

t 2 1 1

ISSN 0385-1575

岐 衛 研 所 報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

岐 阜 県 衛 生 研 究 所 報

第 2 5 号

昭 和 5 5 年

Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health

No. 2 5

1 9 8 0

岐 阜 県 衛 生 研 究 所

Gifu Prefectural Institute
of Public Health

Noishiki 4 chome, Gifu, Japan



目 次

<調査研究>

拭取検体から神奈現象陽性株が検出された腸炎ビブリオ食中毒について……………	1
手足口病の主因ウイルス, Coxsackie virus A-16 および Enterovirus 71 に対する消毒薬の効果……………	6
簡易水道の着色原因とその除去について……………	12
岐阜県苗木町城山周辺の湧水中ラドン含量と水質について……………	18
カドミウム投与ラット尿中の γ -グルタミルトランスペプチターゼおよびグリ シルプロリンジペプチルアミノペプチダーゼ活性について……………	24

<資 料>

岐阜県におけるインフルエンザB型の疫学的研究……………	29
カドミウム-EDTA キレート化合物を含む廃水の実験室的処理……………	35
高速液体クロマトグラフィーによる血清中フェナセチンの定量……………	38
陶磁器製食器の重金属調査……………	41

<短 報>

今冬(1979—1980)岐阜県に流行したインフルエンザについて……………	45
高速液体クロマトグラフィーによる衣類中の遊離ホルムアルデヒドの微量分析……………	48

<他誌掲載論文>……………

51

<学会告報>……………

58

CONTENTS

(ORIGINAL ARTICLE)

Detection of Kanagawa Phenomenon Positive <i>Vibrio parahaemolyticus</i> from Swab Material in an Outbreak of Food Poisoning.....	1
Inactivation of Coxsackievirus A-16 and Enterovirus 71 by Germicides.....	6
Color Origin and its Removal at the Small Water Supply.....	12
The Relation between Radon Content and Water Quality in Spring-Water around Shiroyama in Naegi, Gifu Prefecture.....	18
Effect of Cadmium Administration on the Urinary Excretion of γ -Glutamyltranspeptidase and Glycylproline Diaminopeptidase in the Rat.....	24

(REPORT)

Epidemiological Studies of Influenzavirus Type-B in Gifu Prefecture, from 1968 to 1977	29
Experimental Treatment of the Cd-EDTA Complexing Wastewater.....	35
Determination of Phenacetin in Serum by High Speed Liquid Chromatography.....	38
Surveys of Heavy Metals Extracted from Glazed Ceramic Wares.....	41

(SHORT COMMUNICATION)

On the Influenza Outbreaks in this Winter, 1978-1980, in Gifu Prefecture.....	45
Microdetermination of Free Formaldehyde in Commercial Clothing by High Speed Liquid Chromatography.....	48
<i>Papers and Abstracts in Other Publications</i>	51
<i>Presented Themes at Conferences and Society Meetings</i>	58

岐衛研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

拭取検体から神奈川現象陽性株が検出された腸炎ビブリオ食中毒について

所 光 男*, 後 藤 喜 一*, 山 田 不 二 造*,
河 瀬 操**, 佐 橋 隆**, 清 水 栄 治**

Detection of Kanagawa Phenomenon Positive *Vibrio parahaemolyticus* from Swab Material in an Outbreak of Food poisoning

Mitsuo TOKORO*, Kiichi GOTO*, Fujizo YAMADA*,
Misao KAWASE**, Takashi SAHASHI** and Eiji SHIMIZU**

An outbreak of food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus* occurred in Kagamihara city, August 1979. *Vibrio parahaemolyticus* (O4:K8) strains were isolated from the feces of patients. And the same serovar organisms were also isolated from the swabs of containers of sliced fishes which were suspected as the causative food. They gave positive reaction in the test of the Kanagawa phenomenon. In outbreaks of food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus*, the majority of isolates from infected individuals gave positive reaction in the test of Kanagawa phenomenon, while almost all of the strains isolated from the causative food and swab materials were negative reaction in the test. Accordingly, various factors concerning the isolation of Kanagawa phenomenon positive strains from swab materials were discussed.

総 括

1979年8月各務原市で発生した腸炎ビブリオ食中毒事例で推定原因食品(まぐろ, かじぎ, いかのさしみ)が入っていた発泡スチロール製の皿の拭取材料から患者由来株と同一の血清型の神奈川現象陽性株が分離された。そこで、本食中毒事例において拭取材料から神奈川現象陽性株の分離しえた要因について、疫学的ならびに細菌学的角度から考察を加えた。

序 文

腸炎ビブリオ食中毒においては患者糞便から分離された腸炎ビブリオのほとんどの株は神奈川現象(以下KPと略す)陽性株であるが原因食品および調理器具などの拭取材料からは、KP陽性株が分離されることはほとんどない。

仮に検出されたとしても原因食品、調理器具等の拭取材料から分離されたKP陽性株の血清型は患者由来

株の血清型に一致することは稀である。¹⁾ 岐阜県においても1969~1978年の10年間に腸炎ビブリオ食中毒は76件発生しているが、患者の喫食した残品の入手は極めて困難で、推定原因食の参考食品の検査にとどまり、KP陽性菌株は検出されていない。

著者らはこのKP陽性株が分離し難い点を解明する1つの手段として、食中毒発生に際しては、患者が実際に喫食した残品の入手に努めた。その結果、1979年

* 岐阜県衛生研究所: 500 岐阜市野一色4丁目6番3号
Gifu Prefectura Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500 Japan

** 岐阜県伊奈波保健所: 500 岐阜市司町1番地
Gifu Prefectural Inaba Health Center: 1, Tsukasamachi, Gifu 500, Jaoan

8月16日～19日に発生した食中毒事例で推定原因(まぐろ、かじき、いかのさしみ)を入れてあった発泡スチロール製の皿の拭取材料から、患者由来株と同一のKP陽性、血清型 O4:K8 の腸炎ビブリオが分離できた。本報ではその大要を報告する。

材料および方法

1. 被 検 材 料

(1) 糞便：8月19日患者8名について直接採便法で採便した。

(2) 拭取材料：8月20日原因施設のプラチックまな板、木製まな板、冷蔵庫および従業員2名の手指を常法の拭取法で拭き取った。患者宅の台所のゴミ箱内に放置されていた推定原因食品の入れてあった発泡スチロール製の皿3枚についても常法どおり拭き取った。

2. 分 離 法

患者の糞便は SS, DHL, TCBS, マンニット食塩の各培地に直接塗抹培養を行った。サルモネラ、腸炎ビ

ブリオ、ウエルシュ菌の増菌培養としては、それぞれセレンナイト培地、アルカリ性ペプトン水、クックドミート培地を用いた。原因施設の拭取材料は常法による一般生菌数、DHL 培地による生菌数の測定および TCBS, マンニット食塩の各培地に直接塗抹培養を行った。従業員の手指の拭取材料はマンニット食塩培地に直接塗抹培養を行った。発泡スチロール製の皿の拭取材料は TCBS 培地に直接および食塩ポリミキシンブイヨンによる増菌培養を塗抹培養した。

3. 同定および生化学的性状検査

分離株の同定および生化学的性状検査は常法に準じて行った。

4. 血清型別法

O群別は市販(東芝化学製)の腸炎ビブリオ(O群別)診断用血清を用い、120°C60分間処理菌によるスライド凝集反応により行った。

K抗原型別は K1～6I までは市販の腸炎ビブリオ(K型別)診断用血清を、K63およびK64は自家製の抗血清を用いスライド凝集反応により行った。

Table 1. An outbreak due to *V. parahaemolyticus*

Description	Outbreak
Date	August 16-19, 1979
Location	Kagamihara city
No. affected	10
Mean incubation period (hour)	19.5
Food responsible	Sliced raw fish

Table 2. Clinical symptoms manifested by the patients

No. of subjects	10
Diarrhea	10
Abdominal pain	10
Nausea	9
Vomiting	6
Weariness	8
Fever	6
Tenesmus	3
Headache	2

成 績

1. 疫 学 的 調 査

本事例の概要は表1に示したように、1979年8月15日～18日の3日間(16日は休日)に各務原市の魚介類販売業Tから購入した刺身(まぐろ、かじき、いか)を喫食した10名に下痢、腹痛を主徴とした症状が発現した。患者10名の共通食品はこの刺身(まぐろ、かじき)以外には認められなかった。潜伏時間は16～26時間(平均19.5時間)であった。症状の発現状況は表2に示すように下痢、腹痛、嘔気、脱力感が主徴であった。患者10名はN医院で診療をうけているが3～4日で回復している。なお、原因施設の魚介類販売業Tが販売したまぐろおよびかじきの刺身は、まぐろは14日に60kg、17日に19kg、18日に15.5kgを仕入れたもの(推定340食分)、かじきは13日に63kg、14日に50kgを仕入れたもの(推定400食分)であった。

2. 細菌学的検査

8月19日患者8名の糞便について腸炎ビブリオおよびその他の既知病原菌の検査を行った。推定原因食品は入手できなかったが、患者宅の台所のゴミ箱の中に24時間以上放置されていた推定原因食品(まぐろ、かじき、いかのさしみ)を入れてあった発泡スチロール

Table 3. Isolation of *V. parahaemolyticus* from fecal specimens and vehicles

Source	No. of specimens tested	No. of positive	No. of isolates	Serovar	Kanagawa phenomenon	
					Human RBC	Horse RBC
Feces of patients	8	5	15	O4: K8	+	-
Swab of vessel made of polystyrene	3	3	9	O4: K8	+	-
			3	O10: K?	-	-

Table 4. Biochemical characteristics of isolates

Characteristics	GI-48*	GI-53**	Characteristics	GI-48	GI-53
Indole	+	+	Sucrose	-	-
Methyl red	+	+	Maltose	+	+
Voges-Proskauer	-	-	Rhamnose	-	-
H ₂ S (TSI)	-	-	Raffinose	-	-
NO ₃	+	+	Trehalose	+	+
Oxidase	+	+	Xylose	-	-
Liquefaction of Gelatin	+	+	Mannitol	+	+
Hydrolysis			Adonitol	-	-
Starch	+	+	Dulcitol	-	-
Esculin	-	-	Inositol	-	-
Decarboxylase			Sorbitol	-	-
Lysine	+	+	Salicin	+	+
Ornithine	+	+	NaCl Tolerance		
Arginine dihydrolase	-	-	0% NaCl	-	-
Gas from glucose	-	-	3% NaCl	+	+
Fermentation of			7% NaCl	+	+
Glucose	+	+	10% NaCl	-	-
Arabinose	+	+	Kanagawa phenomenon		
Cellobiose	+	+	Human RBC	+	+
Lactose	-	-	Horse RBC	-	-
			Motility	+	+

* : GI-79-V-48 (O4: K8) isolated from feces patients

** : GI-79--53 (O4: K8) isolated from swab of vessel made of polystyrene

製の皿3枚の拭取材料について8月20日腸炎ビブリオの検査を行った。また原因施設の拭取および従業員2名の手指の拭取材料についても8月20日に検査を実施した。これらの結果は表3に示すように患者糞便5件、発泡スチロール製の皿の拭取材料3件から腸炎ビブリオが分離された。しかし、他の食中毒起因菌はいずれの検体からも検出されなかった。腸炎ビブリオの分離された平板上の集落のうち患者糞便については3個を、発泡スチロール製の皿の拭取材料については4個を釣菌し、血清型とK Pを検査した。患者糞便から

分離された腸炎ビブリオ菌株15株はすべて血清型O4: K8, K P陽性であった。一方、発泡スチロール製の皿の拭取材料から分離された腸炎ビブリオ菌株12株については、3菌株は血清型O10: K不明 (K1~64の血清型に該当しない), K P陰性であったが、残り9菌株は患者由来株と同一の血清型O4: K8, K P陽性の腸炎ビブリオであった。患者糞便由来株 GI-79-V-48, 発泡スチロール製の皿から分離された GI-79-V-53株を代表株に選び生化学的性状を36項目について検討した。表4に示すように分離株GI-79-V-48 と GI-

79-V-53 は全く同一の生化学的性状を有していた。

考 察

腸炎ビブリオ食中毒事例では原因食品および調理器具等の拭取材料から患者糞便由来株と同一の血清型の K P 陽性株が分離された報告は我妻らの 3 事例⁹⁾、秋山らの 5 事例¹⁾、湯田の 7 事例¹⁾、木下らの 1 事例¹¹⁾、花岡らの 2 事例の計 18 事例の報告がなされているのみで、食品からの K P 陽性株の分離はかなり困難であるとされている。この原因の一つとして腸炎ビブリオ食中毒は、原因食品が生魚介類が多いことから、原因食品がほとんど残っていないのが実状であり、推定原因食品の細菌学的検査は参考食品（原因食と同じ魚屋のものなど）の検査で代用している点があげられる。そこで、著者らは食中毒発生に際しては患者が実際に喫食した食品の残品の入手に努めた。その結果、1979年8月16日～19日に発生した食中毒事例で患者宅の台所のゴミ箱に放置してあった推定原因食品を入れてあった発泡スチロール製の皿 3 枚から、患者由来株と同一の血清型の K P 陽性株を分離できた。

今回の事例で注目される点は第 1 に原因施設の魚介類販売業 T で 8 月 15 日～18 日（16 日は休店であるので実質は 3 日間）にまぐろさしみ（推定 340 食分）、かじきさしみ（400 食分）と多量に販売されたにもかかわらず確認された患者は 10 名と非常に少ない点である。このことは魚の腸炎ビブリオ汚染は全体汚染でなく部分的汚染であったことを暗示している。第 2 に注目される点は患者発生は 3 日間にまたがっていたにもかかわらず分離株の血清型は同一であった点である。このことは販売されたまぐろおよびかじきは 2～3 回にわけて仕入れられたものであることから考えると 3 日間共通に存在した汚染源による二次的汚染が推測される。この汚染源の解明は今回の疫学調査では解明できなかった。

湯田¹³⁾は、K P 陽性株が分離された食品を検討し、K P 陽性株が分離されやすい食品の調理形態として加熱魚介類即ち、加熱により付着細菌叢の菌数が減少した魚介類に K P 陽性株が二次汚染し増殖した状態をあげている。今回の事例の推定原因食品は加熱処理はされていないが、まぐろおよびかじきは冷凍魚であり、室温で解凍している。花岡¹⁴⁾は魚介類の凍結、解凍は付着細菌を減少させるばかりでなく、腸炎ビブリオの増殖が生鮮魚介類に比較して非常に良くなることを報告している。今回の事例は凍結、解凍により付着細菌叢が減

少したまぐろおよびかじきに何らかの汚染源から K P 陽性株が二次汚染し、室温（8 月 15 日～18 日の平均気温は 29.3°C（岐阜県気象月報¹⁵⁾）で増殖したことが推測される。このように考えると今回のまぐろおよびかじきのさしみも湯田が指摘した K P 陽性株が分離されやすい食品の調理形態に一致する。

木下¹¹⁾らは推定原因食品の入っていた乾燥したからの弁当箱から患者由来株と同一の血清型の K P 陽性株を分離したと報告している。今回の事例の発泡スチロール製の皿はゴミ箱内に 24 時間以上放置されていたものであり、しかも、分離された腸炎ビブリオは K P 陰性の血清型 O10 : K 不明株に比べ K P 陽性の血清型 O4 : K8 株が優勢をしめていた。これらの事実は、何の栄養もない弁当箱や発泡スチロール製の皿に付着した K P 陽性株を含む菌叢は保存条件によっては K P 陽性株の生存に有利に作用することを暗示している。

食品由来株の K P の問題の解明のためには、(1) K P 陽性株が分離された事例の集積、(2) その事例の徹底的解析、(3) 解析の結果からたてられた仮説の実験的証明が不可欠である。今後この方面の研究が望まれる。

謝 辞

御校閲をいただきました岐阜大学医学部鈴木祥一郎教授に深甚の謝意を表します。

本論文の要旨は第 13 回腸炎ビブリオシンポジウム（1979, 11, 大阪市）において発表した。

本研究には昭和 54 年度本県調査研究費の一部を使用した。

文 献

- 1) 湯田和郎：腸炎ビブリオ食中毒の原因食品と拭き取り検体から神奈川現象陽性株の検出成績，医学と生物学，94，529-531，1977
- 2) 厚生省環境衛生局：食品衛生検査指針 II 食品別，第 1 版，308-310，日本食品衛生協会，1978
- 3) 厚生省環境衛生局：食品衛生検査指針 I 検査法別，第 1 版，103-106，日本食品衛生協会，1973
- 4) 坂崎利一，島田俊雄：微生物検査必携 細菌・真菌検査，第 2 版，228-240，日本公衆衛生協会，1978
- 5) 所光男，後藤喜一，山田不二造，岡崎秀信，高橋正浩，寺田友次：腸炎ビブリオの新 K 抗原型，日細菌誌，34，413-415，1979
- 6) 所光男，後藤喜一，山田不二造，三宅正俊，山本

- 孝一, 寺田博, 大洞剛, 武藤銀次郎, 大橋富男, 高橋治郎, 谷口徹夫: 新K抗原型を有する腸炎ビブリオの血清学的検討 II 腸炎ビブリオ (O4: K63), 岐衛研所報, No. 24, 27-31, 1979
- 7) 所光男, 後藤喜一, 山田不二造, 寺田友次: 腸炎ビブリオの新K抗原型 (K64), 日細菌誌, 34, 861-862, 1979
- 8) 所光男, 後藤喜一, 山田不二造, 山本孝一, 中村哲夫, 渡辺周一: 新K抗原を有する腸炎ビブリオの血清学的検討 III 腸炎ビブリオ (O1: K64), 岐阜衛研所報, No.24, 32-35, 1979
- 9) 我妻正三郎: 腸炎ビブリオの溶血試験用培地について, メデイヤ・サークル, 13, 159-162, 1968
- 10) 秋山昭一, 滝沢金次郎, 長島喜美子, 松島章喜, 宮本泰: 腸炎ビブリオ食中毒の生態, モダンメデイア, 15, 204-208, 1969
- 11) 木下喜雄, 塚本定三, 品川邦汎, 山本博之, 中原正良, 加藤亮哥: 腸炎ビブリオK15による集団食中毒発生事例 (枚方市敬老会事件) について, メデイヤ・サークル, 15, 115-118, 1970
- 12) 花岡正秀, 岡田陽一, 宮本三郎, 吉村陽, 来住輝彦: 腸炎ビブリオ食中毒関連食品からの神奈川現象陽性株の検出について, 大阪市立環境科学研究所報告, 40, 164-165, 1977
- 13) 湯田和郎: 食中毒時における溶血性腸炎ビブリオの原因施設別・検体別・地域別検出状況, 医学と生物学, 95, 183-186, 1977
- 14) 花岡正春, 岡田陽一, 宮本三郎: 低温域における生鮮魚介類中腸炎ビブリオの消長, 大阪市環境科学研究所報告, 39, 193-197, 1976
- 15) 岐阜地方気象台, 財団法人日本気象協会岐阜支部: 岐阜地方気象台気象表, 岐阜県気象月表, 第19巻第8号, 5, 1979

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.手足口病の主因ウイルス, Coxsackievirus A-16
および Enterovirus 71 に対する消毒薬の効果

野田 伸 司, 渡 辺 実, 山 田 不 二 造

Inactivation of Coxsackievirus A-16 and Enterovirus 71 by
Germicides

Nobuji NODA, Minoru WATANABE and Fujizo YAMADA

summary

Antiviral effects of germicides against Coxsackievirus A-16 and Enterovirus 71 were investigated.

Both viruses are inactivated by halogenic compounds, ethanol, sublimate and formalin. No effect is observed at the bactericidal concentration of phenol, cresol and several detergents. Similarity of inactivation rate of the both viruses to the germicides was recognized except for formalin.

Sublimate is highly effective to Cox. A-16 and Entero.71 at the same inactivating level to AHC virus. Ethanol showed lesser effectiveness to these viruses than to Echo-7 virus.

総 括

手足口病の主因ウイルス Cox. A-16 と Entero. 71 に対する各種消毒薬の不活化効果について実験を行った。

両ウイルスはハロゲン系薬剤, エタノール, 塩化第2水銀, ホルマリンに感受性を示し, フェノール, クレゾールおよび活面活性剤には不活化効果を受けなかった。又, 両ウイルスは, ホルマリンを除いて消毒薬に対する感受性は極めて近く, 他のエンテロウイルスよりもホルマリン, 塩化第2水銀には感受性であり, エタノールには抵抗性であった。

序 文

著者らは前報¹⁾でポリオ-I型, エコー7型, コクサッキー-B5型およびAHCの4種のエンテロウイルスに対する各種消毒薬の効果について実験を行ない, 有効な消毒薬が数種あり, しかもウイルスタイプによって著しく感受性の異なることを報告した。今回は, 手足口病 (Hand, Foot and Mouth Disease: HFMD) の主因ウイルスとして皮膚粘膜に主症状を示す Coxsackievirus A-16 (CA-16)^{2~4)} と中枢神経症状の合併

が認められるEnterovirus 71 (EV-71)^{5~7)} を用いて, これら両ウイルスに有効な薬剤を探るとともに, その感受性の相違についても明らかにする目的で実験を行った。

材料および方法

1. ウ イ ル ス

CA-16 (G-10株) および EV-71 (BrCr株) を用いた。これらウイルスは, 培養1日後の HeLa 細胞に接種し, 24~48時間に CPE が最高になった時点

で採取する方法で5代継代した。5代目は採取する8時間前にPBSに置換し、凍結融解を1回行ない、その遠心上清を供試ウイルスとした。

一部薬剤に対しては、Polio-1 (Mahoney 株) <P-1>, Coxsackie B-5 (531122 株) <B-5>, Echo-7 (Wallace 株) <E-7> および Enterovirus 70 (G-10株) <AHC>の各ウイルスをウイルス実験学⁸⁾に示される方法により採取した組織培養液を使用した。

2. 消毒薬

アルコール類として、エタノール、メタノール、イソプロパノールおよびノルマルプロパノール (和光純薬, 特級), 次亜塩素酸ナトリウム (オーヤラックス社, 原液66,000PPM), ポビドンヨード (有効ヨード1,000PPM に溶解した水溶液), ホルマリン (局方), 塩化第2水銀 (特級), クレゾール (局方), フェノール (特級) および界面活性剤として塩化ベンザルコニウム (オスパン), 塩化ベンゼトニウム (ハイアミン), クロールヘキシジン (ヒビデン) を使用した。

これら薬剤の希釈は、塩化第2水銀はPBSで行ない、他は蒸留水による。

3. ウイルス不活化実験

ほとんど既報¹⁾に準じて行なったが、ウイルスはすべて最終希釈で 10^6 TCD/ml になるように加えた。

各薬剤の反応停止は、ハロゲン系薬剤および塩化第2水銀は $\frac{N}{10}$ チオ硫酸ナトリウムを $\frac{1}{10}$ 容加え、他は希釈によって行なった。

4. 不活化の判定

既報¹⁾に準じて行なった。

成績

1. アルコール類

エタノールに対して、表-1に示すように、CA-16の抵抗性が強く、90%、10秒では不活化されず、4分後にも80%では効果が示されなかった。EV-71は、10秒では90%で不活化を受けなかったが、4分後には80%まで効果が認められた。他の4種のエンテロウイルスと比較すると、図-1に示すように両ウイルスとも抵抗性の強いグループに属し、P-1、B-5が4分では60%まで不活化を受けるのに対し、EV-71はE-7と同様に80%を必要とし、CA-16は最も抵抗性が強く、90%が必要であった。

Table 1. Inactivation of EV-71 and CA-16 by Ethanol

Virus	Conc. (%) Time	90	80	70	60	50
		EV-71	10sec	+	+	+
	30	-	+	+	+	+
	60	-	-	+	+	+
	120	-	-	+	+	+
	240	-	-	+	+	+
CA-16	10sec	+	+	+	+	+
	30	±	+	+	+	+
	60	-	+	+	+	+
	120	-	+	+	+	+
	240	-	+	+	+	+

- : Perfect inactivation
± : Partial inactivation
+ : No inactivation

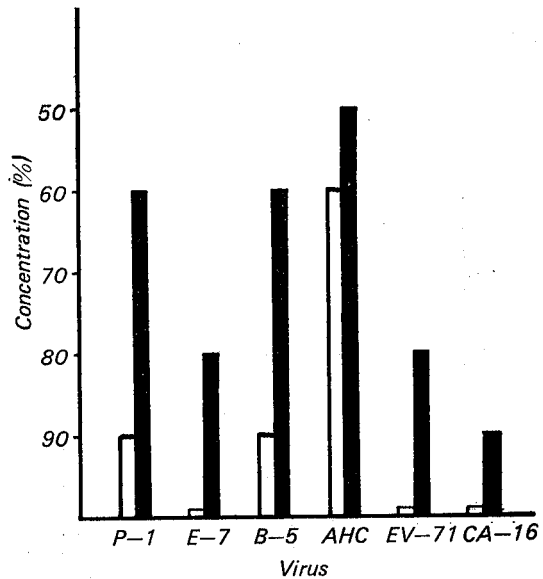


Fig 1. Inactivation of Enteroviruses by Ethanol

□ Exposure for 10 seconds
■ Exposure for 4 minutes

メタノールの不活化作用は、表-2に示すようにEV-71、CA-16にはほぼ同程度に認められ、70%、10秒、60%、4分で不活化効果が示された。又、他のエ

ンテロウイルスより、幾分強い抵抗性が示された。(図-2)

イソプロパノールおよびノルマルプロパノールは、90%4分でも不活化が認められず、両ウイルスとも効果が示されなかった。しかし、他の4ウイルスに対し、イソプロパノールは無効であったが、ノルマルプロパノールは AHC に対して 30%1分 で不活化効果を示した。

Table 2. Inactivation of EV-71 and CA-16 by Methanol

Virus	Conc. (%)	Time				
		90	80	70	60	50
EV-71	10sec	-	-	-	+	+
	30	-	-	-	+	+
	60	-	-	-	+	+
	120	-	-	-	-	+
	240	-	-	-	-	+
CA-16	10sec	-	-	-	+	+
	30	-	-	-	-	+
	60	-	-	-	-	+
	120	-	-	-	-	+
	240	-	-	-	-	+

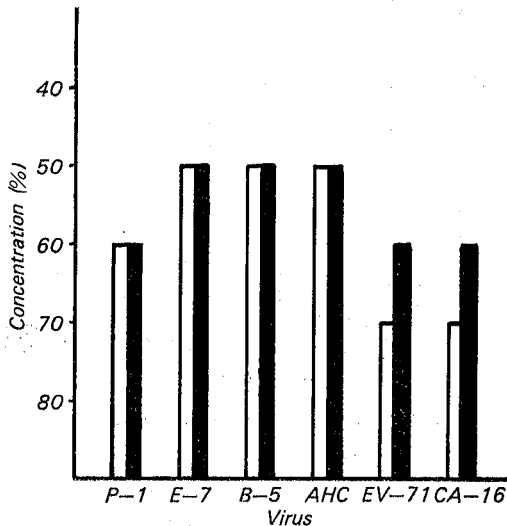


Fig 2. Inactivation of Enteroviruses by Methanol

- Exposure for 10 seconds
- Exposure for 4 minutes

2. クロール, ヨード

これらハゲン系薬剤に対して、両ウイルスとも同じような感受性を示し、表-3、表-4に示す通り、クロールに対しては0.5~1 PPM, ヨードに対しては2.5 PPMで不活化効果が示された。表-5に他のエンテロウイルスとの比較を示したが、著明な差は認められなかった。

Table 3. Inactivation of EV-71 and CA-16 by Chlorine

Virus	Conc (ppm)	Time				
		2	1	0.5	0.1	0.05
EV-71	1 min	-	+	+	+	+
	2	-	+	+	+	+
	4	-	-	+	+	+
	8	-	-	+	+	+
	15	-	-	+	+	+
	30	-	-	+	+	+
CA-16	1 min	-	-	+	+	+
	2	-	-	+	+	+
	4	-	-	-	+	+
	8	-	-	-	+	+
	15	-	-	-	+	+
	30	-	-	-	+	+

Table 4. Inactivation of EV-71 and CA-16 by Iodine

Virus	Conc (ppm)	Time				
		20	10	5	2.5	1
EV-71	1 min	-	+	+	+	+
	5	-	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+
	30	-	-	-	-	+
	60	-	-	-	-	+
CA-16	1 min	-	+	+	+	+
	5	-	-	±	±	+
	15	-	-	-	-	+
	30	-	-	-	-	+
	60	-	-	-	-	+

Table 5. Lowest Concentration of Chlorine and Iodine inactivating Enteroviruses in 60 minutes

Virus	Disinfectants	
	Chlorine	Iodine
P-1	1 PPM	10PPM
E-7	1	5
B-5	2	5
AHC	1	5
EV-71	1	2.5
CA-16	0.5	2.5

3. ホルマリン

局方ホルマリンを蒸留水で希釈し、ホルムアルデヒド濃度で表わした成績を表-6、表-7に示した。通常ホルマリン水として使用される1%濃度では、EV-71、CA-16は共にAHCと同様に感受性を示し、5分ではEV-71は1%、CA-16は0.3%で不活化を受けた。60分後にはCA-16は0.1%まで効果が認められた。

このようにホルマリンに対するEV-71およびCA-16の感受性には著明な差が認められ、5分で3.3倍、60分では10倍の相違が示された。その他のエンテロウイルスはAHCを除いて1%で不活化を受けず、ウイルスタイプによる感受性の違いが示された。

Table 6. Inactivation of EV-71 and CA-16 by Formaldehyde

Virus	Time	Conc. (%)						
		3	1	0.5	0.3	0.1	0.05	
EV-71	5 min	-	-	+	+	+	+	
	15	-	-	+	+	+	+	
	30	-	-	+	+	+	+	
	60	-	-	+	+	+	+	
CA-16	5 min	-	-	-	-	+	+	
	15	-	-	-	-	+	+	
	30	-	-	-	-	±	+	
	60	-	-	-	-	-	+	

Table 7. Lowest Concentration of Formaldehyde inactivating Enteroviruses in 5 and 60 minutes

Virus	Time	
	5 min	60 min
P-1	1%(negative)	1%(negative)
E-7	1 (negative)	1 (negative)
B-5	1 (negative)	1 (negative)
AHC	1	0.1
EV-71	1	1
CA-16	0.3	0.1

4. 塩化第2水銀

表-8、図-3に示されるように、塩化第2水銀に対する感受性は両ウイルスとも高く、EV-71は320,000倍、30分、CA-16は640,000倍、15分で完全不活化を受けた。この感受性はAHCとはほぼ同様であったが、他のエンテロウイルスとは著しく異なり、P-1、E-7およびB-5が5,000~20,000倍で不活化を受けるのに対し、1/16~1/130の濃度で効果が示された。

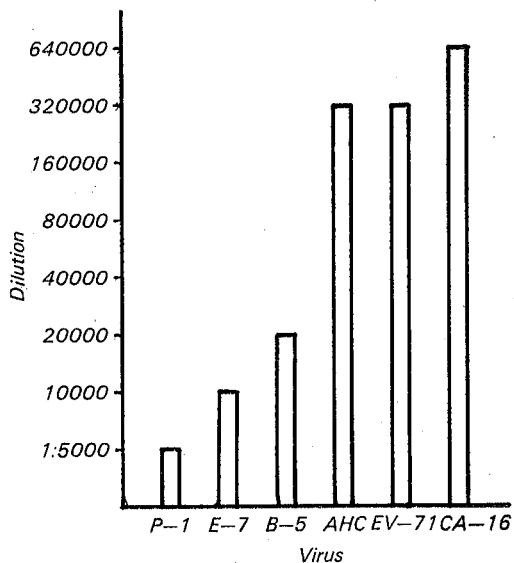


Fig 3. Inactivation of Enteroviruses by Sublimite after Exposure for 60 minutes

Table 8. Inactivation of EV-71 and CA-16 by Sublimate

Virus	Die.	1 : 40000	80000	160000	320000	640000	1280000
	Time						
EV-71	5min	—	—	—	+	+	+
	15	—	—	—	±	+	+
	30	—	—	—	—	+	+
	60	—	—	—	—	+	+
CA-16	5min	—	—	—	—	+	+
	15	—	—	—	—	—	+
	30	—	—	—	—	—	+
	60	—	—	—	—	—	+

5. フェノール, クレゾール, 界面活性剤

フェノール, クレゾールは3%, 界面活性剤は1% 溶液にして不活化実験を行なったが, EV-71, CA-16ともに不活化効果は認められなかった。

考 察

本実験に用いたEV-71およびCA-16は各種消毒薬に対し, ほぼ同様な感受性を示しクロール, ヨードのハロゲン系薬剤, アルコール類としてエタノールおよびメタノール, 水銀剤の塩化第2水銀に同程度の効果が認められた。又, ホルマリンに対しては, CA-16の感受性がEV-71より高かったが, 両ウイルスとも効果が認められた。

これら効果の認められた薬剤および無効の薬剤に対するEV-71, CA-16の感受性は比較的類似している。現在, 両ウイルスについては, そのオリジンの異同について論議が分かれているが, 消毒薬に対する感受性を指標とすれば, 両ウイルスの性状は極めて近いことが示唆された。

塩化第2水銀に対して, 両ウイルスは非常に高い感受性を示し, EV-71は320,000倍, CA-16は640,000倍で不活化を受けた。他のエンテロウイルスの中では, AHCが同程度の感受性を示したものの, 他の3ウイルスとは際だった相違が認められた。

ホルマリンに対しても両ウイルスは不活化作用を受け, 特にCA-16は0.1%, 60分まで効果が認められた。塩化第2水銀は重金属汚染に対する規制の厳しい

現在, 実際に使用される事はないが, ホルマリンはホルマリン水としての濃度1%でEV-71, CA-16ともに不活化作用を受け有用な消毒薬の1つと思われた。

エタノールに対する両ウイルスは, 他のエンテロウイルスより抵抗が強く, 特にCA-16は消毒用として指示されている濃度70~80%¹¹⁾では不活化を受けなかった。HFMDの主因ウイルスの1つとして皮膚粘膜に主症状を示す⁴⁾CA-16のエタノールに対する抵抗性は, 皮膚消毒に繁用されるこの薬剤の注意事項であろう。

本実験に用いられた薬剤の中, 塩化第2水銀およびホルマリンに対してウイルスタイプによる感受性の相違が認められた。AHCがエンテロウイルスの中でも各種消毒薬に対する感受性を異にすることは既に報告したが, 今回のこの成績は消毒薬に対する感受性が,¹⁾¹²⁾ウイルスの性状鑑別の一手段となり得る可能性を示すものと思われる。

謝 辞

御校閲をいただきました岐阜大学医学部鈴木祥一郎教授に深甚の謝意を表します。

本研究は昭和54年度調査研究費の一部を使用した。

文 献

- 1) 渡辺実, 野田伸司, 山田不二造, 藤本進: エンテロウイルスに対する消毒薬の効果, ウイルス眼炎会誌, 76, 16-19, 1976

- 2) Robinson, C. R., Doane, E. M. and Rhodes, A. J. : Report of an outbreak of febrile illness with pharyngeal lesion and exanthem : Toront. summer 1957 isolation of group A Coxsackie virus., *Canad. Med. Assoc. J.*, **79**, 615-621, 1958
- 3) Alsop, J., Flewett, T. and Foster, J. R. : "Hand foot and mouth disease" in Birmingham in 1959., *Brit. Med. J.*, **2**, 1708-1711, 1960
- 4) 渡辺悌吉, 浦野純子, 河野弘子, 石原裕, 藤原建樹 : 手足口病並びにコクサッキーウイルスA16感染—その現状と問題点—, *小児科診療*, **36**, 1427-1442, 1973
- 5) Schmidt, N. J., Lennett, E. H. and Ho, H. H. : An Apparently New Enterovirus Isolated from Patients with Disease of the Central Nervous System., *J. Infect. Dis.*, **129**, 304-309, 1974
- 6) Deibel, R., Gross, L. L. and Collins, D. N. : Isolation of a New Enterovirus., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **148**, 203-207, 1975
- 7) Melnick, J. L., Tagaya, I. and Magnus, H. V. : Enterovirus 69, 70 and 71., *Intervirology*, **4**, 369-370, 1974
- 8) 国立予防衛生研究所学友会 : ウイルス実験学, 総論, 168-169, 1973
- 9) Hagiwara, A., Tagaya, I. and Yoneyama, T. : Common Antigen between Coxsackievirus A 16 and Enterovirus 71., *Microbiol. Immunol.*, **22**, 81-88, 1978
- 10) 沼崎義夫, 山家信夫, 角田行, 熊坂満郎, 熊谷正憲 : Cox. A-16 と Entero 71 ウイルスのブラック変異株とその抗原性について, 第27回日本ウイルス学会総会演説抄録, P.312, 1979
- 11) 国立予防衛生研究所学友会 : ウイルス実験学, 総論, P.33, 1973
- 12) 野田伸司, 渡辺実, 山田不二造, 藤本進 : エンテロウイルスに対するポビドンヨードの消毒効果および有機質による消毒効果の阻害について, 岐衛研所報, **24**, 15-21, 1979

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

簡易水道の着色原因とその除去について

森 下 有 輝*, 寺 尾 宏*, 梶 川 正 勝*

Color Origin and its Removal at the Small Water Supply

Yūki MORISHITA*, Hiroshi TERAO*, Masakatsu KAJIKAWA*

Origin and removal of colored water at a small water supply, located in Tōnō district of Gifu Pref., has been investigated through the laboratory experiment.

Water quality at this supply, in spite of containing little dissolved matter, indicated relatively high concentration of organic matter. Color of the water varied from 7 to 4 units by adding hypochlorite. Only granular activated carbon, concerning the extent of color adsorption, gave unsatisfactory result, while the other adsorbents, powdered activated carbon, anion exchange resin, and XAD resin were almost competent. The amount of humic and fulvic acids separated from 60ℓ of raw water by XAD resin was 9 and 24 mg respectively. IR spectra of these acids resembled that of commercial humic acid reagent.

総 括

東濃地方の簡易水道O浄水場における色度原因物質の確認とその除去について実験的検討を行った。この水道の水質は溶存物質が極めて少なく、それに比して有機物のみが多かった。原水の色度は7度で、塩素処理によって色度4度に脱色されたが、粒状活性炭処理による除去率は低かった。陰イオン交換樹脂とXAD樹脂には良く吸着され、60ℓの水道原水からフミン酸9mgとフルボ酸24mgを得た。これらフミン物質の赤外スペクトルは市販のフミン酸のスペクトルと類似していた。

はじめに

飲料水中の着色は有機物および鉄、マンガン等の金属が主な原因であることが知られている。天然に生じる有機物のうちでは、フミン物質が着色の主な原因物質であり、近年このフミン物質が塩素消毒時にハロホルムを生成する起因物質であることが確認された¹⁻⁵⁾。ハロホルムには発癌性の疑いが持たれており、飲料水中のフミン物質は単に着色という外観上の問題のみでなく、衛生学的問題を有するようになってきている^{6),7)}。

岐阜県東濃地方の簡易水道O浄水場において、色度の上昇が起り、緩速ろ過と少量の活性炭処理では除去が困難となったので、その原因物質の確認と除去についての実験的検討を行った。

調 査 対 象

検討を行ったO浄水場は、約300m³/日の原水を32m³のろ過池(砂層厚0.9m)3池のうち2池を常時使用し、ろ過速度5m/日で緩速ろ過したのち、粒状活性炭層(厚さ0.5m, 2m³)を通し、塩素注入を行って給

* 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 4chome, Gifu 500, Japan

水している。施設は電気設備は無く、全て自然流下に頼っており、1日に数回の巡回管理が行われている。原水は人為的汚染の全く認められない山中の流量約20 m^3 /時の谷川水であり、ろ過砂表層の生物は少量のけい藻と原生動物が認められたのみである。なお、色度の急激な上昇は昭和54年8月に始まり、9~10月には最大色度50度(濁度10度)に達した。しかし、11月に現地調査を行ったときの色度は9度であった。

実験材料および方法

原水および処理水、給水栓水をそれぞれ20 ℓ ポリエチレンびんに採取し、実験室に搬入後、水質基準に関する省令⁸⁾、上水試験方法⁹⁾に基づいて水質分析を実施した。なお、採水時にはpH、色度、残留塩素等の測定を行った。

色度除去は、浄水場で使用している粒状活性炭(ヤシコールL、太平化学)および実験用粉末活性炭(NORITA A.)、イオン交換樹脂IR-120B、IRA-410(アンバーライト)、XAD-2、4、8樹脂(アンバーライト)をそれぞれ径20mm、長さ240mmのガラスカラムに詰め、試料を流下させる方法で検討した。

¹⁰⁾フミン酸、フルボ酸の分離と赤外スペクトル。

60 ℓ の原水を塩酸を用いてpH1とし、XAD-4樹

脂カラム(径25mm、長さ800mm)に通し色度成分を吸着させたのち、0.1N水酸化ナトリウム溶液1 ℓ で溶出する。溶出液を塩酸でpHを1とし、沈殿部分を遠心分離してフミン酸とした。その上澄溶液にn-ブチルアルコールを加えて振とうする。分離した溶媒層を50 $^{\circ}C$ で減圧濃縮し、これをフルボ酸とした。対照としては市販のフミン酸(和光純薬)を用い、赤外スペクトルは日本分光IRA-1によった。

実験成績

1. 水質分析

原水、処理水、給水栓水、の分析結果を表1に示した。原水、浄水とも濁度は0度で、硬度1.4 mg/ℓ 、導電率17 $\mu S/cm$ と溶存物質も量的に少ない。色度は原水の9度が処理後5度となり、さらに塩素注入後の給水栓水では3度と低下した。色度の低下にともなって過マンガン酸カリウム消費量は原水で3.3 mg/ℓ であったのが処理水では2.9 mg/ℓ 、給水栓水では2.3 mg/ℓ と低下した。原水中の鉄濃度は0.06 mg/ℓ と低く、処理水では0.03 mg/ℓ とさらに低くなっていた。一方、塩素イオンは処理水の2.3 mg/ℓ が塩素注入によって3.0 mg/ℓ と増加していた。これら色度、過マンガン酸カリウ

Table 1. Water Quality of O. Water Supply

* 1 Sampling Point	Raw Water		Treated Water (after filtration)	Tap Water
	Inlet	Filtration Pond		
Turbidity	0	0	0	0
Color	8	9	5	3
pH value	6.5	6.5	6.5	6.2
KMnO ₄ consumption	3.6	3.3	2.9	2.3
Iron	0.06	0.06	0.03	0.04
Manganese	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Hardness (CaCO ₃)	1.4	1.4	1.5	1.7
Ca ²⁺	0.3	0.3	0.4	0.5
Mg ²⁺	0.1	0.1	0.1	0.1
Na ⁺	2.4	2.4	2.4	2.4
K ⁺	0.3	0.3	0.4	0.4
Cl ⁻	2.3	2.3	2.3	3.0*2
HCO ₃ ⁻	8.1	8.1	8.1	8.4
NH ₄ -Nitrogen	ND	ND	ND	ND
NO ₂ -Nitrogen	ND	ND	ND	ND
NO ₃ -Nitrogen	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
Conductivity	18	17	17	18

*1 Units: mg/ℓ except Turbidity(units), Color(units), pH value and Conductivity($\mu S/cm$, 25 $^{\circ}C$)

*2 Residual Chlorine 0.3 mg/ℓ .

ム消費量、鉄および塩素イオン以外の項目では原水と処理水、給水栓水の水質の間に明らかな増減は認められなかった。

2. 塩素注入の色度への影響

塩素処理による脱色効果を知るため、原水に次亜塩素酸ナトリウムを加え、20分処理した結果を表2に示した。塩素量の増加に従い、色度は低下し、2mg/ℓの塩素を加えた場合には、7度から4度へ色度の低下が認められた。このときの塩素消費量は0.4mg/ℓであった。

Table 2. Decolorization Effect by Addition of Chlorine
treatment time : 20min.

Chlorine added (mg/ℓ)	Residual Chlorine (mg/ℓ)	Residual color (units)
0	—	7
0.2	0.06	6
0.5	0.4	5
1.0	0.8	5
2.0	1.6	4
3.0	2.4	4

3. 活性炭による色度成分の吸着

浄水場で50cmの厚さで用いている粒状活性炭による除去効果を表3-1に示した。流速を遅くするに従い、色度の除去が認められるが、流量5ml/分でも3度の色度が残った。それに比して粉末活性炭を用いた結果(表3-2)では色度の除去が可能であった。原水を5倍濃縮した色度34度の試料を用いた場合は、粒状活性炭によっても4度までに減少し、除去率は88%であった。

Table 3. Adsorption of Color on Activated Carbon

3-1 Results of Granular Activated Carbon

Flow rate (ml/min)	Residual Color (units)	Removal (%)
5	3	57
25	4	43
84	6	14
300	6	14

Column : 2.5cm φ × 80cm length
Initial color : 7 units

3-2 Comparison of decolorized effect with Granular and Powdered Activated Carbon.

Activated Carbon	Flow Rate (ml/min)	Residual Color (units)	Removal (%)
Granular	5	3	57
	10	4	43
Powderd	5	0	100

Column : 2 cm φ × 24cm length

4. イオン交換樹脂による色度成分の吸着

0.45μmマイクロフィルターを過の試料を用い、イオン交換樹脂による吸着を検討した。表4に示したように、陰イオン交換樹脂によって色度は100%除去され、同時に過マンガン酸カリウム消費量も97%が除去された。一方、陽イオン交換樹脂では色度の50%、過マンガン酸カリウム消費量で79%が除去された。

Table 4. Adsorption of Color on Ion Exchange Resin

	Flow Rate (ml/min)	Residual Color (units)	Residual KMnO ₄ Consumption (mg/ℓ)
Filtrate (0.45μm)	—	6	3.3
Anion exchange IRA-410	10	0(100)*	0.1 (97)
	47	1(83)	—
Cation exchange IR-120B	10	3(50)	0.7 (79)

Column : 2 cm φ × 24cm length

* : Removal %

5. XAD樹脂による吸着

XAD樹脂による色度成分の吸着を検討したが(表5)、pH 6.5の原水(色度7度)では5度に低下しただけで、吸着は認められなかった。塩酸でpHを1にした場合は、XAD-2, 4のいずれでも良く吸着され、特にXAD-4では完全に吸着された。

Table 5. Adsorption of Color on XAD Resin

pH controlled	XAD Resin Type	Flow Rate (ml/min)	Residual Color(units)
pH 1.0	XAD-2	75	1 (86)*
		140	2 (71)
	XAD-4	60	0 (100)
		110	0 (100)
pH 6.5	XAD-2	100	5 (29)
	XAD-4	100	5 (29)
	XAD-8	100	6 (14)

Column : 2 cm ϕ \times 24cm Length

* : Removal %

6. フミン酸,フルボ酸の赤外スペクトル

XAD-4に吸着された色度成分を0.1N水酸化ナトリウムにより溶出し, フミン酸, フルボ酸を分離した結果, 60 ℓ の原水からフミン酸9mg, フルボ酸24mgを

得た。これらの赤外スペクトルを図1に示した。対照の市販フミン酸と同様, 3400, 2900, 1600~1750 cm^{-1} の吸収バンドが認められたが, 1050 cm^{-1} のバンドは明らかでなかった。

考 察

本研究の対象とした簡易水道浄水場における水質は極めて溶存物質が少ないのに比して有機物が多い。水の着色に関与する成分のうち, 鉄は0.06mg/ ℓ と少ないので, 有機物が着色の主な原因と推定される。有機物による着色は緩速ろ過では除去し難く, 活性炭による処理が一般的に行われている。¹¹⁾ 浄水場も緩速ろ過に加えて粒状活性炭処理を行っているが, 有機物と色度の除去効率は低い(表1)。この浄水場の活性炭層50cm厚 \times 2m²を表3-1の実験に用いたカラム断面積5 cm^2 に換算すると52ml/分の流量で処理されていたこととなり, 実験では流量25ml/分でさえも除去率43%であったことから, 本浄水場の活性炭層の色度除去効果は低いものであると思われる。原水を濃縮し, 高い色度にした場合は粒状活性炭による除去も除去率88

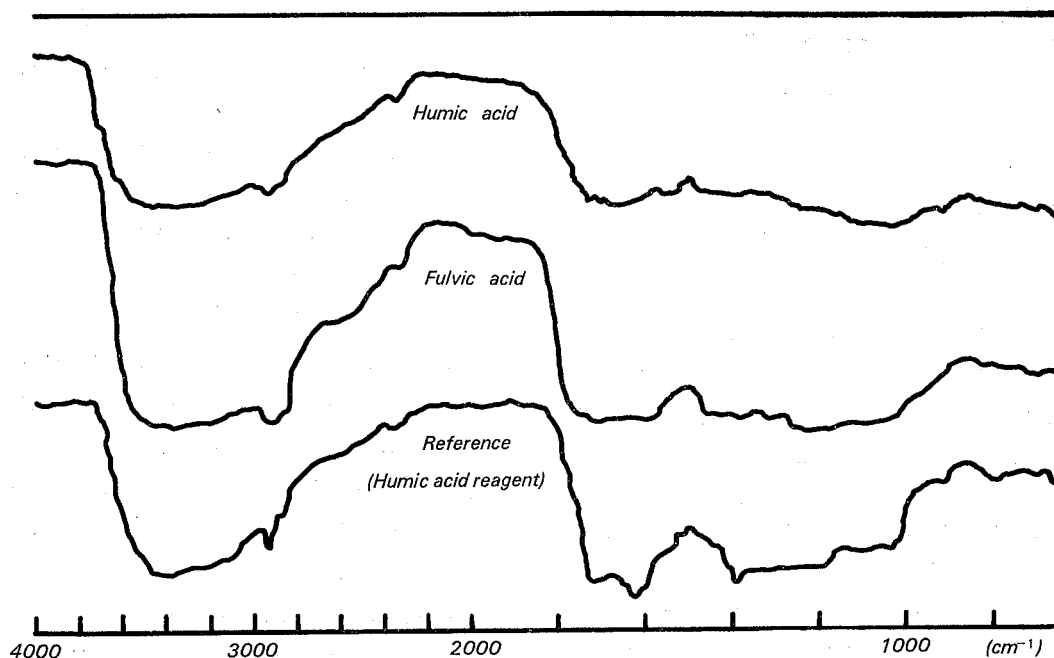


Fig. 1. IR Spectra of Humic Substances Separated from Raw Water

%と比較的効果があった。O浄水場で色度7度を粒状活性炭のみで3度まで除去するためには、計算上約8mの活性炭層が必要と考えられる。低濃度の色度除去は粒状活性炭を用いて流動層式処理、或は粉末活性炭の使用が考えられるが設備、管理の面でO浄水場の¹²⁾ような小規模施設には適さない。

塩素の酸化力によって色度の減少は可能と思われるが、ハロホルム生成の懸念から完全な活性炭処理を行えない場合には適さない。

陰イオン交換樹脂によって色度成分は100%除去され、過マンガン酸カリウム消費量で97%が除去された。一方、陽イオン交換樹脂によっても色度の50%、過マンガン酸カリウム消費量の79%が除去された。これは色度成分がマイナスとプラスの官能基を有することを示唆している。マイナス性はフミン物質のカルボキシル基、^{15), 16)}フェノール性水酸基によるものと考えられるが、プラス性が何に起因するかは明らかでない。笹本¹³⁾らはフルボ酸の電気泳動によって陽極側と陰極側に紫外吸収のある物質の存在を認めている。

XAD-2, 4樹脂への吸着は官能基を解離させない酸性試料で効率が良かった。XAD-2よりXAD-4で吸着効果が高いのは、樹脂の表面積が2.6倍大きいことが主な原因と思われる。¹⁴⁾ChengはEDTAの混在したフミン酸の吸着を種々のXAD樹脂で検討し、pH6~7でXAD-8による吸着効果が良いと述べているが、我々の結果では中性域でのいずれの樹脂による吸着も認められなかった。

XAD-4樹脂によって60ℓの原水から9mgのフミン酸と24mgのフルボ酸を得たので、この原水の色度7度は0.55mg/ℓのフミン物質に相当し、色度の主な原因はフルボ酸と考えられる。しかし、フミン酸とフルボ酸の呈色はpHによって著しく変化するので、両者の色度への寄与率は重量比で考えることはできない。¹⁰⁾

本実験で分離したフミン物質の赤外スペクトルは市販フミン酸とはほぼ同じ吸収バンドを示し、¹⁵⁾Farrarらの飲料水から分離したフミン酸、¹⁶⁾Tanが土壌より分離したフミン酸、フルボ酸の赤外スペクトルと類似している。しかし、1050cm⁻¹の吸収バンドは我々の結果では明確には認められなかった。

O浄水場における色度の原因はフルボ酸を主としたフミン物質であることが確認された。しかし、原水の溶存物質量が極めて少いためか、活性炭による除去は困難であった。この事例のように、比較的低濃度の色度を除去するには、粉末活性炭の大量使用、Anderson¹⁷⁾らの検討したような陰イオン交換樹脂を用いる方法、塩素に代るものとしてオゾンの利用等が必要と考えられる。しかし、設備投資、維持管理面から考えて、O浄水場の様な小規模施設での適切な方法とは思われぬ。より広域的な上水道施設が必要と考えられる。

謝 辞

御校閲いただいた岐阜大学医学部吉川博教授に深謝の意を表します。

本研究は昭和54年度調査研究費の一部、および薬務水道費の一部による。

文 献

- 1) Youssefi, M., Zenchelsky, S. T. and Faust, S. D. : Chlorination of Naturally Occuring Organic Compounds in Water, J. ENVIRON. SCI. HEALTH., A13, 629-637, 1978
- 2) McConnell, G. : Halo-Organics in Water Supplies, Jour. of Institution of Water Engineers & Scientists, 30, 431-445, 1976
- 3) 梶野勝司 : 塩素処理におけるトリハロメタンの形成, 水道協会雑誌, 514, 17-36, 1977
- 4) Babcock, D. B. and Singer, P. C. : Chlorination and Coagulation of Humic and Fulvic Acid, Jour. AWWA., 71, 149-152, 1979
- 5) Trussell, R. R. and Umphree, M.D. : The Formation of Trihalomethane, Jour. AWWA., 70, 604-612, 1978
- 6) Pendygraft, G. W., Schlegel, F. E. and Huston, M. J. : Organics in Drinking Water ; A Health Perspective, Jour. AWWA., 71, 118-126, 1979

- 7) 米国環境保護庁：暫定第一種飲料水規則改正案，水道協会雑誌，527，134-137，1978
- 8) 厚生省：水質基準に関する省令，厚生省令第56号，別表，1978
- 9) 日本水道協会：上水試験方法，1978年版，1978
- 10) 森下有輝，寺尾宏，梶川正勝：未発表
- 11) 日本水道協会：水道施設設計指針・解説，1977年版，200，259，1977
- 12) 同上，244-251，1977
- 13) 笹木和博，菊地信正，齊藤護，久保田京子，勝村馨：地下水の呈色物質に関する研究（第1報），茨城県衛生研究所年報，14，71-75，1975
- 14) Cheng, K. L. : Separation of Humic acid with XAD Resins, *Mikrochimica Acta*, 11, 389-396, 1977
- 15) Farrah, S. P., Goyal, S. M., Gerba, C. P., Mahajan, V. K., Wallis, C. and Melnick, J. L. : Concentration of Humic acid from Tap-water, *Water Research*, 12, 303-306, 1978
- 16) Tan, K. H. : Infrared Spectra of Humic and Fulvic Acids, Containing Silica, Metal Ions, and Hygroscopic Moisture, *Soil Science*, 123, 235-240, 1977
- 17) Anderson, C. T. : Trace Organics Removal by Anion Exchange Resins, *Jour. AWWA.*, 71, 278-283, 1979

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.岐阜県苗木町城山周辺の湧水中ラドン
含量と水質について

森下有輝*, 梶川正勝*, 寺尾 宏*

The Relation between Radon Content and Water Quality in
Spring-Waters around Shiroyama in Naegi, Gifu Prefecture

Yūki MORISHITA*, Masakatsu KAJIKAWA*, Hiroshi TERAŌ*

The relation between radon content and water quality in thirty one samples around Shiroyama in Naegi, Gifu prefecture was discussed.

Range of radon content in these samples was $3.8\sim 316\times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$ and most of them were in the range of $30\sim 150\times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$.

The water contained relative low total residue $41.6\text{mg}/\ell$, calcium ion $1.4\text{mg}/\ell$ and magnesium ion $0.4\text{mg}/\ell$ on the average.

Concerning radon content and water quality, the water containing a lot of radon tended to contain a lot of $\text{Na}^+\text{+K}^+$, $\text{Ca}^{2+}\text{+Mg}^{2+}$ and Cl^- , while contain little SO_4^{2-} , and it was found to be a correlation between radon content and $\text{Ca}^{2+}\text{+Mg}^{2+}/\text{SO}_4^{2-}$ ratio ($\gamma=0.67$, $n=30$).

岐阜県中津川市苗木城趾周辺の31地点の湧水について、ラドン(Rn)含量と水質の関連性を検討した。

Rn含量は $3.8\sim 316\times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$ の間にあり、その多くは $30\sim 150\times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$ であった。

水質は蒸発残留物が平均 $41.6\text{mg}/\ell$ と少なく、特に Ca^{2+} と Mg^{2+} が平均 1.4 、 $0.4\text{mg}/\ell$ と低濃度であった。

Rn含量の高いものは $\text{Na}^+\text{+K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{+Mg}^{2+}$ 、 Cl^- の濃度が高い傾向にあり、 SO_4^{2-} が低い傾向にあった。

Rn含量と $\text{Ca}^{2+}\text{+Mg}^{2+}/\text{SO}_4^{2-}$ の比の間には $\gamma=0.67$ ($n=30$)の相関性が認められた。

序 文

岐阜県における温泉は、その泉質からみると放射能泉が最も多く、総数の24%を占めており、そのほとんどは東濃地方に集中している。なかでも中津川市苗木地域は、苗木石、モナズ石等放射性鉱物の産地として著名である。この地域の湧水の放射能含量については、弘中ら¹⁾が昭和7年に、中井ら²⁾が昭和11年に報告しているのをはじめとして、下方^{2~4)}、木村ら⁵⁾、三階ら⁶⁾の報告がある。また、苗木町地内での鉱泉分析は、当研究所が昭和36年以降に行っており、療養泉と認めたものは9件で、そのいずれもが放射能泉である。

湧水中のRn含有量と水質の関係は、Rn含有の機序を知る上で重要である。また、Rn含有量は同一の湧水でも経時的に変動が大きいといわれており、^{6,11)} 鉱泉

利用上、測定容易な水質の項目でRn含有量が把握できれば、Rn含有量の高い湧水を選択的に利用するようなことも可能と思われる。しかし、この地方での湧水中のRn含有量と水質の関係を検討した報告は、三階ら⁶⁾が東濃地方全域で概括しているにすぎない。

我々は、苗木城趾を観光の中心とした鉱泉開発が進められている中津川市苗木町の湧水について、昭和54年12月、集中的にRn含有量を測定する機会を得たので、これを機に、その水質を明らかにし、Rn含有量と水質の関連性について検討を行った。

材料および方法

1. 調査対象地域の概況

図1に採水地点と山田らの地質図⁷⁾に基づいた地質の概略を示した。この地域は海拔 $320\sim 400\text{m}$ で、南側

* 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 4chome, Gifu 500 Japan

を流れる木曾川よりおよそ50m高い所に位置する。苗木城趾は周辺で最も高い432mの城山山頂にあり、南は木曾川に直面し、南西方向に民宿、旅館等が散在、北西方向に苗木町の住宅地がある。東から北にかけては、谷と山で人家はない。

地質は主として、放射性鉍物を産出する苗木花崗岩であり、古期扇状堆積層が比較的標高の高い所に部分的に残っている。標高の低い苗木町の住宅、水田地域は、新期扇状堆積層よりなり、花崗岩地帯との間に瀬戸層群が見出される。

この地域は水利が悪く、調査した井戸水、湧水の多くは東濃用水道の完成（昭和52年2月）までは、生活用水源として利用され、現在も一部は浴用、雑用水として利用されている。

2. 方法

現地での測定は、主として昭和54年12月12日～13日

に行ったが、当研究所で昭和39年～54年に鉍泉分析を行った10件の結果も加えた。従って、分析は鉍泉分析法指針⁸⁾によったが、結果の一部には旧鉍泉分析法によるものも含まれている。

Rn 含量はIM泉効計により測定した。

採水場所は、苗木城趾周辺で以前から知られている湧水と井戸水の30件であるが、対照として地表水を集めたと思われる灌漑用池（No.29）を加えた。

成 績

図1に採水地点と地質の概略を示し、表1に Rn 含量と水質の分析結果を、Rn 濃度の高いものから順にならべて示した。

1. Rn 含量

Rn 含量は $3.8\sim 316\times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$ と大きい幅があった。しかし、Rn 含量の最も大きい No.1 は他と比べ

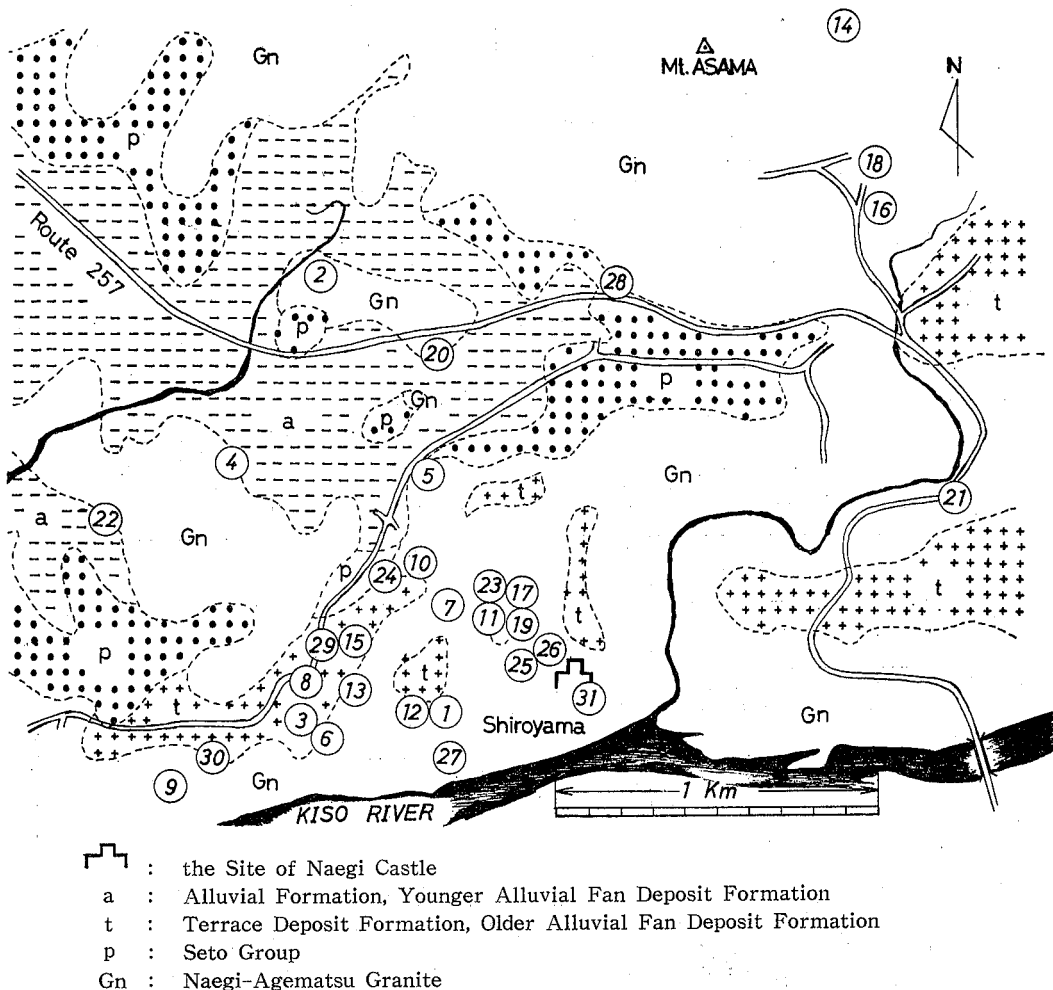


Fig. 1. Location of Springs and Geological Map around Shiroyama in Naegi

Table 1. Radon Content and Water Quality of Spring-Waters around Shiroyama in Naegi

No.	Date	Rn $\times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$	Spring Volume ℓ/min	Temperature $^{\circ}\text{C}$ *A.T.**W.T	pH	λ $\mu\text{S}/\text{cm}$	T-Residue mg/ℓ	Na ⁺ mg/ℓ	K ⁺ mg/ℓ	Ca ²⁺ mg/ℓ	Mg ²⁺ mg/ℓ	F ⁻ mg/ℓ	Cl ⁻ mg/ℓ	SO ₄ ²⁻ mg/ℓ	HCO ₃ ⁻ mg/ℓ	SiO ₂ mg/ℓ	Spring name
1	1965. 3.29	315.6	19.0	13.4	7.9	—	44	3.8	1.1	5.5	0.2	<0.1	0.6	0.9	26.7	13.8	Meitetsu Kanko No. 2
2	1979.12.12	147.3	8.5	9	5.5	199	168	9.0	3.2	17.5	4.9	0.2	11.5	14.4	9.8	16.8	Nebata
3	1964. 4.16	127.8	54	18.8	5.0	—	83	7.4	5.1	7.7	3.0	—	33.1	5.6	2.4	12.5	Kasumigayu No. 1
4	1979.12.12	119.9	1.0	7	5.7	13	25	1.9	0.5	0.1	0.1	0.1	2.1	0.0	8.5	10.8	Okubo
5	1964. 11. 6	115.8	1.5	6	5.4	48	50	4.1	2.5	1.3	0.8	<0.1	7.6	1.0	6.1	10.3	Kitadani
6	1964. 11. 6	98.0	36	13.4	4.7	83	45	3.6	2.2	1.4	1.1	<0.1	5.2	0.5	12.6	16.4	Kasumigayu No. 2
7	1979.12.12	83.8	1.8	11	5.3	56	85	4.7	2.7	3.7	1.9	<0.1	5.2	12.6	6.1	16.4	Ichimangoku
8	1968. 6. 4	83.4	0.7	10	5.6	19	58	6.5	2.6	1.2	0.9	<0.1	6.8	1.8	11.6	16.4	Ichioka
9	1968. 6. 4	81.8	6.0	10	5.7	—	20	1.9	0.8	0.3	0.1	—	1.0	0.1	9.8	8.5	Tanaka
10	1979.12.12	81.0	3.0	10	6.1	19	27	2.4	0.8	0.4	0.1	<0.1	2.2	1.6	9.8	13.6	Niwa
11	1965.10.20	78.2	0.8	8	6.1	40	49	3.2	0.7	2.4	0.2	0.2	1.5	3.4	22.0	15.4	Yagurashita
12	1965.10.20	75.4	0.7	10.5	6.3	18	34	2.8	0.7	0.2	0.1	0.2	3.2	0.2	10.4	17.6	Meitetsu Kanko No. 1
13	1965.10.20	73.7	7.8	16.0	5.5	—	22	2.4	0.8	0.5	0.3	<0.1	1.6	2.2	5.5	9.4	Meitetsu Kanko No. 1
14	1979.11.27	68.7	5	11	5.7	13	20	2.2	0.4	0.3	0.1	<0.1	—	0.4	—	9.2	Okuyamanota
15	1965.10.20	67.6	1.2	11	5.6	14	31	1.7	0.8	0.2	0.1	0.1	—	0.6	—	8.5	Nisshinkan
16	1965.10.20	64.1	—	14	5.8	38	37	3.4	1.8	1.7	0.7	<0.1	6.4	1.0	10.4	14.0	Kamitaki
17	1965.10.20	57.1	—	7	6.0	17	38	2.4	0.8	0.2	0.1	0.1	2.3	1.0	9.8	16.6	Takamori-1
18	1965.10.20	48.5	—	14	5.8	43	38	3.8	2.4	2.0	0.7	<0.1	5.8	1.8	12.2	14.0	Taguchi
19	1965.10.20	43.9	—	2	5.8	22	29	1.9	1.3	0.9	0.3	<0.1	2.4	2.2	8.5	10.0	Takamori-2
20	1975. 6. 5	37.2	0.9	19.8	6.3	100	70	6.3	3.3	4.4	1.0	0.3	6.9	2.4	26.7	12.0	Myoto Spring
21	1979.12.13	36.7	0.6	5.5	6.4	23	39	2.6	1.1	0.7	0.3	<0.1	1.9	0.0	17.1	18.0	Kiridoshi
22	1979.12.13	27.8	2.1	8	5.6	14	22	1.5	0.5	0.2	0.1	<0.1	2.4	1.8	9.2	9.0	Ogura
23	1979.12.13	24.4	—	9	6.1	27	50	3.2	1.6	0.5	0.2	0.1	1.7	4.8	12.2	16.4	Yashikiato
24	1979.12.13	19.1	0.5	10	5.2	22	31	2.4	0.8	0.2	0.2	<0.1	1.8	4.8	4.9	10.2	Matsuo
25	1977. 2.21	18.8	1.5	7	7.1	19	47	1.9	1.3	0.4	0.1	0.1	1.0	3.0	8.5	13.6	Kayukawa
26	1979.12.13	16.1	0.9	8	6.5	22	36	2.6	1.5	0.4	0.2	<0.1	1.9	3.2	8.5	13.6	Kayukawa
27	1979.12.13	14.6	—	7	6.0	52	54	7.8	0.7	1.1	0.3	<0.1	6.6	7.6	11.6	14.4	Kayukawa
28	1979.12.13	14.4	3.2	8.5	6.9	27	38	1.7	1.6	1.8	0.3	<0.1	1.6	0.6	20.1	14.4	Kayukawa
29	1979.12.13	13.4	—	8	5.8	15	33	1.5	0.4	0.2	0.1	0.1	1.8	2.0	6.1	7.4	Control
30	1979.12.13	8.2	3.2	13	5.8	30	55	2.8	0.5	1.3	0.6	<0.1	4.4	3.2	10.4	7.8	Fujisen
31	1979.12.13	3.8	—	3	5.2	29	39	4.5	0.4	0.1	0.1	<0.1	3.7	5.6	6.7	15.8	Shimizumon
Mean value					5.89	32.2	41.63	3.48	1.49	1.38	0.39		3.57	2.18	10.98	12.89	
± Standard deviation					±0.64	±21.9	±16.67	±1.98	±1.09	±1.78	±0.42		±2.59	±1.95	±5.97	±3.11	
					except No.3	except No.2	except No.2	except No.2	except No.2	except No.2	except No.3	except No.2	except No.3	except No.7			

* A. T : Atmospheric Temperature

** W. T : Water Temperature

Table 2. Water Quality of Kiso River

Sampling point	pH	λ $\mu\text{S}/\text{cm}$	Total residue mg/ℓ	Na^+ mg/ℓ	K^+ mg/ℓ	Ca^{2+} mg/ℓ	Mg^{2+} mg/ℓ	Cl^- mg/ℓ	SO_4^{2-} mg/ℓ	HCO_3^- mg/ℓ	SiO_2 mg/ℓ
Kaneyama *1	6.7	—	49.8	3.1	0.98	5.2	0.7	1.3	1.8	20.5	15.5
Nakatsugawa *2	6.8	52	50.5	2.7	0.85	4.1	0.8	3.7	4.9	13.1	10.9

* 1 Kobayashi⁹⁾1955.6.15~1956.5.15 (n=11)

* 2 Gifu Pref. Planning. Sect.¹⁰⁾1966.1.14~1966.11.16 (n=4)

かけ離れて大きく、最も小さいNo.31は苗木城趾山頂近くにあり、湧出量も少なくて測定できなかったものである。この二つを除くと、他は $8 \sim 147 \times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$ の間に分散している。放射能泉と認められるRn含量 $30 \times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$ 以上のものは、表1に示した31件中21件で68%を占める。また灌漑用池の水(No.29)も $13.4 \times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$ のRnが測定された。

Rn含量と地質の関係地質図上で検討したが、直接の関連性は認められなかった。

2. 水質

pHは7.9~4.9の間で平均5.9とやや酸性側である。蒸発残留物はNo.2の168 mg/ℓ を除くと平均41.6 mg/ℓ と少ない。溶存イオンはカチオンでは Na^+ が最も多く、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} の占める割合は少ない。アニオンでは HCO_3^- が主で Cl^- 、 SO_4^{2-} は少なく、 F^- はほとんど検出されない。

比較のため、小林、岐阜県企画部の調査した木曽川

の水質を表2に示した。これと表1の結果を比べると、苗木地区の湧水は Ca^{2+} 、 Mg^{2+} が低濃度である以外、木曽川の水質と顕著な差は認められない。また、灌漑用池(No.29)の水質と他の湧水の水質との間にも差は認められない。

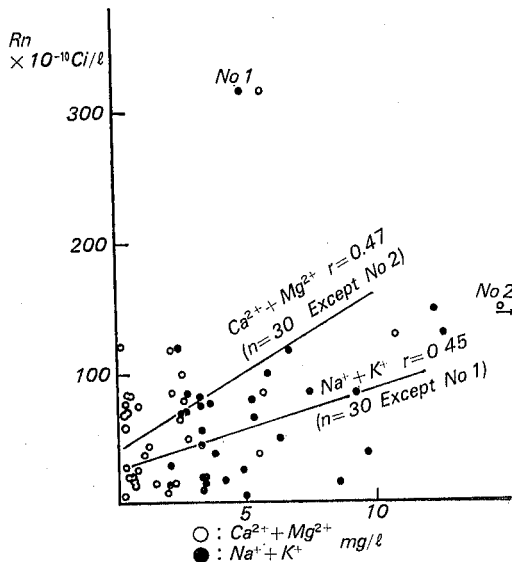


Fig. 2 Correlation of Rn Content and $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$, $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ Concentration in Spring Water

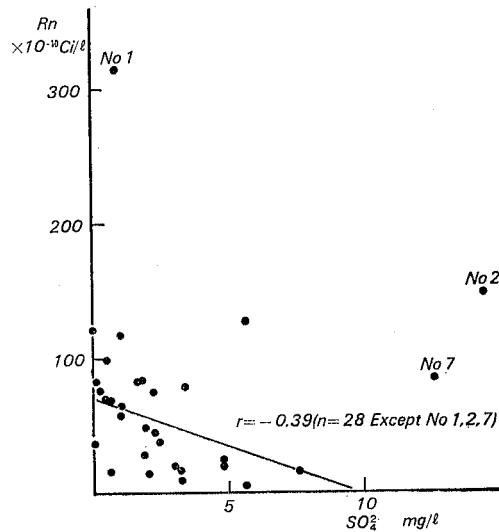


Fig. 3 Correlation of Rn Content and SO_4^{2-} Concentration in Spring Water

3. Rn含量と水質の関係

表1の結果を、放射能泉と認められるRn量 $30 \times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$ で区分し、放射能泉とそれ以外の湧水のそれぞれの平均値を比較した(表3)。Rn $30 \times 10^{-10}\text{Ci}/\ell$ 以上の放射能泉は SO_4^{2-} が少なく、 $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ が多い。 $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ と Cl^- も多い傾向が認められ、水温も高い傾向にあった。

個々の湧水のRn含量と $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ および $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ の関係を図2に、 SO_4^{2-} との関係を図3に示した。さらに $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ と SO_4^{2-} の比を求め、Rn量との関係を検討した(図4)。Rn量は $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ とは正の相関、 SO_4^{2-} とは負の相関の傾向

Table 3. Comparison of each Components divided into two Parts of Rn Content

	Rn $\times 10^{-10}$ Ci/ ℓ	n	Average mg/ ℓ	σ	
ER	>30	20	42.2	19.19	—
	<30	10	40.5	10.76	
Na ⁺ +K ⁺	>30	21	5.47	3.11	P<0.1
	<30	10	3.82	1.90	
Ca ²⁺ +Mg ²⁺	>30	19	1.92	1.85	P<0.05
	<30	10	0.87	0.68	
Cl ⁻	>30	18	3.97	2.95	P<0.1
	<30	10	2.69	1.72	
SO ₄ ²⁻	>30	19	1.41	1.38	P<0.01
	<30	10	3.66	2.06	
HCO ₃ ⁻	>30	20	11.54	6.69	—
	<30	10	9.87	4.29	
SiO ₂	>30	21	13.9	3.0	—
	<30	10	12.3	3.4	
pH	>30	21	5.83	0.64	—
	<30	10	6.02	0.65	
Water Temperature	>30	21	13.15°C	1.91°C	P<0.05
	<30	10	9.65°C	3.47°C	

Table 4. Variation of Rn Content in Springs

Spring No.	Measuring date	Rn value $\times 10^{-10}$ Ci/ ℓ	Spring Volume ℓ /min
9	1977. 2.21	23.6	—
	1979.12.13	43.9	—
11	1961. 4.12	47.2	—
	1979.12.12	78.2	0.8
12	1964.11. 5	77.0	0.8
	1979.12.12	75.4	0.7
17	1961. 4. 2	49.1	1.3
	1979.12.12	57.1	1.0
30	1977. 4.26	11.5	19
	1979.12.12	3.2	8.2
2	1953.12. 1	116	— *1
	1955. —	109	— *2
	1979.12.12	147	8.5
31	1951. 5.19	0.3	— *3
	1979.12.12	3.8	—

* 1 Shimokata⁴⁾

* 2 Kimura⁵⁾

* 3 Shimokata³⁾

があり、Ca²⁺+Mg²⁺/SO₄²⁻とは相関係数0.67の相関関係があった。このような関係はCa²⁺+Mg²⁺とCl⁻、HCO₃⁻の間、Na⁺+K⁺とSO₄²⁻、Cl⁻、HCO₃⁻との間には認められなかった。

同じ湧水で過去にRn含量が測定されているものを表4に示した。これら2~3回の測定結果の間に差があるもの(No. 9, 11, 30)とNo.2, 12, 17のようにあまり差のないものがあり、個々の湧水のRn量の変化にともなう水質の変化には共通性は認められなかった。

考 察

苗木城趾周辺の湧水の水質は、対照として調査地域のほぼ中央に設けた灌漑用池(No.29)の水質と比べて明らかな差はなく、地域一帯の水質にはほとんど差がないと考えられる。近くを流れる木曾川の水質と比較しても、Ca²⁺とMg²⁺の濃度が低い以外差はない。一帯の地質は主として花崗岩で構成され、溶存イオンは比較的低濃度であるけれども、そのなかではRn含量はNa⁺+K⁺、Ca²⁺+Mg²⁺、Cl⁻の多いものに高く、SO₄²⁻の少ないものに高い傾向を示した。さらにCa²⁺+Mg²⁺/SO₄²⁻の比とは正の相関関係を示した。SO₄²⁻の濃度が低い湧水ほどRn含量が高

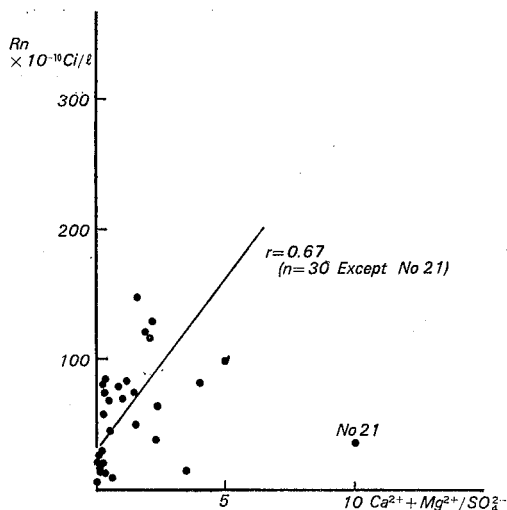


Fig. 4 Correlation of Rn Content and Ca²⁺+Mg²⁺/SO₄²⁻-Ratio in Spring Water

いことは、Rn 含量の高いものは水温が高い傾向にあることと合せて考えると、放射性鉱物を含む苗木花崗岩の特色かとも思われるが、その理由は明らかにできなかった。

苗木城趾周辺で測定された湧水の Rn 含量の最高は $316 \times 10^{-10} \text{Ci}/\ell$ であるが、これはむしろ特殊な例で、多くは $30 \sim 150 \times 10^{-10} \text{Ci}/\ell$ 程度である。Rn 含量が最も低濃度であった No.31 は調査した湧水の中では、最も標高の高いところにあり、湧出量は測定できない程に少なかった。標高では No.25, 26 がこれに続いて高く、Rn 含量は $20 \times 10^{-10} \text{Ci}/\ell$ 以下である。周辺では一般に山麓近くから湧出するものに Rn 含量が高い様に推測され、調査をさらに行えば数多くの放射能泉がまだ見出されると思われる。

Rn 含量は表 4 に示したように、個々の湧水でも経時的に相当に変動するものがある。しかし、これと湧出量や水質の変化とは直接的な関係はみられなかった。

県内の他の放射能泉地域と比べて、狭い地域に同程度の Rn を含む放射能泉を数多く得ることが容易な地域と考えられる。

謝 辞

調査にあたり、現地の案内と採水の御協力をいただいた中津川市役所商工観光課伊藤誠一氏、地元の水野富治氏に感謝致します。

また、地質に関する資料の提供をいただきました工業技術院地質調査所名古屋出張所長近藤善教博士、ならびに本報のご校閲をいただきました岐阜大学医学部公衆衛生学教室吉川博教授に深謝の意を表します。

本研究には昭和54年度県の調査研究費の一部を使用した。

文 献

- 1) 中井敏夫, 季秋谷: 苗木地方の鉱泉のラドン含量, 岩石鉱物鉱床学会誌, **16**, 101-106, 1936
- 2) 下方鉱蔵: 本邦中部の温泉の放射能 (第1報) 岐阜県恵那地方の温泉のトロン及びラドン含量(1), 日本化学雑誌, **73**(8), 50-53, 1952
- 3) 下方鉱蔵: 本邦中部の温泉の放射能 (第2報) 岐阜県恵那地方の温泉のトロン及びラドン含量(2), 日本化学雑誌, **75**(1), 67-70, 1954
- 4) 下方鉱蔵: 本邦中部の温泉の放射能 (第4報) 主として岐阜県東濃地方の温泉のトロン, ラドン含量(2), 日本化学雑誌, **77**(3), 4-8, 1956
- 5) 木村健二郎, 長島弘三, 池田長生, 木村幹: 岐阜県苗木地方の放射能泉について (第1報), *Radioisotopes*, **4**(1), 31-37, 1955
- 6) 三階衣子, 早川友邦: 岐阜県東濃地方の放射能泉について, *温泉科学*, **21**(3~4), 104-120, 1970
- 7) 山田直利, 須藤定久, 垣見俊弘: 阿寺断層周辺地域の地質構造図, 地質調査所, 1976
- 8) 環境庁自然保護局監修: 鉱泉分析法指針, 温泉工学会, 1978
- 9) 小林純: 日本の河川の平均水質とその特徴に関する研究, *農学研究*, **48**(2), 63-106, 1960
- 10) 岐阜県企画部: 岐阜県河川水質調査報告書, 18-21, 1969
- 11) 佐藤幸二: 温泉地学からみた岐阜県, *日本温泉気候物理医学会雑誌*, **42**, 特別講演, 1978

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.カドミウム投与ラット尿中の γ -グルタミルトランスペプチダーゼ, およびグリシルプロリンジペプチジルアミノペプチダーゼ活性について

渡辺 豊*, 棚橋 宣康*, 野々村 文雄*

Effect of Cadmium Administration on the Urinary Excretion of γ -Glutamyltranspeptidase and Glycylproline Diaminopeptidase in the Rat.

Yutaka WATANABE*, Nobuyasu TANAHASHI*, Fumio NONOMURA*

Summary

Female Sprague Dawley rats were divided into three groups as follows:
 Group A: Four rats were administered a single subcutaneous injection of 5.0mg Cd/kg body weight.
 Group B: Four rats were administered a single subcutaneous injection of 2.5mg Cd/kg body weight.
 Group C: Three rats were administered a single subcutaneous injection of 1.0m ℓ physiologic Saline.
 Urinary γ -glutamyltranspeptidase (γ -GTP) and glycylproline diaminopeptidase (GP-DAP), the renal Proximal tubular enzymes, were determined every day. Total amino acids and proline in urine were also determined.
 Significant increases of both γ -GTP activity and GP-DAP activity in urine were observed in group A right after Cd administration, however, in group B the enzyme activities were not elevated significantly compared to those of control group.
 Elevation of total amino acids excretion was observed only in group A and proline excretion in urine showed no difference in all groups.

総 括

腎臓に対するカドミウムの影響を知るため腎近位尿細管に存在する酵素, γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP), およびグリシルプロリンジペプチジルアミノペプチダーゼ (GP-DAP) 活性の変動について, カドミウムを皮下注射で1回投与したラットを用いて検討した。

A群 (Cd 5.0mg/kg体重) では, カドミウム投与後, 尿中で両酵素活性とも著しく上昇したが, B群 (Cd 2.5mg/kg体重) では, 両酵素活性とも対照群に比べて, 明らかな上昇はみられなかった。又, これら両酵素と関連が深いと思われる尿中総アミノ酸量, およびプロリン量の測定を行なったところ, A群のみに総アミノ酸排泄量の増加がみられたが, プロリン量は全群の間で差がみられなかった。

序 文

カドミウムは, 生体に侵入すると肝臓, 腎臓に取り込まれ, 腎臓では, 近位尿細管上皮細胞に沈着し, 腎障害を引き起こすといわれている^{1),2)}。又カドミウム暴露による腎障害の初期変化としては, 尿中酵素活性の変

動と, アミノ酸排泄量の増加^{3),4),5)}であると報告されている。著者らは, 生体中腎臓に多量に分布していると言われている⁶⁾, γ -GTP, GP-DAP^{7),8)} 両酵素に注目し, カドミウムをラットに投与した後, 尿中での両酵素活性の変動を調べることにより, カドミウムの腎臓に対す

*岐阜県衛生研究所 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

る影響について検討した。

材料および方法

1. 試薬

L-γ-グルタミルP-ニトロアニリド、グリシルグリシンは、半井化学薬品株式会社の製品を、グリシルプロリンP-ニトロアニリドシレートは、富士臓器製薬株式会社より分与されたものを用いた。その他の試薬は、試薬特級品を用いた。

2. 酵素活性の測定法

γ-GTP：合成基質 L-γ-グルタミル P-ニトロアニリドを用いた Orłowski⁹⁾らの方法によった。すなわち、尿 5.0μl を37°Cで5分間 Preincubation した基質溶液に加え、更に30分間 Incubation した後、氷冷した 1.5M 酢酸溶液を加え反応を停止させ、生じたP-ニトロアニリンを 410nm で比色定量した。

GP-DAP：合成基質グリシルプロリン P-ニトロアニリドシレートを用いた水津ら¹⁰⁾の方法によった。すなわち、尿 50μl を 37°Cで5分間 Preincubation した基質溶液に加え、更に30分間 Incubation した後、1.8%酢酸溶液を加え反応を停止させ、生じた P-ニトロアニリンを 410nm で比色定量した。

両酵素活性とも、37°Cで1分間に、それぞれの基質から 1μM の P-ニトロアニリンを生ずる時の活性を1単位とした。

3. その他の測定法

- 総アミノ酸量：福島ら¹¹⁾による TNBS 法
- プロリン量：福島ら¹²⁾による Chinard 変法
- クレアチニン：Folin-Wu¹³⁾法

なお、尿中 γ-GTP 活性、GP-DAP 活性、総アミノ酸量、プロリン量は、尿中クレアチニン量を用いて補正した。

4. 実験動物

Sprague Dawley 系雌ラット (24週令、体重280~360g) を3群に分け、A群 (4匹) には、Cd 5.0mg/kg 体重を、B群 (4匹) には、Cd 2.5mg/kg 体重を、C群 (3匹) には、生理食塩水 1.0ml を、それぞれ腹部皮下に1回注射した後、代謝ゲージを用いて全日尿を集め、測定を行なった。餌 (粉末飼料M：オリエンタル酵母社製)、および飲水 (井戸水) は、自由に摂取させ、空調装置を具備しない飼育室で飼育した。
(実験期間中の外気温：最高9.5°C、最低-2.0°C、平均 2.5°C¹⁴⁾)

実験結果

各群ラットの尿中 γ-GTP活性、GP-DAP 活性、総アミノ酸量、およびプロリン量の測定結果 (平均値 ± 標準偏差) を表1に示した。

1. カドミウム投与によるラット尿中 γ-GTP 活性、および GP-DAP 活性の変動。

生理食塩水のみを投与したC群では、実験期間を通して、γ-GTP活性 (655±203 U/g.クレアチニン)、GP-DAP 活性 (109±33 U/g.クレアチニン) ともに、安定した値を示したのに対して、カドミウムを 5.0 mg/kg 体重 皮下投与したA群では、γ-GTP (図1)、GP-DAP (図2) ともに、カドミウム投与後1日目から著しい活性の上昇がみられ、カドミウム投与後2~4日目には、両酵素活性とも最高値に達した。

Table 1. Variation of Rat Urinary parameters after Cd Injection.

Parameters	Group	Days					
		0	1	2	4	5	6
γ-GTP (U/g. Creatinine)	A	667±220	3178±2215	3297±494	2355±23	648±165	401±22
	B	514±201	682±105	1354±964	810±289	500±167	946±724
	C	652±163	875±323	744±175	585±192	493±40	685±258
GP-DAP (U/g. Creatinine)	A	104±43	301±168	360±139	365±104	254±119	79±10
	B	76±19	127±2	152±91	121±57	85±12	94±28
	C	102±32	150±20	119±21	102±11	86±5	109±62
Total Amino Acids (g/g. Creatinine)	A	1.20±0.43	1.83±0.44	2.16±0.11	2.96±0.59	3.32±1.70	0.93±0.24
	B	1.45±0.21	1.35±0.23	1.54±0.34	1.34±0.10	1.14±0.48	1.26±0.61
	C	1.54±0.36	1.81±0.60	1.70±0.45	1.45±0.13	1.40±0.12	1.69±1.27
Prolin (mg/g. Creatinine)	A	16.5±3.5	12.0±0.6	17.1±2.3	26.8±5.7	13.3±2.0	31.6±11.2
	B	20.2±6.1	13.2±5.0	11.3±1.8	23.7±3.5	18.1±5.2	13.4±1.7
	C	26.8±4.2	15.3±1.0	16.8±5.9	25.2±6.8	12.3±4.2	14.5±8.1

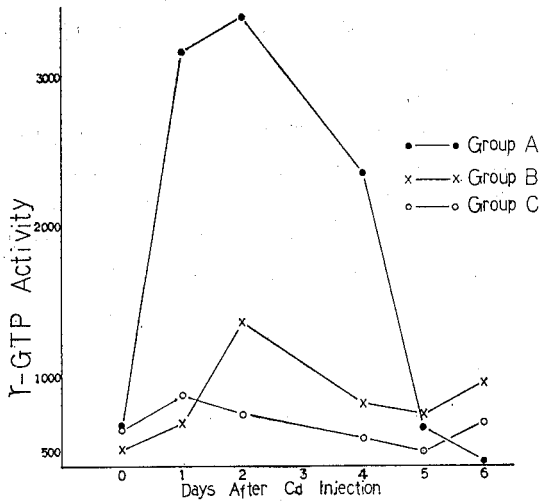


Fig 1. Variation of Rat Urinary γ -GTP Activity

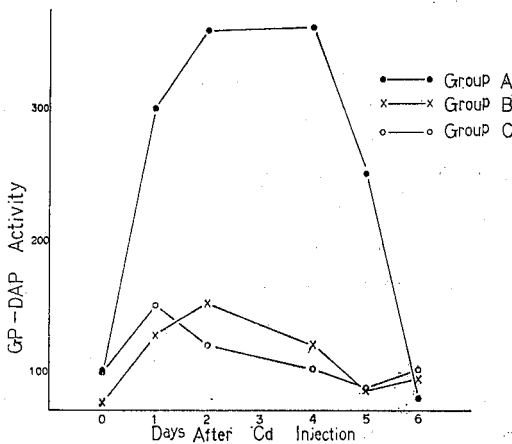


Fig 2. Variation of Rat Urinary GP-DAP Activity

その後、両酵素活性とも急速に低下し、 γ -GTP 活性は5日目、GP-DAP 活性は6日目にはC群と同レベルまで低下した。一方、カドミウム投与量が2.5 mg/kg体重であるB群では、 γ -GTP活性(760 \pm 469 U/g. クレアチニン)、GP-DAP 活性(106 \pm 45 U/g. クレアチニン)ともにC群に比べ明らかな差はみられなかった。

2. カドミウム投与による、ラット尿中総アミノ酸量、およびプロリン量の変動。

尿中総アミノ酸量(図3)は、A群では、カドミウム投与後、徐々に増加し、5日目に最高値に達した後低下した。一方、B群では、実験期間を通して安定し

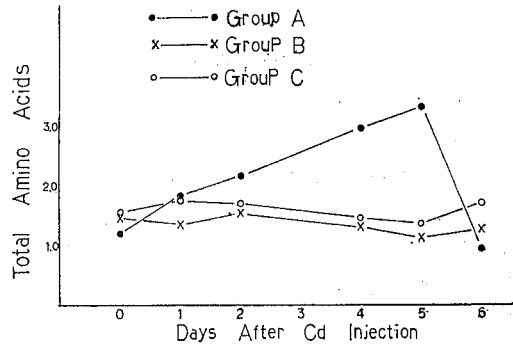


Fig 3. Variation of Rat Urinary Total Amino Acids

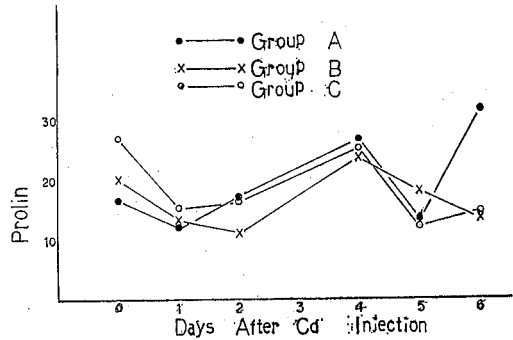


Fig 4. Variation of Rat Urinary Proline.

た値(1.29 \pm 0.27 g/g. クレアチニン)で、C群(1.45 \pm 0.55 g/g. クレアチニン)との間に差はみられなかった。

又、尿中プロリン量(図4)は、実験期間を通して、A群(17.2 \pm 6.6 mg/g. クレアチニン)、B群(16.6 \pm 5.6 mg/g. クレアチニン)、およびC群(17.3 \pm 6.7 mg/g. クレアチニン)の間に差はみられなかった。

考 察

カドミウムが、腎臓におよぼす影響を知るために、腎近位尿管に存在していると言われている酵素、 γ -GTP、GP-DAP の尿中での変動を、ラットを用いカドミウム投与量を変えて検討した。

カドミウム投与量が多いA群では、投与後1日目から、両酵素活性とも尿中で著しく上昇したのに対して、カドミウム投与量が少ないB群では、対照群であるC群との間に、差がみられなかった。このことは、投与したカドミウム量の違いにより腎近位尿管に存在する両酵素への影響が異なることを意味し、つまり

は、カドミウム投与量の違いによって、腎臓におよぼす影響が異なることを示唆した。

尿中 γ -GTP 活性については、中尾ら¹⁵⁾が、ラットを用い、カドミウム (Cd 1.5 mg/kg 体重) を、皮下注射で連続投与した時、対照群に比べて、酵素活性の低下がみられたことを報告している。このことは、カドミウム投与量が、今回、著者らが用いたものより少ないこと、又低濃度カドミウムの連続投与は、カドミウム毒性に対して耐性効果がある、という吉川¹⁶⁾の報告にみられるように、カドミウムの投与方法、および投与量の違いにより、カドミウムが生体におよぼす影響は、異なったものになると思われる。

両酵素活性ともに、著しく変動したA群において、尿中、 γ -GTP 活性と GP-DAP 活性との間に、相関関係が認められた ($r=0.837$, $P<0.01$)。これは、カドミウム投与によってみられる、ラット尿中 γ -GTP 活性、および GP-DAP 活性の上昇は、同様な機構によることを示唆している。

腎尿管における γ -GTP の意義について、Meister¹⁷⁾らは、近年、 γ -glutamyl Cycle 機構という仮説を提唱し、本酵素が、腎尿管において、アミノ酸の輸送に重要な働きをしていることを示唆している。又、カドミウム暴露により、尿中総アミノ酸量の増加がみられることは、広く知られており、「カドミウムによる環境汚染対策要領 (住民健康調査方式)¹⁸⁾」にも、尿中総アミノ酸の定量が、検査項目として、とりいれられている。そこで、著者らは、カドミウム投与ラット尿中での、 γ -GTP 活性の変動を調べるとともに、尿中総アミノ酸量の測定を行なった。

A群においては、尿中 γ -GTP 活性の上昇とともに、尿中総アミノ酸量の増加もみられ、両者の間には、弱いながらも相関関係が認められた ($r=0.423$, $P<0.05$)。

GP-DAP は、腎尿管に多量に分布している事、又コラーゲン蛋白質中に多くみられるグリシルプロリンをアミノ基末端にもつペプチドに特異的に働き、グリシルプロリンを遊離することが報告され⁸⁾、コラーゲン代謝との関連で注目されている。一方、カドミウム暴露による尿中総アミノ酸量の増加のうち、特にコラーゲン蛋白質と関連の深い、プロリン、ヒドロキシプロリン排泄量の増加が報告されている^{12), 19)}。そこで、GP-DAP 活性の変動を調べるとともに、尿中遊離プロリン量の測定を実施したが、A群において、尿中 GP-DAP 活性の著しい変動がみられたにもかかわらず、尿中プロリン量は、全群の間で差がみられなかった。

カドミウムが腎臓におよぼす影響と、それに伴うと思われる尿中酵素活性の変動およびその機構については、なお不明な点が多く、今後更に検討する必要があると思われる。

謝 辞

本研究に対し、適切な御助言、ならびに、ご校閲いただきました岐阜大学公衆衛生学教室吉川博教授に深謝いたします。

本研究は、昭和54年度岐阜県調査研究費の一部によった。

文 献

- 1) 野見山一生：カドミウム中毒における腎障害と蛋白尿，医学のあゆみ，**74**，249-255，1970
- 2) 野見山一生：カドミウム中毒における腎障害と蛋白尿(続)，医学のあゆみ，**83**，121-129，1972
- 3) Clarkson, T. W., and Kench, J. E.: Urinary Excretion of Amino Acids by Men Absorbing Heavy Metal, *Biochem. J.*, **62**, 361-372, 1956
- 4) Nomiya, K., Sato, C., and Yamamoto, A.: Early Signs of Cadmium Intoxication in Rabbits, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **24**, 625-635, 1973
- 5) Bernard, A., Buchet, J. P., Roels, H., Masson, P., and Lauwerys, R.: Renal Excretion of Proteins and Enzymes in Workers Exposed to Cadmium, *Eur. J. Clin. Invest.*, **9**, 11-22, 1979
- 6) Goldbarg, J. A.: The Colorimetric Determination of γ -glutamyltranspeptidase with a Synthetic Substrate, *Arch. Biochem. Biophys.*, **91**, 61-70, 1960
- 7) Hopsu-Havu, V. K., and Glenner, G. G.: A New Dipeptide naphthylamidase Hydrolyzing Glycylprolyl- β -naphthylamide, *Histochemie*, **7**, 197-201, 1966
- 8) 永津俊治，永津郁子，柳原俊平：X-プロリルジペプチジル-アミノペプチダーゼの臨床生化学，医学のあゆみ，**102**，679-683，1977
- 9) Orłowski, M., and Meister, A.: γ -glutamyltranspeptidase: A New Convenient Substrate for Determination and Study of L- and D- γ -glutamyltranspeptidase Activities, *Biochem.*

- Biophys. Acta, **73**, 679-681, 1963
- 10) Nagatsu, T., Hino, M., Fuyamade, H., and Hayakawa, F., : New Chromogenic Substrates for X-Prolyldipeptidyl-aminopeptidase, *Anal. Biochem.*, **74**, 466-476, 1976
 - 11) 福島匡昭, 小林悦子 : カドミウム汚染地住民検診のための尿検査方法に関する研究〔Ⅳ〕 2, 4, 6-Trinitrobenzene Sulfonic Acid 法〔TNBS 法〕によるアミノ酸定量について, *十全医会誌*, **84**, 166-171, 1975
 - 12) 福島匡昭 : 尿中遊離プロロリンの簡易定量法, *日本公衛誌*, **20**, 659-665, 1973
 - 13) Bonsnes, R. W., and Taussky, H. H., : On the Colorimetric Determination of Creatinine by the Jaffé Reaction, *J. Biol. Chem.*, **158**, 581-591, 1945
 - 14) 岐阜県気象月報, **20**, 5, 1980
 - 15) 中尾順子, 道源正子, 樺島順一郎, 藤井芳美 : ラット尿中の蛋白質 (第3報) カドミウムによる腎障害と尿中蛋白質, *東京衛研年報*, **30-2**, 128-132, 1979
 - 16) Yoshikawa, H., : Tolerance to Acute Toxicity in Mice Having Received a Daily Injection of Its Low Dose, *Ind. Health*, **12**, 175-177, 1974
 - 17) Meister, A., : On the Enzymology of Amino Acid Transport, *Science*, **180**, 33-39, 1973
 - 18) 環境庁企画調整局 : カドミウムによる環境汚染暫定対策要領 (住民調査方式), 環境庁, 1976
 - 19) 佐野晴洋, 井口弘 : 生体障害の検出法 : 尿中アミノ酸, *総合臨床*, **23**, 92-106, 1974

岐衛研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

岐阜県におけるインフルエンザB型の疫学的研究

過去10年間の流行状況および罹患率について

松野久生*

1968年～1977年に流行した岐阜県内のインフルエンザB型の流行状況および罹患率を調査した。

1968年、1971年および1977年の、連続変異したB型ウイルスによりひきおこされた3回の流行は、西南濃および東濃の都市周辺から中濃、飛騨の農山村へ北上した。この様式は、一般的なインフルエンザB型の特徴と一致している。

しかしながら1973年のB/香港/72型(B/岐阜/2/73型)では、まず国鉄沿線沿いに流行し、次第に周辺の農山村へ波及した。この流行様式は、1968年のA香港型侵入時に類似しており、B型でもA型と同様に、著しく抗原変異したウイルスが流行する場合には逐域伝播するものと考えられた。

地域的には、東濃地区が1973年秋の流行を除き、他の地区より高い罹患率を示した。

インフルエンザの流行にはウイルスの抗原変異、宿主の感受性および環境因子が関与している。また、インフルエンザA型(以下A型)は、ウイルスが不連続変異した時には逐域伝播、連続変異した場合には叢状発生する¹⁾²⁾。一方、インフルエンザB型(以下B型)は、局地性が強く都市周辺から農山村に伝播すると考えられている¹⁾³⁾。

1957年のアジアかぜ⁴⁾、1968年の香港かぜ⁵⁾の流行については詳細な研究がなされ、交通機関を通じて全国に逐域伝播したことが、明らかとなっている。

そこで、著者はまず岐阜県における過去10年間のB型の流行状況および罹患率について検討を行い、B型にもA型と同じような逐域伝播があること、小さな県内においても地域によって罹患状況に差があることを明らかにすることが出来た。

材料および方法

1) 流行状況および罹患率

県下各保健所から岐阜県保健予防課に届出られた“かぜ”による休校、学級閉鎖等の措置を行った小、中学校の所在する市町村を流行発生地とし、流行状況を把握した。

また、県下を地形、交通状況、行政区画等で、西南濃、東濃、中濃および飛騨の4地域に区分し、地域別に小、中学生の罹患者を集計、児童、生徒数で除したものを罹患率とした。

2) 流行の確認

かぜによる休校、学級閉鎖等の措置を行った小、中学校の“かぜ”様症状を示した児童、生徒から“うがい液”および急性期、回復期の血液を採取した。“うがい液”はふ化鶏卵法⁶⁾を用いウイルス分離を行い、血清は血球凝集抑制試験⁶⁾を行って罹患の有無を検討した。

なお、分離されたウイルスの一部を日本インフルエンザセンターに送付し、フェレット感染血清による抗原分析に供した。

3) 4地域の概要

西南濃：岐阜県の西南部に位置し、北部および西部に山脈があるが主として平野部で、岐阜市、大垣市を中心とした地域で、人口密度も438人/km²と県下で最も高い。地域の中央部を国鉄東海道線が横断し、交通量も最も多い地域である。

東濃：県東南部に位置し、中央部を南西から北東に国鉄中央線が縦貫している。中央線に沿って多治見市、土岐市、瑞浪市、恵那市、中津川市の5つの小都市(人口5万人前後)があり、両側は山間町村となっている。人口密度は210人/km²で県下で第2位である。

中濃：県中央部に位置し、南部に関市、美濃市および美濃加茂市(人口5万人前後)があり扇状に山間町村が広がっている。人口密度は123人/km²である。

* 岐阜県衛生研究所 岐阜市野一色4丁目6番3号

飛驒：県北部に位置し、高山市を中心に中部山岳地帯となっている。南北に国鉄高山線が縦貫している。人口密度は最も低く42人/ha²である。

成 績

1) 過去10年間のインフルエンザの発生状況

1968年末から1977年初冬にかけて岐阜県ではA香港型が7回、B型が5回流行した。各流行の時期および

届出患者数を図1に示した。

A香港型は、1968年に侵入して以来1972年までに届出患者数1~2万人の中流行を示し、その後、しばらくは小流行で届出患者数も数千人に過ぎない。ところが1975年末から1976年初冬にかけてはA/vict./75型が大流行し、届出患者数もほぼ10万人に達した。

一方、B型は2~3年ごとに流行し、届出患者数も1977年のほぼ14万人を最高に、他は数千から2万6千人位の変動がみられた。

2) B型の年次別流行状況

ア 流行の様式

1968年以來の5回のB型流行をそれぞれ初期および中後期にわけて集団かぜの発生した小、中学校の所在する市町村別に図示した。

1968年(図2) 1971年(図3) 1973年初夏(図4) 1977年(図6)のB型はそれぞれ若干の差はあるが類似した流行様式を示している。すなわち、初期には西南濃、東濃などの比較的人口密度の高い都市周辺から流行が始まり、中後期には人口密度の低い地域へ北上する流行像を示した。

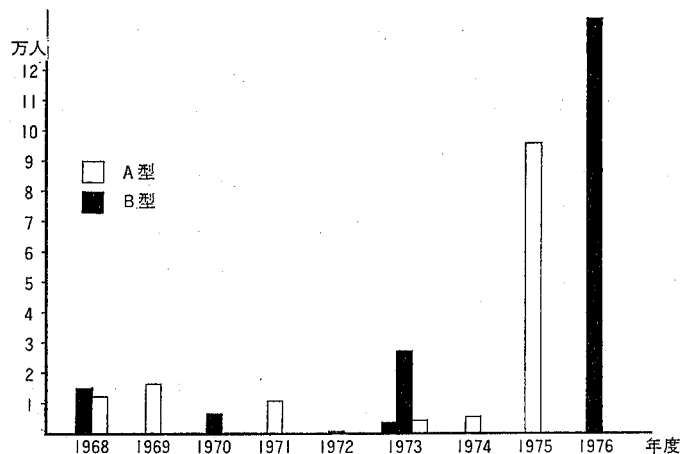


図1 岐阜県におけるインフルエンザの流行別届出患者数 (小・中学校)

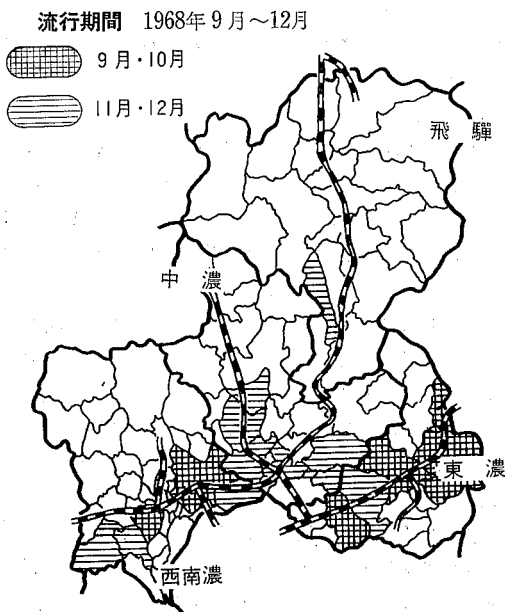


図2 インフルエンザB型の流行 (1968年)

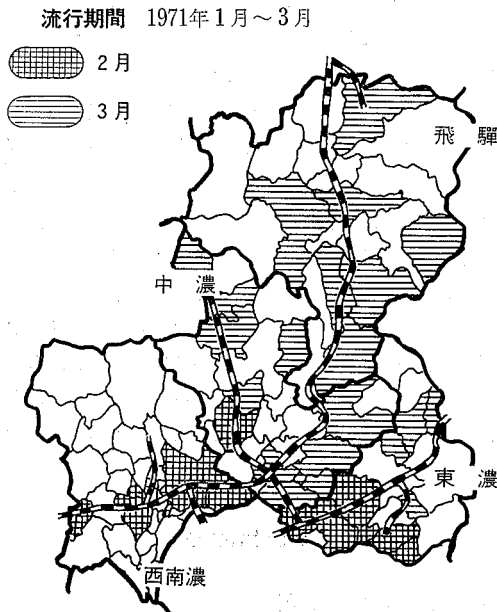


図3 インフルエンザB型の流行 (1971年)

流行期間 1973年5月～7月

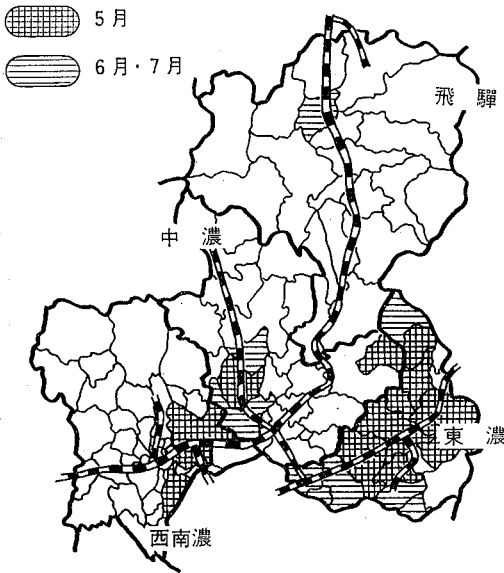


図4 インフルエンザB型の流行 (1973年初夏)

流行期間 1973年9月～11月

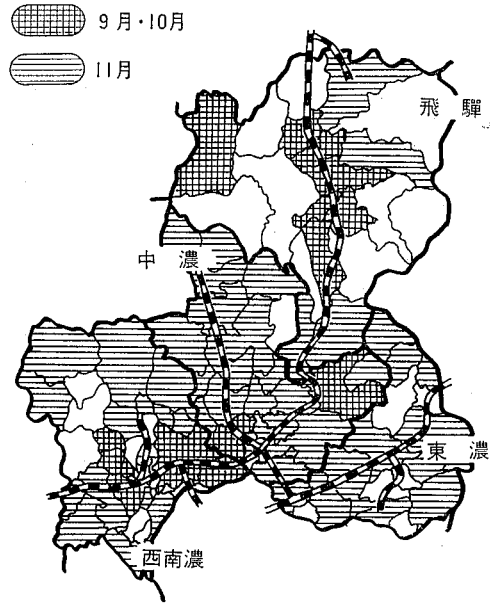


図5 インフルエンザB型の流行 (1973年秋)

流行期間 1977年1月～3月

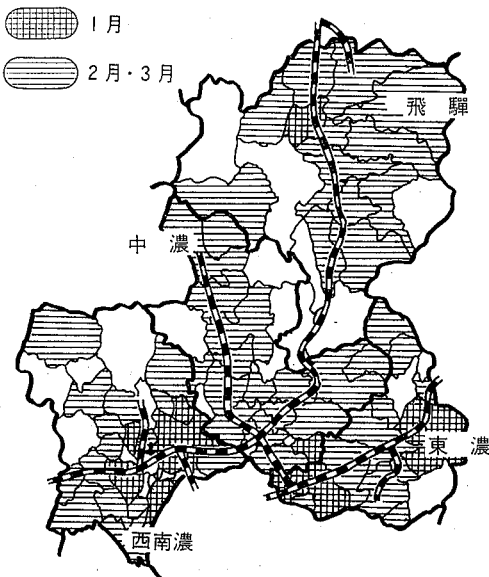


図6 インフルエンザB型の流行 (1977年)

これらのB型流行に比し、図5のように、1973年秋は異った流行様式を示した。すなわち、1973年初夏の主流行地（東濃）を除いた3地域の鉄道沿線に初期の流行がみられ、中後期には周囲の町村に伝播し殆んど全県下の市町村に及んだ。

イ 罹 患 率

岐阜県を4地域に分け、各流行別に小、中学生の罹患率を求め表1に示した。

東濃の小、中学生の罹患率はそれぞれ、1968年11.5%と10.5%、1971年4.3%と4.1%、1973年初夏5.2%と6.9%、1973年秋5.5%と5.4%および1977年92.5%と62.0%であったのに対し、他の3地域では1968年1.3~6.1%と0.8~5.1%、1971年2.3~3.0%と1.0~2.3%、1973年初夏0.1~0.5%と0~0.7%、1973年秋10.9~16.9%と7.1~19.9%および1977年41.7~68.8%と20.3~37%となり、1973年秋の流行を除いてはいずれの年も、東濃の罹患率が他の3地域よりも高かった。また、全般的に罹患率の低いのは飛驒であった。

ウ 流行の確認

休校、学級閉鎖などの措置を行った小、中学校の一部の患者から検体を採取し、ウイルス分離およびワクチン株あるいは新分離株を抗原とした血球凝集抑制反応を実施して流行の確認を行った。その成績を表2に示した。いつれの流行からもB型ウイルスが分離され、また、血清学的にもB型流行である事が確認された。

分離されたウイルスの一部を日本インフルエンザセンターに送付し、フェレット感染血清による抗原分析が行われた。その結果、1968年はB/神奈川/2/68型⁷⁾、1971年はB/大阪2/70型とB/岐阜/2/71型⁸⁾、1973年はB/岐阜/2/73型⁹⁾¹⁰⁾、1977年はB/神奈川/3/76型であった。

表1 10年間のインフルエンザ罹患数

		1968年			1971年			1973年初夏			1973年秋			1977年		
		生徒数	患者数	罹患率(%)	生徒数	患者数	罹患率(%)	生徒数	患者数	罹患率(%)	生徒数	患者数	罹患率(%)	生徒数	患者数	罹患率(%)
小学生	西南濃	83,855	4,882	5.8	88,121	2,064	2.3	92,596	419	0.5	92,596	10,064	10.9	102,654	56,732	55.3
	東濃	30,119	3,460	11.5	30,538	1,326	4.3	30,799	1,607	5.2	30,799	1,687	5.5	32,201	29,792	92.5
	中濃	30,828	1,877	6.1	29,829	777	2.6	27,760	114	0.4	27,760	4,705	16.9	28,905	19,879	68.8
	飛騨	17,896	232	1.3	17,516	533	3.0	16,670	14	0.1	16,670	1,819	10.9	16,475	6,878	41.7
	小計	162,698	10,451	6.4	166,004	4,700	2.8	167,825	2,154	1.3	167,825	18,275	10.9	180,235	113,281	62.9
中学生	西南濃	42,368	2,167	5.1	40,678	421	1.0	43,212	205	0.5	43,212	3,725	8.6	45,428	9,237	20.3
	東濃	15,880	1,644	10.5	14,821	690	4.1	15,032	1,035	6.9	15,032	812	5.4	15,230	9,436	62.0
	中濃	17,384	322	1.9	16,174	364	2.3	15,488	115	0.7	15,488	3,088	19.9	14,843	4,654	31.4
	飛騨	9,580	78	0.8	8,667	160	1.9	8,503	0	0	8,503	606	7.1	8,499	2,777	32.7
	小計	85,212	4,211	4.9	80,340	1,635	2.0	82,235	1,355	1.6	82,235	8,231	10.0	84,000	26,104	31.1
合計	247,910	14,662	5.9	246,344	6,335	2.6	250,060	3,509	1.4	250,060	26,506	10.6	264,235	139,385	52.8	

表2 インフルエンザB型流行確認状況

	ウイルス分離		血球凝集抑制試験(HI)		フェレット感染血清による同定
	検査数	B型ウイルス分離数	検査数	B型陽性数 ^{*1}	
1968年	50	6	67	43	B/神奈川/2/68
1971年	28	3	37	21	B/大阪/2/70 B/岐阜/2/71
1973年初夏	47	12	35	13	B/岐阜/2/73
1973年秋	57	8	65	39	B/岐阜/2/73
1977年	110	9	64	45	B/神奈川/3/76

*1 ワクチン株、あるいは同流行からの分離株によるHI試験で、抗体価 \geq 4倍上昇を示したもの。

*2 日本インフルエンザセンターによる。

考 察

1968年~1977年の岐阜県内に流行したB型の流行状況および罹患率について検討を行った。

1968年秋、1971年および1977年初冬は、連続変異したB型ウイルスによる流行であった。その流行状況を見ると、いずれの年も、初期には西南濃および東濃の都市周辺から流行が始まって、農山村へと伝播してゆく、一般的なB型の流行様式を示した。1971年と1977年の流行は、中後期には中濃、飛騨の山間部へと拡大された。1968年の流行では北上が認められなかったのは、流行期が秋であったこと、さらに、12月から不連続変異のA香港型が県内に流行したためと考えられる。

図8は、A香港型の連続変異したA/vict./75型の大流行の様式を示したが、1968年、1971年等のB型とは異なり、初期において県下の各地域に発生する叢状発生型であった。

1973年、著しく抗原変異したB/香港/72型が全国的に流行した。乗木³⁾はこのB型流行の生態学的解析を行い、当然多発すべき地域で多発しなかったことへの疑問を投げかけていた。岐阜県においても1973年の初夏のみの流行を取り上げて考えれば、主として東濃のみに多発し、同様な現象がみられた。しかし、初夏および秋の流行を一連の流行として考えてみれば、東海道線、中央線、高山線などの国鉄幹線沿いに初期の発生があり、その後、周辺の町村へ拡大した。この流行様式は、1968年のA香港型侵入時のもの(図7)とよく

流行期間 1975年12月～1976年3月

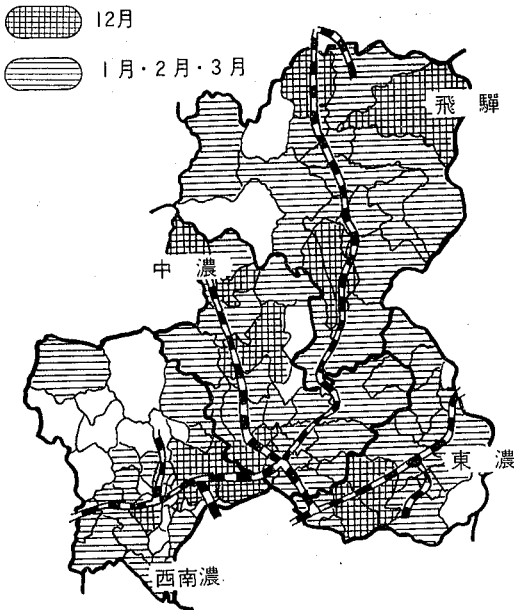


図8 インフルエンザA型の流行(1975年)

流行期間 1968年12月～1969年2月

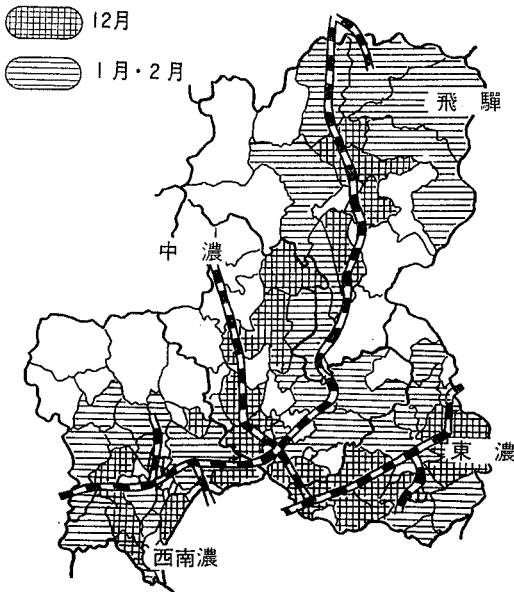


図7 インフルエンザA型の流行(1968年)

一致していた。したがって、初夏、秋の流行という特殊性、B型の伝播力などの条件が重なり長期間の流行になっているが、基本的には、抗原構造が著しく変異した場合には、B型においてもA型のような逐域伝播

があるのではないかと考えられた。

つぎに岐阜県を4地域に分け、それぞれの地域のB型の罹患率を検討した。地域別にみると東濃は、1973年秋の流行を除き他の地域の1.5倍以上の高い罹患率を示した。ついで中濃と西南濃は、流行により若干の差はあるが、ほぼ、同程度の罹患率を示し、飛驒は比較的低い値を示していた。このような地域差が出る理由については、インフルエンザの流行がウイルスの抗原変異、宿主の感受性、環境因子に左右されるため、解明することは難しかった。しかし、1973年秋の流行で、東濃の罹患率が他の地域に比して低かったのは、初夏に同型ウイルスが流行したため、秋には自然感染抗体により伝播を抑制したものと考えられた。

一方、通常のB型流行で東濃の罹患率が他の地域に比して高い理由については、免疫度と共に地域特有の環境条件を調査する必要があると考えられた。しかしながら免疫度の調査は、インフルエンザウイルスが、毎年のように不連続変異あるいは連続変異等、常に抗原変異を起すため、基準とすべき抗原の選定が非常に困難であった。また秋にはワクチンの接種があり、免疫度の調査はワクチン、抗原変異、免疫度の自然低下などの問題があり、集団での断面調査では免疫度を確実に測定することは困難であった。従って、今後免疫度の調査をするには幾人かの人を選び、ワクチン接種前後および流行後の抗体を連続的に測定する必要があると考えられた。インフルエンザ流行と環境条件については、地形、人口分布、交通、気象等について調査し、報告する予定である。

謝 辞

御校閱いただきました、岐阜大学医学部鈴木祥一郎教授に深く感謝の意を表します。なお本研究には調査研究費の一部を用いた。

文 献

- 1) 福見秀雄：インフルエンザの疫学，第18回医学会総会誌，15-22，1971
- 2) 加地正郎：インフルエンザとその周辺疾患，127-130，中外医学社，1963
- 3) 加地正郎編，乗木秀雄：インフルエンザ研究の進歩—流行の生態学的解析—，30-48，近代出版，1976
- 4) 小島三郎，尾村偉久監修：アジアかぜ流行史，

- No. 2, 1-33, 日本公衆衛生協会, 1963
- 5) 福見秀雄, 熊谷富士雄, 園口忠雄, 武内安恵: 香港かぜーその流行の記録一, 11-50, 日本公衆衛生協会, 1971
 - 6) 国立予防衛生研究所学友会編: ウイルス実験学, 各論, 31-53, 丸善, 1967
 - 7) 岐阜県で分離されたインフルエンザウイルスの抗原分析, 岐阜県衛生研究所年報, 14, 25, 1968
 - 8) インフルエンザ, 岐阜県衛生研究所年報, 16, 23, 1970
 - 9) 福見秀雄: 最近のインフルエンザ流行株の抗原構造, インフルエンザワクチン研究会第11回討論会記録, 87-93, 1972
 - 10) 松野久生, 山田不二造, 石垣まちよ, 杉浦テツヨ, 奥山やすえ, 新井洋子: 昭和48年のB型の流行, 岐阜県衛生研究所年報, 19, 40-43, 1973
- (本報告の著者は昭和54年9月永眠されましたので)
遺稿を原型の通り掲載した。

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.カドミウム-EDTA キレート化合物を
含む廃水の実験室的処理

森下有輝*, 梶川正勝*, 寺尾 宏*, 山田不二造*

Experimental Treatment of the Cd-EDTA Complexing
WastewaterYūki MORISHITA*, Masakatsu KAJIKAWA*,
Hiroshi TERAOKA*, Fujizō YAMADA*

試験研究機関の排水が水質汚濁防止法の規制の対象となつて以後種々の形式をもつた重金属処理施設が研究、試験室に設置されてきている。これら廃水の重金属処理には主として金属水酸化物凝集沈殿法、金属硫化物凝集沈殿法が用いられているが、廃水中の金属が金属イオンで存在していることを前提としたもので、金属キレート化合物については対象外となっている。昭和54年4月、水道水試験法の改正があり、硝酸性及び亜硝酸性窒素の定量に Cd-Cu カラム還元法が採用された⁶⁾。この方法による廃水にはカドミウムが含まれ、しかもそれがエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) とキレート結合 (Cd-EDTA) していると考えられ、試験研究機関における金属キレート廃水の処理は極めて重要となつてきた。水道水検査によって生じる Cd-EDTA 廃水の処理について山本らは過マンガン酸カリウム酸化-鉄沈殿法¹⁾、都築らはイオン交換樹脂を用いた吸着分離による方法を報告している²⁾。しかし山本らの方法は操作が煩雑であり、都築らの方法は使用後の樹脂を廃棄するとすれば比較的費用が高く、再生するとその廃水処理がさらに必要となる。また、硫化ナトリウムを高濃度に加えることにより金属キレート化合物廃水を処理できる³⁾が臭気の強い欠点がある。我々はジェチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC) とカドミウムの錯体が水に極めて難溶性であることに着目してキレート廃水処理への応用を検討し、硫化ナトリウム法と比較した結果、簡易に処理が可能であることがわかったので報告する。

材料および方法

試薬 Cd-EDTA 溶液 (Cd 100mg/ℓ) : EDTA · 2Na 330mg と硫酸カドミウム (CdSO₄ · ½H₂O) 230mg

を蒸留水 1ℓ に溶かした。

カラム廃水：省令の方法により操作したカラム活性化液、洗浄液、試験溶液の混合液

ジェチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC · 3H₂O) : 試薬特級

硫酸第1鉄 (FeSO₄ · 7H₂O) : 試薬特級

硫化ナトリウム (Na₂S · 9H₂O) : 試薬特級

実験方法 DDTC、硫化ナトリウムによる処理実験は 50ml~1ℓ の Cd-EDTA を含む溶、廃液を用いて行い、水酸化物凝集沈殿処理による実験は DDTC 処理後のろ液、カラム廃液、水 (対照) の 1ℓ に金属塩を加えて行った。金属濃度の測定は原子吸光法によつた。

廃水処理方法

DDTC 法：カラム活性化液、洗浄液、試験液等の Cd-EDTA を含む廃水 (Cd100mg/ℓ) 1ℓ に対して DDTC 1g を加え充分にかくはんしたのち硫酸第1鉄 2g を加え、さらにかくはんする。消石灰 2g を加えて黒緑色の鉄沈殿物が生じるまで 10N 水酸化ナトリウム溶液を加える。さらに高分子凝集剤を数 ppm になるように加えかくはん後静置し、上澄液をろ別する。ろ液の pH を 6~8 に調整後排水する。

硫化ナトリウム法：廃水に硫化ナトリウムを 1% 濃度となるように加える。約 10 分間かくはんし一夜静置、上澄液をろ別排水する。

成 績

Cd-EDTA 溶液に DDTC を加え、Cd-DDTC を難溶性沈殿として分離する場合の pH の影響を表 1 に示した。ろ液に残留するカドミウム濃度は pH 3~5 で

* 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1. DDTC による Cd-EDTA 除去に及ぼす pH の影響

試料 100ml (Cd-EDTA 50mg/l) のろ液中 Cd 濃度 mg/l

pH	1	3	5	7	9
DDTC · 3H ₂ O 100mg	12.8	0.26	0.21	3.9	21
DDTC · 3H ₂ O 100mg + FeSO ₄ · 7H ₂ O 100mg	11.6	0.13	0.07	0.04	0.20

表2. Cd-EDTA 除去に要する DDTC と硫酸第 1 鉄量

試料 50ml (Cd-EDTA 100mg/l) のろ液中残留 Cd 濃度 mg/l

DDTC · 3H ₂ O mg	FeSO ₄ · 7H ₂ O mg			
	0	20	80	320
5	87 (22.3)	76 (32.1)	75 (33.0)	64 (42.9)
10	63 (43.8)	54 (51.8)	58 (48.2)	58 (48.2)
20	22 (80.4)	5.5 (95.1)	3.0 (97.3)	5.0 (95.5)
40	1.9 (98.3)	1.3 (98.8)	0.08 (99.9)	0.07 (99.9)
80	1.2 (98.9)	0.9 (99.2)	0.03 (100)	0.02 (100)
160	2.0 (98.2)	1.0 (99.1)	0.06 (99.9)	0.02 (100)

(): 除去率%

表3. DDTC と硫酸第 1 鉄併用による Cd-Cu カラム廃水の処理* 廃水 1l (Cd 濃度 92mg/l) 使用

添加量 g	処理水中の Cd	
	DDTC · 3H ₂ O	FeSO ₄ · 7H ₂ O
0.5	0	3.65
	2	2.36
1.0	0	0.34
	1	0.07
2.0	2	<0.005
	0	0.01
	0.5	<0.005
4.0	1	<0.005
	2	<0.005
0.5	0	0.02
	0.5	<0.005

*消石灰 2g 及び高分子凝集剤 2mg/l 添加

0.26~0.21mg/l, 硫酸第 1 鉄を追加したときには pH 5~7 で 0.07~0.04mg/l であった。加える DDTC 量と硫酸第 1 鉄量をさらに検討した (表 2)。Cd-EDTA 5mg に対し, DDTC 40mg, 硫酸第 1 鉄 80mg 以上でカドミウム除去率 99.9% 以上を示した。次に実際に Cd-Cu カラム法により硝酸性窒素を測定した廃水 (Cd 92mg/l) 1l に DDTC, 硫酸第 1 鉄を加えた結果を表 3 に示した。DDTC 1g, 硫酸第 1 鉄 2g を加えろ液に残るカドミウムは 0.005mg/l 以下となった。硫化ナトリウムを用いて処理した結果を表 4 に示した。硫化ナトリウムの 0.7% 以上を加えればろ液に残るカドミウムは 0.1mg/l 以下となった。カラム廃水およびそれを DDTC 処理したろ液の金属水酸化物凝集沈殿に及ぼす影響を表 5 に示した。重金属除去率は対照に比べて鉄の 88~98%, カラム廃水のマンガン 99% を除いて, 鉛, 銅, 亜鉛, カドミウムで 5~73

表4. Cd-Cu カラム廃水の硫化ナトリウム処理

Na ₂ S · 9H ₂ O 添加 %	処理後の Cd 濃度* mg/l
0	43.7
0.01	23.4
0.1	0.21
0.3	1.19
0.5	0.18
0.7	0.04
1.0	0.04
2.0	0.05
4.0	0.08

* 一夜静置

表5. 重金属の水酸化物凝集処理に及ぼす DDTC 処理水, カラム廃水の影響

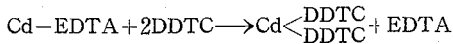
添加金属	添加量 mg/l	水酸化物凝集処理後の残留金属濃度* mg/l		
		DDTC 処理ろ液	カラム廃水	対照 (蒸留水)
鉛 Pb(NO ₃) ₂	5	3.2 (36)	3.4 (32)	0.0 (100)
銅 CuSO ₄ · 5H ₂ O	5	2.8 (44)	3.4 (32)	0.0 (100)
鉄 FeCl ₃ · 6H ₂ O	5	0.6 (88)	0.1 (98)	0.1 (98)
マンガン MnSO ₄ · 4H ₂ O	10	4.8 (52)	0.1 (99)	0.0 (100)
亜鉛 ZnCl ₂	20	12.1 (40)	5.3 (73)	0.0 (100)
カドミウム CdCl ₂	5	4.0 (20)	無添加 61.3 → 58.3 (5)	0.0 (100)

*: 一夜静置, (): 除去率%

%と低かった。

考 察

Cd-DDTCは極めて微粒子であり静置しても沈降性が悪い、単にろ紙東洋No.2を用いてろ別したところ、ろ液中のカドミウム残存量はpH3~5で0.26~0.21mg/lであった。これは排水基準値の0.1mg/lに比べて高い。そこで分離を良くする目的で硫酸第1鉄を加えたところpH5~7で0.1mg/l以下となった。さらにCd-EDTA除去に要するDDTCと硫酸第1鉄量について検討した結果(表2), Cd-EDTA 5mgに対しDDTC 40mg, 硫酸第1鉄80mg以上で除去率99.9%以上を示した。DDTCは硫化水素の有機誘導体と考えられ⁴⁾、"Soft ligand"のDDTCはEDTAと次のように置換すると考えられる。



この反応式によればカドミウム100mg/lはDDTC400mgと対応することになる。表2の結果でも、Cd-EDTAのカドミウム量5mgに対して4倍重量のDDTC20mgを使用して約80%の除去率を得た。しかし、廃水処理には安全を見込んで10倍量を必要量とした。

Cd-Cuカラムにより硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の測定を行った廃水1l (Cd92mg/l)にDDTCと硫酸第1鉄を種々の濃度に加えた結果(表3)から、DDTC1g, 硫酸第1鉄2gを加えることでろ液に残るカドミウムは0.005mg/l以下となった。そこでDDTC法はカドミウム100mgに対しDDTC1g, 硫酸第1鉄2gを加えることにした。Cd-DDTCは微粒子であるので硫酸第1鉄、消石灰、高分子凝集剤を併用して沈殿処理効果を高めた。この方法に従えばCd-EDTAのキレート廃水も通常行われる水酸化物凝集法と同様の容易さで臭気もなく安全に処理できる。

比較のために硫化ナトリウムを用いて処理したが、硫化ナトリウムを0.7%以上加えればろ液に残るカドミウムは0.1mg/l以下となる。従って硫化ナトリウム法で処理する場合は1%の硫化ナトリウムの添加で充分処理できると考えられる。この方法はDDTC法に比べ操作は簡単である。しかし硫化物の臭気が強く、開放された場所で行う必要がある。

カラム廃水をDDTC法で処理したろ液にはEDTAの残存が考えられる。そこで一般的に重金属処理法と

して行われている水酸化物凝集沈殿法への影響をみた。DDTC処理ろ液に添加された金属の処理効果はカラム廃水の場合と同様に鉄の90%除去を除いて悪かった。これはろ液中にEDTAが残存し、それが加えた金属とキレート化合物を作り水酸化物凝集沈殿処理の効果を低下させたものと推測される。従って、これらDDTC処理後の排水は水酸化物凝集沈殿処理をする廃水等に混入させず単独排水する必要がある。

ま と め

1. Cd-EDTA 錯体を含む廃水処理にはDDTCをカドミウム量の10倍量を加えたのち、硫酸第1鉄との共沈を行うことによりカドミウム0.005mg/l以下の排水にすることができる。
2. 硫化ナトリウム法と比較して、臭気が少なくカドミウム除去効果が高い。DDTCは硫化ナトリウムに比べ高価であるが使用量が1/10量と少なく費用に差はない。
3. DDTC法により処理した排水には金属と安定なキレートを作り易いEDTAを含むと思われるので、個別に排水するのが望ましい。

謝 辞

御校閲いただきました岐阜大学医学部公衆衛生学教室吉川博教授に深謝いたします。

本実験は昭和54年度調査研究費及び保健所技術研修指導費の一部によった。

文 献

- 1) 山本淳, 橋本清澄, 畑田久勝, 金田吉男, 大路正雄, 日笠讓: 水道水中の硝酸塩分析における銅化カドミウムカラムによる迅速化と排水中の重金属処理の検討, 分析化学, 28, T5-T9, 1979
- 2) 都築俊夫, 伊藤八十男, 井上勝弘: 実験室における排水中カドミウムの除去, 北海道衛生研究所報, 第29集, 119-121, 1979
- 3) 国土計画協会: 研究機関・大学等における実験廃棄物の処理に関する報告, 76-83, 1973
- 4) 日本化学会: 実験化学講座15, 分析化学(上), 126, 丸善, 1972
- 5) 田中元治: 酸と塩基, 130-148, 裳華房, 1971
- 6) 厚生省: 水質基準に関する省令, 厚生省令第56号別表一の1, 1978

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

高速液体クロマトグラフィーによる血清中 フェナセチンの定量

岡本光美^{*}, 山田不二造^{*}, 石黒源之^{2*}, 梅村厚志^{3*}

Determination of Phenacetin in Serum by High Speed Liquid Chromatography

Mitsuyoshi OKAMOTO^{*}, Fujizo YAMADA^{*}, Motoyuki ISHIGURO^{2*},
and Atsushi UMEMURA^{3*}

A method for the determination of phenacetin in serum was established by high speed liquid chromatography. Phenacetin was extracted from serum into acidic chloroform. The extracted sample was analysed on a reverse phase column (LiChrosorb RP-18, 5 μ m) with a mobile phase of acetonitrile/0.1M acetate buffer (pH 4.6)=1/4(v/v). With this method, the amount of phenacetin was determined within 3.24% error over the range from 0.1 to 0.6 μ g, and the limit of detection was 0.1 μ g.

血清中のフェナセチンの定量法は高速液体クロマトグラフィーによって確立された。フェナセチンは酸性条件でクロロホルムを用い血清から抽出した。抽出検体は、アセトニトリル/0.1M酢酸緩衝液 (pH 4.6)=1/4(v/v) で逆相カラム (リクロソルブ RP-18, 5 μ m) を用い分析した。本法により、フェナセチンは0.1から0.6 μ g の範囲で3.24%の精度で測定され、その検出限界は0.1 μ g であった。

まえがき

フェナセチン (Ph) は、解熱、鎮痛薬として広く使用されている。近年 Ph の大量長期間の服用による慢性中毒が注目され、腎、血液、神経系に障害が起ること¹⁾、特に Ph による腎不全が欧米で報告されている。Bioavailability ならびに Ph 障害解明の立場から、血中からの Ph の分離、分析法の確立が重要である。血中 Ph の分析については、ガスクロマトグラフィーによる報告が多くなされている²⁾。一方、高速液体クロマトグラフィー (HSLC) による血中 Ph の分析例として若干の報告があり³⁾、Anderson^{3a)} は、カラムにイオン交換樹脂を使用し、また Duggin^{3b)} は、メタノール/0.01M 炭酸アンモニウム (3:7 v/v) の溶離液を使用している。しかし前者では、溶離液にバッファーを

使用する関係上、ステンレスカラムおよび配管を腐食させる恐れがあること、また後者では、メタノールを使用するためカラム圧力が上昇し、カラムの寿命が短くなること、およびポンプに大きな負荷がかかることが懸念される。我々はアセトニトリル/酢酸緩衝液の混合液を移動相に用いる逆相クロマトグラフィー系で、血中 Ph 分離、分析条件について検討し、精度の高い結果を得た。

実験方法

1. 試薬および試液 特に述べるもの以外はすべて市販の特級試薬を用いた。Ph 標準物質: Ph (川崎化学工業) をエタノールにより再結晶し標準物質として使用した (mp134-137°C, 文献値⁴⁾: 134-135°C)。Ph 標準溶液: Ph 標準物質をデシケーター (シリカゲル)

* 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

2* 岐阜県立岐阜病院 500 岐阜市野一色4丁目6番1号

Gifu Prefectural Hospital: 6-1, Noishiki 4-Chome, Gifu 500, Japan

3* 岐阜赤十字病院 502 岐阜市岩倉3-36

Gifu Red Cross Hospital: 3-36, Iwakura, Gifu 502, Japan

で一夜乾燥後、その40.0mgを精密に秤取し、アセトンを加えて溶かして100mlとした(0.40mg/ml)。アセトニトリル：液体クロマトグラフ用(和光純薬)。試料血清：Ph服用前およびPh服用(54mg/kg)後のヒト血清を用いた。

2. 装置および器具 波長可変UVモニター付日立635T形高速液体クロマトグラフ、協和精密超高压マイクロポンプKHW-8型、協和精密波長可変検出器KLC-2235型、トミーセイコーRS-18GS型冷却遠心機、協和精密製マイクロシリンジを使用して行った。

3. 液体クロマトグラフィ条件 カラム：LiChrosorb RP-18, 5μm (Merck) 約2gを内径4mm×長さ125mmのステンレス製カラムに平衡スラリー法によって充填した。溶離液：アセトニトリル/0.1M酢酸緩衝液(pH4.6)=1/4(v/v)。流速：0.8ml/min, 圧力：100kg/cm², 測定吸収波長：248nm, 測定温度：室温。

4. 検量線 Ph標準溶液を用い、Ph 0.1-0.6μg 対応量を正確にとり、標準系列を作成する。アセトンを留去後、血清1mlをそれぞれ加えPhを溶解し(必要ならば超音波(45w, 38KHz, 5min)で分散溶解させる)、0.1M酢酸緩衝液(pH4.6)5ml添加後、クロロホルム15mlずつで3回抽出し、全クロロホルム液を合わせて脱脂綿を用いてろ過後、ロータリーエバポレーターで注意深く留去する。残渣にメタノール1mlを加え、超音波(45w, 38KHz, 5min)で分散溶解し、上澄30μlをHSLCに付し、検量線を作成した。

5. 血中定量法 Ph服用ヒト上腕正中静脈から2mlを経時的に採血、20分間静置して凝固させた後、遠心分離(3,000rpm, 10min)して血清を得、その1mlを用い、以下検量線作成時と同様に処理して試料を得た。

結果および考察

HSLCの溶離液としてメタノール/酢酸緩衝液およびアセトニトリル/酢酸緩衝液を比較検討した結果、アセトニトリル/0.1M酢酸緩衝液(pH4.6)=1/4(v/v)では生体成分およびPhピークの良好な分離が得られた。この溶離液に溶解したPhのUV吸収スペクトルを測定すると248nm付近に吸収極大を有するので、測定波長は248nmとした。

実験方法4.に従って、検量線を作成した結果、含有試料量(Yμg)と、その時得られたクロマトグラムのピーク高(Xmm)の回帰直線は、 $Y=177.620X+0.0998$ (r=0.9966, n=7) となった (Fig. 1)。

0.1μg/ml血清でも充分定量可能であり、Ph 0.5μg 注入した場合の精度は、変動係数3.24%であった(n=5)。Ph 54mg/kg 相当服用10時間後の血清から得られたクロマトグラムを Fig. 2 に示した。

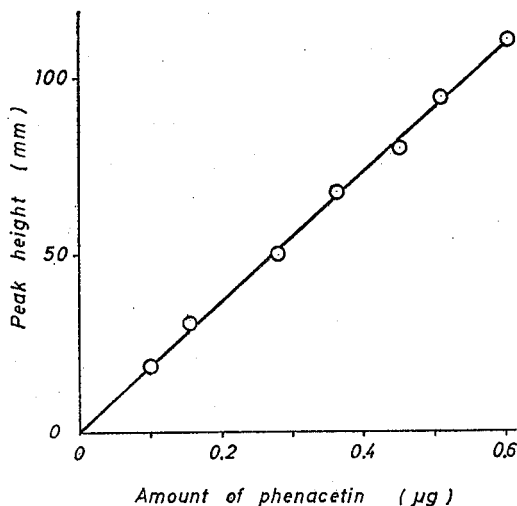


Fig. 1 Calibration Curve of Phenacetin

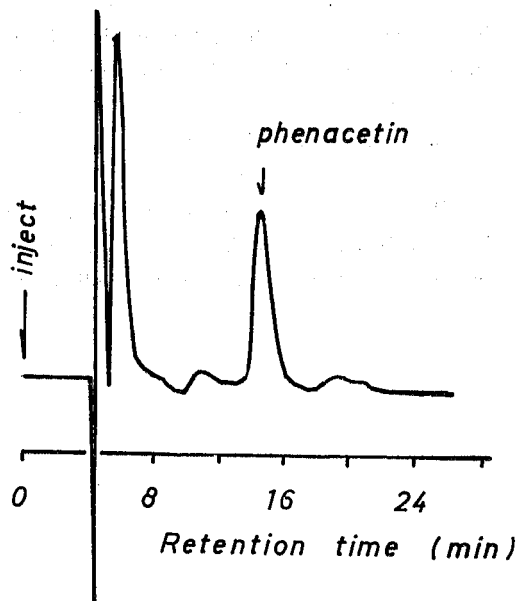


Fig. 2 Liquid Chromatogram of Phenacetin Extracted from Human Serum

Operating conditions; Packing: LiChrosorb RP-18(5μm), Column: 4mmID×125mm, Mobile phase: Acetonitrile / 0.1M acetate buffer (pH4.6)=1/4(v/v), Column temp., Room temp., Flow rate: 0.38ml/min (80kg/cm²), Detection: 248nm, Sens: 0.04 AUFS, Injection: 30μl.

なお Ph の同定については、HSLC における Ph 相当フラクションを分取し、Allen⁵⁾の方法に準じて薄層クロマトグラフィー (Merck 社製 precoated Kieselgel 60 F₂₅₄, 展開溶媒: 酢酸エチル) で調べた結果 Ph であることを確認した。血清各 1 ml に Ph 10-30 μ g/ml を標準添加し、定量法に従い得られた平均回収率は 93.1% (変動係数 2.61%, n = 5) であった。

Ph の定量分析について、本法は Ph の微量分析、特に種々の Ph 服用に由来する中毒事故の解明に有効と思われ、また裁判化学的にも利用できるものと考えられる。また本法は Ph 投与後の Ph 血中動態の究明のみならず、製剤分析にも応用できる。

謝 辞

御校閲をいただきました岐阜大学医学部公衆衛生学教室吉川 博教授に深謝致します。なお本研究は昭和54年度本県調査研究費の一部によった。

文 献

- 1) 日本公定書協会編: 第九改正日本薬局方解説書, 1124-1129, 広川書店, 1976
- 2) (a) A. Klutch, W. Levin, B. L. Chang, F. Vane, and A. H. Conney: Formation of a thiomethyl metabolite of phenacetin and acetaminophen in dogs and man, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **24**, 287-293, 1978; (b) L. F. Prescott, R. F. Steel, and W. R. Ferrier: The effects of particle size on the absorption of phenacetin in man, *ibid*, **11**, 496-504, 1968; (c) R. Nery: Some New Aspects of the Metabolism of Phenacetin in the Rat, *Biochem. J.*, **122**, 317-326, 1971; (d) A. H. Conney, E. J. Pantuck, K. C. Hsiao, W. A. Garland, K. E. Anderson, A. P. Alvares, and A. Kappas: Enhanced phenacetin metabolism in human subjects fed charcoal-broiled beef, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **20**, 633-642, 1974; (e) E. S. Vesell, G. T. Passananti, P. A. Glenwright, and B. H. Dvorchik: Studies on the disposition of antipyrine, aminopyrine, and phenacetin using plasma, saliva, and urine, *ibid*, **18**, 259-272, 1972; (f) J. D. Baty, and P. R. Robinson: Acetaminophen production in man after coadministration of acetanilid and phenacetin, *ibid*, **21**, 177-186, 1975
- 3) (a) M. W. Anderson, T. E. Eling, R. J. Lutz, R. L. Dedrick, and H. B. Matthews: The construction of a pharmacokinetic model for the disposition of polychlorinated biphenyls in the rat, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **18**, 413-424, 1972; (b) G. G. Duggin: Phenacetin estimation from biological samples by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **121**, 156-160, 1976
- 4) The Merck Index 9th Edition, 62, Merck & Co., Inc., 1976
- 5) L. Allen: Quantitative Determination of Carisoprodol, Phenacetin, and Caffeine in Tablets by Near IR Spectrometry and Their Identification by TLC, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 912-916, 1974

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

陶磁器製食器の重金属調査

大江章夫*, 杉谷 哲*, 山田不二造*

Surveys of Heavy Metals Extracted from Glazed
Ceramic Wares

Akio OHE*, Akira SUGITANI*, Fujizo YAMADA*

Concentrations of lead, cadmium, arsenic and other metals extracted from commercial glazed ceramic wares were determined from 1976 to 1978 by Japanese official analytical (Japanese method) and a proposed WHO method (WHO method).

Results obtained were as follows.

- 1) When 112 of samples were tested by Japanese method extracting with 4% acetic acid at room temperature for 10 minutes, lead and arsenic were not detected at all.
- 2) When 133 of samples were tested by WHO method extracting with 4% acetic acid at room temperature for 24 hours, the products exceeding the permissible limit of metal release from glazed ceramic ware were respectively 14% and 1% of all samples tested in lead and cadmium.
- 3) Concentrations of lead and cadmium extracted for 24 hours were several times to a hundredfold higher than those for 10 minutes.
- 4) It was desired to estimate by a sum of lead in the first and second extract, because lead was relatively much in the second extract as yet when 24hours-extraction was repeated.
- 5) The concentration of lead in extracts from glazed ceramic wares (n=82) fired at the temperature above 750°C was significantly lower than that extracted from those (n=50) fired at the temperature under 750°C ($P<0.05$).
- 6) In the products of the same lot, lead was found to have large dispersion in concentration.

昭和51年度から53年度にわたって公定法とWHO案の試験法によって市販陶磁器製食器から溶出する鉛(Pb),カドミウム(Cd),ヒ素(As)等の重金属調査をするともに若干の検討を行った。

- 1) 公定法においては, 陶磁器製食器から溶出するPbおよびAsは112検体中いずれも不検出であった。
- 2) WHO案の試験法においては, 基準値を超える食器は133種類のうちPbで約14%, Cdで約1%であった。
- 3) 24時間抽出においては, 10分間抽出に比べて数倍から百倍高いPb, Cd溶出量を示した。
- 4) 24時間抽出を繰り返した場合, 2回目においてもまだ鉛溶出量が多いから, 1回, 2回目の抽出液の鉛を合算して金属溶出量を評価した方がよい。
- 5) 焼成温度750°C未滿よりも750°C以上の方がPb溶出量は有意に少なかった。(P<0.05)
- 6) 同一ロットより3個抜取検査したところPb溶出量のばらつきは大きかった。

はじめに

陶磁器製食器には大部分絵付がなされている。その

絵付用絵具には鉛が使われており, 時としてカドミウムをも含むことがある。したがって絵付焼成が完全でなかったり, 質の悪い絵具が使われたりした場合, 食

* 岐阜県衛生研究所: 岐阜市野一色4丁目6番3号 〒500

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

物と接触する食器の表面から有害な鉛、カドミウムなどが溶出して食品を汚染する危険性がある¹⁾。

ところで食品衛生法²⁾における陶磁器製食器の試験法には、溶出時間が短く金属の抽出が不十分である事と鉛の検出感度が悪いという欠点がある^{1),3)}。一方欧米においては、溶出時間が長く、しかも検出感度の良い原子吸光分析を採用し、重金属の溶出に対する新しい取締規制を強化している。日本陶業連盟は、これら諸外国の規制値を勘案し、独自の自主規制値を設定して品質の管理を行っている。国によって試験法および規制値が異なることによる輸出入障害を取り除くためにWHOにおいて1976年にE C委員会の規格案を基に世界統一規格の設定が討論された¹⁾。

そこで我々は昭和51年から53年にわたって現行の公定法とWHO案の分析法の両方を用いて陶磁器食器の実態調査を行うとともに、24時間抽出の繰り返しにおける金属溶出量、焼成温度の影響、同一ロット製品内での金属溶出量のばらつきなどを検討したのでその結果を報告する。

材料および方法

1. 材料

県内における82の陶磁器食器製造業者より133種類323検体(食卓用品:127種類307検体,料理用品:1種類3検体,幼児用品:5種類13検体)を収去した。

これら検体の焼成温度(680°C~870°C)を750°Cで2つに区分すれば、750°C未満は50種類、750°C以上は82種類(1種類は焼成温度不明)であった。

同一ロット製品内での金属溶出量のばらつきの検査に30種類の検体を供し、それぞれ焼成窯内の上部、中部、下部より各々1検体ずつ採取し、1種類につき3検体を採取した。

2. 方法

1) 試験溶液の調製

i) 公定法²⁾

食品衛生法、食品、添加物等の規格基準、第3、器具及び容器包装A5「陶磁器製またはホウロウ引の器具または容器」によつた。

ii) WHO案の方法¹⁾

食卓用品、幼児用品については液のあふれでるところより5mm下まで4%酢酸を満し、20°Cで24時間±10分間放置した。料理用品については可能のかぎり100°C

近くまで予熱し、有効容積の%まで沸騰蒸留水を加えた。さらに4%酢酸になるように酢酸を加え、液を2時間沸騰させた。2時間後加熱を止めて22時間±10分間、20°Cで放置した。その後、水を加えて元の量までとした。

2) 分析方法

公定法により調製された試験溶液について規定の定性試験によりPbとAsを分析すると共にAsをgutzeit法⁵⁾、その他の金属(Pb, Cd, Zn, Cu, Ni, Fe, Mn, Cr)を原子吸光法で分析した。WHO案の方法により調製された試験溶液についてはAsはgutzeit法、Pb, Cdおよびその他の金属(Zn, Cu, Ni, Fe, Mn, Cr)は原子吸光法で分析した。原子吸光法は直接法を用いた。

3) 試薬

酢酸は精密分析用を用いた。

4) 測定機器

原子吸光光度計:日立-308型

光源:Westinghouse社製ホローカソードランプ

結果

1. 公定法とWHO法(案)による陶磁器製食器からの重金属溶出量の実態

公定法により112種類の検体を試験した結果、Pb, Asともに検出しなかった。

WHO法により133種類の検体を検査した。Pb溶出量のヒストグラムをFig.1に示した。そのPb溶出量は最高で30.0ppmであったが、90%は5ppm未満であった。またCd溶出量のヒストグラムをFig.2に示した。そのCd量は最高で0.58ppmであったが95%は0.1ppm未満であった。Asはすべて不検出(gutzeit法の検出限界:As₂O₃として0.01ppm未満)であった。Znはほとんどの検体で検出され、大部分は数ppmであった。しかし2検体のみ54ppm,

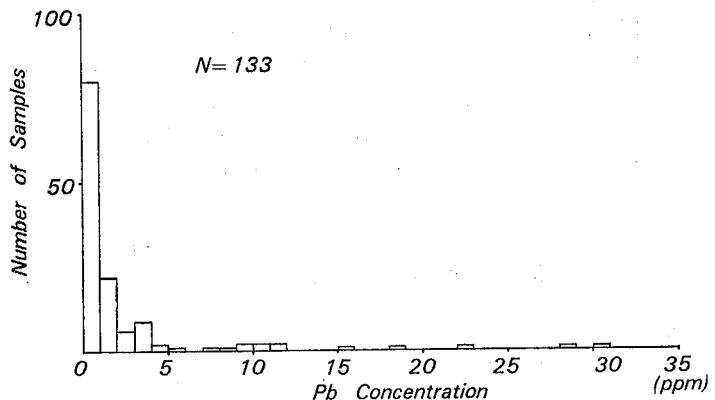


Fig. 1 Frequency Distribution of Lead Extracted by WHO Method

63ppm と高濃度であった。Cu, Ni, Fe, Mn, Cr については、ほとんどの検体で不検出（検出限界はいずれも 0.1ppm 未満）であり、Cu で 4 検体 (0.1ppm, 0.4ppm, 0.5ppm, 1.6ppm), Ni で 1 検体 (0.1ppm) Fe で 22 検体 (最高 6.9ppm), Mn で 3 検体 (0.1ppm, 0.1ppm, 0.4ppm), Cr で 3 検体 (いずれも 0.1ppm) が検出された。

2. 公定法と WHO 法の抽出法の違いによる Pb および Cd 溶出量の比較

112 種類の試料についてそれぞれ同一ロットでしか

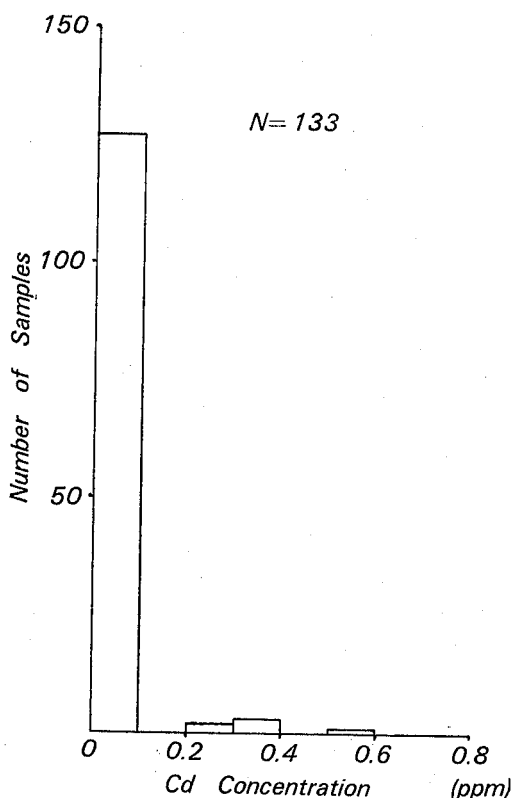


Fig. 2 Frequency Distribution of Cadmium Extracted by WHO Method

も焼成窯内の位置が隣接した 2 検体ずつを採取し検査に供した。公定法（室温、10 分間 4%酢酸抽出）と WHO 法（室温、24 時間 4%酢酸抽出）の違いによる Pb および Cd の溶出量の比較を Table 1 に示した。ただし分析方法は原子吸光法とした。WHO 法による抽出液は公定法の抽出液に比べて平均値で Pb において 26 倍、Cd において約 30 倍高濃度であった。これら検体のうちで WHO 法によって比較的高濃度の金属溶出量（Pb で 10ppm 以上または Cd で 0.2ppm 以上）を示した検体の両抽出法による Pb, Cd 溶出量を Table 2 に示した。Pb 溶出量は 10 分間抽出で 1ppm 未満であっても 24 時間抽出では最高 30ppm であった。Cd においては 10 分間抽出で 0.01ppm であっても、24 時間抽出では 0.58ppm を示した検体があっ

Table 2 Comparison of Heavy Metal Concentrations between Two Methods of Extraction

No	Pb ppm		Cd ppm	
	Extracted for 10 Minutes	Extracted for 24 Hours	Extracted for 10 Minutes	Extracted for 24 Hours
1	0.2	30.0	ND	ND
2	0.1	1.9	0.01	0.58
3	0.2	11.7	ND	ND
4	0.7	18.1	ND	ND
5	0.4	0.9	0.01	0.20
6	ND	15.0	ND	ND
7	0.7	9.9	ND	0.32
8	0.1	10.7	ND	0.35
9	0.3	3.2	0.04	0.30
10	1.4	11.7	ND	ND
11	ND	10.7	ND	ND
12	ND	1.1	0.02	0.28
13	0.8	22.1	ND	ND
14	0.2	28.5	ND	ND

ND : Not Detected, Pb : ND...below 0.1ppm, Cd : ND...below 0.01ppm

Table 1 Determination of Pb and Cd extracted by Japanese Official Analytical and Proposed WHO Method

Extraction	Number of Samples	Pb Concentration(ppm)		Cd Concentration(ppm)	
		Range	Mean	Range	Mean
Japanese Official Analytical Method	112	ND~1.4	0.1	ND~0.04	0.0007
Proposed WHO Method	112	ND~30.0	2.6	ND~0.58	0.02

ND : Not Detected, Pb : ND...below 0.1ppm, Cd : ND...below 0.01ppm

た。

3. WHO 案の24時間抽出を繰り返した場合の Pb および Cd 溶出量

Table 2 に示した No.10~15 の5検体について24時間抽出を繰り返し、その Pb, Cd 溶出量を Fig. 3 に示した。初めの抽出で 10.7~28.5ppm の Pb 溶出量であった4検体は、2回目の抽出においても4.7~6.6 ppm であり、4回目以後はほぼ一定の Pb 溶出量であった。Cd 溶出量は2、3回目においても1回目溶出量の約50%に相当する量が溶出した。

4. Pb および Cd の溶出量における焼成温度の影響

検体の焼成温度 (680°C~870°C) は750°C 未満 (n=50) よりも750°C 以上 (n=82) の方が Pb 溶出量は有意 (P<0.05) に低かった。しかし Cd 溶出量には焼成温度による差異は見られなかった。

5. 同じロットから3個抜取った検体の Pb 溶出量のばらつき

24種類の検体 (焼成温度750°C 以上) について同一ロットで焼成窯内の位置の異なる3個を抜取り、その Pb 溶出量を検査したところ、そのばらつきの大きな検体があった。ばらつきの大きな Pb 溶出量をあげると (1.3ppm, 3.0ppm, 5.8ppm), (6.0ppm, 1.9ppm, 4.6ppm), (1.9ppm, 16.0ppm, 11.9ppm) などであった。

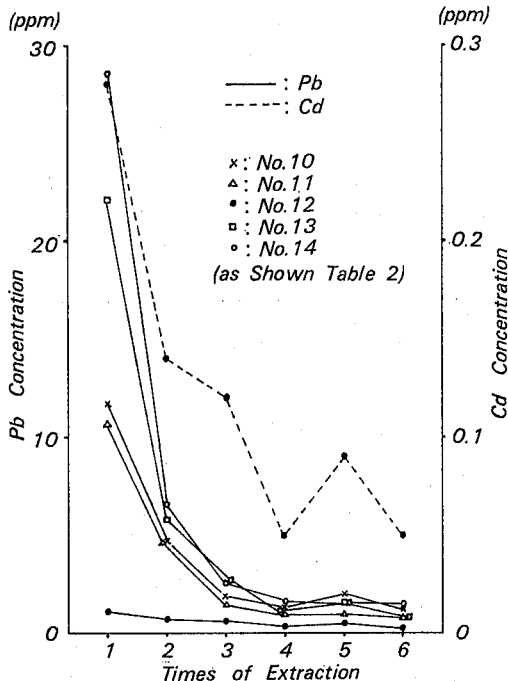


Fig. 3 Decrease of Pb and Cd Concentration by Times of Extraction for 24 Hours

考 察

現行の公定法による10分間抽出は、WHO法の24時間抽出に比べて、Pbにおいて1/26、Cdにおいて約1/30の濃度であり、10分間抽出は陶磁器食器の金属抽出時間として十分ではない。また高い金属溶出量を示す試料の24時間抽出を繰り返した場合、2回目の抽出においてもまた相当多くの金属が溶出した。したがって24時間抽出法による検査で許容基準に近い溶出量を示す食器を外国に輸出した場合、同一ロット内の金属溶出量のばらつきも考慮に入れると、輸出先の検査で許容基準を超える可能性がある。そこで許容基準に対する金属溶出量の安全性を考えると24時間抽出を2回行い、その両液の金属濃度を相加して金属溶出量を評価した方がよいのではないと思われる。

Pb溶出量は焼成温度が750°C未満の場合より750°C以上の方が有意に少なかったという我々の結果と、焼成温度を750~850°C⁶⁾にすることにより鉛の溶出が防止できるという和田らの結果より、金属溶出量を少なくするためには、質の良い絵具を使うことはもちろんであるが、焼成度を750°C以上にすべきであると考えられる。また同じロットより3個抜取って検査したPb溶出量に大きなばらつきの見られた検体があったが、これは窯内の位置による焼成温度むらのためであろうと推察できる。したがって窯内で一番温度の低い所が750°C以上になるように焼成温度を設定すべきであろう。

謝 辞

御校閲いただきました岐阜大学医学部吉川博教授、ならびに試料採取に御協力いただいた岐阜県衛生部環境衛生課ならびに多治見保健所の関係各位に深謝致します。

文 献

- 1) 本荘義郎：陶磁器食器等の安全確保に係わる諸問題，食品衛生研究，27，27~43，1977
- 2) 厚生省食器衛生課，乳肉衛生課，食品化学課共編：食品衛生関係法規集，3401~3402，中央法規出版，1978
- 3) 北野堅一，堀部信好，棚橋宣康，大野勝弘，寺町雅子，中村哲夫，青木堯：陶磁器製食器より溶出する重金属について，岐阜県衛生研究所報，17，35~37，1972
- 4) 通商産業省生活産業局日用品課：陶磁器製飲食器の安全確保について，16，通商産業省，1973
- 5) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針I，第2版，282，日本食品衛生協会，1975
- 6) 和田裕，齋藤芳久，吉田芳哉，菅野三郎：陶磁器製食器の製造時における焼成温度と鉛溶出量について，神奈川県衛生研究所年報，19，162，1969

岐衛研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

今冬（1979～1980）岐阜県に流行したインフルエンザについて

猿渡正子*, 川本尋義*, 三輪智恵子*

On the Influenza Outbreaks in this Winter, 1979～1980, in Gifu Prefecture

Aソ連型（H₁N₁）インフルエンザウイルスは、1978年に日本では初めて分離された。岐阜県では1977年11月から1978年2月上旬まで、A香港型（H₃N₂）インフルエンザが流行したが、2月中旬から3月下旬にかけて、Aソ連型インフルエンザが流行（俗称：ソ連かぜ）した。翌年1979年2月中旬から4月下旬にかけては、前年と同じくAソ連型インフルエンザの流行が認められた。

一方、1979年2月から5月にかけて、静岡県、新潟、熊本等で、B型のインフルエンザウイルスが分離されたことから、1980年のインフルエンザの流行は、B型が主流になることが予測されていた。しかし厚生省公衆衛生局保健情報課によれば、国内における1979年冬期のインフルエンザの流行はA（H₁N₁）型インフルエンザが主流であった一方、A（H₃N₂）型インフルエンザおよびB型インフルエンザによる流行も各地に発生し、3種類の型のインフルエンザウイルスによる流行が混在していることが報告されている。

岐阜県においても、かぜ様患者からのウイルス分離では、A（H₁N₁）型インフルエンザウイルスのみが分離されたが、血清学的検査ではA（H₁N₁）型、A（H₃N₂）型、B型に対して有意の抗体上昇が認められたことから、3種類の型のインフルエンザウイルスによる流行が確認された。

材料および方法

ウイルス分離：保健所から送付された108名のかぜ様患者の急性期に採取されたうがい液又は咽頭ぬぐい液につき実施した。ウイルス分離方法としては、10日目前後の発育鶏卵を、1検体につき2個づつ使用し、

2代まで継代した。その詳細は、ウイルス実験学¹⁾に示されたのと同様の方法である。

分離ウイルスの同定：抗血清は自家作成ニワトリ免疫血清で、抗A/熊本/22/76（H₃N₂）血清、抗A/USSR/92/77（H₁N₁）血清、抗B/神奈川/3/76血清を使用した。赤血球凝集抑制試験（HIテスト）はマクロトレイを使用し、ウイルス実験学²⁾に示されたのと同様の方法で行った。

かぜ様患者ペア血清のHI抗体価の測定：保健所から送付された53ペア血清につき、マイクロ法³⁾で実施した。抗原には、A/USSR/92/77（H₁N₁）、A/福島/103/78（H₁N₁）、A/岐阜/5/80（H₁N₁）、A/山梨/2/77（H₃N₂）、A/NJ/8/76（swine）、B/神奈川/3/76の6抗原を使用した。A/USSR/92/77とB/神奈川/3/76は武田薬品工業の市販抗原を、A/福島/103/78、A/山梨/2/77およびA/NJ/8/76は東芝化学工業の市販抗原を使用した。A/岐阜/5/80は岐阜県で今年発生した集団かぜの患者から分離された株である。

流行状況

1980年のインフルエンザ様疾患（集団かぜ）の流行は、1月18日、各務原市R小学校に始まった。岐阜県衛生部保健予防課への県下の保健所からの届出によると、2月末現在、届出患者数36,081名であって、内欠席者6,916名、施設数146、休校数20、学年閉鎖数67、学級閉鎖数180であった。

インフルエンザ様疾患（集団かぜ）により休校、学年閉鎖又は学級閉鎖の措置を採った施設の存在する市町村を図1に、保健所から保健予防課に届出られた患者の週別発生数を図2に示した。岐阜県を4つの地

* 岐阜県衛生研究所 岐阜市野一色4丁目6番3号

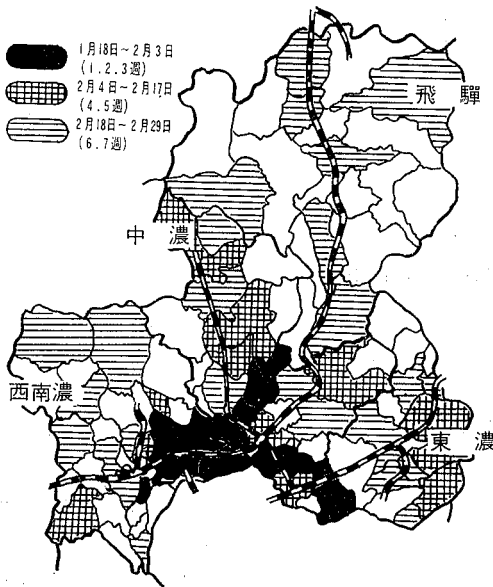


図1 インフルエンザ流行状況 (1980年2月末現在)

区に分け、北部を飛驒地区、中央部を中濃地区、東南部を東濃地区、西南部を西南濃地区とすると、初発は西南濃地区で、第2週目には中濃地区が加わり、2つの地区で流行し、第3週目から東濃地区が加わり3地区で流行した。第6週目には飛驒地区が加わり、岐阜県全域に拡がった。患者週別発生数は、図2から明らかかなように第6週目(2月18日から23日)が最も多く1万人以上の患者発生が認められたが、第7週目(2月25日から29日)には減少の傾向が認められた。

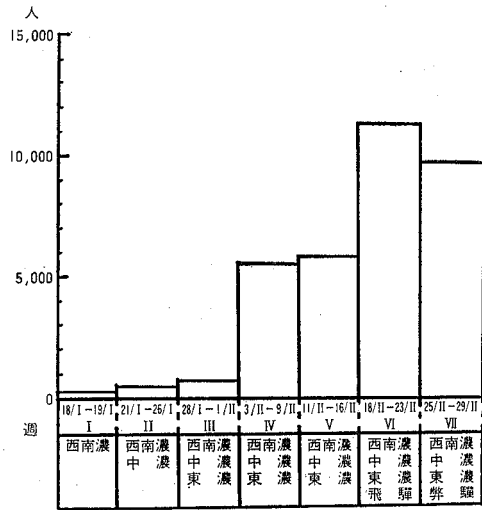


図2 インフルエンザ週別患者発生状況

ウイルス分離および血清学的検査成績

108名の患者からの咽頭ぬぐい液又はうがい液から27株のインフルエンザウイルスを分離した。分離ウイルスは、同定試験の結果すべてA(H₁N₁)型インフルエンザウイルスであった。分離成績は表1に示した。

HIテストでは、回復期抗体価が急性期抗体価の4倍以上に上昇したものを有意上昇として、その成績を表2に示した。伊奈波、岐阜市中央、郡上、恵那保健所からの4ヶ所で採取した患者39ペア血清では、A

表1 インフルエンザウイルス分離成績

検体採取 月 日	保 健 所	地 区	検 体 数	ウイ ルス 分 離 数 (%)	ウイ ル ス の 型		
					A(H ₁ N ₁)	A(H ₃ N ₂)	B
1	伊 奈 波	西 南 濃	10	4(40)	4	0	0
2	加 茂	中 濃	11	6(55)	6	0	0
3	関	中 濃	8	0			
4	岐 阜 市 中 央	西 南 濃	11	2(18)	2	0	0
5	大 垣	西 南 濃	11	0			
6	多 治 見	東 濃	9	0			
7	郡 上	中 濃	10	2(20)	2	0	0
8	恵 那	東 濃	9	3(33)	3	0	0
9	大 野	西 南 濃	9	3(33)	3	0	0
10	高 山	飛 驒	10	7(70)	7	0	0
11	益 田	飛 驒	10	0			
計			108	27(25)	27	0	0

表2 インフルエンザ血清学的検査成績

検体採取月日	保健所		地区	検体数	H I 抗体 (有意上昇)						
					A (H ₁ N ₁)			A (H ₃ N ₂)	B	A (Swine)	
					急性期	回復期	A/USSR/92/77	A/福島/103/78	A/岐阜/5/8	A/山梨/2/77	B/神奈川/8/76
1	1.19	2.2	伊奈波	西南濃	10	6	6	6	0	0	0
2	—	—	加茂	中濃	0	—	—	—	—	—	—
3	1.25	2.14	関	中濃	5	0	0	0	0	0	0
4	1.29	2.22	岐阜市中央	西南濃	10	5	5	5	0	0	0
5	—	—	大垣	西南濃	0	—	—	—	—	—	—
6	2.1	2.15	多治見	東濃	9	0	0	0	0	9	0
7	2.6	2.21	郡上	中濃	10	6	6	6	1	0	0
8	2.6	2.22	恵那	東濃	9	6	6	7	0	0	0
計					53	23	23	24	1	9	0

(H₁N₁) 型インフルエンザの A/USSR/92/77 と A/福島/103/78 抗原に対してそれぞれ23血清 (59.0%) A/岐阜/5/80 抗原に対しては24血清 (61.5%) の有意上昇が認められた。多治見保健所が採取した患者9ペア血清では、B/神奈川/3/76 抗原に対して、すべての血清 (100%) が有意抗体上昇が認められた。また、郡上保健所からの10名の患者ペア血清では、A (H₁N₁) 型インフルエンザ抗原に対して7ペア血清 (70%) に有意抗体上昇が示されたが、1ペア血清 (10%) は、A (H₃N₂) 型インフルエンザ抗原に対して有意抗体上昇を示した。関保健所からの患者5ペア血清は、使用した6抗原に対して、有意抗体上昇は認められなかった。

以上ウイルス分離および血清学的検査より、1980年のインフルエンザの流行は、A (H₁N₁) 型、A (H₃N₂) 型およびB型の3種類のウイルスが流行をひき起こしたことが明らかとなった。短期間にインフルエンザの3種類の型が県内で、同時に流行したことは、

現在までに非常に稀れである。まだ血清学的検査は全部終了していないので、改めて詳細に報告する予定である。

謝 辞

御校閲いただきました、岐阜大学医学部鈴木祥一郎教授に深く感謝の意を表します。なお本研究には調査研究費 (昭和54年度) の一部を用いた。

文 献

- 1) 国立予防衛生研究所学友会：ウイルス実験学，各論，37，丸善，1967
- 2) 国立予防衛生研究所学友会：ウイルス実験学，総論，164-166，丸善，1964
- 3) 加地正郎：インフルエンザ研究の進歩，92-93，近代出版，1976

岐衛研所報

Rep. Gifu.
Inst. P. H

高速液体クロマトグラフィーによる衣類 中の遊離ホルムアルデヒドの微量分析

岡本光美*, 日比誠*, 山田不二造*

Microdetermination of Free Formaldehyde in Commercial Clothing by High Speed Liquid Chromatography

Mitsuyoshi OKAMOTO*, Makoto HIBI*, Fujizo YAMADA*

衣類中の遊離ホルムアルデヒド (HCHO) の分析法は、従来数多くの報告がなされている¹⁻⁵⁾。これらの方法のうち、アセチルアセトン法^{4), 6)}が感度や再現性の点から、公定法に採用され吸光度 (412-415nm) を測定することにより定量を行っている。しかし、この公定法では低濃度のHCHOを検出した場合、ジメドンによるHCHOの同定が困難である。さらに、衣類中から溶出した染料、蛍光増白剤 (FWA) がHCHOの同定を妨害することがあること、また小嶋ら⁴⁾および内山ら⁸⁾は衣類中の遊離 HCHO の定量の際、途中の操作過程において熱を加えることは、衣類中の樹脂加工剤の分解を促し、新たに HCHO を生成させることを示唆した。Belman⁹⁾は Nash⁶⁾の方法で、HCHO とアセチルアセトンおよびアンモニウムイオンの反応より生成する、ルチジン誘導体、3・5ジアセチル-1・4ジヒドロルチジン (DDL) の蛍光を測定することにより感度が上昇することを報告した。そこで我々は、DDL の蛍光に着目し、衣類中の遊離 HCHOをシリカゲル-NH₂カラムを用い、高速液体クロマトグラフィー (HSLC)

により分離し、蛍光および可視検出器を用い定量する方法を検討した。

試薬は特に述べるもの以外はすべて試薬特級を用いた。FWA はTable 1 に示した I~VIII の8種を用いた。HCHO 原液は特級ホルマリン (約 37% HCHO 含有、和光純薬) 約 1 g を、あらかじめ水を入れた秤量ビン中に精密に秤り、水で 100 ml に希釈した後、ヨウ素法¹⁰⁾により標定した。DDL 標品はアセチルアセトン 1 ml, 酢酸 1.5 ml を 15% 酢酸アンモニウム 100 ml に溶解した溶液にホルマリンを DDL の沈殿が生じなくなるまで滴下する。析出した沈殿を吸引ろ過し、蒸留水、次いで少量の冷エタノールでよく洗浄し、減圧乾燥後、シリカゲルデシケーター中に保存したものをを用いた (m.p. 200-204°C; 文献値: 200°C, 元素組成: 理論値 C₁₁H₁₅NO₂ 193.1102; 測定値 193.1033, Fig. 1)。

装置および器具は波長可変モニター付日立 635 T 形高速液体クロマトグラフ、日立 204-S 形分光蛍光光度計、協和精密超高压マイクロポンプ KHW-8 型および協和精密製マイクロシリンジを使用して行った。

HSLC 用カラムは Nucleosil 5NH₂ (Nagel, 5μm) 約 3 g を内径 4 mm × 長さ 250 mm のステンレス製カラムに平衡スラリー法によって充填した。HSLC 条件は Fig. 2 に示した。

抽出法および定量法は細かく切断した衣類約 2.5 g を 200 ml の共

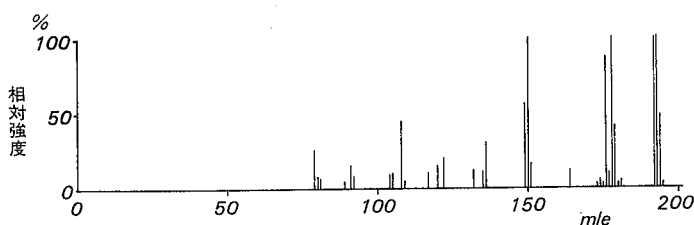


Fig. 1. 3, 5ジアセチル-1, 4-ジヒドロルチジン (DDL) のマススペクトル

* 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

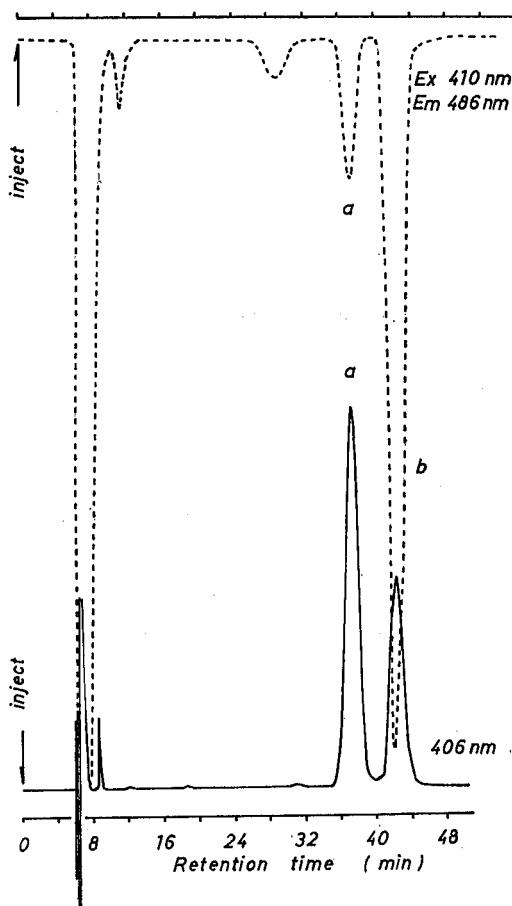


Fig. 2. 蛍光増白剤共存 (2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 中の3,5-ジ
アセチル-1,4-ジヒドロルチジン(DDL)の
液体クロマトグラム

高速液体クロマトグラフィー条件

カラム: NUCLEOSIL 5 NH₂ (5 μm) 4 mm I
D \times 250 mm, 溶離液: Hexane/Ethanol (25:1v/v),
流速: 0.8 mL/min, 測定温度: 室温.

- (1) 可視波長: 406 nm, 感度: 0.02 AUFS
- (2) 励起波長: 410 nm
蛍光波長: 486 nm

peaks:

- a: アセトアルデヒド (i. s.)
- b: ホルムアルデヒド

栓三角フラスコに精密に秤り、水100 mLを正確に加えて密栓し、40 $^{\circ}\text{C}$ の水浴上で60分間、時々振り混ぜながら浸漬する。ガラスフィルター (JIS G-2) で温時ろ過して得たろ液を試料溶液とした。試料溶液5.0 mLを正確に採り、アセチルアセトン試液5.0 mLを加え、

時々振り混ぜながら40 $^{\circ}\text{C}$ の水浴中で30分間加温する。直ちに急冷して、内部標準クロロホルム溶液 (本法により、あらかじめ作成したアセトアルデヒドのルチジン誘導体10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 5 μL を加え、5分間振り混ぜ、クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムを用い脱水後、マイクロシリンジを使用して50 μL を高圧サンプリングバルブを通しカラムに注入した。検量線は、HCHO標準液 (4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を用い HCHO 0.02-6.0 μg 対応量を正確に採り、標準系列を作成する。以下試料溶液と同様操作して、アセトアルデヒドに対する HCHO のピーク面積比を求め検量線を作成した。なお HCHO の定量は、アセトアルデヒドとのピーク面積比法により行った。

測定波長は、Fig. 2 の溶離液中で DDL の蛍光スペクトルを測定すると 410 nm 付近に励起極大、486 nm 付近に蛍光極大を有する。また吸収スペクトルを測定すると、406 nm 付近に吸収極大を有するので、本法による HSLC 蛍光検出波長は、励起波長 410 nm および蛍光波長 486 nm とした。また可視部測定波長は 406 nm とし、併わせて測定した。

FWA 共存時の HCHO 回収率を、本法と公定法について比較検討した。HCHO 濃度一定 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) とし、FWA 5-6,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加の蛍光強度 (B), 吸光度 (B'), FWA 無添加の蛍光強度 (A), 吸光度 (A') を測定し、回収率 B/A および B'/A' を求め Fig. 3 に示した。その結果、公定法では約 25 倍量の FWA 共存で測定妨害となったのに対し、本法では約 300 倍量の FWA が共存しても、分離、定量が可能であった。FWA は通常繊維重量当り 1% 前後使用されているが今回 FWA 約 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 共存させた場合の HCHO 回収率を 8 種の FWA について比較した結果、満足すべき回収率が Table 1 に示す如く得られた (平均 99.71%, 変動係数 2.03%)。

FWA 共存時における HCHO の検量線について、FWA 一定濃度 (6,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) とした場合、本法では 0.02-6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で、HCHO のカラム絶対注入量 (ng) と、その時得られた内部標準に対するピーク高比が、原点を通る良好な直線関係 (相関係数 0.9998, n=13) が得られたのに反し、公定法では検量線作成が不可能であった。またこの場合の検出限界は 100 pg であった。

HCHO を DDL 誘導体として HSLC により分析する方法は本法が最初であり、高精度 (変動係数 1.14

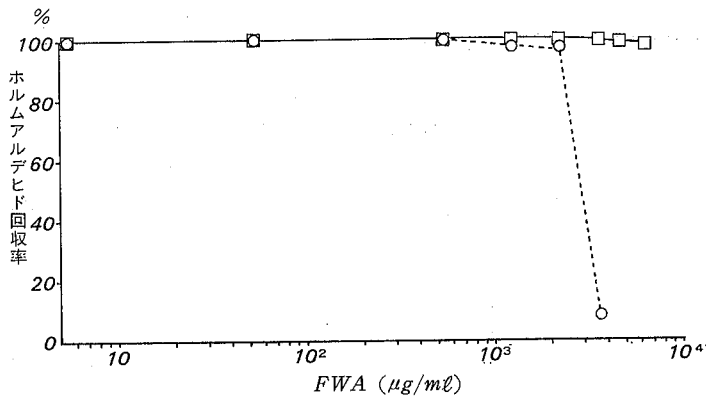


Fig 3. 蛍光増白剤 (FWA) 共存時の本法 (□—□) と AA 法 (○……○) によるホルムアルデヒド回収率

FWA : Fluorescent Whitening Agents

AA 法 : アセチルアセトン法

Table 1. 種々の蛍光増白剤 (FWA) 共存時の
本法によるホルムアルデヒド (HCHO) 回収率

	FWA 添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	HCHO 回収率 (%)	σ_{n-1}
FWA I	552	99.6	2.02
FWA II	522	102.3	
FWA III	525	101.3	
FWA IV	490	97.4	
FWA V	530	101.3	
FWA VI	610	100.4	
FWA VII	480	98.5	
FWA VIII	536	96.8	

FWA : Fluorescent Whitening Agents

%, $n=8$), 高感度で分離定量することができた。本法により衣類中 HCHO を測定した結果, $1\mu\text{g}/\text{g}$ 含有量でも充分測定可能なことが判明された。本法は公定法などの比色法と異なり HSLC でピークとして同定することができるので, 低濃度の HCHO の同定および定量に適している。我々はさらに市販衣類中の遊離 HCHO 調査を本法を利用して検討中である。

終りに, 質量分析の測定をしていただいた国立衛生試験所薬品部鹿庭正昭先生, ならびに, 御校閲を賜った岐阜大学医学部教授吉川博先生に深謝致します。

文 献

- 1) 吉原武俊, 奥本千代美, 福士真知子: 毒物または劇物を含有する家庭用品の試験方法に関する研究 (I) 市販婦人用乳幼児用肌着中のホルマリンについて (1), 東京都衛研年報, **24**, 117-123, 1972
- 2) 近藤智吏, 石橋 博: 樹脂加工布の遊離ホルムアルデヒド第 1 報, 繊維製品消費科学, **13**, 226-230, 1972
- 3) 近藤智吏, 下村 寿: 樹脂加工布の遊離ホルムアルデヒド第 2 報, 繊維製品消費科学, **14**, 219-228, 1973
- 4) 小嶋茂雄, 大場琢磨: 衣類中の遊離ホルムアルデヒドの定量, 分析化学, **24**, 294-298, 1975
- 5) 城戸浩三, 作間忠道: ガスクロマトグラフィーによる衣類中の遊離ホルムアルデヒドの分析, 衛生化学, **25**, 39-43, 1979
- 6) T. Nash: The Colorimetric Estimation of Formaldehyde by Means of Hantzsch Reaction, Biochem. J., **55**, 416-421, 1953
- 7) 厚生省令第34号 (有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則), 昭和49年9月26日
- 8) 内山征洋, 山口道子: 水中の微量ホルムアルデヒドの定量, 分析化学, **27**, 129-133, 1978
- 9) S. Belman: Fluorometric Determination of Formaldehyde, Anal. Chem. Acta, **29**, 120-126, 1963
- 10) 日本規格協会: 樹脂加工繊維試験方法, JIS L 1041, 1960

最近の手足口病

大谷道廣, 小野木晃, 伊藤由紀子 (岐阜県立岐阜病院皮膚科)

三輪智恵子 (岐阜県衛生研究所)

皮膚病診療, Vol. 1, No. 7, 633-636, 1979

- 1) 1979年のE-71によるHFMDは, 1969~70年にC A-16によるわが国で最初の大流行以来, 久しぶりに全国的に流行した.
- 2) HFMDのウイルス分離には Vero細胞が最適とされていたが, 今回の流行はE-71で, しかもCMK₁-S₁細胞による分離率がよく, とくに水疱内容液の分離率が高かった.
- 3) 掌蹠外にも発疹がよくみられた.
- 4) 内疹はアフタ性口内炎が主であり, 風疹の Forchheimer's spots, 舌頰の白苔局面, 花輪状様局面などがみられた. 硬口蓋と歯齦は少なかった.
- 5) 今後臨床的には内疹に, ウイルス学的には CA-16, E-71 とそれらの変異株の問題などに新たな局面を展開してゆく可能性がある.

Antigenic Analysis of Acute Hemorrhagic
Conjunctivitis Viruses (Enterovirus Type 70)

Hiroyoshi KAWAMOTO

Department of Microbiology, Gifu Prefectural Institute of Public Health, Gifu

Microbiology and Immunology Vol. 23,

No. 9, 859-866, 1979

Abstract The antigenic characteristics of enterovirus type 70 (EV 70) were investigated by means of cross and kinetic neutralization tests (NT). Twelve strains of EV 70 isolated in a period from 1971 to 1976 were analyzed using seven rabbit and one monkey hyper-immune sera. All the strains investigated were found to possess a common and prime variant antigens in varying proportions.

Accordingly, EV 70 isolates were divided intratypically into three antigenic subgroups; (1) prototype-like (four strain from 1971 to 1972), (2) intermediate, G-10/72-like (two strains from 1972 to 1973), and (3) prime variant, G-2/74-like (six strains from 1974 to 1976) groups.

Thus it was considered that EV 70 might represent a virus type with antigenic heterogeneity, and that antigenic drift from the prototype to the prime type may have occurred successively after 1971.

腸炎ビブリオの新K抗原型

所 光 男, 後 藤 喜 一, 山 田 不 二 造 (岐阜衛研)
 岡 崎 秀 信, 高 樹 正 浩 (香川衛研)
 寺 田 友 次 (東芝生物化学研)

日本細菌学雑誌, 第34巻, 第2号, 413-415頁, 1979年

現在, 腸炎ビブリオの血清型はO群1~12, K抗原1~62 (K2, 14, 16, 27および35は除外) に分類, または提案されている. 1978年4月から9月にかけて発生した集団食中毒6事例および東南アジア旅行より帰国途上または入国後に発病した下痢患者2名の糞便より, K1~62に該当しないK抗原を有する腸炎ビブリ

オが分離された. その中のGI-78-V-3株を用い家兎抗血清を作成し検討した結果, K1~62のいずれとも異なるK抗原型を有することが知られた. この新K抗原型株をO4:K63とすることを腸炎ビブリオの血清型別に関する委員会に提案した.

腸炎ビブリオの新K抗原型 (K 64)

所 光 男, 後 藤 喜 一, 山 田 不 二 造 (岐阜衛研)
 寺 田 友 次 (東芝生物化学研)

日本細菌学雑誌, 第34巻, 第6号, 861-862, 1979年

現在, 腸炎ビブリオの血清型は, O群1~12, K抗原1~63 (K2, 14, 16, 27, 35の5種は除外) に分類または提案されている. 1978年8月から9月にかけて発生した腸炎ビブリオによるものと思われる集団食中毒1事例および散発下痢症患者から, K1~63に該当

しないO群1の菌株が分離された. その中のGI-78-V-64株を用い家兎抗血清を作成し検討した結果, K1~63のいずれとも異なるK抗原型を有することが知られた. この新K抗原型株をO1:K64とすることを腸炎ビブリオの血清型別に関する委員会に提案した.

水道水中の硝酸性及び亜硝酸性窒素定量方法 の迅速化の検討

森 下 有 輝 (岐阜衛研)

水道協会雑誌, 545, 38-41, 1980

水道水水質基準に関する厚生省令の方法による硝酸性及び亜硝酸性窒素の合計定量法について迅速化の検討を行った。カドミウム—銅カラムにより硝酸性窒素を亜硝酸性窒素に還元するとき、検水に塩化ナトリウム溶液 (0.1M) のみでなく、pHを9にしたEDTA・4 Na溶液 (0.1M) を加えることにより、1) 100%選

元率の得られるカラム流速を早くすることができる。

2) 検体ごとのカラム洗浄を省略しても還元率の低下はなく、連続して検体の還元を行うことができる。3) 1) と2) から硝酸性窒素の還元処理は1本のカラムで時間当り10検体は可能である。

Heterogeneity of β_2 -Microglobulin in Human Urine

Nobuyasu TANAHASHI, Yutaka WATANABE,
and Fujizo YAMADA

Gifu Prefectural Institute of Public Health, 4-84,
Nagamori Honmachi, Gifu, 500, Japan

Agric. Biol. Chem., 43 (8), 1707~1710, 1979

Purification and characterization of β_2 -microglobulin from human urine was performed. The yield was 30.1%, and 150.4 mg β_2 -microglobulin was obtained. The final preparation of β_2 -microglobulin obtained showed three bands on disc gel electrophoresis at pH 9.5, and all of them have immunological activity. However, these three bands migrated as a single band on disc gel electrophoresis at pH 4.3. It is concluded that the three bands observed on disc gel electrophoresis at pH 9.5 were charge isomers. The isoelectric points of isomers were determined by isotachopheresis and two of them were 5.4 and 5.9 respectively, while the other one was not determined.

Multiple Forms of β_2 -Microglobulin in Human Colostrum

Nobuyasu TANAHASHI, Yutaka WATANABE
and Fujizo YAMADA

Gifu Prefectural Institute of Public Health, 4-48,
Nagamori Honmachi, Gifu, Japan

Agric. Biol. Chen., 43 (6). 1263~1267, 1979

Purification of β_2 -microglobulin from human colostrum was performed by removal of fat by centrifugation and of casein by acid precipitation, followed by gel filtration and ion exchange chromatography of the whey. The β_2 -microglobulin was isolated in two peaks by Sephadex G-75 column chromatography.

The high molecular weight fraction had the molecular weight of 48,000 which is the same as that of lactollin, a tetrameric form of β_2 -microglobulin. The other fraction of β_2 -microglobulin showed three bands on disc gel electrophoresis at pH 8.5 and all of them were able to react with the antiserum of β_2 -microglobulin. They were not separated each other by gel filtration and ion exchange chromatography and apparently had the same molecular weight of 12,000. However, they migrated as a single band in disc gel electrophoresis at pH 4.3 and it was concluded that these three bands at pH 8.5 were charge isomers.

学 会 報 告

- テトラヒメナに及ぼす各種金属の影響〔Ⅲ〕
14種の金属の相互作用について
森下有輝（岐阜衛研），宮田昭吾（岐大・医・衛生）
第49回日本衛生学会 昭和54年4月 東京都
- 活性汚泥に対するトイレット用洗浄剤の影響について（Ⅱ）アルカリ性洗浄剤について
南部敏博，中屋謙一（岐阜衛研）
第38回日本公衆衛生学会 昭和54年10月新潟市
- 急性出血性結膜炎（AHC）ウイルスの血清学的研究 第5報
川本尋義，山田不二造（岐阜衛研）
第27回 日本ウイルス学会総会
昭和54年 10月 東京都
- 1978年岐阜県に流行した HFMD のウイルス学的研究
三輪智恵子（岐阜衛研）
第27回 日本ウイルス学会総会
昭和54年10月 東京都
- しいたけ中のカドミウムの存在形態について—I
カドミウムの濃縮と低分子量分画における存在
大江章夫，杉谷 哲，山田不二造
第38回日本食品衛生学会 昭和54年11月 仙台市
- 腸炎ビブリオの新K抗原型
所 光男，後藤喜一（岐阜衛研）寺田友次（東芝生研）
第13回腸炎ビブリオ・シンポジウム 昭和54年11月
大阪市
- 岐阜県におけるB群コクサッキーウイルスに対する中和抗体保有状況の変動
渡辺 実，野田伸司，山田不二造（岐阜衛研）
第22回日本感染症学会中日本地方会
昭和54年11月 金沢市
- 食中毒関連食品から神奈川現象陽性株が検出された1事例について
所 光男，後藤喜一（岐阜衛研）河瀬 操（岐阜県伊奈波保健所）
第13回腸炎ビブリオ・シンポジウム 昭和54年11月
大阪市
- 尿中の β_2 -ミクログロブリン
棚橋宣康，渡辺 豊
第49回日本衛生学会 昭和54年4月 東京都
- 幼児尿による羊毛製品からのデイルドリン溶出
岡本光美，日比 誠，山田不二造（岐阜衛研）
第25回東海公衆衛生学会 昭和54年6月 名古屋市
- 薄層クロマトグラフ法による感冒薬の分析
坂井至通，高橋仁司，岡本光美，日比 誠（岐阜衛研）
昭和54年度日本薬学会東海支部大会 昭和54年6月
名古屋市
- Mesitylenesulfonyl化によるナフチルアミンの高速度液体クロマトグラフィー
岡本光美，山田不二造（岐阜衛研）中村晃忠（国立衛試）
日本薬学会第99年会 昭和54年8月 札幌市
- Artificial Liver Basic Research and Clinical Application of Hemoperfusion to Intoxication
M. Ishiguro, T. Yasue, S. Watanabe, A. Umemura, H. Akanabe, M. Ohomae, H. Mori (Gifu Prefectural Hospital) M. Okamoto, A. Sugitani (Gifu Prefectural Institute of Public Health)
6 th Asian-Pacific Congress of Gastroenterology, Feb., 1980, Auckland (New Zealand)

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	(〃 15 〃)
○研究速報(短報とする)	(〃 10 〃)
○他誌掲載論文抄録	(〃 2 〃)
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, 苗字の順とし, 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, 外国人名は外国綴(タイプまたはブロック体)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「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(黒インクでもよい)する。図の下に「図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, 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引用順に小さく番号^{(1),(2)}のように片括弧をつける)をし, 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>

山 田 不 二 造

<編 集 委 員>

後 藤 喜 一, 森 下 有 輝, 川 本 尋 義,
岡 本 光 美, 寺 尾 宏, 春 日 洋 二

岐 阜 県 衛 生 研 究 所 報 No.25
昭 和 5 5 年 1 2 月
Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health No.25
1 9 8 0

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
T E L <0582>4 6 - 1 1 0 1
Editorial Gifu Prefectural Institute
Office of public Health :
6 - 3, Noishiki 4 chōme,
Gifu 500, Japan

印 刷 所 水 野 印 刷 紙 工 株 式 会 社
岐 阜 市 下 川 手 4 1 3 ☎ 5 0 0 ☎ <0582>7 1 - 6 2 4 8
