

表10 博多湾水質測定結果 生活環境項目(環境基準点のみ)

水域名	類型	N	pH		DO		COD		油分	
			m/n	最小～最大	m/n	最小～最大	m/n	最小～最大	m/n	最小～最大
博多湾東部	Bハ	9	19/60	8.0～8.9	3/60	2.8～1.7	20/60	0.7～8.5	0/11	ND
〃 中部	Aロ	9	23/60	8.0～8.9	14/59	2.7～1.4	41/60	0.9～6.7	0/12	ND
〃 西部	Aイ	9	13/60	8.0～8.8	18/59	4.7～1.2	25/60	<0.15～6.1	0/12	ND

m: 環境基準に適合しない検体数。 n: 総検体数。

表11 博多湾水質測定結果 健康項目

水域名	N	カドミウム		シアン		有機リン		鉛		クロム(6価)		ヒ素		総水銀		アルキル水銀		PCB	
		m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値
博多湾東部	3	0/6	<0.005	0/6	ND	0/3	ND	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/6	ND	0/3	ND
中部	3	0/6	<0.005	0/6	ND	0/3	ND	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/6	ND	0/3	ND
西部	3	0/6	<0.005	0/6	ND	0/3	ND	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/6	ND	0/3	ND

m: 環境基準に適合しない検体数。 n: 総検体数。

3) その他

全国地方衛生研究所協議会の事業で52年度に引きつづき人血中の重金属の調査を行った。

4. 昭和53年度 学会等発表一覧表

演 題 名	学 会 名	会 期	会 場	発表者(講演者○印)	備 考
今冬福岡市内に発生したA型インフルエンザの流行調査	第25回福岡県公衆衛生学会	53. 5. 24	福岡県看護等研究研修センター(福岡県)	○馬場純一、永原公一 西本幸一、山本泰寛 北原郁也 福岡市養護教諭会	所報3号 調査研究に掲載
福岡市内における風疹抗体保有状況とIgM抗体について	同 上	同 上	同 上	馬場純一、○永原公一	所報3号 資料に掲載
ブドウ球菌食中毒推定原因食品からのエンテロトキシンの検出	同 上	同 上	同 上	○小田隆弘、大久保忠敬 磯野利昭、西本幸一 山本泰寛	所報3号 調査研究に掲載
各種食品等におけるCL _e perfringensの汚染について	同 上	同 上	同 上	○磯野利昭、大久保忠敬 小田隆弘、西本幸一 西本幸一	所報3号 資料に掲載
「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」の規制対象外製品におけるホルムアルデヒドについて	同 上	同 上	同 上	○椿美代子、 相川充夫(環境衛生課)	所報3号 調査研究に掲載
ばっき式し尿浄化槽における分離型と全ばっき型の放流水の比較について	同 上	同 上	同 上	○山田良治、藤本和司、近藤久幸 金堂和生、戸田幸一、武田 昭 待井淳一、信岡志治朗、村田建夫 藤 弘(南保健所)	同 上
陰イオン界面活性剤の自動分析	同 上	同 上	同 上	藤 本 和 司	所報4号 ノートに掲載
1978年1月福岡市内に流行したA(H ₁ N ₂)型インフルエンザについて	第41回日本感染症学会西日本地方会	53. 6. 9	宮崎県医師会館(宮崎市)	○馬場純一、永原公一	所報3号 調査研究に掲載
喘息児療養施設に流行したインフルエンザA(H ₁ N ₂)の臨床症状ならびに血清学的所見について	同 上	同 上	同 上	○中島文雄、新田由紀子 馬場純一	所報4号 抄録に掲載
食器等におけるフェノールの溶出について	第15回全国衛生化学技術協議会	53. 9. 28 ~ 29	愛媛県文教会館および地方職員共済組合道後保養所えひめ(松山市)	藤 本 喬	
市内河川底質の重金属について	同 上	同 上	同 上	宮 原 正 太 郎	所報3号 資料に掲載
陰イオン界面活性剤の自動分析	第36回日本公衆衛生学会	53. 10. 18 ~ 20	東 京 都	藤 本 和 司	所報4号 ノートに掲載
福岡市内河川におけるMBASの分布と推移について	九州山口薬学会	53. 10. 26 ~ 27	福 岡 市	吉 武 和 人	所報3号 調査研究に掲載
SP-Sephadex クロマトグラフィーを用いたブドウ球菌エンテロトキシンA, B, C ₂ の簡易精製	日本細菌学雑誌33巻6号743~752	53. 11		小 田 隆 弘	
環境大気中の塩素イオンの分析について	環境保全・公害防止研究発表会	53. 11. 30 ~ 12. 1	東 京 都	○小寺 信、関塚幸雄	所報3号 抄録に掲載
井戸水の飲用適否検査における問題点について	第4回九州衛生公害技術協議会	54. 2. 8 ~ 9	長崎市出島会館	○篠塚正義、近藤久幸 小川正子、佐々木康江	所報4号 ノートに掲載
水質保全における自動分析の役割	テクニコン国際シンポジウム	54. 3. 2 ~ 3	東 京 都	藤 本 和 司	所報4号 抄録に掲載

Ⅲ 調 査 研 究

1. ラテックス凝集反応を用いたブドウ球菌エンテロトキシンの食品等からの検出

微生物課 衛生細菌係

小田 隆 弘 ・ 大久保 忠 敬
永井 誠 ・ 西本 幸 一
大丸 健之助

ブドウ球菌食中毒の検査にあたっては、推定原因食品または吐物等からエンテロトキシン(以下ETと略)が検出できれば最も確実な判断ができる。また、それが従来の細菌学的検査よりも迅速にかつ容易に行えるものならば、食中毒発生後の処置、行政指導等が速やかに実施でき適切な対応が可能となろう。このような観点にたつて、食品等からETを検出しようという試みが種々なされてきた¹⁾。それらの中で、高感度で迅速な方法としてあげられるものに、Radioimmunoassay (RIA)²⁾、Reversed Passive Hemagglutination (RPHA: 逆受身赤血球凝集反応)³⁾、Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISAまたはEIA)⁴⁾等があるが、RIAは放射性物質を用いるため一般的でなく、ELISAは酵素を用いるためやや複雑な手技を必要とする。従って現在のところ、RPHA法が最も容易に迅速かつ高感度にETを食品等から検出できる適切な方法といえるであろう。しかしながら、RPHA法の唯一とも言えるべき欠点は、担体として羊等の血球を用いるため、食品等に含まれる非特異的血球凝集素による非特異的凝集反応が免れない事であろう⁵⁾。われわれの経験によれば、或る種の肉製品や脂質含有食品等ではこれらの非特異的血球凝集素を除去する事は極めて困難であった⁶⁾。また分離したブドウ球菌のET型別をRPHA法で行なう場合にも、かなり強い非特異的凝集反応をおこす菌株がある事も経験している。

われわれは、この唯一とも言えるべき欠点を補う目的で、血球の代りに化学合成品であり、臨床検査の分野では盛んに用いられている⁷⁾ポリスチレンラテックス粒子を用いる事を考え、その有効性を検討した。ラテックス粒子を用いてETを検出しようとする試みはSalomonら⁸⁾が既に10数年前に行なっているが、彼らを用いた感作抗体がアフィニティークロマト等で精製されたものではなく、特異性の面で不充分であったのか、その後この方法を用いたET検出法の報告はみられない。われわれは、彼らが行なった逆受身ラテックス凝集反応(Reversed Passive Latex Agglutination; RPLAと略)に再検討

を加え、RPHA法の手技と利点³⁾を応用し、ほぼ所期の目的を達成しうる結果が得られたので報告する。

I 材料および方法

1. ポリスチレンラテックス

Uniform Latex Particles (Dow Chemicals) 0.22 μ , ポリスチレンラテックスSDL 43 (武田薬品工業), 同SDL 59 (同), 同SDL 73 (同)のうち種々の予備試験の結果、ポリスチレンラテックスSDL 59を選び以後の実験に供した。

2. 精製ETと抗血清

精製ETA, B, Cとその抗血清は既に報告した方法⁹⁾により、また精製ETEとその抗血清は最近開発した方法(未発表)により調製した。

3. 抗ET抗体の調製(アフィニティークロマト)

精製ETそれぞれを約5 μ gずつ1.5gのCNBr-activated Sepharose 4B (Pharmacia Fine Chemicals) に常法¹⁰⁾通りカップリングさせカラム(1 \times 5cm)につめた。これにあらかじめ0.5M NaCl加0.2M Tris-HCl buffer, pH 8.0に対し透析した抗血清を流し、同bufferで充分洗った後吸着した抗体を0.5M NaCl加0.2M gly-HCl buffer, pH 2.3で溶出し、ただちにpH修正を行ない、感作時に用いるbufferに対し透析し4 $^{\circ}$ Cまたは-20 $^{\circ}$ Cに保存した。

4. 抗ET抗体感作ラテックスの調製

ラテックス粒子(以下Lxと略)をPBS(M₁₅Na₂HPO₄-NaH₂PO₄:Saline 1:3, NaN₃ 0.1%含有)で0.025%に希釈し、抗ET抗体10 μ g/mlを等量加えて室温で1時間感作(coating)させた。遠心(3,000rpm 10分)したのちPBSとDiluent(PBS:5%BSA:1%PVP 200:40:1)でそれぞれ1回洗浄したのちDiluentでLx濃度0.0125%となるよう調製した。用いたLxの種類、感作時のbuffer、Lx濃度、感作抗体の濃度、感作温度、感作時間、Diluent、遠心条件などはいずれも予備試験を行ない最適と思われる条件で行なった。

5. マイクロタイター(RPLA)

マイクロプレートはディスポプレート(トミー)U型または permanent plate (Cook eng.) typeUを用いた。抗原液を Diluent で2倍希釈し、これに感作Lx液1滴(0.025ml)ずつを加えよく混和したのち室温で1晩(12~16時間)放置後判定した。食中毒事例等で急を要する場合には、よく混和したのち37℃のふらん器に10分放置後マイクロプレート遠心ホルダー(トミーR4ローター)で1000 rpm 5分遠心後判定した。この時の検出感度は一晩放置後判定する方法にくらべて1管程度低い傾向がみられたが大きな差はなかった。

6. 食品等からのET抽出

回収実験に用いた各種食品および食中毒推定原因食品および吐物等からのETの抽出は次の通り行なった。試料に9倍量のSalineを加えてストマッカー400(Colworth)で十分にホモゲナイズしたのちその一部をとって遠心(14,000 rpm 20分)しその上清を口紙(東洋科学製)で口過しその口液を抗原液とした。

7. ブドウ球菌培養上清のET型別

食中毒事例より分離されたブドウ球菌およびET産生標準株を、3%NZ-amine NAK(Scheffield Chemicals), 3%ポリペプトン(大五栄養化学), 0.001%ニコチン酸, 0.00005%塩酸チアミンを含む培地(pH 6.8)50mlに接種し、37℃で48時間振盪培養を行ない遠心(10,000 rpm 10分)して上清を得た。一部は濃縮する事なしにRPLAを行ない、残りは50%ポリエチレングリコール20,000に対し透析し約40倍に濃縮したのちマイクロライトゲル内沈降反応法によりET型別を行なった。

この時のETA, B, C, Eの検出は自家製の抗血清を用い、ETDの検出は、M. S. Bergdoll博士から分与されたReference ETDおよび抗ETD血清を用いて行った。ET産生標準株は、Staphylococcus aureus FRI-722, 同243, 同FRI-361, 同494, 同1151-7NG, 同326を用いた。前3株は大阪府公衆衛生研究所品川邦汎先生より、後3株は東京都衛生研究所寺山武博士より分与を受けたものである。

I 成 績

1. 抗ET抗体感作Lxの検出感度と特異性

精製ETA, B, C, E各0.1 $\mu\text{g/ml}$ をDiluentで2倍希釈し、抗ET抗体感作Lx(抗ETA抗体感作Lx, 抗ETB抗体感作Lx, 抗ETC抗体感作Lx, 抗ETE抗体感作Lx)をそれぞれ加えて、抗ET抗体感作Lx各々の検出感度と特異性をしらべた(表1)。

検出感度はいずれも約1 ng/ml であった。抗ETA感作LxはETE(0.1 $\mu\text{g/ml}$)にも64倍のtiter(RPLA価)を示し、かなり強い免疫学的交差反応が認められた。

表1 抗ET抗体感作Lxの感度と特異性

Pure ET (0.1 ng/ml)	抗ET抗体感作Lx			
	A	B	C	E
A	128 (0.8 ng/ml)	—	—	16
B	—	128 (0.8 ng/ml)	—	—
C	—	—	128 (0.8 ng/ml)	—
E	64	—	—	128 (0.8 ng/ml)

数字はRPLA titerを示す

()内の数字はその時の検出感度を表わす

同様に、抗ETE抗体感作LxはETA(0.1 $\mu\text{g/ml}$)に対し16倍のtiter(RPLA価)を示した。(これらETAとETEの間にみられた免疫学的交差反応については次報で検討している。)ETAとEの間にみられた免疫学的交差反応を除いては、非特異的反応、交差反応は認められず、特異性の高い結果が得られた。

2. 各種食品からのETの回収とRPLAによる検出

白飯, シュークリーム, 大福もち, スライスハム, マヨネーズ, 育児用粉ミルク, チーズ, 錦糸卵焼, フライ用冷凍えび(ころも付), 冷凍オムレツ, 冷凍ミンチカツ, 板付かまぼこ, 天ぷらかまぼこ, かしわめしおにぎり, チョコレートケーキ, 野菜サラダサンドウィッチ, 白いんげん煮豆, 大豆煮豆, うずら豆煮豆の19種の食品にETA, B, C, Eを適量ずつ添加したのち, Saline抽出, 遠心, 口過を行ない, RPLA法によりETの検出(回収)と非特異的凝集反応の有無をしらべた(表2)。

回収率は30~250%とかなり大きなバラツキを示したが、これは2倍希釈法で行なっているため、大半が60~120%を示している事からほぼ60%以上の回収率があると考えられる。食品からのETの検出限界はおおよそ食品1g当り0.01~0.02 μg (10~20 ng)であった。

非特異的凝集反応は27事例(19種食品)1例も認められなかった。

3. 食中毒推定原因食品からのETの検出

次に実際の食中毒10事例から得られた推定原因食品等(吐物2件)からET抽出を行ないRPLA法によりETの検出を試みた(表3)。

10事例(10検体)中7例よりETが検出され、その濃度は0.01~0.1 $\mu\text{g/g}$ であった。ETが検出された7例のうちETAが検出されたものが4例、ETAとETBが検出されたもの1例、ETCが検出されたもの2例でこの2例はいずれも吐物であった。ETが検出されなかった3例(事例5, 7, 10)はいずれも推定原因食品として持ち込まれたものであったが、真の原因食品でなかった

表2. 各種食品からのETの回収

No	食品	添加したETの		回収率	NSA	※1
		型と濃度($\mu\text{g}/\text{ml}$)	検出されたET($\mu\text{g}/\text{ml}$) (%)			
1	白飯	A 0.1	0.12	120	-	※2
2	"	A 0.05	0.03	60	-	
3	"	A 0.02	0.01	50	-	
4	"	A 0.01	-	0	-	
5	"	B 0.02	0.01	50	-	
6	"	B 0.01	0.01	100	-	
7	"	C 0.02	0.02	100	-	
8	"	C 0.01	-	0	-	
9	"	A 0.05	0.03	60	-	
		B 0.05	0.06	120	-	
		C 0.05	0.016	32	-	
10	シュークリーム	A 0.1	0.12	120	-	
11	大福もち	B 0.1	0.12	120	-	
12	スライスハム	C 0.1	0.12	120	-	
13	マヨネーズ	A 0.05	0.06	120	-	
14	粉乳	B 0.05	0.03	60	-	
15	チーズ	C 0.05	0.03	60	-	
16	フライ用冷凍えび (ころも付)	A 0.05	0.03	60	-	
		C 0.05	0.03	60	-	
17	錦糸卵	A 0.05	0.03	60	-	
		B 0.05	0.03	60	-	
18	オムレツ	B 0.1	0.12	120	-	
		C 0.1	0.25	250	-	
19	ミンチカツ	E 0.1	0.12	120	-	
20	板付かまぼこ	C 0.1	0.12	120	-	
21	天ぷらかまぼこ	A 0.1	0.12	120	-	
22	かしわめし おにぎり	B 0.1	0.06	60	-	
23	チョコレート ケーキ	A 0.1	0.12	120	-	
		B 0.1	0.06	60	-	
		E 0.1	0.12	120	-	
24	野菜サンドイッチ	B 0.1	0.12	120	-	
25	煮豆(白いんげん)	A 0.1	0.12	120	-	
26	"(大豆)	B 0.1	0.12	120	-	
27	"(うずら豆)	C 0.1	0.12	120	-	

※ 1：非特異的凝集反応 ※ 2：無
(Non Specific Agglutination)

か、或いは原因食品であってもたまたまET濃度が低かったか不明である。また、ETDの検出は行なえなかったため、その可能性も否定できなかった。

ETが検出された7例ではいずれも検体搬入後数時間以内遅くとも翌日までには結果が判明しており、細菌学

表3. 食中毒推定原因食品からのET検出

事例	検体	回収ET		※1
		型	$\mu\text{g}/\text{g}$	
1	かしわめし弁当	A	0.05	※2
2	錦糸卵	A	0.10	-
3	おにぎり	A	0.02	-
4	いなりずし	A	0.01	-
	"	B	0.01	-
5	天ぷら	-	-	-
6	おはぎ	A	0.02	-
7	ハンバーガー	-	-	-
8	吐物	C	0.02	-
9	吐物	C	0.1	-
10	うにめし	-	-	-

※ 1：非特異的凝集反応 ※ 2：無
(Non Specific Agglutination)

的検査はその確認をした形となり、ブドウ球菌食中毒における食品残物あるいは吐物等の重要性を改ためて実証した。

非特異的凝集反応がみられたのは1例もなく、ETが検出されなかった3事例はいずれも凝集像がみられなかったものである。

4. ブドウ球菌培養上清のET型別

食中毒事例から分離されたブドウ球菌18株とET産生標準株6株のET型別をRPLA法およびゲル内沈降反応法で行った(表4)。

RPLA法ではそのtiterが約1,000倍以上示したものを一応その菌体のET型とすると、その結果はゲル内沈降反応で得られたET型と非常によく一致した。それらの型別成績をみると食中毒分離株18株のうち、A型6株、A+B型7株、A+C型1株、C型1株、D型1株、型別不能2株であった。

RPLA法では20~80倍程度の低いtiterを示す場合がしばしばみられたが、この原因が、その型のETを微量産生しているのか、非特異反応の一部なのか或いはET間の免疫学的交差反応によるものか不明である。いずれにしてもこれらのtiterと、高いtiterとの間には明らかに差があり、型別には問題ないと思われる。

ETA産生標準株であるStaphylococcus aureus FRI-722株は抗ETA抗体感作Lxに対し20,480倍(ETA量として約20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、抗ET E抗体感作Lxに対して2,560倍のtiterを示したが、抗ET B抗体感作Lx、および抗ET C抗体感作Lxに対しては10倍以下のtiterであった。ET B産生標準株であるS. aureus 243株は抗ET B抗体感作Lxに対し81,920倍(ET B量として約82 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、

表4. ブドウ球菌培養上清のE T型別

菌株 No	抗E T抗体感作Lx				ゲル内沈降反応によるE T型別		
	A	B	C	E			
食 中 毒 由 来 株	1	2,560※1	80	—※2	40	A	
	2	—	—	—	—	—	
	3	2,560	1,280	—	—	40	A+B
	4	5,120	20	—	—	80	A
	5	2,560	2,560	—	—	40	A+B
	6	—	—	—	—	—	—
	7	20	40	—	—	—	D
	8	5,120	—	20,480	—	80	A+C
	9	20	—	10,240	—	—	C
	10	5,120	20	—	—	40	A
	11	1,280	—	—	—	40	A
	12	2,560	2,560	—	—	40	A+B
	13	2,560	1,280	—	—	40	A+B
	14	1,280	1,280	—	—	40	A+B
	15	1,280	1,280	—	—	40	A+B
	16	2,560	20	—	—	80	A
	17	2,560	1,280	—	—	80	A+B
	18	1,280	40	—	—	40	A
標 準 株	722	20,480	—	—	2,560	A	
	243	—	81,920	20	—	B	
	361	—	40	163,840	—	C	
	494	—	40	—	—	D	
	1151-7NG	—	640	—	—	D	
	326	640	20	—	2,560	E	

※1: RPLA titer ※2: 10倍以下

抗E T C感作Lxに対して20倍の titer を示した。E T C 産生標準株である *S. aureus* FRI-361は抗E T C 感作Lxに対し163,840倍 (E T C量として160 $\mu\text{g/ml}$)、抗E T B抗体感作Lxに対し40倍の titer を示した。E T D 産生標準株である *S. aureus* 494および同1151-7NG は、抗E T B抗体感作Lxに対しそれぞれ40倍、640倍の titer を示した。E T E 産生標準株である *S. aureus* FRI-326は抗E T A抗体感作Lxに対し640倍、抗E T E 抗体感作Lxに対し2,560倍 (E T E量として約2.6 $\mu\text{g/ml}$) の titer を示した。

III 考 察

E TをRPHA法で検出しようという試みはSilvermanら¹¹⁾によって初めて試みられたが、彼らの用いた抗E T抗体は硫酸分画等により調製されたものであったため特異性が低く実用的ではなかった。Yamadaら³⁾は抗E T抗体の調製にアフィニティークロマトを用い、特異性が高いRPHA法を開発する事に成功した。われわれもこの方法を用い、実際の食中毒の事例等に利用しているが時々、食品等に含まれる非特異的血球凝集素に基づくと思われる非特異的凝集反応を経験している。これらの非特

異的凝集反応を除くため種々の検討(溶媒処理等)を試みたが満足できる結果が得られなかった。従って、血球凝集素の影響を受けない、血球以外の担体としてポリスチレンラテックス(Lx)を用いる事を考えた。Lxを用いてE Tを検出しようとする試みは既にSalomonら⁸⁾によって報告されているが、彼らの用いた抗E T抗体も特異的なものではなく、われわれの追試験でも非特異的凝集反応を免れず実用的ではなかった。

われわれは、抗E T抗体をアフィニティークロマトで精製すると同時に、用いるLx粒子にも検討を加え特異性の高い逆受身ラテックス凝集反応(RPLA)を開発した。この方法の利点はRPHA法に較べ非特異的凝集反応が極めて少い事、用いる担体が化学合成品であるためロット差が少い事、感作Lxの調製法が容易である事、血球に較べ保存性にすぐれている事等である。欠点としてはLx粒子が血球に較べ高価である事、判定に長時間を要する事である(食中毒事例等で結果を急ぐ場合には、遠心操作を加える事により判定時間を大幅に短縮する事は可能であるが、やや検出感度が低下する。)

非特異的凝集反応をおこす検体以外では、Yamadaら³⁾によって開発されたRPHA法は十分に実用的であり、ブドウ球菌食中毒検査に画期的な進歩を与えたと言えるであろう。従って、われわれはRPHA法の価値を決して否定するものではなく、非特異的凝集反応をおこす検体の場合のみRPLA法の長所が発揮できると考えており、事実、食中毒検査等ではダブルチェックの意味も含めてRPHA法を併用しており、互いにその長所を利用している。

今後、これらの方法が普及し、ブドウ球菌食中毒検査については食中毒予防の一助となる事を願っている。

RPHAの指導を賜った東京都衛生研究所寺山武先生、五十嵐英夫先生、山田澄夫先生、菌株の分与を賜った大阪府公衆衛生研究所邦汎先生、RPLA法の御指導を賜った東大医学部分院中央検査部富山哲雄先生、Reference E T Dおよび抗E T D血清の分与を賜った米国Wisconsin大学M. S. Bergdoll教授に心から感謝の意を表します。

文 献

1. 寺山 武: ブドウ球菌エンテロキシンに関する最近の知見, 日細菌誌, 26, 611-622, 1971
2. Gruber, J., and Wright, G. G.: Ammonium sulfate coprecipitation antibody determination with purified staphylococcal enterotoxins, J. Bacteriol., 99, 18-24, 1969
3. Yamada, S., Igarashi, H., and Terayama, T.:

- Improved reversed passive hemagglutination for simple and rapid detection of staphylococcal enterotoxins A~E in food, *Microbiol. Immunol.*, 21, 675 - 682, 1977
4. Notermans, S., Verjans. H. L., Bol. J., and van Schothorst., M. : Enzyme Linked Immunosorbent assay (ELISA) for determination of *Staphylococcus aureus* Enterotoxin type B, *Health Lab. Sci.*, 15, 28 - 31, 1978
 5. 五十嵐英夫, 山田澄夫, 寺山 武 : 食品中のブドウ球菌エンテロトキシンの簡易迅速検出法, *モダンメディア*, 24, 519 - 528, 1978
 6. 小田隆弘, 永井 誠, 大久保忠敬, 西本幸一, 大丸健之助 : ラテックス凝集反応を用いたブドウ球菌エンテロトキシンの検出, 第26回福岡県公衆衛生学会講演集, 14, 1979
 7. 富山哲雄, 竹原久則, 佐藤幸男 : 逆受身ラテックス凝集反応による HB_s 抗原の定量, *臨床病理*, 26 補冊 (第 25 回臨床病理学会総会講演要旨), 508, 1978
 8. Salomon, L. L., and Tew., R. W. : Assay of staphylococcal enterotoxin B by latex agglutination, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 129, 539 - 542, 1968
 9. 小田隆弘 : SP-Sephadex クロマトグラフィーを用いたブドウ球菌エンテロトキシン A, B, C₂ の簡易精製, *日細菌誌*, 33, 743 - 752, 1978
 10. Pharmacia Fine Chemicals : *Affinity Chromatography - Principles and Methods*, Pharmacia Japan, 9 - 16, 1976
 11. Silverman, S. J., Knott, A. R., and Howard, M. : Rapid, sensitive assay for staphylococcal enterotoxin and a comparison of serological method, *Appl. Microbiol.*, 16, 1019 - 1023, 1968

2. ラテックス凝集反応を用いたブドウ球菌エンテロトキシンAおよびEの免疫学的交差反応の検討

微生物課 衛生細菌係

小田 隆 弘 ・ 永 井 誠
大久保 忠 敬 ・ 西 本 幸 一
大 丸 健之助

1-3)

ブドウ球菌食中毒は、分子量が約3万の単純蛋白質であるエンテロトキシン(以下ETと略)を、食品と共に摂食した時に惹起される。ETは免疫学的に区別されるA, B, C, DおよびEの5型があるが、Gruberら⁴⁾ Speroら⁵⁾はラジオイムノアッセイ法を用いて、また Johnsonら⁶⁾が固相ラジオイムノアッセイ法を用いて、それぞれETA, B, C間に免疫学的交差反応を認めている。また、Bergdollら⁷⁾、品川ら⁸⁾がゲル内沈降反応法により、ETAとETEとの間に交差反応を認めている。これらのうち、通常の方法(Oucierlony法⁹⁾またはマイクロスライドゲル内沈降反応法¹⁰⁾)で問題となるのは、ETAとEとの交差反応で、品川ら⁸⁾はETの検出にあたってETAとEを互いに誤認する可能性を指摘している。Leeら¹¹⁾は、ETAとEとの免疫学的交差反応について検討し、その結果、抗ETA血清中には、ETAとのみ反応する抗ETA-Specific抗体と、ETAおよびETE両者に共通して反応する抗ETA-Common抗体があり、抗ETE血清中には、ETEとのみ反応する抗ETE-Specific抗体と、ETEおよびETAとも反応する抗ETE-Common抗体が存在する事を報告している。

一方、ETの検出は、従来のマイクロスライドゲル内沈降反応法に代って、逆受身赤血球凝集反応法(RPHA)や免疫酵素反応法(ELISA)¹⁴⁾等の高感度な方法が開発され、ますます、ET相互の交差反応に基づくET型の誤認の可能性が高まってくると考えられる。

われわれは、RPHA法で用いる羊固定血球の代りに、ポリスチレンラテックスを用いた逆受身ラテックス凝集反応法(RPLA)を開発し、これを用いて、特に、ETAおよびEの間の交差反応に検討を加え、併せて、他の型のET(B, C)との間の交差反応についても調べたので報告する。

I 材料および方法

1. ポリスチレンラテックス(Lx)

用いたLx粒子はSDL59(武田薬品工業, 大阪)を

使用した。

2. 精製ETA, B, CおよびEの調製

精製ETA, B, Cは既に報告した方法¹⁵⁾により、またETEの精製はわれわれが開発した方法(未発表)により行なった。

3. 抗ETA血清および抗ETE血清の調製

精製ETAまたはEを、それぞれ別個のウサギにShinagawaら¹⁶⁾の方法に従い抗血清を作製した。各1個体ずつの抗血清を用いた。抗ETA血清は、マイクロスライドゲル内沈降反応で、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ のETAに対し32倍のtiterを示し、抗ETE血清は同法で、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ のETEに対し32倍のtiterを示した。

4. アフィニティークロマトグラフィー

精製ETAまたはEを5mgずつ、それぞれ別個に、1.5gのCNBr-activated Sepharose 4B(Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala Sweden)に常法¹⁷⁾通りカップリングさせ、カラムに詰めた。それぞれのカラムに、抗ETA血清または抗ETE血清4mlを流し、十分に、0.5M NaCl加0.2M Tris-HCl buffer, pH8.0で洗浄したのち、0.5M NaCl加0.2M glycine-HCl buffer, pH2.3で溶出を行った。溶出画分の280nmの吸光度を測定し、A280の値が0.1以上の画分を集めて、ただちにM/15PBS(M/15 Na₂HPO₄-M/15NaH₂PO₄, 0.85%NaCl, 0.02%NaN₃, pH7.2)に対し透析した。このようにして得られた抗ET抗体は、使用時まで4℃または-20℃で保存した。

5. 感作Lxの調製

LxをM/60PBSで0.025%に希釈し、これに各抗ET抗体の最適感作量($10\mu\text{g}/\text{ml}$)を等量加えて室温で1時間感作(途中2~3回軽く振とう)した。M/60PBSとDiluent(M/60PBS:5%BSA:1%PVP=200:40:1)で各々1回洗浄(3000rpm, 10分遠心)し、最終0.0125%Lx濃度とした。これらは使用時まで4℃で保存した。

6. マイクロタイター法

plateはUパーマネントplate(Cook Eng・U.S.A)

またはUディスポ plate (トミー精工)を用いた。0.025 mlの抗原液をDiluentで2倍希釈し、同量の感作Lx液を滴加して、1分間マイクロミキサーで振とうしたのち、室温で12~16時間放置し、その凝集像を判定した。plateを、マイクロplate遠心ホルダー(トミー精工, R-4ローター)で1,000rpm, 5分遠心後判定する方法も併用した。その時の検出感度は、12~16時間放置後判定する方法に較べて1管程度低い傾向がみられた。

7. ゲル内沈降反応法

Ouchterlony⁹⁾法またはマイクロスライドゲル内沈降反応法²⁾に準じた。

8. 蛋白の測定と定量

蛋白の測定は280nmの吸光度(A280)により、また定量はLowry¹⁸⁾法に拠った。

II 成 績

1. 抗ETA抗体および抗ETE抗体の精製

ETAカップリングカラム(以下ETAカラムと略)にまず抗ETA血清を流して、抗ETA抗体を精製した。

その時のアフィニティークロマトのパターンを図1に示した。次に、同カラムに抗ETE血清を流して、素通り成分と吸着成分に分け、素通り成分は更にETEカップリングカラム(以下ETEカラムと略)に通した。それぞれのカラムから、吸着成分を溶出させ、前者を抗ETE-common抗体とし、後者を抗ETE-specific抗体とした。ETEカラムに抗ETE血清を流し、抗ETE抗体を精製した。次に、同カラムに抗ETA血清を流し、吸着成分と素通り成分に分け、素通り成分を更にETAカラムに通した。それぞれのカラムから吸着成分を溶出し、前者を抗ETA-common抗体、後者を抗ETA-specific抗体とした。アフィニティークロマトのパターンはいずれも、図1と同様であった。以上の結果を図2にまとめた。

2. 抗ETA血清または抗ETE血清中のspecific抗体およびcommon抗体量

抗ETA血清または抗ETE血清中に含まれるspecific抗体およびcommon抗体の含有量を知る目的で、それぞれの血清を図2のごとく処理して得られた各成分の蛋白量から、その含有率を求めた(表1, 表2)。

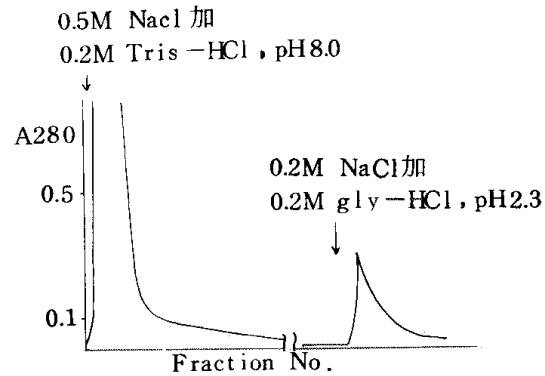


図1. アフィニティークロマトによる抗ETA抗体の精製

血清量: 4 ml, 流速: 約10ml/分

1 Fraction: 2.5 ml

カラム: ETAカップリング Sepharose 4B (1×5 cm)

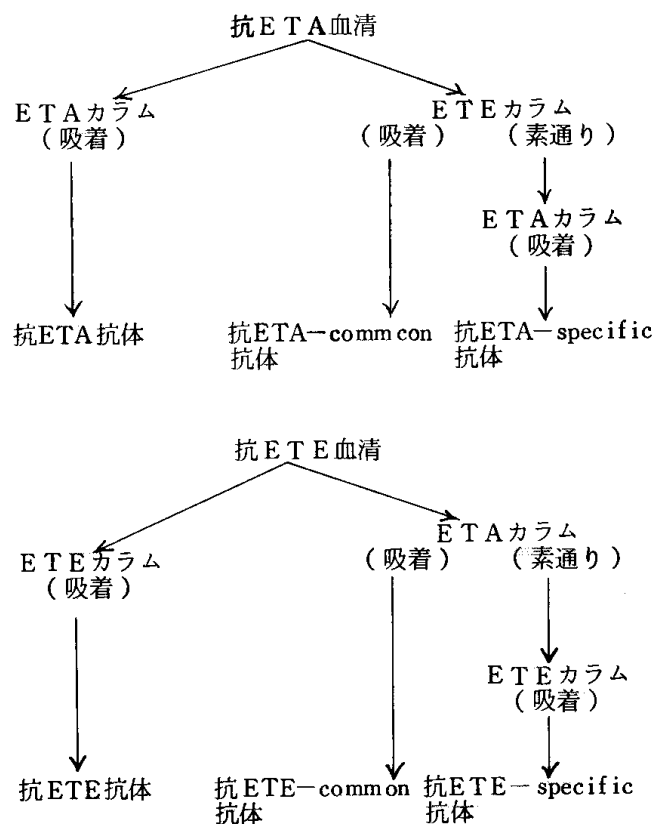


図2. 各抗体のアフィニティークロマトによる調製

表1. 抗ETA血清中の各成分の回収率

	抗ETA血清	抗ETA抗体	抗ETA-specific抗体	抗ETA-common抗体	その他
Vol. (ml)	2	1.5	1.25	1.4	9.8
Protein conc. (μg/ml)	75,000	170	92	80	1,350
Protein (μg)	150	2.6	1.2	1.1	13.2
回収率 (%)	100	1.7	0.8	0.7	8.8

表 2. 抗 E T E 血清中の各成分の回収率

	抗 E T E 血清	抗 E T E 抗体	抗 E T E - specific 抗体	抗 E T E - common 抗体	その他
Vol. (ml)	2	13	11	14	98
Protein conc. (μg/ml)	6,600	137	110	35	1,200
Protein (mg)	132	1.8	1.2	0.5	118
回収率 (%)	100	1.4	0.9	0.4	89.4

即ち、抗 E T A 血清中の抗 E T A 抗体量は 1.7% で、その内訳は、specific 抗体が 0.8%、common 抗体が 0.7% で、その比率はおよそ 1 : 1 であった。それに対し、抗 E T E 血清中の抗 E T E 抗体量は 1.4% で、そのうちの、specific 抗体と common 抗体の含有量はそれぞれ 0.9%、0.4% で、その比率はおよそ 2 : 1 であった。

3. 感作 Lx の各 E T に対する検出感度と特異性

図 2 で得られた各抗 E T 抗体 6 種をそれぞれ Lx に感作させて調製した感作 Lx を用いて、E T A、B、C および E に対する検出感度と特異性を調べた (表 3)。

表 3. 感作 Lx の E T に対する感度と特異性

Lx 感作抗体	E T			
	A (0.1μg/ml) (0.8ng/ml)	B (1μg/ml)	C (1μg/ml)	E (0.1μg/ml)
抗 E T A	128※ ¹ ※ ² (0.8ng/ml)	—※ ³	—	64
抗 E T A - specific	64 (1.6ng/ml)	—	—	—
抗 E T A - common	64 (1.6ng/ml)	—	—	32
抗 E T E	16	—	—	128 (0.8ng/ml)
抗 E T E - specific	—	—	—	64 (1.6ng/ml)
抗 E T E - common	32	—	—	32 (3.2ng/ml)

※ 1 : 数字は RPLA titer を示す。※ 3 : — は 2 倍で非凝集

※ 2 : () 内の数字は検出感度

抗 E T A 感作 Lx は E T A (0.1μg/ml, 以下同じ) に対し 128 倍の titer を示し、その検出感度は 0.8ng/ml であったが、同様に E T E (0.1μg/ml, 以下同じ) に対しても 64 倍の titer を示し、かなり強い交差反応が認められた。抗 E T A - specific 抗体感作 Lx は E T A に対してのみ凝集し、その titer は 64 倍であった。抗 E T A - common 抗体感作 Lx は E T A に対し 64 倍の titer を示したが、E T E に対しても 32 倍の titer を示した。抗 E T E 抗体感作 Lx は E T E に対し 128 倍の titer を示し、その検出感度は 0.8ng/ml であったが、E T A に対しても 16 倍の titer を示した。抗 E T E - specific 抗体感作 Lx は E T E に対してのみ凝集し、その titer は 64 倍であった。抗 E T E - common 抗体感作 Lx は E T E

および E T A 両者に、共に 32 倍の titer を示した。以上 6 種の感作 Lx はいずれも E T B (1μg/ml) および E T C (1μg/ml) に対しては全く凝集しなかった。

4. ゲル内沈降反応法による E T A と E T E の免疫学的交差反応

Ouchterlony⁹⁾法を用いて、E T A および E T E と、抗 E T A 血清、抗 E T A - specific 抗体、抗 E T A - common 抗体、抗 E T E 血清、抗 E T E - specific 抗体、抗 E T E - common 抗体との交差反応について検討した。抗 E T A 血清または抗 E T E 血清と E T A または E T E とのゲル内沈降反応の結果を図 3 に示した。抗 E T A 血清 (1 : 1) は E T A (100μg/ml) および E T E (100μg/ml) に対して沈降線を形成し、それらは一部融合した。同様に抗 E T E 血清 (1 : 1) は E T A (100μg/ml) および E T E (100μg/ml) に対し沈降線を形成したが、抗 E T E 血清の E T A に対する沈降線は、抗 E T A 血清の E T E に対する沈降線にくらべて明らかに弱かった。

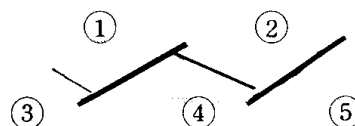


図 3. 抗 E T A 血清または抗 E T E 血清と E T A および E T E とのゲル内沈降反応

- 1 : E T A 100μg/ml
- 2 : E T E 100μg/ml
- 3.5 : 抗 E T E 血清 (1 : 1)
- 4 : 抗 E T A 血清 (1 : 1)

次に、抗 E T A 血清中の抗 E T A - specific 抗体および抗 E T A - common 抗体ならびに、抗 E T E 血清中の抗 E T E - specific 抗体および抗 E T E - common 抗体と E T A または E T E との反応を調べた (図 4)。

抗 E T A - common 抗体 (蛋白濃度として約 100μg/ml, 以下同じ) は E T A (100μg/ml) および E T E (100μg/ml) との間に沈降線を形成し、それらは完全に融合したが、抗 E T A - specific 抗体 (約 100μg/ml) は E T A とのみ沈降線を形成し、E T E とは沈降線を形成しなかった。

抗 E T A - specific 抗体と E T A との間に生じた沈降線は、抗 E T A - common 抗体と E T A との間に生じた

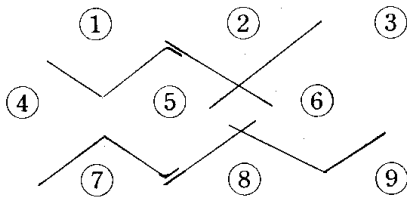


図4. 抗ETAまたは抗ETE各成分抗体とETAまたはETEとのゲル内沈降反応

- 1 : 抗ETA-common抗体 (100 μ g/ml)
- 2,8 : 抗ETA-specific抗体 (同)
+ 抗ETE-specific抗体 (同)
- 3 : 抗ETA-specific抗体 (同)
- 4,6 : ETE (100 μ g/ml)
- 5 : ETA (同)
- 7 : 抗ETE-common抗体 (約100 μ g/ml)
- 9 : 抗ETE-specific抗体 (同)

沈降線および、抗ETE-specific抗体とETEとの間に生じた沈降線のいずれとも完全に交叉し、融合はみられなかった。同様な結果が抗ETE-specific抗体または抗ETE-common抗体でも認められた。以上の結果はLx凝集反応で得られた結果と完全に一致するものであった。

III 考 察

ETAとETEにおける免疫学的交差反応については既にBergdollら⁷⁾、品川ら⁸⁾によって報告されており、Leeら¹¹⁾は更にその詳細を検討している。それによれば、抗ETA血清中には、抗ETAとのみ反応する抗ETA-specific抗体と、ETEとも反応する抗ETA-common抗体が存在し、同様に、抗ETE血清中には抗ETE-specific抗体と抗ETE-common抗体が存在する事を明らかにし、同時に、抗ETA血清中の抗ETA-common抗体が、抗ETE血清中の抗ETE-common抗体の量よりずっと多く(約2倍)含まれている事から、ETAにはETEと共通の抗原決定基が2個存在する事を示唆している。彼らの成績は、ゲル内沈降反応法での反応性から得られた結果であるが、われわれは、われわれが開発したLx凝集反応法により、それらの事実を確認し、同時に、ETAまたはETEにspecificな抗体を感作させたLxを用いる事によりETAまたはETEとの免疫学的交差反応に由来するETAとETEの誤認を防止しよう事を示した。

Lee¹¹⁾は更に、これら抗ETA血清または抗ETE血清中に含まれるspecific抗体とcommon抗体との比率に対する、免疫に用いたウサギの個体差を指摘しているが、大きな変動は認めていない。われわれは、今回、その点に関しては検討できなかったが、Leeらの成績からみて、

上記の結果は一般的なものであろうと考える。ETA, B, Cの間には、Lx凝集反応法では全く交差反応を認める事はできなかったが、この事は却って、ETの検出または型別の際に、それらを互いに誤認するおそれがない事を示している。

Lxを用いた逆受身凝集反応は、既に、Salomonら¹⁹⁾によりETBの検出に応用されているが、感作に用いた抗体が精製されたものではなく、非特異的凝集反応を免れなかったためか、その後Lxを用いたETの検出方法に関する文献は見当たらない。われわれは、アフィニティークロマトで精製した抗ET抗体で感作すると同時に、Lx粒子にも検討を加え、Salomonらが用いたLx(Dow Chemical Co., USA)よりも高比重で、感作が容易なLx粒子を用いる事により、高感度で、安定性の高いRPLA法を開発する事ができた。今後、RPHA法¹²⁾¹³⁾などと併用して、ETの検出および型別に應用していきたいと考えている。

文 献

1. 寺山 武: ブドウ球菌エンテロトキシンに関する最近の知見, 日細菌誌, 26, 611-622, 1971
2. 阪口玄二: エンテロトキシン, モダンメディア, 18, 135-146, 1972
3. Bergdoll, M. S., 阪口玄二: ブドウ球菌エンテロトキシン, タンパク毒素上, 講談社サイエンティフィック, 370-391, 1973
4. Gruber, J., and Wright, G. G.: Ammonium sulfate coprecipitation antibody determination with purified staphylococcal enterotoxins, J. Bacteriol., 99, 18-24, 1969
5. Spero, L., Morlock, B. A., and Metzger, J. F.: On the cross-reactivity of staphylococcal enterotoxin A, B, and C₁, J. Immunol., 120, 86-89, 1978
6. Johnson, H. M., Bukovic, J. A., and Kauffman, P. E.: Antigenic cross-reactivity of staphylococcal enterotoxins, Infect. Immun., 5, 645-647, 1972
7. Bergdoll, M. S., Borja, C. R., Robbins, R. N., and Weiss, K. F.: Identification of enterotoxin E, Infect. Immun., 4, 593-595, 1971
8. 品川邦汎, 国田信治, 阪口玄二: ブドウ球菌エンテロトキシンEの精製およびエンテロトキシンAとEとの免疫学的交差反応, 日細菌誌, 32, 829-836, 1977
9. Ouchterlony, O.: Antigen-antibody reactions in gels, Acta Pathol. Microbiol. Scand., 26,

507 - 515, 1949

10. Casman, E. P., and Bennett, R. W. : Culture medium for the production of staphylococcal enterotoxin A, *J. Bacteriol.*, 86, 18 - 23, 1963
11. Lee, A.C.-M., Robbins, R. N., and Bergdoll, M. S. : Isolation of specific and common antibodies to staphylococcal enterotoxins A and E by affinity chromatography, *Infect. Immun.*, 21, 387-391, 1978
12. Yamada, S., Igarashi, H., and Terayama, T. : Improved reversed passive hemagglutination for simple and rapid determination of staphylococcal enterotoxins A~E in food, *Microbiol. Immunol.*, 21, 675 - 682, 1977
13. 品川邦汎, 国田信治, 阪口玄二 : ブドウ球菌エンテロトキシンに関する研究 (第5報) - 逆受身血球凝集反応によるブドウ球菌エンテロトキシンA, B, Cの検出について, *大阪府公衛研年報, 食品衛生編*, 8, 1-6, 1977
14. Notermans, S., Verjans, H. L., Bol, J., and van Schothorst, M. : Enzyme Linked Immunosorbent assay (ELISA) for determination of staphylococcus aureus Enterotoxin type B, *Health Lab. Sci.*, 15, 28 - 31, 1978
15. 小田隆弘 : SP-Sephadex クロマトグラフィーを用いたブドウ球菌エンテロトキシンA, B, C₂ の簡易精製, *日細菌誌*, 33, 743 - 752, 1978
16. Shinagawa, K., Ishibashi, M., Yamamoto, H., Kunita, N., Hisa, K., and Sakaguchi, G. : A consideration to immune dose of staphylococcal enterotoxin B to rabbit, *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 27, 309 - 314, 1974
17. Pharmacia Fine Chemicals : *Affinity Chromatography-Principles and Methods*, Pharmacia Japan, 9 - 16, 1976
18. Lowry, O. H., Rosebrough, T., Farr, A. L., and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265 - 275, 1951
19. Salomon, L. L., and Tew, R. W. : Assay of staphylococcal enterotoxin B by latex agglutination, *Proc. Exp. Biol. Med.*, 129, 539 - 542, 1968

3. アフィニティークロマトグラフィーを利用したブドウ球菌エンテロトキシンEの精製

微生物課 衛生細菌係

小田 隆 弘 ・ 永 井 誠
大久保 忠 敬 ・ 西 本 幸 一
大 丸 健之助

ブドウ球菌食中毒は、食品を汚染したブドウ球菌が産生するエンテロトキシン（以下ETと略）を人が摂取する事により惹起される。従ってブドウ球菌が疑われる食中毒では、食品残物や吐物などからETを検出する事ができれば、最も確実な診断となりうる。

ETの検出は一般に免疫学的方法が広く用いられており、最近では、逆受身赤血球凝集反応法^{1,2)}や酵素免疫反応法³⁾などの高感度な検出法も開発されている。いずれにしても、ETの検出には、現在までに確認されているET5型（A, B, C, DおよびE）それぞれに特異的な抗血清を必要とし、それらを得るためには、免疫原として精製ETが不可欠なため、多くの研究者によってETの精製法が報告されている。われわれも、特異抗血清を得るためにETの精製を進めており、現在までに精製ETA, BおよびCとそれらに対する特異抗血清を得る事ができた⁴⁾。

ETDまたはEの精製は、それらを多量に産生する適当な標準株がない事もあって、ETA~Cの精製にくらべて容易ではない⁵⁻¹¹⁾。寺山ら¹²⁾は、特異的な抗ETD血清の精製をアフィニティークロマトグラフィーを利用して行い、その有用性を報告している。

ETAとEの間には免疫学的交差反応が知られており^{11,13)}、Leeら¹⁴⁾はその詳細を検討している。それによれば、抗ETA血清にはETAとのみ反応する specific 抗体とETEとも反応する common抗体が存在し、同様に、抗ETE血清にはETEとのみ反応する specific 抗体とETAとも反応する common抗体が存在する。われわれはこの点に着目し、ETDとならんで精製が容易でないETEの精製を、既に精製ETとその特異抗血清を具備しているETAを利用して、アフィニティークロマトグラフィーにより精製する事を考えた。即ち、まず、抗ETA血清から、ETAカップリングカラムを用いて抗ETA抗体を精製し、これを新たにカップリングさせたカラムに粗ETEを通し、抗ETA抗体中に含まれる common抗体とETEとの反応性によりETEのみを精製しようと試みた（図1）。

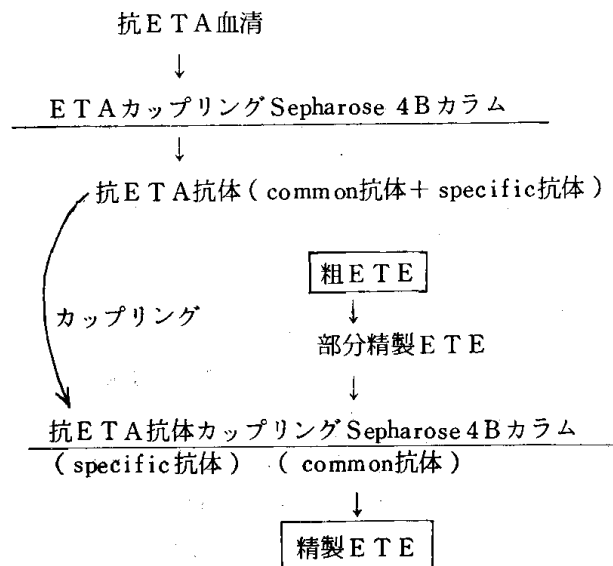


図1. アフィニティークロマトグラフィーによるETEの精製

I 方 法

1. 菌株と培養

ETE産生株として東京都衛生研究所寺山武博士より分与を受けた *Staphylococcus aureus* FRI-326 を用いた。培養はETAの培養⁴⁾と同じ方法で行った。

2. 精製ETAおよび抗ETA血清

既に報告した方法⁴⁾で得られたものを用いた。

3. ETEの検出と定量

ETEの検出は、M. S. Bergdoll博士から分与を受けた抗ETE血清とReference ETEを用い、マイクロスライドゲル内沈降反応法により行った。ETEの定量はSchantzら¹⁵⁾の一元拡散法を用いた。

4. アフィニティークロマトグラフィー

CNBr-activated Sepharose 4B (Pharmacia Fine Chemicals)を用い常法¹⁶⁾に従い膨潤、洗浄、カップリングを行ったのち、0.5M NaCl加0.2M Tris+HCl buffer, pH8.0を流出液とし、0.5M NaCl加glycine HCl buffer, pH2.3で溶出した。溶離液はただちにpHを中性に修正し、適当なbufferに透析して保存した。

5. α -ヘモリジンおよび β -ヘモリジンの測定

α -ヘモリジンは品川ら¹⁷⁾の方法, β -ヘモリジンは Chesbroら¹⁸⁾の方法により行った。

6. 蛋白の測定と定量

蛋白の測定は280 nmの吸光度(A₂₈₀)により, 定量はLowry¹⁹⁾法に準じた。

7. Disk電気泳動

Reisfeldら²⁰⁾の方法に従い, 7.5%ポリアクリルアミドゲル(pH4.3)により行った。

8. 免疫学的特異性

Ouchterlony²¹⁾法により行った。

9. クロマトグラフィー

粗ETE液(培養上清)から部分精製ETEを精製する際のクロマトグラフィーは, 前報⁴⁾のstep 1に準じて SP-Sephadex C-25 (Pharmacia Fine Chemicals) を用いたグラジエントエルーションにより行った。

Ⅱ 成 績

1. 抗ETA抗体の精製と抗ETA抗体カップリング Sepharose 4B カラムの調製

1.5 g の CNBr-activated Sepharose 4B に 5 mg の精製ETAをカップリングさせカラムにつめた。このカラムにあらかじめ0.5M NaCl 加0.2M Tris-HCl buffer, pH8.0 (以下Tris buffer) に透析した抗ETA血清4ml

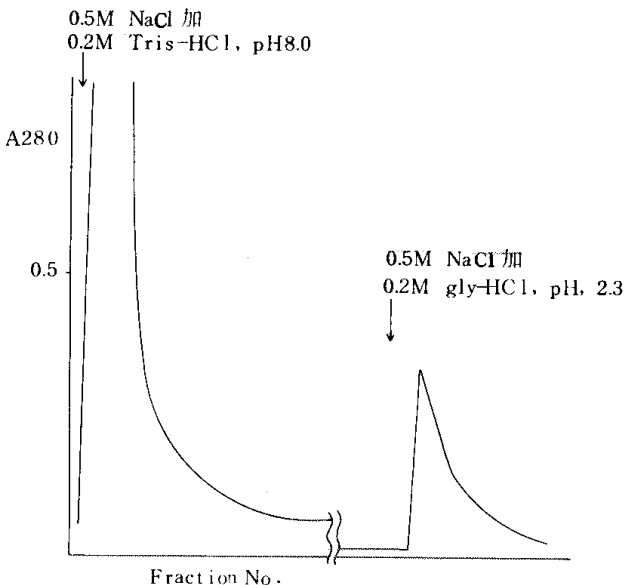


図2. アフィニティークロマトによる抗ETA抗体の精製
血清量: 4 ml, 流速: 10 ml/分
1 Fraction: 2.5 ml
カラム: ETAカップリング Sepharose 4B (1×5 cm)

を流しアフィニティークロマトグラフィーを行った(図2)。

得られた抗ETA抗体10mgを3gのCNBr-activated Sepharose 4Bに同様にカップリングさせカラムにつめ使用時まで4℃に保存した。

2. 部分精製ETEの調製

培養液5ℓを1ロットとし, 7,000 rpm, 20分間遠心しその上清を用い部分精製を行った。上清のET量は2~4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, α -ヘモリジンは128~256倍, β -ヘモリジンは128~256倍で, pHは8.2~8.6を示した。まず, 上清を6N HClでpH5.0~5.2に調整し, 蒸留水で約5倍に希釈し, SP-Sephadex C-25によるクロマトグラフィーを行った。その時の溶出条件は, 0.01Mクエン酸-Na₂HPO₄ buffer, pH5.0, 600mlと0.015M Na₂HPO₄ 600mlによるgradient elutionで行った(図3)。

P5画分を集めて, 部分精製ETEとした。これらの操作を各ロットにつき繰り返した。こうして得られた部分精製ETEの平均的な値は, Vol. が約100 ml, 蛋白量が約200 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ETE濃度が約80 $\mu\text{g}/\text{ml}$, α -ヘモリジン, β -ヘモリジンは10倍以下であった。Disk電気泳動では, 少なくとも2~4本のバンドがみられた。ここまでのETEの回収率は約40%であった。

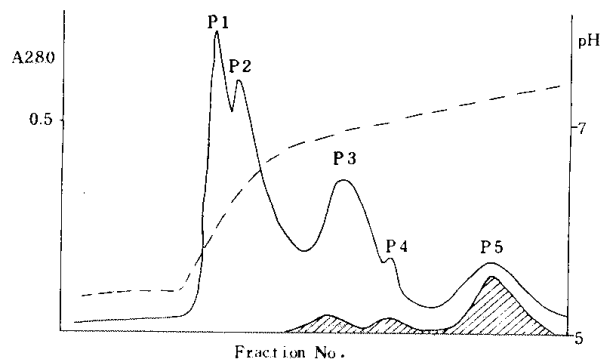


図3. SP-Sephadex C-25による部分精製ETEの調製

Elution 0.01Mクエン酸-Na₂HPO₄, pH5.0, 600ml
0.015M Na₂HPO₄, 600ml

Flow rate; 50ml/h

1 Fraction; 10ml

Column Size; 3.2×55cm

—: A₂₈₀ - - - - : pH // : ET

P1, P2, ... : Peak No.

3. 抗ETA抗体カップリング Sepharose 4B カラムを用いたETEの精製

Tris buffer にあらかじめ透析した部分精製ETE 10 mlづつを, 抗ETA抗体カップリング Sepharose 4B カラムに流し, アフィニティークロマトグラフィーを行った(図4)。この操作を各ロット毎に10回づつ繰り返した。

溶出部分を集め、中和、透析ののちにUM10膜（アミコンファーイースト）により濃縮を行った。得られた精製 ETE は、Disk 電気泳動で 1 本のバンドを示し、これをウサギに免疫し得られた抗血清は部分精製 ETE および精製 ETE とともに 1 本の沈降線を形成し、M. S. Bergdoll 博士分与の Reference ETE と完全に融合した。

1 ロットあたりのアフィニティークロマトグラフィー操作（10 回分）における回収率は約 5% であった。

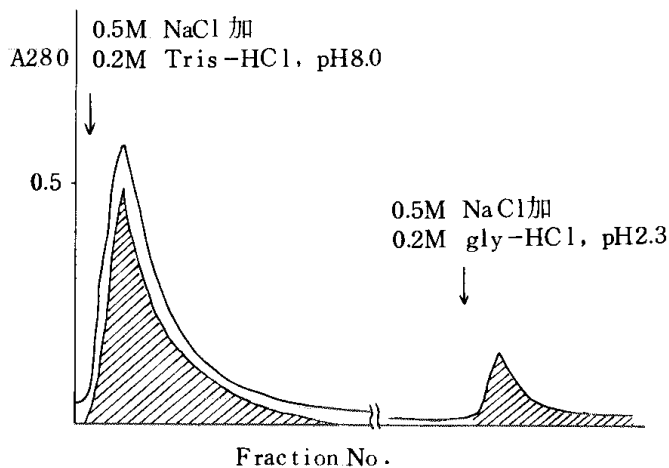


図 4. アフィニティークロマトによる ETE の精製
流速：10ml/分

1 Fraction：2.5ml
カラム：抗 ETA 抗体カップリング Sepharose 4B
//////：ETE (1×5cm)

III 考 察

寺山ら¹²⁾は、精製の容易でない ETD の場合に、その特異抗血清を得るにあたって、アフィニティークロマトグラフィーを用いて、抗 ETD 血清の精製を行った。その方法は、ETD と分別困難な不純物を逆に利用して、それをリガンドとしてカップリングさせたカラムに、抗部分精製 ETD 血清を流して、その中に含れる不純物抗体を除去し、特異抗血清を調製している。同時に、アフィニティークロマトグラフィーのこの分野における有用性を指摘し、ET の精製にも応用できうる事を示唆している。われわれは、これらの観点に基づき、また、ETA と E との交差反応に着目し、精製の容易でない ETE の精製にアフィニティークロマトグラフィーを応用した。

アフィニティークロマトグラフィーの利点は、容易な操作で行える事、一旦カラムを調製すれば繰り返し使用できる事、反応性が特異的である事等で、これを精製に応用できれば理想的であると考えられる。今回、われわれは、粗 ETE を予め、通常のクロマトグラフィーで部分精製を行ったのちアフィニティークロマトグラフィーを行ったが、原理的には、部分精製を行う事なく行える

ものと考えられる。アフィニティークロマトグラフィー操作における回収率が約 5% と低かった事は、抗 ETA 抗体の反応性を完全に残したカップリング法を用いるとか、負荷する ETE 量を減らすとか、カラムをもっと大きなスケールで行うとかの対策を講じれば、回収率を上げる事は可能であろう。

謝辞

ETE 産生標準株 *Staphylococcus aureus* FRI-326 の分与を受けた東京都衛生研究所寺山武博士および Reference ETE とその抗血清の分与を受けた米国ウィスコンシン大学 M. S. Bergdoll 博士に感謝致します。

文 献

1. Yamada, S., Igarashi, H., and Terayama, T.: Improved reversed passive hemagglutination for simple and rapid determination of staphylococcal enterotoxins A~E in food, *Microbiol. Immunol.* 21, 675-682, 1977
2. 品川邦汎, 国田信治, 阪口玄二: ブドウ球菌エンテロトキシンに関する研究 (第 5 報) - 逆受身血球凝集反応によるブドウ球菌エンテロトキシン A, B, C の検出について, 大阪府公衛研年報, 食品衛生編, 8, 1-6, 1977
3. Notermans, S., Verjans, L., Bol, J., and van Schothorst, M.: Enzyme Linked Immunosorbent assay (ELISA) for determination of staphylococcus aureus enterotoxin type B, *Health Lab. Sci.* 15, 28-31, 1978
4. 小田隆弘: SP-Sephadex クロマトグラフィーを用いたブドウ球菌エンテロトキシン A, B, C₂ の簡易精製, *日細菌誌*, 33, 743-752, 1978
5. Casman, E. P., Bennett, R. W., Dorsey, A. E., and Issa, J. A.: Identification of a fourth staphylococcal enterotoxin, enterotoxin D, *J. Bacteriol.*, 94, 1875-1882, 1967
6. Igarashi, H.: Staphylococcal enterotoxin D, Immunological identification with purified toxin, *Jpn. J. Microbiol.*, 16, 483-491, 1972
7. 山田澄夫: ブドウ球菌エンテロトキシンに関する研究 第 1 報: エンテロトキシン A, B, C₂, D, E の精製および精製毒素の免疫学的特異性, *麻獣大研報*, 2, 17-29, 1977
8. Chang, H.-C., and Bergdoll, M. S.: Purification and some physicochemical properties of staphylococcal enterotoxin D, *Biochemistry*,

- 18, 1937 - 1942, 1979
9. Borja C. R., Fanning, E., Huang, I.-Y., and Bergdoll, M. S. : Purification and some physicochemical properties of staphylococcal enterotoxin E, *Biochemistry*, 24, 2456 - 2463, 1972
 10. 寺山 武, 山田澄夫, 五十嵐英夫, 潮田 弘, 善養寺浩 : ブドウ球菌エンテロトキシンEの精製および同定, *東京衛研年報*, 25, 9 - 15, 1974
 11. 品川邦汎, 国田信治, 阪口玄二 : ブドウ球菌エンテロトキシンEの精製およびエンテロトキシンAとEとの免疫学的交差反応, *日細菌誌*, 32, 829 - 836, 1977
 12. 寺山 武, 山田澄夫, 稲葉美佐子, 五十嵐英夫, 潮田弘, 坂井千三, 善養寺浩 : アフィニティークロマトグラフィーによる抗ブドウ球菌エンテロトキシン血清の精製, *東京衛研年報*, 27 - 1, 5 - 9, 1976
 13. Bergdoll, M. S., Borja, C. R., Robbins, R. N., and Weiss, K. F. : Identification of enterotoxin E, *Infect. Immun.*, 4, 593 - 595, 1971
 14. Lee, A. C.-M., Robbins, R. N., and Bergdoll, M. S. : Isolation of specific and common antibodies to staphylococcal enterotoxins A and E by affinity chromatography, *Infect. Immun.*, 21, 387 - 391, 1978
 15. Schantz, E. J., Roessler, W. G., Wagman, J., Spero, L., Donnery, D. A., and Bergdoll, M. S. : Purification of staphylococcal enterotoxin B, *Biochemistry*, 4, 1011 - 1016, 1965
 16. Pharmacia Fine Chemicals : Affinity Chromatography-Principles and methods, Pharmacia Japan, 9 - 16, 1976
 17. 品川邦汎, 国田信治, 阪口玄二 : ブドウ球菌エンテロトキシンAおよびCの精製と抗毒素血清の作製について, *日細菌誌*, 30, 683 - 692, 1975
 18. Chesbro, W., and Kucic, V. : Beta hemolysin : A persistent impurity in preparations of staphylococcal nuclease and enterotoxin, *Appl. Microbiol.*, 22, 233 - 241, 1971
 19. Lowry, O. H., Rosebrough, T., Fan, A. L., and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265 - 275, 1951
 20. Reisfeld, R. A., Lewis, V. J., and Williams, D. E. : Disk electrophoresis of basic proteins and peptides on polyacrylamide gels, *Nature (London)*, 195, 281 - 283, 1962
 21. Ouchterlony, O. : Antigen-antibody reactions in gels, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 26, 507 - 515, 1949

4. 福岡市における海外旅行者の細菌学的検索成績

(1977年4月～1979年3月)

微生物課 衛生細菌係

馬場 純一・磯野 利昭
永原 公一・真子 俊博
西本 幸一・大丸 健之助

I はじめに

国際的に流通の激化した昨今、海外旅行者、輸入動物並びに食品等によって東南アジア方面の開発途上国から赤痢、チフス、コレラ等の伝染病菌をはじめ、各種病原体を極めて短期間に国内に持ち込む危険性が多くなりつつある。とくに、海外旅行者による輸入感染症は防疫並びに公衆衛生上新たな問題として指摘されてきている。

1977年以来、当市においてはコレラをはじめ、赤痢、チフス等の集団発生はみられないが、海外旅行者を中心とした散発例や潜在保菌者は届出実数を上回るものと推測され、ここ1、2年内に起きた有田コレラ、池ノ端文化センターにおけるコレラ事件のような集団発生の可能性も憂慮される。

そこで、海外旅行者の自主的検便依頼、または、医療機関からの検便依頼があったものについて、法定伝染病菌を主とした腸管系病原菌の検索を行い、輸入感染症の実態を把握し、今後の防疫対策に資するため調査を行ってきたので、その結果を報告する。

II 材料及び方法

1977年4月～1978年3月の期間に44例、1978年4月～1979年3月の期間に52例、合計96例の健康者及び旅行中または帰国後の有症者より穴あき採便棒にて直接採取されたフン便について、コレラ菌、

NAGビブリオ、腸炎ビブリオ、赤痢菌、チフス菌、サルモネラ、エルシニアエンテロコリチカ、病原大腸菌の8菌種を対象に検索を行った。ビブリオ、サルモネラについては増菌培養法を併用した。これら各種病原菌の分離同定は常法^{5,6)}に従い、分離菌株の血清型別は市販診断用抗血清(東芝化学工業KK製)または自家免疫血清を使用して行った。NAGビブリオについては予研に同定を依頼した。

分離株の薬剤感受性試験は今回は栄研製トリディスクを使用し、アミノベンジルペニシリン(PcA)、テトラサイクリン(TC)、カナマイシン(KM)、クロラムフェ

ニコール(CM)、ストレプトマイシン(SM)、コリスチン(CL)、セファロリジン(CER)の7種について、とくに、ビブリオについては以上の他にポリミキシンB(P-B)を加えて調べた。

III 成績

1. 病原菌検出状況

表1に示しているように1977年度は44例の検索を行った結果、8例(18.2%)から病原菌が検出された。1978年度は52例中9例(17.3%)が陽性であった。この2年を合わせると96例中17例(17.7%)が陽性であった。

病原菌検出状況を月別にみると10/17例(約6割)は夏期に検出された。コレラ菌がまったく検出されなかったのは幸いであるが、NAGビブリオ1例、腸炎ビブリオ5例、赤痢菌2例、サルモネラ8例、病原大腸菌1例であった。サルモネラ検出例中1例から2種の血清型が検出されたが、これについては後に詳述する。

表1. 月別病原菌検出状況

年度	被検数	対象菌	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	合計	
1977	44	<i>V. cholerae</i>														
		NAG vibrio			1											1
		<i>V. parahaemolyticus</i>			1	1							1			3
		<i>Shigella</i>										1				1
		<i>Salmonella</i>			2	1										3
		<i>E. coli</i>														
1978	52	<i>V. cholerae</i>														
		NAG vibrio														
		<i>V. parahaemolyticus</i>						1				1				2
		<i>Shigella</i>						1								1
		<i>Salmonella</i>			1	1				2				1		5
<i>E. coli</i>											1			1		
合計	96			5	5	4	2	1						17		

2. 分離株の血清型

分離された18株の血清型を表2に示す。NAGビブリオ1株は予研における同定の結果、O26であった。

腸炎ビブリオはK7(1株), K13(2株), K22(1株), K39(1株), の計4種5株であった。NAGビブリオを含め、これらはすべてフィリピン旅行者から分離されたものであり、直接、増菌法共に検出されたのが4例、増菌法のみによって検出されたのが2例であった。赤痢菌は*S. dysenteriae* 2, *S. flexneri* 4aが夫々1例ずつであった。サルモネラは*S. typhimurium*(1株), *S. agona*(1株), *S. derby*(1株), *S. anatum*(2株), *S. london*(1株), *S. cairo*(1株), *S. B*群未同定(1株), *S. I*群未同定(1株)の計8種9株であり、直接、増菌共に検出されたのが2例で、増菌法のみによって検出されたのが7例であった。病原大腸菌はO143:Kx1が1例であった。

表2. 分離株の血清型

菌種	分離株数	血清型(株数)
NAG vibrio	1	O 26
V. parahaemolyticus	5	K 7 (1), K 13 (2), K 22 (1), K 39 (1)
Shigella	2	<i>S. dysenteriae</i> 2(1), <i>S. flexneri</i> 4 a(1)
Salmonella	9	<i>S. typhimurium</i> (1), <i>S. agona</i> (1), <i>S. derby</i> (1), <i>S. anatum</i> (2), <i>S. london</i> (1), <i>S. cairo</i> (1), <i>S. B</i> 群未同定(1), <i>S. I</i> 群未同定(1)
E coli	1	O 143:Kx1

3. 症状別病原菌検出状況

96例の旅行者のうち、旅行中または帰国後に何らかの症状を呈したものは24例であった。

症状別についてみると、下痢症状を呈した者から病原菌が検出されたのは7/15例であった。NAGビブリオが検出された例はフィリピン旅行者で、帰国後に水様性下痢が2回/日程度みられた例であった。また、サルモネラが検出された例のうち1例は香港、マカオ旅行者で、旅行先にて発病し、5~10回/日(約5日間)下痢を起して脱水状態が極めてひどく、コレラを疑わせる症例であったが、*S. typhimurium*による激症型であった。

下痢及び腹痛を呈した旅行者からの病原菌陽性例は3/7例であった。1例はフィリピン旅行者で、帰国後2日目に下痢4~5回/日と腹痛を呈したものであり、腸炎ビブリオ(K13)が検出された。他の2例は両者共にフィリピン旅行者で、2例共に*S. anatum*が検出された。このうち1例からは*S. derby*も検出され、同時に2菌型のサルモネラに感染している事が分った。一方、帰国後においても健康状態であった72例の検索結果、腸炎ビブリオ

2例、赤痢菌1例、サルモネラ4例の計7例(約1割)が陽性であった。このうち、赤痢菌(*S. dysenteriae* 2)が検出された例は某観光旅行社のガイドで、エジプト、ケニヤ、インド、香港等の複数国を旅行して帰国した健康者であった(表3)。

表3. 症状別病原菌検出状況

症状別	被検数	陽性数(%)	分離株数	NAG vibrio	V. parahaemolyticus	Shigella	Salmonella	E coli
下痢	15	7	7	1	2	1	2	1
下痢腹痛	7	3	4		1		3注)	
腹痛	2	0	0					
健康	72	7	7		2	1	4	
合計	96	17(17.7)	18	1	5	2	9	1

注) 1名より2種のSalmonellaが検出された。

4. 検出菌と旅行国との関係

今回の調査対象となった96名のうち53名はフィリピン、19名は韓国旅行者で約7割を占めていた。各種病原菌が検出された例の旅行国との関係を調べてみると、表4に示しているように、フィリピン旅行者からのビブリオ、サルモネラの検出例が多い傾向にあった。赤痢菌はインド、香港等への多国訪問者から検出された。今回は旅行国の片寄りがあり、かつ、例数も少なかったため、病原菌と旅行国との関連性を把握する事は不可能であった。

表4. 病原菌陽性例の旅行国

旅行国	陽性数	NAG vibrio	V. parahaemolyticus	Shigella	Salmonella	E. coli
フィリピン	11	1	5		5注)	
台湾	1				1	
エジプト、インド、ケニア、香港	1			1		
バングラディッシュ、ベトナム、タイ、ラオス	1			1		
香港、マカオ	1				1	
その他不明	2				1	1
合計	17	1	5	2	8	1

(注) 1名より2種のSalmonellaが検出された。

5. 分離株の薬剤感受性試験成績

分離された18株のうち、NAGビブリオ1株、腸炎ビブリオ3株、赤痢菌2株、サルモネラ9株の合計15株について、ディスク法によって薬剤感受性を調べた結果、

表5に示すように、8/15(53.3%)株が何らかの薬剤に対して耐性を示した。NAGビブリオはCER, CL, P-B3剤耐性を示した。赤痢菌は*S. dysenteriae* 2

がすべての薬剤に感受性であったが、*S. flexneri* 4 a はPcA, CM, TC 3 剤耐性を示した。サルモネラは *S. typhimurium* 1 株がKM, TC 2 剤耐性を示し、KM 単独耐性が3 株であった。

表5. 分離株の薬剤感受性試験成績 (トリディスク法)

菌種	供試株数	耐性株数 (%)	3 剤耐性		2 剤耐性		単剤耐性	
			PcA T C C M	CER C L P-B	K T	M C	KM	PcA
NAG vibrio (O 26)	1	1		1				
<i>V. parahaemolyticus</i>	3	2						2注1)
Shigella	2	1	1注2)					
Salmonella	9	4			1		3	
合計	15	8 (53.3)	1	1	1		3	2

注1) *V. parahaemolyticus* K7, K39

2) *S. flexneri* 4 a

IV 考 察

今回の調査において例数は少なかったが、病原菌が検出されたのは17/96例(17.7%)で、その血清型は16種に及んだ。ビブリオ、サルモネラの多くは夏期に検出率が高い傾向にあったが、秋から冬にかけて腸炎ビブリオが検出されていることから、年間を通じてコレラ菌が持ち込まれる可能性は十分考えられる。

最近では、国内河川からNAGビブリオが高頻度に検出されたり、輸入冷凍いせえびがNAGビブリオに汚染されている報告^{7,8)}がみられ、坂崎は⁹⁾コレラ菌の存在するところには必ず“NAGビブリオ”も存在すると言っているが、その逆の可能性も考えられるので、コレラ菌は既に国内に存在しているのかも知れない。

これまでの調査ではチフス菌はまったく検出されなかった。これは潜伏期間が長い事に因るものか否かは不明である。しかし、チフス患者発生届を調べてみると外国由来が数例は認められている。一般サルモネラについては、現在国内で分離されている菌型とほとんど同じで、その血清型が国際化並びに多彩化している事実は否めない。大腸菌については工藤⁴⁾が指摘しているように毒素原性大腸菌が輸入感染症の一要因として重要であると思われるので、今後、病原大腸菌と共に調査対象に入れていかねばならないだろう。更に、病原性細菌に限らずウイルス等の他の病原体も調査する必要がある。

有症者24例中10例(41.7%)は何らかの病原菌が検出され、極めて高い陽性率を示した事、とくに健康者の1割が赤痢菌等の病原菌を保有していた事実は、コレラ菌

を含め種々の病原菌を東南アジア方面から持ち込む危険性があり、それが国内における集団発生源となりかねないので、海外旅行者は防疫上無視できない存在であろう。

V 結 論

1977年4月から1979年3月迄の2年間、96例の海外旅行者を対象に腸管系病原菌の検索を行い、次の成績を得た。

1. 17例(17.7%)から5種18株(16血清型)の病原菌を検出した。

2. 病原菌の検出時期は、やゝ夏期に多い傾向がみられたが、とくに片寄り認められなかった。

3. 症状別では、有症者24例中10例(41.7%)からNAGビブリオ、腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ等が分離され、更に、約1割の健康者からも赤痢菌、腸炎ビブリオ等が検出され、防疫上注目される。

4. 分離株15株の薬剤感受性を調べた結果、8株(53.3%)が何らかの薬剤に対して耐性を示した。

これらのうち、NAGビブリオ(O26)はCER, CL, P-B3 剤耐性を、また、*S. flexneri* 4 a はPcA, TC, CM 3 剤耐性を示した。

文 献

- 1) 坂井千三ら：東京都における海外旅行者下痢症の細菌学的検討(1977年)
東京都衛研年報, 29-1, 1-5, 1978
- 2) 大関瑤子ら：埼玉県の海外旅行者の腸管系病原菌検索成績(昭和52年)
埼玉県衛生研究所報, 12, 33-37, 1978
- 3) 工藤泰雄ら：東京都における輸入感染性腸炎の細菌学的検討(1978年)
感染症学誌, 53(臨時増刊号), 29, 1979
- 4) 工藤泰雄：輸入感染性腸炎の実態とその検査
臨床と細菌, 6-1, 46-56, 1979
- 5) 善養寺浩ら：腸管系病原菌の検査法, 第2版, 1974
医学書院, 東京
- 6) 厚生省監修：微生物検査必携, 細菌, 真菌検査
第2版, 1978, 日本公衆衛生協会
- 7) 小川正之ら：Vibrio cholerae NAGについて
感染症学誌, 53(臨時増刊号), 31, 1979
- 8) 今川八束：土野池ノ端で発生したエルトルコレラ集団の概要
感染症学誌, 53(臨時増刊号), 31-32, 1979
- 9) 坂崎利一：いわゆる“NAGビブリオ”について
臨床と細菌, 6-1, 57-60, 1979

5. あん製造工程における漂白剤の使用状況と 残存SO₂について(第1報)

理化学課 衛生化学係

近藤 久 幸・藤 本 喬

永田 昌江・金堂 和生

中央保健所 衛生課 食品係

大石 義也

1 はじめに

あんの製造工程において、現在、ヒドロサルファイトが還元漂白剤として一般に使用されているが、これらのあんを二次加工してつくられた、やぶれ饅頭、切りようかん、あんパン等から食品添加物の規格基準値を越える残存SO₂が検出された。(表1)

そこで、市内の製造所における、あん製造の実態調査を行なうと同時に、添加操作におけるヒドロサルファイトの有効な使用法について、いくつかの実験を行なった。その結果、あん製造工程における残存SO₂の消長およびあんの二次加工品の過量残存SO₂の問題について、一応の結論を得ることができたので報告する。

Ⅰ 実態調査

(1) 予備調査

市内12のあん製造業者に対して

- ① 使用している原料豆
- ② 製造しているあん類の種類
- ③ あんの販売先
- ④ 使用している添加物

について記述式によるアンケート調査を行なった。

(表2)

(2) 収去検査

次に、これら調査対象のうち10の製造所で造られた生あん¹⁾粒あん、練あん¹⁾等について

- ① あん中に残存するSO₂量の実態把握
- ② アンケート調査の信頼性の裏付け

を目的として収去検査を行なった。検査を行なうにあたって、今回問題として取上げられているヒドロサルファイトに基づく残存SO₂と、添加物として一般に使用されている、ソルビン酸、合成着色料を検査項目とした。

(表3)

検査の結果はアンケート調査結果をほぼ裏付けるものであった。残存SO₂量は、0.2~18 mg/kgであり、白あんだけでなく、赤あんにおいてもヒドロサルファイトの添加使用が行なわれていることが判明した。

(3) 状況調査

(1)、(2)の結果をもとに、ヒドロサルファイトを使用している業者について、更に詳しい調査を実施した。ただし、ヒドロサルファイトを使用しているにもかかわらず、先のアンケート調査に虚偽の回答をしたと思われる一業者<H-4>については調査結果の信頼性を考慮して調査対象から除外した。

調査事項は次の通りとした。(表4)

- ① あん製造の設備について
- ② あん製造の工程について
- ③ 製造工程中の操作について
- ④ 製造工程中のヒドロサルファイト添加状況について
- ⑤ 漂白料使用に対する要望とヒドロサルファイト使用による効果について

調査の結果、製造工程は5業者とも基本的に大差なくむしろ原料豆の種類によって最初の水浸漬を省略したり荒煮及び本煮の時間を調節したり、水さらしの回数を減らしたりしているのが実情であった。ヒドロサルファイトの使用率が最も高い、大手芒を原料豆として用いた場合の生あん製造工程はほぼ同様であった。(図1)

しかし、今回注目したヒドロサルファイトの添加時期および添加量については5業者ともまちまちでSO₂の残存量や効果的使用法を調査する上で興味ある結果となった。即ち、あんの製造工程上ヒドロサルファイトを添加することが可能と思われる工程①、②、③と工程⑤の全ての時点で添加が試みられているが、その中で市内業者の添加時の主流は、本煮時(工程③)と水さらし時(工程⑤)であった。そこで今後の実験を進めるにあたってはこの2つの添加時について充分比較検討を行なう必要があると思われる。

なお、水さらし時における水張り量は、さらし水槽容積の6割~8割程度であり、原料豆によって若干異なっていた。生あんの白さに対しては販売先からの要望も強く、ヒドロサルファイトを添加することにより、漂白及び保存効果を期待しているものと思われる。

表1. 基準値(30mg/kg)をこえたあん製品

昭和 53.4~54.4

検体名	残存SO ₂ 量	製造所	備考
やぶれ万十	86mg/kg	市内	
粒あん	63	市内	
あんパン	31	久留米	白粒あん
〃	82	市内	〃
〃	72	久留米	〃
〃	73	久留米	〃
切りようかん	110	久留米	

表2. 市内あん製造所の実態調査 (1)

昭和54年2月実施

調査事項: 項目	市内のあん製造所*											
	C-1	C-2	E-1	E-2	S-1	S-2	W-1	W-2	H-1	H-2	H-3	H-4
使用原料豆												
大手(北海道産)	○	○		○	○	○			○		○	
手							○	○				○
小豆	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
うずら	○	○			○						○	○
赤たけ	○	○							○			
えんどう	○											
金時					○				○			
キドニー(中国・メキシコ産)					○							
ウィンターピース											○	
シアン含有豆									○			○
製造品目												
生あん(白)	○	○			○	○			○		○	○
生あん(赤)	○	○			○	○			○		○	○
粒あん(白)	○	○		○	○						○	○
粒あん(赤)	○	○	○	○	○	○			○	○	○	○
練あん(加工あん)					○	○	○	○	○			○
販売先												
菓子製造業所	○	○	○		○	○			○	○	○	○
飲食・喫茶店				○	○		○					○
その他の二次加工業所					○				○			
小売・直売	○	○										
自家製菓用							○					
使用添加物												
ハイドロサルファイト	○	○			○				○		○	
合成着色料	○	○							○		○	
ソルビン酸塩					○							
ソーダ灰(無水炭酸ナタ)		○						○	○		○	
シリコーン樹脂		○										
過酸化水素水		○										

* C, E, S, W, Hについてはそれぞれ中央, 東, 南, 西, 博多各保健所を意味する。
 ** E-1については小豆粒あんのみを製造し, 他は市外の製造所から仕入れ販売している。
 *** H-4についてはのちの検査の結果, ハイドロサルファイトを使用していることが判明した。
 **** 合成着色料として, 食用赤色2号, 食用黄色4号, 5号, 食用青色2号が使用されている。

表3. あん収去検査結果一覧

検査実施: 昭和54年2月

製あん所検体名	検査項目		
	残存SO ₂ 量	ソルビン酸	合成着色料
C-1	mg/kg		
生あん(白)	1.1	(-)	
〃(赤)	0.4	(-)	(-)
練あん(赤)	0.2	(-)	(-)
C-2			
生あん(白)	8.0	(-)	
〃(白)	0.3	(-)	
E-1			
生あん(白)	0.8	(-)	
〃(赤)	(-)	(-)	R-2Y-4B-2
S-1			
生あん(白)	18	(-)	
〃(赤)	(-)	(-)	(-)
粒あん(小豆)	(-)	(-)	(-)
練あん(白)	1.9	(-)	
〃(赤)	(-)	(-)	(-)
S-2			
生あん(白)	(-)	(-)	
粒あん(小豆)	(-)	(-)	(-)
練あん(黄)	(-)	(-)	(-)
N-1			
粒あん(小豆)	(-)	(-)	(-)
練あん(白)	(-)	(-)	
N-2			
粒あん(小豆)	(-)	(-)	(-)
練あん(白)	(-)	(-)	
H-1			
生あん(白)	7.2	(-)	
〃(赤)	(-)	(-)	(-)
練あん(赤)	(-)	(-)	R-2, Y-5
H-3			
生あん(白)	(-)	(-)	
〃(赤)	0.6	(-)	(-)
粒あん(小豆)	(-)	(-)	(-)
練あん(白)	(-)	(-)	
〃(赤)	(-)	(-)	R-2Y-4Y-5
H-4			
生あん(白)	(-)	(-)	
〃(赤)	(-)	(-)	(-)
練あん(白)	(-)	(-)	
〃(白)	(-)	(-)	

SO₂: (-); 0.1 mg/kg以下

SoA: (-); 0.01g/kg以下

分析法: 食品中の添加物分析法, 第二集 ソルビン酸
 ソルビン酸カリウム1.紫外部吸収法によった。

合成着色料

分析法: 衛生試験法注解, 飲食物中の着色料試験法

(3)酸性色素 a 染色法によった。

R-2: 食用赤色2号(アマランス)

B-2: 食用青色2号(インジゴカルミン)

Y-4: 食用黄色4号(タートラジン)

Y-5: 食用黄色5号(サンセットエローFCF)

表4. 市内あん製造所の実態調査 (2)

昭和54年2月実施

調査事項：項目	市内あん製造所				
	C-1	C-2	S-1	H-1	H-3
設備について					
煮釜の型式	回分式 コンクリタイル 2000, 1400ℓ (大小2槽)	自動落下式 ステンレス 3000ℓ用 (4槽)	自動落下式 ステンレス 2200ℓ	回分式 ステンレス 3000ℓ	回分式 コンクリタイル 2000ℓ
さらし水槽(材質等)					
操作について					
荒煮時間	30分	30分	45分	30分	60分
本煮時間	50~90分	120分	90分	3~4時間	60分
篩のメッシュ	50~80	60	55	60~70	80
水さらし時間	10~20分	10~20分			20分
ハイドロサルファイトの添加方法					
原料豆量*	60kg	240kg	300kg	300kg	180kg
水浸漬時(工程①)	なし	200g添加	なし	なし	150g添加
荒煮時(工程②)	なし	なし	300g添加	なし	なし
本煮時(工程③)	25~50g添加	なし	450g添加	190g添加	150g添加
水さらし時(工程⑤-1)	なし	なし	なし	なし	150g添加
〃 (工程⑤-2)	10g添加	700g添加	なし	なし	なし
〃 (工程⑤-3)	-	なし	-	なし	なし
ハイドロサルファイトの使用による漂白効果について	ある	ある	ある	ある	なし
白生あんの製品に対し販売先から白さの要望があるか	ある	ある	ある	ある	なし
ハイドロサルファイトの使用による生あんの保存効果について	余りかわらない	2日位日持ちがよくなる	余りかわらない	2~3日日持ちがよくなる	なし

* 原料豆量は水浸し荒煮を行なうと1.5倍~1.8倍量になる。本煮においてはほとんど変化はない。また製品の生あん量は本煮時の70~80%であり、残りはかすとして捨てられる。

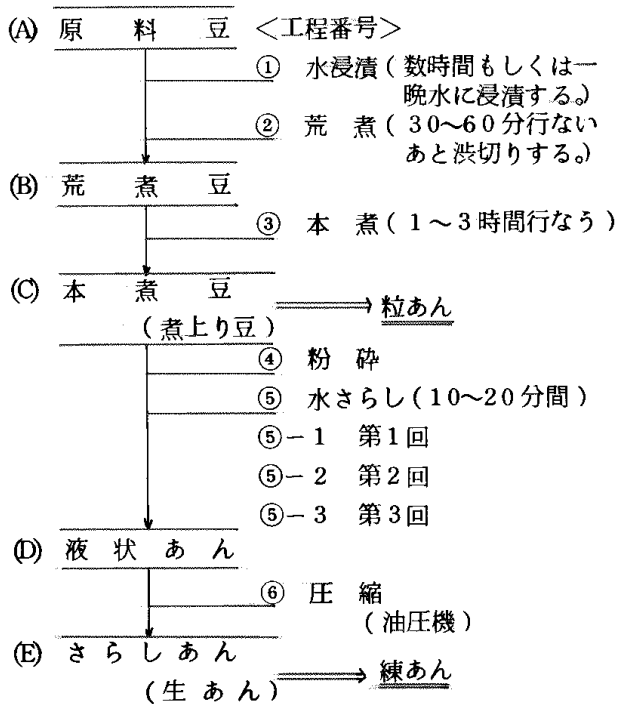


図1 生あん製造工程略図

Ⅲ 実験室での実験

ハイドロサルファイトは化学的に非常に不安定であり加熱することによりすみやかに分解し、その還元効果を失ってしまう。しかし、業者の中には製造工程中、本煮時または荒煮時にハイドロサルファイトの添加を行ない漂白及び保存等の効果を期待している者がある。そこで、ハイドロサルファイト溶液の煮沸による残存SO₂の変化について、実験を行なった。次に、荒煮豆にハイドロソファイトを添加して加熱を行ない、残存するSO₂について調べた。最後に、加熱によらないハイドロサルファイトの使用法である水さらし時における添加法についての実験を行なった。

試料および試薬

試料： 大手芒(北海道産)

試薬： ハイドロサルファイト：和光1級

シリコーン樹脂；東芝シリコーンTSA-750 SO₂標準溶液及びその他の試薬；食品衛生検査指針I (1973)亜硫酸の定量試験，第3法(比色法)²⁾に

における⑥希釈溶液を吸収液として用いた。同試験法に基づきSO₂標準溶液及び各試薬を調製した。

装置：自記分光光度計(日立333)

遠心分離機(クボタ KL-40)

ミキサー(日立 VA-895)

亜硫酸定量装置(改良ランキン装置)³⁾

試験操作

試料の5~10gを100mlナシ型フラスコに秤り取り、25mlの脱塩水を加えて改良ランキン装置に取りつける。次に25%リン酸5mlを加え、直ちに栓をしてN₂ガスを調節し、沸騰湯浴中で10分間通気を行なう。受器には10mlKD濃縮試験管を用い、SO₂の吸収液として、希釈塩化第二水銀溶液8mlを予め入れておく。SO₂の捕集が終わったならば、N₂ガスの通気を止め、P-ロザリニン・ホルムアルデヒド溶液2mlを発色剤として加え、35分間室内に放置したのち、560nmの吸光度を測定する。別に、亜硫酸標準溶液を同様に処理し、560nmで測定した吸光度を用いて検量線を作成する。

(1) ハイドロサルファイト溶液の煮沸実験

あらかじめ予備試験を行ない、SO₂の濃度が50mg/l、100mg/l、200mg/lとなるようにハイドロサルファイトの水溶液を調製する。この3段階濃度の溶液それぞれ100mlを500mlのトルビーカーに移し、時計皿でおおい300Wの電気ヒーターで加熱する。沸騰後、15分、30分、60分、90分、120ごとにヒーターからおろし、直ちに氷冷水で室温まで冷却する。冷却したそれぞれの溶液を一定容とし、残存するSO₂量を測定した。(表5)

この結果、ハイドロサルファイトの加熱による残存SO₂量は、加熱時間とともに急速に減少し、実態調査に基づく本煮時間の一応の目安である90分で最初の約1/4になってしまう。しかしながら最初の添加量が少量であっても加熱によって消失してしまうのではなく、最初の添加量に比例してSO₂は残存する。(図3、図4)

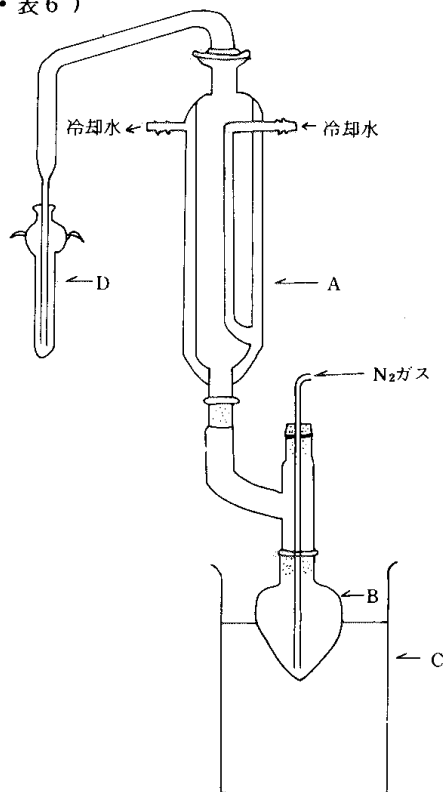
(2) 本煮時におけるハイドロサルファイト添加実験

あん製造所より譲り受けた原料豆(大手芒)に同量の水を加え、冷蔵室(7℃)にて一晩水に浸漬する。この豆に新たに同量の水を加えた後30分間荒煮を行なう。この荒煮豆100gを500mlトルビーカーにとり、100mlの水を加えて、6段階量のハイドロサルファイトを添加する。それぞれのトルビーカーを時計皿でおおい、300Wの電気ヒーターを用いて、90分間本煮を行なう。本煮終了後、ざるで水切りをしたものを本煮煮上り豆とし、その残存SO₂量を測定した。

この結果、荒煮豆100gに対してハイドロサルファイトの添加量が24mgをこえると、SO₂の残存量は、添加

量に比例して直線的に増加していくのがわかる。

(図5・表6)



A.....ランキン式二重冷却管
B.....100mlナシ型フラスコ
C.....恒温水槽
D.....10mlKD濃縮試験管

図2 改良ランキン装置

表5. ハイドロサルファイト溶液の煮沸による残存SO₂量の変化

煮沸時間 分	ハイドロサルファイト添加溶液		
	50 mg/l 溶液 (SO ₂ として)	100 mg/l 溶液 (SO ₂ として)	200 mg/l 溶液 (SO ₂ として)
0	50	100	200
15	26	62	130
30	25	44	88
60		32	65
90	12	25	49
120	8.0	15	33

(3) ボイル時間の差による煮上り豆の残存SO₂

荒煮豆50gを500mlのトルビーカーにとり、等量の水を加え、時計皿でおおい300Wの電気ヒーターで加熱する。ハイドロサルファイトの添加量は、荒煮豆100gに対して24mgと48mgの2段階とした。この添加量は、製造所<C-1>における本煮時の荒煮豆とハイドロサルファイト量との割合にほぼ等しいものである。加熱時間は沸騰後15分、30分、45分、60分、90分とし水切り後、それぞれの時間加熱した煮上り豆に残存する

SO₂ 量を測定した。(表7)

その結果、ヒドロサルファイトの添加量ともなって豆中残存SO₂は増加する。しかしその残存量は加熱時間と共に減少しており、この傾向はヒドロサルファイト溶液を加熱した場合と非常によく似た傾向を示した。

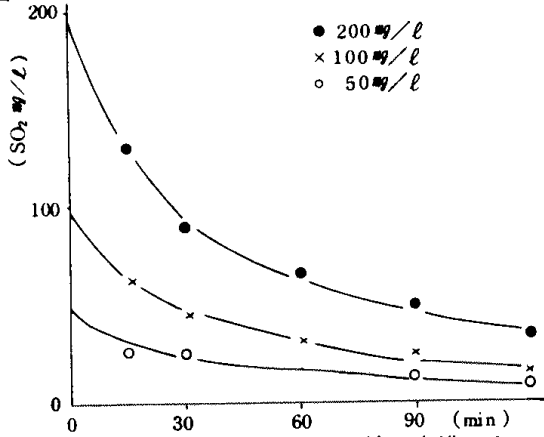


図3 ヒドロサルファイト溶液の煮沸による残存SO₂の変化(1)

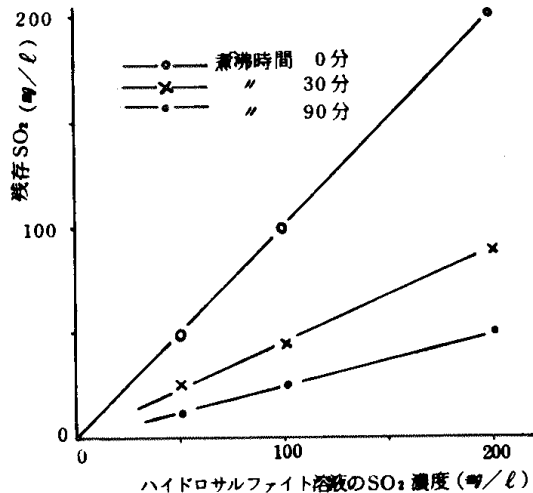


図4 ヒドロサルファイト溶液の煮沸による残存SO₂の変化(2)

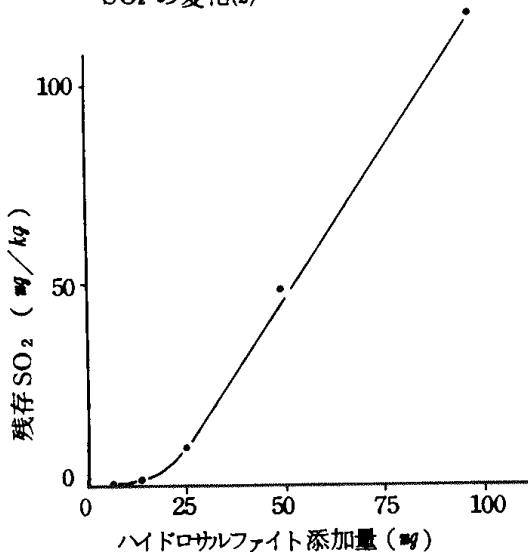


図5 本煮におけるヒドロサルファイト添加量と残存SO₂量

表6. 本煮におけるヒドロサルファイト添加量と残存SO₂量

ヒドロサルファイト添加量* mg	本煮90分煮上り豆 (SO ₂ mg/kg)	
	第1回目	第2回目
6	0.2	
12	0.7	0.9
24	10	15
48	50	53
96	120	130
192	290	

* 添加量は荒煮豆100gに対するもの。

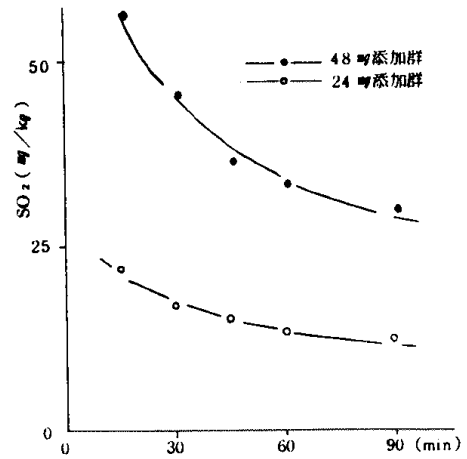


図6 本煮時間の差による煮上り豆の残存SO₂量

(4) さらに工程における脱水あん中のSO₂量

荒煮豆に等量の水を加え、90分間加熱して得られた本煮煮上り豆をミキサーで粉碎し、50メッシュの金網篩を通す。これが製造段階での液状あんに相当する。この液状あんを2000rpm、15分間遠心分離機にかけ、上澄液を駒込ピペットを用いて取り除く。更に、遠沈処理したあんをろ紙上に移し、表面付着水を除去する。これが製造段階でいうさらしあん(油圧脱水あん)であり、生あん製品として販売先へ届けられるものである。

実験室における脱水あんの水分含量は70~72%であり、製造所におけるさらしあんの水分含量は、60~61%であった。

実験室で調製した脱水あん100gを500mlのトルビーカーにとり、等量の水を加え液状あんに戻したあと5段階量のヒドロサルファイトを添加する。よく攪はんしたのち、15分間(実態調査に基づく放置時間)放置し上澄液を除去する。この沈殿あんを遠心分離機にかけ、再び上記脱水あんを調製し、残存するSO₂量を測定する。こうして得られた。ヒドロサルファイトの添加量と上澄液中のSO₂濃度及び脱水あんに残存するSO₂量について(表8及び図7)に示す。

表7. 本煮時間差による煮上り豆の残存SO₂量

本煮時間 分	ハイドロサルファイト添加煮上り豆*	
	24 mg添加群	48 mg添加群
15	mgSO ₂ /kg 22	mgSO ₂ /kg 57
30	17	46
45	15	37
60	13	34
90	12	30

* 添加量は荒煮豆100gに対するもの

次に、脱水あん100gを2lのビーカーにとり、水1.5lを加えて液状あんの状態に戻したあと5段階量のハイドロサルファイトを添加する。脱水あんと水との比率は製造

表8. さらし工程におけるハイドロサルファイトの添加量と残存SO₂量

ハイドロサルファイト添加量*	上澄液のSO ₂ 濃度(A)	さらしあんSO ₂ 濃度(B)	B/A×100
mg 3.2	mg/l 9.9	mg/kg 1.2	12
6.4	19	4.5	24
16	52	16	31
32	90	36	40
64	180	86	47

* 添加量はさらしあん(脱水あん)100gに対するもの。

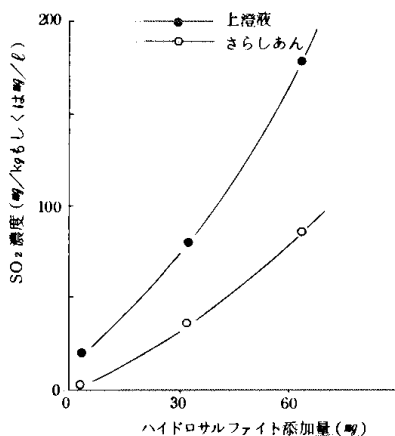


図7 さらし工程におけるハイドロサルファイトの添加量と残存SO₂量

所<C-2>における工程を参考にした。液状あんをよく攪はんしたのち、15分間静置し上澄液を除去する。再び1.3lの水を加え、よく攪はんして15分間静置したのち上澄液を除去し、遠心分離を行なう。以下同様にして脱水あんを調製し、その残存SO₂量を測定した。(表9)

表9 ハイドロサルファイト添加後再度水さらしを行なった場合の残存SO₂量

ハイドロサルファイト添加量*	さらしあんSO ₂ 濃度
mg 7.5	mg/kg 0.2
15	0.2
30	0.2
60	0.8
120	7.1

* 添加量はさらしあん100gに対するもの

試験の結果、さらし液のSO₂濃度が増加するに従って、脱水あん中に残るSO₂の濃度は増加する。しかも、さらし液に対して高い割合で残存してゆく。(表8)即ち、さらし液のSO₂濃度が2倍になると脱水あん中のSO₂濃度は2倍以上になる。しかしながら、ハイドロサルファイト添加のさらし液で一度漂白したのち、再び水さらしを行なえば生あん中の残存SO₂濃度は極度に低下し(表9)、規格基準値を越える心配はほとんどないものといえよう。

IV 製造所での実験

ハイドロサルファイトの使用実態調査及び実験室における実験結果に基づき、製造所の協力を得て実際の製造工程で実験を試みた。選定したあん製造所は<C-1>と<C-2>である。<C-1>は本煮時に漂白効果を期待している製造所であり、<C-2>は水さらし時に漂白効果を求めている製造所である。

(1) 本煮時添加の場合

原料豆60kgを一晩水に浸漬し、(図1)に示した製造工程に従ってあんを製造した。荒煮時間は30分、本煮時間は90分、水さらしは15分で2回行なった。添加したハイドロサルファイト量は125g(荒煮豆100gに対して11mgとなる)、25g、50gの3段階とし、荒煮後の洗切りを行なったのち粉末のまま添加した。途中数回攪はんし、本煮煮上げ工程を終了後その一部を粒あんの試料とした。これら各工程における残存SO₂量については(表10)に示す通りであった。沈殿あんは、液状あんを遠心分離機にかけ(2000rpm,15分間)試料として用いた。粒あんは本煮煮上り豆と白砂糖とを等量混ぜ合わせて実験室で調製した。また、練あんについても、生あんと白砂糖とを等量混合して調製した。なお、日常の製造工程に準じ、2回目の水さらし工程でハイドロサルファイトを10g添加した。水さらしの水量1400lで水温は23~27℃、pHは4.5~6.1であった。

(2) さらし時添加の場合

原料豆 240 kgを一晩水に浸し、(図1)に示した製造工程に従ってあんを製造した。荒煮、本煮及び水さらし時間は製造所<C-1>で行なった実験にあわせた。ヒドロサルファイトの添加量は、175g(原料豆100gに対して146ppmとなる)350g,700gの3段階とし、液状あんを二分したあとの第2回水さらし時に添加を行なった。ヒドロサルファイト添加後の各工程における残存SO₂の分析結果は(表11)に示す通りであった。水さらしにおける水量は、1600lで、水温は28~32℃、pHは5.6~6.2であった。練あんは、生あんと白砂糖とを等量混ぜ合わせて調製した。

表10. 本煮時に添加した場合の残存SO₂の分析結果(C-1工場)

製造工程 サンプル(SO ₂ として)	ヒドロサルファイト添加量 (原料豆60kgに対して)					
	12.5g		25g		50g	
工程③						
本煮(本煮30分)液 (mg/l)	45	43	98	110	230	220
(本煮90分)液 (mg/l)	26	40	46	80	180	190
本煮煮上り豆 (mg/kg)	5.8	18	39	30	80	79
工程⑤						
水さらし						
(第1回水さらし)上澄液(mg/l)	0.8		6.0		5.3	
(")沈澱あん(mg/kg)	0.2		4.3		3.5	
(第2回水さらし)上澄液(mg/l)	1.9		6.7		1.8	
(")沈澱あん(mg/kg)	0.7		2.0		1.3	
製品						
さらしあん(生あん) (mg/kg)	0.3		3.5		2.1	
練あん (mg/kg)	0.1以下		0.5		0.3	
粒あん (mg/kg)	0.8		3.9		2.7	

表11. 水さらし時に添加した場合の残存SO₂の分析結果(C-2工場)

製造工程 サンプル(SO ₂ として)	ヒドロサルファイト添加量 (原料豆120kgに対して)					
	175g		350g		700g	
工程⑤						
水さらし						
(第2回水さらし)上澄液(mg/l)	32	71	71		140	
(")沈澱あん(mg/kg)	16	39	37		67	
(第3回水さらし)上澄液(mg/l)	14	27	21		28	
(")沈澱あん(mg/kg)	4.1	20	8.7		17	
製品						
さらしあん(生あん) (mg/kg)	1.3	3.8	3.7		3.2	
練あん (mg/kg)	0.2	0.4	0.3		0.2	

Ⅴ 結果と考察

あん製造工程中特に白あん製造におけるヒドロサルファイトの使用は、漂白及び保存効果に対する有効性などから考えて製造上重要な添加物と思われる。また、ヒドロサルファイトの添加は可能と想定される製造工程の全てにわたって行なわれており、各製造業者は独自の

経験と添加物販売業者等のアドバイスにより、製造工程中いくつかの工程を選んで添加しているというのが実状である。

まず、ヒドロサルファイトの添加方法のうち、漂白効果という観点から、本煮時の添加と水さらし時の添加とを比較した場合、水さらし時の添加の方がよいという結果が得られた。その理由として

① 本煮豆は90分加熱しても豆自体その原形をかなりとどめており、外皮(篩処理で除去されてしまう)は漂白されたとしても肉質部の漂白効果は極めて低いこと

② 本煮時には、あくなど漂白効果を妨げる成分が含まれており、ヒドロサルファイトの漂白効果を低下させること。

③ 本煮時だけの漂白では、その後の操作中に復色⁴⁾する可能性があること。

④ 水さらし時における原料豆はすでに液状あんとなっており、表面積が非常に大きく、漂白効果を期待でき得ること。

⑤ 水さらし時における液状あんは、一度水さらしを行なったのちにヒドロサルファイトを添加するため、生あんの漂白効果に障害となるあくなどの成分がかなり除去されていること。

などが考えられる。しかしながら本煮時添加と水さらし時添加との原料豆に対するヒドロサルファイト添加量にはかなりの差があるので更に検討する必要がある。

次に、今回の調査等の直接の目的である過量の残存SO₂について、二つの添加法を比較した結果、生あんについてはどちらも問題ないことがわかった。また、水さらし時添加法では、粒あんの原料として本煮煮上り豆の一部を使用する場合にも本煮工程ではヒドロサルファイトを使用しないため問題は起り得ない。一方本煮時に添加した場合には、製造所<C-1>での実験結果から、原料豆60kgに対して50gのヒドロサルファイトを添加すると、本煮煮上り豆に残存するSO₂量は約80mg/kgとなる。この比率をもとに、市内の製造所の中で本煮煮上り豆のSO₂残存量を算出すると製造所<S-1>では150mg/kg、製造所<H-1>では63mg/kg、製造所<H-3>では83mg/kgとなる。これらの数値はいずれも基準値を越す可能性を示唆しており、水浸漬時や荒煮時にヒドロサルファイトを併せて添加するならば、その可能性はさらに高まることになる。今回過量残存SO₂として取りあげられたあん加工品の内、切りようかんを除けば全て白粒あんに由来するものであり、本煮時における過量のヒドロサルファイトの使用がその直接の原因であるといわざるを得ない。しかも、これら過量のSO₂が残存した粒あんは、復色防止や保存効果

をねらったものではなく、白粒あんの需用が別ラインで製造する程には大きくなかったために本煮豆の一部を抜きとり、粒あんの原料としていたためにおこったことである。

このように一連の実験結果から、本煮時にヒドロサルファイトを使用する製法については、

- ① 本煮時の漂白効果は思った程期待できないこと。
- ② 粒あんを製造する場合、別工程を踏まねばならないこと。

という二つの大きなマイナス面が明らかになった。これらのことから、今後あん製造におけるヒドロサルファイトの使用にあっては、水さらし時の添加が適切であろう。

Ⅵ おわりに

ヒドロサルファイトの使用法に伴う残存 SO₂ の問題は、単に規格基準の遵守というだけでなく、食品製造工程における食品添加物の正しい使用法を認識するという意味でも重要な意味をもつものであった。今回一連の調査と実験によって

① 過量使用の原因がどこに起因していたか
② ヒドロサルファイトを漂白の目的で使用する場合、どの工程で添加すれば効果的か
ということがわかった。今後、ヒドロサルファイトの有効な使用法についてさらに追求するため、

- ① 水さらし時の漂白に用いるヒドロサルファイトの適正量
 - ② 荒煮工程でのヒドロサルファイトの使用法と粒あんにおける漂白の必要性
- 等について、追加の実験を試みるつもりである。

なお、今回の実験にあたり、試料の提供や製造所での実験に格別の便宜と協力をお願いした、北川製あん所、西原製あん所の皆様に深く感謝致します。

参考文献

- 1) 食品工業年鑑「日本の食品工業」90, 1973
- 2) 食品衛生検査指針Ⅰ 406, 1973
- 3) 厚生省環境衛生局食品化学課「食品中の添加物分析法」(第4集)1 1978
- 4) 第三版食品添加物公定書注解 360 1974

6. 富栄養化現象による二次汚濁

理化学課 環境化学係

吉 武 和 人・藤 本 和 司

高 野 昭 男

1 はじめに

福岡市内の河川は、二級河川以下の中小河川で河川延長が短く、河川水量も少ないため、都市排水の影響を受け易い地理的背景にある。特に近年宅地開発が進み、上流部でも汚濁が進行している実情にある。このような水域においては、有機物質および無機塩類による汚濁が、顕在化し、富栄養化現象の進行が当然考えられることであろう。近年河川における富栄養化問題が論議され始めてはいるが、まだ研究例が少なく、地域的にも限られている。

我々は数年前よりこの現象に注目し、市内主要河川である那珂川および御笠川において若干の知見をえてきた¹⁾²⁾。この知見をもとに今回は自然水系をモデル化し、経日的に懸濁態有機物の内容の変化をとらえるとともに、無機栄養塩の摂取量、摂取速度およびそれらの相互関係についても考察を加えた。本実験結果が自然水域における富栄養化機構解明の一参考資料になれば幸いである。

2 分析方法

<試料>

那珂川住吉橋、および御笠川比恵大橋において昭和53年10月に採水し下記に示す培養条件のもとで培養したものをグラスファイバーフィルター(GC50,平均孔径 $0.5\mu\text{m}$, 450°C , 1時間加熱)で、吸引口過し溶存部分と懸濁部分に分けて各々分析に供した。

<培養条件>

20°C 恒温室内で行ない、 $3000\sim 5000$ ルクスの蛍光灯照射(14hr明, 10hr暗)をした。また、2~3日毎に、 CO_2 ガスを吹き込み、pH上昇を防いだ。

<分析方法>

懸濁有機炭素(POC)…GFPを超音波破壊装置により均一化した後、有機炭素分析計(東芝ベックマン102型)で分析

溶存有機炭素(DOC)…同上

懸濁炭水化物炭素(PCHC)…フェノール硫酸法³⁾(グルコース当量として表現, C:40%)

溶存炭水化物炭素(DCHC)…同上

懸濁タンパク質炭素(PPC)… $\text{PON}\times 6.25$ により算出及びローリーフォリン法⁴⁾(牛血清アルブミン, C:4.909%)

溶存タンパク質炭素(DPC)…ローリーフォリン法⁴⁾

懸濁有機窒素(PON)…ケルダール法

懸濁有機リン(POP)…過硫酸カリ湿式酸化による

Menzelらの方法

クロロフィルa……………可視部吸光度法⁵⁾

$\text{NH}_4\text{-N}$ …インドフェノールブルー法

$\text{NO}_2\text{-N}$ …ジアゾカップリング法

$\text{NO}_3\text{-N}$ …Cd-Cu還元-ジアゾカップリング法

$\text{PO}_4\text{-P}$ …モリブデンブルー法

3 結果と考察

富栄養化現象による二次汚濁とは、無機態窒素化合物及び無機態リンの生物による有機化であると定義される。荻田⁶⁾らは、河川水の培養実験の結果、増加したCOD物質(ΔCOD)とT-N, T-P間に良い相関があると報告し、潜在的二次汚濁量測定 of 標準化を望んでいる。また、大庭⁷⁾らは、AGP測定上の問題点を挙げ、AGP相互の比較には注意すべきであると指摘している。また窒素代謝における微生物学的考察⁸⁾もされているようである。本実験は懸濁物質が形成され、そして分解されていくまでの過程を中心に考察していく。図1に懸濁物質の経日変化を示した。実験0日目で 47ppm であったSSが12日目に最高 110ppm を記録した。つまりAGP 63ppm であり、須藤⁹⁾が言う富栄養水域である。SSの増加パターンと類似パターンを示したのがPCHCであることは興味深い。即ち、炭水化物蓄積量を光合成活性量であると考え、SS成分とは生物体、主に微細藻類であり、SSの増減は植物プランクトンの生物生産、増殖であり、死滅や分解によるものであると考えられ、細胞が死滅した後も、PCHCは分解されず、当分の間は残存しているものと思われる。浅野¹⁰⁾は栄養塩が欠乏し、増殖が鈍くなると、PCHCが増加することを認めている。またPOCは細胞の増殖が弱まり、みかけ上、分解が始まった8日以降においても、増大しており、ここに二次汚濁量をBODやCODで表示する

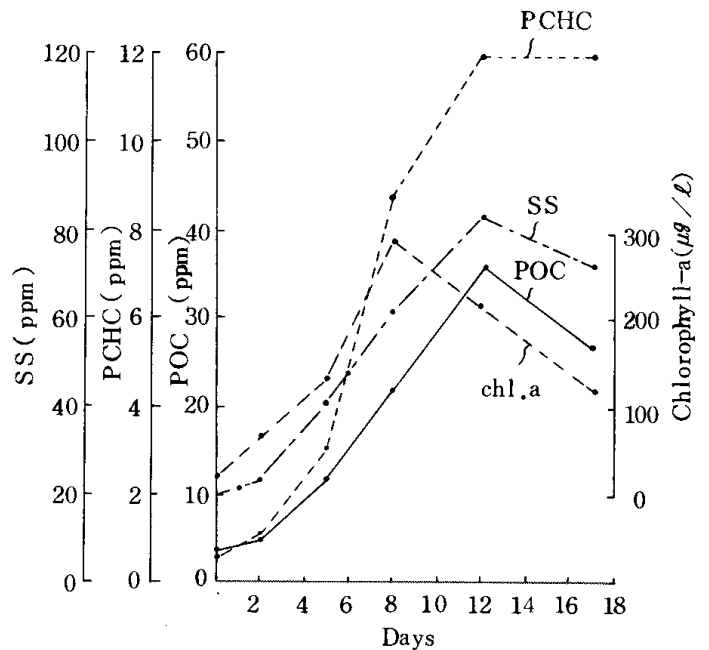
ことを困難ならしめる理由があるのではないかと考えられる。

一方、御笠川における二次汚濁物質の挙動を図2に提示してみると、PCHCのみが那珂川でのパターンと類似し、残存の傾向を示したが、SS及びPOCについてはクロロフィルaが分解し始めて4日後からは減少傾向にある点で相違が認められた。この原因については藻類の種類の違い、共存している細菌の違い等と考えられるが、今後の問題点としたい。

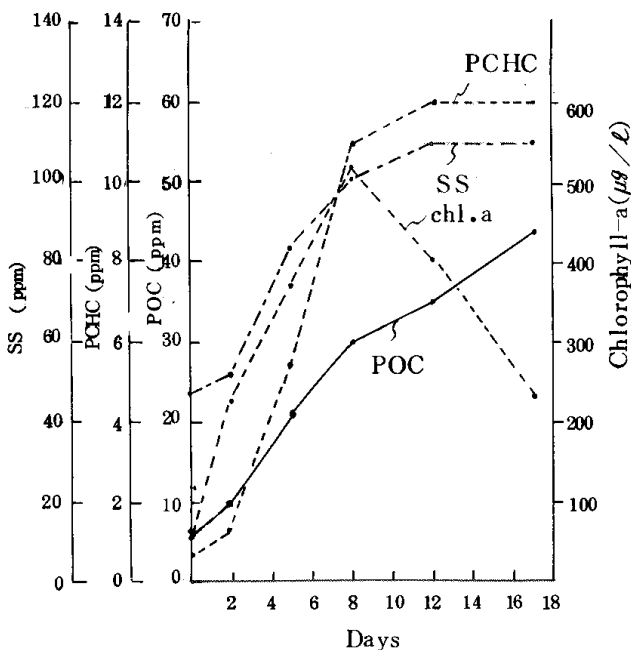
次に懸濁物質の炭素、窒素、リンの組成比について述べる。Table 1は、河川水を採水後GFP(平均孔径 0.5 μm)で吸引口過してえた培養液にChlorella spを培養液の色が緑色を呈する程度植種し、常法通り培養した結果を示したものである。那珂川住吉橋において、4日間培養後のC:N:P=50:7:1であり、これは平均的な値C/N=5.5~5.7¹¹⁾より若干高い値である。また8日目にはC:N:P=160:13:1となり、Pに対する比率が更に大きくなっている。即ち、4日目にはC/chl.a=35で活発な運動をしていた植物プランクトン¹²⁾の組成比と8日目にはC/chl.a=103と活動がおとろえ残滓が増えた植物プランクトンの組成比の間にはかなりの幅があることが分った。一方両水域の懸濁物質のC/N/PをChlorellaの場合と比較して検討すると、Pの割合が高いことが分る。これは両水域が無機態リンに富んでおり、これを藻類が摂取し蓄積しているものと考えられる。

Table 1, Chlorella spの培養日数による構成C/N/Pの変化。

	培養液	培養時間(日)	C:N:P	chl.a	C/chl.a
クロレラ	那珂川	4	50:7:1	270	35
	口過水	8	160:13:1	380	103
SS	那珂川	4	55:8:1	300	31
	口過水	8	120:11:1	270	160
SS(那珂川)			18:3:1	59	95
SS(御笠川)			11:2:1	21	170

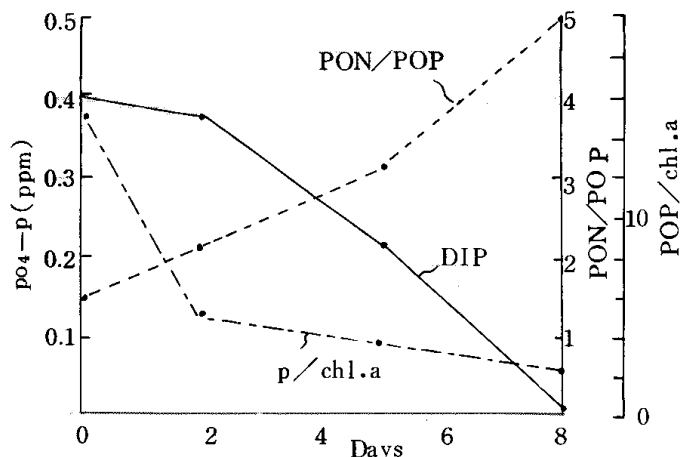


< 図2 > 御笠川(比恵大橋)における二次汚濁物質の挙動



< 図1 > 那珂川(住吉橋)における二次汚濁物質の挙動

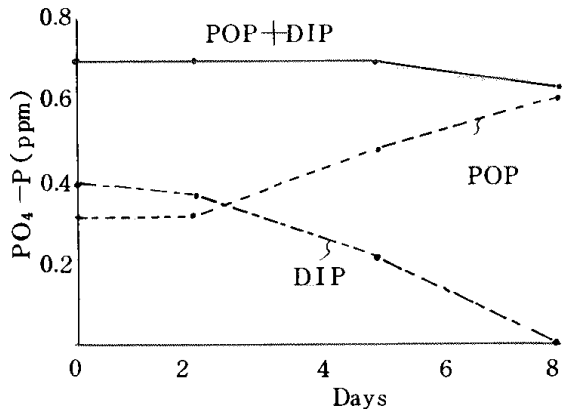
無機態リンの摂取と蓄積の関係をみたのが図3である。この図はN/P<2の場合には、リンの摂取は殆んど無く、N/P>2の条件の時にリンの摂取が始まることを示している。また浅野ら¹⁰⁾は藻類のリン含有率の変化をO-P/chl.aなる指数を用いて説明し、水中のリンが欠乏してくると一定値(0.7mgP/mg chl.a)に漸近することを報告している。本実験におけるこの値は2mgP/mg chl.aであった。



< 図3 > リンの蓄積および摂取の関係図 (御笠川・比恵大橋)

我々がこれ迄に得た河川水中の懸濁物質の元素分析で最もリン含有量が高かったのは $N/P \approx 1.0$ であった。

図4に生成された懸濁有機リンと消費された無機態リンの間の収支について示した。即ち、摂取された無機態リンはおそらくATPとして生物体内に効率よく蓄積されるものと考えられる。このリンの無機態から有機態への転換については、那珂川においても同様の結果が得られた。

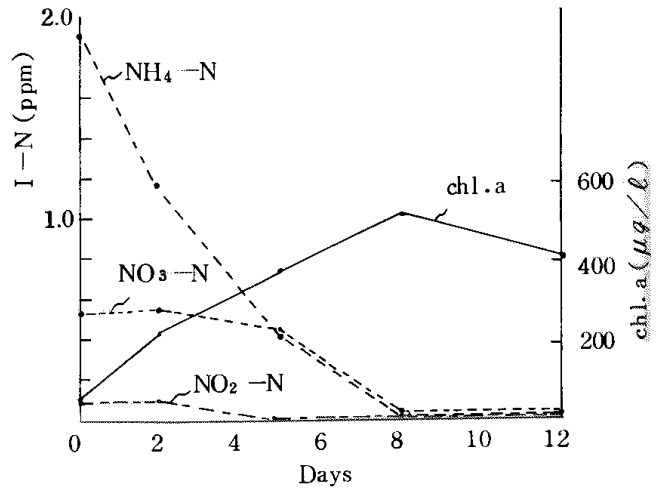


< 図4 > 懸濁および溶解物質間におけるリンの収支 (御笠川比恵大橋)

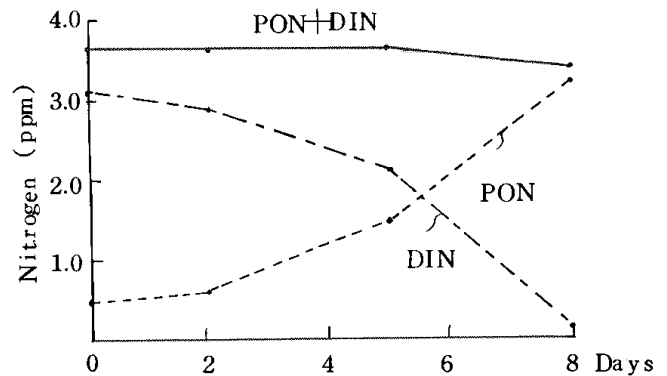
本研究の培養条件および期間における無機態窒素化合物の挙動およびクロロフィルaの変化を図5に示す。バイオマスとしてのchl.aは培養日数8日目までは直線的に増加し、それ以後、除々に活性がおちて来る現象は図1に示した通りである。この変動にともなって、まず NH_4-N の急激な減少が始まり、8日目には殆ど水中に存在しない量となる。 NO_3-N は5日目まで変動はなくそれ以降減少し、8日目には痕跡の状態である。この図は無機態窒素が水中に存在しなくなった時点で、藻類の増殖も停止することを示している。換言すると、水中のリンが欠乏しても細胞中の蓄積リンにより増殖することが可能であるが、窒素は藻類中には必要量以上には蓄積されることなく必要に応じて摂取されることを示したものである。ここでもう一つの注目すべき点は、 NO_3-N の挙動である。実験開始後5日間藻類による NO_3-N の摂取がないことから、 NH_4-N を優先的に消費するものなのか、または NH_4-N が水中の細菌により、 NO_3-N に酸化された後藻類に摂取され結果的には NO_3-N の消費がないように見えるのかは本実験においては不明である。また NO_3-N の5日目からの消費という点では御笠川においても同結果であり、この表面上の消費が何によって決定されるのかも不明である。本実験により言えることは NH_4-N の濃度が0.3~0.4 ppmまで減少した時点で、 NO_3-N の表面上の減少が始まるということだけである。

次に無機態窒素及び、藻体のケルゲール窒素つまり、

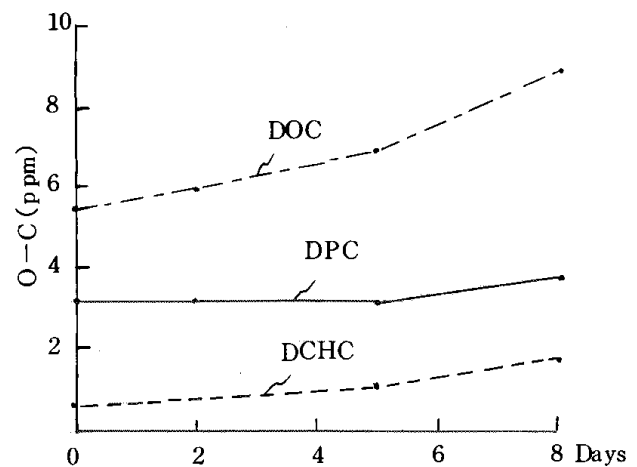
PONとの物質代謝収支について説明する。図6に示したように、リンの場合同様、消費と生産の収支バランスがよくとれた結果がえられ、自然水域においても、無機態窒素化合物よりアミノ酸合成がスムーズに進行しているものと推測される。



< 図5 > 那珂川(住吉橋)における無機窒素およびクロロフィルの経日変化



< 図6 > 懸濁および溶解物質間における窒素の収支 (御笠川・比恵大橋)



< 図7 > 那珂川(住吉橋)における溶解態炭素の経日変化

図7に、溶存有機炭素化合物の挙動を示した。DPCは5日目まで変化ないがDOC, DCHCは除々にではあるが増加の傾向にある。DOCの増加炭素量はDCHC, DPCだけでは説明がつかず、残りは生物代謝産物である有機酸の占める割合が大きいものと推測される。

4 ま と め

- (1) 藻類細胞内炭水化物は、増殖が止まった後も残存蓄積する。
- (2) バイオマスとしてのクロロフィルaが分解した後那珂川では、SSについては平衡状態を保ち、POCはなお増加の傾向にあるのに対し、御笠川ではSS及びPOC共に減少した。このことは、両水域の生物特性の違いを示しているものと考えられる。
- (3) 河川水中における懸濁物質の構成元素比をみるとリンが過剰に含有されていることが分った。また、本実験においては $PON/POP > 2$ 及び、 $POP/chl.a < 5$ の状態において、水中の溶存リンを摂取することが判明した。
- (4) 無機栄養塩から効率よく有機合成を行なう能力を有することが確認された。
- (5) 無機態窒素化合物が水中より消失した時点で藻類の増殖も停止することが分った。また NH_4-N が、まず消費され、その濃度が $0.3 \sim 0.4$ ppmに減少した後に NO_3-N が消費されることがうかがえる。
- (6) 溶存有機化合物については、培養期間中は除々にではあるが増加傾向を示した。今後増加したDOCの未知部分の解明は、富栄養化水域での物質代謝の量的関係を把握する為には必要な課題であろう。

5 参 考 文 献

- 1) 吉武和人 河川水の保存条件に関する一考察 福岡市衛試報2 100~102(1978)
- 2) 第26回福岡県公衆衛生学会講演要旨集
- 3) Handa, N (1966): Jour., Oceanogr Soc, Jap 22(3)1~8
- 4) 小山忠四郎外編 湖水 海水の分析
- 5) 西條八束, クロロフィルの測定法 Jap, J, Limnol 36 3 103~109(1975)
- 6) 荻田晴久 河川および河口部における自浄作用について, 愛知県公衛所報№4 (1976)
- 7) 大庭和彦・渡辺文夫ら 藻類培養試験を用いた阿武隈川の富栄養化の調査, 宮城県公技衛報告№6 (1977)
- 8) Motohiko SUGIYAMA Microbiological Studies on Nitrogen Cycle in Aquatic Environments Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 44 4 351-355(1978)
- 9) 須藤隆一 水質汚濁に伴う生物学的試験 PPM 6.9 25~31(1975)
- 10) 浅野洋 合田健 藻類の増殖過程における基質の摂取ならびに代謝に関する動力学モデル 水質汚濁研究 1.1
- 11) 井上裕雄 ハマチ養魚場の環境とくに水質について, 水産土木 10. 2 71~85
- 12) 西條八束 内湾の富栄養化, 用水と廃水 15.1 (1973)

7. クロム(VI)の溶媒抽出原子吸光法の定量法の改善について

理化学課 環境化学係

宮原 正太郎・榊 洋子

I はじめに

水質汚濁防止法に規定されている6価クロムおよびトータルクロムの定量法はジフェニルカルバジドを用いる比色法であるが、実際の工場排水に適用する際、有機物の共存や着色等により比色定量が困難な場合がある。また鉄イオンが多量に共存すれば大きな妨害を示すことがある。その際には原子吸光による定量を行なわねばならないが、原子吸光法による定量法として、空気-アセチレンを用いる直接法¹⁾、各種のキレート剤を用いる溶媒抽出法が行なわれている。直接法は低感度であり、鉄、ニッケル等が共存すれば干渉を受けやすい。一方、溶媒抽出法は感度の上昇と、共存物質の干渉を低減する上でかなり有効な方法であり、アセチルアセトン²⁾、ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム(DDTC)^{3),4)}、ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム(APDC)⁵⁾、トリオクチルアンモニウムクロライド(TOMA)⁶⁾、ベンジルキサントゲン酸カリウム⁷⁾、トリオクチルアミン(TOA)⁸⁾等の抽出剤を用い、メチルイソブチルケトン(MIBK)等の溶媒で抽出する方法があげられる。このうちTOA法は環境汚染分析法⁴⁾にもとりあげられ感度も良く、妨害も少ない簡便な定量法であると言及されている。そこで実試料のトータルクロムの定量に適用したところ、外観上からも標準系列と実試料とでは抽出の様相が異なっており、実試料に標準添加を行なったところ抽出率が悪い結果が得られた。このため酸濃度、酸の種類、塩の種類等の諸条件を検討してみた。その結果、いくつかの点を改善し、同時に若干の感度の上昇が認められたので報告する。

II 実験方法

1. 試薬

クロム標準液は和光純薬製の1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準液を使用した。TOA-MIBKは和光純薬製TOA 0.5 mlを特級MIBK 100 mlに溶かして調製した。その他の試薬は特級品以上のものを使用した。

2. 装置

日立-パーキンエルマー社製原子吸光光度計 303 型

ジャーレルアッシュ社製原子吸光光度計 A-781 型を用い、光源として浜松テレビ社製クロム中空陰極ランプを用いた。又、レコーダーリードアウト、日立 QPD-54 型記録計を使用した。

3. 実験操作

クロム(VI)：工場排水あるいは河川水、および空試験溶液を適量、100 ml 回線付共栓比色管に入れ、希塩酸、希アンモニア水で中和後(1+1)塩酸 2 mlを加える。更に干渉抑制剤として20%塩化アンモニウム溶液 10 mlを加え、精製水で80 mlとした後、0.5% TOA-MIBK溶液 10 mlを加える。1分間はげしく振とう後分離したMIBK層をそのまま原子吸光測定に供する。

クロム(トータル)：検水の適量をトールビーカーに採り、(1+2)硫酸 1 mlを加え煮沸しながら、0.3%過マンガン酸カリウム水溶液を適加し、5分間経過しても紅色の消えなくなるまで続ける。冷後、希アンモニア水で中和し、クロム(VI)と同様に操作する。

III 実験結果

1. 原子吸光測定条件

表1. クロムの原子吸光測定条件

中空陰極ランプ電流	10 mA
分析波長	357.9 nm
スリット	4 (1 mm)
空気流量	13 l/min (1.5 kg/cm ²)
アセチレン流量	2.2 l/min (0.7 kg/cm ²)
バーナー高	25 mm
スケール拡大	×1
ノイズサプレッション	2
レコーダーリードアウト拡大	1
チャートスピード	20 mm/min

(日立パーキンエルマー 303 型)

2. 酸濃度の影響

クロム(VI) 10 μg に対する酸濃度の影響を検討した。

島田⁸⁾によれば硫酸濃度で0.1 N~5.0 Nの範囲にあれば、クロム(VI)はほぼ定量的に抽出されるとある

が、図1に示すようにクロムの吸光度は硫酸濃度0.2N付近で一定値を示し、0.5N以上で、次第にピーク高は減少した。また塩酸はクロム(VI)を還元するので、使用できないとあるが、実際には不都合はなかった。これを図2に示したが、塩酸濃度0.05N~0.5Nで一定の吸光度であり、硫酸よりも感度が良かった。このため、実際の定量では塩酸を約0.2Nになるよう使用した。

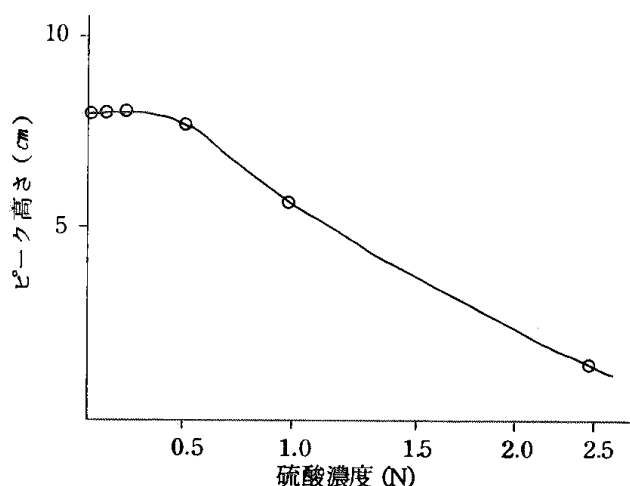
3. 塩濃度の影響

クロム(VI) 10 μ g に対する塩濃度の影響をみた。

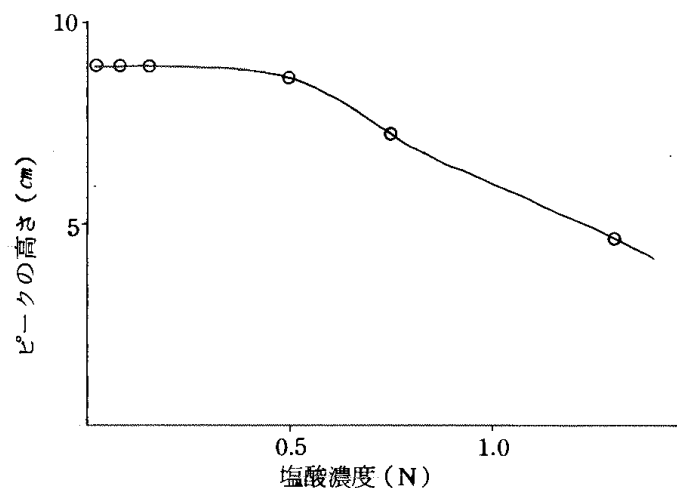
20%塩化アンモニウム水溶液、40%硫酸アンモニウム水溶液について、添加量を変えて抽出した結果を図3に示したが、添加量によって差は生じなかった。20%塩化アンモニウム水溶液の方がやや増感作用があるため、この10 mlを使用した。

4. TOA濃度の影響

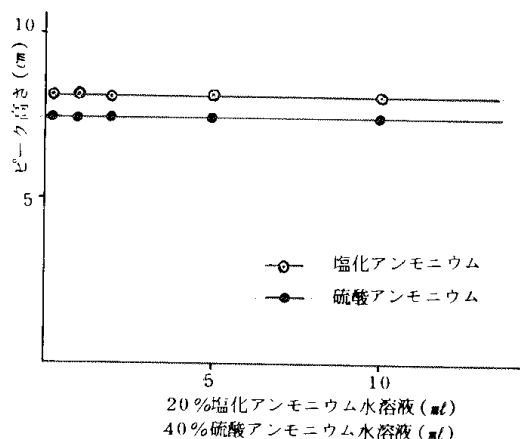
0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 および 2.0% の MIBK に対する TOA 濃度でクロム(VI) 10 μ g の抽出度をみたが、0.1~2.0%の間では一定の抽出率を示した。実際の定量では0.5% TOA-MIBK 10 ml を使用した。



< 図1 > クロム(VI)抽出時の硫酸濃度の影響
クロム(VI) 10 μ g



< 図2 > クロム(VI)抽出時の塩酸濃度の影響
クロム(VI) 10 μ g



< 図3 > クロム(VI)抽出時の塩濃度の影響
クロム(VI) 10 μ g

5. 共存イオンの影響

クロム(VI) 10 μ g に対する共存イオンの影響を検討した。これを表2に表わしたが、カチオンでは1000 μ gのFe²⁺は完全に妨害し、1000 μ gのFe³⁺はかなりの妨害を示した。アニオンでは大量のI⁻イオン、CN⁻イオンが妨害を示したが、100倍程度の量では妨害しなかった。島田らの方法ではFe³⁺イオンを1000倍量共ささせても影響がなかったと言及されているが、実際に追試してみると100倍程度でもかなりの妨害が認められた。

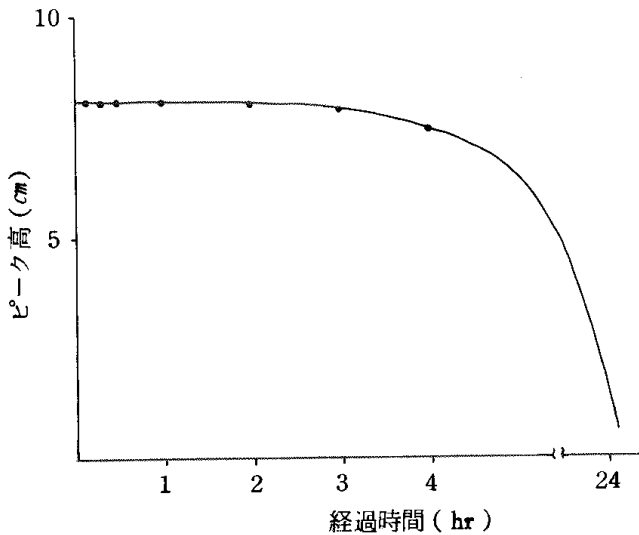
表2. クロム(VI) 10 μ g に対するイオンの影響

イオン	塩の種類	共存量(μ g)	ピーク高(cm)
Ni ²⁺	NiCl ₂	1000	8.2
Zn ²⁺	ZnCl ₂	1000	8.1
Al ³⁺	Al(NO ₃) ₃	1000	8.1
Mg ²⁺	MgCl ₂	1000	8.2
Ca ²⁺	CaCl ₂	1000	8.2
Cd ²⁺	CdCl ₂	1000	8.2
Co ²⁺	CoCl ₂	1000	8.2
Pb ²⁺	Pb(NO ₃) ₂	1000	8.1
Cu ²⁺	CuCl ₂	1000	7.9
Mn ²⁺	MnCl ₂	1000	8.2
Fe ²⁺	FeSO ₄	1000	0
Fe ³⁺	FeCl ₃	100	8.1
Fe ³⁺	FeCl ₃	1000	6.6
CN ⁻	KCN	1000	7.9
NO ₃ ⁻	NaNO ₃	1000	8.2
SO ₄ ²⁻	Na ₂ SO ₄	1000	8.2
Cl ⁻	NaCl	1000	8.2
CO ₃ ²⁻	Na ₂ CO ₃	1000	8.1
PO ₄ ³⁻	NaH ₂ PO ₄	1000	
CH ₃ COO ⁻	NaCH ₃ COO	1000	
I ⁻	KI	1000	

6. 抽出クロムの安定性

クロム(VI) $10 \mu\text{g}$ を抽出し時間の経過による含量の変化を検討した。

図4に示すように、抽出後3~4時間は安定であるが、抽出して30分後に測定を行なった。(図4)



〈図4〉 抽出クロムの安定性
クロム(VI) $10 \mu\text{g}$

7. 抽出の繰り返し精度

クロム(VI) $10 \mu\text{g}$ に対するC, V%は1.0% (n=5)であった。

8. 検量線

本法によるクロム(VI)の検量線を図5に示した。 $20 \mu\text{g}$ までは良い直線性を示した。(図-5)

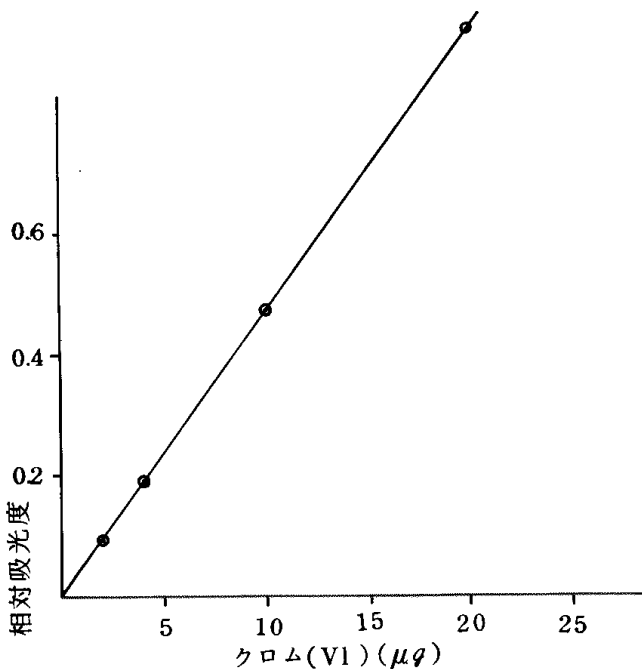


図5 クロム(VI)の検量線

9. 実試料の測定

工場排水、海水、河川水の試料適量(1~50 ml)を比色管にとりクロム(VI)、クロム(トータル)の定量を行なったところ表3に示すように良好な結果が得られた。比色法⁹⁾ともよく一致していた。

表3. クロム(VI, トータル)分析結果

試料	クロム添加量(μg)	定量値(μg)	比色法(μg)
A	0	0	0
	5.0	5.0	5.0
B	0	7.0	7.0
	0	6.9	7.1
C	0	0	0
	10.0	9.9	10.0
D	0	4.6	—
	10.0	13.8	—

Dのみトータルクロム

IV おわりに

クロム(VI)の溶媒抽出原子吸光法としてTOA-MIBK法を検討し、酸を塩酸に、塩を塩化アンモニウムに変えた改良法にしたところ、簡易迅速な定量法として適当であり、従来のTOA-MIBK法より若干感度が高かった。また従来法同様他のイオンがかなり共存していても、比較的妨害を受けにくい方法であった。このため工場排水等のクロムの分析には有効な定量法と思われる。

V 文献

- 1) 久富啓次, 松本美枝子, 久下芳生: 水処理技術, 15, 857(1974)
- 2) Yiu-Kee, Soon-San Sin, Yo-Hoo Wong: Anal. Chem. Acta, 43, 13~18(1968)
- 3) 深町和美, 森本昌宏, 柳川正男: 分析化学, 21, 26(1972)
- 4) 久富啓次, 久下芳生: 水処理技術, 15, 667~672(1974)
- 5) R. E. Mansell, H. W. Emmel: Atomic Absorption Newsletter, 4, 365(1965)
- 6) 野村元治: 用水と廃水, 19, 319~324, (1977)
- 7) 相原将人, 木ト光夫: 分析化学, 24, 718~722(1975)
- 8) 島田武憲, 田中克彦ら: 衛生化学, 19, 35(1973)
- 9) JIS. K0102, 145(1974)

8. 従属栄養細菌の活性を利用した河川の富栄養化度の測定

理化学課 環境化学係

高野 昭 男・藤本 和 司

吉武 和 人

1. はじめに

最近公共用水域での富栄養化に伴い、プランクトンの異常増殖による水の華、赤潮等種々の問題が起っている。これらの水域の富栄養化の現状把握のため、各態のN、Pいわゆる栄養塩類の分析が各地で行われている。

またバイオアッセイとして、植物プランクトンの生長を利用したAGP (Algal Growth Potential: 藻類生産の潜在力) の測定が試みられている¹⁾。しかしこの分析法は相当の設備と時間とを要し、常用分析としては不適当である。このことから中本によりAGPと同様なバイオアッセイとして従属栄養細菌の活性を利用した富栄養化度の測定法 (MBODと呼ぶ) が開発された。我々は、この手法を取り入れ、若干の検討を加えた上で、福岡市内河川の富栄養化度の現状把握を試みたので報告する。

2. MBODの考え方

MBODの名称は中本の報告^{2),3)}にあるように正式の呼び方ではなく、その測定法がBODと類似していることから、Modified BODを略したものである。

BODは、水中有機物が試水中あるいは植種した好気性微生物によって生化学的に酸化される時に消費した酸素量をppmであらわしたものである。換言すると、生物利用可能有機物の相対値であり、有機物以外の各種塩類を充分添加することによって、それらによる生長の制限が起らないようにしている。

MBODの場合は、BODとは逆に、好気性微生物 (従属栄養細菌) の生長が有機物によって制限されないように一定量の有機物 (この場合はグルコース) を試水に添加する。そして試水中の好気性微生物が、それ以外の物質を消費し尽くすまで消費した酸素量を測定し、その量をppmで表わし、MBOD値とする。すなわち、MBOD値は、生物利用可能無機塩類量の相対値となる。

MBOD法の応用として、MBOD-N、MBOD-Pがある。MBOD-Nの場合、完全培地からNだけが欠如したものを試水に添加して培養し、生物利用可能窒素量を相対的に表わそうとするものであり、MBOD-Pは逆に、

生物利用可能リン量を相対的に表わそうとするものである。

MBODは、このように従来植物プランクトン等の独立栄養微生物の増殖を利用して行われてきたAGPの測定を従属栄養細菌を使って測定しようとするものであり、従来のAGPとこのMBODとは、生物の増殖の際のエネルギー源を異にする (前者は光、後者は有機物) だけである。

3. MBODの測定方法

MBODの測定法は、その原理からわかるように、基本的には従来のBODと同じである。培養条件は中本の報告に準じ、20℃暗室5日間とした。MBOD及びその応用であるMBOD-N、MBOD-P測定の際の添加物質についても同様である。すなわち、有機物としてグルコースを用い、BODフランびん中にグルコースとして40mg/lの濃度になる様に添加した。窒素源としては、KNO₃を用い、Nとして1.05mg/lとなるように、またリン源としてはKH₂PO₄を用い、Pとして0.15mg/lとなるように添加した。MBOD-NおよびMBOD-Pの測定の際には、微量元素として、MgSO₄・7H₂O-50mg/l、CaCl₂・2H₂O-15mg/l、FeCl₃-0.3mg/lを添加した。これらの条件を表1にまとめて示した。なお、比較のため同時にBODと全く無添加であるBLANKの測定も行った。添加方法は、500倍液を作成し、各々のフランびん中に0.2ml/100mlの割合で添加する方法をとった。

表1. バイオアッセイと添加物

バイオアッセイの種類	添加物	測定しようとするもの
BLANK	なし	呼吸
BOD	N, P, 微量元素	呼吸+利用可能有機物
MBOD	有機物	呼吸+利用可能無機物
MBOD-P	N, 微量元素, 有機物	呼吸+利用可能リン
MBOD-N	P, 微量元素, 有機物	呼吸+利用可能窒素

4. 調査地点および期間

福岡市内を貫流する那珂川、御笠川および室見川の3河川を選び、それぞれ、5地点、5地点、4地点、計14地点から採水した。採水地点の概略を図1に示した。

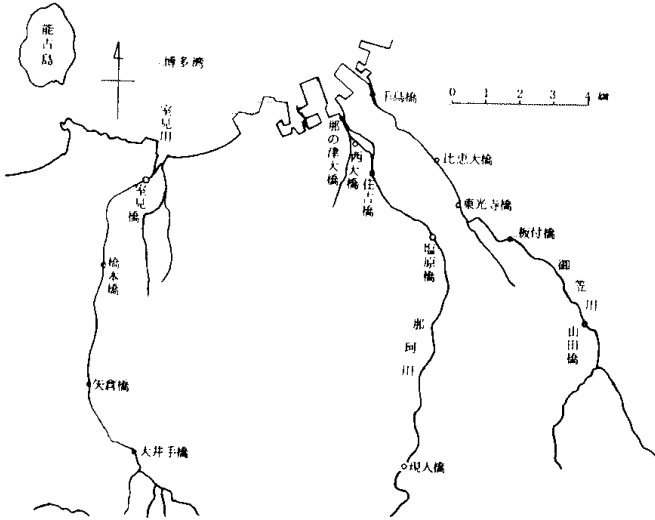


図1 福岡市内3河川の採水地点地図

那珂川と御笠川は、ともに、住宅地、商業地域を流過し、その流域に食品工場等が散見される典型的な都市型汚濁河川であり、汚染源としては、家庭雑排水が主流を占めている。一方、室見川は、福岡市西部の田園地帯を貫流し、福岡市内の河川としては、一番汚染度の低い河川である。

調査期間は、1979年1月～3月であり、各河川と比較的流量の安定した時期を選んで採水した。

5. 結果と考察

採水した検体は、すみやかに一般水質項目、栄養塩類およびMBODの測定を行った。分析結果は表2に示した。

この表中のI-N ($\text{NH}_4\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}$) および $\text{PO}_4\text{-P}$ とバイオアッセイのMBOD-NおよびMBOD-Pについての相関について検討し、図2および図3に示す結果が得られた。図から明らかのように、I-NとMBOD-N、 $\text{PO}_4\text{-P}$ とMBOD-P間には、強い正の相関があり、相関係数0.978、0.912という高い値が得られた。この結果は、中本の報告³⁾とも一致してお

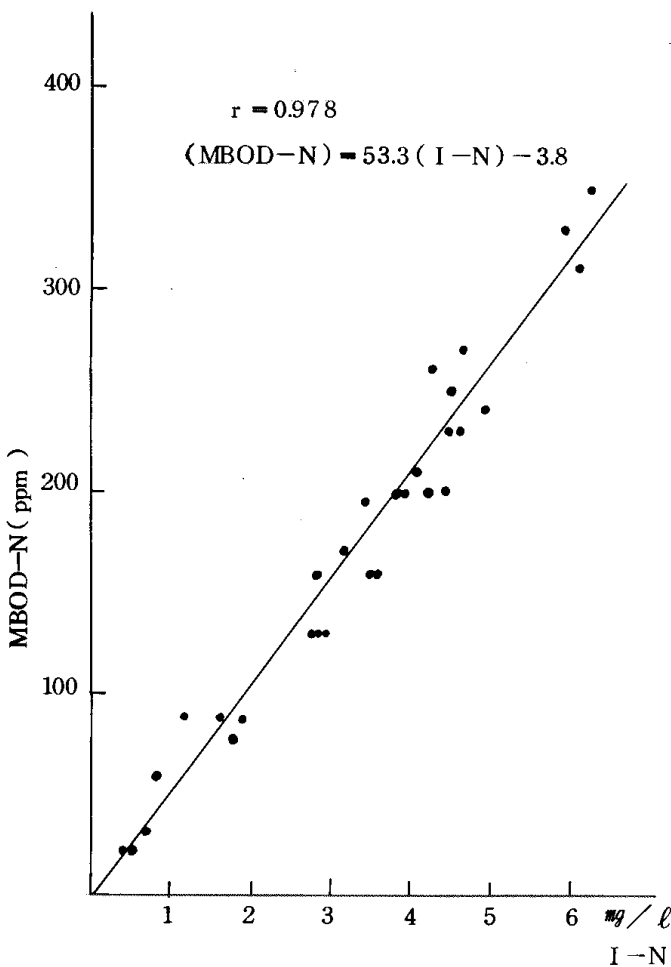


図2 無機窒素とMBOD-Nとの関係

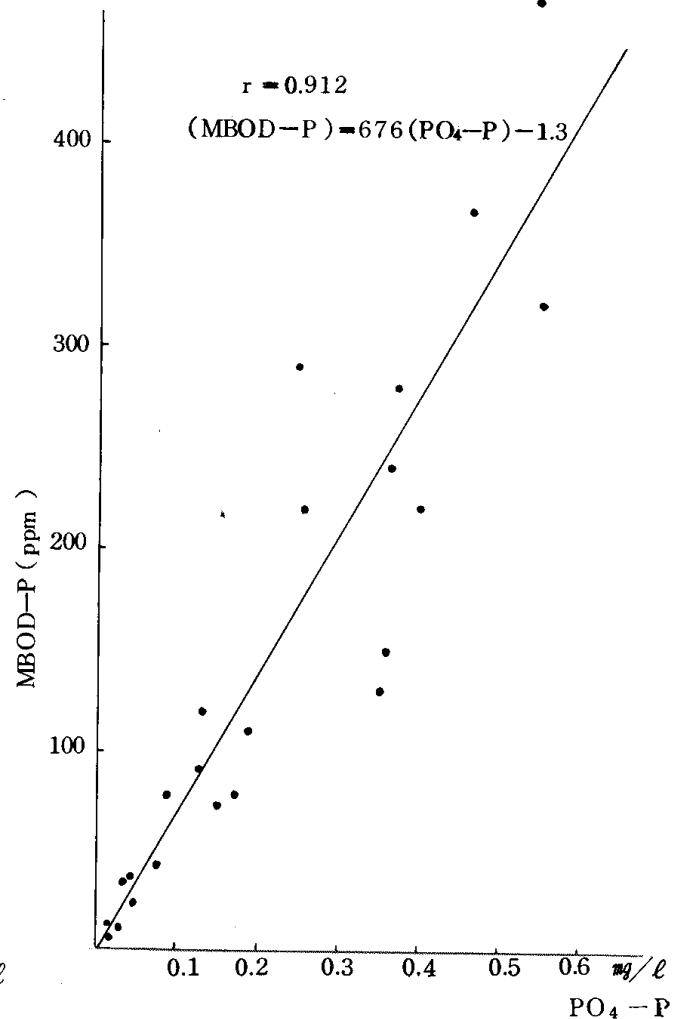


図3 リン酸態リンとMBOD-Pとの関係

表2 那珂川 御笠川及び室見川の水質とバイオアッセイの結果

採水年月日	河川名	採水地点	栄養塩類 (mg/l)					バイオアッセイ O ₂ mg/l					塩素イオン濃度 ppm
			PO ₄ -P	NO ₂ -N	NO ₃ -N	NH ₄ -N	I-N	BLANK	BOD ₅	MBOD	MBOD-P	MBOD-N	
54 ・ 1	那珂川	那の津大橋	0.046	0.051	0.151	1.08	1.28	5.4	5.7	77	38	89	14900
		西大橋	0.036	0.033	0.084	0.74	0.857	5.4	6.1	77	35	58	16000
		住吉橋	0.132	0.107	0.237	3.89	4.23	10	12	290	-	260	7,790
		塩原橋	0.525	0.105	0.867	2.53	3.50	11	11	240	-	160	48.2
		現人橋	0.018	0.005	0.512	0.02	0.537	-	0.8	25	14	22	9.4
	御笠川	千鳥橋	0.046	0.017	0.061	0.33	0.408	3.0	3.3	37	24	22	17500
		比恵大橋	0.976	0.092	3.98	3.59	7.66	-	18	-	-	-	77.2
		東光寺橋	0.554	0.088	0.407	4.14	4.64	-	20	280	-	270	40.6
		板付橋	0.249	0.088	0.560	2.22	2.87	6.6	8.9	150	-	130	31.6
		山田橋	0.601	0.106	0.335	4.03	4.47	-	13	240	-	230	45.2
54 ・ 2	那珂川	那の津大橋	0.091	0.056	0.215	2.57	2.84	5.6	5.4	140	78	160	10500
		西大橋	0.134	0.076	0.321	3.50	3.90	8.0	9.4	140	120	200	6,850
		住吉橋	0.466	0.111	0.574	5.21	5.90	21	19	340	370	330	437
		塩原橋	0.191	0.054	0.707	1.13	1.90	4.9	4.9	100	110	87	28.1
		現人橋	0.030	0.005	0.518	0.05	0.573	1.0	1.3	22	12	28	8.7
	御笠川	千鳥橋	0.367	0.089	1.56	2.84	4.49	9.1	9.6	260	240	250	5,980
		比恵大橋	0.548	0.099	2.72	3.41	6.23	14	17	330	470	350	77.8
		東光寺橋	0.250	0.116	0.466	4.02	4.60	13	18	230	290	230	59.9
		板付橋	0.404	0.124	0.721	3.33	4.18	8.8	10	210	220	200	55.9
		山田橋	0.398	0.131	0.687	3.22	4.04	10	12	200	-	210	41.7
54 ・ 3	那珂川	那の津大橋	0.080	0.042	0.190	1.38	1.61	5.7	6.1	75	43	88	12,800
		西大橋	0.131	0.034	0.391	2.42	2.85	8.7	8.6	120	91	130	6,230
		住吉橋	0.258	0.108	0.785	4.02	4.91	11	13	240	220	240	335
		塩原橋	0.173	0.070	1.00	0.66	1.73	3.3	3.7	75	78	78	32.3
		現人橋	0.021	0.006	0.628	0.06	0.694	1.4	1.0	14	7.5	31	10.7
	御笠川	千鳥橋	0.362	0.090	1.63	2.65	4.37	8.1	11	200	150	200	4,720
		比恵大橋	0.555	0.101	3.19	2.75	6.04	12	14	300	320	310	57.3
		東光寺橋	0.374	0.126	0.684	3.06	3.87	14	18	200	280	200	38.4
		板付橋	0.154	0.112	0.789	2.01	2.91	6.5	8.0	130	73	130	33.2
		山田橋	0.355	0.117	0.568	2.90	3.59	9.8	11	170	130	160	41.1
54 ・ 2	室見川	室見橋	0.078	0.025	0.291	0.30	0.616	2.0	2.5	27	37	31	9,340
		橋本橋	0.034	0.011	0.725	0.06	0.796	1.2	1.2	43	40	50	15.4
		矢倉橋	0.031	0.008	0.665	0.06	0.733	0.6	0.7	34	28	43	12.8
		大井手橋	0.043	0.006	0.529	0.04	0.575	1.6	2.0	30	33	33	9.3

栄養塩類の分析方法(いずれもオートアナライザーにより分析)

NH₄-N : インドフェノール青法

NO₂-N : ジアゾ化法

NO₃-N : Cd-Cuによる還元後ジアゾ化

PO₄-P : モリブデン青法(アスコルビン酸還元)

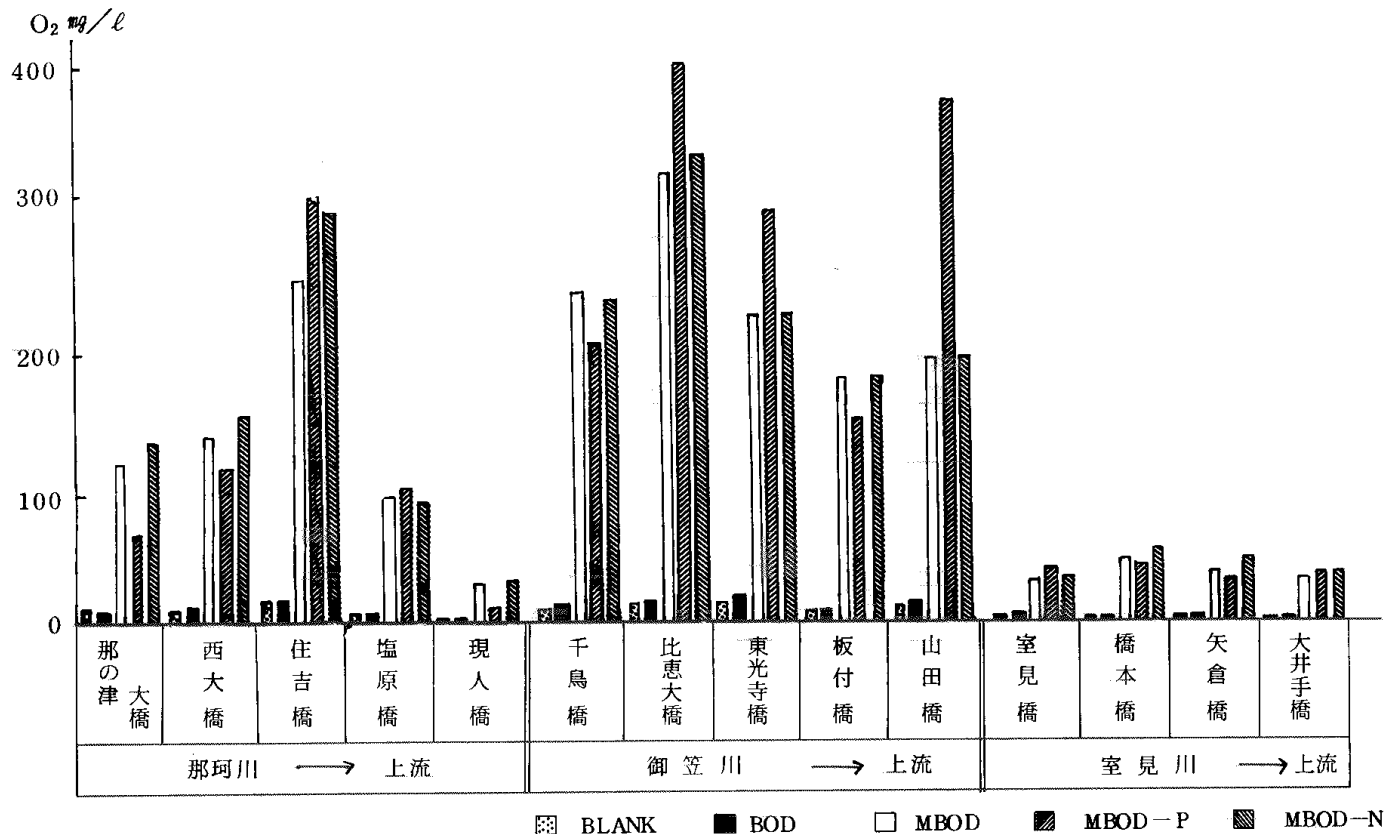
Cl⁻ : チオシアン酸水銀法

り、このバイオアッセイ法が、溶存する無機栄養塩類量をよく反映したものであり、真の意味の潜在利用可能塩類量を表わしたものであると言える。

また、図中に示した回帰式より、MBOD-N 100ppmはI-N約2ppmに、MBOD-P 100ppmはPO₄-P約0.15ppmに相当することがわかる。これより同量の酸素消費量に対するI-N、PO₄-Pの濃度比は約13:1となる。このとき消費されたI-N、PO₄-PがすべてO-N、O-Pとして有機化され、生物体を構成する⁴⁾とすれば、ここで得られた値は、一般的にいわれている微生物中のNP比7~10:1より高値であることがわかる。この原因としてはPO₄-P以外のリン化合物(ポリリン酸塩、SS中のリン化合物等)も生物利用可能リン源となることが考えられる。これはPO₄-PとMBOD-Pとの間にI-Nの場合ほど良い相関が得られなかった一因として考えられる。

図4に今回得られたバイオアッセイの結果を水域毎に示した。この値は1~3月の3か月間の平均値であり、測定した3河川の冬期の水質の平均的な様相であると思われる。比較的清澄な河川である室見川でのバイオアッセイ値は約40ppmであるのに対し、他の2河川では、現人橋を除く9地点で100~300ppmという高い値を示している。

河川別に検討すると那珂川では住吉橋をピークとするパターンを示しており、住吉橋以後流下するにつれて、



< 図4 > 水系毎のバイオアッセイの結果

海水による希釈も手伝って徐々に水質が回復している様子がうかがえる。住吉橋での測定値約300ppmは中本の報告³⁾中の多摩川中流以下の値とほぼ同じレベルであり、かなり富栄養化していると思われる。

御笠川は上流の山田橋より河口部までほぼ同じレベルの値となっており、上流域からの汚染が認められる。またこの値は、前述の多摩川中流以下の値とほぼ同じレベルであり、御笠川は今回の測定地点全域にわたってかなり富栄養化していると言える。

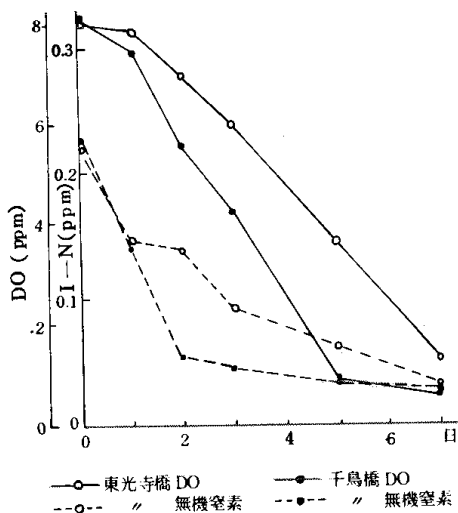
室見川は上流の大井手橋より河口の室見橋までほぼ一定の値約40ppmを示しており、汚染が認められない。ここで得られた値は、前述の中本の報告³⁾中、山間を流れる依田川で得られた値とほぼ同じレベルであり、人為汚染のない河川であると思われる。那珂川現人橋も同様である。しかし、富栄養湖である霞ヶ浦および諏訪湖で得られた値よりはいくぶん高いことから、これら清澄な河川においても、ある程度は潜在的生物利用可能栄養塩類が存在していることが推定できる。

MBOD, MBOD-N, MBOD-P 相互の関係について考察すると、御笠川でMBOD≒MBOD-N, MBOD<MBOD-Pという特徴ある傾向がある。このことから本河川においては生物が増殖する際の制限因子は窒素源だということがいえる。この結果は中本より得られた多摩川および千曲川の結果とは逆の結果であり、一般に自然水中で生物が増殖する際にはリンが制限因子となるということ

にも反しており非常に興味深い現象である。

また図4に示したとおり感潮域において、 $MBOD > M$
 $BOD-P$ という興味ある結果が得られた。この傾向は河
口部など顕著であり、今後の検討課題としたい。

MBOD測定中のフらんぴん中の反応について考察する
ためDOとI-Nの経時変化について実験を行い図5に示
す結果が得られた。図中の実線はDOの経時変化を示し
ているが、この変化の傾向は中本の報告した例とは若干
異なり、5日目以後も急激なDO低下がみられた。その
変化の様相は、最初の1日間は変化が少なくその後溶存
酸素を使い尽くすまでほぼ一定の速度で減少していく、
というパターンである。追跡期間が短期間であったこと
と例数が少なかったことから断定的なことは言えないが
最初の5日間のDO消費量はその消費速度をかなり良く
反映していると思われる。



< 図5 > ふらんぴん中のDOおよび無機窒素の経時変化

同時に分析したI-Nの結果を図5に破線で示した。
DOの変化ほど明らかな傾向はみられなかったが、最初
の2~3日で急速に消費している。I-Nの消費速度が
衰えてもなお急激なDO消費がみられるが、 PO_4-P の
経時変化と共に今後更に検討を加えたい。

6. ま と め

中本より報告されたMBOD法により福岡市内河川の
富栄養化度の測定を試み、次の結果が得られた。

- 1) 那珂川中流以下及び御笠川においてはかなり富栄養
化が進行しており、その程度は多摩川中流以下と同程度
である。
- 2) 室見川はその全域にわたって人為汚染をほとんど受
けておらず、山間を流れる清澄河川並の水質を保ってい
る。
- 3) 本バイオアッセイ法は化学分析値との相関も高く、
生物利用可能な無機栄養塩類量をよく反映したものであ
る。
- 4) MBOD法の応用であるMBOD-NおよびMBOD-P
を測定することによって、その水域での生物の生長制限
因子はなにかということ容易に推定できる。

7. おわりに

以上、MBODについて検討を加え、富栄養化の指標と
しての有用性について論じてきた。最初に触れたように
本法は従属栄養細菌の活性を利用した、AGPと同質の測
定法である。しかし、AGPが一定条件のもとで藻類を
培養し、その増殖特性、最大生物体量から、藻類生産の
潜在力を解析するのに対して、MBODでは、一定条件の
もとでの酸素消費を測定するという違いがある。この測
定原理の差が、実際のAGPとMBOD値にどのように表わ
れるか、その相関性について更に検討を加えたい。

参考文献

- 1) 岡田光正, 須藤隆一 AGPをめぐる諸問題, 用水と
廃水Vol 20(1978)P 765-779。
- 2) 中本信忠 従属栄養細菌の生長を利用したAGPの
測定, 用水と廃水Vol 19(1977)P 747-754
- 3) 中本信忠 バイオアッセイ法による水中の生物利用
可能栄養物質の推定。下水道協会誌Vol 15 No 172
(1978/9)P 35-42
- 4) 吉武和人ら 富栄養化現象による二次汚濁。福岡市衛
試所報 4号(1979)

IV 資 料

1. 魚肉ねり製品の水銀含有量について

理化学課 衛生化学係
 椿 美代子

水俣病を契機として、水銀による人体への影響について重大な関心が寄せられ、昭和48年には魚介類に対する水銀の暫定的規制値が定められたことにより、各地において魚介類の水銀含有量の調査が行なわれてきた。ところで、魚肉ねり製品には、主原料として鮮魚あるいは冷凍すり身が使われているが近年特に冷凍すり身の利用が拡大し、全国的にはほぼ同じような製品が作られるようになったので、水銀汚染の指標として有効であると思われる。今回は魚肉ねり製品の中で、カマボコ、テンプラ、チクワに含まれる総水銀量について調査し、また、これらの製品の原料となる魚種の水銀含有量について調査したので、その結果を報告する。

I 調査方法

1. 試料

魚肉ねり製品については、昭和53年9月および54年3月に福岡市で収去したカマボコ39件、テンプラ23件、チクワ5件の計67件を検体とした。

魚介類については、昭和48～53年度に福岡市の中央卸売市場に入荷した11種89検体を試料とし、その総水銀含有量を調べた。

2. 分析法

魚介類中総水銀の検査法に関する厚生省通達¹⁾に準じて行った。即ち、試料をホモジナイズし、その一定量を取り、硫酸一過酸化水素で湿式分解後、還元気化法によりフレイムレス原子吸光分析を行った。測定に使用した機器は、島津水銀分析計UV-201である。

II 結果及び考察

加工食品では製造時における汚染も考えられ、含まれている水銀がすべて原料由来とはいえないが、その検査結果を表1に示す。また、測定値を対数変換したヒストグラムを図1に示す。近似的に対数正規分布をとり、幾何平均値は0.018ppmであった。

最大値はカマボコ(板付)の0.13ppmであるが、大部分は0.05ppm以下であり、水銀含有量としては問題のないものであった。

カマボコ、テンプラ、チクワの主原料としては、グチ、

エソ、ハモ、サメ、トビウオ、タチウオ等が用いられ、冷凍すり身としてはスケトウダラが主に使われ、他にウラズカ、ホッケ、カレイが使用されているといわれている²⁾。高級品では副原料のでんぷんを使わず、主原料を多く使用するものもあれば、中級品以下では30～40%の冷凍すり身が使われているといわれ、製品により含まれる魚肉の割合もまちまちであるが、これらの魚種につき、当試験所で過去に検査した結果は表2に示すとおりである。魚種別の水銀含有量の平均値は、いずれも魚介類の水銀の暫定的規制値0.4ppm以下であったが、49年度に検査したタチウオ1件が総水銀量として0.4ppmを超えていた。なお、サメ類は暫定的規制の適用外魚種の一つである。

表1. 魚肉ねり製品中総水銀含有量 (ppm)

品目	分析数	範囲	平均値	中央値
カマボコ	39	0.01 - 0.13	0.03	0.01
テンプラ	23	0.01 - 0.05	0.02	0.02
チクワ	5	0.01 - 0.06	0.02	0.03

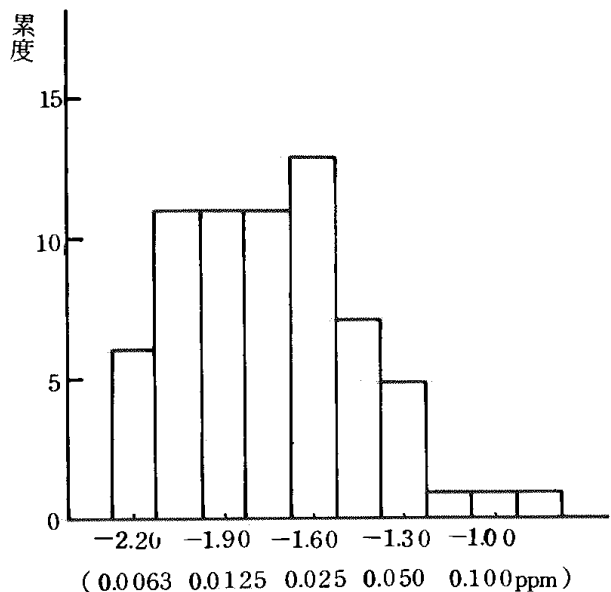


図1 魚肉ねり製品中の総水銀量ヒストグラム (対数変換した場合)

表2. 魚介類中総水銀含有量
(昭和48～53年度)

魚種名	分析数	範囲	平均値
キングチ	4	0.02 - 0.22	0.09
マエソ	10	(-) - 0.17	0.07
ワニエソ	1		0.03
ハモ	1		0.10
カスザメ	4	(-) - 0.27	0.16
トビウオ	6	0.02 - 0.09	0.05
タチウオ	38	0.02 - 0.61	0.08
マガレイ	8	0.02 - 0.12	0.05
ムシガレイ	13	0.02 - 0.12	0.06
マコガレイ	1		0.03
イシガレイ	3	0.03 - 0.07	0.05

要 約

1. 福岡市で市販されている魚肉ねり製品67件(カマボコ39件, テンプラ23件, チクワ5件)について, その総水銀含有量を調査した。最低0.01ppm, 最高0.13ppmで, 大半は0.05ppm以下であった。
2. 魚肉ねり製品の原料である魚種11種89検体の総水銀含有量を昭和48～53年度に検査した結果, その平均値で暫定的規制値を超えるものはなかった。

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局長通達：環乳，第99号
(1973年7月23日)
- 2) 河端俊治，他：加工食品と食品衛生，新思潮社，
1973

2. 市内井戸水およびビル用給水等の PO₄-P, T-P濃度について

理化学課 衛生化学係

篠塚 正義・小川 正子

佐々木 康江

I はじめに

ビル等における赤水対策として、金属封鎖剤を使用する場合は、『昭和51年12月8日環企第170号ビル等における給水設備の衛生的管理について（通知）』により、必要やむを得ない場合に限ることとされているが、その使用実態把握の必要性が生じてきた。

そこで、予備調査として、飲料水検査依頼の中より任意に抽出したビル用給水等のリン濃度を調査するとともに、市内井戸水のリン濃度についても、同様に調査したもので、あわせて報告する。

II 調査方法

1. 試料

昭和54年2月～3月に検査依頼された検体の中より任意に抽出した上水131件、井戸水93件を試料とした。

表1. 試料の保健所別内訳

内 訳	件数	保 健 所 別				
		中央	南	博多	東	西
上水 公団・専用水道 団地サービス等	131	33	12	27	20	39
井戸水 ボーリング井戸 井側井戸	61 32	3 2	14 1	5 3	10 16	29 10
計	224	38	17	35	46	78

2. 検査項目および検査方法

(1) PO₄-P

上水試験法に基づき、テクニコン社製オートアナライザーⅡ型で定量した。

(2) T-P

検水20mlに(1+9)硫酸溶液5mlを加え、1200w直火で10分加熱分解する。

冷却後、蒸留水で25mlとした後、PO₄-Pに準じて定量した。

III 調査結果

ビル給水等の上水と井戸水のリン濃度分布とその平均

値等は表2および表3のとおりである。

表2. ビル用給水等上水と井戸水のリン濃度分布

リン濃度範囲 mg/l	ビル用給水等上水		井戸水	
	PO ₄ -P	T-P	PO ₄ -P	T-P
0 ~ 0.05	126件	110件	61件	54件
~ 0.10	1	15	11	17
~ 0.20	2		7	8
~ 0.30	1	1	7	7
~ 0.40	1	1	2	2
~ 0.50				
~ 0.60				
~ 0.70			2	1
~ 0.80			1	
~ 0.90		1	1	2
~ 1.0		1		
1.1 ~		2	1	2

表3. ビル用給水等上水と井戸水のリン濃度(mg/l)

	検体数	PO ₄ -P	T-P	※ av T-P / av PO ₄ -P
		平均値±標準偏差 (範囲)	平均値±標準偏差 (範囲)	
ビル用給水等上水	131	0.009±0.040 (0~0.34)	0.067±0.34 (0~3.4)	7.44
井戸水	61	0.127±0.259 (0~1.52)	0.141±0.286 (0~1.52)	1.10
井側	32	0.039±0.073 (0~0.31)	0.045±0.069 (0~0.31)	1.15

※平均値T-Pと平均値PO₄-Pの比

IV 考 察

1. ビル用給水等の防錆剤の使用実態は、リン濃度の多少だけから判断はできないが、井戸水をブランクと考え、上水における特異な点を見つけ出すことにより、防錆剤の使用実態調査に応用できるのではないかと考える。

表3の結果より、井戸水と上水における特異な点は次のとおりである。

(1) 井戸水において、リン濃度分布は、 PO_4-P とT-Pとも差が見られない。

(2) 井戸水において、T-Pが $0.1mg/l$ 以下でT-P・ PO_4-P 比が、2を超えるものは、全くなかった。

(3) ビル用給水等においては、 PO_4-P およびT-Pとも $0.1mg/l$ を超えるものはほとんどなかったが、表4のように、T-Pが $0.1mg/l$ 以下でT-P・ PO_4-P 比が2よりはるかに大きな値を示すものがあった。

表4. リン濃度が高いビル用給水

区 分	PO_4-P	T-P
中央区 公 団	0.01>	0.87
〃 マンション	0.18	1.50
博多区 証券ビル	0.11	0.29
〃 ホ テ ル	0.20	3.40
〃 〃	0.11	0.91
〃 〃	0.07	0.16

以上の調査結果より、メタリン酸等のリン系防錆剤使用の場合は、現認調査が決め手となるが、この現認調査結果と、T-P・ PO_4-P 比の間に何らかの関係が見出せるならば、今後の実態調査が容易になると考える。

2. 表3の結果より、ボーリング井戸水と井側井戸水のリン酸濃度に明らかに差が見られる。

これは富田ら(文献3)にあるように地下水の酸化還元状態等で、リン酸濃度差の現象を調査されているが、その結果は本市における、ボーリング井戸と井側井戸についても、若干あてはまるのではないかと考えるが、今後の検討が必要であろう。

尾張地区	地下水層	HPO_4 mg/l	Pに換算 mg/l
第一帯水層(90mより浅い)		0.06(0.02~0.39)	0.02(0.007~0.13)
第二帯水層(90mより深い)		1.72(0.19~9.1)	0.56(0.061~2.9)

愛知県所報 27, 9~11, 1976

また、井戸水においては、 PO_4-P とT-Pは、ほぼ同じ値を示し、ポリリン酸は少いとみられるが、 PO_4-P が、 $0.5mg/l$ をこえるものが93件中5件あり、地下水の汚染とどういう関係を持つかは、洗剤汚染等も含めて検討しなければならないと考える。

参考文献

- 1) 小嶋ら：九州衛生公害技術協議会 発表資料 1978
- 2) 富田ら：愛知県所報 27, 13~15, 1976
- 3) 富田ら：愛知県所報 27, 9~11, 1976

3 福岡市の海水浴場の水質について

理化学課 衛生化学課

篠塚正義・小川正子

佐々木康江・須佐幹二

微生物課 衛生細菌係

大久保忠敬・小田隆弘

永井誠

海水浴場水については、シーズン前の5月に1回、シーズン中の7月、8月に2回（遊泳人口5万人以下の海水浴場は、1回）、9海水浴場を午前と午後に分け、1海水浴場あたり、3ポイント採取し、計3回の水質検査を行った。採水場所及び検査結果は次のとおりである。

※ 遊泳人口5万人以下の海水浴場

④ 大岳 ⑤ 藤棚 ⑦ 長垂 ⑨ 能古

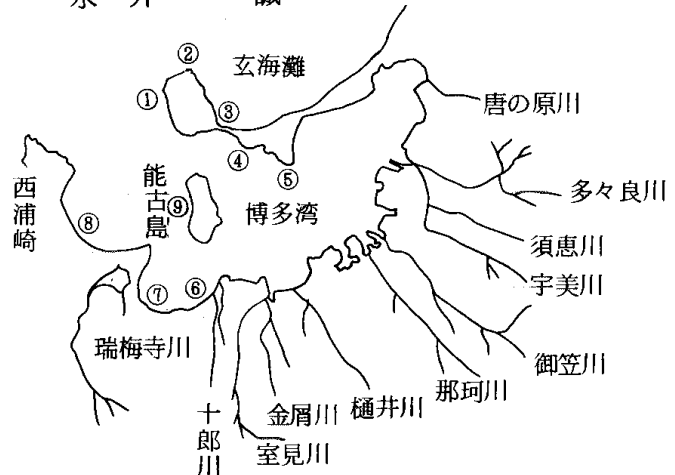


表1. 海水浴場水の水質検査結果

地図番号	海水浴場名	採水月	COD		pH	透視度 cm	油分	油膜	DO ppm	大腸菌群数最大~最小(平均) MPN/100ml	判定
			最小~最大 (平均) ppm								
①	国民休暇村	5	1.4~2.5 (1.9)	8.2	50以上	-	無	8.0	18~68 (27)	快適	
		7・8	1.2~3.3 (2.0)	8.2~8.3	"	-	"	7.1	18~230 (71)	快適	
②	勝馬	5	1.3~2.4 (1.8)	8.1~8.3	"	-	"	8.9	18~20 (18)	快適	
		7・8	0.5~3.6 (1.8)	8.2~8.3	"	-	"	7.5	18~18,000 (3,300)	適	
③	道切	5	1.4~2.9 (2.0)	8.1	"	-	"	7.4	18~68 (27)	快適	
		7・8	0.8~2.2 (1.3)	8.2~8.3	"	-	"	6.9	18~330 (72)	快適	
④	大岳	5	1.7~2.4 (2.2)	8.2	"	-	"	8.2	18~20 (18)	適	
		7	0.7~2.3 (1.6)	8.2~8.3	"	-	"	7.1	18~450 (130)	快適	
⑤	藤棚	5	1.3~2.5	8.1~8.4	"	-	"	8.9	18 (18)	快適	
		7	1.2~2.4 (1.7)	8.3~8.4	"	-	"	7.8	18~68 (27)	快適	
⑥	生の松原	5	1.6~2.9 (2.3)	8.0~8.1	"	-	"	7.8	18~170 (49)	適	
		7・8	1.1~2.5 (1.6)	8.2~8.3	"	-	"	6.4	18~2,400 (300)	快適	
⑦	長垂	5	1.9~2.6 (2.3)	8.0~8.1	"	-	"	7.9	20~1,200 (330)	適	
		7	1.5~2.5 (2.1)	8.2~8.3	"	-	"	7.1	230~9,200 (2,000)	適	
⑧	大原	5	1.4~2.8 (1.8)	8.1~8.2	"	-	"	7.8	18~68 (26)	快適	
		7・8	1.1~3.3 (1.8)	8.1~8.2	"	-	"	7.1	18~78 (40)	快適	
⑨	能古	5	1.2~1.9 (1.6)	8.1~8.2	"	-	"	7.5	230~5,400 (1,600)	適	
		7	1.8~2.9 (2.4)	8.2	"	-	"	7.0	170~640 (410)	適	

※ 判定について、快適：大腸菌群数1,000MPN/100ml以下、油分等検出されず、油膜が認められない。COD2ppm以下、透視度30cm以上。

適：大腸菌群数1,000~5,000MPN/100ml、油分等検出される、常時油膜が認められるものを除く、COD2ppmをこえるもの、透視度30cm未満。

不適当：大腸菌群数50,000MPN/100mlをこえるもの、油分等常時油膜が認められる。

4 食品中の残留農薬調査について

理化学課 衛生化学係
山崎哲司

昭和53年度に分析した野菜、果実中の残留農薬状況を報告する。

品名	件数	検査結果			検査した農薬
		農薬名 検出された件数	最低値～最高値 (ppm)	平均値 (ppm)	
りんご	2	不検出			<有機塩素剤> <有機リン剤> <カルバリル>
なつみかん(実)	8	不検出			
ぶどう	4	Diazinon 2	0.01	0.01	
なし	5	不検出			
かき	2	Fenitrothion 1	0.05	0.05	
みかん	6	不検出			
いちご	5	Dicofol 4	0.007～0.035	0.019	
ピーマン	4	不検出			
かぼちゃ	2	不検出			
さといも	3	不検出			
かぶ	6	不検出			
大根	7	不検出			
はくさい	6	Diazinon 2	0.023～0.035	0.029	
		EPN 1			
ごぼう	2	不検出			
ばれいしょ	6	不検出			
とうもろこし	1	不検出			
すいか	7	不検出			
なす	4	不検出			
かんしょ	5	不検出			
きゃべつ	5	不検出			
きゅうり	2	不検出			
とまと	1	EPN 1	0.024	0.024	
米	2	不検出			
春菊	2	不検出			<有機リン剤>
ねぎ	2	不検出			
にんじん	4	不検出			

5. 井戸水の飲用適否検査における問題点について

理化学課 衛生化学係 篠塚 正義・近藤 久幸
小川 正子・佐々木 康江

福岡市においては、上水道が95%普及した現在でも井戸水に対する利用度が高く、飲料水の水質検査依頼数も増加の一途をたどっている。

現在、井戸水の飲用適否項目は、下水並びにし尿汚染を主体にして検査するために、理化学10項目及び細菌2項目の計12項目であり、その水質基準は水道法に準拠している。

これらの検査項目及び判断基準については、自治体間でいくらかの相違が見られる。

そこで、今年度実施した飲用適否検査結果と、それらを基礎とした分析結果等をもとに、一般井戸水の飲用適否検査の最少限必須項目（ミニマム）を検討したので報告する。

2. 井戸水の検査結果

表2. 項目別不適率

検体数	細菌検査	理化学検査	濁度	色度	臭味	PH	NH ₄ -N NO ₂ -N 同時検出	NO ₃ -N	Cl ⁻	KMnO ₄ 消費量	総硬度	鉄
3,057件	検査	検査	200	—	6.4	5.3	10.1	12.0	3.1	1.8	2.1	15.0
不適率(%)	56.0	48.0										

53.5.25~6.10

3. 飲用適否項目の相互関係

各検査項目の関連性について昭和53年6月～7月にかけて、飲料水理化学検査と細菌検査を同時に行った井戸水の中より、任意に抽出した231件（井側79・ポーリ

ング113・不明39）を対象に調査した。

これらの項目別不適率は表3の通りであり、各検査項目における相互関係についてX²検定した結果を表4に示す。

表3. 飲用適否検査項目及び項目別不適率

検体数	飲用適否検査	理化学検査	細菌検査	理化学										細菌			
				濁度	色度	臭味	PH	NH ₄ -N NO ₂ -N 同時検出	NO ₃ -N	Cl ⁻	KMnO ₄ 消費量	総硬度	鉄	大腸菌	一般細菌数		
231件																	
不適率(%)	81.5	51.5	60.6	22.5	—	4.3	7.4	6.9	14.7	0.9	1.7	2.6	16.5	40.7	50.2		

表4. 検査項目における相関関係
X²(1,0.05)=3.84
X²(1,0.01)=6.63

相互関係	X ² 検定
理化学検査と細菌検査	X ² = 0.09
NH ₄ -N・NO ₂ -N同時検出と大腸菌群	X ² = 2.46
NH ₄ -Nと大腸菌群	X ² = 4.45
NO ₂ -Nと細菌汚染	X ² = 1.32
濁度と鉄	X ² = 4.85
濁度と細菌汚染	X ² = 0.98

以上の結果より推測すると、理化学検査と細菌検査の各々の適否については、ほとんど関係がみられず、また現在の検査項目であるNH₄-N・NO₂-N同時検出と、大腸菌群汚染についても関係が深いとはいえない。

しかし、NH₄-Nと大腸菌群汚染との間には関連性が認められ、NH₄-Nがし尿汚染の指標として有効であろうと推察される。

また、従来から関係が深いと考えられている濁度と鉄

との相互関係は、検定の結果も予測と一致した。

濁度と細菌汚染については、有意な結果は得られていない。

また別の角度からこれらの関係をみるために表3を用いて、単独の不適数を表5に示した。

これは、理化学検査のうち単一項目のみで不適になったものについて、項目別に集計したものである。

表5. 飲用適否検査項目の単独不適数及び不適率

(参考)

検体数	濁度		異臭		NH ₄ -N NO ₂ -N		KMnO ₄ 総			NH ₄ -N		NO ₂ -N				
		細菌不適	物	味	PH	同時検出	細菌不適	NO ₃ -N	Cl ⁻	消費量	硬 度	鉄	細菌不適	細菌不適		
231件																
不適数	17	2	1	3	11	5	3	25	0	0	1	10	5	4	32	24
不適率(%)	7.4	—	0.4	1.3	4.8	2.2	—	10.8	0	0	0.4	4.3	2.2	—	13.9	—

4. 飲用適否項目の検討

飲用適否項目についての問題点は、水道法との関連も含めて、まずNH₄-Nに注目した。

また最少限必須項目の範囲は如何にあるべきかである。このために、当市の飲用適否検査結果及び、その分析結果に基づいて現在の検査項目のうち、下記の項目について検討した。

(1) 下水汚染等の指標に関するもの

一般に下水及びし尿汚染の指標としては、NH₄-N、NO₂-N、KMnO₄消費量、Cl⁻、大腸菌群及び一般細菌などが考えられる。

① NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N……………

従来の検査項目であったNH₄-N・NO₂-N同時検出と細菌汚染との間には相関関係がみられず、この結果は渡辺らの結果と同様であった。

しかしNH₄-Nと大腸菌群との間には相関関係が見られることから、井戸水の病原微生物等による汚染の指標としては細菌検査で対応可能と思われるが、理化学検査と細菌検査が同時に行なわれることが少いため、引き続きNH₄-Nの検査を行う必要がある。

さらに窒素化合物の中で健康影響に対する安全性が問題とされるのは、NO₂-N及びNO₃-Nである。

NO₃-Nについては、表3、5に示すように不適率が高く、しかも単独不適率も高い。

さらにその毒性についても考慮しなければならない。

NO₂-Nについては、表4に示すように細菌との関連性は深くはない。

従って窒素系の循環として把握するためにNO₂-N+NO₃-Nの検査は必要であろう。

② Cl⁻……………

さらに、細菌との関係をみるために、一部の項目について細菌不適数を併記した。

単一の項目で不適になる割合が多いのは、NO₃-N>濁度>PH>鉄の順で、表3の不適順位とは異なっている。

この相違は各項目における相互の関連性の違いによって生じたものと考えられる。

現在の水道法によるCl⁻の基準では、下水汚染等の指標として把握しにくいといわれている。

また検査結果より、不適率は低く、単独で不適になるものはなかった。

しかし海水等の影響を受ける地域では、地域特殊性を考慮に入れる必要があるが、下水汚染等の指標として、200mg/lの水質基準を用いるならば省略してもよいと考える。

③ KMnO₄消費量……………

表2、3、5に示すように不適率は低い。

しかしKMnO₄消費量は、有機物汚染及び未知物質、特に有害物が混入した場合の予知には欠かせないものであり必要な項目と考える。

(2) 臭気及び味

臭気及び味は汚染の指標としては、非常に重要である。

そのうち味については、細菌汚染の危険性があるので原則として省略するが、臭気については従来通り検査は必要である。

なお現状は、使用済1升瓶を利用しているため、容器由来の臭気があり、判断に苦慮することもあるので、容器貸与方式を検討している。

(3) 濁度及び色度

井戸水については、濁度及び色度以外に浮遊物や沈澱物も不適原因として無視できず、後者を含めた外観としてとらえた方が適当と考える。

(4) 鉄

鉄については、不適率は高いが、表4に示すように濁度との関係が非常に深い。

また鉄が基準をこえ、しかも濁度不適の範囲にはいら

ないのはわずかに6.1%である。

以上のことから外観（濁度・色度・その他）を把握することで、原則的に飲用適否判定には鉄の検査が省略できると思われるが、地域的な問題等も考える必要がある。

(5) 総硬度

総硬度については、不適率及び単独不適率も共に低い。従ってC2と同様に地域特殊性を別にすれば省略できると考える。

5. 飲用適否項目のミニマムについて

以上の観点から、飲用適否検査におけるミニマムとしては、表6に示した項目が考えられる。

なお判定基準については、水道法に準拠すべきであろう。

現在の検査項目と表6の項目についての不適率を比較したところ、飲用適否検査（理化学及び細菌の同時検査）における不適率は、82%が79%に、同様に理化学検査のみについては52%が45%に変動した。

従って、現在の検査項目を表6の項目に変更しても、現在と大差のない水質の把握が可能であると考えられる。

しかし、井戸水については、地域性的問題も多いので

表6はあくまで飲用適否項目のミニマムとして考慮し、他の項目は地域特殊性等を考慮し付加することが、妥当であろうと考える。

表6. 飲用適否項目のミニマム

成 分	判定基準（水道法に準拠）
外 観	ほとんど無色透明であり、浮遊物 または沈澱物を認めないこと (濁度2度以下、色度5度以下)
臭 味	異常でないこと
PH	5.8以上8.6以下であること
NH ₄ - N	
NO ₂ -N+NO ₃ -N	10mg/l以下であること
KMnO ₄ 消費量	10mg/l以下であること
一 般 細 菌	100/ml以下であること
大 腸 菌 群	検出されないこと

参考文献

- 1) 渡辺悠二 他：日本公衆衛生学雑誌
16(13)217(1969)
- 2) 岡沢和好(抄訳)：水道協会雑誌
529, 68(1977)

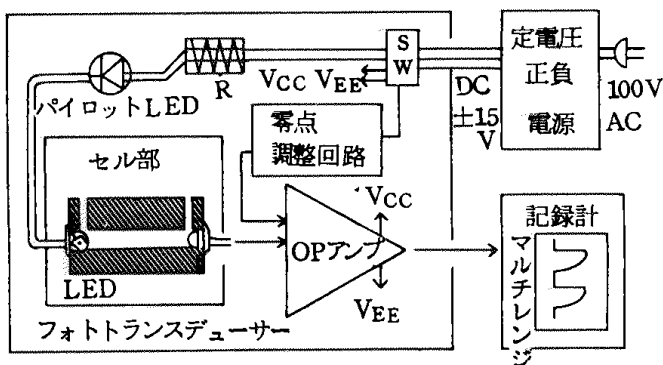
6. 硝酸および亜硝酸の自動化分析システム用 フォトトランスデューサーについて

理化学課 衛生化学係
広中博見

FET入力OPアンプの普及は、微小電流を対象とする測定器の小型化とコストダウンをうながし、簡単な比色計を自作することも容易になってきた。原子吸光度計の光電子増倍管からの光電流の増幅、pHメーターのガラス電極の高入力インピーダンス回路、液クロ用のUVケイ光モニターの光電変換回路、ガスクロのFID検出器の初段増幅などに、従来のディスクリート回路に代って、FET入力OPアンプが使われていることが多くなった。当実験室では、昭和54年4月より施行された水道法改正に伴い、硝酸+亜硝酸の定量が必要になったので、オートアナライザー用の比色計をFET入力OPアンプを用いて試作し、実用に供している。手分析では、10件/人・日であったが、自動化により30件/人・hの分析が可能になり、保健所等での水質検査に使用できると考えられる。

1. 基本構成(ブロックダイアグラム)

基本構成は、<図1>に示す様にLED-セル-フォトダイオードからなるセル部、セルからの入力を打消して出力を0Vに調整するための零点調整回路、およびOPアンプからなるフォトトランスデューサーと、正負の安定化2電源と、1V~1mV/F.S.のレコーダーから成っている。



<図1> 単色比色計ブロックダイアグラム

2. 自動化分析用比色計として要求される基本性能

1) セルに純水を満たし透過率 $T = 100\%$ とした時、出力電圧 $V_0 = 0V$ 、さらに透過率 0% すなわち、発光ダイオード(LED)の光がフォトダイオードに全く入射し

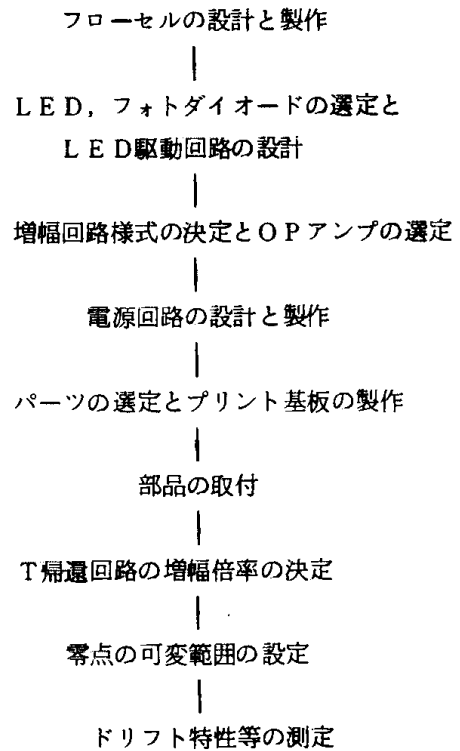
ない時、 $V_0 = 1V$ (又は $100mV$)であること。

2) 透過率 T が $100\% \sim 0\%$ のどの点でも $V_0 = 0$ に調整が可能なこと。

3) 出力電圧 V_0 の温度ドリフトが小さいこと。

以上3つの要求を満たし、できるだけ小型に安価に作りたい。

3. 製作手順フローシート



4. 設計と製作

○フローセルの設計と製作 フローセルの材質として、フェノール樹脂、アクリル樹脂、ポリエチレン樹脂、ナイロン樹脂、ポリカーボネート樹脂の直径 $20mm$ の棒を $25 \sim 30mm$ にカットして、<図2>のように内径 $2mm$ の穴を①②③の方向から穴あけを試みた。①と②③の穴を真中で直角に合う様にするためには、樹脂が透明でない困難であり、開けた穴の表面がなめらかで、美しく仕上げるためには硬い材質でまさつ熱による樹脂の軟化が少いものがよかった。結局、工作しやすく化学的にも強くエポキシ系接着剤の使用が可能であるポリカーボネート樹脂を使用することにした。

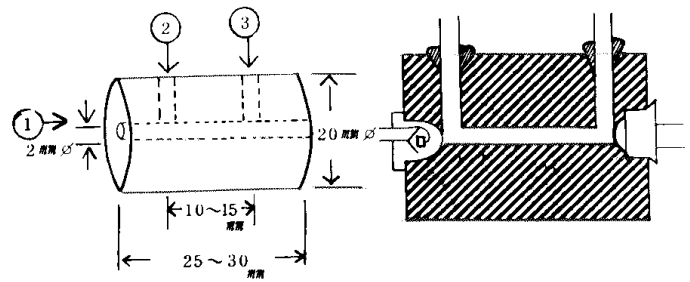
ドリルはモリブテンハイス製のよく切れる $2mm$ の刃

を付けた速度可変型を用い、セルをバイスにしっかりと固定した状態で、2~3mmづつ削くずを出し徐々に深くする。ドリルの回転数は低速でないでと摩擦熱で内面が美しく仕上がらない。

OLED, フォトダイオードの選定 LEDの発光特性¹⁾により、測定可能な波長域が決定される。現在のところ、赤外、赤、橙、黄、緑が開発されているが、市販品で安価に手に入るのはGaPタイプの赤、緑である。

比色計として用いる場合は、波長域を知る必要がある。東芝TLR-103, TLG103について発光特性を測定した。測定方法は、1cm角のプラスチックセルにLEDを組み込み、Corning社253型分光光度計で測定した。TLR-103の発光中心はカタログデータより短波長で、685nmにあり半値幅90nmである。

TLG-103の発光中心は順電流が大きくなると、長波長側に数nm移動する。5mAのとき発光中心は、565nmであるが33mAのときは570nmとなるが半値幅は、

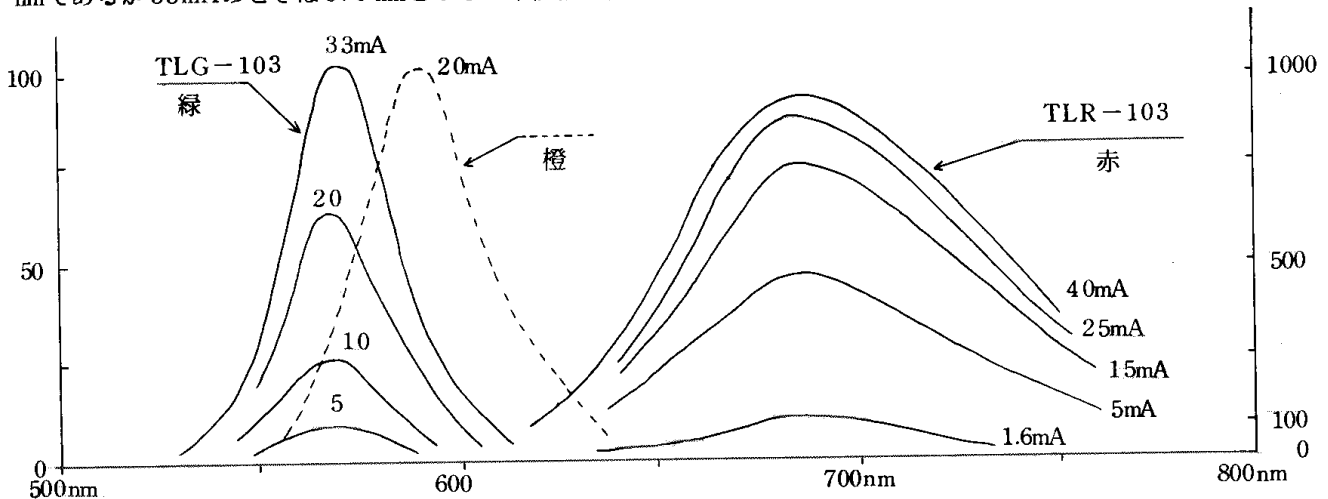


<図2> フローセルの構造と完成断面図

変化せず、30nmである。いずれも右スノが広い山型の発光特性をもっている。<図3>参照。

その他のLEDでは、Sharpの黄色で575nm、橙色で588nmに発光中心があった。

これらはいずれも一個の測定値であり、不純物のドーピングの程度により、多少の素子間バラツキがあると考えられるので、カタログデータ<表1参照>がちがうとはいえない。



<図3> LEDの順電流と発光特性

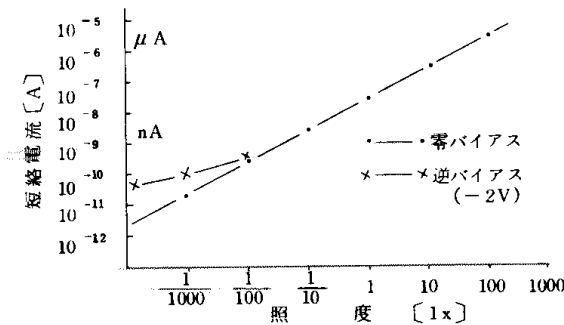
<表1> Gap 発光ダイオードの諸特性 (Ta=25℃)

各社製品カタログより

型名 外形	発光色	ピーク発光スペクトル		順電圧		光出力 Po (μW) TYP	最大絶対定格			
		波長 λp (nm) TYP	半値幅 Δλ (nm) TYP	V _F (V) TYP	V _F (V) MAX		順電流 I _F (mA)	逆電圧 V _R (V)	許容損失 P (mW)	動作温度 Topr ℃
シャープ GL2PR1	赤	695	100	1.9	2.3		10	5	23	-25~+85
シャープ GL2PG1	緑	555	25	2.0	2.8		30	5	85	-25~+85
シャープ GL5PY5	黄	575	45	2.1	2.5		30	4	55	-25~+85
東芝 TLR103	赤	700	100	1.95	2.6	180	35	4	100	-20~+75
東芝 TLG103	緑	560	25	2.0	2.6	7				-20~+75

受光素子²⁾については、フォトトランジスタ、フォトダイオード、CdSフォトセルなどがあるが、原理的に最も簡単で<図4>に示す様に低照度から高照度域まで広い測定レンジがとれるフォトダイオードを用いた。

微弱光の測定には暗電流が小さいフォトダイオードを選定する必要があり、<表2>に各種のカタログデータを示す。浜テレのS-874-18Lが暗電流が小さく、受

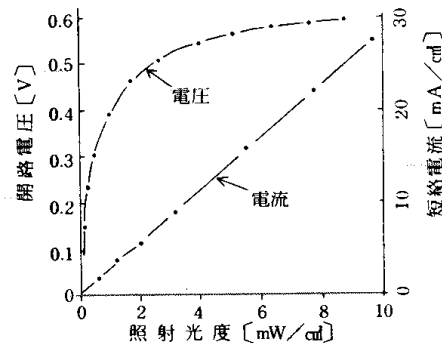


<図4> シリコンフォトダイオードの短絡電流特性及び開放電圧特性

光面積も小さいことがわかる。

受光素子の分光感度特性を<図5>に示したが、長波長域ではシリコンフォトダイオードが有利であることがわかる。

LEDとフォトダイオードをカップリングさせた時の温度特性を<図6>に示した。



<表2> 受光素子の特性

※100LX, 2856K

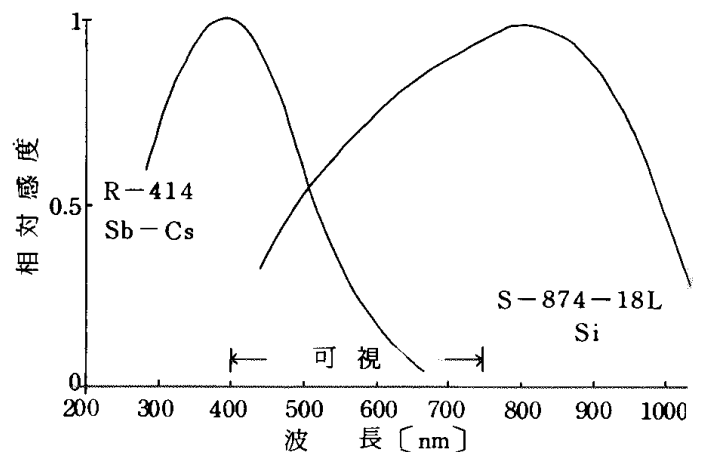
形名	外形寸法 (mm)	受光面 大きさ (mm)	感度波長 範囲 typ(nm)	感度 typ ($\mu\text{A}/\mu\text{W}$)	*短絡電流		*開放電圧		暗電流 typ pA	備考
					min	typ	typ	typ		
浜松テレビ S874-18L	5.4 ϕ ×5.6	1.2 ×1.2	430~1,060	0.45	2.5	3.5	450	1.2	シリコンフォトダイオード	
浜松テレビ S780-18BK	5.4 ϕ ×3.6	1.3 ×1.3	320~1,050	0.4	0.7	0.9	350	16	シリコンフォトダイオード	
浜松テレビ S1188-01	5.4 ϕ ×6.1	1.2 ×1.2	430~1,140	0.45	4.0	6.0		4nA	PIN 超高速応答 シリコンフォトダイオード	
浜松テレビ S1122	" 5.4 ϕ ×5.6	1.3 ×1.3	300~680	0.3	0.4	0.5	850	10	GaAsP フォトダイオード	
東芝 TPS601	" 5.4 ϕ ×5.6		430~1,100	$\frac{3}{V_{CE}=3V}$				10nA	シリコン フォトトランジスタ	
浜松テレビ R414	9.5 ϕ ×20	6 ϕ	300~650	$\frac{50\mu\text{A}}{\text{LM}}$				50	低電圧動作 真空光電管	

LEDの発光強度は、緑で-0.8%/ $^{\circ}\text{C}$ 、赤で-1.4%/ $^{\circ}\text{C}$ と温度上昇に従って光量が減少する。

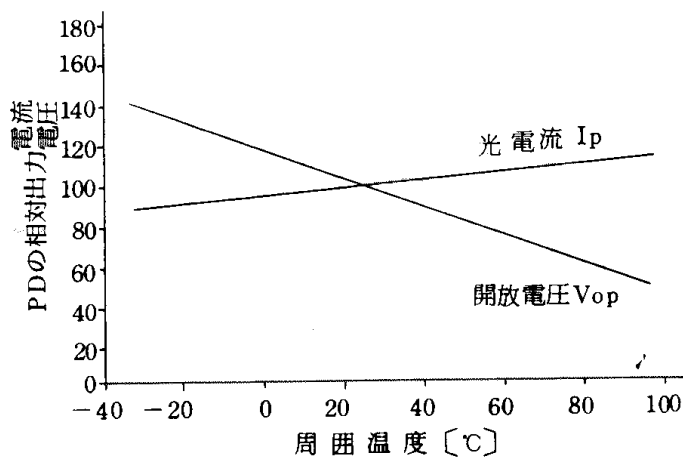
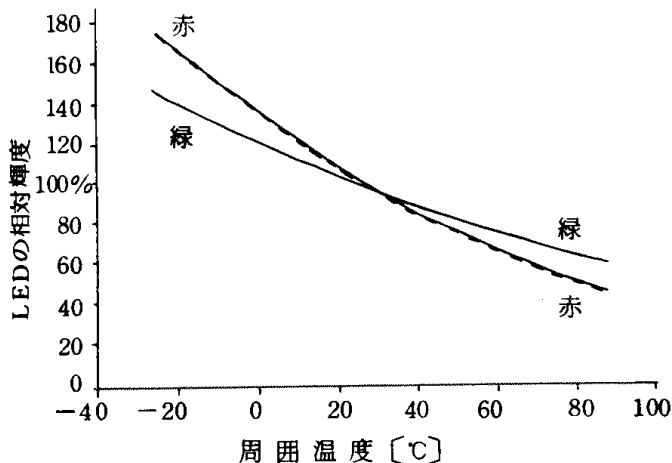
フォトダイオードの光電流 I_p は+0.2%/ $^{\circ}\text{C}$ であるが、開放電圧 V_{op} は-0.8%/ $^{\circ}\text{C}$ である。

温度ドリフトの最も大きな要因はLEDの発光強度の変動であることがわかる。開放電圧 V_{op} を利用する方法では、温度ドリフトは加算され-1.6%/ $^{\circ}\text{C}$ にもなるが、 I_p を利用する方法では、温度ドリフトは減少することになり、光電流を利用した方が有利である。

実際にLED及びフォトダイオードをセルに取付けるにあたっては、光路以外の部分は黒マジックで塗りつぶし、セル光路を通らずにフォトダイオードに入射する光



<図5> Siフォトダイオード及び光電管R414の分光感度特性



＜図6＞ GaP発光ダイオードの輝度の温度依存性とシリコンフォトダイオードの温度特性

が少なくなる様にする。＜図2＞の断面図の様に、フローセルの両側にLED、フォトダイオードがぴったりと入る様に4.5mm径のコンクリート用ドリルの刃で穴あけを行なう。ドリル刃を固定し、手でフローセルを持って回転させ、ゆっくり穴をあける。取付穴は黒マジックで塗り乾燥させておく。速乾性エポキシ接着剤でLEDを取付け、テスターのΩレンジでLEDを点灯させ、発光が光路の中心に来る様にしばらく手でおさえておくと、LEDは光路の中心に固定される。

フォトダイオードの取付けは、速乾性エポキシ接着剤を用い、やや固まったとき、テスターで起電圧が最高になる位置に固定した。フローセルの流路穴＜図2＞の②③には、外径2mmのステンレス内薄パイプをエポキシで固め、セル部が完成する。

○LED駆動回路 OPアンプ用の電源の片方を適当な抵抗で降下させる定電圧駆動と、3端子ボルテージレギュレーターを用いた定電流駆動を比較した。定電流駆動＜図7-b＞では、点灯直後にLEDにラッシュ電流が流れることがあり、発光強度の温度特性も改善されなかった。簡単な定電圧駆動＜図7-a＞を採用することにした。

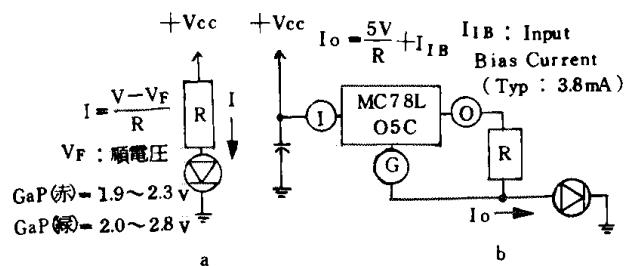
○増幅回路様式の決定とOPアンプの選定 フォトダイオードや光電管、光電子増倍管を用いる場合は、その光電流(pA～nA)を低バイアス電流のOPアンプで、

電圧に変換する＜図8-a＞の回路が一般的である。

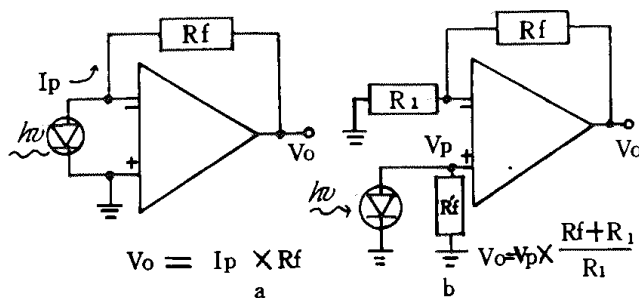
フォトダイオードがゼロバイアスのとき、低照度まで照度—光電流特性が直線であることを利用するもので微小電流における電流性雑音の小さい、FET入力OPアンプが用いられる³⁾

一方電圧入力型＜図8-b＞では、＜図4＞に示す様に、フォトダイオードの照度—開放電圧が対数カーブを示すことにより、比色計としては、透過率T→吸光度(ABS)の変換回路を要しない、ABS—Linearに近い比色計となる。この場合のOPアンプには、低オフセット電流、低オフセット電圧、電圧性雑音の小さい、高級なOPアンプを必要とする。欠点としては、LED—フォトダイオードの温度ドリフトが大きいことがあげられる。

＜表3＞に各種OPアンプの性能を規格表より抜粋して、比較してみた。コストからみて、CA3130が最もバイアス電流が小さく、微小電流増幅に有利であるが、MOS-FET構成のため、電源範囲が±8V又は、片電源しか使えないので、設計の際注意する必要がある。○T帰還回路⁴⁾ 電圧入力型すなわち電流電圧変換回路で用いるRfには、光電流が小さくなれば、より大きな抵抗値が必要である。いま透過率T=100%のとき1nAの入力電流があったとすると、これを1Vフルスケールの出力にするためには、＜図8-a＞の回路では、



＜図7＞ LEDの駆動回路



＜図8＞ 電圧入力型(a)と電流入力型(b)の基本回路

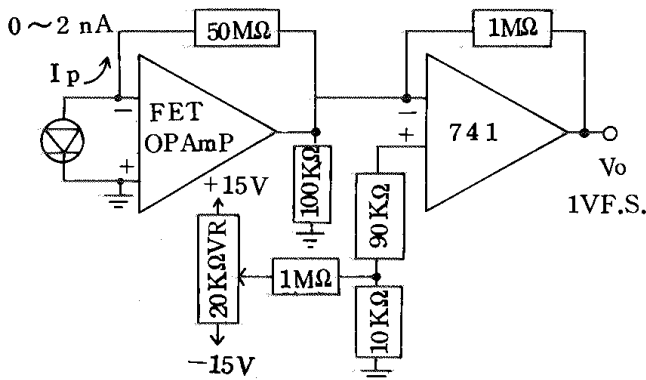
〈表3〉 各種OPアンプ比較表

型名	オフセット電圧		温度ドリフト		バイアス電流		電源電圧 定格 (V)	初段 Tr 構造	市価 (円)	備考
	typ	max	typ	max	typ	max				
RCA社 CA3130T	6	15	8		0.5	30	15v (±7.5)	MOS-FET	450	
NS社, モトローラ LF356	3	10	5		30	200	±5~±18	J-FET	500	
東芝 TA7505M	8	20	20	100	-20	-100	±18	J-FET	1,900	
テキサスインスツルメント TL081C		15	10		400		±3.5~±18	BI-FET	200	
TL072C		10	10		200		±3.5~±18	BI-FET	400	デュアルOPアンプ
アナログデハイス AD503JH		±50		±75	-15		±5~±18	FET	5,900	ハイブリッド薄膜
日電 μPC152A	40	200	50		0.1	10	~±18	MOS-FET	1,800	
308	20	10	6	30	1.5nA	7nA	±2~±18	BP-Tr	600	スーパーベータ
741C	20			±15	75nA		±3~±22	BP-Tr	200	ローコスト汎用

$$V_o = I_p \times R_f$$

$$1.0(V) = 10^{-9}(A) \times R_f \quad \therefore R_f = 1,000M\Omega$$

Rfに1000 MΩの高抵抗が必要となる。このような高抵抗は一般に市販されていないので、特注することになりOPアンプより高価である。通常パーツ屋で手に入る高抵抗は、10 MΩ~100 MΩの炭素皮膜のものである。するとあと10倍~100倍の電圧増幅が必要となる。OPアンプを1個追加すれば、〈図9〉の回路となる。これをOPアンプ1個ですますには、T帰還回路とよばれる〈図10〉の回路が用いられる。このT帰還回路を用いるとき、注意すべき点はOPアンプのオフセット電圧もTx倍されることである。したがって、オフセット電圧の温度ドリフト(ベースラインドリフト)もTx倍される。さらにOPアンプの出力がRT1+RT2を通して、アースされているため、OPアンプの負荷が大きくなることによるFET OPアンプ出力段トランジスタの発熱が、入力段のFETのJunction温度上昇を引きおこし、入力バイアス電流が指数関数的に増加する点である。



〈図9〉 OPアンプ2個を用いた光電交換回路

このため、RT1 + RT2は100KΩ以上にすることが必要である。

また、Txをできるだけ小さく使うのが得策であるから発光ダイオードの輝度を上げ、セルの光軸をしっかりと合せてフォトダイオードの出力電流を大きくする方が、OPアンプの温度ドリフト対策としては有効である。

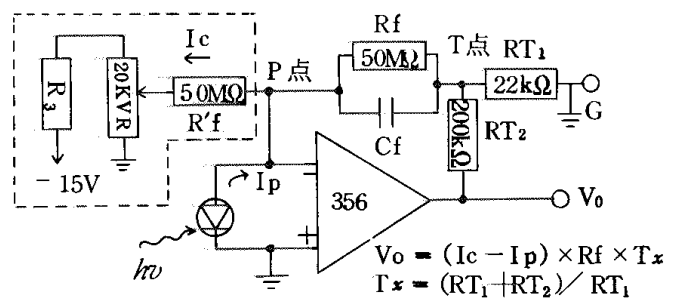
○零点調整回路 (Zero Adjust Circuit)

〈図10〉の回路では、透過率100%のとき、フォトダイオードに2nAの光電流が流れ、Rfで100mVの電圧に変換され、さらにTx倍(≒10倍)されて、出力Voは1.0Vの出力となる。(Ic=0のとき)

透過率100%のとき出力が0V、(すなわちABS=0のとき出力0V)とするためには、反転入力端子であるP点に電流を流しこむ方法がとられる。この場合には光電流Ipに等しい電流をP点から吸い出せばよい。

Ic = Ipのときベースラインで、Ipが減少したときVoは正の方向へ動き、Ip=0の時、Vo=1.0Vとなる。

〈図10〉のRf'は、OPアンプのループゲインを損わ



〈図10〉 T帰還回路を用いた光電流-電圧変換回路

ぬ様にRfより高い抵抗を用いるのが望ましいが、この場合Rfと同等でも使用が可能である。Cfは電源ラインの60Hzのノイズをキャンセルするための時定数を決定するコンデンサで、もれ電流の少ないスチロールコンデンサー等を用いる。

$$\text{時定数(sec)} = C_f(\mu\text{F}) \times R_f(\text{M}\Omega)$$

電圧増幅型の場合のゼロ調整法を<図11><図12>に示す。<図11>においてT=100%のとき、フォトダイオードに240mVの起電圧が生じたとすると、点P₀、点P₀'の電位が等しくなる様にOPアンプの出力電圧がうごくので、

$$V_{P_0'} = V_{P_0} = 240(\text{mV})$$

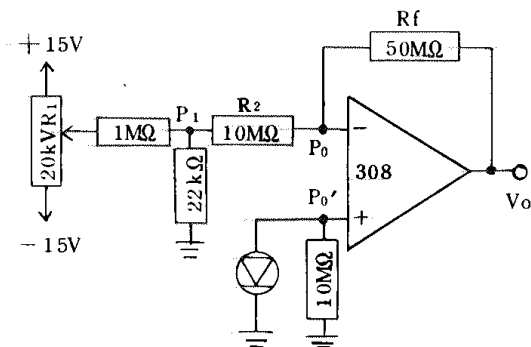
トリマ抵抗VR₁を動かして、V₀=0になる様にP₁の電位を調整すると、P₀、P₀'の電位は変化しないので、Rfを流れる電流Ifは、240mV/50MΩ=4.8nAである。この電流はR₂を通して供給され、R₂で4.8nA×10MΩ=48mVの電圧降下があるので点P₁の電位は、

$$240\text{mV} + 48\text{mV} = 288\text{mV} \text{ となる。}$$

いまP₁の電位はこのままで、T=0%となってフォトダイオードの起電圧が0Vになったとすると、

$$V_{P_0'} = V_{P_0} = 0(\text{mV})$$

$$V_{P_1} - V_{P_0} = 288 - 0 = 288(\text{mV})$$



<図11> 反転入力端子からの零調

○電源回路の設計と製作 LEDの駆動に30mA、OPアンプに数mAが必要であるから、最大100mAの安定化電源で、十分である。片電源でOPアンプを動かしても、ゼロ調用に異符号の電源が必要であるから、正負2電源が必要となる。

<図13>は、正負の3端子レギュレータを用いた例でトランスはセンタータップ付のものを使った。トランスの出力に余裕があれば、出力電流の大きい3端子レギュレータ⁶⁾を用いておけば、他の用途の電源として便利である。

<図14>は、正3端子レギュレータを2個用いた場合で、トランスは2個又は別巻線のものが必要である⁷⁾

片方の出力端子をグランドにするため、非安定側はフローティング状態である。トランス及び平滑用コンデン

R₂、R_fを流れる電流は288mV/10MΩ=28.8nAであり、この電流がP₀点から出力へ向って流れるので、

$$V_{P_0} - V_{\text{out}} = 28.8(\text{nA}) \times 50(\text{M}\Omega) = 1440(\text{mV})$$

$$\therefore V_{\text{out}} = -1440\text{mV}$$

すなわち、<図11>においてフォトダイオードの出力が、240mV→0Vに変化したとき、V_{out}は、0V→-1440mVの変化に増幅される。したがってゲインGは6である。

$$G = 1440 / 240 = 6$$

<図12>の場合は、非反転入力端子から零調を試みた例である。T=100%のとき出力を0Vに調整すると、

$$V_{P_1} = 240\text{mV}$$

$$V_{\text{out}} = 0$$

$$V_{P_0} = 240 \times 50 / (50 + 10) = 200(\text{mV})$$

T=0%のときの出力電圧V_{out}を求めると

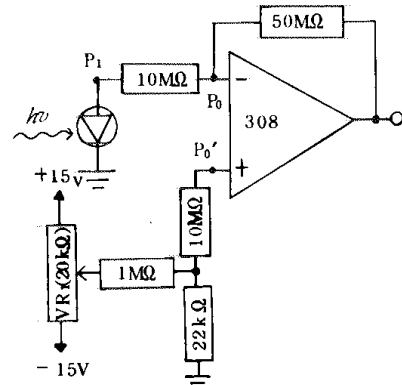
$$V_{P_0} = 200\text{mV}$$

$$V_{P_1} = 0$$

$$V_{\text{out}} = (10 + 50) / 10 \times 200 = 1200(\text{mV})$$

P₁点の電位が240mV→0のとき出力が0→1200mVに増幅されているので、ゲインGは-5である。

$$G = (0 - 1200) / (240 - 0) = -5$$



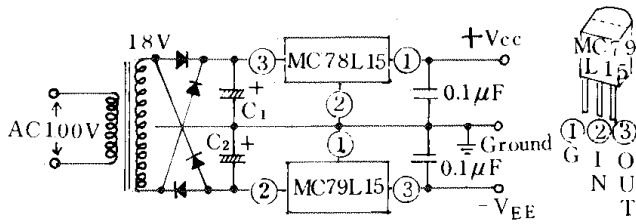
<図12> 非反転入力端子からの零調

サーは同じ物を使わないと、負荷をつないだ状態で電源を入れると、片方がラッチアップして出力がでないことがある。

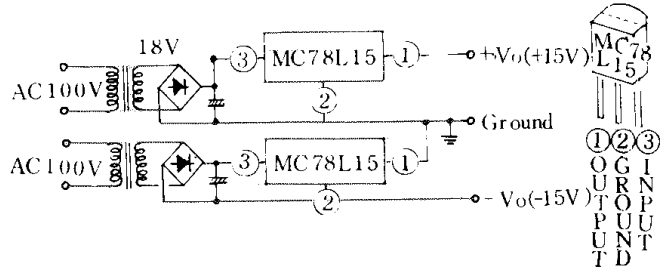
<図15>は、±15Vの専用トラッキングレギュレータを用いた例で、R₂、R₁の比を変えると、出力電圧を多少変えることができる。MC1468Lとはピンの配置が異なるので注意を要する。

○パーツの選定とプリント基板の製作 ケースの選定については次の条件を考えた。

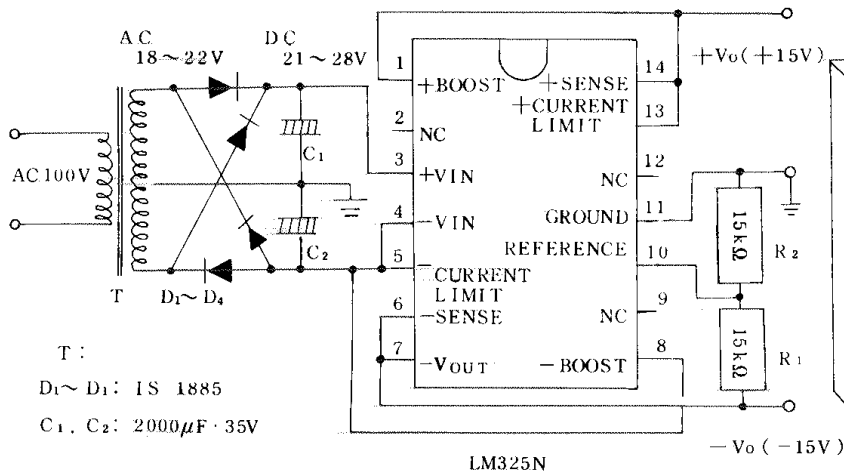
- 1) 小型であること
 - 2) 光学的に密閉できること
 - 3) 静電シールドができること
 - 4) 防水性があり、耐薬品性がよいこと
- これらの条件をすべて満足するケースは市販されていない



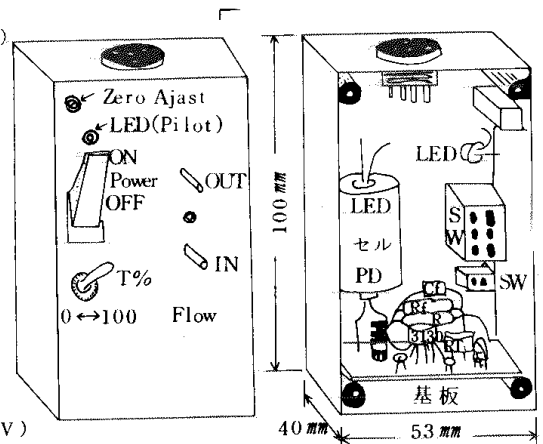
＜図13＞ 正負3端子レギュレーターを用いた
±15V 0.1A電源回路



＜図14＞ 正3端子レギュレーター2個を用いた
±15V電源回路



＜図15＞ LM325Nを用いた±15V 0.1A電源回路



＜図16＞ 比色計の外観と部品配置図

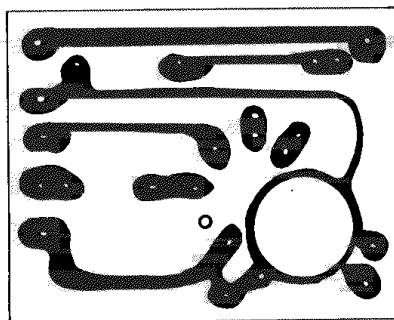
なかったので、プラスチックケースUB-4に、静電シールド加工をして用いた。

プラケースの裏に両面テープで薄いアルミ板を張付けた。アルミ板はサイダーの500ml入アルミ缶の側板をハサミで切って用いたが、ビール缶や、キッチンテープ等を用いてもよいだろう。

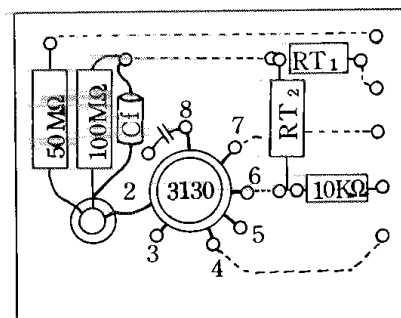
プラケースの内側に、＜図16＞の様にパーツを取付けた。ケースが小型であるので、パーツの取付手順に注意しないと配線が困難になる。

各パーツの取付位置を決め穴をあけたのち、アルミ板シールド加工を行い、プリント基板以外のパーツを取付ける。プリント基板は38mm×48mmの片面ガラスエポキシ基板に、テフロンスタンドオフ端子を反転入力端子に用いた。CA-3130Tを用いた場合のプリントパターンを実寸で＜図17＞に示す。

比色計の試作にあたっては、比較検討のため、各種のオペアンプを使用したり、光電管を用いた場合など、種々の回路を検討した。



プリントパターン

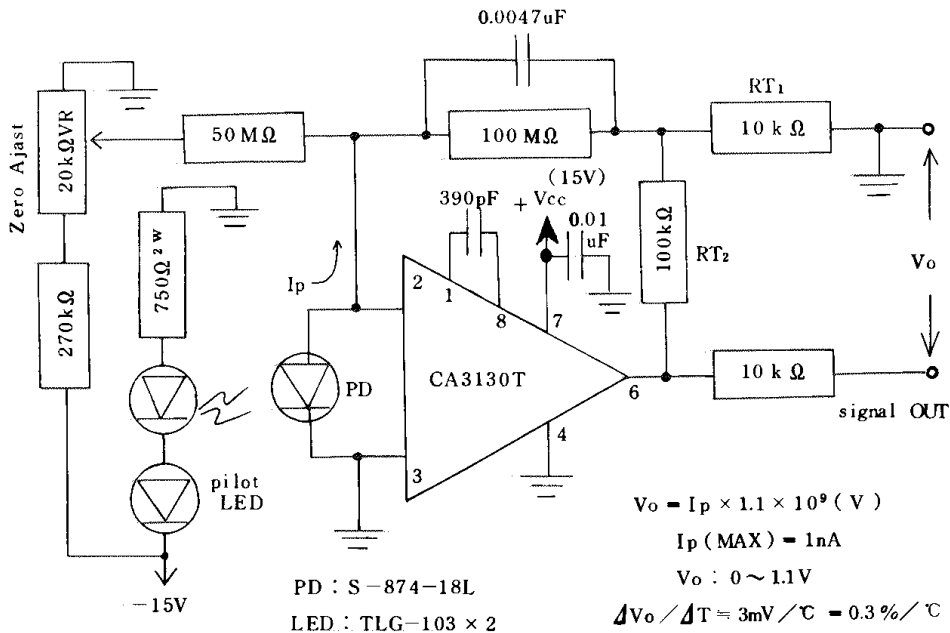


部品配置

＜図17＞ プリント基板(実物大)

＜図18＞は光源に東芝発光ダイオードTLG-103(緑)を用い、受光素子に浜松テレビ製シリコンフォトダイオードS-874-18Lを使用したフローセルからの光電流出力を、RCAのMOS-FET入力OPアンプであるCA3130Tで電流-電圧変換し、T帰還回路で10

倍増幅を行っている。+15Vの片電源でOPアンプを働かせているため、出力には負の信号はカットされてあられない。このフローセルは試作1号であったため、光軸の合せが悪く、T=100%の時の光電流出力の最大値が約1nAであったが、ノイズ的にはレコーダーの



< 図 18 > LED-フォトダイオード/光電流入力型比色計の回路図
 測定可能波長 560nm (半値幅 30 nm)

入力レンジ 50mVフルスケールでの使用が可能であった。
 時定数は約 0.5秒であり、システム全体の温度ドリフトは + 3mV/°Cであった。

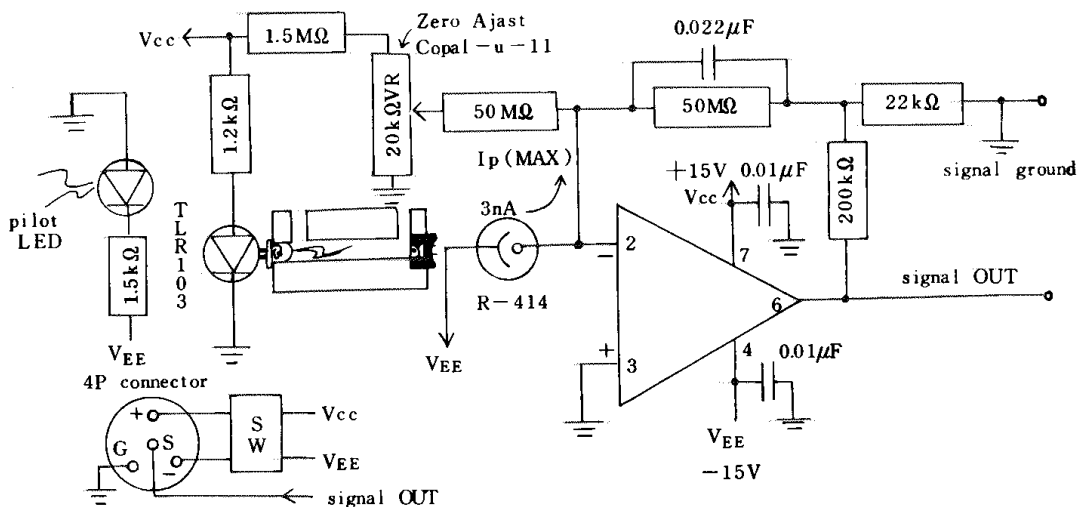
< 図 19 > は、LEDに TLR-103(赤)を用い、受光素子に低電圧動作型の真空光電管 R-414を使い、OPアンプに LF356相当品を用いた。2電源駆動しているため、出力信号は正負両側に振れる。出力は T=100 → 0% に対し 0 → 1.0V に変換される。温度ドリフトは、+ 6mV/°C であったが、R-414 の温度ドリフトは光電管の性質上小さく、発光ダイオードに起因するものが大部分と考えられる。

< 図 20 > は、デュアルフローセルを用いて、温度ドリフトを軽減させ、零調を光量で行ったものである。

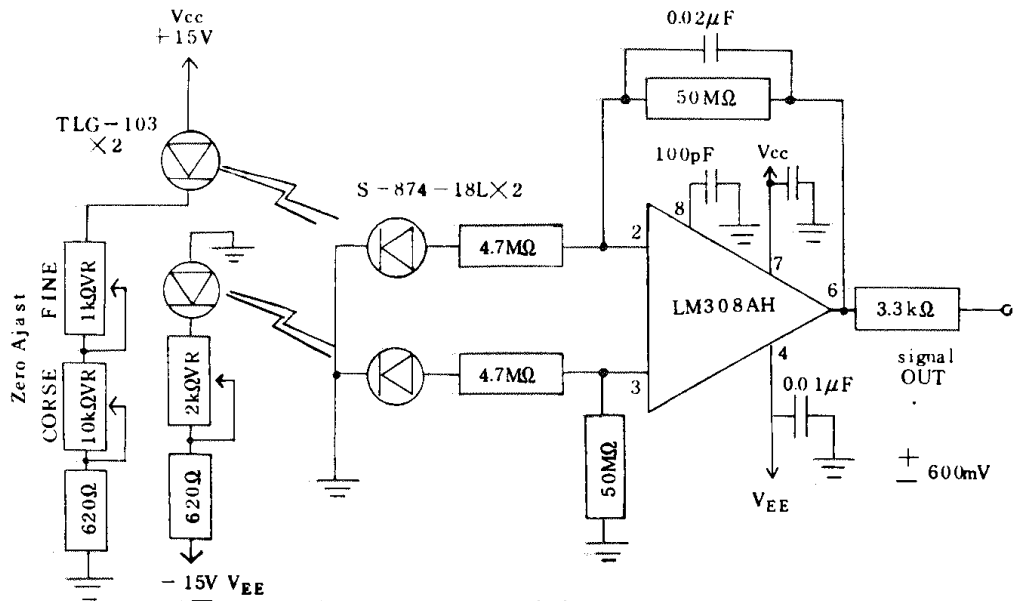
OPアンプに LM308 AH を用いた、ごくふつうの、CMRR 回路となっている。出力にある 3.3KΩ は出力保護のためである。この比色計はフォトダイオードの開放電圧を増幅するため、光量が少なくなる高濃度域でノイズが多く、期待された対数特性を生かせなかった。2つのフォトダイオードの光電流をデュアル FET 入力オペアンプを用いて電圧に変換したのち、LM308 で差動増幅する方法に改造した。

< 図 21 > は、デュアル FET OPアンプ TL-072、デュアルトランジスタ 2SC-1583 を用いて、光電流を対数変換しつつ電圧に変換した例である。

光量が 1/10 になるごとに 1.0V づつ出力電圧が変化する。※印の 1KΩ の抵抗には、+ 0.3%/°C の正の温度特



< 図 19 > LED-真空光電管/光電流入力型比色計の回路図
 測定可能波長 690nm (半値幅 100nm)



＜図20＞ デュアルフローセル電圧入力型比色計回路図

性をもった通称ポジスタを使用する様に書かれている本が多いが、この場合フォトダイオードからの出力電流が温度上昇により減少するため、ポジスタを使わない方が温度ドリフトが小さく考えられる。このシステム温度ドリフトは+2.7mV/℃であった。

○ T補還回路の増幅倍率および零点可変範囲の設定

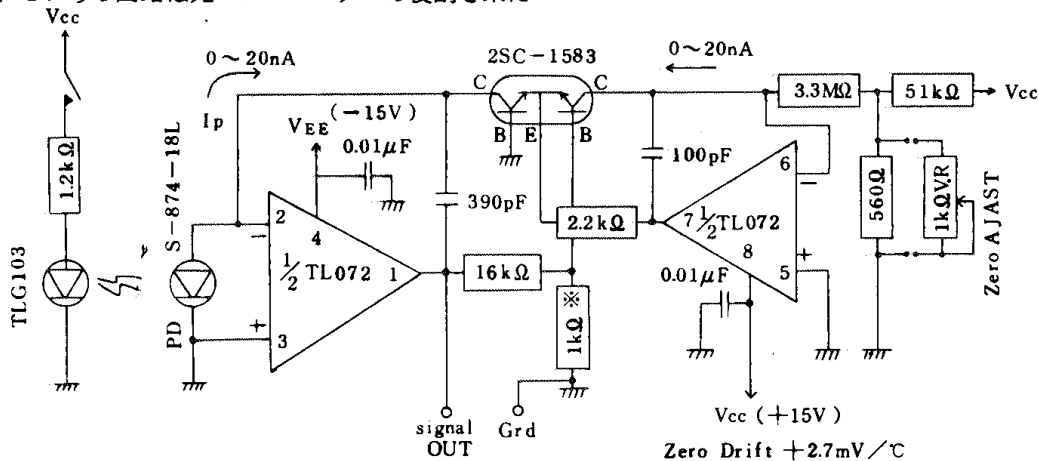
フローセルの良否により、光電流出力が大きく異なるので、 R_{T1} と R_{T2} は比色計の完成後に $T = 100\%$ 時と $T = 0\%$ 時の出力電圧を測定して、差が1.0Vになる様に決め直す必要がある。さらに、零点可変範囲はできるだけ微調整が可能な様に小さく設定する。スペースに余裕があれば、 R_{T1} の一部を可変抵抗にすることにより、フルスケール出力のレンジを調整することができる。

○ 回路設計上の失敗例 LEDの温度係数が大きいため、デュアルフローセルにしてドリフトをキャンセルするために、＜図22＞の各種回路を考えた。a, b, cは電流入力、dは電圧入力における差動増幅を試みたものである。これらの回路は光コンパレーターの役割を果た

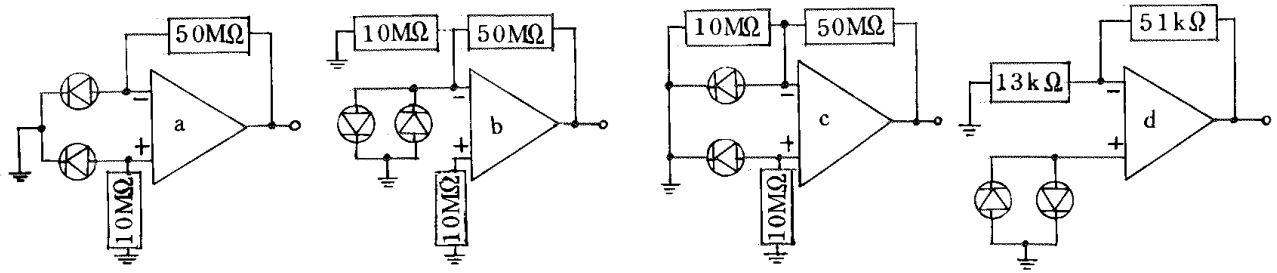
し、入射光の強弱に従い、どちらか一方に出力は振れてしまう。

＜図18＞の試作1号機を製作した際に、静電シールドが不十分であったため、オートアナライザーのローラチューブポンプを動かすと、ポンプの負荷に応じたノイズが出力に現われた。比色計のシールドは必ずレコーダーのアース点に接続する必要がある。

受光素子にシリコンフォトダイオード（S-874-18L）を用いたとき、フローセルからの光電流出力は赤色LED使用の場合には最大値が30nA～300nAであり、緑色LEDの場合は1～10nAであった。これは赤色LEDの発光効率が高く輝度が大きいためであり、さらにシリコンフォトダイオードの分光特性が、長波長（赤）に有利であるためである。R-414の分光特性はS-4タイプで、700nm付近は感度が悪く、赤色LED、緑色LEDどちらと組合せても光電流出力は1～3nA(MAX)となる。



＜図21＞ LED-フォトダイオード/光電流対数変換型吸光度リニアの比色計の回路図



< 図 22 > 回路設計の失敗例

5. 実用上の問題点及び考察

硝酸および亜硝酸の自動化分析システムを<図23>に示した。分析ラインのポンプチューブはテクニコン社の製品を用いた。このシステムでは、硝酸は $1\text{mg}/\ell$ 、亜硝酸は $0.2\text{mg}/\ell$ でフルスケールである。

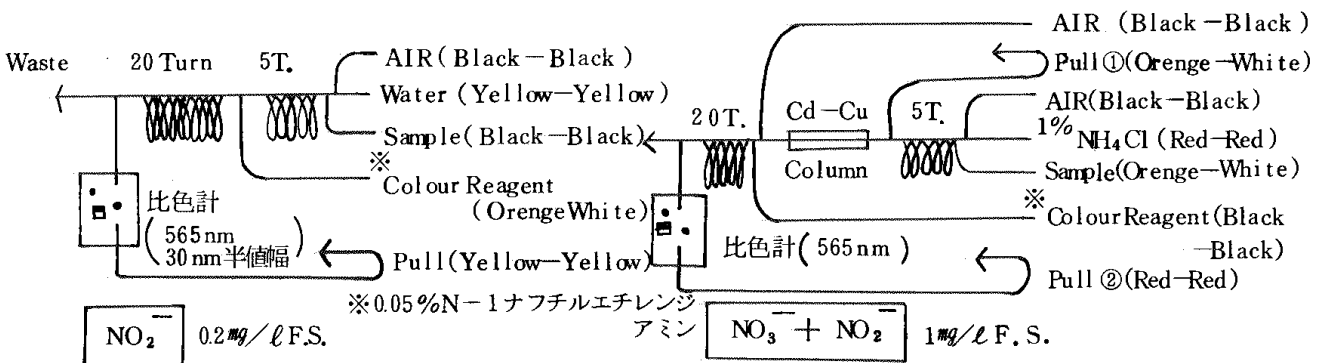
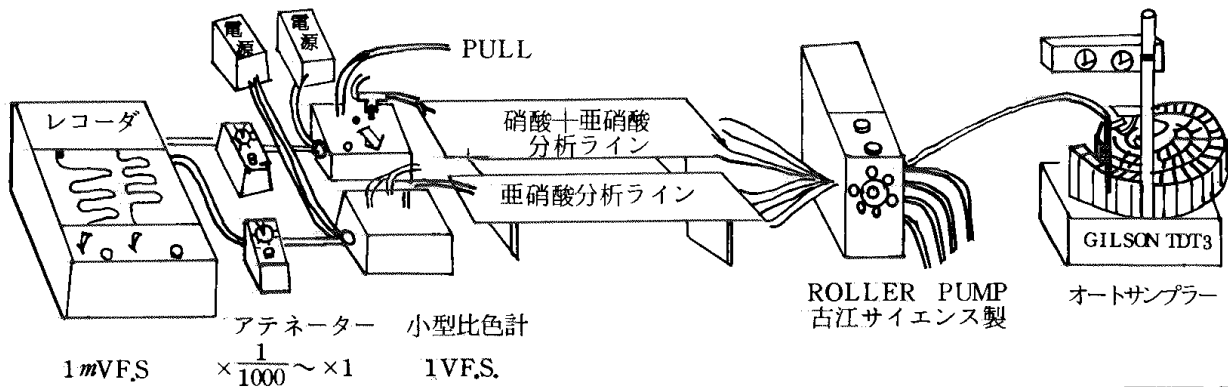
分析の繰かえし精度はテクニコン社のローラーチューブポンプを用いた場合に比較すると悪く、1%の変動係数であった。

比色計については、点灯後10分で安定し、温度ドリフトについても分析上問題となることはなかったが、サンプルの屈折率の変化による負ピーク出現という予測せぬトラブルが生じた。これは井戸水や上水の分析にあたっては全く生じなかったが、食肉製品中の NO_2^- 、 NO_3^- の分析にあたってはサンプルの塩類濃度が高いため、フローセル中で界面を生じ光束がまげられるためにおこる事がわかった⁸⁾。この問題は高速液クロの検出器でも生じて

いるが、フローセルの内径と流速に影響される。また、LED及びフォトダイオードが曲面をもったレンズを使用しているため屈折率変動の影響を受けやすいのではないかと考えられ、LEDにGL2PG1(緑)、受光素子にR414光電管を用いた比色計では、負ピークの大きさは $1/4$ にもなった。

今後発光ダイオードの種類がふえ、紫外、紫、青などの発光が可能になってくれば、こういった単色比色計も使いやすさやコストの点で専用検出器として使われる事が、考えられる。

シリコンフォトダイオードの特性を利用し、赤～赤外の長波長域で光電管に代えて使用する方法が最近の比色計でとられているケースを最近みかけるようになった。FET入力OPアンプや光半導体の開発、光ファイバ通信といった最新技術情報を理解する点でも今回の比色計製作は良い実験であった。



< 図 23 > 硝酸および亜硝酸の自動化分析ブロックダイヤグラム

参考文献

- 1) 中村哲郎・内村清「固体発光素子とその応用」
P 94~P 108
- 2) 電子展望編「光半導体活用ガイド」
P46~P50, 1973
- 3) CQ出版「実用電子回路ハンドブック」 Vol-3
P161~165, P352
- 4) 電子展望編・今井幸蔵「最新オペアンプ活用技術」
P104
- 5) 岡村迪夫「統O P アンプ回路の設計」 P 40~41
- 6) Motorola 「Semi-conductor Data Library
Linear I/Cs Vol-6 4-92, 4-116, 3-8
- 7) 清水和男「統安定化電源回路の設計」 P 23
- 8) D. Betterage, E. L. Dagless, 外 The Analyst
P897-908 Vol 103 No1230 september 1978

7. いちご中のジコホールの残留状況および 高速液体クロマトグラフィーによる分析法について

理化学課 衛生化学係

山崎 哲 司

DDTの類縁化合物で殺ダニ剤であるジコホール(ケルセン)は、昭和48年6月1日厚生省告示第3号により残留基準が追加設定された。当市においても昭和48年より分析をはじめた。昭和53年度までに分析したいちご13検体中5検体よりジコホールが0.007~0.035ppmの範囲で検出されたので、昭和54年4月当市内で販売されているいちごについて調査を行なった。その結果および高速液体クロマトグラフィーを用いたジコホールの分析法について報告する。

I 実験方法

1. 試料

市内で消費される市内産および市外産のいちご30検体を販売店から採取した。

2. 試薬

残留農薬分析用

3. 装置

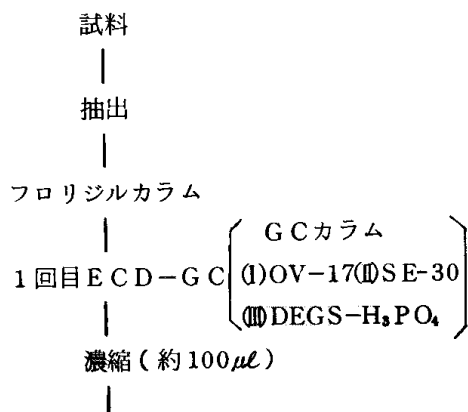
ガスクロマトグラフィー：島津GC-3BE

高速液体クロマトグラフィー：柳本PN101

検出器：Jasco UV1DEC 100II

4. 分析方法

分析操作をFig-1に示す。試料の調製から抽出、カラムクリーンアップ、1回目ECD-GCによる測定は、厚生省法で行なった。今回つけ加えた操作は、1回目のECD-GCで測定後、約100 μ lに濃縮して、5~7 μ lで液体クロマトグラフィーを行なうプロセスである。ジコホールの溶出部を分取後約100 μ lに濃縮して2回目のECD-GCでジコホールの定性を行なった。



液体クロマトグラフィー(5~7 μ l注入)

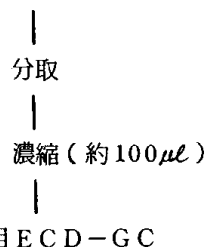


Fig-1 ジコホールの分析操作

5. 液体クロマトグラフィーの条件

カラム：Zorbax Sil (2.1mm ϕ ×25cm)

溶離液：n-ヘキサン

流速：0.7ml/min 圧力：150kg/cm²

検出器：紫外吸光光度計 254nm

感度：0.04AUFs

II 調査結果および考察

いちごの検査結果をTable 1に示す。今回検査したいちご30検体中7検体よりジコホールが0.009~0.91ppmの範囲で検出され平均値は0.19ppmであった。

ジコホールの残留が大きい理由として、ジコホール自体が残留性が大きいこと、いちご栽培の多くが施設栽培であること、いちごの表面の形状が平滑でないことなどが考えられる。

他の有機塩素剤、有機リン剤は、検出されなかった。

ジコホールの定性のために、液体クロマトグラフィーを用いた。(Fig-2に示す)ジコホールの保持時間は、約15分であった。溶離液は、以後の操作を考えてn-ヘキサンを用いた。

ジコホールの検出限界は、300ngであった。300ng以下のジコホールについては、液体クロマトグラフィーで分取後約100 μ lに濃縮してECD-GCで定性を行なった。(Fig-3に示す)

終わりに本調査にあたり、試料の入手について御協力いただいた福岡市の各保健所の食品衛生監視員の方々に深謝いたします。

Table 1. いちご中の残留農薬の検査結果

その1. (昭和48年～53年度)

No	検査年月日	ジコホール (ppm) (a)	有機塩素 (b)	有機リン剤 (c)	機剤	産地名
1	49.4	検出せず	検出せず	検出せず		福岡市
2	"	"	"	"		"
3	50.3	"	"	"		糸島郡
4	"	"	"	"		筑後市
5	"	0.031	"	"		"
6	"	検出せず	"	"		佐賀県
7	52.3	"	"	"		福岡市
8	"	"	"	"		"
9	53.5	0.035	"	"		糸島郡
10	"	0.007	"	"		"
11	"	0.027	"	"		"
12	54.3	検出せず	検出せず	検出せず		福岡市
13	"	"	"	"		"

その2 (昭和54年4月)

No	ジコホール	有機塩素剤	有機リン剤	産地名
1	検出せず	検出せず	検出せず	唐津市
2	0.011	"	"	八女市
3	検出せず	"	"	大川市
4	"	"	"	宗像郡
5	"	"	"	不明
6	"	"	"	糸島郡
7	"	"	"	福岡市
8	"	"	"	"
9	0.12	"	"	佐賀県
10	0.046	"	"	朝倉郡
11	検出せず	"	"	不明
12	"	"	"	筑後市
13	"	"	"	福岡市
14	"	"	"	糸島郡
15	"	"	"	不明
16	"	"	"	糸島郡
17	"	"	"	久留米市
18	"	"	"	糸島郡
19	"	"	"	不明
20	"	"	"	福岡市
21	"	"	"	筑後市
22	"	"	"	糸島郡
23	"	"	"	福岡市
24	"	"	"	糸島郡
25	0.16	"	"	"
26	0.91	"	"	朝倉郡
27	"	"	"	福岡市
28	"	"	"	"
29	0.057	"	"	筑後市
30	0.009	"	"	福岡市

- a) ジコホールの検出限界を0.005 mとする。
- b) 総BHC, 総DDT, デイルドリン, エンドリン, アルドリン, クロルベンジレート
- c) パラチオン, EPN, マラチオン, ダイアジノン, フェニトロチオン

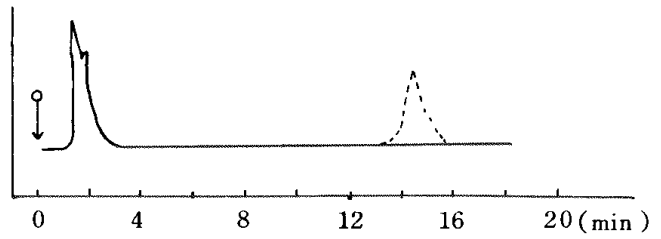
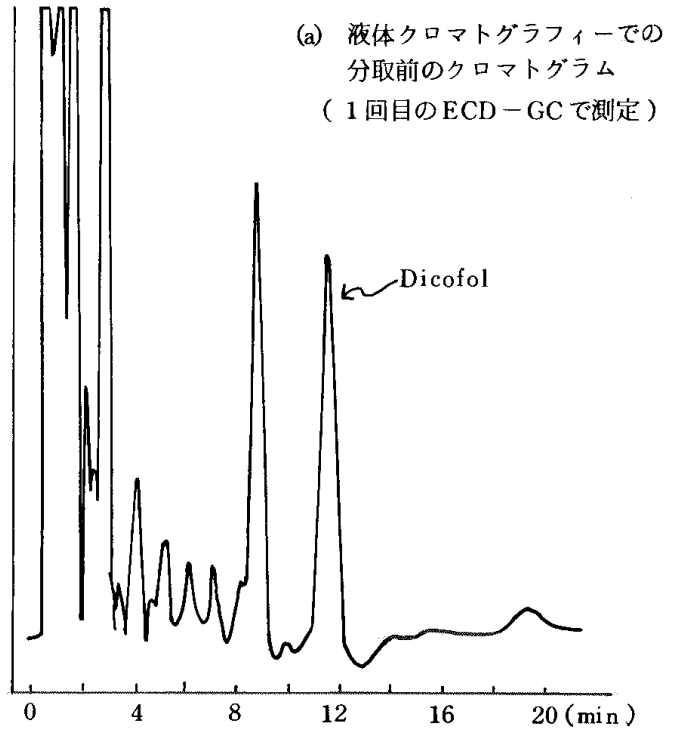
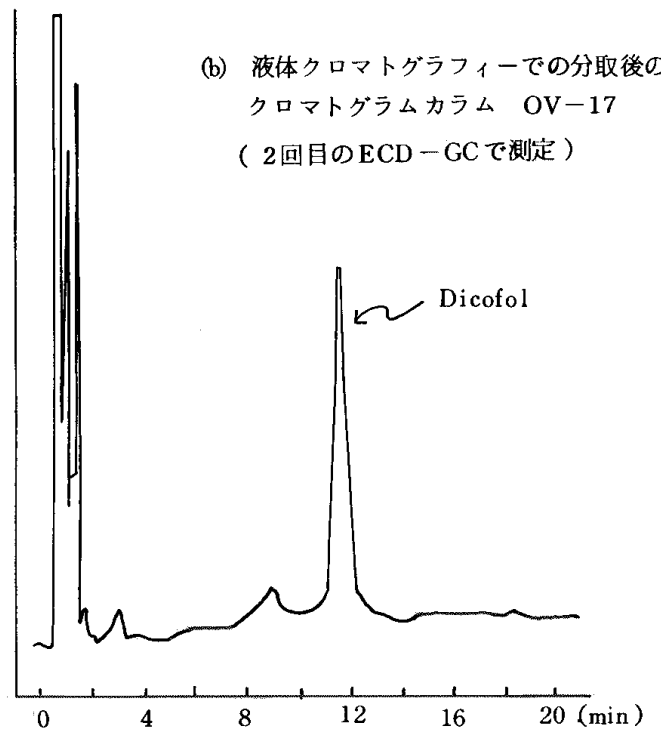


Fig-2 いちご抽出物の液体クロマトグラム
 実線：いちご抽出物のクロマトグラム
 破線：ジコホール 500ng
 ○→：注入



(a) 液体クロマトグラフィーでの分取前のクロマトグラム
 (1回目のECD-GCで測定)



(b) 液体クロマトグラフィーでの分取後のクロマトグラム
 カラム OV-17
 (2回目のECD-GCで測定)

Fig-3 いちご抽出物のガスクロマトグラム

8. 血中重金属について

理化学課 環境化学係
宮原 正太郎・榎 洋子
微生物課 衛生細菌係
西本 幸一

I はじめに

52年度に引き続き、地域住民の健康評価に資する目的の広域的研究の一環として、市内在住者の血中重金属濃度の分析を実施した。

II 調査方法

1. 採血

市内に在住する15才以上の男女25名(福岡市中央保健所職員23名、福岡市衛生試験所職員2名)から10mlのディスポーザブル注射筒を用いて昭和53年11月20日静脈血5~7mlを採血した。採血時に氏名、年齢、血液型を聴取し、比重の測定、血球数のカウントを同時に行った。

2. 分析方法

採血後、直ちにACD溶液(クエン酸ナトリウム、クエン酸、ブドウ糖を混合し高圧滅菌した水溶液)05mlを加え、秤量後300mlケルダールフラスコに入れ、15ml精製水を加え溶血させた後、有害金属測定用硝酸3mlを加え暫時、加熱分解した。分解液が少量で茶褐色を呈した時、更に有害金属測定用硝酸、過塩素酸をそれぞれ2mlずつ加え、過塩素酸の白煙が生じ、分解液が淡黄色になるまで分解した。冷後分解液を精製水で20mlにメスアップし、鉄は α -フェナントロリン比色法、銅、亜鉛は、10倍に精製水で希釈し、原子吸光分析に供した。マンガン、鉛、カドミウムはフレイムレス原子吸光分析に供した。原子吸光光度計はジャーレルアッシュ社製A-781型を用いた。

III 結果と考察

個々の調査の結果を表1に、各調査項目の最高値、最低値、平均値、中央値および標準偏差等の特性値を表2に示した。各重金属の平均値をみると、鉄 $468\mu\text{g/g}$ 、亜鉛 $5.7\mu\text{g/g}$ 、銅 $0.84\mu\text{g/g}$ 、マンガン $0.014\mu\text{g/g}$ 、鉛 $0.078\mu\text{g/g}$ 、カドミウム $0.007\mu\text{g/g}$ であり、表2の下欄に示す全国の平均値(都市部)、九州の平均値(都市部)¹⁾に比較し、鉄、亜鉛、銅、鉛はほぼ同等の数値で

あり、マンガンはやや低値、カドミウムはやや高値であった。また昨年度に実施した本所の成績²⁾と比較すると比重、赤血球数、鉄、亜鉛、カドミウムはほぼ同値で、銅、鉛はやや高値であった。精度調査や、今回の全国的な調査結果の総括¹⁾にも指摘されているが、ppbオーダーのマンガン、鉛、カドミウム等の分析値はまだまだ妥当値を提供できているとはいえず、今後もしばらくは微量重金属の統一定量法を模索する研究と、分析機器の発展をまたねばならないと思われる。

次に性別、血液型の要因による各項目の差が存在するかどうか検討した。性別の各項目別の数値を表3に表わしたが、比重、赤血球数、鉄、亜鉛には明瞭な差異が認められた。t検定を行なったところいずれも1%の危険率で有意の差であった。この傾向は昨年度と同様だった。

血液型についても検定したが有意な差は認められなかった。

IV おわりに

昨年度に引き続き、健康な人の血液中の重金属濃度を調査した。その結果は表-1に示すとおりで、特に大きな値や小さな値は出現しなかった。性別、血液型別にt検定を行なったところ、男女間に比重、赤血球数、鉄、亜鉛について有意の差が認められた。

V 文 献

- 1) 地方衛生研究所協議会：血液中の重金属からみた、地域住民の健康評価に関する研究、5、1979
- 2) 宮原正太郎、榎 洋子：血中重金属について本誌、3、84~85、1978

表-1 調査結果

No.	性別	年齢	職業	居住地	血液型	比重	赤血球数(万)	鉄	亜鉛	銅	マンガン	鉛	カドミウム
1	男	28	公務員	都市	O	1.054	520	496	7.0	0.74	0.014	0.055	0.005
2	"	34	"	"	O	1.058	500	478	5.3	0.85	0.014	0.056	0.005
3	"	26	"	"	A	1.054	475	495	5.3	0.75	0.016	0.070	0.004
4	"	30	"	"	B	1.058	545	544	7.1	0.89	0.010	0.062	0.004
5	"	29	"	"	A	1.053	450	496	4.5	0.83	0.011	0.060	0.006
6	"	25	"	"	B	1.058	515	554	7.0	0.86	0.009	0.061	0.004
7	"	23	"	"	A	1.058	532	538	6.2	0.82	0.011	0.064	0.005
8	"	33	"	"	B	1.058	523	522	6.3	0.81	0.012	0.082	0.006
9	"	30	"	"	A	1.054	500	510	6.5	0.79	0.015	0.063	0.008
10	"	30	"	"	A	1.053	455	464	7.3	0.98	0.013	0.082	0.008
11	"	24	"	"	O	1.052	520	518	6.1	0.64	0.014	0.107	0.007
12	"	49	"	"	B	1.054	510	476	8.2	0.80	0.014	0.177	0.008
13	女	18	"	"	O	1.054	518	474	5.0	0.98	0.015	0.073	0.005
14	"	42	"	"	A	1.053	416	448	3.8	0.83	0.014	0.066	0.007
15	"	33	"	"	A	1.053	342	479	5.6	0.65	0.018	0.082	0.009
16	"	38	"	"	O	1.050	396	402	4.5	0.93	0.007	0.077	0.008
17	"	32	"	"	O	1.050	440	429	5.2	0.82	0.010	0.072	0.006
18	"	34	"	"	A	1.049	413	348	4.4	0.81	0.015	0.058	0.005
19	"	29	"	"	A	1.051	452	440	5.9	0.92	0.016	0.070	0.008
20	"	31	"	"	A	1.050	521	447	5.3	0.93	0.013	0.084	0.009
21	"	40	"	"	O	1.051	421	459	5.8	0.94	0.010	0.086	0.007
22	"	43	"	"	A	1.050	405	383	4.8	0.94	0.023	0.106	0.010
23	"	34	"	"	B	1.051	480	446	4.7	0.85	0.012	0.063	0.008
24	"	58	"	"	O	1.050	435	414	5.7	0.88	0.012	0.091	0.010
25	"	45	"	"	A	1.051	465	439	4.1	0.85	0.024	0.088	0.008

(重金屬濃度 $\mu\text{g/g}$)

表-2 各項目ごとの特性値

	比重	赤血球数(万)	鉄	亜鉛	銅	マンガン	鉛	カドミウム
最高値	1.058	545	554	8.2	0.98	0.024	0.177	0.010
最低値	1.049	342	348	3.8	0.64	0.007	0.055	0.004
平均値	1.053	470	468	5.7	0.84	0.014	0.078	0.007
中央値	1.053	475	474	5.6	0.85	0.014	0.072	0.007
標準偏差	0.003	52	51	1.1	0.09	0.004	0.025	0.002
全国平均値 ¹⁾			483	6.0	0.84	0.024	0.070	0.003
九州平均値			468	6.1	0.82	0.020	0.051	0.003

(重金屬濃度 $\mu\text{g/g}$)

表-3 男女別の数値

		比 重	赤血球数 $\times 10^4$	鉄	亜鉛	銅	マンガン	鉛	カドミウム
男	平 均	1.055	504	508	6.4	0.81	0.013	0.078	0.007
	標準偏差	± 0.002	± 30	± 28	± 1.0	± 0.08	± 0.002	± 0.034	± 0.002
女	平 均	1.051	439	431	5.0	0.87	0.015	0.078	0.008
	標準偏差	± 0.002	± 50	± 37	± 0.7	± 0.09	± 0.005	± 0.013	± 0.002

(重金属濃度 $\mu\text{g/g}$)

9. 陰イオン界面活性剤の自動分析

理化学課 環境化学係 藤本和司

1. はじめに

現在多種多様の合成洗剤が市販され、各家庭において多量に使用されている。したがって環境水域における合成洗剤の濃度は生活排水による水質汚濁を判定する上で非常に良いパラメーターとなる。合成洗剤の主成分である界面活性剤は、現在その用途により色々製造されているが一番代表的で多量に造られているのはLASに代表される陰イオン界面活性剤である。このため各地で環境水中の陰イオン界面活性剤(LAS)の分析が行なわれている。¹⁾²⁾

陰イオン界面活性剤の分析法としては、主なものとしてJIS K 0102工場排水試験方法22-1に代表されるメチレンブルー錯体抽出比色法³⁾、ガスあるいは液体クロマトグラフィーによる分離定量法⁴⁾⁵⁾がある。分析値の正確度は後者が優れているが、操作が煩雑で分析に長時間を要する。このため常用分析としては適さず、公共用水域の定常調査等においては、妨害物質等若干の問題点はあるが、前者の比色法が一般的な分析法となっている。また、このことから分析値はメチレンブルー活性物質(MBAS)として表現することが多い。

当所では過去数年間のMBASの分析を前記JIS法に基いて行なっている⁶⁾。MBASの分析の際には多量のクロロホルムを使用するため、同時に多数の検体を処理する場合のその消費量はかなりの量になり、実験室内空気のクロロホルムによる汚染が甚しい。また分析に要する時間もかなり長くなる。これらの問題点を解決するため、MBASの分析の自動化を試み、良好な結果が得られたので報告する。

2. 使用機器

自動分析装置として連続流れ方式によるテクニコン社製オートアナライザーⅡ型を使用した。分析カートリッジは同社製に適当なものがなく、後述の方法により自作した。試料としてSSも含めた全液を使用するため、ロータリーミキサー付のサンプラーを用いた。

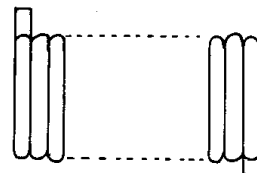
3. 分析方法

MBASの自動分析に関する文献は数例あるが、⁷⁾⁸⁾いずれもJones法⁹⁾すなわち酸性メチレンブルー溶液を加えクロロホルムで抽出し、そのまま比色するやり方である。

ここでは有機汚濁の進行した水域をも分析対象とするため、比較的妨害物質の少ないLongwell & Manice法(LM法)¹⁰⁾すなわちアルカリ性メチレンブルー溶液を加え、クロロホルムで抽出後、クロロホルム層を酸性メチレンブルー溶液で洗浄する方法を採用した。前記のJIS法もこの方法であり、最も一般的な分析法である。

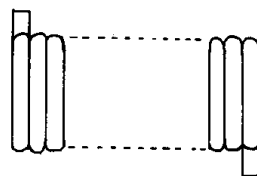
このJIS法を自動化する際問題となったのは、抽出、洗浄用のガラスコイルであった。十分な抽出、洗浄を行なうためには、長いガラスコイルを使用する必要があるが、そのため、サンプルのピークが非常になだらかなものとなり、分析時間が長くなる。また、水とクロロホルムの比重の差が大きいため反応液流の線速度にみだれを生じ、層分離がうまくいかなくなる。そこでこれらのコイルの材質形状など種々検討し、内径の小さなテフロンチューブを円筒形に巻いたもので最良の結果が得られた。このテフロンコイルの形状を図1に示した。いずれも市販のテフロンチューブを適当な円筒に巻いて自作したものである。

混合用コイル



内径0.56mmテフロンチューブ0.5mを直径約15mmの円筒に巻く

抽出、洗浄用コイル



内径0.86mmテフロンチューブ1.5mを直径約15mmの円筒に巻く

図1. 混合、抽出、洗浄用コイルの形状

コイルにテフロンチューブを用いたため、試薬類の注入用のTフィッティングはLC用のテフロン製ミニチュアジョイントT型(サンコープラスチック製)およびオ

ムニフィットI型, T型(井内盛栄堂製)を用いた。

層分離にはテクニコン社製フェイズセパレーター4ポイントを常法どおり使用した。

抽出, 洗浄後のクロロホルム中には微細な水滴が混入することが多く, 吸光度測定を妨害することがあるため測定前に少量のメタノールを添加してクロロホルムを透明化している。

以上の検討により最終的に図2に示したフローダイヤグラムに決定した。このフローダイヤグラムによって分析すると毎時20検体の分析が可能であり, 試薬類の使用量も手法と比較してかなり少量となる。また完全な閉鎖系での分析のため溶媒蒸気の室内への揮散がほとんどない。

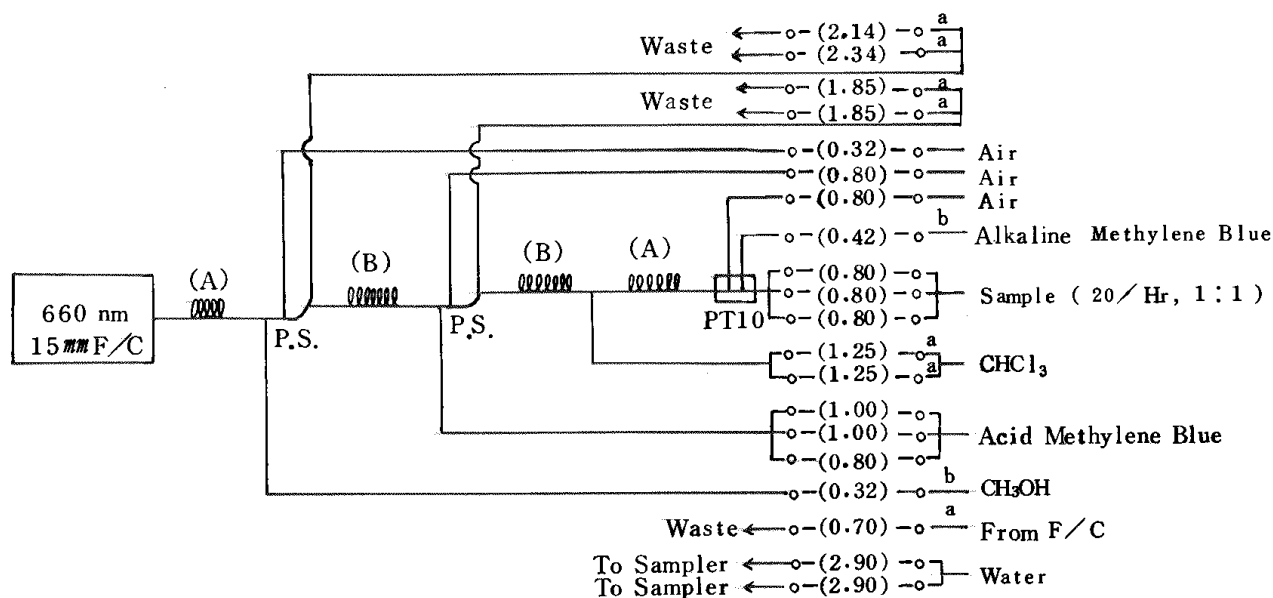


図2 MBAS 分析法フローダイヤグラム

(A); 0.56 mm i.d. × 0.5 m Teflon coil. (B); 0.86 mm i.d. × 1.5 m Teflon coil.

a; Acidflex tube. b; Silicone tube. P.S.; Phase Separator 4 Point.

4. 使用試薬

分析条件をJIS法に準ずるため, 試薬添加後の反応液中の試薬濃度が, JIS法とほぼ同一となるよう調製した。使用する試薬は次のとおりである。

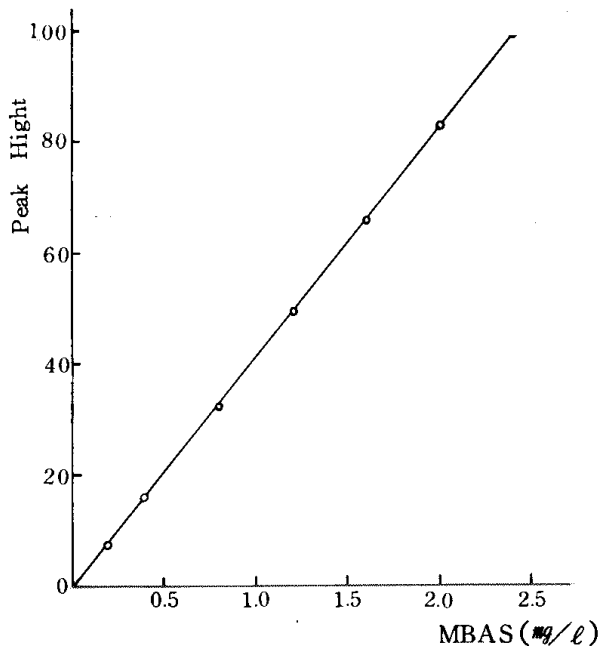
- 1) 硫酸 3 N
- 2) アルカリ性ほう酸ナトリウム溶液 ほう酸ナトリウム(10水塩) 9.54gを水に溶かして500mlとし, これに水酸化ナトリウム溶液(0.4w/v%) 500mlを加える。
- 3) メチレンブルー溶液 0.025w/v%水溶液
- 4) クロロホルム 特級
- 5) アルカリ性メチレンブルー溶液 2)のアルカリ性ほう酸ナトリウム溶液100mlに3)のメチレンブルー溶液50mlを加え, クロロホルム約20mlを用いてクロロホルム層が着色しなくなるまで洗浄する。その後かわいたろ紙(5種A, 2枚重ね)にてろ過し, 残留するクロロホルムを除き, 水で全量を200mlとする。
- 6) 酸性メチレンブルー溶液, 洗浄済の5) 200mlに1)の硫酸10mlを加え, 水1ℓを加える。
- 7) メチルアルコール 特級

8) 標準液(1000 mg/ℓ) ABS分析用nラウリルベンゼンスルホン酸ナトリウム(和光純薬製, 純度99%) 1.00gを水に溶かして1.00ℓとする。

5. 結果と考察

以上の分析法により標準液を用いて0.1~2.4mg/ℓ間で直線性の良い検量線が得られた。その一例を図3に示す。0.1mg/ℓ以下の濃度では若干わん曲するが, この傾向はアルカリ性メチレンブルー溶液の経時的な劣化により増大する。

次に標準液及び河川水を用いて繰り返し分析による再現性の検討を行ない, 表1に示す結果が得られた。繰り返し数は8回である。検討した濃度における変動係数はすべて5%以下であり, 良好な再現性である。またここを得られた標準偏差の平均は0.0072mg/ℓであり, S/N2としたときの検出下限は約0.02mg/ℓとなる。光路長の長い50mmのフローセルの使用によりさらに低濃度の検出も可能である。また標準液と実試料とでほぼ同じ再現性が得られたことから, 非常に信頼性の高い, 検出感度の高い優れた分析法だといえる。



〈図3〉 MBASの検量線の一例

表1 繰り返し分析による再現性 (n=8)

	標準液		河川水			
濃度 (mg/l)	0.20	0.50	1.00	0.17	0.26	1.13
C. V. %	4.7	1.5	0.61	3.3	3.7	0.43

更に河川水に標準液を添加し、回収率の検討を加え、表2に示す結果が得られた。供試河川水の一般水質分析結果を表3に示した。No.1は比較的澄澄な河川であり、No.2,3はかなり汚濁の進行した河川である。いずれの河川水においても回収率はほぼ同じで平均94%が得られた。この結果は充分満足できるものであり、本分析法の分析条件が、最適条件をほぼ満足していることがうかがえる。

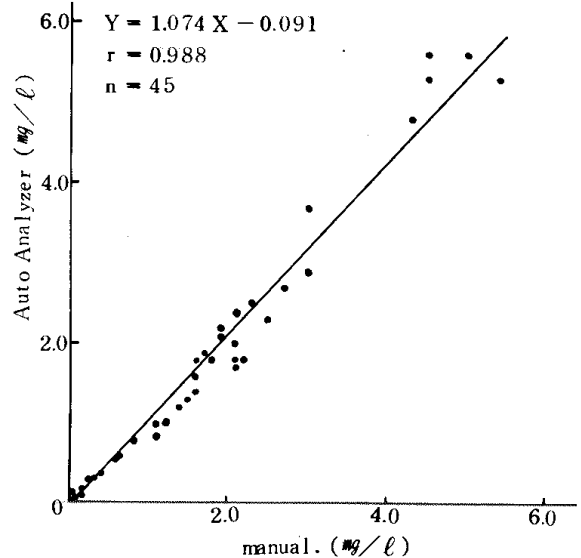
表2 標準添加による回収率

	添加量 (mg/l)	実測値 (mg/l)	回収率 (%)
河川水 No. 1	0	0.15	-
	0.40	0.51	90
	0.80	0.91	95
	1.20	1.28	94
河川水 No. 2	0	0.56	-
	0.40	0.93	93
	0.80	1.32	95
	1.20	1.71	96
河川水 No. 3	0	0.89	-
	0.40	1.27	95
	0.80	1.63	93
	1.20	2.02	94

表3 河川水の一般水質分析結果

項目	No. 1	No. 2	No. 3
pH	7.1	7.1	7.3
DO	10	8.3	5.3
BOD	4.1	13	11
SS	9	30	57
Cl ⁻	19.4	17.7	123
T-N	0.76	2.20	6.21
T-P	0.12	0.48	0.84
TOC	8	14	16

また従来の分析法と比較するため河川水45検体を使って本法および用手法 (JIS K 0102 22-1) による分析を行ない、図4に示す結果が得られた。本法の方が用手法の値より若干高目の結果となったが、その原因としては抽出率、回収率の差あるいは検体保存による影響等が考えられる。しかし本来このMBASの分析法自体が陰イオン界面活性剤の正確な分析法ではないため、この程度の相関があれば充分だと思われる。



〈図4〉 MBASの用手法と自動化法との比較

以上の検討結果より本分析法は従来の用手法と比較して、より安定した、再現性も良好な分析法であり、充分実用に供し得るものであると判明した。

6. まとめ

河川水の陰イオン界面活性剤の分析の自動化について検討し、良好な分析法を開発した。本分析法の検出下限は0.02mg/lで0.2~1.0mg/lにおいて変動係数5~0.6%であり、用手法より感度、再現性が優れている。回収率も充分であり、用手法との相関性も良く、充分実用に供し得る分析法である。

本報告は、昭和53年10月の第37回日本公衆衛生学会総会で発表した。

参考文献

- 1) 土井章ら 旭川におけるMBASの分布 水処理技術 18 , p 937 (1976)
- 2) 田中良春ら 河川水質に及ぼす人間活動の影響, 用水と廃水 Vol 20 p1168(1978)
- 3) 日本規格協会編 工場排水試験方法 JIS K-0102 p63 (1971)
- 4) 長瀬叶彦ら 第1回環境における化学物質分析法研究発表会講演要旨集 環境庁保健調査室 p26 (1978)
- 5) 橋本茂ら 高速液体クロマトグラフィーによる, 河川水中の微量アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムの定量. 分析化学 Vol 25 p639 (1976)
- 6) 吉武和人 福岡市内河川におけるMBASの分布と推移について。福岡市衛生試験所報 第3号 p57 (1978)
- 7) AutoAnalyzer Methodogy, Alkylbenzene Sulfonates , Technicon , Ardsley (Chauncey) , N. Y. 10502 , (1963)
- 8) W. R. Laing and E. C. Lynn, Alkylbenzene Sulfonate Control for the Form Separation Process "Automation in Analytical Chemistry Technicon" Symposium, N. Y. p158(1965)
- 9) J. H. Jones, Assoc of Off. Agricultural chem. , 28, p 398(1945)
- 10) J. Longwell , W. D. Manice , Analyst , 80 , p167(1955)

10 水質自動測定について

理化学課 環境化学係

林 清人・西原美子
柳 洋子

I はじめに

昭和53年6月水質汚濁防止法の一部改正があり総量規制が導入され、東京湾、伊勢湾に流入する水域でCOD等の自動測定が義務づけられつつあり水質自動測定は更に注目されることになった。本市では昭和49年に那珂川、昭和50年に室見川、昭和51年に御笠川に水質自動測定局を設置し、水温、pH、導電率、濁度、溶存酸素、アンモニア及びCODの常時測定を行っている。那珂川は本市の中心部を貫流する河川で測定局の設置場所は水域類型指定Aのイである。室見川は本市西部の農業地帯、住宅地帯を流れる最も清澄な河川である。設置場所は水域類型指定Aのイである。御笠川是那珂川につぐ主要河川で上中流域は近年住宅地としての開発が進んでいる。設置場所は水域類型指定Bのイである。河川の水質自動測定はかなり以前から各機関で行われており多くの報告がある。しかし河川水の汚濁は複雑多岐にわたりその態様は一定でなく、連続測定の際は電極など測定部に汚れや藻類の付着が激しく、そのデータの信頼性に一つの問題点があることはすでに指摘されているところである。この点に関して、筆者等は若干の検討を加えたので報告する。

I 装置の概要

2.1 装置

那珂川局、室見川局は堀場製作所製であり、御笠川局は東洋電機製造株式会社製である。装置の構成は図1のとおりであり、集録部で集録されたデータは1時間毎に中央監視局に伝送されている。

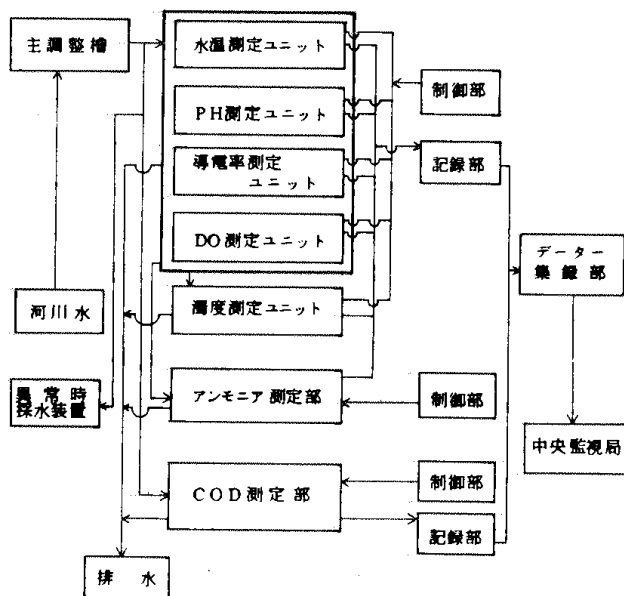


図1 測定装置の構成

2.2 自動測定の方法

河川水を自動採水装置で主調整槽にくみ上げ、金網で大きい浮遊物をとりのぞき自然落差により各測定部に導入し、各項目の自動測定が行われる。洗浄機構が備わっており、那珂川、室見川局で8時間毎、御笠川局で4時間毎に超音波洗浄、ジェット洗浄を行っている。各測定機器の仕様を表1に示す。

表1. 測定機器の仕様

	測定方式	測定範囲	精度	洗浄方式
水温	サーミスター法	-10~40℃	±1%	超音波・ジェット洗浄
pH	ガラス電極法	2~14	±1%	" "
導電率	交流二極法	0~1mΩ	±2%	" "
濁度	表面光散乱法	0~500 ppm	±5%	手による洗浄
DO	隔膜式ガルバニ電池法	0~20 ppm	±2%	超音波・ジェット洗浄
アンモニア	隔膜式電極法	0.1~10 ppm	±6%	" "
COD	JIS・K0102を自動化したもの	0~20 ppm	±5%	攪拌洗浄

Ⅲ 実験方法と結果

3.1 安定性調査

前述したように実際の河川水質の連続測定では配管および電極等に汚れが蓄積され調整直後は精度が高いが日数を経るごとに、測定誤差が大きくなる。調整は1週間に1度行っているが1週間後にどれだけの偏りを生じるか、水温、pH、導電率、DO、アンモニアの項目について昭和52年4月から昭和53年3月の間に調査を行った。なを調整は表2の調整基準に従って行っている。

表2. 調整基準

保守・管理項目	頻度	保守・管理項目	頻度
採水システムの作動確認	1回/週	自動測定槽の清掃	1回/週
排水システムの作動確認	"	コンプレッサーのドレン抜き	"
洗浄システムの作動確認	"	測定機器のZERO SPAN校正	"
記録部の作動確認	"	メーカーによる定期点検	5日/月
試薬の作製及び補給	"	メーカーによるオーバーホール	8日/年
主調整槽の清掃	"		

方法は、ZERO、SPAN校正して1週間後、電極の洗浄など行なわず、そのままの状態にSPAN液に浸漬してSPAN値からの偏りを測定した。測定結果は表3、表4、表5、表6及び表7に示す。表中nは測定回数であり、第一欄のパーセント表示した数値はフルスケールに対するの偏りのパーセンテージである。各欄の数字はその範囲の偏りの出現度数であり、()内の数字は全測定回数に対する出現率である。

表3. 水温の偏り

局名	偏り n	(仕様精度)			
		≤±1%	≤±2%	≤±4%	±4%<
那珂川	39	39 (100)	39 (100)	39 (100)	0 (0)
室見川	30	28 (93.3)	28 (93.3)	30 (100)	0 (0)
御笠川	40	35 (87.5)	38 (95.0)	40 (100)	0 (0)

表4. pHの偏り

局名	偏り n	(仕様精度)			
		≤±1%	≤±2%	≤±4%	±4%<
那珂川	35	21 (60.0)	30 (85.7)	33 (94.3)	2 (5.7)
室見川	26	21 (80.8)	24 (92.3)	26 (100)	0 (0)
御笠川	33	26 (78.8)	31 (93.3)	32 (97.0)	1 (3.0)

表5. 導電率の偏り

局名	偏り n	(仕様精度)			
		≤±2%	≤±4%	≤±8%	±8%<
那珂川	34	32 (94.1)	34 (100)	34 (100)	0 (0)
室見川	22	20 (90.9)	21 (95.5)	22 (100)	0 (0)
御笠川	20	16 (80.0)	18 (90.0)	18 (90.0)	2 (10.0)

表6. DOの偏り

局名	偏り n	(仕様精度)			
		≤±2%	≤±4%	≤±8%	±8%<
那珂川	37	27 (73.0)	32 (86.5)	33 (89.2)	4 (10.8)
室見川	26	19 (73.1)	24 (92.3)	26 (100)	0 (0)
御笠川	39	23 (59.0)	31 (79.5)	36 (92.3)	3 (7.7)

表7. アンモニアの偏り

局名	偏り n	(仕様精度)			
		≤±6%	≤±12%	≤±24%	±24%<
那珂川	15	5 (33.3)	7 (46.7)	9 (60.0)	6 (40.0)
室見川	14	5 (35.7)	8 (57.1)	9 (64.3)	5 (35.7)
御笠川	28	12 (42.9)	19 (67.9)	23 (82.1)	5 (17.9)

3.2 手分析との比較

自動測定は水質汚濁防止法により指定された手分析を機器に代行させるものであり、手分析にいかによく一致するかが重要なことである。そこで本市の代表的な河川である那珂川に設置した測定機器の分析値と手分析値を比較してみた。方法は昭和53年度の夏季、秋季、冬季の3季節について機器の調整直後から2時間ごとに手分析を①河川表層、②自動測定槽の検水について12回行った。水温、pH、導電率、DO及びCODの手分析はJIS-K0102法で行い、濁度は衛生試験法注解によりカオリン標準液を調整して620nmの吸光度により測定した。結果は表8、表9及び表10に示す。

表8. 自動及び手分析値，その1 (S53.8.15~16)

時間	水 温(℃)			pH			導 電 率(mS)			濁 度(㎎)			DO (㎎)			COD (㎎)		
	自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析	
		①	②		①	②		①	②		①	②		①	②		①	②
21	33.5	33.0	33.3	7.0	7.0	7.0	0.33	0.33	0.34	80	6.6	6.2	11.4	11.5	12.0	6.2	6.9	6.7
23	33.0	32.8	33.0	6.9	6.8	6.9	0.32	0.35	0.34	70	6.2	6.6	11.4	12.7	11.4	-	5.5	5.3
1	32.5	32.4	32.6	6.8	6.7	6.8	0.34	0.33	0.34	60	4.9	4.9	10.1	12.1	11.2	5.1	5.5	5.3
3	32.5	32.2	32.4	6.6	6.7	6.7	0.33	0.33	0.34	65	6.8	4.8	8.6	10.3	9.0	5.0	5.6	5.5
5	32.0	32.0	32.1	6.5	6.7	6.6	0.33	0.32	0.32	80	5.3	5.3	7.1	9.0	8.4	5.5	5.1	4.9
7	32.0	31.6	32.0	6.5	6.6	6.6	0.32	0.32	0.34	70	4.9	4.9	7.6	9.1	8.2	6.0	4.7	6.1
9	32.0	32.2	32.3	6.5	6.7	6.7	0.33	0.32	0.32	60	6.8	6.6	8.6	9.1	9.1	6.2	6.5	6.7
11	33.0	32.8	32.8	6.5	6.6	6.6	0.33	0.32	0.32	65	4.9	5.4	9.0	9.4	9.4	6.5	5.9	7.3
13	33.2	33.2	33.1	6.7	6.9	6.8	0.33	0.32	0.33	70	7.9	8.1	10.8	12.8	12.1	8.7	8.2	9.2
15	34.0	34.2	34.0	7.1	7.1	7.1	0.32	0.32	0.33	75	9.2	8.3	14.0	15.4	13.9	8.5	-	8.5
17	34.5	34.3	34.2	7.4	7.4	7.3	0.33	0.34	0.33	85	9.6	9.3	14.2	16.4	14.9	7.9	6.1	8.3
19	34.0	33.8	34.0	7.4	7.4	7.3	0.33	0.35	0.35	75	11.0	7.8	13.8	15.7	14.0	8.0	6.1	8.3

表9. 自動及び手分析値，その2 (S53.10.23~24)

時間	水 温(℃)			pH			導 電 率(mS)			濁 度(㎎)			DO (㎎)			COD (㎎)		
	自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析	
		①	②		①	②		①	②		①	②		①	②		①	②
12	18.5	19.5	18.5	6.7	6.5	6.6	0.25	0.25	0.24	73	6.8	8.6	7.9	7.6	7.5	7.2	5.6	6.0
14	18.5	19.5	18.5	6.8	6.9	6.8	0.24	0.24	0.24	75	7.8	7.8	9.2	10.8	8.7	8.0	6.3	7.0
16	18.6	19.0	18.5	7.0	6.9	6.9	0.23	0.24	0.23	80	7.3	7.8	10.4	11.5	10.2	6.8	7.8	8.0
18	18.6	19.0	18.5	7.2	7.1	7.2	0.23	0.24	0.24	75	9.4	9.4	11.4	9.8	11.3	8.3	6.8	7.8
20	18.5	18.7	18.4	7.1	7.0	7.1	0.22	0.23	0.22	80	6.8	6.8	11.0	9.3	10.5	6.9	6.4	7.6
22	18.2	18.2	18.0	6.8	7.1	6.9	0.24	0.24	0.23	155	9.4	13.8	8.4	8.5	8.0	6.8	6.4	6.0
24	18.0	18.0	18.0	6.8	6.9	6.9	0.24	0.23	0.23	175	13.8	15.5	8.1	8.1	8.0	7.4	6.0	6.0
2	18.0	17.7	17.9	6.8	6.9	6.9	0.24	0.24	0.25	145	11.2	12.0	7.8	8.0	7.5	6.6	5.8	6.0
4	17.9	17.5	17.8	6.8	6.8	6.8	0.24	0.23	0.22	125	9.4	7.8	7.6	6.8	6.7	6.2	5.6	5.8
6	17.8	17.4	17.5	6.7	6.9	6.8	0.23	0.23	0.23	110	7.8	7.8	7.3	7.1	7.0	6.4	5.4	5.6
8	17.8	17.7	17.8	6.7	6.8	6.8	0.23	0.23	0.23	105	6.8	6.8	6.9	7.0	6.8	6.8	6.0	6.2
10	18.1	18.0	18.1	6.7	6.8	6.8	0.23	0.23	0.23	100	6.8	6.0	8.3	8.0	7.6	7.0	5.2	7.4

表10. 自動及び手分析値，その3 (S54.2.11~12)

時間	水 温(℃)			pH			導 電 率(mS)			濁 度(㎎)			DO (㎎)			COD (㎎)		
	自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析		自動 分析	手分析	
		①	②		①	②		①	②		①	②		①	②		①	②
19	10.6	10.8	10.0	6.9	6.8	6.8	0.19	0.18	0.19	-	-	-	-	7.3	6.8	5.0	7.4	5.8
21	9.6	9.7	9.7	6.9	6.8	6.8	0.19	0.19	0.19	195	-	-	-	7.0	6.9	4.8	5.4	5.4
23	9.5	9.5	9.5	7.0	6.8	6.8	0.19	0.18	0.19	210	-	-	7.0	7.4	7.2	4.8	4.8	4.8
1	9.4	9.5	9.5	7.1	6.8	6.8	0.19	0.18	0.18	155	-	-	7.2	7.6	7.0	5.5	4.6	4.8
3	9.8	9.7	9.7	7.1	6.8	6.9	0.19	0.18	0.18	160	-	-	7.5	7.8	7.5	4.6	4.8	4.6
5	9.9	9.8	9.8	6.9	6.8	6.9	0.19	0.19	0.18	155	-	-	7.4	7.0	7.4	4.9	4.8	4.8
7	9.7	9.5	9.6	6.9	6.8	6.8	0.19	0.18	0.19	155	-	-	7.1	7.1	7.1	5.2	5.0	5.4
9	9.8	9.8	9.8	6.9	6.9	6.8	0.19	0.19	0.19	145	-	-	7.1	6.7	6.9	5.2	5.2	6.0
11	10.2	10.8	10.2	6.9	6.9	6.9	0.19	0.19	0.19	155	-	-	6.9	7.2	7.0	5.2	5.0	5.0
13	10.8	10.8	10.8	6.9	7.0	6.9	0.20	0.19	0.19	170	-	-	6.3	6.8	6.3	-	4.6	5.2
15	10.7	10.8	10.5	6.9	6.9	6.9	0.20	0.19	0.19	155	-	-	6.6	7.3	6.6	-	4.8	5.2
17	10.8	10.8	10.7	6.8	6.8	6.8	0.19	0.19	0.19	120	-	-	6.5	7.3	7.0	5.0	4.8	5.0

Ⅳ 考 察

各測定機器の1週間後の偏りについて述べると、水温及び導電率の偏りのほとんどが仕様精度（水温：±1%、導電率：±2%）内にあり、1週間は安定した連続測定が行われている。pH及びDOの偏りは仕様精度（pH：±1%、DO：±2%）内が60～80%と少ない。しかし仕様精度の2倍以内のものは80～90%となり、かなり安定しているものと考えられる。アンモニアの偏りは仕様精度（±6%）内が30～40%と少ない。また電極のトラブルが多く、1週間に1度程度の調整では自動測定は不可能と思われる。次に那珂川局について行った手分析値との比較について述べると、河川表層水、自動測定部の手分析値をY、Y'自動測定値をXとして相関係数および回帰直線を求めると表11のようになる。水温、導電率及びDOは相関係数が高く、回帰直線の傾きも1に近く、自動測定値は手分析値に良く一致している。pHの相関係数は若干低い、これは測定範囲が6.5～7.4と狭いためであり、自動測定値と手分析値は良く一致しているものと思われる。COD、濁度は相関係数が0.70、0.71と小さい。配管等の汚れに起因するものと考えられる。

表11. 自動分析と手分析の相関

	河川表層水と自動測定			自動測定槽水と自動測定		
	データ数	相関係数	回帰式	データ数	相関係数	回帰式
水温	36	1.00	$Y=0.99X+0.21$	36	1.00	$Y'=1.00X-0.09$
pH	36	0.80	$Y=0.69X+2.16$	36	0.91	$Y'=0.71X+1.98$
導電率	36	0.99	$Y=1.03X-0.01$	36	0.99	$Y'=1.05X-0.01$
濁度	24	0.70	$Y=0.049X+3.37$	24	0.82	$Y'=0.071X+1.40$
DO	34	0.94	$Y=1.08X-0.35$	34	0.98	$Y'=1.04X-0.28$
COD	32	0.71	$Y=0.54X+2.92$	33	0.86	$Y'=0.89X+0.66$

Ⅴ ま と め

自動測定機器は十分な調整を行った直後は精度が良い。水温、pH、導電率及びDOの測定機器は1週間1度の調整で充分と思われる。濁度は自動洗浄機構がなく、管の閉塞等のトラブルが多い。洗浄機構を設置する必要がある。CODはJIS-K0102の手分析法をそのまま自動化したものであり装置の構成が複雑で故障が多く稼働率が低いのが現状である。アンモニアは電極のトラブルが多く1週間1度程度の管理では充分でない。測定装置全般について見ても、採水装置、排水系統並びに記録部等のトラブルも多く、水質自動測定装置の保守及び調整には多大の労力を要する。今後保守及び調整が容易でしかも精度の高い機器の開発とともに管理体制の強化が強く望まれるところである。

Ⅵ 参 考 文 献

- 1) 森鑑男, 古田正次ら, 木曾川水質自動計測について, 愛知県公害調査センター所報1, 75～80(1973)
- 2) 荻田晴久, 久米茂行ら, 水質自動観測の実際について各測定機器の検討と水質状況との関連について, 愛知県公害調査センター所報2, 57～66(1974)
- 3) 荻田晴久, 佐野方昂ら, 水質自動観測の実際について, 愛知県公害センター所報4, 37～41(1974)
- 4) 山村勝美, 小野川和延ら, 自質汚濁と自動監視, 用水と廃水 Vol 16, No 4 3～15(1974)

V 学会発表抄録

1. 喘息児療養施設に流行したインフルエンザ A (H₁N₁) の臨床症状ならびに血清学的所見について

福岡市立少年保養所

中島文雄・新田由紀子

福岡市衛生試験所

馬場純一

I. 臨床症状：はじめから全例に抗生物質を使用した。①潜伏期3日前後，②有熱期間最長5日，2.5日～1.5日が約70%，平均2.4日，③4日間で全例25人が罹患し，不顕性感染1例，④発病の遅いものが有熱期間は一般に短かった。⑤最高体温40℃が1例，約70%は38.5℃～39.5℃，平均38.9℃，⑥自覚症状で痰が多いと訴えた者は1例もなく，下痢は2例であった。⑦合併症，気管支炎8例，下気道炎1例，喘息発作1例，肺炎なし。⑧血清中のIgEは有熱時に低く，回復期に上昇していた。

II. 血清学的所見：①1977年度ワクチン接種群（10例中6例）では，ワクチン株に対するHI価は非接種群より何れも高かった。②分離株A (H₁N₁) に対するHI価は約3週間で最高値に達したが，512倍が1例で他はすべてそれ以下であり，自然感染であるにもかかわらず余り高い価は示さなかった。

III. 不顕性感染の2例中1例は外用で，他は内服で，ステロイドホルモンをかなり長期間使用していた。

（第41回日本感染症学会西日本地方会講演集：宮崎）

2. SP-Sephadex クロマトグラフィーを用いたブドウ球菌エンテロトキシンA, B, C₂の簡易精製

微生物課 衛生細菌係

小田隆弘

ブドウ球菌エンテロトキシンA, B, C₂をSP-Sephadex C-25クロマトグラフィーおよびSephadex G-75ゲル過の2段階のみの簡易的かつ，ほぼ同一の方法で精製した。

精製標品は，いずれもpH4.3でのディスク電気泳動で1本のバンドを示し，また，それらをウサギに免疫して得られた抗血清との間に，それぞれ1本の沈降線を形成した。得られた抗血清は，粗毒素とも1本の沈降線のみを形成し，referenceエンテロトキシンと融合し，エンテロトキシンA, B, C₂それぞれに特異的であった。

精製エンテロトキシンA, B, C₂いずれも， α -ヘモリジンおよび β -ヘモリジンは認められなかった。

精製過程における回収率は73～85%の間であった。

エンテロトキシンA, B, C₂のheterogeneityは，pH9.5のディスク電気泳動でもみられ，ゲル等電点電気

泳動の結果から，エンテロトキシンAは，pI6.5, 6.8, 7.2, 7.7, 8.3の各成分から，エンテロトキシンBは，pI8.2, 8.5, 8.7, 8.9, 9.0, 9.1, 9.3の各成分から，またエンテロトキシンC₂は，pI6.2, 6.8, 7.3, 7.6の各成分からなっていることがわかった。

（日本細菌学雑誌第33巻6号743-752, 1978）

3. 水質保全における自動分析の役割

理化学課 環境化学係
藤本和司

近年大都市への人口の集中化に伴い、環境水域の汚濁、富栄養化が進行し、大きな社会問題となっている。この現象を解析するには時々刻々変動する水質の正確な多数のデータが必要であり、これに対処するための分析作業量はぼう大なものとなる。またこれらの作業を円滑に行なうためには、広いスペースと多数の熟練した分析技術者が必要である。

これらの問題を解決する一手段として、本市では1975
(テクニコン国際シンポジウム講演集：1978年7月東京)

年からオートアナライザーによる水質分析の自動化を行ない、現在各態のN、P、及び Cl^- 、 SiO_2 、MBAS等10項目の自動分析を行なっている。この結果分析作業の迅速化、省力化、分析値の高信頼化が得られ、これに付随して分析単価の低減をも得ることができた。

今後更に分析の自動化を拡充し、水質測定システムの改善が行われれば、より良い水質行政が可能となるであろう。

福岡市衛生試験所

第 4 号

昭和 53 年度

昭和 54 年 11 月 30 日発行

発行所 福岡市衛生試験所

〒 810 福岡市中央区舞鶴 2 丁目 5 番 10 号

TEL (092) 721-0585

印刷所 大商印刷株式会社

〒 810 福岡市中央区薬院 3 丁目 11-39

TEL (092) 522-0885
