

B. 調 查 研 究

I 論 文

1. 血清バンクデータベースシステムの開発

○三浦 英美 内田 隆夫 梅津 幸司*
助野 典義 船木 宏

1. はじめに

宮城県は、第三次長期総合計画において、県民の健康増進及び健康管理に寄与するために、各種感染症の予防体制の確立を主たる目的とする「宮城県血清疫学情報センター（以下、血清疫学情報センター）」を保健環境センター内に設置することにした。

血清疫学情報センター事業の推進の基盤となっている保存血清は各種感染症の予防に関する多くの情報を持っていることが知られており、なかでも血清中の抗体保有調査などから得られる多くの情報を解析することにより、感染症の流行の科学的な予測や的確な予防対策を講ずるための防疫情報の提供を可能にする。また、年次別・地区別・年齢別の疾病構造を解明することにより、ワクチン接種プログラムの作成、原因不明疾患、難治性・悪性疾患の原因物質の検索、疾病診断への応用などができるようになり、県民の長期的健康管理に大いに役立てることができるものと考えられている。また、血清の持つ疫学情報を直ちに利用できないとしても、次の世代の人々が利用できるように保存しておくことも重要なことであり、次世代の疫学情報管理を中心とする科学的な防疫行政の推進に大いに寄与できるものと期待されている。

そこで、保健環境センターでは昭和61年度から血清疫学情報センターの設置のための準備作業を進め、平成2年度までにこの事業の中核となる血清バンクデータベースシステムを開発したのでその概要を報告する。

2. 方法

2.1 血清の収集、保存

東北大学抗酸菌研究所から宮城県に寄贈された血清およそ20万本（昭和42年から昭和59年まで凍結保存されていたもの）を、平成3年度の血清疫学情報センター開設にむけて整理し、-80℃のデープフリーザーに凍結保存した。また、保健環境センターで独自に採血した血清（伝染病流行予測事業などで収集したもの）についても同様に保存を行なった。

血清は、分類番号をつけた小型バイアル保存瓶（3ml用）に分注後、区画・番地付けをした84本入りのフリージングコンテナに収納して、デープフリーザーに保存した。

2.2 機器及び血清データの整備

昭和61年度以降、血清疫学情報センター開設に向けて行なった年次別の主な機器及び血清データの整備は次のとおりである。

① 昭和61年度

- ・分庁舎の完成（血清登録室、血清処理室、血清保存室）
- ・機器整備（デープフリーザー6台、フリーザー4台）
- ・血清データの収集（10万件）

② 昭和62年度

- ・機器整備（デープフリーザー3台）
- ・血清搬入
- ・血清分注処理（7万件）
- ・血清データの分類・整理・台帳作成（7万件）
- ・血清データの収集（10万件）

③ 昭和63年度

- ・機器整備（デープフリーザー3台）
- ・血清分注処理（7万件）
- ・血清データの分類・整理・台帳作成（7万件）

④ 平成元年度

- ・機器整備（デープフリーザー2台）
- ・血清分注処理（7万件）
- ・血清データの分類・整理・台帳作成（7万件）

⑤ 平成2年度

- ・血清データ用用コンピューターシステム導入
- ・血清データファイルの入力・作成

2.3 血清バンクデータベースシステムの開発

2.3.1 機器の構成

分注、凍結保存した血清に関して、年齢・居住地・ワクチン歴等のデータを詳細に集め、これらをコンピューターに入力し、必要に応じて必要事項の選択・選別抽出が出来るコンピューターシステムを整備した。導入機種は、NEC製オフィスコンピューターN3100モデルA40（主記憶容量4MB）とし、磁気ディスク装置（260MB）、漢字ラインプリンター、端末機（二機種）等の周辺装置を備えた。（図1）

2.3.2 システムの機能

血清データの管理には、リレーショナル型データベースを採用し、本データベースシステムを中核として次の機能を整備した。

- ・N3100/A40及びN3100/A10（操作卓）
- データベース保守管理
- データベース操作

* 現・宮城県気仙沼保健所

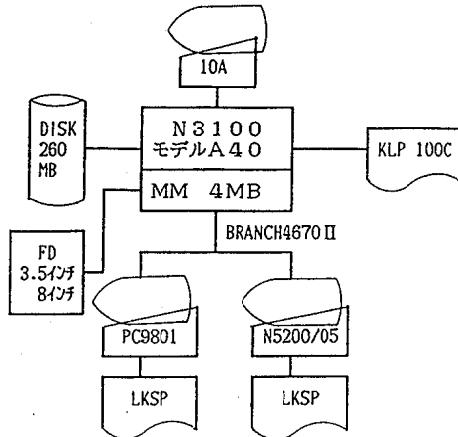


図1 機器の構成

データ加工

- ・ N5200/05 (端末機1)
データベース操作
データ加工 (NEC製LANシリーズ)
帳票作成, グラフ表示, 統計解析, その他
- ・ PC9801RA (端末機2)
抽出データ加工 (ヴェル研究所製ファラオン)
帳票作成, グラフ表示, その他

2.3.3 データファイルの構成

データファイルは、血清の種類に応じて、「患者血清データファイル」、「集団検診血清データファイル」、「ウイルス病流行予測血清データファイル」、「風疹流行予測血清データファイル」、「日本脳炎流行予測血清データファイル」、「インフルエンザ流行予測血清データファイル」の6つのファイルに分割した。

各データファイルの1レコードは、各データファイル共通の「基本部」と個別の「項目部」から構成され、それぞれのレコードレイアウトは図2のとおりである。

なお、保管番地、データ区分及びワクチン歴のレコードレイアウトの詳細は次のとおりである。

①保管番地

血清の保管場所を6桁の英数記号により識別する。

- ・ デープフリーザー呼称 (アルファベット1文字) A~N
- ・ ストッカー番号 (2桁) 11~58
- ・ コンテナ番号 (1桁) 1~4
- ・ コンテナ内番地 (2桁) 1~84

②データ区分

複数の異なるデータファイルを結合してデータベースを操作するとき、それぞれのレコードのデータの種類の数字によりを識別する。

- ・ 患者血清データ 1
- ・ 集団検診血清データ 2
- ・ ウイルス病流行予測血清データ 3
- ・ 風疹病流行予測血清データ 4
- ・ 日本脳炎流行予測血清データ 5

- ・ インフルエンザ流行予測血清データ 6
- ・ 不明データ 9

③ワクチン歴

ワクチン歴はポリオ, DPTⅠ期1回目, 同Ⅰ期2回目, 同Ⅰ期3回目, 同Ⅱ期, 種痘, 百日咳, ジフテリア, 日本脳炎, インフルエンザ, 風疹, 麻疹, BCG, その他の14項目について, 次の1桁の数字により識別する。

- ・ ワクチン摂取有り 1又は回数
- ・ ワクチン摂取なし 0
- ・ ワクチン摂取不明 9

3. 現在の血清の保存状況

東北大学坑酸菌研究所から寄贈されたおよそ20万本の患者血清及び集団検診血清は、破損や変質、血清以外の物の混入、ラベルの消失などのため、実際に分注保存できたのはその内の約1/4の53,730件であった。そして、血清管理台帳と明確に対応が付いて、データベースとして登録できたのはその内の約3/5の31,138件であった。伝染病流行予測事業の血清も含めて血清バンクデータベースとして管理している血清の種類及び採血年次ごとの血清データの件数は、表1のとおりである。

4. 今後の計画

平成3年度中に宮城県血清疫学情報センターを開設する予定であり、今後の事業計画は次のとおりである。

4.1 血清バンク事業

① 血清管理業務

- ・ 血清保管場所の管理
- ・ 血清保管分注量の管理
- ・ 追加登録
伝染病流行予測事業に伴うもの (2千件/年)
独自の収集方法によるもの (1千件/年)
- ・ 血清の活性検査

② データ管理業務

- ・ データ検索利用管理
- ・ 血清使用管理
- ・ データ統計管理
- ・ データ分析管理
- ・ 血清の活性検査, 分析結果の登録

③ 外部機関に対する提供業務

- ・ 血清情報の提供
国 (予防研究所), 宮城県, 県内市町村, 公的研究所等の担当者に対して, 目的別の血清情報の提供を行う。

- ・ 血清の分与
各種研究用に血清の分与を行う。

4.2 調査研究・試験検査事業

① 血清疫学研究

- ・ 各種疾病の血清疫学的解析
- ・ 腫瘍マーカー等の検索

表1 血清データ管理状況

採血年	患者血清	集団検診血清	流行予測血清				合計
			ウイルス病	風疹	日本脳炎	インフルエンザ	
1967	456	462					918
1968	1051	696					1747
1969	768	806					1574
1970	707	723					1430
1971	751	1443					2194
1972	1008	1626					2634
1973	445	1100					1545
1974	332	637					969
1975	419	915	998				2332
1976	776	807					1583
1977	1128	755	308				2191
1978	916	408	195			98	1617
1979	1241	781	167	471	217	231	3108
1980	1709	890	150	414	207	307	3677
1981	1385	1046	149	166	199	231	3176
1982	1251	888	127	331		129	2726
1983	1405	772	148	228		180	2733
1984	607		178	224		150	1159
1985			148	110	171	200	629
1986			204	237	180	70	691
1987			162	318	214	125	819
1988			183	230	178	117	708
不明		28		16	1	174	219
合計	16355	14783	3117	2745	1367	2012	40379

- ・ 生体汚染物質のトレース
- ・ 国際化に対応した感染症対策
- ・ 高齢化に対応した老人の疾病対策
- ・ その他

- ② 保存血清の使用試験検査及び保存技術の研究
- ③ 血清データベース利用のための通信ネットワーク構築

4.3 情報解析事業

- ① 血清バンクデータベースシステムの保守管理及び改良

- ② 血清バンク事業，調査研究・試験検査事業における情報解析支援
- ③ 伝染病流行予測情報の広報

参 考 文 献

- 1) 日本電気株編：A-VX10 リレーショナル型データベース説明書

2. 宮城県における食中毒発生構造の解析(第1報)

- 腸炎ビブリオ食中毒発生の時代変遷 -

内田 隆夫 助野 典義 船木 宏

宮城県における食中毒発生構造の解析の一環として、宮城県食中毒事件録データベースを利用し、本県内で最も重要な細菌性食中毒の一つである腸炎ビブリオ食中毒について、その発生構造の時代変遷の考察を行ったところ、発生時期や地域差等に顕著な時代的变化の見られることが判明した。

1. はじめに

近年、高度経済成長に伴う社会環境や生活環境及び物流等の急速な変革は、食品やそれを取り巻く産業の多様化をもたらし、外食への依存の増大など我々の食生活へ大きな変化を与えている。これらの変化は食中毒の発生構造へも大きく影響しているものと思料され、行政側においてもこれらに即応した対策が必要である。そこで、我々は昭和30年以降に宮城県で発生した食中毒について、「宮城県食中毒事件録データベース」を構築し、県内の食中毒発生構造の解析を行ってきたが、今回は宮城県で原因物質の判明した食中毒の半数以上を占め、昭和49年には「魚介類による腸炎ビブリオ食中毒注意報発令要領」が制定されるなど、本県における食中毒防止上重要な課題として対策の強化されている腸炎ビブリオ食中毒についてその発生構造の時代変遷の解明を試み、若干の知見を得たのでその結果について報告する。

2. 方法

2.1 宮城県食中毒事件録データベースの構築

宮城県食中毒事件録データベースは各種解析作業を実施するに当たって容易に利用できるデータベースシステムとするため、パソコン用DBMS (DATABASE MANAGEMENT SYSTEM) を用いて作成した。以下にその概要を示す。

2.1.1 使用機器

日本電気株式会社製
PC9801RA

2.1.2 使用ソフトウェア

(1) データベース機能用

日本アシュトン・テイト株式会社製
dBASE III PLUS 2.0J

(2) 表計算・統計計算用

ロータス株式会社製
Lotus 1-2-3 TMR 2.1J

2.1.3 データの収集及び登録

昭和30年から平成2年までの36年間の本県における食中毒について、厚生省生活衛生局食品保健課発行の全国食中毒事件録¹⁾第3編の内容を全て収集するとともに、各データについて、宮城県保健環境部環境衛生課発行の

宮城県食中毒事件録²⁾との照合を行い、データの精度を確保した。また、全国食中毒事件録が発行されていない昭和62年以降については宮城県食中毒事件録第3編のデータによることとした。以上により収集した食中毒事件数は1,249件(内腸炎ビブリオによるものは503件)を数えるが、これを全て宮城県食中毒事件録データベースに登録した。

2.1.4 データベースのファイル構造

宮城県食中毒事件録データベースのファイル構造を表1に示す。データ登録項目は連番を除き全国食中毒事件録の掲載項目と合致している。

表1 宮城県食中毒事件録データベースのファイル構造

No.	登録項目名	フィールド名	データ形式	データ桁数	小数以下桁数
1	連番	連番	数値型	4	—
2	発生年月日	発生年月日	日付型	8	—
3	発生場所名	市町村名	文字型	8	—
4	所轄保健所名	保健所名	文字型	6	—
5	摂食者数	摂食者数	数値型	5	—
6	患者数	患者数	数値型	4	—
7	死者数	死者数	数値型	3	—
8	原因食品種類	食品の種類	文字型	26	—
9	原因食品名称	食品の名称	文字型	26	—
10	原因物質種類	原因物質	文字型	18	—
11	血清型等	血清型等	文字型	28	—
12	原因施設種類	原因施設	文字型	18	—
13	摂食場所種類	摂食場所	文字型	18	—
14	調理場所種類	調理場所	文字型	18	—
15	備考	備考	文字型	36	—

(注) 市町村行政区及び保健所管轄地域は仙台市の政令指定都市移行後のものに整理している。又、仙台市の各保健所は「仙台」として統一している。

2.2 解析の方法

次に掲げる年代区分により、各年代における発生構造を調査し、年代別発生構造の比較を行うことにより時代変遷について検討してその影響要因等の考察も行った。

1) 昭和30年代=昭和30年から昭和39年まで(10年間)

- 2) 昭和40年代＝昭和40年から昭和49年まで(10年間)
- 3) 昭和50年代＝昭和50年から昭和59年まで(10年間)
- 4) 昭和60年代＝昭和60年から平成2年まで(6年間)

3. 結果及び考察

3.1 年次別食中毒発生件数

図1に年次別の食中毒総発生件数並びに腸炎ビブリオ食中毒発生件数を示した。総発生件数については各年次である程度の変動はあるものの、昭和30年代には年平均で50件程度発生していたものが、昭和40年代においては30件程度、昭和50年代には昭和50年を除けば20件程度と徐々に減少してきている。しかし、昭和60年代においてはこの減少傾向は鈍化し横ばいの状況となっている。又、腸炎ビブリオ食中毒について厚生省から「病原性好塩菌中毒措置要領、同じく検査要領」(以下「要領」という。)の発表された昭和36年以降をみると、昭和30年代から40年代にかけては年平均で20件前後で推移し、昭和50年代及び60年代は10件程度に減少しているが、総発生件数と同様に昭和50年代以降は横ばいの状況にある。

なお、昭和50年にはコタマガイやその二次汚染などが原因で腸炎ビブリオ食中毒が大発生し、年間総発生件数が142件、この内腸炎ビブリオによるものが104件と極めて特異的な様相を呈した。

また、「要領」発表以降の期間について年間総発生件数と腸炎ビブリオ食中毒発生件数の相関をみたところ、相関係数が0.94と高い相関を示しており、本県の年間総発生件数はその年の腸炎ビブリオ食中毒発生件数の動向に大きく影響を受けていることが伺えた。

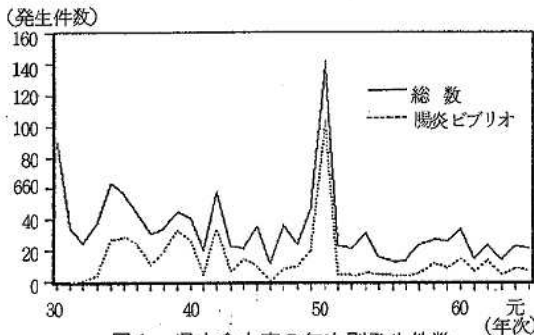


図1 県内食中毒の年次別発生件数

3.2 発生割合の推移

表2に原因物質の判明した食中毒件数に占める腸炎ビブリオ食中毒件数の割合を年代別に示した。これによれば、昭和30年代から40年代にかけてはその割合が60%以上であったもの昭和50年代には50%台に、昭和60年代には40%台に減少してきている。これは、本県が全国でも有数の腸炎ビブリオ多発地域であったものが、食品の流通、保存及び調理における衛生上の改善や行政側の努力により減少してきたことに加え、カンピロバクター等の新たな食中毒菌の同定が可能となり、原因物質の判明

率が格段に上昇したことによるものと推定される。

因みに、全国食中毒事件録から集計した全国の割合も併せて示したが、全国的にみるとその割合は常に40%台で推移しており、本県も昭和60年代には全国レベルに類似してきたものと見受けられる。

表2 腸炎ビブリオ食中毒の発生割合の推移

区 分	昭和30年代	昭和40年代	昭和50年代	昭和60年代
食中毒総発生件数	461件	319件	338件	131件
腸炎ビブリオ食中毒発生件数	150件	138件	159件	57件
原因物質の判明した食中毒件数	228件	223件	275件	121件
原因物質の判明した食中毒件数に占める腸炎ビブリオ食中毒件数の割合(宮城県)	65.8%	61.9%	57.8%	47.1%
原因物質の判明した食中毒件数に占める腸炎ビブリオ食中毒件数の割合(全国)	49.6%	42.5%	45.0%	46.4%

(注) 全国の昭和30年代の値は昭和37年から昭和39年の3年分のみ集計

3.3 発生時期の推移

3.3.1 旬期間別発生件数の推移

図2に旬期間別発生件数を年代別に示した。これを見ると、昭和30年代においては7月上旬から発生が徐々に始まり、9月上旬にピークを迎え、以後急速に減衰するパターンを示している。しかし、昭和40年代及び50年代には6月上旬ないしは7月上旬に発生が始まると急速に増加し、4月後にはピークを迎え以後穏やかに減衰しており、更に終息の時期も若干遅れている。又、昭和60年代になると発生の始まる時期が5月下旬とかなり早まり、ピークも7月下旬と9月上旬の二峰型となっている。これらのパターンの年代における変化の理由及びその影響要因等については現在検討中であるが、近年の発生開始時期の早期化などには今後十分注意を払う必要がある。

3.3.2 曜日別発生割合の推移

図3に曜日別発生割合を年代別に示した。これを見ると、昭和30年代は火、金、土曜日の発生割合が高く、又、昭和40年代には日、月、火、水曜日が高い。昭和50年代に発生割合の高いのは日、火、金曜日と高低が曜日おきに繰り返している。昭和60年代には火曜日が特異的に高い発生割合を示している。これらのパターンの変化が単なる偶然によるものか、若しくは何らかの原因によるものなのかは現在のところ合理的な説明はできないが、全期間でみる限り火、金曜日に発生割合の高い傾向が伺え、留意が必要などである。

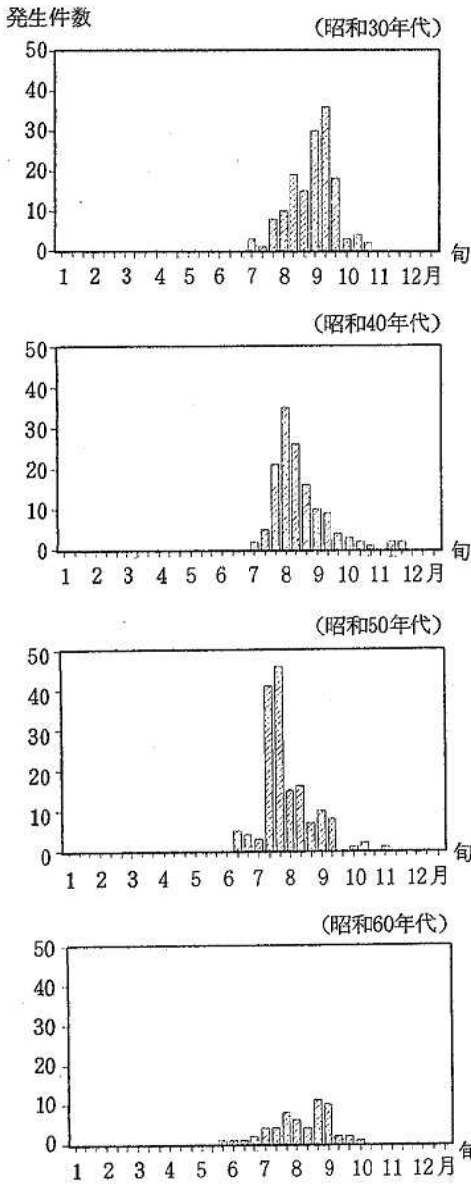


図2 旬期間別発生件数の推移

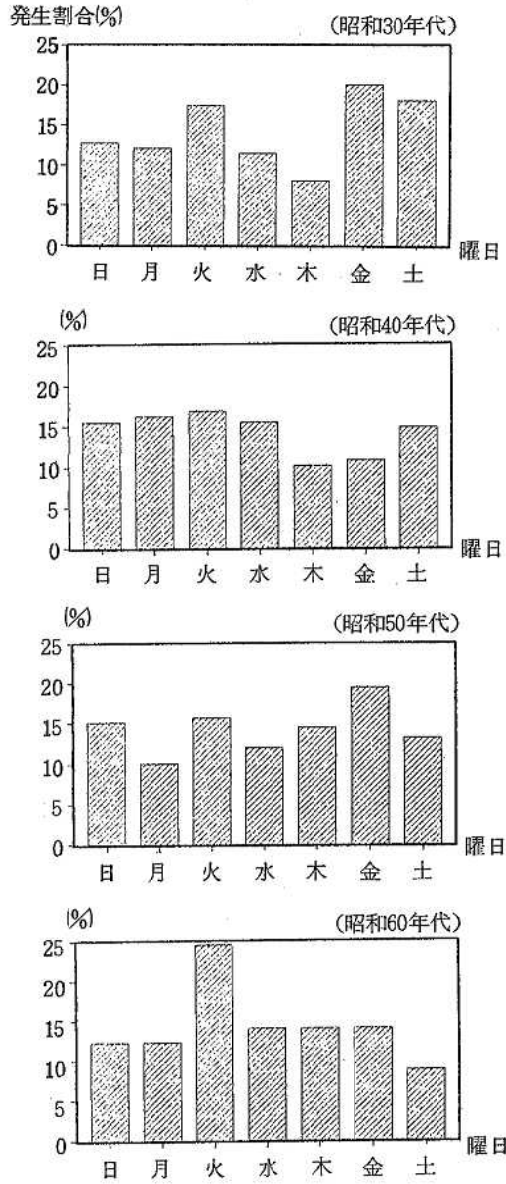


図3 曜日別発生割合の推移

3.4 原因食品別発生割合の推移

表3に原因食品別発生割合について各年代別に上位5

位までを示した。これによると、各年代とも圧倒的に発生割合が多く原因食品の半数以上又は半数近くを占める

表3 腸炎ビブリオ食中毒の原因食品別発生割合の推移

昭和30年代		昭和30年代		昭和30年代		昭和30年代	
その他の魚介類	71.8%	その他の魚介類	53.6%	その他の魚介類	44.7%	その他の魚介類	45.6%
その他の魚介類加工品	5.4	貝類	11.4	その他の野菜及び加工品	13.2	複合調理食品	21.1
貝類	4.7	その他の野菜及び加工品	5.1	貝類	10.1	その他の魚介類加工品	8.8
複合調理食品	3.4	複合調理食品	4.3	複合調理食品	6.3	その他の野菜及び加工品	7.0
魚肉練り製品	2.7	その他の魚介類加工品	2.9	その他の魚介類加工品	2.5	貝類	7.0

のは「その他の魚介類」であるが、昭和30年代には殆ど発生しなかった「その他の野菜及びその加工品」が昭和40年代以降上位に現れており、野菜類の漬物の取扱いについては十分注意を要するところである。又、発生割合の高かった「貝類」については徐々に減少してきているが、同じく減少傾向を示してきた「その他の魚介類加工品」が昭和60年代には上昇に転じている。更に「複合調理食品」が昭和60年代には発生割合が急上昇しており、これは加工食品や外食に大きく依存する現代の時代的背景などによるものと考えられ、特に留意すべきところであろう。

3.5 原因施設別発生割合の推移

表4に原因施設別発生割合について各年代別に上位5位までを示した。これによると、昭和50年代までは発生割合が30%から50%と原因施設の最上位を占めた「家庭」は昭和60年代には20%程度に下降し、それに変わって「飲食店」や「旅館」が高い割合を示してきた。又、昭和30年代に23%と高い発生割合を示した「行商」は、その後の業態の変化等により昭和50年代以降殆ど姿を消したが、「行商」と同様大幅な減少傾向をみせた「販売店」が昭和60年代には再び上位に転じており注意する必要がある。今後、生活様式の変化等により飲食店での食事に依存する食習慣は一層定着し、更に国民一体となった余暇の拡大により旅館等への宿泊も益々増大するものと考えられるので、飲食店や旅館における腸炎ビブリオ食中毒の未然防止対策及び指導を強力に進めることが必要である。

表4 腸炎ビブリオ食中毒の原因施設別発生割合の推移

	昭和30年代	昭和40年代	昭和50年代	昭和60年代
家庭	32.9%	家庭 44.9%	家庭 48.1%	飲食店 26.3%
行商	23.5	旅館 20.3	旅館 18.9	家庭 21.1
販売店	16.1	飲食店 7.2	飲食店 12.6	旅館 15.8
旅館	7.4	行商 5.1	事業場 5.7	販売店 12.3
事業場	6.0	販売店 2.9	仕出屋 5.0	仕出屋 7.0

3.6 市町村別発生件数の推移

各市町村間の発生件数を比較し地域差の検討を行う場合、単に生データを比較したのでは的確な実態を把握できないものと思われる。そこで、各市町村毎に人口千人当たりの年間発生件数を割り出し、これを対比することにより地域差を考察してみた。人口データは国及び県の統計資料¹⁾より昭和25年の国勢調査以降のものを国勢調査結果及び住民基本台帳人口から求め、市町村合併以前のものは仙台市の政令指定都市以降の市町村区割りに合算・整理した。この人口データを利用し、各市町村の人口千人当たりの年間発生件数の年代別平均値を算出し、図4に示した。

なお、この解析においては腸炎ビブリオ食中毒発生数の503件の内、修学旅行から帰県後に発生したものなど、

明らかに本県市町村が発生場所と考えられない16件については除外した。

この結果、昭和30年代において対人口比で年間発生件数の多い地域は、県北及び仙南に集中しており、特に発生件数の多い市町村は登米町(0.06件/年/人口千人)、松山町(0.05)、白石市(0.04)などである。この年代において原因食品として出現頻度の高いものは、タコ、イカ、ホヤ等であり、長時間にわたる輸送と行商や販売店での取扱いの不良、更に家庭での保管などの不良がこの地域での多発の原因と考えられるが、県北地域における塩蔵ホヤの食習慣などもひとつの要因であろう。又、この年代の発生件数の上位十位までの市町村みると、登米町、白石市、古川市、若柳町の4保健所所在市町村(当時)が含まれている。当時の県設置の12保健所中4保健所の所在市町村が発生件数の上位を占めていることは、腸炎ビブリオ食中毒対策の初期の頃において情報や機動力の乏しかった時代の食品衛生監視員の苦勞を物語るものと言えよう。

また、昭和40年代になると登米郡や栗原郡は依然として多発地帯として残り、更に遠田郡及び松島湾沿岸の地域に発生件数の多い地域が拡大しているが、逆に仙南地域では大幅に減少している。これらの内、内陸地域の発生要因は昭和30年代とはほぼ同様なものと思われるが、松島湾沿岸の地域については、この時期に旅館、民宿が急増し、これらが原因施設として発生件数を増加させたものと考えられる。県環境衛生課の調べ¹⁾によれば、昭和40年代の県内における旅館業の伸び率は約150%を示しており、中でも簡易宿所の増加が著しい。この年代で特に発生件数の多かったのは登米町(0.15)、中田町(0.05)、花山村(0.04)などである。

昭和50年代は発生件数の多い地域が分散し、広域的な広がりをみせている。これは観光地における旅館、民宿等で発生の多かったことやモータリゼーションの発達によって海岸部から遠距離に住む者が自己採取した魚介類を家庭に持ち帰りこれを原因として発生したものなどが多かったことによるものと思われる。その一例として昭和50年にコタマガイやその二次汚染が原因で多発した食中毒例が挙げられる。加えて生活環境や物流などの変化によりかなりの内陸部でも沿岸部や都市部と同じような食生活が可能となったが、魚介類の取扱いの不慣れにより発生した場合も多かったものと推定される。この年代で特に発生件数の多かったのは花山村(0.09)、高清水町(0.05)、鳴瀬町(0.03)などである。

昭和60年代になると発生件数の多い地域が温泉地や海水浴場・釣り場を有する町村へ偏りをみせ、これらの地域の旅館、民宿及びドライブイン等が主要な原因となっており、これらの対策が急務である。又、内陸部において仕出料理が原因となっている例なども多い。この年代の発生件数の上位5位は宮崎町(0.04)、鳴子町(0.04)、北上町(0.03)、女川町(0.03)、歌津町(0.03)である。

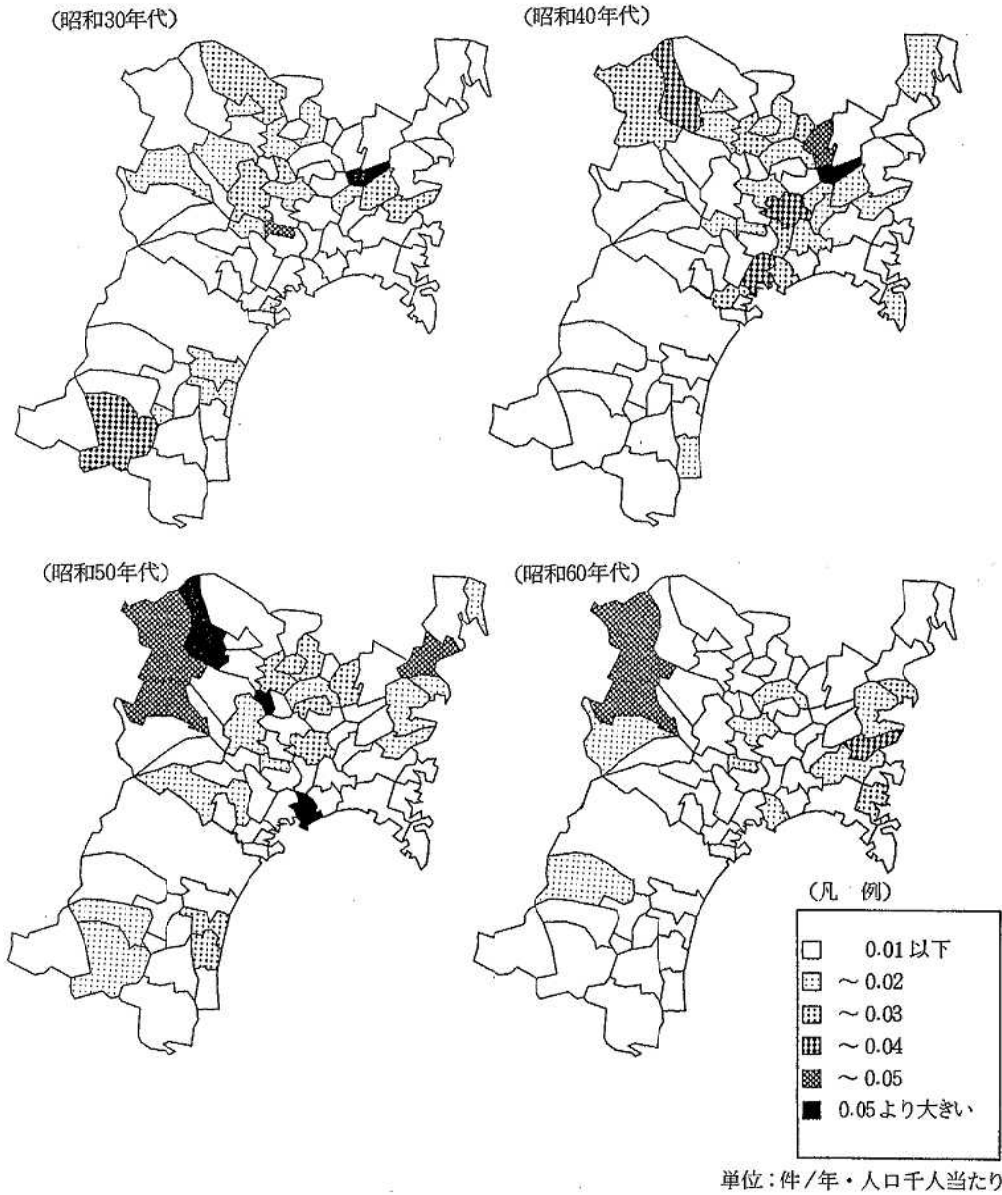


図4 市町村別年間発生件数の推移（人口千人当たり）

4. ま と め

昭和30年から平成2年までに本県で発生した腸炎ビブリオ食中毒について10年刻みに発生構造を調査し、時代変遷の様子について把握に努めたが、個々の食中毒事件の詳細まで立ち入って調査することは数の上からみても非常に困難なため、今回の解析が概括的なものとなってしまったことは否めない。しかし、今回得られた結果だけでも本県における腸炎ビブリオ食中毒の発生構造がかなり変化していることが伺えた。

今後、輸入食品の増大による食品の多様化や食生活の

変化はより一層進むものと思われ、これにともなう食中毒発生構造の変化も更に複雑化しその速度も速まるものと考えられる。従って、我々は常にこの変化に注目し把握に努める必要があり、更に社会科学面をも加味し解析の深度を深め、関係機関への情報提供に努めたいと考えている。

なお、今回地域差を解析するに際し食中毒発生件数と市町村人口を基礎として人口千人当たりの年間発生件数を算出する方法を採ったが、人口の極めて少ない町村においては小数の発生件数でも過大に評価される点などがあり、必ずしも的確に把握できたとは言えないかもしれ

ない。更にデータの解析には検討を加える必要があるものと考えている。

本稿を終わるに当たり、宮城県食中毒事件録データベースの構築において御指導、御協力いただいた宮城県保健環境部環境衛生課食品衛生係及び本センター微生物部の皆様に厚くお礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) 厚生省公衆衛生局食品衛生課編：全国食中毒事件録（昭和30年版～昭和33年版）
厚生省環境衛生局食品衛生課編：全国食中毒事件録（昭和34年版～昭和56年版）
厚生省生活衛生局食品保健課編：全国食中毒事件録（昭和57年版～昭和61年版）
- 2) 宮城県衛生部環境衛生課編：宮城県食中毒事件録（昭和30年版～昭和56年版）
宮城県保健環境部環境衛生課編：宮城県食中毒事件録（昭和57年版～平成2年版）
- 3) 総理府統計局編：昭和25年国勢調査結果報告第7巻
宮城県企画部調査課（企画部統計課）編：宮城県統計総覧（昭和27年版～昭和49年版）
宮城県企画部統計課編：宮城県統計年鑑（昭和50年版～平成元年版）
宮城県企画部統計課編：住民登録人口移動報告年鑑（昭和36年版～昭和39年版）
宮城県企画部統計課編：本県の人口動態（昭和41, 43, 44, 56年版）
宮城県企画部統計課編：みやぎ統計No.500
- 4) 宮城県保健環境部環境衛生課編：平成2年度事業概要

3. 先天性副腎過形成症マススクリーニング (第3報)

近野寿美枝 白石 廣行 沖村 容子*
山本 仁

Mass-screening of CAH for newborn babies in Miyagi Prefecture was performed using blood samples on filter paper for mass-screening of newborn errors of metabolism. From April 1990 to March 1991, 23,205 samples were tested by ELISA method detecting 17α -hydroxyprogesterone. The number of re-sampling was 57 (0.25%). Four patients of salt-losing type CAH were discovered and treated.

1. はじめに

先天性副腎過形成症(CAH, Congenital Adrenal Hyperplasia)は、副腎皮質におけるステロイドホルモン産生に關与する種々の酵素(21-水酸化酵素欠損が90%)が先天的に欠損するためにおこる病気で臨床症状より塩喪失型と単純男性型に分類される。塩喪失型は、生後間もなく低Na, 高Kのため脱水ショック症状を呈し死亡することがあるが、単純男性型では、思春期早発症が主症状で女兒の外性器異常による性の誤認などがある。発生頻度が約15,000人に1人と比較的高いため、平成元年1月の全国的なスクリーニングと同時に宮城県においても検査が開始された¹⁾。

今回は、①1990年4月から1991年3月までの平成2年度の検査実績、②スクリーニングにより発見された患者4例の検査結果について報告する。

2. 材料および方法

検体は先天性代謝異常マススクリーニング血液濾紙を用いた。検査は21-水酸化酵素欠損により血液中に増加する 17α -ヒドロキシprogステロン(17-OHP)(図1)を酵素免疫抗体(ELISA)法で測定するエンザプレートN- 17α -OHP(チバコーニング社製)を使用した。

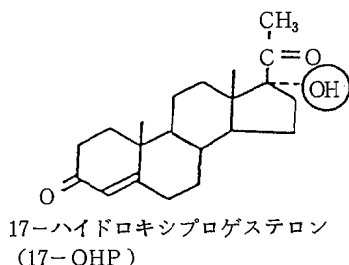


図1 17- α -ヒドロキシprogステロン(17-OHP)

検査方法を図2に示した。一次検査に直接法、二次検査にエーテル抽出法を用いた。反応時間は、直接法、抽出法ともにこれまでの20時間を4時間に変更した。その他は昨年と同じ方法を用いた²⁾。

* 現・宮城県大崎保健所

第2抗体固相プレート

血液ろ紙3mmディスク1枚
第1抗体 100 μ l
酵素標識抗原 50 μ l

振盪, 混和
25 $^{\circ}$ C 4時間反応

血液ろ紙除去後 洗浄3回

発色剤 150 μ l
25 $^{\circ}$ C 30分 遮光反応
反応停止液 100 μ l
492/630nm で吸光度測定

17-OHP値を換算

直接法

3mmディスク1枚

生理食塩水 200 μ l

振盪5分, 2時間放置

エーテル 1ml 分注

振盪5分, 遠心3000rpm 5分

水層凍結, エーテル層分離

エーテル層乾固, 30 $^{\circ}$ C 20分

酵素標識抗原 100 μ l

振盪5分

第2抗体固相プレートに 75 μ l 分注

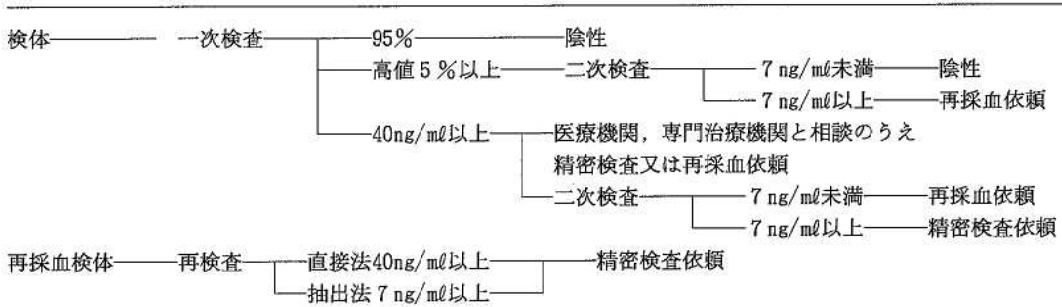
第1抗体 75 μ l

以下, 直接法と同じ

抽出法

図2 検査法

検査システムを図3に示した。今年度から検体受付日に一次検査を終了させることを原則とし、毎朝、郵便局私書箱から検体を回収した。受付後、直ちに一次検査を行い17-OHP値分布の上位5%値をカットオフ値として、プレート毎に高値検体を選び、次にその検体の二次検査



(注) 一次検査：直接法（血液ろ紙の3mmディスクを直接プレートにいれ17-OHP値を測定）
 二次検査：抽出法（血液ろ紙より17-OHPをエーテル抽出し測定）

図3 先天性副腎過形成症検査フローチャート

を行った。二次検査でカットオフ値（7ng/ml）以上を示した場合は再採血を依頼した。再採血で7ng/ml以上を示した場合は、出生体重、在胎週数を確認し、直ちに産科の担当医に電話でCAH患者の可能性のあることを伝えた。更に、症状の有無、ホルモン含有薬剤投与等を確認し、同時に東北大学医学部小児科に精密検査を依頼した。

3. 結果

3.1 平成2年度の検査実績

1990年4月から1991年3月までの毎月の検査成績を表1に示した。総検体数23,205件で、再採血依頼数57件、精密検査数7件で患児4名を発見した。月毎の再採血依頼率は0.09~0.44%（平均0.25%）で月によって幾分の差が認められた。一次検査（直接法）22,380件の17-OHP値の度数分布を図4に示した。約96%は20ng/ml以下で、平均値(M)は10.96ng/mlであった。

表1 検査成績

	計	1990年										1991年		
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
総検体数	23,205	1,697	2,301	1,989	2,008	2,225	1,951	2,033	1,815	1,798	1,965	1,638	1,785	
再採血依頼数 (率%)	57 (0.25)	2 (0.12)	4 (0.17)	8 (0.40)	8 (0.39)	2 (0.09)	3 (0.15)	3 (0.15)	8 (0.44)	2 (0.11)	8 (0.41)	5 (0.31)	4 (0.22)	
精密検査数	7	1	1	0	3	1	0	0	0	1	0	0	0	

1990.4.1~1991.3.31

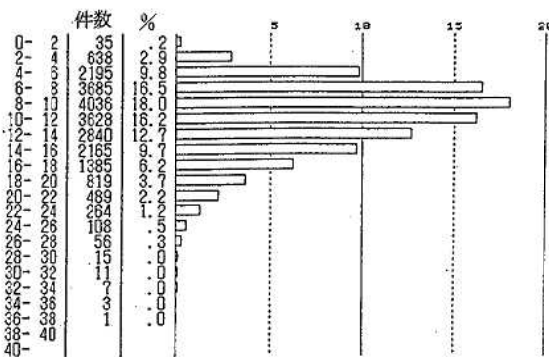


図4 17-OHP値（一次検査）の度数分布

3.2 スクリーニングによって発見された患者

次に、昨年一年間にスクリーニングで発見された患者4例のその時の状況を詳しく述べる。また表2に患者の17-OHP値と精密検査時の症状を示した。

(症例1) 男児で出生時より退院時までとくに異常はなく、また1才3ヶ月の姉も健康で家族も全て正常であった。しかし7日目の精密検査時に哺乳力低下、体重減少、低Na高K(Na133mEq/L, K7.7mEq/L)による軽い脱水症状、また外陰部皮膚の色素沈着が認められ17-OHP値も340ng/mlと上昇していた。これらのことから塩喪失型と診断された。

(症例2) 男児で出生時より退院時までとくに異常はなく、12日目の精密検査時に体重減少、嘔吐、低Na高K(Na123mEq/L, K8.0mEq/L)による脱水症状、

表2 患 児 例

	性	出生時	スクリーニング時	精密検査時
1	男	1990. 4.11 在胎39週 3210g	日齢 5日 17-OHP値 80.0ng/ml 以上(直接法) 134.8ng/ml (抽出法)	日齢 7日 体重減少, 脱水, 色素沈着 塩喪失型と診断
2	男	1990. 4.20 在胎39週 3272g	日齢 6日 17-OHP値 80.0ng/ml 以上(直接法) 66.6ng/ml (抽出法)	日齢 12日 体重減少, 脱水, 色素沈着 塩喪失型と診断
3	男	1990. 7.12 在胎40週 3312g	日齢 5日 17-OHP値 80.0ng/ml 以上(直接法) 138.3ng/ml (抽出法)	日齢 11日 体重減少, 脱水, 色素沈着 塩喪失型と診断
4	男	1990. 7.27 在胎39週 3160g	日齢 5日 17-OHP値 80.0ng/ml 以上(直接法) 79.1ng/ml (抽出法)	日齢 12日 哺乳力低下, 色素沈着 塩喪失型と診断

外陰部皮膚への色素沈着が認められ、17-OHP値も320ng/mlと高値を示し、塩喪失型と診断された。

(症例3) 男児で出生時より退院時までとくに異常は認められなかったが、11日目の精密検査時に体重減少(400g)、嘔吐、外陰部色素沈着が認められ、特に低Na高K(Na114mEq/L, K10.1mEq/L)による脱水症状がひどく危険な状態であった。17-OHP値も810ng/mlと上昇し、塩喪失型と診断された。

(症例4) 男児で出生時より退院時までとくに異常はなく、12日目の精密検査時に哺乳力低下、嘔吐、外陰部色素沈着、低Na高K(Na130mEq/L, K6.6mEq/L)が認められた。脱水症状はほとんどなく、塩喪失型と診断された。

4. 考 察

スクリーニングを初めてから2年目に入り検査法については問題もなく順調に進めることが出来た。低出生体重児の再採血依頼率については昨年と同じ状況であるが昨年詳細に述べたので省略する。これまで先天性副腎過形成症の発生頻度は約15,000人に1人とされていたが、今回の結果から宮城県においても平成元年から平成2年3月までの総検査数53,542人に患者4人(約13,400

人に1人)とこれまでの頻度とほぼ同じであった。一方、発見された患者4例全て塩喪失型であり単純男性型にくらべ多いことが明らかになった。この結果、検査の緊急性を要することから特に休日前の検査体制と連絡方法がきわめて重要になった。今回も、症例2, 症例3の場合は、5月大型連休と週末にかさなったため連絡が必ずしもスムーズではなく、間違えば取り返しのつかないことになるところであった。宮城県では医師会、医療機関、専門治療機関、検査機関、行政の間の連絡を密にするため「先天性代謝異常検査事業連絡会議」を年一回開催し問題の解決にあつたている。5月の大型連休と年末年始の長期休暇の際に中間に必ず検査日を設けるべきであるということもこの会議で決定され実行されている。

参 考 文 献

- 1) 沖村容子, 山田久美子, 白石廣行: 「先天性副腎過形成症マススクリーニング」恩賜財団母子愛育会編, p.103-109(1990).
- 2) 沖村容子他: 宮城県保健環境センター年報8, 46(1990)

4. 平成2年度日本脳炎疫学調査

— 宮城県におけるコガタアカイエカの発生消長・と殺豚HI抗体の動向および住民の中和抗体保有状況 —

山本 仁 秋山 和夫 御代田恭子*
植木 洋

Surveillance of Japanese encephalitis (JE) has been continuously carried out since 1962.

In 1990, the seasonal prevalence of vector mosquito: *Culex tritaeniorhynchus*, the follow-up of JE-HI antibodies among slaughtered pigs and the detection of JE-NT antibodies in healthy residents were examined.

1. 序 文

日本国内でもかなり以前から、“よみがえる感染症の脅威”が語られる様になった。その中には、AIDSに代表される如き過去には全く知られていなかった感染症の登場、ツツガムシ病の如き古典的感染症の復活、コレラの如き輸入感染症の多発、カンピロバクター胃腸炎の如き人畜共通感染症（あるいは食品由来感染症）の頻発等々、多様なカテゴリーの感染症が含まれている。

日本脳炎に関しては、ここ数年間の国内発生数は確認患者が西日本を中心に30~40名程度と落ち着いている。また、宮城県内の水田稲作地帯を調査で訪れてみると、ほとんどの農家は網戸付きのアルミサッシュを備えた住居に変わっている。一方、全国各地でコガタアカイエカが有機リン系殺虫剤に対して高度の抵抗性を獲得し、発生個体数が増加していることに注意すべきだとの報告も行われているが、現在、国内では日本脳炎に復活傾向は全く認められず、それを危惧すべき兆候も知られていない。しかし、国内での患者発生を一定レベルにコントロールできている真の理由はまだ解明されておらず、当分の間ウイルスの活動状況を追跡しておくことが重要と考えられる。

2. コガタアカイエカの発生消長

2.1 調査方法

日本脳炎ウイルスの主要な媒介者は、日本国内の場合には水田を発生源とするコガタアカイエカである。従来の調査と全く同様に、名取市下余田地区で農業を営むH氏宅をコガタアカイエカ発生消長定点とした。H氏宅では母屋に隣接する3棟の豚舎に約30頭の種豚を飼育しており、調査期間中にも次々と仔豚が誕生していた。

豚舎の東側は2車線の市道を挟んで広い水田に面しており、南側は畑と水田である。3棟のうち最南側豚舎の南に面した軒下約1.5mの位置にライトトラップ（ノザワ式NH-5型捕虫器、NEC社製BL-6Wブラック

ライト1灯使用）を1基設置し、原則として毎週火曜日と木曜日の18時から翌朝6時まで運転した。

2.2 調査結果

2.2.1: ライトトラップによる蚊の採取は7月24日に開始し、9月24日に終了した。

2.2.2: この調査期間中に7月2回、8月10回、9月8回の合計20回蚊の採取を実施した。

2.2.3: 各調査毎に採取された蚊の個体数を種類別にまとめて表1に示した。また全調査期間を通しての種類別個体数を表2に示した。

2.2.4: 1990年名取市下余田地区でライトトラップにより観察したコガタアカイエカの発生消長を週毎の推移（各週2回採取の平均個体数）として図1に示した。

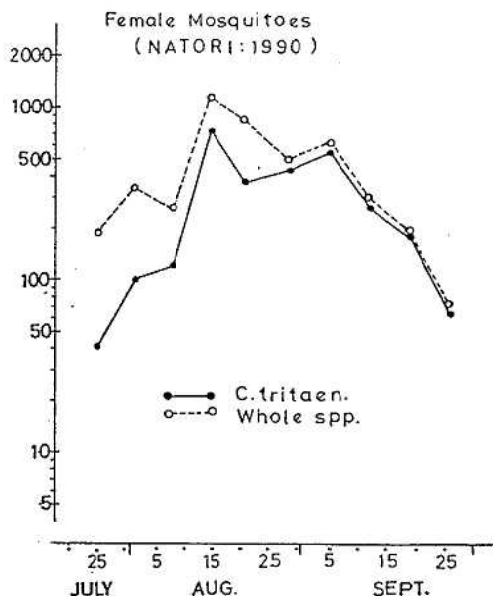


図1 名取地区における蚊の発生消長（ライトアップ）

* 現・宮城県仙北食肉衛生検査所

表2 Number of female mosquitoes (Natori, 1990)

<Species>	July (2)	Aug. (10)	Sept. (8)	Total (20)
Culex tritaen.	82	4,038	2,118	6,238
C. pipiens	39	247	112	398
Ae. vexans	0	9	7	16
An. sinensis	248	1,874	72	2,194
Others	0	4	1	5
<Total>	369	6,172	2,310	8,851

3. と殺豚におけるH I抗体の動向

3.1 調査方法

豚は日本脳炎ウイルスの感染に極めて敏感であり、感染すれば高い血中抗体が産生される。すなわち、抗体未保有の豚（生後6ヶ月以内の肥育豚）の集団を経時的に監視することにより、自然界での日本脳炎ウイルスの活動状況を把握できる。

従来と同様に、岩沼市営食肉処理場を調査定点とし、処理場周辺の市町村から搬入された生後6ヶ月程度の肥育豚から頸動脈血を採取し、無菌状態で自然分離して得られた血清を検体とした。

日本脳炎抗体は予研法に準拠してマイクロタイター法により測定した。すなわち、冷アセトンで前処理した血清を新鮮ガチョウ血球で吸収し、非特異的凝集素を除去した。さらに、40倍以上のH I抗体が検出された血清については所定の術式で2-ME（メルカプトエタノール）の処理を行い、H I抗体価が3管（8倍）以上低下したものを2-ME感受性抗体とした。

3.2 調査結果

3.2.1: と殺豚の日本脳炎H I抗体調査は7月23日に開始し、10月15日に終了した。

3.2.2: この調査期間中に7月1回、8月4回、9月4回、10月2回の合計11回検体採取を行い、のべ326件の血清を入手した。

3.2.3: と殺豚血中の日本脳炎H I抗体保有状況と2-ME感受性抗体の出現状況を調査日毎にまとめて図2に示した。図中ヒストグラムはH I抗体陽性例の中で2-ME感受性抗体の占める割合を示す。

4. 健康住民の中和抗体保有状況

4.1 調査方法

1990年度は県北大崎耕土の中央に位置する古川市（人口約60,000）を調査地区とし、宮城県内に継続して5年以上居住している健康な住民から採血し、自然分離で得られた血清を検体とした。

中和抗体の測定は予研法に準拠して実施した。すなわち、直径70mmのシャーレに10日令のニワトリ胎児細胞の単層培養を作成し、その上で被検血清と混合（中和）さ

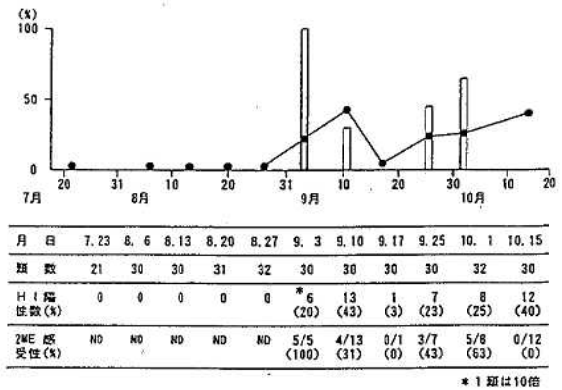


図2 平成2年度日本脳炎流行予測調査結果
(感染源調査, 岩沼市)

れたウイルスのブラックがコントロールに対してどの程度抑制されるか、いわゆるチャート法で50%抑制する血清の希釈濃度を算定した。

全ての測定を通して、抗原ウイルスは日本脳炎JaGA#01株を4日令の哺乳マウスに脳内接種し、発症マウス脳10%乳剤を遠心後、その上清を-70℃にストックし使用した。

4.2 調査結果

4.2.1: 1990年10月、表3に示す様に9年令群、合計181件の血清を採取し検体とした。

4.2.2: 同じく表3に各年令群の中和抗体分布状況を示した。

4.2.3: 中和抗体価 10^4 以上を抗体保有者と考へて各年令群別の中和抗体保有率をみると、10~14才群が11.8%で最も低く、60才以上の年令群でも64%であった。

5. 考察とまとめ

1990年のシーズン中に採取されたコガタアカイエカの総数は6,238匹で、前年のほぼ1/3にすぎなかった。図3、図4に仙台管区気象台で観測された気温、日照時間、降水量の状況を示したが、1990年は4月上旬から5月上旬および、6月下旬から7月下旬にかけて低温の時期が存在したこと、5月から9月上旬まで極度に降水量が少なかったこと等、コガタアカイエカの発生には不適な気象条件であったと考えられる。

このコガタアカイエカ発生個体数が抑制されたことがと殺豚の低いH I抗体保有率に反映されており、シーズンを通して最も高い抗体保有率は9月10日の43%であった。しかし、調査期間中に幾度か2-ME感受性抗体が検出され、豚の集団では日本脳炎ウイルスの新鮮感染が証明された。

表3 平成2年度日本脳炎流行予測調査結果（感受性調査，古川市）

年齢	件数	日本脳炎中和抗体価							陽性率(%)	
		<12	12~20	21~40	41~80	81~160	161~320	321~640		
総数	181	119	20	21	12	4	3	2	62/181	34.3
0~4	20	13		2(1)	1(1)	2(2)		2(1)	7/20	35.0
5~9	19	13(3)	2(2)	3(3)	1(1)				6/19	31.6
10~14	17	15	1(1)	1(1)					2/17	11.8
15~19	22	19	1(1)	2(2)					3/22	13.6
20~29	19	14	3	2					5/19	26.3
30~39	24	21	3						3/24	12.5
40~49	16	7	2	4	2		1		9/16	56.3
50~59	19	8	5(1)	2	3		1		11/19	57.9
60以上	25	9	3	5	5	2	1		16/25	64.0

() はワクチン接種者で再掲

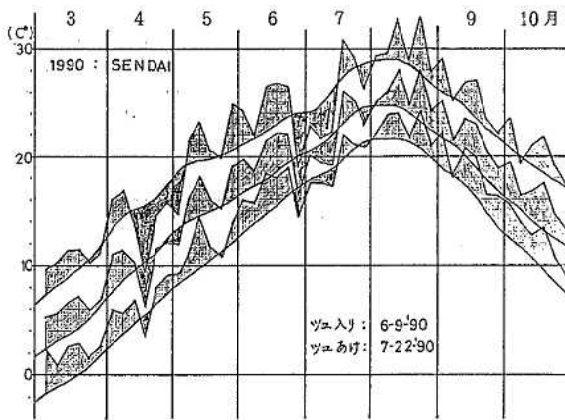


図3 半月気温偏差（仙台管区气象台）

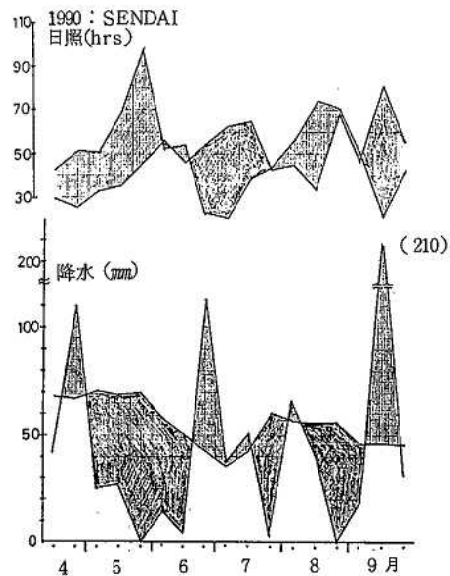


図4 日照時間と降水量（仙台管区气象台）

5. マイクロプレート法によるポリオ流行予測調査 (感染源) 結果

—1987~1990年までの成績から—

御代田恭子* 植木 洋 秋山 和夫
山本 仁

1. はじめに

我国におけるポリオは、1961年に生ワクチン接種を開始してから患者数が激減している。しかしながら、アジアにはまだポリオ常在地域があり依然として海外からの野生株侵入の恐れは残っている。

1962年から開始されたポリオ流行予測調査では、第一にワクチンの効果を知るための感受性調査、第二に自然界でのポリオウイルスの侵淫状況を把握するための感染源調査を実施している。宮城県では1962年よりポリオ感染源調査を継続して行なっている。

ウイルス分離は、従来試験管法で行なっていたが、手技の負担を少なくするため1987年からマイクロプレート法に変えて実施している。今回は1987年以降の調査結果について報告する。

2. 材料および方法

2.1 調査対象

検体は生ワクチン接種後2ヶ月以上経過した0~6歳の幼児から糞便を採取した。

1987年は南方町48件、気仙沼市33件、志津川町31件の計112件、1988年は塩釜市64件、小牛田町43件、松山町54件の計161件、1989年は鳴瀬町59件、角田市61件の計120件、1990年は若柳町64件、米山町60件の計124件、4年間の合計517件である。

2.2 ウイルス分離

ウイルス分離の操作手順は図1・図2のフローチャートに示した。

ウイルス分離に使用した培養細胞はHEF、HEp-2、LLC-MK₂、Ver_oの4種類である。但し1990年はLLC-MK₂の代わりにRD-18s細胞を使用した。

増殖培地はHEF、LLC-MK₂、Ver_o、RD-18sが10%FBSイーグルMEM、HEp-2には10%CS MEM、維持培地(MMC)としてはHEF、HEp-2、LLC-MK₂、RD-18sには2%無ガンマグロブリンFBS+MEM、Ver_oには5%MEM用ビタミン+トリプシン(2.5μg/ml)+MEMを用いた。

マイクロプレートは豊島製作所の96穴組織培養用マイクロプレート、継代用はFalconの24穴プレートを使用了。

96穴マイクロプレートは横に使い4種類の細胞懸濁液(1ml当たりの細胞数はそれぞれHEF:15万、HEp-2:5万、LLC-MK₂:5万、RD-18s:10万、Ver_o:5万である。)200μlを2列ずつ分注する。24穴プレートは同様に横に1列ずつ4種類の細胞懸濁液を1mlを分注して35℃5%CO₂下で3~5日培養する。

検体の前処理はMEM(ペニシリン500unit/ml、ストレプトマイシン500γ/mlを含む)液で約10%乳剤とする。3,000rpm15分遠心後、さらに10,000rpm10分遠心し、その上清を使用した。保存は-80℃で行なった。

単層となった細胞はプレートを逆さにして一気に培養液を捨てPBSを200μlずつ加えて洗浄し、再び逆さにして液を捨てる。さらに滅菌ペーパーの上にプレートをふせて余分な液と表面の液を除去する。

維持培地200μlを加えた後、プレートの縦1列(HHLVまたはHHRVの4種類×2穴=8穴を1検体分とする。)に25μlずつ検体を接種し35℃で20~30分吸着させる。次に、維持培地を吸引して捨てPBSを200μl加えて洗浄し、再び吸引して捨てる。維持培地を200μl分注して35℃5%CO₂下で培養した。

96穴プレートを毎日観察しCPEが進行して全体の7~8割まで拡がったら、ピペティングして細胞を剥がし培養液ごと(200μl/穴)同じ細胞の24穴プレートに継代する。継代プレートでCPEが拡がった時点で細胞ごとに集めて一度凍結融解を行ない、遠心した上清を分離ウイルス液とする。

2.3 中和試験

TCID₅₀の測定は分離ウイルス液を10倍段階希釈して96穴プレート(CPEが出現した細胞)に各希釈毎25μl接種しTCID₅₀を求めた。抗血清はデンカ生研のエンテロウイルス中和用混合抗血清A~Oの15種、単味抗血清コクサッキーB2型、B4型、B5型、エコー25型を用いた。トランスファープレートに20単位の抗血清25μlを分注し、それに混合抗血清の場合は300~500TCID₅₀、単独抗血清の場合は100TCID₅₀とした攻撃ウイルス25μl加えて混和、37℃、2時間中和させる。次に、準備した96穴プレート(MMC150μl)へ移して35℃5%CO₂下で培養し判定した。

* 現・宮城県仙北食肉衛生検査所

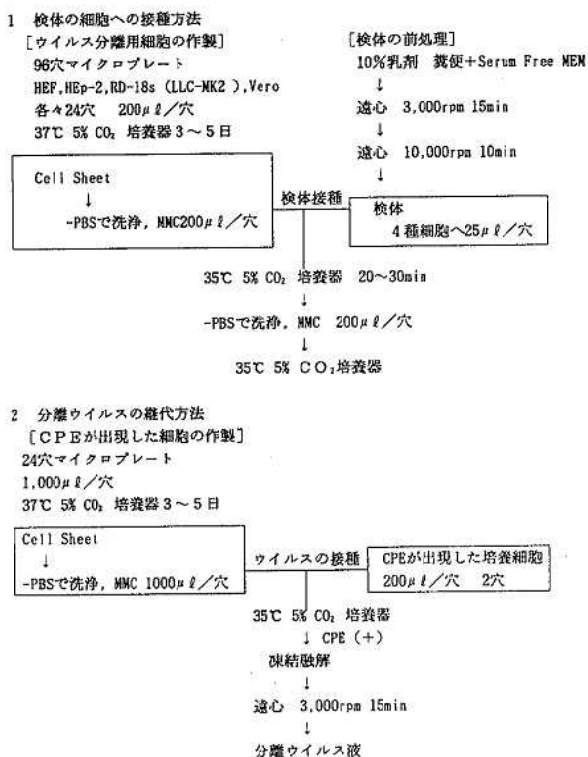


図1 ウイルス分離フローチャート

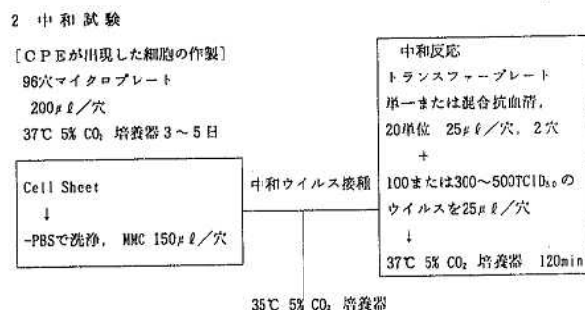
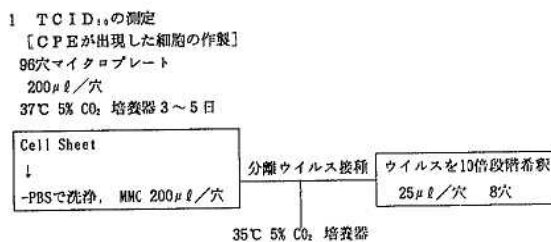


図2 ウイルス同定フローチャート

3. 結果

検査の結果は表1に示した。CPE因子がみられた細胞はHEF 1件, HEp-2 11件, Vero 12件, RD 6件であり, このうちHEp-2とVeroの2つの細胞にCPEがみられたのは4件あった。

同定の結果, 1987年は112件中7件, 1988年は161件中2件, 1989年は120件中9件, 1990年は124件中10件, 計28件からウイルスが分離された。しかし, 全て非ポリオウイルスであった。

1987年は南方町1件, 気仙沼市1件, 志津川町5件の計7件ともコクサッキーB5型, 1988年の塩釜市2件, 1989年の角田市1件および鳴瀬町の6件がコクサッキーB4型であった。鳴瀬町の2件は未同定であるが1件はCPEからアデノウイルスと推察される。1990年は若柳町の4件がコクサッキーB2型, 未同定が1件, また米山町の5件はエコー25型であった。

残り489件は2代まで継代したがCPE因子は検出されなかった。

4. 考察

ウイルス感染症が疑われる疾患やポリオ流行予測事業での感染源調査におけるウイルス分離は, これまで試験管法で1～2種類の細胞を使い実施してきた。

表1 エンテロウイルス検出状況

保健所	市町村	採取年月日	件数	分離ウイルス同定結果
登米 気仙沼	南方町	1987. 9/9～11, 10/8.9	48	1 CoxB5
	気仙沼市	" 9/23～25	33	1 CoxB5
	志津川町	" 10/11～14	31	5 CoxB5
塩釜 大森	塩釜市	198. 9/20～22	64	2 CoxB4
	小牛田町	" 9/21	43	0
	松山町	" 9/26	54	0
石巻 巻南	鳴瀬町	1989. 9/26	59	6 CoxB4 未同定 2
	角田市	" 9/21	61	1 CoxB4
栗原 登米	若柳町	1990. 9/15～19	64	4 CoxB2 未同定 1
	米山町	" 10/25. 11/1	60	5 Echo25
総数			517	28件 (未同定も含む)

1987年からは, 沼崎¹⁾²⁾等が開発したマイクロプレートによるウイルス分離法を応用して行なっている。この方法によると, 1枚のプレートに1材料を4種類の細胞で培養することにより, ポリオウイルス以外のエンテロウイルスも分離可能となった。また, 細胞の洗浄や培地交換に要する時間や労力のロスが少なくなるという利点があった。欠点としては初代でCPE因子が検出された場合, ウイルス液が200μℓと少ないため, 直に中和試験へは進むことができなかった。しかし, 24穴のプレートを利用することによって解決できた。またプレート内

での交差汚染が僅かにあるが再検査により補うことができた。

1987年からのポリオ流行予測調査における全国的なウイルス分離状況^{3) 4) 5)}を見ると、1987年はコクサッキーA、B群が全体の65%であり、中でもB 3、4、5型が多く分離されていた。1988年はエコーウイルスが全体の62%で18、21型が多く、コクサッキーウイルス群ではB 2型の分離率が高かった。1989年はコクサッキーA、B群が59%でB 2、4、5型が主流であった。(1990年については、まだ全国集計が終わっていない。)

以上のことから、コクサッキーウイルス群については毎年全国的に型は異なるが分離されている。県内の過去4年間の成績も同様であり、全国的な流れの中にあったと考えられる。

1989年に実施した鳴瀬町では、約14%の分離率であった。これは、同一保育園の幼児より検体を採取しており、当時、施設内で小規模なカゼ様症状等の流行があったことを確認している。

5. ま と め

- 1) 伝染病流行予測事業のポリオ感染源調査にマイクロプレートによるウイルス分離法を取り入れたことにより、時間と労力を省力化できた。又、ポリオウイルス以外のエンテロウイルスの分離も効率的に行うことができた。
- 2) 過去4年間のウイルス分離結果は全国的な状況と良く一致していた。

参 考 文 献

- 1) 沼崎義夫，臨床とウイルス，15，475-481，1987。
- 2) 近江彰他，検査と技術，16，445-449，1988。
- 3) 厚生省保健医療局結核・感染症対策室，伝染病流行予測調査報告書，1988。
- 4) 厚生省保健医療局結核・感染症対策室，伝染病流行予測調査報告書，1989。
- 5) 厚生省保健医療局結核・感染症対策室，伝染病流行予測調査報告書，1990。

6. 果物中の残留農薬について

佐藤 郁子 鈴木 滋* 菊地 秀明
高槻 圭悟 菊池 格

宮城県産の果物については、食品衛生法に基づいて定期的に有機リン系、塩素系農薬の残留検査を行っているが、近年、この基準に定められていない農薬が検出されている。

今までに検出された農薬について実態調査を行ったので、報告する。

1. はじめに

宮城県産の農薬については、イチゴ、メロン、ナシ、リンゴの4種類について有機リン系農薬、有機塩素系農薬の残留検査を行っている。また、ナシについては昭和63年よりカーバメイト系殺虫剤であるNAC（カルバリル）の検査を行っている。

有機リン系農薬はナシ、リンゴでMEP、クロルピリホス、ダイアジノンなどの残留がみられる。塩素系農薬は、メロンでディルドリンが検出されることがあるものの、BHC、DDTなどはほとんど検出されない。

しかしながら、近年これら以外の農薬が検出されている。これらは食品衛生法で基準がないものもあり、その残留実態も明らかではない。

今までに検出された農薬のうち、エンドスルファン、CPCBS、NAC、ジコホルの残留について実態調査を行ったので、報告する。

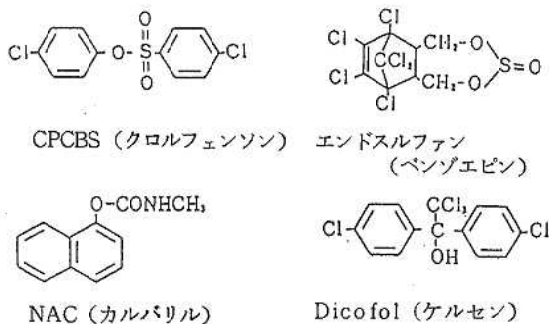


図1 農薬の構造

2. 実験方法

2.1 試料

イチゴ、メロン、ナシ、リンゴ：宮城県内の生産者から購入、試料とした。

2.2 試薬及び標準品

ケルセン (Dicofol), NAC：和光純薬工業 (株) 残留農薬試験用。

無水ヘプタフルオル酪酸 (HFBA)：和光純薬工業 (株) GC (ECD) 分析用。

Sep-pakフロリジル：Waters。

その他の試薬及び標準品は既報¹⁾に準じた。

2.3 装置

ガスクロマトグラフ (GC)：島津製作所製 GC-4 CMPFE (FPD-P, S検出器, ⁶³Ni電子捕獲型検出器付)。

ヒューレット・パッカード社製 HP 5890, ⁶³Ni電子捕獲型検出器。

ガスクロマトグラフ, 質量分析計 (GC/MS)：ヒューレット・パッカード社製 HP 5890, 日本電子社製 JMS-D300型質量分析装置。

ヒューレット・パッカード社製 HP 5890A, 同社製 HP 5970B。

2.4 GC及びGC/MS条件

(1) エンドスルファン

GC：既報¹⁾に準じた。

GC/MS (SIM)：カラムHP-1, 0.2mmφ×12m, カラム温度100℃, 2分³⁰℃/分¹⁵→180℃¹⁰℃/分¹⁵→220℃, 注入口温度270℃。

(2) CPCBS

GC：既報²⁾に準じた。

GC/MS (SIM)：エンドスルファンと同一条件。

(3) ジコホル

GC：カラムDB-5, 0.53mmφ×30m, カラム温度220℃, 注入口温度280℃, 検出器温度280℃。

GC/MS (SIM)：エンドスルファンと同一条件。

(4) NAC

GC：カラムDB-5, 0.53mmφ×30m, カラム温度160℃¹⁰℃/分¹⁵→280℃, 注入口温度280℃, 検出器温度280℃。

GC/MS (SIM)：カラムDB-5, 0.53mmφ×15m, カラム温度220℃, 2分⁴⁰℃/分¹⁵→250℃, 5分。イオン化電流300μA。

2.5 分析操作

2.5.1 エンドスルファン, ジコホルの分析法
既報¹⁾に準じ, α-エンドスルファンの試験溶液と, ジコホルの試験溶液とを同一とする。

2.5.2 CPCBSの分析法

* 現・宮城県立名取病院

既報²⁾に準じた。

2.5.3 NACの分析法

外海らの方法³⁾を参考にした。抽出法は図2に示したとおり、均一化した試料よりアセトニトリルで抽出し、ジクロロメタンに再抽出して濃縮、Sep-Pakフロリジルに吸着させて5%エーテル/n-ヘキサンで洗浄し、エーテルで溶出させた。

溶出液を減圧乾固した後、酢酸エチルに溶解した。

昭和63年度、平成元年度は図3に示したとおり、酢酸

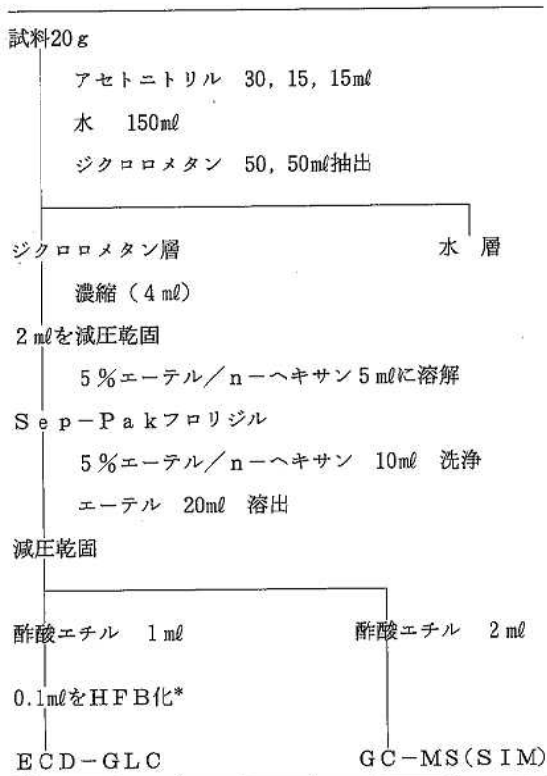


図2 NACの分析法

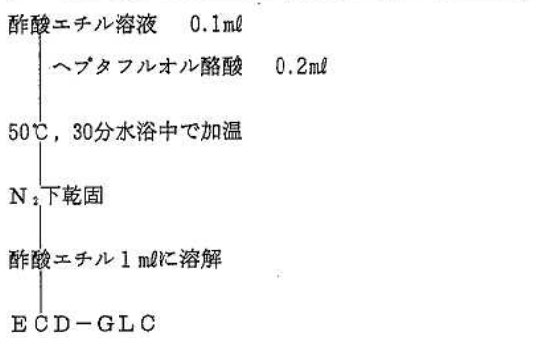


図3 ヘプタフルオル酪酸による誘導体化

エチル溶液にヘプタフルオル酪酸を加え、50℃の水浴中で30分加温した後(HFB誘導体化)、窒素気流下で蒸発乾固して酢酸エチルに再溶解し、ECD-GLCで定量を行った。平成2年度は酢酸エチル溶液をGC/MS(SIM)により定量した。

3. 結果及び考察

果物4種類で検出された農薬の検査結果を表1に示した。

CPCBSは昭和61年度にイチゴで検出され²⁾、ナジでも2件検出されている。62, 63年度は検査を行っていないが、平成元年度、2年度ではナジで検出されている。

NACはカーバメート系殺虫剤で稲、野菜、果樹に使用されるほか、松食い虫の空中散布薬剤、家庭用殺虫剤としても使用されている。食品衛生法に基づく残留基準は米、かき、夏みかん、日本なしで1.0ppmとなっている。残留検査はナジのみを行っているが、毎年検出されている。平成2年度は検出件数も7件と多く、濃度も高めであった。

農作物病害虫防除基準⁴⁾では、NAC水和剤は、ナジには1200倍希釈溶液を収穫14日前まで4回以内散布となっており、他の農薬と比較して遅くまで散布しているため、残留値も高くなっているものと思われた。

エンドスルファンは平成元年度のイチゴから検出されており¹⁾、2年度はイチゴで3件、ナジで1件検出された。イチゴでは2年度に登録保留基準(α体、β体、スルフェートの合計が0.5ppm)を越えたものが1件あった。越えた検体については、α体が0.512ppm、β体が0.167ppm、スルフェート0.005ppmであり、α体とβ体の割合が3:1と農薬製剤中の割合と等しいことから環境中に残留していたものではなく、実際に散布されているものと考えられる。

ジコホルは有機塩素系殺ダニ剤で野菜、果樹、茶のハダニに使用されている。残留基準はいちご、日本なしで3.0ppm、登録保留基準はなつみかんを除く果実で3.0ppm、野菜で2.0ppmである。平成元年度のナジから検出された。同じ殺ダニ剤であるCPCBSも検出されているが、同一検体から両方が検出されることはなかった。2年度には濃度は低めであったが、ナジ2検体から検出された。

東京都⁵⁾、北海道⁶⁾⁷⁾ではイチゴ、ブドウ等からジコホルが検出されたとの報告があったが、今回の調査では検出されなかった。

4. まとめ

宮城県産の果物について平成元年度、2年度の検体について残留農薬の実態調査を行った。検出された農薬は殺ダニ剤(CPCBS、ジコホル)、殺虫剤(エンドスルファン、NAC)であった。

(1) CPCBS、ジコホルはイチゴ、ナジから検出された。

表1 果物中残留農薬の検出結果

単位: ppm

年 度	品 目	検体数	検 出 件 数	CPCBS	NAC	エンドスルファン*	ケルセン
昭和61	イチゴ	10	1	0.53			
	ナシ	10	2	0.90, 0.56			
63	ナシ	10	5		0.16, 0.02 0.04, 0.19 0.08		
	イチゴ	10	4			0.068, 0.074 0.082, 0.075	
平成1	ナシ	10	5	0.11, 0.09 0.20	0.006, 0.011 0.019		1.6, 0.4
	イチゴ	10	3			0.684, 0.117 0.009	
2	ナシ	10	7	0.37, 0.05 0.18	0.194, 0.031 0.182, 0.117 0.250, 0.107 0.105	0.011	0.064, 0.006

*α体, β体, Sulfate の合計

(2) エンドスルファンは元年度, 2年度ともにイチゴから検出されており, 2年度には農薬登録保留基準を越えたものが1件検出された。

(3) NACは昭和63年度からナシのみで検査を行っているが, 毎年検出されている。

今回の調査では殺虫剤, 殺ダニ剤のみであったが, 殺菌剤であるPCNB(キントゼン)⁸⁾, TPN(クロロタロニル)なども検出されていることから, 今後も広範な調査が必要であると思われる。

参 考 文 献

- 1) 佐藤郁子他: 宮城県保健環境センター年報 8, 71 (1990)
- 2) 百川和子他: 宮城県保健環境センター年報 5, 66 (1987)
- 3) 外海泰秀他: 衛生化学 33, 206(1987)
- 4) 宮城県農作物病害虫防除基準 平成元年度版
- 5) 永山敏廣他: 東京衛研年報 37, 173(1986)
- 6) 堀 義宏他: 道衛研所報 36, 50(1986)
- 7) 佐藤正幸他: 道衛研所報 38, 31(1988)
- 8) 鈴木 滋: 宮城県保健環境センター年報 4, 69 (1986)

7. 食品汚染物摂取量調査(V)

— 1990 —

白取 博志 佐藤 郁子 石川 潔
高槻 圭悟 鬼頭 孝之 菊池 格
鈴木 滋*

1. はじめに

環境汚染物による人体への影響を評価するとき、直接人体に摂取される日常食品中の汚染実態の把握が問題となる。本調査は厚生省汚染物研究班が採用したマーケットバスケット方式により14の食品群においてそれぞれの群の汚染物含量を実測し一日当たりの汚染物摂取量を求める方法であり、本県における食品汚染物摂取量の実態を13年間にわたり継続調査してきた。この方式は国際的に慣用化されている方法の一つで、最新の国民栄養調査による食品分類に準じて分類し分別量を決定している。本調査の主な目的は県民の環境汚染物質の摂取量を把握することはもちろん、食品衛生法で残留基準が定められている農薬等の汚染物のモニタリング法としての効果も期待できることである。

1978年に始まったこの食品汚染物摂取量調査が1990年をもって一応終結することとなった。それらの結果は昭和55年度宮城県衛生研究所年報、昭和58, 61, そして平成元年宮城県保健環境センター年報に(I)~(N)として既に報告してあるが、1990年分をつけ加えて13年間のまとめとしたものである。

2. 方法

2.1 試料の収集と分別方法

試料の調整はマーケットバスケット方式によって行った。すなわち、表-1のように国民栄養調査における食品分類(全食品を89食品種、約800品目に分類)に準じて全ての食品を14群に分類する。各食品の分別量は各調査時期における最新の国民栄養調査の結果を採用した。購入量は1食品当たりおおよそ1,000g程度とした。

2.2 調理方法

各食品の調理方式は一般的な方法に従い洗浄、細切後調理し食品群毎に1群当たり約1~2kgになるように分別し、必要に応じて水を加えて混合した。

2.3 分析項目、分析方法

詳細については宮城県保健環境センター年報(I)¹⁾~(N)⁴⁾を参照されたい。

3. 結果と考察

1990年度の調査結果を表1.2.に示した。全般的に例年と同じレベルの摂取量であったが、有機燐系農薬である

MEPは4.5 μ gと高い摂取量となった。原因食品の追求によってⅦ群のしゅんぎくから0.695ppmと高濃度のMEPが検出され、GC-MSで確認された。

1978年から1990年までの摂取量推移を図1.2.に示した。

3.1 重金属

(1) Asの摂取量は68-289 μ g(平均175 μ g)でありⅢ群、X群の寄与率が高い。Ⅶ群では海藻類が、X群ではAs含有量の高い魚介類(かれい、ひらめ、えび等)が主な汚染源である。

(2) Hgの摂取量は7-26 μ g(平均11 μ g)でX群が主な汚染源となっているが、1978, 1980年はI群の米が主汚染源であった。それ以降は米の寄与率が少なく原因は不明である。

(3) Pbは1980年に130 μ gに130 μ gと高い摂取量を示したがI群の米に由来するものであった。それ以外は平均18 μ g(7-39 μ g)の摂取量で安定した推移を示している。

(4) Cdの摂取量は22-80 μ g(平均43 μ g)であったが、1982, 1986年はI群の米が高い値を示した。

(5) Cuは1180-1450 μ g(平均1370 μ g)と安定した推移を示した。I群の米が主とした供給源となっている。

(6) Znは8100-10000 μ g(平均82400 μ g)の範囲であった。1/3は米に由来していた。

(7) Mnは3600-5240 μ g(平均4330 μ g)であり米の寄与率が高い。

As, Hg, Pb, Cdの比較的毒性が強いと考えられている重金属の摂取量は年度によって変動はみられたいずれにせよADIよりかなり低い値であった。又、Cu, Zn, Mnについても変動はみられるものの一般的な摂取量であると考えられる。

3.2 有機塩素系・燐系農薬

BHC, DDT, PCB, Chlordaneは漸減の傾向にあるが年度により高い値が見られ、X群からの摂取が大部分であった。原因食品の追求により特定の汚染魚が判明している。ADIに較べ低いレベルではあるがときには高度に汚染された魚介類が現時点でも見いだされることが明らかとなった。

HCB, Drin, Heptachlorepoxideも変動はあるとは云え低いレベルで摂取されており、食品群も野菜類、魚介類、肉類と幅広い食品が原因となっている。

有機燐系農薬ではMalathionが毎年主としてII群から検出され輸入食品にポストハーベストとして使用されたものと考えられた。MEPもほとんど毎年検出されるが

* 現・宮城県立名取病院

表-1 食品群分類と一日摂取量 (1990年)

食品群	食品種	食品名	一日摂取量g
I	米	精白米, ビーフン	220.4
II	穀類	大麦, 小麦粉, コッペパン, ジャムパン, 中華生そば, そろめん, 即席めん, そば, カシユ, ぎつまいも, じゃがいも, ながいも, しらたき, はるさめ	145.7
III	砂糖	砂糖, ぶどうジャム, あめ玉, かりんとう, ビスケッット, かりんとう, だら焼き, チョコレート	33.5
IV	油脂類	バター, マーガリン, サラダ油, 肝油, ドレッシング	4.9
V	豆類	味噌, 豆腐, かんもどき, おから, ころり豆腐, あずき	84.1
VI	果実類	ダレープフルーツ, りんご, パナナ, いちご, すいか, さくらんぼ, メロン, りんごジュース	144.4
VII	緑色野菜	にんじん, はうれん草, ビーマン, トマト, ブロッコリー, かぼちゃ, しゆんぎく	69.4
VIII	白色野菜	人参, たまねぎ, きゃべつ, きゅうり, 白菜, アスパラガス, なす, ごぼう, のぎわな, たくあん, えのきたけ, とろろこんぶ, のり, かんてん	223
IX	嗜好飲料	しょうゆ, トマトケチャップ, 食塩, そばつゆ, 七味, しょうゆ, 日本酒, ビール, 焼酎, コーラ, コーヒー, ココア, 日本茶	118
X	魚介類	まぐろ, かつお, 銀たら, かれい, 丸干いわし, 七まさば, 銀ざけ, うなぎ白焼, 開きます, 開きはつけ, いか, たこ, あさり, なたて, 塩さけ, 甘塩さば, さんまみりんぼし, カツオフレーク, しらす煮, なるたまき, ぎつまいも, 魚肉ソーセージ	115.6
XI	獣, 鳥, 卵	牛肉, 豚肉, 鶏肉, 鰯肉, ラム, ベーコン, 鶏卵	104.3
XII	卵類	牛乳, チーズ, 生クリーム	126.5
XIII	加工食品	酢, みりん, カレールー, スープの素, ハンバーグ, スパゲッティソース	5.4
XIV	飲料水		2,000

表-2 平成3年度 群別分析結果及び一日摂取量 (1990)

	(単位: µg)													Total	
	I 群	II 群	III 群	IV 群	V 群	VI 群	VII 群	VIII 群	IX 群	X 群	XI 群	XII 群	XIII 群		XIV 群
Hg	0.44	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.06	0.20	0.00	11.50	1.50	0.00	0.01	0.00	14
As	13	1	0	0	2	0	0	51	1	51	1	0	0	0	120
Pb	0.00	0.00	0.00	0.00	1.90	0.01	0.52	2.60	3.60	0.50	1.72	1.50	0.15	0.00	14
Cd	20.40	1.80	1.38	0.00	2.30	0.14	1.90	5.70	0.60	2.20	0.10	0.00	0.06	0.00	37
Zn	2,512	534	189	22	764	90	247	666	386	1,682	1,063	171	23	30	8,379
Cu	483	135	52	0	173	72	37	122	43	109	39	5	3	1	1,274
Mn	1,959	284	99	15	330	64	151	390	713	51	15	3	11	1	4,085
Total-BHC	0.000	0.000	0.050	0.000	0.011	0.000	0.039	0.000	0.000	0.134	0.000	0.013	0.007	0.000	0.254
Total-DDT	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.052	0.000	0.000	3.094	0.182	0.025	0.007	0.000	3.873
T-Drin	0.000	0.000	0.000	0.022	0.000	0.039	0.061	0.000	0.093	0.019	0.013	0.000	0.000	0.000	0.247
Heptachloropoxide	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.122	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.122
HCB	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.025	0.000	0.000	0.062
PCB	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.234	0.383	0.000	0.000	0.000	1.617
T-Chlordane	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.216	0.000	0.000	0.000	0.000	0.216
MEP	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	45.106	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	45.106
Malathion	0.000	0.458	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500
DBT (2CI)								0.000		0.000					0.000
TBTO								0.000		2.056					2.056
TPT (CI)								0.000		1.139					1.439

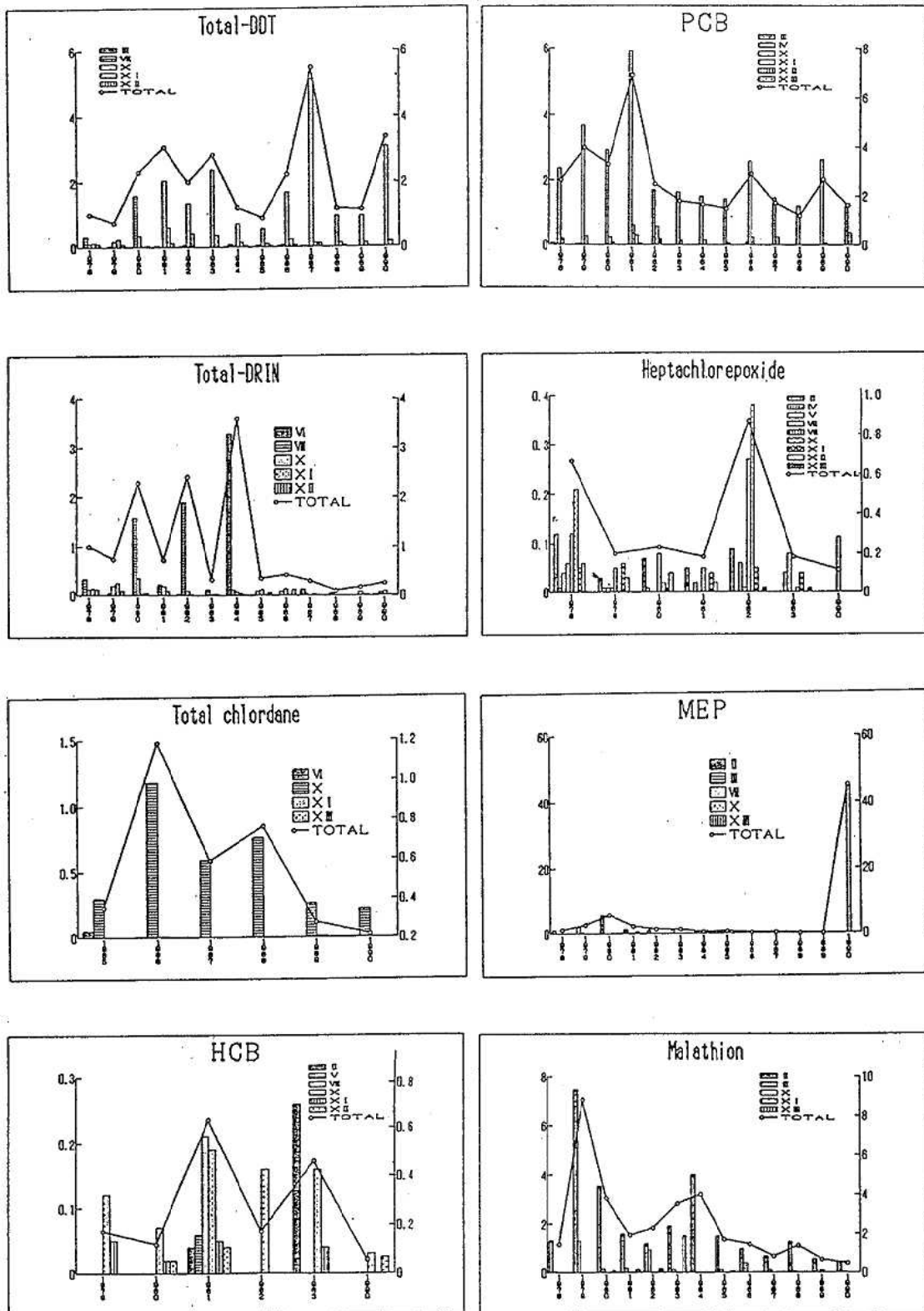


図1 摂取量の推移

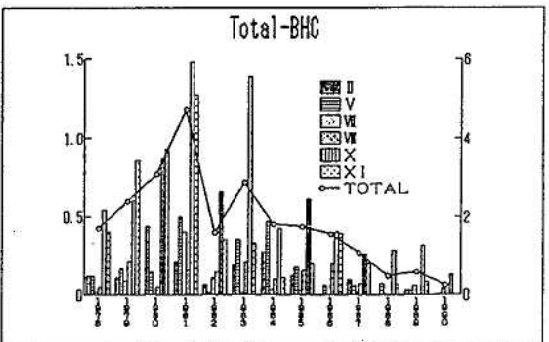
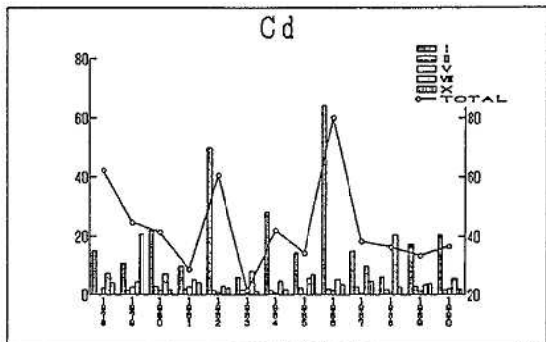
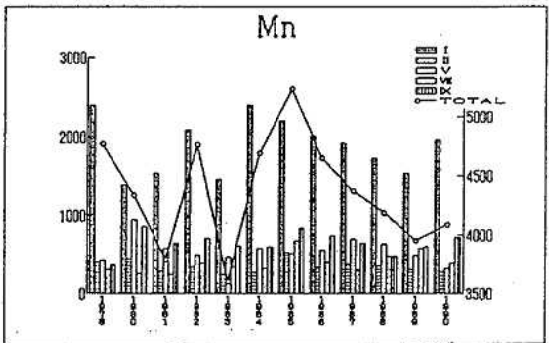
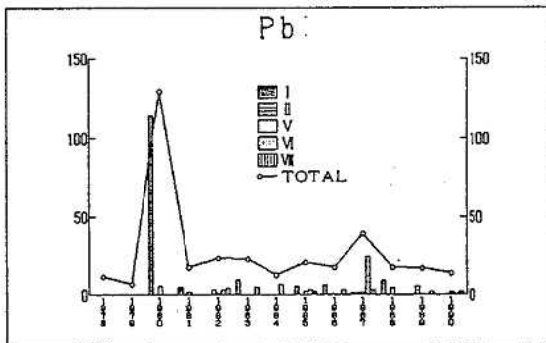
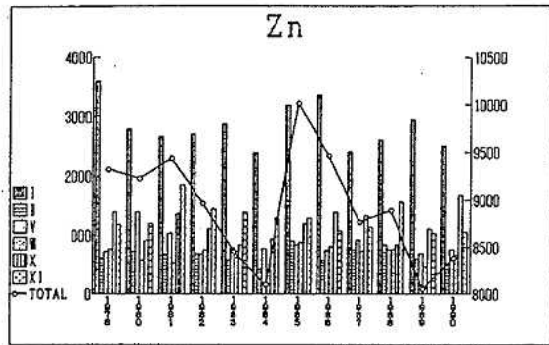
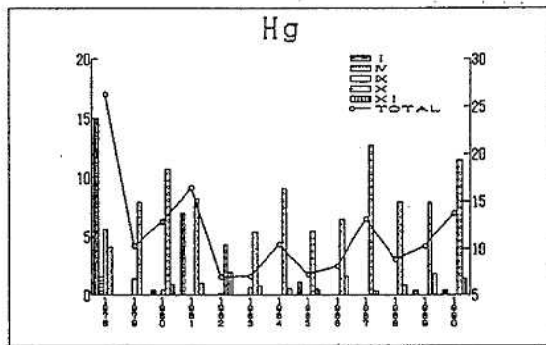
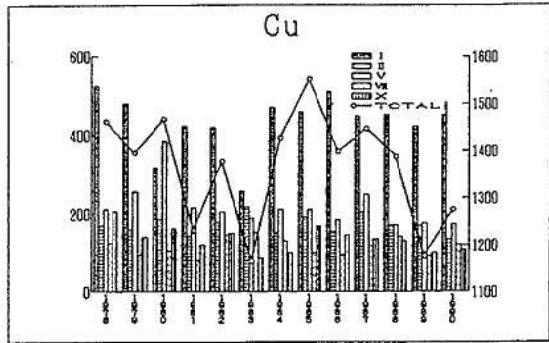
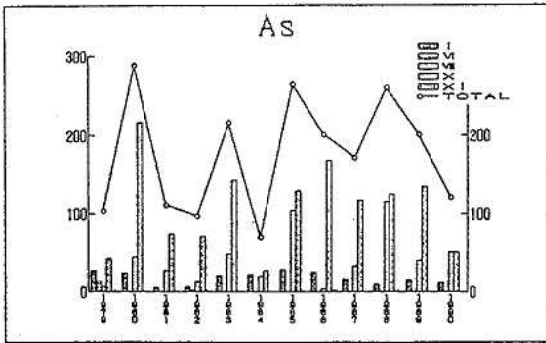


図2 摂取量の推移

1990年にはⅦ群が45 μ gという例年になく高い値となった。原因食品は春菊であり食品衛生法の残留基準値0.2ppmを超えていた。また1981年にはⅩ群の魚介類からMEPが検出されシジミが原因食品であると判明した。このシジミからIBP (0.377ppm), Chlorpyrifos (0.207ppm) Diazinon (0.034ppm) が検出されたことは注目される。Ⅶ群からはDaiazinon (1983年 4.7 μ g), EPN (1983年 0.96 μ g) が検出され、原因食品はDaiazinonがセロリーとほうれん草, EPNはピーマンであった。この他, Ardrin, PCN, NIP, Parathion, MPP, PAP, Prothiofos, Ethylthiometon, Salithion等を分析対象とした年度もあったがいずれも検出限界以下の値であった。

3.3 全国平均との比較

表3に全国の汚染物摂取年次推移を示した。単純平均値として示してあるが変動を考慮すると宮城県の平均値はおおむね全国平均と同じレベルであると考えられる。また, ADIと比較して見ても全国, 宮城県ともに低い摂取レベルであることが本調査によって明らかとなった。

4. おわりに

国際化が進みポストハーベストなど新たな汚染物質が社会問題化している時、汚染物質モニタリングとしても理想的な方法である本調査を終えることとなった。本調査に携わった多くの人々が汚染原因食品の究明、分析法の検討そして未知物質の同定に努力を傾けてきた。それらの成果は当センター理化学部の分析技術の向上に多大な貢献をしてきたものと確信する。

このような調査の機会を与えて頂いた国立衛生試験所そして宮城県保健環境部の関係各位に深謝いたします。

参考文献

- 1) 佐藤信俊他：宮城県衛生研究所年報, 56, 64 (1981)
- 2) 菊地秀明他：宮城県保健環境センター年報, 2, 93 (1984)
- 3) 鈴木 滋他：宮城県保健環境センター年報, 5, 80 (1987)
- 4) 鈴木 滋他：宮城県保健環境センター年報, 8, 84 (1990)

表-3 汚染物摂取年次推移 (全国)

単位: μ g/man/day

YEAR	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	全国	宮城県	ADI
機関数	8	10	9	11	12	10	12	10	9	9	11	10	11	平均	平均	(μ g/50kg)
Total BHC	1.9	2.3	2.0	2.9	1.8	2.6	2.1	1.2	0.9	0.7	0.9	0.6	0.4	1.6	1.8	500
Total DDT	4.1	3.9	2.8	3.4	3.5	1.8	1.8	1.5	1.2	1.7	1.3	1.3	1.1	2.3	2.1	250
Total Drin	0.54	0.66	0.81	0.56	0.51	0.37	0.79	0.34	0.61	0.20	0.18	0.12	0.17	0.45	1.0	5
Hep.Epoxide	0.11	0.13	0.10	0.19	0.22	0.27	0.14	0.13	0.16	0.08	0.25	0.10	0.03	0.15	0.4	25
HCB	0.23	0.35	0.13	0.15	0.10	0.15	0.16	0.23	0.10	0.07	0.10	0.08	0.05	0.15	0.3	30
PCB	3.3	3.1	2.3	3.1	2.3	2.6	2.5	2.6	1.8	2.0	2.7	1.8	2.2	2.5	2.6	250
Malathion	1	2	1	1	2	1	3	1	1	1	1	0	0	1.0	2.5	1000
MEP	0	0	1	1	3	1	1	1	0	1	0	0	4	1.0	4.7	250
Diazinon	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	10	0	0	0.7	0.0	100
Pb	100	82	72	54	48	71	59	48	45	48	85	42	42	61	27	330
Cd	46	46	35	31	32	29	42	32	35	27	29	28	26	34	43	
Hg	15	9	8	8	7	8	9	9	10	11	9	10	8	9	11	33
As	280	170	280	170	150	160	120	220	170	220	160	230	200	195	175	2500
Cu		1500	1500	1300	1300	1500	1200	1300	1200	1200	1700	1300	1200	1350	1370	
Mn		3800	4000	4000	4300	3700	3800	4600	4200	3900	4000	3800	3700	3980	4330	
Zn		8600	9100	8700	9200	9700	9300	9200	9100	9100	8500	8400	8700	8970	8240	

8. FPD-GLCによる食品中有機スズ化合物の分析法

鈴木 滋* 菊池 格

近年環境汚染で大きな社会問題となったジブチルスズ (DBT) 化合物, トリブチルスズ (TBT) 化合物, トリフェニルスズ (TPT) 化合物のFPDのスズフィルター(λ_{\max} .611.7nm)を用いたGLCによる分析法の基礎的条件を検討した。

誘導体法として還元法及びエチル化について検討したが, GLC上はエチル化物の方がやや感度が高い傾向を示し, また還元物はGLCが充分に安定しないと, 全く感度を示さないか, 検量線が直線にならないこと等があり, エチル化法が優れていることが判明した。

またDBT塩素化合物はn-ヘキサンを用いると抽出率が下がり, 同溶液のまま無水硫酸ナトリウムで脱水すると脱水剤に吸着することが判明した。

1. はじめに

トリブチルスズ (TBT) 化合物, トリフェニルスズ (TPT) 化合物は殺菌, 防汚等の作用を有することから魚網や船底に藻や貝などが付着するのを防ぐ防汚剤として使用されていた。またジブチルスズ (DBT) 化合物は主として塩化ビニルの安定剤として用いられている。これらの有機スズ化合物のうち特にTBT, TPT化合物は広く海洋を汚染し, その魚貝類汚染が大きな社会問題となった。

これらの有機スズ化合物の分析法には1) 塩化物にした後ECD-GLCで分析する¹⁾。2) 還元物としてFPD-GLCで分析する²⁾。3) アルキル化した後FPD-GLCで分析する³⁾。4) HPLCで分析する⁴⁾。等種々の方法が報告されている。当センターでは従来は1)のECD-GLC法が中心であったが⁵⁾この方法は①クリーンアップを厳密にする必要がある。②GLCでは特殊なカラム (Thermon-Hg等) を使用したり, 或は塩酸を同時注入することが必要。③当センターのGC/MS (キャピラリーカラム使用) では確認出来ない, 等の欠点があった。

またHPLCを用いる方法は①感度が低い。②確定的な定性の手段がない。等に理由により現在はあまり使われていない。

一方FPD-GLCを用いる方法は①簡単な精製でも分析が可能である。②キャピラリー使用のGC/MSでも確認が可能である。という点で優れており, 現在これら有機スズ化合物の分析はFPD-GLC法が主流になりつつあり, 当センターでもスズ分析用の専用フィルター(λ_{\max} .611.7nm)を購入しその分析条件を検討してみた。

有機スズ化合物の誘導体法としてはグリニヤール試薬を使ったアルキル化法, 特にエチル化法の報告が多いことから, 今回はDBT, TBT, TPTのエチル化物

について検討した。しかしアルキル化法は操作がやや煩雑になるため, 今回はより操作の簡便な還元法も併せて検討したのでその結果を以下報告する。

2. 方法

2.1 試薬及び標準品

DBT塩素化合物, TBT塩素化合物, TPT塩素化合物: 東京化成工業株式会社製

塩酸: 和光純薬工業株式会社製精密分析用

フロリジル: 和光純薬工業株式会社製60~100mesh

無水硫酸ナトリウム: 和光純薬工業株式会社製残留農薬分析用

n-ヘキサン, エタノール, CH_2Cl_2 , ジエチルエーテル, アセトニトリル: 和光純薬工業株式会社製残留農薬分析用

水素化ホウ素ナトリウム: 和光純薬工業株式会社製試薬特級

エチルマグネシウムブロミド(3mol/l, エーテル溶液): 東京化成工業株式会社製

2.2 装置, 条件

ガスクロマトグラフ: 株式会社島津製作所製GC-4CMPFE, 炎光光度検出器 (FPD) 付

2.3 ガスクロマトグラフ条件

10%OV-1, 3mm ϕ × 50cm, 注入口温度280° カラム温度: 110° (DBTH), 150° (DBTEt, TBTH, TBTEt), 210° (TPTH, TPTEt)

2.4 試料の調整

試料10gにアセトニトリル30mlを加えホモナイザーで均一化した後1N塩酸10mlを加え振とう抽出する。アセトニトリル層を遠心分離後, 残渣をさらにアセトニトリル15mlで2回振とう抽出する。アセトニトリル層を併せ, 水150ml, 硫酸ナトリウム3gを加え CH_2Cl_2 50mlで2回再抽出する。 CH_2Cl_2 層を併せエバポレーターで濃縮した後Ishizakaらの方法⁶⁾に準じフロリジルカラム (フロリジル3gの上に無水硫酸ナトリウム3gを積層したもの) に付す。カラムを40mlのエー

* 現・宮城県立名取病院

テルで洗浄した後、酢酸：エーテル（1：99）40mlで目的成分を溶出させ、1mlに濃縮し試料液とする。

2.5 還元化法

試料のエタノール溶液（1ml）に水素化ホウ素ナトリウム粉末を少量加え十分に攪拌する。終了後、水3ml、n-ヘキサン1mlを加え攪拌した後、n-ヘキサン層をGLCに注入する。

2.6 エチル化法

Ishizaka⁹⁾らの方法に準じおこなった。試料のエーテル溶液2mlにエチルマグネシウムブロミド（3mol/l エーテル溶液）2mlを加え室温で30分放置する。終了後2mlのエーテルを加えた後氷冷下、水10mlを滴下する。発泡終了後、亜硫酸ソーダ0.2g、濃硫酸2mlを加え激しく攪拌した後、n-ヘキサン5mlで2回抽出する。n-ヘキサン層をエバポレーターで濃縮後定容した後GLCに注入する。

3. 結果及び考察

3.1 抽出条件の検討

従来TBT分析の際、当センターでは塩酸/アセトニトリル抽出液から再抽出する場合n-ヘキサンをを用いていた⁵⁾。今回もまず試料として銀ざけを用いn-ヘキサン再抽出法、還元化法により添加回収実験を行ったところDBT・78.5%、TBT・84.1%、TPT・85.0%（n=4）とほぼ満足のいく結果が得られた。（添加量10μg）

次に試料を油分の少ないメロンに変え、同様の回収実験を行ったところ、TBT、TPTはそれぞれ84、94%と満足する値を得たがDBTは24%とかなり低い回収率となった。その理由を種々検討したところ次の2点が原因であることが判明した。1) 塩酸/アセトニトリル抽出液から再抽出する場合n-ヘキサンをを用いるとDBT塩素化物の回収率が下がる。2) n-ヘキサンを脱水する目的で無水硫酸ナトリウムを通すとDBT塩素化物が硫酸ナトリウムに吸着する。

これらは油分の多い銀ざけの場合はあまり影響を及ぼさなかったが、メロンの場合油分が非常に少ないため顕著に影響したものと考えられた。

以上の理由により再抽出溶媒をn-ヘキサンからCH₂Cl₂に変え、さらに無水硫酸ナトリウムの脱水工程を省きメロンでの添加回収実験を行ったところDBTの回収率は106%（n=3）と改善された。

またフロリジルカラムの精製を省くと、特に還元化法の場合TBTの回収率が低下することが認められたため、Ishizaka⁹⁾らの方法⁹⁾に準じフロリジルカラム処理を行った。

3.2 GLC分離カラムの検討

一般に有機スズ化合物の還元体はガスクロ上で不安定でカラムの種類によっては全く検出されなくなることがある。そのため我々がFPD-GLCでよく使用するカラムを用い、還元体及びエチル化体について分析可能か

どうか検討した。（表1）

表1 GLC分離カラムの検討

カラム	還元化物			エチル化物		
	DBT	TBT	TPT	DBT	TBT	TPT
10%OV-1	○	○	○	○	○	○
5%DEGS	○	○	×	○	○	○
5%OV-17	○	○	○	○	○	○
5%OV-210	○	○	○	○	○	○
5%SE-30	×	×	×	○	○	○

○：検出可 ×：検出不可

その成果エチル化体はすべてのカラムで分析可能であったが、還元体はSE-30では全く検出されず、またTPTHはDEGSで全く検出されなかった。

還元体はガスクロの状態が安定しないとクロマト中に非可逆的な分解を起こしている模様で、例えばTPTHで10%OV-1, 50cmの短いカラムを使用しても、エージング直後のカラムでは検量線が直線にならず、低濃度になるほど低くなる傾向がみられた。しかしガスクロに魚類の抽出液（n-ヘキサン抽出液）を2～3回注入した後再度調べると、感度も上昇し検量線もほぼ直線になった。（図1）

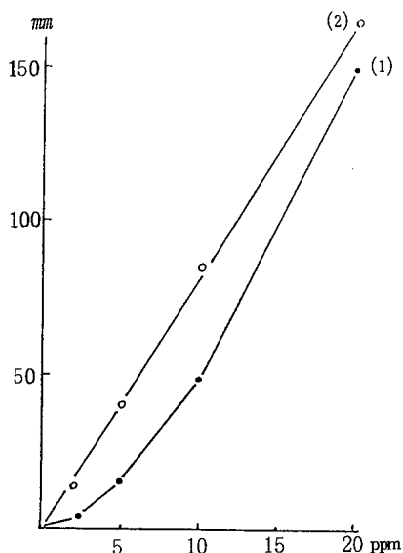


図1 TPT還元体の検量線

10%OV-1, 0.23mm×50cm
 注入口温度；280°
 カラム温度；210°
 注入量；1μl

- (1) 無処理カラム
- (2) 魚類抽出液処理カラム

このことはガスクロ中のどこかに活性点があり、そこに触れた場合瞬時に分解を起しているものと考えられ、魚類抽出液を注入することにより、その活性点がふさがれ分解を防いでいるものと考えられる。これらの現象はエチル化体においては全く認められなかった。

3.3 還元体及びエチル化体のガスクロでの感度

10%OV-1, 50cmのカラムで、標準品を用い還元体及びエチル化体についてガスクロでの感度をピークの高さで比較した。(図2~4)

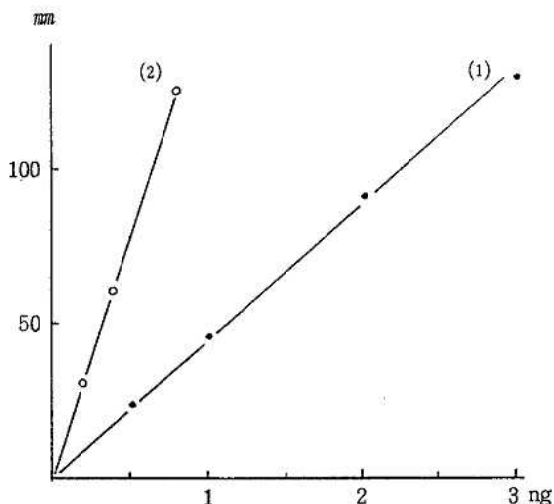


図2 DBT化合物の検量線

- (1) DBT還元体, 10%OV-1, 0.23mm×50cm, カラム温度110°
- (2) DBTエチル体, 10%OV-1, 0.23mm×50cm, カラム温度150°

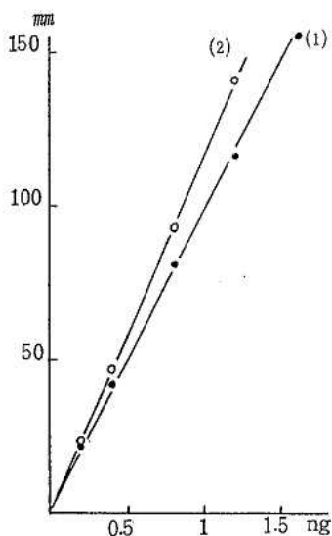


図3 TBT化合物の検量線

- (1) TBT還元体, 10%OV-1, 0.23mm×50cm, カラム温度150°
- (2) TBTエチル体, 10%OV-1, 0.23mm×50cm, カラム温度150°

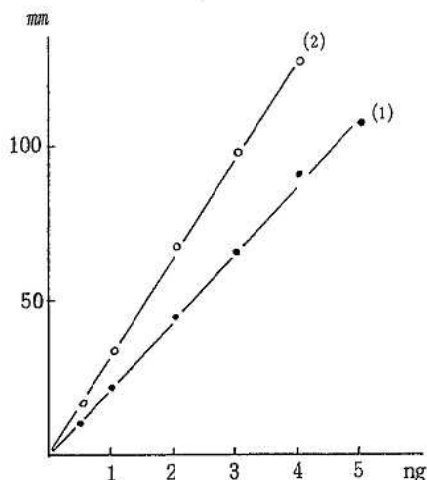


図4 TPT化合物の検量線

- (1) TPT還元体, 10%OV-1, 0.23mm×50cm, カラム温度210°
- (2) TPTエチル体, 10%OV-1, 0.23mm×50cm, カラム温度210°

その結果一般的にエチル化体の方が感度が高い傾向を示し、特にDBTは顕著に差が現れた。これらはGLC上の安定性の他に、反応率の違いも考えられるため一概には言えないが、現在のところはエチル化体のほうがGLC上望ましいと考えられる。

参考文献

- 1) 竹内正博他：東京衛研年報, 37, 154 (1986)
- 2) 高見勝重他：日本分析化学会第34年会講演要旨集, P630(1985)
- 3) R. J. MAGUIRE et al: J. Chromatogr., 209, 458 (1981)
- 4) 永見大志他：食衛誌, 29, 125(1988)
- 5) 佐藤真貴子他：宮城県保健環境センター年報, 7, 84 (1989)
- 6) Takashi Ishizaka et al.: J. Agric. Food Chem., 37, 1523(1989)

9. GC-MS, SIMによる養殖魚中の オキシリン酸の分析法

高槻 圭悟 菊池 格

A gas chromatographic-mass spectrometric method using selected ion monitoring mode for determination of oxolinic acid in cultured fish has been developed. Drug is extracted with ethyl acetate from a sample after homogenation with phosphate buffer (pH6.0). The extract is partitioned between 3% sodium bicarbonate solution and the aqueous phase is re-extracted with ethyl acetate after acidification. Solvent is evaporated and the residue is dissolved in methanol and reduced with sodium tetrahydroborate. The reaction mixture is treated with acid and extracted with ether. After cleanup by use of silica gel cartridge column and concentration, the extract is analyzed by gas chromatography-mass spectrometry using selected ion monitoring mode. Average recoveries from silver salmon fortified at 0.1 and 0.01 ppm level are 95.6% (cv:7.7%) and 72.9% (cv:13.3%). Detection limit is 0.001 ppm in sample.

1. 序

近年日本では、200カイリ規制もあり、大規模な魚の養殖が淡水及び海水域で行われている。これに伴い、養殖魚に発生する病害を防ぐため、各種水産用医薬品が使用されている。これらの医薬品の養殖魚中への残留は、食品衛生法上の問題であり、食品衛生法では、「食肉、食鳥卵類及び魚介類は抗生物質の他、化学的合成品たる抗菌性物質を含有してはならない」と規定された¹⁾。

オキシリン酸、ナリジクス酸、ピロミド酸(図1, a, b, c)は類似構造を有する抗菌剤であり、水産養殖薬で使用されている。特にオキシリン酸は経口投薬剤として比較的多用され、ハマチ、マス、コイ、ウナギ、アユ、銀鮭等に用いられている。従ってオキシリン酸の養殖魚中への残留は、常時監視する必要がある。

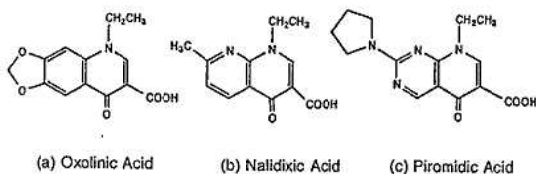


図1 オキシリン酸、ナリジクス酸、ピロミド酸の構造

遠藤らは動物組織中のオキシリン酸の分析にバイオアッセイ法を用いているが²⁾、感度が低く検出の特異性も充分ではない。蛍光法³⁾並びに薄層クロマトグラフ法⁴⁾が、ナリジクス酸の分析に用いられている。近年は高速液体クロマトグラフ法(HPLC)が主に用いられ、医薬品、血漿、尿中のナリジクス酸の分析や⁵⁾⁶⁾⁷⁾、養殖魚中のオキシリン酸、ナリジクス酸、ピロミド酸の残留分析に用いられている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾。厚生省によるオキシリン酸の公定分析法にもHPLC法が採用されている¹²⁾。

我々も前報にHPLCによる簡易分析法を報告した¹³⁾。しかし紫外吸収検出器を用いたHPLC法は、食品衛生法上の規定からみて感度が充分とは広い難く、また保持時間のみ根拠をおく定性の確実性にも問題がある。

ガスクロマトグラフ-質量分析法(GC-MS)は、現代の微量残留分析の手段としては最も確実性があり、かつ高感度検出が可能な方法であると考えられる。我々は残留医薬品に対するGC-MS法の開発を行って来た。特に質量選択性検出法(SIM)が高感度を得るために用いられている。

しかしオキシリン酸のGC法による分析法に関しては、現在までのところ報告はみられず、薬錠剤及び血漿中のナリジクス酸⁴⁾¹⁵⁾及びピロミド酸標準品のGC分析⁶⁾が報告されているのみである。

そこでオキシリン酸のメチル及びn-ブチルエステルを作製し、そのGC分析の可能性を試みたところ、前報¹³⁾に記したように、オキシリン酸エステル類は、キャピラリーカラムを使用しても強くテーリングしたピークを与え、微量の注入では明確なピークを示さず、GCによる微量分析には不適であることが分かった。これはピリドンカルボン酸構造(図1)の電荷の分極が大きく、分子全体として非常に極性が強くなっているためと考えられる。

この分極が起こり得ない誘導体への変換を種々試みた結果、メタノール中での水素化ホウナトリウムによる還元反応が、室温下にスムーズに進行し、蛍光性の生成物を与えることを見出した。この還元生成物(図2, e)は充分揮発性があり、ガスクロマトグラム上に鋭い対象性のよいピークを与え、GCによる微量分析に良く適していることが分かった。この還元反応を利用したGC-MS法によるオキシリン酸の残留分析法の開発を行った。この方法は操作が比較的簡易であり、感度も高く、日常の行政検査に適用可能であり、さらに残留医薬品の定性確認の方法としても有用であると考えられる。

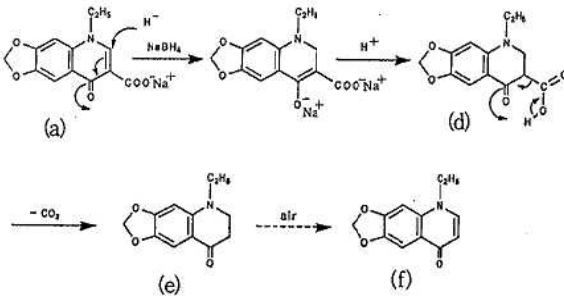


図2 オキシリン酸の水素化ホウ素ナトリウムによる還元反応

2. 実験方法

2.1 装置

ホモジナイザー-バイオトロン・BT・1020・350D (スイス, バイオトローナ社)。

振とう器-8-1-W型 (ヤヨイ)。ロータリーエバポレーター-N-1型 (東京理化工機)。

パストゥールピペット-7095B-9 (コーニング社)。

ガスクロマトグラフ用カラム-DB-5 (0.25mm×15m, 膜厚0.25μm) (J & W社)。ガスクロマトグラフ-質量分析計-HP5890 II型ガスクロマトグラフとHP5970 B型四重極型質量分析計とをキャピラリーカラム直結方式で使用。スプリット/スプリットレス試料注入装置。59970MSケミステーションコンピュータソフトウェア。(以上ヒューレット・パッカード社)。分析条件: 試料注入部温度270℃。カラム温度100℃, 2分, 190℃まで昇温30℃/分, 270℃まで昇温20℃/分, 11分。トランスファーライン260℃。キャリアーガス(ヘリウム)圧, 5psi (流量0.8ml/min)。イオン化電位70eV。イオンマルチプライアー2400V。SIMイオン: m/z219, 204, 176。スプリットレスインジェクション(バージョン2分)。

2.2 試薬

酢酸エチル, アセトン, メタノール, 塩化メチレン, 無水硫酸ナトリウム-残留農薬試験用(和光純薬)。

リン酸二水素ナトリウム・二水和物, 炭酸水素ナトリウム, 水素化ホウ素ナトリウム, 塩酸, 水酸化ナトリウム-試薬特級(和光純薬)。シリカゲルカートリッジカラム-Sep Pakシリカ(ウォーターズ社)。

リン酸緩衝液(pH6.0)-リン酸二水素ナトリウム・二水和物31.2gを水600mlに溶かし, 1M水酸化ナトリウム溶液を加えてpH6.0に調整する(約22-23ml)。水を加え全容積1ℓとする。

飽和炭酸水素ナトリウム溶液-炭酸水素ナトリウム40gを水500mlに加え, よく攪拌する。静置後上澄液を使用する。3%炭酸水素ナトリウム溶液-炭酸水素ナトリウム30gを水1ℓに溶解させる。5N塩酸-濃塩酸(12

N) 417mlを水500mlに加えよく混合後, 水を加えて全容積1ℓとする。0.1N塩酸-5N塩酸2mlを水で希釈し100mlとする。pH試験紙-T C (No.2611628) (ワットマン社), 標準品-オキシリン酸 (No.0-0877以上シグマ社)。

標準液-10.0mgの標準品をメタノールに溶かし, 100ml定容とする(100ppm標準原液)。100ppm原液をメタノールで希釈し, 1.0, 0.5, 0.1ppm溶液とする。

2.3 抽出と精製

細切した試料10.0gを100ml遠沈管に秤量し, リン酸緩衝液(pH6.0)を20ml加えて5分間ホモジナイズする。ホモジナイザーシャフトを酢酸エチル40mlで洗浄し, これを遠沈管に加え, 10分間振とう抽出する。遠心分離後(2000rpm, 10分)酢酸エチル層をピペットで分取し, 100ml分液ロートに集める。遠沈管に更に酢酸エチル20mlを加え, 残査をスパチュラでくずした後, 10分間振とうする。遠心分離後, 酢酸エチル層を先の分液ロートに合わせる。酢酸エチル抽出液から3%炭酸水素ナトリウム溶液で3回抽出し(10, 10, 5ml), 水層を別の100ml分液ロートに集める。これに5N塩酸を少量ずつ加えpH6に調整し, (約1.5-1.7ml必要, pH試験紙によりチェックする)酢酸エチルで2回抽出(30, 20ml)する。酢酸エチル抽出液をリン酸緩衝液(pH6.0)3mlで洗浄し, 水洗液のpHが5-6であることを確かめる。もし酸性であれば洗浄を繰り返す。酢酸エチル溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥後100mlナン型フラスコに移し, ロータリーエバポレーター(35℃)で溶媒を溜去する。残留物をメタノール(1.0, 0.5ml)に溶かして10ml試験管に移す。

2.4 水素化ホウ素ナトリウム還元

メタノール溶液に約4mgの水素化ホウ素ナトリウムを加え, 攪拌しつつ室温で5分間反応させる。0.1N塩酸を2~4ml加え, 液のpHが2-3であることを確かめ室温で約5分放置する。更に水2mlを加えた後酢酸エチル2mlで2回抽出し, リン酸緩衝液(pH6.0)0.3mlで洗浄後, 無水硫酸ナトリウムで乾燥する。

溶液をグラスフィルターを通して20mlナン型フラスコに移し, ロータリーエバポレーター(35℃)により溶媒を溜去する。残留物を塩化メチレン3ml溶液とする。シリカゲルカートリッジカラムを5ml注射器にセットし, 上記の塩化メチレン溶液を付加し, 更にナン型フラスコを3mlの塩化メチレンで洗浄しこれも付加する。塩化メチレン溶出液は捨て, 塩化メチレン-エーテル(1:1)3mlの溶出液を集め, 溶媒を溜去し, 残留物をアセトン1ml溶液としてGC-MS, SIM測定液とする。GC-MS測定を直ちに行わない場合には, 窒素気流下冷蔵庫に保管する。

2.5 検量線用標準液の作製

濃度0.1, 0.5, 1.0ppmのメタノール標準液1mlずつをそれぞれ10ml試験管にとり, 約4mgの水素化ホウ素ナトリウムを加え室温で5分間反応させる。0.1N塩酸を2ml加えよく攪拌し, pHが2-3の酸性とした後, 更に5分間

室温に放置する。水 2 ml を加え酢酸エチル 2 ml で 2 回抽出し、硫酸ナトリウム乾燥後溶媒を溜去する。残留物を塩化メチレン 3 ml 溶液とした後、2.4 節と同様にシリカゲルカートリッジカラムに付加し、塩化メチレン-エーテル (1 : 1) 溶出液を集め、アセトン 1 ml 溶液として GC-MS, SIM 測定液とする。保存は窒素気流下冷蔵庫に保管する。

2.6 GC-MS, SIM 測定

GC-MS の条件を 2.2.1 節に記載したようにセットする。SIM 検出イオンは m/z 204, 219, 176 である。検量線用標準液 2 μ l を注入し、得られた m/z 204 の SIM クロマトグラムからピーク面積を求め、検量線を作製する。試料溶液 2 μ l を注入し、オキシリン酸還元物のピークを保持時間により決定し、 m/z 204 の SIM クロマトグラムからピーク面積を求め、検量線によりオキシリン酸の量を算出する。定性確認は、 m/z 204, 219, 176 の 3 イオンの SIM クロマトグラムのピークの保持時間並びに相対強度を標準と比較して行う。

3. 結果と考察

前報に記したように¹³⁾、オキシリン酸のエステル類はひじょうに極性が強く、GC ではテーリングしたピークを与え、微量では明確なピークとならず、残留分析には不適であることが分かった。そこで他の誘導体への変換を種々試みた結果、メタノール中での水素化ホウ素ナトリウムによる還元反応がスムーズに進行し、蛍光性の生成物を与えることを見出した。この還元生成物のマススペクトルでは (図 3) M^+ , m/z 219; $M^+ - CH_3$, m/z 204; $M^+ - CH_3 - CO$; m/z 176 のイオンが顕著であり、構造は図 2 (e) であることが判明した。

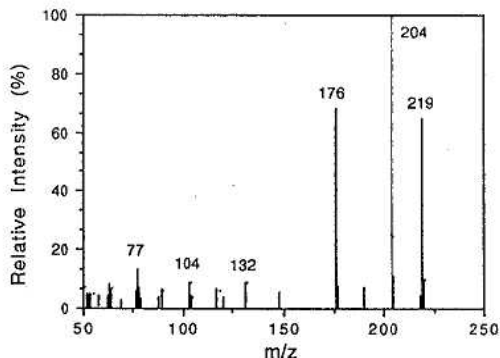


図 3 オキシリン酸還元物のマススペクトル

還元生成物は、オキシリン酸、図 2, (a) に対する Michael 型の H⁺ イオンの付加により中間体、図 2, (d) が生成し、(d) の β -ケトカルボン酸部で脱炭酸が起こり (e) が生成したものと考えられる。この反応メカニズムは図 2 に示した。化合物 (e) は容易に GC カラムから

溶出し、鋭い対称性のよいピークを与えることが分かり、この還元反応をオキシリン酸の GC-MS による残留分析に応用することとした。なお化合物 (e) のエーテル溶液を室温中空气中に曝しておく、GC-MS 上に (e) よりも保持時間の長い別の化合物に変換していくことが分かり、このマススペクトルから、(M^+ , m/z 217, $M^+ - CH_3$, m/z 202, $M^+ - CH_3 - CO$, m/z 174) 脱水素されて生成した図 2, (f) であることが分かった。(e) の空気酸化により (f) が生成したと考えられ、このことから還元反応後 (e) はなるべく早く GC-MS 分析を行う必要があり、やむを得ず保存するときには、窒素気流下冷蔵庫に保管する必要がある。

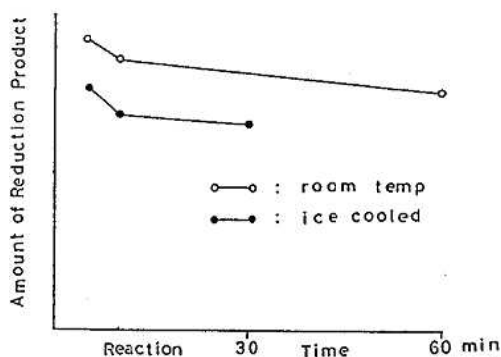


図 4 オキシリン酸の還元反応時間と収量

この還元反応の条件について検討した結果メタノール中室温での反応時間と生成物の収量とは図 4 に示す関係となり、室温で 5 分間の反応時間が最もよいことが分かった。冷却下の還元では反応に時間がかかる結果となった。また還元後、過剰の水素化ホウ素ナトリウムを分解するとともに脱炭酸を促進させるため、塩酸処理を行う必要があるが、このときに反応液が確実に pH 2-3 の酸性にならないと収量が大幅に減少することがみられ、1 回の反応毎に pH 試験紙によりチェックする必要がある。この塩酸処理時間は室温 (20°C) で 5 分が最適条件であった (図 5)。

GC-MS, SIM の検出イオンは、図 3 マススペクトルから m/z 204, 219, 176 の三種を選んだ。オキシリン酸の定性には、保持時間の一致及び上記三イオン検出のピーク面積の比の標準品との一致を用いた。Sphon は GC-MS, SIM 検出による定性確認には最小でも三イオンによる SIM が必要であると報告しており¹⁷⁾、オキシリン酸還元物の場合には、顕著なイオン (解裂イオン) が三種あるため、定性にも好都合であった。試料注入法は、スプリットレス注入法を用い、2 μ l の注入量とした。

還元生成物 (e) の 0.1 ppm 濃度溶液の SIM クロマトグラムは図 6 に示したが、非常にシャープで良好なピーク

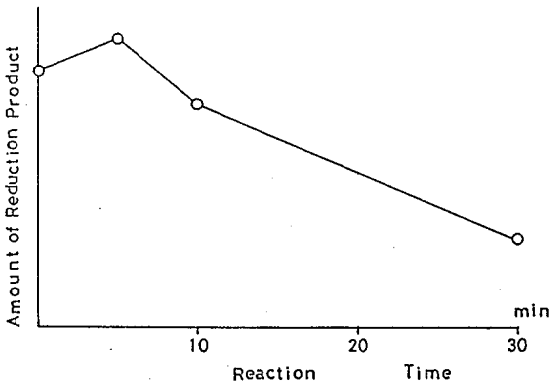


図5 オキシリン酸還元反応後の塩酸処理時間と収量

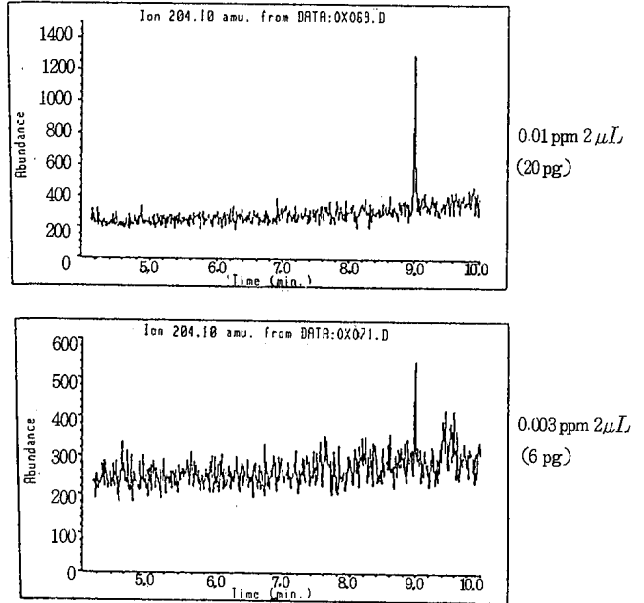


図7 オキシリン酸還元物標準のSIMクロマトグラム

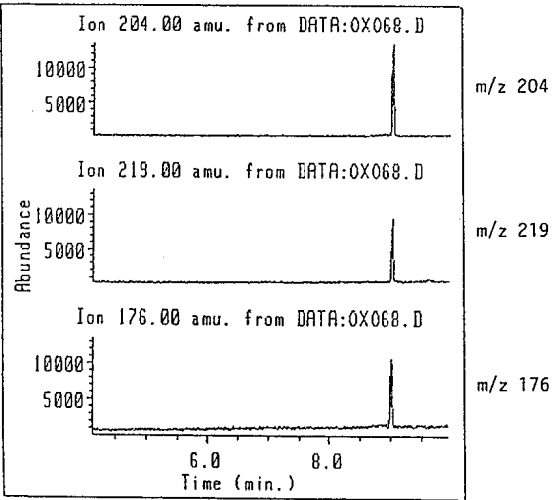


図6 オキシリン酸還元物標準のSIMクロマトグラム0.1ppm, 2μl注入

が得られている。また最も感度の高いm/z204のみを用いたSIMクロマトグラムでは、0.003ppm溶液までピークを検出可能であったが(図7)、実際の試料抽出液の場合には多少感度を低くする必要があり、0.01ppmとした(図7)。この濃度は試料中濃度としては0.001ppmに相当する。

検量線は、オキシリン酸標準品の還元生成物を注入して得られたm/z204SIMクロマトグラムから、そのピーク面積をオキシリン酸量に対してプロットし、0.2-2.0ngの注入量に対し相関係数0.9983の直線が得られた。

オキシリン酸は両性物質であるため、試料からの抽出には、まずpH6のリン酸緩衝液で試料を処理した後に酢酸エチル抽出を行うBrowning及びPrattが報告した方法³⁾を用いた。この方法は、春日らも魚肉中の残留オキシリン酸の高速液体クロマトグラム法による報告^{8) 9)}でも用いており、94%と良好な回収率を得ている。

試料からの酢酸エチル抽出液には油状物質が含まれており、そのまま水素化ホウ素ナトリウムにより還元を行ってその生成物をGC-MS, SIM測定を行っても多数の妨害ピークがみられて、オキシリン酸還元体(図2, e)のピークを認めるのは困難であった。そこで0.1M水酸化ナトリウム溶液との分配を行い、水層を中和後再度酢酸エチル抽出を行った。分配操作によりエマルジョンを生成したため遠心分離を行った。還元後SIM測定を行ったところ、妨害ピークはかなり減少したもののなお残っており、化合物(e)のピーク確認の妨害となっていた(図8)。そこで水酸化ナトリウム溶液に替えて炭酸水素ナトリウム溶液を用いて酢酸エチル抽出液と分配を行ったところ、エマルジョンの生成はみられず、しかもSIMクロマトグラム上の妨害も完全に除去されることが分かった(図9)。簡単な操作により効率よくクリアアップを可能とした。養殖魚類に用いられる他の医薬品類、テトラサイクリン、アンピシリン、スルファメトキシム、スルファジメトキシム、チアンフェニコール等は、上記の操作によりオキシリン酸の定量を妨害することはなかった。またオキシリン酸と類似

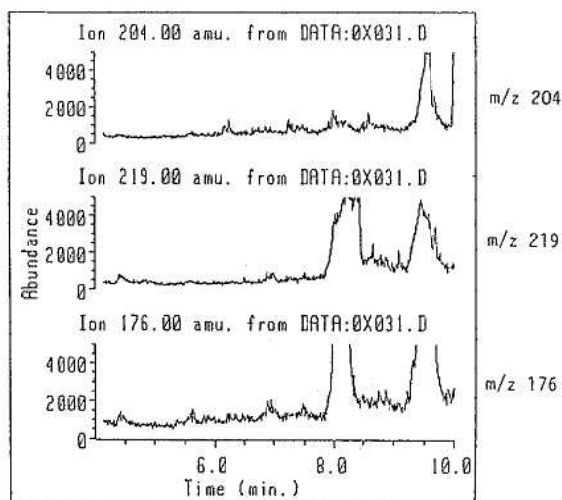


図8 銀鮭抽出物のSIMクロマトグラム
水酸化ナトリウム溶液処理

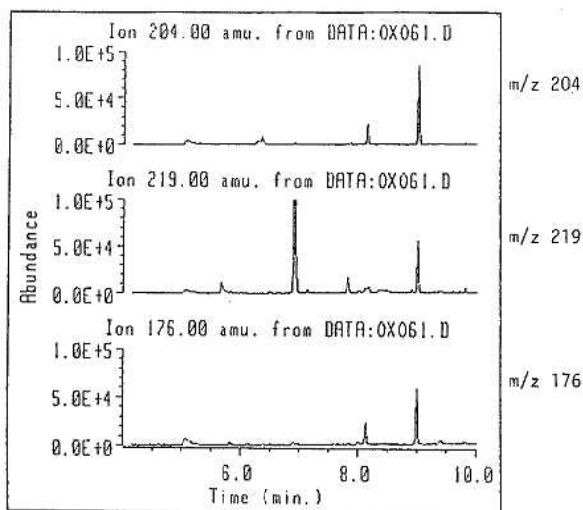


図10 銀鮭抽出物(オキシリン酸0.1ppm
添加)のSIMクロマトグラム

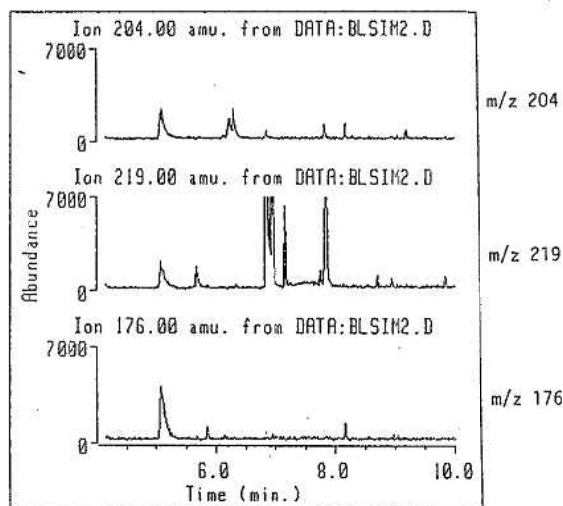


図9 銀鮭抽出物(ブランク)のSIM
クロマトグラム炭酸水素ナトリウム
溶液処理

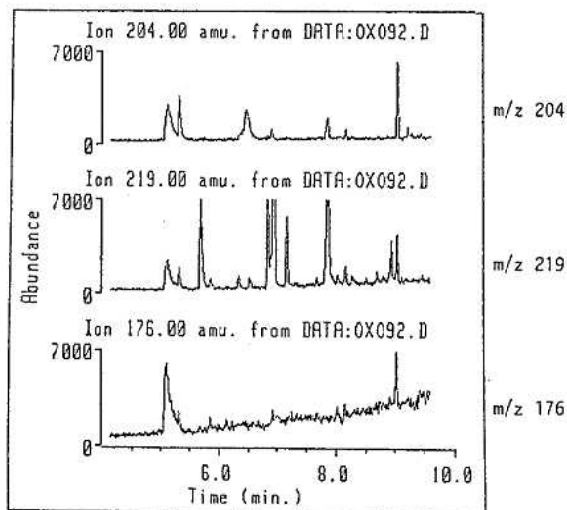


図11 銀鮭抽出物(オキシリン酸0.01ppm
添加)のSIMクロマトグラム

構造を有し、やはり養殖魚類に用いられているナリジクス酸及びピロミド酸は水素化ホウ素ナトリウムによりオキシリン酸と同様の還元反応を受けることが分かったが、それぞれの還元生成物はSIM測定において、保持時間の差及びSIM検出イオンの違いにより完全に識別可能であった。これら三薬の同時残留分析については検討中であり、別に報告する予定である。水素化ホウ素ナトリウム還元後は、キャピラリーカラムの劣化防止のため、シリカゲルカートリッジカラムを通して高沸点化合物並びに無機塩を除去することとした。

表1 添加回収実験 試料：銀鮭

添加濃度(ppm)	0.1	0.01
回収率(%)	91.2	74.9
	97.6	64.9
	107.6	81.7
	89.6	60.8
	91.8	82.1
平均回収率(%)	95.6	72.9
C V(%)	7.7	13.3

この分析法によりオキソリン酸が検出されなかった銀鮭の筋肉部を用いて0.1及び0.01ppm濃度にオキソリン酸を添加した場合の回収実験の結果が表1である。回収率、相対変動係数ともに充分実用になる良好な値が得られた。またこのときのSIMクロマトグラムは図10, 11である。定量下限は0.001ppmであった。

この分析法は高感度かつ信頼性があり、操作も比較的簡単で迅速に分析結果が得られ、養殖魚類中の残留オキソリン酸の日常の行政検査の方法としても、残留オキソリン酸の定性確認の方法としても有用であると考えられる。

平成一・二年度に計20件の養殖銀鮭の検査をこの方法で行った結果、20件全てにオキソリン酸は検出されなかった。

参 考 文 献

- 1) 昭和54年4月16日, 厚生省告示第60号
- 2) 遠藤俊夫, 荻島健次, 早坂治男, 金子修司, 大島慧, 日本水産学会誌, 39, 165(1973)
- 3) R.S.Browning, E.L.Pratt, J.Assoc.Off.Anal.Chem., 53, 464(1970)
- 4) H.K.L.Hundt, B.C.Barlow, J.Chromatogr., 223, 165(1981)
- 5) D.L.Sondack, W.L.Koch, J.Chromatogr., 132, 352(1977)
- 6) R.H.A.Sorel, H.Roseboom, J.Chromatogr., 162, 461(1979)
- 7) R.H.A.Sorel, A.Hulshoff, C.Smellemen, J.Chromatogr., 221, 129(1980)
- 8) 春日洋二, 大塚公人, 杉谷哲, 山田不二造, 食衛誌, 22, 479(1981)
- 9) 春日洋二, 杉谷哲, 山田不二造, 食衛誌, 23, 344(1982)
- 10) S.Horii, C.Yasuoka, M.Matsumoto, J.Chromatogr., 388, 459(1987)
- 11) M.Horie, K.Saito, Y.Hoshino, N.Nose, E.Mochizuki, H.Nakazawa, J.Chromatogr., 402, 301(1987)
- 12) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課編, 畜水産食品中の残留物質検査法, P200, 中央法規出版(1990年4月25日)
- 13) 高槻圭悟, 菊池格, 保健環境センター年報, 8, 77(1990)
- 14) H.-L.Wu, T.Nakagawa, T.Uno, J.Chromatogr., 157, 297
- 15) H.Roseboom, R.H.A.Sorel, H.Lingeman, R.Bouman, J.Chromatogr., 163, 92(1979)
- 16) H.-L.Wu, L.-C.Hsu, C.-Y.Hsu, J.Chromatogr., 193, 476(1980)
- 17) J.A.Sphon, J.Assoc.Off.Anal.Chem., 61, 1247(1978)

10. C₁₈カートリッジによる水中の農薬の分析法について

小林 孜 白地 良一

1. はじめに

近年ゴルフ場の維持管理のために使用される農薬が公共用水域を汚染し問題になっている。このため環境庁¹⁾、厚生省²⁾はそれぞれ公共用水域及び飲料水中のこれら農薬の許容量の暫定基準を公表した。このほかにも水田除草剤の普及、農薬の空中散布等の影響により水中の農薬汚染が進行している。これに伴いこれらの農薬を分析する機会も多くなっているが、従来の溶媒抽出法では分析に多量の溶媒を使用するうえ分析操作に時間がかかり、同時に多量の検体を処理するのは難しい。そこで、分析の簡易化を計るため濃縮操作に固相抽出法を用いた分析例が近年数多く報告されている。高木³⁾らはエムポアディスクを使用した水中の農薬の分析法を報告し、佐藤⁴⁾らはC₁₈カートリッジによる有機リン剤の分析法を報告している。筆者らはC₁₈カートリッジを使用した固相抽出法によりゴルフ場農薬の迅速かつ簡便な分析法を検討したので報告する。

2. 方法と試薬

対象農薬はゴルフ場使用農薬21種類のうちTPN（クロロタロニル）、キャプタン、ペンディメタリンの3種である。これらの構造式、用途、水道水質目標¹⁾を表1に示す。

表1 分析対象ゴルフ場使用農薬

農薬名	構造式	用途	水道水質目標 (ng/l)
TPN (クロロタロニル)		殺菌剤	0.04
キャプタン		殺菌剤	0.3
ペンディメタリン		除草剤	0.05

2.1 試薬

メタノール、アセトン、n-ヘキサン（和光純薬）。セップパックC₁₈カラム（ウォーターズ社）。ろ紙N_o5Aガラス繊維ろ紙GS-25、GA-100（東洋ろ紙）。TPN（クロロタロニル）、キャプタン、ペンディメタリン標準試薬（和光純薬）。

2.2 装置

固相抽出法による濃縮装置を図-1に示す

前処理装置はSS分析用の装置を使用した。濃縮装置は図のように分液ロートとろ過びんの間をC₁₈カートリッジを固定した。カートリッジの両端は口径の合うガラス管（ピペットの先端を使用）に連結し、一方をろ過びんに固定し他方をゴム管を介して分液ロートに接続した。通水速度は減圧装置により調節した。溶出には注射筒を使用した。ガスクロマトグラフ：日立-163（⁶³Ni ECD付）

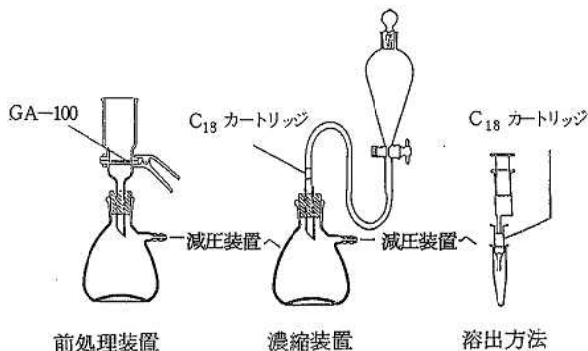


図1 濃縮装置

2.3 分析操作

分析法フローシート

C₁₈カートリッジ（メタノール5mlで洗浄後
|
水10mlで洗浄）
|
検水1000mlを通水（流速30ml/min）
|
溶媒10mlで溶出
|
ECD-GCで分析

2.4 ガスクロマトグラフの測定条件

図-2の標準品のクロマトグラム中に示す。

3. 結果及び考察

3.1 標準品のクロマトグラム

各農薬の標準品のクロマトグラムを図-2に示す。検出感度はTPN 0.04ng、キャプタン0.5ng、ペンディメタリン0.2ngを十分確認できた。これは環境庁提示の分析方法²⁾の検出感度とほぼ同じであり、水道水の分析にも十分使用できる感度であった。また各農薬のピークもシャープで分離がよく、定量性もよかった。

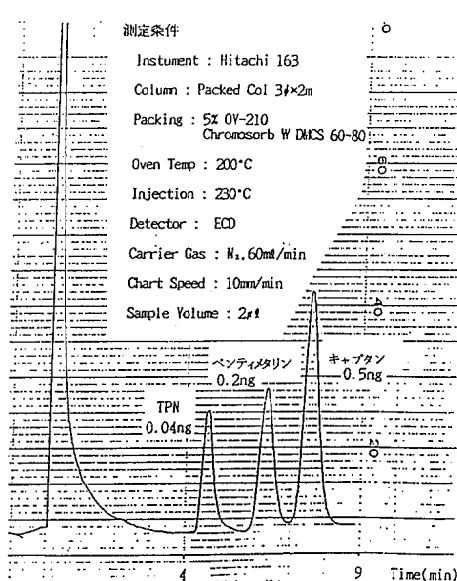


図2 TPN, ペンディメタリン, キャプタンのガスクロマトグラム

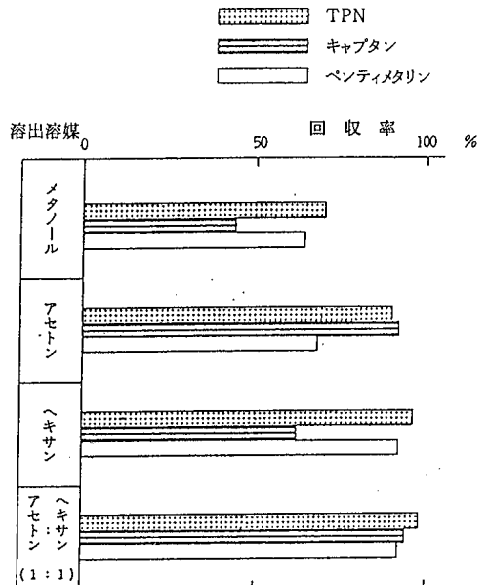


図3 溶媒による溶出率の比較

3.2 添加回収試験

各農薬の標準アセトン溶液TPN0.2μg, キャプタン2.5μg, ペンディメタリン1.0μgを純水1000mlに溶解し, 添加回収用標準溶液とした。

3.2.1 溶出溶媒による回収率の比較

標準溶液を分析操作に従いC₁₈カートリッジに通水し農薬を吸着させた後メタノール, アセトン, ヘキサン, アセトン+ヘキサン(1:1)により溶出し回収率の検討を行った。溶出は溶媒約2mlで5回(10ml)で行った。各溶媒ごとの回収率を図-3に示す。メタノールは各農薬ともに溶出率が低く特にキャプタンは50%以下と低かった。アセトンはTPN, キャプタンについては90%以上と好回収率が得られたがペンディメタリンは70%前後と回収率が低かった。またヘキサンではTPN, ペンディメタリンについては好回収率であったがキャプタンについては60%程度であった。そこでアセトン+ヘキサン(1:1)により溶出したところすべての農薬について90%以上の好回収率が得られた。以後溶出溶媒はアセトン+ヘキサン(1:1)を使用する。

3.2.2 通水速度による回収率への影響

検水1ℓを10ml/min, 15ml/min, 30ml/minの流速で通水し回収率を比較したところ通水速度により回収率に差はなかった。従って通水速度は30ml/minとした。

3.2.3 ろ紙による回収率への影響

一般に河川水, 湖沼水にはかなりの量のSS分が含まれている。C₁₈カートリッジ等カラムによる濃縮の際こ

れらSS分はカラムの目づまりの原因となるため, あらかじめろ過により取り除く必要がある。この際ろ紙の種類により回収率に影響があることが予想されるため, これについて検討を行った。

ろ紙はSS分析用に使用されるGS-25, No-5A, ガラス繊維ろ紙GA-100の3種類のものについて検討した。添加回収用の検水として与兵衛沼の水を使った。与兵衛沼の水のSSは最高30ppm前後であったが, これを希釈して4~28ppmの検水を作成した。まずSS4ppmと比較的SSの低い検水を使用し, ろ紙による回収率の影響を検討した。結果を図-4に示す。GS-25, No-5Aろ紙共500ml位通水後目づまり起こしたため, 水で洗浄後ろ紙を交換して1ℓを通水した。両ろ紙共ペンディメタリンの回収率が悪く特にGS-25は10%と低かった。GA-100は目づまりを起こすことなく検水1ℓを通水でき, かつTPN, キャプタンの回収率は90%以上であった。しかし, ペンディメタリンについては70%程度であった。

3.2.4 SS量の及ぼす回収率への影響

SS量, 4ppm, 16ppm, 22ppm, 28ppmに調整した与兵衛沼の水を使用し, SS量による各農薬の回収率を調べた。結果を図-5に示す。図のようにTPN, キャプタンはSS量の増加に従って回収率が低下し, 28ppmでは60%前後に低下した。しかし, ペンディメタリンはSS量4~28ppmまで回収率は70%前後と変わらずSS量による影響は少なかった。ペンディメタリンはSSよりもろ

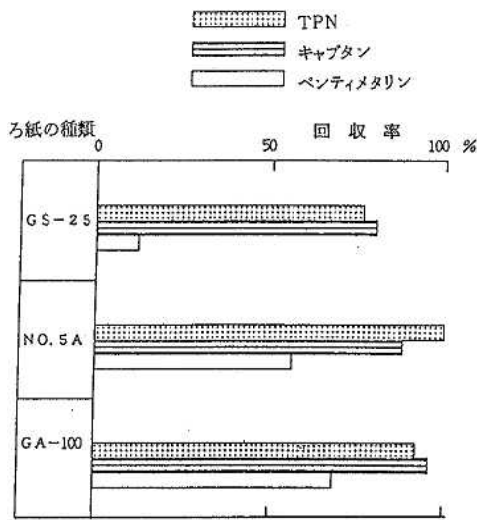


図4 ろ紙による回収率の比較

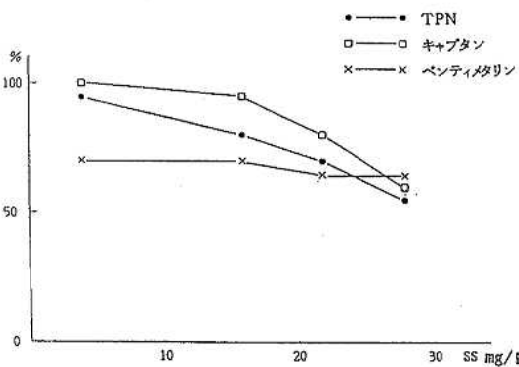


図5 SS量による回収率の変化

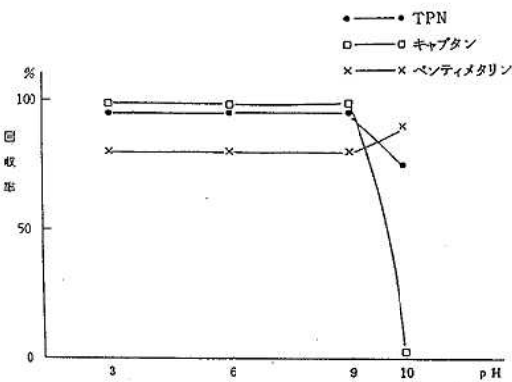


図6 pHの回収率への影響

紙による吸着が大きいためと考えられる。

3.2.5 pHによる回収率の変化

添加回収用標準溶液を用いてpHによる回収率の変化を調べた。標準液のpHを3, 6, 9, 10にHCl及びNaOHにより調整後GA-100でろ過し、供試液とした。結果を図-6に示す。各農薬ともpH3~9においてはほとんど回収率に差はなかったが、pH10でキャプタンのピークが消失した。そして再びpHを9以下にでもピークは現れなかったことからキャプタンはpH10で不可逆的に分解したものと考えられる。またTPNもpH10で回収率に低下の傾向が見られた。従ってこれらの農薬については分析過程のpHを常に10以下に保つ必要があると考えられる。

3.2.6 水道水, 河川水, 湖沼水による添加回収試験

3.2.5までの検討の結果溶出溶媒としてアセトン+ヘキサン(1:1)、通水速度30ml/min、ろ紙はガラス繊維ろ紙GA-100、pH3~9の条件で好回収率が得られることがわかったので、この条件により実検水による添加回収試験を実施した。実検水として使用したのは保健環境センターの水道水、広瀬川、郷六地区の河川水、及び与兵衛沼のSS量28ppmの水である。結果を表-2に示す。水道水、河川水は各農薬とも安定した好回収率が得られ、実際の検査においても十分使用可能と考えられる。しかし、与兵衛沼SS量28ppmの水については各農薬とも回収率が60~70%と低かった。そこで、ろ過後ろ紙をアセトン1mlで5回洗浄したところ表-2最下段のように河川水と同等の回収率が得られ、このことによる妨害物質も認められなかった。アセトン洗浄はSSやろ紙に吸着した農薬の溶出に有効と考えられる。

表2 水道水, 河川水, 湖沼水による添加回収試験

	TPN		キャプタン		ペンティメタリン	
	回収率 %	平均 %	回収率 %	平均 %	回収率 %	平均 %
水道水	94	101 (CV6.2)	98	102 (CV7.5)	86	89 (CV4.7)
	103		98		97	
	106		111		84	
河川水 (広瀬川郷六)	94	94 (CV5.5)	93	94 (CV1.5)	83	85 (CV4.7)
	89		94		90	
	100		96		81	
与兵衛沼	60	57 (CV3.8)	55	60 (CV4.5)	75	71 (CV3.6)
	53		60		68	
	59		64		70	
与兵衛沼 (アセトン5ml で洗浄)	94	93 (CV1.7)	94	96 (CV2.5)	83	85 (CV7.6)
	91		99		93	
	94		96		78	

4. ま と め

C₁₈カーカートリッジによる濃縮法により、水中の農薬の簡易分析が可能であった。特に水道水のように清浄な検水については操作が簡単で迅速に分析出来るため非常に有効な方法と考えられる。またSS分の多い湖沼水、河川水についても適当前処理を行うことにより分析可能であった。なお今回の検水については妨害物質が見られなかったが、SS量の多い検水によってはこれらの存在も予想され、また回収率の低下も予想されるので今後の検討課題であると考えられる。

参 考 文 献

- 1) 環境庁環水土第77号 平成2年5月24日
- 2) 厚生省衛水第152号 平成2年5月31日
- 3) 高木博夫他：第41回全国水道研究発表会講演要旨集
- 4) 佐藤秀男他：第41回全国水道研究発表会講演要旨集

11. 水道水の異臭味に関する研究(II)

— 水道水源の異臭味物質 —

高橋紀世子 木戸 一博 小野研一*
白地 良一

水道水源となっている河川水及び湖沼水の異臭味物質をジクロロメタンによる溶媒抽出法(抽出比20:1)にて濃縮(濃縮率18000倍)し、キャピラリーGCによる、GCカラムスニッフィング分析を行った。

月毎に採取した試料から、草臭、ガス臭、生くさ臭、ワラ臭、かび臭等が確認された。この結果から、これらの臭味物質が総じて水道水に異臭味を呈させるものと示唆された。また、従来より夏季にのみ発生していると考えられていたかび臭の原因物質である2-MIBとジオスミンが、5~6月頃からすでに極微量産生されていることが明らかとなった。

1. はじめに

昭和60年度より県内主要水道水源での異臭味発生状況調査を実施してきたが、水道水源における異臭味は、かび臭よりむしろ、かび臭以外の異臭味(藻臭、青草臭、泥臭等)による場合の方が臭気強度が高く(図-1)、その発生も長期にわたるため、活性炭処理を行わざるを得ない状況にあること等がわかった。

前報¹⁾にて20種の異臭味物質をモデル物質とし、分離濃縮法、キャピラリーGCによる分析条件等を検討した結果を報告したが、今回はこれらの方法を実試料に適用し、さらに、キャピラリーGCカラムスニッフィングを行った結果についても報告する。

2. 調査方法

2.1 調査時期及び地点

平成元年度及び2年度の5月から9月まで月1回から2回の採水を実施。

採水地点は大崎広域水道の水源である漆沢ダムの表流水(菊水堰)と、岩沼市玉崎浄水場の原水である阿武隈川(岩沼)の2地点とした。

2.2 抽出及び濃縮方法

前法¹⁾と同様に行った。つまり、試料9ℓを4.5ℓつづに分け、5ℓの内蓋付きガラス保存ビンに入れ、ジクロロメタンを各々に0.225ℓづつを加える。(抽出比20:1)

テフロンシート(0.05mm厚)でビンの口を覆い、内蓋をして密栓し、マグネチックスターを用い2時間激しく攪拌する。一夜冷暗所に放置し溶媒層を分離する。分離した溶媒層を合わせ、-30℃で溶媒層の水分を凍結し、溶媒層のみを分取する。KD濃縮器で、常圧、50℃で約5mlまで濃縮し、内部標準液(C₉-C1, C₁₀-C1, C₁₂-C1を各4mg/ℓ含む)0.5mlを加え、氷冷しながらN₂気流中で0.5mlまで濃縮(試料換算濃縮率18000倍)し、キャピラリーGC用試料とする。

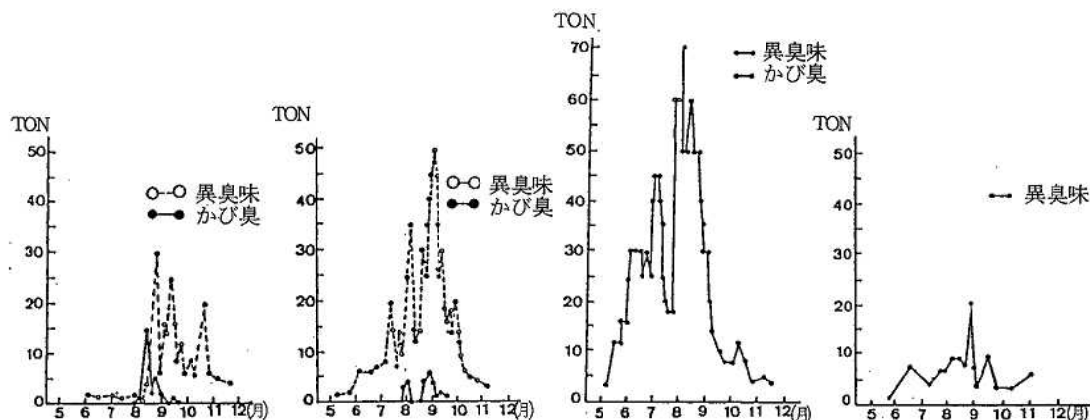


図1 漆沢ダム(菊水堰)の臭気強度

註) S 60~61年度はかび臭と異臭味を分けて測定したが、S 62~H1年度は混合臭として測定している。

調査:宮城県大崎広域水道事業所

2.3 装置及び測定条件

ガスクロマトグラフ；HP社製HP5890A

検出器；FID

測定条件を表-1に示す。

表1 キャピラリーGC (FID) の条件

カラム	DB-5 (0.25mmid., ×30m)	
カラム温度	40℃ 5分・40→230℃, 5℃/分 230℃ 10分	
インジェクター温度	230℃	
検出器温度	250℃	
キャリアーガス (He)	トータルフロー	60ml/分
	セプタムパジフロー	2ml/分
	カラムヘッド圧	12psi
メイクアップガス (N ₂)	30ml/分	
試料注入方式	スプリットレス (ページ 1分)	

3. 結果及び考察

3.1 水道源水のキャピラリーGCクロマトグラム

平成元年度の阿武隈川 (岩沼) と漆沢ダム (菊水堰) の濃縮試料のキャピラリーGCクロマトグラムの一部を図-2に示す。阿武隈川 (岩沼) 9検体, 漆沢 (菊水堰) 9検体について, 臭気強度 (TON) とクロマトグラムとの関連性を検討したが, 明瞭な関係は得られなかった。

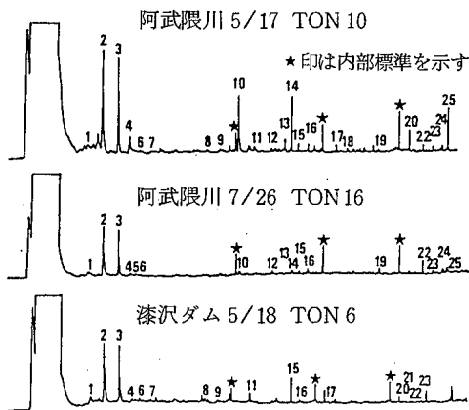


図2 濃縮試料のキャピラリーGC・クロマトグラム

各試料毎にキャピラリーGCクロマトグラム中の比較的高いピークについて, 内部標準の保持時間 (RT) と, 各ピークのRTとの比を求め, その一部を表-2に示した。

内部標準C₉-C1よりRTの短いピークではRT比が小数点以下2~3桁 (キャピラリーGCへの注入のタイミングが短いRTにバラツキを与える。) まで一致するピークが9, 内部標準C₁₀-C1とC₁₂-C1とのRT比では小数点以下3~4桁まで一致するピークが16

と, RT比が一致するピークがRT35分以内に25ピークあり, 各試料中のこれらのピークが同一物質であることが推定された。

この中で前報¹⁾で示した20種のモデル異臭味標準物質の内ジオスミンとピークNo.19がRT及びRT比とも一致しており, GC-MS (SIM) でも確認された。

また, ピークNo.10, 14は, 阿武隈川 (岩沼) にもみられるピークであり, ピークNo.は21漆沢ダム (菊水堰) にもみられる特徴的なピークで, 他のピークと共にGC-MSで検討中である。

3.2 キャピラリーGCカラムスニッフィング

キャピラリーGCで分離されたピークと臭気との関連性を検討するために, 濃縮試料のカラムスニッフィングを実施した。カラムスニッフィングは香料成分等において嗅ぎに使用される方法^{2) 3)}で, 今回は現有のキャピラリーGCをSAVENHED等の方法⁴⁾を参考に改良し使用した。つまり, カラムの出口をFIDの検出器には接続せず, GC本体の外に出し, スニッフィング用のロートに接続する。カラムのオープン出口からロートまでは銅管及び保温材で保温し, カラムの温度条件をGC-FID分析と同一にして, 鼻でおいを嗅ぎ, においの種類とRTを記録するという方法である (図-3)。

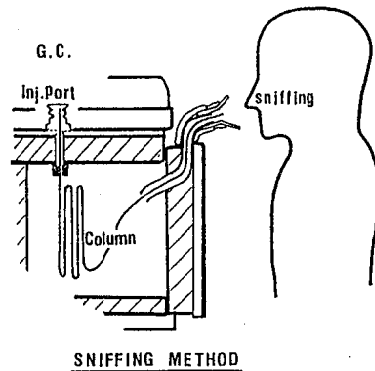


図3 キャピラリーGC・カラムスニッフィング

阿武隈川 (岩沼) の試料 (H.1.5.17採水) でのカラムスニッフィングの結果を図-4に示す。においを感じたRTと, クロマトグラムのピークのRTとは必ずしも一致していないが, 別々の人, 三人で嗅いだ場合も殆ど同じRTに, 同種類のおいが感知されることが判った。しかも, かび臭を感じたRTは, 各々, 標準物質の2-MIB, ジオスミンのにおいのRTであり, クロマトグラムのRTとも一致していた。

平成2年度は各月2回のサンプリングで得られた抽出濃縮試料20検体全てのカラムスニッフィングを実施し, 表-3に漆沢ダム (菊水堰), 表-4に阿武隈川 (岩沼) の結果を示した。

各月の試料から, 草臭, ガス臭, 生かさ臭, キナクさ臭, ワラ臭, 石けん臭, かび臭が感知され, しかも, そ

表2 試料におけるキャピラリーGCピークのRT値と内標準のRT値とのRT比の一例

ピーク番号	岩沼-1		岩沼-1		岩沼-1		岩沼-1	
	R. T	R. T比	R. T	R. T比	R. T	R. T比	R. T	R. T比
1	7.065	0.3878	7.070	0.3880	7.083	0.3891	7.010	0.3905
2	8.161	0.4480	8.149	0.4472	8.119	0.4460	8.095	0.4452
3	9.365	0.5141	9.354	0.5133	9.320	0.5120	9.311	0.5121
4	10.199	0.5599	10.195	0.5595	10.215	0.5612	10.170	0.5593
5			10.591	0.5812	10.560	0.5801		
6	10.909	0.5989	10.906	0.5985	10.880	0.5977	10.860	0.5973
7	11.786	0.6470	11.747	0.6446	11.707	0.6431	11.745	0.6460
8	16.069	0.8821					16.034	0.8819
9	17.029	0.9348	17.037	0.9350			16.995	0.9347
C ₈ -Cl	18.215	1	18.221	1	18.202	1	18.181	1
10	18.461	0.7408	18.465	0.7407	18.440	0.7402		
11	19.680	0.7897	19.694	0.7900	19.673	0.7897	19.654	0.7894
12	20.999	0.8427	21.015	0.8429	20.995	0.8428		
13	22.040	0.8845	22.052	0.8845	22.207	0.8842		
14	22.491	0.9026	22.501	0.9026	22.479	0.9024		
15	23.016	0.9236	23.029	0.9237	23.015	0.9239	22.991	0.9234
16	23.754	0.9532	23.771	0.9535	23.742	0.9531	23.728	0.9530
C ₁₀ -Cl	24.918	1	24.929	1	24.910	1	24.896	1
17	25.940	0.8436			25.940	0.8437	25.913	0.8432
18	26.769	0.8706	26.769	0.8703	26.742	0.8698		
19	29.205	0.9498	29.248	0.9509	29.204	0.9499		
C ₁₂ -Cl	30.747	1	30.757	1	30.744	1	30.729	1
20	31.518	1.0250	31.528	1.0250	31.491	1.0244	31.506	1.0252
21							31.942	1.0394
22	32.541	1.0583					32.529	1.0585
23	33.294	1.0828			33.305	1.0833	33.265	1.0825
24	34.100	1.1090	34.118	1.1092				
25	34.465	1.1209			34.462	1.1209		

表3 漆沢ダムのキャピラリーGC・カラムスニッフィング

R. T	月日 旬い	MAY	JUNE	JULY	AUG.	SEP.
		8 22	5 18	2 17	8 20	3 17
7. 9	草臭	●	●			●
8. 7	草臭	●	●			●
14. 8	生ぐさ臭	●	●	●	●	●
17. 8	汗・カキ臭	●	●	●	●	●
18. 5	キナ臭		●	●	●	●
18. 9	キュウリ臭		●	●	●	●
20. 4	草臭		●	●		
21. 1	ワラ臭		●	●		
21. 3	甘い旬い				●	●
22. 0	カビ臭		●	●	●	●
24. 9	キナ臭	●	●	●	●	●
25. 6	石鹸臭		●	●	●	●
26. 0	ロウ臭		●	●	●	●
26. 4	草臭		●	●		●
27. 7	石鹸臭		●	●	●	●
27. 9	ワラ臭		●	●	●	●
29. 0	カビ臭		●	●	●	●
試料臭気	異臭味TON	2 4	4 4	7 10	22 30	30 22
	カビ臭TON				1 4	1

●は各RTで匂いを感じたことを示す

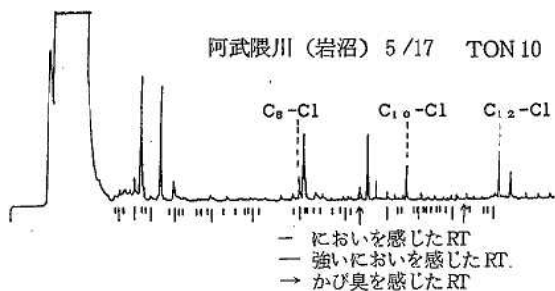


図4 濃縮試料のカラムスニッフィング

表4 阿武隈川のキャピラリーGC・
カラムスニッフing

R, T	匂い	MAY		JUNE		JULY		AUG.		SEP.	
		7	21	4	18	2	16	7	21	3	18
6. 5	キナ臭		●		●	●	●				
7. 9	草臭		●								●
8. 7	草臭	●						●	●	●	●
10. 5	ガス臭						●			●	●
11. 7	キナ臭		●					●		●	●
13. 2	キナ臭		●	●	●			●	●	●	●
14. 9	生ぐさ臭	●	●			●		●	●	●	●
17. 8	汗・カキ臭	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
18. 5	キナ臭	●	●	●				●		●	●
19. 2	草臭	●	●		●	●		●		●	●
21. 1	ワラ臭							●			
21. 3	甘い匂い									●	●
22. 0	カビ臭	●	●	●	●	●		●	●	●	●
24. 9	キナ臭						●		●	●	●
25. 2	キナ臭								●	●	●
25. 6	石鹸臭	●						●	●	●	●
26. 4	ワラ臭	●	●	●				●	●	●	●
26. 7	石鹸臭	●	●	●	●			●			
27. 7	石鹸臭					●		●			
27. 9	ワラ臭								●		●
29. 0	カビ臭		●				●			●	
試料臭気	異臭味TON	5	10	14	30	22	30	61	61	400	30
	カビ臭TON							18	30	400	4

●は各RTで匂いを感知したことを示す

これらのにおいが同一のRTに感知されている。

漆沢ダムの上流は人口汚染の少ない地域であり、阿武隈川(岩沼)は福島県白河の上流を源にして途中多くの生活排水が流れ込む河川であるが、阿武隈川(岩沼)でのにおいの種類がやや多いものの、両者共に同一のRTのにおい物質を数多く含んでおり、これらが総じて水のおいとして感知されているものと考察される。

また、濃縮する前の各試料のかび臭は、表-3、表-4の下欄に示したように漆沢ダム(菊水堰)ではTON 1~4と低く、阿武隈川(岩沼)はTON 4~400と例年になく高い状況ではあったが、TONとしてかび臭を感知したのは8月から9月にかけての夏季のみである。

しかし、抽出濃縮試料でのカラムスニッフingでは、漆沢ダム(菊水堰)、阿武隈川(岩沼)とも5~6月

には、2-MIB (RT22min)、ジオスミン (RT29min)を感知している。我々のTON試験の場合の2-MIBとジオスミンのいき値⁵⁾が、各々、0.6,1.0ng/lであること、今回の濃縮率が18000倍であることを考慮すると、5月頃からすでに極微量のかび臭が発生していたことが明らかとなった。

4. おわりに

水道水源の異臭味としては、かび臭に関する研究はかなり進んでいるが、かび臭以外の異臭味については、藻類の培養により分離したもので、直接、河川や湖沼の水を濃縮した例は少ない。産生された異臭味物質が浄水処理操作で除去可能か否かは、その物質の物理的、化学的性質に決定されるものであるから、これらの異臭味物質を制御し、除去するためには、異臭味物質の物理的、化学的性質や種類を明らかにすることが重要である。また、カラムスニッフingという官能的方法で感知されたにおい物質を、GC-MS等の機器分析で検出、確認するためには、濃縮方法などについてもさらなる検討が必要と思われる。

5. 謝 辞

最後に本調査を実施するにあたり、ご協力をいただいた宮城県大崎広域水道事務所、岩沼市玉崎浄水場の関係者の皆様に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 木戸一博他：宮城県保健環境センター年報 8,98-101(1990)
- 2) 次田隆志他：食品工業 5,49-56(1983)
- 3) 杉沢博：日本食品工業学会誌 35,(8)44-52(1988)
- 4) R SAVENHED et.al:Journal of Chromatography, 328,219-231(1985)
- 5) 高橋紀世子他：宮城県保健環境センター年報 6,74-78(1988)

12. 酸性雨自動測定結果について (第2報)

百川 和子 小島 秀行* 仁平 明**
氏家 愛子 斎藤 達夫***

仙台、箕岳の国設大気測定所において、1988年3月から酸性雨自動採取分析装置による測定を行なっている。自動測定と手分析のpH、EC等のデータを比較し、自動測定データの精度を検討した。pH、ECについては手分析データとの対応がとれていることから自動測定データは概ね良好な精度が得られていると考えられる。また、国設箕岳で自動測定しているイオン成分のうち、 NO_3^- は両者とも一致していたが SO_4^{2-} は自動が低く、BaCl₂比濁法は低濃度での感度の問題があると思われる。

自動測定で得られるデータはpH、EC等だけであり、国設仙台、国設箕岳における雨水の特徴を把握しておくため同一試料を手分析したイオン成分データを主成分分析により統計的に解析した。代表的なイオン成分の変動の約80%程度を表現する第1、第2主成分が抽出され、第1主成分は雨水の汚染度、第2主成分はpHで表わされる酸性度と解釈できた。

1. はじめに

長期的な酸性降下物のモニタリングを目的として、仙台、箕岳の国設大気測定所において、1988年3月から酸性雨自動採取分析装置による測定を行っている。これは、0.5mm降雨毎にpH、EC(一部機種では1.0mm毎に SO_4^{2-} 、 NO_3^-)を自動測定するとともに、採取した降水の一部は成分分析用の試料として容器に分取保存し、自動採取装置としての機能を備えている。成分等の分析は、1988年9月から実施しているが、今回は両法で測定したpH、EC等のデータを比較し、自動測定データの精度を検討した。

また、自動測定で得られるデータは、pH、EC等だけでなく、雨水の成分組成に関する情報は得られない。国設仙台、国設箕岳における雨水の特徴を把握しておくため、同一試料を手分析したイオン成分データを主成分分析により統計的に解析し、これとpH、ECとの関連について考察した。

2. 調査方法

2.1 調査地点

前報¹⁾に同じ

2.2 自動採取分析装置及び測定項目

自動測定 前報¹⁾に同じ

手分析 2週間毎に回収した試料を酸性雨等調査マニュアル²⁾に基づき次の方法で分析した。

pH: ガラス電極法

EC: 導電率計による方法

SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 Cl^- : イオンクロマトグラフ法

Na^+ 、 Ca^{2+} 、 K^+ 、 Mg^{2+} : 原子吸光法

* 現・宮城県消費生活センター

** 現・宮城県大崎保健所

*** 現・宮城県塩釜保健所

NH_4^+ : インドフェノール法

2.3 調査期間

1988年9月～1989年3月

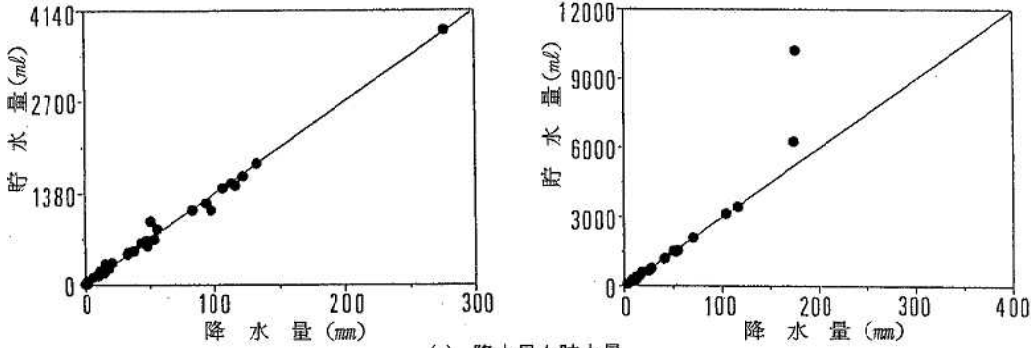
3. 結果及び考察

3.1 自動測定データと手分析データの関係

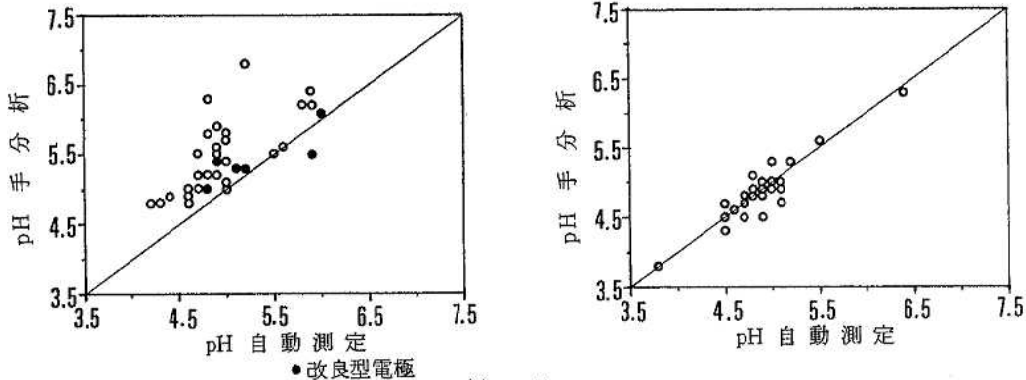
自動分析によって得られたデータと手分析によるデータの対応関係を図1に示す。手分析データは2週間毎の測定データであり、自動測定のデータは0.5mm降雨毎のデータを手分析の採取期間に合せて平均(pHはH⁺の平均から算定)を求め比較した。

自動測定の降水量と保存タンクの貯水量との関係は、両局とも良好な直線関係があり、一定比率で試料は分取されていた。国設箕岳局では降水量の多いところで貯水率の大きい試料があるが、これは降雨強度の大きい場合、バルブ開閉時に次降雨分が混入してしまう構造のためと思われる。

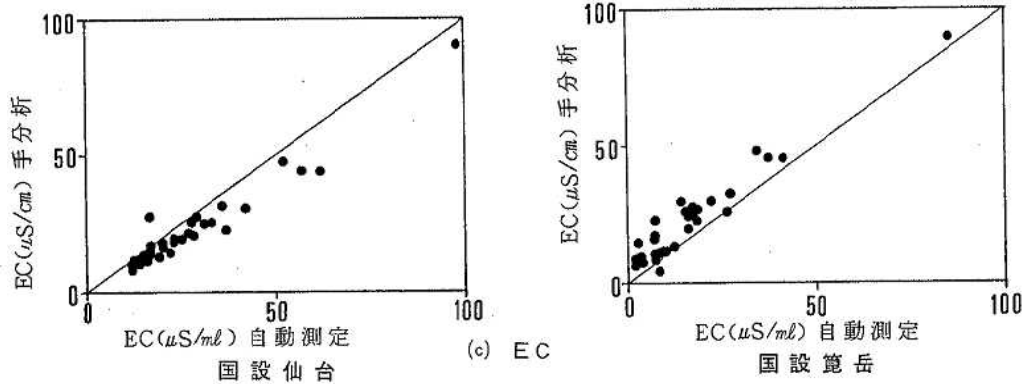
pHについては、国設箕岳では良く一致していたが、国設仙台では自動測定が低値のものが多かった。国設箕岳の自動測定機のpH分析時間は40秒である。さらにpH、EC測定中に次の降雨があった場合、次降雨はオーバーフローさせる機構であり、常に一定の分析時間は確保されている。一方、国設仙台の自動測定機は降雨0.5mmで転倒しますが転倒し、3分後のpH等の指示値をホールドし測定値とする。急激な雨でホールド開始時間前に次の0.5mm降雨を採取した場合は、その時点で先の雨の測定を終了し、次の測定を開始する構造である。ホールド開始前の指示値は、ECは測定開始直後からほぼ一定値を保つのに対し、pHは0.2～0.8の増大が認められ、降雨強度10mm/時以上の急激な降雨は分析時間が一定しない。このため、pHが不安定で実際より低い値を測定値として採用してしまう。また、測定時間が3分以上のデータで手分析データと比較しても自動測定が低いこと、従来のpH電極はECが低いほど安定するのに



(a) 降水量と貯水量



(b) pH



(c) EC

図1-1 自動測定と手分析データの比較

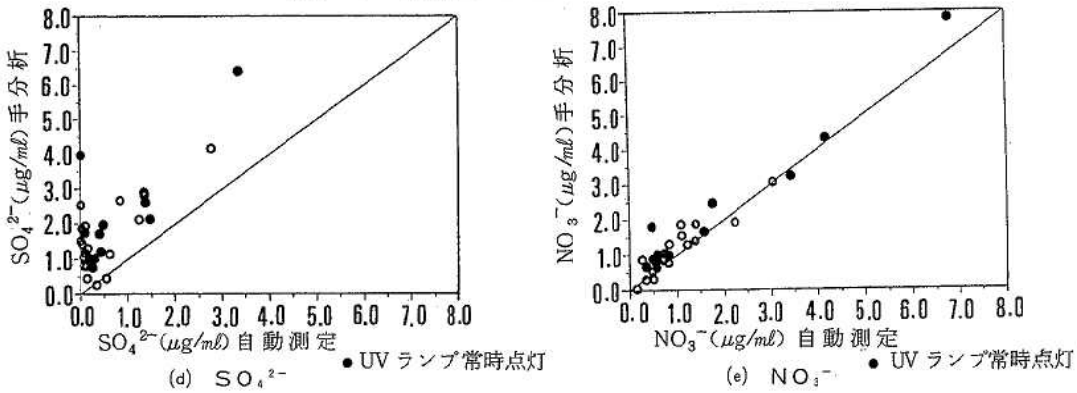


図1-2 自動測定と手分析データの比較 (国設箕岳)

時間を要し応答性に問題があること等から、平成元年12月に応答時間が1分30秒の改良型pH電極(図1-1(b)の●印)に交換した。電極交換後はH⁺の極量当量導電率からはずれず測定値はほとんどなく改善されている。しかし、江阪ら³⁾は応答性の早い改良型pH電極は、降雨強度が大きい場合に手分析値に近いpH測定値を示すが、降雨強度が小さくなるほど実際のpHよりも高い測定値になる傾向があることを報告しており、今後も検討を要すると思われる。

ECは両局ともバラツキはあるものの概ね一致していた。自動測定によるECの測定誤差は約10~15μS/cmであり、これは2週間程度の期間中のEC平均値に対して無視できない大きさであるとされている⁴⁾。国設仙台では自動測定>手分析、国設箕岳では逆に自動測定<手分析の関係にあり、特に国設箕岳では自動測定でECがゼロを示すものが多く、低EC域でのEC電極の精度の改善が望まれる。

国設箕岳局ではpH、ECの他1.0mm降雨毎に紫外外部吸光度法によりSO₄²⁻、NO₃⁻を自動測定している。分析波長220nmを用いたNO₃⁻の自動測定データは手分析データと一致していたが、SO₄²⁻は自動測定がかなり低値であった。自動測定ではSO₄²⁻はBaCl₂を添加し生成したBaSO₄による濁度を分析波長300nmで測定している。自動測定で紫外外部吸収に使用するUVランプは、従来、感雨時のみ点灯する機構であるが、UVランプは安定な光量となるのに約30分要し、点灯直後では正確な測定値は得られない。特に、自動測定では昭和63年12月から冬期間連続して低値で推移したため、光量の安定化をはかる目的で平成元年9月からUVランプの常時点灯を行なった。UVランプの常時点灯以後(図1-2(d)の●印)は若干回復したが、手分析に比較し自動測定データはやはり低値であった。SO₄²⁻の分析法として自動測定で採用しているBaCl₂比濁法は、生成したBaSO₄の再溶解等低濃度での感度に問題があるものと思われる。

自動測定データは、降雨(降雪)中のほぼリアルタイムの降水の性状を表わしているのに対して、手分析に供される試料は、一定期間測定機内に保存されるので、保存期間中にある程度変質する可能性がある。試料の変質の原因としては、(1)試料中の化学反応の進行(2)微生物による変質(3)試料中の粒子状物質の溶解、空気中の粒子状物質の吸着(4)ガス状物質の吸収(5)試料の蒸発による損失等⁴⁾があげられている。江阪ら³⁾は自動測定機の精度に関する報告でフィールドにおいては夏期に40℃を超える場合があること、Cl⁻、SO₄²⁻、NO₃⁻については概ね保存性は良好であったが、保存温度30℃ではpH、ECの変化がおおきく、保存温度30℃以上では試料の変質の恐れがあること、試料保存容器は密閉系でないこと蒸発損失があること等を指摘している。玉置ら⁵⁾は降水中の主成分は閉鎖系では10日~1か月程度の室内放置に対して安定であるが、pHとNH₄⁺は保存状態のいかんを

問わずその値が大きく変化する試料が例外的に存在すること等報告している。これらを防止して長期に渡って採取される試料の安定性を確保するには、遮光、試料のろ過、冷却、密閉系の採用等の対策を施す必要があるが、国設仙台で保存容器として密閉容器が使用されている他は現在の装置ではこれらの対策は取られていない。従って自動測定データと手分析データは必ずしも厳密に一致するものではないが、pH、EC及びNO₃⁻については手分析データとの対応がとれていることから自動測定データは概ね良好な精度が得られていると考えられる。

3.2 主成分分析

3.2.1 主成分分析結果

酸性雨調査では、H⁺及びSO₄²⁻、NO₃⁻、Cl⁻、NH₄⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、K⁺、Na⁺の濃度が測定されている。化学的にはこれらのイオン成分間でイオンバランスが成立し、また、ECの実測値は、これらのイオン成分によって説明されることがわかっている⁶⁾。ここでは雨水の性状を総合的に把握するため、これらのイオン成分を対象に主成分分析を行なった。

国設仙台及び国設箕岳における、H⁺、SO₄²⁻、NO₃⁻、Cl⁻、NH₄⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、K⁺、Na⁺の9成分の当量濃度についての主成分分析結果を表1、図2に示す。固有値が1より大きい主成分は両地点とも第2主成分までで、累積寄与率は国設仙台76%、国設箕岳81%であった。

表1 主成分分析結果

	国 設 仙 台		国 設 箕 岳	
	第1主成分	第2主成分	第1主成分	第2主成分
固有値	5.25	1.60	5.46	1.87
累積寄与率	0.58	0.76	0.61	0.81
H ⁺	0.05	0.65	-0.28	0.48
固 有 SO ₄ ²⁻	-0.40	0.17	-0.40	0.17
有 NO ₃ ⁻	-0.37	0.31	-0.33	0.42
べ Cl ⁻	-0.38	-0.14	-0.33	-0.43
ク NH ₄ ⁺	-0.30	0.50	-0.36	0.10
ト Ca ²⁺	-0.35	-0.11	-0.35	0.16
ル Mg ²⁺	-0.39	-0.11	-0.38	-0.28
K ⁺	-0.23	-0.31	-0.15	-0.34
Na ⁺	-0.37	-0.24	-0.34	-0.39
サンプル数	34		33	

図2の第1、第2主成分因子負荷量分布によれば、国設仙台ではH⁺、K⁺を除く各イオン成分と第1主成分は相関が強い。H⁺は第1主成分と相関はなく、第2主成分とのみ強い相関がある。第1主成分と相関があるイオン成分のうち、人為由来といわれるSO₄²⁻、NO₃⁻、NH₄⁺と、海水中に含まれるNa⁺、Cl⁻、Mg²⁺は、

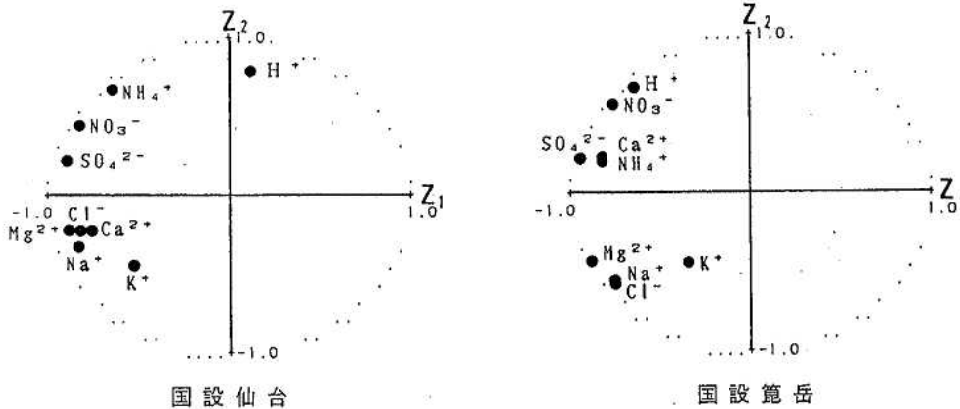


図2 第1, 第2主成分因子負荷量分布

第2主成分軸上で逆の相関になっている。K⁺は、第1, 第2主成分の双方に対して中程度の関係であり、他のイオン成分とは異なる挙動である。

国設箕岳の結果はH⁺とCa²⁺以外は国設仙台と同様である。H⁺は明らかに異っており、第1主成分とも相関を示す。Ca²⁺は、第2主成分に関して国設仙台ではNa⁺等のグループと類似していたのに対し、国設箕岳ではSO₄²⁻等のグループに含まれる。

3.2.2 第1主成分

第1主成分は、国設仙台、国設箕岳いずれの場合でもH⁺、K⁺以外の成分と強い相関があった。これはH⁺、K⁺を除くイオン成分濃度の増減傾向が類似し、第1主成分がその共通変動を表すことを意味している。第1主成分Z₁は、イオン成分iの当量濃度をX_i、その固有ベクトルをℓ_{1i}とするとき

$$Z_1 = \sum_{i=1}^9 \ell_{1i} \cdot X_i \quad (1)$$

で表される。表1をみると、H⁺、K⁺以外の第1主成分固有ベクトルはほぼ同じ大きさである。K⁺は、固有ベクトルの大きさは他と差異があるものの符号は同じであり、その濃度は他の成分に比べて低いから、第1主成分に対する影響は小さい。

このことから、国設仙台の場合について、第1主成分固有ベクトルは、H⁺がゼロ、H⁺以外のイオン成分はすべて同じと簡単化すると、H⁺についてℓ_{1i} = 0、H⁺以外について

ℓ_{1i} = ℓ₁ (一定) であるから、(1)式は

$$Z_1 \approx 8 \ell_1 \cdot \bar{X}_i \quad (2)$$

となる。ここで、 \bar{X}_i はH⁺以外のイオン成分当量濃度の平均値である。(2)式によれば、第1主成分はX_iに比例し、H⁺以外の物質による雨水の汚染度を表わす指標と解釈できる。

さて、(1)式の右辺は、イオン成分ごとの定数と当量濃

度の積和であり、ECの計算式と同じ構造である。ECの計算値EC_{cal}は、イオン成分X_iとその極限当量伝導率λ_iから次式で与えられ、測定値ECとよく一致することが知られている⁶⁾。

$$EC \approx EC_{cal} = \sum_{i=1}^9 \lambda_i \cdot X_i \quad (3)$$

(2)式との整合を図るため、(3)式をH⁺によるECと、H⁺以外の成分によるEC (これをEC_pと定義する。)に分離する。更に表2のとおり、H⁺の極限当量伝導率λ_Hだけが349.8 S/cm·eqと大きく、他は50~80 S/cm·eqで、イオン成分間による差は大きくないことから、H⁺以外の極限当量伝導率を一定値λと仮定すると

$$EC_p = EC - \lambda_H \cdot [H^+] \approx 8 \lambda \cdot \bar{X}_i \quad (4)$$

(2)、(4)式はともにH⁺以外の成分の当量濃度の平均値X_iに関連し、第1主成分とEC_pは比例することが期待される。

$$Z_1 \propto EC_p \quad (5)$$

実際の両者の関係を図3(a)に示すが、(5)式の関係はよく成立している。図3(a)には国設箕岳のものも図示したが、国設仙台同様、(5)式は成り立っているとみられる。

酸性雨調査において、pHとECは必ず測定され、0.5mm毎の自動測定でもこの2項目を測定している。したがって、主成分分析により雨水特性の第1主成分に抽出された汚染度は、EC_pとして測定値から得ることができる。

3.2.3 第2主成分

国設仙台の場合、H⁺は第2主成分との相関が強く、第1主成分とは相関がない。H⁺が第2主成分のみに関係していることから、第2主成分は雨水の酸性度を表わ

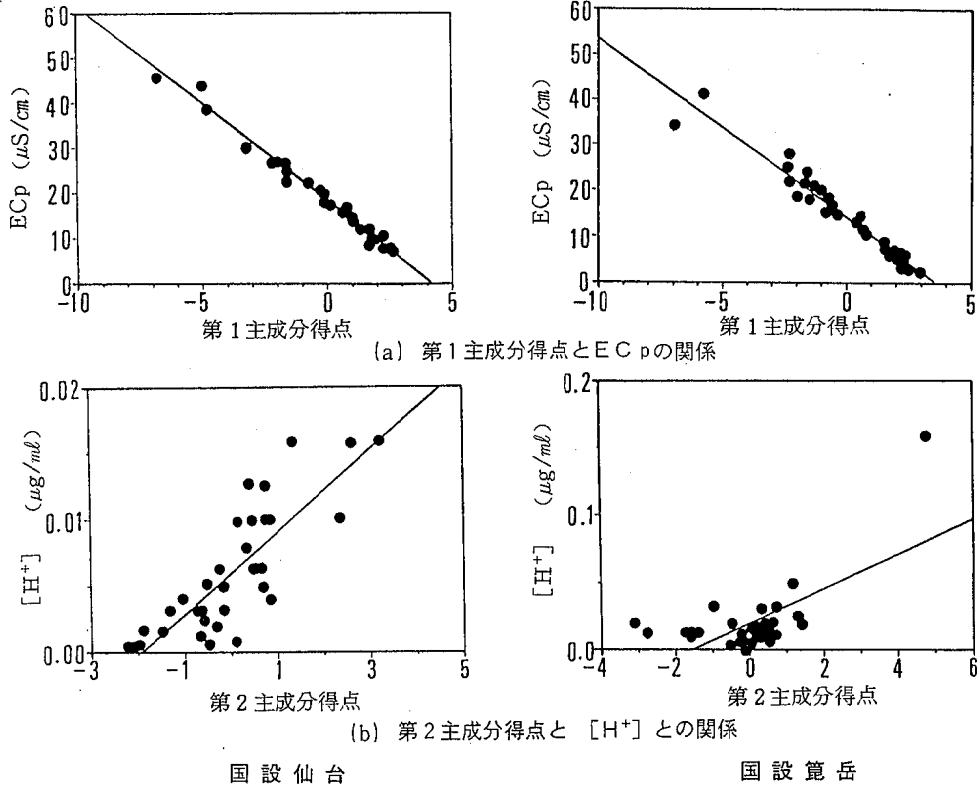


図3 第1, 第2主成分得点とECp, [H⁺]との関係

表2 雨水成分の極限当量伝導率
(単位: S/cm·eq)

イオン成分	極限当量伝導率
H ⁺	349.8
SO ₄ ²⁻	80.02
NO ₃ ⁻	71.46
Cl ⁻	76.35
NH ₄ ⁺	73.55
Ca ²⁺	59.50
Mg ²⁺	53.05
K ⁺	73.50
Na ⁺	50.10

すと考えられる。図3 (b) に第2主成分得点Z₂とH⁺との関係を示した。両者の間に相関関係が認められ、近似的には

$$Z_2 \propto [H^+] \quad (6)$$

が成り立っている。

国設箕岳の場合は、H⁺がSO₄²⁻等のグループに近く、第2主成分と特に関係するイオン成分はない。しか

し、この中で第2主成分と最も関係しているのがH⁺であることから、ここでは国設箕岳を含め、雨水の2番目の特性を表す第2主成分は、酸性度であると考えた。

これまでに雨水のイオン成分を主成分分析した報告^{7,8)}では、第2主成分方向で人為汚染のSO₄²⁻、NO₃⁻、NH₄⁺と、海塩粒子の影響が大きいNa⁺、Cl⁻、Mg²⁺が分離されたことにより、第2主成分は発生源寄与を示す因子と解釈されている。本報では、特に国設仙台の場合に、第2主成分がH⁺と最も相関していることに着目し、酸性度を表すと解釈した。この場合のSO₄²⁻等とNa⁺等の分離については、現象的には発生源寄与或いは雨水への取込差等が関係すると思われるが、前者がH⁺と正の相関、後者が負の相関関係にあることから、SO₄²⁻等の増加によって酸性度が高まることを示したものと解釈した。

4. まとめ

国設仙台、国設箕岳における酸性雨自動採取分析装置による自動測定と手分析のpH、EC等のデータを比較し以下の結果を得た。

0.5mm降雨毎の自動測定データ(手分析に対応する期間の平均値)と同一装置により採取された2週間毎の手分析データと比較した。ECは両局ともバラツキはあるがほぼ一致していた。pHは国設箕岳では良く一致して

いたが、国設仙台では自動測定が低く、pH電極を応答時間の早いものに交換し、改善を図った。

国設箕岳で自動で測定しているイオン成分のうち NO_3^- は一致していたが、 SO_4^{2-} は自動測定が低値であり、 SO_4^{2-} の分析法として自動測定で採用している BaCl_2 比濁法は、低濃度での感度に問題があるものと思われる。

pH、EC及び NO_3^- については手分析データとの対応がとれていることから自動測定データは概ね良好な精度が得られていると考えられる。

また、同一装置で分取した雨水中のイオン成分の手分析データを用いた主成分分析の結果、代表的なイオン成分の変動の約80%程度を表現する第1、第2主成分を抽出した。ここで第1主成分は雨水の汚染度 (ECP) を表わし、近似的に

$$\text{ECP} = \text{EC} - \lambda_{\text{H}^+} \cdot [\text{H}^+]$$

で得られる。第2主成分はpHで表わされる酸性度と解釈できた。ここで、汚染度はイオン成分の存在量を表す能動因子であり、酸性度は存在するイオン成分の組合せによって決定する受動因子であり、特に酸性度が汚染度と独立した特性になっていることが注目される。

参 考 文 献

- 1) 百川和子, 小島秀行, 仁平 明, 斎藤達夫: 宮城県保健環境センター年報, 8, 102~108(1990)
- 2) 環境庁大気保全局: 酸性雨等調査マニュアル, 昭和63年3月
- 3) 京都府: 平成元年度環境庁委託業務結果報告書, 「酸性雨自動測定機の精度に関する研究」, 平成2年3月
- 4) 姉数理計画: 平成元年度環境庁委託業務結果報告書 「昭和63年度酸性雨実体把握調査及び総合パイロットモニタリング調査の解析」, 平成2年3月
- 5) 玉置元則, 平木降年, 渡辺 弘: 大気汚染学会誌 21(4), 289~295(1986)
- 6) 原 宏: 大気汚染学会誌, 26(3), A56(1991)
- 7) 松本光宏, 板野龍光: 大気汚染学会誌 20(1), 12~22(1985)
- 8) 北村洋子, 小泉俊一, 加藤愛子, 安倍陸夫, 森泰明, 幕田豊二郎: 宮城県公害技術センター報告 8, 40~64(1979)