

Report of Yamaguchi
Prefectural Research
Institute of Health
No. 6

山 口 県

衛 生 研 究 所 業 績 報 告

第 6 号

山口衛研業報

山 口 県 衛 生 研 究 所

昭和 58 年 3 月

March, 1983



目 次

岩崎 明・中尾利器・板垣国昭・岡田雅裕・山県 宏： 日本脳炎の血清診断に関する検討 — ブドウ球菌 Protein A を用いた IgG 抗体吸収法の応用 —	1
片山 淳・川口信行・伊藤武夫： 山口県における百日咳の発生について(1975年6月～1982年12月)	9
溝田 哲・歳弘克史・松村 宏： 水質測定値と測定値間の比による河川水質の特徴に関する研究	13
溝田 哲・松村 宏： 時系列解析法による井戸水の水質変動に関する研究	17
福田哲郎・松村 宏・山本征治・実近祐治： イオウ化合物存在下のピリジン-ピラゾロン法によるシアンの 吸光度定量	22
遠藤隆二・板垣国昭・松村健道： 蚊の吸血習性について	27
野村能子： 新生児先天性代謝異常マス・スクリーニングに関する研究 — 山口県における4年余の成績と検査上における二、三の 問題について —	31
田坂美和子・永井 勇・岡 日出生・藤原美智子： 高速液体クロマトグラフィーによるジフェニルおよび オルト・フェニルフェノールの定量法	37
岡 日出生・田坂美和子・永井 勇・藤原美智子・田中一成・藤田隆人： 冷凍食品の温度管理用インディケータの試作	42
熊谷 洋・佐伯清子： 天然および養殖ハマチの体内水銀分布について	46
佐伯清子・熊谷 洋： トラフグの臓器および皮における脂肪含量	50
昭和57年度に他誌に発表した論文抄録および学会に発表した演題名	56

Table of Contents

A Study on Serodiagnosis of Japanese Encephalitis — Application of Absorption Method of IgG with Staphylococcal Protein A —AKIRA IWASAKI, TOSHIKI NAKAO, KUNIAKI ITAGAKI, MASAHIRO OKADA and HIROSHI YAMAGATA.....	1
Outbreak of Pertussis in Yamaguchi Prefecture during the Period of June, 1975 ~ December, 1982ATSUSHI KATAYAMA, NOBUYUKI KAWAGUCHI and TAKEO ITOH.....	9
Statistical Study on the Characteristics of River Water by the Concentrations and their Ratios in Water QualitySATOSHI MIZOTA, KATUYA TOSHIHIRO and HIROSHI MATSUMURA.....	13
Study on the Variation of Water Quality in Well Water by Means of Time Series AnalysisSATOSHI MIZOTA and HIROSHI MATSUMURA.....	17
Spectrophotometric Determination of Cyanide by the Pyridine Pyrazolone Method in the Presence of Sulfur CompoundsTESTURO FUKUDA, HIROSHI MATSUMURA, SEIJI YAMAMOTO and YUJI SANECHIKA	22
Blood-feeding Habits of Mosquitoes Captured in Yamaguchi City, JapanRYUJI ENDO, KUNIAKI ITAGAKI and KENDO MATSUMURA.....	27
A Study on Mass-screening for Metabolic Errors in the New Born Infants — A Result over Four Years in Yamaguchi Prefecture and Some Problems found in Screening Tests —YOSHIKO NOMURA	31
Analytical Method of Diphenyl and o-Phenylphenol by High Performance Liquid ChromatographyMIWAKO TASAKA, ISAMU NAGAI, HIDEO OKA and MICHIKO FUJIWARA.....	37
Trial of Preparing Irreversible Warm-up Indicators for Frozen FoodsHIDEO OKA, MIWAKO TASAKA, ISAMU NAGAI, MICHIKO FUJIWARA, KAZUSHIGE TANAKA and TAKATO FUJITA	42
Distribution of Mercury Content in the Tissues of Wild and Cultured Yellowtails <i>Seriola quinqueradiata</i>HIROSHI KUMAGAI and KIYOKO SAEKI	46
Lipid Contents of Viscera and Skin in Puffer <i>Fugu rubripes</i>KIYOKO SAEKI and HIROSHI KUMAGAI	50

(End)

日本脳炎の血清診断に関する検討*¹

—— ブドウ球菌 Protein A を用いた IgG 抗体吸収法の応用 ——

山口県衛生研究所 (所長: 田中一成)

岩崎 明・中尾 利器・板垣 国昭・岡田 雅裕・山 泉 宏

A Study on Serodiagnosis of Japanese Encephalitis — Application of Absorption Method of IgG with Staphylococcal Protein A —

Akira IWASAKI · Toshiki NAKAO · Kuniaki ITAGAKI
Masahiro OKADA and Hiroshi YAMAGATA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

1 はじめに

感染症の血清診断は、急性期と回復期のペア血清について有意の抗体価上昇を確認することが原則である。しかし、日本脳炎ではしばしば急性期に死亡する症例があつて適切な時期のペア血清が得られず、また、早期診断の必要上、患者の単一血清を用いて、急性期に産生される IgM 抗体を検出することが試みられている。IgM 抗体を検出する方法は、従来から蔗糖密度勾配遠心分離法¹⁾、蛍光抗体法²⁾、ゲル濾過法³⁾、ELISA 法⁴⁾ などがあるが、いずれもかなりの設備、時間、労力を要し簡単に行える方法ではない。そこで日常検査では特別な設備を必要とせず比較的容易に行える 2メルカプトエタノール (2ME) 処理法⁵⁾ が汎用されている。この方法は、2ME で IgM 抗体を不活化しその前後の抗体価の対比で間接的に IgM 抗体を推定する方法で、簡便ではあるが、欠点として明確な判定ができないケースがしばしばみられる。

この欠点を補足する簡便な IgM 抗体検出手段、方法が不可欠であるが、現時点では未だ開発、実用化されていない。

1966年 Frosen⁶⁾ らは黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* (ブ菌) の細胞壁に含有される Protein A が IgG の Fc 部分と結合する特異現象を記載したが、Ankerst⁷⁾ らはこの現象を風疹の血清診断に応用し、被検血清中の IgG 抗体吸収後の IgM、IgA を検出する方法 (ブ菌法) を案出した。Ankerst らのこの成功は、風疹ウイルスと

物理化学的性質が殆ど同一のトガウイルス感染症である日本脳炎、等々、各種脳炎の血清診断にブ菌法が応用可能であることを示唆するものである。

著者らの一人、岩崎⁸⁾ は既に風疹抗体の研究過程においてブ菌法を経験しているが、これを基盤として、この方法を日本脳炎 (ヒト、ブタ) の血清診断に応用することを企図し、種々検討を行った。その結果、従来の 2ME 法と組合せて用いれば、単一血清での早期診断に当って極めて有用な手段の一つであることを確認したので概括報告する。

2 実験材料および方法

1) 供試検体

昭和43年から昭和57年までに日本脳炎の疑いで当所に検査依頼のあったヒト血清44名84例 (真性患者25名51例、非真性患者13名25例、判定保留者6名8例) および昭和57年7月から同年9月に採集されたブタ血清227例を用いた。

2) 赤血球凝集抑制試験 (HI 試験)

抗体測定は HI 予研法⁹⁾ (マイクロタイター法) に拠り、抗原は市販品 (診断用日本脳炎抗原、武田薬品工業株式会社製) を用いた。血球はヒヨコ赤血球を比色法¹⁰⁾ で 0.33% 浮游液に調整、使用した。稀釈液分注と血清の稀釈は、Automatic Pipetter および Automatic Diluter (Cook 社製) を用い、抗体価10倍以上を陽性に採った。

3) 血清の 2ME 処理

* 本報告の要旨は、第19回九州・山口地区日本脳炎研究会 (1983年1月: 佐賀市) において口演発表した。

血清0.2mlに0.2Mの2ME(用時調整)を等量添加, 37℃1時間処理後, 約4mlの冷アセトンを加えて2回抽出, 真空乾燥した沈査に原血清の10倍量のpH9.0ホウ酸緩衝液(BS)を加えて4℃1夜溶解して10倍稀釈血清とする。また, 2MEの代わりにリン酸緩衝液(PBS)を用いた同様操作処理血清を対照とした。

2ME試験の判定は下記通例の基準に換った。^{9,11)}

2ME処理後の抗体価/対照抗体価

1/8以下……………+

1/4……………±

1/2又は同値……………-又は耐性

4) 血清中のIgG吸収処理

ブ菌液の調整およびIgG吸収の手順は, Ankerstらの変法⁸⁾(概略下記)に換った。また, IgG, IgM, IgAの定量はLow Level Immunoplate (Hyland社製)で行った。

ブ菌液の調製

増菌培養¹¹⁾ (37℃18時間、通気、撹拌)

↓

洗 滌¹²⁾ (2回)

↓

ホルマリン不活化 (0.5%ホルマリン加PBSに10%浮遊
室温3時間)

↓

洗 滌¹²⁾ (3回)

↓

熱不活化 (10%菌液として56℃1時間振盪)

↓

冷 却

↓

洗 滌¹²⁾ (3回)

↓

保存 (0.1%窒化ソーダ加PBSで10%菌液として4℃又
又は-20℃以下)

↓

IgG吸収操作

保存菌液

↓

洗 滌¹²⁾

↓

10%菌液とし, 小試験管に分注

↓

(0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.50, 2.00ml)

集菌 (3000rpm, 30分遠心分離し上清除去)

↓

血清添加 (アセトン処理済10倍血清0.3ml)

↓

IgG吸収 (室温30分振盪)

↓

遠心分離 (3000rpm, 30分)

↓

上 清 (ブ菌吸収血清)

*1) 菌株: *Staphylococcus aureus* (Cowan 1株) (化学及び血清療法研究所より分与, ProteinA産生株)

*1) 増菌培養液: NaCl 3.0g, Na₂HPO₄·12H₂O 2.0g, ブドウ糖1.0g, Bactopecton 10.0g, Yeast extract 5.0g, 蒸留水1000ml, pH 7.8

*2) 洗滌: 3000rpm30分遠心分離して集菌し, PBSで10%菌液としpipettingする

3 成 績

1) 血清中のIgG吸収に要するブ菌菌量

アセトン処理, BS溶解10倍血清に各段階量のブ菌を添加し, 室温30分吸収後, 残存するIgGを免疫拡散法で検討した(表1)。

表1 血清中のIgG吸収に要するブ菌菌量

ブ菌 Lot	抗体	未 処 理	菌量 (g/0.3ml)				
			0.05	0.075	0.10	0.15	0.20
82-08	IgG	96.0	14.5	nd	nd	nd	nd
	%		-84.9	-≥93.8	-≥93.8	-≥93.8	-≥93.8
	IgM	7.6	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
	%		-47.4	-47.4	-47.4	-47.4	-47.4
82-09	IgA	14.5	9.2	8.2	7.7	7.5	7.2
	%		-35.6	-43.4	-45.9	-48.3	-50.3
	IgG	100	23.0	10.7	nd	nd	nd
	%		-77.0	-89.2	-≥94.0	-≥94.0	-≥94.0
82-09	IgM	17.5	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5
	%		-40.0	-40.0	-40.0	-40.0	-40.0
	IgA	28.6	23.8	22.5	20.0	20.0	19.5
	%		-15.0	-19.6	-28.6	-28.6	-30.4

*単位: mg/dl *nd: 検出せず(検出限界6.0)

菌量が増すと吸収される抗体量も漸増し, 血清0.3ml当り菌量0.1gでIgGは検出限界以下に完全吸収された(吸収率93.8-94.0%以上)。以上の成績から以後の試験は血清0.3ml当り菌量0.1gで行った。この場合, IgM

および IgA も 1 部吸収され、その減少率は夫々 40.0～47.4%、28.6～46.9% であり、IgM 抗体価も同値又は 1/2 程度に低下することが推測された。

2) ヒト血清について

日本脳炎患者の発病直後から 48 病日までの血清 (1～3 回採血) の 3 種の抗体価 (HI, 2ME, プ菌吸収) を表 2 に示した。症例 No. 1～22 は血清学的に決定され、No. 23～25 は臨床的に診断されたものである。

これら 3 種の抗体価を経日的に平均値で図 1 に示した。

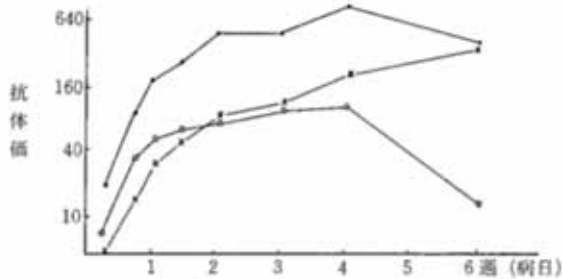


図 1 日本脳炎抗体の経日推移

●—● HI ×—× 2ME ■—■ プ菌

対照抗体価 (HI 抗体価) は発病初期 (5～10 病日) から急上昇し、4 病週で平均値 (905 倍) を示し以後も高い抗体価を維持している。2ME 処理後の抗体 (2ME 抗体) は 1 病週頃から出現し、2、3 病週と直線的に上昇していき 6 病週で HI 抗体価とほぼ同値に移行する。これに対してプ菌吸収後の抗体 (プ菌抗体) は発病初期から HI 抗体と同様に急上昇し、2 病週で 2ME 抗体と交叉し、3 病週まで両者は平行して比較的緩い傾斜の上昇を認める。4 病週以後は 2ME 抗体が上昇するのに対しプ菌抗体は漸減している。6 病週以後の血清は今回調査しなかった。

2ME 法で判定可能な HI 抗体価が 40 倍以上のものについて、2ME 抗体及びプ菌抗体と病日との関係について検討した (表 3)。2ME 感受性 (+) 抗体 (以下 (+) 抗体) は、7 病日以内: 12/16 (75.0%)、8～14 病日: 3/9 (33.3%)、15～28 病日: 3/13 (23.1%) で、7 病日以内は出現頻度が高いが、8～14 病日以後は急減している。

また、2ME 感受性 (±) 抗体 (以下 (±) 抗体) は、7 病日以内: 1/16 (6.3%)、8～14 病日: 5/9 (55.6%)、15～28 病日: 4/13 (30.8%) で、7 病日以内は頻度は極

表 2 日本脳炎患者の日本脳炎抗体推移

症例 No.	病日	HI 抗体価		
		未処理	処理	
			2ME	プ菌
1	2	40	<10	40
	44	320	320	10
	48	640	640	20
2	4	160	10	80
	23	640	80	160
3	4	80	20	20
	21	640	160	80
4	3	80	<10	20
	12	160	<10	40
5	26	640	40	80
	3	20	<10	<10
6	15	320	80	80
	18	≧2560	≧2560	160
7	2	≧1280	≧1280	10
	16	≧1280	≧1280	10
8	4	160	20	80
	3	<10	<10	<10
9	8	160	40	40
	18	160	80	40
10	1	<10	<10	<10
	22	160	80	40
11	7	160	10	80
	3	<10	<10	<10
12	10	160	40	20
	4	40	<10	10
13	12	160	20	40
	3	40	<10	20
14	11	80	20	40
	17	160	80	40
15	4	160	20	20
	10	640	160	160
16	24	640	160	80
	6	160	20	40
16	16	640	160	320
	24	≧1280	160	320
17	11	160	10	80
	4	640	320	40
18	10	≧1280	640	320
	5	40	<10	20
19	15	≧1280	640	320
	4	40	<10	20
20	9	640	20	160
	1	20	<10	10
21	30	≧1280	≧1280	160
	3	40	<10	<10
22	7	80	40	20
	14	160	40	40
23	4	40	40	<10
	6	80	40	<10
24	1	80	80	20
	3	40	40	<10

表3 2ME法とブ菌法の比較

		2ME法											
		0~7病日				8~14病日				15~28病日			
		+	±	-	計	+	±	-	計	+	±	-	計
ブ 菌 法	+	11	1	3	15	3	5	1	9	3	4	6	13
	-	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	計	12	1	3	16	3	5	1	9	3	4	6	13
	%	75.0	6.3	18.8		33.3	55.6	11.1		23.1	30.8	46.2	

(注) HI抗体価40倍以上のもの

2ME; +: $\leq 1/8$ ±: $1/4$ -: $\geq 1/2$
1/2

めて少ないが8~14病日で多くなり、以後再び低下する傾向がみられた。即ち8~14病日では(+)抗体から(±)抗体に移行し、更に15~28病日以後では(-)抗体(2ME耐性抗体)に移行することがうかがえた。仮に(±)抗体を陽性限界とした場合、出現率は7病日以内:13/16(81.3%), 8~14病日:8/9(88.9%), 15~28病日:7/13(53.9%)となる。

7病日以内でも(-)抗体が3例(病例No. 7, 18, 22)あり注目される。

ブ菌法では、発病初期3病日にHI抗体価20倍のもの1例陰性のものがみられた他は、4病日から48病日までのHI抗体価40倍以上の全症例においてブ菌抗体が検出され、その最高抗体価は320倍であった。

血清学的に日本脳炎が否定された類似疾患(表4、症例No. 1~13)のHI抗体価は病日に関係なく、160倍が最高であった。ペア血清で抗体価上昇の認められるものは皆無で、しかも全てが2ME耐性であり、ブ菌法によってもIgM抗体は検出されなかった。

適切な時期のペア血清が得られず、2ME法によっても明確な判定が出来なかった症例(表4、No. 3, 5, 14~19)検体のブ菌法では、8例中1例からIgM抗体が検出され日本脳炎患者であることが推定された。他の7例では日本脳炎を肯定できなかった。

3) ブタ血清について

日本脳炎流行期の7月から9月の間に採集したブタ血清中の抗体保有状況を表5に示した。HI抗体は、7月上旬に30例中2例に検出され、以後、8月上旬に汚染指標の陽性率50%を越え、8月下旬に100%に達した。また、2ME抗体は7月中旬に29例中3例に認められ、新鮮感染個体の出現が確認されたが、流行初期の7月の旬別陽性率は中旬75%、下旬40%で、8月上旬以後は0~

表4 日本脳炎類似患者の日本脳炎抗体推移

症 例	No.	病日	HI抗体価		
			未 処 理	処 理	
				2ME	ブ菌
1	1	40	40		
	16	40	40	<10	
2	1	80	80	<10	
	6	80	80	<10	
3	29	160	160	<10	
4	11	20	10	<10	
	30	20	10	<10	
5	2	40	40	<10	
6	7	80	80	<10	
	21	80	80	<10	
	39	80	80	<10	
7	0	80	80	<10	
	3	80	80	<10	
8	4	20	20	<10	
	11	20	20	<10	
9	2	20	20	<10	
	13	20	20	<10	
10	2	20	20	<10	
	18	20	20	<10	
11	6	20	10	<10	
	19	20	10	<10	
12	8	80	80	<10	
	15	80	80	<10	
13	5	160	80	<10	
	12	160	80	<10	
14	8	20	20	<10	
15	3	10	10	<10	
	3	10	10	<10	
16	2	40	20	<10	
	3	20	20	<10	
17	1	40	40	10	
18	1	40	20	<10	
19	4	20	10	<10	

表5 プタの日本脳炎抗体保有状況

月	旬	処理											
		HI抗体			2ME ¹⁾			ブ菌			2ME ²⁾		
		検査数	陽性数	陽性率	検査数	陽性数	陽性率	検査数	陽性数	陽性率	検査数	陽性数	陽性率
7	上	30	2	6.7	2	0	0	2	1	50	2	0	0
	中	29	4	13.3	4	3	75	4	3	75	4	3	75
	下	30	7	23.3	5	2	40	5	3	60	5	2	40
8	上	32	20	62.5	20	2	10	20	15	75	20	8	40
	中	21	17	81.0	17	1	6	17	15	88	17	5	29
	下	30	30	100.0	30	0	0	30	20	67	30	3	10
9	上	30	18	60.0	18	1	6	18	12	67	18	3	17
	中	25	25	100.0	25	0	0	25	17	68	25	0	0

抗体価比: 1) $\leq 1/8$ 2) $\leq 1/4$

10%に低下している。

ブ菌法では、2ME法より1旬早い7月上旬に30例中1例からIgM抗体が検出され、その後は9月中旬まで各旬60~80%の検出率である。ブタ全例数に対する2ME抗体陽性率は図2に示すように流行初期にはHI抗体陽性率に近似しているが、流行中期以後は低値を維持している。これに対しブ菌抗体陽性率は、HI抗体陽性率にパラレルな形で推移した。

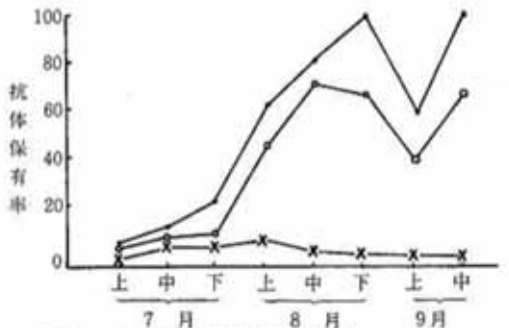


図2 プタの日本脳炎抗体の推移

— HI ×—× 2ME ●—● ブ菌

4 考 察

ブ菌法では、吸収に使用する菌量と被吸収IgGの量に密接な関係があり、このことについては既に風疹の抗体測定時に得られた知見において説明されている。しかし、日本脳炎の抗体測定では、血清の前処理が異なり、風疹での実験がそのまま適用するとは限らないので先ず基

礎的条件を検討した。すなわち10倍血清0.3ml当りブ菌0.075gではIgGが10%程度残るものもあるが、ブ菌0.1gでは全例とも検出限界以下に吸収(93.8~94.0%以上)された。IgGの吸収率については、Ankerstら⁷⁾(風疹:96~98%)、吉川ら¹²⁾(風疹:残存1/2000以下)、松本ら¹³⁾(風疹:93.8~95.9%)、山口ら¹⁴⁾(風疹:94.0~96.7%)、宮田¹⁵⁾(赤痢:90%)の報告があるが著者らの日本脳炎血清における成績もほぼこれに合致する。風疹血清の場合IgGが100%吸収されない原因は、Protein AがIgG中のサブクラス1, 2, 4, と結合し、サブクラス3とは結合しないことが主因と考えられるが、サブクラス3の含有率がIgG全体の5.3%(Morellら¹⁷⁾)であることから、Ankerstら⁷⁾、吉川ら¹²⁾は抗体測定上あまり支障とならないと述べている。

表6 IgG吸収原とIgM吸収率

No.	吸 収 原	血清	吸 収 率	報 告 者
(1)	ブ菌菌体(自家調製)	風疹	2.5	Ankerst ⁷⁾
(2)	精製ProteinA吸着 Sephroseゲル(市 販品)	赤痢	約10	宮 田 ¹⁵⁾
(3)	ブ菌菌体(自家調製)	赤痢	約50	宮 田 ¹⁵⁾
(4)	ブ菌菌体(自家調製)	風疹	40~53.3	松 本 ¹³⁾
(5)	ブ菌菌体(市 販 品)	風疹	19.0~54.5	山 口 ¹⁴⁾
(6)	ブ菌菌体(自家調製)	風疹	21.2~33.3	岩 崎 ⁸⁾
(7)	ブ菌菌体(自家調製)	日本 脳炎	40.0~47.4	岩 崎 ⁸⁾
(8)	ブ菌菌体(自家調製)	風疹	15~30	吉 川 ¹²⁾

著者らは今回の日本脳炎血清診断を目的としたブ菌法において、吸収対象外であるIgMおよびIgAも夫々40.0~47.4%、28.6~46.9%減少することを経験したがAnkerstら⁷⁾は風疹血清でIgM, IgA, IgDも夫々25%, 4.1%, 4.0%吸収されたことを記載している。これらの原因については、Macdwellら¹⁸⁾は、Protein AがIgGのみならずIgM, IgAとも一部結合することを挙げていることとよく一致する。ちなみにIgG吸収過程において生起するIgMの吸収率は、供試血清、吸収原、報告者によって区々であるが、表6に概括した。

著者らの成績は供試血清の相違はあるが、表6、(3)~(5)の記載に近いものである。宮田ら¹⁵⁾IgMの吸収率がAnkerstら⁷⁾のそれより高いことについて、次の2点との関連を挙げている。

- 1) ブ菌体の構成成分の差異。
- 2) IgGとProtein Aの結合物(不溶性)の遠心除法

過程におけるIgMの巻き込み。

その他、Leinikki¹⁹⁾らが指摘するように Protein A と結合するリウマチ因子（非特異性 IgM 抗体）などによるためか検討を要する点である。いずれにしても、現時点の吸収処理技術のレベルでは、IgG を十分吸収しようとするれば必ず併行して IgM の減失——その量は吸収原によって多少の差はあるが——をとめない、その場合、IgM 抗体価は同値又は 1/2 に表現されるものと推定される。

抗体推移について、今野²⁰⁾らは宮城県下の患者 H I 抗体の 2 ME 感受性を検討し、2 病週まで 100%、3 病週まで 92% 感受性、4 病週以降は 2 ME 耐性を示すものが多くなることを観察し、患者の血清診断に 2 ME 法が有効であることを記載した。大塚²¹⁾らは福岡の患者において今野²⁰⁾らと殆ど同一の傾向を認めるとともに、7 病日以内の症例でも 2 ME 耐性を示すものがあることを立証し、地域によっては発病初期の血清でも 2 ME 法だけでは判定が出来ない場合もあることを指摘している。この場合両者とも抗体価 1/4 以下の低下をもって 2 ME 感受性と判定しているが著者らの成績をこの基準と比較すると、2 病週まで約 80-90%、4 病週まで 50% で大塚²¹⁾らに近似した成績となる。しかしながら、2. 方法の項に記述した通例の判定基準に拠ると、7 病日以内の 2 ME (+) 12/16 (75.0%)、8-14 病日 3/9 (33.3%)、15-28 病日 3/13 (23.1%) で 2 ME 法による診断率は明らかに低い。

日本脳炎感染個体の IgM 抗体は、患者約 6 か月間（石井²²⁾ら：ゲル濾過法³⁾、感染ブタ 3-5 か月間（小田²³⁾ら：蛍光抗体法²⁾）検出されかなり長期間持続するものと考えられる。しかし、石井²²⁾ら、小田²³⁾らの採った検出法は、所要の設備、操作、時間および労力、等々の面でルーチンには採用困難である。その点ブ菌法は比較的簡単に IgM 抗体を直接検出できるので H I 法、2 ME 法と併用可能である。事実、H I 試験で確定診断した日本脳炎患者血清では、発病初期の H I 抗体価が低いもの 1 例を除き、全症例（4-48 病日）からブ菌法で IgM 抗体が検出され“新鮮感染”であることが確認された。もっとも、この場合 IgM の他に IgA（低い抗体価で長期間持続する²³⁾）も含まれているが、實際上 IgM が IgA より早期に出現し、抗体価も高いことなど 2 つの点で明らかに血清診断上障害とならないものと考えられる。

7 病日以内に既に 2 ME 耐性を示すものが 15 例中 3 例あり、そのうち 2 例は抗体上昇を認めたが、この場合、ブ菌法で IgM 抗体が検出されたので新鮮感染であるこ

とが推定された。大塚²¹⁾らも同様な症例 34/264 (12.8%) を経験し、そのうち 16/34 (47.0%) は抗体上昇を認めた。このことから日本脳炎に再感染し発症する可能性があることを示唆し記述しているが、今回の著者らの症例は、H I 抗体価（1280 倍、640 倍、80 倍各 1 例）およびブ菌法で IgM 抗体が検出されたことなどの点から、感染および発症月日が明確でなく、病日を経過している可能性が十分考えられた。

H I 試験で日本脳炎が否定された類似疾患血清では、ブ菌法で IgM 抗体が全く検出されないこと、および 2 ME 法でも明確な判定ができなかった血清 8 例にブ菌法を応用し、その 1 例において IgM 抗体を検出して日本脳炎真性患者であることを推定できたこと、の 2 点から、ブ菌法により IgM 抗体を直接検出する方法が日本脳炎の血清診断に当って有効な一手段と考えられる。

一般に野外における日本脳炎ウイルスの拡散、浸淫を把握する方法として、と畜場ブタの H I 抗体および 2 ME 抗体の検出が行われている。しかし 2 ME 法は抗体価 1/8 以下に低下（理論的には IgM が 87.5% 以上含有）した場合にのみ 2 ME 抗体 (+) となるのでその検出期間は短く、流行の初期一時的に高率に検出されるが、流行中期、後期にはその検出率は著しく低下する。即ち或る時点の新鮮感染の状況を把握する方法としては有効な手段である。これに反し、ブ菌法で検出される IgM 抗体は比較的長期間検出されるため、一流行期間の新鮮感染抗体が累積された形で検出され、一夏の流行状況が明確に把握できる。従って 2 ME とブ菌法の 2 法を併用することによって、自然界における日本脳炎ウイルスの伝播、拡散、浸淫の実態をより詳細に捉えることができるものと考えられる。

5 まとめ

従来、日本脳炎ウイルスの IgM 抗体を把握する一手段として 2 ME 法が常用されているが、この方法の弱点を補足する目的で、ブ菌法の併用を企図し、ヒトおよびブタの血清について検討した。

- 1) 血清中の IgG を吸収するに必要なブ菌量は、アセトン処理済 10 倍血清 0.3 ml 当りブ菌量 0.1 g が適当である。
- 2) 日本脳炎患者血清では、2 ME 法で IgM 抗体陽性率が 7 病日以内 75%、8-14 病日 33%、15-28 病日 23% であったが、ブ菌法では全例において IgM 抗体が検出された。

- 3) HI試験で非日本脳炎と判定された類似疾患の血清では、2ME法およびブ菌法共にIgM抗体が検出されなかった。
- 4) ペア血清が得られず、2ME法でも明確な判定が出来なかった患者血清8例のうち、1例においてブ菌法で日本脳炎IgM抗体が検出された。
- 5) 日本脳炎流行期間中採集されたブタ血清では、2ME抗体は持続期間が短いため“或る時点の新鮮感染の状況”を表し、ブ菌法によるIgM抗体は検出期間が長いこと“一流行期間中の新鮮感染の累積”を示すものと推定される。

以上のことから日本脳炎患者の血清診断およびブタ血清中の抗体の動向を指標とする日本脳炎ウイルスの野外における伝播、拡散、浸淫についての疫学調査に当って、2ME法とブ菌法を併用することは有効な手段と考えられる。

終りに、本論文執筆に当たり、懇切な御指導と御校閲を賜った所長田中一成博士に深く感謝致します。

文 献

- 1) Vesikari, T. & Vaeheri, A.: Rubella a Method for Rapid Diagnosis of a Recent Infection by Demonstration of the IgM Antibodies. *Brit. Med. J.* 1: 221-223, 1968.
- 2) 古屋由美子, 吉田芳哉, 小田和正, :ブタ血清から見た日本脳炎ウイルス感染の蛍光抗体間接法による解析. 神奈川県衛生研究所報告, No. 7, 9-14, 1977.
- 3) Keizo Ishii, Yasuko Matsunaga and Reisaku Kono.: Immunoglobulins Produced in Response to Japanese Encephalitis Virus Infection of Man. *J. Imm.*, 101, 4,770-775, 1968.
- 4) Akira Igarashi, Keiko Bundo, Sachiko Matsuo, Yoshiro Makino and Whei-Jun Lin: Enzyme-linked immunosorbent Assay(ELISA) on Japanese Encephalitis Virus. I. Basic conditions of the Assay on Human Immunoglobulin. *Trop. Med.*, 23 (1), 49-59, 1981.
- 5) Grubb, R., and Swahn, B.: Destruction of Some Agglutinins but not of others by two Sulfhydryl compounds. *Acta Path. et Microb. Scand.*, 18(3): 305-309, 1958.
- 6) Frosagen, A., and Sjoquist, J.: Protein A from *S. aureus*. I Pseud-Immune Reaction with Human γ - Globulin. *J. Imm.*, 97, 822-827, 1966.
- 7) Ankerst, J., Christensen, R., Keillen, L., and Kronvall, G.: A Routine Diagnostic Test for IgA and IgM Antibodies to Rubella Virus.: Absorption of IgG with *Staphylococcus aureus*. *J. Inf. Dis.*, 130, 268-273, 1974.
- 8) 岩崎 明: 新生児の風疹抗体に関する研究——特にIgM抗体の検出法とその応用について——, 山口医学, 27(1), 39-53, 1978.
- 9) 大谷 明: 微生物検査必携, ウイルス・リケッチア検査, 第2版, P249-269, 日本公衆衛生協会, 東京, 1978.
- 10) 井上 栄: 赤血球浮遊濃度の標準化, 臨床とウイルス, 別冊, 108-110, 1975.
- 11) 厚生省公衆衛生局保健情報課: 伝染病流行予測調査検査術式, 66-79, 1975.
- 12) 吉川ひろみ, 大友信也, 野中実男, 植田浩司: 黄色ブドウ球菌処理による風疹IgMおよびIgA抗体の検出, 医学のあゆみ, 100, 693-696, 1977.
- 13) 松本和男, 飯田英侃, 川崎政士, 小林桂子: 風疹特異IgM抗体の検出について, 福井県衛生研究所調査研究報告, 15, 1-7, 1978.
- 14) 山口朝生, 徳地朝夫: 風疹感染における各免疫グロブリンHI抗体の消長, 滋賀県立衛生環境センター所報, 15, 31-36, 1980.
- 15) 宮田義人: 赤痢患者および保菌者の血中抗体について, 第IV報 Protein A-Sepharose CL-4Bを用いたIgG抗体吸収法による解析, 感染症学雑誌, 51(10): 540-548, 1977.
- 16) Kronvall, G., and Williams, R.C.: Differences in Anti-Protein A Activity among IgG Subgroups. *J. Imm.*, 103, 828-833, 1969.
- 17) Morell, A., Skvari, F., Steinberg, A.G. van Loghem, E., and Terry, W. D.: Correlations between the Concentrations of the for Subclasses of IgG and IgM Allotypes in Normal Human Sera. *J. Imm.*, 108, 195-206, 1972.
- 18) Macdwell, G.: IgA and IgM Reaction with Staphylococcal Protein A. *Acta Path. Microb. Scand. Sect. B*, 79, 801-804, 1971.
- 19) Leinkki, P., Shekarchi, I., Dorsett, P., and Sever, J.L.: Determination of virus-specific IgM anti-

- bodies by using ELISA: elimination of falsepositive results with protein A-Sepharose absorption and subsequent IgM antibody assay. *J. Lab. Clin. Med.*, 92(6), 849-857, 1978.
- 20) 今野二郎, 遠藤好喜, 石田名香雄: プタおよびヒトにおける日本脳炎抗体の季節的変動——とくに流行初期におけるメルカプトエタノール感受性抗体の出現について, *医学のあゆみ*, 58, 703-708, 1966.
- 21) 大塚 悟, 真子憲治, 森 良一: 抗日本脳炎ウイルス血清の 2-Mercaptoethanol 感受性に関する研究, *日本細菌学雑誌*, 22(5/6), 321-325, 1967.
- 22) 小田和正, 吉田芳哉, 古屋由美子: 日本脳炎ウイルス感染プタにおける IgM 抗体の出現とその持続, *神奈川県衛生研究所研究報告*, 8, 1-4, 1978.
- 23) 吉川ひろみ, 大友信也, 野中実男, 植田浩司, 藤井宏: IgM, IgG 分別測定による風疹感染時期の判定, *臨床とウイルス*, 6(2), 149-152, 1978.

山口県における百日咳の発生について (1975年6月～1982年12月)

山口県衛生研究所 (所長: 田中一成)

片 山 淳・川 口 信 行*

下関市保健所 (所長: 村田四郎)

伊 藤 武 夫

Outbreaks of Pertussis in Yamaguchi Prefecture during the Period of
June, 1975 ~ December, 1982

Atsushi KATAYAMA · Nobuyuki KAWAGUCHI

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

Takeo ITOH

Shimonoseki Municipal Health Center, Shimonoseki City (Director: Dr. Shiro MURATA)

はじめに

我国の百日咳届出患者数は1947年には15万人であったが、化学療法の発達、予防接種の普及、等々により激減しはじめ、1971年頃の届出数は200～300人前後になると共に、本菌の分離報告例もみられなくなった。しかし、1972年6月から翌年3月にかけて神奈川県三浦半島一円での百日咳流行を契機として、再びこの疾患に関心もたれ、その結果、各地で本菌が分離されるようになり届出患者数も増加してきた。そこで、県下の百日咳の浸淫状況を把握する目的で本症が疑われる患児から菌検索および抗体価測定を行いその実態を調査した。

調査対象および方法

1. 被検者

散发事例: 1975年6月から1982年12月までに下関市、宇部市、山口市、新南陽市、徳山市、柳井市内の百日咳調査協力医療機関(計12施設)の受診者中、百日咳が疑われた患児176名について調査した。その内訳は、菌検索のみ128、菌検索と抗体価測定21、抗体価測定のみ27名である。

集団発生事例: 1977年4月から5月にかけて発生した下関市内の某施設内の乳児グループ25名全員について菌検索および6名の抗体価測定を行った。

2. 菌分離: 0.001%シスチン加 Bordet-Gengou 培地 (B-G 培地) に咽頭粘液を直接塗抹、35～37℃で1週間培養し疑わしいコロニーをB-G培地に継代すると共にチョコレート寒天、普通寒天培地上での発育の有無、グラム染色性、形態を観察し、百日咳抗血清(予研)で同定した。菌株の血清型別は予研佐藤勇治博士に依頼した。

3. 抗体価測定: 厚生省伝染病流行予測調査術式により、予研から分与された東浜株・前野株および山口株・小林株を抗原として実施した。

4. 薬剤感受性試験: B-G 培地を用い、1濃度ディスク法で行った。供試菌株数は散发事例由来12、集団発生事例由来3である。

成 績

I. 散发事例

被検者は1歳未満から8歳までで、そのうち1歳未満から1歳児が全体の75% (133/176名) を占めている(図1)。ワクチン接種状況は82%の者が未接種者であった(図2)。月別検査状況(表1)は特定の月に集中する傾向は認められない。百日咳菌は被検者149名中12名(8.1%)から分離され、それらの年齢は1歳未満3、1歳8、3歳1名で全てワクチン未接種者であった。地域別の検出状況は下関22名中4名、宇部2名中なし、

* 現: 山口県防府保健所

山口47名中3名、新南陽72名中2名、徳山2名中1名、柳井4名中2名である。検出時期は1月1、3月1、6月3、7月2、9月2、11月2、12月1名である。分離菌株の血清型は全て1、3、6型で、その薬剤感受性試験成績はペニシリン、ストレプトマイシン、カナマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、オレアンドマイシン、コリスチン、ポリミキシンB、ナリジック・アシドには極めて感受性、スルフィソキサゾールには耐性であった。

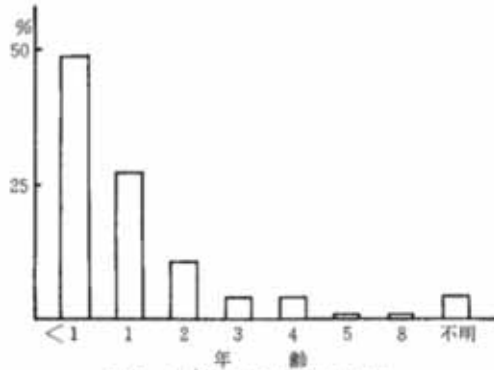


図1 被検者176名の年齢分布

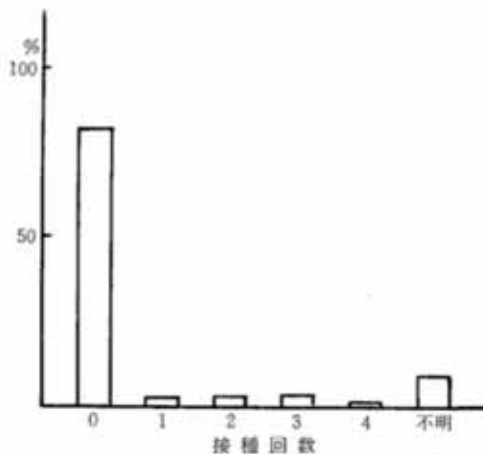


図2 被検者176名のワクチン接種状況

表1 年月別検体数

年	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12月	計
1975						5	9	5	3	1	3	1	27
1976	4	2		1	8	2	2	1	5	3	3	1	32
1977	4	3	8	8	1	3	2		1			1	31
1978	1						1						2
1979	1	4	5		1		6	4	8	3	2	7	41
1980	5	4	2	4		1	1			1	3		21
1981	2			1	3					1		1	8
1982	3		2	2		2	1			1	1	2	14
計	20	13	17	16	13	13	22	10	17	10	12	13	176

菌陽性者12名中、ペア血清3名、単一血清1名を得て、抗体価の測定を実施したところ、山口・小林株の抗原性が東浜・前野株のそれに数段優ることが判明した。ちなみに山口・小林株を抗原とした場合、ペア血清では10倍から80倍、40倍から80倍、10倍未満から40倍にそれぞれ上昇がみられた。単一血清の1名は回復期の血清であるが抗体価は10倍であった(表2)。

表2 菌陽性者の抗体保有状況

No.	性	年 齢	ワクチン 歴	抗体価					
				急性期		回復期			
				採血 月日	東浜・ 前野株	山口・ 小林株	採血 月日	東浜・ 前野株	山口・ 小林株
1	♀	1	なし	6.4	<10	10	7.1	10	80
2	♀	1	*	6.11	<10	40	6.27	10	80
3	♂	1	*	6.14	<10	<10	9.30	40	40
4	♂	1	*				8.4	<10	10

菌陽性者以外の患者44名の抗体保有状況は、ワクチン未接種で抗体を保有するものが33名中9名いた。この9名は菌陽性者と同じく山口・小林株を抗原に用いた方に高い抗体価を示す者が多くその抗体価は10、20、40倍それぞれ3名で、血清学的に感染患者の存在を確証したものとえよう(表3)。

II. 集団発生事例

発生施設は、乳児から高校生まで約120名が在籍する社会福祉施設で、患児は乳児グループの部屋のみが発生し、患者数は25名中21名(84%)でいずれも1-2歳児である。1977年4月12日に4名が発症し、以後1週間以内に過半数が発症した(表4)。このグループ全員について4月22日に菌検索を実施し、4名から本菌を分離した。分離菌株の血清型、薬剤感受性試験成績は散発事例の成績と同じである。なお、感染経路については不明であるが、この25名はすべてワクチン未接種者であった。ペア血清5名の急性期血清の抗体価はいずれも10倍未満であったが、回復期血清では5名中4名に抗体価の上昇

表3 菌陽性者以外の抗体保有状況

ワクチン歴	抗体価		件数
	東浜・前野株	山口・小林株	
未接種	<10	<10	24
	<10	10	2
	<10	20	3
	10	10	1
	10	40	1
	20	40	1
	80	40	1
1回	20	20	1
	40	80	1
2回	80	<10	1
	<10	<10	1
3回	10	<10	1
	<10	<10	1
不詳	80	80	1
	<10	<10	2
計	10	20	1
	20	10	1
			44

がみられ、最高40倍（山口・小林株）であった（表5）。なお、菌を分離しながら抗体価の上昇がみられなかったものが一名あり注目された。

考察

被検者は、1歳未満から1歳の乳児が大半を占め、しかも、この乳児の90%近くはワクチン未接種であった。これは1975年春期からワクチン接種による副作用の問題により、予防接種が一時中断されたことや、秋期から集団予防接種の接種年齢が3か月から2歳に引き上げられたためと思われる。患児の年齢が2歳以下の者に多い現状、および、1981年秋から副作用の少ないHAワクチンの開発、実用化したことの2点を考え合せると集団接種年齢を従来の3か月に引き下げることが妥当と思われる。

菌検索では16名から本菌を分離し、県下に百日咳患者の存在を細菌学的に裏付けた。菌陽性者の年齢は3か月から3歳までであるが、その年齢分布は1歳未満3、1歳11、2歳1、3歳1名で1歳以下に集中していた。成

表4 患者発生状況

発生月日	4月												5月								
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	1	2
患者数	4	4	0	0	2	0	5	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2

(在籍数25名)

表5 抗体価測定成績

No.	性別	年齢	ワクチン歴	発病月日	急性期探血月日	抗体価			菌分離		
						東浜・前野株	山口・小林株	回復期探血月日			
1	♂	1	なし	4.12	4.19	<10	<10	5.6	20	40	+
2	♀	1	*	4.13	*	<10	<10	*	<10	10	+
3	♀	1	*	*	*	<10	<10	*	10	10	-
4	♂	2	*	*	*	<10	<10	*	10	40	-
5	♀	1	*	4.18	*	<10	<10	*	<10	<10	+
6	♀	2	*	4.23	*	*	*	*	<10	10	+

書によれば、過去の罹患年齢分布のピークは2歳であるが、今回の成績では菌陽性者のみならず他の被検者の年齢分布も1歳以下に多い。宮本らも1歳が最も多く、ついで1歳未満、市村らも最も多かったのは1歳未満であったと記載している。このように、最近の患児の年齢分布のピークが1歳および1歳未満に移行しているのが注目される。

分離菌株の血清型は、全て1、3型で長ら、岡矢らが報告している最近の主要分離菌型と一致する。このことは従来のワクチン株の血清型が1、2型であることから、患児の抗体価を検討する場合、この2種類の抗原を使用することにより同一血清でも抗体価に差があらわれ、感染によるものか、ワクチン接種によって抗体を保有したものの診断の一助になると考えられる。

菌は2、5、8、10月を除く各月に分離され、ほぼ年間を通じて発生することが明らかになったが、検出率は6月から11月にかけて高い傾向を認めた。成書によれば、百日咳の過去の発生状況は3-5月にピーク、9月に谷をもつ一峰性罹患曲線を示すと記載されているが、今回の成績と対比すると、初夏から晩秋にピークが移行しているのが注目される。宮本ら、井上ら、菅屋らも最

近の患者発生は6～9月にピークがあると報告している。

菌陽性者16名は、すべてワクチン未接種者で、この条件での感染としては抗体価の上昇は意外と低く最高80倍であった。また、菌陽性者を除くワクチン未接種患児35名およびワクチン接種1～3回の患児7名の抗体価は10倍未満から80倍までであった。このように、真性患者であるにもかかわらず、低い抗体価に止どまったことは、病期 Stage と採血のタイミング、発症初期の抗生剤、等々、化学療法剤による早急な抗原の生体内よりの駆逐、消失など、いくつかの原因が推定される。さらにこれにもまして重要かつ念頭に置かねばならないのは、抗体非産生の個体、いわゆる“Poor reactor”の存在であろう。今回の我々のささやかな経験に照らしても、百日咳菌感染症において Poor reactor は意外に多いと推定されるが、過去、現在この問題についての知見は乏しく、今後 Host-parasite relationship に基礎を置いた詳細な検討が不可欠と思われる。

中村らは¹³、従来の市販のワクチン接種によって抗体価は第2期の4回接種で640倍～1280倍に上昇し、Sakoは¹⁴抗体価320倍以上あれば感染発症しないと記載している。これらの事実から百日咳の感染防止にはワクチンの完全接種（4回接種）の励行が必須の条件であるが、今後は新しく開発されたHAワクチンの感染防御レベルの検討が課題と思われる。

まとめ

1975年6月から1982年12月までに、下関、宇部、山口、新南陽、徳山および柳井市内の百日咳調査協力医療機関の12施設で、百日咳が疑われた散発事例の患児176名、および、1977年4月から5月にかけて下関市内の某施設の乳児グループで集団発生した25名について菌検索等を実施し、県下の百日咳の発生状況を調査した。

1. 被検者は1歳未満から8歳までで、1歳以下が最も多く76.6%を占めた。

2. ワクチン接種状況は、患児の84%が未接種者であった。

3. 16名から血清型1, 3, 6の百日咳菌を分離し、検出率は6月から11月にかけて高い傾向を認めた。

4. ワクチン未接種者33名中9名は抗体を保有しており、血清学的にも百日咳患者の存在を実証した。

以上のことから、山口県における百日咳の浸淫を細菌

学的、血清学的に裏付けることができた。

本菌の感染予防対策には、患児の年齢が1歳未満および1歳に集中していることからワクチン接種が最も有効と考えられ、ワクチンを早期（3か月～6か月）に接種することが不可欠と思われる。

本調査は下記各機関の御協力を頂いて実施された。記して関係各位に深甚の謝意を表します。

下関市立中央病院、国立下関病院、長府病院、満田小児科病院、山口大学医学部小児科、鈴木小児科医院、田原小児科医院、徳山病院、南陽病院、上田小児科医院、周東総合病院、松田小児科医院、下関市保健所、山口県柳井保健所。

分離菌株の血清型を調査して頂いた国立予防衛生研究所、佐藤勇治博士に厚くお礼申し上げます。

終りに臨み、御指導、御助言を賜りました衛生研究所長田中一成博士、生物細菌部長山藤 宏博士に感謝します。

文 献

- 1) 厚生統計協会：国民衛生の動向（昭和54年） 厚生
の指標, 26(9), 1979.
- 2) 宮本 泰ら：感染症学雑誌, 48(5), 179～191, 1974.
- 3) 船橋 満ら：感染症学雑誌, 49(8), 326～329, 1975.
- 4) 市村 博ら：感染症学雑誌, 50(3), 73～79, 1976.
- 5) 井上正直ら：感染症学雑誌, 52(8), 323～330, 1978.
- 6) 国立予防衛生研究所学友会編：日本のワクチン,
227～229, 1977.
- 7) 染谷四郎ら：臨床と細菌, 6(4), 393～416, 1979.
- 8) 水原春郎：公衆衛生, 45(10), 769～772, 1981.
- 9) 山本俊一：疫学各論, 20～22, 1970. 文広堂
- 10) 長 道雄ら：日本細菌学雑誌, 30(3), 487～493,
1975.
- 11) 関矢加智子ら：日本細菌学雑誌, 30(3), 507～513,
1975.
- 12) 菅屋潤壺ら：日本公衆衛生学雑誌, 26(2), 53～60,
1979.
- 13) 中村文弥ら：小児科診療, 35(7), 888～906, 1972.
- 14) Sako, W.: *J. Pediat.*, 30, 29～40, 1974.

水質測定値と測定値間の比による 河川水質の特徴に関する研究

山口県衛生研究所（所長：田中一成）

溝田 哲・歳弘 克史・松村 宏

Statistical Study on the Characteristics of River Water by
the Concentrations and their Ratios in Water Quality

SATOSHI MIZOTA · KATSUYA TOSHIHIRO · HIROSHI MATSUMURA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. K. TANAKA)

緒言

河川の水質は基本的には涵養源や流域の地質環境に支配され、その変動は自然環境条件や人間活動などの変化の影響を受けていると考えられる。このような水質から河川の特徴をとらえようとする場合、一般には水質測定値の示すパターン（濃度パターン）を検討することが主で、測定値間の比の示すパターン（比パターン）を検討することは少ないように思う。濃度パターンだけに着目した場合、流下途中の希釈などがあり、成分負荷源の性格を示すような特定の成分でもなければ、河川間の負荷源の類似性に関する情報は得にくいと考えられる。比パターンは、流下途中の希釈などがあっても、負荷源の性格が同じなら類似していると考えられる。従って、これに着目すれば河川の負荷源の類似性がより一層明らかになり、河川水質調査における汚染源究明等にも役立つものと思われる。¹⁻³⁾

そこで著者は、河川における負荷源の類似性やこの類似性と流域環境特性（流域特性）との関係をさぐることを目的として、13河川（16調査点）の水質濃度パターンと比パターンの検討を行った。

資料と方法

水質に関する資料は、表1と図1に示す山口県企業局の調査資料によった。各調査点ごとに4年間の平均値を求め、これを原データとして以下の解析を行った。流域特性に関する資料は、表2に示す山口県水質保全課の調査資料と、表3に示す資料を用いた。表3の地質パターンは、各調査点流域に存在する地質を表4に示す質的データとしたパターン分類（数量化理論Ⅲ類）⁴⁻⁶⁾の結果に基づくものである。

表1 調査対象および調査項目

調 査 点	1.小瀬川 2.錦川 3.錦川水越ダム 4.錦川向道ダム 5.黒杭川 6.島田川 7.切戸川
	8.末武川 9.富田川 10.夜市川 11.佐波川 12.島地川 13.厚東川 14.木履川 15.厚狭川山陽点 16.厚狭川美祿点
対 象	調 昭和53年6月(厚狭川山陽なし)、8月、10月
	査 54 8月
	時 55 11月
	期 56 9月
調 査 項 目	pH値・濁度・総アルカリ度・塩素イオン濃度 ・総硬度・総鉄・蒸発残留物・BOD



図1 対象河川及び調査点

表2 調査点流域の人口密度(人/km²)

調査点	人口密度	調査点	人口密度
木屋川	83	切戸川	301
厚東川	62	錦川	48
佐波川	48	小瀬川	29
島地川	45	錦川向道ダム	51
富田川	146	水越ダム	47
夜市川	162	黒杭川	115
島田川	226	厚狭川山陽	143
末武川	72	美祿	152

表3 地質パターンによる調査点の分類

パターン	調査点
A	厚狭川山陽, 厚狭川美祿, 木屋川
B	佐波川, 島地川, 切戸川, 富田川 夜市川, 末武川, 小瀬川, 錦川 錦川向道ダム, 錦川水越ダム
C	黒杭川, 島田川

表4 調査点流域に存在する地質

	アイテム	カテゴリー
(古生界)	三郡変成帯, 領家変成帯 非変成帯, 石灰岩層	
(中生界)	三疊系	有, 無
(新生代)	第三紀, 洪積世, 沖積世	
計	8 アイテム	計 16カテゴリー

(注) この他に, 中生界白亜紀が存在したが, これは全調査点に存在したので除外した。

濃度パターンは、主成分分析法で解析した。比パターンは、原データからの濃度相関マトリックスを親近性行列とした数量化理論Ⅳ類(eij型)で解析した。これらの結果をもとに各調査点の類似性や、それと流域特性との関係を考察した。

結果

主成分分析の結果を表5と図2に示す。数量化Ⅳ類の結果を表6と図3に示す。やや恣意的ではあるが、各調査点はそれぞれ5群と4群に分類できた。

表5 主成分分析の結果

測定項目	第Ⅰ主成分	第Ⅱ主成分
総硬度	0.971	-0.162
蒸発残留物	0.968	-0.091
塩素イオン	0.908	0.215
総アルカリ度	0.893	-0.308
pH値	0.830	-0.135
BOD	0.316	0.665
濁度	0.161	0.952
総鉄	0.094	0.796
固有値	4.326	2.176
寄与率(%)	54.1	27.2

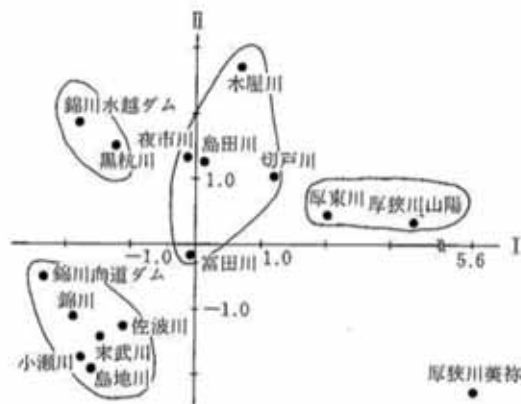


図2 主成分分析の結果

考察

河川の水質成分の負荷源としては、岩石・土壌及び動植物などの腐植のような自然的なもの、人間生活排水などの人為的なものが考えられる。いくつかの河川において、これら河川環境が似ていれば、水質濃度や比の示すパターンも似ていると思われる。濃度パターンは、主に流域における負荷量や流量など量的性格に関係し、比パターンは、負荷源の質的性格に関係していると言える。従って、濃度パターン及び比パターンともに似ていれば、それら河川の負荷源は量と質両面の性格が似ていると考えられる。また、比パターンのみ似ていれば、負荷源の質的性格は似ていても量的性格は異なると思われることができる。

島田川・夜市川・切戸川(A群)と佐波川・島地川・

表6 数値化IV類の結果

調査点	第1固有ベクトル	第2固有ベクトル
厚狭川美祿店	0.963	0.077
木屋川	-0.089	0.468
黒杭川	-0.099	0.467
錦川水越ダム	-0.105	0.468
錦川向道ダム	-0.086	0.036
島田川	-0.076	-0.048
夜市川	-0.085	-0.063
富田川	-0.072	-0.103
切戸川	-0.060	-0.122
末武川	-0.063	-0.134
島地川	-0.048	-0.124
佐波川	-0.043	-0.040
小瀬川	-0.048	-0.081
錦川	-0.039	-0.090
厚東川	-0.042	-0.383
厚狭川山陽点	-0.008	-0.329
固有値	7.397	13.333

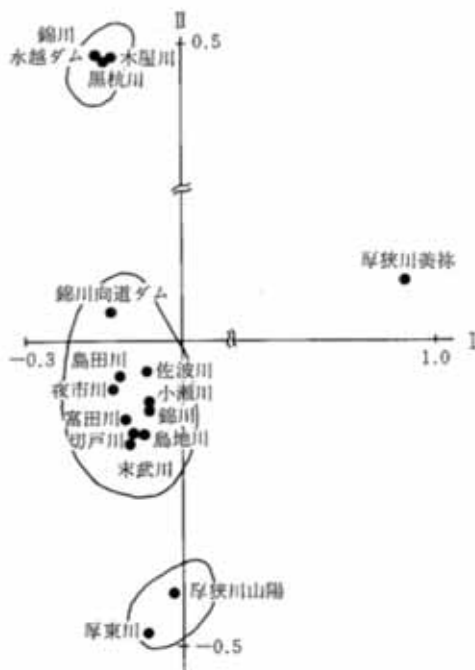


図3 数値化IV類の結果

他(B群)は、比パターンは似ているが濃度パターンは異なると思われる。従って、A群とB群は、負荷源の質的性格は似ているが量的性格には違いのあることが推測される。A群は、山陽側の人口密度の高い(表2)都市部を流れ、調査点も比較的下流に位置している。B群は、山陽側ではあるが、前者に比べて人口密度の低い農村部を流れ、調査点も上流である。流域の地質パターンをみると(表3)、両群は似ていると言える。このように流域特性からも、A群とB群は、負荷源の量的性格は異なるが質的性格は似ていると考えられ、パターン分析の結果との関係がうまく説明できる。

木屋川と錦川水越ダム・黒杭川は、比パターンは似ているが濃度パターンは異なると思われる。これは、前述のA群とB群の関係と同様であるが、流域特性に関しては(表2, 3)かなり異なる。すなわち、人口密度も地質パターンも群による特徴が認められない。従って、パターン分析の結果と流域特性との関係をうまく説明できない。

本研究では、各調査点を、濃度及び比のパターンの似たものをグループ化し、そのグループについて類似性の検討を行ったもので、個々の類似性については考えなかった。パターン分析の結果と流域特性との関係がうまく説明できなかったことは、このような方法論の特性によるか、用いた流域特性は限られたものであり、類似性を決定する要因が他にあることによるのか、さらに検討しなければならない点と考える。

濃度及び比のパターンの解析結果と、既知の流域特性との関係がうまく説明できる場合とできない場合とが示されたが、方法論が適切であるなら、各調査点の類似性が質と量の両面から明らかにできるものと考えられる。そして、その結果と既知の流域特性との関係を考察することにより、類似性に影響する主要因の推定が可能になるものとする。

まとめ

13河川(16調査点)の水質について、濃度パターンと比パターンによる検討を行い、河川間の類似性を量及び質的な面について検討した。また、この結果と既知の流域特性との関係を考察した。

1) 各調査点は、濃度パターンで5群に、比パターンで4群に分類できた。

2) 分類された各群の構成は、両パターンで違いがみられ、水質負荷源の量及び質的性格とも似ているものと

そうでないものがあることが示された。

3) パターン分析の結果と既知の流域特性との関係がうまく説明できる場合と、そうでない場合とが認められた。これは、用いた流域特性の他に類似性に影響する要因があることによるのか、方法論の特性によるか、さらに検討しなければならない点と考えられた。

4) 以上のことから、両パターン解析によって、河川の水質負荷源の類似性を量及び質の両面から明らかにできることや、類似性に影響する主要因の推定の可能性が示唆された。

終りにあたり、資料を快く提供して下さった山口県企業局及び同環境部水質保全課の方々に感謝いたします。また、有益な助言と御指導をいただいた当所所長田中一成博士に感謝いたします。

文 献

- 1) V. Stenger: *Anal. Chem.*, 43, 37A (1971)
- 2) 木羽敏泰ほか：分析化学, 24, 18-25 (1975)
- 3) 綿技邦彦：温泉科学, 25, 26-31 (1974)
- 4) 林知己夫ほか：情報処理と統計数理, 244-251 (1970), 産業図書
- 5) 駒沢勉：多元的データ分析の基礎, 71-94 (1978), 朝倉書店
- 6) 小林龍一：数量化理論入門, 77-48 (1981), 日科技連
- 7) 奥野忠一ほか：多変量解析法, 159-257 (1971), 日科技連
- 8) O.U. Anders: *Anal. Chem.*, 44, 1930-1933 (1972)

時系列解析法による井戸水の水質変動に関する研究

山口県衛生研究所 (所長: 田中一成)

溝田 哲・松村 宏

Study on the Variation of Water Quality in Well Water by
Means of Time Series Analysis

SATOSHI MIZOTA · HIROSHI MATSUMURA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. K. TANAKA)

緒 言

一般家庭で利用されている飲用水は、水道水と井戸水が主と思われる。水道水の水質は、法令に基づいて管理され、衛生的安全性が確保されている。井戸水は、水質の管理がされていることは少なく、あっても年一回程度の水質検査で、その衛生的安全性が判断されているのが現状と思われる。

井戸水の水質は、その地方の地形・地質と密接な関係をもっており、地域的な特徴を示すと同時に季節的な変動も示す¹⁾。従って、井戸水の衛生的安全性を判断するには、その地域的特性と水質変動パターンを考慮する必要があると考える。そこで著者は、井戸水の水質変動パターンを明らかにし、その予測の可能性を探ることを目的として、簡易水道の水源として利用されていた2種類の井戸の水質変動パターンを時系列解析の手法を用いて検討した。

資 料

水質に関する資料は、山口県宇部市水道局の「水質試験年報」⁶⁾のうち、1964年4月から1974年3月までの10年間の平常試験成績(毎月上旬に1回測定)によった。上記の資料から、図1および表1に示す2ヶ所の井戸の水温・硝酸性窒素濃度(硝酸塩)・塩素イオン濃度(塩素イオン)、環境条件である月平均気温について検討した。

方 法

用いたデータは、月時系列である。時系列データを解析するには、それが時間に従属するものか、安定した母集団からの無作為標本であるかを確認しておく必要がある⁷⁾。従って、まず無作為性の検定(連の総数による⁸⁾)を行った。無作為性の棄却されたデータについて、分



図1 調査地点

散分析により季節変動の有無を検定した⁹⁾。無作為性が棄却され同時に季節変動の認められたデータについて、これを原系列(Y)とすると、

表1 井戸の概況

水源名	位置	種別	構造	深さ
A	厚東川中流域の河川敷	井戸水	コンクリート製井筒	3m
B	厚東川中流域	井戸水	同上	5m

$$Y = T \times S \times I$$

T : 傾向循環変動 (T変動)

S : 季節変動 (S変動)

I : 偶然変動 (I変動)

と表わせるとする時系列モデルにより変動パターンを検討をした。T変動は12項移動平均で求めその経年変化の傾向をトレンド指数で検定した。S変動は、原系列をT変動で除した定常系列の3項移動平均で求め、その周期性をコレログラムによって検討した。月平均気温と水温及び硝酸塩と塩素イオンの関係を、単相関係数と時差相関係数により検討した。硝酸塩と塩素イオンの関係については、散布図による検討を併せ行った。

結果

用いたデータは、いずれも危険率1%で無作為性が棄却された。分散分析の結果、B井戸の塩素イオンの他は全て季節変動が認められた ($P < 0.01$)。時系列モデルによる解析結果を図2-6に示す。それぞれ、T変動は測定値で、S変動はT変動に対する百分率である。時系列のT変動は、両井戸の塩素イオンとA井戸の硝酸塩が

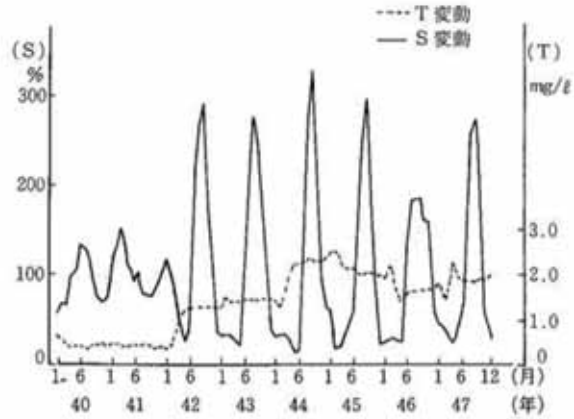


図4 A水源の硝酸塩の変動パターン

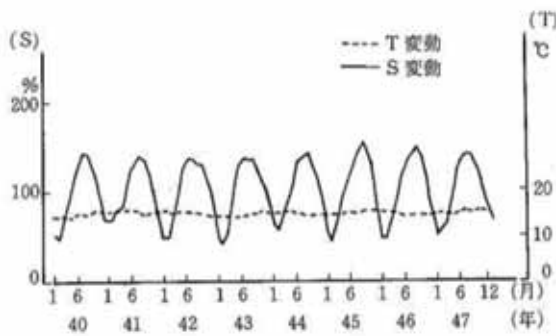


図2 A水源の水温の変動パターン

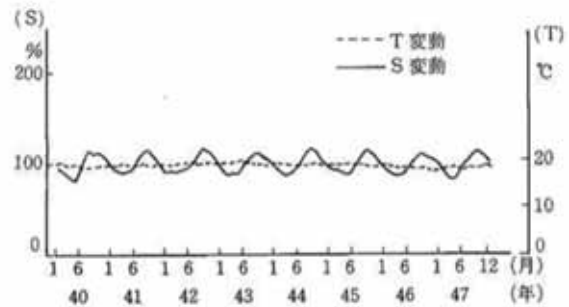


図5 B水源の水温の変動パターン

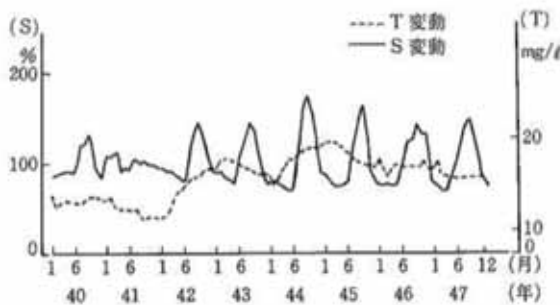


図3 A水源の塩素イオンの変動パターン

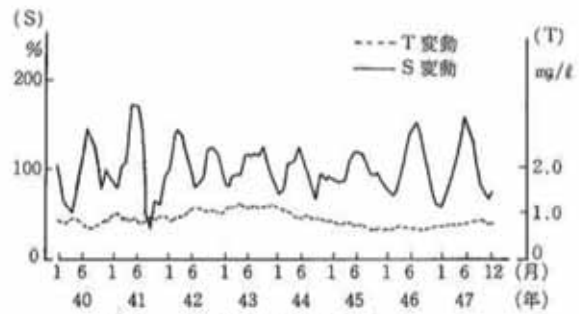


図6 B水源の硝酸塩の変動パターン

増加傾向を示した(表2)。コレログラム解析の結果を、図7、8に示す。A井戸の各項目及びB井戸の水温に、12ヶ月の周期がみられたが、B井戸の硝酸塩には、はっきりした周期が認められなかった。水温と月平均気温の相関関係を表3と図9に示す。単相関係数をみると、B

井戸には、A井戸にみられるような強い相関関係がないと考えられるが、時差相関係数から、ほぼ2ヶ月の時差をもって、A井戸と同レベルの相関関係のあることが示された。塩素イオンと硝酸塩の関係は、表3と図10に示すように、両井戸で違いのあることが認められた。

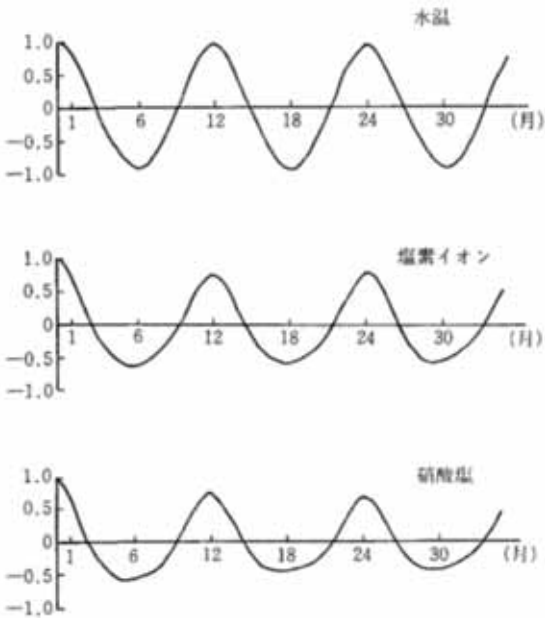


図7 A水源の各項目の系列相関係数によるコレログラム
(縦軸は相関係数、横軸は時差である)

表2 トレンド指数

水源名	水温	塩素イオン	硝酸塩
A	0.95	2.61**	3.99**
B	0.18	2.80**	-1.83

** P<0.01

表3 項目間の単相関係数

水源名	水温と月平均気温	硝酸塩と塩素イオン
A	0.89	0.89
B	0.37	0.12

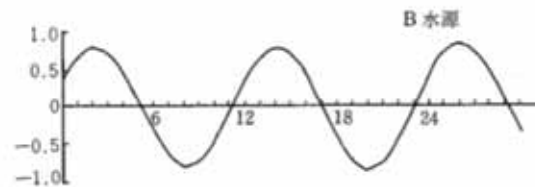
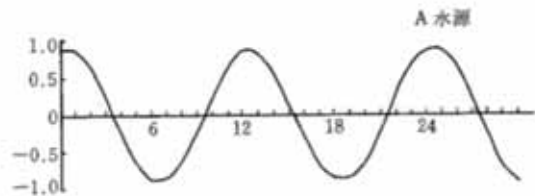


図9 水温の月平均気温に対する時差相関係数によるコレログラム
(縦軸は相関係数、横軸は時差で単位は月である)

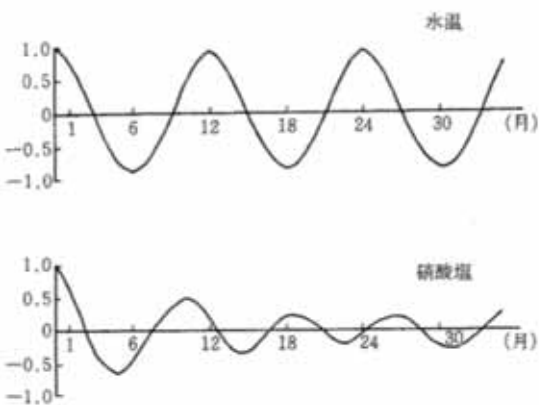


図8 B水源の各項目の系列相関係数によるコレログラム
(縦軸は相関係数、横軸は時差である)

考察

一般に、浅層地下水の水温は地温の影響を受け、地温の年変動は気温よりも1-3ヶ月ずれると言われる²¹⁾。また、水温と気温の年変動がほぼ同時に年較差の大きい地下水は、水位が高く涵養源からの流動時間も短く、地表水の浸透をよく受けており、変動にずれがあって年較差の小さい地下水は、水位も低く涵養源からの流動時間もながいと言われている。

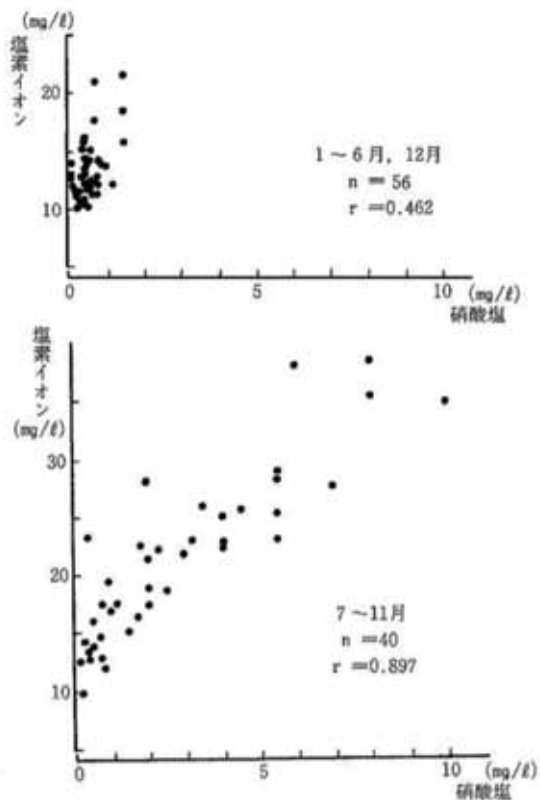


図10 A 水源の硝酸塩と塩素イオンの散布図

A井戸の水質は、12ヶ月の一定周期のS変動をもち、年較差が大きく、月平均気温との間に時差が認められない。従って、A井戸は、地下水位が高く涵養源からの流動時間も短く、地表水の影響を受けやすいものと考えられる。一方、B井戸の水質は、12ヶ月周期のS変動を示すがその変動幅は小さく、月平均気温との間にほぼ2ヶ月の時差が認められる。従って、B井戸は、地下水位が低く涵養源からの流動時間もながく、地表水の影響を受けにくいと考えられる。

塩素イオンは、すべての天然水中に見出されるが、一般には地中に起源をもち、塩素イオンの変動は異種の水の混入を示すと考えられる¹²⁻¹⁴。また、人間活動に起因する汚染の指標とされている成分でもある。

A、B両井戸の塩素イオンは、経年的に増加の傾向を示している。従って、両井戸において、人間活動による汚染の影響が年々進行しているものと推測される。

井戸水の硝酸塩は、基本的には土壤中の硝酸塩に由来すると考えられる。一般に、土壤中の硝酸塩は土壤中の有機質に由来し、春から夏にかけて、乾土効果や昇温効

果によって増加すると言われる¹⁵⁻¹⁷。また、この時期は降雨や田用水により地表水の浸透量も増加するので、これに伴う地表からの硝酸塩の浸透や土壤中の硝酸塩の流出によって、井戸水中の硝酸塩が増加することが推測される。このように、井戸水中の硝酸塩は外からの直接的な汚染の影響を受けなくとも、土壤中硝酸塩の変動に伴い季節変動を示すと考えられる。その変動は、通常では0~3 ppm程度であると思われる^{4, 13, 18, 19}。A井戸の硝酸塩は、7~11月に著しい山をもつ12ヶ月周期の季節変動を示し、その山にあたる時期の濃度は通常よりも著しく高い。また、塩素イオンとの相関関係は、7~11月に強くその他の時期ではそれほど強くない。以上から、A井戸は、7~11月に人為的汚染を示す地表水の直接的な影響を受けていることが推測される。B井戸の硝酸塩は、季節変動は認められたが、はっきりした周期性は認められず、その濃度も通常のレベルであると言える。また、塩素イオンとの間に相関関係は認められなかった。従って、B井戸の硝酸塩の変動は、自然的なレベルであると考えられ、地表水の直接的な影響を受けていないことが推測される。

両井戸における塩素イオン及び硝酸塩の変動パターンの特徴は、井戸の周辺環境に大きな違いはないと思われる(図1)ので、人為的な汚染源の有無やその大きさの違いの影響というよりも、井戸の性格(構造・深さ・地質など)の違いによると考えられる。従って、塩素イオンと硝酸塩の変動パターンは、先に水温の変動パターンから考察した両井戸の性格を裏付けていると思われる。そして、このような推察は、実際の井戸の状況(表1)とも矛盾しないと言える。

ある井戸の水質を把握しようとする場合、一般には夏期と冬期の2回調査が行われている³⁻⁵。これは、本研究の結果からもうなずけるところである。しかし、井戸の性格によっては、水質変動の山や谷がこの両時期に一致して表れないことや、一定の周期をもたないことも考えられる。従って、水質把握という目的にとって夏期と冬期という一律的な調査時期の選定はあまり合理的ではないと考える。水温の変動パターンから推測される井戸の性格と、塩素イオン・硝酸塩の変動とが矛盾せず、実際の井戸の状況とも一致することから、水温の変動パターンを知ることによって水質変動パターン予測の可能性がうかがえる。水質変動パターンが予測できれば、より合理的な水質調査の指針が得られ、これまで以上の高い確率で井戸水の衛生的安全性が判断できるものとする。

今回は、わずか2ヶ所の井戸についての考察であり、

かつ、地下水の水質に大きく影響する地質との関係も検討していない。従って、本研究では水質変動パターン予測の可能性が示されたに過ぎない。しかし、今後より多くの井戸について、地質も含めた井戸の性格と水質変動パターンとの関係を明らかにしていけば、この可能性が現実的なものになると考える。

まとめ

井戸水の水質変動パターンを明らかにするために、性格の異なる2つの井戸の過去10年間の水質データを時系列解析の手法を用いて検討した。

1) 水温の変動パターン：水位の高いA井戸では、12ヶ月周期の季節変動がみられ、月平均気温との間に強い正の相関関係が認められた。水位の比較的低いB井戸においても、12ヶ月周期の季節変動がみられたがその変動幅は小さく、月平均気温との間にはほぼ2ヶ月の時差が認められた。

2) 塩素イオンの変動パターン：A井戸では、経年的増加の傾向があり、12ヶ月の周期をもつ季節変動も認められた。B井戸では、経年的増加の傾向はあるものの、季節変動は認められなかった。

3) 硝酸塩の変動パターン：A井戸では、経年的増加の傾向と、7～11月に鋭い山をもつ12ヶ月周期の季節変動が認められた。B井戸では、経年的増加の傾向はないが、季節変動はみられた。しかし、その周期性ははっきりしなかった。

4) 硝酸塩と塩素イオンとの関係：A水源では、7～11月とその他の時期とで相関関係が異なり、前者では強い正相関を示し、後者では強い相関関係は認められなかった。B水源では、相関関係が認められなかった。

5) 以上のことから両井戸の性格（深さ・構造の違いによる地表水等の影響の受けやすさなど）を推測することができ、実際の状況と矛盾しなかった。そして、水温の変動パターンを知ることによって、水質変動パターン予測の可能性が示唆された。

おわりにあたり、井戸の状況などの資料を快く提供いただいた宇部市水道局浄水課の方々に感謝します。また、本研究を行うにあたり御指導いただいた当所所長田中一成博士ならびに統計処理の方法について助言いただいた同病理部松村村健道博士に感謝いたします。

文 献

- 1) 松村健道ほか：山口獣医学雑誌，8，29-34 (1981)
- 2) 村下敏夫：地下水学要論，162-168 (1975)，昭晃堂
- 3) 桜井善雄：農業土木学会誌，43，518-524 (1975)
- 4) 小倉紀雄ほか：水道協会誌，529，32-41 (1978)
- 5) 有賀秀子ほか：日本公衛誌，27，72-76 (1980)
- 6) 宇部市水道局浄水課：水質試験年報，1-11 (1964-1974)
- 7) P.G. Hoel, *Elementary Statistics* (1960)：浅井晃ほか訳：初等統計学，198-215，培風館
- 8) 円山由次郎：新版需要予測と経済時系列分析，112-348 (1974)，日本生産性本部
- 9) 阿部喜三：新版経済統計学，9-12 (1980)，日本評論社
- 10) 鈴木栄一：気象統計学，121-125 (1980)，地人書館
- 11) 岸根卓郎：理論応用統計学，122-130，188-217 (1980)，養賢堂
- 12) 杉崎隆一ほか：地質雑誌，67，427 (1961)
- 13) 半谷高久：水質調査法，227-229 (1960)，丸善
- 14) 半谷高久編：汚染水質機構，234-240 (1973)，共立出版
- 15) 越野正義：科学，45，603-610 (1975)
- 16) 吉田武彦ほか：科学，45，592-594 (1975)
- 17) 矢木博：用水と廃水，18，297-302 (1976)
- 18) 宮原淳雄ほか：山口衛研業績集，1，41-61 (1963)
- 19) 岡沢和好：用水と廃水，16，1369-1373 (1976)

イオウ化合物存在下のピリジン-ピラゾロン法 によるシアン物の吸光度定量

山口県衛生研究所 (所長: 田中一成)

福田 哲郎・松村 宏・山本 征治・実近 祐治

Spectrophotometric Determination of Cyanide by the Pyridine
Pyrzalone Method in the Presence of Sulfur Compounds

TETSURŌ FUKUDA · HIROSHI MATSUMURA
SEIJI YAMAMOTO · YUJI SANECHIKA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. TANAKA)

1 緒 言

われわれは日常検査において、環境試料中に硫化物イオン、亜硫酸イオン及びチオ硫酸イオン等のイオウ化合物が含まれていることをしばしば経験する。シアン分析の際、これらの試料溶液をリン酸酸性下で加熱蒸留すると、シアンと共に硫化物イオンや亜硫酸イオンなども留出して、ピリジン-ピラゾロンによる発色を妨害する。これらの妨害を除去する方法として、留出液に過マンガン酸カリウム溶液を加えて酸化したり、あるいは鉛塩などで硫化物イオンを沈殿除去した後、再び蒸留する方法等が行われている。また、大西らは有害の程度が小さい硝酸ビスマス溶液を留出液に加え、硫化ビスマスの沈殿を生成したまま、濾過を行わず、再び蒸留する方法を報告している¹⁾。これらの方法はいずれも操作に時間を要するし、沈殿除去法では沈殿剤添加の終点が不明瞭という難点がある。

そこで、硫化物イオンの沈殿剤として硝酸ビスマス溶液を、また亜硫酸イオンの沈殿剤として塩化バリウム溶液をこれら妨害物質の濃度にかかわらず一定量添加し、生成する沈殿を除去した後、再び蒸留することなく、濾液をただちにピリジン-ピラゾロン法で測定する方法につき検討した。なお、亜硫酸イオンについては、バリウム添加後、濾過を行わず、再び蒸留する方法も試みたので併せて報告する。

2 試薬及び装置

硫化物溶液：特級硫化ナトリウム九水和物7.49 g を水に溶かし1 l とする(1.0mgS²⁻/ml)。使用のつど、この溶液をヨウ素滴定で標定した後、適宜希釈して種々の濃度の硫化物溶液を作る。

亜硫酸溶液：特級亜硫酸ナトリウム(無水)1.57 g を水に溶かし100ml とする(10mgSO₃²⁻/ml)。この溶液は使用のつど調整し、適宜希釈(1 N 水酸化ナトリウム溶液を1/20量加える)して種々の濃度の亜硫酸溶液を作る。

ビスマス溶液(40mgBi³⁺/ml)：特級硝酸ビスマス五水和物9.28 g を1 N 硝酸に溶かし100ml とする。

バリウム溶液(50mgBa²⁺/ml)：特級塩化バリウム二水和物8.89 g を水に溶かし100ml とする。

1%ニトロプルシドナトリウム溶液：特級ニトロプルシドナトリウム1 g を水に溶かし100ml とする。

0.1%酸性フクシン溶液：酸性フクシン0.1 g を水に溶かし100ml とする。

緩衝液：特級リン酸二水素カリウム1 g と特級リン酸一水素カリウム10 g を水に溶かし100ml とする。この緩衝液は、亜硫酸イオンの判定試験に用いる。

上記以外の溶液は JIS に従い調製した。

濾紙：東洋濾紙No. 7 を用いた。

シアン化水素蒸留装置：JIS に規定された装置を用いた。

分光光度計：日立101形分光光度計、10×10mmセルを用いた。

3 操 作

試料溶液を JIS に従って、加熱蒸留を行う。受器には1 N 水酸化ナトリウム溶液20ml を入れ、留出液及び冷却管等の洗液を合せて、約150ml とする。この溶液について硫化物イオン及び亜硫酸イオンの判定試験を行う。

判定試験

(a) 硫化物イオン濃度の判定

留出液1滴を試験管にとり、これに1 N 水酸化ナトリ

ウム溶液 2 滴と、1%ニトロプルシドナトリウム溶液 1 滴を加え、混合する。同様の操作を 10ppm、100ppm の硫化物溶液について、留出液と同時に行い、黄色から茶褐色に変化する色調を比較し、留出液の硫化物イオンが (10~100)ppm の範囲に入るかどうか判定する。

ニトロプルシド反応について

- i) 反応確認の限界濃度：10ppm
- ii) pH による影響：中性溶液とアルカリ性溶液 (pH13) について比較すると、色調に差がない。
- iii) 亜硫酸イオンによる反応：亜硫酸イオン 1000ppm でも反応しない。

(b) 亜硫酸イオン濃度の判定

留出液 1 滴を試験管にとり、これに緩衝液 8 滴と、0.1%酸性フクシン溶液 (1~8) 滴を加え、混合する。同様の操作を 50ppm、1000ppm の亜硫酸溶液について、留出液と同時に行い、赤色の脱色の度合を比較し、留出液の亜硫酸イオンが (50~1000)ppm の範囲に入るかどうか判定する。

フクシンの脱色反応について

- i) 反応確認の限界濃度：50ppm
- ii) pH による影響：中性溶液とアルカリ性溶液 (pH13) について比較すると、中性溶液の方が強く脱色する。
- iii) 硫化物イオンによる脱色：硫化物イオン 100ppm で、亜硫酸イオン 50ppm 程度の脱色を示す。

妨害物質除去

判定試験の結果にもとづき、以下のとおり操作を行う。

1) 硫化物イオン (10~100)ppm の場合

図 1 の 1) に示すように、留出液にビスマス溶液をゆっくり滴下しながら 7.5ml 加え、20 分間激しく攪拌する。しばらく放置後、濾過を行う。

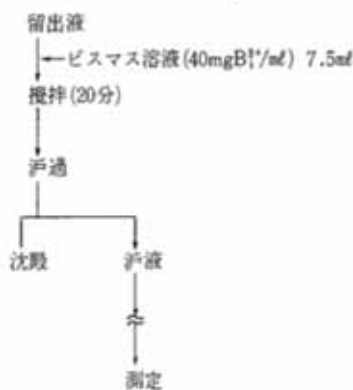
2) 亜硫酸イオン (50~1000)ppm の場合

図 1 の 2) - i) に示すように、留出液にバリウム溶液 8 ml を加え、10 分間攪拌する。しばらく放置後、上澄液について再度判定試験を行う。その結果、亜硫酸イオンが 50ppm 以下ならば、濾過を行い、10%エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水塩 (EDTA) 溶液 10ml を加える。亜硫酸イオンが 50ppm 以上ならば、さらにバリウム溶液 8 ml を加え、上記と同様に操作する。

なお、留出液に多量の炭酸イオンが含まれる場合、別法として図 1 の 2) - ii) に示すように、この溶液を酢酸 (1+1) で pH 8 に pH メーターで調整し、直ちに蒸留装置にセットする。次に酢酸 (1+49) 30ml 及びバリウム溶液 8 ml を加え、再び蒸留を行う。受器には 1N 水酸化ナトリウム溶液 20ml を入れ、留出液及び冷却管等の洗液を合せて約 150ml とする。

ついで 1) あるいは 2) の溶液にフェノールフタレイン指示薬を加え、酢酸 (1+1) で中和後、水で 200ml とする。この溶液 20ml をとり、以下 JIS のピリジン-ピラゾン法により操作する。

1) 硫化物イオン (10~100)ppm の場合



2) 亜硫酸イオン (50~1000)ppm の場合

i) 本法



ii) 別法 (炭酸イオン多量の場合)



図 1 妨害物質除去操作

4 結果及び考察

硫化物イオンを含む試料溶液について

1) 硫化物イオンの影響

シアンイオン0.2ppmにおいて、硫化物イオンは10ppmで負の妨害を示したが、クロラミンTを定法の2倍量加えることにより、20ppm程度まで妨害を認めなかった。

2) ビスマス(III)による硫化物イオンの妨害除去効果

まずビスマスのシアンイオン測定に及ぼす影響を調べ、表1に示した。シアンイオン40 μ gを含む留出液にビスマス(50~300)mgを加えたところ、シアン回収率は(93~99)%で、添加量がこの範囲ではビスマスの影響は認められなかった。

これより、シアンイオン40 μ gと硫化物イオン(0~20)mg含む留出液に、硫化物イオン濃度にかかわらずビスマス一定量を加えることにした。硫化物イオン20mgの妨害除去には、ビスマス最低120mgを必要とした。そこ

表1 ビスマス(III)の影響

添加CN ⁻ (μ g)	Bi ³⁺ (mg)	CN ⁻ 測定値 (μ g)	回収率 (%)
40.0	0	38.8	97
40.0	50	37.6	94
40.0	100	38.8 \pm 0.5 [†]	97
40.0	150	37.0	93
40.0	200	37.6 \pm 0.8 [†]	94
40.0	300	39.4	99

n = 2, †については n = 5

でビスマス120mgを加えると、図2に示すように、回収率は硫化物イオン2mg, 20mgでそれぞれ94%, 96%と良かったが、硫化物イオン(5~15)mgの間では(60~74)%と低く、期待に反する結果になった。ビスマス200mgの添加では、硫化物イオンが15mgより多くなると回収率は低下し、硫化物イオン20mgにおいては66%であった。また、ビスマス300mgの添加では、吸着などにより若干回

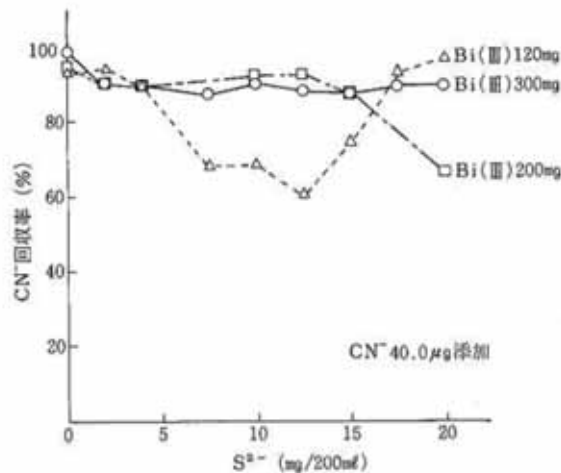


図2 ビスマス(III)による硫化物イオンの妨害除去効果

収率の低下がみられるが、硫化物イオン(2~20)mgの範囲で(87~90)%とはほぼ一定であった。このように、硫化物イオン量とビスマス量との関係において、一定のシアン回収率が得られなかった原因については不明であるが、硫化物イオン当量に対してビスマスをほぼ等しいか、あるいはかなり過剰に加えた場合に、シアン回収率が良いことがわかった。なお、硫化物イオン2mg及び20mgにおいて、ビスマス300mgを加え、5回繰り返しシアンを測定した場合の相対標準偏差は、それぞれ1.8%, 1.5%であった。

3) 環境試料における本法と酢酸亜鉛処理法との比較

某河口で採取した黒色タール状の底泥について、測定した結果を表2に示した。供試底泥5.0g(湿)から得られた留出液中の硫化物イオンは7.7mgで、シアンを検出しなかった。この底泥5.0g(湿)にシアンイオン40 μ gを加え、本法によりシアン回収率を求めたところ、73%であった。また、留出液にビスマス60mgまたは300mgを加えて硫化物イオンを沈殿除去した汚液に、シアンイオン40 μ gを加えたものについても、シアン回収率は両方とも約70%と悪かった。さらに表2に示すように、留出液を酢酸亜鉛で処理した後、再蒸留というJISの操作

表2 環境試料測定

試料	供試量 (湿g)	CN-理論値 (μ g)	留出液のS ²⁻ (mg)	留出液のSO ₄ ²⁻ (ppm)	操作	CN-測定値 (μ g)	回収率 (%)	相対標準偏差 (%)
河口の底泥	5.0	40.0	7.7	<50	本法	29.4 \pm 0.9	73	3.1
					酢酸亜鉛→再蒸留	27.6 \pm 2.1	69	7.6

n = 5

法でも、シアン回収率は69%で、本法とはほぼ同じ結果が得られた。なお、底泥の強熱減量は13%とかなり有機物を含んでおり、留出液にも異臭があった。

これらのことから、この試料には他の妨害物質が含まれている可能性があり、今後さらに研究する必要がある。

亜硫酸イオン、チオ硫酸イオンを含む試料溶液について

1) 亜硫酸イオンの影響

チオ硫酸イオンを含む試料溶液も、酸性下で蒸留すると、亜硫酸イオンが留出する。

シアンイオン0.2ppmにおいて、亜硫酸イオンは図3に示すように、50ppmを境に負の妨害を示す。

2) 1) 本法のバリウムによる亜硫酸イオンの妨害除去効果

まずバリウムのシアンイオン測定に及ぼす影響を調べ、表3に示した。シアンイオンを40 μ g含む留出液にバリウム(100~400)mgを加えると、添加量が(200~400)mgの範囲では、バリウムは若干正の妨害を与え、400mg添加時のシアン回収率は103%であった。このことからシアンイオン40 μ gと亜硫酸イオン(0~200)mg含む留出

液に、亜硫酸イオン濃度にかかわらずバリウムを一定量加えることにした。亜硫酸イオン200mgの妨害除去には、バリウム最低400mgを必要とした。そこでバリウム400mgを加えると、図3に示すとおり、亜硫酸イオン(5~200)mgの範囲でシアン回収率は100%であった。なお、亜硫酸イオン10mg及び200mgにおいて、5回繰返しシアンを測定した場合の相対標準偏差は、それぞれ0.3%、0.5%であった。

2) 2) 別法のバリウムによる亜硫酸イオンの妨害除去効果

表4に示すように、シアンイオン40 μ gと亜硫酸イオン(0~200)mg含む留出液に、バリウム400mgを加え、シアン回収率を求めると、(90~94)%と良い結果が得られた。

次に、留出液に炭酸イオンが含まれる場合、pH約8以上でバリウムは炭酸イオンに消費され、亜硫酸イオンの除去に過剰のバリウムを要する。そこで上記の留出液に炭酸イオン400mgを加え、炭酸イオン存在下のバリウムによる亜硫酸イオンの妨害除去について調べたところ、シアン回収率(91~94)%が得られ、バリウムは炭酸イオ

表3 バリウムの影響

添加CN ⁻ (μ g)	Ba ²⁺ (mg)	CN ⁻ 測定値 (μ g)	回収率 (%)
40.0	100	39.9	100
40.0	200	40.3	101
40.0	300	40.8	102
40.0	400	41.0	103

n = 2

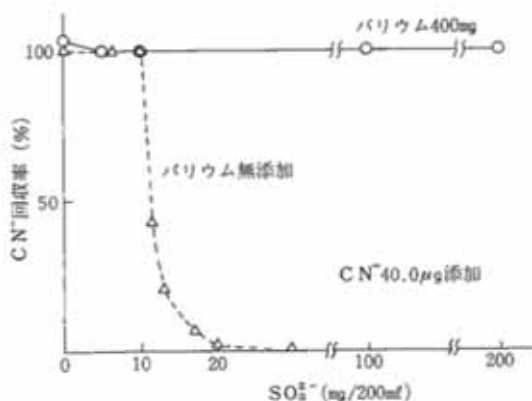


図3 亜硫酸イオンの影響及び本法のバリウムによる亜硫酸イオンの妨害除去効果

表4 別法におけるSO₃²⁻及びCO₃²⁻の影響

添加CN ⁻ (μ g)	SO ₃ ²⁻ (mg)	CO ₃ ²⁻ (mg)	Ba ²⁺ (mg)	CN ⁻ 測定値 (μ g)	回収率 (%)
40.0	0	0	400	37.6	94
40.0	10	0	400	35.8	90
40.0	100	0	400	36.2	91
40.0	200	0	400	36.0	90
40.0	0	400	400	37.5	94
40.0	10	400	400	37.0	92
40.0	100	400	400	37.0	93
40.0	200	400	400	36.4±0.6†	91

n = 2, †については n = 5

ンには消費されず、亜硫酸イオンを除去していることがわかった。

3) 環境試料における本法、別法及び過マンガン酸カリウム酸化法との比較

A繊維工場の燃えがら及びBパルプ工場の汚泥から得た溶出試験溶液について、測定した結果を表5に示した。ここで、A試料溶液のシアン理論値123 μ gは標準添加法で求めた値であり、一方B試料溶液100mlにはシアンが検出されなかったため、シアンイオン40 μ gを加えた。

留出液中の亜硫酸イオンは、A試料溶液(200~300)ppm、B試料溶液(700~800)ppmで、共に1000ppm以下であるにもかかわらず、亜硫酸イオンの妨害除去のためのバリウム添加400mgではなお不十分で、それぞれ最低700mg、500mgの添加が必要であった。このように、所定量以上のバリウムを要した原因は、留出液に多量の炭酸イオンが含まれ、バリウムが炭酸イオンに消費されたためと考えられる。

なお硫化物イオンは両試料溶液とも蒸留により、イオンとして冷却管に附着し、また留出もしたが、留出液中

の硫化物イオンとしては10ppm以下であった。

次に表5に示すように、本法と過マンガン酸カリウム酸化法とを比較すると、5回繰返しシアンを測定した場合、本法の方がシアン回収率94%、100%、相対標準偏差1.0%、0.3%といずれも優れている。

また留出液に多量の炭酸イオンが含まれているため、表5に示すように、A試料溶液について別法も試みた。バリウム400mgの添加で、5回繰返しシアンを測定すると、シアン回収率92%、相対標準偏差1.1%と良い結果が得られた。

表5 環境試料測定

試料	供試量 (ml)	CN ⁻ 理論値 (μ g)	留出液のS ²⁻ (ppm)	留出液のSO ₄ ²⁻ (ppm)	操作	CN ⁻ 測定値 (μ g)	回収率 (%)	相対標準偏差 (%)
A	80	123	<10	200 300	本法(Ba ²⁺ 800mg)	116 \pm 1	94	0.9
					別法(Ba ²⁺ 400mg)	113 \pm 1	92	1.1
					KMnO ₄ 酸化	75.0 \pm 4.1	61	5.5
B	100	40.0	<10	700 800	本法(Ba ²⁺ 800mg)	39.9 \pm 0.1	100	0.3
					KMnO ₄ 酸化	27.6 \pm 2.1	69	7.6

n = 5

5 まとめ

1) 硫化物イオン(0~20)mgあるいは亜硫酸イオン(0~200)mgのみ含む留出液について、それぞれ本法で操作すると、シアン回収率及び再現性とも良好で、簡易、迅速に測定できた。

2) 硫化物イオンを含む環境試料(河口の底泥)では、シアン回収率は約70%と悪かった。しかしながら、酢酸亜鉛処理法でも同じ回収率を示すことなどから、低回収率の原因は本法に問題があるよりも、試料に他の妨害物質が含まれていることにある可能性が高い。

3) 亜硫酸イオンまたはチオ硫酸イオンを含む環境試料(繊維及びパルプ工場の産業廃棄物の溶出試験溶液)で、留出液に多量の炭酸イオンが含まれていたものについては、通常のバリウム添加量の2倍量の800mgを加えることにより、シアン回収率及び再現性とも良い結果が得ら

れた。

また別法によると、炭酸イオンが多量に含まれていても、バリウムは炭酸イオンに消費されず、バリウム400mgと本法の1/2量の添加でシアン回収率及び再現性とも良い結果が得られた。

文 献

- 1) JIS K 0102 (1974) 及びその解説
- 2) 神奈川県公害センター編：公害関係の分析法と解説、P.46 (1974)
- 3) 大西 寛、川島富美枝：分析化学、29、219~221、(1980)
- 4) 厚生省環境衛生局水道環境部編：上水試験方法、P.279 (1978) 日本水道協会

蚊の吸血習性について

山口県衛生研究所（所長：田中一成）

遠藤 隆二・板垣 国昭・松村 健道

Blood-feeding Habits of Mosquitoes Captured
in Yamaguchi City, Japan

Ryuji ENDO・Kuniaki ITAGAKI・Kendo MATSUMURA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

蚊の発生动態とその背景の解明は、蚊によって伝播される疾病の予防撲滅対策上重要な課題であり、数多くの研究業績が発表されている。それらのうち、蚊の発生消長調査は、効率的な蚊の捕集を基本的条件の一つとしていることから、一般にドライアイスや畜舎に網集する蚊を捕えているものが多い。しかしそれらの方法で得られたものは、吸血活動性の蚊を捕えているものであり蚊の吸血習性、特に嗜好性の問題を解明する必要がある。蚊の吸血動物嗜好性に関する業績の多くは、野外吸血蚊を捕虫網などで捕え、その吸血液から吸血された動物種を血清学的に判定する方法や、畜舎に網集する蚊の数と種構成などから嗜好性を判断している。このような方法は前者では、野外棲息動物の種構成の把握が困難であること、後者では、畜舎内飼育動物が多くの場合一種であることなどにより吸血動物嗜好性を正確に反映したものとはいえない。このようなことからわれわれは、水田地帯において一般的に飼育されている動物を主体に7種の動物を同一畜舎内で飼育し、そこに網集する蚊の季節的消長と吸血習性について調査した。

調査方法

蚊の捕集場所：山口市中部の水田地帯において、北側と東側に風除けとして竹が帯状に植込まれている畜舎を使用した。畜舎内には、通常4頭の牛が飼育されていたが調査のため、豚、犬、鶏および鳩各2個体とマウス40個体を図1に示すよう配置して飼育した。なお牛および豚は柵で仕切り、犬は鎖でつなぎ、他の動物はケージに入れて、入口および畜舎の壁板の間隙より侵入した蚊が、いずれの動物も吸血出来るようにした。

蚊成虫の捕集：ライトトラップは、各飼育動物から出来るだけ等しい距離になるよう畜舎の中央に設置し、各動

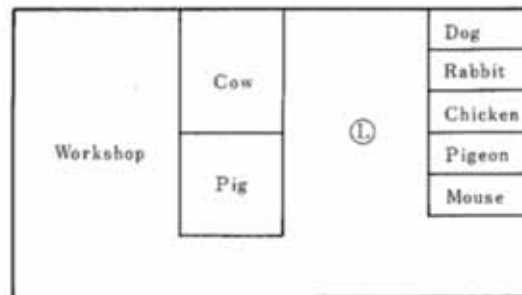


図1 畜舎動物配置図

物を吸血した蚊の捕集条件を揃えるようにした。

調査期間：1980年7月1日より9月30日の間、週2回、日没より翌朝までライトトラップを点灯し、点灯開始日を蚊の捕集日として記録した。

捕集蚊の処理：捕集した蚊は翌朝実験室に持ち帰り、クロロホルム麻酔後、種の同定および吸血の有無を判定した。ただし、大量に捕集された場合には、同定時間を短縮するため、便宜的に大型昆虫を取り除いた後、全重量を計りその5～10%の個体について同定して、百分比から捕集蚊数を算出した。

吸血蚊の判別：腹部が赤色膨満したものおよび、肉眼的に凝固血液塊を認めるものを吸血蚊と判定した。

蚊の吸血源動物の判定：吸血コガタアカイエカの一部の個体について、血色素沈降素検査法により行った。検査は、あらかじめ牛、豚、犬、鶏の各血球で家兔を免疫して、特異抗血清を作製し、これに蚊の腹部内容を0.1M磷酸緩衝液で浸出、破砕したものを抗原として、蚊一個体ごとに抗血清と反応させた。供試蚊数は、一動物抗血清当り、440個体、計1760個体である。

気象資料：山口県気象月報に登載された、山口市の観測値を使用した。

結果および考察

1. 蚊の捕集状況

表1に示すとおり4属7種623875個体で、そのうち雄が329個体含まれていた。雌の種別百分比をみると、コガタアカイエカが全体の82.6%、シナハマダラカ16.2%を占め、その他の種は極めて少数ずつであった。

表1 種別捕集数

種	雄	雌
<i>C. tritaeniorhynchus</i>	182	514975
<i>C. pipiens</i>	97	7273
<i>C. orientaris</i>		162
<i>C. bitaeniorhynchus</i>		63
<i>An. sinensis</i>	50	100933
<i>A. vexans</i>		111
<i>Ar. subalbatus</i>		29

2. コガタアカイエカの消長

捕集数の多かったコガタアカイエカの消長と日平均気温、降水量および農薬散布日を図2に示した。調査開始時期が遅く、蚊の活動初期の状況を把握し得なかったが、調査を開始した7月上旬すでに盛期にあり、漸増しながら8月上旬に最高捕集数を記録した。その後やや減少するものの、8月下旬まで盛期が続き、9月に入ると急速

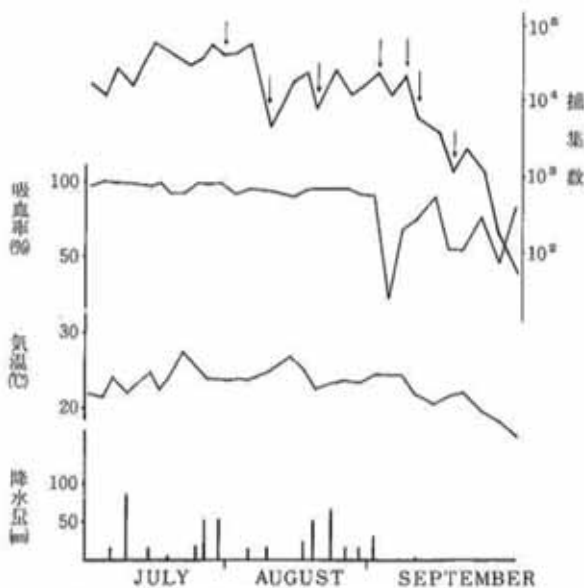


図2 気象条件と蚊の消長および吸血率の推移
↓は農薬散布を示す。

に減少傾向を示した。消長と日平均気温の関係を捕集数の上からみると、7月上旬から下旬にかけて、気温の上昇と共に漸増傾向を示し、その後8月下旬までは気温と特別な関係がみられず、9月に入ると、気温の低下と共に減少するなど、一定条件下での関連性がうかがえた。石田ら¹⁾はトラップ捕集蚊数は、蚊の生理的条件や採取時の気象条件などに強く影響される蚊の activity を鋭敏に反映することを指摘しているごとく、本調査が畜舎侵入蚊を対象としたものであるため捕集数は、蚊の発生数と蚊の生理的吸血活動とに密接な関係を示しているものと思われる。蚊の吸血活動を抑制する因子として、吉田ら²⁾は末吸血蚊の飛翔開始下限温度を20℃とし、河合らは³⁾21~27℃の温度範囲では、日長が休眠性を決定し、温度はほとんど影響しないことを報告している。しかし伊藤らは⁴⁾、コガタアカイエカの吸血率は日長12時間30分、気温25℃である9月中旬頃より急激に低下するなど、蚊の吸血活動が気温と日長に影響されることを報告した研究者は多い。

本調査では、日平均気温が20℃以下となるのは、9月末であったが、調査日に日最低気温が20℃以下を示したのは7月、8月、に各1日のみであったのに対し、9月に入ると毎日であった。これらのことから、7月における捕集数の漸増傾向は、気温の上昇に伴う蚊発生数の増加を反映したもので、9月上旬からの減少は、日最低気温の低下と短日効果が相乗的に働き、吸血活動の低下を示しているものと思われる。

蚊の消長に対する降雨の影響は、ドライアイス・トラップ捕集法では降雨日に捕集数が著しく減少することを経験しているが、今回の調査では著明な影響がみられなかった。ドライアイスを用いた捕集では一時的な炭酸ガスの拡散による誘引であるため、雨により炭酸ガスの拡散と蚊の飛翔が妨げられる結果、捕集数が減少するものと考えられる。これに対し、畜舎内トラップの場合、和田ら⁵⁾が吸血源に近いほど末吸血蚊の密度が高いと指摘しているように、蚊は動物体より常時発散される炭酸ガスのため、畜舎周辺に網集し、誘引距離が短く降雨の影響を受けることが少なかったものと思われる。

農薬散布の影響は今回の調査では使用量を正確に調査し得なかったため詳細に検討することは出来なかった。しかし、7月、8月に散布された農薬は散布前後の捕集蚊数の変動からみて著明な影響は認められなかった。

3. 吸血率

捕集した蚊のうち、水田地帯多産3種の吸血率はコガ

アカイエカが最も高く、91.6%、シナハマダラカ74.4%、アカイエカ51.6%であった。これらの種別吸血率は、山口県内の豚舎で調査した著者らの成績と比較すると、シナハマダラカでは差がみられなかったが、アカイエカ、コガタアカイエカでは、今回の方が高かった。蚊の吸血率は中島らによると、同一畜舎に設置した2個のトラップ間の吸血率は、シナハマダラカでは差が小さく、コガタアカイエカでは大きく、同一畜舎でもトラップの設置位置により吸血蚊の捕集能が異なるという。また、中村らは、畜舎内動物種が異なると吸血率に差がみられることを示している。このようなことから今回の高い吸血率は、畜舎内に設置したトラップの位置が吸血蚊の捕集に適していたことと畜舎内に蚊が強い嗜好性を示す牛や豚が存在し、吸血行動を活発化したことなどが考えられる。

以上蚊の吸血率が、種やトラップ設置場所および畜舎内動物により差が生じることは、畜舎内での蚊の行動が種により異なることを示すものと考えられる。これらの行動差が、炭酸ガス、体温、体臭などの吸血源刺激と光刺激に対する定位反応に基づく結果であるとするれば、光刺激はトラップ周辺の比較的近距离の蚊に作用し、吸血源刺激は広い範囲に有効であることを示す。更にこれら2つの刺激源に対する反応はアカイエカでは、吸血前後で差が少なく、コガタアカイエカでは吸血前は吸血源に、吸血後は光により強い正の走性を有することを示唆するものと思われる。

コガタアカイエカの吸血率の推移をみると図2のとおりで、7月、8月は変化が少なく、高い吸血率を示すが、9月に入ると低下し、しかも捕集日による変動が大きくなった。9月における低い吸血率は、前述したごとく短日効果と気温の低下によるものと考えられる。なお、武衛らは牛舎での吸血率は、コガタアカイエカの場合、活動が最盛期になる7月中旬から8月上旬に74~97%に達し、中旬を過ぎると50%前後に低下するといひ、本調査成績と類似した傾向があり、本種の一般的吸血活動は7、8月が盛期で9月に入ると低下するものと思われる。また、降雨と糞棄散布は、7、8月の盛期には吸血率にほとんど影響しない結果であった。

以上、蚊の吸血率と捕集数の上からみると、畜舎侵入蚊の消長は、7、8月には蚊の発生母集団の増減を示すとしても、9月以降は、捕集日における吸血活動の好適条件を反映するもので、必ずしも野外棲息蚊の動態を反映するものとはいえないものと思われる。

4. コガタアカイエカの吸血嗜好性

コガタアカイエカの吸血状況は、表2に示すとおりで、牛および豚の2種を吸血した、いわゆる“重複吸血個体”が7%以上存在することが示された。なお鶏吸血蚊を検査した抗血清は場に対し類属反応が認められたため、鳥類として扱うこととした。

表2 コガタアカイエカの月別吸血源動物

月 別	供試数	吸血率 (%)			
		Cow	Pig	Dog	Bird
July	200	79.0	32.5	0.5	0.5
August	150	66.7	35.3	0.7	0.0
September	90	67.8	37.0	0.0	0.0
Total	440	72.5	34.5	0.5	0.2

コガタアカイエカの吸血対象動物は、爬虫類からの吸血を確認した宮城の報告もあるが、主として恒温動物である。本種が好んで吸血する動物についてschererらは、四動物を用いた実験において鳥類よりも豚に多く集し、伊波、Wadaらは豚舎より牛舎に偏って多く、また、利岡、石田ら、Takahashiらはいずれも捕集蚊の種構成と血清学的調査から牛、豚など大型動物に対する嗜好性が強いことを報告している。われわれの調査は、畜舎に牛、豚、犬、鳥類などを飼育し、侵入蚊は供試動物を自由に選択吸血可能であり、蚊の吸血対象動物別吸血率はそれらの動物に対する相対的な嗜好性の強さを示すものと考えられる。その結果、牛に対する嗜好性が最も強く、豚がそれよりやや弱く、犬および鳥類は極めて弱いものであった。

蚊の重複吸血についてみると、蚊が吸血を開始すると強い刺激がない限り、中断することなく吸血を完了するとされ、野外動物吸血の場合重複吸血は極めて少数である。しかし、利岡は吸血初期に中断させられた蚊は他の宿主を求めただちに再吸血するといひ、今回の調査で重複吸血の多かった理由は、畜舎内に異種動物が混在しているため、吸血を中断された蚊は直ちに別種動物を吸血し易い条件にあったことによるものと思われる。

まとめ

山口市の水田地帯の畜舎で動物7種を飼育し、そこに集する蚊の消長と吸血習性を調査した。その結果を要約すると次の通りである。

- 1) 捕集された蚊は4属7種623875個体で、コガタアカイエカが最も多く、次いでシナハマグラカ、アカイエカの順であった。
- 2) コガタアカイエカの消長は、農薬散布、降水量にほとんど影響されず、7、8月は蚊の発生量を、9月に入ると吸血活動の好適条件を反映した変動を示した。なお、消長のピークは8月上旬にみられた。
- 3) 蚊の吸血率はコガタアカイエカが最も高く91.6%を示し、7、8月にはほとんど変動せず、9月に入ると低下し、短日効果と低温が吸血活動を抑制する結果を得た。
- 4) 蚊の吸血源と光に対する反応は、アカイエカでは吸血前後でほとんど変化せず、コガタアカイエカでは吸血前は吸血源に、吸血後は光に強い走性を示すものと思われた。
- 5) コガタアカイエカの吸血嗜好性は牛に最も強く、次いで豚で、犬、鳥類に対しては極めて弱かった。また牛と豚の重複吸血個体が極めて多かった。

稿を終るに当たり終始ご懇切なご教示とご校閲を賜った
 所長、田中一成博士に厚くお礼申し上げます。

引用文献

1. 石田名香雄 他：日本細菌学雑誌，31 昭51
2. 吉田勝一 他：衛生動物，19：114，昭43
3. 河合潜二，和田義人：衛生動物，20：138，昭44
4. 伊藤寿美子，中村央，吉田正弘：衛生動物，19：112，昭43
5. 和田芳武：衛生動物，20：81-86，昭44
6. 遠藤隆二 他：山口衛研年報，11：58-59，昭43
7. 中島貞夫：大阪府立公衛研所報，公衆衛生編，11：59-62，昭46
8. 中村央，藤戸貞男：大阪府立公衛研所報，公衆衛生編，16：39-43，昭53
9. 武衛和雄 他：衛生動物，19：237-248，昭43
10. 宮城一郎：熱帯医学，14：203-217，昭45
11. Schere, W.F., et al: Am. J. Trop. Med. Hyg. 8：665-677, 1956
12. 伊波茂雄：熱帯医学，12：143-168，昭46
13. Wada, Y., et al: Tropical Medicine, 12：79-89, 1970
14. 利岡静一：お茶の水医学雑誌8：103-113，昭35
15. 石田名香雄 他：最新医学24，1750-1755，昭44
16. Takahashi, M., Yabe, S. and Shimizu, Y. : Japan. J. Med. Biol. 24：163-169, 1971

新生児先天性代謝異常マススクリーニングに関する研究
 —— 山口県における4年余の成績と
 検査上における二、三の問題について ——

山口県衛生研究所 (所長: 田中一成)

野村能子

A Study on Mass-screening for Metabolic Errors in the New Born Infants
 — A Result over Four Years in Yamaguchi Prefecture
 and Some Problems found in Screening Tests —

Yoshiko NOMURA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Kazushige TANAKA)

I はじめに

1970年頃より米国および欧州においてフェニルケトン尿症の新生児マス・スクリーニングが実施され、適切な早期治療により、知能障害を予防しうる事が明らかになった。

わが国の新生児マス・スクリーニングは1977年(昭和52年)から厚生省レベルでフェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症の5疾患を対象に実施された。

厚生省の発表によると、開始から昭和56年度までに全国で6,311,754人受診し、5疾患については計1,098人の患者が発見され早期治療が行なわれている。

また、1979年からクレチン症も対象疾患に加えられ、昭和56年度まで2,984,172人を受診し、377人の患者が発見された。

山口県においては、対象の5疾患は昭和52年12月から、また、クレチン症は昭和54年から実施してきた。今回4年4ヵ月の検査成績とその間に直面した問題点について報告する。

(山口県はクレチン症の検査を大阪血清微生物研究所に委託しているので本論文から除いた)

II 検査方法

1. 対象者

山口県内の医療機関で出生した新生児で、保護者が検査を希望した者を対象にした。ただし、下関市については下関市医師会病院検査センターが実施しているので対象から除外した。

2 採血ならびに検体送付

検体血液は、生後5～7日目の新生児の足踵より穿刺により出た血液を規定の濾紙に浸み込ませる。採血用紙には医療機関名、母氏名、出生日、採血日、哺乳状況および低体重など各記入欄がある。血液は室温で風乾した後山口県衛生研究所に郵送された。

3 検査対象となる疾病

- 1) アミノ酸代謝異常症: フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ヒスチジン血症およびホモシスチン尿症
- 2) 糖質代謝異常症: ガラクトース血症

4 マス・スクリーニング法

- 1) アミノ酸代謝異常症は Bacterial Inhibition Assay (BIA 法) により血中のフェニルアラニン (Phe.), ロイシン (Leu.), ヒスチジン (His.), メチオニン (Met.) の濃度を半定量した。

ヒスチジン血症の疑いのある場合には薄層クロマト法 (TLC) により His. とウロカニン酸 (Uro.) の測定を行った。

Met. 高値者には尿濾紙を用いてホモシスチンの検出をした。

上記のアミノ酸のほか BIA 法によるチロジン (Tyr.) の半定量を加え実施した。

- 2) ガラクトース血症についてはポイトラー法¹⁾によりガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ (G-UT) の酵素活性の有無を確認した。

また、昭和53年9月からポイトラー法⁶⁾にペイゲン⁶⁾の大腸菌・ファージ法を併用した。

ポイトラー法の感度増強：血液濾紙3mmディスク1枚にポイトラー試薬0.1mlを加え、37°4時間反応させてから精製水3mlを加えて、分光蛍光光度計（励起波長340nm，測定波長45.0nm）で蛍光強度を測定する。

著者は蛍光増強法としてポイトラー原法試薬6mlに2%塩化マグネシウム0.2mlを添加した試薬を用いた。

- 3) 「ヌケ」検体はTLCで展開し、Phe, Leu, Metなどアミノ酸を島津2波長クロマトスキャナー（CS910）で定量した。⁸⁾ 標準血液濾紙（富士臓器製）の3mmディスク8枚に70%エタノール0.1mlを加え、4*1夜抽出した後、抽出液を濃縮して、TLCセルロースプレートに約1cmの巾でバンドスポットして展開した。展開液はn-ブタノール：酢酸：水=12：3：5である。展開は2度繰り返して0.2%ニンヒドリンアセトン溶液で発色させる。それを島津2波長クロマトスキャナーで（測定波長570nm，対照波長700nm）検出し、ピーク高から検量線を求めた。（図2）

- 5 検査結果の処理基準：表1. にしたがって判定した。

表1 検査結果処理基準

対象 (疾患名)	正常	異常の疑い	異常
ガラクトースウリジルトランスフェラーゼ (ガラクトース血症)	ポイトラー法で蛍光を少しでも有するもの		蛍光のない検体
ロイシン (メープルシロップ尿症)	4mg/dl未満	4~10mg/dl以上 未満	10mg/dl以上
メオチニン (ホモシスチン尿症)	2mg/dl未満	2~8mg/dl以上 未満	8mg/dl以上
ヒスチジン (ヒスチジン血症)	6mg/dl未満		6mg/dl以上
フェニールアラニン (フェニルケトン尿症)	4mg/dl未満	4~10mg/dl以上 未満	10mg/dl以上
甲状腺刺激ホルモン (先天性甲状腺機能低下症) クレチン症	20μU/ml未満	20~50μU/ml以上 未満	50μU/ml以上

III 結果と考察

1 実施状況

当所に検体を送付した医療機関は、病院29，診療所70で、受診率（出生届出数に対する割合）は図1に示すよ

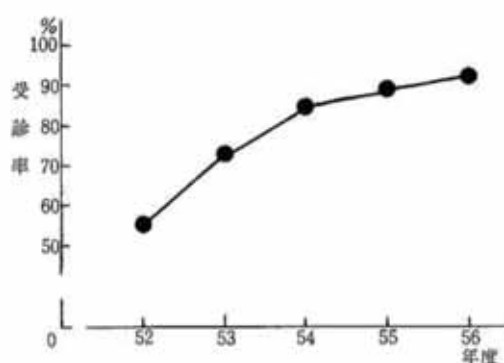


図1. 年度別受診率の推移 (出生届出数に対する割合)

うに年々上昇し、56年度は91.7%となった。本事業が一般に定着しつつあるものと思われる。

表2に検査結果を概括した。検体総数は66,100件で、初検で陽性になったものは総計554件（平均0.8%）であった。項目別にみると、陽性になった割合はTyr.が最も高く0.23%であった。その他のものではMet., His., Gal., G-UTは0.1%，Phe.は0.07%，Leu., 0.04%であった。

陽性者554名を再検査し、44名に精検受診を勧奨し、ヒスチジン血症13名と経過観察3名が発見された。

大浦は再採血があまり多いと家族と主治医の不安と負担が増加し、ひいては不信感を招いて必要な協力がえられなくなることがあると述べ、再採血は一項目0.3%前後に維持することが実用的であるといっている。

厚生省母子衛生課の資料によると患者発見率は、フェニルケトン尿症1/59,900，メープルシロップ尿症1/671,300，ヒスチジン血症1/8,100，ホモシスチン尿症1/145,900，ガラクトース血症1/139,900である。山口県はヒスチジン血症の発見率は1/5,085で、全国平均を上回った。対象疾患の発生率に関しては、民族種の差がみられており、日本でも地域差が予測されている。今後のマス・スクリーニングの進展に伴いより明白となるであろう。

2 「ヌケ」現象の問題

抗生物質の投与を受けた新生児や消毒液によりBIA法のプレート上で発育円を認めない通称「ヌケ」という現象がみられ、陽性者を見落す危険性を持っている。

先天性アミノ酸代謝異常は、その発生率が1万人につき1人以下という低率のもので、スクリーニングによって見落される危険性を防ぐため検査手法の確立

表2 年度別検査成績

年度	項目	件数(%)	Phe.	Leu.	Met.	His.	Gal.		Tyr.	判定不能
							ゴイトラー法	ヘイゲン法		
52	検査件数	3286								
	再採血検査数	16(0.48)	2	0	0	5	5	—	—	4
	精検受診勧奨数	1(0.03)	0	0	0	0	1	—	—	0
	患児数		0	0	0	0	0	—	—	0
53	検査件数	15265								
	再採血検査数	124(0.81)	18	4	11	7	17	15	33	19
	精検受診勧奨数	8(0.05)	0	0	2	3	0	3	0	0
	患児数	3(0.02)	0	0	0	3	0	0	0	0
54	検査件数	15706								
	再採血検査数	152(0.96)	13	6	11	11	16	18	58	18
	精検受診勧奨数	8(0.05)	1	0	1	1	0	2	3	0
	患児数	1(0.01)	0	0	0	1	0	0	0	0
55	検査件数	15966								
	再採血検査数	142(0.89)	6	10	19	22	12	20	31	22
	精検受診勧奨数	17(0.11)	1	1	2	8	0	4	1	0
	患児数	5(0.03)	0	0	0	5	0	0	0	0
56	検査件数	15877								
	再採血検査数	120(0.76)	6	4	23	19	4	22	23	9
	精検受診勧奨数	10(0.06)	1	0	0	6	0	2	1	0
	患児数	4(0.03)	0	0	0	4	0	0	0	0
計	検査件数	66100								
	再採血検査数	554(0.84)	45	24	64	64	63	67	155	72
	精検受診勧奨数	44(0.07)	3	1	5	18	1	11	5	0
	患児数	13(0.02)	0	0	0	13	0	0	0	0

判定不能：枯草菌発育抑制検体，血液が変性して検査できないもの，採血時に哺乳が十分でなかった者，検体が汚染されている疑いがあったもの。

は極めて重要な問題である。

「ヌケ」は Phe., Leu., Met., His. の4項目共にみられるものが，327件(0.5%)であった。

「ヌケ」検体には，一般に蛋白固定が行われている。著者は加熱，70%インプロパノールおよびメタノール・アセトン¹⁰⁾などを用いる固定を試みたが，加熱固定では Met., His. を損失し，溶媒を用いると固定不十分であったり，溶媒の影響を受けるなど，上記アミノ酸に共通して使用できる完全な固定法はなかった。

次いで，TLC, 2波長クロマトスキャナーを用いて，アミノ酸の定量を試みた。図2に検量線を示した。Phe., Leu. の検量線は直線を示し定量に使えるが，Met. とバリン (Val.) トリプトファン (Trp.) との分

離は悪く，条件の検討を要す。したがって，Met. 高値を示す検体に対しては尿濾紙を用いて塩化白金酸法によってホモシスチンの検出を行った。³⁾

上記反応で「ヌケ」検体327件を検査し，35件の再採血をした。再検の結果，全員正常であった。

「ヌケ」検体に対し，高速液体クロマトグラフィーやアミノ酸分析装置を用いる方法が開発されているが，安価で簡便という点で，TLC法を採用した。

3 ヒスチジン血症スクリーニングの問題

表3にBIA法による新生児血中アミノ酸濃度の出現率を示した。Phe., Leu., Met. は判定基準をこえるものは0.02~0.07%であった。細菌成育環の微妙な判定や読み違いなどによる見逃しを防ぐため，基準を1段階下げ，

表3 新生児(生後5~7日)の4アミノ酸血中濃度の出現率(BIA法) (%)

濃度(mg/dl)	<1	1	1-2*	2	2-4**	4	6	8	10	10<
アミノ酸名										
Met.	84.6	14.4	0.9	0.07						
Phe.		79.6		18.8	1.6	0.02				
Leu.		85.0		14.2	0.8	0.03				
His.			82.5			13.5	2.7	0.8	0.4	0.09

太線はカットオフポイント(判定基準の濃度)を表す。* 1 mg/dl以上2 mg/dl未満
** 2 mg/dl以上4 mg/dl未満

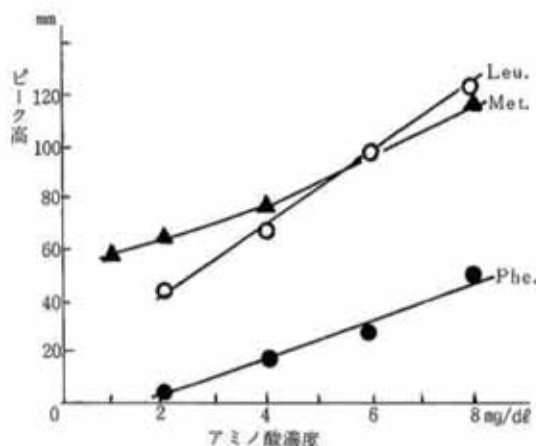


図2. 薄層クロマト2波長クロマトスキャナーによる血液濾紙中アミノ酸の検量線(測定波長570nm, 対照波長700nm, 反射光)

再度同一検体について検査した。検査件数は各項目ごと検査総数の約1%に相当し、再検査の結果見落しはなかった。

His.の基準をこえるものが4%あった。His.血症はヒスチダーゼ欠損に起因する疾患であるので、代謝物ウロカニン酸の有無を検査すればよい。Uro.はTLCにより検出したが、正常の場合には検出される。4 mg/dl以上の検体が総数の17.5%あり、「ヌケ」検体を含め11,895件について、Uro.の検出をした。検出できないか、痕跡程度を認める陽性検体が64件(0.54%)あった。再採血後、同じ方法で再検査し18件が異常となった。精密健康診査の結果、His.血症患者13名、経過観察3名が確認された。

患者らの検査値を表4.に示したが、初検で4 mg/dlであった者が4名いる。疑陽性を6 mg/dl以上にしたら、これら4名は発見もれとなる。血中His.は不安定で、郵送中に濃度が低下すると云われている¹¹⁾。また、生後5~7日目で6 mg/dlに達しない患者もあるのではないかと

表4 ヒスチジン血症と診断された患者のスクリーニング検査値

生年月	初回検査			再採血検査			備考
	濃度	His.	Uro.	濃度	His.	Uro.	
	(I) (mg/dl)			(II) (mg/dl)			
A S.53.6	7	6	-	20	12	-	治療
B 53.7	7	4	-	14	14	-	*
C 53.7	6	4	-	15	12	-	*
D 54.10	6	8	-	12	20	-	*
E 55.4	6	10	±	12	20	±	*
F 55.6	6	8	±	11	12	±	*
G 55.10	6	10	±	13	12	±	*
H 56.2	6	10	±	12	12	±	*
I 56.3	15	8	-	22	12	-	*
J 56.10	6	10	-	10	12	-	*
K 56.10	6	8	-	12	12	-	*
L 55.11	6	4	-	13	16	-	*
M 56.12	5	12	-	15	24	-	*
N 55.6	7	4	-	24	8	-	経過観察
O 56.1	6	10	-	16	10	-	*
P 56.5	7	12	±	16	12	-	*

His.: BIA法によるヒスチジン濃度, Uro.: ウロカニン酸,
(-)TLCにより検出できない(±)痕跡を示した。

と推測している。精度を上げ見逃し危険を小さくするには、His.では判定基準を1段階下げ、BIA法とTLCを併用する等、二次的検査法の併用が必要である。

4 ガラクトース血症スクリーニングの問題

ポイトラー法は、赤血球中のG-UT活性の有無を濾紙にスポットした反応液から、長波長紫外線ランプを照射して蛍光の有無を定性的に検査する方法である。

ポイトラー法検査では、図4.にみられるように6~7月に疑陽性が集中する。また、夏季には採血後日数の

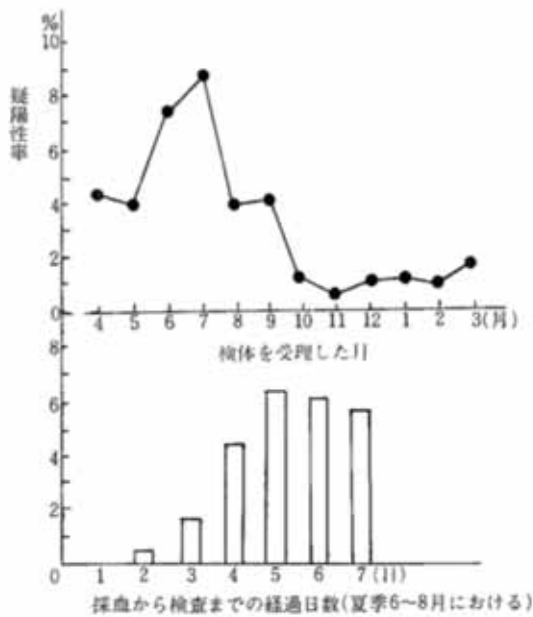


図4. ガラクトース血症疑陽性の出現率(昭和54年、ポイトラー法)

経過に伴って疑陽性率が上昇する。これは高温多湿による酵素活性の低下によると考えられている。これを補うため同一検体で血中ガラクトース(Gal.)を測定すれば、Gal.上昇により確かめることができる。そこで、ベイゲンの大腸菌フェージ法によるGal.の半定量法を併用したが、酵素活性低下のある検体では、異型ガラクトース血症や哺乳不良児等の場合に判定できない。このような条件の重なることも考えられるのでポイトラー法判定の感度を上げる必要もあって、著者は、ポイトラー試薬に塩化マグネシウム($MgCl_2$)を加えて、感度の増強を試みた。

図5. に示すように、蛍光強度は2%濃度で最高になり、原法試薬に2% $MgCl_2$ 0.2mlを加えた試薬を用いることにした。蛍光強度は、平均2.8倍増大し、夏季疑陽性検体では増大の巾は大きく、蛍光の強いポイトラー陰性の検体では蛍光強度増大の巾は小さかった。また、G-UT欠損患者の血液(大阪市環境保健協会提供)及び、ガラクトース-1-リン酸のみ除いた試薬で対照をとるとこの蛍光強度増大はみられなかった。そして、蛍光分光光度計で測定する値と濾紙スポット法はよく一致をし、濾紙スポットによっても $MgCl_2$ の効果を確認した。著者は、6 mg/dl以下で蛍光の弱い検体に適応して、false positiveを減少させることができた。⁸⁾

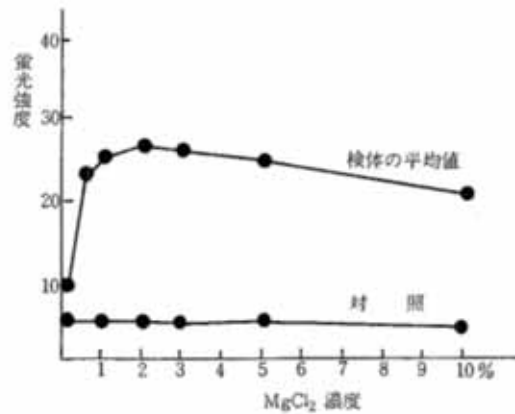


図5. ポイトラー試薬に添加した塩化マグネシウムの濃度と同検査疑陽性検体の蛍光強度の変化(蛍光強度は1.15 μ M硫酸キニーネの強度を100とする)

ポイトラー法に係る3種の酵素のうち、グルコース-6-リン酸脱水素酵素(G-6-PD)はポイトラーの方法¹³⁾によって確めたが、夏季疑陽性検体でも活性が認められた。従って変化を受けやすい酵素はG-UTかホスホグルコムターゼ(PGM)である。なお、 Mg^{2+} はホスファターゼ反応を促進する働きがある¹⁰⁾ので、この試薬はG-UTに影響なく、PGMのみを賦活するものと考え、G-UT酵素の有無を判定するポイトラー法の判定を誤まるものではないと思われる。

IV まとめ

山口県は昭和52年12月から、早期新生児を対象とした先天性代謝異常5疾患(フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ヒスチジン血症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症)のマスクリーニングを開始した。アミノ酸代謝異常症のスクリーニングには、ガスリー法を、糖質代謝異常症には、ポイトラー法とベイゲン法を併用した。4年余に66,100名をスクリーニングし、次のことを得た。

- 1) ヒスチジン血症13名と経過観察者3名を見出した。
- 2) 「メケ」検体に対してはTLCあるいは尿濾紙を用いるホモシスチンの検出などで対応した。
- 3) ヒスチジン血症スクリーニングにおいて判定基準を1段階下げて、4 mg/dl以上にしないと患者を見逃すことがわかった。ヒスチジン血症はTLCによりUro.の検出をした。
- 4) ガラクトース血症スクリーニングにおいて、ポイト

ラー法とペイゲン法を併用したが、著者はポイトラー試薬に $MgCl_2$ を添加した蛍光増強法を開発し、false positive を減少させた。

稿を終るに当り、本稿のご校閲を頂きました山口県衛生研究所長田中一成博士に深謝致します。又、試料のご提供を賜りました国立神経センター石井澄和先生、大阪市環境保健協会藤本昭栄先生に深謝致します。

確定診断にご助言を賜りました山口大学医学部小児科の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

本稿の1部は、第8回代謝異常スクリーニング研究会(1980・東京)において発表した。

文 献

- 1) 厚生統計協会：厚生指標, 29, 9, 126, (1982)
- 2) 山口県衛生部：山口県先天性代謝異常検査等実施要綱, (1977)
- 3) 日本公衆衛生協会：先天性代謝異常マスキリーニングの理論と実際, (1976)
- 4) 松田一郎：代謝異常スクリーニング研究会会報, 4, 2, (1979)
- 5) 大和田 操：小児科診療, 41, 79, (1978)
- 6) 石井澄和, 田子勝彦：臨床病理, 24, 1022, (1976)
- 7) 野村能子 他：代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 105, (1980)
- 8) 一色 玄, 周山逸人：臨床検査, 24, 1598, (1980)
- 9) 大浦敏明：小児科診療, 41, 17, (1978)
- 10) Misumi, H. : *Clinica Chimica Acta*, 111, 27, (1981)
- 11) 成瀬 浩 他：第6回代謝異常スクリーニング研究会講演要旨, (1978)
- 12) 小松せつ：代謝異常スクリーニング研究会会報, 3, 23, (1978)
- 13) Beutler, E., Michell, M. : *Blood*, 32, 816, (1968)
- 14) 日本生化学会：代謝マップ ——経路と調節——10, 東京化学同人, (1980)

高速液体クロマトグラフィーによるジフェニル およびオルトフェニルフェノールの定量法

山口県衛生研究所 (所長: 田中一成)

田坂 美和子・永井 勇・岡 日出生・藤原 美智子

Analytical method of Diphenyl and o-Phenylphenol by
High Performance Liquid Chromatography

Miwako TASAKA · Isamu NAGAI · Hideo OKA · Michiko FUJIWARA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

はじめに

かんきつ類の防かび剤として、ジフェニル (DP) とオルトフェニルフェノール (OPP) の使用が認められ、残留許容量が定められたのにもない、日常業務に適用できる簡易で精度の高い分析法が必要となってきた。かんきつ類中の DP, OPP の分析法には「食品中の添加物分析法 (厚生省編)」をはじめとして多くの例がみられるが、改良の余地が残されている。すなわち、DP および OPP の抽出には、精油定量器をつけて蒸留する方法^{1, 2)}、溶媒による抽出法が^{3) 4) 5)} 採用されている。しかし、前者では、良好な回収率を得るために長時間の蒸留を必要とし、後者では妨害物質を同時に抽出するため、定量法によっては、その後の精製操作が不可欠となり、複雑かつ長時間を要するという難点がある。したがって多数の検体を短時間で処理しなければならない日常業務でこれらの分析法を用いることは不便である。また定量には比色法¹⁾、紫外部級光光度法^{2) 6) 7)}、蛍光光度法⁸⁾、ガスクロマトグラフ法 (GC) および高速液体クロマトグラフ法 (HPLC)^{9, 10, 11)} 等がある。

そこで著者らは全操作が簡易でかつ精度よく DP と OPP が同時に分析できる方法を検索し、高速ブレンダーを用いる抽出法と HPLC による定量法を組合せることにより、良好な結果を得たので報告する。

実験

1. 試薬

1) DP, OPP: 和光純薬精製 標準品

DP 標準溶液: DP10mg を精秤し、メチルアルコールに溶かして 50ml とした。

OPP 標準溶液: OPP10mg を精秤し、メチルアルコー

ルに溶かして 50ml とした。

2) メチルアルコール、エチルアルコール、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド: 市販特級試薬

3) メチルアルコール: 半井化学薬品㈱ HPLC 用

2. 器具および装置

1) ろ過器: 住友エレクトリック社製、フルオロポア孔径 1.0 μ 、外径 25mm を装着できるもの。

2) 高速ブレンダー: ポリトロン[®] PCV-2-110 キネマチカ社製

3) 高速液体クロマトグラフ: 島津 LC-1 型、紫外部検出器 (254 nm) および蛍光検出器を使用した。

3. 検液の調整

試料を適当な大きさに切ってミキサーに入れ、ホモジナイズする。均一にした試料の 5g を遠沈管に精秤し、メチルアルコール 20ml を加えて、1 分間、ポリトロンで攪拌抽出する。遠沈管をしばらく静置したのち、上澄液をガラスウールを詰めたロートを通して 50ml のメスフラスコへろ過する。さらに遠沈管の残渣にメチルアルコール 15ml を加えて上記の操作をくり返したのち、メチルアルコールで標線に合わせる。この液の一部をとり、フルオロポアをつけたろ過器を用いてろ過し、これを HPLC 用の検液とする。

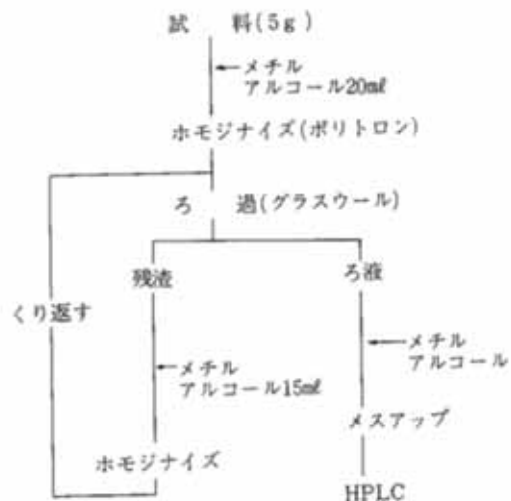
4. 高速液体クロマトグラフィーの条件

装置: 島津 LC-1

カラム充てん剤: Permaphase ODS、長さ: 1m、内径: 2mm

移動相: 30% メチルアルコール溶液で 2 分間保持した後、毎分 10% の割合でグラジュエントをかけ 50% メチルアルコール溶液にし、15 分間これを保持する。

カラム温度：40℃
 圧力：80kg/cm
 検出器：UVD-1 測定波長(254 nm) DPを測定
 FLD-1 OPPを測定



方法1 ジフェニルおよびオルトフェニルフェノールの分析法

5. 検量線の作成

DP標準溶液を用いて1ml中1~5μgのDPを含む標準系列溶液、および1ml中2.5~25μgのOPPを含む標準系列溶液を調整し、それぞれの20μlを4.の項に従ってHPLCに注入して得られたピーク面積(半値幅法)から検量線を作成した。

6. 定量法

検液の10~20μlを4.の項の測定条件のHPLCに注入する。得られたクロマトグラムを標準溶液のピークと比較し、あらかじめ5.の項によって作成しておいた検量線から定量する。

結果および考察

1. 移動相の検討

シリカゲルに炭化水素を結合させた充填剤を用いたカラムのHPLCによるDPおよびOPPの分析が報告されているが、本実験にはシリカゲルにオクタデシルシランを化学結合させたPermaphase ODSを充填剤に用いた逆相クロマトグラフィーで検討した。移動相はメチルアルコール・水系を使い、標準溶液を用いてDPおよびOPPを検出するのに最適なメチルアルコール濃度を検討した。その結果、30%メチルアルコール溶液の場合

はDPが42分に、OPPは13分にピークが出現するが、DPはブロードなピークとなる。また50%メチルアルコール溶液の場合はDPおよびOPPがそれぞれ17分と4分の位置にシャープなピークが出現する。しかしOPPの保持時間が短いため妨害ピークと重なる可能性が高い。したがってDPおよびOPPを個別に定量するときには、30%メチルアルコール溶液でOPPを、また50%メチルアルコール溶液でDPを定量すればよいことがわかった。

しかし、DPおよびOPPを同時に定量するためには、前記の条件では不充分であったのでグラジエント操作をおこなった。その結果30%メチルアルコール溶液で2分間保持した後、毎分10%の割合で50%メチルアルコール溶液までグラジエントをかけ、50%メチルアルコール溶液で15分間保持すれば良いことがわかった。DPおよびOPP標準溶液を用いて上記の移動相の条件でHPLCをおこなった結果を図-1に示す。

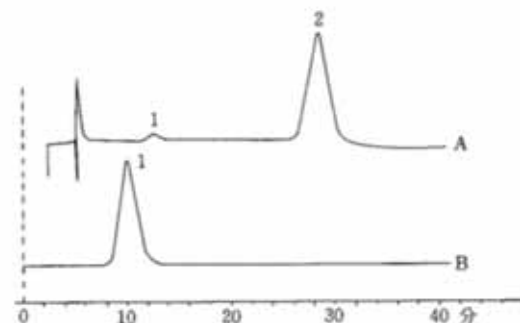


図1 ジフェニルおよびオルトフェニルフェノールのHPLCクロマトグラム

A. UV検出器(254nm), 感度:0.08

B. 蛍光検出器, 感度:0.04

1. オルトフェニルフェノール 2. ジフェニル

2. 検量線

実験5の項に示した方法で作製したDPおよびOPPの検量線を図-2, 図-3に示す。DPは10~100μg/ml, OPPは5~50μg/mlの間で良好な直線性を示した。

3. 試験溶液の調整

1) 抽出溶媒

抽出溶媒には濃縮や精製操作を必要とせず、直接HPLCに注入できる極性の大きいもの、すなわち、メチルアルコール、エチルアルコール、アセトニトリル、ジメチルスルホキシドおよびジメチルホルムアミドを選び、グレープフルーツにDPを70ppm, OPPを10ppmになるように添加し、実験3の項に従って操作した。た

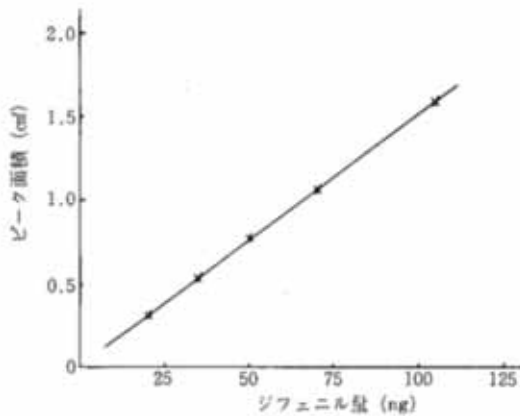


図2 ジフェニルの検量線

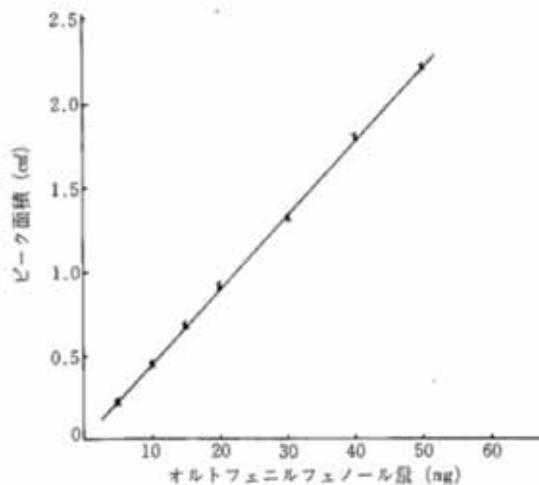


図3 オルトフェニルフェノールの検量線

だし、抽出回数は1回とした。その結果、表-1に示したように、DP および OPP とともに90%以上の回収率を得たメチルアルコールを使用することにした。

2) 抽出回数

グレープフルーツに DP を70ppm, OPP を10ppm になるよう標準品を添加し、メチルアルコールによる抽出を1, 2 および3回おこなって、抽出回数による回収率の検討をした。その結果を表-2に示す。この表からも明らかなように、回数を増やすほど、わずかではあるが抽出率は上昇する。しかし、日常業務において抽出回数をいたずらに多くし、1検体に長時間を要することは適当でないと考え、回収率が95%以上を示した2回を抽出回数と定め、簡便化をはかった。

4. かんきつ類による添加回収試験

輸入かんきつ類の代表と考えられるレモン、オレンジ

表1 ジフェニルおよびオルトフェニルフェノールの抽出溶媒の検討

溶媒の種類	ジフェニル			オルトフェニルフェノール		
	添加量 (μ g)	検出量 (μ g)	回収率 [※] %	添加量 (μ g)	検出量 (μ g)	回収率 [※] %
メチルアルコール	350	337.7	96.4	50	46.6	93.2
エチルアルコール	350	310.1	88.6	50	45.5	91.0
アセトニトリル	350	311.7	89.1	50	44.4	88.8
ジメチルホルムアミド	350	281.2	80.3	50	42.4	84.8
ジメチルスルホキシド	350	295.1	84.3	50	42.1	84.2

※ グレープフルーツから1回抽出で得た回収率

表2 ジフェニルおよびオルトフェニルフェノールの抽出回数の検討

回数	ジフェニル %	オルトフェニルフェノール %
1	94.6	96.7
2	98.6	97.8
3	99.1	98.3

およびグレープフルーツに、DP 標準品を35, 70および140ppm, OPP 標準品を5, 10および20ppm それぞれ添加し、操作法に従って定量をおこない、この分析法の回収率を検討した。その結果は表3および表4に示すように DP はレモンで92.0~102.0%, 平均96.8%, オレンジで92.3~101.8%, 平均97.4%, グレープフルーツで88.9~103.7%, 平均93.4%を示し、OPP はレモンで88.0~102.0%, 平均95.7%, オレンジで94.0~103.0%, 平均98.7%, グレープフルーツで94.0~100.5%, 平均97.4%とほぼ満足できる結果を得た。

5. 公定法と本法の比較

精油定量器を用いた蒸留法と GC を組合せた公定法と、本法とを比較するため、グレープフルーツに DP を70ppm, OPP を10ppm になるように添加し、2操作法に従って定量をして回収率を比較した。その結果を表5に示す。DP は公定法の方がわずかに高い回収率を示しているが、OPP は本法の方がかなりよい結果を示している。したがって本法は公定法に比較して何ら損色なく定量できると考える。

さらに、公定法における長時間の蒸留や OPP の精製操作等を考え合せると DP および OPP を同時に定量できる本法が日常業務で多数の検体を処理してゆくのに適当であると考えられる。

表3 ジフェニルの添加回収試験

レモン			オレンジ			グレープフルーツ		
添加量 mg/kg	検出量 mg/kg	回収率 %	添加量 mg/kg	検出量 mg/kg	回収率 %	添加量 mg/kg	検出量 mg/kg	回収率 %
140.0	134.0	95.7	140.0	136.5	97.5	140.0	125.6	89.7
140.0	131.2	93.7	140.0	142.5	101.8	140.0	127.6	91.1
140.0	133.2	95.1	140.0	137.5	98.2	140.0	124.6	89.0
140.0	128.8	92.0	140.0	138.5	98.9	140.0	134.6	96.1
140.0	131.2	93.7	140.0	135.5	96.8	140.0	126.6	90.4
70.0	67.7	96.7	70.0	69.6	99.4	70.0	69.0	98.6
70.0	68.9	98.4	70.0	64.6	92.3	70.0	68.5	97.9
70.0	67.1	95.9	70.0	69.9	99.9	70.0	65.7	93.9
70.0	66.2	94.6	70.0	66.6	95.1	70.0	65.0	92.9
70.0	69.0	98.6	70.0	69.0	98.6	70.0	65.0	92.9
35.0	35.0	100.0	35.0	34.9	99.7	35.0	33.0	94.3
35.0	34.0	97.1	35.0	33.4	95.4	35.0	31.9	91.1
35.0	34.8	99.4	35.0	34.9	99.7	35.0	36.3	103.7
35.0	34.8	99.4	35.0	32.6	93.1	35.0	31.5	90.0
35.0	35.7	102.0	35.0	32.9	94.0	35.0	31.1	88.9
平均		96.8	平均		97.4	平均		93.4

表4 オルトフェニルフェノールの添加回収試験

レモン			オレンジ			グレープフルーツ		
添加量 mg/kg	検出量 mg/kg	回収率 %	添加量 mg/kg	検出量 mg/kg	回収率 %	添加量 mg/kg	検出量 mg/kg	回収率 %
20.0	19.3	96.5	20.0	20.2	101.0	20.0	19.9	99.5
20.0	19.9	99.5	20.0	19.8	99.0	20.0	19.7	98.5
20.0	19.4	97.0	20.0	20.3	101.5	20.0	19.6	98.0
20.0	19.0	95.0	20.0	19.7	98.5	20.0	20.1	100.5
20.0	19.2	96.0	20.0	19.4	97.0	20.0	19.6	98.0
10.0	10.2	102.0	10.0	10.2	102.0	10.0	10.0	100.0
10.0	9.9	99.0	10.0	9.9	99.0	10.0	9.7	97.0
10.0	9.9	99.0	10.0	9.9	99.0	10.0	9.8	98.0
10.0	9.6	96.0	10.0	9.9	99.0	10.0	9.8	98.0
10.0	9.3	93.0	10.0	10.3	103.0	10.0	9.7	97.0
5.0	4.6	92.0	5.0	5.0	100.0	5.0	4.9	98.0
5.0	4.8	96.0	5.0	4.7	94.0	5.0	4.7	94.0
5.0	4.6	92.0	5.0	4.7	94.0	5.0	4.7	94.0
5.0	4.4	88.0	5.0	4.9	98.0	5.0	4.8	96.0
5.0	4.7	94.0	5.0	4.8	96.0	5.0	4.7	94.0
平均		95.7	平均		98.7	平均		97.4

表5 HPLC およびGCによるジフェニルおよびオルトフェニルフェノールの添加回収試験

No.	ジフェニル						オルトフェニルフェノール					
	HPLC			GC			HPLC			GC		
	添加量 (μg)	検出量 (μg)	回収率 (%)	添加量 (mg)	検出量 (mg)	回収率 (%)	添加量 (μg)	検出量 (μg)	回収率 (%)	添加量 (mg)	検出量 (mg)	回収率 (%)
1	350	330	94.3	7.0	7.00	100.0	50	50.1	100.2	1.0	0.84	84.0
2	350	345	98.6	7.0	6.75	96.4	50	48.8	97.5	1.0	0.84	84.0
3	350	320	91.4	7.0	6.80	97.1	50	49.5	99.0	1.0	0.81	81.0
4	350	328	93.7	7.0	7.00	100.0	50	49.0	98.0	1.0	0.92	92.0
5	350	325	92.9	7.0	6.80	97.1	50	48.5	97.0	1.0	0.82	82.0
平均	94.2			98.1			98.3			84.6		

表6 市販かんきつ類中のジフェニルおよびオルトフェニルフェノールの分析結果

レモン		オレンジ		グレープフルーツ	
ジフェニル (ppm)	オルトフェニル フェノール(ppm)	ジフェニル (ppm)	オルトフェニル フェノール(ppm)	ジフェニル (ppm)	オルトフェニル フェノール(ppm)
8.1	1.8	47.8	1.4	ND	ND
6.6	1.5	48.3	6.4	55.3	1.9
10.0	2.5	30.5	6.9	22.1	1.4
2.7	1.6	35.0	0.5	37.5	2.4
5.8	3.0	45.0	1.3	37.0	1.0

ND: 検出しない

6. 市販品の分析結果

市販のレモン、オレンジ、グレープフルーツのそれぞれ5検体を購入し、DPおよびOPPについてHPLCで分析した結果を表6に示す。DPは検出しないものから55.3ppm、OPPは検出しないものから6.9ppmの定量値を得、DPとOPPのいずれも違反品はなかった。

まとめ

1. 試料からDPおよびOPPの抽出にポリトロンを用い、メチルアルコールを抽出溶媒として、細切と攪拌抽出を同時におこない、ろ過する操作のみでHPLC用検液として使用できた。

2. HPLCの紫外部級光度計検出器でDPを、また蛍光光度計検出器でOPPを同一の検液から同時に分離定量できた。カラム充填剤にPermaphase ODSを用い、移動相は30%メチルアルコール溶液で2分間保持した後、毎分10%の割合でグラジュエントをかけ、50%メチルアルコール溶液にし、そのまま15分間保持する条件が最もよく分離した。

3. 検量線はDPが10~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、OPPが5~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の間で直線性を示した。本法における検出限界は

DPが5ppm、OPPが0.5ppmであった。

4. レモン、オレンジおよびグレープフルーツの添加回収試験の結果はDPで88.9~103.7%、OPPで88.0~103.0%であった。

文献

- 1) F.A.Gunther, R.C.Blinn: *Analyst*, 88, 36 (1963)
- 2) G.West55: *Analyst*, 94, 406, (1969)
- 3) 高野美子外: 仙台市衛生試験所所報, 7, 136, (1977)
- 4) 外海泰秀外: 食衛誌, 16, 397 (1975)
- 5) S.K. Reeder: *J. of the A.O.A.C.*, 59, 162, (1976)
- 6) A. Rajzman: *Analyst*, 88, 177 (1969)
- 7) A. Rajzman: *Analyst*, 99, 120, (1974)
- 8) 三原翠外: 食衛誌, 14, 179, (1973)
- 9) 伊藤誓志男外: 食衛誌, 18, 450, (1977)
- 10) G.west55: *Analyst*, 100, 173, (1975)
- 11) 林敏夫外: 食衛誌, 13, 78, (1972)
- 12) J.E. Farrow, R.A. Hoodless: *Analyst*, 102, 752, (1977)

冷凍食品の温度管理用インディケータの試作

山口県衛生研究所 (所長: 田中一成)

岡 日出生・田坂美和子・永井 勇
藤原美智子・田中一成

宇部短期大学

藤田隆人

Trial Preparing Irreversible Warm-up Indicators for Frozen Foods
Hideo OKA · Miwako TASAKA · Isamu NAGAI · Michiko FUJIWARA
Kazushige TANAKA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

Takato FUJITA

College of Ube

まえがき

近年、冷蔵庫や冷凍庫の普及とあいまって、冷凍食品の需要は急速に伸びているが、なかでも調理冷凍食品の伸びは使用の簡易さと種類の豊富さにより特に著しい。冷凍食品は缶詰・びん詰食品などの保存食品と異なり、解凍すればほぼ生鮮食品と同じ様な風味が得られることも特色の一つであるが、これも原材料に良質なものを使用し、生産者から消費者に渡るまでの品温 (いわゆるコールドチェーン) の管理が充分になされている上でのことである。

日本冷凍食品協会が冷凍食品に対する消費者の要望質疑などを取りまとめたものの中に“腐っていたものや変色していたものがあつた”、“再凍結したものの見分け方を知りたい”、“ショーケースの温度管理はどのようになされているのか”といったものが見られた。¹⁾このような苦情や質問は冷凍食品の温度管理が不十分なことと、それに対する消費者の関心の強いことを示している。

荒井²⁾は冷凍食品運搬時の品温変化を経時的に調査し、車に積み込む時に $-25 \sim -22^{\circ}$ のものが、配送後約2時間で -5° にまで上昇することを報告している。また、寺島³⁾らは販売店における冷凍食品の温度管理実態を調べ、約62%のものに保存基準違反が認められたことを報告している。

コールドチェーンのどこかで品温の上昇がみられると、

その段階で品質の低下が起こり、それは再び良好な品温管理がなされたとしても、品質は良くならない。また、この品質の良し悪しは冷凍された状態では見分けられず、解凍されてはじめて気が付く。コールドチェーンにおける温度上昇が目でも容易に確認でき品質管理の向上がはかられれば、このような苦情もなくなるものと思われる。

米国の Artech 社では一定温度以上に温度上昇が起つた時、色調に変化が起こり、この色は再び温度を下げて元の状態にかえらない温度インディケータ (商品名 IWI) を開発し、冷凍食品の品質管理に効果をあげている。⁴⁾

我々は界面活性剤を含む水と油を混合して、安定なエマルジョンを作り、それを凍結した後解凍させると、水と油が分離する性質を利用して、冷凍食品の温度管理用インディケータを試作したので報告する。

実験方法

1. 試薬

n-パラフィン: 日本精製薬徳山開発研究所より提供された凝固点 -3° 、 -11.5° および -15° のものをを用いた。

色素: 食用色素赤色102号、青色1号および緑色3号を用いた。

界面活性剤溶液: 塩化ナトリウム0, 6, 11gをあら

かじめ5 mlの Tween-80を入れた100mlの比色管にとり、それぞれに食用色素赤色102号、青色1号、緑色3号100mgずつを加え、水で100mlとし、それぞれA液、B液、C液とした。

その他の試薬：市販の特級試薬を用いた。

2. 材料および装置

テフロンチューブ：内径2mm、外径3mmのチューブを棒状あるいはコイル状に成型したものを用いた。

ビニールチューブ：内径2mm、外径4mmのものを棒状あるいはコイル状に成型したものを用いた。

高速ブレンダー：ポリトロン（スイス・キネマチカ社製）

ストッカー：東芝冷凍ショーケース SR-291

3. 操作

遠心沈殿管またはトルビーカーに界面活性剤溶液のA液、凝固点 -3° のn-パラフィンおよびn-プロピルアルコールを1：9：0.2の割合に加え、ポリトロンで底部から低速で攪拌し、徐々にエマルジョンを作る。全体にエマルジョンが形成された後、さらに1分間攪拌し、均一なものを作る。

同様にB液に対しては凝固点 -11.5° のn-パラフィンを、C液に対しては凝固点 -15° のn-パラフィンをういてエマルジョンを作成した。

このエマルジョンを直径1～1.5cmのコイル状に成型したテフロンチューブに注射器で充てんし、適当な長さ（リングが2～3段になる長さ）に切断し、両端を赤熱した釘で熱し、圧着密封する。

棒状のものについては一端を加熱密封した長さ約4cmのチューブにエマルジョンを注射器で注入し、他端を加熱密封する。完全に密封されたものは室温に6ヶ月以上放置しても変化しない。

使用に際しては、これを食品と共に凍結させて用いる。凍結したインディケーターは周囲の温度が用いたn-パラフィンの凝固点以上に上昇すると、着色した水層と無色のパラフィン層とに分離する。使用前と使用後のインディケーターを図1に示した。

実験結果および考察

1. エマルジョンの安定性

凝固点 -11.5° のn-パラフィンと界面活性剤溶液のB液との混合割合を1：3、1：2、1：1、2：1、3：1、4：1、5：1、9：1および19：1と変えて、エマルジョンを作成した。それぞれのエマルジョンを小



図1 冷凍食品の温度管理用インディケーター

A：未使用のコイル状インディケーター

a：未使用の棒状インディケーター

B：使用後のコイル状インディケーター

b：使用後の棒状インディケーター

試験管に移し、密封して室温に放置し、その安定性を観察した。その結果、パラフィン量が界面活性剤溶液と同量かまたはそれ以下の場合には、エマルジョン形成直後から分離し始めた。また、その割合が2：1のものは約6時間以内に、3：1および4：1のものは1日から2日で分離した。5：1のものでは約1ヶ月後部分的に分離した。しかし、9：1および19：1のものでは6ヶ月後も変化しなかった。このことからn-パラフィン量は界面活性剤溶液量の5倍以上あれば安定なエマルジョン

表1 エマルジョンの安定性

混合割合 パラフ：界面活 イン：性剤溶液	経過日数												
	0	1	2	5	10	15	20	30	60	90	120	180	
1：3													
1：2													
1：1													
2：1													
3：1													
4：1													
5：1													
9：1													
19：1													

×：分離

△：一部分離

○：不分離

が得られることが判ったが、分離後の状態などを考慮して、以後の実験には n -パラフィンと界面活性剤溶液との混合割合を9:1と決定した。

2. 分離促進剤の検討

実験方法の操作の項で述べた方法のうち、 n -プロピルアルコールを加えずにエマルジョンを作り、コイルに充てん後凍結し、解凍したところ、分離するものとしないうものがあつた。そこで常に分離するものを作る為、分離促進剤の添加を試みた。 n -パラフィンと界面活性剤混液に分離促進剤として、メチルアルコール、エチルアルコール、イソアミルアルコールおよび n -プロピルアルコールをそれぞれ1~3%添加し、実験を行った。その結果、表2に示したように、 n -プロピルアルコール添加がいずれの場合にも分離した。しかし、分離後の水溶液の状態は添加量1%では濁りが見られたので、以後の実験には n -プロピルアルコールを2%添加することとした。

表2 分離促進剤の検討

分離促進剤	添加量		
	1%	2%	3%
メチルアルコール	×	×	×
エチルアルコール	×	×	×
イソアミルアルコール	×	△	△
n -プロピルアルコール	○	○	○

×：不分離

△：一部分離

○：分離

3. 充てん容器の材質

実験の初期にはエマルジョンの充てん容器として、ビニール管を使用していたが、充てん後室温に放置しておく、エマルジョンに部分的に気泡が生じ、それが時間と共に大きくなることが観察された。そこでビニール管、タイロン管、ポリスチレン管およびテフロン管に操作にしたがってエマルジョンを充てん、密封して室温に放置し、経時的に重量の変化を観察した。その結果を図2に示した。これによりビニール管およびタイロン管に充てんしたものは徐々に減量し、内容物が揮散することが判った。また、 n -パラフィンと界面活性剤溶液とを別々に充てんして、同様な観察をした結果、 n -パラフィンが揮散することが判った。ポリスチレン管およびテフロン管にエマルジョンを充てんしたものは、一ヶ月

後も重量変化がみられなかった。

4. 充てん容器の形状

棒状インディケーターの場合、それを縦に設置したときには分離したか否かの判定は容易であるが、水平に設置したときには、その判定に難しい場合があつた。そこで容器をコイル状にしたところ、どの様に設置しても容易に判断できた。

材質の違いによる成型の難易度は、ビニール管、タイロン管およびテフロン管は容易にコイル状にできるが、ポリスチレン管は困難であつた。また、ポリスチレン管は硬く、薄い管では破損する可能性が強い。したがって、エマルジョンの封入容器はテフロン管をコイル状にしたものが適当であろう。

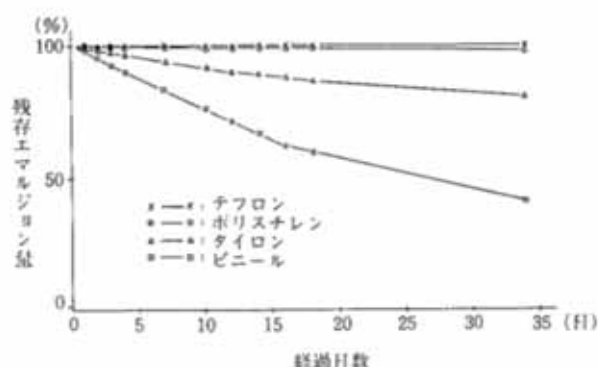


図2 インディケーターの材質によるエマルジョンの揮散試験

5. 分離試験

操作の項で述べた方法で作成したインディケーターを -30° 以下のストッカーに一夜以上放置し、凍結したものを、氷、塩化ナトリウムおよびメチルアルコールで -20° 以下にしたジャーの中へ移し、ジャー中の液温の上昇に伴い、インディケーターの分離する状態を観察した。インディケーターの内容物が淡い色をして固まっていたものが、わずかに色調が濃くなり、全体がゆるみ始める時を分離のはじめとし、着色した水層と無色澄明なパラフィン層が明らかに分離した時点を完全分離とした。この時の分離状態を図3に示した。これより -15° 、 -11.5° および -3° のインディケーターはそれぞれ約 2° 低い温度で分離が始まり、それぞれの凝固点とはほぼ等しい温度で完全に分離した。

今回試作したインディケーターは一定温度以上になると、短時間で水層とパラフィン層に分離することから、

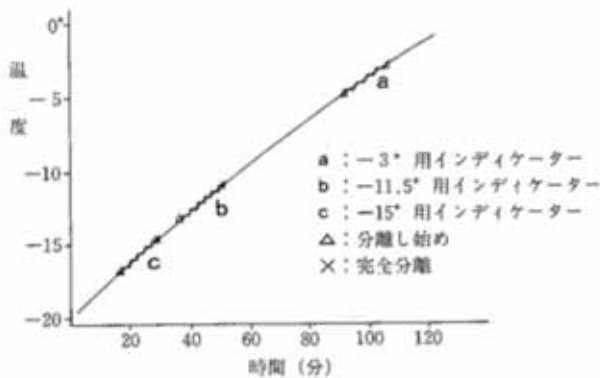


図3 インディケーターの分離温度

過去に温度上昇があったかどうかの判定が可能である。

著者らはスーパーマーケット等の冷凍ショーケースの庫内温度を調査したところ、通常運転時においてはいずれも -15° 以下に維持されていたが、除霜時には全て -15° 以上になり、はなはだしいのは $+10^{\circ}$ に達するものもあった。しかし、過半数のものが -3° 以下で霜取りがされており、その時の品温はより低いものと思われる。

表3 除霜時における冷凍ショーケース庫内温度

番号	除霜周期 (時間)	庫内温度 ($^{\circ}\text{C}$)
1	4	$-10 \sim -5$
2	5	$-10 \sim -5$
3	12	$-16 \sim -9$
4	4	-13
5	6	$1.5 \sim 4$
6	4	$-9 \sim -1$
7	4	$-8 \sim -3$
8	6	$-7 \sim -3$
9	5	$-2 \sim -10$

冷凍食品の保存基準は -15° であるが、除霜時にはかなりの温度上昇があることから、少しでも -15° を越えて温度上昇があった時、そのことだけをもって保存基準違

反とすることは、流通過程に混乱をひき起こすことにもなりかねない。従って、インディケーターも -15° 用のみでなく、より高い温度のものも併用することにより流通に影響を与えることなく業者の温度管理に対する意識の高揚を図りつつ保存基準の -15° が堅持されるようにする必要があろう。

使用するインディケーターは凝固点の異なったn-パラフィンを使用することにより、任意の温度で分離するものが作成可能で、何度のインディケーターを用いたらよいかということは、今後数多くの冷凍庫の温度実態を調査し、決められるべきであろう。いずれにせよ、初めは高い温度のインディケーター(例えば -3° 用)を用い、これが維持されるようになればより低温のものを使用するといった段階的な温度管理を実施してゆくことにより温度管理を強化した方がより実行しやすくまた確実な品温管理が達成される方策であろう。また、除霜時において著しく温度上昇のあるものでは、除霜時間の短縮、あるいは霜取り時に庫内の食品を別の冷凍庫に移すなどの処置も必要と思われる。

謝 辞

終りに、n-パラフィンを提供していただいた日本精糖株式会社山崎研究所ならびに冷凍ショーケースの温度実態調査をしていただいた山口保健所・奥野勝氏、刀祢正和氏、岩国保健所・畦森利義氏および環境衛生課・中元民夫氏に深く感謝いたします。

なお、本実験の要旨は第37回・日本食品衛生学会(東京)で報告した。

文 献

- 1) 社団法人 日本冷凍食品協会発行：冷凍食品情報. 5, 8, 30-33 (1978)
- 2) 荒井宗勝：食品衛生研究. 24, 47-58 (1974)
- 3) 寺島啓雄・黒沢典彦・佐藤正宏：食品衛生研究. 26, 253-258 (1976)
- 4) 佐原幸雄：食品衛生研究. 22, 1067-1084 (1972)

天然および養殖ハマチの体内水銀分布について*

山口県衛生研究所 (所長: 田中一成)

熊谷 洋・佐伯 清子

Distribution of Mercury Content in the Tissues
of Wild and Cultured Yellowtails *Seriola quinqueradiata*
HIROSHI KUMAGAI · KIYOKO SAEKI

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

魚類体内の水銀分布については既に多くの研究結果が発表されている¹⁻⁴⁾。これらの研究によると、筋力部においては部位による差異はなく一様に分布しているとの報告が多い。しかし、逆の報告もある。一方、内臓部においては臓器によりその含量に大きな差がみられている。

ところが、生態と生息環境を異にする同一魚種の天然魚と養殖魚の体内水銀分布についての研究は少ない⁵⁾。そこで、著者らは天然と養殖のハマチ (*Seriola quinqueradiata*) を用い、生態および生息環境の相違が体内水銀分布にどのような影響を与えるかについて検討した。得られた結果を報告する。

実験方法

実験材料 実験に用いた天然ハマチおよび養殖ハマチの概略を表1に示す。これらの実験材料は栄養素の研究⁶⁾に用いたそれと同一である。

分析試料 筋力部の分析試料は図1に示すように既

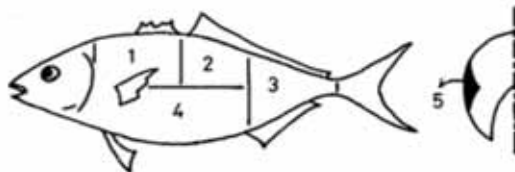


図1 筋肉の採取部位
1~4、普通肉; 5、血合肉

報にしたがって作製した。内臓部の分析試料は次のように作製した。すなわち、1尾ごとに心臓、肝臓、腎臓、脾臓、胃、腸、幽門垂、卵巣および胆のう(胆汁も含む)の9臓器に分け、それぞれ細切均一化して分析試料に供した。総水銀分析には1尾の各臓器を1試料としたが、胆のうは試料量が少ないため天然ハマチ、養殖ハマチに分け10尾を合せて1試料とした。また、有機水銀分析には試料が多量に必要なため各臓器とも天然ハマチ、養殖ハマチに分け10尾を合せて1試料とした。

水銀分析法 総水銀 (T-Hg) は試料 5 g を先に報告した方法⁷⁾で迅速湿式灰化した後、還元気化原子吸光法⁸⁾により求めた。アルキル水銀 (R-Hg)、メチル水銀 (Me-Hg)、エチル水銀 (Et-Hg) およびブチル水銀 (Bu-Hg) は試料 20 g を水蒸気蒸留⁹⁾した後、R-Hg は原子吸光度計を用いた高感度定量法¹⁰⁾により、Me-Hg、Et-Hg および Bu-Hg は電子捕獲型ガストロマトグラフイー (ECD-GC) ¹¹⁾により、それぞれ求めた。

結果および考察

筋肉部の T-Hg 含量 天然および養殖ハマチの各筋肉部位における T-Hg 含量を図2に示す。全体的に筋肉部をみると、天然ハマチと養殖ハマチとは T-Hg 含量レベルに差はない。すなわち、天然ハマチで平均 0.108ppm、養殖ハマチで平均 0.117ppm であった。しかし、各筋肉部位における含量をみると、天然ハマチで

表1 実験材料の概略

	検体数	採取年月日	体長	体重	肥満度
天然ハマチ	10	1976年3月2日	59.7±1.5cm	2.91±0.17kg	13.7±0.7
養殖ハマチ	10	1976年2月3日	59.0±1.4	3.11±0.23	15.2±1.3

* 本報告の要旨は昭和51年度日本水産学会秋季大会 (1976年10月・下関) において発表した。

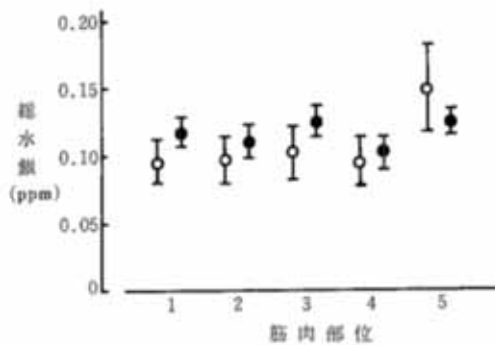


図2. 天然および養殖ハマチ筋肉の部位別総水銀含量

○, 天然魚の平均値±標準偏差 (N=10)

●, 養殖魚の平均値±標準偏差 (N=10)

は普通肉の部位間に含量差はないが、血合肉に含量が高いことがわかる。養殖ハマチではいずれの部位においても含量差はなかった。

天然ハマチおよび養殖ハマチとも水銀濃度が極めて低い海域に生息し、天然ハマチはその食性からして主にイワシ類、サバ類を摂取すると考えられ、養殖ハマチは天然ハマチが生息する近辺の海域で漁獲したマイワシおよびマサバ (平均 T-Hg 含量各々 0.015ppm, 0.035ppm) を主餌料として与えられている。このことから、天然ハマチと養殖ハマチの全筋肉部の T-Hg 含量レベルに差のないことが推察できる。この場合、水銀とり込み経路のうち環境水からの直接とり込みが主動的であるのか、餌料を通してのとり込みが主動的であるのかについては、この実験から明らかにすることはできない。しかし、著者らが先に報告した天然および養殖マダイ¹⁰、トラフグ⁵¹の結果から推論すると、ハマチ筋肉の水銀は餌料を通してのとりこみが主動的と考えられる。

一般に遊泳力の大きい魚類では血合肉が発達しており、天然ハマチでは季節回遊や索餌回遊を行うため運動量が大きい。このため酸素消費量も多くなり、鰓を通してとり込む海水量も多くなる。したがって、普通肉よりも遊泳に関係の深い血合肉により多くの血液が送られると同時に、とり込んだ環境水中の水銀も血合肉により多く送られ蓄積することが考えられる。このことが、天然ハマチにおいて普通肉より血合肉に高い T-Hg 含量を示す主原因と考えられる。すなわち、鰓を通して環境水から直接とり込んだ水銀が、餌料を通してとり込んだ水銀に上積されるためである。しかし、養殖ハマチでは天然ハマチのような回遊を必要としないため、血合肉に天然ハ

マチのような特色が顕われないものと考えられる。したがって、養殖ハマチでは筋肉部位間の T-Hg 含量には差は認められない。

内臓部の T-Hg 含量 天然および養殖ハマチの各臓器における T-Hg 含量を図 3 に示す。天然ハマチと養殖ハマチとは各臓器の T-Hg 含量レベルに差はない。これは筋肉部の場合と同様である。しかし、天然および養殖ハマチとも臓器によって T-Hg 含量が異なる。天然ハマチでは心臓に高値を示し、胆のうおよび卵巣に低

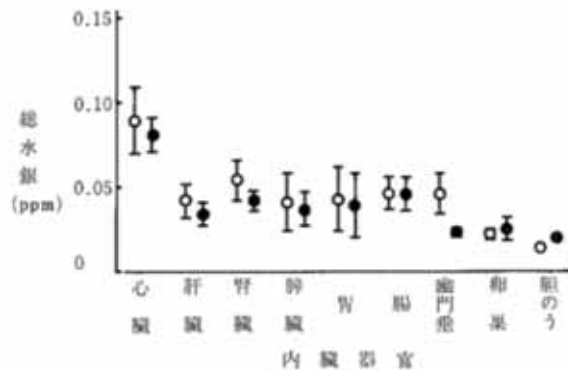


図3. 天然および養殖ハマチの内臓器官別総水銀含量

○, 天然魚の平均値±標準偏差 (N=10);

●, 養殖魚の平均値±標準偏差 (N=10)

値を示した。養殖ハマチでも心臓に高値を示し、胆のう、幽門垂および卵巣が低値を示した。天然および養殖ハマチとも心臓に含量が高いのは、心臓が最も血液との接触量が多いためであり、先に述べた血合肉と同様な理由が考えられる。

全内臓の T-Hg 含量の平均値は天然ハマチで 0.048ppm、養殖ハマチで 0.041ppm であり、全筋肉部のそれの天然ハマチで 45%、養殖ハマチで 36% の含量を示すに過ぎなかった。水銀におけるこの傾向は著者らが先に行った水銀汚染のない沿岸魚類¹⁰においても、野口らが行った水銀汚染の水俣湾魚類¹⁰においても認められている。一方、著者らが先に調べた沿岸魚介類におけるカドミウム、亜鉛、銅、鉛およびヒ素含量^{2,6-2,11}に比較しすべての金属で内臓部にその含量が高値であり、水銀とは全く逆の傾向であった。これらのことは、魚類における水銀の代謝経路が他の金属とは異なることを示唆し、魚類における水銀の特異的な現象といえよう。

R-Hg, Me-Hg, Et-Hg および Bu-Hg 含量 天然ハマチ No.1 (体長 63.0cm, 体重 3.24kg) および養殖ハ

マチNo.1 (体長58.6cm, 体重3.61kg) における筋肉部位別の R-Hg, Me-Hg, Et-Hg および Bu-Hg 量を表 2 に示す。また、天然および養殖ハマチそれぞれ10尾分を合せた臓器別の R-Hg, Me-Hg, Et-Hg および Bu-Hg 含量を表 3 に示す。なお、表 2 および表 3 には T-

Hg 含量と T-Hg 含量に占める Me-Hg 含量の割合も併記した。表 2 および表 3 から、いずれの筋肉部位、臓器とも原子吸光法により求めた R-Hg 含量と ECD-GC により求めた Me-Hg 含量とがほぼ一致することがわかる。また、ECD-GC により求めた Et-Hg および

表 2 筋肉の部位別 T-Hg, R-Hg, Me-Hg, Et-Hg および Bu-Hg 含量と T-Hg 含量に占める Me-Hg 含量の割合

検体	部位	T-Hg (A)	R-Hg	Me-Hg (B)	Et-Hg	Bu-Hg	B / A × 100
天然ハマチNo.1	1	0.102ppm	0.064ppm	0.071ppm	N. D.*	N. D.*	69.6%
	2	0.104	0.069	0.070	"	"	67.3
	3	0.105	0.065	0.072	"	"	68.6
	4	0.107	0.050	0.060	"	"	56.1
	5	0.134	0.088	0.089	"	"	66.4
養殖ハマチNo.1	1	0.107	0.071	0.061	"	"	57.0
	2	0.104	0.070	0.068	"	"	65.4
	3	0.110	0.089	0.075	"	"	68.2
	4	0.092	0.063	0.065	"	"	70.7
	5	0.120	0.079	0.080	"	"	66.7

* N. D. : 0.0001ppm以下

表 3 内臓の器官別 T-Hg, R-Hg, Me-Hg, Et-Hg および Bu-Hg 含量と T-Hg 含量に占める Me-Hg 含量の割合

器官	T-Hg (A)	R-Hg	Me-Hg (B)	Et-Hg	Bu-Hg	B / A × 100
天然ハマチ						
心臓	0.089ppm	0.068ppm	0.067ppm	N. D.*	N. D.*	75.3%
肝臓	0.042	0.025	0.025	"	"	59.5
腎臓	0.054	0.020	0.024	"	"	44.4
脾臓	0.041	0.018	0.015	"	"	36.6
胃	0.043	0.024	0.029	"	"	67.4
腸	0.046	0.022	0.030	"	"	65.2
幽門垂	0.046	0.027	0.035	"	"	76.1
卵巣	0.022	0.010	0.008	"	"	36.4
胆のう	0.014	0.003	0.003	"	"	21.4
養殖ハマチ						
心臓	0.081	0.064	0.055	"	"	67.9
肝臓	0.034	0.021	0.021	"	"	61.8
腎臓	0.042	0.013	0.014	"	"	33.3
脾臓	0.037	0.016	0.013	"	"	35.1
胃	0.039	0.017	0.018	"	"	46.2
腸	0.046	0.024	0.024	"	"	52.2
幽門垂	0.023	0.008	0.009	"	"	39.1
卵巣	0.025	0.008	0.009	"	"	36.0
胆のう	0.020	0.003	0.004	"	"	20.0

* N. D. : 0.0001ppm以下

Bu-Hg は検出感度0.0001ppmをもって全く検出されなかった。これらのことから、天然および養殖ハマチとも体内の R-Hg はすべて Me-Hg として存在することが考えられる。さらに、ハマチ体内では水銀のメチル化は考えられてもエチル化やブチル化は考えられないことを示唆する。以上のことはハマチのほか著者らが調べた天然と養殖のマダイ¹⁰およびトラフグ⁵¹においても同様であり、さらに沿岸魚介類44種133検体においても同様であった。魚介類体内に認められる Me-Hg が Me-Hg として体内にとりこまれるのか、とり込んだ無機水銀を体内でメチル化するののかについては現在のところ明らかでない。

天然および養殖ハマチにおける筋肉部位別、臓器別の T-Hg 含量に占める Me-Hg 含量の割合をみると、筋肉部では天然ハマチで56.1-69.6%、平均65.6%、養殖ハマチで57.0-70.7%、平均65.6%であった。一方、内臓部では臓器によって大きく異なるが、天然ハマチで21.4-76.1%、平均53.6%、養殖ハマチで20.0-67.9%、平均43.5%であった。筋肉部および内臓部とも天然ハマチと養殖ハマチでは、その割合に顕著な差はないといえる。しかし、天然および養殖ハマチとも筋肉部に比較して内臓部にその割合が小さい。筋肉部に比較し内臓部にその割合が小さいことは、著者らが調べた沿岸魚介類¹⁰においても同様であり、またカツオやマグロ^{4,23}においても認められている。

要 約

天然および養殖ハマチを用い、生態および生息環境の相違が体内水銀分布にどのような影響を与えるかについて検討し、次の結果を得た。

1. 天然ハマチと養殖ハマチとは筋肉部の T-Hg 含量レベルに差はなかった。しかし、天然ハマチでは普通肉に比較し血合肉に T-Hg 含量が高値を示した。一方、養殖ハマチでは筋肉部位間に含量差はなかった。

2. 天然ハマチと養殖ハマチとは内臓部の T-Hg 含量レベルに差はなかった。しかし、天然および養殖ハマチとも臓器によって大きな含量差が認められ、両者とも心臓が最も高値を示した。

3. 内臓部は筋肉部よりも T-Hg 含量が低値であり、その含量は天然ハマチで筋肉部の45%、養殖ハマチで36%を示すに過ぎなかった。

4. 天然および養殖ハマチとも体内の R-Hg として

は Me-Hg のみを検出し、Et-Hg および Bu-Hg は全く検出されなかった。

文 献

- 1) H.C. Freeman, D.A. Horne : *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 30, 1251-1252 (1973)
- 2) 下條信弘ら：産業医学, 17, 240-241 (1975)
- 3) 田口 正ら：分析化学, 26, 438-441 (1977)
- 4) 浜田盛承ら：水大研報, 25, 213-220 (1977)
- 5) 熊谷 洋, 佐伯清子：山口県衛生研究所年報, 第20号, 85-86 (1977)
- 6) 佐伯清子, 熊谷 洋：食衛誌, 20, 101-105 (1979)
- 7) 熊谷 洋, 佐伯清子：食衛誌, 17, 200-203 (1976)
- 8) 田辺弘也：食品衛生研究, 23, 999-1012 (1973)
- 9) 熊谷 洋, 佐伯清子：日水誌, 43, 755-759 (1977)
- 10) 熊谷 洋, 佐伯清子：食衛誌, 18, 553-556 (1977)
- 11) 熊谷 洋, 佐伯清子：日水誌, 44, 803-805 (1978)
- 12) K. Matsunaga et al : *Nature*, 258, 224 (1975)
- 13) 松原喜代松, 落合 明：魚類学 (下), pp.731-751 (1969) 恒星社厚生閣
- 14) 熊谷 洋, 佐伯清子：日水誌, 44, 269-272 (1978)
- 15) 日比谷 京：白身の魚と赤身の魚, pp.18-27 (1976) 恒星社厚生閣
- 16) M.D. Rayner, M.J. Keenan : *Nature*, 214, 392-393 (1967)
- 17) 落合 明：白身の魚と赤身の魚, pp.7-17 (1976) 恒星社厚生閣
- 18) 熊谷 洋, 佐伯清子：日水誌, 44, 807-811 (1978)
- 19) 野口敏子ら：熊本県衛生公署研究所報, 昭和49年度, 23-27 (1974)
- 20) 熊谷 洋：山口衛研業報, 5, 23-30 (1982)
- 21) 熊谷 洋：山口衛研業報, 5, 31-34 (1982)
- 22) 勝木康隆ら：東京衛研年報, 25, 257-263 (1974)
- 23) 田村行弘ら：東京衛研年報, 26, 200-204 (1975)

トラフグの臓器および皮における脂肪含量

山口県衛生研究所 (所長: 田中一成)

佐 伯 清 子・熊 谷 洋

Lipid Contents of Viscera and Skin in Puffer *Fugu rubripes*

KIYOKO SAEKI・HIROSHI KUMAGAI

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

フグは古くから食用に供されているが、その特性からフグ毒に関する研究が多い。このため、これまで栄養素に関する報告は極めて少ない。そこで、著者らは天然および養殖トラフグの一般栄養成分と無機成分が成長にともなってどのように変化するかを調べ、先に報告した¹⁾。その結果の一つとして、脂肪は筋肉部には蓄積されず、肝臓に蓄積されることがわかった。引き続き本報では、天然および養殖トラフグの筋肉と肝臓以外の組織について脂肪含量が成長にともなってどのように変化するかを調べた。同時に、天然および養殖トラフグの筋肉以外の組織の脂肪含量が季節によってどのように変化するかを調べた。得られた結果をここに報告する。

実験方法

供試試料: 天然魚は対馬沖で漁獲し、養殖魚は長門市仙崎の養殖場で育成したものである。成長のための試料は昭和56年3月に入手したがその概要は表1に示すとおりである。季節のための試料は昭和56年5月から翌年5月まで毎月1回3尾ずつを入手した。その概要は表2に示すとおりである。

分析方法: 天然魚、養殖魚とも1尾ごとに心臓、肝臓、腎臓、脾臓、胃・腸、生殖巣(卵巣または精巣)、胆のう(胆汁を含む)、皮および皮下組織を取り出した。各組織は常圧で加熱乾燥後エチルエーテル抽出法により粗脂肪含量を求めた。なお、胆のうおよび全重量が10g以下の未熟な生殖巣は試料としなかった。また当才魚においては肝臓と皮以外の組織は試料量が少ないため4尾をあわせて1試料とした。

結果および考察

成長にともなう変化: トラフグの各成長段階における各組織の脂肪含量を表3に示す。成長にともなう脂肪含

量の変化の傾向は、いずれの組織においても天然魚と養殖魚に差はなかった。腎臓中の脂肪含量は成長とともに増加したが、他のいずれの組織においても脂肪含量が、成長にともなって増加するなどの特定の傾向は認められなかった。

次に、各組織における脂肪総量について検討した。いずれの成長段階においても肝臓中の脂肪含量は圧倒的に高値であった。しかも魚体重に対する肝臓重量の比の平均値は天然魚で13%、養殖魚で14%であった。従って肝臓中には天然魚では魚体重の5~11%、養殖魚では9~13%にあたる脂肪が集中して蓄積されていることがわかった。フグ毒であるテトロドトキシンはその化学的性質から、この脂肪中には存在しないと考えられる。そこで、この脂肪を有効に利用することが望ましいと考える。肝臓の次には卵巣および胃・腸に脂肪含量が若干高値であった。成熟した卵巣では臓器重量は200g以上となり、卵巣中の脂肪総量は30~50gとなる。これは肝臓中の脂肪総量の12~25%に相当するのでこの脂肪も利用することが望ましいと考える。生殖巣以外では肝臓について胃・腸の臓器重量が重かったが脂肪総量は0~14gであり、肝臓中の脂肪の0~6%にすぎなかった。心臓、腎臓、脾臓、精巣、皮および皮下組織では脂肪含量が0.1~2.1%と極めて低値であるため、脂肪総量も極めて少量であった。

季節による変化: 各組織における月毎の脂肪含量を表4に示す。肝臓以外の組織では、季節による変化の傾向は天然魚と養殖魚に差はなかった。肝臓中の脂肪含量は天然魚では季節とともに変化しなかったが、養殖魚では夏から秋にかけて低値で、冬に高値であった。心臓と腎臓では7月に若干高値であった。脾臓と胃・腸では個体による変動の方が大きく、季節にともなう変化は認められなかった。皮および皮下組織では季節による変化は殆

表1 供試試料 (成長にともなう変化)

天然魚

検体番号	体長	体重	心臓	肝臓	腎臓	脾臓	胃・腸	胆のう	卵巣	精巣
1	43.9cm	2940g	3.5g	309g	26.2g	2.7g	93g	5.8g	413g	—
2	41.8	2690	4.1	221	19.7	3.4	71	5.4	—	601g
3	40.1	2520	3.4	390	20.4	3.1	89	7.7	240	—
4	36.0	1660	3.2	219	14.4	1.5	32	4.1	—	40
5	35.6	2050	2.6	225	15.2	1.4	61	3.2	—	404
6	35.3	1590	2.9	135	14.4	1.3	32	3.5	—	219
7	34.3	1360	2.3	178	12.4	1.6	24	5.2	6	—
8	32.5	1300	2.7	205	13.4	0.8	17	2.4	6	—
9	30.2	1100	2.0	140	10.6	0.8	31	4.4	9	—
10	30.0	1030	1.7	178	7.7	1.1	17	4.0	50	—
11	29.7	930	1.6	150	14.3	1.1	17	1.8	—	4
12	29.4	840	1.9	91	8.1	1.1	17	1.8	2	—
13	29.2	920	1.5	89	9.3	1.1	20	3.8	3	—
14	28.8	830	1.2	115	8.6	0.8	14	3.5	3	—
15	27.4	780	1.4	113	7.0	0.4	12	3.5	—	17
16	26.7	820	1.2	101	6.8	0.5	13	2.7	—	100
17	25.6	830	1.6	138	8.0	0.8	17	2.4	2	—
18	24.4	630	1.2	95	5.7	0.6	12	2.4	2	—

養殖魚

検体番号	体長	体重	心臓	肝臓	腎臓	脾臓	胃・腸	胆のう	卵巣	精巣
1	39.8cm	1700g	2.3g	252g	19.9g	3.7g	29g	3.2g	78g	—
2	36.7	1750	2.6	228	21.9	3.2	21	1.7	—	267g
3	35.8	1550	1.5	232	21.5	2.4	14	2.2	—	222
4	35.0	1060	1.1	137	18.5	1.9	17	7.2	13	—
5	34.8	1390	1.7	209	16.6	1.6	21	1.6	—	168
6	31.7	1010	1.4	168	16.1	2.4	19	2.0	45	—
7	31.5	910	1.1	134	11.7	1.1	12	1.7	7	—
8	31.0	990	1.2	137	9.8	1.9	17	1.4	5	—
9	27.7	690	0.7	95	7.1	1.4	8	1.1	—	69
10	27.4	560	0.9	67	6.1	1.1	7	2.1	2	—
11	26.4	580	0.7	86	8.7	0.4	9	0.8	2	—
12	24.9	560	0.7	79	7.1	0.7	8	2.5	1	—
13	24.7	480	1.0	76	6.8	0.7	7	1.1	2	—
14	21.1	240	0.4	36	3.3	0.2	4	0.2	1	—
15	19.6	210	0.4	29	2.7	0.2	3	0.2	0	—
16	18.6	210	0.3	26	2.9	0.4	3	0.2	0	—
17	18.6	180	0.3	26	2.4	0.3	3	0.3	0	—

表2 供試試料(季節による変化)

天然魚										
採取年月日	体長	体重	心臓	肝臓	腎臓	脾臓	胃・腸	胆のう	卵巣	精巣
昭和56年 5月9日	32.7±0.4cm	1120±140g	1.5g	185±62g	10.3g	1.8g	32g	3.5g	6g	4g
6月9日	30.9±1.6	1040±170	2.2	121±61	10.4	1.0	23	1.9	4	
7月11日	30.0±2.5	730±180	1.0	47±21	7.7	0.9	15	1.8	3	—
8月8日	37.1±1.1	1530±160	3.3	192±35	11.9	1.6	27	4.1	9	28
9月18日	30.4±4.9	850±370	1.4	94±75	8.3	0.6	17	2.2	2	10
10月14日	35.2±0.9	1210±90	2.6	97±9	10.7	0.9	22	2.6	10	10
11月13日	35.6±1.4	1580±170	2.1	209±33	12.9	1.5	39	4.6	10	77
12月16日	30.4±0.5	910±60	1.4	79±22	7.6	0.8	21	2.2	3	4
昭和57年 1月17日	30.3±1.0	890±60	1.9	95±15	8.6	0.7	23	1.9	3	6
2月15日	31.6±1.0	900±100	1.6	92±19	10.5	0.8	23	2.4	3	3
3月16日	34.8±3.3	1500±200	2.8	164±45	12.2	1.2	52	4.7	5	233
4月12日	36.2±0.4	1630±110	2.5	276±59	15.4	2.1	46	5.2	8	—
5月12日	31.8±0.7	1140±150	2.1	162±25	12.6	1.2	28	2.4	5	—

養殖魚										
採取年月日	体長	体重	心臓	肝臓	腎臓	脾臓	胃・腸	胆のう	卵巣	精巣
昭和56年 5月7日	34.3±0.5cm	1240±100g	1.9g	186±12g	13.6g	2.8g	24g	2.7g	11g	132g
6月9日	33.9±1.0	1190±70	1.6	210±26	12.9	2.0	26	1.7	36	—
7月9日	35.4±1.7	1110±60	1.8	179±35	15.9	2.4	16	3.5	7	4
8月20日	35.6±1.2	1040±100	1.6	133±28	10.8	2.1	20	5.7	9	—
9月17日	35.3±0.7	1020±170	1.7	137±29	12.0	2.8	18	4.3	8	—
10月19日	33.3±0.6	1090±60	1.6	148±34	14.1	1.4	20	1.0	10	—
11月11日	35.9±2.1	1110±150	1.7	152±30	14.5	2.8	38	3.3	17	9
12月14日	32.4±0.5	930±20	1.4	147±28	11.4	1.4	37	2.0	9	4
昭和57年 1月19日	34.1±1.6	1060±130	1.6	179±38	13.2	2.1	50	1.5	39	140
2月10日	33.5±0.4	1110±80	1.4	193±16	12.9	2.0	48	2.3	63	5
3月12日	31.6±1.1	920±90	1.2	160±23	11.9	1.9	39	2.3	7	15
4月14日	30.8±0.3	1050±20	1.5	179±9	13.4	1.5	27	1.7	17	—
5月12日	30.9±1.2	1110±100	1.4	212±54	13.9	1.4	29	2.1	49	—

数値はすべて平均値

表3 各成長段階における脂肪含量

天然魚									
検体番号	心臓	肝臓	腎臓	脾臓	胃・腸	卵巣	精巣	皮	皮下組織
1	0.9%	63.8%	1.5%	1.3%	3.9%	11.9%	—	0.2%	0.5%
2	0.8	60.1	1.4	1.3	3.4	—	1.8%	0.2	0.5
3	0.7	61.9	1.3	1.2	15.4	12.1	—	0.2	0.4
4	0.6	64.9	1.0	1.6	16.4	—	1.6	0.3	0.6
5	0.7	67.6	1.1	1.5	13.0	—	1.7	0.3	0.4
6	0.5	64.7	1.3	1.1	5.3	—	1.9	0.3	0.4
7	0.6	73.4	1.4	1.2	3.2	—	—	0.1	0.4
8	0.9	64.6	1.1	1.9	12.3	—	—	0.3	0.4
9	0.7	59.9	1.1	1.6	7.9	1.7	—	0.2	0.5
10	0.5	57.4	1.1	1.6	11.7	10.9	—	0.3	0.6
11	0.6	65.4	1.1	1.1	5.5	—	—	0.2	0.6
12	0.4	55.0	0.9	1.1	4.2	—	—	0.2	0.5
13	0.7	56.8	1.0	1.1	1.3	—	—	0.2	0.5
14	0.8	63.7	1.0	1.3	3.2	—	—	0.2	0.5
15	0.8	59.5	0.8	1.8	1.4	—	1.5	0.2	0.5
16	0.7	62.1	0.9	1.8	5.1	—	1.7	0.3	0.5
17	0.7	59.9	0.9	1.1	3.4	—	—	0.3	0.6
18	0.5	62.3	0.9	1.7	4.0	—	—	0.2	0.5

繁殖魚									
検体番号	心臓	肝臓	腎臓	脾臓	胃・腸	卵巣	精巣	皮	皮下組織
1	0.6%	67.1%	1.0%	1.3%	10.5%	8.6%	—	0.2%	0.4%
2	0.5	70.7	1.2	1.2	6.3	—	2.0%	0.2	0.4
3	0.6	76.4	1.2	1.1	3.5	—	1.9	0.3	0.4
4	1.3	66.3	1.5	1.4	0.5	3.6	—	0.2	0.4
5	0.8	76.5	1.3	1.6	12.3	—	1.6	0.2	0.4
6	0.8	71.9	0.9	0.9	4.0	7.8	—	0.3	0.4
7	0.6	78.3	1.1	2.0	2.4	—	—	0.3	0.5
8	0.7	70.6	1.1	1.5	7.4	—	—	0.2	0.4
9	0.5	79.4	1.0	1.0	3.8	—	1.7	0.3	0.4
10	0.5	80.0	1.0	1.1	0.7	—	—	0.2	0.4
11	1.0	78.9	1.0	2.1	4.3	—	—	0.3	0.5
12	0.6	85.4	1.1	1.5	4.6	—	—	0.3	0.4
13	0.6	78.8	0.8	1.5	4.8	—	—	0.2	0.5
14		76.7				—	—	0.2	
15	0.5	73.3	0.9	1.2	5.4	—	—	0.2	0.6
16		70.2				—	—	0.3	
17		68.9				—	—	0.2	

表4 各月における脂肪含量

天然魚									
採取年月	心臓	肝臓	腎臓	脾臓	胃・腸	卵巣	精巣	皮	皮下組織
昭和56年 5月	0.7%	68.5±0.9%	1.4%	0.6%	2.2%	—	—	0.1%	0.4%
6月	0.7	63.5±4.4	1.4	1.6	2.1	—	—	0.1	0.4
7月	1.2	53.7±7.0	1.5	1.5	2.7	—	—	0.2	0.5
8月	0.5	73.7±3.6	1.3	1.1	1.7	1.4%	1.6%	0.1	0.4
9月	0.5	66.7±3.6	1.0	1.2	4.4	—	0.2	0.0	0.3
10月	0.4	67.8±3.6	1.0	1.6	2.4	1.6	1.4	0.0	0.2
11月	0.5	66.6±3.6	1.5	1.2	1.6	1.5	1.8	0.0	0.3
12月	0.7	64.4±1.4	1.0	1.4	1.3	—	—	0.1	0.4
昭和57年 1月	0.7	71.5±1.4	1.1	1.5	6.3	—	—	0.1	0.4
2月	0.5	69.2±4.0	1.4	1.4	2.7	—	—	0.0	0.4
3月	0.5	65.5±2.6	1.2	1.2	5.7	—	2.1	0.2	0.3
4月	1.0	71.6±1.9	1.2	1.0	5.5	1.5	—	0.3	0.5
5月	0.6	71.9±5.1	1.1	1.6	4.8	1.3	—	0.1	0.4

養殖魚									
採取年月	心臓	肝臓	腎臓	脾臓	胃・腸	卵巣	精巣	皮	皮下組織
昭和56年 5月	0.5%	81.5±7.4%	1.4%	0.7%	4.6%	1.1%	1.3%	0.2%	0.3%
6月	1.0	81.6±2.1	1.6	1.4	3.5	7.7	—	0.3	0.3
7月	1.6	68.7±3.9	2.0	1.7	1.5	—	—	0.2	0.4
8月	1.1	66.4±8.5	1.3	1.0	0.6	1.1	—	0.1	0.3
9月	0.7	65.8±3.2	1.1	0.6	3.1	0.7	—	0.1	0.3
10月	0.7	64.3±4.4	1.0	1.0	3.8	0.9	—	0.1	0.4
11月	0.8	67.0±4.4	1.6	0.8	1.1	2.0	1.2	0.2	0.4
12月	0.8	80.4±0.8	1.6	0.9	5.1	1.9	—	0.2	0.4
昭和57年 1月	0.8	77.6±1.5	1.2	1.2	11.2	5.6	2.0	0.2	0.4
2月	0.6	82.7±3.0	1.4	0.9	7.0	6.8	—	0.2	0.3
3月	0.5	79.7±1.0	1.3	0.7	4.4	1.0	2.0	0.2	0.3
4月	0.9	76.2±1.7	1.4	2.2	8.8	4.4	—	0.2	0.3
5月	0.8	72.6±3.8	1.3	1.2	3.3	6.3	—	0.2	0.4

数値はすべて平均値

んど認められず、しかも個体による差も小さかった。

次に各組織における脂肪総量について検討した。この結果は先に述べた成長にともなう変化で得た結果と殆ど同様であった。

要 約

天然および養殖トラフグの各組織における脂肪含量の成長および季節による変化を調べた。

天然魚、養殖魚ともいずれの成長段階においても組織重量は成熟した生殖巣を除いて肝臓が圧倒的に重く、しかも脂肪含量が著しく高値であることがわかった。また季節を問わず肝臓が常に重く、しかも脂肪含量が著しく高値であることがわかった。すなわち、トラフグにおいては生息環境、成長度、季節を問わず常に脂肪が肝臓に集中して蓄積されることが認められた。

成熟した卵巣はかなり脂肪を蓄積していることがわかった。その他の卵巣および胃・腸では脂肪含量は若干

高値であるが臓器重量が重くないため脂肪総量は少なかった。心臓、腎臓、脾臓、精巣、皮および皮下組織ではいずれも脂肪含量が著しく低値であるため脂肪総量は極めて少量であった。

文 献

- 1) 板沢靖男：魚類生理学概論，pp.182—193 (1977) 恒星社厚生閣
- 2) 多部田修・熊谷 洋：食衛誌，21，405—407 (1980)
- 3) T. Matsui *et al.*: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 48, 253 (1982)
- 4) 野中順三九ら：水産食品学，p.6 (1976) 恒星社厚生閣
- 5) 佐伯清子・熊谷 洋：日水誌，48，967—970 (1982)

底質とアサリの重金属含量について

熊谷 洋・佐伯 清子

日本水産学会誌, 48巻6号, 837-841 (1982)

山口県下で採取した底質とアサリの重金属 (Hg, Cd, Pb, Cu, Zn, Mn, Ni, Co, Cr および As) 含量を測定した。底質の各金属の0.1および0.001 N 塩素抽出率は底質および金属の種類により異なり, Cd で大きく Hg で小さかった。アサリの底質に対する各金属含量の比は底質の測定方法により異なり, Hg で大きく Mn お

よび Cr で小さかった。各金属含量とも底質は環境衛生上, アサリ食品衛生上問題となるものはなかった。アサリの重金属含量と底質の全分解物, 0.1および0.001 N 塩酸抽出物の重金属含量とには, いずれもすべての金属で相関が認められなかった。

他誌登載業績

天然および養殖トラフグの成長にともなう
一般成分と無機成分の変動

佐伯 清子・熊谷 洋

日本水産学会誌, 48巻7号, 967-970 (1982)

天然および養殖トラフグを用い, 一般成分と無機成分含量の成長にともなう変動を調べた。天然魚, 養殖魚とも一般成分 (水分, 粗タンパク質, 粗脂肪および灰分) はいずれも, ほぼ一定値を保ちながら成長することがわかった。無機成分のうちマグネシウム, ナトリウム, リ

ンおよびカリウムは一般成分と全く同様な傾向を示した。鉄は当才魚にのみ高く, その後はほぼ一定値を保った。カルシウムは天然魚, 養殖魚とも成分にともないわずかに減少する傾向が認められた。

学会発表

アサリの重金属含量について

熊谷 洋・佐伯 清子

第29回山口県公衆衛生学会, 1982. 6. 4

天然および養殖トラフグの成長にともなう
重金属含量の変化について

熊谷 洋・佐伯 清子

日本水産学会昭和57年度秋季大会, 1982. 10. 4

山 口 県
衛 生 研 究 所 業 績 報 告
第 6 号
昭 和 58 年 3 月 (1983)

昭和58年3月25日印刷

昭和58年3月30日発行

編集兼発行所 山口県衛生研究所
印刷所 藤高田商事
