

原著

ミニカートリッジカラム精製による農産物中の 残留農薬一斉分析

渡辺貞夫

Simultaneous Determination of Residual Pesticides in Agricultural Products by Clean-up using Mini-Cartridge Column

Sadao WATANABE

Synopsis

A method for rapid and simultaneous determination of 31 organophosphorus, 38 organonitrogen and 22 organochlorine (including pyrethroid) pesticides was developed by FPD-GC, FTD-GC and ECD-GC, respectively. The pesticides were extracted from the sample with acetone, and re-extracted into the mixture of *n*-hexane: ethyl acetate (4:1). Organophosphorus pesticides in the extract were directly determined without a clean-up. On the other hand, a part of the extract was cleaned up with Sep-Pak Florisil cartridge and used for the determination of organonitrogen and organochlorine pesticides. Almost all of the pesticides were recovered from fortified apple, mandarin orange, asparagus, potato and cucumber by the proposed method, but only a few pesticides were not sufficiently recovered. This method was suitable for except several pesticides tested. These pesticides recovered in the test solution could be identified simultaneously by GC/MS (SIM).

Key Words : simultaneous determination, pesticides, Sep-pak Florisil cartridge, agricultural products

緒 言

食品中の残留農薬については、かねてより国民の関心が高く、これらを背景に食品衛生法の告示改正により従来26種類の農薬が53品目の農作物に規格基準が設定されていたものが、平成5年5月1日に新たに34種類が告示されたのを初め、9次に渡る告示¹⁻⁹⁾により173種類が追加され、現在199種類に拡大された。また、対象はほぼ全作物に適用されるようになった。今後、さらに年20種類ほどが追加されると予想されている。告示法（公定法）

は、一部には多成分の一斉分析法も採用されているが、多くは個々の農薬ごとに異なった分析法であり、それらの方法で農作物に規格基準のある農薬をすべて検査するには膨大な時間と試薬を必要とし、効率的かつ迅速な農薬の行政検査にはむかない。このような状況から、平成11年の食品規格一部改正で食品衛生法に示された告示試験法以外の方法を残留農薬試験に使用することが認められた¹⁰⁾。

農作物中の残留農薬スクリーニング試験法として種々の一斉分析法が報告されている¹¹⁻¹³⁾が、これらの分析法の中には告示法に示されていない特殊な機器を使用した方法もある。また、すでに報告されたものでは最近追加

神奈川県衛生研究所 食品薬品部

〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

された農薬が含まれていない。前報¹⁴⁾では、第1次-4次告示分の農薬も含めて有機リン系農薬29種、含窒素系農薬27種について一斉化した分析法を報告した。今回、それに有機塩素系（ビレスロイド系も含む）を加え、かつ第9次告示までの農薬も含めた一斉分析法を検討した。

方 法

1 試料

添加回収実験にはリンゴ、ミカン、アスパラガス、バレイショ及びキュウリの市販品を使用した。

2 試薬

農薬標準品： DDVP, エトプロホス, チオメトン, ジメトエート, テルブホス, ダイアジノン, エチルチオメトン, クロルビリホスメチル, メチルバラチオン, トルクロホスメチル, フェニトロチオン, ピリミホスメチル, マラチオン, フエンチオン, クロルビリホス, バラチオン, ホスチアゼート, α -CVP, β -CVP, フェントエート, キナルホス, メチダチオン, ブタミホス, プロチオホス, フエンスルホチオン, エチオン, エディフェンホス, ピリダフェンチオン, EPN, ホサロン, ピラクロホス（以上有機リン系農薬）
アルジカーブ, オキサミル, EPTC, イソプロカルブ, クロルプロファム, ベンダイオカルブ, ピリミカーブ, エチオフェンカルブ, メトリブジン, アラクロール, エスプロカルブ, チオベンカルブ, ジエトフェンカルブ, トリアジメホン, ベンディメタリン, ピリフェノックスE, ピリフェノックスZ, トリアジメノール, キノメチオネート, パクトブトラゾール, ヘキサコナゾール, フルトラニル, プレチラクロール, ミクロブタニル, フルシラゾール, シプロコナゾール, メプロニル, プロビコナゾール, レナシル, テニクロール, ジフルフェニカン, ピリブチカルブ, テブフェンピラド, メフェナセット, アミトラズ, ビテルタノール, ピリダベン, ジフェノコナゾール（以上含窒素系農薬）
 α -BHC, β -BHC, γ -BHC, δ -BHC, ヘプタクロル, ジコホール, ディルドリン, ヘプタクロルエボキサイド, p,p'-DDE, o,p'-DDD, p,p'-DDT, p,p'-DDT, α -エンドスルファン, β -エンドスルファン, エンドスルファンスルフェイト, シハロトリ, ベルメトリ, シペルメトリ, フルシリネート, フルバリネート, デルタメトリ（以上有機塩素系及びビレスロイド系）は、和光純薬工業（株）、林純薬工業（株）及びリーデル・デ・ヘーン社製の残留農薬試験用標準試薬を用いた。

Sep-Pak Vac フロリジルカートリッジ：Waters 社製（1 g 充填カラム）

Sep-Pak plus シリカゲルカートリッジ：Waters 社製（0.69g 充填カラム）

その他の試薬：残留農薬試験用又はそれに相当する試薬を用いた。

有機リン系農薬混合液A：DDVP, エトプロホス, ジメトエート, ダイアジノン, クロルビリホスメチル, トルクロホスメチル, フェニトロチオン, マラチオン, フエンチオン, バラチオン, フェントエート, メチダチオン, プロチオホス, フエンスルホチオン, エディフェンホス, EPN, ホサロンを各々0.5 μ g/mL の濃度となるようにアセトンで調製した。

有機リン系農薬混合液B：チオメトン, テルブホス, エチルチオメトン, メチルバラチオン, ピリミホスメチル, クロルビリホス, ホスチアゼート, α -CVP, β -CVP, キナルホス, メチダチオン, ブタミホス, エチオン, ピリダフェンチオン, ピラクロホスを各々0.5 μ g/mL の濃度となるようにアセトンで調製した（ただし、ホスチアゼートは1 μ g/mL, ピラクロホス及びピリダフェンチオンは2 μ g/mL）。

含窒素系農薬混合液A：アルジカーブ, オキサミル, EPTC, イソプロカルブ, クロルプロファム, ピリミカーブ, メトリブジン, アラクロール, エスプロカルブ, ジエトフェンカルブ, トリアジメホン, ピリフェノックス, キノメチオネート, フルトラニル, ミクロブタニル, メプロニル, プロビコナゾール, ジフルフェニカン, ピリブチカルブ, テブフェンピラド, メフェナセット, ビテルタノール, ジフェノコナゾールを各々1 μ g/mL の濃度となるようにアセトンで調製した（ただし、メプロニルは3 μ g/mL）。

含窒素系農薬混合液B：ベンダイオカルブ, エチオフェンカルブ, チオベンカルブ, ベンディメタリン, トリアジメノール, パクトブトラゾール, ヘキサコナゾール, フルシラゾール, シプロコナゾール, レナシル, テニクロール, アミトラズ, ピリダベンを各々1 μ g/mL の濃度となるようにアセトンで調製した（ただし、レナシル及びピリダベンは3 μ g/mL）。

有機塩素及びビレスロイド系農薬混合液A： α -BHC, β -BHC, γ -BHC, δ -BHC, ディルドリン, p,p'-DDE, o,p'-DDD, p,p'-DDT, o,p'-DDT 及び p,p'-DDT は0.1 μ g/mL, ジコホール, シハロトリ, ベルメトリ, シペルメトリ, 及びデルタメトリ（以下ヘキサンと略す）で調製した。

有機塩素及びビレスロイド系農薬混合液B：ヘプタクロル, ヘプタクロルエボキサイド, α -エンドスルファン, β -エンドスルファン及びエンドスルファンスルフェイ

トは $0.5\mu\text{g/mL}$ 、フルシリネート及びフルバリネートは $1\mu\text{g/mL}$ の濃度となるようにヘキサンで調製した。

3 装置及び測定条件

3. 1 装置

- A : ガスクロマトグラフ ; 島津製作所製, GC-17A, 炎光度型検出器(FPD)又は熱アルカリ型(FTD)検出器付き (以下 FPD-GC あるいは FTD-GC と略す)
- B : ガスクロマトグラフ ; ヒューレット・パッカード (HP) 社製, HP-6890, 電子捕獲型 (ECD) 検出器付き (以下 ECD-GC と略す)
- C : ガスクロマトグラフ-質量分析計 (以下 GC/MS と略す); 日本電子製 オートマス System II 150 高速ホモジナイザー : Kinematica 社 PT3100

3. 2 測定条件

装置Aの測定条件 :

- ・キャビラリーカラム : DB-5 (内径 0.25mm , 長さ 30m , 膜厚 $0.25\mu\text{m}$, J&W Scientific 社製)
- ・カラム温度 : 50°C (2分間保持)–($15^\circ\text{C}/\text{分昇温}$)– 180°C (2分間保持)–($4^\circ\text{C}/\text{分昇温}$)– 240°C (2分間保持)–($20^\circ\text{C}/\text{分昇温}$)– 280°C (10分間保持)
- ・注入口温度 : 260°C
- ・検出器温度 : 280°C
- ・キャリアーガス : ヘリウムの流量がほぼ $2.4\text{mL}/\text{min}$ となるように調整した。
- ・注入量 : $2\mu\text{L}$ (スプリットレス)

装置Bの測定条件 :

- ・キャビラリーカラム : HP-5 (内径 0.32mm , 長さ 30m , 膜厚 $0.25\mu\text{m}$, HP 社製)
- ・カラム温度 : 60°C (1分間保持)–($30^\circ\text{C}/\text{分昇温}$)– 180°C (0分間保持)–($5^\circ\text{C}/\text{分昇温}$)– 220°C (6分間保持)–($5^\circ\text{C}/\text{分昇温}$)– 280°C (10分間保持)
- ・注入口温度 : 270°C
- ・検出器温度 : 290°C
- ・キャリアーガス : ヘリウムの流量は常に $2.4\text{ml}/\text{min}$ となるように調整した。
- ・注入量 : $1\mu\text{L}$ (スプリットレス)

装置Cの測定条件 :

- ・キャビラリーカラム : DB-5 (内径 0.25mm , 長さ 30m , 膜厚 $0.25\mu\text{m}$, J&W Scientific 社製)
- ・カラム温度 : 50°C (2分間保持)–($15^\circ\text{C}/\text{分昇温}$)– 180°C (2分間保持)–($4^\circ\text{C}/\text{分昇温}$)– 240°C (2分間保持)–($20^\circ\text{C}/\text{分昇温}$)– 280°C (5分間保持)
- ・注入口温度 : 270°C
- ・キャリアーガス : ヘリウムの流量は常に $2\text{mL}/\text{min}$

となるように調整した。

- ・注入量 : $1\mu\text{L}$ (スプリットレス)

4 分析方法

4. 1 試験溶液の調製

4.1.1 試料からの抽出

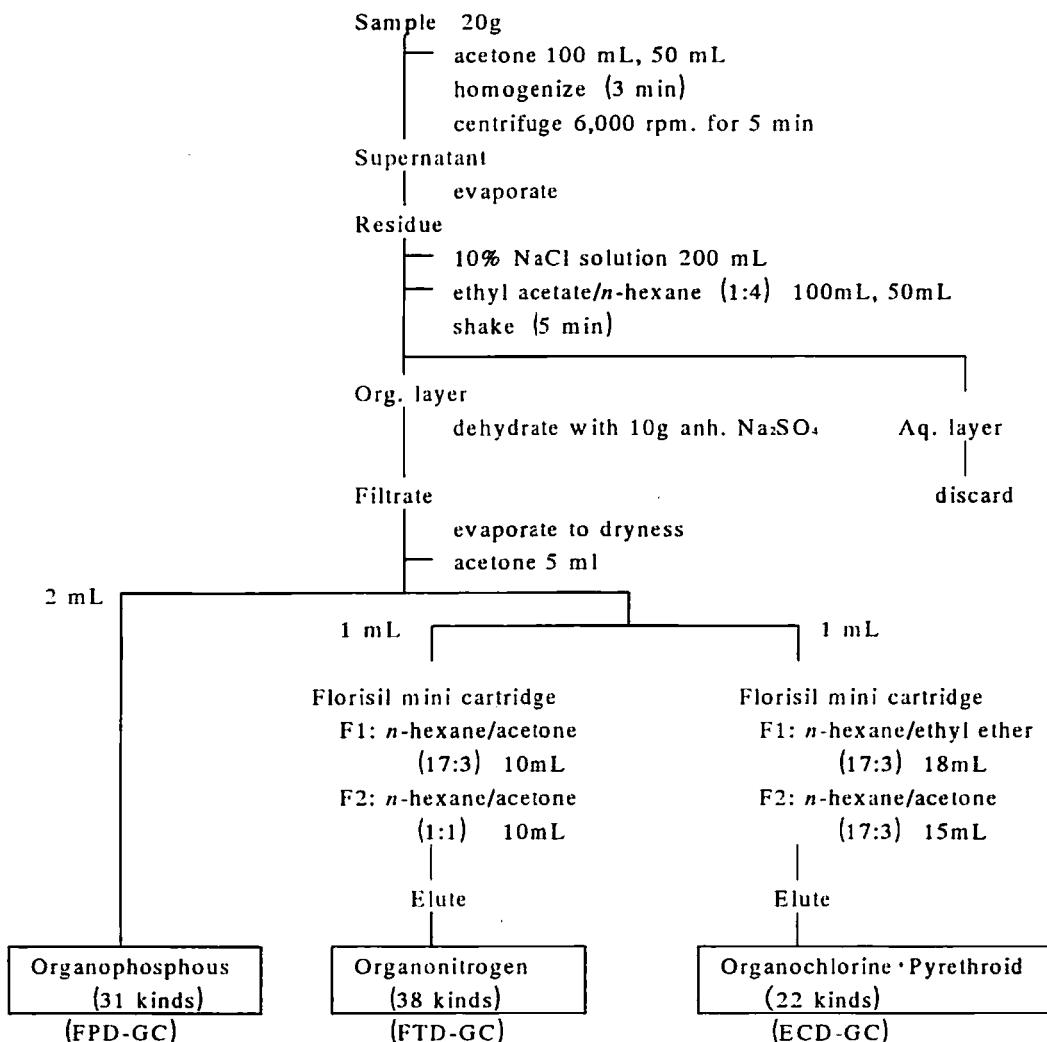
検体 20g にアセトン 100mL を加え, 高速ホモジナイザーで3分間粉碎した後, 遠心分離器を用いて毎分 6000 回転で5分間遠心分離する。上清を分離後, 残渣にアセトン 50mL を加え, 同じ操作を繰り返す。上清のアセトン画分を合わせ, 40°C 以下でアセトンを減圧下で留去した。これにヘキサン:酢酸エチル(4:1) 100mL 及び 10% 塩化ナトリウム溶液 200mL を加え5分間激しく振とうした後, 有機溶媒層を分取した。水層にヘキサン:酢酸エチル(4:1) 50mL を加え, 同様に操作した。有機溶媒層を合わせ, 無水硫酸ナトリウムで脱水した後, 有機溶媒を減圧下で留去した。

得られた残留物にアセトンを加え, 正確に 5mL とし, その 2mL を分取し, これを FPD-GC 用試験溶液とした。

4.1.2 Sep-Pak フロリジルカートリッジによる精製

含窒素系農薬を FTD-GC で, 有機塩素系農薬を ECD-GC で測定する場合に, 上で得られた抽出液では食品由来の成分が夾雑ピークとなり, 測定妨害となる場合がある。そこで, Sep-Pak フロリジルカートリッジカラムによるクリーンアップを検討した。有機リン系農薬測定用試験液を分取した残りの抽出液 3mL から 1mL を分取し, アセトンを風乾後, ヘキサン:アセトン(4:1) 1mL に溶かし, あらかじめヘキサン 10mL で洗浄しておいた Sep-Pak フロリジルカートリッジカラムに負荷した。溶離液は前報^[1]に準じ, まずカラムにヘキサン:アセトン(17:3) 10mL を流し, これをフラクション1(F1)とした。さらにヘキサン:アセトン(1:1) 10mL で溶出したものをフラクション2(F2)として分取し, それぞれの試験液を 1mL に濃縮し, GC 用試験液とした。

同様に, 含窒素系農薬分析用を分取した残りの 2mL の抽出液から 1mL を分取し, アセトンを風乾後, ヘキサン:エチルエーテル(17:3) 1mL に溶かし, あらかじめヘキサン 10mL で洗浄しておいた Sep-Pak フロリジルカートリッジに負荷した。カラムに溶離液としてヘキサン:エチルエーテル(17:3) 18mL を流し, これをフラクション1(F1)とした。さらに, ヘキサン:アセトン(17:3) 15mL 流し, フラクション2(F2)として分取し, それぞれの試験液を 1mL に濃縮し, GC 用試験液とした。なお, その分析法の概要は Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Simultaneous analytical method of residual pesticides in agricultural products

4. 2 ガスクロマトグラフによる定性・定量

得られた GC 用試験液について、有機リン系農薬は FPD-GC で定性・定量を行った。同様に、含窒素系農薬を FTD-GC で、有機塩素系農薬を ECD-GC で測定し、定量はすべてピーク面積法で行った。

4. 3 ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC/MS) による農薬の確認

食品衛生法では、ガスクロマトグラフで検出されたものについては GC/MS での確認を義務づけている。含窒素系農薬、有機塩素系・ビレスロイド系はカラムで精製してあるのでそのまま、有機リン用試験溶液はこのままでは機器を汚染するので、以下の精製を加えた。測定用試料1mL にヘキサン1mL を加え、この溶液を予めヘキ

サン：アセトン (1:1) 10mL で洗浄したシリカゲルミニカラムに負荷し、ヘキサン：アセトン (1:1) 20mL を流し、この溶出液を窒素気流下で1mL にし、GC/MS 用試料とした。なお、GC/MS はスキャン法では食品由来のマトリックス由来のピークが多く、目的の農薬確認に手間取ること及び感度が低いため、より高感度測定ができる SIM 法で測定した。Table 1 に示したように、全ての農薬はその保持時間を基に15グループに分け、そのグループの時間帯は Table に示した農薬確認用のモニターアイオンを1つずつ順番に0.05秒づづ測定する。その時間帯はそれを繰り返して行った。実際は、Table 1 と同じ測定メソッドを作成し、それを用いて測定を行った。

Table 1 Retention time (Rt) and monitor ion used for determination of pesticides by GC/MS(SIM)

Pesticide	Rt(min)	Monitor ion (m/z)	Group	Pesticide	Rt(min)	Monitor ion (m/z)	Group
Aldicarb	7.10	68	1	Butamifos	20.37	286	8
DDVP	8.30	109	1	Hexaconazole	20.38	83	8
Bendiocarb	8.55	151	1	Flutolanil	20.52	173	8
EPTC	9.33	128	1	Prothiosos	20.58	309	8
Ethiofencarb	9.53	107	1	Dieldrin	20.80	263	8
Oxamyl	10.85	162	1	p,p'-DDE	20.83	246	8
Isopropcarb	10.92	121	1	Pretilachlor	20.88	238	8
Ethoprophos	11.83	158	1	Myclobutanil	21.13	179	9
Chlorpropham	12.03	127	2	o,p'-DDD	21.15	235	9
α -BHC	12.70	183	2	Flusilazole	21.32	233	9
Thiometon	12.85	88	2	Cyproconazole	21.67	222	9
Dimethoate	13.00	87	2	β -Endosulfan	21.98	239	9
β -BHC	13.40	219	2	Fensulfothion	22.28	292	10
δ -BHC	13.58	219	2	p,p'-DDD	22.50	235	10
Terbufos	13.75	231	2	p,p'-DDT	22.62	235	10
Diazinon	14.10	179	2	o,p'-DDT	22.63	235	10
γ -BHC	14.23	219	2	Ethion	22.80	231	10
Ethylthiomethon	14.23	88	2	Mepronil	23.12	269	11
Pirimicarb	14.87	166	3	Edifenphos	23.68	173	11
Metribuzin	15.30	198	3	Endosulfansulfate	23.72	386	11
Chlorpyrifos-methyl	15.55	288	3	Lenacil	23.80	153	11
Parathion-methyl	15.55	263	3	Propiconazole-1	23.90	259	11
Tolclofos-methyl	15.70	265	3	Propiconazole-2	24.17	259	11
Heptachlor	15.82	272	3	Thenylchlor	24.58	127	11
Alachlor	15.83	188	3	Diflufenican	25.02	266	12
Fenitrothion	16.50	277	4	Pyributicarb	25.73	165	12
Pirimiphos-methyl	16.62	290	4	Pryridafenthion	25.98	340	12
Eprocarb	16.65	222	4	EPN	26.17	157	12
Thiobencarb	16.88	100	4	Tebufenpyrad	26.65	333	12
Malathion	16.92	173	4	Phosalon	27.63	182	13
Diethofencarb	17.12	124	5	Mefenacet	28.07	192	13
Fenthion	17.18	278	5	Cyhalothrin-1	28.45	181	13
Dicofol	17.20	139	5	Amitraz	28.53	293	13
Chlorpyrifos	17.28	314	5	Cyhalothrin-2	28.98	181	13
Parathion	17.30	291	5	Pyracofos	29.72	360	14
Triadimefon	17.40	208	5	Bitertanol-1	30.43	170	14
Fosthiazate-1	17.83	195	5	Bitertanol-2	30.53	170	14
Fosthiazate-2	17.92	195	5	Permethrin-1	30.60	183	14
α -CVP	18.42	269	6	Pyridaben	30.73	147	14
Heptachlor-epoxide	18.43	353	6	Permethrin-2	30.83	183	14
Pendimetalin	18.48	252	6	Cypermethrin-1	31.93	181	15
Pyrifenoxy(Z)	18.62	262	6	Cypermethrin-2	32.10	181	15
β -CVP	18.85	269	6	Cypermethrin-3	32.18	181	15
Quinalphos	18.92	146	6	Cypermethrin-4	32.23	181	15
Phenthroate	18.93	274	6	Flucythrinate-1	32.25	199	15
Triadimenol	18.95	112	6	Flucythrinate-2	32.55	199	15
Chinomethionate	19.20	234	7	Fluvalinate-1	33.55	250	15
Methidathion	19.38	145	7	Fluvalinate-2	33.73	250	15
Pacobtrazol	19.60	236	7	Difenconazole-1	33.93	323	15
Pyrifenoxy(E)	19.62	171	7	Difenconazole-2	34.05	323	15
α -Endosulfan	19.78	239	7	Deltamethrin-1	34.12	181	15
				Deltamethrin-2	34.52	181	15

結果及び考察

1 ガスクロマトグラフ条件の検討

キャビラリーカラムを用いて設定されたガスクロマトグラフ (GC) 条件で個々の有機リン系農薬、含窒素系農薬及び有機塩素系農薬を測定した。DB-5あるいはHP-

5のカラムを用いて測定された各農薬の保持時間 (Table 2) から、いくつか重なるものがあるため、それぞれ系統ごとに方法の項に示したようにAグループとBグループに分け、以下の検討はこのグループにもとづいて検討した。

2 Sep-Pak フロリジルによる精製

2.1 含窒素系農薬

含窒素系農薬の精製には、フロリジル10gをガラス製カラムに充填して用いる従来法に比べて短時間でできるミニカートリッジカラム（充填量1g）で検討した。カラムに農薬混合液1mLを負荷し、得られた試験液について測定した結果（測定データは省略）から、カラムからの回収率はすべての農薬についてほぼ80%以上と良好であった。多くの農薬はF1フラクションで溶出が終わった。オキサミル、EPTC、イソプロカルブ、トリアジメノール、バクトブトラゾール、ヘキサコナゾール、フルシラゾール、シプロコナゾール、プロピコナゾール及

びレナシルを測定する場合は、F1フラクションだけではすべてを溶出させることができず、F2フラクションを合わせて測定する必要があった。ミクロブタニル、ビテルタノール及びジフェノコナゾールはF2フラクションだけに溶出が認められた。

以上の検討結果から、含窒素系農薬はヘキサン：アセトン（17:3）10mLのF1フラクションと、ヘキサン：アセトン（1:1）10mLのF2フラクションを分取することとし、農薬の溶出する対象フラクションを測定することとした。

Table 2 Retention time (Rt) of 31 organophosphorus, 38 organonitrogen and 22 organochlorine (including pyrethroid) pesticides obtained by capillary gas chromatography (GC)

Organophosphorus			Organonitrogen			Organochlorine		
No	Pesticide	Rt(min)	No	Pesticide	Rt(min)	No	Pesticide	Rt(min)
1	DDVP	8.64	1	Aldicarb	4.56	1	α -BHC	7.20
2	Ethoprophos	12.51	2	Oxamyl	5.13	2	β -BHC	7.60
3	Thiometon	13.75	3	EPTC	9.99	3	γ -BHC	7.72
4	Dimethoate	14.04	4	Isopropcarb	11.81	4	δ -BHC	8.11
5	Terbufos	14.61	5	Chlorpropham	13.29	5	Heptachlor	9.06
6	Diezinon	14.98	6	Bendiocarb	13.60	6	Dicofol	9.79
7	Ethythiometon	15.15	7	Pirimicarb	16.62	7	Diehrin	10.00
8	Chlorpyrifos-methyl	16.64	8	Ethiofencarb	16.66	8	Heptachlor-epoxide	10.74
9	Parathion-methyl	16.70	9	Metrubuzin	17.13	9	α -Endosulfan	11.65
10	Tolclofos-methyl	16.80	10	Alachlor	17.73	10	p,p'-DDE	12.34
11	Fenitrothion	17.69	11	Esprocarb	18.59	11	α,α' -DDD	12.57
12	Pyrimiphos-methyl	17.69	12	Thiobencarb	18.85	12	β -Endosulfan	13.20
13	Malathion	18.05	13	Diethofencarb	19.08	13	p,p'-DDD	13.54
14	Fenthion	18.39	14	Triadimefon	19.42	14	α,β -DDT	13.63
15	Chlorpyrifos	18.43	15	Pendimethalin	20.57	15	Endosulfansulfate	14.61
16	Parathion	18.53	16	Pyrefenoxy(Z)	20.72	16	p,p'-DDT	14.83
17-1	Fosthiazate-1	19.13	17	Triadimenol	21.09	17-1	Cyhalothrin-1	20.57
17-2	Fosthiazate-2	19.22	18	Chinomethionate	21.44	17-2	Cyhalothrin-2	21.20
18	α -CVP	19.63	19	Pyrefenoxy(E)	21.79	18-1	Permethrin-1	23.08
19	β -CVP	20.09	20	Piclobutrazol	21.81	18-2	Permethrin-2	23.46
20	Phenthroate	20.19	21	Hexaconazole	22.64	19-1	Cypermethrin-1	25.55
21	Quinalphos	20.19	22	Flutolanil	22.72	19-2	Cypermethrin-2	25.83
22	Methidathion	20.75	23	Pretilachlor	23.09	19-3	Cypermethrin-3	25.99
23	Butamifos	21.69	24	Myclobutanil	23.39	19-4	Cypermethrin-4	26.10
24	Prothifos	21.90	25	Flusilazole	23.56	20-1	Flucythrinate-1	26.16
25	Fensulfothion	23.85	26	Cyproconazole	23.99	20-2	Flucythrinate-2	26.66
26	Ethion	24.14	27	Mepronil	25.44	21-1	Fluvalinate-1	28.26
27	Edifenphos	25.19	28-1	Propiconazole-1	26.24	21-2	Fluvalinate-2	28.44
28	Pyridaphenthion	27.53	29	Lenacil	26.26	22-1	Deltamethrin-1	28.87
29	EPN	27.77	28-2	Propiconazole-2	26.51	22-2	Deltamethrin-2	29.33
30	Phosalon	29.50	30	Thenylchlor	26.97			
31	Pyracrofos	31.22	31	Difufenican	27.38			
			32	Pyributicarb	28.12			
			33	Tebufenpyrad	29.41			
			34	Mefenacet	30.77			
			35	Amitraz	30.97			
			36-1	Bitertanol-1	32.10			
			36-2	Bitertanol-2	32.27			
			37	Pyridaben	32.41			
			38-1	Difenoconazole-1	36.49			
			38-2	Difenoconazole-2	36.65			

No.17 (organophosphorus), No.28, 36 and 38 (organonitrogen), No.17, 18, 20, 21 and 22 (organochlorine)

: mixture of two isomers

No.19: mixture of four isomers

2.2 有機塩素系・ビレスロイド系農薬

これらの農薬の精製にも同様に、従来法に比べて短時間でできる市販のミニカートリッジカラムで検討した。農薬混合標準液をカラムに負荷したとき、カラムから溶出された農薬の測定結果（測定データは省略）から、 β -

エンドスルファン及びエンドスルファンスルフェイトを除いてF1フラクションにすべて溶出した。 β -エンドスルファンは数%がF1に、90%以上がF2に溶出した。エンドスルファンスルフェイトはすべてF2に溶出した。

以上の検討結果から、有機塩素系・ビレスロイド系農

薬はヘキサン：エチルエーテル（17:3）18mL の F1 フラクションと、ヘキサン：アセトン（17:3）15mL の F2 フラクションを分取することとし、農薬の溶出する対象フラクションを測定することとした。

3 添加回収実験

有機リン系農薬、含窒素系農薬、有機塩素系及びビレスロイド系農薬はそれぞれ A、B 混合溶液 5mL を窒素気流下で 1mL に濃縮したものを、各農作物 20g に添加し、本分析法に従って測定した結果を Table3、Table4 及び Table5 に示した。異性体がある場合は、個々の異性体について標準品が手に入る場合は個々について、混

合状態でしか手に入らない場合はすべての異性体のピーグ面積合計値で定量した。

有機リン系農薬については、ジメトエートの回収率が 5 農産物すべてで悪かった。ジメトエートは他の農薬に比べて水への溶解度が高く、そのためヘキサン：酢酸エチル（4:1）を用いた再抽出の操作で回収率の低下を引き起こしたと考えられる。公定法でも同じ操作が行われており、回収率はせいぜい 40-50% 程度である。また、チオメトンとエチルチオメトンはアスパラガスで回収率が悪く、キュウリでもばらつきが大きく、農作物による影響が現れるので注意が必要である。

Table 3 Recoveries of organophosphorus pesticides spiked to 5 agricultural products

No	Pesticide	Recovery (%)				
		Mandarin orange (n=1)	Apple (n=1)	Asparagus (n=1)	Potato (n=1)	Cucumber (n=3) Average ± SD
1	DDVP	103.7	110.6	105.3	81.8	102.6 ± 2.8
2	Ethoprophos	99.6	98.4	96.2	85.1	93.8 ± 3.5
3	Thiometon	82.7	55.4	22.4	63	51.3 ± 13.0
4	Dimethoate	24.4	23.8	26.8	23.6	26.8 ± 2.7
5	Terbufos	83.7	77.4	77.9	86.7	88.8 ± 3.9
6	Diazinon	98.2	95.7	98	90.5	97.8 ± 4.6
7	Ethylthiometon	79.5	57.1	18.3	59.9	50.5 ± 11.5
8	Chlorpyrifos-methyl	102.5	95.4	97.1	90.4	98.3 ± 3.1
9	Parathion-methyl	92.8	91.6	106.1	102.5	109.7 ± 3.6
10	Tolclofos-methyl	98.6	92.7	92.1	86.2	93.7 ± 2.5
11	Fenitrothion	108.4	96.4	94.9	89.4	99 ± 4.9
12	Pyrimiphos-methyl	84	85.9	94.5	97.2	99.1 ± 3.2
13	Malathion	99.3	91.7	76.3	78.5	98 ± 3.9
14	Fenthion	98.8	85.6	67.8	67.5	83.8 ± 4.5
15	Chlorpyrifos	82.8	87.6	92.5	98.8	99.7 ± 2.7
16	Parathion	95.5	85.2	82	82.6	92.8 ± 3.0
17	Fosthiazate	80.1	87.5	83.7	93.7	97.2 ± 0.4
18	α-CVP	78.9	89.1	90.9	107	101.1 ± 1.1
19	β-CVP	81.4	91.4	92.3	102.4	99.6 ± 1.2
20	Phentoate	109.2	91.6	92.6	91.9	97.7 ± 4.3
21	Quinalphos	79.2	85.2	86.1	93.8	98 ± 2.2
22	Methidathion	123.5	105.2	103.2	104.1	105.9 ± 6.8
23	Butamifos	80.5	84.5	100.6	105.5	97 ± 0.7
24	Prothiofos	102.7	83.2	87.9	88.2	96.1 ± 2.2
25	Fensulfothion	126.1	115.2	114.8	113.1	107.2 ± 4.4
26	Ethion	80.4	88.3	89.3	96.8	97.9 ± 1.0
27	Edifenphos	112.4	138.6	73	70.4	123.3 ± 1.9
28	Pyridaphenthion	83.9	85.6	90.1	99.7	98.2 ± 2.3
29	EPN	111.6	93.7	87.8	98.3	96 ± 3.5
30	Phosalon	145.5	115.4	103.7	99.5	106.6 ± 5.2
31	Pyracrofos	99.7	96.6	118.3	121.2	105.9 ± 3.2

含窒素系農薬では、オキサミルとアミトラズで 5 農作物すべてから回収されなかったり、あるいは回収率が極端に低くなることが判明した。また、アルジカープの回収率も低めであった。本法は、これらの農薬に対して公定法で示された抽出溶媒及び用いる測定機器とは異なる

ており、回収率の悪かったこれらの農薬に対しては本法の適用は無理と考えられた。エチオフェンカルブは、ミカン、ジャガイモでは回収率が 50% 以上得られたが、リンゴ、アスパラガス及びキュウリでは悪く、本法の適用には注意を要する。

有機塩素系・ビレスロイド系農薬では、全般的にいずれの農作物についても回収率は良好であった。

Table 4 Recoveries of organonitrogen pesticides spiked to 5 agricultural products

No	Pesticide	Recovery (%)				
		Mandarin orange (n=1)	Apple (n=1)	Asparagus (n=1)	Potato (n=1)	Cucumber (n=3) Average ± SD.
1	Aldicarb	53.7	34.2	52.8	64.0	47.4 ± 5.4
2	Oxamyl	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	EPTC	114.8	59.7	164.3	113.8	122.1 ± 36.1
4	Isoprocarb	66.4	69.2	73.4	61.7	90.5 ± 9.0
5	Chlorpropham	148.3	151.7	125.0	102.3	118.7 ± 7.0
6	Bendiocarb	93.8	102.9	113.6	115.9	113.8 ± 16.3
7	Pirimicarb	28.9	57.8	104.3	125.3	81.6 ± 5.7
8	Ethiofencarb	76.5	0.0	0.0	51.2	7.0 ± 12
9	Metribuzin	50.2	82.6	85.7	76.3	88.8 ± 12.2
10	Alachlor	119.5	112.9	131.5	144.1	130.7 ± 15.9
11	Esprocarb	92.3	99.0	103.2	94.6	99.2 ± 7.3
12	Thiobencarb	90.2	91.6	89.5	110.3	95.9 ± 9.7
13	Diethofencarb	106.0	104.8	133.1	101.6	102.5 ± 16.7
14	Triadimefon	88.6	86.9	103.2	93.1	95.6 ± 4.2
15	Pendimetalin	79.4	80.3	79.1	99.7	83.3 ± 3.8
16	Pyrifenoxy(Z)	82.1	78.2	105.3	94.7	86.4 ± 2.5
17	Triadimenol	66.2	74.1	68.7	99.7	91.6 ± 1.2
18	Chinomethionate	97.8	111.8	65.2	88.9	99.6 ± 2.8
19	Pyrifenoxy(E)	89.4	89.7	114.8	102.4	93.5 ± 11.1
20	Paclobutrazol	68.6	76.6	69.3	104.2	88.3 ± 4.1
21	Hexaconazole	63.6	71.8	68.0	102.5	87.9 ± 4.3
22	Flutolanil	82.5	85.4	132.6	102.8	92.0 ± 6.0
23	Pretilachlor	78.4	81.9	79.4	106.4	85.2 ± 2.6
24	Myclobutanil	88.1	77.1	100.6	90.5	94.1 ± 14.4
25	Flusilazole	67.3	68.8	65.4	102.8	91.5 ± 4.4
26	Cyproconazole	64.2	66.9	64.5	87.5	87.7 ± 4.6
27	Mepronil	88.0	109.7	134.6	128.3	116.6 ± 24.8
28	Propiconazole	75.3	68.8	99.4	110.9	86.6 ± 10.6
29	Lenacil	53.5	56.7	59.0	112.8	90.8 ± 8.5
30	Thenylchlor	74.7	74.7	72.5	115.8	77.7 ± 2.5
31	Diisulfenican	91.2	107.9	100.1	100.6	109.0 ± 14.3
32	Pyributhicarb	86.5	98.4	95.9	92.7	133.8 ± 37.9
33	Tebufenpyrad	84.0	103.3	99.1	97.6	99.6 ± 6.5
34	Mefenacet	93.2	86.9	118.9	116.0	98.9 ± 1.4
35	Amitraz	0.0	0.0	0.0	10.4	0.0
36	Bitertanol	91.3	85.1	122.9	72.3	85.9 ± 6.3
37	Pyridaben	70.8	70.5	73.2	106.4	85.0 ± 1.3
38	Difenconazole	85.6	79.0	106.6	91.6	95.8 ± 10.4

Table 5 Recoveries of organochlorine pesticides spiked to 5 agricultural products

No	Pesticide	Recovery (%)				
		Mandarin orange (n=1)	Apple (n=1)	Asparagus (n=1)	Potato (n=1)	Cucumber (n=3) Average ± SD
1	α -BHC	99.0	88.5	107.2	63.0	91 ± 0.6
2	β -BHC	102.9	86.2	106.4	89.7	90.4 ± 1.1
3	γ -BHC	94.3	82.9	101.6	70.4	87.3 ± 1.0
4	δ -BHC	91.9	80.3	101.3	80.5	93 ± 3.5
5	Heptachlor	90.5	78.8	91.6	85.9	89.1 ± 4.6
6	Dicofol	91.3	81.0	90.9	70.1	80.7 ± 1.0
7	Dieldrin	93.3	102.4	128.5	100.6	97.3 ± 8.4
8	Heptachlor-epoxide	90.6	74.5	88.7	80.0	88 ± 8.5
9	α -Endosulfan	89.6	73.8	89.2	80.6	92.5 ± 8.7
10	p,p'-DDE	91.4	80.0	107.7	83.2	93.4 ± 1.4
11	α , α '-DDD	102.8	101.6	136.5	88.5	106.3 ± 2.7
12	β -Endosulfan	73.9	72.3	89.1	84.0	76.5 ± 4.6
13	p,p'-DDD	94.6	89.4	114.8	80.8	96.4 ± 2.0
14	α , α '-DDT	87.6	85.5	102.7	91.1	85.2 ± 2.8
15	Endosulfansulfate	77.0	76.5	90.4	88.3	100 ± 8.3
16	p,p'-DDT	86.0	80.3	103.0	100.6	87.5 ± 1.6
17	Cyhalothrin	82.6	88.6	107.8	82.1	99.2 ± 2.3
18	Permethrin	92.5	90.9	110.6	85.7	94.0 ± 2.4
19	Cypermethrin	109.5	92.4	118.4	87.0	101.0 ± 2.3
20	Flucythrinate	83.7	89.2	101.0	82.2	100.9 ± 13.4
21	Fluvalinate	96.1	87.6	99.4	92.9	106.2 ± 11.1
22	Deltamethrin	103.3	95.4	124.0	76.7	96.2 ± 17.6

4 定量限界

公定法では各農薬についての定量限界を設けているが、今回検討した多くは0.005–0.02ppmの範囲である。FPD-GC, FTD-GC 及び ECD-GC による測定では各農産物からの測定妨害となるピークもほとんどなく、定量限界を S/N 比を10としても十分公定法で定められた定量限界は得られた。

5 GC/MS による農薬の確認

農産物に農薬添加した検体について、本一斉分析法で得られたGC測定用試験液（有機リン系は方法の項に述べた精製を追加）について、GC/MS による確認を行った。その結果、添加回収されなかった農薬を除いたすべてが、GC/MS (SIM 法) で確認できた。約90種類という多くの農薬を1回のGC/MS測定で確認する本方法では、GC/MS 装置のソフト上の容量制限から1農薬につき1モニターイオンだけしか測定できなかつたが、農産物由来のマトリックスの妨害もほとんどなく、問題はなかった。今回は、多農薬のGC による一斉分析及びGC/MS による迅速一斉確認というスクリーニング的手法を検討したものであり、確認する農薬数が少ないならばソフト上の容量制限も受けないことから1農薬につき3以上のモニターイオンで確認するのが望ましい。

結論

食品中の有機リン系31種類、含窒素系農薬38種類、有機塩素系・ビレスロイド系22種類の一斉分析法を作成した。試料をアセトンで抽出し、ヘキサン：酢酸エチル(4:1) 混液で再抽出し、有機リン系農薬はそのままFPD-GC で、含窒素系農薬及び有機塩素系・ビレスロイド系農薬はSep-Pak フロリジルカラムにより精製し、FTD-GC あるいはECD-GC で測定する。この方法により、スクリーニング的に使える迅速な一斉分析法が可能となった。また、得られた試験液について、GC/MS(SIM) による確認も、有機リン系は追加の精製操作が必要ではあるが、他の農薬は得られた試験液で一斉に確認可能であった。農作物5品目の添加回収実験から一部回収率が悪く本法を適用できない農薬(オキサミル、アミトラズ) 及び農産物により回収率の悪いもの(エチオフェンカルブ)、すべての農産物に対して悪いもの(ジメトエート) もあったが、その他大部分の農薬は良好な回収率が得られた。

スクリーニング的検査法であるため、1つのキャビラリーカラムだけのGC条件ではあるが、測定妨害となる農作物由来の夾雜ピークはほとんどなく、日常の検査に十分使えるものと思われた。

謝 辞

本研究は、その一部を北里大学医療衛生学部 近藤陽子氏の協力を得て行ったものであり、ここで当氏に対して深謝致します。

文 献

- 1) 厚生省告示第239号：官報（号外第160号），平成4年10月27日付， p.42-71 (1992)
- 2) 厚生省告示第68号：官報（号外第34号），平成5年3月4日付， p.57-69 (1993)
- 3) 厚生省告示第200号：官報（号外第159号），平成5年9月14日付， p.1-51 (1993)
- 4) 厚生省告示第199号：官報（号外第106号），平成6年6月9日付， p.7-103 (1994)
- 5) 厚生省告示第161号：官報（号外第153号），平成7年8月14日付， p.1-16 (1995)
- 6) 厚生省告示第221号：官報（号外第198号），平成8年9月2日付， p.1-40 (1996)
- 7) 厚生省告示第179号：官報（号外第177号），平成9年9月1日付， p.3-37 (1997)
- 8) 厚生省告示第245号：官報（号外第206号），平成10年10月12日付， p.14-34 (1994)
- 9) 厚生省告示第237号：官報（号外第227号），平成11年11月22日付， p.1-14 (1999)
- 10) 厚生省告示第216号，平成11年10月1日付，“食品添加物等の規格基準の一部を改正する件”(1999)
- 11) 秋山由美，矢野美穂，三橋隆夫，武田信彦，辻正彦：固相抽出法を用いた農産物中残留農薬のGC/MSによる多成分一斉分析，食衛誌，37，351-362 (1996)
- 12) 小川正彦，坂井亨，大熊和行，松本正，久松由東，中澤裕之：GPC 及び GC/MS-SIM を用いた農産物中の残留農薬の一斉分析，食衛誌，38，48-61 (1997)
- 13) 吉井公彦，木村実加，関口幸弘，津村ゆかり，中村優美子，石光進，外海泰秀，土屋鍛：超臨界液体抽出及び GC, HPLC による穀物中残留農薬の多成分一斉分析法，食衛誌，40，68-74 (1999)
- 14) 渡辺貞夫，谷孝之，中岡正吉：食品中の有機リン系及び含窒素系農薬の一斉分析法－ミニカートリッジカラムによる精製－，神奈川県衛生研究所報告，25，15-22 (1995)

原著**農産物におけるピラフルフェンエチル残留分析法について**

佐藤久美子、岸 美智子、佐藤修二

Analysis method for Pyraflufen-ethyl in Agricultural Products

Kumiko SATO、Michiko KISHI、Syuji SATOH

Synopsis

SAT, K., KISHI,M.and S.SATOH (Kanagawa Pref.P.H.Lab., Asahi-ku, Yokohama, 241-0815)

The analysis method for Pyraflufen-ethyl in agricultural products was investigated. Pyraflufen-ethyl was extracted with acetone followed by evaporation, and sodium chloride solution was added to the residue before extraction with n-hexane. The extract was evaporated and partitioned between acetonitrile and n-hexane. The acetonitrile layer was evaporated and cleaned up on a Florisil column. Pyraflufen-ethyl was determined by GC and GC/MS. Recoveries of Pyraflufen-ethyl from all samples, corns and fruits, were more than 80%, and Pyraflufen-ethyl was not detected in all samples.

Key Words : pyraflufen-ethyl, herbicide, agricultural products, GC, GC/MS, Florisil**緒 言**

ピラフルフェンエチル(Fig. 1)は低濃度で広葉の雑草に効果を示す除草剤であり¹⁾、1999年4月19日農薬登録保留基準の「作物残留に係る登録保留基準」及び「水質汚濁に係る登録保留基準」に新規追加された農薬である。環境庁長官個別設定の基準値としては、小麦、小麦以外の麦・雑穀、みかん、みかん以外のかんきつ類、第二大粒果実類に対して0.1ppmと設定されている²⁾が、食品衛生法においてはまだ基準は設定されていない。

環境庁告示法においてはアセトニトリル抽出、多孔性。

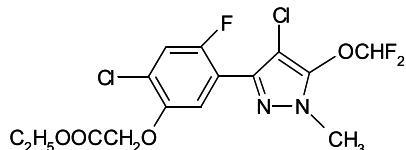


Fig.1 Chemical structure of Pyraflufen-ethyl

けい藻土カラム、シリカゲルミニカラム及びフロリジルミニカラムによる精製法が用いられている²⁾が、農産物中の残留分析に関する文献は少ない。今回は食品衛生法に適用されている含窒素系農薬と同様な試験方法、すなわちアセトン抽出、n-ヘキサン等による転溶、フロリジルカラムによる精製で分析が可能かどうか検討を行った。

方 法

1 試料

小麦、とうもろこし、おうとう、オレンジ、レモン、りんご、キウイ、バナナ、いちご及びかきを用いた。

2 試薬

ピラフルフェンエチル標準品は和光純薬工業社製、塩化ナトリウムは和光純薬工業社製試薬特級、アセトン、n-ヘキサン、アセトニトリル、ジエチルエーテル及び無水硫酸ナトリウムは和光純薬工業社製残留農薬試験用を、フロリジルは和光純薬工業社製フロリジルP R (130°Cで12時間活性化後使用)を用いた。

3 装置及び測定条件

3・1 装置

ガスクロマトグラフ：島津製作所製、GC-17A、FTD

検出器付き (以下 GC-FTD と略す)

ガスクロマトグラフ・質量分析計(以下 GC/MS と略す) ガスクロマトグラフ部分 : ヒューレットパッカード製、 HP-5890 SERIES II

質量分析計部分 : 日本電子製 Automass 20

3・2 測定条件

3・2・1 GC-FTD 測定条件

キャピラリーカラム :

条件① DB-17 (内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25 μ m、J & W Scientific 社製)

条件② DB-5 (内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25 μ m、J & W Scientific 社製)

カラム温度

条件① : 50°C (2分保持) – (20°C/分昇温) – 280°C
(10分保持)

条件② : 50°C (2分保持) – (20°C/分昇温) – 240°C
(10分保持) – (20°C/分昇温) – 280°C
(10分保持)

注入口温度 : 220°C

検出器温度 : 280°C

キャリアーガス : ヘリウムガスの流量が2.4ml/分となるように調整した。

注入量 : 2 μ l (スプリットレス)

3・2・2 GC/MS 測定条件

キャピラリーカラム : DB-5 (内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25 μ m、J & W Scientific 社製)

カラム温度 : 50°C (2分保持) – (20°C/分昇温) – 280°C

(10分保持)

注入口温度 : 220°C

キャリヤーガス : ヘリウムガスの流量が1.2ml/分となるように調整した。

注入量 : 2 μ l (スプリットレス)

3・2・3 定性・定量下限

定性・定量下限

定性下限(S/N=5) 定量下限(S/N=10)

果実類	0.005ppm	0.01ppm
穀類・豆類	0.01ppm	0.02ppm

4 試験溶液の調製(Fig. 2)

4・1 試料からの抽出

細切した試料20.0gにアセトン100mlを加え、高速モジナイザーで2分間細碎した後、遠心分離器を用いて毎分6000回転で5分間遠心分離した。ただし、試料が穀類・豆類のように脂肪分が多いものについては、粉碎した試料10.0gに水20mlを加え2時間放置後、アセトン100ml加え同様の操作を行った。続いて上清を分離後、残さにアセトン50mlを加え、同じ操作を繰り返した。得られたアセトン層を合わせ、アセトンを減圧下で20ml程度まで留去した。これにn-ヘキサン100ml及び10%塩化ナトリウム溶液100mlを加え5分間激しく振とうした後、n-ヘキサン層を分取した。水層にn-ヘキサン50mlを加え同様に操作を行った。n-ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、n-ヘキサンを減圧下で留去した。油脂を多く含む場合は以下の脱脂操作を行つ

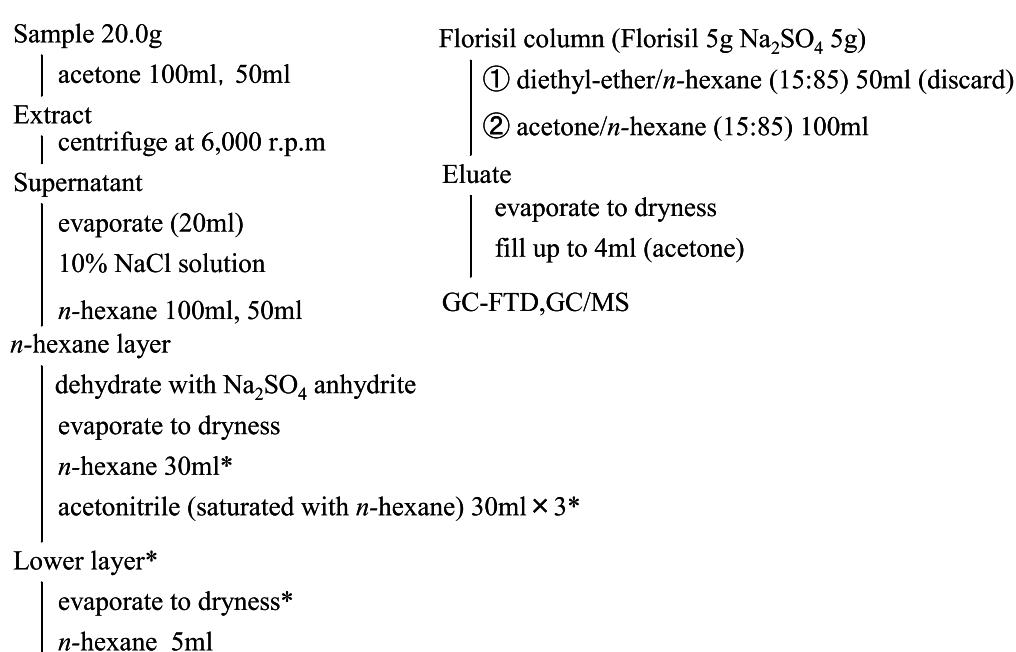


Fig.2 Analytical procedure for Pyraflufen-ethyl in agriculturaproducts
Asterisk (*) indicates the steps not necessary in case of oilless foods.

た。すなわち留去後の残留物にヘキサン30ml 及びヘキサン飽和アセトニトリル30ml を加え5分間激しく振とした後アセトニトリルを分取した。ヘキサン層にヘキサン飽和アセトニトリル30ml を加え、同様に2回操作した後、アセトニトリル層を合わせ、減圧下でアセトニトリルを留去した。

4・2 フロリジルカラムによる精製

内径15mm のカラム管にフロリジル5g をn-ヘキサンにて湿式充填した後、無水硫酸ナトリウム5g を積層させフロリジルカラムとした。得られた抽出物にn-ヘキサン5ml を加え、フロリジルカラムに負荷し、エーテルヘキサン(15:85)50ml で溶出後(この画分は捨てる)アセトン・ヘキサン(15:85)100ml で溶出し、得られた画分の溶媒を減圧下留去し、残留物をアセトンで正確に4ml とし、GC-FTD で測定し、GC/MS で確認を行った。

結果及び考察

1 食品からの抽出条件について

1・1 液液分配における溶媒の検討

含窒素系農薬、有機リン系農薬で一般的に用いられるn-ヘキサンと酢酸エチル・n-ヘキサン(20:80)で10%塩化ナトリウム溶液100ml に対して回収率の比較検討を行った(Table 1)。どちらの溶媒も良好な回収率を得ることができたが、より良好な結果を得ることができ、実際に農産物に適用するにあたり、抽出後の妨害物質が少ないと考えられるn-ヘキサンを採用することとした。

1・2 脱脂操作の検討

脱脂操作におけるピラフルフェンエチルの抽出状態を把握するために脱脂操作の検討を行った。脱脂操作においては1回の抽出でアセトニトリル層にほとんど移行したが、実際の農産物の抽出時においては夾雜物等の原因によるエマルジョン生成の可能性等を考慮して通常行われる3回抽出とした。

1・3 精製条件の検討

ピラフルフェンエチルのフロリジルカラムの溶出挙動を把握するために精製条件の検討を行った(Table 2)。フロリジルカラム精製においてピラフルフェンエチルはエーテル・n-ヘキサン混液では溶出せず、アセトン・n-ヘキサン混液で溶出することがわかった。実際の農産物試料では溶出位置が異なる可能性があり、さらに精製効果を鑑みてエーテル・ヘキサン(15:85)50ml で溶出後、アセトン・ヘキサン(15:85)で溶出操作を行うこととした。

2 ガスクロマトグラフ測定条件について

2・1 カラム極性の検討

ピラフルフェンエチル測定におけるキャピラリーカラムについては無極性のDB-1カラムではピーク形状の再現性が悪く、テーリングする傾向がみられたため、定性・確認には使用可能であるが定量には不適であった。中極性のDB-17(測定条件①)を用いたところピーク形状再現性ともに良好であった。、

Table 1 Comparison between n-hexane and ethyl acetate/n-hexane used for extraction for recoveries of Pyraflufen-ethyl

Solvent	Recovery (%) (Mean±R.S.D., n=3) R.S.D.:Relative standard deviation
n-hexane	99.9±8.5
Ethyl acetate/ n-hexane (20:80)	89.9±14.4

Table 2 Elution patterns of Pyraflufen-ethyl by Florisil column chromatography

Fraction No.	Solvent	Recovery (%) (Mean±R.S.D., n=3)
F1	n-hexane 50ml	—
F2	diethyl-ether/n-hexane (5:95) 50ml	—
F3	diethyl-ether/n-hexane (15:85) 50ml	—
F4	diethyl-ether/n-hexane (30:70) 50ml	—
F5	acetone/n-hexane (5:95) 50ml	53.6±7.0
F6	acetone/n-hexane (15:85) 50ml	41.0±4.2
F7	acetone/n-hexane (30:70) 50ml	—
F8	acetone/n-hexane (50:50) 50ml	—

測定条件①において添加回収用サンプル試験溶液を測定したところ、すべての試料についてピラフルフェンエチルのピークの直前に試料由来のピークがみられた。そのピークはピラフルフェンエチルのピークと完全に分離し、この測定条件においては測定可能であった。しかしカラムの劣化などにより分離条件が悪化した場合はピークが重なる可能性も考えられたため、直前の試料由来のピークをピラフルフェンエチルのピークとさらに分離するための検討を行った。

まず、微極性カラムで分離がどのように変化するか検討を行った。測定条件①と同様の昇温条件で DB-5 のカラムにおいてピラフルフェンエチルを測定した。

DB-5 のカラムにおいてもピラフルフェンエチルのピーク形状・再現性ともに良好であった。しかし DB-5においても測定条件①と同様の昇温条件では直前のピークとの保持時間の差は広がらなかった。DB-5 のカラムにおいてもピラフルフェンエチルが流出する温度条件の検討は必要とされたため、最高使用温度が DB-17 よりも高く検討しやすい DB-5 のカラムにおいて流出温度の検討を行った。

2・2 温度条件の検討

Table 3 Effect of final temperature to retention time of Pyraflufen-ethyl and Interruptive peak

GC capillary Column	Final Temperature (°C)	Retention time (min)		
		Interruptive peak	Pyraflufen-ethyl	Balance
DB-17	280	16.187	16.281	0.094
DB-5	280	14.654	14.758	0.104
DB-5	270	14.704	14.822	0.118
DB-5	260	14.884	15.039	0.155
DB-5	250	15.406	15.639	0.233
DB-5	240	16.224	16.583	0.359

Table 4 Recoveries (%) of Pyraflufen-ethyl added to 10 samples

Samples	Spiking level (ppm)	Recovery (%) (Mean±R.S.D., n=3)
Wheat	0.1	88.4± 4.0
Corn	0.1	89.8± 6.3
Cherry	0.1	97.3± 2.0
Orange	0.1	109.4± 1.2
Lemon	0.1	118.0±12.1
Apple	0.1	113.5± 9.1
Kiwi fruit	0.1	98.1± 7.3
Banana	0.1	106.5±11.1
Strawberry	0.1	98.8± 1.8
Persimmon	0.1	94.9± 1.1

キウイにピラフルフェンエチルを添加した試験溶液を用い流出温度を280°Cから270°C、260°C、250°C、240°Cと下げていったところ、240°Cにおいてもピラフルフェンエチルは流出し、直前のピークとの保持時間の差は0.36分であり影響はほとんど受けないと考えられた(Table 3)。従ってピラフルフェンエチルの流出温度は240°Cとし、流出後280°Cまで昇温する条件を設定した(測定条件②)。

測定条件②で測定して得られたガスクロマトグラムについては、Fig. 4に標準溶液のガスクロマトグラムをFig. 5、6に試料溶液を代表して小麦及びキウイのガスクロマトグラムを示した。ピラフルフェンエチルの保持時間は約16分であり、標準溶液の検量線(Fig. 3)は注入絶対量として0.2~2.0ngの範囲で原点を通る良好な直線性が得られた。試料溶液ではいずれの農産物でもピラフルフェンエチルの保持時間の直前に試料由来のピークが検出されたものの、ピーク流出時のカラム温度条件を緩和することで添加試料においてピラフルフェンエチルのピークと完全に分離させることができた。

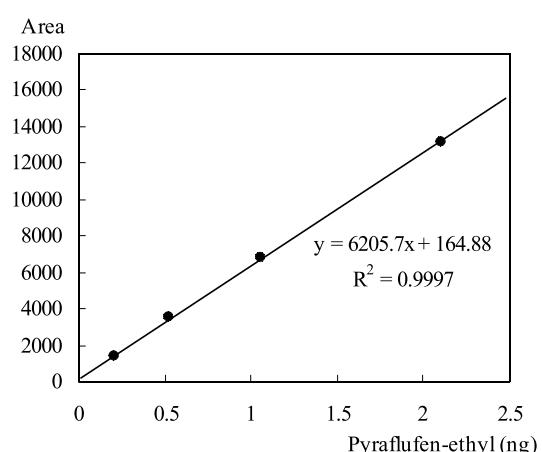
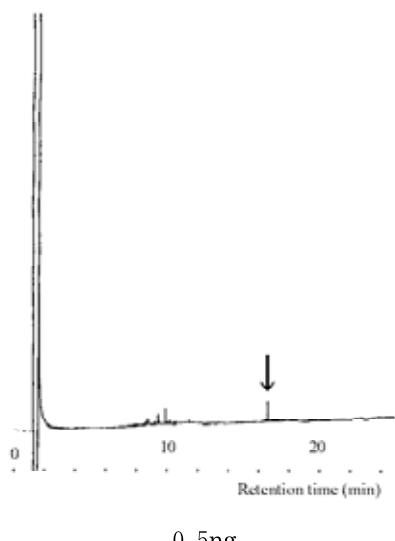


Fig.3 Calibration curve of Pyraflufen-ethyl (0.2~2.0ng)

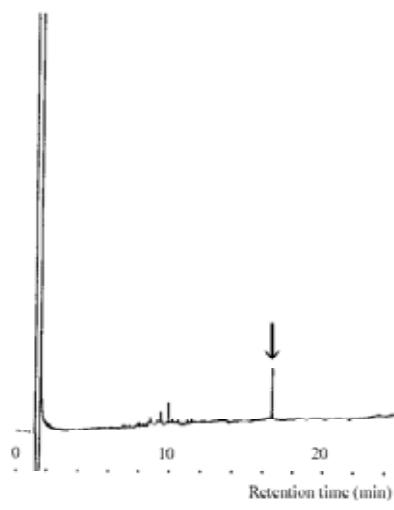
ガスクロマトグラフ・質量分析計(GC/MS)によって得られたピラフルフェンエチルのトータルイオンクロマトグラム(TIC)、マススペクトル及びマスクロマトグラムについては標準品及び添加試料(りんご)について、Fig. 7~9に示した。TIC では添加試料において夾雑物の影響がかなり見られたものの、マススペクトル及びマスクロマトグラムに関しては分子イオンピークの $m/z=412$ をはじめ、高分子側の特有なフラグメントイオン($m/z=19$ 5、261、289、349等)についてもピラフルフェンエチルがはっきりと確認された。

3 添加回収試験

試料中濃度が0.1ppm となるように添加し測定条件②で測定し回収率を調べた(Table 4)。すべての試料で88%以上の回収率を得ることができた。レモンの無添加試料においてピラフルフェンエチルの保持時間にピークが見られたため、GC/MS による確認試験を行ったところ、ピラフルフェンエチルは SIM 法においても特有な分子イオン、フラグメントイオンともに確認されなかった。それ以外の無添加の試料では、いずれからもピラフルフェンエチルは検出されなかった。レモンの回収率についてはピラフルフェンエチルのピークに妨害ピークが重なっているために著しく高い値が得られたと考えられた。

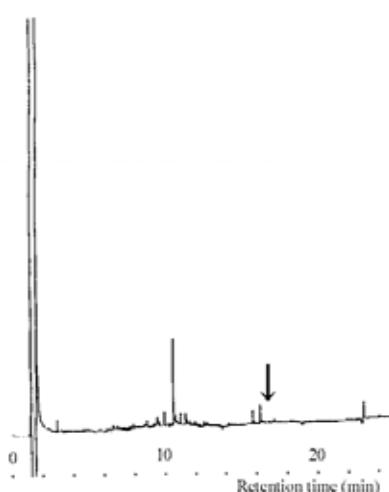


0.5ng

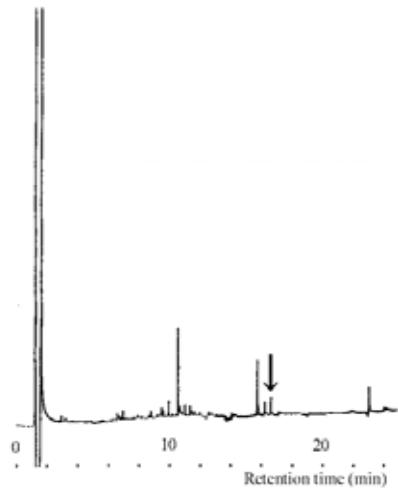


1ng

Fig. 4 Gas Chromatograms of Pyraflufen-ethyl standard (0.5ng、 1ng)

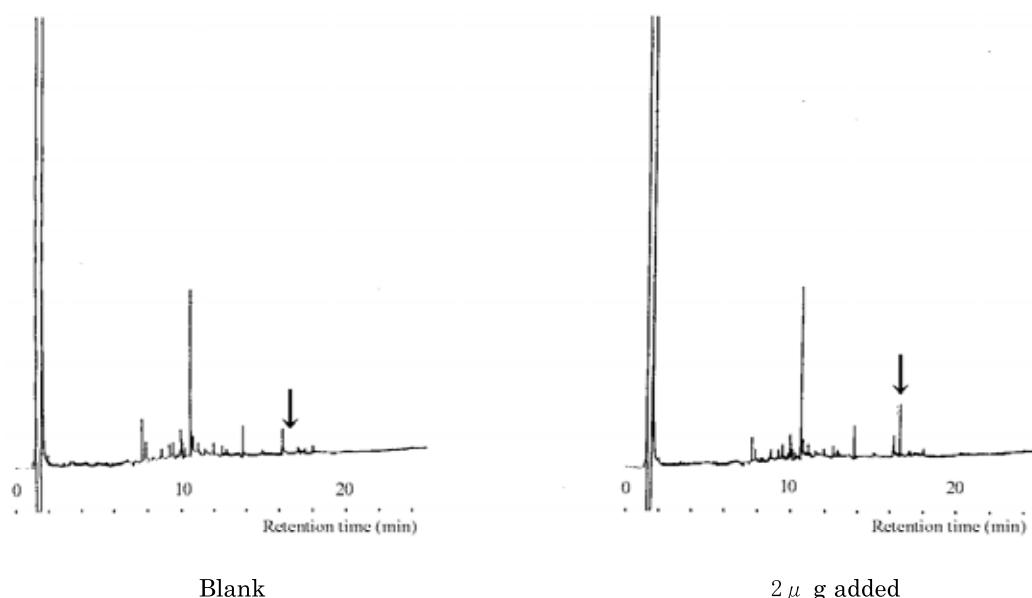
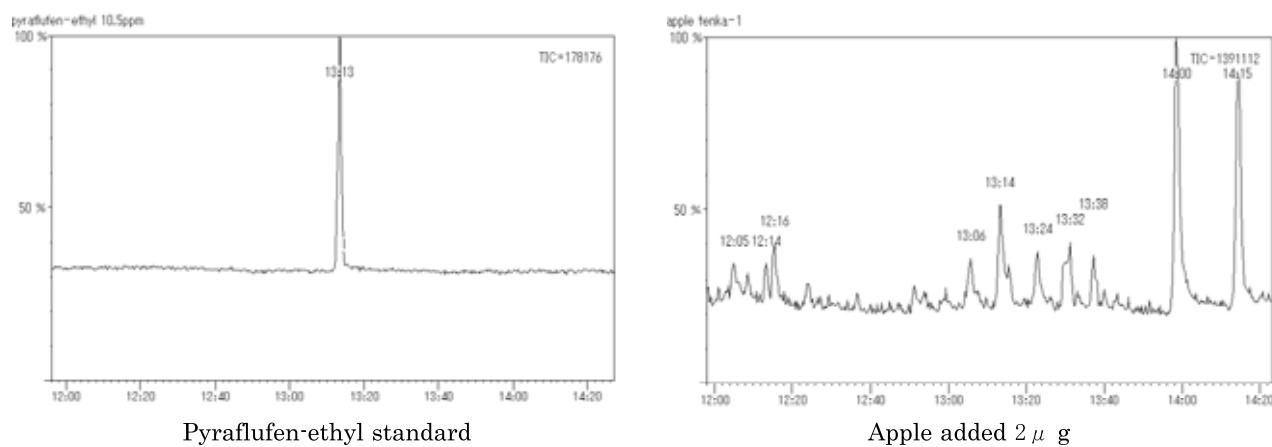
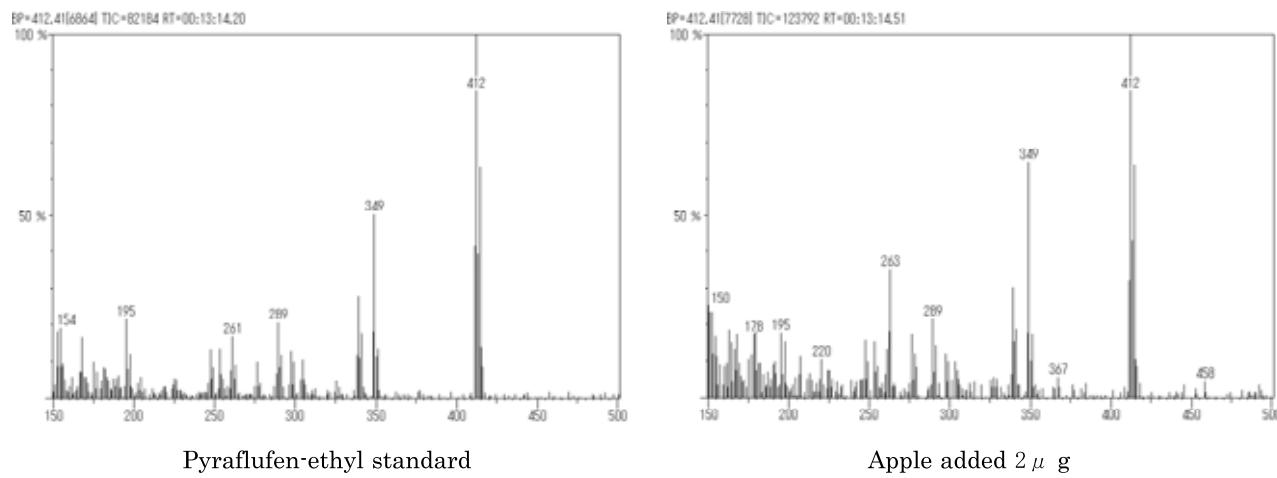


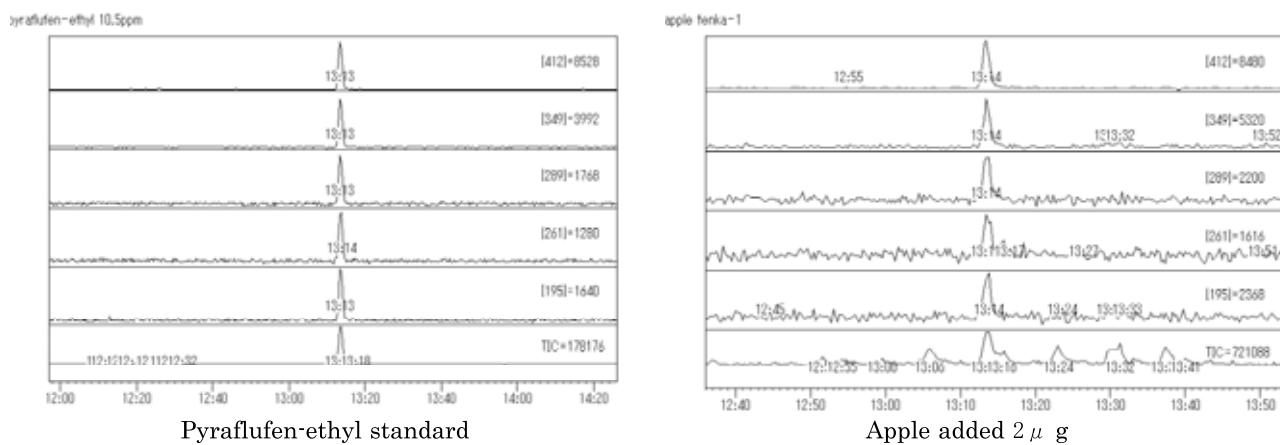
Blank



1 μ g added

Fig. 5 Gas Chromatograms of Wheat (Blank、 1 μ g added)

Fig. 6 Gas Chromatograms of Kiwi fruit (Blank, 2 μ g added)Fig. 7 Total Ion Chromatograms of Pyraflufen-ethyl standard and Apple added 2 μ gFig. 8 Mass Spectra of Pyraflufen-ethyl standard and Apple added 2 μ g

Fig. 9 Mass Chromatograms of Pyraflufen-ethyl standard and Apple added 2 μ g

結論

農産物中のピラフルフェンエチルを分析する手法として、食品衛生法で含窒素系農薬で主に適用されているアセトン抽出、n-ヘキサン転溶、アセトニトリル・n-ヘキサンによる脱脂、フロリジルカラムによる精製による分析法を検討し、穀類、果実類10種類において添加回収実験を行ったところ80%以上の良好な回収率を得ることができた。従ってピラフルフェンエチルにおいても食品衛生法規制農薬と同様な手法で分析可能であると思われた。妨害ピークが重なったレモンについては分離条件に

さらに検討を要する。

謝辞

検討を行うにあたり小麦の試料を提供して頂きました神戸市環境保健研究所の田中俊嗣氏に感謝いたします。

文献

- 1) Tomlin,C.D.S.:The Pesticide Manual 11th Ed.,British Crop Protection Council (1997)
- 2) 改訂3版農薬登録保留基準ハンドブック1999年追録, 化学工業日報社「今月の農業」編集室 pp40, pp80 (1999)

短報

アルミナカラム使用におけるフルベンダゾール溶出挙動に関する検討

藤巻照久, 岸 美智子, 佐藤修二

Case of study on flubendazole elution using alumina column

Teruhisa FUJIMAKI, Michiko KISHI
and Shuji SATOH

はじめに

現在、我が国をはじめとして諸外国では家畜の生産性向上させるために抗菌性物質、ホルモン剤及び寄生虫用剤などの動物用医薬品が汎用されている。なかでも家畜の飼育過程で線虫、回虫及び吸虫などの寄生虫による畜産動物の被害を未然に防ぐため多くの寄生虫用剤が用いられている^{1) 2)}。これらの寄生虫駆除剤が食品中に残留していないかどうか食品衛生上の観点から残留分析を行う必要があり、平成7年に食品衛生法が改正され、いくつかの寄生虫駆除剤の残留基準値が設定された。その中でベンズイミダゾール系線虫駆除剤のフルベンダゾールの規格基準値が豚、鶏、七面鳥、あひるの筋肉、肝臓及び鶏卵に設定され、その試験法（以後、公定法）が示された³⁾。

行政検査で主に分析対象となっている鶏肉及び豚肉において公定法を用いた添加回収実験は、しばしば回収率にばらつきがみられた。本研究においてはその原因として考えられるカラムの溶出挙動を検討し、一部分析法の改良を行ったので報告する。

方法

1 試料

鶏肉及び豚肉は、市販品を可能な限り脂肪層を取り除き、細切均一化した。

2 試薬

フルベンダゾールは、関東化学社製食品分析用フルベンダゾール標準品（>99.0%）を用いた。標準溶液は、フルベンダゾール（以下、FBZ）10.0mgを500mLのメタノールに溶かし20μg/mLの標準原液を調製し、逐次メタノールにて希釈して調製した。カラムクロマトグラフィー用アルミナ（酸性）は、Waters 社製 Sep-Pak 用充填剤 Alumina A（粒子径50-300μm）を、またミニカラートリッジカラム（以下、ミニカラム）は、Waters 社製 Sep-Pak Plus Alumina A（粒子径50-300μm、充填剤量1.71g）を用いた。その他の試薬は、残留農薬用または特級を用いた。

3 装置及び測定条件

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ：ヒューレットパッカード社製 HP-1100（以下、HPLC）
(測定条件)

分離カラム：Inertsil ODS-3 4.6 × 150mm

移動相：アセトニトリル：水（7:13）

測定波長：313nm

流速：1.2mL/min

注入量：20μL

定量下限値：0.001μg/mL (S/N=3)

4 充填カラム及びミニカラムの調整

カラムクロマトグラフィー用アルミナ（酸性）の充填カラムは、用時調整した。アルミナは130°C、15hr 活性化後デシケーター内で放冷し、表1に従って活性度Ⅰ、Ⅱ、Ⅲに調整した⁴⁾。公定法ではミニカラムの充填量は1.85gであるが現在、一般に市販されているミニカラムの充填量は、1.71gであるので活性度を調整したアルミナの充填量は1.7gとした。これをガラスウールで綿栓した内径1cmのガラス製注射筒に均一に充填した。充填カラムはマニホールドに装着し、酢酸エチル10mLであらかじめコンデンショニングした。ミニカラムも同様に酢酸エチル10mLであらかじめコンデンショニング後使用した。

表1 アルミナAの活性度と水分含量
(%)

活性度	アルミナの水分含量
I	0
II	3
III	8

神奈川県衛生研究所 食品薬品部

〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

アルミナAを130°C、15時間活性化し、放冷後、精製水を添加し均一に混和した

5 カラム負荷用の試料溶液の調製

市販の鶏肉及び豚肉試料250g（25検体分）をカラムに負荷する直前まであらかじめ公定法に従って抽出した。FBZの標準溶液（1μg/mL 25mL）を減圧乾固し、これを各々の肉試料250gからの抽出溶液約200mLで溶解し、酢酸エチルで250mLとし、0.1μg/mLのカラム負荷用の試料溶液を調製した。

結果および考察

1 活性度の違いによる充填カラムの溶出挙動

活性度IからIIIの充填カラムにFBZ標準品0.1μg/mLの酢酸エチル溶液及びカラム負荷用試料溶液を各々公定法とおり10mL負荷した。カラムの滴下速度はマニホールドを調整し、2~3mL/minとした。実験の繰り返し回数はn=3とした。10mLの酢酸エチル溶液をカラムに負荷した直後の溶出液をF1（以後、負荷液）とし、次に

酢酸エチル10mLで洗浄した直後の溶出液をF2（以後、洗浄液）とした。さらに20%エタノール-酢酸エチル溶液（以後、エタノール-酢酸エチル溶出液）を80mLまで10mLずつ溶出させた各フラクションはF01からF08とした。

表2に示すとおり活性度I（含水率0%）から活性度III（含水率8%）までのアルミナ（酸性）において公定法では捨てる溶出液である負荷液と洗浄液には、標準品の酢酸エチル溶液負荷後、FBZの溶出が認められなかった。しかし、鶏肉、豚肉の負荷液及び洗浄液からはいずれの負荷液、洗浄液からも溶出が認められた。その溶出は、カラムの水分含量が増えるに従って増加の傾向にあり、鶏肉で約3~10%、豚肉で約10~20%であった。その溶出の大部分は、負荷液（F1）に起因するものであった。

しかしながら負荷用試料液を濃縮して酢酸エチル溶液2mLとした時、いずれの活性度でも負荷液、洗浄液に溶出はなかった。

公定法で分取する部分は、20%エタノール-酢酸エチ

表2 フラクションによるカラムの回収率及びカラムからの総回収率

試料名及びカラム種別	F1	F2	F01	F02	F03	F04	F05	F06	F07	(%)	
										F08total(F1~F08)	
標準品(活性度I)	0	0	84.1± 3.0	3.6± 0.2	1.5± 0.4	0	0	0	0	089.2± 2.6	
標準品(活性度II)	0	0	79.1± 2.4	4.0± 0.8	1.8± 0.4	0	0	0	0	085.0± 2.2	
標準品(活性度III)	0	0	58.6± 16.8	10.6± 2.4	3.8± 0.6	2.0± 0.3	1.4± 0.2	1.1± 0.2	1.3± 0.2	078.8± 18.0	
鶏肉(活性度I)	1.8± 2.1	1.1± 1.8	77.5± 2.3	3.2± 0.9	0.9± 0.8	0	0	0	0	084.5± 0.6	
鶏肉(活性度II)	5.7± 2.5	1.2± 1.1	76.7± 7.1	4.4± 0.6	3.2± 1.5	0	0	0	0	091.3± 9.9	
鶏肉(活性度III)	8.3± 5.7	1.3± 1.3	73.0± 5.4	7.6± 1.3	2.2± 2.6	1.1± 0.1	0.3± 0.6	0	0	093.7± 1.8	
豚肉(活性度I)	8.8± 1.7	0.6± 1.1	81.4± 3.6	3.8± 1.1	4.1± 0.6	0	0	0	0	098.8± 4.0	
豚肉(活性度II)	15.0± 3.1	1.4± 1.2	65.7± 1.0	1.8± 0.6	1.8± 0.6	0.4± 0.8	0	0	0	094.8± 10.2	
豚肉(活性度III)	17.1± 5.9	1.2± 2.1	59.9± 2.1	9.2± 2.5	9.2± 2.5	2.8± 0.4	1.3± 0.4	0.4± 0.6	0	096.7± 7.3	
鶏肉(Sep-Pak Plus A)	0	0	74.1± 8.7	13.2± 5.7	13.2± 5.7	2.1± 0.4	0.9± 0.8	0	0	093.4± 1.0	
鶏肉(Sep-Pak Plus B)	0	0	58.3± 0.8	20.3± 1.2	20.3± 1.2	3.0± 0.1	1.4± 0.3	0	0	091.5± 1.4	
鶏肉(Sep-Pak Plus C)	0	0	71.3± 3.9	8.0± 3.6	8.0± 3.6	3.1± 2.7	0	0	0	087.8± 8.1	
鶏肉(Sep-Pak Plus D)	4.1± 1.9	0.5± 0.9	68.2± 2.1	12.8± 1.0	12.8± 1.0	3.7± 2.0	1.5± 0.2	0	0	095.9± 3.6	
鶏肉(Sep-Pak Plus E)	0	0	60.9± 3.8	15.0± 3.0	15.0± 3.0	3.0± 0.6	3.0± 0.3	1.6± 0.1	0	088.7± 0.8	

n=3

充填カラム:アルミナA 1.7g

Sep-Pak Plus:アルミナA 1.71g

Sep-Pak Plus C:平成12年1月購入

標準品:フルベンダゾール 0.1μg/mL酢酸エチル溶液 10mL

豚肉:フルベンダゾール 0.1μg/mLを添加した酢酸エチル抽出溶液 10mL

F1:酢酸エチル抽出溶液10mLのカラム負荷直後の溶出液(負荷液) 10mL

F01~F08:20%エタノール-酢酸エチル溶液 10mLずつ流した溶出液(エタノール-酢酸エチル溶出液) 各10mL

活性度I:水分含量 0%

Sep-Pak Plus A:平成11年12月購入

Sep-Pak Plus D:平成12年11月購入

鶏肉:フルベンダゾール 0.1μg/mLを添加した酢酸エチル抽出溶液 10mL

F2:酢酸エチル10mLで洗浄直後の溶出液(洗浄液) 10mL

ル溶液15mLと定められている。このフラクションは、本実験のF01及びF02の最初の5mLを合わせた部分(F01～F02の一部)に相当する。F01～F02は標準品と鶏肉及び豚肉の間に顕著な差は認められなかった。また、いずれにおいても分取の主要なフラクションであるエタノール-酢酸エチル溶出液F01のFBZは、カラムの含水率が増えるに従って減少する傾向にあった。従って、カラムの含水率が増えると公定法では捨てるべきフラクションにFBZが溶出し、分取すべきフラクションにFBZが回収されない傾向が明らかとなつた。

また、FBZ はいったん保持されるとカラムの含水率が高いほどエタノール-酢酸エチル溶出液で溶出されにくい傾向にあり、FBZ が検出されるフラクションは、含水率が高いほど増える傾向にあった（表 2）。

2 ミニカラムのロット差による溶出挙動

平成11年9月から平成12年12月までに購入した市販のミニカラム5ロットについて鶏肉の試料溶液を用い、その溶出挙動を検討した。

充填カラムと同様に公定法では、負荷液と洗浄液は捨てるフラクションであるが、表2からカラムDは、5%前後の溶出が認められ、ロットによって市販のミニカラムの中には負荷液と洗浄液からFBZが溶出することがわかった。公定法ではミニカラムにより分取するエタノール-酢酸エチル溶出液は15mLであるが、各ロットとともに表2に示すとおりF01及びF02の20mLを越えてまだ、FBZの溶出が認められ、溶出が完了しているはずの表2のエタノール-酢酸エチル溶出液F03～F07で約6～13%のFBZの溶出が認められた。また、F01～F05までにほとんどのロットでFBZの溶出は終わるが、ロットによってはF06まで溶出するもの（ミニカラムE）があった。また、ミニカラムDは充填カラムの溶出挙動に比較すると本実験の活性度II～IIIに相当していた（表2）。

市販ミニカラムの活性度は、メーカーによれば含水率0~3%の間であるとしているが、F03~F07の溶出挙動から充填カラムとミニカラムは、同じ挙動を示していないことがわかった（表2）。その違いは充填カラムが、ミニカラムのアルミナAと同じ充填剤を使用しているので今回の活性化の条件がメーカーと異なるため溶出時の保持に影響が生じたものと思われる。

3 改善した公定法と添加回収実験

3 1 公定法の改善点

公定法では負荷液を10mLとしているが、鶏肉、豚肉の試料液ではどの活性度の充填カラムからもFBZの溶出が認められ、ミニカラムにおいてもFBZを溶出する

ロットがあるため負荷液をできるだけ少量とし、カラム負荷時の容量は1mLで2回とした。

公定法のミニカラムのエタノール-酢酸エチル溶出液は15mLであるが、ミニカラムの各ロットの溶出挙動からエタノール-酢酸エチル溶出液F06まで溶出するものがあり、エタノール-酢酸エチル溶出液は70mLとした。なお、鶏肉及び豚肉の充填カラムのエタノール-酢酸エチル溶出液の分析では、クロマトグラム上、エタノール-酢酸エチル溶出液80mLまで妨害ピークは認められなかつた。

公定法では試験溶液の最終溶媒は、移動相と同じアセトニトリル-水（7：13）であるが、本法では FBZ の標準溶液調製時に用いたメタノールを使用することとした。

これらの改善点を図1の分析法のスキームに示した。

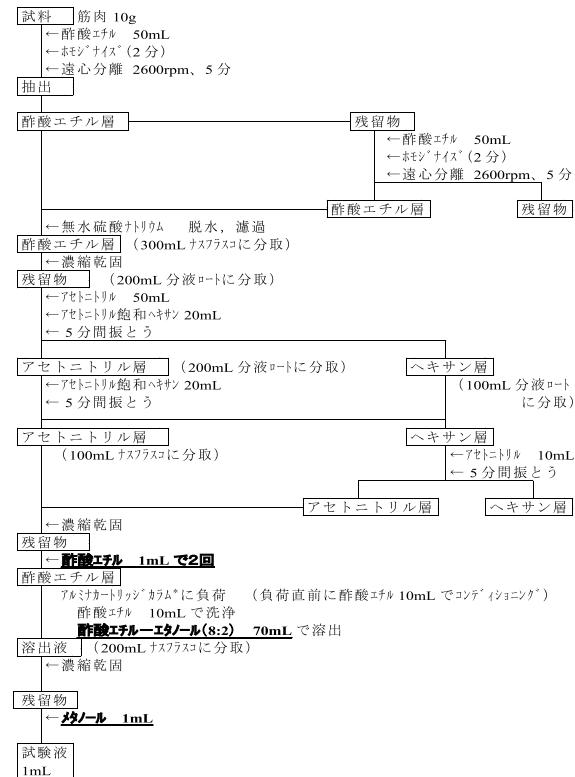


図 1 フルベンダゾール分析法

改善点は下線部分

*アルミナカートリッジカラム：Sep-Pak Plus Alumina A

(充填剂量1710mg)公定法では充填剂量1850mg

3 2 添加回収実験

市販の鶏肉10.0gを用いてFBZ 0.1 μ g (0.1 μ g/mL 1mL)を添加し、上記の改善試験法を用いて試験溶液を

調製し、HPLC で測定した。使用したミニカラムは、D であった。添加回収実験の繰り返し回数は n=6 とした。検量線は、0.1, 0.25, 0.5, 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の4点で相関係数 0.99976 の原点を通る良好な直線性を示した。図 2 に代

表的なクロマトグラムを示した。また、添加回収実験の結果を表 3 に示した。回収率の平均値は 101.4%，標準偏差 3.5%，変動係数 3.5% と良好な結果が得られた。

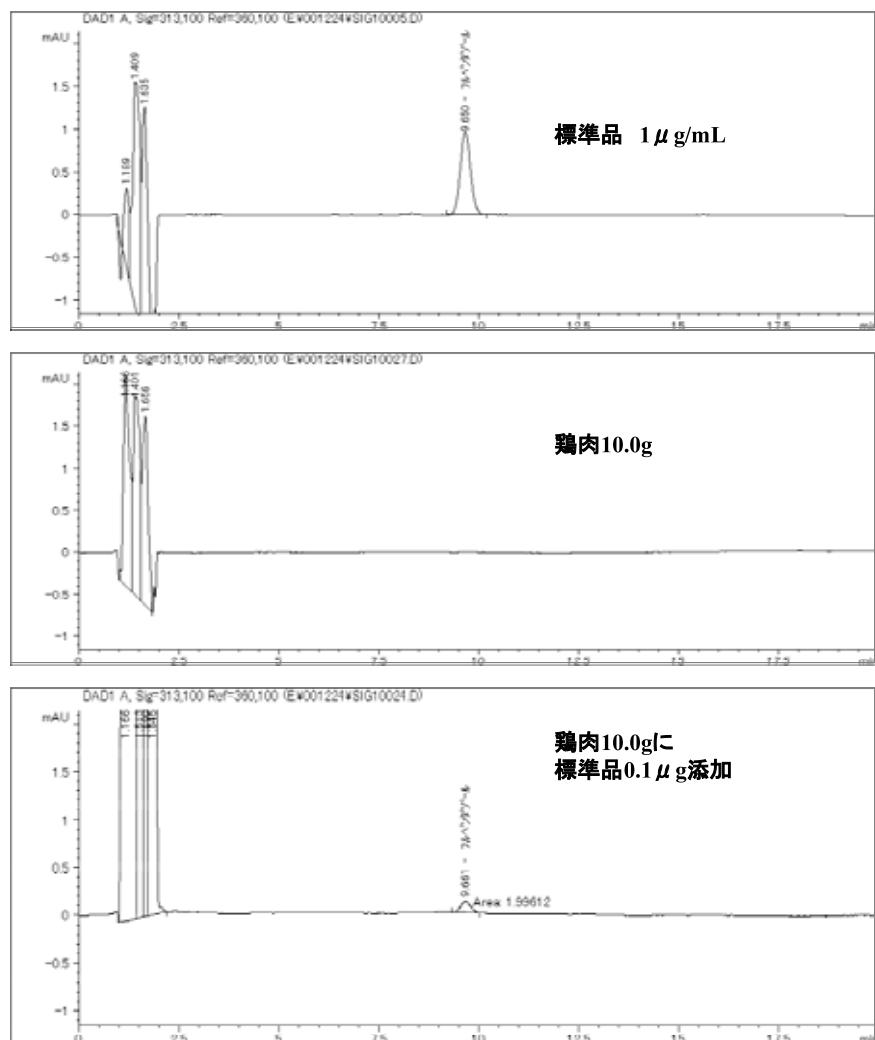


図 2 添加回収実験（鶏肉）のクロマトグラム

表 3 フルベンダゾール添加回収実験結果

sample No.	回収率(%)
1	98.8
2	101.0
3	95.9
4	103.9
5	104.7
6	103.9

鶏肉 10.0g に FBZ 0.1 μg を添加

まとめ

従来、当所の行政依頼検査において鶏肉及び豚肉の分析時に行っている添加回収実験は概ね鶏肉が 54~78%，豚肉が 62~94% の結果が得られており、公定法通り行つてもかなり回収率に差があることが知られていた。今回の検討によってその原因の一つにアルミナカラムの使用法によることが明らかとなった。アルミナ A についてはロット差が大きく分析前にあらかじめロットごとの溶出フラクションの確認が必要であるが、改善した本試験法を用いればミニカラムのロット差があっても分析値に及ぼすカラムの影響をかなり少なくすることができ

るものと考える。また、このロット差は水分含量によるものと思われるが、市販ミニカラムを用いて活性度を調製することは困難であり、今後、水分含量または活性度が明らかな製品の供給が望まれる。

文献

- 1) 中澤裕之, 堀江正一: 食品に残留する動物用医薬品の新知識, 食品化学新聞社, 東京 (1998)
- 2) 中澤裕之監修: 動物用医薬品データブック, 林純薬工業, 大阪 (1998)
- 3) 厚生省生活衛生局: 厚生省告示第218号, 平成7年12月26日
- 4) 大岳 望, 鈴木昭憲, 高橋信孝, 室伏 旭, 米原 弘: 物質の単離と精製, 東京大学出版会, pp. 67-68, 東京 (1976)

短報

豆類、茶等のキノメチオネート残留試験について

渡邊裕子、佐藤久美子、藤巻照久、
渡辺貞夫、佐藤修二

Determination of Residual Chinomethionat in Beans,
Teas, Potatoes and Hops

Hiroko Watanabe, Kumiko Sato,
Teruhisa Fujimaki, Sadao Watanabe,
and Shuji Satoh

神奈川県衛生研究所 食品薬品部
〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

はじめに

キノキサリン系殺虫剤であるキノメチオネートは、果実などのハダニや野菜のうどん粉病に効果を示す農薬として用いられ、ヒトに対する毒性影響を考慮したADI(目許容摂取量)は0.006mgとされている¹⁾。本農薬は、平成4年の厚生省第1次告示のための検討として、野菜、果実類のうち6農産物、穀類、種実類として4農産物について分析法の検討が行われ、米・麦・雑穀(0.1ppm)、果実(0.02~5ppm)、野菜(0.5~1.0ppm)、オイルシード(0.5ppm)、ナツツ類(0.02~0.5ppm)に規格基準が定められた。

今回、規格基準の設定されていない農産物のうち主に輸入品を中心として、豆類、ばれいしょ、茶類およびホップについて平成4年10月27日厚生省告示第239号「キノメチオネート試験法」等^{2,3,4)}を参考とし、試験法の検討を行った。

材料および方法

1. 試薬

キノメチオネートは、純度97%以上の標準品(和光純薬社製)を用い、アセトン、n-ヘキサン、酢酸エチルは残留農薬分析用(和光純薬社製)を用いた。シリカゲルは、カラムクロマトグラフィー用Kieselgel60(70~230mesh ASTM)(MERK社製)を用い、開封後、デシケータ

一中に保存し、活性化せずに用いた。

2. 材料

輸入豆類は、緑豆、レンズ豆、ヒヨコ豆、黒目豆、キドニービーンズの5種、ばれいしょは、男爵とメイクイーンの2種、お茶は、烏龍茶2種、ブーアル茶、紅茶2種の5種、およびホップについて検討を行った。

3. 抽出溶液の調製

豆類の抽出法を図1に、ばれいしょおよびホップの抽出法を図2に、茶類の抽出法を図3に示した。豆類は、粉碎した試料10gに2倍量の水を加え、2時間放置した後にアセトンで抽出を行い、ヘキサン転溶、アセトニトリル分配を行い抽出溶液とした。ばれいしょおよびホップは、6M塩酸を加え酸性下とし、試料を細切均一化した後、アセトンで抽出を行い、ヘキサン転溶し、抽出溶液とした。茶類は、100°Cの水で熱水抽出後、アセトン、酢酸鉛を加え、タンニンを除去した後にn-ヘキサン:酢酸エチル(1:4)に転溶し、抽出溶液とした。

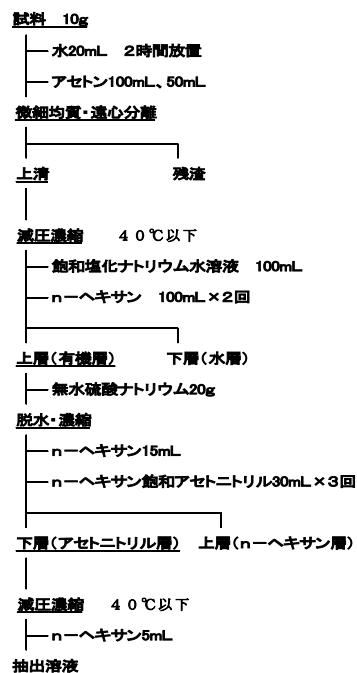


図1. 豆類におけるキノメチオネート抽出方法

4. 試験溶液の精製

シリカゲルカラムクロマトグラフィーは、内径15mm、長さ300mmのガラスカラムにシリカゲル10g、無水硫酸ナトリウム2gを積層し、n-ヘキサンで湿式充填したもの用いた。n-ヘキサンで溶解した抽出溶液を負荷した後、n-ヘキサン:酢酸エチル(1:50)50mLで洗浄し、n-ヘキサン:酢酸エチル(1:50)100mLで溶出後、アセ

トンで定容し、試験溶液とした。精製法を図4に示した。

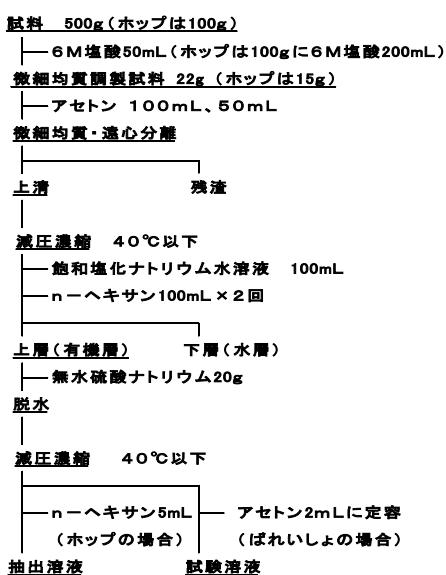


図2. ばれいしょおよびホップにおける
キノメチオネート抽出方法

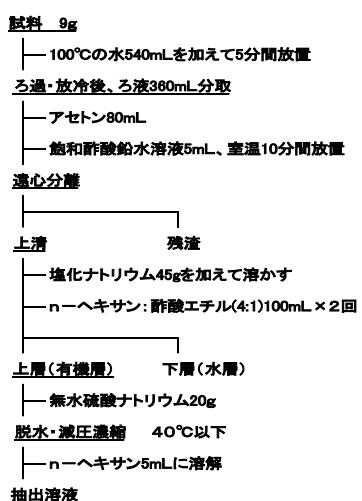


図3. 抹茶以外の茶におけるキノメチオネート抽出方法

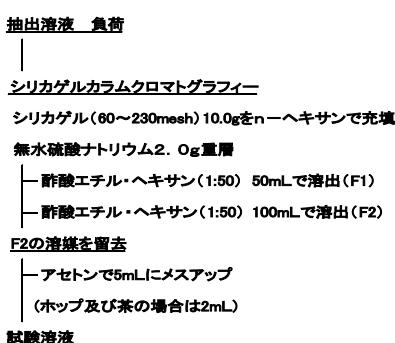


図4. キノメチオネート抽出溶液の精製方法

5. 測定法

a. 定性および定量

炎光光度型検出器（硫黄用干渉フィルター、波長394nm）付きガスクロマトグラフを用いて、2種類のカラムを用いて分析を行った。定量は、ピーク高さ法、絶対検量線法を用い、指數計算法によって良好な直線性を示す検量線が得られた。

測定条件を以下に示した。

ア. 装置：HP6890型ガスクロマトグラフ

検出器：HP6890NPD-GC (S フィルター)

カラム：J&W 社製 DB-17

カラム温度：60°C (2分保持) – 30°C/分 – 180°C – 5°C/分 – 230°C (9分保持)

注入温度：220°C

検出器温度：250°C

ガス流量：キャリアーガス ヘリウム 2.4mL/分

水素ガス 50mL/分

空気 60mL/分

マイクアップガス ヘリウム 17mL/分

試料注入法：スプリットレス

注入量：1 μ L

イ. 装置：SHIMADZU GC-17A ガスクロマトグラフ

検出器：SHIMADZU FPD-GC (S フィルター)

カラム：J&W 社製 DB-5

カラム温度：50°C (2分保持) – 15°C/分 – 180°C (2分保持) – 4°C/分 – 240°C (2分保持) – 20°C/分 – 250°C (1分保持)

注入温度：220°C

検出器温度：250°C

ガス流量：キャリアーガス ヘリウム 1.0mL/分

水素ガス 170mL/分

空気 55mL/分

マイクアップガス ヘリウム 50mL/分

試料注入法：スプリットレス

注入量：2 μ L

S/N=3を定性、定量下限値とし、以下に示した。

豆類 0.05ppm

ばれいしょ 0.01ppm

抹茶以外の茶 0.02ppm

ホップ 0.04ppm

b. 確認

ガスクロマトグラフ・質量分析計を用いて、キノメチオネート分析の確認を行った。

装置：HP6890型ガスクロマトグラフ

検出器：日本電子社製 Automass150

カラム：J&W 社製 DB-5

カラム温度：50°C (2分保持) – 20°C/分 – 280°C (10分保持)

注入温度 : 220°C
 インターフェイス温度 : 242°C
 イオン源温度 : 180°C
 イオン化電圧 : 70eV
 キャリアーガスおよび流量 : ヘリウム 1.2mL/分
 試料注入法 : スプリットレス
 注入量 : 2 μ L
 m/z116, 206, 234の各イオンをモニターする。

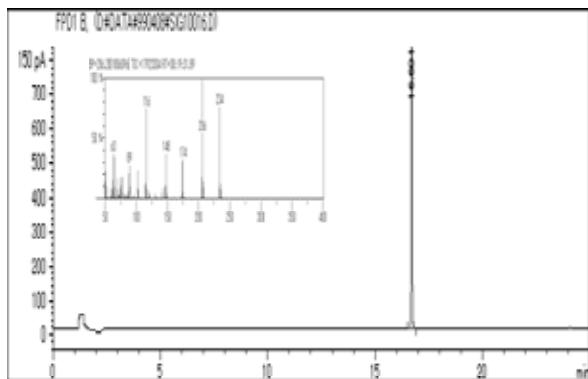


図5. キノメチオネート標準品のクロマトグラムおよびスペクトル

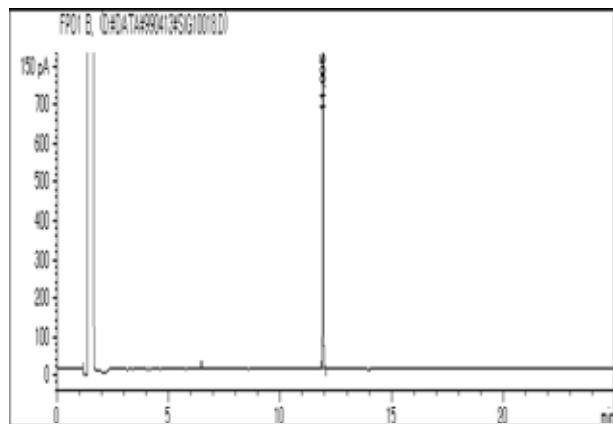


図6. 烏龍茶サンプルのクロマトグラム

6. 添加回収試験

添加回収試験は、豆類10gに対しキノメチオネート2 μ g、ばれいしょ20gに対し2 μ g、ホップ5gに対し1 μ gを粉碎均一化したサンプルに添加し、試験を行った。烏龍茶および紅茶は、熱水抽出後のろ液360mLに対し1.2 μ gを添加した。いずれの農産物においても3回繰り返し試験を行った。

結果および考察

豆類は、第一次告示における野菜、果実、種実類の試験法を準用し、試験溶液の調製を行った(図1)。ヘキサン転溶時にエマルジョンの生成がみられたため、充分に静置した後分取を行った。

ばれいしょ及びホップについても同様に野菜、果実、種実類の試験法により試験溶液の調製を行ったが、回収

率がばれいしょ(16%)、ホップ(0%)と不良であった。キノメチオネートのようにアルカリ性条件下で加水分解しやすい農薬は、サンプル粉碎時に酸性条件下とする必要がある。そこで、ホップ25gに対して水50mLを加え、6M塩酸2.5mLを入れて添加回収実験を行ったが、回収率は0%であった。さらに試料細切に際し、ばれいしょは500gに対し6M塩酸50mLを、ホップでは100gに対し6M塩酸200mLを加えて、塩酸添加量を増やしキノメチオネートの消失を防止した(図2)。その結果、回収率は、ばれいしょで99.2~99.3%、ホップで78.7%と著しく向上した。

お茶は、茶葉から直接溶媒で抽出を行わず、飲用時を再現した熱水抽出法により試験を行い(図3)、平均回収率が72.2~84.7%と良好な結果が得られた。

GCによる分析のクロマトグラムでは、いずれの農産物においてもキノメチオネートの当該保持時間に妨害ピークは認められず、良好な測定条件であった。測定条件アでは、キノメチオネートの保持時間は16.7分前後、イでは20.8分前後であった。測定条件アにおけるキノメチオネート標準品のクロマトグラムとGC-M Sにおけるマススペクトルを図5に示し、烏龍茶におけるクロマトグラムを図6に示した。定性、定量下限値の設定は、アおよびイの測定条件におけるS/N=3を算出し、それぞれの農産物における試験溶液の濃縮率より設定した。

添加回収試験結果を表1に示した。食品衛生検査施設における検査等の業務の管理要領(平成9年1月16日衛食第8号)の実施として、精度管理の一般ガイドラインが示されている。ガイドラインでは、添加回収率の確保の目安として70~120%の数値を示している。本試験法において添加回収率が70~120%の良好な回収率が得られた作物は、キドニービーンズ(70.4%)、ばれいしょ(99.2~99.3%)、烏龍茶(72.2~80.2%)、紅茶(78.4~84.7%)、ホップ(78.7%)であった。また、添加回収率が70%未満のものは、豆類(緑豆、レンズ豆、ヒヨコ豆、黒豆豆)(56.8~68.1%)であった。第一次告示で検討された農産物のうち、回収率が70%未満のものは、野菜、果実については、キュウリ62%、レモン65%であり、穀類、種実類では小麦玄麦33%、精白米69%、生トウモロコシ6.2%、ゴマ21%であった。キュウリ、レモンについては、食品成分によるキノメチオネートの分解を考えられることから、本試験法で検討を行った塩酸処理を行うことにより、キノメチオネートの消失を抑え、良好な回収率が得られることが考えられた。一方、穀類、種実類や豆類などの油脂含量の高い農産物において回収率が悪い傾向があり、試験溶液調製においてさらに検討が必要であった。なお、今回分析を行った13種類のいずれの農産物においてもキノメチオネートの残留は認められ

表1. キノメチオネートの添加回収試験結果

分類	No. 試料名	添加量	回収率%	平均値%	標準偏差値
豆類	1 緑豆 (中国産)	2 μg/10g	64.5	64.7	0.96
			65.7		
			63.8		
	2 レンズ豆 (アメリカ産)	2 μg/10g	59.5	56.8	2.65
			54.2		
			56.7		
	3 ピコ豆 (メキシコ産)	2 μg/10g	70.9	66.6	3.73
			64.3		
			64.6		
	4 黒目豆 (アメリカ産)	2 μg/10g	74.7	68.1	5.72
			64.7		
			64.9		
	5 キビニービーンズ (アメリカ産)	2 μg/10g	69.1	70.4	1.41
			71.9		
			70.2		
ばれいしょ	6 男爵 (注) (北海道産)	2 μg/20g	98.5	99.3	1.17
			98.9		
			100.7		
	7 メイクイーン (北海道産)	2 μg/20g	102.1	99.2	4.15
			94.5		
			101.1		
抹茶以外 の茶	8 烏龍茶(海島牌) (中国産)	1.2 μg/2液360ml	72.3	72.2	5.85
			66.3		
			78.0		
	9 烏龍茶(新芽牌) (中国産)	1.2 μg/2液360ml	78.7	75.6	2.93
			72.9		
			75.1		
	10 烏龍茶(敦寧牌) (中国産)	1.2 μg/2液360ml	83.5	80.2	4.95
			74.5		
			82.6		
	11 紅茶(アッサム) (インド産)	1.2 μg/2液360ml	80.8	84.7	7.46
			93.3		
			80.0		
	12 紅茶(ウバ) (スリランカ産)	1.2 μg/2液360ml	76.7	78.4	2.89
			81.7		
			76.7		
ホップ	13 ホップ (注) (ドイツ産)	1 μg/5g	74.4	78.7	5.65
			76.5		
			85.1		

(注)ばれいしょ及びホップは塩酸処理後、塩酸処理前の重量に対してキノメチオネートを一定量添加した。

なかつた。

まとめ

本試験法は、豆類（緑豆、レンズ豆、ヒヨコ豆、黒豆）でやや回収率が低かったが、キドニービーンズ、ばれいしょ、烏龍茶、紅茶、ホップでは残留農薬試験法として、適用可能であった。

文献

1)上杉康彦編：第3版 最新農薬データブック，ソフ

トサイエンス社，69 1997.

2)厚生省生活衛生局監修：食衛生検査指針追補I，日本食品衛生協会，112-117 1993.

3)厚生省生活衛生局食品化学課：平成5年度第2回食品残留農薬分析法講習会講義資料，73-84 1993.

4)残留農薬分析法研究班：最新農薬の残留分析法，中央法規出版，116-117 1995.

短報

食品添加物製剤の主成分分析 —酸化防止剤—

山田利治、川名清子

Determination of principal compound in food additive preparations —Antioxidant—

Toshiharu YAMADA, Kiyoko KAWANA

はじめに

食品添加物製剤は添加物の持つ機能をより有効に発揮させるため、または安定化させるために、2種類以上の添加物を配合したり、水や食品素材で希釈したりして添加物本来の効果を期待する目的で製造されたものをいい、食品衛生法で成分の名称や配合割合の表示が義務付けられている。しかし、確立された分析法がなく、成分の含量許容範囲も定められていない。そこで製剤が表示通り正しく配合されているかどうか分析、確認する必要がある。製剤はその配合割合、種類が多岐にわたるため、製剤からの抽出方法の検討、共存物質の影響、モデルサンプルによる回収率の検討など、多くの時間と工夫を要するが、適切な分析法を確立することが重要である^{1, 2)}。今回は製剤中の酸化防止剤について分析法を検討したので報告する。

実験方法

1 試料

県内製造所より入手した製剤を使用した。

2 試薬及び標準溶液

ブチルヒドロキシアニソール(BHA)、ジブチルヒドロキシトルエン(BHT)、フルオレン、n-ヘキサン、エタノールは和光純薬製特級品を用いた。

標準溶液：BHA および BHT の各々100mg を正確に量り、n-ヘキサンに溶解し、正確に100mL(1000 μg/mL)とした。

内部標準溶液：フルオレン100mg を正確に量り、n-ヘキサンに溶解し、正確に100mL(1000 μg/mL)とした。

3 ガスクロマトグラフ (GC) 装置および測定条件

装置：シマズ GC-15APF(FID 検出器付)、C-R5A クロマトパック。

カラム：5% Silicone OV-17(3mmID × 2 m)、カラム温度：160°C、注入口温度：230°C、キャリアーガス：窒素 50mL/min、注入量：5 μL。

4 試験溶液の調製

試料 0.5g を正確に量り、エタノール10mLを加えて5分間超音波処理し、n-ヘキサン30mL を加えてさらに5分間処理して、遠心分離(3000rpm、5min)を行い上清を分取する。残留物に n-ヘキサン30mL を加えて同様に処理し、上清を合わせ n-ヘキサンで100mLとする。この2mL をとり n-ヘキサンで10mL とし、GC 注入用試験溶液とする。

結果及び考察

1 抽出法の検討

酸化防止剤を含む3種類の製剤の表示内容を表1に示した。

表1 酸化防止剤製剤の組成表示

1. 製剤 N	
BHT	10.0 %
グリセリン脂肪酸エステル	2.2 %
食品素材 (大豆油、水)	87.8 %
	100.0 %

2. 製剤 A	
BHA	10.0 %
グアーガム	0.2 %
ソルビット	2.0 %
アラビアガム	9.0 %
クエン酸 (無水)	1.0 %
エタノール	2.0 %
食品素材 (水)	75.8 %
	100.0 %

3. 製剤 T	
BHT	10.0 %
グリセリン脂肪酸エステル	3.5 %
キサンタンガム	0.15 %
プロピレングリコール	10.0 %
レシチン	1.5 %
食品素材 (水)	74.85 %
	100.0 %

主成分の BHA、BHT が10%含有されているという表示にもとづいて抽出方法を検討し、結果を表 2 に示した。

試料名	主成分名	表示量	分析方法 (%)		
			(1)	(2)	(3)
製剤 N	BHT	10.0	4.4	9.6	10.0
製剤 A	BHA	10.0	7.8	8.9	9.6
製剤 T	BHT	10.0	1.6	7.1	9.7
(n = 3)					

(1) n-ヘキサンのみで抽出したときは1.6%–7.8%、(2) 一定量の水を加えて n-ヘキサンで抽出したときは7.1%–9.6%、(3) エタノールを加えて5分間の超音波処理を行い n-ヘキサンで抽出したときは9.6%–10.0%の結果が得られ、(3) の方法が最も表示に近い高い値を示した。エタノールを加えて5分間の超音波処理で試料のエマルジョン破壊が容易になり、n-ヘキサンへの BHA、BHT の抽出率が上昇したものと思われた。

2 GC 条件の検討

BHA、BHT の GC 分析にはカラムとして5% Silicone OV-17を選択し³⁾ 分離能とカラム圧を考慮してカラム温度は160°C、窒素流量は50mL/minとした。

酸化防止剤についてのガスクロマトグラム例を図に示した。製剤 N は図の (B) 製剤 T と同様のクロマトパターンであったので省略した。本条件下での BHA 保持時間は7.3分、BHT は6.3分であり、内部標準物質フルオレンは13分であった。3種類の製剤いづれも共存物質による妨害ピークは認められず、良好な結果が得られた。

3 検量線

BHA 及び BHT それぞれの標準溶液 0.4、0.6、0.8、1.0 および 2.0mL を正確にとり、それぞれにフルオレン溶液 1.0mL を正確に加え、n-ヘキサンで10.0mL とし、内部標準法による面積値によって検量線を作成した。40–200 μg/mL の範囲でともに良好な直線性を示した。

4 添加回収実験

配合成分の添加物単品原料を製造所より同時に入手したもの用い、3種類の製剤の表示と同じ配合割合のモデル製剤を実験室で調製し、本分析方法を用いて BHA、BHT の添加回収率を求めたものを表 3 に示した。

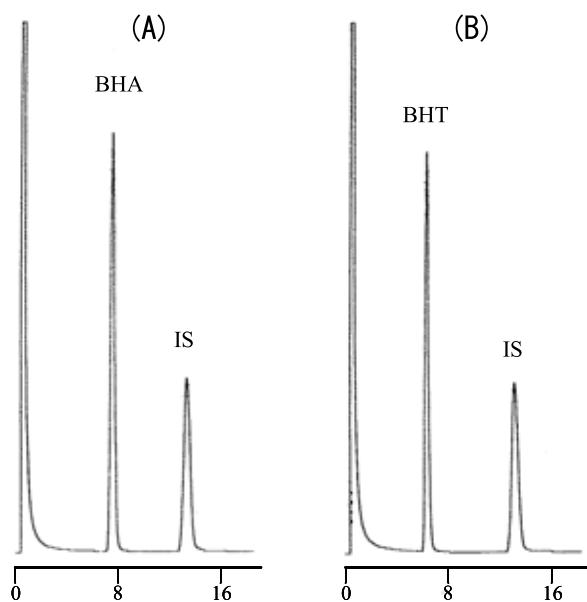


図 酸化防止剤製剤のガスクロマトグラム

A) 製剤 A, (B) 製剤 T

IS : 内部標準物質(フルオレン 100 μg/mL)

GC 条件 : 実験方法 3 に記載

表 3 モデル製剤による添加回収率

モデル製剤	主成分名	配合割合(%)	回収率(%)*
製剤 N	BHT	10.0	99.8 ± 0.3
製剤 A'	BHA	10.0	98.1 ± 0.3
製剤 T'	BHT	10.0	98.6 ± 0.5
* 平均値 ± SD		(n = 3)	

それぞれ 3 回繰り返し測定したところ、いずれも 98 %以上の回収率を示し、標準偏差は 0.5 以内であり、良好な結果が得られた。

5 製剤の評価

製剤中の成分含量の許容範囲は現時点で定められてはいない。食品添加物製剤は薬事法による製剤含量規格とは異なり、期待される機能で食品に添加されるものであり、それほど厳密でないのが一般的である。東京都⁴⁾ではその配合量の違いによって許容範囲を提示しており、含量 5%–10% では ± 30% としている。この値を参考に今回実施した 3 製剤の含量表示 10% を評価するとき、± 0.4% 以内となり大変良好な結果であった。

まとめ

食品添加物の酸化防止剤製剤について分析法を検討し、GC による方法を確立した。すなわち、製剤から主成分の BHA (ブチルヒドロキシアニソール)、BHT

(ジブチルヒドロキシトルエン) の n-ヘキサン抽出に際して超音波処理を行うことにより、エマルジョンの破壊が容易になり、BHA と BHT の抽出率が上昇し、良好な結果を得ることができた。また、配合成分の添加物単品原料を製造所より同時に入手し、表示と同じ配合割合のモデル製剤を調製し、本分析法を用いて BHA、BHT の添加回収率を求めたところ、共に98%以上を示し、共存物質の影響もなく、この分析方法の妥当性が示された。

文献

- 1) 岸 弘子、川名清子、谷 孝之：食品添加物製剤中の有機酸の分析、神奈川衛研報告、28、43-46 (1998)
- 2) 中島和男、高橋巖、広門雅子、植松洋子、松井敬子、風間成孔：食品添加物製剤中の天然物の分析、東京衛研年報、39、147-150 (1988)
- 3) 谷村顕雄等監修：食品中の食品添加物分析法解説書、講談社、p94 (1993)
- 4) 風間成孔：食品添加物および食品添加物製剤の分析法、FFI ジャーナル、157、28-41 (1993)

短報

シンナー代替ラッカーうすめ液の吸入毒性について

宮原智江子、佐藤修二

Inhalation Toxicity of Substitute Lacquer Thinner

Chieko MIYAHARA and Shuji SATOH

はじめに

ラッカーシンナーはトルエン、酢酸エチル、メタノールを主成分とし、塗料、顔料、ゴム等、溶解性の異なる溶質を溶解する目的から、その用途に合わせて種々の有機溶剤を配合した混合物である。多量に吸入すると中枢神経抑制作用が強いため、労働衛生の面から有機溶剤の生体影響に関する多くの検討が行われ、有害性について総説に詳しい^{1,2)}。また、大脳や小脳の麻痺により酩酊状態を来たし、多幸感や発揚感をもたらすため、これが嗜癖への引き金となり、いわゆる”シンナー遊び”へと乱用される。シンナーはこのように中枢神経系作用の強い有機溶剤であることから毒物及び劇物取締法により、吸入行為の禁止、吸入を目的とする所持が禁止されている。しかし”シンナー遊び”が依然として後を絶たず、深刻な社会問題となっている。こうした状況から、最近ではシンナー代替品として、トルエン、酢酸エチル、メタノールの不含を表示した”ラッカーうすめ液”が市販されている。しかし含有成分名を表示しているものは少なく、また構成成分やその含量等の実態を調べた報告も見られない現状である。個々の溶剤の毒性は上述^{1,2)}のとおり、かなり明らかになっているものの、複合物である製品の安全性については不明な点が多い。

そこで、ラッカーうすめ液(うすめ液)及びラッカーシンナー(シンナー)の含有成分を定量し、マウスを用いて中枢神経系作用を指標とする急性期の吸入毒性を比較検討したので報告する。

方法

1 検体成分の定量

うすめ液5社5品目及びシンナー2社2品目についてn-ヘキサンを用いて正確に10倍及び100倍希釀液を調製し、ガスクロマトグラフ(GC)法により主要成分の確認及び定量を行った。

<GC測定条件>

装 置 ; 島津 GC9A

検出器 ; FID

カラム ; Chromosorb W AW 80/100 mesh

PEG-1500(10%) 3mmx3m

カラム温度; 80°C および 120°C (グリコール類)

注入口温度; 110°C および 120°C

注入量; 1μL

2 吸入毒性試験

2.1 動 物

5週齢のddY系マウス(♂)を1群3匹用いて、2.2の吸入曝露装置によりガスを吸入させ、発現される急性中毒症状を経時的に観察した。

2.2 吸入曝露装置

曝露装置は内容積約6Lのポリカーボネート製デシケーター、洗気ビン、恒温槽、流量計及び送風ポンプを組み合わせたものを用いた。ガスの発生は洗気ビンに各検体、30mLを採取し35°Cに加温下に1000mL/分の空気を通じ2時間にわたって通気した。通気1時間を経過したところで2.3の方法によりガスの定量を行った。

2.3 発生ガスの定量

ガス発生開始1時間後、暴露装置のガス導入口よりガラス製シリジにて20mLもしくは200mLのガスを採取し、2000mLの真空瓶で乾燥空気を用いて希釀を行った。その2mLをGCに注入した。GCの条件はカラム温度;70°C、注入量;2mLとし、その他は検体成分の定量と同様に行った。

結果および考察

1 検体の含有成分

シンナー2検体及びうすめ液5検体の成分分析結果を図1に示した。

シンナーの2検体はトルエンが40~60%、メタノール30%、酢酸エチルが2~10%検出された。その他酢酸n-ブチル、メチルイソブチルケトン(MIBK)、n-ブチルセロソルブ、セロソルブアセテートを1~5%含有することが認められた。

一方、うすめ液の場合、トルエンは多いもので約1%、酢酸エチルは1%未満でほとんど検出されない痕跡程度であった。メタノールはNo.3に12%認めたが、他の検体にはほとんど認められなかった。うすめ液5検体に共通

して多量に検出された成分はキシレンであり、30～42%であった。その他の成分は、4検体にイソブタノールが7～14%、MIBKが10～30%の配合を認め、酢酸n-ブチルは2検体に14～22%、イソプロパノールは1検体で7%、グリコール類は4検体で3～6%を認めた。

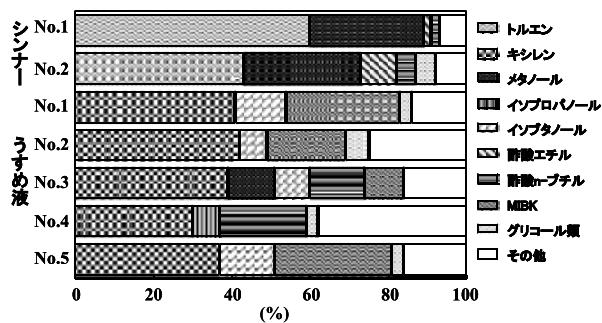


図1 ラッカーシンナー及びラッカーアスメ液の成分分析結果
シンナー；ラッカーシンナー、アスメ液；ラッカーアスメ液

これらの結果から、シンナーはトルエンを主体とし、アスメ液はキシレンが主体であることが確認された。

アスメ液を蒸気圧の低いグリコール類以外の配合成分で分類するとNo. 1、2、5がほぼ同じタイプ、No. 4はこれらとは異なるタイプ、No. 3はNo. 4及び5の折衷タイプと見る事ができる。そこでタイプの異なるNo. 4と5を選び、シンナー2検体との吸入毒性を比較検討した。

2 吸入毒性試験

2.1 急性中毒症状

シンナー2検体及びアスメ液2検体（No.4及びNo.5）をマウスに吸入させた時に観察された主要な中毒症状の経時変化を図2-a及びbにまとめた。

アスメ液、シンナー共に吸入開始直後は落ちつきなく頻繁に身づくろいを行う等、よく動きまわっていた。これはほぼ正常に近い状態であり、両者にあまり差は認められなかった。しかし、その後次のような変化が認められた。

2.1.1 シンナー

検体No.1は吸入開始10分を過ぎる頃から自発運動の抑制が軽度に認められ、ほぼ同時に呼吸抑制や軽度の歩行性失調も発現した。その後しだいに抑制は進み40分後には一方向の回転行動が発現し、平行感覚失調を示した。さらに顕著な自発運動抑制に陥り、50分を経過したところで正向反射消失を来たした。75分頃からチェーンストークス型の呼吸不整を呈し、90分後には1例が瀕死状態に陥り致死した。他の2例もチェーンストークス型の呼吸に陥ったが吸入2時間の観察中、瀕死ながら致死には至らなかった。No. 2でも同様に自発運動抑制及び呼吸運動の抑制が顕著に惹起され、歩行性失調及び平行感覚失調も呈した。40分過ぎには正向反射消失及び呼吸不整に陥

り、吸入開始後60～80分にかけて3例が次々に致死した。

このようにNo. 2はNo. 1よりも重篤な中毒症状への進行がかなり速やかであった。

2.1.2 アスメ液

No. 4では吸入開始後20分過ぎから軽度ながら呼吸抑制を伴う自発運動抑制に移行したが、30分頃には時々酩酊様症状を呈し動きまわった。その後徐々に抑制は進み、60分頃から自発運動抑制及び歩行性失調も顕著となった。90分過ぎから正向反射は消失し、麻酔状態に陥ったものの、2時間の観察期間中に致死例を認めなかった。No. 5は15分頃から自発運動並びに呼吸運動抑制が軽度に認められたが、その後の抑制の進行は緩慢で、60分頃に中等度、110分過ぎには顕著な自発運動抑制に転じた。しかし、正向反射消失には至らず、致死例も認めなかった。

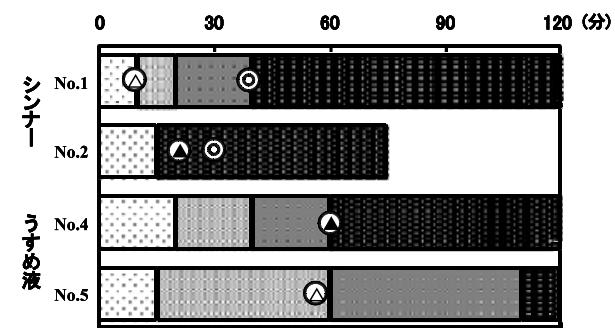


図2-a 自発運動抑制の進行度及び歩行障害等の発現

シンナー；ラッカーシンナー、アスメ液；ラッカーアスメ液

□ 正常、 ▨ 軽度、 ■ 中等度、 ▨ 顕著

△ ; 歩行性失調(軽度) , ▲ ; 歩行性失調(顕著)

○ ; 平衡感覚失調

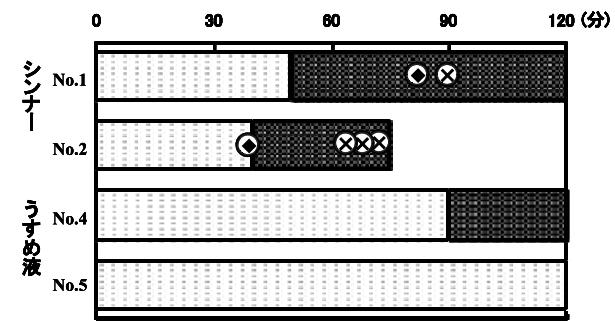


図2-b. 正向反射消失及び致死発現時間

□ 正向反射(+) , ■ 正向反射(-)

○ ; 呼吸不整 , × ; 致死

重篤な症状と致死の発現数を表1にまとめた。

アスメ液はNo. 4では正向反射消失が3例に発現したがNo. 5では惹起されなかった。一方、2検体共に呼吸の状態は悪化せず致死例も認められなかった。

シンナーではいずれの検体にも重篤な症状が発現し、致死例もNo. 1では1例、No. 2では3例を認めた。

このようにラッカーシンナーとラッカーうすめ液の間には症状の発現時間や致死数にかなりの差のあることが判明した。

表1. マウスへのラッカーシンナー及びうすめ液の吸入による中毒症状の発現数

検体	No	症状発現数		
		正向反射消失	呼吸困難	致死
シンナー*	1	3/3	3/3	1/3
	2	3/3	3/3	3/3
うすめ液**	4	3/3	0/3	0/3
	5	0/3	0/3	0/3

* ; ラッカーシンナー

**; ラッカーうすめ液(ラッカーシンナー代替品)

2.2 ガス濃度

ガス発生開始1時間後の導入ガス濃度は、シンナーの場合、検出されたガスの総量濃度でうすめ液より5倍以上高かった(表2)。このことは使用されている炭化水素類、アルコール類、エステル類のいずれもうすめ液ではシンナーに比べ蒸気圧の低い溶剤を配合していることに起因するものと考えられる。

吸入時の急性毒性はキシレンとトルエンとの間に大差がない³⁾と報告されている。しかし、本実験の吸入毒性試験結果では発現された中毒症状の重篤度から見て、うすめ液はシンナーよりもかなり弱いものであった。これは気中濃度を反映した結果と見ることができる。

表2. 導入ガス濃度(ガス発生開始1時間後) (%)

	シンナー*		うすめ液**	
	1	2	4	5
トルエン	3.7	4.5	-	-
キシレン	-	-	0.7	0.8
メタノール	25.5	27.8	-	-
イソプロパノール	-	-	5.0	-
イソブタノール	-	-	-	2.3
酢酸エチル	2.1	2.4	-	-
酢酸n-ブチル	-	-	0.7	-
MIBK	-	-	-	2.4

* ; ラッカーシンナー

**; ラッカーうすめ液(ラッカーシンナー代替品)

- ; 不検出, (検出限界) メタノール; 0.01%,
その他; 0.005%

また、うすめ液ではNo.4及びNo.5とともにキシレンのガ

ス濃度に大差はないがNo.4にはイソプロパノールが5%と高濃度に検出されており、これが酩酊様症状を引き起こす要因と考えられ、No.5に比べ中毒症状が強く発現したものと推察される。

以上シンナー2検体及びうすめ液5検体に配合されている成分の実態を調べ、それらの吸入毒性を検討した結果、うすめ液の組成はキシレンを主体とする等、シンナーに比べ蒸気圧の低い溶剤の配合を認め、いずれもトルエン、酢酸エチルの含有を認めなかった。また、1検体を除いてメタノールを含有するものはなかった。マウスへの吸入により、うすめ液は中枢神経系への抑制作用は引き起こされるもののシンナーに比べ重篤ではなかった。しかし、中枢神経系は脂質に富んでおり、有機溶剤に親和性が高いことや体内からの排泄速度を半減期で見るとトルエンが1~2時間であるのに対しキシレンは30時間と長い⁴⁾ことなどから、連用により慢性的な障害を来す可能性も十分示唆される。従って、でき得る限り曝露を避ける配慮が必要と考えられる。

文 献

- 1) 緒方正名: トルエン障害に関する検討, 産業医学, **23**, 3-32 (1981).
- 2) 南 正康 : 有機溶剤中毒, 中毒研究, **3**, 329-346 (1990).
- 3) 緒方正名: トルエンおよびキシレンの中毒と代謝, 労働の科学, **25**, 56-61 (1970).
- 4) 石沢淳子, 辻川明子, 黒木由美子, 大橋教良: 中毒症例シリーズ 第54回, シンナー中毒, 月刊薬事, **36**, 381-385 (1994).

短報

B群レンサ球菌の溶血素抽出 に関する基礎的検討

岡崎則男、鈴木理恵子、山井志朗

Studies on Hemolysin Extraction from Group B streptococci

Norio OKAZAKI、Rieko SUZUKI
and Shiro YAMAI

はじめに

B群レンサ球菌 (group B streptococci、以下 GBS) は新生児細菌感染症の重要な原因菌で、肺炎、敗血症および髄膜炎などの重篤な疾患を引き起こす^{1~3)}。これらの感染症の発症機構は現在も明らかにされてはいないが、最近、GBS の溶血素が発症に関与することが示唆されている^{4~6)}。この溶血素の活性は血液寒天培地上では比較的明瞭に観察されるものの、液体培地中に產生される溶血素は極めて不安定で、その活性を確認することは困難であった。このことが障害となり、A、C および G 群レンサ球菌の產生するストレプトリシン O やストレプトリシン S 等の溶血素と比べ研究が遅れていた。しかし、Marchlewicz and Duncan⁷⁾により、GBS 菌体から溶血素を抽出する方法が見い出されてから研究に進展が見られ、最近では、Nizet ら^{4,5)}が溶血素による肺細胞の破壊そして Ring ら⁶⁾は敗血症性ショックの誘発を報告し注目されている。

溶血素の発症への関与をより明確にするためには、その病原作用を追究することと同時に多数の GBS 分離株について溶血活性を調べることも重要と考えられる。一方で、溶血活性測定方法については確立されたものが多く、再現性のある測定を行うことは容易ではない現状にある。著者らは溶血活性を調べる際の GBS の培養方法を含めいくつかの条件を検討し、知見を得たので報告する。

材料と方法

健康妊娠より分離された No. 1 (Ia 型) と No. 2 (III) の2株ならびに新生児患者から分離された No. 3 (III)、No. 4 (NT 6) および No. 5 (JM 9) の3株、計5株の GBS を供試した。これらの菌株を Todd-Hewitt broth (Difco) (以下 THB) 3 ml で37°C、18時間培養後、各培養液をリン酸緩衝食塩液、pH 7.2 (以下 PBS) にて1/100に希釀した。PBS 希釀液 0.1 ml を必要な本数の THB 10 ml および5 %仔牛血清 (Gibco) 添加⁷⁾ THB 10 ml に接種し、37°Cで好気培養した。経時的 (6、9、12、15、18および24時間) に培養液を採取し、波長 540 m μ における増殖濁度を測定後、6,000 xg、10分間遠心して GBS 菌体を得た。尚、上記培養時間ごとに各菌株につき3本の THB 培養液を使用した。菌体を PBS で洗浄後、濁度を1.0に調整し、更に濃縮して以下の実験に使用した。

GBS 菌体からの溶血素抽出は次のような方法で行った。PBS にブドウ糖0.2 %を加えて PBSG とし、これに可溶性デンプン (Difco) (以下デンプン) 1 %および Tween 80 (Difco) 3 %を加え、既報の抽出液⁷⁾を作成した。また、この抽出液組成中の Tween 80を酵母エキス (Difco) 0.5 %に換えた修正抽出液を併せて使用した。それぞれの抽出液に GBS 菌体を浮遊させ、37°C、15分間反応後、6,000 xg で10分間遠心し、得られた上清を溶血素試料とした。

溶血活性の測定は丸底マイクロプレート (96ウェル、住友ベークライト) を使用し以下のように行った。溶血素試料50 μ l を PBS で2倍階段希釀後、1 %ヒツジ赤血球 PBS 浮遊液50 μ l を加え、更に PBS 100 μ l を加えて各ウェルの総量を200 μ l とした。マイクロプレートを振盪し、37°C、60分間の溶血反応を行った⁷⁾。その後、マイクロプレートを740 xg で5分間遠心し、上清100 μ l を別の平底マイクロプレート (96ウェル、住友ベークライト) に採取し、マイクロプレートリーダー (Model 400、BIO-RAD) にて波長420m μ における吸光度を測定した⁴⁾。溶血活性測定は2ウェル法で実施し、溶血力価は50 %溶血を1溶血単位 (以下 HU) として算出した。

結果と考察

表1に溶血素抽出液組成と抽出された溶血素の活性を示した。この実験には、仔牛血清添加 THB で9時間あるいは18時間培養後、10倍に濃縮した GBS (No. 4) 菌体を使用した。18時間培養の GBS 菌体においては溶血活性は4 HU と極端に低かった。9時間培養菌体では、PBSG、デンプンおよび酵母エキスから成る修正抽出液を使用した時に356 HU の溶血活性を示し、最高値が得

られた。一方で、PBSG、デンプンおよびTween 80 を

表1 GBS(No. 4) 菌体からの溶血素抽出における抽出液組成の影響。

抽出液組成	溶血活性(HU)	
	GBSの培養時間 9h	18h
PBSG	<2	<2
+ 3% Tween 80+1% デンプン	164	4
+ 0.5% 酵母エキス+1% デンプン	356	4

表2 溶血素抽出における GBS(No. 4) 菌体濃度の影響。

菌体濃度	溶血活性 (HU)
対照 ¹⁾	<10
x2 ²⁾	11
x4	205
x8	374
x16	358
x32	307
x64	234

¹⁾540m μ における濁度を 1.0 に調整。

²⁾対照に対する濃縮倍率。

組み合わせた従来の抽出液においては 164 HU で、溶血活性は 1/2 以下であった。また、抽出液に浮遊させる GBS 菌体の濃度を検討すると、表2のように、4倍濃縮菌体から急激に溶血活性が上昇し、8倍濃縮で 374 HU と最高値となった。16倍濃縮菌体でも高い活性が維持されたが、32倍以上では漸次低下する傾向が見られた。以上の結果から、GBS 溶血素の抽出には酵母エキスを添加した修正抽出液と 8~16倍濃縮菌体を使用するのが適切と判断された。

GBS の溶血素は菌体表面に存在し、菌体から遊離すると極めて不安定であるが、周囲にデンプン、アルブミンおよび Tween (40または80) 等の高分子物質 (carrier) が存在すると、それらと結合し安定化するとされる^{4,7)}。また、赤血球のような標的細胞が近接していると菌体から遊離してそれに直接作用すると推定されている⁸⁾。上記 carrier 高分子物質の内、GBS 菌体からの溶血素抽出には Tween とデンプンの組み合わせが汎用されるが、界面活性剤である Tween はそれ自体が溶血作用を持っていることから、溶血活性を観察する際に使用することは好ましくないと考えられた。今回はその Tween に換

えて、細菌の溶血素產生用培地にしばしば添加される酵母エキス^{9,10)}の使用を試みた。その結果、上述のように酵母エキスは GBS の溶血素抽出に使用可能であり、その上に Tween よりも有用であることが判明した。

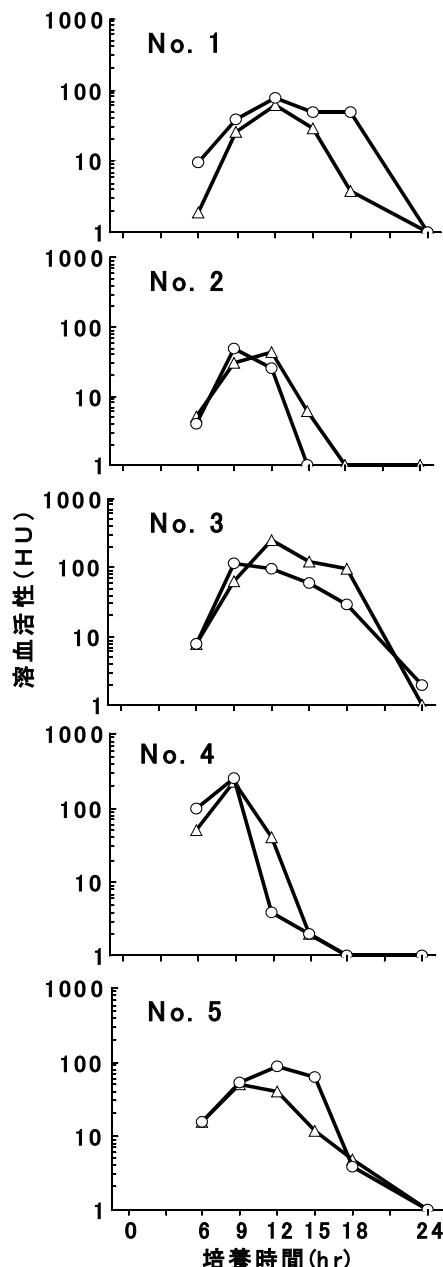


図1 GBS 分離株5株(No. 1~5)からの溶血素抽出における培養時間と培地への仔牛血清添加の影響。○は仔牛血清添加、△は同無添加。

溶血活性に及ぼす GBS の培養条件を検討した成績を図1に示した。溶血素の抽出には上記の修正抽出液と 10 倍濃縮菌体を用いた。まず、培地への仔牛血清添加の影響を観察すると、全体的に血清の存在が GBS の溶血活性を向上させる傾向は見られなかった。各菌株共に血清添加と無添加培地間における増殖の差異はなかった。培

養時間に注目すると、9～12時間の培養、即ち対数増殖期終期ないしは終止期初期で溶血活性は最高となった。一方、5株中3株（No. 2、4および5）が18時間培養後には活性を失うか著しく低下した。

溶血活性を調べる際の GBS の培養には、仔牛血清が必須とする報告⁷⁾と必要としない報告⁴⁾がある。著者らの調べた限りでは、血清添加の溶血活性に及ぼす影響は観察されなかつことから、仔牛血清の添加は不可欠ではないように思われる。GBS の溶血活性にはむしろ GBS の培養時間の影響が大きく、今実験においては、溶血活性が最高となったのは培養9ないしは12時間後で、18時間後には著しく低下する菌株があった。この培養時間についても対数増殖期の後期^{4,11)}あるいは18時間培養後⁷⁾との報告があり、定まった見解が示されていないが、過剰な培養は避けるべきで、対数増殖期後期ないしは終止期初期の菌体を使用するのが適切と考えられる。

GBS は新生児感染症の起因菌ではあるが、健康妊婦の陰にも20%程度に常在しているとされる^{2,12)}。また、起因菌の血清型は特定のものに集中する傾向が見られ、我が国ではⅢ型菌が圧倒的に多い^{13,14)}。従って、溶血素と発症との関わりを追究するためには由来あるいは血清型を考慮した多数の GBS 分離菌株につき溶血活性を調べる必要があると考えられる。このような観点から、本報において GBS の溶血活性測定に関わる条件がある程度把握できたことは有意義と思われる。

文 献

- 1) Ablow, R. C., Driscoll, S. G., Effmann, E. L., Gross, I., Jolles, C. J., Uauy, R. and Warshaw, J. B. : A comparison of early-onset group B streptococcal neonatal infection and the respiratory distress syndrome of the newborn, N. Engl. J. Med., **294**, 65-70(1976)
- 2) Baker, C. J. and Edwards, M. S. : Group B streptococcal infections. In Remington, J. and Klein, J. O., ed. Infectious diseases of the fetus and newbon infant. 4th ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 980-1054(1995)
- 3) Weisman, C. L. E., Stoll, B. J., Cruess, D. F., Hall, R. T., Merenstein, G. B., Hemming, V. G. and Fischer, C. G. W. : Early-onset group B streptococci sepsis: A current assessment, J. Pediatr., **121**: 428-433(1992)
- 4) Nizet, V., Gibson, R. L., Chi, E. Y., Framson, P. E., Hulse, M. and Rubens, C. E. : Group B streptococcal beta-hemolysin expression is associated with injury of lung epithelial cells, Infect. Immun., **64**: 3818-3826 (1996)
- 5) Nizet, V., Gibson, R. L. and Rubens, C. E. : The role of group B streptococci β -hemolysin expression in newbon lung injury, Adv. Exp. Med., **418**: 627-630(1997)
- 6) Ring, A., Braun, J. S., Nizet, V., Stremmel, W. and Shenep, J. L. : Group B streptococcal β -hemolysin induced nitric oxide production in murine macrophages, J. Infect. Dis., **182**: 150-157(2000)
- 7) Marchlewickz, B. A. and Duncan, J. L. : Properties of a hemolysin produced by group B streptococci, Infect. Immun., **30**: 805-813(1980)
- 8) Platt, M. W. : In vitro hemolytic activity of group B streptococcus is dependent on erythrocyte-bacteria contact and independent of a carrier molecules, Curr. Microbiol., **31**: 5-9(1995)
- 9) Duncan, J. L. : Streptococcal growth and toxin production in vivo, Infect. Immun., **40**: 501-505 (1983)
- 10) Gerlach, D., Kohler, W., Gunther, E., and Mann, K. : Purification and characterization of streptolysin O secreted by *Streptococcus equisimilis* (group C), Infect. Immun., **61**: 2727-2731(1993)
- 11) Dal, M.-C. and Monteil, H. : Hemolysin produced by group B *streptococcus agalactiae*, FEMS Microbiol. Lett., **16**: 89-94(1983)
- 12) 後藤節子、杉山正子：B群溶連菌(GBS)感染症の垂直感染とその予防、産婦人科治療、**57**: 681-686(1988)
- 13) 門井伸暁、仁志田博司：B群レンサ球菌感染症、小児内科、**17**: 1523-1527(1985)
- 14) 保科清、鈴木葉子、小野川尊、天野祐次：新生児B群溶連菌感染症の発症予防のためのスクリーニング、感染症誌、**61**: 561-569(1987)

短報

住宅における揮発性有機化合物 (VOCs)濃度の推移

森 康明¹、辻 清美¹、長谷川一夫¹

Time Course of Indoor VOCs Concentrations in Houses

Yasuaki MORI¹, Kiyomi TSUJI¹ and Kazuo HASEGAWA¹

はじめに

空気は我々が生きて行くために欠かすことのできないもので、その空気を清浄に保つことは極めて大切である。生活様式が変化したことから都会人は、一日のうち80%以上を何等かの室内で過ごしている。室内に1ppb以上の濃度を示した化学物質は250種以上検出¹されており、ホルムアルデヒドは外気中よりも室内空气中でその濃度が高く、シックハウス病やアレルギー²との関連から社会的問題となっている。また、大量の化学物質に暴露された経験のある人が、その後、微量であっても化学物質に暴露されることで発症する化学物質過敏症³は、室内空気中の化学物質との関連について注目されている。現時点では、化学物質過敏症と室内化学汚染物質との関連を定量的に評価することは困難であるが、室内環境中の化学物質を可能な限り低減化するための措置を講ずることは重要である。室内濃度指針値として平成9年に、ホルムアルデヒドが100μg/m³ (0.08ppm、室温25℃のときの換算値)に、平成12年にトルエンが260μg/m³ (0.07ppm)に、キシレンが870μg/m³ (0.20ppm)に、ジクロロベンゼンが240μg/m³ (0.04ppm)に、エチルベンゼンが3800μg/m³ (0.88ppm)に、スチレンが220μg/m³ (0.05ppm)に、クロルピリホスが1μg/m³ (0.07ppb)に(た

だし、小児については0.1μg/m³ (0.007ppb)、フタル酸ジ-n-ブチルが220μg/m³ (0.02ppm)に設定された。ここでは、代表的な汚染物質であるホルムアルデヒドやトルエン、キシレンなどについて新築時からの室内化学物質濃度の推移を3箇所の住宅で測定し、若干の知見が得られたので報告する。

実験方法

1 試料採取場所

新築の戸建て住宅2件(竣工1997.11の住宅Aと竣工1998.9の住宅B)、新築集合住宅1件(竣工1998.10の住宅C)について、それぞれ居間の空気を採取した。

2 空気試料の採取

実際に住まわれている状態における室内空気を、ホルムアルデヒドは20ml/minの速度で、VOCsは100ml/minの速度でそれぞれ24時間、Sep Pak DNPH short カートリッジとORB091L捕集管にエアーポンプを用いて採取した。

3 試薬

アセトニトリル(残留農薬用試薬、和光純薬工業)、二硫化炭素(作業環境測定用試薬、和光純薬工業)を用いた。なお、標準試薬については関東化学または和光純薬工業のものを用いた。

4 装置

エアーポンプ:(株)ガステック社製、GSP 250FT型、高速液体クロマトグラフ:HP社製、HP1100、ガスクロマトグラフ-質量分析装置:HP社製、5890.

5 測定用試料の調製

Sep Pak DNPH short カートリッジに捕集されたホルムアルデヒドのDNPH誘導体を、アセトニトリル3mlで溶出しHPLC測定用試料とした。ORB091L捕集管に採取したVOCsは、蓋付きバイアル瓶に捕集剤を取り出し、二硫化炭素5mlを加え2時間放置したのち、内部標準溶液の一定量を添加したものをGC/MS測定用試料とした。

6 定量方法

ホルムアルデヒド:HPLC測定用試料の20μlをHPLCに注入し、あらかじめ作成した検量線から、ピーク面積法により定量した。定量条件を以下に示す。

カラム:SUMIPAX ODS A-212 5 μm (6 mm × 15 cm)、溶離液:アセトニトリル-水(55:45, v/v)溶液、1.5ml/min、検出器:紫外外部検出器、360nm

VOCs: GC/MS測定用試料の1μlをGC/MSに注入し、SIM法によりあらかじめ作成した検量線を用いて定量した。定量条件を以下に示す。

カラム:DB-1 (60 m × 0.25 mm、膜厚1μm)、キャリアーガス:ヘリウムガス、流速0.9 ml/min、スプリット注入(1:10)、注入口温度:250℃、検出

1 神奈川県衛生研究所 生活環境部

〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

器温度：280 °C、カラム温度：40 °Cで5分間保持した後、毎分10 °Cで300 °Cまで昇温し3分間保持する。

結果および考察

竣工時における総揮発性有機化合物(T-VOCs)濃度をTable 1に示す。なお、測定した44物質の合計濃度をT-VOCs濃度とした。T-VOCs濃度は、A宅が1897 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と最も高く、次いでC宅の1106 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、B宅の293 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

Table 1. Indoor VOCs concentrations ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in newly house

House	T-VOCs	Toluene	Xylene	p-Dichlorobenzene
A	1897	964	182	10
B	293	102	40	6
C	1106	65	111	569

B宅は9月に竣工し、測定日の室温が27 °Cと高いにも係わらず3住宅の中で最も低い濃度を示した。A宅、B宅はともにトルエン、C宅はパラジクロロベンゼン(DCB)濃度がT-VOCs濃度に占める割合が最も高かった。DCBは防虫剤に由来するもので、建築時の塗装に由来するものとは発生源が異なるのでC宅のT-VOCs濃度からDCB濃度を除くと、トルエンとキシレンの合計濃度はT-VOCs濃度の33-55%を占めていた。トルエンおよびキシレンの竣工時から3ヶ月毎の測定結果をFig.1とFig.2に示す。これらの濃度は、Fig.1-2に示したように時間の経過と共に減少した。トルエン

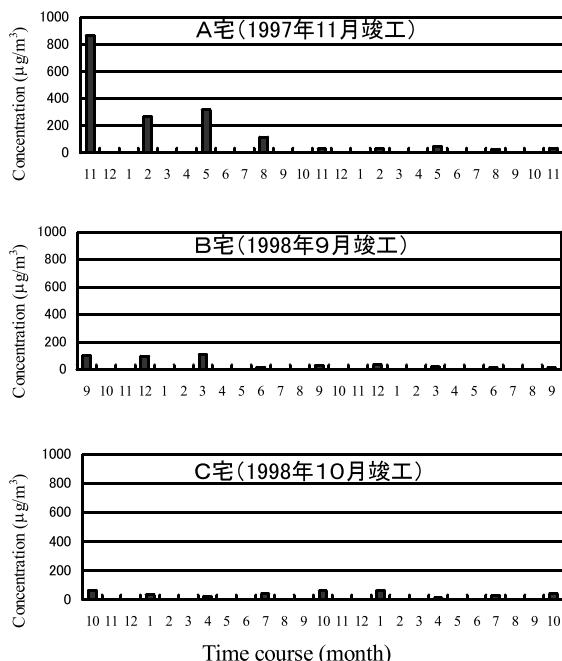


Fig.1 Change of indoor toluene in newly-built house

は3ヶ月後にはA宅では70%、キシレンはC宅で82%減少した。住宅により減少率が異なるのは、初期濃度と居住環境の相違によるものと考えられた。

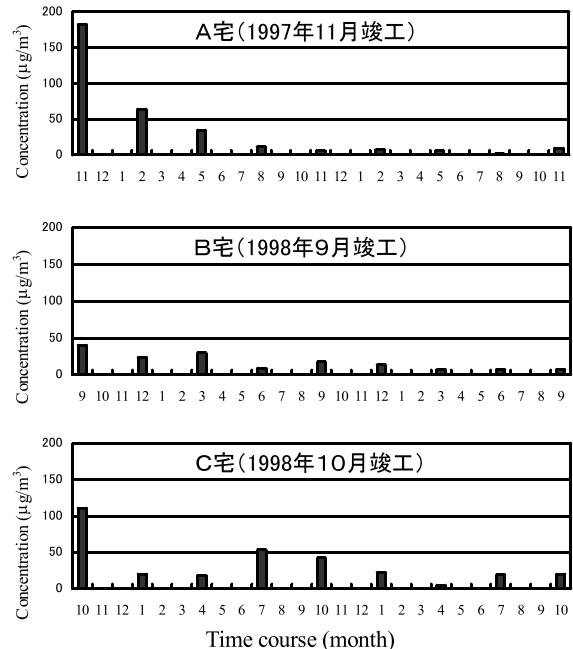


Fig.2 Change of indoor xylene in newly-built houses

DCBの室内濃度推移をFig.3に示す。DCB濃度は防虫剤の使用状況に依存する。C宅の室内濃度は(189～1215 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)で殆どの測定日で指針値(240 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を越えており、最大で指針値の5倍強の濃度を示した。B宅ではすべての測定で指針値以下であり、A宅では2年間の

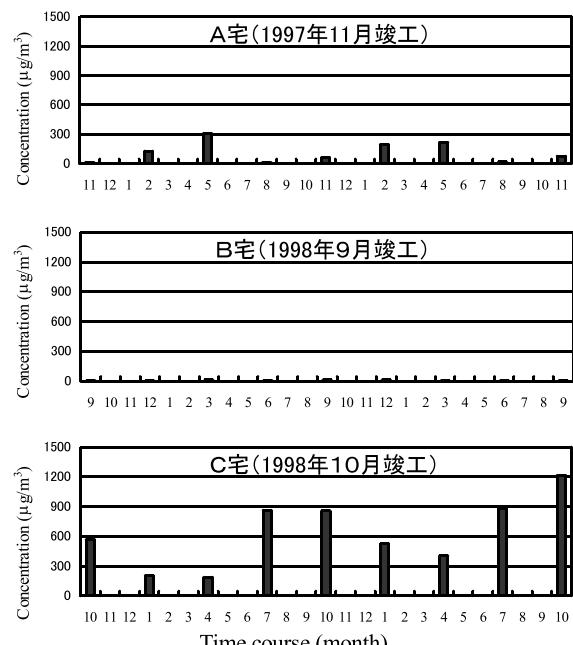


Fig.3 Change of indoor DCB in newly-built houses

測定期間中ともに2月と5月に高い濃度を示したが、これは衣類の出し入れによる影響と考えられた。C宅でDCB濃度が常に高いのは防虫剤の使用以外に壁紙等に使用されていることも考えられ現在検討中である。

次に、ホルムアルデヒドの室内濃度推移をFig.4に示す。ホルムアルデヒドの放散量は室温と湿度に依存するためT-VOCsが時間の経過に従い減少するのと異なり冬季に室内濃度が減少する傾向を示した。また、A宅のホルムアルデヒド濃度が1998年5月に高いのは新たに家具を購入したためである。B宅のホルムアルデヒド濃度が全体に低いのは、建築時に放散量の少ない材料を使用したためで、我々が測定した居住環境レベル（17箇所の平均で $30\text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）に近い濃度であった。

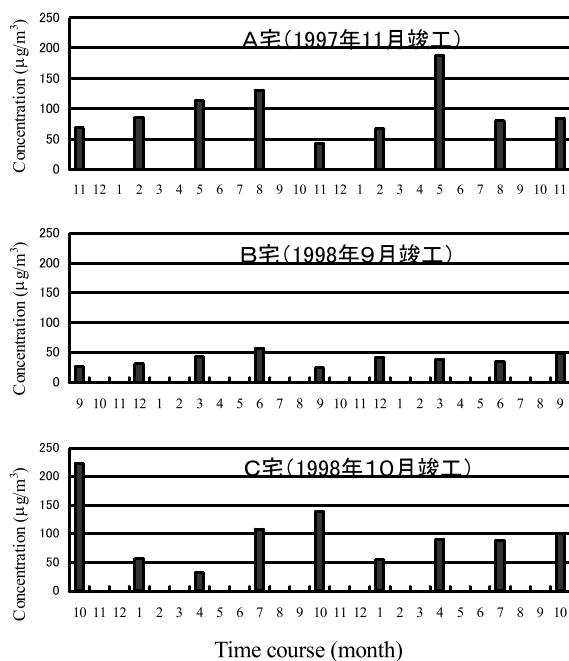


Fig.4 Change of indoor formaldehyde in newly-built houses

まとめ

竣工時から定期的に2年間、3所帯の室内におけるVOCs濃度を測定し、その挙動について考察した。T-VOCs濃度は、使用した建材や生活様式によりその内容は大きく異なった。竣工時はトルエンとキシレンの合計濃度がT-VOCs濃度の33-55%を占めていた。ホルムアルデヒド濃度は家具の購入などによりその推移は様々であったが、新築時よりも温湿度が高くなる時期に室内

濃度が高くなり、2年間同様なパターンを繰返した。B宅では指針値を超える値は示していない。DCB濃度は、防虫剤等の使用状況により室内濃度が異なり、C宅ではほとんどの測定日で指針値を超えていた。

建築時に適切な建材を選択することで住宅内の化学物質を低濃度に抑えることができるので、新築及び増改築時には施工業者と相談して適切なる建材を使用することが重要である。DCBの使用にあたっては過剰使用せぬよう啓蒙する必要があるとおもわれる。防虫剤メーカーも標準使用量を添付し始めた。タンスの引き出し（容量50L、大きさ83x40x15cm）に10包み、衣装ケース（容量50L、大きさ43x72x16cm）に10包みが標準使用と記載〔吉川翠ら、住まいQ&A 室内汚染とアレルギー、井上書院より〕されている。

謝辞

室内空気の測定に際し、ご協力を頂いたご家族の方々に深謝致します。

文献

- 1) 堀 雅宏：化学物質による室内空気汚染、環境管理, 33, 21-31、1997.
- 2) M. H. Garrett, M. A. Hooper, B. M. Hooper: Low level of formaldehyde in residential homes and a correlation with asthma and allergy in children, The 7th international conference on indoor air quality and climate, Nagoya, Japan, Vol. 1, p6 17-622、1996.
- 3) 宮田幹夫：室内環境の汚染と化学物質過敏症、環境情報科学, 26, 18-21、1997.

資料

食品汚染物残留調査結果 (平成12年度)

岸 美智子¹、佐藤久美子¹、渡邊裕子¹、渡辺貞夫¹、
藤巻照久¹、佐藤修二¹、生活衛生課²

Investigation on the Residual Levels of Chemical Contaminants in Foods on the Market in Kanagawa Prefecture (2000)

Michiko KISHI, Kumiko SATO,
Hiroko WATANABE, Sadao WATANABE,
Teruhisa FUJIMAKI, Shuji SATOH
and Kanagawa Pref. Environmental
Health Division.

食品の安全性を確認し、継続的に安全を確保するために、農薬や環境汚染物の食品への残留調査を継続的に実施しており、平成12年度調査結果を報告する。

① 残留農薬調査結果

食品衛生法では、穀類、豆類、果実、野菜、茶等130種類以上の農産物について、残留を許容できる農薬の種類とその濃度について、人が一生涯の間、毎日摂取しても健康上影響をもたらさないことを基準に順次審議し、各食品ごとに成分規格として定めている。平成13年4月現在215種の農薬について、残留基準が設定されている。

我々は平成2年度より、輸入農産物を対象にして、产地では収穫後使用農薬（ポストハーベスト農薬）として使用されながら、国内では使用不許可のため、残留基準

が未設定の農薬についての残留状況、及び残留基準設定の対象となっていない農産物加工食品における、農薬残留の状況について、市場調査を実施している。本年度の調査結果を表1および表2にまとめた。

表1にポストハーベスト農薬の調査結果を示した。輸入果実 5種18検体（フィリピン産、アメリカ産、オーストラリア産、ドミニカ産、チリ産および中国産）について使用実績のある6種類の農薬について残留調査を行ったところ、フィリピン産のパイナップル2検体からトリアジメホンおよびその代謝物のトリアジメノールが検出された。その他の輸入果実については検出限界（定量限界）以下であった。トリアジメホンの作物残留に関わる登録保留基準は、果実について0.5ppm（トリアジメノールの値も係数0.99を乗じてトリアジメホンに換算する）となっている。今回検出されたパイナップル中のトリアジメホンの残留量は、2検体とも登録保留基準以下（0.17ppm 及び0.07ppm）であり、安全上の問題はなかった。先行調査としておこなった国内産のきゅうり、レタスについては農薬残留は認められなかった。

表2に加工食品の残留農薬調査結果を示した。イタリアからの輸入品スパゲッティ2検体からピリミホスメチルが検出された。検出量はそれぞれ0.04ppm および0.02ppm であった。小麦加工品についてのピリミホスメチルの残留基準は無いが、小麦中の残留基準は1ppm であることから、安全上の問題はなかった。スパゲッティでは、表に示した農薬以外に有機リン系農薬12種（パラチオン、フェンチオン、フェントエート、サリチオン、クロルフェンビンホス、パラチオンメチル、ピリミホスメチル、エトリムホス、ホスマット、エチオン、シオノホス、トリクロホス）も検査したが、検出しなかった。その他の加工食品から農薬は検出されなかった。

② 輸入肉の残留動物用医薬品検査結果

食品衛生法では食肉中に残留する動物用医薬品について肉の種類ごとに残留基準を定め、安全性の確保を図っている。平成13年4月現在、19品目（ α -、 β -トレンボロン、ゼラノール、イベルメクチン、クロサンテル、フルベンダゾール、オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、テトラサイクリン、アルベンダゾール、イソメタミジウム、チアベンダゾール、スルファジミジン、カルバドックス、トリクラベンダゾール、モキシデクチン、スピラマイシン、ベンジルペニシリン、ジクラズリルおよびナイカルバジン）の残留基準が設定されている。

平成12年度はアメリカ、カナダ、オーストラリア、デンマーク、タイ、ブラジル等から、輸入された牛肉7検体、豚肉5検体、鶏肉5検体および牛脂肪、豚脂肪それぞ

1 神奈川県衛生研究所食品薬品部

〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

2 神奈川県生活衛生課

〒231-8588 横浜市中区日本大通1

れ1検体について、動物用体医薬品8品目の検査を実施 した。

表 1 輸入農産物のポストハーベスト農薬残留実態調査結果

検体名	検体数	検 出 頻 度 (検出数／検体数)					
		アゾンホスメチル	ベノミル	クロタロニル	チオファネートメチル	トリアゾメポン ^{*1}	プロシミツン
パイナップル	3	—	—	—	0/3	2/3 ^{*2}	—
レモン	4	—	0/4	—	—	—	—
バナナ	4	—	0/4	0/4	—	—	—
オレンジ	4	0/4	—	—	—	—	—
とうとう	3	—	—	0/3	—	—	0/3
きゅうり	3	—	—	0/3	—	—	0/3
レタス	3	—	0/3	—	0/3	—	—

*1：代謝物トリアゾメノールの結果も含む

*2：検出トリアゾメントータル濃度 (0.17ppm 及び0.07ppm)

定量限界： アゾンホスメチル、 ベノミル、 チオファネートメチル： 0.05ppm

クロタロニル、 トリアゾメポン、 トリアゾメノール、 プロシミツン:0.01ppm

表 2 加工食品の農薬残留調査結果

検 体 名	検体数	検 出 頻 度 (検出数／検体数)				
		有機塩素系	有機リン系	カーバメート系	ビレスロイド系	含窒素系
スパゲッティ	4	—	2/4 ^{*1}	—	—	—
とうもろこし（缶詰）	3	—	0/3	—	—	0/3
ぶどう（清涼飲料水）	2	—	0/3	—	0/2	—
米飯（レトルト包装）	3	—	0/3	0/3	—	—
かぼちゃ（ボイル、冷凍）	3	0/3	0/3	—	—	—
トマトケチャップ	3	—	0/3	—	0/3	—
梅干し	3	—	0/3	—	—	0/3

*1:ビリミスメチル (0.04ppm 及び0.02ppm)

有機塩素系農薬： 5農薬 (BHC、 DDT、 シコホール、 テイルトリン、 エントリン)

有機リン系農薬： 14農薬 (EPN、 クロルビリホス、 ジクロロボス、 タイアジノン、 フェニトロチオン、 マラチオン、 エトプロホス、 シメトエート、 ホロソ、 クロルビリホスメチル、 イソキサチオン、 ビリミスメチル、 プロオホス、 メチダチオン)

カーバメート系農薬： 5農薬 (カルバリル、 オキサミル、 フェノカルブ、 メチカルブ、 ベンダカルブ)

ビレスロイド系農薬： 3農薬 (シペルメトリル、 ヘルメトリル、 フルバリネット)

含窒素系農薬： 3農薬 (ビテルタノール、 ビリミカーブ、 フルラニル)

表 3 動物用医薬品残留検査結果

検体名	検体数	検出頻度(検出数/検体数)							
		α -トレノボロン	β -トレノボロン	セラノール	クロサンテル	フルベンタゾール	スルファジミジン	カルバドックス*	イペルメクチン
牛肉	7	0/7	0/7	0/7	0/7	—	0/7	—	—
豚肉	5	—	—	—	—	0/5	0/5	—	—
鶏肉	5	—	—	—	—	0/5	0/5	0/5	—
牛脂	1	—	—	—	—	—	—	—	0/1
豚脂	1	—	—	—	—	—	—	—	0/1

*: 2-キノキサリンカルボン酸として測定

定量限界 クロサンテル: 0.1ppm、 α -トレノボロン、スルファジミジン: 0.01ppm

2-キノキサリンカルボン酸、イペルメクチン: 0.005ppm

 β -トレノボロン、セラノール、フルベンタゾール: 0.002ppm

表 4 海産魚介類中の有機ズバ化合物調査結果

検体名	検体名	TBTO(ppm)		TPT(ppm)		DBT(ppm)	
		検出頻度	検出濃度	検出頻度	検出濃度	検出頻度	検出濃度
アジ	4	0/4	ND	1/4	0.02	1/4	0.02
サバ	5	1/5	0.04	1/5	0.08	1/5	0.03
カマス	2	2/2	0.06, 0.05	0/2	ND	0/2	ND
ソーダガツオ	1	1/1	0.06	0/1	ND	1/1	0.03
イナダ	1	1/1	0.03	0/1	ND	1/1	0.02
カンパチ	1	0/1	ND	1/1	0.03	0/1	ND
マイワシ	1	0/1	ND	0/1	ND	0/1	ND
ヒラゴ	1	0/1	ND	0/1	ND	0/1	ND
アオアジ	1	0/1	ND	0/1	ND	0/1	ND
ワカシ	1	0/1	ND	0/1	ND	0/1	ND
スズキ	1	0/1	ND	0/1	ND	0/1	ND
シロウマ	1	0/1	ND	0/1	ND	0/1	ND

検出頻度: 検出数/検体数

ND: TBTO、TPTC、DBTCともに0.02ppm未満。

TPTおよびDBTは、それぞれTPTC(塩化トリフェニルスズ)、DBTC(塩化ジブチルスズ)として算出

全ての検体において、当該品目は検出されなかつた（表3）。

③海産魚介類の有機スズ化合物の残留調査結果

神奈川県では、漁網や船底塗料中に使用された有機スズ化合物による魚介類の汚染が食品安全上からの課題とされた昭和60年代から、TBTO（ビストリブチルスズオキシド）およびTPT（トリフェニルスズ）について、魚介類の汚染実態調査を行っている¹⁾。平成6年度以降は、DBT（ジブチルスズ）も調査項目に加えている。平成12年度においても、県内産および県内流通品について調査を実施した。試験法は衛乳第20号（平成6年）の方法に準じて行った。20検体中 TBTO は5検体から0.03～0.06ppm、TPT は3検体から0.02～0.08ppm、DBT は4検体から0.02～0.03ppm が検出された（表4）。

海産魚介類中の有機スズの残留量は、塗料中への混入

が法的に規制された時期以降減少し、現在では直ちに安全上問題となる濃度ではない。しかし、平成11年度において、それ以前には検出されていないDBTが検出された²⁾が、12年度の検査でも検出された。有機スズ化合物は、内分泌搅乱物質として注目されている汚染物であり、引き続き調査する必要があると考えられる。

文献

- 1) 佐藤久美子、藤巻照久、渡辺貞夫、貫山道子、谷孝之、中岡正吉：神奈川県内流通魚介類中の有機スズ化合物（TBTO, TPT）汚染実態調査（1985年～1996年），神奈川県衛生研究所報告，27, 63-67(1997)
- 2) 佐藤久美子、渡邊裕子、藤巻照久、渡辺貞夫、佐藤修二、谷孝之、生活衛生課：食品汚染物調査結果（平成11年度），神奈川県衛生研究所報告，30, 34-36(2000)

資料

神奈川県における恙虫病の発生状況

古屋由美子¹, 片山丘¹, 原みゆき¹,
今井光信¹, 吉田芳哉²

Occurrence of Tsutsugamushi disease in Kanagawa Prefecture

Yumiko FURUYA¹, Takashi KATAYAMA¹, Miyuki HARA¹, Mitsunobu IMAI¹ and Yoshiya YOSHIDA²

恙虫病は秋田県、山形県および新潟県の特定河川敷流域で夏期にアカツツガムシが媒介する古典型と、非アカツツガムシが媒介する新型が知られているが、1951年をピークに1960年代後半には発生数が一桁になりほぼ制圧されたと思われていた。しかし1980年代になり各地で新型恙虫病患者が急増し、1984年には約1,000名の患者発生に至った。その後徐々に減少しているが現在でも全国で約800名の患者発生がみられている。神奈川県でも1990年に112名の患者発生がみられたが、その後減少傾向を示し、1996年、1997年には9名まで減少した。しかし1998年より増加傾向に転じ、1999年35名、2000年42名の患者発生となった(図1)。

神奈川県では、1990年から1992年の3年間に神奈川県希少感染症対策事業として、県保健予防課、足柄上保健福祉事務所、足柄上医師会、衛生研究所が協力して恙虫病の検査体制の整備、地域の医療機関および住民への啓発を行った。検査体制は、衛生研究所での、恙虫病の polymerase chain reaction (PCR) による迅速診断法の検討結果をうけて、1994年より小田原、厚木保健福祉事務所の衛生検査課で PCR を導入して、保健所での迅速診断、衛生研究所での PCR による迅速診断および感染株の型別、immunofluorescence assay (IF) による血清診断を行い、医療機関に早期に診断結果の報告が行われ、医療現場への検査・研究の還元が行われている。

2000年度に恙虫病を疑われた患者は、2000年10月から2001年1月に発生し、足柄上保健福祉事務所管内44例、

秦野保健福祉事務所管内2例、平塚保健福祉事務所管内1例、小田原保健福祉事務所管内1例の合計48例であった。これらの検体について検査結果を表1にまとめた。IF による急性期・回復期の血清抗体価の上昇により40例が恙虫病患者と診断された。IF で陽性であった40例中1例は、PCR 陰性であった。この例は急性期の検体であったが、この時点ですでに血清抗体価が Gilliam、Karp、Kato、Kawasaki および Kuroki の5株に対し、最高力価 IgM 抗体10,240倍、IgG 抗体20,480倍検出されていたため、実際には回復期の検体であったと考えられた。IF 陽性、PCR 検査不能の1例は検体が血清であったために PCR の検査ができなかったものである。さらに急性期の血液のみの搬入で IF で判定保留の6例中2例は、PCR による急性期の血液から *Orientia tsutsugamushi* (*O. tsutsugamushi*) DNA が検出され恙虫病患者と診断された。このように IF と PCR の検査を併用することにより42例が恙虫病患者と確定診断された。

恙虫病患者のうち、PCR により *O. tsutsugamushi* DNA の検出が可能であった40例について、型別用のプライマーを用いた PCR をを行い、神奈川県内で発生している恙虫病の感染株について検索を行った(表2)。この結果、2000年度県内で感染が見られた株は、Karp、Kawasaki 及び Kuroki の3株であり、それぞれ2.5%、75.0%および22.5%の割合であり、その大部分が Kawasaki 株による感染であることが判明した。

これらの患者より聞き取り調査で得られた感染推定場所を図2(A)に示した。2000年度患者が感染したと推定される地域は、山北町、南足柄市、秦野市、小田原市、松田町および中井町であり、ほとんどの感染は、山北町、南足柄市に集中している。2000年度は小田原市の早川付近で2例の患者感染が報告されている。また、感染例の少ない Karp および Kuroki 株に感染した患者の感染推定場所を図2(B)に示したところ、多くの患者は、患者発生場所の多い山北町、南足柄市に示され、これらの株も県内で点在している事が示され、株による地域局在性の違いはみられなかった。

表3に示した2例は、夫婦で同時期に感染したと思われる恙虫病患者の例である。両者とも山地の畑での農作業中に感染したと思われ、両者の感染場所が離れているとは考えられなった。しかしながら IF および PCR の結果から、夫婦で Kawasaki 株と Kuroki 株の別々の株に感染したことが示された。これは2種類の異なる病原体を保有する別々のコロニーが比較的狭い範囲に混在していることを示唆している。またこのことは時期的に Kawasaki 株と Kuroki 株による感染が同時期におこり得ることを示す結果となつた。

1 神奈川県衛生研究所 ウイルス部

〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

2 神奈川県衛生研究所 企画指導室

恙虫病血液からの病原体の分離は検体の状態により分離に適さないものが多い。

2000年度、細胞培養により病原体 *O. tsutsugamushi* が1例分離された。この例は、11月に南足柄市内山のミカン畑で感染したと思われる患者である。分離された *O. tsutsugamushi*

は Gilliam、Karp、Kato、Kawasaki および Kuroki の5株にそれぞれ特異的に反応するマウスモノクローナル抗体を使用した IF で、Kawasaki 株特異的モノクローナル抗体と1:3200倍以上の反応性が示され、Kawasaki 株と考えられた。また、PCR による型別においても IF 同様 Kawasaki 株に特異的プライマーにより DNA の増幅が見られ Kawasaki 株と同定された。これは神奈川県で感染の主流である *O. tsutsugamushi* Kawasaki 株が分離され、恙虫病患者から病原体が確認された例である。

恙虫病と確定診断された患者の発生時期は10月から12月がほとんどで、11月が60%を占めていた。また感染時の行動は、畑、田圃などの農作業が多く、次にキノコ取りなどの山作業で日常生活での感染の機会が多かった。

恙虫病は適切な薬剤投与により完治する病気であるが、適切な治療が行われないと死亡する例もあり、確定診断することが重要である。今後も PCR と IF を併用

し恙虫病の診断をより確実にする必要があると思われた。

最後になりましたが、患者情報の収集に御協力いただきました各医療機関の先生方に深謝いたします。さらに迅速診断や衛生研究所への迅速な検体輸送に御尽力いただきました各保健福祉事務所、県保健予防課の方々に深謝いたします。

表1 患虫病患者の IF と PCR による検査結果

IF	PCR		
	陽性	陰性	検査不能
陽性	38	1	1
陰性	0	2	0
判定保留	2	4	0

表2 PCR による感染株の型別

型別	例数 (%)
Karp	1 (2.5%)
Kawasaki	30 (75.0%)
Kuroki	9 (22.5%)

表3 同一行動で感染した例

患者番号	IF 抗体価										PCR	
	Gilliam		Karp		Kato		Kawasaki		Kuroki			
	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG		
2000001	<10 160	<10 80	<10 160	<10	<10 160	<10	<10 640	<10 320	<10 160	<10 80	Kawasaki	
2000002	<10 <10	<10 <10	<10 <10	<10	<10 <10	<10	<10 80	<10 <10	<10 160	<10 320	Kuroki	

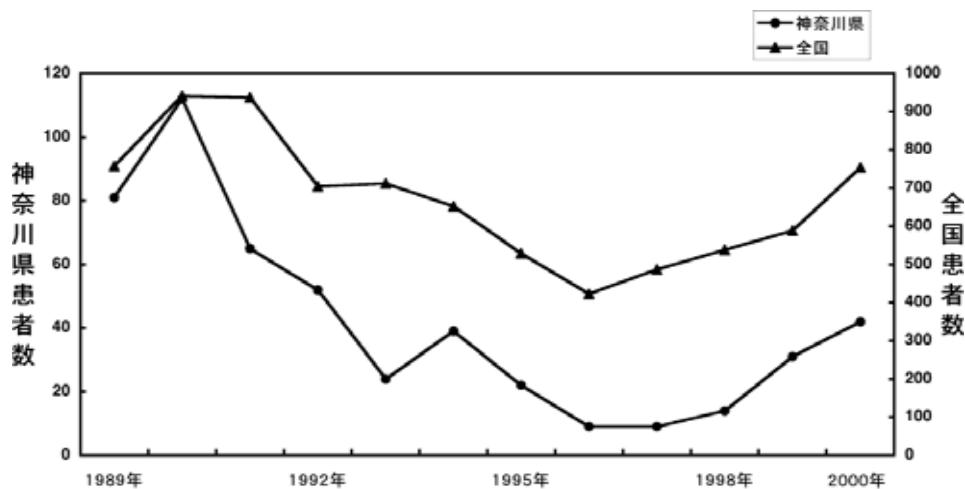


図1 慢虫病患者発生状況

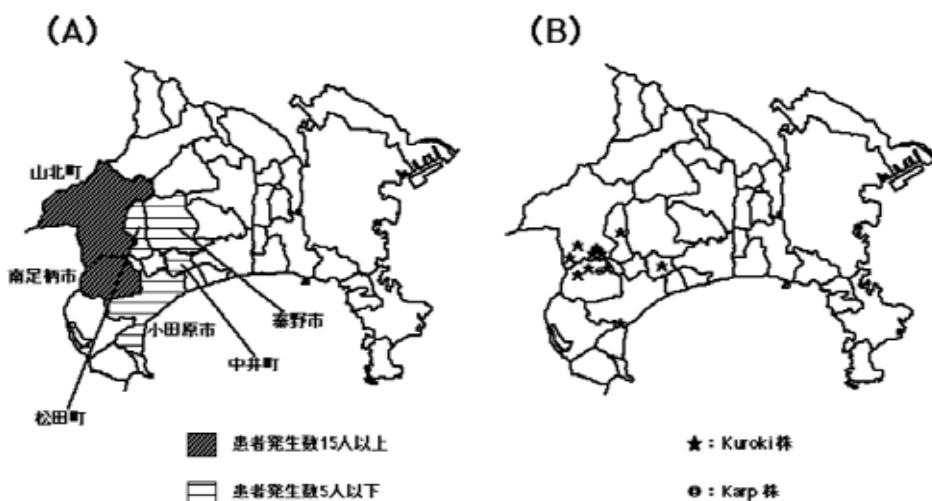


図2 慢虫病発生地域

他 誌 掲 載 論 文 抄 錄

(平成11年6月～平成12年5月)

Occurrence of Scrub Typhus (*Tsutsugamushi*) in Kanagawa Prefecture and Types of *Orientia tsutsugamushi* Involved

[神奈川県における恙虫病患者発生状況および感染型]

古屋由美子, 片山 丘, 原みゆき, 吉田芳哉, 今井光信 (神奈川衛研, ウイルス部), 萩原敏且 (国立感染研) Jpn. J. Infect. Dis., **53**, 77-78 (2000)

神奈川県で1997年4月から2000年3月までに発生した恙虫病を疑われる患者81名について血清学的, 遺伝子学的検討を行った。これら81名のうち蛍光抗体法(IF)のみで陽性12名, IF および PCR 陽性42名, PCR のみ陽性4名で, 合計59名が恙虫病患者と確定診断された。また PCR で *Orientia tsutsugamushi* の DNA が検出されたものについて型別を行ったところ Kawasaki 型が約80%を占めていた。恙虫病患者は毎年11月, 12月に集中して発生していた。

神奈川県、島根県及び高知県で採集されたダニ類からの紅斑熱群リケッチャDNAの検出

片山 丘, 古屋由美子, 稲田貴嗣*, 原みゆき, 吉田芳哉, 今井光信 (神奈川衛研, ウイルス部, *生活環境部), 板垣朝夫 (島根保健環境科学研), 千屋誠造 (高知衛研) 感染症誌, **75**, 53-54 (2001)

神奈川県、島根県及び高知県で採集されたダニ類について PCR を用いて紅斑熱群リケッチャ DNA の検出を試みた。この結果、オオトゲチマダニ、フタトゲチマダニ、キチマダニ、ヤマトマダニから *R. japonica* とリケッチャ属の DNA が検出された。

Evaluation of HIV Proliferation for the Screening of Anti-HIV Compounds.

[抗 HIV 活性を持つ物質をスクリーニングするための HIV 増殖の検査法の評価に関する研究]

辻 恵美子 (メルシャン研究所), 斎藤隆行 (神奈川衛研, ウイルス部), 水野 聰 (メルシャン研究所), 今井光信 (神奈川衛研 ウイルス部) The Journal AIDS Research, **2**, 79-84(2000)

抗 HIV 活性を有する物質のスクリーニングは HIV の培養系に候補物質を加え、ウイルス増殖がどの程度阻害されるかを調べる。この測定系で最も重要なウイルス増殖の測定系 (感染価、RT 活性、P24抗原) について検討した結果、RT 活性の測定が最も有効な検査法で

あることが分った。

Lipopolysaccharide-induced HIV-1 expression in transgenic mice is mediated by tumor necrosis factor- α and interleukin-1, but not by interferon- γ nor interleukin-6

[トランスジェニックマウスにおける LPS 誘導の HIV-1 発現は IFN- γ や IL-6ではなく TNF- α と IL-1とにより活性化される]

田中 純, 尾崎秀徳, 安田二朗, 田川陽一, 浅野雅秀, 西城 忍 (東大医科研), 今井光信 (神奈川衛研, ウイルス部), 関川賢二, 万富赤虎夫, 岩倉洋一郎 (東大医科研) AIDS, **14**, 1299-1307 (2000)

HIV のウイルス量 (HIV の発現量) は AIDS 発症と深く関わっているが、各種サイトカインと HIV 発現との関連について、特に *in vivo* における関連については情報が少ない。欠損 HIV を血中に 400pg/ml の濃度で発現できるトランスジェニックマウスを用いた研究から、トランスジェニックマウスでは TNF- α や IL-1の欠損がある場合 HIV の発現量が大きく減少するが、IFN- γ や IL-6の欠損マウスでは発現の減少はみられなかった。従って、トランスジェニックマウスでは HIV の発現に TNF- α と IL-1とが深く関わっていることが分った。

インフルエンザの検査室診断

今井光信, 渡邊寿美 (神奈川衛研, ウイルス部) 臨床医, **26**, 2465-2471 (2000)

インフルエンザウイルスの検査室診断法として従来はウイルス分離やペアーア血清を用いた抗体検査が主に行われていたが、何れも検査結果が分るまでにかなりの日数を要するため臨床現場での医療にはあまり有用ではなかった。最近、患者検体 (咽頭拭い液や鼻腔吸引液) 中のウイルス抗原を EIA 等の原理を用いた迅速診断法が種々開発され、臨床現場でのインフルエンザ感染のウイルス診断が可能となった。本論文では、各種検査法の原理と検出感度、操作性等の比較検討を行いその実用性と使用上の注意点等を論じた。

性感染症としてのHepatitis virus 感染症

今井光信 (神奈川衛研 ウイルス部), 三代俊治(東芝病院研究部) 化学療法の領域, **16**, 2056-2060 (2000)

感染症新法の施行(1999年)により、急性ウイルス性疾患の届け出が義務付けられ、急性肝炎患者の全数把握が可能となった。1999年4月から12月までの9ヶ月間にA型713例、B型497例、C型138例の急性肝炎が報告された。感染予防対策が徹底された結果、最近のB型肝炎ウイルスの新規感染の多くは性感染によるものと考えられている。本論文では、これら3種の肝炎ウイルスの性感染症としての側面に焦点を当てその比較検討を行った。

マイクロプレートを用いたHIV抗原抗体同時検出試薬の検討

嶋 貴子（神奈川衛研、ウイルス部）、林 孝子（藤沢保健福祉事務所）、近藤真規子、斎藤隆行（神奈川衛研、ウイルス部）、川田かおる、伊藤 章（横浜市大病院）、相楽裕子（横浜市民病院）、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）、医学と薬学、**43**, 1131-1140, (2000)

HIVスクリーニング検査ではゼラチン凝集反応(PA法)、酵素免疫測定法(EIA法)による抗体検査が広く用いられている。しかしHIV感染初期では、HIVが血中に存在するにもかかわらず、抗体が出現する前であるために抗体検査では陽性にならない「ウンドウ期」があることが知られている。近年、ウンドウ期を短縮するために、HIV抗体とHIVp24抗原を同時に検出することができる「HIV抗原抗体同時検出試薬」が開発された。本論文では、EIA法を原理とし、マイクロプレートを用いるHIV抗原抗体同時検出試薬の検討を行った。その結果、本法は従来の抗体検査法よりもウンドウ期を短縮することができ、また感度・特異性ともにHIVスクリーニング検査に十分な精度を有していることがわかった。

プール検体の遠心濃縮法によるHIVスクリーニング遺伝子検査の検討

林孝子（藤沢保健福祉事務所）、近藤真規子（神奈川衛研、ウイルス部）、島崎緑、植田昌宏（エスアールエル）、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）
感染症誌、**74**, 82-83(2000)

HIVの遺伝子検査は感染初期のウンドウ期を抗体検査より約11日間短縮することが可能であるが、RNAの抽出、PCR等の操作の煩雑さやコストがかかる等の欠点があり、スクリーニング検査への応用には困難があった。我々は、遺伝子検査をスクリーニング検査へ応用するため、多数検体のプール遠心濃縮法の検討を行った。セロコンバージョンパネル血清の抗体陰性期の血清200

μ lを16倍および32倍に希釈し、4°C、15000rpm、2時間遠心濃縮した。上清を除去後、沈殿をPBS(-)200 μ lに再浮遊させ、HIV-1・RNAを測定した結果、希釈前の原液血清とほぼ同様の測定値となった。プール希釈検体でも遠心濃縮を加えることにより、個別検査と同等の感度が得られることがわかった。プール検体の遠心濃縮法は多数検体を対象とする遺伝子検査の導入に有効であると考えられた。

日本人のHIV-1感染初期から検出されたジドブジン耐性変異株の解析

宇宿秀三、野口有三（横浜市衛研）、坂本光男、相楽裕子（横浜市民病院）、須藤弘二、近藤真規子、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）、感染症誌、**74**, 360-364(2000)

抗HIV薬の投与歴のない感染初期の日本人HIV感染者についてpol領域の遺伝子解析を行った結果、ジドブジン(ZDV)の薬剤耐性に関連するRT領域の70番目と215番目にアミノ酸置換が認められ、本患者はDZV耐性変異株に感染したことが示唆された。薬剤耐性株の感染例はアメリカ等では報告されているが、日本では初めての報告例である。

インフルエンザウイルスA、B型を区別して検出可能な迅速診断キットの臨床的検討

山崎雅彦（秦野赤十字病院）、木村和弘（伊勢原協同病院）、三田村敬子（日本鋼管病院）、渡邊寿美（神奈川衛研、ウイルス部）、込山修、山本敬一、市川正孝、橋本洋子、萩原紀子、前沢民子（伊勢原協同病院）、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）、菅谷憲夫（日本鋼管病院）、感染症誌、**74**, 1032-1037, (2000)

インフルエンザのA型、B型が鑑別可能な迅速診断キット、Directigen Flu A+Bを検討した。検体として、インフルエンザ様患者の鼻咽頭吸引液（新鮮検体および凍結保存検体）を用いた。本キットは、鼻咽頭吸引液では従来のキットと同等の感度、特異度、迅速性を示し、さらに、A型とB型のウイルスを区別できることから、抗インフルエンザ薬の投与に際しての判断基準などとして、より有用であると考えられた。

A型・B型を鑑別できるインフルエンザウイルス迅速診断キットの感度と特異性

清水英明（川崎市衛研）、渡邊寿美（神奈川衛研、ウイルス部）、川上千春（横浜市衛研）、平位芳江（川崎市衛研）、三田村敬子、菅谷憲夫（日本鋼管病院）、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）、感染症誌、**74**,

1038-1043, (2000)

A型およびB型インフルエンザウイルスを検出する迅速診断キットである Directigen Flu A+Bについて基礎的検討を行った。本キットは、ヒトのインフルエンザウイルス分離株A (H1N1, H3N2) 型13株およびB型10株の全てに対して陽性反応を示し、抗原の変異や亜型間での差はみられなかった。また、インフルエンザ以外の呼吸器系ウイルスとは反応しなかった。インフルエンザウイルスの代表株を用いてキットの検出限界を測定したところ、 $7.8 \times 10^3 \sim 4.7 \times 10^4$ pfu/ml であった。本キットは、簡便かつ迅速な検出が可能であり、他のインフルエンザ診断キットと同等の感度と特異性を有し、A型とB型を鑑別できることから、医療現場において有用であると考えられた。

1998/1999年インフルエンザ流行期に中枢神経合併症を呈した小児例の検討

友野順章（横浜市大浦舟病院）、安達かおり（藤沢市民病院）、矢崎葉子（小田原市民病院）、寺道貴恵（横浜市大浦舟病院）、中島章子（横浜南共済病院）、宮前多佳子（済生会横浜市南部病院）、片倉茂樹（横浜市栄共済病院）、栗山智之（聖ヨゼフ病院）、住田浩子（横浜市立港湾病院）、高橋協（県立足柄上病院）、加藤正雄（小田原市民病院）、渡邊寿美、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）、森雅亮、横田俊平（横浜市大医学部）、外来小児科、3, 260-265, (2000)

神奈川県内の10施設において、1999年1～3月にかけてインフルエンザウイルス感染に伴う中枢神経症状を示した症例を蓄積し、その家族背景、臨床所見、検査値から予後因子の抽出を試みた。同時期に観察された中枢神経症状を伴わないインフルエンザウイルス感染小児例を対照とした。インフルエンザウイルス感染に伴う中枢神経合併症の発症因子は有意なものはみられなかった。発症後の予後因子ではいくつかの因子が関連が疑われたが有意でなかった。

Evaluation of Virosec-HIV Version 2 for HIV Drug Resistance [Virosec-HIV version 2を用いた抗HIV剤に対する耐性変異の検出]

向出雅一（エスアールエル）、杉浦亘、松田昌和（感染研）、宇宿秀三、野口有三（横浜市衛研）、鈴木一雄（Saint Vincent's Hospital, Sydney）、川田かおる、伊藤章（横浜市大医学部）、相樂裕子（横浜市民病院）、山田兼雄（セントマリアンナ医大）、近藤真規子、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）、Jpn. J. Infect. Dis., 53, 203-205 (2000)

HIV-1サブタイプ E 感染者の薬剤耐性変異検出法の検討をVirosec-HIV ver. 2 キットを用いて行うと共に感染研で行っている方法（標準法）と比較した。24名の患者血漿を用いて解析した結果、本キット、標準法共に感度は $10^{3.4}$ copies/ml であった。また、両方法での結果はプロテアーゼ阻害剤に関与する耐性変異では30, 46, 48, 50, 84番アミノ酸で100%一致したが、90番で94.3%, 82番で84.2%の一一致率であった。逆転者阻害剤に関与する耐性変異はほとんど一致していた。

Impact of HIV Type 1 Protease, Reverse transcriptase, Cleavage Site, and p6 Mutations on the Virological Response to Quadruple Therapy with Saquinavir, Ritonavir, and Two Nucleoside Analogs [4剤併用療法における、protease、RT、p6、cleavage site領域を含むHIV-1遺伝子解析の臨床的意義]

Gilbert R. Kaufman, Kazuo Suzuki, Philip Cunningham (Saint Vincent's Hospital, Sydney), 向出雅一（エスアールエル）、近藤真規子、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）、John Zaunders, David A. Cooper (Saint Vincent's Hospital, Sydney), AIDS Res Hum Retroviruses, 17, 487-497 (2001)

サキナビル、リトナビル、2つの逆転写酵素阻害剤の計4剤を投与している42名のHIV感染者について、薬剤耐性の関与が報告されているHIV遺伝子のクリベージサイト、gag p6、プロテアーゼ、逆転写酵素遺伝子の解析を行った。統計学的解析の結果、プロテアーゼ阻害剤に対する1次変異の出現と gag p6のプロリンリッヂ箇所へのアミノ酸のインサーションが耐性ウイルスの増殖能に影響をおよぼしていることが示唆された。

他 誌 掲 載 論 文 抄 錄

(平成11年6月～平成12年5月)

食品添加物クエン酸中のイソクエン酸の分析法

岸 弘子, 川名清子(神奈川衛研, 食品薬品部) 食衛誌, **42**, 45-47, (2001)

HPLC による食品添加物クエン酸中のイソクエン酸の分析法を検討した。試料を水で溶解して試験溶液を調製し, HPLC で測定した。カラムは Inertsil ODS-3 (4.6mm i. d. × 250mm), 移動相は 0.1% リン酸を用い, 流速は 1mL/min, 測定波長は UV 210nm とし, カラム温度は 40°C, 注入量は 20 μL とした。クエン酸にイソクエン酸として 0.1% 及び 0.4% 添加した時の本法による回収率は, それぞれ 98% (CV = 1.5%), 99% (CV = 0.5%) であり, 定量限界は 0.05% であった。本法は, クエン酸の純度試験法として, 日常試験に有効な方法と考えられる。

ポリ塩化ビニル製玩具中のフタル酸エステル含有量

杉田たき子(国立衛研), 平山クニ(神奈川衛研, 食品薬品部), 新野竜太, 石橋 亨(東京顧微鏡院食品環境科学センター), 山田 隆(国立衛研) 食衛誌, **42**, 48-55 (2001)

1998年に入手した玩具68検体について, 材質中のフタル酸エステル(PAE)を調査した。すべての玩具からフタル酸エステルが検出され, 検出された PAE はフタル酸ジイソノニル(DINP), フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP), フタル酸ジブチル, フタル酸ジノニル, フタル酸ジヘプチルの5種類で, その他の可塑剤としてアジピン酸ジ-2-エチルヘキシルが検出された。

DINP は48検体から検出され, 検出率は71%と最も高く, 次いで DEHP の20検体(29%)であった。DINP の含有量は 15~580mg/g, DEHP は 2.0~380mg/g であった。その他検出された PAE のほとんどは DEHP との併用であった。この調査により, 玩具の可塑剤は DINP が主流になっていることが把握できた。

Mulberry Leaf Extract Inhibits Oxidative Modification of Rabbit and Human Low Density Lipoprotein [桑葉抽出物のウサギ及びヒトの低比重リポタンパク質の酸化変性に及ぼす抑制作用]

土井佳代, 小島 尚(神奈川衛研, 食品薬品部), 藤本 康雄(日大, 薬学部) Biol. Pharm. Bull., **23**, 1066-1071, (2000)

桑葉及び桑葉のブタノール画分(MLBE)を病態動物

に摂取させると、血清脂質濃度の上昇及び大動脈内膜の肥厚を抑制することを報告している。本研究では、MLBE 及び isoquercitrin の抗酸化能について検討を行った。Quercetin, isoquercitrin 及び MLBE は DPPH ラジカル剤の消去能を認めた。また、ヒト及びウサギより得た低比重リポタンパク質の共役ジエン生成及び TBARS 生成を抑制し、さらに低比重リポタンパク質の基質的変性も抑制することを認めた。以上のことから MLBE にはラジカル消去による抗酸化能を有していることを認めた。また、マウス経口投与によりフラボノイド配糖体のアグリコンを確認したことから、作用成分は quercetin 及び kaempferol 等によることが推定された。

Studies on the Constituents of the Leaves of *Morus alba L.*

[*Morus alba L.* の葉の成分に関する研究]

土井佳代, 小島 尚(神奈川衛研, 食品薬品部), 牧野 美津子, 木村由美子, 藤本康雄(日大, 薬学部), Chem. Pharm. Bull., **49**, 151-153, (2001)

桑(*Morus alba L.*)の葉の抽出物より, 2つのプレニルフラバン系及びその配糖体の新規3化合物及び6つの既知化合物 isoquercitrin, astragalin, scopolin, skimmin, roseoside II と benzyl D-glucopyranoside を単離同定した。新規化合物のヒト LDL 抗酸化能を測定し、1化合物に強い抗酸化能を認めた。

加齢によるラット血中プラスミンおよびプラスミン阻害活性の性差におよぼす影響について

小島 尚(神奈川衛研, 食品薬品部), 体力科学, **49**, 277-284 (2000)

加齢によるラット血中プラスミン及びプラスミン阻害活性の変動を5、12、45及び60週齢の雌雄ラットで検討した。いずれの週齢でも雄の方が雌よりもプラスミン活性が有意に高かったが、阻害活性には雌雄の差異はなかった。加齢とともにプラスミン及びプラスミン阻害活性活性は低下し、プラスミン活性における雌雄の差異も縮小する傾向にあった。性腺を切除した雌雄ラットでは、エストラジオールにより両活性は低下したが、テストステロンでは有意な変化は見られなかった。これらの結果から、エストラジオールの影響を線溶系酵素活性では強く受けること、また、加齢とともに線溶系酵素活性が低下することが加齢により血栓傾向になる一因である可能

性が示唆された。

センナ茎含有の健康食品に含まれるセンノシドの由来について

小島 尚, 岸美智子(神奈川衛研, 食品薬品部), 関田 節子, 佐竹元吉 (国立衛研), 食品衛生学雑誌, **41**, 30 3-306 (2000)

市販のセンナ茎を原料に含むダイエット茶などの健康食品11検体についてセンノシドの定量を行うとともに、形態的に観察した。センノシド含有量は1回使用あたり0.2 mg程度から約11 mgと検体により幅があった。そのうち、3検体では由来植物の形態を観察でき、センナ葉や葉軸が確認された。健康食品の原料であるセンナ茎5種類について同様の検討を行ったところ、すべての検体からセンナ葉及び葉軸が観察され、センノシド9.5~14.6 mg/gが検出された。今回の結果から、センナ茎を用いた製品で通常茎にはほとんど含まれないセンノシドが検出されたが、これはセンナ茎の選別不良と、植物学的に茎ではない葉軸がセンナ茎と誤って認識され混入していたことが原因と考えられた。

**Occurrence of clostridia in glass bottled foods
[ビン詰め食品におけるクロストリディウム属菌の検出状況]**

藤澤倫彦, 相川勝弘, 古川一郎, 高橋孝則 (神奈川衛研, 食品獣疫部) Int. J. Food Microbiol., **54**, 213-217 (2000)

市販されている輸入及び国産の41検体のビン詰め食品よりクロストリディウム属菌の検出を行った。その結果, 9検体(22%)より本菌の検出が認められた。検出された食品は、魚醤, ドレッシング, マスタード, トムヤム, 佃煮及び鮭フレークであった。また、検出された食品はすべて日本を含むアジア諸国で製造されたものであった。一方、ウェルシュ菌やボツリヌス菌といった食中毒菌は分離されなかった。また、今回の研究では種々の検出法の比較も同時に実施した。その結果、気層を混合ガス置換した液体培地を用いた方法が最も高率に本菌を検出できることが明らかとなった。これらの知見は、食品中のクロストリディウム属菌の菌数はかなり低いことを示唆するものであり、これら食品からの本菌の検出時には今回改良を加えた上記の培養法を従来法と併用することが望ましいことを示している。

Modification of sorbitol MacConkey medium containing cefixime and tellurite for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from radish sprouts

[カイワレ大根からの腸管出血性大腸菌 O157:H7分離のための CT-SMAC 寒天培地の改良]

藤澤倫彦, 相川勝弘, 高橋孝則, 山井志朗 (神奈川衛研, 食品獣疫部), 佐多辰 (神奈川衛研, 細菌病理部), 島田俊雄 (国立感染研) Appl. Environ. Microbiol., **66**, 3117-3118 (2000)

食品からの腸管出血性大腸菌 O157:H7検出用としてこれまで用いられてきた CT-SMAC 寒天培地について、カイワレ大根からの本菌の分離に供するために改良を行った。その結果、CT-SMAC 寒天培地上において O157 の集落性状に酷似した O157以外のカイワレ大根由来株については今回改良された CT-SSMAC 寒天培地 (1% サリシン及び0.01%4-メチルウンベリフェリル- β -D-ガラクトピラノシド加 CT-SMAC 寒天培地) を用いることにより、供試菌株の91%を集落の色調ならびに β -ガラクトシダーゼの有無によって O157と鑑別することが可能になった。

**Taxonomic evidence that serovar 7 of *Erysipelothrix* strains isolated from dogs with endocarditis are *Erysipelothrix tonsillarum*
[犬の心内膜炎由来豚丹毒菌血清型 7型株は分類学的には *Erysipelothrix tonsillarum* である]**

高橋敏雄, 山本欣也, 木島まゆみ (農水省, 動植物検), 藤澤倫彦, 高橋孝則 (神奈川衛研, 食品獣疫部) J. Vet. Med., **B 47**, 311-313 (2000)

犬の心内膜炎より分離された豚丹毒菌血清型 7型株について、生化学性状ならびに DNA-DNA 相同性試験を実施して分類学的位置づけを検討したところ、これら菌株は以前に我々が新菌種として提案・命名した *Erysipelothrix tonsillarum* であることが判明した。このことはこれまで豚において非病原性とされていた *E. tonsillarum* 株が、犬に対しては病原性を示すことを示唆するものである。

Influence of sodium chloride on the β -glucuronidase activity of *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli*

[*C. perfringens* および *E. coli* の β -グルクロニダーゼ活性におよぼす塩化ナトリウムの影響]

藤澤倫彦, 相川勝弘, 高橋孝則, 山井志朗 (神奈川衛研, 食品獣疫部) Lett. Appl. Microbiol., **31**, 255-258 (2000)

塩化ナトリウムの腸内細菌性発ガン関連酵素である β -グルクロニダーゼ活性におよぼす影響を検討した。その結果、ヒト腸管由来 *C. perfringens* と *E. coli* のインタクトセルにおいてはこれら 2 菌種間でそれぞれ影響を受ける濃度に違いがみられた。また、腸内の浸透圧に影響をおよぼしているナトリウム、塩素およびカリウムを直腸ならびに回腸の濃度に設定した溶液中でインタクトセルの酵素活性を検索したところ、両菌種とも直腸の条件下で活性が有意に高くなることが明らかとなった。

他 誌 掲 載 論 文 抄 錄

(平成 12 年 6 月～平成 13 年 5 月)

酸化チタン光触媒空気清浄機による室内空気中の揮発性有機化合物の除去効果

森 康明, 伏脇裕一, 節田節子 (神奈川衛研, 生活環境部), 後藤純雄 (国立環境研), 小野寺祐夫 (東京理科大学), 松下秀鶴 (富士常葉大学) 室内環境学会誌, **3**, 13-21 (2000)

室内空気中の揮発性有機化合物 (VOC) 濃度を固相抽出と GC/MS を用いて測定し, 3 種類の酸化チタン光触媒空気清浄機による室内空気中 VOC の除去について検討した。新築住宅の密閉状態での VOC 濃度の経日変動は, 6 日間で 14.6% であった。トルエン, キシレンおよびトリメチルベンゼンについても同様な経日変動が得られた。

T-VOC の除去率は, 酸化チタン光触媒空気清浄機の種類ごとに異なっていた。室内 T-VOC の除去率は密閉状態で 36%から 74%の範囲であった。また, 防虫剤のパラジクロロベンゼン(DCB)の除去を, プレフィルターと光触媒フィルターからなる空気清浄機(吸引速度; 190 ~ 310m³/hr)で検討した。DCB は 41%除去されたが, その除去率はトルエン, キシレンよりも低かった。更なる検討の余地はあるが, 酸化チタン光触媒空気清浄機は室内の VOC 濃度を低減化するのに有用であった。

河川水中のAmes変異原性試験におけるディスク型固相吸着剤の適用

森 康明, 節田節子 (神奈川衛研, 生活環境部), 高木敬彦、光崎研一 (麻布大学)、村上和雄 (東京家政大学)、後藤純雄、遠藤 治 (国立公衆衛生院), 小野寺祐夫 (東京理科大学) 環境化学, **10**, 573-579 (2000)

河川水の Ames 変異原性試験におけるディスク型固相吸着剤の適用性について検討した。ディスクに捕捉された変異原性物質(フェニトロチオン, クロルピリホス, ピレン)は, アセトンまたは酢酸エチルで溶出することにより 87 ~ 98%回収され, その変動は 6 ~ 17%と良好な結果を得た。神奈川県の 7 河川の抽出物における変異原活性をカートリッジ型固相吸着剤の変異原活性と比較した結果, ディスク型固相溶出液の変異原活性の方が高い傾向を示した。これらの結果から, ディスク型固相抽出は河川の Ames 変異原性試験に有用であると考えられた。また, 河川水のフレームシフト型の変異原性は

オクタデシル系の吸着剤に捕捉される無極性物質による寄与の高いことが示唆された。

Molecular-isotopic stratigraphy of long-chain n-alkanes in Lake Baikal Holocene and glacial age sediments.

[バイカル湖の完新世および氷期堆積物中の長鎖 n-アルカンの個別分子同位体の層序学]

David Brincat, 山田桂大, 石渡良志, 奈良岡浩 (都立大学), 上村 仁 (神奈川衛研, 生活環境部)
Organic Geochemistry, **31**, 287-294 (2000)

過去 2 万年分のバイカル湖堆積物コアサンプル中の n-アルカンの分布、そして、その炭素同位体組成を調べた。高等植物の葉のワックスで典型的に見られるような CPI₂₇₋₃₃の高い値(8.7-10.8)が長鎖(>C₂₇)n-アルカンで観察され、陸上起源の寄与が推測された。n-C₂₇アルカンと n-C₃₁アルカンの存在量は更新世後期の氷期、沖積世間氷期の気候変動期に逆転が見られた。おそらく、これまで花粉分析により推測されている気候変動による植生変化を示している。

個別同位体分析の結果、全コア中で葉のワックス由来 C₂₇-C₃₃n-アルカンの δ¹³C 値は -31.0 ~ -33.5‰ で一定の値を示した。この同位体組成の範囲は、C3 光合成経路を利用する植物により生合成された n-アルカンを特徴づけている。これらのデータは、沖積世の部位の全有機炭素の δ¹³C 値に比較して氷期の堆積物中の全有機物の ¹³C の増加が後期更新世の間氷期におけるバイカル湖集水域の C4 植物の繁茂に由来するものではないことを示唆している。

LC-MS/MS を用いた監視項目新規指定農薬同時分析法の検討

上村 仁, 節田節子 (神奈川衛研, 生活環境部) 水道協会雑誌, **69(7)**, 30-34 (2000)

水道水質監視項目として新たに指定された 4 種の農薬(ベンタゾン、2,4-D、トリクロピル、カルボフラン)について LC-MS/MS を用いた一斉分析法の開発を行った。それぞれの農薬はエレクトロスプレー法でイオン化が可能で、カルボフランはポジティブモード、他の 3 種はネガティブモードで感度良く検出された。

MS/MS 測定の適切なパラメーター (一段目四重極の

取り込みイオンの質量数、collision energy、二段目四重極の取り込みイオンの質量数)を選択することにより良好な分離が得られた。固相抽出を行う際の回収率は検体が酸性のときに高かった。本分析法における定量下限値は厚生省が示した方法を十分下回る値を得ることができた。

Analysis of microcystins in sediments using MMPB method

[MMPB 法を用いた底質中のミクロシスチンの分析]
辻 清美, 上村 仁, 森 康明(神奈川衛研, 生活環境部), 増井宏明, 原田健一(名城大) *Toxicon*, **39**, 687-692 (2001)

水中でのミクロシスチンの挙動を把握する一環として、従来法では分析が困難であった底質中のミクロシスチンの分析をオゾン酸化法を用いて検討した。その結果、ミクロシスチンのオゾン酸化物 (MMPB) を GC/MS で分析する物理化学的なスクリーニング方法を開発した。この方法はまず、凍結乾燥した底質をメタノールに懸濁させ、-78°Cでオゾンを通じ、その後、生じた MMPB 反応液を14% BF₃でメチル化後、EI-GC/MS (SIM) で分析するものである。本法を用いて湖沼で採取した底質を分析したところ、11試料中6試料からミクロシスチンが検出され、底質にミクロシスチンが吸着されていることが明らかとなった。本法は実試料の分析にも十分適用できることが判明した。

固相抽出-GC/MS法を用いたエストロゲンの分析

伊藤伸一, 上村 仁, 節田節子(神奈川衛研, 生活環境部), 水道協会雑誌, **69(12)**, 41-48, (2000)

水中の3種の天然エストロゲン(エストロン(E₁), 17 β -エストラジオール(E₂), エストリオール(E₃))及び1種の合成エストロゲン(エチニエストラジオール(EE₂))の一斉分析法を検討した。本法は固相抽出-GC/MS 法を採用し、水道原水と浄水を分析対象とした。前処理は、簡略化して、①固相抽出②酸処理③誘導体化④精製とした。固相カラムはセップパック プラス PS-2カトリッジ、溶出溶媒はジクロロメタンを用いた。抱合体は酸処理によって、フリ-のエストロゲンに変換して分析した。

前処理段階での E₁, E₂, E₃ 及び EE₂ の回収率は、固相抽出段階が94~121%, 酸処理段階が82~94%, 全操作が75~105%と良好だった。

重水素でラベルした E_{2-d} は、酸処理によって同位体置換(水素・重水素交換反応)を受けた。一方、E_{2-d} は同位体置換を受けず、サホゲートとして有効と考えられた。

Removal Characteristics of Coliform Bacteria in

Chlorination Processes at Domestic Wastewater Treatment Plants

[生活排水処理施設の塩素消毒工程における大腸菌群等の除去特性]

竹田 茂(神奈川衛研, 生活環境部), 稲葉 章(神奈川県生活水保全協会), 岩堀恵祐(静岡県立大学環境科学研究所) *Japanese J.Wat.Treat.Biol.*, **36(2)**, 71-80 (2000)

生活排水処理施設75カ所を対象に消毒設備の稼動状況を調査し、消毒処理水の残留塩素と大腸菌数や一般細菌数との関係、塩素消毒による菌叢の変化、残留塩素が検出されるための条件などを検討した。

消毒処理水の平均値はふん便性大腸菌群が 1.5×10^2 CFU/mL, 大腸菌群が 5.8×10^2 CFU/mL, 一般細菌が 5.1×10^4 CFU/mL であり、消毒工程の平均除去率はふん便性大腸菌群数が69.6%, 大腸菌群数が79.8%, 一般細菌数が90.3%であった。遊離残留塩素が0.1mg/L以上検出されるとふん便性大腸菌群、大腸菌群はほとんどが 30 CFU/mL以下になり、一般細菌数も 10^3 CFU/mL以下に減少した。消毒処理水の大腸菌群が 30CFU/mL以下の施設が 34.7%あったが、排水基準値の 3.0×10^3 CFU/mLを超えた施設が5.3%あった。遊離残留塩素の検出を支配する因子として、流量調整槽設置の有無、消毒装置の構造、二次処理水のアンモニア性窒素濃度などがあった。特に、堰を設けるなどして水深を十分保持できるような消毒装置の開発が必要であった。

合併処理浄化槽の消毒実態と改良消毒装置による消毒効果

竹田 茂(神奈川衛研, 生活環境部), 稲葉 章(神奈川県生活水保全協会) *浄化槽研究*, **12(1)**, 31-43 (2000)

中~大型の合併処理浄化槽100基を対象に放流水の遊離残留塩素濃度の実態調査を行ったところ、消毒直後で不検出であった施設がおよそ30%存在した。遊離残留塩素が検出されにくい大きな要因として、二次処理水のアンモニア性窒素濃度と消毒装置の構造の不備が考えられた。特に、消毒薬筒部で水深が十分保持できていない消毒装置は薬剤と水との接触が悪かった。そこで、薬筒が水に浸かっている部分の深さ(浸漬深さ)を十分保持するように改造した消毒装置を試作して、汚水の流入パターンが異なる3カ所の合併処理浄化槽に設置し、実証実験を行った。遊離残留塩素が0.05mg/L以上検出される条件に設定すると、アンモニア性窒素濃度や汚水の流入条件にかかわらず放流水の大腸菌群数は常時30CFU/mL以下になり、また注入塩素濃度を低く抑えることも可能であった。