

r 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 7 号

昭和 5 7 年

Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health

No. 27

1 9 8 2

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>

- エトラヒメナを用いる生物検定への酵素反応の応用—脱水酵素による
2, 3, 5-Triphenyltetrazorium Chloride の還元 1
河川水, 地下水から分離したフミン物質について 6

<資 料>

- 岐阜県における先天性代謝異常症のマス・スクリーニングの結果について
(1977~1981) 10
岐阜県における水道水中のトリハロメタン濃度について (第2報) 18
市販アスピリン中のサリチル酸、無水アスピリンの測定 22
合成樹脂製の器具または容器包装の規格試験結果について 26

<短 報, 速 報>

- 3-Aminopropyltriethoxysilane 処理プレートを用いる芳香族アミンの薄
層クロマトグラフィー 30

<他誌掲載論文> 32

<学 会 報 告> 39

題字 岐阜県知事 上 松 陽 助

CONTENTS

(ORIGINAL ARTICLE)

Application of Enzyme Reaction to Bioassay using <i>Tetrahymena pyriformis</i> — Reduction of 2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride by Dehydrogenase.....	1
Characteristics of Humic Substance Separated from River and Ground Water	6

(REPORT)

Mass-Screening for "Inborn Errors of Metabolism" in the Newborn Infants in Gifu Prefecture (1977-1981)	10
Trihalomethane Concentration in Drinking Water in Gifu Prefecture(I).....	18
Determination of Salicylic Acid and Acetylsalicylic Anhydride in Commercial Aspirin.....	22
Hygienic Test of Synthetic Resin Food Utensils and Container-Packages.....	26

(SHORT COMMUNICATION)

High Performance Thin Layer Chromatographic Analysis of Some Aromatic Amines on the 3-Aminopropyltriethoxysilane-Treated Plates	30
<i>Papers and Abstracts in Other Publications</i>	32
<i>Presented Themes at Conferences and Society Meetings</i>	39

岐阜研究所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.テトラヒメナを用いる生物検定への
酵素反応の応用——脱水素酵素による

2, 3, 5 - Triphenyltetrazorium Chloride の還元

森下有輝*, 梶川正勝*, 山田不二造*

Application of Enzyme Reaction to Bioassay using

Tetrahymena pyriformis—Reduction of 2, 3, 5 - Triphenyltetrazorium Chloride by
Dehydrogenase

Yuki MORISHITA*, Masakatsu KAJIKAWA*, Fujizo YAMADA*

Summary

Measurement conditions of 2, 3, 5-Triphenyltetrazorium Chloride (TTC) to Triphenylformazan (TPF) by dehydrogenase in *Tetrahymena Pyriformis* (protozoa) were investigated for environmental toxicants bioassay.

The optimum condition of TTC reduction was found at TTC concentration 0.1%, pH 7.85, 41°C and 45 minutes. The TTC reduction activity of *Tetrahymena* cells increased with incubate time, however, at the same incubate time, a plot of cell number vs. TPF absorbance gave a straight line. The variation of TPF absorbance showed $\pm 9.7\%$, $\pm 11.5\%$ at 48 and 72 hours incubation, those were similarly value obtained from cell number counts and protein contents measurements. The assay methods showed relationship (r value) between TPF abs. and cell numbers was 0.979, TPF abs. and protein contents was 0.993, and cell numbers and protein contents was 0.968. Consequently, this TTC reduction method may be applied for simple bioassay of environmental toxicants.

原生動物の一種テトラヒメナ (*Tetrahymena Pyriformis*) を用いるバイオアッセイ法を確立するため、テトラヒメナの有する脱水素酵素により、Triphenyltetrazorium Chloride (TTC) を Triphenylformazan (TPF) に還元する方法の最適条件とその有用性を検討した。

1. テトラヒメナによる TTC 還元最適条件は TTC 0.1%, pH 7.85, 41°C, 45分であった。
2. テトラヒメナの TTC 還元力は培養時間の増加と共に増加するが、同一培養時間での細胞数と TPF 吸光度は直線関係を示した。
3. TPF 吸光度の変動は培養時間で $\pm 9.7\%$ 、72時間で $\pm 11.5\%$ ($n=5$) で、細胞計数、蛋白質の測定と同等の精度であった。
4. 細胞数と TPF 吸光度の間の相関係数は $r=0.979$ 、蛋白質と TPF 吸光度では $r=0.993$ 、細胞数と蛋白質では $r=0.968$ であった。TTC 還元法は細胞計数、蛋白質測定と同等以上の精度で使用でき、同時に多数試料の取扱が容易な方法である。

* 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

はじめに

原生動物の一種、テトラヒメナ (*Tetrahymena Pyriformis*) は必須アミノ酸、ビタミン、ミネラル等の要求が高等動物に類似し、バイオアッセイの材料として良く研究されている。これらバイオアッセイで用いられる定量法は、増殖細胞の計数が主として用いられ、顕微鏡下での生死判別、蛋白質量、DNA量、呼吸量、ATP量の測定等も行われている。しかし、これらの測定ははん雑で時間を要すること、測定値のばらつきが大きいこと、特殊器具を要すること等、夫々問題がある。

生物のエネルギー代謝に係わる脱水素酵素活性を測定し、生物量と対応させる試みもバイオアッセイ手法の一つであり、脱水素酵素によるテトラゾリウム塩の還元は牛乳中抗菌剤の存在、下水汚泥中生物量の測定、必須アミノ酸の決定等に用いられてきた。

著者はテトラヒメナの有する脱水素酵素により、2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride (TTC) が還元され、水に不溶で有機溶媒可溶の赤色色素 Triphenylformazan (TPF) を生じる反応を用い、環境汚染物質の迅速簡易な評価方法を確立するため、測定条件の検討を行った。

材料および試験方法

1. テトラヒメナの培養

テトラヒメナは岐阜大学医学部生化学教室に継代培養されている *Tetrahymena Pyriformis* WH-14 の分与を受けた。

保存培養 2% プロテオース・ペプトン (Difco) 培地の入った試験管を用い、28°C で静置培養し、1週間毎に継代した。

前培養 プロテオース・ペプトン (Difco) 20g、酵母抽出物 (Difco) 2g、グルコース (和光) 5g を 1ℓ の蒸留水にとかしたペプトン培地 100ml を 300ml の三角フラスコに入れ、滅菌したのち、保存培養液 1ml を加え、28°C 3日間振とう培養を行った。

実験培養 前培養と同じ組成のペプトン培地 100ml に前培養液 1ml を加え、28°C で静置培養した。

2. 細胞計数

テトラヒメナの細胞計数は 3.7% ホルムアルデヒド溶液を滴下して繊毛運動を止め、Bürker-Turk 血算板を用い、顕微鏡下で算定した。

3. 蛋白質の測定

テトラヒメナ培養液を 150g 5分間遠心分離し、沈渣を 20mM リン酸緩衝溶液 (pH 6.8) で洗浄、さらに同様操作を 2 回くり返したのち、沈渣の蛋白質量を

Lowry らの方法で測定し、牛血清アルブミン量に換算して表示した。

4. 脱水素酵素活性の測定 (TTC 法)

培養液 5ml (必要あれば希釈、或は 10ml を遠心分離して上澄を捨て 5ml 以下とする。) を 10ml の共栓遠沈管にとり、pH 7.85 の 0.1M リン酸緩衝溶液 4ml と 1% TTC 溶液 1ml を加え良く振とう後、光をさけて 40°C の水浴中に 45分間静置し酵素反応を行った。直ちに希硫酸 1 滴を加え酵素反応を停止し、TPF の赤色沈殿を遠心分離した。上澄を捨て試験管を倒立させて水分をよく除き、エチルアルコール 10ml を加え TPF を溶かし、ろ紙 (No.2) でろ過したのち 483nm の吸光度を測定した。

結 果

1. テトラヒメナによる TTC 還元条件

テトラヒメナ細胞の有する脱水素酵素により、TTC を還元する温度 (Fig. 1)、pH (Fig. 2)、反応時間 (Fig. 3) の最適条件を検討した。温度の影響は大きく、41°C で最大の TPF 生成を示したが、最適温度巾はせまく、吸光度は $\pm 1^\circ\text{C}$ で 13%、 $\pm 2^\circ\text{C}$ で 33% の減少を示した。さらに 45°C 以上と 35°C 以下では 41°C で示す吸光度の 1/2 以下となった。pH の影響は pH 6 から徐々に増大し、pH 7.85 で最大の TPF 生成を示し、pH 8.5 以上で急激に低下した。反応時間は 15 分以降 60 分まで直線的に TPF 生成量を増大させたが、以後、次第に増加量は小さくなった。反応時間 30 分での吸光度の変動率 (n=5) は 14.7% とばらつきが大きかったが、45~75 分間の間では 4% 以下であ

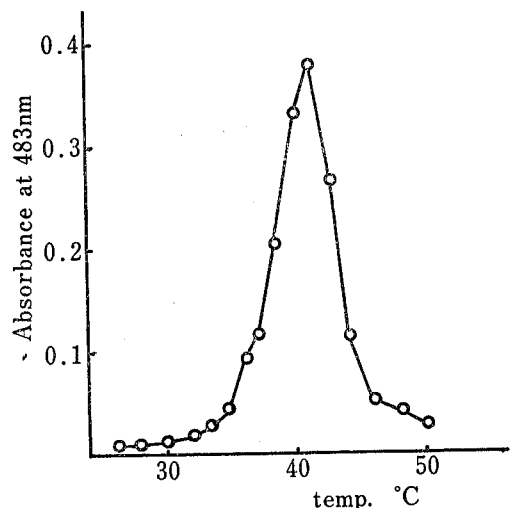


Fig. 1. Effect of Temperature on TTC Reduction by *Tetrahymena*
Reaction time 45 min., pH 7.85, TTC 0.1%

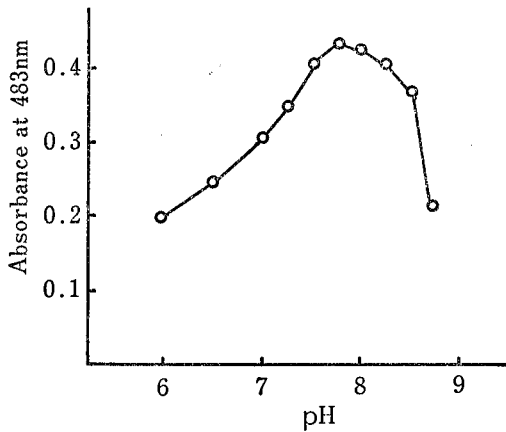


Fig. 2. Effect of pH on TTC Reduction by *Tetrahymena*
Reaction time 45 min., temp. 41°C, TTC 0.1%

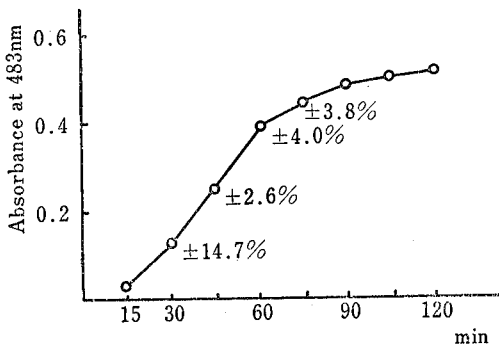


Fig. 3. Effect of Reaction Time on TTC Reduction by *Tetrahymena*
Reaction temp. 41°C, pH 7.85, TTC 0.1%

った。

TTC 濃度は反応濃度が 0.1~0.15% で TPF 生成が大きく、0.2%以上の濃度ではむしろ 20~30% の減少がみられた。

2. TPF 吸光度とテトラヒメナ細胞数の関係

テトラヒメナ細胞 10^8 個あたりの TPF 吸光度は培養時間と共に増加し、特に増殖期での増加が著しい (Table 1)。しかし、同じ培養時間での細胞数と TPF 吸光度の間には、Fig. 4 に 72 時間培養の例を示した様に直線的関係があった。

3. TPF 吸光度、細胞数、蛋白量の比較

同様操作した 5 本の三角フラスコについて 48、72 時間培養後の夫々の測定法の精度を比較した (Table 2) 細胞計数は 48 時間で 7%、72 時間で 14% の変動を示し、TPF 吸光度は夫々 9.7%、11.5%、蛋白量では 7.7%、10.5% で、いずれの方法も 48 時間培養の方が

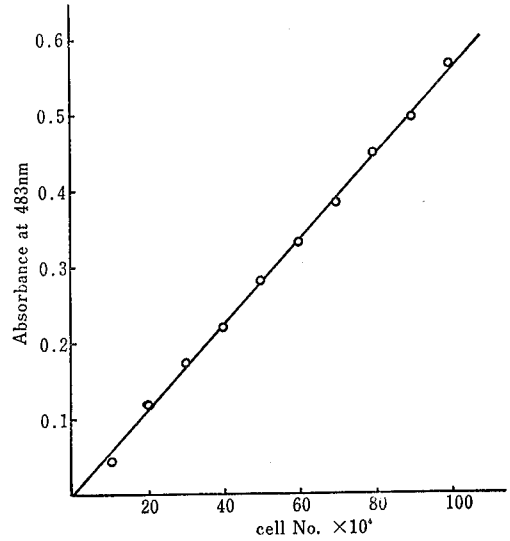


Fig. 4. Relation of Cell Number and TPF Absorbance

Table 1. TTC Reduction Activity for Incubate Time of *Tetrahymena* Cell (1×10^8)

Incubate time hrs.	TPF absorbance 483 nm
24	0.426
48	0.583
72	0.579
96	0.755
120	0.763
192	0.770

Table 2. Variation of Growth Rate Measurement Methods

Incubate time hrs.	TPF absorbance / 5 ml	Cell number $\times 10^4$ / ml	Protein μg / ml
48	0.372 ± 0.036 (9.7%)*	11.5 ± 0.8 (7.0%)	173 ± 13.4 (7.7%)
72	0.508 ± 0.058 (11.5%)	16.4 ± 2.3 (14.0%)	255 ± 27 (10.5%)

* Coefficient of variation (n=5)

変動率が小さい傾向を示したが、各測定法の間には著しい差は認められなかった。

また、テトラヒメナの増殖曲線を細胞数、蛋白量、TPF 吸光度によって示した (Fig. 5)。36~48 時間まで増殖率は大きく、その後 96 時間まで漸増している。

測定法間の相関係数 (n=32) は細胞数と TPF 吸光度で $r=0.979$ 、蛋白量と TPF 吸光度、 $r=0.993$ 、細胞数と蛋白量、 $r=0.968$ であり、TPF 吸光度は蛋白量と最も相関性が高かった。

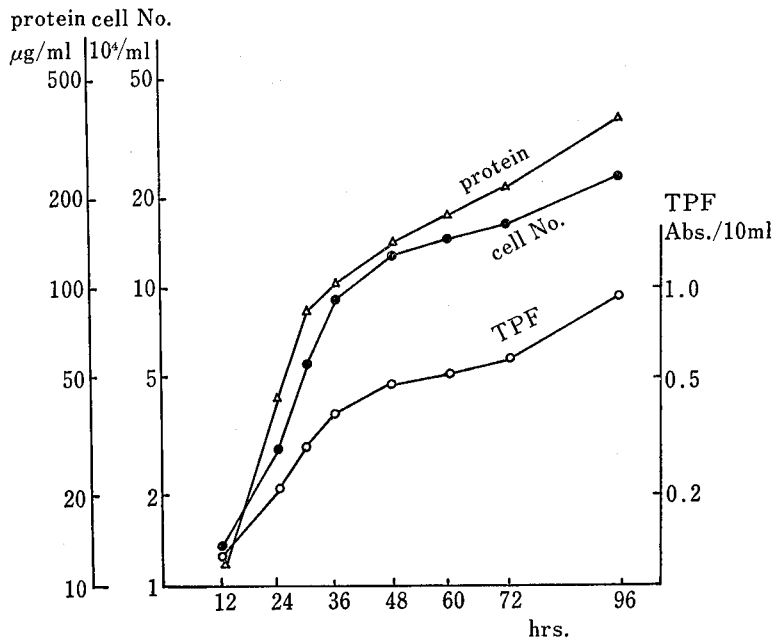


Fig. 5. Growth Curve of *Tetrahymena* in 1% Proteose Peptone Medium at 28°C

考 察

原生動物の一種、繊毛虫テトラヒメナは、そのエネルギー代謝も高等動物に類似し、貯蔵多糖類はグリコーゲンであり、酸素存在下では二酸化炭素を最終産物とし、Krebs 回路の酵素の全てが存在する¹⁾。テトラヒメナを用いる環境汚染物質の迅速簡易な評価方法を確立するため、これら脱水素酵素による TTC 還元¹⁾の最適条件を求めた結果、TTC 濃度 0.1% で pH 7.85, 41°C, 45 分間反応させるのが最も良かった。テトラゾリウム塩は脱水素酵素反応に広く利用されており、^{12), 13)} 実用面でも牛乳中抗生物質^{14), 15)}の検出、汚水の生物処理における活性汚泥の測定等に利用が試みられている。これらの方法での測定条件は生物種(酵素種)や目的に応じて様々であり、TTC 濃度 10^{-3} ~ 10^{-4} 、温度 20~37°C、反応時間 15~120 分、pH 6.6~8.4 の範囲で行われている。また、テトラヒメナへの応用は必須アミノ酸、⁹⁾ 蛋白の決定のために Anderson らが TTC 0.2%, pH 7.7, 25°C 4 時間、¹⁰⁾ Pilcher らが TTC 0.5%, pH 7.7, 37°C 15 分での研究を行っている。本報の結果では、TTC 濃度は 0.1~0.15% が最適で、0.2% 以上ではむしろ TPF 生成量が 20~30% 減少した。これは培養基と培養日数の相違によるものと考えられる。

TTC 還元¹⁾の最適条件で生成する TPF の吸光度は

細胞数 10^5 ~ 10^6 の間で細胞数と直線関係にあったが、培養時間の増加と共に細胞数あたりの TPF 生成能は増加し (Table 1), 培養時間の異なる場合には TPF 吸光度と細胞数は一致しない。48 時間と 72 時間培養では前者の方が変動が小さい傾向があり、テトラヒメナを用いるバイオアッセイでは 48 時間培養すれば最も良い精度で結果が得られると考える。同一培養時間での細胞数、蛋白量、TPF 吸光度の精度には大きい差はなく、三者の間には良い相関性が有り、特に TPF 吸光度と蛋白量の間で高かった。

細胞数の計数は顕微鏡下では非常にわずらわしく、長時間を要し、自動計数器は高価で一般的でない。また、蛋白量の測定は細胞を正常に維持しながら培地を洗浄によって十分除去する細心の操作が必要である。培地中の蛋白、アミノ酸等に金属が作用して不溶化した場合、それを分離できない^{17), 18)}等、バイオアッセイ法として不都合な点がある。この様な観点から、生物の生体量の差、生死の判別のみでなく、その生物の活性程度も含めて評価が可能な種々の酵素活性、DNA、ATP 量等の測定はバイオアッセイ法として有効な手段である。本報で検討した TTC 法は酵素活性測定として簡易迅速な方法であり、²⁾ 米山らが細胞数と蛋白量、DNA 量のいずれの方法でも大差のない結果が得られると報告しているのと同様に、細胞数、蛋白量と良く相関し、それらと同等以上の精度を持っている。

TTC法は Fe^{+2} 、硫化水素など弱還元性物質により妨害を受けることがある以外は、広範囲の物質の共存が可能である。¹¹⁾従って、テトラヒメナにTTC法を用いることによって、広範囲の環境汚染物質に対するバイオアッセイとして実験動物を用いることに比し、より簡易迅速なスクリーニングが可能と思われる。

謝 辞

御校閲をいただいた岐阜大学医学部宮田昭吾教授、テトラヒメナの分与ならびに培養等の御指導をいただいた野沢義則教授に深謝致します。

文 献

- 1) Hill, D. L.: テトラヒメナの生理・生化学 (三田隆訳) p177-182, 共立出版 東京 1975
- 2) 米山京子, 永田久紀: 諸化学物質の有害性のテトラヒメナによる簡易迅速検査法, 日本公衛誌, **23**, 331-338, 1976
- 3) Bowles, S. F. and Wolfson, N.: Interaction of organomercurials with heat-synchronized *Tetrahymena*, Life Sciences, **19**, 739-746, 1976
- 4) Peng, Yey-Mei: Effect of iron on lipid metabolism of *Tetrahymena pyriformis*, J. Nutrition **101**, 1177-1184, 1971
- 5) Carter, J. H. and Cameron I. L.: Toxicity bioassay of heavy metals in water using *Tetrahymena pyriformis*, Water Research, **7**, 951-961, 1973
- 6) 樋口勝啓: テトラヒメナ培養法による重金属の生物学的影響に関する研究, 日大医誌, **33**, 899-907, 1974
- 7) 永田幸雄, 片山智子, 森下有輝, 中村征夫: テトラヒメナの呼吸におよぼす各種金属の影響, 岐阜大農研報, **41**, 95-98, 1978
- 8) Brezonik, P. L., Brown, F. X. and Fox, J. L.: Application of ATP to plankton biomass and bioassay studies, Water Research, **9**, 155-162, 1975
- 9) Anderson, M. E. and Williams, H. H.: Microbiological evaluation of protein quality I. A colorimetric method for the determination of the growth of *Tetrahymena geleii* W in protein suspensions, J. Nutrition, **44**, 335-343, 1951
- 10) Pilcher, H. L. and Williams, H. H.: Microbiological evaluation of protein quality II. Studies of the responses of *Tetrahymena Pyriformis* W to intact proteins, J. Nutrition, **53**, 589-599, 1954
- 11) Bergmeyer, H. U.: Method of enzymatic analysis, Tetrazolium salts and their reduction, p137-143, Academic Press, New York, 1974
- 12) Wright, R. C. and Tromer, J.: The estimation of penicillin in milk, J. Soc. Dairy Tech., **14**, 85, 1961
- 13) Neal, C. E. and Calbert, H. E.: The use of 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride assay test antibiotic substances in milk, J. Dairy Science, **38**, 629-633, 1955
- 14) Jones, P. H. and Prasad, D.: The use of tetrazolium salts as a measure of sludge activity, J. WPCF, **41**, R 441-449, 1969
- 15) Ryssov-Nielsen, H.: Measurement of the inhibition of respiration in activated sludge by a modified determination of the TTC-dehydrogenase activity, Water Research, **9**, 1179-1186, 1975
- 16) 日本生化学会編: 酵素研究法(上)生化学実験講座 第5巻, p27-27, 東京化学同人, 東京, 1975
- 17) Blundell, T. L. and Jenkins, J. A.: The binding of heavy metals to protein, Chemical Society Reviews, **16**, 139-171, 1977
- 18) 奥脇義行, 高橋信二, 橋本雅一: カドミウムが微生物に及ぼす影響第1報, 培養基成分とカドミウムの反応, 日衛誌, **33**, 178, 1978

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

河川水、地下水から分離したフミン物質について

寺尾 宏*, 梶川正勝*, 森下有輝*, 山田不二造*

Characteristics of Humic Substance Separated from River
and Ground WatersHiroshi TERAO*, Masakatsu KAJIKAWA*, Yuki MORISHITA*,
Fujizo YAMADA*

Humic substances were separated from 4 fairly colored river and ground waters in Gifu Pref. by the use of XAD-2 resin. Metal contents in humic substances were greatly differed, especially iron content showed more than 100-fold difference among 4 samples. Evaluated metal abundance ratio against water, heavy metals (Fe, Mn) showed higher ratios. On peak fractions obtained by gel chromatography, the ratios of UV absorbance, KMnO_4 consumption, TOC, and THM potentials against color (460nm absorbance) were calculated respectively. In result, the each ratio of 4 samples was not greatly differed. It suggested that the characteristics of humic substances separated were similar except metal contents.

岐阜県内のフミン物質を着色原因とした河川水、地下水を各々2ヶ所選び、XAD-2樹脂によりフミン物質を分離し、その性状について比較検討を行った。採水した場所によって、ナトリウム、カルシウム、鉄等の金属含有量には差がみられ、特に鉄は100倍以上の差があった。試水中の金属量とそれから得たフミン物質中の金属量の比を求めると、鉄、マンガンの比がアルカリ金属等に比べて大きかった。ゲルクロマトグラフィーにより得られたピークフラクションについて、色度(460nm吸光度)に対する、紫外外部吸収、鉄、 KMnO_4 消費量、TOC、及びトリハロメタン(THM)生成能の比を算出したが、鉄を除いて試料間には大きな差は認められなかった。

はじめに

水道水の色度原因の一つであるフミン物質は、水道水を着色させるだけでなく、トリハロメタン(THM)生成の前駆物質として注目されている。我々は、色度に関する研究を行い、県内水道水の高色度の原因はフミン物質によるものが多いこと、また、フミン物質による高色度を有する簡易水道における活性炭による色度除去について、の報告をした。

本報では、県内4地点の河川水、地下水からフミン物質を分離し、金属含有量、及びゲルクロマトグラフィーで得られたピークについて、試料間の比較検討を行った結果を報告する。

試料及び方法

1. 採水及び水質分析

フミン物質を得るため、県内4ヶ所の高色度を有する河川水、及び地下水の採水を行った。試水1は、丘陵地のかん木地帯を流れる谷川水であり、地表付近の腐植物質による色度と考えられる。試水2は、海拔0m地帯を流れる水生植物の繁茂した流れの遅い河川水である。試水3、4は、互いに数km離れた平野部の地下水(深井戸)であり、この付近一帯には、同一水層と考えられる着色地下水が分布している。

試水は約100ℓをポリエチレン製ビンに採水した。実験室に持ち帰り、No.5Cろ紙でろ過を行い、懸濁

*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

物を除去しフミン物質捕集用の試水とした。

ろ過試水の一部を用いて水質分析を上水試験方法により行った。

2. XAD-2 樹脂によるフミン物質の分離。

フミン物質の捕集、分離には、あらかじめメタノール、塩酸、アンモニア水で洗浄した XAD-2 樹脂(アンバーライト社)を用いた。ろ過試水に塩酸を添加して pH2.0±0.1 とし、XAD-2 樹脂をつめたガラスカラム(内径2cm, 長さ28cm) 4本を並列にし、流速200~300ml/時で100ℓを処理した。吸着したフミン物質は、12M NH₄OH 溶液200mlを用いて溶離し、減圧濃縮(40°C)により約50mlとした後、凍結乾燥処理を行った。収量は100ℓ当り160~370mgであった。フミン物質の確認は赤外スペクトルの測定によった。(試水1~4から分離したフミン物質を以下各々試料1~4とする。)

3. 分離したフミン物質の金属含有量の測定

試料の一定量をケルダールフラスコにとり、硫酸、硝酸を用いて加熱分解し、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、マンガン、亜鉛、銅の定量を行った。

4. フミン物質のゲルクロマトグラフィー

試料10mgを0.1M NH₄OH 溶液に再溶解させ、セファデックスG-25を充てんしたカラム(内径2.6cm, 長さ100cm)を用いてゲルクロマトグラフィーを行った。溶出液は0.1M NH₄OH 溶液、流速は30ml/時とし、10mlづつのフラクションをとった。各フラクシ

ョンは可視部(460nm)、及び紫外部(260nm)の吸光度の測定を行った。

さらに、460nm, 260nmで吸収ピークを示したフラクションについて、鉄、KMnO₄消費量、TOC、トリハロメタン(THM)生成量の測定を行った。THM生成能の測定は、測定試料をリン酸緩衝液を用いて pH7.0 とし、次亜塩素酸ナトリウム溶液を反応後の残留塩素が約300mg/ℓとなるよう添加し、20°C, 24時間放置の反応条件で行った。

結 果

水質分析の結果を Table 1 に示した。色度は17~30度の範囲にあった。試水1は、溶存成分が少なく、岩石等との接触が比較的短いことをうかがわせた。試水2は、4試水の中で KMnO₄消費量が最も多く、またカルシウム、マグネシウム濃度も他と比較して高かった。試水3, 4は、地理的にも近い同じ帯水層の地下水と思われるので、両者の水質はナトリウム、アルカリ度が高い点で類似の水質を示した。

XAD-2 樹脂で分離して得た各試料は赤外スペクトル測定の結果、市販フミン酸と類似のスペクトルを示し、いずれもフミン物質であることを確認した。

各試料の金属含有量を Table 2 に示した。測定した金属の中では、試料2を除いて鉄の含有量が最も多かった。マンガン、亜鉛、銅は地下水から分離した試料3, 4に多くみられた。試料間の比較をすると、地下

Table 1. Water Quality of River and Ground Waters for Humic Substance Preparation.

Water Sample*	Color	pH	KMnO ₄ Consumption (mg/ℓ)	Na (mg/ℓ)	K (mg/ℓ)	Ca (mg/ℓ)	Mg (mg/ℓ)	Fe (mg/ℓ)	Cl (mg/ℓ)	HCO ₃ (mg/ℓ)
1	28	6.4	8.9	2.3	0.7	0.5	0.4	0.17	2.3	7.9
2	20	7.3	12.8	12	5.9	10.0	3.5	0.16	11	52
3	30	8.0	4.1	49	1.5	0.2	0.1	0.31	6.8	126
4	17	7.9	3.8	56	2.7	0.5	1.4	0.24	13	138

* 1, 2 River Water ; 3, 4 Ground Water

Table 2. Metal Contents in Separated Humic Substances (×10⁻⁵mg/mg dry weight)

Humic Substance	Na	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
1	100	110	<1	80	1400	6	3	1
2	40	80	60	22	70	0.5	17	1
3	1100	620	<1	140	8100	41	17	13
4	2100	410	3	70	3500	27	15	4

Table 3. Metal Abundance Ratio* in Humic Substance against Water

Humic Substance	Na	K	Ca	Mg	Fe	Mn
1	570	1600	<50	2000	82000	61000
2	40	140	60	60	4200	1000
3	220	4100	<50	14000	260000	41000
4	380	1500	60	500	150000	2700

* Metal Abundance Ratio = (Metal in H.S./H.S.) / (Metal in Water/Water)

水から分離した試料3, 4の金属含有量が, 河川水から分離した試料1, 2に比べて多かった。試料2は, アルカリ, アルカリ土類金属, 及び鉄の含有量の間に大きな差がみられず, 他の3試料に比べて特異的であった。

Table 1, 2の水質分析, フミン物質の金属含有量の結果から, フミン物質中の金属量が試水中のそれに対してどれ程の割合を占めるかを算出し, 存在比として Table 3に示した。各試料とも, アルカリ, アルカリ土類金属に比べて, 重金属である鉄, マンガンの方がフミン物質中の存在比は高かった。試料間の比較では, 試料2は他試料に比べてカルシウムを除いて, 1~2オーダー低い値であった。試料1のゲルクロマトグラム(460nm, 260nm 吸光度)を Fig. 1に示した。試料2~4についても, ほぼ同じ溶出曲線が得られたが, 試料2では, 低分子側のピークがさらに2つに分離した。また, いずれの試料でも460nmと260nmの吸光度のピークを示したフラクションは一致した。Table 4に460nm 吸収のピークを示したフラクションの吸光度, 鉄, KMnO_4 消費量, TOC, THM 生成能の値を示した。さらに, 試料の比較を行うために, 460nm吸光度を基準に他の指標との比を求め Table 5

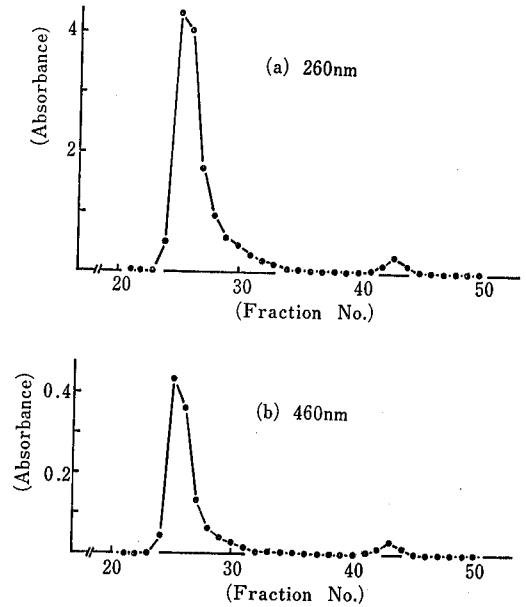


Fig. 1. Gel Chromatogram of Humic Substance
(a) 260nm Absorbance
(b) 460nm Absorbance

Table 4. Measured Values of the Peak Fraction by Gel Chromatography

Peak Fraction No.	1		2			3		4	
	25	43	25	38	40	25	39	25	41
Abs. 460nm	.450	.027	.161	.032	.039	.710	.023	.336	.032
Abs. 260nm	4.14	.259	1.72	.517	.610	8.44	.183	5.22	.372
Fe (mg/l)	2.3	0.01	0.28	0.02	0.01	39	0.05	16	0.10
KMnO_4 Consumption (mg/l)	470	N. M.*	210	N. M.	N. M.	510	N. M.	400	N. M.
TOC (mg/l)	150	10	115	30	38	170	5	150	11
THM Potential (mg/l)	12.8	0.2	1.3	0.20	0.20	8.5	0.13	6.0	0.17

* Not measured

Table 5. Ratio of 460nm Absorbance and the Other Parameters.

Peak Fraction No.	1		2			3		4	
	25	43	25	38	40	25	39	25	41
$\frac{\text{Abs. 260}}{\text{Abs. 460}}$	9.2	9.6	10.7	16.2	15.6	11.9	8.0	15.5	11.6
$\frac{\text{KMnO}_4 \text{ Conspt.}}{\text{Abs. 460}} (\times 10^3)$	1.0	—	1.3	—	—	0.7	—	1.2	—
$\frac{\text{TOC}}{\text{Abs. 460}} (\times 10^3)$	0.33	0.37	0.71	0.94	0.97	0.24	0.22	0.45	0.34
$\frac{\text{Fe}}{\text{Abs. 460}}$	5.1	0.4	1.7	0.6	0.3	55	2.2	48	3.1
$\frac{\text{THM Potential}}{\text{Abs. 460}}$	28	7.4	8.1	6.3	5.1	12	5.7	18	5.3

に示した。同一試料の2つ(試料2は3つ)のピークフラクションを比較すると、(Fe)/(Abs.460)に著しい差がみられ、高分子ピークフラクション(No. 25)の方が大きく、(THM生成能)/(Abs.460)についても同様の傾向がみられた。試料間の比較を高分子側ピークフラクションについてみると、(Abs.260)/(Abs.460)、(KMnO₄消費量)/(Abs.460)、(TOC)/(Abs.460)、及び(THM生成能)/(Abs.460)は、試料2の(TOC)/(Abs.460)、(THM生成能)/(Abs.460)を除いて、2倍以内の範囲であった。一方、低分子側のピークフラクションについても、試料2の(TOC)/(Abs.460)を除いて2倍以内であった。なお、(Fe)/(Abs.460)は高分子側のピークフラクション(No. 25)を比較すると、10倍以上の差がみられ、Fe含有量と460nm吸光度との間には直接的な関係がないことを示した。

考 察

今回の試水は、県内で最も高いレベルの色度を有する河川水及び地下水であり、試水2を除いて水道水源である。色度が17~30度と比較的低く、100ℓの試水から160~370mgしかフミン物質を分離できなかった。

金属含有量は、Table 2 に示したように、試料により大きな差がみられ、河川水に比べ地下水から分離した試料3、4に多かった。試料2は最も金属含有量が少なく、水生植物に由来するフミン物質が多く含まれていることに起因することも考えられる。土壌及び植物中の金属含有量は、一般に土壌の方が多く、鉄については植物(新鮮物重量)0.01%に対して土壌では4%に達する⁵⁾。河川水は地下水に比べて土壌との接触時間も短いと考えられるので、試料1、2では鉄をはじめとする重金属類の含有量が低く、特に試料2にその差が顕著に表われたと考えられる。試料3、4は同じ地下水系に属すると考えられるので、含有量に大きな差はみられなかった。試料3の鉄含有量はフミン物質乾重量に対して8.1%を占めた。鉄とフミン物質の結合は強いが、採水場所により大きく含有量が異なることが知られており⁶⁾、今回の結果と一致した。

Table 3 に示した水に対するフミン物質中の金属の存在比は、鉄、マンガンが大きい。この結果は、鉄やマンガンが水中でフミン物質と結合した状態で存在している割合が多いことを示しており、水中重金属の溶存状態⁷⁾、生物への金属の影響に対するフミン物質の重要性を示唆している。

ゲルクロマトグラフィーによる溶出曲線は各試料ともほぼ同じであった。また、色度に相当する指標とし

て可視部460nmの吸光度を考え、他の指標との比をみたが、(Fe)/(Abs.460)、(THM生成能)/(Abs.460)を除いて試料間で2倍以内に入るものが多かった。この2点から、分離したフミン物質は類似の性質をもつことを示唆した。一方、(Fe)/(Abs.460)、(THM生成能)/(Abs.460)は、各試料とも高分子側ピークの方が大きい値を示し、試料間でも大きな違いがみられた。しかし、鉄含有量とTHM生成能の間の明確な関連性は認められなかった。

(THM生成能)/(TOC)について、相沢らはフミン物質を含む泥炭地浸出水のゲルクロマトグラフィーを行い、高分子フラクションの方がその比が大きいことを報告しているが、今回の結果でも同じ傾向を示した。

県内の河川水、地下水に存在するフミン物質は、採水地点により金属含有量は大きく異なるが、KMnO₄消費量、TOC、紫外部吸収など有機物の性状を表わす指標と色度との関係は、地域性、天然水の種類(河川水、地下水)には、あまり依存しないことを示唆した。

謝 辞

御校閲いただきました岐阜大学医学部吉川博教授に感謝します。本研究は昭和56年度の調査研究費の一部によった。

文 献

- 1) 寺尾宏, 梶川正勝, 森下有輝, 山田不二造: 岐阜県内水道水の色度原因について, 岐衛研所報, **26**, 37-42, 1981
- 2) 森下有輝, 寺尾宏, 梶川正勝: 簡易水道の着色原因とその除去について, 岐衛研所報, **25**, 12-17, 1980
- 3) 日本水道協会: 上水試験方法, 日本水道協会, 1978
- 4) 厚生省: 試案「総 THM 生成能試験方法」, 1980
- 5) 山県登: 微量元素, **30**, 産業図書, 1977
- 6) Gjessing, E. T.: Physical and Chemical Characteristics of Aquatic Humus, 38-89, Ann Arbor Science, 1976
- 7) Reuter, J. H. and Perdue, E. M.: Importance of Heavy Metal-Organic Matter Interactions in Natural Waters, Geochimica et Cosmochimica Acta, **41**, 325-334, 1977
- 8) 相沢貴子, 真柄泰基: トリハロメタン生成能による浄水処理プロセスの評価(I), 水道協会雑誌, **557**, 25-34, 1981

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

岐阜県における先天性代謝異常症のマス・スクリーニングの結果について (1977~1981)

猿渡正子*, 加藤樹夫*, 渡辺実*, 山田不二造*

Mass-Screening for "Inborn Errors of Metabolism" in the Newborn Infants in Gifu Prefecture (1977-1981)

Seiko SAWATARI*, Mikio KATO*, Minoru WATANABE* and Fujizo YAMADA*

要 旨

岐阜県において、1977年10月から、5種類の先天性代謝異常症のマス・スクリーニングを開始し、1980年4月からは、先天性甲状腺機能低下症のスクリーニングを加えた。

1977年10月から1982年3月までに、県下の出生数の94.3%に相当する114,609件の検査を行った。

スクリーニング検査で陽性者35人を発見した。その内訳は、ヒスチジン血症18人、フェニルケトン尿症3人、ガラクトース血症6人、クレチン症5人、ホモシスチン尿症1人であった。

精密検査により先天性と診断されたのは、ヒスチジン血症2人、フェニルケトン尿症3人、ガラクトース血症1人、クレチン症1人、高メチオニン血症1人であった。

はじめに

先天性代謝異常症のなかには、フェニルケトン尿症をはじめとして、早期に発見し、早期に治療することにより、精神薄弱等の心身障害の発現を防止出来る疾病が知られている¹⁾。

これらの疾病のマス・スクリーニングは、Guthrie²⁾によって濾紙上の血液を用いて行う検査法が開発されてから、世界中に広く普及した。

1977年10月より、本邦においても、全国的に、新生児の先天性代謝異常症のマス・スクリーニングが開始され、先天性代謝異常児の早期発見、早期治療に重要な役割をはたしてきている。

ここに、岐阜県における1977年10月から、1982年3

月までの、マス・スクリーニングの検査成績をまとめたので報告する。

方 法

1. 検査対象者および検査対象疾病

検査対象者；岐阜県下の医療機関、母子健康センター、産院および自宅で分娩された新生児。

検査対象疾病；フェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、ヒスチジン血症、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）の6疾病。

2. 採血方法

先天性代謝異常症検査採血要領による。³⁾

3. マス・スクリーニング検査法

各疾病ごとの測定物質および Cut off point は表1に示した。アミノ酸代謝異常症については、Guthrie法を用いて検査を行ったが、ヒスチジン血症のみについてはウロカニン酸の検出を薄層クロマトグラフィー法を併用した。ガラクトース血症については、Beutler法と Paigen法の吉田変法を併用して検査した。クレチン症についてはRIA法を用いて検査を行った。

なお、Paigen法は1979年12月から併用し、RIA法は1980年4月から外部に委託した。

4. マス・スクリーニング検査のフローチャートを図1に示した。

5. マス・スクリーニング実施期間

1977年10月1日より1982年3月31日まで。

*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 測定物質と判定基準

	疾 病	測 定 物 質	Cut off point	測 定 法
アミノ酸代謝異常症	フニールケトン尿症	フェニールアラニン(Phe.)	2 - 4 mg%	Guthrie 法
	ホモシスチン尿症	メチオニン(Met.)	1 - 2 mg%	〃
	ヒスチジン血症	ヒスチジン(His.) ウロカニン酸(Uro.)	4 - 6 mg% 検出の有無	〃 薄クロマトグラフィー法
	メイプルシロップ尿症	ロイシン(Leu.)	2 - 4 mg%	Guthrie 法
糖代謝異常症	ガラクトース血症	ガラクトース・1・リン酸 ウリジルトランスフェラーゼ (Gal. I. PUT)	活性の有無	Beutler 法
		ガラクトース(Gal.)	8 mg%	Paigen 法 吉村変法
機下能症低	先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症)	甲状腺刺激ホルモン(TSH)	15 μ U/ml Blood	RIA 法

1. マス・スクリーニング実施状況について

マス・スクリーニング実施期間中に、当所に検体を送付してきた医療機関は163施設であった。マス・スクリーニング開始年には132施設であり、若干の増加が認められた。

マス・スクリーニング実施期間に、114,609件の検査を行った。この件数は、検査対象出生児の94.3%に相当した。

年度別の検査実施状況を表2に示した。被検率は年

々上昇の傾向が認められ、1980年度は100.2%で最も高率であった。検査件数は、1978年度の25,901件が最も多かった。

本県の被検率は、1977年から1980年の間、いつれの年も全国実施率より高い被検率を示した。

2. 再検査について

マス・スクリーニング検査を行い、疑陽性と判定し、再検査のための再採血を依頼した件数と再検査した件数を表3に示した。

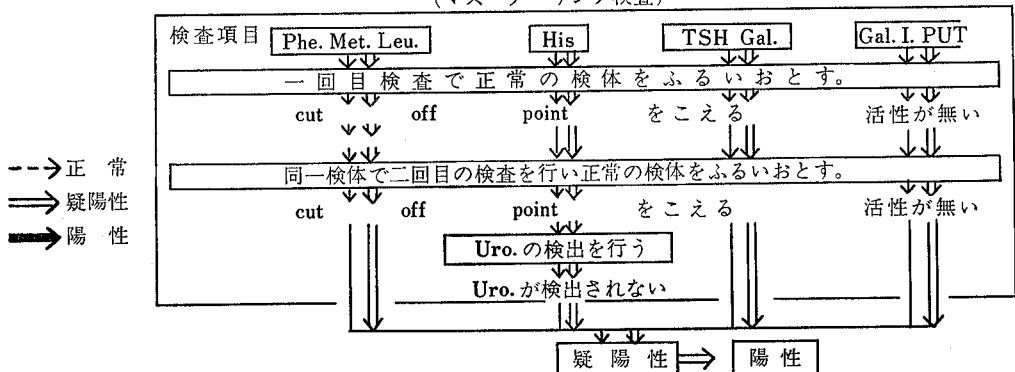
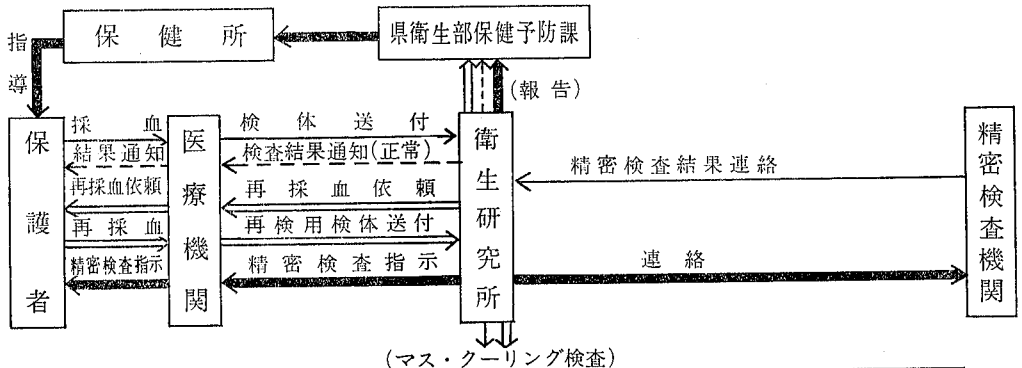


図1 マス・スクリーニング検査のフローチャート

再採血の依頼件数は年々増加し、検査項目別の再採血依頼合計数は、平均92件であった。再採血依頼件数の最も多かった項目は、Gal. であり、198件で、再採

血依頼合計件数の26%を占めた。次で多いのは Met. の121件 (16%)、TSH の120件 (16%) であった。

年度別の再検査率は、1978年度以降は0.25%、0.46%、0.74%そして1.28%と上昇した。検査項目別の再検査率の最も高いものは、TSH の0.24%、次で高いのは Gal. の0.16%であった。

再採血依頼をして回収された検体は701件であり、95%の回収率であった。

3. 陽性者発見状況と再検査成績

総検査件数114,609件のうち35人の陽性者が発見され、1/3,300人の発見率であった。陽性者の内訳は、フェニールケトン尿症疑い3人、ホモシスチン尿症疑い3人、ヒスチジン血症疑い18人、ガラクトース血症6人、そしてクレチン症疑い5人であった。陽性者のスクリーニング成績を表4、5、6、7、8に示した。

精密検査の結果、35人の陽性者のうち8人が先天性異常症と診断された。

フェニールケトン尿症疑いの3人は、すべて phenylalanine hydroxyase 欠損による古典的フェニール

表2 マス・スクリーニング実施状況

年度	検査実施 児数 (人)	検査対象 出生数 (人)	被検査 率 (%)	全国 実施率 (%)
1977	12,189	14,068 [※]	86.7	64.7
1978	25,901	28,326	91.4	80.3
1979	25,397	26,491	95.9	90.9
1980	25,795	25,746	100.2	93.8 [※]
1981	25,327	26,884	94.2	
計	114,609	121,515	94.3	

※ 4月～9月

全国実施率は厚生省の調査成績による。

検査対象出生数は岐阜県企画部統計課発行の統計による。

表3 再検査検体依頼と再検査実施状況

検査項目	年度					計	再検査 実施数	陽性数	再検査 率 (%)
	1977	1978	1979	1980	1981				
Phe.	5	28	16	19	14	82	76	4	0.07
Met.	11	13	14	21	62	121	109	3	0.11
His.	16	20	20	14	23	93	87	18	0.08
Leu.	4	12	20	20	25	81	80	—	0.07
Gal. I. PUT	6	3	19	16	41	85	80	1	0.07
Gal.	—	1	26	53	110	189	183	5	0.16
TSH	—	—	—	53	70	123	122	5	0.24
その他	—	—	8	7	19	34	28	—	0.03
計	41	64	117	190	324	736	701	35	
回収検体数	39	60	106	181	315	701			
回収率(%)	95	94	91	95	97	95			
検査件数	12,189	25,901	25,397	25,795	25,327	114,609			
再検査率(%)	0.34	0.25	0.46	0.74	1.28	0.64			

ただし、Gal. の検査は1979年12月から、TSH の検査は1980年4月から実施した。

表4 フェニールケトン尿症疑いの検査成績

氏名 (性)	出生地	生年月日	初回検査		再検査		診断
			Phe. (mg%)	日令	Phe. (mg%)	日令	
M _(M) N	可児町	1979. 7. 26	20<	6	20<<	27	フェニールケトン尿症
H _(F) N	高山市	1979. 9. 7	20<	5	20<<	16	〃
Y _(M) Z	本巣町	1980. 6. 7	20<	6	20<<	11	〃

ルケトン尿症と診断された。

ホモシスチン尿症疑い3人中1人 methionine-adenocyltransferase 欠損によるメチオニン血症と診断された。残り2人は、肝炎と診断された。

ヒスチジン血症疑い18人中2人は、ヒスチジン血症と診断され、13人は一過性の高ヒスチジン血症と診断

された。残りの5人は精密検査機関で受診するよう指導した(精密検査結果待ち)。

ガラクト血症疑い6人中1人は、Gal. 1. PUT 欠損によるガラクトース血症I型と診断された。残りの5人は一過性のガラクトース血症と診断された。

クレチン症疑いの5人のうち1人はクレチン症と診

表5 ホモシスチン尿症疑いの検査成績

No.	氏名 (姓)	出生地	生年月日	初回検査	再検査	診断
1	Y. M (M)	多治見市	1977. 8. 31	Met. 8mg% 日令75	Met. 20mg% 日令79	肝炎と診断, 101日令採血で正常範囲 再検査検体依頼時点ですでに死亡, 肝臓に結核結節が有り肝炎
2	T. N (M)	〃	1977. 12. 21	Met. 8mg% Phe. 10mg% 日令35		
3	H. H (F)	白川町	1980. 12. 12	Met. 10mg% 日令5	Met. 20mg%以上11 日令	メチオニン血症

表6 ヒスチジン血症を疑った検査成績

No.	氏名 (姓)	出生地	生年月日	初回検査		再検査		診断
				His. Uro. (mg%)	日令	His. Uro. (mg%)	日令	
1	Y. K (M)	本巢町	1978. 3. 3	4-6	- 6	6-8	± 33	一過性
2	H. S (M)	八幡町	1978. 7. 13	6	- 6			一過性
3	K. N (F)	各務原市	1979. 1. 20	4-6	- 5	4-6	- 15	
4	K. W (F)	司児町	1979. 2. 27	4-6	- 6	4-6	- 32	一過性
5	T. K (F)	小坂町	1979. 4. 17	4-6	± 6	8	- 24	
6	S. T (F)	多治見市	1979. 4. 30	6-8	- 7	8	- 22	
7	K. U (M)	関市	1979. 6. 12	6	± 5	8-10	- 18	一過性
8	M. K (F)	岐阜市	1979. 7. 24	6	- 14	8	- 27	ヒスチジン血症
9	S. K (M)	多治見市	1979. 8. 18	4-6	- 5	8-10	- 21	
10	M. M (M)	各務原市	1980. 8. 3	6-8	- 4	6	- 18	一過性
11	M. M (F)	垂井町	1980. 9. 25	6-8	- 6	10<	- 26	一過性
12	G. Y (M)	高山市	1980. 9. 28	6	- 5	10<	- 26	
13	M. K (F)	岐阜市	1981. 2. 23	10<	- 8	10<	- 17	一過性
14	Y. H (F)	可児町	1981. 1. 6	6-8	- 6	10<	- 24	一過性
15	T. O (M)	岐阜市	1981. 4. 4	10<	- 5	10<	- 28	一過性
16	N. M (M)	県外	1981. 6. 6	4-6	- 5	8	- 14	一過性
17	Y. K (F)	中津川市	1981. 6. 17	6-8	- 6	10<	- 16	ヒスチジン血症
18	D. S (M)	大垣市	1981. 7. 19	4-6	- 5	10<	- 17	一過性

Uro. 列の-は無, ±は痕跡である。

表7 ガラクトース血症を疑った検査成績

No.	氏 名 性	住 所	生年月日	初 回 検 査			再 検 査			診 断
				Gal.L. PUT	Gal. (mg%)	日令	Gal.L. PUT	Gal. (mg%)	日令	
1	A. O F	岐阜市	1980. 9. 12	活性有	10—20	5	活性有	20<	20	一 過 性
2	S. Y M	岐阜市	1980. 10. 3	〃	20≤	5	〃	20<<	18	〃
3	G. T M	羽島市	1980. 12. 8	〃	8—10	5	〃	10	14	〃
4	T. S F	岐阜市	1981. 5. 9	活性弱	8	6	〃	20	21	〃
5	M. M F	土岐市	1981. 6. 18	活性有	8	6	〃	10	15	〃
6	T. K M	高山市	1981. 8. 8	活性無	20<<	6	活性無	20<<	12	ガラクトース血症 I 型

No. 2 は、臨床症状に白内障が認められた。

No. 6 は、肝炎を併発しており、初回検査時 (Phe. 4mg%, Met. 1mg%, His. 6mg%), 再検査時 (Phe. 12mg%, Met. 4-8mg%, His. 8-10mg%) に他のアミノ酸の上昇が認められた。

表8 クレチン症を疑った検査成績

No.	氏 名 性	住 所	生年月日	初回検査		再 検 査		再々検査		診 断
				TSH (μU/ml Blood)	日令	TSH (μU/ml Blood)	日令	TSH (μU/ml Blood)	日令	
1	T. O M	岐 阜 市	1981. 3. 12	26.8	6	50.4	18			一過性
2	M. A F	巢 南 町	1981. 6. 25	18.4	5	18.1	18	26.9	30	一過性
3	K. I F	多 治 見 市	1981. 8. 11	22.3	6	40.0	43			クレチン症
4	E. A F	岐 阜 市	1981. 9. 2	>100	6					
5	N. H M	岐 阜 市	1981. 12. 29	> 60	6					

ただし TSH の測定は岐大クレチン研究班による。

表9 陽性者および先天性異常症者の年度別・疾病別発見状況

1. 先天性代謝異常症

	1977	1978	1979	1980	1981	計	確定診断された計	全 国
フェニルケトン尿症			2 (2)	1 (1)		3 1/38,200	(3) 1/38,200	67 1/61,392
フェニルアラニン血症						0		3 1/1,118,796
ホモシスチン尿症						0		26 1/158,203
メチオニン血症				1 (1)		1 1/114,600	(1)1/114,600	17 1/241,958
ヒスチジン血症	1	3	5 (1)	5	4 (1)	18 1/6,400	(2) 1/57,300	506 1/8,129
メイプルシロップ尿症						0		
ガラクトース血症				4	2 (1)	6 1/19,000	(1)1/114,600	33 1/124,645
そ の 他						0		11 1/373,936
計	11 1/12,200	3 1/8,600	7 1/3,600	11 1/2,300	6 1/4200	28 1/4,100	(7) 1/16,400	672 1/6,121
確定診断された計	0	0	(3) 1/8,500	(2) 1/12,900	(2) 1/12,700	(7) 1/16,400		
全 国	53 1/9,600	213 1/6,400	281 1/5,300	125 1/6,100		672 1/6,121		

2. クレチン症

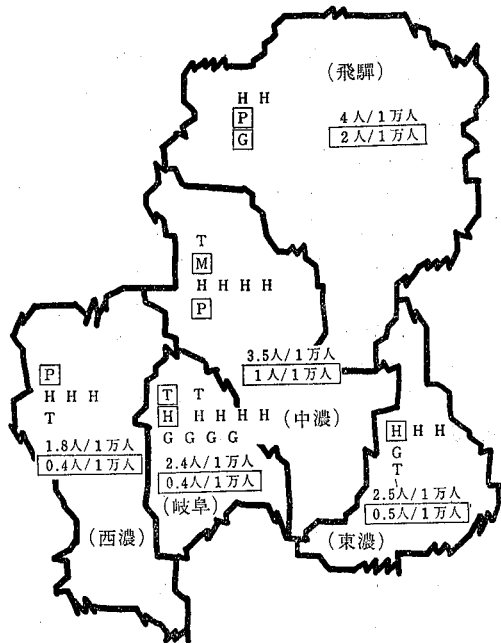
				1 1/25,800	4 1/6,300	5 1/10,200	(1) 1/5,100	140 1/6,483
確定診断された者				0	(1) 1/25,300	(1) 1/51,100		
全 国			41 1/8,200	99 1/5,800		140 1/6,483		

※ F-test を用い5%の危険率で全国の発見率と差が認められた。

() 陽性者の中から確定診断された人数

断され、2人は一過性の高TSH血症と診断された。残りは、精密検査機関で受診するよう指導した(精密検査結果待ち)。

陽性者および先天性異常症者の年度別、疾病別発見状況を表9に、岐阜県における地区別発見状況を図2



P フェニールケトン尿症陽性
M ホモシスチン尿症陽性
H ヒスチジン血症陽性
G ガラクトース血症陽性
T クレチン症陽性
□ は確定診断されたもの。
▣ はメチオニン血症

地区別出生人口比	飛驒	中濃	東濃	西濃	岐阜
出生人口比	1	2	2	2.8	4.6

図2 岐阜県における先天性異常症陽性者の地区別発生頻度

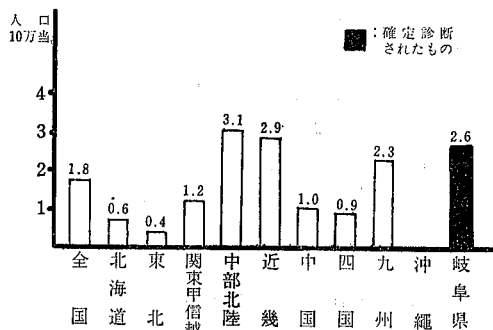


図3 わが国のフェニールケトン尿症の地域別発生頻度 (Guthrie 法)

昭和55年3月末厚生省調査成績より引用。なお、岐阜県の成績は後から加えたものである。

に示した。なお、肝炎の2人は除外した。

年度別の陽性者発見率に差が見られ、1980年度の先天性代謝異常症陽性者は1/2,300人と計の1/4,100人に比し高率であった。先天性異常症の発見率にも年度による差が見られた。

岐阜県における地区別の陽性者および先天性異常症の発見状況は図2に示したように、陽性者および先天性異常症者の発見率が飛驒地区で高い傾向が見られた。

本邦において発見数の多かったフェニールケトン尿症とヒスチジン血症の地域別の発生頻度を図3と図4に示した。

フェニールケトン尿症の地域別の発生頻度は、中部北陸、近畿、九州地域が、全国の発生頻度とくらべ、高いところに位置していた。岐阜県も中部北陸地域に含まれており、同様に高いところに位置した。

ヒスチジン血症の地域別の発生頻度は、中国、四国、九州地域が、全国の発生頻度とくらべ、高いところに位置していた。中部北陸地域は低いところに位置していたが、岐阜県の陽性者の発生頻度はやや高めのところ、岐阜県の陽性者の発生頻度はやや高めのところ、岐阜県の陽性者の発生頻度は非常に低いところに位置した。

本県における、疾病ごとの陽性者の発見率はヒスチジン血症疑いが最も高く1/6,400人であった。これは、全国の発見率の1/8,129人と差はなかった。な

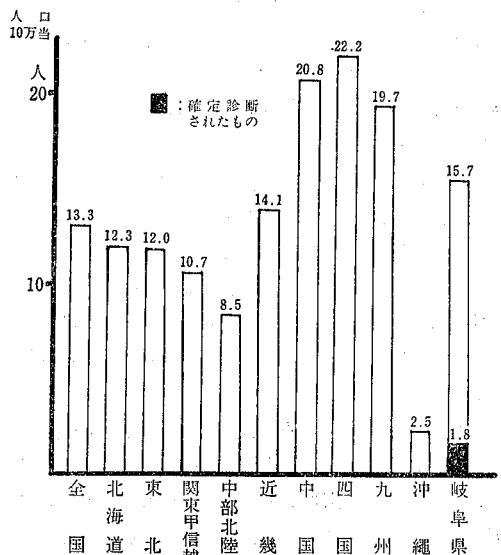


図4 わが国のヒスチジン血症の地域別発生頻度 (Guthrie 法)

昭和55年3月末厚生省調査成績より引用。なお、岐阜県の成績は後から加えたものである。

お、ヒスチジン血症の発見率は1/57,300人と全国の発見率より低かった。次いで発見率の高いのはクレチン症疑いの1/10,200人であった。これは全国の発見率より低く、また、クレチン症の発見率はさらに低くかった。ガラクトース血症疑いは1/19,100人と全国の発見率より高かったが、ガラクトース血症は全国のものとの差がみられなかった。残りの2疾病は、全国と同様の発見率を示した。

考 察

1. 検査実施状況について

本県において、4年半の間、マス・スクリーニング検査を行い、検査対象出生児の94%の件数を検査した。

被検率は、年々増加し、1979年度には100%を上回った。これは、里帰り出産等により県外の人々が岐阜県で検査を受けたこと等が考えられる。

2. 陽性者および先天性異常症者の発見状況

本県において、マス・スクリーニング検査で発見された先天性代謝異常症陽性者の発見率は、全国の発見率より高く、先天性代謝異常症者で比較すると、全国の発見率より低く、クレチン症は、陽性者もクレチン症者の発見率も全国の発見率より低かった。

発見率に、年度により差が見られ、1980年度の発見率が高かった。これは、1979年12月から併用したPaigen法によるGal.の陽性者が増加したこと、発生頻度の非常に低い疾病が発見されたことによると思われる。ちなみに、発生頻度の比較的高いヒスチジン血症陽性者の発見数を年度ごとに見ると、半年間の検査を行った1977年度の1人を除いて、3~5人と変動が少ない。

本邦における、先天性異常者の発見数はまだ少ないが、地域により発生頻度に差の見られる傾向があった。特に発見数の多かったフェニルケトン尿症とヒスチジン血症の地域別発生頻度は、フェニルケトン尿症は中部、北陸、近畿、九州地域に高い傾向が、ヒスチジン血症は中国、四国、九州地域に高い傾向が見られた。

本県内においても、陽性者および先天性異常症者の発見率が、現時点では、飛騨地区で高い傾向が見られた。しかし、検査母数が少なく、また、各々の疾病の発見数が少ないことから疾病ごとの検討が出来ず、地区間の比較は、今後のデータの集積を待たなければならない。

本県において発見された、ガラクトース血症陽性者とヒスチジン血症は、全国の発見率と差がみられた。

ガラクトース血症陽性者の場合、6人中5人はPaigen法で発見されている。Paigen法とBeutler法を併用している所はまだ少なく、全国集計の陽性者の中にPaigen法により発見された陽性者数の把握が出来ない。また、Paigen法では、Gal.以外にGal.⁹⁾、l. P, Lactose, U. D. P. Gulcoseをも測定するため、false positiveが生ずる。このfalse positiveを少なくするため、epimeraseの測定やGal. l. Pの測定¹⁰⁾等の補助検査があるが、本県では行っていない。ガラクトース血症陽性者が全国の発見率より高い原因の1つとして、現行の検査法が関係しているかもしれない。

本県においてヒスチジン血症のスクリーニングで発見された多くの陽性者は、一過性の高ヒスチジン血症と診断されたが、これらは、スクリーニング検査ではヒスチジン血症との鑑別ができず、確定診断にも長期間を要した。全国集計の中にも一過性の高ヒスチジン血症の含まれている可能性もあるため、ヒスチジン血症の発見率を比較するには、一過性の高ヒスチジン血症の発見割合も考慮されなければならないかもしれない。

謝 辞

マス・スクリーニング検査に御協力して下さった方々、また御教授下さいました岐大小児科教室の諸先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 大浦敏明：精神薄弱を伴う代謝異常，医学のあゆみ，73，551-561，1970
- 2) Robet Guthrie, and Ada Susi : A simple phenylalaninemethod for detecting phenylketonuria in lage populations of newborn infants. Pediatrics, 32, 338-343, 1963
- 3) 岐阜県先天性代謝異常症検査採血要領，岐阜県衛生部
- 4) 日本公衆衛生協会：先天性代謝異常者マス・スクリーニングの理論と実際，1977
- 5) 北川照男：新しい新生児マス・スクリーニング法，産婦人科の世界，26，11，31-35，1974
- 6) 成瀬浩：マス・スクリーニングセンターの経験，産婦人科の世界，26，11，79-86，1974
- 7) Ernest Beutler and Maryellen C. Baluda : A simple spot screening test for galgctose mia, J. Lab. & Clin. Mod. 68 1 137-141, 1966
- 8) 藤村有信，米沢彰二，佐藤月子，川村正彦，成瀬浩：ガラクトース血症について。一トランスフェレ

ース欠損症とガラクトカイネース欠損症の同時診断法一、小児科学会雑誌, 82, 962, 1978

- 9) 米澤彰二, 佐藤月子, 藤村有信: ペイゲン法によるガラクトース血症のスクリーニング, 名古屋市衛生研究所報, 21, 26-29 1974
- 10) 吉田篤子, 大矢栄子, 田所雄次, 石井澄和, 嶋恭子: ペイゲン・ファージ法の改良, 第7回代謝異常

スクリーニング研究会, 予稿集, p25, 1979 (久留米)

- 11) 川村正彦, 伊藤淑子, 中田文輝, 大柳和彦, 市原侃, 市場洋三: Epimerase 欠損症 (ガラクトース症Ⅲ型) の Mass-screening 法とその発見例, 第7回代謝異常スクリーニング研究会, 予稿集, p23 1979 (久留米)

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.岐阜県における水道水中のトリハロメタン
濃度について (第2報)

梶川正勝*, 寺尾宏*, 森下有輝*, 山田不二造*

Trihalomethane Concentration in Drinking Water in
Gifu Prefecture (II)Masakatsu KAJIKAWA*, Hiroshi TERAO*, Yūki MORISHITA*,
Fujizō YAMADA*

水道水中のトリハロメタン (THM) は「水道における THM 対策について」の通知 (昭和56年3月25日付厚生省環境衛生局) により制御目標値が総 THM の年間平均値として $0.10\text{mg}/\ell$ 以下と定められ, 測定法もヘッドスペース・ガスクロマトグラフ法によることになった。また測定回数は年4回以上を原則とすることになっている。我々はすでに昭和55年から県下水道施設における THM の調査を実施してきているが, 引き続き県内水道のうち THM 濃度の高い施設および給水人口10万以上の施設を対象とし, 年4回の THM 測定を行い, 経年変化等の把握を試みたので報告する。

材料および方法

調査の対象は前年度の調査¹⁾で総 THM 濃度 $0.081\text{mg}/\ell$ を検出し, 最も高濃度であったO飲料水供給施設 (O飲供), 次いで $0.010\text{mg}/\ell$ と高かったM簡易水道 (M簡水) の他に, 新たに上水道の中で原水の色度が最近5ヶ年平均で最も高い²⁾S上水道 (S上水) および給水人口10万以上のG, O, K市上水を加えた計6施設とした。調査時期は年間を通して気温の最高, 最低, 平均が得られる昭和56年5月, 8月, 11月, 57年2月とし, 採水地点は各施設ごとに総 THM 濃度が最も高くなると考えられる配水管の末端に近い4ヶ所とした。なお原水についても合わせて測定した。THM

表1 原水の水質

施設名	水源および浄水方式	色 度				濁 度				過マンガン酸カリウム消費量 mg/ℓ			
		56年 5月	56年 8月	57年 11月	57年 2月	56年 5月	56年 8月	57年 11月	57年 2月	56年 5月	56年 8月	57年 11月	57年 2月
O飲料水供給施設	表流水 緩速ろ過→活性炭→消毒 (谷川)	14	50	12	14	1	3	0	2	8.3	19.0	6.9	8.3
M簡易水道	表流水 緩速ろ過→活性炭→消毒 (谷川)	7	10	6	3	0	0	0	0	4.0	5.0	3.3	1.2
S上水道	表流水 凝集沈でん→急速ろ過 (一部地下水)→消毒	10	50	16	4	8	30	20	1	3.0	4.9	2.1	1.5
G上水道	伏流水 消毒のみ	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2	0.1	<0.1	<0.1
O上水道	地下水 消毒のみ	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1	<0.1	<0.1	<0.1
K上水道	地下水 ばっ気, 消毒	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2	0.3	<0.1	0.2

*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

測定用試料の採水および測定方法は厚生省の示す方法³⁾に従った。各水道施設の水源、浄水方式を表1に示した。THMの生成と関連のある色度、過マンガン酸カリウム消費量(KMnO₄消費量)等の測定は厚生省令第56号別表の方法に従った。THMのヘッドスペース法およびガスクロマトグラフの条件は次のとおりである。

バイアルびん容量：122ml
 試料採取量：100ml
 ガスクロマトグラフ注入量：100μl

(使用機種：島津 GC 4BM-PEE)
 カラム：シリコンDC-550 20%クロモソルブ W (AW-DMCS)80~100メッシュ、径3% × 3m、ガラスカラム
 検出器：ECD (⁶³Ni)
 カラム温度：100°C
 検出器温度：200°C
 キャリアーガス：窒素
 流量：60ml/min.

成 績

表1に各施設の原水の色度、濁度、KMnO₄消費量を示した。O飲供の色度は4回とも10度以上を示し、

特に8月の50度は最も高く、KMnO₄消費量も8.3~19.0mg/lとなっており、色度同様8月に19.0mg/lと供試試料中で最高値を示した。M簡水の色度は3~10度、KMnO₄消費量1.2~5.0mg/lであり、O飲供と同様8月に高く2月が低かった。S上水は色度4~50度、KMnO₄消費量1.5~4.9mg/lであり、いずれも8月に高く2月が低かった。また濁度も5月8度、8月30度、11月20度と高かった。G、O、K上水の色度は0度でKMnO₄消費量も0.3mg/l以下であり、採水時期ごとの変化は認められなかった。

原水の色度、KMnO₄消費量の高かったO、M、S施設の給水栓水中の総THM濃度およびTHM生成と関係する水温、pH値、残留塩素量を表2に示した。O飲供の総THM濃度は、採水地点の間には大きな差はなく、4採水地点の各月平均値で8月の最高0.163mg/lから2月の最低0.048mg/lの範囲にあり、年間平均値は0.085mg/lであった。水温は8月の22.9°Cを最高とし、2月の5.9°Cが最低である。残留塩素量は他の月と比較して8月に0.08ppmと低かった。M簡水の総THM濃度は4採水地点の各月平均値で5月の最高0.021mg/lから2月の最低0.004mg/lの範囲にあり、年間平均値は0.013mg/lであった。しかし、採水地点A、Cが4回とも他の2地点に比べ約5~10倍高かった。この2ヶ所の配管は石綿管

表2 給水栓水中の総トリハロメタン濃度(原水の色度、KMnO₄消費量の高い水道)

採水地点	総トリハロメタン濃度 mg/l					水 温 °C				pH 値				残 留 塩 素 ppm				
	56年5月	8月	11月	57年2月	年間平均値	56年5月	8月	11月	57年2月	56年5月	8月	11月	57年2月	56年5月	8月	11月	57年2月	
O飲供施設	A	0.067	0.165	0.055	0.034	0.080	14.0	22.0	9.0	3.2	7.9	7.3	7.2	7.3	0.3	0	0.4	0.15
	B	0.069	0.153	0.056	0.058	0.084	17.0	27.5	14.0	7.5	7.4	7.3	7.2	7.4	0.35	0	0.25	0.6
	C	0.061	0.174	0.091	0.044	0.093	17.0	20.2	8.7	7.8	7.1	7.4	7.1	7.4	0.3	0.3	0.3	<0.1
	D	0.071	0.161	0.050	0.055	0.084	14.0	21.8	11.4	5.0	7.2	7.3	7.5	7.3	0	0	0	0
	平均	0.067	0.163	0.063	0.048	0.085	15.5	22.9	10.8	5.9	7.4	7.3	7.3	7.4	0.24	0.08	0.24	0.19
M簡易水道	A	0.040	0.026	0.017	0.008	0.023	17.3	25.6	12.2	3.8	9.0	9.1	9.0	7.5	0.2	0	<0.1	0.4
	B	0.005	0.008	0.003	0.001	0.004	16.0	25.0	11.3	2.5	6.7	6.8	7.0	7.1	0.3	0.2	0.6	0.6
	C	0.036	0.022	0.015	0.005	0.020	15.8	25.0	12.5	2.2	7.6	8.9	8.4	7.3	0.1	0	<0.1	0.5
	D	0.003	0.004	0.003	0.001	0.003	15.0	20.5	10.5	2.5	6.5	6.7	6.9	7.0	0.4	0.3	0.7	0.6
	平均	0.021	0.015	0.010	0.004	0.013	16.0	24.0	11.6	2.8	7.5	7.9	7.8	7.2	0.25	0.13	0.33	0.53
S上水道	A	0.003	0.003	0.004	0.003	0.003	17.8	25.2	12.8	6.2	7.1	7.0	7.3	7.2	0.45	0.15	0.4	0.4
	B	0.005	0.005	0.004	0.003	0.004	17.8	25.2	11.1	4.2	7.2	7.1	7.4	7.2	0.25	<0.1	0.3	0.3
	C	0.007	0.008	0.006	0.004	0.006	19.0	25.0	10.2	2.8	7.3	7.1	7.4	7.3	<0.1	0.25	0.4	0.4
	D	0.004	0.018	0.011	0.005	0.010	18.0	24.7	14.3	7.0	7.2	7.0	7.4	7.2	0.3	<0.1	0.25	0.4
	平均	0.005	0.009	0.006	0.004	0.006	18.2	25.0	12.1	5.1	7.2	7.1	7.4	7.2	0.25	0.10	0.34	0.38

表3 給水栓水中の総トリハロメタン濃度（給水人口10万人以上の水道）

	総トリハロメタン濃度 mg/l				年間平均値 mg/l
	56年 5月	〃 8月	〃 11月	57年 2月	
G 上水道	0.000~0.002	0.000~0.002	0.001	0.001~0.003	0.001
O 上水道	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
K 上水道	0.001~0.002	0.001~0.004	0.002	0.001	0.002

が使用されており、pH 値は他の2地点に比べ4回とも高く、最高値9を示した。水温はO飲供同様8月に高く、2月に低く、それにもなって残留塩素量も8月が低かった。S上水の総 THM 濃度は8月の0.009 mg/lから2月の0.004mg/lであり、8月に高く2月に低い傾向を示した。水温と残留塩素の関係はO、Mと同様に、水温の高くなる8月に残留塩素が低下する傾向を示した。

表3に給水人口10万以上のG、O、K上水の給水栓水中の総 THM 濃度を示した。G、K上水の総 THM 濃度は0.000~0.004mg/lの範囲にあり、年間平均値も夫々0.001mg/l、0.002mg/lであった。O上水は4回の測定とも検出限界以下であった。

考 察

O飲供の総 THM 濃度は4回の年平均値で、0.085 mg/lと制御目標値0.10mg/lまでには達しなかったが、前報¹⁾の0.081mg/lと同様に高かった。特に8月には0.163mg/lと最高濃度を示した。これは原水の色度50度、KMnO₄消費量19.0mg/lが示すように原水の有機物濃度が高くなったためと考えられる。

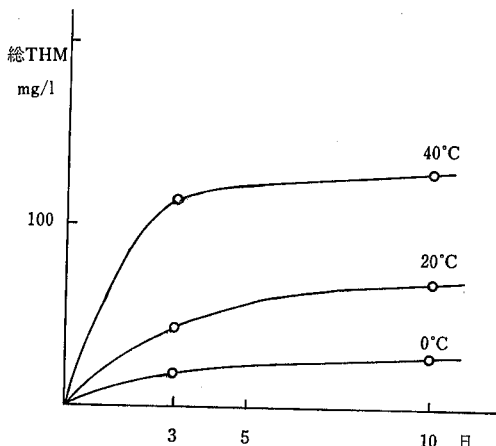


図1 THM 生成能と水温及び時間の関係
(残留塩素：16~12ppm)

また年4回の時期ごとと比較すると総 THM 濃度は水温が高く、塩素消費量も多い8月に最高を示し、水温が低い2月に最低を示した。

O飲供の原水を用いて検討した総 THM 生成能と水温の関係(図1)は温度が高くなるに従って THM 生成能の増加を示している。M簡水の総 THM 濃度は4回の年平均値でも0.013mg/lと前報¹⁾の結果と同様の値であった。採水時期で比較すると総 THM 濃度は水温が高く、残留塩素量の低い5月、8月が2月より高い傾向を示している。採水地点A、Cの総 THM 濃度が他の2地点に比べて高かったのは、石綿管による pH の上昇が原因と考えられる。S上水の総 THM 濃度は年間平均値で0.006mg/lであり、その原水の色度が高いにもかかわらず、総 THM 濃度が低かった。濁度の影響で見かけ上色度が高く表わされていることと、THM 生成前駆物質が凝集沈でん処理により除去されたためと考えられる。採水時期で比較すると総 THM 濃度はO飲供と同様に水温が高く、残留塩素量が低い8月に高く、水温が低い2月に低い傾向を示した。

水道水中の総 THM 濃度は一般的には、色度 KMnO₄消費量¹⁾で表わされる原水中有機物質量によって決定されるが、生成能を高める水温、pH 値、塩素量、接触時間等とも複雑に関係する。今回行った年4回の調査から、水温の高低にもとづいて、THM 濃度は季節的変動を生じることが明らかとなった。またそれともない THM 濃度が高い場合、残留塩素は消費されたためか他に比べ減少を示している。

地下水を水源とするG、O、K上水¹⁾の総 THM 濃度は0~数 μg/lであり、S上水の例を含めて考えると、岐阜県下の中濃~西濃地方の地下水を水源とする水道水中の THM 濃度は少ないと判断される。

今回厚生省の通知に従って、一施設当たり4採水地点と年4回の調査を行った。THM 関連項目でみると、岐阜県の水道ではO飲供を例外として色度10度、KMnO₄消費量5 mg/l²⁾が高いレベルの原水の水質であり、その濃度に該当するM簡水の総 THM の年間

平均値が $0.013\text{mg}/\ell$ であることから、県下水道施設の総 THM 濃度は制御目標値の $0.10\text{mg}/\ell$ を十分に下廻ると予想される。そこで THM の定期検査は最も THM 濃度の高い夏期に年1回実施すれば各施設の THM 濃度の実状は十分に把握できると思われる。但し〇飲供については年間平均値で総 THM $0.085\text{mg}/\ell$ と制御目標値に近いので、今後引き続き年4回の THM 測定等による監視が望まれる。

謝 辞

御校閱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。本調査は昭和56年度

調査研究費の一部によった。

文 献

- 1) 梶川正勝, 森下有輝, 寺尾宏, 山田不二造: 岐阜県における水道水中のトリハロメタン (THM) 濃度について, 岐衛研所報, 26, 77~80, 1981
- 2) 岐阜県衛生部薬務水道課: 昭和50年~54年度全項目調査結果一覧表, 1976~1980
- 3) 厚生省: 「水道におけるトリハロメタン対策に係る留意事項について」, 1981
- 4) 厚生省: 水質基準に関する省令, 1978

岐衛研究所

Rep. Gifu
Inst. P. H.市販アスピリン中のサリチル酸,
無水アスピリンの測定

坂井至通, 今井準三, 日比 誠

Determination of Salicylic Acid and Acetylsalicylic Anhydride in
Commercial Aspirin

Yoshimichi SAKAI, Junzo IMAI, Makoto HIBI

はじめに

昭和54年の薬事法改正¹⁾により、薬局における医薬品の管理強化、品質保証に必要な試験検査の実施が義務づけられた。

しかし、薬局において試験検査が円滑に行われるようになるまでには、相当の行政指導が必要と考えられる。

そこで岐阜県では、薬局における常用医薬品の管理状態を把握し、試験検査の気運を盛り上げるため、昭和56年より薬局で常用する医薬品の収去検査を実施することになった。対象医薬品は開封後の保存の状況によっては変質するおそれのあるものとし、56年度はアスピリン(ASA)が選定された。

ASAは、わずかの湿気でも加水分解をうけ、サリチル酸(SA)と酢酸²⁾を生じる。

また、ASA中には不純物として微量の無水アスピリン(ASN)が混在するものがあり、これは高度の免疫原性物質であることが報告されている。

われわれは、医薬品の安全性とりわけ薬局に対する薬事指導の観点から、これら混在物の実態を把握することは意義のあることと考え、測定したので報告する。

材料および方法

1 試料

56年6~7月に薬局店頭より収去した開封された局方ASA 38検体、約10gずつを共栓遮光試験ビンに収去し、衛生研究所に搬入されたものをそのままシリカゲルデシケータ中に保存し測定した。収去から搬入までの所要日数は多くは1日であったが1ヶ月を要し

たものもあった。

測定期日：局方(JPX)法—56年9月、ガスクロマトグラフィー(GC)法—57年1月、ASN—57年2月。

2 試薬

ASA標準品：局方ASAをベンゼンより再結晶を2回繰り返ししたもの(mp. 135°, JPX法で100.0%, GCでSA 0.08%)。

SA標準品：試薬特級SAをベンゼンより再結晶を2回繰り返ししたもの(mp. 157~159°, GCで1ピーク)。

ASN標準品：H. Bundgaard⁴⁾らの方法によって合成した。(mp. 83.5~85°, 薄層クロマトグラフィーで1スポット、測定法に従って実施したとき、 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ = 725)。

内部標準液(I.S.)：p-ヒドロキシ安息香酸n-ブロピルエステル0.8gにクロロホルムを加えて溶かし100mlとする。

α -Benzamidocinnamic acidのナトリウム塩：H. Bundgaard⁴⁾らの方法によって合成した。

その他の試薬はすべて試薬特級を使用した。

3 測定方法

1. ASA

- a) JPX⁵⁾の滴定法
- b) GC法⁶⁾

ASA 0.2gを量り、20mlメスフラスコに入れ、I.S.を加えて溶かし定容とする。その1mlを共栓試験管に入れ、O-bis(trimethylsilyl)acetamide 0.5mlを加え、60°, 15分間加熱し、試料溶液とする。

試料溶液2 μ lにつき、次の条件でガスクロマトグラフィーを行い、内部標準物質に対するASAのピ

* 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

ーク面積比を求め、同様に操作して得た検量線からASA含量を求める。

G C条件

装置：島津 GC4CM-島津クロマトパックC-E1B

カラム：3% OV-17 (クロモソルブ W. AW-

DMCS) 100~200メッシュ、3mm×1500mm (ガラス)

注入口温度：200°，カラム温度：150°

検出器温度：200°，キャリアーガス：N₂，60ml/分

2. S A

G C法⁶⁾

ASA と同時に測定.

3. ASN

齊藤らの比色法で測定.

結果および考察

用いた測定法 (J P法を除く) の添加回収率を表-1に示した.

表-1 添加回収率

	ASA (G C)	SA (G C)	ASN
	99.1	98.5	95.0
	99.2	98.9	89.1
	99.8	102.9	
	100.2	98.0	
	100.7	98.4	
\bar{X}	99.80	99.34	92.0
S D	0.15	0.45	
C V%	0.15	0.45	

ASA, SA : 標準 ASA に SA を 1.3% 量添加
ASN : 試料 No. 25 に 0.002% 量添加

表-2 測定結果

No.	購入年月日	購入時包装	ASA%		S A	ASN	No.	購入年月日	購入時包装	ASA%		S A	ASN
			J P	G C						J P	G C		
1	54.12	500g	100.1	100.0	ND	0.002	20	15年以前	25g	100.0	100.0	0.2	ND
2	56.5.22	500g	100.2	100.7	ND	ND	21	15~20年以前	500g	99.3	97.0	2.8	0.001
3	55.8頃	500g箱入	100.1	99.7	ND	ND	22	20年以前	500g	99.7	99.8	0.4	ND
4*	54頃	500g箱入	100.3	99.5	ND	0.001	23*	20~25年以前	不明	99.7	98.5	1.8	0.002
5	56.1	500g箱入	99.9	99.9	ND	ND	24*	不明(20年以前)	不明	99.6	99.4	0.8	ND
6	54.12.19	500g箱入	100.2	99.7	ND	0.001	25	不明(20数年前)	500g箱入	99.9	99.6	0.6	0.002
7	55.3.17	500g密閉	100.3	99.9	ND	ND	26	不明	500g箱入	100.0	99.2	0.3	ND
8	54.12.7	500g紙箱入	100.2	100.1	0.2	ND	27	不明	500g密閉	99.9	100.5	0.3	ND
9	55.10	500g紙箱入	100.4	100.7	ND	ND	28	不明	500g密閉	100.2	99.6	0.5	ND
10	56.3.12	500g紙箱入	100.3	100.0	ND	0.001	29	不明	500g密閉	100.5	99.8	ND	ND
11	56.3.2	500g紙箱入	100.2	99.7	ND	ND	30	不明	500g密閉	100.4	100.3	ND	ND
12	55.5	500g	100.2	100.5	ND	ND	31*	不明	不明	100.4	99.9	0.2	0.001
13*	約3年前	500g	99.7	99.6	0.6	0.001	32	不明	500g紙箱入	100.1	100.1	ND	0.003
14	53.	500g	99.6	100.8	ND	ND	33	不明	500g箱入	99.9	100.2	ND	ND
15*	50(?)	25g ガラスビン	99.5	95.3	1.7	0.006	34	不明	不明	100.1	100.6	ND	0.001
16	5年以前	500g	100.1	100.6	0.3	0.001	35*	不明	不明	99.6	99.5	1.4	ND
17	40.	紙箱入	100.2	99.9	0.3	0.001	36*	不明	不明	99.5	99.0	1.7	0.001
18	不明 (10年程前)	500g箱入	100.2	99.3	0.3	ND	37	不明	不明	100.2	99.5	0.1	ND
19	10年以上前	500g	99.8	98.8	1.2	0.001	38	40年代	25g	96.4	—	—	ND

ND : Not Detectable (SA : <0.1%, ASN : <0.001%), 乾燥減量 : いずれも <0.05%

* : メーカー不明, 他はすべて国内メーカー, — : 測定せず

添加回収率, 再現性とも良好で, ほぼ満足できるものであった.

ASA の測定結果を表-2に示した.

まず, 購入年月日が正確に記録されているものは6件に過ぎなかった. 不明のものが12件, また詳細は不明であるが10年以上経っているものが9件であった.

ASA 含量は, JPX の基準 99.5% に満たないものは, JP法では2件 (99.3, 96.4%) のみであったが, GC法では8件であった. うち96.4%のものは試料量が少ないため測定しなかった.

また, SAはJPXの基準0.1%を超えるものが19件 (50%) にも達していた.

JP法とGC法によるASA含量の差異は, GC法はASAとSAを分別定量しているが, JP法は, ASAとSAを共にASAとして測定していることによるものと思われる.

購入年月との関連でみると, ASA, SAとも購入後年を経た試料ほど基準を超える率が高い傾向がはっきりしていた (表-3). すなわち, 購入後4年未満の試料では, ASAにはJP法, GC法とも基準を超えるものは認められず, SAでは14件中2件あるもののその値は比較的小さかった.

しかし, 5年以上経た試料では, GCによるASAは11件中6件 (55%) が, またSAはすべてが基準を超えていた. 10年以上経た試料の中には, SAが2.8%に達するものがある半面, 0.2, 0.4%と比較的少ないものもみられたことから, 年数だけでなく, 保存の条件が大きく影響するものと考えられる.

ASAは, 改正薬事法の規定に基づき製造後3年以上の使用期限表示を義務づけられた医薬品の一つであるが, 今回の調査からも実態としてその妥当性が追認される結果となった. したがって今後は, 適切な保存条件ならびに使用期限遵守のより一層の行政指導が必

表-3 購入後経年数と基準超過率*

項目 経年数	ASA		S A	ASN
	JP	GC		
~4	0/14	0/14	2/14 (0.2~0.6)	5/14 (0.001~0.002)
5~	0/2	1/2	2/2 (0.3~1.7)	2/2 (0.001~0.006)
10~	2/10	5/9	9/9 (0.2~2.8)	5/10 (0.001~0.002)
不明	0/12	2/12	6/12 (0.2~1.7)	4/12 (0.001~0.003)

* 基準超件数, 基準 (ASA: 99.5%, SA: 0.1%
検査件数 ASN: 0.001%)

要と考えられる.

ASNは38件中16件に微量ではあるが検出された. 購入年月との関連性は認められなかった.

齊藤らは, 20例のASAおよびASA製剤を分析し, 7例に0.001~0.013%のASNを検出している. そのうち, 国産の製品からは2例のみ (0.001, 0.005%) 検出している. 今回のわれわれの値は, 齊藤らの示した結果より検出頻度が高い.

国外の報告では, 10例中5例 (0.002~0.081%), 6例中6例 (0.002~0.020%) と検出頻度, 含量共高い傾向がうかがえる. この差異が何に原因するのか, 興味のあるところである.

さらに, ASNが免疫原性物質だとしても, その作用閾値は未だ確定されておらず, 今回得られた測定値の評価は今後の検討にまたねばならない.

ま と め

薬局店頭でのASA中のASA, SAおよびASNを測定した.

ASA含量がJPX基準99.5%に満たないものは, JPX法で測定した場合は38件中2件のみであったが, GC法では8件であった.

また, SA含量がJPX基準0.1%を超えるものは37件中19件にも達した.

薬局における保存にあたっては, 条件, 期限の遵守と薬品管理の記録の励行等の行政指導が必要と思われる.

ASNは微量ではあるが, 38件中16件に検出された. この物質の作用閾値等その意味は未だ確立されていないが, 普段の監視が必要と思われる.

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.

文 献

- 1) 薬事法: 法律第145号, 1960年8月10日, 法律第56号, 1979年10月1日 (一部改正)
- 2) Kelly, C. A.: Determination of the Decomposition of Aspirin. J. Pharm. Sci., 59, 1053~1079, 1970
- 3) De Weck, A. L.: Immunological Effects of Aspirin Anhydride, a Contaminant of Commercial Acetylsalicylic Acid Preparations. Int. Arch. Allergy., 41, 393~418, 1971
- 4) Bundgaard H. and Bundgaard C.: Spectro-

- photometric Determination of Microgram Quantities of Acetylsalicylic Anhydride in Acetylsalicylic Acid. *J. Pharm. Pharmacol.*, **25**, 593~598, 1973
- 5) 厚生省：第十改正日本薬局方，厚生省告示第49号，1981年4月1日
- 6) Galante, R. N., Egoville, J. C., Visalli, A. J. and Patel, D. M. : Simultaneous GLC Analysis of Aspirin and Nonaspirin Salicylates in Pharmaceutical Tablet Formulations. *J. Pharm. Sci.*, **70**, 167~169, 1981
- 7) 齊藤恵美子，緒方宏泰，柴崎利雄，江島昭，井上哲男：市販アスピリンおよびその製剤中の無水アスピリンの定量，衛試報告，35~38，1977
- 8) 厚生省：薬事法の規定に基づき，使用の期限を記載しなければならない医薬品，医薬部外品，化粧品及び医療用具を指定する件，厚生省告示第166号，1980年9月26日
- 9) Ali, S. L. : Application of Gas-liquid Chromatography and High Performance Liquid Chromatography to the Analysis of Trace Amounts of Salicylic Acid, Acetylsalicylic Anhydride and Acetylsalicylsalicylic Acid in Aspirin Samples and Aspirin Formulations. *J. Chromat.*, **126**, 651~663, 1976
- 10) Spitz, H. D. : Analysis of Trace Amounts of Acetylsalicylic Anhydride in Acetylsalicylic Acid. *J. Chromat.*, **140**, 131~133, 1971

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

合成樹脂製の器具または容器包装の規格試験 結果について

大江 章夫*, 中屋 謙一*, 杉谷 哲*, 山田不二造*

Hygienic Test of Synthetic Resin Food Utensils and Container-Packages

Akio OHE, Ken-ichi NAKAYA, Akira SUGITANI, Fujizo YAMADA

はじめに

食品に直接接触する器具および容器包装には、多種多様な合成樹脂が使用されており、これらに含まれる有害物が食品に移行することが危惧される。このことを防止するため、おもだった材質の樹脂製品について、厚生省告示第178号（昭和48年）と第17号（昭和52年）で塩化ビニール樹脂（PVC）製品、厚生省告示第98号（昭和54年）でポリエチレン（PE）、ポリプロピレン（PP）、ポリスチレン（PS）製品を対象に樹脂別規制がなされた。

そこで著者は、新たな食品衛生法の規格にもとづき県内で生産された合成樹脂製器具および容器包装を調査した。

材料および方法

1. 材 料

昭和54年度と55年度に県内の18製造業者より収去した合成樹脂製器具および容器包装（PS製9検体、PE製15検体、PP製17検体、その他の樹脂製11検体）52検体を検査した。

2. 検査項目

PP, PE, PS, 製品は、厚生省告示第98号の検査項目を実施した。すなわち、PP製品およびPE製品は、材質試験のカドミウム（Cd）と鉛（Pb）の2項目と溶出試験の重金属、蒸発残留物、過マンガン酸カリウム消費量の3項目の計5項目であり、PS製品は、上記5項目に材質試験の揮発性物質を加えた6項目である。また、昭和55年度に収去された28検体のPP, PE, PS製品については、材質試験として告示第98号の検査項目外の銅（Cu）、亜鉛（Zn）、ニッケル（Ni）、鉄（Fe）、マンガン（Mn）、カルシウム

（Ca）も同時に測定した。

その他の樹脂製品は、厚生省告示第434号の検査項目に従い、溶出試験の上記3項目に加えてフェノールとホルムアルデヒドの計5項目を検査した。

3. 分析方法

PP, PE, PS製品の検査項目は、厚生省告示第98号に示された方法で検査した。ただし、材質中のCd, Pb等の金属の測定は原子吸光光度法による。その他の樹脂製品の検査項目は、厚生省告示第434号に示された方法で検査した。

結 果

1. 材質試験

1.1. 材質中の金属

PS, PE, PP製品の材質中の金属検出値を表1に示した。

CdおよびPbの検出結果を材質種別にみると、PS製品の9検体中1検体（どんぶり）からCdが、PP製品17検体中3検体（ざる、弁当箱、ぎんなん容器）からCdとPbが検出された。PE製品の15検体からはCdもPbも検出されなかった。

CdおよびPbの検出された検体を色調別にみると、どんぶり（Cd:17ppm）が淡黄白色、ざる（Cd:22ppm, Pb:39ppm）が赤色、弁当箱（Cd:61ppm, Pb:2ppm）が黒色、ぎんなん容器（Cd:91ppm, Pb:2ppm）が深青色であった。

しかし、これらの検出値は、すべて規格基準（100ppm以下）内であった。

CdとPb以外の金属には規格基準はないが、次のとおりであった。

Cuは、28検体のうち10検体（10/28）で検出された。深青色のPP製ぎんなん容器から19ppm、青色透

* 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 材質中の金属検出値

(ppm)

No.	検体名	材質	Cd	Pb	Cu	Zn	Ni	Fe	Mn	Ca
1	ゼリー容器	PS	ND	ND						
2	箸	〃	ND	ND						
3	スプーン	〃	ND	ND						
4	皿	〃	ND	ND						
5	魚箱	〃	ND	ND	ND	140	ND	ND	ND	45
6	弁当箱(本体)	〃	ND	ND	ND	15	ND	28	ND	30
7	弁当箱(蓋)	〃	ND	ND	ND	1	ND	ND	ND	2
8	どんぶり	〃	17	ND	ND	61	ND	ND	ND	8
9	シールボックス(本体)	〃	ND	ND	ND	7	ND	ND	ND	3
10	漬物入れ	PE	ND	ND						
11	シールケース(蓋)	〃	ND	ND						
12	シールウェア(蓋)	〃	ND	ND	ND	ND	ND	1	ND	700
13	製氷皿	〃	ND	ND	1	69	ND	ND	ND	55
14	水筒(本体)	〃	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	28
15	水筒(蓋)	〃	ND	ND	6	110	ND	1	ND	64
16	袋	〃	ND	ND	1	3	ND	ND	ND	12
17	わさび受け	〃	ND	ND	ND	210	ND	ND	ND	6
18	工業薬品缶	〃	ND	ND	ND	1	ND	ND	ND	2
19	ステナー	〃	ND	ND	ND	1	ND	ND	ND	64
20	駅弁用茶びん	〃	ND	ND	ND	8	ND	ND	ND	210
21	シールウェア(蓋)	〃	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	630
22	袋(野菜用)	〃	ND	ND	63	2	ND	1	ND	110
23	シールボックス(蓋)	〃	ND	ND	4	1	ND	ND	ND	ND
24	シールボックス(蓋)	〃	ND	ND	ND	2	ND	ND	ND	2
25	プリン容器	PP	ND	ND						
26	アイスクリーム容器	〃	ND	ND						
27	シールケース(本体)	〃	ND	ND						
28	デザートカップ	〃	ND	ND						
29	弁当箱(本体)	〃	ND	ND						
30	弁当箱(蓋)	〃	ND	ND						
31	コップ	〃	ND	ND						
32	シールウェア(本体)	〃	ND	ND	3	ND	ND	ND	ND	39
33	ざる	〃	22	39	1	140	ND	ND	ND	59
34	ボール	〃	ND	ND	1	180	ND	4	ND	5500
35	ざる	〃	ND	ND	1	130	ND	4	ND	5500
36	弁当箱	〃	61	2	ND	33	ND	29	ND	120
37	ぎんなん容器	〃	91	2	19	59	6	32	1	220
38	シールウェア(本体)	〃	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	33
39	バット	〃	ND	ND	ND	130	ND	ND	ND	29
40	ボール	〃	ND	ND	ND	160	ND	ND	ND	31
41	シールボックス(本体)	〃	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	48

ND : < 1 ppm

明性のPE製野菜袋から63ppmが検出され、その他は、10ppm未満であった。

Znは、22/28検出され、その平均値は53ppm、最高値はPE製のわさび受けの210ppmであった。

Niは、1/28で、PP製のぎんなん容器にのみ見られ、その値は6ppmであった。

Feは、8/28検出され、その最高値はPP製のぎんなん容器の32ppmであった。

Mnは、1/28で、ぎんなん容器(1ppm)からのみ検出された。

Caは、シールボックス(蓋)を除く他のすべての検体から検出され、平均値は484ppm、最高値はPP製のボールとぎの5,500ppmであった。

1. 2. 材質中の揮発性成分

PS製品9検体中の揮発性成分の分析値を表2に示した。

トルエンは9検体中1検体(11%)から、エチルベンゼンは9検体中8検体(89%)から、iso-プロピルベンゼンおよびn-プロピルベンゼンは、それぞれ9検体中5検体(56%)から検出された。スチレンモノマーは9検体すべてから検出された。これら揮発性成分の分析値は、スチレンモノマーが1,071ppmでもっとも高く、次に243ppmのエチルベンゼンであった。他の3種類の揮発性成分の分析値の平均値は、エチルベンゼンより1オーダー以上低い濃度であった。

しかしながら、今回供試したPS製品は、すべて揮発性成分(合計)の基準値(5,000ppm以下)を越えるものはなかった。

2. 溶出試験

2. 1. 重 金 属

52検体のすべてが規格(Pbとして1ppm以下)に適合した。

2. 2. 蒸発残留物

最高値は、ぎんなん容器の9.5ppmで、平均値は3.3ppmであった。しかし、52検体のすべてが規準値(30ppm)以下で規格に適合していた。

2. 3. 過マンガン酸カリウム消費量

最高値は、フェノール樹脂製しゃもじの4.9ppmで、平均値は0.6ppmであった。しかし、52検体のすべてが規準値(10ppm)以下で規格に適合していた。

2. 4. フェノールとホルムアルデヒド

その他の樹脂(アクリル樹脂6検体、フェノール樹脂4検体、ポリカーボネート1検体)製品11検体すべて不検出であった。

考 察

合成樹脂製造分野では、CdとPbは樹脂の劣化を防止する安定剤や着色剤(顔料)として用いられている。

告示98号では、本製品のCd、Pb濃度は共に100ppm以下に規制されている。それらの濃度では樹脂の顔料として意味をもたないのに、告示のねらいは、恐らくCd、Pbを顔料に用いるのを防止することにあるのかも知れない。

しかしながら、著者らはある色調を得るために、無機顔料を添加した染料や有機顔料で、樹脂を着色する場合があることを製造業者から聴取した。この場合、添加する無機顔料は樹脂に対して100ppmの濃度であるといわれ、無機顔料のCdやPbは、樹脂中の濃度として数10ppmになることが十分考えられる。

表2 スチレン製品中の揮発性成分

(ppm)

No.	検 体 名	トルエン	エチル ベンゼン	iso-プロピ ルベンゼン	n-プロピル ベンゼン	スチレン モノマー	揮発性成分 量の合計
1	ゼリー容器	30	32	ND	ND	877	939
2	箸	ND	426	ND	ND	580	1006
3	スプーン	ND	159	ND	ND	2729	2888
4	皿	ND	697	120	40	1434	2291
5	魚箱	ND	420	210	84	1554	2268
6	弁当箱(本体)	ND	136	80	23	614	853
7	弁当箱(蓋)	ND	162	97	45	679	983
8	どんぶり	ND	151	60	46	641	898
9	シールボックス (本体)	ND	ND	ND	ND	534	534
平 均		3	243	63	26	1071	1406

ND : <10ppm

したがって著者らの成績における Cd 17~91ppm、Pb 39ppm を含有する樹脂製品（表1）は、恐らく上記の方法で着色剤として無機顔料を使用したものと想像される。

表1の弁当箱（No. 36）とぎんなん容器（No. 37）のPb含量2ppmは、検出限界値1ppmに近い値であることから、何らかのルートにより製造工程中に、もしくは樹脂原料やその成形助剤が微量汚染されていたのかも知れない。

著者らが得た Zn と Ca の濃度および検出率は、他の6種金属に比べて高かった。Zn, Ca 含量15ppm以上の製品は、顔料に対して約20~30%混合される顔料分散剤のステアリン酸亜鉛、ステアリン酸カルシウムや、白色顔料の硫酸亜鉛、酸化亜鉛などに由来するものと思われる。

Cu 19, 63ppm と Fe 28, 29, 32ppm を含有する樹脂製品（表1）は、恐らく Cd や Pb と同様の方法で着色剤として無機顔料を使用したものと推察される。

表1の Cu 1~6ppm, Fe 1~4ppm, Ni 6ppm, Mn 1ppm は、Pb 2ppm の場合と同様に微量汚染されていたのかも知れない。

ぎんなん容器から検査対象の8種類の金属のすべてが検出されたが、この製品は多くの樹脂製品製造所より排出されるいろいろな成形不良品や樹脂屑が回収され、ペレットに加工された樹脂を原料として成形加工されたものであったことから、この製品には、樹脂原

料由来の多種類の金属が検出されたものであろう。

PS樹脂の製造時の未反応物質であるスチレンモノマーが、PS製品から必ず検出されることと、揮発性成分のうちエチルベンゼンとスチレンモノマーが他の3種（表2）に比べて高濃度に検出される傾向は、植松⁴⁾らや菊地⁵⁾らも認めているところである。

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 博教授に深謝致します。また検体の採取に御協力いただいた関係各位に深謝致します。

文 献

- 1) 厚生省食品衛生課・乳肉衛生課・食品化学課共編：食品衛生関係法規集，3402~3416，中央法規出版，1978
- 2) 村橋俊介，小田良平，井本稔：改訂新版プラスチックハンドブック，8版，朝倉書店，1977
- 3) 入村和子：食品，添加物等の規格基準の一部改正について，食品衛生研究，29，647~669，1979
- 4) 植松智之，横尾 進，依田 修：AS樹脂・ABS樹脂製品中の揮発性成分および重金属に関する調査結果について，食品衛生研究，30，280~283，1980
- 5) 菊地 格，堺 敬一：合成樹脂製容器包装検査結果（昭和55年度），宮城衛研年報，56，88~90，1981

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.3-Aminopropyltriethoxysilane 処理プレート
を用いる芳香族アミンの薄層クロマトグラフィー

岡本 光美*, 日比 誠*, 山田不二造*

High Performance Thin Layer Chromatographic Analysis of
Some Aromatic Amines on the 3-Aminopropyltriethoxysilane-
Treated Plates.

Mitsuyoshi OKAMOTO*, Makoto HIBI*, and Fujizo YAMADA*

最近、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 用、逆相および順相充填剤を高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) 用プレートに塗布し、その応用研究例が数多くなされている。HPTLC は、高感度デンストメータ等の検出器の開発とともに、オープンカラム並列分析法として利用されつつある。

一方、労働衛生学上問題となる芳香族アミン分析について、アミノ (NH₂) 処理プレートを用いた HPTLC 報告例は、ほとんど見当たらない。

我々は、HPLC 用 NH₂ 充填剤の芳香族アミンに対する分離効果¹⁾、その応用例²⁻⁵⁾、および代表的な芳香族アミンとしてナフチルアミンを例にとり、UV 検出器に高感度で検出される様に Tosyl 化法⁶⁾、さらに特に発癌性が懸念される β-ナフチルアミンのみに反応する様に Mesitylenesulfonyl 化法⁷⁾ をすでに報告した。

それゆえに、今回、前報^{1,2)} を準用して NH₂ 処理プレートを作成し、HPTLC によりその作成したプレートの評価を試みた。

試薬は特に述べるもの以外、すべて試薬特級品を用いた。

3-Aminopropyltriethoxysilane (3 APTS) は Aldrich 製を用いた。

装置は島津 C-R1A クロマトバック装備の島津 2 波長クロマトスキャナ CS-910 を用いた。

NH₂ (3 APTS) 処理プレートは、前報^{1,2)} を準用して作成し、使用にあたっては 80°C で 4 時間活性化した。

前報^{1,2)} において、HPLC 用 3 APTS 処理シリカゲルの検討に o-, m-, p- ニトロアニリン (NA) を用

いたが、今回も前報に準じて NA を用い、NH₂ 処理 HPTLC プレートおよび未処理 HPTLC プレート上の NA 分離挙動を検討した (Fig. 1)。

Fig. 1 にみられるように、未処理 HPTLC プレ-

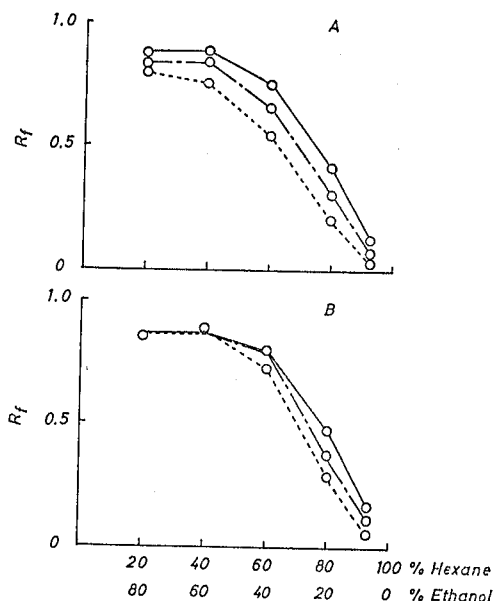


Fig. 1 Dependence of R_f on mobile-phase composition (hexane-ethanol mixtures) for nitroanilines using two different NH₂-treated plates.

○ ——— ○ : o-nitroaniline (2 µg)
○ ——— ○ : m-nitroaniline (2 µg)
○ - - - - ○ : p-nitroaniline (2 µg)

A : 3 APTS-treated plate.

B : Non-treated plate.

* 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

トでは、ヘキサン-エタノール組成比(80:20V/V)まで、NAのo-, m-, p-3スポットの分離が可能であったが、エタノール含量が多くなる(60:40V/V)で、1スポットとなり分離不可能となった。これに反して、NH₂処理HPTLCプレート上の検討した各条件下で、NAの3スポットを検出可能であった。

NAの検量線は、o-NAについて、55ng-176ngの範囲、m-NAについて、57.4ng-183.7ngの範囲、p-NAについて、52.8ng-168.8ngの範囲にわたり直線関係がNH₂処理HPTLCプレート上で得られた。なお検出限界について、o-, m-, p-NAは、それぞれ27.5, 28.7, 26.4ngであった。

以上のように、NH₂処理HPTLCプレートは芳香族アミン類の性質を調べる一助をなすものと思われる。

文 献

- 1) M. Okamoto, H. Kishimoto: Preparation and Evaluation of N-(2-Aminoethyl)- γ -Aminopropyltrimethoxysilane-Treated Silica Columns for the High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Some Aromatic Amines, *J. Chromatogr.*, **212**, 251-260, 1981
- 2) M. Okamoto: Preparation and Evaluation of 3-Aminopropyltriethoxysilane-Treated Silica for High-Performance Liquid Chromatography of Low-Molecular-Weight Aldehydes as their Lutidine Derivatives, *J. Chromatogr.*, **202**, 55-61, 1980
- 3) M. Okamoto, K. Ohtsuka, J. Imai, and F. Yamada: High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Acetaldehyde in Wine as its Lutidine Derivative, *J. Chromatogr.*, **219**, 175-178, 1981
- 4) 岡本光美, 山田不二造: 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, *薬学雑誌*, **101**, 378-381, 1981
- 5) 岡本光美, 日比 誠, 山田不二造: 高速液体クロマトグラフィーによる3-Aminopropyltriethoxysilane処理シリカゲル上の芳香族アミンの分離挙動, *岐衛研所報*, **26**, 43-48, 1981
- 6) 岡本光美, 山田不二造, 中村晃忠: 染料中に残留する α -ナフチルアミンおよび β -ナフチルアミンの分析(第1報) トシル化 α -ナフチルアミン, β -ナフチルアミンの高速液体クロマトグラフィー, *衛生化学*, **25**, 48-54, 1979
- 7) 岡本光美, 山田不二造: Mesitylenesulfonyl 化によるナフチルアミンの高速液体クロマトグラフィー, *薬学雑誌*, **100**, 460-465, 1980

〈他誌掲載論文〉

腸炎ビブリオ抗原の血清学的研究

Ⅲ. 抗O群血清に含まれる非対応O群抗原に対する凝集素

所 光 男 (岐阜衛研)

感染症学雑誌, Vol. 55, No. 6, 429-438, 1981

腸炎ビブリオの抗O群血清の特性として、非対応O群抗原に対してもかなり高い凝集素価を示すことが知られている。そこで、この非対応O群抗原に対する凝集素を解明する目的で、これらの凝集素とO1~O12群パイロット株の加熱死菌および *V. Cholerae*, *V. alginolyticus*, *E. coli* の加熱死菌との関係について検討を行い、次のような成績を得た。

- 1) 腸炎ビブリオは既知のO1~O12抗原のほか、総ての腸炎ビブリオに共通のO抗原も有することが確認された。この事実から、加熱処理菌体には、従来型別の目的で用いられてきたO1~O12抗原のほか、総ての腸炎ビブリオに共通に存在する型特異性を欠くO抗原も存在することが明らかとなった。
- 2) *V. Cholerae* および *V. alginolyticus* にも型特異性を欠く総ての腸炎ビブリオに共通のこの抗原の存在が認められたが、腸内細菌科の *E. coli* にはこの抗原が認められなかったことから、本抗原はビブリオ属に共通のO抗原であることが示唆された。

Solmonella paratyphi-B と *Salmonella java* との鑑別用培地

所 光男, 後藤喜一, 山田不二造 (岐阜衛研)
谷口敏夫 (東海中央病院検査科)

臨床と細菌, Vol. 8, No. 3, 110-114, 1981

S. paratyphi-B と *S. java* の鑑別性状の再検討を行い、次のような結論を得た。

- 1) 市販 Jordan 培地のうち、A社の培地は *S. paratyphi*-B と *S. java* の鑑別用培地としては不適であったが、BおよびC社の培地はそれぞれの培地に適した判定時間で成績の判定を行えば、*S. paratyphi*-B と *S. java* の鑑別に K-P 培地と同等の利用価値が認められた。
- 2) 酢酸ナトリウム寒天培地での発育試験は *S. paratyphi*-B と *S. java* の鑑別には利用できないことが判明した。
- 3) d-酒石酸利用試験だけの鑑別では、中間型性状を示す菌株が認められたので、*S. paratyphi*-B 鑑別には粘液堤形成試験も併用することが望ましい。

新しいO:K組み合わせ, O1:K60, O5:K19 を有する腸炎ビブリオ菌株の抗原解析

所 光男, 加藤樹夫, 後藤喜一, 渡辺実,

山田不二造 (岐阜衛研)

山田隆司 (県立岐阜病院第二内科)

芹川俊彦 (石川県衛生公署研究所)

臨床と細菌, Vol. 8, No. 4, 93-96, 1981

食中毒患者由来の腸炎ビブリオ菌株で新しいO:K組み合わせの抗原型として報告のあった O1:K60, O5:K19 の抗原型株について O 抗原および K 抗原の抗原解析を行い、次のような成績を得た。

- 1) 分離株 IS-80-V-1 (O1:K60), GI-80-V-67 (O5:K19) の O 抗原は同じ O 群抗原を有するパイロット株と完全に一致した。
- 2) IS-80-V-1 株の K 抗原は O5:O60 パイロット株の K 抗原と完全一致した。
- 3) GI-80-67 株の K 抗原は O7:K19 パイロット株, GI-77-V-4 (O11:K19) 株および OP-204 (O12:K19) 株の K 抗原と完全に一致した。

ヒトに棲息する黄色ブドウ球菌とブドウ 球菌性食中毒との関連に関する研究

第1報 臨床材料から分離された黄色ブドウ球菌 のコアグラゼ型と Crystal Violet Ring について

後藤喜一 (岐阜衛研)

感染症学雑誌, 第55巻, 第8号, 576-582, 1981

病院臨床材料および集団かぜ患者の咽頭うがい液から分離された黄色ブドウ球菌のコアグラゼ型別と Crystal Violet Ring test を行い、次のような結果が得られた。

急性肺炎、急性気管支炎と診断された小児患者の咽頭ぬぐい液から分離された黄色ブドウ球菌のコアグラゼ型は I~VIII 型に分布した。結核症を疑われた成人の喀痰からの分離株も同じようなコアグラゼ型分布であった。コアグラゼ IV 型菌は創傷化膿巣、膿瘍等の膿汁から圧倒の多数が分離されたが、耳漏の膿汁からはコアグラゼ V 型菌が比較的多数分離された。

供試株 282 株についてコアグラゼ型と Crystal Violet test パターンとの相関について検討した。その結果、コアグラゼ II 型菌に WR 群の高い出現頻度がみられた。

第2報 健康成人のうがい液中に存在する 黄色ブドウ球菌の長期観察

後藤喜一（岐阜衛研）

感染症学雑誌，第55巻，第8号，583-591，1981

某官公署に勤務する健康成人32名のうがい液中に存在する黄色ブドウ球菌の消長を長期間観察するとともに，分離株のコアグラゼ型別，毒素産生能および Crystal Violet Ring test を行った。健康成人のうがい液からの黄色ブドウ球菌検出率は60.3%，分離株202株のうち169株（83.7%）はコアグラゼⅡ，Ⅲ，ⅥおよびⅦに型別された。常時排菌している健康成人からの分離株コアグラゼ型は変化していなかったが，6人の健康成人からの分離株のコアグラゼ型は一時的に変化した。

常時排菌者の血清中のコアグラゼに対する抗体価は分離株に対応するコアグラゼ型に対して最も高い抗体価を示した。黄色ブドウ球菌が全く分離されていなかった健康成人の血清中に2 Me 感受性抗体の存在を認めた。

第3報 ヒトに棲息する黄色ブドウ球菌に汚 染されたにぎりめしによる食中毒について

後藤喜一（岐阜衛研）

感染症学雑誌，第55巻，第11号，812-818，1981

最近10年間に岐阜県内で発生した黄色ブドウ球菌食中毒24事例から分離された分離株のコアグラゼ型はⅡ，Ⅲ，ⅥおよびⅦ型に限局された。にぎりめしを原因食とする13事例のうち養護施設M学園で発生したブドウ球菌性食中毒について検討した。

原因食にぎりめしからコアグラゼⅥ型菌が分離されたが，調理材料，調理器具等に異常が認められなかった。にぎりめしを調理した職員の手指，うがい液から原因食からの分離株と同コアグラゼ型の黄色ブドウ球菌が分離された。これらの分離株は米飯中で良好な増殖を示した。原因食にぎりめしの汚染源は調理した職員に棲息する黄色ブドウ球菌であろうと推定された。にぎりめし調製時における米飯へのブドウ球菌汚染の機序について考察を加えた。

アルコール類のウイルス不活化作用に関する 研究

ウイルスに対する各種アルコールの不活化効果について

野田伸司，渡辺 実，山田不二造（岐阜衛研）

藤本 進（北里大学衛生学部）

感染症学雑誌，第55巻，第5号，355-366，1981

親水性ウイルス（エンテロウイルス）および親油性ウイルス（アデノおよび被エンベロープウイルス）の合計11種類のウイルスに対する，メタノール，エタノール，イソプロパノールおよびN-プロパノールの不活化作用を検討した。

エンテロウイルスはメタノールによって最も強い不活化作用を受け，次いでエタノールであった。イソプロパノールによっては，AHC ウイルスが長時間の感作でわずかに不活化されるのを除き，他のウイルスは全く不活化を受けなかった。

親油性ウイルスの中，被エンベロープウイルスはN-プロパノールによって最も強い不活化を受け，次いでイソプロパノール，エタノール，メタノールの順であった。これに対し，アデノウイルスはエンベロープウイルスと同様にN-プロパノールによって最も強い不活化を受けるが，その他のアルコール類に対する感受性は大きく異なり，以下メタノール，エタノール，イソプロパノールの順に不活化効果が示された。アデノウイルスにおいては，特にエタノールに対する抵抗性の強さおよび20°Cにおいてはイソプロパノールによりほとんど不活化を受けないことが注目された。

エンテロウイルス中のAHC ウイルスおよび親油性ウイルス中のアデノウイルスを除外すると，全体的な傾向として，エンテロウイルスは炭素数の少ないアルコール類，親油性ウイルスはこれと反対に炭素数の大きいアルコール類により，不活化を受け易い傾向が認められた。

アルコール類のウイルス不活化作用に関する 研究

エタノール消毒における生体試料の影響

渡辺 実，野田伸司，山田不二造（岐阜衛研）

藤本 進（北里大学衛生学部）

感染症学雑誌，第55巻，第5号，367-372，1981

生体試料中のウイルスに対するエタノールの不活化作用について研究を行った。

エタノールの反応に十分な水分が含まれている限り，液相および固相，いずれの生体試料中においても，エタノールのウイルス不活化作用は，エタノールの濃度に比例して上昇する。血清原液およびPBS中のポリオウイルスは，いずれも90%エタノールによって10秒で不活化を受けるが，70%エタノールによって，前者は1分，後者は10倍，即ち10倍の感作時間を必要とし，血清による阻害効果が著明であった。また凝固家兔血液およびHeLa細胞に感染したポリオウ

ウイルスは、いずれも90~99.5%エタノールにより速やかに感染価の低下が示されるが、80%以下の濃度では不活化の進行は緩やかであった。

これに対し乾燥血清中のウイルスには、高濃度のエタノールによる不活化効果は低く、99.5%エタノールには殆どウイルス不活化作用は認められなかった。しかしこの条件下においても70~80%エタノールのウイルス不活化効果は最強ではなく、乾燥血清中のNDVおよびワクチニアウイルスは40~60%エタノールによって最も高い不活化効果が示された。

最も効果的な消毒が要求される場合には、被消毒物件の水分およびウイルスの種類に応じたエタノール濃度の選択が必要と思われる。

アルコール類のウイルス不活化作用に関する研究

Ⅲ 生体試料中のウイルスに対するイソプロパノールの不活化作用

野田伸司, 渡辺 実, 山田不二造 (岐阜衛研)
藤本 進 (北里大学衛生学部)
感染症学雑誌, 第55巻, 第12号, 891-897, 1981

生体試料中のNDVおよびワクチニアウイルスに対するイソプロパノール(IP)の不活化作用を検討した。

IPは各種生体試料により、強い不活化阻害作用を受けるが、試料の状態により不活化阻害の傾向には、大きな違いが認められた。

血清、尿および脱線維血液等の液相において、エタノールの場合と同様に、IPの濃度の低下と共に、試料による不活化の阻害が強くと示された。しかし、脱線維血液と同じ水分を含む凝固血液中のウイルスに対しては、50~80%に不活化の至適濃度が示され、いずれの試料中のウイルスに対しても、高濃度ほど強い不活化効力を示したエタノールとは、不活化阻害の機序を異にすることが推測される。

乾燥血清中のウイルスは、エタノールの場合と同様に、40%前後の比較的低濃度のIPにより、最も効果的に不活化された。

エンペロープウイルスに対しては、生体試料中においても、IPは効果的な殺ウイルス剤と考えられるが、含水、乾燥いずれの状態にも対応できる実用的な濃度としては、50%が適当と思われる。

アデノウイルス中和抗体保有率の推移

渡辺 実, 野田伸司, 山田不二造 (岐阜衛研)
臨床とウイルス, Vol. 9, No. 4, 459-463, 1981

1960~64年から1978~80年の間における、岐阜県下における、アデノウイルス中和抗体保有率の推移を調査した。1, 2, 5, 6各型抗体の保有率には著明な変化はみられないが、6歳以上の年齢層では、1978~80年に若干の保有率の低下がみられた。3型抗体にはおおむね全年齢層に、著明な保有率の低下がみられた。

4型抗体は1978~81年には0~10歳の年齢層に、わずかながら保有率の上昇が認められたが、11歳以上には著明な低下が認められた。

7型抗体は、0~10歳の年齢層には、いずれの年次においてもきわめて低い保有率が示されたが、1978~80年には11歳以上の抗体保有率も低下し、成人層においても15%に止った。

PREPARATION AND EVALUATION OF N-(2-AMINOETHYL)- γ -AMINOPROPYL-TRIMETHOXYSILANE-TREATED SILICA-COLUMNS FOR THE HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF SOME AROMATIC AMINES

MITSUYOSHI OKAMOTO*

Gifu Prefectural Institute of Public Health,
6-3, Noishiki 4 Chome, Gifu 500 (Japan)
and

HIROSHI KISHIMOTO

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya
City University, 3-1, Tanabe-dori, Mizuho-ku,
Nagoya 467 (Japan)

Journal of Chromatography, 212, 251-260, 1981

SUMMARY

The retention and selectivity behaviour of some aromatic amines were studied by high-performance liquid chromatography using amino-chemically bonded stationary phases (column gel), prepared from silica gel treated with benzene solution containing 5-50% of N-(2-aminoethyl)- γ -aminopropyltrimethoxysilane (N2AAPT). The N2AAPT gel was compared with the 3-aminopropyltriethoxysilane (3APTS)-treated silica gel. From elemental analysis data for

nitrogen and carbon, the maximum number of accessible amino surface groups per 100 \AA^2 of silica gel (mean pore diameter 85 \AA , particle size distribution $5.8 \mu\text{m}$) in N2APTS gel was estimated to be 1.81. The N2APTS gel provided better resolution of some amines than the 3-APTS gel. The effect of the kind of component in the mobile phase on the capacity factor was studied using various alkanes (basic component) and normal alcohols (additive component).

High-performance liquid chromatographic determination of acetaldehyde in wine as its lutidine derivative

MITSUYOSHI OKAMOTO*,
KIMIHIITO OHTSUKA,
JYUNZO IMAI and FUJIZO YAMADA
Gifu Prefectural Institute of Public Health,
6-3, Noishiki 4 Chome, Gifu 500 (Japan)

Journal of Chromatography, **219**, 175-178, 1981

Suzuki and Maruyama reported on the high-performance liquid chromatography (HPLC) of acetaldehyde (Ac) in wine as its 2, 4-dinitrophenylhydrazone derivative. This method was not successful in the determination Ac, because the high temperatures and high concentrations of acid required transform Ac into hydrazone with the reaction system equipped with the specific apparatus, also caused corrosion of the stainless-steel columns in the HPLC system. In a previous paper, we considered the HPLC retention behaviour of low molecular weight aldehydes as their lutidine derivatives on 3-aminopropyltriethoxysilane (3APTS) treated silica gel. Therefore, we studied the determination by HPLC of Ac in wine as its lutidine derivative on the 3APTS-treated silica gel or the commercial NH_2 -chemically bonded stationary phase.

High-performance liquid chromatographic determination of bromural in serum upon hemoperfusion

MITSUYOSHI OKAMOTO* and
FUJIZO YAMADA
Gifu Prefectural Institute of Public Health,
6-3, Noishiki 4 Chome, Gifu 500 (Japan)
and
MOTOYUKI ISHIGURO and
TAKAO YASUE
Gifu Prefectural Hospital, 6-1 Noishiki 4
Chome, Gifu 500 (Japan)
Journal of Chromatography, **223**, 473-478, 1981
(Biomedical Applications)

Patients suffering from acute intoxication caused by bromural (BU) have usually been treated by symptomatic therapy. More positive therapy has been needed medically, and the application of hemoperfusion has been tried. There are few detailed reports on the effectiveness of hemoperfusion in intoxication, and none describing a comprehensive study of BU in serum upon hemoperfusion. This paper reports a rapid, precise and simple high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the routine determination of BU in serum upon hemoperfusion.

Assay of catechol O-methyltransferase activity by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection

SEISHU KOH, MAYUMI ARAI and
SATOSHI KAWAI
Gifu College of Pharmacy, 6-1, Mitahora-
higashi 5 chome, Gifu (Japan)
and
MITSUYOSHI OKAMOTO
Gifu Prefectural Institute of Public Health,
Noishiki, Gifu (Japan)
Journal of Chromatography, **226**, 461-465, 1981
(Biomedical Applications)

The enzymatic methylation of catecholamines and their metabolites by catechol O-methyltran-

sferase (COMT) is one of the important degradation routes of these compounds in the human body. Recently, it has been stated that COMT activity might be closely related to affective disorders such as some cases of depression, and that the *meta/para* ratio of O-methylated products might be of clinical significance.

Of the methods for the assay of COMT activity, fluorimetric, radiochemical or colorimetric techniques only measure the total amount of products formed. On the other hand, high-performance liquid chromatographic (HPLC) and gas chromatographic techniques have been developed as a reliable procedure for the assay of *m*-methoxy and *p*-methoxy products. HPLC with electrochemical detection has proven to be sensitive and specific for the determination of phenolic compounds, including those arising from O-methylation by COMT.

The present paper describes a procedure for the assay of COMT activity, which involves the use of norepinephrine as a substrate, periodate oxidation, deproteinization by solvent extraction, and the separation of O-methylated isomers by HPLC with electrochemical detection.

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, 山田不二造 (岐阜衛研)
薬学雑誌, 101(4), 378-381, 1981

A high performance liquid chromatographic method for the determination of trace amounts of formaldehyde in commercial clothing as its lutidine derivative is described. By elution with hexane/ethanol (25:1 v/v) on a silicagel treated with 20% (3-aminopropyl) triethoxysilane and a Nucleosil 5 NH₂, the resolution peaks with formaldehyde and acetaldehyde (i. s.) were 4.25 and 1.72, respectively. By this method, the amount of formaldehyde was determined within 1.83% error in the range 0.02-1.0 μg and 0.05-6.0 μg in 1 ml of aqueous solution by using a fluorescence spectrophotometer and a visible spectrophotometer, respectively, and the limit of detection was 100 pg.

高速液体クロマトグラフィーによるカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ活性の測定

洪 性修, 強力ゆかり, 河合 聡 (岐阜薬大)
岡本光美 (岐阜衛研)
分析化学, 30, 482-485, 1981

カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ(COMT)はラット肝より調製して用いた。基質として3,4-ジヒドロキシ安息香酸を用い、酸素反応によって生成した3-メトキシ-4-ヒドロキシ安息香酸(MHBA)と3-ヒドロキシ-4-メトキシ安息香酸(HMBA)は酢酸エチルで抽出し高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分離した。内部標準物質は4-ヒドロキシ安息香酸を用いた。HPLCの分離条件は、カラム4mm×15cm, ステンレス製, LiChrosorb 5 RP 18; 溶離液: 酢酸-アセトニトリル-水(1:5:94); 流速: 0.96ml/min; 圧力: 120kg/cm²; 分離温度: 40°C; 測定波長: 254nmである。

溶離液は、アセトニトリルのほうがメタノールより各成分の分離度およびピークの形状の点で良好な結果を与えた。溶離液のpHは低いほどよいが、カラムの劣化を考慮して酢酸濃度は1%とした。溶媒抽出による除たん白操作は簡便で確実に再現性のよい結果を示した。全操作による検量線はMHBAまたはHMBAの5~25μgの範囲で原点を通る直線となった。本法はCOMT活性の測定に適用可能であった。MHBAの生成量はHMBAの約4倍であった。

急性プロムワレリル尿素中毒に対するhemoperfusion施行時の血中濃度変化

石黒源之, 安江隆夫, 渡辺佐知郎, 梅村厚志,
茜部 寛, 森 甫 (県立岐阜病院循環器科)
岡本光美, 山田不二造 (岐阜衛研)
透析会誌, 14(3): 141-146, 1981

<要旨>

急性眠剤中毒の患者(プロムワレリル尿素(BVU) 11,000mg, フェナセチン2,700mg, カフェイン450mg等を服用)にhemoperfusionとhemodialysisを施行し、救命しえた。経過中その血中濃度を高速液体クロマトグラフ法にて測定した結果、3成分ともhemoperfusionにより著明に除去されたが、hemodialysis施行中は濃度に著変を認めなかった。臨床所見はBVUの血中濃度の低下とともに改善した。

さらに、hemoperfusionの有効性を裏付けるために、患者と体重あたり同量のBVUを成犬に経管投

与し、その自然消退曲線を得た。投与後3～7時間以内に最高濃度に達し、以後次第に消退し、24時間目には測定不能となった。

また、同条件でBVUを投与した成犬に、投与後3時間目から3時間 hemoperfusion を施行したところ、3時間目までに次第に増加した血中濃度が、hemoperfusion 施行とともに著減し、約75%の除去率を示した。hemoperfusion 施行中は血中濃度が低く保たれ、終了後再び濃度が上昇し、臨床症状も悪化した。以上より、BVU 中毒には hemodialysis より hemoperfusion が有効と考えられる。

一方 BVU の定性、定量法については、比色法、ガスクロマトグラフ法 (GLC)、薄層クロマトグラフ法 (TLC)、NMR、IR、ポーラログラフ法、ケルダール法、クーロメトリー、ヨードメトリー、重量法、表面張力分析、滴定法等の種々の報告がある。しかし高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) による測定の報告は見当たらない。著者らは、HPLC による血中 BVU の簡便な定量法を開発し、精度の高い結果を得ようとした。

Preparation and Evaluation of 3-Amino-propyltriethoxysilane-Treated Plates for High Performance Thin-Layer Chromatography

M. Okamoto*and F. Yamada
Gifu Prefectural Institute of Public Health,
6-3, Noishiki 4 Chome, Gifu 500, Japan

T. Omori
Kanto Chemical Co., Merck Reagent Dept.,
4-6 Honcho Nihonbashi, Chuo-ku, Tokyo 103,
Japan

Journal of HRC&CC, 5, 163-164, 1982

A number of papers dealing with the characteristics and applications of plates precoated with commercially available reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC) packing materials have been published. The detection of sugar compounds, usually calls for tedious procedures employing color (or fluorescence) producing reagents. Yet there are few reports on the effectiveness of NH_2 -high performance thin layer chromatography (HPTLC) in sugar analysis with non-spray reagent methods. In a previous paper, we considered the effect of

chain length of NH_2 -chemically bonded stationary phases for HPLC, in the case of nitroanilines or diaminotoluenes (as typical aromatic amines). We have therefore now studied the preparation and evaluation of NH_2 -treated plates and the HPTLC separation of some sugar compounds and nitroanilines thereon.

高速液体クロマトグラフィーによる鶏肉および鶏卵中クロビドールの定量

大塚公人, 堀部京子, 杉谷哲, 山田不二造(岐衛研)
食衛誌, 22(6), 462-466, 1981

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、鶏肉および鶏卵中クロビドールの分析法を検討した。LiChrosorb RP-18 カラムを用い、アセトニトリル水 (10:90 v/v%) を溶離液とした逆相クロマトグラフィーにより分析を行った。試料はメタノール抽出後、アルミナおよびイオン交換樹脂カラムで精製し、HPLC に注入した。検量線は 5～250ng の範囲で原点を通る直線性を示した。検出限界は 2ng であった。平均回収率は鶏肉で 95.1%、鶏卵では 96.8% であった。本法は鶏肉および鶏卵中の残留クロビドールの簡易分析法として十分使用できると思われる。

シイタケにおけるカドミウム濃縮性と その化学形について

大江章夫, 杉谷 哲, 山田不二造(岐衛研)
食衛誌, 22(5), 345-350, 1981

シイタケは植物性食品中でもっとも Cd 含量が高いことから、Cd の濃縮性とその存在形態について検討した。

- シイタケの Cd 含量は湿重量換算平均で 0.17ppm であり、他の植物性食品 (37種) における平均 Cd 含量の約 6 倍であった。
- シイタケの栽培原木に対する金属の濃縮係数は、他金属が 0.7 以下であるにもかかわらず Cd が約 6、Zn が約 3 であり、シイタケにおける Cd の特異的濃縮性が考えられる。
- シイタケ細胞中の Cd の分布は、可溶分画 45%、核 26%、ミトコンドリアおよびマイクロゾームにそれぞれ 3% であった。
- シイタケホモジネートの粗上清液 (16,000×g, 30分間遠心) を Sephadex G-75 でゲルろ過すると、Cd は分子量 30,000 以上の高分子分画 Fr-I

と 3,000以下の低分子量分画 Fr-II に溶離され、両分画の Cd 含量の比は約 2 : 1 であった。

5. Fr-II の Cd 含有低分子量物質は、分子量が約 700 でニンヒドリン反応陽性、pH 8.0 で 260nm の紫外部吸収極大波長を有することから、この物質はペプチドと考えられた。

タマネギ中の有機リン農薬の分析法

岩田好博, 杉谷 哲, 山田不二造 (岐阜衛研)
食品衛生学雑誌 Vol. 22(6), 484-489 (1981)

タマネギ中の残留有機リン農薬を分析する目的で、Amberlite XAD-8 樹脂によるカラムクリーンアップ法を検討した。タマネギをアセトニトリル、セライト 545 とともにホモジナイザーで均質化後ろ過し、ろ液をアセトニトリルが除去されるまで濃縮し、Amberlite XAD-8 カラムに負荷し、蒸留水、5% 食塩水-メタノール (5 : 5)、メタノールの順序で溶出した。タマネギに含まれる有機硫黄化合物は、蒸留水および 5% 食塩水-メタノール溶出液で約 90% 溶出し、有機リン農薬溶出区分 (メタノール) に 10% 程度溶出するが、有機リン農薬を分析するにはなんら支障がなかった。添加回収は、11種の有機リン農薬について行い、ダイアジノン 76% を除いてすべて 80% 以上であった。また本法をネギ、ニラに適用したところ、タマネギ同様、良好な結果が得られた。

高速液体クロマトグラフィーによる 魚肉中ナリジクス酸の定量法

春日洋二, 大塚公人, 杉谷 哲, 山田不二造
(岐阜衛研)

食衛誌, 22(6), 479-483, 1981

魚肉中ナリジクス酸 (NA) の抽出は試料を 0.2M リン酸緩衝液 (pH 6) で均質化後、酢酸エチルで行った。クリーンアップはこの酢酸エチルを留去し、残渣を 2% 塩化ナトリウム溶液に移し、*n*-ヘキサンで脂肪を除いた後、クロロホルムで再抽出し、次いでクロロホルム留去後、残渣を少量のクロロホルムに溶解

し、0.1M ホウ酸緩衝液 (pH 10) で抽出する方法によった。HPLC 用カラムに Zipax SAX (2.6×500 mm)、移動相に 0.006M 硫酸ナトリウムを含む 0.01M ホウ酸溶液 (pH 9.1)、内部標準物質にピロミド酸を用いて NA の短時間の分離ができた。ニジマスおよびアユについて添加回収実験を行ったところ、回収率 96.6~100.4%、変動係数 0.9~2.0%、検出限界 0.05 μ g/ml と精度良く微量の NA が定量できた。

Preventive Effects of Pretreatment with Zinc on Cadmium Toxicity in Rats

YUTAKA WATANABE, FUMIO NONOMURA
NOBUYASU TANAHASHI, and
AKIRA SUGITANI
Gifu Prefectural Institute of Public Health,
6-3 Noishiki 4 Chome, Gifu500, Japan
Eisei Kagaku, 28, P-57 (1982)

Since Parizek reported the preventive effects of zinc against the testicular atrophy caused by cadmium, interest has increased in the interaction of cadmium and zinc *in vivo*. In addition, Leber *et al.* reported that the administration of zinc prior to cadmium challenge causes a pronounced increase in LD50 in mice.

In the previous paper, the authors reported that the activities of urinary enzymes, especially γ -glutamyltranspeptidase (γ -GTP) and glycylproline-diaminopeptidase (GP-DAP), were elevated significantly by administration of a single injection of 5.0mg/kg body weight of cadmium. The measurement of these enzyme activities in urine is a sensitive and easy screening test for the detection of renal damage.

In this paper, the preventive effect of pretreatment with zinc on cadmium renal toxicity was investigated by the measurement of the enzyme activities in urine.

学 会 報 告

- 最近3年間(1979—1981)の岐阜県における手足口病(HFMD)の動向

三輪智恵子, 川本尋義(岐阜衛研)
松浦章雄(高山日赤病院・小児科)

第29回日本ウイルス学会総会 昭和56年10月 東京
- アデノウイルス抗体保有率の推移—岐阜県(1960—1980)

渡辺 実, 野田伸司, 山田不二造(岐阜衛研)

第55回日本感染症学会総会 昭和56年4月 大阪
- マダロにおける腸炎ピブリオの消長について

所 光男, 後藤喜一, 渡辺 実, 山田不二造(岐阜衛研)

河瀬 操(岐阜県可茂保健所)

第15回腸炎ピブリオ・シンポジウム 昭和56年12月 大阪府
- N-(2-aminoethyl)- γ -aminopropyltrimethoxysilane処理シリカゲルカラムを用いる芳香族アミンの高速液体クロマトグラフィー

岡本光美, 山田不二造(岐阜衛研)

日本薬学会第101年会 昭和56年4月 熊本市
- グリセリルグアヤコールエーテルのガスクロマトグラフィーによる定量

小林恵子, 河合 聡(岐阜薬大)
岡本光美(岐阜衛研)

日本薬学会第101年会 昭和56年4月 熊本市
- 高速液体クロマトグラフィーによる微量有害物質の測定に関する研究

岡本光美(岐阜衛研)

日本薬学会東海支部昭和56年度大会 昭和56年6月 岐阜市
- 3-Aminopropyltriethoxysilane 処理シリカゲルカラム および市販 NH₂ カラムによるワイン中アセトアルデヒドルチジン誘導体の高速液体クロマトグラフィー

岡本光美, 大塚公人, 日比 誠, 杉谷 哲, 山田不二造(岐阜衛研)

第27回東海公衆衛生学会 昭和56年6月 名古屋市
- 高速液体クロマトグラフィーによる 3-aminopropyltriethoxysilane 処理シリカゲル上の芳香族アミンの分離挙動

岡本光美, 今井準三, 日比 誠, 山田不二造(岐阜衛研)

第40回日本公衆衛生学会 昭和56年10月 名古屋市
- 魚網を用いた接触曝気法の有機物除去特性

南部敏博, 山田不二造(岐阜衛研)
金子光美(国立公衆衛生院)

第16回水質汚濁学会 昭和57年3月 東京
- 高速液体クロマトグラフィーによる魚肉中ナリジクスの定量

春日洋二, 大塚公人, 杉谷 哲, 山田不二造(岐阜衛研)

第41回日本食品衛生学会 昭和56年5月 横浜市
- 高速液体クロマトグラフィーによる魚肉中オキシリン酸及びナリジクスの同時定量

春日洋二, 杉谷 哲, 山田不二造(岐阜衛研)

第42回日本食品衛生学会 昭和56年11月 大阪府
- 高速液体クロマトグラフィーによる魚肉中ニフルピリノールの定量

大塚公人, 堀部京子, 杉谷 哲, 山田不二造(岐阜衛研)

第27回東海公衆衛生学会 昭和56年6月 愛知県
- カドミウム毒性に対する亜鉛の抑制作用について

渡辺 豊, 野々村文雄, 棚橋宣康, 杉谷 哲(岐阜衛研)

第8回環境汚染物質とそのトキシコロジー・シンポジウム 昭和56年10月 仙台市

岐阜県衛生研究所報投稿規定

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

○研究（調査）報告	（原稿用紙20枚以内）
○資料	（ 〃 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「表1., Table 3.」などの番号と表題を明瞭に書く。
図（写真を含む）は、他の方法で表わし難いもののみとし、1報につき5図以内とする。1図1枚とし、そのまま製版できるように墨書（黒インキでもよい）する。図の下に「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原則として表、図共に英文とし、標題は前置詞、接続詞、冠詞以外イニシアルを大文字にし、他は小文字とする。
11. 図表および写真は、本文とは別にして本文中挿入すべき場所の欄外に赤色でその位置を明示する。
12. 文献は本文中引用個所右肩に小さく番号^(1,2)のように片括弧をつける）をし、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, 今 井 準 三, 梶 川 正 勝
川 本 尋 義, 春 日 洋 二, 渡 辺 豊

岐 阜 県 衛 生 研 究 所 報 No.27
昭 和 5 7 年 1 1 月
Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health No.27
1 9 8 2

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 〒500
TEL<0582> 46-1 1 0 1
Editorial Gifu Prefectural Institute
Office of Public Health :
6-3, Noishiki 4 chome,
Gifu 500, Japan

印刷所 水野印刷紙工株式会社
岐阜市下川手413〒500☎<0582>71-6248
