

m211

ISSN 0385-1575

岐衛研所報
Rep. Gifu
Inst. P. H.

岐阜県衛生研究所報

第 3 2 号

昭和 6 2 年

Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health

No.3 2

1 9 8 7

岐阜県衛生研究所

Gifu Prefectural Institute
of Public Health



目 次

<資 料>

岐阜県における献血者の梅毒血清反応検査成績 第7報 昭和60～61年度の成績	1
県内飲料水中の低沸点有機塩素化合物調査	6
パーソナルコンピュータによる水道水検査結果の活用	11
漢方エキス製剤の薄層クロマト分析による確認試験法の検討	17
解熱鎮痛薬の崩壊と溶出	21
神経芽細胞腫マスキングの精度向上に関する検討 (第1報) Dip法の基礎的検討	27
神経芽細胞腫マスキングの精度向上に関する検討 (第2報) 高速液体クロマトグラフ法による尿中 VMA, HVA 定量法の検討	30
岐阜県における神経芽細胞腫マスキング結果について	34
除イオン交換樹脂—原子吸光度法による清涼飲料水中のカドミウム及び鉛の定量	38

<他誌掲載論文> 42

<学会報告> 44

題字 岐阜県知事 上松 陽助

CONTENTS

(REPORT)

Serological Investigation of Syphilis for Blood Donors in Gifu Red Cross Blood Center, 1985~1986.....	1
Concentration of Volatile Chlorinated Organic Compounds in the Drinking Water in Gifu Prefecture.....	6
Application of the Results of Drinking Water Examination by Personal Computer	11
Analysis of Chinese Herbal Medicines by Thin Layer Chromatography.....	17
Disintegration and Dissolution of Antipyretic Analgesics Tablets.....	21
Study of Mass-Screening for Neuroblastoma	
(1) Standardization of Dip-test.....	27
Study of Mass-Screening for Neuroblastoma	
(2) Determination of Urinary VMA and HVA by High Performance Liquid Chromatography	30
Mass-screening of Neuroblastoma in Gifu Prefecture.....	34
Determinations of Cadmium and Lead in Soft Drink Samples by Atomic Absorption Spectrometry-Anion Exchange Resin Column.....	38

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

岐阜県における献血者の梅毒血清反応検査成績

第7報 昭和60~61年度の成績

野田 伸司*, 渡辺 実*

Serological Investigation of Syphilis for Blood Donors in Gifu Red
Cross Blood Center, 1985~1986

Nobuji NODA*and Minoru WATANABE*

献血者は地域的、職業的な偏りが少なく、かつ幅広い年齢層より構成される母数の大きな集団である。又、その性格から梅毒感染を自覚しているものは稀と考えられるところから、これら集団の梅毒感染の実態は、岐阜県における不識梅毒感染の疫学的指標としての意義が考えられる。この目的から、岐阜県衛生環境部では昭和47年以来、岐阜県赤十字血液センターの梅毒血清反応陽性検体を対象に、更に精密な検査を実施し、その検査成績を2~3年毎にまとめて解析を行っている。今回は、昭和60年4月~62年3月の2年間の成績を報告する。

なお、前報で報告したように、新鮮感染が疑われる例が増加する傾向にあるので、TPHA法⁽⁺⁾でガラス板法高定量値検体に対して、IgM抗体の検索も実施したので、合わせてその成績を報告する。

材料および方法

1) 被検血清

岐阜県赤十字血液センター（以下血液センター）における検査で、昭和60年12月までの9カ月間は、RPR法およびTPHA法の2法もしくはいずれか1法が陽性となった検体、昭和61年1月以後の15カ月間は、RPR法のみが行なわれ陽性となった検体の中、血清量不足の45本を除く757本の血清が当所へ送付された。これらの検体は血液センターにおいて検査後、 -20°C に保存され、1~2週毎に送付され、再検査まで -20°C に保存された。

2) 検査法

カルジオライピン抗原を用いた検査法(STS)としてガラス板法、トレポネーマ(TP)抗原を用いた検

査法としてTPHA法の2法は全ての検体の定性検査に実施され、ガラス板法の陽性検体は定量試験も行なわれた。FTA-ABS法はガラス板法のみ陽性を示す検体、TPHA法が判定保留および血液センターの成績と不一致の検体について実施した。又、TPHA法⁽⁺⁾で、ガラス板法 $\geq 1:16$ を示す検体について、FTA-IgM法およびマイクロカプセルTP試験(MCA²⁾)を追加し、TPHA法の定量試験も実施した。

ガラス板法抗原は任友製薬、TPHA法抗原は富士レビオ、MCA法は日本凍結乾燥研究所の製品を使用した。FTA抗原およびライター株吸取液は予研免疫化学室より分与を受け、ラベル血清はDAKO社製を使用した。各種検査法は成書²⁾に示される方法に準じ、MCA法は小林らの方法²⁾による。

成 績

血液センターより送付された757件について、ガラス板法およびTPHA法を実施した。これらの中、血液センターにおいてTPHA法が行なわれた昭和60年

表1 各種定性検査法の相関(60.4~60.12)

ガラス板法	TPHA 法			計
	+	÷	-	
+	105	4	103	212
÷	14	1	14	29
-	69	5	32	106
計	288	10	149	347

+ : 陽性 ÷ : 判定保留 - : 陰性

*岐阜県衛生研究所: 500 *岐阜市野一色4丁目6番3号

*Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

表2 各種定性検査法の相関 (61.1~62.3)

ガラス板法	TPHA 法			計
	+	÷	-	
+	163	8	166	337
÷	6	1	9	16
-	18	2	37	57
計	187	11	212	410

12月以前と、RPR 法のみが実施された昭和61年1月以後では検体の由来が異なるので、別々に集計し表1、表2に示した。2法とも陽性を示したものは、60

年105件 (30.3%)、61年163件 (39.8%) で2年間では268件 (35.4%) であった。ガラス板法のみ陽性のものは、60年103件 (29.7%)、61年166件 (40.5%)、TPHA 法のみ陽性は60年69件 (19.9%)、61年18件 (4.4%) であった。2法ともに陰性のものは、32件 (9.2%)、37件 (9.0%) と2年間で69件 (9.1%) 認められた。

表3はガラス板法定量試験の成績である。これらは、血液センターにおける TPHA 法検査の有無による影響が少ないので、2年間分をまとめて集計した。

≥1:16を示す検体は、TPHA 法(+)群では29/289 (10.0%) で、この中男性は22/174 (12.6%) 女性は7/115 (6.1%) であった。又、≥1:32を示す検体

表3 性別にみたガラス板法定量値と TPHA 法との関係

性	ガラス板法定量値	TPHA 法			計	性	ガラス板法定量値	TPHA 法			計
		+	÷	-				+	÷	-	
男	÷	14	2	7	23	女	÷	5		16	21
	1:1	79	3	32	114		1:1	56	7	85	148
	1:2	30	1	39	70		1:2	27	1	45	73
	1:4	20		13	33		1:4	14		11	25
	1:8	9		6	15		1:8	6		6	12
	1:16	6		9	15		1:16	3		2	5
	1:32	4		8	12		1:32			2	2
	1:64	7		1	8		1:64	1			1
	1:128	3			3		1:128	2			2
	1:256	2			2		1:256	1			1
計	174	6	115	295	計	115	8	167	290		

表4 性、年齢別にみたガラス板法定量値と TPHA 法との関係

性	TPHA法 ガラス板法定量値 年齢	+										計	-								計	
		÷	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256		÷	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64		
男	16-19		1		1		1		2			6	1	3	7	1						12
	20-29		2	4	1		1	3		2	1	1	15		6	3	2					11
	30-39		3	11	6	1	3	2	2	3	1		32	1	8	9	2	1				21
	40-49		6	25	14	5	3		1		1	1	56	3	7	4	4	2	1		1	22
	50-64		3	38	9	13	2						65	2	8	16	4	3	8	8		49
	計		14	79	30	20	9	6	4	7	3	2	174	7	32	39	13	6	9	8	1	115
女	16-19			1		1	2			1	1	6	4	15	10	2	2	2	1			36
	20-29		2		1				1	1		5	4	32	13	1						50
	30-39		2	15	2	1	1	1				22	4	24	7	3	2					40
	40-49		1	15	6	6	3					31	4	7	8	5	1		1			26
	50-64			26	17	7	1					51		7	7	1						15
	計		5	56	27	14	6	3		1	2	1	115	16	85	45	11	6	2	2		167

は、男性が16件(9.2%)認められ、女性は4件(3.5%)であった。TPHA法(-)群では、 $\geq 1:16$ を示す検体は22/282(7.8%)認められ、男性は18/115(15.7%)、女性は4/167(2.4%)であった。しかし、ガラス板法陽性検体中においては、 $\leq 1:4$ の低い値を示すものが多く、TPHA法(+)群では245/289(84.8%)、(-)群では248/282(87.9%)認められた。この中、男性は(+)群では143件、(-)群では91件認められ、各々陽性者中の82.2%と79.1%を占めた。女性も102件(88.7%)と157件(94.0%)であった。

表4は表3の成績を更に年齢別にまとめたものである。TPHA法(+)でガラス板法 $\geq 1:16$ を示すものは、男性では40代以下の各年齢層に認められたが、陽性検体中の比率は低年齢ほど高く、10代4/6(67%)、20代7/15(47%)、30代8/32(25%)、40代3/56(5%)であった。女性においてはこの傾向は更に著明で、7件中6件が16~29才であった。陽性数は年齢とともに増加し50才以上の高年齢者において男女とも最も多く認められたが、定量値は $\leq 1:8$ であった。TPHA法(-)群におけるガラス板法陽性数は、男性はTPHA(+)群同様に高年齢者ほど多く、特に50代にガラス板法定量値 $1:16\sim 32$ の高い値を示すものが16件と多く認められた。女性は、30代以下の若年齢に多く認められた。

表5はTPHA法とFTA-ABS法との相関を示したものである。検査総数368件中349件(94.8%)が2法の成績が一致した。不一致19件は $\geq 1:16$ のTPHA法が判定保留の検体であり、FTA法により陽性4件、陰性15件と判定された。これら19件のガラス板法定量値は陰性もしくは $\leq 1:2$ の低い値が示され、TPHA法、FTA-ABS法ともに判定保留の2件は、ガラス板法も判定保留であった。

TPHA法(+)でガラス板法 $\geq 1:16$ を示した29件に

表5 TPHA法とFTA-ABS法の相関

TPHA法	FTA-ABS法	計
+	+	43
	-	
÷	+	4
	÷	2
-	-	15
	+	304
÷		
	-	368
	計	

ついて、FTA-IgM法およびMCA法を実施し、その成績を表6に示した。FTA-IgM法は血清希釈5倍および20倍の定性法のみを行ない、その他は2倍階段希釈による定量法を実施した。FTA-IgM法 $\geq 1:20$ でMCA法がTPHA法より4倍以上高いものがNo.1, 6, 20, 24および25の5件に認められた。又、No.2~4の3件はFTA-IgM法は $\geq 1:20$ であったが、MCA法、TPHA法のいずれも $\geq 1:163840$ と極めて高い値で、今回実施した血清希釈倍数以上の成績が示された。他の21例については、FTA-IgM法で $1:5$ を示した3件を含めて、MCA法、TPHA法

表6 ガラス板法 $\geq 1:16$ を示す29件のFTA-IgM法およびMCA法の成績

性	No.	年齢	ガラス板法	FTA-IgM法	MCA法	TPHA法
男	1	18	32	≥ 20	≥ 163840	40960
	2	18	64	≥ 20	≥ 163840	≥ 163840
	3	19	64	≥ 20	≥ 163840	≥ 163840
	4	19	16	≥ 20	≥ 163840	≥ 163840
	5	20	16	-	≥ 163840	≥ 163840
	6	25	256	≥ 20	40960	10240
	7	28	64	-	10240	10240
	8	28	16	-	5120	5120
	9	28	64	-	5120	5120
	10	28	128	-	40960	40960
	11	29	32	-	20480	40960
	12	29	16	-	2560	2560
	13	30	64	5	1280	1280
	14	31	128	5	2560	1280
	15	32	64	-	5120	5120
	16	32	16	-	2560	2560
	17	33	32	-	5120	5120
	18	37	16	-	20480	20480
	19	39	64	5	20480	20480
	20	41	256	≥ 20	10240	1280
	21	41	32	-	5120	5120
	22	48	128	-	5120	5120
女	23	17	16	-	2560	2560
	24	17	128	≥ 20	10240	2560
	25	19	16	≥ 20	5120	320
	26	19	256	-	40960	40960
	27	20	64	-	20480	20480
	28	21	128	-	5120	5120
	29	36	16	-	320	320

ガラス板法、MCA法、TPHA法：陽性を示す最大血清希釈の逆数
 FTA-IgM法：血清希釈 $1:5$ および $1:20$ のみ実施。
 -は $<1:5$

の定量値に差は認められなかった。又、FTA-IgM 法陰性例中の中にも、ガラス板法や MCA 法および TPHA 法定量値の高いものが多く示された。

ガラス板法 $\geq 1:16$ を示した TPHA 法(+)群29件、(-)群22件については、献血カルテの調査を行った。(+)群においては、表6に示す、No.1~5の5件、No.10~11の2件、No.15~16の2件およびNo.25~26の2件の合計11件が4人の献血者によること、又(-)群においては、50代の男性16件中10件が4人の献血者によることが明らかになった。初回献血者は、TPHA 法(+)群では8件と調査対象件中の36.4%に認められ、(-)群では1件(7%)であった。

考 察

献血者の梅毒血清反応陽性率は年々減少し、本事業が開始された昭和47年以降においても、1%から10年後の昭和58年には0.33%と1/3に低下した。しかし、その後徐々に上昇し、昭和60年は0.40%を示している。又、活動性梅毒の可能性が高いTP法(+)でSTSの定量値が高いものも増加し、本報に示される昭和60~61年は29件とTPHA 法(+)を示す検体中の10%に認められ、前報¹⁾における3年間の25/543(4.6%)の2倍以上となっている。この様な新鮮感染の可能性が考慮される検体の増加は、陽性率減少の中の傾向として、昭和55~56年の成績の集計時より認められており⁴⁾、全国的な医療機関へのアンケート調査でも早期顕性梅毒の増加が示されているが、この現象が献血者集団全体の陽性率を押し上げる状況になりつつあると思われる。

早期梅毒が考えられる事例の増加現象の解析の一助に2期梅毒における下限および性病病院における中等度の抗体価とされるガラス板法 $1:16$ 以上について献血カルテの調査を行い、IgM 抗体の検索を実施した。29検体22人中、5人は明らかにIgM 抗体が認められた。梅毒のIgM 抗体については、津上⁸⁾や大谷⁹⁾によって、臨床サイドから調べられており、適切な治療により速やかに消失し、未治療の場合にも、ほとんどの例で、血清分画を行わない限り、2~3カ月後のIgM 抗体の証明はむづかしいことが示されている。以上のことから、無処理の血清を用いた今回の検査結果から、この5人は、感染後3カ月以内のものであろうと推定され、この中、2人は再度の献血があり、STS 定量値の変動も著明で、感染初期のものであることが確認された。

高抗体価陽性者の再献血については、本報の2年間に4件認められた。前報¹⁾の際に調査した3年分を加え5年間では、22人中8人に、前献血時においても高い

定量値が示されていた。血液センターでは、血清生化学検査の成績とは別に、梅毒血清反応検査陽性者へ通知を出し、医療機関への受診を勧めている。陽性例の中、STS 低定量値検体には無自覚の未治療者の他に、治療済のものも多数含まれると思われるが、高い定量値を示すものが再献血されるケースが高率に認められたことは、未受診や不十分な治療など、献血者集団の性格にそぐわない例外的事例のみとは考えにくい。調査資料が乏しく、これ以上の解析はできなかった。

梅毒のIgM 抗体検出法は分画 TPHA 法が最も正確な検査法として、一部の検査機関でのみ実施されていたが、最近になりMCA 法の試薬が市販され、簡単に血中IgM 抗体の測定が可能になった。献血者の梅毒陽性例は、無自覚が多く、第3期以後の晩期梅毒に相当するケースがほとんどであると考えられてきたが、早期梅毒が考慮される事例の増加は、感染初期に産生されるIgM 抗体を摘確に捕捉する検査法を活用し、より綿密に梅毒感染の実態を把握する必要性が感じられた。

謝 辞

本調査に御協力いただいた、岐阜県赤十字血液センターの武内治子課長、FTA 用試薬を分与していただいた予研免疫化学室の菅原孝雄博士、山屋駿一技官に深謝します。

本調査は岐阜県衛生環境部保健予防課の性病予防費によった。

文 献

- 1) 野田伸司、渡辺実、山田不二造：岐阜県における献血者の梅毒血清反応検査成績、第6報、昭和57~59年度の成績、岐阜衛研所報、30、38-42、1985
- 2) 小林信三、山屋駿一、菅原孝雄、松橋直：Treponema 抗原を用いた新しい梅毒の特異的診断法(MCA-TP)の手技の確立、マイクロカプセルを担体に用いた受身凝集反応による梅毒血清反応、STD、66、61~73、1985
- 3) 日本公衆衛生協会：微生物検査必携、「免疫血清検査」147-212、1978
- 4) 渡辺実、野田伸司、山田不二造：岐阜県における献血者の梅毒血清反応検査成績、第5報、昭和55~56年度の成績、岐阜衛研所報、28、21-24、1983
- 5) 芹沢正見、西田茂樹、福島靖正、母里啓子、岡本昭二、小原寧、片庭義雄、小島弘敬、野末源一、森忠三、津上久弥、水岡慶二：性行為感染症(STD)の動向に関する研究、厚生指標、33、12~24、1986
- 6) 水岡慶二：梅毒血清反応とその臨床的意義、皮膚

科 MOOK, 4, STD (性行為感染症), 25~36, 金原出版, 1986

7) 津上久弥: 梅毒血清反応検査と治療判定の問題, 皮膚, 24, 11~18, 1982

8) 津上久弥: 梅毒治療の指標としての梅毒 IgM (抗

体) の検出——梅毒治療判定の目安として——日本医事新報, No.3002, 43-47, 1981

9) 大谷道広, 高木肇, 森也寸史, 佐藤隆: 梅毒の IgM 抗体の検査法とその意義, 皮膚科 MOOK, 4, STD (性行為感染症), 37~47, 金原出版, 1986

岐衛研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

県内飲料水の低沸点有機塩素化合物調査

梶川正勝*, 寺尾 宏*, 森下有輝**
今井準三*Concentration Volatile Chlorinated Organic Compounds
in the Drinking Water in Gifu Prefecture.Masakatsu KAJIKAWA*, Hiroshi TERAOKA*, Yuki MORISHITA**
Junzo IMAI*

はじめに

近年全国的に低沸点有機塩素化合物による地下水汚染が報告され^{1),2)}、昭和59年2月水道水中のトリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタンの3物質について暫定基準が示された³⁾。

これらの物質は金属の脱脂洗浄やドライクリーニングなどに使用され、最近では電子、半導体などの先端産業に使用されて問題となっている。

また、このうちトリクロロエチレン、テトラクロロエチレンの2物質は、昭和62年4月、発ガン性のある有機塩素系溶剤として、化学物質審査規制法の中で指定化学物質に指定された。

そこでこれら有害有機塩素化合物の県内水道水中の濃度を把握するために、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタンの3物質(トリクロロエチレン等)をはじめ、同時に検出した他の低沸点有機塩素化合物について調査したので報告する。

また、これらの物質の除去方法の検討及び測定時に検出されたこれら3物質、トリハロメタン、四塩化炭素以外の未知ピーク物質の同定を試みたので併せて報告する。

材料及び方法

1. トリクロロエチレン等低沸点有機塩素化合物の実態調査

地下水を水源とし、水源周辺に金属表面処理関連工場あるいはクリーニング業が存在する水道57施設の原水、表流水を水源とする水道30施設の原水、そして水道施設の新設等に伴う原水および給水開始前の浄水128件の計215件の水道水について、トリクロロエチレン等低沸点有機塩素化合物濃度を測定した。調査期間は昭和58年10月～62年3月である。

2. トリクロロエチレン等低沸点有機塩素化合物の除去

2-1 開放放置による除去についての検討 試験水(水道水にトリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタンの標準を添加—トリクロロエチレン500 $\mu\text{g}/\ell$ 、テトラクロロエチレン10.6 $\mu\text{g}/\ell$ 、1,1,1-トリクロロエタン13.2 $\mu\text{g}/\ell$)の500mlをビーカー(容量500ml)にとり、冬季、屋外に遮光して24時間開放放置した。放置後、これら3物質の濃度を測定した。

2-2 煮沸による除去についての検討 試験水(2-1と同じ)の500mlをビーカー(容量500ml)にとり、加熱した。沸とう開始時(加熱して15分後)、

* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

** 岐阜県公害研究所：500 岐阜市藪田8丁目58の2

* Gifu Prefectural Institute of Public Health : 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

** Gifu Prefectural Research Institute for Environmental Pollution : 58-2, Yabuta 8 chome, Gifu 500, Japan

開始後10分後に試験水を採取し、これら3物質の濃度を測定した。

2-3 ばっ気による除去についての検討 試験水(2-1と同じ、但し濃度が異なる。トリクロロエチレン280 $\mu\text{g}/\ell$ 、テトラクロロエチレン350 $\mu\text{g}/\ell$ 、1,1,1-トリクロロエタン350 $\mu\text{g}/\ell$)の1 ℓ を細口ガラスびん(容量1 ℓ)にとり、ボールフィルターを使用し、通気量500 $\text{ml}/\text{分}$ でばっ気した。ばっ気時間1分、5分、10分、30分のこれら3物質の濃度を測定した。

以上1, 2の試験方法はヘッドスペース・ガスクロマトグラフ法³⁾によった。

3. 未知ピーク物質の検討について

未知ピーク質物を含む水道水(8施設うち井戸水の

2施設を含む)について、パージトラップ法を使用し、これらの物質をカラム(Tenax GC)に捕集し、ガスクロマトグラフ・質量分析計(ガスマス)によって同定を行った。また検出の予想された物質について標準クロマトグラムを作成し、保持時間の比較からも未知ピーク物質を推定した。用いたパージトラップ装置は図1に示し、標準物質とその濃度は表1に示した。

成績及び考察

1. トリクロロエチレン等低沸点有機塩素化合物の実態調査

調査した地下水を水源とする56施設の水道原水中の

表1 標準物質名及び濃度

No.	物質名	濃度($\mu\text{g}/\ell$)	No.	物質名	濃度($\mu\text{g}/\ell$)
1.	(塩素)		10.	1,2-ジクロロエタン	3000
2.	1,1-ジクロロエチレン	20	11.	トリクロロエチレン	2.5
3.	ジクロロメタン	1000	12.	ブロモジクロロメタン	5
4.	trans-1,2-ジクロロエチレン	500	13.	クロロピクリン	2
5.	1,1-ジクロロエタン	3000	14.	テトラクロロエチレン	1
6.	cis-1,2-ジクロロエチレン	3000	15.	ジブロモクロロメタン	20
7.	クロロホルム	10	16.	1,2-ジブロモエタン	100
8.	1,1,1-トリクロロエタン	0.5	17.	ブロモホルム	100
9.	四塩化炭素	0.1			

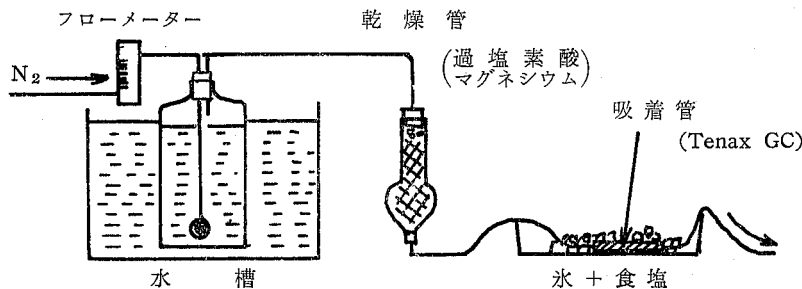


図1 パージトラップ法による濃縮装置

吸着: Tenax GC (0.5 ml の注射筒に充てん——予じめ窒素ガスにてエージング150°C30分間)

吸着時の温度 0°C以下

追出し温度(水槽内水温): 40°C

通気: 窒素ガス 100 $\text{ml}/\text{分}$, 30分間

検水量: 1 ℓ (ボールフィルター付 細口ガラスびん使用)

吸着後の吸着管の保存: 密封して冷蔵庫内製氷室に保管

GC・MSへの導入: 吸着管をヒーターで加温(100°C以上)し、5 ml ガスタイトシリンジで吸引し、GC・MSへ注入

トリクロロエチレン等3物質の濃度は、3施設でトリクロロエチレンが0.002, 0.003, 0.004mg/ℓ, 4施設で1,1,1-トリクロロエタンが0.001 (2施設), 0.002, 0.005mg/ℓ検出された。これらの値はいずれも暫定基準値(トリクロロエチレン0.03mg/ℓ, 1,1,1-トリクロロエタン0.3mg/ℓ)以下であった。なおテトラクロロエチレン(暫定基準値0.01mg/ℓ)については全て0.001mg/ℓ未満(検出限界)であった。

また昭和57年度, 58年度に環境庁が実施した地下水調査²⁾の中で, 飲用井戸水に上記3物質と共に検出率の高かったクロロホルム, 四塩化炭素についても併せて測定したが, クロロホルムが2施設で0.001, 0.002mg/ℓ, 四塩化炭素が1施設で0.001mg/ℓ検出したのみであった。このことから, 現在のところ地下水を水源とする県内水道原水のトリクロロエチレン等3物質をはじめ, クロロホルム, 四塩化炭素の汚染は殆んどないものと思われる。

表2 低沸点有機塩素化合物の除去

残留濃度 μg/ℓ (%)

除去方法	トリクロロエチレン	テトラクロロエチレン	1,1,1-トリクロロエタン
開放			
初濃度	500	10.6	13.2
24時間後	190(38)	4.0(38)	6.0(46)
煮沸			
初濃度	500	10.6	13.2
沸とう開始時(加熱して15分後)	14(3)	0.4(4)	0.4(3)
沸とう後10分	0(0)	0.0(0)	0.0(0)
ばっ気			
初濃度	280	350	350
ばっ気時間(分)			
1	260(93)	250(71)	250(71)
5	160(57)	200(57)	210(60)
10	40(14)	130(37)	140(40)
30	9(3)	7(2)	6(2)

備考

開放——試験水500mlをビーカー(容量500ml)にとり屋外に開放放置

煮沸——試験水500mlをビーカー(容量500ml)にとり, 電気コンロにて加熱

ばっ気——試験水1ℓを細口ガラスびんにとり, 通気量500ml/分(ボールフィルター使用)とした。室温(21°C)

地下水を水源とする1施設の原水で, トリクロロエチレンを3年間(昭和59~62年)にわたって0.002~0.005mg/ℓ検出した。この地域は遊離炭酸濃度が高⁴⁾く, それを除くためにばっ気処理を実施している施設である。この水道水において, ばっ気処理後にはトリクロロエチレンの濃度は検出限界以下となり, ばっ気により除去されていた。

また表流水を水源とする水道原水中のトリクロロエチレン等3物質及びクロロホルム, 四塩化炭素濃度は30施設とも検出限界以下であった。このことから現在の水源環境が維持される限り, 問題はないものと思われる。

水道施設の新設等に伴う原水および給水開始前の浄水中のトリクロロエチレン等3物質及び四塩化炭素の濃度は128施設とも検出限界以下であり, 水源汚染は起きていないものと思われる。しかし浄水のクロロホルムは最高0.028mg/ℓ検出される例がみられた。

2. トリクロロエチレン等3物質の除去について

開放, 煮沸およびばっ気による除去の検討結果を表2に示した。トリクロロエチレン濃度については暫定基準値の約20倍含む試験水を開放放置したとき, 24時間後に3物質とも50%以上除去された。これらの物質が仮に河川に流入したとしても, 水面及び浄水場の処理工程からの^{5),6)}揮散により, 給水栓水中の濃度はかなり減少しているものと思われる。

煮沸によっていずれの物質も沸とう開始時には96%以上除去された。沸とう後10分ではもはや検出されなくなった。従って, これらの物質を含有する井戸水を飲用する場合, 煮沸すれば殆んど除去されることがわかった。

ばっ気による除去では, ばっ気時間30分後に97%以上が除かれた。このときの試験水と通気量の容量比は1対15であった。この方法は有用な処理方法の1つと考えられる。県内の施設でこの方法を採用している施設があり, 前述したように効果を上げている。

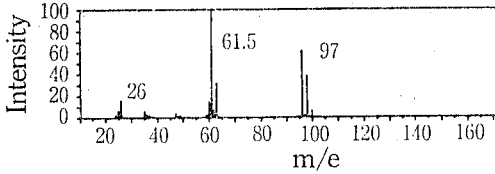
3. 未知ピーク物質の検討について

ガスマスにより, 未知ピークの1つが1,1-ジクロロエチレン(沸点31.7°C)と同定できた(図2)。この1,1-ジクロロエチレンは2施設の井戸水から検出され

た。他に5施設の水道水からクロロピクリン（沸点112°C）と同じ保持時間を示すピークを検出した。1,1-ジクロロエチレンは工業用にも使用され、環境庁の

地下水汚染実態調査²⁾においても検出されている。クロロピクリンについては塩素処理工程中に生成するとの報告⁷⁾もあり、また土壌くんじょう剤としても使用され地下水汚染を起こした報告もある。標準物質のガスクロマトグラムを図3に示した。図のピークNo.は表1の標準物質のNo.と同じであり、ピーク高もこの濃度に相当。

1,1-ジクロロエチレン標準



試料

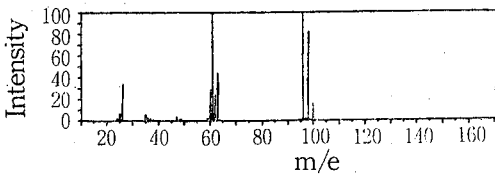


図2 井戸水中の1,1-ジクロロエチレンのマススペクトル

ま と め

- 1) 低沸点有機塩素化合物であるトリクロロエチレン等3物質及び四塩化炭素が県内の水道水から検出されることは少く、検出された場合でも数 $\mu\text{g}/\text{l}$ であり、暫定基準値を大きく下廻っていた。
- 2) これらの物質は揮発性があり、開放放置、煮沸、ばっ気処理をすることにより除去することができた。
- 3) 測定時に現われるガスクロマトグラム上の未知⁸⁾

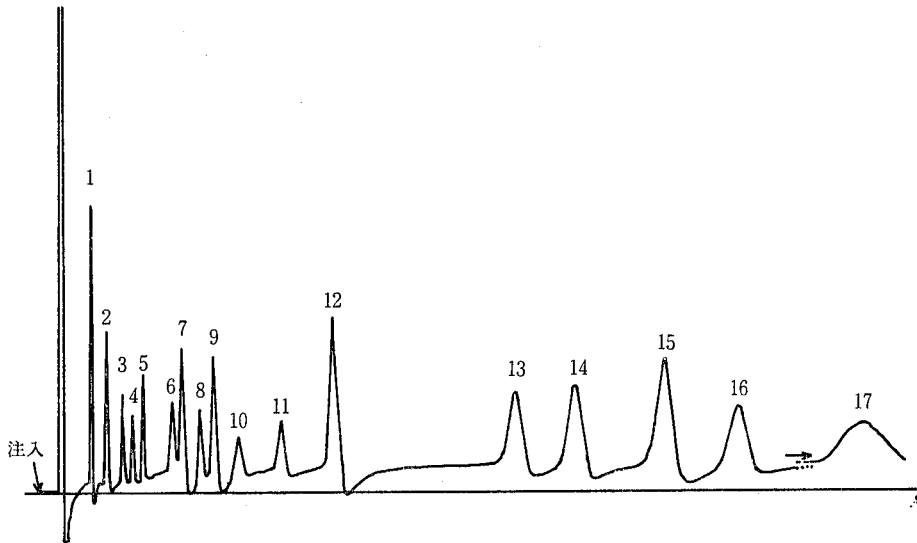


図3 ヘッドスペース法による標準クロマトグラム

ガスクロマトグラフ条件

- 装置：島津 GC 4 BMPEE (ECD 検出器付)
- カラム：シリコン DC550 20% クロモソルブW (AW-DMCS), 80~100メッシュ, 径3% \times 3m
- カラム温度：70°C
- 検出器温度：210°C
- キャリアーガス：窒素, 流量 50ml/分
- バイアルびん容量：122ml
- 試水量：100ml
- ヘッドスペース部注入量：100 μl

ークについて同定したところ、一つはガスマスにより1,1-ジクロロエチレンと確認された。他に1つのピークはガスクロマトグラム上で、クロロピクリンと保持時間が一致した。

謝 辞

本調査の一部は岐阜県簡易水道協会委託調査費によった。

文 献

- 1) 環境庁：地下水の汚染問題について，環水管 117号，昭和58年8月9日
- 2) 河崎哲久：特集—地下水汚染—，水質汚濁研究，8，2-6，1985
- 3) 厚生省：水道におけるトリクロロエチレン，テトラクロロエチレン及び1,1,1-トリクロロエタン対策について，環水第15号，昭和59年2月18日
- 4) 梶川正勝，寺尾 宏，森下有輝，山田不二造：地下水を水源とする県内水道原水中の遊離炭酸濃度について，岐衛研所報，29，34-40，1984
- 5) 玉川勝美ら：低沸点有機塩素化合物による環境水汚染（第1，第2報），仙台市衛試所報，13，264-286，1983
- 6) 丹保憲仁著：水道とトリハロメタン，技報堂出版，昭和58年10月発行
- 7) 長谷川一夫，辻 清美，森 康明，内藤昭治：県内水道水中の低沸点有機ハロゲン化合物について，神奈川衛研研究報告，15，19-24，1985
- 8) 志賀裕悦，齊藤和男，鈴木裕子，高橋美穂子，熊田甲喜：クロロピクリンによる井水の汚染について，福島衛公研所報，30，31-35，1981

岐衛研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

パーソナルコンピュータによる水道水検査 結果の活用

寺尾 宏*, 梶川 正勝*, 森下 有輝*,
有川 幸孝**

Application of the Results of Drinking Water Examination by Personal Computer

Hiroshi TERAO*, Masakatsu KAJIKAWA*, Yuki MORISHITA*
and Yukitaka ARIKAWA**

はじめに

水道水の水質検査は法に基づき定期的に行われているが、その結果は主に水質基準の適否の判断のみに利用され、個々の数値自体は十分活用されていないのが実情と思われる。岐阜県の水道は各施設ともいずれの検査項目も一般に基準値を大きく下回る数値を示しており、検査結果に対する関心は薄れがちである。しかし、蓄積された検査結果でも、データの処理、解析により有益な情報を引き出せる可能性があると考えられる。

そこで、今回パーソナルコンピュータを利用した検査結果の解析を試み、水質の維持管理、検査精度の向上などに対して、水道事業者あるいは検査の立場からどのように活用できるか検討を行った。

方 法

検討には4市町の全項目検査、毎月検査の結果、および当衛生研究所の調査データを使用した。これらのデータは検討に先立ってパーソナルコンピュータ(NEC N5200-05)に入力してデータファイルを作成した。このデータファイルをもとに、パーソナルコン

ピュータのグラフィック機能を利用して種々の処理、解析を行った。プログラムは、BASIC 言語¹⁾を使用してすべて自作した。また市町村、保健所の水道担当者から検査結果の取り扱い、保管状況の現状を調査し、これらのデータが今後どのような形で活用が可能であるか検討を行った。

結果および考察

(1) 折れ線グラフによる検査結果の表示

検査結果は多くの場合他の書類と同じようにファイルに綴じて保管されているのが実情で、一覧表のような形で転記されて保管されている例は少ないと思われる。コンピュータに入力した検査結果は、検索(必要なデータを探した)、ソート(ある順序に並び替える)などの機能を利用すれば種々の目的にあった処理が可能となる。

図1は、河川水を水源とするA市上水道の毎月検査結果ファイルから主要4項目を選び6年間の濃度変動を示した折れ線グラフである。硝酸性窒素、pH値は6年間を通して大きな変動は認められないが、一方で塩素イオン、過マンガン酸カリウム消費量は比較的大

*岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

Gifu Prefectural Institute of Public Health：6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

**岐阜県薬務水道課：500 岐阜市葦田1丁目1番地

Gifu Prefectural Government Office：1-1 Yabuta, Gifu 500, Japan

きな変動を示した。特に56年4月頃から、塩素イオンは低濃度の傾向を示し、逆に過マンガン酸カリウム消費量は高い傾向を示した。これら2項目はいずれも人

為的な汚濁指標であり、²⁾ 一般に両者に正の相関があると考られるから、このような傾向を示した原因は不明である。

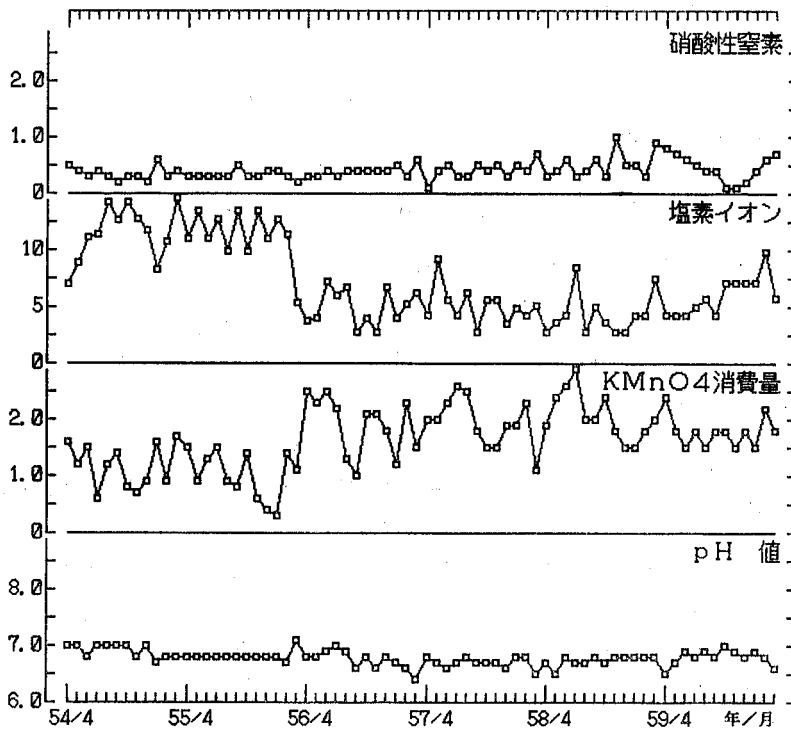


図1 毎月検査結果から作成した主要項目の濃度変動グラフ
(A市上水道昭和50~59年度 タテ軸はpH値を除きmg/lを示す。)

図2にB市上水道の2つの水源系(PおよびQ)の給水栓水の毎月検査結果から硝酸性窒素について10年間の濃度変動を示した。いずれも地下水を水源としているが、水源により変動の様子が異なっていることが明らかである。また、P水源をみると昭和59年9月に異常値が認められる。このような定期的な検査の場合、グラフ化によるデータ管理を行えば、各水源の水

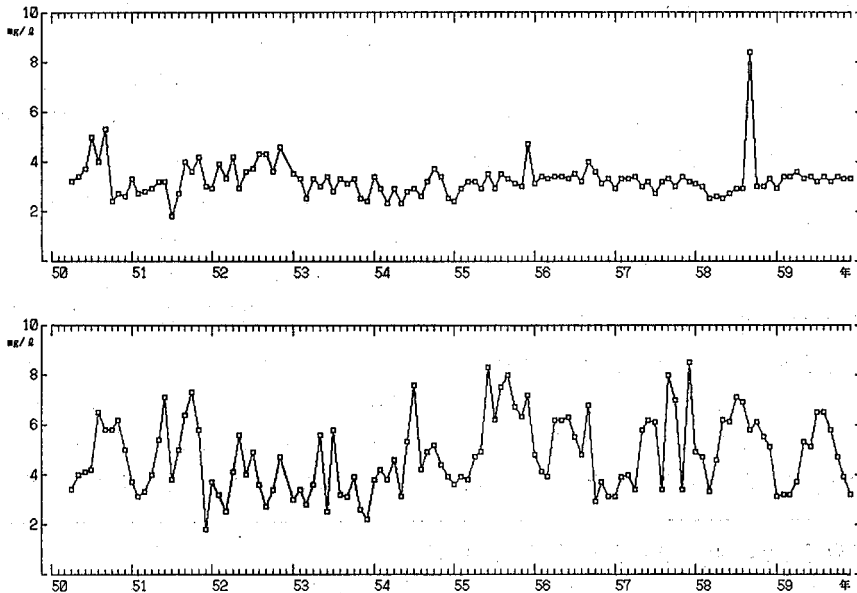


図2 水源(地下水)の違いによる硝酸性窒素濃度の変動を示すグラフ
(B市上水道 昭和50~59年 上段-P水源 下段-Q水源系)

質の特徴が容易に把握でき、施設の管理、あるいは検査の立場から有意義である。

図3は地下水を水源とするC町上水道の毎月検査による主要4項目の月別濃度変動である。各点は昭和50~59年の10年間(硝酸性窒素は5年間)の各月別の平均値であり、上下に最大値、最小値を示した。その結果、この施設では年間を通して安定した水质で給水が行われているこ

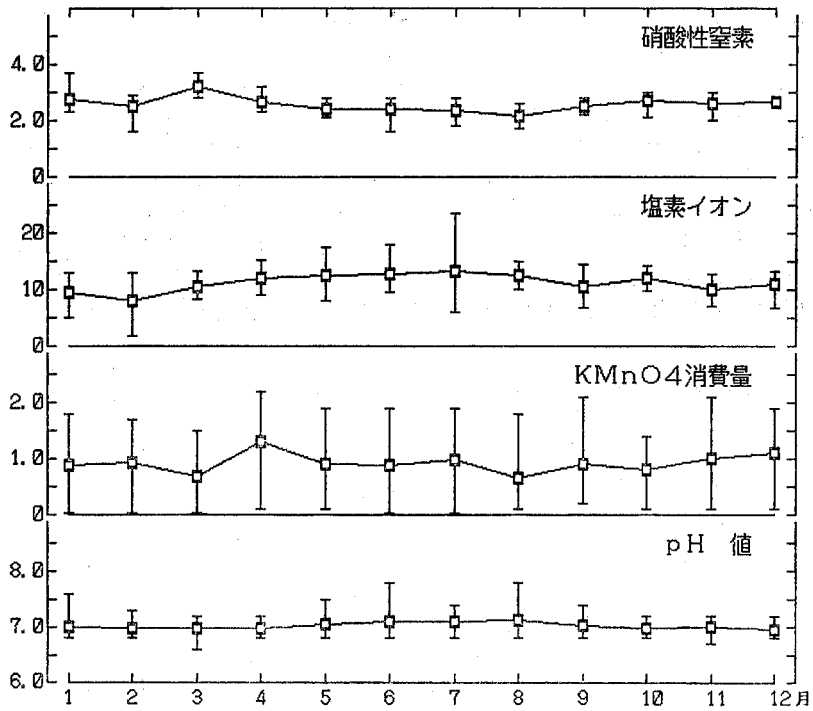


図3 毎月検査結果から作成した主要項目の月別濃度変動グラフ

(C町上水道昭和50~59年度の10年間、硝酸性窒素は5年間、タテ軸はpH値を除きmg/lを示す.)

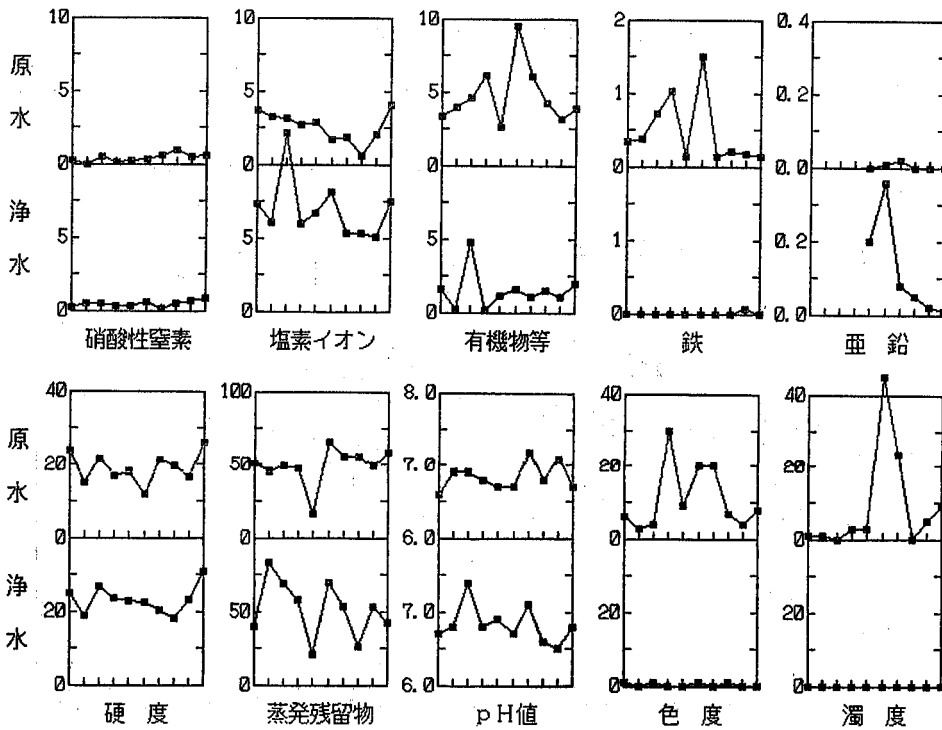


図4 全項目検査結果から作成した10年間の原水、浄水の比較グラフ

(A市上水道昭和50~59年度ヨコ軸は年度、タテ軸は色度、濁度、pH値を除きmg/lを示す.)

とが明らかになった。

図4に表流水を水源とするA市上水道の全項目検査(原水、浄水)の10年間の濃度変動を示した。全項目検査は毎月検査と比較して、測定項目は多いがデータが年1回しか得られないため、10年間のデータからは経年的な濃度変動を明確につかむことは難しい。しかし、このグラフは浄水処理により水質がどのように変化するかを明確に示しており、施設の維持管理を行っていく上で意義があると思われる。

(2) 施設間の水質比較グラフの作成

図5はD市簡易水道31施設の水質比較グラフであ

る。昭和57年度12回の毎月検査の各施設別の平均値をpH値、過マンガン酸カリウム消費量、硝酸性窒素、および塩素イオンの4項目について算出し、この値と全施設の平均値との比を示した。縦軸は上下にpH値、過マンガン酸カリウム消費量の各々の比を、横軸は左右に硝酸性窒素、塩素イオンの比を示し、基準となる比が1の円を破線で描いた。従って、この円より外側にある点は全施設の平均値より高い数値であることを示し、逆に内側にある点は低い数値であることを示す。このグラフから、pH値、過マンガン酸カリウム消費量は施設間で比較の数値のばらつきが小さいが、

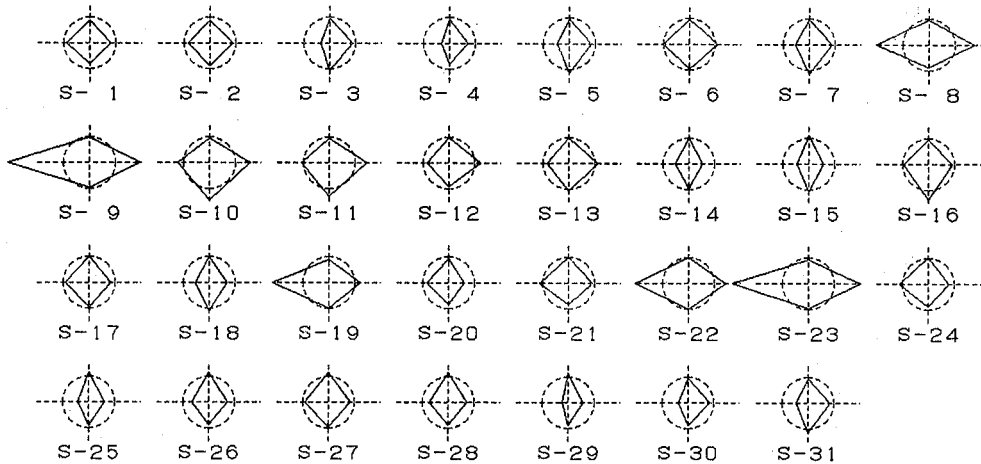


図5 施設間の水質を比較するグラフ

(地下水を水源とするD市簡易水道の31施設について、各項目毎の全施設平均値を求め、これを基準として各施設との比を示した。上下にpH値、過マンガン酸カリウム消費量、左右に硝酸性窒素、塩素イオンを表す。)

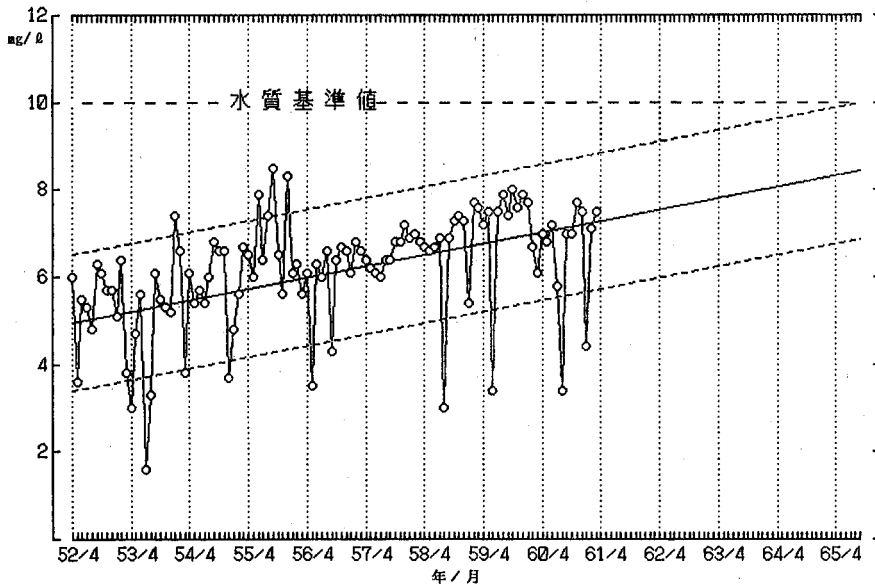


図6 将来濃度予測および水質管理のためのグラフ

(B市上水道R水源系の硝酸性窒素 昭和52~60年度)

硝酸性窒素、塩素イオンは施設間すなわち地域により大きな差が認められた。このような施設（地域）による水質の違いを普段から認識しておくことも、水質の維持管理を行っていく上で大切であり、このようなグラフが利用できる。

(3) 将来濃度予測および水質管理図の作成

水質の将来濃度予測，および水質管理のためのグラフを示した。先の水質変動を示す折れ線グラフを基に，最小二乗法により回帰直線を求め，これを将来予測ラインとし将来にわたって水質がどのようになるか予測した。図6はB市上水道（R水源系）の毎月検査

結果から硝酸性窒素を指標として将来濃度予測を試みた。将来予測ラインは近い将来水質基準値を超える可能性を示唆している。さらにグラフに示すように，予測ラインの上下に標準偏差値をもとに平行した2本の破線を引いたが，この破線の範囲に測定結果が含まれる場合はその項目に異常はないと判定できる。破線の幅は各施設，項目の特性により決定すれば良いが，この範囲外の検査結果が得られた場合は，施設管理，あるいは検査の立場から原因を考えることが大切である。

このように将来予測を含めた水質管理図を個々の施

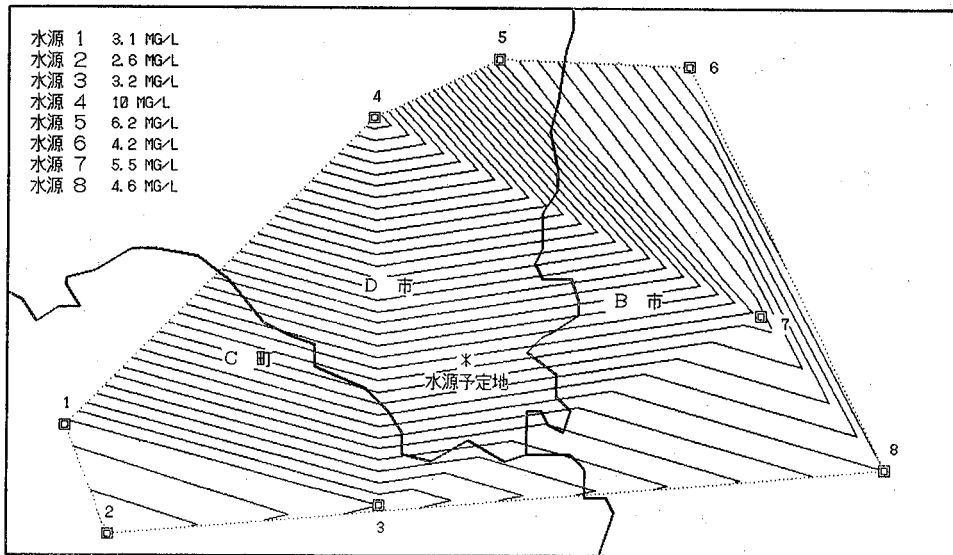


図7 水源選定（地下水）を目的とした等濃度線図の作成（既存施設の硝酸性窒素の検査結果を利用して作図）

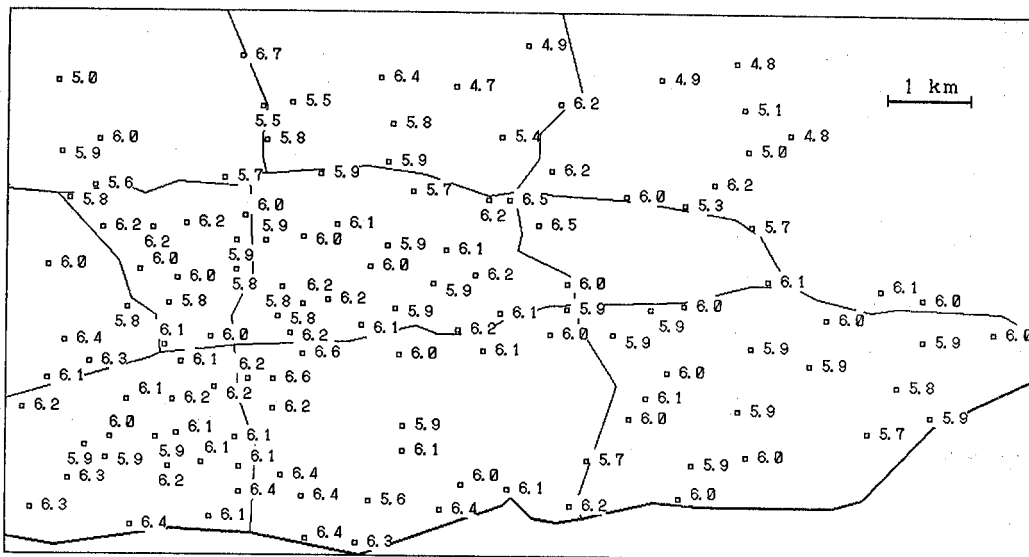


図8 測定結果の地図への表示（126地点のpH値）

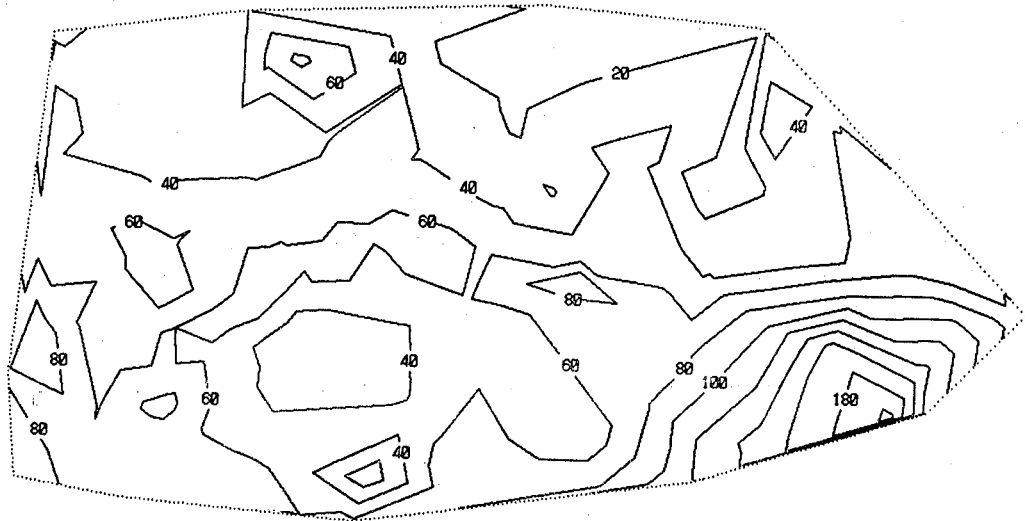


図9 等濃度線図の作成 (126地点の硬度の測定結果をもとに作成 線間隔20mg/ℓ)

設につて作成しておくことは、施設の維持管理、定期的な水質検査を行っていく上で意義のあることと思われる。

(4) 水源選定資料としての利用

水源選定の資料としてコンピュータのグラフィック機能を利用する例について述べる。

図7は3市町にまたがる地域の地下水を利用している施設の硝酸性窒素の検査結果をもとに等濃度線図を描いたものである。例えば、水源予定地(*)の濃度を予め知りたい場合、既存施設3, 4, 7の3点を作る三角形から5.4mg/ℓと推定することができる。

つぎに、定期的な検査結果以外に独自の調査データを使用して水源選定、水質保全のための資料を作成した例について述べる。図8は126地点の地下水の水質測定結果(pH値)は採水地点に表示したものである。一覧表などに比較して地域による数値の違いが視覚的に理解できる。

さらに、図9は同じ調査地域の水質測定結果(硬度)をもとに等濃度線図を描いたものである(道路などは省略した)。図8よりも地域的な濃度分布の様子が一層明確になり、調査を行っていくうえでパーソナルコンピュータの活用は有効な手段である。

ま と め

水道水検査結果をもとにパーソナルコンピュータを

活用してどのような情報が得られるか検討を行った。一覧表、折れ線グラフなど手作業でも作成できるが、パーソナルコンピュータを活用すれば、検査結果の1回の入力操作で種々のプログラム、ソフトウェアを利用して様々な資料の作成が可能となる。事業者の立場からは水質の将来の水質予測など施設の維持管理、検査の立場からは精度管理、異常値のチェックなど検査精度の向上に対して有効に活用できると考えられる。

謝 辞

今回の研究の実施に当たり検査結果の提供、検討会への出席をいただいた関係市町、保健所の担当者の方々、また昭和60年度の委託研究として研究の機会をいただいた岐阜県簡易水道協会に厚く感謝いたします。

文 献

- 1) 日本電気: N5200-05 BASIC 説明書 (PTOS-E X4), 日本電気, 1984
- 2) 半谷高久, 小倉紀雄: 水質調査法, 44-45, 丸善, 1985
- 3) 古林 隆: 統計解析, 118-134, 培風館, 1981
- 4) 戸内順一: パソコンによるシステム設計, 誠文堂新光社, 1985

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.漢方エキス製剤の薄層クロマト分析による
確認試験法の検討

坂井至通*, 今井準三*, 堀実代子**

Analysis of Chinese Herbal Medicines by Thin Layer

Chromatography

Yoshimichi SAKAI*, Junzo IMAI* and Miyoko HORI**

はじめに

実験方法

漢方エキス剤は、伝統的に用いられてきた漢方薬¹⁾の煎剤、丸剤、散剤を基本に、湯液を濃縮して得られた製剤である。使用の簡便性から漢方エキス剤の需要は年々増加し、それにとめない厚生省は、漢方エキス剤の品質を確保するため、厚生科学研究事業の成果を基²⁾に、漢方エキスの規格基準³⁾を作成した。現在、漢方薬⁴⁾210処方⁴⁾が、漢方エキス剤として繁用され、それに配合された生薬種の確認試験法としては薄層クロマトグラフ法 (TLC) が広く利用されている。しかし、漢方処方の多くは数種類の生薬の組合せにより構成されているため、各種生薬相互の影響によって、目標確認成分の相対的含有量の低下、出現スポットの増加及び重複、漢方エキス剤調製時の成分変化などによって、単味生薬で検出可能な TLC 条件であっても漢方エキス剤への応用が困難となる場合が少なくない。

著者らは、供給された漢方エキス剤の品質を確保するため、これまで報告された TLC 条件を総合的に検討し、配合生薬の確認試験法への応用の試み⁵⁾したので報告する。

1. 漢方処方及び漢方エキス剤の調製

各生薬は、局方品 (アルプス薬品工業) を用いた。漢方210処方の中から、桂枝湯、平胃散、乙字湯、葛根湯、当帰芍薬散、六君子湯、小柴胡湯、小建中湯、桂枝茯苓丸の9処方を任意に選択した。

各処方の処方量に従ってそれぞれ生薬を配合し、その10-30gをビーカーに取り、20倍 (v/w) 量の水を加えてしばらく放置した。約2間加熱抽出したのち放冷し、温時布ごしでろ過した。ろ液は、エバポレーターで濃縮し、液量が約100mlになったところで、処方量の10-20% (w/w) 量の軽質無水ケイ酸を添加し、更に濃縮して乾燥エキス剤を得た。また、確認目標生薬を一つずつ省いて調製した対照エキス剤もそれぞれ同様に調製した。

2. 発色試液の調製

アニスアルデヒド試液：アニスアルデヒド0.5mlにメタノール9.0mlおよび硫酸0.5mlを加え混和した。ニンヒドリン試液：ニンヒドリン0.3gにn-ブタノール100mlを加え溶解した。バニリン試液：バニリン1g

*岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

Gifu Prefectural Institute of Public Health : 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

**岐阜県大野保健所：501-05 岐阜県揖斐郡大野町黒野字塚廻191

Gifu Prefectural Ohno Health Center : 191, Kurono Tsukamawari, Ohno-cho 501-05,

Gifu Pref., Japan

に50% 硫酸 100mlを加え溶解した。塩化第2スズ試液：塩化第2スズ 1 mlにクロロホルム：酢酸 (1:1) 混液 16mlを加え混和した。鉄ミョウバン試液：鉄ミョウバン 5 gに水 100mlを加え溶解した。ジニトロフェニルヒドラジン試液，ドラーゲンドルフ試液，水酸化ナトリウム試液は，それぞれ日局⁵⁾に従って調製した。特に示さない限り試薬は，試薬特級を用いた。

3. TLC 分析

3-1 検液の調製

漢方エキス剤約 1 g，対照エキス剤約 1 g および各生薬 1-5 g をそれぞれ秤取し，3 検体一組を平行処理して検液を調製した。抽出操作は，次の1)-5) の操作による。

1) 各検体に水約 30mlを加え加熱溶解後ろ過し，エーテル抽出した(A)，2) 1) の水層をさらに n-ブタノールで抽出した (A-ブタノール)，3) 各検体に希塩酸約 10mlを加え 10分加熱後ろ過し，エーテル抽出した (B)，4) 各検体に有機溶媒 (メタノールまたはアセトン) を加え，加温抽出した (C)，5) 精油定量器 (日局) を用いて，キシレンに抽出した (D)，6) 各検体に水約 30mlを加えて加熱溶解後，イオン交換樹脂 (カチオン交換，IRC 50-オルガノ) を用いて抽出した (E)。

1)-4) で得られた各溶液は，溶媒除去後メタノール 1.0mlに溶解し検液とした。

3-2 展開条件

薄層板は，プレコートシリカゲル (ケイ光剤入り，メルク) を用い，検液塗布量は，10 μ l とした。表 1 に示した展開溶媒系を用い約 10cm 展開後風乾した。

3-3 検出及び判定

検出方法は，紫外線照射下で暗紫色，青白色，黄緑色などのスポット (検 1)，10% 硫酸噴霧後 110°C，20 分加熱で黒一褐色のスポット (検 2)，アニスアルデヒド試液噴霧後 105°C，10 分加熱で黄橙一赤紫色のスポット (検 3)，ジニトロフェニルヒドラジン試液噴霧後 105°C，5 分加熱で黄橙色のスポット (検 4)，ドラーゲンドルフ試液噴霧で橙色のスポット (検 5)，ニンヒドリン試液噴霧後 105°C，10 分加熱で赤紫一紫色のスポット (検 6)，バニリン試液噴霧後 105°C，10 分間加熱で黄一黄橙色のスポット (検 7)，塩化第 2 スズ試液噴霧で黒一褐色のスポット (検 8)，

表 1. 展開溶媒系の組成

番号	溶 媒 組 成
1	n-ブタノール：クロロホルム：メタノール：水 (4:2:1:2) の下層
2	n-ブタノール：酢酸：水 (4:1:2) の上層
3	n-ブタノール：酢酸：水 (4:1:5) の上層
4	クロロホルム：トルエン：ギ酸エチル：ギ酸 (6:5:6:3)
5	クロロホルム：メタノール：水 (6:3:1) の下層
6	クロロホルム：メタノール：水 (6.5:3.5:1) の下層
7	クロロホルム：メタノール (9:1)
8	シクロヘキサン：エーテル (1:1)
9	ジクロロメタン
10	トルエン：ギ酸エチル：ギ酸 (5:4:1)
11	トルエン：酢酸エチル：酢酸 (5:4:1)
12	ヘキサン：ジクロロメタン (7:3)
13	ヘキサン：メタノール (4:0:2)
14	ベンゼン：エタノール (9:1)
15	ベンゼン：メタノール (9:1)
16	ベンゼン：酢酸エチル (10:1)

水酸化ナトリウム試液噴霧で赤橙色のスポット (検)，鉄ミョウバン試液噴霧で黒一褐色のスポット (検 10)，10% 硫酸噴霧後紫外線照射下で，青白色のスポット (検 11) など，各々のスポットの色調と Rf 値を確認した。確認有効スポットは，発色試薬によって特異的に呈色し，漢方エキス剤及び各生薬の検液に確認され，対照エキス剤の検液に出現しないスポットとした。

結果及び考察

漢方 210 処方 に配合される生薬種を，各処方ごとにコンピューター (N 5200-LANFILE 2，日本電気) に入力し，配合頻度，生薬の組合せ方について検討した。210 処方中の生薬種は，169 種であった (同一植物由来の生薬であっても，修治方法，使用部位などが異なれば別種生薬とした)。この内約 40 種が，210 処方中の 10 処方以上に配合されており，組合せ頻度の高い生薬種とともに表 2 に示した。また，210 処方 で使用される生薬種の延べ数は，1635 で，表 2 の 40 種で

表2. 漢方210処方中で頻度の高い組合せ

配合頻度 順位	確認対象 生薬名	組 み 合 せ 順 位														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	甘草 150	大棗 63	芍薬 53	桂枝 53	茯苓 51	生姜 51	朮 45	当帰 42	人参 41	半夏 38	陳皮 37	柴胡 30	黄芩 29	川芎 25	乾生薬24	桔梗 18
2	茯苓 74	甘草 51	朮 39	陳皮 30	生姜 29	人参 27	大棗 25	半夏 25	桂枝 23	芍薬 22	当帰 20	武蔵 18	乾生薬17	柴胡 14	川芎 13	地黃 13
3	芍薬 69	甘草 53	桂枝 39	当帰 34	大棗 29	生姜 24	茯苓 22	川芎 20	地黃 23	朮 18	乾生薬12	半夏 11	黄芩 11	柴胡 11	厚朴 11	
4	大棗 67	甘草 63	生姜 43	桂枝 32	芍薬 29	人参 27	半夏 26	茯苓 26	陳皮 23	朮 20	乾生薬16	黄芩 14	当帰 13	柴胡 11		
5	生姜 65	甘草 63	大棗 43	茯苓 29	半夏 27	芍薬 24	朮 24	桂枝 23	人参 23	陳皮 23	黄芩 14	柴胡 12	厚朴 11			
6	桂枝 64	甘草 53	芍薬 39	大棗 32	茯苓 23	生姜 23	当帰 17	朮 14	半夏 14	人参 13	麻黄 10					
7	朮 57	甘草 45	茯苓 39	陳皮 28	生姜 24	当帰 24	人参 22	大棗 20	芍薬 17	桂枝 14	川芎 13	半夏 12	武蔵 12	乾生薬10		
8	当帰 56	甘草 42	芍薬 34	朮 24	川芎 24	茯苓 20	地黃 20	桂枝 17	陳皮 14	大棗 13	柴胡 13	黄芩 12	生薬 10	茯苓 10	人参 10	乾生薬10
9	人参 53	甘草 41	半夏 30	茯苓 27	大棗 27	生姜 23	朮 22	陳皮 14	黄芩 14	桂枝 13	柴胡 13	当帰 10	乾生薬10			
10	半夏 48	甘草 36	人参 30	生姜 27	大棗 26	茯苓 25	陳皮 20	桂枝 14	黄芩 14	柴胡 13	朮 12	芍薬 11	乾生薬 10	厚朴 10		
11	陳皮 44	甘草 37	芍薬 30	朮 28	大棗 23	生姜 23	半夏 20	人参 17	厚朴 16	当帰 14	乾生薬12	枳実 10				
12	黄芩 38	甘草 29	大棗 14	生薬 14	人参 14	半夏 14	柴胡 14	黄連 14	当帰 12	芍薬 11	山梔子11					
13	川芎 35	甘草 25	当帰 24	芍薬 20	茯苓 13	朮 13	地黃 13	防風 10								
14	柴胡 32	甘草 30	茯苓 14	当帰 13	半夏 13	人参 13	生薬 12	朮 12	芍薬 11	大棗 11						
15	大棗 28	甘草 18														
16	地黃 27	朮 19	芍薬 18	甘草 17	茯苓 13											
17	乾生薬26	甘草 24	茯苓 17	大棗 16	芍薬 12	朮 10	当帰 10	人参 10								
18	厚朴 25	甘草 18	陳皮 16	生姜 11	大棗 11	半夏 10	生薬 10									
19	桔梗 21	甘草 18														
20	武蔵 21	茯苓 18	朮 12													
21	黄連 20	甘草 16	黄芩 14													
22	枳実 20	甘草 10	陳皮 10													
23	黄芩 17	甘草 15	当帰 10													
24	乾姜 17	半夏 11	人参 10													
25	防風 17	甘草 17	川芎 13	荆芥 10												
26	麻黄 17	甘草 17	芍薬 10	桂枝 10												
27	山梔子16	甘草 12	黄芩 12	当帰 10												
28	香附子15	甘草 13	陳皮 12	茯苓 10												
29	麦門冬15	甘草 11														
30	黄柏 14															
31	牡丹皮14	茯苓 10														
32	桃仁 14															
33	石膏 13	甘草 12														
34	杏仁 12	甘草 11														
35	麻黄 12	甘草 10														
36	海狗皮12	甘草 12														
37	木香 12															
38	荆芥 11	甘草 10	防風 10													
39	遠志 10	甘草 10														
40	葛根 9															

1287 と、全体の 78.7% を占めている。これらの生薬の確認試験法を優先的に検討することによって、応用性の拡大を図ることが可能である。

天然の動植物を素材にした生薬は、種々の抽出操作を駆使しても、TLC 分析時に検液から数多くのスポットを認めるため、漢方エキス剤に、必要な生薬が配合されているか否かを検査するには、各生薬に特定な成分のスポットを検出対象にしなければならない。そこで、漢方エキス剤及び各生薬の検液に確認され、対照エキス剤の検液に出現しないスポットで発色試薬によって特異的に呈色し、一連のほかのスポットと比較したとき、大きいかまたは濃いスポットを判定の基準とした。9 処方25種生薬（乾姜、乾生薬は生姜として、白朮、蒼朮は朮として示した）について検討した TLC 条件とスポットの色調、Rf 値を表3に示した。

甘草は、210処方中150処方（71.4%）に配合される重要生薬である。主成分としてグリチルリチン酸が知られているが、検討の結果グリチルリチン酸の他に大きなスポットを認めた。表2に示した15種の生薬と甘草を1:1の比で混合して調製したエキスにおいても、妨害なくこのスポットを認めることが可能であり今回検討した以外の処方でも応用可能と思われる。

芍薬中のガロタン⁶⁾、牡丹皮中のペオノール及び黄芩中のオーゴニン、バイカリン⁸⁾は、鉄ミョウバン試液によって、フェノール性水酸基が呈色したものと思われる。また、芍薬でアニスアルデヒド試液による呈色はペオニフロリン⁹⁾によるものと思われる。

生姜、朮、人参、柴胡、桃仁、升麻中のステロイド類、テルペン類などは、アニスアルデヒド試液及びバニリン試液によって発色することが知られる^{10,11)}。生姜、朮、人参、柴胡、桃仁の検液からは、アニスアルデヒド試液で赤紫—紫色に発色するスポットが、また升麻からはバニリン試液で紫色に発色するスポットが認められた。これらの生薬が同一の処方に配合された場合、相互に確認が困難となるが、表3に示したように展開溶媒系を変えることによって、呈色色調、Rf 値の異なったスポットが得られ、それぞれの生薬を確認可能であった。

桂皮中のシンナムアルデヒド⁷⁾はジニトロフェニルヒドラジン試液、陳皮中のシネフリン¹²⁾及び麻黄中のエフェドリン¹³⁾は、ニンヒドリン試液、大黄中のセンノシッド類¹⁴⁾は、水酸化ナトリウム試液、厚朴中のマグノクラリン¹⁵⁾はドラーゲンドルフ試液、葛根中のプエラリン、

表3. 漢方処方9処方での生薬種確認結果

生薬名	検液調製法	展	検	結果(Rf値)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
甘草	B 〃 〃 〃 C(メタノール) 〃	15	1	青白ケイ光 (0.14)	○	○	○				○	○		
		15	4	橙 (0.20)								○	○	
		10	1	赤青白 (0.50)						○	○	○	○	
		10	4	赤橙 (0.56)								○	○	
		15	1	青白ケイ光 (0.16)				○			○			
10	1	青白ケイ光 (0.35)				○			○					
茯苓	C(アセトン)	8	1	青白ケイ光 (0.48)					○	☆			☆	
芍薬	B C(メタノール)	10	10	紫一黒 (0.22)	○			○	○			○	○	
		4	3	紫 (0.31)	○			○	○					
大棗	C(メタノール) A	2	8	こげ茶 (0.13)	○	○				☆	☆	☆		
		10	3	青 (0.45)						☆	☆	☆		
生姜	A	10	3	赤紫一紫 (0.58)	○	○		○		○	○	○		
桂枝	D 〃	11	4	橙 (0.82)	○									
		12	4	橙 (0.33)				○				○	○	
朮	C(エーテル)	9	3	紫 (0.25,0.73)		○			○	○				
当归	A 〃	15	1	青白ケイ光 (0.28)			○							
		16	11	緑白ケイ光 (0.10)					○					
人参	A(ブタノール) 〃	6	3	紫 (0.33)							○	○		
		1	3	紫 (0.30)							○	○		
陳皮	E 〃	2	6	紫 (0.30)		○								
		3	6	紫 (0.43)							○			
黄芩	B 〃	7	10	こげ茶一黒 (0.53)			○							
		10	10	こげ茶一黒 (0.48)			○					○		
川芎	D	16	5	赤橙 (0.43)					○					
柴胡	A(ブタノール) 〃 〃	5	7	赤紫 (0.62,0.58)			○							
		5	3	紫 (0.54)								○		
		1	3	紫 (0.46)								○		
大黄	B 〃	10	9	赤 (0.93,0.74)			○							
		7	9	赤 (0.92,0.72)			○							
厚朴	C(メタノール)	2	5	橙 (0.34)		○								
麻黄	A	2	6	赤紫 (0.50)				○						
牡丹皮	C(メタノール)	4	10	褐 (0.82)									○	
桃仁	A	13	3	黄緑一紫 (0.75)									○	
升麻	A	11	7	紫 (0.10)			○							
葛根	A	14	1	黒い吸収帯 (0.25)					○					
半夏											×	×		
沢瀉										×				
膠飴													×	

展：展開溶媒系 検：検出方法

確認(○ 可能, ☆ やや困難, × 困難)

1：桂枝湯 2：平胃散 3：乙字湯 4：葛根湯 5：当归芍薬散

6：六君子湯 7：小柴胡湯 8：小建中湯 9：桂枝茯苓丸

ダイズイン¹⁶⁾は、アニスアルデヒド試液によって、それぞれ漢方エキス剤への配合を確認できた。

当帰、川芎は、類似の精油成分を含むため、分離確認が困難であったが、硫噴霧処理によって新たに両者を区別できた。茯苓中のトリテルペノイド¹⁷⁾についての報告例⁴⁸⁾を応用したが、確認は困難であった。しかし、表3に示した条件により当帰芍薬散中の茯苓由来スポットが確認可能となった。

大棗の水溶性糖類¹⁹⁾について、友田らの TLC 条件を検討したところ、桂枝湯、平胃散、葛根湯において確認可能であったが、六君子湯、小柴胡湯、小建中湯への応用は困難であった。半夏、沢瀉、膠飴を配合した処方⁴⁹⁾は、特有成分を含有しないため TLC による確認試験法が確立できなかった。210 処方中には、膠飴等以外に特異成分を含有しない生薬は、硬米、粟、小麦、蜂蜜、鉱石（石膏、滑石、芒硝など）など10数種類がある。

以上9処方25種生薬について検討を行い、22種が確認可能であった。9処方以外に、この22種で構成される処方が37処方あり、また22種以外の他に1種の生薬を追加して構成される処方が45処方ある。これらの処方⁵⁰⁾は、配合量が少しずつ異なるだけで、生薬類は同じであるため、表3の TLC 条件の応用が可能であると思われる。漢方処方中の生薬を確認するのに、TLC 条件を系統的に検討することは、有意義な方法と思われる。

謝 辞

本研究を進めるに当たり、ご指導頂いた、岐阜薬科大学小瀬洋喜教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 久保道徳、谿 忠人：漢方醫薬學，1-52，広川書店，1984
- 2) 厚生省薬務局審査課：漢方エキス製剤の品質確保に関する研究班研究報告について，事務連絡，昭和60年4月5日
- 3) 厚生省薬務局審査課：医療用漢方エキス製剤の取扱について，薬審第120号，昭和60年5月31日
- 4) 日本公定書協会編：医薬品承認審査事例集，昭和49年，薬事時報社
- 5) 日本公定書協会編：第11改正日本薬局方解説書，458-602，広川書店，1986
- 6) Nishizawa, M. Yamagishi, T. Nonaka, G. and Nishioka, I. : Structure of Gallotannin in *Paeonia Radix*, Chem. Pharm. Bull., 28, 2850-2854, 1980
- 7) 高木敬次郎，木村正康，原田正敏，大塚恭男編：和漢薬物学，299-302，南山堂，1982
- 8) 井上 修：製剤中の黄芩成分の定量法，厚生科学研究報告，223-226，1973
- 9) 木島正夫：牡丹皮の化学的品質評価，生薬誌，27, 124-128, 1973
- 10) 石川正幸，原 昭二，古屋 力，中沢泰男：薄層クロマトグラフィー基礎と応用，第4版，南山堂，1970
- 11) E. Merck : Dyeing Reagents for Thin-Layer and Paper Chromatography, Darmstat, 1978
- 12) 木下武司，鮫島美枝子，三川 潮：Citrus 属起源生薬の交感神経作動性物質について，生薬誌，33, 146-149, 1979
- 13) 橋本庸平：麻黄中 l-ephedrine 及び d-pseudo-ephedrine の薄層クロマトグラフィーによる分離定量，薬誌，97, 594-596, 1977
- 14) 鈴木信夫：大黃含有製剤の試験法，厚生科学研究報告，267-284，1979
- 15) 下村裕子：生薬の確認試験法の検討（第1法）厚朴の新確認試験法，生薬誌，33, 16-20, 1979
- 16) 早川順子：生薬及びその製剤の理化学的品質評価に関する研究（第1法）葛根及び葛根湯の分析，薬誌，104, 50-56, 1984
- 17) H. Bohrmann : Studies of the Constituents of Umbelliferae Plants Chromatographic Studies on the Constituents of *Cnidium officinale* MA KINO, Chem. Pharm. Bull, 15, 1606-1608, 1967
- 18) 兼松明子：茯苓のトリテルペノイド，薬誌，90, 475-479, 1970
- 19) 友田正司，朝倉初江，飯田明子：大棗の水溶性糖類（第1法）日本産と中国産大棗の比較，生薬誌，23, 45-48, 1969



解熱鎮痛薬の崩壊と溶出

堀 実代子*, 坂井至通**, 今井準三**

Disintegration and Dissolution of Antipyretic Analgesics Tablets

Miyoko HORI*, Yoshimichi SAKAI** and Junzo IMAI**

はじめに

内用固形医薬品がその薬効を示すには、服用後、体内で崩壊し、主成分が溶出することが必要である。第11改正日本薬局方 (JP11) では、崩壊試験をすべての内用固形医薬品に適用しているが、溶出試験については7品目に適用しているのみである。しかし、薬効の発現には成分溶出が不可欠であることから、最終的にはすべての内用固形医薬品に溶出試験を適用するのが望ましいと考えられる。

これまで、単味剤の溶出試験については多くの報告があるが、大衆医薬品等の複合製剤の溶出試験については、ほとんど検討されていない。

そこで今回、一般用解熱鎮痛薬について、錠剤の崩壊と主成分の溶出との関連について検討したので報告する。

材料および方法

1. 試薬および標準溶液

標準溶液：アセトアミノフェン、カフェイン、エテンザミド (局方品) を、それぞれ、75mg, 25mg, 100mgとり、50%メタノールを加えて溶かし、正確に100mlとした。この溶液各10mlを50mlメスフラスコにと

り、50%メタノールを加えて定容とした。

内部標準溶液：フェノール (特級試薬) 100mgを秤量し、メタノールを加えて溶かし、100mlとした。

その他の試薬はすべて特級を用いた。

2. 試料

市販の解熱鎮痛薬 (素錠) 4品目各2ロットを試料とした。その組成を表1に示した。

表1 解熱鎮痛薬の処方 (1日量; mg)

成分	メーカ			
	A	B	C	D
アセトアミノフェン	600	810	600	300
無水カフェイン	150	180	240	95
エテンザミド	1000	450	1000	1000
ブロムワレリル尿素			400	
チアミンジスルフィド			20	
アスピリンアルミニウム				600
合成ケイ酸アルミニウム				200
合計	2400/8錠	1800/6錠	2400/6錠	2400/6錠

**岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

**Gifu Prefectural Institute of Public Health：6-3, Noishiki 4-chome, Gifu 500, Japan

*岐阜県大野保健所：501-05 岐阜県揖斐郡大野町黒野字塚廻191

*Gifu Prefectural Ohno Health Center：191, Kurono Tsukamawari, Ohno-cho 501-05, Gifu Pref., Japan

3. 装置

崩壊試験器：萱垣医理工業 S.T.S.式

溶出試験器：富山産業 NTR-VS3

高速液体クロマトグラフ (HPLC)：日本分光 Tri-roter

4. 操作法

1) 崩壊試験：JP11の一般試験法，崩壊試験

2) 崩壊重量の測定：各錠剤は，試験筒に入れ，一定時間上下運動させた後，未崩壊の残留物を取り出し，あらかじめ恒量にした秤量びんに入れ，105°で2時間乾燥し，重量を測定した。

3) 溶出試験および溶出試験時の錠剤崩壊重量の測定
試験液には水900mlを用い，回転数は100rpmとし，パドル法で行った。他の条件は，JP11の一般試験法，溶出試験に準じた。

各錠剤を丸底ビーカーに投入し，一定時間後，試験液を9メッシュ金網でろ過した。金網上の残留物は2)と同様に乾燥した後，重量を測定した。ろ液はメンブランフィルター(0.8μm)でろ過した。ろ液5mlに内部標準溶液1mlを加え混合した後，5μlをとりHPLCで測定した。別に，標準溶液1, 3, 5mlをとり，それぞれ水を加えて5mlとしたものに，内部標準溶液1mlを加え，以下，同様に操作して検量線を作成した。得られた検量線から，アセトアミノフェン，カフェイン，エテンザミドの溶出量を求めた。

HPLC条件

カラム：LiChrosorb Rp 18, 5μm (内径4mm×長さ300mm)，溶離液：0.05%炭酸アンモニウム溶液-メタノール(60:40)，流速：0.6ml/min，測定波長：280nm，感度：0.08AUFS

4) 溶解度の測定

アセトアミノフェン，カフェインは各5g，エテンザミドは0.5gをそれぞれ共栓三角フラスコにとり，水50mlを加え，密栓し，37°で時々振り混ぜながら放置した。6時間後各溶液をメンブランフィルター(0.8μm)でろ過し，水で希釈し，吸光度(アセトアミノフェン250nm，カフェイン280nm，エテンザミド290nm)を測定し，溶解度を求めた。

5) 原末の溶解速度試験

アセトアミノフェン，無水カフェイン，エテンザミド

ドの粉末をそれぞれ135mg, 40mg, 167mgとり，3)と同じ条件で溶出試験を行い，経時的に吸光度(4)と同じ測定波長)を測定し，溶解速度を求めた。

結果および考察

1. HPLCによる測定

試料とした4品目すべてに，アセトアミノフェン，カフェイン，エテンザミドが配合されているため，この3成分を同時に測定し，溶出挙動のマーカールとした。

カラム性能は，無水カフェイン0.5μgに対する理論段数が2,500段，アセトアミノフェンと無水カフェインの分離度は5.4であった。

2. 主成分の溶解度

37°の水に対する溶解度は，アセトアミノフェン23mg/ml，無水カフェイン35mg/ml，エテンザミド1.7mg/mlであった。最も低い値のエテンザミドの溶解度は，C社，D社の製品1錠を900mlに溶かした場合のエテンザミドの理論濃度(0.185mg/ml)の約9倍である。

したがって，溶出試験に用いた水900mlは溶出率測定に十分な量であると考えられた。

3. 崩壊試験

4品目各2ロットの崩壊試験の結果を表2に示した。

表2 崩壊試験

メーカー及び ロット	崩壊時間(分)			
	\bar{X}	SD	CV%	範囲
A - 1	7.5	0.7	8.7	6.8~8.4
	2	8.8	0.5	5.4
B - 1	7.9	2.5	31.8	5.4~11.1
	2	10.6	3.6	34.4
C - 1	1.4	0.2	17.6	1.2~1.8
	2	2.6	0.9	35.4
D - 1	1.1	0.2	13.9	0.9~1.3
	2	7.2	1.5	21.1

いずれも、30分以内に崩壊し、JP 11 の規格に適合した。A社の製品は、ロット内、ロット間のバラツキが比較的小さかった。D社では、ロット間で差を認めた。これは打錠圧を変更したことによるものであった。

崩壊試験において、経時的に錠剤の重量を測定し、結果を図1に示した。いずれの試料においても、表2に示した結果と同様に、A社の製品は、ロット内、ロット間のバラツキは小さく、D社の製品は、ロット間に大きな差がみられた。

A, BとD-2は良く似た崩壊曲線を示し、CとD-1も良く似た崩壊曲線を示した。

4. 溶 出 試 験

溶出試験結果および溶出試験における崩壊の結果を図2に示した。

いずれの試料においても、アセトアミノフェン、無水カフェインの溶出曲線と錠剤の崩壊曲線はほぼ一致した。

しかし、エテンザミドの溶出は崩壊より遅れる傾向

が認められた。A社の製品の溶出は比較的速いが、B, C, D社では遅い傾向がみられ、メーカーにより差があることがうかがわれた。

崩壊は、図1に比べ、全般に遅くなる傾向が認めら

表3 アセトアミノフェン、カフェイン、エテンザミド粉末の溶解速度

時間(分)	溶 解 率 (%)		
	カフェイン	アセトアミノフェン	エテンザミド
1		41.6	
1.5	99.4		
3		82.4	
5		95.3	17.1
7		98.8	
10			33.2
15			47.2
20			56.8
40			72.3
60			80.9

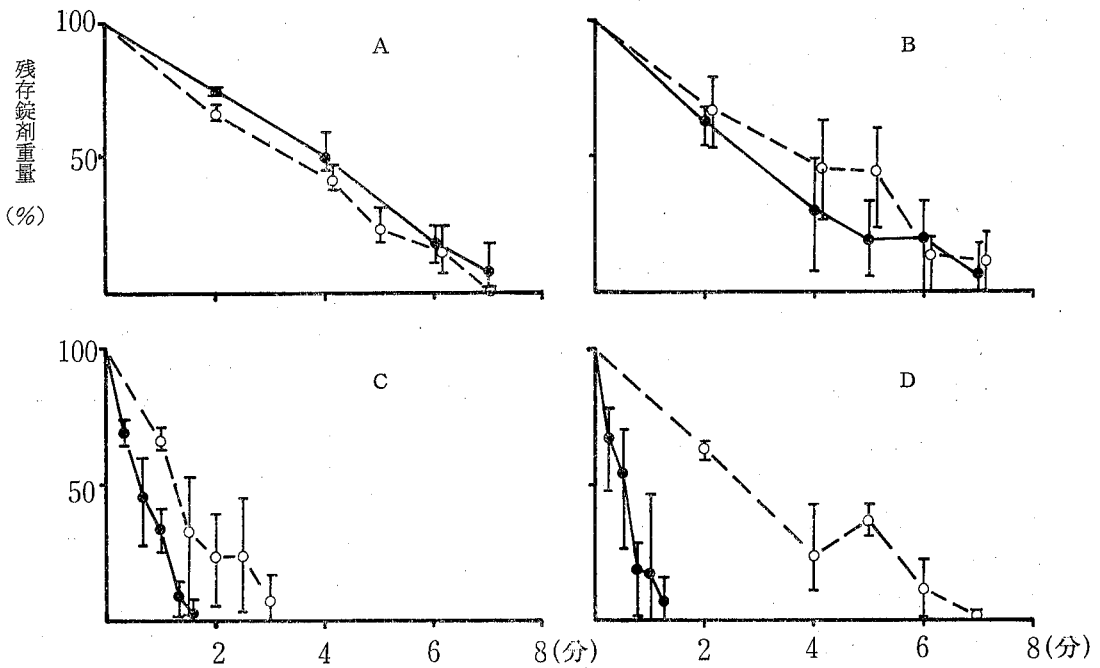


図1 崩壊試験プロフィール

●—● ロット1, ○—○ ロット2
 — 最大値
 ○ 平均値 (n=3)
 — 最小値

れた。これは、溶出試験法の条件が崩壊試験法の条件より緩徐であるためと思われる。メーカー間、ロット間の傾向は図1とほぼ同様で、A、BとD-2、CとD-1はそれぞれ良く似た曲線を示した。

エテンザミドの溶出が遅れるのは、水に対する溶解度が小さいためであると思われるので、アセトアミノフェン、無水カフェイン、エテンザミド粉末の溶解速度を調べた結果を表3に示した。

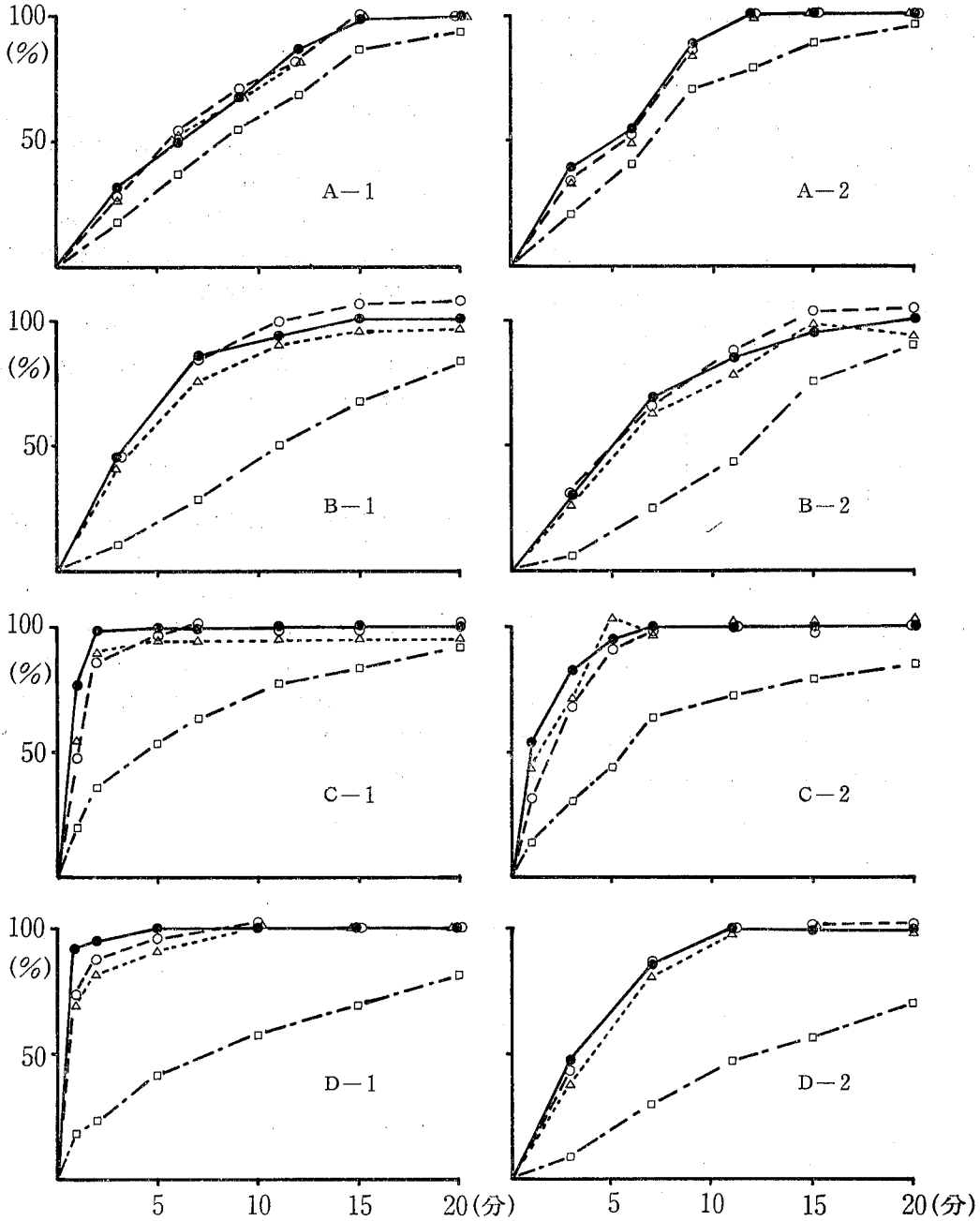


図2 溶出試験における崩壊と成分溶出

●—● 崩壊錠重量, 溶出率: ○—○ アセトアミノフェン
 △·····△ 無水カフェイン, □---□ エテンザミド
 A, B, C, Dはメーカー名, 1, 2はロットを示す

無水カフェインの溶解が最も速く、次いでアセトアミノフェンであった。エテンザミドは、20分で56%、60分で80%の溶解性を示した。このように、エテンザミド粉末の溶解速度は、試料のエテンザミドの溶出より遅い結果が得られた。これは、エテンザミドが疎水性のため、粉末は溶出試験液の表面に浮いてしまい、試験液との接触面積が小さくなったためと思われる。

また、試料のエテンザミドの溶出速度は、図2に示したようにメーカーによって異なると思われたので、各試料の50%崩壊時間と、その時のエテンザミドの溶出率を算定し、表4に示した。

表4 50%崩壊時間とエテンザミドの溶出率

メーカー及びロット	50%崩壊時間 T (分)	T (分) におけるエテンザミドの溶出率 (%)
A - 1	6.2	38
2	5.0	34
B - 1	3.5	13
2	5.0	16
C - 1	0.7	12
2	0.9	12
D - 1	0.5	10
2	3.2	10

D社の製品の溶出率が最も低いが、D社の崩壊顆粒が肉眼で他社品に比べて少し粗大であることが認めら

れた。これが原因かもしれない。また、各1錠を水900mlに溶かした時のpHは、A-1が8.6、B-1が5.5、C-1が5.5、D-1が4.3であり、成分溶出の始まった試験液のpHが、エテンザミドの溶出速度に影響していることも十分考えられる。

ま と め

解熱鎮痛剤（錠剤）中のアセトアミノフェン、無水カフェインの溶出は、崩壊とほぼ同時に進行したが、エテンザミドの溶出は崩壊より遅れた。これは、エテンザミドの水に対する溶解度が低いためである。他にも、崩壊顆粒の大小、成分の溶出した試験液のpHなど、製剤設計にも依存すると思われる。

したがって、崩壊試験の結果のみで解熱鎮痛薬の製剤的評価をするのは不十分であり、溶出試験の適用を図る必要があると思われる。

文 献

- 厚生省：第11改正日本薬局方，厚生省告示第49号，1986
- 米国薬学会，Leeson L. J. and Carstensen J. T. 編：医薬品の溶出，地人書館，1976
- 江島 昭，立沢政義，松田りえ子：混合製剤の分析について(13)高速液体クロマトグラフィーによるかぜ薬中の解熱鎮痛薬の定量，医薬品研究，12，881～891，1981

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

神経芽細胞腫マスキリングの精度 向上に関する検討

(第1報) Dip法の基礎的検討

今井 準三*, 田中 久子*

Study of Mass-Screening for Neuroblastoma

(1) Standardization of Dip-test

Junzo IMAI* and Hisako TANAKA*

はじめに

岐阜県では昭和61年4月より神経芽細胞腫マスキリングを開始した¹⁾。開始にあたり、検査法の標準化のための基礎的検討を加えた。まず、Dip法²⁾についての検討結果を報告する。

実験方法

1. 試薬および試液

1) パニルマンデル酸 (VMA) 標準液: パニルマンデル酸 (東京化成 GR) 20mgを精密にはかり、0.1 N-HClを加えて溶かし、正確に100mlとした (標準原液, 4°保存)。これを水で希釈し、5, 10, 20, 30 μ g/ml溶液を調製した。

2) VMA標準ろ紙: VMA標準液および水を100mlピーカーにとり、ろ紙 (東洋ろ紙 No.63, 1.5 \times 5 cm) を30秒間全浸した。約10秒間ピーカー上で余分な液を切った後、チャック付ポリ袋に入れ、冷凍保存 (-15°) した。

3) 0.1% p-ニトロアニリン溶液: p-ニトロアニリン (特級) 1gに濃塩酸20mlを加え、弱く加熱して溶解し、水を加えて1000mlとした (4°保存)。

4) 0.2%亜硝酸ナトリウム水溶液 (4°保存)。

5) 10%炭酸カリウム水溶液 (用時調製)。

6) 発色試薬: 3), 4), 5)を1:1:2の割合に混合

した。

2. 装置

分光光度計 (日立200-20), 島津二波長クロマトスキャナCS-910

3. 測定法

1) Dip法: 中田²⁾らの方法。

2) デンシトメトリー: Dip後のろ紙を2枚のガラス板 (20 \times 20cm) にはさみ、二波長クロマトスキャナを用いて測定する。

デンシトメトリー条件

受光部: 反射光, リニヤスキャン

測定波長: 試料 550nm

対照 800nm

結果および考察

1. VMA標準液による発色試薬の安定性

VMA標準液 (5 μ g/ml) 5mlと発色試薬5mlを発色試薬調製後、0.5, 1, 5, 10, 20, 30, 60分に混合し、波長510nmの吸光度の時間的変化を調べた (図1)。発色試薬は、調製後時間の経過に伴って吸光度が低くなる (発色能の低下) 傾向がみられた。調製後30秒経過した試薬とVMAとの発色を100としたとき、1分経過したものは約95%、5分以上経過したものは約90%の発色能であった。また、調製後30秒経過

*岐阜県衛生研究所: 500 岐阜市野一色4丁目6番3号

*Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

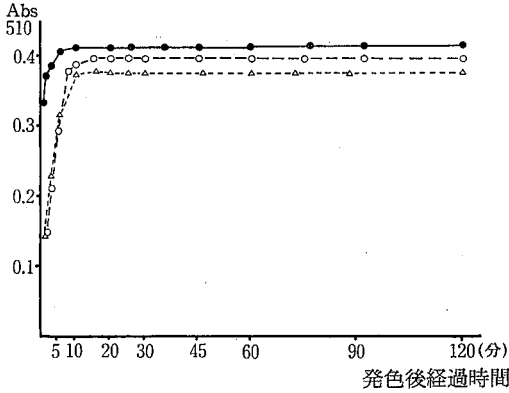


図 1 VMA 標準液による発色試薬の安定性

発色試薬調製後時間：●——● 0.5分，○---○ 1分
△……△ 5～60分

した試薬とVMAを発色させたときの吸光度は、発色後10分に、調製後1分以上経過した試薬では、発色後15分に一定となり、いずれも120分後でも安定であった。

2. Dip 法による発色試薬の安定性

VMA 標準ろ紙 (10 μ g/ml) を、発色試薬調製後、0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 30分に、2秒間ずつ発色試薬に浸漬 (Dip) し、肉眼で判定すると共に、Dip 後 15分より経時的にデンストメトリーを行った (図2)。

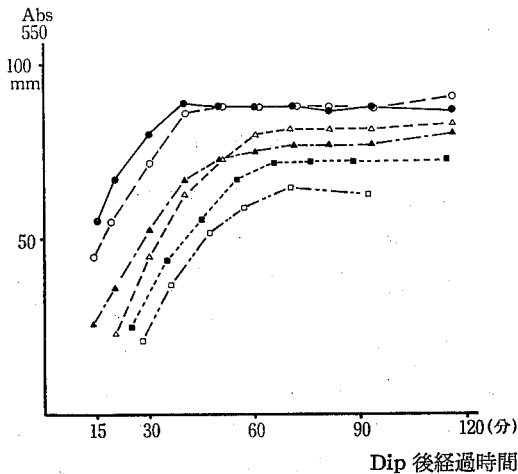


図 2 Dip 法による発色試薬の安定性

発色試薬調製後時間：●——● 0.5分，○---○ 1分
△---△ 2分，▲---▲ 7分
■……■ 10分，□---□ 30分

肉眼判定

VMA 標準ろ紙を発色試薬に Dip 後15分の発色度は、発色試薬調製後30秒と1分で差は認められなかったが、調製後2分の発色度に比べ、若干濃い色であった。また、調製後2～7分の間では、Dip 後約30分で差は認められなくなった。30秒～7分すべてに差が認められなくなったのは、30秒をDip後50分経過してからであった。

デンストメトリー

発色試薬調製後30秒～1分では、Dip 後15分からほとんど差は認められず、40分以上経過後では全く差は認められなかった。調製後2～7分では、Dip 後15～20分からほとんど差は認められず、60分経過以後で一定となった。10～30分では約70分経過後に一定となった。

このように、発色試薬調製～Dipの時間が長くなるにつれ、発色の遅れ、発色度の低下が認められ、1.の標準液の場合よりも差が強く表われた。

したがって、発色試薬調製後1分以内にDipする必要があると思われた。

3. 発色試薬にDipする時間の検討

VMA 標準ろ紙 (20 μ g/ml) を用い、発色試薬に1～8秒間Dipし、15, 30, 60分後の発色度をデンストメーターで測定した (表1)。

Dipする時間は、1～8秒間で発色度に差はなかった。

表1 Dip 時間と発色

Dip(秒)	Abs 550 (mm)		
	Dip後(分) 15	30	60
1	34	46	71
2	36	50	78
3	32	46	76
4	30	45	78
6	32	49	80
8	31	49	86

4. 標準ろ紙調製時の浸漬時間

VMA 標準液 (20 μ g/ml) をビーカーにとり、ろ紙を5, 10, 20, 30, 60, 120秒間全浸して標準ろ紙を調製した。このろ紙を同時に1秒間Dipし、20, 33分後にデンストメーターで測定した (表2)。

浸漬する時間は、5～60秒間で発色度に差がほとんど

表2 標準ろ紙調製時の浸漬時間

浸漬(秒)	Dip後(分)	Abs 550 (mm)	
		20	35
5		65	105
10		67	104
20		67	107
30		70	106
60		66	100
120		76	113

どなかった。そこで、調製時間は20秒間とした。

5. ろ紙の乾燥度と発色

Dip 時のろ紙の乾燥度は、発色試薬のしみこむ量と密接に関係することから、発色の強さに影響することが想像される。

VMA 標準ろ紙 (10 μ g/ml) を架台にセットし、15, 30, 45, 60, 90, 120 分間室温に放置して乾燥させた後、同時に Dip した。15, 30, 45分後にデンストメー

表3 ろ紙の乾燥度と発色

乾燥時間(分)	Dip後(分)	Abs 550 (mm)	
		15	30
15		32	43
30		38	47
45		39	41
60		42	43
90		37	38
120		33	33

ターで測定した(表3)。

Dip 後15分では、乾燥時間30~90分で発色度にほとんど差は認められなかった。Dip 後30分経過すると、乾燥時間15~60分では差は認められないが、90分以上では、ろ紙の中央部の色があまり濃くならず、辺縁部が濃くなっていくのが認められた。

したがって、乾燥時間は30分が適当と考えられた。

ま と め

神経芽細胞腫マスキリングにおける Dip法の標準化のため、基礎的条件を検討した。

発色試薬調製から Dipまでの時間は、一般に言われている2分以内では不十分で、1分以内でなければいけないことを確認した。今後は、標準ろ紙の安定性、試薬の安定性、尿ろ紙の安定性(化)等について検討する必要がある。

文 献

- 1) 今井準三, 田中久子: 岐阜県における神経芽細胞腫マスキリング結果について, 岐衛研所報, 32, 34~37, 1987
- 2) 中田利一, 石井譲治, 児玉京子, 三谷一憲, 土平一義, 山中克己, 磯村修三, 角岡秀彦, 加藤敬純, 長縄伸幸, 正岡 昭, 加藤 浩: DIP法を利用した乳児期における神経芽細胞腫の VMA (Vanillyl-mandelic acid) の検査, 日本公衛誌, 30, 227~233, 1983

岐衛研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

神経芽細胞腫マスキリーニングの精度 向上に関する検討

(第2報) 高速液体クロマトグラフ法による尿中 VMA, HVA 定量法の検討

今井 準三*, 田中 久子*

Study of Mass-Screening for Neuroblastoma

(2) Determination of Urinary VMA and HVA by High Performance
Liquid Chromatography

Junzo IMAI* and Hisako TANAKA*

はじめに

神経芽細胞腫マスキリーニングは、最終的には高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) により、尿中のパニルマンデル酸 (VMA), ホモバニリン酸 (HVA) を定量し、判定するのが一般的である。

岐阜県でも、既述のとおり、Dip 法による一次検査、再検査で陽性を疑われた尿について HPLC により、VMA, HVA の定量を行っているので、システム導入にあたり、定量法の基礎的検討を加えた。

実験方法

1. 試薬および標準溶液

VMA, HVA は東京化成特級および一級、クレアチニン (Cre) は和光純薬特級、他はすべて JIS 試薬特級を用いた。

VMA, HVA 標準液

VMA 20mg を精秤し、0.1N 塩酸を加えて溶かし、正確に 100ml とした (VMA 標準原液)。別に、HVA 40mg を精秤し、0.1N 塩酸を加えて溶かし、100ml とした (HVA 標準原液)。各標準原液 10ml をとり、0.1N 塩酸を加えて 100ml とした。この液 10ml をとり、同様に 0.1N 塩酸で 100ml とした (VMA 2 μ g/ml, HVA 4 μ g/ml)。

2. 装置

高速液体クロマトグラフは、クーロメトリックモニター-655A-26 (日立製) および蛍光検出器 F-1000 (日立製) を装備した 655-A (日立製) を使用した。振とう機は、大洋科学工業 SR-II, ロータリーエバポレーターは東京理化 N-1 を使用した。

2. 定量法

1) VMA, HVA

尿ろ紙よりしぼり出し、0.1N 塩酸で洗い出した尿 0.5ml を 10ml 共栓遠心沈澱管 (円錐形) にとり、0.4N 塩酸 0.5ml, 塩化ナトリウム 0.6g を加えた。これに、酢酸エチル 3ml を加え、10分間振とうする。次に、遠心分離 (2500rpm/min, 5分間) し、酢酸エチル層を 10ml ナシ型フラスコにとった。水層は、更に酢酸エチル 3ml を加え、同様に処理し、先の酢酸エチルに合わせた。酢酸エチルをロータリーエバポレーター (水浴温度 40 $^{\circ}$) を用いて蒸発乾固した。残渣に、0.1N 塩酸 0.5ml を加えて溶かし、ろ過 (0.45 μ m メンブランフィルター) した。ろ液および標準液の各 5 μ l をとり、カラムに注入した。定量は面積法による。

HPLC 条件

カラム: Nucleosil 5C₁₈ (内径 4mm × 長さ 150mm),
溶離液: 0.03M KH₂PO₄ (pH 3.0) + CH₃CN (925

*岐阜県衛生研究所: 500 岐阜市野一色 4 丁目 6 番 3 号

*Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

+75) (10⁻⁴M EDTA2Na加), 流速: 0.7 ml/min, カラム温度: 40°, 検出法: クーロメトリー電解電圧 +0.60V, 蛍光法 Ex 285nm, Em 325nm

2) Cre:Jaffe の反応を用いた方法³⁾.

結果および考察

1. 抽出に用いる塩酸濃度

VMA, HVA 標準液0.5mlに, 0.1, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 1.0N塩酸各0.5mlを加え, 以下定量法に従って操作し, 抽出前の値に対する比率(抽出率)を求めた(表1).

VMA, HVAに0.1~1.0N塩酸で抽出率に差はなかった(VMA: 80~88%, HVA87~94%). そこで, 塩酸濃度は0.4Nとした.

表1 酢酸エチル抽出における塩酸濃度と抽出率

塩酸濃度(N)	抽出率(%)	
	VMA	HVA
0.1	86.6	93.9
0.3	87.6	93.9
0.5	80.0	87.0
0.7	86.1	90.8
1.0	86.6	91.6

2. 抽出溶媒量

VMA, HVA 標準液0.5mlを用い, 酢酸エチル 2, 3, 4, 5mlで各2回抽出したときの抽出率を求めた(表2).

酢酸エチル量は, 2~5 mlで差はなかった(VMA: 80~91%, HVA: 88~100%)ので, 酢酸エチル量は3 mlとした.

表2 抽出溶媒量と抽出率

酢酸エチル(ml)	抽出率(%)	
	VMA	HVA
2	89.9	94.4
3	91.4	88.8
4	80.2	94.8
5	89.2	100

3. 添加回収実験

Dip陰性であった尿ろ紙の残りをしぼり出して得た尿に, VMA, HVA 標準液を加え, 定量法に従って測定した(表3).

VMA, HVA 共に添加回収率は満足できる値であった.

クーロメトリー, 蛍光法の差もみられなかった.

表3 添加回収率

VMA (HVA) 添加量(μg)	VMA (%)		HVA (%)	
	クーロメトリー	蛍光	クーロメトリー	蛍光
0.5 (1.0)	97.7		89.2	
	97.7		95.0	
	89.9		89.1	
0.8 (1.6)		104		106
		95.2		104
		95.5		
		96.4		
1.6 (3.2)	95.0		92.7	
	105		89.7	
		101		99.7
		104		102
		100		92.9
		99.3		106
		100		95.3
	101		99.8	
			99.9	

4. 検量線

検量線は, クーロメトリー, 蛍光法共に, VMA 20 μg/ml, HVA 40 μg/ml まで原点を通る直線性を示した.

5. クーロメトリーと蛍光法の相関

両法の値は良く一致し, 高い相関が認められた(図1).

したがって, どちらの方法でも充分と思われるが, 感度は, VMA では蛍光法が, HVA ではクーロメトリーが優っていた. また, 蛍光法の方が, 他のピークが多く認められる傾向がみられた. 正常者のろ紙尿のクロマトグラムを例を図2に示した.

6. ろ紙からの溶出

Dip陰性であった尿より調製したプール尿A (42名

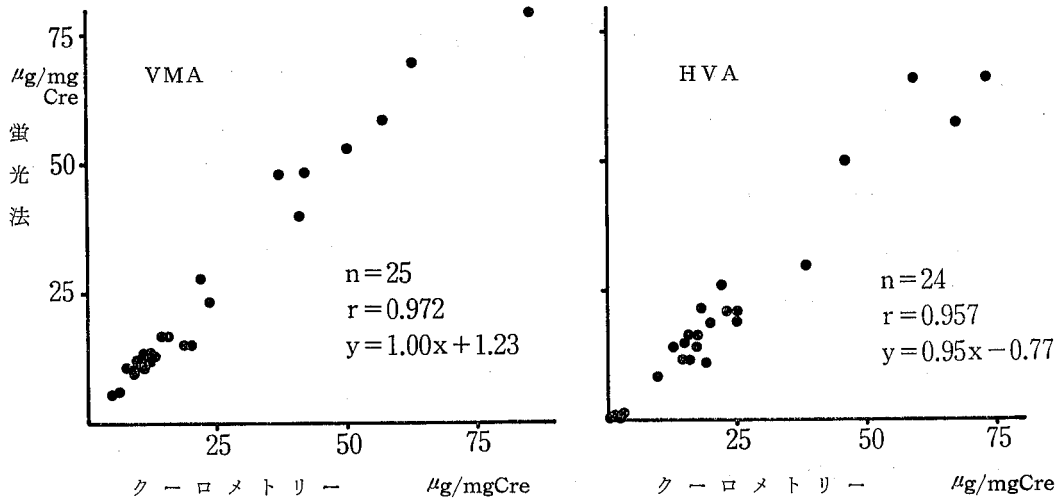


図1 クーロメトリーと蛍光法によるろ紙尿中 VMA, HVA の相関

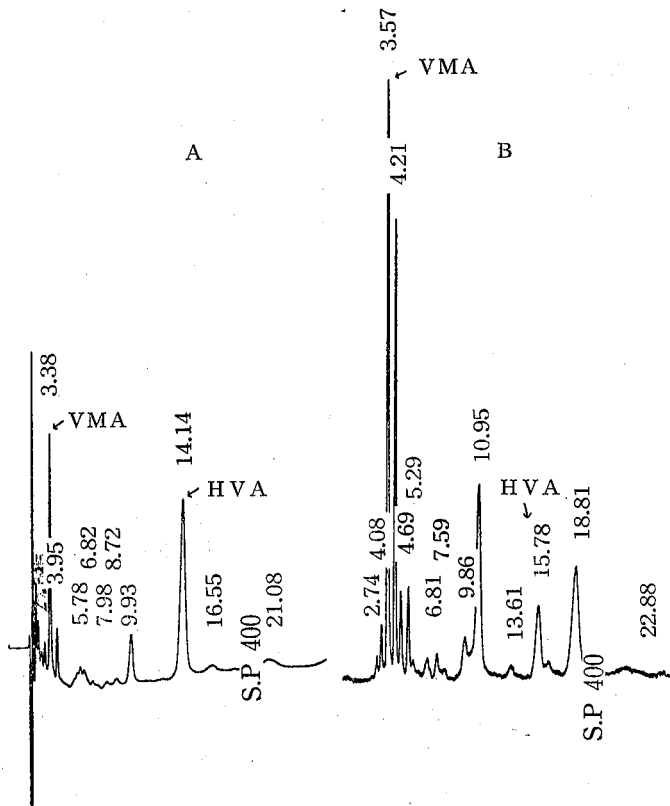


図2 正常者ろ紙尿のクロマトグラム例
A: クーロメトリー B: 蛍光法

分)の0.8mlを正確にとり、Dip用ろ紙(東洋ろ紙No.63, 1.5×50mm)にしみこませた。これをチャック付ポリエチレン袋に入れ、4°に保存し、1日後にとり出し、各2枚を注射筒でしぼり出したままのものと、注射筒でしぼり出した後、0.3N塩酸で洗い出し5mlにメスアップしたのについて定量法に従って、Cre, VMA, HVAを測定した。別のプール尿B(17名分)についても、ろ紙に充分量をしみこませ、同様に4°、1日保存後にしぼり出し、測定した(表4)。

表4 尿ろ紙からの溶出

	プール尿A		プール尿B
	そのまま	メスアップ	そのまま
Cre	96.3	101	94.2
VMA	101	96.6	97.6
HVA	98.0	91.2	91.2

ろ紙にしみこませる前の値を100とした。

Cre, VMA, HVA 共に, しぼり出したまま, 0.3N 塩酸で洗い出したものどちらも, ろ紙にしみ込ませる前の値に対し, ほぼ100%の値を示しており, ろ紙への吸着もなく, ほぼ完全にしぼり出されるものと思われる。

ま と め

神経芽細胞腫マスキリングにおける尿中 VM A, HVA 定量法の標準化のため, 塩酸酸性-酢酸エチル抽出による前処理-HPLCによる測定の基礎的条件を検討した。

この方法は, 他成分の妨害もなく, 感度, 精度共に充分であり, 添加回収率も89~106%と良好な成績が得られた。

また, 尿ろ紙への Cre, VMA, HVA の吸着はみられず, ほぼ完全にしぼり出されることが確認された。

文 献

- 1) 今井準三, 田中久子, 坂井至通, 森下有輝: 岐阜県における神経芽細胞腫マスキリング結果について, 岐衛研所報, 32, 34~37, 1987
- 2) Yoshida, A., Yoshioka, M., Tanimura, T. and Tamura, Z.: Determination of vanilmandelic acid and homovanillic acid in urine by high-speed liquid chromatography, J. Chromatography, 116, 240~243, 1976
- 3) 齊藤正行, 北村元仕, 丹羽正治編: 臨床化学分析Ⅱ, p.78, 東京化学同人, 1968

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.岐阜県における神経芽細胞腫マスキリー
ニング結果について今井準三*, 田中久子*, 坂井至通*,
森下有輝**

Mass-screening of Neuroblastoma in Gifu Prefecture

Junzo IMAI*, Hisako TANAKA*, Yoshimichi SAKAI*

and Yuki MORISHITA**

はじめに

神経芽細胞腫は小児癌の中で白血病に次いで多い疾患であり¹⁾, 少くとも1才くらいまでに発見し, 治療を行えば大部分治癒させることができるといわれる. この腫瘍は, カテコールアミン産生能を有するため, 代謝産物のバニルマンデル酸 (VMA), ホモバニリン酸 (HVA) の尿中排泄量を測定することによりスクリーニング可能である^{2,3)}. 厚生省でも, マスキリーニングの実施を勧めるところとなり⁴⁾, 岐阜県では, 61年4月より Dip法を主体としたシステムで開始した. その結果, 62年3月までに患者1名を発見できた.

今回, 当所に送付された検体のクレアチニン(Cre), VMA, HVA についての知見を報告する.

材料および方法

1. 対象者および採尿方法

対象者は県内在住の6~7ヶ月児(原則)であり, 就寝前におむつの間にろ紙(東洋ろ紙No.63, 1.5×5 cm)を2枚(再検査は5枚)はさみ, 翌朝湿ったままチャック付ポリ袋に入れ, 検査機関(県内3保健所及び本県衛生研究所)に郵送される.

2. 検査方法およびシステム

一次検査: ろ紙2枚(1日分)につき, Dip法により県内3保健所で行う.

再検査: 一次検査でVMAが $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった被検者について, 再採尿(ろ紙5枚ずつ, 連続2日)を行い, 2日分まとめて本県衛生研究所に郵送され, Dip法を行う.

精密検査: 再検査で $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった尿ろ紙の残りより, 尿をしぼり出し, ろ紙は0.1N塩酸を加えて洗い出し高速液体クロマトグラム法により, VMA, HVAを定量し, Cre補正值を求める.

再精密検査: 精密検査で $VMA 20 \mu\text{g}/\text{mg}$ Cre, $HVA 35 \mu\text{g}/\text{mg}$ Cre(カットオフ値)以上の被検者については, 採尿バッグにより生尿を採取し, VMA, HVAを定量する. カットオフ値を超えた場合は, 医療機関受診とする.

結果および考察

1. 検査結果

一次検査で疑陽性と判定され, 再検査として郵送されて来たのは1,256名であった. このうち, 精密検査まで行った数は410名で一次検査受検者の2.5%, 再

*岐阜県衛生研究所: 500 岐阜市野一色4丁目6番3号

**岐阜県公害研究所: 500 岐阜市葦田8-58-2

*Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

**Gifu Prefectural Research Institute for Environmental Pollution: 58-2, Yabuta 8 Chome, Gifu 500, Japan

検査受検者の32.6%であった。再精密検査を行った数は3名で、2名を医療機関受診に付した(表1)。このうち1名が神経芽細胞腫と診断された。その成績を表2に示した。

他の1名はVMAが軽度に増量していたが(VMA21.6, HVA22.8 $\mu\text{g}/\text{mg Cre}$)、病院で神経芽細胞腫は否定された。しかし、肝炎を患っていることが判明した。その後加療途中(1才1ヶ月時)で、一度検査をしたところ、正常値に低下していたので、急性肝炎によりVMAが上昇したものと思われた。

再検査、精密検査で、再精密検査以外に再採尿を依頼した数は51名であった。

その理由で最も多いのが、Creが異常に低いために、VMA, HVAが高い値を示したもので、40名(78.4%)に上っていた。他には、尿が十分しみこんでいない、尿がうすい、便が付着している、発熱疾患で治療薬投薬中、採尿後時間が経過し過ぎているなどであった。

Cre異常低下の原因については、細菌汚染による場合のあることを認めており、対策を含めて検討中である。

表1 昭和61年度検査結果

対象者数 (60.10~61.9)	一次検査		再検査		精密検査		再精密検査	
	受検者数	受検率%	受検者数	受検率%	受検者数	受検率%	受検者数	受検率%
22,588	16,530	73.2	1,256	7.6	410	2.5	3	0.02

表2 患者(女61.12.29生)成績

検査	検査年月日	検査結果
一次検査	61.7.8	Dip $10\mu\text{g}/\text{ml}$
二次検査	61.7.23	Dip $10\mu\text{g}/\text{ml}$ (第1日) 5~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (第2日)
精密検査		VMA 57.3, HVA 59.1 $\mu\text{g}/\text{mg Cre}$ (第1日) VMA 50.3, HVA 46.2 $\mu\text{g}/\text{mg Cre}$ (第2日)
再精密検査	61.8.4	VMA 46.5, HVA 56.4 $\mu\text{g}/\text{mg Cre}$
病院受診	61.8.15	神経芽細胞腫と診断、手術、左副腎より腫瘍摘出 54g, Stage I

再採尿を依頼する場合、児玉の方法に従い、0.5N塩酸をしみこませた脱脂綿を同封し、採尿後この綿をろ紙の上のせ、ポリ袋外側から軽く抑え、塩酸をろ紙全体に行きわたらせるようにして貰っている。こうすれば、Creの異常低下は防止可能で、再採尿のほとんどすべてが正常値範囲内となった。

2. 検査結果の解析

以下に述べる成績を得たる紙尿は、尿ろ紙をしぼり

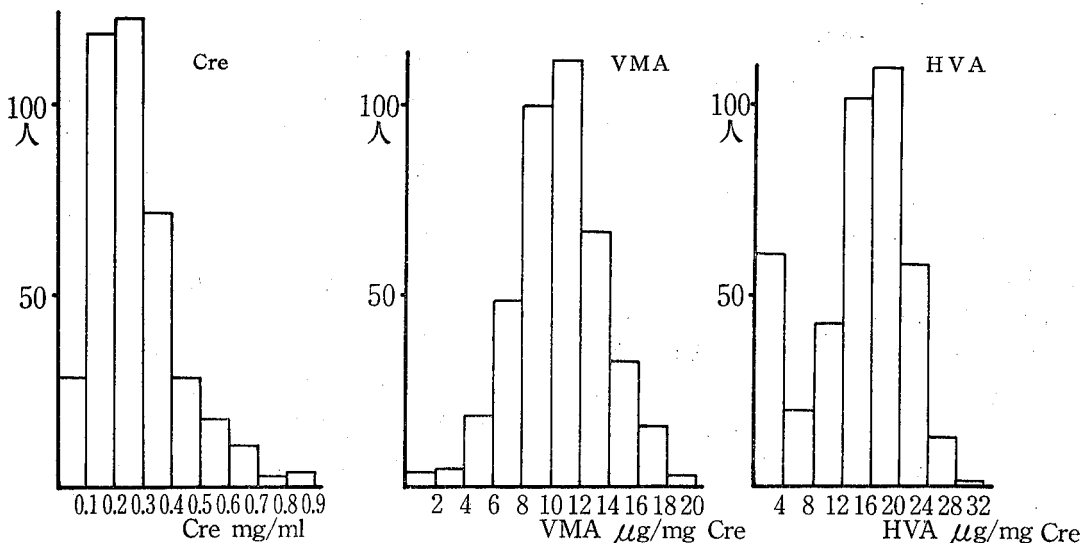


図1 Cre, VMA, HVA のヒストグラム

表3 Cre, VMA, HVA の季節変動

採尿月	61.4	5	6	7	8	9	10	11	12	62.1	2	3	通年
Cre	0.207	0.250	0.314	0.325	0.387	0.363	0.251	0.186	0.246	0.212	0.181	0.209	0.274
VMA	1.9 10.8	2.8 10.4	3.4 10.5	3.0 9.9	3.3 9.1	3.2 9.5	2.5 10.7	1.9 10.0	2.6 10.8	2.2 10.8	2.2 12.4	2.4 11.6	10.5
HVA	3.2 17.4	3.7 13.7	4.7 14.5	4.4 14.4	5.3 13.9	5.5 15.9	3.0 11.8	2.5 12.4	2.2 14.1	2.6 12.9	2.5 14.4	3.0 14.6	13.9
n	2	45	51	51	41	31	41	23	26	27	36	34	408

Dre : $\mu\text{g}/\text{ml}$, VMA, HVA : 上段 ; $\mu\text{g}/\text{ml}$, 下段 ; $\mu\text{g}/\text{mg Cre}$

出した後、0.1N 塩酸を加えて洗い出している⁶⁾ので、尿が希釈されており、希釈率も一定ではない。しかし、同一人が無作為に処理しているろ紙尿であり、例数も多いので、十分比較に耐える成績と考える。

2-1 Cre, VMA, HVAのヒストグラム

Cre の異常低値のため異常値となった検体および再精密検査に移した検体を除いた値のヒストグラムを図1に示した。

Cre は左に片寄った分布を示し、VMA はほぼ正規分布、HVA は $4 \mu\text{g}/\text{mg Cre}$ 以下の値を除外すれば、ほぼ正規分布を示した。

平均値±標準偏差は、Cre が $0.274 \pm 0.152 \text{mg}/\text{ml}$ (範囲 $0.033 \sim 0.881$)、VMA が $10.49 \pm 3.11 \mu\text{g}/\text{mg Cre}$ (範囲 $0.5 \sim 19.0$)、HVA が $13.93 \pm 6.64 \mu\text{g}/\text{mg Cre}$ (範囲 $1.0 \sim 29.8$) であった。

HVA の $4 \mu\text{g}/\text{mg Cre}$ 以下は61名であるが、これらの大部分は、生理的に低値というより、別の要因により低くなったことを推察させる。

2-2 Cre, VMA, HVA 量の季節変動

Cre, VMA, HVA の受付月別の平均値の比較を表3に示した。

濃度 (μg or mg/ml) では、上記3成分はいずれも6~9月に高い傾向が認められた。これは、夏期には発汗等で尿が濃縮されるためと考えられるが、Cre 補正值では季節変動は明らかではなかった。

VMA の濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) が、冬期には夏期の60~70% となるという結果を考えると、Dip 法での判定基準を冬期には夏期に比べ低く設定する必要があるのかもしれない。岐阜県では、Dip 判定基準を $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ にしているが、これ以上低値に設定することは実際上困難と考えられる。

冬期には、特に注意深く Dip 判定を行う必要がある

表4 相 関 係 数

	相 関 係 数
Cre-VMA	0.796*
Cre-HVA	0.765*
VMA-HVA	0.797*

* $P < 0.01$ n=408

ものと思われる。

2-3 Cre, VMA, HVA の相関

Cre, VMA, HVA 間の相関係数を表4に示した。

いずれも高度に有意の相関 ($P < 0.01$) が認められたが、Cre-VMA の相関が最も高く、Cre-HVA が最も低かった。これは、ヒストグラムにみられるように、HVA に低い値が多いためと思われる。

尿の濃度補正には、通常 Cre 補正か比重補正が用いられるが、著者らのようにろ紙を塩酸で洗い出している場合には、比重補正は使えない。

Cre と VMA, HVA の相関が高いことは、Cre 補正值の妥当性を示すものと思われるが、本当に Cre 補正で良いのか確認するには、Cre, VMA, HVA の日内、日間リズム測定等詳細な検証が必要と思われる。

ま と め

昭年61年度に実施したマスキングの結果のうち、主に再検査として当所に送付されたろ紙尿の Cre, VMA, HVA 値について検討を加えた。

検体不良で再提出を求めた中で、最も多かった理由は、Cre 値が異常に低いために Cre 補正值が高くなったためである。この主因は、細菌汚染によると推定されるが、確定的な原因究明は今後の課題である。

また、尿中の Cre, VMA, HVA 濃度 (μg or mg/ml) は、夏期(6~9月)に高く、冬期に低い値を示すことが認められたので、冬期の Dip 判定は、特に注意深く行う必要があるものと思われた。

文 献

- 1) 母子愛育会編：神経芽細胞腫 マススクリーニング，23~28，大門出版，1984
- 2) 沢田 淳：神経芽細胞腫マススクリーニングの現状と問題点，癌の臨床，28，681~687，1982
- 3) 母子愛育会編：神経芽細胞腫 マススクリーニング，29~36，大門出版，1984
- 4) 厚生省児童家庭局長：神経芽細胞腫検査の実施について，児発第573号，昭和59年7月10日
- 5) 中田利一，石井譲治，児玉京子，三谷一憲，土平一義，山中克己，磯村修三，角岡秀彦，加藤敬純，長縄伸幸，正岡 昭，加藤 浩：DIP法を利用した乳児期における神経芽細胞腫のVMA (Vanillylmandelic acid) の検査，日本公衛誌，30，227~233，1983
- 6) 今井準三，田中久子：神経芽細胞腫マススクリーニングの精度向上に関する検討(第2報)高速液体クロマトグラフ法による尿中VMA, HVA 定量法の検討，岐衛研所報，32，30~33，1987
- 7) 齊藤正行，北村元仕，丹羽正治編：臨床化学分析Ⅱ，78，東京化学同人，1968
- 8) 大石誠一，佐藤辰男：バニリルマンデル酸，広範囲血液・尿化学検査，免疫学的検査，日本臨床，43，秋季臨時増刊号，850~852，1985
- 9) 今井準三，田中久子，後藤喜一，森下有輝，河合信：神経芽細胞腫スクリーニング検査におけるろ紙尿のクレアチニン異常低下の解析，日衛誌，42(1)，511，1987
- 10) 児玉京子：私信
- 11) 高杉信男，佐藤泰昌，花井潤師，辻 慶子，田口武，前田博之，青木 襄，武田武夫，神経芽細胞腫マス・スクリーニング——尿中の VMA・HVA 値による判定について，日本医事新報，No.3216，28~32，1985
- 12) 水田満里，海佐裕幸：広島県における神経芽細胞腫のマス・スクリーニングについて(第1報)——ろ紙尿中の VMA, HVA 測定値とその判定について——，広島県衛研研究報告，33，41~44，1986

岐衛研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

陰イオン交換樹脂—原子吸光々度法による 清涼飲料水中のカドミウム及び鉛の定量

白木 康一*, 杉谷 哲*, 河合 信*

Determinations of Cadmium and Lead in Soft Drink Samples by Atomic Absorption Spectrometry—Anion Exchange Resin Column

Koichi SHIRAKI*, Akira SUGITANI* and Makoto KAWAI*

はじめに

清涼飲料水中のカドミウム (Cd), 鉛 (Pb) の分析には, 一般的に湿式灰化あるいは乾式灰化が前処理法として用いられている。工業用水には, 陰イオン交換樹脂を用いて Cd を分析する方法も採用されている。日色等は, 海水に微量に含まれる Cd の濃縮に陰イオン交換樹脂を適用し, KORKISCHらは, 陰イオン交換樹脂の Cl 形を Br 形に置換したカラムを用いた Cd, Pb, Cu の定量法を報告している。我々は, 陰イオン交換樹脂 Dowex 1-X 8, Cl 形を臭化水素酸 (HBr) で Br 形にしたカラムと溶離液として 0.5N 硝酸溶液との組合せを, 清涼飲料水中の Cd, Pb の分離に応用した。本法は, 精度, 感度共に湿式灰化法に匹敵したので, その内容を報告する。

材料及び実験方法

1. 試料

市販のポリエチレン容器入(1)及び缶入清涼飲料水(2)を用いた。

原材料名: (1) 砂糖, ぶどう糖果糖液糖, 酸味料, 着香料

(2) 果汁, 砂糖, ぶどう糖果糖液糖, 酸味料, 着香料

2. 試薬

塩酸, 硫酸, 硝酸, アンモニア水: 和光純薬工業(株)製の精密分析用を用いた。

N, N-ジメチルジチオカルバミン酸ナトリウム水和物 (DDTC), クエン酸アンモニウム, 硫酸アンモニウム, 酢酸 α -ブチル, メチルイソブチルケトン (MI BK) 及び標準液 (Cd, Pb, Fe, Zn, Sn): 和光純薬工業(株)製の原子吸光分析用を用いた。HBr, ブロムチモールブルー (BTB), シュウ酸アンモニウム: 和光純薬工業(株)の特級を用いた。

陰イオン交換樹脂: ダウケミカル社製 Dowex 1-X 8, 100~200メッシュ, Cl 形を用いた。

3. 装置

原子吸光々度計: 日立308型, 日立製作所

振とう機: KMシェーカーVD型, イワキ

フラクシヨコレクター: SF-160K, トーヨー

4. 陰イオン交換樹脂カラムの調製

樹脂 4 g に 6 M 塩酸 5 ml を加えて攪拌し, 内径 1 cm, 長さ 34 cm のガラスカラムにつめた後, カラムを蒸留水 30 ml, 1 N 硝酸 50 ml, 蒸留水 20 ml で順次洗浄し, 次いで 1.5 M HBr 50 ml 及び 0.15 M HBr 30 ml をカラムに流し, 樹脂を Cl 形から Br 形にした。

5. 陰イオン交換樹脂カラムを用いた定量方法

試料 100 ml に 8.3 M HBr 1.8 ml を加えた後, 4 で調製

* 岐阜県衛生研究所: 500 岐阜市野一色 4 丁目 6 番 3 号

* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

したカラムに 5 ml/min 以下の流速で試料を流し、Cd, Pb を吸着させる。次いで 0.15M HBr 20 ml で洗浄後、0.5N 硝酸 90 ml を 5 ml/min 以下の流速で流し、Cd と Pb を溶離させて蒸留水で 100 ml にした。これを分液ロートに 50 ml とり、12.5% クエン酸アンモニウム溶液 1 ml を加え、BTB 溶液を数滴加え、アンモニア水で約 PH 7 に調整した後、10% DDTC 5 ml を加え数分放置後、酢酸 n-ブチル 10 ml を加えて振とう抽出する。抽出後、酢酸 n-ブチル層を原子吸光分析に供し、Cd 及び Pb を測定した。

6. 湿式灰化法

食品衛生法に定める方法によった。すなわち、検体 100 g をとり水浴上で濃縮した後、水 10 ml を用いて分解フラスコへ移し、濃硫酸 8 ml、濃硝酸 10 ml を加え加熱し、時々硝酸 1~2 ml を加え分解する。冷後、水 15 ml 及び飽和シュウ酸アンモニウム 10 ml を加え白霧が生ずるまで加熱する。冷後、水を加えて全量を 50 ml とした。これを 10 ml とり 2.5% クエン酸アンモニウム 2 ml、BTB 2 滴を加え、アンモニア水で中和後、40% 硫酸アンモニウム 2 ml を加え、水を加えて 20 ml とした。次いで 10% DDTC 2 ml を加えて数分放置後、MIBK 10 ml を加え振とう抽出する。抽出後 MIBK 層を原子吸光分析に供し、Cd, Pb を測定した。

結果及び考察

I. 溶離曲線

Cd 10 µg, Pb 250 µg を加えて 100 ml とした 0.15M HBr 溶液を 4 で調製したカラムに 5 ml/min 以下の流速で流し、Cd, Pb を吸着させる。次いで 0.5N 硝酸 90 ml を 5 ml/min 以下の流速で流し、フラクシヨコレクターにより 5 ml ずつ分取し、測定した結果を図 1 に示した。Cd, Pb とも 15 ml から 60 ml までに溶出した。この結果から以後の操作には、溶離の安全性をみて 90 ml を採取した。

II. 陰イオン交換樹脂量の検討

Cd, Pb の吸着、溶離に対する適切な条件を得るため陰イオン交換樹脂量 2~7 g について、Cd 10 µg, Pb 100 µg を加えた 0.15M HBr 溶液を用い、その影響を 5 の方法に従って検討した。(表 1)。この結果からどの陰イオン交換樹脂量でも、Cd, Pb の回収率は、Cd 99.1~99.5%, Pb 96.2~100.5% とほぼ全量吸着、溶離された。次いで逆に陰イオン交換樹脂を 4 g に固定したカラムに対し、Cd, Pb の各量 (Cd 1~1000 µg, Pb 10~10000 µg) での吸着、溶離量を検討した。図には示さなかったが、回収率は、どの量でも Cd 96.2~101.1%, Pb 98.1~101.6% の範囲で、ほぼ全量吸着、溶離された。ただし操作し易い点から、陰イオン交換樹脂量は、4 g とした。

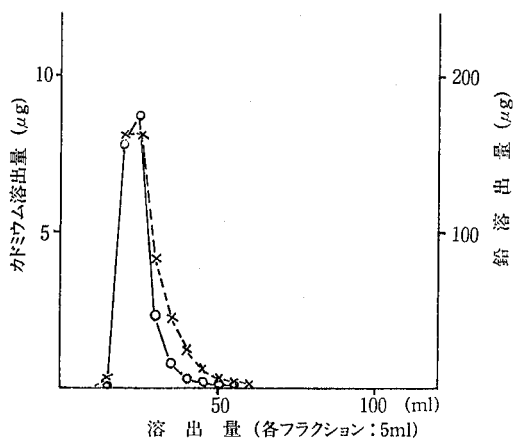


図1 カドミウムと鉛の溶出曲線

○—○ カドミウム：0.15M 臭化水素酸溶液 100 ml に 10 µg を添加
 ×---× 鉛：0.15M 臭化水素酸溶液 100 ml に 250 µg を添加

表1 カドミウムと鉛の回収率に及ぼす樹脂量の影響

樹脂重量 (g)	カドミウム			鉛		
	添加量 (µg)	測定値 (µg)	回収率 (%)	添加量 (µg)	測定値 (µg)	回収率 (%)
2	10	9.91	99.1	100	96.2	96.2
4	10	9.95	99.5	100	100.5	100.5
5	10	9.93	99.3	100	99.3	99.3
7	10	9.90	99.0	100	98.4	98.4

* : 0.15M 臭化水素酸溶液 100 ml に添加

III. 吸着、溶離時の流速の検討

Cd 10 µg, Pb 200 µg を加えた 100 ml の 0.15M HBr の溶液を用い、吸着及び溶離時の流速 (1~5 ml/min) の影響を 5 の方法に従って検討した (図 2, 図 3)。吸着時及び溶離時の回収率は Cd と Pb 96.5~100% の範

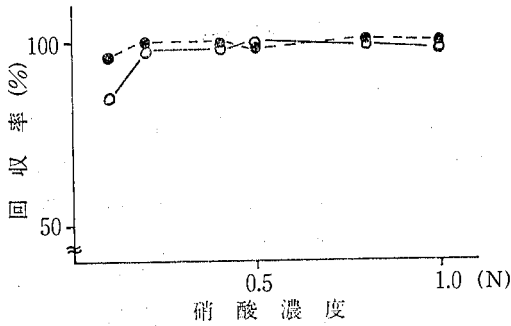


図2 試料溶液の流速によるカドミウムと鉛の回収率への影響

○—○ カドミウム ●---● 鉛

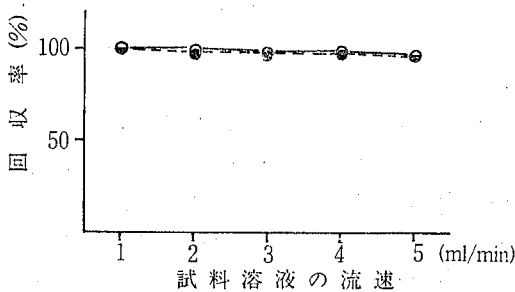


図3 溶離液の流速によるカドミウムと鉛の回収率への影響

○—○ カドミウム ●---● 鉛

囲であった。これらの結果は、両金属ともに全量吸着、溶離し得ることを示すものであって、吸着、溶離時の流速を 5 ml/min 以内とした。

IV. 試料溶液中の HBr 濃度の検討

陰イオン交換樹脂を Br 形化した後、Cd, Pb の吸着率に及ぼす試料溶液の HBr 濃度の検討を行った。0.05M~1.5M HBr の濃度とした試料液 (Cd10 μ g/100

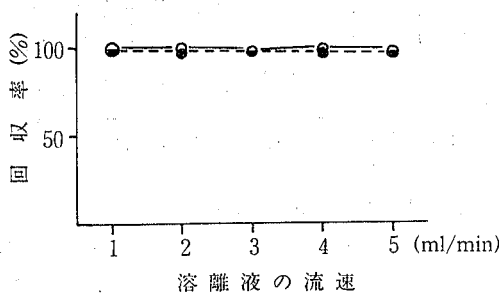


図4 試料中の臭化水素酸濃度の影響

○—○ カドミウム ●---● 鉛

ml, Pb 100 μ g/100ml) について5の方法に従って吸着率を検討し、その結果を図4に示した。この濃度の範囲における吸着率は、Cd 93.0~104.7%, Pb 92.5~98.1%を示し、検討したどのHBr濃度でも吸着率に差はなかったが、しかしCd, Pbとも吸着率が若干よかった0.15Mを試料溶液のHBr濃度とした。

V. 硝酸濃度の検討

溶離液の硝酸濃度とCd及びPbの溶離との関係を0.1~1.0N硝酸を用いて5の方法に従って検討し、結果を図5に示した。0.1N硝酸におけるCd, Pbの回収率がやや低いことから、溶離液の硝酸濃度は、0.5Nとした。

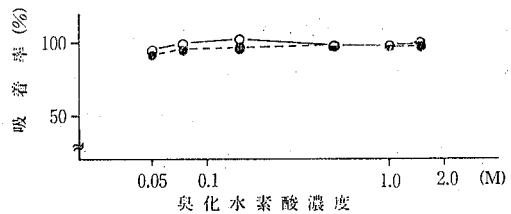


図5 溶離液の硝酸濃度の影響

○—○ カドミウム ●---● 鉛

VI. 鉄、亜鉛及びスズの影響

缶入清涼飲料水では、スズが溶出することも考えられ、スズ、鉄、亜鉛がCd, Pbの陰イオン交換樹脂への吸着に及ぼす影響について調べるため、20 μ g/ml濃度の鉄、亜鉛、スズの各溶液を用い、それぞれCd 1 μ g/100ml, Pb 50 μ g/100ml溶液を調製し、5の方法に

表2 各種共存金属*のカドミウムと鉛の回収率に及ぼす影響

金 属	添 加 (μ g)	測 定 値 (μ g)	回 収 率 (%)
Cd	1	0.996	99.6
		0.993	99.3
		0.993	99.3
Pb	50	47.6	95.1
		48.8	97.6
		48.5	97.0

* 共存金属: Sn, FeとZn

試料溶液: 0.15M 臭化水素酸溶液 100ml中に2mgのスズ、鉄と亜鉛を含む

従ってその影響を検討した結果を表2に示した。スズ、鉄、亜鉛いずれもCd、Pbの回収率〔Cd、97.7% (n=4)、Pb96.6% (n=4)〕に影響を与えなかった。

Ⅶ. 湿式灰化法との比較

1. 試料で示した原材料のポリエチレン容器及び缶に入った清涼飲料水を用い、湿式灰化法と本法による測定値の比較を表3に示した。

本法と湿式灰化法との結果は、極めてよく一致した。湿式灰化法は、試料の濃縮及び灰化に手間、時間がかかるが、本法は、試料を直接陰イオン交換樹脂に通すため、カラムの調製から、Cd、Pbの溶離までに

表3 本法と湿式灰化法との比較

No.	金属	本法(x)		湿式灰化法(y)		相関係数 回帰直線
		添加量(μg)	測定値(μg)	添加量(μg)	測定値(μg)	
1	Cd	1.0	0.918	1.0	0.957	r=0.9997 y=0.9745x+0.0575
2			0.922		0.968	
3			0.963		0.978	
4		2.0	1.940	1.956		
5			1.900	1.914		
6			1.960	1.956		
1	Pb	50.0	46.67	50.0	46.98	r=0.9994 y=0.9572x+2.017
2			46.67		46.28	
3			45.84		45.95	
4		100.0	95.12	94.42		
5			95.55	93.62		
6			97.56	93.99		

No.1~3: 100mlの缶入り清涼飲料水

No.4~6: 100mlのポリエチレン容器入り清涼飲料水

2時間ほどですむので時間が短縮でき、操作も簡便である。

まとめ

硫、硝酸灰化する代りに、清涼飲料水中のCd、Pbを測定するのに陰イオン交換樹脂による方法を検討し、良好な結果が得られた。すなわち、試料100mlに8.3MHBrl.8mlを加え、Br形陰イオン交換樹脂カラムに流速5ml/min以下で流してCd、Pbを吸着させ、0.5N硝酸90mlを流速5ml/min以下で通塔し、両金属を溶離させた後、DDTC-酢酸n-ブチルで抽出、原子吸光度計により測定した。

Cd、Pbの回収率〔Cd97.7% (n=4)、Pb96.6% (n=4)〕に鉄、スズ、亜鉛は、影響を与えなかった。

本法による添加回収率は、Cd91.8~98.0%、平均95.1%(n=6)、Pb91.2~97.6%、平均94.4%(n=6)と満足できる回収率が得られた。

本法と湿式灰化法による測定値の相関は、Cd、r=0.9997、Pb、r=0.9994とよく一致した。

以上の検討結果から、本法は、短時間で操作も簡便であり、清涼飲料水中のCd、Pbの定量法として実用的である。

文献

- 1) 厚生省食品衛生関係法規集1, 1051~1054
- 2) 工業用水試験方法, JIS, K0101, 174, 1986
- 3) 日色和夫, 川原昭宣, 田中 孝: 分析化学・22, 1210~1215, 1973
- 4) J. KORKISCH, A. SORIO: Analytica chimica Acta, 76, 393~399, 1975

〈他誌掲載論文〉

大量生産方式で製造されるもやしの食品衛生学的研究

第1報 正常もやしと不良もやしの細菌相の解析
後藤 喜一, 所 光男

防菌防黴誌 15(2), 55~60 1987

大量生産方式で製造される正常もやしおよび軟弱、褐色化した不良もやしについて腸内細菌を中心とした細菌相の解析を行い、次のような結果を得た。

(1) マッペ発芽後第1日目で $10^6/g$ レベルの一般細菌数が計測され、その菌数レベルは収穫時期まで5日目に $10^6/g$ レベルに低下したことを除外すれば、 $10^6/g$ レベルが維持された。一方、不良もやしの一般細菌数は $10^6/g$ レベルに達した。

(2) 細菌相を形成する主要細菌は *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Erwinia*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* であり、*Enterobacter* が最も優勢な菌種であった。

(3) 不良もやしの細菌相の構成菌は正常もやしのものと大差がないが、*Alcaligenes*, *Erwinia* が細菌相に占める割合が高かった。

(4) マッペに内臓されていたコリネ型菌は実験室内での無菌生育させたもやし茎中で $10^5 \sim 10^6/g$ レベルの菌数まで増殖した。

魚網を用いた接解ばっ気法による汚水処理に関する実験的研究

南部敏博, 山田不二造 (岐阜衛研)
金子光美 (摂南大, 工学部)

水, 28(6), 18~24, 1986

接触材として魚網を用いた接解ばっ気法の処理特性を知るため、パイロットプラントを作製し、浄化槽および都市下水を用いてそれぞれ約1年間処理実験を行い、特に水質の処理特性と汚泥発生量の面から評価した。

流入水として用いた原水は、BOD/N比が異なっていたが、両処理実験とも処理水のBOD, COD, SSは、流入水質の変動、季節変化に影響されず、安定した良質のものが得られた。しかも、維持管理はほとんど不必要であった。

また、汚泥発生量は、水温およびSS負荷やBOD負荷と密接に関連していたが、BOD容積負荷が $0.11 \text{ kg/ml}\cdot\text{day}$ 程度以下で運転すれば、発生量は非常に少なかった。

シイタケにおけるカドミウム結合成分

大江章夫*, 杉谷 哲*, 山田不二造*

食衛誌, 27(3), 252~257 (1986)

シイタケのホモジネート中の高分子量(約10,000以上)分画には、分子量450,000以上のFr-A, 約40,000のFr-Bと約9,000のFr-Cの3つのカドミウム(Cd)含有成分が存在した。これらを処理するとFr-AからFr-A1 (MW約3,500), Fr-BからFr-B1 (MW約3,500)とFr-B2 (MW約40,000), Fr-CからFr-C1 (MW約3,500)のCd結合物質が得られた。Fr-A1, Fr-B1, Fr-C1は、分子量が等しいことから同一物質であることが示唆され、各々Fr-A, Fr-B, Fr-C分画の各成分に弱く結合していたものが解離したものと考えられるが、その物質については今回明らかにし得なかった。Fr-B2のCd結合物質は、酸性アミノ酸と糖の含量が比較的多い糖タンパクであることを明らかにした。

*岐阜県衛生研究所

高速液体クロマトグラフィーによる ブリ中のチアンフェニコールの定量

大塚公人*, 堀部京子, *杉谷 哲*
山田不二造*

食衛誌, 27(3), 263~266 (1986)

ブリ中のチアンフェニコール(TP)残留量を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により定量する方法を検討した。試料からTPをアセトニトリルで抽出し、抽出液をn-ヘキサンで洗浄、5%塩化ナトリウム溶液-酢酸エチル分配後、フロリジルカラムで精製した。フロリジルをn-ヘキサン、エチルエーテルで洗浄後、アセトンでTPを溶出し、HPLCに供した。充てん剤としてTSK gel ODS-120 Tを用い、メタ

ノール水 (15:85v/v%) で溶離後, 225nm で測定した. TP を 0.1, 0.2及び 0.5ppm 添加したときの回収率はそれぞれ82.9%, 87.7%, 94.1%であり, 最小検出量は 1.25ng であった. 市販のブリ5検体について本法を適用したところ, いずれの検体からも TP は検出されなかった.

* 岐阜県衛生研究所

高速液体クロマトグラフィーによる牛肉及び牛腎臓中のカナマイシンの定量

中屋謙一*, 杉谷 哲*, 山田不二造*

食衛, 27(3), 258~262 (1986)

牛肉あるいは牛腎臓中のカナマイシン (KM) をト

リクロロ酢酸抽出し, CG-50カラムでクリーンアップ後, *o*-フタルアルデヒドで蛍光誘導体とし高速液体クロマトグラフィーで定量する方法を開発した. カラムは TSK gel ODS-120 T, 移動相はメタノール-水-アセトニトリル (65:30:5), 蛍光検出器 (励起波長 335 nm, 蛍光波長 440nm) で検出した. KM を牛肉に 0.2, 0.5, 1.0ppm また腎臓に 0.5ppm 添加したときの回収率はそれぞれ 85.4, 91.0, 94.8% 及び 80.0% であった. 定量限界は, 0.04ppm であった. 本法を KM 投与の明らかなウシの筋肉 6 部位に適用したところ, すべての部位より KM が検出された (0.05~0.23ppm). また左右腎臓からは各々 16.2, 19.0ppm 検出された.

* 岐阜県衛生研究所

学 会 報 告

◦ 漢方製剤の薬事衛生学的研究 (第2報) 生薬エキスによる変異原抑制作用について

坂井至通, 日比 誠, 山田不二造 (岐阜衛研)
永瀬久光, 小瀬洋喜, 佐藤孝彦, 山田敦子
(岐阜薬大)

日本薬学会第106年会 昭和61年4月 千葉市

◦ もやし製造用種子に内蔵される細菌類について

後藤喜一, 所 光男 (岐阜衛研)
日本防菌防黴学会第13回年次大会 昭和61年5月
相模原市

◦ 黄色ブドウ球菌分離培地の検討

所 光男, 長野 功, 後藤喜一, 渡辺 実
(岐阜衛研)

第32回東海公衆衛生学会 昭和61年6月 浜松市

◦ 医薬品中のグリチルリチンの測定について

堀実代子, 坂井至通, 今井準三 (岐阜衛研)
永瀬久光, 小瀬洋喜 (岐阜薬大)

日本薬学会東海支部大会 昭和61年7月 静岡市

◦ 柴胡エキス中の変異原性増強作用物質に関する研究

新川美紀, 坂井至通*, 小瀬洋喜, 佐藤孝彦,
永瀬久光, 鬼頭英明, 佐藤元泰, 水野瑞夫
(岐阜薬大, *岐阜衛研)

第15回日本環境変異原学会 昭和61年10月
東京都

◦ 黄色ブドウ球菌分離培地の検討

所 光男, 長野 功, 後藤喜一, 渡辺 実
(岐阜衛研)

第7回食品衛生微生物研究会 昭和61年11月
東京都

◦ 黄色ブドウ球菌の新しい分離培地

—No.3 培地について—

所 光男, 長野 功, 後藤喜一, 渡辺 実
(岐阜衛研)

第1回日本細菌学会中部・関西合同支部総会
昭和61年11月 下呂町

◦ 高速液体クロマトグラフィーによる牛肉中のカナマイシン, デストマイシン, ハイグロマイシンの定量

中屋謙一, 杉谷 哲, 河合 信 (岐阜衛研)

第52回日本食品衛生学会 昭和61年11月 高知市

◦ Anti-Mutagenicity of Extracts from Crude Drugs in Chinese Medicines

Y. Sakai, M. Kawai (Gifu Prefectural Institute of Public Health)

H. Nagase, Y. Ose, T. Sato, T. Shimizu, M. Mizuno (Gifu Pharmaceutical University)

11th Federation of Asian Pharmaceutical Association, Dec, 1986, Bangkok (Thailand)

◦ 1985年岐阜県における手口足病の流行について

三輪智恵子, 渡辺 豊

第32回東海公衆衛生学会 昭和61年6月 浜松市

◦ 岐阜県内流行ウイルス型の血清疫学的研究

(昭和59~60年流行のkokosackier B1型について)

川本尋義, 三輪智恵子

第32回東海公衆衛生学会 昭和61年6月 浜松市

岐阜県に流行したインフルエンザ

猿渡正子

第32回東海公衆衛生学会 昭和61年6月 浜松市

◦ 一地域で流行した無菌性髄膜炎の病原ウイルスの多様性について

三輪智恵子, 渡辺 豊

第34回日本ウイルス学会総会 昭和61年10月
福岡市

◦ 急性出血性結膜炎 (AHC) ウイルスの血清学的研究

第9報 岐阜県におけるEH24/70浸淫状況の血清学的解析

川本尋義

第34回日本ウイルス学会総会 昭和61年10月
福岡市

岐阜県衛生研究所報投稿規定

1. 投稿者は当所職員であることを原則とする。
2. 投稿の区分は次の通りとする。

○研究(調査)報告	(原稿用紙20枚以内)
○資料	(〳 15 〳)
○研究速報(短報とする)	(〳 10 〳)
○他誌掲載論文抄録	(〳 2 〳)
3. 原稿は、定められた期日までに学術委員会に提出すること。
4. 原稿はB5版400字詰横書き原稿用紙を用いる。
5. 研究報告、表題、著者名、英文表題(前置詞、接続詞、冠詞以外、イニシアルを大文字、他は小文字、著者名は、本人が常用しているローマ字を用いて名、名字の順とし、Kōtarō TAKAMURAのようにする)、英文抄録、総括、序文、材料および方法、成績、考察、謝辞、文献の順とする。

所属、住所は和文、英文の順に欄外に入れる。英文は前置詞、接続詞、冠詞以外イニシアルを大文字、他は小文字とする。
6. 資料および研究速報、研究報告に準ずるが、英文抄録は特に必要としない。
7. 他誌掲載論文抄録、表題、著者名、掲載雑誌名(巻、頁、年号)および抄録とする。
8. 表題は簡潔にし、続報のものは必ず副題をつけ、その前にアラビア数字で1., 2.などの番号をつける。
9. 外来語は片かな、外国人名は外国語(タイプ又はブロック体)とする。
10. 表は方眼紙または同型の白紙を用い、表の上には「表1., Table 3.」などの番号と表題を明瞭に書く。

図(写真を含む)は、他の方法で表わし難いもののみとし、1報につき5図以内とする。1図1枚とし、そのまま製版できるように墨書(黒インキでもよい)する。図の下に「1., Fig. 1」などの番号と表題および図中の文字(数字を含む)を鉛筆で明瞭に書く。

英文抄録を付した報告については原則として表、図共に英文とし、標題は前置詞、接続詞、冠詞以外イニシアルを大文字にし、他は小文字とする。
11. 図表および写真は、本文とは別にして本文中挿入すべき場所の欄外に赤色でその位置を明示する。
12. 文献は本文中引用個所右肩に小さく番号^(1,2)のように片括弧をつける)を付し、最後にまとめて次の方式に従って記載する。

○雑誌の場合

著者名: 表題, 雑誌名, 巻(ゴシックにする), 頁, 年号(西歴)(例: Stark, R. L. and Duncan, C. L. : Purification and Biochemical Properties of Clostridium perfringens Type A Enterotoxin, Infect. Immunity, 6, 662-673, 1972)

○単行本の場合

著者名: 書名, 版数, 頁, 発行所, 年号(西歴)ただし、頁については、全内容を総括的に引用した場合は不要とする。(例: Conn, E. E. and Stumpf, P. K. : Outlines of Biochemistry, 1st ed., 83-85, John Wiley & Sons, Inc., 1963)
13. 著者校正は初校のみとする。その際新たな追加あるいは変更をしないこと。
14. その他所報編集に関し、必要な事項は学術委員会において決定する。

<監 修>

河 合 信

<編 集 委 員>

杉 谷 哲, 所 光 男, 川 本 尋 義
南 部 敏 博

岐 阜 県 衛 生 研 究 所 報 No.32
昭 和 6 2 年 1 0 月
Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health No.32
1 9 8 7

編集発行：岐 阜 県 衛 生 研 究 所
岐 阜 市 野 一 色 4 丁 目 6 番 3 号 〒 5 0 0
TEL <0582> 46-1 1 0 1
Editorial Gifu Prefectural Institute
Office of Public Health :
6-3, Noishiki 4 chome,
Gifu 500, Japan

印刷所 水 野 印 刷 紙 工 株 式 会 社
岐 阜 市 下 川 手 413 〒500 ☎<0582>71-6248
