出された。この数値はいずれも近海魚の暫定規制値 3 ppm よりは低いが、平均 1.03 ppm を示しており、前記東京湾以外で採取したスズキの 0.20 ppm を大きく上回っている。このことは東京湾の汚染が依然として高いことを裏付けており、今後さらに調査を続ける必要があると思われる。

貝類はアカガイ 1 検体、アサリ 1 検体、シジミ 3 検体、ハマグリ 3 検体、ミルガイ 2 検体について調査した。このうちアカガイおよびハマグリからは PCB は検出されず、アサリ 0.01 ppm、シジミ 0.01—0.06 ppm、平均 0.03 ppm、ミルガイ 0.01—0.02 ppm、平均 0.02 ppm であった。

乳製品 4 種類 25 検体について調査した結果を Table 4 に示した。全量中ではバター 6 検体のうち 5 検体から PCB を検出し、チーズ、牛乳、育児用粉乳からは検出されなかった。

肉類について豚肉、豚肝、牛肉、牛肝、鶏肉、鶏肝および鶏卵の PCB 測定結果を Table 5 に示したが、いずれも低い値であった。

容器包装紙は菓子用、ハム用包装紙および紙コップなど 10 検体について調査したが、PCB は検出されなかった。

母乳について、都内在住の産婦 20 人より出産後 1—4 週間の母乳の提供を受け、PCB を測定した。全検体から PCB を検出し、全乳中では 0.008—0.034 ppm、平

均 0.019 ppm、脂肪中では 0.25—1.12 ppm、平均 0.55 ppm であった。平均値を前報<sup>1-4)</sup>と比べると 1972 年度から各年度毎に 0.031 ppm、0.030 ppm、0.029 ppm、0.035 ppm、0.019 ppm となり、今回は比較的低い値を示している。

#### ま と め

都内で入手した魚類、貝類、肉類、乳製品、鶏卵、母乳、牛乳、包装紙について PCB を測定した。魚類ではサバの 1 検体から 0.74 ppm が検出されたが、これは遠洋沖合魚の暫定規制値 0.5 ppm を越えるものであった。また、東京湾で採取したスズキからは他地域で採取したものに比べて高濃度検出された。しかしボラ、コノシロ、スズキなど一部の魚種を除くと PCB 濃度は低く、年度毎に比較すると減少傾向がみられた。母乳は全検体から PCB が検出されたが平均値は例年よりも低い値であった。そのほか肉類、乳製品、包装紙等の試料は不検出あるいはきわめて微量であり、これらへの汚染はほとんどなかった。

謝辞 本調査に御協力いただいた東京都衛生局環境衛生部乳肉衛生課、食品監視課、母子衛生課ならびに経済局農林緑政部の方々に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 原田裕文、舘 照雄、植田忠彦、竹内正博、江波戸 譽秀、鎌田国広、戸谷哲也：東京衛研年報，23，111，1971
- 2) 山野辺秀夫、天川映子、鈴木助治、小泉清太郎、戸谷哲也：東京衛研年報，25，119，1974
- 3) 山野辺秀夫、天川映子、鈴木助治、小泉清太郎、戸谷哲也：東京衛研年報，26-1，134，1975
- 4) 鈴木助治、山崎清子、山野辺秀夫、小泉清太郎、戸谷哲也、松本茂：東京衛研年報，27-1，132，1976
- 5) 桜井憲三、山田隆雄、森静子：三重県衛研年報，21，56
- 6) 尼崎市衛研年報，3，69，1976
- 7) 清水忠司、水穂弘明：姫路市環境衛生研究所報，1，37，1976
- 8) 横浜市 PCB 問題連絡協議会：横浜市における PCB 水銀等対策と調査結果，4，1976

## タバコ中の塩素系農薬について

鎌田 国広\*, 山添 律子\*, 原田 裕文\*

### Survey of Chlorinated Pesticides in Cigarettes

KUNIHIRO KAMATA\*, RITSUKO YAMAZOE\* and HIROFUMI HARADA\*

Twenty two brands of domestic cigarette, 30 brands of foreign cigarette and 3 brands of cigar were investigated by means of gaschromatography on residue levels of organochlorinated pesticides. Each brand was analysed per unit of 20 pieces. It was found that all samples examined contained chlorinated pesticides such as DDT compounds and BHC isomers. The means of residue level of *p, p'*-DDT and total DDT in domestic cigarette, foreign cigarette, and cigar were 6.79  $\mu\text{g}$  and 8.95  $\mu\text{g}$ , 9.27  $\mu\text{g}$  and 20.47  $\mu\text{g}$ , and 198.2  $\mu\text{g}$  and 278.8  $\mu\text{g}$ , while in the case of  $\gamma$ -BHC and total BHC, the means were 0.44  $\mu\text{g}$  and 0.90  $\mu\text{g}$ , 0.51  $\mu\text{g}$  and 1.11  $\mu\text{g}$ , and 0.41  $\mu\text{g}$  and 0.81  $\mu\text{g}$ , respectively.

#### 緒 言

タバコ栽培時の害虫防除剤として、数年前までは多量の有機塩素系農薬が使用されていた。そのため、徧ら<sup>1)</sup>の報告によれば、昭和45年12月から46年3月までに購入した市販のタバコ中には高濃度の塩素系農薬が残留しており、さらにこの残留農薬は喫煙時の煙中にも混入することを認め、人体に有害な影響をおよぼすおそれのあることを警告している。一方この有機塩素系農薬の農作物への使用は、その高い残留性と毒性のために社会的な問題<sup>2-4)</sup>となり、昭和46年5月農作物中の残留量に基準<sup>5)</sup>を設定するとともに、使用禁止などの行政措置<sup>6)</sup>がとられている。この措置によって農作物が直接塩素系農薬に汚染されることはなくなったが、土壌などへの高い残留性のため、かつて使用した農薬による汚染は十分考えられる。このことから、使用禁止以後も食生活の安全性確保の観点から、野菜、果物中の農薬含有量を測定しているが、タバコについて調査した報告はみられない。そこで今回タバコ中の有機塩素系農薬含有量を測定したところ、若干の知見が得られたので報告する。

#### 実 験 方 法

1. 試料 試料は市販の国産紙巻タバコ22銘柄、外国産紙巻タバコ30銘柄(米産21銘柄、英国産5銘柄、オーストリア産2銘柄、仏産およびハンブルグ産の各1銘柄)および米産葉巻タバコ3銘柄の計55銘柄を昭和52年3月に東京都内において購入したものである。
2. 試薬  $\gamma$ -BHC標準溶液： $\gamma$ -BHC(和光純薬K.K.)

の原末10mgを正確に秤り *n*-ヘキサンに溶かして100mlとし標準原液とする。さらにこの標準原液1mlをとり *n*-ヘキサンを加えて100mlとし標準溶液を調製する。(この液1mlは1 $\mu\text{g}$ の $\gamma$ -BHCを含有し、用時調製する。)

$\alpha, \beta, \delta$ -BHC標準溶液： $\alpha, \beta$ および $\delta$ -BHC(和光純薬K.K.)各10mgを正確に秤り、以下 $\gamma$ -BHC標準溶液の項に従って調製した。

*p, p'*-DDT標準溶液：*p, p'*-DDT(和光純薬K.K.)10mgを正確に秤り、*n*-ヘキサンに溶かして100mlとし、さらに *n*-ヘキサンで10倍に希釈し、10ppm標準溶液とした。

*o, p'*-DDTおよび *p, p'*-DDEの各標準溶液：*o, p'*-DDT(和光純薬K.K.)および *p, p'*-DDE(和光純薬K.K.)の各10mgを正確に秤り、以下 *p, p'*-DDT標準溶液の項に準じて調製した。

*p, p'*-DDD および *o, p'*-DDD 標準溶液：*p, p'*-DDD (ANALYTICAL STANDARDS社製 NANOGEN® TDE) および *o, p'*-DDD (ANALYTICAL STANDARDS社製 NANOGEN® TDE) の各10ppmベンゼン溶液を使用した。

Heptachlor epoxide内部標準溶液：Heptachlor epoxide(和光純薬K.K.)10mgを正確に秤り、*n*-ヘキサンに溶かして100mlとし、さらに *n*-ヘキサンで500倍に希釈し、0.20ppm内部標準溶液とした。

フロリジール：フロリジール(合成ケイ酸マグネシウム)60~100mesh和光純薬K.K.製を用いた。

\* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

*n*-ヘキサン：残留農薬分析用試薬(和光純薬K.K.)を用いた。

3. 装置 i) ガスクロマトグラフ (GC) : (株) 島津製作所製GC-5 A型 (ECD,<sup>63</sup>Ni)

ii) Kuderna-Danish (以下KDと略す) 濃縮器

#### 4. 操作法

4-1 試験溶液の調製 タバコの根もとから約1cmの部分(フィルター付のタバコの場合にはフィルターの部分)を切り捨てさらに紙をとりのぞいた20本分のタバコの葉に*n*-ヘキサン200mlを加え室温で5日間浸漬したのち、ろ過し、残渣を*n*-ヘキサン50mlで2回洗浄する。洗液を抽出液に合せ、KD濃縮器を用いて約5mlまで濃縮し、KD濃縮器内を少量の*n*-ヘキサンを用いて洗浄し*n*-ヘキサン溶液と合せて無水硫酸ナトリウムで脱水したのちクリーンアップを行なう。すなわち、内径1cm、長さ15cmのカラム管にフロリジール2.5gを*n*-ヘキサンに含浸させて充てんしたカラム柱に、上記で得た濃縮液を

静かに注ぎ、さきの濃縮管を少量の*n*-ヘキサンで洗い、洗液をカラムに注ぎ、フロリジール上層の液がほとんどなくなるまで流下させる。つぎに毎分2mlの流速で*n*-ヘキサンを流し、流出液100mlの分画まで集める。ここに得た流出液を再びKD濃縮器に移し、農薬の揮散防止の目的で*n*-ノナン0.8mlを加えてから1ml以下に濃縮し、内部標準溶液4mlを加えたのち、全量を*n*-ヘキサンで5mlとし、これをGC用試験溶液とする。

#### 4-2 GCによる定量

GC測定条件 カラム：1.5% Silicone OV17 + 1.95% Silicone DCQF-1 (Unipor KS, 100~200mesh), 3mm×1mガラスカラム, 温度：試料注入部250°, カラム190°, 検出器250°, キャリヤガス：窒素60ml/min,

GC測定操作 上記の測定条件で設定したクロマトグラフにGC用試験溶液5μlを注入して得られたクロマトグラムから各農薬のピーク高を求め、内部標準物質であるHeptachlor epoxideのピーク高に対する比をそれぞ

Table 1. Contents of BHC and DDT in Various Domestic Cigarettes<sup>1)</sup>

Name	Weight(g)	$\gamma$ -BHC( $\mu$ g)	Total BHC( $\mu$ g)	<i>p,p'</i> -DDT( $\mu$ g)	Total DDT( $\mu$ g)
(A) Cigarettes					
1. Peace	18.4	0.16	0.45	1.90	2.92
2. SHINSEI	14.8	0.50	1.79	9.42	13.14
3. GOLDEN BAT	13.2	0.49	1.59	10.90	14.52
Average (cigarettes)		0.38	1.28	7.41	10.19
(B) Filter Cigarettes					
4. Peace (Long)	17.2	0.23	0.25	0.70	1.66
5. Ran	14.8	0.73	1.26	11.34	14.16
6. echo	13.2	0.35	0.88	3.92	5.62
7. Hope	14.4	0.21	0.50	7.96	9.74
8. Hope (Long)	16.0	0.44	0.92	14.20	18.04
9. CHERRY	14.8	1.03	1.46	4.80	10.22
10. Luna	13.2	0.70	1.28	5.94	7.54
11. Current	13.6	1.33	1.85	7.86	10.14
12. marina	15.2	0.38	0.64	3.94	5.10
13. Mine	16.4	0.29	0.54	3.84	5.10
14. Wakaba	14.8	0.20	0.47	7.32	8.84
15. hi-lite	15.2	0.44	0.98	6.60	8.16
16. HI-LITE (EXPORT)	15.6	0.19	0.48	4.16	6.30
17. Seven Stars	15.2	0.30	0.80	5.84	7.92
18. mini-star	11.6	0.07	0.25	2.46	3.50
19. JUST	14.4	1.07	1.54	16.40	19.20
20. MR, SLIM	16.4	0.18	0.43	6.60	8.34
21. MR, SLIM (Menthol)	15.6	0.16	0.37	8.16	10.50
22. mf	15.2	0.29	0.98	5.02	6.14
Average (Filter Cigarettes)		0.45	0.84	6.69	8.75
Average		0.44	0.90	6.79	8.95

1) Each brand was analysed per unit of 20 pieces.

Table 2. Contents of BHC and DDT in Various Foreign Cigarettes<sup>1)</sup>

Name		Weight (g)	$\gamma$ -BHC ( $\mu$ g)	Total BHC ( $\mu$ g)	$p,p'$ -DDT ( $\mu$ g)	Total DDT ( $\mu$ g)
(A) Cigarettes						
1. PALL MALL	U.S.A	18.4	0.11	0.28	4.24	27.24
2. LUCKY STRIKE	U.S.A	14.7	0.10	0.26	6.48	18.54
3. CAMEL	U.S.A	13.6	0.27	0.43	10.56	28.42
4. GAULOISES	FRANCE	17.2	1.72	1.99	10.60	14.90
Average (Cigarettes)			0.55	0.74	7.97	22.28
(B) Filter Cigarettes						
5. MULTIFILTER	U.S.A	13.2	0.34	0.74	10.00	27.44
6. Marlboro	U.S.A	16.5	0.38	0.91	6.00	7.94
7. Marlboro 100's	U.S.A	17.0	0.19	0.55	14.00	34.56
8. Winston	U.S.A	15.2	0.29	0.57	17.10	40.14
9. Winston (SUPER KINGS)	U.S.A	17.6	0.88	1.18	17.00	37.18
10. VIRGINIA SLIMS	U.S.A	14.0	0.19	0.51	12.00	35.86
11. HALF AND HALF	U.S.A	19.6	0.26	1.15	2.74	5.54
12. eVe	U.S.A	16.7	0.32	0.78	5.28	9.78
13. LARK	U.S.A	15.2	0.24	0.64	5.00	8.68
14. PALIAMENT 100's	U.S.A	16.4	0.40	0.83	14.80	35.54
15. SILVA THINS 100's	U.S.A	14.0	0.33	0.65	3.76	7.80
16. KENT	U.S.A	13.6	0.18	0.66	4.54	9.64
17. KENT (DELUXE LENGTH)	U.S.A	16.0	0.27	0.80	3.04	7.94
18. Salem	U.S.A	14.8	0.32	0.53	12.00	33.00
19. Salem (PREMIUM LENGTH)	U.S.A	17.6	0.38	0.68	9.20	27.64
20. TRUE	U.S.A	13.2	0.21	0.47	22.40	65.14
21. L and M	U.S.A	12.8	0.22	0.54	12.12	23.42
22. KOOL	U.S.A	14.4	0.08	0.19	4.86	18.04
23. SILK CUT (KING SIZE)	ENGLAND	16.9	0.26	0.81	3.86	5.96
24. Rothmans (KING SIZE)	ENGLAND	18.8	1.20	4.27	14.10	16.84
25. ROTHMANS INTERNATIONAL	ENGLAND	18.5	1.06	3.85	8.50	11.26
26. Perilly's	ENGLAND	18.7	1.01	2.93	5.52	7.08
27. Benson and Hedges	ENGLAND	16.1	0.07	0.27	10.08	12.70
28. OLD SPLENDOR	ENGLAND	16.6	1.28	2.35	11.64	14.04
29. MILDE SORTE	AUSTRIA	16.3	1.15	1.38	9.60	12.06
30. ATIKA	HAMBURG	18.0	1.57	2.00	7.16	9.68
Average (Filter Cigarettes)			0.50	1.16	9.47	20.19
Average			0.51	1.11	9.27	20.47

1) Each brand was analysed per unit of 20 pieces.

Table 3. Contents of BHC and DDT in Various Cigars<sup>1)</sup>

Name		Weight(g)	$\gamma$ -BHC( $\mu$ g)	Total BHC( $\mu$ g)	$p,p'$ -DDT( $\mu$ g)	Total DDT( $\mu$ g)
1) ROI TAN TIPS	U.S.A	52.2	0.58	1.10	75.6	134.2
2) Tiparillo	U.S.A	46.1	0.30	0.30	285.0	382.4
3) KING EDWARD	U.S.A	48.7	0.34	1.04	234.0	319.8
Average			0.41	0.81	198.2	278.8

1) Each brand was analysed per unit of 20 pieces.

れ算出して、別に作成した検量線からそれらの含有量を求める。

検量線の作成  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -BHCは0.001, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05ppmの濃度で、また *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDD, *p,p'*-DDT および *o,p'*-DDT は0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0ppmの濃度で、かついずれも内部標準物質 Heptachlor epoxide を0.16ppm含有する*n*-ヘキサン溶液を調製する。これらの5  $\mu$ l注入時におけるクロマトグラムから農薬/内部標準物質の波高比を求め、検量線を作成したところ良好な直線性を示した。

### 実験結果

国産ならびに外国産紙巻タバコおよび葉巻タバコにおける有機塩素系残留農薬の分析結果をTable 1~3に示した。

有機塩素系残留農薬としてBHC系とDDT系について検討したが、BHC系は $\gamma$ -BHCと総BHC、DDT系は*p,p'*-DDTと総DDTについて観らの報告と同様にタバコ20本あたりの測定値を $\mu$ g数であらわした。

但し総BHCは、 $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -BHCのそれぞれの測定値を、また、総DDTは、*p,p'*-DDT, *o,p'*-DDT, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDD, *p,p'*-DDEのそれぞれの測定値を加算した値である。なおこれらの有機塩素系農薬の同定はマスフラグメントグラフィーによって行なった。

1. BHC系農薬の残留量 タバコに残留している $\gamma$ -BHCの量は、国産紙巻タバコの場合、カレントが最高値1.33 $\mu$ gを示し、最小値はミニスターの0.07 $\mu$ g、平均0.44 $\mu$ gであった。一方外国産紙巻タバコでは、GAULOISESの1.70 $\mu$ gが最高値で、最小値はBENSON and HEDGESの0.07 $\mu$ g、平均0.51 $\mu$ gであった。また、葉巻タバコにおいては平均0.41 $\mu$ gであった。

総BHCの残留量は、国産紙巻タバコではカレントの

1.85 $\mu$ gが最高値で、最小値はミニスターの0.25 $\mu$ g、平均0.90 $\mu$ gであった。一方外国産紙巻タバコでは、ROTHMANS KING SIZEの4.27 $\mu$ gが最高値で、最小値はLUCKY STRIKEの0.26 $\mu$ g、平均1.11 $\mu$ gであった。なお葉巻タバコにおいては平均0.81 $\mu$ gであった。

2. DDT系農薬の残留量 国産紙巻タバコに残留する*p,p'*-DDT量は、ジャストが最高値16.40 $\mu$ gを示し、最小値はロングピースの0.70 $\mu$ g、平均6.79 $\mu$ gであった。一方外国産紙巻タバコでは、TRUEの22.40 $\mu$ gが最高値で、最小値はHALF and HALFの2.74 $\mu$ g、平均9.27 $\mu$ gであった。葉巻タバコにおいては、平均198.2 $\mu$ gと紙巻タバコの数十倍もの高い値を示した。

総DDTの残留量についてみると、国産紙巻タバコの最高値はジャストの19.20 $\mu$ g、最小値はロングピースの1.66 $\mu$ g、平均8.95 $\mu$ gであった。外国産紙巻タバコでは、TRUEの65.14 $\mu$ gが最高値で、最小値はHALF and HALFの5.54 $\mu$ g、平均20.48 $\mu$ gであった。また葉巻タバコにおいては*p,p'*-DDTと同様に平均278.80 $\mu$ gと高い値を示した。

### 考 察

今回検討した紙巻タバコ、葉巻タバコのすべての試料から予想されたとおり有機塩素系農薬が検出された。

紙巻タバコにおける今回の調査結果と6年前に行なった観らの報告との比較をTable 4に示した。Table 4から全般的にいえることは、タバコ中の残留農薬含有量が6年前と比較して明らかに減少しており、この減少の割合はBHC系農薬とDDT系農薬では大きな差がみられることである。すなわちBHC系は6年前の2/3~1/2程度の残留量を示しているのに対して、DDT系は1/10~1/15と大幅に減少している。また外国産と国産品とを比較するとBHC系もDDT系もすべて前者の残留量が多く、こ

Table 4. Chlorinated Pesticide Residue Contents in Cigarettes in 1971, 1977

Year	Sample	N	Content ( $\mu$ g)			
			$\gamma$ -BHC Mean (Range)	Total BHC Mean (Range)	<i>p,p'</i> -DDT Mean (Range)	Total DDT Mean (Range)
1971	Domestic Cigarette	17	0.61 (0.00—1.55)	2.06 (0.00—6.98)	79.2 (42.3—175.7)	131.1 (67.2—138.5)
	Foreign Cigarette	20	0.75 (0.00—2.13)	1.09 (0.00—3.83)	104.3 (73.0—224.0)	305.1 (150.9—593.4)
1977	Domestic Cigarette	22	0.44 (0.07—1.33)	0.90 (0.25—1.85)	6.79 (0.70—16.40)	8.95 (1.66—19.20)
	Foreign Cigarette	30	0.51 (0.07—1.72)	1.11 (0.19—4.27)	9.27 (2.74—22.40)	20.47 (5.54—65.14)

N : number of samples.

の点では網らの報告と一致している。

なお、今回の調査で、葉巻タバコ1本中に残留する  $p, p'$ -DDT 量および総 DDT 量は、国産紙巻タバコの約 30 本分の残留量に相当することがわかった。

今回おこなわれた調査は、有機塩素系農薬の使用禁止措置がとられてから数年間経過しているにもかかわらず、先きに述べた様に6年前に比べて減少しているものの、なおタバコ中から有機塩素系農薬が検出されたことは注目される。その要因の一つとして、化学的に安定で残留性の高い、特に土壤中においては  $\gamma$ -BHC 平均 6.5 年、 $p, p'$ -DDT 平均 10 年と残留期間が長い<sup>1)</sup> これらの有機塩素系農薬が、これまで多量に作物に散布されてきたため散布農薬の大部分が土壤中に残留し、その土壤中の有機塩素系農薬がタバコに移行したものと推定される。事実この土壤中の残留農薬の作物への移行については多くの研究者により報告<sup>2-11)</sup> がなされており、タバコにおいても例外ではないと考えられる。

網らの報告によるとフィルター付紙巻タバコに残留する  $p, p'$ -DDT 量の 6.2%，総 DDT 量の 9.42%，またフィルターなしの場合  $p, p'$ -DDT 量の 14.7%，総 DDT 量の 19.5% が喫煙時の煙中に移行することを認め、これらは直接呼吸器を通して体内に取り込まれるであろうと述べている。このデータを今回調査した紙巻タバコのうち、高い残留量を示したフィルター付タバコのジャスト (国産)、TRUE (外国産) およびフィルターなしのタバコのゴールデンバット (国産)、CAMEL (外国産) に適用した場合、20本の喫煙によってジャストでは  $p, p'$ -DDT 1.02  $\mu\text{g}$ 、総 DDT 1.80  $\mu\text{g}$ 、TRUE  $p, p'$ -DDT 1.39  $\mu\text{g}$ 、総 DDT 6.14  $\mu\text{g}$ 、ゴールデンバット  $p, p'$ -DDT 1.60  $\mu\text{g}$ 、総 DDT 2.83  $\mu\text{g}$ 、CAMEL  $p, p'$ -DDT 1.55  $\mu\text{g}$ 、総 DDT 5.54  $\mu\text{g}$  を摂取することになる。

網らはこの煙中の農薬含有量を評価する指標として、米国における農薬の空気許容基準 1.0 mg/m<sup>3</sup> を用いている。そこで今回の結果についても網らと同様な方法で評価するため、上記煙中の  $\mu\text{g}$  数をさらにそれぞれ次式によって 1 m<sup>3</sup> 中の mg 数に換算した。

$$I = a \times \frac{100^3}{b} \times \frac{1}{1000}$$

I: 1 m<sup>3</sup> 中の含有量 (mg)

a: 20本あたりの煙中の含有量 ( $\mu\text{g}$ )

b: 20本分の煙の吸入量 (ml)

但し b については 5.6 l とした

その結果、総 DDT についてはジャスト 0.32 mg、TRUE 1.10 mg、ゴールデンバット 0.5 mg、CAMEL 0.99 mg の値が得られ、このうち TRUE がわずかではあ

る空気許容基準 1.0 mg をこえており、CAMEL も限度に近いことが認められた。そしてこのことが直ちに人体へ有害であるとはいえないにしても、やはり望ましいことではない。

今後これらの有機塩素系農薬の残留量が増すことはないと考えられるが、しかし、タバコから完全に有機塩素系農薬が消失するにはまだ数年は必要だとおもわれる。

### 要 約

市販の国産紙巻タバコ 22 銘柄、外国産紙巻タバコ 30 銘柄、葉巻タバコ 3 銘柄の計 55 銘柄について有機塩素系農薬の残留量調査をおこなった。なお、測定値はすべて 20 本あたりの含有量として求めた。

1. 紙巻タバコに残留する BHC 系農薬および DDT 系農薬について調査した結果、6 年前のものと比較して、BHC 系では僅かであるが、DDT 系では 1/10 以下と大幅に減少しているものの、依然として塩素系農薬の残留が認められた。これらを個々にみると、 $\gamma$ -BHC の平均値は国産で 0.44  $\mu\text{g}$ 、外国産で 0.51  $\mu\text{g}$ 、総 BHC の平均値は国産で 0.90  $\mu\text{g}$ 、外国産で 1.11  $\mu\text{g}$  であった。また  $p, p'$ -DDT の平均値は国産で 6.79  $\mu\text{g}$ 、外国産で 9.27  $\mu\text{g}$ 、総 DDT の平均値は国産で 8.95  $\mu\text{g}$ 、外国産で 20.48  $\mu\text{g}$  であり、外国産タバコの農薬残留量は国産タバコより高い値を示すことが認められた。

2. 葉巻タバコに残留する BHC 系農薬および DDT 系農薬について調査した結果、 $\gamma$ -BHC、総 BHC の平均値はそれぞれ 0.41  $\mu\text{g}$ 、0.81  $\mu\text{g}$  を示し、また  $p, p'$ -DDT、総 DDT の平均値は 198.2  $\mu\text{g}$ 、278.8  $\mu\text{g}$  と高い値を示した。

### 文 献

- 1) 網 照雄, 原田裕文, 伊藤弘一, 山添律子, 戸谷哲也: 東京衛研年報, 22, 167, 1970
- 2) 立川 涼: 化学と生物, 8, 539, 1970
- 3) 金沢 純, 湯島 健, 桐谷圭治: 科学, 41, 384, 1971
- 4) Gaskin, D. E., M. Holdrinet, and R. Frank: *Nature*, 233, 500, 1971
- 5) 農薬の残留基準: 食衛誌, 18, 118, 1977
- 6) 厚生省食品化学課: 食品衛生研究, 21, 828, 1971
- 7) Edwards, C. A.: *Residue Reviews*, 13, 83, 1966
- 8) Lichtenstein, E. P., K. R. Schulz, and T. W. Fuhremann: *J. Agr. Foodchem.*, 18, 100, 1970
- 9) Nash, R.G. and M. L. Beall: *Science*, 168, 1109, 1970
- 10) Dorough, H. W., R. F. Skrentny, and B. C. Pass: *J. Agr. Foodchem.*, 20, 42, 1972
- 11) 鈴木 学, 大和康博, 渡辺忠雄: 食衛誌, 14, 160, 1973

## 食品中の石油系炭化水素に関する研究 (第2報)

### 市販魚介類中の *n*-Paraffin の検出

西島基弘\*, 井部明広\*, 斎藤和夫\*, 高橋尚子\*  
上村尚\*, 落合節子\*, 直井家寿太\*, 木村康夫\*

## Studies on Hydrocarbons from Petroleum in Foods (II)

### Detection of *n*-Paraffins in Marine Products

MOTOHIRO NISHIJIMA\*, AKIHIRO IBE\*, KAZUO SAITO\*,  
SHOKO TAKAHASHI\*, HISASHI KAMIMURA\*, SETSUKO OCHIAI\*,  
YASUTA NAOI\* and YASUO KIMURA\*

#### 緒言

種々の化学物質による海洋汚染が問題となって久しいがその解決は遅々として進んでいない。汚染源の一つである石油類について考えた場合、その原因は巨大タンカー事故<sup>1)</sup>を初め廃油不法投棄など多岐にわたっている。この石油類は海産物に移行し生態系へ何らかの変化をおよぼすと考えられている<sup>2)</sup>。これらのことは海産食品への依存率の高いわが国としては重大な関心事である。

そこで我々は前報<sup>3)</sup>において海産食品の石油汚染のレベルを把握する目的で、また石油流出事故等が生じた際のバックグラウンドとするために魚介類中から石油成分である *n*-paraffin の試験法を検討した。さらに市販魚介類について調査した結果、ほとんどの魚種から *n*-paraffin 類を検出し、かつ含有量パターンに差が見られることから *n*-paraffin 類の検出が石油汚染の実態究明に手掛りを与えることを示唆した。

そこで今回、我々は市販魚介類中からの *n*-paraffin 類の定量法を検討し、かつ市販魚介類の実態調査をおこなった結果、魚種により含有量に差が見られるなど、若干の知見を得たので報告する。

#### 実験方法

1. 試料 各地で水揚げされた魚介類23種類38試料を用いた。なお魚の場合は筋肉部分を、貝、カニおよびイカの場合は可食部を分析用試料とした。
2. 試薬 i) *n*-paraffin 類標準溶液： $n-C_{12}H_{26}$ — $n-C_{20}H_{42}$  は前報<sup>3)</sup>と同じものを使用した。ヘネイコサン(以下 *n*-C<sub>21</sub>)、ドコサン (*n*-C<sub>22</sub>)、トリコサン (*n*-C<sub>23</sub>)、

テトラコサン (*n*-C<sub>24</sub>)、ペンタコサン (*n*-C<sub>25</sub>)、ヘキサコサン (*n*-C<sub>26</sub>)、オクタコサン (*n*-C<sub>28</sub>)、およびトリアンタン (*n*-C<sub>30</sub>) はいずれも Sigma 社製、ヘプタコサン (*n*-C<sub>27</sub>)、およびノナコサン (*n*-C<sub>29</sub>) は東京化成社製を使用して、それぞれ50mgを秤量し内部標準(pyrene) 30ppm を含有する *n*-hexane 100ml に溶解した (500 $\mu$ g/ml)。  
ii) モレキュラーシーブ 5A: Merck 社製, Powder, 550°, 12時間活性化して用いた。iii) 他の試薬は前報<sup>3)</sup>に準じた。

3. 抽出法 抽出およびクリーンアップは斎藤<sup>4)</sup>らの方法に準じ、Scheme 1 に示した。

4. ガスクロマトグラフィー 前報<sup>3)</sup>に準じた。

5. 検量線の作製 *n*-paraffin 類標準溶液より順次、5, 10, 15, 20 および 25ppm 溶液を作製し、それぞれ 5  $\mu$ l をガスクロマトグラフに注入し、内部標準と *n*-paraffin 類のピーク面積比を縦軸に、重量を横軸に取り、検量線を作成した。

6. 定性および定量試験 定性試験: 前報に準じた。定量試験: *n*-paraffin 類に対する水素炎イオン化検出器(FID)の面積感度が重量に比例するので、内部標準とのピーク面積比から、検量線より定量した。

#### 結果および考察

1. *n*-paraffin 類のガスクロマトグラム 新たに入手した *n*-paraffin 類 (*n*-C<sub>21</sub>—*n*-C<sub>30</sub>) のガスクロマトグラムは Fig. 1 に示すとおりであり、内部標準 pyrene の保持時間を1とした時の相対保持時間は Table 1 に示したとおりであった。前報<sup>3)</sup>においては *n*-C<sub>12</sub>—*n*-C<sub>20</sub> の Reten-

\* 東京都立衛生研究所生活科学部食品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Scheme 1. Analytical Procedure for Extract of *n*-Paraffins in Marine Products

Sample 50g  
 | extract with *n*-Hexane 200ml  
 | blend  
 | filtered  
*n*-Hexane 100ml  
 |  
 Evaporate  
 Residual oil  
 | saponify with 10% KOH in EtOH 50ml for 1 hr.  
 Hydrolysate  
 | add 100ml distil water  
 | extract with *n*-Hexane 80ml × 3  
*n*-Hexane layer  
 | wash with H<sub>2</sub>O 20ml × 2  
 | dehydrate over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (anh.)  
 | conc. to ca. 5ml  
 Column chromatography (Kieselgel 60)  
 | elute by *n*-Hexane 100ml  
 | conc. to dryness and add *iso*-Octane 10ml  
 Molecular Sieve Adsorption (5A 500mg)  
 | reflux for 3hr.  
 Molecular Sieve  
 | wash *iso*-Octane 10ml × 5  
 | add H<sub>2</sub>O 5ml and conc. HCl 5ml  
 | add MeOH sat. *n*-Hexane 20ml  
 | shake for 5min.  
 | add 5%Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30ml  
 | extract with *n*-Hexane 50ml × 3  
*n*-Hexane layer  
 | wash with H<sub>2</sub>O 20ml × 2  
 | dehydrate over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (anh.)  
 | conc. to dryness  
 Residue  
 | dissolve in *n*-Hexane included 30ppm Pyrene  
 GLC

Table 1. Relative Retention Time of *n*-Paraffins

carbon number	t <sub>R</sub> *
C <sub>21</sub>	0.98
Pyrene	1.00
C <sub>22</sub>	1.04
C <sub>23</sub>	1.10
C <sub>24</sub>	1.16
C <sub>25</sub>	1.21
C <sub>26</sub>	1.28
C <sub>27</sub>	1.35
C <sub>28</sub>	1.45
C <sub>29</sub>	1.57
C <sub>30</sub>	1.71

\* t<sub>R</sub> is retention time relative to Pyrene.Table 2. Percent Recovery of *n*-Paraffins added to "Hokke"

carbon number	%	carbon number	%
C <sub>12</sub>	55	C <sub>22</sub>	102
C <sub>13</sub>	75	C <sub>23</sub>	107
C <sub>14</sub>	86	C <sub>24</sub>	105
C <sub>15</sub>	92	C <sub>25</sub>	108
C <sub>16</sub>	94	C <sub>26</sub>	102
C <sub>17</sub>	97	C <sub>27</sub>	100
C <sub>18</sub>	97	C <sub>28</sub>	98
C <sub>19</sub>	98	C <sub>29</sub>	96
C <sub>20</sub>	100	C <sub>30</sub>	96
C <sub>21</sub>	100		

tion time から *n*-C<sub>21</sub>—*n*-C<sub>28</sub> の存在を推定したが、今回は標準品が得られたので、これらの相対保持時間を測定し一致をみた。

2. 試験法の検討 前報<sup>3)</sup>におけるクリーンアップはシリカゲルによるカラムクロマトグラフィーに付したのち試験溶液を得たが、この方法では *iso*-paraffin 類も同時に測定する可能性があった。そこで本報においては、*iso*-paraffin 類との分離をおこなう 目的で齋藤<sup>4)</sup>らの報

告したモレキュラーシープによる *n*-paraffin 類と *iso*-paraffin 類の分離をこころみた。C重油およびハマチについてモレキュラーシープによる処理の有無を比較すると Fig. 2 および Fig. 3 に示したとおり明らかにパターンの良化が認められた。そこで Scheme 1 に示した分析法の妥当性を知る目的でホッケに *n*-paraffin 類の各 1 ppm を添加し、回収実験をおこなった。その結果は Table 2 に示したとおりであり *n*-C<sub>12</sub> は 55%、*n*-C<sub>13</sub> は 75% と回収率は悪いが、*n*-C<sub>14</sub> は 86% であり、*n*-C<sub>15</sub>—*n*-C<sub>30</sub> は 90% 以上の回収率が得られた。

3. 魚介類中の *n*-paraffin 類含有量 市販魚 23 種類 38 試料についての結果は、Table 3 (*n*-C<sub>12</sub>, *n*-C<sub>13</sub> について

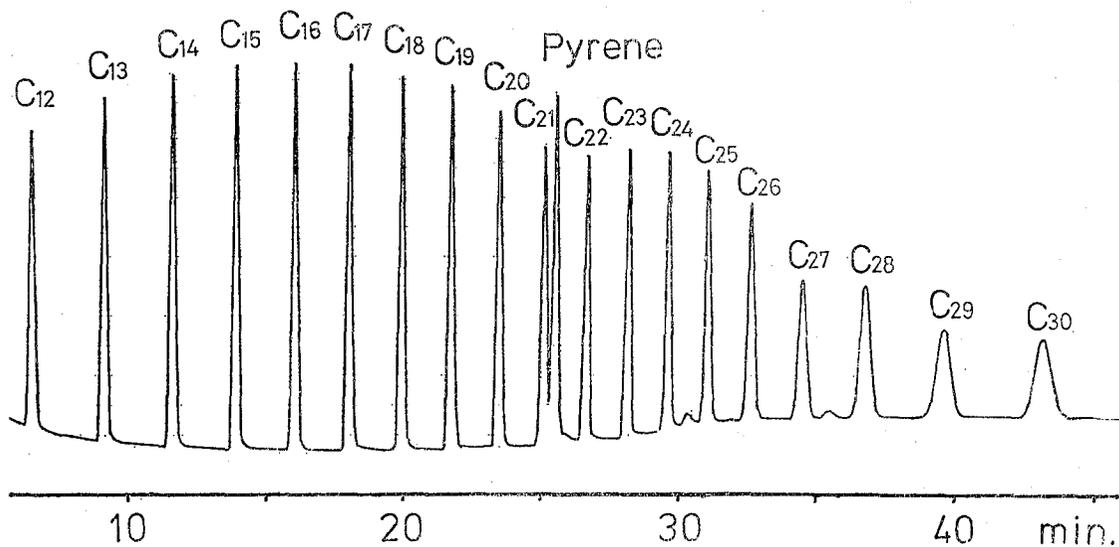


Fig. 1. Gas Chromatogram of *n*-Paraffin Standard

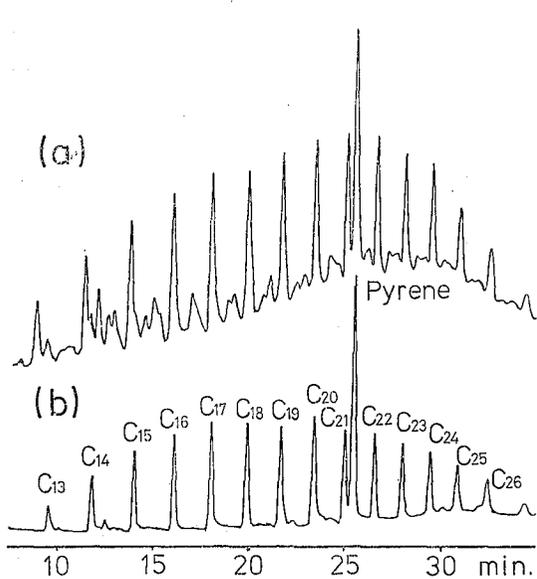


Fig. 2. Gas Chromatogram of Grade C Fuel Oil Extract

- (a) non treated with Molecular Sieve
- (b) treated with Molecular Sieve

は回収率が悪いこと、および前報<sup>3)</sup>で述べたごとく Retention timeが変動しやすく同定しがたいことから省略した)に示したとおりであった。この表からわかるとおり魚類中の *n*-paraffin類は *n*-C<sub>15</sub>および *n*-C<sub>17</sub>が多く含有される傾向がみられ中西<sup>5)</sup>らの報告にみられる人脂中に

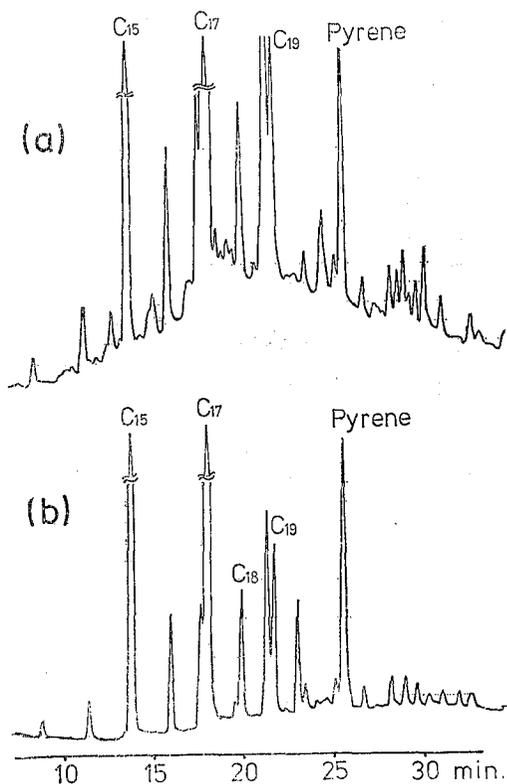


Fig. 3. Gas Chromatogram of Extract from "Hamachi"

- (a) non treated with Molecular Sieve
- (b) treated with Molecular Sieve

Table 3. Contents of *n*-paraffins in Marine Products (ppm, wet basis)

Sample	Landing or (Catching) Region	Carbon number																	Total
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
1. Suzuki	(Tokyo bay)	—	—	—	T	—	0.1	T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1	
2. Suzuki	(Tokyo bay)	—	T	T	0.2	0.2	0.1	T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.5	
3. Suzuki	(Tokyo bay)	—	T	T	0.1	0.1	0.2	T	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	0.5	
4. Suzuki	(Tokyo bay)	—	T	—	T	T	T	T	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1	
5. Suzuki	(Tokyo bay)	—	0.1	T	0.1	0.1	0.1	T	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	0.5	
6. Suzuki	(Tokyo bay)	0.1	—	—	0.1	—	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	
7. Suzuki	(Tokyo bay)	—	T	—	T	T	T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	T	
8. Suzuki	(Tokyo bay)	T	—	0.1	T	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.2	
9. Suzuki	(Tokyo bay)	—	T	—	T	T	0.1	T	—	—	T	—	—	—	—	—	—	0.1	
10. Suzuki	(Tokyo bay)	—	T	—	0.1	T	T	T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1	
11. Suzuki	(Tokyo bay)	—	—	—	T	T	T	0.1	T	T	—	—	—	—	—	—	—	0.1	
12. Suzuki	(Tokyo bay)	—	T	T	0.1	T	T	—	—	—	T	—	—	—	—	—	—	0.1	
13. Suzuki	(Tokyo bay)	—	—	—	0.1	T	—	—	—	—	T	T	—	—	—	—	—	0.1	
14. Suzuki	Osaka	T	T	0.1	T	0.1	0.1	—	—	—	0.1	—	—	—	—	—	—	0.4	
15. Karei	(Tokyo bay)	—	T	—	—	—	T	T	T	—	—	—	—	—	—	—	—	T	
16. Karei	(Tokyo bay)	—	T	T	T	0.1	0.1	T	T	—	T	—	—	—	—	—	—	0.2	
17. Iwashi	Chiba	—	3.4	—	15.7	0.4	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	19.7	
18. Shiira	Chiba	—	0.9	0.1	1.2	0.1	0.1	—	—	—	T	—	—	—	—	—	—	2.4	
19. Asari	(Tokyo bay)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
20. Hamaguri	Kankoku	—	—	0.1	0.1	0.1	—	—	—	—	0.1	0.1	—	—	—	—	—	0.5	
21. Gazami	Fukuoka	—	—	—	T	—	—	—	—	—	T	0.2	—	—	—	—	—	0.2	
22. Aji	Fukuoka	—	T	—	0.1	—	T	0.6	—	T	0.1	0.2	0.1	—	—	—	—	1.1	
23. Hamo	Fukuoka	—	0.1	T	0.1	T	—	—	—	—	T	—	—	—	—	—	—	0.2	
24. Aodai	Kagoshima	—	T	T	T	—	—	0.7	—	—	T	—	—	—	—	—	—	0.7	
25. Mutsu	Kochi	—	—	T	0.1	T	—	—	—	—	0.1	0.1	—	—	—	—	—	0.3	
26. Fugu	Shimonoseki	—	—	—	T	T	—	—	—	—	T	—	—	—	—	—	—	T	
27. Ika	Toyama	—	—	—	0.1	T	—	—	—	—	0.1	0.2	—	—	—	—	—	0.4	
28. Saba	Niigata	—	3.7	0.1	0.7	0.1	0.2	—	0.2	0.1	0.1	T	T	—	—	—	—	5.2	
29. Mebaru	Niigata	—	T	T	T	T	—	—	—	—	T	T	—	—	—	—	—	T	
30. Hokke	Niigata	—	T	T	0.1	—	T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1	
31. Mejina	Oshima	—	—	T	0.1	0.1	—	—	—	—	0.2	0.2	—	—	—	—	—	0.6	
32. Katsuo	Kamaishi	0.1	0.3	0.1	0.1	T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.6	
33. Menuke	Miyako	0.1	T	0.1	T	0.1	—	—	T	0.1	—	—	—	—	—	—	—	0.5	
34. Sanma	Ofunato	—	1.0	—	0.1	—	—	0.3	0.9	—	—	—	—	—	—	—	—	2.3	
35. Sanma	Ibaragi	0.2	—	0.1	0.9	0.2	0.2	T	4.7	—	T	—	—	—	—	—	—	6.3	
36. Sake	Hokkaido	0.1	—	T	0.1	—	—	0.2	0.1	—	T	0.1	—	—	—	—	—	0.6	
37. Asabagarei	Wakkanai	—	—	T	0.1	T	—	—	—	—	T	0.1	—	—	—	—	—	0.2	
38. Hamachi	Ehime	—	4.4	—	7.7	0.5	0.7	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	—	—	—	—	—	13.9	

—.....No Detected

T.....Below 0.1ppm

における $n$ -C<sub>29</sub> および $n$ -C<sub>31</sub>が多いという結果に比べ特徴あるパターンがみられた。各魚種別による $n$ -C<sub>14</sub>— $n$ -C<sub>30</sub>のTotal含有量はイワシが最も多く19.7ppm、ついでハマチの13.9ppm、サンマの6.3ppm、サバの5.2ppm、シイラの2.4ppm、アジの1.1ppmの順であった。その他

のものはいずれも1.0ppm以下であり、各魚種とも個体数が少く断定はできないが、含有量に明らかな差がみられた。東京湾で収獲したスズキ13検体について比較した場合、全体的に低いレベルであったがtrace—0.5ppmと差がみられることは、同種類の魚についても個体差があ

Table 4. The Relation between Contents of *n*-Paraffins and Habitat

Inshore Fishes		Migratory Fishes (Wandering Fishes)		Deep sea Fishes	
	ppm		ppm		ppm
Suzuki	T-0.5	Iwashi	19.7	Menuke	0.5
Karei	T-0.2	Hamachi	13.9	Aodai	0.7
Asabagarei	0.2	Sanma	2.3-6.3	Mutsu	0.3
Hamo	0.2	Shiira	2.4	Hokke	0.1
Mejina	0.6	Saba	5.2		
Mebaru	T	Aji	1.1		
Fugu	T	Katsuo	0.6		
		Sake	0.6		

ることが推察される。これら個体差の原因が石油汚染とただちに関係があるとは断定できないが、緒方<sup>6)</sup>らの報告にみられるように、石油を混入した水槽で飼育したウナギに石油成分が移行することが確認されていることなどから、なんらかの環境との相関関係があることも考えられる。今回分析した魚種を棲息地域<sup>7)</sup>により分類して、*n*-paraffin含有量と比較した結果を Table 4 に示した。この表からわかるとおり、やや深い海（水深約 200 m 以下）に棲息する魚種および沿岸や近海の一定地域に棲息する魚種は *n*-paraffin 類の含有量が低く、回遊性の魚種に高い含有量がみられた。このことは一般に石油汚染は内湾および沿岸に多いと考えられていることと矛盾している。そこでこれら回遊性の魚種の共通点を考えた場合、一定地域に棲息する魚種に比較して運動量が多いこと、脂肪分の多い赤身のものが多いこと、棲息地域が広範囲であること等種々考えられるが、これらの魚種は *n*-paraffin の代謝機構に何らかの共通した生理作用があることも推定され、今後さらに個体数を増やして検討するつもりである。

以上の結果から、魚介類の石油汚染を考える場合、*n*-paraffin による指標のみでなく、*iso*-paraffin ならびに 3, 4-ベンツピレン等総合的な調査により、汚染との関連を見出すことが必要と考える。

#### ま と め

石油類による海洋汚染の指標の一つとして、*n*-paraffin をとり上げ魚介類中からの分析法を検討するとともに、市販品 23 種類 38 試料について *n*-paraffin 類の含有量の実態調査をおこなった。

1. *iso*-paraffin 類を除去するためにモレキュラーシーブによる方法をこころみたところガスクロマトグラム上で非常に良好な結果が得られた。またホッケに *n*-

paraffin 類を添加（各 1 ppm）したときの回収率は、*n*-C<sub>13</sub>は 56%であったが *n*-C<sub>14</sub>は 86%であり、*n*-C<sub>15</sub>—*n*-C<sub>30</sub>では 90%以上と良好な回収率が得られた。

2. 市販魚について *n*-C<sub>15</sub>—*n*-C<sub>30</sub> の含有量調査をおこなった結果、各魚介類によって含有量に差が認められた。イワシ、ハマチ、サンマ、サバ、シイラおよびアジ等から比較的多く検出された。これらの魚種は回遊魚であり、また赤身の魚であることから、体内蓄積と何らかの関係があることも考えられる。

今回の調査からは *n*-paraffin 類含有量と汚染との明確な関係は得られなかったが、今後主として東京湾産の魚介類について種類を増やし、かつ個体を豊富に集め、*n*-paraffin のみでなく、*iso*-paraffin および 3, 4-ベンツピレン等、石油成分を総合的に調査することにより、魚介類と石油汚染との関連を究明する予定である。

#### 文 献

- 1) 日本公衆衛生協会：環境保健レポート，5，34，1972
- 2) 西村 肇：科学，43，171，1971
- 3) 小川仁志，井部明広，風間栄治，斎藤和夫，観公子，直井家寿太，木村康夫：東京衛研年報，27-1，158，1976
- 4) 斎藤行生，武田明治，内山 充：日本薬学会第97年会，講演要旨集，Ⅲ，138，1977
- 5) 中西多恵，斎藤行生，武田明治 他：食衛誌，18，182，1977
- 6) 緒方正名，三宅与志雄 他：日本公衛誌，23，313，1976
- 7) Ogata, M., Y. Miyake, and S. Kira: *Water Research*, 11, 333, 1977
- 8) 岡田 要 他：新日本動物図鑑，下巻，北隆館

魚介類中の微量元素に関する基礎的研究 (第3報)  
スズキ体内のヒ素および重金属分布

安田 和 男\*, 勝 木 康 隆\*, 上 田 工\*, 直 井 家 寿 太\*

Study on Amounts of Trace Elements in Marine Fishes (III)  
Distribution of Arsenic and Heavy Metals in Seabass Tissue

KAZUO YASUDA\*, YASUTAKA KATSUKI\*, KOU UEDA\* and YASUTA NAOI\*

Thirty nine seabasses with 42-70 cm in their body length caught at a coastal water of Japan were investigated their normal level of arsenic and heavy metal (Pb, Cd, Zn, Cu, Co, Cr, Mn and total and methyl mercury) concentrations in their organs, such as muscle, liver, digestive organs, pyloric caecum, kidney, ovary, testis, gill, heart, spleen and gall bladder. Concentrations of arsenic and heavy metals were measured by an atomic absorption spectrophotometry and a gas liquid chromatography. Result obtained are as follows: 1) Concentration of Cd in the specimens was extremely low and that of Pb was very high in comparison with that of bonito, which appeared in this journal 26-1, 196, 1975. 2) Total mercury was tended to be accumulated in muscle than in other viscera and about 82% of them were found to be present in the form of methyl mercury. Concentration of total mercury in muscle increased according to the increase of the body length. 3) Concentration of As in each specimens kept constant levels (0.4 ppm in average) regardless of the body length. 4) Content in liver was 7 times greater than that of bonito. 5) No significant differences were observed on the concentration of As and heavy metals in seabass (body length of 42-70 cm), regardless of the place where they had been caught.

緒 言

前報<sup>1,2)</sup>では環境汚染を受けることの少ない外洋性のカツオについて微量元素の含有濃度を調査し報告したが、今回は環境の影響を受けやすいと考えられる内湾および沿岸に定着性のあるスズキを対象として、ヒ素および重金属含有濃度を部位別に調査した。その結果、スズキ体内中のヒ素および重金属分布は魚齢がほぼ等しいカツオのそれと比較して、2, 3 顕著な相違点が見られたので報告する。

実 験 の 部

試料 スズキは昭和50年6月から51年7月までに宮城、福島、東京、神奈川、三重の5海域で漁獲した体長42-70cm, 体重0.8-3.0kgのもの計39尾(42-49cm 17尾, 50-59cm 10尾, 60-70cm 12尾)である。体長5-34cmの東京湾内産スズキの若年魚、セイゴ、フッコについても調査を行い比較検討した。

スズキは部位別に、背肉、肝臓、消化管(内容物は洗

浄除去)、幽門垂、腎臓、卵巣、精巣、心臓、脾臓、胆のう、鰓の計11部位に分けホモジナイズして試料とした。セイゴ、フッコは肉部と内臓に分け数尾ずつを合わせ以下スズキと同様に処理し試料とした。

分析法 前報と同様、総水銀(以下T-Hgと略す)は分光光度計UV-200によるフレームレス原子吸光法、メチル水銀(以下Me-Hgと略す)はGC-5A <sup>63</sup>Ni ECDによるガスクロマトグラフィー、Cd, Pb, Zn, Cu, Mn, Co, CrはDDTC-MIBK抽出ののち、原子吸光法で測定した。Asは硝酸マグネシウムを添加し480°で乾式灰化ののち、3N-HClにとかし原子吸光分析を行った。

結果および考察

体長42-70cmのスズキ39尾の分析結果を部位別、金属別にまとめ測定値の範囲と平均値をTable 1に示した。セイゴ、フッコの肉および内臓についてのヒ素および重金属含有濃度をTable 2に示した。また、スズキとカツオの各臓器における金属別含有濃度の比較を行いFig. 1

\* 東京都立衛生研究所生活科学部食品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Concentration of Arsenic and Heavy Metal in Viscera and Muscle of Seabass

		unit : ppm wet base									
	n	Me-Hg	T-Hg	As	Cb	Pb	Zn	Cu	Co	Cr	Mn
muscle	39	0.23 (0.05~0.57)	0.28 (0.07~0.70)	0.41 (0.12~1.96)	<0.01 (ND~0.03)	0.04 (ND~0.09)	4.5 (1.3~7.8)	0.25 (0.03~0.65)	0.02 (ND~0.07)	0.02 (ND~0.07)	0.04 (ND~0.11)
liver	26	0.06 (0.01~0.14)	0.10 (0.02~0.33)	0.40 (0.11~1.0)	0.08 (0.02~0.32)	0.21 (0.02~0.80)	59 (18~185)	108 (16~308)	0.14 (0.04~0.46)	0.01 (ND~0.05)	0.38 (ND~1.5)
digestive organs	33	0.03 (ND~0.04)	0.06 (0.03~0.11)	0.45 (0.16~0.98)	0.02 (ND~0.04)	0.20 (0.02~0.53)	18 14~24	2.4 (0.6~7.5)	0.02 (ND~0.05)	0.23 (ND~0.92)	0.30 (0.17~0.67)
pyloric caecum	28	0.08 (0.02~0.19)	0.14 (0.05~0.46)	0.78 (0.11~1.82)	0.02 (ND~0.08)	0.10 (ND~0.40)	19 (10~27)	2.7 (0.2~9.2)	0.02 (ND~0.07)	0.02 (ND~0.10)	0.42 (0.11~0.87)
kidney	13	0.07 (0.05~0.10)	0.37 (0.07~0.60)	0.38 (0.09~1.3)	0.04 (0.01~0.08)	0.05 (ND~0.16)	18 (5~36)	3.9 (1.7~11)	0.04 (ND~0.12)	0.03 (0.01~0.09)	0.24 (0.01~0.62)
ovary	12	<0.01 (ND~0.02)	0.03 (0.01~0.09)	0.26 (0.13~0.42)	<0.01 (ND~0.02)	0.37 (0.07~0.75)	85 (48~150)	3.8 (0.88~8.5)	0.02 (ND~0.03)	0.08 (ND~0.25)	0.04 (0.03~0.05)
testis	8	0.03 (0.01~0.07)	0.05 (0.02~0.12)	0.51 (0.15~0.67)	ND	0.28 (0.02~0.63)	63 (16~125)	1.2 (0.28~3.6)	0.03 (0.01~0.09)	0.04 (0.01~0.20)	0.07 (0.01~0.16)
gill	33	0.02 (0.01~0.04)	0.03 (0.02~0.09)	0.21 (0.06~0.56)	<0.01 (ND~0.01)	0.01 (ND~0.05)	4.0 (1.3~10)	0.10 (0.02~0.73)	0.04 (ND~0.12)	0.35 (0.01~0.99)	0.20 (0.06~0.50)
heart	10	0.05 (0.01~0.07)	0.17 (0.05~0.29)	0.33 (0.12~0.63)	0.04 (ND~0.07)	ND (ND~0.04)	21 (16~26)	5.0 (1.4~9.8)	0.03 (ND~0.05)	0.03 (0.01~0.11)	0.37 (0.15~0.58)
spleen	12		0.17 (0.03~0.45)	0.13 (0.02~0.35)							
gall bladder	15		0.01 (0.01~0.02)	0.27 (0.04~0.90)							

Table 2. Concentration of Arsenic and Heavy Metals in Viscera and Muscle of Young Seabass in Tokyo Bay

Length (cm)	n		wet base unit : ppm									
			Me-Hg	T-Hg	As	Cd	Pb	Zn	Cu	Co	Cr	Mn
5—9	36	Muscle	0.01	0.02	0.52	<0.01	0.08	7.2	0.28	0.04	0.05	0.04
		Viscera	ND	0.02	0.30	0.02	0.06	19	1.5	0.03	0.38	0.76
10—15	10	Muscle	0.01	0.05	0.38	ND	0.10	7.2	0.33	ND	0.04	0.01
		Viscera	—	—	—	0.03	0.09	17	1.6	<0.01	0.15	0.39
16—20	5	Muscle	0.03	0.04	0.43	<0.01	0.06	6.9	0.31	ND	0.05	0.04
		Viscera	—	—	—	0.06	0.13	21	2.5	0.15	0.05	0.36
25	1	Muscle	0.05	0.07	0.77	<0.01	0.04	4.8	0.32	ND	0.07	0.04
		Viscera	ND	0.04	—	0.10	0.16	24	13	0.22	—	0.35
34	1	Muscle	0.03	0.04	0.66	<0.01	0.07	5.4	0.2	ND	0.04	0.06
		Viscera	—	0.04	0.30	0.02	0.17	51	3.3	0.10	0.21	0.15

に図示した。

**Hg** Hgは内臓より肉部に高濃度であった。背肉のT-Hgは平均0.28ppm, Me-Hgは平均0.23ppmで他の沿岸魚<sup>9)</sup>にくらべ高い値を示した。これに対し腎臓を除く内臓は大部分が0.1ppm以下であった。腎臓ではT-Hgが最高0.60ppm, 平均でも0.37ppmという高い値が得られた。魚体内に取り込まれたHgが、排泄器官である腎臓に多く集まったものと思われるが、背肉にくらべ高濃度であり、なお続けて検討する必要があると考えられる。

昭和48年厚生省が定めた魚介類可食部中の水銀の暫定的規制値(T-Hg 0.4ppm, Me-Hg 0.3ppm)を越える値が、39尾のうち13尾(33%)において測定された。60cm以上の12尾に限ってみると、T-Hg平均0.43ppm, Me-Hg平均0.32ppmで、うち9尾、75%が規制値を越える値を示した。セイゴ、フッコについては、T-Hg 0.02—0.09ppm, Me-Hg 0.01—0.05ppmという低い値が得られた。

魚介類においては水銀蓄積の過程は魚齢と関係しており、42—70cm(4—6年)のスズキの場合も、背肉のT-Hgと体長との関係は相関係数 $r = 0.7919$  ( $p < 0.1$ )で相関が観察された。5—34cmのセイゴ、フッコでは水銀濃度に大きな差は認められなかった(Table 1)。

スズキは他の大型魚と同様、成長するにしたがって捕食する餌が変わり、アミ類からエビ類をへて魚類に移って行く。この食性の顕著な変化は、およそ体長13cmと20cmに成長した頃起こるといわれ<sup>9)</sup>、20cm以上になると魚食性に変わる。このことが、水銀の蓄積に大きく関与しているものと考察される。

Löfroth<sup>5)</sup>はワカマス可食部のHg濃度と魚齢との関係を論じ若年魚で内部のHg濃度が0.2ppm以下という測定値を示すものでは両者の間の相関について否定的な見

解を述べている。一方、三好ら<sup>6)</sup>はスズキ、イシモチについて肉部のHg濃度を測定し0.10—0.27ppmという範囲の中では若年魚でも魚齢と蓄積量の間に関係が見られたと報告している。

著者らの今回の測定結果では若年魚(セイゴ、フッコ)においてはHg濃度が0.2ppm以下であり、しかも魚齢との間に相関は見出せなかった。Me-HgとT-Hgの割合(M/T%)は背肉で82%であり、マグロ<sup>7)</sup>、マス<sup>8)</sup>などと近い値であった。内臓では20—60%を示した。

**Pb** Pbは卵巣に平均0.37ppm, 精巣に0.28ppmと生殖器官に高い蓄積が見られた。ついで肝臓に0.21ppm, 消化管0.20ppmという高い値が得られたのに対し背肉は平均0.04ppmと低く Bugdahlら<sup>9)</sup>のスズキの結果と同様、肉のPbの値は低濃度である。この結果をカツオと比較すると、背肉で4倍、肝臓、消化管、腎臓、卵巣などで5—37倍の蓄積が観察され、Fig. 1からもPb非汚染海域を回遊するカツオにくらべ明らかな違いが見られる。

魚類など生物は必須元素に対しては、体内濃度を一定に保つために恒常機能が発達しているが、Pb, Cd, Hgなどの有害元素に対してはそのような機能はほとんどなく、外部環境の濃度にはほぼ比例して体内濃度が増加する<sup>10)</sup>。

このようなことから、外洋性のカツオにくらべ他の沿岸魚の報告<sup>11,12)</sup>と同様、セイゴ、フッコ、スズキのPbが著しく高い値であることは、都市活動の影響によるPb汚染の可能性が十分に考えられる。

**Cd** Cdは肝臓で最高0.32ppm, 平均0.08ppmの値が得られた。肝臓にCdが最も高い点はカツオと同様であるが、含有レベルはカツオの平均13ppmに比較して著しく低いことが観察された。石崎ら<sup>13,14)</sup>は魚介類中の内臓に高濃度のCdが見られることを報告している。この

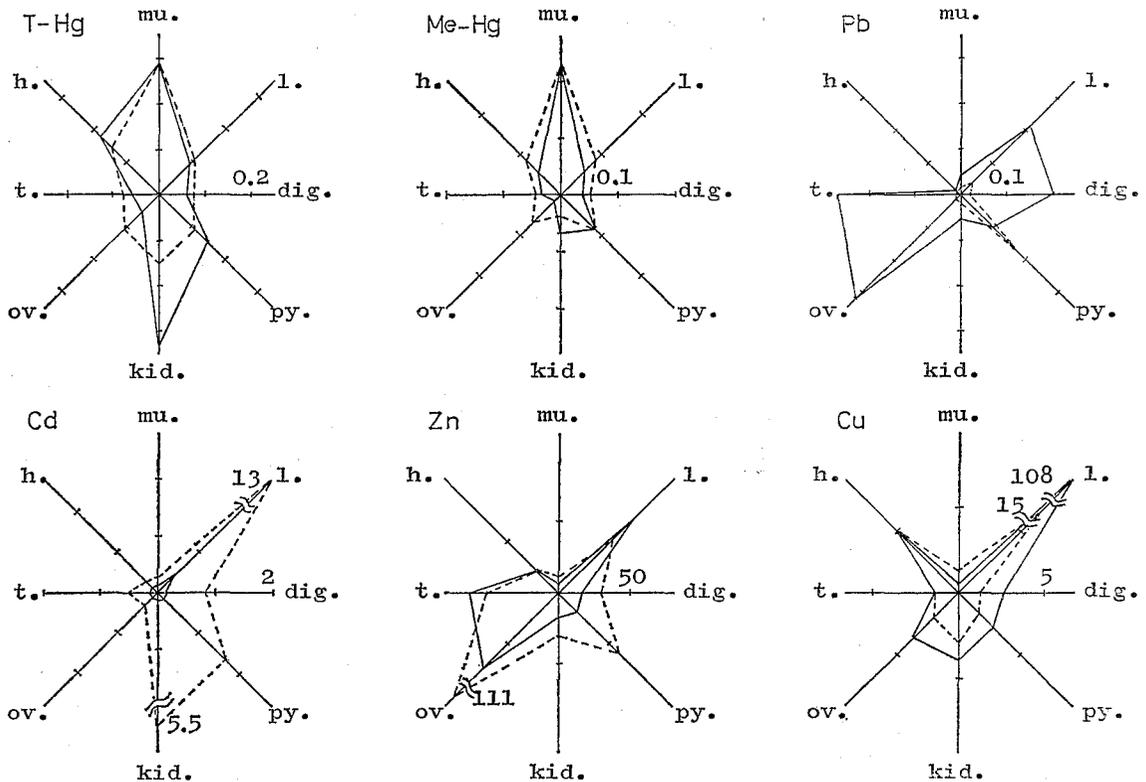


Fig. 1. Comparisons of the Distribution Maps of Metals in Seabass and Bonito

—Seabass      .....Bonito  
 mu.; muscle, l.; liver, dig.; digestive organs, py.; pyloric caecum, kid.; kidney, ov.; ovary, t.; testis, h.; heart

うちタラの臓器別の分析結果によれば、Cdは特に肝臓に高く0.7ppmおよび1.2ppmの値が報告されている。スズキの背肉は0.01ppm以下で、その他の臓器もFig.1から見られるように汚染を受けていないと思われるカツオにくらべ非常に低濃度であった。

このように魚種によりCd蓄積濃度に差が生じるのは、魚体内Cd濃度は水中Cd濃度に比例しないとも言われており<sup>5)</sup>、水系汚染の影響よりも、餌生物の違いによる食物連鎖の影響の方が大きいと思われる。また、魚種により体内に取り込まれた金属の生物学的半減期の違いもあるのではないかとわれ、魚種特異性ということも考えられる。

これらのことから、スズキは環境Cd濃度を反映せず、Cd汚染の指標としては適当ではないと思われる。

Cdの代謝および毒性に対し拮抗性を有するZn, Cu<sup>6)</sup>についての相対的な蓄積の関係は見られなかった。

As他の元素と異り、すべての部位に平均的に分布されていた。背肉に平均0.41ppm、臓器では平均0.37ppm

の値が得られた。また、セイゴ、フッコでも背肉に平均0.51ppmぐらいであり、成魚のAsと大差のない値であった。体長と含有濃度との相関がなくほぼ一定しており、漁獲地域による差も見られなかった。甲殻類<sup>17-19)</sup>では5-170ppmと高い値であるが、多くの魚は1ppm前後であることから、この程度の値が組織の平均的含有レベルと思われる。

Zn 必須元素であるZnは他の金属にくらべ含有レベルの高い金属で、カツオ体内で10-100ppmであったが、スズキについても同様の値を示した。卵巣に平均85ppm、精巣に平均63ppmと高濃度のZn蓄積が見られた。カツオでは卵巣に平均111ppm、精巣に平均44ppmであった。

スズキでは肝臓が平均59ppmと生殖器について高い値を示した。これに対し背肉では平均4.5ppmと比較的低い値で、Znは肉部より内臓に高濃度であった。Znのこれらの値は体長との相関はなく、他の報告<sup>13,19)</sup>とも大差のない値であり、Fig.1からもカツオと同様の分布

パターンが見られ、魚種による差がないことから、必須元素である Zn の生体必要量であると思われ、バックグラウンド値であると考えられる。

**Cu** Cuは強い肝親和性が見られ、肝臓に最高308ppm、平均でも108ppmと高い値を示した。消化管、幽門垂、腎臓、生殖巣などの内臓は1—5 ppmであり、背肉、鰓は1 ppm以下の低値であった。セイゴ、フッコの場合も内臓には1.5—12.5ppmであるのに対し背肉は0.20—0.33ppmと低濃度であり、Cuは内臓より内臓に高濃度であることが観察された。

分布パターンはFig.1に見られるようにカツオと同様であり、魚種による差はないように思える。含有濃度では肝臓でカツオの平均15ppmに対して7倍高濃度である点が注目される。Cuは必須元素であり魚種によっては肝臓のCuが100—400ppmという報告<sup>21)</sup>もあり、その点ではそれぞれの生理的必要性であるのかも知れないが、汚染の反映も考えられ今後とも観察が必要と思われる。また、体長とCu濃度の間に相関はなかった。

Cuと相互拮抗作用を示すZnとの蓄積の関連性は見られなかった。

**Mn** スズキの肉および内臓のMn濃度は1 ppmを越えるものはほとんど見られなかった。田中ら<sup>22)</sup>も、魚介類の大部分が1ppm以下であると報告しており、この程度の値がスズキの肉および内臓のMnのバックグラウンドと思われる。内臓は比較的高く肝臓、腎臓の平均0.38 ppm、0.30ppmはカツオにくらべ10倍高濃度であり、消化管、幽門垂などの消化器系の内臓にも高い値が得られた。背肉はセイゴ、フッコ、スズキのいずれもが、平均0.04ppmと低濃度であった。

Mnは必須元素であるが、スズキのMn含有濃度は非汚染地域のカツオにくらべ内臓で高濃度で、生活環境からの汚染の影響も考えられる。

**Co** Coはスズキ体内で濃度の低い金属で、肝臓に平均0.14ppmであった他はいずれの部位も0.04ppm以下である。スズキについてIchikawaら<sup>23)</sup>も肉0.02ppm、内臓0.11ppmと報告しておりCo濃度の低いことがわかる。

**Cr** Co同様、体内濃度が低く消化管の平均0.23ppmを除き多くの部位が0.1ppm以下でありカツオの含有レベルと似ている。Tong<sup>24)</sup>はマスの肉において魚齢とCr含有濃度に相関関係が見られると報告しているが、スズキでは相関は得られなかった。

#### ま と め

42—70cmのスズキ39尾についてヒ素および重金属含有濃度の調査を行い次の結果が得られた。

1) Pbがカツオにくらべ肉で4倍、内臓で5—37倍の高濃度であることは、内湾性であるため都市活動の影響を受けていると考えられる。

2) Cdは外洋性のカツオにくらべると極めて低い値で興味深い結果が得られた。

3) Hgは内臓より背肉に高く、背肉のHg含有濃度と体長との相関が見られた。体長60cm以上のスズキでは、その75%がHgの規制値(T-Hg 0.4ppm, Me-Hg 0.3 ppm)を越えた。

Hg以外の金属は内臓に高濃度であり、どの部位においても体長との相関は見られなかった。

4) Asは他の元素と異り、どの組織も1 ppm以下で各部位に平均して分布が観察された。

5) Cuが肝臓でカツオにくらべ約7倍の高い値を示した。Mnは内臓に高く、その他のZn, Co, Crはカツオと大差のない濃度であった。

6) 漁獲海域によるヒ素および重金属含有濃度の差は見られず、東京湾内産のものが特に蓄積が高いという事実は認められなかった。

#### 文 献

- 1) 勝木康隆, 安田和男, 上田 工, 木村康夫: 東京衛研年報, 25, 257, 1974
- 2) 勝木康隆, 安田和男, 上田 工, 木村康夫: *ibid.*, 26-1, 196, 1975
- 3) 日本公衆衛生協会: 環境保健レポート, 33, 18, 1975
- 4) 松原喜代松, 落合 明: 魚類学(下), 第3版, 683, 1973, 恒星社厚生閣
- 5) Löfroth, G.: 科学, 39, 658, 1969
- 6) 三好和彦, 桜田 孝, 新井加代子, *et al.*: 日本食品衛生学会第29回学術講演会講演要旨, 39, 1975
- 7) 西垣 進, 田村 行弘, 真木 俊夫, *et al.*: 東京衛研年報, 24, 239, 1972
- 8) Bache, C. A., W. H. Gutenmann, and D. J. Lisk: *Science*, 172, 951, 1971
- 9) Bugdahl, V. and E. Jan: *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.*, 157, 133, 1975
- 10) 和田 攻: ぶんせき, 150, 1977
- 11) 永長久徳: 日本公衛誌, 21, 667, 1974
- 12) 貫山道子, 渡辺重信, 和田 裕, *et al.*: 神奈川県衛研年報, 23, 93, 1973
- 13) 石崎有信: 公衆衛生, 39, 340, 1975
- 14) 石崎有信, 福島匡昭, 坂本倫子: 日衛誌, 25, 207, 1970
- 15) Schroeder, H. A.: 重金属汚染, 119, 1976, 日本経済新聞社

- 16) Underwood, E. J. : 微量元素, 267, 1975, 丸善
- 17) LeBlanc, P. J. and A.L. Jackson : *Mar. Pollut. Bull.*, 4, 88, 1973
- 18) 池辺克彦, 田中之雄, 田中涼一, 国田信治 : 食衛誌, 18, 86, 1977
- 19) 山田幸孝 : 食品中の微量元素, 第2版, 11, 日本食品衛生協会, 1970
- 20) 湯山章, 松坂尚典, 西村昌数 : 化学と生物, 11, 561, 1973
- 21) Underwood, E. J. : 微量元素, 57, 1975, 丸善
- 22) 田中之雄, 池辺克彦, 田中涼一, 国田信治 : 食衛誌, 14, 196, 1973
- 23) Ichikawa, R. and S. Ohno : *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 40, 501, 1974
- 24) Tong, S.S.C., W.D. Youngs, W.H. Gutenmann, and D. J. Lisk : *J. Fish. Res. Board Can.*, 31, 238, 1974

メチル水銀毒性緩和因子に関する研究 (第1報)

低濃度メチル水銀長期投与のラット体内水銀蓄積に及ぼすマグロ肉由来セレンの影響

西垣 進<sup>\*1</sup>, 田村 行弘<sup>\*1</sup>, 真木 俊夫<sup>\*1</sup>, 嶋村 保洋<sup>\*1</sup>  
大井 玄<sup>\*2</sup>, 関 比呂伸<sup>\*2</sup>, 今野 ヒロ子<sup>\*2</sup>, 菱輪 佳子<sup>\*2</sup>  
湯目 邦雄<sup>\*2</sup>, 直井 家寿太<sup>\*1</sup>

**Studies on Modifying Factors of Methylmercury Toxicity (I)**  
**Influence of Dietary Selenium in Tuna on the Organ Accumulation of**  
**Mercury under Low Dose Methylmercury Administration in Rat**

SUSUMU NISHIGAKI<sup>\*1</sup>, YUKIHIRO TAMURA<sup>\*1</sup>, TOSHIO MAKI<sup>\*1</sup>,  
YASUHIRO SHIMAMURA<sup>\*1</sup>, GEN OHI<sup>\*2</sup>, HIRONOBU SEKI<sup>\*2</sup>,  
HIROKO KONNO<sup>\*2</sup>, KEIKO MINOWA<sup>\*2</sup>, KUNIO YUNOME<sup>\*2</sup>  
and YASUTA NAOI<sup>\*1</sup>

We studied the effect of selenium in tuna on the organ accumulation of mercury under the low dose methylmercury administration schedule. Five groups of male Wistar rats were fed the following regimen for 10 months: (A) 1 ppm methylmercury +0.8 ppm selenium (selenium was added as dried tuna meat): (B) 2 ppm methylmercury +0.8 ppm selenium: (C) 4 ppm methylmercury +0.8 ppm selenium: (D) 4 ppm methylmercury: (E) Basal diet. The basal diet was resumed for further 2 months after termination on the experimental diets. Blood, brain, liver, kidney, spleen, muscle and hair of the sacrificed animals were analysed for total- and methyl-mercury and selenium at month 0, 1, 3, 5, 7, 10, 11 and 12. None of the animals developed neurological signs. Thus in the low dose methylmercury administration schedule contrast to the high dose schedule (Ohi et al, 1975), one notable action of selenium toward methylmercury appears the suppression of mercurial accumulation in these organs through enhancement of elimination. Possible mechanisms for the findings were discussed.

緒 言

セレン化合物が鳥や哺乳動物の急性あるいは亜急性メチル水銀中毒を軽減することは、多くの人によって実証されてきた<sup>1-7)</sup>。

また、魚介類が天然に保有する微量のセレンも海洋哺乳類の水銀中毒を隠蔽<sup>8-10)</sup>、実験室的にも海洋生物由来セレンはメチル水銀毒性軽減因子であることが明らかにされてきた<sup>11,12)</sup>。

古くは水俣病発生当時、熊本市内における健康な猫の臓器にも発症猫をはるかに上回る水銀が検出され、同時に多量のセレンも蓄積されており元素の臓器分布に著し

い相違が認められている<sup>13)</sup>。このような不可解な事実について深い追求はなされていないが、これら元素の由来はいずれもメチル水銀で汚染された魚介類の管であり、健康な猫は水銀汚染度の低いものを摂取したため、その魚介類に含まれる微量の天然セレンによってメチル水銀中毒をまぬかれたと考えられる。

今までに行なわれてきたメチル水銀とセレンの拮抗作用に関する動物実験は、高濃度メチル水銀曝露に対するものばかりであり、このような疫学的観察から低濃度曝露に対しては水銀代謝に及ぼすセレン化合物の影響が著しく異なることが推定され、一定レベルのセレンが完全に

<sup>\*1</sup> 東京都立衛生研究所生活科学部食品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

<sup>\*</sup> Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

<sup>\*2</sup> 同環境保健部環境衛生研究科

Table 1. Concentration on Methylmercury and Selenium in Experimental Diets

Group	Methylmercury (as Hg) ppm	Selenium occurring in tuna meat ppm	Protein source
A	1	0.8	Dried tuna meat
B	2	0.8	Dried tuna meat
C	4	0.8	Dried tuna meat
D	4	0	Casein
E	0	0	Casein

中毒を阻止できるメチル水銀濃度を知る必要のあることが指摘された。

そこで蛋白資源として魚介類依存度が高い我が国の食生活を考慮し、マグロなど天然高水銀魚摂取に相当する低濃度メチル水銀長期投与に及ぼすマグロ肉由来セレンの影響について調査を進めることにした。

実験にはラットを使用し、水銀とセレンの臓器蓄積を主体に観察した。得られた結果から魚介類由来水銀の人体移行に対する安全性評価も含めて検討を行なった。

#### 実験の部

1. 動物 ウイスター系離乳期の雄ラット(体重約150g) 250匹を Table 1 に示した餌の組合わせにより5群に分け、10カ月間実験食で飼育し、以後コントロール食に切り換えてさらに2カ月間飼育を続けた。

2. 餌の調製 インドマグロ肉を凍結乾燥後、この中に含まれる天然セレンが4.3ppmであったので、全飼料当り18.5%になるように添加し、実験食中セレン濃度を0.8ppmに設定した。この濃度を使用した根拠は、筆者ら<sup>14)</sup>の調査でマグロ類筋肉中セレンが魚種や魚令に関係なく平均0.7ppmの定常値を示したが、本実験ではメチル水銀とのモル比を1:0.5, 1:1, 1:2 (Se: Hg) に設定し、メチル水銀濃度を整激化したので近似値として0.8ppmを用いた。

メチル水銀はマグロ肉に天然に含まれる分と合わせて全飼料中で水銀として1, 2, 4 ppmの3段階になるように塩化メチル水銀を添加した。乾燥マグロ肉中の天然に含まれるメチル水銀は2.1 ppm (水銀として)であった。

メチル水銀単独のD群とコントロールのE群の餌にはセレンの混入を避けるため、乾燥マグロ肉にかえて同じ動物蛋白源でセレンを含まないカゼインを同量添加した。

以上5群に分けた飼料中、乾燥マグロ肉あるいはカゼイン以外の部分は栄養素の等しい同一基本食(1.8%のカゼインを含み、実験食中動物性蛋白が20%になるよう調製、その他は植物性栄養素と微量栄養素からなる)が

全飼料中81.5%の割合で添加されている。この基本食には植物性セレンが0.12ppm含まれ、全飼料当り0.1ppmのセレンが加算される。しかし全5群とも同一関与量となるのでTable 1にはマグロ由来セレンだけを表示してある。

3. メチル水銀毒性観察のための生物学的指標 (1)体重 (2)神経症状(尾の旋回現象<sup>15)</sup>と後肢交叉、麻痺あるいは歩行失調) (3)死亡数: 週1-2回観測した。

4. 動物臓器などの水銀とセレンの分析 0, 1, 3, 5, 7, 10, 11, 12月経過の8時点で各群の動物4匹ずつをエーテル麻酔し、腹部大静脈から採血致死させ、脳、肝、腎、脾、筋肉および体毛を分離した。体毛は中性洗剤で、次いでアセトンで洗い、酸化カルシウムデシケター中で乾燥、その他の部位は蒸留水で洗浄後凍結乾燥し乳鉢中で磨砕した。これらの試料について総水銀、メチル水銀およびセレンの分析<sup>16)</sup>を行なった。

5. 動物臓器の病理組織学的変化 10カ月経過した時点で致死させた各群の動物の脳、脊髄、肝、腎、脾について常法により光学顕微鏡的観察を行なった。

#### 結果

1. 摂餌量と水銀、セレンの総負荷量 (Table 2) 各群とも1匹1日当り約20gの摂餌量で群間に有意差は認められず ( $p>0.10$ )、メチル水銀とセレンの総負荷量も各群飼料中の濃度に比例している。

2. 体重曲線 (Fig. 1) A群だけは対照のE群と比較して成長が劣る傾向が見られているが10カ月まで有意差は認められず ( $p>0.10$ )、以後は有意差 ( $p<0.01$ ) を生じた。しかしこの群は後述するように7カ月目に肺炎により2匹が死亡しているので、一部動物は感染症による障害を受けたことも考えられる。また、ケージの位置に換気扇の音や照度等物理的影響があったためかも知れない。

3. 神経症状 すべての動物に実験終了まで1匹の発症も認められなかった。

4. 死亡数 A群の2匹が7カ月目に死亡したが原因は肺炎であり、脳中総水銀濃度は湿重量当りそれぞれ

Table 2. Consumption of Diets and Total Body Burden of Methylmercury and Selenium

Group	Daily intake of diets (av.) g/Animal	Total body burden	
		Methylmercury mg/Animal (as Hg)	Selenium in tuna mg/Animal
A	19.7±2.5	5.8	4.6
B	21.6±2.9	12.7	5.1
C	21.5±2.3	25.3	5.1
D	20.5±2.3	24.1	0
E	19.2±1.9	0	0

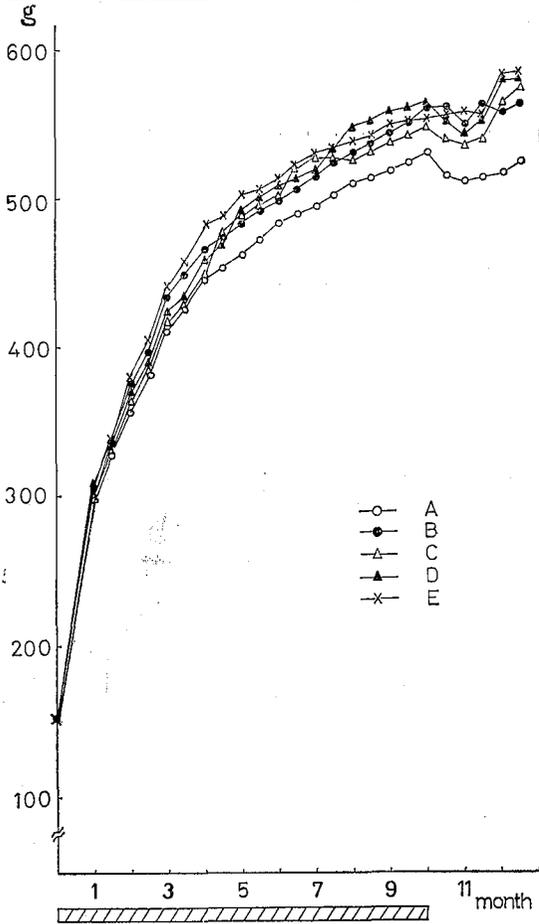


Fig. 1. Weight Gain of Rats

0.9, 1.3ppm でメチル水銀中毒濃度の5—10ppm<sup>17)</sup>をはるかに下回っていた。これ以外は1匹の死亡も認められなかった。

5. 動物臓器等への水銀とセレン蓄積およびその離脱 (Fig.2) 4 ppmメチル水銀飼料群についてみると、セレン添加のC群は水銀単独のD群より腎以外の部位において総水銀、メチル水銀とも有意に蓄積が低められた (p

<0.01).

また、セレン添加のA, B, C 3群は、腎を除いた部位の総水銀濃度が各飼料中のメチル水銀濃度に比例して、ほぼ1 : 2 : 4の比率を示している。しかし水銀単独のD群は、A群の約5倍を示した (Table 3)。

B群腎の総水銀は、飼料中の水銀濃度に比例してA群の約2倍となっている。しかしC, D群では4倍を示さず、3倍以下で蓄積の比率が低くなっている。また、この2群の腎中メチル水銀は、水銀摂取が続いているにもかかわらず7カ月目から漸減していくことが観察され、他の臓器と異なる蓄積挙動が認められた。

さらにその他の部位では蓄積されている水銀の80—90%以上がメチル水銀の形であるのに、腎では40—60%と約半量に過ぎず、残部は無機水銀の形で存在すると考えられる。

脳の総水銀濃度は、最高値を示したD群でも乾物当たり12ppmで湿重量に換算すると2.4ppmとなり、メチル水銀中毒濃度を下回っている。

一方セレンは、腎を除いた部位において、セレン添加のA, B, C 3群とも水銀単独のD群より高い移行を認めたが、3群間に有意差は無く (p>0.10) ほぼ同濃度を示した。

これに反して、腎では水銀単独のD群においてもB群に匹敵する蓄積が認められている。

これは全群食に共通して含まれる0.1ppmの天然植物由来セレンに起因し、さき大井ら<sup>6)</sup>と行った高濃度メチル水銀投与の場合と同様に、メチル水銀摂取にともなって競合蓄積されたものであり水銀・セレンの生理学的拮抗を裏付ける現象といえる。また、A, B, C 3群は飼料中セレン濃度が等しいにもかかわらず、腎中セレン濃度に差が見られ、しかも飼料中のメチル水銀濃度が高い群ほど移行度が大きく水銀濃度依存性が示された。

この傾向は脳にも認められ、有意差は無いが、どの時点においても飼料中メチル水銀濃度の高い群ほど高い蓄積が見られている。

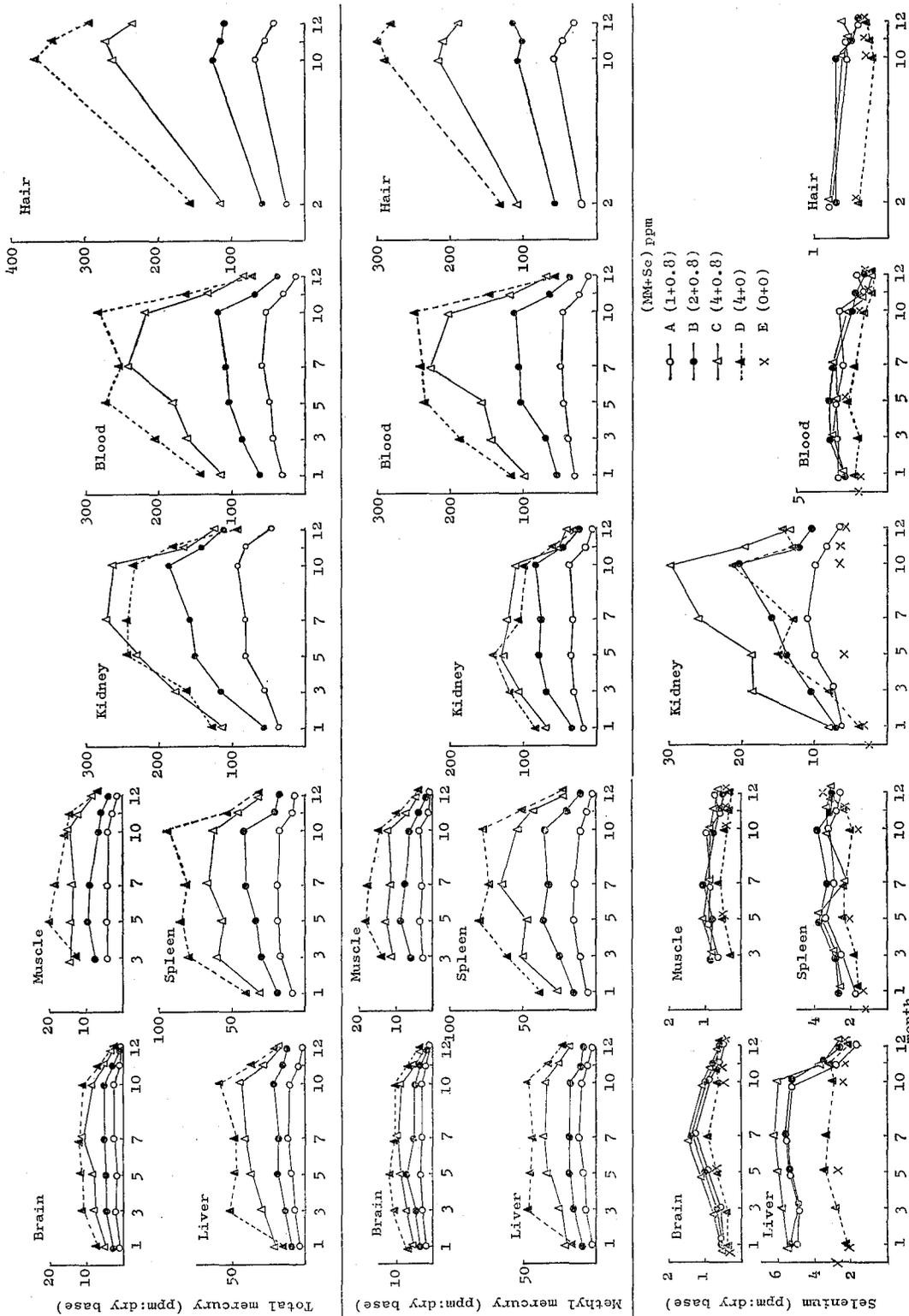


Fig. 2. Total- and Methyl-Mercury and Selenium Concentration (Administered period of experimental diets : The End of Month 10)

Table 3. Ratio of Concentration of Total Mercury in Rat Tissues of Group B, C, D to that of Group A

	Group	Methylmercury concentration in diets ppm (T-Hg ppm)	Brain	Liver	Kidney	Spleen	Blood	Hair
			(T-Hg ppm)					
5 month	A	1	(2.3)1	(9.1)1	(78)1	(15.1)1	(49)1	—
	B } Hg+Se	2	(5.4)2.3	(19.5)2.1	(149)1.9	(33.9)2.2	(107)2.2	—
	C } Hg+Se	4	(9.1)4.0	(35.7)3.9	(230)2.9	(64.9)4.3	(183)3.7	—
	D } Hg	4	(12)5.1	(46.8)5.1	(234)3.0	(85.5)5.9	(270)5.5	—
10 month	A	1	(2.6)1	(10.5)1	(92)1	(14.8)1	(56)1	(70)1
	B } Hg+Se	2	(5.0)1.9	(21.5)2.0	(187)2.0	(40.5)2.7	(118)2.1	(130)1.9
	C } Hg+Se	4	(8.8)3.4	(44.2)4.2	(262)2.8	(69.6)4.7	(217)3.9	(259)3.7
	D } Hg	4	(11)4.2	(53.6)5.1	(230)2.5	(95.6)6.5	(283)5.1	(369)5.3

次いでコントロール食に切り換えてから総水銀の臓器離脱は、C、D 2群を比較するとセレン添加のC群が遅い傾向が認められたが、メチル水銀とセレンにおいてはこの傾向が見られなかった。

6. 病理組織学的変化 現在検索中であるが脳にはどの群も特に異常を認められないようであり、この項目については稿を改めて別に報告する。

#### 考 察

今回の実験で得られた新しい知見は、従来の観察に反してマグロ肉由来セレン添加群の動物臓器などの水銀蓄積が低められたことである。高濃度メチル水銀投与の場合にはセレン化合物によりメチル水銀毒性が軽減された動物臓器に、メチル水銀単独投与で神経症状の発現した動物のものより高い水銀蓄積が認められ<sup>4,6,11)</sup>、ウズラの脳では致死濃度をはるかに上回る 58ppm<sup>10)</sup> という水銀が蓄積していても何ら神経症状を発現しないことが観察されている。そしてこれらの減毒効果を受けた動物の脳には、ラットの場合、水銀単独群より約4倍高いセレンの移行が認められたが、その濃度はわずかに 0.64ppm<sup>6)</sup> という低濃度に過ぎない。

このように水銀蓄積が高くなっても何故発症しないのか、また、このような微量のセレンの移行が何故発症を妨げるのか、現在のところ減毒機構については全く解明されていない。従って水銀蓄積には関係無く、セレンの臓器移行の高いことだけが保護効果を受けている実証としてとらえられてきた。

このような概念から、今回の実験の場合、セレン添加は水銀の臓器蓄積を低下させた上セレンも水銀単独群より多く移行しているので、高濃度メチル水銀投与に対する場合より効果的に作用しているといえる。

つぎに多くの臓器への水銀蓄積を低下させたセレンの

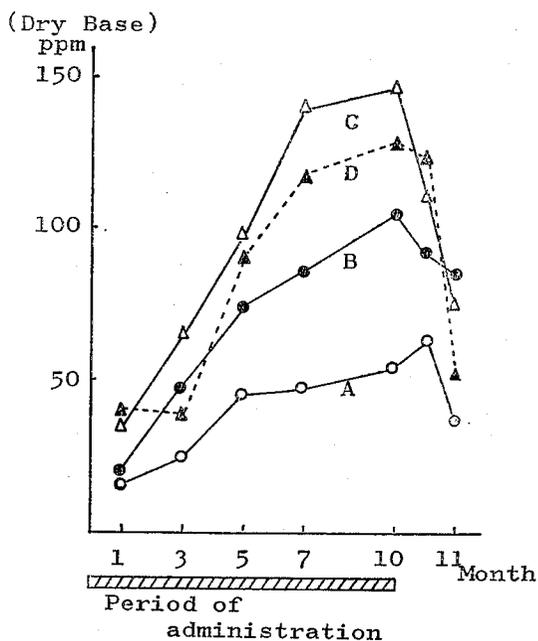


Fig 3. Inorganic Mercury Concentration in Kidney

役割りについて考えてみよう。

腎是水銀蓄積に特異性が認められ、この腎の総水銀からメチル水銀を差し引いた分を無機水銀としてその蓄積傾向をみみるとFig. 3に示したとおりであり、セレン添加のC群の方が水銀単独のD群よりその蓄積が高く、この2群間の差は総水銀の場合よりも明らかに大きい。これら2群はメチル水銀負荷量が同じであるので、このように無機水銀濃度が高いということはセレンが強化されると生体内で脱メチル化が促進され、ここに生成した無機水銀の量が多くなり、血流を通じて一番親和性の高

い腎に蓄積されたためと考えられる。

本実験では水銀排泄量を測定していないが、分析の対象から外した部位への水銀異常蓄積の可能性は少いとみてよく、従って生成した生物学的半減期の短い無機水銀は主として腎から排泄され、体内水銀負荷量が減じ腎以外の部位は水銀蓄積が低下したと見られる。

一方、メチル水銀の腸管吸収が阻害されたためと見られることもできるが、単に吸収量が減じたのであれば、ほとんどの臓器で水銀蓄積が低下しているのに腎だけが総水銀や無機水銀濃度が高まるというような矛盾した現象は生じない筈である。さらに現在までセレンが脱メチル化を促進することを示唆する報告<sup>19)</sup>や、水銀の臓器離脱を速めるという知見<sup>20)</sup>はみられているが、腸管吸収を阻害するという報告は無い。従って脱メチル化が促進された結果、排泄が速められたということが支持される。

A, B 2群については水銀単独の対照群を置いて無いが、Table 3 に示したように腎以外の部位では、それぞれC群の1/4, 1/2の総水銀蓄積が見られ飼料中のメチル水銀濃度に比例していることから、C群と同様に脱メチル化が促進されていて水銀単独投与の場合より臓器蓄積が低められていると考えられる。

また、腎ではメチル水銀添加量の多いC, D 2群は7カ月以降メチル水銀蓄積が漸減している。このような現象は、7カ月以降、急激な脱メチル化促進が起っていることを物語っている。そしてこの脱メチル化はセレンの関与が無く、腎の無機水銀濃度に依存していると見られる。すなわち、D群とB群の腎はセレン濃度がほぼ同じであるのにB群ではこのような漸減は認められない。また、肝や脾でもA, B, C 3群のセレン濃度に有意差は無く、これら臓器中セレンの関与も考えられない。さらにD群では、肝と脾の総水銀やメチル水銀濃度が3-5カ月と7カ月の時点とほぼ等しいのに腎のメチル水銀下降はこれらの時点から始まっていない。従ってこれらの臓器の水銀濃度も関連が無い。

このような裏付けから、C, D 2群の腎におけるメチル水銀の漸減現象は次のように説明できる。すなわち、動物が自然に備えている脱メチル化能あるいは、セレンによりこれが促進されることにより生成された無機水銀は腎に集まり、この濃度が一定レベルに達すると、第2段階として脱メチル酵素あるいは他の因子が急激に誘導され、さらに脱メチル化能が充進する。

Norseth ら<sup>21)</sup>は、メチル水銀単独投与の場合、脱メチル化は肝で行なわれると推定しているが、このような観察から腎での脱メチル化も無視できないと考えられる。

水俣病発生当時、健康な猫の肝には発症猫をはるかに

上回る水銀蓄積(最高300ppm)が見られるのに、脳では逆に発症猫より低い傾向を示していた。しかし、今回のラットでは、低濃度メチル水銀とマグロ肉由来セレンの同時投与の場合も高濃度曝露時と同様に、腎の水銀濃度が高まって臓器では最高値を示すが脳をはじめその他の部位では水銀蓄積が低下する。

また、土井<sup>22)</sup>の猫に対するマグロ肉投与実験では肝の水銀蓄積が一番高く、その中の一体は肝に65ppmもの総水銀が蓄積していたが90%は無機水銀として存在していた。さらにこの肝には無機水銀とモル比で1:1に相当する多量のセレンが蓄積され、海洋哺乳類の場合<sup>8-10)</sup>と同様、2者が直接結合することによって弱毒化している可能性が強い。

本実験で使用したラットの場合、肝は猫とは逆に90%がメチル水銀の形で存在し、腎では半量が無機水銀であって、セレンも腎の方が高く、猫とラットでは丁度肝と腎の水銀・セレンの蓄積傾向が逆転している。しかしながら腎における無機水銀とセレンのモル比は1:1になっていないが、Table 4 に示したように2:1以下が保たれていて(セレン添加群)、その一部は直接結合して弱毒化されているとも考えられる。とくにA, B 両群ではFig. 3に見られるように、腎の無機水銀離脱がC, D群より著しく遅延しているのはその現われであると見られる。

一定レベルの食餌性セレンが完全に毒性を打ち消せるメチル水銀との摂取比を知ることは本実験の目的の一つであったが、当初予期した4ppmのメチル水銀単独群にも毒性発現が見られなかったため明瞭な知見を得ることはできなかった。しかし以上述べてきたように、C, D両群は腎の無機水銀離脱がA, B群より速いということは、無機水銀と直接結合するべきセレンが不足しているとも考えられることから、摂取モル比が1:1であるB群まではセレンの有効な作用があったものと解してよい。上田ら<sup>7)</sup>のラットに対する30ppmという高濃度メチル水銀投与の場合でも1:1の摂取モル比は良好な保護効果が示されている。

Table 4. Molar Ratio of Inorganic Mercury to Selenium in Kidney

Group	1	3	5	7	10
A	0.9	1.1	1.8	1.7	2.1
B	1.1	1.7	2.0	2.2	2.0
C	1.8	1.4	2.1	2.1	1.9
D	3.8	1.8	2.3	3.5	2.3

著者らの先の調査<sup>14)</sup>では、水銀蓄積の高いマグロ類でも水銀よりセレンの方が高いモル比で含まれ、水銀の多い大型魚の場合でも1:1が最上限を示していることから、マグロ等を摂取することによる人体内への水銀移行は同時に存在するセレンにより安全性の高いことが期待できよう。

また、今回の実験では減毒効果を論ずることはできないが、セレンの水銀代謝や毒性軽減に及ぼす作用はメチル水銀摂取に比例してセレン移行の高まる腎や脳で強く発揮されると考えられる。今後更に高等動物を使用した実験また、生化学面からの減毒機構の解明が望まれる。

### 結 言

1. 4 ppmのメチル水銀で10カ月飼育したラットは、神経症状の発現は見られなかった。
2. 4 ppm以下の低濃度メチル水銀と0.8ppmのマグロ肉由来セレンの長期間同時投与は、高濃度メチル水銀投与の場合とは反対に、脳、肝、脾、血液、筋肉および体毛の水銀蓄積が水銀単独投与の動物より約20%低められた。
- この機構は体内で脱メチル化が促進され、生成した無機水銀の体外離脱が速められることに起因すると考えられた。
3. 腎の無機水銀濃度が一定レベルを超えると、セレンの関与しない第2段階の脱メチル化亢進が認められ、腎における脱メチル化が示唆された。
4. マグロ肉由来セレンは、メチル水銀同時投与により臓器移行が高まり、腎と脳ではメチル水銀摂取が多いほどその移行率が高められる。
5. 以上の知見からマグロ等摂取による人体内メチル水銀移行は、同時に存在するセレンの作用により安全性の高いことが期待できる。

謝辞 本研究にあたり、病理組織学的検討を賜っている国立がん研究所北川知行博士に深謝します。

(本研究は昭和50年度当研究所調査研究課題「メチル水銀毒性緩和因子に関する研究」として実施したものである。)

### 文 献

- 1) Ganther, H. E., C. Guodie, M. L. Sunde, et al. : *Science*, 75, 1122, 1972
- 2) Ganther, H. E. and M. L. Sunde : *J. Food Sci.*, 39, 1, 1974
- 3) Stillings, B. R., H. Lagally, P. Bauerfeld, and J. Soars : *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 30, 243, 1974
- 4) Stoewsand, G. S., C. A. Bache, and D. J. Lisk : *Bull. Environ. Contami. Toxicol.*, 11, 152, 1974
- 5) Potter, S. and G. Matrone : *J. Nutr.*, 104, 638, 1974
- 6) Ohi, G., S. Nishigaki, H. Seki, et al. : *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 32, 527, 1975
- 7) 上田喜一, 山中すみへ, 河合正計 他 : 医学と生物学, 90(1), 15, 1975
- 8) Koeman, J. H., W. H. M. Peeters, et al. : *Nature*, 245, 385, 1973
- 9) Koeman, J. H., W. S. M. Ven, J. J. M. Goeij, et al. : *Sci. Total Environ.*, 3, 279, 1975
- 10) Smith, T. G. and F. A. J. Armstrong : *J. Fish. Res. Board of Canada*, 32, 795, 1975
- 11) Ohi, G., S. Nishigaki, H. Seki, et al. : *Environ. Res.*, 12, 49, 1976
- 12) 大井 玄 他 : 東京都衛生局, 昭和51年度水銀の生体影響に関する報告書, 1977
- 13) 氏岡威令 : 熊本医学誌, 34(補1), 141, 1960
- 14) 西垣 進, 田村行弘, 真木俊夫 他 : 東京衛研年報, 25, 235, 1974
- 15) 関 比呂伸, 湯目邦雄, 大沢誠喜 他 : *Ibid.*, 27-1, 295, 1976
- 16) 田村行弘 他 : 「水銀とセレン」64, 1977, 篠原出版
- 17) Federal Register, 39(236), Part LL, 42738, 1974
- 18) Ganther, H. E. : *Comment regarding on The Action Level of Mercury in Fish for FDA.* 1, 1975
- 19) 吹野秀男, 会田幸男, 山根靖弘 : 昭51, 日本薬学大会講演要旨, 151, 1976(名古屋)
- 20) Iwata, H., H. Okamoto, and Y. Ohsawa : *Res. Commun. Pathol. Pharmacol.*, 21, 717, 1970
- 21) Norseth, T. and T. W. Clarkson : *Arch. Environ. Health*, 21, 717, 1970
- 22) 土井陸雄 : 私信, 1976(旭川医大)

メチル水銀毒性緩和因子に関する研究 (第2報)

低濃度メチル水銀摂取時のラット胎盤通過に及ぼすマグロ肉由来セレンの影響

田村 行弘<sup>\*1</sup>, 西垣 進<sup>\*1</sup>, 真木 俊夫<sup>\*1</sup>, 嶋村 保洋<sup>\*1</sup>  
大井 玄<sup>\*2</sup>, 関 比呂伸<sup>\*2</sup>, 今野 ヒロ子<sup>\*2</sup>, 養輪 佳子<sup>\*2</sup>  
湯目 邦雄<sup>\*2</sup>, 直井 家寿太<sup>\*1</sup>

**Studies on Modifying Factors of Methylmercury Toxicity (II)**  
**Influence of Selenium in Tuna on the Transplacental Transition**  
**under Low Dose Methylmercury Administration in Rat**

YUKIHIRO TAMURA<sup>\*1</sup>, SUSUMU NISHIGAKI<sup>\*1</sup>, TOSHIO MAKI<sup>\*1</sup>  
YASUHIRO SHIMAMURA<sup>\*1</sup>, GEN OHI<sup>\*2</sup>, HIRONOBU SEKI<sup>\*2</sup>,  
HIROKO KONNO<sup>\*2</sup>, KEIKO MINOWA<sup>\*2</sup>, KUNIO YUNOME<sup>\*2</sup>  
and YASUTA NAOI<sup>\*1</sup>

The accumulation patterns of mercury and selenium in the organs were investigated as regards gesting and nonpregnant rats and the fetuses. The female rats were fed low doses of methylmercury for four months as in the following regimen: A) 1 ppm methylmercury + 1 ppm selenium (tuna) (Hg+Se group), B) 4 ppm methylmercury + 1 ppm selenium (tuna) (Hg+Se group), C) 4 ppm methylmercury (Hg group), D) basal diet. At the end of the third months three fourth of the animals were mated and the gestation was terminated at day 20 for analytical procedure on both mother and fetus. The administration of methylmercury did not result in either the development of neurological sign manifestation or fetal death. Mercury levels in the Hg + Se group were lower by ca 30% than the Hg group while selenium levels were higher by 50%. The ratio of methylmercury to total mercury in the Kidney was significantly reduced in Hg + Se group compared to Hg group in both pregnant and nonpregnant rats. Total mercury in maternal and fetal blood was in Hg group 100:115, while in Hg + Se group 100:80. Thus simultaneous administration at tuna selenium appears to reduce the passage of mercury through the placenta. Our observation suggests that selenium originating in tuna depresses the mercurial accumulation in both maternal and fetal organs though not well clarified mechanism (enhancement of demethylation).

緒 言

セレン化合物が、メチル水銀毒性緩和因子の一つに挙げられ、その効果についてはすでに多数の報告<sup>1-4)</sup>がある。しかし胎児に蓄積された水銀の毒性軽減に与するセレンの効果はほとんど知られていないため、著者ら<sup>5)</sup>は亜セレン酸を用いて実験を行った。その結果、母ラットでは腎臓および血液中水銀濃度を減少させる効果が認められ、またその仔については、セレンがすべての臓器に高濃度に移行することが観察され、その有効性が示唆

された。

高濃度の水銀を含有するマグロやカジキなどに、比較的少量のセレンが含まれていることは、Ganther<sup>6)</sup>や西垣ら<sup>7)</sup>によって明らかにされてきたが、現在水銀とセレンの相互作用は、これら魚の安全性評価のうえで論議されている。しかし最近までこれら魚由来セレンが、メチル水銀の毒性を軽減することは、ほとんど立証されていない。

先に著者らは、大井ら<sup>8)</sup>との共同実験で、海洋生物に

\*1 東京都立衛生研究所生活科学部食品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

\*2 同環境保健部環境衛生研究科

含有されるセレンが、亜セレン酸と同様に、メチル水銀毒性軽減に有効であることを確認し報告した。また西垣ら<sup>9)</sup>は雄ラットに対してメチル水銀を低濃度で与えたときのマグロ肉由来セレンの効果を検討し、高濃度投与の結果<sup>2)</sup>と明らかに異なることを報告している。

今回は雌ラットの成長期から妊娠期を通して、低濃度のメチル水銀を投与した時、マグロ肉由来セレンがどのような毒性軽減効果を示すかについて、検討を加えることを目的として、特に出産直前の母および胎児と、同期間飼育した非妊娠ラットの各臓器中におけるメチル水銀、総水銀およびセレンの分布パターンを調査した。

方法・材料

1. 実験動物および飼育条件

ウイスター系雌ラット(体重約100g, 4週令)を、1群15匹ずつ4群(A, B, C, D)に編成し、初めの3か月間および妊娠期を通して出産直前までの約4か月間、下記の実験食を与えた。また同時に非妊娠雌ラットも4群を編成し、同一期間実験食により飼育した。なお交配用の雄ラットは、市販の飼育用飼料を与えたものを使用した。以上の飼育期間中、実験食および飲水(水道水)は自由に摂取させ、室温25±5°, 湿度60±5%の部屋で飼育した。

2. 観察および材料の調製

飼育期間中次の事項について観察した。

- 1) 週2回の体重測定、2) 健康状態(粗毛、尾の旋回<sup>10)</sup>、後肢交差および麻痺等の神経症状の発現の有無)、3) 実験食について週1回、1日摂取量の計量

妊娠ラットは妊娠後20日目に、また非妊娠ラットは同一期間経過したところで、いずれも背部の毛を刈り、エーテル麻酔後、腹部大静脈から採血した。次いで妊娠ラットは羊水を採取、胎盤および胎児を取り出し、胎児の体重を測定した。次いで胎児は断頭放血により血液を採取し、さらに、脳、肝臓、腎臓、脾臓を摘出した。なお残余の体軀も分析に供した。また成熟ラットは胎児と同様に、各臓器および腹部の筋肉の一部を摘出したのち、臓器は重量を測定した。以上の各材料はいずれも直ちに

凍結乾燥したのち、ホモジナイズして、分析するまで密閉容器中に保存した。なお胎児の脾臓と羊水は一胎毎に、またほかの臓器と胎盤は一腹毎にまとめた。また毛は中性洗剤およびアセトンで洗ったのち、減圧デシケータ中で乾燥し、分析に供した。

3. 実験食の調製

Table 1に示したように蛋白質を20%添加し、その他の飼料の構成成分は前報<sup>9)</sup>に準じ、全群同量を添加した。セレンのSourceとして、マグロ肉を用い、A, B群にはセレンとして1 ppmとなるように添加した。またC, D群はマグロ肉を加えずセレン無添加群とした。メチル水銀は、セレン1に対して、A群には1, B群には4(いずれも濃度比)となるように、それぞれマグロ由来メチル水銀の不足分を塩化メチル水銀を加えて補い、さらにC群には4 ppmとなるように塩化メチル水銀のみを添加した。以上のように調製した実験食の総水銀、メチル水銀、およびセレンの定量値をTable 1に示した。なおD群の微量セレンは植物由来である。

4. 分析法<sup>11)</sup>

メチル水銀はFDA法を若干変更した方法で行い、そ

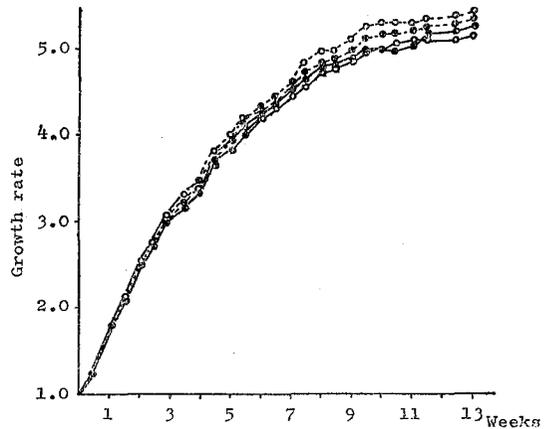


Fig. 1. Growth Rate in Groups A, B, C and D

A—○— B—●—  
C—○— D—●—

Table 1. Comparison of Mercury and Selenium in Diets and Intake of Diets

Group	Protein source		Mercury added as MeHgCl ppm	Analyzed data			Intake g/rat/day
	Tuna %	Casein %		T—Hg ppm	MeHg ppm	Se ppm	
A	18	2	0.59	1.0	1.0	0.85	15.4±2.0
B	18	2	3.59	4.1	4.0	1.05	16.2±2.1
C	0	20	4.0	4.0	3.7	0.13	14.3±2.2
D	0	20	0	0.05	—	0.15	19.9±3.7

Table 2. Reproduction and Neurological Sign

Group	No of litter	No of Placenta	Average weight of pups (g)	Immature pups	Pregnant rate (%)	Weight gain*	Neurological sign**
A	70/5	71/5	4.1±0.8	1/70	100 (15/15)	1.7±0.03	—
B	71/5	71/5	3.5±0.3	5/71	100 (15/15)	1.6±0.11	—
C	68/5	69/5	3.9±0.5	2/68	93 (14/15)	1.5±0.03	—
D	55/4	55/4	3.6±0.4	4/55	100 ( 8/ 8)	1.6±0.05	—

\* Ratio of body weight of mating time to gestation.

\*\* Maternal and nonpregnant rats.

の値は水銀として表示した。総水銀はアルコールを触媒として硫酸分解後、還元気化注入方式によりフレイムレス原子吸光法で分析した。セレンは過塩素酸、硝酸で分解後、2, 3-ジアミノナフタレンとのキレート物を、蛍光光度法により測定した。なお本報の分析値はすべて dry weight で示した。

### 結 果

Table 1 に実験食の構成成分と共に、ラット 1 匹あたりの 1 日平均摂取量が示してあるがその摂取量は基本食を与えた D 群を除き、A, B, C 3 群ともに差がなく、その 3 群間の平均摂取量は、15.3±0.9g/day であった。

実験食投与開始後 3 カ月間の成長曲線を、Fig. 1 に示したが、いずれの群間においても有意な差は認められなかった。また Table 2 に示したように、胎児数、胎児吸収、未熟児数、妊娠率および妊娠初期から出産直前までの体重増加率のいずれも各群間に差がなく、また本実験期間中、神経症状の発症はいずれの群の成熟ラットにもみられなかった。さらに表には示していないが、成熟ラットの体重に対する臓器重量比も各群間で差がなく、またどの群の胎児も外見的な奇形および死産はみられなかった。

Table 3 に各臓器と組織中の総水銀、メチル水銀およびセレンの濃度を示した。成熟ラットでは 3 匹の平均値を、また胎児は一腹分ずつ分析し、その三腹分の平均値を示した。

#### 1. ラット体内の総水銀濃度

マグロ肉由来セレンとメチル水銀同時投与の A B 2 群の臓器および組織は、メチル水銀単独投与の C 群より、総水銀、メチル水銀ともに蓄積量が低く、A B 2 群は成熟ラットで C 群の 70% 以下、胎児で 50% 以下と低値を示し、肝臓および腎臓の一部を除いて有意差が認められた ( $P < 0.01$ )。また A B 2 群間の水銀濃度は、成熟ラットおよび胎児ともに、実験食中の水銀濃度比 1 : 4 に比例して、B 群が A 群より約 4 倍高かった。しかしセレンの

関与しない C 群は、これらより高い蓄積を示し A 群の約 6 倍であった。

胎児の臓器と組織内への水銀の取り込みは、母体血の水銀濃度に比例して高まる傾向を示した。また母仔間の臓器と組織中の水銀濃度を比較すると、腎臓と血液の一部を除き胎児が高く、特に脳では母の 2~3 倍高かった。しかし胎児の腎臓は他の臓器と異なり、母の 13~22% しかなく低値を示した。

また母ラットと非妊娠ラットを比べると、母ラットの摂餌量が、通常時の 1.2~2 倍に増加するにもかかわらず、両者間の水銀蓄積濃度の差は現われなかった。

血液に対する脳、および母体血に対する胎児血中の総水銀濃度比を Table 4 にパーセントで示した。脳/血液の総水銀濃度比は、母仔ともに A B C 3 群間に差がみられなかった。また胎児血/母体血の比は、A B 2 群でおのおの 73%, 84%, また C 群では 114% であり、セレン、水銀同時投与群は水銀単独より有意に低かった ( $P < 0.05$ )。さらに表には示していないが、母体血に対する胎児の臓器や組織との比もまた、A B 2 群が低い傾向を示した。

#### 2. ラット体内のメチル水銀濃度

臓器、組織中のメチル水銀濃度は、Table 3 に示したように、成熟ラットの腎臓を除いて、総水銀とほぼ同じ傾向を示した。成熟ラットの腎臓中メチル水銀濃度は、総水銀に比べ著しく低い値を示した。この腎臓における総水銀に対するメチル水銀の割合は、Table 5 に示したように A B 2 群の母ラットが総水銀の約 40%、非妊娠ラットが約 50% であるのに対し、C 群は各々約 50% と約 65% であり、セレン、水銀同時投与群は水銀単独投与群に比べ、有意に低かった ( $P < 0.05$ )。しかしながら胎児の腎臓や成熟ラットおよび胎児の腎臓以外の部位は 80% 以上がメチル水銀の形で蓄積されており、また成熟ラットの腎臓のようなセレンの存在の有無による差はなかった。

#### 3. ラット体内のセレン濃度

Table 3. Totalmercury, Methylmercury and Selenium Concentrations in the Tissues

(Dry weight : ppm)

Group		Brain	Kidney	Liver	Spleen	Blood	Muscle	Fur		
Maternal rat	T-Hg	A 2.2±0.2	40.0± 0.9	5.3±0.2	7.5±0.9	31.0± 3.1	4.1±0.1	37.8± 3.0		
		B 7.8±0.4	192 ±22	20.3±1.8	27.1±4.8	125 ± 7	14.2±1.7	155 ±13		
		C 13.0±1.3	226 ±30	31.6±9.2	51.5±7.4	196 ±18	21.0±1.4	197 ±11		
Maternal rat	Me-Hg	A 2.0±0.2	15.7± 1.7	3.9±0.4	7.0±1.1	29.7± 3.5	3.8±0.4	31.9± 2.2		
		B 6.8±0.7	70.4± 8.0	14.9±1.7	25.9±3.7	125 ±12	14.0±2.1	120 ± 9		
		C 11.1±1.3	110 ±18	27.0±8.8	45.6±6.2	161 ±21	21.7±1.5	154 ±13		
Maternal rat	Se	A 0.60±0.07	9.4±0.5	3.9±0.1	2.4±0.1	2.4±0.1	0.85±0.08	0.66±0.07		
		B 0.60±0.04	27.3±4.9	4.5±0.2	2.6±0.1	2.2±0.1	0.86±0.06	0.76±0.20		
		C 0.38±0.03	20.6±4.6	2.2±0.1	1.7±0.1	1.4±0.1	0.50±0.03	0.55±0.11		
		D 0.42±0.04	4.3±0.2	2.8±0.2	1.6±0.1	1.6±0.1	0.60±0.06	0.74±0.06		
Nonpregnant rat	T-Hg	A 1.7±0.2	48.7± 7.2	5.1±0.9	8.1±1.2	34.5± 2.6	3.4±0.3	35.6± 3.8		
		B 7.3±0.5	196 ± 6	21.0±0.7	27.6±1.2	142 ± 7.1	12.4±1.3	159 ± 3		
		C 10.4±0.1	228 ± 2	31.6±2.9	44.9±3.8	198 ± 8	22.7±5.3	196 ±14		
Nonpregnant rat	Me-Hg	A 1.8±0.3	24.9± 3.6	4.3±1.0	—	33.0± 4.9	—	29.7± 3.3		
		B 6.4±0.4	98.0± 9.5	19.4±0.8	—	119 ± 5	—	136 ± 4		
		C 9.9±0.5	146 ±19	27.1±3.1	—	166 ±14	—	151 ± 5		
Nonpregnant rat	Se	A 0.56±0.06	8.2±0.4	5.4±0.2	2.5±0.1	2.6±0.2	0.69±0.07	0.43±0.07		
		B 0.65±0.01	22.1±2.1	5.5±0.2	2.6±0.4	2.4±0.1	0.70±0.05	0.47±0.07		
		C 0.44±0.02	12.6±3.1	3.7±0.1	1.9±0.2	1.8±0.2	0.44±0.05	0.26±0.02		
		D 0.45±0.01	3.0±0.4	4.2±0.1	1.7±0.2	2.1±0.1	0.52±0.05	0.30±0.03		
Fetus	T-Hg	A 5.0±0.8	5.8±0.4	7.7± 1.2	8.6	22.5± 0.8	6.2±0.6	11.4± 1.0	0.9	
		B 24.6±0.8	25.6±1.6	30.4± 2.0	37.3	105 ± 2	25.1±0.5	52.2± 6.8	2.1	
		C 49.2±0.8	51.4±4.3	70.2±14.2	83.3	223 ±35	43.5±1.6	79.3±10.3	6.0	
	Me-Hg	A 4.6±0.3	5.6±0.4	6.6± 0.9	—	22.8± 0.6	5.8±0.6	11.7± 1.0	—	
		B 19.9±1.3	23.4±0.7	27.9± 1.7	—	101 ± 2	26.5±0.4	50.5± 4.6	1.9	
		C 37.4±4.7	48.4±0.1	61.3±11.6	—	186 ±39	45.9±3.2	80.1± 6.1 (n=2)	—	
	Se	A 1.3±0.1	2.5±0.2	2.2±0.1	1.1	2.6±0.1	1.5±0.1	2.9±0.1	—	
		B 1.2±0.1	3.0±0.2	2.3±0.2	1.9	2.5±0.2	1.5±0.1	2.5±0.2	2.9	
		C 0.8±0.1	2.0±0.6	1.4±0.3	1.0	1.7±0.4	0.8±0.1	1.5±0.3	2.4	
		D 1.0±0.1	1.6±0.1	1.5±0.2	0.8	1.8 (n=1)	1.0±0.1	1.6±0.1	1.9	
	Group		Brain	Kidney	Liver	Spleen (pool)	Blood	Carcas	Placenta	Amniotic fluid (pool)

Table 4. Concentration Ratio of Totalmercury in Tissues vs. in Blood

Group	Brain/Blood			Fetus blood/Maternal blood
	Maternal	Nonpregnant	Fetus	
A	7.1±0.1%	4.9±0.5%	22.0±2.7%	73.1±5.4*%
B	6.2±0.4	5.0±0.4	23.4±0.45	83.9±3.5
C	6.6±0.1	5.2±0.3	22.5±3.21	113.5±13.3

\* Significantly different ( $p<0.05$ ) from C group by the t test.

Table 5. Concentration Ratio of Methyl-vs. Total-Mercury in Kidney

Group	Maternal	Fetus	Nonpregnant
A	38.7±3.6*%	96.6%	51.2±0.5*%
B	37.9±3.0*	91.4	50.2±4.0*
C	48.9±4.1	94.2	63.8±7.4

\* Significantly different ( $p<0.05$ ) from C group by the t test.

Table 3に示したとおり、C群の成熟ラットの腎臓を除いて、AB 2群はセレン無添加のCD 2群に比べ、いずれの臓器、組織においてもセレンは1.4~2倍と有意に高い蓄積を示した( $P<0.01$ )。また成熟ラットの腎臓は、ほかの臓器や組織と異なり、著しく高い濃度のセレンの移行が認められた。特にC群の腎臓では基本飼料中の微量セレン(0.12ppm)が、水銀の蓄積に伴って、かなりの濃度まで競合蓄積されていた<sup>2,9)</sup>。

母仔間における臓器および組織中のセレン濃度は、ABC 3群とも胎児では胎児がその母の約2倍と有意に高く( $P<0.01$ )、このほかの部位は、その母と同レベルかあるいは1/2以下と低い値を示した。

#### 考 察

マグロ肉由来セレンにより、ラット母仔および非妊娠ラットの臓器、組織中水銀濃度が著しく減少した。これは低濃度メチル水銀を投与した雄ラットの場合と同じ傾向にあり、高濃度投与<sup>1-5,12)</sup>とは、異った結果が示された。すなわち、亜急性中毒領域の高濃度メチル水銀とセレン化合物の同時投与は、水銀単独投与の場合より臓器中水銀濃度が高められる傾向にある。従って、今回の結果からセレン化合物の水銀代謝に及ぼす働きは、メチル水銀の摂取量により相違が生じたと考えられる。

またセレン、水銀同時投与群の腎臓は、総水銀に対するメチル水銀の比(以下M/T比と略す)が、水銀単独投与群より有意に低くなっている。このM/T比の減少は、大井ら<sup>3,9)</sup>と共同実験した高濃度投与においては、認められていないが、低濃度投与<sup>9)</sup>ではやや低くなる傾向がみられた。メチル水銀単独投与の場合、投与したメチル水銀の濃度の違いから、脱メチル化される割合をみる

と、低濃度投与の方が高いと報告<sup>13)</sup>されている。一方メチル水銀と同時に投与した亜セレン酸は、脱メチル化に関与していると、吹野ら<sup>14)</sup>が示唆している。これらのことから、マグロ肉由来セレンも低濃度メチル水銀に対しては脱メチル化を促進し、生成した無機水銀がTarget organである腎臓に多く蓄積し、M/T比を減少させたものと考えられる。そしてここに生じた無機水銀は、メチル水銀より排泄が早いので、体内に貯留されることなく排泄される。その結果、メチル水銀の体内濃度は低くなり、多くの臓器で水銀蓄積が低められたと考えてよい。

次いで水銀の排泄に関与している体毛についてみると、ABC 3群とも総水銀の約80%がメチル水銀であり、三者間で有意差がなかった。これは体毛への排泄が、主としてメチル水銀であるため、セレンによって脱メチル化が促進されて生じた無機水銀は、体毛への排泄に関与していないと考えられる。一方セレン、水銀投与のA、B群間の臓器と組織中水銀濃度を比べるとB群がA群よりどの部位においても約4倍高く、摂取時の水銀濃度比1:4の割合とほぼ一致している。これはマグロ肉由来水銀が、マグロ肉に結合されたまま排泄されることなく、添加した塩化メチル水銀とほぼ同率で、体内に取り込まれていると考えられる。また大部分の臓器および組織を分析しているので、これら以外の部位に水銀が多量に蓄積される可能性は極めて少ない。このことから今回は糞尿中の排泄量を調べていないが、臓器と組織の水銀蓄積量の減少は、脱メチル化された水銀が糞尿を通して排泄されたためと考えられる。

以上のように、メチル水銀に対するセレンの作用は、急性または亜急性中毒領域の高投与と慢性領域の低投与

では、水銀の蓄積面で異なることが明らかとなった。そこで今後、セレンとメチル水銀の相互作用を検討するためには、メチル水銀濃度を考慮する必要があることを改めて示唆するものである。

一方、水銀の胎盤透過性を、母仔の血中総水銀濃度から比較すると、セレン、水銀同時投与のA B 2群は、73%、81%であり、水銀単独群の114%に比べて、有意に低い値を示した。また当然の結果として、胎児の臓器にもこの傾向が現われている。このようなセレンによる水銀の胎盤透過抑制効果は、胎児が暴露される水銀の濃度の減少を招くため、毒物学的な見地から有利に作用していると考えられる。またマグロ肉由来セレンは、母体血を通して胎盤から胎児へ移行し、特に脳へは母の脳より高く移行する傾向がみられ、セレンがメチル水銀に対する減毒効果を持つという知見から、胎児に対しても有効であると考えられる。

今回の実験は、メチル水銀単独群でも設定したパラメータに対してその毒性発現がみられなかったため、マグロ肉由来セレンの減毒機序を直接みることはできなかった。しかしながら、マグロ肉由来セレンが母仔および非妊娠ラットの低濃度メチル水銀暴露に対しては、脱メチル化を促進する傾向が観察され、臓器および組織内水銀の蓄積を減少させるため有効に作用したと言えよう。

今後、魚介類の安全性の評価については、メチル水銀毒性に対する減毒因子がセレンのみではなく、ビタミンE<sup>15)</sup>、ヒ素<sup>16)</sup>さらに蛋白質などの因子もあると報告されていることから、これら因子も含めて検討して行く必要がある。

### 総 括

雌ラットの成長期および妊娠期を通して、投与された1および4 ppmメチル水銀に対するマグロ肉由来セレン1 ppmの影響について、母仔および非妊娠ラットの臓器および組織中の総水銀、メチル水銀およびセレンの分布パターンを水銀単独投与群と比較し検討を行った。

1) 投与した低濃度メチル水銀は、すべての群の母および非妊娠ラットに対しても、メチル水銀中毒の神経症状などを発症させることなく、また胎児に対しても外見的に影響を及ぼさなかった。

2) セレンを同時投与した動物の各臓器、組織中水銀濃度は、水銀単独投与に比べ約30%の低値を示した。それに反してセレン濃度は、50%以上の高値を示した。

3) 腎臓中のメチル水銀の総水銀に対する割合は、セレン投与の母ラットでは約40%、非妊娠ラットが約50%であり、水銀単独投与では、約50%、65%であり、セレン投与群は有意に低値を示した ( $P < 0.05$ )。

4) 総水銀について母体血と胎児血を比較すると、水銀単独投与では100:115であるのに、セレン同時投与では100:80と逆転した割合を示し、セレンの同時投与は水銀の胎盤透過に対し、抑制的に働くのではないかと考えられた ( $P < 0.05$ )。

以上の観察によれば、低濃度水銀を摂取する際、マグロ肉由来セレンは、母および胎児の水銀蓄積について、何らかのメカニズム(脱メチル化の促進)により、抑制的に作用するものと考えられる。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「メチル水銀の毒性緩和因子に関する研究(第2報)」として実施したものである。)

### 文 献

- 1) Ganther, H. E., C. Goudie, M. N. Sunde, M. J. Kopecky, et al.: *Science*, 175, 1122, 1972
- 2) Ohi, G., S. Nishigaki, Y. Tamura, et al.: *Environ. Res.*, 12, 49, 1976
- 3) Stillings, B. R., H. Lagally, P. Bauersfeld, and J. Soares: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 30, 243, 1974
- 4) Potter, S. and G. Matrone: *J. Nutr.*, 104, 638, 1974
- 5) 田村行弘, 大井 玄, 真木俊夫, 関 比呂伸, et al.: 東京衛研年報, 27-1, 179, 1976
- 6) Ganther, H. E. and M. L. Sunde: *J. Food Sci.*, 39, 1, 1974
- 7) 西垣進, 田村行弘, 真木俊夫, 嶋村保洋, et al.: 東京衛研年報, 25, 235, 1974
- 8) Ohi G., S. Nishigaki, H. Seki, Y. Tamura, et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 32, 527, 1975
- 9) 西垣 進, 田村行弘, 真木俊夫, 嶋村保洋, et al.: 東京衛研年報, 28-1, 127, 1977
- 10) 関 比呂伸, 湯目邦雄, 大沢誠喜, 今野ヒロ子, et al.: *ibid.*, 27-1, 295, 1976
- 11) 田村行弘, 真木俊夫, 嶋村保洋, 落合節子, et al.: 水銀とセレン, 64, 1977, 篠原出版
- 12) 遠山千春: 産業医学, 17, 491, 1975
- 13) Norseth, T.: *Acta Pharmacol. et Toxicol.* 31, 138, 1972
- 14) 吹野秀亀, 会田幸男, 今川正良, 山根靖弘: 日本薬学会(名古屋)第94年会講演要旨集, p.151, 1976
- 15) Ganther, H. E.: *Comment on Action Level for Mercury in Fish and Shellfish to FDA*, Feb., 1975
- 16) El-Begearmi, M., H. E. Ganther, and M. L. Sunde: *Poult Sci.*, 53, 1921, 1974

魚介類への微量元素の蓄積挙動の研究 (第4報)

淡水魚中のセレンおよびその他の元素の体内分布

西 垣 進\*, 田 村 行 弘\*, 真 木 俊 夫\*  
嶋 村 保 洋\*, 直 井 家 寿 太\*

Studies on Behaviour of Accumulation of Trace Elements in Fish (IV)  
Accumulation of Selenium and Some Other Elements in Freshwater Fish

SUSUMU NISHIGAKI\*, YUKIHIRO TAMURA\*, TOSHIO MAKI\*,  
YASUHIRO SHIMAMURA\* and YASUTA NAOI\*

The muscle and viscera of freshwater fish (sweet smelt, trout, rainbow trout, pond smelt, catfish, carp and crucian carp) was analyzed for Se, Hg, As, Cd, Pb, Cu and Zn. Selenium concentrations did not appear to be related to the size or species of fish and the location from which fish were collected with the exception of dependence on the size in catfish liver. No difference was observed in the selenium concentration between white and dark muscle. The constant level of selenium in muscle were obtained as  $0.16 \pm 0.04$  ppm. This level is lower by  $1/3 - 1/4$  than that of seafish. The concentration of mercury in the both muscle and liver of catfish increased with the growth and those of trout, pond smelt have obviously distant values among the area of captured even in the same size.

No significant behaviour of accumulation of the other elements has been observed and those levels were in the same range as general observation by the others.

緒 言

近年、セレンの水銀毒性緩和に関する報告がみられ、さらにセレンと水銀の相互作用について研究<sup>1-5)</sup>がおこなわれ、またマグロ肉由来セレンが水銀の毒性軽減効果を有するという報告もみられるようになった。しかし、Charbonneau<sup>6)</sup>らは淡水産 northern pike 由来セレンはネコに対して水銀毒性軽減効果がみられなかったことを報告している。これに対して淡水魚中のセレン濃度が低いためであるという指摘<sup>7)</sup>があった。しかし、淡水魚のセレンについての報告<sup>8)</sup>は少なくほとんどみられない。

著者らは、すでに海産魚の筋肉中セレンと水銀の蓄積挙動<sup>9)</sup>、および総水銀、メチル水銀、セレンの体内分布<sup>10)</sup>について報告した。今回は淡水魚中セレンの蓄積挙動について調査をおこない、同時に他の元素についても調査を実施した。

実 験 方 法

1. 試料

1976年9月から1977年2月までの間に東京都築地中央卸売市場に入荷した7種175検体について分析をおこなった。

試料は魚獲地域の明確なものを選び、魚獲地不明のものも同一出荷者(同一荷)の中からサンプリングした。

アユ (*Plecoglossus altivelis*)、ニジマス (*Salmo gairdneri* f. *irideus*)、ヤマベ (*Oncorhynchus masou* f. *ishikawae*)、ワカサギ (*Hypomesus olidus* 及び *H. sakhalinus*)は筋肉および内臓に分け、またコイ (*Cyprinus carpio*)、フナ (*Carassius carassius*)、ナマス (*Parasilurus asotus*)は筋肉(白筋、血合肉)および各臓器に分け、ホモジナイズし、試料とした。ワカサギは各産地のものを大ききさで2つに分け(14cm以上、未満)グループ毎に筋肉と内臓を各々プールし分析をおこなった。なおアユはすべて天然産である。

2. 分析方法

各元素の分析のため試料は次のごとく処理した。

セレン：過塩素酸、硝酸で分解し、2,3-ジアミノナフタレンとのキレートによる蛍光光度法で分析した。

総水銀：エタノールを分解促進剤として硫硝酸で分解後、還元気化注入法によるフレイムレス原子吸光法を使用した。

ヒ素：硝酸マグネシウムを加え、乾式灰化後、還元

\* 東京都立衛生研究所生活科学部食品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Concentration of Elements (ppm) in Muscle or Viscera of Fish

Species	Area of capture	n	Weight Length		Se		Hg		As		Cd		Pb		Cu		Zn	
			(g)	(cm)	Mus.	Vis.	Mus.	Vis.	Mus.	Vis.	Mus.	Vis.	Mus.	Vis.	Mus.	Vis.	Mus.	Vis.
Sweet smelt (Ayu)	Chikumagawa	Mean	60.1	17.8	0.16	0.52	0.012	0.016	0.04	0.88	0.02	0.06	0.07	0.07	0.7	3.7	0.9	1.5
		Min.	45.0	17.0	0.11	0.36	0.010	0.007	0.02	0.60	tr.	tr.	tr.	tr.	0.6	3.0	0.8	1.1
		Max.	74.5	19.0	0.20	0.61	0.018	0.024	0.06	1.07	0.03	0.09	0.11	0.16	0.8	4.1	1.0	2.2
	Hitoyoshi	Mean	72.8	20.1	0.17	0.57	0.013	0.015	0.10	1.34	0.02	0.10	0.04	0.25	0.7	3.6	0.6	3.0
		Min.	67.0	18.5	0.16	0.39	0.011	0.013	0.06	1.28	0.02	0.09	tr.	tr.	0.3	2.5	0.3	2.5
		Max.	83.5	21.0	0.19	0.70	0.018	0.016	0.13	1.41	0.02	0.11	0.06	0.44	1.2	5.0	0.7	3.7
Shikoku	Mean	83.1	20.6	0.15	0.65	0.014	0.015	0.14	1.03	0.02	0.06	0.06	0.58	0.6	2.3	0.6	2.0	
	Min.	73.0	19.5	0.14	0.49	0.012	0.012	0.06	0.93	tr.	0.05	tr.	0.51	0.6	1.8	0.3	1.7	
	Max.	107.5	23.0	0.18	0.72	0.020	0.020	0.20	1.13	0.03	0.07	0.13	0.65	0.6	2.9	0.9	2.3	
Trout (Yamabe)	Shimonida	Mean	54.8	17.8	0.22	0.92	0.12	0.080	0.26	0.39	0.02	0.03	0.26	0.24	0.8	5.7	3.7	47.6
		Min.	46.0	17.0	0.16	0.76	0.11	0.065	0.22		0.01		0.24				3.6	
		Max.	64.5	19.0	0.29	1.16	0.15	0.091	0.30			0.02		0.28		0.8		3.8
	Gifu	Mean	65.1	18.2	0.17	1.11	0.016	0.010	0.13	0.16	0.02	0.03	0.27	0.32	0.8	5.4	4.1	17.4
		Min.	56.0	17.0	0.15	0.80	0.014	0.008	0.08		0.01		0.23		0.7		3.7	
		Max.	81.5	20.0	0.20	1.56	0.020	0.011	0.17		0.02		0.30		0.9		4.4	
Rainbow trout (Nizimasu)	Mean	145.0	22.2	0.15	0.47	0.015	0.009	0.10	0.19	0.02	0.03	0.16	0.21	0.9	4.6	3.3	32.7	
	Min.	124.0	21.0	0.12	0.31	0.013	0.008	0.07	0.16	0.01	0.03	0.13	0.07	0.8	4.2	2.2	22.0	
	Max.	154.0	23.0	0.16	0.60	0.017	0.011	0.12	0.21	0.02	0.03	0.19	0.35	1.0	5.0	4.3	43.4	
Pond smelt (Wakasagi)	Kasumigaura	(28)	14—18	12—13	0.16	0.43	0.027	0.009	0.12	0.21	0.01	0.01	0.12	0.18	0.6	3.5	8.5	14.8
		(15)	23—28	14—15	0.16	0.39	0.035	0.012										
	Ishikari	(39)	9—14	11—13	0.15	0.46	0.059	0.019	0.20		0.02		0.36		0.8		7.4	
		(20)	19—25	14—16	0.14	0.40	0.065	0.018		1.03		0.05		0.14		3.5		13.8

Table 2. Distribution of Elements (ppm) in Catfish, Carp and Crucian carp

	Catfish (Namazu)							Carp (Koi)							Crucian carp (Funa)						
	Se	Hg	As	Cd	Pb	Cu	Zn	Se	Hg	As	Cd	Pd	Cu	Zn	Se	Hg	As	Cd	Pb	Cu	Zn
				505 g	44cm						960 g	36cm						220 g	22cm		
				645	45						1040	38						220	24		
				758	49						1045	39						245	21.5		
																		285	25		
																		300	24		
White muscle	0.15	0.21	0.08	tr.	0.19	0.3	3.1	0.11	0.025	0.03	0.02	0.05	0.4	0.4	0.09	0.048	0.22	0.02	tr.	1.3	4.3
	0.14	0.33	0.08	tr.	0.06	1.9	2.4	0.11	0.021	0.10	0.02	0.02	0.2	0.5	0.11	0.042	0.12	tr.	0.04	0.7	9.6
	0.11	0.44	0.12	0.01	0.14	0.2	3.6	0.14	0.024	0.15	tr.	0.06	0.6	0.6	0.11	0.032	0.11	0.01	0.03	0.4	6.3
															0.12	0.028	0.12	tr.	0.04	0.3	6.0
															0.11	0.074	0.11	tr.	0.06	0.4	4.2
Dark muscle	0.11	0.22						0.13	0.019	0.05	tr.	0.05	1.5	1.0	0.10	0.053					
	0.11	0.43						0.14	0.016	0.10	0.03	0.02	1.2	1.4	0.15	0.048					
								0.19	0.020	0.07	0.02	tr.	2.2	1.6	0.16	0.029	0.16	tr.	0.04	0.7	9.6
															0.13	0.067					
															0.14	0.037					
Digestive tract	0.39	0.11	0.05	0.03	0.08	1.2	10														
	0.44	0.12	0.09	0.08	0.20	1.0	9.6														
	0.37	0.11	0.07	0.07	0.03	1.1	8.2	0.31	0.032	0.07	0.05	0.17	4.4	11.2							
								0.30	0.30	0.09	0.05	tr.	4.1	9.6							
Liver	0.93	0.18	0.14					0.30	0.035	0.06	0.04	tr.	3.2	5.6	0.51	0.033	0.26	tr.	0.11	2.8	65
	1.56	0.23	0.08																		
	2.23	0.40	0.16	0.35	0.07	3.7	12														
Spleen	0.58	0.10						0.37													
								0.54	0.067												
								0.53													
Kidney	0.86	0.17	0.10					0.59	0.091												
	0.74	0.14	0.11					0.56	0.030						0.41	0.086					
	0.74	0.16	0.13					0.50	0.044	0.12	0.15	1.09	3.1	45.8							
Heart	0.47	0.13	0.10					0.21	0.051												
								0.24	0.048						0.32	0.100					
								0.25	0.035	tr.	tr.	1.39	0.8	7.1							
Gall bladder	0.56	0.095						0.33	0.046												
								0.38							0.27	0.110					
								0.23													
Bladder	0.11	0.032						0.14		0.34	tr.	0.81	1.4	11.9							
								0.17							0.15	0.022					
								0.19													
Roe	0.75	0.090	0.07	tr.	0.04	1.1	33	0.38	0.019	0.07	tr.	1.14	1.5	12.3	0.46	0.019	0.11	0.02	0.07	2.4	17
	0.59	0.059	0.09	0.09	0.03	1.7	39														

し、原子吸光法で分析した。

その他の元素：乾式灰化後、DDTC-MIBK による抽出後、原子吸光法で分析した。

### 結果および考察

短命魚で魚体の小さい2年齢以下の魚種（アユ、ヤマベ、ニジマス、ワカサギ）について Table 1 に各元素の濃度を示した。また、Table 2 に長命魚で2年齢以上のナマズ、コイ、フナ中の各元素の濃度を示した。なお、本報の分析値はすべて Wet Base であらわしてある。

#### 1. セレン

1) 筋肉中セレン濃度は体重増加にともなう上昇がほとんど認められず、また魚種や地域に関係なく、定常状態が保たれていた。この定常値は  $0.16 \pm 0.04 \text{ ppm}$  ( $n=87$ ) で、海産魚<sup>9)</sup>とくらべ、マダモロ・カジキ類の1/4、沿岸魚の1/3の濃度であった。この様に淡水魚が海産魚にくらべ定常状態が低いということは、セレンは必須元素であり、海産魚にくらべ生理的要求量が少ないためであると考えられる。セレンによる水銀の毒性軽減効果を考えると、同濃度の水銀汚染があった場合、減毒効果は淡水魚の方が弱い。すなわち、Charbonneau ら<sup>9)</sup>のおこなったネコに対する実験で塩化メチル水銀単独 ( $250 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) 投与群と淡水魚 (northern pike) 由来水銀 ( $250 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) 投与群との間に発症日数、発症総量等に差がみられなかった。このように、14週以内に水銀毒性が発現するのに対し、マダモロ由来の水銀投与の場合は  $177 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  に対し、15週でも何ら毒性があらわれてこない<sup>7)</sup>。これは魚中のセレン量の違いで、northern pike 中のセレン濃度が低く、保護効果をあらわす量に達していないものと思われる。

我々の分析値は Pakkala ら<sup>8)</sup>の報告にくらべ低い傾向がみられた。彼らの調べた魚には同種のものでも棲息地によって著しく違う濃度を示し、海産魚に匹敵する  $0.5 \sim 1 \text{ ppm}$  のものもみられる。彼らは断頭、内臓を除去後ホモジナイズして、皮の付着したまま分析しているようである。我々の前回の調査<sup>10)</sup>でも海産魚ではあるが、皮の中のセレンは筋肉にくらべて高く、メパチで4倍、カツオ・メジマダモロで1.3倍であった。このような事から、彼らの値が高いのは皮部の混入によるものと推察される。従って筋肉中では我々の調査したレベル程度に低められることが考えられる。

白筋にくらべ血合肉に著しく高い濃度のセレンを含有する海産魚<sup>10)</sup>とは異なり、ナマズ、コイ、フナの各白筋と血合肉の間では蓄積の差がみられなかった。

2) 内臓中セレン濃度は一般的に筋肉よりも高く、特

Table 3. Weights and Amounts of Mercury and Selenium (ppm) in Tissues of Catfish

Body weight(g)		504	645	758
White muscle	Se	0.15	0.14	0.11
	Hg	0.21	0.33	0.44
Dark muscle	Se	0.11	0.11	
	Hg	0.22	0.43	
Liver	Se	0.93	1.56	2.23
	Hg	0.18	0.23	0.40

にナマズの肝臓に高い蓄積がみられた。メジマダモロの肝臓中セレン濃度と魚体重に相関が認められたが、ナマズの体重増加に伴って肝臓中セレン濃度の蓄積上昇がみられ、さらにセレンと水銀の蓄積に正の相関がみられた (Table 3)。しかし、セレンはモル比で水銀の10倍以上もあり、Koeman ら<sup>11)</sup>の報告する海洋哺乳動物とは違って、モル比1:1の割合は観察されなかった。従って見かけはセレンと水銀に相関は認められるが、両方とも体重相関があるため、直接の結合の可能性は低い。

その他の魚種の内臓では  $0.14 \sim 1.56 \text{ ppm}$  とかなりの開きがみられたが、ある程度体重差があるアユ、ヤマベについても体重相関は認められなかった。この点については、さらに体重に大きな開きのある魚体について、今後調査する予定である。

#### 2. 水銀

1) ヤマベ、ワカサギの水銀濃度に地域差がみられた。ヤマベは下仁田、岐阜産ともに体重も体長もほぼ同じであるが、下仁田産の方が筋肉、内臓ともに約8倍高かった。また、ワカサギは霞ヶ浦、石狩産ともに大小各々2つのグループに分け、プールして分析した。2つのグループともに体重では石狩産の方が小さいにもかかわらず、水銀濃度は筋肉、内臓ともに石狩産の方が約2倍高かった。このように水銀は環境濃度が反映されていることがうかがわれた。

ナマズを除いた魚種では  $0.2 \text{ ppm}$  を超えるものはなく、体重相関はみられなかった。海産魚は  $0.2 \text{ ppm}$  という低い水銀レベルでは体重相関がないという報告<sup>12)</sup>もあり、これと同様な傾向を持っているためかもしれない。

2) ナマズの肝臓と筋肉中における水銀濃度は体重との間に各々相関がみられた (Table 3)。井村ら<sup>13)</sup>のキハダマダモロの肝臓で同じ傾向が認められているので淡水性長命魚でも肝臓中水銀の増加があることが考えられる。

### 3. ヒ素, カドミウム, 鉛

全魚種の筋肉部についてみると、ヒ素は0.02—0.30 ppmで約1.5倍とかなりの幅がみられたが、カドミウムはTr—0.03 ppm, 鉛はTr—0.06 ppmでいずれも含有量に著しい差はなかった。すなわち、ワカサギを除いて特に産地、魚種、サイズに関連した一定の蓄積傾向はみられなかった。ワカサギは石狩産と霞ヶ浦産のものとを比較すると、筋肉、内臓ともに石狩産の方がヒ素、カドミウム、鉛の濃度が高く約2—5倍の差があり、水銀もまた同様の傾向がみられた。一方必須元素である銅、亜鉛には差がないことから、石狩川の環境汚染が蓄積に何らかの影響を及ぼしていることがうかがわれた。

内臓では、アユにおけるヒ素が他の魚種にくらべて若干高く、平均1.1ppmであった。この結果とアユの藻食性との関連については、今回の調査では明確にできなかった。

### 4. 銅, 亜鉛

短命魚においては銅、亜鉛ともに筋肉部より内臓部に蓄積が高く、ニジマスではその差は約10倍あり、また同じ環境に棲息すると思われるアユとヤマベを比べてみると、銅は内臓部に若干の差があつて、ヤマベの方が高いが、筋肉部ではほとんど差がない。また亜鉛は筋肉部で5—10倍というかなりの差があるが、それにもまして内臓部では約30倍という大きな開きがみられた。この結果が食性の相違によるものかあるいはまた河川流域の影響に原因するものなのかは今回の調査では明確にできなかった。

また、亜鉛とカドミウムは自然界に共存することの多い元素であるが、今回の調査では、これら元素に相関はみられなかった。

### 総 括

1. 淡水魚中のセレン濃度は海産魚と異なり、白筋と血合肉の間に差はなく、また魚種、地域、サイズ等に関係なく定常値は $0.16 \pm 0.04$  ppmであった。

2. 淡水魚における内臓のセレン濃度は筋肉より数倍高かったが、魚種、地域による大きな開きはみられなかった。しかし大型魚のナマズ肝臓にはセレンと体重の間に相関がみられた。

3. ナマズの肝臓および筋肉において体重と水銀の濃

度との間に相関がみられた。他の魚種では、同一種の間でも地域差が認められ、その水銀濃度は0.2ppm以下で体重との相関はみられなかった。

4. ヒ素、カドミウム、鉛、銅、亜鉛の濃度は筋肉より内臓に高いが、蓄積性には特徴的な傾向はみられなかった。

5. 有害元素であるヒ素、カドミウム、鉛の濃度は多くの報告にみられる範囲に留まり、現時点における内国産淡水魚のバックグラウンド値と考えられる。

### 文 献

- 1) Iwata, H., H. Okamoto, and Y. Ohsawa: *Res. Communi. in Chem. Pathology and Pharmacology*, 5, 673, 1973
- 2) Stoewsand, G. S., C. A. Bache, and D. G. Lisk: *Bull. Env. Contami. Toxicol.*, 11, 152, 1974
- 3) Potter, S. and G. Matrone: *J. Nutr.*, 104, 638, 1974
- 4) Ganther, H. E., C. Goudie, M.L. Sunde, et al.: *Science*, 175, 1122, 1972
- 5) Stillings, B.: *Nutr. Reviews*, 31, 27, 1973
- 6) Charbonneau, S. M., I. C. Munro, E. A. Nera, et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 27, 569, 1974
- 7) Ganther, H. E., M. L. Sunde, A. W. Dudley Jr., and L. W. Chang: Report to FRI, October 9, 1974
- 8) Pakkala, I. S., W. H. Gutenmann, D. J. Lisk, G. E. Burdick, and E. J. Harris: *Pestic. Monit. J.*, 6, 107, 1972
- 9) 西垣 進, 田村行弘, 真木俊夫ほか: 東京衛研年報, 25, 235, 1974
- 10) 田村行弘, 真木俊夫, 山田洋ほか: *ibid.*, 26-1, 200, 1975
- 11) Koeman, J. H., W. S. M. van de Ven, J. J. M. de Goeij, and P. S. Jjioe: *The Science of the Total Environment*, 3, 279, 1975
- 12) Löfroth, G.: 科学, 39, 658, 1969
- 13) 井村伸正: 昭和49年度水銀の生体影響に関する研究結果報告書, 1, 1975, 東京都衛生局

N-ニトロソ化合物に関する衛生学的研究 (第1報)

畜肉および魚肉加工食品中の揮発性N-ニトロソ化合物の含有量調査

真木 俊夫\*, 田村 行弘\*, 嶋村 保洋\*  
西垣 進\*, 直井 家寿太\*

Hygienic Studies on the N-Nitroso Compounds (I)

Survey of Meat and Fish Meat Products for Volatile N-Nitroso Compounds

TOSHIO MAKI\*, YUKIHIRO TAMURA\*, YASUHIRO SHIMAMURA\*,  
SUSUMU NISHIGAKI\* and YASUTA NAOI\*

A survey was undertaken to determine the levels of volatile N-nitrosamines in 64 samples of meat and fish meat products which were obtained from retailers in Tokyo, during the period of May and August in 1976. The samples were analyzed by the method of Kawabata for dimethylnitrosamine (DMNA) and diethylnitrosamine (DENA) with an Alkaline Flame Ionization Detector-Gaschromatography. Sixteen among 64 samples were determined for nitrite. The recovery of DMNA and DENA from foods by the above method was 50%. None of the samples contained any detectable of DMNA and DENA (1ppb). In 8 among 64 samples, however, a trace of DMNA and DENA was confirmed by Thermal Energy Detector 502 type. The levels of DMNA ranged from n.d. to 0.60ppb, but none contained detectable DENA. Trace amounts of DMNA were identified in fish meal, though the two samples were not preserved with nitrite. These results indicate that DMNA levels in the food tested would not cause any harmful effect on human health.

緒 言

わが国においては、硝酸塩および亜硝酸塩はハム、ソーセージ類に添加が許可され、また、殺菌料、発色剤として世界的にも広く用いられている。

河端ら<sup>1)</sup>はタラコに亜硝酸塩を添加した場合ジメチルニトロソアミン (以下DMNAと略す) が生成することを認めたが、DMNAが強い発癌性をもつ故にこの事実が問題となり、以来タラコへの亜硝酸塩の使用は厳しい自粛規制措置がとられるようになった。

現在、International Agency for Research on Cancer 会議で取り上げられたニトロソ化合物に関する最も重要な事項は 1) N-ニトロソ化合物分析法の確立 2) その所在の究明 3) その生成機構の解明である。食品中の含有量調査は 2) のその所在を究明するという点から公衆衛生上重要な部門になっている。

すでに一部で食肉製品および水産食品中の揮発性 N-ニトロソ化合物 (以下 N-NA と略す) に関する含有量

調査結果が報告<sup>2-5)</sup> されており、いずれも極微量の N-NA の検出を認めている。しかしながら、検討した例数は未だ少なく、更に広範に市場品の調査をおこなう必要があることを認めたので、亜硝酸塩、硝酸塩の添加が許されている食肉加工品および水産加工品において、特に N-NA の生成を憂慮し、年次計画に基づき市販品からの検出を試みることにした。

一方 N-NA の分析法は、従来から繁雑且回収率が低い等の欠点があったので、著者ら<sup>6)</sup> は河端らにより提唱されているアルカリ剤融着チップ形熱イオン化検出器によるガスクロマトグラフィ (以下 AFID-GC法) で検討を加えた。

本年度は都内販売の畜肉ハム・ソーセージおよび魚肉ハム・ソーセージ中の DMNA およびジエチルニトロソアミン (以下 DENA と略す) を分析し、若干の知見を得ることができた。なお、分析方法は上記のほか、Fine<sup>7)</sup> によって報告された N-NO 化合物を特異的に検

\* 東京都立衛生研究所生活科学部食品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

出, 定量できる Thermal Energy Detector 502型 (以下 TED 502 型) によって同一試料を分析したので, その結果もあわせて報告する。

### 実験方法

1. 試料 畜肉ハム類7検体, ソーセージ類34検体, ベーコン類5検体, 魚肉ハム類6検体, 魚肉ソーセージ類12検体計64検体でいずれも市販品である。

2. 試薬・試液 ①水酸化カリウム, 炭酸ナトリウム (粉末), 塩化ナトリウム (いずれも試薬特級) ②ジクロロメタン: 関東化学(株)特級, 予め400倍濃縮時にガスクロマトグラム上で N-NA と同一保持時間を示す妨害ピークが現われないことを確認した。③セライト 545: 700°, 24時間活性化, 本品 6g に 6N-HCl 14ml を混和, カラム (25×300mm) に充てんした。④ジメチルニトロソアミン標準原液 (GC 用, 95%以上, 和光純薬(株); ジエチルニトロソアミン標準原液 (イーストマン社製, 95%以上), 各ニトロソアミン標準溶液はジクロロメタンで希釈, 1, 3, および 5 ppm 濃度の標準溶液を作製し冷暗所に保存した。

### 3. 定量法

1) アルカリ炎ガスクロマトグラフィ (AFID-GC) 装置: ガスクロマトグラフ (島津) GC-5AP, 検出器: アルカリ炎イオン化検出器 (アルカリ剤は KBr 単結晶を使用<sup>8)</sup>), 本検出器の断面図を Fig. 1 に示した。充てん剤 20% Versamid 900, Chromosorb W (AW, 60-80mesh), カラム: ガラスカラム (3m, 内径 3mm), カラム温度: 140°, 注入口温度: 200°, キャリヤガス: ヘリウム 60ml/min, H<sub>2</sub> 20ml/min, air 0.8l/min。

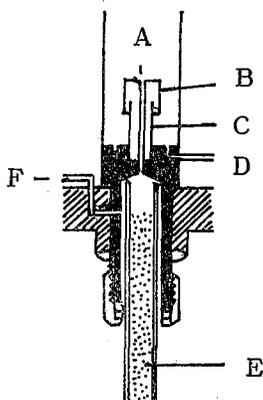


Fig. 1. Schematic of the Situation of KBr crystal on the AFID-GC  
A: KBr crystal, B: Chip,  
C: Glass jet, D: Air,  
E: Glass column, F: Hydrogen gas

2) Thermal Energy Detector-Gaschromatography (TED-GC) 装置: Thermal Energy Detector-502 型 (島津), 充てん剤: 15% Free Fatty Acid Polyester (FFAP), Chromosorb W (60-80 mesh), カラム: ガラスカラム (2.5m, 内径 3mm), カラム温度 180°, 注入口温度: 270°, TED 分解炉: 450°, キャリヤガス: アルゴン 50ml/min, TED-GC 流路図は Fig. 2 に示した。なお, AFID-GC 法による DMNA, DENA の検出限界はそれぞれ 2ng で, TED-GC 法は 0.05ng である。

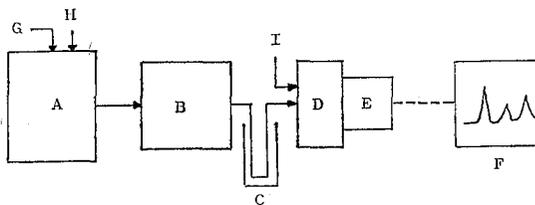


Fig. 2. Schematic of TED-GC System  
A: GC, B: Pyrolyser, C: Cold trap,  
D: Reaction room, E: Detector,  
F: Chromatogram, G: Sample,  
H: Carrier gas, I: Ozone

3) 亜硝酸の定量 原田<sup>9)</sup>の方法を用いた。

4. N-NA の分離抽出法 河端<sup>10)</sup>の方法を若干改良して実施した。

細切した試料 100g を 500ml のホモジナイザーカップに置り, 6N-水酸化カリウム 30ml, 無水硫酸ナトリウム 30g および ジクロロメタン 300ml を加え粉砕抽出する。これを 2 回くり返し, 有機層は分取して合わせ (濁る場合はガラスウールでろ過) クーデルナー・ダーニッシュ濃縮器 (以下 KD 管と略す) により 40° の水浴中で溶媒を留去する。残った油状物質は, 塩化ナトリウム 30g を加えた二径フラスコに移し, 更に 1N-水酸化カリウム 20ml で充分に洗い込んだのち, 直ちに水蒸気蒸留を行う。留液 200ml をとり, 炭酸ナトリウム粉末 20g を加え, ジクロロメタン 200ml で 2 回抽出し, ジクロロメタン層は合わせ無水硫酸ナトリウムで脱水後, 再び KD 管で約 5ml まで濃縮し, これをセライト 545 カラムに負荷する。カラムは n-ペンタン 200ml で洗浄し, 次にジクロロメタン 150ml でニトロソアミンを溶出, 溶出液は KD 管により 40° の水浴中で 0.5ml まで濃縮を行い, これを定量用の試験溶液とする。この試験溶液について, 3.の 1) および 2) の条件に従って定量分析を行った。

本定量法の回収率は DMNA, DENA 共 50% で, 本

Table 1. DMNA, DENA and Nitrite in Commercial Foods

Samples	No. of samples tested	DMNA	DENA	DMNA	DENA	NO <sub>2</sub> (ppm)
		AFID-GC	(ppb)	TED (ppb)		
Pressed ham	4	below 1ppb	below 1ppb			
Roasted ham	3	"	"	0.06—0.10(2)	n.d.	
Frankfurt sausage	2	"	"			
Wicner sausage	21	"	"			
Salami sausage	1	"	"			
Other sausage	10	"	"			1—2(2)
Fish sausage	10	"	"	0.06(2)	n.d.	1—3(6)
Hamburg sausage	1	"	"	n.d.(1)	n.d.	1(1)
Sausage containing kamaboko	1	"	"			
Ham fish sausage	6	"	"	0.06—0.60(3)	n.d.	3—10(6)
Bacon	2	"	"			
Hamburg	2	"	"			1(1)
Marckburger	1	"	"			

n.d. : not detected, ( ) showed number of samples tested

分析値は回収率で補正をした。

#### 結果と考察

実験方法 1. に記した試料64検体について DMNA および DENA 分析試験の結果と、一部16検体について行った亜硝酸塩根の定量結果を Table 1 に示した。AFID-GC 法により、分析に供した全ての検体は DMNA, DENA とともに検出されず、いずれも検出限界以下であった。更に TED 502 型分析器を用いて8検体の同一抽出液につき定量したところ n.d. から 0.60ppb の DMNA を検出した。8検体のうち魚肉ハムの方がやや高い結果が得られた。これは魚肉中に常在するジメチルアミンが DMNA の生成に関与していると思われる。しかし、DENA はすべて検出されなかった。この8検体のうち魚肉ソーセージ検体から亜硝酸添加表示がないにもかかわらず 0.06ppb の DMNA が検出された。この値は魚肉ソーセージ中、自然に生成される DMNA 量と考えられる。

哺乳動物に対する N-NA の無作用量は未だ得られていない。河端に<sup>9)</sup>よると通常の食事を一日摂取した時に、人体中で生成される DMNA は 2ppb 程度と思われ、このレベルは人体に対して安全量と述べていることから今回得られた DMNA, DENA の分析結果は危険視すべきレベルではない。

Terracini らは<sup>11)</sup> 2ppm の DMNA でラット飼育を行い、発癌実験の結果を報告しているが、この実験が現在までに行われた DMNA の最少量によるデータで、今回の著者らの結果や Fine<sup>12)</sup> らが、調理したベー

コン、ホウレン草等を飲食したのち血液から DMNA, DENA を検出し約 1ppb と割り出した値と比較するとかなりの差があり、また、我国の魚肉ハム・ソーセージ類摂取量は1日1人あたり平均 3g<sup>13)</sup> であることから都内で販売されていたハム・ソーセージ類および魚肉ハム・ソーセージ類は今回のデータから一応安全だと言えよう。

著者らの得た結果と過去の報告<sup>2-5)</sup> を比較すると測定法や分析器の違いはあるが、著者らの結果が若干低い値で 1/10—1/30 以下であった。その理由として、亜硝酸塩添加使用自粛規制により N-NA 生成量が減少する効果があった様に思われる。また、多量のビタミンCが N-NA の生成を抑制するという事<sup>14,15)</sup> からビタミンC添加の影響、田中ら<sup>16)</sup>により見出されたソルビン酸が、ビタミンC同様 N-NA の生成に対して抑制効果があることなどから、食肉加工品に使用が許可されている保存料が抑制的に作用した可能性も考えられる。

N-NA の摂取量とわが国で多発している癌性疾患との因果関係は必ずしも明確でないが、原因になり易いものとしては食品がその主体をなすであろう事は推定できる。ベーコンにおける加熱調理した段階での N-NA 生成<sup>17)</sup>の問題もあり、また、わが国の様な食生活では魚肉類により第2級アミンの摂取が多く、漬物、生野菜等<sup>18)</sup>からは想像以上の硝酸塩を摂取し、体内で容易に亜硝酸塩に変わり存在していることから胃中等での N-NA の生成<sup>19)</sup>への懸念など、この関連性を全面的に否定することはむずかしく、更にこの方面の綿密な調査が必要と

思われる。

### 結 論

1. 都内で販売されていたハム・ソーセージ、魚肉ハム・ソーセージ類合計64検体につき、AFID-GC法によりDMNA, DENAの分析を行った。全ての検体は、DMNA, DENAとも1ppb以下であった。

2. 一部8検体につき同一抽出物をTED 502型を用いて分析を行ったところ、n.d.から0.60ppbの範囲のDMNAを検出した。DENAはいずれからも検出されなかった。亜硝酸塩添加表示がないにもかかわらず、2検体からDMNA 0.06ppbが検出された。

3. 16検体につき亜硝酸塩の定量を行ったところ、1-10ppmの範囲で検出したが、亜硝酸塩根残存量の規準を越える検体はなかった。

### 文 献

- 1) 河端俊治, 栗原道彦, 葛西英一ら: 日水誌, 39, 883, 1973
- 2) 中村全良, 白杵睦夫: 食衛誌, 14, 264, 1973
- 3) 酒井綾子, 谷村顕雄: *ibid.*, 12, 485, 1971
- 4) Iyengar, J. R., T. Panalaks, W.F. Miles, and N.P. Sen: *J. Sci. Fd. Agric.*, 27, 527, 1976
- 5) Sen, N.P., D.C. Smith, L. Schwinghamer, and J.J. Marleau: *J.AOAC*, 52, 47, 1969
- 6) 河端俊治, 松居正己, 石橋 亨ら: 分析化学, 21, 1326, 1972
- 7) Fine, D.H. and F. Rufch: *IARC, Third Meeting of the Analysis and Formation of N-nitroso Compounds, Lyon IARC Publication, No. 9, 1974*
- 8) 河端俊治: 私信
- 9) 原田基夫: 食品衛生研究, 21, 31, 1971
- 10) 河端俊治, 中村昌道, 松居正己ら: 日水誌, 40, 87, 1974
- 11) Terracini, B., P.N. Magee, and J. M. Barnes: *Br. J. Cancer*, 21, 559, 1967
- 12) Fine, D.H., R. Ross, D.P. Rounbehler, A. Silvergleid, and L. Song: *Nature*, 265, 753, 1977
- 13) 河端俊治: *Japan. J. Dairy & Fd. Sci.*, 26, A-37, 1977
- 14) 河端俊治: ビタミン, 48, 513, 1974
- 15) Mirvish, S.S., L. Wallcave, M. Eagan, and P. Shubik: *Science*, 177, 65, 1972
- 16) 田中邦幸, 鄭 圭燦, 早津彦哉ら: 日本食品衛生学会第33回学術講演要旨集(東京), 59, 1977
- 17) Pensabene, J. W., W. Fiddler, R. A. Gates, J. C. Fagan, and A. E. Wasserman: *J. Fd. Sci.*, 39, 314, 1974
- 18) 石綿 肇, 谷村顕雄, 石館守三: 食衛誌, 16, 11,
- 19) Sen, N.P., D.C. Smith, and L. Schwinghamer: *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 7, 301, 1969

東京都下小金井公園で発生したムクドリ大量死事件の原因究明に関する調査 (第1報)

西垣 進\*, 田村 行弘\*, 真木 俊夫\*, 嶋村 保洋\*  
上田 工\*, 勝木 康隆\*, 安田 和男\*, 直井 家寿太\*  
辺野喜 正夫\*, 佐々木 直\*\*, 村松 栄\*\*, 山口 昌彦\*\*  
平田 二郎\*\*, 和田 修男\*\*, 富沢 厚\*\*\*

Surveys on the Cause of a Large Number of Death of Grey Starling  
(*Sturnus Cineraceus Jemminck*) found at Koganei Park in Tokyo (I)

SUSUMU NISHIGAKI\*, YUKIHIRO TAMURA\*, TOSHIO MAKI\*,  
YASUHIRO SHIMAMURA\*, KOU UEDA\*, YASUTAKA KATSUKI\*,  
KAZUO YASUDA\*, YASUTA NAOI\*, MASAO BENOKI\*,  
NAOSHI SASAKI\*\*, SAKAE MURAMATSU\*\*, MASAHIKO YAMAGUCHI\*\*,  
JIROH HIRATA\*\*, NOBUO WADA\*\* and ATSUSHI TOMIZAWA\*\*\*

はじめに

数年前から都下小金井公園でムクドリのへい死が目につき出し、昭和47年以降は100羽以上の大量死がみられ、近郊の武蔵野公園、井の頭公園でも昭和48年頃から目立つようになってきた。このような現象は、農薬や大気汚染に基づく公害現象ではないかなど付近の住民の不安をつのらせた。

そこで、昭和50年度に小金井保健所の佐々木らにより、このムクドリ大量死の原因調査<sup>1)</sup>が始められた。その結果、へい死は6月に集中し死鳥の数は付近の小金井団地、武蔵野公園などと合わせて203羽にも達し、小金井公園ではこのうち約70%、136羽を占めていた。へい死の場所は桜の木の下に集中し、その時期もムクドリが好んで食べる桜の実の豊熟期がピークになっていた。また、死鳥の消化管からは10ppm程度の青酸が検出され、桜の実に含まれる青酸配糖体による可能性が疑われた。なお、病原微生物によることも否定的な結果が得られたことから青酸などの化学物質の可能性が指摘されていた。

そこで、昭和51年度に小金井保健所、家畜保健衛生所と共同で毒物学的検査、病理学的検査、疫学あるいは生態学的調査など広い範囲にわたって調査を実施することになり、当研究所は毒物学的検査を主体に検討を行った

のでこの点を中心として報告する。

調査結果

1) 発見された死鳥数とへい死時期 6月6日から21日までの間に合計220羽のへい死が確認され(表1)そのうち197羽が巣立ったばかりの幼鳥で全体の90%を占めていた。小金井公園はムクドリの棲息が最も多く、死鳥の数も全体の約80%を占めていた。その時期は6月14-19日に集中し、巣立ちの多い時期あるいはまた桜の実の豊熟期とほぼ一致していた。

2) 死鳥の胃腸管内青酸量 早朝に集めた死鳥をドライアイスで凍結させて搬入し、弱く解凍後開腹し、消化管内容物を胃および腸にわけて取り出し、水蒸気蒸留の後、ビリジン-ピラソロン法で青酸を定量した<sup>2)</sup>。その結果、胃と腸を合わせた全消化管中の青酸量(HCNとして)は

一羽あたり	73.7±33.3μg (24.6-114.2μg) n=10
うち幼鳥	89.3±24.2μg (54.8-114.2μg) n=7
成鳥	37.2±19.6μg (24.6-59.8μg) n=3

であり、青酸残存は成鳥よりも幼鳥の方が高く、平均約90μgであった。また、腸管内容物の青酸残存量は平均50.5μg(28.0-77.0μg)で、胃内容物の平均31.5μg(25.0-41.5μg)よりも高く、約2倍近い数値を示すものがあった。

\* 東京都立衛生研究所生活科学部食品研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

\*\* 東京都小金井保健所

\*\*\* 東京都家畜保健衛生所

表1. ムクドリのへい死数

( ): 成鳥

場所	6月. 日	6,7	8,9	10,11	12,13	14,15	16,17	18,19	20,21	合計
小金井公園		3	14	3(1)	4	52(3)	49(7)	32(3)	10(1)	167(15)
武蔵野公園					7(1)	11(2)	16(3)	4		38(6)
井の頭公園					8(5)	5(1)				13(6)
小金井自動車 運転免許試験場				2						2
		3	14	5(1)	19(6)	68(6)	65(10)	36(3)	10(1)	220(27)

表2. 死鳥の肝, 消化管内の有害元素量

(ppm)

	As	Pb	Cd	Hg	Cu	Zn
肝 臓	0.1以下	0.46±0.21	成鳥0.23±0.02 幼鳥0.04 以下	0.1以下	5.9±1.9	23.1±4.9
消化管内容	0.1以下	0.19±0.18	0.08±0.08	0.1以下	2.4±0.7	14.4±4.3

桜の果実に含まれる青酸化合物は *Prunus* 属の他の植物と同様、アミグダリンやプルナシンのような配糖体<sup>3-5)</sup> であり、上記定量法では配糖体と遊離青酸が同時に測定されるため、青酸の定量値はこれらの配糖体を含めた総青酸量として得られる。

ムクドリの胃腸内容物には後述のように桜の実の果皮や種子が認められたので、青酸は桜の果実由来することは間違いのないといえる。

3) 死鳥の肝と胃腸内容物のヒ素および重金属含有量 肝と胃腸内容物について、農薬、殺そ剤などとして使用される可能性のある有害性金属を主体に分析を行ったが、死因につながるような量は検出されなかった(表2)。成鳥は幼鳥に比べて、肝のカドミウムが数倍高かった以外は鳥の両者との間に含有量の差がみられなかった。

4) 死鳥中の有機農薬とPCB 胃腸内容物中の有機リン剤を分析したが、農作物中に許容基準の設定されているもの10種について0.05ppmを越えるものはなかった。胸筋について有機塩素剤を分析した結果、成鳥1羽から0.1ppmの p,p'-DDE が検出されたほかは農作物中に許容基準の設定されているもの8種について0.05ppmを越えるものはなく、またPCBも検出されなかった(0.05ppm以下)。したがって、これらについても死因から除外することができる。

5) 小金井公園の“ソメイヨシノ”“ヤマザクラ”の果実や葉などにおける青酸含有量経時変化 “ソメイヨシノ”“ヤマザクラ”各2本ずつを選定し葉、果梗、果肉、種子中の青酸の経時的消長を調査した。その結果を図1に示す。図中の調査日と熟度の変化は、5月10日緑色果、5月19日黄緑色果、5月27日黄一赤色果、6月3日

赤一赤紫色果、6月9日黒紫色果(完熟)である。各部位とも青酸含有量は“ソメイヨシノ”の方が高い傾向が

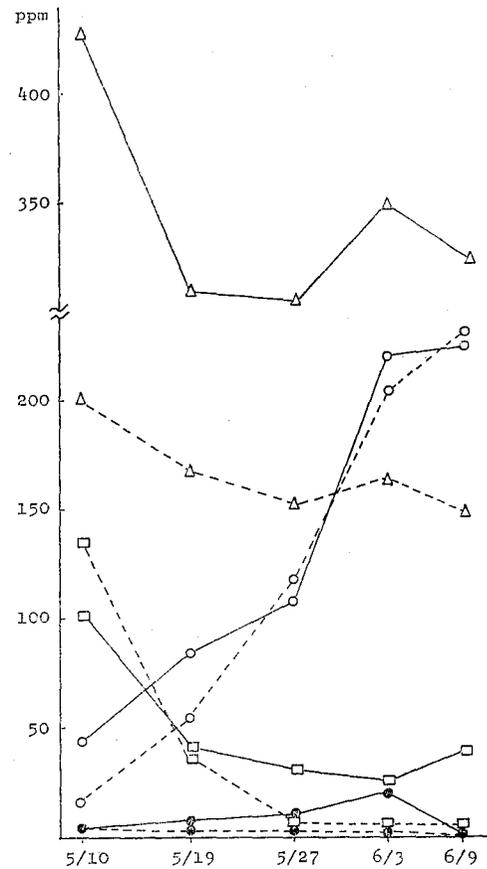


図1. 桜中の青酸の経時変化

—ソメイヨシノ, .....ヤマザクラ  
○種子, ●果肉, □果梗, △葉; 横軸は月/日

みられ、果肉、果梗、種子は時期により含有量の変動が著しかった。

葉および種子中には、かなり多量の青酸が存在するが、死鳥胃内に葉のえん下物がみられなかったことから、消化管内青酸は主として果実に由来するものであることがわかる。“ソメイヨシノ”の果肉の青酸は成熟の過程で20ppmに達するが、完熟すると急激に1ppm程度まで減少する傾向がみられた。しかし、完熟期であっても枝には熟度の異なる果実が多数ついており、青酸含有量の高い実が食べられることも考えられる。

6) 死鳥の形態学的観察 死鳥の一部について以下の形態学的観察を行った。また、対照としてカスミ網で捕獲した成鳥を用いた。

(i) 死鳥の体重

幼鳥	79.7±5.5g	(n=15)
成鳥	78.7±5.9g	(n=3)
対照	76.3±3.9g	(n=9)

黒田らの調査<sup>6)</sup>ではムクドリは幼鳥の方がむしろ体重が重いようであるが、一般的には70—80g程度が普通のものである。ここに見られるように、死鳥は対照との差がなく、発育不良はないと考えられる。

(ii) 死鳥の胸筋重量と体重の比率

幼鳥	0.20±0.02	(n=11)
成鳥	0.18±0.05	(n=3)
対照	0.19±0.03	(n=9)

栄養状態が悪化するとき、胸筋の重量が著しく減少することが知られており<sup>7)</sup>胸筋重量と体重との比率を対照と比較したが、両者に差は認められず、死鳥は栄養状態

が特に悪いとは考えられない。

(iii) 死鳥の肝重量と体重の比率

幼鳥	0.061±0.008	(n=15)
成鳥	0.065±0.044	(n=3)
対照	0.025±0.007	(n=9)

死鳥は対照の2.5倍の高い値を示した。対照は体重測定後、頸動脈切断により放血致死させたので厳密には死鳥の場合と異なるが、全血液量は体重の約1/15と推定され、したがって、その比率が放血の有無によって2.5倍も違うことはなく、死鳥の場合は肝腫張と判断され、今回の調査では最も頻度の高い共通所見であった。

7) 寄生虫および微生物学的検査 コクシジウム、糸虫等の寄生虫が多く見られたが、死因との直接的な関連は考えられなかった。また、微生物学的検査においても死因につながる知見は得られなかった。

8) 解剖所見 各臓器のうっ血、充血ないし出血斑が多く死鳥に観察されたが、死後変化もあると考えられるので毒物の影響と判定する根拠とはならない。

9) 病理組織学的検査 各臓器にいくつかの組織変化が認められるが、共通所見として取り上げられるものはなく、この点での死因に関連する知見は得られなかった。

10) ムクドリに対する青酸化合物の投与実験 以上の諸点から“ソメイヨシノ”の果実からの青酸による疑いが最も濃厚であるので巣箱を作って捕獲し、餌づけした生後2—3週齢のムクドリ9羽、カスミ網で捕獲した成鳥3羽を用いて投与実験を行った。

鳥に対する青酸の致死量に関する資料は少なく、ハ

表3. ムクドリに対する青酸化合物の投与

No.	1回目 投与				投与間隔 (時間)	2回目 投与			
		HCNとしてμg/羽		反 応			HCNとしてμg/羽		反 応
1	幼 鳥	杏仁水	100		2	KCN	200		異常なし
2	幼 鳥	杏仁水	500		1.5	KCN	100		異常なし
3	成 鳥	KCN	500						
4	成 鳥	KCN	75		1	KCN	225		異常なし
5	成 鳥	KCN	156		1	KCN	234		元気なし
6	幼 鳥	KCN	120						
7	成 鳥	KCN	355						急 死
8	幼 鳥	KCN	200		1.5	KCN	1,000		異常なし
9	幼 鳥	KCN	500						
10	幼 鳥	KCN	1,000						
11	成 鳥	KCN	350						
12	成 鳥	KCN	350						

トにおける皮下注射で1.52—4mg KCN/kgが最小致死量<sup>6)</sup>とされているので、青酸としての経口最低致死量を4 mg/kg程度と推定し、これに死鳥中の青酸残存量を考慮合わせて実験を行った。

ムクドリの捕獲や飼育は困難をきわめ、実験に十分な個体数を確保できなかったため、5羽をくり返し使用した。投与にはマウス用胃ゾンデを用いた。その結果を表3に示す。

初回投与と実験に使用した後、1カ月生存した鳥(表3中 No.4, No. 6)に対し、飼料として使用したマイナーフードに杏仁水を添加して、朝の空腹時に自由に摂食させた(表4)。餌中に添加した杏仁水はHCNとして10 ppm, 50ppm, 100ppm, 200ppm, 300ppmの5段階に設定したがマンデルニトリルの分解が比較的に早いので、30分後には餌中濃度は添加した時の約60%に減少した。表中の青酸摂取量は30分後の餌の最少摂取量(7g)に添加した杏仁水の60%の濃度(最低見積)に相当する青酸量を掛けて算出した値であり、実際にはこれを上回る青酸が摂取されている。

以上の投与実験で、355 $\mu$ g投与の1羽が急死しているが、1,000 $\mu$ gで生存するものもあり、ムクドリの青酸化合物に対する経口耐量はかなり高いように思われる。鳥の個体差を考え、平均的最高耐量を今回得られた最高耐量1,000 $\mu$ gの半分に見積り、500 $\mu$ gであるとしても死鳥消化管内の平均残存量73.7 $\mu$ gの約7倍、最高残存量114.2 $\mu$ gの約5倍に相当する。また、杏仁水を混ぜた餌を摂食させた場合も青酸として30分以内に摂取された量は最高約1 mgであり、青酸カリの場合と同程度の耐量を示された。したがって、桜の実に含まれる青酸化合物の毒性も総青酸量で評価して大きな違いはないと考えられる。

11) “ソメイヨシノ”の種子からの青酸溶出 種子中の青酸量は図1に示したようになり高いことが確認された。また、死鳥の消化管内に多数の種子が認められ、消化管内の青酸は種子から溶出したことも考えられるの

表4. 杏仁水混合餌による飼育

No.	実験食 投与日数	杏仁水添加量 (HCNとして ppm)	摂餌後30分まで の総青酸摂取量 (HCNとして $\mu$ g)	反応
4	2	10	42	異常なし
6	5	50	210	異常なし
4	1	100	420	異常なし
6	2	200	672	異常なし
4	3	300	882	元気なし

で人工胃液による溶出量の検討を行った。

死鳥の胃壁のpHはおよそ5.0であったので、塩酸およびリン酸塩を用いてpH5の人工胃液を調製し種子を浸漬した。浸漬中は容器を気密に保ち、鳥の体温のおよそ40°で溶出を試みた。溶出後、種子を手早く取り出し、容器中の気相と浸液をその容器のまま蒸留し、ピリジン-ピラソロン法で定量した。溶出試験には青酸(HCNとして)203ppm含有の種子1gを用いた結果、溶出量は2 $\mu$ g以下であり、種子中全青酸量の1%を超える溶出は認められなかった。

### 考 察

ムクドリの捕獲および飼育はきわめて困難であり、大量へい死の原因として最も強い疑いのもたれる桜の実に含まれる青酸の致死量を求めるための個体数は十分ではないが、ムクドリの多くは1羽あたり500—1,000 $\mu$ g(6—12mg/kg)の青酸経口投与に耐えるようである。355 $\mu$ g投与で死亡した1例は解剖の結果、肺内誤入は認められず青酸中毒死と考えられるので、青酸に著しく感受性の高い個体もあり、かなりの個体差があるように見うけられる。しかし、この量は死鳥消化管内青酸の最高残存量の約3倍に相当し、“ソメイヨシノ”最高青酸含量を示した未熟果(果肉20ppm)だけを食べたとして、1個の果肉は約0.6gであるので、355 $\mu$ gは未熟果30個分に匹敵する。

今回の調査では、死鳥22羽のうち消化管内における種子の残留数は最高12個が1羽、11個が1羽、全くないものが3羽、1—8個が17羽であった。ムクドリは種子を口から吐き出すことが多いようであるが“ソメイヨシノ”の未熟果だけを30個以上一時に食べることは考えられない。したがって、青酸に著しく弱い個体の場合でも、桜の実の青酸で355 $\mu$ gの致死量に達することはないと考えられる。一方、同じ桜の実をオナガやヒヨドリなども食べているが、これらの死鳥は発見されないことから桜の実に含まれる青酸が大量へい死の原因であることは否定できよう。

桜実中の青酸配糖体と青酸カリとの致死量の違いは、杏仁水の餌中への混合投与(1,000 $\mu$ g/羽)および強制経口投与(500 $\mu$ g/羽)の結果から青酸カリ投与で得た値と大差なく500—1,000 $\mu$ gの範囲にあり、大きな違いはないと思われる。

農薬および重金属類の死鳥内蓄積は低く、また疫学的調査でも、大量死は近郊に農薬が散布される前に起きていることが確かめられており、農薬等通常考えられる範囲の化学毒の死因としての可能性は否定してよい。

一方、病理組織学的には死鳥に共通所見が得られず、

死因を推定するには至らなかったほか微生物、寄生虫などの検査結果から死因に直接結びつく知見も得られなかった。

今回の調査で共通した重要所見は死鳥の肝/体重比が6%を示し、対照鳥の約2.5倍を示したことである。<sup>9)</sup>「多くの生物の肝は体重の6%を越えるものはほとんど無く<sup>7)</sup>ニワトリで2%弱<sup>8)</sup> 放血したハトで約2%を占めていること<sup>9)</sup>から、ムクドリ<sup>10)</sup>の対照鳥で得られた2.5%という値は正常値から大きく離れていることはないと考えて差しつかえない。したがって、死鳥の肝/体重比6%という値は異常値と考えてよいであろう。

青森県八戸市において、昭和47年9月に240羽を越える大量死<sup>9)</sup>があり、続いて昭和48年にも1,000羽におよぶ大量死が発生し、死因はウイルス性肝炎と推定されているが<sup>10)</sup>この時の死鳥の肝/体重比も6.8%と大きい<sup>11)</sup>。しかし、対照鳥の肝/体重比は5.1%を示し、今回の対照死2.5%の2倍に相当する。八戸市の場合、対照鳥も死鳥と同じように、死なないうまでも肝炎ウイルスの感染による肝腫張があった可能性が高い。これらの八戸市の大量死は9月以降に起っており、小金井公園の6月と異なり越冬に備えて栄養状態が良かったとも考えられる。今後この肝/体重比について調査を行ない正常値について明らかにしたい。

今回の調査では、肝細胞核へのウイルス封入体は病理組織学的に観察されなかったので八戸市の場合とは異なる原因による肝腫張と考えられるが病原細菌や化学毒によることが否定的であることから、さらに検討を加える必要があると考えられる。

以上のように、死因を解明することはできなかったが、ムクドリは自然死の多い鳥であることが知られていて年間の死亡率は67%にも達すると推計されている<sup>12)</sup>。このようなことから、今回の大量死は自然死と考えられないこともないが、自然死の場合“ねぐら”で死ぬのが普通である<sup>9)</sup>のに、昼間、餌を摂る桜の木の下に大量死があることはやはり桜の実との関連性は捨て難い。この点については、桜の実のクマリン配糖体あるいはサポニン等、青酸以外の化学成分について引き続き昭和52年度にその関連性を究明する予定である。

いずれにしても、化学物質による環境汚染について、野生の生物をひとつの指標にモニタリングが行われてい

る現在、野鳥の生態観察を確立しておくことは公衆衛生上重要な課題といえよう。

#### ま と め

1. 小金井公園を中心に昭和51年6月中に220羽におよぶ大量へい死が発生し、この原因究明の調査を行った。
2. 死鳥の消化管内容物から平均74 $\mu$ gの青酸が検出され、これは摂食した桜の実由来であることが判明したが、多くの調査結果から直接死因に関連していることは否定的であった。
3. 農薬、重金属などの化学毒、微生物および寄生虫等いずれも否定的であり、直接の死因とは考えられない。
4. 病理組織学的に死因を推定できる共通所見は得られなかった。
5. 肝腫張が解剖学的に共通してみられた所見であるが、死因の推定はできなかった。

#### 文 献

- 1) 佐々木 直, 高島 昇, 鈴木雅夫, 山口昌彦, 平田二郎, 清水幸子, 吉岡良雄: 東京都衛生局学会誌, 56, 42, 1975
- 2) 上田 工, 勝木康隆, 安田和男, 佐藤弥代子, 木村康夫: 東京衛研年報, 24, 269, 1972
- 3) 刈米達夫, 木村雄四郎: 最新和漢薬用植物, 改稿第7版, 254, 1966, 広川書店
- 4) 鈴木梅太郎: 植物生理学, 第2版, 598, 1948, 朝倉書店
- 5) 服部 健三, 近藤 信: 食用植物学, 第1版, 408, 1935, 南山堂
- 6) 黒田長久: 山階鳥研報, 2, 99, 1960
- 7) 奥木 実: 実験動物取扱いと実験手技, 第3版, 273, 1971, 南山堂
- 8) 関 比呂伸 他: 未発表データ
- 9) 吉川 堯, 小山田隆, 花田貴宣: 75回日獣学会講演要旨, 73, 1973
- 10) 吉川 堯, 小山田 隆, 蛭田正己: 78回日獣学会講演要旨, 102, 1974
- 11) 吉川 堯: 青森県環境保健部自然保護課長宛の昭和48年度ムク鳥に関する病理学的調査について(報告), 昭和49年7月1日
- 12) 三河正男: 鳥獣行政, 34, 20, 1974

食品添加物中の多核芳香族炭化水素 (第3報) カラメル中のベンゾ(a)ピレンの分析

広門雅子\*, 中嶋 巖\*, 宇佐美博幸\*, 遠藤英美\*

Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Food Additives(III)  
Analysis of Benzo(a)pyrene in Caramel

MASAKO HIROKADO\*, IWAO NAKAJIMA\*, HIROYUKI USAMI\*  
and FUSAYOSHI ENDO\*

Benzo(a)pyrene (BaP) in 21 commercial caramels was determined by applying the method described in previous paper. Results were as follows: Recoveries of BaP added to 25g of caramel samples at a level of 1 ppb ranged from 88.30 to 99.28%. None of the caramels contained greater than 0.1 ppb (minimum detection level) of BaP.

緒 言

前報ではクエン酸<sup>1)</sup>, 流動パラフィンおよびクン液<sup>2)</sup>中のベンゾ(a)ピレン (BaP) について報告したが, 今回はひき続きカラメル中の BaP について検討した。

今日, 合成着色料の禁止にともない天然着色料の使用量が増加してきたが, 中でもカラメルは清涼飲料水, 菓子類およびソース類などに広く使用されている。しかし, 我国ではカラメルを含め天然添加物の規格が制定されていない状態である。Davies<sup>3)</sup>や Masuda<sup>4)</sup>らは有機物の不完全燃焼により多核芳香族炭化水素が生成すると報告していることから, カラメルも糖を約200°で加熱してつくられるのでその製法上, BaP が生成すると考えられる。そこで, クン液中からの BaP の分析法<sup>2)</sup>を準用して, 都食品監視課の先行調査との関連で収去されたカラメル21種中の BaP の分析を行ない, 天然添加物規格をつくる際の資料とした。

実 験 の 部

試薬 前報<sup>2)</sup>と同じ

装置, 器具 前報<sup>2)</sup>と同じ

分析試料 都食品監視課より昭和50年4月-9月にかけて当所に送付されたカラメル製造6社の製品21種を用いた。これらはいずれも黒褐色-黒色の液状または固形の不定形物質である。

実験操作

1. 分配抽出 内容500mlの分液ロートに試料25gおよび水300mlを加えてよく振りまぜて溶かし, 塩化ナトリウム約30gおよびn-ヘキサン100mlを加え5分間激し

くふりまぜ静置した後, n-ヘキサン層を分取した。同様の操作を3回行なったのち, n-ヘキサン抽出液を合わせ, 20%水酸化ナトリウム溶液50mlずつで3回くり返し洗浄した。つぎに水50mlで一回洗った後, リン酸50mlを加えて振り混ぜ, リン酸層が褐色を呈さなくなるまでリン酸洗いをくりかえした。(約3回)。さらにn-ヘキサン層に水50mlを加えて3回洗った後, 無水硫酸ナトリウム少量を加えて脱水した。これをろ過したのち, n-ヘキサン抽出液はエバポレーターを用いて濃縮し1-2mlとした。

2. カラムクロマトグラフィー 1%含水アルミナをn-ヘキサンを用いてカラム管に湿式充てんし(高さ15cm), n-ヘキサンがカラムの上部にわずかに留まる程度に流出したのち, 上記濃縮液をこのカラム内に注ぎ, BaPを吸着させ, カラム管壁をn-ヘキサンで洗った後, n-ヘキサン-エーテル(1:1)液でBaPを溶出させ, 10-60ml範囲の溶出液を分取した。これをエバポレーターで濃縮乾固し, n-ヘキサンを加えて全量10mlとした。この液についてけい光強度を測定した。

3. けい光測定による定量 けい光光度計を用い励起波長383nmにおける401, 403, 405nmのそれぞれ3点のけい光強度を測定し, ベースライン法<sup>5)</sup>により次式よりIを求めBaP標準溶液(1-5ng/ml)から得た検量線より濃度を求めた。 $I = I_{403} - (I_{401} + I_{405}) / 2$  測定条件: ENERGY, DYNODE VOLT 75, Excit wavelength 383nm, Sensitivity 3F7, Ex. slit 10, Em. slit 2. Filter 390nm.

\* 東京都立衛生研究所生活科学部食品添加物研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Recovery of Benzo(a)pyrene added to Caramel

Sample Weight	Benzo (a) pyrene		Recovery
	Added	Found	
25(g)	25(ng)	24.68(ng)	98.72(%)
"	"	24.57	98.28
"	"	21.82	87.28
"	"	24.82	99.28
"	"	22.08	88.30
Mean		23.59(ng)	94.37(%)
S.D.		1.35	
C.V.		5.71(%)	

## 実験結果および考察

**分析条件の検討** 本分析は前報<sup>2)</sup>のクン液の方法に準じて行なった。n-ヘキサンによる分配抽出の際、懸濁をおこしたが、エチルアルコールを少量静かに加えて静置したところ完全に分離した。また褐色色素(アミノカルボニル反応により生成するメラノイジン)はアルカリおよび酸洗いで完全に除去できなかったため、アルミナカラムによるクリーンアップを検討した結果、褐色色素はカラムに保持されることを確認した。しかし、最終のけい光測定用溶液にBaPの測定を妨害するけい光(408—428nm)を認めた。そこでけい光分光光度計のEm. slit幅をせまくし、けい光波長401, 403, 405nmを用いたベースライン法で定量した結果、BaPのけい光測定は妨害されず、検量線も $Y=1.31X+0.215$ (相関係数0.9986)と直線性を示した。

**回収率** 試料25gに、BaP標準溶液を正確に100倍に希釈した溶液2.5mlを添加したのち、上記の分析法にしたがって定量を行なった時の回収率をTable 1に示した。平均回収率94.37%、変動係数5.71%と良好な結果が得られた。

**カラメル中のBaPの分析結果** カラメル21種中からの

BaPの分析結果はすべて検出限界の0.1ppb以下であった。

## まとめ

前報のクン液中のBaPの定量法を準用して分析した結果、最終のけい光測定用溶液にBaPの測定を妨害するけい光(408—428nm)が認められたので、けい光分光光度計のEm. slit幅をせまくし、けい光波長401, 403, 405nmを用いたベースライン法<sup>5)</sup>で測定した結果影響はなかった。カラメルに1ppbのBaPを添加し、5回の回収実験を行なったときの平均回収率は94.37%と高く、変動係数も5.71%でバラツキも少なく良好な結果が得られた。

市販カラメル21種中のBaPはすべて0.1ppb以下であった。

Masudaら<sup>4)</sup>は500°—700°で焼いたD-GlucoseからはBaP(120—6900ppb)を含めて19種の多核芳香族炭化水素が検出され、300°で焼いたものからは検出されなかったと報告しているが、カラメルの場合は糖を約200°で加熱してつくられるので、この温度ではやはりBaPは生成しないと考えられる。したがって天然添加物規格をつくるにあたり、カラメルの純度試験に「多核芳香族炭化水素」を採用する必要はないと考える。

**謝辞** 試料収集に当り御協力いただいた都食品監視課ならびに食品機動監視班各位に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 遠藤英美, 広門雅子, 半田八十三: 東京衛研年報, 25, 271, 1974
- 2) 広門雅子, 遠藤英美, 宇佐美博幸: 東京衛研年報, 26-1, 220, 1975
- 3) Davies, W. and J.R. Wilmsht: *Brit. J. cancer*, 14, 295, 1966
- 4) Masuda, Y., K. Mori, and M. Kuratsune: *Gann*, 58, 69, 1967
- 5) Commins, B. T.: *Analyst*, 83, 386, 1958

東京湾産アサリ貝殻中の微量元素について

安野 哲子\*, 荻野 周三\*, 小野 綾子\*  
大島 敏子\*, 遠藤 英美\*

Contents of Trace Elements in Shells of Short-Necked Clam in Tokyo Bay

TETSUKO YASUNO\*, SHUZO OGINO\*, AYAKO ONO\*,  
TOSHIKO OHATA\* and FUSAYOSHI ENDO\*

The determination of the amounts of trace elements in shells of short-necked clam was made, by atomic absorption spectrophotometry method, for the monitoring of ocean pollution. Twenty two samples were collected from five places in Tokyo Bay (Ohi, Sanmaizu, Chiba, Kisarazu and Futtsu) during the period from May to September, 1976. All of the samples tested contained strontium, magnesium, iron, manganese, zinc and copper at a level of  $10^3$ ,  $10^2$ , 10, 10, 1 and 1 ppm, respectively. It was also found that they have contained less than 0.6 ppm of lead, 0.2 ppm of arsenic and 0.2 ppm of total mercury, 0.1 ppm of chromium, and 0.03 ppm of cadmium. Significant differences were noted as regards levels of lead, copper, zinc, iron, magnesium and strontium among the places where the sampling was made.

緒 言

東京湾の海水や底質中の重金属量については、その汚染問題と関連して一都三県公害防止協議会<sup>1)</sup>、あるいは文部省特定研究グループなどにより調査が実施されている<sup>2)</sup>。しかし生物を指標とした重金属汚染の実態調査はほとんどなされていない。そこで著者らは指標生物としてアサリをとりあげ、その貝殻中の重金属量について調査を進めているが<sup>3,4)</sup>、今回は広く貝殻中の微量元素の含有量を把握する目的で、東京湾で採取したアサリを対象に、その貝殻中のヒ素をはじめ11元素について原子吸光法により分析したので、ここにその結果を報告する。

材 料 と 方 法

検体 1976年5月から9月まで毎月1回、計5回にわたり、大井埠頭京浜6区地先、葛西沖海上公園三枚洲(8,9月のみ)、千葉市千葉中央港海岸、木更津市人工島海岸、富津市富津公園海岸(以下順に大井、三枚洲、千葉、木更津、富津と略す—Fig.1参照)の5カ所で採取したアサリ、計22検体を対象とした。各検体とも採取量は肉質を含む重量で約1.5—2 kgとした。なお東京湾で採取されるアサリには、アサリ *Tapes (Amygdala) philippinarum* とヒメアサリ *T.(A.) variegata* とがあるが、両者の区別は外形上困難であり、生態的にも差がな

く、また流通過程においても区別されていないところから、今回の調査でも特に両者を区別せず、アサリとして処理した<sup>4)</sup>。

試薬 50%硝酸マグネシウム溶液。5 N塩酸。3 N塩酸。20%ヨウ化カリウム溶液。20%塩化第一スズ塩酸溶液。亜鉛末錠剤：亜鉛末25gに水3.5mlを加えてペースト状とし、錠剤成型器にぬり込み、約80°で20—30分間乾燥した。1 N硝酸。5%過硫酸アンモニウム溶液。酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液：1 M酢酸5.9mlと1 M酢酸ナトリウム溶液14.1mlを加えて、pHメーターでpH5に調整した。2%ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム(DDTC)溶液。水飽和メチルイソブチルケトン(MIBK)。各元素の標準溶液として、和光純薬(株)製原子吸光分析用標準溶液(いずれも濃度は1,000 $\mu$ g/mlである)を用時希釈したものを用いた。希釈濃度は後述の分析法の項で各元素ごとに記した。亜鉛末は日本ジャーレル・アッシュ製のバインダー配合亜鉛末を使用した。また、DDTCとMIBKは和光純薬(株)製原子吸光分析用を、その他はすべて試薬特級品を使用した。

装置 高速振動試料粉碎機：平工TI-500型、タングステンカーバイト容器付。pHメーター：日立・堀場M—5型。原子吸光分析装置：日本ジャーレル・アッシュ

\* 東京都立衛生研究所生活科学部食品添加物研究科 160 東京都新宿区百人町3—24—1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24—1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

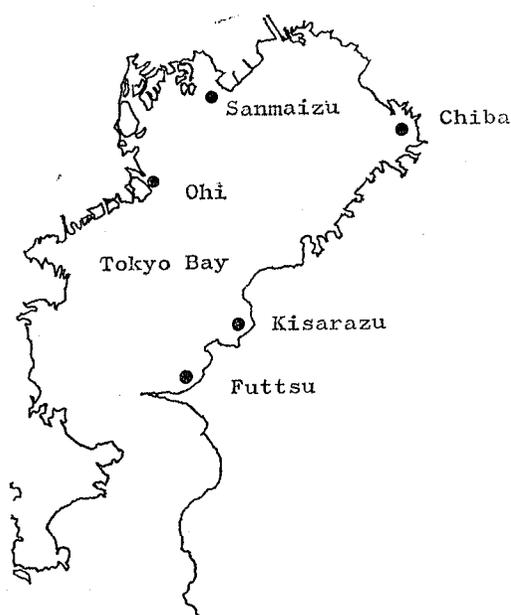


Fig. 1. Sampling Stations in Tokyo Bay

AA-1MARK-II型, 微量ヒ素測定装置 ASD-1Aおよびバックグラウンド測定装置DL-1付. 水銀分析装置: 杉山元石英管燃焼・金アマルガム・原子吸光法による水銀分析システム.

#### 分析 法

1. 試料の調製 採取した貝より肉質部分を取り除き殻は水洗したのち自然乾燥した. 乾燥後各検体ごとに殻を大, 中, 小の3グループに分け, 1検体からの供試量が100gとなるように, 各グループからその量に比例した量を取り, これをあわせて粉碎した. 粉碎にさいしては高速振動試料粉碎機とメノウの乳鉢を併用して行な

い, 100メッシュのふるいを通す部分を集めこれを試料とした.

2. ヒ素 試料約1gを内容量50mlの磁製るつぼに精密にはかり, これに50%硝酸マグネシウム溶液6滴を加えて赤外線ランプで乾燥したのち, 400°で1時間灰化した. 放冷後5N塩酸で中和し, これを3N塩酸で発生ビンに流し込んで全量を25mlとした. つぎに20%ヨウ化カリウム溶液1mlを加え, 2分後に20%塩化第一スズ塩酸溶液0.5mlを加えて10-20分間放置した. 放置後微量ヒ素測定装置にセットし, 亜鉛末錠剤1錠を加えてヒ化水素を発生させ, これをアルゴンをキャリアーガスとしてアルゴン・水素炎に導入し, Table 1の測定条件で吸光度を測定した<sup>5)</sup>. なお, 試料1gにヒ素標準溶液(As 1 μg/ml) 0.1-0.4mlを段階的に加えたものについても同様の操作を行ない, 標準添加法にて測定した.

3. カドミウム, 鉛, 銅, クロム 試料約2.5gを内容量100mlのパイレックスビーカーに精密にはかり, 400°で30分間灰化した. これに硝酸5mlを加えて水浴上でほとんど蒸発させ, さらにホットプレート上で乾固させた. 再び400°で1時間灰化し, 1N硝酸10mlを加えて水浴上で加温溶解した. 放冷後5%過硫酸アンモニウム溶液1mlを加え, 希アンモニア水と希硝酸でpH4に調整, 直ちに時計皿でふたをして15分間水浴上で酸化を進めた. 放冷後100mlのスキープ型分液漏斗に移して酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液5mlを加え, 水で全量を60mlにした. 2%DDTC溶液5mlを加えて5分間放置後, 水飽和MIBK 10.0mlを加えて3分間振とう抽出し, 静置後MIBK層を分離して原子吸光用検液とした<sup>6)</sup>. 試料2.5gに対し, カドミウム, 鉛, 銅, クロム標準混液(1ml中にCd 1 μg, Pb 10 μg, Cu 4 μg, Cr 1 μgを含有す

Table 1. Conditions for Measurement by Atomic Absorption Spectrophotometry Method

Element	Wave Length (nm)	Lamp Current (mA)	Burner Height (cm)	Fuel Gas (kg/cm <sup>2</sup> -l/min)	Support Gas (kg/cm <sup>2</sup> -l/min-l/min)
As	193.7	18	2.9	H <sub>2</sub> , 0.4-3.0	Ar, 1.5-6.75-0
Cd	228.8	8	3.0	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> , 0.4-0.7	Air, 1.5-6.75-5.0
Pb	283.3	"	"	" "	" "
Cu	324.8	6	"	" "	" "
Cr	357.9	10	"	" 0.4-1.0	" "
Zn	213.9	12	3.1	" 0.4-1.5	" 1.5-6.75-3.0
Fe	248.3	15	"	" "	" "
Mn	279.5	"	"	" "	" "
Mg	285.2	"	"	" "	" "
Sr	460.7	10	"	" "	" "
T-Hg	253.7	Burning Temperature : 800°, Burning Time : 4min, O <sub>2</sub> : 1l/min			

る) 0.5ml, 1.0mlを添加したものについても同様に行ない、標準添加法にて測定した。

4. 亜鉛, 鉄, マンガン 試料約2.5gを100mlのバイレックスビーカーに精密にはかり, 3.項と同じ方法で灰化し, 1N硝酸10mlを加えて水浴上で加温溶解した。放冷後50mlのメスフラスコに移して水で定容とし, これを原子吸光用検液とした。試料2.5gに対し, 各標準溶液を下記の量だけ添加したものについても同様に行ない, 標準添加法にて測定した。

亜鉛標準溶液 (Zn 10 $\mu$ g/ml) : 0.5ml, 1.0ml

鉄標準溶液 (Fe 1,000 $\mu$ g/ml) : 0.15ml, 0.25ml

マンガン標準溶液 (Mn 100 $\mu$ g/ml) : 0.5ml, 1.0ml

5. マグネシウム, ストロンチウム 4.項で調製した検液の5mlをとり, 水で希釈して100mlとした。さらにこの10mlを水で希釈して25mlとし原子吸光用検液とした。10mlに対し, マグネシウム, ストロンチウム標準混液(1ml中にMg10 $\mu$ g, Sr100 $\mu$ gを含有する) 0.25ml, 0.5mlを添加し, それぞれ水で希釈して25mlとしたものについても吸光度を測定し, 標準添加法にて行なった。

6. 総水銀 試料約0.5gを陶製ポートに精密にはかり, 水銀分析装置の燃焼炉に入れ, 酸素気流中で加熱して燃焼させた。原子化した水銀を捕集剤上で金アマルガ

Table 2. Contents of Trace Elements in Shells of Short-Necked Clam (ppm)

Station	Month	As	Cd	Pb	Cu	Cr	Zn	Fe	Mn	Mg	Sr	T-Hg
Ohi	M	0.060	0.016	0.22	1.30	ND	6.27	42.4	13.6	166	1,500	0.012
	J	0.090	0.026	0.18	1.70	ND	5.08	30.6	12.9	173	1,720	0.001
	Jy	0.210	0.014	0.30	2.06	ND	6.30	36.0	13.8	162	1,660	0.005
	A	0.080	ND	0.12	1.20	ND	6.80	32.8	40.6	154	1,660	0.011
	S	0.070	0.010	0.20	1.36	ND	3.10	42.8	18.9	185	1,860	0.003
	$\bar{x}$	0.102	0.013	0.20	1.52	ND	5.51	36.9	20.0	168	1,680	0.006
Sanmaizu	A	0.110	0.016	0.22	1.44	0.076	3.59	40.8	11.2	149	1,600	0.005
	S	0.090	0.014	0.16	1.08	ND	1.92	12.5	29.1	154	1,680	0.038
	$\bar{x}$	0.100	0.015	0.19	1.26	0.038	2.76	26.7	20.2	152	1,640	0.022
Chiba	M	0.030	0.008	0.60	1.75	0.052	6.64	16.5	19.2	155	1,350	0.023
	J	0.025	0.004	0.64	1.03	0.110	5.30	16.4	19.9	140	1,350	0.002
	Jy	0.050	0.012	0.54	1.26	0.076	3.29	17.2	16.0	135	1,300	0.005
	A	0.037	0.004	0.32	2.01	0.016	2.10	11.7	19.3	139	1,370	0.004
	S	0.025	ND	0.38	1.64	0.048	3.31	12.7	16.4	151	1,320	0.002
	$\bar{x}$	0.033	0.006	0.50	1.54	0.060	4.13	14.9	18.2	144	1,340	0.007
Kisarazu	M	0.180	0.008	ND	0.98	ND	6.54	57.9	22.1	161	1,360	0.131
	J	0.160	0.008	ND	1.35	ND	6.15	62.2	21.6	159	1,400	0.005
	Jy	0.105	0.014	ND	1.34	ND	2.83	36.2	22.6	144	1,430	0.040
	A	0.080	0.012	ND	0.71	ND	2.04	45.0	6.5	172	1,550	0.023
	S	0.095	ND	ND	0.91	0.020	0.86	64.4	8.1	178	1,520	ND
	$\bar{x}$	0.124	0.008	ND	1.06	0.004	3.68	53.1	16.2	163	1,450	0.040
Futtsu	M	0.150	0.012	ND	0.94	0.088	1.83	39.1	11.9	148	1,490	0.175
	J	0.080	0.002	0.06	0.87	ND	4.10	27.3	7.7	160	1,490	ND
	Jy	0.070	0.024	ND	0.84	ND	1.67	24.6	7.1	144	1,460	0.037
	A	0.030	ND	0.06	0.72	ND	1.47	22.0	8.0	168	1,480	0.223
	S	0.040	ND	0.04	0.74	ND	0.90	24.5	9.0	166	1,370	ND
	$\bar{x}$	0.074	0.008	0.03	0.82	0.018	1.99	27.5	8.7	157	1,460	0.087
Range		0.025	ND	ND	0.71	ND	0.86	11.7	6.5	135	1,300	ND
		0.210	0.026	0.64	2.06	0.110	6.80	64.4	40.6	185	1,860	0.223
Total- $\bar{x}$		0.085	0.009	0.18	1.24	0.022	3.73	32.5	16.2	157	1,496	0.034

M : May, J : June, Jy : July, A : August, S : September

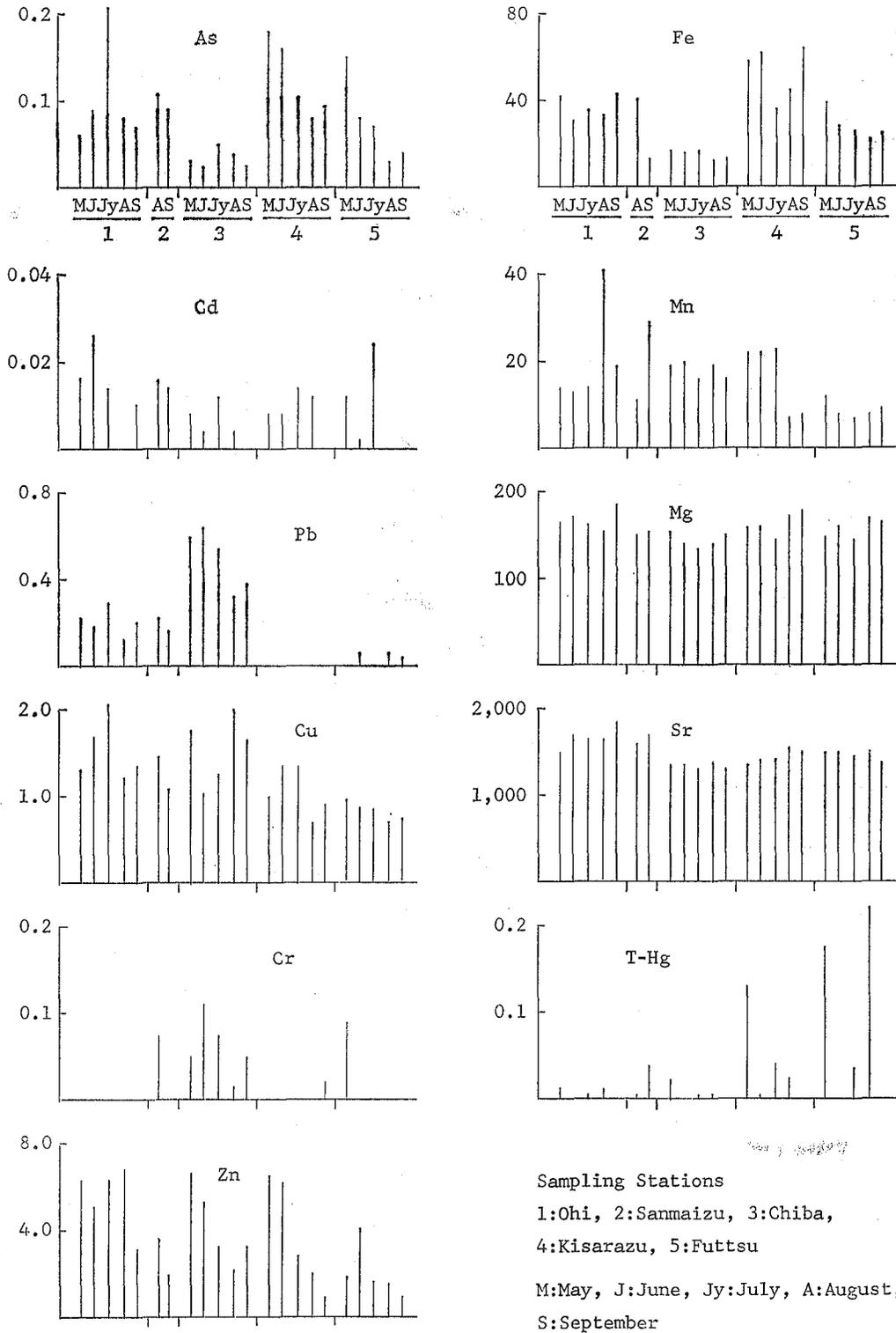


Fig. 2. Contents of Trace Elements in Shells of Short-Necked Clam (ppm)



Table 4. Contents of Trace Elements in Sediment (dry base ppm)

Station	Month	As	Cd	Pb	Cu	Cr	Zn	T-Hg
Ohi	M	5.09	0.02	5.57	7.1	16.9	71.1	0.010
	J	3.72	0.01	4.38	5.2	16.6	40.9	0.020
	Jy	4.14	0.01	4.93	5.4	13.4	39.5	0.017
	A	4.21	0.01	4.99	5.7	14.1	50.0	0.020
	S	3.67	ND	4.99	6.7	13.1	44.0	0.017
	$\bar{x}$	4.17	0.01	4.97	6.0	14.8	49.1	0.017
Sanmaizu	A	3.57	ND	3.55	5.4	17.5	55.6	0.011
	S	3.30	ND	4.50	5.8	13.8	57.0	0.009
	$\bar{x}$	3.44	ND	4.03	5.6	15.7	56.3	0.010
Chiba	M	3.51	ND	2.99	3.1	9.6	50.2	0.005
	J	2.17	ND	2.63	2.4	7.2	40.5	0.007
	Jy	4.38	0.01	4.30	2.9	7.0	78.9	0.007
	A	2.61	ND	3.15	2.9	8.3	48.4	0.007
	S	2.93	ND	3.13	2.9	8.5	61.3	0.003
	$\bar{x}$	3.12	ND	3.24	2.8	8.1	55.9	0.006
Kisarazu	M	3.75	0.03	3.47	3.1	9.2	52.1	0.009
	J	4.16	0.06	4.01	4.2	9.3	60.5	0.023
	Jy	4.09	0.05	4.08	3.2	8.7	69.2	0.014
	A	3.64	0.05	4.89	4.9	10.3	57.0	0.014
	S	3.53	0.03	3.63	3.9	9.2	40.9	0.011
	$\bar{x}$	3.83	0.04	4.02	3.9	9.3	55.9	0.014
Futtsu	M	2.42	ND	2.15	2.2	7.1	20.9	0.009
	J	2.35	ND	2.63	3.4	4.8	23.7	0.011
	Jy	2.48	ND	3.90	2.5	5.8	30.9	0.010
	A	2.36	ND	3.20	4.4	6.6	31.2	0.005
	S	2.88	0.05	3.63	3.6	6.4	37.2	0.010
	$\bar{x}$	2.50	0.01	3.10	3.2	6.1	28.8	0.009
Range		2.17	ND	2.15	2.2	4.8	20.9	0.003
		5.09	0.06	5.57	7.1	17.5	78.9	0.023
Total- $\bar{x}$		3.41	0.02	3.85	4.1	10.2	48.2	0.011

M : May, J : June, Jy : July, A : August, S : September

ppm 以下であった。

2. 各元素の含有量の地域差について  $t$ -検定 を行なった結果、鉛、銅、亜鉛、鉄、マグネシウム、ストロンチウムにおいて有意差が認められた。

3. いくつかの元素間にあつては、その含有量に正または負の相関関係が認められた。

#### 結 語

今回の調査は、東京湾産アサリ貝殻中の重金属含量を主として調査したものであり、採取地域間の有意差の原因について、また生息地域の底質や環境水との相関性、各金属間の相関性などについてはなお詳細な検討を要す

ると考えられ、この点をふまえて今後さらに調査を進める予定である。

本調査にあたり試料採取に御協力いただいた都衛生局食品機動監視班麴町分駐ならびに荏原分駐の方々、底質に関する資料を提供して下さった当所乳肉衛生研究科食肉魚介化学担当の山岸達典主任研究員に深謝致します。

#### 文 献

- 1) 一都三県公害防止協議会：水質汚濁共同調査報告書（東京湾総合調査），1972，1973，1974
- 2) 坪田博行，宇野木早苗，江角比出郎，堀越増興：日本海洋学会誌，特集号，91，1975

K<sub>2</sub>PtI<sub>6</sub> 濃塩酸溶液 5 ml, 10%KI溶液 45ml および蒸留水 100ml を混合する。

4) メタノール性水酸化カリウム溶液: KOH 3g を蒸留水 2ml に溶かしたのちメタノールで 10ml とする。

### 3. 標準酸化防止剤

次の 8 種を標準品とした。

1) ジラウリルチオジプロピオネート (以下 DLTDP と略す): 東京化成(株)製

2) ジミリスチルチオジプロピオネート (以下 DMTDP と略す): 吉富製薬(株)製

3) ジステアリルチオジプロピオネート (以下 DSTDP と略す): 東京化成(株)製

4) ブチルヒドロキシトルエン (以下 BHT と略す): 東京化成(株)製

5) *n*-オクタデシル-β-(4'-ヒドロキシ-3', 5'-ジ-*t*-ブチルフェニル) プロピオネート (以下 Irganox 1076 と略す): 日本チバガイギー(株)

6) テトラキス [メチレン-3-(3', 5'-ジ-*t*-ブチル-4'-ヒドロキシフェニル) プロピオネート] メタン (以下 Irganox 1010 と略す): 日本チバガイギー(株)

7) 4,4'-ブチリデンビス-(6-*t*-ブチル-*m*-クレゾール) (以下 Antage と略す): 東京化成(株)製

8) 1,1,3-トリス-(2-メチル-4-ヒドロキシ-5-*t*-ブチルフェニル) ブタン (以下 Topanol と略す): インペリアル・ケミカル・インダストリーズリミテッド

酸化防止剤標準溶液は各 1.0% クロロホルム溶液を調製して標準原液とし、以下必要な濃度に適宜希釈して調製した。

### 4. 装置

ガスクロマトグラフ: 日立 163 型, 023 型および柳本 G 80 型 (いずれも FID 検出器付き); ガスクロマトグラフ質量分析計: 島津 LKB9000 型。

### 5. 材質中の酸化防止剤の試験

1) 試験溶液の調製 試料を水洗し乾燥後けずりとして薄片としその 4.0g を精秤する。これをソックスレー抽出器に入れ、アセトン 120ml を用いて水浴上 8 時間還流する。抽出液は 45° 以下で減圧濃縮したのち、残留物に

クロロホルムを加えて溶解、正確に 2ml とする。この液を試験溶液とした。

2) 薄層クロマトグラフィー (TLC) による定性 試験溶液および 0.1% 標準溶液 40μl を薄層板 (メルク製シリカゲル HF254) に塗布し、2 種の展開溶媒 a. 酢酸エチル・石油エーテル (1 : 9), b. ベンゼン・石油エーテル (7 : 3) を用いて約 15cm 展開する。風乾後、発色試液 a. カリウムヘキサヨウ素プラチネート溶液 (イオウ系酸化防止剤用) または b. 2,6-ジクロロキノロンクロロイミド溶液 (フェノール系酸化防止剤用) を噴霧し、発色したスポットの R<sub>f</sub> 値および色調を標準酸化防止剤のスポットと比較して判定した。検出限度 5 μg/spot。

標準酸化防止剤の R<sub>f</sub> 値は Table 1 のとおりである。

3) ガスクロマトグラフィー (GC) による定量 試験溶液について次の条件による GC を行い、同様に操作して得られた各濃度の標準溶液の示すピーク高から絶対検量線法により検量線を作成し、これを用いて定量した。なお定量は TLC で確認されたものについてのみ行った。

(1) DLTDP, DMTDP, Irganox 1076, Antage および Topanol の GC 条件 カラム: ガラス製 2m × 3mm; 充てん剤: 10% Silicone E-301/Chromosorb W (AW-DMCS, 60-80mesh); 温度: カラム槽 290°, 注入口 320°; キャリヤーガス: N<sub>2</sub> 38ml/min; 保持時間: DLTDP 15分, DMTDP 33分, Irganox 1076 15分, Antage 2.7分, Topanol 18.2分 (Fig. 1)。

なおこの条件では DLTDP と Irganox 1076 は同一の保持時間を示すことから、両者が検出される場合更に下記の条件による GC を行う。

カラム: ステンレス製 2.25m × 3mm; 充てん剤: 5% Dexsil 410GC/Chromosorb W (AW-DMCS, 60-80mesh); 温度: カラム槽 302°, 注入口 335°; キャリヤーガス: N<sub>2</sub> 52ml/min; 保持時間: DLTDP 13.5分, Irganox 1076 11.5分 (Fig. 1)。

(2) BHT の GC 条件 カラム: ステンレス製 1m × 3mm; 充てん剤: 10% Silicone SE-30/Chromosorb W (AW, 60-80mesh); 温度: カラム槽 180°, 注入口 220°; キャリヤーガス: N<sub>2</sub> 25ml/min; 保持時間:

Table 1. R<sub>f</sub> Values of Antioxidants

	DLTDP	DMTDP	DSTDP	BHT	Irg. 1076	Irg. 1010	Antage	Topanol
Solvent a	0.59	0.60	0.63	0.88	0.85	0.34	0.10	0.05
" b	0.16	0.19	0.23	0.91	0.75	0.09	0.15	0.00

Solvent a : Ethyl acetate · Petroleum ether (1 : 9)

b : Benzene · Petroleum ether (7 : 3)

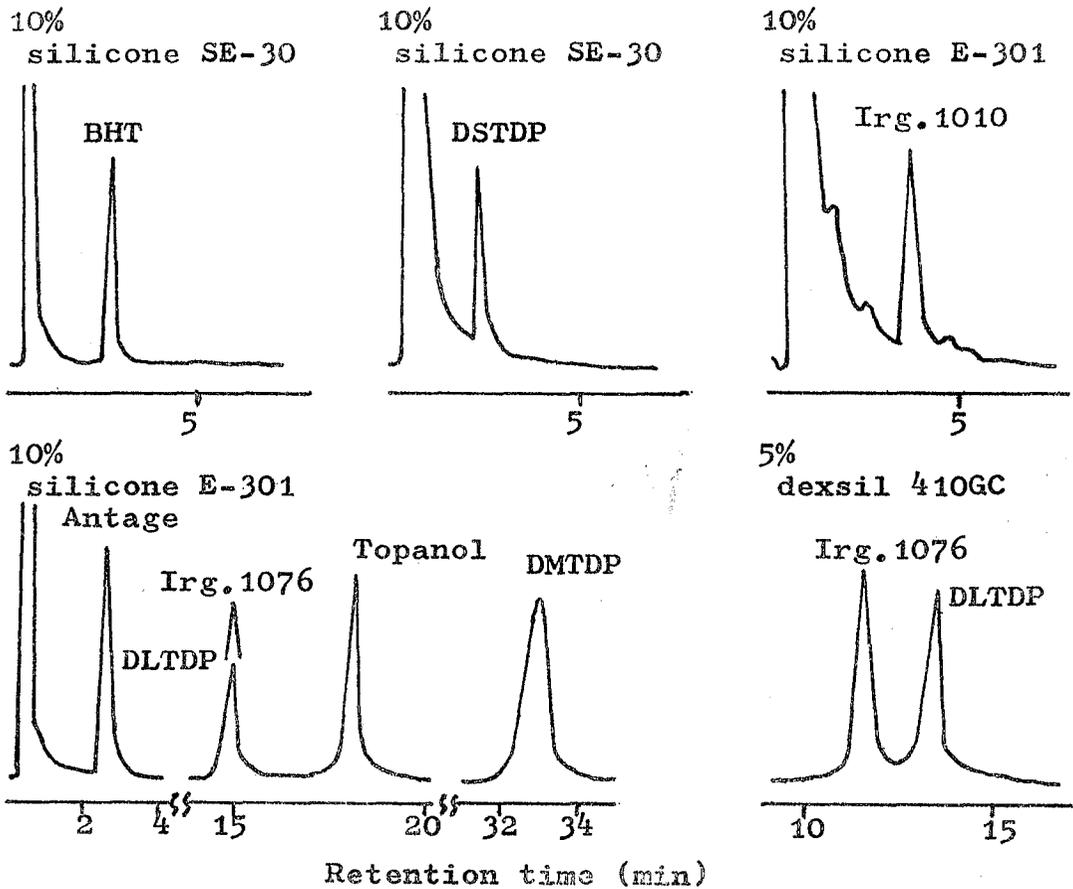


Fig. 1. Gas Chromatograms of Antioxidants

Table 2. Recovery of Antioxidants from Solvents

	DLTDP	DMTDP	DSTDP	BHT	Irg.1076	Irg.1010	Antage	Topanol
Water	94%	92%	90%	92%	99%	—	94%	95%
n-Heptane	100	99	95	95	98	—	98	99

The recovery was tested at 0.5ppm of antioxidants in solvents.

2.8分 (Fig.1).

(3) DSTDPのケン化およびGC条件 ケン化して得られるステアリルアルコールをGCにより定量し、これをDSTDPに換算した。なお標準溶液についても同様の操作を行う。ケン化は試験溶液1mlを正確にとり、水浴上でクロロホルムを蒸発させたのち、メタノール性KOH溶液1mlを加え、80°の水浴中で30分間還流冷却器をつけて加熱して行う。冷後水10mlを用いてケン化物を分液ロートに移し、クロロホルム3mlずつで3回抽出を繰り返したのち、抽出液を合わせクロロホルムで

正確に10mlとする。この液をGC用試験溶液とした。

GCの条件 カラムおよび充てん剤：(2)に同じ；温度：カラム槽230°，注入口260°；キャリアーガス：N<sub>2</sub>35ml/min；保持時間：2.3分 (Fig.1)。

(4) Irganox 1010のGC条件 カラムおよび充てん剤：(1)に同じ；温度：カラム槽230°，注入口250°；キャリアーガス：N<sub>2</sub>25ml/min；保持時間：3.6分 (Fig.1)。

#### 6. 移行試験

浸出条件は食品の種類，食品と食器の接触時間を勘案

Table 3. Amount of Antioxidants in the School Lunch Wares (ppm)

Specimen	DLTDP	DMTDP	DSTDP	BHT	Irg. 1076	Irg. 1010	Antage	Topanol
1				20	80			
2	370						60	
3	520						110	
4	420						40	
5	220						20	
6	260						50	
7	80						10	
8	350						40	
9	200			20			50	
10	350						10	
11	470			10			60	
12				120	150			
13	370							
14			240					
15	690			90				
16								
17	50							
18	30			100				
19		660		380				
20		440		330				
21			250					
22	390							
23	460						40	
24	340						10	
25	220						20	
26	270						30	
27	400						30	
28	250						20	
29	350						30	
30	490			20			20	
31	380			10			70	
32				210	230			
33	490			430				
34				450				
35	50			180				
36				200	210			
37				200	250			
38				200	260			
39	150			20			40	
40				20	170			
41				340				
42				200				

Note Specimen No. 1—22 : Plate, No. 23—34 : Bowl, No. 35—42 : Server

Table 4. Amount of Antioxidants migrated into n-Heptane (ppm)

Specimen	DLTDP	DMTDP	DSTDP	BHT	Irg. 1076	Irg. 1010	Antage	Topanol
1					N.D	N.D		
2	1.25							0.30
3	0.23							0.25
4	0.73							0.28
5	0.20							0.23
6	0.05							N.D
7	0.33							N.D
8	1.38							0.33
9	3.15			0.07				0.33
10	1.48							0.30
11	0.25			N.D				N.D
12				0.15	N.D			
13	N.D							
14			N.D					
15	N.D			0.08				
16								
17	N.D							
18	0.38			0.18				
19		3.70		0.70				
20		2.05		3.30				
21			0.47					
22	2.13							
23	1.18							0.38
24	0.65							0.25
25	0.55							0.23
26	0.08							0.23
27	0.03							0.25
28	0.35							0.30
29	1.93							0.43
30	0.55			N.D				0.23
31	1.63			0.03				0.38
32				0.42	0.54			
33	0.70			0.18				
34				0.32				
35	N.D			1.65				
36				0.43	0.64			
37				2.42	3.95			
38				1.07	0.90			
39	0.48			0.08				N.D
40				0.47	1.11			
41				4.75				
42				0.85				

Note Specimen No. 1—22 : Plate, No. 23—34 : Bowl, No. 35—42 : Server

し、次のように設定した。浸出溶媒：水および*n*-ヘプタン；浸出時間：いずれも1時間；浸出温度：水の場合80°，*n*-ヘプタンの場合25°（25°以上では樹脂が膨潤するおそれがあり、またポリオレフィン等衛生協議会の資料によると*n*-ヘプタンを用いて25°，1時間浸出した時の総移行量は、オリーブ油を用いて60°，30分間浸出した時の約3.9倍に相当する）。

1) 試料溶液の調製 (1) 試料に80°の水を満たし、80°の恒温槽内で1時間放置して得た液を試料溶液とした。

(2) 試料に*n*-ヘプタンを満たし、室温（約25°）で1時間放置して得た液を試料溶液とした。

2) 試験溶液の調製 (1) 1. (1)の試料溶液200mlを分液ロートにとり、10%硫酸5mlを加えて酸性としたのち、クロロホルム50mlずつで3回抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを適量加え脱水したのちろ過する。ろ液および洗液を合わせ、45°以下で約0.5mlまで減圧濃縮したのちクロロホルムを加え正確に2mlとし、これを試験溶液とした。

(2) 1. (2)の試料溶液200mlをとり、45°以下で約0.5mlまで減圧濃縮したのちクロロホルムを加え正確に2mlとし、これを試験溶液とした。

3) 定量 各試験溶液について、5. 3)の材質中の酸化防止剤の定量の項に準じて行い、別に同様に操作して得られた各酸化防止剤の検量線を用いて定量した。

4) 回収率 上記の操作における回収率はTable 2のとおりである。

## 結果と考察

### 1. 学校給食器における酸化防止剤の使用実態

学校給食器42検体につきその材質中から検出した酸化防止剤の種類およびその検出量はTable 3のとおりで、これをまとめるとTable 5のごとくなる。42検体中41検体から8種の標準酸化防止剤のうち6種が検出された（Table 5）。すなわち検出した酸化防止剤はDLTDP, DMTDP, DSTDP, BHT, Irganox 1076およびAntageで、Irganox 1010およびTopanolは全く検出されなかった。これらのうち高い検出率を示したものはDLTDP, BHT, およびAntageで、各々64.7%, 50.0%, 47.6%検出され、中でもDLTDPとAntageは皿、椀類に多く検出された。またDLTDPとBHTは樹脂メーカー4社のうち3社で使用していた。ついでIrganox 1076が17.6%で盆に多く検出され、DMTDPおよびDSTDPは4.8%の検出率で皿類のみであった。1検体中配合されている酸化防止剤は、Table 3より最高3種であるが、2種配合が69.8%もあり、DLTDPとAntageの配合などイオウ系とフェノール系の併用（61.9%）の多いことがわかった。

次に各酸化防止剤の検出量はTable 5のとおりで、最高690ppm (DLTDP) 検出されたが、検出量は全てポリオレフィン等衛生協議会の自主規制量<sup>3)</sup> (BHTおよびIrganox 1076は0.5%以下、その他は1.0%以下)を下廻っており、ほとんどが規制値の1/20以下である。また1検体中の総検出量は100—1,040ppmで、200—500ppmのものが最も多い（68.3%）。

Table 5. Results of Antioxidants in the School Lunch Wares and those Migrated into *n*-Heptane

Specimen	DLTDP	DMTDP	DSTDP	BHT	Irg. 1076	Irg. 1010	Antage	Topanol	
Plate	A	15/22 30—690 ppm	2/22 440,660 ppm	2/22 240,250 ppm	8/22 10—380 ppm	2/22 80,150 ppm	0/22 —	10/22 10—110 ppm	0/22 —
	B	12/15 0.05—3.15	2/2 3.70, 2.05	1/2 0.47	6/8 0.07—3.30	0/2 N.D	—	7/10 0.23—0.33	—
Bowl	A	10/12 220—490	0/12 —	0/12 —	5/12 10—450	1/12 230	0/12 —	9/12 10—70	0/12 —
	B	10/10 0.03—1.93	—	—	4/5 0.03—0.42	1/1 0.54	—	9/9 0.20—0.43	—
Server	A	2/8 50,150	0/8 —	0/8 —	8/8 20—200	4/8 170—260	0/8 —	1/8 40	0/8 —
	B	1/2 0.48	—	—	8/8 0.08—4.75	4/4 0.64—3.95	—	0/1 N.D	—

A : Contained antioxidants in the material

B : Migrated antioxidants into *n*-heptane (25°, 1hr)

## 2. 酸化防止剤の移行性

移行試験の結果、水による溶出試験では材質中から検出した6種の酸化防止剤は給食器全てからその溶出が認められなかった。しかしn-ヘプタンによる溶出試験ではTable 4に示すような溶出が認められた(検出限度0.03 ppm)。これをまとめるとTable 5のごとくなる。n-ヘプタンには材質中から検出した酸化防止剤のほとんどが溶出してきているが、その量は0.03—4.75ppmの範囲で多くが1 ppm以下であった。水抽出の結果とあわせて考えるとこの程度の溶出量では給食器から実際に食物に移行してくる量は極めて微量であると推測される。

## 3. 酸化防止剤のガスクロマトグラフィー

1) DLTDPとIrganox 1076を同時に試験した報告例はなく、各々についてSilicone系の無極性充てん剤(E-301, SE-30, OV-1等)を用いた定性定量試験が行われている。この場合の両者の保持時間は全く同一で分離されないことが判明した。しかし調査の結果、両者共比較的多用されている酸化防止剤であることが明らかとなったことから、プラスチック中の両者を含む酸化防止剤の試験を行う場合、上記の充てん剤を用いたGCのみで定性定量を行うことは危険であり、あらかじめTLCによる確認を行うことが必要である。また本調査では両者を併用しているものはなかったが、両者を分離する充てん剤の検討を行ったところ、Fig.1に示すようにDexsil 410GCが有効であることがわかった。

2) Irganox 1010の場合、定量の項におけるGCで出現するピークをIrganox 1010とする報告<sup>2)</sup>があるが、Irganox 1010の分子量(1,178)が他の酸化防止剤に比べて非常に大きいにもかかわらず温度条件が低くてもピークが現われることや検出感度が非常に悪いことなどから、このピークのマススペクトルをとったところ、m/e: 292に分子イオンピークが見られた。また他の酸化防止剤およびこのピークの分子量とGCの保持容量の関係

を片対数グラフにプロットしたところ直線性がみられた。以上のことから、このピークはIrganox 1010の原料であるメチル-4-ヒドロキシ-3, 5-ジ-*t*-ブチルフェニルプロピオネート(分子量292)のものとして推測された。なおGCの温度条件を350°以上に上げても他にピークは現われず、この化合物はその分子量からみてもGCに適さずむしろ高速液体クロマトグラフィーによる定量法が有効と思われる。

## まとめ

ポリプロピレン製学校給食器の材質中に添加されている酸化防止剤の使用実態およびそれらの食品への移行性について調査を行った。その結果、42検体中41検体の材質から6種の酸化防止剤が検出され、また移行試験においては水(80°, 1時間浸出)には溶出せず、n-ヘプタン(室温, 1時間浸出)に最高4.75ppm溶出してくることが判明した。以下材質中の検出率、検出量およびその移行量(括弧内)を示すと、DLTDP: 64.7%, 30—690 (0.03—3.15) ppm; DMTDP: 4.8%, 440, 660 (2.05, 3.70) ppm; DSTDP: 4.8%, 240, 250 (0.47) ppm; BHT: 50.0%, 10—450 (0.03—4.75) ppm; Irganox 1076: 17.6%, 80—260 (0.54—3.95) ppm; Antage: 47.6%, 10—110 (0.23—0.43) ppmであった。

謝辞 本調査にあたり、標準品の提供などの御協力をいただいたポリオレフィン等衛生協議会および各社に感謝いたします。

## 文 献

- 1) ポリオレフィン等衛生協議会編: 技術資料, No. 5, 1974
- 2) Denning, J. A. and Marshall, J. A.: *Analyst*, 97, 710, 1972
- 3) ポリオレフィン等衛生協議会編: ポリオレフィン系およびポリスチレン系合成樹脂製食品容器包装等に関する自主規制基準, 1974

ポリプロピレン製器具および容器包装における酸化防止剤の実態調査 (第2報)  
市販品について

渡辺 悠二\*, 佐藤 憲一\*, 吉田 令子\*, 遠藤 英美\*

Investigation on Antioxidants in Polypropylene Food Container-Packages (II)  
Survey of the Products on the Market

YUJI WATANABE\*, KENICHI SATO\*, REIKO YOSHIDA\*  
and FUSAYOSHI ENDO\*

A total of 50 polypropylene food container-packages in the market was subjected for the presence of antioxidants in the material, and migration test of antioxidants into food simulating solvents were conducted. The detection and identification of antioxidants were made by the same techniques described in the first report. Consequently, 6 kinds of antioxidants in the material were detected; 8 of them had contained 20—1,360 ppm of DLTDTP, 12 of them 20—1,650 ppm of DMTDP, 5 of them 380—1,750 ppm of DSTDP, 46 of them 10—770 ppm of BHT, 25 of them 10—410 ppm of Irganox 1076, 1 of them 70 ppm of Antage respectively. By the migration test, no migration occurred by the immersion to distilled water and 4% acetic acid at 80° for 1 hour, but most of them migrated to *n*-heptane at 25° for 1 hour, i. e., 1.04—5.65 ppm of DLTDTP in 4 specimens, 0.15—2.84 ppm of DMTDP in 7 specimens, 0.46—1.16 ppm of DSTDP in 5 specimens, 0.03—4.00 ppm of BHT in 42 specimens, 0.05—1.94 ppm of Irganox 1076 in 22 specimens and 0.16 ppm of Antage in one specimen migrated respectively.

緒 言

ポリプロピレン製学校給食用食器について、8種類の酸化防止剤の使用実態および材質中から食品への移行の有無を調査し、その結果を前報<sup>1)</sup>に報告した。

この調査に関連して都民生活局より、市販ポリプロピレン製品中の酸化防止剤の安全性に関する調査を委託された。そこで一般家庭で使用される食品用ポリプロピレン製器具および容器包装における酸化防止剤の使用実態およびその食品への移行性について調査したのでその結果を報告する。なお本調査は東京都薬剤師会衛生試験所と共同で実施した。

実 験 の 部

1. 試料

築地中央市場(場外)、浅草合羽橋食器問屋街、百貨店、スーパーマーケットおよび小売店から、昭和51年7—8月の期間に食器包装容器50種類を購入した。その内訳はTable 1のとおりで、一般食器および容器21種、乳幼児食器16種、レトルト食品ほか包装材13種である。なお一種につき5—10個購入した。

2. 試薬・試液・装置

いずれも第1報・実験の部2および4の項に準じたが、装置としてはその他に日本分光 IR-G 型赤外分光光度計および柳本L-1030型高速液体クロマトグラフ(RI, UV検出器付き)を使用した。

3. 標準酸化防止剤

第1報と同様に8種類の酸化防止剤の標準品を使用した。

- 1) ジラウリルチオジプロピオネート (以下DLTDTPと略す)
- 2) ジミリスチルチオジプロピオネート (以下DMTDPと略す)
- 3) ジステアリルチオジプロピオネート (以下DSTDTPと略す)
- 4) ブチルヒドロキシルエン (以下BHTと略す)
- 5) *n*-オクタデシル-β-(4'-ヒドロキシ-3',5'-ジ-*t*-ブチルフェニル)プロピオネート (以下Irganox 1076と略す)
- 6) テトラキス〔メチレン-3-(3',5'-ジ-*t*-ブチル-

\* 東京都立衛生研究所生活科学部食品添加物研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Items of Specimens

No.	Specimen	Material	No.	Specimen	Material
1	Scaled container	pp	26	Plate	pp
2	"	pp	27	Spoon	pp
3	"	pp	28	Fork	pp
4	"	pp	29	Spoon	pp
5	Butter case	pp	30	Fork	pp
6	Lunch box	pp	31	Glass	pp
7	Canteen	pp	32	"	pp
8	Cup	pp	33	Plate	pp
9	Lunch basket	pp	34	"	pp
10	Lunch box	pp	35	Cup	pp
11	Strainer for teapot	pp	36	Egg cup	pp
12	Canteen	pp	37	Tray	pp
13	Basket	pp	38	Curry	pp
14	Straw	pp	39	"	pp
15	Thermos bottle	pp	40	"	pp
16	Canteen	pp	41	Meat sauce	PE
17	Cup	pp	42	Hanburg	PE
18	Ice tray	pp	43	Rice	pp
19	Scaled container	pp	44	"	pp
20	"	pp	45	"	pp
21	"	pp	46	Gyoza	pp
22	Baby bottle	pp	47	Kabayaki	PE
23	Cup	pp	48	Sack	pp
24	"	pp	49	"	pp
25	"	pp	50	Rice cake	pp

Note Specimen No. 1—21 : General container, No. 22—37 : Infant tableware, No. 38—50 : Retort pouch

4'-ヒドロキシフェニル) プロピオネート} メタン (以下 Irganox 1010 と略す)

7) 4,4'-ブチリデンビス (6-*t*-ブチル-*m*-クレゾール) (以下 Antage と略す)

8) 1,1,3-トリス-(2-メチル-4-ヒドロキシ-5-*t*-ブチルフェニル) ブタン (以下 Topanol と略す)

標準溶液の調製は第1報・実験の部3の項に準じた。

#### 4. 材質中の酸化防止剤の試験

第1報・実験の部5の項と同様に行ったが更に定性法として高速液体クロマトグラフィー(以下HPLCと略す)の検討を行った。

HPLCによる定性 既に調製してある試験溶液および標準溶液について、次の条件によるHPLCを行い、その保持時間から判定を行った。

HPLCの条件 カラム: Yanaco Gel 5510, 500mm×4mm; カラム槽温度: 室温; 移動相: メタノール・クロロホルム(7:3); カラム圧: 81kg/cm<sup>2</sup>; 流速: 1.2ml/min; 検出器: RI, UV (280nm); 保持時間:

DLTDP 9.3分, DMTDP 11.2分, DSTDP 16.8分(以上RI検出器), BHT 6分, Irganox 1076 9.5分, Irganox 1010 8.1分(以上UV検出器)(Fig. 1).

#### 5. 移行試験

浸出条件は次のように設定した。浸出溶媒: 水, 4%酢酸および*n*-ヘプタン; 浸出時間: 1時間; 浸出温度: 水および4%酢酸の場合80°, *n*-ヘプタンの場合25°。

1) 試料溶液の調製 (1) 水および*n*-ヘプタンを浸出溶液として用いる場合: 第1報・実験の部6.1の項と同様に行った。

(2) 4%酢酸を浸出溶液として用いる場合: 試料に80°の4%酢酸を満たし, 80°の恒温槽内に1時間放置して得た液を試料溶液とした。

2) 試験溶液の調製 (1) 水および*n*-ヘプタン浸出液の場合: 第1報・実験の部6.2の項と同様に行った。

(2) 4%酢酸浸出液の場合: 試料溶液200mlを分液ロートにとり, クロロホルム50mlずつで3回抽出し以下水浸出液の場合と同様に行った。

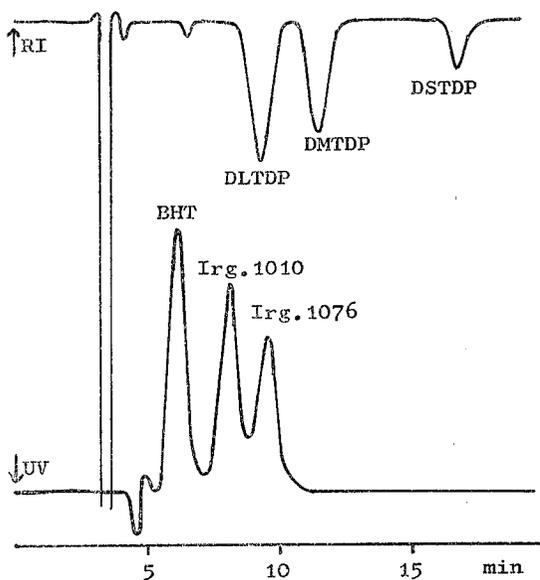


Fig. 1. High performance Liquid Chromatograms of Antioxidants

3) 定量 第1報・実験の部 6. 3) の項と同様に行った。

4) 回収率 4%酢酸浸出液の場合、上記の操作で行った時の回収率は次のとおりである。DLTDP 68%, DMTDP 69%, DSTDP 66%, BHT 73%, Irganox 1076 100%, Antage 99%, Topanol 98%。

### 結果と考察

1. 市販品における酸化防止剤の使用実態 市販品50検体の材質中から検出した酸化防止剤およびその検出量はTable 2のとおりで、これをまとめるとTable 4のごとくなる。すなわち50検体中49検体から第1報の学校給食器の場合と同じDLTDP, DMTDP, DSTDP, BHT, Irganox 1076 および Antage の6種が検出された。このうちBHTは最も高い検出率を示し、ほとんどの試料から検出され(92.0%)、中でも乳幼児食器では全てから検出された。ついで Irganox 1076, DMTDP, DLTDP, DSTDPの順に高く、各々50.0%, 24.0%, 16.0%, 10.0%, 2.0%の検出率であった。なおレトルト食品、包装材からはほとんど検出されなかった。また1検体中配合されている酸化防止剤は、Table 2にみられるとおり最高は4種で、1種は26.0%、2種は48.0%、3種は18.0%、4種は4.0%であり、2種配合が最も多かった。次に酸化防止剤をイオウ系(DLTDP, DMTDP, DSTDP)とフェノール系(BHT, Irganox 1076, Antage)に分け、全検体中の検出数を見ると、イオウ系25、フェノール系72で、イオウ系に比べフェノール系が約3倍多

い。これを容器別にみると、一般容器ではイオウ系18、フェノール系29、乳幼児食器では同6、同29、レトルト食品、包装材では同1、同14となり、一般容器ではイオウ系とフェノール系の併用が多く、乳幼児食器およびレトルト食品、包装材ではフェノール系が多用されていることがわかる。更に配合の組み合わせをみると、BHT・Irganox 1076: 48.0%、BHT・DMTDP: 24.0%、BHT・DLTDP: 14.0%、BHT・DSTDP: 10.0%となり、市販品ではほとんどがBHTとその他のものとの併用が行われていることを示している。ただし、レトルト食品、包装材ではBHTが単独で使用されていた。また乳幼児食器と学校給食器を比べてみると、前者ではBHT・Irganox 1076、後者ではDLTDP・Antageの併用が多く、大きな違いが認められる。なおポリオレフィン等衛生協議会の自主基準でポリプロピレンに使用が認められているものは、イオウ系5種、フェノール系16種の計21種である<sup>2)</sup>が、実際に使用されているのは上記で判明したようにそのうちのわずか6種にすぎなかった。

次に各酸化防止剤の検出量はTable 4のとおりで、最高1,750ppm(DSTDP)検出されたが、検出量は全てポリオレフィン等衛生協議会の自主規制量<sup>2)</sup>(BHTおよびIrganox 1076は0.5%以下、その他は1.0%以下)を下廻っており、ほとんどがその1/10以下である。また1検体中の総検出量は10—2,420ppmで、200—500ppmのものが最も多い(40.8%)。

### 2. 酸化防止剤の移行性

移行試験の結果、水および4%酢酸による溶出試験(80°, 1時間浸出)では、全ての市販品から酸化防止剤の溶出は認められなかった。しかしn-ヘプタンの場合(室温, 1時間浸出)Table 3に示したような溶出が認められた(検出限度0.03ppm)。これをまとめるとTable 4のごとくなる。すなわちn-ヘプタンには0.03—5.65ppmの範囲で酸化防止剤が溶出してきている。また材質中検出された酸化防止剤のうちDLTDP 50.0%、DMTDP 58.3%、DSTDP 100%、BHT 91.3%、Irganox 1076 88.0%、Antage 100%が各々溶出してきている。

以上のことから、学校給食器の場合と同様水および4%酢酸には溶出せず、n-ヘプタンに溶出してくることが判った。従って中性または酸性食品には酸化防止剤は移行しないが、油性食品には移行する恐れがあることが推定される。

そこでWHOの1日安全摂取許容量(以下ADIと略す)をもとに、n-ヘプタンの溶出量からBHTの安全率を計算すると、ADI 0—0.5mg/kg、最も溶出量の多いNo.

Table 2. Amount of Antioxdants in the Products on the Market (ppm)

	DLTDP	DMTDP	DSTDP	BHT	Irg. 1076	Irg. 1016	Antage	Topanol
1	50			330				
2			500	170				
3	40	20	1,750	40				
4				210	30			
5	300			20				
6				230				
7	1,360			110	130			
8	30	20	700				70	
9				140	20			
10			70	230	60			
11		830		390				
12				20	310			
13		840		270				
14		30		480	10			
15	20	20		30				
16					410			
17				140	120			
18				310	240			
19				350				
20		880		390				
21		1,650		770				
22		110		140	180			
23	440		380	180				
24				200				
25				440				
26		750		350	180			
27		810		350	270			
28		890		270	320			
29				230	280			
30				130	190			
31				130	180			
32				280	260			
33				240	340			
34				140	190			
35				230	290			
36				200	240			
37				260	240			
38				30				
39				30				
40				70				
41				140				
42					120			
43				220	80			
44	320			60				
45				110				
46				260	380			
47								
48				260				
49				300				
50				10				

Table 3. Amount of Antioxidants Migrated into *n*-Heptane

(ppm)

	DLTDP	DMTDP	DSTDP	BHT	Irg. 1076	Irg. 1010	Antage	Topanol
1	N. D			0.09				
2			1.06	0.21				
3	N. D	N. D	0.46	0.05				
4				0.43	N. D			
5	1.04			0.10				
6				2.40				
7	5.65			0.55	1.94			
8	N. D	N. D	0.84				0.16	
9				2.80	1.36			
10			0.84	0.93	0.31			
11		0.85		0.46				
12				N. D	1.50			
13		2.84		0.88				
14		N. D		1.10	N. D			
15	N. D	N. D		0.03				
16					1.31			
17				N. D	N. D			
18				0.44	0.95			
19				0.10				
20		0.24		0.36				
21		0.15		0.36				
22		N. D		0.11	0.57			
23	3.58		1.16	4.00				
24				0.59				
25				0.08				
26		0.27		0.37	0.62			
27		1.07		0.56	0.39			
28		0.97		0.25	0.45			
29				0.68	0.41			
30				0.59	0.46			
31				0.16	0.18			
32				0.60	0.16			
33				1.25	0.13			
34				0.90	0.15			
35				0.60	0.16			
36				0.71	0.40			
37				0.93	0.44			
38				N. D				
39				0.45				
40				0.70				
41				0.57				
42				0.03	0.31			
43				2.77	0.05			
44	3.25			1.33				
45				3.00				
46				2.13	1.88			
47								
48				3.75				
49				2.88				
50				N. D				

Table 4. Results of Antioxidants in the Products and those Migrated into *n*-Heptane

Specimen	DLTDP	DMTDP	DSTDP	BHT	Irg. 1076	Irg. 1010	Antage	Topanol
General container	A 6/21	8/21	4/21	19/21	9/21	0/21	1/21	0/21
	20—1,360 ppm	20—1,650 ppm	500—1,750 ppm	20—770 ppm	10—410 ppm	—	70 ppm	—
	B 2/6	4/8	4/4	17/19	6/9	—	1/1	—
	1.04, 5.65	0.15—2.84	0.46—1.06	0.03—2.80	0.31—1.94	—	0.16	—
Infant tableware	A 1/16	4/16	1/16	16/16	13/16	0/16	0/16	0/16
	440	110—890	380	130—440	180—340	—	—	—
	B 1/1	3/4	1/1	16/16	13/13	—	—	—
	3.58	0.27—1.07	1.16	0.08—4.00	0.13—0.62	—	—	—
Retort pouch	A 1/13	0/13	0/13	11/13	3/13	0/13	0/13	0/13
	320	—	—	10—770	80—380	—	—	—
	B 1/1	—	—	10/11	3/3	—	—	—
	3.25	—	—	0.03—3.75	0.05—1.88	—	—	—

A : Contained antioxidants in the material

B : Migrated antioxidants into *n*-heptane (25°, 1hr)

23のカップを例にとり、溶出量40ppm、食器容量150ml、牛乳中の脂肪4%、乳幼児の体重6kg、1日3回使用、更に*n*-ヘプタンの溶出量が油脂に比べて約3.9倍高いということが実験例で判明している(第1報参照)ことから摂取量は0.003mg/kg/dayとなり、安全率は1/167となる。その他油脂食品と接触すると思われる検体について、各酸化防止剤の安全率を計算したところ1/325—1/39,000であった。

ポリプロピレン製品の使用の是非について、BHTの安全性から論議するとすれば次のように結論できる。遺伝学研究所において突然変異性の疑いがあるという報告がなされ、この点がBHT溶出の問題点とされるものである。しかしWHOにおけるADIよりもはるかに微量のBHTの食品への移行が衛生上の問題となるかどうかは今後の毒性研究の結果を待つしかなく、また単にBHTの溶出を問題にするのであれば、食品添加物として使用することの論議の方がより重要であると思われる。

### 3. 酸化防止剤の高速液体クロマトグラフィー

プラスチック用酸化防止剤は比較的分子量の大きいものが多く、今回対照とした中には、第1報で述べてあるようにIrganox 1010のごとく分子量が非常に大きく(1,178)、難揮発性のためGCに適さないものがあるので、HPLCによる試験法の検討を行った。その結果、8種の標準酸化防止剤のうち、DLTDP、DMTDP、DSTDP、BHT、Irganox 1076およびIrganox 1010の6種の標準溶液についてはFig. 1のように分離することができた。しかし試験溶液の場合、そのまま注入したところ多くの妨害ピークが出現して定性試験の妨げとなったので今後は試験溶液の前処理、特にクリーンアップ、充てん

剤や移動相などの検討を行う予定である。

### まとめ

都民生活局より、市販ポリプロピレン製器具および容器包装中の酸化防止剤の安全性に関する調査を委託され、昭和51年7月より酸化防止剤の使用実態およびその移行性について調査を行った。その結果、50検体中49検体から6種の酸化防止剤が検出され、また移行試験においては水および4%酢酸(80°, 1時間浸出)には溶出せず、*n*-ヘプタン(25°, 1時間浸出)に最高5.65ppm溶出してくることが判明した。しかし、これら溶出してくる酸化防止剤の1日摂取量はADIの数百分の一から数万分の一であると思われる。

以下材質中の検出率、検出量およびその移行量(括弧内)を示すと、DLTDP: 16.0%, 20—1,360 (1.04—5.65) ppm; DMTDP: 24.0%, 20—1,650 (0.15—2.84) ppm; DSTDP: 10.0%, 380—1,750 (0.46—1.16) ppm; BHT: 92.0%, 10—770 (0.03—4.00) ppm; Irganox 1076: 50.0%, 10—410 (0.05—1.94) ppm; Antage: 2.0%, 70 (0.16) ppmであった。

謝辞 本調査を行うにあたり、御指導いただいた東京都薬剤師会衛生試験所所長 藤居瑛氏並びに御協力いただいた都民生活局消費生活部商品安全課の各位に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 渡辺悠二, 佐藤憲一, 吉田令子, 遠藤英美: 東京衛研年報, 28-1, 163, 1977
- 2) ポリオレフィン等衛生協議会編: ポリオレフィン系およびポリスチレン系合成樹脂製食品容器包装等に関する自主規制基準, 1947

## ポリスチレン製容器における揮発性成分の残留実態調査

渡辺 悠二\*, 佐藤 憲一\*, 吉田 令子\*, 遠藤 英美\*

### Survey of Residual Volatile Components in Polystyrene Food Containers

YUJI WATANABE\*, KENICHI SATO\*, REIKO YOSHIDA\*  
and FUSAYOSHI ENDO\*

A total of 132 polystyrene food containers was subjected for the presence of volatile components in the material, and migration test of styrene monomer into food simulating solvents was conducted.

The detection of volatile components was made by the use of the gas chromatography.

Consequently, it was found that residual total volatile component in all of the specimens was less than 5,000ppm. Of them, 29 convenience food containers contained 370-1,700 (in average 923.1) ppm, 25 trays 340-2,030 (956.7) ppm, 43 lactic beverage containers 220-3,440 (932.3) ppm, 35 others 340-2,140 (1,230.2) ppm respectively. By the migration test of styrene monomer, 19 convenience food containers immersed into boiling water and left at room temperature for 30 minutes showed 0.01-0.12ppm of the migration, and those immersed into *n*-heptane at room temperature for 1 hour showed 0.20-1.74 ppm of the migration, and those at 40° for 1 hour showed 0.20-4.60 ppm of the migration respectively.

#### まえがき

ポリスチレンは食品用容器として多用されているプラスチックの1つで、とりわけ即席めん類、乳酸菌飲料およびトレー容器に重用されている。この樹脂製品の衛生規制としては、現在厚生省告示第434号による溶出規格試験が適用されているが、この規制は欧米諸国の規格基準と比べると決して十分なものとはいえず、原料であるスチレンなどの残留揮発性成分や添加剤の溶出などが問題とされている。

近年わが国の法規制は樹脂別に行なわれる方向にあり、塩化ビニル樹脂製品については既に昭和49年に新しい規制が施行されているが、ポリスチレンなどについては未だ行なわれていない。

一方業界団体であるポリオレフィン等衛生協議会は既に自主規制を実施しており、材質中の総揮発性成分についてその残留量を5,000ppm以下、温湯食品用発泡ポリスチレンにあっては総揮発性成分を2,000ppm以下、さらにスチレン、エチルベンゼンを各1,000ppm以下と規制している<sup>1)</sup>。

そこで最近の市販製品中の揮発性成分の残留実態を把握することを目的とし、あわせて揮発性成分のうちのス

チレンモノマーの食品への移行性について、即席めん類容器を用いて調査したので報告する。

#### 実験の部

##### 1. 材質中の揮発性成分の試験

1) 試料 スーパーマーケット、小売店などからの取去検体123種および買上げ品9種の合計132種(内訳 即席めん類容器29種、トレー類25種、乳酸菌飲料容器43種、その他カップなど35種)。

2) 装置 ガスクロマトグラフ:柳本G80型および島津4A型(いずれもFID検出器付)。

3) 試験法 ポリスチレン中の残留揮発性成分としてはトルエン、エチルベンゼン、*n*または*iso*-プロピルベンゼンおよびスチレンの5成分があり、あわせて総揮発性成分と称している。これらのポリスチレン中の定量法としては日本薬学会協定の衛生試験法があり<sup>2)</sup>、今回はこの試験法を準用して行った。

##### 2. スチレンモノマーの移行試験

摂取の機会が多くかつ使用条件のきびしい即席めん類の容器を用いて、スチレンモノマーの移行試験を行った。

1) 試料 材質試験を行った即席めん類容器29種のうち19種。

\* 東京都立衛生研究所生活科学部食品添加物研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Amount of Residual Volatile Components in Polystyrene Food Containers

Convenience food							Tray						
Specimen	T-V	T	E.B	i-P.B	n-P.B	S.M	Specimen	T-V	T	E.B	i-P.B	n-P.B	S.M
1	600	0	100	20	0	480	1	610	50	80	40	0	440
2	370	0	260	80	30	0	2	600	0	100	60	40	400
3	1,000	20	420	100	40	420	3	900	0	220	80	40	560
4	580	0	200	200	80	100	4	1,230	20	180	80	30	920
5	900	0	400	80	0	420	5	1,270	30	220	120	60	840
6	1,280	0	340	60	20	860	6	940	10	440	80	20	390
7	680	0	140	40	20	480	7	1,320	160	500	120	80	460
8	800	0	180	60	20	540	8	920	0	140	300	100	380
9	460	0	320	80	20	40	9	1,470	10	20	20	0	1,420
10	1,290	0	700	140	90	360	10	1,200	140	380	200	80	400
11	720	0	200	40	0	480	11	1,310	140	140	90	60	880
12	660	0	140	20	0	500	12	900	10	190	90	30	580
13	760	0	300	280	100	80	13	1,440	55	90	70	75	1,150
14	540	0	120	60	20	340	14	950	0	100	50	30	770
15	780	0	180	60	20	520	15	960	0	100	100	60	700
16	1,640	40	260	80	60	1,200	16	540	0	200	100	40	200
17	1,700	0	360	100	60	1,180	17	560	0	40	40	0	480
18	840	60	200	80	0	500	18	410	0	30	0	0	380
19	1,240	0	180	100	0	960	19	340	0	100	80	0	160
20	1,280	120	520	120	80	440	20	2,030	0	180	120	30	1,700
21	730	0	140	30	40	520	21	900	0	220	80	40	560
22	760	0	130	30	40	560	22	900	0	320	280	100	200
23	620	0	140	40	50	390	23	640	0	40	0	0	600
24	1,260	0	460	380	220	200	24	780	0	140	60	0	580
25	860	0	280	100	0	480	25	800	60	140	60	0	540
26	1,120	0	500	120	0	500	Average	956.7	27.4	172.4	92.8	36.6	627.6
27	1,220	0	460	80	0	680							
28	920	0	400	120	0	400							
29	1,120	0	360	100	120	540							
Average	923.1	8.3	289.3	96.6	39.0	488.6							
Lactic beverage							Tray						
1	1,700	0	360	40	20	1,280	23	760	20	200	100	80	360
2	1,010	0	180	20	0	810	24	380	0	60	40	40	240
3	1,570	0	470	50	0	1,050	25	360	0	60	60	40	200
4	1,810	0	370	50	10	1,380	26	250	0	60	0	0	190
5	220	0	0	0	0	220	27	270	0	70	0	0	200
6	780	10	180	100	30	460	28	240	0	0	0	0	240
7	790	10	180	80	40	480	29	370	0	80	40	60	190
8	780	20	230	90	50	390	30	220	0	0	0	0	220
9	720	10	220	90	50	350	31	820	0	160	90	60	510
10	920	0	140	160	40	580	32	370	0	80	40	60	190
11	1,050	0	170	40	0	840	33	360	0	90	40	40	190
12	1,080	0	180	0	0	900	34	1,020	0	120	20	0	880
13	850	0	100	100	50	600	35	260	0	60	0	0	200
14	1,320	0	500	60	0	760	36	1,110	0	180	30	0	900
15	1,010	0	180	20	0	810	37	840	0	240	80	40	480
16	980	0	180	20	0	780	38	1,640	0	460	60	20	1,100
17	790	10	110	50	50	570	39	1,100	0	140	100	60	800
18	880	10	100	30	60	680	40	980	0	220	120	80	560
19	970	10	130	70	60	700	41	940	0	260	20	0	660
20	2,080	0	420	70	20	1,570	42	1,140	0	20	0	0	1,120
21	1,090	30	280	160	100	520	43	3,440	0	40	0	0	3,400
22	820	10	230	100	70	410	Average	932.3	3.3	174.7	52.1	28.6	673.2

Others		680	240	100	50	290	0	19	1,470	20	170	80	20	180
	2	1,580	20	180	100	40	1,240	20	1,670	0	440	20	0	1,210
	3	630	20	70	20	20	500	21	2,960	0	540	80	0	2,340
	4	1,110	0	320	220	70	500	22	1,220	380	80	0	0	760
	5	510	0	40	30	0	470	23	1,280	0	500	80	0	700
	6	620	0	140	120	30	330	24	1,520	0	460	260	80	720
	7	1,180	360	80	20	0	720	25	1,430	0	380	200	80	770
	8	1,080	340	60	20	0	660	26	970	30	340	320	80	200
	9	1,080	0	250	160	70	600	27	800	0	0	0	0	800
	10	1,390	0	480	140	40	730	28	1,220	100	120	60	20	920
	11	1,890	0	380	100	40	1,370	29	970	0	30	0	0	940
	12	1,600	0	540	80	60	920	30	2,000	0	120	40	0	1,840
	13	700	20	120	20	0	540	31	430	0	30	0	0	400
	14	2,100	0	820	60	40	1,180	32	430	10	50	0	0	370
	15	1,980	0	430	260	80	1,210	33	340	0	20	0	0	320
	16	2,060	70	310	230	70	1,380	34	400	0	40	0	0	360
	17	2,140	0	320	240	40	1,540	35	480	0	60	40	0	380
	18	1,110	10	240	80	20	760	Average	1,230.2	46.3	236.0	89.4	34.0	824.6

Note T-V : Total volatile component, T : Toluene, E.B : Ethyl benzene, (ppm)  
i-P.B : iso-Propyl benzene, n-P.B : n-Propyl benzene, S.M : Styrene monomer

2) 試薬 *n*-ヘキサン, *n*-ヘプタン:いずれもガスクロマトグラフィー(以下GCと略す)で妨害ピークのないもの。

3) スチレンモノマー標準溶液の調製 スチレン0.10gを精秤し, *n*-ヘキサンまたは*n*-ヘプタンに溶かし全容100mlとし, 標準原液とする. この標準原液各1mlをとり*n*-ヘキサンまたは*n*-ヘプタンを用いて各々100mlとした後, 各1, 2, 3, 4mlをとり*n*-ヘキサンまたは*n*-ヘプタンを用いて全容100mlとし, この液を標準溶液とした。

4) 試料溶液の調製 (1) 水による浸出: 試料容器に沸とう水を満たしふたをした後, 室温で30分放置して得た液を試料溶液とした。

(2) *n*-ヘプタンによる浸出: 試料容器に室温(25°)または40°の*n*-ヘプタンを満たしふたをした後, 室温または40°の恒温槽内に1時間放置して得た液を試料溶液とした。

5) 試験溶液の調製 (1) 水浸出液の場合: 試料溶液200mlを分液ロートにとり, *n*-ヘキサン10mlを加え30分間激しく振とうする. 振とう後静置し, *n*-ヘキサン層を分取する. この液を試験溶液とした. なおこの操作における回収率は0.2ppm(試料溶液として)の場合で91.5%である。

(2) *n*-ヘプタン浸出液の場合: 試料溶液をそのまま試験溶液とした。

6) スチレンモノマーの定量 試験溶液について次の条件でGCを行ない, 同様に操作して得た標準溶液の示すピーク高から検量線を作成し, これを用いて定量を行

った. なお検出限度は水浸出液の場合0.01ppm, *n*-ヘプタン浸出液の場合0.20ppmである。

GCの条件 カラム: 10% FFAP/Chromosorb W-AW 60-80mesh, ステンレス製3mm×2m; 温度: カラム槽85°, 注入口225°; キャリヤーガス: N<sub>2</sub> 18ml/min; 保持時間: 4.7分 (Fig. 1).

### 結果と考察

ポリスチレン製容器(材質)中の残留揮発性成分はTable 1のごとくであった. このデータをまとめるとTable 2のごとくなる. また即席めん類容器における溶媒へのスチレンモノマーの移行量はTable 3のごとくであった。

#### 1. 材質中の揮発性成分の残留実態

材質中の残留総揮発性成分量を全体でみると, Table 2より500ppm以下: 20/132 (15.2%), 500-1,000ppm: 55/132 (41.6%), 1,000-2,000ppm: 49/132 (37.1%), 2,000-3,000ppm: 7/132 (5.3%), 3,000ppm以上: 1/132 (0.8%)となり, 全て4,000ppm以下であり, ほとんどが2,000ppm以下であった。

これを容器別にみると, Table 1より①即席めん類容器の残留量は370-1,700 (平均923.1) ppmで全て2,000ppm以下であり, 1,000ppm以下が18/29 (62.1%)であった. ②トレー類容器の残留量は340-2,030 (同956.7) ppmでほとんどが2,000ppm以下で, 1,000ppm以下が17/25 (68.0%)であった. ③乳酸菌飲料容器の残留量は220-3,440 (同932.3) ppmでほとんどが2,000ppm以下で, 1,000ppm以下が27/43 (62.7%)であった. ④その他カップ等の容器の残留量は340-2,140

Table 2. Distribution of Residual Total Volatile Component in Polystyrene Food Containers

Number of specimens		<500	<1,000	<2,000	<3,000	<4,000
Convenience food	29	2	16	11		
Lactic beverage	43	11	16	14	1	1
Tray	25	2	15	7	1	
Others	35	5	8	17	5	
Total	132	20	55	49	7	1

(ppm)

(同1230.2) ppmで、2,000 ppm以下のものは30/35 (85.7%)であるが、1,000—2,000 ppmのものが17/35 (45.0%)もあった。従って容器の用途が明らかなものは、不明なものに比べ総じて残留量が少ない。しかし業界の自主規制値の5,000 ppmをこえるものはなく、大幅に下廻っていた。

次に各揮発性成分についてみると、Table 1より①トルエンの検出率は24/132 (18.2%)であり、その残留量は10—380 (平均21.3) ppmでトレー、その他の容器に多かった。②エチルベンゼンの検出率は129/132 (97.7%)であり、その残留量は20—820 (同218.1) ppmで即席めん類容器に最も多かった。③*iso*-プロピルベンゼンの検出率は115/132 (87.1%)であり、その残留量は20—380 (同82.7) ppmでほとんどが100 ppm以下であった。④*n*-プロピルベンゼンの検出率は80/132 (60.6%)であり、その残留量は10—290 (同34.6) ppmであんみつ容器を除く全てが100 ppm以下であった。⑤スチレンの検出率は130/132 (98.5%)であり、その残留量は40—3,400 (同663.5) ppmで、他の揮発性成分に比べ大幅に多い残留量であった。そして1,000 ppm以上のものが即席めん類、トレー類、乳酸菌飲料容器では14%以下であるが、その他(カップ等)の容器では26%もあった。なお業界では温湯食品用発泡ポリスチレン中の総揮発性成分2,000 ppmおよびスチレン、エチルベンゼンを各1,000 ppm以下とする即席めん類容器の自主規制を行っており、今回、スチレンの規制値をこえるものが2検体あった。

次に各揮発性成分の残留量の度合をみると、Table 1よりどの容器でも大体、スチレン、エチルベンゼン、*iso*-プロピルベンゼン、*n*-プロピルベンゼン、トルエンの順に多かった。スチレンが最も多いのはスチレンが原料モノマーであることから当然であるが、次いでエチルベンゼンが多いのは、エチルベンゼンがスチレンの原料であるためスチレン中に不純物として残存し、更にポリスチレン中にも残存することによるものと思われる。

## 2. スチレンモノマーの移行性について

即席めん類容器を用いて、その材質中に残留しているスチレンモノマーの溶媒への移行性をみた結果、Table 3より(1)水を浸出溶液とした場合の検出率(検出限度0.01 ppm)は14/19 (73.9%)でその材質を一般および発泡ポリスチレンに分けてみると、同じように検出されている。またその検出量は0.01—0.12 (平均0.03) ppmでほとんどが0.04 ppm以下であった。(2) *n*-ヘプタンを浸出溶液とした場合の検出率(検出限度0.20 ppm)は室温のときで8/19 (42.1%)、そのうち一般ポリスチレンでは7/11 (63.6%)であるが発泡ポリスチレンではわずか1/8 (12.5%)であった。またその検出量は0.20—1.74 (平均0.84) ppmであった。次に40°のときの検出率は13/19 (68.4%)で、そのうち一般ポリスチレンでは全て検出されたが、発泡ポリスチレンでは3/8 (37.5%)であった。またその検出量は0.20—4.60 (平均1.55) ppmであるが、発泡ポリスチレン(平均0.37 ppm)に比べて一般ポリスチレン(平均1.86 ppm)は約

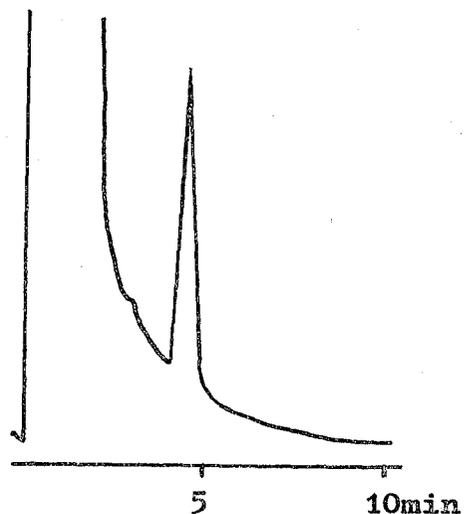


Fig. 1. Gas Chromatogram of Styrene Monomer in *n*-Heptane

Table 3. Migration of Styrene Monomer from Convenience Food Container into Food Simulating Solvents (ppm)

No. of specimen	In material	Simulating solvent		
		Water	n-Heptane	
			25°	40°
5	420	N. D	1.74	3.75
6	860	0.02	N. D	1.28
8	540	N. D	0.88	1.12
10	360	0.12	N. D	0.96
11	480	0.01	N. D	0.44
A 17	1,180	0.02	0.40	4.60
19	960	0.03	N. D	0.44
23	390	0.01	0.64	0.80
26	500	0.01	1.55	3.56
27	680	0.01	0.20	0.70
28	400	N. D	1.12	2.89
1	480	0.01	0.20	0.56
9	40	0.01	N. D	N. D
12	500	0.04	N. D	N. D
B 18	500	N. D	N. D	0.34
21	520	0.02	N. D	N. D
22	560	0.02	N. D	N. D
24	200	N. D	N. D	N. D
25	480	0.03	N. D	0.20

Note Specimen A : General polystyrene  
 " B : Foamed polystyrene

5 倍の移行性を示した。しかし 40° では一般ポリスチレンの場合一部に変形、溶解性が認められたことから、40° という溶出温度条件は不適當であると思われる。

以上の結果から、実際の飲食条件で移行してくるスチレンモノマーは多くても 1 ppm 以下であると思われる。わが国の労働環境での許容濃度は 50 ppm であり<sup>3)</sup>、10 ppm では異臭として感じられないといわれていることを考えると<sup>4)</sup>、この程度の移行量では臭いが感じられるとは思われず、官能試験でも異臭は感じられなかった。また最近では即席めん類容器には発泡ポリスチレンが多く用いられており、この場合スチレンモノマーの移行量は実験結果からみても微量であり臭いおよび衛生上の問題はまずないと思われる。

なお移行試験を行うにあたって試験法の若干の検討を行った。すなわち n-ヘプタン浸出液について蒸留または

窒素ガスの吹きつけなどによる濃縮方法を検討したが、スチレンが揮発性であるため n-ヘプタンと一緒に揮散し濃縮ができなかった。また低濃度のスチレンモノマーを定量するには、ガスクロマトグラフの感度を最高に上げなければならず、充填剤に材質中の揮発性成分の定量に用いられる PEG 20M を用いた場合、スチレンモノマーと n-ヘキサンは分離するが、n-ヘプタンとは分離しないことがわかった。そこで充填剤の検討を行ったところ、FFAP が有効であることがわかった。

#### まとめ

食品用ポリスチレン製容器の材質中の揮発性成分の残留実態およびスチレンモノマーの移行性について調査した。その結果、材質中の総揮発性成分量は最近の容器ではほとんどが 2,000 ppm 以下であった。そして用途の明らかな容器は不明なものに比べて少ない傾向にあった。またこの残留量は業界の自主規制値 5,000 ppm を大幅に下廻っているが、温湯食品用発泡ポリスチレンの自主規制 (スチレンモノマー 1,000 ppm) を超えているものが 2 検体あった。次にスチレンモノマーの移行性をみたところ、材質中 1,000 ppm 以下では水浸出液の場合で 0.03 ppm 以下、n-ヘプタン浸出液の場合でも 1 ppm 以下であり、この程度の量では異臭は発生しないものと思われる。

謝辞 本調査に御協力いただいた、衛生局環境衛生部食品監視課および葛飾食品機動班の各位に深謝いたします。

(本研究は昭和 51 年度当研究所研究課題「ポリスチレン製容器の衛生化学的研究」の一部として実施したものである。)

#### 文 献

- 1) ポリオレフィン等衛生協議会編：ポリオレフィン系およびポリスチレン系合成樹脂製食品容器包装等に関する自主規制基準，1974
- 2) 日本薬学会編：衛生試験法注解，518，1973
- 3) 日本産業衛生学会編：産業医学，18，342，1976
- 4) 多田 治：有害物管理のための測定法 (有機編)，137，1970，労働科学研究所

## 市販みかん果実飲料の化学的鑑定

牛尾 房雄\*, 深野 駿一\*, 西田 甲子\*, 道口 正雄\*

### Chemical Evaluation of Orange Juice in Commercial Soft Drinks

FUSAO USHIO\*, SHUNICHI FUKANO\*, KOUKO NISHIDA\*

and MASAO DOGUCHI\*

#### 緒 言

現在、日本農林規格<sup>1,2)</sup>で定められた果実飲料は濃縮果汁、天然果汁、果実ピューレー、果汁飲料、果粒入り果汁飲料、果肉飲料、果汁入り清涼飲料の7種であり、果汁またはピューレー含有率により細かく定義されており、それぞれの飲料に対して可溶性固形物含有率、灰分含有量、アミノ態窒素含有量、酸含有量、ビタミンC含有量および不溶性固形物含有率などの基準値が設けられている。しかしこれらの試験項目ではビタミンC、無機物、アミノ酸等の添加による果汁含有率のごまかしに十分対処しきれないと考えられる。果実飲料の鑑別について、現在まで多くの創意工夫がなされた研究が報告されている。例えばアミノ酸パターンまたはカロチノイドパターンからの識別、各種フェノール化合物の測定などである。

本調査では果実飲料の中でも生産量が高く、需要も大きいカンキツ果汁飲料をえらび、日本農林規格の試験項目の外に遊離アミノ酸含有量、さらにカンキツ類に特異的な物質であるペタインの測定を行い、これらを指標として鑑別を行った。

#### 実 験 方 法

1. 試料 供試したカンキツ果実飲料は昭和51年9月食品機動監視班により都内店頭から収去された市販カンキツ果実飲料37種51検体である。その内訳は天然果汁27種39検体、100%果粒入り果実飲料1検体、50%果汁飲料3種5検体、50%果肉飲料1検体、果汁入り清涼飲料5種5検体である。なお試験に際して試料は直接飲用とするべきものは原液を、希釈して飲用とするべきものは標示希釈倍數に希釈した液を遠心分離し、その上清を分析に供した。

2. 遊離アミノ酸およびペタイン類の測定 AOAC<sup>3)</sup>の方法に準拠して行った。試料40gを採取し、0.1N HCl

を用いpH3.0に調整し、Amberlite IR-120H型を充填したカラム(径10mm,樹脂高さ400mm)に約3 ml/minの流速で吸着させた。200mlの水で樹脂を洗浄した後、2 Nアンモニア溶出液200mlで吸着したアミノ酸およびペタイン類を溶出させ、次いで100mlの水で樹脂を洗浄した。溶出液、洗液を合せ、50°減圧下で濃縮し、50mlに定容、アミノ酸およびペタイン類分析の供試液とした。

アミノ酸分析ではこの溶液15mlを再び50°減圧下で蒸発乾固した後、pH2.2のクエン酸緩衝液に溶解させ、15 mlに定容し、アミノ酸分析計供試液とした。分析条件は下記に示すとおりである。

アミノ酸自動分析計：日本電子JLC-6 AH, 樹脂：日本電子LC-R2, カラム：中酸性用500×8 φmm, 塩基性用150×8 φmm, 溶出液：中酸性用pH3.25, pH4.25クエン酸緩衝液, 塩基性用pH5.28クエン酸緩衝液, カラム温度：55°, 流速：緩衝液60ml/hr, ニンヒドリン溶液30ml/hr, 注入量：1.5ml。

ペタイン類分析では溶液25mlを0.1N HClを用いpH7に調整し、Amberlite IRA-400OH型, IRC-50H型(2:1)より成る混合樹脂を充填したカラム(径10mm,樹脂高さ400mm)に1 ml/minの流速で通過させた。水50mlで樹脂を洗浄した後、流出液と洗液を合せ、50°減圧下で20mlに濃縮し、1N HClを用いpH1.0に調整した。0±3°に冷却し、攪拌しながら25%アンモニア・ライネック塩20mlを加え、再びpH1.0に調整し、0±3°に保った。3時間静置後、冷却状態のまま溶液と生じた沈殿をガラスフィルター付ロートに移し、減圧ろ過した。残った沈殿は水性エタノール5mlで3回洗浄した後、70%アセトンに溶解し、25mlに定容し、525mmにおいて比色定量した。標準曲線はグリシンペタイン0.3—2 mg/mlの濃度範囲で作成した。

\* 東京都立衛生研究所生活科学部栄養研究科 160 東京都新宿区百人町3—24—1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24—1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

3. 可溶性固形物, 灰分, アミノ態窒素, 酸, ビタミンCの測定 これら5項目については日本農林規格<sup>1)</sup>に記載されている試験方法に従い行った。

① 可溶性固形物 糖用屈折計を用い, 20°における示度をもって可溶性固形物含量とした。

② 灰分 天然果汁, 果粒入り果汁飲料, 果汁飲料および果肉飲料では20g, 果汁入り清涼飲料では40gを採取し, 550°で灰化した。

③ アミノ態窒素 試料2mlを用い, ミクロバンスライク装置により測定した。振とう時間は5分である。

④ 酸 試料10gを採取し, フェノールフタレンを指示薬として0.1N水酸化ナトリウム溶液で滴定した。含有量はクエン酸として表わした。

⑤ ビタミンC インドフェノール滴定法により測定した。

4. 比重 日本薬学会協定・衛生試験法<sup>1)</sup>の浮きばかりによる方法により測定した。

#### 実験結果および考察

全ての測定結果を一括して表1に示す。

天然果汁はNo. 1—27であり, No. 28は果粒入り果汁飲料であるが, 100%果汁含有の標示があるため天然果汁に分類し, 考察した。

1. 遊離アミノ酸含有量 通常カンキツ果汁中にはアミノカルボン酸およびアミンをも含めると22種ほど存在することが知られているが, 本調査ではその内15種の主要アミノ酸について測定した。セリン, スレオニン, アスパラギン, グルタミンについては今回のアミノ酸分析条件では分離不可能であり, 測定し得なかった。検出されたアミノ酸の総含有量は天然果汁では108.2—242.1mg, 平均値143.5mgであった。果汁飲料では58.2—72.7mg, 果汁入り清涼飲料では10.2—14.8mg, 果肉飲料では88.2mgであった。天然果汁以外の試料の果汁含有率を100%に換算し, 全試料について遊離アミノ酸含有量の平均値を求めると141.4mgとなり, 標準偏差は30.2mg, 95%信頼限界は80.9—201.9mgであり, 5%危険率ではアミノ酸含有量の著しく低い試料は見い出されなかった。

検出された遊離アミノ酸のうちプロリン, アルギニン, アスパラギン酸が量的に大部分を占めていた。すなわち遊離アミノ酸の12.5—50.3%がプロリンであり, アルギニンは15.3—34.8%, アスパラギン酸は8.3—27.2%であった。この傾向は特に天然果汁において顕著であり, プロリンは27試料中24試料において25%以上の構成比率を占めた。これらアミノ酸に次いでグルタミン酸, アラニン, リジンとなり, グルタミン酸は10%前後, ア

ラニン, リジンは5—10%の比率を示した。三浦らの報告<sup>2)</sup>によると温州ミカン果汁ではプロリン28.5%, アスパラギン18.2%, アルギニン14.7%, アスパラギン酸7.8%, 夏ミカン果汁ではプロリン23.9%, アスパラギン16.6%, アルギニン15.5%となっており, カンキツ果汁の主要遊離アミノ酸はプロリン, アスパラギン酸, アルギニン, アスパラギン等であると認められる。本調査の結果は三浦らの報告と大差なく, アミノ態窒素含量増加の目的で蛋白加水分解物または安価に供給されるグリシン, アラニンなどの添加によるアミノ酸構成パターンの乱れは認められず, 供試全試料についてこれら物質の添加による偽和はないと判断された。

2. ペタイン類含有量 カンキツ類のペタインとしてはグリシンペタイン, L-スタキドリン, トリゴネリンが存在することが知られている。山田の報告<sup>3)</sup>によると温州みかん果汁中のペタインの大部分, すなわち96.5—97.5%がL-スタキドリンであり, グリシンペタインは1.5—2.5%, トリゴネリンは1%でしかなかった。しかし現在まで報告されたカンキツ果汁中のペタインはほとんどグリシンペタインとして表わされているので, 本調査では検出されたペタインをグリシンペタインとして表わした。なおL-スタキドリンに換算するには測定値に約1.2倍すればよい。

天然果汁中のペタイン含有量は平均53.9mgであり, その範囲は36.5—74.6mgであった。果汁飲料では20.9—30.5mg, 果汁入り清涼飲料は3.0—16.5mgまた果肉飲料は26.1mgであった。天然果汁の標準偏差は10.3mgであり, 95%信頼限界では33.3—74.5mgとなり, 5%危険率では問題となるべき試料は見い出されなかった。その他の果実飲料でも100%換算を行った場合, No. 34以外は上記の33.3mg以上であった。Florida Orange ジュース中のペタインについて, Floydら<sup>4)</sup>は48.0—98.8mg/ml, 平均70.2mg/100mlと報告しており, またLewis<sup>5)</sup>らはAustralian Natural Valencia ジュース中のペタイン含有量を71mg/100gと報告している。本調査においてはバレンシアオレンジ混合のものなど一部を除き, ほとんどの天然果汁はいずれの報告よりも多少低いペタイン含有量を示している。しかし前記の山田の報告<sup>3)</sup>では温州みかん果汁中のペタイン含有量は35.6—62.0mg/100g, 平均50.2mg/100gとなっており, 本調査のペタイン含有量の多くはこの値に近似していた。またこのことはみかんと標示されている天然果汁の多くは温州みかんと主原料としていることを示唆する。天然果汁ではペタイン含有量はアミノ酸含有量と1%危険率で相関関係を示しており, アミノ酸パターンの検索ととも

表1. 市販果実飲料

No.	標示果実名	試料数	比重	可溶性 固形物	酸 (g)	灰分 (g)	ビタミ ンC (mg)	ベタ イン (mg)	アミノ 酸 (mg)	Asp Glu	
										Asp	Glu
天然果汁											
1	みかん	1	1.050	11.2	0.91	0.26	33	41.2	27.2	23.9	20.4
2	みかん	1	1.044	10.8	0.90	0.35	29	74.6	35.9	15.4	5.0
3	みかん	1	1.052	11.2	0.81	0.33	30	50.0	23.3	15.0	7.7
4	みかん	4	1.056	11.0	0.93	0.37	31	53.6	26.5	20.0	7.9
5	みかん	4	1.052	12.3	0.83	0.32	24	62.4	29.0	16.1	7.7
6	みかん	1	1.050	13.5	0.80	0.36	25	61.1	30.3	15.2	7.0
7	みかん	1	1.062	13.8	1.02	0.33	40	62.4	27.8	15.5	7.2
8	みかん	1	1.048	13.4	1.01	0.26	40	71.2	27.2	24.7	9.7
9	みかん	1	1.046	11.0	0.78	0.26	28	40.0	29.1	24.2	17.0
10	みかん	1	1.051	13.0	0.79	0.25	24	48.7	24.5	17.3	9.0
11	みかん	1	1.048	11.6	0.78	0.25	33	47.9	24.2	15.9	11.8
12	みかん	2	1.051	12.0	0.85	0.32	28	54.3	28.8	16.0	7.7
13	みかん	1	1.052	10.2	0.94	0.33	23	51.0	30.5	20.4	14.2
14	みかん	1	1.052	12.0	1.06	0.36	33	47.8	29.9	27.2	19.2
15	みかん	1	1.050	11.4	0.80	0.31	41	52.6	26.4	23.6	16.6
16	みかん	3	1.051	13.0	0.95	0.34	45	46.8	26.2	18.7	8.5
17	みかん	1	1.048	11.4	0.81	0.26	28	42.6	27.2	19.2	10.2
18	みかん	1	1.048	12.5	0.83	0.28	30	43.7	24.5	18.9	10.1
19	みかん	1	1.050	11.2	0.50	0.30	30	44.5	26.8	25.0	11.3
20	みかん	1	1.050	11.5	0.80	0.35	43	51.7	28.2	20.1	11.9
21	温州みかん	2	1.049	11.4	0.89	0.39	28	56.4	29.2	12.7	7.5
22	温州みかん	2	1.048	11.9	0.94	0.30	25	51.4	24.0	17.2	7.9
23	温州みかん	1	1.050	11.5	0.82	0.35	25	46.9	23.9	21.5	10.4
24	みかん, バレンシアオレンジ	1	1.050	12.4	0.87	0.42	41	74.4	32.2	28.4	14.4
25	みかん, バレンシアオレンジ	2	1.047	10.7	0.87	0.37	27	66.3	31.2	20.3	9.8
26	みかん, バレンシアオレンジ	1	1.058	12.8	0.75	0.32	30	68.0	26.0	15.7	9.3
27	みかん, バレンシアオレンジ	1	1.054	12.8	0.96	0.32	23	60.9	28.2	20.7	9.1
果粒入り果汁飲料											
28	みかん, バレンシアオレンジ	1	1.026	12.0	0.86	0.26	25	36.5	24.3	24.0	14.0
果汁飲料											
29	みかん	1	1.053	13.0	0.65	0.20	29	30.5	15.2	7.6	3.6
30	みかん	1	1.058	12.6	0.54	0.14	12	20.9	11.9	15.5	6.9
31	みかん, 夏みかん	3	1.057	13.3	0.62	0.15	27	21.4	13.2	11.8	7.7
果肉飲料											
32	みかん	1	1.050	15.0	0.46	0.14	12	26.1	12.8	10.1	4.8
果汁入り清涼飲料											
33	みかん	1	1.051	12.6	0.32	0.04	+	4.9	2.6	2.7	1.1
34	みかん	1	1.062	14.4	0.23	0.03	8	3.0	2.0	2.2	1.1
35	みかん, 夏みかん	1	1.050	13.6	0.33	0.04	20	10.8	3.7	2.8	1.2
36	みかん, 夏みかん	1	1.052	14.5	0.39	0.07	+	4.4	2.0	2.8	0.66
37	みかん, 夏みかん	1	1.052	13.6	0.32	0.04	6	16.5	2.1	3.4	1.4

(注) 1. 比重以外は全て試料100gに対する値である。No. 8, 34, 36は標示された希釈倍数により希釈した試料

2. No. 4, 5, 12, 16, 21, 22, 25, 31の測定値は数試料の平均値を示した。

## の品質測定結果

Pro	遊離アミノ酸含量 (mg)												Total
	Gly	Ala	Cys	Val	Met	Ileu	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	
29.5	15.3	10.3	0.24	0.95	0.24	0.44	0.47	0.94	1.2	13.5	1.0	23.8	155.7
67.3	1.3	17.1	0.29	2.1	0.53	0.86	1.1	3.9	2.7	14.4	1.7	40.2	173.9
35.7	0.86	12.3	0.24	1.5	0.36	0.69	0.79	1.7	1.7	5.8	1.2	31.1	116.6
32.1	0.80	13.4	0.42	1.1	0.29	0.43	0.50	1.0	1.3	6.6	0.81	31.8	118.8
51.3	1.0	14.6	0.41	1.7	0.47	0.66	0.91	2.0	1.9	9.2	0.81	27.8	136.6
53.0	1.0	13.7	0.43	1.7	0.44	0.68	1.0	2.2	2.2	9.8	0.64	24.0	133.0
55.8	0.96	15.8	0.56	1.5	0.54	0.59	0.77	2.0	1.8	9.3	0.57	31.6	144.5
114.7	1.3	9.7	0.67	1.6	0.35	0.64	0.61	0.57	1.6	4.7	1.4	55.8	228.0
21.4	0.71	11.5	0.76	3.6	0.84	0.43	0.48	0.84	1.4	4.2	0.59	32.4	120.4
36.4	0.74	11.9	0.24	1.1	0.34	0.41	0.46	0.91	1.1	5.9	0.50	25.0	111.3
64.7	0.81	13.8	0.33	1.6	0.23	0.56	0.64	1.4	1.7	8.5	0.75	26.1	148.8
55.6	0.93	12.8	0.54	1.9	0.51	0.63	0.83	2.2	1.8	9.7	1.0	25.2	137.3
36.7	8.5	17.6	0.53	1.4	0.37	0.52	0.62	1.3	1.5	10.0	0.60	28.0	142.3
46.5	6.5	13.6	0.29	1.3	0.20	0.45	0.49	0.95	1.3	9.6	0.52	27.4	155.3
64.6	1.1	19.3	0.39	2.0	0.38	0.72	0.78	1.8	2.1	12.3	0.86	29.5	176.0
40.2	0.86	13.6	0.37	1.4	0.28	0.49	0.56	1.4	1.6	6.8	0.49	27.7	123.0
30.1	0.79	12.9	0.40	1.3	0.25	0.47	0.52	1.0	1.4	5.2	0.52	28.9	113.2
26.5	0.75	11.5	0.36	1.3	0.36	0.50	0.64	1.2	1.4	6.4	0.48	27.9	108.2
26.0	6.1	10.5	0.34	1.0	0.30	0.38	0.41	0.74	1.2	10.7	0.39	27.0	121.4
38.1	0.77	12.8	0.46	1.1	0.44	0.47	0.57	0.93	1.4	7.0	0.55	34.3	130.9
58.5	1.0	12.8	0.26	1.9	0.33	0.56	0.68	2.2	2.1	9.0	0.76	28.9	139.2
36.6	0.91	12.2	0.47	1.4	0.36	0.53	0.64	1.3	1.7	6.0	0.77	26.6	114.6
29.1	0.85	12.7	0.01	1.4	0.31	0.52	0.56	1.5	1.4	6.9	1.1	23.1	111.2
104.4	1.7	11.3	0.31	1.8	0.41	0.87	0.80	1.3	2.4	4.8	0.92	70.5	242.1
65.1	1.3	14.6	0.38	1.8	0.40	0.72	0.79	1.7	2.2	7.9	1.2	50.7	178.9
61.0	1.2	16.1	0.32	2.1	0.42	0.75	0.94	2.0	2.2	9.3	0.93	30.0	152.3
59.5	1.2	13.4	0.36	1.8	0.42	0.62	0.75	1.7	2.3	7.1	0.73	42.7	162.4
26.9	12.9	8.0	0.19	0.82	0.37	0.31	0.33	0.46	0.85	9.3	0.29	23.3	122.0
25.6	0.51	7.2	0.15	0.79	0.22	0.30	0.37	1.1	1.1	4.8	0.39	16.7	70.4
10.6	0.43	5.9	0.15	0.67	0.06	0.22	0.24	0.38	0.77	1.6	0.22	14.6	58.2
16.3	3.8	5.1	0.14	0.52	0.07	0.22	0.26	0.42	0.66	6.8	0.33	18.6	72.7
27.4	0.44	6.1	0.17	0.70	0.09	0.24	0.32	0.68	0.75	6.8	0.67	28.9	88.2
4.1	0.08	1.0	0.01	0.10	0.01	0.06	0.12	0.09	0.09	0.37	0.03	2.4	12.2
1.3	0.80	1.0	0.03	0.09	0.04	0.05	0.21	0.08	0.11	0.55	0.12	2.5	10.2
4.4	0.10	2.4	0.01	0.12	0.01	0.07	0.07	0.08	0.15	0.66	0.04	2.7	14.8
5.0	0.11	1.2	0.01	0.12	0.07	0.08	0.11	0.14	0.16	0.84	0.03	2.6	13.9
3.1	0.36	1.0	0.01	0.14	0.01	0.04	0.05	0.14	0.13	0.60	0.04	2.0	12.4

100 g 中の液である。

に十分偽和鑑別の一手段になりうると判断される。

3. 可溶性固形物, 灰分, アミノ態窒素, 酸, ビタミンC 表2に日本農林規格<sup>1)</sup>に規定してある果実飲料についての果実原料別の可溶性固形物含有率, 酸含有量, ビタミンC含有量, アミノ態窒素含有量を示した。全ての果実飲料について可溶性固形物, 灰分, アミノ態窒素含有量の規格が定められており, 果汁100%でない果汁飲料, 果肉飲料および果汁入り清涼飲料では標示果汁含有率N%のN/100と規定されている。しかし酸については濃縮果汁のみに, ビタミンCは天然果汁, 果実ピューレーのみに規定されている。

① 可溶性固形物含有率 全試料が10以上の示度を示し, 温州みかん, 夏みかん搾汁の規格に適合していた。バレンシアオレンジ混合物であるNo. 25においても10.7であり, バレンシアオレンジ搾汁の規格11を多少下回っている程度であった。

② 灰分含有量, アミノ態窒素含有量 温州みかん, 夏みかん搾汁の灰分の規格は0.2g, アミノ態窒素のそれは20mgであるが, 全ての供試天然果汁がこの規格以上の値を示した。またその中のNo. 24—28は果粒入り果汁飲料であるNo. 28の灰分を除いて, 全てバレンシアオレンジ搾汁の灰分, アミノ態窒素の規格を上回る値を示した。その他の果汁, 果肉飲料および果汁入り清涼飲料においても温州みかん, 夏みかん搾汁の灰分, アミノ態窒素の規格の1/2または1/10以上を示した。

③ 酸含有量 本調査においては濃縮果汁はなく, 規格の拘束を受ける果実飲料はないが, 酸味料が添加されていないと思われる天然果汁ではNo. 19を除き, 0.75—1.0gとほぼ一定の値を示した。

④ ビタミンC含有量 天然果汁のビタミンC含有量は21—49mgの範囲にあり, 温州みかん, 夏みかん搾汁の規格を上回っていた。バレンシアオレンジ搾汁の規格は23mgであるが, No. 24—28はいずれもそれ以上の値であった。果汁飲料はこの規格の拘束を受けないが, No. 29, 31は20mg以上を示し, 天然果汁と遜色がなか

表2. 日本農林規格の基準値

	可溶性 固形分	酸 (g)	灰分 (g)	ビタミ ンC (mg)	アミノ 態窒素 (mg)
夏みかん搾汁	9	1.5	0.20	20	20
夏みかんピューレー	9		0.20	20	20
バレンシアオレンジ搾汁	11	0.8	0.30	25	23
温州みかん搾汁	9	0.7	0.20	20	20
温州みかんピューレー	9		0.20	20	20

(注) 1. 搾汁またはピューレー100gに対する値である。

った。

4. 比重 No. 28を除いた他の全供試試料が1.05前後であった。

昭和45年, 著者ら<sup>9)</sup>は市販果実飲料107検体について品質の鑑別を行い, 6割弱の果実飲料が果汁皆無または痕跡程度しか含まず, その中には「天然果汁, 新鮮な果汁の味」等の標示がありながら, 遊離アミノ酸, ビタミンCのいずれも皆無のもの又はアミノ態窒素をごまかすため, グリシン, アラニンなど通常果汁中に多量に検出されるはずのないアミノ酸を多く含量しているものなど明らかな偽和果実飲料が存在することを報告した。しかし本調査においては日本農林規格は言うまでもなく, 遊離アミノ酸, ペタインについても問題となる果実飲料は見い出されなかった。

#### 要 約

昭和50年9月, 都内店頭より収去した果実飲料37種51試料につき, 遊離アミノ酸, ペタインおよび日本農林規格試験項目を用いて, 鑑別を行った。果実飲料の内訳は天然果汁27種39検体, 果粒入り果実飲料1検体, 果汁飲料3種5検体, 果肉飲料1検体, 果汁入り清涼飲料5種5検体である。

全試料について果汁含有率を100%に換算した場合, 遊離アミノ酸含有量の平均値は141.4mg, 標準偏差は30.2mg, 95%信頼限界では80.9—201.9mgとなり, 5%危険率では著しくアミノ酸含有量の低い試料はなかった。またその構成パターンではプロリン量が多く, 次にアルギニン, アスパラギン酸となり, 他の報告のアミノ酸パターンと特に相違する点はなかった。ペタイン含有量は天然果汁では平均54.5mgであり, 標準偏差は10.3mg, 95%信頼限界では33.3—74.5mgとなり, 5%危険率で問題となる天然果汁はなかった。その他の果汁飲料でも果汁含有率を100%とした場合, No. 34以外は上記の95%信頼限界を下回らなかった。日本農林規格試験項目では可溶性固形物含有率, 灰分含有量, アミノ態窒素含有量は全ての果実飲料が規格に適合していた。また天然果汁はビタミンCの規格にも適合しており, さらに酸含有量も0.75—1.0gと一定していた。比重はNo. 28を除き, 他の全ての試料が1.05前後であった。以上の結果から, 今回調査した果実飲料について, 特に問題とすべき検体はないと判断された。

謝辞 本調査の遂行にあたり, 試料収集に御協力をいただいた食品監視課並に食品機動監視班の各位に感謝の意を表するとともにアミノ酸分析に多大な御協力をいただきました当所毒性部中尾順子薬理研究科長, 樺島順一郎研究員に深謝致します。

## 文 献

- 1) 日本農林規格協会：JAS, 果実飲料の日本農林規格, 昭和47年9月6日農林省告示第1607号
- 2) 日本農林規格協会：JAS, 果実飲料の日本農林規格, 昭和52年1月11日農林省告示第8号
- 3) Assoc. Offic. Agr. Chem.: *Official Method of Analysis of the A.O.A.C.*, 12, 401, 1975
- 4) 日本薬学会：衛生試験法注解, 1, 1969, 金原出版
- 5) 三浦 洋, 田村真八郎, 剣持久仁子, 鈴木忠直, 高野和子：食総研, 26, 36, 1971
- 6) 山田和彦：食品工誌, 24(1), 25, 1977
- 7) Floyd, M. K., G. R. Rogers, J. E. Harrell, and P. S. Wilkes: *J. of the A. O. A. C.*, 52(6), 1153, 1969
- 8) Lewis, W. M.: *J. Sci. Fd. Agric.*, 17, 316, 1966
- 9) 道口正雄, 西田甲子, 牛尾房雄, 庭山邦子, 青柳健太郎, 山海 保, 畑野逸興：第46回東京都衛生局学会, 11月, 1970

食品中の無機質に関する研究 (第1報)  
カリウム, ナトリウムの定量法に関する検討

友松俊夫\*, 道口正雄\*

Studies on Minerals in Foods (I)  
Surveys of Analytical Method on Potassium and Sodium

TOSHIO TOMOMATSU\* and MASAO DOGUCHI\*

緒言

人体に見出される無機質は、いずれも外界より摂取したものであり、有益有害の区別がつけにくいものもあるが、多くは摂取量によって、有益であったり、有害であったりする。

これらの無機質が成人体に存在する量は、体重60kg当りカルシウム1,110(g), リン600, カリウム210, 硫黄150, ナトリウム90, 塩素90, マグネシウム30, 鉄2.4, マンガン0.18, 銅0.068, ヨー素0.024, その他の元素は微量であるといわれており<sup>1)</sup>, これら無機質の適量摂取が健康にとって、非常に大切であることは、一般に良く知られている。しかし、このように大切な無機質であっても、カルシウム、鉄以外はいまだその所要量が定められるほど研究が進歩していない<sup>2)</sup>。一方、近年病態栄養面よりカリウム制限食調製の必要性が強調され、また臨床面からもカリウム、ナトリウムの所要量を決定することがいそがれている。

栄養所要量の計算などに良く利用される文献に、「三訂日本食品標準成分表」があり、この表中にも、数種の無機質の含有量が記載されているが、この標準とは、三訂当時(1960-1962)わが国で流通していた食品のうち、價格的に平均に近いものを選び出し、それらについて分析した結果がこのような数値であった、ということであり<sup>3)</sup>, 表記載の数値が標準的なものという意味ではない。このような理由で無機質の所要量を算定する基礎となる日常食品の成分組成が、実際には不明確なものであり、これを所要量評価に応用することができない現状にある。

今回筆者らは、現時点における食品中のカリウム、ナトリウムの含有量評価を行うための準備として、この

目的に適した分析方法を考案するため、以下の検討を試みたので報告する。

実験の部

装置 EKOフレームホトメーターN型, 原子吸光-炎光共用分光分析機 Nippon Jarrell-Ash MARK II, ORION Digital Ionalyzer model 801型, ORION 94-11A型ナトリウムイオン電極, 93-19型カリウムイオン電極, 90-02-00型比較電極, トリオサイエンス製自動電子制御式電気炉TMF型

試薬 塩化亜鉛, 塩化アンモニウム, 粉末アルミニウム, 塩化カリウム, 塩化カルシウム, 塩化ナトリウム, 塩化第2鉄, 塩化第2銅, 塩化マグネシウム, 塩化マンガンの, 硫酸ナトリウム(粉末アルミニウム:99.5%以外はすべて試薬特級を使用)。これらの元素名は以後のおの ZnCl<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, Al, KCl, CaCl<sub>2</sub>, NaCl, FeCl<sub>3</sub>, CuCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> と略す。

灰化方法 分析される試料の数, 灰化時間, 試薬の使用量および希望する酸濃度の検液が比較的簡単に得られる等の利点を勘案して、乾式灰化法を用いることとし、その操作は次のとおりである。

検液の調製 適当量の検体を採取し、ホットプレート上で乾固し、食品などの場合には良く炭化させる。次に電気炉中で5時間一定温度で加熱し、冷後塩酸溶液(1→2)10mlで灰分を処理し、蒸発乾固する。残留物を再び塩酸溶液(1→4)10mlに溶解したのち、メスフラスコに入れ、水を用いて一定量とし、測定用検液とする。

機器の測定条件 EKO-N型:天然ガス, ガス圧40, 空気圧0.6kg/cm<sup>2</sup>, K用, Na用干渉フィルター使用。Jarrell-Ash MARK II型:K測定波長766.4nm, Na

\* 東京都立衛生研究所生活科学部栄養研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku Tokyo, 160 Japan

Table 1. Effects of Ashing Temperatures and Vessels on Recovery

Temp.	Vessel	K add.	Instrument					
			EKO-N		Jarrell-Ash MARK II		ORION Ionalyzer 801	
			Found( $\mu$ g)	Recov.(%)	Found( $\mu$ g)	Recov.(%)	Found( $\mu$ g)	Recov.(%)
300	Pt	200	193.0	96.5	195.0	97.0	160.2	80.1
	PYL	200	190.0	95.0	195.2	97.6	159.2	79.6
400	Pt	200	192.0	96.0	193.0	96.5	158.6	79.3
	PYL	200	193.4	96.7	189.2	94.6	156.0	78.0
550	Pt	200	198.8	99.4	198.4	99.2	162.6	81.3
	PYL	200	132.8	66.4	139.6	69.8	121.8	60.9
600	Pt	200	173.4	86.7	182.0	91.0	165.2	82.6
	PYL	200	91.0	45.5	113.6	56.8	96.4	48.2

Temp.	Vessel	Na add.	Found( $\mu$ g)	Recov.(%)	Found( $\mu$ g)	Recov.(%)	Found( $\mu$ g)	Recov.(%)
400	Pt	1000	944	94.4	990	99.0	1012	101.2
	PYL	1000	942	94.2	976	97.6	1008	100.8
500	Pt	1000	962	96.2	947	94.7	1007	100.7
	PYL	1000	963	96.3	944	94.4	997	99.7
550	Pt	1000	929	92.9	903	90.3	975	97.5
	PYL	1000	945	94.5	915	91.5	990	99.0
600	Pt	1000	943	94.3	925	92.5	1037	103.7
	PYL	1000	924	92.4	922	92.2	1054	105.4

Pt : Platinum vessel

PYL : PYLEX glass beaker

Table 2-1. Effect of Sodium Concentration on the Accuracy of Potassium Analysis

Na add.	K add.	Instrument					
		EKO-N		Jarrell-Ash MARK II		ORION Ionalyzer 801	
		Found(ppm)	Recov.(%)	Found(ppm)	Recov.(%)	Found(ppm)	Recov.(%)
5	50	49.5	99	51.5	103	48.0	96
25	50	48.0	96	52.5	105	49.0	98
50	50	47.5	95	52.0	104	42.0	84
250	50	48.0	96	52.5	105	38.5	77
500	50	48.0	96	54.0	108	30.0	60

Table 2-2. Effect of Potassium Concentration on the Accuracy of Sodium Analysis

K add.	Na add.	Instrument					
		EKO-N		Jarrell-Ash MARK II		ORION Ionalyzer 801	
		Found(ppm)	Recov.(%)	Found(ppm)	Recov.(%)	Found(ppm)	Recov.(%)
5	50	50.0	100	50.0	100	51.0	102
25	50	50.0	100	50.5	101	59.0	118
50	50	50.0	100	50.5	101	64.0	128
250	50	50.5	101	53.0	106	66.0	132
500	50	50.5	101	54.0	108	75.0	150

測定波長 588.9nm, アセチレン 0.4kg/cm<sup>2</sup>, 空気 1.5 kg/cm<sup>2</sup>, イオンメーター: 比較電極外液は, K 測定の場合 0.25% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na 測定の場合は 25% NH<sub>4</sub>Cl を使用した。

#### 結果および考察

灰化条件について, 灰化容器は, 白金皿とパイレック

スピーカーを使用し, K は 200 $\mu$ g, Na は 1000 $\mu$ g を用いて, おのおの 300°, 400°, 550°, 600° および 400°, 500°, 550°, 600° で灰化し, 3 種類の分析機で測定したところ, K および Na の回収率に関する表 1 の結果を得た。

これまでの乾式灰化時の温度については, 500° から 550°<sup>(4)</sup> または 550° から 600°<sup>(5)</sup> で灰化する等の記載があ

Table 3—1. Effects of Diverse Minerals

D.M.(ppm)	K add.	Instrument					
		EKO—N		Jarrell-Ash MARK II		ORION Ionalyzer 801	
		Found(ppm)	Recov.(%)	Found(ppm)	Recov.(%)	Found(ppm)	Recov.(%)
Al	5	50.0	100	52.0	104	23.0	46
	50	49.5	99	51.0	102	9.2	18
Ca	300	49.0	98	54.4	109	22.0	44
	3000	45.0	90	65.5	131	27.0	54
Cu	5	52.0	104	52.0	104	37.5	75
	50	50.5	101	52.0	104	37.0	74
Fe	100	52.0	104	52.0	104	26.0	52
	1000	49.0	98	51.5	103	22.0	44
Mg	50	53.0	106	52.0	104	26.0	52
	500	49.5	99	53.0	106	28.0	56
Mn	10	49.5	99	52.5	105	19.0	38
	100	44.5	89	50.5	101	5.1	10
Zn	10	52.0	104	51.5	103	30.0	60
	100	52.0	104	52.0	104	23.5	47

D.M. : Divers Minerals

Table 3—2. Effects of Diverse Minerals

D.M.(ppm)	Na add.	Instrument					
		EKO—N		Jarrell-Ash MARK II		ORION Ionalyzer 801	
		Found(ppm)	Recov.(%)	Found(ppm)	Recov.(%)	Found(ppm)	Recov.(%)
Al	5	51.5	103	50.0	100	70.0	140
	50	50.0	100	50.5	101	76.5	153
Ca	300	51.5	103	54.0	108	63.0	126
	3000	55.5	111	84.0	168	72.5	145
Cu	5	51.5	103	50.5	101	50.5	101
	50	51.0	102	51.0	102	55.0	110
Fe	100	50.5	101	52.0	104	73.0	146
	1000	51.0	102	54.5	109	79.0	158
Mg	50	50.5	101	49.5	99	62.0	124
	500	51.0	102	50.0	100	72.0	144
Mn	10	50.5	101	50.0	100	74.0	148
	100	47.5	95	49.5	99	79.0	158
Zn	10	51.5	103	50.0	100	56.0	112
	100	50.5	101	50.0	100	61.0	122

D.M. : Divers Minerals

る。ここで容器別に各温度における回収率を調べると、K測定時の白金皿では600°でわずかに減少する。一方パイレックスピーカーでは、550°で60%から70%、600°では45%から67%と半減する。この場合灰化操作を行った後の残留物の重量は、灰化前の無機質を100%とすると白金皿では99.7%および99.3%であり、ピーカーでは100.4%および99.3%であった。以上のことから、Kの場合550°以上になるとガラス壁面に溶着が起り、回収率が減少するものと思われる。Naの場合には実験したすべての温度範囲で比較的良好な回収率が得られた。しかし高温になるにしたがって、回収率が減少傾向を示した。

共存イオンの影響 穀類食品中のKは、他の元素類とくらべて比較的含有量が多い。また加工食品中のNaは、未加工食品に含まれる無機質より数倍のオーダーで存在する。このように含有量に差がある場合の測定値の変化について、今回分析の目的としたK, Naを用いて1:0.1から1:10の濃度比範囲でK-Naの相互作用を調査したところ、表2の結果を得た。EKO-N型では、回収率がK, Naで一定の値を示しており、共存イオンの影響は受けていないと思われる。Jarrell-Ash MARK IIでは、共存イオン量が増加するに従って、回収率は増加傾向を示す。この場合K, Naはそれぞれスペクトル波長766.4nmおよび588.9nmで測定されているので、このスペクトルが増強されたことを示している。しかし両側定波長の近傍に相互のスペクトルは存在しないのでK, Naそのものが増量したことを意味している。これら増量したK, Naは使用した試薬から混入したものと思われる。イオンメーターで測定する場合には、K, Naの存在比が10:1以下ならば良好な精度で測定することができる。

その他のイオンの影響 人体に存在する無機質の量的順位、クラーク数および食品添加物としての使用量などを参考にして7種類の元素を選び、これらの元素がK, Na測定時に共存した場合の影響について検討した。イオン量は食品中に存在すると思われる濃度をそのまま検液濃度とし、その10倍のものと、2種類の溶液について測定したところ表3の結果を得た。炎分光分析では、K測定時のCa, Fe, MgおよびMnに回収率の変化がみられ、Na測定時には、Ca, FeおよびMnに差違が認めら

れる。このような違いが生ずる原因としては、干渉フィルターを不必要な光が通過する、共存物によって測定元素のスペクトルが増減する、炎の中に無機塩が析出して光散乱を起すおよび試薬から測定元素が混入する等の理由があげられるが、おそらくは以上の要素が相加的に作用しているとおもわれる。しかし、低濃度の場合には比較的良好な回収率が得られるし、多くの元素はK, Naに対して今回検討された高濃度の場合のような濃度比で存在することはほとんどないので、共存イオンの影響は、わずかなものであると考えられる。イオンメーターでは、K測定時Mnで90%の回収率減少を示し、Na測定ではFe又はMnの共存で最大58%の回収率の増加が見られ、共存イオンの影響が非常に大きいことを認めた。

### 結 論

- 1) 白金皿を使用した場合の灰化温度は550°以下が適当であり、パイレックスピーカーでは500°以下が適当である。
  - 2) 分析機器は炎分光器が良く、なかでもスペクトルを一定波長で検出するものが、干渉フィルターを使用するものよりも精度が良い。しかしフィルター使用のものも食品中のK, Naの分析を行うにはなんら不都合はない。イオンメーターを用いたK, Naの定量は現在ほとんど不可能である。
  - 3) 共存イオンの影響は炎光型の分析器を使用するかぎり問題はないことを認めた。
- 今回得られた結果にもとづいて、今後各食品中のK, Na含有量調査ならびにtotal diet studyによる所要量評価を行う予定である。

### 文 献

- 1) 大磯敏雄：栄養学（現代保健体育学大系—19）, 221, 1972, 大修館書店
- 2) 国民栄養振興会編：日本人の栄養所要量と解説, 193, 1976, 第一出版株式会社
- 3) 吉川春寿監修：栄養学, 164, 1976, 朝倉書店
- 4) 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩尾裕之：食品分析ハンドブック, 261, 1973, 建帛社
- 5) 日本薬学会編：衛生試験法注解, 61, 1965, 金原出版株式会社
- 6) 元素永存線波長表：島津製作所

ポルフィリン代謝系成分に関する調査およびその生化学的研究 (第IV報)

尿中異常陽性成分の出現と尿中排泄コプロポルフィリンの関係

小笠原 公\*, 武士俣 邦雄\*, 霜田 さと子\*

**Investigations and Biochemical Studies on the Porphyrin Metabolites (IV)**  
**Relationship between Appearance of Abnormal Urinary Components**  
**and Urinary Coproporphyrin**

KIMI OGASAWARA\*, KUNIO BUSHIMATA\* and SATOKO SHIMODA\*

大気中の鉛汚染度が低い通常の環境で生活する一般住民についての鉛障害に関する報告には接しない。しかし久しく自動車燃料として加鉛ガソリンが用いられてきたので、自動車の交通量が多い都市住民について、真に鉛害の危憂がないことを明白にするためには、住民保健のための経年観察が必要である。

そのため毎年東京都民について、鉛障害の指標成分<sup>1-5)</sup>とされる $\delta$ -アミノレブリン酸(以下 $\delta$ -ALAと略す)およびコプロポルフィリン(以下Cpと略す)の尿中排泄量測定を続け、これら成分の性別、年齢別、居住地域別ならびに測定季節別による尿中排泄実態について調査してきた。

結果として東京都民の血液および尿中鉛量<sup>6-8)</sup>は低値であり、尿中排泄 $\delta$ -ALA量ならびにCp量についても鉛障害認定基準値<sup>9)</sup>を越す例が僅少であって、一般住民の鉛障害は生じていないことを明らかにしたのであるが、居住地域によって $\delta$ -ALAおよびCpの尿中排泄水準に差異がみられた<sup>10,11)</sup>。このことを重視し、その差異を生じた理由の解明として、まず $\delta$ -ALAにつき、被検者の有病性を推察する尿成分異常出現との関連性を検討したところ、肝臓機能に関係のあるウロビリノーゲンの尿中異常出現が高率である地域は $\delta$ -ALAの尿中排泄量が高水準であって、複合大気汚染の影響が考えられることを報告<sup>12)</sup>した。

Cpについてもその尿中排泄水準に地域差を生じたことの解明が重要である。そこで $\delta$ -ALAの尿中排泄に関する吟味と同様に、Cpの尿中排泄におよぼすウロビリノーゲン、タンパクならびに糖の尿中異常出現の関連性について検討したので報告する。

調査方法

1. 調査期間と検査対象 昭和46年9月～51年3月を調査期間とした。検査対象者は東京都内の自動車交通量が多い主要道路近辺に居住する35保健所管区内住民のうち、鉛害検診あるいは公害検診の受診を希望する男691名・女913名である。しかしこのうちには18歳未満者および尿中排泄Cp量測定と同時に尿成分定性試験を行えなかった例が含まれる。そこで尿中排泄Cp量の居住地域差異また有病性との関連性の吟味を容易にするため、本報告の調査対象者は尿中排泄Cp量測定と尿成分定性試験を併せて実施できた18歳以上の、31保健所管区内住民男474名・女761名の計1,235名である。

2. 調査地域の区分 東京都地域区分は広場と青空の東京構想に従い、多摩郊外Ⅱ(奥多摩町・檜原村・五日市町・日の出村・青梅市・羽村町・秋多町・瑞穂町・福生町)、多摩郊外Ⅰ(八王子市・村山町・昭島市・立川市・大和町・日野市・多摩町・稲城町・町田市)、多摩近郊(東村山市・小平市・国分寺市・国立市・小金井市・府中市・清瀬町・久留米町・田無市・保谷市・武蔵野市・三鷹市・調布市・狛江町)、城西(練馬区・杉並区・中野区・世田谷区)、山手(豊島区・文京区・新宿区・渋谷区・目黒区)、城北(板橋区・北区・荒川区)、城東(足立区・葛飾区・江戸川区)、下町(台東区・墨田区・江東区)、都心(千代田区・中央区・港区)および城南(品川区・大田区)の10地域区分<sup>13)</sup>とした。

本報告では多摩郊外Ⅰ地域住民の調査は行わなかったので含まれていない。

3. 検査および測定方法 午後2時前後の一時尿を採取して、保健所管区ごとに搬入される被検尿につき、採

\* 東京都立衛生研究所生活科学部栄養研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

尿した同日のうちにつきに記す種目の試験検査を行った。

尿ウロビリノーゲン、タンパクおよび糖定性試験：第1報と同じ方法<sup>10,14)</sup>

尿中排泄 Cp 量測定：著者らが開発したエーテル抽出による微量けい光法<sup>15)</sup>

#### 検査成績および考察

1. 尿成分異常出現とCp尿中排泄の關係 東京都民の尿中排泄 Cp 量の正常値については、性別に男64.8±35.3μg/l・女58.6±33.0μg/lであることをすでに報告<sup>11)</sup>した。この正常値の決定は検査対象全例から、あらかじめ尿ウロビリノーゲン、タンパクおよび糖異常陽性者男139例(29.3%)・女175例(23.0%)を除外したのち、さらに統計手法<sup>10)</sup>に従って男11例・女17例の異常値削除を行った男324例・女569例について得られた値である。男474例・女761例の検査対象全例から、男36例(7.6%)・女36例(4.7%)の異常値削除を行って得られた尿中排泄Cp平均値は男67.7±32.9μg/l・女61.3±32.1μg/lであって、尿成分異常陽性者が含まれるこの尿中排泄Cp平均値は正常値に比較して高値である。このことは尿成分異常陽性者が関与して尿中排泄Cp平均値が高値に表現されたことであるから、正常値の決定についてはあらかじめ尿成分異常陽性を伴うデータは除外すべきである。

そこで尿ウロビリノーゲン、タンパク、糖異常陽性者男139例・女175例について尿中排泄Cp平均値を算出してみると、男108.9±65.6μg/l・女92.8±52.3μg/lであって、正常値との差の検定によって有意に高値である。このような多量のCpの尿中排泄はウロビリノーゲン、タンパク、糖のうちいずれの成分の尿中異常出現と關係があるのか、それら成分の尿中異常出現から推察する有病性との關係を吟味する必要がある。このことは第II

報<sup>11)</sup>で報告したように、居住地域によりCpの尿中排泄水準に差異がみられたことの解明のためにも必要なことである。

ウロビリノーゲン、タンパク、糖を含めた尿成分異常陽性全例から、男25例・女19例の統計棄却を行った男114例・女156例について、尿ウロビリノーゲン、タンパク、糖およびこれら成分の複種異常陽性例ごとに尿中排泄Cp平均値を算出した結果を表1に示す。

尿成分異常陽性種目別の尿中排泄Cp平均値を検査対象全例から得られた正常値と比較すると、尿ウロビリノーゲン異常陽性例(男14.4%・女9.4%)および複種目尿成分異常陽性例(男9.4%・女3.2%)の尿中排泄Cp平均値は男女とも有意(P<0.001)に高値であった。

複種目尿成分異常陽性にはウロビリノーゲンとタンパク、ウロビリノーゲンと糖、タンパクと糖等の2種目同時異常陽性およびウロビリノーゲンとタンパクと糖の3種目同時異常陽性が含まれる。これらの複種目尿成分異常陽性を一括して表現したのは、前記の2種目また3種目別に細分すると、おのおのの例数が少ないため、誤った考察をすることをさけるためである。

つぎに尿タンパク陽性者についてみると、男女いずれも有意差がない。しかし尿糖陽性例では女(3.4%)のみ有意(P<0.001)に高値を示し、性による差異があった。

以上述べたことから尿ウロビリノーゲン異常陽性者および出現率は低い、女の場合に尿糖陽性者が加わっている調査対象集団の尿中排泄Cp平均値はいくらか高値に表現されていることが考えられる。

2. 居住地域ごとの住民尿成分異常出現とCp尿中排泄の關係 第II報<sup>11)</sup>で居住地域別に住民尿中排泄Cp平均値の比較検討を行ったところ、男女とも城西・山手地域さらに男のみ多摩郊外II地域、女のみ下町地域が、被

表1. 尿成分異常陽性種目別の尿中排泄コプロポルフィリン平均値

種 目	性別	測定 総数	異 常 陽性数	異常陽性率 (%)	平均 値 (μg/l)	全例の正常値に 対する差の検定
ウロビリノーゲン	男		63	14.4	89.2±35.3	P<0.001
	女		68	9.4	87.6±34.7	
タ ン パ ク	男		16	3.7	66.3±40.6	
	女		40	5.4	65.0±30.4	
糖	男		18	4.1	73.0±30.4	
	女		25	3.4	80.9±38.9	
複 種	男		17	9.4	97.7±39.4	P<0.001
	女		23	3.2	86.1±37.9	
全 例	男	474	139	29.3	64.8±35.3	
	女	761	175	23.0	58.6±33.0	

検者全例から得られた正常値に比較して有意 ( $P < 0.01 \sim 0.001$ ) に高水準であることを報告した。

Cp の尿中排泄水準値に居住地域差を生じた理由の検討をすることは、大気汚染や居住地域特有の生活環境因子による人体影響の有無を明らかにするうえで重要なことである。それゆえすでに大気中鉛および鉛以外の物質の大気汚染による影響の関係、調査方法として問題となる居住地域別被検者の年齢構成ならびに検査季節の影響等について解析を行ってきた。その結果として、血液および尿中の鉛量はいずれも低値であることから、大気中鉛の人体影響は考えられなかった。調査方法については、居住地域別にかたよった年齢構成もなく、一地域の調査回数および検査季節についての検討でも、多摩郊外Ⅱ地域が2月に1保健所管区住民によるデータであるきらいがあったが、この地域以外では尿の濃縮や希釈が起りやすい夏期、冬期はほぼ同数の検査例数であって居住地域比較調査上大きな問題はなかったことの報告をした。さらに居住地域ごとの複合大気汚染度と Cp の尿中排泄水準の関係について考察したのであるが、Cp は大気清浄の地域でも尿中排泄水準の高いところがあって、大気汚染度との関連が明瞭であった  $\beta$ -ALA のそれとは

やや異なった実態であったことの報告をしたのである。

居住地域別に Cp の尿中排泄水準差の有無の比較検討を行った検査対象例には尿成分異常陽性者が含まれる。前述したところの尿中排泄 Cp 平均値が高水準であった地域は、有病性を推察する尿成分異常出現が高率であり、Cp の尿中排泄水準値と関連がうかがえるので、それらの関係を検討する必要があることの報告をした。そこで今回は尿ウロビリノーゲン、タンパク、糖それぞれの異常出現からみた居住地域別の Cp 尿中排泄の関係について述べる。

居住地域ごとの住民の尿成分異常陽性率を表2に示す。まず尿ウロビリノーゲン異常陽性率についてみると、被検者全例に対する異常陽性率男14.4%に比較して多摩郊外Ⅱ・城西・山手ならびに下町地域が高率の出現であり、尿ウロビリノーゲン強陽性の出現も同様に高率であった。はじめに記述したようにこれらの地域は、下町地域を除き尿中排泄 Cp 平均値が高水準の地域であって、両成分の尿中出現に関係がみられた。女の場合では、被検者全例に対する尿ウロビリノーゲン異常陽性率9.4%に比較し城東・下町・都心地域が高率の出現である。しかし尿中排泄 Cp 平均値は下町地域のみ高水準であって、

表2. 居住地域ごとの住民尿成分種目別異常陽性率  
(尿中排泄コプロポルフィリン量を測定したもの)

居 住 地 域	性別	検査数	ウロビリノーゲン		タンパク (%)	糖 (%)	複種 (%)
			異常陽性(%)	強陽性(%)			
多摩郊外Ⅱ	男	16	18.8	12.4	0	6.2	6.2
	女	14	0	0	7.1	0	0
多摩近郊	男	26	11.6	0	0	0	3.9
	女	96	8.3	3.1	5.2	1.0	3.1
城 西	男	75	16.0	6.6	1.3	5.3	1.3
	女	144	9.1	2.8	4.2	3.5	1.4
山 手	男	82	15.8	9.8	3.7	4.9	3.7
	女	90	4.4	1.1	4.4	2.2	0
城 北	男	87	13.8	5.7	5.7	5.7	3.5
	女	113	10.7	2.7	8.9	2.7	3.6
城 東	男	22	9.1	0	9.1	4.5	0
	女	20	15.0	0	0	5.0	0
下 町	男	44	18.2	11.3	4.5	2.3	6.8
	女	70	11.4	4.3	5.7	8.6	5.7
都 心	男	24	4.2	0	4.2	4.2	0
	女	73	13.7	8.2	6.9	2.7	5.5
城 南	男	62	14.4	8.0	3.2	1.6	8.0
	女	105	9.6	1.8	4.6	4.8	5.7
全 例	男	438	14.4	6.8	3.7	4.1	3.9
	女	725	9.4	3.0	5.4	3.4	3.2

表3. 尿成分異常陽性者除去後の居住地域ごとの住民尿中コプロポルフィリン平均値

居住地域	性別	測定数	平均値 ( $\mu\text{g/l}$ )	全例の正常値に 対する差の検定
多摩郊外Ⅱ	男	11	82.1 $\pm$ 36.6	
	女	13	52.1 $\pm$ 24.5	
多摩近郊	男	22	54.5 $\pm$ 19.1	P<0.05
	女	79	58.3 $\pm$ 31.2	
城西	男	57	85.9 $\pm$ 40.8	P<0.001
	女	118	58.4 $\pm$ 33.6	
山手	男	59	68.9 $\pm$ 35.9	
	女	80	66.8 $\pm$ 34.6	
城北	男	62	53.3 $\pm$ 29.2	P<0.01
	女	84	58.0 $\pm$ 30.0	
城東	男	17	43.6 $\pm$ 21.6	P<0.01
	女	16	49.8 $\pm$ 19.4	
下町	男	30	50.8 $\pm$ 33.5	P<0.05
	女	48	71.2 $\pm$ 44.3	
都心	男	21	59.1 $\pm$ 26.6	
	女	52	48.1 $\pm$ 26.5	
城南	男	45	69.1 $\pm$ 31.8	P<0.02
	女	79	53.4 $\pm$ 30.1	
全例	男	324	64.8 $\pm$ 35.3	
	女	569	58.6 $\pm$ 33.0	

城東および都心地域住民のそれは低水準である。尿中排泄 Cp 平均値が高水準である城西および山手地域については尿ウロビリノーゲン異常陽性率が低率であり、女については両成分の出現関係が明瞭でなかった。

前項で明らかにしたように、尿ウロビリノーゲン異常陽性では尿中排泄 Cp 値が高値である。また女では尿糖出現の場合にも尿中排泄 Cp 平均値が高値であることを述べた。そこで居住地域別にこのことを吟味するため、被検査全例から男114例(26.0%)女156例(21.5%)の尿ウロビリノーゲン、タンパク、糖異常陽性者を除いたのち、居住地域ごとに異常値の統計棄却を行い、尿中排泄 Cp 平均値を求めた結果を表3に示す。

被検査全例から得られた尿中排泄 Cp 正常値男64.8 $\pm$ 35.3 $\mu\text{g/l}$ ・女58.6 $\pm$ 33.0 $\mu\text{g/l}$ に比較して、尿成分異常陽性者が含まれる場合は、第Ⅱ報<sup>11)</sup>で報告したように、男について多摩郊外Ⅱ・城西・山手地域、女については城西・山手・下町地域住民の尿中排泄 Cp 平均値が高水準を示していたのであるが、尿成分異常陽性者を除外したのち得られた値と全例から求めた正常値につき差の検定を行ってみると、男について城西地域のみが有意(P<0.001)に高値を示すのみとなった。

このことは尿ウロビリノーゲン、タンパク、糖を含めた尿成分異常出現と尿中に排泄される Cp の出現量とは

関係があることになる。しかし Cp の尿中排泄値が高水準となるのは尿ウロビリノーゲンならびにこの成分を含む複種成分の異常出現と、女において尿糖の出現する場合である。さらに居住地域別の尿成分異常出現率をみると、いずれの地域でも尿ウロビリノーゲンが尿タンパク、尿糖に比較して高率の出現である。ゆえに Cp の尿中排泄の関連性は尿ウロビリノーゲン異常出現がもっとも強いことが考えられる。

尿糖出現による Cp の尿中排泄関連性については、女において Cp の尿中排泄水準が高い城西・山手・下町地域のうち、下町地域のみ尿糖出現が高率であり、城西・山手地域では低率の出現であったこと、また尿糖は尿ウロビリノーゲンほどの高い出現でないことから推察して、居住地域別の尿中排泄 Cp 水準に対し、尿ウロビリノーゲン異常出現ほどの関与はしていないと考える。

つぎに尿ウロビリノーゲン強陽性の場合について Cp の尿中排泄はどのような関連があるかの検討をした。被検査全例に対する尿ウロビリノーゲン強陽性率は男6.8%(30例)・女3.0%(22例)であり、これらの尿中排泄 Cp 平均値は男91.6 $\pm$ 34.4 $\mu\text{g/l}$ ・女92.9 $\pm$ 37.2 $\mu\text{g/l}$ であって、この値は表1に示した尿ウロビリノーゲン異常陽性者また複種の尿成分陽性者の尿中排泄 Cp 平均値に比較し大差がなかった。

居住地域別に尿ウロビリノーゲン強陽性の出現率をみると、男において多摩郊外Ⅱ・城西・山手地域は比較的高率な出現であった。これらの地域ではCpの尿中排泄水準が高く、両成分の尿中出現には関連があった。しかし下町地域のように強陽性率が高率であってもCpの尿中排泄水準が低いところもある。また女については両成分の尿中出現関係は明瞭でない。これらのことからCpの尿中排泄は尿ウロビリノーゲン異常陽性の強さに比例した関係はないように思われる。

本報告の被検者全例について尿ウロビリノーゲンの定量を行い、尿中排泄Cp値との相関係数を算出してみると、男0.4518(466例)・女0.5492(729例)の係数が得られ、両成分は比較的低い相関関係であった<sup>16)</sup>。

Cpは肝臓疾患でも尿中に排泄されるとの報告<sup>17)</sup>がある。ウロビリノーゲンの尿中異常出現は肝臓機能状態を表現するため、肝臓疾患検査のスクリーニングに常用されている<sup>18)</sup>。しかしウロビリノーゲンほど生体内の諸因子すなわち食物関係、飲酒、運動、疲労および便秘等に左右される成分は少ないのではないかと思われる。したがって尿中ウロビリノーゲン異常出現を直に肝臓疾患とすることができないのは勿論である。

以上述べてきたことを併せて考察すると、Cpの尿中排泄は肝臓機能との関係があるにしても、それが強いとは断定できない結果であった。

### 結 論

昭和46年5月～51年3月の調査期間に、主として20歳以上の東京都住民男474名・女761名について尿中排泄Cp量をしらべたところ、その排泄水準に居住地域による差異があった。この解明のために、Cpの尿中排泄はウロビリノーゲン、タンパクあるいは糖の尿中異常出現とどのような関連があるかの検討を行った。

1) 尿ウロビリノーゲンおよびこれを含む複種成分異常陽性者の尿中排泄Cp平均値は、被検者全例から尿成分異常陽性者を除外して得た尿中排泄Cp正常値に比較して、男女とも有意に高値であった。したがって被検者集団に尿ウロビリノーゲン異常陽性者が含まれる場合の尿中排泄Cp平均値は、いくらか高値に表現されることになる。

2) 尿ウロビリノーゲン強陽性者の尿中排泄Cp平均値は、尿ウロビリノーゲン異常陽性者のそれに近似した

値であり、特別に高値にはならない。

3) 尿タンパク陽性者の尿中排泄Cp平均値は、その正常値に対し有意差がない。

4) 尿糖陽性者の尿中排泄Cp平均値は女にのみ有意に高値であった。

5) 男女いずれもCpの尿中排泄平均値が高水準の城西・山手地域および男のみ多摩郊外Ⅱ地域、女のみ下町地域の被検者から、尿成分異常陽性者を除外したのちの尿中排泄Cp平均値は、男における城西地域のみが被検者全例から得た正常値に対し、有意に高値を示した以外は、いずれの地域も低水準となった。これらの有意差がみられなくなった地域は、女における下町地域を除き尿ウロビリノーゲン異常出現が高率であったことから、Cpの尿中排泄は肝臓機能との関連を無視できない。

(本研究は昭和50年度当研究所研究課題「ポルフィリン代謝系成分に関する調査およびその生化学的研究」として実施したものである。)

### 文 献

- 1) 久保田重孝, 北山孝允: 労働の科学, 22, 19, 1967
- 2) 和田 攻: 内科, 21, 929, 1968
- 3) 原田 昭: 臨床病理, 18, 699, 1970
- 4) 松本久男: 臨床病理, 14, 1, 56, 1971
- 5) 三浦 創ほか: 産業医学, 14, 4, 17, 1972
- 6) 野牛 弘ほか: 東京衛研年報, 23, 287, 1971
- 7) 武士俣邦雄ほか: 東京衛研年報, 25, 313, 1974
- 8) 武士俣邦雄ほか: 東京衛研年報, 25, 321, 1974
- 9) 労働省労働基準局長通達: 労働の科学, 26, 54, 1971
- 10) 小笠原 公ほか: 東京衛研年報, 26-1, 246, 1975
- 11) 小笠原 公ほか: 東京衛研年報, 27-1, 213, 1976
- 12) 小笠原 公ほか: 東京衛研年報, 27-1, 222, 1976
- 13) 東京都衛生局総務部統計調査課: 東京都の医療施設昭和46年医療施設調査結果報告書, 3号, 1972
- 14) 金井 泉: 臨床検査提要, 20版, II-47, 1961, 金原出版, 東京
- 15) 武士俣邦雄ほか: 東京衛研年報, 24, 279, 1972
- 16) 武士俣邦雄ほか: 東京衛研年報, 26-1, 252, 1975
- 17) 日本血液学会 日本血液学全書編輯委員会: 日本血液学全書, 6巻Ⅱ, 術式, 894, 1965, 丸善, 東京

ポルフィリン体の生化学的研究 (VIII)  
溶血に基づいた  $\delta$ -ALA および Cp の尿中排泄動態

武士俣 邦 雄\*

Biochemical Studies on the Porphyrins (VIII)  
Variation of Urinary  $\delta$ -ALA and Cp Induced by Haemolysis on the  
Rabbit with and without Administration of Lead

KUNIO BUSHIMATA\*

The effects of decomposed erythrocytes on the levels of  $\delta$ -aminolevulinic acid ( $\delta$ -ALA) and coproporphyrin (Cp) in the urine were studied on the two groups of rabbits, the health and the lead poisoned groups. The blood taken from each animals were haemolysed aseptically and put back to the circulation of respective animals by injection.

The urine specimens were collected via catheter at various intervals before and after injection of haemolysate and subjected to the analyses of  $\delta$ -ALA and Cp. The excretion of Cp and  $\delta$ -ALA /h. before haemolysate injection was increased by lead administration to 12 times and 2-4 times respectively. This shows that level of Cp in the urine is more sensitive to lead poisoning than that of  $\delta$ -ALA. The level of  $\delta$ -ALA in the urine of two groups and that of Cp of the lead poisoned group increased rapidly after injection and then decreased gradually to the original level with the elapse of time. However, the level of Cp of the healthy group showed different figure of variation: it increased gradually over the periods of testing. It was recognized that the rise of the level of Cp in urine induced by haemolysis was significantly lower than that by administration of lead. These results suggest that the level of urinary Cp can be used as an indicator to screening of lead poisoning.

ポルフィリン代謝系にある $\delta$ -アミノレブリン酸(以下 $\delta$ -ALA と記す)やポルフォピリノーゲンあるいは遊離ポルフィリン体は、鉛中毒やポルフィリン尿症さらには溶血性疾患などの際に、尿中への排泄量が多くなる。そのため、ポルフィリン代謝系にかかわる成分の測定は、それらの疾患の診断に、欠かせない臨床検査種目である<sup>1)</sup>。特に、東京柳町住民の鉛害問題が提起されて以来、鉛中毒に関する臨床検査に関心がもたれている。なかでも、鉛がポルフィリン代謝系の初段階にある $\delta$ -ALAの生合成に関与する酵素活性に介入( $\delta$ -ALA Synthetase を賦活<sup>2)</sup>、 $\delta$ -ALA Dehydratase を阻害<sup>3)</sup>)するため、鉛による影響が早期に発現するというので、尿中に排泄される $\delta$ -ALAの定量検査は、鉛害の有無の検診にきわめて高く評価されている<sup>4,5)</sup>。また、ポルフィリン代謝系終産物であるポルフィリン体についても、鉛を含有する赤血球細胞中の遊離ポルフィリン体は、低い血

中鉛濃度水準から有意に増加しているため、これの定量検査は鉛障害の検索に役立つという報告<sup>6)</sup>がある。このことは、鉛障害で増えた遊離ポルフィリン体はその含有母体である赤血球細胞が破壊した場合に、正常な赤血球細胞が破壊した場合よりも、尿中に排泄される濃度が有意に高くなることを想定させる。

以上のことから著者は、鉛による影響が尿中排泄 $\delta$ -ALA および遊離ポルフィリン体にいかなる差異を示すか、またそれらの成分が赤血球細胞の単なる破壊の亢進でどのように変わるかを明らかにする必要があると考えた。そこで実験動物としてウサギを用い、健康な場合と鉛障害を伴っている場合に、尿中に排泄される $\delta$ -ALA と遊離ポルフィリン体の一種であるコプロポルフィリン(以下Cpと記す)が、その実験動物ウサギの赤血球細胞の破壊によってどのような変動を示すかを調べた。その結果、 $\delta$ -ALA と Cp の尿中排泄形態に興味あ

\* 東京都立衛生研究所生活科学部栄養研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

る知見が得られたので報告する。

#### 動物管理と実験方法について

約 2.5kg の日本在来種ウサギ 4 羽を購入し、健康群 (No. 1 および No. 2) と鉛投与群 (No. 3 および No. 4) に区別して、オリエンタル普通飼育用固型飼料を 1 日あたり約 200g 与え、空調飼育室で 2 カ月余り飼養管理した。その間、鉛投与群の 2 羽には、ラット用の経口ゾンデ針をつけた 2ml の注射筒を用いて、1 モル濃度の酢酸鉛溶液を毎日 1ml ずつ投与した。

溶血実験開始時の各ウサギの体重は、健康群 (No. 1 : 3.45kg, No. 2 : 3.95kg) および鉛投与群 (No. 3 : 3.10kg, No. 4 : 3.45kg) であり、平均して鉛投与ウサギの体重は健康群に比べて軽い状態であった。

溶血の手段としては、各ウサギの血流中で赤血球細胞を平均的に破壊することが困難であるため、一旦採血をした後に滅菌蒸留水で完全に溶血させ、その溶血液を同個体のウサギの血流中に戻す方法をとった。すなわち、各ウサギ (No. 1—No. 4) の耳静脈から 20ml ずつ採血し、そのうちの 10ml を血球性状検査および鉛分析に供し、残りの 10ml を滅菌蒸留水 10ml で完全に溶血させた。そして、その各溶血液を注射器で、おのおのウサギの耳静脈から徐々に循環系に注入した。

採尿方法については、あらかじめ溶血実験の前日の夕方 (17時) にカテーテルを用いて、ほう脛中の尿を完全に排出させたのち、各ウサギを採尿ケージに入れた。実験当日の朝 (9時) 再びカテーテルを用いて各ウサギから採尿し、溶血実験前の尿試料とした。その後、前記溶血液注入後に、ほう脛内に尿がたまる時間を考え、13時、17時および翌朝 10 時の時点で各ウサギからカテーテルを用いて採尿した。この各採尿時刻までの時間帯を、溶血液を循環系に注入する前 (17時—9時) を (A) とし、順次に (B), (C) および (D) とした。おのおの時間帯の各尿試料の総量は、 $\delta$ -ALA と Cp を分析する前に、メスシリンダーで計量した。また、実験中に採水量がきわめて少な

くなるウサギがあるので、実験ウサギの尿生成を促進させる目的で、各時刻の採尿後に、リンゲル液 20ml を耳静脈から徐々に循環系に注射器を用いて注入した。

#### 分析検査方法について

1) 血球性状検査……Coulter Counter Model-S で行なった。

2) 血中鉛……Hessel 法<sup>7)</sup>にもとづいて分析を行なった。

3) 尿中  $\delta$ -ALA……和田らの方法<sup>8)</sup>を一部改良<sup>9)</sup>して用いた。

4) 尿中 Cp……著者らが開発した微量けい光法<sup>10)</sup>で行なった。

#### 結果および考察

1. 血中鉛含量と血球性状について 各ウサギの血液の鉛含量と血球性状の検査データを Table 1 に示す。

血液中の鉛は、健康ウサギの No. 1 および No. 2 ともにほとんど検出されていないが、酢酸鉛を投与していたウサギでは No. 3 : 85.2 $\mu$ g/100g および No. 4 : 66.9 $\mu$ g/100g ときわめて高い含有水準であった。この鉛投与の両ウサギの血液中鉛量は、人間における労基法施行規則第 35 条第 14 号に掲げられている鉛中毒認定基準値<sup>11)</sup>である 30 $\mu$ g/100g の数値の 2 倍以上であり、No. 3 および No. 4 のウサギは完全な鉛中毒状態になっているものと思われる。

次に、おのおのウサギの血球性状を調べると、赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の三種目の検査成績は、血液中に鉛を 85.2 $\mu$ g/100g あるいは 66.9 $\mu$ g/100g 含有するウサギと、血液中に鉛をほとんど含有していない No. 1 および No. 2 のウサギの間に、さ程の差異が見られなかった。しかし、各ウサギの平均血球容積は、健康群に比べて鉛投与群は多少小球的であった。また、前述したように、各ウサギのヘモグロビン濃度は、両群の間に明確な差がなかったが、平均血球色素濃度は、健康群に比べて鉛投与群では約 1% 低い値

Table 1. Characteristics of Erythrocytes and Lead Contents in Rabbits Blood

Group Number	Healthy		Lead Administered	
	1.	2.	3.	4.
Red Cell Counts ( $10^6/\text{mm}^3$ )	6.41	5.71	6.34	6.42
Haemoglobin (g/dl)	13.7	12.5	13.0	12.6
Haematocrit (%)	39.8	36.6	38.8	37.9
Mean Corpuscular Volume ( $\mu^3$ )	63	65	62	60
M. C. H. C. (%)	34.5	34.2	33.4	33.3
Lead ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	0.	0.	85.2	66.9

M.C.H.C. : Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration

Table 2. Variation of Urinary  $\delta$ -ALA Induced by Haemolysis on the Rabbit with and without Administration of Lead

Group	No.	Collection Time of Urine Specimens				
		(A)17-9	(B)9-13	(C)13-17	(D)17-10	
Healthy		Urine Volume (ml)	138	44	36	63
	1.	Observed Value (mg/l)	1.02	0.95	1.62	1.33
		Absolute Quantity ( $\mu$ g/h.)	8.8	10.4	14.6	4.9
	2.	Urine Volume (ml)	152	73	—	255
		Observed Value (mg/l)	0.91	1.22	—	1.06
		Absolute Quantity ( $\mu$ g/h.)	8.6	22.2	—	15.9
Lead Administered	3.	Urine Volume (ml)	67	20	17	12
		Observed Value (mg/l)	8.0	7.7	8.2	11.5
		Absolute Quantity ( $\mu$ g/h.)	33.3	38.5	34.6	8.1
	4.	Urine Volume (ml)	129	34	—	77
		Observed Value (mg/l)	2.41	2.99	—	3.82
		Absolute Quantity ( $\mu$ g/h.)	19.5	25.4	—	14.0

であった。すなわち、鉛を血液中に85.2 $\mu$ g/100gまたは66.9 $\mu$ g/100gを含有するウサギの平均血球血色素濃度は、血液中にはほとんど鉛を含有していないウサギの平均血球血色素濃度より約1%も低い結果であった。この結果を、Nakao *et al.* による鉛は $\delta$ -ALA脱水酵素の活性を阻害するという研究<sup>12)</sup>や、Kench *et al.* の鉛はポルフィリンおよびその中間体生成の酵素系を阻害するという報告<sup>13)</sup>、さらにはRimington *et al.* による鉛はプロトポルフィリンへの鉄原子の導入を阻害すると説明していること<sup>14)</sup>などと合せて吟味すると、鉛が血色素の生合成過程を阻害した影響が現われているためと考える。

2. 尿中 $\delta$ -ALAの排泄関係について 前述の採尿方法にもとづいて、前記の各時刻に採取した尿試料の量およびそれらの各尿中に含まれる $\delta$ -ALAの定量分析数値をTable 2に示す。

Table中の健康ウサギNo.2の(C)時間帯は、採尿にミスが認められたので、試料から除外した。また、鉛投与ウサギNo.4は、(C)時間帯の採尿が出来なかったので、(D)時間帯の採尿時刻まで時間を延ばして尿を採取し、定量分析に供した。

おのおののウサギに同個体の溶血液を循環系に注入する前(A)の時間帯の一時尿中 $\delta$ -ALAの測定値は、健康群に比べ鉛投与群はそれぞれ2倍または8倍も高い濃度であった。しかし、一時尿における測定濃度は、尿の生成量に大きく影響されるので、これらの数値を単純に比較することは出来ない。そこで、これらの数値を1時間あたりの絶対排泄量に換算すると、健康群に比べ鉛投与群は約2倍あるいは4倍程度の倍率値になった。

ついで、おのおののウサギに同個体の溶血液を循環系に注入した場合に、尿中に排泄される $\delta$ -ALAが、どのように変動するのかを調べた。

まず、健康ウサギの1時間あたりの $\delta$ -ALA絶対排泄量は、溶血液を循環系に注入することによって、No.1は(A)の8.8 $\mu$ g/h.から(C)の14.6 $\mu$ g/h.となり、5.8 $\mu$ g増加した。さらにNo.2のウサギは、(A)の8.6 $\mu$ g/h.から(B)の22.2 $\mu$ g/h.と13.6 $\mu$ gも増加した。他方、鉛投与ウサギでは、No.3は(A)の33.3 $\mu$ g/h.から(B)の38.5 $\mu$ g/h.と5.2 $\mu$ g増加し、No.4も(A)の19.5 $\mu$ g/h.から(B)の25.4 $\mu$ g/h.と5.9 $\mu$ g増加した。

尿中に排泄される $\delta$ -ALAの絶対量は、尿排出量が増えると多くなることは人の尿で明らかにしてあり<sup>9)</sup>、尿中排泄 $\delta$ -ALAを比較検討する場合に、尿量は一つの大きな条件となる。しかし、この実験においては、血中鉛の含量に大きな差があったウサギの血液10mlを溶血させても、 $\delta$ -ALAの尿中絶対排泄量の増加に差は認められなかった。このことは、鉛によって赤血球細胞中の $\delta$ -ALA Dehydratase活性が完全に阻害されてしまうのではなく、ある程度の鉛量ではポルフィリン生合成の代謝速度を遅らせるだけであることを想定させる。また、尿中に排泄される $\delta$ -ALAの測定では、正常な赤血球細胞の破壊が充進しているために増加しているのか、血液中的鉛含量が低い状態でポルフィリン生合成過程の酵素活性が阻害されているために増加しているのか、その区別が困難であることがわかった。

3. 尿中Cpの排泄関係について 前述した $\delta$ -ALAの分析に用いたのと同じ尿試料について、それら各尿中

Table 3. Variation of Urinary Cp Induced by Haemolysis on the Rabbit with and without Administration of Lead

Group	No.	Collection Time of Urine Specimens			
		(A)17-9	(B)9-13	(C)13-17	(D)17-10
Healthy	Urine Volume (ml)	138	44	36	63
	1. Observed Value ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )	69.5	68.3	66.2	369.5
	Absolute Quantity ( $\mu\text{g}/\text{h.}$ )	0.6	0.75	0.6	1.37
	Urine Volume (ml)	152	73	—	255
	2. Observed Value ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )	53.2	60.3	—	95.
	Absolute Quantity ( $\mu\text{g}/\text{h.}$ )	0.51	1.10	—	1.43
Lead Administered	Urine Volume (ml)	63	20	17	12
	3. Observed Value ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )	1834.	1227.8	1405.4	7490.4
	Absolute Quantity ( $\mu\text{g}/\text{h.}$ )	7.68	6.14	5.97	5.29
	Urine Volume (ml)	129	34	—	77
	4. Observed Value ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )	996.6	1455.8	—	1535.7
	Absolute Quantity ( $\mu\text{g}/\text{h.}$ )	8.04	12.37	—	5.63

に含まれる Cp の定量分析を行なった結果を Table 3 に示す。Table 中の各欄区分は、 $\delta$ -ALA の場合と同じである。また、Cp は分析抽出の方法のうえから、尿中にもしもプロトポルフィリンがあった場合には、それが同時に測り込まれて区別されない。そこで、以下の記述は総称して Cp と表現する。

おのおのウサギに同個体の溶血液を循環系に注入する前 (A) の時間帯の一時尿中 Cp の測定値は、健康群に比べ鉛投与群はそれぞれに約15倍または30倍も高濃度であった。これは、前項で述べたところの  $\delta$ -ALA が2倍または8倍の排泄倍率であったのに比べ、きわめて高い倍率であった。この尿中 Cp の値を、尿試料量による測定値の変動を小さくするために、1時間あたりの絶対排泄量に換算して表わすと、次のような関係になる。すなわち、健康群は鉛投与群に比べて約 1/12 の排泄量であった。このことは、血液中に  $85.2\mu\text{g}/100\text{g}$  あるいは  $66.9\mu\text{g}/100\text{g}$  の鉛を含有するようなウサギは、ほとんど鉛を含有しないウサギの約12倍量の Cp を尿中に排泄するようになることを意味している。

これは、前述した尿中排泄  $\delta$ -ALA が、健康群に比べて鉛投与群は2倍あるいは4倍程度の増加であったのに対し、Cp では約12倍ときわめて高い排泄倍率であった。このことは、鉛が血液に作用し、 $\delta$ -ALA よりも Cp の尿中排泄の方に、より大きな影響を与えることを示している。

Rimington *et al.* は、鉛中毒の場合に、尿中排泄 Cp が増加するのは、鉛がプロトポルフィリンへの鉄原子の導入を阻害するためであると説明している<sup>14)</sup>。また、

Roels *et al.* は、鉛と赤血球細胞中の遊離ポルフィリン体の間には量的な比例関係があり、鉛障害のスクリーニングには、赤血球細胞中の遊離ポルフィリン体を測定することが、より早期の発見に効果があると報告<sup>6)</sup>している。

これらの報告と以上述べてきたことから考えると、 $\delta$ -ALA の尿中排泄関係のところでも記述したように、鉛が赤血球細胞中の  $\delta$ -ALA Dehydratase 活性を完全に阻害させるのではなく、阻害されていない一部の酵素活性が作用して、ポルフィリン合成の代謝が進行しているものと思われる。また、健康群に比べて鉛投与群の平均血球色素濃度が1%低値であったのは、鉛がプロトポルフィリンへの鉄原子の導入を阻害したために、色素が合成されなかったためであろう。その結果として、鉛投与群ウサギの赤血球細胞の中には、遊離のポルフィリン体が増加しており、そのような赤血球細胞の寿命による破壊によって、血流中に放出された遊離ポルフィリン体は不要成分として、尿中に多量に排泄されるものと推察する。

以上の推論および実験結果から、尿試料で鉛障害を検索する時は、著者らの提唱<sup>15,16,17)</sup>や Noweir *et al.* の報告など<sup>18,19)</sup>から考えると、 $\delta$ -ALA よりも Cp の測定を行なうことが望ましいと思う。

次に、各実験ウサギの溶血液を同個体ウサギの循環系に注入した場合には、健康群は時間が経つにつれて、1時間あたりの絶対排泄量が、No. 1は(A)の  $0.6\mu\text{g}/\text{h.}$  から(D)の  $1.37\mu\text{g}/\text{h.}$  に、また No. 2は(A)の  $0.51\mu\text{g}/\text{h.}$  から(D)の  $1.43\mu\text{g}/\text{h.}$  にそれぞれ増加した。しかし、鉛投与

群 No. 3 ウサギの尿中 Cp 測定値は、健康群に比べて約 20 倍ときわめて高いにもかかわらず、1 時間あたりの絶対排泄量は時間が経つに従って、(A)の 7.68 $\mu$ g/h. から (D)の 5.29 $\mu$ g/h. までに漸次に減少している。このウサギは、前述した  $\delta$ -ALA の場合とは違って、溶血液を注入しても尿中 Cp 排泄量が増加せず、逆に減少している。これは、著者らが人の尿について、すでに報告<sup>9)</sup>してあるように、尿排出量が少なくなると、 $\delta$ -ALA に比べて Cp の排泄が抑えられるという現象によるものと思う。なぜならば、鉛を投与した No. 4 のウサギは溶血液を注入することによって、1 時間あたりの尿中排泄 Cp が、(A)の 8.04 $\mu$ g/h. から (D)の 12.37 $\mu$ g/h. と 4.33 $\mu$ g も増加し、その後 (C) + (D)の 5.63 $\mu$ g/h. にまで減少している。さらに、No. 3 ウサギの尿量は (A)の 67ml から (D)の 12ml まで漸次に減少している。

この溶血実験の各時間帯による 1 時間あたりの尿中に排泄された  $\delta$ -ALA は、健康群と鉛投与群の間では 2 倍または同量であったのに比べ、Cp は鉛投与群のほうがつねに 4—10 倍も多量に排泄されていた。また、健康群の尿中 Cp の 1 時間あたりの絶対排泄量は、溶血液を注入することによって、注入前の約 3 倍までに順次に増加した。このことは、正常な赤血球細胞の破壊によって、その尿中 Cp 濃度は正常値の数倍位の高い濃度になりうることを示唆している。

光化学スモッグの原因物質の一つであるオゾンがウサギに暴露すると、その赤血球細胞の膜抵抗が減少したとの発表<sup>20)</sup>や、光化学スモッグの影響で血清中の総ビリルビン濃度が増加したという報告<sup>21)</sup>がある。このことは、生活環境の中に、生体内で赤血球細胞の破壊をうながすような因子があることを示している。さらに著者らの中学生を対象とした調査にもとずき、尿中鉛が低値であった、尿中排泄  $\delta$ -ALA には地域差が認められなかったのに、尿中排泄 Cp に有意差があったという報告事例<sup>22)</sup>なども、以上述べたことから考察すると、正常な赤血球細胞の寿命の短縮があったのではないと思われる。

すでに述べたように、尿中排泄  $\delta$ -ALA は健康な場合と鉛障害を伴った場合との間に、大きな差異がなかった。しかし、Cp の尿中排泄形態にはその差が著明であった実験結果から、尿中排泄 Cp の定量検査の意義性を再認識する必要がある。

#### まとめ

健康なウサギと鉛障害を伴ったウサギについて、尿中に排泄される  $\delta$ -ALA および Cp を比較するとともに、それらのウサギの赤血球細胞を破壊した場合に、 $\delta$ -ALA と Cp がどのような尿中排泄形態を示すのかの実

験を行なった。

1) 健康ウサギの血液は、ほとんど鉛を含有していなかったが、鉛を投与したウサギは、85.2 $\mu$ g/100g および 66.9 $\mu$ g/100g の血中鉛含有量であった。

2) 鉛を投与したウサギの血中鉛量はきわめて高値であったが、赤血球数、ヘモグロビン濃度ならびにヘマトクリット値は、健康なウサギとほとんど差異がなかった。しかし、鉛を投与したウサギの平均血球容積は、健康なウサギに比べて多少小球的であるとともに、平均血球血色素濃度も約 1% 低値であった。

3) 尿中に排泄される  $\delta$ -ALA の 1 時間あたりの絶対量は、健康なウサギに比べて鉛を投与したウサギは約 2 倍あるいは 4 倍程度であった。また、10ml の血液の溶血液を同個体の耳静脈に注入したら、尿中に排泄される  $\delta$ -ALA の量は、それぞれ 5.2—13.6 $\mu$ g 多くなった。しかし、健康ウサギに比べ鉛を投与したウサギの 1 時間あたりの排泄量は、2 倍または同量であった。

4) 尿中に排泄される Cp の 1 時間あたりの絶対量は、鉛を投与したウサギが健康なウサギに比べて約 12 倍も多量であった。また、10ml の血液の溶血液を同個体の耳静脈に注入し、尿中 Cp の排泄形態を調べたところ、健康ウサギでは経時的に漸次に数倍まで増加したのに比べ、鉛を投与したウサギではその変動は明確ではなかった。しかし、鉛を投与したウサギの 1 時間あたりの Cp 排泄量は、いずれの時間帯でも 4—10 倍も多量であった。

以上の結果から考察して、鉛による障害の検索は、尿中に排泄される  $\delta$ -ALA よりも Cp の濃度を測定することが望ましい。また、生体内で内外因の影響によって、正常な赤血球細胞の破壊が充進されているか否かを調べるのに、尿中に排泄される Cp を測定することが必要である。

謝辞 本研究をまとめるにあたり、御指導をいただいた小笠原公博士および血中鉛の測定に御協力いただいた環境衛生研究科、高橋利恵子氏に衷心より感謝いたします。

(本研究の概要は、日本衛生検査学会第 25 回秋田大会 1976 年 5 月で発表した。)

#### 文 献

- 1) 高久史磨：日本臨床，364，180，1973
- 2) 佐野晴洋：日本血液学会誌，21，337，1958
- 3) Nakao, K., O. Wada, and Y. Yano: *Clin. Chim. Acta*, 19, 319, 1968
- 4) Wada, O., K. Toyokawa, G. Urata, Y. Yano,

- and K. Nakao : *Brit. J. industr. Med.*, 26, 240, 1969
- 5) Joseph, R. D. and L. A. Samuel : *Arch. Environ. Health*, 15, 53, 1967
- 6) Roels, H., B. Jean-Pierre, and L. Robert, et al. : *Arch. Environ. Health*, 31, 310, 1976
- 7) Hessel D.W. : *Atomic Absorption News letter*, 7, 55, 1968
- 8) Wada, O., K. Toyokawa, G. Urata, Y. Yano, and K. Nakao : *Brit. J. industr. Med.*, 26, 240, 1969
- 9) 武士俣邦雄, 霜田さと子, 小笠原 公, 野牛 弘 : 東京衛研年報, 24, 303, 1973
- 10) 武士俣邦雄, 霜田さと子, 小笠原 公 : 東京衛研年報, 24, 297, 1973
- 11) 労働省労働基準局長通達 : 労働の科学, 26, 54, 1968
- 12) Nakao, K., O. Wada, and Y. Yano : *Clin. Chim. Acta*, 19, 319, 1968
- 13) Kench, J.E., A.E. Gilliam, and R.E. Lane : *Biochem. J.*, 36, 384, 1942
- 14) 川端 元 : 産業医学, 10, 21, 1968
- 15) 武士俣邦雄, 霜田さと子, 小笠原 公, 野牛 弘 : 東京衛研年報, 25, 313, 1974
- 16) 武士俣邦雄, 霜田さと子, 小笠原 公 : 東京衛研年報, 26-1, 252, 1975
- 17) 武士俣邦雄, 霜田さと子, 小笠原 公 : 東京衛研年報, 26-1, 259, 1975
- 18) Noweir, M.H. and E.A. Pfitzer : *American Industrial Hygiene Association J.*, 31, 492, 1970
- 19) Holecek, V. and M. Penickova : *Brit. J. industr. Med.*, 14, 198, 1957
- 20) 溝口 勲, 大沢誠喜, 福田雅夫, 佐藤泰仁, 牧野 国義, 野牛 弘 : 大気汚染研究, 9, 49, 1974
- 21) 三上理一郎 : 日胸疾会誌, 11, 723, 1973
- 22) 武士俣邦雄, 霜田さと子, 小笠原 公 : 東京衛研年報, 27-1, 223, 1976



ある。症状として高い割合を示したのは、アレルギー性鼻炎と接触性皮膚炎、咽頭異和感であり、前回と異なった症状率をみせている。2番目として接触性皮膚炎が多かったことは、松沢病院からの回答によるものが大きい。松沢病院では他の病院と異なり、ヒルナミン散やフェノチアジン系の向神経系の散薬が多く取り扱われており、これらの散薬による影響と推定される。また、これら症状が悪化する時として、アレルギー性鼻炎は「多量扱った時」、「季節の変わり目（寒暖の差のある時）」、接触性皮膚炎については「多量に扱う時」、「汗をかく時」、「秤量時」、咽頭異和感は「多量に扱う時」、「乾燥期」などをあげており、症状による明確な違いはあまりみられず、調剤者のその時の体調に左右されて起ってくるものと判断される。次に薬塵に対する防護の方法で調剤時の保護具の使用状況は、清瀬小児病院で5人中1人が使うのみで一番低く、松沢病院は3/4の人が使用、府中病院は2/3の人が使用しており、前述したように松沢、府中病院などの向神経系薬剤を扱う調剤室勤務者は自己防衛感が強いようである。

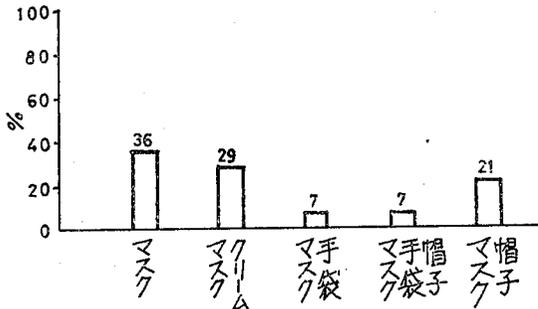


図 6. 「使う」と答えた人の保護具の内訳

保護具の内容(図6)については、一番多いのがマスク、次いでマスクと保護クリームであるが、保護クリームは松沢病院にだけみられる現象であり、これは向神経

系散剤に対する防護のためであるとのことであった。

最後に調剤者に対して環境改善の要望を述べてもらおうと、一番多かったのは前回同様、集塵設備に対する不備であり、中でも分包機への大型フードの設置、またそれらの適正配置、換気についての考慮などを指摘していた。つまりは、室全体の集塵と部分的集塵の併用を行ない、現在よりもっと強力にして欲しいとのことである。また府中病院では前述したように室内の温度が高いので、自分達で制御できるようにとの声も強かった。

### 結 語

今回の調査の結果をまとめてみると次のようなことがあげられる。

- 1) 今回の病院は散薬を扱う量が多く、したがって薬塵量(浮遊粉塵量、落下塵量)も前回より多く、強力な局所集塵装置を設置することが望まれる。
- 2) 特に松沢病院では、向神経系薬剤を多く扱うためか、自己防衛手段(保護具の着用など)が十分になされていた。
- 3) 症状として多かったのは、アレルギー性鼻炎、接触性皮膚炎、咽頭異和感であり、特に松沢病院では接触性皮膚炎がアレルギー性鼻炎と同程度に起っていた。

(本研究の概要は日本公衆衛生学会第36回大会1977年10月で発表した。)

### 参 考 文 献

- 1) 笛木隆三ほか：アレルギー，20(4)，280，1971
- 2) 戸所正雄ほか：アレルギー，21(3)，288，1972
- 3) 真木義次：月刊薬事，18(1)，81，1976
- 4) 淡路宣男ほか：神奈川衛研報告，6，37，1976
- 5) 佐藤泰仁ほか：東京衛研年報，27-1，235，1976
- 6) 末永泉二ほか：薬剤学，26(3)，169，1966
- 7) 木村菊二：空気清浄，14(8)，13，1977

アルカリろ紙法によるイオウ酸化物濃度の統計的検討 時系列解析と地域特性

狩野文雄\*, 牧野国義\*, 佐藤泰仁\*, 大沢誠喜\*  
福田雅夫\*, 多田宇宏\*, 溝口勲\*, 野牛弘\*

Statistical Studies on the Sulfur Oxides Concentration  
Measured by Alkali Paper Method  
Time Series Analysis and Regional Difference

FUMIO KANO,\* KUNIYOSHI MAKINO\*, YASUHIITO SATO\*,  
MASANOBU OSAWA\*, MASAO FUKUDA\*, TAKAHIRO TADA\*,  
ISAO MIZOGUCHI\* and HIROSHI YAGYU\*

Alkali paper method is very easy to measure sulfur oxides concentration. We have surveyed by this method at 27 monitoring points for the last 5 years in order to investigate the patterns of pollution and the trends of concentration in Tokyo metropolitan area. We used three statistical methods to analyze the data, i. e. test of run, analysis of variance and correlogram by which we examined the periodicity in time series data. On the other hand, we studied the relation of sulfur oxides concentration to the degree of health effects using the data for the published reports of health damage. The following results were obtained. 1) The decreasing trends of pollutants were observed in the area of center, downtown, hilly and southern sections in Tokyo. 2) The regions which had not a constant trend and showed no periodicity were eastern, western and northern sections. 3) It seems likely that the degree of health effects significantly related to the patterns and trends of pollutants rather than the levels of those in 1976.

はじめに

最近数年間の都内の亜硫酸ガス濃度は平均的には減少傾向にある。既報<sup>1)</sup>にもあるように全体的な平均濃度については年々減少しているが、各測定点について地域的特性を考慮した場合、そうした傾向は一様でなく、顕著な傾向の見られない地域もある。我々は昭和47年4月より、従来のPbO<sub>2</sub>法にかえてアルカリろ紙法を採用し、各区に一カ所、多摩地区に三カ所の測定点を置き、イオウ酸化物濃度の測定を行なっている。

アルカリろ紙法は、現在通常用いられている自動測定機器(導電率法)に比べて、亜硫酸ガスのみ絶対濃度の測定が出来ないことと精度、再現性の問題とかいくつもの難点がある反面、簡便であることから多くの測定点における測定が可能であり相対的な濃度分布の把握が容易であること、従来のPbO<sub>2</sub>法よりも気象要素から来る

季節的誤差を受けにくいので、季節変動や年間変動といった短期的及び長期的傾向(トレンド)を見るのに優れているなどの利点を持っている<sup>2)</sup>。そこで我々は過去5年間の測定データについて、時系列解析による統計的検討を行ない、地域特性の把握とトレンドの評価を行なうとともに、健康被害との関連を、hypersusceptibleなグループである乳幼児を対象として、健康被害認定患者の率を用いて調べた。

調査方法

I. 調査方法と期間

アルカリろ紙は、衛生試験法<sup>3)</sup>に基づいて作成し、従来のPbO<sub>2</sub>法の時使用していた長谷川式シエルターにつるし、約一カ月間放置した。回収後、ろ紙に捕集されたSO<sub>2</sub><sup>2-</sup>をクロラニル酸バリウムによって発色させて定量した。測定期間は昭和47年4月より52年3月までであり

\* 東京都立衛生研究所環境保健部環境衛生研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

ことができる。

2) 分散分析 連の検定によって系列に方向性が見られた場合、それが傾向変動によるものか、周期変動によるものかを調べる必要がある。そのために二元配置の分散分析を行なった。ところで一般に汚染質の濃度は対数正規分布をしていることが多く、アルカリろ紙法による測定値についても、Fig. 2 に示したように対数正規確率紙の上ではほぼ直線となることから近似的に対数正規分布をしていると思われる。そこで以下の分析は原データを対数変換して行なった。実際、板倉らによって対数値を用いた場合の方が実数値よりも SN 比が高く予測精度が良いと報告されている<sup>7)</sup>。

分散分析の結果を Table 1 に示した。減少傾向の大き

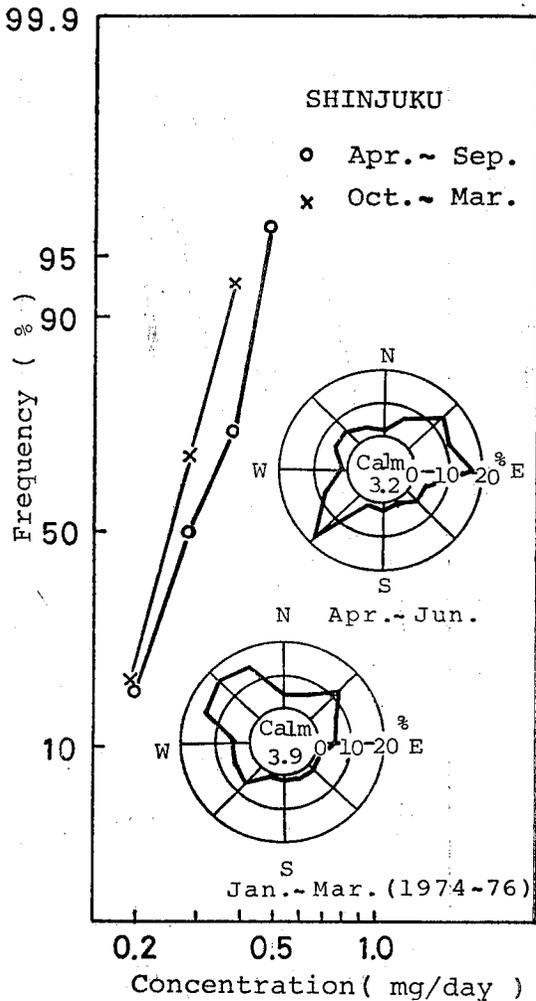


Fig. 3. Relationship between Wind Direction and Frequency Distribution of Sulfur Oxides

い地区ではいずれも年間変動による寄与が大きい。都心地区と城南地区はいずれも年間変動、月間変動とも有意であるが、汚染の形態は全く異なっている。すなわち、Fig. 2 に見るごとく、都心地区では都市型の汚染形態、冬季にビル暖房等の影響を受けて高濃度が出現してくるのに対し、城南地区では臨海工業地帯を発生源とする汚染の影響を受けて夏季に南東方向の卓越風を受けることから高濃度が出現している。気象要素のうちでも風の影

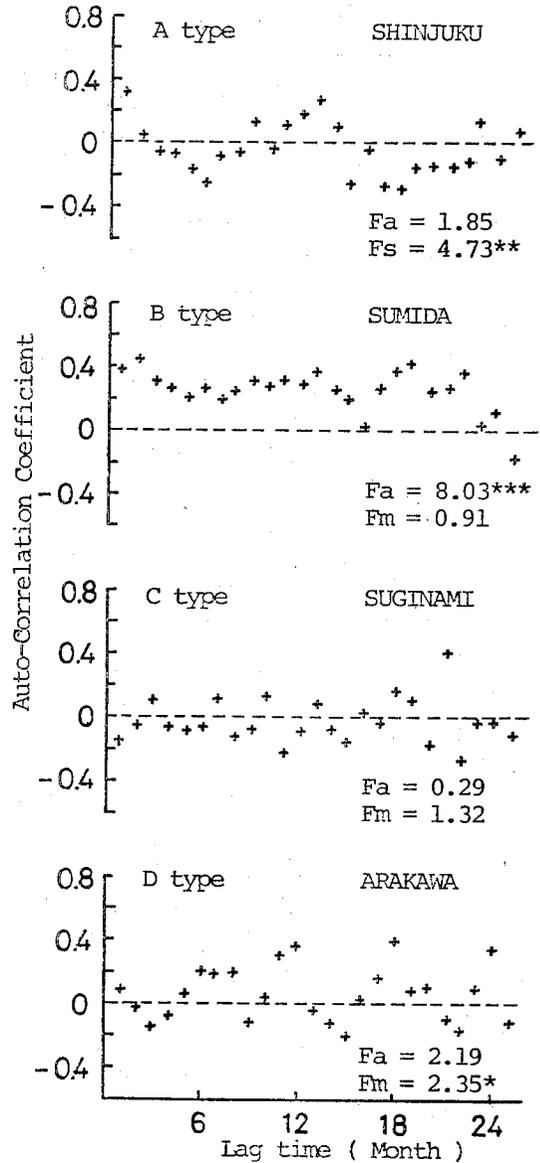


Fig. 4. Correlograms and F-Values in different Regions

響とイオウ酸化物濃度との関係は明らかで、内陸に入った新宿地区でも、Fig. 3に見るような関係がわかる。この累積度数分布と風配図を見ると、夏季の方に高濃度の現われるひん度が高い原因として、都心方向からの東風と城南方向からの南西風が危険風向と考えられる。冬季においては、北西方向に主な発生源のないことから比較的低くなっている。

年間変動の有意な地域として下町地区（墨田区）があるが、ここでは季節変動（月間変動）が見られない。それはこの地域の汚染の形態を反映しているものと思われる。

このように、トレンドとしては等しく減少傾向を示している場合でも、地域的特性から来る汚染の形態、特徴にはかなりの違いがあり、環境評価にきめのこまかい検討が必要とされる。そのことは影響評価の問題とも関係し、今後の汚染源対策に十分な配慮が要求される。

3) 周期性 Fig. 4に4つの特徴的なパターンを示すコロログラムを示した。図中のFaは年間変動、Fmは月間変動、Fsは季節変動のF値を示している。Aのタイプは、新宿、葛飾、世田谷に見られるもので、年間変動は有意でないが、季節変動が有意であり、12カ月の周期が顕著である。これらの地域では危険風向の影響を受け

て夏季に濃度が高い。Bのタイプは、墨田、中央区に見られたもので、年間を通じての持続傾向がうかがわれる。ことに下町地区においては中小の工場を発生源とする汚染形態を反映し年間的に定常的汚染を受けているものと思われる。Cのタイプは足立、練馬、杉並と言った都心をかこむ環状地帯に見られるもので、時間の遅れとともに急激に相関係数が減少し0.2以下のところで変動している。これらの地域では年間変動、月間変動とも有意でなく、ランダムな系列のように見える。濃度レベルは青梅に比較すると2倍から4倍であり、ランダムなバックグラウンドとは考えられない。そこでこうした現われ方をする地域は工場やビル等の主要発生源はなくとも拡散による広域的汚染を受けるとともに、主要幹線道路からの自動車排ガスの年間を通じての暴露を受けているのではないかと考えられる。城西地区の測定点は幹線道路から数百mは離れた所にあるが、局所風の影響を受けることによって、一見無相関的なランダムな現われ方をしてくるものと思われる。最後のDタイプは全測定点のうちで荒川地区にのみ特異的に見られたものであり、一年間に二つのピークをもつ6カ月周期が特徴的である。こうした二峯型の汚染形態はどのような地域条件から来るものか不明であるが、年平均濃度が都内で最も高い地

Table 1. Trend Estimation by Test of Run and Analysis of Variance

Region	Test of		Variation		Trend
	Run	Annual	Monthly	Seasonal	
Chiyoda	+	+++	+++ (12)*	++	DEC**
Shinjuku	±	-	± (12)	++	N.O.**
Bunkyo	+	-	-	-	DEC
Shibuya	++++	+++	±	+++	DEC
Sumida	++++	++++	-	(+)**	DEC
Koto	-	-	-	(+)	N.O.
Adachi	-	-	-	-	N.O.
Edogawa	±	-	-	-	N.O.
Katsushika	-	±	++ (12)	+++	N.O.
Setagaya	-	-	+ (12)	+	N.O.
Suginami	-	-	-	-	N.O.
Nerima	+	-	+	-	N.O.
Ohta	++	++++	+++ (12)	+++	DEC
Kita	-	+++	+	+	N.O.
Arakawa	-	±	+ (6)	-	DEC
Hachioji	-	-	+ (12)	+++	N.O.
Tachikawa	-	-	±	±	N.O.
Ohme	-	-	-	-	N.O.

± P<0.1    + P<0.05    ++ P<0.01    +++ P<0.005

\* Lag time    \*\* Decrease, Not Observed    \*\*\* Interaction Effect

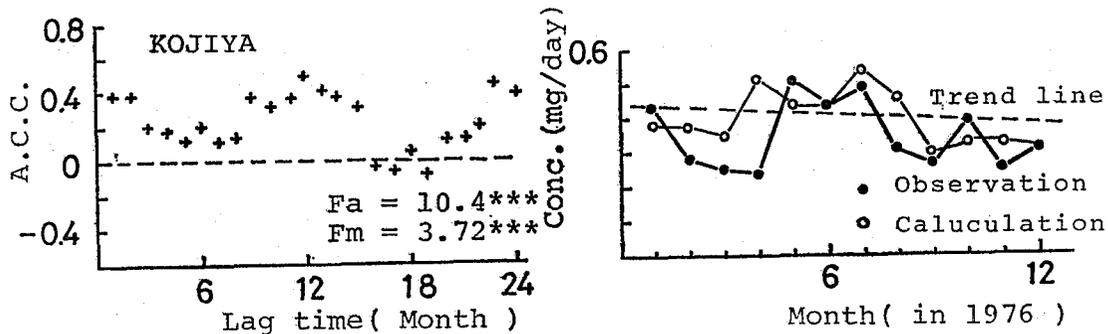


Fig. 5. Correllogram and Relationship between Observation and Calculation results

域でもあり、汚染機構の解明が急がれる。

以上三つの時系列解析に基づいて、各地区の長期的傾向を求めた結果を Table 1 にまとめた。トレンドとして減少傾向にあるのは都心地区、山手地区、下町地区の一部、城南地区で、残りの地区については、上昇下降傾向とも見られなかった。トレンドの見られない原因については汚染のレベルがある濃度で飽和したためと低濃度域におけるアルカリろ紙法の検出限界との二つのことが考えられ、それらは今後の検討に待たねばならないが、これらの地域はこれからの要観察地域である。

Fig. 5 に年間変動、季節変動とも有意であり、コレログラムの分類からはAとBの混合タイプと思われる梶谷地区について、過去4年間のデータを基に、対移動平均比率法によって短期的予測を行なった結果を示した。図を見ると、一月前後の時間的遅れはあるが平均的なレベルはよく一致しており、この方法による予測の可能性が示唆された。なお、こうした予測方法は、他の変動の有意でない地域については困難であり、他の確率過程モデルを盛り込んだ予測法が、必要となり今後の検討課題である。

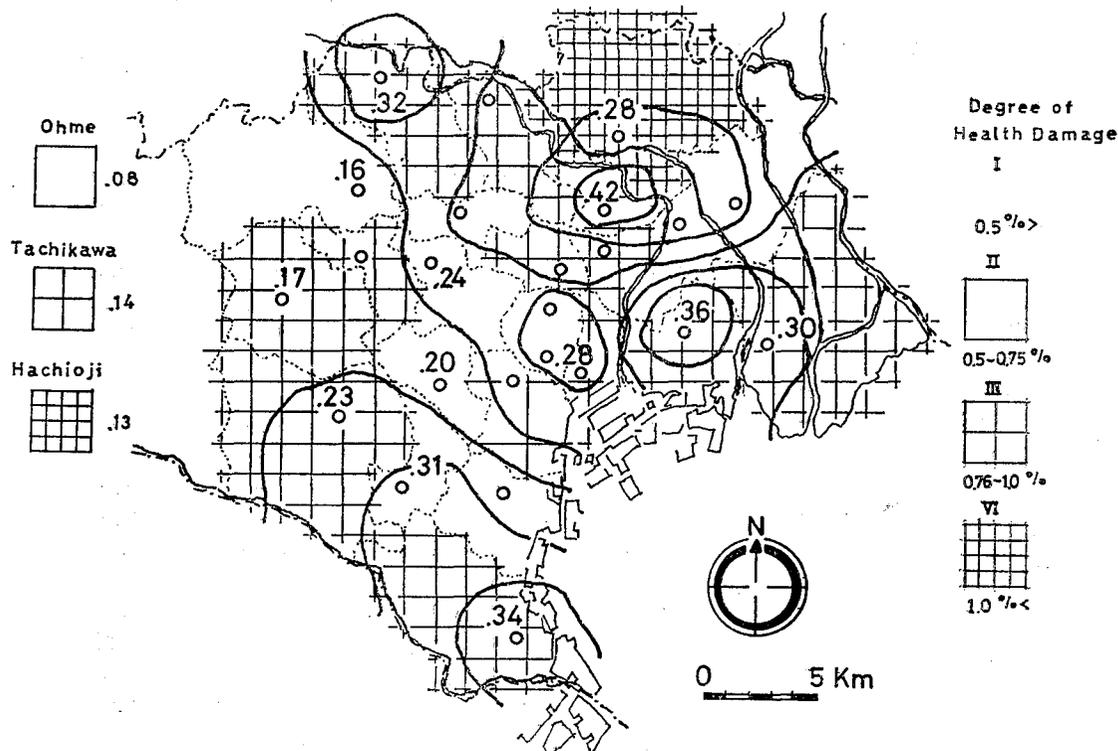


Fig. 6. Degree of Health Damage and Yearly Geometric Mean of Sulfur Oxides

### III. 健康被害との関連

以上の統計的検討から得られた各地区の地域特性と長期的傾向を基にして、影響評価の問題について考えてみたい。Fig. 6 に昭和51年度の年幾何平均値の濃度分布と健康被害の程度との関係を示した。ここに健康被害の指標として用いたのは乳幼児の被害認定者数であり、認定状況が各区とも必ずしも足並みのそろったものでないこととか、認定に伴う社会的因子の影響とかいくつかの検討すべき点はあるが、一つの参考として記載した。

この図を見ると、濃度分布と被害率とは必ずしも一致していない。たとえば、都心地区、荒川地区といった高濃度地域には比較的lowく、周辺地域に高い。特に濃度分布の北側方向に高い地域が見られる。このことは環境評価を平均値のみで云々することの危険なことを物語っている。庄司、塚谷ら<sup>10)</sup>の報告にあるような、指標としては幾何平均値と標準幾何偏差をとり、さらに自己相関係数としてマルコフ過程を仮定し接続時間 (Integral Scale) を取る3つの指標を用いるような評価方法が必要であろう。アルカリろ紙法の場合は、一カ月の累積値を測定している関係上、平均化時間が長く、短期的な最大値といったものは検出できないが、長期的スケールに立って傾向を把握し環境評価を行なう場合には資するところが多いと思われる。

そこで、健康影響との関係を過去5年間のデータを解析した結果と比較検討してみると、被害率の高い地域の特徴は、1.トレンドが見られない。2.周期性がない。3.周期性のある地域では危険風向の影響を受けて夏季に濃度が高い。ことなどである。

以上のような汚染形態から判断して、SO<sub>2</sub>が単独で呼吸器系疾患に寄与するというよりは、他の汚染質、浮遊粒子状物質とかNO<sub>2</sub>との相加的あるいは相乗的效果が寄与しているのではないと思われる。

トレンドの見られない周辺地域では夏季に光化学スモッグの発生しやすい地域であり、スモッグ中に酸性度の高いミストが生じているらしいという最近の知見<sup>11)</sup>を考え合わせると、被害率との関係がある程度うなずける。

またこの図で注目されるのは、世田谷、杉並といった国の公害補償法による指定を受けていない地域で被害率が高いことである。さらに多摩地区のうちでも八王子が鳥しよの自然有症率を6倍も上廻る有症率を示している

ことである。八王子については人口の移動率の高い地域でもありそうした社会的因子の影響を考慮しなければならないが、こうした未指定の地域が早急に指定を受けることが望まれるとともに、さらにきめのこまかい観察が必要とされる。

### ま と め

アルカリろ紙法によるイオウ酸化物濃度について統計的検討を行ない、都内の汚染の形態、長期的傾向、被害率との関連について把握した。減少傾向の見られる地区は都心地区、山手地区、下町地区の一部、城南地区で、ここ数年燃料規制等による効果が見られるが、他の地区では顕著な傾向は見られない。一方被害率についてみると、トレンドの見られない地域に高い傾向が出ている。

アルカリろ紙法は機器分析法に比べて、SO<sub>2</sub>のみを特異的に測定することができない反面、単純な酸アルカリ中和反応により大気中の酸性物質を捕集しており、酸ミスト、含硫酸粒子と言ったものも含めた総イオウ酸化物汚染の指標と見ることができよう。そのことは呼吸器系の疾患が亜急性、慢性的な影響を受けて発症してくることと考え合えると、この方法のもつ人体暴露の指標性と有用性には高いものがあると思われる。

謝辞 公害健康被害認定状況に関する資料を提供して下さいました衛生局公害保健課の方々に感謝します。

### 文 献

- 1) 佐藤泰仁, 牧野国義, 狩野野雄: 東京衛研年報, 26-1, 265, 1975
- 2) 福井昭三: JAPAN ANALYST, 12, 1005, 1963
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法注解, 1139, 1973
- 4) 有馬昭枝: 気象と統計, 7, 6, 1958
- 5) 伊藤政志, 福岡三郎ほか: 東京スモッグに関する調査研究報告, 505, 1974
- 6) 井上力太, 渡辺有治: 大気汚染研究, 8, 672, 1973
- 7) 板倉 淳, 田島隆俊, 久保真次ほか: 大気汚染研究, 8, 401, 1973
- 8) 日本公衆衛生協会: 大気汚染測定網の適正配置に関する調査研究報告, 289, 1974
- 9) 若松伸司: 大気汚染研究, 10, 67, 1975
- 10) 庄司 光, 塚谷恒雄: 大気汚染研究, 6, 133, 1971
- 11) Barbara, J.F. and J.N. Pitts: Science, 192, 111, 1976

## 塩化メチル水銀の *IN VITRO* 抗体産生に及ぼす影響

瀬戸 博\*, 秋山 和幸\*, 溝口 勲\*

### Effect of Methylmercury Chloride on Humoral Immune Responses *in Vitro*

HIROSHI SETO\*, KAZUYUKI AKIYAMA\* and ISAO MIZOGUCHI\*

Methylmercury chloride (MMC) suppressed the secondary antibody response of mouse spleen cell culture to sheep red blood cells. The concentration for fifty percent inhibition was estimated as  $3 \times 10^{-7}$  M. No significant suppression was observed in late phase of immune response even when the spleen cells were cultured in  $3 \times 10^{-6}$  M. These results suggested that MMC acted in early phase rather than late.

#### 緒言

筆者らはすでに塩化メチル水銀がマウスの抗体産生能を低下させることを報告した<sup>1,2)</sup>。藤田ら<sup>3)</sup>も同様の事実を認めメチル水銀の投与時期の影響やコレラトキシンとの拮抗作用を観察し、条件によってはメチル水銀が促進的に働くことを見いだした。しかしこれらの実験は *in vivo* で行なわれたものでありメチル水銀が抗体産生系の細胞に直接的に作用を及ぼすのか、またはホルモン等を介在して作用するのかは推測の域をでていない。そこで今回の実験では *in vitro* の抗体産生系を使用しメチル水銀のより直接的な影響を調べたので報告する。

#### 材料および方法

**動物** 4週齢 C57 BL/6NCrJ 雄性マウスで(株)日本チャールズリバーより購入した。

**抗原** ヒツジ赤血球(以下 SRBC と略す)。Alsever 液で処理したヒツジ保存血液(日本バイオテスト研究所製)を生理食塩液で2回洗浄後10%および1%とした。

**塩化メチル水銀**  $\text{CH}_3\text{HgCl}$  和光純薬特級

**免疫** 10% SRBC をマウス1匹あたり0.2ml 腹腔内接種した。

**脾細胞浮遊液の調製** 1次免疫してから3週後に殺し脾を摘出し、冷 Eagle MEM (minimum essential medium), GIBCOの入ったシャーレ中でピンセットでつぶし細胞を得た。遠沈後10% FCS(fetal calf serum) GIBCO 加 MEM に浮遊させ  $1 \times 10^7$  cells/ml の濃度とした。

**細胞培養** Marbrook<sup>4)</sup> の方法に準じた。1ml の脾細胞浮遊液と1% SRBC 30  $\mu\text{l}$  を Marbrook bottle の内側チャンパーに入れセロファンで仕切られた外側には、

10ml の10% FCS 加 MEM を入れた。培養は37°C の  $\text{CO}_2$  インキュベータ内で行なった。

**抗体産生細胞の測定** 培養後適当な日に Marbrook bottle を取り出し冷 MEM 中に細胞を浮遊させた。遠沈後上清を捨て、MEM で2ml にメスアップし再び浮遊させた。このうち0.4ml をとり MEM 1ml に溶かした乾燥補体(東芝化学工業)0.05ml および40% SRBC MEM 0.05ml を同時に混ぜ、37°C に10分間放置後 Cunningham Chamber<sup>5)</sup> に封じ込め再び37°C で60分培養し肉眼で観察できるブランクを数え PFC (plaque forming cell) とした。また0.5% トリパンブルーに染まらない有核細胞を生有核細胞とした。

#### 結果

***in vitro* における抗 SRBC 抗体産生に及ぼす塩化メチル水銀の影響** 培養開始時より  $2 \times 10^{-7}$  M の塩化メチル水銀加培養液中で、培養したものと対照群との比較を Table 1 に示した。両群とも3日目以後抗体産生が急激に高まるが、メチル水銀群は4日目で対照群の67%に、5日目で84%に抑制された。脾細胞の生存率はほぼ同じであるが有核細胞数、生有核細胞数ともメチル水銀群の方が多かった。

**塩化メチル水銀濃度の影響** 培養開始時より種々の濃度の塩化メチル水銀と接触させ、4日後に測定した結果を Table 2 に示した。塩化メチル水銀の濃度増加とともに PFC 値は低下し50%阻止濃度は約  $3 \times 10^{-7}$  M であった。一方、生存率は  $3 \times 10^{-7}$  M まではほとんど変化せず  $3 \times 10^{-6}$  M で急激に低下(33%)した。

**増殖期(免疫反応後期)への塩化メチル水銀の影響** 一次免疫後3日目に殺し脾を取り出し *in vitro* で20時

\* 東京都立衛生研究所環境保健部環境衛生研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Effect of Methylmercury Chloride on the Time Course of the *in Vitro* Secondary Antibody Response

	viability (%)	nucleated cells ( $\times 10^6$ )	viable cells ( $\times 10^6$ )	PFC/culture
control (3d)	79	5.70	4.55	233
MMC (3d)	80	6.94	5.58	158
control (4d)	88	3.62	3.18	731
MMC (4d)	88	4.16	3.66	488
control (5d)	79	2.68	2.14	2275
MMC (5d)	87	3.28	2.90	1917

Each value was a mean of 4 cultures. MMC : methylmercury chloride  $2 \times 10^{-7}$  M. PFC on day 0 was 25/culture.

Table 2. Dose Effect of Methylmercury Chloride on the *in Vitro* Secondary Antibody Response

MMC concentration	viability (%)	nucleated cells ( $\times 10^6$ )	viable cells ( $\times 10^6$ )	PFC/culture (on day 4)
control	83	1.56	1.32	575
$3 \times 10^{-8}$ M	79	1.88	1.51	413
$3 \times 10^{-7}$ M	76	2.18	1.67	294
$3 \times 10^{-6}$ M	33	4.07	1.36	19

Each value was a mean of 4 cultures.

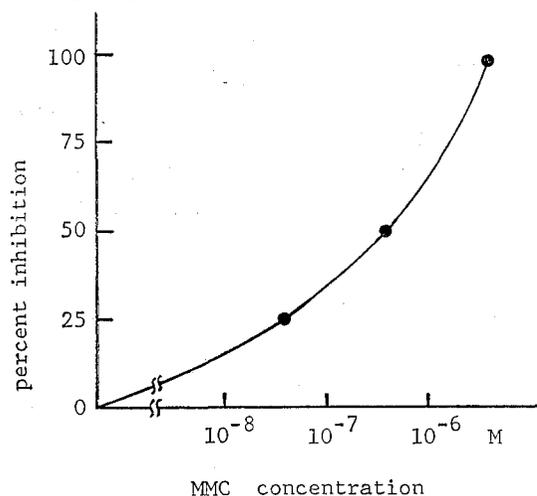


Fig. 1. Dose Response of Methylmercury Chloride on Immune Response *in Vitro*

間培養後 PFC を算定した。培養中 SRBC は加えなかった。3日目の PFC は 3075/culture であったが、*in vitro* に移したために 2213/culture に低下した。 $3 \times 10^{-8}$  M までは PFC 値にあまり影響せず  $3 \times 10^{-6}$  M では大幅な減少を示した (Table 3 参照)。細胞の生存率は、塩化メチル水銀の濃度が高いほど低下するが、有核細胞数は多かった。生有核細胞数は、 $3 \times 10^{-7}$  M で対照群よりも多い他は塩化メチル水銀濃度が高くなるにつれて減少する傾向であった。

考 察

塩化メチル水銀は、*in vitro* においても抗体産生を抑制することが明きらかになった。50% 阻害濃度は、 $3 \times 10^{-7}$  M で  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPase<sup>6)</sup> や adenylyate cyclase<sup>7)</sup> の酵素活性阻害濃度と同程度であることは興味深い。増殖期 (免疫反応後期) には  $3 \times 10^{-6}$  M でも抑制作用がみられないことから、メチル水銀は免疫反応の初期の段階に

Table 3. Effect of Methylmercury Chloride on the Proliferative Phase *in Vitro*

MMC concentration	viability (%)	nucleated cells ( $\times 10^6$ )	viable cells ( $\times 10^6$ )	PFC/culture
control	58	5.34	2.56	2213
$3 \times 10^{-7}$ M	56	6.27	3.51	2638
$3 \times 10^{-6}$ M	45	5.70	2.57	2050
$3 \times 10^{-5}$ M	39	6.36	2.48	25

Mice were killed at 3 days after immunization. Primed spleen cells were cultured for 20 hrs. with or without methylmercury chloride. Number of PFC at the beginning of culture was 3075/culture. Each value was a mean of 2 cultures.

強く作用していることが示唆される。

メチル水銀は *adenylate cyclase* の強力な阻害剤であり、かつ *adenylate cyclase* は免疫反応に影響を及ぼす *c*-AMP の産生に関与している。例えば *in vivo*<sup>8)</sup>, *in vitro*<sup>9)</sup> において細胞内 *c*-AMP の量を増加させるようにすると抗体産生が上昇し過剰になると逆に抑制的に働く。また *in vitro* の免疫反応の初期に細胞内 *c*-AMP を上昇させるようにすると促進的に働き、逆に後期では抑制的に働く<sup>10)</sup> という、*c*-AMP と *c*-GMP の比も免疫反応に大きな影響を及ぼす<sup>11)</sup>。従ってメチル水銀の *in vitro* 抗体産生への干渉作用は *c*-AMP と *c*-GMP の果す役割と関係があるかも知れない。

Caron ら<sup>12)</sup> は低濃度のメチル水銀が培養リンパ球のプラスト化を促進させ、リンパ球を増殖させると報告している。この報告によればメチル水銀が *in vitro* 抗体産生に促進的に働く可能性も考えられるが今回の実験条件下ではそのような結果は得られなかった。

すべての mitogen が抗体産生を促進させるわけではなく、B cell の mitogen である LPS は抗体産生を著しく高める<sup>13)</sup> が、T cell の mitogen である Con A や PHA の場合は suppresser T cell を活性化するために抗体産生を抑制する<sup>14)</sup> という。T cell, B cell という機能の異なったリンパ球に対するメチル水銀の作用を明きらかにすることが今後の課題であろう。

#### 要 約

ヒツジ赤血球に対するマウス脾細胞の *in vitro* 抗体産生系を用いて塩化メチル水銀の作用を調べたところ明きらかな抑制作用が観察された。抗体産生細胞の出現を50%阻止する塩化メチル水銀の濃度は約  $3 \times 10^{-7} M$  であった。メチル水銀は免疫反応の後期では  $3 \times 10^{-6} M$  でもあまり影響がなく初期の段階に強く作用していることが

示唆された。

#### 文 献

- 1) 大井 玄, 福田雅夫, 瀬戸 博, 野牛 弘: 日衛誌, 29, 58, 1974
- 2) Ohi, G., M. Fukuda, H. Seto, and H. Yagyu: *Bul. Environ. Contam. Tox.*, 15, 175, 1976
- 3) 藤田絃一郎, 月館説子, 菊地正一, 二島太一郎, 野牛 弘: 日衛誌, 31, 353, 1976
- 4) Marbrook, J.: *Lancet*, 2, 1279, 1967
- 5) Cunningham, A. J. and A. Szenberg: *Immunology*, 14, 599, 1968
- 6) 矢ヶ崎しげ子, 原 諭吉, 中尾順子: 東京衛研年報, 25, 691, 1974
- 7) Storm, D. R. and R.P. Gunsalus: *Nature*, 250, 778, 1974
- 8) Braun, W. and M. Ishizuka: *J. Immunology*, 107, 1036, 1971
- 9) Ishizuka, M., W. Braun, and T. Matsumoto: *ibid.*, 107, 1027, 1971
- 10) Teh, H.S. and V. Paetkan: *Nature*, 250, 505, 1974
- 11) Watson, J., R. Epstein, and M. Cohn: *ibid.*, 246, 405, 1973
- 12) Caron, G. A., S. Pontala, and T. T. Provost: *Int. Arch. Allergy Appl. Immunology*, 37, 76, 1970
- 13) Skidmore, B. J., J. M. Chiller, D.C. Morrison, and W. O. Weigle: *J. Immunology*, 114, 770, 1975
- 14) Redelman, D., C. B. Scott, H. W. Sheppard, J.R., and S. Sell: *J. Exp. Med.* 143, 919, 1976

母親および新生児の水銀蓄積とその相互関係 (第1報) 毛髪と血液

二島 太郎\*, 池田 真悟\*, 多田 宇宏\*  
野牛 弘\*, 溝口 勲\*

Mercury Content Levels in Mother and Newborn and Their Interaction

(I) Hair and Blood

TAICHIRO NISHIMA\*, SHINGO IKEDA\*, TAKAHIRO TADA\*,  
HIROSHI YAGYU\* and ISAO MIZOGUCHI\*

Mercury concentrations in maternal blood, hair and newborn umbilical cord blood, hair were examined. The samples were collected from 52 normal women just after their childbirth and 49 newborns in Tokyo. The results are summarized as following. Total mercury and methylmercury concentrations were  $4.7 \pm 2.0$  and  $2.6 \pm 1.3$  ppm in maternal hair,  $1.4 \pm 0.6$  and  $0.6 \pm 0.3$   $\mu\text{g}/100\text{g}$  in maternal blood,  $3.8 \pm 1.5$  and  $2.4 \pm 0.9$  ppm in newborn hair,  $2.5 \pm 1.0$  and  $1.3 \pm 0.6$   $\mu\text{g}/100\text{g}$  in umbilical cord blood, respectively. Both total and methylmercury concentration in newborn blood was apparently higher than in maternal blood, and it was shown that mercury transferred through placenta to the foetus and accumulated there.

はじめに

過去のメチル水銀中毒事件において明らかにされたことは、母親が取込んだメチル水銀が極めて容易に胎盤を通過して胎児に移行蓄積されたことである<sup>1-3)</sup>。その結果、先天性の精薄と脳性マヒを伴った重症心身障害児が生まれ、次の世代への影響という点で、メチル水銀は最も重視されなければならない環境汚染物質の一つであることが認識された。

現在わが国の食生活の特殊性として、動物蛋白源を魚介類に多く求めている。その影響の結果過去の水銀農薬残留の影響も加わり、わが国国民の体内水銀蓄積量は現在世界のトップレベルにある<sup>4)</sup>。当然胎児中にも高濃度の水銀が蓄積されていると考えられるので、一般的な都市生活を営んでいる都内在住母親と新生児について、毛髪と血液中の水銀量を測定し、両者の水銀蓄積の実態把握とその相互関係について検討した。

調査および試験方法

1. 調査対象者 都立築地産院で出産した都内在住母親52名(年齢21—37才)とその新生児(生後0—3日)49名(男児23名, 女児26名)について、母親は毛髪と静脈血液(以下母体血と略記)、新生児は毛髪と臍帯血液(以下新生児血と略記)をそれぞれ採取した。母親と新生児が組になったものは48組であった。

2. 調査時期 昭和49年7—8月

3. 試料の調整 1) 毛髪は前報に準拠して処理した。2) 血液は採血後ヘパリンを添加した試験管に取り、よく攪拌して測定に供した。

4. 測定方法 総水銀(以下Tと略記)およびメチル水銀(以下MMと略記)は前報の方法<sup>5,6)</sup>に準拠した。

結果と考察

試料中のT, MMおよび無機水銀(TからMMを差し引いた値, 以下Mと略記)の測定値を表1に示した。

1. 母親と新生児の毛髪中水銀量

毛髪中水銀量は水銀汚染を知る有力な指標となるところから、現在まで内外共に多くの研究者によって数多くの成績が報告されている。

最近わが国において全国的な規模の毛髪中水銀量調査が、地研全国協議会環境保健部会<sup>7-9)</sup>によって実施された。この際の関東地区の一般女性の毛髪中の平均値は、昭和49年度  $2.8 \pm 1.0$  ppm, 50年度  $2.8 \pm 0.8$  ppm であった。著者らによる都内在住一般女性は、昭和46年度  $3.9 \pm 1.0$  ppm<sup>5)</sup>, 49年度  $2.7 \pm 1.4$  ppm<sup>10)</sup>, 51年度  $2.6 \pm 1.0$  ppm<sup>6)</sup> であった。これに対して産婦の毛髪中Tは、中村ら<sup>11)</sup>  $3.5$  ppm, 内出ら<sup>12)</sup>  $3.8 \pm 3.2$  ppm, 三谷ら<sup>13)</sup>  $2.57 \pm 1.03$  ppm, 岐阜県<sup>14)</sup>  $2.72 \pm 1.69$  ppm であった。

今回得た産婦の毛髪中Tの平均値  $4.7 \pm 2.0$  ppm は、過去の一般女性および産婦の結果と比較して最も高い値であった。

\* 東京都衛生研究所環境保健部環境衛生研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Mercury Concentration in Samples of Mother and Child

Sample	Sample number	Mercury	Mercury Range	Mean±SD <sup>a)</sup>	CV <sup>b)</sup>	
		T <sup>c)</sup>				
Mother	Hair (ppm)	51	MM <sup>d)</sup>	1.3-11.2	4.7±2.0	0.4
			M <sup>e)</sup>	0.5-6.4	2.6±1.3	0.5
				0.7-6.4	2.0±1.0	0.5
Mother	Blood (μg/100g)	52	T	0.3-3.0	1.4±0.6	0.4
			MM	0.1-1.3	0.6±0.3	0.5
			M	0.0-2.7	0.8±0.5	0.7
Child	Hair (ppm)	49	T	1.2-7.7	3.8±1.5	0.4
			MM	0.8-4.6	2.4±0.9	0.4
			M	0.1-3.6	1.4±0.8	0.6
Child	Blood (μg/100g) (umbilical cord blood)	48	T	0.5-4.8	2.5±1.0	0.4
			MM	0.2-2.9	1.3±0.6	0.5
			M	0.2-3.2	1.2±0.7	0.6

a) standard deviation b) coefficient of variation c) total mercury d) methylmercury e) inorganic mercury

毛髪中MMの一般女性における調査は、著者ら<sup>6)</sup> 1.4±0.7ppm、産婦では中村ら<sup>11)</sup> 1.1ppm、三谷ら<sup>13)</sup> 1.77±0.72ppmで、今回得られた2.6±1.3ppmはT同様高い傾向を示していた。毛髪中MはMMの測定例が少ないので成績も少なく、一般女性については著者ら<sup>5)</sup> の1.1±0.7ppm、三谷ら<sup>13)</sup> の産婦0.8ppmで、平均値2.0±1.0ppmはTおよびMMと同じ様に高い傾向にあった。

新生児毛髪中のTに関する報告は少なく、わずかに例数は少ないが中村ら<sup>11)</sup> 4.7ppm、内出ら<sup>12)</sup> 3.96±5.00ppmで、著者らの平均値3.8±1.5ppmは同一地域の調査結果である内出ら<sup>12)</sup> と一致した。MM量は2.4±0.9ppmで、中村ら<sup>11)</sup> の1.3ppmより高いが、M量は1.4±0.8ppmで、中村らのTからMM量を差し引いてMを求めると3.4ppmとなり、著者らの値はかなり低値を示している。中村らの被検者は農村に居住する母親から生まれた新生児であるところから、この結果は地域特性を示していることも考えられるが、残念ながら血液中水銀量の調査がなされていない。

なお母親と新生児毛髪中のTおよびMM量のそれぞれの平均値間には、危険率1%以下で差を認めなかったが、Mは母親が高かった。

## 2. 母親と新生児の血液中水銀量

血液中水銀量は、他の金属同様暴露の指標として極めて有用であることが多くの報告で明らかにされている。

わが国の一般女性の血液中T量の平均値は、都内在住者2.7μg/100g<sup>5)</sup>、2.6±10μg/100g<sup>6)</sup>、愛知県<sup>9)</sup> 1.6±0.7μg/100g、産婦については喜田村ら<sup>15)</sup> 8.1μg/100g、内出

ら<sup>12)</sup> 1.9μg/100gであって、今回得た1.4±0.6μg/100gは低い傾向にあった。血液中のMM量については、一般女性1.4±0.7μg/100g<sup>6)</sup>、産婦0.93±0.56μg/100g<sup>13)</sup>で、著者らの0.6±0.3μg/100gはTと同様低い傾向にあった。

新生児の血液中T量は、母親と比較してかなり高い値を示すことが知られている。喜田村ら<sup>15)</sup> 8.4μg/100g、内出ら<sup>12)</sup> 3.6μg/100g、三谷ら<sup>13)</sup> 2.67±1.20μg/100gで、著者らの平均値2.5±1.0μg/100gは三谷ら<sup>13)</sup> の結果に近似していた。新生児血液中のMMおよびM量についての疫学調査は三谷ら<sup>13)</sup> の成績を見るのみで、その平均値はそれぞれ1.56±0.95μg/100g、1.11μg/100gで、著者らの1.3±0.6μg/100g、1.2±0.7μg/100gはT同様近似した結果であった。

なお母親と新生児血液中のT、MMおよびM量のそれぞれの平均値間には、危険率1%以下で新生児血のそれぞれが有意に高かった。

## 3. T量中にしめるMM量の割合(M/T)

母親と新生児の毛髪と血液中のM/Tを求めて表2に示した。

一般女性の毛髪中M/Tは過去の報告によれば、74.8±13.4%<sup>9)</sup>、産婦24.8%<sup>11)</sup>、75.0±13.9%<sup>13)</sup>で、著者らの平均値56.2±12.0%は中間であった。新生児の毛髪中M/Tについてはあまり報告を見ない。中村ら<sup>11)</sup>によると22.4%で著者らの平均値63.7±12.6%と比較してかなり低値である。

母体血のM/Tは46.1±19.2%、新生児血52.1±15.6%であったが、三谷ら<sup>13)</sup>も母体血55.4±23.8%、新生児

Table 2. Percentage of Methylmercury to Total Mercury (M/T, %)

Sample	Range	Mean±SD	CV	
Mother	Hair	27.3-76.5	56.2±12.0	0.2
	Blood	10.0-100.0	46.1±19.2	0.4
Child	Hair	43.1-93.8	63.7±12.6	0.2
	Blood	25.0-81.0	52.1±15.6	0.3

Table 3. Correlation of Mercury Concentration between Mother and Child (1) Total Mercury

		Mother		Child	
		Hair	Blood	Hair	Blood
Mother	Hair	1.00	0.36*	0.65**	0.46**
	Blood	*	1.00	0.49**	0.73**
Child	Hair	**	**	1.00	0.68**
	Blood	**	**	**	1.00

\* p&lt;0.02

\*\* p&lt;0.01

Table 4. Correlation of Mercury Concentration between Mother and Child (2) Methylmercury

		Mother		Child	
		Hair	Blood	Hair	Blood
Mother	Hair	1.00	0.18	0.65**	0.46**
	Blood		1.00	0.39*	0.74**
Child	Hair	**	*	1.00	0.68**
	Blood	**	**	**	1.00

Table 5. Correlation of Mercury Concentration between Mother and Child (3) Inorganic Mercury

		Mother		Child	
		Hair	Blood	Hair	Blood
Mother	Hair	1.00	0.08	0.23	0.06
	Blood		1.00	0.25	0.60**
Child	Hair			1.00	0.24
	Blood		**		1.00

Table 6. Correlation of Mercury Concentration between Mother and Child (4)  
Ratio of Inorganic Mercury to Total Mercury

		Mother		Child	
		Hair	Blood	Hair	Blood
Mother	Hair	1.00	-0.27	-0.06	-0.05
	Blood		1.00	0.003	0.43**
Child	Hair			1.00	-0.18
	Blood		**		1.00

血 $61.1 \pm 25.1\%$ と新生児の割合が高いことを報告している。しかし著者らの得た両者の平均値間には危険率 $1\%$ 以下で有意の差を認めなかったが、毛髪中のM/Tは有意に新生児が高かった。

#### 4. 母親と新生児の相互関係

前項で得られた母親と新生児の毛髪と血液のT, MMおよびMについて、両者間の相互関係を知るためにそれぞれの相関係数(以下rと略記)を求めて表3~6に示した。

1) T量の関係 各試料中のT量は危険率 $2\%$ 以下でそれぞれ間に有意の正相関関係を認めた。特に母体血と新生児血および母親と新生児の毛髪間にそれぞれ $r = 0.73, 0.65$ と高い正相関関係が認められた。血液の相関図を図1に示した。母体血と新生児血のT量の関係は、過去の報告において正相関関係が成立することが認められているが、毛髪間の相互関係は現在まで明らかにされ

ていない。いずれにしても、母体血中T量が比例して新生児血のそれも増加するところから、水銀の排泄経路としての毛髪中T量が両者の間で相関することは当然かもしれない。しかし、著者らが過去<sup>6)</sup>に明らかにしたように、魚介類を多食する人々の間には、血液と毛髪のT量間の相関性が低下し無相関になった(MMも同様の結果であった)。またイラク水銀中毒事件<sup>16,17)</sup>において明らかにされたように、水銀摂取量と血液中水銀量および母体血と新生児の水銀量は高い相関を示したところから、正常な範囲を越えた水銀暴露の指標としては、毛髪よりも血液中水銀量が疫学調査の上からは有用であろう。

2) MM量の関係 母体血と新生児血および母親と新生児の毛髪間に、T量同様危険率 $1\%$ 以下で有意の正相関が成立した。それぞれの相関図を図2, 3に示した。図2に明らかなように、ほぼ新生児全員のMM量が対応する母親のそれを上まわって多くなっている。これに対して図3の毛髪は、血液とは異なる動態を示した。すな

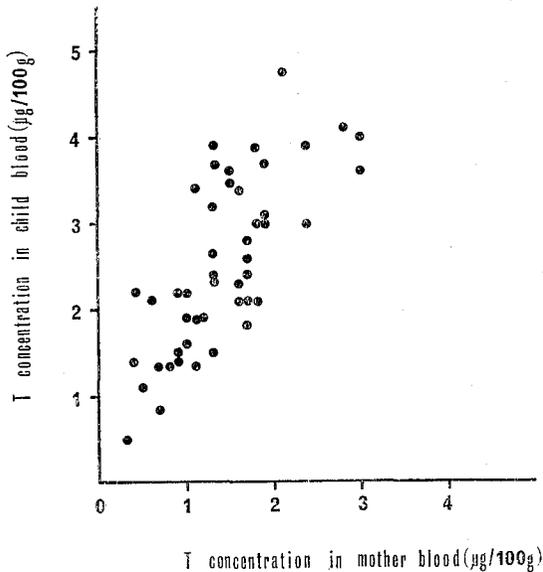


Fig. 1. Correlation of Total Mercury Concentration between Mother Blood and Child Blood

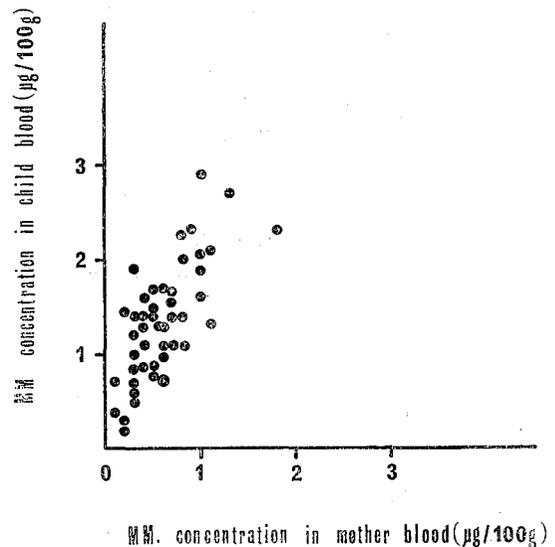


Fig. 2. Correlation of Methylmercury Concentration between Mother Blood and Child Blood

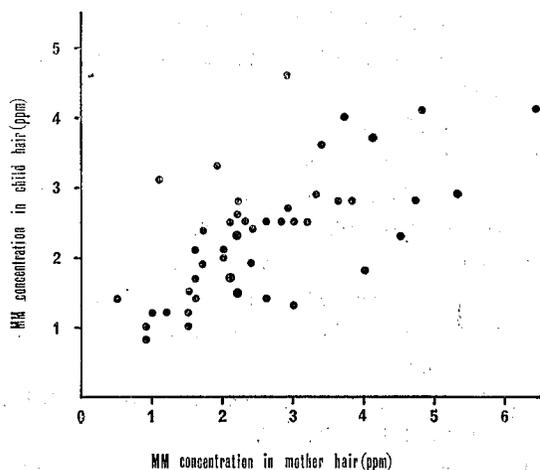


Fig. 3. Correlation of Methylmercury Concentration between Mother Hair and Child Hair.

わち母親に対応する新生児の増加は母親のそれを上まわっていない。この事実、胎児期間血液から排泄経路としての毛髪へのMMの移動が活発でないことを示唆するものであろう。

3) M量の関係 母体血と新生児血間のみ危険率1%以下で有意の正相関が認められた。その相関図を図4に示した。同様の結果は三谷ら<sup>13)</sup>も認めており、MMおよびMともに人胎盤を通過し胎児へ移行蓄積することを

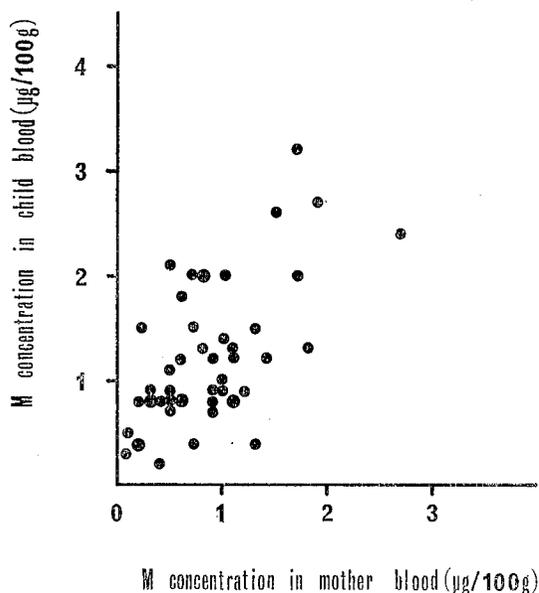


Fig. 4. Correlation of Inorganic Mercury Concentration between Mother Blood and Child Blood

示唆している。しかしMの動物実験<sup>18,19)</sup>では胎盤を通過しにくいとされている。おそらく胎盤構造の違いか、水銀の型の違いに起因していると考えられる。

#### 5. 水銀化合物の胎児への移行蓄積について

新生児血中水銀量は、MMおよびMとも母体血より明らかに高かった。このような現象がなぜ起るのかについていろいろ考察がなされている。当然考えられることとして、ヘマトクリット値が新生児において高いのではないかという疑問である。三谷ら<sup>13)</sup>は両者の血液間のヘマトクリット値にこの違いを説明出来る差がなかったと指摘した。石原<sup>20)</sup>は胎児ヘモグロビン(Hb-F)は通常のヘモグロビン(Hb-A)より-SH基が少ないので、-SH基含量の差からは説明出来ないとし、さらにヘモグロビンの高次構造から-SH基の配置を考慮しても説明不可能であったと述べている。著者らはこの点に関して、水銀の輸送を担う蛋白(Carrier protein)について現在研究を実施しているので、今後明らかにしていきたい。それでは母体から取込まれた水銀は胎児側でどのような排泄動態を取るのであろうか。一般に胎盤を通過した物質は、その排泄を母体の腎機能に依存している。つまり胎盤をはさんで胎児血液から母体血液へ向けて排泄される物質の移動が行われている。先に述べたように、胎児血液中MMおよびM量が母体血液より多いということは、胎児→胎盤→母体血液という排泄経路の段階で、その移動が限定されるためと考えられる。

このことから、当然胎児の各組織中水銀量が成人のそれと比較して多いと考えられる。現在この点に関する疫学調査は少なく、われわれも現在調査を実施しているが、胎児の脳および小脳中のT量は成人と比較して同じか上まわっている例もあった<sup>21)</sup>。

このように新生児は胎児期母体を經由してかなりの量の水銀を体内に取込んでいる。中毒学の一般原則として、胎児は成人よりもはるかに少ない量の薬物によっても作用を受けやすい。次の世代への水銀の影響について、今後母子衛生の面から充分の調査が行われることを期待したい。

#### まとめ

1) メチル水銀および無機水銀は胎盤を通過し、胎児へ移行蓄積することを認めた。

2) 新生児血液中総水銀、メチル水銀および無機水銀量は、母体血液に比較してそれぞれ約1.8, 2.1, 1.5倍高かった。

3) 新生児毛髪中総水銀およびメチル水銀量は、母親の毛髪に比較して有意差を認めず、無機水銀量は有意に低かった。

4) 総水銀量にしめるメチル水銀量の割合は、母体血液46.1%, 新生児血液52.1%で有意差を認めなかった。毛髪は母親56.2%, 新生児63.7%で有意差を認めた。

5) 母体血液と新生児血液中の総水銀, メチル水銀および無機水銀量はともに有意の正相関を認めた。

6) 母親と新生児の毛髪中総水銀およびメチル水銀量はともに有意の正相関が認められたが, 無機水銀量は無相関であった。

謝辞 本調査研究にあたり御協力いただいた都立築地産院の方々に厚く感謝致します。

(本調査研究の要旨は、第55回衛生局学会1975年において発表した。)

#### 文 献

- 1) Harada, Y : *Minamata Disease. ed. M. Kutsuna, Kumamoto Univ.*, 93, 1968
- 2) Snyder, R. D. : *New Engl. J. Med.*, 284, 1971
- 3) Bakir, F., S. F. Damulji, E. Amin-Zaki, M. Murtadha, A. Khalidi, N. Y. Al-Rawi, S. Tiriti *et al.* : *Science*, 181, 230, 1973
- 4) 喜田村正次 他 : 水銀, 講談社, 1976
- 5) 二島太一郎, 池田真悟, 多田宇宏, 野牛 弘 : 東京衛研年報, 23, 277, 1971
- 6) 二島太一郎, 池田真悟, 多田宇宏, 野牛 弘, 溝口 勲 : 東京衛研年報, 27-1, 258, 1976
- 7) 環境汚染健康影響指標の正常値に関する研究 (第1報), 地方衛生研究所全国協議会 環境保健部会, 1974
- 8) 同上 (第2報), 1975
- 9) 同上 (第3報), 1976
- 10) 二島太一郎, 池田真悟, 多田宇宏, 野牛 弘, 長崎 護 : 東京衛研年報, 25, 341, 1974
- 11) 中村 俊 : 農村医学会講演集, 284, 1973
- 12) 内出洋通, 衛藤 毅, 森本敬三, 岡本喜隆, 西沢 宏明, 島田美津江 : 第54回東京都衛生局学会要旨集, 104, 1974
- 13) 三谷一憲, 星野道雄, 児玉京子, 近藤正人, 小瀬 洋喜 : 衛生化学, 22, 327, 1976
- 14) 白木康一, 今井準三, 森本隆司, 林 峯雄, 山田 不二造 : 岐衛研報, 19, 15, 1974
- 15) 喜田村正次, 住野公昭, 田口良雄 : 日衛誌, 25, 87, 1970
- 16) Bakir, M. *et al.* : *Science*, 181, 230, 1975
- 17) 若月俊一 : 労働の科学, 30(3), 1975
- 18) Berlin, M. and S. Ullberg : *Arch. Environ. Health*, 6, 589, 1963
- 19) Suzuki, T, N. Matsumoto, T. Miyama, and H. Katsunuma : *Ind. Health*, 5, 149, 1967
- 20) 石原信夫 : 医学のあゆみ, 90, 127, 1974
- 21) 二島太一郎 : 未発表資料

都市環境中における突然変異誘起物質の検出 (第2報)

蓑輪佳子\*, 大沢誠喜\*, 野牛弘\*, 大井玄\*

Mutagenic Activities Detected in the Environment of Tokyo Metropolitan Area (II)

KEIKO MINOWA\*, MASANOBU OSAWA\*, HIROSHI YAGYU\*  
and GEN OHI\*

In an attempt to detect and evaluate mutagens in our urban environment, air samples were tested in the Ames's method. The suspended particles were collected in seven spots of Tokyo Metropolitan Area to make clear the occurrence of mutagens in air and to observe the regional distribution. Compared with each revertant colony per absorbed 100m<sup>3</sup> air, samples at Kojiya Health Center, Joto Health Center, Shibuya Health Center and Setagaya Health Center in Tokyo proper had greater mutagenic activities than the Jindai Botanical Gardens, the Lake Tama and the Kitahinohara Elementary School in Tama region. But, no difference of mutagenic activity was observed at four points in Tokyo proper which were characterized by two factory districts, a heavy traffic, a residential district.

緒言

都市およびその周辺部に居住する人々の生活環境中には、直接健康に障害を与える数多くの物質が放出され、存在している。その一つである突然変異誘起物質による環境汚染度を知るため、今日実用化の段階に達している微生物中の突然変異性(現在、突然変異性と発ガン性は85-90%一致するとされている<sup>1,2)</sup>)をみる Amesの方法<sup>3-9)</sup>を取り上げ、スクリーニングを行なった。これまでその対象として、ハト血液・河川水・大気中浮遊粉塵等を選び観察したが、ハト血液・河川水では検出されなかった<sup>10)</sup>。大気においては変異原が検出され、粉塵量との関係がみられた。

ここでは、大気中の突然変異誘起物質の発生源をより明確にし、地域差をみるために工場地域、自動車の寄与率が高い地域・住宅地域・比較的汚染が少ないと思われる地域を代表し、都内7カ所から採取した大気浮遊粉塵中の突然変異性を観察した。

試料・方法

1. 試料

1) 採取および作成方法

一定期間 High Volume Air Sampler を用いて大気を1回24時間-48時間の吸引を3回連続して行ない、glass fiber filter に浮遊粉塵を捕集した後、ろ紙を秤量し細切する。ソックスレー抽出装置で8時間ベンゼン抽

出を行ない、減圧濃縮後、抽出物の重量を測定し、大気の吸引量が一定になるよう調節してジメチルスルフォキサイドを加え、試料とした。

2) 採取場所

Fig. 1 に示した通り、都内7カ所で行なった。



Fig. 1. Sampling Place

- A 梶谷保健所(大田区) E 神代植物公園(調布市)  
B 城東保健所(江東区) F 多摩湖(東大和市)  
C 渋谷保健所(渋谷区) G 北桜原小学校(桜原村)  
D 世田ヶ谷保健所(世田ヶ谷区)

3) 採取日

- A・C・D・G 1976年8月5日-9日  
B・E・F 1976年8月16日-20日

2. 使用菌株

*Salmonella typhimurium* TA 100<sup>9)</sup>

B. N. Ames (Calf. Univ., U.S.A.) より入手

\* 東京都立衛生研究所環境保健部環境衛生研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

### 3. 方法

ソフトアガール 2ml に 0.1ml の試料溶液と菌液, 0.5ml の S-9 Mix<sup>5)</sup> (Wistar 系ラットに AC 1254 を腹腔内投与し, 誘導した肝ミクロソーム分画酵素) を加え, 最小培地上にまき, 37° 48時間培養後に生じた His<sup>+</sup> の revertant colony 数を数え, 対照と比較した。一方, S-9 Mix すなわち Metabolic activation を加えない場合についても行なった。試料における revertant colony 数は対照において生じた spontaneous revertant colony 数を差し引いて示した。

#### 結果および考察

抽出された Tar 中の突然変異誘起物質と revertant colony 数との間で, 直線的 dose-response は S-9 (-) の場合, Tar 0.8mg/plate までみられ, それ以上の濃度では菌の生育阻止が起り, colony 数はプラトーもしくは減少の傾向を示す。(Fig. 2)

全ての採取地で TA 100 株において変異原が検出され, これより frameshift 型の変異原が大気中に存在していることが明らかである。Fig. 2 において revertant colony 数 200 を生ずる 3 回の平均大気量は, S-9 (-) の場合で, おおよそ 梶谷保健所 13m<sup>3</sup>, 渋谷保健所 13m<sup>3</sup>, 世田ヶ谷保健所 13m<sup>3</sup>, 北桜原小学校 33m<sup>3</sup>, 城東保健所 37m<sup>3</sup>, 多摩湖 47.5m<sup>3</sup>, 神代植物公園 62.5m<sup>3</sup> である。

工場地域の代表として, 梶谷・城東保健所, 交通量の

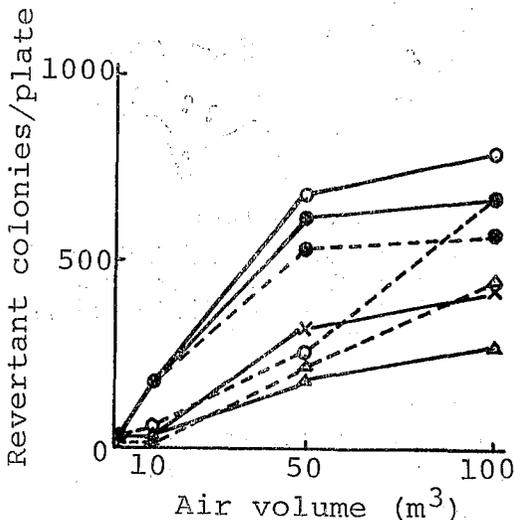


Fig. 2. Occurrence of Revertant Colonies, without S-9, in Relation to Air Volumes Sampled

- 梶谷 H.C.
- △— 神代植物公園
- 城東 H.C.
- △●— 多摩湖
- 渋谷 H.C.
- ×— 北桜原小学校
- 世田ヶ谷 H.C.

多い地点として渋谷保健所, 住宅地域では世田ヶ谷保健所・神代植物公園, 比較的汚染されていない地点として北桜原小学校, 多摩湖を選んだが, Fig. 3 S-9 (-) では, 北桜原小学校・多摩湖・神代植物公園に比べ梶谷・城東・渋谷・世田ヶ谷保健所で変異原による汚染度の高い傾向がみられた。4 つの特性で分けたことによる地域差は明瞭ではないが, 東京23区内の梶谷・城東・渋谷・世田ヶ谷保健所と23区外とで差がみられた。このように工場地域・住宅地域・交通量の多い地域と分けても23区内では, これらの混在している場合が多く, そのために23区内では, はっきりと差が生じなかったものと思われる。最近の公害局の報告<sup>14)</sup>で, SO<sub>2</sub> のように発生源が重油を使用する工場・ビルと限定される物質では, 梶谷・城東・世田ヶ谷・渋谷という23区内でも明らかに地域差が現れている。一方, 浮遊粉塵・NO<sub>x</sub> では23区内の差はほとんどなく, 変異原と同じ傾向を示し, 発生源が限定されたものではなく, 多方面にわたっていると推定される。大西らは九州で全く性質を異にした工場地帯の大牟田市, 住宅地の福岡市を選び変異原の検出を行なったところ, ここでは双方に明らかな差を認めている<sup>11)</sup>。

大気中の物質は多種の因子によって変化する。今回, 浮遊物質の補集は7カ所を2回に分け, 日を変えて行なったもので, その間に天候の差が多少あり, これが影響していることが考えられる。さらに, 採取地で3回吸引し, 各粉塵中の変異原量を平均したもので比較しているが, 採取場所・採取期間・採取回数を増して検討する方が, さらにはっきりした傾向が出ると思われる。

芳香族炭化水素など多くの物質では, 代謝を受けた場合にその究極的代謝産物が突然変異性・発ガン性を示すが, 微生物ではその代謝経路を欠くものが多い。それを補うために S-9 を加えて観察した結果, 地域差がより明確に現れており, 梶谷・渋谷・世田ヶ谷保健所付近では, 変異原としてこの類の物質に起因するものが多いと考えられる。その一つに最強の発ガン物質に属する a-Benzpyrene がある。これは大気中の含量が比較的多く, その増大とともに他の芳香族炭化水素も増大し, 双方にはかなり良好な相関性があるとされている<sup>12)</sup>物質である。

大気中の変異原には多種多様の物質があり, 現在では抽出した Tar を fraction に分け, その各 fraction における突然変異性の違いが報告<sup>12)</sup>されている。肺ガン発生率が増大しつつある中で, その原因としてタバコ喫煙・診断技術の進歩・人口の高齢化による発ガン年齢層の増加などの諸因子があげられているが, 大気汚染物質中に含まれる発ガン性物質による肺汚染もその重要な一因子と考えられている。ガン特に肺ガン発生率の地域差と

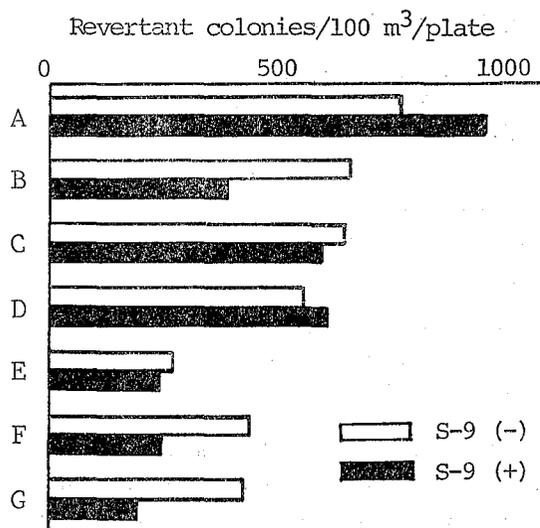


Fig. 3. Regional Comparison of Revertant Colonies with and without S-9

- |           |          |
|-----------|----------|
| A 梶谷保健所   | E 神代植物公園 |
| B 城東保健所   | F 多摩湖    |
| C 渋谷保健所   | G 北桜原小学校 |
| D 世田ヶ谷保健所 |          |

大気中変異誘起物質の濃度差との相関を追究することは、今後の重要な一課題と言えよう。

要 約

都市環境中の突然変異誘起物質検出スクリーニングとして Ames の方法を用い、大気中の変異原の検出を行なった。大気中の突然変異誘起物質の発生源をより明確にし、地域差をみるために都内7カ所から大気中浮遊粉塵を採取した。

吸引された大気量 100m<sup>3</sup> あたりの revertant colony 数を比較すると、23区内の梶谷保健所・城東保健所・渋谷保健所・世田ヶ谷保健所では、23区外の神代植物公園・多摩湖・北桜原小学校に比べ、変異原は多い傾向を示していた。23区内の各地点は、工場地域・交通量の多い地域・住宅地域を代表し選んだが、変異原による差は明

瞭ではなかった。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「環境汚染物質の点検に関する研究」として実施したものである。)

文 献

- 1) McCann, J., E. Choi, E. Yamasaki, and B. N. Ames : *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 72, 5135, 1975
- 2) McCann, J. and B. N. Ames : *ibid.*, 73, 950, 1975
- 3) Ames, B. N., P. Sims, and P. L. Grover : *Science*, 176, 47, 1972
- 4) Ames, B. N., E. G. Gurney, J. A. Miller, and H. Bartsch : *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 69, 3128, 1972
- 5) Ames B. N., W. E. Durston, E. Yamasaki, and F. D. Lee : *ibid.*, 70, 2281, 1973
- 6) Ames, B. N., F. D. Lee, and W. E. Durston : *ibid.*, 70, 782, 1973
- 7) Durston, D. E. and B. N. Ames : *ibid.*, 71, 737, 1974
- 8) Kier, L. D., E. Yamasaki, and B. N. Ames : *ibid.*, 71, 4159, 1974
- 9) McCann, J., N. E. Spingarn, J. Kobori, and B. N. Ames : *ibid.*, 72, 979, 1975
- 10) 蓑輪佳子, 松下 秀, 工藤泰雄ら : 東京衛研年報, 27-1, 300, 1976
- 11) 大西克成, 常盤 寛, 武内広明ら : 日本細菌学雑誌, 31, 239, 1976
- 12) Teranishi, K., K. Hamada, N. Takeda, and H. Watanabe : *Proceedings of The Fourth International Clean Air Congress*, I-9, 33, 1976
- 13) 林 和夫, 清水英佑, 大石みずゑ, 竹村 望 : 日衛誌 32, 112, 1977
- 14) 東京都公害局監視部 : 大気汚染常時測定室測定結果報告, 昭和49年度
- 15) 松下秀鶴 : 大気汚染研究, 9, 128, 1974

鉛汚染指標としての鳩 非汚染地区への移動による影響

関 比呂伸\*, 大 沢 誠 喜\*, 今 野 ビロ子\*, 裴 輪 佳 子\*  
湯 目 邦 雄\*, 高 橋 利 恵子\*, 秋 山 和 幸\*, 溝 口 勲\*  
野 牛 弘\*, 大 井 玄\*, 土 屋 健 三郎\*\*

The Pigeon as a Sensor of Lead Pollution  
The Effect of Transfer to Unpolluted Area

HIRONOBU SEKI\*, MASANOBU OSAWA\*, HIROKO KONNO\*,  
KEIKO MINOWA\*, KUNIO YUNOME\*, RIEKO TAKAHASHI\*,  
KAZUYUKI AKIYAMA\*, ISAO MIZOGUCHI\*, HIROSHI YAGYU\*,  
GEN OHI\* and KENZABUROH TSUCHIYA\*\*

Pigeons at the Shibuya bus terminal, which is heavily contaminated by lead originating from exhaust gas were transferred to Bonin Islands which has little evidence of saturnine pollution and the chronological shifts of blood Pb and  $\delta$ -ALA-D activity were monitored, over a period of 7 months.  $\delta$ -ALA-D activities increased in a linear fashion while blood Pb showed initial rapid fall followed by more gradual decline. The values of these parameters seven months after the transfer were fifteen fold higher than and one sixth of the initial values, respectively. Biological half lives of lead in pigeons estimated from the shifts of blood Pb were 38 days in the initial one month and 191 days on longer during the period from 5th and 7th month after the transfer. The above observation indicates that the recovery pattern of blood Pb and  $\delta$ -ALA-D activity in pigeons after cessation of Pb exposure is fairly similar to that of man.

緒 言

環境汚染物質としての鉛は、各種の植・動物相に蓄積しており、その汚染の程度は、土壌・植物<sup>1-3)</sup>、グッ菌類<sup>4-9)</sup>、鳥類<sup>10-13)</sup>などについて既に報告されている。筆者らは鉛による地域汚染が、都市部および郊外に生息するハトに敏感に現われていることに着目し、環境汚染の生物指標としてハトは非常に有効であることを既に報告した<sup>11)</sup>。しかし、大気中鉛濃度と血液中 $\delta$ -アミノレザリン酸脱水酵素（以後  $\delta$ -ALA-Dとする）の活性度との関係が必ずしも相関性を示していない。その原因について究明するために、鉛に曝露されているハトを比較的汚染されていないと思われる小笠原諸島の父島に移して、鉛汚染地区より非汚染地区へ移動した場合の血液中の $\delta$ -ALA-Dの活性度および血液中鉛濃度についての経時的変化、ハト血液中鉛の生物学的半減期の算出、小笠原にてフ化した仔ハト中への鉛の移行などについて観察し、ある程度の知見が得られたので報告する。

方法・材料

東京都内渋谷バスターミナルにて捕獲したハト30羽の血液中 $\delta$ -ALA-Dの活性度を測定し、活性度の低いハト15羽（平均活性度は $0.03\mu\text{molPbG/RBC/h}$ ）を選びだし、小笠原諸島の父島へ移し小学校にて飼育した。その後1, 2, 3, 5, 7カ月目ごとにハト翼下静脈よりヘパリン処理された注射器にて5ml採血した。 $\delta$ -ALA-Dの活性度は和田<sup>12)</sup>の変法により、血液中鉛濃度はHesselの方法<sup>13)</sup>で測定した。また血液中鉛濃度の経時的変化より生物学的半減期を算出した。

結果と考察

$\delta$ -ALA-Dの活性度はFig. 1に示すように1カ月目4倍、3カ月目10倍、7カ月目15倍とほぼ直線的に急上昇を示している。7カ月目の活性度は $0.44\mu\text{mol PbG/RBC/h}$ で、1971年の調査<sup>11)</sup>における都市郊外地区（所沢市中富）とほぼ同じ数値を示した。

$\delta$ -ALA-Dの活性度の対数値は、血中鉛量に反比例<sup>16-19)</sup>

\* 東京都立衛生研究所環境保健部環境衛生研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

\*\* 慶応大学医学部衛生・公衆衛生学教室

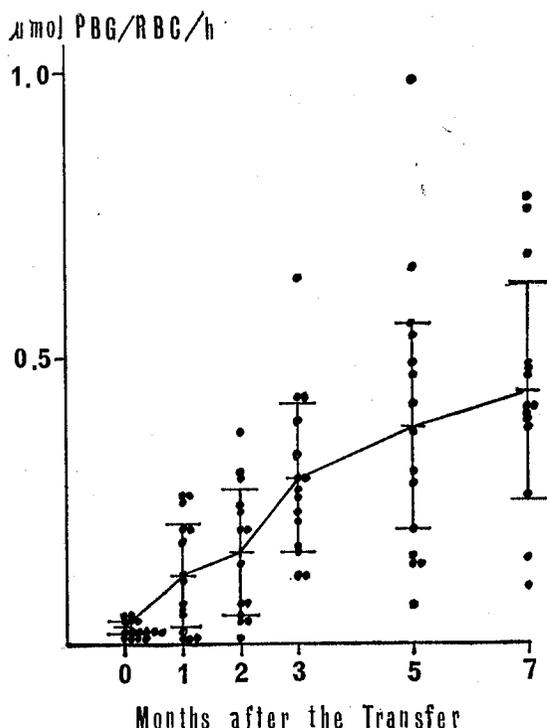


Fig. 1. Chronological Change of  $\delta$ -ALA-D Activity after the Transfer to Unpolluted Area

Vertical bars represent mean  $\pm$  S.D.

することを利用し、血中鉛量を推定した。この推定鉛量とHesscl法による血中鉛実測値とは極めて良く一致していることが判明した。血中鉛はFig. 2に見られるように1カ月目では最初の測定値の42%、3カ月目では31%、7カ月目では15%の減少を示した。この傾向は初期においては急速であるが、漸次緩やかな減少を示している。

ヘマトクリット値はFig. 3に示すように経時的変化はなく、正常値(52%)<sup>20)</sup>の範囲内にあり、1回に5mlというハトの推定全血量(放血法で体重の7.8%<sup>21)</sup>、もしくは1kg当り92ml<sup>20)</sup>の約1/5を採血したにもかかわらずその影響は認められなかった。

以上の結果を人間の場合<sup>22,23)</sup>と比較すると、鍵本ら<sup>22)</sup>の鉛作業者の配転後6カ月間隔で24カ月間行った追跡検診の結果、配転6カ月後における血中鉛、尿中 $\delta$ -アミノレヴリン酸は急速な減少傾向を示し、特に尿中 $\delta$ -アミノレヴリン酸はコントロールとはほぼ同じレベルまで低下し、 $\delta$ -ALA-Dの活性度は急速に上昇して正常値に近い値を示したと云う報告からハトも人間と同様な傾向が考えられる。また経時的血中鉛の減衰より生物学的半減期を計算した結果、人間の場合は最初の6カ月では250日、

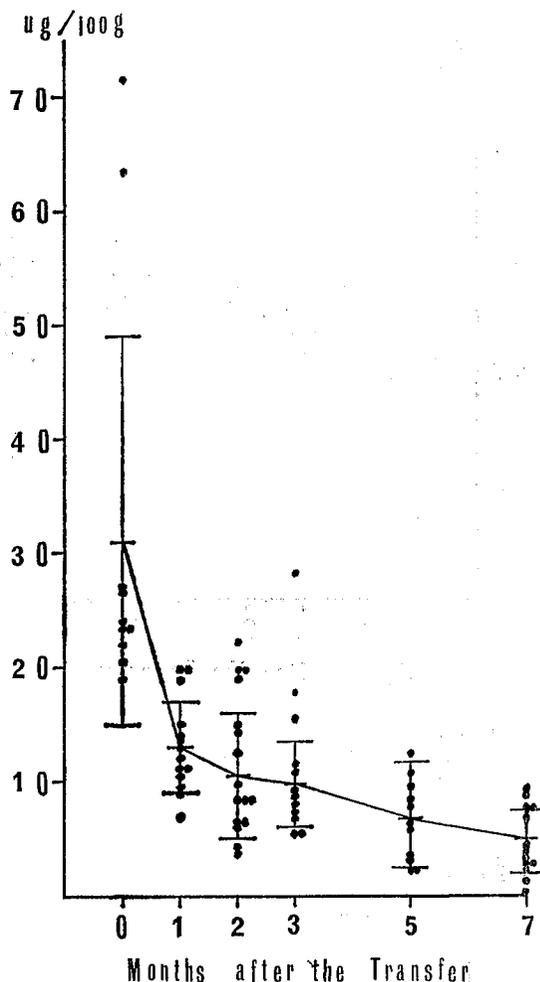


Fig. 2. Chronological Change of BI-Pb after the Transfer to Unpolluted Area

Vertical bars represent mean  $\pm$  S.D.

6カ月目以降ではほぼ1000日位で減衰した。

ハト血中鉛の生物学的半減期は、最初の1カ月は38日、1カ月目から2カ月目は56日、2カ月目から3カ月目は83日、3カ月目より5カ月目は135日、5カ月目から7カ月目は191日と半減期が次第に長くなる傾向を示した。その理由は、第一として微量ながらも鉛の体内侵入は小笠原において存在するものと考えられる。すなわち、大気中鉛濃度は0.01—0.03 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ <sup>24)</sup>で、この数値は都内汚染地区の濃度の数%にあたる。第二として、ハトの体内中鉛蓄積の高い部分<sup>25-31)</sup>、特に骨から漸次血中へと移行するものと考えられる。

また小笠原で繁殖し生まれた仔ハトの $\delta$ -ALA-Dの活性度は、親ハトより高い値を示しており多摩地区と比較

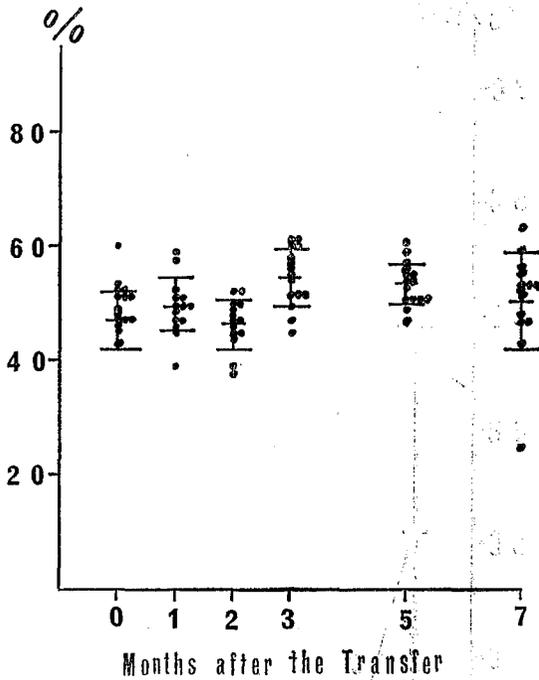


Fig. 3. Chronological Change of Hematocrit after the Transfer to Unpolluted Area. Vertical bars represent mean  $\pm$  S. D.

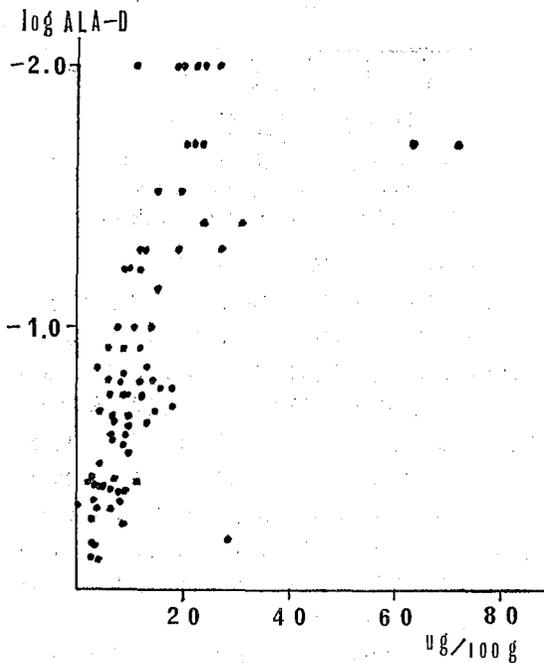


Fig. 4. Correlation between  $\delta$ -ALA-D and BI-Pb

してほぼ同じレベルであった。この理由の第一として、小笠原移住後すでに数カ月が経過したため、親ハトが回復してからの状態で産卵し、フ化し、その後2-3カ月目に採血したためとも考えられる。第二に、鉛の親から子への移行は、人間についての報告はあるが、ハトについては全く報告がなく不明な点が多いが、今回の結果では仔ハトへの移行はなかったとも思われる。しかし過去に、筆者らの調査で汚染地区において親より仔ハトのほうが鉛が多く蓄積していたことから、移行の可能性も十分考えられる。第三に、鉛汚染のない良い環境で育ったことによるものとも考えられる。

ハトに反映された鉛汚染のモニタリングとして1976年に行った結果コントロール地区と考えていた多摩動物園のハトの血液中 $\delta$ -ALA-D活性度は、 $0.31 \mu\text{molPBG/RBC/h}$ で、1971年の $0.58 \mu\text{molPBG/RBC/h}$ より47%も減少を示し、本地区の汚染が進行していることが考えられる。また、大気中の鉛濃度について東京都内の道路付近で昭和45年 $3.19 \mu\text{g}/\text{m}^3$ より昭和49年 $0.73 \mu\text{g}/\text{m}^3$ と77%も減少したという中央公害審議会よりの報告がされている。一方、都下立川市においては $0.42 \mu\text{g}/\text{m}^3$ より $0.32 \mu\text{g}/\text{m}^3$ と24%しか減少してない。この数値から<sup>22)</sup>、鉛汚染は郊外へと漸次拡散しているものと考えられる。

以上の結果から、今後の研究課題としては小笠原で繁殖したハトを非汚染地区の清浄なハトと考えて都下各地における鉛の汚染程度を調査する予定である。

要 約

鉛に汚染されたハトを、鉛による環境汚染の少ない小笠原諸島父島へ移し、血中鉛および血球中 $\delta$ -ALA-Dの活性度の動向を観察した。その結果は、小笠原移動後 $\delta$ -ALA-Dの活性度はほぼ直線的に上昇し、7カ月目にて初期値の15倍を示した。また血中鉛濃度は、初期は急速に減少するが、漸次緩やかな減少を示し、7カ月目には、初期濃度の15%まで減少し、血中 $\delta$ -ALA-D、血中鉛の値は正常値の範囲内に含まれた。また両者の相関は有意に高いことが認められた。(r = -0.602, p < 0.001)

血中鉛による鉛のハト体内での生物学的半減期は、最初の1カ月において38日、5カ月目から7カ月目は191日であることが認められた。

ハト体中における血中鉛および $\delta$ -ALA-Dの鉛曝露中止後の動向は、ほぼ人間の場合と同様であることが観察された。

謝辞 本研究にあたりハトの飼育にあたられた小笠原小学校岸波勇教諭に深謝します。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「重金属

の複合汚染の生体影響に関する研究」の一部として実施し、その概要は日本衛生学会第47回総会昭和52年4月で発表した。）

## 文 献

- 1) Chow, T. J. : *Nature*, 225, 295, 1970
- 2) Rains, D. W. : *ibid.*, 233, 210, 1971
- 3) Burkitt, A., P. Lester, and G. Nickless : *ibid.*, 238, 327, 1972
- 4) Jefferies, D. J. and M. C. French : *Environ. Pollution*, 3, 147, 1972
- 5) Welch, W. R. and D. L. Dick : *ibid.*, 8, 15, 1975
- 6) Mierau, G. W. and B. E. Favara : *ibid.*, 8, 55, 1975
- 7) Mouw, D., K. Kalitis, M. Anver, et al. : *Arch. Environ. Health*, 30, 276, 1975
- 8) Raymond, R. B. and R. B. Forbes : *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 13, 551, 1975
- 9) Goldsmith, C. D. and P. F. Scanlon : *ibid.*, 17, 311, 1977
- 10) Tansy, M. F. and R. P. Roth : *J. of the Air Pollution Control Association*, 20, 307, 1970
- 11) Ohi G., H. Seki, K. Akiyama, and H. Yagyu : *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 12, 92, 1974
- 12) Jenkins, C. : *C. R. Acad. Sci.*, 281, 1187, 1975
- 13) Getz, L. L., L. B. Best, and M. Prather : *Environ. Pollution*, 12, 235, 1977
- 14) Wada, O., Y. Yano, S. Kurashina, et al. : *Asian Med. J.*, 13, 381, 1970
- 15) Hessel, D. W. : *Atomic Absorp. Newsletter*, 7, 55, 1968
- 16) Hernberg, S., J. Nikkanen, G. Mellin, and H. Lilius : *Arch. Environ. Health*, 21, 140, 1970
- 17) Haeger-Aronsen, B., M. Abdulla, and B. I. Fristedt : *ibid.*, 23, 440, 1971
- 18) Lauwerys, R. R., J. P. Buchet, and H. A. Roels : *Brit. J. Industr. Med.*, 30, 359, 1973
- 19) Chiba M. : *ibid.*, 33, 36, 1976
- 20) Altman, P. L. and D. S. Dittmer : *Biology Data Book*, 2nd Ed., 3, 1848, 1974, Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda, Maryland
- 21) Prosser, C. L. and F. A. Brown, Jr. : *Comparative Animal Physiology*, 2nd Ed., 388, 1961, U. B. Saunders Co., Philadelphia
- 22) 鍵本嘉雄, 浜田 豊, 大場康寛 : 第50回産業衛生学会講演集, 460, 1977
- 23) Haeger-Aronsen, B., M. Abdulla, and B. I. Fristedt : *Arch. Environ. Health*, 29, 150, 1974
- 24) 舟島正直, 朝来野国彦, 広野富雄, 大平俊男 : 東京都公害研究所年報, 5, 11, 1974
- 25) Cantarow, A. and M. Trumper : *Lead Poisoning*, 1944, Williams and Wilkins. Co., Baltimore
- 26) National Academy of Sciences : *Lead. Airborne lead in perspective*, Committee on biologic effects of atmospheric pollutants, Division of Medical Sciences, National Research Council, 1972, Natl. Acad. Sci., Washington, D. C.
- 27) Black, S. C. : *Arch. Environ. Health*, 5, 423, 1962
- 28) Castellino N. and S. Aloj : *Brit. J. Industr. Med.*, 21, 308, 1964
- 29) Schroeder, H. A., Vt. Bratteboro, and I. H. Tipton : *Arch. Environ. Health*, 17, 965, 1968
- 30) Barry, P. S. I. and D. B. Mossman : *Brit. J. Industr. Med.*, 27, 339, 1970
- 31) Barry, P. S. I. : *ibid.*, 32, 119, 1975
- 32) 朝来野国彦 : 未発表資料

大気汚染物質と急性自覚症状との関連性 (第3報) 自覚症状のいくつかの特徴

牧野 国義\*, 溝口 勲\*, 沖野 哲郎\*\*

山本 幹夫\*\*, 長崎 護\*\*\*

Relation between Air Pollutants and Acute Subjective Symptoms (III)  
Some Features of Subjective Symptoms

KUNIYOSHI MAKINO\*, ISAO MIZOGUCHI\*, TETSURO OKINO\*\*,  
MIKIO YAMAMOTO\*\* and MAMORU NAGASAKI\*\*\*

The daily incidences of symptoms were studied with 415 students of Nittai Ebara Senior High School during 3 periods in summer, autumn and winter. The association of symptoms with air pollutants was reported in 1976 (Report I, II). Following features of the symptoms are mainly described in this report. (1) The original incidences of the symptoms should be corrected because they must increase during the earlier period in the investigation. (2) The day effect in all weeks during the period was studied. The daily incidence of lethargy was high at week beginning and low at week end but one of nosebleed showed the opposite tendency. (3) The seasonal difference of the incidences was manifested for some symptoms. (4) With comparison of the investigations in each summer for 2 years, the clear difference of air pollutant-incidence relationship was revealed.

However, at the result from a correlation analysis, the significant relation between the incidence and air pollutant could be rarely found. It may be greatly depended on the low air pollution.

1. 緒 言

我々は昭和50年に日体荏原高校生徒に実施した自覚症状調査に基づき、大気汚染と急性自覚症状との関連性について研究年報 27-1 に第1, 2報として報告した<sup>1,2)</sup>。そこではいろいろな大気汚染物質や気象要素(以下環境要素と略す)と自覚症状訴症との関連性を相関分析や重相関分析, 主成分分析などの統計的手法を用いて解析した。これに続いて昭和51年にも同様の調査を行ない, 自覚症状の特徴を主にいくつかの知見を得たので報告する。

昭和51年の夏季特に調査期間中における光化学汚染は昭和50年のそれに比べて全体として低く, また自覚症状訴症も比較的頻度が少なかった。したがって昭和50年度調査の解析とは異なった見方および項目により解析した。

2. 方 法

(1) 調査方法 調査期間は昭和51年5月中旬より7月中旬までの日曜日を除いた55日間で, さらに季節変動(Seasonal variation)をみるため秋季(9月初旬より11

月初旬)および冬季(昭和52年1月中旬より2月中旬)をも調査した。調査対象は昭和50年度調査同様日体荏原高校男子生徒で前調査が150人であったが今回の調査は415人を対象としている。自覚症状訴症は訴え数と調査数との比により表わすので調査数は多い程統計量として良い。

環境要素の項目や測定法は前調査と全く同じであるが調査方法を前調査の日めくり方式から日誌方式つまり各人一冊に毎日訴症の有無を記入する方式に変えている。この方法の長所として毎日配布回収の必要なく煩雑さを避けることができることが挙げられる。

しかし短所として調査開始当初と数日経過後とは調査対象に与える心理的効果が異なるため同一に扱えないことがある。

日めくり方式では毎日配布回収を行なうのでこの効果の差が日誌方式ほど大きくない。

したがって日誌方式で行なう場合には調査開始初期数日間の訴症データの削除またはそのデータを補正する必要がある。

\* 東京都立衛生研究所環境保健部環境衛生研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

\*\* 帝京大学医学部公衆衛生学教室

\*\*\* 東京都衛生局医療福祉部公保保健課

調査日数が非常に長いときには削除すればよいが短かいときには統計上好ましくなく、したがって補正の必要がある。ただし補正方法が明確でないので後述の様に充分検討しなければならない。

(2) 分析方法 夏季の調査では日数が55日と必ずしも充分大きいとは言えないので補正による方法を採用した。補正の内容は調査初期の心理的作用による訴症の増大分を減じることにある。すなわち、訴症の経日変化傾向は日がたつにつれ減少しある期間後一定となる。実際にはこれに大気汚染などによる訴症分が加わることになる。しかし大気汚染との関連性を検討するにはバックグラウンドが一定でなければならない。したがって調査開始よりバックグラウンドの訴症が一定になるまでの増大分を減じなければならない。この補正方法として2種類の考え方がある。第一は心理作用により訴症し易さが増したとの考え方で、補正方法として補正係数を求め、これを原訴症率にかける方法であり、第二は心理作用により訴症する人数が増加したとの考え方で、補正方法として訴症の増加分だけ原訴症率より減じる方法である。ここでは前者の方法で分析した。

各大気汚染物質が低濃度である日の訴症をバックグラウンドの訴症と考え、調査開始よりこのバックグラウンドの訴症率が一定になるまでを補正範囲とする。補正は次の様に考えられる。補正の近似曲線として2次曲線または指数曲線が考えられ、より近似する曲線を採用する

ことが望ましい。この検定は最小2乗法により行なうことができる。その結果より近似した2次曲線の方を採用する。この2次曲線を  $y = a_2x^2 + a_1x + a_0$  とする。yは訴症率、xは期間経過日数で係数  $a_0, a_1, a_2$  は次式で与えられる。分散項を  $C(x) = \sum x_i^2 - \frac{1}{n}(\sum x_i)^2$ ,  $C(x^2) = \sum x_i^4 - \frac{1}{n}(\sum x_i^2)^2$  とし、共分散項を  $C(x, x^2) = \sum x_i^3 - \frac{1}{n}\sum x_i \sum x_i^2$ ,  $C(x, y) = \sum x_i y_i - \frac{1}{n}\sum x_i \sum y_i$ ,  $C(x^2, y) = \sum x_i^2 y_i - \frac{1}{n}\sum x_i^2 \sum y_i$  の様におくと、

$$a_2 = \frac{C(x, y) \cdot C(x, x^2) - C(x) \cdot C(x^2, y)}{\{C(x, x^2)\}^2 - C(x) \cdot C(x^2)}$$

$$a_1 = \{C(x, y) - a_2 \cdot C(x, x^2)\} / C(x)$$

$$a_0 = (\sum y_i - a_2 \cdot \sum x_i^2 - a_1 \cdot \sum x_i) / n$$

nはサンプル数である。補正範囲以後の平均訴症率を  $y_m$  とすると、x日目の補正值  $y'$  は  $y' = y_m \cdot \{y / (a_2x^2 + a_1x + a_0)\}$  で与えられる。ここで  $k = y_m / (a_2x^2 + a_1x + a_0)$  とおくと、 $y' = k \cdot y$  となり、kは補正係数である。この補正方法では原訴症率yは心理作用により本来の訴症率y'を1/k倍引き上げると考える。kは  $0 < k \leq 1$  でありxの関数 ( $k = k(x)$ ) である。

本報ではこの補正にもとづき、平均値、標準偏差で各症状訴症の検討を行なうとともに、相関分析により大気汚染との関連を検討する。また調査対象が高校生で一週間を単位とする生活を過ごしているため曜日により訴症の特徴があるか否かを考察する。さらに秋季、冬季のデータを比較し、季節変動を調べ、併せて昭和50年度調査

Table 1. The Summary of Correction

Symptom (Y)	Corrected days (X)	Function for correction		
Eye irritation (EI)	27	$Y = 0.004X^2$	-0.199X	+ 3.51
Redness of conjunctiva (RC)	30	0.002	-0.110	1.99
Watering of eye (WE)	25	0.002	-0.098	1.71
Nosebleed (NO)	33	0.001	-0.077	1.35
Cough (CO)	29	0.010	-0.614	10.7
Phlegm (PH)	27	0.010	-0.548	9.58
Sneeze (SN)	26	0.010	-0.556	9.82
Shortness of breath (SB)	23	0.002	-0.100	1.81
Hoarseness (HO)	25	0.002	-0.127	2.24
Sore throat (ST)	26	0.005	-0.273	4.79
Dizziness (DZ)	25	0.003	-0.134	2.36
Headache (HE)	28	0.008	-0.447	7.88
Nausea (NA)	25	0.001	-0.072	1.30
Numbness of extremities (NE)	30	0.001	-0.070	1.24
Lethargy (LE)	25	0.011	-0.594	10.5
Abdominal pain (AP)	25	0.004	-0.228	4.04
Diarrhea (DR)	26	0.002	-0.092	1.65

Y : Incidence of the symptom (%)

との比較に言及する。

### 3. 結果および考察

(1) 訴症データの補正 (2) で述べた補正方法により各自覚症状訴症率を補正し、Table 1 に各自覚症状についての補正式と補正した日数とを示した。そして補正により得られた訴症率と原訴症率とを平均値および標準偏差で比較するため Table 2 に示した。Table 1 では咳、たん、くしゃみ、頭痛、だるいの補正式の2次項、定数項がともに他よりも大きいことからこれらの症状の原訴症率が高く、また調査初期の減少が急であることを示している。なおこの補正の2次式の最低値をとる日数は大体補正が必要な日数と一致した。また原 症率と補正値との相関関係を調べると全て危険率1%以下の有意レベルを示し、補正が、ほぼ妥当であることを示した。Table 2 では全ての症状について補正により平均値、標準偏差とも減少した。平均訴症率の大きさの順位を補正の有無でみると原訴症率ではだるい、くしゃみ、咳、たん、頭痛、のどの痛み、腹痛、目の痛み、めまいの順であったが補正した訴症率では咳とたん、のどの痛みと腹痛の順が各々入れ代りなど若干異なった。このことや補正日数の症状によるバラツキは必ずしも明らかではないが心理的作用による影響が症状により異なることを示唆すると考えられる。

Table 2. The Comparison of Original Incidence of the Symptoms and Corrected Ones

Symp.	Original		Corrected	
	Mean	SD	Mean	SD
E I	1.40	0.979	0.909	0.507
R C	0.702	0.549	0.332	0.280
W E	0.719	0.587	0.512	0.339
N O	0.432	0.448	0.115	0.143
C O	3.96	2.82	2.21	0.955
P H	3.77	2.33	2.41	0.739
S N	4.05	2.10	2.84	1.06
S B	0.839	0.593	0.674	0.490
H O	0.937	0.687	0.661	0.416
S T	1.93	1.29	1.30	0.641
D Z	1.02	0.675	0.752	0.451
H E	3.06	2.11	1.92	1.05
N A	0.565	0.695	0.431	0.546
N E	0.449	0.673	0.239	0.386
L E	4.41	2.43	3.16	1.54
A P	1.75	1.00	1.32	0.706
D R	0.710	0.461	0.534	0.175

SD : Standard Deviation

The incidence is represented by percent

(2) 相関分析 自覚症状と環境要素との関連性を検討するため相関分析を行なった。自覚症状訴症率には補正値を使用した。今回の調査では相関分析の結果から高い相関を示す場合を見い出すことができなかった。亜硫酸ガスとの相関では負の相関を示す場合が多かった。このような結果から多くの知見を得ることは困難で、この結果を生じた原因として補正が不十分であったことも考えられるが、参考として原訴症率および調査初期の教日間を削除したときの相関分析をも行なったが同様の結果を示したので、補正により相関が低下したとは見なせない。これは主に大気汚染の程度が低く、これによる訴症が少なかったことによると思われる。

(3) 訴症の規則性 自覚症状訴症は前述の様に心理作用と無関係ではない。従って各曜日により調査対象である生徒に与える心理的影響が異なり、ために自覚症状訴症にもこの影響が現われるかもしれない。これを検討するため各曜日における平均訴症率と標準偏差とを Table 3 に示した。ただし調査初期での心理的影響を除くため補正値を使用した。月曜日から土曜日までの訴症率を比較すると、明らかに週末の訴症率が減少している症状は眼が痛む、息苦しい、だるいで前 2 症状が特に顕著である。またこれとは逆に週末の訴症率が増大しているのは鼻血であった。この調査結果のみでは不十分であるが精神的疲労や肉体的疲労との関連を想起させ興味深い。

(4) 季節変動 本調査は夏季のみでなく秋季、冬季にも同じ対象、方法で行なわれた。両時期とも汚染物質は全体として低濃度であった。それは日体荏原高校が京浜工業地帯の北東に位置し、南風が吹き易い夏季にはこの工業地帯からの影響をうけることがあるが秋季、冬季には余り大きな汚染源の影響をうけないことから推測できる。したがって、両時期にも各々自覚症状と環境要素との相関分析を行なったが有意な相関を示す関係が認められなかった。両時期の各症状についての平均訴症率、標準偏差は Table 2 の補正値も夏季として併せて示すと Table 4 の様になった。大気汚染が全体的に低いのであるから季節変動として最も大きいと考えられるのは温度である。また平均訴症率の大きさが夏>秋>冬の順になるものと、冬>秋>夏の順になるものとを分け、前者を夏型症状、後者を冬型症状とすると、夏型症状には眼の痛み、涙がでる、めまい、頭痛、吐気、だるい、腹痛があげられ、冬型症状には咳、たん、息苦しい、声がかれる、のどが痛むがあげられる。夏型症状には温度の影響が感覚面などで大きいと考えられる。冬型症状には風邪の影響が大きい様に思われる。上記の自覚症状について夏季と冬季の平均訴症率の差の検定 (Welch の検定) を

Table 3. Each Incidence of the Symptoms from every Monday to every Saturday

Symp.	Monday		Tuesday		Wednesday		Thursday		Friday		Saturday	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
E I	1.02	0.385	0.989	0.531	0.886	0.468	0.929	0.502	0.871	0.706	0.760	0.313
R C	0.381	0.192	0.342	0.317	0.278	0.263	0.333	0.289	0.342	0.315	0.314	0.273
W E	0.490	0.264	0.619	0.374	0.402	0.257	0.412	0.363	0.719	0.368	0.427	0.251
N O	0.081	0.135	0.070	0.080	0.126	0.184	0.141	0.145	0.106	0.116	0.165	0.155
C O	2.16	1.05	2.46	1.16	2.07	0.801	2.19	0.960	2.14	0.644	2.23	1.00
P H	2.43	0.825	2.52	0.781	2.50	0.775	2.38	0.597	2.33	0.566	2.28	0.615
S N	2.99	1.26	3.09	1.39	2.75	0.789	2.73	1.03	2.83	0.842	2.63	0.807
S B	1.06	0.648	0.702	0.438	0.601	0.373	0.476	0.410	0.662	0.468	0.557	0.323
H O	0.714	0.201	0.733	0.313	0.466	0.235	0.663	0.379	0.685	0.719	0.703	0.369
S T	1.31	0.574	1.61	0.684	1.25	0.401	1.24	0.414	1.34	0.955	1.05	0.508
D Z	0.900	0.123	0.735	0.303	0.595	0.393	0.583	0.352	0.814	0.400	0.887	0.761
H E	1.96	0.656	2.05	1.08	1.74	0.559	1.86	1.28	2.25	1.45	1.67	0.875
N A	0.383	0.610	0.593	0.676	0.385	0.507	0.644	0.698	0.249	0.223	0.334	0.217
N E	0.212	0.156	0.310	0.327	0.484	0.767	0.148	0.134	0.099	0.115	0.183	0.135
L E	3.62	1.53	3.47	1.02	3.22	1.11	2.84	1.65	3.13	1.26	2.58	1.10
A P	1.35	1.06	1.56	0.747	1.20	0.496	1.31	0.579	1.28	0.709	1.22	0.391
D R	0.570	0.335	0.632	0.420	0.420	0.331	0.488	0.333	0.526	0.380	0.558	0.344

Table 4. The Seasonal Variation of Incidences of the Symptoms

Symp.	Summer		Autumn		Winter	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
E I	1.40	0.979	0.511	0.625	0.194	0.196
R C	0.702	0.549	0.299	0.242	0.111	0.171
W E	0.719	0.587	0.413	0.267	0.194	0.295
N O	0.432	0.448	0.283	0.293	0.292	0.239
C O	3.96	2.82	4.17	0.792	5.33	0.946
P H	3.77	2.33	3.81	0.574	4.79	0.579
S N	4.05	2.10	3.51	0.885	3.03	0.656
S B	0.839	0.593	0.837	0.437	0.861	0.402
H O	0.937	0.687	0.848	0.405	1.68	0.606
S T	1.93	1.29	1.69	0.608	3.07	0.617
D Z	1.02	0.675	0.435	0.327	0.361	0.303
H E	3.06	2.11	1.38	0.705	1.54	0.647
N A	0.565	0.695	0.266	0.297	0.208	0.208
N E	0.449	0.673	0.315	0.252	0.097	0.122
L E	4.41	2.43	2.35	0.995	1.79	0.657
A P	1.75	1.00	1.20	0.561	0.708	0.402
D R	0.710	0.461	0.549	0.378	0.472	0.332

行なうとTable 5の様になった。危険率5%を差の検定基準とすると、頭痛、吐気、息苦しい以外の症状ではかなり明瞭に夏季と冬季の訴症の間に差がみられた。したがって眼の痛み、涙がでる、めまい、だるい、腹痛は夏

Table 5. The Difference Test of Mean Values between Incidences of the Symptoms in Summer and Winter

Symp.	Summer		Winter		t-value	Criteria %
	Mean	SD	Mean	SD		
E I	0.909	0.507	0.194	0.196	6.72	<0.001
W E	0.512	0.339	0.194	0.295	3.36	0.173
D Z	0.752	0.451	0.361	0.303	3.52	0.116
H E	1.92	1.05	1.54	0.647	1.52	13.6
N A	0.431	0.546	0.208	0.208	1.95	5.99
L E	3.16	1.34	1.79	0.657	4.61	0.004
A P	1.32	0.706	0.708	0.402	3.74	0.058
C O	2.21	0.935	5.33	0.946	10.9	<0.001
P H	2.41	0.739	4.79	0.579	12.2	<0.001
S B	0.674	0.490	0.861	0.402	1.41	16.8
H O	0.661	0.416	1.68	0.606	6.26	<0.001
S T	1.30	0.641	3.70	0.617	9.36	<0.001

季に訴え易い自覚症状であり、咳、たん、声がかかる、のどが痛むは冬季に訴え易い自覚症状と考えられる。ただしここで注意しなければならないのは、第1に大気汚染の影響が小さいとはいえ皆無とはいえないことであり季節の影響だけでこれほど明瞭な差を有すると推定するには根拠が充分でない。第2に補正による誤差がある程度混入することを認めねばならないことである。以上から大気汚染と自覚症状との関連性を検討する上で季節

変動を考慮する必要がある、Cassellらはこの関連性を主成分分析で検討し、第1主成分に“High Air Pollution”、第2主成分に“Health Pollution”そして第3主成分として“Season and Sickness”をあげている<sup>3)</sup>。

(5) 昭和50年度調査との比較 昭和50年度調査と今回の昭和51年度調査とを比較検討した。調査のデザインでは50年度調査は調査対象が150名であったが、51年度はこれを415名とした。また50年度調査の期間が24日間であったのを51年度55日間とした。統計学的にはサンプル数の少ないことは解析結果の信憑性を低減させるので条件の許す限りは多い方がよい。調査方法を50年度調査で日めくり方式としていたのを51年度は日誌方式に改めた。日めくり方式は毎日配布回収する煩雑さがあり、さらに訴症の補正の所で述べた心理的影響が毎日繰返されることになり通常より感度オーバーになる虞れがあるからである。しかしながら短期間の調査では日誌方式の場合補正を行なう必要があり、今後同様の調査を行なう場合には調査デザインについて充分検討しなければならない。

次に調査結果について比較すると、前報<sup>1)</sup>で報告した様に昭和50年度調査では光化学汚染と自覚症状訴症との関連が明らかであった。特に眼が痛む、のどが痛む、息苦しい、頭痛などの症状はオキシダントや複合大気汚染指標のPI<sup>4)</sup>、Pindex<sup>5)</sup>と高い相関を示した。しかし今回の昭和51年度調査では大気汚染物質との高い相関関係はみられなかった。この相違の最大の理由は大気汚染の程度が異なったことであると思われる。両調査での大気汚染物質平均濃度および最大濃度(8:00~18:00)を比較しTable 6に示した。オキシダントでは平均値、最大値とも昭和50年度(1975)調査の方がかなり大きく、光化学汚染に関してかなり差のあることは明らかである。さらに両調査での各自覚症状の平均訴症率をTable 7の様に比較した。( )内数字は多訴順位で、両調査の調査方法が異なり単純比較ができないので順位付けした。各自覚症状訴症率の両調査間の順位差を $d_i$ とし、その平方和を $S$ 、順位付けした症状数を $n$ とすると、 $S = \sum_i d_i^2$ 、Spearmanの順位相関係数 $\rho$ は

$$\rho = 1 - \frac{6S}{n^3 - n}$$

となる。Table 7よりこれを計算すると、 $n=13$ 、 $S=40$ で $\rho=0.890$ となり危険率0.1%以下の有意レベルである。次に前報<sup>1)</sup>から大気汚染と関係深いと思われる咳、たん、息苦しい、眼が痛む、のどが痛む、めまい、頭痛、だるいの8症状を選びこれを順位付けて同様に $\rho$ を求めると、 $\rho=0.619$ となり危険率10.2%であった。危険率5%を有意さの判定基準とすると両調査の自覚症状訴症

Table 6. The Comparison of Air Pollutants on the Investigations in 1975 and 1976

Air pollutant	1975		1976	
	Mean	Max	Mean	Max
Ox (pphm)	7.2	24.0	3.9	15.0
SO <sub>2</sub> (pphm)	2.3	11.6	2.7	10.4
NO (pphm)	2.0	55.0	3.8	10.8
NO <sub>2</sub> (pphm)	5.3	14.0	2.7	9.8
SPM(mg/100m <sup>3</sup> )	10.5	33.8	9.7	51.1
PI	2.4	4.2	1.0	3.8
Pindex	1.8	2.7	1.0	2.4

Table 7. The Comparison of Incidences and the Orders of the Symptoms on the Investigations in 1975 and 1976

Symp.	1975	1976
E I	12.3 (4)	1.40 (8)
NO	0.61 (13)	0.43 (13)
CO	10.5 (6)	3.96 (3)
PH	8.94 (7)	3.77 (4)
SN	18.9 (2)	4.05 (2)
SB	4.53 (10)	0.84 (10)
ST	10.7 (5)	1.93 (6)
DZ	5.96 (9)	1.02 (9)
HE	15.7 (3)	3.06 (5)
NA	2.36 (11)	0.57 (11)
NE	1.66 (12)	0.45 (12)
LE	19.0 (1)	4.41 (1)
AP	8.36 (8)	1.75 (8)

( ) : Order of incidences in each year

の全体傾向は一致しているが、上記選ばれた症状間の順位の傾向は一致しない。これは多訴の上位4症状を見ても推察できる。昭和50年度調査ではだるい、くしゃみ、頭痛、眼が痛むがそれであったが51年度調査ではだるい、くしゃみ、咳、たんが2症状が異なった。前者の異なった2症状眼が痛む、頭痛は光化学汚染時の代表的症状であるが後者の異なった2症状咳、たんは風邪をひいた時に訴症し易い症状で、これからも51年度調査では光化学汚染の程度が低かったことが推測される。

#### 4. 結 論

東京都大田区にある日体荏原高校男子生徒415人を対象に昨年度に引き続き自覚症状についてのアンケート調査を行なった。今回昭和51年度調査では調査方法を日誌方式に改めたため調査初期での訴症減少傾向が顕著になった。大規模な調査対象で長期の調査期間のときには調

査初期の数日間の訴症データを削除することにより心理的影響からの訴症増大を防ぐことができるが、本調査は必ずしもこれを充たすものでなく、さらに大気汚染の程度が低いと思われたので削除することなく近似曲線により補正した。そして自覚症状についての特徴を主に検討し、以下の結論を得た。

(1) 大気汚染と自覚症状との関連性を検討するため相関分析を行なったが今回の調査では高い相関関係が認められなかった。これは大気汚染の程度が低かったことに主に起因すると思われる。

(2) 自覚症状訴症が心理的影響をうけると増大し得ることや週初めや週末で調査対象がうける心理的影響が異なるかもしれないので症状訴症と曜日との関係を検討した。週初めに高く週末に低い症状は眼が痛む、息苦しい、だるいでこれと逆傾向の症状は鼻血であった。本調査のみでは不十分であるが前者は精神的疲労からの訴症、後者は肉体的疲労からの訴症を想起させ興味深い。

(3) 大気汚染と自覚症状との関連性を検討する上で季節の影響を考慮しなければならない。夏季に訴え易い自覚症状として眼の痛み、涙がでる、めまい、だるい、頭痛が、冬季に訴え易い自覚症状として咳、たん、声がかかる、のどが痛むが統計的に得られた。しかし他の原因で訴症する割合がどの程度か不明確であるのでこれらの自覚症状が季節固有であるか必ずしも明らかでない。

(4) 昭和50年度調査と今回51年度調査とを比較した。50年度調査ではいくつかの自覚症状がオキシダントなどと高い相関を示したが、51年度調査では大気汚染物質との高い相関は得られなかった。この相違の最大の理由は

大気汚染の程度が異なり、今回の調査ではこの程度が低かったことによるとと思われる。また両調査の自覚症状訴症傾向をSpearmanの順位相関により比較した。全自覚症状による順位相関ではその傾向が一致したが、大気汚染と関係深いと思われる咳、たん、息苦しい、眼が痛む、のどが痛む、めまい、頭痛、だるいの8症状による順位相関では傾向が一致しなかった。両調査における多訴症状の比較からも今回調査での大気汚染の程度の低さが推察された。

**謝辞** 本報の資料収集に御協力を戴いた衛生局公害保健課中島達也氏、三好千種氏、そして資料整理から分析までにご協力を戴いた帝京大学医学部公衆衛生学教室寺尾浩明氏、山田和枝氏に深謝致します。

(本研究は昭和50年度当研究所調査研究課題「オキシダントの人体および生物影響調査研究」の一部として実施したものである。)

#### 文 献

- 1) 牧野国義, 溝口 勲, 沖野哲郎, 山本幹夫: 東京衛研年報, 27-1, 274, 1976
- 2) 牧野国義, 溝口 勲, 沖野哲郎, 山本幹夫: 東京衛研年報, 27-1, 280, 1976
- 3) Cassell, E. J., M. D. Lebowitz *et al.*: *Arch Environ Health*, 18, 523, 1969
- 4) 牧野国義, 溝口 勲: 日本公衛誌, 22(8), 421, 1975
- 5) Babcock, L. R.: *J. Air Pollution Control Assoc.*, 20(10), 653, 1970

都内興行場で集められたゴミの中のダニ, 昆虫相 (第3報)

中田英吉\*, 吉川翠\*

Mite and Insect Fauna in Dusts Collected from Seats and Floors  
of Theaters in Tokyo (III)

EIKICHI NAKADA\* and MIDORI YOSHIKAWA\*

Dust samples were collected with a vacuum sweeper from seats and floors of twelve theaters in Tokyo in August 1976, for examinations of mites and insects. More than 47 species belonging to 29 families of mites were contained in the dusts. The most collected mites were *Dermatophagoides* of Pyroglyphidae which were found especially numerous in the living state. A small number of the tropical rat mite, *Ornithonyssus bacoti*, was recovered in the dead state. The pyroglyphid mites were significantly more collected from the seats than from the floors and they were more numerous in August of the present collection than in January of the preceding winter collection. Also, they were recognized to be more numerous on felt or cloth seats than on vinyl seats in August. Mostly dead Psocoptera insects were more numerous on the floors than on the seats, as well as in the case of the winter collection. For similarity analysis of mite and insect fauna among seats and floors or among theaters, dendrograms were made by the method of Sokal and Sneath (1963). At both dendrograms of correlation- and distance-coefficient, three theaters where pyroglyphid mites were numerous, were grouped to show the similarity, and three theaters where some oribatid mites were somewhat numerous, were grouped.

室内塵の中には、皮膚炎の原因となる吸血性のイエダニ、アレルギー性の気管支喘息、皮膚炎の原因となるヒョウヒダニ類などが存在している(大島1964<sup>1)</sup>, 1970<sup>2)</sup>, 宮本ら1976<sup>3)</sup>, Bronswijk 1973<sup>4)</sup>, Furumizo 1973<sup>5)</sup>, Wharton 1976<sup>6)</sup>).

筆者らは、都内興行場のゴミの中のダニ, 昆虫相について、冬に行った調査を第1<sup>7)</sup>, 2<sup>8)</sup>報で報告した。本報告は、さらに夏に行った調査の結果をまとめたもので、冬との比較検討も行った。

1. ゴミの採集と検査方法

採集, 検査方法は、第2報と同様である。1976年8月23~28日に、第2報と同一の都内12か所の興行場の映写場内の客席, 床, 映写場外(ロビー)の客席, 床および売店付近の床の計5か所から、電気掃除機(集塵用紙袋を使用するもの)でゴミを採集した。各個所の掃除機の実動時間は2~3分であった。採集されたゴミは検査時まで、6°Cの冷蔵庫に保存された。

検査は、篩(28メッシュ, 目の開き0.59mm)で大ゴ

ミと小ゴミに分け、大ゴミは肉眼, 拡大鏡で検査し、小ゴミは、中性洗剤の0.2%以下の水溶液を加えて遠心分離し、液の吸引濾過により濾紙上に浮遊物を取り出し、沈澱物にさらに飽和食塩水を加え、前と同様の操作で浮遊物を取り出し、それぞれの浮遊物から実体顕微鏡下でダニ, 微小昆虫を採取した。

2. 結 果

採取されたダニの種類と数は表1のとおりである。\*印の生きていると見なされたものについて、チリダニ類 Pyroglyphidae が多数採取され、コナヒョウヒダニ *Dermatophagoides farinae* は1067\*匹、ヤケヒョウヒダニ *D. pteronyssinus* は341\*匹となった。その中には実際に動いていたものがかなり発見された。生と見なされたダニ類で、チリダニ類について多く採取されたものはケナガコナダニ *Tyrophagus putrescentiae* 95\*匹であった。ホコリダニ科 Tarsonemidae の死骸が多く採取され、第2報の冬の調査239匹よりも少なかったが、生12\*匹、死114匹以上となった。

\* 東京都立衛生研究所環境保健部環境衛生研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Lists of Acarina collected from dusts of twelve theaters, Tokyo, August 1976

Mesostigmata	
Dermanyssidae	
<i>Ornithonyssus bacoti</i> .....	7
? Macrochelidae .....	1
Ascidae	
<i>Proctolaelaps hypudaei</i> .....	2*+9
<i>Proctolaelaps</i> .....	5
<i>Blattisocius keegani</i> .....	3*+26
? <i>Blattisocius tarsalis</i> .....	1
? <i>Blattisocius dentriticus</i> .....	3
<i>Lasioseius</i> sp. ....	1*+7
Ameroseiidae	
<i>Kleemannia plumosus</i> .....	3*+17
? <i>Kleemannia plumosus</i> .....	1
<i>Kleemannia</i> spp. ....	2
Phytoseiidae	
<i>Amblyseius</i> sp. ....	1*+11
? <i>Amblyseius</i> .....	1
<i>Typhlodromus</i> spp. ....	2
? <i>Typhlodromus</i> spp. ....	6
Laelapidae	
<i>Androlaelaps casalis</i> .....	2*+5
? <i>Androlaelaps casalis</i> .....	1*+5
? <i>Stratiolaelaps</i> .....	4
Uropodina .....	1
Others of Mesostigmata .....	2
Trombidiformes	
Tarsonemidae .....	12*+114~
? Eupodidae .....	1*+1
Tydeidae	
<i>Tydeus</i> .....	5
<i>Lorryia</i> .....	3
<i>Paralorryia</i> .....	1*+41
? <i>Paralorryia</i> .....	11
Others .....	12
? Raphignathidae .....	1
Tetranychidae .....	1
Tenuipalpidae	
<i>Brevipalpus</i> sp. ....	2
Cheyletidae	
<i>Cheyletus malaccensis</i> .....	10
<i>Cheyletus</i> spp. ....	3*+18
? <i>Cheyletus</i> .....	1
<i>Eucheyletia</i> sp. ....	12
<i>Cheletomorpha lepidopterorum</i> .....	1
Others of Prostigmata .....	1

## Sarcoptiformes

Anoetidae	
<i>Histiostoma</i> , hypopus .....	4*+5
Acaridae	
<i>Tyrophagus putrescentiae</i> .....	95*+176
? <i>Suidasia</i> sp. ....	1
Chortoglyphidae	
<i>Chortoglyphus arcuatus</i> .....	1*+5
? <i>Chortoglyphus arcuatus</i> .....	1*
Saproglyphidae .....	1*+16
Glycyphagidae	
? <i>Glycyphagus destructor</i> .....	1
<i>Glycyphagus domesticus</i> .....	1
? <i>Glycyphagus domesticus</i> .....	2
? Hypopus of Glycyphagidae .....	1
Pyroglyphidae	
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> .....	341*+191
<i>Dermatophagoides farinae</i> .....	1067*+599
<i>Dermatophagoides</i> .....	28*+38
<i>Euroglyphus maynei</i> .....	5*+15
? <i>Euroglyphus maynei</i> .....	1
Psoroptidia .....	1
Oribatei	
Haplochthoniidae .....	1*+17
Cosmochthoniidae	
<i>Cosmochthonius</i> .....	25
Malaconothridae	
<i>Trimalaconothrus</i> sp. ....	1
Tectocephidae	
<i>Tectocephus velatus</i> .....	2
Oppiidae	
<i>Oppia</i> spp. ....	1*+4
Oribatulidae	
<i>Oribatula sakamorii</i> .....	3
<i>Oribatula</i> sp. ....	1
<i>Scheloribates</i> sp. ....	1
<i>Zygoribatula truncata</i> .....	5
<i>Incabates</i> sp. ....	1
Haplozetidae	
<i>Peloribates</i> sp. ....	1
Oripodidae	
<i>Oripoda</i> sp. ....	1
Others, nymph .....	1
Total .....	3041~

\*—Individuals regarded as living.

Others were regarded as dead.

Table 2. Lists of Insecta and Araneina collected from dusts of twelve theaters, Tokyo, August 1976

Orthoptera	
Blattoidea	
<i>Blattella germanica</i> .....	28
? <i>Blattella germanica</i> .....	1
<i>Blattella germanica</i> , egg capsule .....	1
Others .....	18
Coleoptera	
Silvanidae	
<i>Oryzaephilus surinamensis</i> , adult .....	5
<i>Oryzaephilus surinamensis</i> , larva .....	5*+37
Tenebrionidae	
<i>Tribolium castaneum</i> , adult .....	3
Ptinidae	
<i>Gibbium psylloides</i> , adult .....	14
Dermeestidae	
<i>Anthrenus verbasci</i> , adult .....	1
<i>Anthrenus verbasci</i> , larva .....	1
Anobiidae	
<i>Lasioderma serricorne</i> , adult .....	60
? <i>Lasioderma serricorne</i> , adult .....	1
Others, adult .....	5
? Derodontidae, adult .....	1
Others of Coleoptera, adult .....	1
Others of Coleoptera, larva .....	68*+44
Lepidoptera, adult .....	1
Pyrilidae	
<i>Plodia interpunctella</i> , larva .....	1
? <i>Plodia interpunctella</i> , larva .....	2
Others, larva .....	2*+8
Psocoptera	
Liposcelidae	
<i>Liposcelis bostrychophilus</i> .....	109
<i>Liposcelis simulans</i> .....	17
<i>Liposcelis entomophilus</i> .....	21
Others (mostly, Liposcelidae) .....	4*+153~
Diptera	
Muscidae, adult .....	2
Drosophilidae, adult .....	5
Drosophilidae, pupa .....	1
Culicidae, adult .....	2
Others .....	3
Hemiptera .....	1
Hymenoptera	
Formicidae .....	2
Collembola .....	18*+41
Araneina .....	1
Total .....	688~

\*—Individuals regarded as living.

Others were regarded as dead.

Table 3. Distribution of *Ornithonyssus bacoti* at seats and floors of theaters, Tokyo, August 1976

No. of theater	Show-hall		Lobby		Food-stand
	Seat	Floor	Seat	Floor	Floor
5	1	0	0	0	1
7	0	0	0	3	0
8	0	0	0	1	0
9	0	0	1	0	0

Note: All individuals were regarded as dead.

表2は採取された昆虫とクモの表である。生と見なされたものについては、種類不明の鞘翅目の幼虫68匹\*, トビムシ類 Collembola 18\* 匹などが採取された。もっとも多く採取された種類は冬の調査と同様にチャタテムシで、コナチャタテ科 Liposcelidae に属するヒラタチャタテ *Liposcelis bostrychophilus* その他の死骸が多数採取され、その中には頭だけの死骸が多数あった。

表3は、吸血性のイエダニ *Ornithonyssus bacoti* を採取場所別に示したもので、数は少なく、すべて死骸で、4か所の興行場に散見された。

表4は、チリダニ類の場所別の分布を第2報の1月の調査と今回の8月の調査について示したものである。8月調査の映写場内の客席、ロビーの客席で多数のチリダニが採取された。ビニール製の客席(V)よりもフェルトまたは布製の客席(F)の方が、チリダニが多く採取される傾向が見られた。

表5は、チリダニ以外で多数採取されたケナガコナダニ、ホコリダニ、チャタテムシの分布を示したものである。ケナガコナダニの生と見なされたものが、No. 5, 9の興行場の映写場内の床に多く採取された。ホコリダニはNo. 2の興行場の売店床に多く、チャタテムシは冬の調査と同様に、客席よりも床に多く採取された。

No. 8, 10, 12の3興行場のロビーの床あるいは売店床はジュータンが敷いてあり、その他の興行場はPタイル、コンクリートなどであったが、No. 8の興行場のジュータンに昆虫類がやや多く取れたほかは、ジュータンにダニ、昆虫が特に多いことはなかった。

## 3. デンドログラムによる場所別のダニ、昆虫相の検討

3.1 デンドログラムの作成方法 Sokal and Sneath (1963)<sup>9)</sup>の計算方法に従った。Original data matrixの operational taxonomic unit(OTU)に客席、床別または興行場別をとり、characterにダニ、昆虫の種類をとった。表6は客席、床別の original data matrix を示したもので、matrix内の数値は、各興行場におけるダ

Table 4. Distribution of Pyroglyphidae at seats and floors of twelve theaters, Tokyo, January and August 1976

No. of theater	Show-hall						Lobby						Food-stand	
	Seat			Floor			Seat			Floor			Floor	
	Jan.	Aug.		Jan.	Aug.		Jan.	Aug.		Jan.	Aug.	Jan.	Aug.	
1	F	4	F 3*+5	0	3	V+F	6	V	14*+1	1	1	3	5*+7	
2	F	1	F 11*+3	1	2*+2	V+F	1	V	6*+0	0	2	3	1*+2	
3	F	14	F 10*+17	1	1	V	0	V	1*+3	1	4	0	1	
4	F	9	F 45*+28	1	1	F	3	F	176*+14	0	2*+1	0	2	
5	F	10	F 32*+31	1	3*+0	V	1	V	1*+2	2	1*+4	2	0	
6	V	0	V	4	1	1*+2	V	1	V	1	7	1*+2	1	0
7	V	0	V	1	2	0	V	2	V	0	0	2*+4	1	1
8	F	1*+10	F	14	0	4*+2	V	0	V	1	8	1*+1	3	4
9	F	17	F 43*+14	1	13*+10	V	3	V+F	9*+10	1	2	1*+2	1	
10	F	12	F 116*+72	9	3*+9	V	9	V	2*+3	0	0	0	5*+9	
11	F	4	F 25*+16	25	2*+11	V+F	18	F	674*+336	0	2*+10	1	0	
12	F	55	F 217*+134	9	27	V	8	V	1*+3	1	4*+4	1	3*+1	

Note: F—Felt or cloth seats, V—Vinyl seats, V+F—Vinyl seats and felt or cloth seats.

\*—Individuals regarded as living. Others were regarded as dead.

Table 5. Distribution of *Tyrophagus putrescentiae*, Tarsonemidae and Psocoptera at seats and floors of twelve theaters, Tokyo, August 1976

No. of theater	Show-hall						Lobby						Floor of food-stand		
	Seat			Floor			Seat			Floor			Floor of food-stand		
	T.p.	Tar.	Pso.	T.p.	Tar.	Pso.	T.p.	Tar.	Pso.	T.p.	Tar.	Pso.	T.p.	Tar.	Pso.
1	0	0	1	0	0	15	0	3	1*+2	5	2	4	0	0	11
2	0	1	0	0	2	8	0	1*+10	0	2*+2	2*+4	4	1*+5	9*+33~2*+7~	
3	0	0	3	0	0	3	3*+0	0	1	1*+3	0	8	2	0	5
4	1	1	0	2	0	19	0	2	2	1*+0	0	4	0	0	1*+17
5	3*+3	2	5	52*+45	0	2	1	0	0	6*+16	2	8	1*+4	0	0
6	2*+2	0	0	1	0	4	1	0	0	1*+0	1	12	1	0	3
7	0	0	0	2	0	22	2*+3	0	1	1*+31	8	3	2	0	2
8	0	3	2	0	0	0	1	0	0	0	3	16	0	0	4
9	0	0	2	15*+14	0	12	3*+0	0	1	0	1	20	5	0	8
10	0	4	1	0	2	1	0	0	1	0	0	4	0	0	3
11	0	8	0	0	0	2	0	6	1	0	0	26	1*+7	0	2
12	0	13	0	17	2	5	0	0	2	0	1	0	0	0	11
Total	11	32	14	148	6	93	14	22	12	69	24	109	29	42~	76~

Note: T. p.—*Tyrophagus putrescentiae*, Tar.—Tarsonemidae, Pso.—Psocoptera

\*—Individuals regarded as living.

Table 6. Original data matrix for operational taxonomic units of five places (seats and floors) of theaters and thirty-three characters of Acarina and Insecta, August 1976

Characters	OTU				
	1	2	3	4	5
Acarina and Insecta	1	2	3	4	5
<i>O. bacoti</i>	301	0	301	903	301
<i>Proctolaelaps</i>	0	301	903	1681	602
<i>B. keegani</i>	602	1982	1544	903	1380
<i>Lasioseius</i>	0	0	0	602	1556
Others of Ascidae	0	602	0	301	301
<i>Kleemannia</i>	301	1079	301	2079	1477
Phytoseiidae	301	1204	602	1806	1681
Laelapidae	0	778	0	1982	778
Tarsonemidae	4480	1431	3003	4258	1633
Tydeidae	0	301	301	2659	2350
<i>Cheyletus</i>	2334	2408	0	1556	903
Others of Cheyletidae	0	0	301	1342	301
<i>Histiostoma</i>	0	301	778	903	602
<i>T. putrescentiae</i>	1845	5979	2885	5658	4611
<i>C. arcuatus</i>	301	602	903	0	0
Saproglyphidae	0	0	954	301	1114
Glycyphagidae	602	301	0	0	301
<i>D. pteronyssinus</i>	14184	4431	6719	3112	2380
<i>D. farinae</i>	13030	7383	9688	6036	4003
<i>E. maynei</i>	3362	0	602	301	477
Cosmochthoniidae	903	778	301	2651	903
Haplochthoniidae	301	1477	0	1732	301
Others of Oribatei	0	1204	602	1255	2681
Blattoidea	0	1301	1079	2635	4288
<i>O. surinamensis</i>	0	602	1477	2736	301
<i>T. castaneum</i>	0	0	0	301	602
<i>G. psylloides</i>	0	301	301	1301	1204
<i>L. serricorne</i>	0	477	477	2358	1653
Others of Coleoptera	0	3644	1944	2659	1623
Lepidoptera	301	602	602	1748	0
Diptera	0	301	1806	1204	301
Psocoptera	2936	9269	3061	10404	9026
Collembola	0	778	602	4730	1431

Value in matrix—Values given by the computation that numbers  $x$  of Acarina and Insecta at each of theaters are transformed to  $10^3 \times \log(1+x)$  and totaled.

OTU—Operational taxonomic units.

- 1—Seats of the show-hall.
- 2—Floors of the show-hall.
- 3—Seats of the lobby.
- 4—Floors of the lobby.
- 5—Floors of the food-stand.

ニ、昆虫の採集数  $x$  を  $10^3 \times \log(1+x)$  に変換して合計した値である。

コンピュータにより、matrix内の数値は各characterごとに標準化され、相関係数および距離係数 distance coefficient (平均の相違距離を現わす) がそれぞれ計算され、相関係数については weighted variable-group methodにより、距離係数については weighted pair-group methodによりそれぞれ分類群が形成された。ダニ、昆虫相に関する各 OTU についてのデンドログラム (類似関係を現わす樹状図) が、それらにもとづいて作成された。

3.2 デンドログラム 客席、床別についてのデンドログラムでは、相関係数の dendro. (図1) で映写場内およびロビーの2つの客席が一群となり、一方、映写場内、ロビーおよび売店付近の3つの床が一群を形成したが、距離係数の dendro. (図3) ではそれとことなり、客席の群、床の群が形成されなかった。興行場別のデンドログラムでは、相関係数および距離係数の両方の dendro. (図2, 4) で、No. 1, 7, 2の3つの興行場、No. 10, 11, 12の3つの興行場がそれぞれ群を形成し、それら群内の興行場のダニ、昆虫相の類似性を示した。

#### 4. 考 察

第1, 2報に述べたごとく、検査工程におけるダニの紛失 (Spieksma et al. 1967<sup>10)</sup>, 大島1970<sup>2)</sup>, 1971<sup>11)</sup>, 1973<sup>12)</sup>, 篠原ら1970<sup>13)</sup> 参照), 見落としなどが考えられるが、一定の採集、検査方法に従っているので、各場所のダニ、昆虫の量的比較はある程度可能と考えられる。

4.1 結果についての考察 テリダニ類の場所別分布を示す表4において、1月の冬の調査と8月の夏の調査のテリダニ数の差が有意であるかどうかをしらべるために、対応する sample の差の  $t$ -検定を行った。計算には、正規分布に近づけるためにテリダニ数  $x$  を  $\log(1+x)$  に変換して行った。その結果、映写場内の床の生+死のテリダニ数、売店床の生または生+死のテリダニ数の項目を除いたすべての項目で、5%レベルで有意な差があった。すなわち、それらについて夏と冬の間のちがいが認められた。

また表4の夏の調査において、ビニール製の客席(V)よりも、フェルトまたは布製の客席(F)にテリダニが多いことが、 $\log(1+x)$  に変換した値についての平均値の差の検定、相関係数の検定により認められた。

テリダニが床よりも客席に多いこと、チャタテムシが客席よりも床に多いこともまた、 $\log(1+x)$  に変換した値についての平均値の差の検定 (Cochran and Coxの approximate test) により認められた。テリダニが床よ

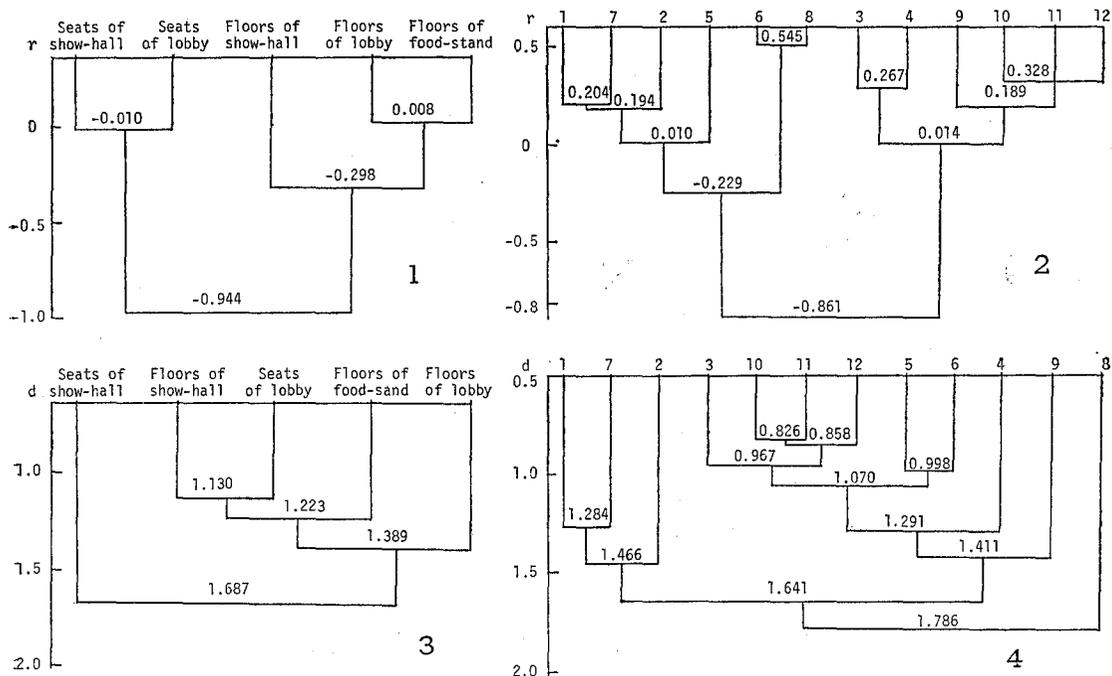


Fig. 1~4. Dendrograms (dendro.) of correlation coefficient (r) and dendro. of distance coefficient (d), regarding mite and insect fauna, Tokyo, August 1976

- 1 : Dendro. of r among seats and floors,
- 3 : Dendro. of d among seats and floors,

- 2 : Dendro. of r among No. 1~12 theaters,
- 4 : Dendro. of d among No.1~12 theaters.

りも客席に多かったことは、人が客席に腰をかけあるいはロビーの長い客席に横になって客席に接触することが原因と考えられた。これは、家屋内において、チリダニの食物となる人の頭のフケなどの多い寝台（敷きぶとんなど）が他の場所よりもチリダニが多いという報告 (Furumizo 1973<sup>3)</sup>, Bronswijk 1973<sup>4)</sup>) と対応している。

興行場のゴミの中のダニ、昆虫相と、家屋、学校などのゴミの中のダニ、昆虫相との間に、大きなちがいは存在しないように考えられた。

4.2 デンドログラムについての考察 筆者らの第1<sup>7)</sup>, 2<sup>8)</sup> 報のデンドログラムは、本報の表6のような  $\log(1+x)$  scale の original data matrix から作成されずに、ダニ、昆虫が存在したかしないかの単純な数値 (1または0), または5を底とする対数のround number からえられた original data matrix から作成された。original data matrix の数値にどの scaleを用いるかによって、デンドログラムの形が多少ことなるが、本報の  $\log(1+x)$  scaleの方が、第1, 2報の scaleよりも、より詳しく、適当した matrix を現わすものと考えられた。

興行場別のデンドログラム (図2, 4) で、No. 1, 7, 2の3つの興行場、No.10, 11, 12の3つの興行場がそれぞれダニ、昆虫相の類似性を示して群を形成した。No. 10, 11, 12の興行場の共通点の1つとして、チリダニ類に属するヒヨウヒダニ *Dermatophagoides* が多数とれたことが考えられた。No. 1, 7, 2の3つの興行場の共通点としては、ササラダニ類に属する *Haplochthoniidae*, カザリヒワダニ科 *Cosmochthoniidae* などがやや多くとれたことが考えられた。これらNo. 1, 7, 2の興行場の中にあつたコンクリートの床は、他の興行場の床がほとんどタイル製またはジュータンが敷いてあつたので、一つの共通点のように考えられた。しかし、ササラダニ類がすべてのコンクリートの床に多いということはなかつた。

### 5. 総括

(1) 1976年8月下旬に、第2報 (冬の調査) と同一の都内12か所の興行場の、客席、床からゴミを集め、ゴミの中のダニ、昆虫相をしらべた。ダニ、微小昆虫は、遠心分離機使用による水、飽和食塩水浮遊法によって採取した。

(2) ダニは29科に属する少なくとも47種以上、昆虫は

15科に属する少なくとも19種以上が採取された。多数とれた種類は、チリダニ類に属するヒヨウヒダニ類、ケナガコナダニ、ホコリダニ、チャタテムシなどであった。今回の夏の調査では、冬の調査よりも生と見なされたものが多くとれ、特にヒヨウヒダニは生きていたものが多数発見された。イエダニは少数で、すべて死骸であった。

(3) チリダニ類は、客席その他の場所で今回の夏の調査の方が第2報の冬の調査よりもより数の多いこと、また夏の調査で、フェルト、布製の客席がビニール製の客席よりもチリダニの多いことが統計上から認められた。チリダニ類が床よりも客席に多いこと、チャタテムシ(ほとんど死骸)が客席よりも床に多いことも統計上から認められた。

(4) 場所別のダニ、昆虫相の類似関係の検討を、デンドログラム(類似関係を現わす樹状図)を作成して行った。相関係数および距離係数の両方のデンドログラムで、同一の3か所の興行場からなる群が2つ形成された。1つの群の興行場間の共通点として、チリダニの多いこと、他の群の興行場間の共通点として、ササラダニ類(Haplochthoniidae, Cosmochthoniidae)がやや多いことなどが考えられた。

謝辞 鞘翅目昆虫の同定について援助をいただいた国際衛生株式会社原田豊秋博士に厚く感謝する。

(本研究の概要は第29回日本衛生動物学会大会1977年4月で発表した。)

#### 文 献

- 1) 大島司郎：衛生動物, 15(4), 233, 1964
- 2) Oshima, S. : *Jap. J. Sanit. Zool.*, 21(1), 1, 1970
- 3) 宮本詢子, 大内忠行：衛生動物, 27(3), 251, 1976
- 4) Bronswijk, J. E. M. H. van : *J. Med. Ent.*, 10(1), 63, 1973
- 5) Furumizo, R. T. : Ph. D. dissertation, University of California, Riverside, 19, 1973
- 6) Wharton, G. W. : *J. Med. Ent.*, 12(6), 577, 1976
- 7) 中田英吉, 千種翠：東京衛研年報, 26-1, 280, 1975
- 8) 中田英吉, 吉川翠：東京衛研年報, 27-1, 264, 1976
- 9) Sokal, R. R. and P. H. A. Sneath : *Principles of numerical taxonomy*, 290, 1963, W. H. Freeman and Co., San Francisco
- 10) Spieksma, F. Th. M. and M. I. A. Spieksma-Boezeman : *Acarologia*, 9(1), 226, 1967
- 11) 大島司郎：衛生動物学の進歩, 第1集, 203, 1971, 学術書出版会, 東京
- 12) 大島司郎：都市設備研究, 4, 20, 1973
- 13) 篠原茂文, 佐々 学, 宮本詢子, 白坂昭子：衛生動物, 21(3), 166, 1970

飲料水の安全性に関する研究 (第2報) 水道水中の中性有機物質

高橋 保雄\*, 森田 昌敏\*, 三村 秀一\*

Studies on the Safety of Drinking Water (II)  
Neutral Organic Compounds in Supplied Water

YASUO TAKAHASHI\*, MASATOSHI MORITA\* and SHUICHI MIMURA\*

Trace organic compounds in supplied water were concentrated by CCE method (carbon chloroform extraction). After washing with 10% aqueous potassium carbonate and 1% hydrochloric acid and a fractionation with Floridil column chromatography, the extract was analysed by means of gaschromatography-massspectrometry. 43 peaks were found on the gaschromatograms and 21 substances including phthalic ester acids and aliphatic ester acids were identified.

緒 言

河川の水質汚濁の激化に伴い、その影響は水道水についても注意しなければならない。その汚濁パターンの中でも、特に有機物による汚濁を把握することは飲料水の安全性を評価、ならびに、適切な水処理を行うためにも極めて重要である。

最近、ガスクロマトグラフィーマスマスペクトロメーター(以下GC-MSと略す)を用いて、水中の有機物を分離・同定する方法が一般化され、報告<sup>1-5)</sup>されつつある。その場合、水中に含まれる有機物が微量のため、試料の濃縮操作が必要となる。濃縮法として、大別すると、有機溶媒による抽出法と吸着剤を使用する方法の二通りがある。前報で森田ら<sup>6)</sup>はエーテル抽出法、イオン交換樹脂法による濃縮法を報告している。

今回、筆者らは更に極微量の各種有機物を検索するため、活性炭による濃縮法を採用して、水道水中の中性有機物の同定を行ったので、報告する。

試 薬 と 機 器

I 試薬 活性炭：オルガノ株式会社から販売されている粒状40-60メッシュ使用、クロロホルム：和光純薬特級を蒸留して使用、フロリジル：Floridin社100-200メッシュを630°4時間焼成し活性化して使用、無水硫酸ナトリウム：和光純薬残留農薬試験用、エーテル：関東化学の水道水ブンセキ用、ヘキサン：Mallinckrodt nanograde、塩酸：和光純薬精密分析用、炭酸カリウム：和光純薬特級、水：蒸留水。

II 質量分析器 GC-MS島津LKB9000を使用し、その使用条件は次の通り。カラム：3%OV-225 2m×3mmφ、カラム温度：100→190° 毎分5°昇温、検出器：TIC、キャリアーガス：ヘリウム、キャリアーガス流量：31ml/min、イオン化電圧：70eV、インジェクション温度：290°、1次スリット：0.1mm、2次スリット：0.1mm。

実 験 方 法

活性炭500gを水道水と混ぜ、エバポレーターで空気が抜けて、カラムに直径8cm、高さ20.5cmに充填する。この活性炭カラムに水道水を約5l/hourの速度で約1000lを通す。カラムより活性炭を取り出し、乾燥器に入れ約24時間、50-60°で乾燥させる。この乾燥済の活性炭をソックスレー抽出器に入れ、500mlのクロロホルムを用いて24時間抽出を行う。このクロロホルムを10%炭酸カリウム溶液20mlで1分間振とうの洗滌を2回行う。次に1%塩酸溶液20mlを用いて同様の操作を行う。この洗滌により酸性有機物、アルカリ有機物が取り除かれ、中性有機物が残る。このクロロホルムを無水硫酸ナトリウムで脱水し、約5mlまで濃縮を行う。この濃縮液にヘキサン10mlを加えて約5mlまで濃縮する。同様に、この操作を2回繰返し、ヘキサンに転溶する。この転溶液を約1mlまで濃縮する。

この濃縮液を直径1cm、高さ27cmのフロリジルカラム(ただし、その上端部分に高さ1cm無水硫酸ナトリウムを乗せたもの)にかけ分画する。その時のフラクシ

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

で密封して電気炉で焼成する方法がある。その内、活性炭を溶媒などで洗滌することは、水中の極性の高い有機物を対象に考えた場合、活性炭の吸着容量が減少するものと考えられる。その点、活性炭を焼成する方法が得である。

一般に中性有機物は水道水中に余りにも多種類含まれているために、ガスクロマトグラフィーによる分離が不十分とされている。そこで、フロリジルカラムで分画した後、GC-MSに注入した。しかし、Fig. 1のブランクとサンプルのフラクション1、サンプルのフラクション8のガスクロマトグラフィーの分離は非常に悪い。試料の濃縮を更に高めることが出来るならば、分離能の非常に高いキャピラリカラムを用いると、サンプルのフラクション8は完全に分離される可能性が高い。

以上二点について、今後、更に詳細に検討する必要がある。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「飲料水の安全性に関する研究」として実施し、その概要は公衆

衛生学会第35回岐阜大会1976年10月で発表した。)

文 献

- 1) Mieure, J. P. and M. W. Dietrich : *J. Chromato. Sci.*, 11, 559, 1973
- 2) Grob, K. and G. Grob : *J. Chromatogr.*, 62, 1, 1971  
Grob, K. : *J. Chromatogr.*, 84, 255, 1973  
Grob, K. and G. Grob : *J. Chromatogr.*, 90, 303, 1974
- 3) Hietes, R. A. : *J. Chromato. Sci.*, 11, 570, 1973
- 4) Burnham, A.K., G. V. Calder, and J. S. Fritz : *JAWWA NOV*, 722, 1973
- 5) Dowty, B. J., D. R. Carlisle, and J. L. Laseter : *Envirn. Sci. Tec.*, 9, 762, 1975
- 6) 森田昌敏, 三村秀一 : 東京衛研年報, 25, 393, 1974
- 7) Draft analytical report new orleans area supply study
- 8) 「5070の化学商品」(化学工業社, 1971)

飲料水の安全性に関する研究 (第3報) シアン錯体のコイ幼魚に対する毒性

森田昌敏\*, 三村秀一\*

Studies on the Safety of Drinking Water (III)  
Acute Toxicity of Metal Cyanide Complexes to Juvenile Carp

MASATOSHI MORITA\* and SHUICHI MIMURA\*

緒 論

シアン化合物は古くからその強い毒性が知られており、既に1930年代に河川に放出される主な有害物の一つであることが指摘されている。シアン化アルカリの魚毒性についてはかなり数多くの報告があり、魚種によって幾分異なるが、半数致死濃度は0.1ppm 付近にある<sup>1-5)</sup>。シアン化アルカリの急性毒性は第一義的には呼吸阻害と考えられている<sup>6)</sup>。

シアンイオンは遷移金属化合物としばしば安定な錯化合物を生成する。生成したシアン錯体の毒性はもとのシアンあるいは金属イオンよりも毒性が弱いことが多く、従って金属イオンを添加することにより、シアンの毒性を一部緩和することが出来る。Milneはシアン含有水にニッケル塩を添加することは排水処理として役立つと述べている<sup>7)</sup>、また鉄塩(Ⅱ, Ⅲ)の添加も提案されている<sup>8)</sup>。これらの錯形成による毒性の軽減は、むしろ金属による2次汚染等が考えられるため環境工学的には推奨できるものではないが、毒物学的には興味深いものである。Doudoroffは、これらの金属共存下での毒性も多くの場合、水溶液中に解離したシアン化水素(HCN)量により急性毒性が発現することを報告している<sup>9,10)</sup>。

排水基準としてシアンは厳しく規制されている。これは主として河川に棲む魚類に対する影響を考慮したものである。全シアンとして公定法により測定されるシアン量は、魚毒性に直接関係しているFreeのHCN量ではなくて、錯体となって含有されているシアンも含まれている。従って、例えばメッキ工場から排出された排水中の全シアン値と魚毒性とは直接の関係がないことになる。もちろんシアン全体の規制も重要であるが、同時に個々のシアン錯体の環境における挙動と、その毒物学的役割についてのきめ細かい知識の集積も重要なものと考えられる。シアン錯体の魚毒性については、2, 3の報告があるが<sup>5,9,10)</sup>、いずれもかなり古い外国産の魚での

データであったり、用いた錯体溶液の作り方が純粋な錯体溶液とは考えにくい等、必ずしも十分なものとはいえない。本研究の中で筆者らは純粋なシアン錯体を調製し、コイの幼魚に投与することにより、その半数致死濃度を決定した。同時にシアン錯体の安定性と毒性について考察を試みたので報告する。

実 験

試薬

シアン化カリウム 市販特級試薬を開栓後直ちに使用した。

シアン錯化合物 以下の錯塩は使用の直前に2回脱イオン蒸留水を用いて再結晶し暗所で風乾後使用した。

ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウム、ヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸カリウム 市販特級試薬。テトラシアノニッケル酸カリウム、テトラシアノ銅酸カリウム、ヘキサシアノコバルト酸カリウム 鍍金用最純試薬。テトラシアノ亜鉛酸カリウム 硫酸亜鉛とシアン化カリウム(いずれも特級)を用いて合成

水 コイの飼育に使用した水は、研究所に配管されている水道水を活性炭筒を通して、脱塩素して用いた。水温は約18°付近であった。pHは通常6.8であった。

コイ 都水産試験所より入手した幼魚(体長6-8cm 平均7cm)を用いた。

水槽 60cm×30cm×36cm 内容積57lのガラス製水槽を使用し、エアープンプを用いて終日エアレーションを行った。

半数致死濃度(TLm)の決定 あらかじめ少数のコイを用いて求めた概略濃度を中心として、1.5倍の公比で5段階濃度の水を調製した。一群10匹のコイを用いて、24時間後、96時間後の生存匹数を数え、生存数曲線をグラフにとり、半数致死濃度を決定した。

結果と考察

シアン化カリウムの急性魚毒性 今回実験に用いたコ

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

イ幼魚のシアン化カリウムによる半数致死濃度 (TLm<sup>24hr</sup>) は 0.17ppm であった。Bluegill では 0.17ppm という値が報告されており、同じような感受性と考えられる。0.12ppm のシアン濃度では 24 時間以内にコイは全く死亡せず、0.15ppm のシアン濃度ではじめて死亡するコイが出現した。従って致死閾値 (明らかに毒性が認められる最少の濃度) はコイにおいては 0.15 ppm

表 1. シアン化アルカリの致死閾値

魚種	水温 °C	時間 hour	CN濃度 ppm	文献
Rainbow Trout	17.5	74	0.07	1)
Speckled Trout	—	120	0.05	2)
White Crappie	25	24	0.05	3)
Yellowbelly	25	24	0.08	3)
Bluegill	25	24	0.09	3)
Largemouth Bass	25	24	0.11	3)
Minnow	15	10	0.10	4)
Perch	15	17	0.13	4)
Tench	15	48	0.20	4)
Chub	15	48	0.22	4)
Fathead minnow	20	96	0.23	5)

であった。表 1 は既に報告されている魚種の致死閾値を示す。飼育条件 (水温, pH など) の相違があるため、一概には比較はできないが、魚種により、いくぶんシアン感受性が異なるようである。シアンは呼吸毒であり、コイが低酸素状態でも生棲しうる比較的汚染に強い魚であることを考えると、コイはシアンに対して比較的耐性のある魚種とも考えられる。実際に今回求められたコイの致死閾値 0.15ppm を、表 1 で比較すると、Trout の仲間より、シアンに強いと云うことが出来る。

テトラシアノ亜鉛酸カリウム, テトラシアノ銅酸カリウム, テトラシアノニッケル酸カリウムの魚毒性 表 2 にこれら錯体の半数致死濃度を示す。これらの錯体は比較的不安定であり、(熱力学的及び速度論的な意味において) 水溶液にしたとき錯体の解離により Free の HCN を生成する。毒性は  $Zn(CN)_4^{2-} > Cu(CN)_4^{3-} > Ni(CN)_4^{2-}$  の順になっており、これは錯体の安定性と逆の順序となっている。Doudoroff 等の主張するように、シアン錯体の急性毒性が溶液内の HCN 濃度をかなり厳密に反映するものであれば、魚毒性より錯体の安定度を求めることが出来る。HCN による致死濃度を Co(中性付近においては  $CN^-$  はほとんど存在せず HCN となっているので KCN の致死濃度より求められる。),

表 2. テトラシアノ亜鉛酸カリウム, テトラシアノ銅酸カリウム, テトラシアノニッケル酸カリウムのコイに対する急性毒性

	TLm <sup>24hr</sup>	TLm <sup>96hr</sup>
$K_2Zn(CN)_4$ Mwt. 249.6	3.2 $\mu$ eq (0.33ppm)	2.1 $\mu$ eq (0.22ppm)
$K_2Cu(CN)_4$ Mwt. 284.9	5.0 $\mu$ eq (0.52ppm)	— (—)
$K_2Ni(CN)_4 \cdot H_2O$ Mwt. 259.0	2000 $\mu$ eq (210ppm)	550 $\mu$ eq (57ppm)

上段は錯体濃度 (単位  $\mu$  当量), 下段 ( ) 内は全シアン濃度

他の金属錯体の半数致死濃度を Cm, 水素イオン濃度 (pH) を  $\alpha$ , HCN の安定度定数を Ka, 四配位錯体の安定度定数を  $\beta_4$  とすると、これらのパラメーターの間には次の関係がある。

$$\beta_4 = \log \left\{ \frac{C_m}{Co^5} \cdot \frac{10^{4(Ka-\alpha)}}{1+10^{a-Ka}} \right\}$$

この場合、他の化学種の毒性が無視されている。カリウムイオン, 銅イオン, ニッケルイオン, 亜鉛イオンの毒性はシアンに比べて低く、相乗的效果がなければ無視できる。このようにして計算した安定度定数を他の物理化学的手法で求められた値<sup>11)</sup>と比較してみると表 3 のよう

表 3. テトラシアノ錯体の安定度定数 ( $\beta_4$ )

	魚毒性よりの計算	文献値
$K_2Zn(CN)_4$	30.4	16.9, 16.0, 19.0 16.76, 16.72
$K_2Cu(CN)_4$	30.6	27.3, 28.0, 27.56
$K_2Ni(CN)_4$	33.3	13.75, 15.46, 22.0, 31.0, 30.3 30.1

になる。余りよくは一致していないが、もともとシアン錯体の安定度定数の測定は困難なものであり、今回の魚毒性を用いた測定は興味ある Bioassay の一手法といえよう。 $\beta_4$  が他の報告のどれよりも常に大きな値ででることも注目値する。

ヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム, ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム, ヘキサシアノコバルト(III)酸カリウムの魚毒性 フェリ, フェロおよびコバルト錯体は速度論的に極めて安定であるため、水溶液にただけではほとんど HCN を生成しない。半数致死濃度, カリウムイオン濃度を表 4 に示す。この場合致死に効いているのは HCN ではなく他のイオン種も考えられる。カリウムイオンは

表 4. ヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム, ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウムおよびヘキサシアノコバルト(III)酸カリウムのコイ幼魚に対する半数致死濃度とカリウムイオン濃度

	TLm <sup>24hr</sup>	カリウム イオン	TLm <sup>48hr</sup>	カリウム イオン
K <sub>4</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> ·3H <sub>2</sub> O	3.2meq (1350)	12.8meq (500)	1.6meq (630)	6.4meq (250)
Mwt	422.4 ((500))		((250))	
K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	4.5 (1480)	13.5 (530)	1.8 (590)	5.4 (210)
Mwt	329.3 ((700))		((280))	
K <sub>3</sub> Co(CN) <sub>6</sub>	4.1 (1360)	12.3 (480)	1.9 (630)	5.7 (220)
Mwt	332.3 ((640))		((300))	

数値上段はミリ当量単位, 中段( )内は ppm 単位, 下段( )内は全シアン濃度に換算した値 (ppm 単位)

比較的強い毒性をもっており, 金魚については1ミリ当量, Straw-coloured minnow については5ミリ当量の最低致死レベルが, またトゲウオについては1週間生きられる耐性濃度として1.5ミリ当量の濃度が報告されている。従ってカリウムイオンが毒因子であるとも考えられる。24時間半数致死濃度が, 3つの錯体溶液に共通して, 13ミリ当量付近で一致しているのはカリウムが毒因子であると考えられることができる。

[M(CN)<sub>6</sub>] イオンの毒性については, 特別な知見は得られなかった。極めて毒性の弱い化学種であるとはいえよう。実験中に見られた興味ある事実は, フェロ, フェリシアン化鉄イオンを含む水の中で飼育されたコイは96時間後にはブルーのふんを排泄することである。おそらくベルシャンブルーないしはベルリンブルーの析出によるものであると考えられる。この現象が[M(CN)<sub>6</sub>]イオンの toxic effect の一部なのであるか, あるいは解毒の過程を意味しているのかは不明ではある。いずれにしても, [M(CN)<sub>6</sub>] イオンの毒作用を観察するために

は, カウンターイオンとして Na イオンを含む錯体を用いて, 長期間の観察を行なう必要があろう。

### 結 論

コイを用いて, シアン化カリウム, 各種シアン錯化合物の半数致死濃度を測定した。またこの数値を利用して, 各種シアン錯化合物の安定度定数の算出を試み興味ある結果が得られた。コイは汚染に強いと考えられていたが, シアンにも比較的強い魚種と考えられる。

謝辞 本研究を実施するにあたり, 都水産試験所の小林氏に鯉を供与して戴き, ここに感謝いたします。

(本研究は昭和51年度当研究所調査研究課題「飲料水の安全性に関する研究」として実施したものである。)

### 文 献

- 1) Herbert, D. W. M. and J. C. Merckens: *J. exp. Biol.*, 29, 632, 1952
- 2) Johes, J. R. E.: *J. exp. Biol.*, 23, 298, 1947
- 3) Renn, C.E.: *Sewage Industr. Wastes*, 27, 297, 1955
- 4) Wuhrmann, K.: *Bull. du C.B.E.D.E.*, 15, 49, 1952
- 5) Doudoroff, P.: *Sewage Industr. Wastes*, 28, 1020, 1956
- 6) Erichsen, J.: *Fish and River Pollution*, Butterworths, 1964
- 7) Milne, D.: *Sewage Industr. Wastes*, 22, 1192, 1950
- 8) 広瀬孝六郎編: 工場廃水とその処理, 技報堂, 昭和36年
- 9) Doudoroff, P., G. Leduc, and C.R. Schneider: *Trans. Am. Fisher Soc.*, 95, 6, 1966
- 10) Stumm, W., H. Woker, and H. O. Fischer: *Schweizer. Zeitschr. Hydrologie*: 16, 1, 1954
- 11) Sillen, ed.: *Stability Constant*, London Chemical Soc., 1964

飲料水の安全性に関する研究 (第4報) 水中の3,4-ベンズピレン

森田 昌敏\*, 三村 秀一\*

Studies on the Safety of Drinking Water (IV) 3,4-Benzopyrene in Water

MASATOSHI MORITA\* and SHUICHI MIMURA\*

緒 言

飲料水中にある種の発ガン性物質が出現してくることに  
ついて、重大な関心が寄せられつつある<sup>1)</sup>。中でも特  
に注目を集めているのは多環芳香族炭化水素である。環  
境中の多環芳香族炭化水素についてのデータはかなり集  
積されつつあるが、水道水をはじめとする飲料水中の含  
有量は報告が極めて少ない<sup>2)</sup>。

WHOは1971年に飲料水中の多環芳香族炭化水素の最  
大許容値を勧告している<sup>3)</sup>。飲料水の安全性に関する研  
究の中で、これらの化合物の現在のレベルを把握しておく  
ことは重要であると考えられる。本研究の中で、我々  
は、多環芳香族炭化水素の中でも最も発ガン性の強い  
3,4-ベンズピレン (BP) を河川水、水道水中について  
分析したので報告する。

分 析

サンプリング 水道原水および水道浄水は東京都水質  
センターより供与をうけた。多摩川河川水は、1976年10  
月に1ガロンガラス瓶を用いて、表層から10-30cmの  
水を採取した。採取後6時間以内に分析に供した。

抽出およびクリーンアップ 検水 1.9l を 2l の分液  
ロートにとり、n-ヘキサン 100ml を加えて、振とう器  
で20分間振とうする。n-ヘキサン層を集め KD 濃縮器  
でついで窒素ガス吹きつけ法により 500 $\mu$ l まで濃縮する。  
0.45 $\mu$ m のメンブランフィルターを用いてろ過した後、  
ろ液を高速液体クロマトグラフィーに注入する。n-ヘ  
キサンはマリンクロット社製 nanograde ヘキサンをそ  
のまま使用した。

高速液体クロマトグラフィー ウォーターズ高速液体  
クロマトグラフィーに島津製蛍光検出器 (RF 500 LC)  
を接続させて使用した。液体クロマトグラフィーの条件  
は次の通りである。

カラム Micro Bondapack C<sub>18</sub>

(1ft 1/4 inch  $\times$  1/8 inch)

溶離液 アセトニトリル+水 (70:30)

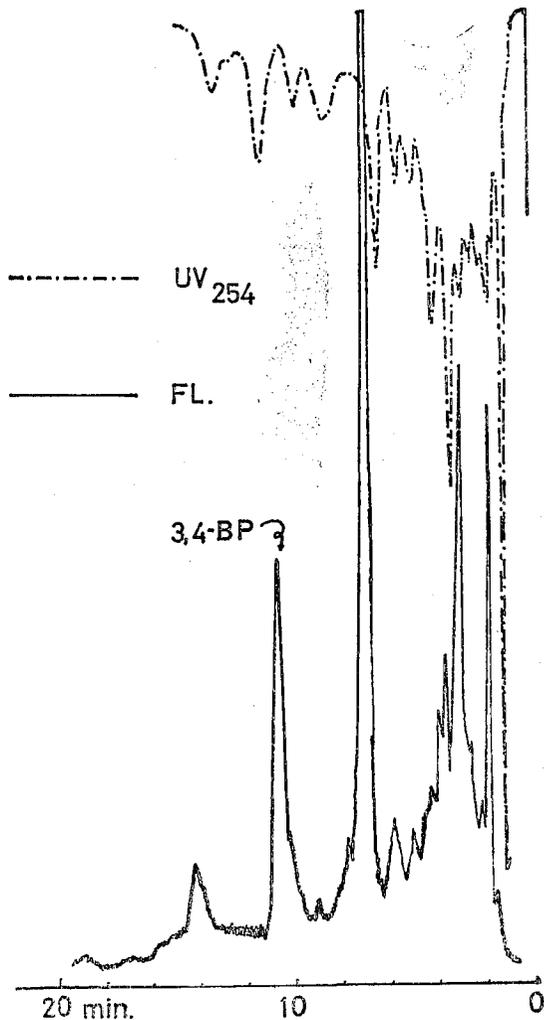


図 1. 多摩川河川水 (日野橋) のクロマトグラム

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

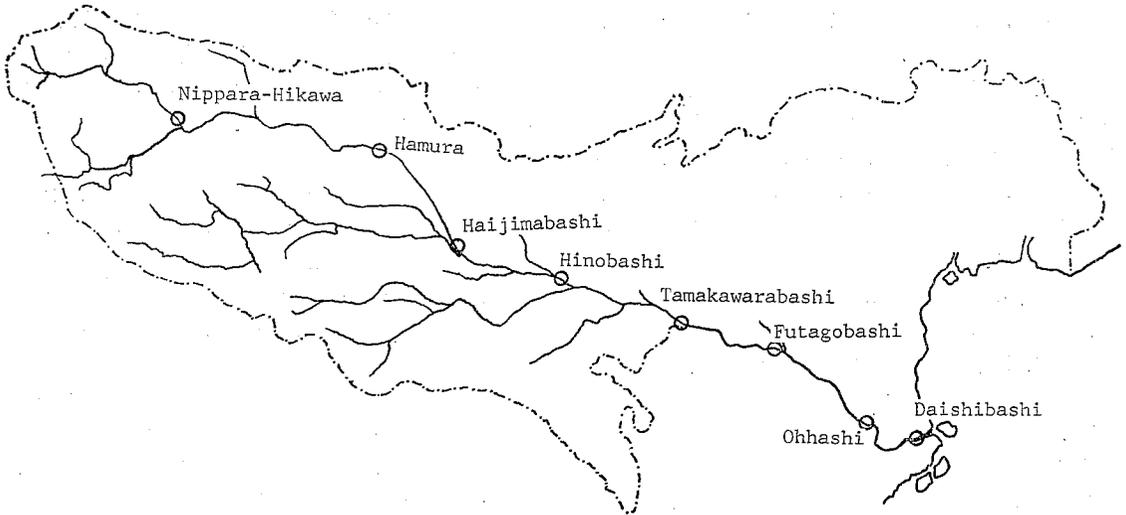


図 2. 多摩川採水地点

流 速 2ml/min  
 励起波長 366nm  
 蛍光波長 406nm

結 果

河川水に BP を 50ppt( $ng/l$ ) の濃度で添加し、回収実験を行った。3 回の実験による平均回収率は 86%、変動係数は 2.3% であった。本法による検出感度は極めて高く、最低定量下限は 0.1ppt であった。また検量線は絶対量で 10pg から 5000pg の広い範囲にわたって直線性を示した。

図 1 に河川水 (多摩川日野橋) のクロマトグラムを示す。UV 254nm でのモニターでは非常に多数のピークが出現するが、蛍光モニターではクロマトグラムは単純であり、BP は大きなピークの一つとして出現する。

図 2 に河川水のサンプリング地点、表 1 に分析値を示す。日原氷川では BP は低レベルではあるが、羽村付近ですでにかなり高いレベルとなっている。都内水道水および原水中の BP 分析値を表 2 に示す。

考 察

BP は水中には極めて低い濃度で出現するので、その分析には十分な抽出と分離の技術が必要である。過去によく用いられてきた方法は、炭化水素系の溶媒を用いて抽出し、シリカあるいはアルミナ等のカラムクロマトグラフィーにかけた後 TLC で更に分離し、蛍光光度計により定量するものであった<sup>4)</sup>。高速液体クロマトグラフィーの有用性は既に報告されているが<sup>6),7)</sup> 今回我々が行った方法で 0.1ppt の定量が可能であったことはあらためてその有用性を示すものであった。前操作のほとんど

表 1. 河川水中の 3,4-ベンズパイレン

河 川	地 点	BP( $ng/l$ )
多 摩 川	日 原 氷 川	0.1
	羽 村	1.5
	拝 島 橋	0.5
	日 野 橋	1.5
	二 子 橋	0.6
	河 原 橋	2.6
	多 摩 大 橋	1.2
	大 師 橋	0.9
Thames <sup>4)</sup>	Kew Bridge	130
	Albert Bride	160
	Tower Bridge	350
Gersprenz <sup>2),5)</sup>	Munster	9.6
Danube	Ulm	0.6
Main	Saligenstadt	1.1~6.5
Aach	Stockach	4~43
Schussen		10

表 2. 都内水道水および水道原水中の 3,4-ベンズパイレン

浄水場	種別	3,4-ベンズパイレン
Ko	原水	0.1 $ng/l$
	浄水	n.d.
Ka	原水	0.2
	浄水	tr.
A	原水	n.d.
	浄水	n.d.

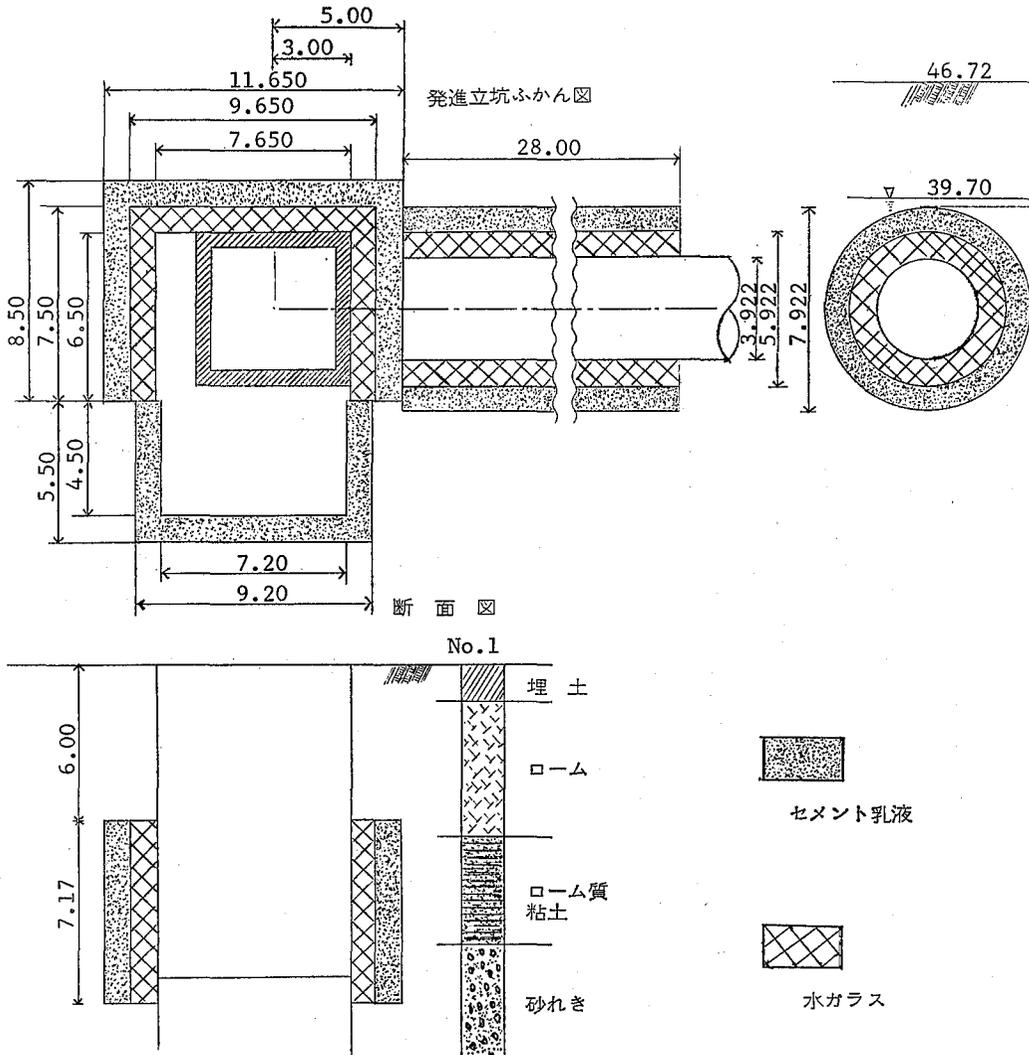


図 1. 薬液注入施行図

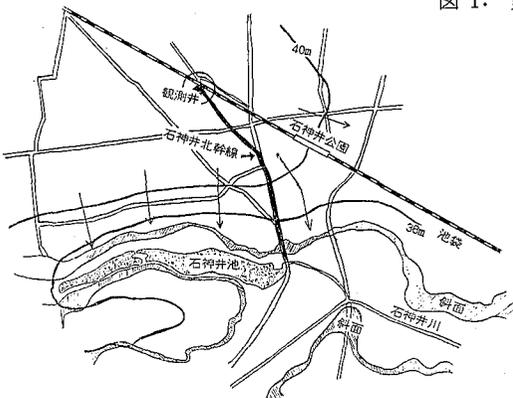


図 2. 地下水等高線図 (S44.3測定)

ム質粘土層ないしローム層と武蔵野れき層中を通過することになる。(図3) 工事箇所周辺約 150m 以内に存在する井戸は 206 本にものほり、大部分浅井戸で飲料水として使用されているものもある。これら浅井戸は武蔵野砂れき層中にまで掘り下げられており、砂れき層中の地下水を揚水している。工事中の地下水位の変動を調べるために設けられた観測井の記録および同一条件下の地盤に設置された土木技術研究所の観測井 (WELL-1, 2) の記録からも判るように地下水位は降雨量に大きく影響を受けている。(図4)

調査方法

1. 調査井戸および調査期間 発進立坑およびシールド

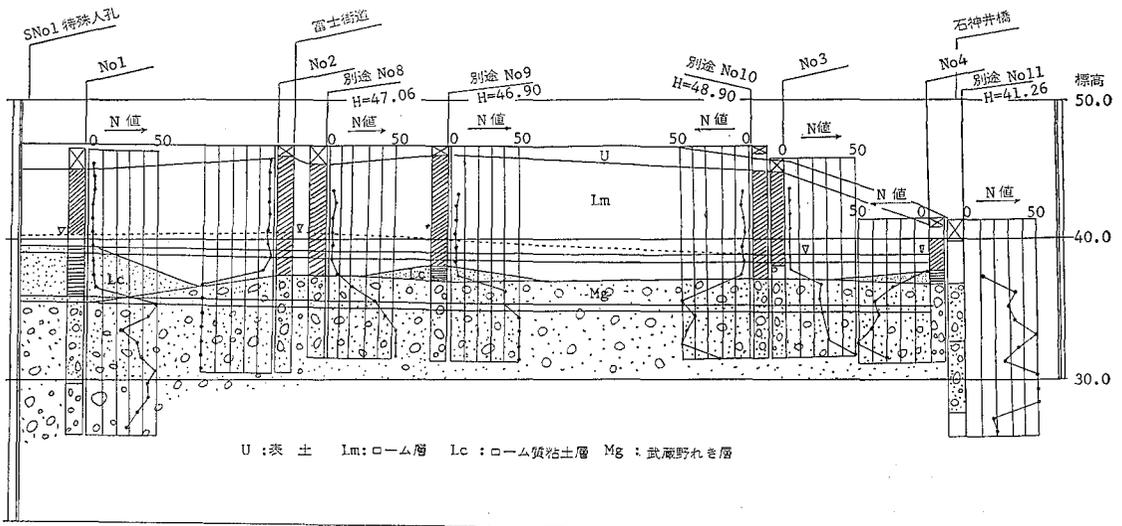


図 3. 地質断面図

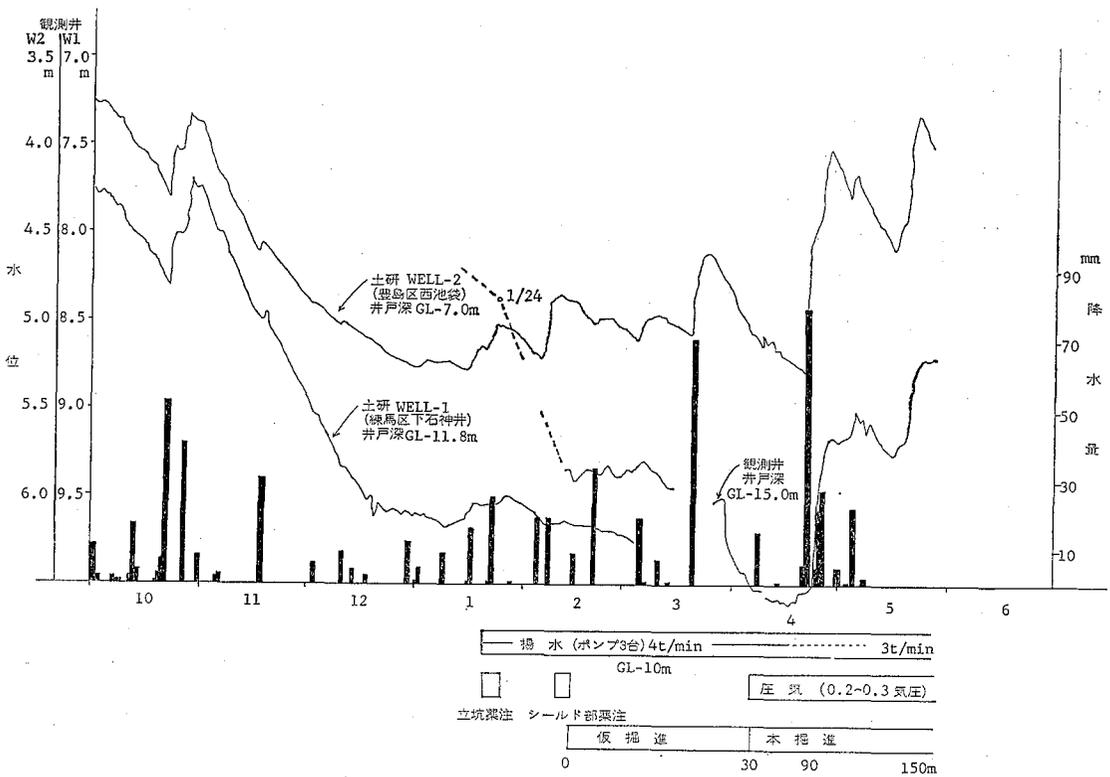


図 4. 地下水位変動図

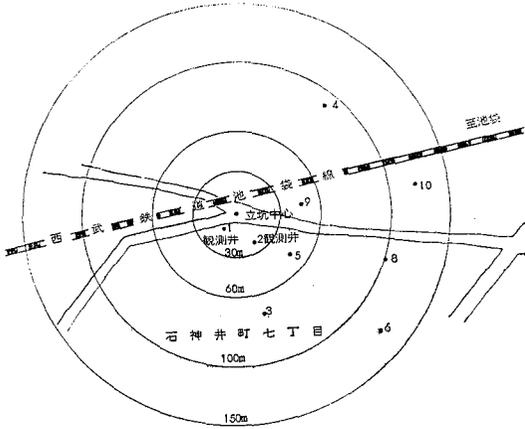


図 5. 試料採取地点

部分から図5に示す如く30m, 60m, 100m, 150mの同心円を画き, 地下水の等高線から水脈の下流にあたる民家の井戸7カ所と, 立坑から10m以内に観測井2本を設け, 計9本の井戸を調査対象とした. 試料の採取は薬注開始前1回, 薬注期間中は連日, 薬注終了後は1週間, 2週間, 1カ月, 3カ月, 6カ月目に1回とし, 1年経過後の試料をもって調査を終了した.

2. 調査項目および試験方法 けい酸ナトリウム2号成分(%) JIS K 1408: 二酸化けい素34-36, 酸化ナトリウム14-15, 鉄0.03以下, 水不溶分0.2以下およびセメント構成成分(%): 二酸化けい素19-23, 酸化カルシウム63-65, アルミナ2.5-5.7, 酸化第二鉄0.3-6.5, 酸化マグネシウム1.5, 無水硫酸1.5などと, 尿尿性汚染指標成分を考慮し, 濁度(透視比濁法), 色度(白金コバルト法), pH(比色法), 過マンガン酸カリウム消費量(酸性法), 塩素イオン(硝酸銀法), 総硬度(EDTA法), 総鉄(チオシアン酸カリウム法), カリウム(炎光光度法), ナトリウム(炎光光度法), けい酸(モリブデン黄法), リン酸イオン(モリブデン酸アンモニウム法), 硫酸イオン(EDTA法), アルミニウム(アルミノン法)の13項目について調査した.

結 果

各井戸別の分析結果を表1-9に示す. この表から薬注前後において水質に有意な変化を示した観測用1号井のpH, ナトリウム, 二酸化けい素の経日変化を図6に示す. また1号, 3号, 5号, 8号井において水ガラスおよびセメント乳液に関係する項目, 即ちpH, ナトリウム, 二酸化けい素, 硫酸イオンの相互における相関係数は表10-13に示す.

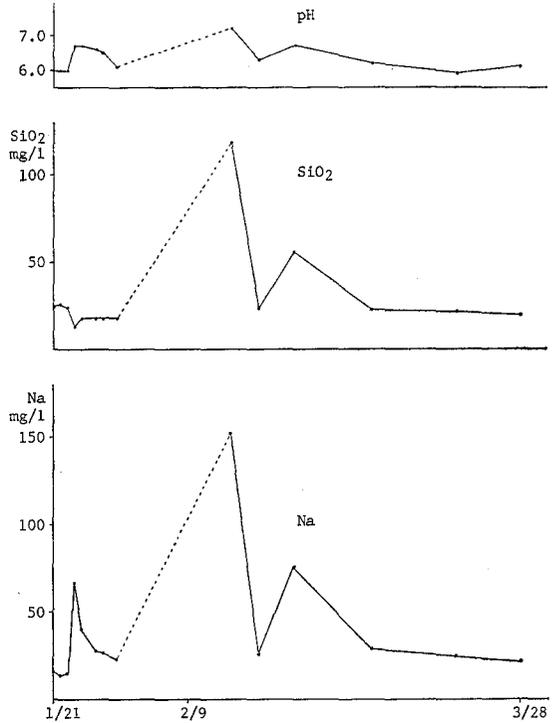
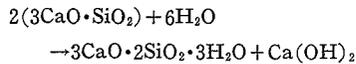


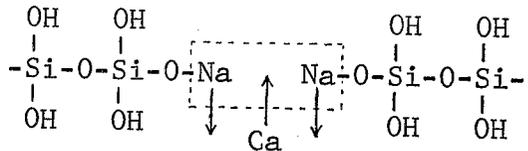
図 6. 1号井における水質の経日変動

考 察

セメントと水ガラスの硬化機構は未だ明白に解明されていないが, セメントの水和反応, セメントと水ガラスの反応, 水ガラスのゲル化反応の三段階の反応機構が考えられる. これらの反応は各々単独で行なわれるのではなく, 相互に影響を及ぼしあって進行する. 第一段階のセメントの水和反応は次式の通りである.



この様に水和反応で放出されたカルシウムイオンが水ガラスと反応してゲル化する. 水ガラスのゲル化は, 末端に配位するナトリウムが, 化合結合力の大きいカルシウムイオンによって置換され次の如き反応が起る.



すなわち, 隣接した2つの水ガラス分子が架橋重合して, 一つのより大きな分子として成長する. さらに Si-OH 結合から H<sub>2</sub>O を放出して, O-Si-O の網目構造を形成してゲル化する. よって最終的に放出される物質はナトリウムと水酸イオンと考えられる. 農業試験場にお

表 1. 1 号 井 戸 (観 測 井)

試験項目 (mg/l)	'75																		'76		
	1/21	22	23	24	25	27	28	30	2/10	13	15	19	24	3/7	19	28	4/4	11	5/12	9/12	1/24
濁度	1.0	1.0	1.0	10	3.0	2.0	5.0	5.0	—	—	5.0	5.0	8.0	5.0	5.0	5.0	1.5	2.0	1.5	2.0	600
色度	0	0	0	20	15	15	20	15	—	—	100	50	55	5	8	5	10	12	20	6	10
pH	6.0	6.0	6.0	6.7	6.7	6.6	6.5	6.1	—	—	7.2	6.3	6.7	6.2	5.9	6.1	6.1	6.2	6.1	6.0	6.0
KMnO <sub>4</sub> 消費量	0.2	0.3	0.6	30.8	16.3	15.9	6.0	7.6	—	—	20.7	9.7	6.2	3.8	1.6	2.0	5.2	6.4	2.6	2.4	11.7
Cl	32.3	31.6	31.6	27.4	25.3	22.5	21.8	21.8	—	—	23.2	23.9	24.6	26.7	31.2	25.3	25.5	26.2	24.1	28.8	27.5
T.H.	116.0	88.0	88.0	100.0	120.0	120.0	100.0	100.0	—	—	120.0	100.0	94.0	102.0	94.0	96.0	94.0	94.0	92.0	94.0	92.0
T.Fe	0.05	0.03	0.03	51.0	13.0	13.0	24.0	24.0	—	—	24.0	56.0	12.0	27.0	40.0	64.0	54.0	58.0	69.0	140	53.0
K	1.0	0.8	1.1	0.9	3.5	3.5	2.1	2.1	—	—	4.5	4.4	2.5	2.1	2.1	4.1	2.1	2.6	1.8	1.9	1.6
Na	16.0	14.4	15.2	67.0	40.0	27.5	26.5	23.0	—	—	152.0	25.5	76.0	29.2	25.0	22.0	19.0	13.0	17.5	15.0	15.0
SiO <sub>2</sub>	25.1	25.9	24.0	13.2	17.6	18.4	18.0	18.2	—	—	119.0	24.0	56.0	22.5	22.4	19.6	19.2	21.0	17.4	19.3	18.7
PO <sub>4</sub>	0.08	0.04	0.00	0.08	0.02	0.04	0.02	0.01	—	—	0.12	0.03	0.05	0.01	0.02	0.03	0.03	0.04	0.00	0.02	0.01
SO <sub>4</sub>	0.96	8.64	8.64	46.1	67.2	63.4	38.4	27.8	—	—	56.6	37.4	20.7	14.7	5.44	7.53	4.01	5.65	6.02	10.2	15.3
Al	0.07	0.07	0.05	0.01	0.02	1.17	0.05	0.02	—	—	0.13	0.11	0.28	0.08	0.06	0.17	0.07	0.03	0.03	0.06	0.00

表 2. 2 号 井 戸 (観 測 井)

試験項目 (mg/l)	'75																		'76		
	1/21	22	23	24	25	27	28	30	2/10	13	15	19	24	3/7	19	28	4/4	11	5/12	9/12	1/24
濁度	0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	5.0	5.0													
色度	0	0	0	0	0	0	20	15													
pH	6.0	6.0	6.0	6.4	6.3	6.4	6.2	6.0													
KMnO <sub>4</sub> 消費量	0.2	0.6	0.2	5.3	4.1	8.1	0.8	1.5													
Cl	31.6	30.9	30.9	31.6	29.5	31.6	30.9	29.5													
T.H.	88.0	88.0	88.0	92.0	100.0	100.0	86.0	82.0													
T.Fe	0.05	0.03	0.03	10.5	11.5	8.00	44.0	24.0													
K	0.8	0.9	0.9	2.4	2.0	3.0	1.9	2.3													
Na	16.0	14.8	14.4	18.6	13.0	16.0	14.0	16.0													
SiO <sub>2</sub>	25.0	23.1	22.6	19.2	20.0	19.6	18.8	18.4													
PO <sub>4</sub>	0.02	0.00	0.00	0.01	0.02	0.03	0.03	0.01													
SO <sub>4</sub>	3.84	5.76	5.76	39.4	46.1	9.60	30.7	7.68													
Al	0.04	0.05	0.04	0.03	0.04	0.08	0.02	0.02													

水位計設置により採水不能

表 3. 3 号 井 戸

試験項目 (mg/l)	'75																		'76		
	1/21	22	23	24	25	27	28	30	2/10	13	15	19	24	3/7	19	28	4/4	11	5/12	8/28	1/24
濁度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	2.0	1.5	1.0	3.0
色度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pH	5.9	5.9	5.9	6.0	6.0	5.9	6.0	6.0	5.5	6.0	5.9	5.9	5.9	6.6	5.9	6.1	5.9	5.9	6.0	5.9	6.0
KMnO <sub>4</sub> 消費量	5.9	0.2	0.2	0.4	0.1	0.5	0.2	0.4	0.5	0.4	0.2	0.5	0.2	0.2	0.2	0.6	0.5	0.5	0.2	0.9	0.5
Cl	31.6	31.6	31.6	32.3	30.2	31.6	31.6	31.6	30.9	30.9	30.9	30.9	31.6	31.6	29.8	30.9	31.9	31.2	32.6	31.9	31.8
T.H.	90.0	90.0	90.0	88.0	88.0	86.0	88.0	86.0	88.0	90.0	96.0	88.0	88.0	124.0	88.0	98.0	88.0	88.0	88.0	88.0	92.0
T.Fe	0.08	0.05	0.05	0.08	0.05	0.05	0.03	0.05	0.08	0.03	0.08	0.03	0.08	0.03	0.03	0.08	0.05	0.03	0.08	0.08	0.05
K	1.1	0.8	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.8	0.8	0.8	0.9	0.8	0.8	0.8
Na	14.6	13.6	14.4	14.0	14.0	13.6	13.8	12.4	12.0	13.4	13.4	13.2	14.0	14.0	13.5	13.5	13.5	13.5	14.0	14.0	13.0
SiO <sub>2</sub>	24.1	22.8	24.4	24.4	23.2	24.4	24.8	20.4	25.2	25.1	24.3	25.2	25.5	24.3	25.5	25.1	25.2	24.5	23.9	25.9	24.1
PO <sub>4</sub>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.06	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00
SO <sub>4</sub>	3.84	3.84	6.72	7.68	6.72	19.2	4.80	21.9	19.2	21.1	30.7	22.1	1.26	1.88	3.35	15.3	6.29	2.74	6.02	—	5.84
Al	0.03	0.07	0.17	0.05	0.06	0.00	0.01	0.01	0.13	0.11	0.18	0.10	0.14	0.17	0.03	0.05	0.16	0.03	0.01	0.01	0.03

表 4. 4 号 井 戸

試験項目 (mg/l)	'75																	'76			
	1/21	22	23	24	25	27	28	30	2/10	13	15	19	24	3/7	19	28	4/4	11	5/12	8/28	1/24
濁度	—	—	—	3.0	1.0	1.0	5.0	1.0	—	1.0	1.0	5.0	1.0	2.0	3.0	2.0	1.0	2.0	2.0	2.0	3.0
色度	—	—	—	20	10	10	10	5	—	5	5	5	1	0	0	0	4	4	15	25	5
pH	—	—	—	6.1	6.5	6.4	6.3	6.1	—	6.6	6.1	6.2	6.4	6.2	6.1	6.5	6.3	6.4	6.2	6.1	6.1
KMnO <sub>4</sub> 消費量	—	—	—	0.5	1.1	1.4	1.3	1.5	—	1.4	0.5	1.1	0.9	0.2	0.2	1.5	1.3	1.6	1.0	2.8	1.6
Cl	—	—	—	30.2	35.1	35.1	35.1	34.4	—	35.8	35.8	36.5	36.5	37.2	35.5	28.1	36.2	35.5	34.8	35.5	36.9
T.H.	—	—	—	52.0	58.0	74.0	54.0	52.0	—	56.0	56.0	54.0	54.0	54.0	54.0	58.0	54.0	62.0	66.0	50.0	52.0
T.Fe	—	—	—	2.50	0.90	2.30	7.80	0.25	—	1.30	0.60	2.20	0.10	0.03	0.05	1.90	0.50	5.00	0.10	0.25	0.12
K	—	—	—	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	—	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5	0.4	0.4	0.3	0.3	0.4
Na	—	—	—	22.4	22.2	21.0	21.2	21.0	—	23.0	22.5	21.4	25.0	26.0	23.0	24.0	24.0	17.0	25.0	24.0	25.0
SiO <sub>2</sub>	—	—	—	21.4	20.0	17.2	18.8	18.4	—	20.8	21.5	20.8	22.4	21.7	22.4	18.7	21.9	24.7	21.1	23.1	22.1
PO <sub>4</sub>	—	—	—	0.00	0.02	0.02	0.00	0.00	—	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.00	0.01	0.01	0.00	0.01	0.02
SO <sub>4</sub>	—	—	—	3.84	4.80	46.1	22.1	19.2	—	25.0	29.8	29.8	3.98	4.60	3.77	4.19	3.42	3.10	—	0.00	2.83
Al	—	—	—	0.05	0.07	0.00	0.02	0.01	—	0.14	0.34	0.09	0.12	0.17	0.04	0.07	0.04	0.01	0.03	0.05	0.00

表 5. 5 号 井 戸

試験項目 (mg/l)	'75																	'76			
	1/21	22	23	24	25	27	28	30	2/10	13	15	19	24	3/7	19	28	4/4	11	5/12	8/28	1/24
濁度	1.0	0	1.0	1.0	1.0	0	2.0	0	1.0	1.0	1.0	0	1.0	0	0	0	1.5	1.5	1.5	1.5	3.0
色度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5	5	5	6
pH	6.0	6.2	6.0	6.0	5.8	6.1	6.0	6.6	5.7	6.6	6.2	6.1	5.9	6.0	6.1	6.6	6.5	6.5	6.6	6.8	6.1
KMnO <sub>4</sub> 消費量	0.2	0.5	0.2	0.3	0.4	0.5	0.2	0.5	0.4	0.3	0.2	0.5	0.2	0.2	0.3	0.3	0.4	0.2	0.1	1.2	0.6
Cl	31.6	30.9	31.6	32.3	30.9	31.6	31.6	22.5	28.8	30.2	29.5	34.4	32.3	34.4	30.5	24.6	26.2	25.5	26.2	26.9	30.4
T.H.	88.0	86.0	88.0	86.0	86.0	88.0	88.0	80.0	84.0	82.0	84.0	88.0	88.0	86.0	86.0	84.0	82.0	68.0	90.0	86.0	86.0
T.Fe	0.08	0.05	0.05	0.08	0.05	0.05	0.10	0.08	0.15	0.08	0.12	0.15	0.05	0.15	0.05	0.10	0.05	0.05	0.08	0.10	0.05
K	1.0	0.8	0.9	0.9	0.8	1.0	0.8	1.2	1.2	1.1	1.0	1.0	0.8	0.9	0.8	1.1	1.1	1.1	1.2	1.1	1.0
Na	16.0	14.4	15.6	16.8	13.0	12.8	18.8	10.0	13.0	13.4	12.6	16.0	16.0	17.2	16.7	10.0	11.5	9.5	10.0	13.0	16.0
SiO <sub>2</sub>	23.4	24.8	23.8	24.0	22.4	24.4	24.4	34.8	30.0	30.2	28.9	24.8	24.5	23.4	24.8	36.2	34.7	24.6	34.1	37.5	25.6
PO <sub>4</sub>	0.00	0.01	0.01	0.08	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	1.78	0.00
SO <sub>4</sub>	5.76	3.84	6.72	3.84	0.96	3.84	33.6	26.9	21.1	28.8	54.7	25.0	7.32	3.35	6.49	2.72	2.55	2.01	0.00	—	2.64
Al	3.03	0.05	0.03	0.02	0.10	0.01	0.03	0.04	0.12	0.09	0.11	0.11	0.06	0.04	0.04	0.04	0.07	0.00	0.05	—	0.00

表 6. 6 号 井 戸

試験項目 (mg/l)	'75																	'76			
	1/21	22	23	24	25	27	28	30	2/10	13	15	19	24	3/7	19	28	4/4	11	5/12	8/28	1/24
濁度	0	1.0	1.0	0	0	0	0	0	0	1.0	1.0	0	1.0	1.0	0	0.5	1.0	0.5	1.0	3.0	
色度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
pH	5.9	5.9	5.9	5.8	5.8	5.9	5.9	6.0	7.2	6.0	5.9	6.0	6.2	5.9	5.9	6.0	5.9	5.9	6.0	5.9	6.0
KMnO <sub>4</sub> 消費量	0.3	0.3	0.2	0.3	0.1	0.5	0.2	0.5	0.4	0.3	0.3	0.4	0.4	0.2	0.2	0.5	0.7	0.9	0.1	0.6	0.5
Cl	32.3	32.3	31.6	34.4	31.6	33.0	33.0	31.6	35.8	37.2	37.2	37.2	31.9	38.6	36.2	36.5	36.9	35.5	34.8	39.7	34.0
T.H.	84.0	84.0	88.0	84.0	84.0	84.0	84.0	82.0	190.0	90.0	90.0	90.0	94.0	92.0	92.0	82.0	90.0	88.0	82.0	84.0	88.0
T.Fe	0.05	0.05	0.05	0.08	0.05	0.05	0.03	0.05	0.05	0.08	0.08	0.12	0.05	0.08	0.05	0.08	0.08	0.05	0.08	0.08	0.08
K	0.9	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	1.0	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8
Na	14.6	15.2	16.0	14.8	13.6	13.6	14.0	13.8	14.6	17.0	14.6	15.2	15.5	15.5	15.5	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.5
SiO <sub>2</sub>	23.9	23.8	23.4	23.2	23.8	24.0	23.6	24.4	24.6	23.1	23.4	24.8	25.5	23.4	24.1	24.1	24.5	36.3	22.5	24.6	23.2
PO <sub>4</sub>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00
SO <sub>4</sub>	3.84	5.76	4.80	2.88	6.72	4.80	5.76	4.80	3.84	6.72	6.72	6.72	6.91	8.16	10.3	0.42	8.66	6.20	8.76	0.00	2.92
Al	0.04	0.04	0.05	0.04	0.01	0.07	0.04	0.01	0.11	0.08	0.14	0.27	0.19	0.04	0.03	0.02	0.02	0.00	0.05	0.05	0.00

表 7. 8 号 井 戸

試験項目 (mg/l)	'75																		'76		
	1/21	22	23	24	25	27	28	30	2/10	13	15	19	24	3/7	19	28	4/4	11	5/12	8/28	1/24
濁度	1.0	2.0	1.0	0	0	0	0	0	2.0	0	0	0	0	1.0	1.0	0	1.0	1.0	—	—	—
色度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
pH	5.9	5.9	6.0	5.8	5.8	5.9	6.0	5.9	5.6	6.0	5.9	6.0	6.0	5.9	5.9	6.1	5.9	5.9	—	—	—
KMnO <sub>4</sub> 消費量	0.8	0.5	0.2	0.5	0.1	1.0	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5	0.2	0.2	0.6	0.9	0.9	—	—	—
Cl	30.2	30.9	32.3	30.9	30.2	30.9	30.9	30.9	31.6	32.3	32.3	37.2	32.3	34.4	34.0	35.1	36.2	34.8	—	—	—
T.H.	84.0	84.0	96.0	82.0	84.0	86.0	82.0	82.0	84.0	78.0	82.0	82.0	84.0	80.0	84.0	84.0	84.0	84.0	—	—	—
T.Fe	0.03	0.05	0.05	0.08	0.03	0.02	0.02	0.02	0.05	0.05	0.05	0.08	0.05	0.03	0.05	0.03	0.08	0.05	—	—	—
K	1.1	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	0.8	0.9	1.6	1.8	1.8	2.0	1.7	2.1	1.9	2.0	1.8	1.6	—	—	—
Na	15.2	14.4	14.4	15.2	14.4	13.6	14.4	14.4	14.6	15.0	12.0	14.8	15.0	16.0	15.0	16.0	16.0	15.5	—	—	—
SiO <sub>2</sub>	23.0	24.2	23.6	22.8	22.6	24.0	24.0	23.2	24.0	23.5	23.2	24.0	23.7	23.4	24.1	24.4	21.9	20.4	—	—	—
PO <sub>4</sub>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	—	—	—
SO <sub>4</sub>	5.76	5.76	14.4	4.80	77.8	7.68	4.80	2.88	1.92	2.88	0.00	8.64	5.86	2.09	7.32	8.16	3.10	4.92	—	—	—
Al	0.03	0.04	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.13	0.14	0.11	0.23	0.12	0.04	0.03	0.04	0.05	0.03	—	—	—

表 8. 9 号 井 戸

試験項目 (mg/l)	'75																		'76		
	1/21	22	23	24	25	27	28	30	2/10	13	15	19	24	3/7	19	28	4/4	11	5/12	8/28	1/24
濁度	0	0	0	0	0	1.0	0	0	0	1.0	0	0	0	0	0	0	0.5	1.0	1.0	0.6	3.0
色度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	8
pH	6.0	6.0	6.0	6.0	5.8	5.9	6.0	5.9	5.5	6.1	5.9	5.9	6.1	6.0	5.9	6.0	5.9	5.9	5.9	6.0	6.0
KMnO <sub>4</sub> 消費量	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.5	0.2	0.3	0.4	0.3	0.2	0.4	0.4	0.2	0.2	0.5	0.4	0.7	0.3	0.7	0.5
Cl	26.7	26.2	26.2	24.6	25.3	27.4	28.8	27.4	23.9	26.2	21.1	19.7	21.8	29.5	30.5	29.5	30.5	29.8	25.5	17.7	28.9
T.H.	74.0	76.0	90.0	70.0	72.0	78.0	80.0	78.0	70.0	76.0	66.0	66.0	66.0	78.0	84.0	82.0	82.0	82.0	72.0	74.0	82.0
T.Fe	0.03	0.05	0.05	0.05	0.03	0.03	0.02	0.02	0.05	0.05	0.08	0.08	0.08	0.03	0.08	0.05	0.08	0.05	0.08	0.08	0.12
K	0.9	0.7	0.8	0.8	1.1	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.6	0.6	0.7	0.8	0.7	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.8
Na	15.8	13.0	13.0	13.2	12.4	12.8	13.8	13.0	13.0	13.0	12.6	12.4	12.6	12.6	12.0	12.6	12.6	12.5	13.0	13.5	13.0
SiO <sub>2</sub>	23.0	22.3	21.6	21.8	20.2	23.2	23.6	22.8	21.2	21.7	19.2	20.0	21.2	21.5	23.4	23.7	23.7	25.7	20.3	23.1	23.2
PO <sub>4</sub>	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.07	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.05	0.05
SO <sub>4</sub>	3.84	2.88	14.4	0.00	25.0	3.84	4.80	1.92	6.72	2.88	3.84	2.88	2.51	2.93	1.26	9.42	4.10	3.10	4.38	—	3.28
Al	0.04	0.03	0.06	0.02	0.05	0.01	0.03	0.11	0.14	0.16	0.11	0.08	0.26	0.10	0.04	0.05	0.09	0.02	0.02	0.01	0.01

表 9. 10 号 井 戸

試験項目 (mg/l)	'75																		'76		
	1/21	22	23	24	25	27	28	30	2/10	13	15	19	24	3/7	19	28	4/4	11	5/12	8/28	1/24
濁度	1.0	0	1.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	1.0	1.5	—	3.0
色度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	3	15	—	2
pH	5.9	5.9	5.9	5.8	5.8	5.8	5.9	5.9	5.5	6.1	5.9	5.9	6.1	5.9	5.9	5.9	6.7	5.9	5.8	—	6.0
KMnO <sub>4</sub> 消費量	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.5	0.1	0.6	0.4	0.2	0.2	0.5	0.5	0.2	0.2	0.5	—	0.4	0.1	—	0.4
Cl	20.4	20.4	20.4	21.1	19.0	20.4	19.7	22.5	19.7	19.0	19.0	19.7	19.0	18.3	17.7	19.0	—	18.4	23.4	—	21.7
T.H.	62.0	62.0	64.0	64.0	62.0	62.0	60.0	68.0	60.0	60.0	60.0	60.0	58.0	54.0	54.0	70.0	—	56.0	74.0	—	60.0
T.Fe	0.03	0.05	0.03	0.08	0.05	0.02	0.02	0.02	0.08	0.05	0.08	0.05	0.05	0.03	0.10	0.03	—	0.05	0.10	—	0.05
K	7.2	8.2	6.4	7.7	6.2	8.3	7.5	6.5	6.8	7.3	7.5	6.8	6.8	5.0	4.8	5.6	—	4.5	5.8	—	6.0
Na	16.4	16.8	14.8	15.6	14.4	14.4	14.4	14.8	13.8	14.2	14.2	14.4	10.0	14.8	13.2	14.0	—	13.0	15.5	—	15.5
SiO <sub>2</sub>	20.9	20.1	20.0	20.8	19.8	20.8	20.0	21.2	19.9	19.4	19.3	21.2	20.8	19.9	20.6	20.4	—	19.1	19.7	—	20.2
PO <sub>4</sub>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.02	0.00	—	0.00	0.00	—	0.04
SO <sub>4</sub>	2.88	3.84	0.00	5.76	0.00	25.9	1.92	2.88	1.92	2.88	4.80	5.76	1.67	0.21	11.7	19.0	—	2.74	—	—	1.46
Al	0.13	0.05	0.04	0.03	0.01	0.05	0.00	0.03	0.12	0.14	0.12	0.20	0.05	0.04	0.03	0.02	—	0.04	0.06	—	0.02

表 10. 1号井における相関係数

pH	SiO <sub>2</sub>	Na	SO <sub>4</sub>
1.000	0.628	0.847	0.813
0.628	1.000	0.891	0.219
0.847	0.891	1.000	0.471
0.813	0.219	0.471	1.000

表 11. 3号井における相関係数

pH	SiO <sub>2</sub>	Na	SO <sub>4</sub>
1.000	-0.135	0.413	-0.301
-0.135	1.000	0.202	-0.114
0.413	0.202	1.000	-0.634
-0.301	-0.114	-0.634	1.000

表 12. 5号井における相関係数

pH	SiO <sub>2</sub>	Na	SO <sub>4</sub>
1.000	0.729	-0.551	0.242
0.729	1.000	-0.781	0.347
-0.551	-0.781	1.000	-0.123
0.242	0.347	-0.123	1.000

表 13. 8号井における相関係数

pH	SiO <sub>2</sub>	Na	SO <sub>4</sub>
1.000	0.325	0.180	-0.175
0.325	1.000	0.133	-0.439
0.180	0.133	1.000	-0.031
-0.175	-0.439	-0.031	1.000

表 14. 水ガラスセメントの室内溶出実験結果

区	別	pH	Na ppm	K ppm	Ca ppm	Mg ppm
1時間振とう	1	12.23	116.0	52.0	ND	ND
	2	12.14	503.3	30.5	11.3	ND
	3	12.01	356.6	22.7	3.0	ND
	4	12.06	376.7	20.9	7.8	ND
	5	12.02	386.7	19.4	8.1	ND
	6	11.98	340.0	17.8	6.4	ND
	7	11.93	280.0	16.4	7.4	ND
	8	12.04	396.7	20.3	8.3	ND
	9	11.86	220.0	14.4	3.3	ND
	10	11.84	223.3	14.6	9.1	ND
	11	11.71	173.3	12.8	8.9	ND
	12	11.68	150.0	12.5	20.4	ND
	13	11.64	133.3	12.3	21.0	ND
	14	11.62	126.7	12.1	25.9	ND
	15	11.75	236.7	17.5	5.2	ND
24時間放置	1	12.61				
	2	12.37				
	3	12.27				

いてプロジェクト研究の一環として行なった室内溶出実験<sup>2)</sup>においても(表14) pH, ナトリウムの高濃度が長時間にわたって検出されている。このような理論的、実験的背景から、水ガラスセメント系薬注における地下水への汚染を考えた場合、pH, ナトリウム、二酸化けい素を中心に水質を解析することが重要である。表10に示す相関係数を見ると影響が明らかに認められた1号観測井については、pH-ナトリウム(0.847)、pH-二酸化けい素(0.628)、pH-硫酸イオン(0.813)、ナトリウム-二酸化けい素(0.891)と極めて高い相関が認められてい

る。この場合硫酸イオンを測定したのはセメントからの溶出を考慮したものである。また影響が全く認められなかった3号、5号、8号井においては、いずれも相関係数は0.1-0.4の値を示した。またpH値について見ると室内実験ではpH 12.0付近と高値を示しているが、調査現場での測定結果では薬注前のpH 6.0が薬注後pH 7.2に上昇を示しているに過ぎない。この理由として地下水流による拡散希釈、あるいは地下水中に含まれている遊離炭酸による次式による中和反応によるものと考えられる。



この周辺における地下水のナトリウムの平常値は、15 mg/l 前後であるが、観測井として設けられた1号井では薬注により急激に増加を示し、最高 152. mg/l が検出された。ナトリウムの毒性については食塩と血圧との因果関係が最近問題となっているが、この量は例えば成人一人の一日の水の摂取量を 2l とした場合 304. mg となり、食品から得られるナトリウム摂取量 5900. mg に比較すれば全く問題にならない量と考えられる。

#### 結 論

現在建設省が定めた「薬液注入工法暫定取扱指針」によれば、水ガラス系のケミカルグラウトを使用した場合 pH の測定のみが義務づけられている。しかし今回行った調査結果から、地下水の水ガラス系グラウトによる汚染の有無を推定するには pH 値の測定のみでなく、ナトリウム、二酸化けい素の分析も同時に行ない、総合的に水質変動を解析することが重要である。また降雨量と水位の測定、地下水脈の流れの方向など、地質的な調査も不可欠である。なお、今後行なわれる薬注工事に関して設けられる水質監視用の観測井は、短時日で発錆し調

査試料に重大な影響を与える材質、すなわち鋼管等の使用は避け塩化ビニル硬管のように発錆しないものを選定すべきである。また民家の井戸と違い常時揚水を行わないため、揚水不良で調査試料としての条件は良好とは云い難いので、何等かの適当と思われる方法で適宜揚水することが望まれる。調査開始に当っては試験薬注などの行なわれる以前に何回かの水質分析を行ない、自然条件下の水質変動を観察すべきと思われる。

**謝辞** 本調査に多くの資料を御提供下さった東京都土木技術研究所の石井部長、並びに試料採取に御尽力戴きました下水道局関係各位に感謝いたします。

(本調査は昭和51年度当研究所調査研究課題「薬液注入工法の安全性に関する研究」として実施し、その一部は公衆衛生学会第34回総会1975年10月で発表した。)

#### 文 献

- 1) 森木昌宏, 森 彬, 中村周三: 用水と廃水, 17, 1307, 1975
- 2) 都田紘志, 小川敏男: 昭和50年度プロジェクト研究中間報告(研究調整室) 111, 昭和51年7月

## PCB の加熱によるポリ塩素化ジベンゾフラン (PCDF) の生成

中川 順一<sup>\*1</sup>, 森田 昌敏<sup>\*1</sup>, 秋山 和幸<sup>\*2</sup>  
樋口 育子<sup>\*1</sup>, 三村 秀一<sup>\*1</sup>

### Formation of Polychlorinated Dibenzofrans through Heating PCB Mixture (Aroclor T-1248)

JUNICHI NAKAGAWA<sup>\*1</sup>, MASATOSHI MORITA<sup>\*1</sup>, KAZUYUKI AKIYAMA<sup>\*2</sup>,  
YASUKO HIGUCHI<sup>\*1</sup> and SHUICHI MIMURA<sup>\*1</sup>

#### はじめに

ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) は、類似構造をもつポリ塩化ジベンゾジオキシンと同様に強い毒性を持っている。Mckinny<sup>1)</sup> は、PCDF によりラットの胸腺に萎縮が起こること、chick では胸腺の萎縮、および胸腺細胞の機能低下、そして皮質と髄質の境界がなくなることを報告している。一方、大石ら<sup>2)</sup> もラットにおいて胸腺の萎縮、および耳にクロールアクネができることを報告している。PCDF は、ポリ塩化ビフェニール(PCB)、並びにポリ塩化フェノールなどのクロルベンゼンの骨格をもつ化合物の副生成物として存在し、商品 PCB 中に数 ppm—数10ppm のオーダーに含まれていることが確認されている<sup>3-6)</sup>。今まで PCB は優れた特性があったため多方面で使われてきた。特に、難燃性ということで全生産量の10%が熱媒体として用いられてきた。1968年10月に起こったカネミライスオイル事件は、米ぬか油の製造工程での事故である。この事故は、脱臭工程において熱媒体として使用していたカネクロール 400 (KC-400) がステンレスパイプから漏出し、ライスオイルに混入したことが原因で起こった。長山ら<sup>7)</sup> は、中毒原因となったカネミライスオイルが PCDF を含んでいることを確認し、さらに油症患者の肝臓中に高濃度の PCDF を検出し、油症の発症に PCDF が関与していることを示唆した。その後、ライスオイル中に PCDF が含まれていることは、宮田ら<sup>8)</sup>、およびわれわれによっても確認された。前報<sup>9)</sup> においてわれわれは、カネクロール、アロクロール、クロフェン、およびフェノクロール中の PCDF を測定し、全ての PCB の中に PCDF を確認した。また、熱媒体に使用した PCB (Aroclor T 1248) は使用前の PCB より PCDF の含有量が、1 オーダー高いことを確認し、カネミライスオイル中の PCB と

PCDF の比は、商品 PCB と比較すると約450倍と大きいことを報告した。またあわせて PCB の加熱実験をおこない、とくに酸素の存在、金属の触媒作用により PCDF が生成することを確認した。われわれは、前報にひきつづき PCB の加熱実験を行ない、どのような条件下で PCDF が多く生成するかをさらに詳細に検討したので報告する。

#### 実験の部

1. 試料の作成 実験に用いた PCB は、商品 PCB の中でもっとも PCDF 含有量の低い Aroclor(T1248) を用いた。Aroclor (T 1248) 1g を n-ヘキサン 2ml に溶解し、内径 8 mm, 長さ 200mm のバイレックスガラス管に入れ、N<sub>2</sub> ガス吹きつけにより n-ヘキサンを完全に除去したのち、O<sub>2</sub> ガス、N<sub>2</sub> ガス、空気を充満させ封管し、恒温そう中300°で、3日、1週間、2週間、3週間、4週間加熱、250°、270°、330°の温度で1週間加熱、また、空気ふん囲気下、270°で塩化第二銅、塩化第二鉄、塩化第一ニッケルを各10mg 添加したものと、丸底フラスコに PCB と銅粉、鉄粉を各々混ぜ、リフラックスコンデンサーをつけて240°の油浴中で2時間加熱する4通りの条件で試料を作成し、それぞれ冷却後、封入管の上端をカットし、n-ヘキサン 10ml に溶解した。ついでビフェニロールが、GC-MS分析上妨害となるため、水酸化ナトリウムのベレットではげしく振ったのち、ろ過したものを分析用試料溶液とした。

2. 分析方法 アルミナカラムクロマト法は、前報<sup>9)</sup> で PCB と PCDF の分離に用いたフロリジルカラムクロマト法に比較して、ロットによる変動が少なく、また PCDF の分離が良いため、今回は本法を用いた。各種の試料溶液をアルミナ (Merck 社製, Neutral, 活性度 1) 20g をヘキサンと共に湿式充てんしたガラスカラム

<sup>\*1</sup> 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

<sup>\*</sup> Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

<sup>\*2</sup> 同環境衛生研究科

(10mm×300mm) に負荷, ジクロルメタン-ヘキサン (5:95) 140ml, つづいてジクロルメタン-ヘキサン (20:80) 35ml で PCB を十分に除去したのち, 同じくジクロルメタン-ヘキサン (20:80) 175ml で PCDF を溶出する. 最後のフラクションを KD 濃縮器で 5ml にしたのち, N<sub>2</sub> ガス吹きつけにより 500 $\mu$ l に濃縮したものを GC-MS (島津 LKB-9000) に付し, 親ピークの一番低い Mass Number でモニターした Mass fragmentography により定量した. 測定条件は, 次に示すとおりである. カラム: 2% OV-210, Chromosorb W (AW, DMCS, 80-100mesh), 2m×3mm, キャリ

ヤーガス: He 30ml/min, イオン化電圧: 70eV, カラム温度: 210°, インジェクション温度: 240°, セパレーター温度: 250°, イオン源温度: 270°.

#### 結果および考察

PCDF の塩素数は, 2-6 を GC-MS により測定し, その結果を Table 1 に示した. 酸素, 空気, 窒素の各ふん囲気中 (PCB と酸素のモル比は, それぞれ 8:1, 40:1, 1:0) 250°, 270°, 300°, 330° の条件下で 1 週間加熱したものを比較してみると, 酸素ふん囲気下において, 300° で加熱したものがもっとも高く 1704.8ppm を示した. また空気ふん囲気下では, 250° 1.0, 270°

Table 1. PCDFs Concentration in PCBs after heating Effect of Metals or Metals Ions on PCDFs Formation through the Heating PCBs under the Presence of Air (ppm)

Temp.	Time		Di-	Tri-	Tetra-	Penta-	Hexa-	Total		
Kanami	Rice Oil		—	1.02	2.23	1.04	0.23	2.5		
		Nil	0.28	0.35	1.52	0.16	0.38	2.7		
		O <sub>2</sub>	0.21	0.08	0.20	1.00	0.29	1.8		
250°	1 W	N <sub>2</sub>	—	0.41	0.12	0.80	0.03	1.4		
		air	0.47	—	0.40	0.10	—	1.0		
		air	0.22	0.21	0.33	0.92	0.04	1.7		
270°	3 days	O <sub>2</sub>	3.55	2.60	1.20	1.42	0.04	8.8		
		N <sub>2</sub>	0.17	—	0.60	0.46	0.02	1.3		
		air	0.34	0.65	0.36	1.08	0.04	2.5		
300°	2 W	air	0.20	4.01	1.28	0.96	0.16	6.6		
		3 days	O <sub>2</sub>	2.71	0.57	4.30	6.30	0.12	14.0	
			N <sub>2</sub>	0.33	0.18	1.06	1.04	0.24	2.9	
air	2.83		0.23	0.65	0.36	0.15	4.2			
300°	1 W	O <sub>2</sub>	712.0	645.0	310.0	33.8	4.01	1704.8		
		N <sub>2</sub>	0.30	0.41	0.80	1.12	0.05	2.7		
		air	2.54	3.86	2.05	0.87	0.10	9.4		
300°	2 W	O <sub>2</sub>	52.4	37.8	16.9	2.08	0.25	109.4		
		N <sub>2</sub>	0.89	0.06	0.35	0.81	0.04	2.2		
		air	105.0	104.0	81.3	14.9	0.32	305.5		
300°	3 W	O <sub>2</sub>	16.6	4.15	14.6	1.30	0.09	36.7		
		N <sub>2</sub>	2.15	0.37	1.06	0.78	0.08	4.4		
		air	9.67	4.01	3.62	2.32	0.18	19.8		
300°	4 W	O <sub>2</sub>	10.9	5.53	5.09	1.39	0.12	23.0		
		N <sub>2</sub>	0.32	1.42	2.39	1.43	0.20	5.8		
		air	4.33	2.64	4.42	1.72	0.14	13.3		
330°	1 W	O <sub>2</sub>	0.47	1.33	4.02	1.59	0.34	7.8		
		N <sub>2</sub>	0.86	0.08	0.22	0.32	0.04	1.5		
		air	5.85	2.25	3.40	0.76	0.13	12.4		
270°	NiCl <sub>2</sub>	1 W	air	0.72	—	—	0.75	0.04	1.5	
		CuCl <sub>2</sub>	1 W	air	0.57	0.29	0.61	0.76	0.03	2.3
			1 W	air	8.37	4.99	0.86	0.74	0.02	15.0
240°	Cu powder	2hr	69.3	13.2	4.70	3.57	0.13	90.9		
		Fe powder	2hr	6.21	4.49	8.30	7.40	22.3	48.7	

2.5, 300° 9.4, 330° 12.4となり温度が高くなるにつれて PCDF は増加傾向にある。しかし窒素ふん囲気下では温度の上昇と生成量との間に関係はみられなかった。また、300°の加熱条件で各ふん囲気下での PCDF の増加をみると、酸素ふん囲気下では1週間経過したものがもっとも高く(1704.8ppm)、2, 3, 4週間の間に激減している。また、空気ふん囲気下では、2週間で著しく増加し、ここを頂点として急激に減少している。窒素ふん囲気下では、長時間加熱しても PCDF は極端な増加が見られない。以上の結果を総合すると、PCDF は酸素があっても270°以下の温度では生成しにくく、300°で効率よく生成する。300°において酸素が多い場合1週間目に最大ピークがあり、酸素が少ない場合は2週間目にピークがくる。これらのことから、温度と酸素分圧とが生成条件に関与するものと考えられ、酸素分圧が高ければ短時間で PCDF 量は増加するが、生成した PCDF が酸素により同時に分解を受けるため、以上の結果が得られたと考えられる。また、酸素分圧が低い場合でも温度が高ければ PCDF は増加するといえる。酸素化あるいは自動酸化反応においては、せん移金属が触媒作用をもつことが、一般的に知られている。270°で PCB に金属塩を添加した実験では、塩化第二鉄の場合 PCDF の生成が明らかに増加するが、塩化第二銅、塩化第一ニッケルに関しては、ほとんど増加しない。塩化第二鉄が PCDF の生成に有効に働く理由として、塩化ビフェニロールが多く副生していることが上げられる。またこの

ことより、脱塩素する反応メカニズムが考えられる。また PCB に銅と鉄の金属粉を添加したものは、PCDF 量が著しく増加する。銅粉添加時の PCDF の成分組成は2塩化物がもっとも多く、ついで3塩化物が多い。しかし鉄粉添加のものは、2-5塩化物が同じくらいの量あり、6塩化物がとくに多くなっている。この結果より、銅金属は脱塩素反応を促進するのではないかと考えられるが、鉄金属の場合どのように PCB に作用するのか明確でない。また、金属塩と金属粉の結果を比較すると、PCDF 生成量は金属粉の方がはるかに高い。この理由は、金属粉の場合リフラックスコンデンサーをつけて加熱を行なったので酸素が十分存在したことによるものと考えられる。一方金属塩では封管実験のため、酸素が基質に対して40分の1量とはるかに少なかったことも生成量に影響を与えたと考えてよい。しかし、温度条件および加熱時間などの実験条件が異なるため、どちらが有効に働いているかはさらに詳しい検討が必要である。宮田ら<sup>9)</sup>は、空気ふん囲気下、300°の加熱での同様な実験で、15日間の加熱で7 ppm しか増加しないことを報告しているが、われわれの実験では、約300ppmに増加している。このことは、PCDF の生成に関与する各種条件の微妙なちがいによる結果であると考えられる。Fig. 1はベンソフランと塩素の反応により生成した PCDF、加熱前の Aroclor (T 1248), ならびに Aroclor (T 1248) を300°, 酸素ふん囲気下で1週間加熱したものの中の PCDF と、カネミライスオイル中の PCDF の2-

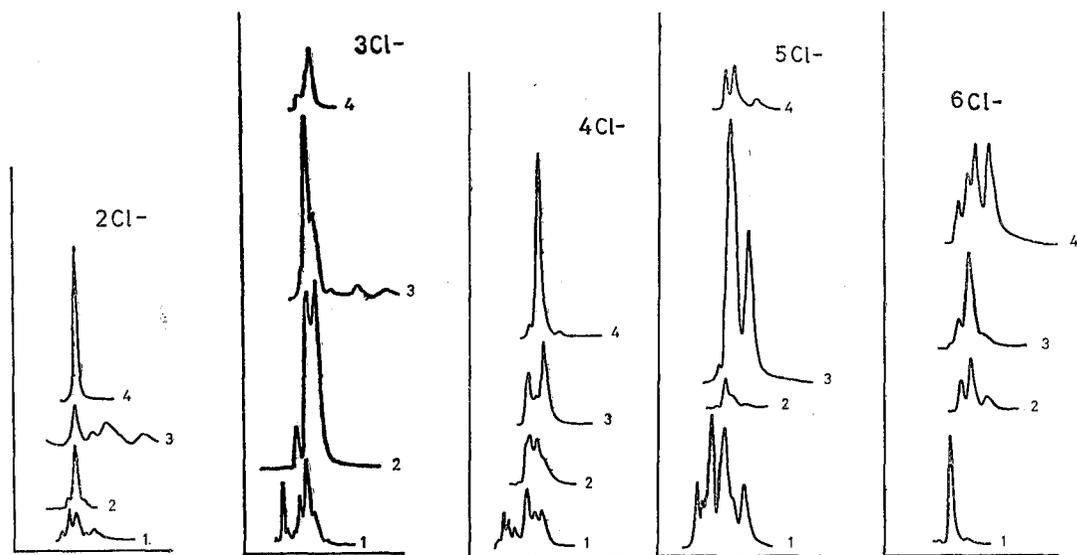


Fig. 1. Gaschromatograms of PCDFs in PCBs and Kanemi Rice Oil 1: Aroclor T 1248, 2: Aroclor T 1248 heated at 300° 1 week in O<sub>2</sub>, 3: Kanemi Rice Oil, 4: Standard

6 塩素化物までのマスフラグメントグラムを示した。図のたて軸は、レコーダーレスポンスに比例しない。PCB 加熱前と加熱後では、個々の塩素数の異性体成分は明らかに異なり、PCB の製造工程で副生する反応メカニズムとは異なる反応が起っているか、または加熱中いったん生成した PCDF が分解してパターンが変わってきたためか不明である。また使用した Aroclor (T 1248) は 4 塩化ビフェニールが主成分であり、生成した PCDF は主として、2 塩化、3 塩化物であることから、この反応では 1 ないし 2 個の塩素が脱塩素していることがわかる。以上のことより、Fig. 2 の反応式が考えられる。1) オルト位の塩素がとれて酸素が入り閉環して PCDF が生成する。この場合、塩素は 2 個減少する。2) オルト位に水酸基がつき、ついで脱塩酸し閉環する。この場合塩素数は 1 個減少する。この反応機構を支持する証拠と

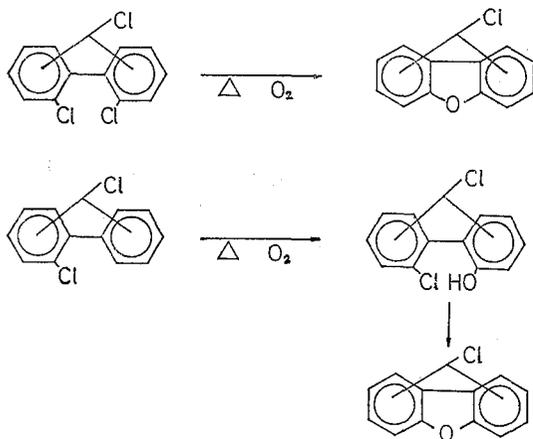


Fig. 2. Postulated Mechanism of PCDFs Formation through Heating PCBs in Oxygen

して、塩化水素ガスの発生、また GC-MS 分析においてビフェニールが加熱 PCB 封管中に観察された。カネミライスオイル中の主な PCDF の成分は、4 塩化、

5 塩化物であり加熱による成分比とは異なっているの  
 で、反応メカニズムのちがいが考えられる。この要因の  
 一つとしてライスオイルは、熱媒体 KC-400 がステンレ  
 スパイプから脱臭そうに漏出したものであるの  
 で、本実験との相違点は反応容器の違いが上げられる。またカネ  
 ミライスオイル中の PCDF 生成には、そのほかに反  
 応時間、反応温度、酸素源の違いおよびその他共存物の  
 影響があると思われ、ライスオイル中の PCDF 生成に  
 は、さらに詳しい研究が必要である。

(本研究は、当所研究課題「環境汚染の点検」の一環  
 として実施し、その一部は日本薬学会第97年会1977年4  
 月で発表した。)

#### 文 献

- 1) McKinney, J.D., K. Chae, B.N. Gupta, J.A. Moore, and J.A. Goldstein: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 36, 65, 1976
- 2) Oishi, S., M. Morita, and H. Fukuda: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, in press
- 3) Vos, J.G., J.H. Koeman, H.L. Van der Maas, M.C. Ten Noever de Braun, and R.H. Vos: *Food Cosmet. Toxicol.*, 8, 625, 1970
- 4) Bowes, G.W., B.R. Simoneit, A.L. Burlingame, B.W. de Lappe, and R.W. Risebrough: *Environ. Health Perspec.* 5, 191, 1973
- 5) Bowes, G.W., M.J. Mulvihill, M.R. DeCamp, and A.S. Kende: *J. Agr. Food Chem.*, 23, 1222, 1975
- 6) Roach, J.G. and I.H. Pomerantz: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 12, 338, 1974
- 7) Nagayama, J., Y. Masuda, and M. Kuratsune: 福岡医誌, 66, 593, 1975
- 8) 宮田秀明, 中村彰夫, 榎本 隆: 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, 食品衛生編, 第10号, 9, 1970
- 9) 中川順一, 森田昌敏, 秋山和幸, 樋口育子, 三村秀一: 東京衛研年報, 27-1, 316, 1976

水道用品に関する衛生学的研究 (第1報) 塩化ビニール管中の残留モノマーとその溶出

中村 弘\*, 三村 秀一\*

**Hygienic Studies on Materials for Water Supplies (I)  
Residual VCM in Commercial PVC Pipe and Water Extractability of Residual VCM**

HIROSHI NAKAMURA\* and SHUICHI MIMURA\*

Seventy-two samples of commercially available Polyvinyl chloride resin (PVC) in Tokyo metropolitan area were analyzed for vinyl chloride monomer (VCM). Residual VCM concentration of these pipes were ranged from 0.0 to 540  $\mu\text{g/g}$  and the concentration more than 100  $\mu\text{g/g}$  VCM was about 14% of the all examined samples. Extraction test of VCM from the pipes was carried out by means of the pipe filled with tap water and stand for 72 hours at 20°. The results indicated that water extracted VCM related to the residual VCM concentration and from 0.1 to 78  $\mu\text{g/l}$  VCM were found in water filled in that pipes which contained more than 1  $\mu\text{g/g}$  VCM.

緒 言

1974年当初, 米国ケンタッキー州の産業医 Creech ら<sup>1)</sup>によって, 塩化ビニールモノマー (以下, VCM) 暴露を受けた労働者に肝臓血管肉腫が発生することが報告された。以来, VCM の毒性が大きく取り上げられ, VCM を噴射剤に使ったスプレーの禁止 (EPA, April, 1974), 労働環境許容濃度の強化 (米国労働省, Oct., 1974), 食品類の包装容器の禁止の提案 (FDA, Aug., 1975), 塩化ビニール樹脂 (以下, PVC) 製造工場などから排出する VCM の規制案の提出 (EPA, Dec., 1975) などが相次いで出された。しかし, 軟質 PVC および水道管などについてはこれらの規制から外されており, 今後の検討課題とされている。

水道用 PVC 管の残留 VCM 濃度とその水道水への溶出については, 米国<sup>2)</sup> および我国<sup>3)</sup> におけるメーカー側の資料があるが, 公的機関による資料に乏しく, その実態についてはあまり明確にされていない。

筆者らは現在一般に使用されている水道用 PVC 管をランダムに選んだ水道工事店より入手し, これら PVC 管の残留 VCM 濃度を測定した。また, この残留 VCM が水道水へどの程度移行するかについても実験を行なったので報告する。

実験方法

試料 1976年6月および8月に, ランダムに選んだ都

内水道工事店15店 (新宿区(2), 中野区(2), 板橋区(2), 北区(2), 品川区, 大田区, 杉並区, 国分寺市, 国立市, 立川市(2))より水道用 PVC 管計72本を入手した。試料のメーカーおよびサイズ別内訳は表1の通りである。VCM の溶出試験には表1の他に残留 VCM 濃度の異なる PVC 管10本 (すべて13mm管) も加えて使用した。

Table 1. PVC Pipe Samples Tested

Size of Pipe	Brand of Pipes											Total (No. of Samples)
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	
13mm	7	5	4	1	4		3		1	1		26
20mm	8	4	4	3			4				1	24
25mm	7	4	3	2		1	1	2	1	1		22
Total	22	13	11	6	4	1	8	2	2	2	1	72

試薬および装置 1)テトラヒドロフラン(以下, THF) : 関東化学製 VCM 分析用, 2) VCM 標準液 : VCM 1 $\mu\text{g/ml}$  エタノール標準液 (関東化学) および高千穂化学工業製 VCM ボンベより日本薬学会協定衛生試験法<sup>4)</sup> に準じ調整した。3) ガスクロマトグラフ (以下, GC) : 島津GC-5A (FID), 4) ガスクロマトグラフ・質量分析計 (以下, GC-MS) : 島津 LKB-9000 型 (MID)

PVC管中残留 VCM の測定 PVC管の細片約 0.5g

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

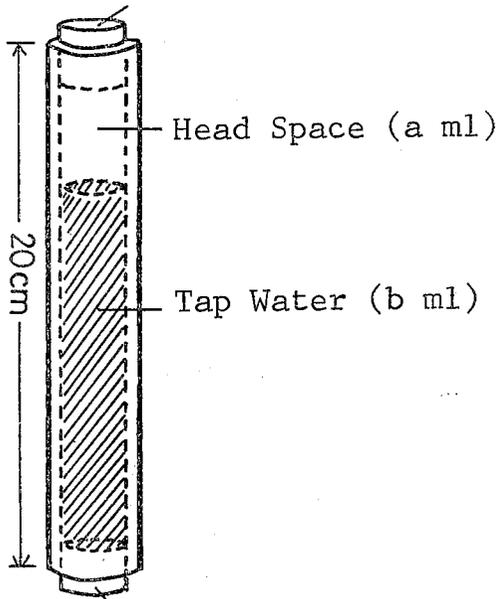
\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health 24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

を精秤し、内容約 15ml の試験管にとり、THF を加えて全量を正確に 10 ml とする。シリコン栓で密栓後、冷凍庫内 (-20°) で一昼夜放置し、PVC を完全に溶解させ、本溶液を日本薬学会協定衛生試験法<sup>4)</sup> に準じて VCM 濃度を測定した。同時に、GC-MS (MID) を用いて確認定量した。GC および GC-MS の測定条件は次の通りである。

[GC Conditions] Column : Glass 3mmφ×2m, Packing : Ucon Oil 50 LB 550X (10%)/Chromosorb WAW DMCS, 60—80mesh, Carrier Gas : N<sub>2</sub>, Flow Rate 60ml/min, H<sub>2</sub> Flow Rate : 50ml/min, Air Flow Rate : 1l/min, Detector : FID, Temperature : Detector 150°, Column 50° (Detection Limit of VCM : 0.5ng)

[GC-MS Conditions] Column : Glass 3mm φ×2 m, Packing : Ucon Oil 50 LB 550X (10%)/Chromosorb WAW DMCS, 60—80 mesh, Carrier Gas : He, Flow Rate 20ml/min, Temperature : Ion Source 290°, Separator 200° Sample 150°, Column 50°, Ionization Voltage : 70eV, Trap Current : 60μA, Detector : MID, Scanning ion : m/e 62 (Detection Limit of VCM : 0.1ng)

### Silicon Gum Stopper



### Silicon Gum Stopper

Fig. 1. Water Extraction of Residual VCM in PVC Pipe

残留 VCM の溶出試験 予め全内容量を測定した図 1 に示すような長さ 20cm の PVC 管に 20°C とした水道水 (衛生研究所蛇口水) の一定量 (全内容量の 70—80 % 量) を入れ、密栓したのち、軽く転倒して管内面をよく濡らし、恒温槽内に垂直に立てて一定時間静置した。水道水中に溶出した VCM 濃度 (C) は次式により算出した。

$$C(\mu\text{g/l}) = \frac{\left[ \frac{A}{S}(a+1)^{\text{註1}} \right] + \left[ \frac{A}{S} \cdot \frac{1}{\alpha} \cdot b \right]}{(a+b)^{\text{註2}}}$$

但し、A : Headspace 1ml の GC のピーク高 (mm)  
S : 標準 VCM 1ng に対する GC のピーク高 (mm)  
a : Headspace (ml)  
b : 試料水 (ml)  
α : VCM の分配率<sup>註3</sup>

(Headspace VCM 濃度/水中 VCM 濃度)

註 1) Headspace の空気 1ml を GC に注入したため、(a+1) を使用した。

註 2) PVC 管の両端を密栓して封水試験を行なう場合、中に水を入れた場合と入れない場合では前者の方が数倍 VCM の溶出量が多い。よって、本測定では封水後、軽く転倒して Headspace 部分も検水でよく濡らし、全体に封入されていたものと仮定して (a+b) を用いた。

註 3) 実験の結果、10° で 0.50、20° で 0.65 の α を得た。

### 結果および考察

PVC 管中の残留 VCM 濃度 全測定結果をメーカー別に表 2 に示す。また、この結果を VCM 濃度別および製造年別に分類して表 3 に示す。

表 2 に示すように PVC 管中残留 VCM 濃度は 0.0 μg/g から最高 540 μg/g までかなりの開きがある。これを表 3 に示すように、濃度別にみると 1 μg/g 以下が最も多く、全体の 44.4% を占めるが、この反面 100 μg/g 以上の高濃度の VCM を含む PVC 管も全体の 13.9% を占めた。今までの資料<sup>6,7)</sup> では最高約 100 μg/g とされていたが、今回の調査でかなり高濃度の VCM を含む PVC 管が使われていることが示された。また、この結果をメーカー別にみると、最も多くの試料が得られた A 社製の PVC 管に比較的高濃度のものが多いこと、E 社製の試料では 4 試料中 3 試料まで 200 μg/g 以上の VCM が含まれていたことが示されている。製造年別では 1973 年製および 1974 年製の PVC 管に 11 試料中 8 試料 (73%) の割合で 100 μg/g 以上の高い残留 VCM が認められた。

Table 2. Residual VCM Concentration in PVC Pipes Tested

Brand of pipes	No. of samples	Residual VCM in PVC pipes ( $\mu\text{g/g}$ )
A	22	2.6(13 <sup>a</sup> , 5''76 <sup>b</sup> ), 3.1(20, 5''76), 3.4(25, —), 4.6(13, 9''74), 5.1(13, 7''76), 5.4(20, —), 6.0(13, 2''76), 6.2(25, 4''76), 7.1(25, 6''76), 7.2(25, 1''76), 7.2(25, 2''76), 7.7(20, 3''76), 7.7(20, 2''76), 8.0(20, 5''76), 8.2(13, 12''75), 20(20, 1''75), 34(13, 12''73), 80(25, —), 180(20, 10''73), 200(25, 1''74), 210(13, —), 280(20, 7''73)
B	13	0.0(25, 6''76), 0.0(20, 1''76), 0.2(13, 5''76), 0.4(13, 1''76), 0.4(20, 5''76), 1.0(13, 12''75), 1.5(20, —), 3.6(25, 7''73), 7.2(25, 4''75), 17(13, 10''75), 18(20, 5''73), 28(13, 10''75), 350(25, 12''73)
C	11	0.0(20, 3''76), 0.0(25, 11''75), 0.2(20, 9''75), 0.2(13, 6''75), 0.4(13, 2''76), 0.4(20, 2''75), 0.4(20, 7''75), 0.5(13, 7''75), 0.5(25, 7''76), 1.5(13, 5''76), 2.6(25, 4''76)
D	6	0.0(25, 2''76), 0.2(20, —), 0.3(20, 2''76), 0.4(13, 1''76), 0.5(25, 9''75), 300(20, 12''73)
E	4	5.4(13, 5''76), 210(13, —), 220(13, 5''76), 540(13, 7''76)
F	1	2.4(25, 10''73)
G	8	0.0(20, 2''76), 0.1(25, 5''76), 0.1(13, 2''76), 0.1(20, —), 0.1(20, —), 0.3(20, 10''75), 0.3(13, —), 0.6(13, —)
H	2	0.1(25, —), 140(25, 3''74)
I	2	0.0(13, 1''76)*, 0.2(25, 1''76)*
J	2	0.3(13, 1''76)*, 0.5(25, 1''76)*
K	1	7.1(20, 3''75)

\* PVC on PVC lining steel pipe

a) Size of pipe (mm) b) Month and year manufactured

Table 3. Residual VCM Levels in PVC Pipes Tested

Residual VCM Conc. ( $\mu\text{g/g}$ )	No. of Samples	Brand of Pipes										Year of Manuf.						
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	'72	'73	'74	'75	'76	Unident.
Under 1	32(44.4%)	0	5	9	5	0	0	8	1	2	2	0	1	0	0	7	17	6
— 5	10(13.9%)	4	3	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1	1	4	2
— 10	14(19.4%)	11	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	10	1
— 50	5(6.9%)	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	0
— 100	1(1.4%)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Over 100	10(13.9%)	4	1	0	1	3	0	0	1	0	0	0	0	4	2	0	2	2
Total	72(100%)	22	13	11	6	4	1	8	2	2	2	1	1	8	3	14	33	12

しかし、各方面で VCM の規制が強化された後に製造された1976年製の PVC 管からも 220 $\mu\text{g/g}$ 、540 $\mu\text{g/g}$  という高濃度の VCM が検出され、これは予想されないことであった。この1976年製の PVC 管については一社の製品に限られたので、後日、その原因について調査したところ、残留 VCM 濃度のチェックを行わずに、輸入 PVC 原料から PVC 管を製造していたためであることが判明した。

PVC 管原料である PVC 中には未反応 VCM の残留は避けられないと云われる。PVC の合成過程で VCM の除去操作が行なわれるが、通常、我国の製品では10~

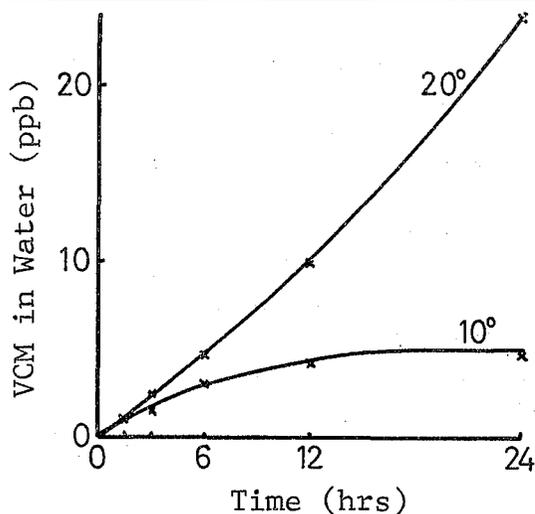
50 $\mu\text{g/g}$  の残留 VCM が含まれると云われる<sup>5)</sup>。更に、PVC 管として加熱成型される場合に大部分の VCM が除去され、原料 PVC 中の残留 VCM 濃度の10分の1以下になると云われる。従って、PVC 管中の残留 VCM 濃度の違いは主として原料 PVC 中の未反応 VCM 濃度によって決まるため、原料 PVC を厳選することによって VCM 濃度の低い PVC 管を製造することは十分に可能であると考えられる。今回の分析結果からも、いくつかのメーカーの製品では高濃度 VCM を含む PVC 管は認められなかった。なお、近時、高層ビルなどで耐圧性で内面腐蝕のない PVC ライニング鋼管が

Table 4. Water Extraction of Residual VCM in PVC Pipes (20°C)

(a) Residual VCM in PVC Pipes ( $\mu\text{g/g}$ )	Size of Pipes (mm)	No. of Samples	VCM Concentration Extracted in Water ( $\mu\text{g/l}$ )	
			72hr	168hr
Under 1	13	10	0.0	0.0
1—3	13	5	0.3 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.3
13—15	13	3	0.8 $\pm$ 0.4	1.4 $\pm$ 0.7
30—50	13	3	3.4 $\pm$ 1.1	6.3 $\pm$ 1.8

(b) Residual VCM in PVC Pipes ( $\mu\text{g/g}$ )	Size of Pipes (mm)	VCM Concentration Extracted in Water ( $\mu\text{g/l}$ )			
		24hr	48hr	72hr	168hr
210	13	22	38	50	88
220	13	16	34	37	50
540	13	34	71	78	110
180	20	1.9	3.1	5.1	5.5
300	20	5.3	8.6	12	15
200	25	2.2	3.5	4.8	7.4
350	25	5.5	10	14	20

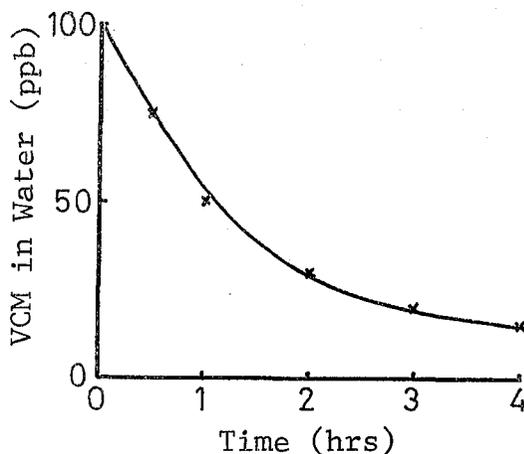
Fig. 2. VCM Concentration in Water Packed in PVC Pipe (13mm, residual VCM 210 $\mu\text{g/g}$ ) at 10°C and 20°C

盛んに使われだしているが、2社4本のPVCライニング鋼管のPVC中には、1 $\mu\text{g/g}$ 以上のVCMは認められなかった。

残留VCMの水道水への溶出 PVC管中のVCMが水道水にどの程度移行するかを試験するためには、種々な方法<sup>2,3,6)</sup>が考えられるが、図1に示すように、20cmに切断したPVC管を用いて、一定量のHeadspaceを設けた封水試験法で実験を行なった。この方法には実際のPVC管の使用状態に近い状態で試験ができることおよび溶出したVCMの測定にHeadspace法を用いる

ことにより、感度よく簡便に定量できるという利点がある。

表4(a)にPVC管中の残留VCM濃度別の20°Cにおける封水試験の結果を示す。残留VCM濃度が1 $\mu\text{g/g}$ 以下の場合には168時間封水を行なってもVCMの溶出は認められなかった。しかし、残留VCM濃度が1 $\mu\text{g/g}$ を超えるとわずかにVCMの溶出が認められるようになり、残留VCM濃度の増加と共にVCMの溶出量も増加した。表4(b)に示すように、残留VCM濃度が200 $\mu\text{g/g}$ 以上になると、VCMの溶出量も多くなり、13mm管では、20°C24時間で15 $\mu\text{g/l}$ 以上、48時間

Fig. 3. Fugacity of VCM in Water at Room Temperature (22°C) (Surface area to water, 1 $\text{cm}^2/\text{ml}$ )

で  $30\mu\text{g/l}$  以上の VCM が溶出した。20mm管, 25mm管では水との接触比が小さくなるので, 溶出 VCM 濃度は低くなっている(水との接触比, 13mm管,  $3.1\text{cm}^2/\text{ml}$ , 20mm管  $2.0\text{cm}^2/\text{ml}$ , 25mm管  $1.6\text{cm}^2/\text{ml}$ )。以上のように, PVC 管中の残留 VCM 濃度とその溶出量との間に相関が認められるが, 管それぞれにより, 多少のばらつきは認められるようである。

なお, 温度による残留 VCM の溶出量の違いはかなり大きく, 図2に示すように,  $10^\circ$ と $20^\circ$ では24時間の封水で約5倍の差が認められた。

水道水中の VCM の除去 VCM は常温では気体(bp.  $-13.9^\circ$ )であるため, 水道水中に溶出した VCM は直ちに揮散してしまうことが予想される。しかし, 図3に示すように, VCM 濃度  $100\mu\text{g/l}$  の水道水をビーカーに入れ(表面積  $1.0\text{cm}^2/\text{ml}$ ), 室温( $22^\circ$ )に放置した場合, VCM の急激な減少は見られず, VCM 濃度が半減するのに1時間以上を要した。容器(ビーカー)を軽く揺動した場合には VCM の揮散はかなり早くなり, 約15秒で半減し, 2分でほとんどが揮散した。なお,  $100\mu\text{g/l}$  の VCM を含む水道水を5分間煮沸するか, 長さ10cmの活性炭カラムを通した場合は VCM は完全に除去された。

#### む す び

水道用 PVC 管は硬質 PVC であること, および食品などと異なり PVC との接触時間が短いことなどのため, VCM の溶出については今のところあまり重要視されていないようである。筆者らは現在東京都内で実際に使われている PVC 管を入手し, その残留 VCM 濃度とその水道水への溶出について調査した。その結果, 残留 VCM 濃度は  $1\mu\text{g/g}$  以下のものが全体の44%を占めたが,  $100\mu\text{g/g}$  以上という高濃度のものも14%認められた。中には, 各方面での VCM 規制強化後に製造

された PVC 管(1976年製)にも  $200\mu\text{g/g}$  を超える VCM が認められた。残留 VCM の水道水への溶出は, 残留 VCM 濃度  $1\mu\text{g/g}$  以下の場合には168時間(1週間)の封水試験でも認められなかった。しかし,  $1\mu\text{g/g}$  を超えるとわずかに VCM の溶出が認められるようになり, 残留 VCM の増加と共に溶出 VCM も増加し, 残留 VCM 濃度  $200\mu\text{g/g}$  以上(13mm管)では,  $20^\circ$  24時間で  $15\mu\text{g/l}$  以上, 48時間で  $30\mu\text{g/l}$  以上の VCM が溶出した。

以上のように, 残留 VCM 濃度の高い PVC 管では VCM の溶出量も多くなり, 我々の体内に取り入れられる恐れがある。今日のように様々な化学物質による環境汚染が問題となってきている折に, 人為的に避け得る物質はできるだけ少なくする努力が必要であろう。PVC 管が使われている一般家庭の蛇口水からも微量の VCM が認められる現在, 水道用 PVC 管の残留 VCM 濃度にも何らかの規制が必要ではないだろうか。

(本研究の概要は第35回日本公衆衛生学会総会昭和51年10月で発表した。)

#### 参 考 文 献

- 1) Creech, J.L. and M.N. Johnson: *Jour. Occup. Med.* 16(3), 150, 1974
- 2) Continental Oil Company: Answer to the April 22, 1974 Federal Resister, May 24, 1974
- 3) 塩化ビニール管継手協会: 塩化ビニールモノマーについての見解, 1975年9月
- 4) 日本薬学会: 衛生化学, 21, 130, 1975
- 5) 塩ビ協会技術委員会中村氏: 私信
- 6) 浜村憲克, 富田伴一, 大沼章子: 衛生化学, 22, 323, 1976

水道の原水に関する調査研究 (第2報) 八丈島における地下水の水質

中村 弘\*, 齊藤 庄次\*, 高橋 正博\*  
小輪瀬 勉\*, 三村 秀一\*

Studies on Raw Waters of Water Supplies (II)  
Chemical Composition of Subterranean Waters in Hachijo-jima Island

HIROSHI NAKAMURA\*, SHOJI SAITO\*, MASAHIRO TAKAHASHI\*,  
TSUTOMU KOWASE\* and SHUICHI MIMURA\*

はじめに

東京都の島しょ部(伊豆七島および小笠原諸島)の水資源は乏しくその多くは塩水化などにより飲料水として不向きなところが多い<sup>1-4)</sup>。伊豆七島の最南端に位置する八丈島は中でも比較的良質な水に恵まれた島であるが、そのほとんどが湧出水であるため、水量的に不足し勝ちである。現在、同島では8カ所の湧水と5カ所の井戸水を水源とした4つの簡易水道で給水が行なわれている。

筆者らは昭和50年8月現地において、これら簡易水道源とされている湧水および井戸水について、衛生学的ならびに陸水学的見地より水質分析を行なったので報告する。

地勢および気候<sup>5-8)</sup>

八丈島は東京から南へ291kmの大太平洋上に浮ぶ面積約68km<sup>2</sup>のまゆ型の島で、富士火山帯に属する。地質的には西山(八丈富士、標高854.3m)を中心とする主として玄武岩質からなる北部地区と東山(三原山、標高700.9m)を中心とする主として安山岩からなる南部地区に区分される。北部地区の中心八丈富士は赤かっ色を呈する岩石でほとんど土壌がなく降水は直接浸透して海中に入るため、水に乏しくほとんど集落がない。一方、三原山を中心とする南部地区は安山岩、凝灰岩、集塊岩の互層からなり、不透水層(主として玄武岩燄岩)も存在するため、所々に湧泉が存在する。

気候的には亜熱帯と温帯との境界にあたり、近海の黒潮本流の影響により、同緯度の高知県室戸岬に比較し温度が高く、最高気温と最低気温の差が少ない暖冬夏涼の海洋性気候を示す(月間平均気温10.2-26.6°, 年平均気温18.1°)。年間雨量は約3,200mmを示し、東京のほ

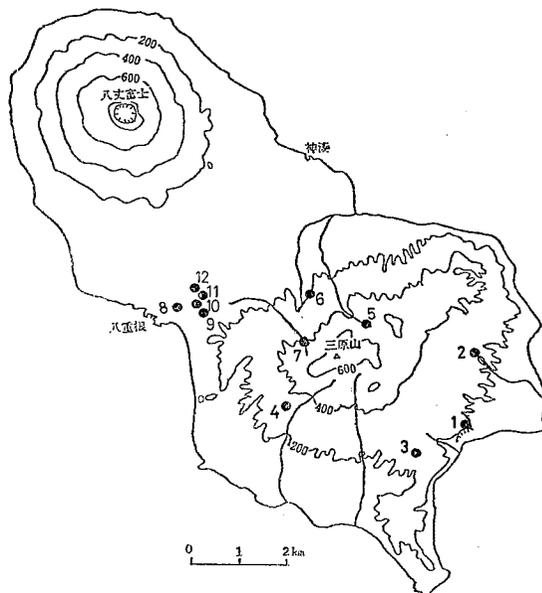


図1. 試水の採取場所

- 1. 洞輪沢(湧水) 2. 桑谷洞(湧水) 3. 安川(湧水)
- 4. いぶりや(湧水) 5. 大川(湧水) 6. 小川(湧水)
- 7. 鴨川(湧水) 8. 旧八戸井戸 9. 新八戸1号井
- 10. 新八戸2号井 11. 新八戸3号井 12. 新八戸4号井

ほ2倍である。

水道施設の概要<sup>5)</sup>

昭和28年に最初の簡易水道が設置され、昭和34年に全戸給水が完了した。水源は8カ所の湧水と5カ所の井戸水で塩素消毒のみで給水が行なわれている。これら簡易水道の概要について表1に示す。

試料の採取および分析方法

昭和50年8月19日に現地において、図1に示す湧水7

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

表 1. 水道施設の概要

水道施設名	給水地区	水 源 名	最大取水量 (m <sup>3</sup> /日)	給水人口(計画) (人)
三根簡易水道	三 根	小 川(湧水, 標高200m)	1,000	4,500
		大 川(湧水, 標高400m)	1,500	
大賀郷簡易水道	大賀郷	鴨 川(湧水, 標高300m)	1,300	3,800
		大賀郷(井戸, 深さ36m×1, 31m×3)	1,500	
八戸・千鳥簡易水道	大賀郷	八戸・千鳥(井戸, 深さ16m)	600	3,300
		榎 立	いぶりや(湧水, 標高300m)	
坂上地区簡易水道	中之郷	三 原(湧水, 標高400m)		3,300
		安 川(湧水, 標高250m)	1,000	
		洞輪沢(湧水, 標高90m)	1,000	
		末 吉	桑谷洞(湧水, 標高200m)	

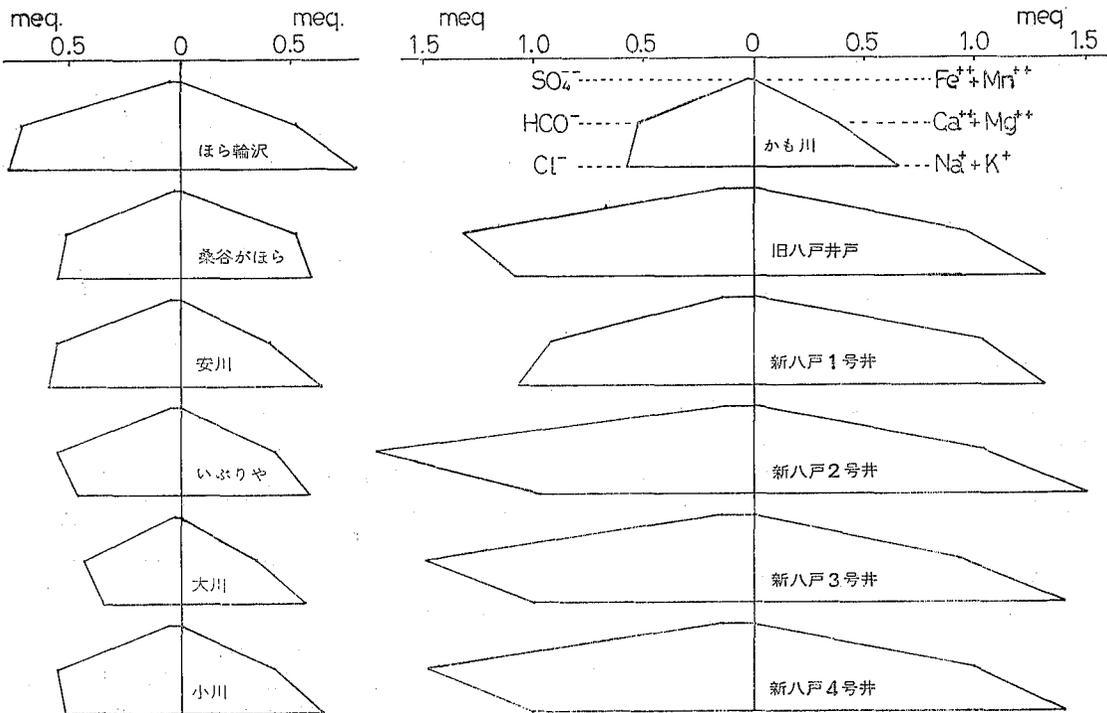


図 2. 八丈島地下水(湧水, 井戸水)のヘキサダイアグラム

カ所, 井戸水5カ所を採取した。水質分析は主として上水試験法<sup>9)</sup>に基づいて行なった。pH, RpH, 水温については採水直後に, 濁度, 色度, アンモニア性窒素, 亜硝酸性窒素, 硝酸性窒素およびアルカリ度については採水後6時間以内に行なった。

結果および考察

湧水7カ所, 井戸水5カ所の分析結果をそれぞれ表2および表3に示す。

水温は湧水15.0—22.0°, 平均18.9°を, 井戸水は19.0—20.5°, 平均19.7°を示した。井戸水では約20°のほほ

表 2. 水質分析結果 (湧水)

	洞輪沢	桑谷洞	安川	いぶりや	大川	小川	鴨川	平均
Water Temp. (°C)	22.0	18.0	15.0	19.0	22.0	21.0	15.5	18.9
pH	7.6	7.3	7.2	7.2	7.2	7.0	7.2	7.2
RpH	7.3	7.1	7.1	7.1	7.0	7.3	7.3	7.2
Turbidity (ppm)	0	0	0	0	0	0	0	0
Color (ppm)	3	0	0	2	3	2	0	1.4
NH <sub>4</sub> -N	ND							
NO <sub>2</sub> -N	ND							
NO <sub>3</sub> -N (ppm)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Cl <sup>-</sup> (ppm)	27.5	20.0	21.3	16.5	12.4	18.6	20.6	19.6
KMnO <sub>4</sub> consum. (ppm)	1.8	0.8	0.6	1.5	1.0	0.8	0.6	1.0
Total Hardness (ppm)	52.0	52.0	40.0	42.0	34.0	42.0	38.0	42.9
Alkalinity (ppm)	36.0	26.0	28.0	28.0	22.0	28.0	26.0	27.7
Ca <sup>++</sup> (ppm)	10.4	8.0	8.0	8.8	7.2	8.8	8.0	8.5
Mg <sup>++</sup> (ppm)	6.3	7.8	4.9	4.9	3.9	4.9	4.4	5.3
Na <sup>+</sup> (ppm)	17.5	13.0	14.0	13.0	12.5	14.0	14.5	14.1
K <sup>+</sup> (ppm)	1.0	0.8	0.8	0.7	0.8	1.0	0.8	0.8
Fe (ppm)	0.01	0.03	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02
Mn (ppm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	43.9	31.7	34.2	34.2	26.8	34.2	31.7	28.9
SO <sub>4</sub> <sup>==</sup> (ppm)	4.5	2.5	4.5	4.5	3.0	6.0	3.0	4.0
PO <sub>4</sub> <sup>===</sup> (ppm)	0.05	0.03	0.05	0.05	0.03	0.03	0.04	0.04
SiO <sub>2</sub> (ppm)	42.7	37.8	34.3	41.9	48.1	34.9	37.5	39.6
Total Residue (ppm)	145.0	112.0	107.0	128.0	103.0	113.0	119.0	118.0
Cu (ppm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Pb (ppm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Zn (ppm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cd (ppm)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Cr (ppm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
As (ppm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
F <sup>-</sup> (ppm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Phenols (ppm)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Anion Surfactant (ppm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

一定の水温であったが、湧水では安川、鴨川で15°とかなり低温を示し、洞輪沢、大川で22°と比較的高い水温を示した。これらは湧出場所の標高とは直接関係が認められないところから、不透水層の深浅などが関係しているものと思われる。一般的に、浅層地下水の水温はその土地の年平均気温よりやや高い値を示すといわれる<sup>10)</sup>。これらの地下水温は、関東地方の浅層地下水温の15—17°<sup>10)</sup>より高く、小笠原父島・母島の23°<sup>3)</sup>より低い値を示している。

pHは湧水で7.0—7.6、平均7.2を、井戸水で7.2—7.6、平均7.4を示し、また、RpHは湧水で7.0—7.3、平均7.2を、井戸水で7.4—7.7、平均7.6を示した。い

れも微アルカリ性であるが、井戸水の方がやや高い値を示す。これは、不透水層が主として玄武岩熔石(塩基性岩)<sup>3,9)</sup>であるためと考えられる。

色度、濁度はほとんど認められず、湧水、井戸水ともほとんど無色澄明である。これは水中の鉄、マンガン、有機物、粘土などがきわめて少ないためと思われる。

アンモニア性窒素、亜硝酸性窒素は湧水、井戸水とも検出されない。硝酸性窒素は湧水で0.1ppm、井戸水で0.1—1.5ppm平均0.7ppmを示し、人、動物などの排泄物による汚染は認められない。また、これらは湧水、井戸水とも酸化性地層に存することを示している。

塩素イオンは湧水では海岸に最も近い洞輪沢で27.5

表 3. 水質分析結果 (井戸水)

	旧八戸 井戸	新八戸 1号井	新八戸 2号井	新八戸 3号井	新八戸 4号井	平均
Depth of Well (m)	16	36	31	31	31	—
Water Temp. (°C)	19.5	19.0	19.5	20.5	20.0	19.7
pH	7.2	7.3	7.5	7.6	7.4	7.4
RpH	7.6	7.6	7.5	7.7	7.4	7.6
Turbidity (ppm)	0	0	0	0	0	0
Color (ppm)	0	0	0	0	0	0
NH <sub>4</sub> -N	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NO <sub>2</sub> -N	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NO <sub>3</sub> -N (ppm)	1.5	0.9	0.1	0.8	0.1	0.7
Cl <sup>-</sup> (ppm)	38.5	37.8	34.4	35.8	35.8	36.5
KMnO <sub>4</sub> consum. (ppm)	0.5	0.5	0.6	0.5	0.6	0.5
Total Hardness (ppm)	96.0	104.0	108.0	94.0	100.0	100.4
Alkalinity (ppm)	66.0	46.0	86.0	74.0	74.0	69.2
Ca <sup>++</sup> (ppm)	23.2	27.2	25.6	23.2	24.0	24.6
Mg <sup>++</sup> (ppm)	9.2	8.7	9.7	8.7	9.7	9.2
Na <sup>+</sup> (ppm)	28.0	29.0	33.0	31.0	31.0	30.4
K <sup>+</sup> (ppm)	3.5	2.0	2.5	2.0	2.0	2.4
Fe (ppm)	0.03	0.02	0.02	0.02	0.10	0.04
Mn (ppm)	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	80.5	56.1	104.0	90.3	90.3	84.4
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> (ppm)	13.5	14.0	13.0	14.0	14.0	13.7
PO <sub>4</sub> <sup>---</sup> (ppm)	0.10	0.12	0.10	0.04	0.12	0.10
SiO <sub>2</sub> (ppm)	41.5	37.2	38.5	34.7	35.1	37.4
Total Residue (ppm)	230.0	230.0	232.0	216.0	212.0	224.0
Cu (ppm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Pb (ppm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Zn (ppm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cd (ppm)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Cr (ppm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
As (ppm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
F <sup>-</sup> (ppm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Phenols (ppm)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Anion Surfactant (ppm)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

ppm を、標高の最も高い大川で12.4ppm を示し、平均19.6ppm であった。多摩川上流部の2—5ppm<sup>11)</sup> より高い値を示すが、三宅島の湧水の34—224ppm<sup>2)</sup> あるいは小笠原父島の湧水の202ppm<sup>3)</sup> に比較すればかなり低い値であった。また、井戸水も平均36.5ppm を示し、人口密度が高く、人為的汚染が考えられる東京都区部の浅層地下水の平均値35.4ppm<sup>12)</sup> よりやや高い値を示した。これらは主として風送塩の影響と思われる。なお、井戸水については海水の直接的浸入は認められない。

過マンガン酸カリウム消費量の平均値は湧水で1.0ppm、井戸水で0.5ppm であり、きわめて有機物が少

ないことを示す。陰イオン活性剤その他の汚染性成分も認められず、良質な水質を示している。

図2に湧水、井戸水それぞれのヘキサダイアグラムを示す。水の主成分である陽イオン量および陰イオン量をそれぞれのミリグラム当量に換算し、中央線の右側に各陽イオン量を左側に各陰イオン量をプロットし、それぞれを線で結んだものがヘキサダイアグラムである<sup>13)</sup>。この図はその大きさから溶存成分量の多少を、最も多い陽イオンと陰イオンの組合せからその水質型を知ることができる。図2に示すように、湧水では標高が最も低く海岸に近い洞輪沢が溶存成分量最も多く、標高の最も高い

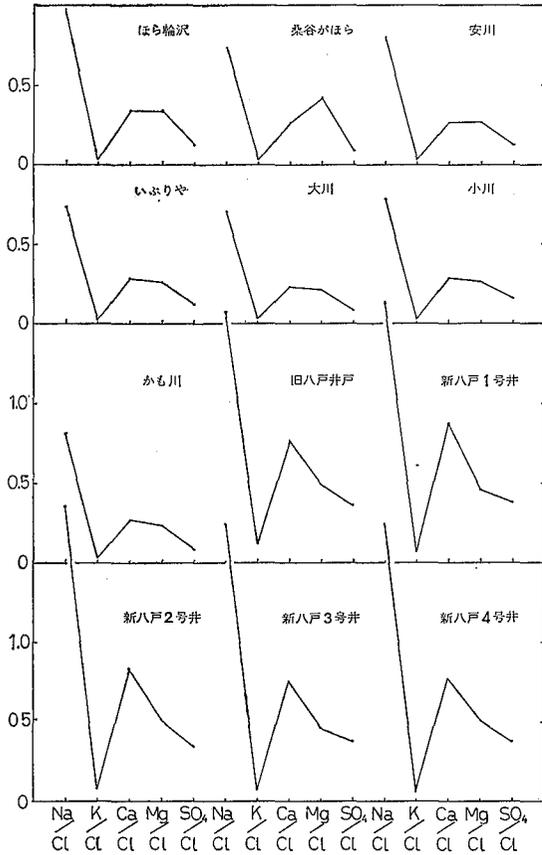


図 3. 各成分の塩素イオンに対する当量比

大川が溶存成分量最も少ない。井戸水では地殻からの溶解成分の増加により、溶存成分量はかなり多くなっている。しかし、これら井戸水の溶存成分量は武蔵野台地の浅層地下水のそれ<sup>14)</sup>よりやや多い程度で、小笠原母島の非塩水地下水<sup>15)</sup>の約半量であった。

水質型は湧水では三原山の東面に湧出する洞輪沢、安川、桑谷洞が NaCl 型を示し、三原山の西面に湧出するいぶりや、小川、大川が NaHCO<sub>3</sub> 型を示した。また井戸水では最も三原山より存する新八戸1号井が NaCl 型であるのに対し、他の井戸水は NaHCO<sub>3</sub> 型であった。NaHCO<sub>3</sub> 型である井戸水の中で、距離的に近接する(約50m間隔)新八戸2号井、3号井、4号井の水質はほとんど同じといえるが、やや下流に位置する旧八戸井戸は水質をわずかに異にする。なお、NaCl 型を示す新八戸1号井はこの谷の上流に位置する鴨川湧水とよく似た水質型を示すところから、その影響があるものと思われる。

図3に各水の Cl<sup>-</sup> に対する各成分 (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, SO<sub>4</sub><sup>--</sup>) の当量比<sup>10), 15)</sup>を示す。海水と雨水ではそ

の塩分濃度に非常な違いがあるにもかかわらず、Cl<sup>-</sup> に対する Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, SO<sub>4</sub><sup>--</sup> などの当量比は比較的良好一致する<sup>15)</sup>。また、陸水では地殻より溶出する成分のため、各成分の Cl<sup>-</sup> に対する当量比は増大する。図3に示すように、八丈島の湧水は本土の河川水<sup>16)</sup> に比べ海水に近いパターンを示すが、Ca/Clのみが海水より大きい。これは地殻から Ca<sup>++</sup> の溶出があるためと考えられる。井戸水では海水に比較しいずれの成分の当量比もかなり大きい。海水の影響がみられる小笠原父島、母島<sup>17)</sup> あるいは三宅島<sup>18)</sup> の井戸水と比較すると Na/Cl および SO<sub>4</sub>/Cl が大きい値を示す。これはこれらの井戸水が地殻の影響は強く受けているが、海水の影響はあまりみられないことを示している。

なお、Ca/Cl 当量比と Mg/Cl 当量比は、湧水で Ca/Cl=Mg/Cl または Mg/Cl>Ca/Cl を示し、井戸水では Ca/Cl>Mg/Cl を示している。

むすび

伊豆七島の最南端に位置する八丈島には三原山を中心とする南部地区に不透水層が存在し、所々に湧水がみられ、地下水が存在する。

これらの水には風送塩、地質の影響がみられ、溶存成分量も本土の水に比較しやや多い。しかし、いずれも微アルカリ性を呈し、ほとんど無色澄明であり、アンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、有機物など汚染性物質はほとんど認められず、飲料水として良好な水質を示している。

現在、4つの簡易水道により年間約 150万 m<sup>3</sup> の水が給水されているが、年々、観光客の増加と開発が進み、給水量も急激に増加しているため、水量不足が深刻化しつつある。水資源の確保と水源の保護が今後の重要な課題となると思われる。

謝辞 本調査に当たり、多大の御協力をいただいた八丈町役場山田水道課長および同課員の方々、ならびに島しょ保健所八丈出張所の方々に深謝いたします。

参考文献

- 1) 岩崎文嗣：工業用水, 55, 31, 1963
- 2) 東洋大学工学部工業技術研究会：三宅島の水道水源調査報告書, 66pp., 1973, 東京
- 3) 中村 弘, 山崎洋子, 松本浩一：東京衛研年報, 25, 427, 1974
- 4) 山本莊毅：水, 15(8), 28, 1973
- 5) 八丈町役場：町勢要覧「はちじょう」1973年版および1975年版
- 6) 山本莊毅：水, 15(9), 62, 1973
- 7) 和光泉設工業株式会社：八丈町名古地区電気探査報

- 告書, 13pp., 1974, 東京
- 8) 和光泉設工業株式会社: 八丈町片根山地区試掘工事のうち電気探査報告書, 14pp., 1973, 東京
- 9) 日本水道協会: 上水試験方法 (1970年版) 661pp., 1971, 東京
- 10) 半谷高久: 水質調査法, 399pp., 1960, 丸善, 東京
- 11) 東京都水道局: 昭和49年度水質年報, 101, 1977
- 12) 中村 弘, 樋口育子, 会田朋子: 水道協会誌, 456, 4, 1972
- 13) 永井 茂: 工業用水, 114, 66, 1964
- 14) 都立衛生研究所所蔵資料 (未発表)
- 15) 菅原 健: 陸水誌, 22, 49, 1961
- 16) 小林 純: 用水と廃水, 2(1), 9, 1958

## 陸水中の溶存態アミノ酸の微量分析法

岡本 寛\*, 土屋 悦輝\*, 三村 秀一\*

### Micro-determination of Dissolved Amino Acid in Inland Water

YUTAKA OKAMOTO\*, YOSHITERU TSUCHIYA\* and SHUICHI MIMURA\*

A method for the determination of amino acids in inland water was improved by the combination of ion exchange chromatography and gas liquid chromatography. The ion exchange chromatography was undertaken to isolate the amino acids from water samples using both cation and anion exchangers after filtering the sample water with glass fiber filter and then hydrolyzing with hydrochloric acid. Amino acids were n-butylated and trifluoroacetylated and then injected to gas liquid chromatography equipped with FID detector. Recovery of twelve amino acids from spiked lake water ranged from 91 to 110%, while that of methionine, hydroxyproline and threonine was 75%, 76%, 60% respectively. No arginine was recovered.

#### 緒 言

最近、自然水域の富栄養化現象が重要な問題となり、その原因の一つとして水中の窒素が議論されている。天然水中の有機体窒素を構成する主なものの一つにアミノ酸があり、アミノ酸、あるいはタンパク性物質はある種の藻類に対し、栄養基質として、また生長促進物質として、あるいは鉄、マンガン等の微量金属とキレート結合を起し、藻類が摂取しやすい型にするなどの働きがある。このようにアミノ酸は水中で生物に対し、重要な役割を演じているといわれているが<sup>1-5)</sup>、個々のアミノ酸を定量分析した報告は比較的少ない。最近、水中の微量アミノ酸の分析法として、N-トリフルオルアセチル、メチル誘導体、あるいはトリメチルシリル誘導体にして、ガスクロマトグラフィー (GLC) で分析する方法<sup>6,7)</sup>が試みられているが、分離定量できるアミノ酸の種類は非常に少ない。

筆者らは試料を加水分解し、陽イオン交換樹脂及び陰イオン交換樹脂でクリーンアップし、Gerke等の方法<sup>8-10)</sup>によりN-トリフルオルアセチル、n-ブチルエステル誘導体にし、ガスクロマトグラフィーで溶存態アミノ酸を分析する方法を試みたところ良好な結果を得たので報告する。

#### 実験の部

1. 試薬 6N塩酸：精密分析用、アンモニア水：精密分析用、水酸化ナトリウム：特級、塩化メチレン：希水酸化ナトリウム溶液で洗浄し脱水後蒸留、無水トリフルオル酢酸：ピラス社製、3N HCl-n-ブタノール：n-ブ

タノール (脱水後蒸留) に乾燥塩化水素ガスを溶かす、Amberlite CG-120 (100-200メッシュ) : 1N 塩酸で H<sup>+</sup> 型にしてから、Cl<sup>-</sup> がなくなるまで水洗、Dowex 1-X2 (100-200メッシュ) : 1N水酸化ナトリウム溶液 (18N溶液の上澄を用時無炭酸水で希釈) で OH<sup>-</sup> 型にしてからアルカリ性を示さなくなるまで無炭酸水で洗浄、アミノ酸標準混液：各種アミノ酸約20mgを正確にとり、0.1N塩酸 100ml に溶かす、内部標準溶液：ステアリン酸20mgを水 100ml に溶かす、水：脱塩水を蒸留

2. 装置 ガスクロマトグラフィー：島津 GC-5A, インテグレーター：島津 ITG-2A

3. 試料並びに前処置 試料としては三宅島大路池の水を使用し、採取後直ちに、ガラス繊維フィルター (Whatman GF/C) でろ過し、0.1N 塩酸酸性とし、-20°以下で凍結し、分析直前に 40°以下で解凍した。

4. 分析操作 分析法のフローシートを Fig.1 に示す。

1) 加水分解 試料の適量 (200-1000 ml) をフラスコに取り、60°以下でロータリーエボレーターを用いてほとんど乾固するまで濃縮する。(以下この操作を濃縮操作という) 次に試料1l に対して50ml の割合で塩酸を加え脱気し、100°で24時間加水分解する。加水分解後再び濃縮操作を行い、真空デシケーター (苛性ソーダ入り) 中で乾燥する。

2) 洗浄 1) の検体を 0.1N 塩酸50ml に溶かし、塩化メチレン 20ml ずつで2回洗浄し妨害物質を除去し、濃縮操作を行い、真空デシケーター (苛性ソーダ入り) 中で乾燥する。

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町 3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

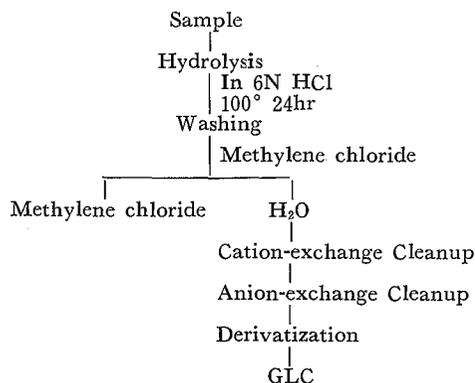


Fig. 1. Flowsheet of Amino Acid Analysis

3) 陽イオン交換樹脂によるクリーンアップ 2)の検体を0.01N塩酸5mlに溶かし、Amberlite CG-120H<sup>+</sup>型のカラム(20cm×2cm)に通し、樹脂を水500mlで水洗後、2Nアンモニア水500mlでアミノ酸を溶出し、濃縮操作を行い、真空デシケーター(硫酸入り)中で乾燥する。

4) 陰イオン交換樹脂によるクリーンアップ 3)の検体を5mlの水に溶かし、Dowex 1-X2 OH<sup>-</sup>型のカラム(6cm×2cm)に通し、樹脂を無炭酸水500mlで水洗後、1N塩酸250mlでアミノ酸を溶出し、濃縮操作を行い、真空デシケーター(苛性ソーダ入り)中で乾燥する。

5) 誘導体の作製 クリーンアップ後の試料を0.1N塩酸5.0mlに溶かし、その一部と内部標準溶液25 $\mu$ lをテフロン栓付バイアルびんに取り、100°で窒素ガスを通じながら完全に乾燥する。3N HCl-n-ブタノール150 $\mu$ lを加え100°で15分間反応させn-ブチルエステルにし、窒素ガスを通じながら溶媒を留去後、無水トリフルオル酢酸20 $\mu$ lと塩化メチレン60 $\mu$ lを加え150°で5分間反応させN-トリフルオルアセチル-n-ブチルエステル誘導体にし、GLCカラムに注入する。

6) ガスクロマトグラフィーの条件 検出器:FID, カラム温度:初期温度70°4°/minで220°まで昇温, 注入口温度:240°, キャリアーガス:N<sub>2</sub>50ml/min, カラムA:EGA(0.5%) on Chromosorb W(AW)(80-100), カラムB:OV-17-OV-210(2-1%) on Supelport(100-120)

プロリン, チロシンの定量にOV-17-OV-210を,他のアミノ酸にはEGAカラムを用いた。

#### 結果と考察

1. アミノ酸標準混液による回収率の検討 アミノ酸標準混液250 $\mu$ lを取り,各単位操作ごと,及び全操作を行い回収率を検討した結果をTable 1に示す。なお加水分解の方法は種々あり,それぞれ一長一短があるため,天然水に一般的に広く用いられている6N塩酸100°,24時間の条件を採用した。メチオニン,アルギニン以外のアミノ酸は93-104%の範囲で回収されたがアルギニンは

Table 1. Recoveries of Amino Acids from Standard Amino Acids Solution

Amino acid	Recovery (%)			
	Washing	Cation-exchange cleanup	Anion-exchange cleanup	Total
Alanine	96	103	99	98
Valine	98	100	100	102
Glycine	100	102	102	98
Isoleucine	99	97	101	98
Leucine	99	100	102	100
Proline	99	101	107	104
Threonine	98	91	104	100
Serine	96	107	105	98
Methionine	98	49	101	88
Hydroxyproline	97	100	99	96
Phenylalanine	99	102	100	100
Aspartic acid	98	101	104	100
Glutamic acid	98	102	103	99
Tyrosine	96	99	100	96
Lysine	102	104	97	93
Arginine	94	49	0	0

Table 2. Recoveries of Amino Acids from Lake Water (Lake Tairo, May 29, 1976)

Amino acid	Unfortified ( $\mu\text{g}/300\text{ml}$ )	Added ( $\mu\text{g}$ )	Fortified ( $\mu\text{g}/300\text{ml}$ )	Net recovery ( $\mu\text{g}$ )	Percent recovery
Alanine	21.0	27.4	50.3	29.3	107
Valine	24.6	23.5	47.8	23.2	99
Glycine	19.3	27.6	49.7	30.4	110
Isoleucine	9.2	25.2	36.2	27.0	107
Leucine	15.1	24.7	38.7	23.6	96
Proline	9.1	24.0	32.9	23.8	99
Threonine	6.0	24.0	20.3	14.3	60
Serine	8.8	25.9	32.8	24.0	93
Methionine	0.0	25.7	19.2	19.2	75
Hydroxyproline	1.1	22.6	18.2	17.1	76
Phenylalanine	11.2	24.2	33.2	22.0	91
Aspartic acid	24.0	25.0	48.8	24.8	99
Glutamic acid	23.7	24.7	47.2	23.5	95
Tyrosine	0.0	23.5	21.6	21.6	92
Lysine	8.2	28.1	33.7	25.5	91
Arginine	0.0	24.2	0.0	0.0	0

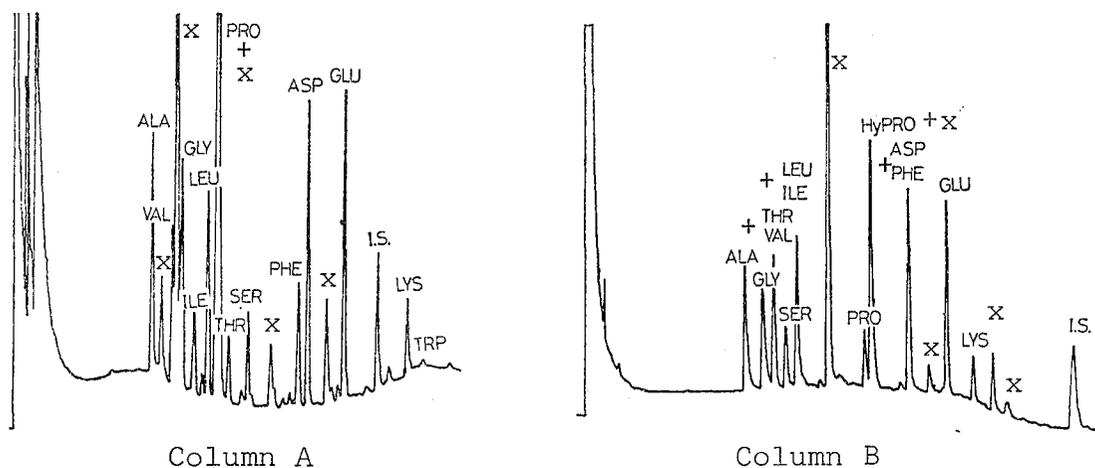


Fig. 2. Gas Chromatograms of Amino Acids from Hydrolyzed Sample (Lake Tairo, May 29, 1976)

Column A : 0.5% EGA on 80/100 mesh A. W. Chromosorb W

Column B : 2-1% OV-17-OV-210 on 100/120 mesh Supelcoport

溶出液を増しても陰イオン交換樹脂から全く回収されなかった。メチオニンは陽イオン交換樹脂によるクリーンアップの段階では回収率が低い、溶出に用いたアンモニア水中に含まれる微量の不純物により誘導体が定量的にできなかったためと考えられる。なお陰イオン交換樹

脂によるクリーンアップで用いる水酸化ナトリウム中の不純物のピークが EGA カラムではプロリンと重なるため、プロリンは OV-17-OV-210 カラムで定量した。

2. 添加回収実験 湖沼水 600ml をろ過し、0.1N 塩酸々性とし、その 300ml について実験の部 4. の操作に

Table 3. Effect of Freezing Sample  
(Lake Tairo, November 18, 1976)

Amino acid	Unfrozen <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/500\text{ml}$ )	Frozen <sup>b)</sup> ( $\mu\text{g}/500\text{ml}$ )
Alanine	19.6	18.0
Valine	8.2	8.6
Glycine	16.4	15.0
Isoleucine	6.3	6.1
Leucine	8.8	8.7
Proline	7.2	6.6
Threonine	13.2	14.5
Serine	17.8	15.1
Methionine	0.0	0.0
Hydroxyproline	6.7	6.2
Phenylalanine	5.7	5.3
Aspartic acid	18.8	17.5
Glutamic acid	25.3	24.2
Tyrosine	0.0	0.0
Lysine	5.6	8.3

a) Analyzed immediately after sampling

b) Analyzed six months after sampling

より分析した。同時に残りの 300ml にアミノ酸標準混液 120 $\mu\text{l}$  を添加し同様に分析した。Fig. 2 に湖沼水のアミノ酸のガスクロマトグラムを、Table 2 に回収率を示す。12種のアミノ酸は91—110%の範囲で回収できた。メチオニン、オキシプロリン、スレオニンの回収率は各々75%、76%、60%と低く、今後検討の必要がある。なお、バリン及びグリシンの定量には EGA カラムでは妨害したため、OV-17—OV-210 カラムを用いた。

3. 試料の保存性の検討 採水地及び分析の都合上、必ずしも試料は直ちに分析できないため、採水直後のもの、及び 0.1N 塩酸酸性にして凍結し 6 カ月保存したも

のについて比較検討した (Table 3)。試料を 6 カ月凍結保存すると多少減少する傾向はあるが、大きな違いは認められなかった。

### 結 論

天然水中のタンパク性物質を陽イオン交換樹脂、陰イオン交換樹脂を用いてクリーンアップし、ガスクロマトグラフィーで定量する方法を検討した。本法により12種のアミノ酸が91—110%で、メチオニン、オキシプロリンは75%位で回収定量できた。また2種のカラムを用いてガスクロマトグラフィーを行っているため、かなり汚染した水でも本法のクリーンアップ法で十分定量できると考えられる。

### 文 献

- 1) Gocke, Klaus : *Archiv f. Hydrobiologie*, 67, 285, 1970
- 2) Lewin, R. A. : *Physiology and Biochemistry of Algae*, 171, 1962, Academic Press, New York
- 3) 微生物生態研究会 : 微生物の生態(3), 21, 1976, 東京大学出版会
- 4) 微生物生態研究会 : 微生物の生態(1), 51, 1974, 東京大学出版会
- 5) 松宮弘幸 : 生物指標実験法, 219, 1974, 講談社
- 6) Gardner, W. S. and G. Fred Lee : *Environmental Science & Technology*, 7, 719, 1973
- 7) Pocklington, R. : *Analytical Biochemistry*, 45, 403, 1972
- 8) Roach, D. and C. W. Gehrke : *J. Chromatogr.*, 43, 303, 1969
- 9) Roach, D. and C. W. Gehrke : *J. Chromatogr.*, 44, 269, 1969
- 10) Gehrke, C. W., K. Kuo, and R. W. Zumwalt : *J. Chromatogr.*, 57, 209, 1971

都内陸水の生活環境に関する調査研究 (第2報)

皇居外苑藻群の植物プランクトンの動態

山崎 洋子\*, 松本 淳彦\*, 松本 浩一\*

Limnological Studies on the Inland Waters in the Metropolis of Tokyo (II)  
The Seasonal Changes in Species Composition of Phytoplankton in  
a Group of Moats around the Imperial Palace

YOKO YAMAZAKI\*, ATSUSHIKO MATSUMOTO\* and KOICHI MATSUMOTO\*

緒 言

皇居外苑藻群の植物プランクトンは、古くは倉茂<sup>1)</sup>、洞沢<sup>2)</sup>、酒井<sup>3)</sup>によって調査されている。倉茂<sup>4-6)</sup>は、大手濠における植物プランクトンの短期間遷移を述べるとともに、*Microcystis* の発生と日射量、pH、水温との関係を報告している。当時の藻群には水草が茂り、清澄な水をたたえており、*Microcystis* は bloom をおこすまでには至っていなかった。その後、上水道からの補給水の停止・地下水湧出の減少・草魚の放養などによって1950年頃には水草が消滅した。これにともない、植物プランクトンの増殖が目立ってきた。*Microcystis* の bloom は、富栄養化の進んだ水域の最も顕著な現象の一つである。本藻群では、*Microcystis* の bloom によって、水面が青緑から黄緑色に変色する、いわゆる水の華 (water bloom) が1955年頃から毎夏認められるようになった。また、皇居外苑藻群ばかりでなく、松本城をとりまくいくつかの濠や各地の池沼でも、近年植物プランクトンの増殖により、汚れが目立つようになってきており、これらの水域の浄化対策が検討されている<sup>7,8)</sup>。

今回は、1974年5月から1977年2月までの3年間の8濠における植物プランクトンの優占種と現存量の経年変化を報告するとともに、水の華を形成する *Microcystis* の細胞数の経年変化についても若干の考察を加えた。

調査時期

1974年5月から1977年2月までの3年間に毎年四季4回の調査を実施した。調査日は以下のとおりである。

1974年：5月24日，8月29日，11月21日

1975年：2月12日，5月22日，8月29日，11月20日

1976年：2月13日，5月27日，8月26日，11月25日

1977年：2月24日

調査地点

すでに報告<sup>9)</sup>した地点に、1975年の5月から新たに半蔵濠を加えた合計8濠で調査を実施した。半蔵濠は、夏季にはオニバス *Euryale ferox* SALISB. によって水面の大部分が被われ、他の濠とは外観が著しく異なる。水生植物の生育している濠と生育していない他の濠の植物プランクトンの量・種類組成を比較検討するために、半蔵濠を調査地点として加えた。

調査方法

植物プランクトンは、表層水約500ml をホルマリン固定後、そのままあるいは5倍に濃縮し、その一定量について検鏡により、細胞数を数え、容積量 (algal volume) ここでは藻体量とした) を算出した。

クロロフィル *a* 量 (以下 chl. *a* とする) は、試水をグラスファイバーフィルター (Whatman GF/C) でろ過し、フィルター上の懸濁物を90%アセトンで抽出後、分光光度計で測定した。Strickland & Parsons<sup>10)</sup> の式により、chl. *a* とフェオフィチン *a* 量を算出した。

結 果

I. 細胞数からみた優占種の経年変化

Table 1 には8つの皇居外苑濠における、1974年5月から1977年2月までの3年間の細胞数からみた優占種を示した。全般的な傾向としては、冬季には珪藻、主に *Cyclotella comta* が大部分の濠で優占種となっているが、他の季節には藍藻が優占する地点が多い。特に夏季には *Microcystis* が著しく増大し、水の華を形成する。緑藻が優占種として認定されたのは、1974年5月の桜田濠における1回だけである。この時の優占種は *Scenedesmus*

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24-1 Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Seasonal Changes in Dominant Species of Phytoplankton Expressed as Cell Number

Station	Date											
	1974 May 24	Aug. 29	Nov. 21	1975 Feb. 12	May 22	Aug. 29	Nov. 20	1976 Feb. 15	May 27	Aug. 26	Nov. 25	1977 Feb. 24
Hibiyabori	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i> <i>Aphanizomenon</i>	<i>C.comta</i>	<i>O.limnetica</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>C.comta</i>	<i>Microcystis</i> <i>C.comta</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i> <i>A.spiroides</i> <i>C.comta</i>	<i>C.comta</i>
Hamaguribori	<i>M.granulata</i> <i>C.meneghiniana</i>	<i>M.varians</i>	<i>C.meneghiniana</i>	<i>C.comta</i> <i>S.acus</i>	<i>O.limnetica</i> <i>M.granulata</i>	<i>Microcystis</i> <i>A.spiroides</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>C.comta</i>	<i>M.granulata</i>	<i>Microcystis</i> <i>H.granulata</i>	<i>C.comta</i>	<i>N.acicularis</i>
Kikyobori	<i>M.granulata</i> <i>C.meneghiniana</i>	<i>Microcystis</i>	<i>C.meneghiniana</i>	<i>C.comta</i>	<i>O.limnetica</i> <i>C.comta</i>	<i>Microcystis</i> <i>A.spiroides</i>	<i>Microcystis</i> <i>C.comta</i>	<i>C.comta</i>	<i>M.granulata</i>	<i>M.granulata</i>	<i>C.comta</i>	<i>C.comta</i> <i>N.acicularis</i>
Shimizubori	<i>C.meneghiniana</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Aphanizomenon</i> <i>C.comta</i>	<i>Aphanizomenon</i> <i>O.limnetica</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>C.comta</i> <i>A.gracillima</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i>	<i>C.comta</i>	<i>C.comta</i>
Chidorigafuchi	<i>Microcystis</i> <i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i> <i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>O.limnetica</i> <i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i> <i>C.comta</i> <i>A.gracillima</i> <i>C.comta</i> <i>S.acus</i>
Sakuradabori	<i>Scenedesmus</i> sp. <i>S.quadricauda</i>	<i>Microcystis</i> <i>S.rumpens</i>	<i>O.limnetica</i>	<i>S.acus</i>	<i>Microcystis</i> <i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>C.comta</i> <i>S.acus</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>C.comta</i> <i>S.acus</i>
Ushigafuchi	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>A.gracillima</i>	<i>C.comta</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i> <i>C.comta</i>	<i>Aphanizomenon</i> <i>A.gracillima</i>
Hanzobori					<i>Aphanocapsa</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>C.comta</i>	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i> sp.	<i>Microcystis</i>	<i>A.gracillima</i>	<i>C.comta</i> <i>A.gracillima</i>

Table 2. Seasonal Changes in Dominant Species of Phytoplankton Expressed as Algal Volume

Station	Date											
	1974 May 24	Aug. 29	Nov. 21	1975 Feb. 12	May 22	Aug. 29	Nov. 20	1976 Feb. 15	May 27	Aug. 26	Nov. 25	1977 Feb. 24
Kikyobori	<i>H.granulata</i> <i>C.meneghiniana</i>	<i>Microcystis</i> <i>H.granulata</i>	<i>C.meneghiniana</i>	<i>C.comta</i>	<i>M.granulata</i>	<i>Microcystis</i> <i>H.granulata</i>	<i>M.granulata</i> <i>C.comta</i>	<i>C.comta</i>	<i>M.granulata</i>	<i>M.granulata</i>	<i>C.comta</i>	<i>C.comta</i>
Chidorigafuchi	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i> <i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>S.acus</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis</i> <i>H.granulata</i>	<i>Microcystis</i>	<i>C.comta</i>
Sakuradabori	<i>M.granulata</i>	<i>Microcystis</i> <i>S.rumpens</i>	<i>S.rumpens</i>	<i>S.acus</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>S.acus</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i>	<i>C.comta</i>	<i>S.acus</i>
Hanzobori					<i>M.granulata</i>	<i>M.granulata</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>C.comta</i>	<i>Microcystis</i>	<i>M.granulata</i>	<i>A.gracillima</i>	<i>C.comta</i>

*smus quadricauda* ( $4.5 \times 10^3$  Cells/ml)であった。

3年間の調査の中で、特に *Microcystis* の増殖の著しかった1975年度を例にとって各藻の季節変化をみると次のようである。5月には、いずれの藻でも藍藻が優占的であり、日比谷藻では *Oscillatoria limnetica* が  $2.4 \times 10^3$  Cells/ml で、千鳥ヶ淵・牛ヶ淵・桜田藻では *Microcystis* と *Aphanizomenon* が共に  $10^4$  Cells/ml オーダーで、蛤・桔梗藻では珪藻とともに *O. limnetica* が  $10^3$  Cells/ml オーダーで出現している。この時期から調査を実施した半蔵藻では、優占種として  $2.2 \times 10^4$  Cells/ml の *Aphanizomenon* が得られた。8月には、半蔵藻以外のすべての地点で  $10^5$  Cells/ml オーダーまたはそれに近い値の *Microcystis* の出現が認められた。しかしながら、蛤・桔梗藻では、この *Microcystis* の出現を上まわる *Anabaena spiroides* が観察された。また、日比谷藻においては、 $2.3 \times 10^4$  Cells/ml の *O. limnetica* を得た。11月には、*Microcystis* は減少しているものの千鳥ヶ淵・日比谷・清水・桜田藻では依然  $10^4$  Cells/ml オーダー認められ、単独で優占種となっている。この時期、珪藻に関しては、蛤・桔梗・清水藻で  $10^3$  Cells/ml の *C. comta* が得られたが、優占種となっているのは桔梗藻だけである。1976年の2月には、千鳥ヶ淵で藍藻の *Aphanizomenon* ( $1.3 \times 10^4$  Cells/ml) が優占する他は、珪藻が優占種であった。牛ヶ淵では *Asterionella gracilima* が、その他の地点では *C. comta* が優占種であった。

1974年度も1976年度も出現の認められた種類に大差はなかったが、優占種は多少変化していた。蛤・桔梗・清水藻においては、1974年の春から秋までは *C. comta* よりむしろ *Cyclotella meneghiniana* の方が優占的であったが、1975年の2月以降は *C. comta* が冬季の優占種

となっている。また、1974年の夏季の蛤藻では *Melosira varians* ( $9.5 \times 10^2$  Cells/ml) が優占種であった。1976年の8月には、桔梗藻で *Melosira granulata* ( $8.7 \times 10^3$  Cells/ml) が単独で優占しており、蛤藻でも *M. granulata* が  $4.8 \times 10^3$  Cells/ml 出現していた。

## II. 藻体量からみた優占種の経年変化

細胞数の多いものを優占種とした場合と、藻体量の多いものを優占種とした場合とでは優占種が異なることがある。桔梗・千鳥ヶ淵・桜田・半蔵藻の4地点における藻体量からみた優占種を Table 2 に示す。

緑藻がただ1回だけ優占種となった1974年5月の桜田藻では、藻体量からみた優占種は *M. granulata* ( $1.5 \times 10^6 \mu^3/ml$ ) に変わった。1974年の8月には、桔梗藻では *M. granulata*、桜田藻では *Synedra rumpens* が細胞数で勝って *Microcystis* に変わって優占種となった。桜田藻では、藻体量からみた場合、11月にも *S. rumpens* が優占していた。1975年度において、細胞数からみた優占種と藻体量からみた優占種が異なっていたのは、5月と8月の半蔵藻と5月の桔梗藻と2月の千鳥ヶ淵であった。1976年度についてみると、8月の半蔵藻では *M. granulata* ( $1.9 \times 10^6 \mu^3/ml$ ) に、11月の桜田藻では *C. comta* ( $5.9 \times 10^5 \mu^3/ml$ ) に優占種が変わっている。

細胞数からみた場合には優占種となっている *O. limnetica* は細胞が小さいため、藻体量でみると優占している地点はない。細胞数からみると藍藻が優占している地点でも、藻体量に換算すると、1つの細胞が比較的大きい珪藻の *M. granulata*, *C. comta*, *S. rumpens* に優占種が変わっている地点がかなりある。

## III. *Microcystis* の経年変化

調査藻の多くは、毎夏 *Microcystis* が優占し、その結果、水面が青緑色に変化する、いわゆる水の華の形成

Table 3. Seasonal Change in the Amount of Chlorophyll *a* (mg/m<sup>3</sup>)

Date Station	1974			1975			1976			1977		
	May	Aug.	Nov.	Feb.	May	Aug.	Nov.	Feb.	May	Aug.	Nov.	Feb.
Hibiyabori	63.2	28.7	20.5	18.7	28.5	116	29.9	24.0	13.4	58.7	37.4	12.0
Hamaguribori	28.7	19.4	39.9	41.6	46.7	280	32.0	68.5	13.8	32.7	32.5	15.0
Kikyobori	34.2	89.7	42.9	44.3	28.8	250	49.0	24.9	24.7	139	44.9	8.4
Shimizubori	86.8	136	27.9	28.9	40.6	406	7.5	32.0	28.9	16.8	17.6	18.4
Chidorigafuchi	163	168	38.9	51.2	42.7	214	42.7	40.1	49.0	46.7	57.0	11.9
Sakuradabori	47.0	36.9	17.4	22.2	44.6	130	17.1	12.8	5.9	92.9	16.8	8.3
Ushigafuchi	164	172	42.4	52.1	46.9	122	39.2	26.8	4.0	40.1	9.3	10.3
Hanzobori					24.4	56.6	35.6	14.3	16.8	28.0	30.8	15.0

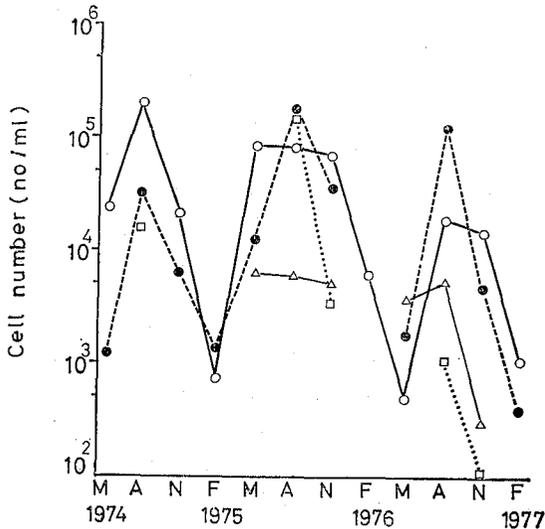


Fig. 1. Seasonal Change in Cell Number of *Microcystis* in Chidorigafuchi: ○—○, Kikyobori: □—□, Sakuradabori: ●---●, and Hanzobori: △—△.

がみられる。Fig. 1には常に *Microcystis* の出現の認められた千鳥ヶ淵、比較的その出現の少ない桔梗藻、この両者の中間的な地点として桜田藻、夏季にはオニバスの茂る半蔵藻の4地点の *Microcystis* の推移を示してある。千鳥ヶ淵では冬季にも  $10^3$  Cells/ml オーダーかそれに近い *Microcystis* の出現が認められ、毎年夏には *Microcystis* による水の華が形成される。桜田藻においても、かなりの *Microcystis* が得られたが、その数はおおむね千鳥ヶ淵よりは少なかった。桔梗藻では、夏季には相当な数の *Microcystis* が存在するが(1975年8月には  $1.5 \times 10^5$  Cells/ml)、春と冬には出現が認められなかった。半蔵藻では、オニバスが水面を被う夏季には、他の地点に比べて *Microcystis* の数は少なく ( $10^3$  Cells/ml)、冬期には出現をみなかった。

#### Ⅳ. クロロフィル $a$ 量の経年変化及びクロロフィル $a$ 量と藻体量との関係

測定された chl.  $a$  の経年変化を各藻について示す (Table 3)。多くの場合、8月に高い値が認められる。特に1975年8月には、半蔵藻以外の藻では  $100\text{mg}/\text{m}^3$  以上の値が得られた。調査地点の中で半蔵藻は、chl.  $a$  の変動幅が最も少ない。変動幅の大きい地点は、水深の浅い蛤・桔梗・清水藻であり、その変動幅は  $242\text{--}400\text{mg}/\text{m}^3$  であった。千鳥ヶ淵はいずれの時期においても chl.

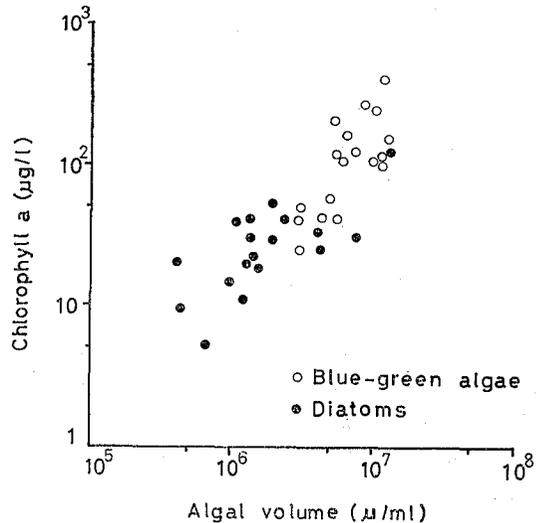


Fig. 2. Relation between the Amount of Chlorophyll  $a$  and Algal Volume of Dominant Species

$a$  が高い。

Fig. 2は chl.  $a$  と藻体量からみた最優占種との関係を示したものである。両者にはほぼ相関が認められる。高い chl.  $a$  を支える優占種は藍藻、主に *Microcystis* であり、chl.  $a$  の比較的低い時期には珪藻が優占種となっていることが多い。

#### 考 察

3年間を通して、いずれの藻でも出現の認められた種類に大差ないが、優占種の変化は多少認められる。また、細胞数からみると、のべ92地点のうち49地点で藍藻が優占しているのが、藻体量では細胞の比較的大きい珪藻へその座をゆずっている地点が21カ所あった。単一種が集的に増大する時期には、細胞数からの優占種と藻体量からの優占種が一致するが、それ以外は容易に一致しないことは倉沢らも述べている<sup>7)</sup>。

水生植物の繁茂している藻と生育していない藻の植物プランクトンの量と種類組成を比較するために、1975年5月からオニバスの生育している半蔵藻を調査地点に加えた。半蔵藻の出現構成種は他地点と大差はみられなかったが、夏季には他藻に比べて、優占種である *Microcystis* の細胞数は1オーダー近く低く、chl.  $a$  もかなり少ない。植物プランクトンの増殖には、水中のNとPの量が制限因子となる場合が多いが、皇居外苑藻群では、total-Nで  $0.73\text{--}5.75\text{mg}/\text{l}$ 、total-Pで  $0.06\text{--}0.92\text{mg}/\text{l}$  あり、特に半蔵藻が低いということはない。従っ

て、半葎藻で夏季に現存量の少ないことは栄養塩の供給が原因しているとはいえない。

牛ヶ淵ではエビモ *Potamogeton crispus* L., ヒメビシ *Trapa incisa* STEB. et ZUCC. がみられるが、この場合には、出現構成種も優占種の細胞数も chl. *a* も水草の生育していない藻との差異は認められなかった。この水域では、ヒメビシの浮葉による開水面の減少は極くわずかである。

半葎藻において、夏季に植物プランクトンの数と量が比較的少ないのは、水面の大部分を被っているオニバスが植物プランクトンの光合成に必要な光をさえぎること（被陰効果）が大きな原因の1つと考えられる。

水草の現存しない藻の中でも特に水深の浅い蛤・桔梗・清水藻においては、細胞数・藻体量とも珪藻の占める割合が多い。これらの藻では chl. *a* の変動幅が大きい。1975年の夏には *Microcystis* の増殖が著しく、蛤・桔梗藻で約 300 mg/m<sup>3</sup>, 清水藻で400 mg/m<sup>3</sup> の高い chl. *a* が得られたが、1976年8月には、藻体量の優占種は *M. granulata* に変わり、chl. *a* は前年の1/2—1/20に減少した。このように、年により遷移経過が大きく変わるの、水域が浅いため、外圃環境の変化の影響が強くあらわれやすいことが原因しているものと考えられる<sup>11)</sup>。

千鳥ヶ淵では細胞数からみた優占種は常に藍藻であり、*Microcystis* と *Aphanizomenon* が優占種となることが多い。藍藻は有機態のNが多量に含まれている水域で優占化することが知られている<sup>12)</sup>。この地点の有機態のNは0.63—4.07 mg/l で、total-Pは0.06—0.61 mg/l で、調査水域の中では常に高い。水質調査の結果、植物プランクトンの種類組成および chl. *a* から判断すると、調査藻の中では本地点が最も汚濁が進行していると考えられる。

日比谷藻と桜田藻では、冬季は珪藻が優占するが、他の季節は藍藻が優占種となっている。2つの藻は、藍藻の優占する千鳥ヶ淵と蛤藻などの珪藻の多い藻との中間に位置する藻といえよう。

倉沢<sup>13)</sup>らは、松本城の藻では珪藻が多く出現し、中でも *Cyclotella Kützingiana* は年間通して優占的であるが、下水の流入している藻では夏季には *Microcystis aeruginosa* が優占すると報告している。皇居外苑藻群には下水の流入は認められないが、毎年夏には *Microcystis* によって水の華が形成される。松本城の藻も皇居外苑藻群も chl. *a* は同程度であるが、高い chl. *a* を支えている優占種は異なっている。

皇居外苑藻群では *Microcystis* の bloom が毎年認められる。この現象は有機汚濁の進行している水域で観察

され、利水上からも景観上からも問題となっている。*Microcystis* は20°以上でよく成長し、水温の上昇と共に増殖が急増する。また、強光阻害がなく、かつ、光合成活性が高いという生理学的性質をもつ<sup>13)</sup>。これらの生理特性により、夏の強光下で活発に光合成を行い、増殖を続ける。温帯の湖沼や池では、植物プランクトンの現存量は、普通春と秋にピークをもつ2山型の変化を示すものが多いが、藻では *Microcystis* の大増殖によって、chl. *a* は夏季にピークが出現する1山型を示す。

調査水域では1975年の夏季には *Microcystis* による水の華が顕著であったが、1976年8月には *Microcystis* の細胞数は前年よりも1オーダーまたはそれに近い程度減少した。これは1976年夏季の気温が例年に比べて低かったことも一因であろう。ちなみに、1976年の7月と8月の最高気温の平均値と最低気温の平均値は、平年値に比べて1.4—1.9°低かった。沖野は<sup>14)</sup>、諏訪湖において、湖底水温が20°以上にならないと *Microcystis* の著しい増殖はないと報告している。例えば、1969年は6月から7月にかけて天候不順であったため、湖底水温が盛夏でも20°以上にならず、*Microcystis* の著しい増殖はなかった。

また、*Microcystis* が水の華を形成すると *Microcystis* の活発な光合成の結果、水域の pH は9—11に達する。藻では、bloom の著しかった1975年は水域の pH は9.1—10.5に達したが、1976年は pH 7.6—9.2であった。

*Microcystis* は大増殖のち急激に衰退するといわれているが、藻の場合、水温4—7°の2月においても、かなりの細胞数を数える地点がある。これは水深が浅いため底に沈まず、上層にまき上げられているものと考えられる。

## 摘 要

1. 細胞数からみた優占種と藻体量からみた優占種が一致するのは、単一種が集散的に増大する時期と細胞の大きい種が優占する時であった。

2. 皇居外苑藻群では毎年夏には *Microcystis* の bloom が形成される。そのため、chl. *a* は夏季に最高値の得られる1山型を示す。*Microcystis* は大増殖のあと急激に減少するものといわれているが、この藻の場合、冬季にも相当な細胞数が認められる。

3. 千鳥ヶ淵は常に chl. *a* が高く、また、出現構成種と水質調査結果から判断すると、調査藻の中では最も汚濁が進行している。水生植物の生育する半葎藻においては、水面を被うオニバスによる被陰効果が一因となって、夏季の chl. *a* は他の地点より少ない。

4. いずれの藻も水深が浅いため、外圃環境の変化の影響を強く受けやすい。特に水深の浅い蛤・桔梗・清水

藻では現存量の変動が著しい。

謝辞 本研究にあたり種種の便宜をはかって下さいました環境庁自然保護局皇居外苑管理事務所の皆様と理化学分析の結果を提供された国立衛生試験所佐戸安好博士はじめ皆様に謝意を表します。

#### 文 献

- 1) Kurashige, H. : *Kisho Syushi*, 10, 473, 1932
- 2) 洞沢 勇 : 陸水学会誌, 2, 29, 1932
- 3) 酒井 檄 : 東京市立衛生試験所報告, 8, 47, 1932
- 4) Kurashige, H. : *Kisho Syushi*, 10, 373, 1932
- 5) Kurashige, H. : *Kisho Syushi*, 10, 382, 1932
- 6) Kurashige, H. : *Kisho Syushi*, 10, 715, 1932
- 7) 倉沢秀夫, 沖野外輝夫, 加藤憲二, 吉沢清晴 : 陸水富栄養化とその対策, 2, 28, 1976
- 8) 東京都建設局公園緑地部 : 都立公園池水水質保全総合調査 (総合報告), 1974
- 9) 山崎洋子, 松本浩一 : 東京衛研年報, 26, 336, 1974
- 10) Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons : *A practical hand book of sea water analysis*, Fish Res. Board Can. 1968
- 11) 坂本 充 : 生態遷移 II, 95, 1976 共立出版
- 12) Gerloff, G. C. and F. Skoog : *Ecology*, 35, 348, 1954
- 13) Hogetsu, K., M. Sakamoto, and H. Sumikawa : *Bot. Mag.* 72, 421, 1959
- 14) Okino, T. : *Jap. J. Bot.*, 20, 381, 1973

都内陸水の生活環境に関する調査研究 (第3報)

善福寺川における水草の生育状況

渡辺 真利代\*, 松本 浩一\*

Limnological Studies on the Inland Waters in the Metropolis of Tokyo (III)  
Coverage and Standing Crop of Aquatic Plants in the River Zenpukuji

MARIYO F. WATANABE and KOICHI MATSUMOTO

緒 言

善福寺川は、杉並区の善福寺公園に源を発し、中野区弥生町で神田川に合流するまでの全長10km余りの小河川である。流路は護岸工事が施されており、極端な場合には、両壁は高さ約3mの垂直なコンクリート壁となっている。

この河床には、オオカナダモ *Egeria densa*、ヤナギモ *Potamogeton oxyphyllus*、エビモ *P. crispus* などの沈水植物のほか、土砂の堆積により浅くなった所には、オモダカ類の侵入がみられる。近年、下水道の普及などにもない善福寺川の水質の回復がみられる<sup>1)</sup>が、昭和48年頃から、オオカナダモの異常な繁殖が観察されるようになってきた。この水草は帰化植物であり、在来の種類の水草を駆逐し、急速に分布を拡大している<sup>2)</sup>。日本ばかりでなく、外国においてもその異常な増殖は問題となっている<sup>3)</sup>。

水草の存在は、一般的に、安定した水域環境を形成し魚や小動物の住み場所を与える、栄養塩吸収体として働くなどプラスの面をもつが、一方、その光合成作用によって、空気中の炭酸ガスは、植物体内に固定され、結果として水域への有機物負荷を増加させることになる。従って、異常な増殖を防ぎ、ある程度の密度に抑えるような水草の管理が必要である。

そこでまず、善福寺川における水草の生育状況を被度及び現存量で把握するとともに、河川水に対する有機物負荷としての水草の位置、また栄養塩吸収体としての役割について検討した。

調査方法

1. 調査地点 大宮橋、春日橋、出山橋の3か所において採集を行った。通常の状態においては、大宮橋で水深約15cm、春日橋の両端の浅い所で水深80cm、中央部で120cm、出山橋で30cmであった。また、春日橋付近は、

中央部の深み(ヘドロの堆積が著しい)に、オオカナダモの異常な発達が見られるところであり、出山橋、大宮橋の順に、群落の発達程度は低下する。

2. 採集法及び試料の処理

1) 水草の被度と現存量 大宮橋、出山橋では、ライントランセクト法により、水草群落の構成種の被度の季節変化を求めた。大宮橋、春日橋、出山橋においては、50cm×50cmのコードラートを用い、各々の構成種の平均的な群落を刈り取り、湿重量を測定した。この一部を風乾し、80°C恒温器で恒量に達した後、乾燥重量を求めた。更にこの一部は、粉砕後、元素分析を行った。

2) 付着物の採集 河床の水草の生息していない部域について、25cm×25cmのコードラートを設置し、その中に含まれていた付着物をブラシ等で採集した。混在する微小動物をできるだけ除去後、乾燥し元素分析を行った。

3) 河川水の採集 採集後、あらかじめ500°Cで焼いたグラスファイバーろ紙(Whatman GF/C)により、懸濁態と溶存態に分離後、分析するまで-20°Cで保存した。

3. 各種成分の分析

1) 水草及び付着物中の炭素量、窒素量、河川水中の懸濁態炭素(POC)、懸濁態窒素(PON)の定量 CHNコーダー(柳本 Co.)を用いて行った。

2) 河川水中の溶存有機態炭素(DOC)の定量 Menzel & Vaccaro<sup>4)</sup>の方法に従い、赤外線ガス分析装置により定量した。

結果及び考察

1. 水草の被度と現存量の季節変化 Table1は大宮橋と出山橋での各構成種の被度の変化を示したものである。大宮橋のst.1はヤナギモの、またst.3はオオカナダモのそれぞれ優占している場所を選定されており、他の水草の影響が比較的少ないもとの当該種の生育状況を知る

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. Coverage of Aquatic Plants in River Zenpukuji

Station Date	1 Jun.	28 Jun.	27 Jul.	8 Aug.	2 Oct.	26 Oct.	19 Nov.	17 Jan.	23 Feb.	28 Mar.
Omiya st. 1	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
<i>E. densa</i>	16.0	0	1.1	0	0.6	0	0	0	0	0
<i>P. oxyphyllus</i>	24.7	27.4	53.6	60.5	44.4	25.0	31.2	26.3	19.7	15.7
<i>P. crispus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Omiya st. 2										
<i>E. densa</i>	32.9	18.4	28.3	64.3	59.9	63.1	48.6	39.0	21.0	14.1
<i>P. oxyphyllus</i>	30.9	15.4	20.7	0	24.5	23.9	11.7	20.9	23.0	27.6
<i>P. crispus</i>	4.4	0	0	7.6	0.6	1.1	0	0	0	0
Omiya st. 3										
<i>E. densa</i>			85.4		35.6	30.9	43.0	36.7	32.3	29.8
<i>P. oxyphyllus</i>			0		0	0	0	0	0	0
<i>P. crispus</i>			0		0	0	0	0	0	0
Deyama st. 1										
<i>E. densa</i>	61.0	64.2	84.8	74.4	55.0	55.4	57.9	74.5	81.2	89.4
<i>P. oxyphyllus</i>	11.8	16.1	9.5	18.7	25.9	11.1	16.1	18.5	6.6	10.6
<i>P. crispus</i>	3.1	0.5	0	0	0	0.3	0	0	0	0
Deyama st. 2										
<i>E. densa</i>	50.3	30.6	41.1	60.8	70.8	74.3	67.1	67.4	84.0	51.4
<i>P. oxyphyllus</i>	22.6	37.2	40.1	26.6	0	1.2	2.5	12.5	14.3	38.4
<i>P. crispus</i>	4.6	1.9	1.7	0	0	0	0	0.6	0	8.2

ことが可能な所である。st. 1 で8月にヤナギモの最高の被度が得られており、1月においても6月と同程度の値が認められ、3月に最低となった。st. 2では、オオカナダモの群落の発達に伴いヤナギモが減少する傾向にあり、10月以降ヤナギモの回復がみられ、2月、3月において両種の関係が逆転している。また、st. 3では、8月に85.4%という高い値が示されているが、その後は30-40%となっている。

一方、出山橋のst. 1では、7月にオオカナダモの84.8%という高い値が得られているが、これに対して、この時期にヤナギモでは最低値が得られている。st. 2では、7月までオオカナダモとヤナギモの同程度の共存状態がみられるが、その後やはりオオカナダモの被度の増加は、ヤナギモの減少をもたらしている。しかし、1月になると再びヤナギモの回復がみられ、2月においてもこの種類が活きの良い状態で存在することが観察された。

Table 2は各々の水草の単位面積あたりの湿重量 (F. W.) と乾重量 (D. W.) を求めたものである。ここでの重量は50cm×50cmのコードラートを水草の繁茂している所、即ち、被度100%の所で求められたもので、この値をそのまま用いると川一面に水草が存在することになり、過大評価となる。従って、ここで得られた乾重量にTable 1で見積もられた被度を乗じたものを、その地点

での河床の平均的な水草現存量(以下平均現存量とする)とし、Table 2の3番目の欄にのせてある。乾重量は、オオカナダモ、ヤナギモ、エビモの含水量をそれぞれ94.8%、92.5%、93.9%として算出した。

大宮橋は、水深15cm前後の所であり、水草群落の発達程度は他所に比べて悪い。ここで得られたオオカナダモの平均現存量は小さく、最高値としても、10月26日の2番目の試料で測定された122にとどまっている。大宮橋のst. 1はTable 1で示されるように、ヤナギモの優占している所であり、これから算出されるヤナギモの平均現存量は、10月2日に最高値を示している。この平均現存量は、出山橋で得られたものに比較して大きく、大宮橋での被度の大きさによるものと思われる。

春日橋は川の両端約1mを残した中央部の深みに、オオカナダモの群落が発達している。6月28日の春日橋の2番目の試料は、川の両端の比較的浅い所で得られた値(試料1)の約4倍に達した。春日橋では最高値が7月に得られているが、9月の台風時の増水による群落の損傷が大きく、また杉並区により水草の刈りとりが行われたため、10月以降の調査は実施されていない。

出山橋は平均水位約50cmある所で群落の発達程度としては、大宮橋と春日橋の中間に位置する。ここでの平均現存量の最高値と乾重量の最高値は、同時期の8月23

Table 2. Standing Crop of Aquatic Plants in River Zenpukuji

Date & Sample No.	<i>E. densa</i> g/m <sup>2</sup>			<i>P. oxyphyllus</i> g/m <sup>2</sup>			<i>P. crispus</i> g/m <sup>2</sup>			
	F.W.	D.W.	mean S.C.	F.W.	D.W.	mean S.C.	F.W.	D.W.	mean S.C.	
1 Jun. Omiya	1	1080	56.2	13.7						
	2				2940	221	61.4			
	3				1280	96	26.7			
Kasuga	1	7600	395	336						
	2									
Deyama	1	3800	198	121						
	2	1960	102	51.3	190	14.3	3.2	12.0	0.73	0.03
28 Jun. Omiya	1				680	51	14.0			
	2	1090	56.5	10.4						
	3									
Kasuga	1	3520	183	156						
	2	14600	759	645						
Deyama	1	393	20.4	6.2	620	46.5	17.3	3.1	0.19	4.45
	2	4360	227	146	46.5	1.2	0.2			
27 Jul. Omiya	1				1240	93	49.8			
	2	384	20.0	5.7						
	3									
Kasuga	1	18200	946	804						
	2									
Deyama	1	2240	116	47.7	1010	75.8	30.4	9.8	0.6	0.01
	2	6840	356	300						
23 Aug. Omiya	1				1370	103	62.3			
	2	2800	146	93.9						
	3	158	8.2	5.3				960	58.6	4.45
Kasuga	1	6190	322	274						
	2	14000	728	619						
Deyama	1	7870	409	304						
	2	190	9.9	6.0						
2 Oct. Omiya	1				5460	410	182			
	2	2650	138	82.7						
	3									
Deyama	1	7460	388	275						
	2	3800	198	110	1740	131	33.9			
26 Oct. Omiya	1				4250	319	79.8			
	2	3730	194	122						
	3	3360	175	54.1						
Deyama	1	2980	155	115						
	2				4616	346	38.4			
19 Nov. Omiya	1				4480	336	105			
	2	3900	203	98.7						
	3	1910	99.4	42.7						
Deyama	1	3320	173	116						
	2	1760	91.5	53.0	1020	76.5	12.3			
17 Jan. Omiya	1				1560	117	30.8			
	2	4560	237	92.4						
	3									
Deyama	1				3820	287	44.5			
	2	5340	278	207						
23 Feb. Omiya	1				2120	159	31.3			
	2	2530	132	27.7						
	3	1110	57.7	12.1						
Deyama	1				5000	375	40.9			
	2	5340	278	230						
28 Mar. Omiya	1				3120	234	36.7			
	2	3760	196	27.6						
	3									
Deyama	1	7100	369	223						
	2				4680	351	33.0			

日に得られている。この出山橋で注目されることは、冬期における比較的高い平均現存量の存在である。これは単に Table 1 で示される高い被度が維持されるのみでなく、乾重量 (Table 2) で表わされるように群落そのものの垂直的発達の良いことにも裏うちされている。また出山橋のヤナギモは、冬期平均現存量として、大宮橋と同程度の値が得られているが、大宮橋のものは褐色がかっており活きの悪い状態であった。この出山橋における冬期

の高い現存量の維持の理由の一つには、水温の高いことが挙げられるであろう。(12月15日:大宮橋3.2°C, 出山橋12.6°C, 1月17日:大宮橋6.2°C, 出山橋12.8°Cの差がみられた)

ここで得られた河床平均現存量は、日本で測定されている在来種類の数倍高いもの<sup>5,6)</sup>であったが、Westlake<sup>7)</sup>によって報告されたものの中ではマツモ *Ceratophyllum demersum* やオモダカの類 *Sagittaria lorata* と同程度

Table 3. Contents of Nitrogen and Carbon in Aquatic Plants

	C/d.w.	N/d.w.	C/N	Sampling		
				Date	Station	
<i>E. densa</i>	0.388	0.0461	8.42	1 Jun	Omiya	
	0.325	0.0376	8.64	27 Jul.	Omiya	
	0.365	0.0431	8.47	23 Aug.	Deyama	
	0.409	0.0416	9.83	23 Aug.	Kasuga	
	0.343	0.0388	8.84	26 Oct.	Omiya	
	0.341	0.0431	7.91	26 Oct.	Deyama	
	0.338	0.0417	9.28	17 Jan.	Omiya	
	mean	0.358	0.0417	8.77		
	<i>P. oxyphyllus</i>	0.392	0.0402	9.75	1 Jun.	Omiya
		0.402	0.0290	13.9	27 Jul.	Deyama
0.358		0.0337	10.6	27 Jul.	Omiya	
0.389		0.0339	11.5	23 Aug.	Deyama	
0.407		0.0369	11.0	23 Aug.	Omiya	
0.349		0.0335	10.4	26 Oct.	Deyama	
0.353		0.0404	8.74	26 Oct.	Omiya	
mean		0.379	0.0305	10.8		
<i>P. crispus</i>	0.365	0.0275	13.3	1 Jun.	Omiya	
	0.387	0.0323	12.0	27 Jul.	Deyama	
	0.393	0.0288	13.6	23 Aug.	Omiya	
	mean	0.382	0.0295	13.0		

Table 4. Amounts of Carbon and Nitrogen Contained in the Attached Substance

Station	Date	Carbon (g/m <sup>2</sup> )	Nitrogen (g/m <sup>2</sup> )	C/N	Carbon corrected (mg/m <sup>2</sup> )
Omiya	1 Jun.	2.56	0.12	21.3	0.814
		4.79	0.47	10.6	1.52
	27 Jul.	25.9	2.12	12.2	13.2
	27 Aug.	12.7	1.00	12.7	3.31
	2 Oct.	17.2	1.67	10.3	2.56
	17 Jan.	1.15	0.167	6.89	0.461
Deyama	1 Jun.	7.74	0.994	7.79	3.10
		1.16	0.107	10.8	0.270
	2 Oct.	1.18			0.343
	17 Jan.	14.8	1.29	11.5	4.31
		8.34	1.38	6.04	1.10

Table 5. The Concentrations of Dissolved Organic Carbon, Particulate Organic Carbon and Particulate Organic Nitrogen in River Water (mg/l)

Date	Station											
	Wadahiro			Omiya			Kasuga			Deyama		
	DOC	POC	PON	DOC	POC	PON	DOC	POC	PON	DOC	POC	PON
1 Jun.	3.09			2.90	0.76	0.08	2.69	0.57	0.04	2.01	0.50	0.06
27 Jul.	2.90	0.59	0.11	2.40	0.93	0.10	1.76			1.65	0.37	0.06
23 Aug.	2.30	1.13	0.13	1.55			1.84	1.08	0.07	1.55	0.50	
2 Oct.	2.85	1.70	0.20	1.80	1.15	0.13	1.67	0.35	0.04	1.87	0.53	0.02
26 Oct.	2.05	0.29	0.03	2.36	0.22	0.02				1.65	0.27	0.04
19 Nov.	2.30	0.40	0.03	2.04	0.57	0.03				1.03	0.15	0.01
17 Jan.	5.04	1.98	0.23	1.59	0.36	0.04				1.57	1.50	0.19

のものであった。しかし、琵琶湖で測定されたコカナダモ(帰化植物)群落の現存量より低いもの<sup>9)</sup>であった。

2. 水草及び付着物中の炭素量, 窒素量 Table 3 は 3 種的水草中の炭素量及び窒素量を単位乾燥重量あたりで示したものであり, また炭素量の窒素量に対する比もあわせて算出した。乾重量あたりの炭素量はオオカナダモ, ヤナギモ, エビモの順に増加するのに対して, 窒素量は少くなっている。従って C/N 比に明らかな差がみられ, オオカナダモで低く, 平均 8.77, エビモが高く 13.0 となった。この分析に際して, 根・茎・葉とも同時に測定されているため, それぞれの水草の体制の違い, 例えば, 茎と葉のそれぞれ全体に占める割合の違いが, C/N 比に影響しているものと思われる。

Table 4 には, 河床に存在する付着物中の炭素量及び窒素量が示してある。補正炭素量は, Table 1 より河床に水草の存在しない比率, 即ち {1 - 水草全体の被度} をはじめの炭素量に乗じたもので河床の平均的な現存量とした。この炭素量は, コードラートの設置場所による値の変動が大きく, 例えば, 10月2日の出山橋では10倍の差が認められ, 季節的変動については, 一がいには言えない。C/N比では夏に高く, 即ち炭素量の割合が大きくなり, 冬では低くなっている。

3. 河川水中の溶存態炭素 (DOC), 懸濁態炭素(POC), 及び懸濁態窒素 (PON) 量 Table 5 には, 和田広橋(水草の全くない場所), 大宮橋, 春日橋, 出山橋における流水中の各種有機成分の変化が示されている。DOC は和田広橋が常に高く, これに大宮橋が次ぎ, 春日及び出山橋では低くなっている。また, どの地点でも, 7, 8, 10月の値は, 6月の値より低いものとなっている。POC も多くの場合, 和田広橋で高い値が認められた。

この善福寺川で得られた DOC 及び POC の値は, ほほ多摩川中流域で得られている値<sup>9)</sup>に相当するものであ

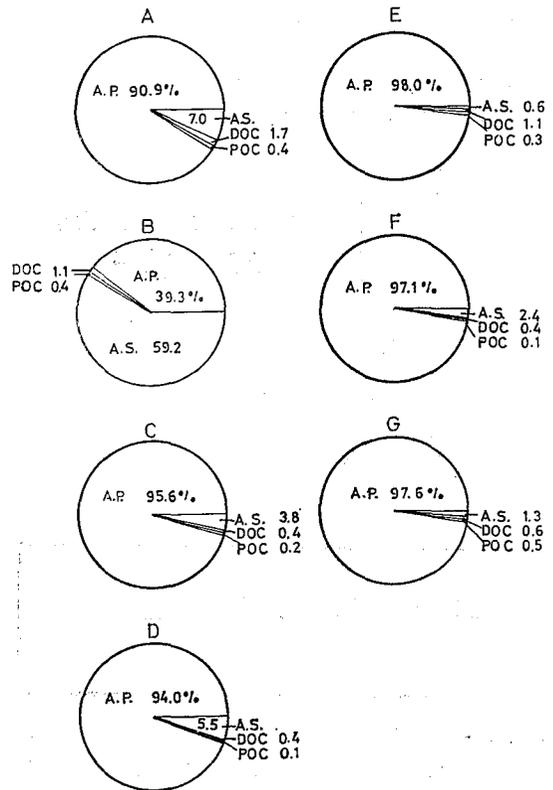


Fig. 1. Comparison of Carbon Contents between Aquatic Plants (A. P.), Attached Substance (A. S.), and River Water

A, B, C & D show the results obtained at Omiya and E, F & G show at Deyama (A & E: 1 June, B: 27 July, C & F: 2 October, D & G 17 January).

った。

4. 善福寺川における水草の現状における問題点と今後の問題について Fig. 1 は水草の河川における存在状況を明らかにするため、水草、付着物、流水中の炭素量の割合を比較したものである。Table 2 で求められた単位面積あたりの水草の乾燥重量と Table 3 での水草の炭素含有量とから水草中の炭素量を算出し、また DOC, POC は各々の場所での平均水位を考慮し、単位面積あたりの量を推定した。

大宮橋の7月を除いて、河川に存在する炭素の90%以上は水草中に含まれており、極端な場合には、6月1日の出山橋のように、98.0%が水草中に含まれることになる。付着量は通常0.6—7.0%であり、例外的な様子を示しているのが7月27日の大宮橋である。この時期、付着物中に含まれる炭素量は、水草中のそれをうわまっている。

このように水草中の炭素量が河川において非常に大きな比率を占めていることが示された。この水草の炭素は、

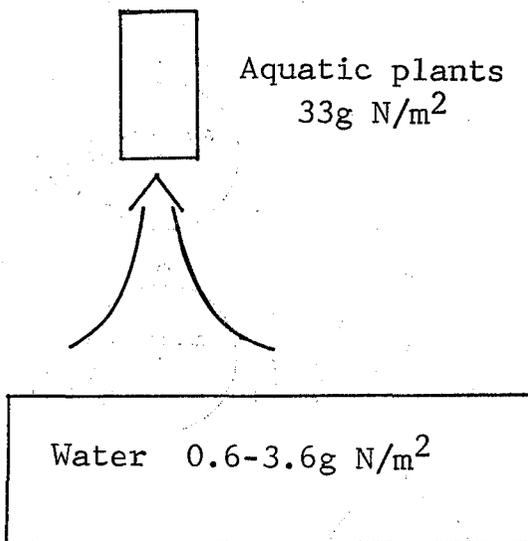


Fig.2. Comparison between the Contents of Nitrogen in Aquatic Plants and the Concentration of Total Nitrogen in River Water

光合成作用により空気中の炭酸ガスを固定することで供給されるため、水草の存在は、川全体としての炭素収支でみると、その負荷量を増加させることになりマイナスに働くことになる。

しかしながら、水草の栄養塩吸収体としての役割を考えてみる必要がある (Fig. 2)。善福寺川で測定された全窒素量は、0.2—12.1 mg/l の範囲にあり、このN量は、水深約30cmの所では、0.6—3.63g N/m<sup>2</sup>に相当する。一方水草中のN量としては、最大の平均現存量の測定された7月27日の春日橋で算出してみると、33.4gN/m<sup>2</sup>という値になる。即ち、水草中には流水中の9—560倍にあたる量が濃縮していることになる。従って、長さ9—560mの水中にある窒素を除去するために、1m幅の水草を刈りとれば良いことになる。

それゆえ、水草を適当に生育させ、一定の密度に抑えるように刈り取ることによって、水質を良好に保持していくことが可能であろうと考えられる。

以上は、大まかな試算であり、水草の成長量、また隣接吸収体としての役割を考慮したうえでの検討が要求される。

#### 文 献

- 1) 東京都下水道局：ユスリカの発生要因調査報告書，1975
- 2) 生嶋 功：日本陸水群集の生産力に関する研究 (JIB—P—PF 業績報告書)，33，1973
- 3) Sculthore, C. D. : *The Biology of Aquatic Vascular Plants*, 1967, Arnold, London
- 4) Menzel, D. W. and R. F. Vaccaro : *Limnol. Oceanogr.* 9, 138, 1964
- 5) Ikushima, I. : *Bot. Mag. Tokyo*, 79, 7, 1966
- 6) 生嶋 功：水界植物群落の物質生産 I—水生植物—, 68, 1972, 共立出版
- 7) Westlake, D. F. : *Biol. Rev.* 38, 385, 1963
- 8) Ikushima, I. : *Bot. Mag. Tokyo*, 83, 330, 1970
- 9) 東京都：都内河川及び東京湾環境解析調査—多摩川総合調査報告書—, 1974

都内陸水の生活環境に関する研究 (第4報)  
水草の分解及びそれが環境水域に及ぼす影響

渡辺 真利代\*, 松本 浩一\*

Limnological Studies on the Inland Waters in the Metropolis of Tokyo (IV)  
Decomposition of an Aquatic Plant *Egeria densa* and its Significance to  
Surrounding Water

MARIYO F. WATANABE and KOICHI MATSUMOTO

An aquatic plant *Egeria densa* was allowed to decompose under aerobic condition in dark to evaluate the release of carbon, nitrogen and phosphorus from the plant to environmental water. Rapid decomposition of plant began after 3 days of incubation and the weight loss of plant amounted to 90.5% of initial fresh weight within 3 weeks. Accompanied with the decrease of plant weight, the increases of particulate organic carbon and dissolved organic carbon were observed. Relatively refractory portion of organic substances was 18% of carbon initially contained in the plant at the end of the experiment (at 84th day). Ammonia accumulated first in water was transformed to nitrate via nitrite at the later period of incubation. The release of phosphate was recognized after the initiation of the release of nitrogen. Carbon to nitrogen ratio of the plant added was 10.2. The value decreased to 8.2 at 17th day and 20.1 was obtained at 84th day. It shows that the rate of the release of organic carbon was more rapid than nitrogen during first 17 days.

緒 言

前報<sup>1)</sup>で、都内・中小河川の一つである善福寺川において、非常に高密度に繁茂した水草群落の現状が示された。このような水草の異常な増殖は水域の富栄養化の問題と関連して諸外国においても到る所で問題となっている<sup>2)</sup>。

水草は光合成・呼吸をしながら成長する一方で、老化し、部分的には枯死脱離が常時おこっているものと考えられる。特に高密度の群落内では、透過光の急速な減衰は、下層部分の黄化、枯死を引き起こすであろう。また冬期や洪水時においては、群落全体の崩壊が生じ、植物体は河床に堆積したり流下したりする。

植物体中に含まれている有機物はその光合成作用により、もっぱら空気中の炭酸ガスから供給されていることを考慮するならば、河川水に対する有機物負荷体としての水草の分解過程を明らかにすることは、良好な水質の維持あるいはまた浄化にとって不可欠なことである。

従来、植物プランクトンの分解過程を検討した報告は

数多くみられる<sup>3-5)</sup>が、水草の分解過程を研究した論文は少ない。

ここでは、オオカナダモ *Egeria densa* を実験材料としてその分解過程を明らかにすることを試みた。

材料及び方法

善福寺川から採取したオオカナダモを20,000 lux, 連続照射下、藻類培養液 (Detmer 改変溶液<sup>6)</sup>) と河川水の混合液 (約1:1) を用い室温で成育させ、新たに成長した部分を実験に使用した。植物体は5-10cmの長さに切断した後、そのまま水中に加えられた。分解はエアレーションをした好氣的条件下、暗黒中で行われた。その他の実験条件は Table 1 に示す通りである。

各サンプリング時で水中に存在する植物体又はそれに由来する有機物のうち、1辺2mmのふるいの目を通過しないものを植物体とし、この大きさの目を通過するが、グラスファイバーろ紙 (Whatmann GF/C) でとえられるものを懸濁態、グラスファイバーろ紙を通過する

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

24-1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

Table 1. The Conditions of Decomposition Experiments

Conditions	Experiment I	Experiment II
Duration	84 days	41 days
Temperature	25±0.5 °C	30±0.5°C
Container	plastic tank	glass bottle
Volume of distilled water	9 l	5.5 l
Fresh weight of <i>Egeria densa</i> added	109 g	74.8 g

ものを溶存態有機物とした。

植物体部分については湿重量を測定し、一部は乾燥後、乾重量を測り、更に炭素及び窒素の分析に用いた。

各構成成分の分析は次のような装置及び方法で行った。

植物体中の炭素と窒素及び懸濁態有機物中の炭素 (POC) と窒素 (PON) の定量: CHN コーダー (柳本 Co.), 溶存態有機炭素 (DOC): Menzel & Vaccaro<sup>7)</sup> の法, 懸濁態有機磷 (POP) 及び溶存有機態磷 (DOP): Menzel & Corwin<sup>8)</sup> の法, 溶存態無機磷: Strickland & Parsons<sup>9)</sup> の法, アンモニウム塩: インドフェノール法<sup>10)</sup>, 亜硝酸塩: Strickland & Parsons<sup>9)</sup> の法, 硝酸塩: Cd カラムによる還元法 (Strickland & Parsons<sup>9)</sup>), BOD: 水質調査法<sup>11)</sup>

### 結 果

実験 I Fig. 1 には、植物体湿重量の減少とそれに伴う POC と DOC の変化が示されている。水草の急速な分解は、暗条件下で、3日後すぎからおこり、3週間後には最初の 9.5% の重量に減少した。これらの変化に伴い、POC 及び DOC の増加がみられた。DOC は POC よりも早い時期に最高値に達し、それ以後実験終

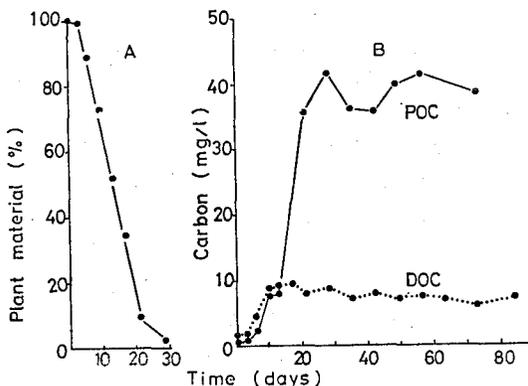


Fig. 1. Loss of Original Dry Weight in Plant Material (A) and Changes in Concentrations of Particulate and Dissolved Organic Carbon in Water (B) at 25°C

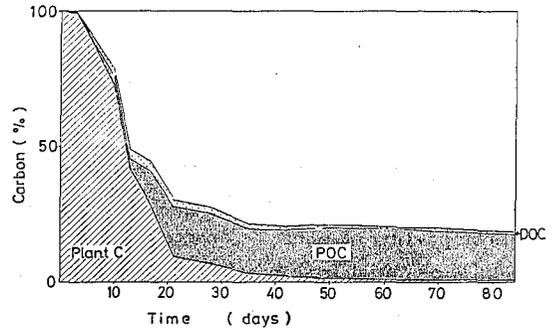


Fig. 2. Proportion of Change in Plant Carbon at 25°C

Mineralized carbon is expressed as the residual part except plant carbon, POC and DOC.

了時まで 6-7 mg/l の値が得られた。また DOC の最高値は POC のその約 1/4 であった。また、植物体自体は、6日後で 1/2 以上が、10日後では大部分が褐色となっていた。

Fig. 2 は、実験開始時植物体中に含まれていた炭素が、各構成成分に移動していく様子を示したものであり、白色部分は無機化された炭素をあらわす。3週間後までは、急速な分解がみられるが、その後、植物体中の炭素、POC、DOC、の総計は余り変化しないまま、実験終了時においても 18% 残存していた。従って分解しやすい有機態炭素は始めの 3週間ではほとんど無機化され、その後分解しにくい有機物が残っていることが明らかとなった。DOC は最高で 3.7%、実験終了時で 2.1% の値をとった。

次に植物体及び POM (粒状有機物) の炭素と窒素の割合 (C/N) の変化をみみると (Fig. 3)、実験開始時 10.1 であったものが、17日後では 8.2 と減少し、その後増加し、実験終了時では 20.3 となった。POM 部分においても、3日後から 13日後にかけて、C/N 比の減少がみられた。すなわち、実験開始後 2週間までは、窒素よりも炭素の無機化のほうがより早くおこっていると考えられる。

実験 II 温度条件を 30°C とし、植物体中の炭素の変化

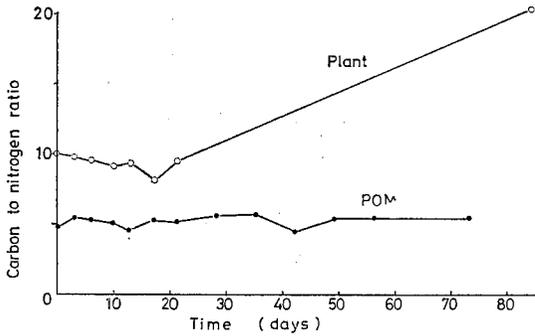


Fig. 3. Change in Carbon to Nitrogen Ratio of Plant Material and Particulate Organic Matter

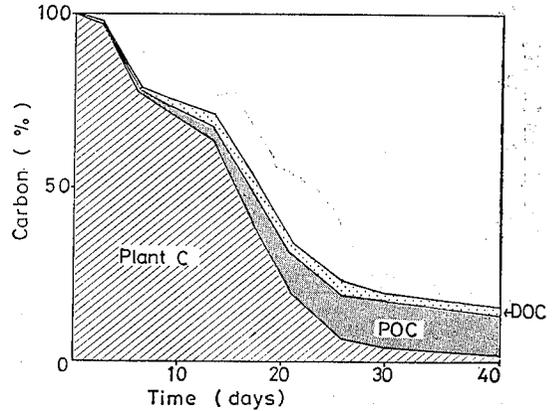


Fig. 5. Proportion of Change in Plant Carbon at 30°C

Mineralized Carbon is expressed as the residual part of except plant carbon, POC and DOC

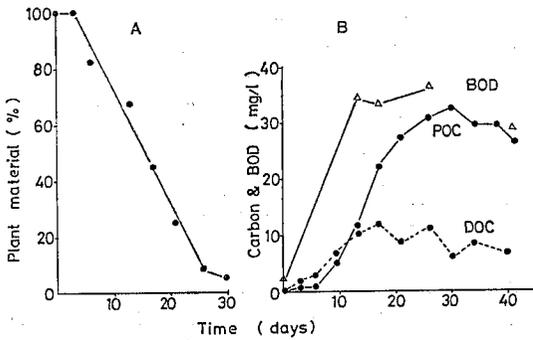


Fig. 4. Loss of Original Fresh Weight in Plant Material (A) and Changes in Amount of BOD and Concentrations of Particulate and Dissolved Organic Carbon in Water (B) at 30°C

とともに、窒素及び磷の放出についてもあわせて検討した。

Fig. 4 は Fig. 1 と同様、植物体の湿重量の減少と POC, DOC, 及び BOD の変化を示したものである。この実験でも、3 日後でほとんど植物体の重量に減少はみられず、その後急速な減少は 26 日後ぐらいまで起こり、この時の重量は開始時の 8.6% となっていた。これに伴い POC 及び DOC の増加がみられ、DOC の最高値が得られた後、POC の最高値が得られた。一方、BOD は、13 日後ですでに 34.5mg/l となり、その後の POC の増加は BOD の増加に余り影響しなかった。

Fig. 5 は、Fig. 2 と同様、実験開始時植物体中に含まれていた炭素が、無機化されていく過程を示したものである。26 日すぎまでほぼ直線的に減少し、この時期、

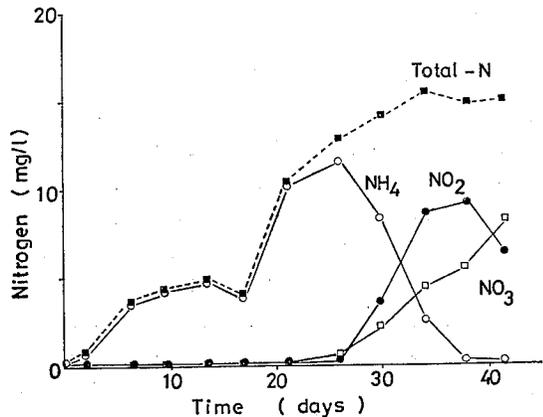


Fig. 6. Concentrations of Total-N,  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  and  $\text{NO}_3\text{-N}$  in Water

植物体炭素、POC, DOC を合わせて、25.3% の炭素が有機態として残存していた。また、この実験では DOC は POC の約 1/3 程度となっていた。

Fig. 6 には分解に伴い放出された無機窒素化合物の変化を示した。アンモニアは、分解開始後、すぐに放出されはじめ、26 日後に最高値が得られた。この時期以後、亜硝酸態窒素は漸次増加し、38 日後に最高となった。また硝酸態窒素は、亜硝酸態窒素の増加に少し遅れて増えはじめた。これら 3 種を合計した無機態窒素の変化をみると、30 日前後ではほぼ一定に達していた。

一方、磷酸の放出 (Fig. 7) は、DOC の増加に遅れて、10 日過ぎあたりから起こり始め、無機態窒素と同様、30

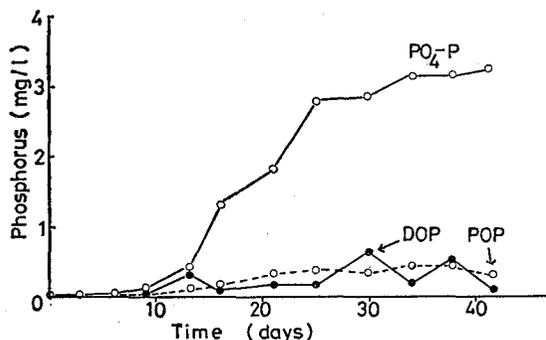


Fig. 7. Concentrations of Inorganic, Dissolved Organic and Particulate Organic Phosphorus in Water

日前後で一定値となった。DOP及びPOPとも無機態のPに比べて低く、無機態としての溶出の早いことが示された。

#### 考 察

実験Ⅰ及びⅡとも、実験開始後3日間は、添加された水草の湿重量にほとんど減少はみられなかった。この実験では活性の良い状態にある水草をそのまま暗条件下に置いたため、実際に分解が始まるまでにこの程度の時間を要したものと考えられる。これ以降、植物体炭素は、POCからDOCへの移行を通して無機化される一方、植物体、また分解者として共存する細菌あるいは原生動物の呼吸作用によっても無機化が起こる。また、直接植物体からDOCへの移行も存在する<sup>12)</sup>ものと考えられるが、主な経路としては、POC、DOCを介しての無機化であろう。早い時期、DOCが最高に達し、その後のPOCの増加はDOCの増加に影響しないまま、無機化が進行している (Fig. 2) ことは、DOC→CO<sub>2</sub>への反応が速やかに進行していることを示すものと判断される。

植物体からのDOCの溶出に伴い、植物体のC/N比が一たん減少した後、増加した (Fig. 3)。同様な傾向は実験Ⅱでもみられ、実験開始時11.9であった値は、17日後で8.6となった。このことは、17日前後まで、窒素に比較して炭素の無機化がより速く進むことを意味する。実際、実験Ⅱでこの時期までに無機化された炭素は、始め植物体に含まれていた炭素の45.6%にあたり、この時、溶液中のアンモニア (3.92mg/l) は、実験開始時、植物体中に含まれていた窒素の11%に相当し、上記の現象を裏づけていた。

10日後から30日後にみられる有機態の炭素の総量 (植物体中の炭素、POC、DOCを加えたもの) の減少が、

一次反応に近似するものとして分解速度定数をとってみると0.03/dayであった。この値は大槻ら<sup>4)</sup>によって報告されている植物プランクトンの分解速度定数に近く、Jewell<sup>13)</sup>による水草のものと比較すると小さいものとなっていた。分解速度を決定する要因として、温度、通気速度のような物理的条件のほか、実験に使用された水草の状態が問題となるであろう。Harrisonら<sup>14)</sup>はアマモで、これのageや大きさによって、また一度乾燥したかどうかによって分解速度が異なることを述べている。Nicholsら<sup>15)</sup>は除草剤で処理した水草を、大槻ら<sup>4)</sup>は凍結乾燥した植物プランクトンを用いており、これらの実験では分解の初期の速度が非常に速くなっており、今回の実験 (10日以前ではむしろ遅くなっている) とは異なるところとなっている。

実験Ⅱでは、DOC、POCの変化とともにBODの変化も示された。BODは、無機化されやすい有機態炭素の酸化の際に使われた酸素量の消費を示すので、BOD値から、無機化されやすい有機態炭素の割合を知ることができる。即ち有機物の酸化が最終的にはC+O<sub>2</sub>→CO<sub>2</sub>でおこるとすると、

$$\frac{\text{BOD 値} \times \frac{12}{32}}{\text{POC} + \text{DOC}} \quad \text{POC, DOC, BOD : mg/l}$$

で、無機化されやすい有機態炭素の割合が示されることになる。Fig. 4で示された、13日、26日、41日についてこの値を求めると、それぞれ0.59、0.32、0.33となり、26日以降、実験終了時までには、この値が余り変化しないことが判明した。更に長時間にわたる実験では、この値は更に減少していくはずで、非常に分解の遅い有機物が残存することになるであろう。

この実験では、水草中の有機物に、非常に分解されにくい部分があることが示された。実験Ⅰでは、分解されにくい炭素として18%の値が得られたが、これを前報<sup>1)</sup>で報告された善福寺川における水草の最大現存量で推定すると、52gC/m<sup>2</sup>が非常に分解されにくいものとして残存することになる。

#### 文 献

- 1) 渡辺真利代, 松本浩一: 東京衛研年報, 28-1, 285, 1977
- 2) Sculthore, C. D.: *The Biology of Aquatic Vascular Plants*, Arnold, London, 1967
- 3) Frankland, J. C.: *Biology of Plant Litter Decomposition*, 3, 1973, Academic Press
- 4) Otsuki, A. and T. Hanya: *Limnol. Oceanogr.*, 17, 248, 1972

- 5) Kamatani, A. : *J. Oceanogr. Soc. Jap.*, 25, 63, 1969
- 6) Watanabe, A. : *J. Gen. Microbiol.* 6, 283, 1960
- 7) Menzel, D. W. and R. F. Vaccaro : *Limnol. Oceanogr.*, 9, 138, 1964
- 8) Menzel, D. W. and N. Corwin : *Limnol. Oceanogr.*, 10, 280, 1965
- 9) Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons : *A Practical Hand Book of Sea Water Analysis*, 1968  
Fish Res. Board Can.
- 10) Sagi, T. : *Oceanogr. Mag.*, 18, 43, 1966
- 11) 半谷高久 : 水質調査法, 1960, 丸善
- 12) Otsuki, A. and R. G. Wetzel : *Limnol. Oceanogr.*, 19, 842, 1974
- 13) Jewell, W. J. : *J. WPCF*, 43, 1457, 1971
- 14) Harrison, P. G. and K. H. Mann : *Limnol. Oceanogr.*, 20, 924, 1975
- 15) Nichols, S. and D. R. Kenney : *Hydrobiologia*, 42, 509, 1973

都内陸水の生活環境に関する調査研究 (第5報)  
多摩川の肉眼的底生動物を用いた生物学的水質判定方法の比較検討

大野正彦\*, 松本浩一\*

**Limnological Studies on the Inland Waters in the Metropolis of Tokyo (V)**  
**Some Biological Evaluations of Water Pollution of the River Tama basing**  
**on the Benthic Macroinvertebrates**

MASAHIKO OHNO\* and KOICHI MATSUMOTO\*

はじめに

我が国では肉眼的底生動物を用いた水質汚濁判定に、指標種による方法<sup>1,2)</sup>と水質汚濁の生物指数 Biotic Index<sup>3,4)</sup>が主に使われ、多様性指数 Diversity Index<sup>5-8)</sup>や汚濁指数 Saprobienindex, Pollution Index<sup>9-11)</sup>も使われるようになってきた。優占種による方法<sup>12)</sup>は多くの水域で優占的に出現する種(主にミミズ類, ユスリカ類, コカゲロウ類など)の分類が不完全で困難なためにあまり用いられていない。

今回、筆者らは昭和50年の多摩川の調査結果<sup>13)</sup>に基づいて4種の方法(指標種, 水質汚濁の生物指数, 多様性指数, 汚濁指数)の内容を検討し、相互の関係について考察を試みたので、ここに報告する。

調査河川の概況

多摩川は関東山地の南部にその源を発し、東京湾へ注ぐ全長149km, 流域面積1,200km<sup>2</sup>の河川である。主な支流としては日原川, 大丹波川, 秋川, 浅川などがある。

上流部の水質は比較的良好であるが、羽村では水道用水として大部分の水が取水され、堰以降の水は伏流水の湧出によることが多く、流量は少ない。羽村堰の2.5km下流の永田橋では都市廃水, 工場廃水などの流入で、水質は極めて悪化する。下って拝島で西方から流量が豊富で水質が良好な秋川を合わせ、水質はやや回復する。浅川は上流部では未汚染地域が残っているが、中流で八王子, 日野などの廃水のため、かなり汚れ、日野市で本流に合流する。関戸橋以降の下流部は多量の都市廃水の流入があり、水質は極めて悪化している。丸子防潮堰より下流は感潮水域で工場廃水の流入も多く、川水は停滞、黒濁し、強度に汚濁している。

調査月日, 地点

調査は昭和50年5月26—29日, 8月12—15日, 10月22—24日および11月11日に行なわれた。調査日はできるだけ前7日間は降雨のない日を選んだ。調査地点は Fig. 1で示すとおりである。

調査方法

内法25cm×25cmの金属製方形枠付のサーバーネット(網目250 $\mu$ , 60メッシュのサラン網)を用いて同一人が各地点で4回の採集(0.25m<sup>2</sup>)を行なった。各地点の流速は3回の調査ともそれほど変わらず、ほとんどの地点で0.5—1.5 m/secであった。感潮水域の砂泥底の場所では50cm 平方のクォードラート枠内の砂泥を掘り取った。下流部の深い場所では金網製ハンドネットを用いて約3—4kgの底泥を採取した。試料は10%になるようにホルマリンを加えて固定した。これを試験室に持ち帰り、JIS 590 $\mu$ のふるいを用いて水中でふるい、肉眼および双眼実体顕微鏡(×20—60)下で底生動物の同定、計数を行なった。

結果および考察

1. 指標種方式 水質汚濁の有無とその程度を指標種を用いて評価する方法である。この方法は Kolkwitz u. Marsson によって提唱され Liebmann によって確立された。これらは4段階(現在では5—6以上に分けている研究者もいる)の汚濁水域の指標生物をリストしていきやり方がとられている。しかし、ある種が1つだけの水質階級に属することは稀であることから、津田<sup>14)</sup>は多量または頻繁に出現する階級と、少量あるいはときどき出現する階級を分けて表現し、我が国の水域のための汚水生物体系を作った。この方式は生物学的水質判定方法

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 160 東京都新宿区百人町3—24—1

\* Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
24—1, Hyakunincho 3 chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

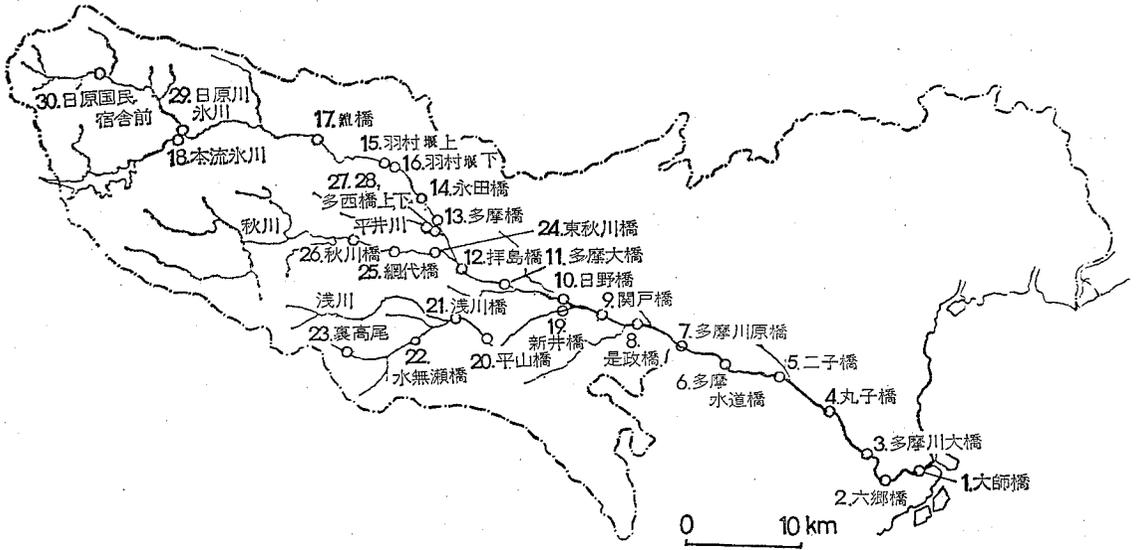


Fig. 1. Sampling Stations

Table 1. Abundance of Benthic Macroinvertebrates in the River Tama 1975

Name of Benthic Macroinvertebrates	Station No.																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	13	14	19	20	22	21	10	11	12	27	28	5	16	29	18	23	17	24	25	26	30
	Month																													
	5	8	10	8	10	5	8	10	5	8	10	5	8	10	5	8	10	5	8	10	5	8	10	5	8	10	5	8	10	5
<b>Group I</b>																														
<i>Neanthes</i> spp.	FFF	*	**																											
<i>Frionospio japonicus</i>	A	**																												
<i>Assiminea lutea japonica</i>	F	*																												
<i>Balanus</i> sp.	AAA	*																												
<i>Cumacea</i> sp.	A																													
<i>Corophium</i> sp.	AD	*																												
<b>Group II</b>																														
<i>Psychoda alternata</i>	D																													
<i>Teimatoscopus albipunctatus</i>		A*B																												
<i>Eriopodella lineata</i>		A*																												
<i>Asellus hilgendorffi</i>		AAA	CB	AD	CCE	DDB	A	A	A	D	B	A	D	B	CAC	C	A	A	C											
<i>Physa acuta</i>		EKE	CAA	EED	EBC	FEE	FF	A	AA	FCE	FFF	ABB	BB	DBB	AA	B	A	AA												
<i>Baëtis</i> sp.		*																												
<i>Hydropsychodes brevilineata</i>																														
<b>Group III</b>																														
<i>Hydropsyche</i> spp.																														
<i>Antocha</i> spp.																														
<i>Ecdyonurus yoshidae</i>																														
<i>Epeorus latifolium</i>																														
<i>Ephemera rufa</i>																														
<i>Baëtis</i> sp.																														
<i>Rhithrogena japonica</i>																														
<i>Potamanthus kawonis</i>																														
<i>Ephemerella basalis</i>																														
<i>Isomyia japonica</i>																														
<i>Stenopsyche griseipennis</i>																														
<i>Myrrophora inops</i>																														
<i>Planariidae</i> spp.																														
<b>Group IV</b>																														
<i>Flecoptera</i> spp.																														
<i>Epeorus uenoi</i>																														
<i>E. curvatus</i>																														
<i>Ephemera yoshinoensis</i>																														
<i>Rhyacophila nigrocephala</i>																														
<i>R. yamanakensis</i>																														
<i>R. kawamurai</i>																														
<i>R. transquilla</i>																														
<i>R. sp.</i>																														

Note : Individual Number/0.25m<sup>2</sup>    A : 1-5    C : 11-50    E : 101-200    \* : Random Sampling  
 B : 6-10    D : 51-100    F : >200

の中で最も普及し、水質の汚濁程度をかなり確実に判定できると言われている。

この方式は採集した生物の種名や個体数の列記した表をつくりやすく、調査地点を群集組成から判定するのに煩雑である。ここでは比較的多く採集され確実に同定できる指標種と、種として同定は不可能でも属、科、目などの分類群 (taxa) として指標となるグループを4つのカテゴリー、すなわち、汽水域の指標グループ (Group I)、水質汚濁に比較的耐える種のグループ (強腐水性から中腐水性水域の指標となる種, Group II)、汚濁に比較的弱い種のグループ (多く貧腐水性水域に出現する種, Group III)、汚濁に極めて弱い種のグループ (清水性または溪流性と称される種 Group IV) に分け、各地点における出現状況を検討した。Table 1 は汽水域を左端、次に水質が極めて汚れた地点からやや汚れた地点、清冽な地点というように並べた。

汽水域 (St. 1 大師橋—St. 3 多摩大橋) ではゴカイの仲間 *Neanthes* spp. その他、海産種などの Group I が出現し、生物指標によりその地点の状況を推測できる。

汚濁水域 (St. 12 拝島橋以降の本流下流部, St. 22 水

無瀬橋以降の浅川水系) ではホシチョウバエ *Psychoda alternata*, シマイシビル *Erpobdella lineata*, サカマキガイ *Physa acuta*, ミズムシ *Asellus hilgendorfi* などの Group II が多く採集された。水がきれいと思われる地点ではあまり採集されなかった。

Group IV (ウエノヒラタカゲロウ *Epeorus uenoi*, ナガレトビケラ *Rhyacophila* spp. など) は羽村より上流部、日原川、秋川水系、浅川の上流部 (St. 23 裏高尾) など水があまり汚れていないと思われる地点で比較的多く採集された。ただし、St. 27, 28 多西橋上下, St. 23 裏高尾, St. 29 日原では汚濁に強い種がわずかながら出現し、極地的な汚濁の徴候が認められた。

汚濁に比較的弱い種 Group III (シマトビケラ類 *Hydropsyche* spp., エルモンヒラタカゲロウ *Epeorus latifolium* など) は汚濁度の小さい水域の方に多く生息しているのがわかる。シロタニガワカゲロウ *Ecdyonurus yoshidae* がチラカゲロウ *Isonychia japonica* より下流部、汚濁の程度が大きい水域に出現し、Group III の中でも種により汚濁に対する強さが異なるようである。5月の調査に比べ、8月、10月、11月の Group III の種が多く

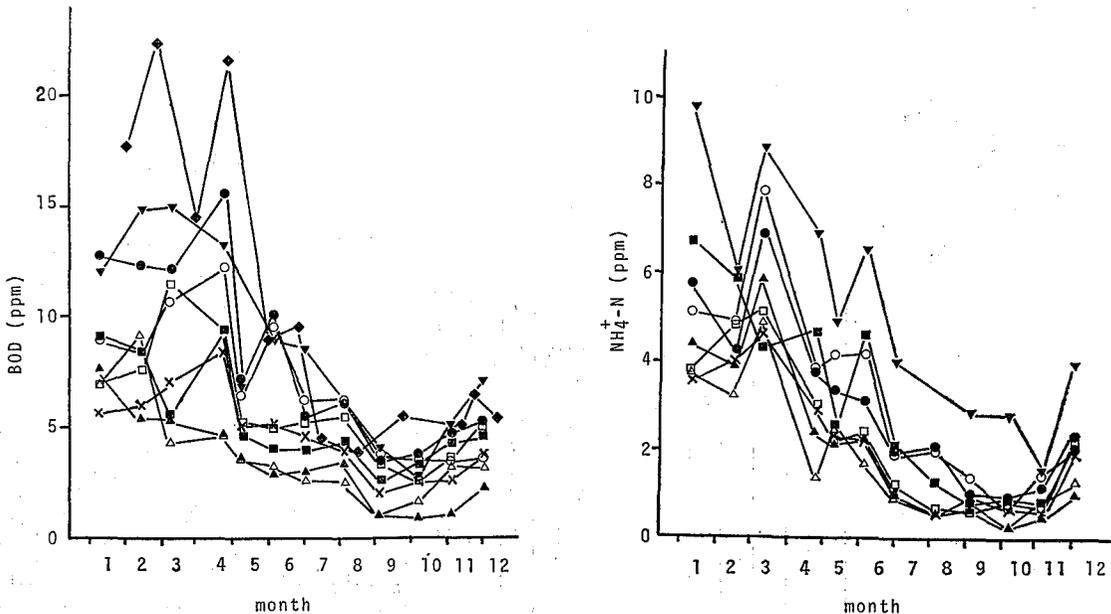


Fig. 2. The Seasonal Changes of BOD and  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  in the River Tama 1975

- |                          |                      |                   |
|--------------------------|----------------------|-------------------|
| ○ : St. 4. MARUKO Bridge | ■ : St. 9. SEKIDO B. | ▼ : TAKAHATA B.   |
| ● : 5. FUTAGO B.         | ▲ : 10. HINO B.      | (St. 19. ARAI B.) |
| × : 6. TAMASUIDO B.      | △ : 12. HAIJIMA B.   |                   |
| □ : 7. TAMAGAWARA B.     | ◆ : 14. NAGATA B.    |                   |

出現し、各種の個体数が順次増加した。特に St. 12 拝島橋、St. 11 多摩大橋、St. 10 野橋など水質汚濁域の中では水質の良好な地点、および St. 14 永田橋では増加が著しかった。また、11月には *Rhyacophila* sp. が St. 12 拝島橋、St. 21 浅川橋、St. 22 水無瀬橋で出現した。

この調査年度の BOD,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  濃度 (都公害研, 青梅羽村福生都市下水路組合調査結果) を Fig. 2 に示す。永田橋を除き、毎月 1 回調査日を設け、6 ないし 3 時間ごとに採水したものの平均値である。両者の値は冬から春に高く、夏から秋にかけて低くなり、12月にやや増加した。以上の如く、多摩川の河川水の化学的性状は大きく変動していた。この調査の 2 年前におこなわれた井出ら<sup>15)</sup>の調査でも 5 月の底生動物群集は 8、10 月に比べ多様性に乏しく、BOD は 2、3 月に大きく、夏から秋に減少した<sup>16)</sup>。

群集の多様性に影響するものとして羽化、流下、溯上などがある。 *Epeorus latifolium*, アカマダラカゲロウ *Ephemera rufa* など多摩川中流域で年 2 世代をくり返すと思われる水生昆虫は生息地に大きな変化がない限り常に比較的多数存在しており、羽化期中に幼若幼虫が同時に見られ密度が増大する<sup>17)</sup>といわれている事、清冽と思われる地点に 5 月でも非耐性種が多く見られた事からも羽化は水質判定を主たる目的とするこの調査結果にさほど影響を及ぼさないとと思われる。また、この採集面積は調査地点 (この場合は瀬) に普通に見られるほとんどの種を採集でき<sup>18)</sup>、群集の多様性を知るのに充分である<sup>19, 20)</sup>とされている。以上のことから、Group III の種が 5 月にみられなかった水域に 8 月、10、11 月に出現したのは水質の改良 (羽村堰で 5 月下旬から 9 月中旬まで放流していた) と流下によるものと思われる。

このように比較的短期間 (3 カ月) に底生動物群集に大きな変化がおこった。5 月の調査に基づく水質判定結果は 8 月の時点では各地点の汚濁度を正しく表わしているとは言えない。これは生物の指標性を左右するものでなく、水質を主とする環境そのものの大きな変化がおこったことを示すものと考えられる。多摩川のような人為的要因の大きい河川では、1 回だけの調査で汚濁度を云々するのは危険である。

以上述べてきたように指標生物といわれるものはその生息している場の水質をよく反映している。指標生物によって各地点の水質をかなりの精度で判定できると考えられる。

2. 水質汚濁の生物指数 Biotic Index 水のきれいな所には多くの種があり、汚濁が進むにつれて種類数が減少する事を使って水質を考察するものに水質汚濁の生

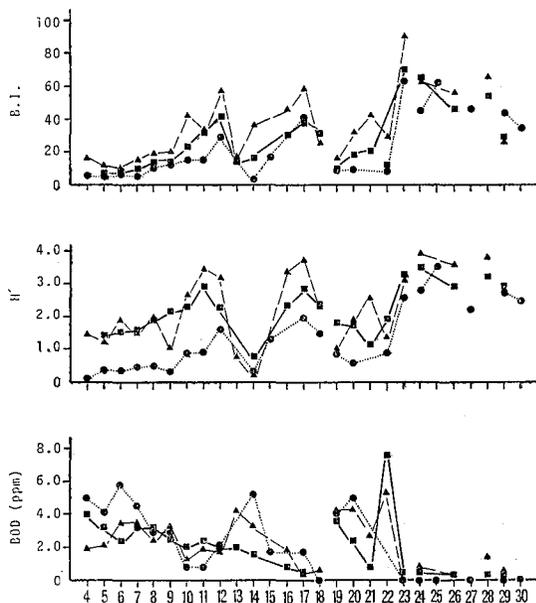


Fig. 3. Distributions of B.I., Shannon's Diversity Index and BOD (ppm)

● : May ■ : August ▲ : October, November

物指数 (以下 B. I. と称す) がある。採集した動物を同定し、汚濁非耐性 intolerant の種類と耐性 tolerant の種類に分ける。非耐性の taxa 数を A、耐性を B とし、 $2A+B$  をもって B. I. とする。

本流の B. I. の値は Fig. 3 に示すごとく、概して 5 月、8 月、10、11 月の順に大きくなった。中でも St. 14 永田橋の B. I. は 3、16、36 と急激に増加した。秋川水系、St. 23 裏高尾、St. 27、28 多西橋上下、St. 17 鎧橋では 5 月でも 40 以上で、10、11 月では 50 を越えるような高い値を示した。St. 9 関戸橋以降下流部、St. 19 新井橋は B. I. が 3 回の調査とも 20 以下で水がきれいとは言えないように思われる。

BOD の月ごとの変化 (Fig. 2) から調査日の濃度を推定し、各地点の B. I. との関係を図 4 に示した。なお、St. 19 新井橋は高橋橋の近辺なので同一状態と考えた。B. I. は BOD が減少するにつれ増加する傾向がかなりはっきり見え、同様のことが B. I. と  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  との関係でも言えた。

次に B. I. と出現した種との関係について考察し、B. I. の内容を検討してみる。B. I. と肉眼的底生動物の taxa 数との関係をこの時の調査結果<sup>13)</sup>に松本ら<sup>21, 22)</sup>、井出ら<sup>15)</sup>の報告 (値を一部改変) を加えて Fig. 6 に示した。対応する B. I. の値と taxa 数から非耐性種の taxa 数

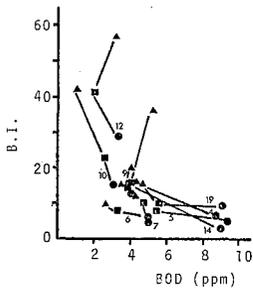


Fig. 4. Correlation between B. I. and BOD  
Number in the figure represents the station No.

● : May ■ : August  
▲ : October, November

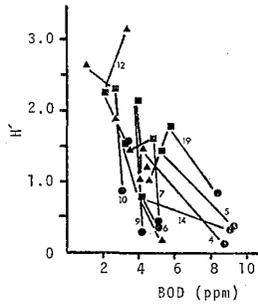


Fig. 5. Correlation between Shannon's Diversity Index and BOD

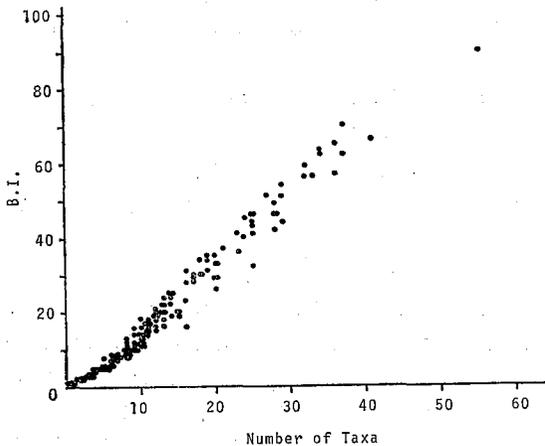


Fig. 6. Correlation between B. I. and Number of Taxa

A, 耐性種の taxa 数 B が求められる。B. I. 値が 10—20 では汚濁耐性種の taxa 数 (B) は 6—8 である。その taxa の内訳は、ミミズ類, ユスリカ類, *Asellus hilgendorffii*, *Erpobdella lineata*, *Physa acuta*, *Psychoda alternata*, コカゲロウ *Baëtis* sp., コガタシマトビケラ *Hydropsychodes brevilineata* などであろう。taxa 数が 1—5 までは B. I. の値とほぼ同じで、耐性種 (多くの場合、ミミズ, ユスリカ, チョウバエなど耐性種の中でも汚濁に強い種であろう) が出現するのみで、水質汚濁階級で強—α—中腐水性で「きわめてきたない」と判定できる。B. I. が 11 の時, taxa 数は 8—10 で非耐性

種が 1 種は含まれ指標生物の面から「ややきれい」と判定できるように思われる。B. I. が 20 になる時には非耐性種が 6—7 種出現するようである。*Hydropsyche* spp., *Ecdyonurus yoshidae*, *Epeorus latifolium*, *Ephemerella rufa*, フタバコカゲロウ *Baëtis* sp., ヒゲナガカワトビケラ *Stenopsyche griseipennis*, *Isonychia japonica* など Group III の種が出現するよう思われる。B. I. が 20 以上の水域は指標生物の面からも「きれい」と判定できよう。しかし、B. I. が 20 では Group III の種が出現するまでで Group IV の種が出現しない。B. I. が 20 では水が清冽とは言えないと近頃よく言われている<sup>23)</sup>ことは由あるものと思われる。

以上述べてきたように、B. I. による方法は指標生物による方法とほぼ等しい内容であるといえよう。

3. 多様性指数 Diversity Index による方法 群集の多様性を知ることにより加わっているストレスの大きさ、その一つである汚濁の程度を評価し得る<sup>6)</sup>と言われ、近年、群集の多様性、すなわち多様性指数を用いて水質を評価する試みが盛んになり、よく論議されている。ここでは最も広く用いられている Shannon<sup>24)</sup>の式で群集の多様性を表わした。

$$H' = -\sum_{i=1}^s P_i \log_2 P_i$$

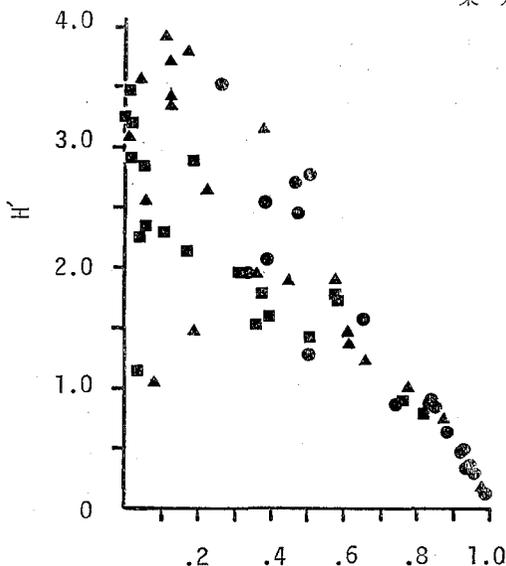
$P_i$  は種  $i$  の存在確率で  $P_i = N_i/N$

$N_i$  : 種個体数,  $N$  : 総個体数

Whilm<sup>25)</sup> は多様性指数 (以下  $H'$  と称す) が 3 以上であると清冽な水域, 1 以下であると極度に汚れた水域, 1—3 では中間の水域であると述べている。

Fig. 3 で示すように、関戸橋以降下流部, St. 14 永田橋, St. 19 新井橋など水質が悪化している水域では  $H'$  の値が小さく、特に 5 月の  $H'$  は 0.5 にも満たず、群集が非常に単純であった。清冽と思われる水域では高い値を示している。秋川の流入で水質のやや回復する St. 12 拝島橋—St. 10 日野橋では、 $H'$  が比較的高く、8 月, 10, 11 月に 2 を越していた。各地点の  $H'$  と BOD との関係を図 5 に示した。両者に負の相関があるように思われる。

$H'$  の値の小さい水質汚濁域の群集はミミズ類に優占され、逆に水のきれいな地点ではミミズ類の密度が小さく、群集の構造が複雑である。群集の多様性はミミズ類の個体数が増大するにつれ減少すると言えよう。採集した肉眼的底生動物の総個体数に占めるミミズ類の割合 (以下、ミミズ類の割合と称す) と  $H'$  との Spearman の順位相関係数は  $-0.796$  で負の相関があった。ミミズ



Ratio of Oligochaeta spp. to Total Catch of Benthic Macroinvertebrates in Numbers

Fig. 7. Correlation between Shannon's Diversity Index and Ratio of Oligochaeta spp. to Total Catch of Benthic Macroinvertebrates in Numbers

● : May ■ : August ▲ : October, November

類が総個体数の7割を占めるとH'が1.0というようにH'が1以下の地点ではミミズ類の割合からH'の値を推定できた。(Fig. 7)

次にH'と指標生物との関係を述べる。5月の調査において、H'の1以下の水域では汚濁非耐性種が採集されないか(St. 4 丸子橋—St. 7 多摩川原橋, St. 14 永田橋), または2—4種(St. 8 是政橋—St. 11 多摩大橋, どの地点でも *Hydropsyche* spp., ウスバヒメガガンボ *Antocha* spp. が採集された) 出現し, 指標生物の面からみても「きれい」と判定することは難しく, 水が汚れている可能性が大であるように思われる。H'が2.5以上(町田ら<sup>26)</sup>はH'が2.5以上であれば人為的に非汚染の状態であると述べている)の22地点中, カワゲラ類 *Plecoptera* spp. を除く Group IV の種が18地点(82%), カワゲラ類は21地点(95%)に出現した。H'の大きい地点は指標生物からみても水質が清冽と判定できよう。H'が1.0から2.5の地点の指標生物からみた水質の汚濁程度とH'の相関を求めてみると, 8月では順位相関係数が0.141で有意水準0.05では相関があると言えず,

10月では0.514でやや相関があるという結果になった。生物相や水質から見てSt. 12 拝島橋はSt. 11 多摩大橋よりきれいと思われるのだが, H'は逆に8月, 10, 11月とも拝島橋の方が小さく, 同様のことがSt. 21 浅川橋とSt. 19 新井橋でもいえた。*Rhyacophila* sp. が出現した10月のSt. 22 水無瀬橋のH'は8月より値が小さかった。このようにやや汚れた地点でH'の値の大小を用いて各地点の汚濁程度を考察するのは少々無理がある。

次にH'とB. I.との関係を述べてみる。H'をx, B. I.をyとすると次のような回帰直線がひける。rは積率相関係数である。

$$5月 \quad y = -0.63 + 18.2x \quad r = 0.948$$

$$8月 \quad y = -15.46 + 19.8x \quad r = 0.821$$

$$10, 11月 \quad y = -3.60 + 16.4x \quad r = 0.789$$

回帰直線の傾きは3回ともそれほどかわらなかったが, y切片は異なっていた。H'とB. I.は正の相関があるが, その関係のしかたは調査ごとに異なっていた。

以上述べてきたように, 指標生物とミミズ類の割合によってH'の大きい地点(2.5以上)と小さい地点(1以下)を知ることができるように思われる。

4. Pollution Index による方法 この方法は中央ヨーロッパで広く用いられ, 我が国でも使われ始めた。どの水質階級の種が多いか(種数, 個体数の両面から)を生物の出現の頻度 Häufigkeit (以下, h と称す)と汚濁階級指数(以下sと称す)により評価するもので次の式により汚濁度(以下P. I. と称す)を算定する。

$$P. I. = \frac{\sum(s \cdot h)}{\sum h}$$

sとして貧,  $\beta$ -中,  $\alpha$ -中, 強腐水性種にそれぞれ1, 2, 3, 4の数値を与える。普通, hの評価に1:偶在, 2:多い, 3:すこぶる多いという3段階を用いて計算を行なっているが, その規準が明確でない。ここではSchreiber<sup>27)</sup>にしたがい, 5段階に分け, 1 m<sup>2</sup>に1—50個体出現した種に1, 51—100個体, 101—200個体, 201—500個体, 500個体以上に出現した種にそれぞれ2, 3, 4, 5の値を与えた。そのため, P. I.の値が従来の方法に比べやや大きめに算定された。

Fig. 8で示すように, 指標生物から見て極めて汚れていた5月の関戸橋以降下流部, 永田橋, 水無瀬橋以降の浅川水系のP. I.は3以上であった。これらの地点は8, 10月になり水質が良化するにしたがい, 2.4から3.0の間の値となった。水質の比較的良好な, 8月, 10, 11月のSt. 12 拝島橋—St. 10 日野橋のP. I.は1.7—2.4であった。水質が清冽と思われる地点(Group IVの種が出現)のほとんどが2以下であった。指標生物の出現状

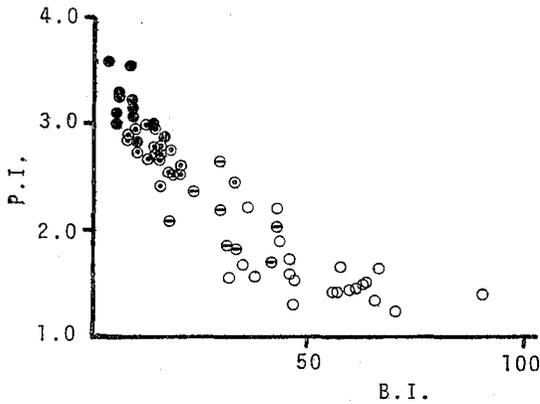


Fig. 8. Correlation between B. I. and Pantle & Buck's P. I. of Each Station  
 : extremely polluted(●), considerably polluted(⊙), comparatively clean(⊖), clean(○), evaluated by indicator species

況と P. I. の値の大きさととは密接な関連がある。

次に P. I. と貧腐水性種（以下汚濁非耐性種と称す）との関係について考察する。P. I. を非耐性種の  $\sum h$  に占める割合（非耐性種の P. I. と称す）とそれ以外のもの（耐性種の P. I. と称す）に分けて考える。

$$P. I. = \frac{\sum h_1}{\sum h} + \frac{2\sum h_2 + 3\sum h_3 + 4\sum h_4}{\sum h}$$

$h_1, h_2, h_3, h_4$ : 貧,  $\beta$ -中,  $\alpha$ -中, 強腐水性種の頻度

汚濁非耐性, 耐性種, その和である全体の P. I. と非耐性種の数（以下  $n$  と称す）との関係を Fig. 9, 10 に示す。汚濁耐性種の P. I. は  $n$  が増加するにつれて急激に減少する。分子である  $2\sum h_2 + 3\sum h_3 + 4\sum h_4$  の値はそれほど変化しないが, Fig. 11 で示すように  $\sum h$  は  $n$  の一次関数に近い ( $r=0.928, \sum h=21.5+2.08n$ ) ためであろう。  $\sum h_1$  は  $n$  の値が小さい時は  $n$  に比例し,  $n$  が大きくなるにつれてしだいに  $\sum h$  に近づくため (Fig. 11), 非耐性種の P. I. は  $n$  が増すにつれて増加するが, 徐々に増加がにぶり, しだいに 1 に近づく

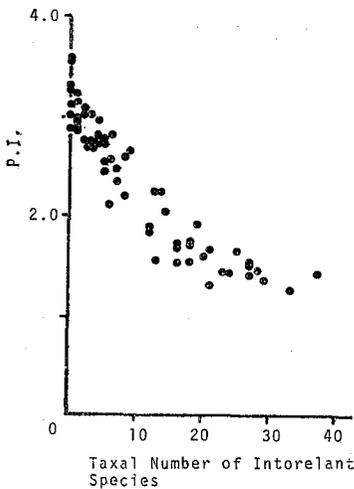


Fig. 9. Correlation between the Taxal Number of Intolerant Species and Pantle & Buck's P. I.

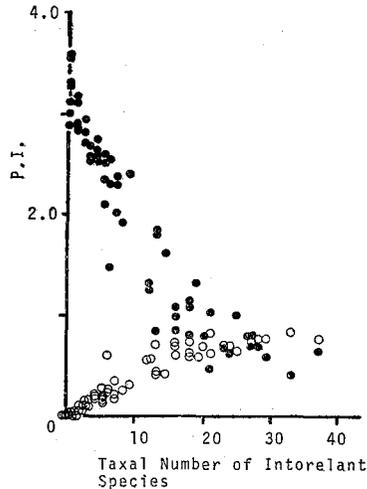


Fig. 10. Correlations between the Taxal Number of Intolerant Species and the P. I. calculated from Each of the Tolerant Species and Intolerant Species  
 ○: Intolerant Species  
 ●: Tolerant Species

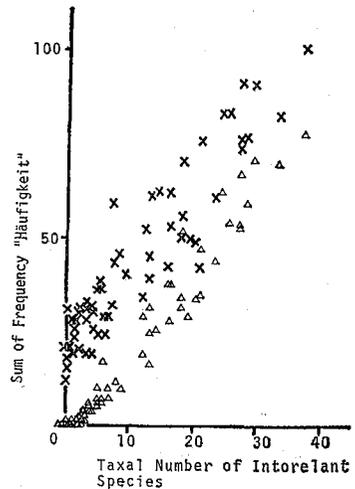


Fig. 11. Correlations between the Taxal Number of Intolerant Species and the Sum of Frequency "Häufigkeit" of Intolerant Species, and between the Taxal Number of Intolerant Species and the Sum of Frequency "Häufigkeit" of Total Species  
 △: Intolerant Species  
 ×: Total Species

plateau に近い線を描くようになる。汚濁耐性種および非耐性種の P. I. は n から大体の値を知ることができ、全体の P. I. を推定できる。P. I. が 2.4 (それ以下の値では水質が比較的良好であると判定できる) の時、6—7 種の非耐性種が出現しており、B. I. が 20 の時、非耐性種が 6—7 種出現すると述べたのによく呼応している。

以上述べてきたように、P. I. による判定は指標生物による判定法とほぼ等しい結果になると言えよう。

#### おわりに

水質汚濁の生物指数 B. I. および Pollution Index による判定は指標種による判定とほぼ同じ結果になる事がわかった。また、群集の多様性は、Shannon の多様性指数が 2.5 以上および 1 以下の地点で指標種の出現と密接な関連があった。同じ結果になるのなら、我が国の底生動物の分類同定の不確実さからみて方法的にも問題が少なく、手間がかからず、かなりの精度で水質を判定できる、指標種による方法を用いればよいものと思われる。

指標種による方法は各地点で出現した指標種を記載し、その個体数の多少、群集組成を調べて水質判定を行なっているのだが、その判定結果が B. I. や P. I. を用いた判定とほぼ等しくなったことから、主に指標種の存否を調べるやりかた<sup>28-30)</sup>で大体の水質判定が可能であると判明した。

指標種の出現状況(存否)を調べ、必要があればミミズ類の多少を調べて水質を判定する方法は化学分析より速く、素人にも簡便にでき、採集したすべての種を同定したり、各種の個体数を調べる煩雑さを省略でき、ある程度の正確さをもって各地点の水質を判定できるものと思われる。

謝辞 試料の選別、同定に協力して下さった丸の内陽子、竹村光代、新野美紀子さん、および貴重な資料を拝見させて下さった都公害研江角比出郎研究員、青梅羽村福生都市下水路組合の皆さまに深く感謝の意を表します。

#### 文 献

- 1) Kolkwitz, R. and M. Marsson : *Ber. deutsch Bot. Ges.* 26, 505, 1908
- 2) Liebmann, H. : *Handbuch d. Frischwasser-u. Abwasserbiologie* Bd 1, 1951, München
- 3) Beck, W. M., JR : *Sewage Ind. Wastes*, 27, 1193 1955
- 4) 津田松苗, 赤木郁恵, 渡辺仁治 : *日生態誌*, 10, 198, 1960
- 5) 松本浩一, 松本 茂, 松本昌雄, 松本淳彦, 河村祐子 : *東京衛研年報*, 17, 121, 1967
- 6) Whilm, J.L. and T.C. Dorris : *Am. Midl. Nat.*, 76, 427, 1966
- 7) 渡辺 直 : *用水と廃水*, 15, 725, 1973
- 8) 岡田光正, 須藤隆一 : *用水と廃水*, 18, 712, 1976
- 9) Pantle, R. and H. Buck : *Gas. Wasserfach* 96, 604, 1955
- 10) 津田松苗, 森下郁子 : *淀川水系生物調査報告書*, 第 4 報, 2, 1974
- 11) 古屋八重子 : *鏡川の環境と生物に関する総合調査報告書*, 63, 1976
- 12) Fjerdingstad, E. : *Int. Revue. ges. Hydrobiol.*, 49, 63, 1964
- 13) 松本浩一 他 : *多摩川流域自然環境調査報告書 第一次調査*, 131, 1975
- 14) 津田松苗 : *汚水生物学*, 北隆館, 1964
- 15) 井出嘉雄, 樋口孝男, 関口信男 : *多摩川の生物相と水質汚濁の現状*, 182, 1975
- 16) *東京都水道局水質年報*, 昭和48年度
- 17) Gose, K. : *JIBP synthesis*, 10, 350, 1975
- 18) Chutter F. M. and R. G. Nobble : *Arch. Hydrobiol.*, 62, 95, 1966
- 19) 信夫つや子 : *奈良陸水生物学報*, 1, 13, 1968
- 20) 渡辺 直, 原田三郎 : *陸水雑*, 37, 47, 1976
- 21) 松本浩一, 松本昌雄, 松本淳彦 : *東京都立衛生研究所研究報告*, 22, 1965
- 22) 松本浩一, 松本 茂, 松本昌雄, 松本淳彦 : *東京衛研年報*, 16, 105, 1966
- 23) 井出嘉雄 : *第13回日本水処理生物学会講演要旨*, 1976
- 24) Shannon C. E. and W. Weaver : *The mathematical theory of communication*, 1963, Univ. of Illinois Press, Urbana 原著未検討
- 25) Whilm, J. L. : *Ann. Rev. Ent.*, 17, 223, 1972
- 26) 町田吉彦, 石崎修造 : *陸水雑*, 36, 122, 1975
- 27) Schreiber, I. : *Arch. Hydrobiol. suppl.*, 47, 432, 1975
- 28) Mellanby, K. : *Environ. Pollut.*, 6, 161, 1974
- 29) 松本浩一 : *モダンメディア*, 21, 364, 1975
- 30) 桜井善雄 : *上田市の生活環境*, 135, 1975

プールの衛生管理上の問題点とその対策

笹野 英雄\*, 菊地 洋子\*, 押田 裕子\*  
 栃本 博\*, 友成正 臣\*

A Problem in Swimming Pool Sanitation and the Countermeasure

HIDEO SASANO\*, YOKO KIKUCHI\*, HIROKO OSHIDA\*,  
 HIROSHI TOCHIMOTO\* and MASAOMI TOMONARI\*

緒 言

著者らはプールの衛生管理を有効に行うために、過去10数年にわたる東京都のプール水質検査成績を資料として、衛生管理上の問題点を追求しその対策について検討したので報告する。

調査方法

プールの衛生管理上の問題点を把握するためにプール水質基準に基づく各年度の不適率を算出し、問題となる不適項目について検討を行った。検討内容は、残留塩素濃度と大腸菌群不適率の関係、過マンガン酸カリウム消費量の濃度分布などである。また、不適率をプールの換水型式（循環ろ過式と入換式）、入泳対象者（学校用と営業用）、設置場所（屋内と屋外）に分け比較した。なお、プール水の適否の判定は、「遊泳用プールの水質基準」<sup>1)</sup>（1965年7月9日、厚生省環境衛生局長通知）に基づいた。

調査結果と考察

1. 不適率と不適項目 (Table 1, 2) 1962年から1976年にいたる15年間において不適率は低下の傾向にあったが、ここ数年めだつた減少をせず現在も約半数のプールが不適である。不適となった項目を解析すると各年度と

Table 1. Result of Administrative Examination on Swimming Pool Water in Tokyo

Year	Number of Pools Tested	Number of Unadaptable Pools	Per cent of Unadaptable Pools
1962	108	77	71
1967	130	91	70
1970	326	202	62
1971	322	193	60
1972	317	184	58
1973	230	123	53
1974	310	152	49
1975	332	171	52
1976	247	115	47

Table 2. Contents of Unadaptable Items

Year	Number of Unadaptable Pools	Residual Chlorine	Coliform Group	pH	Turbidity	KMnO <sub>4</sub> Consumed
1962	77	76 (99%)	24 (31%)	2 (3%)	5 (6%)	2 (3%)
1967	91	91 (100%)	13 (14%)	0	1 (1%)	0
1970	202	194 (96%)	21 (10%)	8 (4%)	4 (2%)	2 (1%)
1971	193	185 (96%)	13 (7%)	10 (5%)	0	1 (1%)
1972	184	176 (96%)	14 (8%)	10 (5%)	0	0
1973	123	117 (95%)	11 (9%)	6 (5%)	0	1 (1%)
1974	152	148 (97%)	5 (3%)	5 (3%)	0	1 (1%)
1975	171	170 (99%)	10 (6%)	3 (2%)	0	2 (1%)
1976	115	115 (100%)	8 (7%)	0	1 (1%)	2 (2%)

\* 東京都立衛生研究所多摩支所 190 東京都立川市柴崎町 3-16-25

\* Tama Branch Laboratory, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health 16-25, Shibazakicho 3 chome, Tachikawa, 190 Japan

Table 3. Correlation between Residual Chlorine Concentration and Unadaptable Ratio on Coliform Group

Residual Chlorine(ppm)	0	t-	0.1-	0.2-	0.3-	0.4-
1962	17/21	6/24	1/11	0/14	0/6	0/32
1967	3/13	3/18	8/13	0/17	0/12	0/39
1970	9/35	7/40	3/38	2/48	0/33	0/132
1971	8/36	2/31	1/50	0/36	2/32	0/137
1972	9/39	5/30	0/52	0/31	0/24	0/141
1973	10/27	0/16	1/22	0/34	0/18	0/113
1974	3/23	0/28	2/41	0/33	0/23	0/162
1975	8/30	2/22	0/37	0/47	0/34	0/162
1976	7/24	0/12	1/27	0/28	0/24	0/132
Total	88/325 (27%)	11/144 (8%)	17/309 (6%)	2/288 (1%)	2/206 (1%)	0/1050 (0%)

t : trace

Table 4. Distribution of KMnO<sub>4</sub> Consumed

KMnO <sub>4</sub> Consumed (ppm)	0-	5-	10-	15-	20-	Average (ppm)	Standard Deviation
1962 R-F	49	31	8	6	6	5.97	4.46
F-D	56	38	5	1	0		
1967 R-F	50	40	8	2	0	5.18	2.85
F-D	77	22	1	0	0		
1970 R-F	60	34	4	2	0	4.71	3.36
F-D	77	21	1	1	0		
1971 R-F	52	38	8	2	0	5.45	3.20
F-D	66	26	5	2	1		
1972 R-F	63	31	5	1	0	4.91	2.90
F-D	72	22	5	1	0		
1973 R-F	64	29	6	0	1	4.70	3.26
F-D	87	13	0	0	0		
1974 R-F	59	33	6	2	0	4.95	3.34
F-D	82	18	0	0	0		
1975 R-F	62	32	4	1	1	4.99	3.24
F-D	60	28	3	6	3		
1976 R-F	67	27	4	1	1	4.80	3.19
F-D	79	15	6	0	0		

R-F : Recirculation-Filtration Type

F-D : Fill-Draw Type

も残留塩素濃度が原因となっている。残留塩素は不安定で、入泳者、プールの周辺環境、紫外線、風などに影響され、一定濃度を保持することが困難なためこのような結果になったと考えられる。

## 2. 残留塩素濃度と大腸菌群不適率の関係 (Table 3)

大腸菌群は残留塩素が遊離型で0.4ppm以上存在する時は不検出であった。大腸菌群の不適率は残留塩素が低濃度のときほど高く、とくに0ppmの場合に著しい。大腸菌群が検出されることは、赤痢菌や腸チフス菌など

の腸管系病原菌、さらにアデノウイルスやポリオウイルスなどの汚染の可能性が考えられるので、(管理が困難であるが) 残留塩素濃度を基準値に維持する必要がある。

3. 過マンガン酸カリウム消費量の濃度分布 (Table 4) 循環ろ過式(以下ろ過式と略す)のプールは、浮遊物質が除去されても溶質は除かれなため過マンガン酸カリウム消費量が高くなることが考えられる。過マンガン酸カリウム消費量が高いと残留塩素の消耗が速められ塩素の殺菌効果を期待できない。検査プールにおける過

Table 5. The ratio of Unadaptable Pools in Recirculation-Filtration Type and Fill-Draw Type

Year	Filtration Type	Fill-Draw Type
1962	20/29 (69%)	57/79 (72%)
1970	156/251 (62%)	46/75 (61%)
1973	113/216 (52%)	10/14 (71%)
1975	153/305 (50%)	18/27 (67%)
1976	106/233 (45%)	9/14 (64%)

Note: Numerator indicates the number of unacceptable and denominator indicates the number of tested

Table 6. The ratio of Unadaptable Pools in School and Business Pool

Year	School Pool	Business Pool
1962	48/63 (76%)	29/45 (61%)
1970	82/149 (55%)	120/177 (60%)
1973	5/11 (45%)	118/219 (56%)
1975	13/21 (62%)	158/311 (51%)
1976	13/20 (41%)	102/227 (44%)

Note: Numerator indicates the number of unacceptable and denominator indicates the number of tested

Table 7. The ratio of Unadaptable Pools in Outdoor and Indoor Pool

Year	Indoor Pool	Outdoor Pool
1974	135/272 (50%)	17/38 (45%)
1975	160/303 (53%)	11/29 (38%)
1976	100/214 (47%)	15/33 (45%)

Note: Numerator indicates the number of unacceptable and denominator indicates the number of tested

Table 8. The Change of Number of Pools in 15 Years in Tokyo

Year	Business Pool	Welfare Pool	School Pool	Total Number
1959	77	31	555	663
1968	135	100	1337	1572
1972	210	92	1788	2090
1973	224	125	1862	2211
1974	251	125	1891	2267

マンガン酸カリウム消費量の濃度分布と平均値を求めたところ、Table 4 のように大多数のプールが0-5ppmの値を示し、約90%は10ppm以下の範囲であった。平均値は各年度とも約5ppmであり、10数年来大きな変動は認められない。

4. 換水型式による不適率の比較 (Table 5) ろ過式は消毒装置を組みこめるため安定した水質管理を行うことが可能であり運営上も管理し易い。今回の結果からも入換式と比較すると、ろ過式の不適率がわずかに低くなっていることが認められる。プールの換水型式を検討すると、1962年は入換式が約50%を占めていたがその後ろ過式に移行し1973年以後は検査プールの約90%をろ過式が占めるようになった。これにつれて適合率が上昇しており、ろ過式による効果が認められる。しかし、1973年頃から適合率が上らず、換水型式をろ過式に切替えただけでは残留塩素の保持に限界があることを示している。

5. 入泳対象者による比較 (Table 6) 入泳者、入泳時間等が限定できる学校用と、不特定多数の人が利用する営業用の不適率に有意差を認めなかった。学校用は入泳者を管理し易く不適率が低いように考えられるが、この結果から管理面に問題点があると推察できる。その一因として管理担当者(主として体育教師)以外はプールの衛生管理意識が低く、管理責任者不在時に塩素消毒やろ過機の運転が不充分になることが考えられる。

6. 屋内、屋外プールの比較 (Table 7) 屋内は屋外に比較して不適率が低い。これは屋内が閉鎖された環境のため残留塩素の消耗が遅くなるのではないかと推察される。

7. 東京都におけるプール数の経年変化 (Table 8) 営業用、学校用、厚生施設用とも大きく増加しており、総数の80%以上は学校用である。

#### 結 論

現在でもなお約50%のプールが基準に不適であり、この主な原因は残留塩素である。この傾向は1962年以来変化していない。したがって、プールの衛生管理における問題点は残留塩素の維持管理にある。有効塩素はその性質上不安定であり一定濃度を保持しにくい、その対策として次のようなことが考えられる。

a 塩素剤自動連続注入装置の活用: この方法はろ過式プールに有効である。酸化還元電位等を利用した注入制御装置が実用化されるようになればさらに管理が容易になり効果があると考えられる。

b 錠剤化塩素剤の使用: 溶解が徐々に行われる錠剤は一定濃度維持に有効である。しかし高濃度の塩素を含む錠剤が入泳者に直接接触する危険性があり、その安全

対策を考慮して使用する必要がある。

c 塩素安定剤の使用：プール水中にイソシアヌール酸を 30ppm 添加すると残留塩素の持続効果が著しく<sup>2)</sup>、維持管理に有効である。

以上が残留塩素の維持対策であるが、これらの方法も適切に活用されなければ効果があがらない。最後に経営者、管理者を対象とした講習会等を行いプールの衛生管理教育を徹底させることを付記しておく。

(本研究の概要は第59回東京都衛生局学会1977年5月で発表した。)

#### 文 献

- 1) 厚生省環境衛生局長通知環衛第5080号：遊泳用プール水の水質基準について，1965
- 2) 笹野英雄 他：東京衛研年報，27-1，335，1976

他 誌 発 表

SUMMARIES OF PAPERS IN OTHER PUBLICATIONS

( 1976.7—1977.6 )

### ブドウ球菌エンテロトキシンに関する最近の研究

寺山 武：別冊 蛋白質 核酸 酵素，69，1976

わが国はもとより，欧米諸国においてもブドウ球菌食中毒は大変発生頻度の高い食中毒であり，公衆衛生上重視されている。本食中毒は典型的な毒素型食中毒であって，その毒素はエンテロトキシンと呼ばれる蛋白性の物質である。最近10数年間におけるエンテロトキシンに関する研究報告はきわめて多数認められる。本報では，エンテロトキシンの精製，各種性状および毒素蛋白分子の構造に焦点を絞って最新の知見を加えて解説した。

### ブドウ球菌の分離・同定法

寺山 武：モダンメディア，22，387，1976

細菌の分類・命名に関して国際的に最も権限ある書物として広く用いられている Bergy's Manual of Determinative Bacteriology の改訂第8版が1974年に出版され，ブドウ球菌の分類体系にも改訂が行われた。一方，近年 opportunistic infection の原因菌として表皮ブドウ球菌が注目されてきた。かつてのブドウ球菌の分離同定法は，病原性ブドウ球菌とも呼ばれていた黄色ブドウ球菌を主眼に解説されたので，本報では Bergy's Manual 第8版に記載されたブドウ球菌の解説を行うとともに，黄色ブドウ球菌と表皮ブドウ球菌とを対等の立場で，著者らの経験をもとに分離・同定法を解説した。

### 病原大腸菌の分離と同定

丸山 務：検査と技術，4，671，1976

ヒトに下痢，腸炎を起こす病原菌の中で病原大腸菌の占める比重は決して軽いものではなく，またその検査法もそれ程困難なものではない。しかしながら本菌の検査が積極的に行なわれないのは技術的な問題よりも，本菌への理解の不足に加えて病原学的意義が単純でないことが障害になっている。このような観点からまず，病原大腸菌の解説を行ない，検査法としては検査の進め方と検査結果の意味づけに力点を置いて記述した。

### *Yersinia enterocolitica* とその感染症

丸山 務，善養寺 浩：予防医学ジャーナル，96，24 1976；97，22，1976；99，28，1976

最近，世界各国の感染症にたずさわる研究者，臨床家の間で *Yersinia enterocolitica* に対する関心が高まっている。わが国では1972年から1976年までに5つの食中毒様の集団発生例が明らかにされたこともあって主として公衆衛生領域で検討が進められている。しかしながら本菌の研究の歴史はきわめて浅く，関係者の間でさえそ

の認識が十分とはいえない。そこで本菌の細菌学，生態学，感染症および検査法について著者らのごく最近得られたデータも含めて概説した。

### 北海道のミンク養殖場で発生したボツリヌスC型菌による中毒斃死例について

伊藤 武，坂井千三，田淵 清，今井信実，江木敬之：麻布獣医科大学研究報告，1(2)，29，1976

ボツリヌスC型菌は他のボツリヌス菌と同様に自然界に広範囲に分布することを明らかにしてきた。そして，C型菌による動物のボツリヌス中毒発生の危険性を示唆した。ところが，1975年2月，北海道の某ミンク養殖場でミンクの集団急性斃死例があり，その病因物質を究明した結果，本事例はC型ボツリヌス中毒であることが判明した。そこで，本発生例の概要と問題点について述べた。

### ボツリヌス菌の検出法

伊藤 武，坂井千三：臨床検査，20(13)，1531，1976

ボツリヌス菌の検査は，北海道や東北地方のごく限られた検査機関でのみ実施されており，一般の細菌検査室では関心がまったくない。しかし，1976年8月，東京都内で本邦では初めてのA型ボツリヌス中毒の発生がみられた。本発生例は限られた地域によらず，各地方で突発的に発生する危険性が示唆され，一般の病院の検査室でも，本菌の検査体系の確立が望まれるので，本菌の検査法を解説した。

### Further Studies on Characterization and Biological Activities of an Enteropathogenic Toxin of *Vibrio parahaemolyticus*

H. Zen-Yoji, Y. Kudoh, H. Igarashi, K. Ohta, K. Fukai and T. Hoshino: *Animal, Plant, and Toxins*, 1, 479, 1976 (Edited by A. Ohsaka, K. Hayashi and Y. Sawai)

Physicochemical properties and biological activities of purified enteropathogenic toxin of *V. parahaemolyticus* were investigated. The toxin was characterized by: (i) a single precipitin line against polyvalent antisera; (ii) homogeneity in polyacrylamide gel electrophoresis; (iii) UV spectrum characteristic of pure protein; (iv) sedimentation coefficient of 5.3 S; (v) isoelectric point of pH 5.02; (vi) resistant to trypsin but sensitive to pepsin. The molecular weight was estimated to be approximately 45,000 by the Sephadex gel filtra-

tion method. The toxin had only one N-terminal phenylalanine, and the sequence of the first 38 amino acid residues from the N-terminus was determined. As for the biological activities, the minimal hemolytic dose was estimated to be 0.1  $\mu\text{g}$  on a blood agar plate; an  $\text{LD}_{50}$  for mice was approximately 1.5  $\mu\text{g}$ ; and a minimal cutaneous response dose in the guinea pig skin test was about 2.5  $\mu\text{g}$ . The skin response was characterized by marked edema, erythema, and induration, and showed no diffusive dye permeation. More than 200  $\mu\text{g}$  of the toxin gave a positive response in the intestinal loop test; major pathological findings consisted of severe destructive changes with neutrophil infiltration and accumulation of bloody exudate in the loops. Monkeys injected with 5 or 10 mg of toxin exhibited catarrhal lesions accompanied by mucoid exudate accumulation in the jejunum; with 25 mg, monkeys died in 5-12 hr after injection, and the major pathological findings were characterized by thinning, marked diminished tonus of the small intestinal wall and a great abundance of bloody, mucoid exudate in the lumen. This purified toxin also showed a peculiar property in the heat stability; the toxin was inactivated by heating at 60°C for 5 min, but not significantly inactivated by heating at 100°C for 30 min.

#### エンテロトキシン産生大腸菌による下痢症について

工藤泰雄：モダンメディア，22，339，1976

近年エンテロトキシン産生大腸菌による下痢症が注目されてきている。また、この大腸菌エンテロトキシンについての研究も、ここ数年間に急速に進展した。本報は、わが国においては、一般的にはあまり知られていない、このエンテロトキシン産生大腸菌についてその概要をわかりやすく紹介した。

#### 市販海産食品中の腸炎ビブリオ数の測定 I. 測定法に関する基礎的検討

村上 一，神保勝彦，神崎政子，小久保弥太郎，松本昌雄，春田三佐夫，山田満，Arun C. GHOSH：東京獣医学畜産学雑誌，23，84，1976

生食用海産魚介類中の腸炎ビブリオ数をは握し得る、簡易で実用的な方法を確立するため、実験室保存の腸炎ビブリオと類縁ビブリオ5株を用いて、基礎的事項につ

いて検討を行った。その結果、6%食塩加1%ペプトン水(PW)で前培養を行い、損傷腸ピの回復を計った後、7%食塩加アラビノース・コリスチン・ペプトン水(ACPW)に接種する方法が有効であることが判った。一方、本法の実用性の検討は、1973年夏に、東京都中央卸売市場に入荷した177検体のむき身ばか貝およびあか貝と、それらの漬水177件の計354検体を用いて行った。すなわち、検体の10倍段階希釈を各3本のPWに接種し、35°Cで18時間培養後、菌の増殖が認められたものをそれぞれ一白金耳ずつACPWに接種し、35°Cで24時間培養後、培地色が黄変した試験管の数から最確数(MPN)を求めた。ACPWで陽性を示した最高希釈列の試験管からTCBS平板上に菌分離を行い、得られた代表株73株について、生化学的、血清学的性状を調べると同時に、神奈川現象の有無について検討した。その結果、これらはすべてその性状から腸ピと同定された。また、検査した73株中38株(52.1%)は、既知の10血清型に型別されたが、残りの株は型別不能であった。神奈川現象はすべて陰性であった。

#### 市販海産食品中の腸炎ビブリオ数の測定 II. 推定腸炎ビブリオの週別出現率

村上 一，神保勝彦，神崎政子，小久保弥太郎，松本昌雄，春田三佐夫，山田満，Arun C. GHOSH：東京獣医学畜産学雑誌，23，91，1976

前報に述べた最確数法により、東京都中央卸売市場に出荷された生むき身ばか貝およびあか貝中の、週別平均腸ピ数を、1973年6月から1975年11月まで連続3年間にわたり追跡調査した。同時に、それらの中の一般海水細菌数の消長も併せ調査したところ、むき身貝中の平均推定腸ピ数は毎年6月下旬頃から急激に上昇し始め、8月に最高に達し、以後徐々に下降の傾向を示し、10月下旬には $10^2-10^3/\text{g}$ レベルまで下降し、12月下旬から翌年3月までの間むき身貝中に全く推定腸ピを検出しなかったのに対し、それらの中の一般海水細菌数は調査期間を通じて $10^5-10^7/\text{g}$ レベルを維持し、大きな変動は示さなかった。1973年に市場のむき身貝中の推定腸ピ数が $10^4/\text{g}$ を越えた時期に都内の腸ピ食中毒が多発し、推定腸ピ数が $10^5$ から $10^6/\text{g}$ と上昇するに伴ってその発生頻度が高くなった。そこで、1974年以後、市場に出廻る生食用むき身貝中の推定腸ピ数を $10^3/\text{g}$ 以下に抑えるための行政指導および取締りを、むき身加工業者および市場の取扱業者を対象に重点的に実施した。その結果、同年共8月に $10^4/\text{g}$ を越えるものが僅かに出現したのみでおおむねその所期の目的を達することができた。同時に、

生むき身貝に起因する腸ビ食中毒を大幅に減少させることに成功した。

### 冷蔵豚肉の衛生細菌学的研究 I. 生産ならびに冷蔵過程における汚染細菌

小久保弥太郎：東京獣医学畜産学雑誌，23，95，1976  
と殺直後の豚枝肉ならびにそれらを解体処理直後の部分肉の細菌汚染状況を，四季別に調査したところ，生菌数は，年間を通じて枝肉では  $10^3 \sim 10^6$ /g，部分肉ではそれよりも常に1～3オーダー高い値を示し，夏季に最も高かった。次に，と殺直後の枝肉から採取した肉片を10，5および3℃で冷蔵したところ，それぞれ3，7および10日目に生菌数が  $10^9$ /g に達して官能的にも異常を示した。この際同時に検査した pH 値ならびに VBN 値は，10および5℃保存では3日目，2℃保存では7日目までそれぞれたいした変化もせず推移したが，その後上昇し，特に10℃では顕著であった。これら枝肉および部分肉の汚染菌叢は，四季の別なく，分離菌の80～90%が *Pseudomonas*，*Flavobacterium*，*Achromobacter* などのグラム陰性菌であった。これを2あるいは5℃に冷蔵すると，経日的に菌叢に占める *Pseudomonas* の比率が増加し，10日目には分離菌の90%が本菌属で，しかもそのうち80%がⅡグループ (Shewan らの分類による) であった。これに対して，10℃保存では *Pseudomonas* 優位の傾向は顕著ではなかった。一方，と畜場に搬入された豚の腸管内容物，皮膚片および趾から0℃発育菌が  $10^2 \sim 10^4$ /g のレベルで検出され，その主要構成菌属が *Pseudomonas* を主体とするグラム陰性菌であったことは，これらが，と畜場における枝肉の主要汚染源であることを裏付けていた。

### 冷蔵豚肉の衛生細菌学的研究 II. 豚肉分離菌株の性状

小久保弥太郎：東京獣医学畜産学雑誌，23，104，1976  
と殺直後の豚枝肉と部分肉由来の計1103菌株は，0，5，10～30および35℃において，それぞれ22.8，64.9，98～100および61.7%が発育した。これら菌株中 *Pseudomonas* I とⅡグループは，0℃でも60%と高い発育率を示し，振とう温度こう配培養法による低温での温度特性も，*Y. enterocolitica* などの病原性低温細菌とは類似していたが，*Salmonella* などの中温細菌とは明らかに異なった。同時に検査した蛋白と脂肪分解能は，それぞれ全分離菌株の40および25%に認められ，両分解能陽性株も10%を占め，なかでも *Pseudomonas* は陽性率が高かった。次いで，冷蔵豚肉由来の *Pseudomonas* II グル

ー30菌株の諸性状を調べた結果，ほとんどが *P. fragi* および *P. taetrolens* に類似する性状を示したことから，これら菌種が，豚肉を冷蔵すると，汚染菌叢の主体となり，その生物活性からみても，これらが豚肉の品質劣化の主役を演じていると結論できた。また，これら菌株の抗生物質，化学物質，色素など計42種類の抗菌性物質感受性は，全般的に他の菌属より低かったが，アミノ配糖体やフリルフラマイドの MIC は，他の物質に比較して低く，その分布のピークはいずれも 6.25mcg/ml 以下にあった。

### 冷蔵豚肉の衛生細菌学的研究 III. 冷蔵豚肉中の *Pseudomonas fragi* および *Pseudomonas taetrolens* 群の選択的検出法の開発とその応用

小久保弥太郎：東京獣医学畜産学雑誌，23，116，1976  
豚肉を汚染する *P. fragi* および *P. taetrolens* 群の菌数を簡易に計測するため，マルトース分解能を菌種鑑別の鍵とし，ナリジキシン酸とノボビオンシにより他の細菌の増殖を効果的に抑制し得る“NN 培地”を開発した。本培地の実用性を，豚ひき肉を対象に検討したところ，*P. fragi* および *P. taetrolens* 群は，いずれも平板上で特異的な黄色集落を形成し，識別ならびに計測が極めて容易であったことから，NN 培地の使用が冷蔵豚肉の品質評価の有力な手段になり得ることを認めた。一方，冷蔵豚肉における *Y. enterocolitica* と *P. fragi* および *P. taetrolens* 群の発育状況を比較したところ，*Pseudomonas* の菌数が  $10^8$ /g 以内の場合には，*Y. enterocolitica* の増殖は全く認められなかった。この事実と *Y. enterocolitica* がヒトを発病させるのに  $3.5 \times 10^8$ 個という大量の菌を必要とする事実を考え合わせると，日常検査の一環として，冷蔵豚肉中の *Pseudomonas* 数を NN 培地で計測し，その菌数が品質評価の基準として妥当であると考えた  $10^8$ /g 以上の肉を排除すれば，同時に *Y. enterocolitica* の食中毒事故を未然に防止し得る考えた。

### UHT処理紙容器詰牛乳の保存性に関する検討

松本昌雄，神保勝彦，村上 一，春田三佐夫：昭和50年度食品衛生調査研究報告，1976

本研究は，厚生省の委託による昭和50年度食品衛生研究の一環として実施されたものである。われわれは従来から市販されている Pure Pack および Tetrapack 詰の5社の製品を対象に，その保存性を検討する目的で，10° および 4° に保存し，その間における理化学的ならびに細菌学的変化を観察した。その結果，4° 保存ではいず

れも7日間は理化学的にも細菌学的にも何ら変化を示さなかった。21日間保存では一部に標準平板菌数、低温細菌数ともに30をこえるものがみられた。10°保存では標準平板菌数、低温細菌数ともに7日間保存で30をこすものがあり、製品によっては3日目で低温細菌数が10<sup>5</sup>に達したものがあつた。大腸菌群はいずれも検出されなかつた。細菌数と酸度、アルコール反応、煮沸反応との間における相関性は低かつた。

#### Heterogeneity of Staphylococcal Enterotoxin A on Isoelectric Focusing and Disc Electrophoresis

S. Yamada, H. Igarashi and T. Terayama: *Microbiol. Immunol.*, 21(3), 119, 1977

精製エンテロトキシンAのheterogeneityを等電点分画およびディスク電気泳動により検討した。精製毒素は、等電点分画において等電点(pI) 6.5, 7.0, 約8.0を持つ血清学的に同一な3画分に分画された。精製毒素はpH 4.3のディスク電気泳動では単一なバンドを形成したが、pH 9.4と8.0では血清学的に同一な3本のバンドを形成した。pI 6.5と7.0画分をディスク電気泳動した結果、pH 9.4のディスク電気泳動で認めた陽極側に早く移動するバンドはpI 6.5画分、移動の遅いバンドはpI 7.0画分に相当することが確認された。このheterogeneityがサイズの差あるいは荷電の差によるものかを、超遠心分析およびゲル濃度の異なったpH 9.4のディスク電気泳動における2つのバンドの移動度測定により検討した。その結果、pH 6.5と9.5の2溶液での精製毒素の超遠心沈降像と沈降定数(S<sub>20w</sub>)は同一であり、2つのバンドのゲル濃度—移動度直線は平行となることから、heterogeneityは分子サイズの差によるものでなく、荷電の差により生ずるcharge isomerであることが確認された。

#### ブドウ球菌食中毒

寺山 武: 食衛誌, 18, 第2号, 142, 1977

わが国では年間約200件のブドウ球菌食中毒が発生しており、食品調理衛生環境の向上の著しい現在においても減少するどころか、ややその発生数が増加しつつある傾向すら見うけられる。こうした現況にかんがみ、ブドウ球菌食中毒予防について再考をうながすために、本食中毒発生の実況をわが国の場合と主として米国のそれとを対比して述べるとともに、本食中毒の疫学と食中毒原性ブドウ球菌の生態学的問題について述べ、本食中毒予防に関する関心を喚起した。

最近東京都内に発生したA型ボツリヌス中毒について  
坂井千三, 伊藤 武: 臨床と細菌, 4(1), 15, 1977

ボツリヌス中毒の発生は、ごく最近まで北海道や東北地方における“いずし”を原因食とするE型中毒に限られていた。しかし、輸入キャビアによる宮崎県でのB型中毒、また昨年東京都内に発生したA型中毒例は、今後の本中毒に関する貴重な教訓を与えるものと考えられる。そこで、本稿では、私達が明らかにしたA型中毒例についての疫学的調査の概要と細菌学的検索結果について紹介した。

東京都内で発生したボツリヌスA型菌による食中毒について 細菌学的検索成績を中心に

坂井千三, 伊藤 武, 斎藤香彦, 稲葉美佐子: 食品衛生研究, 27(1), 17, 1977

本邦における従来のボツリヌス中毒は、主として北海道や東北地方において“いずし”を原因食品とするE型中毒であった。ところが、1976年8月、はからずも東京都内で本邦では初めてA型菌による中毒が発生した。本事例では、患者の血液からボツリヌスA型毒素および患者便よりA型菌が検出された。本報では、ボツリヌス菌ならびに毒素の検索を中心に述べた。また、東京都内における市販食品や土壌についてボツリヌス菌の分布調査を行っているので、その成績も紹介した。

#### わが国におけるボツリヌス中毒

坂井千三, 伊藤 武: 公衆衛生情報, 3(7), 4, 1977

本邦におけるボツリヌス中毒は、発生地域、発生時期、ならびに原因食品に特徴が認められるので、それらについて詳細に解説した。また、ボツリヌス菌の自然界における地域的分布状況と本中毒の発生とは極めて密接な関係がうかがわれるので、本邦におけるボツリヌス菌の分布についても紹介した。

#### すし店舗および魚介類販売店舗の魚の腸炎ビブリオ汚染とその検出方法

坂井千三, 伊藤 武, 斎藤香彦, 駒井嘉明: 食中毒原因菌と食中毒の発生機序に関する研究班報告書, 14, 1977

腸炎ビブリオ食中毒予防のための行政指導基準を得る目的で、本菌食中毒発生頻度の高い生食用魚介類について、腸炎ビブリオ汚染菌量を定量的に検討した。また、腸炎ビブリオ生菌数の測定法として試験室以外の現場でも容易に検査できるAgar-Stamp法と従来行なわれていた定量法とを比較検討した成績について述べた。

### 大腸菌エンテロトキシン

大橋 誠, 善養寺 浩: 日細菌誌, 32(3), 455, 1977  
 大腸菌下痢症は開発途上国においてのみならず, 先進国においても対策の急がれる感染症である。特に乳幼児では激しい症状を起し致命率も比較的高く, 一般社会でも時に集団下痢の形で発生する。また旅行者下痢として人々を悩ませる。これらの中で, エンテロトキシンを産生する菌によるものがかなりの割合を占めることが明らかにされてきている。大腸菌の産生するエンテロトキシンには熱に対する抵抗性を異にする二種類のものが知られている。すなわち, 易熱性毒素 (LT) と耐熱性毒素 (ST) である。前者はタンパク性の外毒素で, コレラ菌の産生するエンテロトキシンと抗原的に共通部分をもち, また作用機序も同じである。すなわち, 腸管上皮細胞に作用して, 細胞膜内に存在するアデニールシクラゼを活性化し, 細胞内サイクリック AMP 濃度を高める。そしてその結果水の腸管腔内への分泌が促進されて下痢を起す。後者, ST の本体はまだ明らかにされていないが, この毒素が下痢起因物質となりうることは物動実験でたしかめられている。これらの毒素産生性はプラスミッドによって支配されていることも知られている。このような毒素産生菌は, 従来病原大腸菌と呼ばれてきた特定の血清型には必ずしも属さない。以上のような最近急速に研究が進展した大腸菌エンテロトキシンについての内外の研究成果を紹介しながら, 大腸菌下痢症の病因とそこでエンテロトキシンが演ずる役割について考察を加えた。

### Outbreaks of Acute Enteritis Due to Heat-Stable Enterotoxin-Producing Strains of *Escherichia coli*

Y. Kudoh, H. Zen-Yoji, S. Matsushita, S. Sakai and T. Maruyama: *Microbiology and Immunology*, 21(3), 175, 1977

近年下痢症原因菌として, 毒素原性大腸菌が注目されて来ている。大腸菌の産生するエンテロトキシンには, 易熱性毒素 (LT) と耐熱性毒素 (ST) の二種が知られている。過去 8 年間に検査した集団下痢症由来大腸菌について, その毒素産生性を検討した。本報は, 我が国における毒素原性大腸菌による下痢症についての最初の報告である。ST 単独産生菌は, これまで動物の下痢症において重要視されて来たが, このような菌がヒトにおいても下痢症を起しうるということがわかった。すなわち, ST 単独産生株による 7 事例 (O159: H20, 6 事例, O11: H27, 1 事例) を明らかにした。いずれも既知の言わ

ゆる病原大腸菌の血清型には属さない。O159: H20 の検出された患者 204 人の症状は, 水様性下痢 (97.2%) が主体で, 腹痛 (51.8%), 倦怠感 (21.3%), 嘔気 (15.6%), 発熱 (10.6%), 頭痛 (7.5%) などであった。

### Ampicillin (ABPC) の抗トレポネーマ作用について

大久保暢夫, 柏木義勝, 柴田 実, 浅野洋子, 宮沢貞雄: 基礎と臨床, 11(1), 321, 1977

性病の治療指針の上で, 二次選択薬剤として使用が認められている ABPC は, 良好な吸収排泄性や長期連用可能などから, 梅毒性疾患の一次選択薬剤として使用されているのが現況である。近時各種薬剤の再評価がおこなわれているが, われわれはこの薬剤の梅毒性疾患への適否を実験的に検討した。実験は当研究所細菌第二研究科で常時家兎睾丸に継代保存している *Treponema pallidum Nichols strain* を用い, in vitro および in vivo 両面から, ABPC の抗トレポネーマ作用を検討した。対照薬剤には Dicloxacillin (MDIPC) を供試した。in vitro における ABPC, MDIPC の病原性トレポネーマに対する Minimum Inhibitory Concentration は夫々 0.1 μg/ml, 0.25 μg/ml であった。in vivo では, 感染発症させた家兎に薬剤を経口投与し, 一群は肉眼的病像の改変から, 他の一群は病理組織学的検討から薬剤の有効性を判定した。ABPC 治療群では肉眼的病像の改変はすみやかであり, 病理組織学的にも対照の未治療群と比較して明らかに組織の修復機転が認められた。一方, 対照薬剤の MDIPC 治療群では, 肉眼的病像の改善に少々遅延性傾向が認められた。しかし病理組織学的標本の検討からは, ABPC との間に顕著な差は認められなかった。本実験により, ABPC の梅毒治療薬としての有効性が実証されたものと考えられた。

### 1974—1975年度猩紅熱患者由来 A 群溶血連鎖球菌の薬剤感受性と菌型について

柴田 実, 柏木義勝, 徳江シゲ子, 浅野洋子, 大久保暢夫: 日感染誌, 51(3), 93, 1977

1974—1975年に猩紅熱患者から分離された A 群菌について薬剤感受性, 菌型々別を測定し, 耐性と菌型の関連性について過去の成績を含めて検討した。その結果, PC 系および Cephalosporin 系薬剤に対しては, すべての供試菌が感受性を示し, 耐性に移行する傾向は全く認められなかった。CP と Macrolide 系 (Lincomycin 系) の感受性の推移はよく並行しており, 1970—1974年は耐性化の傾向を示していたが, 1975年に至って, 両薬剤共約 5% の耐性頻度の減少が認められた。1974—1975

年の主要流行菌型は12型であり、その分離率は約70%を占めたが、過去の成績と比較すると、本年度になって初めて減少傾向の兆しをみせた。さらに、12型は、CP, TC, *Macrolide* 系, *Lincomycin* 系の多剤耐性株が多く、その分離頻度は4カ年全体では72.4%であった。又、4型はTC単独耐性のものが多く、4カ年全体で61.4%の出現率を示した。

#### 食肉加工品の食品細菌学的指標としてのウェルシュ菌の検出

神崎政子, 小久保弥太郎, 神保勝彦, 松本昌雄, 村上 一: 東京獣医学畜産学雑誌, 24, 39, 1977

1976年3月から6月の間に都内の食肉加工場ならびに小売店より採取した食肉製品と、その主原料計478検体につき、ウェルシュ菌(以下ウ菌)の汚染状況を調査した。検体中のウ菌数の計測は、Handfordの変法寒天培地を用いたパウチ法により行い、分離菌株はLM寒天に接種してウ菌であることを確認した。その結果、原料肉では137検体中18検体(13.1%)が1g当り11-100のウ菌に汚染されていたが、製品では同レベルの汚染を示したものは341検体中4検体(1.2%)にすぎず、47検体(13.8%)が1-10と、原料肉に比較して、ほぼ1/10の汚染度であった。このことは、製造過程の加熱処理により、ウ菌数がほぼ1/10に減少することを示唆している。それ故、消費者の安全を確保するには、加熱前の材料中のウ菌汚染防止に最大限の注意を払うと共に、製品については、10/gを越えるものは排除することが望ましいと思われる。なお、変法DS培地に接種した分離菌92株中72株(78.3%)は、80°で10分間の加熱に耐え、そのうち8株(8.7%)は、10分間の煮沸後にも生残した。また、分離株中14株(15.2%)が9つのHobbs血清型に型別された。

#### 食肉加工品中の腸球菌分布とヒト・ブタ糞便由来株の菌型

小久保弥太郎, 井草京子, 庭山邦子, 村上 一, 春田三佐夫: 東京獣医学畜産学雑誌, 24, 44, 1977

1976年4月から8月の間に、都内の食肉加工場と小売店から採取した加工原料豚肉とその製品計350検体を対象に、堀江ら(1974)のAE寒天を用いて腸球菌の汚染状況を調査すると同時に、大腸菌群についても比較検討した。その結果、原料豚肉では31例中25例(80.6%)が $10^2/g$ 以上の腸球菌に汚染されており、それらからの分離株の92.2%は*S. faecalis*と*S. faecalis var. liquefaciens*から成っていた。これは、ヒトおよびブタ糞便

由来株中でこれら両菌種が占めた割合と比較して極度に優勢な構成率であり、豚肉を汚染していた腸球菌が、直接これらの糞便汚染に起因したものでないことを示唆した。なお、大腸菌群は、ほぼ半数が $10^4/g$ レベル以上と全般的に腸球菌よりも汚染が著しかった。一方、製品では、腸球菌と大腸菌の熱抵抗性試験の結果からみて、 $10^2/g$ 以上の腸球菌汚染を示した16検体(5.0%)はその製造環境または原料肉に、大腸菌群のみを検出した34検体(10.7%)は加熱操作後の製品の取り扱いにそれぞれ何らかの欠陥があったものと推測された。また、腸球菌と大腸菌群を同時に検出した8検体(2.5%)は全加工過程を通じてか、その一時点で何らかの欠陥を示したものであると推測された。

#### 食品中の黄色ブドウ球菌増殖指標としての耐熱性核酸分解酵素検出

村上 一, 松本昌雄, 神保勝彦, 庭山邦子, 五十嵐英夫, 山田澄夫: 東京獣医学畜産学雑誌, 24, 50, 1977

粉乳69検体, ナチュラルチーズ45検体, およびシュークリーム14検体の計128ロットの加工食品から、黄色ブドウ球菌(以下ブ菌)が産生する耐熱性核酸分解酵素(以下DNase)を検出することを、Lachicaらの方法を用いて試みた。調査に先立ち、分離由来を異にする計287株のブ菌保存株について、DNase産生能を調べたところ、総ての株がDNaseを産生した。エンテロトキシンBの産生株である*S. aureus* 243株のブレインハートインフュージョンおよび4%NZ-アミン24時間培養のろ液中のDNaseは、エンテロトキシンBのそれと同じ位、高温での著明な耐熱性を示した。今回調査した市販食品からは、研究室搬入時点でDNaseを検出できなかったが、引続き実施したシュークリームの保存試験で、14ロット中の1ロットが $10^7/g$ レベルのブ菌増殖を48時間目に記録し、10g当り0.08 $\mu g$ のDNase活性を示した。なお、この際検出可能量のエンテロトキシンは、未だ産生されていなかったところから、加工食品についてDNase検出を試みることは、ブ菌食中毒の危害を未然に防止するスクリーニングとして有効であるとの結論を得た。

#### 東京都の野犬およびヒトの抗-*Brucella canis* 抗体保有率

三木 博, 秋山 陽, 和田信省, 梅木富士郎: 東京獣医学畜産学雑誌, 23, 80, 1977

1974年5月から1975年9月にかけて、東京都内で捕獲された野犬297頭の血清について、山内らが報告した方法を用いて、抗-*B. canis* 抗体の出現率調査を実施した。

その結果、*B. canis* RM-666 抗原および QE-13 抗原に対し、1:320 倍以上の抗体価を示したものが、297 頭中 4 頭(1.35%)あった。そのうち、2 頭は 1 才令および 2 才令の雄犬であった。他の 2 頭は 4 才令および 8 才令と思われる雌犬で、これらはいずれも、同時に検査した *E. coli* α および *E. coli* 268, *Ye. enterocolitica* O-3, および同 O-9 抗原に対し類属反応を示さなかったところから *B. canis* 感染による特異抗体であると判定された例である。一方、犬管理事務所職員延べ 253 名の血清抗体価は、いずれも 1:100 以下を示し、同時に実施した 118 名の健康都民血清が示した抗体分布と、ほとんど差異が認められなかったところから、職員全員、*B. canis* 感染の既歴はないと判定された。

#### 小金井保健所管内におけるヒトのトキソプラズマ抗体保有状況とペットの飼育調査

佐々木 直, 村松 学, 荒木 督, 山口昌彦, 船津英夫, 和田信省, 中村富士子, 山口輝彦, 鈴木雅夫, 梅木富士郎: 東京都衛生局学会誌, 59, 40, 1977

昭和51年6月14-18日の5日間に、小金井保健所管内居住者333名から得た血清について、トキソプラズマ抗体の検出を試みた。抗体検出に用いた方法は、栄研化学製のトキソテストによる血球凝集反応で、血清希釈1:512以上で判定基準1以上の凝集を示したものを陽性として処理した。その結果、小金井保健所管内居住者333名中21名(6.3%)がトキソプラズマ陽性であった。なお、本検査のための採血の際に同時に行なったペット動物の飼育状況調査結果と照合してみると、ペットを飼育しているヒトの陽性率は180名中10名(5.6%)であったのに対し、何もペットとして飼育していないヒトの陽性率は126名中10名(7.9%)で、トキソプラズマ抗体保有状況とペットの飼育との間に何ら直接の関連性は認められなかった。

#### *Bacillus cereus* の分離・同定法

村上 一: モダンメディア, 23, 131, 1977

自然界に広く分布している *B. cereus* は、官能的に変敗と認知し得ない食品中にも高頻度に分布しており、その芽胞が示す強い化学的・物理的耐性のために、食品の加工工程で一旦滅菌されたと思っても、芽胞の形で食品中に残存していることがある。そして、もしその食品の加工後の取扱いが悪く、芽胞の発芽に適した条件と、増殖に適した環境に放置された時には、しばしば食中毒を起すとされている。そこで本稿では、欧米における本菌食中毒の歴史的背景、臨床症状、および菌の分類

学上の位置等の概要を解説すると共に、現在、食中毒検査や食品の品質検査を担当している小さな研究室でも、日常検査の一環として実施し得る、簡易な本菌の分離・同定法を紹介した。菌分離には Kim らが提唱した KG 培地を用いて行なう方法と、Mosserl らが提唱した MYP 培地を用いて行なう方法の 2 法を紹介した。なお、菌の同定に関しては、東が提唱している画線培養性状と 5 種類の生化学的性状のパターンを組合せた方法を紹介した。

#### 雑用水道(中水道)のウイルスに関する諸問題

根津尚光: 環境技術, 5(7), 616, 1976

近年、雑用水道(中水道)として水の再利用が考えられている。この際、公衆衛生上解決しなければならない諸問題が存在する。公衆衛生学的安全確保のうち病原微生物に対する対策が重要であるが、そのうち病原ウイルスに対する対策は細菌などとは異ったむずかしさがあるため最もおくられている。特に日本における研究は少ない。雑用水道(中水道)に存在が推測される病原ウイルスの種類、それらのウイルスの除去法、消毒不活法、大量水中に存在するウイルスの検出法などについて、著者らの実験と、外国における文献を検討して今後の問題点について述べた。

#### 水中ウイルスの検出法

根津尚光: 用水と廃水, 18, (10), 3, 1976

下水高度処理水、水泳用プール水、浴場水、海水、池水、河川水などで、大量水中に僅かなウイルスが存在するとき、これらのウイルスを検出することは、簡単にみえて実際にやってみると大変困難なものである。またある方法によるウイルス消毒法を厳密に評価するときにも僅かな生残活性ウイルスを検出できる方法が必要となる。これらのためには大量無制限の水から僅かなウイルスを培養により検出可能な濃度に濃縮したサンプルを得られる方法技術が要求される。水中ウイルスの濃縮法に関する研究は、化学的方法、メンブレン吸着誘出法、限外ろ過法などがあり、いずれが経済的、効率的、実用的であるかは検査対象の水質、ウイルス量などを考慮して選択すべきである。現在までの研究の趨勢を述べた。

#### 水中ウイルスの除去・不活化・消毒

根津尚光: 用水と廃水, 18, (10), 13, 1976

慢性的水不足の到来が予測され、下水の高度処理水を再生利用することが考えられている。Sproul O. J. の成績によれば、弱毒ポリオウイルスの経口最小感染量は、1 PFU でも可能であることを示している。また水

由来の subclinical infection は意外に多く、これらが人体に対して全く無害と考えることはできない。従って直接飲用に供しなくても、人体にふれるおそれのある水は極力ウイルス free の水とすべきである。このためには、水の処理過程で、できるだけウイルスを除去し、更に配水にあたっては消毒を行ってウイルスを不活化すべきである。これらの方法および技術に関する研究は世界的にみても現在進行中のものであり、実用的見地から定法はない。諸外国の文献と著者らの実験を参照してその趨勢を述べた。

#### 地方衛生研究所の情報処理に関する研究

根津尚光：地研ニュース(地方衛生研究所全国協議会)，46, 6, 1977

昭和51年9月10日厚生省発第173号をもって、地方衛生研究所設置要綱および参考資料が改訂された。このなかになんとして地研の主要任務として、公衆衛生に関する情報収集、解析、提供が強調されている。この事務次官通達に先んじて、地研における情報処理を如何にすべきかが、厚生科学研究班によって研究されてきた。著者はこの研究班のメンバーとして研究に従事し、報告はすべて一任されたので個人的に全く想を新たに総論的研究を行った(昭和50年度)。このなかで、わが国の情報処理システムの方針、情報処理についての条件、公衆衛生情報システムのあり方、地研あるいは地域情報システムのあり方、アプローチの方法の概論などについて述べた。さらに今後各論へ進展する予定である。

#### A香港型インフルエンザウイルスの疫学

岩崎謙二：パラメディカル情報，5(10)，27，1976

1968年以降ほとんど毎年発生しているA香港型インフルエンザ感染流行を、流行ウイルス株の抗原変遷経過および流行ウイルスに対する一般住民の抗体保有状況の変遷という視点から解析すると共に、流行母体となる一般住民における抗体産生とそれに対応して変異しつづける流行ウイルスとの関連を考察した。流行ウイルス株交差HI試験成績の解析に抗原性状の多次元の評価法および Sokal, Sneath の連続群形成法を導入して流行ウイルス株の数量的分類を試み、1968—72年の流行株、72—75年春までの流行株、75年秋以降の流行株の3群に大別すること、また供試ウイルス各株間の抗原差異は相関係数値により数量的に表現することができた。前記の3群別にしたがって選り出した代表ウイルス3株を抗原として、1968年以降のA香港型ウイルス感染患者血清についてHI抗体価を測定し、平均HI抗体価を指標に年次経

過を解析した。感染回復期後から次期流行までの抗体価下降度合は、該当の流行ウイルスと対応した群抗原においてももっとも著しかったが、その度合は同群ウイルス流行の繰返しが進むにしたがって小となり、同群抗原に対する抗体価が高い水準に保たれるようになったとき、次群ウイルスの感染流行がみられた。

#### 風疹ウイルスに対する血中抗体と風疹 HI 試験術式

岩崎謙二：衛生検査，25(12)，1336，1976

風疹ウイルス感染時の血中抗体産生および感染者における血清診断の概要を述べ、血清診断法また血清疫学的検査法として現在もっとも一般化されてきたHI試験法について解説した。

#### 朮類生薬成分の研究(第1報) 蒼朮の新セスキテルペノイド

西川洋一，渡辺四男也，瀬戸隆子，安田一郎：薬誌，96，1089，1976

朮類生薬の理化学的品質評価を目的として、市場各種朮類の成分を比較検討した結果、蒼朮類の数種に atractylon と同様の呈色反応を示す新セスキテルペノイド2種(I, II)の存在を認めた。Iはアセチル基、末端メチレンおよびフラン環を有し、IIはその脱アセチル体に相当する物質である。実験材料として漢蒼朮 *Atractylodes lancea*、天津蒼朮、混節蒼朮 *A. lancea* var. *chinensis* × *A. japonica*? を用い、ヘキササン抽出エキスをシリカゲルカラムクロマトで処理しIおよびIIを各実験材料から個別に単離した。Iはmp 95—97°の無色柱状晶で  $C_{17}H_{22}O_3$  の分子式を有し、IIは極めて不安定な物質で空気中では直ちに白色糊状物質に変化する。種々の機器データを検討し、分解反応を行なった結果、両者はいずれも atractylon 誘導体と判明した。これらの絶対構造について PMR および CMR で検討した結果、Iは  $3\beta$ -acetoxylatractylon、IIは  $3\beta$ -hydroxylatractylon と決定した。両者は天然から初めて単離された新化合物で、朮類生薬の各基原における分布を検討すれば、基原分類上重要な指標となるものである。

#### 朮類生薬成分の研究(第2報) 西北蒼朮の新ポリアセチレン化合物

西川洋一，安田一郎，渡辺四男也，瀬戸隆子：薬誌，96，1322，1976

朮類生薬の成分による基原分類を目的として西北蒼朮 *Atractylodes lancea* var. *chinensis* のポリアセチレン系化合物について検索を行ない、ヘキササン抽出エキスから

らシリカゲルカラムクロマトにより *atractylodin* のほかに文献未記載の I および II を単離した。I は mp 83°, 分子式  $C_{13}H_{10}O_2$ , II は mp 65°, 分子式  $C_{15}H_{12}O_3$ , 両者共に淡黄色の針状晶で紫外線により速やかにかっ色に変化する。種々の機器データから両者はフラン環を有する triene-diyne-ene 型のポリアセチレン化合物と推定されたので PMR および CMR スペクトルに現れる H および C シグナルの帰属を行ない、さらに hexadecahydroatractylodin に誘導することによって I を 1-(2-furyl)-1,7-nonadiene-3,5-diyne-9-ol と決定した。同様にして II の構造解析を行なった結果、II は I のアセチル体であると決定した。I および II は天然から初めて単離された新化合物で、I を *atractylodinol*, II を *acetylactylodinol* と命名した。両者は *atractylodin* と同様の呈色反応を示し、蒼朮類に固有の成分で、白朮類との基原分類に指標となる成分である。

#### 朮類生薬成分の研究(第3報) 韓国白朮の新セスキテルペノイド

西川洋一, 瀬戸隆子, 渡辺四男也, 安田一郎: 薬誌, 97, 515, 1977

朮類生薬の成分による基原分類を目的として韓国白朮 *Atractylodes japonica* の未知成分について検討した。生薬のヘキササン抽出エキスをシリカゲルカラムクロマトにかけ、ヘキササン溶出画分より無色油状物質を単離した。本物質は bp 85-87°(1.0mmHg),  $C_{15}H_{22}O$  の分子式を有し、種々の機器データから *selinane* の誘導体であるセスキテルペノイドと推定された。次いで PMR および CMR を詳細に検討した結果、平面構造を *selina-4(14), 7(11)-dien-8-one* と推定した。そこで遠藤ら(薬誌, 94, 1574, 1974) がフタバアオイ *Asarum caulescens* から単離した標品と機器データを比較した結果、よく一致するが旋光性が異なり、また CD スペクトルが全く対称的で両者は *antipode* の関係にあることが明らかとなったので、絶対構造を明らかにするために  $\beta$ -*eudesmol* より合成した 5 $\alpha$ H, 10 $\beta$ -*selinane* に誘導し、本物質を 5 $\alpha$ H, 10 $\beta$ -*selina-4(14), 7(11)-dien-8-one* と決定した。本物質は天然から初めて単離された新セスキテルペノイドで、*A. japonica* の根茎には *atractylon* に次いで含量が高く他種との識別上重要な役割を果す成分である。

生薬の品質評価に関する研究(第2報) 朮類生薬成分の TLC, GC および GC-MS による確認とその理化学的品質評価

西川洋一, 安田一郎, 渡辺四男也, 瀬戸隆子: 生薬, 30, 132, 1976

朮類生薬は薬効の差異から基原植物によって蒼朮と白朮に分けて日本薬局方に記載され、漢方製剤に繁用される要薬である。本邦で消費される朮類はすべて中国、北朝鮮または韓国からの輸入品で、基原、産地、調製法、集荷地などによって種々の商品名があるので市場では名称の混乱があり、分別使用の必要があるにもかかわらず、日本薬局方上の取扱いが正しく行なわれていない。そこで含有成分を指標とする基原分類を内容とする理化学的品質評価法の確立を目的として本研究を実施した。指標成分としては、すでに報告されている *atractylon*, *atractylodin*, *hinesol*,  $\beta$ -*eudesmol*, *elemol*, 著者らが単離し構造を明らかにした 3 $\beta$ -*hydroxyatractylon*, 3 $\beta$ -*acetoxyatractylon*, *atractylodinol*, *acetylactylodinol*, 5 $\alpha$ H, 10 $\beta$ -*selina-4(14), 7(11)-dien-8-one*, および構造未定であるが TLC の呈色から *Blue-Spot-1*, *Blue-Spot-2*, *Brown-Spot* と仮称する成分の計13成分を選定した。各基原における指標成分の存否および量的関係は13指標成分を単離して標準物質とし、各基原を代表する朮のヘキササン抽出液を試料液として TLC, GC および GC-MS によって検討した。その結果、蒼朮、白朮の識別についてはポリアセチレン系化合物の *atractylodin*, *atractylodinol*, *acetylactylodinol* が指標成分となり、各基原間の識別については指標成分の存否とその量的関係によって可能であることが判明した。この成分による基原分類様式は粉末生薬および漢方製剤にも応用可能で朮類生薬の品質評価上意義深いものと考えられる。

#### はっ酵乳の保存性に対するソルビン酸(サッカリン使用)の有効性について

松本昌雄, 神保勝彦, 竹葉和江, 村上文子, 村上 一: 昭和51年度厚生省食品添加物使用基準再点検試験報告, 1977

現在、乳酸菌飲料原液に供する「はっ酵乳」の保存料としてソルビン酸(SoA) 0.3g/kg が許可されている。そこで、SoA の効果と必要性を再検討する目的で次の実験を行なった。すなわち乳酸菌飲料原液の流通品と自家製品を対象に SoA 添加試料と無添加試料を調製して、それぞれの試料に人為的に酵母を接種したものと接種しないものを用意して、これの25°と10°保存における保存性を観察した。その結果、SoA 添加使用の別なく、いずれの試料も酵母の発育増殖は認められなかった。自家製品では原料由来のカビが、SoA 無添加25°保存試料で

よく発育増殖したが、SoA 添加25°保存試料での発育増殖は阻止された。10°保存試料では、SoA 添加使用の如何を問わず2週間保存してもカビの発育増殖は認められなかった。従来、盛んに製造されていた乳酸菌飲料原液は、現在ほとんど流通しておらず、大部分のメーカーは直接製法で当初から市販乳酸菌飲料を製造しており、かつ、施設・設備の改善、製造工程の衛生管理や製品の低温管理の徹底によって SoA を添加使用しなくとも、十分に保存性の高い乳酸菌飲料の製造が可能となっている現状から考えて、はっ酵（乳酸菌飲料原液）に SoA の添加使用は不必要であると考ええる。

#### UHT 処理乳中の残留抗生物質の実態と IDF の抗生物質検出法の再検討

松本昌雄, 神保勝彦, 村上 一: 昭和51年度食品衛生調査研究報告, 1977

本研究は厚生省の委託により実施されたものである。われわれは、都内市販飲用乳について残留抗生物質の実態調査を行うかたわら、動物治療薬として多用されている抗菌性物質11種類を対象に、IDF 標準法の検定菌と、その他6種類の抗生物質検定用標準菌株などの感受性について比較検討を行なった。その結果、1971年以降都内で市販されている飲用乳は、残留抗生物質検査陰性であった。一方、IDF 標準法の検定菌 C-953 の SM, TC, EM および FM に対する感受性は、それぞれ 5mcg/ml, 0.5mcg/ml, 0.5mcg/ml および 5mcg/ml 以上で、その他の供試検定菌6種の感受性と同等かあるいはそれ以上であった。しかし、CMに対する感受性は、*Sarcina lutea* のその1/10で、KMに対する感受性は *Bacillus subtilis* のその1/2であった。なお、C-953 株並びに TTC テストの検定菌のサルファ剤に対する感受性は、ともに1,000mcg/ml 以上であった。これに対して *Sarcina lutea* の感受性は 5mcg/ml であった。

#### 畜産物中の抗生物質等の検査について

村上 一: 食品衛生研究, 27, 415, 1977

抗生物質等が畜産物中に移行残留した場合に問題になる点として、蓄積による毒性、アレルギーおよび腸内細菌の耐性化の3点について、その可能性等について概説すると共に、その対策について述べた。また、安全な畜産物を生産・供給する立場にある指導者は、抗生物質等の動物体内での代謝、生物学的半減期、排泄に必要な時間等を熟知した上で適切な薬剤を適時に使用するよう啓発すべきであるという点についても言及した。畜産物中

の不明抗菌性物質の検出・同定に、従来の WHO/FAO の合同食品添加物専門委員会が勧告している方法を応用できないところから、われわれが開発したスクリーニング法を、と畜場で実施するのに便利のように一部改変して紹介した。すなわち、単独の菌で種々の抗菌性物質に対し、幅広い感受性を示し、なお感度が高い *Sarcina lutea* ATCC 9341 株を用い、動物の腎臓に挿んだディスクを用いて検査する方法である。ディスクを添付した *S. lutea* 平板は30°Cで24時間培養し、ディスクの周辺に抗菌ゾーンが出現するか否かを調べる。もし、抗菌性物質の残留が認められた場合には、シリカゲル・アルミニウム薄層板上にスポットして、5種類の溶媒で展開し、バイオオートグラフ法によってその抗菌性物質の種類を推定する。

#### PCT, PCB and Pesticide Residues in Human Fat and Blood

S. Fukano and M. Doguchi: *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 17, 613, 1977

As described in the previous papers in this series, substantial amounts of PCTs were detected in human fat and blood. Especially, the levels of PCTs were almost equivalent to those of PCBs in human blood. In the end of 1960's or beginning of 1970's, the levels of total DDT in human fat were the same order of magnitude in Japan and other countries, but the levels of BHC in Japanese were 10 to 20 times higher than the levels found among the populations of other countries compared. Our interest in the pollution by these substances led us to analyze the residue levels of PCTs, PCBs, DDT and BHC in human fat of 30 samples collected in 1974 in an attempt to compare with the levels found in 1971 and to obtain additional information with PCT pollution. The statistical analysis showed no significant difference at 5% level between the levels of PCTs in 1971~1972 and in 1974. No significant difference was recognizable between the levels of DDT in 1971 and 1974, but lower level of BHC was demonstrated in 1974. We also mentioned the residues of PCTs and PCBs in the blood collected again from 10 subjects in 1975 out of 27 subjects who had been already examined in 1973 to obtain same measure of changes in these residue status with time.

**Protective Effect of Selenite against Methylmercury Toxicity : Observations concerning Time, Dose and Route Factors in the Development of Selenium Attenuation**

G. Ohi, H. Seki, H. Maeda and H. Yagyu : *Ind. Health*, 13, 93, 1975

Protective effect of selenite against methylmercury toxicity was observed in experimentally induced acute and subacute methylmercury poisoning of rats. The protection becomes more evident as the acuteness of methylmercury poisoning decreases in terms of the total methylmercury dosage administered and the number of survival days after the last dosing, and there appears to be present an optimal dose relationship between the two substances. Protective effect of selenium is likewise clear in subacute methylmercury poisoning in regard to growth rate, incidence of neurological signs and mortality. We did not observe any differences in the protection when administration route was changed.

**Efficacy of Selenium in Tuna and Selenite in Modifying Methylmercury Intoxication**

G. Ohi, S. Nishigaki, H. Seki, Y. Tamura, T. Maki, H. Konno, S. Ochiai, H. Yamada, Y. Shimamura, I. Mizoguchi and H. Yagyu : *Environmental Research*, 12, 49, 1976

Efficacy of selenium naturally occurring in tuna was compared to that of selenium in selenite with respect to protection against the toxicity of methylmercury. Male weaning rats were fed diets for 70 days which contained 20 ppm methylmercury chloride (MMC) and graded concentrations of selenium originating from either tuna or sodium selenite. Regardless of its origin, selenium showed protective effect, generally corresponding to its added levels (0.5, 1.0, 1.5 ppm) in terms of survival rate, morbidity and growth rate. Efficacy of selenium in tuna, as compared to that of selenium in selenite, was roughly equivalent in growth rate but approximately half as effective in preventing neurological manifestations. Possible mechanisms were discussed as regards protection offered by

selenium and the discrepancy of efficacy between tuna selenium and selenite selenium in preventing neurological signs. This study seems to warrant further investigations upon the protective activity of naturally occurring selenium against methylmercury toxicity, particularly in those fish known to contain high concentrations of both methylmercury and selenium.

**On the Relationship of Subjective Symptoms to Photochemical Oxidant**

I. Mizoguchi, K. Makino, S. Kudo and R. Mikami : *Proceedings of International Conference on Photochemical Oxidant Pollution and Its Control*, 1, 477, US-EPA, 1976

The daily incidences of acute subjective symptoms in 515 students of a junior high school were recorded for a 61-day period and were analysed in relation to environmental factors, especially prevalence of photochemical oxidants. Simple and multiple correlation analyses and multi-variate analysis were used to investigate the relationship between environmental factors and the symptoms. In addition, incidences of symptoms connected with predispositions, such as allergy, asthma, and orthostatic dysregulation, were compared under different oxidant levels. Eye irritation, throat irritation, shortness of breath, and headache correlated significantly ( $p < 0.001$ ) to ozone. Throat irritation, cough, and phlegm correlated significantly to sulfur dioxide, too. Humidity showed significant negative correlation to cough, lethargy, phlegm, throat irritation, and shortness of breath. Studies on the multiple correlation coefficients showed highly significant correlations between different pairs of environmental factors including oxidants and several symptoms. The result of a principal component analysis suggests that there are associations between oxidant, sulfur dioxide, suspended particulate matter and eye irritation, hoarseness, sore throat, headache, and so on. The incidences of the symptoms were compared with reference to the predispositions of the students. A significant increase in the incidence of cough was observed in asthma group; the orthostatic dysregulation

group showed appreciable increases in the incidence of headache and lethargy in the days in which oxidant levels exceeded 0.15 ppm.

#### **Effect of Photochemical Smog on the Human Tear Contents and Cornea**

N. Okawada, Y. Iwamura, M. Fukuda, M. Ohsawa and I. Mizoguchi: *Proceedings of the 4th International Clean Air Congress*, 23, JUAPPA, 1977

The cause of the eye irritation which is complained of by many people when affected by photochemical smog has not yet been clarified. The article gives the results of a field survey and experiment conducted to establish indices for grasping the eye irritation in an objective manner not resorting to the subjective symptom alone, and thereby clarify the relationship between the concentration of photochemical smog and its effects on eyes. Effects of photochemical smog on the human eye were investigated during the summer seasons of 1975 and 1976 in Tokyo. At the time of which photochemical oxidant was over 0.17 ppm, both human tear lysozyme and human tear pH decreased together as compared with those on control days. And corneal alterations were frequently observed on the day when the oxidant level was proved highest (0.175ppm) during the 1976 investigation period. Filter papers that were soaked in white-hen egg lysozyme (H E L) were examined in the chamber in various air pollutants conditions. H E L activity remarkably decreased with ozone, but other air pollutants occurred no decrease at all.

#### **A Study on the Threshold of Acute Effects caused by Photochemical Oxidant**

K. Makino and I. Mizoguchi: *Proceedings of the 4th International Clean Air Congress*, 27, JUAPPA, 1977

It is known that the increase of the concentration of photochemical oxidants causes acute subjective symptoms such as the eye irritation, sore throat, headache and shortness of breath. There are a number of reports indicating that there exist significant correlations between these symptoms

and the concentration of air pollutants. However, the threshold of acute effects caused by photochemical oxidants has not been reported except in the author's paper in which it has been discussed using a combined air pollution index PI of both oxidants and temperature. The authors have checked the diurnal changes in the symptoms recorded in the health diaries of junior and high school students in Capital Region and have studied the relationship of such diurnal changes with the fluctuation of the concentration of air pollutants and of the climatic conditions by means of correlation analysis and multivariate analysis. The present paper gives the results of a study on the threshold of the acute subjective symptoms as reviewed from their relationship with each air pollutant, climatic condition and PI. A coefficient of correlation between the ratio of each acute subjective symptom and each air pollutant or climatic condition is obtained by dividing the latter into equal halves and the dividing point is moved to the point where the two correlation coefficients (corrected by significance level) become the largest. The value of this point is adopted as the threshold and it is discussed statistically.

#### **Biologic Effects of Lead On School Children of Urban and Suburban Tokyo**

K. Tsuchiya, T. Okubo, M. Nagasaki, T. Nakazima, H. Kamijo and I. Mizoguchi: *Int. Arch. Occup. Environ. Hlth*, 38, 247, 1977

There are few reports on lead exposure of children in or near large cities which compare the blood lead values of those who live towards the center of cities and those living in the suburbs. Since lead poisoning among children in the United States is a serious problem, the authors wished to study the effects of lead in the environment on the young population in and near Tokyo. The results indicated much lower blood lead levels in school children than in adults in Tokyo. There is a statistically significant difference in PbB levels between urban and suburban children although the actual difference was only 1-2  $\mu\text{g}/100\text{g}$ . Thus children living in urban Tokyo seem to have

slightly higher body burdens of lead than suburban children. This difference in lead body burden is most probably not attributable to lead in ambient air but to other factors such as food. However, the possibility of the contribution of lead in ambient air cannot be totally rejected. Further investigation is required to identify the factor or factors which are responsible for this phenomenon.

#### 塩化メチル水銀の免疫能に及ぼす影響

藤田紘一郎, 月館説子, 菊池正一, 二島太一郎, 野牛弘: 日衛誌, 31(2), 353, 1976

塩化メチル水銀の免疫能に及ぼす影響を dd 系雄性マウスを使用して観察した。その結果, メチル水銀投与と抗原刺激の時期的関係により, メチル水銀が抗体産生に促進的に働いたり, 逆に抑制的に作用したりする傾向があることがわかった。すなわち, 抗原刺激前にメチル水銀が投与されると免疫反応の初期に抑制がみられ, 抗原刺激後にメチル水銀が投与されると免疫反応の中期から後期にかけて促進がみられた。またメチル水銀は血清中の $\gamma$ -グロブリンに直接作用する可能性は少なく, むしろ脾細胞中での免疫応答過程に作用するものと思われた。なお CAMP を介しての作用の可能性について考察した。

#### 尿中 $\delta$ -アミノレブリン酸, クレアチニンおよび尿比重のクロスチェック

千葉百子, 二島太一郎, 田代明子, 菊池正一: 産業医学, 18(1), 38, 1976

鉛特殊健康診断は $\delta$ -アミノレブリン酸(ALA)の定量が義務づけられている。この際 ALA の濃度補正に用いられるクレアチニン濃度(CR)と尿比重(SG)についてクロスチェックを行ない検討した。その結果, CR と SG はよく一致したが, ALA は尿 blank 値の引き方で差を生じた。しかし, mass screening において ALA 測定と並行して個々の尿 blank 値を測定することはかなりの負担となる。今後充分例数を調査の上, 標準尿 blank 値を設定する必要がある。

#### メチル水銀とセレンの相互作用

大井 玄: 医学のあゆみ, 96(12), 832, 1976

セレンが水銀の毒性を減毒する事実が発見されて以来, そのメカニズムの仮説がいくつか述べられている。そこで, 疫学的知見の意味するもの等を含め, メチル水

銀とセレンの相互作用について, 総括的に述べたものである。

#### Gas Phase Coulometry による大気中ハロゲン化炭化水素の測定法の検討

瀬戸 博, 秋山和幸, 溝口 勲: 大気汚染研究, 11(4), 214, 1977

Gas phase coulometry による, 大気中ハロゲン化炭化水素の分析を行ない, 分析条件, 測定可能な化合物の種類等について検討した。精度を向上させるには, キャリアガス流量を低く, ECD 温度は高く, パルス周波数は低く設定することが必要である。検出されたハロゲン化炭化水素のうち, クーロメトリーが適用できる化合物は  $\text{CCl}_3\text{F}$ ,  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}_3$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_4$  であった。

#### 東京都における大気中有機フッ素化合物の測定(1)

瀬戸 博, 秋山和幸, 溝口 勲: 大気汚染研究, 11(4), 219, 1977

最近, クロロフロロカーボン類 ( $\text{CCl}_3\text{F}$ ,  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  等) が冷媒やエアロゾル用噴射剤として大量に使用されているが, 成層圏のオゾン層を破壊することがわかり人間の健康や生態系への影響が心配されている。汚染の実態を把握するため, 東京都における  $\text{CCl}_3\text{F}$  の濃度および地域分布を調べた。都心部では 0.22—1.42ppb (平均 0.53ppb), 郊外では 0.17—0.26 ppb (平均 0.22ppb) であった。都心部で汚染程度が比較的高いのは  $\text{CCl}_3\text{F}$  を冷媒として多量に用いるビルなどが多いためであろうと推察された。

#### 大宮市M中学におけるオキシダント高濃下の自覚症状発現の特徴, とくに屋外運動との関連について

工藤翔二, 三上理一郎, 溝口 勲, 小久保雅子, 今関鎮徳: 大気汚染研究, 11(6), 12, 1977

1975年夏, 埼玉県下の学童生徒の健康への光化学大気汚染の影響を調査した。オキシダントの最高濃度は0.33 ppm であった。大宮市M中学では83%の生徒が種々の自覚症状を訴えた。7月15日, オキシダントの上昇につれて訴症者は激増したが, 屋外でバレーボールを行っていた三年生はオキシダント 0.1—0.2ppm で粘膜刺激症状や呼吸器症状を数多く訴えたのに対して, 屋内で授業を受けていた一・二年生では 0.2—0.33 ppm に達する頃に訴症数のピークを示した。このことは運動負荷が加わることが, 急性自覚症状をオキシダントがより低い濃度でもひき起すことをあざやかに示したものである。

### 埼玉県における光化学スモッグ被害届け出と環境条件との関連

溝口 勲, 三上理一郎, 工藤翔二, 小久保雅子, 今関鎮徳: 大気汚染研究, 11(6), 41, 1977

1975年夏関東でもっとも高いオキシダント濃度が記録され, 被害届け出が全国の30%をこえた埼玉県での学童生徒の被害届け出と大気環境条件との関連を検討した。被害届け出の頻度を各大気汚染物質の各濃度ランク別にみると, オキシダントでは0.09ppm から被害届け出が上昇しはじめ, 0.12—0.19ppm, 0.20ppm 以上とそれぞれ10倍ずつふえた。亜硫酸ガス, 二酸化窒素, 浮遊粉塵もそれぞれ0.07ppm, 0.10ppm, 0.2mg/m<sup>3</sup> をこえると被害届け出はふえた。視程が3km以下になっても同じ結果であった。しかし不快指数, 温度, 湿度は必ずしも被害届け出とクリアな関係は認められなかった。

### 病院調剤室における薬塵調査

佐藤泰仁, 青木 実, 溝口 勲: 東京都衛生局学会誌, 58, 68, 1976

病院薬局における調剤業務は, 年々複雑化してきており, 新薬の増加と各種機械化により調剤室内の薬塵による汚染が増大し, 1つの職業病のように考えられてきた。そこで我々は, その実態を把握し強力な対策を確立するため, 5つの病院について調査した。調査項目は環境調査として, 温湿度, 換気, 粉塵の重量濃度, 個人暴露濃度等であり, 健康についての影響をみるため, アンケート調査を並行して行なった。調査の結果, A点(発塵源となりうる自動分包機周辺)とB点(A点との対照でA点より5—10m離れた点)では浮遊粉塵量, 落下塵量ともその濃度に差がみられるので強力な局所集塵設備が必要なこと, 特に個人暴露濃度については集塵設備の良否による差がみられたこと, 分包機については小西式とパイルパッカー式があり, 落下塵量及び使用操作より, 小西式の方が散剤の発散が大きいこと, スペース的に狭い病院では何らかの症状を訴えている率が高く, その症状としてはアレルギー性鼻炎, 咽頭異和感であることなどが知見として得られた。

学 会 发 表

THEMES PRESENTED AT CONFERENCES AND SOCIETY MEETINGS

( 1976.7—1977.6 )

潮田弘, 寺山武, 竹内正太郎, 善養寺浩: ブドウ球菌性 **TEN** に関する研究 マウスに投与した **exfoliative toxin** の追跡と組織親和性の検討

昭和51年度ブドウ球菌研究会 (1976.9)

伊藤武, 斎藤香彦, 稲葉美佐子, 坂井千三: 愛がん動物のサルモネラ保菌に関する研究 東京都内で捕獲されたイヌおよびネコについて

第82回日本獣医学会 (1976.10)

柳川義勢, 丸山務, 坂井千三, 善養寺浩: *Yersinia enterocolitica* のイヌへの実験的感染

第82回日本獣医学会 (1976.10, 盛岡)

神保勝彦, 井草京子, 小久保弥太郎, 松本昌雄, 村上一, 春田三佐夫: 生肉中のサルモネラの簡易定量法

第32回日本食品衛生学会 (1976.10, 岡山)

H. Hitokoto, S. Morozumi, T. Wauke, S. Sakai and H. Kurata: **Mycotoxin Production of Fungi on Commercial Foods**

Conference on Mycotoxin in Human and Animal Health (1976. 10, Maryland)

H. Zen-Yoji, Y. Kudoh, S. Matsushita, S. Sakai and T. Maruyama: **Epidemiology aspects of outbreaks of enteritis due to heat-stable enterotoxin-producing *Escherichia Coli*, occurring in Tokyo**

The 12th Joint Conference US-Japan Cooperative Medical Science Program Cholera Panel (1976. 10, Sapporo)

小久保弥太郎, 井草京子, 庭山邦子, 村上一, 春田三佐夫: 食肉加工食品中の腸球菌分布と人・豚大便由来株の菌型

東京獣医畜産学会 (1976.11, 東京)

早野剛, 田中豊隆, 木村久一郎, 金子誠二, 西尾秀規, 平山淡二, 金山保夫, 高島利幸, 三木博, 柳川義勢, 甲斐明美, 丸山務, 坂井千三: 都内で捕獲されたイヌおよびネコにおける *Yersinia* の保菌実態について

第58回東京都衛生局学会 (1976.11)

寺山武, 山田澄夫, 稲葉美佐子, 五十嵐英夫: 逆受身

赤血球凝集反応 (**reversed passive hemagglutination**) によるブドウ球菌エンテロトキンの簡易・迅速検出法

第36回日本細菌学会関東支部総会 (1976.11)

小野川尊, 天野祐次, 鈴木健, 市瀬正之, 寺山武, 善養寺浩: サルモネラ分離菌型の変遷 特に近年著しく分離頻度の高い *Salmonella panama* について

第25回日本感染症学会東日本地方会総会 (1976.11)

潮田弘, 寺山武, 善養寺浩, 西脇宗一, 肥田野信: **SSSS (Ritter 型 TEN)** に関する研究 マウス皮下投与 **exfoliative toxin** および生菌接種による産生毒素の螢光抗体法による追跡

日本皮膚科学会第544回研究東京地方会 (1976.12)

伊藤武, 斎藤香彦, 稲葉美佐子, 坂井千三: 東京都内に発生したA型ボツリヌス中毒について

第7回嫌気性菌感染症研究会 (1977.2)

伊藤武, 斎藤香彦, 稲葉美佐子, 坂井千三: 東京都内中川流域の泥土および淡水魚におけるボツリヌスC型菌の分布

第83回日本獣医学会 (1977.4)

坂井千三: 腸炎ピブリオ食中毒の予防対策と問題点  
第50回日本細菌学会総会 (1977.4, 大阪)

大橋誠: 腸炎ピブリオ溶血毒の哺乳マウス小腸粘膜に及ぼす作用 その電子顕微鏡的観察

第50回日本細菌学会総会 (1977.4, 大阪)

工藤泰雄, 松下秀, 丸山務, 坂井千三, 善養寺浩: 大腸菌エンテロトキシンに関する研究 (3) 下痢症由来株の毒素産生性

第50回日本細菌学会総会 (1977.4, 大阪)

寺山武: ブドウ球菌性疾患, 特に表皮剝脱性皮膚炎および食中毒と原因菌コアグララーゼ型との関係

第50回日本細菌学会総会 (1977.4)

伊藤武, 斎藤香彦, 稲葉美佐子, 坂井千三: **Hobbs** の血清型に該当しないウェルシュ菌による集団下痢症と分離菌株のエンテロトキシン産生性

第51回日本感染症学会 (1977.4)

坂井千三, 伊藤武, 齊藤香彦, 稲葉美佐子, 緒方幸雄,  
金森政人: 東京都内で発生したA型ポツリヌス中毒の細菌学的検討

第51回日本感染症学会 (1977.4)

山田澄夫, 五十嵐英夫, 寺山武: 逆受身赤血球凝集反応 (reversed passive hemagglutination) によるブドウ球菌食中毒推定原因食品からのエンテロトキシンの検出定量

第50回日本細菌学会総会 (1977.4)

柳川義勢, 丸山務, 坂井千三: *Yersinia enterocolitica* のイヌにおける自然感染例と実験感染例との比較

第83回日本獣医学会 (1977.4, 東京)

丸山務, 甲斐明美, 柳川義勢, 坂井千三, 善養寺浩: *Yersinia enterocolitica* の実験的マウス感染における血清型からみた病原性

第50回日本細菌学会総会 (1977.4, 大阪)

采孟, 善養寺浩, 丸山務, 柳川義勢: *Yersinia enterocolitica* の上皮細胞侵入性と血清型との関連

第50回日本細菌学会総会 (1977.4, 大阪)

深見トシユ, 吉松彰, 篠塚輝治, 丸山務: *Yersinia enterocolitica* 感染による家族内発生の2事例について

第51回日本感染症学会総会 (1977.4, 東京)

新井輝義, 池島伸至, 楠淳, 神真知子, 伊藤武, 坂井千三, 島田俊雄, 坂崎利一: *Plesiomonas shigelloides* の生態学的研究 ヒトや各種動物および河川水からの本菌検出状況

第50回日本細菌学会総会 (1977.4)

諸角聖, 一言広, 和宇慶朝昭, 坂井千三: 毒素産生カビの増殖および毒素産生に及ぼす食品および生薬成分の影響

第33回日本食品衛生学会学術口演会 (1977.5, 東京)

一言広, 諸角聖, 和宇慶朝昭, 坂井千三: ケニヤおよびフィリピン産食品の糸状菌汚染について

第59回衛生局学会 (1977.5)

村上一: 動物性食品の衛生学的検査法に関する研究  
第33回日本食品衛生学会 (1977.5, 東京)

山田澄夫, 五十嵐英夫, 稲葉美佐子, 坂井千三, 寺山武: 逆受身赤血球凝集反応によるブドウ球菌食中毒の迅速診断法の確立

第59回東京都衛生局学会 (1977.5)

寺山武, 新垣正夫, 山田澄夫, 潮田弘, 五十嵐英夫, 坂井千三: 市販食品における *Bacillus cereus* の分布とその血清型別

日本食品衛生学会第33回学術講演会 (1977.5)

山田澄夫, 五十嵐英夫, 寺山武: ブドウ球菌エンテロトキシンの簡易・迅速検出法 逆受身赤血球凝集反応による食品からの毒素の型別と定量

日本食品衛生学会第33回学術講演会 (1977.5)

伊藤武, 齊藤香彦, 稲葉美佐子, 坂井千三, 山田満, 田中久四郎: ポツリヌス菌の生態学的研究 1. 魚市場の泥土, 魚介類およびカエルからの本菌検出状況

第33回日本食品衛生学会 (1977.5)

潮田弘, 小川正俊, 辻明良, 五島達智子, 坂井千三, 寺山武: 臨床材料および健康人由来 *Staphylococcus epidermidis* と類似菌の生物学的性状

第37回日本細菌学会関東支部総会 (1977.6)

岩崎謙二, 伊藤忠彦, 吉田靖子, 山崎清, 横山庸子: 1975~76年A香港型インフルエンザ流行時における都民の血中抗体保有変動

第25回日本感染症学会東日本地方会 (1976.11)

矢野一好, 藪内清, 柴田タツ美, 岩崎謙二: 1965年以降の都民におけるBKウイルスHI抗体保有状況  
第25回日本感染症学会東日本地方会 (1976.11)

岩崎謙二, 藪内清, 吉田靖子, 横山庸子: 最近における都内飼育豚からの日脳ウイルス検出と分離ウイルス株の抗原性状

第12回日本脳炎ウイルス生態学研究会 (1977.3)

伊藤忠彦, 山崎清, 岩崎謙二: 東京都における豚型インフルエンザウイルスの抗体保有

第51回日本感染症学会総会 (1977.4)

吉田靖子, 藪内清, 横山庸子, 岩崎謙二: 1968~76年における都内飼育豚(血清)からの日本脳炎ウイルス検出  
第51回日本感染症学会総会 (1977.4)

矢野一好, 藪内清, 柴田タツ美: 1967年以降の東京都における腸管系ウイルス感染流行実態  
第51回日本感染症学会総会 (1977.4)

下平彰男: **Limulus Test** の医薬品への応用  
笠岡シンポジウム カプトガニの医学への貢献(1976.10)

西川洋一, 安田一郎, 渡辺四男也, 瀬戸隆子: 朮類生薬の研究(Ⅲ) 韓国白朮のセスキテルペノイドとその品質評価  
日本薬学会第97年会 (1977.4)

道口正雄: 食品  
日本水産学会, PCB と海洋生物シンポジウム (1976.10)

広門雅子, 宇佐美博幸, 中嶋燧, 遠藤英美: 風味調味料中の5'-リボヌクレオチドの定量法  
第13回全国衛生化学技術協議会総会 (1976.9)

佐藤憲一, 渡辺悠二, 吉田令子, 遠藤英美, 藤居瑛: 塩化ビニル樹脂製品中の塩化ビニルモノマーについて  
第13回全国衛生化学技術協議会総会 (1976.9)

勝木康隆, 安田和男, 上田工, 直井家寿太, 木村康夫: 魚介類中の微量元素に関する基礎的研究Ⅲ スズキの部位別金属  
第32回日本食品衛生学会 (1976.10)

藤谷和正, 二島太一郎, 溝口勲: 東京都民の尿中クロム量について  
第35回日本公衆衛生学会 (1976.10)

大井玄, 関比呂伸, 秋山和幸, 野牛弘, 土屋健三郎: 鉛汚染指標としての鳩 非汚染地区への移動による影響  
第46回日本衛生学会総会 (1977.4)

山野辺秀夫, 山崎清子, 鈴木助治, 小泉清太郎, 原田裕文: 原子吸光分析法によるベリリウムの定量  
日本薬学会第97年会 (1977.4)

二島太一郎, 池田真悟, 長嶋親治, 溝口勲, 野牛弘, 藤田紘一郎, 月館説子, 菊池正一: 経口投与された塩化メチル水銀の各臓器への経時的分布とその結合蛋白  
第46回日本衛生学会 (1976.4)

二島太一郎, 池田真悟, 多田宇宏, 野牛弘, 溝口勲: 毛髪および血液中の水銀量とセレンウム量(魚介類多食者と一般人の比較)  
第46回日本衛生学会 (1976.4)

関比呂伸, 今野ヒロ子, 西垣進, 田村行弘, 溝口勲, 野牛弘, 大井玄, 原田正純: メチル水銀毒性緩和剤としてセレン化合物を用いる場合の一般性  
第45回日本衛生学会総会 (1976.7)

嶋村保洋, 田村行弘, 真木俊夫, 落合節子, 西垣進, 木村康夫: 生体試料中総水銀定量のための迅速分解法  
第32回日本食品衛生学会 (1976.10)

藤田紘一郎, 菊池正一, 二島太一郎, 池田真悟, 野牛弘: インドネシア, マレーシア各地の原住民の毛髪中, 血液中水銀量について(第3報)  
第35回日本公衆衛生学会 (1976.10)

大井玄, 西垣進, 蓑輪佳子, 関比呂伸, 湯目邦雄, 野牛弘, 長嶋和郎: ラットのメチル水銀中毒症状における初期神経症状  
第35回日本公衆衛生学会総会 (1976.10)

二島太一郎, 池田真悟, 長嶋親治, 溝口勲, 野牛弘, 藤田紘一郎, 月館説子, 菊池正一: 経口投与された塩化メチル水銀の各臓器への経時的分布とその結合蛋白(その2)  
第47回日本衛生学会 (1977.4)

Isao Mizoguchi, Kuniyoshi Makino, Shoji Kudo and Riichiro Mikami: **On the Relationship of Subjective Symptoms to Photochemical Oxidant**

International Conference on Photochemical Oxidant Pollution and Its Control, Raleigh, N. C. (1976.9)

Isao Mizoguchi: **Health Effects caused by Photochemical Air Pollution in Japan**

The 3rd Japan-U.S. Conference on Photochemical Air Pollution, Research Triangle Park, N. C. (1976.9)

Kuniyoshi Makino and Isao Mizoguchi : A Study on the Threshold of Acute Effects caused by Photochemical Oxidant

The 4th International Clean Air Congress (1977. 5, Tokyo)

Noriaki Okawada, Yuriko Iwamura, Masao Fukuda, Masanobu Ohsawa and Isao Mizoguchi : Effects of Photochemical Smog on the Human Tear Contents and Cornea

The 4th International Clean Air Congress (1977. 5, Tokyo)

細田永子, 狩野文雄 : 真性粘菌 *Physarum Polycephalum* の子実体形成 1. 生育条件および光条件  
日本植物学会第41回大会 (1976. 10, 富山)

福田雅夫, 大沢誠喜, 狩野文雄, 溝口勲, 岡和田紀昭 : 光化学スモッグの涙および角膜への影響  
第17回大気汚染研究全国協議会大会 (1976. 10, 横浜)

牧野国義, 溝口勲 : 光化学スモッグによる自覚症状と大気諸条件との重相関, 重回帰分析  
第17回大気汚染研究全国協議会大会 (1976. 10, 横浜)

工藤翔二, 三上理一郎, 溝口勲, 小久保雅子, 今関鎮徳 : 大宮市M中学におけるオキシダント高濃度下の自覚症状発現の特徴  
第17回大気汚染研究全国協議会大会 (1976. 10, 横浜)

溝口勲, 三上理一郎, 工藤翔二, 小久保雅子, 今関鎮徳 : 埼玉県における光化学スモッグ被害届出と環境条件との関連  
第17回大気汚染研究全国協議会大会 (1976. 10, 横浜)

牧野国義, 溝口勲 : いくつかの光化学スモッグの自覚症調査にみられる特徴  
第35回日本公衆衛生学会総会 (1976. 10, 岐阜)

佐藤泰仁, 青木実, 溝口勲 : 病院調剤室における薬塵調査

第58回衛生局学会 (1976. 11, 東京)

中田英吉, 吉川翠 : 都内興行場で集められたゴミの中のダニ, 昆虫相 第2報  
第28回日本衛生動物学会東日本支部大会 (1976. 11)

中田英吉, 吉川翠 : 都内興行場で集められたゴミの中のダニ, 昆虫相 第3報  
第29回日本衛生動物学会大会 (1977. 4)

中村弘, 三村秀一 : PVC 給水管の残留 VCM 量とその水道水中への溶出について  
第35回日本公衆衛生学会総会 (1976. 10)

菊地洋子, 押田裕子, 栃本博, 笹野英雄 : プールの衛生管理上の問題点とその対策  
第59回東京都衛生局学会 (1977. 5)

門馬康彦, 藤沢正吉, 大橋則雄, 矢口久美子 : 六価クロムによる地下水汚染の一形態  
第59回東京都衛生局学会 (1977. 5)

高橋保雄, 森田昌敏, 三村秀一 : 水道水中の極微量有機物  
第35回日本公衆衛生学会総会 (1976. 10)

大橋則雄, 森田昌敏, 三村秀一 : プール水中の塩素化有機物  
第35回日本公衆衛生学会総会 (1976. 10)

森田昌敏, 三村秀一, 秋山和幸, 中川順一 : カネミライスオイル中のポリ塩化ジベンゾフラン  
第35回日本公衆衛生学会総会 (1976. 10)

中川順一, 森田昌敏, 樋口育子, 三村秀一 : 生体試料中のポリ塩化ジベンゾフランの分析法  
第35回日本公衆衛生学会総会 (1976. 10)

高橋保雄, 森田昌敏, 三村秀一 : ポリ塩化ビフェニール中のポリ塩化ナフタレンについて  
日本化学会第36回春季大会 (1977. 4)

中川順一, 森田昌敏, 秋山和幸, 樋口育子, 三村秀一 : PCB の加熱からのポリ塩化ジベンゾフランの生成  
日本薬学会第97年会 (1977. 4)

岡本寛, 土屋悦輝, 山崎堅吉, 三村秀一: 水中のアミノ酸の分析法

第35回日本公衆衛生学会総会 (1976.10)

松本浩一, 大野正彦: 1975年度之多摩川の生物学的調査結果

日本水処理生物学会 (1976.10)

松本淳彦, 土屋悦輝: 三宅島大路池のカビ臭と放線菌および産生臭気物質

第41回日本陸水学会 (1976.10)

森田昌敏, 中川順一, 秋山和幸, 三村秀一: ウルマン反応による PCB 合成における塩化ジベンゾフラン

日本化学会第36回春季大会 (1977.4)

森田昌敏, 高橋保雄, 吉川サナエ, 三村秀一, 中川友夫, 佐藤愛子, 渡部愛, 河村大郎: 高速液体クロマトグラフィーによる底質中のベンゾ (a) パイレン

日本化学会第36回春季大会 (1977.4)

土屋悦輝, 松本淳彦, 岡本敏彦: 水の臭気に関する基礎的研究(Ⅳ) 放線菌, 藻類より得られた臭気物質について

日本薬学会第97年会 (1977.4)

山崎洋子, 松本浩一: 濠水の好氣的分解における細菌群の動態

第42回日本陸水学会 (1977.6)

渡辺真利代, 松本浩一: 善福寺川における水草の現状と問題点

第42回日本陸水学会 (1977.6)

武士俣邦雄, 霜田さと子: ポルフィリン体の生化学的研究(Ⅸ) ポルフィリン体のヨード酸化による影響と呈色反応

第26回日本衛生検査学会 (1977.4)

東京都立衛生研究所研究年報編集委員

西川洋一（委員長）  
高橋保二  
坂井千三  
村上 一  
直井家寿太  
三村秀一  
平賀興吾  
中尾順子

昭和52年12月10日 発行

規格表 第2類  
印刷番号(52)648  
刊行物番号(H)24

東京都立衛生研究所研究年報第28-1号

編集行：東京都立衛生研究所

所在地 〒160 東京都新宿区百人町3-24-1

電話 363-3231(代)

印刷所 統計印刷工業株式会社

東京都千代田区飯田橋2-17-9

電話 261-8501(代)