

B. 調 查 研 究

I 論 文

1. 感染症サーベイランスデータ解析の試みⅢ

三浦英美 助野典義 高橋富基

キーワード：感染症サーベイランス、グラフ表示、データ解析

感染症サーベイランス情報を分かりやすい形で提供するため、コンピューターグラフ表示システムを作成した。

1. はじめに

感染症サーベイランス情報を分かりやすい形で保健所や医療関係機関等に提出するため、汎用コンピューター及びパーソナルコンピューターを用いてグラフ表示プログラムの開発を行ってきた¹⁾。今回、新しいグラフ表示システムのプログラムが完成したので報告する。

2. 方法

グラフ表示のプログラムは、当センターの汎用コンピューター (NEC, ACOS3400) のFORTRANを用いて、また、パーソナルコンピューター (NEC, PC-9801) ではN₈₈-日本語BASIC (MS-DOS版)を用いて開発し、後にMS-Quick BASIC (Ver4.5) に翻訳した。

グラフ表示できる疾病のデータは、週単位で入手可能な①麻疹様疾患、②風疹、③水痘、④流行性耳下腺炎、⑤百日ぜき様疾患、⑥溶連菌感染症、⑦異型肺炎、⑧感

染性胃腸炎、⑨乳児嘔吐下痢症、⑩手足口病、⑪伝染性紅斑、⑫突発性発疹、⑬ヘルパンギーナ、⑭インフルエンザ様疾患、⑮MCLS、⑯咽頭結膜熱 (内科・小児科・眼科)、⑰流行性角膜炎、⑱急性出血性結膜炎の18種類で、1981年7月以降の患者発生状況の報告数のデータである。

これらのデータは、厚生省から交付を受けた感染症サーベイランスの磁気テープ (1981~1989年) のデータを基本データとして、さらに感染症サーベイランスオンラインシステムから入手できる週単位のデータを毎週追加更新したものである。

なお、感染症サーベイランス事業は、厚生省が事業主体となり1981年7月から実施しているものであるが、1987年にオンライン化され、さらに1992年4月からは新オンラインシステムになっている。

感染症サーベイランスのデータ処理のフローを図1に示す。

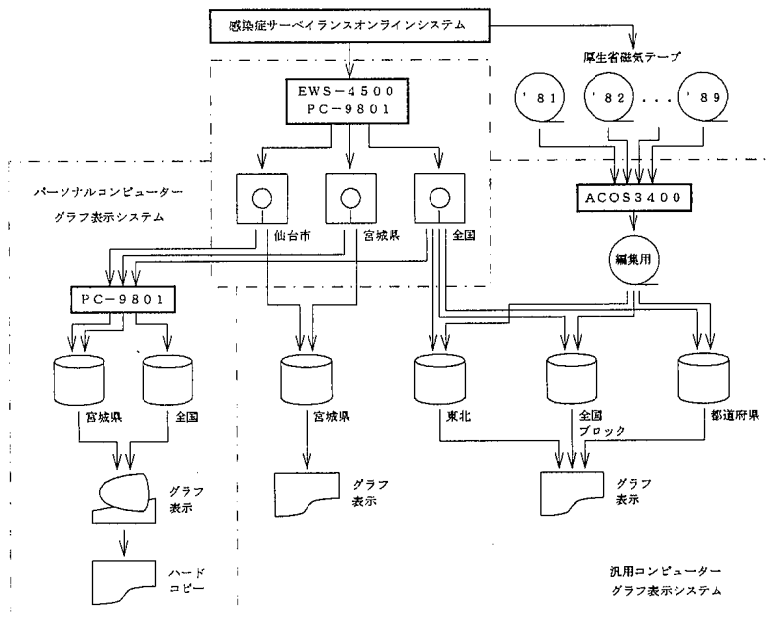


図1 感染症サーベイランスデータ処理フロー

3. 結 果

3.1 汎用コンピューターによるグラフ表示システム

3.1.1 データの種類

汎用コンピューターにおいて表示できるデータの種類は以下の5種類である。

① 全国5又は10年齢階級

各疾病について、全国の0歳、1歳、2歳、3歳、4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～29歳、30歳以上の10年齢階級ごとの報告定点当たりの患者発生状況報告数を保存しており、グラフ表示に際して0歳、1～4歳、5～9歳、10～14歳、15歳以上の5年齢階級も選択できる。

② 全国7ブロック

各疾病について、全国を北海道、東北、関東・甲信越、東海・北陸、近畿、中国・四国、九州・沖縄の7ブロックに分けて報告定点当たりの患者発生状況報告数を保存している。

③ 東北6県（全国47都道府県に拡張可）

各疾病について、青森県、岩手県、宮城県、秋田県、山形県、福島県の各県ごとの報告定点当たりの患者発生状況報告数を保存している。

④ 宮城県5又は10年齢階級

各疾病について、宮城県の0歳、1歳、2歳、3歳、4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～29歳、30歳以上の10年齢階級ごとの患者発生状況報告数を保存しており、グラフ表示に際して0歳、1～4歳、5～9歳、10～14歳、15歳以上の5年齢階級も選択できる。

⑤ 宮城県5地域

各疾病について、宮城県を県北沿岸（石巻保健所、気仙沼保健所管内）、県北内陸（大崎保健所、栗原保健所、登米保健所管内）、県中央（塩釜保健所、黒川保健所管内）、仙台市、県南（仙南保健所、岩沼保健所管内）の5地域に分けて患者発生状況報告数を保存している。

3.1.2 グラフの種類

汎用コンピューターにおいて表示できるグラフの種類は以下の3種類である。

① 地図グラフ

全国地図、東北地図、宮城県地図上に全国7ブロック、東北6県、宮城県5地域の最近4～26週間のデータを棒グラフで表示する。

② 時系列グラフ

上記データに関する全期間又は最近2～5年間の折れ線グラフを表示する。

③ 3次元グラフ

全期間のデータを年、週ごとに立体的な折れ線グラフで表示する。

この汎用コンピューターを用いたグラフ表示システムによって、グラフ表示化された感染症サーベイランス情報を行政機関や医療関係機関等に月報³⁾として報告することに寄与している。

3.1.3 データ処理

感染症サーベイランスオンラインシステムから入手した集計及び還元情報から1週分の追加データを抽出し、そのデータを過去のデータに追加する。

3.2 パーソナルコンピューターによるグラフ表示システム

3.2.1 データの種類

パーソナルコンピューターにおいて表示できるデータの種類は以下の5種類である。

① 全国5又は10年齢階級

各疾病について、全国の0歳、1歳、2歳、3歳、4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～29歳、30歳以上の10年齢階級ごとの報告定点当たりの患者発生状況報告数を保存しており、グラフ表示に際して0歳、1～4歳、5～9歳、10～14歳、15歳以上の5年齢階級も選択できる。

② 全国7ブロック

各疾病について、全国を北海道、東北、関東・甲信越、東海・北陸、近畿、中国・四国、九州・沖縄の7ブロックに分けて報告定点当たりの患者発生状況報告数を保存している。

③ 全国6ブロック内都府県

各疾病について、東北、関東・甲信越、東海・北陸、近畿、中国・四国、九州・沖縄の6ブロック内の都府県ごとの報告定点当たりの患者発生状況報告数を保存している。

④ 宮城県5又は10年齢階級

各疾病について、宮城県の0歳、1歳、2歳、3歳、4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～29歳、30歳以上の10年齢階級ごとの患者発生状況報告数を保存しており、グラフ表示に際して0歳、1～4歳、5～9歳、10～14歳、15歳以上の5年齢階級も選択できる。

⑤ 宮城県5地域

各疾病について、宮城県を県北沿岸（石巻保健所、気仙沼保健所管内）、県北内陸（大崎保健所、栗原保健所、登米保健所管内）、県中央（塩釜保健所、黒川保健所管内）、仙台市、県南（仙南保健所、岩沼保健所管内）の5地域に分けて患者発生状況報告数を保存している。

3.2.2 グラフの種類

パーソナルコンピューターにおいて表示できるグラフの種類は以下の4種類である。

① 地図グラフ

全国地図、全国6ブロック地図、宮城県地図上に全国7ブロック、全国6ブロック内都府県、宮城県5地域の最近4～26週間のデータを棒グラフで表示する。また、併せて2年間（全国データは10年間）の全国6ブロック、全国6ブロック内都府県、宮城県内5地域のデータを折れ線グラフで表示する。

② 時系列グラフ

上記データに関する全期間又は任意の時期の1～5年間の折れ線グラフを表示する。

③ 3次元グラフ

全期間又は10年間のデータを年、週ごとに立体的な折れ線グラフで表示する。

④ 時系列予測グラフ

自己回帰分析法により、周期性の見られる疾病について、折れ線グラフで表示したデータの1～52週先まで予測する。

このパーソナルコンピューターを用いたグラフ表示システムは、感染症サーベイランスの集計データを迅速に処理することをねらったものであり、上記①～④までのグラフ表示プログラムとは別のデータ処理プログラムによって週ごとのデータを追加更新できる。

上記の①の地図グラフ表示の例を図2に示す。

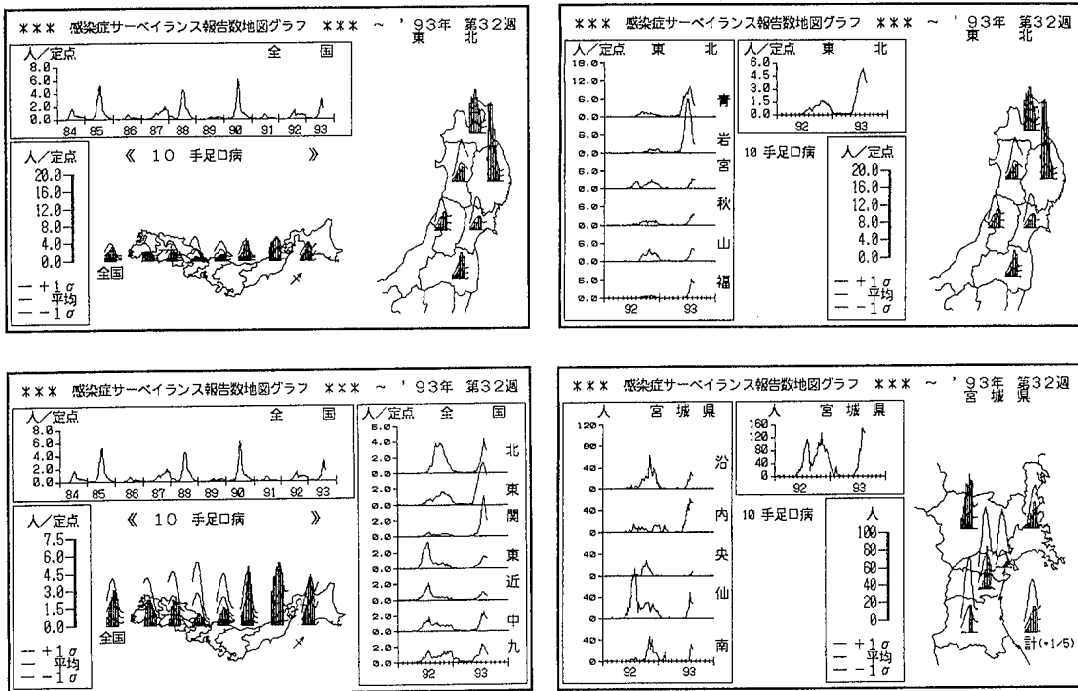


図2 パーソナルコンピューターによるグラフ表示の例

3.2.3 データ処理

感染症サーベイランスオンラインシステムから入手した集計及び還元情報から1週分の追加データ（全国データ約8.5KB、宮城県データ約1.8KB）を抽出し、そのデータを過去のデータに追加する。その際この週ごとの追加データをVAN等のパソコン通信により入手すれば、サーベイランスオンラインシステムからの集計及び還元情報を入手できない患者報告定点等の医療機関においてもこのパーソナルコンピューターによるグラフ表示システムを動かすことができる。

また、このパーソナルコンピューターによるグラフ表示システムにおいて宮城県のデータを扱っているプログラムは汎用性を持たせており、地図データ等の必要な情報を書き換えたファイルを別に与えれば、全国47都道府県のデータも宮城県のデータと同等に扱える。更に、6ブロック内の都府県ごとのデータとは別に、首都圏等の

近接の最大10都道府県・政令指定都市内の最大15地域のデータを保健所単位で集計して扱える。

4. おわりに

大量の情報を、迅速に、わかりやすい形に表現し、全体の特徴を的確に把握することは、情報の解析を行なう上で重要な過程と考えられる。したがって、今回の汎用コンピューター及びパーソナルコンピューターによる一連のグラフ表示プログラムの開発では、そのことを念頭におきながら感染症サーベイランスデータをわかりやすい形で提供することを目的とした。

これらのプログラムはまだ完全なものとは言えないが、その目的を達成し得たものと思う。今後、感染症サーベイランスデータの活用ができれば幸いである。

本グラフ表示システムにより表示できるグラフを見ると、周期的に流行を繰り返す疾病や地域的に流行の

ピークの時期が少しずつずれている疾病の存在に気が付く。本グラフ表示システムはこれらの疾病の流行状況の解析を行なうときの「データの視覚化」のための道具として用いることも意図している。今後、Windows上で動作するようにプログラムを改良し、他の市販されている表集計あるいは統計解析プログラムとの併用を図ることにより、疾病の流行状況の解析のための「視覚化」を担う道具としてより有効に用いることができるようにしたい。また、一部、時系列予測グラフにおいて試みているが、疾病の流行予測についても、更に精度の高い予測の方法の開発を行ないたい。

参 考 文 献

- 1) 三浦英美他：宮城県保健環境センター年報，7，49
-53，(1989)
三浦英美他：宮城県保健環境センター年報，8，40
-42，(1990)
- 2) 感染症サーベイランスグラフ表示システムVer1.0
操作マニュアル（宮城県保健環境センター）
- 3) 東北六県防疫月報，154-192

2. 牛腸内容物における下痢原性大腸菌の分布（第1報）

微生物部：上村 弘 荒井富雄 山本 仁 御代田恭子*

キーワード：牛腸内大腸菌，下痢原性大腸菌，PCR

食中毒や集団下痢症の原因菌のひとつである下痢原性大腸菌のウシにおける保有状況を検査し，検出した大腸菌について毒素産生性やPCRによる病原遺伝子の検索を行った。

1. はじめに

下痢原性大腸菌は，乳幼児の集団下痢症の原因菌として古くから知られ，最近では成人の細菌性食中毒の重要な起因菌として注目を集めている。平成4年の全国における下痢原性大腸菌による集団発生は21件と少ないが，患者数は5,200名余りにのぼりサルモネラについて2位を占めた。

下痢原性大腸菌はその病原因子の違いによって，①病原血清型大腸菌（EPEC），②組織侵入性大腸菌（EIEC），③毒素原性大腸菌（ETEC），④腸管出血性大腸菌（Vero毒素産生性大腸菌）（EHEC，VTEC）の4種類に分類されている（表1）。これら的大腸菌は動物界にも広く分布しており，特にウシ，ブタ等の家畜の保菌率はヒトの保菌率2～8%に比べ7～22%と高く報告¹⁾されている。また，ウシ，ブタの下痢症からVT産生株を分離したという報告もあり，家畜およびその製品が感染原因となる可能性を示唆している。実際，平成5年1月にアメリカでハンバーガーにより，150数名が発病し，幼児1名が死亡するという事件があった。この原因は平成2年埼玉県幼稚園児2名が死亡したときの原因菌と同じ，腸管出血性大腸菌O157:H7による食肉の汚染であった。したがって，家畜の汚染実態を把握しておくことは食中毒を防止するうえから重要であると考え，今回ウシの下痢原性大腸菌の保有状況を調査したので報告する。

2. 材料および方法

材料は平成4年6月から12月まで食肉センター（角田市）に搬入された胃腸障害ウシ7頭を含む116頭のウシ牛腸内容物を1頭につき3ヶ所から採取し検査材料とした。

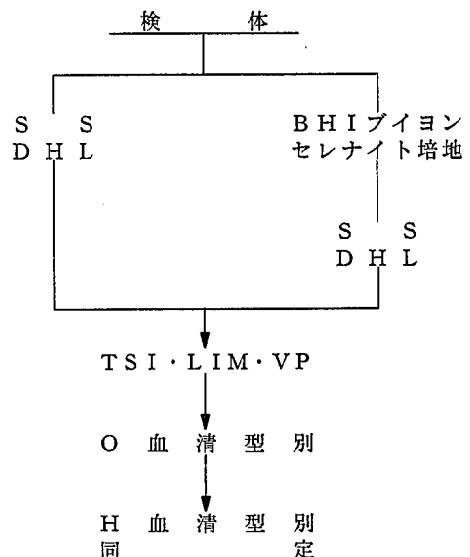


図1 検査手順

表1 下痢原性大腸菌の分類とその疾病

	感染部位	主要症状	発現機序
EPEC 病原血清型大腸菌	小腸	下痢(水様) 腹痛	定着因子? 細胞毒素?
EIEC 組織侵入性大腸菌	大腸	発熱，腹痛 嘔吐	組織侵入・増殖
ETEC 毒素原性大腸菌	小腸	下痢(水様) 嘔吐，腹痛	エンテロトキシン (LT, ST)
EHEC* 腸管出血性大腸菌	大腸	下痢(水様後血性) 腹痛，HUS	Vero毒素 (VT1, VT2)

* Vero毒素産生性大腸菌（VTEC）ともよぶ

* 宮城県仙南食肉衛生検査所

検査方法を図1に示した。すなわち検査材料をSS,DHL寒天培地に直接塗抹し一昼夜培養した平板およびBHIプイオン，セレナイト培地で増菌培養後再びSS，DHL寒天培地に塗抹培養した平板から大腸菌と疑われるコロニーを8～12個釣菌し，TSI，LIM，VPで生化学性状を調べた。

ここで大腸菌の性状を有するものについて市販の大腸菌免疫血清（デンカ生研）を用いてO型別を行い，識別できたものについてH型別および同定試験を行った。

下痢原性大腸菌と同定されたものについて図2に示したようにそれぞれLT，STの毒素産生性試験，PCR法による病原遺伝因子の検索，および感受性試験を行った。LTは栄研化学のセロトキシLT，STは乳のみマウスを用いた。PCR試薬は宝酒造の試薬キット（ジーンアン

プ)を使用し、プライマーは伊藤ら²⁾が報告している塩基配列を用いた。PCR反応後の電気泳動は第一化学製のグラジエントゲル(10/20)を用い、泳動条件は30mA・2時間とした。図3に今回使用したプライマーの塩基配列、図4にPCR法の反応時間を示す。

薬剤感受性試験は16種の薬剤を用いKBディスク法(栄研化学)により行った。

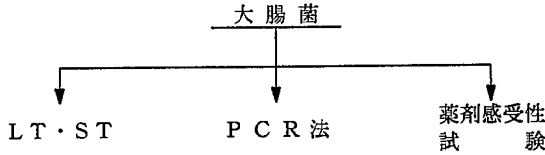


図2 同定後の検査手順

侵入性大腸菌 (EIEC)

センスストランド

5'-ATATCTCTATTTCCAATCGCGT-3'

アンチセンスストランド

3'-GCCCTATATTAAGAGCGCTAG-5'

腸管出血性大腸菌 (EHEC)

センスストランド

5'-TTTACGATAGACTTCTCGAC-3'

アンチセンスストランド

3'-CTCGCTTTATTAATATACAC-5'

毒素原性大腸菌 (ETEC)

LT

センスストランド

5'-AGCAGGTTTCCCACCGGATCACCA-3'

アンチセンスストランド

3'-CTCTGGGTCCTTAGACTCGTG-5'

ST

センスストランド

5'-TTTATTTCTGTATTGTCTTT-3'

アンチセンスストランド

3'-GACACTTGACACAACATTAAC-5'

図3 各プライマーの塩基配列

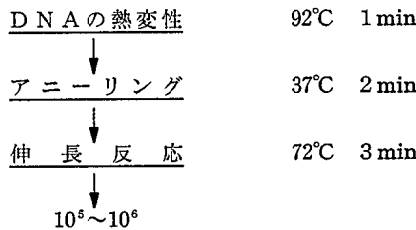


図4 PCRの反応時間

3. 結果

116頭のウシの盲腸内容物から23検体26株, 15血清型の下痢原性大腸菌を検出した(表2・表3)。

表2 O血清型別による分類

E T E C		E I E C		E P E C	
0 6 : H- ^{*1}	2	0 28 : H 2	1	0 1 : H 4	1
0 6 : H21	1	0 28 : H20	1	0 18 : H21	1
0 8 : H-	1	0112 : HNM ^{*2}	2	0 26 : H-	2
0 8 : H21	1	0136 : H-	2	0125 : H10	1
0153 : H-	1	0159 : H 4	1	0125 : H16	1
0153 : H19	1			0125 : H19	1
0167 : H-	1			0127 : H21	1
				0128 : H-	1
				0128 : H41	1
				0146 : H21	1
8		7		11	

*1 : 型別不明 *2 : 非運動性

表3 大腸菌の検出率

検査検体数	116
検出検体数	23
血清型数	15
検出株総数	26
検出率	22.4%

採取部位による検出率および胃腸障害をもったウシとの間に検出の差は見られなかった。

今回の調査では、毒素原性大腸菌に分類されているものと同じO血清型が8件, 組織侵入性大腸菌に分類されているものと同じO血清型が7件, 病原血清型大腸菌に分類されているものと同じO血清型が11件検出された。

LT・STの毒素産生性試験およびPCR法(図5)による病原遺伝因子の検索により、毒素産生能や組織侵入性を有する大腸菌や、その他の病原因子を有する大腸菌

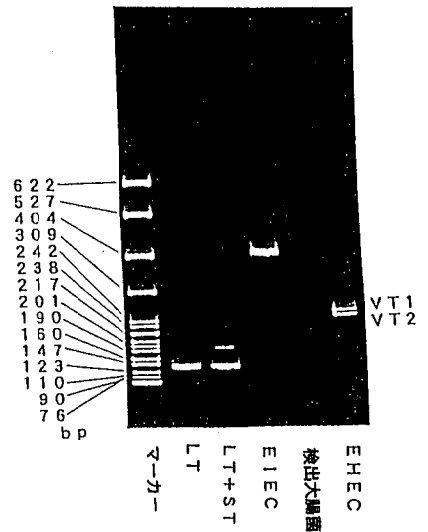


図5 PCR後の電気泳動図

は検出されなかった。

薬剤感受性については図6に示したように我々が過去にヒトの症例から検出した大腸菌との間に大きな差は見られず、アンピシリン (ABP)、カルベニシリン (CPC)、

テトラサイクリン (TC)、ナリジクス酸 (NA)、ポリミキシンB (PL) に感受性を示し、ベンジルペニシリン (PC)、オキサシリン (MPI)、エリスロマイシン (EM) に耐性を示した。

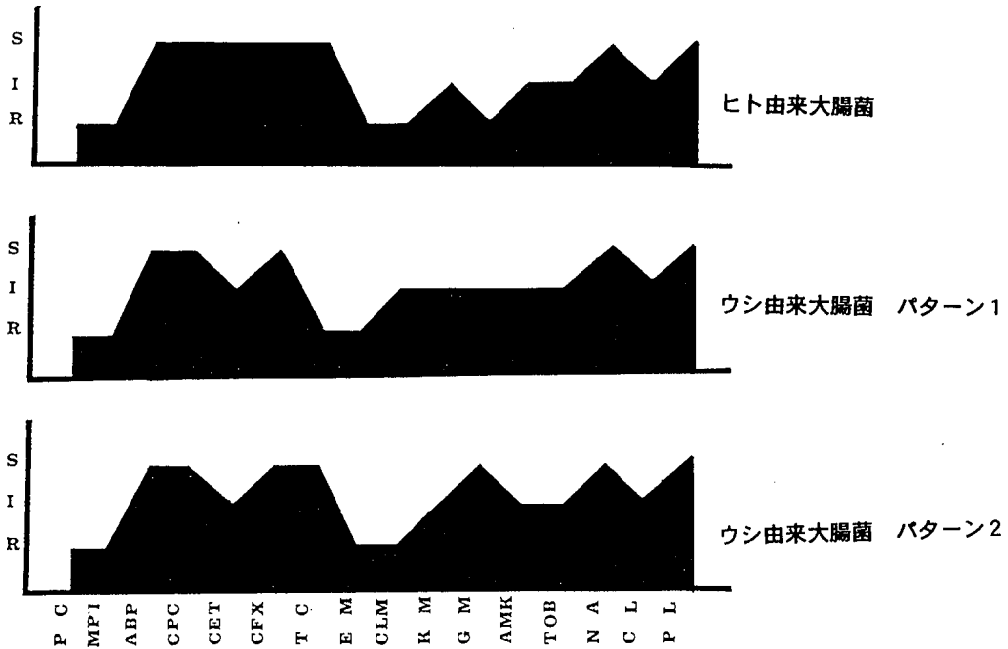


図6 薬剤感受性試験

4. 考 察

今回我々は、116頭のウシの腸内容物から、約22%にあたる26株の下痢原性大腸菌を検出したが、病原因子を有する大腸菌は検出されなかった。しかしこのことが家畜等を介してヒトへの感染を否定するものではないと思われる。食生活の多様化、例えば魚、野菜を中心とした食事から肉類を中心とした欧米型食事への変化等を考え

併せると、家畜における下痢原性大腸菌の保有状況を監視することは食品衛生上重要であり、今後も調査を継続し食品衛生向上の一助にしたいと考える。

文 献

- 1) 辺野喜正夫, 善養寺浩: 新細菌性食中毒, 220, 南山堂, 東京, (1971)
- 2) 伊藤健一郎 他: 臨床検査, 35, 790, (1991)

3. 宮城県における紅斑熱調査

微生物部：植木 洋 畠山 敬 葛岡勝悦 秋山和夫 山本 仁

Key Word : *R. montana* strain. indirect immunofluorescent technique.
spotted fever group rickettsia (SFGR)

The antibody prevalence for spotted fever group rickettsia (SFGR) in Miyagi Prefecture was performed with indirect immunofluorescent technique using *Rickettsia montana* strain.

1309 sera, including 152 sera from the patients of suspected tsutsugamushi disease but denied through confirmation test and 1157 sera from residents of several areas in Miyagi Prefecture, were tested for the antibody against SFGE.

1. はじめに

紅斑熱群リケッチアは現在世界各地で分離された9種が知られている。その中で *Rickettsia* (以下 *R.*) *rickettsii* (ロッキー山紅斑熱), *R. sibirica* (北アジアマダニチフス), *R. conrii* (ボタン熱), *R. australis* (クイーンズランドマダニチフス), *R. japonica* (日本紅斑熱), *R. akari* (リケッチア痘) の6種は病原性があり, 他の3種 *R. parkeri*, *R. montana*, *R. rhipicephali* は非病原性と報告されている¹⁾。病原性のある紅斑熱群リケッチアは主にマダニ類によってヒトへ媒介される。臨床症状はツツガムシ病と類似しており高熱を経て四肢・体幹に紅斑状発疹が出現し刺し口が観察される。国内では1984年に徳島県阿南市ではじめて紅斑熱群リケッチア症が確認された。その後の確認症例より分離したリケッチアを検討した結果, 他の種と抗原性が異なることが判明し日本紅斑熱リケッチア (*R. japonica* Y.H株) と呼ばれている²⁾。以来紅斑熱リケッチア感染症は1992年まで全国で約100症例が報告されている³⁾。多くの症例は千葉県以南の太平洋側に限局した地域で発生している。この疾患に対してはテトラサイクリン系の薬剤が著効を示すが, 重症な場合は治療が遅れると死亡する危険性もある⁴⁾。

今回, 我々は非病原性の *R. montana* 株を用いて紅斑熱群リケッチア感染症の血清学的診断法の技術を確立するとともに, 県内の健康住民を対象に感染状況実態調査を行い疫学的背景について検討した。

2. 方法

2.1 検査対象

ツツガムシ病が疑われたが血清学的診断で否定された血清142件および, 以下に掲げる各事業で採血した一般住民の血清1,167件を対象とした。

2.1.1 ツツガムシ病否定血清

1985~1992年の間にツツガムシ病様疾患で当センターに検査依頼があり血清学的にツツガムシ病が否定された血清: 単一血清51件, 対血清91件。同じく山形県衛生研

究所より検査依頼があった5名延10件の血清。

2.1.2 ワイル病特別対策事業

1987年度: 鳴子町68件

1991年度: 金成町55件, 大衡村19件, 大和町34件, 登米町21件

2.1.3 伝染病流行予測事業(流行性肝炎感受性調査)

1988年度: 志津川町100件

1989年度: 本吉町102件, 塩竈市47件

1990年度: 歌津町59件, 岩沼市75件, 白石市26件

1991年度: 石巻市123件

1992年度: 亶理町68件

2.1.4 伝染病流行予測事業(日本脳炎感受性調査)

1990年度: 古川市179件, 角田市181件

2.2 抗体測定方法

2.2.1 抗原

Vero E-6細胞に持続感染している *R. montana* 株を国立予防衛生研究所(以下予研)より分与された。未感染 Vero E-6単層細胞に感染細胞を吸着させ, 抗生物質を含まないD-MEM培地(2%ウシ胎児血清)で34°Cに6~8日間培養した。その後培養細胞をトリプシン・EDTA添加リン酸緩衝液(PBS)で分散して, 低速遠心で沈澱後, 沈澱をPBSに浮遊させた。これに未感染細胞浮遊液を適量加え抗原浮遊液とした。この抗原浮遊液を24wellのスライドガラスに5 μ lずつ滴下し, 乾燥後アセトン固定を行いビニール袋に入れて-80°Cで保存した。使用時に室温に戻し抗原スライドとして使用した。

発疹熱リケッチアは予研より分与を受けた *Willminton* 株を用いた。

2.2.2 抗体価の測定(蛍光抗体法)

0.3% BSA (Bovine serum albumin) 加PBSで40倍に希釈した検体5 μ lを抗原スポットに載せ, 37°Cで60分間反応させる。PBSで洗浄した後200倍に希釈したFITC抗ヒトIgG抗体(Pel Freeze社製)を同じ条件で反応させる。反応後PBS・蒸留水で洗浄し乾燥後封入し蛍光顕微鏡で観察した。

- ①抗原+被検血清…37°C 60min
- ②PBS 洗浄
- ③抗原+被検血清+2次抗体 (FITC 抗ヒト IgG 200×)
…37°C 60min
- ④PBS・DW₂ 洗浄
- ⑤風乾・鏡検

図1 蛍光抗体法フローチャート

40倍で蛍光が認められた検体については、再検査をするとともに発疹熱リケッチアとの交差反応をチェックした。交差が認められない検体については感染の時期を知るため FITC 抗ヒト IgM 100倍を用いて IgM 抗体の検出を行った。

3. 結 果

1988年の調査初年度は抗原の作成と抗体の測定方法の技術を確認し、1989年より一般住民を対象とした抗体測定を行った。

1,309例中40倍以上を示したのは12例 (0.9%) であった。この12例中 *Willminton* 株との交差反応が認められたものは9例であった (表1)。陽性の12例は、男5例、

表1 紅斑熱リケッチア (*R.montana* 株) 抗体の測定結果-1988~1992年-

調査市町村	年齢	件数 1,309	抗体価			
			<40	40	80	160
			1,297	7	2	3
1 ツ病否定例						
対血清	3~78	91	91			
単一血清	3~78	51	49	1(40)	1(80)	
山形衛研	?	10	10			
2 鳴子町'1987	23~79	68	66	1(40)		1(60)
3 岩沼市'90	22~59	75	75			
4 白石市'90	26~57	26	25		1(40)	
5 歌津町'90	21~68	59	56	3(40,80,80)		
6 金成町'91	23~61	55	55			
7 大衡村'91	27~55	19	19			
8 大和町'91	20~64	34	34			
9 登米町'91	22~70	21	21			
10 古川市'90	1~86	179	178			1(40)
11 角田市'92	1~83	181	181			
12 志津川町'88	12~72	100	100			
13 本吉町'89	14~65	102	101	1(<40)		
14 塩竈市'89	12~56	47	47			
15 石巻市'91	12~60	123	121	1(<40)		1(<40)
16 亶理町'92	22~59	68	68			

※()内の数字は、発疹熱リケッチア (*Willminton* 株) に対する抗体価

女7例で、居住地については内陸部の市町村に居住するもの4例 (33%)、沿岸部8例 (67%)。年齢については、30代2例 (17%)、40代3例 (25%)、50代2例 (17%)、60代4例 (33%)、70代1例 (8%) となっている。(表2)。ツツガムシ病否定血清では、全例で抗体の有意上昇は認められなかった。*R.montana* 株にのみ陽性であった3例の IgM 抗体は10倍未満であった。

表2 紅斑熱リケッチア抗体価陽性例の内訳

No.	居住市町村	性別	年齢	抗体価	
				<i>R.montana</i> 株	<i>Willminton</i> 株
1	本吉町	♂	78	40	40
2	亶理町	♂	40	80	80
3	鳴子町	♀	65	40	40
4	鳴子町	♀	54	160	160
5	白石市	♀	48	80	40
6	歌津町	♀	61	40	40
7	歌津町	♀	61	40	80
8	歌津町	♂	53	40	80
9	古川市	♀	61	160	40
10	本吉町	♀	41	40	<40
11	石巻市	♂	32	160	<40
12	石巻市	♂	34	40	<40

4. 考 察

日本紅斑熱のほとんどの症例は千葉県以南の太平洋側の限局した地域で発生していること、臨床所見がツツガムシ病と類似していること、媒介者はマダニ類と推測されていることなどの疫学的知見をふまえ我々はツツガムシ病否定例、および県内の内陸部、海沿い地域に居住する一般住民について血清学的調査を行った。その結果、紅斑熱リケッチア抗体陽性者は12例認められた。しかし紅斑熱リケッチアと発疹熱リケッチアは交差反応があることが知られており¹⁾⁵⁾⁶⁾、確認検査を行った結果9例が発疹熱リケッチアにも陽性であった。残り3例は紅斑熱リケッチアに対する単独抗体で過去に獲得した抗体と考えられる。更に、*R.japonica* 株を用いて追試し確認する必要がある。この3例は海沿いの地域の居住者であった。

今回の調査結果から、ツツガムシ病否定例および、一般健康住民の紅斑熱リケッチアに対する抗体陽性率は低く、地域特異性などの疫学的背景について明らかにするには至らなかった。

参 考 文 献

- 1) 内田孝宏：臨床検査, 33, 601 (1989)
- 2) TAKAHIRO UCHIDA et al : THE JOURNAL of INFECTIOUS DISEASES, 159, 1122~1126, (1989)
- 3) 坪井義昌：平成3年度希少感染症診断技術研修会資料, 22, (1991)
- 4) 馬原文彦：Medical Tribune, 18, 4, (1985)
- 5) 戸田忠雄 et al：戸田新細菌学, 27, 488~503, (1981)
- 6) Ormsbee R A et al : Antigenic relationships between the typhus and spotted fever groups of rickettsiae. Am J Epidemiol, 108, 9~53, (1978)

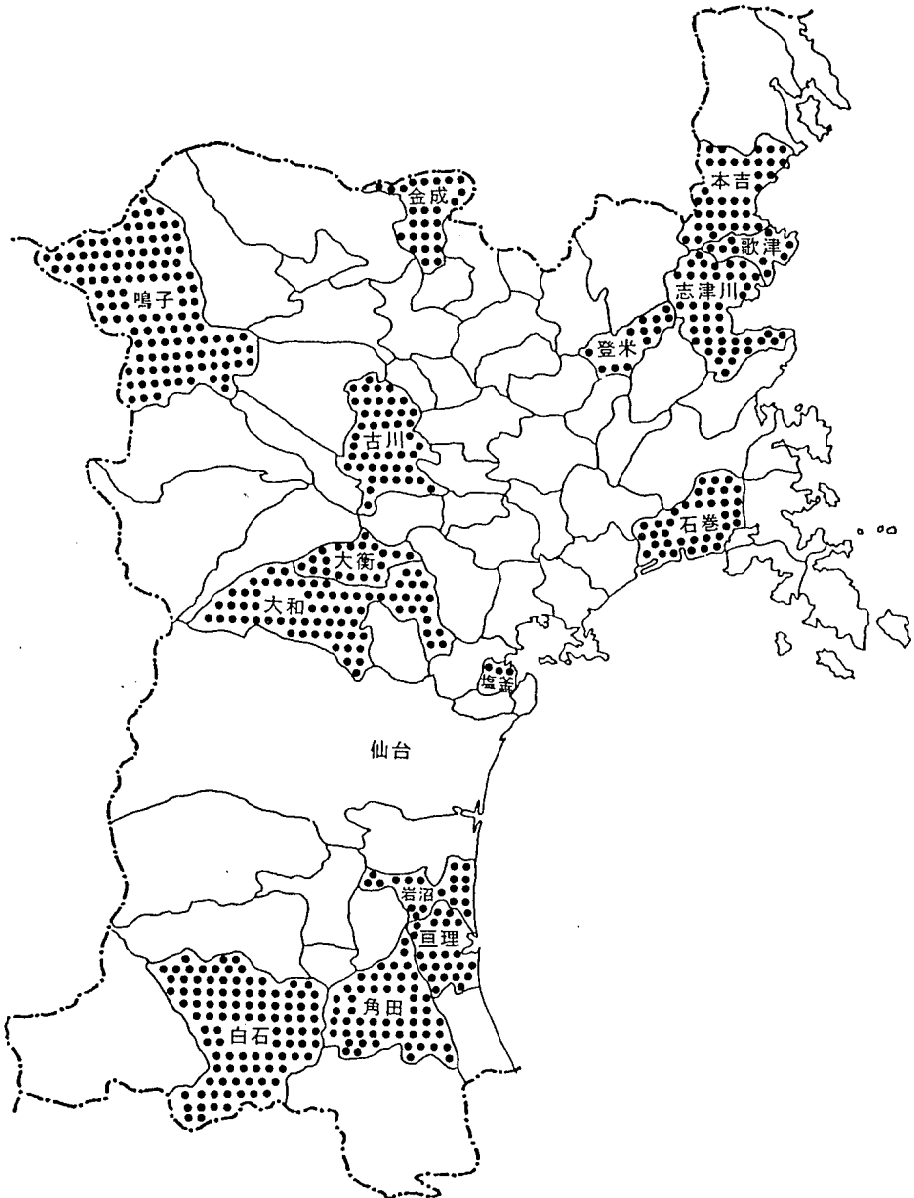


図2 紅斑熱調査対象市町村

4. 宮城県における1歳6か月児神経芽細胞腫マスキリーニング

加茂えり子*¹ 白取博志 菅原直子*² 川野みち
近野寿美枝*³ 白石廣行 山本 仁

キーワード：小児ガン，神経芽細胞腫，マスキリーニング，
カテコールアミン，VMA，HVA

Summary: New official project of neuroblastoma (NB) mass screening for 18-month-old infants, who had not be picked up by 6-month-old, was conducted from May 1992 in Miyagi Prefecture excepting Sendai City. 7,912 of 18-month-old infants were screened until March 1993, but NB patient was not found yet.

1. 目的

小児ガンの一種である神経芽細胞腫は、カテコールアミンを産生、分泌する。この為、その代謝産物であるバニルマンデル酸(VMA)、バニル乳酸(VLA)、ホモバニリン酸(HVA)を尿中に多量に排泄する 경우가多く、VMA等を指標とするマスキリーニングが可能である。宮城県では、生後6か月の乳児を対象にした神経芽細胞腫マスキリーニングを1985年10月から開始した。1992年3月末まで約7年間に134,568人の検査を実施し、16人の患児を発見した。

この間、宮城県において6か月児のマスキリーニングで発見された16人を含め計32人が医療機関において神経芽細胞腫と確認された。マスキリーニングで発見された16

人の6か月検査時と、病院で診断された16人の医療機関受診時の検査結果の内容を表1に示した。マスキリーニング以外で見つかった患児は病期が進んで発見されており死亡しているケースが多い。6か月児マスキリーニングで発見できなかった16例を4つのタイプに分類し表2に示した。表2のタイプ1とタイプ4の12名は、6か月以降に再度マスキリーニングを受ける機会があれば早期発見できる可能性があったと考えられる。そこで6か月検査時点でVMA、HVA陰性で発症時それらが陽性であったもの、6か月検査時点で検査を受け忘れたもの等の早期発見を目的に、1歳6か月児を対象にした2回目神経芽細胞腫マスキリーニングを、1992年5月から全県下(仙台市を除く)で実施したのでその概要について報告する。

表1 6か月マスキリーニング開始後の神経芽細胞腫症例(1986.10~1992.3)

	I	II	III	IV	IV A	IV B	合計
マスキリーニング(検査)で発見	○○○	○○○○○	○○○○	○○○	★		16
検査で陰性(VMA, HVA ↓) その後陽性(VMA, HVA ↑)			●		●●○○○	●○	8
検査で陰性(VMA, HVA ↓) その後陰性(VMA, HVA ↓)	○		●		●		3
検査を受けず その後陰性(VMA, HVA ↓)		○					1
検査を受けず その後陽性(VMA, HVA ↑)			●●			●○	4

★検査時すでに入院中 ○生存 ●死亡

表2 6か月マスキリーニング時発見できなかった症例(1980.10~1992.3)

分類	6か月時 VMA, HVA	医療機関確認時 VMA, HVA	人数
タイプ1	陰性	陽性	8
タイプ2	陰性	陰性	3
タイプ3	受検せず	陰性	1
タイプ4	受検せず	陽性	4
計			16

2. 実施方法

① 保護者への説明と採尿セットの配布

市町村における1歳6か月児健康診査時に2回目の神経芽細胞腫マスキリーニングについて説明し、採尿セット(検査ろ紙：東洋ろ紙63, 検査説明書, 送付用封筒)を保護者に配布した。検査説明書, 送付用封筒は、6か月

*1 岩沼保健所
*2 栗原保健所
*3 県立がんセンター

マススクリーニングと間違えないよう6か月は緑、1歳6か月は青に色分けした。また検体は、出来るだけ早い時期に採尿し、乾燥後直ちに郵送するよう指導した。

② 検体受付台帳の作製

保健所において6か月と1歳6か月両検査の事務処理が混乱しないようにコンピューターで受付台帳を作成した。全市町村の検体番号を7桁に統一し、名前、住所をパソコンに入力、台帳を作製し、結果を記入後1週間分まとめて保健所に送付した。また再採尿が必要となった際には、保護者が理解しやすいように再採尿の理由別説明書を作成し採尿セットとともに郵送した。

③ 検査実施の周知方法

「小児ガンの検査を2度受けましょう」(図1)のカラーポスターを作製し宮城県小児科医会を通して各病院での掲示、また医師会報に検査実施について情報の掲載を依頼した。また母親の意識を高めるために「神経芽細胞腫マススクリーニングは、2度受けましょう」のチラシを作り母子手帳に添付した。



図1 カラーポスター

④ 測定方法

6か月児マススクリーニング検査と同様高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて定量検査を実施した^{1), 2)}。

3. 結 果

① 一次検査結果と回収率

1992年5月より1歳6か月児の2回目神経芽細胞腫マススクリーニングを開始した。連休明けより採尿セット配布を開始した結果、1週間後から検体が送付された。表3に各保健所の一次検査受検者数、疑陽性数、不備数を示した。最下段に同じ期間の6か月児の受検者数等を示した。

た。疑陽性率は6か月児に比べ高かったが不備率は逆に低かった。更に採尿セット配布後、どの程度検査を受けたかの回収率(1次検査数/配布数)は表4に示すように各保健所によって6か月と1歳6か月で差がみられたが、全体では6か月で88.0%、1歳6か月で73.3%と事業開始初年度としては比較的回収率が高かった。

表3 1歳6か月児一次検査状況(1992.5~1993.3)

保健所 (支所)	一 次 検 査			
	受付数	不備数	陰性数	疑陽性数
仙 南	559	27	507	25
白 石	371	19	328	24
角 田	325	21	290	14
岩 沼	974	50	889	35
黒 川	402	20	365	17
塩 釜	1,167	59	1,047	61
大 崎	1,021	54	907	58
岩 出 山	362	12	321	29
栗 原	553	29	491	33
登 米	616	35	556	25
石 巻	1,286	51	1,171	64
気 仙 沼	691	38	616	37
計	8,327	415 (5.0%)	7,490 (89.9%)	422 (5.1%)
6か月児	12,654	1,045 (8.3%)	11,172 (88.3%)	437 (3.4%)

表4 検査セット配布に対する1次検査数(回収率%)

保 健 所	6 か 月	1 歳 6 か 月
仙 南	88.3	94.4
白 石 *1	90.5	75.4
角 田 *1	86.9	71.6
岩 沼	81.8	67.5
塩 釜	85.0	73.2
黒 川	85.3	66.2
大 崎	91.2	75.9
岩 出 山 *2	84.0	71.8
栗 原	86.7	76.8
登 米	97.8	80.1
石 巻	88.3	66.1
気 仙 沼	92.4	72.8
合 計	87.9	73.3

*1 仙台南保健所支所 *2 大崎保健所支所

② VMA, HVA平均値

約1,000件のクレアチニン（尿濃度）補正したVMAとHVAの測定値分布図を図2に示した。1歳6か月児は、尿中クレアチニンが多く排泄されるためクレアチニンで補正したVMA, HVAの平均値が6か月児に比べ低くなった。カットオフ値はVMA13.9 $\mu\text{g}/\text{mgCr}$, HVA24.6 $\mu\text{g}/\text{mgCr}$ (平均値+2SD)とした。

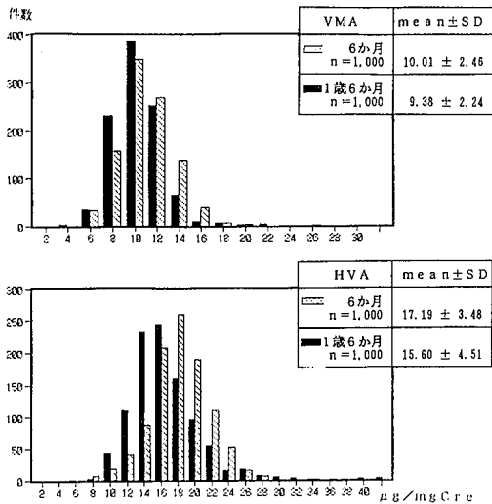


図2 VMA, HVA測定値分布

表5 6か月, 1歳6か月疑陽性内訳 (1992.4~1993.3)

	VMA \uparrow	HVA \uparrow	VMA, HVA \uparrow
6か月	51.9%	24.3%	23.8%*
1歳6か月	32.7%	49.3%	18.0%

*患児

VMA \uparrow VMAのみ高い疑陽性
 HVA \uparrow HVAのみ高い疑陽性
 VMA, HVA \uparrow VMA, HVA両方高い疑陽性

③ 疑陽性と不備検体

疑陽性の内訳を表5に示した。6か月児ではVMAのみ高い検体が51.9%であるが、1歳6か月児ではHVAのみ高い検体が49.3%と疑陽性の理由に違いがみられた。6か月, 1歳6か月の不備の内訳を表6に示した。日数経過, 低クレアチニンの割合には差はないが、1歳6か月児では細菌汚染がかなり少なかった。これは「おむつ」に「ろ紙」をはさんでいる時間が短いためではないかと考えられる。

④ 精密検査

1歳6か月児の精密検査症例のVMA, HVA値を表7に示した。4名中3名がマスキング受検時にはHVA値のみが高く精密検査を受けたが、経過観察中にHVA値が正常になった。バナナを食べると数時間後尿中HVA値が上昇することは我々も既に報告している。保護者に採尿の際バナナについての食事制限を指導しているが、精密検査の経過観察中にHVA値が低くなる例があることから、バナナ以外にもセロトニン, カテコールアミン等を含む食べ物があると考えられる。このように1歳6か月児のHVA値が高くなるという傾向(表5)は、カットオフ値などにも影響があり、その結果として疑陽性の再検率が高くなる原因ともなっている。

表6 不備検体内訳 (受付数に対する割合%) (1992.4~1993.3)

	日数経過	6か月未満	低Cre	細菌汚染	その他	計
6か月	120 (0.95%)	33 (0.26%)	227 (1.79%)	659 (5.20%)	6 (0.05%)	1,045 (8.25%)
1歳6か月	72 (0.86%)	-	111 (1.33%)	228 (2.74%)	4 (0.05%)	415 (4.98%)

表7 1歳6か月児精密検査症例

		1		2		3		4	
		VMA	HVA	VMA	HVA	VMA	HVA	VMA	HVA
6か月検査時		12.1	23.7	11.0	15.6	11.5	19.4	受検せず	
1歳6か月検査時	1	7.9	28.2	10.1	37.0	12.1	27.4	18.7	23.3
	2	11.0	57.7	7.1	54.9	9.9	34.1	21.8	27.8
	3	8.8	51.7	9.1	42.2	20.5	36.9	17.3	20.0
	4	-	-	-	-	14.9	43.2	20.3	24.6
精密検査時	1	9.5	37.8	7.2	28.6	13.4	27.3	18.8	19.8
	2	9.1	13.9	8.9	18.0	12.0	19.1	-	-

(VMA, HVA : $\mu\text{g}/\text{ngCre}$)

4. 考 察

6か月児を対象にした神経芽細胞腫マスキリーニングは全国で実施されているが検査時期が生後6か月が適当か、検査回数は一回で十分か、VMA陰性の患児はどうか等について現在も議論されてる。特に、1歳以降に発見される患児の予後が悪いことは宮城県の状況からも明らかなおりで追加検査の必要性が全国的にも指摘されていた。このような状況のもとで宮城県では各方面からの強い要望もあり、1歳6か月の検査を実施することに決定した。

神経芽細胞腫マスキリーニング検査事業における課題の1つは、安定で精度の高い検査を実施することである。現状では各都道府県により検査システム等が全く異なり、かつ検査技術に差があるので、精度管理を実施することにより検査システム等の改善が期待されている。この点については本年中に厚生省の研究班が、「神経芽細胞腫マスキリーニングの精度管理」の課題で研究を開始し、全国レベルの精度管理を実施し技術の向上を図ることが予定されている。

もう一つの課題は、全ての子どもたちに検査を受けさ

せ、早い時期に患児を発見し、迅速に治療を行うことである。そのためには行政機関（市町村、保健所、県）、検査機関、医療機関のそれぞれの関係者の努力と連携が必要である。宮城県においては1985年10月の6か月児を対象にした検査事業開始以来「宮城県神経芽細胞腫検査事業実施要項」に基づいて、関係機関で「神経芽細胞腫連絡協議会」を設置し年に一度協議会を開き事業の改善に努力している。

1歳6か月児における神経芽マスキリーニングを県事業として実施しているのは、全国でも宮城県が初めてであり関係者から注目を集めている。一部の都道府県で試みられているパイロット検査でも患児発見に至っておらず、今後本県で患児を発見することができるかが大きなポイントであり、事業として取り組んだ意義が問われるところでもある。

参 考 文 献

- 1) 清野陽子他：宮城県保健環境センター年報8，49
- 2) 白石廣行他：改訂版神経芽細胞腫マスキリーニング，P86-93（1989），恩賜財団母子愛育会編

5. 食品の合成保存料（ソルビン酸，安息香酸，パラオキシ安息香酸エステル類）の高速液体クロマトグラフによる一斉分析法の検討

理化学部：小林 孜 小笠原 久夫

キーワード：合成保存料，パラオキシ安息香酸エステル類，イオンペアークロマトグラフ

1. 要 約

食品に使用されている7種の合成保存料の一斉分析法について検討した。これらの分析法として、紫外部吸収法、ガスクロマトグラフ法が公定法となっているが、ルーチン分析法としては前処理操作が繁雑である。そこで前処理にセップバックC₁₈カートリッジを使用した高速液体クロマトグラフによる簡易分析法について検討した結果良好な結果が得られた。

2. 緒 言

現在食品衛生法で使用が許可されている合成保存料の代表的なものとして魚肉ねり製品等に使用が許可されているソルビン酸、清涼飲料水等に使用が許可されている安息香酸、及び醤油等に使用が許可されている5種類のパラオキシ安息香酸エステル類がある。これらの分析法には公定法として、紫外部吸収法、ガスクロマトグラフ法が定められている。このうちソルビン酸、安息香酸は多くの場合妨害物質が少なく、水蒸気蒸留液をそのまま紫外部吸収を測定することによって比較的容易に分析可能であり、ルーチン分析法としても確立されている。一方パラオキシ安息香酸エステル類の分析は水蒸気蒸留のみでは紫外部に吸収のある妨害物質の除去が十分でなく、エーテル抽出操作が必要である。又ガスクロマトグラフ法でも検出感度が余り良くないため、溶媒抽出、濃縮操作が必要である。このように分析操作が煩雑であるため、パラオキシ安息香酸エステル類はソルビン酸、安息香酸に比べてルーチン的に分析されることは少なく、使用の実態調査も少ない。そこで今回パラオキシ安息香酸エステル類の簡易分析法を前処理にセップバックC₁₈カートリッジを使用したイオンペアー高速液体クロマトグラフ法により検討したところ、ソルビン酸、安息香酸を含む合成保存料の一斉分析が可能になったので、その結果について報告する。

3. 実験方法

1. 試薬及び標準液等

(1) 試薬、パラオキシ安息香酸エステル類：パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸イソプロピル、パラオキシ安息香酸プロピル、パラオキシ安息香酸イソブチル、パラオキシ安息香酸ブチルは東京化成工業社製

特級品を使用した。又ソルビン酸、安息香酸、燐酸、燐酸二水素ナトリウム、塩化セチルトリメチルアンモニウム (CTA)、ラウリル硫酸ナトリウム (SDS) はいずれも和光純薬工業製特級品を使用した。メタノール、アセトニトリル和光純薬工業製残留農薬分析用を使用した。PIC-A (テトラブチルアンモニウムフオスフェート溶液) はウォターズ社製のものを使用した。

(2) ソルビン酸、安息香酸、パラオキシ安息香酸エステル類の標準液：ソルビン酸、安息香酸、5種のパラオキシ安息香酸のエステル類を100mg精秤し、50%メタノールに溶解100mlとした。これを各々の化合物の標準原液 (1,000 µg/ml) とし、高速液体クロマトグラフの移動相で適宜希釈して標準溶液とした。

(3) セップバックC₁₈カートリッジ：ウォターズ製、カートリッジを水、エタノール各20mlで洗浄後0.01 MCTA 2mlで洗浄、活性化して使用した。

(4) セップバックC₁₈カートリッジ抽出液：メタノール、0.05M燐酸二水素ナトリウム (23:20:57) 溶液に最終濃度が0.01MになるようにCTAを添加し、pHを燐酸で6.5に調整した。

2. 装 置

(1) 高速液体クロマトグラフ：ウォターズ製M6000 Aポンプ、U6Kインジェクター、UVIDEC100 II 紫外部検出器、横川電気3066レコーダー

(2) 遠心器：KUBOTA Model KC-30

3. 分析条件

分離カラム：NOVA PAK C₁₈カラム (径8 mm, 長さ10cm)

移動相流量：2.0ml/min

検出波長：240nm

試料注入量：20 µl

4. 測定方法

(1) 抽出操作：試料2mlを取り、0.01MCTAを含む0.05M燐酸バッファー (pH3) を10ml加え、全量を水で20mlとする。必要があれば3000rpmで10分間遠心分離する。

(2) セップバックC₁₈カラムによる前処理：上澄液10mlを採取し、予めエタノール20ml, 水20ml, 0.01MCTA 2 mlで活性化させたセップバックC₁₈カラムに2 ml/minで吸着させた後、カラム溶出液5 mlで溶出させ、0.1 MCTA溶液で10mlとした。この溶液20 µlをHPLCに注入した。

4. 結果及び考察

1. HPLCの移動相の検討

HPCLの移動相にはアセトニトリル, メタノール, 0.05 M 燐酸二水素ナトリウム (23 : 20 : 57) 溶液に最終濃度が0.01MになるようにカウンターイオンCTAを添加し, pHを燐酸と水酸化ナトリウムで6.5に調整したものを使用した。カウンターイオンとしてCTAの他にSDS, PIC-Aについても検討したが, CTAが最も各ピークの分離に有効であった。特にパラオキシ安息香酸ブチルとイソブチルの分離は他のカウンターイオンでは不完全であった。一般に移動相にカウンターイオンを添加したイオンペアークロマトグラフではイオン化傾向の高い化合物ほどカウンターイオンとイオン対を作り易く, 移動相のpHの変化によってそのリテンションタイムが影響を受けることが知られている。この原理を利用して, ソルビン酸, 安息香酸とパラオキシ安息香酸エステル類のピークの変離を試みた。図1は移動相のpHを4~7に変化させたときのソルビン酸, 安息香酸, パラオキシ安息香酸エステル類のリテンションタイムの変化を示したものである。図のようにパラオキシ安息香酸エステル類はpHの上昇と共に緩やかにリテンションタイムが増加する傾向が見られるが, ソルビン酸, 安息香酸はpH5~6の間で急激にリテンションタイムが増加し, pH6付近で最高に達しそれ以上では減少の傾向が見られた。これはソルビ

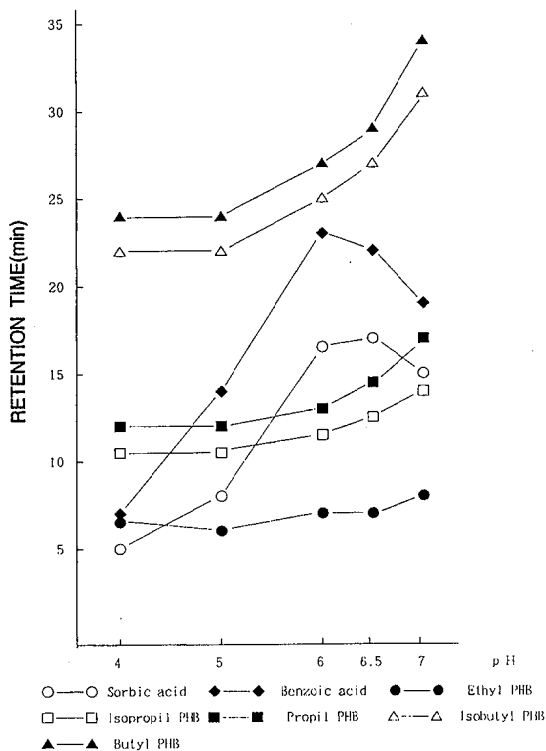


図1 移動相のpHと各保存料のリテンションタイムの関係

ン酸, 安息香酸はパラオキシ安息香酸エステル類にくらべて, 解離度が大きいためpHの変化によってイオン化率が大きく変化し, カウンターイオンとイオンペアを形成したため, リテンションタイムが急激に変動したものと考えられる。このような場合pHを適当に調整すれば, ソルビン酸, 安息香酸のピークをパラオキシ安息香酸エステル類のピークと重ならないような条件を求めることができる。検討の結果図のようにpH6.5付近において7つのピークの分離が最も良くなることが判ったので, 移動相のpHは6.5とした。この時の高速液体クロマトグラムを図2に示した。

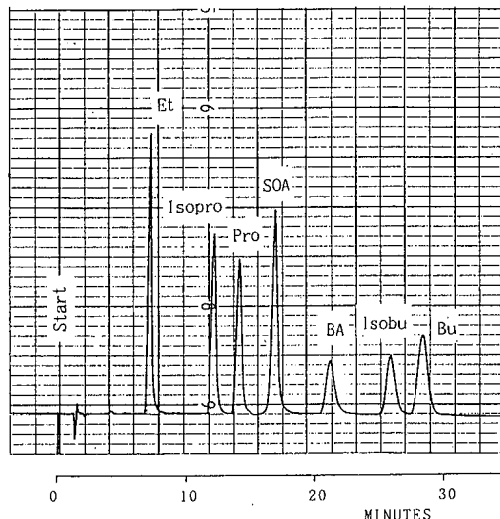


図2 ソルビン酸, 安息香酸及びパラオキシ安息香酸エステル類の高速液体クロマトグラム

2. 試料の前処理

試料はセブパックC₁₈カートリッジによる精製を行った。測定方法に示したように試料をセブパックC₁₈カートリッジに吸着後溶媒で溶出させ, 不純物を取り除いた。この操作中試料のセブパックC₁₈カートリッジへの吸着速度は2ml/minとした。これにより全ての保存料はカラムに吸着された。一方溶出条件については目的物質を十分溶出するが, 不純物を出来るかぎり少なく溶出し, 妨害ピークを少なくする条件が要求される。この点について検討した結果, 溶出液にメタノール, 0.05M 燐酸二水素ナトリウム (7 : 3) pH3を使用したときの溶出液量とソルビン酸, 安息香酸, パラオキシ安息香酸エステル類の溶出率の関係は図3に示すような結果が得られた。図のように溶出液5mlで全ての保存料がほぼ100%溶出されたので, 溶出液量は5mlとした。次に溶出液のpHと溶出率について図4に示す。これは溶出液量をいずれも5mlとしたときのものである。図のようにpH3において, 全ての保存料が100%検出されたが, pHの上昇に伴って, ソルビン酸, 安息香酸の溶出率は低下し,

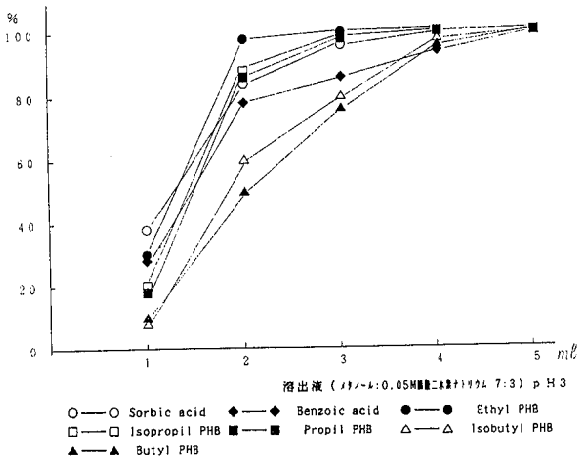


図3 セツパック溶出液量と各保存料の溶出率

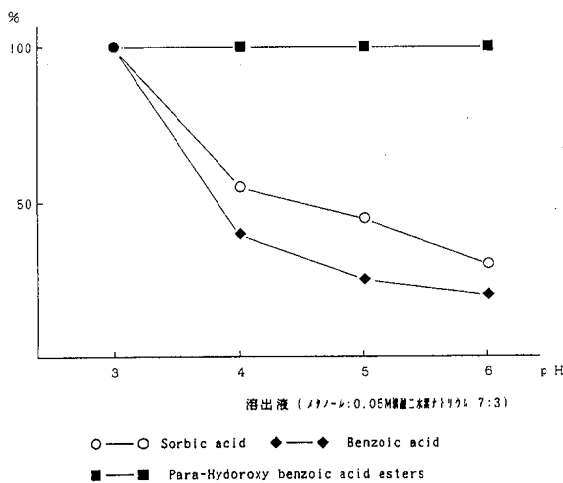


図4 セツパック溶出液のpHと各保存料の溶出率

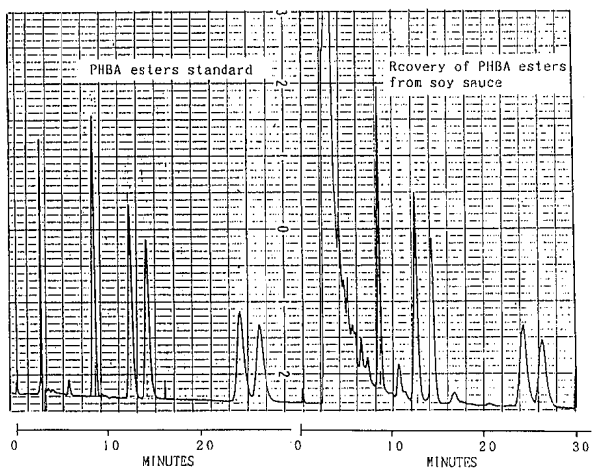


図5 パラオキシ安息香酸エステル類の醤油に対する添加回収クロマトグラム

pH 5 ではいずれも50%以下となった。一方パラオキシ安息香酸エステル類はpH 3~6 で溶出率に変化はなかった。また、妨害物質の溶出量はpHが高くなるほど少なくなる傾向が見られた。従ってパラオキシ安息香酸エステル類のみを分析するときは溶出液のpHをできるだけ高くした方が妨害物質の影響は少なくなる。図5に溶出液のpH5.5でパラオキシ安息香酸エステル類を醤油に対して添加回収したときの高速液体クロマトグラムを示した。図のように妨害ピークの大きいものはエテルのピークの前に出終り、いずれのピークにも余り影響がなかった。図6に前処理法のフロシートを示す。

試料(醤油, ソース) 2 ml 固形試料10g+同量水で
 ホモジナイズ後 2 g採取

0.01M CTAを含む0.05M 燐酸バッファー pH 4

10mlを加える。

全量の水で20ml

必要ならば3000rpmで10minの遠心分離

10mlをセツパックC₁₈カラムに吸着

水10mlで洗浄

メタノール:0.05M 燐酸二水素ナトリウム(7:3)
 pH 3 5 mlで溶出

(パラオキシ安息香酸エステル類のみのとき
 pH 5.5で溶出)

全量を0.01M CTAで10ml

20 μlを液クロに注入

図6 保存料分析の前処理操作

3. 検量線

ソルビン酸、安息香酸及び5種類のパラオキシ安息香酸エステル類の標準原液を移動相で希釈し、安息香酸、パラオキシ安息香酸エステル類についてはそれぞれ2 μg/ml, ソルビン酸については1 μg, 4 μg, 6 μg/ml ソルビン酸については1 μg, 2 μg, 3 μg/mlを含む標準液を作成した。この溶液20 μlを高速液体クロマトグラフに注入し、検量線を作った。検量線を図7に示す。図のようにソルビン酸、安息香酸、パラオキシ安息香酸エステル類すべてについて2~6 μg/ml (ソルビン酸については1~3 μg/ml)の範囲で良好な直線性を示した。

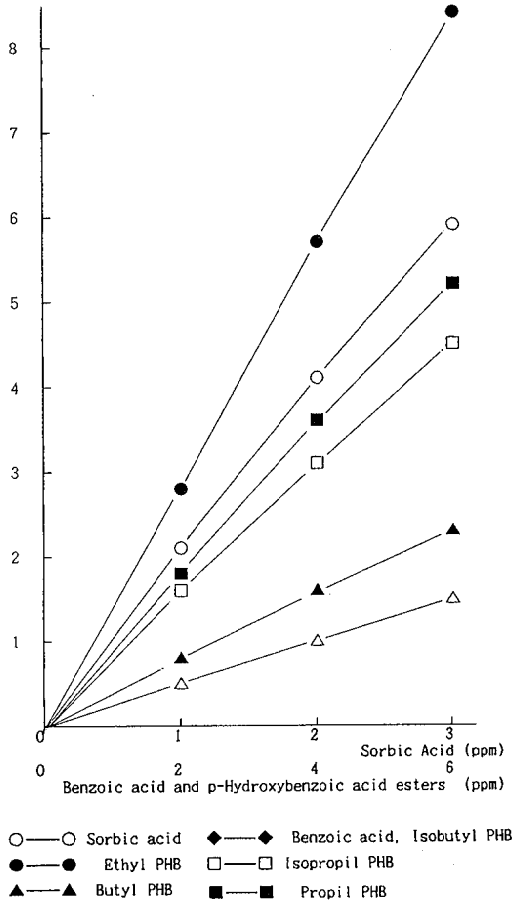


図7 ソルビン酸, 安息香酸, パラオキシ安息香酸エステル類の検量線

4. 添加回収試験

市販の醤油とソースに7種類の保存料を添加し、回収率を求めた、予め保存料が添加されていないことを確認した醤油, ソースそれぞれにソルビン酸, 安息香酸, 5種類のパラオキシ安息香酸エステル類を50 μ g/ml及び25 μ g/ml(ソルビン酸については25 μ g/ml及び12.5 μ g/ml)添加し, 測定方法に従って処理し, 回収率を求めた。表1に示すように醤油, ソースともに全ての保存料については, ほぼ100%の良好な回収率が得られた。

5. 他の分析法との比較検討

ソルビン酸, 安息香酸, パラオキシ安息香酸エステル類の分析は公定法として紫外外部吸収法, ガスクロマトグラフ法が定められている。紫外外部吸収法では水蒸気蒸留後, 留液をエーテル抽出, 炭酸水素ナトリウム溶液転溶操作を繰り返し, 妨害物質を除去後, バッファーを加え紫外部の吸光度を測定する。これは安息香酸, パラオキシ安息香酸エステル類, ソルビン酸の紫外部極大ピークが図8に示すようにそれぞれ230nm, 255nm, 265nm付近になり, ピークが重なるため, これらを個別に分離した後, 測定しなければならぬからである。このように抽出作業を繰り返すことは操作が繁雑であるばかりでなく, 回収率の低下の原因となる。これに比べ高速液体クロマトグラフ法はカラムにより, 各保存料が分離される

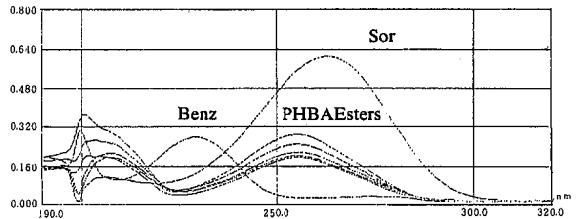


図8 合成保存料の紫外外部吸収スペクトル

表1 ソルビン酸, 安息香酸, 安息香酸エステル類の醤油, ソースに対する添加, 回収率

	醤油			ソース		
	添加量(μ l/ml)	検出量(μ l/ml)	回収率(%)	添加量(μ l/ml)	検出量(μ l/ml)	回収率(%)
ソルビン酸	50.0	49.5	99	50.0	51.5	103
安息香酸	50.0	48.3	96.6	50.0	46.8	93.6
安息香酸エチル	50.0	51.5	103	50.0	50.4	101
安息香酸イソプロピル	50.0	50.0	100	50.0	54.0	108
安息香酸プロピル	50.0	52.5	105	50.0	51.0	102
安息香酸イソブチル	50.0	50.0	100	50.0	47.8	95.6
安息香酸ブチル	50.0	50.0	100	50.0	47.6	95.2
ソルビン酸	25.0	23.3	93.2	25.0	24.5	98
安息香酸	25.0	21.5	84	25.0	23.0	92
安息香酸エチル	25.0	26.3	105	25.0	25.7	103
安息香酸イソプロピル	25.0	25.0	100	25.0	25.0	100
安息香酸プロピル	25.0	23.8	95.2	25.0	24.4	97.6
安息香酸イソブチル	25.0	24.0	96.0	25.0	25.0	100
安息香酸ブチル	25.0	22.2	88.8	25.0	25.0	100

ため、240nm吸光度測定で個別一括定量が可能である。表2は魚、食肉製品のソルビン酸を水蒸気蒸留紫外外部吸収法、水蒸気蒸留液クロ法、セップパック液クロ法により分析した測定値を比較したものである。分析対象検体は液クロにより予めソルビン酸単独使用が確認されていたため、水蒸気蒸留後そのままバッファーを加え、265nmを測定した。水蒸気蒸留液クロ法は留液をセップパックカラム溶出液で希釈して液クロにより分析した。表のように、3つの方法による分析の測定値は良く一致した。

表2 ソルビン酸の水蒸気蒸留とセップパック法による分析結果の比較

検体名	水蒸気蒸留UV法	水蒸気蒸留液クロ法	セップパック液クロ法(g/kg)
ちくわ	0.83	0.80	0.84
ウインナーソーセージ	1.47	1.47	1.52
ポークソーセージ	1.55	1.45	1.47

ガスクロマトグラフによる個別定量法では従来型とパックドガスクロマトグラフ法によるものとキャピラリーガスクロマトグラフ法(図9)によるものがあるが、バ

ックドガスクロマトグラフ法では検出感度が50ppmと低い。またキャピラリーガスクロマトグラフ法では検出感度は5ppmと従来型のものに比べて約10倍も高く、各保存料の分離も良いが、セップパック法による前処理では精製が十分ではなく、ライナーやカラムを汚す可能性があるため、水蒸気蒸留、エーテル抽出操作が必要である。これらの方法に比べて高速液体クロマトグラフ法は感度も2ppmと高く、セップパック法による前処理で十分妨害物質を除去できるため、操作も簡単であり、今後ルーチン法として有力である。

5. まとめ

前処理にセップパック法を用いた高速液体クロマトグラフ法により7種の合成保存料の一斉分析法について、検討したところ良好な結果が得られた。醤油、ソースについての回収率はほぼ100%であった。ソルビン酸については水蒸気蒸留紫外外部吸収法による測定値と良く一致した。又、高速液体クロマトグラフ分析時間も30分以内であった。

参考文献

- 1) 食品衛生検査指針 食品中の食品添加物の分析法 社団法人日本衛生協会編
- 2) 寺田久屋・衛生化学・29・297
- 3) 松永明信・衛生化学・31・269
- 4) 橋本泰明・食品衛生研究・Vol・41, No.10

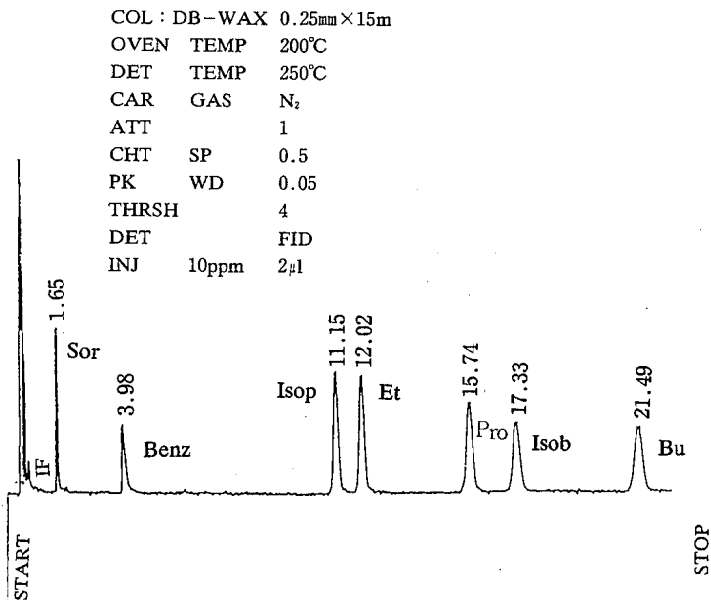


図9 合成保存料のキャピラリーガスクロマトグラム

6. GC-MS. SIMによる穀類中のニバレノール, デオキシニバレノールの分析

高槻圭悟

Key words : nivalenol, deoxynivalenol, gas chromatograph-mass spectrometry, selected ion monitoring

Summary

Gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of nivalenol and deoxynivalenol in grain was developed using selected ion monitoring mode. Sample was extracted with acetonitrile - water (3 : 1), water was removed by salting out, and organic extract was evaporated off. The residue was cleaned up with Florisil column chromatography, then trimethylsilylated. The derivatized nivalenol and deoxynivalenol were determined by GC-MS SIM using capillary column. The detection limit was 3 ppb in sample.

1. 序

フザリウム属カビの産出する赤カビ毒である、ニバレノール(NIV), デオキシニバレノール(DON)は、トリコテセン系マイコトキシンである。主に小麦、大麦、とうもろこし等の穀類に発生するカビであり、中毒症状としては、皮膚炎症、下痢、嘔吐、内臓出血、流産、急性毒性としては、白血球減少症、神経毒性等が知られている。日本や西独、ヨーロッパ産の穀類の大半はNIV, DON双方に汚染されているが、アメリカ、カナダ産の小麦、大麦、とうもろこしは、DON汚染のみがみられ、トキシンの産生に地域差がみられる。日本ではトリコテセン系マイコトキシンの食品中濃度に関する規格基準はないが、カナダでは小麦中のDON 2 ppm以下(子供用は1 ppm以下)、米(FDA)では小麦最終製品 1 ppm以下、製粉前の小麦 2 ppm以下、家畜飼料 4 ppm以下という規格基準が定められている。従ってNIV, DON等のトリコテセン系マイコトキシンについて、その毒性や汚染される食品の範囲の広さを考えれば、日常食品について常時監視する必要があると考えられる。NIV, DONはそれぞれ図1の構造をもっており、かなり極性の強い分子構造であるため、これらの分析法としては、1970年代には主に薄層クロマトグラフ法が用いられていたが^{1),2)}、1980年代になり揮発性誘導体に変換後ガスクロマトグラフ法(GC法)により定性定量を行う方法が開発され³⁻⁶⁾、この方法が主に使われている。誘導体としては、トリメチルシリル体が最も多く、厚生省監修の(準)公定法⁷⁾でもこれが用いられている。検出器としては感度の点から電子捕獲検出器が使われている。我々は概ねこの方法に準拠して抽出精製の分析操作を行ったが、電子捕獲検出器によるクロマトグラムには多数の共存物質によるピークがみられて妨害となり、分離が良好とはいいがたく、検出器の汚染による劣化もはやいという欠点が見られた。そこで四重極型質量分析器を検出器として用いたガスクロマトグラフ-質量分析法(GC-MS法)による

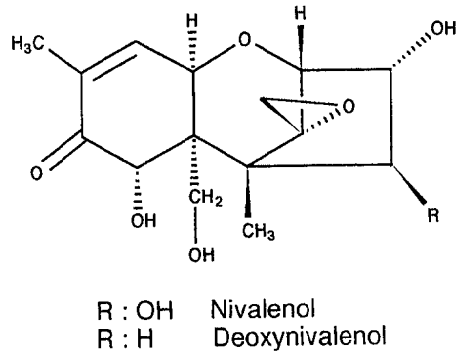


図1 ニバレノール, デオキシニバレノールの構造

Selected Ion Monitoring法(SIM法)を検討し、精度、感度、ともに良好で結果の確実性も高い分析法を得ることができた。

2. 方法

2.1 試薬

アセトニトリル、クロロホルム、メタノール、酢酸エチル-残留農薬分析用(和光純薬製)
硫酸アンモニウム、トリメチルシリルイミダゾール、トリメチルクロロシラン-試薬特級(和光純薬製)
Trisil-Z (Pierce社製)
カラム用フロリジル-80-100mesh (和光純薬製)
ニバレノール(NIV), デオキシニバレノール(DON)-標準品(和光純薬製, 和光144-04651, 048-18631)
NIV, DON標準溶液-NIV, DON, それぞれ5.0mgを精秤し、メタノール5 mlを加えて溶かしさらにクロロホルムを加えて容量50mlとして100ppmの標準溶液を得る。

シリル化剤—トリメチルシリルイミダゾール—トリメチルクロロシラン—酢酸エチル (1 : 0.2 : 9)

2.2 装置

カラムクロマトグラフ用カラム—ガラス製, 15mm×30cm, 溶媒ため, グラスフィルター, テフロンコック付きシリル化反応容器—Reacti Vial (Pierce社)

ガスクロマトグラフ用カラム—DB-5 (0.25mm×15m, 膜厚0.25 μ m) (J&W社)

GC-MS-HP5890 GC, HP5970BMS, HP59970 MS Chemstation computer software (Hewlett-Packard社)

2.3 GC-MS. SIM条件

Carrier Gas - Helium 5psi

Column Temp. - 100°C, 2 min, 100 - 200°C, 30°C/min, 220 - 270°C, 20°C/min

Inj Temp. - 270°C, Inj Valve on 2 min,

Splitless

Transfer Line Temp. - 260°C

SIM Ions

NIV-TMS : m/z 289, 261, 290, 379

DON-TMS : m/z 197, 259, 295, 287

2.4 抽出, 精製, シリル化

試料20gにアセトニトリル—水 (3 : 1) 200mlを加え, 30分間しんとう抽出を行う。ろ紙濾過し, 濾液にアセトニトリル—水 (3 : 1) を加えて200mlにメスアップする。この100mlを分取 (試料10g相当) し, 硫酸アモニウム15gを加えて3分間しんとうする。分離した水層を捨てて有機層を硫酸ナトリウム上乾燥後, 溶媒を溜去する。

カラムにフロリジル5gを充填しさらに硫酸ナトリウムを積層後クロロホルム20mlで洗浄する。抽出物をクロロホルム5mlに溶かし上のカラムに負荷, 残さを更にクロロホルム3mlで洗浄しカラムに加える。クロロホルム40mlの溶出液を捨て, クロロホルム—メタノール (5 : 1) 50mlの溶出液を集め溶媒を溜去する。残留物をクロロホルム3mlに溶かしその1.5ml (試料5g相当) をReacti Vialにとり, 40°Cに過熱しつつ窒素ガスを吹き込んで溶媒を溜去する。シリル化剤200 μ lを加え室温で15分放置する。この溶液をSec2.3の条件に設定したGC-MSに注入し測定を行う。

2.5 検量線用標準溶液の作製

NIV, DONの標準溶液 (100ppm) をそれぞれ100, 50, 10 μ lずつ10ml試験管にとり40°Cに過熱しつつ窒素気流を吹き込んで溶媒を溜去する。これにシリル化剤1mlを加え室温で15分おいて反応させる。10, 5, 1ppm用標準溶液としてGC-MSに注入し, 検量線を作製する。

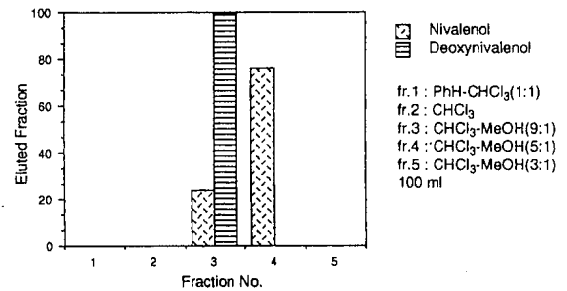
2.6 GC-MS. SIMによる定性, 定量

2.3節の条件にセットしたGC-MS装置に2.4及び2.5節で得られた測定液を注入し, SIMクロマトグラムを得る。標準品の保持時間との一致及び各質量数のSIMクロマトグラムのピーク面積の比率がそれぞれの化合物のマススペクトル相当イオンの強度比と一致することをもつ

て定性を行ない, ピーク面積を検量線と比較して測定液の濃度を産出する。測定液濃度の1/25が試料中濃度である。

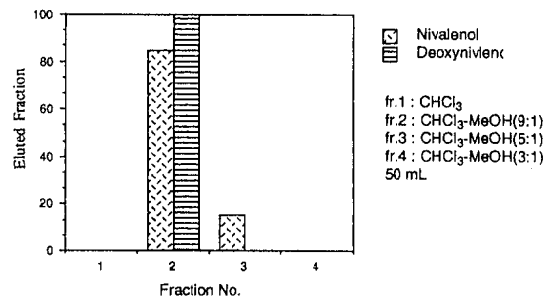
3. 結果と考察

試料からの抽出液はかなり夾雑物を含みなんらかのクリーンアップ操作が必要である。かなり複雑なカラムがもちいられた文献⁹⁾もみられるが, フロリジルカラムを用いたものが最も操作も簡便であり効果も高いと思われた。しかしクロロホルム—メタノール溶離液で通過させるだけのクロマトグラフィー⁹⁾では効果が不十分であると考えられ, NIV, DONのフロリジルカラムからの溶出条件の検討を行った。NIV, DONそれぞれを0.2 μ gずつフロリジル10gおよび5gに負荷し溶出させたときのパターンが図2および図3である。フロリジル10gの場合



Elution from Florisil Column (10g)

図2 NIV, DONのフロリジルカラム (10g) からの溶離パターン



Elution from Florisil Column (5g)

図3 NIV, DONのフロリジルカラム (5g) からの溶離パターン

には各溶離液を100mlずつ使用し, フロリジル5gの場合は50mlずつである。どちらの条件でもクロロホルム—メタノール, 9 : 1から5 : 1の溶離液でNIV, DONともに溶出している。クリーンアップ効果には差がさほどみられず, 溶媒の使用量が半分で済む図3の条件を用いることにした。

GLCに適応させるための誘導体としては, 文献⁹⁾でもアセチル化, メチル化, トリメチルシリル化等が試みられているが, シリル化が良好な結果を与え多用されてい

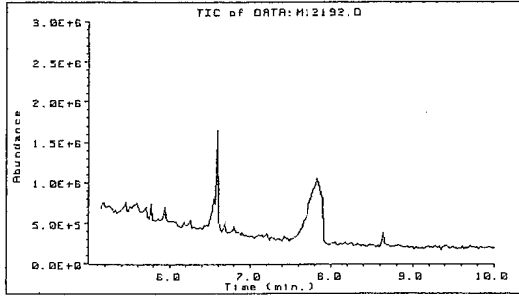
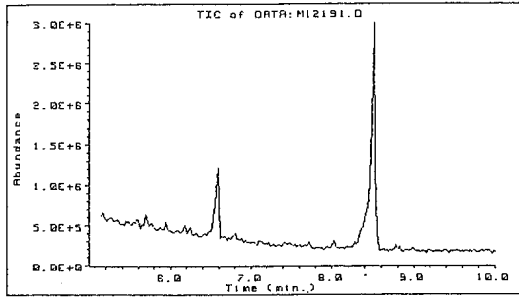


図4 Trisil-ZによるNIV-TMS(上)及びDON-TMS(下)のGC-MS, トータルイオンクロマトグラム

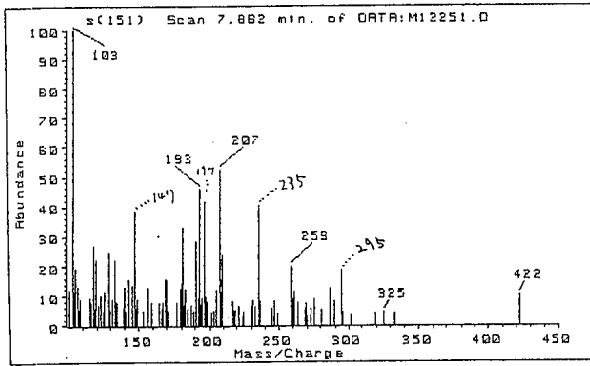


図5 NIV-TMSのマスペクトル

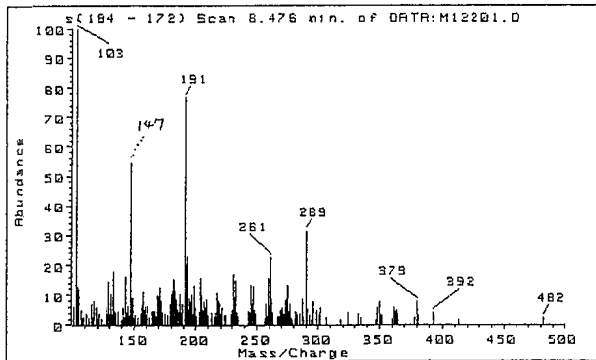


図6 DON-TMSのマスペクトル

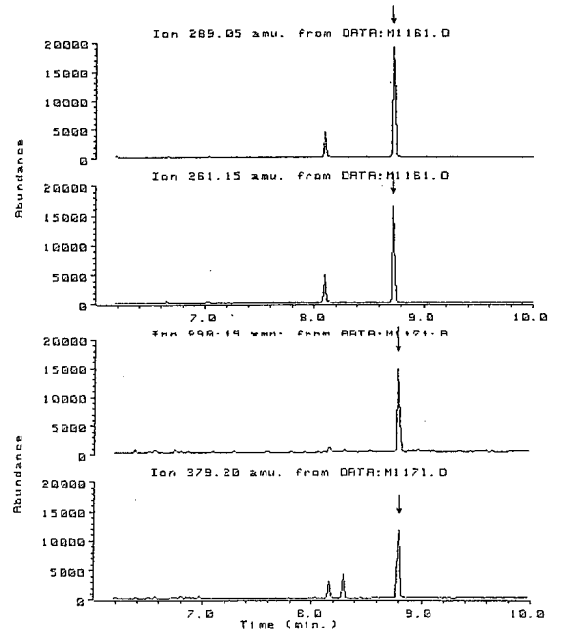


図7 NIV-TMS標準 (1 ppm, 2 μ l) のSIMクロマトグラム

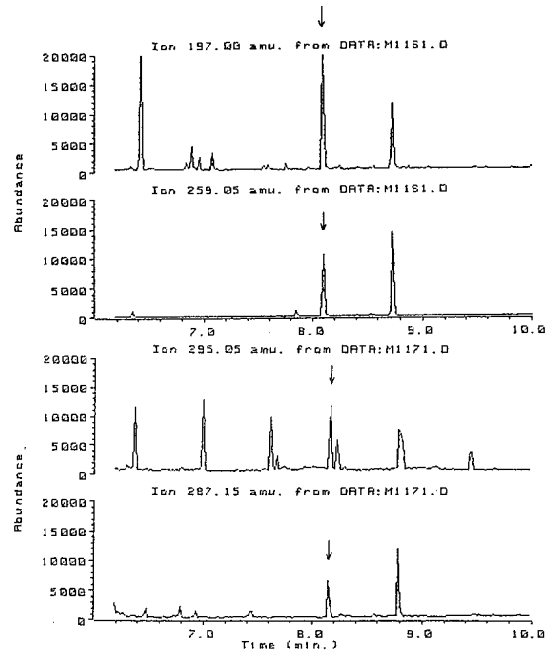


図8 DON-TMS標準 (1 ppm, 2 μ l) のSIMクロマトグラム

る。そこで最も簡便なシリル化法として、市販されているシリル化剤Trisil Z（ヘキサメチルジシラザンとトリメチルクロロシランのピリジン溶液）を用いてNIV, DONのシリル化を室温4時間の条件でおこなった。得られた溶液をGC-MS測定（トータルイオンクロマトグラフ法, TIC）したところ、双方のピークが観測されたもののリーディングの強い（特にDON）ブロードなピークであった（図4）。（DB-5, 15mカラム）。また10 ppm溶液2 μl注入ではピークがみられたものの0.5 μlに注入量を減らすと全くピークが見られなくなった。反応温度を80℃にあげてみたがやはり同様な結果しか得られず、この条件は不適切であることがわかった。そこで文献⁹⁾に従いトリメチルシリルイミダゾールトリメチルクロロシラン-酢酸エチル（1：0.2：9）の溶液を作

り室温15分の反応を行ったところ、収率も良くNIV, DONともに鋭い良好なピークのクロマトグラムを得ることができた。この条件で得られた各シリル体のマススペクトルは図5, 6である。両スペクトルにおいてm/z73のイオン（トリメチルシリルイオン）がm/z103の約5倍の強度でみられ、他のイオンの相対強度がひくくなりすぎるので、このイオンを省略し、m/z100以上をとったスペクトルとした。このスペクトルからSIM検出イオ

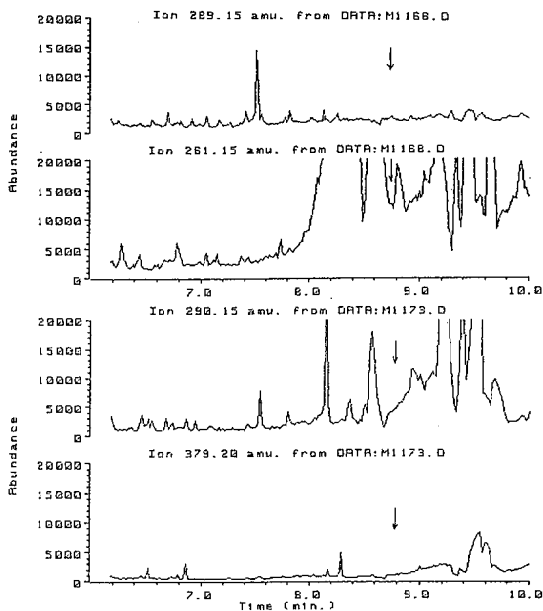


図9 うどん抽出液のSIMクロマトグラム
NIV：ND（矢印はNIV-TMSの保持時間）

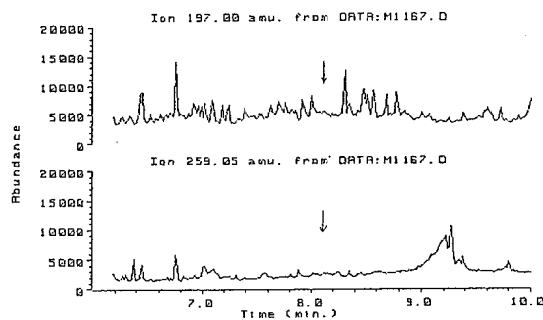


図10 うどん抽出液のSIMクロマトグラム
DON：ND（矢印はDON-TMSの保持時間）

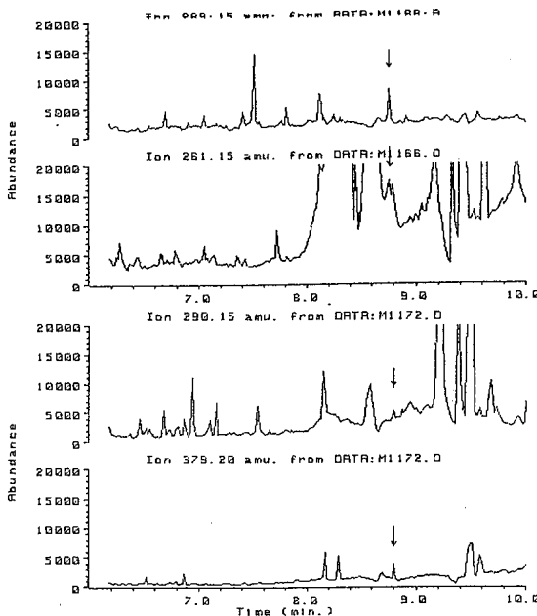


図11 うどん抽出液のSIMクロマトグラム
NIV：0.012ppm検出（矢印はNIV-TMS）

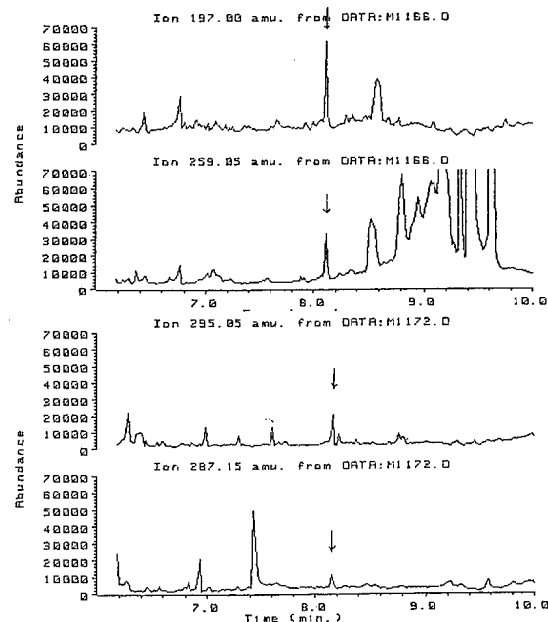


図12 うどん抽出液のSIMクロマトグラム
DON：0.102ppm検出（矢印はDON-TMS）

ンとして使用可能と考えられる次のイオンを選択した。NIV-TMS: 279, 349, 289, 261, 191, DON-TMS: 295, 287, 261, 259, 235, 197。上に選んだSIMイオンを用いて実際の試料(小麦製品)の抽出液について測定したところ、かなり妨害がおおきく使用できないイオンもあった。NIV-TMSでは、m/z379, 289が全サンプルに可、290は近接ピークがみられるものの使用可、261は一部試料のみ可となった。m/z191は全く使用出来ず、349は感度が低く実用にならなかった。DON-TMSについては、m/z295, 259, 197は使用可であり、287も殆どの試料で使用できたが、261、及び235は妨害がおおきく使用できなかった。標準品のシリル誘導体のSIMクロマトグラムが図7, 8である。またNIV, DONともに検出されなかった試料(うどん)のSIMクロマトグラムが図9, 10であり、矢印がそれぞれNIV-TMS, 及びDON-TMSの保持時間を示す。またNIVが0.012ppm, DONが0.102ppm検出された試料(うどん)のSIMクロマトグラムが図11, 12である。NIV-TMSのm/z261のイオン

によるクロマトグラムにおいて、大きなピークに重なっているが、他のクロマトグラムでは良好に分離しており、定性、定量ともに確実性の高い結果が得られていると思われる。SIM検出による定性確認を行うためには、最低3イオンによるクロマトグラムにおいて、保持時間が一致することと、ピーク面積(高さ)の比率がマススペクトルのイオン強度の比率と一致することが求められているが⁹⁾、上記のクロマトグラムはこの条件を満たしていると考えられる。

平成3年度に小麦、小麦製品10件について分析した結果は表1であり、約半数に検出され、DONの方が濃度が高い傾向がみられる。いずれもカナダ、アメリカの基準と比較すれば、1/10以下であったが、なお今後ともトリコテセン系カビ毒の毒性及び発生頻度を考えれば、穀類等を中心に監視の必要があると考えられる。その分析法として上記のGC-MS, SIM法は、スクリーニング及び確認を兼ねた方法として有用であると考えられる。

表1 食品中のニバレノール, デオキシニバレノールの検査結果(平成3年度)

No.	食品名	ニバレノール濃度(ppm)	デオキシニバレノール濃度(ppm)	製造年月日
1	天ぷら粉	0.003	0.009	91. 11. 14
2	小麦粉(強力)	ND	0.015	91. 10. 4
3	小麦粉(薄力粉)	0.009	0.005	91. 10. 22
4	パン粉	0.004	0.002	91. 11. 20
5	うどん(乾)	0.012	0.102	91. 8. 27
6	うどん(生)	ND	ND	91. 12. 10
7	うどん(業務用)	ND	0.025	
8	スパゲッティ	ND	ND	91. 9. 30
9	パスタ	ND	ND	91. 11. 18
10	マカロニ	ND	ND	91. 10. 26

参考文献

1) C. O. Ikediobi, I. C. Hsu, J. R. Bamburg, F. M. Strong, Anal. Biochem., 43, 327 (1971)
 2) L. Stoff, Clinical Toxicology, 5, 465 (1972)
 3) 田中邦幸, 天野立爾, 川田公平, 田辺弘也, 食衛誌., 15, 195 (1974)
 4) T. Tanaka, H. Hasegawa, Y. Matsuki, U. -S. Lee, Y. Ueno, J. Chromatogr., 328, 271 (1985)

5) 隠地義樹, 宇野正清, 永美大志, 土肥祥子, 森山忠重, 食衛誌., 28, 50 (1987)
 6) 杉本貞三, 山本公一, 南沢正敏, 食衛誌., 28, 69 (1987)
 7) 厚生省生活衛生局監修, 「食品衛生検査指針理化学編」p.257, 日本食品衛生協会(1991)
 8) J. A. Sphon, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 61, 1247 (1978)

7. GC-MS. SIMによる牛肉中のプロゲステロン, テストステロン, エストラジオールの分析法

高槻 圭悟 佐藤 勤

Key words : progesterone, testosterone, estradiol, beef, GC-MS. SIM

Summary

A simple and rapid gas chromatographic-mass spectrometric (GC-MS) method for the determination of residual progesterone, testosterone, and β -estradiol is described. Progesterone and testosterone are analyzed without derivatization, and estradiol is converted to methyl ether for GC-MS analysis. A sample is homogenized and extracted with acetonitrile, and water in the extract is removed by salting out. After clean-up with silica gel column chromatography, estradiol is methylated with methyl iodide in dimethylformamide in the presence of potassium carbonate and ultrasonication. Progesterone, testosterone, and estradiol methyl are confirmed and quantitated using GC-MS selected ion monitoring mode. The detection limit is 0.005 ppm in sample and recoveries from beef fortified at 0.1 ppm : progesterone, 102% (RSD 6.5%), testosterone, 97% (RSD 2.1%), estradiol, 102% (RSD 8.6%) .

1. 序

近年蛋バク同化ホルモン剤が、牛飼育の際の成長速度及び肥育効果の向上の目的で使用されている。天然のステロイドホルモンと合成肥育剤が種々の国で使用されているが、EC各国ではこれらの使用は完全に禁止されている。日本では天然ホルモンであるプロゲステロンとエストラジオールの使用が許可されている。

これらの薬剤の強い生理的効果に鑑み、牛肉中の残留は健康上の問題となる可能性がある。従って簡単に感度が高く信頼性のある分析法が、牛肉中の残留ホルモン剤の監視及び確認に必要である。現在までに薄層クロマトグラフィー¹⁾、ガスクロマトグラフィー²⁾、液体クロマトグラフィー^{3)~7)}、などの報告がみられる。またガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS) が液体クロマトグラフィーによるスクリーニング後の確認に用いられ^{8),9)}、最初からのスクリーニングと確認の両方に用いられている例もある⁹⁾。これらのトピックスに関する総説が、1976年J. J. Ryanにより書かれている⁹⁾。

GC-MSはその感度及び選択性の良さから、問題となっている化合物の定性並びに定量分析の最も優れた微量分析機器と考えられる。しかも近年GC-MS装置は、残留分析を行っている実験室にもかなり一般的に備えられるようになってきた。そこでGC-MSのSelected Ion Monitoring (SIM) 法を用いた牛肉中の残留蛋バク同化ホルモン剤の簡単かつ感度及び信頼性の高い分析法の開発を目的とした。

文献では、揮発性を上げてGC測定を容易にするため、ホルモン剤を誘導体に行っている¹⁰⁾。しかし誘導体化反応の操作が複雑になりがちであり、また最も多用されているトリメチルシリル誘導体は、加水分解を受けやすく不安定な面がある。そこで天然ホルモン剤であるプロゲステロン、テストステロン、エストラジオール (図1) を分析操作を最も簡単にするために誘導体化せずに、GC-MS分析することを試みた。プロゲステロンとテストステロンはGCキャピラリーカラムから誘導体化せずに溶出したが、エストラジオールはどうしても誘導体とすることが必要であり、フェノール性水酸基のメチル化

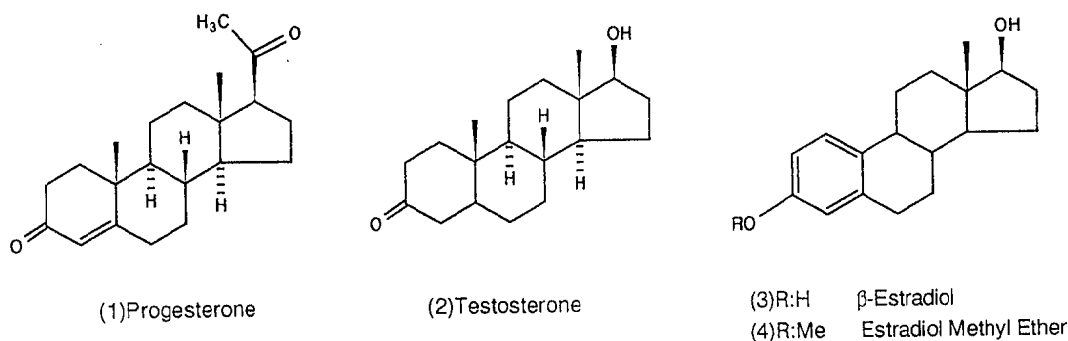


図1 プロゲステロン, テストステロン, エストラジオールメチルの構造

(図1, 4)が良好なGCピークを得るために最小限必要であることを見出した。この報告は牛肉中のプロゲステロン, テストステロン, エストラジオールの残留をppbレベルで分析するGC-MS.SIM法についてである。

2. 方法

2.1 試薬

アセトニトリル, ベンゼン, エタノール, 塩化メチレン, アセトン, エーテル, 硫酸ナトリウム, 一残留農薬分析用(和光純薬製)

塩化ナトリウム, DMF, ヨー化メチル, 炭酸カリウム, 一試薬特級(和光純薬)

カラム用シリカゲル-No.7734(メルク社), 140°Cで3時間加熱後デシケーターに保存。

プロゲステロン, テストステロン, エストラジオール-生化学用(和光純薬)

2.2 標準溶液

それぞれの標準原液は, 10mgのプロゲステロン, テストステロン, エストラジオールをアセトンに溶かし容量をアセトンで100mlとして作製する。分析用の標準溶液と添加用の溶液は, 原液をアセトンで希釈して作製する。

2.3 装置

カラムクロマト管-内径15mm, 長さ300mm, グラスフィルターとPTFEストップコック付き。

ホモジナイザー-Biotron RT 1020 350D(Biotron社, スイス)

超音波装置-Sono Cleaner Type 2421(海上電機)。

GCカラム-DB-5(0.25mm×15m, 0.25μm), (J&W社)。

GC-MS-GC5890, MS5970B, 直結方式, コンピューターシステム59970 MS Chemstation Software(以上Hewlett-Packard社)。

2.4 抽出と精製

試料10.0gを約5mm角に切り, 100mlの遠沈管に入れ, アセトニトリル20mlを加えてホモジナイズする。200rpmで10分間遠心分離した後, 上澄液を100ml分液ロートに分取する。遠沈管の残さにアセトニトリル20mlを加え, スパチュラで残さをくずし, 10分間振とうする。遠心分離後, 上澄み液を分液ロートに加える。ベンゼン10mlと塩化ナトリウム0.5gを加えよく混合した後静置して, 分離した水を捨てる。有機層は硫酸ナトリウムで乾燥後, 100mlナシ型フラスコに入れ, ロータリーエバポレーター(45°C)を用いて溶媒を溜去する。

カラムクロマト管にシリカゲル5gを詰め上に硫酸ナトリウム1gを重ねる。ベンゼン15mlで洗浄後, 抽出物をベンゼン2mlずつ2回を使ってカラムに負荷する。塩化メチレン50mlで洗浄後, 塩化メチレン-エーテル(5:1)50ml溶出液を100mlナシ型フラスコに集め溶媒を溜去する。

2.5 メチル化

DMF1mlをナシ型フラスコに加え残留物を完全に溶か

し, 10ml栓つき試験管に定量的に移す。フラスコをDMF 0.2mlで洗い, これも試験管に加える。ヨー化メチル20μlと炭酸カリウム約50mgを加え, 栓をする。内容物をよく混合したのち, 室温で30分超音波にかける。水7mlを加え, 塩化メチレン2mlで2回抽出する。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後, 40°Cに加温しつつ窒素気流で溶媒を溜去する。残留物をアセトン1mlに溶かしGC-MS測定溶液とする。

2.6 標準エストラジオールメチルの作製

エストラジオール標準溶液の0.1から1.0ppm溶液の1mlを10ml試験管にピペットで分取する。溶媒を40°Cに加熱しつつ窒素気流で溜去し, DMF1ml, ヨー化メチル20μl, 炭酸カリウム約50mgを加え, 栓をする。内容物をよく混合したのち, 室温で30分超音波にかける。水7mlを加え, 塩化メチレン2mlで2回抽出する。抽出液を硫酸ナトリウムで乾燥後, 40°Cに加温しつつ窒素気流で溶媒を溜去し, 残留物をアセトン1mlに溶かし, GC-MS測定溶液とする。

2.7 GC-MS分析

GC-MS装置を次の条件に設定する。Injection: 270°C, Column: 100°C, 2分, 100-190°C, 30°C/分, 190-270°C, 20°C/分, Transfer Line: 260°C, Carrier Gas (Helium) Head Pressure: 5 psi。

SIMイオン: プロゲステロン, m/z 314, 272, 229, テストステロン, m/z 288, 246, 289, エストラジオールメチル, m/z 286, 258, 287。スプリットレスインジェクション(2分)。

標準溶液, (0.1-1.0ppm)の2μlをGC-MS装置に注入し, m/z 314, 286, 288のSIMクロマトグラムからそれぞれの化合物の検量線を作製する。試料溶液2μlを注入し, 検出イオンと保持時間によりホルモン剤の定性を行ない, ピーク面積を検量線と比較して定量を行なう。検出されたホルモン剤は, その3個のSIMクロマトグラムのピーク面積の比率が, 標準溶液の比率と±20%の範囲で一致することにより確認を行う。

3. 結果と考察

文献ではステロイドホルモンの揮発性誘導体がGCカラムからの溶出を容易にするために使われている。例えば, 水酸基はトリメチルシリル エーテルやフルオロアセテートに, カルボニルは, メトキシムに, 隣接水酸基はボロニックエステルに変換されている^{9), 10), 11)}。残留ホルモン剤の簡単に信頼性の高いGC-MS分析法を開発することを考えた。そこでプロゲステロン, テストステロン, エストラジオールを誘導体化せずに, キャピラリーカラムから溶出させることを試みた。プロゲステロンとテストステロンはメチルシリコンまたは5%フェニルメチルシリコンを固定相液体とするキャピラリーカラムを用いて鋭い対称性の良いピークを与えた。しかしエストラジオールは, 20ngの注入ではテーリングのはげし

いピークとなり、1-2 ngの注入では全くピークがみられなかった。従ってGCカラムからスムーズに溶出させ微量分析を行なうためには、エストラジオールの誘導体が必要であった。トリメチルシリル体が最も使われているが、これは加水分解をうけやすく、またシリル化剤がキャピラリーカラムを劣化させる例もみられたので、他の誘導体を試み、ヨー化メチルによるフェノール性水酸基（酸性）のメチル化が有効であることを見いだした。エストラジオールのモノメチル誘導体（図1、4）は、鋭い対称性のよいピークを与え、安定性も高く取り扱いも容易であった。しかし汚れたあるいは劣化したカラム

を用いると、テストステロンとエストラジオールメチルはテーリングしたピークを与えたので、カラムのコンディションには常時注意する必要がある。

エストラジール10 μgを使用してメチル化の反応条件を検討した。アセトン溶媒中ヨー化メチルと炭酸カリウムを加え、室温で1.5時間反応させたが、生成物はみられなかった。そこで50°Cで1.5時間反応させたところ、74%の収率でメチル誘導体が得られた。しかし超音波を反応混合物にあてたところ、非常に効果的にこの反応を促進することが分かり、室温30分の反応で定量的にメチル誘導体が得られることがわかった。これは標準品での反

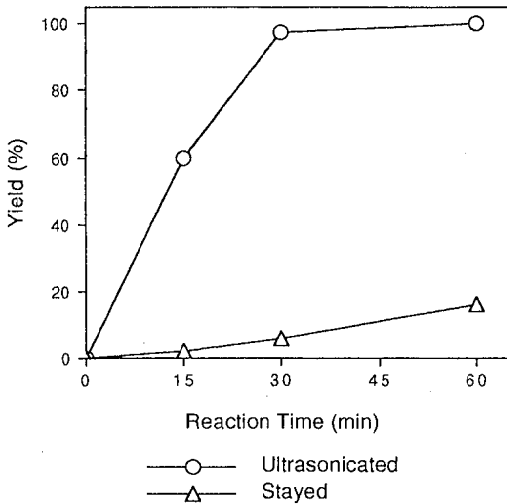


図2 エストラジオールのメチル化反応速度
ヨー化メチル/炭酸カリウム
DMF, 室温

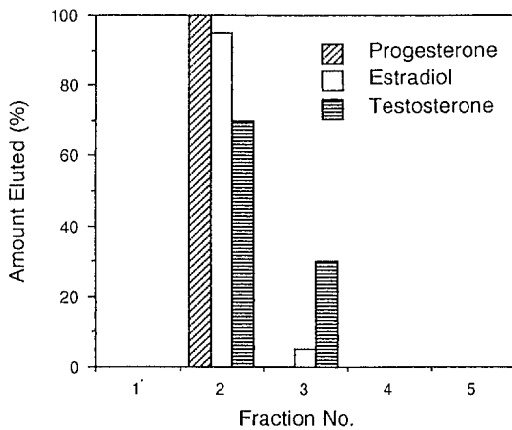


図3 シリカゲルカラムからのプロゲステロン、テストステロン、エストラジオールの溶離パターン

溶離液：1, 塩化メチレン
2, 塩化メチレン-エーテル (7 : 1)
3, 同 (5 : 1)
4, 同 (3 : 1)
5, 同 (1 : 1)

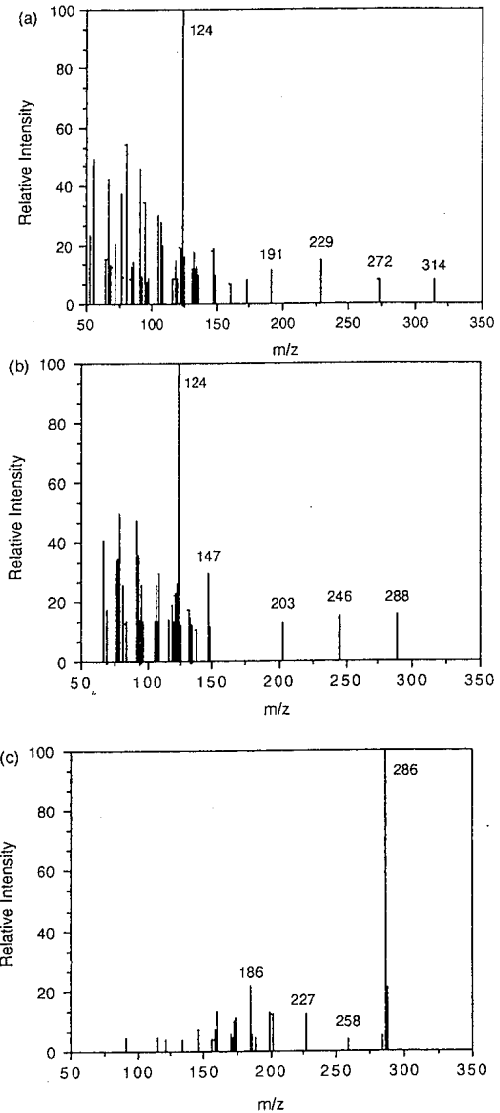


図4 マスペクトル

- (a) プロゲステロン
- (b) テストステロン
- (c) エストラジオールメチル

応であるが、牛肉の抽出物が共存する条件では、シリカゲルカラムを用いて精製した後も、メチル化の収率が40%以下に低下してしまつた。他の反応溶媒を探し、DMFを用いたところ、室温30分超音波を照射することにより、メチル化が完全に終了することが分かった。DMF溶媒中で超音波を照射しない場合には、5.8%の収率しか得られなかつた。この反応速度は図2に示した。

アセトニトリルは牛肉組織中によく浸透し、3種のホルモン剤の溶解度もよく、共抽出される脂肪分の量も少ないため、抽出溶媒として用いることにした。宮崎らはこの溶媒を、牛肉中の15種のホルモン剤の高速液体クロマトグラフ法による分析法に用いて、80%以上の回収率を得ている⁷⁾。

精製操作を簡略にするために、抽出液のn-ヘキサン洗浄は省略し、シリカゲルカラムを行なう事にした。図3は3種のホルモン剤のシリカゲルカラムからの溶出パターンを示している。これにより、抽出物をシリカゲルカラムに負荷後、塩化メチレンにより共抽出された脂肪分を溶出させた後、塩化メチレン-エーテル(5:1)

によって3種のホルモン剤を溶出させる条件を確立した。

図4はプロゲステロン、テストステロン、エストラジオールメチルのマススペクトルであり、SIMの検出イオンはなるべく高マス領域の強いイオンから選んだ。Single Ion Monitoringは最も高感度を与えるが、Sphonは最低3個のイオンが、確認同定に必要であると述べている¹²⁾。そこで妨害のなるべく少ない3個のイオンを選んだ。このSIM検出の選択性により、精製操作を最小限にすることができた。

ブランクの牛肉抽出物のSIMクロマトグラムが図5であり、0.1ppm添加した試料の抽出物のSIMが図6である。矢印がそれぞれのホルモン剤の保持時間である。定量はそれぞれの分子イオンである、 m/z 314, 286, 288の3イオンによるクロマトグラムのピーク面積を検量線と比較することによって行った。検量線は、0.2-2.0ngの範囲で原点を通る直線として得られた。定性的確認は3個のSIMクロマトグラムに保持時間の一致したピークがみられ、その面積比が標準のクロマトグラムと±20%の範囲で一致していることで行った¹³⁾。

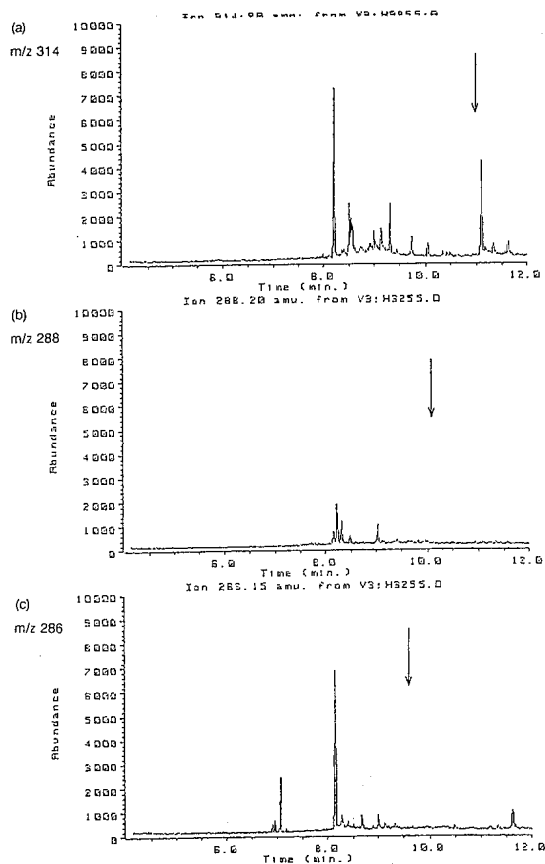


図5 牛肉ブランク抽出液のSIMクロマトグラム
矢印は(a)プロゲステロン、(b)テストステロン、
(c)エストラジオールメチルの保持時間

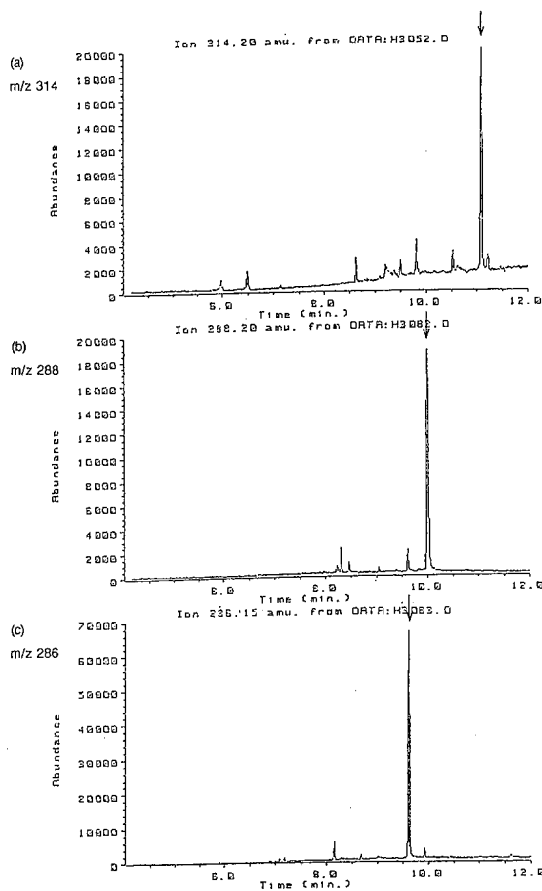


図6 牛肉0.1ppm添加抽出液のSIMクロマトグラム
矢印は(a)プロゲステロン、(b)テストステロン、
(c)エストラジオールメチルを示す。

表1 添加回収実験(牛肉 0.1ppm 添加)

	プロゲステロン	テストステロン	エストラジオール
	105	98	95
回収率 (%)	106	99	112
	94	95	100
平均回収率 (%)	102	97	102
相対標準偏差 (%)	6.5	2.1	8.6

0.1ppm添加による添加回収実験の結果は、表1に示し、検出下限は、装置の状態に依存するが、良好な条件下で試料中0.005ppmであった。

この簡易なGC-MS.SIMによる分析法は、日常のスクリーニング分析及び定性確認の方法として有効であると考えられる。この方法の合成ホルモン剤への応用を検討中である。

参 考 文 献

- 1) R.Verbeke, J.Chromatogr., 177 (1979) 69.
- 2) J.J.Ryan, J.A.Dupont, J.Agric.Food Chem., 23 (1975) 917.
- 3) G.J.-L.LEE, R.M.K, Carlson, S.Kushinsky, J.Chromatogr., 212 (1981) 108.
- 4) G.P.Cartoni, F.Coccioli, J.Chromatogr., 278 (1983) 144.
- 5) K.Fukuhara, Y.Matuki, T.Nambara, J.Food Hyg.Soc.Japan, 27 (1986) 517.
- 6) J.E.Roybal, R.K.unns, W.J.Morris, J.A.Hurlbut, W.Shimoda, J.Assoc.Off.Anal.Chem., 71 (1988) 263.
- 7) T.Miyazaki, T.Hashimoto, T.Murayama, M.Matsumoto, H.Nakazawa, J.Food Hyg.Soc.Japan, 30 (1989) 384.
- 8) H.-J.Stan, B.Abraham, J.Chromatogr., 195 (1980) 231.
- 9) J.J.Ryan, J.Chromatogr., 374 (1986) 53.
- 10) K.Ichimura, J.Chromatogr., 374 (1986) 5.
- 11) S.Paucher, P.Klein, J.Org.Chem., 46 (1981) 3558.
- 12) J.A.Sphon, J.Assoc.Off.Anal.Chem., 61 (1978) 1247.
- 13) G.W.Bruns, S.Nelson, D.G.Erickson, J.Assoc.Off.Anal.Chem., 74 (1991) 550.

8. 浄水処理工程におけるトリハロメタン生成特性（第2報）

－ 粒状活性炭槽と緩速ろ過の影響 －

高橋紀世子 大槻 良子 鈴木 康民
阿部 時男 白地 良一

キーワード：トリハロメタン，トリハロメタン生成能，急速ろ過，
緩速ろ過，粒状活性炭

トリハロメタンの生成能（THMFP）は凝集沈殿後の急速ろ過池では変化がないのに比較し、緩速ろ過池では沈殿池のTHMFPの3～4割が減少している。使用2年目の粒状活性炭槽を通過した水は、クロロホルムの破過が起きているが、THMFPは3～5割減少している。

1. はじめに

世界的に飲料水の水質管理体制は一層強化される傾向にあり、わが国においても平成4年12月に、水道法第4条に基づく水質基準に関する省令が改正になり、微量有機化学物質を中心に46項目が水質基準項目として定められた。

この内THMに関しては、従来の総トリハロメタン0.1mg/Lの基準値の他に、各トリハロメタンの単独の基準値が、クロロホルム0.06mg/L、ジブロモクロロメタン0.1mg/L、プロモジクロロメタン0.03mg/L、プロモホルム0.09mg/Lと規定された。また、将来にわたって水道水の安全性の確保を期すための監視項目として、26項目が指定され、ハロ酢酸、ハロアセトニトリル等の消毒副生成物も含まれている。これらのことから「安全でおいしい水」を考えるにあたり、浄水処理過程で生成するTHM等の消毒副生成物の低減化対策が必要とされている。

そこで前報¹⁾に引き続き、THM低減化対策の基礎検討として平成4年度は下記の調査を主に実施した。

(1) 浄化処理方法の相違によるTMN生成への影響

河南町山崎浄水場の急速ろ過方式と、桃生町神取山浄水場の緩速ろ過方式の相違によるTHM生成の影響を調査する。

(2) 活性炭処理のTHM生成への影響

夏場の異臭味対策として河南町山崎浄水場では、活性炭処理を実施しているが、この活性炭処理によるTHM生成への影響を調査する。

2. 調査方法

2.1 調査対象

- 1) 河南町上水道山崎浄水場系
- 2) 桃生町上水道神取山浄水場系

2.2 調査時期

1回目：平成4年5月20日

2回目：平成4年8月25日

3回目：平成4年11月24日

2.3 採水場所

1) 河南町上水道山崎浄水場系

(1)着水井(2)沈殿池出口(3)ろ過池出口(4)活性炭槽出口(8月のみ)(5)浄水池(6)給水栓末端(河南町北村 吉田宅)

2) 桃生町上水道神取山浄水場系

(1)着水井(2)沈殿池出口(3)ろ過池出口(4)配水池(5)給水末端(桃生町倉塚 鈴木宅)

2.4 分析項目

水温、濁度、残留塩素、pH、KMnO₄消費量、塩素要求量、THM生成能（THMFP）

2.5 分析方法

THM：前報¹⁾に準じる。

THMFP：前報¹⁾に準じる。

3. 調査結果及び考察

3.1 浄水処理工程におけるトリハロメタン生成特性

1) 河南町上水道山崎浄水場系

図1に河南町山崎浄水場系統図を示した。昨年度調査を実施した石巻地方広域企業団須江山浄水場の原水である旧北上川を同じく水源としているが、取水口は約7km上流にある。この取水口は、旧北上川と江合川の合流後約500m下流右岸にあり、両河川が十分に混合する前の地点のため江合川の影響を強く受けている。特に4月下旬から5月にかけては、水田の代掻きにより濁った水が出来川から江合川に入り、着水井で濁度60になることもある。

また、夏場の藻類等の異臭味対策として、粒状活性炭ろ過装置を設け5月末から9月末まで運転している。異臭味の状況や、活性炭槽の通過速度により、急速ろ過池を通過した水の1/3から2/3を通水している。今年度槽内に入っている活性炭は昨年度から使用し、2年目のものである。

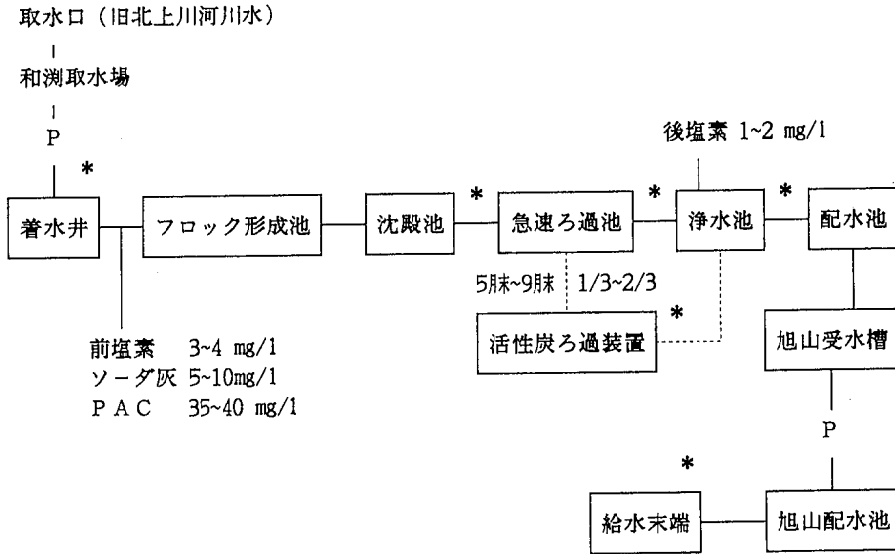


図1 河南町山崎浄水場系統図(給水量: 4,800m³/日) * : 採水場所

表1に河南町山崎浄水場の調査結果を示した。8月の調査時のみが粒状活性炭ろ過装置を運水している。着水井では、5月の濁度と塩素要求量が高く、前述の代掻きの影響と思われる。また、KMnO₄消費量は8月に全処理工程で高い傾向にある。

表2・3・4及び図2に各処理工程の瞬時のTHMと1日後、7日後のTHMF P量を示した。

(1) 瞬時のTHM量

瞬時の総THMは、沈殿池出口から給水末端まで処理工程の時間の経過と共に濃度が増加している。また、11月、5月、8月と水温が高くなるにつれ濃度が高くなっており、昨年度のTHM生成実験結果と一致している。

各THMは、活性炭を通過した8月において、5月及び11月と異なった傾向を示している。クロロホルムは、急速ろ過池出口で22mg/L、活性炭槽出口で33mg/L、浄水池出口で28mg/Lと、活性炭槽を通過した方が高くなっている。また、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタンは、急速ろ過池出口で9.5mg/L、1.8mg/L、活性炭槽出口で、各々4.0mg/L、0.08μg/Lと、活性炭槽を通過したほうが低くなっている。表1に示したように、活性炭槽出口での残留塩素は0mg/Lであるので、塩素を除去する程度の活性炭の活性度は残ってはいるが、各THMの活性炭への吸着性の相違がこれらの現象となって表われたものと考えられる。

図3は、Dobbs等が実験した4種のTHMの吸着等温線を示している²⁾が、含臭素THMの吸着性が良く、クロロホルムの吸着性が一番悪いことを示している。

従って、ろ槽の破過(吸着されないまままで漏出する)が始まると最も活性炭に吸着されにくいクロロホルムが最初ろ過水に出てくる。急速ろ過池出口の各トリハロ

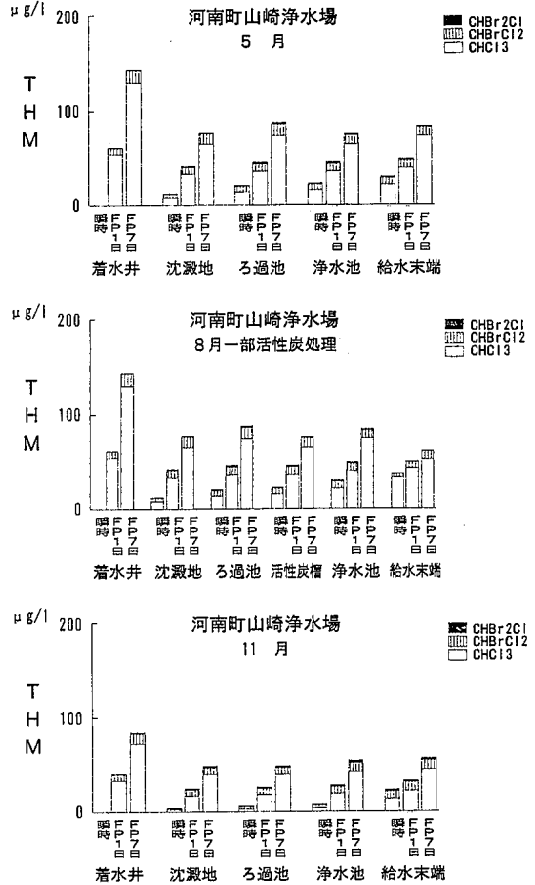


図2 河南町山崎浄水場の各処理工程のTHMとTHMF P

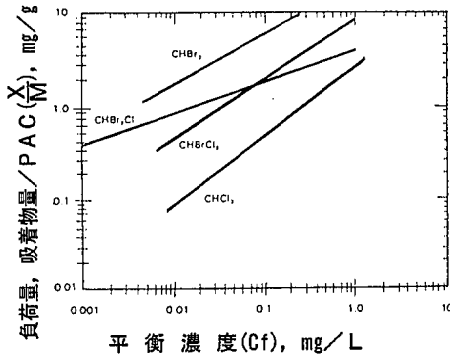


図3 4種トリハロメタンの吸着等温線

メタンの割合は、クロロホルム66%、プロモジクロロメタン29%、ジブロモクロロメタン5%であるが、活性炭槽出口のそれは89%、11%、0%で活性炭に吸着されにくいクロロホルムの割合が流入水より高くなっており、活性炭層槽からの追い出しと、中間体からの生成による増加があることを示している。

急速ろ過池出口からの水は前記のように、その1/3から2/3が活性炭層槽を通過しているため、浄水池出口のTHM量は、(浄水池にて添加される後塩素で生成するTHM量もわずかはあるが)急速ろ過池出口のTHM量と活性炭槽出口のTHM量の間値となっている。

給水末端では各THM値は増加しており、浄水池出口の値と比較すると、5月、8月、11月で各々、1.3、1.7、2.8倍となっている。11月で特に高いのは、浄水場での水温8.5℃に比べ末端での水温が13℃と高いため給水管内で生成されたものと考えられる。

(2) THMFP量

着水井での総THMFP(表3, 4, 5, 及び図2)は瞬時のTHMと同様に11月、5月、8月と水温が高くなるにつれて増加しており、1日後が各々、41, 62, 98 μg/L、7日後が、84, 146, 161 μg/Lで、7日後は2倍前後に増加している。昨年度の石巻地方広域企業団須江山浄水場の調査¹⁾では、5月の総THMFPで1日後が59 μg/L、7日後が114 μg/Lと同様の傾向であった。凝集沈澱処理後の沈澱池では各月共、1日後で着水井の総THMFPの63~68%、7日後で53~63%となっており、其の後の処理過程で若干増加するものの、3~5割のTHMFPが浄水処理によって削減されている。

特に、夏場の異臭味対策として使用している活性炭層槽後では、1日後で急速ろ過池の総THMFPの69%、7日後では53%と3~5割の削減となっており、使用2年目の活性炭であるために瞬時のTHMにおいてクロロホルムの破過が始まってはいるものの、THMの前駆体を除去する能力が残っているものと考えられる。

2) 桃生町上水道神取山浄水場系

図4に桃生町神取山浄水場系統図を示した。水源は河南町山崎浄水場と同様に旧北上川であるが、取水口は神

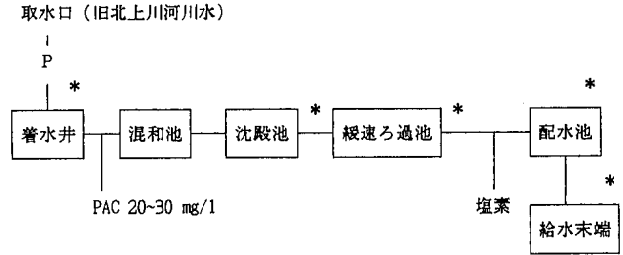


図4 桃生町神取山浄水場系統図 (給水量: 3,000m³/日)

*: 採水場所

取橋500m上流で江合川との合流前である。水処理方式は、緩速ろ過法であるが、濁度が高い場合にはPACを用いて凝集沈澱処理を行っている(アルカリ剤は使用していない)。

表5に桃生町神取山浄水場の調査結果を示した。11月の調査時にはPACを使用しておらず完全な緩速ろ過方式である。5月の濁度は河南町山崎浄水場と同様に高いが、8月、11月は低い。また、pHコントロールをしていないため8月にpHが高い傾向にある。

表6・7・8及び図5に各処理工程の瞬時をTHMと1日後、7日後のTHMFP量を示した。

(1) 瞬時のTHM量

配水池及び給水末端の瞬時のTHMは、緩速ろ過後の塩素滅菌のみであるため、河南町山崎浄水場の値と比較して低く、1/2から1/3の値である。月別には、5月、11月、8月と増加しているが、河南町山崎浄水場での瞬時THMが水温の影響を強く受けていたのと比べ、桃生町神取山浄水場の場合は、(11月にPACを使用していないことに起因して)水温の低い11月の方が5月より高くなっている。また、配水池での各THMの割合をみると、クロロホルム:プロモジクロロメタン:ジブロモクロロメタン=3:4:3で、河南町山崎浄水場の浄水池の場合は、7:2.5:0.5であり、桃生町神取山浄水場の総THM量は少ないが含臭素THMの割合がかなり高い値となっている。昨年度調査した石巻地方広域企業団須江山浄水場の場合も、河南町山崎浄水場の割合と同じ程度である。3浄水場とも旧北上川を母体の水源としており、ブロムイオンに大差がないと考え、処理工程の差がこれら含臭素THMの割合に影響を与えていると考えられる。石巻地方広域企業団須江山浄水場は前塩素と中塩素、河南町山崎浄水場は前塩素と後塩素の2度の塩素添加を実施しているが、桃生町神取山浄水場は後塩素のみである。昨年度の実験結果¹⁾では、臭素と塩素の競合反応があり、ブロムイオンが一定であると、反応系に存在する塩素が増加すると含臭素THMが減少することが判明しており、桃生町神取山浄水場では、その逆の現象であることが理解される。

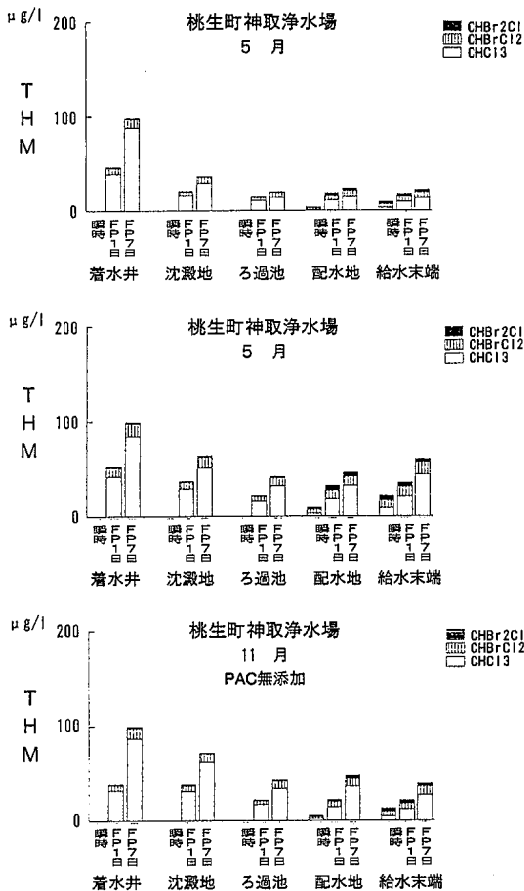


図5 桃生町神取山浄水場の各処理工程でのTHMとTHMF P

(2) THMF P量

着水井での総THMF Pは、1日後で38~53 $\mu\text{g/L}$ 、7日後で98~99 $\mu\text{g/L}$ と、河南町山崎浄水場と比較して季節による差が大きくなり、塩素を大量に添加した7日後でも水道基準値の100 $\mu\text{g/L}$ 以下であり、より下流にある石巻地方広域企業団須江山浄水場や江合川の影響を多く受ける河南町山崎浄水場の原水と質的に異なっている。前塩素処理をしていないため5月、8月の沈澱池出口の値から、凝集処理によるTHMF P削減効果を算出できる。1日及び7日後のTHMF Pから、5月で5~6割、8月で3~4割のTHMF Pの削減となる。一方、11月はPACを使用していないため着水井から沈澱池までのTHMF Pは、1日後は殆ど変化がなく、7日後で28%の減少となっている。

図2の急速ろ過方式の河南町山崎浄水場では沈澱池以降のTHMF Pにあまり変化がなく、昨年度の石巻地方広域企業団須江山浄水場(急速ろ過方式)の結果も同様であり、ゲルクロマトグラフィーによる分子分画で分子量5000以上の高分子側は凝集沈澱処理にて除去できたが、

それ以降の処理過程ではゲルパターンに変化はなかった。一方、図5の桃生町神取山浄水場の沈澱池出口と緩速ろ過池出口とを比較すると各月共、緩速ろ過池出口の1日後、7日後のTHMF Pが3から4割減少している。この緩速ろ過によるTHMF Pの減少が、生物膜によるTHM前駆物質の除去であるのか、懸濁性有機物質の単なる膜ろ過による減少なのか両方が考えられる。

THMの前駆物質は、自然界においての生物代謝の最終産物ともいえる難生物分解のフミン質が主であるといわれており、丹保³⁾は自浄作用の顕著な河川では生物処理によるTHM前駆物質の除去は期待しないほうがよいとしており、生物処理によってはむしろ、THMを生成し易い有機物をより多く含む場合もあるとしている。

最近、Shukairy等⁴⁾は、消毒副生成物の生成に対する生物分解の影響を検討し、塩素処理での揮発性有機ハロゲン生成能(POXEP)と不揮発性有機ハロゲン生成能(NPOXER)が前処理として生物処理(生物砂ろ過)を行うと、フミン質水ではPOXEP、NPOXEPが44、36%減少し、河川水では各々、19、43%減少したと報告しており、今回のTHMF Pが緩速ろ過で3~4割減少した値と近似している。

3.2 浄水池から給水末端までのTHM生成

平成2年度の調査結果では、石巻地方広域企業団須江山浄水場の給水末端(矢本町赤井)で夏場のTHMが高く、特にクロロホルムで平成4年12月に改正された水道基準値の60 $\mu\text{g/L}$ を超える場合もあった。平成3年度の調査により、浄水場から給水末端に届くまで2週間程度かかり、夏場の水温と石綿管によるpHの上昇により、THM値が高くなることが明らかとなった。

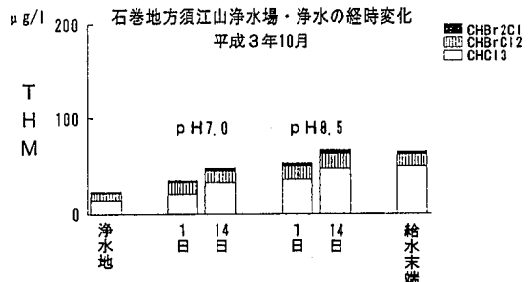


図6 須江山浄水場の浄水の経時変化

昨年度、石巻地方広域企業団須江山浄水場の浄水を塩素を添加せずにpHを調整し経時変化をみた例を図6に示したが、浄水池の瞬時のTHM値24 $\mu\text{g/L}$ 、給水末端65 $\mu\text{g/L}$ で、その比は2.7である。pH7.0の条件では1日後で1.5倍、14日後でも給水末端のTHM値となっていないが、pH条件を給水末端ではpH8.6に近づけると14日後で、ほぼ給水末端と同程度のTHM値となっている。

今年度調査を実施した河南町山崎浄水場と桃生町神取山浄水場の給水末端までの流達日数は、2日前後程度と

考えられ、石巻地方広域企業団須江山浄水場での2週間と比較すると短い日数である。河南町山崎浄水場の5, 8, 11月の浄水池の総THMは、23, 37, 8 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、給水末端では、30, 63, 23 $\mu\text{g}/\text{L}$ と、夏場にやや高いが両者の比は、1.3, 1.7, 2.9となっており、11月での比が大きいが、これは、11月の浄水場での水温が8.5 $^{\circ}\text{C}$ 、給水末端で13 $^{\circ}\text{C}$ と、給水管中の温度が高いことにより、導水管中でのTHMの生成が進行したと考えられる。

一方、桃生町神取山浄水場の5, 8, 11月の配水池の総THMは、3.7, 9.7, 5.6、給水末端では、9.4, 22, 12と河南町山崎浄水場と比較して半分以下であるが、配水池と給水末端との比は2.8, 2.3, 2.1となり、河南町山崎浄水場での比よりやや高い傾向にある。

河南町山崎浄水場の5月, 8月, 11月の浄水池でのTHMF Pと給水末端の瞬時のTHMとの比は、1.5, 1.1, 1.2で浄水池の有しているTHMF Pの7から9割が給

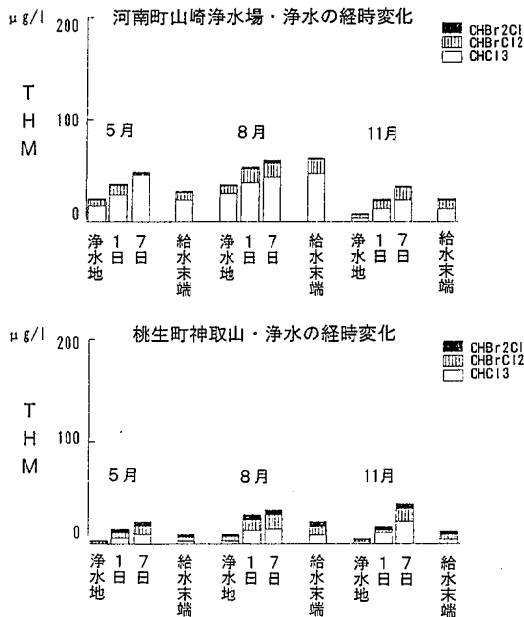


図7 河南町山崎浄水場と桃生町神取山浄水場の浄水の経時変化

水末端のTHMとなっているのに対し、桃生町神取山浄水場のそれは、1.9, 1.5, 1.8で給水池が有しているTHMF Pの5から7割しか給水末端のTHMとなっていない。従って、後塩素の桃生町神取山浄水場のように、原水への塩素添加時期が遅いほど、供給する浄水のTHMは少なく、給水までの時間の経過と共に生成されるTHMが増加すると考えられる。

表3, 4, 5, 6, 7, 8の下段に河南町山崎浄水場の浄水池, 桃生町神取山浄水場の配水池の水を塩素を添加せず、温度のみを一定にして1日および7日後のTHMを求めた値を示した。また、これらの値と給水末端で

の値とを対比させて、図7に示した。河南町山崎浄水場での水温の高い8月を除いて、おおよそ1日経過後のTHM値が給水末端でのTHM値となっており、実際の給水までの日数は2日前後であり、浄水池での温度と、実験条件の温度(20 $^{\circ}\text{C}$)の影響と考えられ、実際の浄水場から給水末端でのTHM生成はもう少し速度が遅いと考えられる。

4. ま と め

河南町山崎浄水場の急速ろ過方式(夏場に粒状活性炭装置を使用)と、桃生町神取山浄水場の緩速ろ過方式(原水の高濁度時は凝集剤を使用)でのTHM生成について次の知見が得られた。

1. 各処理工程(活性炭装置を除く)での総THMは、水温, 経過時間, THMF Pに支配され、水温が高いほど、時間経過が長いほど、THMF Pが大きくなるほど総THM値は大きくなる。
2. 河南町山崎浄水場で、夏場の異臭味対策に使用している活性炭ろ過槽は2年目のため、クロロホルムの破過が始まっており、ろ過槽からの追い出しで処理水のクロロホルム量が高くなったが、含臭素THMは減少しており各THMの活性炭への吸着性の相違が表れている。又、THMF Pは活性炭ろ過槽により、3から5割減少する。
3. 後塩素処理の桃生町神取山浄水場での瞬時のTHMは、前塩素, 中塩素の河南町山崎浄水場の値の1/3~1/2であるが、含臭素THMの割合は桃生町神取山浄水場の方が高い。臭素イオンが一定の場合は、塩素と臭素の競合反応があり、反応系に存在する塩素が増加すると含臭素THMが減少するという、昨年度と同じ結果が得られた。
4. 着水井のTHMF Pは、水源が同じ旧北上川でも江合川の影響が大きい河南町山崎浄水場が桃生町神取山浄水場3割高く、上流位置にある桃生町神取山浄水場の総THMF Pは、7日後の夏場でも水質基準値の100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 以下である。
5. 処理方式の相違によるTHMF Pの削減量は；
河南町山崎浄水場
 - 1) 前塩素処理後の凝臭沈澱処理で着水井の3~5割削減
 - 2) 活性炭処理(5月末~9月末)で急速ろ過池の3~5割削減
 桃生町神取山浄水場
 - 1) 凝集沈澱処理単独で着水井の3~6割削減
 - 2) 凝集処理後の緩速ろ過で沈澱池の3~4割削減
 - 3) 緩速ろ過単独で着水井の4~6割削減
 緩速ろ過池でのTHMF Pの減少(沈澱池の3から4割)は、急速ろ過池では見られない現象であり、緩速ろ過方式の効果と考えられる。
6. 浄水から給水末端までのTHM生成は水温により影

響を受ける。また、浄水のTHMFPと給水末端のTHM値を比較すると、河南町山崎浄水場より桃生町神取山浄水場の方が浄水の有しているTHMFPに比べ給水末端のTHMが少なく、後塩素からの時間経過の影響が大きいと考えられる。

終わりに本調査を実施するにあたり、多大なご協力をいただいた河南町山崎浄水場、桃生町神取山浄水場の皆様に感謝します。

参考文献

- 1) 高橋紀世子他：宮城県保健環境センター年報, 10, 66~72, (1992)
- 2) 真柄康基：飲料水とトリハロメタン制御公害対策技術同友会, P.73 (1985)
- 3) 丹保憲仁：水道水とトリハロメタン技法堂, P.200~201 (1983)
- 4) Hiba M.Shukairy et al:Water Research, 26(9) P.1217~1227 (1992)

表1 河南町山崎浄水場の調査結果

採水場所	着水井			沈澱池出口			ろ過池出口			活性炭槽出口	浄水池			北村給水栓 末端吉田宅		
	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	8.25	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24
採水月日	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	8.25	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24
水温(°C)	15.3	24.7	8.5	15.5	24.6	8.4	15.5	25.1	8.5	26.5	15.5	24.7	8.5	12.1	21.0	13.0
濁度	30	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
残留塩素(mg/l)	-	-	-	1.5	0.7	0.9	1.2	0.3	0.6	0	1.8	1.7	1.2	1.5	0.4	0.9
pH	6.5	7.1	6.7	6.5	7.0	6.7	6.6	7.1	6.7	7.0	6.6	7.0	6.7	6.7	7.0	6.9
KMnO ₄ 消費量(mg/l)	11	13	3.8	2.3	3.6	0.8	2.0	3.4	0.6	1.8	1.9	2.1	0.5	2.0	2.4	0.7
塩素要求量(mg/l)	2.2	1.5	1.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表2 河南町山崎浄水場の浄水工程毎の瞬時THMおよびTHMFP (5月) (μg/L)

	瞬時のTHM				1日後のTHMFP				7日後のTHMFP			
	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM
トリハロメタン	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM
着水井	0	0	0	0	54	7.0	0.7	62	132	13	0.8	146
沈澱池出口	8.5	3.1	0.7	12	33	7.8	1.3	42	65	11	1.4	77
急速ろ過池出口	14	6.0	1.1	21	36	8.5	1.5	46	74	12	1.6	88
浄水池	16	6.0	1.1	23	36	8.5	1.5	46	65	10	1.5	77
給水末端吉田宅	22	7.2	1.1	30	40	8.0	1.1	49	74	9.1	1.2	84
Cl ₂ : 50 μg/ml添加 温度: 20°C pH: 7.0												
浄水池	16	6.0	1.1	23	27	9.0	1.4	37	46	12	2.0	60
Cl ₂ : 添加せず 温度: 20°C pH: 7.0												

表3 河南町山崎浄水場の浄水工程毎の瞬時THMおよびTHMFP(8月)

($\mu\text{g/L}$)

	瞬時のTHM				1日後のTHMFP				7日後のTHMFP			
	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM
トリハロメタン												
着水井	0	0	0	0	84	13	1.2	98	143	17	1.3	161
沈澱池出口	14	6.0	1.4	21	52	13	2.2	62	85	14	2.4	101
急速ろ過池出口	22	9.5	1.8	33	57	13	2.1	72	97	15	2.4	114
活性炭槽出口	33	4.0	<0.1	37	43	6.4	0.5	50	52	8.7	0.7	61
浄水池	28	7.8	1.2	37	54	12	2.2	68	80	13	2.5	96
給水末端吉田宅	48	13	2.0	63	61	13	1.8	76	87	14	2.2	103
Cl ₂ : 50 $\mu\text{g/ml}$ 添加 温度: 20°C pH: 7.0												
浄水池	28	7.8	1.2	37	39	13	2.4	54	44	14	2.6	61
Cl ₂ : 添加せず 温度: 20°C pH: 7.0												

表4 河南町山崎浄水場の浄水工程毎の瞬時THMおよびTHMFP(11月)

($\mu\text{g/L}$)

	瞬時のTHM				1日後のTHMFP				7日後のTHMFP			
	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM
トリハロメタン												
着水井	0	0	0	0	33	6.8	0.9	41	72	11	1.2	84
沈澱池出口	2.2	1.6	0.6	4.4	17	6.0	2.0	25	40	6.4	2.2	49
急速ろ過池出口	3.2	2.5	1.0	6.8	18	6.5	2.0	26	40	6.4	2.2	49
浄水池	4.0	3.0	1.0	8.0	19	7.0	2.1	28	42	9.4	2.4	54
給水末端吉田宅	13	7.8	2.2	23	22	9.5	2.2	34	44	10	2.7	57
Cl ₂ : 50 $\mu\text{g/ml}$ 添加 温度: 20°C pH: 7.0												
浄水池	4.0	3.0	1.0	8.0	13	7.5	2.3	23	22	12	1.7	36
Cl ₂ : 添加せず 温度: 20°C pH: 7.0												

表5 桃生町神取山浄水場の調査結果

採水場所	着水井			沈澱池出口			ろ過池出口			配水池			倉坪給水栓 末端鈴木宅		
	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24
採水月日	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24	5.20	8.25	11.24
水温(°C)	15.2	25.4	8.2	15.6	24.7	8.8	15.0	24.2	8.8	16.0	24.9	9.0	13.2	24.1	9.8
濁度	30	8	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
残留塩素(mg/l)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3	1.2	1.8	0.7	0.8	0.8
pH	6.8	7.5	6.9	7.0	7.5	6.8	7.0	7.3	7.0	6.9	7.2	6.9	6.9	7.4	7.0
KMnO ₄ 消費量 (mg/l)	8.2	6.6	3.9	2.5	3.6	3.4	1.7	1.8	1.3	1.2	1.7	0.6	1.3	1.1	0.3
塩素要求量 (mg/l)	2.2	1.0	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表6 桃生町神取山浄水場の浄水工程毎の瞬時THMおよびTHMFP (5月) ($\mu\text{g/L}$)

	瞬時のTHM				1日後のTHMFP				7日後のTHMFP			
	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM
トリハロメタン												
着水井	0	0	0	0	39	6.6	0.6	46	88	8.9	0.7	98
沈澱池出口	0	0	0	0	16	4.1	0.6	21	29	6.3	0.7	36
急速ろ過池出口	0	0	0	0	11	3.3	0.8	15	14	4.8	0.9	20
配水池	1.2	1.4	1.1	3.7	11	4.7	2.7	18	15	5.5	2.8	23
給水末端鈴木宅	3.4	3.6	2.4	9.4	9.8	5.3	2.7	18	13	5.9	2.8	22
Cl ₂ : 50 $\mu\text{g/ml}$ 添加 温度: 20°C pH: 7.0												
配水池	3.4	3.6	2.4	9.4	6.0	5.2	3.8	15	10	7.5	4.2	22
Cl ₂ : 添加せず 温度: 20°C pH: 7.0												

表7 桃生町神取山浄水場の浄水工程毎の瞬時THMおよびTHMFP (8月) ($\mu\text{g/L}$)

	瞬時のTHM				1日後のTHMFP				7日後のTHMFP			
	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM
トリハロメタン												
着水井	0	0	0	0	42	9.6	1.1	53	84	14	1.4	99
沈澱池出口	0	0	0	0	29	7.2	0.9	37	51	11	1.2	63
急速ろ過池出口	0	0	0	0	16	5.3	0.9	22	32	8.7	1.3	42
配水池	3.1	4.2	2.4	9.7	18	9.3	4.8	32	32	10	4.5	46
給水末端鈴木宅	9.0	8.3	5.0	22	21	10	4.8	36	44	12	4.3	60
Cl ₂ : 50 $\mu\text{g/ml}$ 添加 温度: 20°C pH: 7.0												
配水池	3.1	4.2	2.4	9.7	13	10	5.2	28	15	13	5.5	34
Cl ₂ : 添加せず 温度: 20°C pH: 7.0												

表8 桃生町神取山浄水場の浄水工程毎の瞬時THMおよびTHMFP (11月・PAC無添加) ($\mu\text{g/L}$)

	瞬時のTHM				1日後のTHMFP				7日後のTHMFP			
	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM	CHCl ₃	CHBrCl	CHBr ₂ Cl	TTHM
トリハロメタン												
着水井	0	0	0	0	32	5.7	0.8	38	87	11	1.1	99
沈澱池出口	0	0	0	0	31	6.3	0.8	38	62	8.8	1.0	72
急速ろ過池出口	0	0	0	0	17	4.5	0.8	22	34	7.6	1.1	43
配水池	2.2	2.0	1.4	5.6	14	5.8	2.5	22	35	8.4	3.4	47
給水末端鈴木宅	4.7	4.4	3.3	12	12	5.8	3.6	21	27	9.1	3.4	40
Cl ₂ : 50 $\mu\text{g/ml}$ 添加 温度: 20°C pH: 7.0												
配水池	2.2	2.2	1.4	5.6	11	2.5	3.3	17	22	12	5.5	40
Cl ₂ : 添加せず 温度: 20°C pH: 7.0												

9. 大気自動測定における保守管理について NO_x計に使用される酸化剤の安定性

佐藤 信俊 百川 和子* 加賀谷秀樹
宮崎栄一郎

キーワード：自動測定機，窒素酸化物計，過マンガン酸カリウム，分解速度

NO_x自動測定機におけるNOの酸化剤（過マンガン酸カリウム溶液）の安定性について反応速度論的に考察し、酸化剤の安定性が設置場所の室温に依存することが分かった。また、酸化剤として十分な過マンガン酸カリウムの濃度は始めの濃度の約40%程度までであり、酸化剤の色だけでは交換時期を判断できないことが分かった。

1. はじめに

大気テレメータシステムで、その主役を担う各自動測定機器は、汚染質と吸収液との化学反応を利用したいわゆる湿式法によるものが多く、吸収液等の保守管理がデータの信頼性を大きく左右することになる。また、吸収液等の保守管理は通常2週間に1回実施しているが労力、経費的に更なる確かな保守管理の方法について検討する必要がある。

「環境大気常時監視マニュアル¹⁾」によれば、窒素酸化物自動測定機（NO_x計）における酸化剤の保守点検項目として(7)酸化びんの汚れの有無、(4)酸化力（過マンガン酸カリウムの紫色が消失していないこと。）、(9)パブリックリングしていること、が示されている。しかし(4)の酸化力については、(1)主観的かつ非定量的な判断基準であること、(2)過マンガン酸カリウムが分解して生じる茶褐色の二酸化マンガン存在下で判断しなければならない等の理由から、十分な判断基準とはなりにくい。

従って、一般的には測定結果であるNOとNO₂の比またはNOとNO_xの比等を過去の経験的な値と比較評価しているのが現状である。しかし、この方法についても、NOとNO₂の比は大気中では常に変化していることから、あくまでも一つの参考データでしかない。

以上の観点から、NO_xの自動測定における酸化剤の交換時期等を判断するための指標を確立することが重要である。今回、酸化剤劣化の原因を反応速度論的に考察し、酸化剤の自己分解反応の機構、反応速度係数等について若干の知見を得たので報告する。

2. 実験方法

2.1 窒素酸化物自動測定装置

本報告におけるNO_xの測定は紀本製窒素酸化物自動測定装置（Model-232）を用いた。本装置の測定法はN

O₂と吸収液とのジアゾカップリング反応によって生じるジアゾ化合物を分光光度法によって測定するいわゆる湿式法である。またNOは過マンガン酸カリウム溶液で酸化しNO₂として同様に測定する。

測定に使用する吸収液及び酸化剤は以下の通りである。

吸収液：20L中にスルファニル酸100g、酢酸1000ml、N-1ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩1gを含む（ザルツマン試薬）。

酸化剤：1L中に過マンガン酸カリウム25g、硫酸25gを含む。

以下酸化剤濃度は、これを100%とする相対濃度で表す。

2.2 酸化剤の安定性実験

酸化剤を5, 30, 40°C、室温（18°C）の4条件下で、300ml/分で外気を通気し、残存するKMnO₄の量を測定した。

KMnO₄の濃度は、シュウ酸滴定、または分光光度計（395nm吸光）によって定量した。

2.3 酸化剤濃度と酸化力の確認実験

安定的に任意の濃度のNOを調整することは困難であるため、当センターに接する道路端の自動車排気ガス由来の大気を試料として、以下の方法で酸化剤（過マンガン酸カリウム溶液）の酸化力を評価した。

自動測定器の試料取り入れ口に図1の様に酸化ビン（1段目）を新たにつけ加え、通常酸化ビン（2段目）では1段目で酸化しきれなかったNOを再度酸化するようにする。従って自動測定器のNO₂値（1段目酸化剤通過後の測定値）は、実際の大気中のNO₂+NOであり、NO値（2段目酸化剤通過後の測定値）は1段目の残存NOと考えられ、この値を比較して酸化力を評価する。

次に、1段目の酸化剤にしゅう酸溶液を適量加えて過マンガン酸カリウムを人為的に分解させた後同様に実験を継続した。また2段目酸化剤の酸化力は低下することがないように、1回/週の頻度で常時新しい酸化剤を使用した。

* 現宮城県消費生活センター

なお、各実験区分の条件は表1の通りである。

表1 自動測定装置を用いた実験区分毎の諸条件

実験区分	期間	酸化剤の濃度		自動測定機 測定条件
		1 段目	2 段目	
I	7/24から 8/20まで	100 %	実験中は 1週間毎 新しい液 交換。	試料流量:200ml/分 採取時間:56分 吸収液量:30ml
		37.5%		
II	8/25から 8/30まで	16.5%		
		11.8%		
III	8/31から 9/8まで	8.0%		
		7.6%		
IV	9/14から 9/20まで	0.2%		
		0.1%		

注) 実験区分II~IVにおける1段目酸化剤の濃度調整はシュウ酸を用いた。

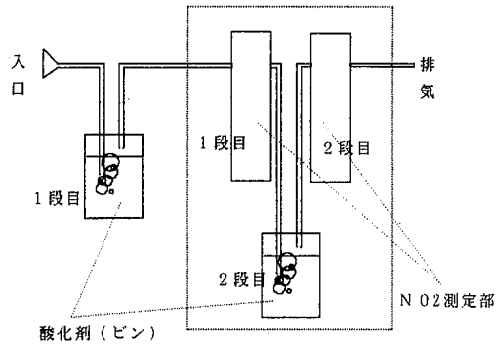


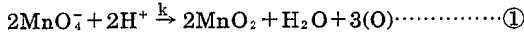
図1 室温酸化剤自動測定機

通常の自動測定機 (□内) の試料空気取り入れ口前部に酸化剤 (ピン) 1段目を追加したもの

3. 結果及び考察

3.1 KMnO₄分解反応の温度依存性

NO濃度が500ppbで30日間連続したと仮定した場合でも、NOの酸化に消費されるKMnO₄は計算上約0.02g程度であり、使用される酸化剤25gと比べ無視できる量である。従って、酸化力の低下は①式の様に大部分は硫酸酸性下での自己分解によるものだけを考えれば良い。



この反応をMnO₄⁻濃度に対する1次反応と仮定し、MnO₄⁻の濃度をxとすると、

$$-\frac{dx}{dt} = kx \quad \text{が成立。これは、}$$

$$-\frac{x_0 - x_1}{t_0 - t_1} = kx_0 \dots \dots \dots \textcircled{2}$$

となり、容易に反応速度係数kが得られることになる。

各条件下でのKMnO₄の残存量(X1)を求め、②式に従いそれぞれの分解速度係数kを求めた(表2)。

一方、反応速度係数の対数(ln(k))と絶対温度の逆数(1/T)との間には、③式(Arrheniusの式)か

ら、直線関係が得られることになる。

$$k = a \cdot \exp\left(-\frac{E_A}{RT}\right) \dots \dots \dots \textcircled{3}$$

両辺の対数を取ると、

$$\ln(k) = A - \frac{E_A}{R} \cdot \frac{1}{T} \dots \dots \dots \textcircled{4}$$

となる。

ここで E_A: 活性化エネルギー

R: ガス常数

A: 頻度因子

室内実験によって得た表2の分解反応速度係数kの対数と絶対温度T(°K)の逆数との関係を図2(■印)に示したが、極めて良好な直線関係が認められ、①式の分解反応が過マンガン酸カリウムの濃度に1次の反応であると見なすことができる。

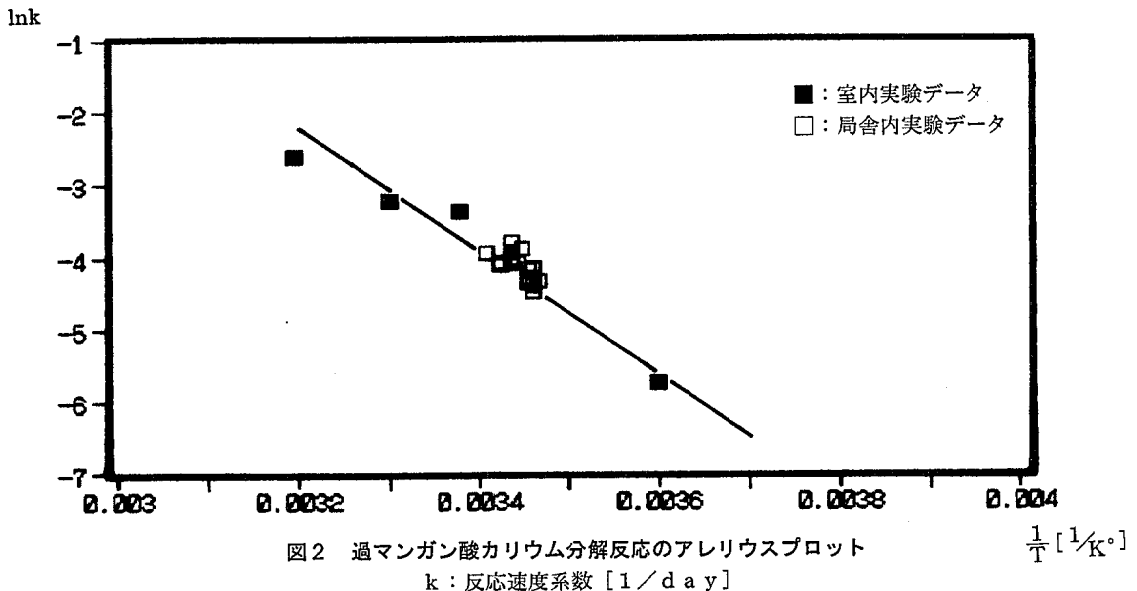
同様に実際に国設仙台局及び柴田局で測定に使用した酸化剤の残存量と使用日数から求めた分解速度係数と期間内の最高、最低温度から求めた平均温度を表3に示した。これらのデータを図2上に□印で示したが、室内実験で得た直線上に分布した。

表2 各温度における酸化剤の安定性

	温度 (°C)	酸化剤濃度(%)		日数 t ₁ - t ₀	分解速度係数 k	絶対温度の逆数 (1/°K)	Ln(K)
		X ₀	X ₁				
冷蔵庫	5	22	21	14	0.00325	0.00360	-5.7300
実験室	18	22	15	14	0.02273	0.00344	-3.7841
恒温槽	30	25	12	13	0.04000	0.00330	-3.2188
恒温槽	40	25	1	13	0.07385	0.00319	-2.6057

表2 各温度における酸化剤の安定性

	温度 (°C)	酸化剤濃度(%)		日数 t ₁ - t ₀	分解速度係数 k	絶対温度の逆数 (1/°K)	Ln(K)
		X ₀	X ₁				
国設仙台局	18.0	21.4	15.5	14	0.01969	0.00344	-3.9274
	18.0	21.4	10.5	29	0.01756	0.00344	-4.0419
	17.5	21.4	16.7	13	0.01689	0.00344	-4.0807
	16.0	21.4	12.0	35	0.01255	0.00346	-4.3780
	16.0	21.4	16.7	14	0.01569	0.00346	-4.1548
	15.5	21.4	13.2	29	0.01321	0.00347	-4.3265
	16.5	21.4	17.1	13	0.01546	0.00345	-4.1697
	16.0	21.4	13.7	27	0.01333	0.00346	-4.3180
	17.0	21.4	15.2	14	0.02069	0.00345	-3.8778
柴田局	20.5	21.4	15.6	14	0.01936	0.00341	-3.9445
	19.0	21.4	11.1	29	0.01660	0.00342	-4.0985
	19.0	21.4	16.7	13	0.01689	0.00342	-4.0807
	16.0	21.4	12.8	35	0.01148	0.00346	-4.4669
	16.0	21.4	17.3	14	0.01368	0.00346	-4.2914
	16.0	21.4	13.5	29	0.01273	0.00346	-4.3638
	16.5	21.4	17.8	13	0.01294	0.00345	-4.3474
	16.0	21.4	13.3	27	0.01402	0.00346	-4.2673
	18.0	21.4	16.0	14	0.01802	0.00344	-4.0160



一方、今回の実験で得た帰直線（図2）の傾きと切片から逆に任意の温度条件下の反応速度係数kを求めることができ、さらにkが求まれば、任意時間放置後の酸化剤の濃度を推定することができる。

3.2 酸化剤温度の推定

表1の実験区分Iの実験で、酸化剤温度の連続測定を実施しなかったため、計算に使用する日平均温度を多賀城II局のデータを基に推定した。

実験環境は車庫内の移動観測車で空調設備もないことから、酸化剤の温度は外気温と比べ高めに推移した。そこで、酸化剤設置場所の最高最低温度計による実測値と

多賀城II局における連続測定結果を比較したところ、図3のように実測した酸化剤チャンバーの日平均値（最高と最低値の平均）と多賀城II局の日最高値が比較的良く一致したため、多賀城II局の最高値を測定していない日の日平均温度とした。

3.3 酸化剤の濃度と酸化力

図4に実験区分Iにおける酸化剤温度（多賀城II局の気温（t）を使用）、酸化剤濃度の計算値及びNO残存率を示した。最終日（7月20日）の酸化剤濃度は、計算値39.2%に対し実測値は37.5%と良く一致した。

また実験区分Iの期間中、NO残存率は約10%と一定

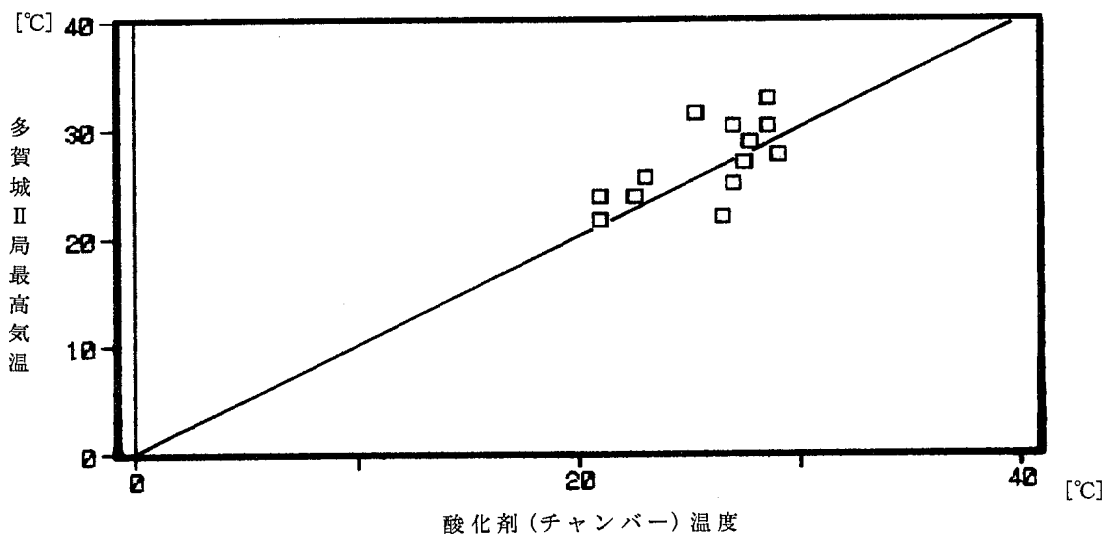


図3 酸化剤（チャンバー）温度と多賀城Ⅱ局最高気温との比較

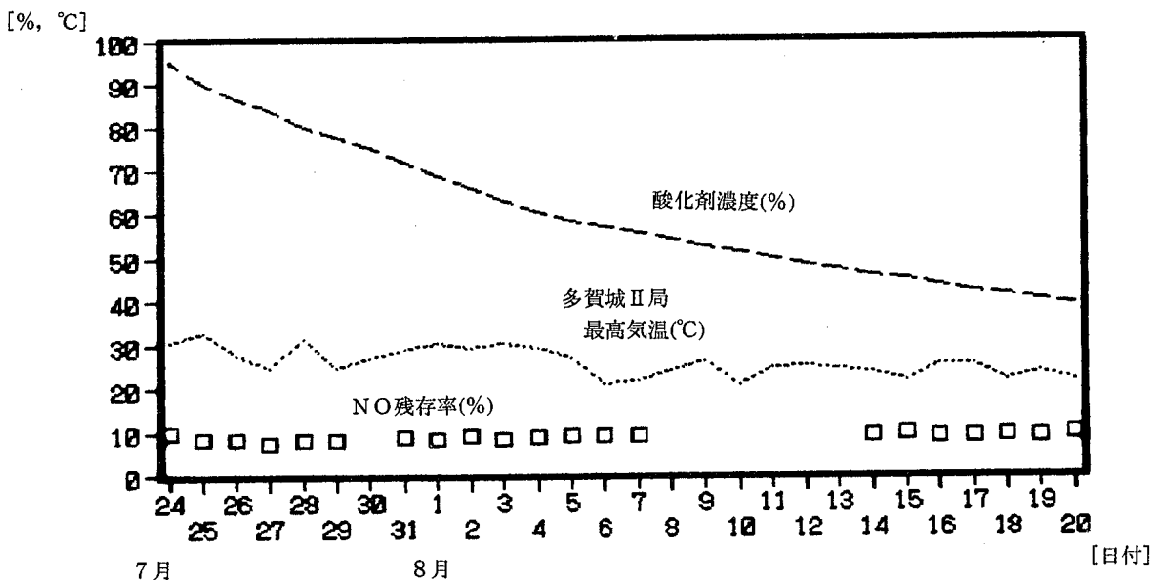


図4 NO残存率及び酸化剤濃度の経日変化

酸化剤濃度：2.5W/V%過マンガン酸カリウム溶液を100%とする相対濃度
 NO残存率：(2段目測定値) ÷ (1段目測定値) × 100%

であり、この間の酸化力は十分であったと考えられる。
 図5は、実験区分ⅡからⅣまでの実験結果を含めて酸化剤濃度とNOの残存率との関係を示したが、酸化剤濃度が約40%以下になると、残存率が基底値の10%から徐々に高くなり、酸化剤濃度が10%前後またはそれ以下になると明らかに酸化力が低下し残存率が高くなること分かる。
 以上のことから、誤差、安全率等を見込んで酸化力が十分と考えられる酸化剤の最低濃度を40%とした。

表4または図6に種々の条件下で計算したときの酸化剤濃度の変化を示した。

4. ま と め

- (1) NOX計における酸化剤の分解反応は、酸化剤濃度に1次の自己分解反応で反応速度係数を求めることにより、任意の温度、経過時間における酸化剤の濃度を予測することができる。

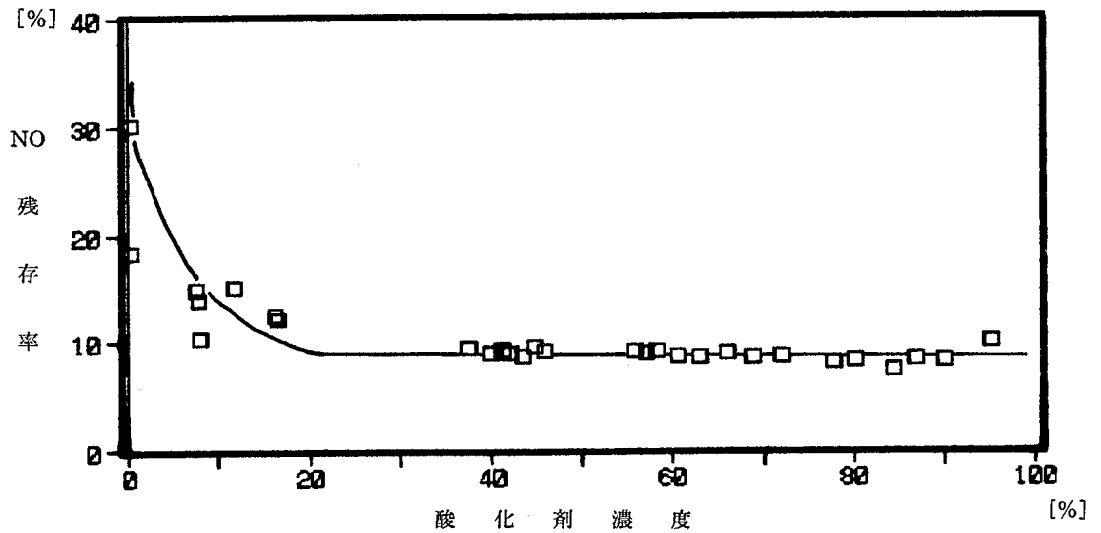


図5 酸化剤濃度とNO残存率の関係

酸化剤濃度：2.5W/V%過マンガン酸カリウム溶液を100%とする相対濃度
 NO残存率：(2段目測定値) ÷ (1段目測定値) × 100

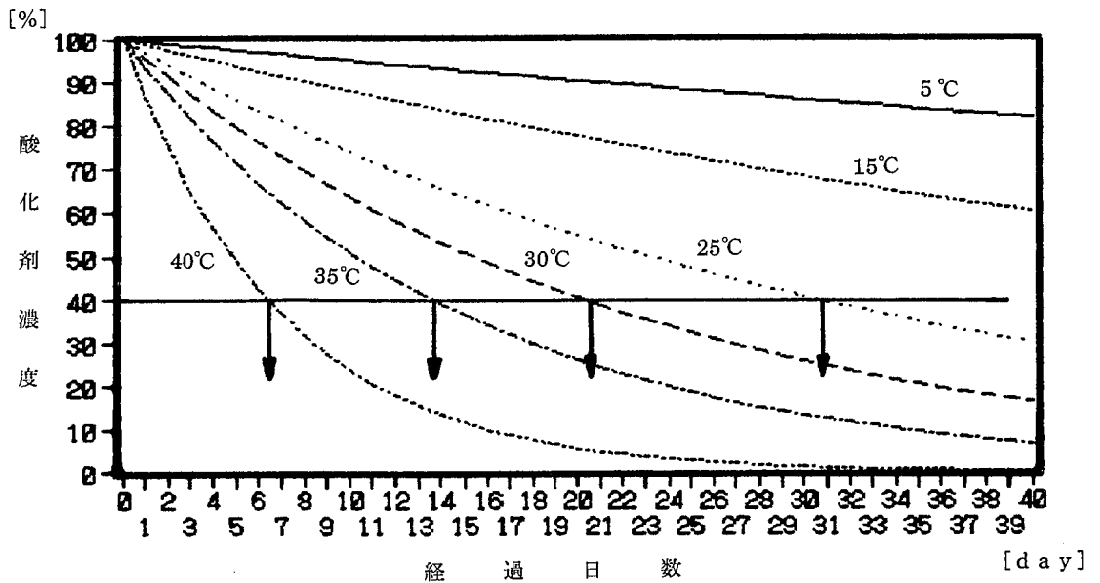


図6 種々の温度における酸化剤の分解予測

酸化剤濃度：2.5W/V%過マンガン酸カリウム溶液を100%とする相対濃度

- (2) 酸化剤濃度が40%以上(相対濃度)であれば、十分な酸化力を有する。
- (3) 酸化剤交換日の予測が可能となった。

た(財)宮城県公害衛生検査センター及び(株)日本電気興業の皆様へ深謝いたします。

6. 参考文献

- 1) 「環境大気常時監視マニュアル(改訂版)」P50, (1986), 環境庁大気保全局

5. 謝辞

実験用試薬や測定機器の調整など本調査にご協力頂い

表4 酸化剤 (KMnO₄) 濃度と温度・放置日数の関係

温度 \ 日数	7 日	10 日	14 日	18 日	21 日	25 日	28 日	30 日
5 °C	96.6	95.1	93.2	91.4	90.0	88.2	86.9	86.1
10 °C	94.5	92.3	89.4	86.6	84.5	81.8	79.9	78.6
15 °C	91.5	88.1	83.8	79.7	76.7	72.9	70.2	68.5
20 °C	87.2	82.2	76.0	70.3	66.3	61.3	57.8	55.6
25 °C	81.1	74.1	65.8	58.3	53.3	47.3	43.2	40.7
30 °C	72.9	63.7	53.2	44.4	38.8	32.4	28.3	25.8
35 °C	62.5	51.1	39.1	29.9	24.4	18.7	15.3	13.3
40 °C	50.1	37.3	25.1	16.9	12.6	8.5	6.3	5.2
45 °C	36.7	23.9	13.5	7.6	5.0	2.8	1.8	1.4
50 °C	23.8	12.8	5.7	2.5	1.3	0.6	0.3	0.2

残存率：初期濃度（2.5%）を100%とした相対濃度で示した。