

静岡県環境衛生科学研究所報 No.45 正誤表

頁	行	誤	正
61	3	ELAISA	ELISA
62	☒ 1	<p>ELISA法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>GC/MS法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p>	<p>ELISA法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>GC/MS法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p>
62	☒ 2	<p>ELISA法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>GC/MS法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p>	<p>ELISA法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>GC/MS法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p>
62	☒ 3	<p>ELISA法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>GC/MS法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>✕A □B ▲C ◇D ✕E OF +G</p>	<p>ELISA法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>GC/MS法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>✕A □B ▲C ◇D ✕E OF +G</p>
63	☒ 4	<p>ELISA法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>GC/MS法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>● BPA ▲ X-1 ◇ X-2 1:1</p>	<p>ELISA法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>GC/MS法による測定値 ($\mu\text{g/l}$)</p> <p>● BPA ▲ X-1 ◇ X-2 1:1</p>

頁	行	誤	正
77	1	No45 79-83	No45 77-81
80	23	2.2ppb~より 1.1ppb	22ppb~より 11ppb
80	28	K=0.1	K=1
80	33	0.3~2km, 0.2~1.5km	0.7~18km, 0.5~12km
80	34	約 2ppb(6.7)	約 20ppb(67)
80	35	約 1ppb($3.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$)	約 10ppb($33 \mu\text{g}/\text{m}^3$)
80	47	排出係数 8.2	排出係数 5.5
80	50	57g/day, 東名高速道路が ^s 856g/day	38g/day, 東名高速道路が ^s 574g/day
89	7	Nitrate-Nitrogenn	Nitrate-Nitrogen
92	32	硝酸濃度	硝酸性窒素濃度
94	71	県民生環局境保全課	県民生活局環境保全課
105	12	静岡県環境衛生科学研究所	静岡県環境衛生科学研究所

Shizuoka-Ken Kankyō Eisei Kagaku
Kenkyūsho Hōkoku 45(2002)
ISSN 1343-246X

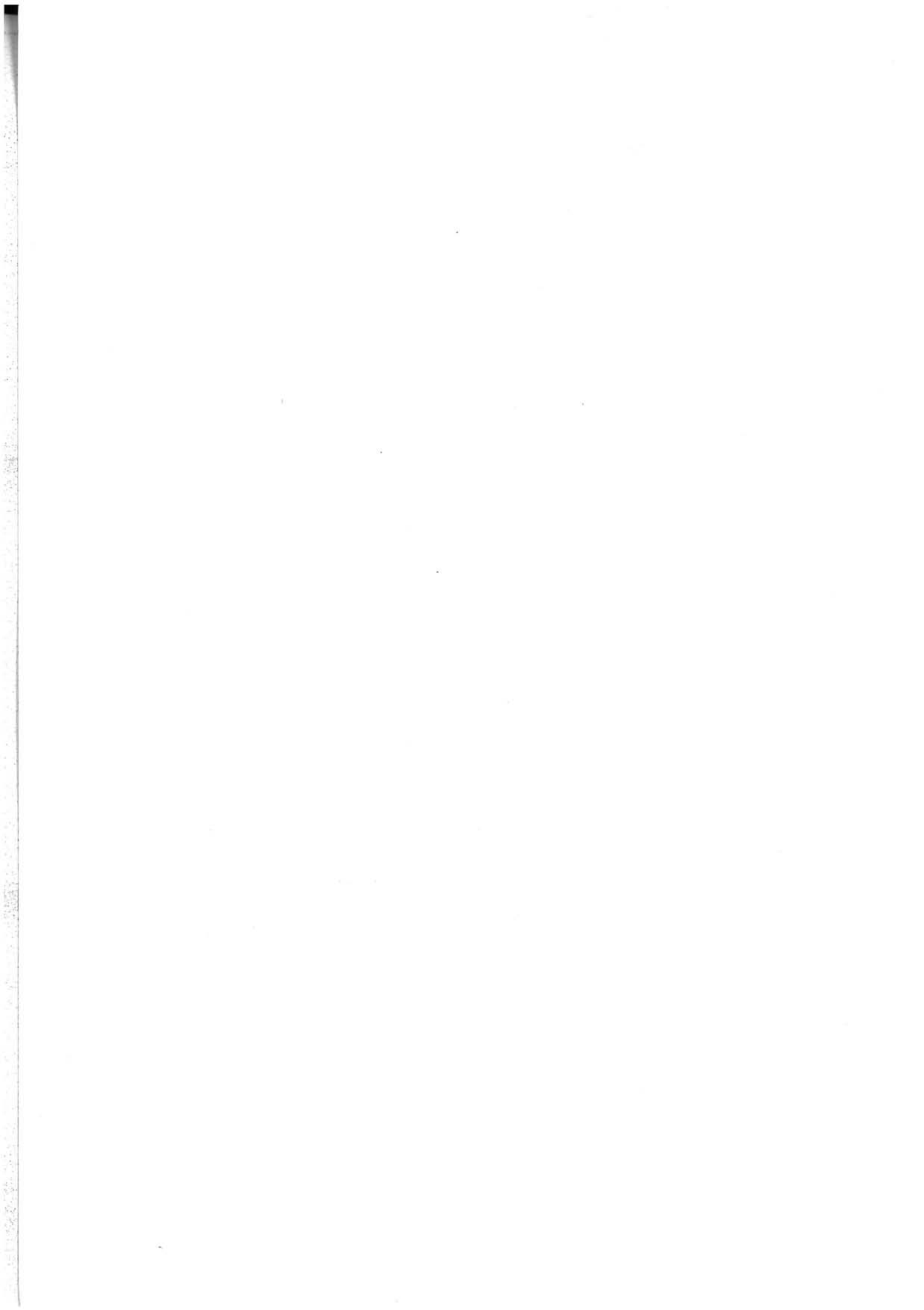
静岡県環境衛生科学研究所報告

平成 14 年度

Bulletin
of
Shizuoka Institute of
Environment and Hygiene

No.45 2002

静岡県環境衛生科学研究所



は し が き

最近、地球温暖化に伴う異常気象等、様々な環境に対する問題、また炭疽、ウエストナイル熱や重症急性呼吸器症候群（SARS）などウイルス等に起因する疾病が人々の不安を引き起こしています。特に SARS は、発症者の多い国々だけの問題に留まらず、人命は元より世界の経済へも影響を与えるなど大きな社会問題となっております。当研究所においても PCR（遺伝子増幅装置）を用いたスクリーニングなど、緊急時対応を行うための体制を整えたところであります。

当研究所は、使命である“県民の安全と安心の確保”を目指して、環境、公衆衛生及び消費生活に関する調査・検査や研究として、環境ホルモン物質、VOC（揮発性有害化学物質）、地下水の有害化学物質、食品中の残留農薬、医薬品、HIV（エイズ）など広域的な調査・研究を行っております。これらの研究の実施に当たっては、外部の学識経験者等で構成する評価委員が事前評価や事後評価を行うなどその研究の効率的推進とレベルアップに努めているところです。

今後は、ウイルスや有害化学物質などによる危機管理体制の一層の整備、プロジェクト研究で開発した排熱利用型の低温乾燥装置の普及や温泉施設におけるレジオネラ属菌の除菌方法の研究などに努め、引き続き当研究所が県民の期待に応えることができるよう一層の進展を図る所存であります。

この報告は、平成14年度実施した研究結果を取りまとめたものであります。本報告を御高覧の上、御批判・御指導を頂ければ幸いです。

平成15年5月

静岡県環境衛生科学研究所長 矢崎彬雄

目 次

論 文

微生物部

- 1 腸炎ビブリオ食中毒原因菌の食品・環境における分布調査と検査法の検討
—市販魚介類における腸炎ビブリオ及び耐熱性溶血毒産生菌の汚染状況—
……………三輪 憲永, 西尾 智裕, 有田 世乃, 川森 文彦
増田 高志, 秋山 真人…………… 1
- 2 カンピロバクターの生態および検出方法に関する研究
……………川森 文彦, 有田 世乃, 西尾 智裕, 三輪 憲永
増田 高志, 秋山 真人…………… 5
- 3 インフルエンザウイルスの流行予測に関する研究
—非流行期の分離ウイルスと時期流行ウイルスとの関係—
……………佐原 啓二, 稲吉 恵, 杉枝 正明, 秋山 真人…………… 13

医薬品生活部

- 4 医薬品等の規格試験法に関する問題点 (第四報)
……………小和田和宏, 栗田 浩幸, 植田 敦子, 藤原 厚子
越智壽美子, 浮島 美之, 堀池あずさ, 山口善三郎…………… 19
- 5 スキップ試験等の導入に関する研究 (第一報)
—県内医薬品製造所に対するアンケート調査結果—
……………小和田和宏, 栗田 浩幸, 植田 敦子, 藤原 厚子
越智壽美子, 浮島 美之…………… 25
- 6 院内製剤の品質確保に関する研究 (第三報)
—院内製剤β-カロチン散の安定性評価—
……………植田 敦子, 栗田 浩幸, 小和田和宏, 藤原 厚子
越智壽美子, 浮島 美之, 渡邊 恵子, 大石 結花
浅倉 侯子, 見崎 芳枝…………… 31
- 7 院内製剤の品質確保に関する研究 (第四報)
—高カロリー輸液・電解質輸液混合製剤の安定性評価—
……………栗田 浩幸, 植田 敦子, 小和田和宏, 越智壽美子
藤原 厚子, 浮島 美之, 渡邊 恵子, 大石 結花
見崎 芳枝…………… 35
- 8 有機リン系農薬の残留農薬一斉分析法への適応性の検討
……………山下 敬子, 増田 敦子, 高橋 真, 越智壽美子
浮島 美之…………… 41

9	ドリンク類（医薬品・医薬部外品・食品）に関する調査研究	
	……………柏木美智子, 影山 知子, 菅野 尚子, 渡邊 正幸	
	……………浮島 美之 ……………	47
10	詰め替え用洗剤類に関する調査研究	
	……………影山 知子, 菅野 尚子, 浮島 美之, 渡辺 武明 ………	53
環境科学部		
11	アルデヒド類のパッシブサンプリング法の検討	
	……………房家 正博, 古屋 佳宏, 松下 秀鶴, 野田 高広	
	……………大浦 健, 雨谷 啓史 ……………	57
12	排水中のビスフェノール A 測定への ELISA 法の適用性	
	……………渡邊 雅之, 房家 正博, 古屋 佳宏 ……………	61
13	有機スズ分析法の検討	
	……………房家 正博, 渡邊 雅之, 室伏 由紀, 古屋 佳宏 ………	65
大気・水質部		
14	静岡県内の PM2.5 に関する調査	
	—PM2.5 濃度と化学成分特性—	
	……………篠原英二郎, 太田良和弘, 池谷 静雄, 永田 嘉七	
	……………望月 大介 ……………	69
15	富土地域における大気環境中ベンゼンの負荷要因の推定	
	……………太田良和弘, 永田 嘉七, 篠原英二郎, 池谷 静雄	
	……………前嶋 孝明, 鈴木 光彰, 三好 廣志 ……………	77
16	一般環境臭気の低濃度臭気指数測定法について	
	……………永田 嘉七, 池谷 静雄, 前嶋 孝明 ……………	83
西部支所		
17	閉鎖性水域における汚濁物質の蓄積解明	
	—硝酸性窒素で汚染された水の処理に伴うプランクトン相の回復に関する研究—	
	……………中島 二夫, 上野 千恵, 志村 修 ……………	89
他誌に発表した論文 ……………		95
学会・研究会の報告……………		99
表彰等 ……………		104

CONTENTS

PAPERS

Department of Microbiology

- 1 Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* and Thermostable Direct Hemolysin- Producing Organism in Retail Seafood
-----N. Miwa, T. Nishio, Y. Arita, F. Kawamori, T. Masuda
and M. Akiyama ----- 1
- 2 Epidemiological Survey of *Campylobacter* spp. and Comparison of Isolation Methods for Campylobacters
-----F. Kawamori, Y. Arita, T. Nishio, N. Miwa, T. Masuda
and M. Akiyama ----- 5
- 3 Analysis of Influenza Viruses Isolated in Off-Seasons and Following Epidemic Seasons in Shizuoka Prefecture
-----K. Sahara, M. Inayoshi, M. Sugieda
and M. Akiyama ----- 13

Department of Pharmaceutics and Consumer Science

- 4 Study on the Specifications and Test Methods of Drugs etc. IV
-----K. Owada, H. Kurita, A. Ueta, A. Fujiwara, S. Ochi,
Y. Ukishima, A. Horiike and Z. Yamaguchi----- 19
- 5 Study on the Introduction of Periodic/Skip testing (1)
— Research of Prospect for the Periodic/Skip testing to Drug Manufactures in Shizuoka Prefecture —
----- K. Owada, H. Kurita, A. Ueta, A. Fujiwara, S. Ochi
and Y. Ukishima ----- 25
- 6 Study on Guarantee of Quality for Hospital Preparation III
— Stability Test for β -carotene Powder of Hospital Preparation —
-----A. Ueta, H. Kurita, K. Owada, A. Fujiwara, S. Ochi,
Y. Ukishima, K. Watanabe, Y. Oishi, K. Asakura
and Y. Misaki----- 31

7	Study on Guarantee of Quality for Hospital Preparation IV — Stability Test for Mixed Transfusion of IVH and Electrolyte — ----- H. Kurita, A. Ueta, K. Owada, S. Ochi, A. Fujiwara, Y. Ukishima, K. Watanabe, Y. Oishi and Y. Misaki -----	35
8	Application of the Simultaneous Analytical Method for Pesticide Residues on the Analysis of Organophosphorous Pesticides -----T. Yamashita, K. Masuda, M. Takahashi, S. Ochi and Y. Ukishima-----	41
9	Study on Nutrition Components of Drinks (Drugs, Quasi-drugs and Foods) -----M. Kashiwagi, T. Kageyama, N. Kanno, M. Watanabe and Y. Ukishima-----	47
10	Practical Test on Refills of Household Detergents -----T. Kageyama, N. Kanno, Y. Ukishima and T. Watanabe-----	53
Department of Environment Science		
11	Study on the Passive Sampling Method for Aldehyde Compounds -----M. Fusaya, Y. Furuya, H. Matsusita, T. Noda, T. Ohura and T. Amagai-----	57
12	Applicability of ELAISA Method to Bisphenol A Analysis of Waste Water -----M. Watanabe, M. Fusaya and Y. Furuya -----	61
13	Study on the Analytical Method for Organotin Compounds -----M. Fusaya, M. Watanabe, Y. Murofushi and Y. Furuya -----	65
Department of Pollution Control		
14	Research of Particulate Matters Smaller than $2.5\mu\text{m}$ in Diameter on Pollutants in Shizuoka Prefecture — The Physical and Chemical Properties of PM _{2.5} — -----E. Shinohara, K. Ohtara, S. Iketani, K. Nagata and D. Mochizuki -----	69

15	Estimation of Emission Sources of Benzene in the Atmosphere in Fuji Area	
	-----K.Ohtara, K.Nagata, E.Shinohara, S.Iketani,	
	T.Maejima, M.Suzuki and H.Miyoshi-----	77

16	Study of Measurement Method of Low Concentration Odor Index in Ambient Environmental Air	
	-----K.Nagata, E.Shinohara, S.Iketani and T.Maejima -----	83

Western Branch

17	Survey on Contaminant Accumulation in Closed Water Area	
	— Study on Plankton Restoration by Water Treatment Plant for Nitrate-Nitrogen Contaminated Pond —	
	-----T.Nakajima, C.Ueno and O.Simura-----	89

SUMMARIES OF PAPERS IN OTHER PUBLICATIONS	-----	95
PRESENTATIONS AT CONFERENCES AND/OR SOCIETY MEETINGS	-----	99
COMMENDATION	-----	104

腸炎ビブリオ食中毒原因菌の食品・環境における 分布調査と検査法の検討

—市販魚介類における腸炎ビブリオ及び耐熱性溶血毒産生菌の汚染状況—

微生物部微生物スタッフ 三輪憲永, 西尾智裕, 有田世乃
川森文彦, 増田高志, 秋山真人

Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* and Thermostable Direct Hemolysin-Producing Organism in Retail Seafood

Norinaga MIWA, Tomohiro NISHIO, Yono ARITA,
Fumihiko KAWAMORI, Takashi MASUDA and Masato AKIYAMA

市販魚介類における腸炎ビブリオおよび耐熱性溶血毒 (TDH) 産生菌の汚染状況を調査した。生食用魚介類は食品衛生法の規格基準 (腸炎ビブリオ 100/g 未満) に違反したものはなく、すべての検体で TDH 産生菌陰性であった。加工用魚介類では貝類の汚染が著しく、腸炎ビブリオが $10^4/100\text{g}$ 以上のものがみられた。また、『はまぐり』3 検体が TDH 産生菌陽性であり、このうち 2 検体から TDH 産生腸炎ビブリオ (血清型 O1:K25 および O4:K9) が検出された。

Key words: 腸炎ビブリオ, 耐熱性溶血毒 (TDH), 魚介類

Vibrio parahaemolyticus, Thermostable direct hemolysin (TDH), Seafood

はじめに

腸炎ビブリオによる食中毒は、魚介類の喫食を主原因として夏期に多発する、わが国で最も発生頻度の高い食中毒である。本菌の主要な病原因子は耐熱性溶血毒 (TDH) であるが^{1),2),3)}、環境中に存在する腸炎ビブリオのほとんどは TDH 非産生であるため、食品から TDH 産生腸炎ビブリオを分離することは困難とされている^{2),4)}。近年、免疫磁気ビーズ法を用いた TDH 産生腸炎ビブリオ分離法が報告されているが⁵⁾、本方法は特定の血清型の菌を特異的に検出することを目的としたもので、広範囲な TDH 産生菌の検索には利用できない。このため、魚介類における腸炎ビブリオの汚染状況を調査した報告の多くは、TDH 非産生菌を含めた本菌全体を調査したもので、TDH 産生菌の汚染状況

を調査した報告は少ない。

近年、PCR と MPN 法を組合せた方法 (MPN-PCR 法) が、食品や環境中の菌数測定に用いられるようになった⁶⁾⁻⁹⁾。本方法は、目的とする菌が特異的に保有する遺伝子を PCR 法で検出することにより MPN 値を算出する方法で、目的菌を分離することが困難な検体の菌数測定に適している。

著者らは TDH 遺伝子を標的とした MPN-PCR 法により、市販魚介類における TDH 産生菌の汚染状況を定量的に調査するとともに、一般的に用いられているアルカリペプトン水 (APW) 増菌と TCBS 培養の組合せによる MPN 法^{10),11)}により腸炎ビブリオ総菌数を測定した。また、TDH 遺伝子陽性検体から TDH 産生腸炎ビブリオの検出を試みた。

材料および方法

1 材料

平成 14 年 7 月 1 日から 9 月 9 日の期間に静岡市内の小売店舗で購入した魚介類 50 検体 (生食用 20 検体, 加工用 30 検体) を供試した。

静岡県環境衛生科学研究所
(〒420-8637, 静岡市北安東 4-27-2)
Shizuoka Institute of Environment and Hygiene
(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

2 菌数測定

TDH 産生菌数および腸炎ビブリオ菌数の測定は、APW 増菌を用いた 4 段階希釈の MPN 3 本法で行い、検体重量に対する APW の比率がいずれも 100 倍以上となるように試料を調製した。検体 50 g を細切して 200 ml の APW に入れ、十分に混和後 5 ml (検体 1 g 含有) ずつ 3 本の APW (95 ml) に接種し、0.5 ml, 0.05 ml および 10 倍希釈液 0.05 ml (それぞれ検体 0.1 g, 0.01 g および 0.001 g 含有) をそれぞれ 3 本の APW (10 ml) に接種して、35°C で 16~18 時間培養した。

1) 腸炎ビブリオ総菌数

APW 培養液を TCBS 培地に塗抹し、35°C で 18~24 時間培養後、白糖非分解菌を一平板当り 3 個 (白糖非分解集落が 3 個以下の場合) は全て) 釣菌し腸炎ビブリオの分離を試みた。TSI 培地で典型的な性状 (-/A ; H₂S およびガス非産生) を示し、オキシダーゼ反応陽性で、0% NaCl ペプトン水に発育せず、8% NaCl ペプトン水に発育する菌を腸炎ビブリオと同定した。一部の分離株については、簡易同定キット (バイオテスト 1 号, 栄研) を用いて同定した。腸炎ビブリオが分離された APW の本数から MPN 値を計測した。

2) TDH 産生菌数

APW 培養液を混和することなく、上部から 0.5 ml 採取し 3000×G で 1 分間遠心した後、沈査に滅菌蒸留水 50 μl を添加して 100°C で 10 分間加熱した。再び 3000×G で 1 分間遠心し、上清 2 μl をテンプレート DNA として、Karunasagar et al.¹²⁾ の方法に準じて TDH 遺伝子検出用の PCR を実施した。反応液は、1/10 量の 10 倍濃度 PCR 緩衝液 (20 mM MgCl₂: Ex Taq buffer, 宝酒造株式会社), 200 μM dNTPs, 0.5 μM プライマー (5' -ttt cat gat tat tca gtt t-3', 5' -ttt gtt gga tat aca cat-3'), 0.5 units Taq DNA polymerase の組成で、96 ウェルの PCR プレートにより最終液量 20 μl で反応を行った。反応条件は、94°C 1 分, 55°C 1 分, 72°C 1 分で 30 サイクル繰り返し反応させた。PCR 反応で TDH 遺伝子陽性となった APW の本数から MPN 値を計測した。

3 TDH 産生腸炎ビブリオの検索

PCR で TDH 遺伝子陽性となった APW から TDH 産生腸炎ビブリオの検出を試みた。TCBS 培地上の白糖非分解集落を 1 検体当り 350~400 個釣菌し、クロモアガービブリオ培地に画線塗抹した。35°C で 18~24 時間培養後、藤色の典型的な集落 288 株について 3 株を 1 グループとして 100°C で 10 分間加熱して DNA を抽出し、PCR 法により TDH 遺伝子の検出を試みた。TDH 遺伝子陽性のグループについて、3 株個々に PCR を実施して TDH 遺伝子陽性腸炎ビブリオ株を確定した。TDH 遺伝子陽性腸炎ビブリオについては、詳細な生化学的性状検査、血清型別、ラテックス凝集反応 (KAP-RPLA 「生研」: デンカ生研株式会社) による TDH 産

生の確認等を実施した。また、本調査で分離された血清型について、静岡県内の過去の食中毒事例および散発下痢症患者からの検出状況を調査した。

4 パルスフィールドゲル電気泳動

本調査で分離された TDH 産生腸炎ビブリオと同一血清型の患者分離株を、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) により比較した。被検菌を 3% NaCl 加トリプトソイオンで 37°C 18 時間振盪培養 (160 回/分) し、0.15 NaCl-10 mM Tris-10 mM EDTA (pH 8.0) で洗浄後、Macfaland 8 に調整した。同量の低融点アガロースを加えゲルブロックを作成し、Sfi I または Not I (それぞれ 20 units) で消化後、CHIEF III (Bio-Rad) を用い、パルスタイム 5~50 秒、12°C で 22 時間泳動した。

結果

1 腸炎ビブリオ総菌数

市販魚介類 100 g 当りの腸炎ビブリオ総菌数を表 1 に示した。生食用魚介類についてみると、魚類および甲殻類はすべて 100 個未満であったが、貝類では 1, 100 個 (あおやぎ) および 150 個 (とり貝) のものがみられた。食品衛生法の規格基準 (100/g 未満)⁸⁾ に違反したものはなかった。加工用魚介類についてみると、魚類では 1 検体を除いて 100 個未満、甲殻類では半数以上が 100 個未満であったが、貝類では過半数が 100 個以上と汚染が著しかった。

表 1 市販魚介類 100 g 当りの腸炎ビブリオ総菌数

	検体数				
	<30	30-10 ²	10 ² -10 ³	10 ³ -10 ⁴	10 ⁴ -10 ⁵
生食用 魚 類	5	5			
甲殻類	9	8	1		
貝 類	6	3	1	1	1
加工用 魚 類	10	6	3	1	
甲殻類	10	4	3	1	2
貝 類	10		2	2	4

2 TDH 産生菌数

TDH 産生菌陽性となった検体は 50 検体中 3 検体 (6.0%) で、その詳細を表 2 に示した。いずれの検体も貝類 (はまぐり) で、100 g 当りの菌数は、それぞれ 1.1×10³, 7.0×10³, 4.0×10³ であった。これらの検体の腸炎ビブリオ総菌数は 9.3×10³ 以上で、調査した 50 検体のうち腸炎ビブリオ総菌数が最も多い 3 検体であった。TDH 産生菌の腸炎ビブリオ総菌数に対する比率は、それぞれ 1/15, 1/414, 1/233 であった。2 検体から TDH 遺伝子陽性腸炎ビブリオ (血清型 O1:K25 および O4:K9) が検出されたが、1 検体は供試した 288 株すべて TDH 遺伝子陰性であった。分離された TDH 遺伝子陽性腸炎ビブリオについては、ラテックス凝集反応により TDH 産生試験陽性であることを確認した。

表2 TDH 産生菌陽性検体 (はまぐり)

月日	TDH ^{a)}	腸ビ ^{b)}	TDH/腸ビ ^{c)}	TDH 分離 ^{d)}
8/12	1.1×10 ³	1.6×10 ⁴	1/15	1/288(01:K25)
8/26	7.0×10	2.9×10 ⁴	1/414	0/288 —
9/9	4.0×10	9.3×10 ³	1/233	4/288(04:K9)

^{a)}TDH 産生菌数/100 g

^{b)}腸炎ビブリオ総菌数/100 g

^{c)}TDH 産生菌数/腸炎ビブリオ総菌数

^{d)}TDH 産生腸炎ビブリオ分離状況

3 過去の分離例

本調査で検出された TDH 産生腸炎ビブリオ株と同一血清型について静岡県内における過去の分離例を調査したところ、04:K9 は食中毒 5 事例 (1964, 1974, 1995, 1995, 1998 年) および散発下痢症 2 事例 (1988, 1998 年) から分離された記録がみられた。一方、01:K25 についてみると、調査した限りでは 1964 年以降 2001 年まで全く分離された記録はなく、2002 年 9 月 9 日および 9 月 24 日に食中毒患者 1 名および散発下痢症患者 1 名からそれぞれ分離された。これらの株の検出時期は食品分離株の検出時期 (2002 年 8 月 12 日) と近く、性状を比較したところ、生化学的性状に違いはみられず、PFGE による遺伝子型は基本的に同じパターンであった (図 1)。なお、本血清型が分離された食中毒事例においては、01:K25 株が分離された患者は 1 名のみで、他の患者からは近年流行している 03:K6 が分離された。

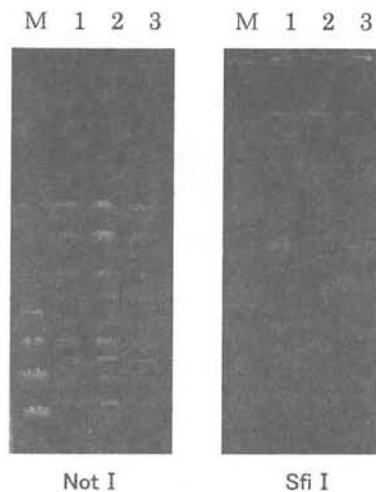


図 1 食品分離株および患者分離株の PFGE パターン

1: 食品分離株, 2: 食中毒患者分離株
3: 散発下痢症患者分離株, M: マーカー

考 察

今回の調査では、生食用魚介類は食品衛生法の規格基準に違反したものはなく、またすべての検体で TDH 産生菌が陰性であったことから、腸炎ビブリオ食中毒の原因となる可能性は低いものと考えられた。

加工用の魚介類についてみると、これまでの報告¹³⁾と同様貝類の汚染が著しく、3 検体が TDH 産生菌陽性であったことから、貝類の不適切な調理あるいは貝類から生食用魚介類および他の食品への二次汚染が腸炎ビブリオ食中毒の原因となる可能性が高いことが示唆された。また、これらの検体は、腸炎ビブリオ総菌数が最も多い 3 検体であり、腸炎ビブリオ総菌数の多い食品が TDH 産生菌陽性である確率が高く、危険度の高い食品と考えられる。

腸炎ビブリオ総菌数に対する TDH 産生菌数の比率は、計算上 1/15~1/414 の範囲であり、また実際の分離状況では、4/288 (1/72) ~0/288 が TDH 産生腸炎ビブリオであったことから、市販魚介類を汚染している腸炎ビブリオの数十分の一から数百分の一が TDH 産生腸炎ビブリオであると推察された。

食品から検出された 01:K25 株を患者分離株と比較したところ、同一起源からの派生株である可能性が示唆された。本血清型は、静岡県では 2002 年に初めて分離された型であるが、東京都および三重県では 2000 年以降、食中毒患者から分離された報告がみられることから、今後の動向に注意する必要がある。

謝 辞

食中毒患者分離株を提供していただいた、志太榛原保健所試験検査課細菌臨床検査係の皆様へ深く感謝いたします。

文 献

- 1) Miyamoto, Y. et al.: In vitro hemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus*, its close correlation with human pathogenicity. J. Bacteriol., 100, 1147-1149 (1969)
- 2) Sakazaki, R. et al.: Studies on the enteropathogenic facultatively halophilic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*. III. Enteropathogenicity. Jpn. J. Med. Sci. Biol. 21, 225-331 (1968)
- 3) Zen-Yoji, H. et al.: Purification and characterization of a hemolysin produced by *Vibrio parahaemolyticus*. J. Infect. Dis., 123, 665-667 (1971)
- 4) Kudoh, Y. et al.: Epidemiology of food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus* occurring in Tokyo during the last decade, p9-13. In Fujino et al.

- (ed.) International symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Saikon Publishing Co., Tokyo (1974)
- 5) Tomoyasu, T. et al.: Development of the immunomagnetic enrichment method selective for *Vibrio parahaemolyticus* serotype K and its application to food poisoning study. Appl. Environ. Microbiol., **58**, 2679-2682 (1992)
 - 6) Alam, M. J. et al.: Environmental investigation of potentially pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in the Seto-Island Sea, Japan. FEMS Microbiol. Lett., **208**, 83-87 (2002)
 - 7) Mantynen, V. et al. : MPN-PCR-quantification method for staphylococcal enterotoxin *ce1* gene from fresh cheese. Int. J. Food Microbiol., **36**, 135-143 (1997)
 - 8) Miwa, N. et al.: Most probable number method combined with nested polymerase chain reaction for detection and enumeration of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in intestinal contents of cattle, pig and chicken. J. Vet. Med. Sci., **59**, 89-92 (1997)
 - 9) Picard, C. et al.: Detection and enumeration of bacteria in soil by direct DNA extraction and polymerase chain reaction. Appl. Environ. Microbiol., **58**, 2717-2722 (1992)
 - 10) 厚生省: 食品, 添加物等の規格基準. 厚生省告示第370号, 昭和34年12月28日 (平成13年6月7日一部改正)
 - 11) Food and Drug Administration: Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. Chapter 9. AOAC International, Gaithersburg, USA (1998)
 - 12) Karunasagar, I. et al.: Rapid polymerase chain reaction method for detection of Kanagawa positive *Vibrio parahaemolyticus* in seafoods. Int. J. Food Microbiol., **31**, 317-323 (1996)
 - 13) 竹田晃男他: 魚介類における腸炎ビブリオの簡易な定量法の検討. 静岡県衛生環境センター報告, **25**, 29-35 (1982)

カンピロバクターの生態および検出方法に関する研究

微生物部 微生物スタッフ 川森文彦, 有田世乃, 西尾智裕
三輪憲永, 増田高志, 秋山真人

Epidemiological Survey of *Campylobacter* spp. and Comparison of Isolation Methods for Campylobacters

Fumihiko KAWAMORI, Yono ARITA, Tomohiro NISHIO,
Norinaga MIWA, Takashi MASUDA and Masato AKIYAMA

カンピロバクターの汚染実態を把握することを目的として、腸炎患者、動物、食品および環境水について複数の分離法を用いて検出を試みた。腸炎患者からは、*Campylobacter jejuni* のみが 5.3% (16/303) から分離されただけであったが、イヌおよびネコからは 3 種類のカンピロバクターが検出され、海外では腸炎患者からも検出されている *C. upsaliensis* が高率 (イヌ 51.8%, ネコ 25.0%) に分離された。CCDA 培地、CAT 培地およびフィルター法の 3 種類の分離法を用いたが、*C. jejuni/coli* 以外のカンピロバクターやヘリコバクターを広範囲に分離することに関しては、フィルター法が最も効率がよいことが確認された。鶏肉などの食品 111 検体中、57 検体 (51.4%) からカンピロバクター (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*) が分離され、鶏肉、鶏レバーなどでは *C. jejuni* が、豚レバー・豚生モツでは *C. coli* が優勢種であった。環境水からは、秋期と冬期には 12 カ所のうち 3 カ所で *C. jejuni* あるいは *C. lari* が分離されたが、夏期の検体からはまったく分離されなかった。カンピロバクターの分離法を検討することで、国内においても *C. jejuni/coli* 以外のカンピロバクターについても実態が明らかとなっていくものと思われる。

Key words: カンピロバクター, 分離方法, 人獣共通感染症, 腸炎

Campylobacter, Isolation method, Zoonosis, Enteritis

はじめに

カンピロバクターは、腸炎ビブリオやサルモネラなどとともに主要な食中毒起因細菌であり、また、国内外を問わず散発下痢症患者から最も頻りに検出される病原細菌であるので、本菌の実態把握や分離法の検討は、大変有意義なことであると思われる。国内においては、腸炎起因カンピロバクターとして *Campylobacter jejuni* と *C. coli* の 2 種類を対象に分離を行うケースがほとんどであるが、海外では、様々な種類のカンピロバクターが新たな病原菌として問題となっている。現在、CCDA 培地が *C. jejuni/coli* の分離に広く用いられているが、本培

地では分離が困難なカンピロバクターの種類も多い。最近、抗生物質をまったく含まない血液寒天培地を用いるフィルター法^{1,8)} やセフェム系抗生剤量を減少させた CAT 培地¹⁾ を用いることにより、*C. upsaliensis* などの分離例^{1,8,14)} が海外で数多く報告されるようになった。今回は、これら 3 種類の分離法を併用し、患者、動物などからのカンピロバクターの分離を試みた。

また、カンピロバクターの感染源としての危険性が高い鶏肉などの食品と静岡県内 12 カ所の環境水について複数の分離法を用いカンピロバクターの汚染実態を調査した。

材料および方法

1 腸炎患者、イヌ、ネコおよび野鳥からの分離

1) 供試材料

2001 年および 2002 年の 2 年間に静岡市内の医療機関で採取された腸炎患者の直腸スワブ 303 検体ならびに静

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

岡市内の動物病院に腸炎を呈して受診したイヌ (41 頭) およびネコ (9 頭) から採取された直腸スワブ 50 検体について 0~10 日間シードスワブ 3 号 (栄研化学) で冷蔵保存したものを供試した。また、2001 年に静岡県動物管理指導センターに搬入された健康なイヌ (69 頭) およびネコ (31 頭) の糞便 100 検体、静岡県内の公園・神社で採取されたドバトの糞便 75 検体および浜名湖岸で採取された野生カモの糞便 20 検体についても、採取当日に検査を行った。

2) 分離方法

供試検体は、CCDA 培地 (OXOID) および CAT 培地 (OXOID) へ直接塗抹するとともにフィルター法^{1,8)} (図 1) により馬血液寒天培地へ接種した。検体を接種した平板を微好気で 37℃, 2~7 日間培養し、カンピロバクター属菌の分離を試みた。さらに、患者検体については、DHL (日本製薬: 赤色コロニーについてペロ毒素検査), XLT4 (MERCK) および TCBS (日本製薬) にも接種し、37℃, 24 時間培養後、疑わしいコロニーについて腸管出血性大腸菌, サルモネラ, 腸炎ビブリオなどについて検索した。

2 食品からの分離

1) 供試材料

2002 年に県内の食鳥処理場に併設された食肉処理施設で採取されたカット鶏肉 24 検体ならびに 2000~2002

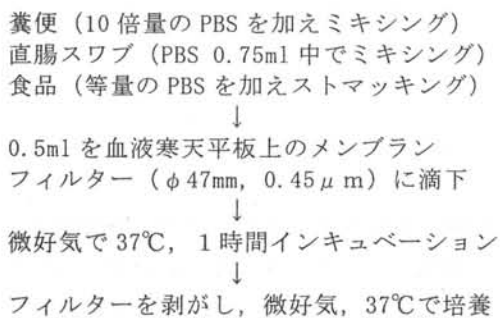


図 1 フィルター法によるカンピロバクター分離法

年に県内の小売店で採取された鶏肉 30 検体, 鶏レバー 13 検体, 鶏筋胃 (砂肝) 12 検体, 豚レバー 12 検体, 豚生モツ 2 検体, 牛レバー 3 検体, 牛生モツ 2 検体および生カキ 13 検体を検査に供した。

2) 分離方法

検体は採取当日に 25g をストマッカー用の袋に入れ、Preston 増菌培地 (OXOID) 100 ml を加えストマッキングを 1 分間行った後、微好気で 42℃, 24 時間培養を行った。培養液を CCDA 培地に塗抹し、42℃で 48 時間微好気培養を行い、疑わしいコロニーについてカンピロバクターの同定を行った。検体乳剤について原液, 10 倍, 100 倍液を中試験管に 10ml ずつ各 3 本に入れ、定性試験と同様の方法で培養し、MPN (most probable number) 法により菌数を計算した。鶏肉以外の検体については、Preston 増菌培地の代わりに Bolton 増菌培地 (OXOID) を用いた方法も併用するとともに、検体の 2 倍 PBS 乳剤について、CCDA 培地への直接塗抹およびフィルター法 (図 1) による分離も試みた。なお、直接塗抹法においては、乳剤原液を PBS で 10 倍段階希釈して、その 0.1ml をコンラージ棒で CCDA 培地へ塗抹後、42℃で 48 時間微好気培養を行い、カンピロバクター菌数の測定も実施した。

3 環境水からの分離

1) 供試材料

2002 年の 7 月と 10 月ならびに 2003 年 1 月に県内の河川 8 カ所 (狩野川, 富士川, 興津川, 安倍川, 瀬戸川, 大井川, 太田川, 天竜川) と湖沼 4 カ所 (麻機沼, 鯨ヶ池, 佐鳴湖, 浜名湖) において採水 (各 2L) および水温測定を行い、冷蔵保存で輸送し、当日検査を行った。

2) 分離方法

検体 1L を孔径 0.45 µm のメンブランフィルター (ADVANTEC) で濾過し、フィルターを Bolton 増菌培地 100ml に入れ、微好気で 37℃, 3 時間インキュベート後、温度を 42℃に上げ 24 時間培養した。培養液を CCDA 培地に塗抹し、微好気で 42℃, 48 時間培養後、疑わしいコ

表 1 糞便あるいは直腸スワブからのカンピロバクターおよびヘリコバクターの分離状況

検体由来	検体数	分離陽性数 (%)	各菌種の分離数 (%)				
			<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>C. helveticus</i>	ヘリコバクター属菌
腸炎患者	303	16 (5.3)	16 (5.3)				
イヌ	110	61 (55.5)*	2 (1.8)		57 (51.8)		3 (2.7)
ネコ	40	19 (47.5)**			10 (25.0)	3 (7.5)	7 (17.5)
ドバト	75	22 (29.3)	22 (29.3)				
野生カモ	20	13 (65.0)	3 (15.0)	9 (45.0)			1 (5.0)
計	548	131 (23.9)	43 (7.8)	9 (1.6)	67 (12.2)	3 (0.5)	11 (2.0)

* *C. upsaliensis* とヘリコバクター重複感染の 1 頭を含む, ** *C. upsaliensis* と *C. helveticus* 重複感染 1 頭を含む

ロニーについて、カンピロバクターの同定を行った。また、検体 500ml を 12,000×G で 1 時間遠心を行い、沈渣を PBS 1ml で再浮遊させ、Bolton 増菌培地 100ml に入れ、濾過法と同様の方法で培養を行った。

4 カンピロバクター様菌の同定

CCDA 培地, CAT 培地および血液寒天培地上の疑わしいコロニーについて PBS に浮遊させた生菌を暗視野装置付き光学顕微鏡で観察した。コルクスクリー運動をする螺旋状あるいは S 字状の微小細菌が認められた場合は、各検体あたり 3 コロニーについて生化学的検査⁹⁾ (オキシダーゼ試験, カタラーゼ試験, 馬尿酸試験), PCR 法 (*C. jejuni* 用⁷⁾, *C. coli* 用¹²⁾, *C. upsaliensis* 用¹¹⁾, *C. helveticus* 用¹¹⁾) および PCR-RFLP 法 (好熱性カンピロバクター用⁶⁾, ヘリコバクター属菌用¹⁷⁾) により同定を試みた。なお, *C. jejuni* 分離株については、感作血球調整試薬およびカンピロバクター免疫血清 (デンカ生研) を用いて Penner の血清群別を行った。

結果

1 腸炎患者, イヌ, ネコおよび野鳥からの分離状況

腸炎患者の直腸スワブ 303 検体中, *C. jejuni* が 16 検体 (5.3%) から分離され, カンピロバクター以外の病原細菌としてはサルモネラ (*Salmonella* Infantis 2 株, *S. Brauendrup* 2 株, *S. Enteritidis* 1 株, *S. Litchfield* 1 株) と腸管出血性大腸菌 (*Escherichia coli* O111 H-, ST1 産生) が, それぞれ 6 検体 (2.0%) および 1 検体 (0.3%) から確認された (表 1)。

イヌについては 110 頭を検査し, *C. jejuni* が 2 検体 (1.8%), *C. upsaliensis* が 57 検体 (51.8%) およびヘリコバクター属菌が 3 検体 (2.7%) から分離された。ネコ (40 検体) では, *C. upsaliensis*, *C. helveticus* およびヘリコバクター属菌が, それぞれ, 10 検体 (25.%), 3 検体 (7.5%) および 7 検体 (17.5%) から確認された。なお, イヌ (*C. upsaliensis* とヘリコバクター属菌) とネコ (*C. upsaliensis* と *C. helveticus*) のそれぞれ 1 検体においては, 同一検体から 2 種類の菌が分離された。ドバトからは, *C. jejuni* のみが高率 (29.3%) に分離されたが, 野生カモにおいては, *C. jejuni* (15.0%), *C. coli* (45.0%) およびヘリコバクター属菌 (5.0%) の 3 種類が検出された。

カンピロバクター分離株については, 使用した PCR 法および PCR-RFLP 法で, 問題なく同定できた。また, ヘリコバクター分離株は, PCR 法により属特異的な DNA の増幅を確認した後, 増幅 DNA を *AluI* により切断したところ, 3 パターンに分類された (図 2)。ネコ由来株の 6 株中, 5 株は電気泳動パターンから *Helicobacter canis* と

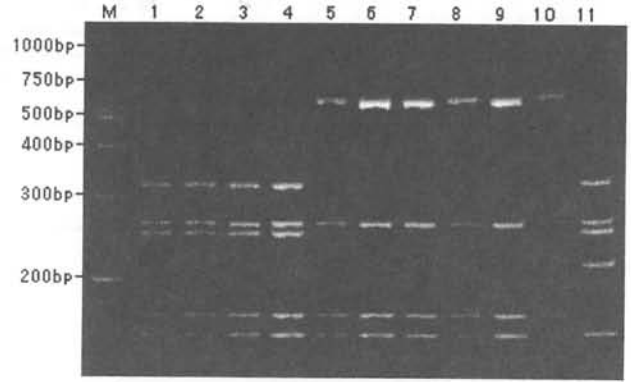


図 2 ヘリコバクター分離株の PCR-RFLP 泳動パターン 1~3 猫由来株, 4~10 犬由来株, 11 *H. canis* 由来株

表 2 分離法別カンピロバクターおよびヘリコバクター検出状況

菌種	陽性 検体数	各分離法による分離数		
		CCDA 培地	CAT 培地	フィルター法
<i>C. jejuni</i>	43	39	39	41
<i>C. coli</i>	9	5	8	7
<i>C. upsaliensis</i>	67	12	58	61
<i>C. helveticus</i>	3	0	1	2
ヘリコバクター属菌	11	0	0	11

同定されたが, 他の株については同定ができなかった。

検査法別のカンピロバクターおよびヘリコバクターの検出状況を表 2 に示した。*C. jejuni* は, 3 種類の方法による分離状況に大きな差はなかったが, *C. coli* では CCDA 培地での分離効率がやや落ちる傾向がみられた。*C. upsaliensis* の場合は, CAT 培地とフィルター法により, それぞれ 58 検体および 61 検体から分離されたが, CCDA 培地により分離できたのは 12 検体のみであった。また, *C. helveticus* は, CAT 培地あるいはフィルター法により検出され, ヘリコバクター属菌に至ってはすべてフィルター法のみで分離された。

2 食品からのカンピロバクター分離状況

食品 111 検体中, 57 検体 (51.4%) からカンピロバクターが検出された (表 3)。鶏肉および鶏内臓肉における検出率は, カット鶏肉が 75% で最も高く, 次いで市販鶏肉が 63.3% で, 鶏レバーと鶏筋胃はともに 50% 前後であった。カンピロバクターが分離された鶏肉および鶏内臓肉の 49 検体中, 35 検体で *C. jejuni* のみが分離されたが, 14 検体では同一検体から *C. jejuni* と *C. coli* の 2 種類が検出された。豚レバーにおける分離率は, 25% (*C. coli* 2 検体, *C. jejuni* 1 検体) であったが, 牛レバー 3 検体からは, まったく分離されなかった。豚生モツと牛

表3 食品からのカンピロバクター分離状況

検体名	検体数	カンピロバクター検出数					各分離方法による検出数			
		<i>C. jejuni</i>	<i>C. j+C. c*</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	計 (%)	Preston 増菌	Bolton 増菌	直接塗抹	フィルター法
カット鶏肉	24	10	8			18 (75.0)	18	ND**	ND	ND
市販鶏肉	30	14	5			19 (63.3)	19	ND	ND	ND
鶏レバー	13	6				6 (46.2)	6	6	4	1
鶏 筋 胃	12	5	1			6 (50.0)	6	6	4	2
豚レバー	12	1		2		3 (25.0)	3	2		
豚生モツ	2			2		2 (100)	2	2	1	
牛レバー	3					0 (0.0)				
牛生モツ	2	2				2 (100)	2	2	1	
生 カ キ	13				1	1 (7.7)		1		
計	111	38	14	4	1	57 (51.4)	56	19	10	3

* *C. jejuni* と *C. coli* の両種が分離されたもの, ** 検査せず

表4 食品中のカンピロバクター菌数分布

検体名	検体数	MPN 法 (MPN/100g)					直接塗抹法 (CFU/g)			
		<15	10 ¹	10 ²	10 ³	>5500	<20	10 ¹	10 ²	10 ³
カット鶏肉	24	6	2	5	8	3	ND	ND	ND	ND
市販鶏肉	30	12	2	9	7		ND	ND	ND	ND
鶏レバー	13	7	1	1	3	1	9	2	1	1
鶏 筋 胃	12	6	1	2	2	1	8	1	3	
豚レバー	12	11	1				12			
豚生もつ	2		1			1	1		1	
牛レバー	3	3					3			
牛生もつ	2		2				1	1		
生 カ キ	13	13					13			
計	111	58	10	17	20	6	47	4	5	1

生モツは、2検体ずつ検査したが、すべてからカンピロバクターが検出され、分離株の種類は前者が *C. coli*、後者が *C. jejuni* であった。生カキについては、1検体 (7.7%) から *C. lari* が分離されただけであった。

鶏肉以外の検体については、2種類の増菌培地を用いて分離を試みたが、Preston 増菌培地のみで豚レバー1検体から *C. jejuni* が、Bolton 増菌培地のみで生カキ1検体から *C. lari* が分離された以外は、分離状況に相違はなかった。なお、直接塗抹法とフィルター法で分離された検体は、それぞれ10検体および3検体であった。

MPN 法と直接塗抹法により計測された食品中のカンピロバクター菌数の分布を表4に示した。>5,500MPN/100gの検体は、カット鶏肉の3検体と鶏レバー、鶏筋胃、豚生モツのそれぞれ1検体で確認されたが、市販鶏肉では>5,500MPN/100gの検体はみられなかった。直接塗抹法を

併用した57検体中、検出限界 (MPN 法 15MPN/100g、直接塗抹法 20CFU/g) 以上の菌数が確認できたのは、MPN 法が17検体、直接塗抹法が10検体であった。両方法で計測ができた10検体について菌数を比較すると、直接塗抹法の方がMPN法に比べ平均で7.8倍菌数が多かった。なお、MPN法で>5,500MPN/100gとなった3検体は、直接塗抹法で1,200CFU/g、600CFU/gおよび560CFU/gと計測された。

3 環境水からのカンピロバクター分離状況

県内の河川湖沼12カ所について3回ずつ採水し、検査をしたところ、7月にはすべての定点でカンピロバクターは検出されなかったが、10月と1月には、それぞれ3カ所でカンピロバクターが検出された (表5)。10月には、麻機沼、富士川および狩野川から *C. jejuni* が分離され、1月には麻機沼 (*C. jejuni*, *C. lari*)、安倍川 (*C. jejuni*)

表5 河川湖沼からのカンピロバクター分離状況

採水年月	検体数	平均水温 (最低~最高)	分離陽性 検体数	濾過法による検出数			遠心法による検出数		
				<i>C. jejuni</i>	<i>C. j+C. I*</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. j+C. I</i>	<i>C. lari</i>
2002/ 7	12	26.8°C (19~32°C)	0						
2002/10	12	18.8°C (17~23°C)	3	3			1		
2003/ 1	12	7.8°C (6~11°C)	3	1	1		1	1	1

* *C. jejuni* と *C. lari* の両種が分離されたもの

および太田川 (*C. lari*) でカンピロバクターが確認された。カンピロバクターが分離された6検体のうち3検体については、濾過法と遠心法の結果が一致していたが、2検体は濾過法のみで *C. jejuni* が分離され、逆に1検体は遠心法のみで *C. lari* が検出された。

4 *C. jejuni* 分離株の Penner 血清群の分布

C. jejuni が分離された100検体中、34検体については複数の血清群の菌が確認されたので、合計143株の血清群の分布を表6に示した。115株については22血清群に分類されたが、残りの28株は今回の検査法では群別ができなかった。最も多かったのはB群(23株)であり、D群(20株)、A群(12株)、O群(12株)なども主要な血清群であった。患者由来株は、A群が最も多かったが、この群は鶏肉5検体からも分離された。鶏肉から分離された株はB群とD群が多かったが、患者からはB群の株が1株確認されただけで、D群の株はみられなかった。

考 察

今回、糞便と直腸スワブからのカンピロバクター分離に際し、CCDA培地、CAT培地およびフィルター法を用い

たが、*C. jejuni* および *C. coli* に関しては、検出率に大きな差は認められなかった。しかし、*C. upsaliensis* やヘリコバクター属菌では、分離法による検出率の差が顕著に現れた。フィルター法が、今回検出されたいずれの菌種に対しても、分離効率が優れていたが、雑菌のコンタミネーションが起こった場合は、抗生物質フリーの血液寒天培地を用いているので増殖の遅いカンピロバクターやヘリコバクターが確認されにくくなるケースもしばしば認められた。今回の分離法の検討から、*C. upsaliensis* も含めた好熱性カンピロバクターを簡便に分離するにはCAT培地が適しており、さらに多種類のカンピロバクターやヘリコバクターの検出を目的とする場合は、フィルター法が最も優れていることが確認された。

C. upsaliensis の保菌率はイヌが51.8%、ネコが25.0%と非常に高かったが、海外においても、これらの動物から高率に検出されており^{1, 8, 14)}、ヒトに対する病原性も疫学的に認められている^{16, 19)}。三澤ら¹³⁾は、南九州のイヌ(28.4%)とネコ(21.4%)から本菌を高率に検出していることから、すでに国内の広い地域で本菌が蔓延していることが推測されるので、今後、人

表6 *C. jejuni* 分離株の Penner 血清群の分布

検体由来	検体数	血清群数*			Penner 血清群																										
		1	2	3	A	B	C	D	E	F	G	I	J	K	L	N	O	P	R	Y	Z	Z2	Z4	Z5	Z6	Z7	UT				
腸炎患者	16	15	1		6	1	2						1			1	2			1	1						1	1			
イヌ	2	2																										2			
ドバト	22	21	1		8	1		6														1						7			
野生カモ	3	3			1									2																	
カット鶏肉	18	5	7	6	3	7		15				1						1										10			
市販鶏肉	19	5	13	1	2	5	2	1		3	2	2	1	2	3	1	4								2			4			
鶏レバー	6	3	1	2		1		2			1		1				4			2											
鶏筋胃	6	4	2			1		2						1		1												3			
豚レバー	1	1																										1			
牛生モツ	2	2																	2												
環境水	5	5															1								1	1		2			
計	100	66	25	9	12	23	5	20	6	3	3	3	3	2	3	6	2	12	1	2	3	1	2	3	1	1	3	1	2	1	28

* 1検体から分離された *C. jejuni* の血清群数

獣共通感染症の立場から *C. upsaliensis* 感染症には十分注意していく必要があるものと思われる。本菌は多くのカンピロバクター用選択培地に含まれているセファロチンなどの抗生物質に対し感受性が高いことと *C. jejuni* に比べ発育が遅いことから、*C. jejuni* や *C. coli* を目的とした通常の方法では、検出が極めて困難な菌である。今回も CCDA 培地ではあまり分離されず、CAT 培地と抗生物質フリーの血液寒天培地（フィルター法）を用い、長時間培養することにより効率良く検出された。三澤ら¹³⁾も、セファロチン系の抗生物質を含まないスキロー培地を用いて *C. upsaliensis* を分離しており、本菌を検出するためには、培養法の選択が重要なポイントとなることが示唆される。

食品の検査では、カンピロバクターの感染源として最も重要な市販鶏肉における本菌の汚染率は 63.3% と高率であり、鶏レバーや鶏筋胃も 50% 前後であったので、今後、食鳥処理場などでの汚染防止策の改善が望まれる。豚肉や牛肉は、枝肉状態で冷蔵保存期間があり、この間にカンピロバクターはほとんど死滅してしまうが、今回調査したレバーや生モツは流通速度が早く、カンピロバクターの汚染率が高かったため、これらの食品の取り扱いにも注意が必要であろう。生カキ 1 検体から *C. lari* が分離されたが、本菌は、本来、カモメなどの海鳥に生息している菌であり、湖水の混入した飲料水が原因となった本菌による食中毒事例も報告されている³⁾。カキからは *C. lari* 以外にも *C. jejuni* や *C. coli* などの分離例もあるので^{5, 20)}、生食する機会が多い食品だけに、今後、カキを原因食品とした本菌の食中毒も警戒していく必要があるものと思われる。

Baylis ら²⁾ は、カンピロバクターの増菌培地を比較し、Bolton 増菌培地の方が Preston 増菌培地に比べ優れていることを報告しているが、今回の試験では、両増菌培地はほぼ同等の性能を示した。なお、増菌を行わず CCDA 培地で直接培養した場合は、分離率が半分程度に減少し、さらにフィルター法で分離されたのはわずか 3 検体のみであった。Bourke ら⁴⁾ は、検体中のカンピロバクター菌数が 10^5 CFU/g 以下の時にはフィルター法での検出は難しいことを報告していることから、糞便のような菌数の多い検体ではフィルター法は有効な方法であるが、一般的に菌数の少ない食品検体では、フィルター法を用いるメリットは少ないものと思われる。

食品中のカンピロバクター菌数を測定したところ、食鳥処理場併設のカット工場から採取された鶏肉の 12.5% は $>5,500$ MPN/100g であったが、市販鶏肉ではすべて $5,500$ MPN/100g 以下であった。 10^3 MPN/100g 以上の検体もカット直後の鶏肉では 45.8% であるのに対し市販鶏

肉では 23.3% であったので、鶏肉中のカンピロバクターは流通の過程で生菌数が減少することが考えられる。流通速度の速い鶏や豚の内臓肉でも $>5,500$ MPN/100g の検体が確認されたので、これらの食品についても調理時に二次汚染を起こさぬよう注意が必要である。

環境水の採水は、夏期、秋期および冬期の 3 回実施したが、夏期にはいずれの検体においてもカンピロバクターは検出されなかった。Obiri-Danso ら¹⁵⁾ は、水中のカンピロバクターは、水温が高いほど、あるいは紫外線量が多いほど短時間に死滅することを報告しており、このことが夏期の検体から分離されなかったことの主要因となったことが推測される。また、今回、湖岸で採取された野生カモから高率にカンピロバクターが分離されていることから、野生カモが飛来する秋から冬に環境水中のカンピロバクター菌数が増加することも考えられる。

今回、カンピロバクターが分離された検体においては、複数のコロニーについて同定および血清群別を行ったが、鶏肉の場合は、*C. jejuni* と *C. coli* の両方が検出された検体や複数の血清群の *C. jejuni* が確認された検体が非常に多かった。このことを踏まえ食中毒事例での検査でカンピロバクターが分離された場合は、正確に原因を究明するためにも、1 平板上の複数のコロニーについて同定および血清群別を行うことが重要であると思われる。

今回、腸炎患者の検体からはカンピロバクターとしては *C. jejuni* しか分離されなかったが、Lastovica ら¹⁰⁾ は、フィルター法（37℃、水素含有微好気培養）を用いて持続性下痢患者の糞便の 20.3%（61/300）からカンピロバクター（5 種）、アルコバクター（1 種）あるいはヘリコバクター（2 種）を分離しているため、我が国においても培養法を検討することで、今後、*C. jejuni* および *C. coli* 以外のカンピロバクターによる感染症も見出されるようになると思われる。

謝 辞

本研究に際し、検体採取に御協力をいただいた瀬名こどもクリニック（望月康弘院長）、岡本動物病院（岡本亭院長）および動物管理指導センターの関係各位に深謝いたします。

文 献

- 1) Aspinall, S. T. et al.: A comparison of a new campylobacter selective medium (CAT) with membrane filtration for isolation of thermophilic campylobacters including *Campylobacter upsaliensis*, J. Clin. Pathol., 80, 645-650 (1996)
- 2) Baylis, C. L. et al.: Comparison of three

- enrichment media for the isolation of *Campylobacter* spp. from foods, J. Appl. Microbiol., **89**, 884-891 (2000)
- 3) Borczyk, A. et al.: Water-borne outbreak of *Campylobacter laridis*-associated gastro-enteritis, Lancet, **1**, 164-165 (1987)
 - 4) Bourke, B. et al.: *Campylobacter upsaliensis*: waiting in the wings, Clin. Microbiol. Rev., **11**, 440-449 (1998)
 - 5) Endtz, H. P. et al.: Genotypic diversity of *Campylobacter lari* isolated from mussels and oysters in the Netherlands, Int. J. Food Microbiol., **34**, 79-88 (1997)
 - 6) Fermer, C. et al.: Specific PCR identification and differentiation of the thermophilic *Campylobacter* spp., *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis*, J. Clin. Microbiol., **37**, 3370-3373 (1999)
 - 7) Gonzales, I. et al.: Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant, J. Clin. Microbiol., **35**, 759-763 (1997)
 - 8) Hald, B. et al.: Healthy puppies and kittens as carriers of *Campylobacter* spp., with special reference to *Campylobacter upsaliensis*, J. Clin. Microbiol., **35**, 3351-3352 (1997)
 - 9) 伊藤 武: 微生物検査必携 細菌・真菌検査 3版, D118-D132, 日本公衆衛生協会, 東京 (1987)
 - 10) Lastovica, A. J. et al.: Efficient isolation of *Campylobacter upsaliensis* from stools, J. Clin. Microbiol., **39**, 4222-4223 (2001)
 - 11) Lawson, A. J. et al.: Polymerase chain reaction detection and speciation of *Campylobacter upsaliensis* and *C. helveticus* in human faeces and comparison with culture techniques, J. Appl. Microbiol., **83**, 375-380 (1997)
 - 12) Linton, D. et al.: PCR detection to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples, J. Clin. Microbiol., **35**, 2568-2572 (1997)
 - 13) 三澤尚明他: 南九州地域および猫における *Campylobacter upsaliensis* の保菌状況調査, 日獣会誌, **54**, 707-711 (2001)
 - 14) Moser, I. et al.: Genomic heterogeneity and O-antigenic diversity of *Campylobacter upsaliensis* and *Campylobacter helveticus* strains isolated from dogs and cats in Germany, J. Clin. Microbiol., **39**, 2548-2557 (2001)
 - 15) Obiri-Danso, K. et al.: The effects of UVB and temperature on the survival of natural populations and pure cultures of *Campylobacter jejuni*, *Camp. coli*, *Camp. lari* and urease-positive thermophilic campylobacters (UPTC) in surface waters, J. Appl. Microbiol., **90**, 256-267 (2001)
 - 16) Patton, C. M. et al.: Human disease associated with "*Campylobacter upsaliensis*" (catalase-negative or weakly positive *Campylobacter* species) in the United States, J. Clin. Microbiol., **27**, 66-73 (1989)
 - 17) Shen, Z. et al.: Coinfection of Enteric *Helicobacter* spp. and *Campylobacter* spp. in Cats, J. Clin. Microbiol., **39**, 2166-2172 (2001)
 - 18) Steel, T. W. et al.: The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces, Pathology, **16**, 263-265 (1984)
 - 19) Taylor, D. E. et al.: Isolation and characterization of catalase-negative and catalase-weak strains of *Campylobacter* species, including "*Campylobacter upsaliensis*", from human with gastroenteritis, J. Clin. Microbiol., **27**, 2042-2045 (1989)
 - 20) Van Doorn L. J. et al.: Rapid identification of diverse *Campylobacter lari* strains isolated from mussels and oysters using a reverse hybridization line probe assay, J. Appl. Microbiol., **84**, 545-550 (1998)

インフルエンザの流行予測に関する研究 —非流行期の分離ウイルスと次期流行ウイルスとの関係—

微生物部 ウイルススタッフ

佐原啓二, 稲吉 恵, 杉枝正明

秋山真人

Analysis of Influenza Viruses Isolated in Off-Seasons and Following Epidemic Seasons
 in Shizuoka Prefecture

Keiji SAHARA, Megumi INAYOSHI, Masaaki SUGIEDA
 and Masato AKIYAMA

インフルエンザ流行期に本格的に流行するウイルスを予測する手段として、非流行期に分離されたウイルスを解析することが有用な情報となり得るか調べるため、1998年および2000年の非流行期に分離されたウイルスと次期流行ウイルスとの関係を解析した。その結果、1998年非流行期ウイルスと次期主流行ウイルスは共にB/ビクトリア/2/87系統のB型ウイルス、2000年の場合は共にB/山形/16/88系統のB型ウイルスであった。血球凝集素(HA)の抗原解析では、いずれの場合も非流行期ウイルスと次期流行ウイルスとは抗原的に極めて類似していた。HAの遺伝子解析では、1998年非流行期ウイルスと次期流行ウイルスの直接的な親子関係は否定されたが、2000年の場合は密接に関係するウイルスの存在が明らかとなった。以上より、静岡県という限局した地域での集中的サーベイランスにおいて、非流行期ウイルスと次期流行ウイルスの関係には多様なケースのあることが分かった。

Key words : 抗原解析, 遺伝子解析, ヘラルド現象, インフルエンザBウイルス, 非流行期分離株
 Antigenic analysis, Gene analysis, Herald phenomenon, Influenza B virus, Off-season isolate

はじめに

春先あるいは非流行期に分離されるインフルエンザウイルスの型が後の流行期における主流行型になる現象がみられることがあり、ヘラルド現象と呼ばれている¹⁾~³⁾。本現象は、来るインフルエンザシーズンに流行するウイルスを予測するための有効な情報の一つとされている。

静岡県においては1998年の非流行期に、学童を中心にB/ビクトリア/2/87系統に属するB型ウイルスの流行があった⁴⁾。2000年の非流行期にも海外旅行者からB型

ウイルスの分離に成功している⁵⁾。そこで非流行期ウイルスと次期流行ウイルスについて、分子疫学的に解析し両者の関係を明らかにすることで、来るインフルエンザシーズンの流行ウイルスを予測する有用な情報となり得るか調べた。

材料および方法

1 ウイルス分離

1997年4月~2002年12月の期間に、感染症発生動向調査によるインフルエンザ様疾患の散发患者および集団風邪患者から採取され、当研究所に搬入された咽頭ぬぐい液、うがい液等を検体として、MDCK細胞培養法(一部は発育鶏卵培養法を併用)によりインフルエンザウイルスを分離した。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

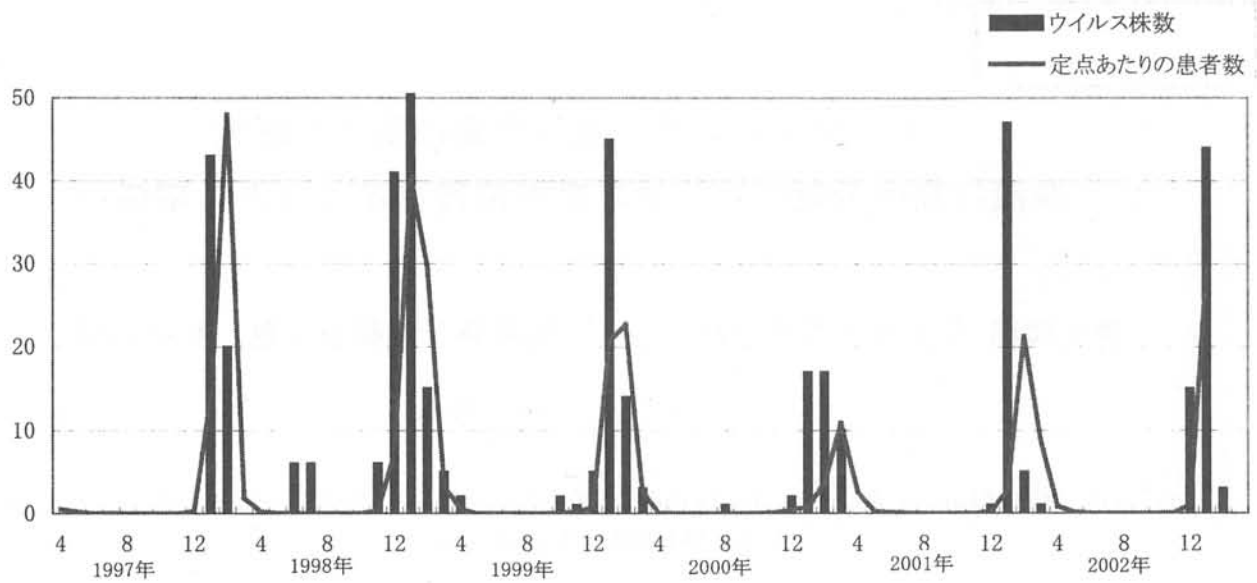


図1 静岡県におけるインフルエンザウイルス分離状況

表1 1998年非流行期と次期流行期の分離ウイルスの型別推移

ウイルスの型別	1998年								1999年			
	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月
A/H1型												
A/H3型								3	47	4		
B型(ビクトリア系統)		6	6				7	37	20	6	1	
B型(山形系統)								1		5	4	2

表2 2000年非流行期と次期流行期の分離ウイルスの型別推移

ウイルスの型別	2000年								2001年			
	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月
A/H1型								1	2	5		
A/H3型									6	1		
B型(ビクトリア系統)												
B型(山形系統)				1				1	17	9	4	

2 抗原解析

分離株はシーズン毎に国立感染症研究所より分与される同定用フェレット抗血清を用いて、赤血球凝集抑制(HI)試験によりHAの抗原解析を実施した。非流行期分離株および次期流行期分離株の一部は、さらに数種類のフェレット抗血清を用いてHA抗原を詳細に解析した。HI試験は、標準株に対するフェレット抗血清、4HA価のウイルスおよび0.5%シチメンチョウ赤血球液を用いて、マイクロプレート法で実施した。使用に先立って、抗血

清はRDE(デンカ生研)処理した後、シチメンチョウ赤血球を添加して血清中にある非特異的血球凝集因子を除去した。

3 遺伝子解析

非流行期分離株および次期流行期分離株の一部は、HA遺伝子の塩基配列の決定を行った。分離ウイルスからのRNA抽出は、グアニジウムフェノール法(Isogen-LS, ニッポンジーン)により行い、cDNAは既報⁶⁾に示した方法に従いRT-PCR法により作製した。塩基配列は、ABI

表 3 1998 年非流行期分離株と次期流行期分離株の抗原解析

ウイルス抗原	下記抗原のフェレット抗血清に対する HI 価					
	B/三重/1/93	B/北京/184/93	B/ハルビン/7/94	B/山梨/166/98	B/山東/07/97	B/北京/243/97
標準株						
B/山形/16/88 系統						
B/三重/1/93	160	320	160	80	40	20
B/北京/184/93	80	320	160	80	20	<10
B/ハルビン/7/94	160	320	320	160	40	20
B/山梨/166/98	40	80	80	160	<10	20
B/ビクトリア/2/87 系統						
B/山東/07/97	<10	<10	<10	<10	320	160
B/北京/243/97	<10	<10	<10	<10	160	160
1998 年非流行期分離株						
B/静岡/01/98	<10	<10	<10	<10	80	40
B/静岡/11/98	<10	10	<10	<10	320	40
1998/1999 シーズン分離株						
B/静岡/001/98	<10	<10	<10	<10	40	40
B/静岡/003/98	<10	10	<10	<10	80	80
B/静岡/006/98	<10	<10	<10	<10	80	80
B/静岡/020/98	<10	<10	<10	<10	80	80
B/静岡/031/98	<10	<10	<10	<10	80	80

表 4 2000 年非流行期分離株と次期流行期分離株の抗原解析

ウイルス抗原	下記抗原のフェレット抗血清に対する HI 価			
	B/山梨/166/98	B/静岡/480/2000	B/ヨハネスバーク/5/99	B/山東/07/97
標準株				
B/山形/16/88 系統				
B/山梨/166/98	1280	320	1280	<10
B/静岡/480/2000	20	80	160	<10
B/ヨハネスバーク/5/99	160	160	320	<10
B/ビクトリア/2/87 系統				
B/山東/07/97	<10	<10	<10	320
2000 年非流行期分離株				
B/静岡/480/2000	20	80	160	<10
2000/2001 シーズン分離株				
B/静岡/719/2000	10	40	80	<10
B/静岡/15/2001	20	40	80	<10
B/静岡/19/2001	20	80	160	<10
B/静岡/25/2001	20	40	160	<10

PRISM™310 を用いて PCR 産物から直接決定した。なお、
遺伝子解析は国立感染症研究所ウイルス第三部中島室長

に依頼して実施した。

2000年非流行期分離株と2000/2001シーズン分離株の塩基配列をB/山形/16/88系統の標準株であるB/山梨/166/98の塩基配列と比較すると、2000/2001シーズン分離株は、非流行期分離株と比較して10~12カ所に変異があり、系統樹上で両者は異なる枝に位置した。2001年1月の散発症例分離株(B/静岡/39/2001)は、非流行期分離株と同一の配列であり、両者に密接な関係が認められた(表6)。

考 察

国内のインフルエンザサーベイランスにおいて、分子疫学的解析から非流行期ウイルスが次期流行期ウイルスの親ウイルスになる場合と、必ずしもならない場合あることが報告されている⁷⁾⁸⁾。本研究で示した1998年と2000年の静岡県におけるインフルエンザ流行において、非流行期ウイルスと次期流行期ウイルスはHA抗原の解析では区別できなかった。このことから、非流行期ウイルスは夏期の間、静岡県内に潜伏し冬期になって蔓延し始めたように推察された。しかし、HA遺伝子の解析では、1998年の場合には流行期ウイルスと次期流行期ウイルスの親子関係は否定された。2000年の場合には、非流行期ウイルスと次期流行期ウイルスの親子関係が否定された株もあったが、一部の散発症例分離株とは密接な関係が認められた。

今回我々は、静岡県という限局した地域における集中的サーベイランスにおいて、非流行期ウイルスの子孫ウイルスが次期流行期に流行する場合もあり得るが、必ずしも次期流行期の主流ウイルスとなるとは限らず、多様なケースのあることが分かった。インフルエンザの流行は、気象条件、社会的環境、宿主の免疫状態等の因子が複雑に相互作用して多様な流行様式となって表れると考えられており、非流行期ウイルスが次期流行期の主流ウイルスになるか否かは、他の要因も影響すると考えられる。

国内で毎年流行するインフルエンザウイルスは、均一なウイルス集団として地球上を回って移動しており、海外旅行者などがその伝播役になっている場合もあると考えられている⁹⁾が、B型ウイルスは比較的地域的な流行に留まることが多く、流行間期に国内でヒトからヒトへ伝播しながら潜んでいるルートも考えられる。今回の2000年8月の海外旅行者分離株は、HA遺伝子の比較的変異の起こりやすいHA1部分の塩基配列がオーストラリアで2000年に分離された標準株(B/ビクトリア/537/2000)と同一であったことから、本株の由来はオーストラリアであり、旅行者により国内に持ち込まれたものと推察さ

れた。また、2000年8月の海外旅行者分離株は、2001年1月の散発症例分離株とも同一であったことから2000年8月~2001年1月までの間、静岡県内に潜んでいた可能性も考えられる。

謝 辞

遺伝子解析を実施して頂いた国立感染症研究所ウイルス第三部中島室長、並びに詳細な抗原解析を実施して頂いた国立感染症研究所ウイルス第三部インフルエンザウイルス室の関係各位に深謝します。

文 献

- 1) Glezen, W.P. et al.: Epidemiologic observations of influenza B virus infection in Houston, Texas, 1976-1977, *Am. J. Epidemiol.*, **111**, 13-22 (1980)
- 2) Glezen, W.P. et al.: The influenza herald wave, *Am. J. Epidemiol.*, **116**, 589-598 (1982)
- 3) 西川文雄他: 東京蒲田地区のインフルエンザ流行で観察された前駆波現象について一疫学的考察とウイルス学的解析の試み一, *臨床とウイルス*, **15**, 361-368 (1987)
- 4) 佐原啓二他: 夏季に起きたB型インフルエンザウイルスによる集団発生, *感染症誌*, **73**, 253-254 (1999)
- 5) 佐原啓二他: インフルエンザ非流行期(8月)のB型インフルエンザウイルスの分離, *病原微生物検出情報*, **21**, 195 (2000)
- 6) 佐原啓二他: 静岡県で1998年の非流行期と次期流行シーズンに分離されたB/Victoria/2/88系統に属するB型インフルエンザウイルスの疫学的解析, *感染症誌*, **74**, 481-485 (2000)
- 7) Nakajima, S. et al.: Genetic relationship between the HA genes of type A influenza viruses isolated in off-seasons and later epidemic seasons, *Epidemiol. Infect.*, **106**, 383-395 (1991)
- 8) Nakajima, S. et al.: Comparison of the HA genes of type B influenza viruses in herald waves and later epidemic seasons, *Epidemiol. Infect.*, **109**, 559-568 (1992).
- 9) Sato, K. et al.: Surveillance of influenza viruses isolated from travelers at Nagoya international airport, *Epidemiol. Infect.* **124**, 507-514 (2000)

医薬品等の規格試験法に関する問題点 (第四報)

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子,
藤原厚子, 越智壽美子, 浮島美之
堀池あずさ*, 山口善三郎*

Study on the Specifications and Test Methods of Drugs etc. IV

Kazuhiro OWADA, Hiroyuki KURITA, Atsuko UETA,
Atsuko FUJIWARA, Sumiko OCHI, Yoshiyuki UKISHIMA,
Azusa HORIIKE and Zenzaburo YAMAGUCHI

著者らは県内で製造(輸入)される医薬品等の収去検査を業務のひとつとしているが、規格及び試験方法が規定されている製造承認書どおり試験検査を行っても、期待された結果が得られないことがある。

本年度の収去検査等の結果、漢方エキス剤のエキス含量(メタノールエキス含量)が製造承認書の規格範囲に入らない事例があった。当該品目について各種温度におけるメタノールエキス含量の違いを検討した結果、含量は常温(15~25℃)以上においてはほとんど差が見られなかったが、それよりも温度が低い5℃及び10℃の場合には低い値を示した。これらの結果から、エキス含量試験の規格設定時や日常の品質管理において、試験室内の温度管理、特に夜間の温度管理には十分注意を払う必要があることが明らかとなった。

その他、試験検査を実施する上での試験方法設定や実際の操作方法における注意点等について若干の事例を紹介する。

Key words : 医薬品, 試験検査, 規格試験法, 製造承認書, エキス含量

Drugs, Analysis and testing, Specifications and test methods, Manufacturing approval,
Extract content

はじめに

医薬品は人の生命に大きく関わることから、その有効性や安全性、品質の確保が重要である。当研究所では県内で製造(輸入)される医薬品等の収去検査を実施し、医薬品等の品質評価を行っている。試験検査を実施する過程で、当該品目の製造承認書の規格及び試験方法どおり試験検査を行っても、期待された結果が得られないことがある。著者らは収去検査等で生じた問題事例について、これまでも3回にわたり報告してきた^{1~3)}。

今回は、昨年度及び本年度の収去検査等の問題事例を紹介し、試験検査方法の設定時や日常試験検査時の注意点等について考察する。

試験検査方法

1 検体

県内製造(輸入)医薬品, 県内流通医薬品, 県内製造医薬部外品, 国一斉監視指導に伴う医薬品等

2 試験方法

各検体の収去時に同時に搬入された当該品目の製造承認書に記載された項目(原則として全項目)のほか、日本薬局方⁴⁾、日本薬局方外医薬品成分規格(局外規)⁵⁾及び県内医薬品等製造所の製品標準書等に従って実施した。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene
(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

*静岡県志太榛原健康福祉センター

結果及び考察

1 漢方エキス製剤のエキス含量に及ぼす温度の影響

漢方製剤の品質は原料となる生薬に含まれる有効成分によるところが大きい、天然物であり、未知成分も多く、有効成分や含有量がすべて解明されているわけではない。このように含有成分が複雑で、有効成分の特定が困難な漢方製剤においてエキス含量試験は有効成分量を総合的に把握するという定量的な意味合いを持つ非常に重要な項目である⁶⁾。

平成14年度に収去した検体にこのエキス含量が不適となった事例があった。当該品目の製造承認書に示された試験法は、試料約2gを精密に量ったのち、図1に示した日本薬局方の生薬試験法エキス含量定量法(1)⁴⁾を準用し、抽出溶媒には希エタノールの代わりにメタノールを用いるものであった。また、当該品目の製造承認書におけるメタノールエキス含量の規格は「25.0~38.0%」であった。

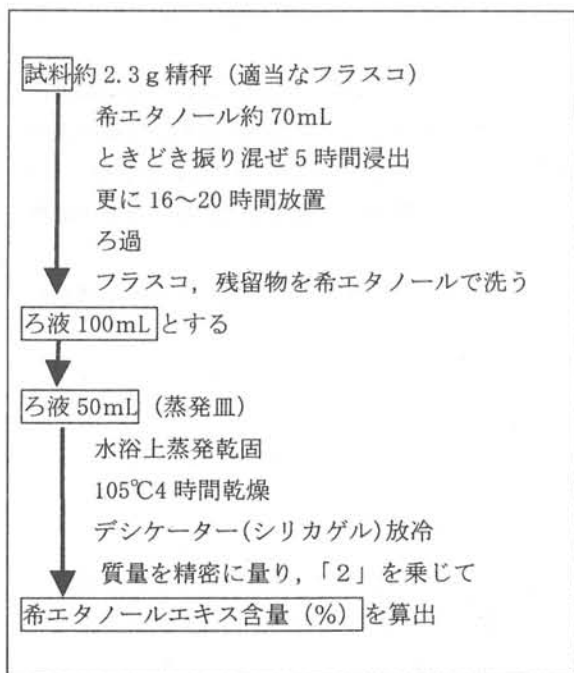


図1 日本薬局方・生薬試験法エキス含量・(1)希エタノールエキス定量法

当該品目についてメタノールエキス含量を測定した結果を表1に示した。1回目は47.5%、サンプリング数を増やして行った2回目では平均値46.0%、試験実施者を変えて行った3回目は平均値44.9%といずれも、当該品目のメタノールエキス含量の規格範囲「25.0~38.0%」を満たさなかった。報告値は3回の平均値46.1%とした。

なお、医薬品製造所における当該品目の出荷時の試験では「29.6%」と規格内であった。また、当所における収去検査ではこのメタノールエキス含量以外の規格試験項目はすべて規格範囲内であった。

表1 漢方エキス製剤の収去検査結果

試験回数	測定値	平均値	報告値
1回目	47.5%	47.5%	
	46.0%		
2回目	46.2%	46.0%	46.1%
	45.8%		
	45.4%		
3回目	45.4%	44.9%	
	43.9%		

当該品目の医薬品製造所での出荷判定試験は平成14年1月に暖房設備のない試験室で行われたため、実際の医薬品製造所の試験室内温度は10℃前後だったと予想された。当該品目はメタノール抽出を行う際の抽出環境(温度)による影響を受けやすいと考えられたため、当該品目のメタノールエキス含量に及ぼす温度の影響を検討した。すなわち、当該品目のメタノールエキス含量を5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃及び37℃の各温度条件で測定した(図2)。

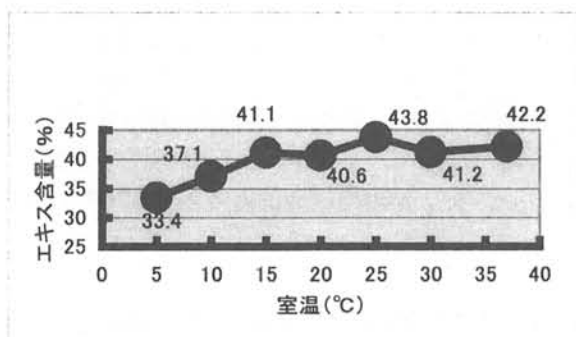


図2 メタノールエキス含量に対する温度の影響

その結果、当該品目のメタノールエキス含量は常温(15~25℃)以上においてはほとんど差が見られなかったが、それよりも温度が低い5℃及び10℃の場合には低い値を示した。医薬品の試験検査は日本薬局方通則⁴⁾によれば、原則として常温(15~25℃)で試験を行う旨記載されているので、その条件で試験検査を行う必要がある。

また、本試験法の特徴として5時間浸出した後、16~20時間放置する操作がある。この放置時間によって測定値が異なってしまうと規格試験法として適切といえなくなってしまう^{7, 8)}。そこで、5℃、15℃及び25℃で5時間振り混ぜて浸出した後の放置時間がメタノールエキス含量に及ぼす影響について検討した。各温度について、放置時間0, 4, 8, 12, 16及び20時間後のエキス含量を測定し、図3に示した。各温度において、測定値は放置開始時には既にメタノールエキス含量がプラトーに達しており、製造承認書に示される16~20時間後はほぼ同一のエキス含量が得られた。

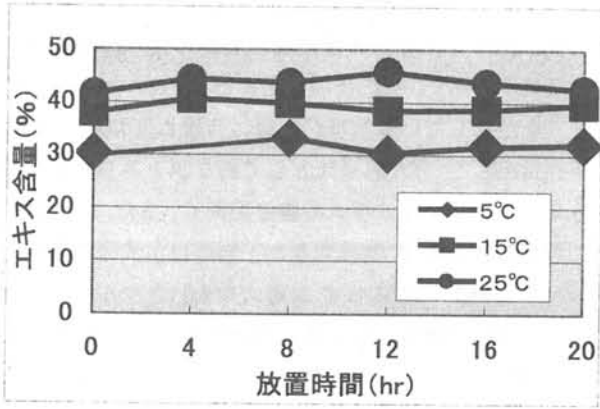


図3 放置時間によるエキス含量の変化

当該品目はあらかじめ配合生薬を水で加熱抽出した液を濃縮して得たエキスを用いて細粒剤を製造している。従って、当該品目は生薬そのものから浸出する場合と比べ、比較的早くエキス分が浸出されるものと推測された。

以上の結果から、漢方製剤等におけるエキス含量試験法設定時や医薬品製造所における日常の品質管理において、試験室内の温度管理が重要なファクターのひとつであることがわかった。

漢方製剤等の「エキス含量」規格を設定する際は日本薬局方の「常温」及び「放置時間」に注意し、少なくとも下限の15℃、上限の25℃における放置時間16時間及び20時間のエキス含量を検討し、変動がないことを検証しておく必要があると思われた。また、原料として用いる生薬がエキス抽出時に温度や時間の影響を受けやすいか否かの事前検討もしておくといと考えられる。

さらに、医薬品製造所における出荷判定試験の際にも、試験室内の温度管理に注意を払うことが大切である。このエキス含量試験の場合、5時間浸出の後、16~20時間放置の工程があるため、夜間の放置時間を伴う。特に夏場、冬場に試験を行うときは夜間に局方の「常温」を逸脱する可能性が考えられるため、温度管理ができる試験室または恒温器を使用して、試験検査を行う必要がある。

2 HPLCにおける試料溶液の溶媒と移動相の関係

HPLC分析においては主成分を何らかの溶媒で溶解しなければならない。しかし、試料溶液を調製する溶媒及びHPLCの移動相に用いる溶媒の組合せによっては、主成分のピーク形状に異常を生じる場合があるので注意が必要となる。ジアゼパムのHPLCクロマトグラムの一例図4に示した(注入量100μL)。ジアゼパムを移動相(水/メタノール混液(13:7))に溶解した場合は鋭敏なピーク形状を示したが(A)、移動相より溶出力が強いメタノールでジアゼパムを溶解した場合は、ジアゼパムのピー

クがリーディングしてブロードとなり、頭割れした(B)。

一般に溶出力の強い溶媒で試料溶液を調製し、HPLCに多量に注入すると、このようなピークのブロード化、頭割れ現象が起こる^{9, 10)}といわれているので、試料を溶解する溶媒の選択には注意を十分払う必要がある。

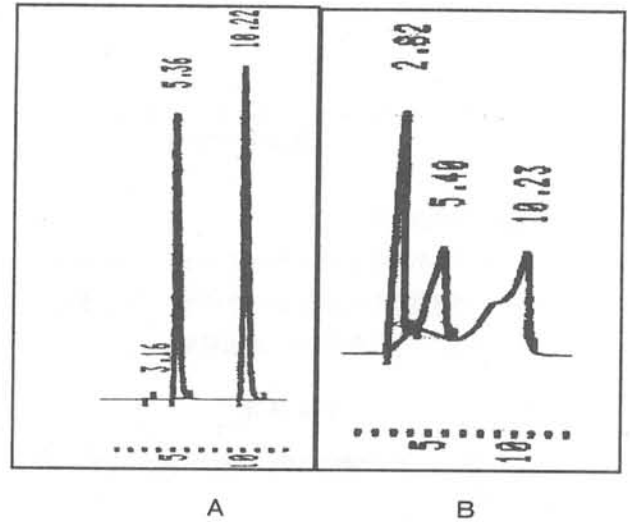


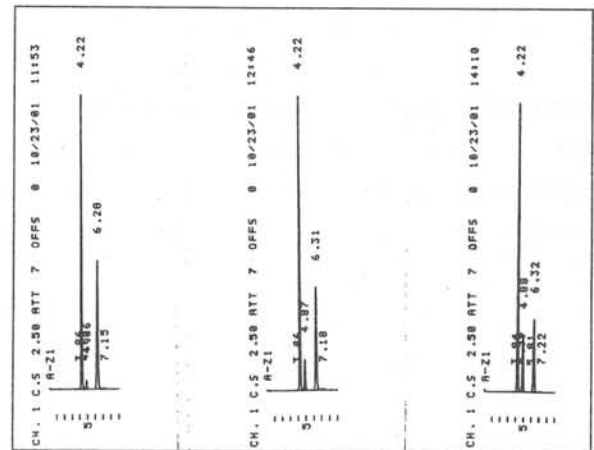
図4 試料溶液の溶解溶媒とHPLC移動相組成の違いによるピーク形状の変化

A: 溶出力 溶解溶媒<移動相

B: 溶出力 溶解溶媒>移動相

3 HPLC注入液の保管管理

HPLCで分析中、経時的に主成分のピーク面積値が変化する事例があった(図5)。γ-オリザノールを順相系HPLCで分析した際、保持時間約6.3分及び約4.9分のピーク面積値の経時的な変化を図6に示した。



試料溶液の放置時間の経過

図5 γ-オリザノールの経時的なピーク比率の変化

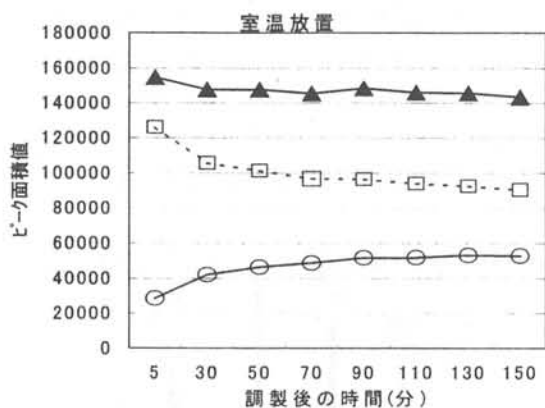


図6 HPLCでのγ-オリザノールのピーク面積の経時的变化(室温保存)

□ : 保持時間約 6.3 分ピークのピーク面積値,
○ : 保持時間約 4.9 分ピークのピーク面積値,
▲ : 両ピークの合計ピーク面積値

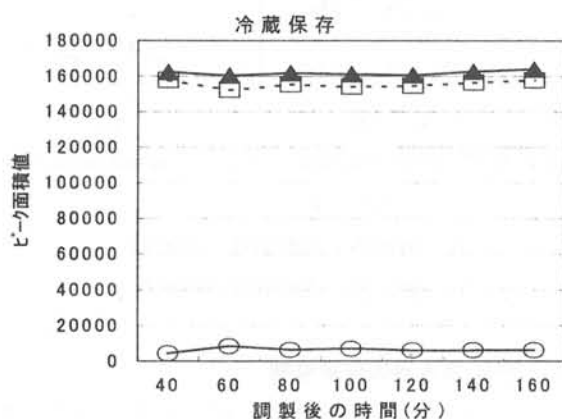


図7 HPLCでのγ-オリザノールのピーク面積の経時的变化(冷蔵保存)

□ : 保持時間約 6.3 分のピークのピーク面積値,
○ : 保持時間約 4.9 分のピークのピーク面積値,
▲ : 両ピークの合計ピーク面積値

保持時間約 6.3 分のピーク面積値の減少と同時に、γ-オリザノール由来と思われる保持時間約 4.9 分のピーク面積値が経時的に上昇していることが明らかとなった。保持時間約 6.3 分及び約 4.9 分の両ピークの合計ピーク面積値はほぼ一定であった。

HPLC 注入サンプルを約 5℃ に保って分析した場合、ピーク面積値の変化はほとんど見られなかった (図7)。本事例の場合、γ-オリザノールは複数成分の混合物であり、保存温度によってはそのピーク面積値の比率が変化するため、注入する試料溶液を冷蔵するか、冷却機能付きのオートサンプラーの使用が必要となった。

一方、HPLC の試料溶液を調製し、翌日分析するため、調製した溶液を冷蔵しておく場合がある。リン酸塩緩衝液 (pH2.5) / アセトニトリル混液 (1:1) で溶解したワル

ファリンカリウム標準溶液を一夜冷蔵庫内に保管し、翌日分析したところピーク面積値が前日に比べ極端に増加した事例があった。その後の検討の結果、ワルファリンカリウムを溶解している溶媒が 2 層に分離しており、一部主成分が析出していた。容量比として約 2 割とみられる上層部はワルファリンカリウムの濃度が高く、また、若干の析出物が見られた約 8 割の容量の下層部は主成分の濃度が低かった (表2)。冷蔵して 2 層に分かれたワルファリンカリウム溶液は室温に戻し良く混合すると均一となり、ピーク面積も一定となった。調製した HPLC 注入溶液を保存するのに冷蔵保管を選択するが、このような事例もあるので、溶液の保管条件には十分配慮が必要である。特に緩衝液とアセトニトリルの混合系溶媒には注意したい。

表2 冷蔵保存し 2 層に分かれたワルファリンカリウム溶液の各層におけるピーク面積

採取場所	ピーク面積比	容量比
上層部	311	0.2
下層部	39	0.8
全体均一混合	100	1.0

4 HPLCのノイズとピーク面積

HPLC 分析を行う際、ベースラインの変動がないこと、装置全体が安定していることをベースラインノイズの測定で確認する。このベースラインノイズの測定値がピークの検出に大きく関わっている。ベースラインノイズの測定値(設定値)とピーク面積値の違いを表3に示した。

ノイズが 2 の場合に比べ、ノイズが 3, 4, 10 と大きくなるにしたがって、ピークの検出が鈍くなり、面積値が減少することが明らかとなった。また、場合によってはノイズの設定によってはピーク面積値が数%違ってくことも考えられた。この面積値の数%の違いが定量値に大きな影響を及ぼすことも考えられるので、HPLC 分析を行う上でベースラインノイズの確認は重大な作業といえる。

表3 ベースラインノイズとピーク面積値

ノイズ (μV)	ピーク面積値	% *
2	99,957	100
3	95,679	95.7
4	95,450	95.5
10	94,718	94.8

*) ノイズ 2 μV のピーク面積値を 100% とした。

5 TLC展開溶媒の組成比とRf値

有害試薬の低減化などの理由で TLC の展開溶媒の組

成比を変更しなければならない場合がある。風邪薬のTLCを図8に示す。クロロホルム/アセトン混液(9:1)を用いて行ったTLCクロマトグラム(A)は、展開溶媒をアセトン/クロロホルム混液(9:1)と変更した場合、アセトアミノフェンの挙動が大きく変化し、カフェインとの展開順序が逆転する現象が起こった(B)。複数成分を含む試料溶液では展開溶媒の組成比を変更することによって各成分のRf値が変化し、展開される順番も変化する場合があるので、必ず標準物質と比較する必要がある。

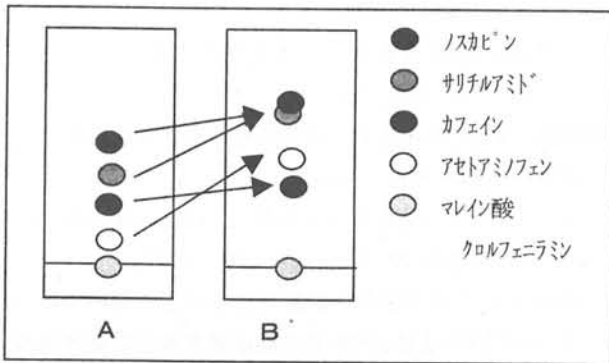


図8 TLC展開溶媒組成比変更によるRf値の変化
A; クロロホルム/アセトン混液(9:1)
B; アセトン/クロロホルム混液(9:1)

6 ヘッドスペースGCにおける試験の再現性

ヘッドスペース用バイアルにエタノールの標準溶液を入れ、70℃の水浴で一定時間加温し、気相をGCに注入しエタノール面積値を測定した結果、エタノールのピーク面積値が大きくばらついた(表4)。エタノールの面積値が高いときはバイアルが良く水浴に浸かっている状態で、面積値が低いときは水浴の水分が70℃で加温することによ

表4 ヘッドスペースGCによるエタノールのピーク面積値の経時的推移

標準溶液注入の順番	水浴へのバイアルの浸かり方	
	未調整	調整*
1	210, 214	202, 721
2	181, 577	198, 323
3	168, 444	200, 788
4	200, 617	199, 086
5	164, 631	202, 036
6	202, 433	-
7	163, 146	-
8	178, 987	-
ピーク面積 CV%	10.0	0.94

*) バイアルの水浴への浸かり方を一定に調整した。

って蒸発減少し、バイアルの約半分しか水浴に浸かっている状態であることから、この面積値のばらつきはバイアルの水浴への浸かり方が原因と思われた。

ヘッドスペースGCは気相と液相の平衡を利用して分析を行うものである。バイアルの温度管理のため、常に同じくらいバイアルが水浴に浸かっているよう、水浴の液面高さを十分管理しなければならない。

7 試料の粉末化とサンプリングの問題点

検体が錠剤のとき、試料溶液を調製する際の試料採取方法として、錠剤を粉碎して均一に混合し、その一定量を採取する機会が多い。ある錠剤を磁製の乳鉢で粉碎混合して定量したとき、定量値が規格下限付近の91.4%という事例があった。このとき、磁製乳鉢に残った試料を分析すると、規格上限付近の109.1%であった。また、粉碎する錠剤の量を多くすると定量値のばらつきは小さくなった。さらに、磁製乳鉢の代わりにメノウ乳鉢を用いて粉碎した場合、定量値はほぼ100%と良好であった(表5)。

磁製の乳鉢を用いた場合、乳鉢に主成分が吸着する場合や、混合することによって偏析を起こす場合があるので注意が必要である。

表5 試料粉碎方法の違いによる定量値の比較(錠剤)

乳鉢の材質	粉碎する試料の量	定量値(%)	
		1回目	2回目
磁製	30個(2回分)	91.4	109.1
磁製	45個(3回分)	97.0	96.5
メノウ製	30個(2回分)	99.1	101.7

検体がフィルムコーティング錠の場合は乳鉢での粉碎混合がさらに難しい。フィルム層が粉碎できず、残ってしまうため、試料採取に当たってフィルム層の部分をどのくらい採取するかによって、定量値は大きく異なってしまう(表6)。フィルム層をハサミ等で小さく粉碎すると定量値は100%に近づき、均一なサンプリングが可能であった。また、錠剤を粉碎せず、まるごとメスフラスコ等にとって、

表6 フィルムコーティング錠の試料採取方法と定量値

試料調製方法	定量値 %
粉末化して、そのままサンプリング	1回目 106.3 2回目 101.3
粉末化して、フィルム層も細切してサンプリング	100.8
錠剤のまま溶解	101.0

注) 当該品目の定量値の規格幅(95~105%)

溶媒で溶解する方法が採用できればこのような問題が生じにくくなるものと思われる。

8 細粒剤の粒度試験

日局製剤総則において、細粒剤は製剤試験として粒度試験が必須⁴⁾と規定されている。分包されていない500g入りの細粒剤の粒度試験において、フタを開けそのまま検体を量りとして試験を行ったとき、200号篩を通過する割合(1回目)や30号篩に残留する割合(2回目)が細粒剤の規格に適合しないことがあった(表7)。未分包の細粒剤の場合、振動等により分級が起きた粒子をたまたまサンプリングしてしまうことが考えられるため、一度一定量をシャーレ等の少し大きめの容器に取り出し、十分混合したのちに測定すると良い結果が得られることがわかった。

表7 細粒剤のサンプリング方法と粒度試験結果

細粒剤の規格等	サンプリング方法		
	容器から	シャーレに出し	
	そのまま試験	均一後試験	
	1回目	2回目	
18号全量通過	残留 0.0	0.0	0.0
30号残留5%以下	残留 0.8	7.2	3.3
200号通過10%以下	通過 11.4	5.3	5.4
200号残留	残留 88.1	87.8	91.5
合計	100.3	100.3	100.2

注) 数値は%

まとめ

医薬品の品質確保はきわめて重要であり、製造承認書の規格及び試験方法はそれを規定するためのものである。著者らは医薬品等が適正に製造管理、品質管理されているか、製造承認書に従って最終製品を試験検査する立場にある。

収去検査等を実施している中で、試験操作が良好に実施できない、あるいは、結果判定が明確に行えないなどいくつかの問題事例があった。それらは製品そのものが悪いというより、それを評価するための試験検査方法や承認規格設定が適当でない場合が多かった。

医薬品等の規格及び試験方法における問題事例の報告はこれで四報目となる。今後もいろいろな機会を捕らえてこのような事例を紹介することで、県内医薬品等製造所の育成指導、品質管理技術の向上につながれば幸いに思う。

また、最終的には医薬品等の規格及び試験方法の設定において、あるいは、各製造所における日常の品質管理において、紹介した各種の事例が有効に活用されることを願う。

文 献

- 1) 山本政利他：医薬品等の規格試験法に関する問題点、静岡県衛生環境センター報告，31，97-101(1988)
- 2) 小和田和宏他：医薬品等の規格試験法に関する問題点(第二報)，静岡県衛生環境センター報告，38，71-77(1995)
- 3) 小和田和宏他：医薬品等の規格試験法に関する問題点(第三報)，静岡県環境衛生科学研究所報告，43，21-24(2000)
- 4) 厚生労働省：第十四改正日本薬局方，平成13年3月30日付厚生労働省告示第111号
- 5) 日本公定書協会監修：日本薬局方外医薬品成分規格2002，じほう，東京(2002)
- 6) 原田正敏編：繁用生薬の成分定量-天然薬物分析データ集，廣川書店，東京(1989)
- 7) 堀池あずさ他：医薬品収去検査における試験方法の問題点，防菌防黴誌，29(8)，525-531(2001)
- 8) 堀池あずさ：医薬品等の試験方法設定上の問題点について，平成13年度第2回医薬品製造業者等品質管理講習会講演集，静岡(2002)
- 9) 日比清勝：HPLCの基本的操作法，平成14年度医薬品等品質管理研修会講義資料，静岡(2002)
- 10) 熊谷浩樹：HPLCの基本操作とトラブル対策について，平成14年度検査等精度管理委員会理化学検査担当者研修会講義資料，静岡(2003)

スキップ試験等の導入に関する研究 (第一報) — 県内医薬品製造所に対するアンケート調査結果 —

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子,
藤原厚子, 越智壽美子, 浮島美之

Study on the Introduction of Periodic/Skip testing (I)

— Research of Prospect for the Periodic/Skip testing to Drug Manufactures in Shizuoka Prefecture —

Kazuhiro OWADA, Hiroyuki KURITA, Atsuko UETA,
Atsuko FUJIWARA, Sumiko OCHI and Yoshiyuki UKISHIMA

I CHの合意を受け、平成13年厚生労働省から「新医薬品の規格及び試験方法の設定について」が通知されたが、これには定期的試験／スキップ試験等の導入、工程内試験の利用など医薬品の品質保証に関する新しい考え方が含まれている。これは「医薬品の製造工程を厳しくコントロールすることが品質保証の上で重要であり、これを活用することにより最終製品の試験検査を軽減し得る」とするものである。医薬品製造所からスキップ試験等の実施や工程内試験の利用等の申請があり、それを行政当局（各都道府県）が妥当と判断した場合、適用されるが、この行政判断のための運用指針は未だ通知されていない。今回、県内の医薬品製造所がスキップ試験等の導入や工程内試験の利用などについてどのように考えているかアンケート調査を行った。その結果、試験時間短縮、試験検査の合理化、迅速化などの理由で多くの県内医薬品製造所がこれに期待していることが分かった。また、医薬品の各種剤型別にスキップ試験等の導入、工程内試験の利用をした場合の効果等についても検討し、試験時間は40～50%に短縮、その他人件費や消耗品費の節減など多くのメリットがあることが推察された。

Key words: 医薬品, 試験検査, スキップ試験, 定期的試験, 工程内試験

Drugs, Analysis and testing, Skip testing, Periodic testing, In-process tests

はじめに

平成11年10月、I CH会議において日米欧3極間で「化学合成医薬品の規格及び試験方法のガイドライン」が最終合意に達した。このガイドラインには定期的試験／スキップ試験等（以下、スキップ試験等と略す）の導入、工程内試験の利用など医薬品の品質保証に関する新しい考え方

が含まれている。この新しい考え方は「医薬品の製造工程を厳しくコントロールすることが品質保証の上で重要であり、これを活用することにより最終製品の試験検査を軽減し得る」とする欧米における最近の品質保証の考え方によるものである¹⁾。

I CHの合意を受け、平成13年5月、厚生労働省から「新医薬品の規格及び試験方法の設定について」が通知された²⁾。我が国は従来から規格にある項目はすべて出荷時に試験が必要としてきたが、これらの新しい考え方を取り込むため、日本薬局方の通則第4項、製剤総則第6項等を改正するなど法的な根拠も整備された³⁾。この新しい品質管理手法は、医薬品製造所からスキップ試験等の実施や工

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

程内試験の利用等の申請があり、それを行政当局（各都道府県）が妥当と判断することによって適用されるとのことである^{4, 5)}。この行政判断のための国からの運用指針は未だ通知されていないが、今回、県内の医薬品製造所がスキップ試験等の導入や工程内試験の利用などについてどのように考えているかアンケート調査を行ったので、その概要を報告する。また、県内医薬品製造所数社に協力をいただき、医薬品の各種剤型別にスキップ試験等の導入、工程内試験の利用をした場合の効果等についても検討したので併せて紹介する。

定期的試験／スキップ試験の導入^{1, 4, 5)}

スキップ試験等とは最終製品の出荷時試験のうち、特定の試験項目を全てのロット毎でなく、予め定められたロット毎または期間毎に行うというものである。試験されなかったロットであっても、その製品について設定されたすべての判定基準に適合していなければならない。これを行うには、事前に行政当局にその妥当性を示す必要があるといわれており、通常、医薬品の製造承認後に適用され、スキップ試験等継続の判定基準を設定する必要もある。

工程内試験の利用^{1, 4, 5)}

工程内試験の利用は出荷時の一連の正式な試験の一部としてでなく、原薬や製剤の製造工程の試験を利用するものである。ある試験項目について出荷の際に要求されるのと同様、あるいは、それより厳しい判定基準の下で行う場合、それと密接に関連した工程内の試験データを利用できるというものである。工程内試験を利用するには、試験結果や製剤の機能特性が工程内の段階から最終製品に至るまで変化しないことを示すバリデーションデータを示す必要があるとされている。

アンケート調査の実施方法

1 アンケート用紙配布

平成14年10月18日、医療用ガス、体外診断薬製造所を除く県内医薬品製造所53箇所へアンケート調査票を郵送した。

2 調査内容(概略)

- 1) スキップ試験等の導入について
- 2) スキップ試験等の導入希望項目
- 3) スキップ試験等を行う間隔
- 4) スキップ試験等の具体的項目や方法等
- 5) スキップ試験等の妥当性を示す方法
- 6) 工程内試験結果の利用について
- 7) 工程内試験を利用する項目、その根拠

結果及び考察

1 アンケート用紙回収結果

平成14年12月末現在、県内医薬品製造所38箇所から調査票が回収された。回収率は71%であった。

2 スキップ試験／定期的試験に関する解析

1) スキップ試験／定期的試験等の導入について

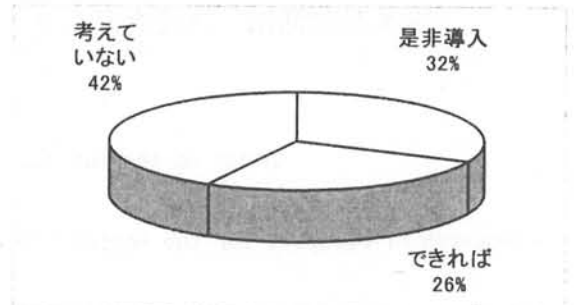


図1 スキップ試験等の導入に対する考え

スキップ試験等の導入に対する医薬品製造所の考え方を図1に示した。「是非導入したい」「できれば導入したい」を合わせると約6割の医薬品製造所で導入を希望していた。「導入を考えていない」は16社で全体の42%であった。

スキップ試験等を導入したい理由を表1に示したが、試験の効率化、経費節減、試験期間短縮、バリデーションによる品質担保などの理由が挙げられていた。

また、導入を考えていない主な理由は「原薬」しか製造

表1 スキップ試験等を導入したい理由

試験の効率化、合理化、迅速化、省力化
少量ロットより、プロセスで品質保証すべき
バリデーション実施し、管理項目を押さえれば導入可能
恒常的に製造工程、品質試験が安定
試験経費節減、コストダウン、試験期間短縮、短納期化
試薬排出量削減、省資源化(排ガス等環境影響低減)
品管部門の負担軽減、人的労力の削減

表2 スキップ試験等を導入希望しない理由

運用指針が示されてから検討、ロット数が小さい
共用設備、低頻度不定期生産
ロット毎品質確認必要
少量多品種生産で、管理複雑になる
人手不足日常業務で手一杯
原薬のみ (11/16社)
新医薬品(新製剤、新原薬)の予定がない

していないことが挙げられる(表2)。

導入を希望していない16社のうち11社は「原薬」製造所であり、スキップ試験等の導入の適用がまず「製剤」からといわれていることも影響していると思われた。この他の理由としては、新薬がない、製造ロット数が多くないなどであった。

また、「新薬がない」を理由に挙げた製造所があったが、日本薬局方の通則4項の規定³⁾から、既存薬にも十分適用可能と考えられる。

2)スキップ試験/定期的試験の項目

スキップ試験等を適用したい試験検査項目については表3のような回答があり、確認試験や純度試験等に関する希望が多かった。溶出試験及び含量均一性試験などについては代替試験法を設定したり、サンプルサイズを縮小したスキップ方法が挙げられていた。

このうち、確認試験は①当該成分の定量法にHPLC法など特異性のある手法が用いられていること、②原料の受入試験で確認試験が行われていること、③その原料の使用が製造記録等で確認できることなどの条件があれば、単純にスキップして良いとの考えが国立医薬品食品衛生研究所等から示されている^{1,4)}。

その他の項目については、スキップ試験等の適用可能な条件として、製造上の変動要因の解析や特定、管理図等を利用した変動要因の適切な制御、工程能力指数等を利用した品質の確認などの各種データで妥当性を根拠付ける作業が必要と思われる。

表3 スキップ試験/定期的試験の導入希望項目

可能な項目	実施希望製造所数
確認試験	17
純度試験	10
含量均一性試験	5(代替スキップ)
微生物試験	6
残留溶媒	5
溶出試験	7(代替スキップ)
その他	4

3)スキップ試験/定期的試験の実施間隔

定期的試験の実施間隔については製造ロットが少ない場合3カ月ごと、多い場合は1カ月ごとに、また、スキップ試験については製造ロットが少ない場合、多い場合ともに10ロットごとという回答が最も多かった(表4、表5)。

表4 定期的試験に適切な期間数

製造ロットが少ない場合		製造ロットが多い場合	
1カ月	5	1カ月	23
2	3	2	1
3	14	3	3
6	7	6	2
その他	9	その他	9

表5 スキップ試験に適切なロット数

製造ロットが少ない場合		製造ロットが多い場合	
2ロット	2	5ロット	1
3ロット	6	10ロット	16
5ロット	9	20ロット	9
10ロット	15	30ロット	3
その他	6	その他	9

3 工程内試験の利用についての解析

1)工程内試験の利用の導入について

工程内試験結果の利用についての医薬品製造所の考え方を図2に示した。「是非導入したい」及び「できれば導入したい」を合わせると25社、約65%の製造所で導入を希望していた。また、そのうち、12社(31%)はGMP事例集⁶⁾における「中間製品の試験検査結果の利用」、「包装直前の検体採取」などを既に導入していた。

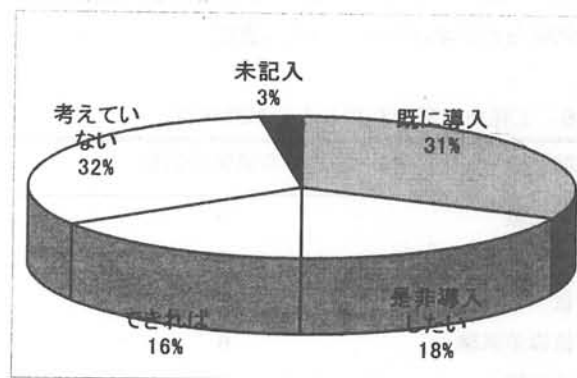


図2 工程内試験の利用に関する医薬品製造所の考え方

工程内試験の利用を希望する理由としては、同様の試験項目を同じ試験法で重複して実施することを避ける試験の効率化、経費節減及び試験期間短縮などの理由が主であった(表6)。

一方、工程内試験の利用を希望しないという回答には、国の運用通知が出てから判断する、委託等との関係で納入先の指導による等が主たる理由であった(表7)。中には、工程内の試験は品質管理部門の担当者が実施していない、製造工程に品質管理部門のものが入り試験するのは手間

表6 工程内試験の利用を希望する理由

各工程の検査に共通項目多い
重複して行う試験を避ける
省力化, 合理化
工程内試験の方がサンプル数が多い
品管部門の負担軽減, 手間を省く, 人的労力の削減
包装工程が複雑であり, 最終製品からの抜取避けたい
判定待ち時間短縮, 迅速な出荷(出荷リードタイム短縮)

表7 工程内試験の利用を希望しない理由

厚生労働省の運用通知が出てから検討
現時点では, 出荷時検査は必須
原薬のみ, 利用できない?
納入先の指導による
工程内試験を品質管理部門が実施していない
製造工程に品管部門が入り試験するのは手間
工程内試験は工程のトレンドの調査(目的が違う)

がかかる, 工程試験は工程のトレンド調査であって目的が違うなどの理由が挙げられていたが, 「工程内試験」を製造部門の担当者がライン内で行う「工程試験」と誤認識していると思われるものも見られた。

2) 工程内試験の導入希望項目

工程内試験の利用希望項目には, 純度試験, 定量, 質量偏差試験などが挙げられていた (表8)。

表8 工程内試験を利用したい試験項目

試験検査項目	希望製造所数
純度試験	9
確認試験	9
定量	7
質量偏差試験	6
残留溶媒	3
その他	24

工程内試験の利用にあたっては, ①規格試験と重複する項目で, ②中間段階の製品と最終製品の品質特性が本質的に変わらず, ③工程内試験法が規格試験法と同等, それ以上の真度, 精度を有し, ④判定基準も出荷時のそれと同等, 又はそれ以上の厳しい判定基準であるなどの条件が必要である^{1, 4)}。

また, 工程内試験の利用を妥当とするためには, ①該当試験項目の品質特性が最終製品に至るまで変化しないと判断する理由, ②両試験法の信頼性を保証する資料, ③規

格試験と工程内試験の両者の比較データ, ④利用の妥当性の説明(考察)などが必要となる^{1, 4)}。

4 スキップ試験/定期的試験の導入および工程内試験の利用等の導入による効果予想

県内の医薬品製造所に依頼し, フィルムコーティング錠および軟膏剤にスキップ試験等の導入, 工程内試験を利用した場合の1品目1ロットの試験に要する時間について試算した(表9, 表10)。

スキップ試験等の導入や工程内試験の利用により試験実施時間が40~50%短縮できることが推測された。さらに, 試験時間だけでなく, 試験に必要な試薬等消耗品費, 人件費, 設備費などにも多大な節減が見込まれ, 医薬品製造所において大きなメリットが予想される。最終製品の出荷判定待ちの時間も短くなり, 在庫量を減らすとともに, スムーズな出荷が可能となる。

表9 フィルムコーティング錠にスキップ試験等を導入した場合のメリット(試算)

試験検査項目	現 状	導入後	備 考
性 状	0.1	0.0	工程内
確認試験	0.5	0.0	単純スキップ
純度試験	0.5	0.5	
含量均一性試験	2.0	1.5	サンプルサイズ縮小
溶出試験	2.0	0.4	崩壊で代替
定 量	1.5	0.0	含量均一平均値で代替
計	6.6	2.4	(36.4%に短縮)

注) 単位は時間

表10 軟膏剤にスキップ試験等を導入した場合のメリット(試算)

試験検査項目	現 状	導入後	備 考
性 状	0.1	0.0	工程内
確認試験	5.0	0.0	単純スキップ
pH	0.5	0.0	工程内
定 量	5.0	5.0	
計	10.6	5.0	(47.2%に短縮)

注) 単位は時間

おわりに

スキップ試験等の導入など品質保証の新しい考え方の適用は医薬品GMPが適切に運用されていることが大前提である。それは安定した製造工程で製造された品質の安定な医薬品であれば, 試験をスキップしても規格はずれが起こるようなことはないと考えられるからである。スキ

ップ試験等の導入については厚生労働省からの運用指針が通知されていないが、医薬品製造所からそれらの導入を希望する申請があった場合、都道府県で妥当かの判断をする必要がある。

当研究所では、今回実施したアンケート調査や個別調査結果をもとに、以下に示す内容について検討していく予定である。

- 1) スキップ試験等の適用可能な試験項目の選定,
- 2) スキップ試験等を適用するための医薬品製造時におけるGMP上の条件,
- 3) 申請時に示すべき合理的根拠及びデータ,
- 4) 医薬品製造所から提出されるスキップ試験等の適用に関する申請内容を検討し、承認する県側の体制

これらの点について、行政や県製薬協会等と共同して取り組み、その結果、スキップ試験等が適切に運用されることで、県内医薬品製造所の科学的根拠に基づいた品質保証体制、品質管理技術の向上につながれば幸いである。

文 献

- 1) 小嶋茂雄: スキップ試験などに関する厚生科学研究について (PDAシンポジウム資料), 国立医薬品食品衛生研究所ホームページ (2002)
- 2) 厚生労働省医薬局審査管理課長通知: 新医薬品の規格及び試験方法の設定について, 平成 13 年 5 月 1 日付医薬審発第 5 6 8 号
- 3) 厚生労働省: 第十四改正日本薬局方, 平成 13 年 3 月 30 日付厚生労働省告示第 1 1 1 号
- 4) 青柳伸男他: 医薬品の品質保証基準及び品質判定システムに関する研究, 平成 10 年度~平成 12 年度厚生科学研究 (医薬安全総合研究事業) 報告書 (2001)
- 5) 小嶋茂雄: 医薬品の品質保証を巡る新しい考え方—スキップ試験やパラメトリックリリースの適用基準, 不純物プロファイルによる品質管理について—, 平成 14 年度第 1 回医薬品等製造業者品質管理講習会講演資料, 静岡県健康福祉部, 静岡県製薬協会 (2002)
- 6) 医薬品GMP事例集 1999 年版, 厚生労働省医薬安全局監視指導課監修, 株式会社薬事日報社発行, 東京 (1999)

院内製剤の品質確保に関する研究 (第三報) —院内製剤β-カロチン散の安定性評価—

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 植田 敦子, 栗田 浩幸, 小和田和宏
藤原 厚子, 越智壽美子, 浮島 美之
県立総合病院 薬剤部 渡邊 恵子, 大石 結花, 浅倉 侯子
見崎 芳枝

Study on Guarantee of Quality for Hospital Preparation III -Stability Test for β-carotene Powder of Hospital Preparation-

Atsuko UETA, Hiroyuki KURITA, Kazuhiro OWADA,
Atsuko FUJIWARA, Sumiko OCHI, Yoshiyuki UKISHIMA,
Keiko WATANABE, Yuka OISHI, Kimiko ASAKURA
and Yoshie MISAKI

院内製剤の品質保証システムを確立することにより、製造段階から服用まで全ての過程で、有効性および安全性を有する医薬品を患者に提供することが可能となる。

院内製剤の安定性評価を行うため、院内製剤β-カロチン散の定量法を検討し、院内製剤10%β-カロチン散についての安定性評価を行った。その結果、病院の標準作業書に基づいた保存条件(遮光, 4℃)で1ヶ月保存できることが明らかになった。さらに、脱酸素剤を使用することにより、病院での保存期間の延長の可能性が示唆された。また、室温では分解しやすいことが判明したため、患者に交付した後も冷蔵庫で保存することが望ましく、患者への冷蔵保存の指示が必要と考えられた。

今回の安定性評価により適切な保存条件や保存期間が明らかになったが、これらの知見をもとに標準作業書をさらに充実させ、院内製剤の品質保証システムの確立に役立てていきたい。

Key words: 院内製剤, 品質確保, β-カロチン散

Hospital preparation, Guarantee of quality, β-carotene powder

はじめに

当研究所では、平成13年度から、県立総合病院薬剤部(以下病院と略す。)と共同で、「院内製剤の品質確保に関する研究」を行っている。

院内製剤は患者のさまざまな病態に対応するため、必要不可欠のものである^{1) 2)}。この院内製剤の品質保証体制を確立することにより、製造段階から服用まで全ての過程で、有効性および安全性を有する医薬品を患者に提供することが可能となる^{2) 3)}。

昨年度行った含量均一性評価では、院内製剤ジゴキシン散と院内製剤ワルファリンカリウム散をモデルとし、検討を行った。その結果、包装材料への主剤の付着や、製剤工程内での主剤の損失が生じることが明らかになった^{4) 5)}。それぞれの改善策を見いだすとともに、より詳細な標準作業書の必要性が判明した。

今年度は、院内製剤の安定性評価として、10%β-カロチン散及び高カロリー輸液・電解質輸液混合製剤をモデルとし、保存条件等についての検討を行った。

本報告では、10%β-カロチン散についての安定性評価の検討結果について報告する。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

院内製剤 10% β-カロチン散

10% β-カロチン散は、口内白斑症、白斑症などの治療を目的として処方される院内製剤であるが、β-カロチンは分解されやすく、安定性が悪いことが知られている。安定性に影響を及ぼす因子としては、光、温度、酸素などがあり、保存には注意が必要な製剤といえる。

1 10% β-カロチン散の調製方法

病院の標準作業書に基づく調製方法は次のとおりである。

- 1) 乳糖（倍散用）を5号篩で篩過し、40g量り取る。
- 2) 6号篩にてβ-カロチン10gと乳糖（粉末）50gを篩過し、1)の乳糖（倍散用・EFC）に加え混合する。
- 3) 2)をさらに5号篩で2回篩過し、均一になるまで混和する。
- 4) 33gずつ小分けにする。

2 保存条件

病院の標準作業書に基づく保存条件は次のとおりである。

- 1) β-カロチン（原料）：冷凍保存
- 2) 10% β-カロチン散（製剤）：ビニール袋に入れた後、缶に入れ（遮光）、冷蔵庫で保存

10% β-カロチン散定量法の検討

1 試験方法

1) 試料溶液の調製

10% β-カロチン散 0.1g を精密に量り、テトラヒドロフラン（以下 THF とする。）30mL に溶かした後、THF で正確に 50mL とする。これをメンブランフィルター（0.45 μm, 非水系）でろ過し、ろ液 2mL を正確に量り、THF で正確に 20mL とし、試料溶液とした。

2) 標準溶液の調製

定量用 β-カロチン（和光純薬工業株式会社製、特級、含量 99.9%）0.01g を精密に量り、THF で正確に 50mL とし、この液 2mL を正確にとり、THF で正確に 20mL とし、標準溶液とした。

3) 定量

試料溶液および標準溶液 10 μL につき、次の条件で、液体クロマトグラフ法により試験を行い、β-カロチンのピーク面積を測定した。

HPLC 試験条件

検出器：可視吸光度計（450nm）

カラム：YMC-Pack ODS-A

4.6mm×15cm, 5 μm

カラム温度：30℃付近の一定温度

移動相：アセトニトリル/メタノール/THF 混液
(5 : 4 : 1)

流量：1.2mL/min

2 試験法の妥当性の確認

前記の試験方法について、その妥当性を確認した。

1) 試験の再現性

標準溶液（20 μg/mL）を用い、β-カロチンのピーク面積の再現性を確認したところ、良好な結果が得られた（表1）。代表的なチャートを図1に示した。

2) 直線性

標準溶液（10, 12.5, 15, 20, 25 μg/mL）を用い、検量線を作成したところ、相関係数 0.9996 の良好な直線が得られた（図2）。

3) 添加回収

乳糖 0.09g に β-カロチン約 0.01g 添加し、試料溶液を調製し、回収率を求めたところ、添加回収率は良好であった（表2）。

表1 試験の再現性

ピーク面積の CV (%)
1.05 (n=5)

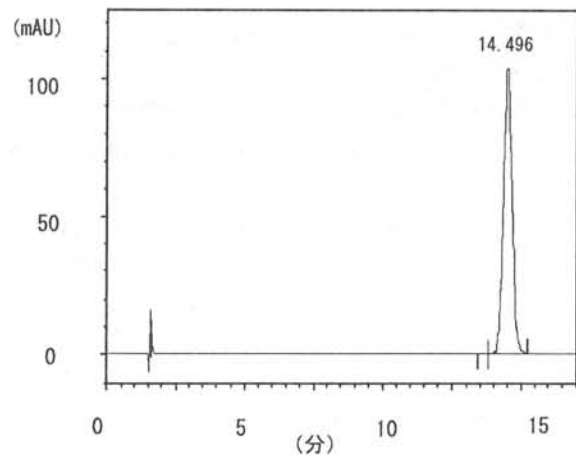


図1 代表的な β-カロチンの HPLC クロマトグラム

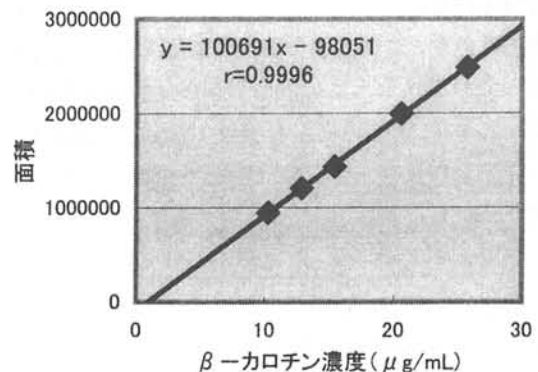


図2 β-カロチンの直線性

表2 β -カロチン添加回収率

	回収率 (%)
1	101.6
2	104.2
3	99.8
平均	101.9
CV (%)	2.17

10% β -カロチン散の均一性の確認

病院で先に示した標準作業書に基づき、10% β -カロチン散を調製した。今回は、保存条件の検討に使用するため、通常3袋に小分けするところを5袋(試料No. 1~5)に小分けをした。試料No. 1~5からそれぞれ3回サンプリングし、 β -カロチンの定量した結果は、表3のとおりであった。合計15のサンプリングにおける定量結果は平均で99.1%

(対表示量%)であり、変動係数は1.7%であった。これらの結果から、10% β -カロチン散の標準作業書に基づいた調製方法において混和が十分であり、No.1~5の試料は同等であると、判断された。

表3 10% β -カロチン散の定量結果

試料 No.	表示量に対する割合 (%) (n=3)
1	99.9 \pm 0.37
2	99.1 \pm 2.57
3	98.2 \pm 2.50
4	98.3 \pm 0.76
5	100.1 \pm 0.97
平均	99.1 \pm 0.87

10% β -カロチン散の保存条件の検討

先の均一性の確認に用いた試料No. 1~5を用い、表4に示した条件において保存し、 β -カロチン含量の経時変化を調べた。

なお、遮光はアルミ缶で行い、No. 2は病院の標準作業書に基づいた保存条件である。保存実験は平成14年8月5日から開始し、112日間における β -カロチン含量の経時変化は図3に示した。

病院の標準作業書に基づいた保存条件であるNo. 2では、実験開始28日後で対表示量97.0%であり、44日後で91.1%、56日後で89.0%であった。また、室温で遮光せずに保存するNo. 1では、8日後で91.5%、14日後で85.7%と減少した。これらの結果から、対表示量90%を指標とすると、遮光し冷蔵庫で保存する病院の標準作業書に基づいた条件 (No. 2)

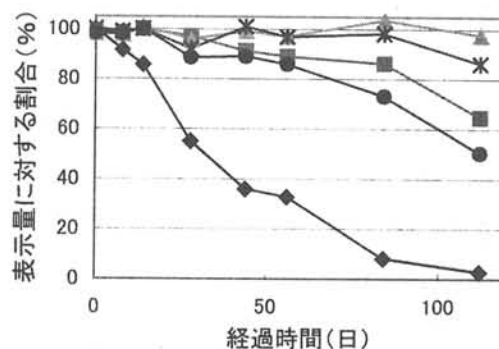
では、1ヶ月の保存が可能であり、分包して患者に交付した後も冷蔵庫で保存することが必要であると考えられた。

また、脱酸素剤を入れて保存したNo. 3では、実験開始112日後(16週後)で対表示量97.6%であった。さらに保存期間を延長するためには、脱酸素剤を使用することが有用であると考えられた。

No. 4, No. 5の結果から、シリカゲルは保存性を増す方向には作用しないことがわかった。

表4 10% β -カロチン散の保存条件

試料 No.	保存容器	温度	脱酸素剤	シリカゲル
1	遮光無	室温	無	無
2	遮光	4℃	無	無
3	遮光	4℃	有	無
4	遮光	4℃	無	有
5	遮光	4℃	有	有

図3 β -カロチンの安定性

◆ No.1 ■ No.2 ▲ No.3 ● No.4 * No.5

まとめ

今回、院内製剤10% β -カロチン散についての安定性評価を行ったところ、病院の標準作業書に基づいた保存条件(遮光, 4℃)で1ヶ月保存できることが明らかになった。さらに、脱酸素剤を使用することにより、保存期間の延長の可能性が示唆された。

また、室温で遮光せずに保存する条件では、分解しやすいことが判明したため、患者に交付した後も冷蔵庫で保存することが望ましく、患者へはその旨の指示が必要である。

なお、今回の製剤の原料となる β -カロチン(特級, 試薬)は、メーカーでの含量規格が80.0%以上と規格幅が大きい。常により同一の品質の製剤とするには、病院で原料の受け

入れ規格を新たに定める必要があると考えられた。

昨年度の院内製剤の含量均一性評価に引き続き、今年度、院内製剤の安定性評価について検討を行ったが、今回得られた知見を、病院の標準作業書等のさらなる充実に生かし、院内製剤の品質保証システムの確立に役立てていきたい。

文 献

- 1) 松原 肇他：これからの院内製剤のあり方，月刊薬事，37(10)，2179-2186(1995)
- 2) 郡 修徳他：院内製剤の必要性と現況，月刊薬事，37(10)，2135-2140(1995)
- 3) 徳村忠一：医薬品の安定性と院内製剤，PHARM TECH JAPAN，16(5)，769-775(2000)
- 4) 植田敦子他：院内製剤の品質確保に関する研究(第一報) -院内製剤ジゴキシン散についての検討-，静岡県環境衛生科学研究所報告，44，35-38(2001)
- 5) 堀池あずさ他：院内製剤の品質確保に関する研究(第二報) -ワーファリン散予製剤の含量均一性評価-，静岡県環境衛生科学研究所報告，44，39-44(2001)

院内製剤の品質確保に関する研究 (第四報) —高カロリー輸液・電解質輸液混合製剤の安定性評価—

医薬品生活部 医薬食品スタッフ 栗田 浩 幸, 植 田 敦 子, 小和田和宏
越智壽美子, 藤原厚子, 浮島美之
県立総合病院 薬剤部 渡 邊 恵 子, 大石結花, 見崎芳枝

Study on Guarantee of Quality for Hospital Preparation IV —Stability Test for Mixed Transfusion of IVH and Electrolyte—

Hiroyuki KURITA, Atsuko UETA, Kazuhiro OWADA,
Sumiko OCHI, Atsuko FUJIWARA, Yoshiyuki UKISHIMA,
Keiko WATANABE, Yuka OISHI and Yoshie MISAKI

院内予製剤である, 高カロリー輸液と電解質輸液の混合製剤の安定性について検討した. スケールを縮小したモデル製剤における変動要因の検討により, 安定性は温度, 空気(酸素), 光(紫外線)の影響をうけ, 混合製剤は, これらを管理した条件での保管が望ましいことが判明した.

一方, 実製剤スケールで製剤中の空気含量を変化させた製剤について, 脱酸素剤の有無により安定性試験を行った結果, 遮光下低温保管においては, いずれの製剤も品質の大きな劣化は認められなかったが, 散光下室温保存条件では, 脱酸素剤のない製剤に, 着色, トリアブタン等の減少が見られた. なお, この変化は, 調製時の製剤中の空気含量には影響をうけなかった.

以上のことから, 本輸液混合製剤の品質を確保するためには, 保管時の温度, 空気, 光を管理することが重要であり, 調製時に輸液パック中に封入される空気含量の影響は少ないことが明らかになった.

Key words : 院内製剤, 安定性評価, 高カロリー輸液
Hospital preparation, Stability test, IVH

はじめに

院内製剤は, 調剤業務の効率化のための予製・予包, 特殊な製剤処方に基づく市販されていない薬剤の調製, 市販品とは処方・規格等異なる製剤の調製等がある. これらの院内製剤は, 「調剤の準備行為あるいは延長線上にある」とされ, 薬事法の規制下にある「製造行為」に該当しないとされているが, 市販医薬品同様GMPやこれに付随するバリデーションを取り入れ, 品質の向上及び保証に努める必要がある^{1, 2)}.

そこで, 当研究所では平成13年度から, 静岡県立総合病院薬剤部と共同で院内製剤の品質確保に関する研究を開始し, 各種の問題点等について検討を行っている^{3, 4)}.

高カロリー輸液は, 経口, 経腸栄養補給が困難な患者への栄養補給のために経中心静脈輸液療法として使用され, 院内での混合調製が多い. 高カロリー輸液は, 糖, 電解質, アミノ酸を含有しており, メイラード反応による着色, 空気酸化によるアミノ酸の分解等が起こることが知られており, 着色による回収事例も生じる等安定性が問題となっている⁵⁾. そこで, 医薬品メーカーでは, 製剤化にあたり, 糖とアミノ酸を別にパックする, 脱酸素剤を封入する等により安定性を確保している.

しかし、院内製剤として混合調製されたものは、安定化のため用いられている空気透過性の低い外包装を開封することから、その安定性の確保が問題となっていた。

そこで、高カロリー輸液と電解質輸液の混合製剤の安定性について、保存条件及び調製方法による影響について検討を行った。

実験方法

1 原料

高カロリー輸液；ユニカリック^(R) L (テルモ^(株))
電解質輸液；フィジオ^(R) 3 5 (大塚製薬^(株))

2 試料の調製方法

1) 変動要因検討用試料

高カロリー輸液と電解質輸液を無菌的に混合したものを、10mL ずつ 10mL, 20mL, 50mL バイアルに無菌的に分注し、ゴム栓で密封した。なお、10mL バイアルについては、ヘッドスペースが生じないよう適宜溶液を追加して密封した。

2) 安定性評価用製剤

高カロリー輸液と電解質輸液を無菌的に混合した後、病院での実際の作業に準じ、輸液パック内の空気含量を調整した。

- a 空気の除去操作なし
- b 軽く圧縮し、大部分の空気の除去
- c b の操作後振動を加え、微細な空気の除去

また、b と c については、改めて外包装を行い、脱酸素剤を封入した製剤も調製した (表1)。

表1 安定性評価製剤

製剤No	空気含量	脱酸素剤	n
1	多量(a)	無	3
2	少量(b)	無	3
3	無(c)	無	3
4	少量(b)	有	3
5	無(c)	有	3

3 装置

恒温室 (5℃)；当研究所低温室
恒温器 (40℃)；PR-3G (タバイエスペック^(株))
恒温器 (60℃)；IS400 (ヤマト)
殺菌灯；殺菌ランプ GL15 (東芝^(株))，6 本，距離 25cm
脱酸素剤；ISO 酸素吸収システム (楠アイ・エス・オー)

4 測定項目及び測定方法

1) 吸光度

紫外可視吸光度計 U-3210 (株日立製作所)

光路長；10mm

測定波長；450nm～350nm

2) アミノ酸

アミノ酸自動分析装置 L-8500A (株日立製作所)

試料を 0.02mol/L 塩酸で 100 倍に希釈して測定した。

なお、測定対象は、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、パリン、アルギニン、ヒスチジン、アラニン、グリシン、プロリン及びセリンとした。

3) ブドウ糖

高速液体クロマトグラフ法

検出器；示差屈折率計 830-RI (日本分光^(株))

カラム；Asahipak NH2P-50 4E (4.6×250mm) (昭和電工^(株))

移動相；アセトニトリル/水混液 (4:1)

流速；1.0mL/min (40℃)

試料を 0.02mol/L 塩酸で 10 倍に希釈して絶対検量線法により測定した。

4) 浸透圧

浸透圧計 FISKE ONE-TEN OSMOMETER (FISKE ASSOCIATE)

5) pH

ガラス電極式水素イオン濃度計 F-16 (株堀場製作所)

6) エンドトキシン

Toxinometer ET-201 (和光純薬^(株))

5 実験方法

1) 変動要因の検討

試料を遮光下 5℃, 40℃, 60℃の条件下に保存し、吸光度及びアミノ酸の測定を行った。なお、40℃については、別に殺菌等の照射を行った。

2) 安定性評価

試料を遮光下 5℃の条件下 (当研究所低温室) に保存し、無菌的に一部を採取し各測定項目の分析を行った。なお、90 日後に、散光下室温 (なりゆき温度) での保存とし、36 日後に開封し測定を行った。

変動要因の検討

実験に先立ち、混合製剤を紫外線照射 40℃の条件で強制劣化させ、吸光度、アミノ酸、ブドウ糖、浸透圧、pH、エンドトキシンを測定した。その結果、吸光度の増加及びトリプトファンの減少がみられたが、他の項目は大きな変化が認められなかったため、変動要因の検討には吸光度及びトリプトファンを指標とした。なお、吸光度は、トリプトファン分解の指標といわれる 350nm で評価した。

1 空気量の影響

混合製剤 10mL を 10mL, 20mL 及び 50mL バイアルに充填し、空気含量を変えたものについて、40℃で保存した (表2)。

空気残存により着色の増加及びトリプトファン減少が見られた。これは、空気含量に依存する傾向が見られたが、空気含量 0mL と 10mL との差が大きく、どのように依存するのかは今後の検討が必要である。

なお、紫外線の照射により、反応は増大した。

表2 輸液混合製剤に対する空気含量の影響

測定項目	初期値	空気含量 (mL) *		
		0	10	40
吸光度 (350nm)	0.047	0.070	0.096	0.093
		0.146	0.287	0.317
		0.068	0.598	0.793
トリプトファン 残存率 (%)	100 (0.26g/L)	89.1	86.5	93.7
		92.8	78.8	76.7
		91.3	32.7	27.9

上段; 40°C 7日間 (遮光) 中段; 40°C 28日間 (遮光)

下段; 40°C 3日間 (紫外線照射)

*: 空気含量は、バイアル容量と輸液の充填量 (10mL) の差

2 温度の影響

混合製剤 10mL を 20mL バイアルに充填し、遮光下、5、40及び 60°C の条件で保存した。7日間保存のデータを表3に、トリプトファン残存率の経時変化を図1に示す。

表3 輸液混合製剤に対する温度の影響

測定項目	初期値	温度 (°C)		
		5	40	60
吸光度 (350nm)	0.047	0.043	0.097	0.529
トリプトファン 残存率 (%)	100 (0.26g/L)	98.5	90.0	78.3

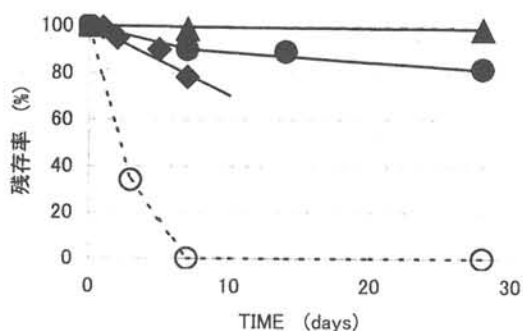


図1 トリプトファン含量の経時変化

◆ 60°C ● 40°C
▲ 5°C ○ 40°C-UV

吸光度の増加及びトリプトファン減少は、温度に依存した。

なお、今回の検討では、トリプトファン減少量が少なく、速度論的解析は困難であった。

3 紫外線の影響

混合製剤 10mL を 10mL, 20mL 及び 50mL バイアルに充填し、試料中の空気量を変えたものについて、紫外線照射の有無の条件で 40°C 7日間保存した (表4)。

空気存在下では、紫外線の照射により、吸光度の増加及びトリプトファン減少が顕著であった。一方、ヘッドスペースのない 10mL バイアル充填品では、この条件において紫外線の影響はほとんどみられなかった。

表4 輸液混合製剤に対する紫外線の影響

測定項目	初期値	紫外線	
		照射なし	照射あり
吸光度 (350nm)	0.047	0.071	0.083
		0.097	1.411
		0.094	1.664
トリプトファン 残存率 (%)	100 (0.26g/L)	92.7	95.4
		90.0	0.0
		97.5	0.0

上段; 10mL バイアル, 中段; 20mL バイアル, 下段; 50mL バイアル

メイラード反応は、温度、光、酸素により進行すると言われている⁶⁾。また、アミノ酸は空気酸化で分解すると言われているが、今回の結果から、混合製剤の安定性に影響を及ぼす因子として、空気、温度、紫外線があることが判明した。従って、品質の保持のためには、これらの影響を排除する条件での保存が必要であると考えられ、特に全ての要因の影響をうける保存方法では、品質の劣化が著しいと推測された。

実製剤スケールでの安定性評価

病院において試験的に調製した空気含量が異なる3種類の製剤について、脱酸素剤の有無の保存条件 (表1) での安定性の評価を行った。なお、病院における製剤は No. 3 である。

結果は表5,6のとおりであった。

ブドウ糖、浸透圧、pH、エンドトキシンは、全ての期間でほとんど変化がみられなかった。

吸光度は、着色により全波長で増加の傾向を示すが、短波長側で変化は大きかった (図2)。遮光下 5°C での保存においては、28日後及び 61日後 (データは示していない) では、いずれの製剤も大きな差は認められなかったが、90日後では、脱酸素剤のない製剤は、若干の増加が認められた。非遮

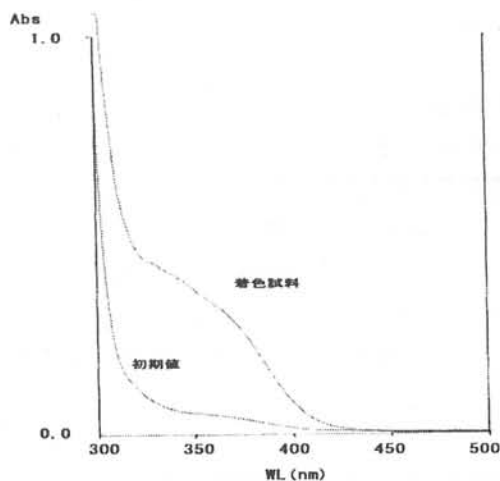


図2 着色による吸光度の変化

光下室温保管とした場合、36日後に、脱酸素剤のない製剤に顕著な吸光度の増加が認められた。なお吸光度の増加には、調製時の空気含量の影響は認められなかった。

アミノ酸は、遮光下冷所保存では、いずれの製剤でも減少はみられなかった。散光下室温保管とした場合、トリプトファンとメチオンに減少がみられた。この減少は、吸光度の増加と同様に、脱酸素剤のない製剤で大きかったが、調製時の空気含量の影響は認められなかった。

以上の結果、輸液混合製剤は、遮光下低温条件によりある程度の期間保存は可能であり、また脱酸素剤を使用することにより、より安定な保存が可能なが示された。

一方、調製時に空気含量を変化させた製剤では、それぞれ差が認められず、今回の検討では、輸液パック中に残存する空気は安定性に影響を与えないことがわかった。これは、当該製剤の内包装は酸素空気透過性を有するため、この影響が大きいと考えられた。

表5 輸液混合製剤の経時変化 (ブドウ糖, 吸光度, 浸透圧, pH, エンドトキシン)

測定項目	製剤					初期値
	1	2	3	4	5	
ブドウ糖	100.0	98.1	99.7	99.7	99.2	
対表示量 (%)	97.0	98.1	99.9	98.2	100.5	99.3
	97.9	98.3	98.4	97.7	98.2	(116.7g/L)
吸光度						
350nm	0.062	0.053	0.053	0.060	0.048	
	0.064	0.064	0.064	0.053	0.050	0.047
	0.385	0.383	0.407	0.049	0.052	
400nm	0.013	0.013	0.013	0.019	0.011	
	0.017	0.018	0.017	0.013	0.013	0.011
	0.080	0.079	0.082	0.012	0.010	
450nm	0.002	0.002	0.002	0.003	0.002	
	0.002	0.003	0.002	0.002	0.001	0.002
	0.005	0.005	0.004	0.002	0.001	
pH	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	
	4.3	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4
	4.3	4.4	4.4	4.4	4.4	
比浸透圧	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	
	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8
	3.8	3.7	3.8	3.8	3.8	
エンドトキシン	2.5EU/mL 未満	-	2.5EU/mL 未満	-	2.5EU/mL 未満	
	-	-	-	-	-	2.5EU/mL 未満
	-	-	-	-	-	

上段; 遮光 5°C 28 日 中段; 遮光 5°C 90 日 下段; 散光室温 36 日

表6 輸液混合製剤中のアミノ酸の経時変化 (対表示量 (%))

項目項目	製剤					初期値
	1	2	3	4	5	
イソロイシン	97.6	97.9	98.6	98.5	97.6	
	95.7	94.0	95.0	94.7	95.1	96.9
	94.8	94.4	94.8	94.0	95.6	(1.42)
ロイシン	101.5	101.8	102.5	102.0	101.6	
	99.1	98.1	99.0	98.4	98.9	100.9
	98.5	99.4	99.2	98.4	98.6	(2.25)
リジン	97.5	96.6	97.7	97.9	96.7	
	97.7	96.6	98.1	97.2	97.9	97.0
	94.0	95.4	95.1	93.5	94.6	(1.32)
メチオニン	106.3	105.5	106.2	106.2	105.4	
	99.8	99.4	100.3	100.1	100.6	103.4
	90.5	90.1	86.4	100.3	99.5	(0.82)
フェニルアラニン	100.8	101.8	101.9	102.1	101.4	
	99.5	98.5	99.8	93.9	99.3	109.0
	100.5	100.7	100.7	99.0	99.9	(1.29)
スレオニン	97.3	97.6	98.5	97.7	97.2	
	97.6	95.9	98.1	96.2	96.9	97.0
	97.4	97.0	96.1	96.4	96.9	(0.80)
トリプトファン	93.9	95.1	97.7	94.5	94.7	
	94.7	93.8	88.9	95.4	96.6	96.1
	47.4	50.8	50.5	95.5	96.6	(0.27)
バリン	93.6	93.7	94.5	93.9	93.6	
	93.5	92.3	93.4	92.7	93.1	93.2
	92.8	93.3	90.2	92.4	92.5	(0.83)
アルギニン	102.3	102.5	103.7	102.6	102.6	
	102.0	100.7	102.3	101.1	101.7	101.9
	102.0	103.7	104.0	101.2	101.7	(1.85)
ヒスチジン	99.7	95.5	96.1	96.2	95.1	
	97.5	96.1	97.3	96.6	97.0	100.2
	96.3	97.2	98.1	95.5	98.2	(0.79)
アラニン	96.9	97.1	98.0	97.4	96.8	
	100.5	99.0	100.4	99.4	99.9	96.0
	97.4	97.5	95.8	96.7	97.4	(1.43)
グリシン	97.1	97.2	98.0	97.5	97.0	
	98.4	96.7	97.9	97.2	97.6	97.0
	98.2	98.3	95.4	97.0	97.6	(0.92)
プロリン	99.5	98.9	98.9	99.4	98.8	
	100.3	100.0	101.3	99.7	101.1	100.4
	101.3	101.0	99.7	101.1	98.4	(0.78)
セリン	100.6	101.0	101.8	101.1	100.5	
	100.5	98.9	99.9	99.3	99.9	99.6
	100.7	100.7	98.4	99.5	99.8	(0.70)

上段；遮光 5°C28 日 中段；遮光 5°C90 日 下段；散光室温 36 日

着色製剤の品質試験

病院から経時変化により着色した市販製剤を入手し、この製剤について開封直後及び散光室温 36 日保存後に試験した(表7)。なお、これらの製剤は、封入されている酸素感知剤により、開封時には脱酸素状態であることを確認した。

安定性評価等と同様、ブドウ糖、pH、浸透圧に変化はみられなかった。また、トリプトファン及びメチオンの減少は、開封直後では認められなかった。このことから、これらのアミノ酸の減少は、空気酸化によるものが主であること及び着色反応は、脱酸素状態においても進行することが推測された。なお、ヒスチンは、開封直後で対表示量 90%以下のものが認められたが、経時的に減少したものは、現在のところ不明である。

表7 着色製剤の品質試験

項目項目	製剤名			表示量 (規格)
	A	B	C	
吸光度	0.083	0.084	0.127	
(350nm)	0.417	0.471	0.499	
ブドウ糖	102.2	100.7	100.9	175
(対表示量 %)	101.9	101.7	102.0	g/L
pH	4.3	4.3	4.2	3.8~
	4.2	4.2	4.2	4.8
浸透圧比	6	6	6	約5
	6	6	6	
ヒスチン	94.7	85.3	87.0	1.41
(対表示量 %)	90.0	82.7	87.7	g/L
トリプトファン	103.0	101.5	99.1	0.48
(対表示量 %)	55.5	37.1	55.7	g/L
メチオン	101.4	106.8	96.1	1.47
(対表示量 %)	82.6	88.0	82.2	g/L

上段；開封直後，下段；開封後 36 日

まとめ

院内予製剤である、高カロリー輸液と電解質輸液の混合製剤の安定性について検討した結果、スケールを縮小したモデル製剤の検討により、安定性は温度、空気(酸素)、光(紫外線)で変動し、これらを管理した条件での保管が望ましいことが判明した。

また、実製剤スケールで調製方法及び脱酸素剤の有無により製剤中の空気含量を変化させた製剤について安定性試験を行った。その結果、遮光下低温保管においては、いずれの製剤も品質の大きな劣化は認められなかったが、散光下室温保存条件では、脱酸素剤のない製剤に、着色、トリプトワンの減少が見られたが、調製時の製剤中の空気含量には影響をうけ

なかった。

以上のことから、本輸液混合製剤の品質を確保するためには、保管時の温度、空気、光を管理することが重要であり、調製時の空気含量の管理は、安定性に対する影響は少ないことが明らかになった。

従って、この製剤の品質を確保するためには、保管条件を厳密に規定し、薬局内はもとより、病棟への持ち出し等においてもその保存条件を遵守させることが重要である。

なお、本製剤は、直接体内に投与される医薬品であることから、用時調製が望ましく、製剤の保存期限については、実際の保存状態、院内感染のリスク等を考慮し慎重に決定されること及び着色した場合の限度値を決め、使用時に確認できる体制とすることが望ましいと考えられる。

文献

- 1) 郡修徳他：院内製剤の必要性と現状，月間薬事，37，2153 (1995)
- 2) 南武夫：院内製剤の有効性・安全性，品質の確保，月刊薬事，37，2165 (1995)
- 3) 植田敦子他：院内製剤の品質確保に関する研究(第一報) - 院内製剤ジゴキシン散についての検討 -，静岡県環境衛生科学研究所報告，44，35 (2001)
- 4) 堀池あずさ他：院内製剤の品質確保に関する研究(第二報) - ワーフアリン散予製剤の含量均一性評価 - 静岡県環境衛生研究所報告，44，39 (2001)
- 5) 稲野祥宗他：ツインバック型製剤の外包装開封後におけるアミノ酸の安定性，日病薬誌，36，441 (2000)
- 6) 木村進他：食品の変色の化学，(株)光琳，東京(1995)

有機リン系農薬の残留農薬一斉分析法への適応性の検討

医薬品生活部 医薬食品スタッフ

山下 敬子, 増田 教子, 高橋 真
越智 壽美子, 浮島 美之

Application of the Simultaneous Analytical Method for Pesticide Residues
on the Analysis of Organophosphorous Pesticides

Takako YAMASHITA, Kyoko MASUDA, Makoto TAKAHASHI,
Sumiko OCHI and Yoshiyuki UKISHIMA

農産食品中の残留基準設定農薬数の増加に伴い, 当研究所では多成分一斉分析法の開発を以前から行ってきた。これまでに有機リン系, ピレスロイド系, 含窒素系農薬について一斉分析法を確立¹⁾するとともに, 測定にHPLCを用いる項目についても昨年までに一斉分析法への取り込みの検討^{2)~4)}を行い, 成果を上げてきた。今回, 有機リン系農薬のうち当所の一斉分析法への適用が未検討である項目について適応性を検討したところ, 新たに16農薬17成分について一斉分析法への適用が可能となり, より一層の分析項目の充実を図ることができた。

Key words: 有機リン系農薬, 残留農薬, 一斉分析法, 農産食品

Organophosphorous pesticides, Pesticide residues, Simultaneous analysis,
Agricultural products

はじめに

近年, 我が国では食糧自給率の低下に伴い輸入農産物に対する依存度が年々増大してきている。このような中, 昨年は中国産の冷凍ほうれんそうをはじめとする輸入農作物への農薬の残留問題や, 国内においても無登録農薬使用等の問題が発覚し, 残留農薬に対し社会的関心が高まっている。これらの諸問題を受けて厚生労働省は食の安全を図るために, 現在までに229農薬について基準設定を行ってきたが, 今後3年間で更に200以上の農薬について基準設定を行い, ポジティブリスト制を導入しようとしている。しかしながら告示される残留農薬の分析法はその多くが個別分析法で, その全てを実施するのは現実的には不可能である。そのため多成分一斉分析法の開発は各分析機関において急務となっている。

当研究所では以前から増大する規制対象農薬に対応するため一斉分析法の検討^{1)~4)}を行い, その適応範囲を順次拡大してきた。今回, 我が国や諸外国で使用されており, 試験

法について検討の必要性が高いと考えられる農薬を食品衛生法上は規制されていないものも含めて選定した。その中で当研究所の一斉分析法への適応が未検討である25種類の有機リン系農薬について検討を行った。

材料および方法

1 検討対象農薬

1) 食品衛生法基準が設定されている農薬

アセフェート, イソフェンホス, カズサホス, ジクロロボス, ジメチルビンホス, ジメトエート, チオメトン, トリアゾホス, トリクロロホン, プタミホス, ホキシム, ホサロン, ホスチアゼート, メタミドホス

ジメチルビンホスについてはE体の標準品が入手できなかったため, Z体のみを検討を行った。またイソフェンホスについてはオキソン体との和で基準が定められているため, オキソン体についての検討も行った。

2) 食品衛生法基準が設定されていない農薬

PMP, イソキサチオン, イプロベンホス, エチオン, シアノホス, ピリダフェンチオン, プロモホスエチル, プロモホスメチル, ホスファミドン, メビンホス, モノクロトホス

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

2 試薬

標準品は市販の農薬標準品を用い、その他の試薬については残留農薬分析用または特級を使用した。

3 装置および測定条件

装置：HP 5890 II (ヒューレットパッカード社製)

検出器：炎光光度型検出器 (FPD)

カラム：DB-5ms (0.25mm i.d. × 30m, 膜厚 0.25 μm, J & W社製)

カラム温度：80°C (1min) -20°C/min-180°C (5min)
-5°C/min-275°C (15min)

注入量：2 μL

注入口温度：240°C

検出器温度：280°C

キャリアーガス：ヘリウム

4 試験溶液の調製

当研究所における一斉分析法の概略について、野菜・果実の場合を図1に、抹茶以外の茶の場合を図2に示した。

5 添加回収試験

野菜・果実については細切り均一化した試料 20g に、茶については浸出液 200mL (試料 10g 相当) にそれぞれ各農薬が 0.1ppm となるよう添加し、以下図1及び図2に従って、試験溶液を調製した。

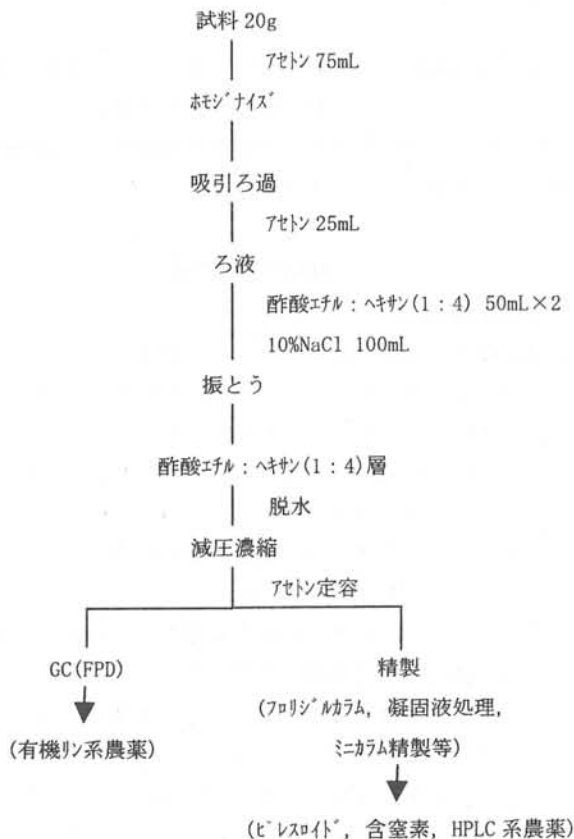


図1 野菜・果実中の残留農薬一斉分析法



図2 抹茶以外の茶中の残留農薬一斉分析法

結果および考察

1 GC分析の適用性

図3にGC (FPD) における各農薬のクロマトグラムを示した。ホキシムについては熱に不安定なためGC中で熱分解し、当研究所のGC条件ではピークが検出されなかった。そのためホキシムについては今回のGC (FPD) による一斉分析法の検討対象から外した。その他の農薬については農薬混合液を2種類に分けることによりおおむね分離は良好であった。

トリクロロホンについてはGC中で分解し、ジメチルホス

ファイトとジクロロボスになることが知られているが、GC条件により様相が変化する⁵⁾。本条件においては分解で生じたジクロロボスのピークが主要ピークであり、ジメチルホスファイトおよび未分解のトリクロロホンのピークはほとんど認められなかったため、今回トリクロロホンの定量はジクロロボスのピークにより行った。

またアセフェートおよびメタミドホスのように極めて極性が高いものについては図3に示したようにテーリングが認められた。

2 試料分析法の検討

1) 抽出法

① 標準溶液による検討

各農薬の標準溶液を用いて、抽出法の検討を行った。当研究所の一斉分析法では転溶溶媒に酢酸エチル：n-ヘキサン(1：4)を用いているが、各農薬の物性を把握する目的で、さらにn-ヘキサンを転溶溶媒として用い、両者の回収率の比較を行った。それらの結果を表1に示した。

表1 各種農薬の溶媒への転溶率

農薬名	転溶率 (%)	
	n-ヘキサン	酢酸エチル：ヘキサン (1：4)
PMP	82.8	103.1
アセフェート	0.0	0.0
イキサチオン	106.5	124.2
イフェンホス	108.2	109.4
イフェンホスオキソン	96.7	113.4
イ ^o ロベンホス	114.9	105.6
エチオン	107.8	110.6
カス ^o サホス	80.6	99.4
シアノホス	104.6	98.0
ジクロロボス	22.4	27.0
ジメチルピ ^o ンホス(Z)	91.7	103.4
ジメトエート	17.2	63.8
チオメトン	76.6	17.4
トリアゾ ^o ホス	96.6	98.5
トリクロロホン	6.4	32.0
ピ ^o リタ ^o フェンチオン	90.7	100.8
ブ ^o タミホス	105.8	107.1
ブ ^o ロホホスエチル	106.4	105.4
ブ ^o ロホホスメチル	103.3	103.6
ホサロン	108.0	112.0
ホスチアセート	67.1	103.3
ホスファミト ^o ン	25.4	64.1
メタミド ^o ホス	0.0	0.0
メ ^o ピ ^o ンホス	23.7	45.2
モノクロトホス	0.0	0.0

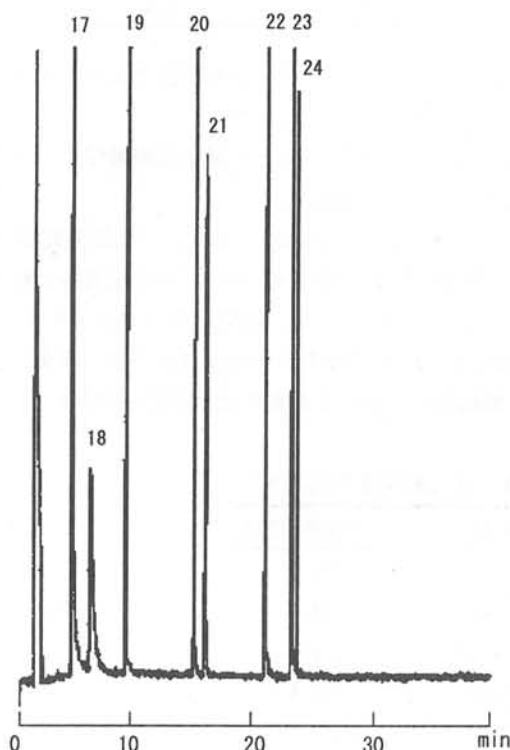
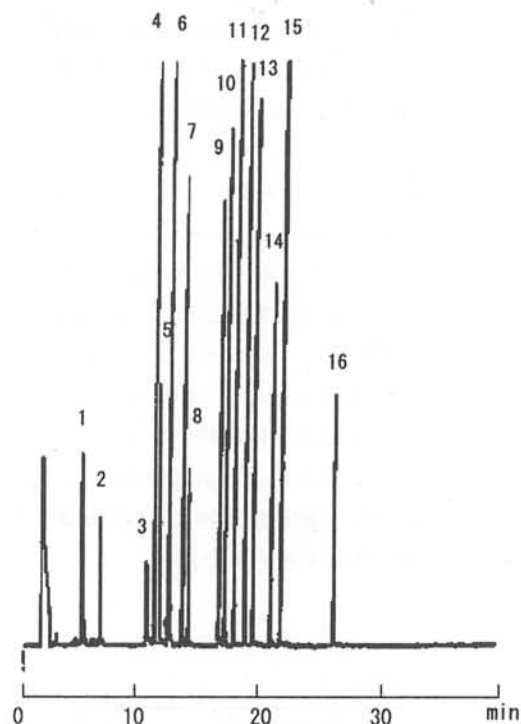


図3 有機リン系農薬のガスクロマトグラム

1. ジクロロボス 2. メ^oピ^oンホス 3. モノクロトホス 4. チオメトン 5. ジメトエート
 6. シアノホス 7. イ^oロベンホス 8. ホスファミト^oン 9. イソフェンホスオキソン
 10. ブ^oロホホスメチル 11. イソフェンホス 12. ブ^oロホホスエチル 13. ブ^oタミホス
 14. イキサチオン 15. エチオン 16. ホサロン 17. メタミド^oホス 18. アセフェート
 19. カス^oサホス 20. ジメチルピ^oンホス(Z) 21. ホスチアセート
 22. トリアゾ^oホス 23. ピ^oリタ^oフェンチオン 24. PMP

ヘキサンによる転溶を行ったものに比べ、酢酸エチル：
n-ヘキサン (1:4) を用いた場合の方がおおむね回収率の向
上が認められた。しかし、チオメトンについては酢酸エチ
ル：
n-ヘキサン (1:4) を用いた場合回収率の急激な低下が
認められた。また、アセフェート、ジクロロボス、トリクロ
ロホン、メタミドホス、モノクロトホスについては両転溶溶
媒ともほとんど回収されなかった。

② L-システインの添加によるチオメトンの回収率の検討

チオメトンは酢酸エチルにより酸化されることが知られ
ており、①において酢酸エチル：
n-ヘキサン (1:4) で転溶
を行ったものの回収率が低下したのはこのためと思われる。
この酢酸エチルによる酸化は試料抽出時にL-システインを
少量加えることにより抑えられることが報告されている⁶⁾。
そこで、10%L-システインを試料抽出時に試料20gあたり、
1mL添加して、回収率の変化を検討した。

表2 L-システインの添加及び無添加の場合の
チオメトンの回収率

農薬名	回収率 (%)	
	L-システイン添加	L-システイン無添加
チオメトン	100.7	8.1

表2に示したように、L-システインの添加によりチオメト
ンの分解が抑えられることが分かった。

③ ロータリーエバポレーターによる減圧濃縮操作における
各農薬の揮散についての検討

ジクロロボスの蒸気圧は290mPa (20℃) で減圧濃縮操作
過程において非常に揮散しやすく、キーパーの使用等が勧め
られている。そこで①において、酢酸エチル：
n-ヘキサン
(1:4) 転溶によっても回収率があまり良好でない農薬につ
いて、減圧濃縮操作における農薬の低下割合を検討した。

表3 減圧濃縮後の回収率

農薬名	回収率 (%)
アセフェート	81.9
ジクロロボス	44.2
ジメトエート	106.8
トリクロロホン	56.4
ホスファミドン	111.2
メタミドホス	80.9
メビンホス	89.4
モノクロトホス	104.8

表3に示したように、ジクロロボスおよびトリクロロホン
については減圧濃縮過程でほぼ半分が失われることが分か
った。しかし、他の農薬、アセフェート、ジメトエート、ホ
スファミドン、メタミドホス、メビンホス、モノクロトホス

については減圧濃縮過程での揮散は少ないと考えられた。

④ 転溶時の回収率の検討

①において酢酸エチル：
n-ヘキサン (1:4) 転溶による回
収率があまり良好でない農薬は、転溶時の水層部分に農薬が
残っている可能性が考えられた。そこで酢酸エチル：
n-ヘキ
サン (1:4) による転溶後の水層部分を再度酢酸エチルによ
り2回転溶を行い、回収率を調べた。アセフェートおよびメ
タミドホスについては極性が強い物質であるため、酢酸エチ
ルによる転溶後の水層を更にアセトニトリルを用いて再度
転溶し、その回収率を調べた。なおジクロロボスおよびトリ
クロロホンにおいては、揮散を考慮して減圧濃縮時に適当な
試料マトリクスをキーパーとして加えて検討を行った。

表4 転溶溶媒別回収率

農薬名	回収率 (%)			合計
	酢酸エチル： n-ヘキサン (1:4)	酢酸エチル	アセトニトリル	
ジクロロボス	106.6	5.1	-	111.7
ジメトエート	53.2	34.5	-	87.7
トリクロロホン	34.8	27.2	-	62.0
ホスファミドン	52.4	43.3	-	95.7
メビンホス	83.4	18.7	-	102.1
モノクロトホス	4.7	66.4	-	71.1
アセフェート	0.0	0.0	30.0	30.0
メタミドホス	0.0	28.6	33.4	62.0

表4に示したようにジクロロボスについては酢酸エチ
ル：
n-ヘキサン (1:4) によりほぼ転溶されると思われる。
しかし、ジメトエート、トリクロロホン、ホスファミドン、
メビンホス、モノクロトホスについては酢酸エチルにより転
溶を行う必要があると考えられた。当研究所の一斉分析法に
おける転溶溶媒を酢酸エチルに変更することでこれらの農
薬は分析可能と思われるが、より極性の強い夾雑成分もまた
抽出されることを考慮に入れ、転溶溶媒の変更は行わないこ
ととした。また、アセフェートおよびメタミドホスにおいて
は酢酸エチルによる転溶でも全量抽出されず、他の抽出方法
を検討する必要があるものと考えられる。従って、酢酸エチ
ル：
n-ヘキサン (1:4) により完全に転溶されない農薬であ
るジメトエート、トリクロロホン、ホスファミドン、メビン
ホス、モノクロトホス、アセフェート、メタミドホスにつ
いては今回の一斉分析法には適用困難と考えられたため、検討
対象から外すこととした。

⑤ 添加回収試験

①の標準溶液を用いて行った検討の結果、回収率が良好で
あった17農薬18成分について実サンプルを用いて添加回収
試験を行った。チオメトンについてはL-システインを添加
して分析を行った。その結果を表5に示した。

イソキサチオンについてはGC分析で試料の測定前後にお
ける標準液の感度の変動が激しく、特にクロロフィルを含む

表5 各種農産物における回収率 (抽出法)

農薬名	回収率 (%)						
	イチゴ	コホウ	ミカン	バナナ	レモン	フロロコリー	茶
PMP	80.5	188.0	142.8	187.3	73.9	98.2	106.7
イソキサチオン	356.9	146.7	74.8	57.7	99.7	27.5	130.2
イソフェンホス	88.7	98.5	101.1	82.5	98.9	102.1	107.6
イソフェンホスオキソン	86.8	112.7	109.6	81.5	113.0	119.2	114.2
イプロベンホス	89.2	102.8	110.4	92.1	100.5	107.4	111.4
エチオン	100.1	104.7	107.3	85.0	97.7	102.8	107.9
カスサホス	99.0	100.8	103.4	98.0	94.0	92.3	125.2
シアノホス	85.3	110.7	91.1	101.8	105.3	116.7	111.6
ジクロロホス	94.3	109.6	92.9	93.3	99.7	112.8	102.1
ジメチルピリンホス(2)	103.3	161.7	150.8	141.4	89.7	80.1	199.1
チオメトン	62.4	87.6	108.0	83.5	101.0	91.1	85.7
トリアゾホス	97.6	127.2	115.3	118.4	79.9	88.8	146.8
ピリダフェンチオン	89.0	124.5	115.0	121.6	72.4	85.5	137.3
プロタミホス	80.2	98.0	94.5	80.1	102.2	103.8	106.9
プロモホスエチル	84.8	103.0	85.1	84.7	98.9	104.5	110.2
プロモホスメチル	74.7	113.9	121.3	91.5	103.4	114.7	106.7
ホサロン	70.1	136.2	129.0	93.1	108.8	115.8	110.5
ホスチアゼート	104.0	165.4	157.0	170.6	84.3	73.9	291.9

農産物に対してこの傾向が強く見られた。そのため、作物によっては見かけ上、回収率が安定しないものと考えられる。また、イソフェンホスオキソンについては作物により 0.1min 程度のリテンションタイムの遅れが認められたが、回収率には影響はなかった。

作物によってはマトリクス効果が強く現れ、回収率が 100% を大きく越えるものも認められたが、イソキサチオンを除き、他の農薬では検討した各種農産物における回収率はほぼ良好な結果が得られた。ただし茶については GC クロマトグラム上の妨害ピークのため、農薬によっては回収率が高めの値を示し、以下に示す精製操作が必要であると思われた。

以上の結果、16 農薬 17 成分について当研究所の野菜・果実における一斉分析法への適応が可能であることが分かった。

2) 精製法

① 標準溶液による検討

有機リン系農薬の測定に用いた GC (FPD) はリン系化合物に対して極めて選択性が高いため、通常カラム精製を行わずに測定が可能である。しかし、例えば茶のように、測定妨害となる夾雑ピークが多く現れる作物については精製操作が必要となる。当研究所の一斉分析法においては茶についてはフロリジルカラムによる精製を行っている。そこで各農薬の標準溶液を用いて、フロリジルカラムによる精製を検討した。なお、今後の検討課題の参考とするため 1) 抽出法の結果より今回の対象から除外したジメトエート、トリクロロホン、

ホスファミドン、メビンホス、モノクロトホスについてもここでは併せて検討を行った。

表6にフロリジルカラムによるフラクション別回収率を示した。トリクロロホン、モノクロトホスについてはフロリジルカラムから溶出されなかった。また、ジクロロホスにおける回収率の低下は前記のとおり減圧濃縮過程での揮散のためと思われる。その他の農薬についてはおおむね Fr. 1 ~ Fr. 2 の溶出画分で溶出されると考えられる。

② 添加回収試験

①の標準溶液を用いた場合及び 1) 抽出法での回収率が良好であった 17 農薬 18 成分の茶についての回収率を表7に示した。

ジクロロホスの回収率は 31.5% と、低い値を示したが、これは精製操作のためにキーパーの役割を果たしていたマトリクスが減少し、減圧濃縮過程で揮散したのと考えられる。またチオメトンについては 1) 抽出法における回収率は良好であったが、フロリジルカラムによる精製を行ったものについては全く回収されなかった。精製過程でチオメトンの分解が起きたためと考えられるが、今後の検討課題である。その他の農薬の茶における回収率はほぼ良好な値であった。

以上の結果、15 農薬 16 成分について当研究所の茶における一斉分析法への適応が可能であることが分かった。また、今回、ジクロロホスおよびチオメトンについては、フロリジルカラムによる精製操作を加えた場合における回収率が悪く除外したが、抽出段階での定量は可能であると思われる。

表6 フラクシオン別回収率

農薬名	回収率 (%)					検出 Fr.
	Fr. 0	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	合計	
PMP	0.0	0.0	98.3	0.0	98.3	2
イソキサチオン	0.0	97.7	0.0	0.0	97.7	1
イソフェンホス	0.0	92.8	5.4	0.0	98.2	1~2
イソフェンホスオキシソン	0.0	0.0	65.4	0.0	65.4	2
イプロベンホス	0.0	0.0	95.9	0.0	95.9	2
エチオン	0.0	96.2	0.0	0.0	96.2	1
カズサホス	0.0	0.0	66.6	0.0	66.6	2
シアノホス	0.0	0.0	93.2	0.0	93.2	2
ジクロロホス	0.0	0.0	18.6	0.0	18.6	2
ジメチルピンホス(Z)	0.0	0.0	97.7	0.0	97.7	2
ジメトエート	0.0	0.0	67.8	0.0	67.8	2
トリアゾホス	0.0	0.0	102.6	0.0	102.6	2
トリクロロホン	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	—
ピリダフェンチオン	0.0	0.0	101.0	0.0	101.0	2
ブタミホス	0.0	97.9	0.0	0.0	97.9	1
プロモホスエチル	0.0	92.3	0.0	0.0	92.3	1
プロモホスメチル	0.0	84.5	0.0	0.0	84.5	1
ホサロン	0.0	0.0	100.9	0.0	100.9	2
ホスチアゼート	0.0	0.0	97.5	0.0	97.5	2
ホスファミドソ	0.0	0.0	43.4	0.0	43.4	2
メビンホス	0.0	0.0	86.0	0.0	86.0	2
モノクロトホス	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	—

Fr. 0 はヘキサン, Fr. 1 はエーテル:ヘキサン(15:85), Fr. 2 はアセトン:ヘキサン(30:70), Fr. 3 はアセトン:ヘキサン(50:50)で溶出を行った。

まとめ

有機リン系農薬25農薬26成分について当研究所の一斉分析法への適応性を検討したところ、16農薬17成分(PMP, イソフェンホス, イソフェンホスオキシソン, イプロベンホス, エチオン, カズサホス, シアノホス, ジクロロホス, ジメチルピンホス(Z), チオメトン, トリアゾホス, ピリダフェンチオン, ブタミホス, プロモホスエチル, プロモホスメチル, ホサロン, ホスチアゼート)について適応可能であることが分かった。これらの農薬については, SOPへの追加を行い, 日常業務へ取り入れていきたいと考えている。

なお, 今回標準品を入手できなかったジメチルピンホスE体についてもZ体と類似の挙動を示すと考えられ, 入手でき次第検討を行い一斉分析法への追加を行う予定である。

今回極性が比較的強い物質である, ジメトエート, トリクロロホン, ホスファミドソ, メビンホス, モノクロトホス, アセフェート, メタミドホスについては転溶段階で検討対象から外したが, 今後これらの農薬はLC/MS/MSなどを使用した一斉分析法の検討対象となる可能性があるものと思われる。当研究所では今後も, 更に多くの農薬について検討を行い, 一斉分析法の開発を図っていきたいと考える。

表7 茶における回収率(精製法)

農薬名	回収率 (%)			検出 Fr.
	Fr. 1	Fr. 2	合計	
PMP	0.0	117.6	117.6	2
イソキサチオン	47.7	52.0	99.7	1~2
イソフェンホス	38.3	58.3	96.6	1~2
イソフェンホスオキシソン	0.0	96.1	96.1	2
イプロベンホス	0.0	100.9	100.9	2
エチオン	78.9	17.6	96.5	1~2
カズサホス	0.0	93.9	93.9	2
チオメトン	0.0	0.0	0.0	—
シアノホス	0.0	102.8	102.8	2
ジクロロホス	0.0	31.5	31.5	2
ジメチルピンホス(Z)	0.0	118.2	118.2	2
トリアゾホス	0.0	91.9	91.9	2
ピリダフェンチオン	0.0	97.4	97.4	2
ブタミホス	67.6	31.3	98.9	1~2
プロモホスエチル	81.0	15.3	96.3	1~2
プロモホスメチル	68.5	27.1	95.6	1~2
ホサロン	0.0	110.3	110.3	2
ホスチアゼート	0.0	112.0	112.0	2

Fr. 1 はエーテル:ヘキサン(15:85), Fr. 2 はアセトン:ヘキサン(30:70)で溶出を行った。

文献

- 1) 高橋真他:農産食品中の残留農薬スクリーニング法の検討, 第36回全国衛生化学技術協議会年会抄録, 42-43 (1999)
- 2) 坂根弓子他:農産食品中の残留農薬スクリーニング法の検討(第2報), 第37回全国衛生化学技術協議会年会抄録, 70-71 (2000)
- 3) 増田教子他:農産食品中の残留農薬スクリーニング法の検討(第3報), 第38回全国衛生化学技術協議会年会抄録, 20-21 (2001)
- 4) 高橋真他:農産食品中の残留農薬一斉分析法に関する検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, 44, 45-49 (2001)
- 5) 外海康秀他:FPD-GCによる農産物中のジスルホトン及びトリクロロホンの分析, 食衛誌, 32, 328-335 (1991)
- 6) 佐藤元昭他:有機リン系農薬チオメトンの酢酸エチルによる分解, 食衛誌, 42, 102-108 (2001)

ドリンク類（医薬品・医薬部外品・食品）に関する調査研究

医薬品生活部 生活科学スタッフ 柏木 美智子, 影山 知子, 菅野 尚子
 渡邊 正幸, 浮島 美之

Study on Nutrition Components of Drinks (Drugs, Quasi-drugs and Foods)

Michiko KASHIWAGI, Tomoko KAGEYAMA, Naoko KANNO,
 Masayuki WATANABE and Yoshiyuki UKISHIMA

ドリンク類（医薬品、医薬部外品、食品）について、栄養成分等の含有量を調査し、医薬品、医薬部外品及び食品の比較を行った。ドリンク類によく含まれているビタミンB₂は、含有量が1本あたり5mg以上のものは医薬品に多かったものの、医薬品の中には少ないものもあり、医薬品であれば多い、医薬部外品や食品であれば少ないと、一概には言えないことが判明した。カフェインについては、ノンカフェインのものが医薬品に多く、糖分量については、炭酸飲料が最も多かったが、医薬品や医薬部外品の中にも、多く含まれているものがあった。今回分析した成分については、医薬品、医薬部外品、食品といったことで成分の多少を判断して商品選択の基準にするのは適当ではないことがわかった。名前や価格に惑わされず、体の症状や目的に合った栄養成分量、カフェイン量、糖分量等の商品を選ぶのがよいと考えられる。

Key words : ビタミンB₂, カフェイン, 糖分, 保存料, ドリンク類

Vitamin B₂, Caffeine, Sugar content, Preservatives, Drinks

はじめに

1999年の規制緩和により、医薬部外品に分類されるドリンク類がコンビニやスーパー、自動販売機などでも販売できるようになった。ドリンク類は法律上、医薬品、医薬部外品、食品に分類されているが、容器の形態が類似していることや、表示が小さく読みにくいこともあり、違いが分からないという消費者も多い。また、各栄養成分の含有量や、一日の栄養所要量に占める割合など分かりにくい場合もある。さらに、規制緩和効果で伸び続けていた売上が最近になって伸び悩んでおり、製薬各社の競争が激化し、ますます商品の種類が増え、いっそう商品選択が困難になっている状況である。そこで今回は、ドリンク類について、栄養成分や添加物等の含有量等を調査し、医薬品、医薬部外品、食品の違いがあるか比較を行った。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

調査方法

1 実施時期

2002年7月から2002年12月

2 調査対象

静岡市内で販売されている、ドリンク類21銘柄（医薬品8銘柄、医薬部外品10銘柄、食品3銘柄）を調査に用い、それらは表1に示した。

3 調査項目及び方法

表示について詳細に確認するとともに成分等については、以下の方法によって分析を行った。

1) ビタミンB₂

栄養成分等の分析方法等（平成8年5月厚生省告示第146号栄養表示基準別表第1の第3欄に掲げる方法）の14. ビタミンB₂ (1) 高速液体クロマトグラフ法に従った。ドリンク類1mlに0.1N塩酸約50mlを加え、沸騰浴中で30分間加熱抽出した。冷却後、酢酸ナトリウムでpHを4.0~4.5に調整し、タカジアスターゼ処理を行い、ビタミンB₂誘導体をすべて遊離させ、これを試験溶液とした。ドリンク類の原液のビタミンB₂濃度が高いため、

500 倍希釈して分析した。

HPLC 条件:カラム;Inertsil ODS-3V(5 μ m, 4.6mm \times 250mm, ジーエルサイエンス製), 移動相;メタノール/酢酸緩衝液 pH4.5(35:65), カラム温度;35 $^{\circ}$ C, 流量;1.0mL/min, 検出器;蛍光分光光度計(励起波長 445nm, 蛍光波長 530nm), 試料注入量;20 μ L

2) カフェイン

東京都消費生活総合センターの[HPLC(高速液体クロマトグラフ)法によるカフェインの分析]¹⁾に従い, 1%リ

ン酸溶液で 5 倍希釈したドリンク類から, 前処理用カートリッジカラム: BOND ELUT-SCX, 500MG 3ML (VARIAN 社製)を用いてカフェインを抽出し, 守安らの方法²⁾により HPLC で定量した。

HPLC 条件:カラム;Inertsil ODS-3V(5 μ m, 4.6mm \times 250mm, ジーエルサイエンス製), 移動相;アセトニトリル/0.01mol/L リン酸緩衝液 pH3.5 (10:90), カラム温度;40 $^{\circ}$ C, 流量;1.0mL/min, 検出器;UV(測定波長 275nm), 試料注入量;20 μ L

表 1 テスト対象商品及び表示内容

No.	分類 ¹⁾	内容量 (ml)	購入価格 (円)	ビタミン B ₂ 表示 ²⁾	カフェイン表示	糖分表示	保存料表示 ³⁾	成分等に関する強調表示
1	薬	50	268	ViB ₂ ・E	あり	なし	安, パラ	ビタミン B ₂ 配合
2	薬	50	188	ViB ₂ ・E	あり	なし	安	ノンカフェイン, 鉄, ビタミン B ₂ ・B ₆ , ヨクイニン配合
3	薬	50	148	ViB ₂ ・E	あり	なし	安	タウリン 1000mg・ピオタミン 5mg 配合
4	薬	100	128	ViB ₂ ・E	なし	なし	安, パラ	ビタミン B ₁ の補給に
5	薬	100	98	ViB ₂ ・E	あり	なし	安, パラ	鉄分・カルシウム配合, アスパラギン酸カリウム・マグネシウム配合
6	薬	100	178	ViB ₂ ・E	あり	なし	安	タウリン, ビタミン B ₁ ・B ₂ ・B ₆ 配合
7	薬	50	268	ViB ₂ ・E	なし	なし	安, パラ	
8	薬	50	168	ViB ₂ ・E	なし	なし	安	カルシウム・ビタミン配合
9	外	50	178	ViB ₂ ・E	あり	なし	安, パラ	ビタミン B ₂ 配合, カロリーひかえめ
10	外	50	178	ViB ₂ ・E	あり	なし	安, パラ	鉄, マグネシウムカルシウム, ビタミン配合
11	外	50	178 ⁴⁾	ViB ₂ ・E	あり	なし	安	
12	外	100	128	ViB ₂ ・E	あり	なし	安	
13	外	50	248	ViB ₂	あり	なし	安, パラ	
14	外	100	138	ViB ₂	あり	なし	安, パラ	フルスルチアミン配合, 7つの有効成分を配合
15	外	100	146	ViB ₂ ・E	あり	なし	安, パラ	ビタミン B ₁ ・B ₂ ・B ₆ , タウリン配合
16	外	50	248	ViB ₂ ・E	あり	なし	安, パラ	ビタミン B ₁ ・B ₆ ・B ₁₂ +タウリン
17	外	100	98	ViB ₂ ・E	あり	なし	安, パラ	
18	外	100	98	ViB ₂ ・E	あり	なし	安	
19	炭	120	88	ViB ₂ ⁵⁾	あり ⁵⁾	あり ⁵⁾	なし	
20	清	110	150	ViB ₂	あり ⁵⁾	あり	安	
21	炭	210	115	ViB ₂	あり ⁵⁾	あり	なし	8種のビタミン, ローヤルゼリー配合

1) 薬:医薬品, 外:医薬部外品, 炭:炭酸飲料, 清:清涼飲料水

2) ViB₂・E: ビタミン B₂ リン酸エステル, ViB₂: ビタミン B₂

3) 安:安息香酸塩, パラ:パラオキシ安息香酸エステル

4) No. 11 の価格は 10 本あたりの価格から算出した。

5) 量の表示がないもの。

3) 糖分 (果糖, ブドウ糖, ショ糖)

栄養成分等の分析方法等 (平成 8 年 5 月厚生省告示第 146 号栄養表示基準別表第 1 の第 3 欄に掲げる方法) の 6. 糖類 (2) 高速液体クロマトグラフ法に準じた。ドリンク類を蒸留水で 10 倍希釈し, メンブランフィルター (0.45 μ m) を通し, これを試験溶液とした。

HPLC 条件: カラム; CAPCELL PAK NH₂ UG80 (5 μ m, 4.6mm \times 250mm, 冨資生堂製), 移動相; アセトニトリル/水 (70:30), カラム温度; 30 $^{\circ}$ C, 流量; 1.0mL/min, 検出器; 示差屈折計, 試料注入量; 10 μ L

4) 安息香酸塩

静岡県食品標準試験法改訂第 2 版の改良法に従い, ドリンク類を 50vol%メタノールで 10 倍希釈し, メンブランフィルター (0.45 μ m) を通し, これを試験溶液とした。

HPLC 条件: カラム; Inertsil ODS-3V (5 μ m, 4.6mm \times 250mm, ジーエルサイエンス製), 移動相; メタノール・アセトニトリル (1:2) / 5mmol クエン酸緩衝液 pH4 (30:70), カラム温度; 40 $^{\circ}$ C, 流量; 0.8mL/min, 検出器; UV (測定波長 230nm), 試料注入量; 10 μ L

5) パラオキシ安息香酸エステル

静岡県食品標準試験法改訂第 2 版の改良法に従い, ドリンク類を 50vol%メタノールで 10 倍希釈し, メンブランフィルター (0.45 μ m) を通し, これを試験溶液とした。

HPLC 条件: カラム; Inertsil ODS-3V (5 μ m, 4.6mm \times 250mm, ジーエルサイエンス製), 移動相; メタノール・アセトニトリル (1:2) / 5mmol クエン酸緩衝液 pH4 (50:50), カラム温度; 40 $^{\circ}$ C, 流量; 0.8mL/min, 検出器; UV (測定波長 270nm), 試料注入量; 20 μ L

6) 平成 14 年度静岡県消費生活モニター・アンケート調査

静岡県消費生活モニター 106 名に対し, ドリンク類 (医薬品, 医薬部外品, 食品) に関するアンケート調査を実施した。

結果及び考察

1 表示

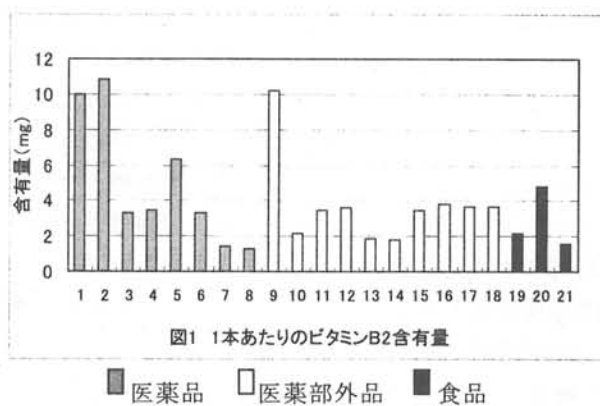
医薬品及び医薬部外品のドリンク類は薬事法に, 食品は食品衛生法に規制されているため, 表示方法・内容が異なっている。表 1 に示したとおり, 医薬品及び医薬部外品には, 薬効を示す成分名, 成分量及び添加物名の表示はあるが, 糖分等の原材料名の表示はなかった。一方食品では, 成分名, 成分量及び原材料名の表示があった。また, 医薬品及び医薬部外品には, 用法・用量, 効能及び使用上の注意が表示してあるのに対し, 食品では, 栄養機能食品の 1 銘柄 (No. 19) には, 必須表示事項である当該栄養成分の栄養所要量に対する充足率及び 1 日の摂

取目安量が表示されていたが, 他の 2 銘柄では用量及び用量の目安になるような表示はなかった。栄養成分量は全ての銘柄で表示されていたが, アンケートの結果からも, 消費者は, 1 日の栄養所要量に関する情報も必要としていると思われる。特に, ビタミン B₂ に関しては, 医薬品の全銘柄及び医薬部外品の 10 銘柄中 8 銘柄で, ビタミン B₂ リン酸エステルとして表示されているため, 栄養所要量の何%が摂取できるのかわかりにくく, また商品と比較選択するのに不便である。消費者はこれらのことを注意した上で, 自分に合った商品を選ぶ必要があると考えられた。

2 成分

1) ビタミン B₂

各種ドリンク類のビタミン B₂ 含有量は, 図 1 に示したとおりである。分析の結果, 一本あたりのビタミン B₂ 含有量は, 銘柄によってばらつきがみられた。また, 5mg 以上のものが 4 銘柄あり, そのうち 3 銘柄 (No. 1, No. 2, No. 5) が医薬品, 1 銘柄 (No. 9) が医薬部外品であった。これらのうち No. 1, No. 2, No. 9 にはビタミン B₂ 配合等の表示があり, 商品の特徴とされていた。食品 (No. 19,



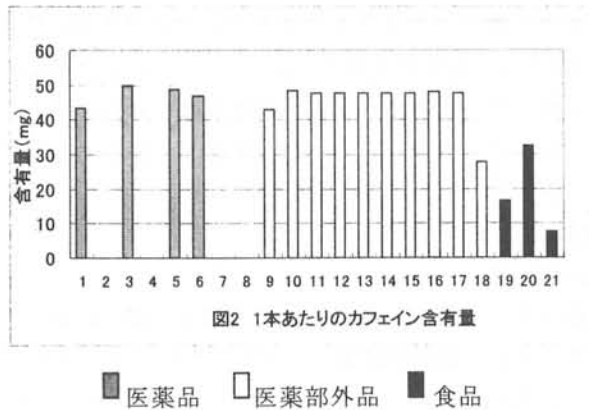
No. 20, No. 21) については, それぞれ 1.56mg, 4.84mg, 2.14mg であり, 医薬品の子供用ドリンク類 2 銘柄 (No. 7 及び No. 8) の 1.46mg, 1.31mg よりも多くビタミン B₂ が含まれていることが分かった。特に No. 20 は全体でも 5 番目に多かった。

ビタミン B₂ リン酸エステルとしての成分量を表示してあるものが 16 本あり, 分析の結果, これらのビタミン B₂ 含有量はビタミン B₂ リン酸エステル量 (表示値) の 63.5%~76.0% (平均 69.7%) であることがわかった。購入する際には, これらの表示を混同しないように注意する必要がある。

2) カフェイン

各種ドリンク類の 1 本あたりのカフェイン含有量は, 図 2 に示したとおりである。医薬品については, カフェインが含まれていないものが 4 銘柄 (No. 2, No. 4, No. 7,

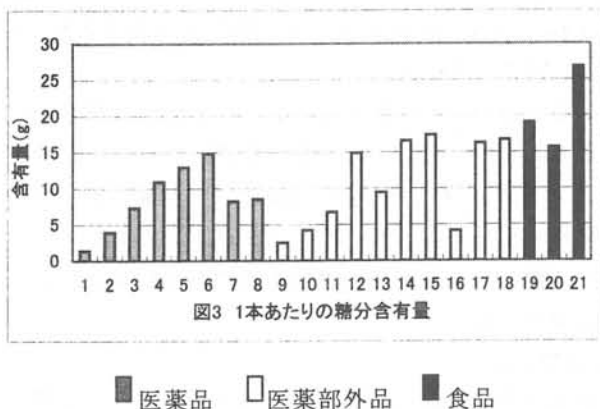
No. 8) あり, その他のものは 40~50mg だった. 医薬部外品は 10 銘柄中 9 銘柄で 40~50mg であり, 銘柄間の差はなかった. また食品においては, 銘柄によってばらつきがあるものの, No. 20 は 30mg 以上のカフェインを含有していることがわかった. 子供用としている No. 7 及び No. 8



にはカフェインは含まれていなかった. 東京都が実施したコーヒー等のカフェイン分析¹⁾によると, 100g あたりのカフェイン量は, コーヒーで平均 65mg, 緑茶で平均 70mg である. コーヒーや緑茶は 1 日に何杯も飲む可能性があり, それに比べるとドリンク類は少ないことがわかった. 風邪薬とドリンク類を一緒に飲んでも大丈夫か, という声が多いが, 風邪薬にもカフェインが含まれているものがあり, その際にはカフェインが過剰になり頭痛等の副作用が現れる場合がある. 特に高齢者や妊娠中の女性等の生理機能が低下している人では, カフェインの消失速度が低下するので, ノンカフェインのものを選ぶなどの注意が必要である.

3) 糖分

各種ドリンク類の 1 本あたりの糖分含有量は, 図 3 に示したとおりである. 医薬品, 医薬部外品, 食品間の差はなく, 各銘柄によってばらつきがみられた. 同一メーカー

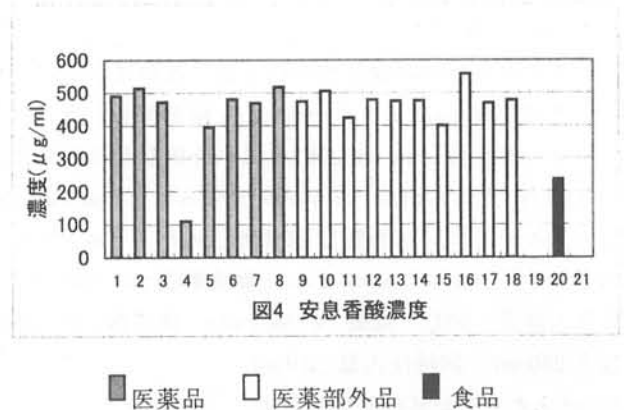


の関連商品はほぼ同じ含有量だった. 濃度では差がないが, 炭酸飲料 (No. 19 及び No. 21) は 1 本あたりの内

容量が多いため, 医薬品及び医薬部外品に比べて比較的糖分含有量が多かった. また食品は, 用量もなく手軽に利用できるため, 糖分を摂り過ぎてしまうことも考えられる. 糖分の摂取量を把握するために, 医薬品及び医薬部外品にも糖分の種類や成分量の表示の併記があれば, 便利だと思われた.

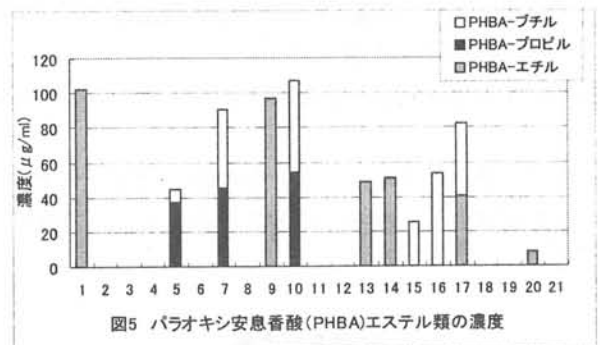
4) 安息香酸塩

各種ドリンク類の安息香酸濃度は, 図 4 に示したとおりである. 食品 3 銘柄のうち, 2 銘柄は炭酸飲料であっ



ので, 保存料の使用はなく, 残りの 1 銘柄にあっては, 医薬品及び医薬部外品よりも低濃度だった. 医薬品及び医薬部外品でも, 400~500 µg/ml のものが多く, 全て食品衛生法の基準以下だった.

5) パラオキシ安息香酸エステル



各種ドリンク類のパラオキシ安息香酸エステル類の濃度は, 図 5 に示したとおりである. 今回, パラオキシ安息香酸メチル, エチル, イソプロピル, プロピル, イソブチル及びブチルについて分析を行ったが, パラオキシ安息香酸エチル, プロピル及びブチルのみが分離された. パラオキシ安息香酸エチル, プロピル及びブチルの清涼飲料水における使用量は, パラオキシ安息香酸として, それぞれ 1kg につき 0.10g 以下でなければならないと, 食品衛生法で定められているが, 食品では全ての銘柄で基準を満たしていた. 全体的にメーカーによって差があ

ることがわかった。

ま と め

1 近年ドラッグストアを利用する人が増えているが、多くの種類の医薬品、医薬部外品、食品のドリンク類が同じ棚に並んでいるのをよく見かける。医薬品や医薬部外品には糖分等の原材料表示がない、食品には用量の表示がない等、適用される法律が異なるため表示に統一性がない。このことを消費者が把握して、自分に合った商品を選ぶことが必要である。また、法律による表示義務がなくても成分や原材料名表示等が併記されていれば、わかりやすいと思われる。

2 価格に関しては、今回購入した銘柄については、医薬品、医薬部外品及び食品間で大きな差はなく、商品によってばらつきがみられた。1本あたりの価格は、単品より10本入りや3本入りで購入する方が、安くなるものが多かった。

3 ビタミンB₂の1本あたりの含有量については、食品の3銘柄は、子供用ドリンク剤（医薬品）よりも多いことがわかった。また、多くの医薬品及び医薬部外品のドリンク類は、ビタミンB₂リン酸エステルとしての含有量を表示しており、栄養所要量と比較してどの程度の量になるのかわかりにくかった。

4 カフェインについては、医薬品の中にカフェインが含まれていないものが4銘柄あり、医薬部外品及び食品では全てに含まれていた。高齢者や妊娠中の女性、子供が利用するときには、注意する必要がある。

5 糖分含有量については、医薬品、医薬部外品、食品間の差はなく、各銘柄によってばらつきがあった。医薬品及び医薬部外品には糖分の表示はなかったが、摂取量を把握し、生活習慣病を予防するためにも、表示による情報提供が大切である。

6 アンケート調査の結果、医薬品、医薬部外品、食品の違いを、内容も含めて理解している人は少ないことがわかった。また、医薬品、医薬部外品、食品が並んでいるドラッグストアでドリンク類を購入する人が最も多いため、消費者へのわかりやすい説明が重要であると思われる。

アンケート調査において、ドリンク類についての意見で最も多かったのは、「用量・用法や成分量、効能、副作用、持続期間に関する正しい情報を表示してほしい」だったが、テストの結果、表示されているものの、字が細かいことや専門的な言葉が多いためわかりにくくなっており、消費者が参考にすることを意識した表示が望まれる。

なお、今回分析した成分については、医薬品、医薬部

外品、食品といったことを商品選択の基準にするのは適当ではないことがわかった。名前や価格に惑わされず、体の症状や目的に合った栄養成分量、カフェイン量、糖分の商品を選ぶのが適当である。そのためには、各種ドリンク類の表示の違いを知っておくことが大切である。

文 献

- 1) 東京都消費生活総合センター：缶コーヒー —糖やカフェインの量はどのくらい？—（平成13年11月）
- 2) 守安貴子他：HPLCによる食品中のカフェイン、テオプロミン及びテオフィリンの同時分析法，食衛誌，vol.37, No.1(1996)
- 3) 国民生活センター：子供も利用するドリンク類の商品テスト結果（平成5年7月14日）
- 4) 第六次改定日本人の栄養所要量，厚生省(1999)

詰め替え用洗浄剤類に関する調査研究

医薬品生活部 生活科学スタッフ 影山 知子, 菅野 尚子, 浮島 美之
渡辺 武明*

Practical Test on Refills of Household Detergents

Tomoko KAGEYAMA, Naoko KANNO, Yoshiyuki UKISHIMA
and Takeaki WATANABE

環境問題への関心の高まりによって需要が増加している洗浄剤類の詰め替え品について、使用性、詰め替え使用時の衛生面及びごみの削減効果等について調査を行った。その結果、詰め替えやすく工夫されている製品もあったが、一方でごみ削減の点では効果が少ないものもあることがわかった。また、詰め替え使用中の洗浄剤に細菌が繁殖することがあり、特に希釈して使用した場合には高濃度に汚染されることが確認された。長期間同じ容器を衛生的に使用するには、製品の表示に従った詰め替えが必要であると考えられた。

Key words: 詰め替え品, 洗浄剤類
Refill, Household detergent

はじめに

環境問題への関心の高まりから、家庭用洗浄剤類は詰め替え品の利用が各家庭に広まっている。詰め替え用洗浄剤類は消費者が詰め替え作業を行うことから、詰め替えやすいこと、また詰め替えによる品質の低下が起こらないことが望まれる。そこでこれらの情報を消費者に提供することを目的に、詰め替え用洗浄剤類の使用性、詰め替え使用時の衛生面及びごみの削減効果等について調査を行った。

調査方法

1 実施時期

2001年7月から2001年12月

2 調査対象

静岡市内で市販されていた洗浄剤類 13 銘柄(シャンプー5 銘柄, 台所用洗剤 6 銘柄, ハンドソープ 2 銘柄)について調査を行った。各銘柄の形状等については表 1 に示した。

3 調査項目及び方法

1) 詰め替え残量

中身を全量詰め替えることができるか調べるため、詰め替えの前後で詰め替え品の重量を測定し、容器内の残量を求めた。なお、パウチ(袋)、チューブタイプの詰め替えは通常の使用時を想定して、手で絞り出しながら行った。

2) 引裂強さ

パウチ(袋)タイプの詰め替え品の中で「手で開封ができる」と表示されている 7 銘柄 (No. 1~6, 12) について注ぎ口の引裂強さをクリープメーター測定装置(サン科学製レオメーターCR-200D 型)で測定した。試験速度は毎分 600mm とし、注ぎ口の引裂きが終了するまでの最大引裂荷重をその銘柄の引裂強さとした。

3) 突刺し強さ

パウチタイプの詰め替え品 9 銘柄 (No. 1~8, 12) について、JIS Z 1707 (食品包装用プラスチックフィルム通則) に示す方法で測定した。(測定場所: 静岡工業技術センター。測定装置: テンシロン UTM-I-10000C)

4) モニター使用テスト

各銘柄をモニター(当所職員及び東部商品テスト研究会会員)に詰め替えてもらい、使いやすさを評価してもらった。

5) 生菌数の測定

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

*静岡県富士健康福祉センター

表1 検体一覧表

No	種類	容器形状*1	注ぎ口の位置	詰め替え方法	開封方法	その他の特徴
1	シャンプー	SP	上部中央	細長い注ぎ口を本体容器に差し込み詰め替える	手又はハサミ	切ると注ぎ口がぱっと開く
2		SP	上部角	細長い注ぎ口を本体容器に差し込み詰め替える	手又はハサミ	
3		SP	上部角	注ぎ口を細長く折って本体容器に差し込み詰め替える	手又はハサミ	
4		SP	上部角	注ぎ口を細長く折って本体容器に差し込み詰め替える	手又はハサミ	
5		SP	上部中央	本体に注ぎ口をつけて注ぎ入れる (差し込み不可能)	手又はハサミ	
6	台所用洗剤	SP	上部角	本体に注ぎ口をつけて注ぎ入れる (差し込み不可能)	手又はハサミ	注ぐとき口が開く
7		SP	上部角	細長い注ぎ口を本体容器に差し込み詰め替える	ハサミ	硬い筒状の注ぎ口付
8		パウチ	上部角	本体に注ぎ口をつけて注ぎ入れる (差し込み不可能)	ハサミ	軟らかい袋タイプ
9	ハンドソープ	硬ボトル	上部中央	キャップを開封し、本体に注ぎ口をつけて詰め替える	手	
10		軟ボトル	上部中央	キャップを開封し、本体に注ぎ口をつけて詰め替える	手	つぶせるボトル
11		軟ボトル	上部中央	キャップを開封し、本体に注ぎ口をつけて詰め替える	手	つぶせるボトル
12	ハンドソープ	SP	上部角	本体に注ぎ口をつけて注ぎ入れる (差し込み不可能)	手又はハサミ	
13	ハンドソープ	チューブ	上部中央	細長い注ぎ口を本体容器に差し込み詰め替える	手又はハサミ	

*1 SP: スタンディングパウチ (自立できる形状の袋 (パウチ))

各銘柄をモニター(当所職員)の家庭で詰め替えながら、4ヶ月間使用してもらい、1ヶ月ごとに洗浄剤中の生菌数を測定した。詰め替え方法は特に指定せず、その家庭で通常行っている方法で詰め替えてもらった。

生菌数の測定は化粧品の微生物限度試験を参考にした森らの方法¹⁾に準じた。

また、No.6の台所用洗剤を2倍、10倍、100倍に希釈したものを本体容器に詰め替えて当所内で使用し、その生菌数を上記モニター試験と同様に測定した。希釈には当所商品科学室の水道水を用いた。

分離された菌はグラム染色、TSI寒天培地での糖分解の確認後、グラム陰性菌については栄研化学(株)製バイオテスト(1号、2号)で簡易同定を行った。

6) 容器材質の鑑別

パウチタイプの詰め替え品容器に使われているプラスチック類の材質を顕微鏡付フーリエ変換赤外分光装置(日本分光(株)製)を用いてATR法(全反射法)により鑑別した。

7) 容器重量の削減割合

本体及び詰め替え品の内容量 100ml 当たりの容器重量を求め、本体に対する詰め替え品の容器削減割合を算出した。

結果及び考察

1 詰め替え残量

残量を内容量に対する割合(%)として求めた結果について図1に示した。詰め替え品容器内の残量割合は0.6~3.5%で、シャンプーやハンドソープなど粘性の高いものの方が容器内に残りやすかった。また粘性の低い台所用洗剤でもNo.7は残量が多かった。この銘柄は注ぎ口に硬い筒がついており、その周囲に液が残ってしまうため残量が多くなったと思われる。このように洗浄剤の粘性だけではなく容器の形状も残量に影響すると考えられた。

2 引裂強さ

結果を図2に示した。引裂強さは0.90~1.72kgfで平均1.37kgfであった。No.1, 5, 6, 12の引裂強さは平均値以下で相対的に低めであった。これらはいずれもミシン目や筋目を入れるなど、切れやすい加工がされていた。引裂強さが平

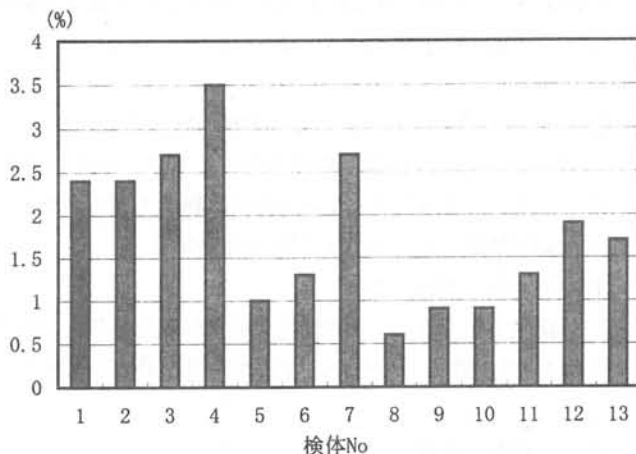


図1 詰め替え残量

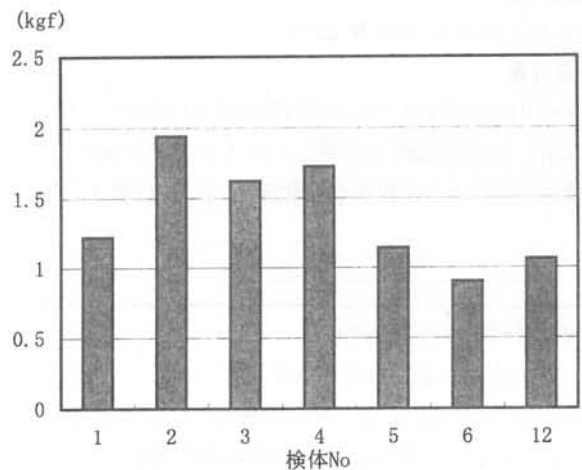


図2 引裂強さ

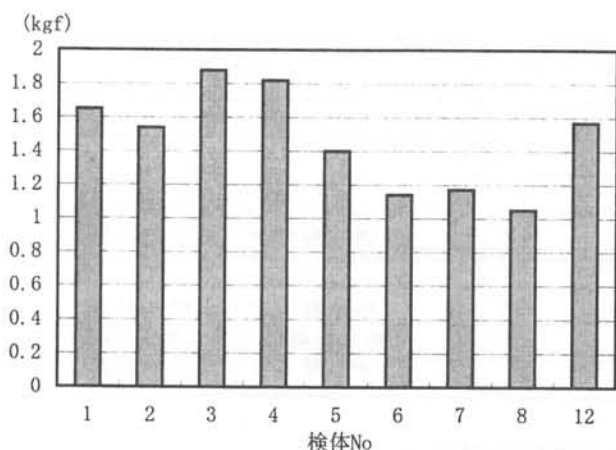


図3 突刺し強さ

均値以上だった No. 2~4 は、手で切れるとの表示があったが、使用者によってはハサミを用いないと開封ができないと思われる。

3 突刺し強さ

結果を図3に示した。洗浄剤類の容器に強度の基準はないが、類似したものでは日本農林規格のレトルト食品容器の基準で突刺し強度が 0.60kg (外側がアルミニウムはくのもの) は 1.00kg) 以上とされている。今回テストした銘柄は全て 1kgf 以上の強度があり、包装の強度は十分と思われた。

4 モニター使用テスト

詰め替えがしやすいと評価されたのは注ぎ口が硬い No. 7 とボトルタイプの No. 9~11 であった。また、本体容器口に注ぎ口が差し込めるタイプ (No. 1, 2) も詰め替えやすいと評価された。

開封のしやすさはキャップで開封するボトルタイプの評

価が高かった。引裂強さが 1.62kgf と大きかった No. 3 は、モニターテストでも手で切りにくかったため、評価が低かった。

全体的にボトルタイプの評価が高かったが、一方で詰め替え品の容器としては不経済との意見も出された。

5 生菌数の測定

2 検体 (No. 3, 4) から使用中に 10^3 個/ml レベルの菌が検出され、洗浄剤の中でも菌が繁殖することが確認された (表 2)。検出された菌数は河川水中の菌数と同程度であり、また同定された菌種は環境常在菌であったが、中には日和見感染症の原因になる菌も見られた。なお、菌が検出されたモニターの使用方法に特別な共通点は無く、汚染の原因は特定できなかった。今回検出された菌は健康な人には影響のない菌であったが、No. 4 のように詰め替えをしなくても菌が検出されることもあり、詰め替えをすると、同じ容器をさらに長期間使用するようになるので、衛生的な使用を心掛けることが必要である。そのために各製品には詰め替えるときの注意事項が表示されているが、その内容は製品ごとに異なっているため、清潔さを保つためには詰め替えるたびによく表示を確認する必要がある。

また、台所用洗剤を希釈して使用した場合、10 倍希釈液及び 100 倍希釈液から 10^5 個/ml レベルの高濃度の汚染が確認された (表 3)。この汚染された希釈液を廃棄し、新たに作り直した希釈液を詰め替えたが、1 ヶ月後に、再び汚染が確認された。次に原液を詰め替えたところ、菌は検出されなくなった。一般に台所用洗剤は配合されている界面活性剤や防腐剤等のため抗菌性を有しているが、希釈した場合洗剤の成分が菌にとって適度な栄養になることがある。希釈しても

表2 生菌数試験

No	詰替回数	容器洗浄	容器乾燥	検体採取回数	生菌数 (個/ml)	分離菌
1	2	あり	なし	1~4回	$<10^2$	
2	1	なし	なし	1~4回	$<10^2$	
3	0	なし	なし	1、2回目	$<10^2$	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Serratia marcescens</i> , 糖非発酵性グラム陽性桿菌
	1	なし	なし	3回目	6×10^2	
				4回目	4×10^3	
4	0	なし	なし	1、2回目	$<10^2$	<i>Serratia marcescens</i> , <i>Enterobacter gergoviae</i> , グラム陽性菌
				3回目	8×10^3	
				4回目	3×10^3	
5	3	なし	なし	1~4回	$<10^2$	
6	1	なし	なし	1~4回	$<10^2$	
7	1	なし	なし	1~4回	$<10^2$	
8	2	あり	なし	1~4回	$<10^2$	
9	1	なし	なし	1~4回	$<10^2$	
10	1	なし	なし	1~4回	$<10^2$	
11	3	あり	なし	1~4回	$<10^2$	
12	1	あり	なし	1~4回	$<10^2$	
13	2	あり	なし	1~4回	$<10^2$	

表3 希釈保存試験

希釈倍率	詰替回数	詰め替えた 洗浄剤の濃度	容器洗浄	検体採取回数	生菌数(個/ml)	分離菌
2倍	0	—	—	1~4回	$< 10^2$	
10倍		—	—	1回目	$< 10^2$	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Serratia plymuthica</i> , 糖発酵性グラム陰性桿菌
		—	—	2回目	6×10^5	
	1回目	10倍希釈液	なし	3回目	4×10^4	
	2回目	原液	あり	4回目	$< 10^2$	
100倍		—	—	1回目	5×10^5	糖発酵性グラム陰性桿菌 糖非発酵性グラム陰性桿菌 糖発酵性グラム陽性桿菌
	1回目	100倍希釈液	あり	2回目	2×10^5	
		—	—	1回目	5×10^5	
	2回目	原液	あり	3回目	$< 10^2$	

必ずしも汚染されるとは限らないが、今回のテスト結果では希釈液中では菌が増殖しやすいと考えられた。ボトル型のように再キャップができる詰め替え品の場合、少しずつ薄めながら本体に詰め替えることも可能であるが、製品に表示されているように薄めたものを保存するのは品質上好ましくないとと思われる。

表4 容器材質

No	表示	使用材質
1	PE, PET	PE, PET
2	表示なし	PE, PET
3	表示なし	PE, PET
4	表示なし	PE
5	PE, PA	PE, PA, PP, PET
6	表示なし	PE, PET, PA
7	PE, PA	PE, PA
8	PA, PE	PA, PE
12	PE, PET	PE, PET, シリコン
13	表示なし	PE

PE:ポリエチレン PET:ポリエチレンテレフタレート
PA:ポリアミド(ナイロン) PP:ポリプロピレン

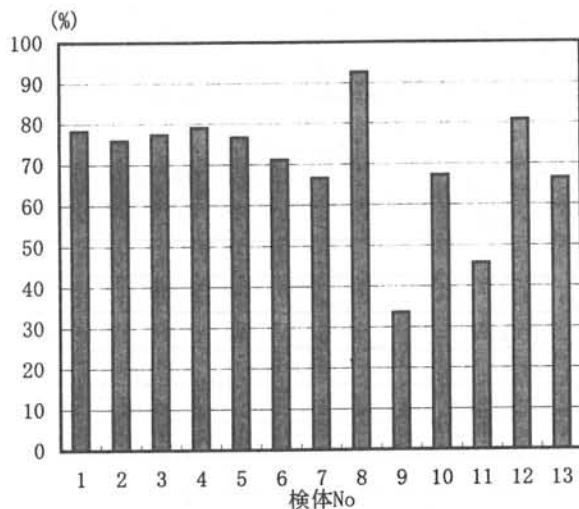


図4 容器重量の削減割合

6 容器材質の鑑別

結果を表4に示した。環境への配慮からか、どの銘柄も塩素系プラスチックは使用されていない。

表示以外のプラスチックが検出された銘柄があったが、これは複合素材の場合、使用重量が多い順に2つ以上表示すればよいことになっているため、材質表示を省略したものと思われる。

また、調査時点(2001年12月)では材質表示がされていないものがあった。法律上の義務は無いが、消費者の関心の高いことでもあり、自主的な表示が望まれる。

7 容器重量の削減割合

結果を図4に示した。詰め替え品を使用することによる容器の削減割合は33.5%~92.6%で、銘柄によって3倍弱の差が認められた。削減割合はボトルタイプ及びチューブタイプに比べるとパウチタイプがおおむね高かった。硬ボトルのNo.9が最も削減割合が低く、モニターテストで使いやすいと評価されたボトルタイプはごみを削減する効果は低いことがわかった。

まとめ

今回の調査の結果、詰め替えやすく工夫されている製品がある一方で容器の削減割合が小さいものもあつた。詰め替え品の需要拡大はプラスチック容器の削減につながるため、使いやすく軽量の製品の開発が望まれる。消費者側も、利便性だけでなく、環境への影響も商品選択の目安にする必要があると思われる。なお、表示等をよく確認し、衛生的な使用を心掛けることが、長期に詰め替えを継続するためには必要と考えられた。

突刺し強さの測定にご協力いただきました静岡工業技術センター田村克浩副主任、山下里恵副主任ならびに生菌数の測定にご協力いただきました当所環境微生物スタッフ(当時)の皆様へ深謝いたします。

文献

- 1) 森啓他: 家庭用洗浄剤詰め替え製品に関する微生物学的検討, 防菌防黴, 27, 563-571(1999)

アルデヒド類のパッシブサンプリング法の検討

環境科学スタッフ

房家正博, 古屋佳宏, 松下秀鶴*

静岡県立大学

野田高広, 大浦 健, 雨谷敬史

Study on the Passive Sampling Method for Aldehyde Compounds

Masahiro FUSAYA, Yoshihiro FURUYA, Hidetsuru MATSUSHITA,
Takahiro NODA, Takeshi OHURA and Takashi AMAGAI

室内環境も含めて環境中のアルデヒド類の採取には、DNPH カートリッジによるアクティブサンプリング法がよく用いられている。しかし、多地点で同時に採取する場合や個人暴露量調査で携帯する場合などには分子拡散を利用したパッシブサンプリング法が最適である。

そこで、現在、試作または販売されているアルデヒド用のパッシブサンプラー4種類について、カートリッジに含まれるブランク値、各種アルデヒド類の捕集性能、捕集量の経日変化等を比較試験した。その結果、一部のパッシブサンプラーでは一般環境中のホルムアルデヒドやアセトアルデヒド ($1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 程度) を一日間のサンプリングによって測定できることを認めた。

Key words: アルデヒド パッシブサンプラー DNPH 誘導体
aldehyde passive sampler DNPH derivative

はじめに

ホルムアルデヒド及びアセトアルデヒドは環境省が示した234有害大気汚染物質のリストの中で、優先取組物質に指定されている¹⁾。室内環境ではシックハウス対策としてこれら化合物の室内濃度指針値が定められている²⁾。また、アセトアルデヒドからバレールアルデヒドまでの脂肪族アルデヒド5物質は特定悪臭物質に指定されている³⁾。さらに、アクロレインやクロトンアルデヒドなどは環境中の存在量は少ないものの、その毒性はホルムアルデヒドよりも強いまたは同等である⁴⁾。そのため、これら化合物の環境中の存在量を把握し、健康影響やそのリスク評価をしていくことが求められている。

アルデヒド類のサンプリングは、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)と反応させ、安定なヒドラゾン誘導体としてトラップする方法⁵⁾が主流である。一般

的には低流量のポンプに接続したアクティブサンプリング法が用いられているが、室内環境中のホルムアルデヒドなど濃度の高い物質にはパッシブサンプリングを適用した例⁶⁻¹⁰⁾も報告されている。

アクティブサンプリング法の場合、一度に多地点でサンプリングするときはその地点数分のポンプが必要であり、電源のない所でサンプリングする場合は電池等が必要となる。しかし、パッシブサンプリング法は分子拡散を利用しているため、ポンプや電源は不用となる。そのため、サンプラーを携帯する個人暴露評価のためのサンプリングには最も有効な手法である。

そこで、現在試作、販売されているアルデヒド類のパッシブサンプラーを用いて、その性能等を比較検討したので報告する。

調査方法

1 用いたサンプリング用カートリッジ

W社: Sep-Pak型, Sp社: 円柱型,

Sb社: 円柱型, Sk社: フィルムパッジ型

2 検討項目

1) カートリッジのブランクと捕集性能

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Shizuoka 420-8637, Japan)

* 静岡県試験研究高度化推進顧問

- 2) 捕集量の経日変化
- 3) パッシブサンプリングの適用性

3 試験方法

1) カートリッジのブランク試験

各社の未使用カートリッジをジクロロメタン 6m l で抽出した後、アセトニトリル 0.5m l に転溶し、HPLC を用いて測定した（注入量 10 μ l）。

2) カートリッジの捕集性能

各社のカートリッジの捕集性能は 3) の経日変化試験の 3 日間捕集量を基準気中濃度 (1 μ g/m³ または 0.1 μ g/m³) における捕集量に換算して求めた。

3) 捕集量の経日変化

W社及びSp社のカートリッジを家庭の屋外（一時期室内）に設置し、3～15日間の連続サンプリングを行い、長期間連続サンプリングの可能性を試験した。さらに、Sb社、Sk社のカートリッジも含めて3～12日間の連続サンプリングを行った。なお、気中のアルデヒド濃度をアクティブサンプリングにより求め、その濃度を一定流量（100m l/min）で捕集したときの捕集量をアクティブ捕集量とし、パッシブ捕集量と比較した。

結果と考察

1 カートリッジのブランク及び捕集性能

各社カートリッジのアルデヒド類のブランク値を表1に示した。また、各アルデヒドの濃度が 1 μ g/m³（プロピオンアルデヒドは 0.1 μ g/m³）の気中で3日間捕集した時の各社カートリッジの捕集量の予測値を表2に示した。

W社、Sp社及びSb社のブランクはホルムアルデヒドで 0.017～0.044 μ g、アセトアルデヒドで 0.017～0.063 μ g、プロピオンアルデヒドで 0.001～0.009 μ

gと低い値であったが、Sk社の場合はその5～10倍程度のブランク量であった。これはSk社のブランクフィルターのシールシステムに問題があるためと考える。また、W社の3日間の捕集量はSp社やSb社の1/6～1/10程度であった。これはW社のカートリッジがパッシブサンプリング用として開発されたものではなく、空気との接触面積が極端に狭いためである。そのため、低濃度空気の場合は3日間サンプリングしてもアルデヒド類の検出は難しい。しかし、Sp社やSb社ではそれぞれブランク値の4～10倍程度捕集できていることから、アルデヒド類の検出が可能である。また、Sk社の場合はブランク量が多く、検出に必要な捕集量を確保できないことに加えて、アセトアルデヒド等では測定期間内にブランク値が減少していく傾向もみられ、カートリッジの劣化もしくは反応力の強い物質との交換反応が進んでいる可能性が示唆された。

2 捕集量の経日変化

ホルムアルデヒドについて、W社及びSp社のパッシブサンプリング捕集量とW社カートリッジによるアクティブサンプリング捕集量との比較を図1に示した。

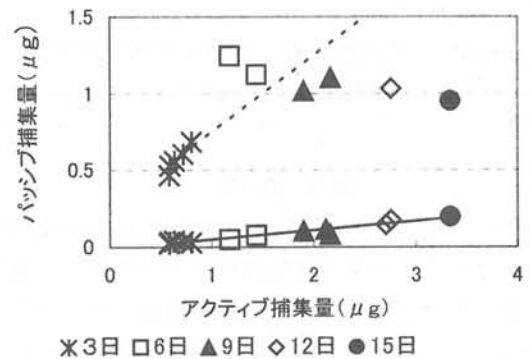


図1 パッシブサンプリング捕集量の変化 (ホルムアルデヒド)

表1 各社カートリッジのアルデヒドのブランク値 (μg/個)

	ホルムアルデヒド	アセトアルデヒド	プロピオンアルデヒド
W社	0.023±0.003	0.063±0.050	0.004±0.004
Sp社	0.017±0.001	0.017±0.003	0.009±0.003
Sb社	0.044±0.008	0.047±0.035	0.001±0.001
Sk社	0.225±0.050	0.407±0.055	0.013±0.003

表2 各社カートリッジの3日間捕集量の比較

単位: μg

	ホルムアルデヒド	アセトアルデヒド	プロピオンアルデヒド
W社	0.06	0.05	ND
Sp社	0.37	0.63	0.08
Sb社	0.58	0.55	0.06
Sk社	0.16	ND	ND

W社の場合、捕集量は少ないものの、パッシブサンプリング捕集量とアクティブサンプリング結果との間に良好な直線関係($Y=0.0612X-0.0154$, $r^2=0.963$)が認められた。Sp社の場合、測定期間が6~9日あたりから捕集量は減少傾向にあった。図には示してないが、この傾向はアセトアルデヒドやプロピオンアルデヒドではより強くなり、15日間捕集量は初めの3日間と同レベルまで減少した。これらは紫外線やオゾンなどによるカートリッジの劣化によって、一度吸着した物質が脱離してしまうためではないかと考えられた。

そこで、カートリッジを遮光した状態にして3~12日間捕集したときの、ホルムアルデヒド捕集量をアクティブ捕集量と比較して図2に示した。

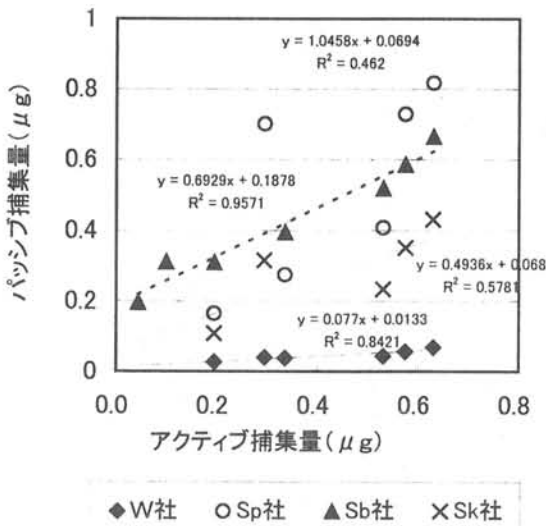


図2 ホルムアルデヒド捕集量の比較

ホルムアルデヒドの場合、各社のカートリッジのパッシブ捕集量はアクティブ捕集量に対してほぼ直線的に反応しており、前回Sp社にみられたような捕集量の減少傾向はみられなかった。図は省略したが、アセトアルデヒドの場合もSk社を除けばパッシブ捕集量はアクティブ捕集量に対してほぼ直線的に反応していた。Sk社の場合、カートリッジはフィルムパッチ状であるため、DNPH層が薄く、全体が空気と接触しやすい構造になっている。これは捕集力を増すという点では有効であるが、逆に妨害物質等の影響も受けやすいという欠点もある。

各種パッシブサンプラーを用いてホルムアルデヒドを一日のサンプリングで検出できる濃度レベルを、ブランク量の3倍として、表1、表2から単純計算すると、W社は $3.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、Sp社は $0.42 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、Sb社は $0.69 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、そして、Sk社は $12.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ となった。

ホルムアルデヒドの一般環境濃度を、1999年に富士

市で調査した結果¹¹⁾から、 $0.92 \sim 5.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (幾何平均値 $2.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$)として、各カートリッジで測定したと仮定すると、

- 1) W社のカートリッジではかなりの地点で検出下限値以下となること
- 2) Sp社及びSb社のカートリッジではほとんどの地点で検出可能となること
- 3) Sk社はすべての地点で検出不可能であることが推察された。

また、ブチルアルデヒド以上の分子量の大きいアルデヒド類は捕集量が少なく、検出するのが困難であった。これらを検出していくためには測定方法を改善していく必要があると思われる。

さらに、一般環境中で長期間測定する場合は、気象(直射日光、風速、気温変化、オゾン、窒素酸化物等)影響を受けることが考えられるため、今後、これらに対する対策についても検討していく必要があると思われる。

まとめ

- 1) W社のカートリッジの場合は捕集量が少ないものの、アクティブサンプリングとの相関性は良いことから、比較的高濃度($3.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上)地点での測定は可能と考えられた。
- 2) Sp社やSb社の場合、捕集量が多く、アクティブサンプリングとの相関性も良いことから、一般環境でのパッシブサンプリングに適用できるものと考えられた。
- 3) Sk社の場合はブランク量が多いこと、サンプリング中にDNPHとの結合が分解してしまうことから、一般環境での測定は難しいと考えられた。
- 4) 長期間捕集では気象条件の影響やカートリッジの劣化等に対する検討が必要と思われる。
- 5) ブチルアルデヒド以上の分子量の大きいアルデヒド類や存在量の少ないアルデヒド類の場合は捕集量が少なくなるために検出するのが困難であった。そのため、これらを検出していくためには測定方法を改善していく必要がある。

文献

- 1) 中央環境審議会大気部会：有害大気汚染物質に係るリストについて、大気環境学会誌，特集号，11-15 (1997)
- 2) 厚生労働省：シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会中間報告書—第1回~第3回のまとめについて及び第8回~第9回のまとめについ

て (1997~2002)

- 3) 環境庁：悪臭防止法施行例の一部改正，平成5年政令第201号 (1993)
- 4) 国際化学物質安全性カード(ICSC)など
- 5) 有害大気汚染物質測定の実際編集委員会編：環境庁監修「有害大気汚染物質測定の実際」(改訂版) (2000) など
- 6) 平野純子，鈴木義浩：DNPH パッシブサンプラーの開発，平成12年度室内環境学会予稿集，48-49 (2000)
- 7) 駒井奥太郎，箭内慎吾他：分子拡散型サンプラーを用いたHCHO測定法の検討，平成12年度室内環境学会予稿集，110-111 (2000)
- 8) 皆川直人，溝口次夫：パッシブサンプラーによる室内汚染物質(アルデヒド類等)の測定，平成12年度室内環境学会予稿集，142-143 (2000)
- 9) 鈴木義浩：簡易測定機の開発について，第43回大気環境学会要旨集，224-225 (2002)
- 10) 松村年郎，池田耕一他：ホルムアルデヒドのパッシブサンプラーの検討，日本建築学会1999年大会(中国)学術講演梗概集，D-2 環境工学11，769-770 (1999)
- 11) 房家正博，雨谷敬史他：富士市における有害大気汚染物質濃度の調査結果について(1) -各種有害化学物質の汚染状況，相関性および大気常時監視局の地域代表性についての検討-，環境化学，11，525-537 (2001)

排水中のビスフェノールA測定へのELISA法の適用性

環境科学部 環境科学スタッフ 渡邊雅之, 房家正博, 古屋佳宏

Applicability of ELISA Method to Bisphenol A Analysis of Waste Water

Masayuki WATANABE, Masahiro FUSAYA and Yoshihiro FURUYA

ビスフェノールAの測定には主としてGC/MSが用いられるが、誘導体化など煩雑な前処理が必要なうえ、多くの検体を処理するときは機器分析でも時間と経費を要することから、簡易的なスクリーニング法の開発が望まれている。

そこで、静岡県が内分泌攪乱化学物質調査の一環として実施してきた、田子の浦港のビスフェノールA高濃度原因究明調査にあわせて、ELISA法によるビスフェノールAの測定も実施し、GC/MSの測定結果との比較検討を行った。

その結果、ELISA法による測定値は常にGC/MSの測定値と同等かそれ以上の値となっており、環境中のビスフェノールAのスクリーニングへの適用性を認めた。

Key words: ビスフェノールA, ELISA法, 古紙
Bisphenol A, ELISA method, Waste recycling paper

はじめに

ビスフェノールA (BPA) はポリカーボネート樹脂、エポキシ樹脂の原料として使用されるほか、感熱紙の顕色剤としての用途もある。

1998年「環境ホルモン戦略計画 SPEED'98」で内分泌かく乱化学物質のひとつとして取り上げられたことから各地でその実態調査が行われた。静岡県でも1998年と1999年に河川、海洋及び湖沼等で水質と底質の実態調査を実施した。その中で、BPAの濃度が特に高かった富士市の田子の浦港について、その原因究明調査を実施してきた。

BPAの測定は主としてGC/MSを用いて分析するが、1検体あたりの機器分析時間が約20分かかるとことや、抽出操作や誘導体化などの煩雑な操作が含まれていることから、多検体を簡易的にスクリーニングする手法が求められてきた。

近年、酵素免疫定量法を利用したBPA用のELISAキ

ットが開発されており¹⁾、その簡易的なスクリーニング法への活用が望まれている。

そこで、田子の浦港のBPA高濃度原因究明調査にあわせて、ELISA法によるBPAの測定も実施し、GC/MSによる測定結果を比較検討することで、BPAの簡易的なスクリーニングの可能性を検討したので報告する。

検討方法

1 機器及び器具

- 1) マイクロプレートリーダー: サンライズクラッシュ (和光)
- 2) ELISAキット: ビスフェノールA ELISAキット (武田薬品)

2 検討項目

次の各試料について比較検討した。

- 1) 工場排水
- 2) 製紙工場工程水
- 3) 古紙原料
- 4) 顕色剤

3 試験方法

1) ELISA試験

試料溶液を10%メタノール溶液になるように調製し、抗原酵素複合体と混合し、抗BPAモノクローナル抗体プレートで60分間反応させた。反応プレートを洗

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene
(4-27-2, Kita-ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

浄後、発色剤を加えて 30 分間静置、発色を停止させた後、マイクロプレートリーダーを用いて波長 450 nm で吸光度を測定した。

2) GC/MS による BPA 等の測定

各種試料の GC/MS による BPA 濃度の測定は「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル (水質, 底質, 水生生物)」²⁾ に準じて行った。また、顕色剤の測定もこのマニュアルを応用して行った。

結果と考察

1 工場排水

富士地区の工場専用排水路 (岳南排水路) に排出する 26 工場の協力を得て、その排水中の BPA 濃度を GC/MS 法と ELISA 法により測定した。その結果を図 1 に示した。

ここで、GC/MS 法では $0.5 \mu\text{g/l}$ を検出目標に設定したが、ELISA 法による検出下限は $5 \mu\text{g/l}$ であるため、図では GC/MS 法で検出されていても ELISA 法で検出下限値以下のデータは除外した。なお、図中の直線は GC/MS 法と ELISA 法の測定結果が 1:1 となる点である。

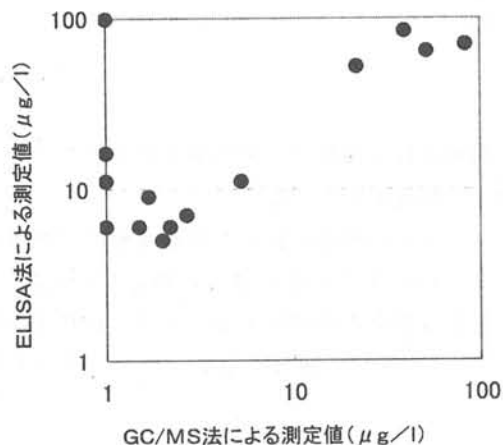


図 1 測定結果の比較 (工場排水)

工場排水の BPA 濃度は GC/MS 測定で $5 \mu\text{g/l}$ 以下の試料が多く、両測定法で $5 \mu\text{g/l}$ 以上となったのは 5 試料であった。これら 5 試料の BPA 濃度はやや ELISA 法の値が高めであったが、ほぼ 1:1 の直線上に位置していた。しかし、中には GC/MS では $1 \mu\text{g/l}$ 以下の濃度であっても ELISA 法では $100 \mu\text{g/l}$ 近い高濃度を示す試料もあった。

2 工程水

BPA の濃度の高かった 4 工場について、工程別に BPA 濃度の調査を実施した。ここではそのうちの 2 工場分について GC/MS 法と ELISA 法の比較測定を行った。その結果を図 2 に示した。

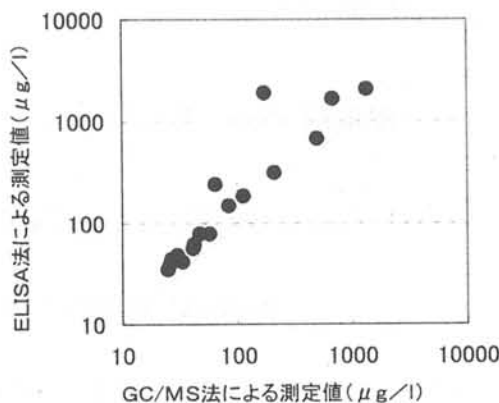


図 2 測定結果の比較 (工程水)

ここでも測定値はやや ELISA 法の値が高めであったが、ほぼ 1:1 の直線上に位置していた。

工場排水及び工程水の比較試験結果から、ELISA 法の測定値は常に GC/MS 法の測定値と同等かそれ以上の値となっており、環境中の BPA のスクリーニングに利用できるものと考えられた。(低濃度までスクリーニングする場合は固相カートリッジなどによる濃縮操作が必要となる)

3 製紙原料

工程水の測定から BPA は製紙原料に起因する可能性が示唆されたため、古紙として回収される原料を種別に離解して、その離解液の BPA 濃度を調査した。このうち、感熱紙 (A~G) の BPA 濃度を GC/MS 法と ELISA 法により測定した。その結果を図 3 に示した。

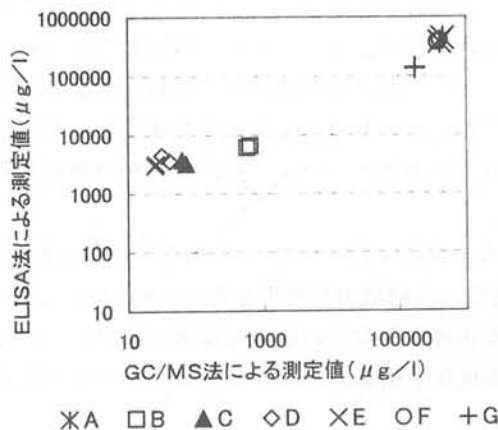


図 3 測定結果の比較 (感熱紙)

BPA 濃度が $10 \text{万} \mu\text{g/l}$ 以上の試料では両測定法の測定値はよく一致していたが、その他の試料ではいずれも ELISA 法の値が高めであった。このことは ELISA 法で BPA 以外の物質を感知していることを示唆していた。

試料Bからは $610 \mu\text{g/l}$ のBPA以外にX-1が検出され、このX-1がELISA法の測定値を上昇させていることが考えられた。また、試料C, D, Eの場合、BPAは検出されないがX-2が検出され³⁾、これがELISA法の測定値を上昇させているものと考えられた。

4 顕色剤の測定

BPAは感熱紙の顕色剤に用いられており、X-1やX-2もBPA代替品として用いられている³⁾ため、類似の性質を持つこれらの物質による交差反応性があることが考えられた。そこで、ELISA法での交差反応性を調べ、その結果を図4に示した。

なお、ここでGC/MS測定値はBPA濃度ではなく、それぞれの物質の濃度である。

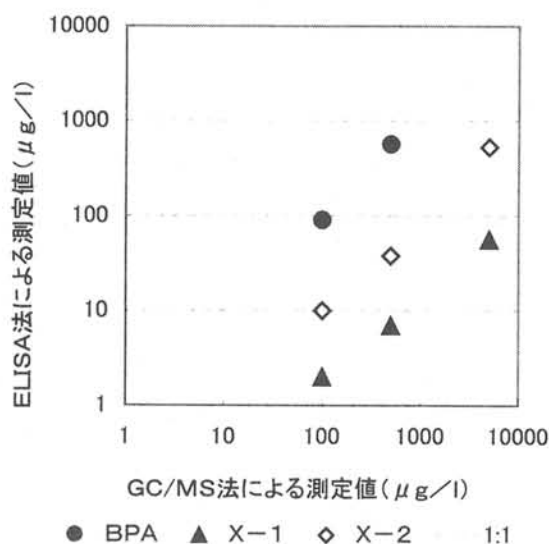


図4 ELISA法に対する各種顕色剤の交差反応性

BPAは両測定法の値がよく一致していた。X-1は約1%の交差反応性がある¹⁾とされており、ここでの結果もそれを裏付けるものであった。また、X-2の場合はBPAより高い約10%の交差反応性を示した。

ELISA法による環境中のBPAスクリーニングにおいてX-1やX-2などが存在するとBPAとして検知される。この場合はGC/MS等による確認が必要となる。また、これら化合物以外にも交差反応性を示す物質は存在しており、ELISA法によるスクリーニングによりそれらの有無を知ることができる。

まとめ

排水や工程水中のBPA濃度をGC/MS法とELISA法により測定してその結果を比較検討した。ELISA法の測定値は常にGC/MS法の測定値と同等かそれ以上の値となっており、ELISA法による測定法は環境中のBPAのスク

リーニングに利用できるものと考えられた。

また、ELISA法によるBPA測定では交差反応性を示す物質があり、ELISA法によるスクリーニングによりそれらの有無を知ることができた。

文献

- 1) 郷田泰弘, 小林綾子他: ELISA法による内分泌攪乱化学物質新規測定法の開発, 第9回環境化学討論会講演要旨集, 153-154 (2000)
- 2) 環境庁水質保全局水質管理課: 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質, 底質, 水生生物) (1998)
- 3) 渡邊雅之他: 投稿準備中

有機スズ分析法の検討

環境科学部 環境科学スタッフ 房家正博, 渡邊雅之, 室伏由紀*

古屋佳宏

Study on the Analytical Method for Organotin Compounds

Masahiro FUSAYA, Masayuki WATANABE, Yuki MUROFUSHI and Yoshihiro FURUYA

有機スズ化合物の分析法は大量の溶媒を用いること, 工程が複雑なこと, 回収率が悪いことなどの問題点がある。本研究では, これら分析法の問題点を解消するために, 固相カートリッジを用いた濃縮抽出法を検討し, より簡便な分析法の開発を目指した。

その結果, 逆相系のカートリッジを用いた添加回収試験で, ジブチルスズ化合物, トリブチルスズ化合物及びトリフェニルスズ化合物の回収率が75%以上となった。

Key words: 有機スズ化合物, 固相抽出, 逆相カートリッジ

Organotin compound, Solid phase extraction, Reversed phase cartridge

はじめに

有機スズ化合物の分析法は環境省委託の「分析法開発調査」で1981年以降毎年のように取り上げられてきた。その理由としては, 分析に使用する機器の変遷, 分析対象化合物の種類, 分析の技術的問題点などいろいろな側面がある。

分析機器としては, 1980年代後半までパックドカラムで電子捕獲型検出器(ECD)や炎光光度検出器(FPD)を用いたガスクロマトグラフィー¹⁻⁴⁾が主流であった。その後, キャピラリカラムやガスクロマトグラフィー質量分析装置(GC/MS)⁵⁻⁹⁾, さらに高周波誘導結合プラズマ質量分析装置(CC/ICP/MS)を用いた分析法¹⁰⁾¹¹⁾に移行してきた。

そのため, 船底塗料や魚網防汚剤としての有機スズ化合物による海洋汚染を調査するための分析法¹²⁾はFPDを用いたGC分析となっているが, 1998年の「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」¹³⁾ではGC/MS分析が用いられている。

また, 揮発性有機金属化合物のGC分析のためには誘導体化が必要とされ, 水素化²⁻⁴⁾, プロピル化⁵⁻⁷⁾, エチル化⁸⁾⁹⁾などが試みられている。さらに, 抽出溶媒もベンゼン, ヘキサン, 酢酸エチルなどが用いられている。

分析対象としては海洋汚染の原因物質であり, 内分泌攪乱化学物質であるトリブチルスズ化合物(TBT)とトリフェニルスズ化合物(TPT)が主であり, その分解物としてのジブチルスズ化合物(DBT)やジフェニルスズ化合物(DPT)の分析が検討されてきた。しかし, DBTはプラスチックの安定剤として用いられ¹⁴⁾, その毒性も強い可能性が指摘されており¹⁵⁾, 今後はこれらも含めた分析が求められている。

また, 分析技術的問題点としては, 有機溶媒を大量に使用する, 分析操作が煩雑, ブランクが高い, 回収率が悪いことなどがある。

本研究では, 使用する有機溶媒の量を少なくし, 分析操作を簡略化するために, 固相カートリッジを用いた濃縮抽出法を検討したので報告する。

試験方法

1 試薬及び固相カートリッジ

1) 試薬

二塩化ジブチルスズ, 塩化トリブチルスズ, 塩化トリフェニルスズは東京化成製, 塩化トリブチルスズ-d27,

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

*静岡県東部健康福祉センター

塩化トリフェニルスズ-d15, テトラブチルスズ-d36 は和光純薬製, 二塩化ジフェニルスズ, テトラエチルホウ酸ナトリウムは Strem Chemicals Inc. (USA)製を使用した.

ヘキサン, ジクロロメタン, エタノール, 塩化ナトリウム及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験用, その他の試薬は特級を使用した.

2) 固相カートリッジ

陽イオン交換系: SCX 500mg (ボンドエルト Jr バリアン社製), 陰イオン交換系: SAX 500mg (ボンドエルト Jr バリアン社製), 逆相系: tC18 500mg (Sep-Pak Vac Waters 社製)

2 分析方法

固相カートリッジを用いた濃縮抽出法の流れを図1に示した. なお, この試験手順は思考錯誤の部分があるため, すべての試験をこのとおりに実施したわけではない. すなわち, 初期段階の試験では試料水量を 20ml にした試験, 塩酸を加えない場合の試験なども実施した.

測定に用いたGC/MSの条件等を下記に示した.

ガスクロマトグラフ質量分析装置

HP-5971A (Agilent 社製)

試料水 1L

- ↓ HCl 8ml
- ↓ 各種標準(2μg/ml) 0.2ml
- ↓ サロゲート(2μg/ml) 0.2ml
- ↓ NaCl 30g

固相に試料を通水

- ↓ 流速 10ml/min

通水終了後

エタノール 20ml で洗浄

- ↓ 100ml 分液ロート

流出液

- ↓ 3%NaCl水溶液 30ml
- ↓ 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を 2ml
- ↓ 0.5%NaBEt4 EtOH 溶液 2ml
- ↓ ヘキサン 4ml で 2回抽出
- ↓ ヘキサンで 10ml とする

サンプル [EtOH] とする *1

- *1~3 内標 (10μg/ml) 0.1ml
- 脱水
- 測定用バイアルに移す
- GC/MSで測定

キャピラリカラム HP-5 0.25mmφ×30m 膜厚 0.25μm (Agilent 社製)

カラム槽温度 60°C (2min) → 20°C/min → 130°C → 10°C/min → 210°C → 5°C/min → 280°C (2min)

注入口温度 250°C

キャリアガス He (1.0ml/min)

注入方法 (注入量) スプリットレス (2μl)

SIMモニターイオン

DBT	261	263
DPT	263	261
TBT	303	301
TPT	351	349
TBT-d27	318	316
TPT-d15	366	364
TeBT-d36	318	316

3 検討項目

- 1) 誘導体化について
文献調査により誘導体化の手法を検討した.
- 2) 標準物質のカートリッジへの添加量と回収量から回収率を求め, 各カートリッジの吸着性及び脱着性について検討した.

カートリッジ残存物-1

- ↓ 25ml 比色管
- ↓ 0.5%NaBEt4 EtOH 溶液 2ml
- ↓ エタノール 5ml で洗浄
- ↓ エタノール:ヘキサン(1:1) 10ml で溶離

溶離液

- ↓ 3%NaCl水溶液 30ml を加える
- ↓ 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を 2ml
- ↓ ヘキサン 4ml で 2回抽出
- ↓ ヘキサンで 10ml とする

サンプル [カートリッジ] とする *2

カートリッジ残存物-2

- ↓ *2 終了後
- ↓ ジクロロメタン 10ml で抽出

サンプル [DCM] とする *3 (確認用)

図1 分析方法の概略

結果と考察

1 誘導体化について

環境省委託の「分析法開発調査」にみられる誘導体化の手法としては、1980年代は水素化ホウ素ナトリウムを用いた「水素化」、その後、グリニヤール試薬を用いた「プロピル化」、最近になってテトラエチルホウ酸ナトリウムを用いた「エチル化」がある。この中で、エチル化は濃縮操作が不要であること、水中で誘導体化できることから簡便な誘導体化の手法である¹¹⁾といわれている。

岩村ら⁹⁾¹⁰⁾は固相カートリッジを用いて生物試料の脂肪分を除去したのちに、カートリッジ内で有機スズ化合物をエチル化している。そこで、この手法を応用して、試料溶液中の有機スズ化合物を固相カートリッジに吸着させて、直接誘導体化することを試みた。

なお、文献⁹⁻¹¹⁾ではテトラエチルホウ酸ナトリウム濃度が2%溶液になっているが、試験開始後に試薬の輸入が禁止され、残量が少ないため、0.1%~0.5%溶液にして試験した。(2003年1月国内生産が始まる)

2 カートリッジ試験結果

1) 添加回収試験 1

3%NaCl 溶液 20ml に各種標準, サロゲートを加え、固相カートリッジに通水した。カートリッジを

- a 3%NaCl 溶液 20ml で洗浄
- b 0.1N HCl 溶液 20ml で洗浄
- c エタノール 20ml で洗浄

したのち、それぞれのカートリッジ付着物をエチル化してジクロロメタンで抽出した。洗浄液とジクロロメタン抽出液の各種有機スズ化合物を回収率として求めて表1に示した。

各種有機スズ化合物は水洗ではほとんど溶出しないこと、ジクロロメタンで抽出するよりもエタノールで抽出するほうが効果的であることなどが推測された。なお、陰イオン交換樹脂SAXはエタノールによって溶解し、カラム等を汚染する成分を含むので使用しないほうがよいと思われた。

2) 添加回収試験 2

環境試料中の有機スズ化合物を分析するための試料量は通常 1L である。また、有機スズ化合物を容器等へ付着させないために、採取した試料を塩酸性にして保存・処理することになっている。

そこで、1Lの純水に標準試料やサロゲートを添加して、SCXとtC18を用いて次の試験を行った。

- a 固相カートリッジに純水のまま通水
- b 試料溶液を 0.1N 塩酸性にして通水

したのち、エタノール 20ml で溶出。カートリッジ付着

物はエチル化したのちヘキサンで抽出し、それぞれに含まれる各種有機スズ化合物を回収率として求めて表2に示した。ヘキサン抽出後、ジクロロメタンで抽

表1 添加回収率試験-1 回収率 (%)

カートリッジ	スズ化合物	水洗		0.1N HCl		エタノール	
		洗浄液	DCM	洗浄液	DCM	洗浄液	DCM
SCX	DBT	0	22	0	34	74	22
	DPT	0	37	0	61	109	26
	TBT	0	53	0	25	80	25
	TPT	0	80	0	56	110	21
SAX	DBT	-	-	-	-	0	42
	DPT	-	-	-	-	12	30
	TBT	-	-	-	-	85	15
	TPT	-	-	-	-	120	30
tC18	DBT	0	26	-	-	-	-
	DPT	0	32	-	-	-	-
	TBT	0	42	-	-	-	-
	TPT	0	44	-	-	-	-

出したが、有機スズ化合物は検出されなかった。

表2 添加回収率試験-2 回収率 (%)

カートリッジ	スズ化合物	純水		HCl 添加	
		EtOH 溶出	カートリッジ	EtOH 溶出	カートリッジ
SCX	DBT	14	0	0	0
	DPT	18	0	0	0
	TBT	54	0	0	0
	TPT	60	0	0	0
tC18	DBT	13	0	57	0
	DPT	30	0	19	0
	TBT	54	0	90	0
	TPT	73	0	95	0

純水のまま通水した場合はSCXとtC18のエタノール溶出液での各種有機スズ化合物回収率はほぼ同程度であったが、0.1N塩酸性にした場合、SCXは捕集力を失った。逆に、tC18は0.1N塩酸性にしたほうが回収率は上昇した。

3) 添加回収試験 3

これまでの結果から逆相系のカートリッジtC18による回収率が最も良いことが認められた。そこで、試料溶液を0.1N塩酸性にして、tC18カートリッジに通水する試験をn=3で実施した。その結果を表3に示した。

DBT, TBT及びTPTは75%以上の回収率となっており、濃縮抽出に適用できるものと考えられた。しかし、DPTは20%以下の回収率にとどまっており、

表3 添加回収率試験-3 回収率 (%)

カート リッジ	スズ化 化合物	エタノール溶出液			平均
		S1	S2	S3	
tC18	DBT	75	82	75	77
	DPT	19	18	17	18
	TBT	76	79	82	79
	TPT	109	106	100	105

今後検討していく必要性が認められた。DPTは表2の結果でも回収率が悪く、特に塩酸酸性にしたほうが悪い結果になっていた。そのため、吸着性が悪くなっているのか、または分解しているのかが考えられる。

逆相系カートリッジにはtC18以外に様々な種類があり、より吸着性、回収率のよいカートリッジが存在する可能性もあるため、これらも含めた検討が必要である。

まとめ

有機スズ化合物の固相カートリッジを用いた濃縮抽出法を検討した。その結果、逆相系カートリッジtC18を用いると、DBT, TBT及びTPTは75%以上の回収率となり、濃縮抽出に適用できるものと考えられた。しかし、DPTは20%以下の回収率にとどまり、吸着性が悪くなっているのか、または分解しているのかが考えられた。

逆相系カートリッジにはtC18以外に様々な種類があり、より吸着性、回収率のよいカートリッジを探索していく必要がある。

文献

- 1) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質分析法開発調査報告書（昭和56年度）（1982）
- 2) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質分析法開発調査報告書（昭和57年度）（1983）
- 3) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質分析法開発調査報告書（昭和59年度）（1985）
- 4) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質分析法開発調査報告書（昭和62年度）（1988）
- 5) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質分析法開発調査報告書（昭和63年度）（1989）
- 6) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質分析法開発調査報告書（平成3年度）（1992）

- 7) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質分析法開発調査報告書（平成5年度）（1994）
- 8) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質分析法開発調査報告書（平成9年度）（1998）
- 9) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質分析法開発調査報告書（平成10年度）（1999）
- 10) Tomomi Iwamura, Kiwao Kadokami, Daisuke Jin-ya and Kyoko Tanada: Determination of organotin compounds in biological samples using ethyl derivatization and GC/MS, The Japan Society for Analytical Chemistry, 49, 523-528 (2000)
- 11) 打田雅敏, 長谷川圭司, 坂本晶子, 山中葉子, 橋爪清: GC-ICP-MSによる微量有機スズ化合物の誘導体化分析, 三重県環研年報, 3, 112-114 (2001)
- 12) 環境庁水質保全局: 有機スズ化合物に関する水質保全対策について(平成3年) (1991)
- 13) 環境庁水質保全局水質管理課: 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質, 底質, 水生生物) (1998)
- 14) 日本ミリポア株式会社: 環境ホルモン分析用超純水システム EDS-10Lの有機スズ分析への適用, Application Notebook, Vol.11 (2001)
- 15) 江副優香, 深井文雄他: 有機スズ化合物の免疫毒性についての基礎的検討, 第11回環境化学討論会講演要旨集, pp530-531 (2002)

静岡県内のPM2.5に関する調査 —PM2.5濃度と化学成分特性—

大気・水質部 大気騒音・環境スタッフ

篠原英二郎, 太田良和弘, 池谷静雄

永田嘉七, 望月大介

Research of Particulate Matters Smaller than $2.5\mu\text{m}$ in Diameter on Pollutants in Shizuoka Prefecture —The Physical and Chemical Properties of PM2.5—

Eijiro Shinohara, Kazuhiro Ootara, Sizuo Iketani,
 Kasiti Nagata and Daisuke Mochizuki

平成13年に島田市役所, 14年度に島田市役所と自排藤枝の大気常時監視局においてPM2.5の質量濃度を把握し, SPM中におけるPM2.5の存在比を推定したところPM2.5とSPMには正の相関が認められ, $PM2.5 = A \times SPM + B$: ($A=0.59\sim 0.64$, $B=0.8\sim 6.1$)の回帰式が得られた。また, 平成13年度に実施した関東地方環境対策推進本部大気環境部会による浮遊粒子状物質合同調査により, アンダーセンサンプラーで得られた試料の質量濃度結果から, 微小粒子濃度(粒子径 $<2.5\mu\text{m}$ 未満) $= 0.709 \times$ 粗大(粒子径 $11\sim 2.5\mu\text{m}$) + 微小粒子 -0.2 の回帰式が得られ, その化学成分から島田市役所の微小粒子中の SO_4^{2-} とVが合同調査19地点の中で高濃度であったことがわかった。

Key words : PM2.5, 浮遊粒子状物質, 質量濃度, 化学成分
 PM2.5, SPM, Physical Properties, Chemical Properties

はじめに

大気粒子状物質に係る環境基準は, 粒径 $10\mu\text{m}$ 以下の粒子を対象とした浮遊粒子状物質(以下, 「SPM」という)について「1時間値の1日平均値が $0.10\text{mg}/\text{m}^3$ 以下であり, かつ1時間値が $0.20\text{mg}/\text{m}^3$ 以下であること」と定められている。

一方このSPM中に含まれる粒径 $2.5\mu\text{m}$ 以下の微小物質(以下, 「PM2.5」という)は, 肺の深部に侵入, 沈着する割合が大きく, また, 発ガン性物質の含有率も高いことが報告されたことにより¹⁾, 米国では1997年にPM2.5に関する環境基準を新たに設定したところである²⁾。

環境省は, 環境基準の設定を視野にいれ1997年度以降, PM2.5の調査手法の確立, 健康影響評価, 排出実態調査を行っているが, 捕集方法の精度管理, 寄与率の推定方法(CMB法)の確立, 発生源と環境濃度の関係など未解決の課題も多く, 研究も入り口段階にあるのが現状である。

こうした中, PM2.5は地域の課題でもあるため, 静岡県内にお

けるPM2.5の汚染状況を把握し, 発生源対策のための資料を得ることが重要であることから, 平成13と14年度に大気常時監視局において, PM2.5自動測定器により大気中のPM2.5の質量濃度を把握しSPM中におけるPM2.5の存在比を推定した。

また, 同時期に行った関東地方環境対策推進本部大気環境部会による浮遊粒子状物質合同調査(以下「合同調査」という)で得られた, 微小粒子(粒子径 $2.5\mu\text{m}$ 未満)と粗大粒子(粒子径 $2.5\mu\text{m}\sim 11\mu\text{m}$)の化学組成成分から調査地点における粒子状物質の発生源寄与率の推定を試みた。

調査方法

1 調査期間

1) PM2.5自動測定器による調査期間

- ・平成13年度冬期
平成13年11月29日～平成14年1月11日
- ・平成14年度夏期
平成14年7月12日～平成14年8月23日

2) 合同調査

- ・平成13年度夏期
平成13年7月30日～平成13年8月3日
- ・平成13年度冬期

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

- 平成13年12月4日～平成13年12月8日
- ・平成13年度正月前後
平成13年12月25日～平成14年1月11日
- ・平成14年度夏期
平成14年7月29日～平成13年8月2日
- ・平成14年度冬期
平成14年12月2日～平成14年12月6日

2 調査地点

調査地点を図1に示す。

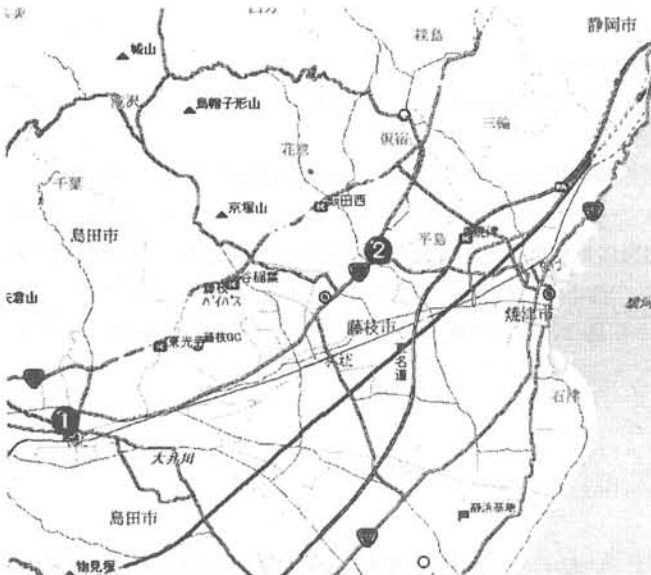


図1 調査地点 (①島田市役所, ②自排藤枝)

1) 島田市役所 (一般環境局)

PM2.5 自動分析装置を平成13年度冬期と平成14年度夏期に設置し、PM2.5の質量濃度を測定した。

また、合同調査において、全期間アンダーセンローポリウムエアサンプラー (以下、「LV」という) 2台により、石英ろ紙 (炭素成分、多環芳香属炭化水素分析用) とポリフロンろ紙 (金属成分、水溶性成分分析用) に微小粒子と粗大粒子を捕集し、それぞれ化学組成成分を合同調査機関が分析した。

2) 自排藤枝 (自排局)

PM2.5 自動分析装置を平成13年度冬期と平成14年度夏期に設置し、PM2.5の質量濃度を測定した。

また、合同調査において、平成14年度夏期と冬期にLV2台により、石英ろ紙とポリフロンろ紙に微小粒子と粗大粒子を捕集し、それぞれ化学組成成分を合同調査機関が分析した。

3 調査項目および分析方法

1) 常時監視項目

- SPM : JIS-B7954 に定める自動計測器のβ線吸収法。
- NO_x : JIS-B7953 に定める自動計測器の吸光光度法または化学発

光法。

- NMHC : JIS-B7956 に定める自動計測器の水素炎イオン化検出法。
- 2) PM2.5, LV粗大粒子, LV微小粒子の質量濃度
PM2.5 : 大気中微小粒子状物質 (PM2.5) 質量濃度測定方法暫定マニュアル³⁾ が示す自動測定器のTEOM法。

LV粗大粒子およびLV微小粒子

: 段構成を3段としたLVにより、11μm以上をカットし、LV粗大粒子として2.1から11μmの物質を、LV微小粒子として2.1μm未満の物質をそれぞれ石英繊維ろ紙 (PALFLEX2500QAT-UP) とポリフロン繊維ろ紙 (ADVANTECポリフロン) に捕集し、室温20℃、相対湿度50%の天秤室で24~48時間放置し恒量としたのち、0.01mgの感度を有する化学天秤で精秤した。

3) 共同調査による分析項目

- ・金属成分 : V, Al, Mn, Cu, Br, Cl, Na, Ca, Ti, Mg
- ・水溶性成分 : Na, NH₄, K, Mg, Ca, Cl, NO₃, SO₄
- ・多環芳香属炭化水素 : B [k] F, B [a] P, B [ghi] P
- ・炭素成分 : 元素炭素, 有機炭素

4) 共同調査での分析方法

・金属成分

ポリフロン繊維ろ紙を立教大学原子力研究所 TRIGA-2 型原子炉 (出力100KW) により放射化 (熱中性子線) 分析を行った。

・水溶性成分

エタノールで湿らしたポリフロン繊維ろ紙に水を加え15分間超音波抽出し PTFE メンブレンろ紙 (孔径0.2μm, 直系13mm) でろ過し、ろ液をイオンクロマトグラフ方により陽イオン及び陰イオン成分を分析した。

・多環芳香属炭化水素

エタノールで湿らした石英繊維ろ紙にベンゼンを加え20分間超音波抽出した後、5%NaOH水溶液3mlを加え振とうし、3000rpmで5分間遠心分離したベンゼン層2mlをN₂気流下で乾固させ、さらにアセトニトリル1mlに再溶解したものを試料としHPLCにて分析した。

・炭素成分

CHNコーダーにより、有機炭素 (以下、「OC」という) と全炭素 (以下、「TC」という) を測定し、元素炭素 (以下、「EC」という) はTCからECを差引いて求めた。OCはHe雰囲気下、分離温度600℃、TCはO₂-He雰囲気下、950℃の完全燃焼により分析した。

調査結果及び考察

1 気象概況^{4)~7)}

・平成13年度夏期

7月下旬から8月中旬までは太平洋高気圧に覆われ概ね晴れたが、午後になると大気の状態は不安定となり局地的に雨や雷雨になることが多かった。8月下旬には台風11号の影響や気圧の

谷の通過などで雨が多かった。

・平成13年度冬期

12月上旬の中頃と13, 21日に低気圧が通過し天気が崩れたほかは晴れた日が多かった。1月前半は、冬型の気圧配置と移動性高気圧の影響で晴れた日が多かったが、後半は、周期的に低気圧が通過したため雨が增多した。

・平成14年度夏期

7月下旬は梅雨前線が北上し、晴れて暑い日が多かった。8月も全般的に太平洋高気圧に覆われ晴れて暑い日が多かったが、17日から19日にかけて、台風13号の影響により大雨が降った。

・平成14年度冬期

12月上旬の後半と中旬の後半に低気圧が通過し、曇りや雨の日が多かったが、その他の日は冬型の気圧配置となり、晴れた日が多くなった。年末も冬型の気圧配置となり、晴れた日が続いた。1月の上半旬は、3日に雨となったが、その他の日は冬型の気圧配置となり概ね晴れる日が多くなった。

2 環境濃度

表1に島田市役所、表2に自排藤枝における各調査期間中の自動測定器による平均濃度を示す。

SO₂とOX以外の項目は自排藤枝局が一般局である島田市役所を上回る傾向を示していた。

3 PM_{2.5} 質量濃度

(1) 平成13年度冬期調査

図2に島田市役所、図3に自排藤枝の平成13年度冬期におけるPM_{2.5}とSPMの日平均値を示す。平成13年度の冬期調査期間におけるPM_{2.5}の質量濃度は、島田市役所で平均16μg/m³、最大31μg/m³、自排藤枝では平均15μg/m³、最大30μg/m³であった。一方SPMの質量濃度は、島田市役所で平均24μg/m³、最大48μg/m³、自排藤枝では平均22μg/m³、最大45μg/m³であった。

調査期間中の日平均値を用いた単回帰分析結果を表3に、島田市役所及び自排藤枝における日平均値の散布図を図4に示す。このときの相関係数は、島田市役所で0.925、自排藤枝で0.963であり、両地点ともPM_{2.5}とSPMには正の相関が認められ、島田市役所では

$$\text{島田 PM}_{2.5} = 0.59 \times \text{島田 SPM} + 1.7$$

自排藤枝では

$$\text{藤枝 PM}_{2.5} = 0.64 \times \text{藤枝 SPM} + 1.0$$

の回帰式が得られた。

表1 島田市役所における平均濃度

	SO ₂ ppb	OX ppb	NO ppb	NO ₂ ppb	NMHC ppmC	SPM μg/m ³	WS m/s	温度 °C	湿度 %
H13 冬PM _{2.5} 期間	3	21	16	14	0.17	16	4.1	9.3	68.0
H14 夏PM _{2.5} 期間	6	18	15	11	0.16	25	3.3	30.4	80.2
H13 夏共同	6	30	17	19	0.17	51	1.9	28.8	82.7
H13 冬共同	3	11	28	20	0.23	23	2.5	12.1	82.0
H14 夏共同	9	25	24	23	0.24	56	2.7	31.0	81.4
H14 冬共同	3	10	21	23	0.20	14	2.1	13.7	84.1

表2 自排藤枝における平均濃度

	SO ₂ ppb	OX ppb	NO ppb	NO ₂ ppb	NMHC ppmC	SPM μg/m ³	WS m/s
H13 冬PM _{2.5} 期間	2	—	33	22	0.16	20	3.0
H14 夏PM _{2.5} 期間	2	—	23	8	0.17	41	2.7
H13 夏共同	2	—	26	25	0.28	62	1.9
H13 冬共同	2	—	53	28	0.25	28	2.1
H14 夏共同	3	—	22	16	0.24	74	2.0
H14 冬共同	2	—	49	25	0.24	25	1.9

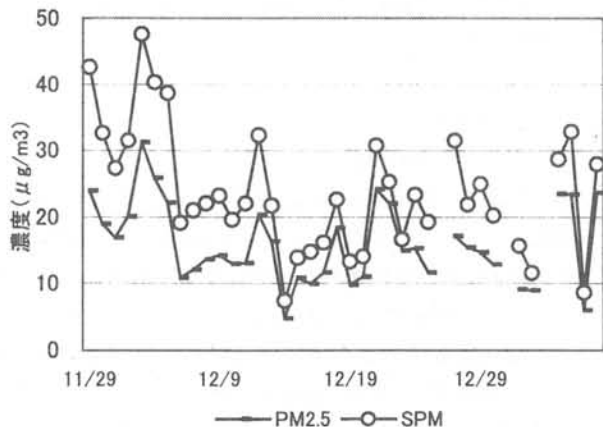


図2 H13冬期島田市役所PM2.5-SPM

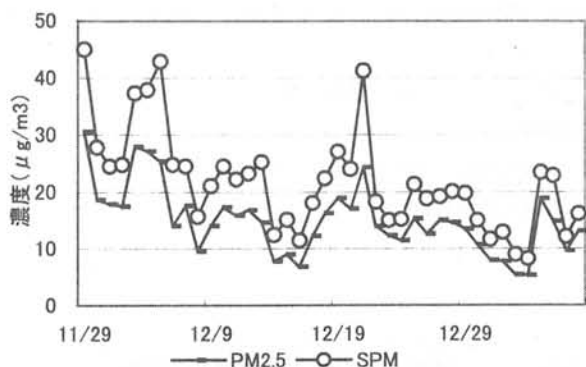


図3 H13冬期自排藤枝PM2.5-SPM濃度

表3 単回帰分析結果(H13 冬期調査結果)

	相関係数	傾き	切片
島田 PM2.5-SPM	0.925	0.597	1.721
藤枝 PM2.5-SPM	0.963	0.642	1.049

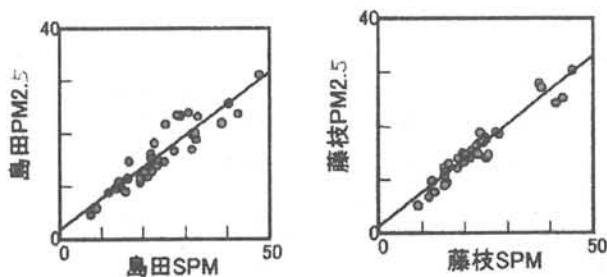


図4 PM2.5-SPM 散布図

(2) 平成14年度夏期調査

図5に島田市役所、図6に自排藤枝の平成13年度冬期におけるPM2.5とSPMの日平均値を示す。

平成13年度の夏期調査期間におけるPM2.5の質量濃度は、島田市役所で平均20 μg/m³、最大46 μg/m³、自排藤枝では平均20 μ

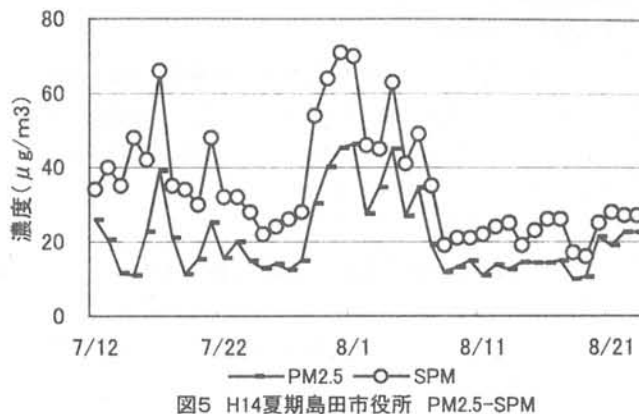


図5 H14夏期島田市役所 PM2.5-SPM

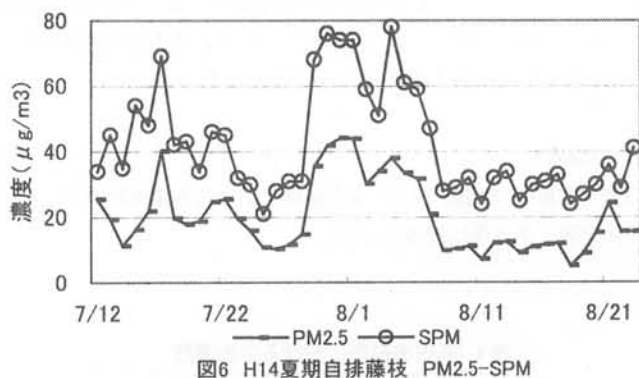


図6 H14夏期自排藤枝 PM2.5-SPM

g/m³、最大44 μg/m³であった。

一方SPMの質量濃度は、島田市役所で平均25 μg/m³最大61 μg/m³であり、自排藤枝では平均42 μg/m³、最大78 μg/m³であった。

調査期間中の日平均値を用いた単回帰分析結果を表4に、島田市役所及び自排藤枝における日平均値の散布図を図7に示す。

このときの相関係数は、島田市役所で0.892、自排藤枝で0.932であり、両地点ともPM2.5とSPMには正の相関が認められ、

島田市役所では

$$\text{島田 PM2.5} = 0.62 \times \text{島田 SPM} - 0.8$$

自排藤枝では

$$\text{藤枝 PM2.5} = 0.63 \times \text{藤枝 SPM} - 6.1$$

の回帰式が得られた。

今回の調査結果は、冬期、夏期ともに回帰式の傾きが0.6程度であることから、自動測定器で測定されているSPMが25 μg/m³を超えると推定されるPM2.5は米国の環境基準値である15 μg/m³を超えることを示している。

島田市役所でのSPMの過去5年間の年平均値が21~27 μg/m³であること、自排藤枝の過去5年間の年平均値が34~47 μg/m³であることから、両調査地点では既にPM2.5が年平均値レベルで15 μg/m³を超えていることが充分予測できた。

実際に、今回の両調査地点でのPM2.5の期間平均値は15~20 μg/m³であり、米国の環境基準値ある15 μg/m³を超えていた。

表4 単回帰分析結果(H14 夏期調査結果)

	相関係数	傾き	切片
島田 PM2.5-SPM	0.892	0.619	-0.831
藤枝 PM2.5-SPM	0.932	0.630	-6.194

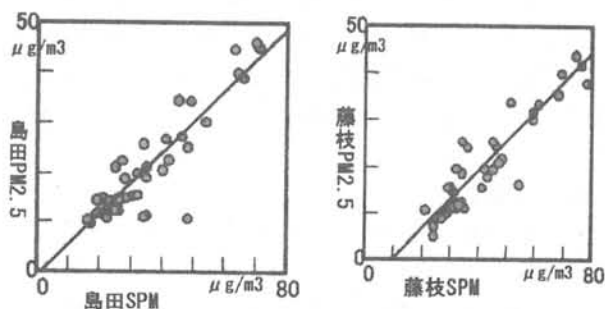


図7 PM2.5-SPM 散布図

4 アンダーセンサンプラによる微小及び粗大粒子の質量濃度⁸⁾
 平成13年度に島田市役所においてアンダーセンサンプラにより捕集した微小粒子(粒子径2.1μm未満)と粗大粒子(粒子径2.1~11μm)、SPM及びPM2.5の期間平均質量濃度を表5に示す。

表5 微小粒子と粗大粒子の質量濃度 (μg/m³)

*調査期間	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
粗大粒子	13.5	8.1	7.4	6.1	3.0	7.3	10.4
微小粒子	31.5	24.2	17.9	15.0	7.0	17.9	15.3
粗大+微小	45.0	32.3	25.3	21.1	10.0	25.2	25.7
微小/粗大(%)	70	74	70	71	70	71	59
SPM 平均値	51	33	25	25	16	16	36
PM2.5 平均値	-	17	13	18	10	9	-
PM2.5/SPM(%)	-	51	52	72	62	56	-

*調査期間

①夏期調査 7月30日~8月3日(PM2.5未測定)

②冬期調査 12月4日~8日

正月前後調査

③12月25日~12月28日 ④12月28日~12月31日

⑤12月31日~1月4日 ⑥1月4日~1月7日

⑦1月7日~1月11日(PM2.5未測定)

平成13年度、島田市役所におけるアンダーセンサンプラによる粗大粒子濃度は、3.0~13.5μg/m³、微小粒子濃度は7.0~31.5μg/m³、粗大+微小粒子濃度は10.0~45.0μg/m³であり、それぞれの粒子とも夏期に最大を示し、正月休み中の⑤の時が最低を示した。

平成13年度の粗大粒子、微小粒子及び粗大+微小粒子の濃度を用いた単回帰分析結果を表6に、散布図を図8に示す。

このときの相関係数は、島田市役所で0.993であり、微小粒子と粗大+微小粒子には正の相関が認められ、

微小粒子=0.709×粗大+微小粒子-0.2
 の回帰式が得られた。

表6 単回帰分析結果(H13 年度調査結果)

	相関係数	傾き	切片
微小-微+粗	0.993	0.709	-0.213

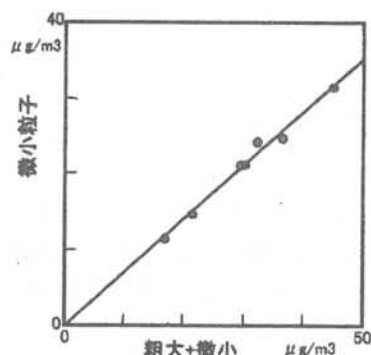


図8 微小粒子と粗大+微小粒子散布図

このアンダーセンサンプラによる調査は、1都9県3市により全19地点で共同調査を行ったものである。

各調査期間における島田市役所を含む1都9県3市の全19地点における平均値、最大値及び最小値を表7に示す。

表7 調査期間ごとの粒子別質量濃度(μg/m³)

調査期間		平均値	最大	最小	島田
①	粗大粒子	12.6	17.2	6.5	13.5
	微小粒子	27.3	39.0	12.5	31.5
	粗+微	40.6	51.3	34.3	45.0
②	粗大粒子	11.2	15.7	4.2	8.1
	微小粒子	30.2	45.9	10.7	24.2
	粗+微	41.4	61.5	14.9	32.3
③	粗大粒子	9.2	15.7	3.0	7.4
	微小粒子	21.2	33.5	8.6	17.9
	粗+微	30.4	49.2	11.6	25.3
④	粗大粒子	8.4	11.9	1.5	6.1
	微小粒子	21.2	32.1	8.4	15.0
	粗+微	29.6	44.0	9.9	21.1
⑤	粗大粒子	5.4	8.2	1.6	3.0
	微小粒子	11.5	16.1	6.0	7.0
	粗+微	16.9	24.3	7.6	10.0
⑥	粗大粒子	6.7	11.8	1.4	7.3
	微小粒子	14.7	20.4	5.9	17.9
	粗+微	21.4	32.2	7.3	25.2
⑦	粗大粒子	11.9	18.5	4.8	10.4
	微小粒子	24.7	35.0	12.0	15.3
	粗+微	36.6	53.5	16.8	25.7

夏期調査において、島田市役所の粗大+微小粒子濃度は 19 地点の中で 3 番目に高い濃度であり、このときの微小粒子濃度も 19 地点の中で 3 番目高い濃度であった。

冬期調査では、粗大及び微小粒子とも 19 地点での平均値を下回っていた。

正月前後調査では、⑥の期間を除き粗大及び微小粒子とも 19 地点での平均値を下回っていた。また、正月休みである⑤の期間が最も低濃度であった。

5 微小及び粗大粒子の成分分析結果⁸⁾

(1) 水溶性成分

表 8 に成分濃度を示す。

陽イオンのうち Na と Ca は粗大粒子に多く含まれ、Na は粗大粒子で 0.14~0.50 μg/m³、微小粒子で 0.07~0.22 μg/m³、Ca は粗大粒子で 0.02~0.37 μg/m³、微小粒子で 0.01~0.11 μg/m³であった。

微小粒子に多く含まれていた NH₄ は粗大粒子で 0.01~0.13 μg/m³、微小粒子で 0.69~2.99 μg/m³、K は粗大粒子で 0.01~0.04 μg/m³、微小粒子で 0.10~0.20 μg/m³であった。

陰イオンでは Cl と NO₃ が粗大粒子に多く含まれ、Cl は粗大粒子で 0.08~0.35 μg/m³、微小粒子で 0.01~0.14 μg/m³、NO₃ は粗大粒子で 0.28~1.44 μg/m³、微小粒子で 0.19~1.71 μg/m³であ

った。微小粒子に多く含まれていた SO₄ は粗大粒子で 0.12~0.44 μg/m³、微小粒子で 1.35~8.31 μg/m³であった。

これらの水溶性成分のうち、ガス状汚染物質の一部が前向物質となり生成される二次生成粒子を、微小粒子に含まれるアンモニウム塩 (SO₄, NO₃, Cl 及び NH₄) の和として計算し、微小粒子濃度に対する二次生成粒子の寄与率を求めた結果を表 9 に示す。この間、二次生成粒子濃度は 2.45~11.5 μg/m³、微小粒子濃度は 7.0~26.9 μg/m³、寄与率は 30.8~42.8%であったと推定された。

(2) 炭素成分濃度

図 11 に夏期及び冬期調査における粒子別炭素成分濃度を示す。燃烧起源の一次粒子と考えられる EC は微小粒子で夏期 7.0 μg/m³、冬期 6.3 μg/m³であり、粗大粒子の夏期 1.2 μg/m³、冬期 0.9 μg/m³を上まわっていた。

OC も微小粒子で夏期 3.1 μg/m³、冬期 2.4 μg/m³であり粗大粒子の夏期 2.2 μg/m³、冬期 0.9 μg/m³を上まわっていたが、夏期粗大粒子中の OC 濃度は夏期粗大粒子中の EC 濃度を上まわっていた。

また、微小粒子に対する EC の寄与率は夏期で 26.0%、冬期で 30.9%と推定された。

表 8 水溶性成分

		μg/m ³							
調査期間		①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	③~⑦平均値
粗大	Na ⁺	0.50	0.18	0.23	0.20	0.14	0.31	0.46	0.27
	NH ₄ ⁺	0.06	0.02	0.01	0.02	0.04	0.13	0.02	0.04
	K ⁺	0.04	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01
	Mg ²⁺	0.05	0.02	0.02	0.02	0.01	0.04	0.05	0.03
	Ca ²⁺	0.09	0.16	0.13	0.05	0.02	0.09	0.37	0.13
	Cl ⁻	0.08	0.13	0.13	0.13	0.1	0.18	0.35	0.18
	NO ₃ ⁻	1.44	0.49	0.43	0.38	0.28	1.01	0.86	0.59
	SO ₄ ²⁻	0.44	0.29	0.26	0.20	0.12	0.35	0.44	0.27
微小	Na ⁺	0.22	0.14	0.22	0.12	0.07	0.12	0.2	0.15
	NH ₄ ⁺	2.99	1.82	1.28	1.22	0.69	1.94	1.48	1.32
	K ⁺	0.10	0.17	0.10	0.10	0.04	0.2	0.12	0.11
	Mg ²⁺	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	Ca ²⁺	0.06	0.11	0.08	0.03	0.01	0.03	0.06	0.04
	Cl ⁻	0.01	0.04	0.13	0.07	0.03	0.14	0.06	0.09
	NO ₃ ⁻	0.19	0.71	1.71	0.99	0.38	1.08	0.68	0.97
	SO ₄ ²⁻	8.31	4.84	2.40	2.55	1.35	4.48	4.05	2.97

表 9 微小粒子における二次生成粒子寄与率

調査期間	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	③~⑦平均値
質量濃度(μg/m ³)	26.9	20.4	17.9	15	7	17.9	15.3	14.6
二次生成粒子*(μg/m ³)	11.5	7.41	5.52	4.83	2.45	7.64	6.27	5.35
寄与率(%)	42.8	36.3	30.8	32.2	35.0	42.7	41.0	36.6

二次生成粒子: NH₄⁺+Cl⁻+NO₃⁻+ SO₄²⁻

寄与率: (二次生成粒子/微小粒子質量濃度) × 100

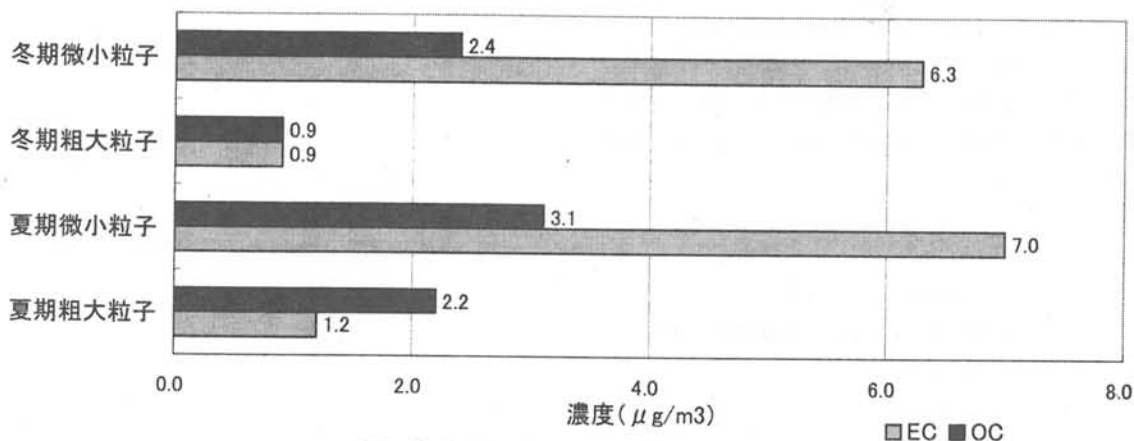


図11 粗大・微小粒子中の炭素成分

表 10 平成 13 年度島田市役所における粗大・微小粒子中の金属イオン濃度 μg/m³

	V	Al	Mn	Cl	Na	Ca	Cu	Br	Ti	Mg
夏期微小	0.0144	0.048	0.002	0.044	0.308	0.071	< 0.001	0.001	0.019	< 0.005
冬期粗大	0.0011	0.308	0.003	0.15	0.269	0.422	0.006	0.002	0.014	0.235
冬期微小	0.0089	0.416	0.008	0.074	0.19	0.139	0.034	0.011	0.05	0.194

表 11 平成 13 年度共同調査における粗大・微小粒子中の金属イオン濃度範囲 μg/m³

		V	Al	Mn	Cl	Na	Ca	Cu	Br	Ti	Mg
夏期微小	MAX	0.0181	0.117	0.018	0.167	0.308	0.201	0.022	0.012	0.048	0.872
夏期微小	MIN	0.005	< 0.008	0.001	0.007	< 0.005	< 0.005	< 0.001	0.001	< 0.002	< 0.005
冬期粗大	MAX	0.0029	0.975	0.026	0.84	0.514	0.892	0.029	0.006	0.101	0.39

二次生成粒子: $\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^- + \text{NO}_3^- + \text{SO}_4^{2-}$

寄与率:

(二次生成粒子 / 微小粒子質量濃度) × 100

3) 金属成分濃度

島田市役所における粒子別金属イオン濃度を表 10 に、島田市役所を含む共同調査全地点での粒子別金属イオン濃度の範囲を表 11 に示す。島田市役所の粗大粒子中に多く含まれる金属イオンは Cl, Na, Ca, Mg, 微小粒子中に多く含まれる金属イオンは V, Al, Mn, Cu, Br, Ti であった。また、共同調査を行った全 19 地点の濃度範囲からみると、島田市役所の V と Cu は上位, Al, Na, Ca, Br, Ti, Mg は中位, Mn, Cl は下位に位置していた。特に島田市役所の微小粒子中 V 濃度は、夏期及び冬期とも全調査地点の上位を占め、夏期では重油燃焼施設に近い東京湾岸の調査地点である千葉の 0.0181 μg/m³, 横須賀の 0.0176 μg/m³ の次に位置し、冬期は全調査地点の最上位に位置していた。V は重油燃焼起源物質であり、島田市役所では重油燃焼の影響がみられることが推察された。

まとめ

- H13 冬期の PM2.5 及び SPM 質量濃度調査の結果, PM2.5 と SPM には正の相関が認められ

島田市役所では 島田 PM2.5 = 0.59 × 島田 SPM + 1.7
 自排藤枝では 藤枝 PM2.5 = 0.64 × 藤枝 SPM + 1.0

の回帰式が得られ、その時の相関係数は島田市役所で 0.925, 自排藤枝で 0.963 であった。

- H14 夏期の PM2.5 及び SPM 質量濃度調査結果では、PM2.5 と SPM には正の相関が認められ

島田市役所では 島田 PM2.5 = 0.62 × 島田 SPM - 0.8
 自排藤枝では 藤枝 PM2.5 = 0.63 × 藤枝 SPM - 6.1

の回帰式が得られ、その時の相関係数は島田市役所で 0.892, 自排藤枝で 0.932 であった。

- H13 島田市役所におけるアンダーセンサンプラによる微小及び粗大粒子の質量濃度調査結果では、微小粒子と粗大+微小粒子には正の相関が認められ、

微小粒子 = 0.709 × 粗大 + 微小粒子 - 0.2

の回帰式が得られ、その時の相関係数は、0.993 であった。

- H13 合同調査による島田市役所の成分調査の結果、水溶性成分のうち、SO₄ が微小粒子に多く含まれていたこと、炭素成分濃度では、燃焼起源の一次粒子と考えられる微小粒子中の EC 濃度が粗大粒子中濃度を上まわり、また、金属成分濃度では、微小粒子中のバナジウム濃度が、夏期及び冬期とも全調査地点の上位を占めていたことがわかった。以上成分調査の結果から、島田市役所の微小粒子は、重油燃焼の影響があることが示唆された。

今後、平成14年度に実施した島田市役所と自排藤枝のアンダーセン捕集による微小粒子中の化学組成成分結果が得られるので、平成13年度分の結果とあわせて解析するとともに、文献で得られるPM2.5の発生源データを精査、検討した上で発生源寄与率の推定を試みる予定である。

文献

- 1) 横山栄二 他：大気中微小粒子の環境・健康影響，(財)日本環境衛生センター，平成12年12月
- 2) Environmental Protection Agency : National Ambient Air Quality Standards for Particulate Matter ; Final Rule, Federal Register Vol.62, No.138, July 1997
- 3) 環境庁大気保全局：大気中微小粒子状物質 (PM2.5) 質量濃度測定方法暫定マニュアル，平成12年9月関東地方環境対策推進本部大気環境部会
- 4) 静岡地方気象台：静岡県の気象概況，平成13年7，8月
- 5) 静岡地方気象台：静岡県の気象概況，平成13年12月，平成14年1月
- 6) 静岡地方気象台：静岡県の気象概況，平成14年7，8月
- 7) 静岡地方気象台：静岡県の気象概況，平成14年12月，平成15年1月
- 8) 関東地方環境対策推進本部大気環境部会：平成13年度浮遊粒子状物質合同調査報告書，平成15年3月

富士地域における大気環境中ベンゼンの負荷要因の推定

大気・水質部 大気・騒音環境スタッフ
技術指導スタッフ

太田良和弘, 永田嘉七, 篠原英二郎
池谷静雄, 前嶋孝明, 鈴木光彰*
三好廣志

Estimation of Emission Sources of Benzene in the Atmosphere in Fuji Area

Kazuhiro OHTARA, Kashichi NAGATA, Eijiro SHINOHARA,
Shizuo IKETANI, Takaaki MAEJIMA, Mitsuaki SUZUKI*
and Hiroshi MIYOSHI

富士地域の一般環境中のベンゼン濃度は、経年的には減少傾向を示しているものの全国的には高い濃度レベルにある。そこで、より詳細な環境濃度を把握するため、当該地域の環境測定地点を4地点に追加し、調査した結果、郊外地域を除き環境基準に近い濃度レベルで推移していた。発生源調査や文献等の基礎資料を活用し、統計的手法により高濃度ベンゼンの負荷要因を推定した結果、モニタリング定点における環境負荷は特定の事業場からの寄与がもっとも大きかった。

Key words : ベンゼン, 因子分析, 有害大気汚染物質, 揮発性有機化合物
Benzene, Factor analysis, Hazardous air pollutants (HAPs), Volatile organic compounds (VOCs)

はじめに

平成9年5月の大気汚染防止法の改正を受け、静岡県では平成10年より県内の有害大気汚染物質の環境濃度モニタリングを継続している。このうち、ベンゼンについては、モニタリング当初は全測点で環境基準を超過していたが、年々減少傾向を示し^{1)~5)}、平成13年度には道路沿道測点を除く一般環境測点全てが環境基準を達成した⁶⁾。

一方、富士市鷹岡地域においては、経年的には減少傾向を示しているものの、全国の一般環境測点間の比較においては汚染度が高い状況にある^{6)~8)}。今回、当該地域のベンゼンの汚染状況の拡がりを把握するため、測定地点を追加し、より詳細な環境濃度の実態把握を行うとともに、因子分析等の統計的手法により高濃度ベンゼン

の負荷要因を推定した⁵⁾。また、発生源調査や道路交通センサス⁹⁾及び文献等の基礎資料を活用し、ベンゼン環境負荷の試算を行った。

調査方法

1 調査期間

1) 環境調査

平成13年4月から平成14年3月(毎月1回)

2) 発生源調査¹⁰⁾

平成13年11月(対象施設の通常稼働日)

2 調査地点

調査地点の概要を図1に示した。

1) 環境調査

- A. 鷹岡公民館(富士市入山瀬; モニタリング定点)
- B. 大淵中学校(富士市大淵; 丘陵部)
- C. 青少年センター(富士市石坂; 東名高速北部)
- D. 吉原第3中学校(富士市比奈; 東名高速南部)

なお、B~Cは、追加調査地点である。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-Ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

*微生物部



図1 調査地点概要

2) 発生源調査¹⁾⁰⁾

- E. E事業場 (富士市厚原; A地点南東1.8km)
- F. F事業場 (富士市天間; A地点北西2.4km)

3 測定項目

1) 環境調査

- ①ベンゼン濃度年間データ (24時間値の12ヶ月分)
- ②大気常時監視データ (ベンゼン採取時間に対応する24個の1時間値の平均値)
- ③ベンゼンと同時定量可能な揮発性有機化合物(以下、「VOCs」という)42物質 (A地点のみ)

2) 発生源調査¹⁾⁰⁾

各事業場のロータリーキルン焼却施設を対象とした。

- ①排出口ベンゼン濃度
- ②排ガス量

4 分析方法

1) 環境調査

キャニスターによる減圧採取法を採用し、操作は有害大気汚染物質測定方法マニュアルに準じた¹⁾¹⁾。分析条件は既報¹⁾²⁾と同様である。

2) 発生源調査

測定孔からテドラーバッグにより直接採取し、水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフヘシリンジにより導入した。操作及び分析条件はJIS K0088排ガス中のベンゼン分析方法¹⁾³⁾に準じた。

結果及び考察

1 環境調査

1) 濃度実態

各測点のベンゼン及び窒素酸化物の年平均値の比較を図2に、ベンゼン経月変化を図3に示した。平成13年度ベンゼン年平均値はA~D測点それぞれ、2.94、1.99、2.89、2.68 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)で全て環境基準を達成していた。ベンゼンの汚染状況は、従来からの一般的な大気汚染状況から、当初図2中のNOx濃度順位のようにD>C>A>Bと推定していた。しかし、実際の濃度順位はA>C>D>Bとモニタリング定点のA測点が最も汚染されていた。濃度状況を経月変化により確認すると、A測点においては、6月及び3月のデータにみられるようにベンゼンに関して特異的に高濃度となる条件が存在することが示唆された。

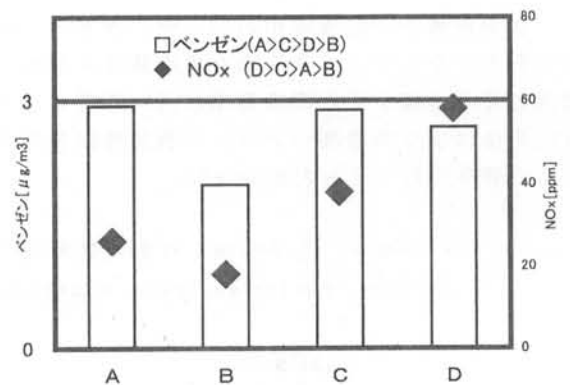


図2 年平均値の比較(H13年度)

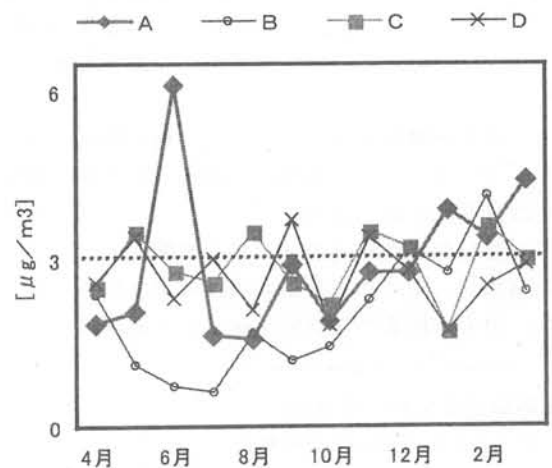


図3 ベンゼン経月変化(H13年度)

2) 汚染源の予測

NOx や SOx のように風向風速と同様に 1 時間値が得られる項目は、汚染風配図を作成することにより汚染源の方向性を把握することが可能である。しかし、データが 24 時間値として得られるベンゼンについては、単純な汚染風配図を作成することができないため、複数のベンゼンのデータとそれに対応する風向データからそれぞれの関係を導くことを試みた。具体的には、ベンゼンの 12 ヶ月分の 24 時間値について、それに対応する 24 時間分の風向データ (16 方位及び静穏) をカウントし、17×12 (204 個) の濃度×風向頻度行列とする。これを行列変換し、ベンゼン濃度の風向別の相関係数を求め、正の相関を黒、負の相関を白抜ききのレーダーチャート (以下、風向別相関分布という) で表した。これらを各測点毎に地図上にプロットしたものを図 4 に示した。これによると、B 測点は近隣を縦断する県道 72 号線の影響を受けており、C 測点は北西方向の直近にある市の清掃工場の影響を受けていることが容易に想定できる。D 測点は周囲に様々な工場が存在することもあり風向別相関分布も複雑で単純な想定は困難である。最も汚染度が高い A 測点は、D 測点ほど複雑ではないが、近隣を縦断する国道 139 号線及びその他の要因が推定され、汚染要因が複数存在することが示唆された。

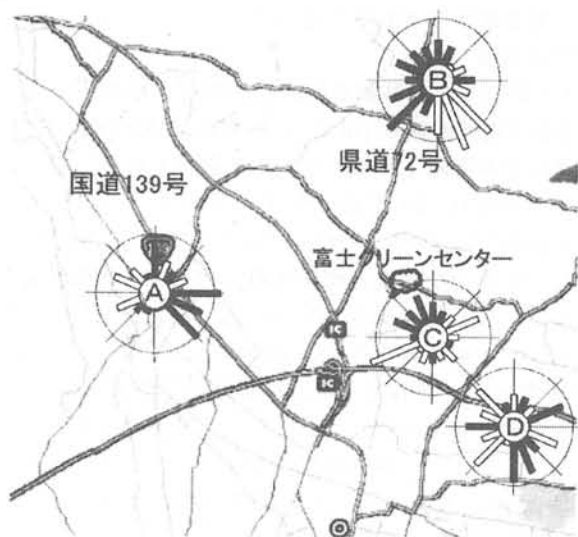


図 4 風向別相関分布 (地点別)

3) 因子分析による解析

A 測点については複数の汚染源が想定され、他測点よりも汚染度が高いため、因子分析により汚染要因を詳細に推定した¹⁴⁾。解析手法は既報⁵⁾と同様で、VOCs16 成

分と大気常時監視 5 項目及び気象要素 3 項目を加えた 24 項目、平成 13 年度年間データ各 12 個、合計 288 データにより行った。各要素の詳細及び因子分析結果は表 1 のとおりである。既報と同様に各要素を特徴付けて分類すると、No. 2~9 までの「自動車要素」は寄与率 24% で第 1 因子に、No. 13~19 までの「事業場要素」が寄与率 18% で第 2 因子、No. 10~12 までの「溶剤要素」が寄与率 16% で第 3 因子に対応することがわかった。これらの因子とベンゼンの関係を実際のフィールド上で検討するため、各因子の代表物質として、それぞれ No. 7 の 4-エチルトルエン (以下、4-ET)、No. 13 のアクリロニトリル (以下、AN)、No. 11 のエチルベンゼン (以下、EB) を選定した。

No.	要素	分類	第1因子	第2因子	第3因子	
1	Benzene	?	0.88	0.11	0.29	
2	NO		0.65	-0.02	0.18	
3	NO2		0.33	0.56	0.08	
4	NOx		0.59	0.32	0.16	
5	1,3-Butadiene	自動車	0.86	0.28	0.22	
6	o-Xylene		0.32	0.15	0.89	
7	4-ET		0.93	0.11	0.09	
8	Trimethylbenzene		0.74	0.13	0.08	
9	Styrene		0.92	-0.12	0.06	
10	Toluene	溶剤	0.44	0.18	0.48	
11	EB		0.06	0.02	0.99	
12	m,p-Xylene		0.27	0.00	0.95	
13	AN	事業場	0.45	0.71	0.03	
14	Dichloromethane		0.46	0.62	0.02	
15	Chloroform		0.20	0.63	0.03	
16	1,2-Dichloroethane		-0.08	0.71	-0.09	
17	Trichloroethylene		0.19	0.16	0.55	
18	Tetrachloroethylene	-0.01	0.15	0.23		
19	SO2		0.01	0.67	0.23	
20	p-Dichlorobenzene	他	0.27	-0.11	0.05	
21	SPM		0.10	0.87	0.07	
22	Wind Speed	気象	0.15	-0.71	-0.04	
23	Temp.		-0.06	-0.17	-0.37	
24	Hum.		0.36	0.28	-0.44	
			寄与率	0.24	0.18	0.16
				自動車	事業場	溶剤

表 1 因子分析結果

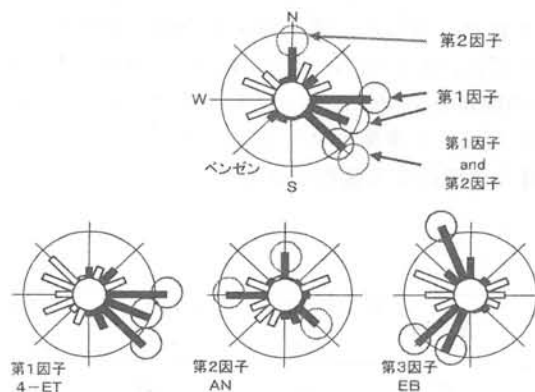


図 5 風向別相関分布 (項目別)

これら3物質についてベンゼンと同様に風向別相関分布を求めた結果を図5に示した。これによると、ベンゼンの汚染寄与は大きく、東方向の自動車要素、北方向の事業場要素、南東方向の自動車要素及び事業場要素に分類できることがわかる。なお、第3因子の「溶剤要素」は、ベンゼンとは直接関連がなかった。

2 発生源調査

A測点周辺で想定されるベンゼンの主な環境負荷と平成13年度年間風配図を図6に示した。

1) 固定発生源

ベンゼンの汚染源方向のうち、北及び南東方向が事業場要素であると仮定された。事業場要素の代表物質として選定したANについては、南東方向にANを多量に使用している事業場が存在するが、この事業場でのベンゼンの排出は確認できなかった。また、PRTR法届出情報を参照しても、A測点周辺でベンゼンを使用している事業場は存在しなかった。そこで、非意図的なベンゼンの排出源として、A測点周辺の北及び南東方向で焼却施設を有する2事業場を想定し、排出量を調査した。調査結果の概要を表2に示した。

ここで、それぞれの事業場から発生するベンゼンの最大到達濃度を(1)式のSuttonの拡散式¹⁵⁾の展開式により見積もると、E事業場より2.2ppb、F事業場より1.1ppb

$$C_{max} = 0.234 \cdot 10^9 K \cdot Q / U \cdot H e^2 \quad \dots\dots (1)$$

ここで、

C_{max} : 地上最大到達濃度 (ppb)

K : 拡散係数

(H_e それぞれ 45m 及び 60m なので $K=0.1$)

Q : 汚染源の排出量 (m³N/sec)

U : 風速 (年間平均風速の $U=2.5$ m/sec とした)

$H e$: 有効煙突高さ (m)

と算出された。さらに、事業場からの最大濃度発生点距離はそれぞれ、0.3~2km、0.2~1.5kmと算出され、A測点からの距離との関係から、E事業場から約2ppb (6.7 μ g/m³)程度、F事業場より1ppb (3.3 μ g/m³)程度の影響を最大で受ける可能性がある。ベンゼンの環境基準

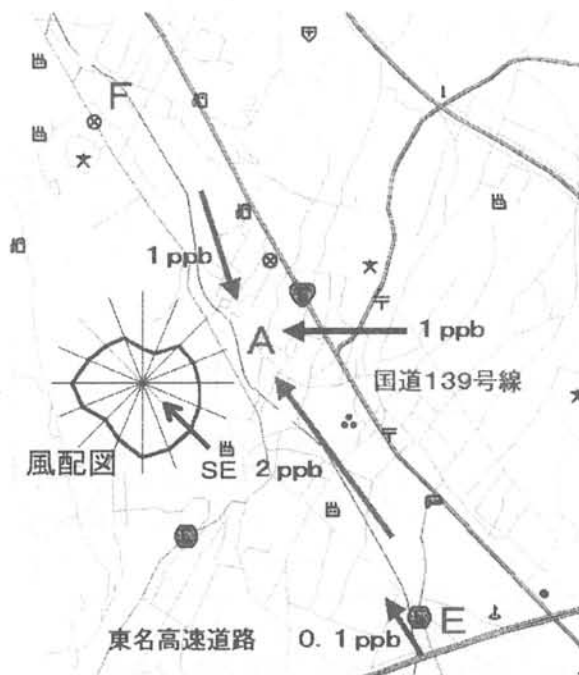


図6 A測点周辺の環境負荷と風配図

が3 μ g/m³ (約0.9ppb)であることから、これらの事業場からの環境負荷は無視できないものである。また、図3中でベンゼンが特異的に高濃度になった6月及び3月の調査時の主風向は、それぞれ南東と北西であり、この推定結果を指示するものであった。

2) 移動発生源

A測点周辺の主な移動発生源は、南北に縦断する国道139号線 (直線距離0.25km)と、東西に横断する東名高速道路 (直線距離1.8km)で、これらの1日当たりの交通量はそれぞれ、28千台、58千台である⁹⁾。桜井らのトンネル調査¹⁶⁾よりベンゼンの排出係数8.2 (mg/台/km)を用い、前述の交通量と直線距離に相当する区間分を算出すると、移動発生源のベンゼン発生量は国道139号線が57g/day、東名高速道路が856g/dayとなる。さらに、SLAB拡散モデルを採用した「静岡県緊急時有害大気汚染物質情報システム」により、これらの移動発生源からA測点までのベンゼン最大拡散濃度を求める¹⁷⁾と、それぞれ最大3 μ g/m³及び0.3 μ g/m³と見積もられた。なお、

表2 発生源調査結果

事業場	煙突高さ H (m)	有効煙突高 H _e (m)	乾き排ガス量 m ³ N/h	ベンゼン濃度		ベンゼン排出量	
				(ppm)	mg/m ³ N	g/h	kg/day
E	30	60	17100	182	634	10800	260
F	44	46	6050	148	516	3110	75

計算における気象パラメータとして、風速 2.5m/s, 気温 20°C, 湿度 50%, 大気安定度 D (安定) を採用した。

3) 環境負荷

A 測点のベンゼンに関する大気環境負荷を判定すると、北西から北の有風時には、主に F 事業場の環境負荷により環境基準前後の濃度状況となる。また、北から東の有風時には、主に国道 139 号の環境負荷により環境基準前後の濃度状況となる。さらに、南東の有風時には、主に E 事業場の環境負荷により環境基準を越える濃度状況となる。東名高速道路の環境負荷は比較小さく、無視できるものと考えられる。図 6 より年間を通じた風の状況と併せて考えると、南東方向が最も着目すべき環境負荷であると考えられた。

まとめ

富士地域における大気環境中ベンゼンの負荷要因の検討を行った結果、以下のことがわかった。

- 1) 富士地域の大気環境中ベンゼンの濃度実態は、広範囲で環境基準を達成していた。しかし、郊外の丘陵地域をのぞき、環境基準に近い濃度レベルを示しており、継続モニタリングの必要性が示唆される。
- 2) モニタリング定点の鷹岡地区は、他地区とくらべて濃度レベルが高く、特異的に高濃度となる条件が存在した。
- 3) 鷹岡地区の主なベンゼン環境負荷は、北方向と南東方向の事業場及び国道 139 号であり、中でも南東方向の事業場の環境負荷が最も大きく見積もられた。

今回、富士地域の主要な住宅地域について濃度状況の把握を行ったが、より多くの工場が隣立している工業地域では、環境負荷も複雑多岐にわたり、より高いベンゼンの濃度実態が想定される。今後は、環境基準超過のおそれがある地区での継続モニタリングと、新たな地区の濃度実態の把握に努めていきたい。

謝辞

この研究を実施するにあたり富士市環境保全課より貴重なデータを提供いただいた。また、解析を行うにあたり、青森県環境保健センターの早狩 進氏作成のソフトウェアを活用させていただいた。ここに、深謝の意を表します。

文献

- 1) 田端孝光 他：静岡県内の有害大気汚染物質調査 -1,3-ブタジエンとベンゼンについて-，静岡県環境衛生科学研究所報告，39, 161-163, (1996)
- 2) 田端孝光 他：静岡県内の有害大気汚染物質調査 -揮発性有機化合物 (VOCs) について-，静岡県環境衛生科学研究所報告，40, 99-102 (1997)
- 3) 田端孝光 他：静岡県内の有害大気汚染物質調査 -優先取組物質 (18 物質) の状況について-，静岡県環境衛生科学研究所報告，41, 85-89 (1998)
- 4) 太田良和弘 他：静岡県内の有害大気汚染物質調査 -優先取組物質 (19 物質) の状況について-，静岡県環境衛生科学研究所報告，42, 129-133 (1999)
- 5) 太田良和弘 他：静岡県内の有害大気汚染物質調査，静岡県環境衛生科学研究所報告，43, 73-79 (2000)
- 6) 大気保全局大気規制課：平成 13 年度有害大気汚染物質モニタリング調査結果について (平成 14 年 10 月)
- 7) 大気保全局大気規制課：平成 11 年度有害大気汚染物質モニタリング調査結果について (平成 12 年 8 月)
- 8) 大気保全局大気規制課：平成 12 年度有害大気汚染物質モニタリング調査結果について (平成 13 年 10 月)
- 9) 静岡県土木部道路企画課：平成 11 年度道路交通センサス報告書 (一般環境調査 調査編) 平成 12 年 10 月
- 10) 静岡県環境衛生科学研究所：平成 13 年度富士地域における排出量実態調査 (委託業務結果報告書) 平成 13 年 2 月
- 11) 環境庁：有害大気汚染物質測定方法マニュアル，平成 9 年 2 月制定，平成 9 年 8 月，平成 10 年 3 月，平成 11 年 3 月改訂
- 12) 太田良和弘 他：大気中揮発性有機化合物の測定方法の検討，静岡県環境衛生科学研究所報告，42, 5-10 (1999)
- 13) JIS K0088 「排ガス中のベンゼン分析方法」(1983)
- 14) 田中 豊 他：統計解析ハンドブック多変量解析，共立出版，東京 (1995)
- 15) 森口 實 他：環境汚染と気象 - 大気環境アセスメントの技術 -，朝倉書店，東京 (1990)
- 16) 桜井健郎 他：高速道路トンネル交通車輛からの起源揮発性有機化合物の排出係数，大気環境学会誌，37, 47-74 (2002)
- 17) 静岡県環境部生活環境課：緊急時情報マニュアル (平成 11 年 3 月)

一般環境臭気の低濃度臭気指数測定法について

大気・水質部 大気騒音環境スタッフ 永田嘉七,池谷静雄,前嶋孝明

Study of Measurement Method of Low Concentration Odor Index in Ambient Environmental Air

Kashichi NAGATA, Shizuo IKETANI and Takaaki MAEJIMA

一般環境の臭気を測定する方法は、東京都で開発され、環境省の策定したにおい環境指針の臭気環境目標に定められた測定法に採用されている低濃度臭気指数測定法がある。この方法は、臭気指数 10 未満の低濃度の臭気を測定する方法であるが、一部の臭気質について測定は不十分と考えられていた。そのため、平成 13 年度、静岡県は環境省の委託を受けて低濃度臭気指数測定法の実用性、汎用性を備える方法の検討を実施し、最新の活性炭吸着剤を用いた試料捕集管を試作し検討を行った。この試料捕集管は、塗装工場臭気及び自動車排出ガス臭気に良好な回収率であったが、魚腸骨処理場臭気及びパルプ工場臭気には、不十分の回収率であった。

Key words : 低濃度臭気指数測定法

Measurement method of low concentration odor index

はじめに

近年、生活環境における快適性を求める傾向がますます強くなりにおいについても、それを構成する 1 つの要素として注目されるようになってきた。そこで環境省は、平成 12 年 6 月、「におい環境指針」を策定した。

その指針における目標の 1 つである「臭気環境目標」については定量的目標とされ、地域別の状況を表す参考数値が示されている。また、一般環境の臭気を測定する方法として低濃度臭気指数測定法が示されている。

一般環境の臭気は、概ね臭気指数 10 以下であり、公定法の嗅覚測定法では測定は不向きであった。そのため、24 時間かけて空気（臭気）を試料捕集管に吸引・濃縮し、その脱着した濃厚臭気を嗅覚測定法で測定する低濃度臭気指数測定法が東京都により開発された。¹⁾

この方法は、大都市などの自動車排ガス臭気为主と考えられる臭気には、一定の成果が得られているものの、他の低分子の硫黄や窒素化合物の臭気には十分と言えない

状況であった。

今回、最新の実験資材の知見を考慮し、実用性、汎用性を備える低濃度臭気指数測定法の検討を目的として、同法の試料捕集管に用いる吸着剤の検討を行い、試作した試料捕集管に実臭気を対象とした添加回収試験を行い低濃度臭気指数測定法の試料捕集管の検討を行ったので報告する。

調査方法

1 調査期間

2001 年 10 月～2002 年 3 月

2 測定法検討

(1) 適切なパラメーターの検討

臭気の吸着に最も影響すると思われる吸着剤を選定するための検討

①測定方法

ア 主な使用機器及び資材

ア) ガスクロマトグラフ (FID, FPD) 島津製 GC15A

イ) 試験用試料捕集管

この試験を実施するため、図 1 の試験用試料捕集管を作成し、それにウ) に示す吸着剤 0.4 g をつめて試験に使用した。

静岡県環境衛生科学研究所

(〒420-8637, 静岡市北安東 4-27-2)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene

(4-27-2, Kita-ando, Shizuoka, 420-8637, Japan)

ウ) 吸着剤

今回の試験に用いた 8 種類の活性炭系吸着剤^{2) 3)} (シグマアルドリッチ社製) は表 1 のとおり

表 1 試験に用いた吸着剤の一覧

種類	名称 (メッシュ)
1	Carbotrap C (20/40)
2	GCB Carbotrap B (20/40)
3	(注 1) Carbotrap X (20/40)
4	Carboxen-563 (20/45)
5	Carboxen-564 (20/45)
6	CMS Carboxen-569 (20/45)
7	(注 2) Carboxen-1,000 (60/80)
8	CarbosieveSIII (60/80)

(注 1) GCB (グラファイトカーボンブラック)

(注 2) CMS (カーボンモレキュラーシーブ)

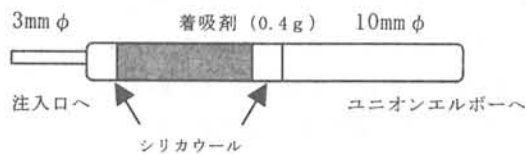


図 1 試験用試料捕集管

エ) 電気炉

オ) 標準ガス

硫化水素 (91ppm 窒素ベース) 住友精化 10L ボンベ
 トリメチルアミン (112ppm 窒素ベース) 住友精化 10L
 トルエン (105ppm 窒素ベース) 住友精化 10L ボンベ
 イ) 分析方法

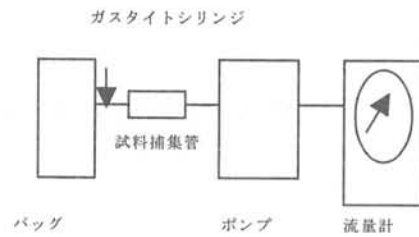
ア) 添加回収試験

臭気の濃縮に関わる最大のパラメーターは、吸着剤である。そこで、良好な吸・脱着剤の選定のため、代表的臭気として、硫化水素ガス、トリメチルアミンガス及びトルエンガスを用い、図 2 のとおり試験用試料捕集管に、一定量添加、吸着させ、さらに吸着せず残留している臭気を除去するため高純度空気 5L を流した後、窒素ガスを用いて 100ml/分の流速で、200℃ (または 240℃) 5 分間 (ガスクロのオープン中) で 2L バッグに脱着し、そのガス濃度をガスクロマトグラフで測定し、前後の絶対量を比較することによって、回収率を算出した。

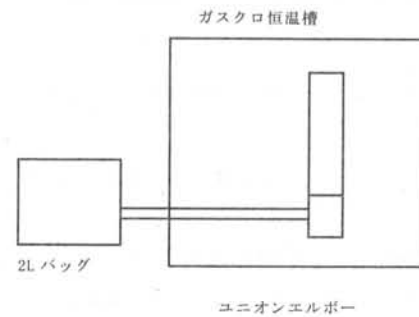
なお、脱着温度を 200℃ と 240℃ に設定したのは、使用するテフロン管などの耐熱温度が 260℃ であり、それ以上の温度では分解してフッ化水素などを生ずるためである。

硫化水素、トリメチルアミン及びトルエンのガスクロマトグラフ分析方法は表 2 にまとめて示す。

(標準ガス添加、吸着方法)



(窒素ガスによる脱着方法)



(ガスクロ分析方法/前処理)

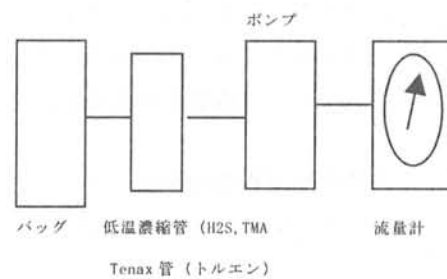


図 2 添加回収試験の方法

(2) 模擬環境臭気を用いた低濃度臭気指数測定法の検討

① 測定方法

ア) 主な使用機器及び資材

ア) ガスクロマトグラフ恒温槽 (株島津製作所製 GC 15A)

イ) 試料捕集管 (試料吸着管)

この試験を実施するため、図 3 のように試料捕集管を設計作成し、それに表 3 のように吸着剤を 4g ずつ 3 層に詰めて試験に使用した。

表 3 試料捕集管一覧

捕集管 No	A 吸着剤	B 吸着剤	C 吸着剤
No. 1	Carboxen-1000	Carbotrap X	Carbotrap B
No. 2	Carboxen-563	Carbotrap X	Carbotrap B
No. 3	Carbotrap X	Carbotrap B	Carbotrap C

表 2 ガスクロマトグラフ分析条件

測定物質	硫化水素	トリメチルアミン	トルエン
検出器	FPD	FID	FID
カラム	3mmφ×3mバックドカラム：β・β-オキシジプロピオニトリル 25%	3mmφ×3mバックドカラム：ジグリセロール 15%、テトラエチレンペンタミン 15%、KOH2%	3mmφ×3m バックドカラム：Sp1200+Bentone34
キャリアガス	窒素ガス：流量 40ml/分	窒素ガス：流量 40ml/分	窒素ガス：流量 40ml/分
カラム温度	70℃	60℃	110℃
注入口温度	130℃	115℃	165℃
検出器温度	130℃	130℃	180℃
空気圧	0.5kg/cm ²	0.5kg/cm ²	0.5kg/cm ²
水素圧	0.6 kg/cm ²	0.6 kg/cm ²	0.6 kg/cm ²
ガスクロ導入方法	低温濃縮管をフレッシュサンプラーで過熱導入	低温濃縮管をフレッシュサンプラーで過熱導入	テナックス管をフレッシュサンプラーで加熱導入

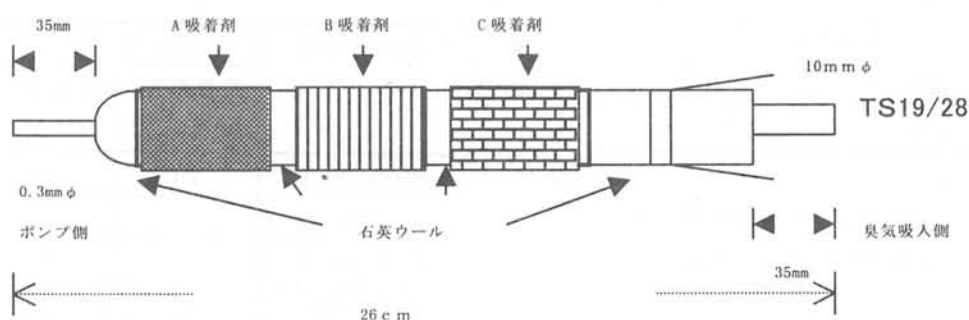


図 3 試料捕集管

ウ) 模擬環境臭気の作成と検討方法

表 4 に示す 4 種類の代表的臭気(原臭)を 500L のバッグに適切な濃度になるように希釈し模擬環境臭気を作成した。それを表 3 の 3 種類の試料捕集管に吸着させ、240℃で窒素ガスにより脱着を行い、2L バッグに捕集した。この脱着臭気の臭気濃度を算出し、注入量との比

較により回収率を求めた。

模擬環境臭気の臭気濃度は、5 程度となるよう計画した。

エ) 臭気指数の測定方法

低濃度臭気指数測定法に準じて測定した。

表 4 模擬環境臭気の種類等 (概要)

模擬臭気	臭気の種類	採取場所	原臭の臭気濃度 (臭気指数)	臭気の構成物質
A	塗装臭	吹きつけ塗装施設内	880 (29)	トルエン等有機溶剤系
B	魚腸骨処理場臭	乾燥機・クッカー付近	980 (30)	トリメチルアミン等窒素系
C	クラフトパルプ臭	ヤンソンスクリーン付近	23,000 (44)	硫化水素等硫黄系
D	ディーゼル排気ガス臭気	大型バス排気口出口	7,400 (39)	炭化水素系

調査結果及び考察

1 適切なパラメーターの検討結果

臭気の濃縮に関する最大のパラメーターは吸着剤であり、8種類の吸着剤を詰めた試験用試料捕集管に硫化水素、トリメチルアミン、トルエンを添加、吸着させ、脱着温度を変えて脱着し、回収率を算定した。

1) 硫化水素の添加回収試験結果

表5のとおり。

表5 硫化水素の添加回収試験結果

種類	吸着剤の名称	回収率 (%)	
		脱着温度 200℃	脱着温度 240℃
GCB	Carbotrap C	0	0
	Carbotrap B	0	0
	Carbotrap X	0	0
CMS	Carboxen-563	89	920
	Carboxen-564	0	102
	Carboxen-569	0	75
	Carboxen-1000	0	0
	CarbosieveSIII	0	0

今回使用した8種類の吸着剤では良好な結果が得られなかった。GCBは、200℃及び240℃では吸着したまま脱着しないものと思われる。

また、CMSは240℃でも、吸着したまま脱着しないと思われるが、5種類のCMSの内、特にCarboxen-563、Carboxen-564では、吸着させた以上の硫化水素が検出されたことより、吸着剤に含まれていた不純物の硫化水素が大量に脱着されたものと考えられる。

なお、この試験用試料採取管は、350℃で1昼夜窒素ガスを通しエージングしたものを使用したが、これらの吸着剤には多量に不純物が含まれていることが考えられ、吸着剤のエージングは長時間行わなければならないと結論づけられた。

2) トリメチルアミン (TMA) の添加回収試験結果

表6のとおり。

表6 トリメチルアミンの添加回収試験結果

種類	吸着剤の名称	回収率 (%)	
		TMA	TMA + 分解物
GCB	Carbotrap C	—	—
	Carbotrap B	—	—
	Carbotrap X	18	41
	Carboxen-563	13	15
	Carboxen-564	25	42

CMS	Carboxen-569	23	44
	Carboxen-1000	25	51
	CarbosieveSIII	27	52

TMAは、高温で分解されやすく、文献⁴⁾によれば一部分はジメチルニトロソアミンに分解するとされている。回収率の欄のTMAは、分解されずに残ったTMAを、「TMA+分解物」はTMAと分解物の和を示す。

TMAは、CMSのCarboxen-564以下の吸着剤で、25%前後回収され、分解物も含むと約50%回収された。

また、TMAを高純度空気を満たした2Lバッグに注入し、1時間程度放置すると、約7割回収され3割は不明となることが判明した。このことより、TMAは、バッグの樹脂に対して吸着することなどによって失われることがあることを考慮する必要があると考えられる。

3) トルエンの添加回収試験結果

表7のとおり。

表7 トルエンの添加回収試験結果

種類	吸着剤の名称	回収率 (%)	
		脱着温度 200℃	脱着温度 240℃
GCB	Carbotrap・C	39	65
	Carbotrap B	51	62
	Carbotrap X	51	80
CMS	Carboxen-563	47	83
	Carboxen-564	23	実施せず
	Carboxen-569	24	実施せず
	Carboxen-1000	28	83
	CarbosieveSIII	11	実施せず

脱着温度が200℃で行った実験結果から、200℃では温度が低いため、吸着剤より十分に脱着されないと考えられる。

一方、脱着温度が240℃になれば、回収率80%以上で脱着は良好に行われると考えられる結果が得られた。

以上の試験結果より、模擬環境臭気を用いた低濃度臭気指数測定法の検討で用いる吸着剤については、CarbotrapC、CarbotrapB、CarbotrapX、Carboxen-563、Carboxen-1000といった5種類の吸着剤を選択することとし、表3の試料捕集管一覧に示した3種類の試料捕集管を作成することとした。

また、脱着条件については、温度240℃、流量100ml/分で行うこととし、脱着させたガスは2Lバッグで捕集することとした。

2 模擬環境臭気を用いた低濃度臭気指数測定法の検討結果

1) 模擬環境臭気A（塗装工場臭気）の添加回収試験結果

結果は、表8のとおり。

なお、回収率は添加した臭気の体積と脱着後の臭気の体積が等しいため、臭気濃度で算出している。

表8 模擬環境臭気A（塗装工場臭気）の回収率

捕集管の種類	臭気濃度		臭気指数		回収率 (%)
		平均値		平均値	
NO 1	1-1	740	650	29	74
	1-2	550		27	
NO 2	2-1	1300	930	31	106
	2-2	550		27	
NO 3	3-1	740	650	29	74
	3-2	550		27	
原臭		980	880	30	29
		780		29	

2) 模擬環境臭気B（魚腸骨処理場臭気）の添加回収試験結果

結果は、表9のとおり。

なお、回収率は添加した臭気の体積と脱着後の臭気の体積が等しいため、臭気濃度で算出している。

表9 模擬環境臭気B（魚腸骨処理場臭気）の回収率

捕集管の種類	臭気濃度		臭気指数		回収率 (%)
		平均値		平均値	
NO 1	1-1	170	200	22	20
	1-2	230		24	
NO 2	2-1	420	480	26	49
	2-2	540		27	
NO 3	3-1	550	650	27	66
	3-2	740		29	
原臭		980	980	30	30
		980		30	

3) 模擬環境臭気C（クラフトパルプ工場臭気）の添加回収試験結果

表10のとおり

回収率は、臭気量より算出した。原臭の添加量は1L、脱着したバッグのガス量は2Lである。

表10 環境臭気C（クラフトパルプ工場臭気）の回収率

捕集管の種類	臭気濃度			臭気指数		回収率 (%)
		平均値	臭気量 注3)		平均値	
1	1-1	230	270	540	22	23
	1-2	310			24	
2	2-1	550	430	860	26	27
	2-2	310			27	
3	3-1	550	430	860	27	28
	3-2	310			29	
原臭		23000	23000	23000	44	44
		23000			44	

注3) 臭気量とは（臭気濃度）×（容量L）である。

4) 模擬環境臭気D（ディーゼル排ガス臭気）の添加回収試験結果

結果は、表11のとおり。

なお、回収率は添加した臭気の体積と脱着後の臭気の体積が等しいため、臭気濃度で算出している。

表11 模擬環境臭気D（ディーゼル排ガス臭気）の回収率

捕集管の種類	臭気濃度		臭気指数		回収率 (%)
		平均値		平均値	
NO 1	1-1	1300	1000	31	30
	1-2	740		29	
NO 2	2-1	980	1100	30	31
	2-2	1300		31	
NO 3	3-1	740	650	29	28
	3-2	550		27	
原臭		1700	1300	32	31
		980		31	

塗装工場臭気については、すべての試料捕集管でよい回収率（70%以上）が得られた。また、塗装工場臭気と臭気成分が類似と考えられたディーゼル排ガス臭気（成分として炭化水素系物質が中心）では、No. 1, No. 2 の試料捕集管では良好な回収率であったが、No. 3 の試料捕集管は、これらと比べて低い値であった。

また、クラフトパルプ工場臭気は、すべての試料捕集管で回収率が5%未満で良好な結果が得られなかった。

また、魚腸骨処理場臭気は、No. 3 の試料捕集管では良い回収率であったが、No. 1, No. 2 の試料捕集管は、これと比べて低い値であった。

現行の測定法では、一部の臭気を良好に測定できない

といった問題があるが、今日では、現行の測定法で使用する吸着剤よりも改良されたものが製造されるようになってきている。今回の検討では、GCBやCMSといった、最新の吸着特性に優れた吸着剤を用いることにより、その改良を試みたものである。

今回行った調査の結果は、決して満足できるものではないが、今回作成した試料捕集管の中ではNo. 1の捕集管が、都市部の一般大気環境の主要な発生源と考えられる自動車排ガス臭気の最も良い回収率を示したことから、No. 1の捕集管で使用した吸着剤の選択及びその組み合わせが最もが適当であったと考えられる。

なお、実用的で汎用性の高い低濃度臭気指数測定法を確立するためには、低沸点から中沸点のにおい物質を、また、極性のあるにおい物質から極性のないものまで一度に吸着し、かつ、良好に脱着できる吸着剤が必要であると考えられ、そのような吸着剤の開発が待たれる。

まとめ

低濃度臭気指数測定法のパラメータの中で特に重要と思われる吸着剤を8種類のGCBとCMSに絞り、3種類の標準ガスを用いて、脱着温度等の基礎的検討を行い、その結果をもとに、5種類の吸着剤を使用した3種類の新規の試料捕集管を作成した。

その3種類の試料捕集管を用いた4種の模擬環境臭気の添加回収試験の結果、3種類の試料捕集管の中では、都市部の主要な発生源と考えられる自動車排ガス臭気に最も良い回収率を示したこと等より、Carboxen-1000, CarbotrapX, CarbotrapBを使用した捕集管がもっとも適当であるという結論が得られた。

しかし、今回作成した試料捕集管では実用的で汎用性が高いとまでは言い難く、より実用的で汎用性の高い低濃度臭気指数測定法を確立するには、広範なおい物質を良好に吸着し、かつ、容易に脱着できる吸着剤の開発が必要であると考えられる。

文献

- 1) 辰市祐久他：一般環境臭気の臭気濃度測定法の検討，東京都環境科学研究所年報 1992, 9-14 (1992)
- 2) Jamie Brown et al.: A tool for selecting an adsorbent for Thermal Desorption Applications. Final Resaearch Report A98jlb051501 SUPELCO (2001)
- 3) 有害大気汚染物質測定の実際編集委員会：有害大気汚染物質測定の実際. 107-140 (1998)
- 4) 環境省環境科学物質研究会：環境科学物質要覧, 322 (1988)

閉鎖性水域における汚濁物質の蓄積解明 —硝酸性窒素で汚染された水の処理に伴うプランクトン相の回復 に関する研究—

西部支所 中島 二夫, 上野 千恵, 志村 修

Survey on Contaminant Accumulation in Closed Water Area
-Study on Plankton Restoration by Water Treatment Plant for
Nitrate-Nitrogen Contaminated Pond-

Tsugio NAKAJIMA, Chie UENO and Osamu SIMURA

1998年から2001年にかけて国立環境研究所と共同で県西部地域の地下水および貯め池を調査した。その結果、大半の地下水および貯め池は硝酸性窒素で汚染され、酸性化していることが明らかになった。新たに2002年に、(独)野菜茶業研究所、新日鐵化学(株)、県茶業試験場の3機関が硝酸性窒素で汚染された県内の2つの貯め池(T池およびK町人工貯め池)に、硫黄酸化脱窒細菌を用いた硝酸性窒素処理装置を設置して水質改善を行っている。西部支所は、この2つの貯め池が生物の生息可能な水質に達しているかを確認するとともにプランクトンの調査を行った。その結果、K町の人工貯め池の硝酸性窒素に改善の傾向が認められた。さらに、この2つの貯め池で夏から秋に、少量のプランクトンの生存が確認された。また、室内実験で硫黄酸化脱窒細菌の活性はpH8付近で最も高いこと及びカキ殻が酸性の流入水の中和に有効であることが明らかになった。

Key words: 硝酸性窒素, 貯め池, プランクトン, 硫黄酸化脱窒細菌
Nitrate-nitrogen, Pond, Plankton, Thiobacillus denitrificans

はじめに

実験方法

硝酸性窒素による地下水および湖沼の汚染が問題になっており、なかでも高濃度の硝酸性窒素を含む湖沼は、魚やプランクトン等の生物が生存できない水質¹⁾になっている。西部支所は、新たに(独)野菜茶業研究所など3機関が硝酸性窒素処理装置²⁾を設置した貯め池の水質が生物の生育可能な水質に再生しているかを調査するとともにプランクトンの調査を行い処理機能の確認を行う。

1 処理機能の確認

処理装置により貯め池の水質が、プランクトン等の生物が生育可能なpH6.5~8.5³⁾、硫酸30mg/l以下⁴⁾、硝酸性窒素10mg/l以下⁵⁾に達しているかを測定するとともに、処理装置を設置した池のプランクトンの種類と量を測定して処理機能の確認を行った。そのための分析項目および分析方法を表1に示す。

2 硫黄酸化脱窒細菌の活性とpH

硫黄酸化脱窒細菌^{7), 8)}の活性が高いpH領域(最適pH)を明らかにした。試験水に、T池右岸の酸性流入水(pH5.01)を使用し、pH4の溶液は、流入水に0.005mol/lの硫酸溶液を滴下して調整した。また、pH5の溶液は流入

静岡県環境衛生科学研究所 西部支所
(〒430-0915, 静岡県浜松市東田町87)

Shizuoka Institute of Environment and Hygiene
Western Branch Office

(87, Higasitamati, Hamamatsu, 430-0915, Japan)

表1 分析方法

項目	分析方 法
pH	ガラス電極法
EC	電気伝導度計
DO	ウインクラ-アジ化ナトリウム変法
N03	銅・カドミカラム還元 N-1 ナフチルエチレンジアミン吸光光度法
S04	上水試験法 比濁法 (塩化バリウム法)
P04	モリブデン青 (アスコルビン酸還元) 吸光光度法
Ca	フレイム原子吸光法
Mg	フレイム原子吸光法
水温	水温計
プランクトン	顕微鏡による目視

水をそのまま用い、pH6、pH7、pH8の各溶液は流入水にカキ殻を加えて攪拌し、所定のpHに調整した。pH9、pH10、pH11の溶液は、カキ殻でpH8に達した溶液に、炭酸カルシウムの飽和溶液を滴下して所定のpHに調整した。所定のpHに調整した各溶液100mlを各々300ml容コニカルビーカーにとり、それぞれに硫酸酸化脱窒細菌^{9)、10)}を付着培養したS/C材(硫黄と炭酸カルシウムの混合物)³⁾50gを添加し、時計皿で蓋をして20°Cの恒温恒湿室に静置した。S/C資材添加後から24時間ごとに各溶液0.5~1.0mlを採水して、硝酸性窒素濃度を測定した。なお、同時にpHを測定した。

3 カキ殻による中和効果の測定

本年度は、実験室内で、pH矯正のためのカキ殻の必要量、消耗量、粒度、原水との接触時間等を明らかにした。カキ殻は水道水で洗浄して付着物を除き、約1日間風乾後、120°Cで4時間乾燥し、放冷して使用した。10gの原型のカキ殻と100mgの粉碎したカキ殻をそれぞれ300ml容コニカルビーカーにとり、各々にT池右岸の酸性流入水(pH5.01)100mlに加え、スターラーで攪拌し、pHの変化を測定した。

結果および考察

1 処理機能の確認など

1) 処理効率

処理施設と処理能に関する件は、「新日鐵化学株式会社 総合研究所他：環境省-平成14年度環境技術開発等推進事業『農業生産に起因する公共水域下での硝酸性窒素汚染地下水、河川及び湖沼の環境回復及び修復技術の開発』H14年度事業進捗報告資料平成14年10月(2002)」から引用した。資料から、pH6.6~7.2の流入水を処理したT池の施設³⁾は、最初、処理水量3t/日で開始し、90%以

上の処理効率⁴⁾を得た。その後、処理水量を9t/日まで増やし、60%~90%の処理効率⁴⁾を得た。しかし、pH4.2~4.9の水を処理したK町人口貯め池の施設³⁾の処理効率⁴⁾は、当初80%であったが、以後30%~50%になった。

2) 流入原水のpH

2つの施設の処理効率^{3)、4)}を比較したところ、T池が高く、K町が低い傾向が認められた。2つの施設への流入水のpHを図1に示す。処理効率が高いT池の処理施設への流入水のpHは、中性付近のpH6.6~7.2であり、処理効率が低いK町の処理施設への流入水のpHは、酸性のpH4.2~4.9であった。このことから、pHが処理効率を左右する重要なファクターであると推定された。

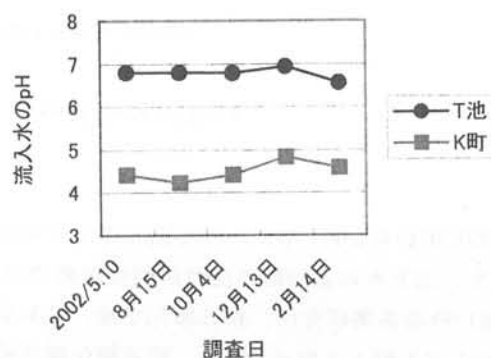


図1 処理施設流入水のpH

3) 処理水のpH

脱窒装置の処理水のpHを図2に、処理前および処理後のカルシウム(Ca)濃度を図3に示す。これらの調査結果から、T池の処理後のCa濃度(31.8~63.5 Ca mg/l)は、処理前(19.3~30.0 Ca mg/l)に比べ高くなっていたが、処理後のpHは、pH6.6~6.8であり、処理前(pH6.6~7.2)と同様の中性付近に保たれていた。これに対し、K町人工貯め池の処理後のCa濃度(39.5~76.0 Ca mg/l)は、処理前(21.7~31.0 Ca mg/l)に比べ高く、同様に処理後のpH(5.8~6.8)も処理前(pH4.2~4.9)より高くなっていた。すなわち、処理効率が高いT池の施設では、脱窒菌の活性が高いため硫酸の生成(図4:理論反応式¹¹⁾)量が多く、これとS/C材に含まれる炭酸カルシウム³⁾との反応により中性付近に保たれていたと推定された。これに対し、処理効率が低いK町の人工貯め池の施設では、脱窒菌の活性が低いため硫酸の生成量が少なく、一方で水質が酸性のためS/C材に含まれる炭酸カルシウムの溶解が高まったので、pHが上昇したと推定された。

なお、この理論反応式¹¹⁾におけるC₆H₇O₂Nは、反応に伴う生物量の増加を示す経験的化学式をあらわす。

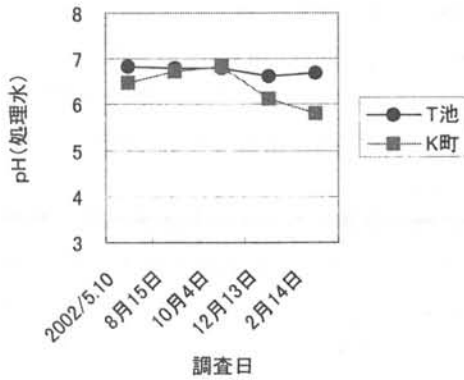


図2 処理水のpH

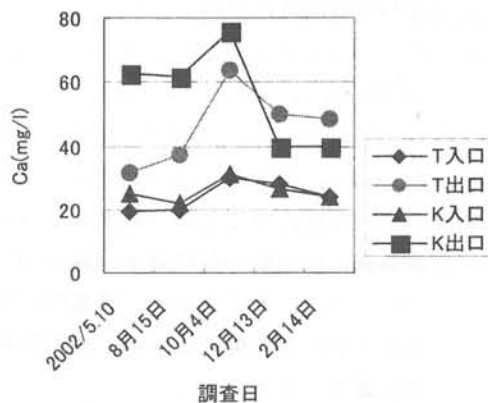
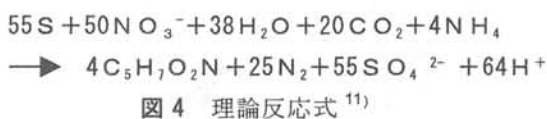


図3 処理前と処理後のCa濃度



4) プランクトン

貯め池のプランクトンの調査結果を表2に示す。調査を開始した2002年5月には、2つの貯め池で、プランクトンの生存は確認できなかった。しかし、8月には藍藻類の *Microcystis aeruginosa* が確認され、10月にはT池で藍藻類の *Microcystis aeruginosa*、K町人工池で緑藻類の *Gloeocystis gigas* が確認された。12月と2003年2月にはT池で藍藻類の *Microcystis aeruginosa* が確認されたが、K町人工池ではいずれの調査月もプランクトンは確認できなかった。これまで当所が調査した水道水等に利用されている松川湖¹²⁾のプランクトン数(9,111~110,320 N*1000/l)と比較すると、2つの貯め池のプランクトン量(19~680 N*1000/l)は、極めて僅かであった。また、pHが水質環境基準(pH6.5~8.5)内のT池(pH6.6~7.2)では、5月を除き、他のいずれの調査月もプランクトンが確認されたが、pHが水質環境基準外のK町人工ため池(pH4.2~4.6)では、8月と10月に極少

量のプランクトンが確認されたが、他の月は確認されなかった。

表2 プランクトンの生息状況

調査月	貯め池	属科	群体数等
N*1000/l			
2002年			
5月	T池		生存確認されず
	K町人工池		生存確認されず
8月	T池	<i>Microcystis aeruginosa</i>	45
	K町人工池	<i>Microcystis aeruginosa</i>	19
10月	T池	<i>Microcystis aeruginosa</i>	680
	K町人工池	<i>Gloeocystis gigas</i>	272
12月	T池	<i>Microcystis aeruginosa</i>	355
	K町人工池		生存確認されず
2003年			
2月	T池	<i>Microcystis aeruginosa</i>	346
	K町人工池		生存確認されず

なお、N/lは1l中に含まれるプランクトンの群体数や固体数である。

5) 貯め池の水質の推移

プランクトン等の生物の生息に影響を及ぼすpH、硝酸性窒素、硫酸、リン酸態リンの推移をそれぞれ図5、図6、図7および表3に示す。

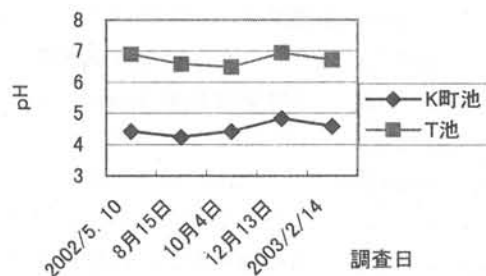


図5 貯め池のpHの推移

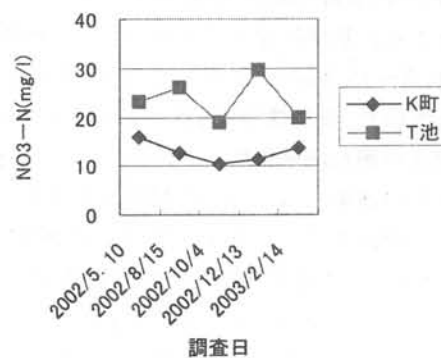


図6 貯め池の硝酸性窒素濃度の推移

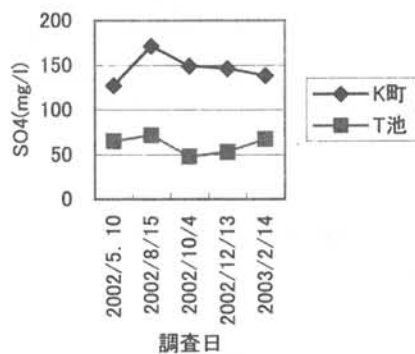


図7 貯め池の硫酸濃度の推移

表3 リン酸態リン (P04-P mg/l) の推移

調査日	T池	K町人工池
2002/5/10	<0.05	<0.05
2002/8/15	<0.05	<0.05
2002/10/4	<0.05	<0.05
2002/12/13	<0.05	<0.05
2003/2/14	<0.05	<0.05

ア T池の水質

T池のpHは、調査開始から2月までpH6.5~6.9であり、試みに水質(湖沼)環境基準(pH6.5~8.5)⁵⁾と比較したところ、基準内の値であった。硝酸性窒素濃度は18.7~29.7mg/lであり、水質環境基準(10mg/l)を超えていた。硫酸濃度は47.8~71.6mg/lであり、ミジンコ等が生息可能な硫酸濃度⁶⁾(30mg/l以下)を超えていた。これらの結果から、pHは魚やプランクトン等が生息可能な範囲にあったが、硝酸濃度および硫酸濃度は生息困難な値であった。

イ K町人工貯め池の水質

K町人工貯め池のpHは、調査開始から2月までpH4.2~4.8であり、試みに水質(湖沼)環境基準(pH6.5~8.5)⁵⁾と比較したところ、基準に達していなかった。硝酸性窒素濃度は10.5~15.8mg/lであり、水質環境基準(10mg/l)を超えていた。硫酸濃度は127~171mg/lであり、ミジンコ等が生息可能な硫酸濃度⁶⁾(30mg/l以下)を超えていた。これらの結果から、pH、硝酸性窒素濃度および硫酸濃度は、いずれもプランクトン等が生息困難な値であった。しかし、硝酸性窒素濃度は調査開始時15.8mg/lであったが、その後10.5~13.6mg/lであったことから、僅かに改善の傾向が見られた。

なお、処理施設を設置した貯め池は、いずれも人工池

で且つ貯水量が1,000万立方メートル以下で、pHについての環境基準は設定されていないが、本研究では「貯め池の水が魚等の生息可能な水質に達しているか」を確認するため、試みに水質(湖沼)環境基準pH6.5~8.5⁵⁾(利用目的の適応性:水産1級~3級)と比較した。

ウ リン酸態リン

処理装置を設置した2つの貯め池のリン酸態リン濃度は、調査期間を通じて定量限界以下(<0.05 P04-Pmg/l)の値であった。このことから、2つの貯め池は、プランクトンの必須栄養素であるリン¹³⁾が著しく不足していることが明らかになった。今後、これらの貯め池にプランクトン等の生物の生息を可能にするためにはリンを補給する必要があると思われる。

2 硫黄酸化脱窒細菌の活性とpH

流入原水が中性付近(pH6.6~6.9)のT池の処理装置³⁾は、処理水量3t/日~9t/日で高い処理効率(最初90%以上、以後60%~90%)を得た。しかし、流入原水が酸性(pH4.2~4.8)のK町の人工貯め池の処理装置³⁾は、稼動開始から現在に至るまで(処理水量1t~2t/日)、T池の処理装置に比べ低い処理効率(最初80%、以後30%~50%)であった。このことから、硫黄酸化脱窒細菌の活性と流入水のpHとの関係について室内実験を実施した。その結果を図8に示す。

なお、処理効率は、次式で求めた。

$$\text{処理効率(\%)} = (\text{処理前 NO}_3\text{-N 濃度} - \text{処理 2 日後の NO}_3\text{-N 濃度}) * 100 / \text{処理前の NO}_3\text{-N 濃度}$$

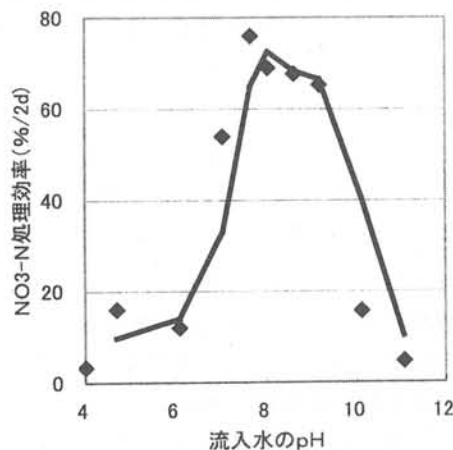


図8 硫黄脱窒細菌の活性とpH

室内実験の結果から、処理効率は、pH4.0~6.1の酸性で低く(3.3%~16.0%)、pH7.1で急激に高まり(54.0%)、その後pH7.7~9.2で最高値(65.3%~76.0%)に達し、さらにpHが上昇(pH10.1~11.1)すると急激に低下(15.7%~4.7%)した。これらの結果から、酵素反応にお

ける最適 pH^{14), 15), 16)} (最も活性の高い pH 領域) と同様に、硫黄酸化脱窒菌においても最適 pH があると推定された。また、各溶液の pH は時間の経過とともに、最初に酸性の溶液 (pH4.0~6.1) は、徐々に pH が上昇して、2 日後には中性側 (pH6.8~6.9) に変化し、最初中性の溶液 (pH7.1) は、2 日後には微アルカリ性 (pH7.5) に変化した。これに対し最初アルカリ性の溶液 (pH7.7~11.1) は、徐々に pH が低くなり 2 日後には中性側 (pH7.5~7.8) に変化した。これらの結果から、最初 pH4.1~11.1 の溶液は、脱窒反応 2 日後に中性付近の pH6.8~7.8 に変化した。すなわち、硫黄酸化脱窒菌の活性は反応開始時の溶液の pH に大きく左右されることが明らかになった。

3 カキ殻による中和効果

T 池右岸の酸性流入水 (pH5.01) を用いて、実験室内でカキ殻の中和効果を測定した。原形のカキ殻 10g と粉碎したカキ殻 100mg の中和効果をそれぞれ図 9 および図 10 に示す。また、カキ殻による処理前後のリン酸態リン (PO₄-P) の濃度変化を図 11 に示す。

原形 10g のカキ殻は、脱窒菌の最適 pH と推定される pH8.0 に達するのに 30 分を要したが、その後 130 分間攪拌を継続しても pH8.3 付近に留まっていた。一方、微粉碎した 100mg のカキ殻は、6 分間で pH8.0 に達し、その後も pH は上昇し続け、pH9 付近で溶液が白濁したので実験を中止した。これらの結果から、原形又は粗解したカキ殻が酸性の流入水を適正範囲に中和¹⁷⁾ するのに有効と推定された。また、T 池流入水¹⁸⁾、T 池¹⁸⁾、K 町の人工溜め池のいずれにもプランクトンの必須栄養素であるリンがほとんど含まれていない。しかし、今回の室内実験でカキ殻¹⁹⁾ からリン酸の溶出 (図 11) が認められたことから、カキ殻は貯め池に不足しているリンの補給に有効と推定された。

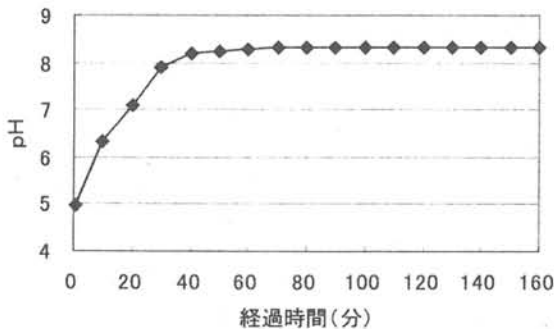


図 9 カキ殻 (原形 10g) の中和効果

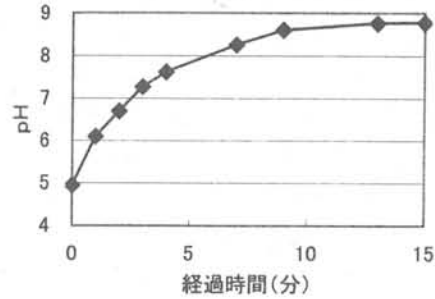


図 10 カキ殻 (微粉碎 100mg) の中和効果

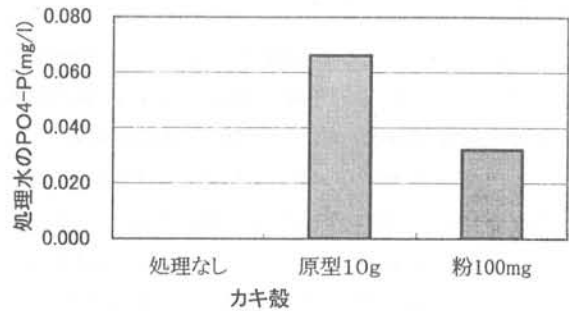


図 11 処理前後のリン酸態リン濃度

まとめ

1) 処理効率

pH が中性に近い (pH6.6~7.2) の流入水を処理した T 池の施設は、処理水量 3~9t/日 (S/C 材の 2 倍以内) で、硝酸性窒素について高い処理効率 (60%~90%) を得た。しかし、pH が酸性の水を処理した K 町人工貯め池での処理効率は、T 池に比べ低い値であった。

2) 処理後の pH

処理前の pH が中性の T 池では、処理後の pH も中性であった。一方、処理前の pH が酸性の K 町人工貯め池では処理後の pH は、中性付近に高まっていた。

3) プランクトン

調査開始時には、確認できなかったが、硝酸性窒素処理装置を設置した 2 つの溜め池で、夏から秋にかけて少量のプランクトンの生存が確認された。

4) 貯め池の水質の推移

T 池では、pH は調査開始時から終了時までで中性付近に保たれていたが、硝酸性窒素と硫酸の濃度は、プランクトン等が生存可能な値を超えていた。一方、K 町人工貯め池では、PH、硝酸性窒素、硫酸の値は、いずれも生存可能な値を超えていたが、硝酸性窒素は、僅かに改善の傾向が認められた。

5) 硫黄酸化脱窒菌の活性と pH

脱窒菌の硝酸性窒素処理能は、pH4~6の酸性で低く、pH7付近の中性で急激に高まり、pH8~9の微アルカリ性で最高値に達し、さらにpHが上昇すると急激に低下した。このことから、硫黄酸化脱窒菌の最適pHはpH7~9にあると思われた。また、酸性の溶液を中和した後に脱窒槽に導入することにより高い処理効率を得ることができると推定された。

6) カキ殻

カキ殻に酸性化した水を中和する効果があることが認められた。また、カキ殻から微量のリンの溶出が確認され、プランクトンの生育に必要なリンの供給に有効と推定された。

以上のことから、この処理施設は、pHが中性の原水を処理して、高い処理効率を得た。また、室内試験で硫黄酸化脱窒細菌がpH7~9で高い処理能を示したことから、酸性の原水を中和処理し、処理施設に導入すれば高い処理効率を得られると推定された。また、夏から秋に処理装置を設置した2つの貯め池に少量のプランクトンが確認された。さらに、K町人工貯め池の硝酸性窒素に改善の傾向が認められた。処理装置を設置した2つの貯め池には、プランクトンの生育に必要なリンが著しく不足していた。

謝 辞

本研究を行うにあたり、S/C材および硝酸性窒素処理装置に関する文献を提供していただいた新日鐵化学株式会社宮永俊明氏、独立行政法人野菜茶業研究所松尾喜蔵氏、カキ殻とカキ殻の有効利用に関する文献を提供して頂いた静岡県水産試験場浜名湖分場の上村信夫研究主幹、永谷隆行副主任、松浦玲子技師に感謝いたします。

文 献

- 1) 中島二夫他：西部地域（小笠）の窒素による地下水等汚染調査（第1報），静岡県環境衛生科学研究所報告，41，113-117（1998）
- 2) 新日鐵化学株式会社総合研究所他：環境省-平成13年度環境技術開発等推進事業『農業生産に起因する公共水域下での硝酸性窒素汚染地下水，河川及び湖沼の環境回復及び修復技術の開発』H13年度事業進捗報告資料平成14年3月31日（2002）
- 3) 新日鐵化学株式会社総合研究所他：環境省-平成14年度環境技術開発等推進事業『農業生産に起因する公共水域下での硝酸性窒素汚染地下水，河川及び湖沼の環境回復及び修復技術の開発』H14年度事業進捗報告資料平成14年10月（2002）
- 4) 新日鐵化学株式会社総合研究所他：環境省-平成14年度環境技術開発等推進事業『農業生産に起因する公共水域下での硝酸性窒素汚染地下水，河川及び湖沼の環境回復及び修復技術の開発』H14年度開発事業報告書平成15年3月31日（2003）
- 5) 水質汚濁に係わる環境基準（環境庁告示第59号昭和46年12月）（1971）
- 6) ウィルバー/長瀬隆子訳：水質汚濁の生物学的研究，221-223，恒星社厚生閣，東京，（1972）
- 7) 河原他：硫黄-石灰石粉混合造粒物を用いた畑地暗渠排水の脱窒処理，東京農業大学農学集報，46(1)，7-12(2001)
- 8) J.P. Van der Hoek et al. : Biological Nitrate Removal from Ground Water by Sulfer / Limestone Denitrification, J. Chem. Technol. Biotechnol. 54(2) 197 - 200(1992)
- 9) J.P. Van der Hoek et al. : Optimization of the Sulfur-limestone filtration process for removal from Groundwater, Aqua, 41, 209-218(1992)
- 10) A. Koenig et al Kinetic Model of Autotrophic Denitrification in Sulfer Packed-Bed Reactors, Wat. Res. 35(8), 1969-1978(2001)
- 11) Batchelor, B. and Lawrence, A. W. : Autotrophic Denitrification using elemental sulfur, *Journal of the Water Control Federation*, 50, 1986-2001(1987)
- 12) 静岡県県民生環境保全課，静岡県衛生環境センター：湖沼等水質解析書 松川湖（奥野ダム湖），20-21，平成3年3月（1991）
- 13) 社）日本水質汚濁研究協会：湖沼環境調査指針，209-243，公害対策技術同友会，東京（1984）
- 14) 廣海啓太郎：酵素反応，40-44，岩波書店，東京（1991）
- 15) 廣海啓太郎：酵素反応速度論，204-208，生物物理化学研究法（II）（今堀和友，野田春彦，坪井正道編），朝倉書店，東京（1970）
- 16) Carl Lamanna, Ph.D. et al : Basic Bacteriology (fourth edition), 434-435, The Williams & Wilkins Company, Baltimore (1967)
- 17) 新東洋瓦斯ほか：カキ殻を使ったpH調整で赤水・腐食防止，(Monthlyガイド)，用水と廃水，19(1)，28(1977)
- 18) 中島二夫他：西部地域（小笠）の窒素による地下水等汚染調査（第2報），静岡県環境衛生科学研究所報告，42，143-146（1999）
- 19) 荒川ほか：カキ殻（カキ養殖産業廃棄物）の利用に関する文献抄録集，広島県水産試験場報告，8，53-55（1977）

他誌に発表した論文

環境科学部

1) Formation of Chlorinated Derivatives of Bisphenol A in Waste Paper Recycling Plants and Their Estrogenic Activities

J. Health Sci., 48, 242-249 (2002)

Hitoshi Fukazawa, Masayuki Watanabe, Fujio Shiraishi, Hiroaki Shiraishi, Tatsushi Shiozawa, Hidetsuru Matsushita, and Yoshiyasu Terao

High concentrations of bisphenol A were detected in the effluent from several pulping processes for waste paper containing thermal paper and/or other printed paper. Chlorinated derivatives of bisphenol A were found to be formed by its reaction with a low concentration of chlorine in the effluent from the bleaching process using sodium hypochlorite. Poly-chlorinated derivatives were mainly detected in the final effluents from two plants because they were not biodegraded in the water recycling process by treatment with activated sludge. The estrogenic activities of bisphenol A and its chlorinated derivatives were evaluated by an agonist assay using the yeast two-hybrid system with and without a metabolic activation test using rat liver S9. All of the chlorinated derivatives tested showed more potent activity than bisphenol A without S9. The activity of 3,3'-dichlorinated BPA was 38-fold stronger than that of bisphenol A. The activities of these compounds were almost eliminated upon treatment with S9.

2) 酵母ツーハイブリッド・アッセイ法によるエストロゲン活性測定の環境水質への応用

深澤 均, 渡邊雅之

- 95 -

全国環境研会誌, 27, 233

環境水中に高頻度で検出されたビスフェノール A (BPA) とアルキルフェノール (AP) の塩素置換体や前駆物質を合成・精製し、酵母ツーハイブリッド・アッセイ法によるエストロゲン活性測定法でそれらのエストロゲン活性を測定した。その結果、BPA は塩素置換体になることでエストロゲン活性が強まるが、AP 類は活性が弱まるということが認められた。また AP 類は、水酸基がエトキシレートやカルボン酸に変わることによって活性が弱まるということが認められた。BPA 汚染が認められた排水を、固相吸着・ジクロロメタン溶出により前処理し、酵母ツーハイ

ブリッド・アッセイ法によるエストロゲン活性測定法で測定した。その結果、明確なエストロゲン活性は示されなかった。その理由として BPA の活性が弱いことと排水に含まれるアンタゴニスト様活性を示す物質の影響によることが示唆された。

3) Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Determination of Benzene and Its Alkyl Derivatives in Indoor and Outdoor Air in Fuji, Japan

Journal of AOAC International, 85(1) 203-211 (2002)

Takashi Amagai, Takeshi Ohura, Tomohiko Sugiyama, Masahiro Fusaya and Hidetsuru Matsushita

An analytical method for the determination of benzene and 13 of its alkyl derivatives was established. The method was applied to a survey on indoor pollution by these compounds for investigating usefulness of the method, concentration levels, seasonal variations, profiles, correlations between compounds, and factors that affected the indoor pollution of these compounds. The survey was performed in 21 houses in the summer of 1999 and in 20 houses in the winter of 1999-2000 in the city of Fuji in Japan. All of the target compounds were detected in the indoor and outdoor air of all houses.

Indoor and outdoor concentrations of benzene and its derivatives in summer were lower than in winter, suggesting that emission of these compounds is increased by use of a heater and other variables present in winter. Profiles of compounds, correlations between compounds, and factors that affected indoor pollution (determined by multiple regression analysis) were investigated. These results suggested that indoor benzene predominantly penetrated from outdoors and that other benzene derivatives were emitted from indoor sources, such as paint solvents and kerosene heaters.

4) Simultaneous Liquid Chromatographic Determination of 39 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Indoor and Outdoor Air and Application to a Survey on Indoor Pollution in Fuji,

Japan

Journal of AOAC International, 85(1) 188-202
(2002)

Takeshi Ohura, Tomohiko Sugiyama,
Takashi Amagai, Masahiro Fusaya and
Hidetsuru Matsushita

An analytical method for the simultaneous determination of 39 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the air was established. The method was applied to the survey of the gaseous and particulate PAHs in household indoor air. The survey was performed in 21 houses in the summer of 1999 and in 20 houses in the winter of 1999-2000 in Fuji, Japan. Thirty-eight PAHs were determined in indoor and outdoor air in the summer, and 39 PAHs were determined in indoor and outdoor air in the winter. The concentrations of gaseous PAHs in indoor air tended to be higher than those in outdoor air in the summer and winter. The concentrations of particulate PAHs in indoor air were same as or lower than those in outdoor air in the summer and winter. PAH profiles, correlations between PAH concentrations, and multiple regression analysis were used to determine the factors affecting the indoor PAH concentrations. These results showed that gaseous PAHs in indoor air were primarily from indoor emission sources, especially during the summer, and that indoor particulate PAH concentrations were significantly influenced by outdoor air pollution.

微生物部

1) 腸管出血性大腸菌 O157:H7(-)の疫学的解析
に関する基礎的研究 14.6

増田 高志

静岡県獣医師会会報 26: 34-37 (2002)

腸管出血性大腸菌 O157:H7(-) (以下, EHEC O157) 感染症は, わが国のみならず全世界的に食品衛生上重要な問題となっている。

EHEC O157 感染症の原因食品として, 諸外国では牛肉類, 生野菜など, わが国ではカイワレ, オカカサラダ, ポテトサラダといった野菜類が報告されている。また, 感染源として牛の関わりが強く示唆されている。しかし, わが国では, 菌が検出されず原因食品が特定されない事件が多く, 食肉, 野菜類などからの確実な菌分離法の確立が望まれている。さらに, ヒトや牛の分離株について疫学的解析を行うことは発生防止対策上重要

であり, 様々な疫学マーカーが検討されているが, ファージ型別についてはわが国ではほとんど行われていない。

そこで, 本研究では, 1.ヒトおよび牛由来 EHEC O157の疫学マーカーの検討(血清型, VT型, 薬剤感受性, ファージ型), 2.物理的条件下における EHEC O157の増殖性の検討(pH, 塩分濃度, 培養温度), 3.食品からの EHEC O157分離法の検討(直接法と免疫磁気ビーズ法の比較, 増菌および分離培地の比較等), 4.野菜からの凍結損傷 EHEC O157分離法の検討, 5.食品および環境水などの EHEC O157の汚染状況調査を行った。

以上の調査, 検討の結果からファージ型別は菌株の由来を特定するパルスフィールド・ゲル電気泳動法(pulsefield gel electrophoresis:PFGE)より手技が簡便であり, 分離株間の識別が可能なことから疫学マーカーとして有用であることが示唆された。

また, 食品(食肉, 野菜)からの凍結損傷菌を含む EHEC O157の分離に関して有効な分離法が確認できた。さらに, 様々な物理的条件下での増殖性を知り, これらを活用することにより食品での EHEC O157制御の可能性が示唆された。

2) 野菜・果物における病原微生物検出検査法の検討—腸管出血性大腸菌、サルモネラ、リステリアの検出—

宮原 美智子, 増田 高志, 後藤 公吉

正木 宏幸, 斉藤 章暢, 金子 誠二

小沼 博隆

日本食品微生物学会雑誌 19(2): 47-55
(2002)

Several outbreaks of food poisoning have been linked to the consumption of contaminated fresh vegetables and fruits. Enterohemorrhagic *E.coli* O157 (O157) and *Salmonella* are the most common causes of these illnesses. *Listeria* is also to be a cause of food-borne illness. Detection methods for these three pathogenic Bacteria from fresh vegetables and fruits were studied by enrichment culture procedure, PCR detection and selective detection. The first step was enrichment by BPW(buffered peptone water)for 20-24hr at 36°C. After 6hr of enrichment, 1ml of enrichment solution was transferred to NmEC(EC broth with Novobiocin and bile acid) for separation of O157. After

enrichment for 20-24hr, 1ml of enrichment solution was treated as a PCR sample. Fewer than 10 cells of O157 or *Salmonella* per 25g food samples could be detected by our methods. *Listeria* (1,000 cells/25g) were also detectable by these methods. Criteria for the multiplex PCR (O157 *Salmonella* and *Listeria*) were key factors for further testing (Limitations of No. detected were 2.3×10^4 , 2.7×10^5 and 2.2×10^5 cfu/ml, respectively). Selective cultures were used when PCR was positive for pathogenic bacteria.

These methods are economical and effective for detection of these pathogenic bacteria from fresh vegetables and fruits.

3) 静岡県内の一養豚場のブタにおける H3 インフルエンザ A ウイルスの蔓延状況

細矢 佳行, 佐原 啓二, 池ヶ谷 朝香
秋山 真人, 中島 節子

日本獣医師会雑誌 55(9):605-608(2002)

2000年2月に静岡県内のK農場からと畜場に搬入されたブタから H3 インフルエンザ A ウイルス 1 株 (A/swine/Shizuoka/401/2000) が分離された。分離株の赤血球凝集素(HA)の抗原解析および遺伝子解析から、本株のHAは1999/2000シーズンにヒトの間で流行していた H3 ウイルス由来であると判断された。

K農場産の6ヶ月齢のブタにおける本株に対する赤血球凝集抑制抗体は、本株分離前、および分離後8ヶ月以降は検出されず、分離後6ヶ月以内のみ認められた。このことから、2000年2月にブタに感染したインフルエンザウイルスは農場内のブタに一過性に蔓延したが、その後はブタの間で定着せずに終息したと推察された。

4) 各種食品における黄色ブドウ球菌エンテロトキシン汚染実態とその検査法に関する研究

有田 世乃, 川森 文彦, 増田 高志
秋山 真人

財団法人大同生命厚生事業団「第8回地域保健福祉研究助成」報告書

県内の乳処理施設で採取した生乳およびおにぎりを中心とした市販食品について、黄色ブドウ球菌(以下 SA), 黄色ブドウ球菌エンテロトキシン(以下, SE)を中心に各種細菌の検査を行った。生乳の直接検査ではいずれも SE は検出されなかったが培養検査で 36/50 (72%) から SA が検出され、このうちの 14 検体 (28%) で SE 産生

性を認めた。また市販食品では、13/54 検体 (24%) から増菌培養により SA が検出され、このうち 12 検体 (22%) で SE 産生性を認めた。一方、牛乳から SE を検出する方法として、大阪府立公衆衛生研究所法 (カゼイン・脂肪除去→脱塩→濃縮→ラテックス凝集反応, 以下, 大阪法), 濾過遠心法 (カゼイン・脂肪除去→濾過遠心→ラテックス凝集反応), VIDAS 法 (酵素免疫測定法:ELISA) 等を用いて検出感度の比較を行ったところ、いずれも食中毒の検査に有効と思われる検出感度 (0.25ng/ml) を示した。また、ここまで大阪市での食中毒事件の発症 SE 量を参考に 0.25ng/ml の SE を検出する試験を行ってきたが、この間にも最少発症 SE 量の問題が討議され、SE が陰性であるというためには 0.1ng/ml 以下の検出感度が必要とのことから、トリクロロ酢酸による抽出・濃縮法 (以下, TCA 法) の検討に際しては SE 添加量を最少 0.02ng/ml まで下げて添加回収試験を行ったが、各 SE 検出キットのいずれにおいても TCA 法は大阪法より良好な結果が得られ、迅速で簡便な SE 抽出・濃縮法として有効であると思われた。

5) Viruses detected in the caecum contents of healthy pigs representing a new genetic cluster in genogroup II of the genus Norwalk-like Viruses

Virus Research 87 165-172 (2002)

Masaaki Sugieda, Setsuko Nakajima

Viruses of the genus Norwalk-like Viruses (NLVs) detected in humans have been Genetically classified into two major genetic groups, genogroup I and II (G I and G II), which together are made up of at least 14 genetic subgroup. However, a comparable classification of NLVs in other species remains to be carried out. We sequenced a 2-kb region from within the RNA polymerase gene to the 3' end of open reading frame 2 (ORF2) of two NLV strains previously detected in the caecum contents of healthy pigs. The sequences of the entire ORF 2 of these two NLV strains were analyzed for their genetic relationships to 15 human strains, which have already been reported and used as references for the genetic classification of human NLV strain, and additional two strains: one, a human strain which has recently been reported and appears to represent a new genetic subgroup of G II; and the other, an animal NLV strain. Analysis of a matrix

showing pairwise identities and topology of a neighbor-joining tree showed that the two Swine strain could be classified into a new genetic subgroup of G II on the basis of the amino acid sequences of the entire capsid protein. Grouping of the two swine strains was well corroborated by results of similar analyses of nucleotide sequences of the entire ORF2 and of a 510 base region at the 3' end of ORF1.

価等の項目について記述し、鯨を摂食することについてのリスクメッセージ作成と今後の対応について考察した。

医薬品生活部

1) 鯨由来食品の有害化学物質によるヒト健康に及ぼす影響に関する研究

一分担研究 リスクコミュニケーションの検討—

浮島美之

平成13年度厚生科学特別研究「鯨由来食品の有害化学物質によるヒト健康に及ぼす影響に関する研究 研究報告書」, pp. 119-129

日本人が鯨を安全に食べるにはどうすればよいかという観点から、外国の状況及びリスクアナリシスの一環としてのリスク・コミュニケーションのあり方等についてまとめた。

海外での鯨、魚類を摂食することによる PCB 及び水銀に起因する健康被害の調査事例として、デンマーク領フェロー諸島住民のヒレナガゴンドウ肉の摂食による健康影響評価と、セーシェル諸島住民の魚摂食による健康影響評価を紹介した。また、米国 FDA が魚に含まれる水銀の危険性について、妊娠中の女性、将来妊娠する女児のための重要なメッセージとして消費者に魚の摂取制限と注意を喚起した内容と、化学的に汚染された魚を食べることの健康に対する影響について、米国 EPA が主催した全国リスク・コミュニケーション会議で討議された概要も紹介した。

食品の安全性に関する規格基準を作成する場合、リスクアナリシスの手法に基づいて行うことが国際的に認識されている。このリスクアナリシスは、リスクアセスメント、リスクマネジメント、リスク・コミュニケーションの3つの要素から成り立ち、特にリスク・コミュニケーションは重要な作業となっている。日本人が鯨を安全に食べるための、リスクアナリシスの調査内容、政策内容、リスク・コミュニケーションの作業の進め方等について提案した。

さらに、鯨の種類、捕獲地域による PCB 及び水銀汚染状況の概要、鯨の摂食制限の必要性、鯨製品の表示と DNA 鑑定を用いた鯨種判別による市場監視、ダイオキシン類の一部であるコプラナー PCB の食品衛生上の評

学会・研究会の報告

管理部

- 1) 静岡県内・外における STEC 感染症の分子疫学的解析

宮本秀樹

第 6 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム
2002.6.24 (東京)

- 2) 静岡県における腸炎ビブリオ食中毒と統計・血清型・気象・海洋変化

宮本秀樹

第 48 回東海公衆衛生学・会学術大会
2002.7.27 (津)

- 3) 静岡県と全国における STEC 感染症の分子疫学的解析

宮本秀樹

第 61 回日本公衆衛生学会総会
2002.10.24 (大宮)

- 4) 静岡県における腸炎ビブリオ VP 食中毒と環境・疫学変化

宮本秀樹, 杉山寛治

第 36 回腸炎ビブリオシンポジウム
2002.12.5 (京都)

- 5) 静岡県における腸炎ビブリオ食中毒と環境・疫学変化

宮本秀樹, 杉山寛治, 三輪憲永

第 39 回静岡県公衆衛生研究会 2003.3.12 (静岡)

環境科学部

- 1) 臭気簡易評価技術についての検討 (1) —ポータブルにおいセンサーの検討—

塩澤浩明, 大迫政浩, 増田淳二, 房家正博ほか

第 15 回におい環境学会 2002.5.23 (川崎)

- 2) 臭気簡易評価技術についての検討 (2) —におい識別装置の検討—

喜多純一, 大迫政浩, 増田淳二, 房家正博ほか

第 15 回におい環境学会 2002.5.23 (川崎)

- 3) 簡易評価法による脱臭装置の性能評価の可能性

村上栄造, 大迫政浩, 房家正博

第 15 回におい環境学会 2002.5.23 (川崎)

- 4) 静岡市における大気汚染実態調査結果 (その 1) 多環芳香族炭化水素・粒子状物質

大浦健, 野田高広, 雨谷敬史, 杉山智彦, 村上篤司, 房家正博, 松下秀鶴

第 11 回環境化学討論会 2002.6.4 (箱根)

- 5) 静岡市における大気汚染実態調査結果 (その 2) ベンゼン及びその誘導体

雨谷敬史, 大浦健, 杉山智彦, 村上篤司, 房家正博, 松下秀鶴

第 11 回環境化学討論会 2002.6.4 (箱根)

- 6) 静岡市における大気汚染実態調査結果 (その 3) アルデヒドと有機ハロゲン化合物

房家正博, 篠原英二郎, 松下秀鶴, 雨谷敬史, 大浦健, 村上篤司, 杉山智彦

第 11 回環境化学討論会 2002.6.4 (箱根)

- 7) 塩素置換アルキルフェノール類のエストロゲン活性

渡邊雅之, 深澤均, 平賀由利子, 白石不二雄, 白石寛明, 寺尾良保

第 11 回環境化学討論会 2002.6.5 (箱根)

- 8) ベンゼン及びその誘導体と有機ハロゲン化合物の個人暴露、室内外濃度に関する研究

大浦健, 雨谷敬史, 杉山智彦, 房家正博, 松下秀鶴

第 43 回大気環境学会 2002.9.13 (東京)

- 9) PM_{2.5} および粒子状多環芳香族炭化水素の個人暴露、室内外濃度に関する研究

野田高広, 大浦健, 雨谷敬史, 杉山智彦, 房家正博, 松下秀鶴

第 43 回大気環境学会 2002.9.13 (東京)

- 10) Myeloperoxidase による Bisphenol A のハロゲン化反応

竹村ひとみ, 馬 潔, 寺尾良保, 塩沢竜志, 深澤 均, 下位香代子

フォーラム 2002 衛生薬学・環境トキシコロジー,
2002. 10. 24 (広島)

- 11) アフリカツメガエル変態アッセイ (XEMA) を用いた Tetrachlorobisphenol A の甲状腺ホルモン活性試験

井上純子, 滝上秀孝, 白石不二雄, 深澤 均,
森田昌敏

第 5 回環境ホルモン学会 2002. 11. 25 (広島)

- 12) 臭気の簡易評価法としてのにおいセンサー, 識別装置, 検知管の適用性と課題

房家正博

臭気対策セミナー 2003.2.13 (東京)

- 13) 古紙再生工程排水中のビスフェノール A の発生に関する研究

渡邊雅之

平成 14 年東海地区環境試験研究機関会議化学物質分科会 2003.2.21 (静岡)

- 14) ビスフェノール A の塩素置換体の生成とそのエストロゲン活性

深澤 均

第 6 回環境研究交流しずおか集会講演会
2003. 3. 7 (静岡)

有機性廃棄物プロジェクト

- 1) 食品残渣の排熱利用による乾燥と飼料化の可能性

飯田 正, 前波清隆, 今川隆之

東海畜産学会 2002.11.18 (名古屋)

- 2) 排熱利用を考慮した食品廃棄物の乾燥と飼料化

飯田 正, 前波清隆, 今川隆之

第 13 回廃棄物学会 2002.11.29 (京都)

- 3) 排熱利用による食品廃棄物の飼料用乾燥技術の開発

前波清隆, 飯田 正, 今川隆之, 上村慎子
石谷孝佑

第 29 回環境保全・公害防止研究発表会
2003.1.24 (宮崎)

微生物部

- 1) ヒト, イヌ, ネコ及び野鳥におけるカンピロバクター保有状況ならびにカンピロバクター分離法の検討

川森文彦, 有田世乃, 増田高志, 秋山真人

平成 14 年度日本獣医公衆衛生学会 (中部地区)
2002. 9. 8 (福井)

- 2) 静岡県内の一養豚場のブタにおけるヒト型インフルエンザ A (H3) ウイルスの蔓延状況

佐原啓二, 細矢佳行, 池ヶ谷朝香

杉枝正明, 秋山真人, 中島節子

第 134 回日本獣医学会 2002. 9. 20 (岐阜)

- 3) Enterohemolysin 培地での *Shigella* spp.等の溶血活性

増田高志, 長谷川順子, 仁科徳啓

三輪憲永, 宮原美智子, 小沼博隆

第 23 回日本食品微生物学会 2002. 9. 24 (東京)

- 4) 食鳥処理場における *Campylobacter jejuni* 陰性群のプロイラーと体の *C.jejuni* 汚染について

三輪憲永, 竹ヶ原陽一, 寺井克哉

加藤秀夫, 竹内常雄

第 23 回日本食品微生物学会 2002. 9. 24 (東京)

- 5) 静岡県内に飛来したカモ類のインフルエンザウイルスの分離状況

佐原啓二, 稲吉 恵, 杉枝正明, 秋山真人

第 17 回地研関東甲信静支部ウイルス研究会
2002. 9. 26 (埼玉)

- 6) 静岡県における C 型肝炎ウイルス感染状況

稲吉 恵

第 61 回日本公衆衛生学会 2002. 10. 25 (埼玉)

- 7) インフルエンザの流行予測に関する研究~非流行期の分離ウイルスと次期流行ウイルスとの関係

佐原啓二, 稲吉 恵, 杉枝正明, 秋山真人

第 39 回静岡県公衆衛生研究会 2003. 3. 12 (静岡)

- 8) 静岡県における細菌性赤痢の現状

有田世乃, 増田高志, 西尾智裕, 川森文彦

三輪憲永, 秋山真人

第 39 回静岡県公衆衛生研究会 2003. 3. 12 (静岡)

9) 迅速検査キット「シングルパスカンピロバクター」を用いた鶏糞便からのカンピロバクター直接検出の試み

川森文彦, 有田世乃, 西尾智裕, 三輪憲永
増田高志, 秋山真人

第 39 回静岡県公衆衛生研究会 2003. 3. 12 (静岡)

10) 市販魚介類における腸炎ビブリオ及び耐熱性溶血毒産生菌の汚染状況

三輪憲永, 西尾智裕, 有田世乃, 川森文彦
増田高志, 秋山真人

第 39 回静岡県公衆衛生研究会 2003. 3. 12 (静岡)

11) 全国各地で発生したノーウォークウイルス (NV) による食中毒事例について

杉枝正明, 大瀬戸光明, 福田伸治, 川本 歩
木村博一, 三上稔之, 西田知子, 新川奈緒美
西香南子, 古屋由美子, 西尾 治

第 50 回日本ウイルス学会 2002. 10. 16 (北海道)

レジオネラプロジェクト

1) レジオネラ感染症について

杉山寛治

平成 14 年度地研関東甲信静支部細菌部会
2003.2.20 (静岡)

2) レジオネラプロジェクト研究 第 1 報 循環式浴槽浄化システム実証試験装置を用いた自然汚染状況下での浴槽水等のレジオネラ属菌の推移

大畑克彦, 鈴木光彰, 杉山寛治, 秋山真人

第 39 回静岡県公衆衛生研究会 2003. 3. 12 (静岡)

医薬品生活部

1) PET ボトル入緑茶飲料における化学成分の比較

菅野尚子, 影山知子, 渡辺武明, 浮島美之
日本食品科学工学会第 49 回大会 2002.8.31 (名古屋)

2) 院内製剤の品質確保に関する研究

植田敦子, 堀池あずさ, 小和田和宏, 藤原厚子

栗田浩幸, 越智壽美子, 山口善三郎, 浮島美之
山田勝平, 宮本憲吾, 鍋田いづみ, 浅倉候子
見崎芳枝

第 39 回全国薬事指導協議会総会

2002.10.18 (大津)

3) 残留農薬分析に関する情報の集積と利用に関する試み

高橋 真, 増田敦子, 山下敬子, 越智壽美子
浮島美之, 山田勝平

第 39 回全国衛生化学技術協議会年会

2002.10.25 (山形)

4) 医薬品溶出試験規格設定時の問題事例

小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子, 藤原厚子
堀池あずさ, 越智壽美子, 山口善三郎
浮島美之, 山田勝平

第 39 回全国衛生化学技術協議会年会

2002.10.25 (山形)

5) 院内製剤の品質確保に関する研究

—ワ-ファリン散予製剤の含量均一性評価—

栗田浩幸, 堀池あずさ, 植田敦子, 小和田和宏
藤原厚子, 越智壽美子, 山口善三郎, 浮島美之
山田勝平, 宮本憲吾, 鍋田いづみ, 浅倉候子
見崎芳枝

第 39 回全国衛生化学技術協議会年会

2002.10.25 (山形)

6) 院内製剤の品質確保に関する研究

—院内製剤ジゴキシン散についての研究—

植田敦子, 栗田浩幸, 堀池あずさ, 小和田和宏
藤原厚子, 越智壽美子, 山口善三郎, 浮島美之
山田勝平, 宮本憲吾, 鍋田いづみ, 浅倉候子
見崎芳枝

第 39 回全国衛生化学技術協議会年会

2002.10.25 (山形)

7) 静岡県における未承認医薬品に対する取り組み経過

浮島美之, 栗田浩幸, 小和田和宏, 植田敦子
高橋 真, 越智壽美子, 有田世乃, 増田高志
秋山真人

第 39 回全国衛生化学技術協議会年会 薬事部門自由集会 2002.10.25 (山形)

- 8) PET ボトル入緑茶飲料
菅野尚子
第 32 回関東甲信越静岡商品テスト機関ブロック連絡会議 2002.11.15 (甲府) 2003.2.6 (静岡)
- 9) 静岡県残留農薬分析法検討会における精度管理に関する取り組み
山下敬子, 増田敦子, 高橋 真, 山口善三郎
浮島美之, 杉山直子, 中野昌枝, 前林公男
山田聡子, 木俣智香子, 風間広弥, 進士一男
小杉国宏
第 35 回東海薬剤師学術大会 2002.12.8 (静岡)
- 10) 医薬品溶出試験に関する各種変動要因と試験法設定時の問題事例
小和田和宏, 植田敦子, 栗田浩幸, 藤原厚子
越智壽美子, 浮島美之
第 35 回東海薬剤師学術大会 2002.12.8 (静岡)
- 11) 食品からの法定外添加物(TBHQ)の検出事例について
高橋 真, 増田敦子, 山下敬子, 小和田和宏
越智壽美子, 浮島美之
第 35 回東海薬剤師学術大会 2002.12.8 (静岡)
- 12) 健康食品からの医薬品成分の検出
栗田浩幸, 植田敦子, 小和田和宏, 高橋 真
山下敬子, 増田敦子, 藤原厚子, 越智壽美子
浮島美之
第 35 回東海薬剤師学術大会 2002.12.8 (静岡)
- 13) 院内製剤の品質確保に関する研究
植田敦子, 堀池あずさ, 小和田和宏, 栗田浩幸
山口善三郎, 越智壽美子, 浮島美之
第 35 回東海薬剤師学術大会 2002.12.8 (静岡)
- 14) そうざい中の異物混入苦情事例
増田敦子, 山下敬子, 高橋 真, 越智壽美子
浮島美之
第 35 回東海薬剤師学術大会 2002.12.8 (静岡)
- 15) 静岡県における未承認医薬品に対する取り組み経過
浮島美之, 栗田浩幸, 小和田和宏, 植田敦子
高橋 真, 越智壽美子, 有田世乃, 増田高志
秋山真人
医薬品類似食品等適正化検討連絡会
- 16) ちょっと一息! 試験検査手法を再確認
小和田和宏
平成 14 年度第 2 回医薬品製造業者等品質管理講習会 2003.2.14 (東京)
- 17) 医薬品の試験検査における問題事例
小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子, 藤原厚子
越智壽美子, 浮島美之
平成 14 年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部理化学研究部会 2003.2.21 (東京)
- 18) そうざい中の異物混入苦情事例
増田敦子, 山下敬子, 高橋 真, 植田敦子
越智壽美子, 浮島美之
第 3 9 回静岡県公衆衛生研究会 2003.3.12(静岡)
- 19) 食品からの法定外添加物(TBHQ)の検出事例について
高橋 真, 増田敦子, 山下敬子, 小和田和宏
越智壽美子, 浮島美之
第 3 9 回静岡県公衆衛生研究会 2003.3.12(静岡)
- 20) 院内製剤の品質確保に関する研究
植田敦子, 栗田浩幸, 小和田和宏, 藤原厚子
越智壽美子, 浮島美之
渡邊恵子, 大石結花, 浅倉候子, 見崎芳枝
第 3 9 回静岡県公衆衛生研究会 2003.3.12(静岡)
- 21) 漢方エキス製剤におけるエキス含量試験法の問題点
小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子, 越智壽美子
藤原厚子, 浮島美之
第 3 9 回静岡県公衆衛生研究会 2003.3.12(静岡)
- 22) スキップ試験/定期的試験等導入に対する期待
小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子, 越智壽美子
藤原厚子, 浮島美之
第 3 9 回静岡県公衆衛生研究会 2003.3.12(静岡)
- 23) 健康食品からの医薬品成分の検出事例について
栗田浩幸, 増田敦子, 植田敦子, 山下敬子
高橋 真, 小和田和宏, 藤原厚子, 越智壽美子
浮島美之, 有田世乃, 増田高志, 秋山真人
第 3 9 回静岡県公衆衛生研究会 2003.3.12(静岡)

大気水質部

1) 自排局候補地点の検討

篠原英二郎

全国環境研協議会 関東甲信静支部 大気専門部
会 2002.7.5 (横浜)

2) 河川における栄養塩類の流出特性に関する研究

渡邊 稔

東海地区環境試験研究機関会議第52回水質分科
会 2002.10.7 (名古屋)

3) 静岡県富士地域における大気環境中高濃度ベンゼン
の負荷要因の検討

太田良和弘

第29回環境保全・公害防止研究発表会
2003.1.24 (宮崎)

表 彰 等

環境科学部

- 1) 全国環境研協議会 関東甲信静支部長表彰
平成 14 年 9 月 12 日
房家正博

微生物部

- 1) 静岡県獣医師会 会長表彰 (獣医学術功労者)
平成 14 年 6 月 16 日
増田高志
- 2) 地方衛生研究所全国協議会関東甲信静 支部長表彰
平成 14 年 6 月 28 日
増田高志
- 3) 平成大同生命地域保健福祉研究助成
「HCV 抗体保有者からの HCV RNA の検出及び型別による疫学的解析」
平成 14 年 10 月 15 日
稲吉 恵, 佐原啓二, 杉枝正明
秋山真人
- 4) 日本食品衛生協会 会長表彰
平成 14 年 10 月 25 日
増田高志
- 5) 静岡県食品衛生協会 会長感謝状
平成 14 年 10 月 30 日
三輪憲永
- 6) 全国食品衛生監視員協議会 会長感謝状
平成 14 年 10 月 31 日
三輪憲永
- 7) 静岡県公衆衛生発表会 会長表彰 (優秀演題)
「迅速検査キット シングルパスカンピロバクターを用いた鶏糞便からのカンピロバクター直接検出の試み」
平成 15 年 3 月 12 日
川森文彦, 有田世乃, 西尾智裕
三輪憲永, 増田高志, 秋山真人

レジオネラプロジェクト

- 1) 全国食品衛生監視員協議会 会長感謝状
平成 14 年 10 月 31 日
杉山寛治

医薬品生活部

- 1) 静岡県公衆衛生研究会 会長表彰 (優秀演題)
「漢方エキス製剤におけるエキス含量試験法の問題点」
平成 15 年 3 月 12 日
小和田和宏, 栗田浩幸, 植田敦子
越智壽美子, 藤原厚子, 浮島美之

編集委員

田中 一征 (管理部)
浅岡 龍郎 (環境科学部)
倉重 英明 (微生物部)
浮島 美之 (医薬品生活部)
古屋 佳宏 (大気・水質部)
竹下 昭二 (東部支所)
小原 九一 (西部支所)

静岡県環境衛生科学研究所報告
(第45号)

平成15年 5月 20日

編集発行 静岡県環境衛生科学研究所
静岡市北安東4丁目27-2
電話 (054) 245-0201 (代)

E-mail アドレス

eikanctr@shizuokanet.ne.jp/eikanctr

インターネットホームページ

<http://www2.shizuokanet.ne.jp/eikanctr>

印刷所 (有) 東海美術社
静岡市古庄2丁目3-21
電話 (054) 263-1700(代)



R100

古紙配合率100%再生紙を使用しています