

1977
w081

茨城県衛生研究所年報

第 15 号

1 9 7 7

茨城県衛生研究所



序

本号は茨城県衛生研究所年報第15号で、昭和51年度の当所の業績の概要です。

このたび、衛生研究所発展のため多大の功績をあげられました、前所長野田正男先生の後任として、当衛生研究所長として赴任してまいりました。微力ながら引続き尚一層の努力と研鑽を重ね、衛生研究所の充実を計ってまいりる所存でございますので今後とも、ご指導とご鞭撻を賜りたく、お願いいたします。

昭和51年度は、待望の中央機器室の増築が実現の運びとなり、増築面積143㎡総工費46,000千円51年度10,000千円、52年度36,000千円（債務負担行為）として、昭和52年3月24日工事着工に踏み切りました。

また、昭和51年9月10日厚生省発第173号の厚生事務次官通知により（地方衛生研究所の強化について）地方衛生研究所設置要綱が改正され、衛生行政の科学的、技術的中核としての重責を感ぜさせられます。

本年報の発刊につきましては、高度の技術革新に既応できる知識と技術面の向上を計りながら、業務の公表と業績の保持に努め、公衆衛生学的な諸問題について、調査研究を進めてまいりました。

今後共皆様様の変らぬ、ご教示とご叱声をせつにお願い申し上げます。

昭和52年12月

所長 藤 崎 米 蔵

目

次

第1章 昭和51年度事務事業概要……………	1	小山田則孝・石崎 睦雄・上野 清一	
1. 庶務部……………	1	片岡不二雄・村上りつ子・久保田かほる	
2. 微生物部……………	2	勝村 馨 (茨城県衛生研究所)	
3. 化学部……………	4	紫外線照射によるBHAと亜硝酸ナトリウ	
4. 食品衛生部……………	5	ム, 硝酸カリウムその反応(Ⅱ)	
第2章 昭和51年度調査研究報告……………	9	BHAの分解物およびBHAと亜硝酸ナト	
昭和51年茨城県内における風しんの血清		リウムとの反応生成物の生物活性について…	39
疫学的調査……………	9	小山田則孝・石崎 睦雄・上野 清一・	
菊田 益雄・根本 治育・時岡正十郎		片岡不二雄・村上りつ子・久保田かほる	
(茨城県衛生研究所)		勝村 馨 (茨城県衛生研究所)	
1977年始めの茨城県におけるインフル		炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による	
エンザの流行について……………	15	生体試料中の微量元素の定量	
時岡正十郎・原田詔八郎・根本 治育		カドミウムの直接測定時における他元素の	
松本 和男 (茨城県衛生研究所)		影響について……………	43
食品中の過酸化水素の比色定量法……………	19	小山田則孝・石崎 睦雄・上野 清一	
村上りつ子・石崎 睦雄・上野 清一		片岡不二雄・村上りつ子・久保田かほる	
片岡不二雄・小山田則孝・久保田かほる		勝村 馨 (茨城県衛生研究所)	
勝村 馨 (茨城県衛生研究所)		生体試料中微量バナジウム分析法(第1報)	
紫外線照射下におけるパラオキシ安息香酸		溶媒抽出—無炎原子吸光法による微量バナ	
ブチルと硝酸カリウムおよび亜硝酸ナトリ		ジウム定量時のキレート試薬の比較検討……………	47
ウムとの反応……………	25	上野 清一・石崎 睦雄・片岡不二雄	
上野 清一・石崎 睦雄・小山田則孝		小山田則孝・村上りつ子・久保田かほる	
片岡不二雄・村上りつ子・久保田かほる		勝村 馨 (茨城県衛生研究所)	
勝村 馨 (茨城県衛生研究所)		生体試料中微量バナジウム分析法(第2報)	
紫外線照射下におけるパラオキシ安息香酸		N-Benzoyl-o-tolylhydroxylamine	
ブチルと硝酸カリウムおよび亜硝酸ナトリ		抽出—無炎原子吸光法による生体試料中微	
ウムとの反応生成物BNHの生物活性につ		量バナジウムの分析法……………	53
いて……………	29	上野 清一・石崎 睦雄・片岡不二雄	
上野 清一・石崎 睦雄・小山田則孝		小山田則孝・村上りつ子・久保田かほる	
片岡不二雄・村上りつ子・久保田かほる		勝村 馨 (茨城県衛生研究所)	
勝村 馨 (茨城県衛生研究所)		炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による	
紫外線照射によるBHAと亜硝酸ナトリウ		生体試料中のコバルト定量……………	59
ム, 硝酸カリウムとの反応(Ⅰ)……………	33	小山田則孝・石崎 睦雄・上野 清一	

片岡不士雄・村上りつ子・久保田かほる 勝村 馨 (茨城県衛生研究所) 炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による、 生体試料中アンチモンの定量法…………… 65	
片岡不士雄・石崎 睦雄・上野 清一 小山田則孝・村上りつ子・久保田かほる 勝村 馨 (茨城県衛生研究所)	
血中微量元素 (As, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, V, Zn) 13種の測 定法とその測定結果…………… 71	
石崎 睦雄・上野 清一・小山田則孝 片岡不士雄・村上りつ子・久保田かほる 勝村 馨・野田 正男 (茨城衛生研究所)	
ジチゾン四塩化炭素抽出法による水中セレ ンの分析法…………… 83	
笹本 和博・勝村 馨・石崎 睦雄 菊池 信生・斉藤 護・久保田京子 (茨城県衛生研究所)	
地下水の呈色物質に関する研究 (第2報)…… 87	
笹本 和博・菊池 信生・斉藤 護 久保田京子・勝村 馨 (茨城県衛生研究所)	
ジャムにおける真菌検出状況について…………… 89	
野畑久美子・佐藤 秀雄 (茨城県衛生研究所)	
キノコによる食中毒…………… 97	
佐藤 秀雄・豊田 元雄 (茨城県衛生研究所)	
県内産ヒラツメガニの鮮度と保存について (第1報) ………………105	
掛礼しげ子 (茨城県衛生研究所)	
肉および肉製品に関する衛生学的研究 (I) 食肉加工工場内における豚肉からの膿瘍の 検出状況について……………109	
村松 良尚・豊田 元雄 (茨城県衛生研究所)	

野犬等捕獲用麻酔具の開発に関する研究(I)……117

石川 庄市・原田 豊
(茨城県土浦保健所)
村松 良尚・豊田 元雄
(茨城県衛生研究所)

第 1 章 昭和 5 1 年度事務事業概要

I 庶務部

1. 機 構

庶務部 (部長 秋田 保)

化学部 (部長 勝村 馨)

微生物部 (部長 時岡 正十郎)

食品衛生部 (部長 豊田 元雄)

2. 職員の配置

職	医師	薬剤師	獣医師	理学	臨床検査技師	その他技術職員	技術補助	事務職	労務職	計
所 長	1									1
庶 部						1		3	1	5
微生物部			1		4					5
化学部		8		1		1	1			11
食品衛生部			6				1			7
計	1	8	7	1	4	2	2	3	1	29

3. 人事異動

年 月 日	職 種	氏 名	摘 要
5 1. 6. 1	技 術 員	鈴 木 八 重 子	衛生研究所勤務を命ずる

4. 予 算 歳 入

款	調 定 額	収 入 額	未 収 額
使用料及び手数料	14,248 千円	14,248 千円	0 千円
諸 収 入	24	24	0
合 計	14,272	14,272	0

歳 出

款	予 算 額	支 出 済 額	不 用 額
衛 生 費	30,862 千円	30,858 千円	4 千円
農 業 費	35	34	1
土 木 費	5,000	5,000	0
合 計	35,897	35,892	5

II 微生物部

1. 業務の内容

微生物部の業務内容は、感染症、その他公衆衛生上必要な疾病について、その流行予測、原因究明、予防方策、検査方法等に関する調査研究、細菌学的検査、ウイルス学的検査、およびこれらに関する研修指導等である。

1) 調査研究

微生物部では、試験検査の中にも研究課題を求め、随時調査・研究を進めているが、本年度の主要研究課題については次のとおりである。

(1) 呼吸器感染症の大気汚染との関連性

前年度に引き続き検討しているが、呼吸器感染症の情報が十分でなく情報の確保手段に努力している。結果は前年度に同じ。

(2) 県内における風しん流行様相の調査研究

前年度に引き続き今年度は県下全域に流行し波及したが、流行地域でも集団によっては波及しない集団があった。詳細は、臨床ウイルス Vol. 4, No. 2 39～40, 1977 のとおり。

(3) いわゆる嘔吐・下痢症の原因追求

前年度にはそれらしい発生があったが、本年度には発生はなかったので、前年度の検討と、発生時の準備を実施した。

以上のほか、豚型インフルエンザに対する抗体保有状況を検討したが、40才代までは抗体を保有しているものはほとんどなく、流行が波及すれば大流行になる可能性がある。しかし50才代以上では多くのものが抗体を保有し、またかなり高い抗体のヒトもあり、流行が波及しても感染者は少ないと推定される。

2) 細菌の分離同定

細菌性の感染症は、近年減少の一途をたどっているうえ、保健所、病院、検査所などで処理されるものが多くなっているため、衛研で実施する試験検査は特殊なものや複雑で手数のかかるもののみとなっている。

a サルモネラの検査件数は表のとおり71件でこれらのうちサルモネラとして同定したものは18件、その内訳は腸チフス菌3株、ナラシノ菌1株、ネズミチフス菌8株、ダービ菌2株、およびマンチェスター菌、ジャバ、モンテビデオ菌各1株であった。

腸チフス菌は、日立市で2株、水海道市で1株が分離されたが、これらの家族、接触者は全員陰性であった。またこの時ウィダール反応も実施し

たが、排菌者の抗体価も比較的低く、上昇もしていなかった。

b 赤痢およびその他の腸内細菌の検査件数は、合計44件で本年度中に赤痢菌として同定したものは1株のみであった。

c 結核菌の検査件数のうち9件がナイアシント陽性で近年にない多い数である。

d その他の細菌検査のうち、結城市宮グラウンド、および日立市内の学校グラウンドなどの土壌中の破傷風菌の検索を35件実施し、そのうち14件が陽性であった。破傷風菌は芽胞としてかなり広く土壌中に存在している。

また7月に、桂村の保育所などで猩紅熱様患者の集団発生があり、溶連菌の検索を行なったが、A群2名、G群3名を発見したのみで同時期には風しんの流行もあり、風しんの検査は実施できなかったが、猩紅熱の流行ではなく風しんの流行であったのかもしれない。

さらに昭和52年3月の終りになって珍しく流行性脳脊髄膜炎の発生報告があり菌検索を実施したが流行性脳脊髄膜炎菌ではなくその他のナイセリア属の細菌であった。

3) ウイルスの試験検査

細菌性感染症が減少している反面ウイルス性の感染症が増加しているが、衛研のウイルス検査情勢は未だ十分ではなく、検査態勢の充実が急務である。

a ウイルスの分離・同定

ウイルス分離のうち、ポリオ麻痺の乳児患者およびその家族の検索を実施したが、患者よりウイルスの分離はできなかったが、母親・祖父よりエコーウイルス7型を分離した。しかし患者のポリオⅢ型の抗体も始めより高く、分離ウイルスが原因とは確定できなかった。その他はインフルエンザ流行時のウイルス分離で、昭和52年の始め県内にはB型インフルエンザが流行し血清検査で確認したが、情報の入手できたのが遅くウイルス分離の検査材料の採取時期が適当でなかったり、インフルエンザでない流行(エコーウイルス分離)であったりしたためか、インフルエンザウイルスは分離できなかった。

b ウイルス血清反応

風しんは昨年度に引き続き今年も流行が続いたが、風しんによる先天性奇形児の問題を大きくクローズアップされ、一種の社会不安をかもし出し

ていた。県内で風しんの検査を実施していたのは衛研のみであったので、一時にこれらの人が衛研をおとずれたり電話で相談してきたり、しばらくは衛研全体がこのことに振り廻されるような状態になり、検査依頼者も多く年度内依頼者は約24名に達した。その成績は、次城衛研年報14号および臨床とウィルスVoL4 No2, 39~40, 1977のとおりである。

昭和51年の流行が一応終息した秋の県民の抗体保有状況については、流行の影響を受けて昨年度に比し若年層で抗体陰性者が減少していた。その詳細は、本号調査研究報告のとおりである。

日本脳炎は7月13日~9月14日までの計8回、水戸と畜場に集まった殺豚、毎回20頭の血中抗体価を測定した。HI抗体保有豚は合計5頭のみでこれまでの検査に比べ非常に少なかった。また、このうち新鮮感染と考えられるものもわずかに3頭のみであった。その詳細については本号調査研究報告のとおりである。

インフルエンザの本年度の流行は、1月の終りから2月にかけて、A型の流行のような短期間に急激な発生で3月のはじめには、ほぼ終息した。流行初期の発生校の検査を実施し、B型の流行であることを確認した。その詳細については、本号調査研究報告のとおりである。

c その他の血清反応

その他の血清反応として実施したのは、ほとんどが梅毒の血清反応で、STS法とTPHA法、FTA法を実施している。

(3) その他

その他の検査として実施したのは、血液型と寄生虫の検査である。今春谷田部町内で水田にて皮膚炎を起こした人が発生したので、鳥類の住血吸虫感染による水田性皮膚炎の疑いをもち、水田のモノラガイ、ヒメモノアラガイの住血吸虫セルカリアを検索したが、検査時期が遅かったことによると思われるが、セルカリアは、すべて陰性であった。しかし翌年適時に保健所と筑波大学で検査を同地区からセルカリアを分離している。

3) 技術研修・指導

(1) 研 修

昭和51年6月16日 関東甲信地研ブロック風しん検討会に参加した。

昭和51年7月14日 豚型インフルエンザ研究会

に参加した。

昭和51年11月20日 風しん検討会に参加・発表した。

昭和51年12月6日~8日 インフルエンザ研究会に参加発表した。

昭和51年12月20日~25日 ガスリー法研修に参加した。

(3) 講 習

昭和51年7月13日 保健所検査技師に対して

a 風しんの抗体価の判定

b ASLO値の新しい判定法

c 風しんのマイクロタイター法による測定実習を実施した。

昭和51年11月29日 茨城県防疫訓練(コレラ)に講師として参加。

表1 昭和51年度試験検査件数

種 別		区 分	依 頼 検 査	行 政 検 査	計
細菌の 分離 同定	サルモネラ		23	48	71
	赤痢		18	26	44
	ウイルス病				
	結核		8	11	19
	その他の細菌		76	60	136
小 計			125	145	270
ウ分 離 固 定の	日本脳炎				
	インフルエンザ			88	88
	エンテロウィルス			6	6
	その他のウィルス			1	1
小 計				95	95
ウ血 清 反 応	日本脳炎			282	282
	インフルエンザ		6	495	501
	風しん	1,926		534	2,460
	その他のウィルス			8	8
	小 計			1,932	1,319
そ血 清 他 反 応	トキソプラズマ		10		10
	梅毒		2,154	96	2,250
	その他			26	26
	小 計			2,164	122
血液型およびその他			7	50	57
合 計			4,228	1,731	5,959

III 化学部

1. 業務の内容

化学部は、対象を次のものにおいて試験検査（行政試験と一般依頼試験）、調査研究を行い、研修指導は主として保健所職員を対象として実施した。

1) 食品化学

- (1) 食品中の食品添加物
- (2) 食品中の有害化学物質
- (3) 食品中のかび毒
- (4) 食品衛生法による製品検査
- (5) 食品添加物、容器包装の規格基準検査

2) 医薬品等試験

- (1) 日本薬局方収載医薬品試験
- (2) 一般医薬品試験
- (3) 衛生材料、化粧品試験
- (4) 毒物、劇物試験

3) 臨床化学

4) 有害家庭用品

5) 水質

- (1) 水道法による原水、給水開始前検査
- (2) 工場排水
- (3) 河川水
- (4) 温（鉱）泉分析
- (5) 清掃施設、と畜場浄化施設の機能、放流水

6) 産業廃棄物

7) 環境保健

2. 試験検査実施の概況

試験検査の実施の状況は、表 1 のとおりである。特に衛生行政遂行に関係が深い行政試験検査の概況は次のとおりである。

1) 食品化学試験

(1) 食品中の食品添加物試験

食品添加物に対する消費者の関心度が極めて高く、食品衛生行政上重要な課題の一つである。これらの不正使用防止のため保健所から送付された 39 件について精密検査を実施した。

(2) 農業残留試験

前年度に引継ぎ牛乳、野菜、果実等について 31 件の検査を実施した。

(3) 食品中の PCB 試験

PCB による汚染の現状調査を県内沿岸でとれる魚貝類 35 件について実施した。

2) 医薬品等試験

医薬品一斉収去試験として、日本薬局方アスピリン

13 件、日本薬局アンモニア水 16 件実施した。

3) 臨床化学試験

母乳中の PCB 試験 6 件、塩素系農薬残留試験を 6 件実施した。

4) 家庭用品試験

家庭用品の安全性を確保するため肌着、化粧品、靴下等について、ホルマリン、有機水銀、塩化ビニール塩酸等の検査を 185 件実施した。

5) 水質試験

(1) 利根川の水質及び底質試験

前年度に引継ぎ河川水 60 件、底質 32 件について実施した。

(2) 井水試験

環境衛生上必要な試験として保健所から送付された井水 32 件について実施した。

3. 研修指導

1) 保健所に勤務する食品衛生監視員、環境衛生監視員、薬事監視員に対し、それぞれ必要な技術指導をした。

2) 市町村勤務職員（上水道、清掃施設）に対し試験検査の指導をした。

4. 調査研究

1) 調査研究

(1) 血中微量元素 13 種の測定法とその測定結果について

(2) 食品添加物の二次反応物質の生物汚性について

(3) アンチモンの分析法

(4) バナジウム測定法の比較について

(5) 生体バナジウムの測定法

(6) フレームレスを用いたカドミウム分析についての一考察

(7) 食品中コバルトの分析法について

(8) 過酸化水素の簡易測定法

(9) セレンの簡易測定法

(10) 畜場廃水に関する研究

(11) 地下水の呈色物質に関する研究（第 2 報）

(12) ジチゾン四塩化炭素抽出法による水中セレンの分析

2) 学会発表

(1) 食品添加物の照射分解に関する研究（Ⅲ）— 紫外線照射による BHA と NaNO_2 、 KNO_3 との反応—（昭和 51 年 10 月第 32 回日本食品衛生学会）

(2) 食品添加物の照射分解に関する研究（Ⅳ）

—紫外線胆射によるパラオキシ安息香酸ブチルとNa-NO₂, KNO₃との反応

(昭和51年10月第32回日本食品衛生学会)

(3) 原子吸光法による微量元素の分析(IV)

—炭素管アトマイザーを用いた無炎原子吸光法による動植物中のヒ素およびアンチモンの定量法

(昭和51年10月第32回日本食品衛生学会)

(4) 食品中の添加物試験法(II)

—3×4ルベンゾチアゾロン法による食品中過酸化水素の定量—

(昭和51年10月第32回食品衛生学会)

(5) 臨海工業地帯住民の重金属汚染に関する研究(I)

—毛髪、血液中マンガン濃度の特異性—

(昭和51年10月第35回日本公衆衛生学会)

3) 論文

(1) 食品添加物の相互反応に関する研究

(第2回医学研究助成論文抄録集大同生命事業団)

(2) ガスクロマトグラフィーによる食品中亚硝酸の定量

(食品衛生学雑誌, 17巻(6), 428~433
1976)

(3) 炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による生体試料中の微量セレンの定量法

(分析化学, 26巻(3), 206~207
1977)

(4) 炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による生体試料中のヒ素定量法

(分析化学, 26巻(10), 667~672
1977)

(5) 炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による血中ヒ素の分析法

(産業医学, 19巻(3), 136~137
1977)

表1 昭和51年度試験検査の実施状況 —化学部—

種別	試験検査実施件数		
	依頼	行政	計
食品化学試験	398	105	503
製品検査	187		187
容器包装試験	19		19
医薬品等試験	56	30	86
臨床化学試験	24	151	175
有害家庭用品試験	4	185	189
原水飲料水等試験	96	34	130
工場排水試験	1	14	15
河川水試験	61	97	158
清掃施設関係試験	372		372
下水試験	17	118	135
温鉱泉分析試験	6		6
産業廃棄物試験	4		4
計	1,245	734	1,979

IV 食品衛生部

1. 業務の内容

食品衛生部は、次の各項目について試験検査、(行政試験, 依頼試験), 調査研究をおこなった。また食品衛生監視員, 狂犬病予防員, と畜検査員等に対し, 特殊検査の技術講習を実施した。

(1) 食品衛生法による食品および容器包装等に関する規格試験。

(2) 特産品(とくに納豆)に関する検査および調査研究。

(3) 食中毒細菌学的検査および調査研究。

(4) かび, 酵母, 嫌気性菌に関する検査および調査研究。

(5) 人畜共通伝染病に関する検査および調査研究(含狂犬病)

(6) 環境衛生(含医動物)についての生物学的試験および調査研究。

(7) 医薬品等に関する微生物学的検査および研究。

(8) 動物試験(発熱性物質, 毒性, 感染等各試験)に関する研究。

(9) 病理組織学的検査および研究。

表1 昭和51年度試験検査の実績

食品衛生部

種 別		依 頼 検 査	行 政 検 査	計	昭 和 5 0 年 度	備 考
食 品 検 査	食 肉 製 品	436	702	138	471	
	乳 乳 製 品	69	29	98	264	
	特 産 品	470	130	600	567	
	冷 凍 食 品	8	25	33	158	
	そ の 他 の 食 品	61	47	108	342	
	食 中 毒 関 係		613	613	248	
小 計		1,044	1,546	2,590	3,050	
医 試 薬 品 験	デ ィ ス ポ ー ザ ブ ル	216		216	281	
	保 存 血 液		10	10	10	
	急 性 毒 性	21		21		
小 計		237	10	247	291	
環 境 衛 生	水 質 試 験	12		12	72	
	衛 生 害 虫		4	4	57	
	小 計	12	4	16	129	
人 畜 共 通 病	炭 疽 そ の 他		8	8		
	狂 犬 病		6	6	2	
	動 物 試 験		260	260	10	
	病 理 組 織		57	57	10	
	小 計		331	331	22	
食 品 衛 生 部 合 計		1,293	1,891	3,182	3,492	

2. 試験検査の内容

(1) 行政試験検査

食品衛生法による食品検査は、表1のとおり933件でその殆んだの857件は、県内で生産され県外に出荷されている食肉製品と納豆、冷凍食品について製品検査、工場の製造工程における系統検査等で、食肉製品は、昨年の3.7倍、特産品は8.6倍と行政検査依頼の増加が目立ち、とくに昨年来、他県で中毒を起した県内大洗特産「ヒラツメガニ」については、これの保存方法、製造方法の改善に検討を加えた。

食中毒試験の検体受理件数は、613件（原因食品吐物、患者便、血液、増菌培地等）で、2月より9月まで13件発生し、摂食者402名、患者数124名、病因物質解明率は69%、この内訳は、腸炎ヒブリオ3件、病原性ブドウ球菌5件、病原大腸菌1件、不明4件であった。

医薬品試験は、輸血用保存血液の無菌試験を行なった。

環境衛生試験は、下館警察署留置場内の衛生害虫、日立保健所管内団地における衛生害虫の同定であった。

人畜共通伝染病は、石岡酪農内で発生した乳牛の真性炭疽病の早期判定により、これらから生産された製品による二次感染の防止と、この決定に要した動物試験、病理組織の件数と、竜ヶ崎、石岡各HCで疑似狂犬病として依頼のあった咬傷犬の病理解剖、病理組織検査動物と古河HCにおける毒餌の誤食による死亡事故の原因究明であった。

(2) 依頼試験検査

食品関係依頼試験は表1のとおり1,044件で、内訳は、食肉製品436件、乳および乳製品69件、県特産品納豆自主検査470件、冷凍食品8件、その他の食品61件であった。

医薬品試験は、デスポーザブル注射器の無菌試験216件と急性毒性試験21件であった。

環境衛生関係依頼試験は、放流水の細菌検査12件を行った。

2) 研修・指導

(1) 県外における所員の技術研修は、厚生省主催の食品衛生検査特殊技術講習会（食中毒）、国立予防衛生研究所（実験動物）、国立衛生試験所（カビ）等の試験検査法についてそれぞれ担当者を派遣し研修させた。

(2) 県内における講習は、食品衛生監視員に対し牛乳の規格検査方法、抗生物質試験について、当所で実地研修を行った。

食肉衛生検査所の中堅幹部に対して嫌気性菌特殊検査方法について研修を行った。

V 調査研究

1. 茨城県における毒きのこの調査研究（新規）
2. 冷凍食品の保存日数と大腸菌群，細菌数の推移（継続）

3. 生肉および食肉製品中の細菌の消長と保存について（継続）

VI 学会発表

1. 野犬捕かく用麻酔具としてボウガンの利用について
昭和51.6.19, 第9回茨城県公衆衛生獣医研究会発表
昭和51.9.22, 昭和51年日本獣医公衆衛生学会（関東）
2. 清涼飲料水の異物検査について
異物としての真菌検索について
昭和51.10.29, 第35回日本公衆衛生学会

第二章 昭和51年度調査研究報告

昭和51年茨城県内における風しんの血清疫学的調査

菊田 益雄・根本 治育・時岡正十郎
(茨城県衛生研究所)

I はじめに

昭和50年春頃より東日本を中心にはじまった風しんの流行は、51年に至って全国的な大流行となった。茨城県内でも50年春に県南地方の中学校、高等学校等で風しんの患者を確認したのをはじめとして51年春に至り県内全域にわたる大流行となった。既に本誌14号にて報告したとおり、51年2月頃より新聞、テレビ等で風しんの危険性がたびたび報道されて当衛研にも全県下より検査依頼が集中しその数は2~7月の間に1,576名に達した。このうち抗体陰性者は16%、血清学的に風しん感染を確認したものの15名の成績を得ている。本調査においてはこれらの流行が一応下火になったと思われる時点における抗体保有状況を知るために昨年同時期の調査と同様51年7~11月に県内各地区住民の風しんに対する抗体保有状況を調査したので報告する。

II 調査の方法

1. 対象

この対策の施設、年齢、人員等は下記のとおりである。

- 1) 国立病院小児科外来患者
0~15才の50名
- 2) 県立中央病院小児科外来患者
0~14才の43名
- 3) 那珂湊市立那珂湊中学校1年女子生徒
12~13才の160名
- 4) 県立取手二高1年女子生徒
15~16才の48名
- 5) 県立江戸崎西高1年女子生徒
15~16才の50名
- 6) 県立水戸看護専門学校学生
19~33才の92名
- 7) 古河保健所管内に居住する主婦
25~29才の61名

2. 血清検査の方法

厚生省伝染病流行予測調査検査術式による風しん赤血球凝集抑制反応、抗原は武田薬品KK製により血中抗体を測定した。

III 成績

各対象群ごとの成績をみると次のようである。

1. 国立水戸病院小児科外来患者群

この対象は水戸市居住者が36名(72%)、勝田市居住者が4名(8%)、その他は水戸市周辺の居住者で年齢別抗体価の分布は表1のとおりである。抗体陽性率は44%で昨年同時期の2.5%と比較して41.5%も多くなっている、今年春の流行の影響を大きく反映しているものと思われる。

2. 県立中央病院小児科外来患指群

この対象は笠間保健所管内の居住者がほとんどで、その他県北・県南地区居住者も多少含まれている。年齢別抗体価の分布は表2のとおりで、抗体陽性率は37.3%、昨年同時期の調査では0%であったので、この対象群も今次の流行の影響を大きく反映しているものと思われる。

表1. 風しんウイルスに対するHI価の分布 (年齢別)

—国立水戸病院小児科外来—

(51.7~9)

HI価 年齢	<1:8	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	計
1	1										1
2	3					1					4
3	4				1	1					6
4	2										2
5	3				1						4
6	2				4	1					7
7					1						1
8	3			2		1					6
9	1			1		1					3
10	2										2
11	3				3	1					7
12						1					1
13	1				1						2
14	2			1							3
15	1										1
計	28 (56%)			4 (8%)	11 (22%)	7 (14%)					50

表2. 風しんウイルスに対するHI価の分布 (年齢別)

—県立中央病院小児科外来—

(51.7~9)

HI価 年齢	<1:8	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	計
0	1		1								2
1	5										5
2	1			1							2
3	3				1						4
4						1					1
5	6			2							8
6	3			4	1						8
7											
8											
9	2										2
10				1	1						2
11	3										3
12	2										2
13	1		1			1					3
14					1						1
計	27 (62.8%)		2 (4.7%)	8 (18.6%)	4 (9.3%)	2 (4.7%)					43

3. 那珂湊中学校生徒群

この対象是那珂湊市内に居住する中学1年女子生徒12～13才である。抗体価の分布は表3のとおりで、抗体陽性率は25%と低く過去に感染していないものが非常に多かった。この対象に対するアンケート調査で抗体保有者のうち51年春に感染したと答えたものは4名でその抗体価は1:128が3名、1:32が1名、42年秋より43年春にかけて感染したと答えたのも4名で、その抗体価は1:32が3名、1:

16が1名である。また、抗体保有者で風しんに感染したことがない、及びわからないと答えたものは33名もあった。これを抗体価別にみると、1:128が2名、1:64が11名、1:32が13名、1:16が4名、1:8が3名である。以上のアンケート調査及び抗体価の分布状況から考えてこの対象群では42～43年頃に小流行があり更に今回の影響も受けているものと考えられるが大きな流行の影響は受けていないと考えられる。

表3. 風しんウイルスに対するHI価の分布(年令別)

—那珂湊中学校—

(51.)

HI 価 年令	<1:8	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	計
12	59	2	2	10	5	2					80
13	59	1	4	7	6	3					80
計	118 (73.8%)	3 (1.9%)	6 (3.7%)	17 (10.6%)	11 (6.9%)	5 (3.1%)					160

4. 県立取手二高生徒群

この対象は50年頃流行があったと思われる県南地域取手市の中央に位置する学校として選んだ対象群である。居住地別にみると取手市周辺居住者がほとんどであるが、利根川を隔てた千葉県我孫子市からの通学

者も4名含まれている。この抗体価の分布は表4のとおりで抗体陽性率は25%と低い、抗体価別にみると1:128が1名、1:64が5名、1:32が6名で今後の流行の影響は少なかったものと思われる。

表4. 風しんウイルスに対するHI価の分布(年令別)

—県立取手二高—

(51. 7. 9.)

HI 価 年令	<1:8	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	計
15	23			5	3	1					32
16	13			1	2						16
計	36 (75%)			6 (12.5%)	5 (10.4%)	1 (2.1%)					48

5. 県立江戸崎西高生徒群

この対象は取手二高の対照として選んだものでほとんどのものが江戸崎町及びその周辺の町村の居住者である。抗体価の分布は表5のとおりで抗体陽性率は22

%で取手二高同様低い陽性率である。抗体価別にみると1:128が1名、1:64が7名、1:32が2名、1:8が1名で取手二高と同じように今後の流行の影響は少なかったものと思われる。

表5. 風しんウイルスに対するHI価の分布(年令別)

—県立江戸崎西高—

(51. 7. 9.)

HI 価 年令	<1:8	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	計
15	24	1		1	1	1					28
16	15			1	6						22
計	39 (78%)	1 (2%)		2 (4%)	7 (14%)	1 (2%)					50

6. 水戸看護専門学校生徒群

この対象は水戸市居住者が35名(37%)でその他は常磐線及び水戸線沿線に広く分布している。年齢別では19~22才が81名でその他は23~33才各年齢1~3名である。この年齢別抗体価の分布は表6のとおりで抗体陽性率は73.9%と高くなっている。

抗体価別にみると1:128が1名、1:64が10名、1:32が31名、1:16が22名、1:8が4名でこの対象群では過去に感染を受けていると思われるものが多く今次の流行の影響は少なかったものと思われる。

表6. 風しんウイルスに対するHI価の分布(年齢別)

—水戸看護—

(51. 8. 12)

HI価 年齢	<1:8	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	計
19	11	1	9	6	2						29
20	6		4	5	1						16
21	4	1	2	8	4	1					20
22	2	1	4	7	2						16
23				2							2
24											
25	1		1								2
26					1						1
27											
28				1							1
29											
30											
31		1									1
32			1	2							3
33			1								1
計	24 (26.1%)	4 (4.3%)	22 (23.9%)	31 (33.7%)	10 (10.9%)	1 (1.1%)					92

7. 古河保健所管内主婦群

この対象は古河市及び総和町に居住する25~29才の婦人で、年齢別抗体価は表7のとおりである。抗

体陽性率は88.5%で抗体価の分布は1:8~1:64でほとんどのものが過去の感染によるものと思われる。

表7. 風しんウイルスに対するHI価の分布(年齢別)

—古河保健所管内主婦—

(51. 9.)

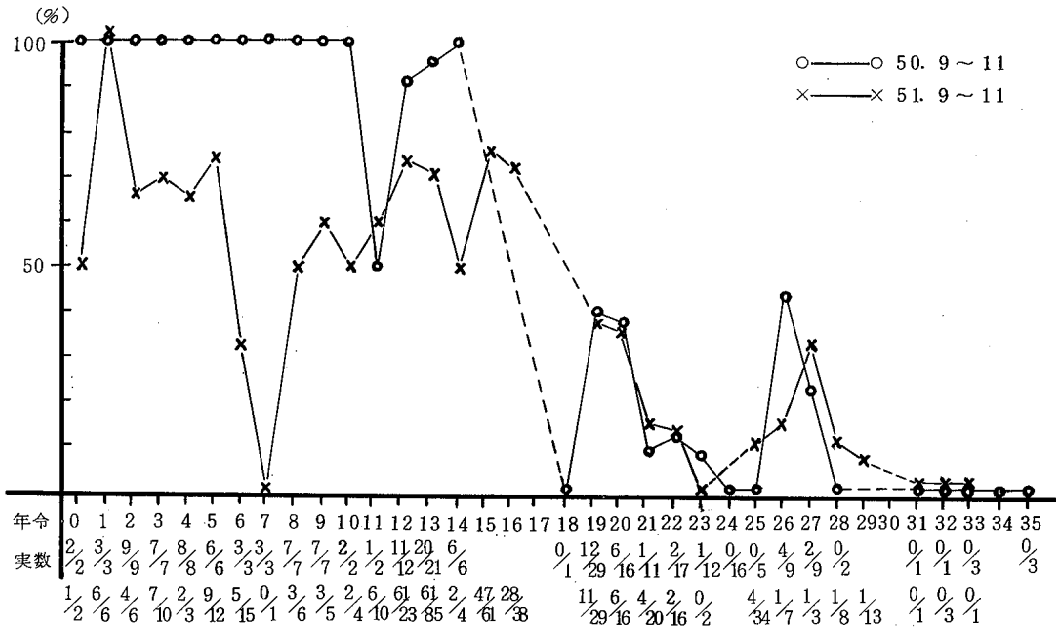
HI価 年齢	<1:8	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	計
25	3	5	11	12	1						32
26	1	1	1	3							6
27	1	1		1							3
28	1		4	2							7
29	1	2	4	5	1						13
計	7 (11.5%)	9 (14.8%)	20 (32.8%)	23 (37.7%)	2 (3.2%)						61

8. 全対象者の抗体陰性者

風しんの流行に際し問題となる抗体陰性者の率を年齢別に昨年同時期の調査と比較してみると図1のとおりである。図にみられるように対象者のない年齢層、対象者の少ない年齢層もあったが0～10才では昨年の調査で100%であったものが今回の調査ではかなりの陰性率の減少がみられる。これをさらに2つに分

けてみると0～4才では25.9%（100-74.1%）5～9才では47.8%（100-52.2%）の減少になっている。また、16才までの中学生、高校生の年齢層でも多少の陰性率の減少がみられるが、19才以上の妊娠可能年齢層では昨年とほとんど同様の陰性率で今次の流行が14才ぐらいまでの低年齢層を中心に波及したことがうかがわれる。

図1 風疹ウイルスに対するHI価年齢別陰性率



IV 考察

昭和51年度伝染病流行予測調査報告書(風しん)³⁾によると我国における今次の風しんの流行は昭和50年冬から春にかけて大規模な流行の様相をもって始まり、51年には更に前年を上まわる流行となった。51年の流行のピークはほとんどの県で5月から6月で、2月から7月までの間に全国で149万人の罹患者が報告されている。茨城県でも50年春の県南地方の流行¹⁾を始めとして、51年には県全域にわたる大流行²⁾となった。本県においては47年より妊娠可能年齢層の抗体保有状況調査を実施してきているが、50年からは更に0才からの低年齢層の調査も加え流行の影響を記録し更に第3年目流行の下地となる抗体陰性者の分布状況を検討した。10才以下の低年齢層で50年の成績では陰性率が100%で水戸市を中心として対象地区では50年春の流行の影響は反映されていなかった。これに対し本年の調査成績には51年春の流行の

影響が明らかに現われている。11～16才の中学生、高校生の年齢層でもわずかにその影響がみられる。また、19才以上の妊娠可能年齢層では抗体陰性率の変化はあまりみられない。以上の成績は全国の流行予測調査成績にも一致した成績となり、低年齢層で今次の流行の感染をまぬがれたもの及び妊娠可能年齢層の抗体陰性者が常に後にもちこされていることは、感受性者を妊娠時の風しん感染から守るための手段としてワクチンの接種が必要であることを示している。また、地域別、年齢別によっても今次流行の影響の少なかったと思われるところも見うけられるので流行第3年目にあたる52年にも多少の流行が続くものと考えられるので更に調査を続けることが必要である。

V まとめ

昭和51年秋、国立水戸病院小児科外来患者、県立中央病院小児科外来患者、那珂湊中学校生徒、県立取手二高生徒、県立江戸崎西高生徒、県立水戸看護専門学校生徒、古河保健所管内主婦など0～33才までの合計504名の風しんに対する抗体保有状況調査を行なって昨年同時期の調査と比較検討し次のような成績を得た。

1. 0～10才までの抗体陰性率は0～7.5%で昨年の100%と較べかなり減少がみられた。

2. 11～16才の中学生、高校生ではわずかながら陰性率の減少がみられ、那珂湊中学校生徒ではアンケート調査とあわせて51年春の感染が確認された。

3. 19～25才では陰性率11.8～37.9%、26～33才では0～33%と昨年同様抗体陰性率の変化はほとんどみられず感受性者ももちこされている。

4. 以上の成績から今次の流行は中学生以下の低年齢層を中心に流行したことが示されている。

5. 風しんの流行は3年を1周期とされているので第3年目にあたる52年も流行は続くものと考えられる。

(本調査にあたって御協力を受けた、国立水戸病院富田小児科医長、県立中央病院沢田副院長、竜ヶ崎保健所長、那珂湊保健所長、古河保健所長、及び検査材料採取に御協力をいただいた病院、学校、保健所の各位に深謝致します。)

主 要 文 献

- 1) 時岡正十郎他：茨城衛研年報，
13：9～19，1975
- 2) 時岡正十郎他：茨城衛研年報，
14：9～25，1975
- 3) 厚生省：昭和51年度伝染病流行予測調査報告書
(風しん)，1977
- 4) 厚生省：伝染病流行予測調査検査術式，昭和50
年。
- 5) 平山宗広：日本医事新報，2720：25，1976
- 6) 木村三生夫：臨床とウイルス，3：33，1974
- 7) 風疹に関する研究会1976：臨床ウイルス，
5(2)，1977
- 8) 植田浩司：第17回臨床ウイルス談話会抄録：
10：1976

1977年始めの茨城県におけるインフルエンザの流行について

時岡正十郎・原田詔八郎・根本 治育
松木 和男（茨城県衛生研究所）

I はじめに

1975年の終りから1976年の始めにかけて我が国に流行したインフルエンザはA型で、茨城県にも波及し、かなりの大流行となった。この流行ウィルスは、A/Victoria/75型とA/東京/75型で、その抗原構造は、従来の1973年の流行ウィルスであったA/東京/6/73型とかなり異なっており大きな流行を起こしたが、このように抗原構造の違いのあるA型株が出現した場合にはしばらくその株の流行が続いたことが多く、1977年にはこの株の流行があるのではないかと予想されていたが、1976年のA型の流行が一応終息した3～4月になって、大阪、神奈川などで若干の流行があり、B型のウィルスが分離された。このB型が暮れになって再燃し、1977年のはじめに続いた。

県内では1977年の1月の中旬になって、日立市の大沼小学校で学級閉鎖が行なわれ、それ以降休校等の措置をする学校が続発してきたので、この状況について調査し、本県の流行もB型であることを確認したので報告する。

II 調査方法

1. インフルエンザ様患者の調査

県保健予防課のインフルエンザ発生週報によった。

2. ウィルス学的試験

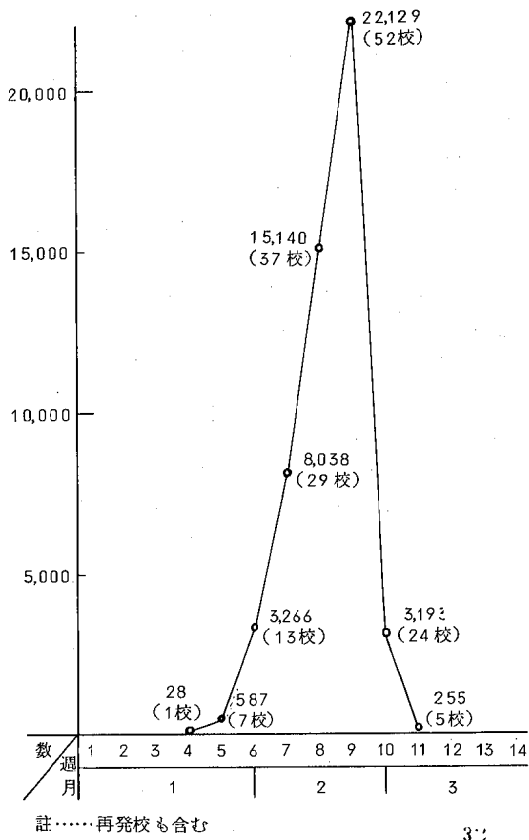
ウィルス分離はふ化鶏卵法、血清検査は赤血球凝集抑制抗体価（以下HI価と略す）をチューブ法により検査した。使用した抗原は、A/東京/2/75（H3N2）、A/山梨/20/75（H3N2）、A/NJ/8/76（Hsw1N1）、B/岐阜/2/73 inhibitorの除去にはRDEを用いた。

III 成績

1. 集団かぜ発生による学校閉鎖措置校

県内の集団かぜによる学校閉鎖措置校数、およびそのインフルエンザ様患者の週別発生の推移は図1のとおりで、1977年の第4週、日立市の大沼小学校での学級閉鎖が初発で、昨年度の初発校の発生に比べ約

図1. 集団かぜによる学校閉鎖措置校とインフルエンザ様患者発生の推移



1カ月遅かった。この初発に引き続き日立市内の諏訪坂本、助川の各小学校、水府村の染和田小学校、東海村の石神小学校、古河二小などでも学級閉鎖や休校措置が行なわれ、図に見られるように、発生数は2月になって急激に増加した。第9週の2月下旬が発生のピークで、このピークが過ぎると急激に減少し、11週の3月上旬で終息した。

昨年始めのA型の流行に比べ、発生数およびその消長はほとんど同じようであった。また発生校数の合計は168校で、発生校の総患者数も5,263名と昨年の流行に比べ稍多く、一見A型の流行を思わす様相

であった。

発生地区は図には示していないが、昨年度やこれまでの発生と同様に、日立市、勝田市、水戸市、およびその周辺地区が多く、県西、県南地区は非常に少なかった。

2. ウィルス学的検索

流行の初期に学校閉鎖措置がなされた日立市の大沼小学校、諏訪小学校、東海村の石神小学校、那珂湊市の那珂湊中学校、および流行予測調査の対象であった陸上自衛隊勝田部隊のインフルエンザ様患者などのウィルス学的検査を実施して、インフルエンザの県内流行を確認した。

1) ウィルス分離

流行を確認するためウィルス分離を実施したのは、大沼小学校の7名（1月18日検体採取）、諏訪小学校の7名（1月25日検体採取）、石神小学校の5名（2月1日検体採取）、那珂湊中学校の7名（2月10日検体採取）、および勝田部隊の60名（10月～3月、毎月10名）、合計86名であったが、うがい水の採取時期が適当でなかったか、或いは卵による増殖力の非常に弱いウィルスであったのか、エコーウィルスが1株分離されたのみで、後述するようにペアの血清検査で感染を確認したのものからもインフルエンザウィルスの分離はできなかった。隣県では、埼玉県、栃木県でウィルスの分離をしているが、福島県、千葉県でもウィルスの分離はできなかったようで、福島県、茨城県、千葉県と南北に連なった3県のウィルスは同じような性質をもったウィルスであったのかもしれない。

2) 血清学的試験

前年度流行株のA型2株、1976年アメリカ、ニュージャージーで流行し今後の流行が問題になっている豚型株、およびこれまでの最も新しいB型流行株の4株に対して、1月中・下旬に防疫措置を実施した大沼小学校で5名、諏訪小学校で7名、2月初旬に防疫措置を実施した石神小学校で4名、那珂湊中学校で7名、10月から翌年の3月まで流行予測の対象施設であった勝田自衛隊で毎月10名、合計33名のインフルエンザ様患者の急性期、回復期のペア血清のHI価を測定した。

A型3株に対してHI価の有意の上昇を示したものはなかった。またA/NJ株に対しては大沼小学校の1名以外抗体を保有していたものはなかった。

B型株に対しては、大沼小学校で5名中2名、諏訪

小学校で7名全員、那珂湊中学校で7名中2名のものがHI価の有意の上昇がみられ、B型インフルエンザに感染していた。しかし石神小学校では、急性期のB型HI価が稍高いものもあったが、ペアの血清検査でHI価の有意の上昇をしているものがなかった。急性期の採血が遅かったか、またはこの対象の中よりエコーウィルスを分離したものがあったので、インフルエンザ以外のかぜ疾患の流行であったのかも知れない。さらに勝田自衛隊でもペア血清の検査で、HI価の有意の上昇をしたものはなかった。これは後述するように年令の多いグループでは今回のB型に感染したものは少なかったなどの理由によるものであろう。

次に1月下旬から2月上旬にかけてのインフルエンザの流行時期にHI価を測定したものを年令別に表にしてみると表1のとおりで、表に見られるように年令の少ないもの程感染者が多く、年令の多いもの程感染者が少なくなっていて、今回のB型の流行は主として低年令層に流行し、高年令層ではインフルエンザ以外の流行が多かったと推定される。

表1 年令別B型インフルエンザ感染状況

年 令	インフルエンザ様患者	感染者	備 考
7	1	1	
8	4	4	
9	1	1	100%
11	8	3	
12	2	0	
13	4	2	
14	2	0	31%
21	1	0	
22	1	0	
23	1	0	
25	1	0	
27	1	1	20%
32	1	0	
35	1	0	
36	1	0	
44	1	0	
47	1	0	0%
計	32	12	38%

また、これらのうち、ワクチンを接種したものと、接種しなかったことが確実に判明しているものを分けて、そのHI価の分布をみると表2のとおりで、表に

みられるように、非接種群のほうが感染者が少なかった。しかし、このワクチン接種群はほとんど低年齢者で、ワクチン非接種群のほとんどは高年齢者で、同じ流行集団でないのでワクチンの効果を判定することはできない。さらにこの両群のHI価の保有状況をみると、感染者はすべて $\leq 1:64$ のものであり、血中HI価が高いものは感染していない。また、ワクチン接種者のHI価で、A型の分布はワクチン非接種者に比べ高いが、B型では、ワクチン接種群もワクチン非接種群も余り変りのない抗体レベルで、この程度のワクチン接種効果では、感染を防御していない。ワクチンに含有するB型株の性質によるものか、含有単位が不十分か、いずれにせよ今後検討を要する必要がある。

表2 急性期のHI価とB型感染者

	ワクチン接種群			ワクチン非接種群		
	A型	B型	B型感染者	A型	B型	B型感染者
2048						
1024	1					
512	4	2				
256	3					
128					1	
64	3	3	3	5	1	
32	3	2		3	3	1
16		3	3	2	2	
<16		4	2	4	7	1
計	14	14	8	14	14	2

IV 考察

県内におけるインフルエンザの流行は、東京都などの流行に稍遅れて、常磐線沿いの日立、水戸、勝田、取手などの市でまず流行が始まり、漸次その周辺市町村に及んで行くような流行様式を取ることが多いが、その周辺への波及は、県北地方に比べ、県西、県南地方は比較的少なかった。しかし最近では、東北線に沿った古河市及びその周辺市町村も、常磐線沿いの各市町村と同じような時期の発生が見られるようになってきている。また流行ウィルス型も、東京都などと同じウィルス型の流行で、県内のみ特異の型の流行は見られていない。

今回のB型の流行もまた例年の流行と同じようなパターンをとったが、その流行の消長も昨年のA型の流行と同じような流行で、これまでのB型流行で多かったくすぶりの流行でなく、一見A型と同様のはげしい爆

発的な流行であった。その正確な原因は不明であるがおそらく届出の問題ではないかと考えられる。

また県内に波及してきた流行が、県北地方の広がり比べ、県西、県南地方の周辺地区への広がりが少なかったのは例年と同じような傾向であった。県西、県南地方の予防的環境等が県北地方に比べ特に優れているということも考えられないので、その原因は良く解らないが、インフルエンザに対する認識の差が表に現われているのではないかと考えられる。

今回の流行で、感染者の急性期のHI価はすべて $\leq 1:64$ であった。これまで多くの感染者の検討から $1:64$ のHI価であれば多くのものは感染をまぬがれると言われているが、⁹⁾今回の県内のB型の流行では $1:64$ のHI価を保有していても4名中3名が感染していた。B型でもA型ほどではないが抗原構造はかなり変化してきているので、園口が言うように、過去の流行ウィルスの共通抗原因子に対する抗体価の上昇が、今回の測定値に対して影響を及ぼしているのではないかと考えられる。

ワクチン接種は以上のような感染をまぬがれるHI価を保有させるのが目的であるが、今回の流行でワクチンを接種していながら感染をうけたもののB型のHI価の分布は、ワクチン非接種群のB型HI価の分布とほとんど差がなかった。現行のワクチンではその感染防御効果が未だ完全ではないなどと問題になる場合もあるので、今後のワクチンはB型でもA型と同様のレベルまでHI価の上昇するワクチンでなければならぬであろう。アビディティの高い株を使用するか、アジュバントワクチンの開発などが必要であろう。

V 結果

- 1977年の1月から2月にかけて、県北地方を主として、昨年始めのA型インフルエンザの流行と同じような規模のインフルエンザの流行があり、血清学的にB型インフルエンザであることを確認したが、ウィルスの分離はできなかった。
- 本流行では年齢の若いものの感染者の割合が多く、年齢の多いものの感染者の割合は少なかった。また感染者の急性期のHI価はすべて $\leq 1:64$ であった。

謝辞

(本調査にあたって材料採取に特別の御協力をいただいた日立保健所長、那珂湊保健所長、および関係保健

所，市役所，学校などの各位に深謝する。)

主要文献

1. 時岡ほか：1975年くれから1976年はじめにかけての茨城県内におけるインフルエンザの流行，茨衛研年報，14，13，1975。
2. 福見ほか：1975～1976年におけるインフルエンザウィルスの抗原分析について，インフルエンザワクチン研究会，第15回討論会記録，101，1976。
3. 厚生省：インフルエンザ様疾患発生報告，1977
4. 時岡ほか：1972年始めの茨城県内におけるインフルエンザの流行について，茨衛研年報，1013，1973。
5. 時岡ほか：昭和48年度茨城県内におけるB型インフルエンザの流行について，茨衛研年報，1217，1974。
6. 園口ほか：B型インフルエンザの学校流行，日本医事新報，2648，25，1975。
7. 時岡ほか：1961年1～3月陸上自衛隊に流行したB型インフルエンザについて，防衛衛生，9，203，1962。
8. 福見編：アジアかぜ流行史，391，日本公衆衛生協会，東京，1961。
9. 園口：インフルエンザワクチンの予防効果—特に血中抗体価の意義の評価，日本医事新報，2335，21，1969。

食品中の過酸化水素の比色定量法

村上りつ子・石崎 睦雄・上野 清一・片岡不士雄
小山田則孝・久保田かほる・勝村 馨（茨城県衛生研究所）

Colorimetric determination of Hydrogen peroxide in food

Ritsuko Murakami, Mutsuo Ishizaki, Seiichi Ueno, Fujio Kataoka
Noritaka Oyamada, Kaoru Kubota, Kaoru Katsumura

Ibaraki Prefectural Institute of Health:

4-1 Atago-cho, Mito

1. 緒 言

過酸化水素は食品添加物として、殺菌、漂白の目的で各種の食品に使用されている。しかしながら、過酸化水素処理した食品中には、過酸化水素の一部が比較的長時間残存し、これが毒性や、製品の味に与える影響等の問題があるため、その残存量については食品衛生法により制限が設けられている。一方、食品中に残存する過酸化水素の定量法としては、ヨウ素法が広く利用されている。しかしながら、この方法は、終末点の見極めが困難なため、操作に熟練を要する。特に、低濃度の定量は、測定値の誤差が大となる欠点を有する。そのため、硫酸第二チタン法などの比色法も検討されているが、定量下限が40ppmと比較的高濃度であるため、通常試料中の過酸化水素残存量の10ppm前後を測定するには満足すべき方法とはいえない。著者らは、3-メチル-2-ベンゾチアゾロンヒドラゾン(MBTH)がホルムアルデヒドと定量的に反応し、その呈色物質からホルムアルデヒドを精度よく測定する方法に着目し、過酸化水素をメタノール存在下カタラーゼ処理し、定量的にホルムアルデヒドを生成させ、さらにMBTHと反応させ微量の過酸化水素を比色定量する方法について検討し、満足すべき結果が得られたので報告する。

2. 実験方法

2-1. 装置および試薬

分光光度計：日立製作所製102型

恒温水槽：池本理化学工業製

0.4%MBTH溶液 塩酸MBTHアルデヒド定量用(和光純薬(株)製)

メタノール：吸光度測定用メタノール(和光純薬(株)製または、特級を精製し無アルデヒドとしたもの。)

カタラーゼ液 カタラーゼ100万単位/ml(ベーリンガーマンハイム(株)製)の懸濁液を10倍希釈して使用した(カタラーゼは、MBTHと反応し呈色する不純物を含むため、不純物を含まぬ、高純度カタラーゼを使用した)。

過酸化水素標準液 30%(W/W)過酸化水素を蒸留水で希釈して1%溶液とする。これをチオ硫酸ナトリウムで標定し、ついでメタノールを用いて希釈し、過酸化水素濃度が0.5~50ppmになるように調整した(用時調製)。

その他の試薬は、和光純薬(株)製、試薬特級品を適宜希釈して用いた。

2-2. 測定方法

細切した、ゆでうどん、ゆでそば、なると巻、かまぼこ、はんぺん、かずの子等の試料10~40gを精秤後、倍量のメタノールを加え、3分間ホモジナイズし、過酸化水素を抽出する。ろ紙を用いてメタノール液をろ過し、ろ液を試験溶液とする。試験溶液1mlを内容20mlの目盛り試験管に採り、1%ホウ酸ナトリウム液、または、2%塩酸でPHを5~7に調整し、蒸留水を加えて全量を4mlとする。ついで37°の恒温水槽に試験管を入れ、3分間加温後、市販の100万単位/mlのカタラーゼ懸濁液より調製した10万単位/mlのカタラーゼ液5~20μl、すなわち、500

~2000単位のカタラーゼを加え、37°、15分間加温する。ついで、0.4%MBTH溶液1mlを加え、さらに25分間、37°で加温後、0.2%硝酸第二鉄溶液5mlを加え、室温に5分間放置する。ついで、試験管の内容物を20mlのメスフラスコにうつし、アセトンを用いて全量を20mlとし、この溶液の吸光度を波長635nmで測定した。別に、空試験として、試験溶液にカタラーゼ処理をせず、その他は試験溶液と同様に操作した吸光度を求め、試験溶液をカタラーゼ処理して得られた吸光度から差し引いて、過酸化水素量を求めた。吸光度測定時の対照液は、試験溶液のかわりに75%メタノール1mlを目盛付試験管にとり、以下、試験溶液と同様に操作したものをを用いた。

3. 実験結果および考察

3-1. カタラーゼ処理時のPHの影響

本法では、試料からの過酸化水素の抽出にメタノールを用い、このメタノールを利用し、過酸化水素をカタラーゼ処理することで、定量的にホルムアルデヒドを生成させる方法を検討したが、対象食品の種類により、抽出液のPHが相違する可能性を考え、カタラーゼ処理時の抽出液の至適PHを求めた。5ppmの過酸化水素標準液1mlを採り、希塩酸、または、1%ホウ酸ナトリウム液でPHを1~8.5の範囲に調整した水溶液3mlを加え、混液のPHを調べたのち、2-2の方法で呈色させ、吸光度を求めた。その結果、Fig. 1に示したごとく、PH4~8の範囲で一定の吸光度を

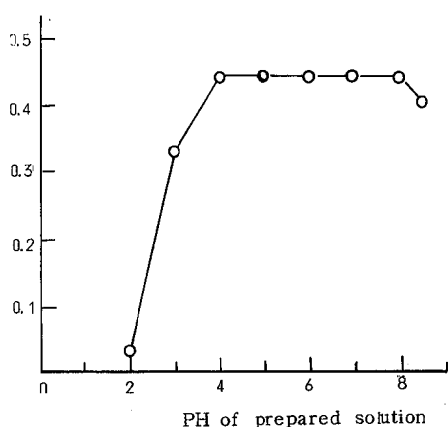


Fig. 1. Effect of pH on the catalase reaction with H₂O

示すことが明らかとなった。一般に試料の抽出液のPH調整は、PHがこの範囲外の場合のみ行なうこととした。

3-2. カタラーゼ添加量と加温時間について

過酸化水素を本法によってカタラーゼ処理する際に用いるカタラーゼ量と反応に要する加温時間を求めた10ppmの過酸化水素標準液1mlを採り、蒸留水3mlを加え、37°の恒温水槽で3分間加温後、それぞれカタラーゼ、20,000, 2,000, 200, 50単位を加え、1~20分の範囲で加温し(37°)、2-2の方法に準じて吸光度を測定した。その結果(Fig. 2参照)、200単位以上のカタラーゼを添加すれば、加温時間10分以

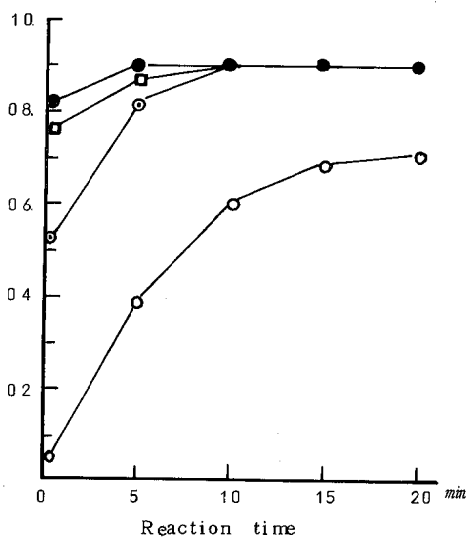


Fig. 2. Relation between reaction time and Catalase activities

—○— Catalase activity 50 I.U.
 —○— " 200 "
 —□— " 2000 "
 —●— " 20000 "

上で一定の吸光度を示すことが明らかとなったが、著者らの実験では以後の操作で、安全を期するため、カタラーゼ添加量2000単位、加温時間37°、15分に設定した。

3-3. カタラーゼ処理時の抽出液への水添加量について

試料から過酸化水素を抽出したメタノール溶液に、直接カタラーゼを添加しても、メタノールが多すぎ酵素反応は行なわれない。反応を充分に進行させるには、抽出液に水を加える必要がある。そこで10ppmの過酸化水素標準液1mlを用い、これの反応に必要な添加水量を求めた。その結果、Fig. 3に示すごとく、メタノール1mlに対し、2ml以上の水を加えれば、最大かつ一定の吸光度を示すことが明らかとなった。

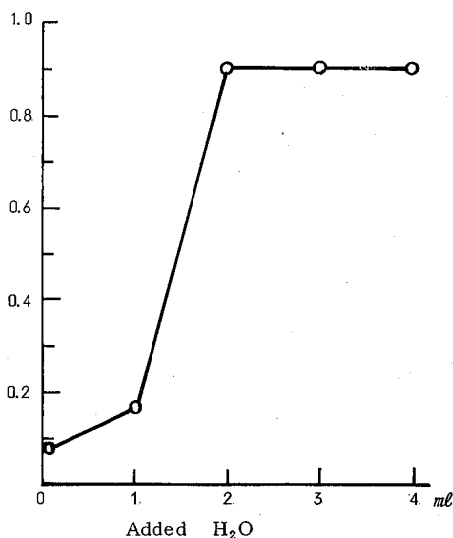
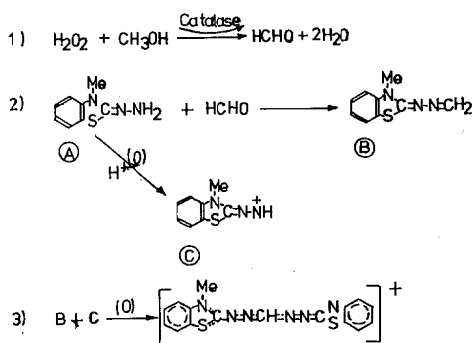


Fig. 3. Relation between volume of water added to 1 ml of methanol of extractive solution before catalase was added and absorbance

3-4. ホルムアルデヒドとMBTHの反応時間
カタラーゼによる酵素反応で、過酸化水素とメタノールから生成したホルムアルデヒドをMBTHと反応させ、定量的にアジン (Scheme 1) を生成させるには必要な37°における至適反応時間を求めた。10 ppm



Scheme 1. The reaction mechanism of proposed method

の過酸化水素標準液 1 ml を採り、37°における加温時間を10~40分間の範囲で変化させ、他の条件は2-2に準じて反応を行ない、吸光度を測定した。その結果、反応時間20分以上で最大、一定の吸光度を示した。

3-5. 呈色時間と呈色物質の安定性について
MBTHとホルムアルデヒドとを反応させアジン

(Scheme 1の(B))を生成後、さらにMBTHの酸化物とこのアジンとを反応させ呈色させる必要がある。そこで、アジンを生成後、酸化剤として、0.2%硝酸第二鉄溶液 5 ml を加えたが、このものを添加後に呈色するまでの必要時間を検討した結果、室温で5分以上放置することで一定の吸光度を示した。さらに、呈色物質の安定性についても検討した結果は、呈色後、3時間は吸光度の低下は認められず安定な呈色物質であった。また、呈色液を一定容量に希釈する際、Sawicki等⁴⁾が報告しているごとく、希釈液に水を用いると不明の懸濁もしくは沈殿を生ずる場合があるため、アセトンを用いて全量を20 mlにした。

3-6. 共存物質の影響

過酸化水素処理した食品中には、過酸化水素以外の添加物が併用されている場合もあるため、併用される可能性のある添加物が過酸化水素測定時に与える影響を検討した。10 ppmの過酸化水素標準液 1 ml を採り、通常使用濃度に相当する、ソルビン酸 1.1 mg, 臭素酸カリウム 0.85 mg, リン酸-カリウム 10 mg, リン酸二カリウム 10 mg を加え、2-2の方法に準じて過酸化水素量を求めた結果、これらの濃度では、その吸光度に何ら影響は認められなかった。

3-7. 検量線の作成

上記の結果から、メタノール中0~10 μg 1 ml の範囲の過酸化水素量の検量線を作成した結果、原点を通る直線が得られた。また、これらの濃度のうち、4 μg 1 ml 8 μg 1 ml の2種について10回くり返し測定を行なった結果は、4 μg 1 ml で標準偏差0.0052, 変動係数1.2%, 8 μg 1 ml で標準偏差0.0056, 変動係数0.8%の再現性を示した。

3-8. 食品中水分によるメタノール抽出液の希釈化について

本法では、食品中の過酸化水素をメタノールで抽出するが、食品中には70~85%の水分を含み、これが抽出メタノール液を希釈することが考えられる。そこでTable 1に示した種類の食品(6種)について、それぞれ6~7件ずつ、計40件について、抽出液中のメタノール量をクロモソルプ102を担体としたガスプロマトグラフィーにより測定した結果、抽出液中のメタノール量は73~78%で、その平均は75%と、ほぼ一定の割合でメタノールは希釈されているものと考えられる。そこで、試料中の過酸化水素の測定値に1.333を乗し、値を補正することにした。Scheme 2にその計算式を示した。

$$\frac{A_t - A_{t_0}}{A_s - A_{s_0}} \times C \times 1.333 \times 2$$

As: Absorbance of standard solution.

As₀: Absorbance of blank test of standard solution.

A_t: Absorbance of test solution.

A_{t0}: Absorbance of blank test of test solution.

C: Concentration of H₂O₂ in standard solution (μg/ml).

1.333: Rate of dilution of extractive solvent with water in sample.

Scheme 2. The formula for calculating the amount of hydrogen peroxide.

3-9. 試料の定量例と測定精度

2-2に準じて食品中の過酸化水素の定量と添加回

収実験を行なった結果をTable 1に示した。なお、それぞれの測定値は繰り返し実験を行なった値である。

Table 1. Analytical results of sample by proposed method

Sample	H ₂ O ₂ added (μg)	Found μg (range, n=6)	Mean (μg)	C. V (%)	Recovery (%)
Noodle, boiled, udon	0	13.9—14.1	14.0	0.7	100.0
	12.3	25.9—26.4	26.3	0.8	
Noodle, boiled, buckweat	0	0	0		99.2
	12.3	11.7—12.5	12.3	2.2	
Fish jelly products (Narutomaki)	0	3.0—3.2	3.0	4.1	106.5
	12.3	15.7—16.8	16.1	2.3	
Fish paste (Kamaboko)	0	1.2—1.3	1.3	3.1	99.2
	12.3	12.8—14.1	13.5	3.5	
Hanpen	a) 0	30.0—32.0	30.3	2.7	92.2
	106.0	125.0—130.0	128.0	2.8	
	b) 0	27.2—31.8	29.4	5.0	97.2
	106.0	129.0—134.0	132.0	2.4	
Herring roe	0	16.5—17.5	17.0	3.5	
	12.3	29.3—30.9	30.2	2.9	107.3
	24.5	43.2—44.0	43.4	0.7	107.7

a) and b) were same sample.

a): Volume of methanol for extraction/Weight of sample=10, and its value was uncorrected values.

b): Volume of methanol for extraction/Weight of sample=2

この結果、回収率95～107%、変動係数5%以下と良好な結果が得られた。Table 1に示した試料のうちはんぺんのa)、b)は同一の製品であり、それぞれの値は3-7.で述べたごとく抽出液中のメタノールが食品中の水分により希釈されることをさらに確認するために、a)、試料の重さの10倍量のメタノールで抽出し、食品中の水分でメタノールが希釈されることを無視し、測定値を補正しない値、b)については、2-2の方法のごとく試料の2倍量のメタノールで抽出し、測定値に1.333を乗した補正值である。a)、b)、それぞれは、ほぼ同一な値が得られたが、a)については、抽出液中のメタノール量は、測定の結果、95%に希釈されており、その値をb)のごとく補正した場合には、回収率も97%となり、b)の値と一致し、3-7.に記したごとく測定値に抽出溶媒のメタノールが希釈されることを考慮した補正係数を乗することの有効性が示された。

4. 要 約

以上の実験結果から、本法は

1) 測定操作が極めて簡便で、再現性よく、しかも、多数の検体を同時に短時間内に測定できる。

2) 比較的低濃度でしか残存しない食品中の過酸化水素を0.5ppmの定量限界で測定できる。

3) 過酸化水素を試料から抽出するにメタノールを用いるが、従来のメタノール抽出、ヨウ素法による測定のごとく、対象食品の制限もなく、広く一般食品の検査に利用できる。

などのすぐれた特徴を有し、日常試験法として充分実用に供し得る方法と考えられる。

文 献

- 1) 刈米 達夫監修：“第三版食品添加物公定書解説書” P.13-163 (1973) 広川書店
- 2) 日本薬学会編：“衛生試験法注解” P.192 (1973) 金原出版
- 3) 棚田 益夫 内田 晴彦 沢 久美子：食衛誌，14, 431 (1973)
- 4) E. Sawicki, T. R. Hauser, T. W. Stanley, W. Elbert: anal. chem., 33, 93 (1961)
- 5) T. R. Hauser, R. L. Cummins: ibid, 36, 679 (1964)

紫外線照射下におけるパラオキシ安息香酸ブチルと硝酸カリウムおよび亜硝酸ナトリウムとの反応

上野 清一・石崎 睦雄・小山田則孝・片岡不士雄
村上 りつ子・久保田かほる・勝村 馨（茨城県衛生研究所）

Reaction of Butyl *p*-Hydroxybenzoate with Potassium Nitrate or Sodium Nitrite by Irradiation of Ultra Violet Ray.

Seiichi UENO, Mutsuo ISHIZAKI, Noritaka OYAMADA, Fujio KATAOKA
Ritsuko MRAKAMI, Kahoru KUBOTA, and Kaoru KATSUMURA
(Ibaraki Prefectural Institute of Health: 4-1, Atagocho, Mito-shi, Ibaraki)

1 まえがき

著者らは前報¹⁾²⁾において食品添加物が食品成分とある種の条件下で反応し新たに食品衛生上有害な化合物が生成される可能性があると考え、油相系で 사용되는添加物と食品成分との紫外線照射下における反応の有無を知る基礎実験としてブチルヒドロキシアニソールと硝酸塩および亜硝酸塩との反応性を検討し、多数の分解物ならびに反応生成物を単離同定した。

本報では水相系内で使用される添加物と食品成分との紫外線照射下での反応の有無を知る基礎実験として、しょう油などに使用される保存料パラオキシ安息香酸ブチル（以下PHBA・Buと略す）と自然界に広く分布し、しょう油中にも成分として含まれている硝酸塩および亜硝酸塩との反応性を検討し、PHBA・Buのニトロ化合物の生成を認めたので報告する。

2 実験方法

2・1 装置および試薬

紫外線発生装置：大沢紫外線工業研究所製高圧水銀灯100V, 230W

質量分析計：日立RMU-6M型

NMR：日立R-20A型

赤外分光光度計：日立215型

高速液体クロマトグラフ：日立635型

パラオキシ安息香酸ブチル：エタノールで再結晶したものを用いた。

硝酸カリウム：エタノールで再結晶したものを用いた。

亜硝酸ナトリウム：エタノールで再結晶したものを用いた。

エタメル：残留農薬分析用

ベルゼン：残留農薬分析用

クロロホルム：市販の特級品を再留していた。

薄層クロマトグラフ用シリカゲル：キーゼルゲルPF₂₅₄₊₃₆₆（Merck社製）

カラムクロマトグラフ用シリカゲル：キーゼルゲル60（Merck社製）、活性化せずそのまま用いた。

薄層用展開溶媒：ベルゼン・クロロホルム=4:1

2・2 操作法

2・2・1 紫外線照射法

PHBA・B 1gに対し硝酸ナトリウム1gまたは亜硝酸ナトリウム1gを内容300mlの石英製フラスコ採り、蒸留水100mlを加えたものを前報と同様に照射した。

2・2・2 薄層クロマトグラフィー（以下TLCと略す）

薄層板（20cm×20cm）を用い、キーゼルゲルPF₂₅₄₊₃₆₆を常法により、0.25mmの薄層に調整し100、30分間活性化して使用した。展開は上昇法で常法どおり行なった。なお、展開溶媒として、ベンゼン・クロロホルム=4:1の混液を用いた。

2・2・3 ガスクロマトグラフィー（以下GCと略す）GCの測定条件を以下に示す。

カラム管：内径3mm、長さ100cmのガラス管、カラム充てん剤：OV-17、温度：試料注入口200℃、カラム恒温槽180℃、検出器200℃、ガス流量：キリヤーガス30ml/min

2・2・4 ガスマスペクトルメトリー (以下 GC-Massと略す)

測定条件を以下に示す。

GCの測定条件は2・2・3項に準じて行なった。Massの測定条件はイオン化電圧20eV, イオン加速電圧1.5kV, チャンバー内温度200°で行なった。

2・2・5 反応生成物の単離および同定

照射液にその倍量のエタノールを加え、約10mlまで減圧濃縮し、濃縮物にエタノールを加えて残留物を完全に溶解し、2・2・2項に示した方法でTLCを行ない反応生成物の各成分を分離し、各スポットをかき取り、エタノールを用いてかき取ったシリカゲルから各成分の抽出を行なった。抽出した成分の精製は、抽出物についてTLCをさらに行ない、他成分のスポットを検出なくなるまで繰り返し、最後にベンゼンを用いて成分をシリカゲルから溶出させ、ベンゼンを留去して単品を得た。その構造は、Mass, NMR, IR, などのスペクトルデータより決定した。

3 実験結果および考察

3・1 PHBA・Buと硝酸カリウムおよび亜硝酸ナトリウムとの紫外線照射下における反応生成物の同定

照射液は照射開始後、亜硝酸との混液は約40分、硝酸塩との混液は約100分で淡黄色を呈し始めた。TLCで反応生成物の分離を行なった際のクロマトグラムは、硝酸塩、亜硝酸塩ともそれぞれ、有色スポットが原点を含めて4個出現する同一のパターンを示した。(Fig.1)

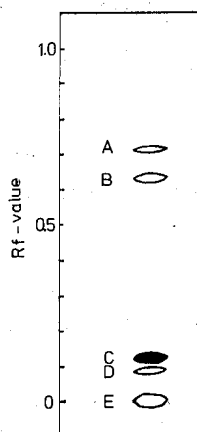


Fig. 1. Thin-layer chromatogram of mixture solution of PHBA-Bu and KNO_3 or NaNO_2 by irradiation of UV-ray. A showed yellow ($R_f=0.71$), B showed yellowish-brown (0.63), C was PHBA-Bu (0.13), D showed pink (0.08) and E showed brown (origin). Developing solvent; benzene: chloroform=4:1

これらの反応生成物のうちRf値が最高を示す ($R_f=0.71$)黄色物質の単離同定を試みた結果、Butyl 3-nitro-4-hydroxy benzoate (以下BNHと略す)であることが判明した。そのスペクトルデータと元素分析値をTable1に示した。

Table 1. Spectral and elementary analysis data of BNH

Structure													
Property	pale yellow liquid substance												
Spectral data	<p>Mass $M^+ = 239$</p> <p>NMR $-\text{COOC}_4\text{H}_9$ (1.05 ppm 3H, 1.63 ppm 4H, 4.36 ppm 2H) $-\text{OH}$ (10.86 ppm 1H) Ring-proton (7.23 ppm 1H, 8.28 ppm 1H, 8.83 ppm 1H)</p> <p>IR $-\text{OH}$ 3550 cm^{-1}, $-\text{NO}_2$ 1320 cm^{-1} 1570 cm^{-1}</p>												
Elementary analysis data	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Found (%)</th> <th>Calcd. (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>C</td> <td>54.65</td> <td>55.23</td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>5.53</td> <td>5.48</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>5.75</td> <td>5.36</td> </tr> </tbody> </table>		Found (%)	Calcd. (%)	C	54.65	55.23	H	5.53	5.48	N	5.75	5.36
	Found (%)	Calcd. (%)											
C	54.65	55.23											
H	5.53	5.48											
N	5.75	5.36											

3・2 しょう油中での反応

しょう油中での PHBA・Bu と硝酸塩および亜硝酸塩との反応性を調べる基礎実験として、PHBA・Bu と硝酸塩または亜硝酸塩とをそれぞれ約 5% 濃度に調整したしょう油 100 ml を、5 日間かくはんしながら室温で紫外線照射を行ない、BNH 生成の有無を検討した。照射しょう油液から BNH を抽出するために、照射液に 50 ml のクロロホルムを加えて 20 分間振とうし、BNH をクロロホルムで抽出した。その際、しょう油中の呈色成分の一部もクロロホルム層に移行してくるため、BNH とこのものの分離のためにシリカゲルカラムクロマトグラフィー（カラム管：内径 2.0 mm × 長さ 300 mm，溶出液：クロロホルム，溶出速度：5 ml/min）を実施し、呈色成分をシリカゲルに吸着させ、クロロホルムを用いて BNH を溶出した。その溶出液を約 5 ml まで減圧濃縮し TLC に供した。その薄層クロマトグラムを Fig. 2 に示したが、Fig. 2 から BNH の Rf 値に相当する部分に黄色物質を出現していることがわかる。そこで、その黄色部分をかきとりエタノールで黄色物質を抽出し、その抽出液を 2・2・3，2・2・4 項に示した条件で GC および GC-Mass 分析に供したところ、GC の相対保持時間およびガスマススペクトルのそれぞれがともに BNH のそれと一致したので、しょう油中においても PHBA

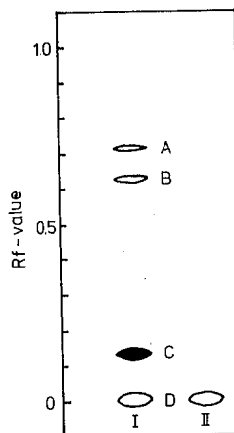


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of "Shoyu" by irradiation of UV-ray.

A was same spot as Fig. 1., B and C were unknown spot and C was PHBA-Bu.

I: "Shoyu" which 5g of PHBA-Bu and 5g of KNO_3 or NaNO_2 had been added to "Shoyu" of 100ml were prepared.

II: "Shoyu" which PHBA-Bu had not been added were prepared.

Developing solvent; benzene:chloroform=4:1

•Bu と硝酸塩および亜硝酸塩とが紫外線照射下で反応し、BNHが生成されることが明らかになった。また Fig. 2 - II の薄層クロマトグラムは PHBA・Bu 無添加のしょう油について上記と同様な操作を行なったものである。なお、今回の実験は BNH の微量定量法が確立していないため、しょう油中に高濃度の PHBA・Bu を添加して BNH 生成の有無を検討したが、早急に BNH の微量定量法を確立し、低濃度における反応性についても検討する必要があると考えられる。

3.3 ガラス製容器中での反応

しょう油などのような実際試料に使用される容器は、ガラス製等のものが主であり、紫外線吸収領域も石英製のものとは異なると考えられるために、ガラス製容器中における BNH 生成の有無を検討した。すなわち紫外線照射方法は 2・2・1 項に準じて行ない、石英製三角フラスコのかわりにガラス製の三角フラスコを用いて紫外線の照射を行なった。次いで照射液にその倍量のエタノールを加え、約 20 ml ぐらいまで減圧濃縮し、メスフラスコを用いエタノールで液量を定容量にした。その液を高速液体クロマトグラフィーに供し BNH の定量を行なった。そのクロマトグラムと分析条件を Fig. 3 に示した。なお、合わせて石英製容器

中における BNH の生成量も上記と同様な操作をして求めた。その結果、亜硝酸塩との反応においては、石英製容器中での BNH の生成率に対して、約 80% の生成率が得られたが、硝酸塩との反応においては、BNH の生成が認められなかった。このことから、PHBA・Bu と硝酸塩との反応による BNH の生成は、ガラスの紫外線吸収領域すなわち 310 nm 以下の波長領域において起こるものと思われ、亜硝酸塩とは反応機構を異にすることが考えられるため今後さらに、これらの反応機構についてくわしく検討する予定である。

4. 結 言

以上の考察により、(1) PHBA・Bu は硝酸塩および亜硝酸塩と紫外線照射下で反応し、芳香族ニトロ化合物 BNH が生成され、しょう油中においても同様な反応生成物が得られることが明らかになった。(2) 亜硝酸塩との反応においては、ガラス製の容器中においても BNH が生成されることが明らかになったので BNH の毒性(生物活性)についてくわしく検討する予定である。

本報の要旨の一部は第 32 回食品衛生学会(昭和 51 年 10 月、岡山)において発表した。

本研究の一部は大同生命第 2 回医学研究助成金を使用した。

文 献

- 1) 石崎睦雄 上野清一 小山田則孝 勝村馨: 茨城衛生研究所年報 14, 33 (1975)
- 2) 小山田則孝 石崎睦雄 上野清一 片岡不土雄 村上りつ子 久保田かはる 勝村馨: 茨城衛研年報 15, 33 (1977)

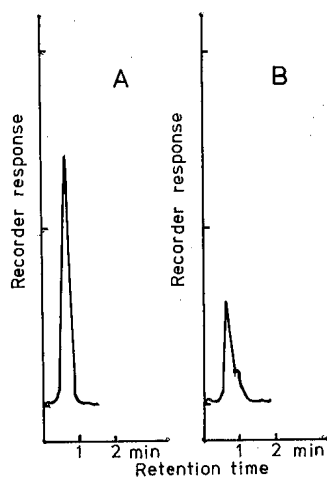


Fig. 3. Liquid-chromatogram of BNH and Reactant by irradiation of UV-ray. A: BNH; B: Reactant of PHBA-Bu with NaNO_2 .

Analytical Condition: Column; 2.1. 2.1. \times 5.0.0mm, Packing; HITACHI GEL # 3.0.5.0, Eluent; Methanol Flow rate; 1.5ml/min, Detector; Wavelength tunable effluent monitor (4.2.0.nm) 0.3.2.AUFS

紫外線照射下におけるパラオキシ安息香酸ブチル と硝酸カリウムおよび亜硝酸ナトリウムとの反応 生成物BNHの生物活性について

上野 清一・石崎 睦雄・小山田則孝・片岡不士雄・村上りつ子
久保田かほる・勝村 馨 (茨城県衛生研究所)

Biological Activities of Reactant of Butyl P-Hydroxybenzoate with Potassium Nitrate or Sodium Nitrite by Irradiation of Ultra Violet Ray

Seichi UENO, Mutsuo ISHIZAKI, Noritaka OYAMADA, Fujio KATAOKA
Ritsuko MURAKAMI, Kahoru KUBOTA and Kaoru KATSUMURA
(Ibaraki Prefectural Institute of Health: 4-1, Atagocho, Mito-shi, Ibaraki)

1. まえがき

著者らは前報において、PHBA・Bu と硝酸塩および亜硝酸塩とを紫外線照射下において反応させると芳香族ニトロ化合物BNHが生成され、この反応はしゅう油中においても起こることを知り、また、亜硝酸塩との反応においてはガラス製容器中においても起こりBNHが生成されることを明らかにした。

そこで本報ではBNHの生物活性を、枯草菌による“Rec-assay”および酵母を用いた感受性試験を行なって調べたところ、顕著な活性を示すことを知ったので報告する。

2. 実験方法

2・1 菌株および培地

枯草菌 (*Bacillus subtilis*): DNA 損傷を細胞酵素によって組換え修復可能な株 17A Rec⁺ および修復不可能な変異株 45T Rec⁻ を用いた (国立遺伝学研究所変異遺伝部より分与されたもの)。

酵母: 野生株 S288C および Rad mutant 株 1191-5D (rad 1, 18, 54) を用いた (放射線医学総合研究所遺伝研究部より分与されたもの)。

B-2 液体ブロス: 肉エキス (極東製薬製) 10g, ポリペプトン (大五養化学製) 10g, および食塩 5g を 1L の蒸留水に溶解し、PH を 7.0 に調整し、高圧滅菌して用いた。

B-2 ブロス寒天培地: 上記の液体ブロスに寒天粉末を 1.5% 加えたものを高圧滅菌して用いた。

YEPD 液体培地: ブドウ糖 2g, ポリペプトン 2g, イーストエキス (DIFCO LABORATORIES 製) 1g を蒸留水 50ml に溶解し、高圧滅菌して用いた。

た。

YEPD 寒天培地: ブドウ糖 12g, ポリペプトン 12g, イーストエキス 6g, および寒天粉末 12g を 600ml の蒸留水に溶解し、高圧滅菌して用いた。

2・2 生物活性試験

2・2・1 枯草菌 “Rec-assay”

枯草菌 17A Rec⁺ および 45T Rec⁻ をそれぞれ B-2 液体ブロスで一晩培養する。

一方、B-2 ブロス寒天培地を用意して、その表面を乾燥させ、0.1ml の小型ピペットでそれぞれの菌浮遊液を八字型に streak する。なおその際 streak の先端で両株が混じり合わないよう注意し、液が十分しみこんだ後、直径 13mm の円型口紙に、PHBA・Bu と BNH のアセトンおよび DMSO 溶液 0.03 ml をしみこませ八字型の頂点をおおいつつせる。シャーレを一晩冷蔵庫に入れて検液を拡散させ、37° で一昼夜培養して生じた生育阻止帯の距離 (口紙端より判定) を記録し、45T Rec⁻ の阻害が 17A Rec⁺ よりも強い場合を陽性とした。

2・2・2 酵母による方法

酵母野生株 S288C および Rad mutant 株 1191-5D (Rad 1, 18, 54) をそれぞれ YEPD 液体培地で 4 日間培養する。

一方、YEPD 寒天培地を用意し、その表面を乾燥させ、以下枯草菌の場合と同様に操作し、培養は 30° で 3 日間行ない、1191-5D (rad 1, 18, 54) の阻害が S288C よりも強い場合を陽性とした。

3. 実験結果および考察

BNH の変異原活性を調べるために、枯草菌による

“Rec-assay”を試みた。検液にはBNHをアセトンおよびDMSOに溶解し、それぞれ2.5%、1%濃度に調整した液を用い、対照には溶媒のアセトン、DMSOと原料のPHBA・Buを5%アセトン溶液としたものを用いた。その結果をTable 1, Fig. 1に示した。

Table 1. Rea-assay of BNH and Control

	Mutagenicity	Growth inhibition		Difference of inhibition
		Rec(17A)	Rec(45T)	
Acetone	—	—	—	—
DMSO	—	—	—	—
PHBA-Bu*1	—	+	+	—
BNH*2	+	—	卅	卅
BNH*3	+	卅	卅	+

*1 PHBA-Bu was dissolved into Acetone (5%)

*2 BNH was dissolved into Acetone (2.5%)

*3 BNH was dissolved into DMSO (1%)

— no inhibition zone
 + length inhibition zone less than 5 mm
 卅 5~10mm of inhibition zone
 卅 10~15mm of inhibition zone
 卅 length inhibition zone more than 15 mm



Fig 1 Photographs of plate in the rec-assay of BNH
 (I) BNH: 2.5% Acetone solution
 (II) BNH: 1.0% DMSO solution

Table 1 に示したように、溶媒のアセトン、DMSO は、阻害帯は認められず、PHBA・Bu は生育阻止帯は認められるが、Rec⁺ と Rec⁻ の両株の間に差が認められないので“Rec-assay” 陰性物質と考えられる。

これに対し、BNH の場合は Rec⁺ と Rec⁻ の両株の生育阻止帯に有意の差が認められたので“Rec -

assay” 陽性物質と判定した。

なお、BNH が枯草菌に対して特異的に作用することも考えられるため、酵母を用いて上記と同様な実験を試みたところ、酵母は枯草菌に比して低感受性ではあったが、生物活性は枯草菌と同様な結果が得られた。(Table 2, Fig 2)

Table 2. Sensitivity test of BNH and Control by using Yeast

	Growth inhibition		Activities
	Wild strains (S288C)	Rad mutant strains (1191-5D (rad 1, 18, 54))	
Acetone	—	—	—
PHBA - Bu* ¹	+	+	—
BNH* ²	+	++	+

*1 PHBA - Bu was dissolved into Acetone (5%)

*2 BNH was dissolved into Acetone (2.5%)

— no inhibition zone

+ length inhibition zone less than 5 mm

++ length inhibition zone more than 5 mm

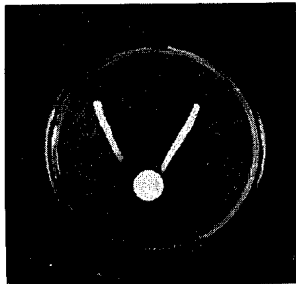


Fig 2 Photographs of plate in the Sensitivity test of BNH by using Yeast

BNH: 2.5% Acetone solution

が明らかとなった。このことは、BNH が生物の諸特性を決定する遺伝子の構成物質である DNA に損傷を与えることを意味しているため、BNH は遺伝毒性を有する物質と考えられる。

以上の考察により、今後、食品添加物として用いる化合物については、単にそのものの毒性のみならず、添加物と食品成分との二次反応という観点からも十分検討する必要があると考えられる。

稿を終るにあたり、生物活性試験について種々御指導いただいた国立遺伝学研究所変異遺伝部第一研究室長土川清氏、ならびに放射線医学総合研究所遺伝研究部町田勇氏に深謝いたします。

本報の要旨は日本薬学会第 97 年会 (昭和 52 年 4 月、東京) において発表した。

本研究の一部は大同生命第 2 回医学研究助成金を使用した。

4. 結 言

保存料 PHBA・Bu と硝酸塩および亜硝酸塩とを紫外線照射下において反応させると芳香族ニトロ化合物 BNH が生成されることが判明したので、BNH の変異原活性を調べるために、枯草菌および酵母による感受性試験を行なった結果、顕著な生物活性を示すこと

文 献

- 1) 上野 清一 小山田則孝 片岡不士姪 村上り
つ子 久保田かほる 石崎 睦雄 勝村 馨：
茨城衛研年報 15, 25 (1977)
- 2) Kada, T., Tutikawa, K., Sadaie, Y.：
Mutation Res. 16, 165 (1972)
- 3) 町田 勇, 中井 文武： 日本遺伝学雑誌
48, 428 (1973)

紫外線照射による B H A と亜硝酸ナトリウム、 硝酸カリウムとの反応 (I)

小山田則孝・石崎睦雄・上野清一・片岡不二雄
村上りつ子・久保田かほる・勝村馨 (茨城県衛生研究所)

Reaction of Butyl Hydroxy Anisol with Sodium nitrite, Potassium nitrate by irradiation of ultra violet ray.

Noritaka OYAMADA, Mutuo ISIZAKI, Seiichi UENO, Fujio KATAOKA
Ritsuko MURAKAMI, Kaoru KUBOTA and Kaoru KATSUMURA
(Ibaraki Prefectural Institute of Health; 4-1, Atago-cho, Mito,
Ibaraki)

1 緒 言

食品添加物が食品成分と反応し、二次的に生成された化合物について食品衛生上大きな問題となった例として、亜硝酸塩とアミン類との反応による N-ニトロアミンの生成があるが、^{1,2,3)} その他の添加物に関する研究例は少ない。

酸化防止剤は広く食品に利用されているが、⁴⁾ これを用いて酸化防止処理を行った食品中には成分として亜硝酸イオンおよび硝酸イオン^{5,6)} を含むものが数多くある。一方、酸化防止剤を添加した食用油を用いて食品を処理した場合には、これら食品中の亜硝酸イオンおよび硝酸イオンと両者が共存し、ある種の条件下、両者間で反応が生じ、新たな化合物を生成する可能性があると考え、その基礎実験として、紫外線照射下におけるブチルヒドロキシアニソール (以下 B H A と略す) と亜硝酸イオンとの反応を試み、芳香族ニトロ化合物 1-hydroxy-2-tert-butyl-4-met hoxy-6-nitrobenzene を生ずることを速報した。著者らは引き続き本反応を検討した結果、本化合物は B H A と硝酸カリウムとの間でも生成されることが明らかとなった。さらに、B H A と KNO_3 、 NaNO_2 との間でそれぞれ、4種のニトロ化合物も生成されることが明らかとなった。また、B H A のみを紫外線照射した場合には、これまで報告されている B H A の二量体 2種 2,3-di-tert-butyl-2-hydroxy-4,5-dimethoxy-biphenyl ether, 3,3-di-tert-butyl-2,2-dihydroxy-5,5-dimethoxy biphenyl 以外に5種の分解生成物を単離同定したので合わせて報告する。

2 実験方法

2・1 装置および試薬

紫外線発生装置：大沢紫外線工業研究所製高圧水銀灯 100V, 230W

質量分析計：日立 R MU-6 MG 型

NMR：日立 R-20 A 型

赤外分光光度計：日立 215 型

ブチルヒドロキシアニソール (B H A)：エタノールで再結晶したものをを用いた。

1,4-dimethoxy-2-nitrobenzene：エタノールで再結晶したものをを用いた。

カラムクロマトグラフ (TLC) 用シリカゲル：キールゲル 60 (Merck 社製) 100 μ , 30分間活性化したものをを用いた。

薄層クロマトグラフ (TLC) 用シリカゲル：キールゲル 60 P F 254 + 366 (Merck 社製)

エタノール：特級品を蒸留した。

クロロホルム：クロマトグラフ用 (和光製)

石油エーテル、ベンゼンおよび n-ヘキサンは残留農薬分析用 (和光製) をを用いた。

薄層用展開容媒として、①石油エーテル・ベンゼン (5:1)、②n-ヘキサン・エタノール (5:1) ③ベンゼン・n-ヘキサン (1:1)、④ベンゼン・エタノール (10:1) をを用いた。

2・2 操 作

2・2・1 紫外線の照射

B H A 1.8g と亜硝酸ナトリウム 0.69g または硝酸カリウム 1.01g (モル比 1:1) を内容 300 ml の石英製三角フラスコにとり、エタノール・水 (4:1) 混液 100 ml を加えたものを紫外線発生装置から 30 cm 離れた位置に置き、かくはんしながら 1 昼夜室温で紫外線を照射した。

2・2・2 薄層クロマトグラフィー (TLC)

プレートは20cm×20cmを用い、厚さ0.25mmとし、100°、30分間活性化したものを用いた。展開は15°、上昇法で常法どおり行い、UV検出器を用いて各成分の確認を行った。

2・2・3 ガスクロマトグラフィー (GLC)
測定条件をTable 1に示した。

Table 1 Operating Condition of GLC

Instrument	Hitachi 063 type
Column	Glass column length 1m×3mm
Oven temperature	100~260°
Program rate	2°/min
Injection temperature	280°
Detector temperature	300°
Liquid phase	OV-17 1.5%
Carrier gas	N ₂

2・2・4 分解物および反応生成物の単離

照射液をロータリーエバポレーターで減圧下、40°で濃縮し、分解物および反応生成物をクロロホルムで抽出した。抽出液を約2mlまで減圧濃縮後、少量の石油エーテルに溶解させ、この液について直径23mm、長さ300mmのカラムを用いてシリカゲルクロマトグラフィーを実施した。n-ヘキサン・ベンゼン(5:1)500ml、ベンゼン600ml、クロロホルム600mlを用い、2~3ml/minの速さで順次溶出させ、100mlづつ分取した。各溶出液を減圧濃縮後、他成分のスポットを認めなくなるまでTLCをくりかえし、単一部分のフラクションを分取し、各成分を単離した。

3 実験結果および考察

BHAのエタノール・水混液に紫外線を照射した場合、すでに報告されている紫外線照射やr線照射の場合と同様の反応が生ずるか否かについて検討した。ついで、BHAと亜硝酸ナトリウムおよび硝酸カリウムとの反応性について検討した。

3・1 BHAの分解物の検討

Fig. 1にBHAのエタノール・水混液に紫外線を

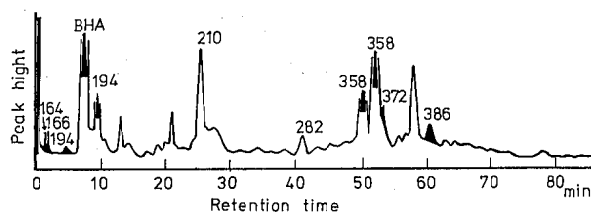


Fig. 1. Total ion monitor chromatogram of the substances in the mixture solution of BHA after irradiated by UV-ray.
0.01M BHA in 100ml of ethanol·H₂O (4:1)

照射した際の生成物のトータルイオンモニタークロマトグラムを示した。クロマトグラム上に多数のピークが出現したので、カラムクロマトグラフィーおよびTLCを実施し生成物の単離を行った。その結果、BHAのr線照射と同様に2-tert-butyl-hydroquinone、2-tert-butyl-1,4-dimethoxy benzeneおよびBHAの2種の二量体が同定され、さらに、紫外線照射やr線照射ではみられなかった2-tert-butyl-quinonおよびBHAの二量体のメチル付加物3,3'-di-tert-butyl-2'-hydroxy-2,5,5'-trimethoxy biphenylと3,3'-di-tert-butyl-2,2',5,5'-tetramethoxy biphenylが同定できた。しかし、芳香族ニトロ化合物は認められなかった。

3・2 BHAと亜硝酸ナトリウムおよび硝酸カリウムとの反応生成物の検討

Fig. 2にBHAと亜硝酸ナトリウムまたは硝酸カ

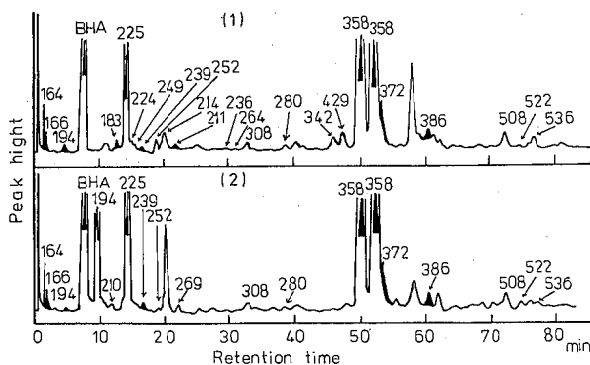


Fig. 2. Total ion monitor chromatogram of the substances in the mixture solution of BHA and NaNO₂ or KNO₃ after irradiated by UV-ray
(1) 0.01M BHA and 0.01M NaNO₂ in 100 ml of ethanol·H₂O (4:1)
(2) 0.01M BHA and 0.01M KNO₃ in 100ml of ethanol·H₂O (4:1)

リウムに紫外線を照射した際の生成物のトータルイオンモニタークロマトグラムを示した。Table 2にはカラムクロマトグラフィーを実施して、それぞれのフラクションで得られた分子イオン数(以下 M^+ と略す)を示した。BHAと亜硝酸ナトリウムとに紫外線を照射した場合、BHAの7種の分解物と4種のニトロ化合物1, 4-dimethoxy-2-nitrobenzene, 1-hydroxy-2-tert-butyl-4-methoxy-6-nitrobenzene, 1, 4-dimethoxy-2-tert-butyl-6-nitrobenzene, 1, 4-dihydroxy-2-tert-butyl-6-nitrobenzene が同定できた。またBHAと硝酸カリウムとの反応では、BHAの7種の分解物のほかに2種

のニトロ化合物, 1-hydroxy-2-tert-butyl-4-methoxy-6-nitrobenzene と1, 4-dimethoxy-2-tert-butyl-6-nitrobenzeneが同定できた。

3.3 分解物および反応生成物の同定

Fig. 1および2に示した生成物のうち $M^+ = 164, 166, 194, 183, 225, 239, 211, 358, 372$ については単離できたので、その構造は後述のように決定した。また、 $M^+ = 386$ の物質については単離精製は不可能であったため、そのマスフラグメントからこのものの構造を推定した。これら構造決定した分解物および反応生成物については次のとおりである。

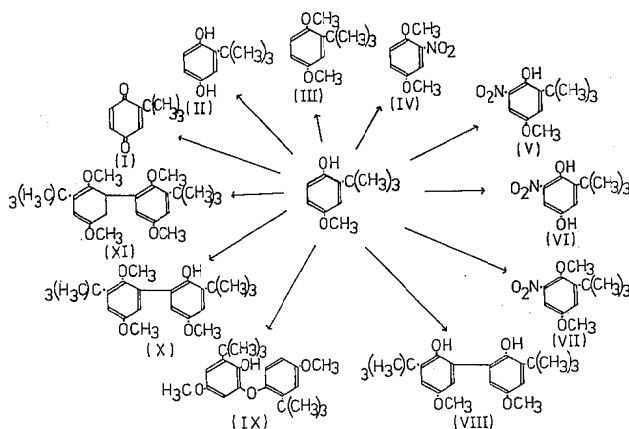


Fig. 3. Degradation and reaction products of BHA with NaNO_2 or KNO_3

$M^+ = 164$ の物質は融点 $3.97 \sim 4.06^\circ$; 黄色針状結晶で、そのNMRスペクトルは2-tert-butyl基(1.27ppm, 9H)の存在を示し、IRスペクトルはカルボニル基の存在を示した。NMR, IR両スペクトルともOH基, OMe基の存在を示さず、このものの元素分析値は $\text{C} = 72.27\%$, $\text{H} = 7.37\%$, $\text{O} = 20.36\%$ で $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$ の計算値 $\text{C} = 73.17\%$, $\text{H} = 7.32\%$, $\text{O} = 19.51\%$ と一致した。以上の結果より本物質は2-tert-butyl-4-quinone (I)と決定した。

$M^+ = 166$ および 194 ($R_t = 4.5$)の二つの物質は、そのマスフラグメントおよびGLCの保有時間より、先に著者らが報告した r 線照射の場合と同じように、2-tert-butyl-4-quinone(II)およびBHAのOH基がメチル化された2-tert-butyl-1, 4-dimethoxybenzene(III)であった。

$M^+ = 183$ の物質はFig. 2(およびTable 2)に

Table 2 Mass Spectra data of Degradation and Reaction Products.

Fraction	Na NO ₂			K NO ₃		
	identified (m/e)	unknown (m/e)		identified (m/e)	unknown (m/e)	
Hexane :	225	164		225	164	194
Benzene	BHA	239		BHA	239	
Benzene	166	358	252	166	358	252
	194	386	214	194	386	210
	183		342	358		536
Chloroform	211	224	429	358	269	308
	358	249	508	372	280	
	358	264	536		508	
	372	308	522		522	

示したごとく亜硝酸ナトリウム共存下のみで見出されたが、このものの融点は65~65.4°; 黄色針状結晶で、そのNMRスペクトルはOMe基2個(3.88 ppm, 3H; 3.98 ppm, 3H)の存在を示し、IRスペクトルはNO₂基の存在を示した。これらから1, 4-dimethoxy-2-nitrobenzenと推定し、市販品のこのものの諸性質を比較した結果、GLCの保持時間、Mass, NMR, IRの各スペクトルが一致したので、この物質は1, 4-dimethoxy-2-nitrobenzene (IV)と決定した。

M⁺=225は先に報告したBHAのニトロ誘導体1-hydroxy-2-tert-butyl-4-methoxy-6-nitrobenzene (V)である。

M⁺=239は黄色液状物質で、NMRスペクトルは2-tert-butyl基(1.40 ppm, 9H), OMe基2個(3.80 ppm, 3H; 3.85 ppm, 3H)の存在を示し、IRスペクトルはNO₂基を示している。このものの元素分析値はN=5.90%, C=60.16%, H=7.32%, O=26.62%でC₁₂H₁₇NO₄の計算値N=5.86%, C=60.25%, H=7.11%, O=26.78%と一致している。以上の結果から本物質は1, 4-dimethoxy-2-tert-butyl-6-nitrobenzene (VII)と決定した。

M⁺=211の物質はとう色針状結晶で、融点98.5~99.6° NMRスペクトルは2-tert-butyl基(1.38 ppm, 9H), OH基2個(3.82 ppm, 1H; 11.13 ppm, 1H), IRスペクトルはNO₂基とOH基の存在を示している。このものの元素分析値はN=6.40%, C=55.79%, H=6.24%, O=31.57%でC₁₀H₁₃NO₄の計算値N=6.64%, C=56.87%,

H=6.16%, O=30.33%と一致している。以上の結果から本物質は、1, 4-dihydroxy-2-tert-butyl-6-nitrobenzene (VI)と決定した。

M⁺=358の二つの物質(Rt=50.5および52.5)はBHAの紫外線照射および線照射の際に生成するBHA二量体と推定し、異地の方法に従って2種のBHA二量体を合成し、GLCの保持時間およびマススペクトルを比較したところ、Rt=50.5の物質は2, 3-di-tert-butyl-2-hydroxy-4, 5-dimethoxy-biphenyl ether (IX), もう一つは3, 3'-di-tert-butyl-2, 2'-dihydroxy-5, 5'-dimethoxy biphenyl (VII)と一致した。このことから、BHAと亜硝酸ナトリウムおよび硝酸カリウムの混液に紫外線照射した場合にも、2種の二量体の生成することが明らかとなった。

M⁺=372の物質は融点91.7°~92.3°; 白色結晶で、そのNMRスペクトルはtert-butyl基2個(1.43 ppm, 9H; 1.45 ppm, 9H), OMe基3個(3.46 ppm, 3H; 3.85 ppm, 6H), OH基1個(6.78 ppm, 1H)の存在を示し、またIRスペクトルはOH基の存在を示している。このものの元素分析値はC=72.82%, H=9.38%, O=17.80%でC₂₃H₃₀O₄の計算値C=74.19%, H=8.60%, O=17.20%と一致した。以上の結果本物質は3, 3'-di-tert-butyl-2, 2'-hydroxy-5, 5'-trimethoxy biphenyl (X)と決定した。

M⁺=386の物質は、単離することはできなかったが、そのマススペクトルから、BHAの二量体の一つbiphenyl体のOH基がメチル化されたものと推定し、異地の方法によりbiphenyl体を合成し、ジメチル硫酸を

用いてメチル化¹⁸⁾を行い、反応液をそのままGC-Mass測定を行ったところ、そのGLCの保持時間およびマススペクトルが一致した。以上の結果からこの物質はBHA二量体の一つbiphenyl体のOH基がメチル化された3,3'-di-tert-butyl-2,2',5,5'-tetramethoxy biphenyl(XI)と推定した。Table 3に化合物 I, IV, V, VI, VII, Xのスペクトルデータを示した。

Table 3 Spectral data of Compound I, IV, V, VI, VII, X

	Mass(M^+)	NMR(δ , in $CDCl_3$)	IR(cm^{-1})
I	164	-C(CH ₃) ₃ (1.27, 9H) Ar-H (6.55, 1H; 6.60, 2H)	-CO 1655
IV	183	-OCH ₃ (3.88, 3H; 3.98, 3H) Ar-H (7.16, 1H; 7.19, 1H; 7.50, 1H)	-NO ₂ 1350 1580
V	225	-C(CH ₃) ₃ (1.42, 9H) -OCH ₃ (3.78, 3H) -OH (11.43, 1H) Ar-H (7.14, 1H; 7.31, 1H)	-NO ₂ 1330, 1537
VI	239	-C(CH ₃) ₃ (1.40, 9H) -OCH ₃ (3.80, 3H; 3.85, 3H) Ar-H (7.20, 2H)	-NO ₂ 1350, 1580
VII	211	-C(CH ₃) ₃ (1.38, 9H) -OH (3.82, 1H; 11.13, 1H) Ar-H (7.15, 1H; 7.37, 1H)	-OH 3610, 3700 -NO ₂ 1320, 1600
X	372	-C(CH ₃) ₃ (1.43, 9H; 1.45, 9H) -OCH ₃ (3.46, 3H; 3.85, 6H) -OH (6.78, 1H) Ar-H (6.85, 1H; 7.05, 1H; 7.35, 1H)	-OH 3350

4. 結 論

酸化防止剤BHAは亜硝酸および硝酸の存在下、紫外線照射されることで、多数の分解物および反応生成物を生ずることが明らかとなった。これらの分解物および反応生成物のうち M^+ = 164, 166, 183, 194, 255, 239, 211, 358, 358, 372の10種の物質について構造決定でき、 M^+ = 386の物質についてはその構造の推定を行った。すなわち、2-tert-butyl-quinone, 2-tert-butyl-hydroquinone, 2-tert-butyl-1,4-dimethoxy-benzene, 1,4-dimethoxy-2-nitrobenzene, 1-hydroxy-2-tert-butyl, 4-methoxy-6-nitrobenzene, 1,4-dimethoxy-2-tert-butyl-6-nitrobenzene, 1,4-dihydroxy-2-tert-

butyl-6-nitrobenzene, 2,3-di-tert-butyl-2-hydroxy-4,5-dimethoxy-biphenyl ether, 3,3'-di-tert-butyl-2,2'-dihydroxy-5,5'-dimethoxy biphenyl, 3,3'-di-tert-butyl-2'-hydroxy-2,5,5'-trimethoxy biphenyl, 3,3'-di-tert-butyl-2,2',5,5'-tetramethoxy biphenyl の11種について構造が明らかとなった。

本研究にあたり、元素分析およびNMRスペクトルの測定をしていただいた茨城大学理学部助教教授日井義春氏に深謝いたします。

本研究の一部は大同生命第二回医学研究助成金の一部を使用した。

文 献

- 1) 酒井綾子, 谷村頭雄: 食衛誌, 12, 485(1971)
- 2) 中村全良, 臼杵睦夫: 同上, 14, 264(1973)
- 3) Hans, L.: Arch. Environ Health. 29, 256 (1974)
- 4) 佐藤洋子, 河村太郎: 食衛誌, 13, 57(1972)
- 5) 原田基夫, 中村洋子, 谷村頭雄: 同上, 13, 36 (1972)
- 6) Jackson, W. A., Steel, J. S., Boswell, V. R.: Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 90, 349 (1967)
- 7) Maynard, D. N., Backer, A. V.: Hort. Science. 7, 224 (1972)
- 8) Siciliano, J., Knulick, S., Heisler, E. G., White, J. W.: J. Agric. Food chem. 23, 461 (1975)
- 9) Fudge, R., Trumann, R. W.: J. Assoc. Public. Anal. 11, 19 (1973)
- 10) 石崎睦雄, 上野清一, 片岡不二雄, 小山田則孝, 村上りつ子, 久保田かほる, 勝村馨, 細貝祐太郎: 食衛誌, 16, 230 (1975)
- 11) 吳地伝夫: 衛生化学, 13, 191 (1967)
- 12) 石崎睦夫, 上野清一, 小山田則孝, 勝村馨, 細貝祐太郎: 食衛誌, 17, 101 (1976)
- 13) Smith, L. I.: Org. Syn., Coll. 2, 359 (1948)

紫外線照射によるBHAと亜硝酸ナトリウム、硝酸カリウムその反応(II)
BHAの分解物およびBHAと亜硝酸ナトリウム、
硝酸ナトリウムとの反応生成物の生物活性について

小山田則孝・石崎睦雄・上野清一・片岡不士雄・
村上りつ子・久保田かほる・勝村馨(茨城県衛生研究所)

Reaction of Butyl Hydroxy Anisol with sodium nitrite, Potassium nitrate by irradiation of ultra violet ray(II)

Biological activity of degradation and reaction products of BHA with sodium nitrite or potassium nitrate

Noritaka OYAMADA, Mutso ISHIZAKI, Seiichi UENO, Fujio KATAOKA, Ritsuko MURAKAMI, Kaoru KUBOTA, and Kaoru KATSUMURA

(Ibaraki Prefectural Institute of Health: 4-1, Atago-cho, Mito, Ibaraki)

1 緒言

著者らは前報において、酸化防止剤BHAの紫外線照射下における亜硝酸ナトリウムおよび硝酸カリウムとの反応性について検討し、4種のニトロ化合物および7種のBHA分解物を同定した。

本報では、これら反応生成物および分解物の生物活性を検討した結果、2-tert-butyl-hydroquinoneが顕著な生物活性を示すことが明らかとなったので報告する。

2 実験方法

2・1 菌株および培地

枯草菌(*Bacillus subtilis*): DNA損傷を細胞酵素によって組換え修復可能な株17A Rec⁺および修復不可能な変異株45 T Rec⁻を用いた(国立遺伝学研究所変異遺伝部より分与されたもの。)

酵母菌: 野性株S288Cおよびrad mutant株1191-5D(rad1, 18, 54)を用いた(放射線医学総合研究所遺伝部より分与されたもの。)

B-2液体ブロス: 肉エキス(極東製薬製)10g, および食塩5gを1ℓの蒸留水に溶解し、pHを7.0に調整し、高圧滅菌して用いた。

B-2ブロス寒天培地: 上記液体ブロスに寒天粉末を1.5%加えたものを用いた。

YEPD液体培地: ブドウ糖(和光純薬製)12g, ポリプトン2g, イーストエキス(DIFCO-LABORATORY製)1g, を蒸留水50mlに溶解し高圧滅

菌して用いた。

YEPD 寒天培地: ブドウ糖12g, ポリペプトン12g, イーストエキス6g, および寒天粉末12gを600mlの蒸留水に溶解し、高圧滅菌して用いた。

2・2 分解物および反応生成物の生物活性試験

(A) 枯草菌“Rec-assay”法: 枯草菌17A Rec⁺および45 T Rec⁻をそれぞれB-2液体ブロスで一晩培養する。一方、B-2ブロス寒天培地を用意して、その表面を乾燥させ、0.1mlの小型ピペットでそれぞれの菌浮遊液を八字型にstreakする。なおその際、streakの先端で両株が混ざり合わないよう注意し、液が充分しみこんだ後、直径1.3mmの円型ろ紙に、検液0.03mlをしみこませ八字型の頂点におおいのせる。シャーレを一夜冷蔵庫に入れて検液を拡散させ、37℃で一昼夜培養して生じた生育阻止帯(ろ紙端より判定)を記録し、45 T Rec⁻の阻害が17A Rec⁺よりも強い場合を陽性とした。

(B) 酵母による方法: 酵母菌野性株S288Cおよびrad mutant株1191-5D(rad1, 18, 54)をそれぞれYEPD液体培地で4日間培養する。一方、YEPD 寒天培地を用意し、その表面を乾燥させ、以下枯草菌の場合と同様に操作し、培養は30℃で3日間行ない、1191-5Dの阻害がS288Cよりも強い場合を陽性とした。

3 結果および考察

BHAの分解物7種および亜硝酸ナトリウム、硝酸

カリウムとの反応生成物4種変異原活性を調べるために、枯草菌になる Rec-assay を試みた。検液は生成物をアセトンおよびジメチルスルホキシド（以下 DMSO と略す）に溶解しそれぞれ5%、1%濃度に

調整したものを用い(2-tert-butyl-hydroquinoneは0.1%濃度を用いた)対照には溶媒のアセトンDMSOおよび原料のBHAを5%濃度をしたものを用いた。その結果、11種の生成物のうちTa-

Table 1 Rec-assay of 2-tert-butyl-hydroquinone and control

	Mutagenicity	Growth inhibition		Difference of inhibition
		Rec ⁺ (17A)	Rec ⁻ (45T)	
Acetone	-	-	-	-
DMSO	-	-	-	-
BHA	-	+	+	-
2-tert-butyl-hydroquinone ^{*1}	+	⌈	⌋	+
2-tert-butyl-hydroquinone ^{*2}	+	⌈	⌋	+

*1 0.1% Acetone solution

*2 0.1% DMSO solution

+ ~ 10 mm

⌈ 10~20 mm

⌋ 20~30 mm

BHA : 5% Acetone solution

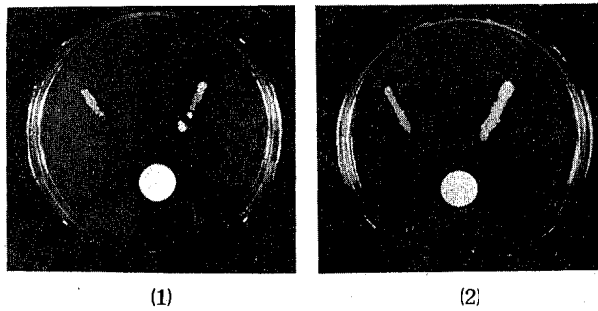


Fig 1 Photographs of plate in the rec-assay of 2-tert-butyl-hydroquinone

(1) 0.1% Acetone solution

(2) 0.1% DMSO solution

ble 1およびFig. 1に示したように2-tert-butyl-hydroquinoneは、RecとRecの両株の生育阻止帯に有意の差が認められたのでRec-assay陽性物質と判定した。なお、2-tert-butyl-hydroquinoneが枯草菌に対してのみ特異的に作用し、他の菌に

は作用しないことも考えられるため、酵母菌を用いて同様な実験を試みたところ、枯草菌に比べて低い感受性を示したが、生物活性は枯草菌と同様の結果が得られた。(Table 2およびFig.2)

Table 2 Sensibility test of 2-tert-butyl-hydroquinone and control by using Yeast

	Growth inhibition		Activities
	Wild strains (S 288C)	Rad mutant strains (1191-5D (rad 1, 18, 54))	
Acetone	—	—	—
*1 BHA	++	++	—
*2 2-tert-butyl-hydroquinone	+	++	+

*1 5% Acetone solution

*2 1% Acetone solution

+ ~ 5 mm

++ 5 ~ 10 mm

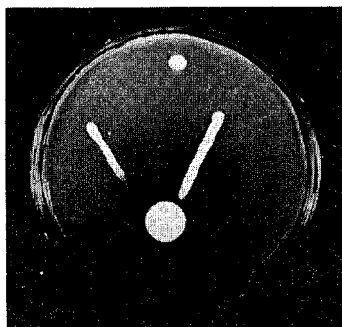


Fig 2 Photograph of plate in the sensitivity test of 2-tert-butyl-hydroquinone by Yeast 5% Acetone solution

伝部町田勇氏に深謝いたします。

本研究の一部は大同生命第2回医学研究助成金を使用した。

文 献

- (1) Kada T, TuTiKawa K., Sadaie. Y: Mutation Res. 16, 165 (1972)

4 結 論

以上のことから、BHAの分解物の一つである2-tert-butyl-hydroquinoneが顕著な生物活性を示すことが明らかとなった。このことは、2-tert-butyl-hydroquinone が生物の諸特性を決定する遺伝子の構成物質であるDNAに損傷を与えることを意味している。このため、実際に食品に添加されたBHAが食品中でも同様の反応性を示すか否かについてはさらに検討中である。

稿を終るにあたり、生物活性試験について種々御指導いただきました国立遺伝学研究所変異遺伝部第一研究室長土川清氏、ならびに放射線医学総合研究所遺

炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による 生体試料中の微量元素の定量 カドミウムの直接測定時における他元素の 影響について

小山田則孝・石崎睦雄・上野清一・片岡不士雄
村上りつ子・久保田かほる・勝村馨（茨城県衛生研究所）

Determination of trace elements in biological samples by
flameless atomic absorption spectrometry using a carbon
tube atomizer

Effect of other elements on direct determination of cadmium

Noritaka OYAMADA・Mutsuo ISHIZAKI・Seiichi UENO・Fujio KATANO
Ritsuko MURAKAMI・Kaoru KUBOTA and Kaoru KATSUMURA
(Ibaraki Prefectural Institute of Health:4-1, Atago-cho
Mito, Ibaraki)

1 緒 言

生物試料および環境中に含まれる微量元素の分析法として、近年炭素管アトマイザー無炎原子吸光法（以下 F A A と略す）が利用されているが、この方法は、少量の試料を高感度で迅速に測定できる利点がある。また、この方法は、試料を直接または単に希釈するか、あるいは硝酸などの酸化剤や安定剤を添加することにより測定が可能であると言われている^{1)~4)}。しかし、血液や尿などの生体試料を分析の対象とした場合、共存する種々の障害物質のため、試料灰化液を直接測定試料に供した場合、測定が不可能な場合がある。とくにカドミウムや鉛のように、蒸気圧の高いものは試料の灰化段階での灰化温度条件を高く設定できず、これがためバックグラウンドの補正なしでは測定不可能な現状である。さらに、測定時における他元素による化学干渉についても考慮しなければならない現状にあるが、直接法における血中カドミウムの測定時の共存元素による妨害についての検討はいまだされていないようである。

著者らは、血液を蒸留水で希釈後、これを直接 F A A 法に供しカドミウムを測定する際の共存する他元素の測定値に与える影響について検討したので報告をする。

2 装置および試薬

原子吸光分析装置：日立 170-50 型

炭素管アトマイザー：日立 GA-2 型

木ローカソードランプ：日立カドミウムランプ

バックグラウンド補正用ランプ：日立中空陰極型重水素ランプ

カドミウム標準液（1000 ppm）：原子吸光用カドミウム標準液（和光製）を用時適宜希釈して用いた。

試料の注入は、エッペンドルフ社製マイクロピペットを用いた。

3 実験方法

3-1 測定条件

Table 1 に示した条件で測定し、バックグラウンド

Table 1 Operating condition

Equipment	: Hitachi model 170-50 atomic absorption spectrometer, with deuterium backing corrector, the GA-2 flameless atomizer
Light source	: Hitachi hollow cathod lamp of Cd
Lamp current	: 8mA
Slit	: No.2
Cuvette	: Cup type
Ar gas	: 2ℓ/min
Drying	: 40A Ramp mode No.9
Ashing	: 60A, 30s
Atomizing	: 270A, 7.5s

の補正は重水素ランプによる228.8nmの波長を用い同時補正した。

3・2 試験液の調製

Table 2にカドミウム⁵⁾, カルシウム⁶⁾, マグネシウム⁶⁾

Table 2 Contents of Elements in Human—Blood

Cd	3.8 ppb	Mg	41 ppm
Fe	475 ppm	K	1990 ppm
Zn	3.8 ppm	Na	1690 ppm
Ca	62 ppm		

ナトリウム⁶⁾, カリウム⁶⁾, 鉄⁶⁾および亜鉛⁶⁾の血中常在量を示した。血液を20倍に希釈して血液中のカドミウムを測定すると仮定した場合、カドミウムは0.2 ppbとなる。そこでカドミウム標準液を0.1, 0.2, 0.3 ppbに調製し、これに各元素を常在量の1/20, すなわち、カルシウム3 ppm, マグネシウム2 ppm, ナトリウム100 ppm, カリウム100 ppm, 鉄25 ppm, 亜鉛0.2 ppmとなるように各元素を加えて試験液を調製した。

3・3 定量操作

上記試験液30μlを炭素管アトマイザーに注入し、Table 1に示した条件で、乾燥、炭化、原子化、を順次行い、カドミウム量を求めた。

4 結果および考察

カドミウム測定値に対するカルシウム、マグネシウム、ナトリウム、カリウム、鉄、亜鉛の影響について調べ、その結果をFig.1に示した。カドミウムに鉄が共存した場合、カドミウム濃度0.2 ppbのとき20%、0.3 ppbのとき40%とカドミウム濃度が高くなるにしたがって増感作用も大きくなる傾向を示した。カルシウムが共存した場合、カドミウム濃度0.1 ppbのとき90%と大きな負の干渉を示した。マグネシウムはカドミウム濃度が高くなるにしたがって負の干渉が大きくなる傾向を示した。ナトリウムおよびカリウムはカルシウムについて大きな負の干渉を示した。また、亜鉛は±7%と他の元素にくらべて干渉は少なかった。

現在、共存物質の干渉を除く手段として、重水素ランプによる同時補やゼーマン効果を利用した方法などが用いられているが、これらは有機物による分子吸収に対しては十分その効果を示すが、化学干渉に対しては全く効果がない。また、これらの干渉を消去する方

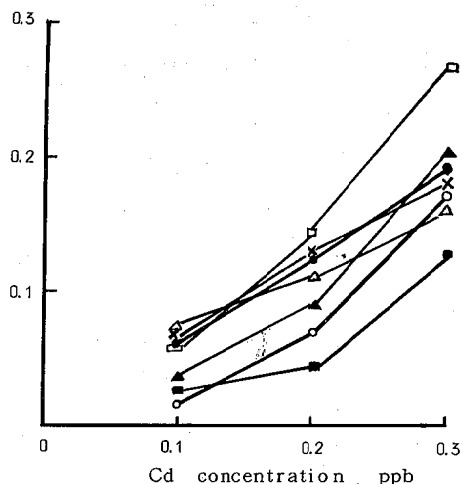


Fig. 1. Effect of other elements on absorbance of cadmium

●—●	Cd		
○—○	Cd + Ca	30 ppm	
△—△	Cd + Mg	20 ppm	
×—×	Cd + Zn	02 ppm	
□—□	Cd + Fe	250 ppm	
■—■	Cd + Na	1000 ppm	
▲—▲	Cd + K	1000 ppm	

法として、標準添加法が利用されているが、一定の減少を見たまま標準液を添加しても、添加量に対しては一定の吸光度を得られるが、真の値を得るのは不可能である。さらに、ジチゾン⁷⁾, APDC⁸⁾, DDTC⁹⁾などを用いて、カドミウムを他元素から抽出分離する方法もあるが、いずれを、同一挙動を示す元素のため、他元素との完全な分離抽出は不可能な現状である。このため、炭素管アトマイザー無原子吸光度を用いて、生体試料中の微量のカドミウムの分析法として、共存する元素の影響を防ぎ、精度よく測定する方法の検討が必要であった。

5 結論

炭素管アトマイザー無原子吸光度を用いて血中のカドミウムを直接測定する際、共存元素による大きな干渉のあることが明らかとなった。この干渉は共存元素の種類や目的元素の濃度によって一定ではなく、直接測定によって真の値を得るのは不可能である。

生体試料中の微量カドミウムの測定法として、共存元素による干渉を防ぎ、精度よく測定する方法の検討が必要である。

文 献

- 1) R. A. Duce: *Anal. Chem.* 48, 1014 (1976)
- 2) 石崎陸雄: *分化*, 26, 667 (1977)
- 3) 林康久ほか: 同上, 25, 409 (1976)
- 4) 西島帯刀ほか: 同上, 26, 349 (1977)
- 5) 石崎陸雄ほか: 衛研年報、投稿中
- 6) H. J. M. Bowen: *Trace Elements in Biochemistry* P 81 (1966) (Academic Press London and New York)
- 7) J. B. Mullin, J. P. Riley: *J. Marine Research*, 15, 103 (1956)
- 8) E. Berman: *Absorption, Newsletter*. 6.57 (1967)
- 9) 保田和彦, 長谷川敬彦: 原子吸光分析 P 359 (1972) (構談社)

生体試料中微量バナジウム分析法 (第1報) 溶媒抽出—無炎原子吸光法による微量バナジウム定量時のキレート試薬の比較検討

上野清一・石崎睦雄・片岡不士雄・小山田則孝

村上りつ子・久保田かほる・勝村馨 (茨城県衛生研究所)

Determination of Vanadium in Biological Materials(I)
Examination of Chelate Reagents on the Determination of Vanadium by
Solvent-Extraction-Flameless Atomic Absorption Spectrometry

Seiichi UENO, Mutsuo ISHIZAKI, Fujio KATAOKA,
Noritaka OYAMADA, Ritsuko MURAKAMI, Kahoru
KUBOTA and Kaoru KATSUMURA

(Ibaraki Prefectural Institute of Health: 4-1,
Atago-cho, Mito-shi, Ibaraki)

1. まえがき

バナジウムは自然界に広く分布し、工業的にも用いられているが毒性を有するため作業場の室内環境についてはその許容濃度が勧告されているので生体試料中のバナジウム量を正確に把握することが望まれている。

バナジウムの定量法としては吸光光度法^{1)~5)}、発光分光光度法⁶⁾、原子吸光法⁷⁾、放射化分析法⁸⁾など種々の方法が報告されているが簡便な方法として主に吸光光度法が用いられている。しかしながら生体試料などのような微量のバナジウムを定量する場合には吸光光度法は感度が低くしかも共存金属イオンの影響をうけるなどの欠点を有しているため実用には供し得ない。近年、炭素管アトマイザーを利用した無炎原子吸光法 (F・A・A) による生体試料中微量金属の分析法が種々検討されている^{9)~12)}が、バナジウムをF・A・A法で測定する場合にはバナジウムと共存する他の金属イオン (Ca, Mg, Fe 等) がバナジウムの原子化時に吸光度の減少をもたらすため、溶媒抽出によるバナジウムの抽出濃縮を試み、抽出液をF・A・Aに供する方法を種々のキレート試薬を用いて比較検討したので報告する。

2 実験方法

2・1 装置および試薬

2・1・1 装置

日立製170-50型原子吸光装置を使用した。原子化部は、同社製フレイムレスアトマイザーGA-2型、

原子化の際のバックグラウンド吸収の補正は、重水素ランプによる318.4nmの波長を用い、同時補正した。

2・1・2 試薬

バナジウム標準原液 (1000 ppm) : メタバナジン酸アンモニウム (NH_4VO_3) 1.148g を秤り、温水約200mlに溶かし、冷後500mlのメスフラスコに移し、水で500mlにうすめる。

バナジウム標準液 : 上記の標準原液を用時適宜希釈して用いた。

オキシシン : 市販の特級品を再結晶して用いた。

クペロン : 市販の特級品を再結晶して用いた。

N-Benzoyl-N-Phenylhydroxylamine : 同仁薬化学製、再結晶して用いた。

N-Cinnamoyl-N-Phenylhydroxylamine : 同仁薬化学製、再結晶して用いた。

N-Benzoyl-N-Phenylhydroxylamine : Majumdar 等の方法²⁾に従って合成した。(現在は同仁薬化学研究所から市販されている)

塩酸 : 市販の特級品を用いた。

過マンガン酸カリウム溶液 : 0.3%水溶液

スルファミン酸溶液 : 0.05M水溶液

2・2 実験操作

種々のキレート試薬 (5種類) を用いた場合のバナジウムの定量操作をChart 1からChart 5に示し、その時のF・A・Aの測定条件をTable 1に示した。なお炭素アトマイザーへの抽出液の注入はマイクロシリンジを用い、20 μl 注入した。

Table 1 Operating condition

Equipment: Hitachi model 170-50 atomic absorption spectrometer,
with deuterium background corrector, the GA-2 flameless
atomizer.

Light source: Hitachi hollow cathod lamp of V

Lamp current: 12 mA

Wavelength: 318.4 nm

Ar gas: 2.5 l/min

Drying: Ramp mode, 0 to 30 A (1.0 A/sec)

Ashing: 150 A, 20 sec

Atomizing: 10 sec

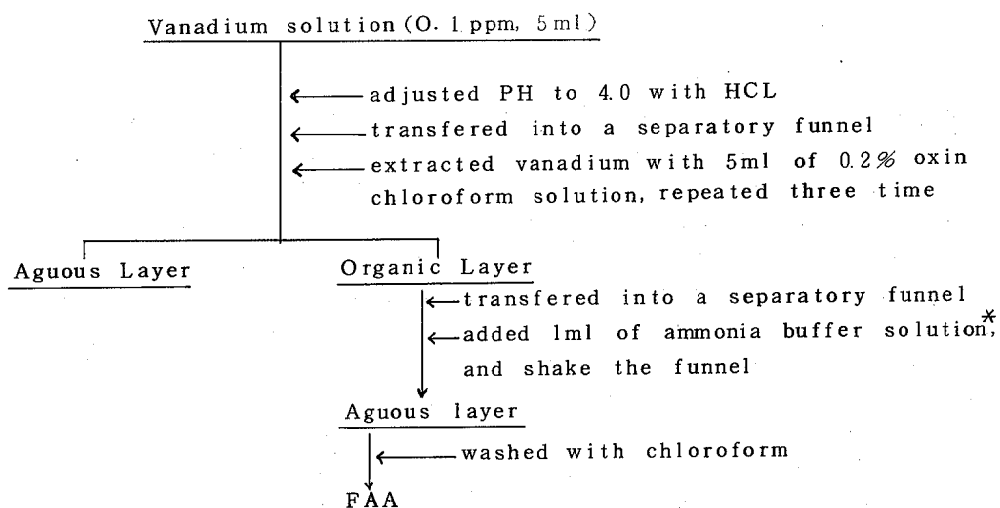


Chart 1. Flow chart for determination of vanadium by oxin

* 4 N NH₄OH 200ml + 4 N HNO₃ 100ml → distilled water 200ml

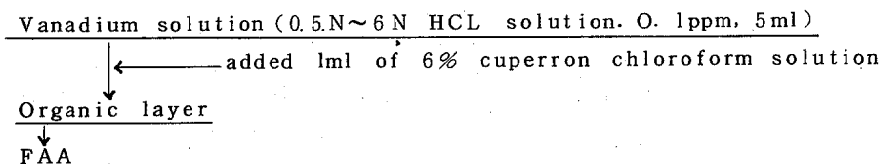


Chart 2. Flow chart for determination of vanadium by cuperron

Vanadium solution (0.1 ppm, 5 ml)

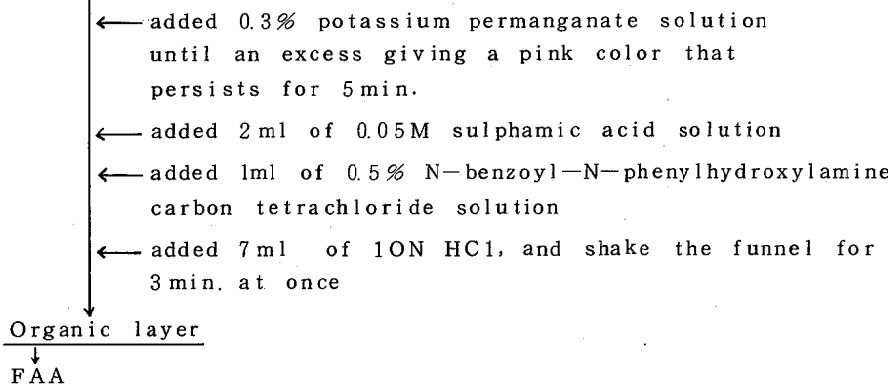


Chart 3. Flow chart for determination of vanadium by N-benzoyl-N-phenylhydroxylamine

Vanadium solution (0.1 ppm, 5 ml)

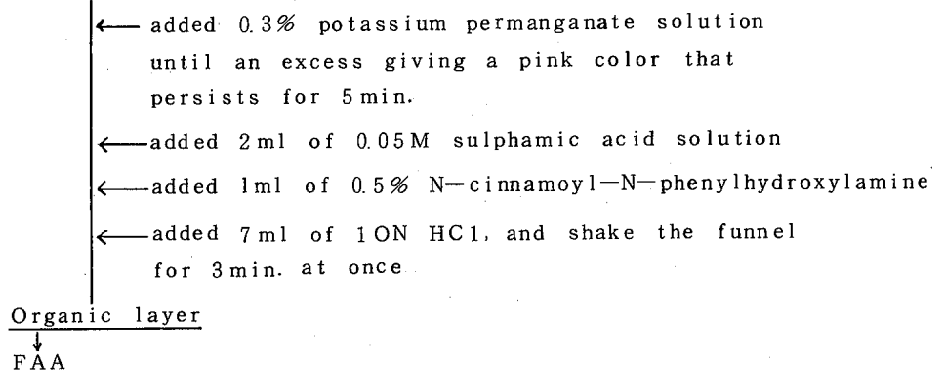


Chart 4. Flow chart for determination of vanadium by N-cinnamoyl-N-Phenylhydroxylamine

Vanadium solution (0.1 ppm, 5 ml)

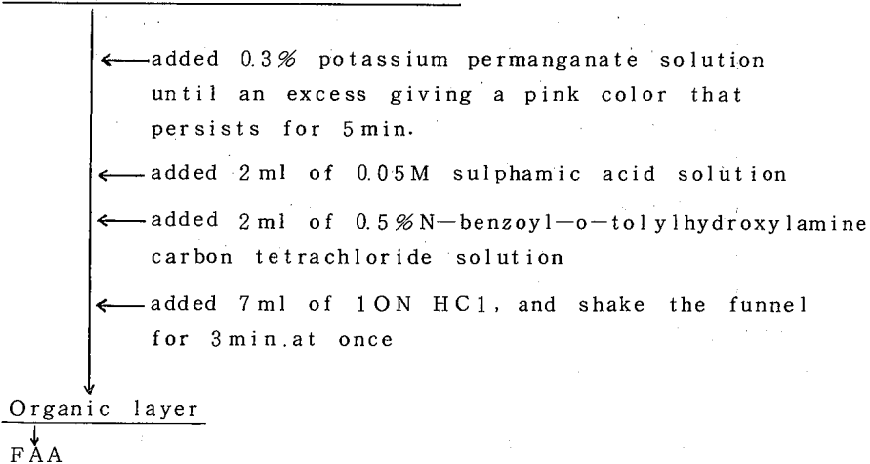


Chart 5. Flow chart for determination of vanadium by N-benzoyl-o-tolyhydroxylamine

3 実験結果

3・1 キレート剤としてオキシンを用いた場合

Chart 1 に示した方法でバナジウムの抽出測定を

5 回行った結果を Table 2 に示した。なお、血液な

どのような生体試料中には鉄が相当含まれていると考

えられるため、バナジウム抽出測定時における鉄の影

響も合わせて検討し、その結果も Table 2 に示した。

Table 2 Reproducibility on the Extraction of Vanadium by Oxin

No	Absorbance	
	No addition	5000ug Fe added
1	25.5	9.0
2	30.0	0
3	25.5	9.0
4	23.5	7.0
5	30.0	8.0
Mean	26.9	6.6
C. V.	11.0	57.3

3・2 クペロンを用いた場合

バナジウムクペロンキレートは強酸性溶液中において形成されると言われているためバナジウム抽出時の至適塩酸濃度を Chart 2 の方法に準じて検討した結果を Fig.1 に示した。Fig.1 より塩酸の規定度の増加とともにバナジウムの吸光度が減少していることがわかる

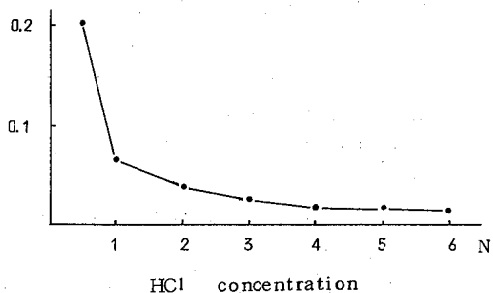


Fig 1. Relationship between Absorbance and HCl concentration of Vanadium Extraction

3・3 N-Benzoyl-N-Phenylhydroxylamineを用いた場合

Chart 3 に示した方法でバナジウムの抽出測定を 5 回行った結果を Table 3 に示した。

Table 2 Reproducibility on the Extraction of Vanadium by N-Benzoyl-N-Phenylhydroxylamine

No	Absorbance
1	27.0
2	29.0
3	29.0
4	21.5
5	21.5
Mean	25.6
C.V.	15.0

3・4 N-Cinnamyl-N-Phenylhydroxylamineを用いた場合

Chart 4 に示した方法でバナジウムの抽出測定を 5 回行った結果と鉄の影響を検討した結果を Table 4 に示した。

Table 4 Reproducibility on the Extraction of Vanadium by N-Cinnamoyl-N-Phenylhydroxylamine and Effect of Divers Ion

No	Absorbance	
	No addition	5000 ug Fe added
1	42.0	0
2	40.0	0
3	40.5	0
4	39.0	0
5	40.0	0
Mean	40.7	0
C.V.	2.7	0

3・5 N-Benzoyl-O-Tolyhydroxylamineを用いた場合

Chart 5 に示した方法でバナジウムの抽出測定を 5 回行った結果と鉄の影響を検討した結果を Table 5 に示した。

Table 5 Reproducibility on the Extraction of Vanadium by N-Benzoyl-O-Tolyhydroxylamine and Effect of Divers Ion

No	Absorbance	
	No addition	5000 ug Fe added
1	40.0	40.0
2	38.0	39.5
3	40.5	38.5
4	39.0	39.0
5	37.0	39.0
Mean	38.9	39.2
C.V.	3.7	1.5

4. 考 察

以上述べてきたように5種類のキレート剤を用いてバナジウムの抽出測定を行ない、その吸光度を比較したところN-Cinnamoyl-Phenylhydroxylamine (CPA)を用いた場合に最も高い吸光度が得られることが明らかになった。しかしながらCPAを用いるバナジウムの抽出測定においては鉄イオンの共存が大きく影響するため、生体試料などのように鉄の含有量の多いものの測定には実用に供し得ないと考えられる。これに対してN-Benzoyl-O-Tolylhydroxylamine (BTA)を用いた場合においては吸光度も他のものに比べて比較的高い値が得られ、しかも鉄の影響をまったく受けなかった。

今回の実験は生体試料中微量バナジウムの定量法を確立するための基礎実験として行なったものであるため、鉄以外の他の金属イオンの影響や添加回収実験などは検討しておらないが、本報にとりあげたキレート剤の中ではBTAが最も適したバナジウムの抽出試薬と考えられる。

5. 結 論

以上の考察により、F・A・A法によるバナジウム定量時の抽出試薬としてのBTAは、(1) 本報でとりあげた抽出試薬中では比較的高い吸光度が得られる。(2) 鉄の影響を受けない。(3) 測定精度が良い(C・V 3.7)などの特徴を有しているためF・A・A法によ

る生体試料中微量バナジウム定量時の分析条件などをくわしく検討する予定である。

文 献

- 1) 神森大彦, 小野昭敏; 分化, 14, 1156 (1965)
- 2) A. K. Majumdar, G. Das; Anal. Chim. Acta., 31, 147 (1964)
- 3) 本島健次; 日化, 78, 533 (1957)
- 4) R. M. Sherwood, F. W. Chapman; Anal. Chem., 27, 88 (1955)
- 5) U. Priyadarshini, S. G. Tandon; Analyst, 86, 544 (1961)
- 6) V. M. Lifshits; Vopr. Med. Khim., 9, 610 (1963)
- 7) 中原武利, 宗森信, 武者宗一郎; 日化, 90, 697 (1969)
- 8) R. Soremark; J. Nutrition, 92, 183 (1967)
- 9) 石崎睦雄; 分化, 26, 206 (1977)
- 10) 石崎睦雄, 片岡不二雄; 産業医学, 19, 136 (1977)
- 11) 石崎睦雄, 小山田則孝, 藤木素士, 山口誠哉; 産業医学投稿中
- 12) 石崎睦雄, 片岡不二雄, 藤木素士, 山口誠哉; 産業医学, 19, No. 6 掲載予定。

生体試料中微量バナジウム分析法 (第2報)

N-Benzoyl-o-tolyhydroxylamine 抽出—無炎原子吸光法 による生体試料中微量バナジウムの分析法

上野 清一・石崎 睦雄・片岡不士雄・小山田則孝・村上りつ子・久保田かほる
勝村 馨 (茨城県衛生研究所)

Determination of Vanadium in Biological Materials (II)
Determination of Vanadium in Biological Materials by
N-Benzoyl-O-tolyhydroxylamine Extraction-Flameless
Atomic-Absorption Spectrometry

Seiichi UENO, Mutsuo ISHIZAKI, Fujio KATAOKA, Noritaka OYAMADA
Ritsuko MURAKAMI, Kahoru KUBOTA and Kaoru KATSUMURA
(Ibaraki Prefectural Institute of Health: 4-1, Atago-cho, Mito-shi, Ibaraki)

1. まえがき

著者らは、前報¹⁾において生体試料中微量バナジウム定量時の抽出試薬としてのN-Benzoyl-o-Tolyhydroxylamine (BTA)の有用性について報告したが、本報では実際に生体試料中のバナジウムを定量する時の分析条件をさらにくわしく検討し、実試料への応用を試み、良好な結果が得られたので報告する。

2. 実験方法

- 2・1 装置および試薬
- 2・1・1 装置

前報と同じものを使用した。

2・1・2 試薬

バナジウム標準液：前報と同じもの。

N-Benzoyl-o-tolyhydroxylamine：前報と同じもの。

塩酸：前報と同じもの。

過マンガン酸カリウム溶液：前報と同じもの。

スルファミン酸溶液：前報と同じもの。

硝酸：精密分析用

過塩素酸：精密分析用

2・2 測定条件

Table 1 に示した条件で測定した。

Table 1 Operating condition

Equipment : Hitachi model 170-50 atomic absorption spectrometer,
with deuterium background corrector, the GA-2 flameless
atomizer.

Light source : Hitachi hollow cathod lamp of V

Lamp current : 12 mA

Wavelength : 313.4 nm

Ar gas : 2.5 l/min

Drying : Ramp mode, 0 to 30 A (1.0 A/sec)

Ashing : 150 A, 20 sec

Atomizing : 300 A, 10 sec

2・3 実験操作

2・3・1 試料の前処理法

血液 20 ml (臓器の場合は 5~10 g) をケルダールフラスコに採り、硝酸 20 ml を加えて徐々に加熱する。内容物が完全に溶解したのち、亜硝酸ガスがほとんど生じなくなるまで加熱を続ける。冷後、硝酸 5 ml および過塩素酸 15 ml を加え、再び注意して加熱する。内容物が暗色を呈すれば、そのつど硝酸 5 ml を加えて加熱し、過塩素酸の白煙が生ずるまで濃縮する (約 5 ml まで)。

2・3・2 定量操作

灰化液を内容 100 ml の分液ロートに移し、ケルダ

ールフラスコ内を 15 ml の蒸留水で洗い、灰化液に合した後、0.3% 過マンガン酸カリウム溶液をピンクの色が 5 分間持続するまで加える。ついで、0.05 M スルファミン酸溶液 2 ml, および 0.5% BTA・四塩化炭素溶液 1 ml を加えた後、10 N 塩酸 20 ml を加え、ただちに、振とう機を用いて 3 分間振とうし、バナジウムを四塩化炭素層に抽出する。抽出液の 20 μ l をマイクロシリンジに採り、炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し、乾燥、灰化、原子化操作を順次行ないバナジウム量を求めた (chart 1 に操作法の概略を示した。)。同様に空試験を実施し、測定値を補正する。

Sample (20ml of blood, or 1-10g of biological material)

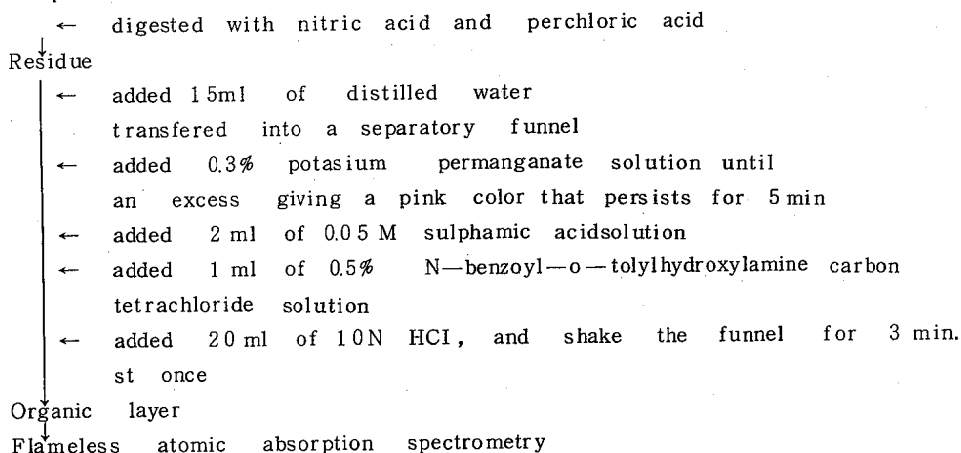


Chart 1. Flow chart for determination of vanadium in biological materials.

3. 実験結果

3・1 硝酸濃度によるバナジウムの抽出率について

試料の灰化には硝酸を用いるため、硝酸の濃度によるバナジウムの抽出率の変化を、バナジウム標準液をそれぞれの濃度の硝酸溶液に溶解し、0.1 ppm に調整した液 5 ml について chart 1 に示した方法で検討した。その結果、30% 以下の硝酸濃度においては、一定の抽出率が得られることが判明した。(Table 2)

Table 2. Effect of HNO₃ concentration on the Extraction of Vanadium

HNO ₃ Concentration	Absorbance
distilled water	4 0.0
5 % HNO ₃	3 9.5
10 % HNO ₃	4 0.0
30 % HNO ₃	3 9.0
68 % HNO ₃	0

3・2 バナジウム抽出時の至適塩酸濃度について
バナジウムとBTAとは塩酸性下で反応するため、
反応液の至適塩酸濃度を検討した。その結果、(1～
8) N の広い濃度範囲において一定かつ最高の抽出率
を示すことが明らかになった。(Fig 1)

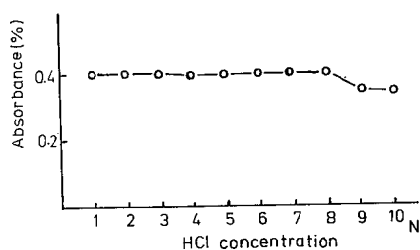


Fig 1. Effect of HCl concentration on the Extraction of Vanadium

3・3 測定値に及ぼす共存イオンの影響

試料灰化液には種々のイオンが含まれており、これ
ら共存イオンの影響を調べるため、バナジウム0.1μg
を採り、これに16種の元素(As, Sb, Co, Cd, Se
Hg, Pb, Cr, Ba:各10μg, Al, Ni, Cu:各
100μg, Ca, Fe, Mg, Zn:各40mg)を添加し、
抽出操作後、バナジウムの測定を行なったが、これら
陽イオンによる影響は何ら認められなかった。その結
果をTable 3に示した。

Table 3. Effect of Foreign Ions

Foreign ions	Added (ug)	Absorbance (%)	Foreign ions	Added (ug)	Absorbance (%)
As	1 0	3 9.0	Ba	1 0	3 9.5
Sb	1 0	3 9.0	Al	1 0 0	3 9.0
Co	1 0	4 0.5	Ni	1 0 0	4 0.0
Cd	1 0	3 9.5	Cu	1 0 0	3 9.0
Se	1 0	4 0.0	Ca	4 0 0 0 0	3 9.5
Hg	1 0	3 9.0	Fe	4 0 0 0 0	3 9.5
Pb	1 0	4 0.0	Mg	4 0 0 0 0	4 0.0
Cr	1 0	3 9.5	Zn	4 0 0 0 0	3 9.0

V taken : 0.1ug

3・4 実際試料の定量例と添加回収実験

2・3の方法に従って、動物血液および若干の臓器を用いて、添加回収実験を行なった結果をTable 4に示した。なお、用いた臓器（ウサギの腎、および肝臓）は、5 ppmのバナジウム標準液を飲料水として5日間自由に摂取させた雄ウサギのものを用いた。また、人血での添加回収実験は200 ml以上の血液を必要とするため実施せず、動物血のみの実験にとどめた。その結果、回収率96～106%，変動係数11%以下であった。Table 5に本法を用いて人血およびさんま中バナジウム量を測定した結果を示した。

Table 4. Recovery test of sample by the proposed method

Sample	V added (μg)	Found (μg)	Mean (μg)	C. V. (%)	Recovery (%)
Rabbit liver* 5.0 g	0	0.108, 0.092, 0.117			
		0.100, 0.100	0.103	9.2	
	0.100	0.183, 0.217, 0.217, 0.183	0.203	9.2	100.0
Rabbit kidney* 1.0 g	0	0.150, 0.150, 0.133			
		0.133, 0.117	0.137	10.2	
	0.200	0.367, 0.333, 0.333, 0.317, 0.300	0.330	7.5	96.5
Cow blood 20 ml	0	0, 0, 0, 0, 0	0		
	0.100	0.107, 0.100, 0.100, 0.094, 0.107	0.102	5.4	102.0
	0.200	0.200, 0.210, 0.170, 0.210, 0.230	0.204	10.7	102.0
Hen blood 20 ml	0	0, 0, 0, 0, 0	0		
	0.100	0.091, 0.091, 0.109, 0.096, 0.109	0.099	9.3	99.0

* Rabbit was drunked 5 ppm of vanadium (NH_4VO_3) solution for 5 days with freedom.

Table 5. Vanadium content in Human blood and Samma

Sample	Found (ppb)	Sample	Found (ppb)
Human blood		Samma	
No		No	
1	19.2	1	10.0
2	1.5	2	9.4
3	5.8	3	8.8
4	2.3	4	30.0
5	25.0	5	8.3
6	2.4	6	10.0
7	1.3	7	12.0
8	3.8	8	11.3
9	14.5	9	8.8
10	1.2	10	7.5

4. 考察および結論

以上の結果から、生体試料中のバナジウムの定量法として、灰化液中のバナジウムを塩酸々性下BTAと反応させ、四塩化炭素に抽出した後、FAA法を利用して測定する方法は、1) BTAがバナジウムと特異的に反応する性質を有するため、測定時に負の誤差を与える、灰化液中の共存イオンを抽出操作のみでバナジウムと分離でき、同時にバナジウムを濃縮できる。2) 試料灰化液からバナジウムを抽出操作するための、灰化液の調製が極めて簡便で熟練を要さない。(3) 定量感度も血液20mlを用いた場合で1ppbと高感度で、かつ精度の良い値が得られる。などの利点を有し、生体試料中バナジウムの測定法として充分実用に供し得るものと考えられる。

文 献

- (1) 上野 清一・石崎 陸雄・片岡不二雄・小山田則孝・村上りつ子・久保田かほる・勝村 馨 : 茨城衛研年報 15, 47 (1977)

炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による生体試料中のコバルトの定量

小山田則孝・石崎睦雄・上野清一・片岡不士雄
村上りつ子・久保田かほる・勝村馨（茨城県衛生研究所）

Determination of Cobalt in biological samples by flameless atomic absorption spectrometry using a carbon tube atomizer

Noritaka OYAMADA, Mutsuo ISHIZAKI, Seiichi UENO
Fujio KATAOKA, Ritsuko MURAKAMI, Kaoru KUBOTA
and Kaoru KATSUMURA
(Ibaraki Prefectural Institute of Health: 4-1, Atago-cho, Mito)

1 緒言

コバルトは生体中にビタミン B_{12} の構成成分として含まれ、必須元素の一つである。一方、工業原料、触媒として含まれ、多量に使用されており、近年環境汚染物質として注目されてきた。動植物などの生体試料中のコバルトの分析法として、試料を灰化後、灰化液中のコバルトを β -ニトロソ α -ナフトール法¹⁾、ニトロソR塩法²⁾、ニトロソクレゾール法³⁾、1-ニトロソ-2-ナフトール法⁴⁾などで測定する方法が利用されているが、生体試料中のコバルト量は極めて微量であり、比色法の感度も低いため、多量の試料を必要とする。また発色試薬に特異性がなく、試料の前処理は複雑で熟練を要するなどの問題点がある。近年炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による種々の金属の分析法が検討されている^{5)~7)}。この方法は簡便かつ迅速に測定できるが、生体試料を測定の対象とした場合には、試料灰化液中に種々の防害物質を含むため、そのままこれを測定試料に供することは不可能な場合もある。Harmら⁸⁾は試料を湿式灰化後、APDC-トルエンを用いてコバルトを抽出し、有機層を直接フレイムス原子吸光法に供し、コバルトの測定を行っているが、APDCは酸性領域で多数の金属と反応し有機層に抽出する。このためコバルト測定時に他元素による化学干渉はさげられない。

そこで著者らは、トリー n -オクチルアミンが塩酸性でコバルトと反応することを利用し、生体試料中のコバルトを測定する方法を検討した。すなわち、試料を乾式灰化後、灰化した試料を10N塩酸に溶解させ、コバルトをトリー n -オクチルアミン・四塩化炭素

液で抽出し、さらに蒸留水で逆抽出し、この逆抽出液について炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による分析法を確立した。その結果、実際試料での回収率98~103.0%、変動係数10%以下と良好な結果が得られたので報告する。

2 装置および試薬

2・1 装置

原子吸光分析装置：日立308型、同時補正装置付き炭素管アトマイザー：日立HFA型
ホローカソードランプ：日立コバルトランプ
バックグランド補正用ランプ：日立中空陰極型重水素ランプ

試料の注入は、エッペンドルフ社製マイクロピペットを用いた。

2・2 試薬

コバルト標準液（100ppm）：特級硝酸コバルト0.494gを水に溶かし100mlとし、同時適宜希釈して用いた。

5%トリー n -オクチルアミン・四塩化炭素溶液：トリー n -オクチルアミン5mlを採り、四塩化炭素を加えて100mlとし、1N塩酸50mlを加え、よく攪拌し夾雑物を除去する。塩酸層を分離後、蒸留水50mlを有機層に加え、洗浄後、有機層を分取し、このものを抽出溶媒に用いた。

塩酸は試薬特級品を用いた。

3 実験方法

3・1 測定条件

Table 1 に示した条件で測定し、バックグラウンド

Table 1 Operating condition

Equipment: Hitachi model 308 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the HFA flameless atomizer
Light source: Hitachi hollow cathod lamp of Co
Lamp current: 10mA
Wavelength: 240.7nm
Ar gas: 0.7l/min
Drying: 100°C, 30s
Ashing: 900°C, 40s
Atomizing: 2500°C, 8s

の補正は重水ランプによる 240.7nm の波長を用い同時補正した。

3・2 試料の前処理法

試料 1~5 g (血液: 5ml) を内容 100ml の磁製ルツボに採り、電気乾燥器を用いて 60°C, 12 時間乾燥後、電気炉で 550°C, 12 時間灰化する。冷後、ルツボに 10N 塩酸 5ml を加え、約 60°C のホットプレート上で 30 分間加熱し、灰化物を溶解させる。ついで分液ロートに灰化液を移し、さらに 10N 塩酸 5ml でルツボを洗い、先の灰化液に合する (ルツボは灰化操作で劣化し、再度の使用は測定値に変動を生ずる場合があるため、使い捨てとする)。

3・3 定量操作

上記灰化液の入った分液ロートに 5% トリーノオクチルアミン・四塩化炭素溶液 5ml ずつで 2 回、灰化液中のコバルトを抽出する。抽出液を 20ml の共陰付試験管に移し、蒸留水 1ml を加え、コバルトを逆抽出した。逆抽出液 20μl を炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し、Table 1 に示した条件で、乾燥、灰化、原子化を順次行い、コバルト量を求めた。(Chart 1 に操作法の概略を示した) 同様に空試験を実施し、測定値を補正した。

Sample (5ml of blood)

↓ ashed with electric furnace for 12hrs. at 550°C

Ashed residue

↓ added 10ml of 10N HCl

↓ transferred into a separatory funnel

↓ extracted cobalt with 10ml of 5% tri-n-octylamine carbon tetrachloride solution

Organic layer

↓ transferred to a 20ml of stoppered test tube

↓ extracted cobalt with 1ml of distilled water

Aqueous layer

↓ Flameless atomic absorption spectrometry

Chart 1. Flow chart for determination of cobalt in blood.

4 結果および考察

4・1 抽出条件の検討

コバルトの溶媒抽出時の至適塩酸濃度を求めた。塩酸濃度を1~12Nに調製し、これにコバルト25ngを加え、3・3に準じて操作を行った。その結果、Fig 1に示したごとく、5N以上の塩酸濃度でコバルトは

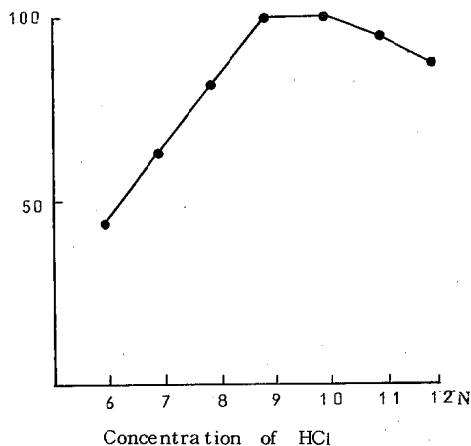


Fig. 1. Relationship between recovery of the cobalt and concentration of HCl. Co was extracted with 1.0ml of 5% tri-n-octylamine carbon tetrachloride solution and back extracted with 1ml of distilled water. Co was taken 0.5ng

有機層に抽出され、9~10Nの濃度範囲で一定、かつ最高の抽出率を示し、抽出逆抽出の両操作でのコバルトの回収率は98~100%と極めて良好な結果が得られた。

4・2 逆抽出液中コバルトの安定性

逆抽出液中のコバルトの安定性について、10N塩酸溶液にコバルト25ngを加え、3・3に準じて操作を行い、一定時間ごとにコバルト量を測定した。その結果、Fig・2に示したごとく、逆抽出操作後8時間ま

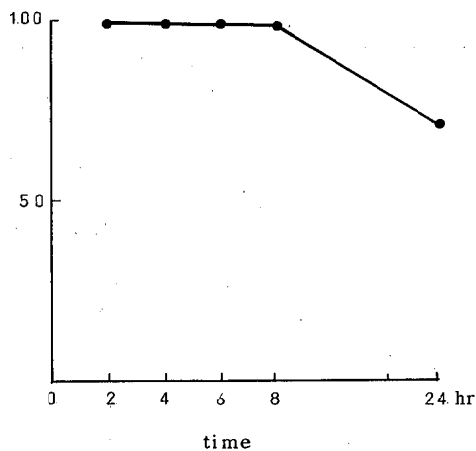


Fig. 2. Stability of cobalt in back extractive solution

では100%の回収率を示し安定であることが明らかとなった。

4・3 共存イオンの影響

試料灰化液中の共存イオンの大部分は、溶媒抽出、逆抽出操作でコバルトと分離できるが、一部はコバルトと同一挙動を示し、逆抽出液中まで共存するものもあり、これがコバルト測定時に妨害する可能性がある。そこでコバルト5ngを採り、これに14の元素(As:0.1ug, Sb:0.1ug, Cd:0.3ug, Cr:0.5ug, Se:3.0ug, Pb:1ug, Ni:2ug, Zn:2ng, Fe:10mg)を添加しコバルトの測定を行ったが、その回収率は97~101%と、これら共存物質による影響は認められなかった。

4・4 添加回収実験

実際試料を用いて添加回収実験を行った結果をTable 2および3に示したが、回収率は97~103%変動係数10%以下であった。

Table 2 Recovery test of sample by the proposed method

Sample	Co added (ng/g)	Found (ng/g)	Mean (ng/g)	C.V. (%)	Recovery (%)
Spinach	0	23.7, 24.5, 24.1 24.6, 23.8	24.1	1.7	102.0
	5.0	30.3, 28.6, 29.4 29.7, 28.2	29.2	2.9	
Potato	0	15.6, 15.6, 14.8 15.6, 15.9	15.5	2.6	102.5
	4.0	19.8, 19.4, 20.4 19.6, 18.7	19.6	3.2	
Turnip	0	10.1, 10.0, 10.0 10.0, 9.7	10.0	1.5	98.0
	5.0	14.4, 14.9, 14.8 14.8, 15.4	14.9	2.4	
Pig liver	0	25.0, 25.0, 26.5 24.7, 27.6	25.8	4.7	100.4
	50.0	77.0, 74.0, 78.0 74.5, 76.5	76.0	2.2	

Table 3 Recovery test of sample by the proposed method

Sample	Co added (ng)	Found (ng)	Mean (ng)	C.V. (%)	Recovery (%)
Blood (A)	0	2.3, 1.9, 1.9 1.9, 2.2,	2.0	9.3	97.6
	10	11.9, 11.9, 12.4 11.9, 11.4,	11.8	2.9	
Blood (B)	0	4.8, 5.5, 4.6 4.5, 5.3,	4.9	8.9	103.0
	25	30.0, 30.8, 31.3 29.8, 31.5,	30.7	2.5	

4・5 各種試料中のコバルト量測定結果

以上の結果から、3・1～3・3に準じて各種生物試料中のコバルト量の測定を行った。その結果をTable 4 および 5 に示した。

Table 4 Cobalt content in foods

Sample	No.	Found (ppb)	Sample	No.	Found (ppb)
Tomate	1	5.9	Spinach	1	25.0
	2	8.4		2	23.3
	3	4.8		3	29.8
Cucumber	1	4.9	Perilla frutescens var. crispa Greens	1	40.8
	2	4.2		2	94.5
	3	4.7		3	11.6
Potato	1	16.5	Pig kidney	1	21.6
		6.0		2	11.1
		4.9		3	21.7
Turunip	1	4.4	Pig liver	1	25.3
	2	3.8		2	56.1
	3	15.7			
Turnip greens	1	17.4			
	2	40.7			
	3	18.1			

Table 5 Cobalt content in blood

Sample No.	Age	Sex	Found (ppb)	Sample No.	Age	Sex	Found (ppb)
1	20	M*	0.4	10	17	M	0.8
2	17	M	1.1	11	18	M	0.8
3	18	M	0.2	12	17	M	0.8
4	57	M	0.9	13	35	F	0.4
5	41	F**	0.9	14	16	F	0.9
6	27	M	0.6	15	44	M	1.4
7	36	M	0.9	16	22	M	0.9
8	57	M	1.0	17	17	F	1.3
9	45	M	0.6	18	46	F	0.8

Geometrical mean: 0.75 S.D:0.63 *: Male **:Female

5 結 論

以上の結果から、生物試料中コバルトの定量法として、塩酸溶液中からの溶媒抽出、逆抽出を利用した炭素管アトマイザー無炎原子吸光法は、1) 溶媒抽出、逆抽出操作で、夾雑物とコバルトとお分離濃縮するため、測定時のバックグラウンドを最少限に抑えられ、測定値のバラツキを生じさせない。2) 5gの試料を用いた場合、その定量限界は0.1ppbと極めて低しベル量

まで測定可能となった。3) 試料の前処理方から測定法まで、その操作法が極めて簡単で熟練を要さず、かつ高感度、精度よい値が得られ、測定試料も比較的少量ですむことなどの利点を有することから、生物試料中コバルト量の測定法として充分実用に供し得るものと考えられる。

文 献

- 1) H. Sakaalo: *Anal. Chim. Acta*, 51, 503 (1970)
- 2) A. J. Hall, R. S. Young: *Anal. Chem.*, 22, 497 (1950)
- 3) G. H. Ellis, J. F. Thompson: *Ind. Eng. Chem.*, 17, 254 (1945)
- 4) B. E. Salzman: *Anal. Chem.*, 27, 284 (1955)
- 5) R. A. Duce: *ibid.*, 48, 1014 (1976)
- 6) 安田誠二, 垣山仁夫: *分化*, 23, 620 (1974)
- 7) 石崎睦雄: *同上*, 26, 667 (1977)
- 8) U. Harms, J. Kunze: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 164, 204 (1977)
- 9) 中川元吉: *日化*, 82, 98 (1961)

炭素管アトマイザー無炎原子吸光法による、生体試料中アンチモンの定量法

片岡不士雄・石崎睦雄・上野清一・小山田則孝

村山りつ子・久保田かほる・勝村馨 (茨城県衛生研究所)

Determination of Antimony in biological materials by flameless atomic absorption spectrometry using a carbon tube atomizer
Fujio KATAOKA, Mutsuo ISHIZAKI, Seiichi UENO, Noritaka OYAMADA, Ritsuko MURAKAMI, Kaoru KUBOTA, and Kaoru KATSUMURA
(Ibaraki Prefectural Institute of Health, 4-1, Atago-cho, Mito-shi, Ibaraki-Ken)

1 はじめに

動植物体等生体試料中の微量アンチモンの分析法として、従来より試料を灰化後、灰化液中のアンチモンを、ローダミンB法¹⁾、ポーラログラフィー法²⁾等で測定する方法が利用されてきた。近年、炭素管を用いた無炎原子吸光法によるアンチモンの分析法³⁾⁴⁾が種々検討されている。この方法は簡便かつ迅速に測定できるが、動植物体を試料として、灰化液を直接試験液とした場合には、夾雑する各種の妨害物質による影響が生じ、そのままでは測定に支障をきたし実用に供し得ない。そこで著者らは試料の前処理法として、灰化補助剤を用いる乾式灰化法⁵⁾を用い、灰化した試料を6 N塩酸に溶解させ、還元剤を用いて5価のアンチモンを3価に還元した後、灰化液中の夾雑する各種の妨害物質を除くために、高分子量アミンによる溶媒抽出、さらに酒石酸溶液による逆抽出を行い、その逆抽出液について炭素管アトマイザーを用いた無炎原子吸光法によるアンチモンの分析法を検討したので報告する。本報による実際試料での回収率は80%、変動係数は10%であった。

2 装置および試薬

2・1 装置

原子吸光分析装置：日立308型、同時補正装置付炭素管アトマイザー：日立HFA型

ホローカソードランプ：日立アンチモンランプ

バックグランド補正用ランプ：日立中陰極型重水素ランプ

試料の注入は、エペンドルフ社製のマイクロピペットを用いた。

2・2 試薬

アンチモン標準液(1000ppm)：原子吸光用アンチモン標準液(和光純薬製)を用いた。用時適宜希釈して用いた。

5%AmberliteLA-1・キシレン溶液：Amberlite LA-1(オルガノ製)5mlを分液ロートに採り、キシレン100mlを加える。ついで1N塩酸100mlを加え、よく振とうし、遊離のアミンを塩酸塩にかえてアンチモンの抽出に使用した。

6 N塩酸：塩酸(和光純薬製特級品)を蒸留水で希釈し6 N塩酸溶液とした後、5%AmberliteLA-1・キシレン溶液で、試薬中に含まれるアンチモンを除いたものを使用した。

その他の試薬は、和光純薬製、試薬特級品を用いた。試薬中に不純物として含まれるアンチモンは、から試験によって結果を補正した。実験に用いた水は、蒸留水をイオン交換樹脂に通じて精製した。

3 実験方法

3・1 測定条件

Table 1に示した条件で測定した。バックグランドの補正は重水素ランプを用い、216.7nmの非共鳴線を用いて同時補正した。

3・2 試料の前処理法

試料2~3g(血液：3ml)を磁製ルツボに精秤し50%硝酸マグネシウム溶液を2ml加え、電気乾燥器を用いて60℃、12時間乾燥後、電気炉で約6時間灰化する。冷後、ルツボに6 N塩酸5mlを加え、約50℃のホットプレート上で10分間加熱しアンチモンを溶解させ、ついで分液ロートに移し入れる。さらに6 N塩酸5mlでルツボを洗い、洗液を分液ロートに移す。

Table 1. Operating Condition.

Equipment :	Hitachi model 308 absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the HFA flameless atomizer.
Light source:	Hitachi hollow cathod lamp of Sb
Lamp current :	15mA
Wavelength :	217.5nm
Ar-gas :	0.7l/min
Drying :	100°C, 30sec
Ashing :	900°C, 30sec
Atomizing :	2400°C, 8sec

3.3 定量操作

上記アンチモン溶解液の入った分液ロートに40%ヨウ化カリウム溶液1mlを加え、3分間放置し、5価のアンチモンを3価に還元した後、5%Amberlite LA-1・キシレン溶液5mlを加え、3分間振とう後、有機層を分取し、綿栓口過す。さらに、水層に5%Amberlite LA-1・キシレン溶液5mlを加え同様の操作をくり返す。有機層を含し50mlの分液ロートに移し、クロロホルム10ml、0.1M酒石酸溶液2mlを加え、5分間振とうしてアンチモンを逆抽出した。逆抽出液40 μ lを採り、炭素管アトマイザーの中心部の小穴に注し、Table 1に示した条件で、乾燥、灰化、原子化の操作を順次行い、アンチモン量を求めた。同様に空試験を実施し、測定値を補正した。

4 実験結果および考察

4.1 測定法の検討

4.1.1 至適原子化温度条件

アンチモン測定時における至適原子化温度を求めするため、(2000~2500)°Cの範囲における原子化時のアンチモン吸光度を求めた。用いたアンチモン標準液は、アンチモン100PPbの0.1M酒石酸溶液40 μ lを測定に供した。測定条件はTable 1に示した条件で行った。その結果、アンチモンの吸光度は原子化温度の上昇に従い増加するが、原子化温度2300°C以上ではさほどの吸光度の増加は認められなかった。したがって本法によるアンチモンの測定は、原子化温度2400°Cで行った。

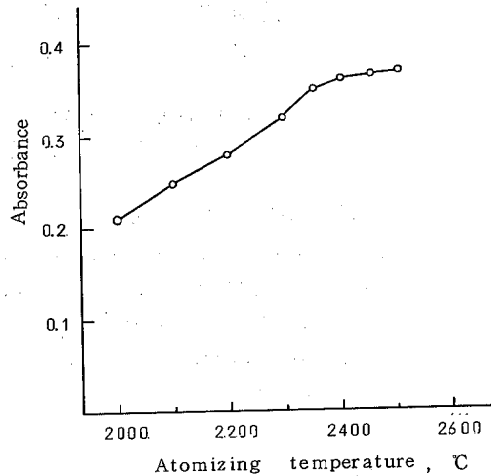


Fig 1. Relationship between atomizing temperature and absorbance of Sb

Sb was taken 4ng in 0.1M tartaric acid 40 μ l. Wave length : 217.5 nm

4.1.2 炭素管中での至適灰化温度条件

アンチモン測定時のバックグラウンドを最少にし、再現性ある測定値を得るため、炭素管中での試験液の至適灰化温度条件を求めた。試験液は4.1.1のアンチモン標準液を用い、測定条件はTable 1に準じ、灰化条件は500, 600, 900, 1200°C, 30秒間とした。その結果、Fig 2に示すごとくアンチモンは900°Cの灰化温度でも揮散せず、0.1M酒石酸溶液によるバックグラウンドの吸収も少なく、再現性の良い測定値が得られることがわかった。

4.2 溶媒抽出、逆抽出法を利用したアンチモンの分離、濃縮

4.2.1 溶媒抽出

3.2に記した方法で試料を乾式灰化後、6N塩酸に灰化物を吸収させて得た灰化液中のアンチモンを、炭素管アトマイザーを用いた無炎原子吸光で直接測定することは、たとえ炭素管中でさらに灰化操作しても、バックグラウンドの吸収が大きく、重水素ランプを用いて同時補正しても補正できず、正確なアンチモン量の測定は不可能である。そのための解決法として、灰化液中のアンチモンを他の成分から分離濃縮する方法を検討した。中川⁶⁾は塩酸溶液中からアンチモン(3価)をAmberlite LA-1キシレン溶液で抽出する方法を述べている。そこで著者らは、この方法を応用して

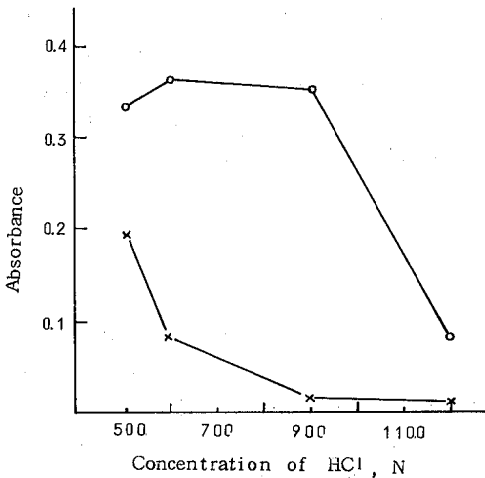


Fig 2. Relationship between ashing temperature and absorbance of Sb.

Sb was taken 4ng in 0.1M tartaric acid 40ul

—○— : Sb
—×— : background

試料灰化液中のアンチモンを5%AmberliteLA-1・キシレン溶液で抽出する方法を検討した。用いたアンチモン標準液は、アンチモン20ppbの6N塩酸溶液10mlを用い、3・3に準じてアンチモンを測定した。その結果、Fig 3に示すようにアンチモンは、6~7N塩酸溶液から約90%の回収率が得られた。なお抽出、逆抽出の測定は別に調製したアンチモン100ppbの0.1M酒石酸溶液の吸光度との比較から算出した。また、実際試料の灰化液中には5価のアンチモンの存在する可能性があるため、五塩化アンチモンを用いて調製した5価のアンチモンの6N塩酸溶液(20ppb)10mlを分液ロートにとり40%ヨウ化カリウム溶液1mlを加え、3・3に準じてアンチモンの回収率を求めた。その結果、5価のアンチモンはヨウ化カリウムで還元され、3価のアンチモンと同様約90%回収されることが明らかとなった。

4・2・2 Amberlite LA-1の濃度

アンチモン抽出時におけるAmberlite LA-1の至適濃度を求めるため、(0.5~10)%Amberlite LA-1・キシレン溶液の範囲におけるアンチモンの回収率を求めた。試験液は4・2・1のアンチモン標準液10mlを用い、3・3に準じてアンチモンの回収率を求め

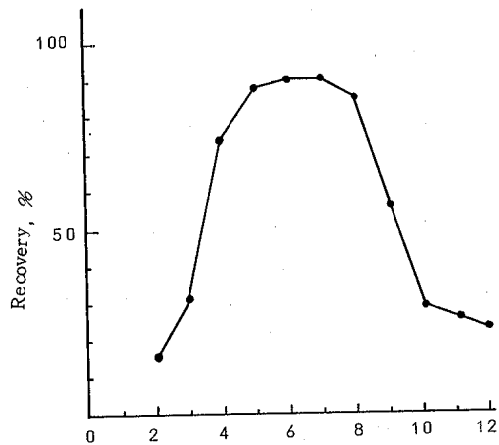


Fig 3. Relationship between recovery of the antimony and concentration of hydrochloric acid.

Antimony was extracted with 5% vol Amberlite LA-1 in xylene and back extracted with 0.1M tartaric acid solution

Sb : taken 200ng

た。その結果、Fig 4に示すごとに5%Amberlite LA-1・キシレン溶液でアンチモンの回収率は最大を示し、7%より高濃度でアンチモンの回収率は逆に低下した。このことは、Amberlite LA-1の濃度が高くなるにしたがって、Amberlite LA-1・キシレン溶液に抽出されたアンチモンが、0.1M酒石酸溶液で逆抽出されにくくなるものと考えられる。

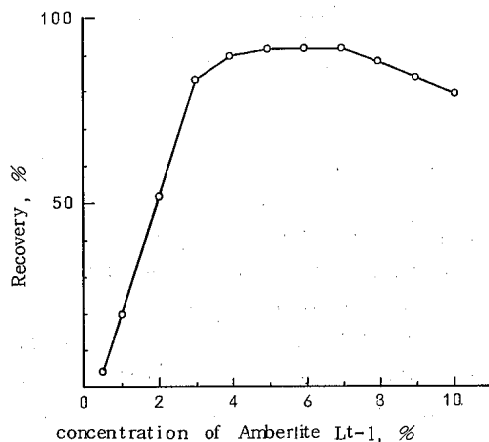


Fig 4. Relationship between recovery of Sb and concentration of Amberlite LA-1 in xylene

Sb : taken 200ng

4・2・3 逆抽出剤の種類と至適濃度

5%AmberliteLA-1・キシレン溶液に抽出されたアンチモンは水で定量的に逆抽出されないため、最適逆抽出剤、及びその濃度を知らるために、酒石酸、クエン酸ニアンモニウム、シュウ酸アンモニウムのそれぞれ0.01~0.4M溶液を用い、3・3に準じてアンチモンの回収率を比較した。その結果、アンチモンは0.05~0.1M酒石酸溶液で回収率約90%と最も良い回収率が得られたので、本法によるアンチモンの逆抽出には0.1M酒石酸溶液を用いた。(Fig 5)

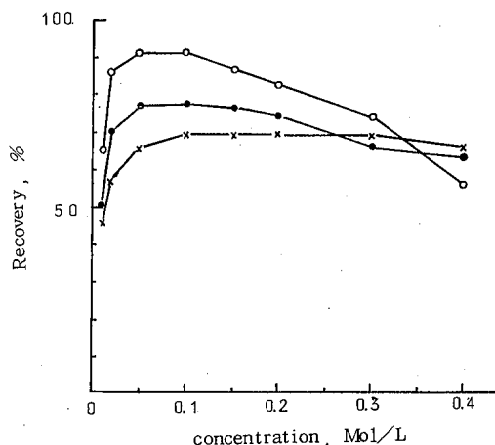


Fig 5. Effect of tartaric acid, ammonium citrate and ammonium oxalate concentration on back extraction

—○— : tartaric acid
 —●— : ammonium citrate
 —×— : ammonium oxalate
 Sb : taken 200 ng

4・2・4 逆抽出時におけるクロロホルムの効果

0.1M酒石酸溶液によるアンチモンの逆抽出率を高め、かつ、アンチモン測定時のマイクロピペットによる酒石酸層の分取も容易にするために、逆抽出時の5%AmberliteLA-1・キシレン溶液層に加える至適クロロホルム量を求める検討を行った。アンチモン(200ng)を5%AmberliteLA-1・キシレン溶液10mlで抽出し、この抽出液にクロロホルムを(5~30)mlの範囲で加え、3・3に準じてアンチモンの回収率を求めた。その結果、逆抽出の際、5%AmberliteLA-1・キシレン溶液層にクロロホルムを10ml添加することにより、クロロホルムを加えなかった時に比べてアンチモンの回収率は約10%増加し

た。また、逆抽出の際の有機層と酒石酸層との分離も良く、アンチモン測定時におけるマイクロピペットによる酒石酸層の分取も容易に行われ、AmberliteLA-1によるバックグラウンドの吸収も少なく、再現性の良い測定結果が得られることがわかった。

4・3 検量線の作成

アンチモン(0.1~6)ng量の範囲で検量線を作成した結果、原点を通る直線性の検量線が得られた。

4・4 共存イオンの影響

試料灰化液中の共存イオンの大部分は、溶媒抽出、逆抽出操作することでアンチモンと分離できるが、一部はアンチモンと同一挙動を示し、逆抽出液中まで共存するものもあり、これがアンチモン測定時に妨害作用を与える可能性がある。そのため、各種の陰、陽イオン(Table 2に示した)を含むアンチモン20PPbの6N塩酸溶液を調製し、この10mlを試験液とし、3・3に準じてアンチモン量を求めた。その結果、試験液10ml中にヒ素は50μgの共存で-5%、コバルトは1000μgで-8%、鉄は2000μgで-10%、鉛は50μgで+9%、亜鉛は500μgで-9%の誤差を与え、他のものは2mgまで添加したが全く影響が認められず、マグネシウムについては灰化補助剤として硝酸マグネシウムを1g試料に添加するが、同量加えた試験結果でもこれによる誤差は認められなかった。なお、ヒ素、コバルト、鉄、鉛、亜鉛についてはさらに検討した結果、ヒ素は20μg、コバルトは500μg、鉄は1000μg、鉛は20μg、亜鉛は200μg量以下では測定に影響をおよぼさないことが明らかになった。実際試料中には、これらの元素が上記以上の量まで存在することは希であり、本法によるアンチモン測定時の共存イオンの影響はないものと考えられる。

4・5 乾式灰化法によるアンチモンの回収試験

試料の前処理法として灰化補助剤に硝酸マグネシウムを加えた乾式灰化法を利用したが、灰化温度550℃に設定した場合の灰化時間ごとのアンチモンの回収率を測定し、至適灰化時間を求めた。内容100mlのルツボにアンチモン200ppb標準液1mlと50%硝酸マグネシウム液2mlを加え、電気乾燥器内で60℃、12時間乾燥後、電気灰炉による灰化を(3~9)時間の範囲で行い、3・3に準じてアンチモンの回収率を求めた。その結果、いずれの灰化時間においてもアンチモンは90%以上の回収率が得られた。通常本法による灰化法では、6時間の灰化で充分試料は灰化され

Table 2. Interference of various ions in the flameless atomic absorption analysis of antimony

Interfering substance	Depressing effect added (ug)						
	2000	1000	500	200	100	50	20
Al	0	/	/	/	/	/	/
As	-	-70	-	-	-17	-5	0
Ca	0	/	/	/	/	/	/
Cd	0	/	/	/	/	/	/
Co	-	-8	0	/	/	/	/
Cu	0	/	/	/	/	/	/
Fe	-10	0	/	/	/	/	/
Mn	0	/	/	/	/	/	/
Na	0	/	/	/	/	/	/
Ni	0	/	/	/	/	/	/
Pb					+16	+9	0
Se	0	/	/	/	/	/	/
Sn	0	/	/	/	/	/	/
Zn		-26	-9	0	/	/	/
Bo ₄ ⁻⁻⁻	0	/	/	/	/	/	/
CrO ₄ ⁻⁻⁻	0	/	/	/	/	/	/
NO ₃ ⁻	0	/	/	/	/	/	/
PO ₄ ⁻⁻⁻	0	/	/	/	/	/	/
SO ₄ ⁻⁻⁻	0	/	/	/	/	/	/

1 Sb was determined after doing of operation of extraction and back extraction.

2 Sb was taken 200ng. 3. Sb in 6N HCl.

るため、上記の実験結果から試料中のアンチモンは、前処理の灰化時に揮散することなく処理できるものと考えられる。

4・6 添加回収実験

以上の実験結果から、3・1～3・3に準じて生体試料及び動植物試料中のアンチモンの定量と、添加回収実験を行った結果をTable 3に示した。この結果、回収率は80%以上、変動係数は10%以下であった。

5 結論

以上の結果から本法は、

1) 試料灰化液中のアンチモンを5%Amberlite LA-1 キシレン溶液で抽出し、0.1M酒石酸溶液で逆抽出することにより、アンチモン測定時における各種

の妨害成分と分離できる。

(2) 逆抽出液に酒石酸を用いることでアンチモンは酒石酸と熱に安定なキレート化合物を作り、炭素管中での乾燥、灰化操作においてアンチモンの蒸散を防ぐことができる。

などの特徴を有し、定量限界も0.3 PPbと極微量まで測定できることから、本法は、生体試料中のアンチモンの分析法として充分実用に供し得るものと考えられる。

文 献

1) E.B.Sandell: Colorimetric Determination of Metals, 3rd Ed, P.258 (1959), (Interscience Publishers Inc., New York)

Table 3 Analytical results of samples by the proposed method

Sample	Sb added (ng)	Found (ng)	Mean (ng)	C V (%)	Recovery (%)
Whale 2g	0	15, 13, 16	15	8.7	85
		16, 14			
	20	32, 35, 33	32	9.4	
Tea leaves 2g	0	41, 38, 41	39	3.9	85
		39, 38			
	40	75, 70, 67	73	5.7	
Blood (A) 3ml	0	1.3, 1.6, 1.6	1.46	10.2	82
		1.3, 1.5			
	5.0	5.0, 5.4, 5.6	5.58	8.4	
Blood (B) 3ml	0	2.3, 2.5, 2.5	2.54	8.6	80
		2.9, 2.5			
	5.0	6.2, 6.7, 6.5	6.58	4.5	
		7.0, 6.5			

2) 日本薬学会：衛生試験法注解，P.288 (1973) (金原出版)

3) 安田誠二，垣山仁夫：分析化学，23, 620 (1974)

4) 鎌田俊彦，熊丸尚宏，山本勇麗：同上，24，

89 (1975)

5) 日本薬学会：衛生試験法注解，P.278 (1973) (金原出版)

6) 中川元吉：日化，81, 750~753, (1960)

血中微量元素 (As, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, V, Zn) 13種の測定法とその測定結果

石崎 睦雄・上野 清一・小山田則孝・片岡不二雄・村上りつ子・久保田かほる
勝村 馨・野田 正男 (茨城県衛生研究所)

Determination of 13 Elements (As, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, V, Zn) in Human Blood

Mutsuo ISHIZAKI, Seiichi UENO, Noritaka OYAMADA, Fujio KATAOKA
Ritsuko MURAKAMI, Kaoru KUBOTA, Kaoru KATSUMURA, Masao NODA
(Ibaraki Prefect al Institute of Health, 4-1, Atago-cho, Mito-shi
Ibaraki)

1. まえがき

血液中各種金属の含有量は、環境汚染によって大きく影響をうける可能性があり、健康影響の事前の予測と環境汚染地域での適切な保健対策の推進のためにも、血液中各種金属の常在量の把握はゆるがせにできないものと考えられる。しかしながら、これまでの、この面の多くの研究は、同一血液については、限られた数種の金属の測定にとどまり、多数の元素を同時測定した例は少ないようである。これは、多数の元素を同時に測定する場合には極めて多量の血液を必要とし、必要量の血液が入手困難なことから、その測定法に信頼性に欠けるものが多々あることが原因のようである。そこで著者らは、As, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, V, Znの13元素について、少量の血液で、簡便、かつ正確に測定できる分析法を検討し、さらに同一試料中の13種元素の同時測定を実施したので報告する。

2. 検査血液

検査血液は1976年10月20日から1977年1月30日の間に、I県内で採血された輸血用保存血(日本製薬株式会社製:ガラス製採血ビンで採血した血液)のうち、期限切れのものを用いた。これらは3°Cの冷蔵庫に入れ保管した。

3. 実験方法

3・1 装置および試薬

3・1・1 装置

原子吸光分光光度計:日立製508型
フレイムレス原子吸光分光光度計:日立製308型
原子吸光分光光度計(同時補正装置付)に日立製フレイムレスアトマイザーHFAを装備したもの。日立製170-50型原子吸光分光光度計(同時補正装置付)に日立製フレイムレスアトマイザーGA-2型を装備したものの2種を用いた。

ゼーマン水銀分析計:日立製501型に、水分分析付属装置を装備したものをを用いた。

3・1・2 試薬

N-Benzoyl-N-(o-tolyl) hydroxyamine : Majumdar¹⁾の方法に従って合成したものをを用いた。

硫酸, 硝酸, アンモニア水:和光純薬製, 精密分析用試薬

Tri-n-Octylamine:和光純薬製

Amberlite LA-1:ローム・アンド・ハース製

その他の試薬は和光純薬製:試薬特級品を用いた。

3・2 分析方法

本調査に利用した分析方法を以下順次述べる。

3・2・1 ヒ素 (As)²⁾

試料の灰化：血液2—3 mlを内容100 mlの磁製ルツボに採り、50%硝酸マグネシウム溶液2 mlを加え、電気乾燥器を用いて60°C、12時間乾燥後、電気炉で550°C、6時間灰化する。冷後、ルツボに10 N塩酸5 mlを加え、約50°Cのホットプレート上で30分間加熱し、灰化物を溶解させる。ついで分液ロートに灰化液を移し、さらに10 N塩酸5 mlでルツボを洗い、先の灰化液に合する。

定量操作：上記灰化液の入った分液ロートに、40%ヨウ化カリウム1 mlを加え、3分間放置後、クロロホルム5 mlずつで2回ヒ素を抽出する。抽出液を20 mlの栓付試験管に移し、これに0.26%硝酸マグネシウム液1 mlを加え、ヒ素を逆抽出した。逆抽出液20 μ lを炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し、乾燥、灰化、原子化操作を順次行いヒ素量を求めた。同様に空試験操作し測定値を補正する。

Table I Operating condition for determination of As

Equipment : Hitachi model 308 atomic absorptin spectrometer, with deuterium background corrector, the HFA flameless atomizer.
Light source : Hitachi hollow cathod lamp of As
Lamp current : 18 mA
Wavelength : 193.7 nm
Ar gas : 0.71/min
Drying : 100°C, 30 sec
Ashing : 900°C, 60 sec
Atomizing : 2500°C, 10 sec

3・2・2 カドミウム (Cd)

血液1 mlを内容20 mlの目盛付共栓試験管に採り、蒸留水を加えて20 mlにする。よく振とう後、この液

の10 μ lを採り、炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し、乾燥、灰化、原子化操作を順次行い、カドミウム量を求めた。

Table II Operating condition for Determination of Cd

Equipment : Hitachi model 170-50 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the GA-2 flameless atomizer.
Light source : Hitachi hollow cathod lamp of Cd
Lamp current : 8 mA
Wavelength : 228.8 nm
Ar gas : 21/min
Drying : Ramp mode, 0 to 30 A (1.0 A/sec)
Ashing : Ramp mode, 30 to 100 A (0.2 A/sec)
Atomizing : 280 A, 10 sec

3・2・3 コバルト (Co)³¹

試料の灰化：血液 5 ml を内容 100 ml の磁製ルツボに採り、電気乾燥器を用いて 60°C、12 時間乾燥後、電気炉で 550°C、12 時間灰化する。冷後、ルツボに 10 N 塩酸 5 ml を加え、約 60°C のホットプレート上で 30 分間加熱し、灰化物を溶解させる。ついで、分液ロートに灰化液を移し、さらに 10 N 塩酸 5 ml でルツボを洗い、先の灰化液に合する（ルツボは灰化操作で劣化し、再度の使用は測定値に変動を生ずる場合

があるため、使い捨てとする。）。。

定量操作：上記灰化液の入った分液ロートに、5% トリ-n-オクチルアミン・四塩化炭素溶液 5 ml ずつで 2 回、灰化液中のコバルトを抽出する。抽出液を 20 ml の共栓付試験管に移し、蒸留水 1 ml を加え、コバルトを逆抽出した。逆抽出液 20 μ l を炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し、乾燥、灰化、原子化操作を順次行いコバルト量を求めた。同様に空試験を実施し、測定値を補正する。

Table III Operating condition for determination of Co

Equipment	: Hitachi model 308 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the HFA flameless atomizer.
Light source	: Hitachi hollow cathod lamp of Co
Lamp current	: 10 mA
Wavelength	: 240.7 nm
Ar gas	: 0.71 /min
Drying	: 100°C, 30 sec
Ashing	: 900°C, 40 sec
Atomizing	: 2500°C, 8 sec

3・2・4 銅 (Cu)

試料の灰化：血液 1 ml を内容 100 ml の磁製ルツボに採り、電気乾燥器を用いて 60°C、12 時間乾燥後、電気炉で 550°C、12 時間灰化する。冷後、ルツボに 5% 硝酸 5 ml を加え、灰化物を溶解させる。

定量操作：上記灰化液の 10 μ l を炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し、乾燥、灰化、原子化操作を順次行い銅量を求めた。同様に空試験を実施し、測定値を補正する。

Table IV. Operating condition for determination of Cu

Equipment	: Hitachi model 170-50 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the GA-2 flameless atomizer.
Light source	: Hitachi hollow cathod lamp of Cu
Wave length	: 324.7 nm
Ar gas	: 21 /min
Drying	: 30A, 20 sec
Ashing	: 130A, 30 sec
Atomizing	: 280A, 10 sec

3・2・5 水銀 (Hg)

試料の灰化：血液 1 ml を木綿糸でつるした 70 mg の脱脂綿にしみ込ませ、48 時間乾燥後、酸素フラスコ燃焼操作²⁾し、燃焼後、フラスコ内の水銀を 0.5% 過酸化水素に調製した 0.1 N 硫酸溶液 20 ml に吸収させた。

定量操作：上記水銀吸収液の 5 ml を採り、水分析付属装置を装備したゼーマン水銀分析計に供し水銀量を

求めた。同様に空試験を実施し、測定値を補正する。

3・2・6 マンガン (Mn)⁵⁾

3・2・4 の銅の分析に用いた灰化液 10 μl を炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し、乾燥、灰化、原子化を順次行いマンガン量を求めた。同様に空試験を実施し、測定値を補正する。

Table V. Operating condition for determination of Mn

Equipment: Hitachi model 308 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the HFA flameless atomizer.

Light source: Hitachi hollow cathode lamp of Mn

Lamp current: 10mA

Wavelength: 279.7 nm

Ar gas: 0.7 l/min

Drying: 100°C, 30 sec

Ashing: 500°C, 30 sec

Atomizing: 2500°C, 10 sec

3・2・7 ニッケル (Ni)

3・2・4 の銅の分析に用いた灰化液 10 μl を炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し、乾燥、灰化、

原子化を順次行いニッケル量を求めた。同様に空試験を実施し、測定値を補正する。

Table VI. Operating condition for determination of Ni

Equipment: Hitachi model 170-50 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the GA-2 flameless atomizer.

Light source: Hitachi hollow cathode lamp of Ni

Lamp current: 10mA

Wavelength: 232.0 nm

Ar gas: 2 l/min

Drying: 30A, 30 sec

Ashing: 140A, 30 sec

Atomizing: 280A, 10 sec

3・2・8 鉛 (Pb)⁶⁾

3・2・2 のカドミウムの項と同様に血液を調製し、測定した。

Table VII. Operating condition for determination of Pb

Equipment: Hitachi model 170-50 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the GA-2 flameless atomizer.
 Light source: Hitachi hollow cathod lamp of pb
 Lamp current: 10mA
 Wavelength: 217.0nm
 Ar gas: 2l/min
 Drying: Ramp mode, 0 to 30A (1.0A/sec)
 Ashing: Ramp mode, 30 to 100A (0.2A/sec)
 Atomizing: 280A, 10sec

3・2・9 アンチモン (Sb)⁷⁾

試料の灰化法: 3・2・1のヒ素と同様に血液を灰化した後, 6N塩酸5mlをルツボに加え, 約50°Cのホットプレート上で30分間加熱し, 灰化物を溶解させる。ついで分液ロートに灰化液を移し, さらに6N塩酸5mlでルツボを洗い, 先の灰化液に合する。

定量操作: 上記灰化液の入った分液ロートに, 40%ヨウ化カリウム1mlを加え, 3分間放置後, 5%アンバーライトLA-1・キシレン溶液5mlを加え, 3分

間振とう後, 有機層を分取する。水層に5%アンバーライトLA-1・キシレン溶液5mlを加え, 同様の操作をくり返す。有機層を合し, 綿栓口過後, 内容30mlの共栓試験管に移し, クロロホルム1.0mlを加えた後, 0.1M酒石酸溶液2mlを加え, 3分間振とうして, アンチモンを逆抽出した。逆抽出液40 μ lを採り, 炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し, 乾燥, 灰化, 原子化操作を順次行ない, アンチモン量を求めた。同様に空試験を実施し, 測定値を補正する。

Table VIII. Operating condition for determination of Sb

Equipment: Hitachi model 308 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the HFA flameless atomizer.
 Light source: Hitachi hollow cathod lamp of Se
 Lamp current: 231.3nm
 Ar gas: 0.7l/min
 Drying: 100°C, 30sec
 Ashing: 900°C, 30sec
 Atomizing: 2500°C, 8sec

3・2・10 セレン (Se)⁸⁾

試料の灰化法: 血液1mlを木綿糸でつるした脱脂綿にしみ込ませ, 電気乾燥器で60°C, 12時間乾燥する。これを酸素フラスコ燃焼操作し灰化する。

定量操作: 0.01N塩酸20mlでフラスコ内を洗浄し, セレンを吸収させる。次いで吸収液を太さ1cm, 長さ10cmの陽イオン交換樹脂カラム (アンバーライトIR-120, H型) 内を流過させ (流速10ml/min) カラム溶離液を補集する。次いで蒸留水20mlでカラ

ムを洗い, カラム溶離液は初めの溶離液に合わせ, 分液ロートに移す。20%塩酸ヒドロキシルアミン2ml, 12N塩酸10mlをそれぞれ加えた後, 0.01%ジチゾン四塩化炭素層を分取しこれを試験液とした。

試験液20 μ lをマイクロシリンジで採取し, 炭素管内に注入する。100°C, 20秒間, 炭素管を加熱し, 四塩化炭素を蒸散させる。次いで0.2%ニッケル溶液50 μ lを注入し, Table 9の操作条件でセレンの吸光度を測定した。

Table IX. Operating condition for determination of Se

Equipment: Hitachi model 308 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the HFA flameless atomizer.
 Light source: Hamamatsu hollow cathode lamp of Se
 Lamp current: 8mA
 Wavelength: 196.0 nm
 Ar gas: 0.81/min
 Drying: 100°C, 30sec
 Ashing: 600°C, 60sec
 Atomizing: 2400°C, 10sec

3・2・11 バナジウム (V)⁹⁾

試料の灰化: 血液 20 ml をケルダールフラスコに採り, 硝酸 20 ml を加えて徐々に加熱する。内容物が完全に溶解したのち, 亜硝酸ガスがほとんど生じなくなるまで加熱を続ける。冷後, 硝酸 5 ml および過塩素酸 15 ml を加え, 再び注意して加熱する。内容物が暗色を呈すれば, そのつど硝酸 5 ml を加えて加熱し, 過塩素酸の白煙が生ずるまで濃縮する。

定量操作: 灰化液を分液ロートに移し, ケルダールフラスコ内を 20 ml の蒸留水で洗い, 灰化液に合する。

ついで, 0.3% 過マンガン酸カリウム溶液をピンクの色が 5 分間持続するまで加える。ついで, 0.5% スルフェミン酸溶液 2 ml, 0.5% N-Benzoyl-N-(O-tolyl) hydroxylamine・四塩化炭素溶液 1 ml および 1.0 N 塩酸 20 ml を加えた後, ただちに振とうし, バナジウムを抽出する。抽出液の 20 ml をマイクロシリンジに採り, 炭素管アトマイザー中心部の小穴に注入し, 乾燥, 灰化, 原子化操作を順次行いバナジウム量を求めた。同様に空試験を行い測定値を補正する。

Table X. Operating condition for determination of V

Equipment: Hitachi model 170-50 atomic absorption spectrometer, with deuterium background corrector, the GA-2 flameless atomizer.
 Light source: Hitachi hollow cathode lamp of V
 Lamp current: 12mA
 Wavelength: 318.4 nm
 Ar gas: 2.51/min
 Drying: Ramp mode, 0 to 20A (1.0A/sec)
 Ashing: 150A, 20sec
 Atomizing: 300A, 10sec

3・2・12 亜鉛 (Zn)

試料の灰化: 血液 2 ml をケルダールフラスコに採り, 硝酸 10 ml を加えて徐々に加熱する。内容物が完全に

溶解したのち, 硫酸 2 ml を加え暗色を呈するまで加熱する。冷後, 硝酸 5 ml を加え加熱し, 白煙が生ずるまで濃縮する。

Table XI. Operating condition for determination of Zn

Equipment: Hitachi model 308 atomic absorption spectrometer.

Light source: Hitachi hollow cathode lamp of Zn

Lamp current: 10mA

Acetylene flow rate: 2.5 l/min

Air flow rate: 14 l/min

3・2・13 鉄 (Fe)

3・2・12に用いた灰化液をそのまま原子吸光分析に供し、鉄含量を測定した。空試験についても同様に行って測定値を補正した。

4 実験結果および考察

前記の検査方法を用いた測定した保存血34人分についての性、年齢構成をTable XIIに示した。また、測

Table XII. Age and sex of subject

Group	Age, Yr	Male	Female
Young	15-19	3 } 7	3 } 7
	20-29	4 }	4 }
Middle	30-39	4 } 8	4 } 8
	40-49	4 }	4 }
Old	50-60	3	1

定した生データをTable XIII-I, IIに示した。なお、これらの値は血液200 mlに30 mlの保存液が入っているため、測定値を補正した値である。これらの測定値について、各元素ごとの男女それぞれの平均値、濃度範囲、中央値等を求めた (Table XIV)。

供血者の性、年齢、血液比重等については予め知り得ているので、それらの要因と各金属レベルとの関係は当然追求せねばならないが、この程度の例数では全てについてそこまで統計的処理を進めることは、処理データ間に有意な関係の有無が生じて、むしろその判定は大局を見失う恐れがある。そこで、これらの追求は一部の性差、年齢の特徴を除いて、将来測定例数をふやしてからにしたい。すなわち、今回は、専ら各金属レベルを総括的に検討するに止めた。以下、各金属ごとに、順次に考察を進めてゆく。

4・1 ヒ素 (As)

正常人の血液中ヒ素レベルについてはUnderwood¹⁰⁾が述べているごとく測定値が各報告によりまちまちである。すなわち、信頼性が高いといわれている中性子放射化分析法を用いた場合の測定値4 ppb前後から、Sumino¹²⁾らがモリブデンブルー法を用いて測定した50 ppb前後と測定者間によって大きな差がある。これは測定法による差が原因と考えられる。そこで著者らは3の項で示した方法を確立し、血中ヒ素量を測定したが、男5 ppb、女2 ppb、全平均4 ppbと極めて低い値が得られ、放射化分析法による報告例と極めて類似した値を示した。また、男の値は女のその2倍強の値を示した。

4・2 カドミウム (Cd)

カドミウムの常在量については、Kubota等¹³⁾は、その測定結果は、測定対象者の半数が5 ppb以下であると報告しており、原田らは4.5 ppb¹⁴⁾であると報告している。今回、著者等の測定結果は平均2.1 ppb、中央値2.0 ppbであり、現在まで報告されている他の報告と大差ない値であった。

4・3 コバルト

コバルトの測定値は男女ともに平均1.1 ppbであり、その中間値は0.9 ppbと、各血液とも近似した値を示した。現在まで報告されている血中コバルト量は測定者間で、平均0.18 ppb¹⁵⁾から230 ppb¹⁶⁾とその報告値は非常にバラツキている。これは、その測定法が必ずしも当を得ていなかったためと考えられるので、著者らは、その測定法に改めて検討を加えて新たな分析法を確立し、測定した。

4・4 銅 (Cu)

銅の血中常在値は、0.9 ppm前後と報告されている^{12, 16)}が、著者らの測定値も、ほぼ一致した値 (0.80 ± 0.26 ppm) を示した。

4・5 水銀 (Hg)

水銀の血中常在量について、二島は平均1.9 ppbで

あると報告している。今回の測定結果では、男 17ppb、女 10ppb、全体の平均 14ppb が得られたが、最高値は男子の 75ppb であった。

4・6 マンガン

マンガンの血中常在量については、すでに著者らは、2地域での男 139、女 121、計 260例について報告しているが、その際の測定値は平均男 2.6、女 1.7ppb であり、50ppb を越えるものは、男で 4例、女でわずか 2例であった。今回の測定結果では、男で平均 2.9ppb と、先の値とほぼ一致した値を示したが、女では 3.3ppb と高い値を示した。これは測定例数 16例のうち 4例までが 50ppb を越える値を示したためと考えられ、測定例数が先の報告例と比べて少ないことも理由の一つと考えられる。

4・7 ニッケル (Ni)

血中ニッケル常在量については、これまでの報告をみると、0.07ppm¹²⁾前後の値にある。著者らの測定値は 0.042 ± 0.020 ppm とこれらにほぼ一致した値を示している。検体 No. 30 はその値が 5ppb 以下であり、仮りに 0 と見做し統計処理した。

4・8 鉛 (Pb)

血中鉛の常在量については、広範な調査が行なわれているが、¹⁹⁾その濃度範囲は 0.014~0.810ppm 平均 0.2ppm 前後のようである。今回の測定値の平均値 0.097ppm はそれらより若干低い傾向にはあるが、ほぼ平均的な値と云える。しかしながら、検体 No. 14 の鉛濃度は 5ppm を越えていたので統計処理に際しては、この値を棄却した。

4・9 アンチモン

アンチモンの測定例は国内外を問わず極めて少なく、国内においては、わずかに Sumino¹²⁾等の平均 16ppb と云う報告例だけのようである。これまでのところ、アンチモンの測定法は、ローダミン B 法のみで特記すべき方法がなく、この方法は特異性を有さず、信頼性に欠く測定法である。そこで著者らは、3・2・9 で述べた高感度かつ精度の良い測定法を確立し、今回の測定に応用した。その結果、測定例 34 例中 17 例が 0.3ppb 未満であった。0.3ppb 未満の試料については、統計処理する際、便宜上 0 として扱った。その結果、平均 0.8ppb と極めて低い値が得られた。著者らは、試みに新鮮血 12 例、男 7、女 5 例について測定を行った結果、平均 0.7ppb \pm 0.4ppb、範囲 0 (1例) ~ 1.8ppb であった。

4・10 セレン (Se)

セレンの血中常在量については、Brune 等 は中性子放射化分析を行い、平均 0.12ppb であると報告している。著者らの測定値もほぼこの値に一致し、 0.13 ± 0.05 ppm の結果が得られた。

4・11 バナジウム (V)

これまでの報告によればバナジウムの血中常在量については、その測定値は、ヒ素やアンチモンと同様に、測定した値は一樣でなく、 $10\text{ppm}^{10)}$ 以下と云う低い値の報告から $230\text{ppb}^{20)}$ と云う高い値に及んでいる。これは分析方法が確立されず、測定法が極めて特異性に乏しいためで、比色法を用いた場合には、定量限界も 0.1ppm 前後と精度が悪く、また試薬の特異性がないため他元素を同時に測定し、上のせした高い値を得る可能性がある。そこで著者らは、3・2・11 に示した分析法を確立し、本調査に応用した。その結果、平均 5.9ppb の値が得られ、Under Wood がその著書で述べている“アメリカ人 19 都市男性の血液バナジウム量は、全体の 90%以上が 10ppb 以下である”、と云う報告とほぼ一致した値が得られた。

4・12 亜鉛 (Zn)

亜鉛の血中常在量は 5ppb 前後であると云われているが、著者らの結果もほぼ一致した値： 3.8 ± 1.2 ppb を示した。

4・13 鉄 (Fe)

鉄の血中常在量は 400ppm 前後であると云われているが、著者らの結果も同様の値 430 ± 142 ppm を示した。

以上、保存血液中の 13 元素 (As, Cd, Co, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, V, Zn, Fe) の常在量を知る目的で分析を行なったが、これまでの測定法がそのまま適用されるとは限らず、ある種の金属では測定法の確立からはじめなければならなかった。ヒ素、アンチモン、バナジウムの 3 元素は、いままでも我国において報告されている値より極めて低い値が得られた。これは 4 の項の各元素の測定法の部分で述べたが、今まで特異的な測定法が確立されておらず、しかも、血中濃度が極めて低く、雑物による測定上の妨害が大きかったためであろう。他の 10 元素については、測定法も上記 3 元素ほどの困難さがないため、今まで報告されている他の測定例と、ほぼ同一の濃度範囲であった。生体内の必須金属および汚染金属については、生体の恒常性維持機構の関与も相まって各金属間の相互関係が注目されてきている。この点からも、得られ

Table XIII—I. Analytical results of samples*

Sample No	Type of blood	Sex	Age	Weight (Kg)	Blood pressure	S. G.***	As	Cd
1	A	M	18	53	120-80	1.056	0.002	0.0022
2	A	M	18	87	110-70	1.056	0.002	0.0020
3	B	M	17	57	120-66	1.054	0.005	0.0012
4	A	M	27	57	118-80	1.058	0.002	0.0024
5	A	M	22	72	130-80	1.056	0.004	0.0020
6	B	M	27	53	134-74	1.056	0.003	0.0022
7	B	M	27	55	120-70	1.056	0.005	0.0021
8	O	M	31	60	122-70	1.056	0.004	0.0021
9	B	M	35	65	110-60	1.056	0.004	0.0027
10	A	M	35	54	126-76	1.056	0.008	0.0014
11	A	M	36	74	116-80	1.056	0.005	0.0016
12	A	M	45	82	160-100	1.054	0.009	0.0018
13	A	M	44	65	160-96	1.058	0.009	0.0044
14	A	M	44	58	138-90	1.054	0.002	0.0029
15	A	M	46	66	124-76	1.058	0.003	0.0025
16	B	M	58	64	152-95	1.052	0.003	0.0036
17	A	M	51	62	130-90	1.056	0.006	0.0025
18	B	M	58	65	120-80	1.056	0.008	0.0016
19	A	F	16	51	120-70	1.052	0.001	0.0025
20	O	F	17	50	128-72	1.058	0.001	0.0027
21	O	F	17	52	118-80	1.052	0.001	0.0012
22	A	F	25	57	116-80	1.052	0.003	0.0015
23	B	F	28	65	126-84	1.052	0.004	0.0013
24	A	F	22	45	120-80	1.052	0.002	0.0022
25	B	F	22	53	112-60	1.052	0.001	0.0015
26	A	F	36	44	130-80	1.052	0.001	0.0019
27	B	F	35	50	110-72	1.052	0.001	0.0010
28	B	F	36	62	132-80	1.054	0.005	0.0036
29	B	F	37	65	118-72	1.052	0.003	0.0013
30	O	F	45	59	128-72	1.052	0.002	0.0013
31	A	F	45	50	140-90	1.054	0.003	0.0018
32	A	F	46	50	140-70	1.052	0.001	0.0023
33	A	F	44	52	146-70	1.052	0.003	0.0020
34	B	F	52	53	150-80	1.052	0.003	0.0020

* Expressed as micrograms per milliliter.

** Specific gravity of blood

Table XIII—II. Analytical results of samples

Sample No	Co	Cu	Hg	Mn	Ni	Pb	Sb	Se	V	Zn	Fe
1	0.0006	0.66	0.014	0.019	0.023	0.112	N.D	0.15	0.0012	4.0	542
2	0.0006	0.79	0.005	0.025	0.058	0.112	N.D	0.16	0.0015	5.3	349
3	0.0008	0.75	0.022	0.019	0.055	0.035	0.0009	0.10	0.0192	3.3	210
4	0.0008	0.94	0.021	0.031	0.025	0.133	0.0007	0.10	0.0058	3.9	349
5	0.0009	1.03	0.017	0.017	0.033	0.351	N.D	0.27	0.0031	3.8	642
6	0.0013	0.90	0.007	0.031	0.012	0.045	0.0008	0.12	0.0021	3.3	394
7	0.0008	0.57	0.002	0.013	0.026	0.119	0.0006	0.23	0.0023	3.3	697
8	0.0007	0.92	0.006	0.039	0.046	0.021	0.0015	0.06	0.0015	3.5	431
9	0.0013	0.87	0.013	0.033	0.008	0.056	N.D	0.13	0.0300	5.5	431
10	0.0009	1.32	0.007	0.035	0.063	0.059	N.D	0.10	0.0072	3.3	858
11	0.0012	0.58	0.012	0.045	0.012	0.069	N.D	0.09	0.0048	5.0	403
12	0.0002	1.35	0.075	0.041	0.062	0.081	N.D	0.12	0.0020	1.8	343
13	0.0014	0.58	0.031	0.036	0.052	0.045	N.D	0.14	0.0017	3.8	681
14	0.0015	1.12	0.008	0.036	0.046	1.155	N.D	0.09	0.0250	4.5	482
15	0.0012	0.66	0.010	0.028	0.029	0.112	0.0008	0.14	0.0020	7.0	133
16	0.0018	0.95	0.007	0.030	0.042	0.232	0.0006	0.12	0.0023	4.8	498
17	0.0017	1.09	0.016	0.035	0.056	0.021	N.D	0.08	0.0010	3.3	336
18	0.0015	0.66	0.030	0.016	0.042	0.049	0.0035	0.16	0.0085	3.8	438
19	0.0009	0.41	0.005	0.009	0.046	0.066	0.0021	0.11	0.0029	5.3	394
20	0.0013	0.35	0.005	0.016	0.012	0.073	N.D	0.23	0.0023	1.5	254
21	0.0014	0.64	0.006	0.028	0.040	0.189	0.0008	0.09	0.0024	4.3	415
22	0.0016	0.96	0.021	0.013	0.058	0.098	N.D	0.12	0.0012	2.8	420
23	0.0018	0.70	0.006	0.051	0.036	0.189	0.0041	0.11	0.0075	3.3	425
24	0.0006	0.76	0.002	0.072	0.066	0.253	0.0030	0.15	0.0013	2.8	608
25	0.0009	0.63	0.005	0.089	0.021	0.059	N.D	0.10	0.0043	3.0	354
26	0.0012	0.91	0.009	0.019	0.081	0.042	0.0013	0.10	0.0017	3.8	243
27	0.0004	0.14	0.016	0.016	0.037	0.073	N.D	0.11	0.0145	3.8	553
28	0.0019	0.75	0.007	0.019	0.086	0.112	0.0018	0.10	0.0015	1.8	343
29	0.0009	0.69	0.006	0.064	0.022	0.053	0.0014	0.11	0.0168	2.5	394
30	0.0009	0.64	0.023	0.033	N.D	0.021	0.0021	0.12	0.0120	5.5	442
31	0.0009	1.16	0.008	0.025	0.032	0.063	N.D	0.10	0.0016	5.6	343
32	0.0008	0.68	0.014	0.031	0.050	0.039	0.0013	0.10	0.0027	2.8	420
33	0.0008	1.09	0.017	0.022	0.041	0.077	N.D	0.15	0.0029	3.0	431
34	0.0010	0.89	0.009	0.017	0.040	0.095	N.D	0.27	0.0038	3.0	398

* N.D < 0.005ppm

** N.D < 0.0003ppm

Table XIV. Concentration of various elements in blood*

Element	Sex	No.	Average	Range	Mean±SD	Median																																																																																																																																	
As	M	18	0.005	0.002—0.009	0.004 ± 0.002	0.003																																																																																																																																	
	F	16	0.002	0.001—0.005			Cd	M	18	0.0023	0.0012—0.0044	0.0021 ± 0.0007	0.0020	F	16	0.0018	0.0010—0.0019	Co	M	18	0.0011	0.0002—0.0017	0.0011 ± 0.0004	0.0009	F	16	0.0011	0.0006—0.0019	Cu	M	18	0.87	0.58—1.35	0.80 ± 0.26	0.76	F	16	0.71	0.14—1.16	Hg	M	18	0.017	0.002—0.075	0.014 ± 0.013	0.009	F	16	0.010	0.002—0.023	Mn	M	18	0.029	0.013—0.045	0.031 ± 0.017	0.029	F	16	0.042	0.009—0.089	Ni	M	18	0.041	0.012—0.063	0.042 ± 0.020	0.042	F	16	0.042	0—0.086	Pb	M	17	0.099	0.021—0.351	0.097 ± 0.073	0.073	F	16	0.094	0.021—0.189	Sb	M	18	0.0005	0—0.0035	0.0008 ± 0.0010	0.0012	F	16	0.0012	0—0.0041	Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12	F	16	0.13	0.09—0.27	V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F
Cd	M	18	0.0023	0.0012—0.0044	0.0021 ± 0.0007	0.0020																																																																																																																																	
	F	16	0.0018	0.0010—0.0019			Co	M	18	0.0011	0.0002—0.0017	0.0011 ± 0.0004	0.0009	F	16	0.0011	0.0006—0.0019	Cu	M	18	0.87	0.58—1.35	0.80 ± 0.26	0.76	F	16	0.71	0.14—1.16	Hg	M	18	0.017	0.002—0.075	0.014 ± 0.013	0.009	F	16	0.010	0.002—0.023	Mn	M	18	0.029	0.013—0.045	0.031 ± 0.017	0.029	F	16	0.042	0.009—0.089	Ni	M	18	0.041	0.012—0.063	0.042 ± 0.020	0.042	F	16	0.042	0—0.086	Pb	M	17	0.099	0.021—0.351	0.097 ± 0.073	0.073	F	16	0.094	0.021—0.189	Sb	M	18	0.0005	0—0.0035	0.0008 ± 0.0010	0.0012	F	16	0.0012	0—0.0041	Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12	F	16	0.13	0.09—0.27	V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608								
Co	M	18	0.0011	0.0002—0.0017	0.0011 ± 0.0004	0.0009																																																																																																																																	
	F	16	0.0011	0.0006—0.0019			Cu	M	18	0.87	0.58—1.35	0.80 ± 0.26	0.76	F	16	0.71	0.14—1.16	Hg	M	18	0.017	0.002—0.075	0.014 ± 0.013	0.009	F	16	0.010	0.002—0.023	Mn	M	18	0.029	0.013—0.045	0.031 ± 0.017	0.029	F	16	0.042	0.009—0.089	Ni	M	18	0.041	0.012—0.063	0.042 ± 0.020	0.042	F	16	0.042	0—0.086	Pb	M	17	0.099	0.021—0.351	0.097 ± 0.073	0.073	F	16	0.094	0.021—0.189	Sb	M	18	0.0005	0—0.0035	0.0008 ± 0.0010	0.0012	F	16	0.0012	0—0.0041	Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12	F	16	0.13	0.09—0.27	V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																			
Cu	M	18	0.87	0.58—1.35	0.80 ± 0.26	0.76																																																																																																																																	
	F	16	0.71	0.14—1.16			Hg	M	18	0.017	0.002—0.075	0.014 ± 0.013	0.009	F	16	0.010	0.002—0.023	Mn	M	18	0.029	0.013—0.045	0.031 ± 0.017	0.029	F	16	0.042	0.009—0.089	Ni	M	18	0.041	0.012—0.063	0.042 ± 0.020	0.042	F	16	0.042	0—0.086	Pb	M	17	0.099	0.021—0.351	0.097 ± 0.073	0.073	F	16	0.094	0.021—0.189	Sb	M	18	0.0005	0—0.0035	0.0008 ± 0.0010	0.0012	F	16	0.0012	0—0.0041	Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12	F	16	0.13	0.09—0.27	V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																														
Hg	M	18	0.017	0.002—0.075	0.014 ± 0.013	0.009																																																																																																																																	
	F	16	0.010	0.002—0.023			Mn	M	18	0.029	0.013—0.045	0.031 ± 0.017	0.029	F	16	0.042	0.009—0.089	Ni	M	18	0.041	0.012—0.063	0.042 ± 0.020	0.042	F	16	0.042	0—0.086	Pb	M	17	0.099	0.021—0.351	0.097 ± 0.073	0.073	F	16	0.094	0.021—0.189	Sb	M	18	0.0005	0—0.0035	0.0008 ± 0.0010	0.0012	F	16	0.0012	0—0.0041	Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12	F	16	0.13	0.09—0.27	V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																																									
Mn	M	18	0.029	0.013—0.045	0.031 ± 0.017	0.029																																																																																																																																	
	F	16	0.042	0.009—0.089			Ni	M	18	0.041	0.012—0.063	0.042 ± 0.020	0.042	F	16	0.042	0—0.086	Pb	M	17	0.099	0.021—0.351	0.097 ± 0.073	0.073	F	16	0.094	0.021—0.189	Sb	M	18	0.0005	0—0.0035	0.0008 ± 0.0010	0.0012	F	16	0.0012	0—0.0041	Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12	F	16	0.13	0.09—0.27	V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																																																				
Ni	M	18	0.041	0.012—0.063	0.042 ± 0.020	0.042																																																																																																																																	
	F	16	0.042	0—0.086			Pb	M	17	0.099	0.021—0.351	0.097 ± 0.073	0.073	F	16	0.094	0.021—0.189	Sb	M	18	0.0005	0—0.0035	0.0008 ± 0.0010	0.0012	F	16	0.0012	0—0.0041	Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12	F	16	0.13	0.09—0.27	V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																																																															
Pb	M	17	0.099	0.021—0.351	0.097 ± 0.073	0.073																																																																																																																																	
	F	16	0.094	0.021—0.189			Sb	M	18	0.0005	0—0.0035	0.0008 ± 0.0010	0.0012	F	16	0.0012	0—0.0041	Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12	F	16	0.13	0.09—0.27	V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																																																																										
Sb	M	18	0.0005	0—0.0035	0.0008 ± 0.0010	0.0012																																																																																																																																	
	F	16	0.0012	0—0.0041			Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12	F	16	0.13	0.09—0.27	V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																																																																																					
Se	M	18	0.13	0.06—0.27	0.13 ± 0.05	0.12																																																																																																																																	
	F	16	0.13	0.09—0.27			V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028	F	16	0.0050	0.0012—0.0168	Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																																																																																																
V	M	18	0.0067	0.0010—0.0300	0.0059 ± 0.0072	0.0028																																																																																																																																	
	F	16	0.0050	0.0012—0.0168			Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7	F	16	3.4	1.5—5.6	Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																																																																																																											
Zn	M	18	4.0	1.8—7.0	3.8 ± 1.2	3.7																																																																																																																																	
	F	16	3.4	1.5—5.6			Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418	F	16	402	243—608																																																																																																																						
Fe	M	18	456	133—858	431 ± 142	418																																																																																																																																	
	F	16	402	243—608																																																																																																																																			

* Expressed as micrograms per milliliter.

た金属レベル間の関係は、生化学的にも、毒性的にも極めて興味が大きい、はじめに述べたごとく、測定例数の積み重ねを企てながら、今後明らかにしてゆきたい。

1 むすび

期限切れ保存血を用いて、As, Cd, Co, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, V, ZnおよびFeの13金属の血中濃度を測定した。

1. As, Co, Sb, SeとVについては、全く新しい分析法を確立し、それを用いて測定した。

2. Asは男5ppb, 女2ppb, Sbは平均0.8ppb, Vは平均5.9ppbとこれまでの報告に比べ著しく低い値であったが、Seは同一レベルであった。

3. 他の金属はこれまでの測定法によったが、その値は、これまで報告されている値とほぼ同じ濃度範囲であった。

本研究は環境庁委託調査費によるものである。なお、期限切れ保存血の入手に当って、御協力いただきました茨城県赤十字血液センター長に深謝いたします。

引用文献

- 1 Majumdar, A, K, and Gaytripas, Anal, Chim, Acta, 31 147 1964
- 2 石崎睦雄・片岡不二雄・産業医学：19 136 1977
- 3 石崎睦雄・小山田則孝・藤木素士・山口誠哉 産業医学投稿中
- 4 勝村馨・石崎睦雄・笹本和博・上野清一 食衛誌 14 137 1973
- 5 石崎睦雄・上野清一・小山田則孝・片岡不二雄・村上りつ子・久保田かほる・勝村馨・茨城衛研年報

- 13 61 1975
- 6 日立テクニカルデータ A・A No.15 1977
- 7 石崎睦雄・片岡不二雄・村上りつ子 産業医学 19(6)に掲載予定
- 8 石崎睦雄, 分析化学; 26 206 1977
- 9 石崎睦雄・上野清一 産業医学投稿中
- 10 Underwood, E, J, "Trace Elements in Human and Animal Nutrition. Third Edition Academic Press, Incy New York.
- 11 Brune, D et, al, Clin Chim, Acta 13 285 (1966)
- 12 Sumino, K, et, al, Arch Environ Health 30 487 (1975)
- 13 Kubota, J, et, al ; ibid 16 788 (1968)
- 14 原田章, 第47回日本産業衛生学会講演集P 130 (1974)
- 15 Thiers. R, E, et al ; Anal, Chem ; 27 1925 (1955)
- 16 Butt, E, M, et al ; Arch Environ Health 8 60 (1974)
- 17 二島太一郎他; 日衛誌 28 58 (1973)
- 18 野田正男 石崎睦雄; 日公衛誌 23 (10) 598 (1976)
- 19 労基法施行規則第35条第14号, 基発550号, 昭和46年7月28日
- 20 Schroeder, H, A, et al J, Chronic Dis, 16 1047 (1963)
- 21 神奈川県公害センター 公害関係の分析法と解説, 改訂3版135, 神奈川県公害対策事務局, 1974
- 22 森田茂, 生活衛生 (大阪市立環境科学研究所) 20, 146 (1976)
- 23 和田改; 医学のあゆみ, 96, 22, (1976)

ジチゾン四塩化炭素抽出法による水中セレンの分析法

笹本 和博・勝村 馨・石崎 睦雄・菊池 信生
齊藤 護・久保田京子 (茨城県衛生研究所)

Determination of Selenium in water by Dithizone-Carbontetrachloride Extraction.
TOKIHIRO SASAMOTO・KAORU KATSUMURA・MUTSUO ISHIZAKI・NOBUO KIKUCHI・
MAMORU SAITOU・KYOKO KUBOTA.
Ibaraki Prefectural Institute of Health. 4-1 Atago-cho Mito Ibaraki.

1 まえがき

セレンは生物体に必須の元素であり、仔羊・仔牛での欠乏症が知られているが、反面過量では毒性も強く北米での家畜類の中毒性として、アルカリ症、暈倒病が知られており、原因として草原に生育するある種の植物があげられている。

工業的には、光電池、電子部品、光学機器部品、顔料、工業薬品（増感剤、加硫剤等）に使用されており、近年その使用量は増加の途にある。そのため環境汚染が問題視されている。

セレンの飲料水中の水質基準は、わが国の水道法では設定されていないが、WHO、米国、ソビエトでは0.01ppmの基準値がある。

セレンの分析法は、上水試験方法（日本水道協会）工場排水試験方法（JIS, K0102）、Standard Methods (AWWA 他編) ジアミノベンジジンによる比色分析法が採用されている。この方法は試験操作が複雑な事、発色が不安定な事などの欠点がある。

その他の分析法としては、Standard Methodsでは、還元酸化による原子吸光法を採用している。この方法は操作に熟練を要し、原子吸光光度計と特別の付属品が必要である。

H. Mabuchi¹⁾らは、セレンが強酸性溶液から、ジチゾン四塩化炭素に抽出される事を報告している。彼らの方法では、およそ0.5ppmが検出限界であり、WHO等での基準値0.01ppmを検出する事は不可能である。セレンは水中で陰イオンに解離する事に注目し、陰イオン交換樹脂により、試験水中のセレンの濃縮を行う事により、検出限界0.005ppmの水中セレンの分析法を確立した。また、陰イオン交換樹脂での前処理で、共存する妨害金属（陽イオン）の分離も行える。

2 実験方法

2.1 装置

日立124型ダブルビーム分光光度計
イワキ万能振とう器VD型

2.2 試薬

セレン(IV)、原子吸光分析用標準液（和光純薬製、 SeO_2 を水に溶解したもの）

セレン(VI)、 NaSeO_4 （和光純薬製、化学用）を水に溶解したもの。

ジチゾン四塩化炭素、衛生試験法注解（P296、拍出用）により原液を作り（50mg/l）4.5倍に希釈したものをを用いた。

イオン交換樹脂カラム、Dowex 1×4を塩酸で処理し、C1型とした後、内径1cm、高さ10cmのカラムに充てんしたものをを用いた。

塩素イオン、硝酸イオン、硫酸イオン、ヒドロ炭酸イオン、リン酸イオンの標準液は各々、ナトリウム塩または、カリウム塩を水に溶解して作成した。

塩酸は有害金属分析用、他は特級品、水は蒸留脱イオン水を使用した。

2.3 実験操作

試験水100mlを採り、2.2の陰イオン樹脂カラムを通す。ついで、5N塩酸20mlで溶出を行い、沸とう水中で5分間加熱、冷後、ジチゾン四塩化炭素溶液5mlを加え2分間振とう抽出後、No.6の濾紙で濾し、四塩化炭素層を分取し、アンモニア水（100+1）10mlで30秒振とう、有機溶媒層を空試験を対照に420nmで吸光度を測定する。

3 実験結果および考察

3.1 陰イオン交換樹脂カラムからのセレンの溶出条件

セレン(IV)5μgを樹脂にのせ、5N塩酸で溶出を行った結果、0~5mlに74%、0~10mlに92%

0~15 mlに97%が回収され、0~20 mlではほぼ完全に回収された。6価セレンも、ほぼ同様で0~20 mlで完全に回収された。

3.3 ジチゾン四塩化炭素によるセレンの抽出条件
セレン(IV) 1μgを含む、3~9N塩酸に、ジチゾン四塩化炭素5 mlを加え、有機層の吸光度を測定した結果4~6Nで最高の値を示した。

3.4 妨害イオンについて

試験水中に含まれる陽イオンは陰イオン交換樹脂カラムを通す事により分別されるので、セレンの陰イオン交換樹脂カラムへの吸着時の共存陰イオンの影響について検討した。陰イオンの標準液を加えた試験水100 mlにセレン(IV) 2 μgを加え、2.3実験操作にしたがって回収実験を行った。その結果、塩素イオン

では500 ppm, 硝酸イオンでは250 ppm, 硫酸イオンでは400 ppm, ヒドロ炭酸イオンでは500 ppm, リン酸イオンでは10 ppmの濃度で陰イオンが共存しても、回収率93%以上あった。

3.5 検量線

検量線は、セレン(IV) 0.5 μgから4.0 μgの範囲で直線性を示し、0.5 μg量における吸光度は0.1であった。

3.6 添加回収実験

表1に示す水質の、地下水、河川水、および水質基準の倍量の陰イオンを含む合成水に、セレン(IV)(VI) 2 μgを加え、2.3実験操作により回収実験を行った。試験に用いた地下水は、竜ヶ崎市の下小規模水道の原

表1. 試験水の水質

Anion (ppm)		Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻
Ground Water		20.7	0.5>	6	254	—
River Water		18.1	5.7	29	29	0.1
Artificial Water		200	88	400	300	0

水で色度30度、過マンガン酸カリウム消費量10.7 ppmのいわゆる有機物型の呈色地下水である。また、ヒドロ炭酸イオン濃度が一般の地下水に比べ非常に高い。

河川水は利根町布川の利根川で1976年10月に採取したもので、水質は同地点での利根川の平常の値である。

合成水は、水に陰イオンの標準液を加え作った。

塩素イオン、硝酸イオンは水道法の水質基準の倍量、

400 ppm, 88 ppm (硝酸性窒素として20 ppm)とした。硫酸イオンは水道法による基準はないので、WHOでの飲料水の基準の倍量の400 ppmとした。ヒドロ炭酸イオンは、水道法、WHOとも基準がないので当所で行った井戸水の調査²等から、ほとんどが150 ppm以下なので300 ppmとした。

セレン(IV), (VI)の添加回収実験の結果を表2に示す。回収率90%以上、変動率12%以下であった。

表2. セレンの回収率

		Recovery (%)		C.V (%)	
		(IV)	(VI)	(IV)	(VI)
Ground Water	(n)	97.0 (5)	97.5 (6)	5.7	7.0
River Water	(n)	96.0 (5)	101 (6)	6.8	8.0
Artificial Water	(n)	95.8 (6)	90.0 (5)	4.2	11.7

Se (IV), (VI) 2 μg Added in 100 ml Sample

水道水（浄水）中には残留塩素が数ppm以下含まれ、ジチゾンに酸化し、正の妨害をする。亜硫酸ナトリウムを残留塩素の対応量加える事により、妨害は除去でき、このときの亜硫酸の酸化による硫酸（イオン）の増加は数ppm以下で問題ない。

ヒドロ炭酸イオンを多く含む試験水では、イオン交換樹脂カラムからセレンを酸溶出する時に、気泡を生ずるが回収率に大きな影響はなかった。今回は試験水を100mlとしたが、試験水量をふやせばもっと低濃度まで定量可能である。

4 まとめ

ジチゾン四塩化炭素抽出法による水中セレンの分析法について検討し以下の結論をえた。

- 1) 陰イオン交換樹脂を用いる事により、共存する妨害イオンの分離と水中セレンの濃度が同時に行える。
- 2) 本分析法は、下記濃度の陰イオンが共存しても、

セレンはほぼ完全に回収された。塩素イオンでは500 ppm, 塩酸イオンでは250 ppm, 硫酸イオンでは400 ppm, ヒドロ炭酸イオンでは500 ppm, リン酸イオンでは10 ppm。

3) 検量線は0.5 μ gから4 μ gで直線性を示し、試験水100mlを用いた場合、検出限界は0.005ppm (5 ppb)であった。特別の機器を必要とせず、操作が簡易であり、試験水量が比較的少量ですむ事等から、本分析法は水中セレンの日常分析法として、十分実用性のもと考えられる。

文 献

- 1) HISAO MABUCHI, HIROMICHI NAKAHARA
Bull. Chem. Soc. Jap. **36**. 151 (1963)
- 2) 笹本和博ほか、茨城衛研年報 14号 71 (1975)
- 3) 勝村繁ほか、茨城衛研年報 10号 23 (1973)

地下水の呈色物質に関する研究 (第2報)

笹本和博・菊池信生・斉藤 護・久保田京子
勝村 馨 (茨城県衛生研究所)

Study on Colored Substances in Ground Water. (II)

TOKIHIRO SASAMOTO・NOBUO KIKUCHI・MAMORU SAITOU, KYOKO KUBOTA
KAORU KATSUMURA.

Ibaraki Prefectural Institute of Health 4-1 Atago-cho Mito Ibaraki.

1 まえがき

呈色地下水には、過マンガン酸カリウム消費量の高いものと、鉄の高いものに分れる事、呈色地下水から得られたフミン酸、フルボ酸はTLCで3~4成分に分れる事等について前報^Dで報告した。

2 試験方法の概要

2. 1, 調査した地下水

前報で調査した地下水のうち検体No 1, 2のもの。(No 1, 竜ヶ崎保健所管内のF小規模水道, 井戸深約60m, No 2, 同じく, S簡易水道, 井戸深約77m)

2. 2, 試験方法

主要成分は上水試験方法により分析し、呈色物の分子量については、下記の方法により試験を行った。

地下水を40°C以下で減圧濃縮後、沈殿を分離し、

検液とした。

内径2cmのカラムにSephadexを約40cmの高さに詰め、検液をのせ、蒸留水で溶出を行う。検出器には、5mm層長の石英フローセルを用い、360nm付近波長で吸光度を測定し、運動した記録計により記録した。

3 実験結果および考察

試験に用いた地下水の水質を表1に示す。今回の採水は前回の約9ヶ月後であるが水質の変化はほとんどない。これからの井戸は使用開始後数年を経ているが、その間、水質の変化はほとんどなく、呈色地下水の水質は地下水の汲上げ量には、ほとんど影響がないことがわかった。すなわち、これらの地下水には、呈色物質の供給源(腐植物を多く含む地層)が考えられる。

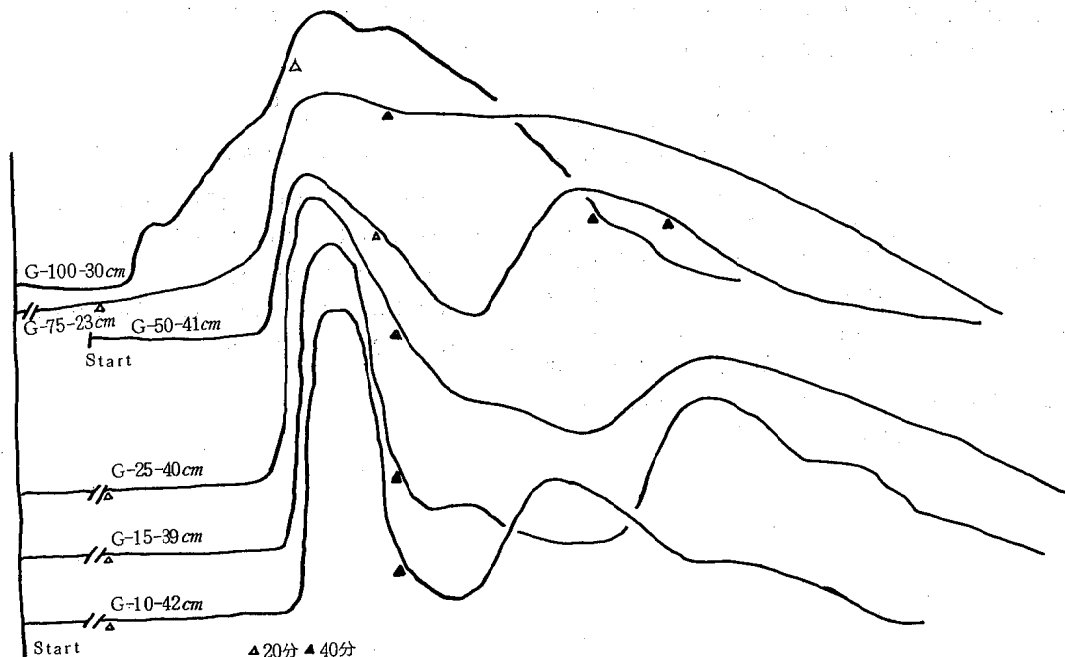


図1 呈色物のSephadexによる分離図

表 1. 試験水の水質

水道施設名	採水年月	色度(度)	KMnO ₄ 消費量 (ppm)	鉄(ppm)	PH	塩 素 イオン(ppm)	蒸発残 留物(ppm)	TOC (ppm)	COD (ppm)
F 小規模水道	75-10	30	10.7	0.01	8.7	10.7	299	3.2	—
	76-7	32	11.8	0.02	8.9	21.0	291	—	1.9
S 簡易水道	75-10	36	8.4	0.03	8.7	31.2	235	3.3	—
	76-7	26	9.9	0.02	8.9	30.1	245	—	—

呈色物のSephadexによる分離を図1に示す。G-10, 20で3つのピーク, G-25, 50で2つのピーク, G-75, 100でピークは1つであった。

以上結果から, 呈色地下水中には, 分子量数千以下と, 数千のもの, 数万のものが存在する。吸光度からこれの3の存在量を概算すると, 分子量数万のものが90%以上, 数千のものが数%, 数千以下のものは少量である。

GJESSING²の報告では, ノルウェーの表流水中の呈色物は, 分子量5万以上と以下に分れ, 5万以上が主成分となっている。

GHASSEMI, ほが³の報告では, 米国表流水中の呈色物は, 分子量5万以上であるが, 1万以下の呈色性の酸も存在したとなっている。

土壤中の腐植物(呈色物)は, 抽出条件等の実験条件により異なるが, 分子量1万以下から, 20万以上まで分布しているが, 分子量1万以下の成分が多い。

我々の試験した地下水の呈色物の分子量は, 外国での表流水中の呈色物の分析例^{2,3)}とほぼ同じ結果であった。

また, 土壤中の腐植物(呈色物)に比べると, 水中の呈色物の分子量は大きい。この事は, 両者の成因環境の差, 分析時の処理方法の差異等が考えられる。成因環境としては, 土壌中と水中では, 生物層, 大気, 日光の供給量等がある。また, 分析時の操作は土壤試料では, 腐植物のアルカリ浴液による抽出, 水試料では呈色物の濃縮の操作が必要である。

4. まとめ

呈色地下水の水質(主に色度)は揚水による変化(減少)は, 短時間では認められるが, 経月, 経年的な変化は少なく, 揚水による永続的な水質の改善は期待できない。

呈色地下水中の呈色物は, 分子量数万(5万以上)のものが主成分で, 数千のもの, 数千以下のものも存在する量は少ない。また, 土壤中の腐植物の分子量分画に比べると分離される成分数は少ない。

いわゆる, 有機物型の地下水中の呈色物は, 腐植物を含む地層から, 地下水によって, 長い年月の間に溶出されたもので, 地層中の腐植物の成分の一部(主に分子量の小さい部), あるいはこれの変化したものと思われる。地層中には, 地下水に比べれば非常に多量の腐植物が含まれるので, この溶出は永続的なものと考えられる。

文 献

- 1) 笹本和博ほか, 茨城衛研年報, 14号71(1975)
- 2) GJESSING, *Nature*, 208: 1091 (1965)
- 3) GHASSEMI, CHRISTMAN, *Limnol. Oceanogr.*, 9: 292 (1964)
- 4) RASHID, KING *Geochim. Cosmochem. Acta.*, 33: 147 (1969)

ジャムにおける真菌検出状況について

野畑久美子・佐藤 秀雄 (茨城県衛生研究所)

Report on the Surveillance of Mold in Jamms

Kumiko NOHATA, Hideo SATO

Ibaraki Prefectural Institute of Public Health

4-1, Atago-cho, Mito-shi, Ibaraki, 310,

1. はじめに

真菌の食品に対する障害性が食品衛生的立場でとらえられるようになったのは、ようやくここ数年のことであり、今まで食品の品質低下という一方的な見方でそれらの被害防止に関する研究が進められてきた。

わが国でのジャムの微生物学的研究は、これまで細菌検査が中心であり真菌についての実態はあまり究明されていなかった。

このような事情から市販されている国内産ジャム14件、外国産ジャム16件、計30検体について真菌を中心に検査を行ない、いくつかの知見を得たので報告する。

2. 供試試料および実験方法

今回の調査に用いた試料はすべて水戸市内のデパート、スーパー・マーケットから購入した市販のものでpHおよび糖度については茨城県消費生活センターで検査を行ない、真菌検査については当衛生研究所で行なった。

試料30検体は、いずれも外見上正常なもので、品名、製造者、原産国およびpH、糖度については表1、表2のとおりである。

試料の内訳は、国産メーカー8社14件、アメリカ産3件、イギリス産2件、中華人民共和国産2件、ソ連産2件、ハンガリー産2件、オーストラリア産2件、ブルガリア産2件、ルーマニア産1件の計30検体である。

真菌検査法では、試料を無菌的に各10gあて秤量し、滅菌した0.1%寒天液(径0.6mmガラス玉約30個入り)90ml中に入れ充分振盪混和後この10倍希釈の試料懸濁液を原液として、更に10進法によって 10^{-2} 希釈 $\sim 10^{-5}$ 希釈液を調製した。

原液および各希釈液各1mlをPotato Dextrose agar (PDA), 2.0% Dextrose 添加 Potato

Dextrose agar (2.0% Dextrose 添加 PDA) を使用して塗抹培養し、25℃, 7~10日後の発生集落をPDA斜面培地に移植して分離培養を行ない、次にスライド培養法、巨大集落の観察を経て、Genusまで決定した。

3. 実験結果

供試した30検体のジャム試料の25℃培養の結果、PDA培地、2.0% Dextrose 添加 PDA培地から、カビおよび酵母が検出された。

分離した真菌は207株で、その種類別については表3に示す。

検索途中の33株を除き、174株についてみると優先株は、Cladosporium 50 (24.2%) で最も多く、次いでYeast 30 (14.5%), Actinomyces 26 (12.6%), Penicillium 26 (12.6%), Aspergillus 9 (4.3%), Phoma 8 (3.9%), Epicoccum 5 (2.4%), Alternaria, Nigrospora, Fusarium各3 (1.4%), Mucor, Myrothecium, Cephalosporium各2 (1.0%), Chaetomium, Sporothrix, Curvularia, Destalotia, Gliocladium各1 (0.5%) となっている。

次に、1試料中から何種類の真菌が分離されるかを一覧表にしたのが表4、5である。

表4、5に示すように分離検出カビの優先種は、30検体中Cladosporium 27 (90%), Penicillium 15 (50%), Aspergillus 7 (23.3%), Phoma, Epicoccum 5 (16.7%), Alternaria, Nigrospora, Fusarium 3 (10%), Mucor 2 (6.7%), Myrothecium, Curvularia, Chaetomium, Sporothrix, Cephalosporium, Destalotia, Gliocladium, 各1 (3.3%) であった。

また、Actinomyces, Yeastも同時に検出され、

表1. 国内産ジャムの検体名及び糖度・PH

試料	品名	原材料名	内容量 (g)	容器	製造年月日	製造者	糖度	PH
1	マーマレード	水あめ, 砂糖, 夏かんみかん, ペクチン オレンジオイル, 合成保存料添加, 酸味料	330	JPマーク	51. 9.24	スドージャムKK	68.6	3.3
2	ミックスジャム	水あめ, 砂糖, いちご, りんご, ペクチン, 酸味料, 着香料	430	ビン入り	51.10.25	"	69.0	3.1
3	いちごジャム	砂糖, いちご, ペクチン, 酸味料	430	"	51. 6. 3	雪印アンデスKK	66.8	3.0
4	マーマレード	砂糖, 水あめ, 夏かん, みかん, ペクチン, オレンジオイル, 酸味料	430	"	51.10.13	雪印食品K.K	66.0	3.1
5	ミックスジャム	水あめ, 砂糖, いちご, りんご, みかん, ペクチン, 天然着色料, 酸味料	270	"	51. 8. 3	明治屋	66.6	3.0
6	マーマレード	水あめ, 砂糖, みかん果汁, ネーブルオレンジ, 夏みかん, 夏みかん果汁, ペクチン, 酸味料, オレンジオイル	270	"	51. 9.22	"	69.6	3.1
7	ミックスジャム	いちご, りんご, ぶどう, 砂糖, ペクチン, 酸味料	200	"	51. 4.21	中島董商店	52.8	3.2
8	マーマレード	砂糖, 夏みかん, ネーブル, 冬だいたい, みかん, ペクチン	200	"	51. 8.30	"	69.0	3.1
9	マーマレード	砂糖, レモン, 酸味料, ペクチン	200	"	51. 8.27	"	69.0	2.5
10	いちごジャム	砂糖, 水あめ, いちご, ペクチン, 酸味料	280	"	51. 8.20	ソントン食品KK	70.4	3.2
11	マーマレード	砂糖, 水あめ, ネーブルオレンジ, 夏みかん, みかん, レモン果汁, ペクチン, 酸味料, オレンジオイル	280	"	51.10.15	"	69.2	3.1
12	いちごジャム	砂糖, 水あめ, いちご, ペクチン, 酸味料, 着香料, 合成保存料添加	150	紙	51.12.25	"	66.6	3.3
13	マーマレード	水あめ, 砂糖, 夏みかん, ペクチン, オレンジオイル, 酸味料, みかん	440	ビン入り	51. 9. 1	KKジンマート	68.2	3.3
14	いちごジャム	砂糖, ブドウ糖, 水あめ, イチゴ, ペクチン, 酸味料	450	"	51. 6.12	KK西友ストアー	68.0	3.0

表2. 外国産ジャムの検体名及び糖度, PH

試料	品名	原材料名	内容量 (g)	容器	輸入年月日	原産国	糖度	PH
15	マーマレード	砂糖, オレンジ, コーンシロップ, 酸味料	283	ビン詰	51. 6. 5	アメリカ	66.2	3.1
16	いちごジャム	砂糖, いちご, 水あめ, 酸味料	283	"	51. 6. 5	"	65.8	3.1
17	赤木いちごジャム	砂糖, 赤木いちご, 水あめ, 酸味料	283	"	51.10. 5	"	65.8	3.0
18	マーマレード	砂糖, オレンジ, ベクテン, 酸味料, 酸化防止剤	454	ビン入り	51. 9.11	イギリス	67.2	3.2
19	いちごジャム	砂糖, いちご, ベクテン, 酸味料, 酸化防止剤	454	"	51. 4.12	"	66.8	2.7
20	あんずジャム	砂糖, あんず	454	"	50. 9.28	中華人民共和国	66.4	3.0
21	いちごジャム	砂糖, いちご	454	"	51. 3.24	"	66.2	3.0
22	ももジャム	もも, 砂糖	675	ビン詰	51. 2.13	ソビエト	71.4	3.9
23	黒ぐすりジャム	黒すぐり, 砂糖	650	"	51. 1. 5	"	71.0	2.7
24	キイチゴジャム	キイチゴ, 砂糖, ベクテン	454	ビン入り	51. 9. 9	ハンガリー	66.4	2.6
25	モモジャム	砂糖, もも, ベクテン	454	"	50.10.27	"	68.0	2.7
26	ストロベリージャム	表示なし	227	"	50. 2.17	オーストラリア	68.4	2.8
27	ブレイクファースト マーマレード	オレンジ, 砂糖	227	"	51. 3. 7	"	68.0	2.8
28	いちごジャム	砂糖, いちご, ベクテン, 酸味料	500	ビン詰	50.10.26	ブルガリア	69.2	3.0
29	オレンジマーマレード	砂糖, オレンジ, ベクテン, 酸味料	500	"	51. 2. 7	"	67.8	2.4
30	いちごジャム	砂糖, いちご, ベクテン, 酸味料	453	ビン入り	51. 2.10	ルーマニア	66.8	2.3

表3 真菌の検出状況と分離頻度

菌種名	検出数	分離頻度
Cladosporium	50	24.2
Penicillium	26	12.6
Aspergillus	9	4.3
Phoma	8	3.9
Epicoccum	5	2.4
Alternaria	3	1.4
Nigrospora	3	1.4
Fusarium	3	1.4
Mucor	2	1.0
Myrothecium	2	1.0
Cephalosporium	2	1.0
Chaetomium	1	0.5
Sporothrix	1	0.5
Curvularia	1	0.5
Destalotia	1	0.5
Gliocladium	1	0.5
Actinomyces	26	12.6
Yeast	30	14.5
検索中	33	15.9
合計	207	100.0

表4 国内産ジャムの真菌検出状況

菌種別	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Cladosporium	○	○	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Penicillium							○		○	○	○		○	○
Aspergillus												○		
Phoma				○		○					○			
Epicoccum		○									○			○
Fusarium								○						
Mucor													○	
Alternaria				○						○			○	
Sporothrix								○						
Curvularia			○											
Cephalosporium	○													
Actinomyces	○	○	○			○				○	○			○
Yeast	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

表5 外国産ジャムの真菌検出状況

菌種名	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Cladosporium	○	○	○		○	○	○	○	○	○	○	○		○	○	○
Penicillium		○		○		○	○	○	○	○			○		○	
Aspergillus		○	○					○			○		○	○		
Phoma		○		○												
Epicoccum		○											○			
Fusarium											○	○				
Mucor										○						
Nigrospora	○					○							○			
Myrothecium										○						
Chaetomium										○						
Destalotia	○															
Gliocladium								○								
Actinomyces	○	○	○	○			○		○	○	○		○	○	○	
Yeast	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

表6 国内産, 外国産ジャムの菌種別比較

菌種名	国内産	外国産
Cladosporium	+	+
Penicillium	+	+
Aspergillus	+	+
Phoma	+	+
Epicoccum	+	+
Alternaria	+	-
Nigrospora	-	+
Fusarium	+	+
Mucor	+	+
Myrothecium	-	+
Cephalosporium	+	-
Chaetomium	-	+
Sporothrix	+	-
Curvularia	+	-
Destalotia	-	+
Gliocladium	-	+
Actinomyces	+	+
Yeast	+	+

表7 Aspergillus属の同定

	12	16	17	22	25	27	28
As. fumigatus		○	○		○	○	○
As. versicolor	○						
As. niger				○			
As. flavus					○		

表8 酵母数

No.	酵母菌	No.	酵母菌
1	2700	15	1200
2	5100	16	2100
3	300	17	2500
4	200	18	2900
5	300	19	1500
6	200	20	200
7	6900	21	400
8	2500	22	700
9	3300	23	200
10	200	24	1100
11	200	25	1300
12	200	26	900
13	3700	27	200
14	4600	28	500
		29	200
		30	1100

Actinomyces 17 (56.7%), Yeast 30 (100%)であった。

国内産ジャム、外国産ジャムの菌種別比較を行なうと表6に示す如く、Cladosporium, Penicillium, Aspergillus, Phoma, Epicoccum, Fusarium, Mucor, Actinomyces, Yeastについては両者に差異は認められないが、Alternaria, Cephalosporium, Sporothrix, Curvulariaは国内産ジャムからのみ検出され、一方Nigrospora, Myrothecium, Chaetomium, Destalotia, Gliocladiumは外国産ジャムからのみ検出された。

分離されたAspergillus属については表7に示すようにspeciesまで同定し、Aspergillus fumigatus (検体16, 17, 25, 27, 28), Aspergillus versicolor (検体12), Aspergillus niger (検体22), Aspergillus flavus (検体25)であることがわかった。

また、酵母数の定量を行なったが、酵母数については全試料とも 10^2 のオーダーであった。(表8)

4. 考察

1. 今回分離された真菌207株のうち、174株について同定した。

全試料からYeastが検出され、またCladosporiumも90% (27/30)と検出率が高く次いでActinomycesの検出も56.7% (17/30)という高率であるのが注目された。

2. 国内産ジャム、外国産ジャムの菌種別比較を行なうとCladosporium, Penicillium, Aspergillus, Phoma, Epicoccum, Fusarium Mucor, Actinomyces, Yeastについては両者に差異は認められないが、Alternaria, Cephalosporium, Sporothrix, Curvulariaは国内産ジャムからのみ検出され、外国産ジャムから検出されるのはNigrospora, Myrothecium, Chaetomium, Destalotia, Gliocladiumという差異が認められた。
3. 試料1, 12, 18, 19の4検体に酸化防止剤と合成保存料が添加されているが、添加されていない他の試料との間に差異は認められなかった。
4. PDA培地と20% Dextrose添加PDA培地を併用したが、出現する菌種に差は認められなかった。
5. 容器のフタによって、一度開封した後復元できるものをビン入り、復元できないものをビン詰と2大別して、出現するカビの菌種について検討を加えたが、ビン入りの方に出現する菌種の多いことがわかった。
6. 酵母数については、全試料とも 10^2 のオーダー内であった。

5. 結論

市販の国内産、外国産ジャム30検体について真菌検索を行ない、分離された真菌207株のうち174株について検出状況、分離頻度等を検討したところ次の知見を得た。

1. 分離頻度の最も高いのはYeastであり、Actinomycesの分離頻度も高かった。
2. 分離検出したカビの種類は、16種類でこの内CladosporiumとPenicilliumが優先種を占めていた。
3. 国内産ジャムと外国産ジャムの菌種別比較では、Cladosporium, Penicillium, Aspergillus, Phoma, Epicoccum, Fusarium, Mucor, Actinomyces, Yeastについては両者に差異はないが、Alternaria, Cephalosporium, Sporothrix, Curvulariaは国内産

ジャムから、一方Nigrospora, Myrothecium Chaetomium, Destalotia, Gliocladium は外国産ジャムからのみ検出された。

4. ビン入りとビン詰に分けて出現する菌種を比較するとビン入りの方が出現する菌種の多いことがわかった。
5. 酸化防止剤、合成保存料添加の試料と添加されない他の試料とに差異は認められなかった。
6. PDA培地と20% Dextrose 添加PDA培地を比較して出現する菌種に差異は認められなかった。
7. 酵母数については全試料とも 10^2 のオーダー内であった。
8. 糖度、pHと出現する菌種については検討を加えなかった。

参 考 文 献

- 1) K. B. Raper & C. Thom: A Manual of the Penicillia, Hafner Publishing (1949)
- 2) K. B. Raper & D. I. Fennell: The Genus Aspergillus, Williams & Wilkins (1965)
- 3) J. A. Von Arx: The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture von J. Cramer (1970)

キノコによる食中毒

佐藤 秀雄・豊田 元雄 (茨城衛生研究所)

Food Poisoning Caused by Fungi

Hideo SATOU¹⁾ Motoo TOYODA¹⁾ Masahio SATOU²⁾

¹⁾Ibaraki Prefectural Institute of Public Health

4-1, Atago-cho, Mito shi, Ibaraki, 310, Japan.

²⁾Environmental Hygiene Section Department of public Health

1. はじめに

食中毒発症予防の一環として、過去10年間にわたる全国、および本県のキノコによる食中毒発症事例を調べ、検討した結果、いくつかの知見を得たので報告する。

2. 調査方法

キノコによる食中毒の発症事例は、各都道府県等に昭和41年より50年までの発症例をアンケート方式で照会し、また一部は厚生省編「全国食中毒事件録」、食品衛生研究の食中毒発症状況、および茨城県食中毒発症状況等を下に調査した。

死者は70人、また1件あたりの患者数は27.3人。この内、キノコが原因となっているものは年平均80件で、全食中毒の6.1%にあたり、患者数は440人、死者は2.2人、1件あたりの患者数は5.4人であった。

一方、本県では全食中毒は年平均約24件、1100人で発病率は23.6%、死者は10年間で7人であったが、その内、キノコ中毒は、発生した年が6ヶ年で16件、年平均1.6件、全食中毒の6.9%にあたり、1件あたりの患者数は11.5人で、発病率は85.2%であった。

次に個々について分析を行うと。

(1) キノコ別食中毒発症状況 (表3)

3. 10年間の食中毒発症状況 (表1・表2)

始めに、10年間の全食中毒の発症状況をみると、発症件数は年平均1,300件、患者数36,000人、

表1 キノコによる食中毒発症事例 (全国)

大別 区分	全 食 中 毒				キノコによる食中毒			
	件数	患者数	死者数	1件当りの患者数	件数 (%)	患者数 (%)	死者数 (%)	1件当りの患者数
41	1,400	31,204	117	22.3	122(8.7)	631(2.0)	2(1.7)	5.2
42	1,565	39,760	120	25.4	128(8.2)	706(1.8)	3(2.5)	5.5
43	1,093	33,041	94	30.2	65(5.9)	325(1.0)	1(1.1)	5.0
44	1,360	49,396	82	36.3	59(4.3)	374(0.8)	2(2.4)	6.3
45	1,133	32,516	63	28.7	120(10.6)	673(2.1)	3(4.8)	5.6
46	1,188	30,731	46	27.5	64(5.4)	323(1.1)	6(13.0)	5.0
47	1,414	37,254	37	26.3	64(4.5)	330(0.9)	2(5.4)	5.2
48	1,201	36,832	39	30.7	71(5.9)	343(0.9)	0	4.8
49	1,202	25,986	48	21.6	43(3.6)	197(0.8)	1(2.1)	4.6
50	1,783	45,277	52	25.4	71(4.0)	453(1.0)	2(3.8)	6.4
平均	1,327	36,200	698	27.3	807(6.1)	4355(1.2)	2.2(3.2)	5.4

表2 キノコによる食中毒発生事例 (茨城)

大別区分 昭和	全 食 中 毒						キノコによる食中毒				
	件数	患者数	摂食者数	発病率(%)	死者数	1件当りの患者数	件数(%)	患者数(%)	摂食者数(%)	発病率(%)	1件当りの患者数
41	10	88	145	60.7	1	8.8	0				
42	33	4,047	11,378	35.6	0	122.6	5 (15.2)	32 (0.8)	32 (0.3)	100.0	6.4
43	26	1,045	7,277	14.4	2	40.2	2 (7.7)	7 (0.7)	14 (0.2)	50.0	3.5
44	28	2,200	15,727	14.0	1	78.6	0				
45	12	423	2,618	16.2	1	35.3	0				
46	10	62	136	45.6	1	6.2	0				
47	33	1,583	5,215	30.4	0	48.0	1 (3.0)	18 (1.1)	18 (0.3)	100.0	18.0
48	16	360	995	36.2	1	22.5	1 (6.3)	8 (2.2)	12 (1.3)	61.5	8.0
49	26	461	1,411	32.7	1	17.7	3 (11.5)	15 (3.3)	16 (1.1)	93.8	5.0
50	39	653	1,439	45.4	0	16.7	4 (10.3)	35 (5.4)	42 (2.9)	83.3	8.8
平均	23.3	1,092	4,637	23.6	計7	46.9	1.6(6.9)	115(1.1)	11.5(0.3)	85.2	7.2

表3 キノコ別食中毒一覧表 (全国)

表3-1 毒 茸

No.	名 称	総 発 生 件 数 (%)	摂食者の確認されたもの		死 者 数 死者/患者(%)	備 考
			件 数	発病率(%)		
1	ツキヨタケ	226(42.3)	207	88.7		茨城 1件
2	イッポンシメジ	99(18.5)	50	84.8		
3	クサウラベニタケ	54(10.1)	27	97.9		茨城 1件
4	マツシメジ	28(5.2)	13	92.5		
5	ホテイシメジ	16(3.0)	16	92.3		38.40年に発生
6	カキシメジ	11(2.1)	11	99.1		茨城 2件
7	ニガクリタケ	10(1.9)	10			
8	シビレタケ	6(1.1)	4	100.0		
9	ドクササゴ	6(1.1)	5	69.2		
10	ドクアジロガサ	3(0.7)	3	100.0	1/16 6.25%	
11	オオワライタケ	2(0.4)	2	92.3		
12	クロトマヤタケ	3(0.7)	—	—	1 —	
13	ニセクロハツ	2(0.4)	1	5/5	4/5 75.0%	
14	テングタケ	2(0.4)	1	2/3		
15	シロタマゴテングタケ	2(0.4)	2	94.4	2/17 11.8%	
16	サマツモドキ	1(0.2)	1	2/2		
17	キホウキタケ	1(0.2)	1	7/7		
18	ワライタケ	1(0.2)	1	4/4		40年に発生
19	モエギタケ	1(0.2)	1	3/3		
20	シロトマヤタケ	1(0.2)	1	1/1		
21	オオシロカラカサタケ	1(0.2)	1	5/5		
22	フクロツルタケ	1(0.2)	1	4/4	1/4 25.0%	
23	ハナホウキタケ	1(0.2)	—	—		
24	ドクツルタケ	1(0.2)	1	5/5		茨城で発生

表 3-2 食毒不明茸

No.	名 称	総 発 生 件 数 (%)	摂食者の確 認されたもの		死 者 数 死者/患者(%)	備 考
			件 数	発病率(%)		
1	カラハツタケ	3 (0.7)	—	—	1/4 25.0%	39年に発生
2	サイギョウガサ	1 (0.2)	1	3/3		
3	ヘラタケ	1 (0.2)	1	11/11		
4	キワカフサタケ	1 (0.2)	1	4/4		
5	アイセンボンタケ	1 (0.2)	—	—		
6	アイゾメシバフタケ	1 (0.2)	—	—		

表 3-3 無 毒 茸

No.	名 称	総 発 生 件 数 (%)	摂食者の確 認されたもの		死 者 数 死者/患者(%)	備 考
			件 数	発病率(%)		
1	タマネギモドキ	1 (0.2)	1	4/4		
2	サルノコシカケ	1 (0.2)	1	4/4		
3	ドクベニタケ	1 (0.2)	1	5/5		

表 3-4 食 茸

No.	名 称	総 発 生 件 数 (%)	摂食者の確 認されたもの		死 者 数 死者/患者(%)	備 考
			件 数	発病率(%)		
1	マツタケ	1 (0.2)	1	5/8	1/5 20.0%	40年に発生
2	ヒラタケ	1 (0.2)	1	1/1	1/1 100.0%	38年に発生
3	ムラサキシメジ	1 (0.2)	1	5/5		38年に発生
4	サンシメジ	1 (0.2)	1	6/12		
5	ウラベニホテイシメジ	1 (0.2)	1	3/4		
6	シロシメジ	1 (0.2)	1	3/3		
7	アブラシメジ	1 (0.2)	1	6/6		
8	ゴムタケ	1 (0.2)	1	2/2		
9	ニンギョウタケ	1 (0.2)	1	2/2		
10	イグチ類	1 (0.2)	1	2/4		
11	センボンシメジ	1 (0.2)	1	—		
12	アシナガタケ	1 (0.2)	—	—		
13	フウセンタケ	1 (0.2)	—	—		
14	ヤマドリ	1 (0.2)	—	—		
15	ヤチヒロヒダタケ	1 (0.2)	—	—		

表 3-5 正式名でない名称

No	名 称	総 発 生 件 数 (%)	摂 食 者 の 確 認 され た も の		死 者 数 死者/患者(%)	備 考
			件 数	発 病 率 (%)		
1	ニセハツタケ	7 (1.3)	7	85.7		38年に発生 "
2	ドクスギタケ	2 (0.4)	1	3/3		
3	ソムケタケ	1 (0.2)	1	2/5		
4	アカヌノビキ	1 (0.2)	1	3/3		
5	モ タ セ	1 (0.2)	1	4/4		
6	ニガシメジ	1 (0.2)	1	6/6		
7	ツチモグリ	1 (0.2)	1	5/5		
8	ベニタケ	1 (0.2)	1	3/3		
9	ハツタケ様	1 (0.2)	1	2/2		
10	ツチヌイド	1 (0.2)	1	2/2		
11	ササタケ様	1 (0.2)	1	4/4		
12	シバモチ	1 (0.2)	1	5/5		
13	シメジ類	1 (0.2)	1	9/9		
14	シロタマゴタケ	1 (0.2)	—	—		
15	ベロタケ	1 (0.2)	—	—		
16	クマヒラタケ	1 (0.2)	—	—		
17	アイヅメシメジハラタケ	1 (0.2)	—	—		
18	カキネモダシ	1 (0.2)	—	—		
19	ツツモダシ	1 (0.2)	—	—		
20	カワフキ	1 (0.2)	—	—		

表 3-6 名称不明茸

No	名 称	総 発 生 件 数 (%)	摂 食 者 の 確 認 され た も の		死 者 数 死者/患者(%)	備 考
			件 数	発 病 率 (%)		
	不 明	216	204	88.8	9 件 9/18 50.0%	

全国で食中毒の原因となったキノコは68種。それらを大別すると、毒茸が24種、食毒不明茸が6種、無毒茸3種、食茸15種、正式の名称でないもの(多くは地方名と思われる)が20種あった。

次に、これらの内、食中毒を多く出しているキノコについてみると。

始めに、種類別発生件数では、ツキヨタケ *Lampeteromyces japonicus* (KAWAM.) SING. が最も多く226件で42.3%を占め、

次いでイッポンシメジ *Rhodophyllus sinuatus*

(FR.) SING., クサウラベニタケ *Rhodophyllus rhodopolius* (FR.) QUÉL., ホテイシメジ *Clitocybe clavipes* (FR.) QUÉL., ホカキシメジ(マツシメジと同種で、区別をしない学者もいる。) *Naematoloma fasciculare* (FR.) KARST. 等が特に多かった。

なお、名称不明茸は28.8%であった。発病率については、10件以上発生したものに

ついてみると、カキシメジが最も高く99.1%、次いでクサウラベニタケ、マツシメジ、ホテイシメジ、ツキヨタケ、イッポンシメジ、ニガクリタケの順であった。なお、名称不明茸は、全体で88.8%の発病率を示した。

死者の出た原因茸は、毒茸ではドクアジロガサ *Galerina* SP., ニセクロハツ *Russula subnigricans* HONGO, フクロツルタケ *Amanita agglutina* (BERK. et CURT) SING., シロタマゴテングタケ *Amanita verna* (LAM. ex FR.) PERS. ex VITT クロトヤマタケ *Inocybelacera* (FR.) QUÉL. の5種。食毒不明茸では、キワカフサタケ *Hebeloma hnm-osum*, IMAI. 食茸では、マツタケ *Tricholoma matsutake* (S. ITO et IMAI) SING., ヒラタケ

Pleurotus ostreatus (FR.) QUÉL. の2種。計8種で死亡率の高いのは、ニセクロハツで、1例では5名の発病者中4名が死亡した例もある。

一方、本県のキノコ中毒では(表4)、4種の毒茸が確認され、カキシメジ2件、ツキヨタケ、ドクツルタケ *Amanita virosa* SECR, クサウラベニタケが各1件ずつで、名称不明茸は11件68.8%であった。

(2) 発生場所(表5)

家庭が85.8%で最も多く、次いで事業所、飯場、屋外、寮、旅館、飲食店等で発生を見ている。本県においては、いずれも家庭であった。

(3) 入手経路(表6)

表4 キノコ別食中毒一覧表(茨城)

No	名 称	件 数(%)	発 病 率(%)	備 考
1	カキシメジ	2(40.0)	(100.0)	内 シメジ類 2件 ササタケ様 1件
2	ツキヨタケ	1(20.0)	8/13(61.5)	
3	ドクツルタケ	1(20.0)	8/9(88.9)	
4	クサウラベニタケ	1(20.0)	22/22(100.0)	
	不 明	11	(79.1)	
	平 均	16	(85.2)	

表5 発生場所(発生場所が確認されたもの)

No	発 生 場 所	件 数	発生率(%)	No	発 生 場 所	件 数	発生率(%)
1	家 庭	531	85.8	9	会 食	1	0.2
2	事 業 所	32	5.2	10	学 校	1	0.2
3	飯 場	19	3.1	11	老 人 ホ ー ム	1	0.2
4	屋 外	9	1.5	12	船	1	0.2
5	寮	8	1.3	13	そ の 他	1	0.2
6	旅 館	7	1.3	14	不 明	3	
7	飲 食 店	6	1.0		合 計	622	
8	病 院	2	0.3				

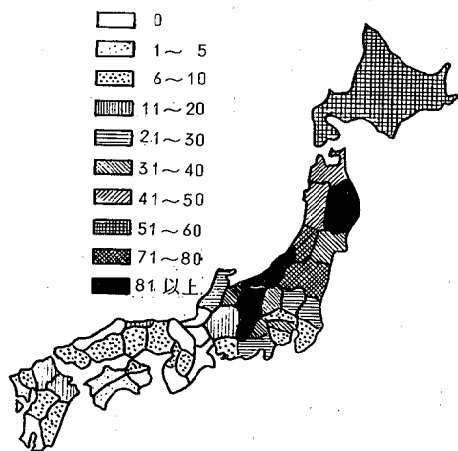
表6 特異な入手経路

No	発生県名	発生年月日(昭和)	入手経路	茸名	備考
1	青森	38. 9. 18	行商 → 家庭	不明	食茸 調理場所も販売店 12家族
2	〃	42. 9. 19	マーケット → 〃	シロシメジ	
3	栃木	40. 10. 14	茨城県内で購入 → 〃	イッポンシメジ	
4	神奈川	41. 10. 16	販売店 → 〃	クサウラベニタケ	
5	岐阜	50. 10. 18	朝市 → 〃	不明	
6	兵庫	49. 10. 14	公設市場経由 で販売店 → 〃	クサウラベニタケ	
7	鳥取	42. 10. 11	八百屋 → 〃	イッポンシメジ	

確認された大部分は、個人でキノコを採取したもので、特異例としては、行商、マーケット、朝市、八百屋、公営市場から購入し発生したもの。シイタケの原木にツキヨタケが発生し、それを摂食して発生したもの(6件)。その他、友人から贈与されたキノコによって発生した例(7件)があった。

(4) 都道府県別発生状況(図1)

図1 都道府県別発生状況



アンケート調査を下にした場合、最も発生が多かったのは新潟の89件、次いで岩手、山形、福島、北海道の順位であるが、これを全国食中毒事件録等を加味した順位でみると(アンケート調査の未回収で発生件数が不明のため、前述の昭和41年から45年の5年間の発生件数を10年に換算した数値)、長野が100件以上で最も多く、次いで新潟、岩手……となり、これらはいずれも50

件以上、また、41~50件の県は3県、21~30件が5都県、11~20件が5県、10件以下は24府県で、発生をみなかったのは、三重、他6県のみに、ほぼ全国的に発生がみられた。

4 考 察

各都道府県等にアンケート方式で、キノコによる食中毒発生事例について求めたところ、87.8%の回収が得られ、これらを下に、全国食中毒事件録等を加味し10年間のキノコ中毒について、考察を加えた結果次の知見を得た。

(1) 10年間のキノコ中毒発生状況

昭和41年より50年までの発生件数は、全国で年平均約80件、全食中毒の6.1%。本県においては6ヶ年で発生をみており、年平均1.6件、全食中毒の6.9%を占めていた。

患者数においては、全国では年平均435.5人1.2%。本県では11.5人で1.1%、発生件数患者数とも全国のそれとはあまり差はなかった。

また、死者数は全国で年平均2.2人で3.2%であるが、本県においては幸い死者はいなかった。

(2) 年次別発生傾向

年次別の発生傾向は、毎年発生件数に大差があり増減の傾向をつかむことはできない。臼井等は、キノコ類患者数と気象条件の関係を調べたが、降水量との相関が強い県もあったが、相関性のない県が多いとの報告よりみて、気象条件のみでは説明できないものがあるように思われる。

(3) キノコ中毒の特徴

キノコによる食中毒は、細菌性食中毒とは発生所見が大きく異なる。すなわち、キノコ中毒は、その多くが個人で採取し、その家庭で摂食するため、1件あたりの患者数が少ないこと。また発病率がきわめて高い事である。

(4) キノコの種類別発生状況

全国で、食中毒の原因になったキノコは68種。その内訳は毒茸24種、食毒不明茸6種、無毒茸3種。また、マツタケ、ヒラタケといった食茸が15種も含まれていた。その他、正式な名称でないものが20種あった。種類別では、ツキヨタケ、イッポンシメジ、クサウラベニタケが多く、この3者で71.0%を占めていた。

次に死者を出したキノコでは、毒茸5種、食毒不明茸1種、食茸2種の計8種であった。

食中毒の原因茸で名称の不明なものは、全体の28.5%を占め、これに正式名称を使用していない20種を加えると、不明率は32.3%にも達する。

(5) 発生場所および入手経路

発生場所は、家庭が大部分であるが、中には旅館、飲食店等からの発生もみられ、また入手経路では、個人が採取したものがほとんどであるが、マーケットや八百屋、公営市場等から購入したもののより発生したことは、発生場所と同称、無視することはできない。

(6) 都道府県別発生状況

アンケート結果からの多発地は、新潟が最も多く次いで岩手、山形、福島、北海道でいずれもが50件以上の発生地であった。次にこれらに全国食中毒事件録等を加味した場合は、長野が最も多発地になり次いで新潟、岩手、山形の順位になり多発地の傾向としては、北海道、東北、甲信越地方が強く、また発生地域は、ほぼ全国的であった。

臼井等は、人口10万人に対する罹患率を見ているが(昭和27年から46年)、それによると、全国平均は0.5で、最も高いのは長野の3、次いで岩手、山形の2、また0.5以上は、北海道、東北、北陸、甲信越と、岐阜、鳥取、宮崎が高く、これからみると高率地は北国か山国と云え、前述の発生件数とは大まかな所で一致する。

なお、発生をみなかったのは、三重他、6県であった。

(7) キノコ中毒の予防対策(表7)

表7 道県等におけるキノコ食中毒の予防対策について

名称	予防対策等
北海道	新聞、広報紙等を通じてPR
青森	新聞、テレビ等を通じてPR
岩手	「毒キノコ」のポスター、県広報紙等を通じてPR
山形	注意報を出す
栃木	講師をまねき(キノコを採取し鑑別法)食監に研修
富山	マスコミを通じてPR
静岡	新聞、テレビでPR
鳥取	テレビ、ラジオ、新聞、県広報等でPR
愛媛	食監を衛生講習会で教育
宮崎	発生速報をマスコミに流しPR
札幌市	中央卸売市場に入荷する「キノコ」を19種類に限定。市民にはマスコミを通じ、不明の「キノコ」は保健所で鑑定してもらおうPR。食監には年1回研修会
京都市	食品関係業者、消費者を対象とした食品衛生講習会
北九州市	テレビ、新聞等でPR

都道府県等において、キノコ対策を行っているのは、確認できたところで15ヶ所で、その多くはマスコミ等を通じPRを行っているが、中には食品衛生監視員に研修を行ったり、「毒キノコ」のポスター等を作り県民に注意を促している県もあった。

5 結 論

今回、昭和41年から50年までの10年間におけるキノコによる食中毒を調べた結果、次のことが分かった。

- (1) 名称不明茸が多く、また正式名でないものもかなりあり、行政指導に支障を来すおそれがある。
- (2) 食茸により食中毒を起したり、死者を出した事例があるが、これらは本当にそのキノコを摂食し中毒を起したのか、あるいはまた、鑑定した人の誤りなのか、いずれの場合も問題を残すことと思われる。
- (3) 旅館、飲食店等で、キノコによる食中毒が発生したり、また公営場やマーケット等より購入した

キノコにより食中毒をおこした例が20件もあり、これらは共に食品衛生上特に注意が必要と思われる。

近年、自然食品に対する関心が強くもたれる一方、キノコに関する書籍も多く出版され、加えて外出の機会も多くなり、それがため、特に野外においてキノコに接する人が多くなりつつあり、キノコによる食中毒は充分注意しなければならないと考えられるので、キノコに対する正しい知識の啓蒙が各方面に必要と思われる。

当所においては、現在、毒茸の分布調査と合せて、その地方の方言を調べ、また、毒茸の発生する環境について検討し、毒茸による食中毒の発生予告を出すべ

く事業を進めているが、それらについては次回に報告する。

文献・資料

- 1) 臼井竹次郎, 金子功: 公衆衛生院研究報告, 241, P 25, (1975)
- 2) 今関六也, 本郷次雄: "原色日本菌類図鑑", (1970), (保育社)
- 3) 今関六也, 本郷次雄: "続原色日本菌類図鑑" (1969); (保育社)
- 4) 清水大典: "原色きのこ全料, 見分け方と食べ方", (1968), (家の光協会)
- 5) 大谷吉雄: "きのこ, その見分け方" (S50) (北隆館)

県内産ヒラツメガニの鮮度と保存について（第1報）

掛礼しげ子（茨城県衛生研究所）

I はじめに

過去2、3年の県内の食中毒発生状況についてみると、ヒラツメガニなどのカニ類を原因食品とするものが多数みられ、その発生地域は、海浜地区は勿論のこと、それをみやげとして持ち帰るため、遠隔地にまで及んでいる。

そこで、カニ中毒の予防対策の一環として、県内産ヒラツメガニについて、経時的な鮮度変化を中心に、細菌数、カニ食中毒の主な原因菌とされている腸炎ビブリオの消長を調査し、家庭用の冷蔵庫及び冷凍庫内

では、何時間位までが保存可能か検討した。併せて市販されているゆでガニについても調査した。

鮮度測定は、従来の魚類鮮度判定法より鮮度低下の消失過程を判断するのに有力な指標であるといわれる¹⁾ことから、齊藤ら²⁾が提唱したK値により行なった。

II 実験方法

1. 試料

検体の内訳は表1の通りである。

表1 検体の内訳

検体番号	煮熟の有無	保存または陳列方法	殺処分後の経過時間
1	生	凍結保存 (-20℃)	24 48
2	生	" "	" "
3	煮熟	" "	" "
4	煮熟	" "	" "
5	生	冷蔵保存 (4℃)	" "
6	生	" "	" "
7	煮熟	" "	" "
8	煮熟	" "	" "
9	生	" "	" "
10	生	" "	" "
11	煮熟	露出陳列 (21℃)	4
12	"	" (13.5℃)	不明
13	"	" (14℃)	12
14	"	" (22℃)	5
15	"	" (14℃)	3
16	"	凍結保存 (-4℃)	17
17	"	" (-21℃)	22
18	"	冷蔵平型ショーケース (4℃)	25
19	"	" (4℃)	6
20	"	露出 (17℃)	22

このうち、No.1～10は昭和52年3月2日、那珂湊で水揚げされた生きたヒラツメガニである。その10匹中4匹を生きたまま熱湯で5分間煮熟し、6匹を水道水で洗浄後、殺処分とし、煮熟、生とも可食部（筋肉、カニミンなど）を試料に供した。

さらに、それらの残りを2群に分け、一方は冷凍庫（-20℃）に、他方は冷蔵庫（4℃）に保存し、各々、24時間、48時間経過後のものを試料とした。

No.11～20は昭和52年9月10日に店頭から収去した市販のゆでガニで、可食部をそのまま試料に供した。

2. 測定方法

K値，“カラムクロマトグラフィーによる簡易判定”により測定。

細菌数：“食品衛生検査指針工”による

腸炎ビブリオ：“食品衛生検査指針工”による

III 実験結果

1. K値

1) 当所での処理ガニ（表2）

検査全てにおいて、保存時間が長くなるに従い、K値の上昇がみられた。凍結保存ガニと冷蔵保存ガニを比較してみると、24時間保存後の平均値が、それぞれ、25.1%、26.4%、48時間保存後が、34.2%、30.7%とほぼ同じであった。また、冷蔵保存のものでは、生ガニより煮熟ガニの方が、いくぶんK値は低めであった。

2) 市販ガニ（表3）

保存（陳列）温度が4℃以下の検体では15%以下10～20℃では15～30%、20℃以上では25～46と、温度が上昇するのに従い、K値は増加の傾向にある。しかし、煮熟後の経過時間とK値との関連は認められなかった。

表2 当所で処理したカニの保存時間とK値

検体番号	保存時間	即 殺	24時間	48時間
1		15.2(%)	31.0(%)	33.3(%)
2		16.1	16.7	38.1
3		14.3	26.9	32.0
4		21.9	25.7	33.0
5		18.7	27.3	37.5
6		23.3	30.0	35.5
7		14.7	19.4	20.6
8		16.7	17.5	20.5
9		28.6	30.1	32.5
10		33.3	34.0	37.3

表3 市販カニの保存（陳列）時間と区間

検体番号	項 目	保存（陳列）時間（時間）	K 値（%）
11		4	46.3
12		不明	26.1
13		12	27.6
14		5	25.5
15		3	38.3
16		17	14.6
17		22	10.5
18		25	13.0
19		6	12.3
20		22	15.7

2. 細菌数

1) 当所で処理したカニ（表4）

いずれの検体についても、24時間保存のものは即殺直後のカニの細菌数と較べて、殆んど変化がなかった。しかし、48時間保存後、試料としたものには顕著な増加が認められた。また、凍結と冷蔵による細菌数の差異は認められなかった。

煮熟ガニと生ガニを比較すると前者のほうが、菌数の増加が少なかった。

2) 市販ガニ（表5）

殆んどものが10³のオーダーで、各検体間に顕著な差はなく、保存（陳列）温度や煮熟後の経過時間との関連は認められなかった。

表4 当所で処理したカニの細菌数

保存時間 番号	即 殺	24時間	48時間
1	4.6×10^2	4.6×10^2	1.4×10^6
2	11	13	1.4×10^4
3	3	5	6.2×10^2
4	0	0	8.3×10^2
5	23	34	8.5×10^3
6	10	10	6.3×10^2
7	1	4	1.3×10^3
8	5	8	7.0×10^2
9	1.3×10^2	2.0×10^2	1.8×10^5
10	19	19	2.0×10^4

細菌数は調整試料1gにおける実数である

表5 市販ガニの細菌数とK値

項目 番号	細菌数	K 値 (%)
11	6.4×10^3	46.3
12	13	26.1
13	5.7×10^3	27.6
14	6.5×10	25.5
15	7.9×10	38.3
16	1.1×10^2	14.6
17	9.0×10^2	10.5
18	5.5×10^3	13.0
19	5.7×10^2	12.3
20	9.3×10^2	15.7

3. 腸炎ビブリオ

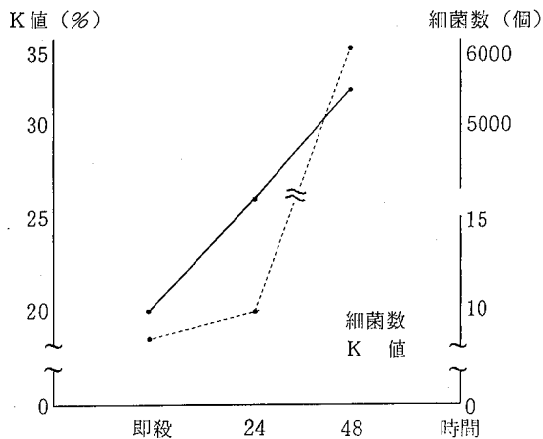
いずれの検体からも検出されなかった。

4. 細菌数とK値の関係

当所で処理したカニについては、保存時間が長くなるに従い、K値、細菌数とも増加しているが、その増加割合(状態)は異なっている。(図1)

市販ガニについては、関連が全く認められなかった。

図1 当所で処理したカニのK値と細菌数



IV 考察及び結論

1. 即殺ガニのK値の平均値(20.3%)は、内山⁴⁾が調査した即殺魚の平均値(5%以下)より、かなり高い値を示した。これは、K値がATPの分解生産物の測定値であることから、甲カク類と魚類のタンパク質分解過程の相違から生じた結果ではないかと考えられる。

2. 当所で処理したカニについても、市販ガニについても、K値と細菌数の関連性は認められなかった。

これは、「魚類鮮度は菌数が増大する以前に自己消化作用によって低下してしまい、その低下原因を細菌作用に求めるのは理論性がない」という意見を、ある程度裏づけたことになる。従って、細菌数から鮮度を判定するのは、かなり困難であると言える。

3. 市販ガニの検査結果から、保存(陳列)温度が4℃以下では、K値は全て15%以下であったが、それを越えると、温度の上昇につれてK値の上昇がみられた。一方、冷蔵保存と冷凍保存された検体を比較してみると、細菌数、K値とも、殆んど差異は認められなかった。これらのことから、4℃以下の保存で煮熟後48時間以内であれば、鮮度低下は殆んどないが、5℃~10℃では、鮮度の低下が始まると考えられる。従って、カニを家庭で保存する場合、あるいは販売する場合、少なくとも4℃以下に保持するのが望ましい。

4. 今後も、K値の有効性について検討を重ね、さらに、K値が何パーセントまでなら摂食可能かという鮮度の具体的な数値化、そして、保存時間の限界について、調査を進めたい。

文 献

- 1) 内山均, 鈴木たね子, 江平重男: 日水誌, 32, 280 (1966)
- 2) 齊藤恒行, 新井健一, 松吉実: 日水誌, 24, 749 (1959)
- 3) 内山均, 小林宏: 水産食品学実験法, 269
- 4) 内山均: 食衛誌, Vol 12, No 4, 267 (1971)
- 5) 同 上

肉および肉製品に関する衛生学的研究 (I)

食肉加工工場内における豚肉からの
膿瘍の検出状況について

村松良尚・豊田元雄 (茨城県衛生研究所)

HYGIENIC STUDIES ON MEATS AND MEAT PRODUCTS (I)

Abscess Detected from Pork in the Manufacturing Plant of Meat
Products.

by

Yoshitaka Muramatsu, Motoo Toyoda (Ibaraki Prefectural
Institute of Health: 4-1, Atago-cho, Mito-shi, Ibaraki-ken)

はじめに

近年、養豚界の近代化にともない疾病も多様化の傾向にあり、膿瘍性疾患の増加もそのひとつである。膿瘍の原因に関する研究、治療に関する研究等は過去においても報告が多い。更に食肉衛生面では、と畜場での検出状況についての報告もされるに至り、1971年には全国食肉衛生検査所協議会で「膿毒症の判定基準について」の調査が開始された。ところがその前進に反し、と畜検査時に検出され得ない膿瘍が食肉加工工場において検出されていることを、竹部¹⁾らが報告している。そして加工工場における膿瘍検出に関する資料はこれ一報のみである。本来と畜場法に反する枝肉がと畜場外に搬出されている事実は食肉衛生面からも見逃せないものであり、その実態を調べてみた。

調査方法

期間としては、昭和49年から同年12月までを主

体に調査し、また昭和46年10月から同年12月までと、翌年1月から6月までの検出数を参考にした。

方法としては、食肉加工工場で加工用として仕入れられる豚の枝肉に関して、主に加工職人が加工時に肉眼的に検出した膿瘍のうち、検出年月日、集荷地域、仕入業者、膿瘍の発生部位、膿瘍の大きさ、膿瘍の形状、色調、等が正確なもの227件について集録した。

調査結果

1 年次別・月別検出頭数

表1は食肉加工工場で仕入れた枝肉の頭数における膿瘍の検出された頭数である。各年次とも数か月の短期間における資料であり充分ではないが、平均検出率では昭和49年が1.17%と高くなっている。月別検出率では所謂季節的差違が認められない。

2 検出部位および膿瘍の形状

表1 膿瘍の検出頭数 (年次別・月別)

月	昭和46年			昭和47年			昭和49年		
	仕入頭数	検出頭数	検出率%	仕入頭数	検出頭数	検出率%	仕入頭数	検出頭数	検出率%
1				7387	6	0.08			
2				8073	7	0.07			
3				6989	4	0.06			
4				6553	13	0.19			
5				5981	3	0.05	4364	48	1.10
6				7239	5	0.07	3816	41	1.07
7							2772	52	1.88
8							2792	39	1.39
9							1791	15	0.84
10	6695	15	0.22				1846	21	1.14
11	8515	14	0.16				2391	22	0.92
12	8454	7	0.08				2108	18	0.85
計	23664	36	0.15	42222	38	0.09	21880	256	1.17

昭和49年5月から11月までの検出膿瘍のうち、調査項目の記載の不十分な件数を除いた227件について、と体を図2²⁾の如く分画し部位ごとの検出をみると、頭肩部(104件 45.8%) 腿部(80件 35.2%) 胴部(43件 18.9%)の順であり、さらに細分するとジョールおよびプレートの部位、ハム

の部位、ベリーの部位が大半である。特にリンパ節の部位に多い。また部位ごとの膿瘍を乾酪化したゲル状のものから水様のゾル状にいたる形状に区分すると、92%がゾル状であり、ゲル状はジョール・プレートおよびハムに検出されるのが目立つ程度である。(図1)

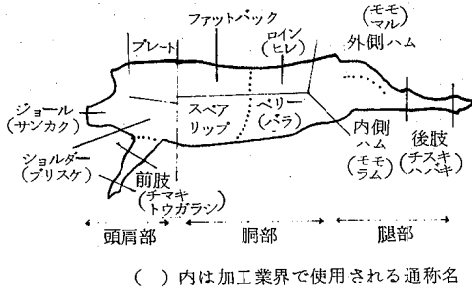
3 加工工程別比較

図1 検出総数および部位別・形状別の比較

検 出 総 数 227 件										
頭 肩 部 104 件 45.8%			胴 部 43 件 18.9%			腿 部 80 件 35.2%				
前 肢	ジ ョ ー ル	ジ ョ ー ル ・ プ レ ー ト			フ レ ット ス ペ ア リ ア	ロ イ ン	ベ リ ー	外 側 ハ ム	内 側 ハ ム	後 肢
○	○	△		○	○	○	○	○	△	○

- ゾル状膿瘍であり、練乳状・液状の類のもの
- △ ゲル状膿瘍であり、雪花菜状の類のもの

図2 豚と体の部位名



枝肉の加工工程は図3の大割から小割への順に行われ、漸次小肉塊とされていく。整形時の検出が最も多く、径0.5cmから5cmの大小いろいろの膿瘍である。小割では更に小型の膿瘍が大半を占めるが、ハムにおいては径10cm大の大型の膿瘍が検出される時もある。大割では、表面に露出している膿瘍が切除されないまま搬入されたものや、リンパ節部の薄い筋層や脂肪層に被われた比較的大型の膿瘍が主体である。総体的には加工工程が進むに伴って膿瘍は、大型から小型へと、またと体表面から検出しにくい深層に位置するものへと変遷する。ゲル状膿瘍は少数例ではあるが、筋層の厚い部位に、しかも深層に認められる傾向を示す

(図3)

図3 加工工程における検出部位および形状比較

大割 20件 8.8%	捌き 111件 4.3%	整形 142件 62.6%	小割・筋引き 54件 27.3%										
前後肢	ショール	ショルダー	ベリー	スベアリップ	ジョール・プレート	ファットバット	ベリー	ハム	ジブレット	ロイン	ハム		
○	○	○	○	○		○	○	△	○	△	○	△	○

△ ギャク状膿瘍 ○ ゼル状膿瘍 △ ゼル状膿瘍

4 検出部位における月別・形状別比較

部位ごとに所謂季節的特徴をとらえるべく試みたの

が表2であるが、季節的にも形状的にも差違は認められない。

表2 部位ごとの月別・形状別比較

部位	検出の月	5		6		7		8		9		10		11		計
		ゲル	ゾル	ゲル	ゾル	ゲル	ゾル	ゲル	ゾル	ゲル	ゾル	ゲル	ゾル	ゲル	ゾル	
頭肩部 104	前肢		3				1									4
	ショルダー	1	1		1		2									5
	ジョール・プレート		15		14	1	24	2	13		6	1	8	2	9	95
胴部 43	ファットバット・スベアリップ		2		4		2		2		2		2			14
	ロイン	1			2						1		1			5
	ベリー		3		6		7		1		2		3		2	24
腿部 80	外側ハム	1	5		1	1	3	2	6					1	2	22
	内側ハム		11	1	9		8	2	9		3		5	1	4	53
	後肢		2		1		1	1								5
	計	3	42	1	38	1	48	7	31		14	1	19	4	17	

5 集荷地域における検出比較

仕入業者別即ち集荷地域別の特徴を把握すべく試みたのが表3である。AからHまで、およびJは北関東地域を中心として集荷する業者であり、大部分は平均検出率に近い数値を示している。BとJの業者はヒネ豚を扱う関係により高率であると推定される。少数例

であるがIは岩手県産、Kは熊本県産、Lは北海道産、Mは米国を主体とする輸入物であり、日本のみならず外国にもこの類の膿瘍があることを示している。また膿瘍の形状では地域的特徴は認められない。加えて地域性による検出部位の差違も認め得ず、各地共にジョール・プレートおよびハムの部位の検出が多い。

表3 仕入業者別（地域別）および部位別検出数

仕入業者	仕入頭数	検出率%	検出数		前肢	ショルダー	ジョール・プレート	ファスベアリップ	ロイ	ベリ	外側ハム	内側ハム	後肢
			ゲル	ゾル									
A	2320	1.12	3	26	2		10	1		3	3	6	1
B	3200	1.97	2	63		2	25	2		10	7	16	1
C	1192	1.09		13			5	3	2	1		2	
D	2140	1.17	5	25	2	1	11				6	4	1
E	2307	1.26	2	29			27	2		3	4	3	1
F	1724	0.87	2	15			13		1			3	
G	2560	0.78		20			20	3		2		4	1
H	789	0.89		7			7	2		1		2	
I	226	4.87	2	11			9	1			1	5	
J	106	4.72		5			5		1	1		2	
K				3			3						
L				1			1					1	
M			2	9			7	2	1		1	5	

考 察

1. 豚の飼育上における発生経過をみると、1960年台をピークにして1970年台には、集団発生率においても、また膿瘍に関する報告数においても減少の傾向を示している。すなわち、平棟³⁾は1960年に山梨県で5.7% (C. pyogenes)、1962年⁴⁾に5.9.5% (同上)、東⁵⁾は1964年に北海道で0.12% (同上)、佐々木⁶⁾は1967年に静岡県で1.5.4% (豚丹毒)、東⁵⁾は1968年に富山県で1.4.2% (C. pyogenes)、東海林⁷⁾は1969年に北海道

で5.4% (C. pyogenes)、等の集団膿瘍疾患を調べている。このほか、東⁵⁾は埼玉県、広島県、千葉県で、村上⁸⁾は福島県で、上田⁹⁾は広島県で、岡崎¹⁰⁾は山口県で、各々集団発生をみており、1953年の笹原¹¹⁾らの報告の頃から全国的な汚染へと発展していったことを示している。また1970年台では三成¹²⁾が島根県で1971年に5.3.1% (C. pyogenes)、1972年¹³⁾に同県で2.3.5% (同上)の集団発生を、宮城¹⁴⁾が同年岡山県で4.9% (同上)、原ら¹⁵⁾が1975年に島根県で1.9.0.7% (同上)の発生をみているので

ある。

一方、と畜検査時に検出される膿瘍の検出率をみると、竹部¹⁷⁾らが1971年に茨城協同食肉センターを中心として、検出される膿毒症、膿瘍は0.03%および0.24%であったとし、翌年には0.51%であったことを述べ、また島田¹⁶⁾らは水戸ミートセンターでの検出率は1973年に0.92%、翌年¹⁷⁾には0.68%であったとし、吉松¹⁸⁾が1974年に愛知県の一と畜場で0.17%の関節炎を、正谷¹⁹⁾らが1976年に多摩と畜場において膿瘍0.36%、膿毒症0.11%であったと報告している。資料には1960年台の例がないため変遷は不明であり、また全国と殺数に対する全膿瘍数を示す資料もない。しかし、上記例の一部を対称とする発生率を全国のと殺頭数(1973年、1400万頭²⁰⁾)に対比するなら莫大な数の豚が膿瘍を有していることになる。

1975年に全国食肉衛生検査所協議会において「膿瘍に関する判定基準」を設定した。野外における発生傾向からするなら遅きの感があるが、しかしその必要性は益益増大すると考えられる。すなわち前述例の如く集団発生が減少し、また外部膿瘍性疾患のように明らかな疾病に対する治療⁶⁾⁸⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾²⁵⁾対策は進歩しと畜場への搬入の機会が少なくなっている。その反面抗菌剤の飼料への添加等の効果によるところの不顕性膿瘍や、治療後に残存する深部化膿症、多発性膿瘍等がと畜場へ搬入されるからである。正谷¹⁹⁾らの報告の如く膿毒症としての廃棄豚が増加して来ているのがその傾向であり、竹部¹⁷⁾が1971年に0.10%を、本文で0.17%を加工工場で検出したのがその裏付けである。また当県のみならず他県産外国産においても、加工時に発見される膿瘍が存在することは、当該地での検査体制が充分ではないことを指差している。と畜場に搬入される膿瘍数とは畜物での検出に加工工場での検出数を加味したものであって、今だ、膿瘍罹患豚が相当数であることを思慮するならば、と畜検査体制の再考が必要と考える。

更に、発生には上記報告例や本文にみる如く、地域による偏在性や、季節による影響等はないと考えられる。鈴木²²⁾はコンクリート床の多頭飼育が集団発生に影響するとし、大久保²⁶⁾らは洗浄消毒の徹底した豚舎には膿瘍が少ないと述べ、柴田²⁷⁾は集団発生例において汚染菌常在の中での、飼料や環境の急変が発症誘因となったのではないかと推測している。また斉藤²⁸⁾らの発表への発言の中で中瀬はミンクの緑膿菌症の原因

菌が飼料中から分離された事実を上げている。これらは飼育管理面も膿瘍発症に関与するであろうとする報告である。

このように、完全な予防処置に関する報告がまだないのが現状であり、膿瘍の発生機序が明らかにされない限り、又不顕性膿瘍が存在する限り、と畜検査における膿瘍排除への重要性は続くのである。

2. 島田¹⁶⁾は検出膿瘍の大部分は5cmないし10cm大で、時に20cm以上のものもあるとし、表面または浅層に位置する肉眼的に発見しやすい膿瘍であることを示している。ひるがえって、本文では枝肉が分割されるに従って小型膿瘍が、そして筋の深層に位置するものが多くなり外部から発見することが困難であることを示す。また頭肩部に検出が多い事実は当該部のリンパ節分布が複雑でしかもやや深部に位置するため入刀が不可能であるためであろう。即ち現状の肉眼的にと畜検査手技においては加工工場に搬入される膿瘍を零にすることは至難であると考えべきかも知れない。しかるに、大割時検出の大部分は肉眼的に判然としておりと畜検査時に切除すべきものであることや、頸部リンパ節の観察を慎重に行えば検出可能である事実を考える時、除去されずにと畜場外に搬出されることは憂べきことである。加えて、整形時に検出される膿瘍のうちジョール・プレートに存在する比較的大きい膿瘍は触診により、又ハムに存在する膿瘍は腸滑下リンパ節・膝窩リンパ節との関連が深いことを考慮し、これらの変状から内部の膿瘍の存在を推定することができるものとする。更に、正確に膿瘍を発見するには、枝肉に短時間しか費せない超速のと畜検査体制の高精度な検査体制への改善や、物理化学的な膿瘍検出用機器の開発が望まれるものである。

と体内膿瘍の分布の画一的表現は不可能であるが、ジョール・プレートに多い主因は前肢・口腔等の頭頸部損傷、胸部炎症患からの移行が考えられる。又スペアリップは胸部炎症によりペリーの一部は肝炎等の腹部炎症、ロインは尾根の損傷、ペリーの一部やハムは後肢の損傷、腹部外傷による影響と推測される。内因性膿瘍でもリンパ系伝播が中心と考える。なぜなら、これらの大半がリンパ節・リンパ管の連絡系と一致するからであり、ゲル状膿瘍は筋層深部のリンパ系に存在するからである。更に上記を推測するに足る報告がある。島田¹⁶⁾¹⁷⁾、西村ら²⁹⁾、原³⁰⁾らとはと畜場での検出率は四肢・前後軀・尾根部・内臓の順に高いことを報じ、本文との差を示しているかにみえるが、一考するに四

肢・尾根部は肉眼的に発見され易く、残る軀幹は発見されずに残り易いことを示すものである故、見逃がされた膿瘍は本文の肉厚部に多い事実と合致することになる。また、白坂³¹⁾、原³⁰⁾も内臓には筋肉組織に比して発生率が低いことを示し、本文のスペアリップ・ベリ一等の低率であることを裏付け、内臓疾患との関連を意味していると思われる。水下³²⁾は膿瘍を有する豚の各リンパ節の細菌検出を試みて、各種リンパ節から *C. pyogenes*・溶連菌を52所中19所に、又後躯23所中浅鼠径リンパ節・内腸骨リンパ節に合せて14所に原因菌を分離し、リンパ節と膿瘍との関連を重視している。松本³³⁾は溶連菌による咽頭リンパ節汚染が54%であったことを、松山³⁴⁾らは發育不良豚におけるリンパ節への嫌気性菌の集中性を認め、当該菌が内臓では不検出であったことを報じている。東³⁵⁾は内因性疾患は口腔・肩排腺を通じリンパ節から骨髓・軀幹臓器へと伝播されるとしている。勿論、鈴木²²⁾が内臓と皮膚や四肢に同時発症した例を、久楽²¹⁾が伝染性皮膚炎の原因菌が内臓でも分離されたことを、平棟³⁾が原因菌を豚の静脈に接種し臓器に播種性膿瘍の形成をみたことを各々報告しており、血管系に伴う移行を指差していると考えられ、リンパ系のみを重視することは危険であるとも思うのである。しかしながら、と体ではリンパ節の位置が把握し易く、その変状を肉眼的にも触診的にもとらえ易いことに注目するならば、リンパ節の重要性を認識しと畜検査に臨むべきだと考える。

3. 豚の膿瘍形成に関する主な細菌群については、東⁵⁾³⁵⁾³⁶⁾、平棟³⁾、原²¹⁾³⁰⁾³⁷⁾³²⁾、松山³⁴⁾、松本³³⁾、吉松¹³⁾、花村³⁸⁾、島田¹⁶⁾¹⁷⁾、笠井³⁸⁾、真鍋⁴⁰⁾、伊藤⁴¹⁾らが、*C. pyogenes*、*Sphaerophorus neorophorus*、*Bacteroides melaninogenicus*、*Streptococcus*、*Peptostreptococcus*、*Fusobacterium* を、柴田²⁷⁾、久楽²¹⁾、西村²⁹⁾⁴²⁾、鈴木²²⁾、佐野⁴³⁾⁴⁴⁾、竹内⁴⁵⁾、伊藤⁴⁷⁾、らは、上記菌に加えて *staphylococcus*、腸内細菌群、緑膿菌、結核菌、*Actinomyces*、等を分離しており、またこれらの混合感染も多いことを上げている。外に東⁴⁸⁾は *C. pseudopyogenes*、*C. equi*、米谷⁴⁹⁾は *Pasteurella*、白坂³¹⁾は *B. fragilis*、*B. ruminicola*、青木⁵⁰⁾は *Bifidobacterium longum*、*Veillonella parvula* を分離している。分離菌における豚への膿瘍の起因性に定説がなく、また人への感染経路、病原性に³⁾⁵⁾ 関しても定かではない。しかしながら、*C. pyogenes*

は豚の皮下への接種、静脈への接種で膿瘍が再現され、*S. meorophorus*⁵¹⁾、*Streptococcus* は豚の鼻や体表の損傷部での混合感染の原因として考えられ、粘膜や創口からの侵入を指差しており、また *C. pyogenes*⁵⁾⁵¹⁾ と *Bacteroides* は豚の口腔に常在する反面人⁵¹⁾の歯科学領域での高頻度の分離や健康人の皮膚に常在すること等、膿瘍起因菌と思われるものの人との類似性が考えられる。小酒井⁵¹⁾⁵²⁾⁵³⁾⁵⁴⁾は人の膿瘍の原因菌には、黄色ブドウ球菌、溶連菌、大腸菌、緑膿菌、腸球菌、肺炎双球菌、その他の球菌類、*Peptococcus*、*Peptostreptococcus*、*Veillonella*、*Bacteroides*、*Fusobacterium*、*Eubacterium*、*Corynebacterium*、無芽胞性グラム陽性桿菌を上げており、又松本³³⁾は溶連菌における学童の保菌率が21.7%で、しかも豚と同一菌であったことを認めており、豚の膿瘍における人との深い共通性がうかがえる。

更に、分離菌の抗生物質やサルファ剤に対する抵抗性は多種類のそれに耐性を持ち、豚では完治するものが少なく、人⁵⁶⁾でも比較的長期治療を要するものであり、また緑膿菌⁵⁷⁾⁵⁸⁾が感性を示す消毒剤もフェノール類、芳香族化合物、ヨウ素剤に限られ、食品関係で常用されるそれでは効力が低く、またブドウ球菌の毒性は100℃ 30分⁵⁹⁾または120℃ 20分⁶⁰⁾でも破壊されず、人の発症においても、汚染食品においても対策が困難であることがわかる。いかに常在性原因菌が多くとも、いかに緑膿菌⁶¹⁾が動物に定着しにくいとしても、自然環境中の汚染が濃くても、これに豚の膿瘍により人の発症に拍車をかけるようなことは防ぐべき事である。また松井⁶³⁾らは加工工程における加熱滅菌の基準が63℃ 30分以上としてあるが、市販の食肉製品には大腸菌群さえ滅菌されていないものがあり、さらに非ボイル系製品、大型単品製品では操作法や機械形式によって基準の滅菌効果が期得できないものを使用している業者がいると報じている。

これら種々の危険性を孕む膿瘍を考えると、と畜検査時に異状部の見逃しや、解体道具等・検査器具等による正常枝肉の二次汚染の防止に精励し、加工工場を汚染するような製品はと畜場外に搬出すべきでないと考える。

ま と め

加工工場内で検出される膿瘍について次の所見を得た。

1 昭和49年の平均検出率は1.17%であり、頭肩

部、腿部、胴部の順に多く、筋層の厚い部分の膿瘍はと体分割時のみ検出され得るものである。

2 肉眼的に判然とする膿瘍が切除されずに検印が押されている枝肉もあり、ヌリンパ系に注目し、肉眼的触診的に精査すればと畜検査時に検出し得るものがある。

3 膿瘍の形状では92%が軟状であり、固形状は少なくしかも主に深層部に位置する。また発生への季節的影響、地域による特異性は認められない。

文 献

- 1) 竹部元祥ほか：139回日本獣医公衆衛生学会（関東），（1972）
- 2) 斉藤義蔵，小島正秋，金井恒夫，加香芳孝：食肉加工法，P18（1971）。
- 3) 平棟孝志：家畜試年報，（1960）。
- 4) 平棟孝志：日獣会誌，15，P111，（1962）。
- 5) 東 量三：畜産の研究，24，P62，（1970）。
- 6) 佐々木栄英：全国家保衛生業績集，9，P69，（1968）。
- 7) 東海林昌夫ほか：全国家保衛生業績集，2，P30，（1969）。
- 8) 村上守夫：郡山家保業績集，P50，（1972）。
- 9) 上田貞善ほか：日獣会誌，25，P125，（1972）。
- 10) 岡崎義三ほか：全国家保衛生業績集，2，P30，（1969）。
- 11) 笹原二郎ほか：水曜会記事，3，93，（1953）。
- 12) 三成淳夫ほか：島根県畜産業績集，P85，（1971）。
- 13) 三成淳夫ほか：畜産技術，220，P6，（1973）。
- 14) 宮城哲之：家畜診療，120，P13，（1973）。
- 15) 原文男ほか：日獣会誌，（1976）。
- 16) 島田弘行ほか：茨城県獣医公衆衛生学会，（1974）。
- 17) 島田弘行ほか：50年日本獣医公衆衛生学会（関東），（1975）。
- 18) 吉松重利：と畜検査員技術講習会，（1974）。
- 19) 正谷千恵ほか：51年日本獣医公衆衛生学会，（関東），（1976）。
- 20) 厚生省乳肉衛生課：食品衛生研究，25，P41，（1975）。
- 21) 久楽由雄：家畜衛生情報，B，P30，（1972）。
- 22) 鈴木達郎：日獣会誌，26，P188，（1973）。
- 23) 伊藤 明ほか：全国家保衛生業績集，11，P76，（1970）。
- 24) 上田貞善：日獣会誌，25，P125，（1972）。
- 25) 薄 敬 欵：家畜衛生情報，B，P32，（1972）。
- 26) 大久保光行ほか：日本獣医公衆衛生学会，（関東），（1977）。
- 27) 柴田重孝：日獣会誌，16，（1963）。
- 28) 斉藤 博ほか：日獣学会，（1972）。
- 29) 西村尚夫：50年日本獣医公衆衛生学会，（関東）（1975）。
- 30) 原 文雄ほか：79回日獣学会，
- 31) 白坂昭治ほか：81回日獣学会，（1976）。
- 32) 水下健次：家畜衛生情報，Ⅲ，（1973）。
- 33) 松本寿男：と畜検査員技術講習会，（1975）。
- 34) 松山国臣ほか：と畜検査員技術講習会，（1976）。
- 35) 東 量三：獣医界，99，（1971）。
- 36) 東 量三：71回日獣学会，（1971）。
- 37) 原 文男ほか：81回日獣学会，（1976）。
- 38) 笠井重信ほか：家畜衛生情報，D，P13，（1972）。
- 39) 花村悦男：と畜検査員技術講習会，P35，（1974）。
- 40) 真鍋義久：全国家保衛生業績集，12，P76（1971）。
- 41) 伊藤 明：全国家保衛生業績集，11，P76（1970）。
- 42) 西村尚夫：家畜衛生情報，D，P51，（1972）。
- 43) 佐野和夫ほか：家畜衛生情報，D，P10，（1972）。
- 44) 佐野和夫ほか：同 ，D，P55，（同 ）

- 45) 竹内 久ほか：家畜衛生情報，Ⅲ，P 8，
(1973)。
- 46) 伊藤守治ほか：と畜検査員技術講習会，
(1975)。
- 47) 郡 信高：日獣会誌，27，P 549，
(1974)。
- 48) 東 量三ほか：全国家保衛生業績集，2，
P 30，(1969)。
- 49) 米谷武士ほか：日獣会誌，23，P 716，
(1970)。
- 50) 青木 誠ほか：81回日獣学会，
(1976)。
- 51) 小酒井望，鈴木祥一郎編：“嫌気性菌と嫌気
性菌症”，医学書院，(1968)。
- 52) 小酒井望：現代診断検査法大系，河盛勇
造編，中山書店，P 27，(1966)。
- 53) 長谷川弥人ほか：同，同，同，P 40，同。
- 54) 田所一郎ほか：実験感染学，朝倉書店，
P 398，(1967)。
- 55) 丸山美津子：と畜検査員技術講習会，P 259
(1974)。
- 56) 入野泰一：都衛生局学会，P 116，
(1973)。
- 57) 本間 遜：緑膿菌とその感染症，P 12
(1975)。
- 58) 砂金ヤスエ：都衛生局学会，P 118，
(1973)。
- 59) 川喜田愛郎：病原細菌学，中山書店，
P 85，(1954)。
- 60) 辺野喜正夫：細菌性食中毒，南山堂，P 129
(1959)。
- 62) 奥山雄介ほか：35回日本公衆衛生学会，
(1976)。
- 63) 松井武夫ほか：食品衛生研究，25，1，
(1975)。

野犬等捕獲用麻醉具の開発に関する研究 (I)

石川 庄市・原田 豊 (茨城県土浦保健所)
村松 良尚・豊田 元雄 (茨城県衛生研究所)

Studies on the Anesthetic Instruments for Capturing Ownerless Dogs. (I)
by

Shōichi Ishikawa, Yutaka Harada (Ibaraki Prefectural Tsuchiura Health
Center : 706, Shimotakatsu-chō, Tsuchiura-shi, Ibaraki-ken.)

Yoshitaka Muramatsu, Motoo Toyoda (Ibaraki Prefectural Institute of Health
: 4-1, Atago-chō, Mito-shi, Ibaraki-ken.)

1 はじめに

本県における野犬捕獲には、人為的捕獲、薬餌捕獲、
麻酔銃捕獲の3つの方法を状況に応じて活用し、相当
の成果を上げて来ている。

麻酔銃による方法は当県で昭和42年に犬の捕獲に
初めて活用して以来、全国的に使用される様になった。
現在当県では各獣医務室に一丁配布され、活用の頻度
も増加している。捕獲における麻酔銃への依存度が高
まる反面、銃は1銃1人の原則等表2に示すような制
約や表1に載る経費の制約により、必要度を十分に満
すことが出来得ないのが現状である。そこで銃に代
えて、法規制のないしかも安価で命中率の高いボウ・ガ
ン(これは商品名であり、クロスボウ又は弩ともいう。)を
利用した時以上の効果をあげるべく工夫して来た。

2 キャプチャー銃

本県で使用している型は、ライフル型ガス銃であり、
1957年にマスタン・ライト社(米国)が野生動物
用注射具として開発したものである。

注射器の反射装置には発射音の低い炭酸ガスを使用
し、目的物的中した注射器は図1の(1)注射針が
筋中に侵入し、深さが(2)カラーにより制限される。
的中時の衝撃により(6)雷管が爆発し、その圧力
によって(5)プランジャーを注射針側に押し、薬液が
針先より筋中に押し込まれる仕組みである。薬液の注射
器への加注は(1)注射針の固定した(3)筒先栓の
ネジ込みを外して行う。(5)プランジャー、(7)
パッキンがゴムであり、ネジ込みの(8)テール・ピ
ースに付着し飛行方向を可る(9)綿糸が木綿である
ほかはアルミニウム合金でできていて2cc用注射器で
全長13cm、15gである。目的の薬液量により、

(4)注射筒の長さが異なり、1ccから10cc用が市
販されている。

ボウ・ガン使用の場合に比して、銃本体250,000
円、1射当りの単価639.5円と高価であり、また法
の制約を受けることや、セットにやや時間を要するた
めに野犬の逃走に迅速に対処できないこと、また、叢
中では注射器が短いため見付けにくいこと等の欠点か
がある。しかし、雷管爆発による薬液の注入性は非常
に確実であること、巾がないため狭い物景からも発砲
できること等の利点がある。

3 ボウ・ガン

紀元前に弓から発達し、現在ではスポーツ用具とし
て100Lbと80Lbが市販されており、今回の試験に
はModel-1200の80Lbを使用した。80Lbの
ボウ・ガンで30mの距離から射った矢は1枚の畳を
貫通する威力を持つ。

木製の銃床の上にアクロン性の弦を張ったアルミニ
ウム合金の弓を固定(写真1)し、照星、照門、引き金
の装置が付き、発射操作は銃と同じである。アルミニ
ウム合金製の矢は先端に真中合金を付け、後方に矢羽
がついている。それを銃床のレールに嵌め込み、張ら
れた弦と共に安全具で固定され、引き金を引いた時に
矢は溝に沿って弦と共に発射される仕組みである。

キャプチャー銃に比して、不特定多数の人が使用で
き、また、不慣れでも命中しやすいことや、叢中
でも発見し易く、しかも、償却費、修理費等は不明
であるけれども、本体が28,000円、1射当りの単
価が約240円と安価であることが利点である。射
程距離、重量、操作簡易性においては銃と大差が
なく、弓巾が広いことがやや難点であるだけである。

表1 捕獲用麻酔具の諸経費の比較（昭和52年11月調べ）

発射機器本体	キャプ・チャー銃使用の場合				ボウ・ガン使用の場合			
	キャプ・チャー銃使用 (ライフル型ガス銃)	250,000円			ボウ・ガン (MODEL-1200 80Lb)	28,000円		
		単 価	使用回数	1射当りの単位		単 価	使用回数	1射当りの単位
注 射 器	注 射 セ ッ ト	6800	20	340	改造注射器 (目標)	200	1	200
発 射 装 置	炭酸ガスポンペ	2800	100	28	弦	700	1000	0.7
					矢	750	50	15
					矢の改造費	500	50	10
液 注 入 装 置	薬液注入用薬包	260	1	260	—			
潤 滑 油	シリコン油	2300	200	11.5	シリコン油	2300	200	11.5
				639.5円				237.2円

表2 捕獲用麻酔具の使用上における特徴

	キャプ・チャー銃（ライフル型ガス銃）	ボウ・ガン（MODEL-1200 8Lb）
1 規 制 法	銃砲刀剣類所持等取締法（1銃1人の制約）。 火薬類取締法（火薬類譲受消費許可手続）。	規制法なし。
2 有 効 射 程	20m	15m（～30m）。※
3 操 作 簡 易 性	銃の重量 2.67 kg 銃の長さ 103 cm	ボウ・ガンの重量 2.8 kg 銃の長さ 79 cm 弓 巾 80 cm
4 命 中 度 合	訓練を要す。	数回の訓練で可能。
5 薬 液 注 入 性	雷管自動爆発により確実。	—
6 射的後の注射 器の粉失度合	短い（13cm）ため粉失し易い。	矢が長い（45cm）ため発見し易い。

※矢の先に装着する改良注射器の重量により射程距離が異なり、本来のボウ・ガン矢では30m可能である。

4 改造器具

1) 改造ボウ・ガン矢1型

発射装置の異なるキャプチャー銃の注射器を改造し、ボウガン用注射器にするために、(8) テールピースの(9) 綿糸を除いて、その部位にボウ・ガン矢の先端を固着した。

これを活用することにより、銃砲刀剣類所持等取締法の適用を免れ、また長い矢のために叢中でも発見しやすい利点がある。

2) 改造注射器1型

既成の注射器の(8) テールピースを図2改造ボウ・ガン矢1型と交換したものである。

有効射程距離は15m以上で、雷管爆発が完全であり、注入が確実である。性能的には既成の場合と同じであるが、雷管を使用するため火薬類取締法によって許可手続が必要であることが難点である。

3) 改造注射器2型

既成注射器の(8) テールピースを図2改造ボウ・ガン矢1型に交換し、さらに(5) プランジャーと(6) 雷管を除いて、その部位に(13) 鉄丸を入れ、ピストンの役目を課したものである。目的物に的中した時飛行慣性を持つ(13) 鉄丸が、その慣性力で針先にスライドし、薬液を押し出すものである。

法的制約は免れたが次の欠陥がある。鉄丸が重いため射程距離が延びない。(5~7m)。軽い鉄丸では注入量が減少する。また注入筒と平行的な飛行慣性が加わらない場合にもやはり注入量が少ない。注入器を下に向けると鉄丸が下降し薬液が漏れる。

4) 改造注射器3型

既成の注射器の(8) テールピースを図2改造ボウ・ガン矢1型に交換した。次に、既成注射器から(1) 注射針およびそれを固着している(3) 筒先栓と(6) 雷管とを除き、(14) 改造注射針1型を(15) 改造プランジャー1型と(16) 改造プランジャー2型の2個の中心を接着し、(16) 改造プランジャー2型の端に開口したものである。

(15) 改造プランジャー1型は既成プランジャーを円錐台形に削り、細い側の端を既成品の(2) カラーにみたてたもので、針の浸入の深さを制限すると共に、筋肉からの反動を飛行方向と逆方向に作用する力に替える役割を課したものである。(17) 改造注射筒1型が持つ飛行慣性の力と前者の逆方向

に働く力とにより(16) 改造プランジャー2型が(17) 改造注射筒1型をスライドして薬液を圧することにより、それが開口部から押し出される仕組みである。

プランジャー2型が(17) 改造注射筒1型をスライドして薬液を圧することにより、それが開口部から押し出される仕組みである。

直線的な飛行過程で目的物に命中した場合には、

(16) 改造プランジャー2型と(17) 改造注射筒1型との密着度が高いため、またプランジャーのスライド時の抵抗も少ないため、更に、前述の両側からの力が完全に直線的な合力になるため、薬液は確実に注入でき得る方法である。しかし、斜めに命中した場合には、両側からの力が注射筒の筒壁側へ逸れ、直線的合力が減り、逸れた力はプランジャーと筒壁との磨擦力に変わるため、薬液の圧縮力が減少する。針先の切れが悪い場合には、針先が目的物中に挿入される以前にプランジャーがスライドし始めるため、針先口から薬液が流出する。また、針の内径が太いため、下方に向けると針先から薬液が流出する場合がある。

5) 改造注射器4型

既成注射器の(8) テールピースを除いて(20) 改造ボウ・ガン矢2型を装置した。(20) 改造ボウ・ガン矢2型は図2改造ボウ・ガン矢1型に(18) 改造注射針2型を溶接したものである。既成注射器から図5改造注射器3型の場合と同じ部分を除いて、(18) 改造注射針2型を2個のプランジャーを接着した(19) 改造プランジャー3型の中心を貫通させ(20) 改造ボウ・ガン矢2型に固着し、薬液の流出口をその針の後端に開けた。薬液注入の原理は図5改造注射器3型と同様であり、(19) 改造プランジャー3型の前端に受ける目的物からの反動と(17) 改造注射筒1型の飛行慣性力により、薬液を圧縮し(18) 改造注射針2型の後方に開口する穴から流出させるものである。ただ、(19) 改造プランジャー3型の前端を削らないことと、(18) 改造注射針2型を固定したことによって、目的物に斜めに的中した場合に生ずるところの直線的に作用する力以外の力を少なくしようとするところに図5改造注射器3型と異なるものである。

図5改造注射器3型に比して、針先の切れが悪い時でも薬液の注入漏れがなくなった。反面、(19) 改造プランジャー3型と(18) 改造注射針2型お

および(17)改造注射筒1型との磨擦面積が広くなり、(19)改造プランジャー3型のスライド距離が小さくなり薬液注入量が少ない欠点がある。また(19)改造プランジャー3型の前端が広いために矢の進行方向が逸れる場合がある。

6) 改造注射器5型

既成注射器の(8)テール・ピースを除き、さらに(6)雷管と同じ長さで(4)注射筒の後方を切除し、(21)改造注射筒2型にした。(23)真中合金の錘りをはめ込んだ(24)改造ボウ・ガン矢3型を(22)改造プランジャー4型に接着し、(21)改造注射筒2型に装置した。目的物的中した時、(24)改造ボウ・ガン矢3型の飛行慣性の力をそのまま(22)改造プランジャー4型に加え、前方にスライドさせて薬液を押し出そうとするものである。

直線的な飛行時に的中した場合には薬液の注入が確実である。注射器が軽量のため有効射程距離が延びる等の利点がある。しかしながら、放物線上での飛行時に的中した場合には、(22)改造プランジャー4型から目的物までの距離が長いために、そのプランジャーを支点として、筒と平行的に前方に動く力よりも筒に斜めに動く力が大きくなり、(24)改造ボウ・ガン矢3型が煽られて、(22)改造プランジャー4型がスライドしない場合がある。また発射時にボウ・ガンの弦によって(24)改造ボウ・ガン矢3型の後端が押し出されるために、(22)改造プランジャー4型がスライドしてしまい、薬液を少し流出する危険がある。

5 考 察

麻酔銃とボウ・ガンにおける機構や使用上の特徴等については、両者を比較しながら総体的にボウ・ガンを活用することの優位性を前述した。そして、ボウ・ガン用に注射器の改造を試み、ボウ・ガンの活用の可能性を強めることができた。さらに、これまでの改造注射器の各々の長所を活かしたところの、そして後述の諸条件を勘案したところの注射器を工夫することにより、既成注射器に劣らない、薬液の注入性の確実な、そして法規制のない、安価な、麻酔用注射器が完成できるものと考えている。

改造注射器1型では、注入が最も確実であるが、雷管を使用しなければならないのが難点である。この雷管の作用を危険性の低いガス圧に代行さす方法

を考案すべきだと考える。

雷管を使用しないところの改造注射器2型から5型までの注射器においては、薬液注入の確実性において改造注射器1型に及ばないけれども、その中では改造注射器3型が最も確実性が高いものである。したがって、これの欠点であるところの飛行慣性力のロス、ピストンの役割をする(16)改造プランジャー2型に活かし、注入性が確実となるよう構造や材質を工夫する必要がある。

注射器の重さをより軽量にすることによって有効射程距離を延ばすことが可能である。そのことによって遠距離の目的物の場合においても、直線的飛行時に的中するよう工夫すれば、慣性力のロスを感じ、より確実な注入性が得られるものである。

飛行慣性力を活用した注入方法では、薬液圧縮時間が短時間のため大量の薬液を注入するには不向である。しかし、現在使用しているサクシニールコリン系薬物は1ccないし2ccの注入で充分であるので、より小型の注射器で満足でできると考える。

なお、ボウ・ガンは洋弓(アーチェリー)に比して、銃床を肩に固定でき、照星、照門で狙を定めることができることから、未熟者であっても命中させることが容易である。

6 ま と め

- 1) キャプチャー銃に代えて、ボウ・ガンによる麻酔用注射器の発射が可能である。むしろ諸条件を勘案する時、ボウ・ガンを使用する方法が有利である。
- 2) ボウ・ガンを使用した場合、改造注射器1型が薬液注入性において最も確実な機構であるので、この雷管に代る物質を探索すべきである。
- 3) ボウ・ガンを使用した場合、慣性力を活用して薬液を注入する方法も使用することが可能であるので、改造注射器3型を主体にさらに工夫を加える必要がある。

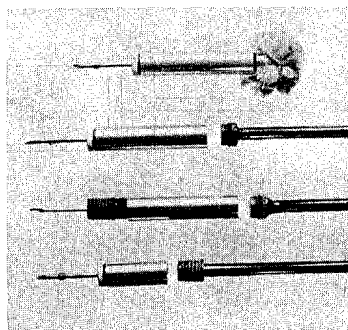
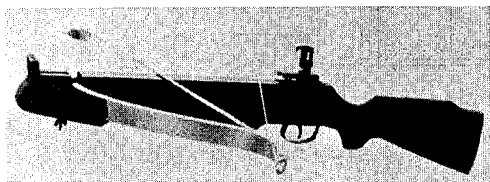


図1 キャプチャー銃注射器

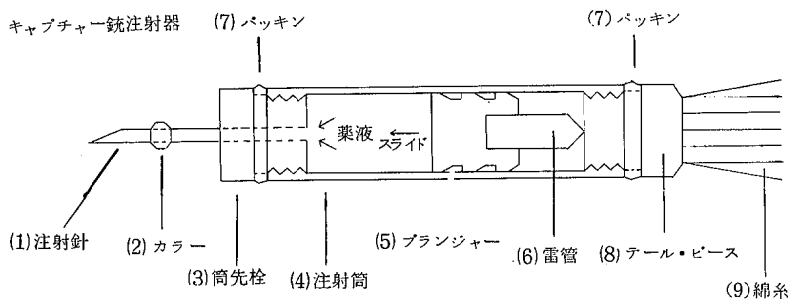


図2 改造ボウ・ガン矢1型

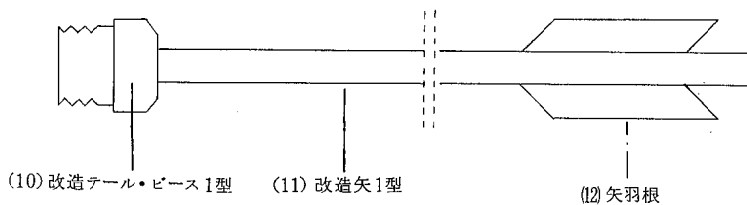


図3 改造注射器1型

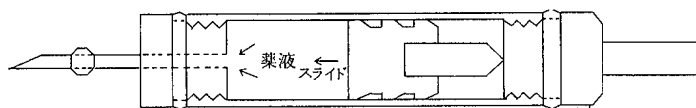
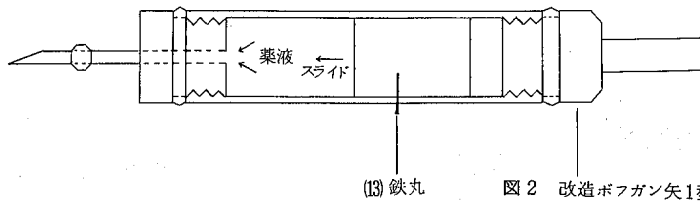


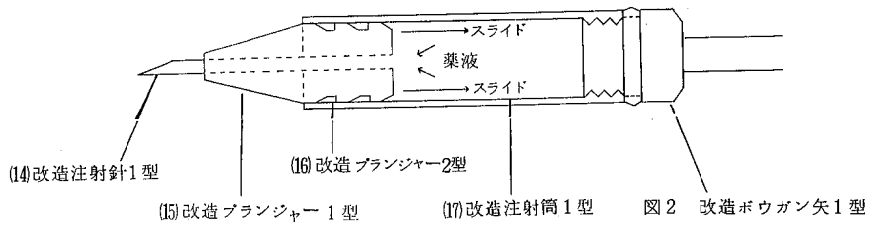
図2 改造ボウガン矢1型

図4 改造注射器 2型



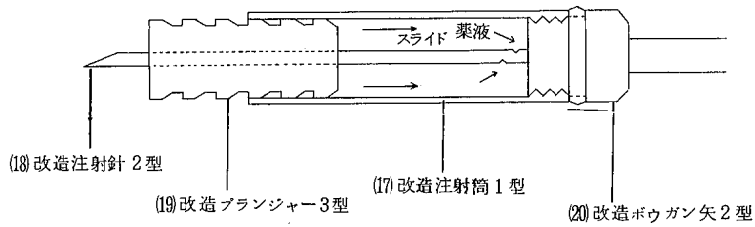
(13) 鉄丸 図2 改造ボウガン矢1型

図5 改造注射器 3型



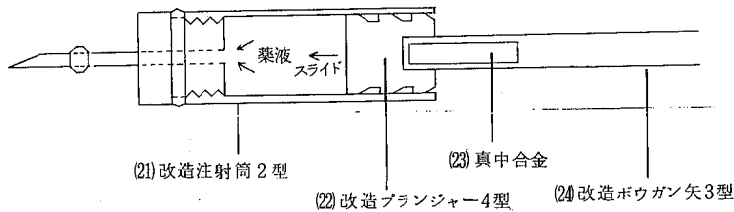
(14) 改造注射針1型 (15) 改造プランジャー1型 (16) 改造プランジャー2型 (17) 改造注射筒1型 図2 改造ボウガン矢1型

図6 改造注射器 4型



(18) 改造注射針2型 (19) 改造プランジャー3型 (17) 改造注射筒1型 (20) 改造ボウガン矢2型

図7 改造注射器 5型



(21) 改造注射筒2型 (22) 改造プランジャー4型 (23) 真中合金 (24) 改造ボウガン矢3型