

q 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 8 号

昭 和 5 8 年

Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health

No. 28

1 9 8 3

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>

- 昭和56年岐阜県におけるヘルパンギーナの流行について…………… 1
柏餅および笹餅における銅汚染調査…………… 7

<資 料>

- 原因食品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…………… 11
TCBS 培地からの分離株の鑑別…………… 14
1982年に食中毒, 散発下痢症患者及び健康者から分離された *Salmonella* と推定
される6菌株の同定…………… 17
岐阜県における献血者の梅毒血清反応成績 第5報 昭和55~56年の成績…………… 21
恵那郡福岡町の湧水中ラドン含量…………… 25
アスピリン中に存在するサリチル酸の簡易試験法…………… 30
3 Aminopropyltriethoxysilane 処理薄層クロマトグラフィー用プレートの評
価, 衣類中の遊離ホルムアルデヒド分析への応用…………… 34

<短 報、速 報>

- 高速液体クロマトグラフィーによる殺鼠剤中ワルファリン分析…………… 38
実験排水中フェノール類の有機溶媒による抽出除去…………… 40

<他 誌 掲 載 論 文>…………… 42

<学 会 報 告>…………… 47

題字 岐阜県知事 上 松 陽 助

CONTENTS

(ORIGINAL ARTICLE)

Epidemic of Herpangina in Gifu Prefecture in 1981	1
Copper Contents in Kashiwa-mochi and Sasa-mochi	7

(REPORT)

Detection of Kanagawa Phenomenon Positive <i>Vibrio parahaemolyticus</i> from Cauative Food in an Outbreak of Food Poisoning.....	11
Differentiation of Isolates from TCBS Plate Media	14
Identification of Salmonella Isolated from Food Poisoning, Sporadic Cases and Healthy Carriers in Gifu Prefecture in 1982.....	17
Serological Investigation of Syphilis for Blood Donors in Gifu Red Cross Blood Center, 1980-1981.....	21
Radon Contents Spring-Waters in Fukuoka T. Tono Area.....	25
A Simple Screening for the Detection of Salicylic Acid in Official Aspirin	30
Evaluation of 3-Aminopropyltriethoxysilane Treated Thin Layer Chromatographic Plates. Application to Free Formaldehyde Analysis in Commercial Clothes	34

(SHORT COMMUNITCATION)

High Performance Liquid Chrometographic Determination of Warfarin	38
Solvents Extract of Phenols in Laboratory Waste-Water	40
<i>Papers and Abstracts in Other Publicatons</i>	42
<i>Presented Themes at Conferences and society Meetings</i>	47

岐阜衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.昭和56年岐阜県におけるヘルパンギーナの
流行について

三輪 智恵子*, 川本 尋 義*, 加藤 樹 夫*

Epidemic of Herpangina in Gifu Prefecture in 1981.

Chieko MIWA, Hiroyoshi KAWAMOTO, Mikio KATO.

Summary

1. Epidemic of herpangina occurred in Gifu Prefecture from July to November in 1981. Cases involved ranged from 0 to 15 years of age, and 86% of them were under 4 years old.
2. The viruses isolated from patients with herpangina were classified into five sero-type groups as follows, eg. Coxsackievirus A group type 5, type 6, type 10, Coxsackievirus B group type 2 and echovirus type 11, however, Coxsackievirus A group type 10 was isolated in the most highest frequency and from the most widest district.
3. Viruses were isolated in relative higher rate (70.5%) and in the highest rate (100%) under one years old.
4. Various types of viruses were isolated in varied districts.
5. Virus isolation rate from specimen of patients were higher in feces than throat swabs.
6. In investigation of the causative agent of herpangina, it is necessary to used suckling mice

総 括

1. 昭和56年7月から11月にかけて、岐阜県各地域でヘルパンギーナの患者発生が認められたが、流行の最盛期は7月であった。患者は0才から15才以上に及んでいたが、4才以下の年齢が、全患者数の86%を占めていた。
2. 患者から分離されたウイルスは、コクサッキーウイルスA群5型、6型、10型、コクサッキーウイルスB群2型、エコーウイルス11型の5つの血清型であった。その中で一番多く、かつ広範囲に分離されたウイルスは、コクサッキーウイルスA群10型であった。
3. 患者からのウイルス分離率は、70.5%であったが、1才以下では100%と高い分離率を示した。
4. 分離されたウイルスの型は、地域によって相異していた。
5. 検査材料からのウイルス分離率は、咽頭ぬぐい液より糞便の方が高かった。
6. ヘルパンギーナの病原ウイルスの検索には、哺乳マウスを使用することが必要である。

序 文

昭和56年7月1日から全国的なネットワークで感染症サーベイランス事業が開始された。岐阜県でもこの事業に参加し、著者らは県内14検査定点から送付されたウイルス性疾患の検体について検査を担当した。

昭和56年7月1日から昭和57年1月2日までの岐阜

県感染症サーベイランス事業での患者情報によれば、全報告患者数は9,292件で、その中1,395件がヘルパンギーナで、報告件数の多い順から言えて第2位であった¹⁾。ヘルパンギーナの全国報告患者数は43,000件で、全国的流行と認められたが、岐阜県でもかなり流行したものと推定される。感染症サーベイランス事業

*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

で検査したウイルス性疾患の中で、ヘルパンギーナ患者の検査人数は約33.1%を占め、検体数では32.8%を占めていた。岐阜県で流行したヘルパンギーナの病原ウイルスの検索に主眼をおいたが、多少の疫学的考察を加えたのでここに報告する。

材 料 と 方 法

1. 分離材料：岐阜県感染症サーベイランス事業の検査定点から検査依頼を受けた県内各地の患者44名の咽頭ぬぐい液41件、糞便22件である。
2. ウイルス分離に使用した細胞及び動物：被検材料は HeLa 細胞及び生後24~48時間以内の哺乳マウスに接種した。ウイルスの分離方法、分離ウイルスの定量は前報と同じ方法を使用した^{2,3)}。
3. ウイルスの同定：培養細胞で分離したウイルスのうち、コクサッキーウイルス (Cox.) B-2 は、国立予防衛生研究所腸内ウイルス部より分与を受けた Schmidt pool 血清の20単位で同定した。エコーウイルス (ECHO) 11はシュミット・プール血清で同定出来なかったため、1971年当所で分離した株に対する家兔免疫血清100単位で同定した。

哺乳マウスからの分離株は、国立予防衛生研究所腸内ウイルス部より分与された抗血清を用いて中和法で同定した。一部は愛知県衛生研究所西尾博士より分与を受けた抗血清を用い、補体結合反応で同定した。

細胞培養法で Cox. B-2 が分離された被検材料には

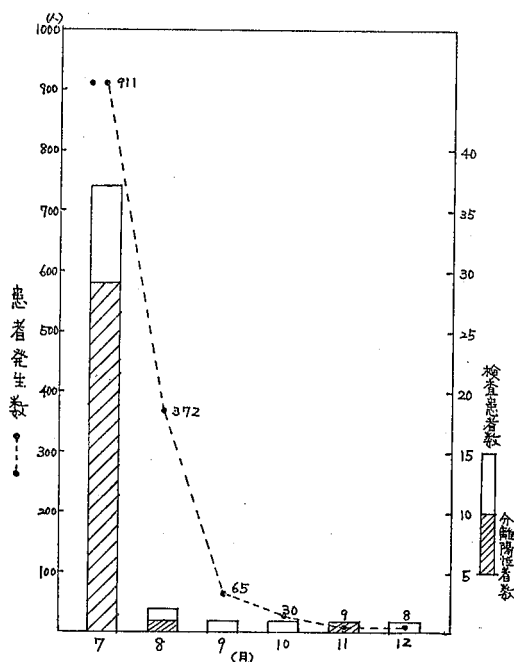


図1 月別患者発生数とウイルス分離との関係

Cox. B-2 の抗血清1,000単位を加え中和後、哺乳マウスに接種し、マウスでの病原性の有無を確認した。

成 績

1. ヘルパンギーナの患者発生状況：岐阜県感染症サーベイランス情報によれば、図1に示したように、7月から12月までに1,395名の患者が発生した¹⁾。流行のピークは7月で911名の患者発生があり、この月だけで、全ヘルパンギーナ患者数の65%を占めた。8月には半分以下に減少し、9月には7月の十分の一以下と激減し、その後は月を追うごとに減少した。これ等患者の年齢分布は図2に示すように0才から15才以上に及んでいたが、4才以下の年齢が、全患者数の86%を占めていた。
2. 検体採取月別ウイルス分離状況：表1に示すように、7月のヘルパンギーナ患者検体数は全検体数の約84.1%であった。7月に分離されたウイルスの分離率は78.4%で、Cox. A-10は19名の患者より分離された。Cox. A-6は2名より、Cox. B-2は8名より、ECHO-11は2名より分離された。8月にはCox. A-5が1名より分離された。9月、10月はウイルスは分離されず、11月再びCox. A-10が1名より分離された。
3. 患者年齢別ウイルス分離状況：表2に示すよう

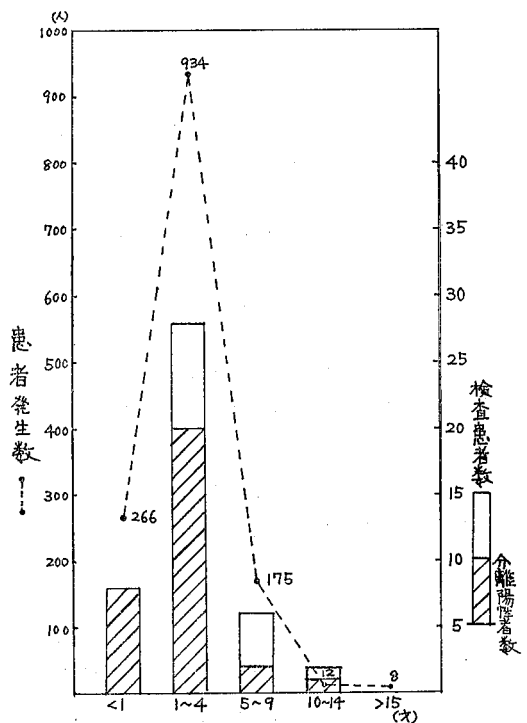


図2 年齢別患者発生数とウイルス分離との関係

表1 検体採取月別ウイルス分離状況

検体採取月	被検者数	ウイルス分離患者数	ウイルス分離率(%)	分離ウイルス型						
				Cox.A-5	Cox.A-6	Cox.A-10	Cox.A-6+Cox.B-2	Cox.A-10+Cox.B-2	Cox.B-2	ECHO-11
7月	37	19	78.4		1	18	1	1	6	2
8月	2	1	50.0	1						
9月	1	0	0.0							
10月	2	0	0.0							
11月	1	1	100.0			1				
12月	1	0	0.0							
計	44	31	70.5	1	1	19	1	1	6	2

Cox. A-5: コクサッキーウイルスA5型
 Cox. A-6: A6型
 Cox. A-10: A10型
 Cox. B-2: B2型
 ECHO-11: エコーウイルス 11型

表2 年令別ウイルス分離状況

年令(才)	被検者数	ウイルス分離患者数	ウイルス分離率(%)	分離ウイルス型						
				Cox.A-5	Cox.A-6	Cox.A-10	Cox.A-6+Cox.B-2	Cox.A-10+Cox.B-2	Cox.B-2	ECHO-11
0	8	8	100.0	1		4			2	1
1	8	8	100.0		1	6		1		
2	9	5	55.6			3			2	
3	4	2	50.0			1			1	
4	7	5	71.4			4	1			
5~9	6	2	33.3			1				1
10~13	2	1	50.0						1	
計	44	31	70.5	1	1	19	1	1	6	2

表3 地区別ウイルス分離状況

地区	被検者数	ウイルス分離患者数	ウイルス分離率(%)	分離ウイルス型						
				Cox.A-5	Cox.A-6	Cox.A-10	Cox.A-6+Cox.B-2	Cox.A-10+Cox.B-2	Cox.B-2	ECHO-11
岐阜	10	7	70.0			6			1	
西濃	13	10	76.9		1	5	1	1	1	1
中濃	9	5	55.6			4				1
東濃	5	5	100.0			4			1	
飛騨	7	4	57.1	1					3	
計	44	31	70.5	1	1	19	1	1	6	2

に、全体としてはウイルス分離率は、70.5%であった。0才と1才ではウイルス分離率は100%で、2才では55.6%、3才では50%のように、2才以上では約53.6%の分離率であった。

0才では4つのウイルス型が分離され、1才では3つのウイルス型が分離された。2才から9才まで

は、1症例を除き2つのウイルス型が分離された。10~13才では1つのウイルス型のみが分離された。1才と4才の患者でCox. A-6とCox. B-2及びCox. A-10とCox. B-2の混合感染が認められた。分離されたウイルス型の中では、Cox. A-10は0才から4才までの各年令と、6才の年令の19名の患者

表 4 検査材料別ウイルス分離状況

被 検 材 料	被 検 材料数	ウイ ルス 分 離 数	ウイ ルス 分 離 率 (%)	分 離 ウ イ ル ス 型						
				Cox.A-5	Cox.A-6	Cox.A-10	Cox.A-6 +Cox.B-2	Cox.A-10 +Cox.B-2	Cox.B-2	ECHO-11
Th. Sw.	41	25	61.0	1	2	14	0	0	6	2
F.	22	18	81.8	1	1	10	1	1	3	1
計	63	43	68.3	2	3	24	1	1	9	3

Th. Sw : 咽頭ぬぐい液
F. : 糞便

表 5 分離方法と分離ウイルスとの関係

分離方法	被検材料	検 査 数	ウイルス分離 数と分離率 (%)	分 離 ウ イ ル ス				
				Cox.A-5	Cox.A-6	Cox.A-10	Cox.B-2	ECHO-11
HeLa	Th. Sw.	41	8(19.5)				6	2
	F.	22	6(27.3)				5	1
S. M	Th. Sw.	41	17(41.5)	1	2	14		
	F.	22	14(63.6)	1	2	11		

HeLa : HeLa 細胞
S. M. : 哺乳マウス
Th. Sw. : 咽頭ぬぐい液
F. : 糞便

より広く分離され、Cox. B-2は0才から4才までと11才の患者8名より分離された。

4. 地区別ウイルス分離状況：岐阜県感染症サーベイランス情報〔年報〕の地区区分に従って、岐阜県内を岐阜、西濃、中濃、東濃、飛騨の5地区に分けて、ウイルスの分離状況を示したのが表3である。表3に示されるように、岐阜地区では、Cox. A-10とCox. B-2の2つのウイルス型、西濃地区では、Cox. A-6, Cox. A-10, Cox. B-2とECHO-11の4つのウイルス型、中濃地区では、Cox. A-10とECHO-11の2つのウイルス型、東濃地区では、Cox. A-10とCox. B-2の2つのウイルス型、飛騨地区では、Cox. A-5とCox. B-2の2つのウイルス型が分離された。Cox. A-5は飛騨地区でのみ分離されたし、Cox. A-6は西濃地区でのみ分離された。しかしながら、Cox. A-10は飛騨地区を除いた全県下から分離され、このウイルスが広く流行していたことを示している。Cox. B-2は中濃を除く全地区より分離され、ECHO-11は西濃と中濃に限って分離された。
5. 患者材料別ウイルス分離状況：患者44名の咽頭ぬぐい液41件、糞便22件についてウイルス分離を実施

した。表4に示したように、咽頭ぬぐい液よりも糞便の方が約20%高い分離率を示した。2種類の検査材料から分離されたウイルス型は、Cox. A-5, Cox. A-6, Cox. A-10, Cox. B-2, ECHO-11の5種類であった。糞便からは、Cox. A-6とCox. B-2, Cox. A-10とCox. B-2の混合分離が認められたが、咽頭ぬぐい液からは混合分離は認められなかった。

6. 分離方法と分離ウイルスとの関係：著者らは、ウイルス分離に細胞培養法(HeLa細胞)と哺乳マウスを併用した。二つの方法でウイルス分離率に差が認められ、哺乳マウスを用いてのウイルス分離率はHeLa細胞での分離率より2倍以上高率であった。また分離されるウイルス型も分離方法により異なっており、HeLa細胞では、Cox. B-2とECHO-11のみが分離されたが、哺乳マウスではCox. A-5, Cox. A-6, Cox. A-10が分離され、Cox. B-2は分離されなかった。

考 察

ヘルパンギーナの病原ウイルスとしては、Cox. A (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10と22)の9つのウイルス

が一般に認められているが、その他に Cox. A-7, 9, Cox. B-1, 2, 3, 4, 5 と ECHO-9, 16, 17が散発的にヘルパンギーナより分離されていると Wenner は報告している。昭和56年夏季にヘルパンギーナの全国的流行があり、ヘルパンギーナの患者検体より Cox. A-2, 5, 6, 10が多く分離されたが、その他に Cox. A-16, Cox. B 群, アデノウイルス, ヘルペスウイルスも分離されている。⁵⁾

著者らは、昭和56年岐阜県で流行したヘルパンギーナより5種類のウイルスを分離した。3種類は Cox. A 群ウイルスであり、他は Cox. B-2 と ECHO-11であった。この中で一番多く分離されたのは Cox. A-10 で、患者の45.5%より分離された。Cox. A-6 は4.5%, Cox. A-5 は2.3%の患者より分離された。ヘルパンギーナの病原ウイルスを Cox. A群ウイルスのみに限れば、患者からのウイルス分離率は、44名中23名(52.3%)となる。佐藤等はヘルパンギーナではウイルス分離率は約40%であったことを報告し、石原等^{7,8,9,10)}の1978—1981年の4年間のヘルパンギーナからの Cox. A群1~10の分離率は、最高47.9%で、著者等の分離率はそれ等と比較して少し高い値を示している。

ヘルパンギーナからの分離ウイルス型については、石原等^{7,8,9,10)}は Cox. A 群ウイルスのみで、1年間に1地区調査で3種類、2~3地区では4種類のウイルス型を分離したことを報告している。

著者等も、表3で示したように、Cox. A-10 は県内4地区より分離されたが、Cox. A-6 と Cox. A-5 は限られた1地区のみにより分離された。このことは、臨床的には同一症状を示すヘルパンギーナと言う疾患が、同一時期に流行したとしても、異なる病原ウイルスによっておこる場合もあることを裏付けている。

年令別ウイルス分離状況では、分離されたウイルスをすべて病原ウイルスとみなして表にすれば、表2のようになるが、Cox. A 群のみに限れば、0才62.5%, 1才100%, 2才33.3%, 3才25%, 4才71.4%, 5-9才16.7%, 10-13才0%となり、1才が一番高い分離率となる。

材料別ウイルス分離状況も、Cox. A 群のみに限れば、咽頭ぬぐい液(41.5%), ふん便(63.6%)となり、ふん便は咽頭ぬぐい液の1.5倍高い分離率となる。このことからヘルパンギーナの場合には、咽頭ぬぐい液とふん便の検査を併用することにより、より高いウイルス分離率が得られるであろう。

分離方法の検討に関しては、今更言うまでもないが、組織培養法のみでは病原ウイルスを確認すること

は出来ないし、分離率も哺乳マウスを使用することにより、約2倍に高めうることが確認された。

上述の如く、Cox. A 群ウイルスをヘルパンギーナの病原ウイルスとみなして論じて来たが、その他に昭和56年7月から12月までに全国でヘルパンギーナ患者から分離されたウイルスは、Cox. A-16, Cox. B-2~5, アデノウイルス1~5, ヘルペスウイルス等合計43件が報告されている。これはヘルパンギーナ全報告ウイルス数の19.6%を占めている。¹¹⁾ 栄等はエコー6型ウイルスによるヘルパンギーナの発生を報告している。著者等も、Cox. A 群以外に、Cox. B-2 と ECHO-11を44名中10名(22.7%)より分離した。その中2名は、抗 Cox. B-2 血清の1,000単位を検体に加え中和し、その中和後の材料を哺乳マウスに接種して、Cox. A-6 と Cox. A-10 を分離した。しかし、Cox. B-2 の分離された他の6件と、ECHO-11 が分離された2件の材料からは、それ以外のウイルスは分離されなかった。岐阜県では、無菌性髄膜炎及び健康者から、Cox. B-2 と ECHO-11 を昭和56年に分離しているので、これ等2つのウイルスは、ヘルパンギーナ流行と同時期に広く流行のあったことを示し、ヘルパンギーナの病原ウイルスとしては無関係かも知れないが、今後検討すべき問題であると考えられる。

この調査研究は岐阜県感染症サーベイランス事業から更に展開され実施された。

文 献

- 1) 岐阜県衛生部：岐阜県感染症サーベイランス情報〔年報〕(昭和56年7月~12月), 1982
- 2) 三輪智恵子, 川本尋義, 吉沢邦重, 松浦章雄：昭和48年岐阜県(2地区)の小児科患者からのエンテロウイルス分離成績, 岐衛研所報, 19, 1-6, 1974
- 3) 三輪智恵子, 野田伸司, 松浦章雄, 吉沢邦重：昭和50年岐阜県(2地区)の小児科患者からのエンテロウイルス分離成績, 岐衛研所報, 21, 1-5, 1976
- 4) Wenner, H. A: Virus Diseases Associated with Cutaneous Eruptions, Progr. med. Virol., 16, 269-336, 1973
- 5) 微生物検査情報システム化に関する研究班：病原微生物検出情報月報, 33, 1-20, 1982
- 6) 佐藤宏康, 高山和子, 原田誠三郎, 後藤良一, 森田盛大：秋田県に侵襲した Cox. A 群ウイルスについて—Herpangina を中心として—, 秋田県衛生科学研究所報, 26, 57-60, 1982
- 7) 石原純子, 板垣朝夫, 持田恭, 伊藤義広, 西野泰生, 福岡マツ子, 渡辺毅敏：1978年おける松江市を中心とした腸内ウイルス感染症について, 島根衛公

- 研所報, 20, 35-39, 1978
- 8) 石原純子, 板垣朝夫, 持田恭, 伊藤義広, 西野泰生, 福間マツ子, 渡辺毅敏, 飯塚雄哉, 清野一雄, 基常日出明: 1979年における松江市を中心とした腸内ウイルス感染症について, 島根衛公研所報, 21, 38-44, 1979
- 9) 石原純子, 板垣朝夫, 持田恭, 伊藤義広, 齊藤孝一, 西野泰生, 福間マツ子, 渡辺毅敏, 飯塚雄哉, 清野一雄, 基常日出明, 小池茂之: 1980年における松江市を中心とした腸内ウイルス感染症について, 島根衛公研所報, 22, 36-42, 1980
- 10) 石原純子, 板垣朝夫, 持田恭, 伊藤義広, 齊藤孝一, 西野泰生, 福間マツ子, 飯塚雄哉, 清野一雄, 基常日出明, 小池茂之: 1981年における松江市を中心とした腸内ウイルス感染症について, 島根衛公研所報, 23, 42-50, 1981
- 11) 柴賢司, 西尾治, 石原佑弐, 井上裕正, 志水哲也: エコー6型ウイルスによるヘルパンギーナの小学生集団発生, 臨床とウイルス, 9, 343-347, 1981

岐阜衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

柏餅および笹餅における銅汚染調査

大江 章夫*, 杉谷 哲*, 山田 不二造*

Copper Contents in Kashiwa-mochi and Sasa-mochi

Akio OHE, Akira SUGITANI, and Fujizo YAMADA

An investigation of copper contents in the Kashiwa-mochi (a rice cake wrapped in an oak leaf) and Sasa-mochi (a rice cake wrapped in a bamboo leaf) was performed. The results obtained were as follows.

- 1) Some of the leaves being in use for the cakes were bright green and contained very high copper (279-1, 230 ppm) being about 100 times as high as that in the normal leaves.
- 2) No significant difference in the copper content was found between 2 groups, one group having low copper contents (3.12-4.57 ppm) in the leaves of Kashiwa-mochi and the other group having high copper contents (279-1, 230 ppm) in them.
- 3) Sixty three per cent of the copper in the leaf (Cu: 279 ppm) of Kashiwa-mochi was extracted in 4% acetic acid and 6 to 7 per cent of that in the nonglutinous rice flour suspensions.
- 4) A copper-chlorophyll was extracted from the leaves of Kashiwa-mochi and sasa-mochi having high copper contents and a fact that these leaves were colored by copper ion was found.

柏餅と笹餅の銅汚染調査を実施し、次の結果を得た。

- 1) 柏餅および笹餅の葉には綺麗な緑色をした、非常に高い銅含量 (279~1,230ppm) のものがみられた。この銅は通常の葉の含量の約100倍高濃度であった。
- 2) 銅含量の高い (279~1,230ppm) 葉で作られた柏餅も低い (3.12~4.57ppm) 葉で作られた柏餅も、その餅の部分に関しては含まれる銅含量に差はなかった。
- 3) 柏葉を用いた銅の溶出モデルによると、高含量の葉 (279ppm) において4%酢酸溶液では葉の銅の63%が溶出し、上新粉懸濁液でも6~7%溶出した。
- 3) 高い銅含量の柏葉および笹葉からは、いずれも銅クロロフィルが抽出され、銅イオンによる葉の着色が認められた。

はじめに

食品衛生法では銅製の器具は固有の光沢を有し、さびの生じないものは使用してよいことになっているが、銅製器具の食品製造工程における使用状態によっては食品への銅汚染が危惧される。そこで著者らは広範囲の加工食品について銅含量を調査したところ、柏餅と笹餅の葉のなかには、異常に鮮明な緑色をした高

い含量のものがみられ、この葉に含まれる銅が餅に移行することが懸念された。そこで今回は柏餅と笹餅について銅の葉から餅への移行と葉の高含量の原因について検討したのでその結果を報告する。

試料および試験方法

1. 試料

試料は岐阜市内およびその近辺の食料品店より入手

*岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

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

した柏餅と柏餅。

2. 試験方法

1) 柏餅、笹餅の餅と葉における銅の定量

試料は、一個分の餅と葉を別々に硝酸30~40ml, 硫酸10mlを加え湿式分解後、水を加えて全量を100mlとした。その一定量を取り常法に従って DDTC-MIBK抽出後、原子吸光分析を行った。

2) 浸出溶液による柏葉からの銅の溶出

柏葉を2cm²の大きさに切り、試験管に入れた。この試験管に葉の表面積1cm²あたり2mlに相当する浸出溶液8mlを入れ、60°C水浴で30分間浸漬し、ときどき攪拌した。その浸出溶液が水および4%酢酸の場合は直接、上新粉(だんご粉)懸濁液の場合は硝酸で分解後、原子吸光分析を行った。その方法を Scheme 1 に示した。

3) 柏葉および笹葉中の銅クロロフィル等の抽出

1枚の柏葉および笹葉に水少量を加えて乳パチでよく摩砕し、常法の系統的分離法で銅クロロフィル、クロロフィル、フェオヒチンおよび銅クロロフィリンナトリウムを抽出した。

4)

銅クロロフィリンナトリウムは半井化学薬品(株)製超特級、クロロフィルは東京化成工業(株)製を用いた。その他の試薬はすべて精密分析用を用いた。

5) 測定機器

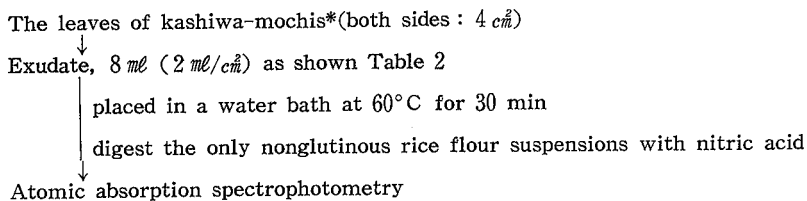
原子吸光分析計：日立 308 型

分光光度計：日立 200-20 型

結 果

1. 柏餅、笹餅の餅と葉の銅量について

餅と葉の銅含量を Table 1 に示した。検体No. 1~7の柏葉は灰白色の枯色を呈していたが、No. 7はわずかに緑色を呈していた。これらの葉の銅は3.12~14.42ppmであった。また枯色を呈した笹葉の銅は5.67ppmであった。検体No. 8~10の柏葉とNo. 11と12の笹葉は非常に鮮やかな緑色をしており、その銅は279~1230ppmで、枯色の葉に比べて約100倍含量が高かった。柏餅を葉の銅量の低い群No. 1~6(グループ1)と高い群No. 8~10(グループ2)に大別すると、1と2のグループの銅含量に有意差はみられ



Scheme 1. Copper Extraction from The leaves of Kashiwa-mochis*

* The Kashiwa-mochi is a rice cake wrapped in an oak leaf (*Quercus dentata* Thunb.) and has bean jam paste in the center portion.

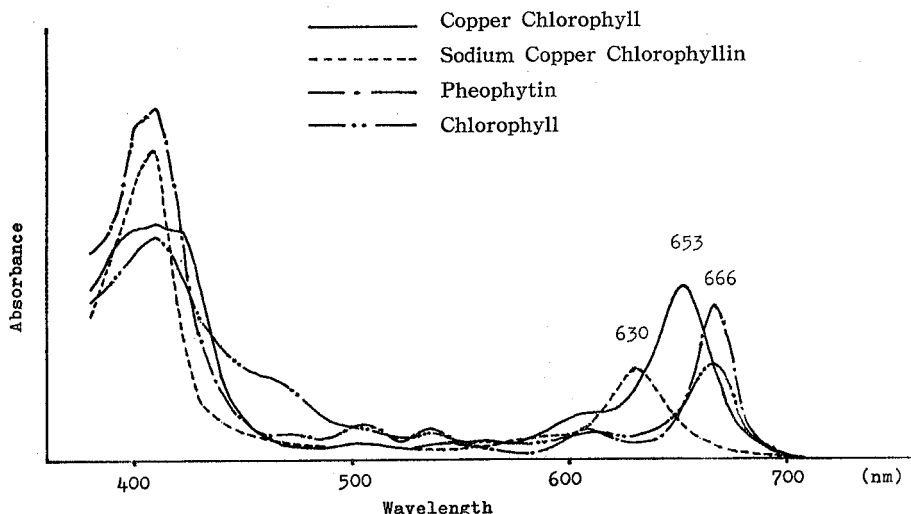


Fig. 1. Absorption Spectra of Chlorophyll and Chlorophyll derivatives

ず、この成績だけでは葉の銅が餅に移行しているか否かは、判明しなかった。

2. 浸出溶液による柏葉からの銅の溶出

柏葉の銅の溶出モデル (Scheme 1) を作製し、葉の銅が餅に移行し得るか否かを検討した。その結果を Table 2 に示した。Table 2 の浸出溶液中の銅量は

Table 1. Copper Contents in Kashiwa-mochis and Sasa-mochis*

Sample	No.	Copper content in mochi (ppm)	Copper content in leaf (ppm)
Kashiwa-mochi	1	1.21	—
	2	1.73	—
	3	1.07	—
	4	1.14	4.57
	5	0.65	3.12
	6	0.79	3.26
	7	2.55	14.42
	8	2.16	1,230
	9	0.93	279
	10	0.92	599
Sasa-mochi*	11	1.58	465
	12	2.61	595

*The sasa-mochi is a rice cake wrapped in a bamboo leaf (*Sasa paniculata* Makino et Shibata) and has bean jam paste in the center portion.

Table 2. Copper Contents in Exudates from the Leaves of Kashiwa-mochi

Exudate	Copper contents in exudates from the leaves of kashiwa-mochi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	Sample No. 4 (Copper 4.57ppm)	Sample No. 9 (Copper 279ppm)
Water	ND (<0.01)	0.02 (3%)*
4% Acetic Acid	ND	0.43 (63%)*
Nonglutinous 1% rice flour suspension		0.05 (7%)*
	2%	0.04 (6%)*
	3%	0.04 (6%)*
	4%	0.05 (7%)*
	5%	0.04 (6%)*

$$(*) * : \frac{\left[\begin{array}{c} \text{Copper content in the exudate} \\ (\mu\text{g}/\text{ml}) \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{c} \text{the volume of exudate} (8 \text{ ml}) \end{array} \right]}{\left[\begin{array}{c} \text{Copper content in the leaf} \\ (279 \mu\text{g}/\text{ml}) \end{array} \right] \times \left[\begin{array}{c} \text{the weight of leaf tested} \\ (0.02 \text{ g}) \end{array} \right]} \times 100$$

3回の溶出試験の平均値である。銅含量の低い柏葉 (4.57ppm) は、4%酢酸浸出溶液でも銅溶出量が検出限界 (0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 以下であったが、銅含量の高い柏葉 (279ppm) は、4%酢酸浸出溶液において柏葉中の銅量の63%が溶出し、上新粉懸濁液でも6~7%が溶出した。

3. 柏葉および笹葉中の銅クロロフィルの抽出

クロロフィルおよびその誘導体の吸収曲線を Fig. 1に示した。銅クロロフィル、銅クロロフィリンナトリウムには、それぞれ653nm, 630nmの吸収極大波長、フェオヒチンおよびクロロフィルには、いずれも、666nmの吸収極大波長があった。またフェオヒチン、クロロフィルは365nmの光を照射すると深赤色の蛍光を発するが、銅クロロフィルおよび銅クロロフィリンナトリウムは蛍光を発しなかった。このクロロフィルおよびその誘導体の性質を利用して、検体No. 5~7, 9~12の葉から抽出した緑色物質を判定したところ、No. 5~7からはフェオヒチンまたはクロロフィル、No. 9~12からは銅クロロフィルが検出された。

考 察

餅の中のあん²⁾の原料であるあずきの銅は、田中らによると10.03ppmと高含量であることから、餅の銅量はあん²⁾の量によって変動しやすい。Table 1の結果で葉の銅の餅への移行が判明しなかったのは、この移行量が、餅の原料に由来する銅量の変動に埋没してしまったことに起因しているものと考えられる。そこで柏葉を用いた銅の溶出モデルによって銅の移行を検討したところ、高含量の柏葉からは餅の原料である上新粉の懸濁液に葉の銅量の6~7%が溶出し、葉の銅量が高い場合にはその銅が餅に移行することが示唆された。

上新粉懸濁液の濃度を1%から5%まで変えても銅の溶出量は、ほぼ一定であることから、上新粉懸濁液の濃度を餅の濃度まで外挿しても銅の溶出量は同じであろうと推定できる。そこでその移行率を6.5%と仮定し、279ppmの柏葉の銅が餅に移行する量を算出すると、柏葉の重量が1gであり、葉の片面のみが餅に接するので、その移行量は $279(\mu\text{g}/\text{g}) \times (1\text{g}) \times \frac{1}{2} \times 0.065 = 9 \mu\text{g}$ である。この移行量は50gの餅の銅量を約0.2ppm上昇させることになる。柏葉の銅がもっと高含量 (たとえば1,230ppm) であったり、餅が酸性であったりすると、移行量は上で算出した値よりもはるかに高くなるものと推察される。

銅クロロフィルは水に不溶性であることから葉の着色剤として水に溶かして使用することができない。し

たがって柏葉および笹葉から抽出された銅クロロフィルは、着色剤として添加されたものではなく、葉の中に天然に存在するクロロフィルのマグネシウムやフェオヒチンの水素に銅イオンが置換してできたものと考えられる。

銅イオンによって葉の中の含量が高くなる場合として次の2つの事が考えられる。

- 1) 銅釜の酸性水溶液中に葉を浸して加熱処理
 - 2) 無機銅の酸性水溶液中に葉を浸して加熱処理
- 1)も2)も銅イオンによる葉の着色ではあるが、食品衛生法上の解釈は異なる。銅製の食器具は固有の光沢を有し、且つ、さびを有しないものは使用してよいことになっているが、無機銅としての硫酸銅は昭和46年に使用が禁止された。柏餅および笹餅の葉は、不可食部ではあるが食品の一部であることから食品衛生法上、1)は適法で2)は違法である。無機銅使用品と銅釜処理品は、その着色機構が同じであり、分析上から区別できず、またこれらの葉は他県より入荷されたものであることから製造所に立ち入り調査ができず、1)と2)のどちらが高含量の原因であるか判明しなかった。本報とよく似た事例として、山菜加工品の着色に銅

釜³⁾や硫酸銅が使用された山浦らの報告があり、食品加工工程において銅釜の使用の可能性を暗示している。銅釜は、その使用条件によっては食品への銅汚染が危惧され、この使用には今後とも十分な監視、指導と共に銅のこの種の形態の毒性評価が必要であると思われる。

謝 辞

本研究は、昭和55～57年度の実態調査費の一部によった。

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指導Ⅰ，検査法別，日本食品衛生協会，1973
- 2) 田中之雄，池辺克彦，田中涼一，国田信治：食品中の重金属の含有量について（第5報）植物性食品の重金属含量範囲と平均含有量，食衛誌，18，75～85，1977
- 3) 山浦由郎，前沢久，川又秀一，田中定昭：銅イオンによる山菜加工品の着色，食品衛生研究，29，868～871，1979

岐阜衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.原因食品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*, 加藤 樹 夫*, 後 藤 喜 一*, 渡 辺 実*,
山 田 不 二 造, 佐 橋 隆**, 清 水 栄 治**, 松 尾 登**,
渡 辺 靖 信**, 所 正 澄**, 高 橋 英 勝**Detction of Kanagawa Phenomenon Positive *Vibrio parahaemolyticus*
from Cauative Food in an Outbreak of Food PoisoningMitsuo TOKORO*, Mikio KATO*, Kiichi GOTO*, Minoru WATANABE*,
Fujizo YAMADA*, Takashi SAHASHI**, Eiji SHIMIZU**,
Noboru MATUO**, Yasunobu WATABE**, Masazumi TOKORO**,
Hidekatsu TAKAHASHI**

腸炎ビブリオ（以下腸ビ）食中毒では、疫学的に原因食品として推定される食品から、患者分離株と同一の血清型をもつ神奈川現象（以下KP）陽性株が分離できることが少なく、細菌学的には因果関係が解明できない場合が多い^{1,2)}。そこで、この問題を解明するために、著者らは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るとともに、推定原因食品から分離された腸ビをKP検査培地にできるだけ多く釣菌する我妻方式の分離法を食中毒検査術式に組み込んできた。その結果、1979年に拭き取り材料から、1981年に推定原因食品（卵焼き）から患者分離株と同一の血清型のKP陽性株を分離することができた^{4,5)}。

1982年8月29日岐阜県本巣郡北方町で発生した腸ビ食中毒でも、患者が実際に摂食した折詰弁当の残品から患者分離株と同一の血清型O4:K8をもつKP陽性の腸ビが分離できた。本報ではその概要を報告する。

材料および方法

1. 被検材料

患者便11件、調理従事者便5件、患者宅の冷蔵庫内に保存してあった折詰弁当の食べ残り食品5件〔えび塩焼き、えびフライ、小えび煮付け、うなぎ蒲焼き、こぶ巻〕、調理器具拭き取り材料5件〔包丁（3）、まな板（2）〕および冷蔵庫拭き取り材料3件。

2. 検査法

微生物検査必携⁶⁾に準じた。分離株の血清型別には市販（デンカ生研製）の腸ビ診断用血清を用いた。食品由来の腸ビのKP検査は我妻らの方法³⁾に従ってTCBS寒天培地上に発育した腸ビが疑われる集落をできるだけ多くKP検査培地（栄研化学製）に釣菌する方法で行った。

表1. 食中毒発生概要

発生年月日	1982年8月29日
発生場所	寺院および家庭の会食
原因施設	飲食店（料理、仕出し）
原因施設所在地	岐阜県本巣郡北方町
摂食者数	468名
患者数	366名
発病率	78.2%
推定原因食品	折詰弁当および仕出し料理
潜伏時間	13時間

成 績

1. 疫学調査

* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

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

** 岐阜県大野保健所：501-05 揖斐郡大野町黒野塚廻り191

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

1982年8月29日に岐阜県本巣郡北方町のE寺で観音堂落慶式が行われ、昼食として提供された折詰弁当を摂食した出席者およびその家族361名のうち、277名が8月29日の夕方から30日にかけて下痢、腹痛を主徴とする食中毒症状を呈した。患者の摂食調査を行ったところ、共通摂食食品は本巣郡北方町の飲食店Sが調製した折詰弁当だけであった。飲食店Sは8月29日にはE寺用の折詰弁当の他に、仕出し料理47人分を調製しており、これを3グループに提供していた。疫学調査の結果、仕出し料理を摂食した3グループ107名のうち、89名が8月29日から30日にかけて食中毒症状を呈しており、患者の共通食品は飲食店Sが調製した仕出し料理以外には認められなかった。

表2に示したように、飲食店Sが8月29日に調製した折詰弁当および仕出し料理は327名分であったが、これらの料理の一部は家に持ち帰られており、家族も摂食していた。従って、摂食者数は468名に増えている。

表2. 仕出し先別摂食状況

仕出し先	仕出し数	摂食者数	患者数	発病率 (%)
寺院	280	361	277	76.7
A宅	19	52	47	90.4
B宅	18	32	25	78.1
C宅	10	23	17	73.9
計	327	468	366	78.2

各グループはそれぞれ摂食した献立を異にしていたが発病率はいずれも高く73.9~90.4%に及んだ。

患者の症状は表3に示すとおりであるが、腸ビ食中毒としては発熱が25.4%と少ないのが特徴的であった。

表3. 臨床症状

症状	下痢	腹痛	脱力感	臥床	悪感	嘔気	嘔吐	頭痛	戦慄	発熱
患者数	66	59	59	54	51	49	48	22	21	17
%	98.5	88.0	88.0	80.6	76.1	73.1	71.6	32.8	31.3	25.4

2. 細菌学的検査

表4に示したように、折詰弁当を摂食し食中毒症状を呈した患者便8件、患者食べ残し食品(折詰弁当)5件、調理器具拭き取り材料2件および冷蔵庫拭き取り材料1件から腸ビが分離された平板上の集落のうち患者便については1検体につき5個を、食品および拭き取り材料については可能なかぎり多くを釣菌し、KP検査を行い、KP陽性株については血清型別を行った。表5に示したように、患者8名から分離された腸

ビ40株はすべてKP陽性であり、血清型はO4:K8であった。一方、患者食べ残し食品の小えび煮付けから分離された腸ビ44株のうち5株はKPが陽性であり、血清型も患者由来株と同一のO4:K8であった。しかしながら、小えび煮付け以外の食品および拭き取り材料から分離された腸ビはすべてKP陰性であった。

表4. 腸炎ビブリオ検出状況

検体	検体数	陽性数
患者数	11	8
調理従事者便	5	0
食べ残し食品(折詰弁当)	5	5
調理器具拭き取り	5	2
冷蔵庫拭き取り	3	1

表5. 由来別腸炎ビブリオの神奈川現象と血清型

検体	供試菌株数	神奈川現象陽性菌株数 (%)	神奈川現象陽性株の血清型 O4:K8
患者便	40	40(100)	40
小えび煮付け	44	5(11.5)	5
その他の食べ残し食品	68	0	0
調理器具拭き取り	21	0	0
冷蔵庫拭き取り	12	0	0

考 察

今回の事例で疫学的に注目されるのは持ち帰りの折詰弁当および仕出し料理の一品か二品のみを摂食した家族も発病している点と、各グループとも発病率が高かった点である。このことは、飲食店Sが8月29日に調製した折詰弁当、仕出し料理は腸ビによって全体汚染されていたことを示唆している。

推定原因食品が生魚介類(にぎり寿司なども含む)の腸ビ食中毒の場合、原因食品を入手することは非常に難しく、原因施設の拭き取り材料や検査当日の参考食品などが検体として搬入されることが多い。これに対して、前報の事例も本事例も推定原因食品は生ものに比べ比較的保存されることが多い弁当類であった。このことはKP陽性株を分離することができた一つの要因として注目される。

本事例の折詰弁当の残品は患者宅の冷蔵庫に保存されていたが、花岡らも冷蔵保存されていた原因食品からはKP陽性株が比較的高頻度で分離できたと報告している。これは冷蔵保存が食品の細菌叢を摂食時の状態に保持するのに役立つためと推測される。

原因食品からKP陽性株を分離するために食品から

分離された腸ビをKP検査培地にできるだけ多く釣菌する我妻方式の分離法の有用性は花岡⁷⁾らも指摘しているが、前報および本事例の著者らの結果からも我妻方式の分離法の有用性は再認識されたといえる。

謝 辞

本研究には昭和57年度本県調査研究費の一部を使用した。

文 献

- 1) 三輪谷俊夫, 竹田美文: 腸炎ビブリオ感染症, 総合臨床, **23**, 1716-1720, 1974
- 2) 藤野恒三郎: 腸炎ビブリオに関する最近の知見, 食衛誌, **18**, 131-141, 1977
- 3) 我妻正三郎, 丹治和子, 湯田和郎, 白取剛彦, 今野二郎: 生カキによる腸炎ビブリオ食中毒の発生とその汚染源の追究, メデイヤ・サークル, **16**, 168-170, 1971
- 4) 所 光男, 後藤喜一, 山田不二造, 河瀬 操, 佐橋 隆, 清水栄治: 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, 岐衛研所報, **25**, 1-5, 1980
- 5) 所 光男, 加藤樹夫, 後藤喜一, 渡辺 実, 山田不二造, 上田 宏, 大橋富男, 奥村直尊, 大平恵美子, 林 峯雄, 上田茂, 臼井宗一, 伊藤 保, 栗田元徳: 卵焼きによる腸炎ビブリオ食中毒事例について, 食品衛生研究, **32**, 947-954, 1982
- 6) 柳沢 謙: 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
- 7) 花岡正季, 岡田陽一, 宮本三郎: 食中毒関連食品からの神奈川現象陽性株の検出, メデイヤ・サークル, **26**, 205-216, 1981

岐阜衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

TCBS 培地からの分離株の鑑別

加藤 樹夫*, 所 光 男*, 後 藤 喜 一*, 渡 辺 実*,
山 田 不 二 造*, 長 山 千 秋**, 大 洞 剛***, 渡 辺 隆 広***,
河 瀬 操***, 酒 向 俊 雄****

Differentiation of Isolates from TCBS Plate Media

Mikio KATO*, Mitsuo TOKORO*, Kiichi GOTO*, Minoru WATANABE*,
Fujizo YAMADA*, Chiaki NAGAYAMA**, Tsuyoshi OHBORA***,
Takahiro WATANABE***, Misao KAWASE***, Toshio SAKOH****

腸炎ビブリオ（以下腸ビ）は、我が国の細菌性食中毒発生事例のうち病因物質判明事例の過半数を占め、また夏季に発生する散发下痢症の原因菌として極めて重要である。

岐阜県においては、昭和55年度から腸ビ食中毒対策基礎調査事業により、腸ビによる食中毒発生の機序を知る目的で、魚介類販売業施設における海産魚介類について腸ビ、*V. alginolyticus*（以下 *Algino*）の実態調査を行っている。腸ビの分離には、まず TCBS 培地上の集落を肉眼観察することによって、腸ビ、*Algino* と推定する方法が行われている。

一般に、腸ビによって汚染されている生鮮魚介類の検体には、腸ビよりはるかに多数の海水由来の *Vibrio* 属、すなわち *Algino*, *V. anguillarum* 類似菌などが混在している場合が多い。これらの菌種は、TCBS 培地による腸ビの検出をしばしば困難にさせることが経験される。

そこで、TCBS 培地上の集落を肉眼的に観察することによって、腸ビ、*Algino* と推定する方法が魚介類における腸ビ検出法として適切かどうかを知るために、TCBS 培地により腸ビ及び *Algino* と推定された菌株について、簡易同定を行った。その結果、若干の知見を得たので報告する。

材料及び方法

1. 供試材料

昭和57年度岐阜県腸ビ食中毒対策基礎調査事業による海産魚介類腸ビ汚染定期調査及び県内発生腸ビ食中毒検査について、TCBS 培地で集落を観察することにより腸ビと推定された菌株38株、*Algino* と推定された菌株86株を用いた。

2. 実験方法

供試菌株を3% NaCl 加 TSI 寒天（栄研化学）、3% NaCl 加 LIM 培地（日本製薬）に接種すると同時に無塩ペプトン水、7%及び10% NaCl 加ペプトン水での発育、Voges-Proskauer 試験（以下 V. P.）、Methyl red 試験（以下 M. R.）、アラビノース、乳糖、白糖、マンニットの分解能を調べた。なおチトクローム・オキシダーゼ試験は、チトクローム・オキシダーゼ試験用ろ紙（日本製薬）、インドール産生試験（以下インドール）は、Kovács の方法で行った。

成 績

TCBS 培地上の集落について、肉眼観察により腸ビと推定された38菌株は、同定の結果、腸ビ35株（92.1%）、その他3株（7.9%）であった。また *Algino* と

* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

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

** 岐阜県伊奈波保健所：500 岐阜市司町1番地

** Gifu Prefectural Inaba Health Center：1, Tsukasamachi, Gifu 500, Japan

*** 岐阜県可茂保健所：505 美濃加茂市古井町下古井字大脇2610の1

*** Gifu Prefectural Kamo Health Center：2610-1 Furui, Minokamo 505, Japan

**** 岐阜県関保健所：501-37 美濃市生櫛1612の2

**** Gifu Prefectural Seki Health Center：1612-2, Ikushi, Mino 501-37, Japan

推定された菌株86株は、同定の結果、Algino 39株 (45.3%)、腸ビ1株 (1.2%)、その他46株 (53.5%)であった。

表1. TCBS 培地から分離された菌株の鑑別

TCBS 培地による推定菌種	菌株数	腸炎ビブリオ	V.alginolyticus	その他のビブリオ
腸炎ビブリオ	38	35 (92.1%)	0 (0%)	3 (7.9%)
V.alginolyticus	86	1 (1.2%)	39 (45.3%)	46 (53.5%)

Algino と同定された39株のうち、白糖分解能陽性にもかかわらず、3% NaCl 加 TSI 寒天、18~24時間培養で -/A の性状及び A/A とは判別し難い性状を示した株が、13株 (13/39, 33.3%) あった。

腸ビと推定された38株のうち、同定の結果腸ビが否定された3株は、マンニト非分解性であった。また、Algino と推定された86株のうち、同定の結果 Algino が否定された47株の性状は、13のパターンに分かれた。そのパターンを表2に示した。リジン脱炭酸能 (以下リジン)、V. P. とともに陰性及び V. P. のみ陰性のものが最も多く、次にリジン、インドール、V. P. が陰性のもの及びリジン、V. P. が陰性かつ乳糖分解能陽性のものが多かった。

M. R. の成績を表3, 4に示した。腸ビと同定された株では20株 (57.1%) が M. R. 陽性を示し、Algino と同定された株では18株 (46.2%) が M. R. 陰性を示した。

表3. TCBS 培地から分離された菌株の M. R. 試験

TCBS 培地による推定菌種	菌株数	M. R. 試験 (%)		
		陽性	陰性	保留株
腸炎ビブリオ	38	20 (52.6)	3 (7.9)	15 (39.5)
V.alginolyticus	86	30 (34.9)	5 (5.8)	51 (59.3)

表4. 腸炎ビブリオ・V.alginolyticus の M.R. 試験

同定菌種	菌株数	M. R. 試験 (%)		
		陽性	陰性	保留株
腸炎ビブリオ	35	20 (57.1)	3 (8.6)	12 (34.3)
V.alginolyticus	39	18 (46.2)	0 (0)	21 (53.8)

しかしながら、M. R. において、陽性かあるいは陰性か明確に判定し難く、判定が保留された株が多数存在した。これら M. R. 判定保留株は、腸ビと推定された株で39.5%、腸ビと同定された株でも34.3%、Algino と推定された株で59.3%、Algino と同定された株で53.8%を占めた。

考 察

市販魚介類は、腸ビ以外の Vibrio 属により高率に汚染されているが、このうち Algino は、1967年に独立した生物型に分けられるまで腸ビの範ちゅうに分類

表2. V. alginolyticus が否定された株の生化学性状パターン

生化学性状 パターン	TSI 寒天	LIM 培地			NaCl 加ベプトン水		V.P.	アラビノース	乳糖	白糖	マンニト	株数	%
	H ₂ S	リジン脱炭酸	インドール産生	運動性	0%	7%							
	1	-	+	+	+	-							
2	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	13	27.7
3	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	5	10.6
4	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	5	10.6
5	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	3	6.4
6	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	1	2.0
7	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	1	2.0
8	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	1	2.0
9	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	1	2.0
10	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	1	2.0
11	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	1	2.0
12	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	1	2.0
13	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	1	2.0
V.alginolyticus	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	\	\

されていた¹⁾。従って、ビブリオ分離用選択培地上では、腸内細菌の大部分が発育を抑制されるのに対して、Alginus は腸ビに近い好塩性性状を有し、同様な発育を示す。現在、市販されているビブリオ分離用選択培地のほとんどは、白糖の分解性により、この腸ビと Alginus を鑑別している。

堀江ら²⁾によると、TCBS 培地を用いて魚介類から腸ビを分離した結果、腸ビと推定された株のうち腸ビと同定された株が約 18% であったと報告している。しかしながら、著者らの今回の成績では、TCBS 培地で腸ビと推定された株のうち腸ビと同定された株が 92.1% であり、堀江らの報告に比べ 5 倍以上の一致率であった。堀江らは、TCBS 培地上で白糖分解菌が 10 倍以上存在すると、腸ビの緑色コロニーの出現が著しく阻害されることを報告している。従って堀江らの成績と著者らの成績の差は、検査検体の白糖分解菌による汚染量の差及び材料菌株の一部に食塩ポリミキシンブイオンで増菌したものも含まれていることに起因していると推定される。

これまでビブリオ分離用選択培地上の白糖分解菌を同定した報告は少ない。今回の著者らの成績によると、TCBS 培地で Alginus と推定された株のうち Alginus と同定された株は 45.3% であり、54.7% がその他の Vibrio 属の菌であった。54.7% の中には腸ビが 1 株含まれたが、平板上で集落が密集し、その代謝産物により集落の判別がし難かったためと考えられ、その他はすべて白糖分解菌であった。この成績から分かるように、TCBS 培地上での白糖分解菌は Alginus 以外の Vibrio 属も多数含まれ、魚介類もこれら Vibrio 属の菌に高率に汚染されていることが判明した。

Alginus と同定された株のうち白糖分解性であるのに、3% NaCl 加 TSI 寒天、18~24 時間培養で -/A の性状か A/A とは判定し難い性状を示したものが 13 株 (13/39, 33.3%) あった。これは、白糖分解による酸性化に比べ、代謝産物によるアルカリ性化が強いために、18~24 時間培養後の判定時には -/A となったと考えられる。これらの菌株では、簡易スクリー

ニングである 3% NaCl 加 TSI 寒天、3% NaCl 加 LIM 培地、無塩ペプトン水で鑑別すると、-/A は腸ビの性状であり、Alginus を腸ビと見誤る可能性が高いと考えられ、細心の注意を払う必要があると思われる。

Alginus と推定された菌株のうち Alginus が否定された株の性状は、13 のパターンに分けられた。これらのパターンのうち、とくに V. P. が陰性を示したものが 91.5% を占め、V. P. が腸ビ、Alginus の鑑別に際し、重要な性状であることを示している。

これとは対照に、M. R. は腸ビの大部分が陽性、Alginus の大部分が陰性とされている³⁾。しかし、今回の著者らの検討では、約 45% の株がどちらとも判定し難い株であった。従って、M. R. は腸ビ、Alginus の鑑別試験としての意義は薄いと思われる。

要 約

TCBS 培地で腸ビ、Alginus と推定された株について簡易同定を行い、魚介類における腸ビの検査方法を検討した。

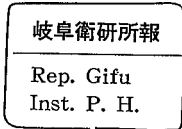
腸ビと推定される株のうち腸ビと同定された株は 92.1% と検出精度が高かったが、Alginus と推定される株のうち Alginus と同定された株は 45.3% と低く、市販魚介類は相当量その他の Vibrio 属の菌に汚染されていることが明らかとなった。

また、腸ビ、Alginus の鑑別に際して、V. P. は鑑別性状試験として適切であったが、M. R. は意義の薄いものであることが判明した。

本研究は昭和 57 年度の食品衛生指導費の一部によった。

文 献

- 1) 竹田美文, 三輪谷俊夫: ビブリオ感染症, 第 1 版, 13, 医歯薬出版, 1979
- 2) 堀江進, 山田満, 田中久四郎, 山下洋一, 相原富雄: 選択分離平板培地による魚介類の腸炎ビブリオ検査法, 食衛誌, 19, 383-391, 1978
- 3) 善養寺浩, 坂井千三: 腸管系病原菌の検査法, 第 3 版, 181, 医学書院, 1979



1982年に食中毒、散発下痢症患者及び健康者から分離された Salmonella と推定される 6 菌株の同定

加藤 樹夫*, 所 光 男*, 後 藤 喜 一*, 渡 辺 実*,
山 田 不 二 造*, 長 山 千 秋**, 酒 向 俊 雄***, 山 岡 一 清****,
奥 田 清 保****

Identification of Salmonella Isolated from Food Poisoning,
Sporadic Cases and Healthy Carriers in Gifu Prefecture in 1982.

Mikio KATO*, Mitsuo TOKORO*, Kiichi GOTO*, Minoru WATANABE*,
Fujizo YAMADA*, Chiaki NAGAYAMA**, Toshio SAKOH***,
Kazukiyo YAMAOKA****, Kiyoyasu OKUDA****

消化器伝染病の予防と細菌性食中毒の防止対策として、食品取扱者に対する赤痢及びチフス症原因菌の保菌者検索が全国的に行われている。岐阜県下の保健所では、赤痢、チフス症原因菌に加え Salmonella (以下 Sal.) についても検索の対象にし検査を実施している。

これらの検索によって分離された Sal. は、食中毒及び散発下痢症患者の事例の場合と同様に菌型決定、菌株保存の目的で当研究所に送付されている。

今回、1982年に当研究所へ送付された Sal. 菌株のうち、通常の検査で菌型が決定されなかった6菌株について詳細に性状を検討したので報告する。

材料及び方法

1. 供試材料

1982年に飲食業者定期検便、食中毒事例及び散発下痢症患者からの分離株で、当研究所において菌型を決

定した検体数を表1に示した。

このうち定期検便で確認培養性状により検出された3菌株及び県内病院で下痢症患者から血清学的性状により検出された3菌株を供試材料とした。

表1 1982年における Salmonella 菌型決定依頼件数概要

被検者区分	件数	%
散発下痢症患者	15	19.5
健康保菌者	57	74.0
集団発生	4	5.2
食品由来	1	1.3
計	77	

2. 検査方法

生化学性状は、新細菌学培地学講座(上、下)¹⁾及び医学細菌同定の手びき²⁾に従い、食塩耐容性試験は小野

* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

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

** 岐阜県伊奈波保健所：500 岐阜市司町1番地

** Gifu Prefectural Inaba Health Center：1, Tsukasamachi, Gifu 500, Japan

*** 岐阜県関保健所：501-37 美濃市生櫛1612の2

*** Gifu Prefectural Seki Health Center：1612-2, Ikushi, Mino 501-37, Japan

**** 岐阜県立岐阜病院：500 岐阜市野一色4丁目6番1号

**** Gifu Prefectural：6-1, Noishiki 4-chome, Gifu 500, Japan

表2 分離株の生化学性状

試験項目	菌株No.	E.tarda	S-57	S-60	S-61	Salmo- nella*	S-596	S-597	S-T
インドール		+	-	-	-	-	-	-	-
メチルレッド		+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer(V.P.)		-	-	-	-	-	-	-	-
シモンズのクエン酸塩		-	-	-	-	+	+	+	+
クリステンゼンのクエン酸塩		+	+	+	+	+	+	+	+
酢酸		-	-	-	-	+	+	+	+
硫化水素		+	+	+	+	+	+	+	+
PPA		-	-	-	-	-	-	-	-
ウレアーゼ		-	-	-	-	-	-	-	-
KCN 培地での発育		-	-	-	-	-	-	-	-
硝酸塩		+	+	+	+	+	+	+	+
運動性		+	+	+	+	+	+	+	+
リジン・デカルボキシラーゼ		+	+	+	+	+	-	-	+
アルギニン・デハイドロラーゼ		-	-	-	-	+	-	-	-
オルニチン・デカルボキシラーゼ		+	+	+	+	+	+	+	+
ゲラチナーゼ		-	-	-	-	-	-	-	-
マロン酸		-	-	-	-	-	-	-	-
クエン酸(KP)		+	+	+	+	+	+	+	+
d-酒石酸		-	-	-	-	+	+	+	+
粘液酸		-	-	-	-	+	+	+	+
ブドウ糖からのガス		+	+	+	+	+	+	+	+
ブドウ糖		+	+	+	+	+	+	+	+
マンニット		-	-	-	-	+	+	+	+
ソルビット		-	-	-	-	+	+	+	+
アドニット		-	-	-	-	-	-	-	-
ズルシット		-	-	-	-	+	+	+	+
イノシット		-	-	-	-	d**	+	+	-
乳糖		-	-	-	-	-	-	-	-
サリシン		-	-	-	-	-	-	-	-
白糖		-	-	-	-	-	-	-	-
キシロース		-	-	-	-	+	-	-	-
麦芽糖		+	+	+	+	+	+	+	+
トレハロース		-	-	-	-	+	+	+	+
ラムノース		-	-	-	-	+	+	+	+
アラビノース		-	-	-	-	+	+	+	+
ラフィノース		-	-	-	-	-	-	-	-
果糖		+	+	+	+	+	+	+	+
セロビオース		-	-	-	-	+	+	+	+
エスクリン		-	-	-	-	-	-	-	-
β -ガラクトシダーゼ		-	-	-	-	-	-	-	-
無塩ペプトン水		+	+	+	+	+	+	+	+
3% NaCl 加ペプトン水		+	+	+	+	+	+	+	+
5% NaCl 加ペプトン水		-	-	-	-	+	+	+	+
7% NaCl 加ペプトン水		-	-	-	-	-	-	-	-
10% NaCl 加ペプトン水		-	-	-	-	-	-	-	-

* 代表的な性状を示す

** 菌株により反応が異なる

3) 川らの方法に準じた。Sal. 血清型別は、市販 Sal. 診断用血清1号及び3号(デンカ生研)を用いた。

成 績

1. 飲食業者定期検便により検出された S-57, S-60, S-61の菌株について

S-57, S-60, S-61の3菌株は、通常の同定検査では Sal. の性状と一致したが、Sal. 診断用血清には凝集しなかった。そこで、これらの菌株について詳細な生化学性状及び食塩耐容性試験を行った。3菌株とも KCN 培地における発育、β-ガラクトシダーゼ、ゲラチナーゼは陰性であり、またブドウ糖、麦芽糖、果糖は分解したが、その他の糖類(15種類)は分解しなかった。食塩耐容性試験では、無塩ペプトン水、3% NaCl 加ペプトン水で発育したが、5% NaCl 加ペプトン水で発育しなかった。LIM 培地(日水製薬)ではインドールが陰性であったのでインドール産生能について詳細に調べたが、北里-Salkowski, Ehrlich-Böhme, Kovács, Gore, Pringsheim, シュウ酸紙法の5法ともすべて陰性であった。

表3 インドール産生試験

インドール試験 菌株No.	北里-Salkowski	Ehrlich-Böhme	Ko-vcás	Gore	Pringshheim	シュウ酸紙
S-57	-	-	-	-	-	-
S-60	-	-	-	-	-	-
S-61	-	-	-	-	-	-
E. tarda	+	+	+	+	+	+

2. 散発下痢症患者から分離された S-596, S-597 菌株について

S-596, S-597の2菌株について表2に示すとおり生化学性状は、リジン脱炭酸試験(以下リジン)を除くすべての性状が Sal. に一致した。そこで、リジンについては Møller の方法、Falkow の方法、LIM 培地、リジン脱炭酸試験用培地(栄研化学)により検査したが、すべて陰性であった。しかしながら、これら2菌株は血清学的検査でO抗原がB群、H抗原がI相はi、II相が1, 2に凝集を示し、血清学的にはS.

表4 リジン脱炭酸能試験

リジン脱炭酸能試験 菌株	Møller	Falkow	LIM 培地	リジン脱炭酸試験用培地
S-596	-	-	-	-
S-597	-	-	-	-
Salmonella	+	+	+	+

typhi-murium と同定された。

3. 散発下痢症患者から分離された S-T 菌株について

S-T 菌株は表2に示すとおり、生化学性状及び食塩耐容性試験でもすべて Sal. の性状と一致した。そこで、Sal. 診断用血清で O 抗原、H 抗原の凝集をみたところ、O 抗原 [A~O 群 (C₃, C₄, J, M, N 群を除く)] には凝集を示さなかったが、H 抗原は I 相 b, II 相 en, x に凝集を示した。

考 察

腸内細菌の中で H₂S 産生菌は Sal. のほかに Edwardsiella, Citrobacter, Proteus 及び一部の大腸菌がある。S-57, S-60, S-61の3菌株は KCN 培地での発育、β-ガラクトシダーゼ及びゲラチナーゼが陰性であり、Citrobacter, Proteus, H₂S 産生性大腸菌とはこの点で性状が異なり、糖分解性についても大きな差が認められた。確認性状の段階では一見 Sal. と推定されたが、クエン酸(シモンズ)、アルギニン・デハイドロラーゼ、d-酒石酸、粘液酸の利用及び糖分解性で Sal. とは異なり、インドール産生能を除くすべての性状が Edwardsiella に一致した。また小野川らの食塩耐容性試験についても Edwardsiella に一致した。そこで詳細にインドール産生能を検討したが、いずれの方法によっても陰性であった。従って、これら3菌株はインドール陰性ではあるが、今回調べた生化学性状からはインドール陰性の Edwardsiella と推定される。

血清学的に Sal. と推定された S-596, S-597の2菌株は、リジンを除き糖分解性などすべての性状で Sal. と一致した。そこで、リジンについて Møller の方法、Falkow の方法及び市販の培地により検討したが、すべて陰性であった。従って、この2菌株は O 抗原 B 群、H 抗原 i, 1, 2であるリジン陰性の S. typhi-murium と考えられる。

今日までの報告では、S. paratyphi-A と S. sendai 以外の大多数の Sal. はリジンが陽性とされ、通常の検査においてリジン陰性の Sal. は見逃されがちである。しかし、リジン陰性の Sal. については S. enteritidis による食中毒事例の報告もある。従って、リジン陰性などのわずかな性状を異にする事例でも市販の血清に凝集を示し、Sal. を疑われるものについては詳細に調べる必要があると考えられる。

確認性状で Sal. と推定される S-T 株は、生化学性状、食塩耐容性試験ともに Sal. の性状と一致しており、O 抗原は市販血清 A~O (C₃, C₄, J, M, N 群を除く)の各群に凝集をみなかったが、H 抗原は I 相

b, II相 en, x に凝集したことから Sal. と推定される。

Sal. の菌型は Kauffman-White の抗原表 (1975) によると, 1825 型の血清型が知られている。この Kauffman の抗原表によれば, 市販血清に含まれていない O 抗原 C₈, C₄, J, M, N 群ならびに P~Z, 51~66 の各群で, H 抗原の I 相が b, II 相が en, x である菌型は N 群の *S. urbana* か *S. johannesburg* のいずれかであると考えられる。

病原微生物検出情報によると, 全国的には O 抗原群 A~E₄ 以外の Sal. が 1980 年に 480 件, 1981 年には 608 件に上り増加傾向にあり, 1982 年には岐阜県においても 2 件分離された。従って, 岐阜県の保健所においては, 第 1 次スクリーニングや確認性状と共に市販血清 1 号 (O 抗原群 A~E₄) により Sal. の性状の確認を行っており, 第 1 次スクリーニングや確認性状の段階で Sal. の性状と一致し, 市販の血清 O 抗原群 A~E₄ に凝集を示さない菌株についてもさらに詳細に検討する必要があると思われる。

要 約

1982 年に当研究所に送付された Sal. 菌株のうち, 通常の同定検査で菌型が決定されなかった 6 菌株について詳細に性状を検討した結果, 3 菌株はインドール陰性 *Edwardsiella*, 2 菌株はリジン陰性 *S. typhimurium*, 1 菌株は Sal. (O 抗原不明, H 抗原 I 相 b, II 相 en, x) と同定された。

本研究は昭和 57 年度の調査研究費の一部によった。

文 献

- 1) 坂崎利一: 新細菌培地学講座, 上, 下, 第 2 版, 近代出版, 1978
- 2) 坂崎利一: 医学細菌同定の手びき, 第 2 版, 近代出版, 1975
- 3) 小野川尊, 寺山武, 善養寺浩, 天野祐次, 鈴木健: 健康人からの *Edwardsiella tarda* および硫化水素産生性大腸菌の検出, 日感染学誌, 50, 10-17, 1976
- 4) 赤羽荘資, 浅川豊, 岩本喜久子, 野口政輝: リジン脱炭酸能陰性 *Salmonella enteritidis* による集団食中毒事例について, 静岡県衛生研究所報, 16, 13~21, 1972

岐阜衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

岐阜県における献血者の梅毒血清反応検査成績

第5報 昭和55~56年の成績

渡辺 実*, 野田 伸司*, 山田 不二造*

Serological Investigation of Syphilis for Blood Donors in Gifu
Red Cross Blood Center, 1980—1981.

Minoru WATANABE*, Nobuji NODA*, Fujizo YAMADA*

序 文

献血者は地域、年齢、職業的な偏りが比較的少く、且つその性格から、梅毒感染を自覚しているものは極めて稀な、母数の大きな集団である。従ってその梅毒検査のデータは、岐阜県における不識梅毒の疫学的実態の指標として、大きな意義を有するものと考えられる。この目的から岐阜県衛生部は、昭和47年より岐阜県赤十字血液センターにおいて、梅毒血清反応陽性となった検体を衛生研究所に送付し、更に精密な検査を実施し、検査成績の解析を行っている。今回は昭和55年4月~57年3月迄の成績について報告する。

材料および方法

1) 被 検 血 清

岐阜県赤十字血液センター（以下センター）における検査で、RPR法およびTPHA法の2法またはいずれか1法が陽性あるいは判定保留となった検体の中、血清量不足のため再検査不可能な検体を除く603件が衛生研究所に送付された。これらの検体はセンターにおいて検査後 -20°C に保存され、1~2週ごとに衛生研究所に送付され、再検査迄 -20°C に保存された。

2) 検 査 方 法

原則としてカルジオライピン抗原を用いた検査（以下STS）としてガラス板法および緒方法、トレポネーマ抗原を用いた検査法としてTPHA法の3法の定性反応を全ての検体について行い、STS陽性の検体についてはSTSの定量試験を行った。1部の検体については血清量不足のため緒方法を省略した。FTA-

ABS法はSTS1法以上陽性でTPHA陰性の検体、TPHA法が判定不能の検体およびTPHA法がセンターの成績と一致しない検体について実施した。

STS抗原は住友化学の製品、TPHA抗原は富士臓器の製品を使用した。FTA抗原およびライター株吸収液は、予研免疫血清室より分与をうけ、ラベル血清は栄研化学の製品を使用した。各検査法は微生物検査必携に示された方法に従った。

成 績

センターより送付された検体603件の中、528件についてSTS2法およびTPHA法を実施した。75件は血清量不足のためガラス板法およびTPHA法のみを実施した。その成績は表1に示す通り、3法とも陽性を示したもの124件（23.5%）、STS1法以上陽性でTPHA陽性のものは268件（50.1%）、TPHA陰性のものは99件（18.8%）であった。STS陰性でTPHA陽性のものは90件（17.1%）、TPHA陽性の総数383件の中23.5%を占めた。3法とも陰性のものは34件（6.4%）認められた。表2はガラス板法で陽性または判定保留となった検体の定量試験の成績である。 $\geq 1:16$ を示す検体はTPHA(+)群では26/324（8.0）であったが、この中、男性は19/219（8.7%）、女性は7/105（6.7%）であった。この中で $\geq 1:64$ の特に関し高い定量値を示すものが男性にのみ8例（2.5%）認められたことが注目された。TPHA(-)群で $\geq 1:16$ を示した検体は14/121（11.6%）認められ、この中男性は8/56（14.3%）、女性は6/65（9.2%）であった。ガラス板法定量値は $\geq 1:4$ の比較的低い値を示

* 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

すものが多く、TPHA(+)群では、283/324 (88.2%)認められ、この中男性は、190/219 (86.8%)、女性は93/105 (88.6%)であった。TPHA(-)群では94/121 (77.7%)認められ、この中、男性は44/56 (78.6%)、女性は50/65 (76.9%)であった。表3は上記の成績を年齢別に集計したものである。TPHA(+)群で定量値 $\geq 1:16$ を示すものは、男性では20~39才の年齢層に12/68 (17.6%)と高率に認められた。中でも30~39才の年齢層に1:128の極めて高い定量値を示す検体が2例認められたのを始め、1:64以上の高定量値

を示す検体が20才以上の全ての年齢層に認められたことが注目される。これに対し女性では、 $\geq 1:16$ を示す検体が男性のように特定の年齢層に偏る傾向は、明確には認められなかった。

1:64以上の高い定量値を示す検体は、20~29才の年齢層に1例認められたのみであった。

表1. 各種検査法の相関 (昭和55~56年度)

ガラス板法	緒方法	TPHA 法			計
		+	÷	-	
+	+	124	1	42	167
	÷	2		3	5
	-	139	2	54	195
	計	265	3	99	367
÷	+	2			2
	÷	1	1		2
	-	22	1	4	27
計	25	2	4	31	
-	+	1			1
	÷	2		2	4
	-	90	1	34	125
	計	93	1	36	130
計		383	6	139	528

表2. 性別, ガラス板法定量値と TPHA との相関

性	ガラス板法定量値	TPHA 法			計
		+	÷	-	
男	÷	18		2	20
	1:1	97		13	110
	1:2	49		14	63
	1:4	26		15	41
	1:8	10		4	14
	1:16	4		5	9
	1:32	7		2	9
	$\geq 1:64$	8		1	9
計	219	0	56	275	
女	÷	10	1	5	16
	1:1	54		17	71
	1:2	20	1	19	40
	1:4	9		9	18
	1:8	5	1	9	15
	1:16	6		5	11
	1:32			1	1
	$\geq 1:64$	1			1
計	105	3	65	173	

表3. 性, 年齢別, ガラス板法定量と TPHA との相関

性	年齢	TPHA +										計	TPHA -								計
		÷	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	÷		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64		
男	16~19	1	1	2							4		1	2	1						4
	20~29	1		1	1	2	1				7	2		3	2						7
	30~39	6	25	11	7	2	3	3	2	2	61		6	1	4						11
	40~49	3	31	10	10	2		3	1		60		3	6	3	1	4	1			18
	50~64	7	40	25	8	4		1	2		87		3	2	5	3	1	1	1		16
計	18	97	49	26	10	4	7	6	2	219	2	13	14	15	4	5	2	1		56	
女	16~19			1	1						2		6	6	1	3			1		17
	20~29			1	1					3	1	4	4	2	3						14
	30~39			8		2	2	1		13	2	4	4	2	1	2					15
	40~49	5	18	6	4	2	3			38	1	3	2	3		3					12
	50~64	5	26	12	3	1	2			49	1		3	1	2						7
計	10	54	20	9	5	6		1		105	5	17	19	9	9	5	1			65	

16~19才の低年齢層では、男女とも1:16以上の定量値を示す検体は1例も認められなかった。ガラス板法陽性検体の中でTPHA(-)を示すものの比率は、低年齢層ほど高く、16~19才では21/28(80.1%)、この中男性は4/7(57%)、女性は17/19(89%)であった。男性は30才以上ではその比率が急速に低下する傾向が

認められたが、女性では30~39才の年齢層にも13/26(50%)の高い出現率が示された。40才以上では男女差は殆んど認められなかった。

TPHA(-)群において1:16以上の比較的高いガラス板法定量値を示すものは、男女とも40~49才の年齢層に最も多くみられた。

緒方法の定量値とTPHA法の相関は表4に示す通

表4. 性別、緒方法定量値とTPHAの相関

性	緒方法 定量値	TPHA 法			計
		+	÷	-	
男	÷				
	1:4	37		7	44
	1:10	15		9	24
	1:20	18		1	19
	1:40	10		4	14
	1:80	4			4
	1:160	2			2
	≧1:320	3			3
計	89		21	110	
女	÷	1	1	1	3
	1:4	14	1	7	22
	1:10	8		5	13
	1:20	2		5	7
	1:40	3			3
	1:80				
	1:160				
	≧1:320				
計	28	2	18	48	

表6. TPHA法とFTA-ABS法の相関

TPHA	FTA	計
+	+	32
	÷	
	-	
÷	+	2
	÷	
	-	
-	+	1
	÷	
	-	
計		37

表7. TPHA法およびFTA法、不一致例

TPHA	FTA	ガラス板法	緒方法
÷	+	1:8	1:4
÷	+	÷	-
÷	-	1:2	-
-	÷	1:64	1:4

表5. 性、年齢別、緒方法定量値とTPHAとの相関

性	年齢	TPHA +								TPHA -								
		÷	1:4	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	計	÷	1:4	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	計
男	16~19		1							1								1
	20~29		0	2	1	2			1	6		1	1					2
	30~39		9	2	5	5	3	2	1	27								9
	40~49		11	3	4	3	1			22		2	3	1	3			9
	50~64		16	8	8				1	33		4	4		1			9
	計			37	15	18	10	4	2	3	89		7	9	1	4		
女	16~19											2	2					4
	20~29		1							1		3	1					4
	30~39	1	3	1		1				6		1	1	1				3
	40~49		4	3	2	1				10			2					2
	50~64		6	4		1				11	1	1	1	2				5
	計		1	14	8	2	3			28	1	7	5	5				

りである。TPHA(+)群で1:80以上の比較的高い定量値を示す検体は、男性には9/89 (10.1%)認められたのに対し、女性には1例も認められなかった。全体の傾向としては1:10以下の低い定量値を示す検体が多く、TPHA(+)群には75/117 (64.1%)、TPHA(-)群には29/39 (74.4%)認められた。表5は上記の成績を年令別に集計したものである。TPHA(+)群において1:80以上の定量値を示すものが9例認められ、その全てが男性の検体であった。

この中の6例が30~39才の年令層に含まれており、1:320の極めて高い定量値を示す検体が20~29才、30~39才および50~64才の各年令層に1例ずつ認められたことと共に注目される。

表6はFTA-ABS法とTPHA法との相関を示したものである。検査総数165件のうち、2法の一致したものの160件(97.0%)であった。TPHA法とFTA法の成績が一致しなかった4検体については表7に示したが、TPHA(-)でFTA法判定保留の検体が極めて高いガラス板定量値を示したことが注目された。

考 察

献血者の中で梅毒血清反応陽性を呈するものは、その集団の性格から考えて、多くは無自覚感染者であることが推定され、特に新鮮感染を自覚しているものは、きわめて稀れと考えられる。本調査事業が昭和47年に開始されて以来、梅毒血清反応の成績から、このような新鮮感染の可能性のある検体が、年次的に減少傾向にあることは既に報告した²⁾。

しかし、今回の昭和55~56年の調査では、TPHA(+)群でガラス板法1:16および緒方法1:80以上の高い定量値を示す検体は再び増加し、昭和49~50年および51~52年の中間の水準を示した。

またガラス板法1:4および緒方法1:10以下の低い定量値を示す検体は従来通り大多数を占めたが、前回(昭和53~54年)の調査に比べ減少し、やはり昭和49~50年および51~52年の中間の水準にあることが示された。

このような全体として高い定量値を示す検体の増加が、新たな感染者の増加を意味するものか否かは、今回の調査成績のみから推測することは困難であるが、今回の調査で高い定量値を示した検体の1例が、東南アジア旅行で感染の機会をもった供血者に由来しており、同供血者がこの検査成績によって医療機関を訪れ、

顕症梅毒と診断された事例は特に注目される、TPHA(-)でFTA法判定保留を示し、STSでガラス板法のみが特に高い定量値を示した検体は、梅毒初期感染の可能性も考えられる事例であるが、この供血者について追跡調査をすることはできなかった。

厚生省の統計によれば、梅毒の罹患率は昭和56年には、これまで最低の1.4(10万人対)に低下しているが、淋病の罹患率は昭和54年より再び上昇し、ペニシリン耐性の淋病も増加傾向にある⁵⁾。東南アジアの接客婦の耐性淋菌保有率は極めて高く、上記の現象は近年多くの日本人男性が、同地区で感染を受ける機会が増加している実態を反映しているものと思われる。東南アジアの接客婦は、梅毒罹患率も我国に比べると極めて高く、旅行者が淋病と同時に梅毒に感染している可能性も十分考えられる。梅毒は淋病に比べ無自覚感染の比率が高いことから、届出患者の増加する以前に、集団の血清反応陽性率の上昇が見られる可能性も考えられるので、今後も調査を継続し、その傾向を確認することが必要と思われる。

文 献

- 1) 日本公衆衛生協会：微生物検査必携，147-212，1978
- 2) 渡辺実，野田伸司，山田不二造，交告保朗，渡辺昇，松田美奏，丹野恵永子：献血者における梅毒血清反応の実態，岐衛研所報，26，28~36，1981
- 3) 渡辺実，野田伸司，山田不二造：岐阜県における献血者の梅毒血清反応検査成績について，第4報，昭和53~54年度の成績，岐衛研所報，26，65~69，1981
- 4) 厚生大臣官房統計情報部：昭和56年度伝染病統計，94，1981
- 5) Pang, R. H.: インドネシア，タイ，フィリピンおよび日本における性行為感染症の制御，V. D., 61, 42~62, 1980

謝 辞

FTA法の各種試薬を分与していただいた、予研免疫血清室の菅原考雄博士、山屋駿一技官、および調査に御協力を頂いた、岐阜県赤十字血液センターの丹野恵永子課長、武内治子係長に深謝いたします。

本調査は岐阜県衛生部保健予防課の性病予防費によって行った。

岐阜衛研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

恵那郡福岡町の湧水中ラドン含有量

森下 有輝*, 梶川 正勝*, 寺尾 宏*

Radon Contents of Spring - Waters in Fukuoka T.
Tōno Area

Yūki MORISHITA*, Masakatsu KAJIKAWA*, Hiroshi TERAO*

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。恵那郡福岡町にはラドン含有量の点でも、その利用の歴史からも、これら放射能泉を代表する泉源がある。その測定は大正3年に国立衛生試験所が行った記録¹⁾があり、地質、水質等の学術的資料としても重要な泉源である。東濃地方全域の放射能泉分布については下方^{2~4)}、三階⁵⁾らが報告しているが、その時点では詳細な地質図の完成に至っておらず、地質との関連性についてはほとんど検討されていない。

我々は湧水中のラドン含有量と水質、地質の関連性を明らかにするための調査を開始し、中津川市苗木町地域⁷⁾での結果を報告した。本報では、同様に地質の分布した福岡町地域⁷⁾における調査結果を報告する。

地域の概況および調査方法

恵那郡福岡町は南を木曾川に接し、標高1000mの山々に囲まれた付知川添いの町であり、町域8400haの78%は森林であり、農林業を主とする。その地質は白亜紀中期の濃飛流紋岩を主体とし、白亜紀後期の苗木・上松花崗岩と花崗斑岩がそれを貫いている。町中心部の農耕地は主として鮮新世瀬戸層群である。町北端部には活断層として著明な阿寺断層が走っている。

昭和57年11月(15件)、昭和58年2月(11件)に行なった測定結果のほか、昭和28年以降に当研究所が実施してきた鉱泉分析の結果を加えた。同一泉源で2回以上実施している場合は最も新しい測定結果を用いた。ラドン含有量はIM泉効計により、他の水質分析は鉱泉分析法および上水試験方法によった。

結 果

ラドン含有量と共に水質分析が実施されているものを、町内を4地区に分けて表1に示した。また、地質の概略と調査地点を図1に示した。

高山地区 福岡町の南端で、木曾川に接する雑木、松を主体とした低い山林地域で、耕地、住宅は少く点在する。ラドン含有量はNo.1湯の島1号泉で $2020 \times 10^{-10} \text{ci}/\ell$ であったほか、測定した16件のうち半数近い7件が $100 \times 10^{-10} \text{ci}/\ell$ 以上を示し、今回調査したNo.1~15は全て放射能泉に該当した。水質はNo.1を除いては導電率から推定しても全て溶存成分が $40 \text{mg}/\ell$ 以下と少く、pHも5.1~6.6と低い。No.1は蒸発残留物、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 F^- 、 Cl^- 、 HCO_3^- が他に比べ10倍ほど高く、この地域では特異的な水質であった。この泉源には3回の水質分析結果があったが、ほとんど差は認められなかった。

福岡地区 役場のある町の中心地区であり、調査し

*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 恵那郡福岡町の湧水中心ラジウム含有量と水質

No.	測定年月日	Rn ×10 ⁻¹⁰ ci/ℓ	pH	導電率 μS/cm	蒸発 残留物 mg/ℓ	Na ⁺ mg/ℓ	K ⁺ mg/ℓ	Mg ²⁺ mg/ℓ	Ca ²⁺ mg/ℓ	F ⁻ mg/ℓ	Cl ⁻ mg/ℓ	SO ₄ ²⁻ mg/ℓ	HCO ₃ ⁻ mg/ℓ	SiO ₂ mg/ℓ	CO ₂ mg/ℓ	泉源名または 所有者
高山地区																
1	58.2.1	2020	7.0	260	162	45	0.7	0.2	13.3	5.0	56.2	3.2	49.4	27.8	4.4	湯の島1号泉
2	57.11.16	614	5.3	31	28	2.9	1.4	0.5	1.3	0.2	3.4	6.2	7.0	11.3	29.6	大橋利隆泉
3	〃	264	5.3	16	14	1.9	1.2	0.1	0.4	0.1	2.7	1.6	7.0	11.6	20.3	木瀬沢の島5号泉
4	58.2.1	187	6.6	14	2.0	2.0	0.6	0.1	0.5	0.0	0.8	1.8		11.3		湯の島3号泉
5	〃	136	6.1	14	1.8	1.8	0.7	0.3	0.6	0.0	1.2	1.9	8.4	12.6		湯の島一の沢1号泉
6	58.2.2	126	5.4	18	1.8	1.8	0.8	0.3	0.6	0.3	2.0	2.3	8.4	8.4	11.0	若山一の沢1号泉
7	57.11.16	125	5.7	18	2.9	2.9	1.0	0.9	0.4	0.0	2.5	5.6	8.4	14.3		稻荷の泉
8	58.2.2	87	5.1	36	1.9	1.9	0.7	0.2	1.5	0.0	0.7	2.2	8.6	10.3		若山一の沢7号泉
9	〃	85	6.0	16	1.4	1.4	0.5	0.2	1.0	0.0	0.9	1.2	8.6	13.2		湯の島2号泉
10	58.2.1	76	6.4	18	1.9	1.9	0.5	0.3	0.9	0.0	0.6	2.0	8.4	13.2		若山一の沢5号泉
11	58.2.1	63	5.8	19	1.6	1.6	0.6	0.3	0.2	0.0	0.9	1.9	8.6	9.1	13.8	湯の島4号泉
12	58.2.1	54	6.2	10	1.4	1.4	0.5	1.0	0.2	0.3	3.2	3.2	5.7	9.1	20.0	若山一の沢1号泉
13	57.11.17	54	5.3	42	1.7	1.7	0.9	0.1	2.4	0.2	2.3	2.2	6.1	10.3	5.4	湯の島次郎泉
14	57.11.16	53	5.7	16	2.0	2.0	0.6	0.1	0.3	0.4	2.7	2.7	6.2	12.6	17.3	若山武男
15	〃	45	5.7	15	2.2	2.2	0.6	0.1	0.3	—	1.4	—	3.6	20.2		交告山1号泉
16	48.10.22	27	5.4		16	2.0	0.4	0.1	0.0	—	1.4	—				
福岡地区																
17	33.5.14	407	7.4		144	18	0.8	0.3	16.3	3.0	16.0	2.8	60.1	34.1	30.7	栗本
18	57.11.17	149	5.0	102	79	3.6	3.2	1.9	8.3	0.2	9.4	12.7	6.8	8.4	57.9	鱒学
19	〃	115	5.7	28	35	3.1	2.4	0.3	0.9	0.3	2.5	3.1	14.6	20.7	21.0	熊崎唯雄
20	〃	71	5.8	99	81	4.2	2.9	1.9	8.1	0.3	4.7	7.8	45.1	24.3	62.7	小林唯雄
21	〃	64	5.3	10	15	1.2	0.3	0.1	0.1	0.4	3.0	1.4	4.4	7.7	13.5	安部人生三 西尾省三
植苗木地区																
22	57.11.17	128	5.6	23	26	2.8	0.5	0.2	1.1	0.5	3.0	2.0	10.5	13.9	21.3	石切場の泉
23	〃	47	5.4	16	24	1.7	0.3	0.1	0.6	0.4	3.2	2.6	5.6	10.0	11.4	窪谷善義
24	〃	14	5.5	30	23	2.2	0.6	0.3	2.2	0.3	2.3	4.9	10.2	9.0	27.7	窪谷広文
田瀬地区																
25	57.11.17	88	6.5	41	44	4.4	1.1	0.1	2.2	0.4	3.9	2.7	15.1	17.6	5.7	宮脇2号泉
26	57.5.27	44	5.6		56	3.6	0.8	0.2	0.7	1.1	0.6	0.0	6.0	25.0	35.7	宮脇1号泉
27	28.11.25	37	5.8		88	7.5	0.4	1.9	10.7	—	1.4	—	74.4	11.9	46.3	芳原忠良
28	41.9.8	24	5.8		36	4.6	0.8	0.6	2.6	0.9	0.7	1.0	27.2	11.9	104	原大
29	48.10.23	9	4.7		17	1.5	0.9	0.7	—	—	1.4	—	8.1	24.1	97.3	大隈839

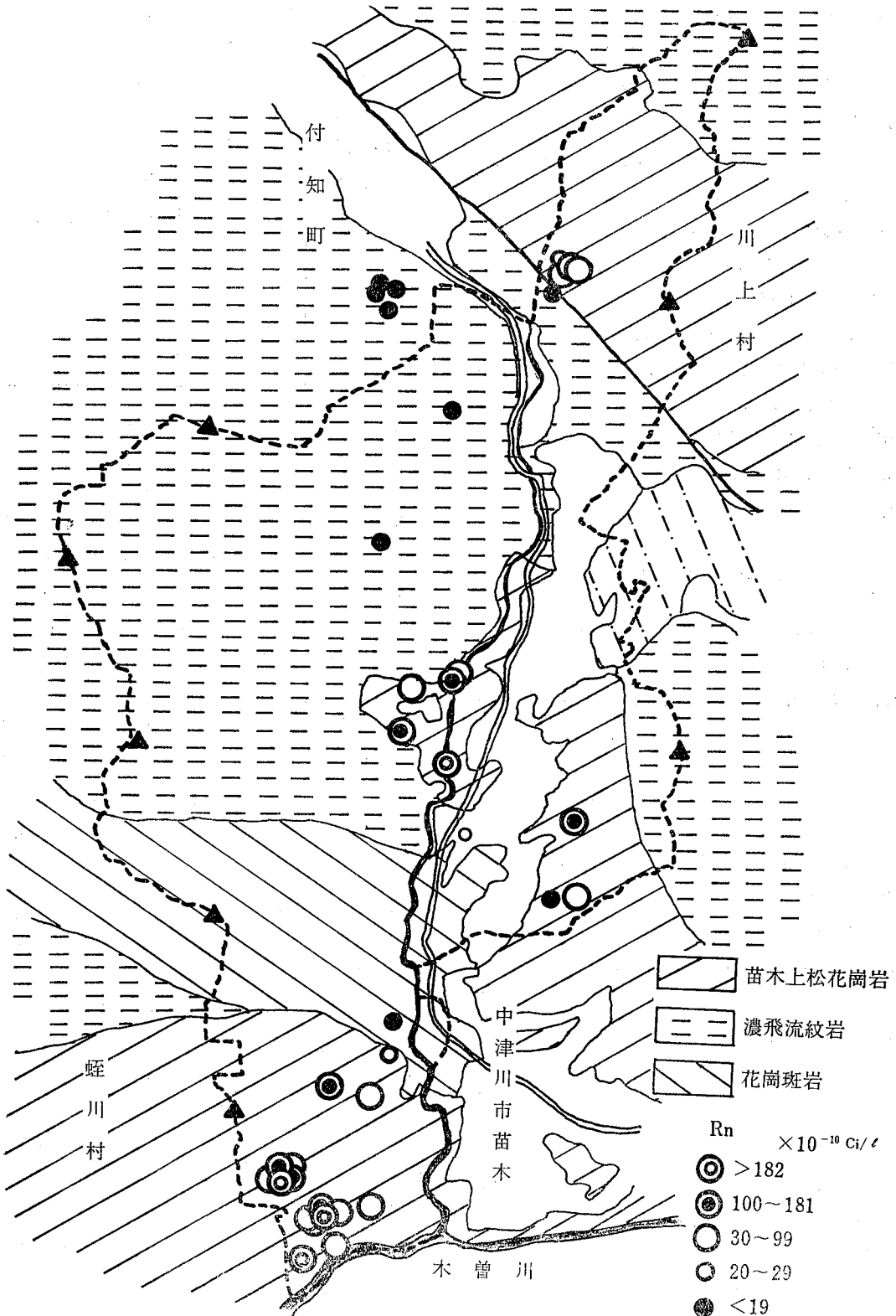


図1 恵那郡福岡町の地質と湧水中ラドン含有量

た場所は付知川右岸の水田を主とした地域である。5ヶ所とも放射能泉に該当し、No.17は町内第3位のラドン含有量である。この水質は他の4泉源に比べると溶存成分が多かった。

植苗木地区 福岡地区を細分して東部を植苗木地区とした。3ヶ所中2ヶ所が放射能泉に該当したが、3ヶ所の水質には差が認められなかった。

田瀬地区 町の北端部で阿寺断層が貫いている。No.25~28の地点はこの断層の直近北側であるが、他地区に比べラドン含有量が低濃度で $100 \times 10^{-10} \text{ci}/\ell$ を越えるものは見出せなかった。No.29はこれらから離れ、付知川右岸の濃飛流紋岩層地帯にあり、最も低濃度の $9 \times 10^{-10} \text{ci}/\ell$ であった。水質はいずれも溶存成分が少く、他地区の結果と比べ差は認められなかった。

ラドン含有量と地質の関係

図1に示した様にラドン含有量の高い湧水はいずれも苗木花崗岩層地帯にあり、特に高山地区で高濃度の傾向があった。濃飛流紋岩層。花崗斑岩層地帯ではラドン含有量は $20 \times 10^{-10} \text{ci}/\ell$ 以下であった。

ラドン含有量と水質の関係

調査した湧水中の溶存物質は全般的に低濃度であり、福岡町内でラドン濃度が最も高濃度であったNo.1と第3位のNo.17だけが溶存物質、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 F^- 、 Cl^- 、 HCO_3^- が高濃度であった。ラドン含有量と各成分との関係を検討したが、いずれの場合にも明らかな関係は見出せなかった。

考 察

福岡町の地質は白亜紀に形成された濃飛流紋岩が主体となり、そこに町の北部、中央部、南部で苗木・上松花崗岩層が貫いている。1973年山田らにより完成された阿寺断層周辺地質図を基にして、放射能泉の位置を記し、図1を得た。ラドン含有量の高い湧水は苗木・上松花崗岩層に限って見出された。特に木曾川に接した高山地区は、放射能泉が数多く存在する中津川市

表2 湯の島1号泉のラドン測定結果

測定年月	Rn $\times 10^{-10} \text{ci}/\ell$	
1914. 4	1020	国立衛生試験所 ¹⁾
1932. 10	830	弘 中 他 ²⁾
1936. 5	810	中 井 他 ²⁾
1951. 5	1520	下 方 鉦 蔵 ^{2,3)}
1952. 5	1330	〃
1961. 5	1440	岐 阜 衛 研
1982. 11	780*1	〃
1983. 2	2020*2	〃

*1. 水槽貯留水

*2. 新鮮湧出水

苗木、蛭川村に連った苗木花崗岩地帯であり、福岡町内でもその濃度および分布の点で他地区より優れていた。No.1の湯の島1号泉は古くより放射能泉として知られ、ラドン含有量測定の記事も多い(表2)。今回の結果は過去の測定値よりも高濃度であった。これは貯留水槽の水を放出し、湧出口より採水したもので、過去の測定がどのような条件で採水されたものか不明であるが、いずれにしても70年来 $1000 \times 10^{-10} \text{ci}/\ell$ を越えるラドンを含んで1~1.5ℓ/分の量を維持して湧出してきた訳で、この値は岐阜県内で測定された最高値であり、また全国的にみても有数のものである。¹⁾

No.2は今回新しく見出されたものであるが、この結果も県内で第2位の濃度であった。

これらラドン含有量と水質の関係について、前報⁷⁾、苗木地区では $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ 、 SO_4^{2-} との間で相互性を認めたが、今回の結果からは認められなかった。調査地域が広がったことが原因かも知れない。溶存物質、とりわけ Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 F^- を高濃度に含有した湧水にラドン含有量がきわ立って高い場合 (No.1, 17) があり、その他はNo.2, 3の様にラドン含有量が高くても溶存成分が少いという、二つのタイプがある様である。これはラドンの由来が、前者は漂砂鉦床にあり深層から湧出するのに比して、後者は地表近くの苗木花崗岩中ペグマタイトにあることが原因していると考えている。今後、同一地質で隣接した蛭川村、川上村等の調査を行う予定であり、さらには、土

岐阜市，瑞浪市に広がる放射能泉群との対比によって明らかにしたい。

謝 辞

調査にあたって御協力戴いた福岡町企画課並びに町観光協会の方々に感謝します。

本調査は昭和57年度調査研究費及び福岡町観光協会の委託費によって行った。

参 考 文 献

- 1) 厚生省国立公園部編：日本鉱泉誌，p. 636，青山書院，1954
- 2) 下方鉦蔵：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) 下方鉦蔵：同上（第2報）(2)，同上，75(1)，67-70，1954
- 4) 下方鉦蔵：同上（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) 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
- 6) 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
- 7) 森下有輝，梶川正勝，寺尾宏：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，岐阜研究所報，23，18-32，1980
- 8) 地学団体研究会，地学事典編集委員会編：地学事典，改訂版，平凡社，1982

岐 阜 衛 研 所 報

Rep. Gifu
Inst. P. H.アスピリン中に存在するサリチル酸の
簡易試験法

坂 井 至 通*, 今 井 準 三*, 日 比 誠*

A Simple Screening for the Detection of Salicylic Acid in
Official Aspirin

Yoshimichi SAKAI*, Junzo IMAI*, Makoto HIBI*

はじめに

アスピリン (ASA) は、保存状態によっては温度、湿度などの影響を受け、経時変化を起し、分解産物としてサリチル酸 (SA) を生じる⁽¹⁻⁴⁾。そこで、この度の薬事法の改正では、ASA およびその製剤について、3年以内の使用期限の表示が義務づけられた⁵⁾。

著者らは、薬局における ASA の保存管理の実態を把握するため、調剤用、薬局製剤用に開封された ASA 中の SA を測定し、開封時から長期間経過したものほど SA の生成量が多い傾向にあることを報告した⁶⁾。

JPX⁷⁾ では、ASA 中の SA 含量の許容基準が 0.1% 以下と定められており、その検出方法は鉄塩による比色法が用いられている。しかし、この方法は、試料を2段階の希釈操作を行うこと、試薬が用時調製であることなど、やや簡便性に欠ける点がある。そこで、この JPX の方法に依拠しながら、薬局、病院での ASA 品質管理、保健所等で行う薬事監視などで、より簡便に利用できるスクリーニング試験法の開発およびその応用を検討したので報告する。

材料および方法

1. 試料

56年6~7月に薬局店頭より取去した開封された局方 ASA。衛生研究所に搬入後、シリカゲルデシケータ中で室温保存した。

2. 試薬

ASA 標準品：局方 ASA をベンゼンより再結晶を2回繰り返したもの。(m. p. 135°, JPX 法で100.0%, GC 法で SA0.08%)

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

SA 標準溶液 (SA Soln.) : SA 標準品 0.2g を水に溶かし 1,000ml とする。

SA 標準紙 (SA 紙) : SA 標準品 35.0mg/ml エタノール溶液 100ml にろ紙 (東洋 No. 2, 直径 12.5cm) を浸漬した後風乾し、直径 6mm の円形に打ち抜き SA 0.2mg/disc の標準紙とした。(鉄塩による比色法⁸⁾で測定したとき、 $0.20 \pm 0.01 \text{ mg/disc}$, $n=10$, $\text{cv}\% = 3.9$ ⁸⁾)

鉄ミョウバン溶液 (Fe Soln.) : 衛生試験法注解によった。

鉄ミョウバン試験紙 (Fe 紙) : 3-50(w/v)% 鉄ミョウバン水溶液に、それぞれろ紙 (東洋 No. 2, 直径 12.5cm) を浸漬した後風乾し、直径 6mm の円形に打ち抜き 3-50(w/v)% Fe 紙とした。

その他の試薬はすべて試薬特級を使用した。

3. 操作法

局方 ASA 0.20g を小試験管に取りエタノール 1ml を加えて溶解し、水 10ml を加えてよく振とう後、直ちに 40(w/v)% Fe 紙 1枚を入れる。また、別の小試験管に SA 紙 1枚を取り、エタノール 1ml を加え以下 ASA と同様の操作を平行して行う。水を加えてから約10分後に、SA 紙に対する ASA の小試験管内の赤紫色の呈色度を比較し判定する。

結果および考察

1. エタノール濃度の検討

SA 標準品 0.4g を水に溶解し 1,000ml とした溶液 5ml ずつを取り、これにエタノールおよび水の種々濃度の混液それぞれ 5ml を加え、0-50(v/v)% のエタ

* 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

ノール濃度となるようにした。これらに、Fe Soln. 0.5mlを加えて呈色させ波長520nmにおける吸光度を測定した(Fig.1)。エタノール濃度が高くなるに伴ない吸光度の低下を認めたが、エタノール濃度が約10(v/v)%までであれば、吸光度にほとんど影響を及ぼさなかった。

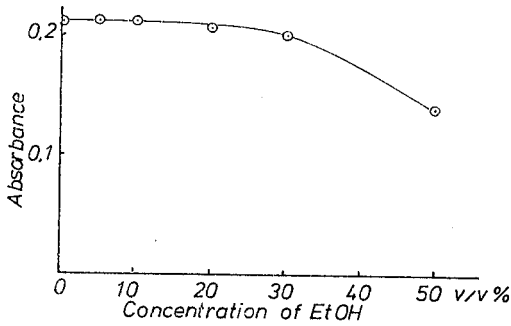


Fig. 1 Effect of EtOH Concentration

2. SA 紙からの SA 抽出

SA 紙1枚を取り水10mlを加えたもの、また SA 紙1枚にエタノール1mlを加えてろ紙を湿らせ、5分後に水10mlを加えたものについて、それぞれ室温に5-30分間放置した。これらに Fe Soln. 0.5mlを加えて呈色させ波長520nmにおける吸光度を測定した。SA Soln. 1mlに水10mlを加え同様に操作したものに対する吸光度の比を SA 抽出率とし Fig.2 に示した。水を用いたものは、30分後においても十分に SA を抽出することができないが、予めエタノール1mlを加えろ紙を湿潤させることによって、5分後ですでに充分抽出されることが認められた。

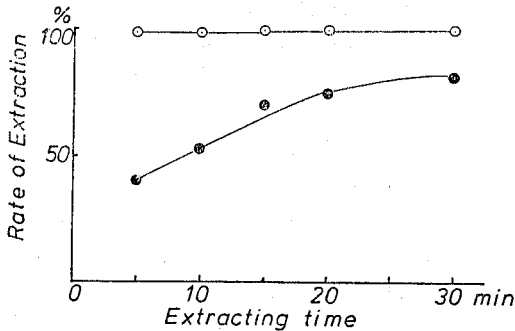


Fig. 2 Extraction of SA from SA-paper (0.2mg/disc)

○—○ EtOH 1 ml + H₂O 10 ml
●—● H₂O 10 ml

3. ASA からの SA 抽出

ASA 標準品 10g および ASA 標準品 10g に SA 標準品 10mg を添加したものにエタノール 50ml を加え

溶解後、水を加えて 500ml とした。これらの溶液から経時的に 10ml ずつを取り、Fe Soln. 0.5ml を加えて呈色させ波長 520nm における吸光度を測定した。また、別に SA Soln. 1ml にエタノール 1ml を加え、水で 10ml としたものについても吸光度を測定した (Table 1, Fig. 3) SA 添加の ASA 溶液と ASA 溶液との吸光度差を SA の抽出率と考えると、抽出時間が 5 分では 80.0%、10 分では 83.0%、15 分以降でも 80-90% の値となった。また、ASA および SA 添加 ASA 溶液の吸光度は、時間の経過に伴ない直線的に増加した。これは、ASA が約 10(v/v)% エタノール溶液中で徐々に加水分解を受け SA を生成するためと考えられる。このことから、実際の測定では、水を加えてから 40(w/v)% Fe 紙を加えるまでの時間

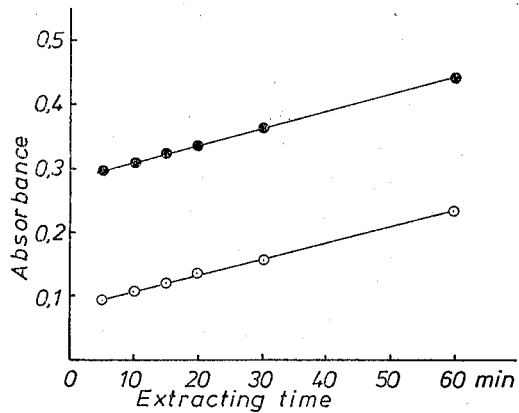


Fig. 3 Extraction of added SA in Aspirin

○—○ Aspirin 10g
●—● Aspirin 10g + SA 10mg

Table. 1 Effect of Standing Time on Recovery of Added SA from ASA

Standing time, min	Absorbance, 520 nm			Recovery, %
	Abs. SA	Abs. ASA	Abs. ASA+SA	
5	0.211	0.106	0.293	80.0
10		0.115	0.309	83.0
15		0.131	0.325	83.6
20		0.148	0.336	80.4
30		0.169	0.365	83.8
60		0.232	0.444	90.7

*1 SA Standard (0.2076mg/10ml)

*2 ASA (204.5mg/10ml)

*3 Added SA in ASA (SA 0.2300mg, ASA 199.9mg/10ml)

*4 Corrected with Sample Weight,

$$\frac{(\text{Abs. ASA} + \text{SA}) - (\text{Abs. ASA})}{(\text{Abs. SA})} \times 100(\%)$$

が長くなると正の誤差を与える。放置時間が、5分および60分の場合の ASA 溶液の吸光度 (Abs. ASA 5, Abs. ASA 60) と SA 標準溶液の吸光度 (Abs. SA) から、1分間当たりの正の誤差の程度を計算すれば、近似的に式(1)より 1.09%/min の値が得られる。

$$\frac{(\text{Abs. ASA } 60 - \text{Abs. ASA } 5)}{60 - 5} \times \frac{100}{\text{Abs. SA}} (\%) \dots (1)$$

従って、JPX の基準である、ASA 中 SA の許容量 0.1% の検査において、水を加えてから 10 分後に判定した場合、正の誤差は 10.9% (1.09%/min × 10min) と考えられる。すなわち、0.1% の SA が 0.11% (0.1% × 1.109) とみなされることになるが、10分後で ASA からの SA 抽出率が 83.0% であることから、スクリーニング試験法としては充分応用できるものと思われる。

4. Fe 紙濃度の検討

SA Soln. 1 ml ずつ取り、それぞれに水 9 ml およびエタノール 1 ml を加えた後、3-50(w/v) % Fe 紙各 1 枚加えて呈色させ波長 520nm における吸光度を測定した (Fig. 4)。20(w/v) % 以上の濃度で一定の吸光度が得られたが、ASA 中の SA 含量が基準より高かった場合のことを考え 40 (w/v) % Fe 紙を使用する

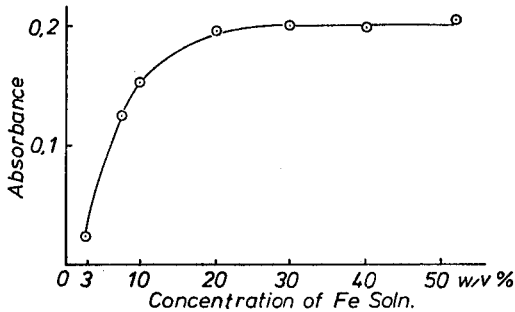


Fig. 4 Effect of Fe Concentration

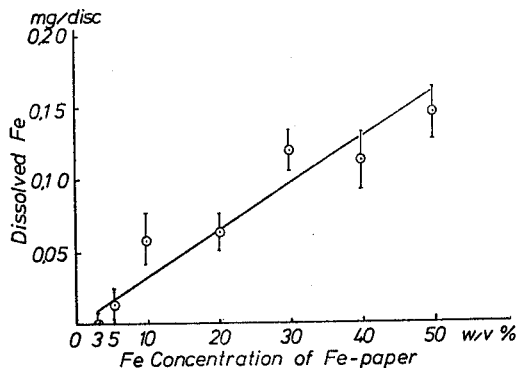


Fig. 5 Dissolution of Fe from Fe-paper (n=5, Dissolving time 10min)

こととした。また、10(v/v)%エタノールによる 3-50 (w/v)% Fe 紙からの鉄塩の溶出を原子吸光度法により測定し、Fig. 5 に示した。Fe 紙濃度と、溶出鉄塩量との間には、正の比例関係が認められた。

5. 開封 ASA 中の SA の検出

GC 法, JPX 法および本法により、試料中の SA を測定し、その結果を Table 2 に示した。なお、参考までに本法で得た発色液の波長 520nm における吸光度を測定して求めた SA 含量を () 内に示した。

本法による結果は、JPX 法と極めて良く一致し、充分に実用可能であることが認められた。

Table 2 Determination of SA by GC, JPX and this Method

No.	GC	JPX	this method*
1	0.2%	>0.1%	+ (0.14%)
2	0.1	<0.1	- (0.06)
3	0.1	<0.1	± (0.10)
4	0.1	<0.1	- (0.06)
5	0.2	≠0.1	- (0.08)
6	0.2	>0.1	+ (0.14)
7	0.2	>0.1	++(0.15)
8	0.1	<0.1	- (0.07)
9	0.3	>0.1	++(0.17)
10	0.3	>0.1	+ (0.12)

* - : below the reference (SA-paper)

± : almost equal to the reference (/)

++ ~ + : above the reference (/)

ま と め

医薬品の供給、流通過程における現場での品質チェックは、それぞれの責任者が専門の見地から試験検査の実施を判断するべきであるが、JPX の基準を充分満足できる簡易なスクリーニング試験法の確立は、品質チェックをさらに容易なものとし、より安全性の高い医薬品の使用が期待される。

本法は、ASA 中の SA の測定にあたって、SA および Fe 試薬をろ紙にしみ込ませたものを使用することによって JPX 法を改良した方法である。これによって、試料、試薬の調製が大幅に省略され、保存も容易かつ簡単な操作で短時間に実施可能となった。

本法により ASA 中の SA スクリーニング試験を行ったところ、従来の JPX 法, GC 法の結果と良く一致し簡易試験法として充分応用できると思われる。

謝 辞

本報告をまとめるのにあたり御指導をいただいた岐

卓薬科大学環境衛生学教室小瀬洋喜教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Kelly, C. A. : Determination of the Decomposition of Aspirin., J. Pharm. Sci., 59, 1053-1079, 1970
- 2) Lesson, L. J. and Mattocks, A. M. : Decompositoin of Aspirin in the Solid State., J. Amer. Pharm. Associ., XLVII, 329-333, 1958
- 3) 山本隆一, 高橋哲也 : アスピリン及びその製剤の安定性について, 塩野義研究所年報, 3, 306-309, 1953
- 4) 山本隆一, 稲津邦平 : 粉末製剤の安定性に関する研究 (第10報) アセチルサリチル酸散剤の安定度と保存湿度との関係, 薬剤学, 19, 117-119, 1959
- 5) 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
- 6) 坂井至通, 今井準三, 日比誠 : 市販アスピリン中サリチル酸, 無水アスピリンの測定, 岐衛研所報, 27, 22-25, 1982
- 7) 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
- 8) 日本薬学会編 : 衛生試験法・注解, 金原出版, p196, 1973
- 9) 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)

岐阜衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

3-Aminopropyltriethoxysilane 処理薄層 クロマトグラフィー用プレートの評価. 衣 類中の遊離ホルムアルデヒド分析への応用

岡本光美*, 日比 誠*, 山田不二造*

Evaluation of 3-Aminopropyltriethoxysilane Treated Thin Layer Chromatographic Plates. Application to Free Forma- ldehyde Analysis in Commercial Clothes

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

緒 言

近年, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 用充填剤を高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) プレートに塗布し, そのプレートの性能を利用した数多くの研究が報告されている. アミノ (NH_2) 処理充填剤を用いる HPLC の報告例に比較し, NH_2 処理 HPTLC (もしくは TLC) プレートを用いる報告は¹⁻⁶⁾ 数例にすぎない. 我々は先に衣類中の遊離ホルムアルデヒド (HCHO) 測定に関し Nash⁷⁾ および小嶋らの方法でルチジン誘導体とし, NH_2 処理充填剤である 3-aminopropyltriethoxysilane (3 APTS) 処理シリカゲルカラムを用いる HPLC による, 衣類中の遊離 HCHO の微量分析方法を報告した⁸⁾.

一方, 多数の試料検体を同時分析するのに HPTLC (TLC) は簡易な有効手段と考えられる. 従って我々は 3 APTS 処理 HPTLC プレートを用いた, 衣類中の遊離 HCHO ルーチン分析への応用を検討した. さらに低級脂肪酸アルデヒドの分離挙動も併せて検討した.

実 験 方 法

1. 試 料

実験に供した試料 (衣類, Table I) は, 1977-1982 年度に購入したものである.

2. 試薬および試液

ホルマリン (約 37% の HCHO 含有), アセトアルデヒド, プロピオンアルデヒド, n-ブチルアルデヒド, n-ペンチルアルデヒド, n-ヘキシルアルデヒド, n-オクチルアルデヒド,

Table I Free Formaldehyde(HCHO) Contents
in Commercial Clothes

Samples	HCHO found (ppm)	Material
Children's wear A	7.0	Rayon
B	6.5	Cotton
C	7.2	Nylon
D	6.8	Cotton
E	50.5	Wool
F	190.5	Cotton
G	10.8	Cotton

n-ヘプチルアルデヒド, アセチルアセトン (AA), クロロホルムは和光純薬 (試薬特級), およびヘキサノール (99.5%) は和光純薬 (液体クロマトグラフ用) を使用した. HCHO および低級脂肪酸アルデヒドのそれぞれのルチジン誘導体については Table II に示したものを標品として使用した. 内部標準含有クロロホルム: クロロホルム 1 ml 中にプロピオンアルデヒド-ルチジン誘導体の 30 μg 含有するように調製した. AA 試液: 省令に規定されたものを用いた. その他の試薬および試液は特級品をそのまま使用した.

3. NH_2 処理 HPTLC プレートの作成

Silica gel 60 pre-coated plate (Merck, Art 5628, 10 \times 10 cm) の 4 枚を, 前報¹⁾ を準用して作成した.

*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

Table II Preparation of HCHO-AA and Other Lutidine Derivatives of Aldehydes

Parent compound	M. P.(°C)	Formula	Analysis : Calc. (Found) (%)		
			C	H	N
HCHO	200—204	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ (HCHO-AA)	68.35 (68.02)	7.83 (7.85)	7.25 (6.97)
CH ₃ CHO	157—159	C ₁₂ H ₁₇ NO ₂	69.53 (69.47)	8.27 (8.51)	6.76 (6.73)
CH ₃ CH ₂ CHO	162—164	C ₁₃ H ₁₉ NO ₂	70.54 (70.42)	8.66 (8.82)	6.33 (6.37)
CH ₃ (CH ₂) ₂ CHO	130—132	C ₁₄ H ₂₁ NO ₂	71.44 (71.69)	9.00 (9.25)	5.96 (6.14)
CH ₃ (CH ₂) ₃ CHO	110—113	C ₁₅ H ₂₃ NO ₂	72.24 (72.12)	9.30 (9.25)	5.62 (5.40)
CH ₃ (CH ₂) ₄ CHO	120—122	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	72.95 (72.76)	9.57 (9.86)	5.32 (5.16)
CH ₃ (CH ₂) ₅ CHO	141—143.5	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂	73.60 (73.80)	9.82 (10.01)	5.05 (5.01)

4. HCHO 原液の標定

特級ホルマリン (約 37% の HCHO 含有) 約 1g をあらかじめ水を入れた秤量びん中に精秤し、水で 100ml に希釈した後、ヨウ素法により標定した。

5. 装置および器具

HPTLC 測定は島津 C-R1A 型クロマトパックを装備した島津 2 波長クロマトスキャナ C-S910 型を用いて行った。

6. HPTLC 条件

ベンゼン-メタノール (25 : 1 v/v) で展開したプレートは、溶媒を十分に揮散させたのち、 λ_{EX} 410 nm, λ_{EM} 500nm の条件で蛍光強度を測定した。

7. HCHO 抽出

省令に従って、細切した試料 (衣類) 2.50g を 200ml の共栓三角フラスコに精秤し、水 100ml を正確に加えて密栓し、40°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) で温時濾過して得た濾液を試料溶液とする。

8. 定 量

試料溶液 5 ml を 20ml の共栓試験管にとり AA 試液 5 ml を加えて振り混ぜ 40°C の水浴中で 30 分間加熱し、急冷操作まで省令に従って行った後、内部標準含有クロロホルム 5 ml で抽出する。必要ならば遠心分離した後、長い針を取り付けた注射器で下層を抜き取り、クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムの少量を加えて脱水し、その一定量 (10-25 μ l) を HPTLC で測定する。

結果および考察

1. 蛍光測定

HCHO-AA 標品を実験方法 6 の条件下、展開後、励起、蛍光スペクトルを測定した結果、EX λ max, EM λ max に従い、410nm, および 500nm とした。

2. 展開溶媒の検討

HCHO-AA および低級脂肪族アルデヒドのそれぞれのルチヂン誘導体のクロマト挙動を 3 APTS 処理 HPTLC プレートを使用して、ヘキサン-メタノール系、ヘキサン-エタノール系、ベンゼン-メタノール系、ベンゼン-エタノール系で検討した。その結果、展開溶媒はベンゼン-メタノール系を使用することとした。この場合のベンゼン中メタノール含量と R_f 値の関係を Fig. 1 に示した。また、未処理 HPTLC プレート上の HCHO-AA および低級脂肪族アルデヒドのそれぞれのルチヂン誘導体のクロマト挙動についても同様に検討し Fig. 2 に示した。3 APTS 処理 HPTLC プレートは、検討した各条件下、若干 R_f 値は変化するものの、ほぼ同一の分離能を示した。このことは、3 APTS 処理 HPTLC プレートが溶離液条件、活性化条件にあまり左右されず、取扱いの容易さを示唆していると思われる。

3. 定量精度の検討

HCHO-AA 1.0 μ g/ml の定量精度について、3 APTS 処理 HPTLC プレート、および未処理 HPTLC

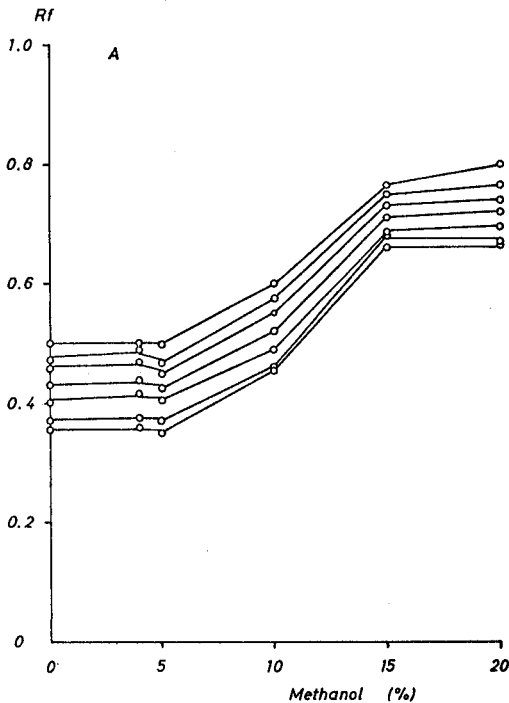


Fig. 1 Relation of R_f vs. concentration of methanol in benzene on the 3 APTS treated plate

- 1 : formaldehyde
- 2 : acetaldehyde
- 3 : propionaldehyde
- 4 : n-butylaldehyde
- 5 : n-valeraldehyde
- 6 : n-capronaldehyde
- 7 : n-heptylaldehyde

プレートを用い、定量条件下で検討した。その結果、cv%値 ($n=9$) は、前者が4.76%、後者が9.91%であった。後者のcv%値が前者に比べて劣るのは大森ら¹²⁾、原らが報告している相対湿度の影響を強く受けたものと考えられた。一方、前者については、プレート表面がNH₂基で処理してある為、活性化等による相対湿度にそれほど影響されなかったためであろうと考えられた。

4. 市販衣類中遊離 HCHO 定量

購入した試料について、本法の応用結果の一部をTable I に示した。

以上のように、衣類中の遊離 HCHO を 3 APTS 処理 HPTLC で定量するための分析方法を検討した。HCHO を水溶液中 AA と反応させ、HCHO-AA とし

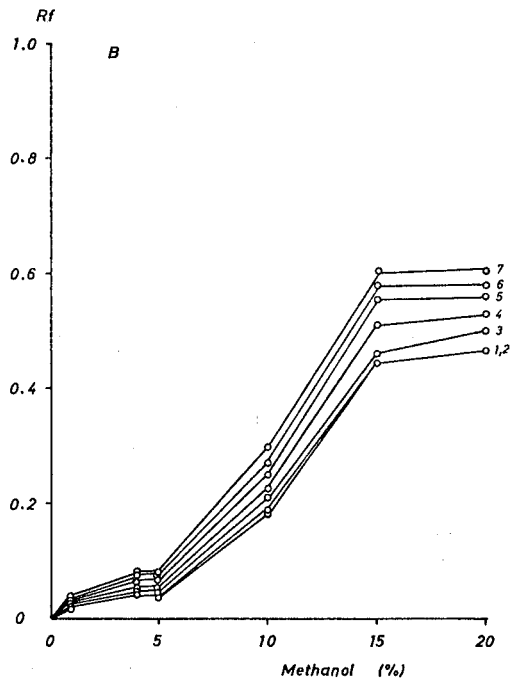


Fig. 2 Relation of R_f vs. concentration of methanol in benzene on the non treated plate

the numbers refer to the compounds in Fig. 1.

HPTLC で同定した。本法は多数の検体を同時分析できるので簡易な有効手段と考えられた。さらに、低級脂肪族アルデヒドとの分離も容易なので、HCHO の確認、同定法としても利用出来るものと思われた。

謝 辞

本研究は昭和57年度の調査研究費の一部によった。

文 献

- 1) M. Okamoto, F. Yamada, T. Omori : Preparation and Evaluation of 3-Aminopropyltriethoxysilane Treated Plates for High Performance Thin Layer Chromatography, Journal of HRC & CC, 5, 163-164, 1982
- 2) M. Okamoto, F. Yamada, T. Omori : Preparation and Evaluation of 3-Aminopropyltriethoxysilane-Treated Plates for the High-Performance Thin Layer Chromatographic Analysis of Some Sugar Compounds,

- "Advances in Chromatography, 1982", ed. by A. Zlatkis, Elsevier, Amsterdam, 1982, p 177-181
- 3) M. Okamoto, F. Yamada, T. Omori: The Effect of Methylene Chain Length on the Chromatographic Behaviour of Aminobonded Silicas in High Performance Thin Layer Chromatography, *Chromatographia*, in press, 1982
 - 4) W. Jost, H. E. Hanck, Proceeding of Second International High Performance Thin Layer Chromatography, Switzerland, May 1982, p 25
 - 5) 岡本光美, 松井健次, 山田不二造, 野口衛: 3-Aminopropyltriethoxysilane 処理薄層クロマトグラフィー用プレートの評価, ニンジンエキス分析への応用, *薬学雑誌*, **102**, 1099-1102, 1982
 - 6) M. Okamoto, F. Yamada: Evaluation of 3-Aminopropyltriethoxysilane Treated Thin Layer Chromatographic Plates. Application to Glycyrrhetic Acid Analysis, *Journal of HRC & CC*, submitted.
 - 7) T. Nash: The Colourimetric Estimation of Formaldehyde by Means of Hantzsch Reaction, *Biochem. J.*, **55**, 416-421, 1953
 - 8) 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
 - 9) 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
 - 10) 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
 - 11) 厚生省令第34号 (有害物質を含有する家庭用品の規則に関する法律施行規則), 昭和49年9月26日
 - 12) 大森竹塩: 高性能薄層クロマトグラフィーによる水溶性食用色素の分離定量, *分析化学*, **29**, 189-193, 1980
 - 13) 原昭二, 大森竹塩, 成松一久, "F. ガイス 液体クロマトグラフィーの最適化", 講談社, 1980

岐阜衛研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

高速液体クロマトグラフィーによる殺鼠剤

中ワルファリン分析

岡本光美*, 日比 誠*

High Performance Liquid Chromatographic Determination of Warfarin

Mitsuyoshi OKAMOTO* and Makoto HIBI*

はじめに

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の最近の進歩は、逆相クロマトグラフィーにおける保持機構の理論的考察、非水系および水系のゲルクロマトグラフィーの高速化、マイクロおよびキャピラリー液体クロマトグラフィーの開発、蛍光検出による高感度検出と Derivatization, LS-MS 開発等への努力など、めざましいものがある。そしてそれらに関する報告は、莫大な数に上っている。一方、ワルファリン (3, (α -acetylbzyl)-4-hydroxycoumarin) は、殺鼠剤として広く使用されている。殺鼠剤中ワルファリンの HPLC としては、Billings¹⁾らの報告があるが、我々はその中で、抽出操作に関し追試したところ、抽出液に沈澱が生じる現象に遭遇した。したがって、今回殺鼠剤からのワルファリンの抽出方法に改良を加えたので報告する。

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。ワルファリン標準原液：ワルファリン (Warf 化学工業) 25mg を精秤し、ジオキサンを加えて溶かし 100ml とした。ワルファリン標準溶液：ワルファリン標準原液をジオキサンで10倍希釈して使用した (用時調整)。

2. 装置および器具

液長可変 UV モニター付日立635T 形高速液体クロマトグラフ、トミーセイコー CD-50SR 型遠心機を使用して行った。

3. HPLC 条件

カラム：LiChrosorb RP-18, 10 μ m (Merck) 約 2 ϕ を内径 4 mm \times 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。溶離液：0.0025N リン酸-メタノール (1:2 v/v), 流速：1.0 ml/min, 測定吸収液長：283 nm, 測定温度：室温。

4. 定 量

殺鼠剤を粉碎し、ワルファリン 300 μ g 相当量を 50 ml 共栓付遠心管に精秤する。ジオキサン 21.5 ml, 1% リン酸ナトリウム 3.5 ml を順次加えて混和後、60 分間振盪する。その後、1700 G, 10 分間の条件で遠心分離したのち、上澄を 0.5 μ m の milipore filter で濾過する。そして濾液 10 μ l を HPLC に付した。

結果および考察

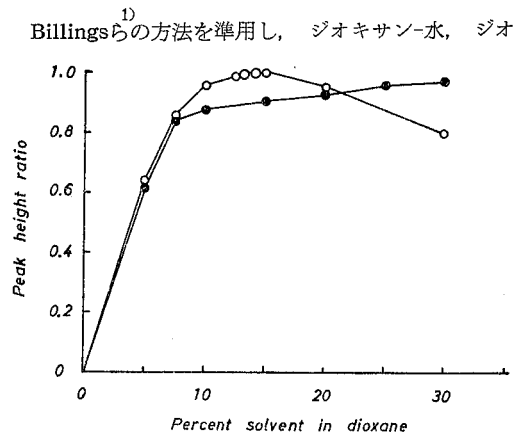


Fig. 1 The Effect of Warfarin Extraction by Various Solvent Mixtures

● : dioxane-water

○ : dioxane-1% sodium pyrophosphate

*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

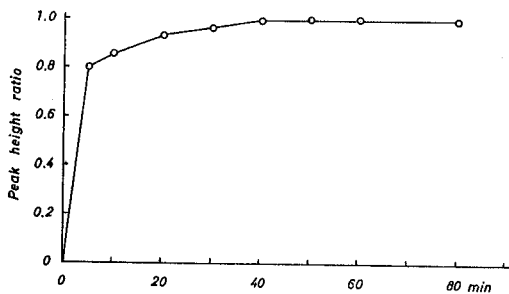


Fig. 2 The Time Effect of Warfarin Extraction

キサン-1% $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ の系について、抽出時間を一定 (60分間) とし、抽出溶媒の検討を HPLC により行なった結果を Fig. 1 に示す。Fig. 1 から明らかかなように、ジオキサン-1% $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 系を用いることとし、ジオキサン86ml, 1%リン酸ナトリウム14mlの割合で、順次加え使用することとした。

次に、実験方法4について、抽出溶媒ジオキサン86ml, 1% $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$ 14mlの割合で順次加えた後、抽出時間の検討を行った (Fig. 2)。

Fig. 2 から明らかかなように、抽出時間は40分間以上行なえば、ほぼ一定値を与えた、したがって抽出時間は60分間とすることとした。

実験方法4に従って、検量線を作成した結果、含有試料量 ($Y \mu\text{g}$) と、その時得られたクロマトグラムのピーク面積 ($X \text{mm}$) の回帰直線は、

$$Y = 0.374X + 0.09 \quad (r = 0.997, n = 7)$$

となった。ワルファリン200 μg を試料に添加し、定量法にしたがい得られた平均回収率は、97.6% (変動係数2.66%, $n = 5$) であった。この時得られたクロマトグラムを Fig. 3 に示す。本法を市販の1試料に応用したところ、表示量の106.7%という結果を得た。

以上のように、殺鼠剤中ワルファリンを HPLC で

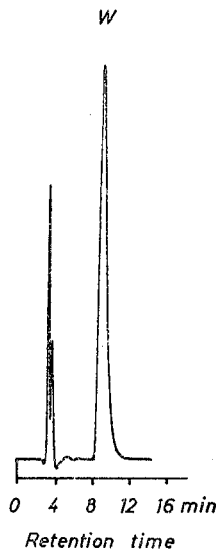


Fig. 3 Chromatogram of Warfarin in Commercial Samples W: warfarin

定量するための分析方法の検討を行なった。また内部標準法については、ピークの再現性がすぐれており、かつ添加回収実験の結果からも明らかかなように、高い回収率を持っているため特に必要としないと考えられた。

謝 辞

本研究は昭和57年度調査研究費の一部によった。

文 献

- 1) Toby J. Billings, Alan R. Hanks, and Billy M. Colvin; High Performance Liquid Chromatographic Determination of Warfarin, *Journal of A · O · A · C.*, **59**, 1104-1108, 1976

岐阜研所報

Rep. Gifu

Inst. P. H.

実験排水中フェノール類の有機溶媒による抽出除去

森下有輝*, 寺尾 宏*, 梶川正勝*

Solvents Extract of Phenols in Laboratory Waste-Water

Yūki MORISHITA* Hiroshi TERAO* Masakatsu KAJIKAWA*

インドフェノール法によるアンモニア性窒素の検査等から生じる実験室排水は量的には少ないが、フェノール類が時には数%含まれる^{1,2)}。これはフェノール類の排水基準値³⁾5.0mg/lの $10^3 \sim 10^4$ 倍であり、何らかの排水対策が必要である。フェノールの排水処理は主として³⁻⁶⁾、塩素、オゾン等を用いた化学的酸化分解、フェノールに順化された微生物群による生物的酸化分解、フェノール回収を主目的とした溶媒抽出、イオン交換樹脂、活性炭等による吸着除去が用いられている。しかし、量的にも、また発生する頻度も少ない小規模実験室の排水処理としては、そのまま応用できるものは少ない。

低濃度のフェノールは生物によって分解させることが可能であり、排水基準値程度に布積されるなら、生活排水処理系の活性汚泥処理への投入も可能である³⁾。場合によっては直接放流も考えられる。しかし、その他の排水量が少く布積が十分に期待できない場合には何らかの前処理を行い、少しでも濃度を下げおく必要がある。そこで我々は高濃度実験排水の前処理として溶媒抽出を用いることを検討した。

工業的なフェノール回収に用いられる有機溶媒はベンゼン、タール軽油、フェノソルバン、TCP^{3,4)}等であるが分配係数の大きくないものも、経済性の点から利用されている。検討には実験室で利用できそうな有機溶媒を選んだ。1.25%のフェノール水溶液を調整し、硫酸を用いて酸性(pH 2以下)にした後、水溶液の1/10量の溶媒を加え、振とう抽出した(表1)。水溶液からのフェノール除去率が最も高かった(83%)のはアセトフェノンで、これはベンゼンと混合(1:1)した⁶⁾場合の分配率は110と報告されている溶媒で

表1 有機溶媒による水溶液からのフェノールの抽出除去

有機溶媒	残留フェノール %	除去率 %
n-ブチルアルコール	0.95	24
酢酸 n-ブチル	0.31	75
イソアミル酢酸	0.35	72
アセトフェノン	0.21	83
イソプロピルエーテル	0.43	66

1.25% フェノール水溶液に有機溶媒 1/10 量を加え抽出

表2 アセトフェノン混合(1:1)溶媒によるフェノールの抽出除去

混合溶媒	残留フェノール %	除去率 %
クロロホルム	0.39	69
酢酸 n-ブチル	0.21	83
イソプロピルエーテル	0.21	83
ベンゼン	0.32	74

1.25% フェノール水溶液に有機溶媒 1/10 量を加え抽出

ある。次いでフェノソルバンの主成分^{3,4)}である酢酸 n-ブチルが有効であった。

次に、アセトフェノンを他の溶媒と 1:1 に混合した結果(表2)、ベンゼンよりも酢酸 n-ブチル、イソプロピルエーテルと混合した場合に、アセトフェノン

*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3 実験排水からのフェノールの抽出除去

有機溶媒	残留フェノール %	除去率 %
アセトフェノン+イソ プロピルエーテル (1+1)	0.03(290mg/ℓ)	88
イソプロピルエーテル	0.06(600mg/ℓ)	76
酢酸 n-ブチル	0.04(430mg/ℓ)	83

排水（フェノール濃度0.25%）に有機溶媒1/10量を使用

単独で抽出した場合と同じ83%の除去率が得られた。以上の結果は1/10量の溶媒を使用した1回の抽出では最高83%の除去しか得られず、水溶液中のフェノール残量は2100mg/ℓであった。

20%フェノール水溶液にアセトフェノン、イソプロピルエーテル（1：1）混合溶媒を用いて同様抽出した実験では92.8%が除去され、さらに抽出を繰返すと除去率は99%となり、水溶液中フェノール残量は2000mg/ℓとなった。このことは高濃度でも抽出を2回繰返すことにより、残留フェノール濃度を2000mg/ℓ以下にすることが可能であることを示している。

水道水検査でのインドフェノール法によるアンモニア性窒素定量後の排水には、およそ0.25%のフェノールを含有しているが、このフェノール除去を行った結果（表3）、アセトフェノンを用いた場合は除去率は88%と表1.2の結果より高くなり、排水中残留フェノール量は290mg/ℓであった。また、酢酸n-ブチル、イソプロピルエーテルを用いた1回の抽出操作によっても500mg/ℓ程度までフェノール濃度を下げることができた。

以上の結果、用いた有機溶媒の中では、アセトフェ

ノンが最も有効であった。しかし、その毒性がやや高いこと、臭気が著しいことから実験室で実際に用いるには適当でない様に思われる。イソプロピルエーテルや酢酸ブチルは抽出効果は劣るけれども、抽出を2回繰返して行うことによって数100mg/ℓ以下にすることが可能であるから、これらの溶媒を用いるのが良いと考えられる。

溶媒抽出によって処理した排水は10倍に希釈し、さらに他の排水で10倍程度混合希釈できれば、500mg/ℓのフェノールが残留していても5mg/ℓで放出することができる。これは10ℓ以下のフェノール排水であれば、小規模な実験室でも可能な条件と考えられる。一方、フェノールを抽出した有機溶媒は焼却炉で他の可燃物と共に焼却することができる。

ここに述べた方法は排水を酸性にして有機溶媒を1/10量加え振とう抽出する単純な作業であるから、高濃度で少量のフェノール排水を発生源で前処理する場合、特に保健所や衛生研究所での処理に応用できると思われる。

参考文献

- 1) 日本規格協会：工場排水試験方法，JIS K 0102-1981，p. 59，1981
- 2) 日本水道協会：上水試験方法，p. 265，1978
- 3) 用水廃水ハンドブック編集委員会：用水廃水ハンドブック，p. 279，産業用水調査会，1969
- 4) 広瀬孝六郎：工場廃水とその処理，p. 291，技報堂，1963
- 5) 吉田高年，永井健太郎：脱フェノール処理研究のすう勢，用水と廃水，12，720-728，1970
- 6) 用水廃水便覧編集委員会編：用水廃水便覧，改二版，p. 927，丸善，1973

＜他誌掲載論文＞

伝染性紅斑の疫学的研究

第1報 1980～81年岐阜県内流行とそのウイルス学的病原検索について

川本尋義, 三輪智恵子, 山田不二造 (岐阜衛研)

臨床とウイルス, vol. 10, No. 3, 229-233, 1982
伝染性紅斑 (Erythema Infectiosum) が1980～81年の冬春季にかけて岐阜県下全地域で小学校学童を中心に大流行したことが, 県下57定点の小・中学校在校生44,500名の罹患調査の結果, 明らかにされた。

また本症の病原体は今だ不明とされているが, ウィルス感染症と推定されている。我々の病原検索では顕著な本症症例の早期病日患者19症例の内6例からウイルス分離と並びに血清学的診断によりエコーウイルス3型 (E-3) 感染の証明が得られた。

これらの検索成績をふまえて, 本症流行の疫学的解析と病因論的考察を行った。

コクサッキーウイルスB群の血清疫学的研究 岐阜県における抗保有率の推移

渡辺 実, 野田伸司, 山田不二造 (岐阜衛研)

感染症雑誌, 第56巻, 977～981, 1982

1960～1962年および1977～1980年に, 岐阜県において採取された血清について, コクサッキーウイルスB群に対する中和抗体保有率の調査を行い, 血清疫学的検討を加えた。

1977～1980年には, 1960～1962年に比較して, 0～2歳には抗体保有率の低下が認められたが, 3～10歳には著名な抗体保有率の上昇が認められた。11歳以上の年齢層には, 抗体保有率の変化は, ほとんど認められなかった。

型別には, 1型抗体は, 1960～1962年の0～2歳には22%の保有率が認められるが, 1977～1980年の同年齢層には, 抗体保有率はほとんど認められず, 1型ウイルスの年次的な消長の大きさが推測される。4型抗体は, いずれの年次においても各型中, 最も高い保有率が認められ, 4型ウイルスの常在性の強さが示された。5型抗体は, いずれの年次においても6～15歳に保有率のピークがみられ, 成人層には, 著明な保有率の低下が認められた。

5歳以下で, 抗体を全く保有しないものの比率は, 1960～1962年には, 0歳の50%から5歳の20%まで, ゆるやかに減少するのに対し, 1977～1980年には, 0歳の100%から5歳の0%まで, 急激な下降が認められた。

卵焼きによる腸炎ビブリオ食中毒事例について

所 光男, 加藤樹夫, 後藤喜一, 渡辺 実,
山田不二造 (岐阜衛研)

上田 宏, 大橋富男, 奥村直尊, 大平恵美子,
林 峯雄, 上田 茂 (羽島保健所)

白井宗一, 伊藤 保, 栗田元徳 (岐阜県衛生部環境衛生課)

食品衛生研究, vol. 32, No.10, 947-954, 1982

1981年9月羽島郡笠松町で発生した腸炎ビブリオ食中毒事例で推定原因食品 (市販卵焼き) 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, その概要を報告するとともに室温に放置した卵焼きでの腸炎ビブリオの増殖および卵焼きで増殖した腸炎ビブリオの冷蔵庫中での消長に実験的な検討を加えた。

テトラヒメナに及ぼす各種金属の影響 (I) 細胞増殖率と定常期細胞に及ぼす金属の影響 について

森 下 有 輝

岐阜大医紀, 30(4), 447-460, 1982

テトラヒメナ (*Tetrahymena pyriformis*) に対する各種金属の影響をテトラゾリウム塩を用いた酸素酵活性を測定し検討した。

細胞増殖に及ぼす阻害の強さ (A) は, Cd Hg > Se > As > Cr > V Mn > Zn Cu > Ca Mg の順序であり, 定常期細胞に対する阻害の強さ (B) は, Se > Cd > Hg > Cu > Pb > U > As > Fe > Cr > Zn > Mn > V > Ca Mg の順であった。

A, Bの方法によるEC₅₀値を比較すると, Se Cd Hg は10μM以下, Asは30μMで両者に差は認められなかったが, Cu Pb ZnはAよりBによるものが低濃度であった。また, Cr Mn VではAの方が低濃度であった。

影響濃度範囲をEC₅₀/EC₂₀で表わすと, Aではいずれの金属も6.4以下であり, Bも多くの金属は10以下であったがCr Mn Vは50～70を示した。

定常期細胞に対するEC₅₀値とラット及びマウスのLD₅₀値の間には, それぞれ, r=0.749, 0.784の相関を示し, テトラヒメナによる金属毒性の簡易迅速評価が可能と思われた。

テトラヒメナに及ぼす各種金属の影響 (II) 金属の相互作用について

森下 有輝

岐阜大医紀, 30(4), 461-474, 1982

テトラヒメナの定常期細胞を用いて14種の金属間の相互作用を検討した。相互作用の評価は二金属を組合せて得られる実験値と、個々の金属単独で得られる酵素活性残存率の積(無相互作用値)の差で表わした相互作用値を求めて行った。

拮抗作用は20の組合せ、相加作用は15の組合せで認められ、相互作用の大きい金属間のモル比はほぼ1:1~2であった。

陰イオンの形で用いた Se Cr As V の間の相互作用は拮抗的であり、Seは Hg Cd Pb Cu の2価金属とも拮抗作用を示した。Hgは Se 以外の全ての金属と相加的であり、他金属イオンの存在によって毒性が増加することを示した。

金属暴露の順序を2時間の差で変えると、相互作用が現われなくなる組合せが多く、暴露順序と時間が相互作用に重要な因子であった。

アルカリ土類金属はいずれも他金属とは同じ形の相互作用を示し、その影響は $Ca > Sr > Mg > Ba$ の順に大きかった。

簡易水道における差圧式流量計を原因とする 水銀汚染

森下有輝, 寺尾 宏, 梶川正勝(岐阜衛研)

水道協会雑誌, 52 (No. 580), 21-24, 1983

簡易水道(給水人口4800人, 給水量670ml/日)の定期水質検査で0.5 μ g/lの水銀を検出し, 給水地域5地点の再検査で0.4~1.2 μ g/lの汚染を認めたので原因究明を行った。

その結果, 浄水施設内に設置された差圧式流量計に用いられている金属水銀が飛散防止トラップを通り越し, ベンチュリー管に迄, 達していることが確認された。流量計撤去後, 2日目では基準値を越える地点が10件中6件, 3日目3件であったが, 4日目には0.2 μ g/l以下となり, 9日後には30地点で全て0.1 μ g/l以下となった。実験的に金属水銀の溶出について検討したところ, 残留塩素の存在は金属水銀の溶出を著しく増大させることが明らかになった。また, 水道管の材質では, 塩化ビニル, ダクタイル鋳鉄, 石綿セメント, 亜鉛メッキ鋼の順序で吸着が大きくなったが, 残留塩素の存在は吸着を抑制し, 吸着水銀を再溶解することが判明した。

活性汚泥に及ぼすトイレ用洗浄剤の影響

南部敏博, 森下有輝, 日比 誠, 山田不二造,
金子光美(国立公衆衛生院)

日本公衛誌, 30(1), 19-26, 1983

3種類のトイレ用洗浄剤について, 長時間曝気方式し尿浄化槽の実験装置を用い, 活性汚泥に及ぼす影響を調査した。活性汚泥の酸素消費速度活性に対する影響は, 酸性洗浄剤では200ppmで現われたが, アルカリ性洗浄剤では1200ppm, 中性洗浄剤では2000ppmでも顕著でなかった。50%阻害濃度は, 酸性洗浄剤では520ppm, アルカリ性洗浄剤では2680ppmであった。中性洗浄剤は3200ppmでも21%の阻害であった。

洗浄剤をたえず添加して慢性影響を調査すると, 影響の現われる濃度は酸素消費速度活性の結果と必ずしも一致せず, 洗浄剤によってそれぞれ活性汚泥に及ぼす作用機序が異なることが明らかになった。し尿浄化槽の処理機能に対してトイレ用洗浄剤の影響の現われない濃度は, 酸性洗浄剤とアルカリ性洗浄剤では500ppm, 中性洗浄剤では250ppmであった。

急性ブロムワレリル尿素中毒における血液灌 流術の1治療例

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)
岡本光美, 山田不二造(岐阜衛研)

内科, 50(3), 563-567, 1982

薬物中毒において, 血液灌流術が臨床的に奏効したという報告は多数みられるが, 患者血清中の中毒物質を測定し, その推移を明らかにし, 血液灌流術の有効性を裏づけた報告はほとんどない。以前著者らはマラチオン中毒患者の血清マラチオン濃度を測定し, その推移を明らかにしたが, 今回眠剤中毒の患者において血液透析(HD)および血液灌流術(HP)を施行するとともに, 血清中のブロムワレリル尿素(BVU), フェナセチン, カフェインを測定し, 血中濃度の経時的変化と臨床経過を観察した。測定条件は, LiChrosorb RP-18, 5 μ m (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カラムを使用し, 溶離液はアセトニトリル:水(1:3v/v), 流速0.38ml/min, 圧力80kg/cm², 測定波長210nmで, 高速液体クロマトグラフィーにより血中濃度測定を行なった。

過ヨウ素酸酸化法を利用した Guaiacol Glyceryl Ether の Gas Chromatography

小林恵子, 河合 聡 (岐阜薬大)
岡本光美 (岐阜衛研)

薬学雑誌, 102(11), 1095-1098, 1982

Guaiacol glyceryl ether (GGE) は鎮咳剤として広く用いられている。その分析法としては gas chromatography(GC), colorimetry, high-performance liquid chromatography などが報告されている。著者らは含フッ素カルボニル試薬である pentafluorobenzoyloxylamine hydrochloride(PFBOA) が水溶性低分子カルボニル化合物の GC における誘導体化試薬としてすぐれた性質を有することを明らかにし、衣類中の遊離ホルムアルデヒド、アミグダリン、過酸化水素の GC に応用してきた。PFBOA の多面的な応用研究の一環として今回は水溶液中の微量 GGE を過ヨウ素酸酸化して生成するホルムアルデヒドおよび 2-methoxyphenoxyacetaldehyde を PFBOA と縮合させ GC で測定する方法について基礎的な検討を加えた。

3-Aminopropyltriethoxysilane 処理薄層クロマトグラフィー用プレートの評価。ニンジンエキス分析への応用

岡本光美*, 山田不二造 (岐阜衛研)
松井健次 (一丸ファルコス・株)
野口 衛 (国立衛試)

薬学雑誌, 102(11), 1099-1102, 1982

近年、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 用充填剤を薄層クロマトグラフィー (TLC) プレートに塗布し、それプレートの性質を利用した数多くの研究が報告されている。アミノ (NH₂) 処理充填剤を用いる HPLC の報告例に比較し、NH₂ 処理 TLC プレートをを用いる TLC の報告は数例にすぎない。一方、ニンジン (root of *Panax Ginseng* C. A. MAYER, Araliaceae) のエキスは医薬品あるいは健康食品として大量に使用されているが、その品質管理の目的で、多数の試料を同時分析するのに TLC は簡易な有効手段と考えられる。TLC に関し、相対湿度が測定の再現性、の主要な要因であることから、測定値の変動を小さくするため、シリカゲル TLC プレート表面を適当な化学処理剤で処理を施すことが考えられる。今回、シリカゲル表面に近い性質を持ち NH₂ 基を有する 3-aminopropyltriethoxysilane 処理 TLC プ

レートをを用い、ニンジンエキス分析への応用を検討した。クロロホルム-メタノール-ブタノール-水 (40:30:20:10, 下層) で展開したプレートは、溶媒を十分に揮散させたのち、濃硫酸を均一に噴霧し、110°C, 10分間加熱、呈色後 λ_s 525nm, λ_R 760nm として測定した。本法はニンジンの主要な有効成分と考えられている Ginsenoside-Rb₁, Ginsenoside-Rb₂, Ginsenoside-Rc, Ginsenoside-Re, Ginsenoside-Rg₁ の品質管理に使用可能なことが示唆された。

The Effect of Methylene Chain Length on the Chromatographic Behaviour of Aminobonded Silicas in High-Performance Thin Layer Chromatography

Mitsuyoshi OKAMOTO* and Fujizo Yamada

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

Takeshi OMORI

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

Chromatographia, 16, 152-154, 1982

High-performance thin layer chromatography has been carried out on 3-aminopropyltriethoxysilane, N-(2-aminoethyl) -γ-aminopropyltrimethoxysilane or trimethoxysilylpropyldiethylenetriamine-treated thin layer plates. The chromatographic properties of the aminomodified plates depends largely on the amino-methylene (alkylamino) chain length bonded to the surface of the silica gel. We have now studied the preparation and evaluation of NH₂-treated plates and the HPTLC separation of some sugars, nitroanilines, and saponins of *Panax Ginseng*.

Presented at the "14 th International Symposium on Chromatography London, September, 1982"

Cyanoalkyl-Bonded HPTLC Plates and Their Chromatographic Characteristics

Takeshi OMORI

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

Mitsuyoshi OKAMOTO and Fujizo YAMADA

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

Journal of HRC & CC, 6, 47-48, 1983

In studies of the chemical modification of HPTLC plate silica gel we have already described the 3-aminopropyl bonded phase, Hauck and Jost have also reported many interesting applications using alkylamino-modified HPTLC plate. However, there are no reports dealing with the chromatographic characteristics of chemically modified plates with weakly polar cyanoalkyl groups. We have now studied their preparation and evaluation their chromatographic properties using weak, medium, and strong polar substances on cyanoalkyl-bonded phase.

Cyanoalkyl-bonded plate is weak stationary phase with slightly lipophilic properties, and can be used in the normal and quasireversed phase mode.

Preparation and Evaluation of 3-Aminopropyltriethoxysilane-Treated Plates for the High-Performance Thin-Layer Chromatographic Analysis of Some Sugar Compounds

Mitsuyoshi OKAMOTO* and Fujizo YAMADA

GiFu prefectural Institute of Public Health,
6-3, Noishiki 4 Chome, Gifu 500, Japan

Takeshi OMORI

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

ADVANCES IN CHROMATOGRAPHY, 1982

Edited by A. Zlatkis, Elsevier, Amsterdam,
1982, p. 177-181.

High-performance thin layer chromatography has been carried out on the 3-aminopropyltrie-

thoxysilane (3 APTS)-treated thin-layer plates. With acetonitrile-water mixtures as simple mobile phase, some sugars were separated. Some sugars gave fluorescent spots with non-spray reagent on the 3 APTS-treated plate when the plate was heated in an oven. The fluorescent intensity of some sugar spots with the non-spray reagent method was ca. 0.31-fold on the 3 APTS-treated plate compared with the ethylenediamine sulfate reagent method.

Efficacy of Hemoperfusion in the Therapy of Bromvalerylurea (Bromural) Intoxication

Motoyuki ISHIGURO, Takao YASUE, Sachiro WATANABE, Atsushi UMEMURA

Prefectural Gifu Hospital, Noishiki, Gifu, Japan

Mitsuyoshi OKAMOTO, Fujizo YAMADA

Gifu Prefectural Institute of Public Health,
Noishiki, Gifu, Japan

Clinical Toxicology, 19(3), 273-279, 1982

We have found that charcoal hemoperfusion is effective in removing bromvalerylurea (BVU) from circulation. A patient poisoned with BVU showed a marked lightening of coma after 3 h of hemoperfusion. The BVU concentration in the patient's serum was decreased significantly by hemoperfusion. In an experiment with dogs without hemoperfusion, the BVU concentration had its peak at the fourth hour after oral administration and decreased in 24 h. In an experiment with hemoperfusion, BVU concentration of dogs decreased markedly during hemoperfusion. After hemoperfusion a rebound of concentration was observed.

Preparation and Evaluation of Benzyl-dimethylchlorosilane-Treated Silica Column for High-Performance Liquid Chromatography

Mitsuyoshi Okamoto* and Fujizo Yamada

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

Journal of Chromatography, 247, 167-170, 1982

In previous papers, we considered the effect of different concentration of 3-aminopropyltriethoxysilane (3APTS)-treated and N-(2-aminoethyl) γ -aminopropyltrimethoxysilane(N2AAPTStreated silica columns for use in high-performance liquid chromatography (HPLC). An additional parameter that must be considered during process is the degree of coverage of the silica surface. As a significant development of this work, we have now extended the effect of the mean pore diameter and specific surface area of silica to benzyl-dimethylchlorosilane(BDM)-treated silica columns. Under our chromatographic conditions, the most important parameters of silica gel with respect to the number of accessible BDM groups per gram of silica gel were the mean pore diameter and the specific surface area.

Preparation and Evaluation of N-(2-aminoethyl)- γ -aminopropyltrimethoxysilane-Treated Silica Columns for HPLC

Mitsuyoshi Okamoto* and Fujizo Yamada

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

Journal of HRC & CC, 5, 443-444, 1982

In previous papers, we considered the effect of different concentration of 3-aminopropyltriethoxysilane (3APTS) or N-(2-aminoethyl) γ -aminopropyltrimethoxysilane (N2AAPTStreated silica columns, and the chain length effect of aminomethylene bonded chains, in the case of N2AAPTStreated or 3APTStreated silica columns, in high-performance liquid chromatography (HPLC). An additional parameter that must be considered during the bonding process is the degree of coverage of the

silica surface. As a significant development of this work, we have now extended our knowledge of the effect of mean pore diameter and specific surface area of silica to the N2AAPTStreated silica column. Under our chromatographic conditions, the data given in experimental shown the important parameters of accessible N2AAPTStreated silica groups to be mean pore diameter and the specific surface area.

高速液体クロマトグラフィーによる魚肉中オキソリン酸、ナリジクス酸及びピロミド酸の同時定量

春日洋二, 杉谷 哲, 山田不二造 (岐阜衛研)
食品衛生学雑誌 Vol. 23(4), 344-347, 1982

さきに水産用医薬品であるナリジクス酸 (NA) の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析法を報告したが, 更に NA とオキソリン酸 (OA) 及びピロミド酸 (PA) の同時定量法を検討した. 抽出及びクリーンアップ法, HPLC カラム及び移動相ともに NA に用いた条件を用い, 測定波長を 335nm に設定することで共存物質による妨害が完全に除かれ, OA, NA 及び PA の短時間での同時定量が可能になった.

数種の魚を用いた添加回収実験の結果, 回収率は OA 87.5~90.5%, NA 85.0~86.3%, PA 74.5~77.2%であった. 検出限界は OA 0.03 μ g/ml, NA 0.04 μ g/ml, PA 0.1 μ g/ml であった.

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

大塚公人, 堀部京子, 杉谷 哲,
山田不二造 (岐阜衛研)

食品衛生学雑誌 Vol. 23(5), 373-376, 1982

高速液体クロマトグラフ (HPLC) を用いて, 魚肉中ニフルピリノール (NFP) の定量法を検討した. 試料に無水硫酸ナトリウムを加えて混合後, ジクロロメタンで抽出した. 抽出液中の NFP をフロリジルカラムに吸着させ, アセトンで溶出後, 内部標準物質を添加して HPLC に注入した. 充てん剤として LiChrosord RP-18 を用い, 2.5×10^{-5} v/v% 酢酸含有アセトニトリル-水 (45:55v/v%) を移動相とした逆相クロマトグラフィーにより分析を行った. ニジマス, アユ, ウナギを用いての添加回収率は81.8%~93.9%であった. 検量線は 2.5~150ng の範囲で原点を通る直線性を示し, 検出限界は 1.25ng であった.

学 会 報 告

- 伝染病紅斑の疫学的研究 第1報
1980~81年岐阜県内流行とそのウイルス学的病原検索について
川本尋義, 三輪智恵子, 山田不二造(岐阜衛研)
松浦章雄(高山日赤病院小児科)
高橋英勝, 松田美泰(元保健予防課)
星 融(郡上保健所)
交告保朗, 渡辺昇(保健予防課)
第28回東海公衆衛生学会 昭和57年6月 岐阜市
- 急性出血性結膜炎(AHC)の疫学的研究 感染症サーベイランスからの展望と展開について
川本尋義(岐阜衛研)
小原博亨(多治見県立病院眼科)
第28回東海公衆衛生学会 昭和57年6月 岐阜市
- 急性出血性結膜炎(AHC)の流行予測とウイルス病原検索について
川本尋義(岐阜衛研)
小原博亨(多治見県立病院)
第331回東海眼科学会 昭和57年9月 名古屋市
- 献血者集団における梅毒血清反応の実態—岐阜県, 1972~1981—
渡辺実, 野田伸司, 山田不二造
第56回日本感染症学会 昭和57年4月 東京
- コクサッキーウイルス A-16 およびエンテロウイルス 71に対する消毒薬の効果
野田伸司, 渡辺 実, 山田不二造
第56回日本感染症学会 昭和57年4月 東京
- し尿浄化槽放流水のサルモネラ検索法について
加藤樹夫, 所光男, 後藤喜一, 渡辺実, 山田不二造(岐阜衛研)
第28回東海公衆衛生学会 昭和57年6月 岐阜市
- 岐阜県〇町に発生した原因不明下痢症の大腸菌を中心とした細菌検査成績について
後藤喜一, 所 光男, 渡辺 実, 山田不二造(岐阜衛研)
- 第25回日本感染症学会中日本地方会 昭和57年10月 奈良市
- 岐阜県下における水道水中のトリハロメタンについて
梶川正勝, 寺尾宏, 森下有輝, 山田不二造(岐阜衛研)
第28回東海公衆衛生学会 昭和57年6月 岐阜市
- 魚網を用いた接触曝気法による汚水処理の実際例
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3回生物膜法研究会 昭和58年1月 東京都
- 魚網を用いた接触曝気法の硝化特性
南部敏博, 山田不二造(岐阜衛研)
金子光美, 河村清史(国立公衆衛生院)
第17回水質汚濁学会 昭和58年3月 東京都
- 市販総合感冒剤の含量均一性試験(カフェンについて)
坂井至通, 今井準二, 日比 誠(岐阜衛研)
57年日本薬学会東海支部大会 昭和57年6月 静岡市
- アスピリン中の微量混在物の定量
坂井至通, 今井準三, 日比 誠(岐阜衛研)
57年日本薬学会東海支部例会 昭和57年9月4日 名古屋市
- アミノ処理薄層クロマトグラフィー用プレートの評価
岡本光美, 山田不二造(岐阜衛研)
大森竹塩(関東化学, メルク試薬部)
日本薬学会102年会 昭和57年4月4日 大阪市
- アミノ処理薄層クロマトグラフィー用プレートの応用例 岡本光美, 今井準三, 日比 誠, 山田不二造(岐阜衛研)
第28回東海公衆衛生学会 昭和57年6月18日 岐阜市

- シリカゲル上アルキルアミノ基のクロマトグラフィ
ー効果

岡本光美 (岐阜衛研)

第4回HCLC 研究談話会 昭和57年12月11日

名古屋市

- PREPARATION AND EVALUATION OF NH₂-TREATED PLATES FOR THE HIGH PERFORMANCE THIN-LAYER CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF SOME SUGAR COMPOUND

Mitsuyoshi OKAMOTO,

Fujizo YAMADA

Gifu Prefectural Institute of Public Health

/Gifu, Japan

Takeshi OMORI

Kanto Chemical Co., Merck Reagent Dept.

/Tokyo, Japan

18th International Symposium Advances in Chromatography

15-17th April, 1982 Tokyo, Japan

- THE EFFECT OF METHYLENE CHAIN LENGTH ON THE CHROMATOGRAPHIC BEHAVIOUR OF AMINOBONDED SILICAS IN HPTLC

Mitsuyoshi OKAMOTO

Fujizo YAMADA

Gifu Prefectural Institute of Public Health

/Gifu, Japan

Takeshi OMORI

Kanto Chemical Co., Merck Reagent Dept.

/Tokyo, Japan

14th International Symposium on Chromatography

13-17th September, 1982

London, United Kingdom

- 下痢性貝毒による食中毒事例

野々村文雄, 岩田好博, 杉谷 哲, 山田不二造

(岐阜衛研)

近藤和久, 円田辰吉 (岐阜県高山保健所)

白井宗一 (岐阜県衛生部環境衛生課)

第44回日本食品衛生学会 昭和57年11月 福岡市

- シイタケ中のカドミウムの化学形 特に高分子結合物質

大江章夫, 杉谷 哲, 山田不二造 (岐阜衛研)

第44回日本食品衛生学会 昭和57年11月 福岡市

- 薄層デンストメトリーによるニフルピリノールの蛍光定量

大塚公人, 堀部京子, 杉谷哲, 山田不二造

(岐阜衛研)

第44回日本食品衛生学会 昭和57年11月 福岡市

- カドミウム連続経口投与によるラット肝臓, 腎臓中カドミウムの細胞内分布

渡辺 豊, 野々村文雄, 棚橋宣康, 杉谷 哲

(岐阜衛研)

第9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57年10月 岡山市

- 尿中 γ -GTP, GP-DAP 活性値について

渡辺 豊, 野々村文雄, 棚橋宣康 (岐阜衛研)

吉川 博 (岐大・医・公衛)

第28回東海公衆衛生学会 昭和57年6月 岐阜市

岐阜県衛生研究所報投稿規定

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

○研究（調査）報告	（原稿用紙20枚以内）
○資料	（ 〳 15 〳 ）
○研究速報（短報とする）	（ 〳 10 〳 ）
○他誌掲載論文抄録	（ 〳 2 〳 ）
3. 原稿は、定められた期日までに学術委員会に提出すること。
4. 原稿はB5版400字詰横書き原稿用紙を用いる。
5. 研究報告、表題、著者名、英文表題（前置詞、接続詞、冠詞以外、イニシアルを大文字、他は小文字、著者名は、本人が常用しているローマ字を用いて名、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、外国人名は外国語（タイプ又はブロック体）とする。
10. 表は方眼紙または同型の白紙を用い、表の上には「表1., Table3.」などの番号と表題を明瞭に書く。

図（写真を含む）は、他の方法で表わし難いもの

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

英文抄録を付した報告については原則として表、図共に英文とし、表題は前置詞、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. 文献は本文中引用箇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.28
昭和58年11月
Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health No.28
1983

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> 46-1101
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
