

大阪府立公衆衛生研究所 研究報告

平成23年



BULLETIN
OF
OSAKA PREFECTURAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

No.49(2011)

大阪府立公衆衛生研究所

大阪府立公衆衛生研究所 研究報告

目 次

－研究報告－

大阪府におけるウエストナイルウイルスに対するサーベイランス調査（2010年度）	青熊加西加 山井藤村瀬 幾優友平哲 子子子和男 弓梯倉中高 指持島橋 孝和康和 博代隆勝郎	1
LC-MSによるサイクラミン酸分析法の検討	山 口 瑞 香 尾 花 裕 孝	7
りんごジュース中のパツリンの検査結果（平成18～22年）	中 山 裕 紀 子 高 取 直 聡 福岡本-柿本葉三 田 口 修 中 辻 直 人 小 阪 田 正 和 北 川 陽 子 柿 本 幸 子 尾 花 裕 孝	11
LC-MS/MSを用いた畜産物中駆虫薬の分析	柿 本 健 作 永 吉 晴 奈 尾 花 裕 孝 山 口 貴 弘 山 口 瑞 香	15
LC/MS/MSによる畜産食品中のホルモン剤一斉分析法の検討	山 口 貴 弘 永 吉 晴 奈 尾 花 裕 孝 柿 本 健 作 山 口 瑞 香	20
大阪府における環境および食品中放射能調査（平成22年度報告）	東 惠 美 子 大 山 正 幸 足 立 伸 一 肥 塚 利 江 味 村 真 弓	24
トリブチルスズ化合物及びトリフェニルスズ化合物の分析法改定にむけたラウンドロビンテスト－大阪府立公衆衛生研究所の分析結果からの考察－	中 島 晴 信 岡 山 文 香 吉 田 仁	31
平成21年度大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理結果－ 亜鉛及びその化合物 －	安 達 史 惠 足 立 上 靖 彦 井 上 彦 田 中 榮 次 上 倉 持 理 絵 倉 持 隆	39
平成21年度大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理結果－ 蒸発残留物－	田 中 榮 次 足 立 伸 一 安 達 史 惠	45
温泉水中遊離残留塩素の自動分析	田 中 榮 次 高 木 総 吉 安 達 史 惠 枝 川 亜 希 子	53
大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点－ シス-1, 2-ジクロロエチレン及びトランス-1, 2-ジクロロエチレン（平成22年度）	小 泉 義 彦 足 立 伸 一 宮 野 啓 一	61

LAMP法およびPCR法によるカンピロバクター・フィータス亜種 ヴェネリアリスの迅速簡易検出法の開発（英文）	山崎 涉 三澤 尚 明	田口 真 澄	73
アルカリ条件下でのマグネシウムと核酸の結合と不織布を利用 したLAMP法による結核診断のための新しいDNA精製法（英文）	深澤 保 和 田 尚 福 島 香 鈴 木 定 彦	小田 直 純 中 丸 垂 貴 島 千 恵	73
日本における海外渡航者由来 <i>Vibrio cholerae</i> 01 エルトール型 変異株の分布と遺伝子解析（英文）	森田 昌 知 荒 川 英 二 G. Balakrish Nair 横 山 敬 子 勢 戸 和 子 泉 谷 秀 昌	大山 西 真 山 本 省 二 松 下 明 秀 甲 斐 治 美 渡 邊 雄	74
食品の微生物検査法と食中毒発生時の疫学調査法 5. 下痢原性 大腸菌	勢 戸 和 子		74
Buffered peptone water 42℃増菌培養による国産鶏肉からの VanA型VREの分離（英文）	原田 哲 也 河 合 高 生 浅 尾 勉	神吉 政 史 田 口 真 澄 久 米 田 裕 子	75
新型インフルエンザ検査診断	加瀬 哲 男 廣 井 聡	森川 佐 依 子	75
日本の施設高齢者における抗体応答からみた季節性インフルエ ンザワクチンの有効性評価（英文）	原 め ぐ み 加 瀬 哲 男 廣 田 良 夫	田中 恵 太 郎 前 田 章 子	76
A型インフルエンザウイルスによる急性肺炎にはインターロイ キン15が重要な役割を果たす（英文）	中村 梨 沙 柴 田 健 輔 加 瀬 哲 男	前田 直 良 山 田 久 方 吉 開 泰 信	76
エンテロウイルス71による手足口病の成人例	山崎 謙 治	中 田 恵 子	77
タンデム型質量分析計付ガスクロマトグラフまたは液体クロマ トグラフを使用した迅速かつ簡便な食品中の残留農薬一斉分析 法（英文）	高取 聡 北 川 陽 子 岡 本-柿 本 葉	起福 橋 雅 浩 尾 井 直 樹 花 裕 孝	77
質量分析計付ガスクロマトグラフを用いた尿中の5種類のフタル 酸モノエステルの測定（英文）	近藤 文 雄 林 留 美 子 高 取 聡 郎 和 泉 俊 一	猪飼 誉 友 奥 中 正 直 牧 澤 裕 之 野 恒 久	78

加工食品を用いた農薬分析技能試験用試料調製の検討……………	起内山 橋田 雅耕 浩太郎 中山 山 裕 紀 子	小阪田 正和 永吉 晴健 柿本 健裕 尾花 裕 孝	78
プレカラム誘導体化-液体クロマトグラフ法を用いたダイエッ ト用健康食品に含まれるリオチロニン及びレボチロキシンの定 量(英文)……………	沢山 辺崎 善勝 之弘	田上 貴臣 田 口 修 三	79
HPLCによるロートエキス散中のアトロピン及びスコポラミンの 迅速定量法(英文)……………	沢田 辺上 善貴 之臣 田 田 口 修 三	山崎 勝弘 川 口 正 美	79
カンゾウ中の有機塩素系農薬を分析する公定法の改善(英文) ……	田野 上村 貴臣 沢 村 千枝 尾 辺 善 裕 孝	梶山 村計 志 田 崎 勝 弘 田 口 修 三	80
トコフェロールニコチン酸エステルカプセルにおける溶出挙動 の経時変化に関する検討 ……	川田 口 正 美 田 口 修 三	梶村 計 志	80
使用人員の少ない家庭用浄化槽の夜間間欠ばっ気運転による省 電力化と水質への影響 ……	中野 合 竜 仁 百 合 三	奥村 早代 子 井 上 俊 行	81
小型浄化槽の維持管理と処理状況について ……	奥村 早代 子 井 上 俊 行	百 合 竜 三	81
乗用車室内において内装材から放散される芳香族炭化水素類の 乗員への吸収量の推定-吸入曝露ラットにおける体内動態の 薬物動力学解析から-(英文) ……	吉田 俊 明		82
日本の住宅内での α -ピネン吸収量の推定-吸入曝露ラットに おける体内動態の薬物動力学解析から-(英文) ……	吉田 俊 明		82
モルモット肺組織における亜硝酸曝露の影響(英文) ……	大安 山達 正幸 安 達 修 一	岡竹 憲司 竹 中 規 訓	83
国内5病院における抗悪性腫瘍剤の職場曝露とその取扱い方法と の関連性について(英文) ……	吉田 田 仁 西 田 升 三 宮 島 敬 子	甲田 茂樹 吉 田 俊 明 熊 谷 信 二	83
家庭用品に含有されるトリブチルスズ、トリフェニルスズの分 析法-公定分析法の改定にむけて- ……	中河 島 晴 信 河 合 強 志	富山 健一 伊佐 間 和 郎	84

ラット大脳由来アストロサイト細胞株RCR-1を用いたTBT暴露によって誘導される細胞内カルシウムと細胞死誘導メカニズムの解析（英文）	富中 山 健 一 栗 山 孝 雄 荒 川 泰 昭 小 川 康 恭	84
トリブチル錫腹腔内投与によるラット嗅覚障害発症メカニズムの解析（英文）	富 山 健 一 中 島 晴 信 荒 川 泰 昭 熊 谷 裕 通	85
病院の病理検査室におけるホルムアルデヒドばく露のリスクアセスメントについて	甲 田 茂 樹 熊 谷 信 二 佐 々 木 毅 吉 田 仁	85
繊維製品中に含有するアゾ染料由来の芳香族アミン類の分析（英文）	村 上 強 志 伊 佐 間 和 郎 中 島 晴 信 土 屋 利 江 松 岡 厚 子	86

大阪府におけるウエストナイルウイルスに対するサーベイランス調査 (2010年度)

青山幾子^{*1} 弓指孝博^{*1} 熊井優子^{*2} 梯和代^{*2} 加藤友子^{*3}
倉持隆^{*4} 西村平和^{*4} 中島康勝^{*4} 加瀬哲男^{*1} 高橋和郎^{*5}

大阪府ではウエストナイルウイルス(WNV)の侵入を監視する目的で、2003年度より媒介蚊のサーベイランス事業を実施している。また、死亡原因の不明な鳥死骸が2羽以上同地点で見られた場合、その鳥についてもWNV検査を実施している。

2010年度は6月末から9月末にかけて府内20カ所で蚊の捕集を行い、得られた雌の蚊についてWNV遺伝子の検出を試みた。捕集された蚊は6種4146匹で、そのうちアカイエカ群(40.2%)とヒトスジシマカ(53.4%)が大部分を占め、他にコガタアカイエカ(6.1%)、シナハマダラカ(0.22%)、トウゴウヤブカ(0.02%)、キンパラナガハシカ(0.02%)が捕集された。定点及び種類別の蚊340プールについてWNV遺伝子検査を実施したが、すべての検体においてWNVは検出されなかった。また、2010年度当所に搬入された死亡カラス(7頭)の脳を対象にWNV遺伝子検査を行ったが、WNVは検出されなかった。

キーワード: ウエストナイルウイルス、媒介蚊、サーベイランス、RT-PCR、カラス

Key words : West Nile Virus, vector mosquitoes, surveillance, RT-PCR, crow

ウエストナイル熱は蚊によって媒介されるウイルス性の熱性疾患である。その病原体はフラビウイルス科フラビウイルス属のウエストナイルウイルス(WNV)で、このウイルスは自然界において蚊と鳥類の間で感染サイクルが維持されている。ウエストナイル熱は、従来、アフリカ、ヨーロッパ、西アジア、中東を中心

に散発的に流行がみられていた¹⁾。しかし、1999年に米国で初めて患者が報告されて以来、WNVの活動地域は北米から中南米まで拡大している²⁻⁵⁾。わが国では2005年に米国渡航者によるウエストナイル熱の輸入症例が初めて確認された⁶⁾。現在のところ、国内における感染報告事例はない。

WNVが、いつどの経路で国内に侵入してくるかは予測できないが、侵入経路として、航空機や船舶に紛れ込んだウイルス保有蚊や、WNVに感染した渡り鳥によるルートなどが考えられている。WNVの侵入・蔓延を防止するためにはWNVに対する継続的な監視を行い、早期発見、防疫対策を行うことが必要である。

大阪府ではベクターとなりうる蚊の種類や、蚊のウイルス保有について調べるため、2003年度より蚊のサーベイランス調査を実施している⁷⁻¹⁴⁾。また、カラス属のトリはWNVに対する感受性が高く、血中ウイルス量が多いこと、WNV感染により死亡しやすいことなどから、米国でWNVの活動地域を調べる指標として用いられている^{2, 15)}。大阪府においても、厚生労働省の通知に従い¹⁶⁾、死亡原因の不明なカラスの死骸が同

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課

^{*2} 大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課

^{*3} 大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課
(現 大阪府四條畷保健所生活衛生室検査課)

^{*4} 大阪府健康医療部環境衛生課

^{*5} 大阪府立公衆衛生研究所感染症部

West Nile Virus Surveillance in Osaka Prefecture

(Fiscal 2010 Report)

by Ikuko AOYAMA, Takahiro YUMISASHI, Yuko KUMAI, Kazuyo KAKEHASHI, Tomoko KATO, Takashi KURAMOCHI, Hirakazu NISHIMURA, Yasumasa NAKAJIMA, Tetsuo KASE, and Kazuo TAKAHASHI

地点で 2 羽以上見られた場合、その鳥について WNV 検査を実施している。ここでは 2010 年度の調査結果について報告する。

調 査 方 法

1. 捕集定点および調査実施期間

図 1 に示したように大阪府管内、東大阪市及び高槻市に計 20 カ所の定点を設定し、2010 年 6 月第 4 週から 9 月第 4 週（東大阪市及び高槻市は 9 月第 2 週）までの期間、隔週の火曜日から水曜日にかけてトラップを設置し、蚊の捕集調査を実施した。

2. 蚊の捕集方法

蚊の捕集には CDC ミニライトトラップ(John W.Hock Company)を使用し、蚊の誘引のためドライアイス(1～2kg)を併用した。トラップは調査実施日の夕刻 16～17 時から翌朝 9～10 時までの約 17 時間設置した。

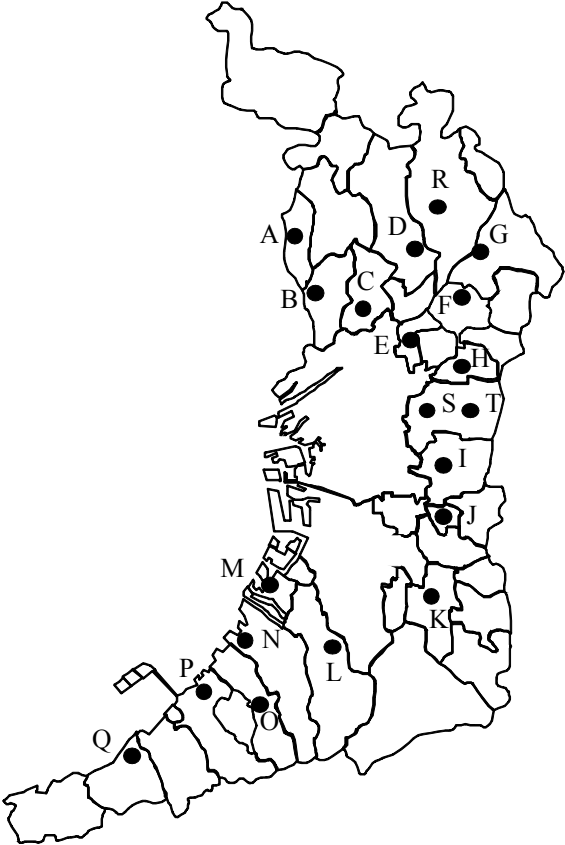
3. 蚊の同定

捕集した蚊は、各保健所において種類を同定し、種

類ごとに別容器に入れて当日中に公衆衛生研究所に搬入した¹⁷⁾。同定が困難な蚊等については公衆衛生研究所で再度チェックした。アカイエカとチカイエカは外見上の区別が困難であることから、すべてアカイエカ群として分別した。

4. 蚊からのウイルス検出

各定点で捕集された蚊のうち、ヒトを吸血する雌のみを検査の対象とし、定点毎、種類毎に乳剤を作成し、ウイルス検査に用いた。1 定点 1 種類あたりの検体数が 50 匹を超える場合は、複数のプールに分割した。乳剤は 2mL のマイクロチューブに捕集蚊と滅菌したステンレス製クラッシャーを入れ、0.2%ウシ血清アルブミン(BSA)加ハンクス液を 250μL 加えた後、多検体細胞破碎装置（シェイクマスター Ver1.2 システム、バイオメディカルサイエンス）で約 1 分振とうして作成した。破碎後のマイクロチューブを軽く遠心してからクラッシャーを除去し、0.2%BSA 加ハンクス液を 500 μL 追加して攪拌した。それを 4℃ 12,000rpm で 15 分間遠心し、その上清を 0.45μm Millex フィルター(ミリポア)で濾過したものを検査材料とした。なお、1 プール



	担当保健所	設置施設名	市
北摂	A 池田	池田市業務センター	池田市
	B 豊中	新豊島川親水水路	豊中市
	C 吹田	吹田保健所	吹田市
	D 茨木	茨木保健所	茨木市
北河内	E 守口	守口保健所	守口市
	F 寝屋川	寝屋川保健所	寝屋川市
	G 枚方	枚方保健所	枚方市
	H 四條畷	大阪府立消防学校	大東市
中南河内	I 八尾	八尾保健所	八尾市
	J 藤井寺	藤井寺保健所	藤井寺市
	K 富田林	富田林保健所	富田林市
泉州	L 和泉	和泉市立教育研究所	和泉市
	M 和泉	泉大津市消防本部	泉大津市
	N 岸和田	岸和田保健所	岸和田市
	O 岸和田	貝塚市立善兵衛ランド	貝塚市
	P 泉佐野	泉佐野保健所	泉佐野市
	Q 泉佐野	はんなり浄化センター	阪南市
高槻	R 高槻	高槻市環境科学センター	高槻市
東大阪	S 東大阪	東大阪西部	東大阪市
	T 東大阪	東大阪東部	東大阪市

図1 蚊の捕集地点

中の蚊の数の多寡により加えるハンクス液を適宜調節した。検査材料のうち 150 μ L について E.Z.N.A.Viral RNA Kit (OMEGA bio-tek) を使用して RNA を抽出した。RT-PCR は、フラビウイルス共通プライマー(Fla-U5004/5457,YF-1/3)、および WNV 特異的検出プライマー(WN NY 514/904)を用いた^{18, 19)}。WNV 特異的検出プライマーの検出感度は NY 株を用いた場合約 1 PFU/tube である。

また、2011 年 2 月 1 日付で同じく蚊媒介性感染症であるチクングニア熱が感染症法上に 4 類感染症としてに規定された²⁰⁾。チクングニア熱の媒介蚊となるヒトスジシマカについては、チクングニアウイルス(CHIKV)特異的検出プライマー(chik10294s/10573c)を用いて、CHIKV の遺伝子検出を試みた²¹⁾。

5. カラスからのウイルス検出

当所に搬入された死亡カラスを解剖し、脳についてウイルス検査を実施した。カラス毎に 0.2%BSA 加ハンクス液を用いて 10%乳剤を作成し、蚊と同様に RNA 抽出後、WNV 遺伝子検査を実施した。

結 果

1. 蚊の捕集結果について

捕集された雌の蚊は 6 種 4146 匹であった。その構成はヒトスジシマカ (53.4%) とアカイエカ群

(40.2%) が大半を占めた (図 2)。その他の蚊として、コガタアカイエカ、シナハマダラカ、キンバラナガハシカ、トウゴウヤブカが捕集された。昨年との比較では、昨年度はアカイエカ群の割合がヒトスジシマカの 1.7 倍であったが、今年度はヒトスジシマカがアカイエカ群の 1.3 倍となり、ヒトスジシマカの割合が多かった。また、コガタアカイエカは昨年度の約 3 倍捕集された。

調査期間を通じた捕集数の推移では、アカイエカ群はサーベイランス開始時より捕集数が多かったが、その後大きなピークはみられず 8 月中旬まではほぼ一定に推移した (図 3)。また、ヒトスジシマカは 7 月後半から 8 月にかけて捕集数が増加し、2 峰性を示した。コ

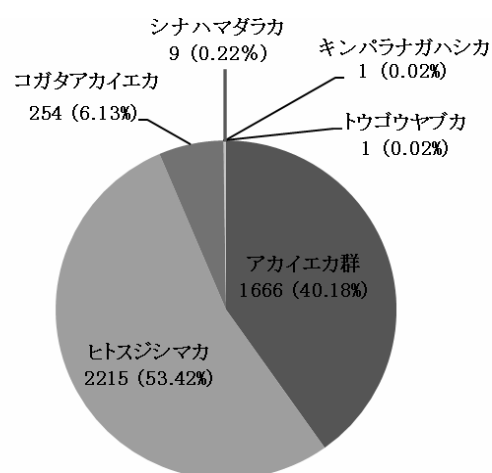


図2 捕集された蚊の種類と数及び構成比

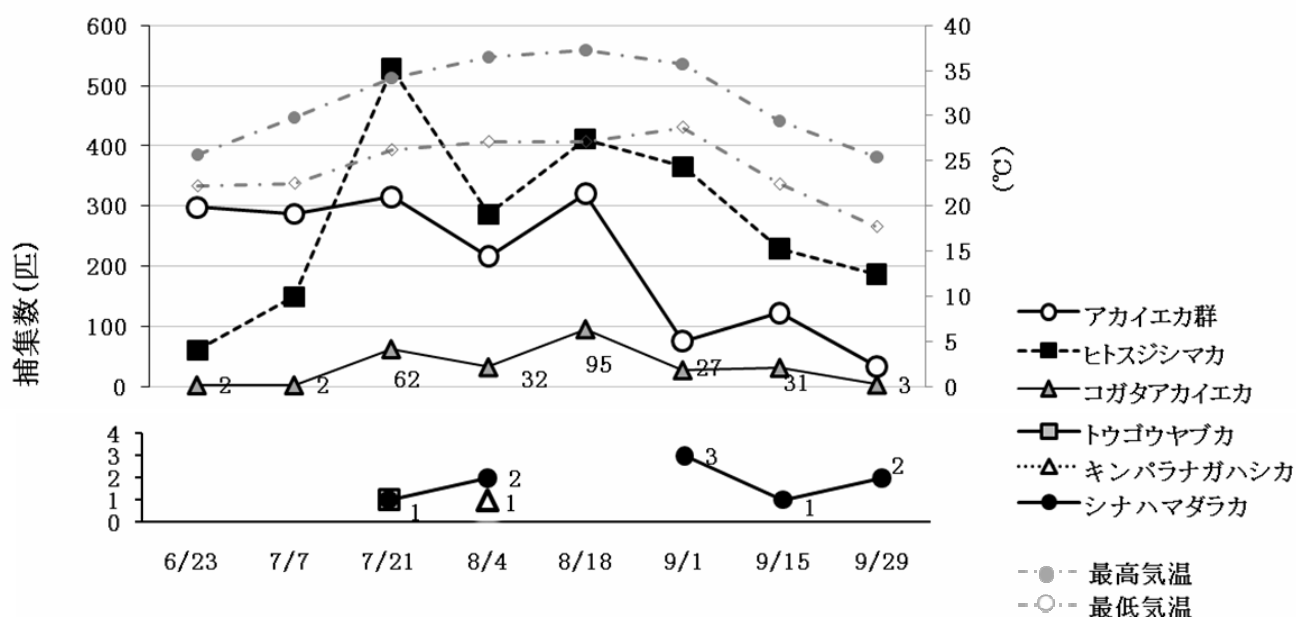


図3 蚊の捕集数の推移

ガタアカイエカは、過去の調査では7月後半から9月前半に捕集されていたが、今回は調査開始時から終了時まで継続して捕集された。その他の蚊は捕集数が少なく、捕集場所も限られていた。

定点別の捕集数では、各地点により捕集数の大きな差はあるが、アカイエカ群とヒトスジシマカはすべての地点で捕集された（図4）。コガタアカイエカは10カ所で捕集され、昨年度の12カ所よりも捕集されたところは少なかったが、阪南と高槻で多く捕集され、全体として捕集数が昨年度を上回った（図5）。シナハマダラカは和泉と阪南、トウゴウヤブカは東大阪東部、キンバラナガハシカは和泉で捕集された。

2. 捕集蚊からのウイルス遺伝子検査結果

各定点で捕集された蚊を種類別に分け 340 プールの

乳剤を作成して RT-PCR 法による遺伝子検査を実施したが、すべての検体において WNV の遺伝子は検出されなかった。またヒトスジシマカから CHIKV の遺伝子は検出されなかった。

3. 死亡カラスの回収数とウイルス遺伝子検査結果

今年度回収されたカラス7頭から、WNV の遺伝子は検出されなかった。

考 察

今回の調査で捕集された蚊の種類は、ヒトスジシマカ、アカイエカ群、コガタアカイエカの3種類を合わせて 99.7% を占め、大阪府において WNV 媒介蚊対策を行う際にはこれら3種の蚊をターゲットとすれば良

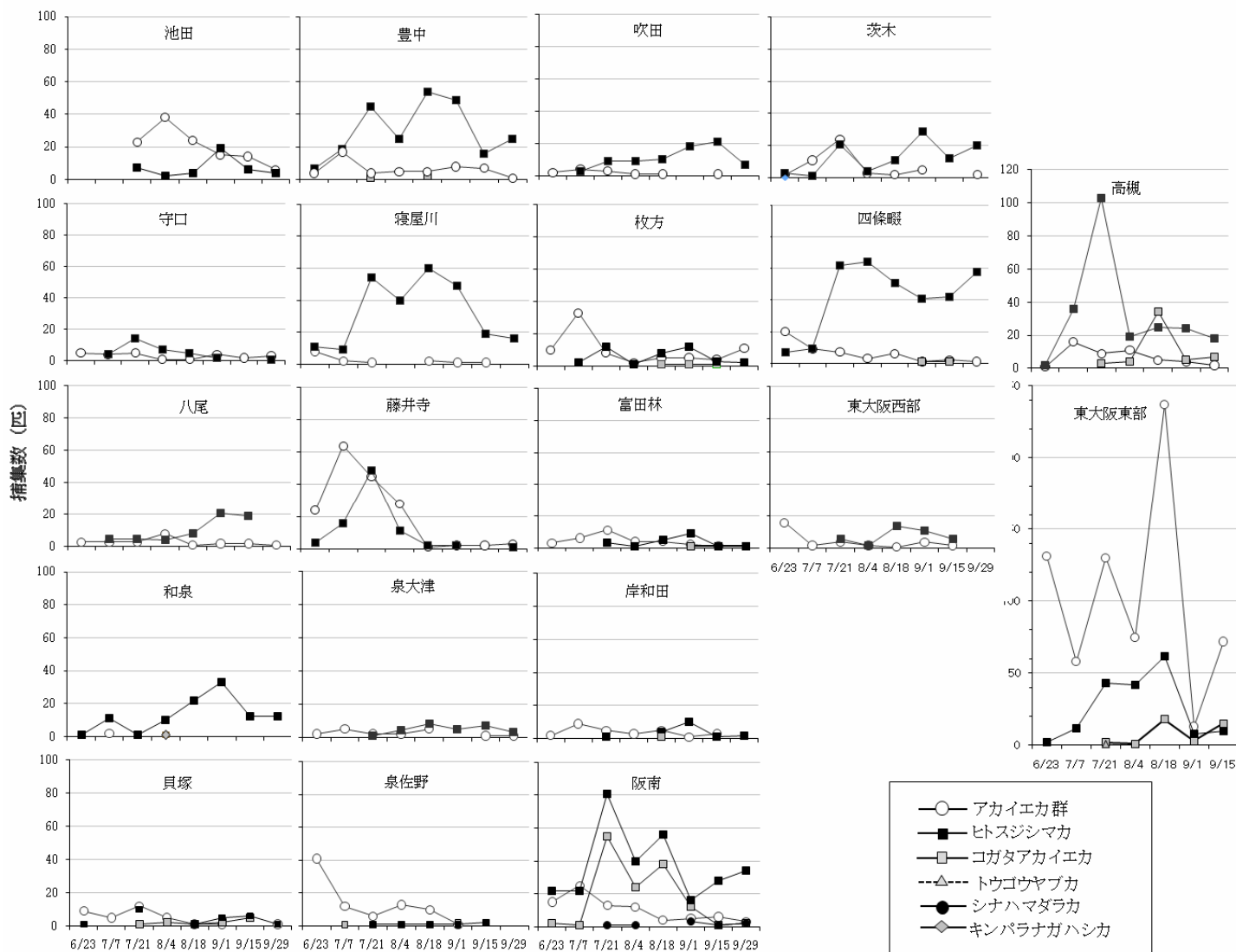


図4 定点別にみた蚊の捕集数の推移

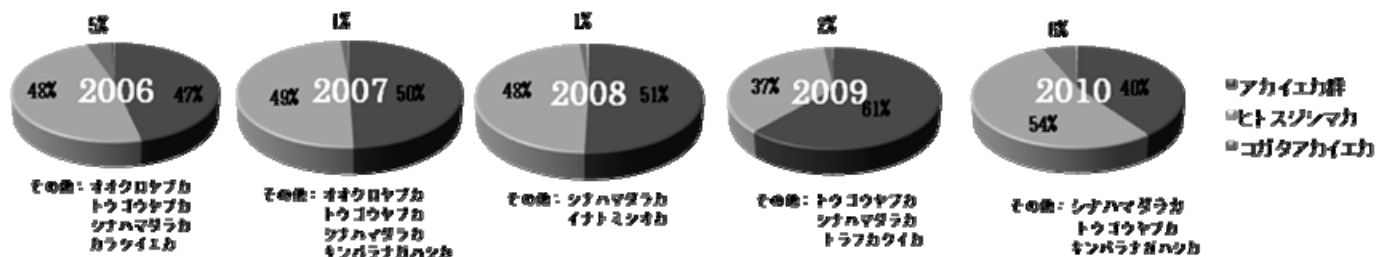


図5 捕集した蚊の種類構成

いことが再度確認できた。また、昨年度はアカイエカ群の捕集割合が高かったが、今回はヒトスジシマカの増加が見られた。ヒトスジシマカの捕集数が多い地点はこれまでの調査とほぼ同じであるが、阪南や高槻の捕集数は昨年度よりもかなり多く、これらの周囲の民家でもヒトスジシマカの発生が多いことが予想された。

各調査地点で捕集される蚊の種類や数の変動には、気温、降水量などの気候変動と、調査実施日の天候、気温、風速などが大きく影響すると考えられる。今夏は猛暑で、最高気温は調査開始時から終了時まで 25℃以上であった。また、7月末から9月初旬にかけては最低気温も 25℃以上が続き、夏日や真夏日が続いた。猛暑のため雨水枡などの蚊の発生源が乾き、夏場の蚊の発生が抑えられる可能性も考えられたが、そのような傾向は、明確にはみられなかった。

WNV については、多くの自治体で蚊の調査が実施されている。現在のところ国内で蚊や鳥から WNV が検出されたという報告はなく米国からの輸入症例が 1 例報告されているのみである⁷⁾。米国では WNV 蔓延後、2008 から 2010 年度は患者数が減少傾向にあったが、依然として患者報告数は多い²⁾。ヨーロッパでも、イタリア、ギリシャ、ルーマニアなどで感染者が報告され、どの国から我が国へ WNV が持ち込まれるかは予測できない²²⁻²⁴⁾。

また、近年 WNV と同じく蚊が媒介するウイルス性感染症のデング熱やチクングニア熱の大きな流行が相次いで起こっている。我が国でも輸入症例の報告数が増加し、2011 年 2 月 1 日付でチクングニア熱が感染症法並びに検疫法に記載された。今回、全地点で捕集されたヒトスジシマカはデング熱やチクングニア熱のベクターとしても重要な蚊である。これらのウイルスは WNV と異なり、ヒトー蚊ーヒトで感染サイクルが成立する。ウエストナイル熱だけでなく、デング熱やチク

ングニア熱も、蚊のウイルス保有が確認された場合、流行が起きる可能性があり、早期に対応が必要となると考えられる。

他に蚊が媒介する感染症として日本脳炎がある。大阪府内でも 2009 年度に患者が発生した。本調査では、日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカは毎年捕集されている(図 5)。また、大阪府の動物由来感染症サーベイランス結果報告では、府内の豚で毎年日本脳炎抗体が検出されており、大阪府においても日本脳炎に感染する可能性があると考えられる²⁵⁾。

ウエストナイル熱やデング熱、チクングニア熱は、未だヒト用のワクチンは実用化されておらず、予防対策は蚊に刺されないことしかない。このような蚊媒介性感染症は、現在国内で患者が発生していなくても、今後とも侵入に対する警戒や対策は必要である²⁶⁾。また、サーベイランスを継続することは、実際の発生時に防疫に従事する環境衛生監視員等保健所職員のウエストナイル熱や蚊の捕集・同定に関する知識と技術の向上や維持、衛生研究所との連携活動につながっている。防疫に対応する職員が予め経験を積むことで緊急時に即対応ができることから、本サーベイランスは危機管理対策の一つとして非常に重要だと考えられる。

謝 辞

本調査は、大阪府立公衆衛生研究所、大阪府健康医療部環境衛生課および各保健所の協力のもとに大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課の事業として実施されたものであり、調査に関係した多くの方々に深謝致します。また、データをご提供頂いた東大阪市保健所、高槻市保健所の関係者の方々に深くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 高崎智彦: ウエストナイル熱・脳炎, ウイルス, 57(2), 199-206 (2007)
- 2) CDC: West Nile Virus Statistics, Surveillance, and Control Archive, <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&control.htm>
- 3) Public Health Agency of Canada: West Nile Virus Monitor
<http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/index-eng.php>
- 4) Elizondo D, Davis CT, Fernandez I., et al: West Nile virus isolation in human and mosquitoes, Mexico, Emerg Infect Dis., 11: 1449-52. (2005)
- 5) West Nile Virus Update 2006 - Western Hemisphere (23): Argentina: 1st case, ProMed-mail, 20061228.3642 (2006)
- 6) 小泉加奈子, 中島由紀子, 松崎真和ら: 本邦で初めて確認されたウエストナイル熱の輸入症例, 感染症誌, 80(1), 56-57 (2006)
- 7) 瀧幾子, 弓指孝博, 吉田永祥ら: 大阪府の住宅地域における蚊の分布調査, 大阪府立公衛研所報, 42, 65-70 (2004)
- 8) 弓指孝博, 瀧幾子, 齋藤浩一ら: 大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス, 大阪府立公衛研所報, 42, 57-63 (2004)
- 9) 青山幾子, 弓指孝博, 齋藤浩一ら: 大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス調査 (平成 16 年度報告), 大阪府立公衛研所報, 43, 77-84 (2005)
- 10) 青山幾子, 弓指孝博, 齋藤浩一ら: 大阪府におけるウエストナイルウイルスに関する蚊のサーベイランス調査 (2005 年度報告), 大阪府立公衛研所報, 44, 1-8 (2006)
- 11) 川淵貴子, 弓指孝博, 青山幾子ら: 大阪府におけるウエストナイルウイルスに関する蚊のサーベイランス調査 (2006 年度報告), 大阪府立公衛研所報, 45, 1-5 (2007)
- 12) 弓指孝博, 廣井聡, 青山幾子ら: 大阪府におけるウエストナイルウイルスに対する蚊のサーベイランス調査 (2007 年度), 大阪府立公衛研所報, 46, 9-15 (2008)
- 13) 青山幾子, 弓指孝博, 中田恵子ら: 大阪府におけるウエストナイルウイルスに対するサーベイランス調査 (2008 年度), 大阪府立公衛研所報, 47, 1-8 (2009)
- 14) 青山幾子, 弓指孝博, 加藤友子ら: 大阪府におけるウエストナイルウイルスに対するサーベイランス調査 (2009 年度), 大阪府立公衛研所報, 48, 1-7 (2010)
- 15) Steele KE, Linn MJ, Schoepp RJ, et al.: Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York. Vet Pathol., 37 (3), 208-24 (2000)
- 16) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知: ウエストナイル熱の流行予測のための死亡カラス情報の収集等について (2003.12.13)
- 17) 弓指孝博, 青山幾子: ウエストナイル熱 (脳炎), 大阪府立公衆衛生研究所感染症プロジェクト委員会編 感染症検査マニュアル第三集, 1-13 (2004)
- 18) 国立感染症研究所 ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル Ver.4 (2006) <http://www.nih.go.jp/vir1/NVL/WNVhomepage/WN.html>
- 19) 森田公一, 田中真理子, 五十嵐章: PCR 法を用いたフラビウイルスの迅速診断法の開発に関する基礎的研究, 臨床とウイルス, 18(3), 322-325. (1990)
- 20) 厚生労働省: 感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律および検疫法の一部を改正する法律 (厚生労働省令第 6 号)、官報第 5457 号 (2011)
- 21) 小林睦生ら: チクングニヤ熱媒介蚊対策に関するガイドライン (2009) <http://www.nih.go.jp/niid/entomology/document/chikungunya.pdf>
- 22) West Nile Virus urasia (11): Italy (Veneto), ProMed-mail, 20101022.3840 (2010)
- 23) Papa A., Danis K., Baka A., et al: Ongoing outbreak of West Nile virus infections in humans in Greece, July-August 2010, Euro Surveil., 15(34) (2010)
- 24) West Nile virus - Eurasia: Romania ProMed-mail, 20110115. 0180 (2011)
- 25) 大阪府: 平成 22 年度動物由来感染症サーベランス結果報告 <http://www.pref.osaka.jp/attach/2769/00006805/dobutsuyurai22.pdf>
- 26) 弓指孝博, 瀧幾子, 大竹徹ら: 地方におけるウエストナイル熱対策, 臨床とウイルス, 33(1), 33-40 (2005)

LC-MS によるサイクラミン酸分析法の検討

山口瑞香* 尾花裕孝*

サイクラミン酸の分析法を高速液体クロマトグラフィー／質量分析法(LC-MS)を用いて検討した。試料を透析し、透析外液を LC-MS を用いて測定した。妥当性評価の結果、良好な精度が得られた。本法は簡便で高感度な分析法であるため、サイクラミン酸の検査業務に有用であると考えられる。

キーワード：サイクラミン酸、透析、高速液体クロマトグラフィー／質量分析計

Key words: Cyclamic acid, Dialysis, LC-MS

サイクラミン酸は別名チクロと呼ばれる砂糖の30倍の甘さをもつ人工甘味料である。発がん性の疑いがあり、日本では1969年から使用が禁止されているが、EU、中国では使用が許可されており、輸入食品から検出される事例がある。サイクラミン酸の試験法は複数報告されているが、平成15年8月29日に厚生労働省より試験法が通知された(以下、通知法)¹⁾。当所においても輸入食品中のサイクラミン酸の検査を実施しており、通知法の妥当性評価を行った。また、当所の検査精度向上を目的として分析法の検討を行ったので報告する。

実験方法

1 試料

過去に違反のあった食品を参考に大阪府内で市販されていた乾燥プルーン、いちごジャム、らっきょう甘酢漬、米酢、穀物酢、リンゴ酢、バルサミコ酢、レモンティーおよびピクルスを用いた。

2 試薬等

2-1 標準品

サイクラミン酸は東京化成(株)製を用いた。

2-2 試薬等

・アセトニトリル、ギ酸、メタノール：和光純薬工業(株)

製高速液体クロマトグラフ用試薬

- ・塩化ナトリウム、酢酸、炭酸水素ナトリウム：和光純薬工業(株)製試薬特級
- ・塩酸、硫酸：和光純薬工業(株)製有害金属測定用
- ・n-ヘキサン：和光純薬工業(株)製残留農薬分析用
- ・水：ミリポア社製MQ-Advantageにより精製して用いた。
- ・次亜塩素酸ナトリウム溶液：化学用、有効塩素5.0%以上
- ・透析膜：和光純薬工業(株)製Dialysis Membrane, Size 36
- ・固相抽出カラム：Waters Sep-Pak tC18 Environment 900 mg(ODS)、Varian Bond Elut SAX 500 mg/3 mL(SAX)
- ・硫酸溶液：硫酸を水で2倍に希釈した。
- ・次亜塩素酸Na試液：次亜塩素酸ナトリウム溶液を水で2倍に希釈した。
- ・5%炭酸水素Na溶液：炭酸水素ナトリウム50gを水に溶かして1Lとした。
- ・塩酸溶液：塩酸を水で100倍に希釈した。

3 装置

(株)島津製作所製Prominence UFLCおよびLCMS-2020を用いた。

4 測定条件

4-1 LC-MS条件

分析カラム：ジーエルサイエンス(株)製Inertsil ODS-4 (2.1×100 mm, 3 μm)

カラム温度：40℃、流速：0.2 mL/min、注入量：5 μL
移動相：0.1%ギ酸水溶液/アセトニトリル (92 : 8)

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課
Determination of Cyclamic acid in Processed foods Using
Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
by Mizuka YAMAGUCHI, Hirotaka OBANA

イオン化モード：ESI(-)、測定モード：SIR、測定イオン：
m/z=178

4-2 HPLC 条件

分析カラム：ジエールサイエンス(株)製 Inertsil ODS-4
(4.6×150 mm, 5 µm)

カラム温度：40℃、流速：1 mL/min、注入量：10 µL

移動相：水/アセトニトリル (3 : 7)

測定波長：314 nm

5 試験溶液の調製

5-1 通知法

・抽出

厚生労働省通知¹⁾に従い実施した。試料 10 g をそのまま、あるいは細切後、水 40 mL を加えて沸騰水浴中で 15 分間加熱した。冷却後、水を加えて 100 mL とした後、3,000 rpm、5 分間遠心分離を行った。上澄液をろ紙でろ過し、抽出液とした(以上までの操作で得られた抽出液を誘導体化し、分析する方法をスクリーニング法とする)²⁾。

・精製

SAX カラムの上に ODS カラムを連結し、メタノール 10 mL および水 10 mL でコンディショニング後、抽出液 10 mL を負荷した。水 10 mL で洗浄後、ODS カラムを除去し、SAX カラムから塩酸溶液 10 mL でサイクラミン酸を溶出して精製液とした。

・誘導体化

抽出液および精製液各 10 mL に硫酸溶液 2 mL、n-ヘキサン 5 mL および次亜塩素酸 Na 試液 1 mL を加えて 1 分間振とう後、3,000 rpm、5 分間遠心分離した。n-ヘキサン層を分取し、5%炭酸水素 Na 溶液 25 mL を加えて 1 分間振とう後、3,000 rpm、5 分間遠心分離した。n-ヘキサン層を分取し試験溶液とした。この試験溶液を HPLC にて測定した。

5-2 検討法

試料 10 g をそのまま、あるいは細切後、透析膜に充填し、塩化ナトリウム 2 g および水を加え、透析膜を密封した。これを 500 mL のビーカーに吊るし、全量 500 mL となるよう水を加え、一晚攪拌、透析を行った。この透析外液を試験溶液とし、LC-MS を用いて測定を行った。

6 検量線

標準品 50 mg を秤量し、水で溶解して全量を 50 mL とし標準原液とした(1000 µg/mL)。LC-MS 測定では標準原液を水で希釈し、0.05、0.1、0.2、0.5 µg/mL の検量線用標準溶液を作成した。HPLC 測定では 5、10、20、30 µg/mL 検量線用標準溶液を作成し、各々 10 mL を上記方法で誘導体化し、検量線用標準溶液とした。

結果および考察

1 通知法の確認

通知法の検出限界は 5 µg/g とされているため、試験溶液中の検出限界濃度である 5 µg/mL 検量線用標準溶液を用いて測定条件の検討を行った。上記の HPLC 条件で検出限界値のピークは確認可能であった。また、検量線は 5~30 µg/mL の範囲で $r^2=0.995$ 以上の直線性が得られた。よって HPLC/UV による通知法の測定は可能であった。

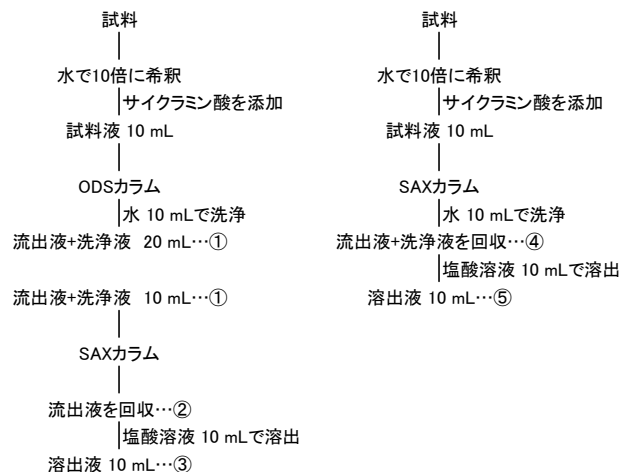
厚生労働省通知に従い、乾燥プルーン、いちごジャム、米酢およびらっきょう甘酢漬け各 5 検体にサイクラミン酸が 20 µg/g となるよう添加し、添加回収試験を実施した。米酢を除き、通知法およびスクリーニング法の平均回収率は 89~106%、相対標準偏差(RSD)は 6%以下であった(Table 1)。米酢は通知法の精製過程で回収率が低下し、ばらつきも大きくなった。しかし、その他の試料では良好な結果が得られた。スクリーニング法で得られた抽出液は、誘導体化時に糖分の多い試料ではエマルジョンができやすく回収できた n-ヘキサンの量が減少したが、定量結果に差は認められなかった。以上の結果より、米酢以外は通知法およびスクリーニング法での分析が可能であることが確認された。また、抽出液を希釈し、上記 LC-MS 条件により測定した結果、同様の回収率および RSD であった(Table 1)。

2 食酢の通知法での回収率低下原因の解明

通知法を用いた米酢の添加回収試験の結果、5 検体での平均回収率が 41%であった。低回収率であった原因を確認するため、4%酢酸水溶液、米酢、穀物酢およびリンゴ酢を用いて原因を調査した(Scheme 1)。各試料を 10 倍に希釈後、サイクラミン酸を添加し、10 mL を ODS カラムに負荷した。ODS カラムを水 10 mL で洗浄し、流出液および洗浄液を合わせて回収した(試験液①)。この液 10 mL を SAX カラムに負荷し、流出液を回収した(試験液②)。SAX カラムから塩酸溶液 10 mL でサイクラミン酸を溶出した(試験液③)。ま

た、10 倍に希釈してサイクラミン酸を添加した試料 10 mL を SAX カラムに負荷後、水 10 mL で洗浄し、流出液および洗浄液を合わせて回収した(試験液④)。さらに SAX カラムから塩酸溶液 10 mL でサイクラミン酸を溶出した(試験液⑤)。上記操作で得られた SAX カラムからの流出液(試験液②、④)にサイクラミン酸は認められなかった。また、SAX カラムのみで前処理した 4 試料の溶出液(試験液⑤)は良好な回収率であった。しかし、米酢および穀物酢の ODS カラムからの流出液および洗浄液はサイクラミン酸の回収率が 20%以下であった(試験液①)。よってこの流出液および洗浄液を SAX カラムに負荷し、得られた溶出液においても同程度の回収率であった(試験液③)。4%酢酸およびリンゴ酢では ODS カラムからの流出液および洗浄液(試験液①)のサイクラミン酸の回収率は 70%以上であった。増田ら³⁾は、通知法で使用する ODS カラムでは食酢を精製することによりサイクラミン酸がカラムに吸着することを報告している。今回用いた食酢も同様の現象が起きたものと考えられた。よって、食酢ではカラム精製を行わなくても良好な回収率が得られるスクリーニング法等による分析が望ましいと考えられる。

Scheme 1



3 検討法の前処理方法の検討

通知試験法では試料を沸騰水浴中で加熱抽出し、固相抽出カラムで精製後、誘導体化して HPLC/UV にて測定を行う。この方法は加熱操作や強酸、有機溶媒を用いた誘導体化が必要なため煩雑で危険性が高い。また、固相抽出カラムでの精製では 2 種類のカラムを使用する等煩雑であり、米酢等、試料によっては良好な回収率が得られなかった。そこで、より安全かつ簡便な前処理方法の検討を行った。加熱抽出では糖分の多い試料等では抽出液を遠心分離しても残渣が多く、固

相抽出カラムの目詰まりの原因となる場合があった。残渣を減らすため、衛生試験法で用いられている透析による抽出を行うこととした⁴⁾。透析膜内に試料とともに塩化ナトリウムを加えることによりサイクラミン酸を効率良く透析することが可能であった。透析外液は通知法の抽出液より希釈されており、誘導体化・HPLC/UV では測定できなかった。しかし、LC-MS を用いることにより十分な感度が得られた。これにより煩雑な固相抽出カラムでの精製および誘導体化を行わずにサイクラミン酸を分析することが可能となった。

4 LC-MS 条件の検討

サイクラミン酸は酸性化合物であり、ESI でのイオン化では $[M-H]^-$ が最も高感度に検出された。また、高極性化合物であるため移動相にぎ酸を添加し、pH を低下させ、カラムへの保持を行った。これにより保持時間約 5 分に良好なピーク形状のサイクラミン酸が確認できた(Fig. 1)。

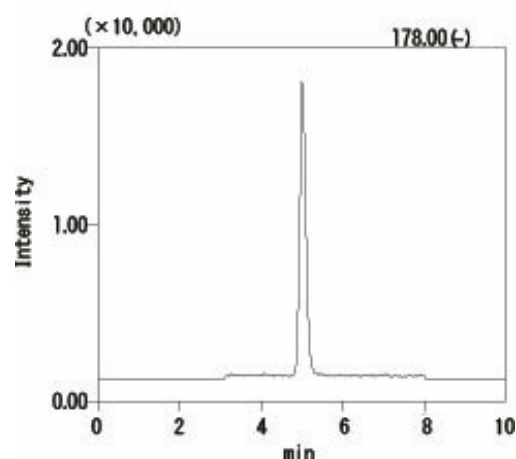


Fig. 1. サイクラミン酸クロマトグラム(0.05 g/mL)

5 LC-MS 測定における検量線および定量限界

0.05~0.5 $\mu\text{g/mL}$ の標準溶液を調製し、絶対検量線を作成した。決定係数(r^2)=0.999 以上の良好な直線性が得られた。

定量限界は、サイクラミン酸通知試験法の検出限界である 5 $\mu\text{g/g}$ とした。

6 添加回収試験

あらかじめサイクラミン酸が含有していないことを確認した乾燥プルーン、いちごジャム、米酢、バルサミコ酢およびらっきょう甘酢漬け各 5 検体にサイクラミン酸を 5、20 $\mu\text{g/g}$ 添加し、添加回収試験を実施した。平均回収率は 86~115%で、相対標準偏差は 5%以下と良好な結果が得られた(Table 2)。また、ピクルス、レモンティーを用いて試験法の

妥当性評価を行った。各試料にサイクラミン酸を 5、20 µg/g 添加し、試験者 1 名が 2 併行で 5 日間試験を実施した。平均回収率は 94～96%、併行精度は 4%以下、室内精度は 7%以下と良好な結果が得られた。通知法では精度管理で 20 µg/g での添加回収率を求めることとしているが、サイクラミン酸は検出されてはならない添加物であり、検出限界が 5 µg/g と定められているため 5 µg/g での試験法の評価も行った。乾燥ブルーベリーではばらつきが大きく、バルサミコ酢では回収率が 100%以上であったが、農薬等の試験法妥当性評価ガイドライン⁵⁾の目標値を満たしていたため、本試験法は十分な定量精度があると考えられる。

参考文献

- 1) サイクラミン酸に係る試験法について：平成 15 年 8 月 29 日、食安監発第 0829009 号
- 2) 食品衛生検査指針 食品添加物編 2003 p580-585
- 3) 増田治樹、佐想善勇（姫路市環境衛生研究所）：食酢のサイクラミン酸分析について、平成 22 年度 地方衛生研究所 全国協議会 近畿支部理化学部会研修会 講演要旨集
- 4) 衛生試験法・注解 2010 p385-361
- 5) 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について：平成 22 年 12 月 24 日、食安発 1224 第 1 号

Table 1. 通知法添加回収試験結果 (n=5) 単位：%

	通知法		スクリーニング法	
	回収率	RSD	回収率	RSD
乾燥ブルーベリー	89	3	106	3
イチゴジャム	90	6	98	3
らっきょう甘酢漬	91	1	94	5
米酢	41	67	95	3
スクリーニング-MS法				
	回収率	RSD (%)		
乾燥ブルーベリー	94	3		
イチゴジャム	101	2		
らっきょう甘酢漬	91	3		
米酢	99	2		

Table 2.

検討法添加回収試験結果 (n=5) 単位：%

	添加濃度 5µg/g		添加濃度 20µg/g	
	回収率	RSD	回収率	RSD
乾燥ブルーベリー	86	5	89	1
イチゴジャム	97	1	94	1
らっきょう甘酢漬	97	2	95	2
米酢	90	1	99	2
バルサミコ酢	115	1	98	1

検討法室内併行精度試験結果 (n=2, 5days)

	レモンティー		ピクルス	
	5µg/g	20µg/g	5µg/g	20µg/g
回収率	96	96	95	94
併行精度	1	2	4	2
室内精度	6	4	7	4

7 まとめ

以上より、本検討法は簡易で十分な定量精度が得られることから、日常分析法として利用できると考えられる。

りんごジュース中のパツリンの検査結果 — 平成 18～22 年 —

中山裕紀子^{*1} 中辻直人^{*1} 高取 聡^{*1} 小阪田正和^{*1} 福井直樹^{*1}
北川陽子^{*1} 岡本-柿本葉^{*1} 柿本幸子^{*1} 田口修三^{*1,2} 尾花裕孝^{*1}

平成 18 年度から平成 22 年度までの 5 年間（年 1 度）に実施した、りんごジュース中のパツリンの検査結果をまとめた。総数 75 検体について分析した結果、2 検体からパツリンが検出された。このうち、食品衛生法の規格基準値（0.050 ppm）を超えたものはなかった。

キーワード：パツリン、りんごジュース、LC-MS/MS

Keywords: Patulin, Apple juice, LC-MS/MS

パツリンは、ペニシリウム属またはアスペルギルス属等の真菌が産生するカビ毒であり、りんご果汁を汚染することが知られている¹⁾。これらの真菌は、りんごの収穫、包装、輸送時等に受けた損傷部から侵入するとされており、不適切な貯蔵等によりパツリンが産生される。特に台風等により落下して傷がつくとともに、土壌に直接接触した果実は、パツリン汚染のリスクが高いと考えられている。パツリンの毒性については、動物実験において、消化管の充血、出血、潰瘍等の症状が認められている¹⁾。

平成 15 年 11 月 26 日に食品、添加物等の規格基準の一部が改正され、りんごジュース及び原料用りんご果汁について、パツリンの規格基準（0.050 ppm）が設定され、同時に告示法が示された²⁾。告示法の概要は以下の通りである。試料からパツリンを酢酸エチルで抽出した後、この酢酸エチル層を炭酸ナトリウム水溶液と震盪混和することによって精製する。これを減圧

濃縮後、紫外分光光度型検出器付高速液体クロマトグラフあるいは質量分析計付液体クロマトグラフ（LC-MS）を使用する場合は、酢酸水に再溶解して試験液とし、質量分析計付ガスクロマトグラフを使用する場合は、トリメチルシリル化による誘導体化をして試験液とする。本試験に際しては、告示法もしくは告示法と同等以上の性能を有する試験法の使用が指示されている²⁾。

当所では、同等以上の性能を有する試験法として、簡便な固相抽出法を開発し、試験法として活用している。今回、平成 18～22 年度までに実施した行政検査の結果を取りまとめて報告する。また、厚生労働省から示された「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」³⁾ に準じて分析法の妥当性評価を行った。

試験方法

1. 試料

大阪府内の小売店より収去された、りんごジュース（100%果汁及び濃縮還元）75 検体（各年度 15 検体）を対象とした。内訳は、以下の通りであった。(A) 国産果汁のみ使用したこと明記した製品（8 検体）(B) 輸入果汁のみを使用したことを明記した製品（2 検体）(C) 特に記載のない製品（65 検体）

*1 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課

*2 大阪青山大学 健康科学部 健康栄養学科

Analysis of Patulin in Apple Juice (2006-2010)

by Yukiko NAKAYAMA, Naoto NAKATSUJI, Satoshi TAKATORI, Masakazu OSAKADA, Naoki FUKUI, Yoko KITAGAWA, You KAKIMOTO-OKAMOTO, Sachiko KAKIMOTO, Syuzo TAGUCHI and Hirotaka OBANA

2. 試薬類

パツリン標準品は、パツリン標準品またはマイコトキシシン試験用パツリン溶液（100 µg/mL アセトニトリル溶液）を用いた。パツリン標準品はアセトニトリルで溶解し、パツリン標準原液とした。パツリン標準原液またはマイコトキシシン試験用パツリン溶液を 3% 酢酸水で希釈し、標準溶液とした。酢酸エチル及びメタノールは、残留農薬分析用を使用した。酢酸は、高速液体クロマトグラフ用を、アセトニトリルは、LC-MS 用を、酢酸アンモニウムは、試薬特級を用いた。上記試薬は、いずれも和光純薬社製を使用した。

精製用の固相カラムは、Waters 社製 OASIS HLB カラム（60 mg）及び Sep-Pak Light NH₂ を使用した。

3. 試験液調製法

田口らの方法を活用した⁴⁾。その概要は、以下の通りである。試料 5.0 g を予めメタノール 3 mL、水 5 mL でコンディショニングした OASIS HLB カラム（60 mg）に負荷・吸引し、その溶出液は廃棄した。続けてリザーバ及びカラムを水 2 mL で洗浄し、その洗液を捨てた。カラムを更に吸引して水分を排出させた。次に酢酸エチル 3 mL でコンディショニングした Sep-Pak Light NH₂ を OASIS HLB カラムの後に接続し、酢酸エチル 1 mL で溶出した。溶出液を窒素気流下で濃縮乾固した。この残留物に 3% 酢酸水 1 mL を加えて溶解し、必要に応じて 0.45 µm の PTFE メンブランフィルターでろ過して試験液とした（スキーム 1）。なお、分析には、タンデム型質量分析計付液体クロマトグラフ（LC-MS/MS）を使用した。

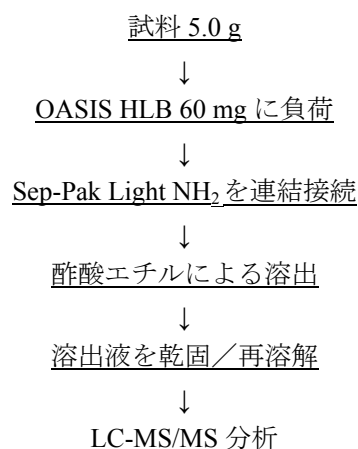
4. 分析条件

【LC】 機器：1100 series（Agilent Technologies）
カラム：Cadenza CD-C18（2.0×50 mm, 3 µm：Imtakt）
移動相：4%アセトニトリル含有 2 mM 酢酸アンモニウム水溶液（イソクラティック）
流速：0.2 mL/min
カラム温度：50℃
注入量：5.0 µL

【MS/MS】 機器：API 3000（AB Sciex）
イオン化法：エレクトロスプレー法（ネガティブ）
キャピラリー電圧/温度：-3500 V / 500℃

コリジョンエネルギー：-12 eV

MRM（プレカーサー/プロダクト）：-153 / -109（定量イオン）：-153 / -81（定性イオン）



スキーム 1. 分析法のフローチャート

5. 添加回収試験

パツリンを含まない試料に対して、終濃度が 0.050 ppm になるようパツリンを添加し、添加回収試験を実施した。なお、試行数は、各年度 5 であった。更に、その 5 年間の結果を用いて併行精度及び室内精度を算出した。

結果

1. 分析法評価

（1）定量下限と選択性

標準品のクロマトグラムにおいて、0.005 ppm では、シグナル／ノイズ比（S/N 比）は 11 であり、0.010 ppm では 22 であった。本法を使用する本府の検査では、定量下限を基準値の 1/10（試験液：0.025 ppm 未満／試料換算：0.005 ppm）に設定しており、その標準品のクロマトグラムの S/N 比は 50 を超え、クロマトグラムにおいて定量性が十分に確保されていた。検量線も 0.005～0.5 ppm の範囲で、相関係数 0.999～1.000 と良好な直線性が得られた。

また、大半のりんごジュースでは、痕跡レベル（試験液：0.005 ppm 未満／試料換算：0.001 ppm 未満）のピークが認められた。しかし、りんごジュースを精製水に置き換えたブランク試験ではピークは認められなかった。よって、当該ピークは、りんごジュース由来

の極微量のパツリンまたは妨害成分と推察された。この痕跡レベルのピークの高さは、基準値（試験液：0.250 ppm／試料換算：0.050 ppm）のピークの高さの約 50 分の 1 であった。すなわち、本分析法の定量下限は、基準値の 1/10 であり、また妨害成分の可能性もあるピークも基準値に相当するピークの 1/10 未満であるので選択性が保証されていると判断された。

(2) 真度と精度

各年度の検査において、基準値相当となる 0.050 ppm のパツリンをりんごジュースに添加し、添加回収試験を実施した。各年度、試行数 5 で実施し、各年度の平均回収率及び相対標準偏差（RSD）は、表 1 の通りであった。

表 1. 各年度の添加回収試験結果

年度	回収率範囲 (%)	平均回収率 (%)	RSD (%)
18	71～81	79.5	2.0
19	74～78	75.8	2.2
20	75～80	76.8	2.5
21	82～88	86.0	2.8
22	84～92	88.4	3.4

各年度：N=5

また、これらの 5 年間のデータを取りまとめて、平均回収率、併行精度と室内精度を算出したところ、それぞれ、81.8、2.6 及び 8.1% であった。

2. 検査結果

本法を用いて平成 18～22 年度に検査した検体の総数は 75 であり、このうち 2 検体からパツリンが検出された（0.005 及び 0.006 ppm）。基準値を超過する検体は認められなかった。図 1 に標準品及び検体から得た試験液のクロマトグラムの一例を示した。

考察

本法の特長は、告示法と比較して簡便かつ迅速であることである。告示法では、試料を酢酸エチルで 2 回抽出した後、炭酸ナトリウム水溶液との液—液分配による精製を 2 回経て試験液を得る。本法では、精秤した試料を OASIS HLB に直接負荷し、水洗及び脱水して酢酸エチルで溶出する。この際、同時に溶出される

妨害成分を Sep-Pak Light NH₂ で除去し、濃縮乾固後、3%酢酸水に再溶解して LC-MS/MS で分析する。この工程は、バキューummニホルドの使用により、6 試料程度の併行操作が可能であり、その試験液の調製に要する時間は、1 時間以内である。また、LC-MS/MS での分析時間は、イソクラティックで 5 分間であり、短時間である。

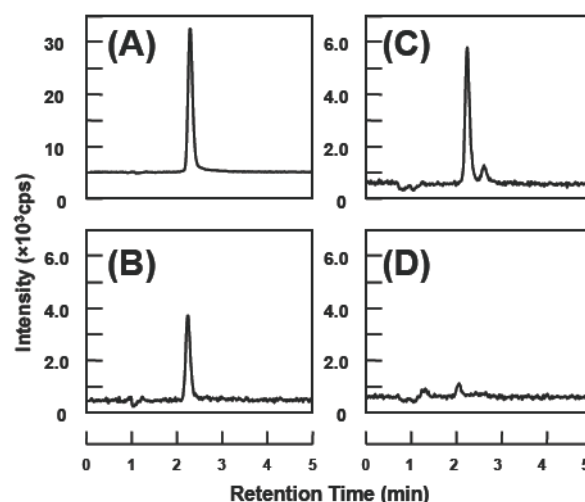


図 1. クロマトグラムの一例

(A) 標準品 0.2 ppm; (B) 標準品 0.02 ppm; (C) 試験品-1 (0.006 ppm 検出；ピークは、0.03 ppm 相当)；(D) 試験品-2（定量下限未満）

今回、食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインを拡大適用して、当該分析法の評価を行ったところ、その基準（平均回収率，70～120%；併行精度，15%未満；室内精度，20%未満）を満たしており、改めて告示法と同等以上の性能を有すると考えられた。

農林水産省の平成 17 年度国産原料りんご果汁のパツリン含有実態調査の結果⁵⁾によると、調査した 249 検体のうち、3 検体が定量下限（0.001 ppm）以上であり、その平均値は、0.004 ppm（最高値，0.021 ppm）であった。また、赤木らは、16 検体のうち国産ストレート飲料（6 検体）からパツリンは検出されなかったが、濃縮還元（9 検体）及び炭酸飲料（1 検体）から 0.003～0.011 ppm で検出されたと報告している⁶⁾。さらに、月岡らは、りんごジュース 36 検体中 8 検体からパツリンが 0.002～0.005 ppm で検出されたと報告して

いる⁷⁾。これらの検出値のほとんどが食品衛生法で定められた基準（0.050 ppm）の 10%程度であり、我々の結果と同様であると考えられた。

謝辞

検体採取にご尽力いただいた大阪府各保健所の担当者の方々に深謝します。

文献

- 1) 日本食品衛生学会編：食品安全の辞典，p.248-9，朝倉書店，東京（2009）
- 2) 平成 15 年 11 月 26 日，厚生労働省告示第 369 号：乳及び乳製品の成分規格等に関する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について
- 3) 平成 22 年 12 月 24 日，厚生労働省告示第 417 号：食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について
- 4) 田口修三，田中之雄：りんごジュース中パツリンのタンデム固相抽出法と HPLC-DAD による迅速分析法の検討，平成 19 年度地研全国協議会近畿支部理化学部会研修会，滋賀，（2008）
- 5) 平成 18 年 6 月 5 日，農林水産省プレリリース：平成 17 年度国産原料用りんご果汁のパツリン含有実態調査の結果について
- 6) 赤木浩一，畑野和弘：LC/MS/MS によるりんごジュース中のパツリンの残留分析，平成 15 年度福岡市保健環境研究所報，**29**, 145-147 (2003)
- 7) 月岡忠，宮澤衣鶴，白石崇：GC/MS によるパツリンの分析法の検討と実態調査，長野県環境保全研究所研究報告，**5**，33-37 (2009)

LC-MS/MS を用いた畜産物中駆虫薬の分析

柿本健作* 山口貴弘* 永吉晴奈* 山口瑞香* 尾花裕孝*

豚、牛、鶏の筋肉、牛乳および鶏卵中から 17 種の駆虫薬を分析する簡便で迅速な方法を確立した。試料からの抽出にはアセトニトリルを用い、精製には粉末状の ODS および PSA による分散固相抽出を行った。測定には高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計を使用した。0.005 および 0.01 $\mu\text{g/g}$ 添加試料からの平均回収率は 70-113%、併行精度は 1-22%であった。

キーワード：畜産物、駆虫剤、分散固相抽出、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計

Key words: animal livestock product, anthelmintic, dispersive solid phase extraction, LC-MS/MS

駆虫薬はその構造からベンズイミダゾール系、イミダゾール系、マクロライド系などが存在する。そのなかでベンズイミダゾール系駆虫薬は幅広い寄生虫感染に有効で、また穀物貯蔵や輸送中の防腐剤としても用いられる。我が国では食用の鳥、豚、牛に用いられ、筋肉や鶏卵、乳などにそれぞれ残留基準値が設定されている¹⁾。当所では以前より駆虫剤の 1 つであるフルベンダゾールの分析を行っているが、煩雑な液-液分配操作を行う必要がある、また回収率が良好でないことがあった。そこで今回、一律基準である 0.01 $\mu\text{g/g}$ を対象濃度に設定し、多数の駆虫剤を食品中から迅速に真度・精度良く分析することを目的とし前処理方法および液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いた測定条件の検討を行った。

実験方法

1 試料および試薬

試料：大阪府内で市販されている豚肉、牛肉、鶏肉、鶏卵および牛乳を用いた。

標準品：チアベンダゾール(TBZ)、パルベンダゾール(PBZ)、プラジクアンテル(PZQ)および 5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン(NH₂ABZ-SO₂)は和光純薬工業(株)製、アルベンダゾ

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課

Determination of Anthelmintic Drugs in Livestock Products by LC-MS/MS by Kensaku KAKIMOTO, Takahiro YAMAGUCHI, Haruna NAGAYOSHI, Mizuka YAMAGUCHI and Hirotaka OBANA

ール(ABZ)、オクスフェンダゾール(OFZ)、フェンベンダゾール(FBZ)、フルベンダゾール(FLU)およびレバミゾール(LVS)は関東化学(株)製、ジメトリダゾール(DMTZ)、メトロニダゾール(MNZ)およびロニダゾール(RNZ)は Dr.Ehrenstorfer 社製、フェバンテル(FEB)およびメベンダゾール(MBZ)は Riedel-de-haën 社製、オクスフェンダゾールスルホン(OFZ-SO₂)は林純薬工業(株)製、オキシベンダゾール(OXI)はシグマ社製、5-ヒドロキシチアベンダゾール(TBZ-OH)は畜水産品残留安全協議会から入手したものを使用した。各化合物の構造式を図 1 に示した。

前処理用固相：ODS は和光純薬工業(株)製ワコーシール(R)40C18 を、PSA、NH₂、SCX および SAX は Varian 社製 Bondesil 粒子径 40 μm を使用した。

アセトニトリル、メタノールは関東化学(株)製高速液体クロマトグラフィー用をそれぞれ用いた。その他の試薬は和光純薬工業(株)製残留農薬試験用を用いた。

2 装置および測定条件

装置：高速ホモジナイザーはポリトロン PT3100(KINEMATICA 社製)、遠心分離器は himac CR5B2(日立工機(株)製)、遠心エバポレーターは CVE-3100(東京理化学器械(株)製)、LC-MS/MS は ACQUITY UPLC-Quattro Premier XE(Waters 社製)を用いた。

LC-MS/MS 測定条件

分析カラム：ACQUITY UPLC BEH C18(100 $\times$ 2.1 mm i.d., 1.7 μm)(Waters 社製)

移動相：(A)0.1%ギ酸含有 10mM ギ酸アンモニウム
水溶液および(B)アセトニトリル

min	A%	B%
0	95	5
5	80	20
12	15	85
16	10	90

流量：0.2 mL/min

カラムオープン：40℃

注入量：5 μ L

イオン化モード：ESI(+)

測定モード：選択反応モニタリング (SRM)

イオン源温度：120℃

キャピラリー電圧：3 kV

コーンガス流量：窒素 50 L/hr

脱溶媒ガス温度及び流量：窒素 350℃、900 L/hr

モニターイオン：化合物ごとの条件は表 1 に示した。

各化合物について SRM 測定条件最適化の際に得られたプリカーサーイオンとプロダクトイオンの組み合わせの中で、最も感度の良いものを定量に、次に良かったものを定性に設定した。

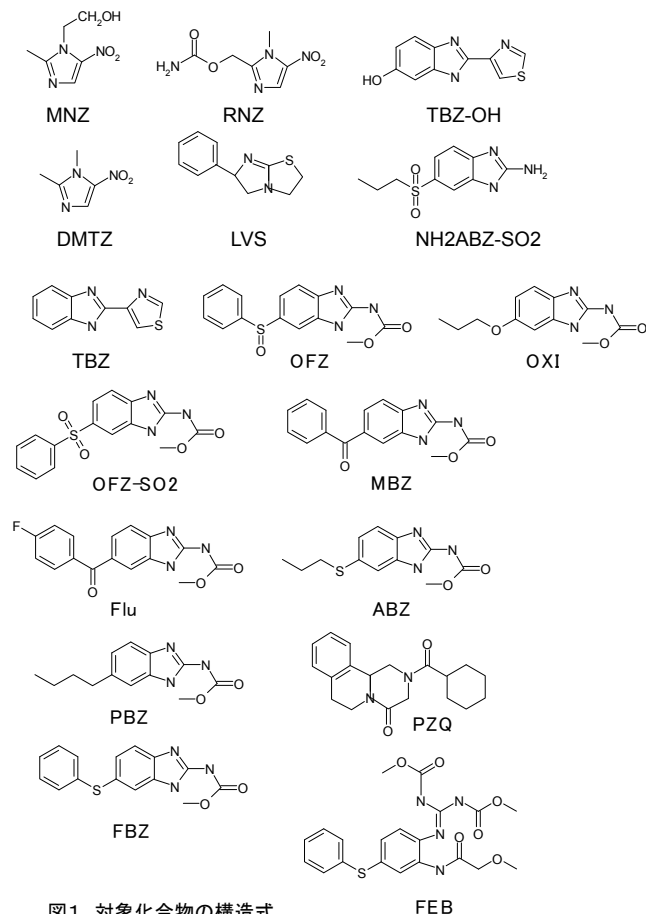


図1 対象化合物の構造式

3 試験溶液の調製

フードプロセッサーにより均一化した試料 3 g を 50 mL 容ポリプロピレン製遠沈管にひょう量し、塩化ナトリウム 3 g およびアセトニトリル 10 mL を加えホモジナイザーを用いて均質化後、3,500 rpm で 5 分間遠心分離した。上層のアセトニトリル 6 mL をあらかじめ PSA0.2 g および ODS0.5 g を入れた 15 mL 容ポリプロピレン製遠沈管に採り、30 秒間振とうし、毎分 3,000 rpm で 5 分間遠心分離した。上澄み液を 2 mL ガラス製遠沈管に採りそこへ DMSO 60 μ L を加え遠心エバポレーターにより DMSO のみとなるまで濃縮した。そこへ 10%アセトニトリル溶液を 540 μ L 加え、0.2 μ m メンブランフィルターでろ過し試験溶液とした。このうち 5 μ L を LC-MS/MS に注入した。

4 検量線の作成

マトリックス入り標準溶液は、抽出および精製を行った各種ブランク試料溶液に対し標準溶液を濃縮前に添加し、その後通常の試験試料と同様に操作したものを 4 濃度 (0.0025、0.005、0.01、0.02 μ g/mL) 調製した。各種マトリックス入り標準溶液から得た検量線の相関係数の範囲は 0.976~1.000 であった。

表1 Retention time and SRM conditions

Compound	Retention time (min)	Cone voltage (V)	Transition quantitation(m/z)	Collision energy (eV)
MNZ	3.8	20	172→128	20
RNZ	4.1	20	201→140	10
TBZ-OH	4.2	40	218→191	30
DMTZ	4.7	30	142→95	20
LVS	4.9	30	205→178	20
NH2ABZ-SO2	5.1	30	240→133	30
TBZ	5.6	40	202→175	30
OFZ	8.2	30	316→159	40
OXI	8.8	30	250→176	30
OFZ-SO2	9.0	30	332→300	20
MBZ	9.3	30	296→264	20
FLU	9.6	50	282→123	30
ABZ	9.9	30	266→234	20
PBZ	10.1	30	248→216	20
PZQ	10.5	30	313→203	20
FBZ	10.6	50	268→159	30
FEB	11.6	20	447→383	20

結果および考察

1 抽出および精製条件の検討

抽出の検討：ベンズイミダゾール系駆虫薬の抽出には特に TBZ-OH において酢酸エチルに比べてアセトニトリルが有効であるとの報告²⁾があることから今回アセトニトリルで抽出を行った。抽出時の検討には豚肉を使用した。当初抽出時に脱水目的で硫酸マグネシウムを添加したが、TBZ-OH、NH₂ABZ-SO₂ および OFZ-SO₂ で 25～40% の回収率の低下が認められたため、塩化ナトリウムの添加のみとした。

精製の検討：畜産物のほとんどは脂質を含んでおり、例えば牛かたロースは筋肉部分に脂質を 20% ほど含み、それが分析に支障をきたすことがある。そのため前処理で脂質を取り除く操作が必要となる。脱脂効果を比較検討するため、ヘキサンまたは ODS を試料抽出液に PSA とともに添加し検討を行った。ヘキサン分配による脱脂を行った場合、FBZ で試料由来成分による分析時のイオン化促進によると考えられる回収率の増大が認められた。また鶏卵試料を処理した際、ヘキサン分配したもの比べて ODS 処理を行ったものでは黄色の色素成分がより除去されていた。ヘキサン分配時に FBZ の回収率が増大したこと、鶏卵試料における色素の除去が ODS で良好であった結果を踏まえ、脱脂過程には ODS を用いることにした。

精製に ODS のみを使用した場合最終溶液に懸濁成分が生じたため、更なる精製を検討した。ODS に加えて精製に用いる固相には PSA の他に、NH₂、SAX および SCX を検討した。SAX、PSA、NH₂ は陰イオン交換能を有し、それぞれイオン保持能、交換容量に差がある。弱酸や強酸の官能基を有する夾雑物質、特に脂肪酸などの除去に有用であると考えられた。SCX は陽イオン交換能を有するので塩基性の夾雑物質の除去に効果があると考えられるがベンズイミダゾール系駆虫薬などの塩基性を有する対象物質をも保持してしまう可能性がある。それら 4 種の固相における駆虫薬の挙動を確認するため、0.005 µg/g となるように添加した豚肉試料で今回検討した。

陰イオン交換能を有する 3 種の固相では PSA と SAX の間においては顕著な差は見られなかったが、NH₂ で特に TBZ-OH の回収率(33%)が低かった。この原因と

して NH₂ と水酸基の水素結合が働いたためと考えられた。SCX については半分近くの物質で回収率 50% を下回った。これは対象物質が SCX に吸着してしまっているためと考えられた。PSA と SAX で良好な結果を示したが、PSA を使用した場合 SAX に比べて、濃縮後溶液中の食品由来残渣が少なかったため日常の検査業務において測定機器への負荷軽減を考え PSA を使用することとした。完成した前処理方法のフローチャートを図 2 に示した。

混合標準溶液を試料中濃度 0.005 µg/g となるように添加した豚肉試料から得られたクロマトグラムから Waters 社の解析ソフト Masslynx4.1 を用いて、定量限界として S/N=10 を与える各物質の試料中濃度を求めたところ、LVS で 0.00003 µg/g、TBZ-OH、OXI、PBZ および PZQ で 0.00005 µg/g、TBZ、OFZ、MBZ、ABZ、FEB で 0.0001 µg/g、MNZ、RNDZ、NH₂ABZ-SO₂、OFZ-SO₂ および FLU で 0.0005 µg/g、FBZ および PRT で 0.001 µg/g、DMTZ で 0.005 µg/g であった。

2 添加回収試験

抽出溶媒、精製方法の検討の結果、完成した分析方法を用い、妥当性評価試験（分析者 3 名、2 併行×2 日間）を行った（表 2）。対象試料は豚肉、牛乳および鶏卵試料とした。なお、牛肉および鶏肉試料については併行精度評価（6 併行）のみを行った。均一化試料に対して、0.1 µg/mL の混合標準溶液を試料中濃度 0.01 µg/g および 0.005 µg/g となるように添加した。

マトリックス入り標準溶液の検量線から得られた結果を表 2 に示した。いずれの試料においても回収率(真度)が 70%～120%（目標値）以内であった。併行再現性の相対標準偏差（併行精度）および室内再現性の相対標準偏差（室内精度）はいずれにおいても目標値（併行精度<25%、室内精度<30%）を満たしていた。

3 まとめ

LC-MS/MS を使用し、畜産物中から駆虫薬 17 種類を簡便、迅速に分析する方法を確立した。均一化した試料を 20 検体前処理するのに要する時間は約 2 時間である。抽出にはアセトニトリル、精製には ODS および PSA による分散固相抽出を用いた。試料抽出液に直接樹脂を添加することで、精製操作を迅速簡便化しカラム充填固相で起こりうるリスクの 1 つである目詰まり

表2 Recoveries of anthelmintics from fortified livestock products using matrix matched calibration curve

Compound	added (µg/g)	Recovery, % (2 replicates, 2 days) ^{a),b)}									
		swine muscle (N=12)		hen egg (N=12)		bovine milk (N=12)		bovine muscle ^{c)} (N=6)		Chicken muscle ^{c)} (N=6)	
		0.005	0.01	0.005	0.01	0.005	0.01	0.005	0.01	0.005	0.01
MNZ		104 (8,10)	95 (7,5)	96 (6,7)	87 (5,6)	95 (11,10)	93 (8,8)	90 (6)	85 (4)	77 (8)	82 (4)
RNZ		94 (5,5)	90 (5,5)	99 (6,7)	92 (7,6)	98 (5,5)	89 (2,2)	91 (8)	81 (6)	95 (6)	87 (3)
TBZ-OH		78 (2,3)	79 (2,3)	92 (3,3)	86 (5,5)	89 (4,4)	90 (2,3)	73 (4)	71 (2)	77 (3)	77 (2)
DMTZ		99 (15,18)	97 (9,7)	89 (14,16)	88 (15,10)	91 (10,11)	89 (9,9)	102 (22)	97 (11)	102 (13)	98 (11)
LVS		93 (4,5)	89 (2,4)	100 (3,4)	93 (4,4)	95 (3,3)	88 (3,4)	81 (4)	82 (2)	88 (3)	84 (2)
NH2ABZ-SO2		84 (4,4)	78 (5,7)	91 (6,7)	87 (4,4)	94 (6,6)	84 (5,7)	73 (4)	70 (4)	88 (4)	80 (5)
TBZ		95 (3,4)	92 (2,4)	98 (2,2)	90 (4,4)	105 (3,4)	96 (1,3)	91 (2)	89 (2)	94 (3)	92 (2)
OFZ		93 (6,5)	84 (4,6)	94 (6,6)	88 (4,5)	93 (3,5)	91 (3,6)	89 (8)	87 (4)	89 (5)	84 (5)
OXI		97 (3,5)	93 (4,5)	98 (3,5)	91 (5,5)	102 (4,5)	104 (3,5)	89 (3)	89 (5)	92 (6)	92 (4)
OFZ-SO2		117 (4,10)	112 (13,17)	96 (5,6)	92 (5,8)	99 (6,5)	97 (6,5)	91 (6)	104 (11)	94 (6)	96 (9)
MBZ		104 (6,12)	98 (6,12)	104 (7,7)	102 (5,6)	105 (5,4)	106 (5,6)	94 (8)	92 (7)	87 (9)	89 (8)
FLU		89 (4,6)	87 (5,6)	104 (7,7)	92 (7,7)	109 (7,6)	107 (4,4)	89 (9)	91 (5)	92 (9)	85 (8)
ABZ		91 (7,6)	90 (3,6)	98 (4,6)	89 (3,5)	111 (5,10)	113 (5,10)	82 (6)	81 (3)	88 (9)	86 (5)
PBZ		91 (4,5)	90 (4,6)	103 (6,9)	94 (10,9)	109 (8,12)	111 (2,12)	79 (5)	76 (4)	91 (8)	92 (5)
PZQ		90 (4,5)	89 (4,5)	101 (3,5)	93 (5,5)	103 (5,5)	96 (3,7)	85 (4)	80 (3)	88 (3)	85 (5)
FBZ		99 (7,7)	101 (6,6)	112 (11,19)	104 (11,10)	105 (18,24)	98 (6,16)	91 (6)	88 (4)	86 (6)	89 (8)
FEB		92 (2,3)	91 (3,4)	87 8,14)	77 (7,10)	103 (9,10)	101 (3,4)	86 (3)	78 (5)	83 (6)	80 (4)

a) The intermediate precision study was run by three persons

b) Recovery: Mean (Repeatability relative standard deviation, intermediate reproducibility relative standard deviation) (%)

c) Only repeatability study was evaluated in bovine muscle and chicken muscle

を回避することができると考えられる。添加回収試験の結果は、妥当性評価ガイドライン³⁾を満たすものであり日常のスクリーニング検査に利用できると考えられた。

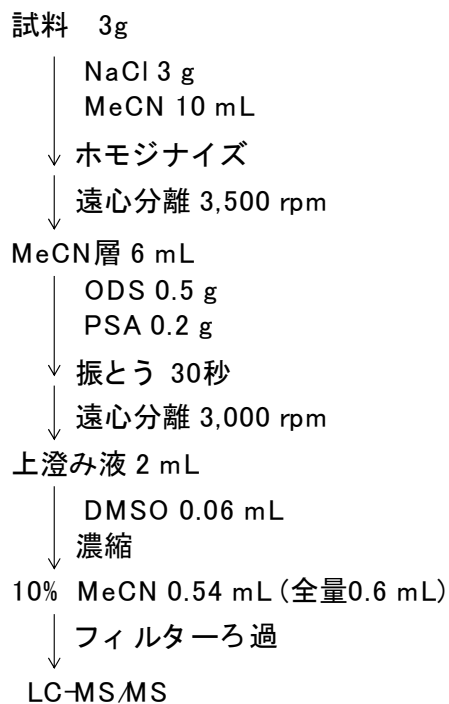


図 2 分析フロー

参考文献

- 1) 昭和 34 年厚生省告示第 370 号
- 2) Takeba, K., Fujinuma, K., Sakamoto, M., Jimbo, K., Oka, H., Ito, Y. and Nakazawa, H. : Determination of Benzimidazole Anthelmintics in Livestock Foods by HPLC, Shokuhin Eiseigaku Zasshi, **44**, 246-252 (2003)
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 “食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて”平成 19 年 11 月 15 日, 食安発第 1115001 号 (2007)

LC/MS/MS による畜産食品中のホルモン剤一斉分析法の検討

山口貴弘* 柿本健作* 永吉晴奈* 山口瑞香* 尾花裕孝*

畜産食品中の残留ホルモン剤の一斉分析法を高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法（LC/MS/MS）を用いて検討した。食肉（牛肉・豚肉・鶏肉）および牛肝臓に関して7種類のホルモン剤について一斉分析が可能になった。

キーワード：ホルモン剤、高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析計、畜産食品

Key words: hormones, LC/MS/MS, livestock products

ホルモン剤には天然型（エストラジオール、ヒドロコルチゾン等）と合成型（ゼラノール、トレンボロン等）があり、日本では天然型のみ繁殖用薬として使用が許可されている。しかし、海外では牛の肥育目的で合成型が使用されることがあり、海外の食肉モニタリング検査ではゼラノールが検出された。ホルモン剤は少量であっても健康被害が起こる可能性があるため、EUをはじめ日本でも低い残留基準が設定されている。

当所では、以前よりホルモン剤（ α , β -トレンボロン、ゼラノール）の分析を行っているが、試料由来成分により分析が妨害されることがあった。

そこで今回、試料前処理方法の改良および検査項目の増加を目的として検討を行ったので報告する。

実験方法

1 試料

大阪府内で市販されていた牛肉、豚肉、鶏肉、牛肝臓を用いた。

2 試薬および器具等

2-1 標準品

メチルプレドニゾロン（MPD）は LKT Laboratories, Inc 製、デキサメタゾン（DMX）、酢酸メレンゲステロール（MGS）、ベタメタゾン（BMZ）は和光純薬工業(株)製、 α , β -トレンボロン（ α , β -TB）は林純薬工業(株)製、ゼラノール（ZER）は関東化学(株)製を用いた。

2-2 試薬および器具

アセトニトリル、メタノール：関東化学(株)製高速液体クロマトグラフ用試薬

n-プロパノール：和光純薬工業(株)製試薬特級

n-ヘキサン：和光純薬工業(株)製残留農薬分析用試薬

水：ミリポア社製 Elix Advantage/Milli-Q Advantage A10 により精製して用いた。

固相抽出カラム：アジレント社製サンプリーク OPT (60 mg)

メンブランフィルター：アドバンテック東洋(株)製

DISMIC(親水性 PTFE, 13 mm ϕ , 0.2 μ m)

ろ紙：アドバンテック東洋(株)製定量ろ紙 (5A 125mm)

3 装置

高速ホモジナイザーはポリトロン

PT3100(KINEMATICA 社製)、遠心分離機は himac

CR5B2(日立工機(株)製)を用いた。LC/MS/MS は

ACQUITY UPLC-Quattro Premier XE (Waters 社製)を用いた。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課

Multiresidue Method for the Determination of Hormones in Livestock

Products Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry

by Takahiro YAMAGUCHI, Kensaku KAKIMOTO, Haruna

NAGAYOSHI, Mizuka YAMAGUCHI and Hirotaka OBANA

4 LC/MS/MS 測定条件

分析カラム：Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100×2.1 mm, 1.7 μm)

カラム温度：40 °C、流速：0.2 mL/min、注入量：5 μL

移動相：A 液；0.1% 塩酸 10 mmol/L 塩酸アンモニウム水溶液 B 液；アセトニトリル

グラジエント条件：B 20-30%(0-14 min), 30-60%(14-23 min), 60-80%(23-26 min)

イオン化モード：ESI(+/-)、イオン源温度：120 °C

脱溶媒ガス温度および流量：窒素 350 °C、900 L/hr

コーンガス流量：窒素 50 L/hr

化合物ごとの条件は表 1 に示した。

表 1 LC/MS/MS parameters for the determination of hormones

	ESI +/-	Precursor ion(m/z)	Product ion(m/z)	Cone voltage(V)	Collision energy(eV)
MPD	+	375	161 357	20	25 15
DMX, BMZ	+	393	355 337	20	15 15
MGS	+	397	337 279	20	15 25
α,β- TB	+	271	253 199	35	25 25
ZER	-	321	277 303	20	25 25

5 抽出および精製方法

5-1 抽出法

試料 5 g を 50 mL 遠心チューブに量り、85%アセトニトリル 25 mL を加えホモジナイズ後、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離した。上清をろ紙でろ過して 100 mL 容の分液ロートに移し、残渣に 85%アセトニトリル 15 mL を加えて攪拌後、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離した。上清を同様にろ過して先のろ液と合わせ、n-ヘキサン 40 mL を加えて、振とう機を用いて 5 分間振とう後、静置し、下層を 100 mL ナスフラスコに採取した。n-ブロパノールを約 10 mL 加え約 40 °C で減圧濃縮した。残

留物にメタノール 0.5 mL、水 9.5 mL を順に加えて溶解した。

5-2 精製法

メタノール 3 mL、水 3 mL を通液して前処理したサンプルに OPT(60 mg) に抽出法で得られた溶液を負荷した。カラムを 30%メタノール 5 mL で洗浄し、吸引乾燥した後、メタノール 6 mL で溶出した。溶出液は窒素気流下で濃縮乾固し、アセトニトリル - 水(1:9)混液を 1 mL 加え溶解し、メンブランフィルターでろ過し、これを試験溶液とした。

結果および考察

1 LC/MS/MS 条件の検討

1-1 MS/MS 条件の検討

イオン化には高感度な測定が可能であったエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法を選択し、マルチプルリアクションモニタリング (MRM) 法で測定を行った。

1-2 LC 条件の検討

対象物質のピークが完全に分離できるようグラジエント条件の検討を行った。特にデキサメタゾンとベタメタゾン、α-トレンボロンと β-トレンボロンは異性体であり同じ分子量なのでクロマトグラフィーで分離できる条件を検討し、上記移動相条件により分離が可能となった。(図 1)

1-3 検量線および定量下限

検量線はあらかじめ対象のホルモン剤が含有していないことを確認した試料の抽出溶液を用いたマトリックス検量線を 0.005~0.1 mg/L の範囲で作成したところ、概ね決定係数 $r^2=0.98$ 以上の直線性が認められ、分析に支障がないと判断できた。定量下限値は 0.005 mg/kg とした。

2 前処理方法の検討

本研究は、当所で実施されていた牛肉中のホルモン剤検査について、項目数の増加や前処理法の改良を目的として検討を行った。従来の方法¹⁾は、逆相カラムである ODS (オクタデシルシリル基修飾シリカゲル) カートリッジカラムと弱陰イオン交換カラムである NH₂

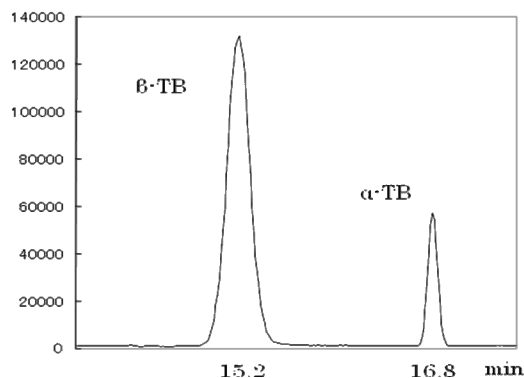
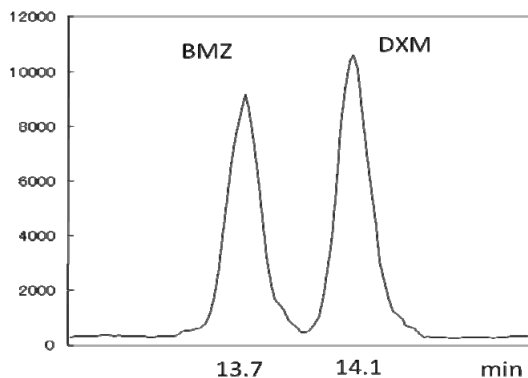


図 1 MRM chromatogram of bethamethasone, dexamethasone, α -trenbolone and β -trenbolone in standard solution containing 0.01 mg/

(アミノプロピル基修飾シリカゲル) カートリッジカラムを組み合わせた精製を行っていた。しかし、カートリッジカラムを2種類使用しコストがかかることや、LC/MS/MSで測定を行う際に、妨害となる食品由来成分の除去が不十分であった。本法では、食品由来成分の除去を目的としてポリマー系逆相カラムを検討した。数種類のポリマー系逆相カラムを検討した結果、サンプリーク OPT がもっとも回収率が良好であった。サンプリーク OPT を用いることで食品由来成分の除去が可能であることが確認できた。カラムの洗浄は、メタノール濃度を変更し検討を行った。30%メタノールではすべてのホルモン剤が流出せず、食品由来成分の除去も可能であった。メタノールで溶出した時にすべての対象物質を溶出することができた。本検討により、コスト面、迅速性および妨害成分の除去向上がサンプリーク OPT を使用することで達成することができた。

3 添加回収試験

あらかじめ対象のホルモン剤が含有していないことを確認した豚肉、鶏肉にホルモン剤 0.01 mg/kg、牛肉、牛肝臓に 0.005、0.01 mg/kg を添加し、回収率を求めた。なお α 、 β -TB については、牛肝臓では α -TB の値、牛肉では β -TB の値により残留基準値が設定されており、豚肉、鶏肉については α 、 β -TB の合算により基準値が設定されている。本研究では牛肝臓は α -TB、牛肉、豚肉、鶏肉は β -TB のみで添加回収試験を行った。各 6 検体の平均回収率は 70.4%~90.0%で、相対標準偏差(RSD)は

16.2%以下であり、厚生労働省が通知した妥当性評価ガイドライン²⁾の目標値を満たすことが確認できた。(表 2)

表 2 Recoveries of hormones from livestock products

Average recoveries% (RSD%) n=6						
	beef		beef liver		pork	chicken
conc. (mg/kg)	0.01	0.005	0.01	0.005	0.01	0.01
MPD	85.6 (6.3)	75.9 (14.7)	86.3 (4.3)	90.0 (7.7)	78.8 (6.1)	80.6 (10.6)
DMX	89.1 (7.4)	88.9 (12.4)	86.9 (4.3)	84.3 (10.3)	75.7 (9.4)	85.8 (7.6)
MGS	83.6 (12.1)	78.6 (11.2)	68.0 (8.7)	74.7 (14.0)	78.1 (13.6)	75.0 (16.2)
BMZ	80.2 (8.6)	81.4 (13.5)	85.7 (6.0)	85.2 (6.7)	82.6 (13.5)	79.6 (10.5)
α -TB	—	—	81.5 (3.0)	81.5 (4.2)	—	—
β -TB	75.6 (5.6)	70.4 (6.8)	—	—	79.4 (4.3)	72.0 (13.4)
ZER	78.8 (10.1)	75.3 (13.3)	78.1 (7.5)	81.7 (7.5)	82.9 (9.6)	78.8 (12.7)

4 まとめ

以上より、本法は簡易で十分な定量精度を得られることから、日常分析法として有用であると考えられる。

しかし、ベタメタゾンについては残留基準値が低く、本分析法の定量下限値を下回っているため、行政検査として行うには今後さらに検討が必要である。

参考文献

- 1) 田口修三, 吉田精作, 田中之雄, 堀伸二郎: 二段カートリッジ固相抽出及びオンライン精製 HPLC を用いた牛肉及び牛肝臓中のトレンボロン, ゼラノールの迅速分析, 食品衛生学雑誌, **42**, 226-230 (2001)
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて（通知）」平成 19 年 11 月 15 日、食安発第 1115001 号（2007）

大阪府における環境および食品中放射能調査

（平成22年度報告）

東 恵美子* 肥塚 利江* 大山 正幸*
味村 真弓* 足立 伸一*

平成22年度の文部科学省委託により実施した大阪府における環境および各種食品中放射能調査結果を報告する。調査は、降水中の全ベータ放射能測定、環境試料（降下物、大気浮遊じん、上水、海水、土壌、海底土）および各種食品試料中のガンマ線核種分析〔セシウム137、ヨウ素131、カリウム40等〕および空間放射線量率について実施した。

また、平成23年3月11日の東北地方太平洋沖地震により発生した福島第1原子力発電所の事故を受け、文部科学省の指示により、3月12日からモニタリングポストの空間放射線量率調査、3月18日からは毎日、上水（蛇口水）および定時降下物のガンマ線核種分析を行った。

平成22年度の環境および各種食品中の放射能および放射線のレベルは、ほぼ平常値であったが、第4四半期（1月から3月）の大気浮遊じん試料より福島第1原子力発電所事故由来と考えられるヨウ素131を極微量検出した。しかし、その濃度は0.016 mBq/m³であり、これを1年間吸い続けたとしても実効線量は約 2×10^{-6} mSvと一般人の線量限度1 mSv/年に比べて十分低く、府民への健康影響には全く問題のないレベルであった。また、本年度も上水の原水（淀川河川水）から医学利用に由来すると考えられる極微量のヨウ素131を検出したが、その濃度は約0.6 mBq/L前後であり、飲食物の摂取制限に関する指標値（300 Bq/kg以上）から判断して、府民への健康影響には全く問題のないレベルであった。

福島第1原子力発電所の事故に伴うモニタリング強化において、平成23年3月末現在、空間放射線量率の異常値や人工放射性物質は検出されていない。

さらに、ガンマ線核種分析の精度確認のため（財）日本分析センターとのクロスチェック（分析比較試料7試料）を行った結果、ガンマ線核種分析の精度は確保されていることを確認した。

キーワード：環境放射能、全ベータ放射能、核種分析、空間放射線量率

Key words: environmental radioactivity, gross β activity, radionuclide analysis, environmental γ activity

当所では、昭和35年（1960年）度より大阪府における環境および食品中の放射能測定調査を実施している。この調査は、人工放射性降下物および原子力施設等からの放射性物質の漏洩による環境汚染の有無およびそのレベルを明らかにする目的で行っており、主と

して文部科学省の委託によるものである。本報告では、平成22年度に実施した下記の放射能調査結果を、過去の測定結果との比較も含め報告する。

降水（雨水）については全ベータ放射能測定、その他の環境試料および食品試料についてはガンマ線核種分析〔セシウム137（¹³⁷Cs）、ヨウ素131（¹³¹I）、カリウム40（⁴⁰K）等〕を行った。また、モニタリングポストによる空間線量率調査を行った。

ガンマ線核種分析に関しては、測定値の信頼性確保のため、分析比較試料作成機関（（財）日本分析センター）との間で、分析比較試料7検体について、クロス

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Survey of Environmental and Food Radioactivity in Osaka Prefecture
(Fiscal 2010 Report)

by Emiko AZUMA, Toshie HIZUKA, Masayuki OHYAMA, Mayumi
MIMURA and Shin-ichi ADACHI

表1 放射能調査項目および試料等

調査項目	試料名	種別	採取場所	採取回数等	件数
全ベータ放射能	定時降水	雨水	大阪市東成区 当所屋上	降雨毎／年間	78
ガンマ線核種	大気浮遊じん		大阪市東成区 当所屋上	四半期毎	4
	降下物	雨水・ちり	大阪市東成区 当所屋上	毎月	12
	上水	原水	守口市大庭町大阪府庭窪浄水場	年1回(平成22年6月)	1
	海水	蛇口水	大阪市東成区 当所本館1F	年1回(平成22年6月)	1
	海底土	表面水	大阪港入口	年1回(平成22年7月)	1
		表層	大阪港入口	年1回(平成22年7月)	1
	土壌	地表面下0～5cm	大阪市中央区 大阪城公園内	年1回(平成22年8月)	1
		5～20cm	大阪市中央区 大阪城公園内	年1回(平成22年8月)	1
	牛乳	原乳(生産地)	大阪府堺・羽曳野市	年1回(平成22年8月)	1
	野菜	タマネギ(生産地)	大阪府泉南郡熊取町	年1回(平成22年7月)	1
		キャベツ(生産地)	大阪府泉南郡熊取町	年1回(平成23年1月)	1
空間線量率	分析比較試料(標準試料)	模擬牛乳	(財)日本分析センターで調製	年1回(平成22年8月)	1
		模擬土壌	(財)日本分析センターで調製	年1回(平成22年8月)	1
		寒天	(財)日本分析センターで調製	年1回(平成22年8月)	5
空間線量率	モニタリングポスト		大阪市東成区 当所屋上	毎日／年間	365

チェックを行った。

さらに、平成23年3月11日の東北地方太平洋沖地震により発生した福島第1原子力発電所の事故(以下、原子力災害)を受け、文部科学省の指示により、3月12日からモニタリングポストの空間放射線量率調査、3月18日からは毎日、上水(蛇口水)および定時降水物のガンマ線核種分析を行った。

実験方法

試料の採取、処理および測定は、「環境放射能水準調査委託実施計画書(平成22年度)」¹⁾に基づいて行った。表1に調査項目および試料等を示す。

1. 全ベータ放射能測定

1-1 降水(雨水)試料

当所(大阪府立公衆衛生研究所：大阪市東成区)観測室屋上(地上約20m)に設置したデポジットゲージ(表面積1000cm²)で雨水を集めた。毎朝9時30分に採取し、100mL以上の降水について、100mLを測定用試料とした。

1-2 測定方法

試料100mLにヨウ素担体(1mgI⁻/mL)1mL、0.05mol/L硝酸銀2mLおよび10%硝酸1mLを加え加熱濃縮し、直径25mmのステンレス製試料皿に移し蒸発乾固させた。測定は低バックグラウンド放射能自動測定装置(キャンベラ製S5X2050E型)で行った。比較試料は、酸化ウラン(U₃O₈：日本アイソトープ協会製、35.3

dps)を用いた。測定は試料採取6時間後に行った。測定時間は、比較試料5分、降水試料30分とした。

2. ガンマ線核種分析

2-1 測定試料

(1) **大気浮遊じん**：当所観測室屋上(地上約20m)に設置したハイボリウム・エアサンプラー(紀本電子工業製、121型)を用いて、ろ紙(東洋濾紙、HE-40T)上に大気浮遊じんを捕集した。捕集は、毎月3回、午前10時から翌日の午前10時までの24時間行った。3ヶ月分のろ紙試料を円形(直径50mm)に切り取り、ポリプロピレン製容器(U-8容器)に詰め測定用試料(測定に供した吸引量：約10000m³)とした。

(2) **降下物(雨水・ちり)**：当所観測室屋上(地上約20m)に設置した水盤(表面積5000cm²)に1ヶ月間に降下した雨水およびちりを採取し、試料1Lにつき1mLの硝酸を入れ、採取試料全量を上水自動濃縮装置(柴田理化器械製)を用いて蒸発濃縮した。濃縮物を蒸発皿に移して蒸発乾固した後、残留物をU-8容器に移し測定用試料とした。

(3) **上水**：原水(淀川河川水)は大阪府庭窪浄水場(守口市)原水取水口から、蛇口水は当所本館1階実験室内蛇口から採取した。採取試料各100Lを上水自動濃縮装置を用いて蒸発濃縮した。濃縮物を蒸発皿に移して蒸発乾固した後、残留物をそれぞれU-8容器に移し測定用試料とした。

(4) **海水、海底土、土壌**：海水は、2Lを直接マリネリピーカー(2L容)に入れ測定用試料とした。土壌

および海底土は、採取後に 105℃で乾燥し、2 mm メッシュのふるいで分けて得た乾燥細土約 100 g を U-8 容器に入れ、測定用試料とした（試料採取場所、時期および測定数は表 1 を参照）。

(5) **食品**：牛乳は、2 L を直接マリネリビーカー（2 L 容）に入れ測定用試料とした。野菜類は食用部 4 kg を 80℃の乾燥器で乾燥後、それぞれ石英製容器に移して電気炉（450℃）で灰化した。灰試料を 0.35 mm メッシュのふるいを通し、U-8 容器に移して測定用試料とした（試料採取場所、時期および測定数は表 1 を参照）。

(6) **分析比較試料**：(財) 日本分析センターが数核種を添加して調製した標準試料（模擬牛乳、寒天、模擬土壌）について、模擬牛乳（1 試料）は全量（2 L）を直接マリネリビーカー（2 L 容）に入れ、また、寒天試料（U-8 容器：5 試料）および模擬土壌（U-8 容器：1 試料）は U-8 容器のまま測定を行った。

標準試料の測定結果については、添加値の測定結果と比較検証し、さらに、当方（分析機関）と分析センターの拡張不確かさ（ U ）から En 数を算出し、 $|En| > 1$ の場合は技術的検討を要すると判断した。なお、 En 数は下記の式により求められる。

$$En \text{ 数} = \frac{(\text{分析値}_{\text{分析機関}} - \text{分析値}_{\text{JCAC}} \text{ または 添加値})}{\sqrt{U^2_{\text{分析機関}} + U^2_{\text{JCAC}}}}$$

2-2 測定方法

試料中の核種により放出されるガンマ線量は、あらかじめエネルギーの異なる核種を含んだ標準線源を用いてエネルギー校正および検出効率校正を行ったゲルマニウム半導体検出器（東芝 K.K. 製 IGC-20175SD）を用い測定した。また、3 月 20 日以降（1～3 月分大気浮遊じんおよび 3 月分降下物の 2 試料）は、キャンベラ製 GC2018 を用いた。測定時間は原則 80000 秒とし、分析確認の標準試料の寒天試料のみ 20000 から 80000 秒とした。得られた計測結果をバックグラウンド補正した後、エネルギー補正および検出効率補正を行い、測定試料中の核種（ ^{137}Cs 、 ^{131}I および ^{40}K 等）の定性定量分析を行った。

3. 空間放射線量率測定

モニタリングポスト（NaI シンチレーション式、エネルギー補償型、アロカ製 MAR-22 型）で空間放射線量率

を測定した。

モニタリングポストによる空間放射線量率は、当所観測室屋上に設置したポスト（地上約 20 m）に検出器を設置し、連続測定した（1 時間毎に平均値を、また、1 日毎に最大値、最小値、平均値を自動印字）。

4. 原子力災害に対するモニタリング強化

4-1 モニタリングポストによる空間放射線量率調査

前日午後 18 時から当日午前 9 時までの 16 時間のデータを 10 時まで、当日 10 時から 16 時までのデータを 17 時まで、17 時のデータを 18 時までにとりまとめ、文部科学省へ報告した。

4-2 ゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析

(1) 測定試料

1) 降下物（定時降下物）

前日 9 時から当日 9 時までの 24 時間に降水用デボジットゲージ（表面積 1000 cm^2 ）で採取された降水、降水がなければ 160 mL の精製水でデボジットゲージについたちりを洗い流して採取し、内 80 mL を U-8 容器に入れ測定用試料とした。

2) 上水

当日午後に当所本館 1 階実験室内蛇口から採水した上水を 2 L メスシリンダーで量り取り 2 L 容マリネリビーカーに入れ測定用試料とした。

(2) 測定方法

2-2 と同様の方法でガンマ線核種分析を行った。測定時間は 20000 秒とした。降下物データは当日 16 時まで、上水データは翌日 10 時まで文部科学省へ報告した。

結果および考察

1. 全ベータ放射能測定

表 2 に降水中の全ベータ放射能測定値を示す。

降水中の全ベータ放射能は、78 試料中 13 例から検出されたが、顕著に高い値は検出されなかった。なお、年間降下量は 36.9 MBq/km^2 で、過去 3 年間と同レベルであった。

2. 核種分析

環境試料および食品試料中の ^{137}Cs 、 ^{131}I および ^{40}K の分析結果を表 3 に示す。

(1) ^{137}Cs : 今年度も大半の試料中の ^{137}Cs 濃度は検出限界以下の値であり、土壌、海底土の各試料から検出された ^{137}Cs レベルは過去の値と同程度であった。

平成 23 年 3 月の降下物から微量の ^{137}Cs が検出されたがその値は 0.04 MBq/km^2 と低く、平成 18 年 4 月にはほぼ同レベルの 0.05 MBq/km^2 ²⁾ が検出されていることから、原子力災害由来かどうかは不明である。

(2) ^{131}I : ^{131}I は、原水試料 (0.55 mBq/L) と平成 23 年 1 月から 3 月に捕集された大気浮遊じん (0.016 mBq/m^3) から微量検出された。他の環境試料および食品試料からは検出されなかった。上水中の ^{131}I は、平成元年度から検出されているが、既報 ³⁾ に述べたように、その起源は医学利用によるものであると推定される。原水試料中 ^{131}I レベルは、平成 3 年度の 1 例 (4.9 mBq/L) を除き、本年度を含めいずれも 1 mBq/L 程度の低レベルであった。上水中の ^{131}I レベルに明確な経年変化は認められず、微量の ^{131}I が常に存在することが確認された。

なお、上水中に存在する ^{131}I による府民への健康影響については、既報 ³⁾ でも論じたように、そのレベルは「飲食物の摂取制限に関する指標 ⁴⁾」(飲料水中 ^{131}I 濃度 : 300 Bq/L 以上) の 30 万分の 1 程度の低値であり、問題はないと考えられる。

大気浮遊じんから検出された ^{131}I は、過去に検出した事例がなく他に排出源が考えられないことから、原子力災害に由来するものと思われる。しかし、その値は 0.016 mBq/m^3 と低く、これを 1 年間吸入し続けたと考えて計算してもその実効線量 (成人) は、成人の実効線量係数を $1.5 \times 10^{-5} \text{ mSv/Bq}$ 、日平均呼吸率を $22.2 \times 10^6 \text{ cm}^3/\text{日}$ とする ⁵⁾ と次式より、約 $1.9 \times 10^{-6} \text{ mSv/年}$ となり、一般人の線量限度 1 mSv/年 に比べて十分低く、府民への健康影響には全く問題のないレベルであった。

(式)

$$0.016 \text{ mBq/m}^3 \times 10^{-3} \text{ Bq/mBq} \times 1.5 \times 10^{-5} \text{ mSv/Bq} \times 22.2 \times 10^6 \text{ cm}^3/\text{日} \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{cm}^3 \times 365 \text{ 日} \approx 1.9 \times 10^{-6} \text{ mSv/年}$$

(3) 天然放射性核種 : 環境試料および食品試料から検出されたガンマ線を放出する天然放射性核種は、 ^7Be (宇宙線生成核種)、 ^{40}K (崩壊系列を作らない地球起源核種)、 ^{238}U (地球起源核種) より崩壊生成するウラン系列核種 (^{226}Ra , ^{214}Pb , ^{214}Bi)、 ^{232}Th (地球起源

表2 降水中全ベータ放射能測定結果

年 月	降水量 mm	件数 (検出数)	濃度 Bq/L	降下量 MBq/km ²
平成22年 4月	130	10 (1)	ND ~ 0.39	1.04
平成22年 5月	158	10 (2)	ND ~ 0.57	2.44
平成22年 6月	223	10 (2)	ND ~ 0.41	2.47
平成22年 7月	227	10 (2)	ND ~ 0.60	13.44
平成22年 8月	58	4 (1)	ND ~ 0.62	12.56
平成22年 9月	150	6 (1)	ND ~ 0.39	0.48
平成22年 10月	134	7 (0)	ND	ND
平成22年 11月	80	5 (2)	ND ~ 0.49	2.06
平成22年 12月	79	6 (2)	ND ~ 0.72	2.36
平成23年 1月	6	1 (0)	ND	ND
平成23年 2月	93	6 (0)	ND	ND
平成23年 3月	98	3 (0)	ND	ND
平成22年度	1436	78 (13)	ND ~ 0.72	36.9
過去3年間の値				
平成19年度	1063	83 (22)	ND ~ 1.2	66.2
平成20年度	1415	86 (7)	ND ~ 0.7	39.4
平成21年度	1169	86 (13)	ND ~ 0.6	28.6

ND: 計数値がその計数誤差の3倍を下回るもの

核種) より崩壊生成するトリウム系列核種 (^{228}Ac , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{208}Tl) であった。環境試料および食品試料中の ^7Be および ^{40}K 濃度および ^{214}Bi (ウラン系列核種の代表)、 ^{228}Ac および ^{208}Tl (トリウム系列核種の代表) の濃度を表 4 に示す。

1) ^{40}K : 環境試料および食品試料中の ^{40}K レベルは昨年度の報告値 ⁶⁾ と同レベルであり、特に異常値は認められなかった。

2) ^7Be : 宇宙線生成核種である ^7Be が大気浮遊じん、降下物および上水から昨年と同様に検出された。

3) その他天然放射性核種 : 大気浮遊じん、降下物、上水、土壌、海底土よりウラン系列核種やトリウム系列核種の天然放射性核種が昨年と同様に検出された。

(4) 分析比較試料 : (財) 日本分析センターの報告書によると、当所の分析結果は標準試料法の添加値または分析センターの結果とよく一致しており、かつ、 En 数も「1」以下であり、ガンマ線核種分析の精度は確保されている事が認められた。

3. 空間放射線量率

モニタリングポストによる空間放射線量率調査の結果を表 5 に示す。

空間放射線量率値の 1 時間平均値に基づく 1 日の変

表3 環境および食品試料中の¹³⁷Cs、¹³¹Iおよび⁴⁰K濃度

試料	採取年月日	単位	¹³⁷ Cs	¹³¹ I	⁴⁰ K
大気浮遊じん*					
平成22年	H22.4.8 ～H22.6.15	mBq/m ³	ND	ND	0.28±0.065
	H22.7.5 ～H22.9.18	〃	ND	ND	0.23±0.063
	H22.10.6 ～H22.12.15	〃	ND	ND	ND
平成23年	H23.1.5 ～H23.3.26	〃	ND	0.016±0.003	0.19±0.037
平成22年度		mBq/m ³	ND	ND～0.016	ND～0.28
過去3年間の値		mBq/m ³	ND	ND	ND～0.38
降下物					
平成22年4月	H22.5.6	MBq/km ²	ND	ND	ND
平成22年5月	H22.5.31	〃	ND	ND	ND
平成22年6月	H22.7.1	〃	ND	ND	ND
平成22年7月	H22.8.2	〃	ND	ND	1.2±0.29
平成22年8月	H22.9.1	〃	ND	ND	ND
平成22年9月	H22.10.1	〃	ND	ND	ND
平成22年10月	H22.11.4	〃	ND	ND	ND
平成22年11月	H22.11.30	〃	ND	ND	ND
平成22年12月	H23.1.4	〃	ND	ND	ND
平成23年1月	H23.2.1	〃	ND	ND	0.82±0.27
平成23年2月	H23.2.25	〃	ND	ND	ND
平成23年3月	H23.4.1	〃	0.037±0.012	ND	0.58±0.19
平成22年度		MBq/km ²	ND～0.037	ND	ND～1.2
過去3年間の値		MBq/km ²	ND	ND	ND～2.0
上水 原水	H22.6.24	mBq/L	ND	0.55±0.082	70±3.0
過去3年間の値		mBq/L	ND	ND～0.76	64～92
上水 蛇口水	H22.6.11	mBq/L	ND	ND	76±3.1
過去3年間の値		mBq/L	ND	ND～0.42	76～97
海水	H22.7.6	Bq/L	ND	ND	4.0±0.40
過去3年間の値		Bq/L	ND	ND	3.3～6.7
海底土	H22.7.6	Bq/kg dry	2.4±0.33	ND	670±13
過去3年間の値		Bq/kg dry	ND～2.4	ND	630～650
土壌	H22.8.5	Bq/kg dry	0.83±0.26	ND	720±12
0～5cm層		(MBq/km ²)	(46±14)	(ND)	(40000±650)
過去3年間の値		Bq/kg dry	1.0～1.3	ND	730～770
		(MBq/km ²)	(48～69)	(ND)	(37000～42000)
土壌	H22.8.5	Bq/kg dry	3.1±0.29	ND	700±12
5～20cm層		(MBq/km ²)	(470±44)	(ND)	(110000±1800)
過去3年間の値		Bq/kg dry	2.7～3.2	ND	700～730
		(MBq/km ²)	(460～590)	(ND)	(130000～150000)
牛乳 原乳	H22.8.9	Bq/L	ND	ND	49±0.98
過去3年間の値		Bq/L	ND	ND	47～50
農産物					
タマネギ	H22.7.23	Bq/kg生	ND	ND	42±0.35
キャベツ	H23.1.26	〃	ND	ND	80±0.56
過去3年間の値		Bq/kg生	ND	ND	42～73

ND：検出されず（計数値が計数誤差の3倍を下回るもの）

*今年度から、3ヶ月分をまとめて測定。

表4 環境および食品試料中の天然放射性核種濃度

調査対象	件数	単位	^{40}K	^7Be	^{208}Tl	^{214}Bi	^{228}Ac
大気浮遊じん	4	mBq/m^3	ND~0.3	1.7~3.8	ND	ND	ND
降下物	12	MBq/km^2	ND~1.2	8.3~130	ND	ND	ND
上水	1	mBq/L	70	5.3	0.81	1.2	2.6
蛇口水	1	〃	76	ND	ND	ND	ND
海水	1	Bq/L	4.0	ND	ND	ND	ND
海底土	1	Bq/kg 乾土	670	ND	19	23	43
土壌	(0~5cm)	1	Bq/kg 乾土 (MBq/km^2)	720 (40000)	ND (750)	17 (950)	40 (2200)
	(5~20cm)	1	Bq/kg 乾土 (MBq/km^2)	700 (110000)	ND (2300)	22 (3300)	40 (6100)
牛乳 原乳	1	Bq/L	49	ND	ND	ND	ND
農産物 タマネギ	1	Bq/kg 生	42	ND	ND	ND	ND
キャベツ	1	〃	80	ND	ND	ND	ND

ND：検出されず（計数値が計数誤差の3倍を下回るもの）

動は、年間を通じて 40~61 nGy/h の範囲で、例年とほぼ同じであり、過去 3 年間の結果と変わらなかった。

4. 原子力災害によるモニタリング強化

（1）モニタリングポストによる空間放射線量率調査

3 月 12 日から 3 月 31 日までの空間放射線量率値の 1 時間平均値に基づく 1 日の変動は、41~56 nGy/h の範囲であり、例年とほぼ同じであった。

（2）ゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析

3 月 18 日のモニタリング開始から 3 月 31 日まで毎日の定時降下物および蛇口水からは、人工放射性核種は検出されなかった。

まとめ

核種分析によって検出された人工放射性核種は ^{131}I および ^{137}Cs であった。医学利用等に由来すると考えられる ^{131}I は上水（原水）に極低レベルで検出され、また、平成 23 年 1 月から 3 月に捕集した大気浮遊じんから原子力災害由来と考えられる ^{131}I が極微量検出された。 ^{137}Cs は土壌や海底土、降下物（3 月）から検出されたが、そのレベルは低値であった。また、他の人工放射性核種はいずれの試料からも検出されなかった。

表 5 モニタリングポストによる空間放射線量率

測定年月	モニタリングポスト (nGy/h)			
	測定回数	最高値	最低値	平均値
平成22年 4月	30	58	41	43
同 5月	31	57	41	43
同 6月	30	59	40	43
同 7月	31	61	41	42
同 8月	31	56	41	42
同 9月	30	57	41	43
同 10月	31	52	41	43
同 11月	30	54	42	43
同 12月	31	60	41	44
平成23年 1月	31	49	42	43
同 2月	28	61	42	44
同 3月	31	57	41	43
平成 22年度	365	61	40	43
過去3年間の値				
平成19年度	366	65	40	42
平成20年度	365	66	40	43
平成21年度	365	63	40	43

さらに、空間放射線量率にも顕著に高い値は検出されていない。

原子力災害によるモニタリング強化で実施された、モニタリングポストによる空間放射線量率調査は、例年とほぼ同じ範囲内であった。またゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析調査でも人工放射性核種は検出されなかった。

本調査の遂行にあたり、調査試料の採取にご協力いただきました大阪市ゆとりとみどり振興局東部方面公園事務所、熊取町役場、明治乳業株式会社関西工場、大阪府水道部庭窪浄水場の各機関に感謝致します。また、調査実施にあたり、ご指導をいただきました文部科学省科学技術・学術政策局原子力安全課防災環境対策室、日本分析センターならびに大阪府庁健康医療部環境衛生課の皆様には謝意を表します。

注：本報告は、電源開発促進対策特別会計法に基づく文部科学省からの委託事業として、大阪府立公衆衛生研究所が実施した平成 22 年度「環境放射能水準調査」の成果です。

文献

- 1) 文部科学省科学技術・学術政策局原子力安全課防災環境対策室：環境放射能水準調査委託実施計画書、平成 22 年 7 月
- 2) 味村真弓, 肥塚利江, 渡邊功：大阪府における環境および食品中放射能調査（平成 18 年度報告）, 大阪府立公衛研所報, **45**, 15-22（2007）
- 3) 田村幸子, 渡辺功, 布浦雅子：大阪府における環境および食品中放射能調査 ―平成元年 4 月～平成 2 年 3 月―, 大阪府立公衛研所報, 公衆衛生偏, **28**, 165-170（1990）
- 4) 原子力施設等の防災対策について（昭和 55 年 6 月, 原子力安全委員会, 平成 14 年 4 月改訂）, 五一三―（2）
- 5) 環境放射線モニタリング指針（平成 20 年 3 月, 原子力安全委員会）
- 6) 肥塚利江, 味村真弓, 足立伸一：大阪府における環境および食品中放射能調査（平成 21 年度報告）, 大阪府立公衛研所報, **48**, 33-39（2010）

トリブチルスズ化合物及びトリフェニルスズ化合物の分析法改定にむけた ラウンドロビンテスト

— 大阪府立公衆衛生研究所の分析結果からの考察 —

中島 晴信* 吉田 仁* 岡山 文香*

According to the “Act on the Control of Household Products Containing Harmful Substances,” tributyltin compounds (TBT) and triphenyltin compounds (TPT) are banned from using at present. In order to introduce GC/MS method (gas chromatography mass spectrometry) as an official analytical method for TBT and TPT, a round-robin test, in which identical samples (textile products, water-based adhesives, and oil paints) are analyzed by several groups using the same method, was conducted. This institute also joined the project and examined its analytical results through comparison with the results obtained around three months before by National Institute of Health Sciences.

The results are as follows; (1)Both reproducibility and surrogate recovery rate were consistent, and measurement up to the precision of 0.1 µg/g was possible. This suggests the possibility of adoption as the official analytical method. (2)Regarding TBT, almost the same results were obtained on all samples. (3)Regarding TPT, almost the same results were obtained on water-based adhesives. However, a slight decreasing tendency was observed on textile products due to the elapse of time (three months), and a distinct decrease was observed on oil paints. These phenomena may have been caused by the dephenylation of TPT.

Although the setting concentrations of both substances were 0.1 µg/g, 1.0 µg/g, and 10 µg/g, these concentrations were lower than the figures of actual use. In addition, the case of detection of TBT is usually limited to the case as the impurity of dibutyltin (DBT), and TPT tended to show a time-dependent decrease. Apprehension is that when trace values of TBT and TPT are set as standard values for control, judgment for administrative measures may be difficult. It is considered that the standard values for control should be set in correlation with detailed up-to-date toxicological data.

キーワード：TBT、TPT、GC/MS、家庭用品、ラウンドロビンテスト

Key words：tributyltin compounds, triphenyltin compounds, GC/MS, household products, round-robin test

有機スズ化合物は、ポリ塩化ビニルの安定剤、重合触媒、防菌・防かび剤、船底塗料などとして広範な分

野で使用されてきた¹⁾。これら化合物は、免疫毒性、神経毒性を有することがよく知られている²⁻⁵⁾。神経障害の1つとして嗅覚障害の発症がある。最近、著者らは、その発症メカニズムを解明し、研究結果を報告した⁶⁾。

トリブチルスズ化合物（TBT）及びトリフェニルスズ化合物（TPT）は、特に毒性が強いことから、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」により、家庭用品には防菌・防かび剤として使用すること

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課
Round-robin Test toward the Revision of Analytical Method for
Tributyltin Compounds and Triphenyltin Compounds - Examination on
the Analytical Results Obtained by Osaka Prefectural Institute of Public
Health -
by Harunobu NAKASHIMA, Jin YOSHIDA and Fumika OKAYAMA

が禁止され、公定分析法も定められた⁷⁾。公定法は、フレイムレス原子吸光法(AAS)でスズ量を測定し、1 µg/g以上のスズが検出された場合、2次元薄層クロマトグラフ法(TLC)で展開した後、ジチゾンで発色させて確認する方法である^{8,9)}。しかし、公定法に従って分析すると、スズが検出されるが、ジチゾン錯体が発色後速やかに消失するなど、スズの種類が判定出来ない場合が多い。特に、使用禁止ではないジブチルスズ化合物(DBT)やジオクチルスズ化合物(DOT)が大量に共存する場合には、その判定は一層困難となる¹⁰⁻¹²⁾。

従って、現公定法は改定の必要がある。そのため、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)による分析法を公定法として導入するために分析法の開発を行ってきた¹³⁻¹⁵⁾。今回、開発した分析法を検証するために、国立医薬品食品衛生研究所(国立衛研)が中心となり、同一方法、同一試料で分析を行うラウンドロビンテストを実施した¹⁶⁾。そこで、当所においても、予め国立衛研から配布された既知濃度試料に、サロゲート物質を添加し、所定の抽出・精製操作を行った後、エチル誘導体化して、GC/MSで測定した。その分析結果から、若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 試料

TBT及びTPTの濃度が、0.1、1.0、10 µg/g(3段階の設定値)となるように予め調製された繊維製品(綿製品を約1 gの大きさに裁断した布)、水性接着剤(木工用接着剤(酢酸ビニル樹脂:40%、水:60%)に水を10%加えた製品)、油性塗料(木部用油性ニス(ウレタン樹脂、有機溶媒)を薄め液で適度に薄めた製品)を試験試料とした。各試料は、各々4試料を分析した。

2. 試薬

塩化トリブチルスズ(TBT)、塩化トリフェニルスズ(TPT)、重水素化塩化トリブチルスズ(TBT-d₂₇、サロゲート標準、50 mg)、重水素化テトラブチルスズ(TeBT-d₃₆、サロゲート物質の回収率確認用、50 mg)は、和光純薬製試薬を用いた。重水素化塩化トリフェニルスズ(TPT-d₁₅、サロゲート標準、50 mg)は、関東化学製を用いた。

ヘキサン、アセトン、エタノール、ジエチルエーテル、無水硫酸ナトリウムは、和光純薬製の残留農薬試験用を用いた。塩酸、酢酸、酢酸ナトリウムは和光純薬製の特級試薬を用いた。テトラエチルホウ酸ナトリウム(NaBEt₄)は、和光純薬製試薬を用いた。

シリカゲルカートリッジカラムは、Waters社製のSep-Pak-Plus Silica 690 mg/1.6 mL (No. WAT020520)を、フロリジルカートリッジカラムは、Waters社製のSep-Pak-Plus Florisil 910 mg/1.4 mL (No. WAT020525)を用いた

2 mol/L 酢酸 - 酢酸ナトリウム緩衝液(pH=5)は、2 mol/L酢酸および2 mol/L酢酸ナトリウム溶液を体積比5.9:14.1で混合してpH=5に調製した。

5 %NaBEt₄水溶液は、用時調製として使い切りにした。

3. GC/MS装置及び条件

GC/MSは、Hewlett Packard製5890 Series II GCにMSD検出器(HP-5971)を装着した装置を用い、自動注入装置は、Hewlett Packard製7673型を用いた。キャピラリーカラムは、Inert Cap 5 MS/NP (0.25 mm φ × 30 m、膜厚0.25 µm、GLサイエンス社製)を用いた。キャリアーガス流量は、He 1 mL/min、に設定した。カラム温度は、50°C (1 min)-10°C/min-220°C-5°C/min-260°C-20°C/min-280°C (5 min)にプログラミングし、注入口温度は270°C、インターフェイス温度は280°Cに設定した。注入方法は、Splitlessで、注入量は2 µlにした。イオン化法はEI (Electron Ionization) 法で、イオン化電圧は70 eVとした。測定はSIM (Selected Ion Monitoring) モードで行った。エチル化誘導体の定量イオン及び確認イオンのm/z値を順に示す。TBT-d₂₇ (318, 316)、TBT (263, 261)、TPT-d₁₅ (366, 364)、TPT (351, 349)、TeBT-d₃₆ (318, 316)とした。

4. 標準液の調製及び検量線の作成

TBTおよびTPTは100 mgを秤量し、ヘキサン100 mLに定容して標準原液(1000 µg/mL)を調製した。その溶液をヘキサンの希釈し、TBTおよびTPTが各0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、2、5、10 µg/mLとなるような検量線用標準溶液を調製した。

各サロゲート物質は、全量50 mgをヘキサン100 mLで溶解し標準原液(500 µg/mL)を調製した。溶解前と

後の試薬瓶重量をはかり、内容重量が50 mgであることを確認した。繊維製品および水性接着剤の分析ではアセトンで、油性塗料の分析ではヘキサンで希釈定容し、サロゲート標準液(10 µg/mL)を作製した。

TeBT - d₃₆は50 mg全量をヘキサン100 mLで溶解し標準原液(500 µg/mL)を調製した。溶解前と後の試薬瓶重量をはかり、内容重量が50 mgであることを確認した。その溶液をヘキサンで正確に希釈して10 µg/mLとなるように調製した。

50 mL遠心管に、各濃度の検量線用標準液を1 mLずつ入れ、そこに10 µg/mLの濃度のサロゲート標準ヘキサン溶液100 µLを加えた。酢酸 - 酢酸ナトリウム緩衝液5 mLを加え軽く攪拌した後に、5 %NaBEt₄溶液を1 mL加えて10分振とうして誘導体化した。誘導体化後、20 mLヘキサンにて2回抽出し、得られたヘキサン溶液をロータリーエバポレーターで約1 mLまで濃縮した。そこに、内部標準物質として10 µg/mLのTeBT-d₃₆ヘキサン溶液を100 µL加え、全体をヘキサンで5 mLに定容し、その溶液をGC/MSにて測定した。各サロゲート標準物質およびTeBT-d₃₆の濃度は0.2 µg/mLであり、0.01 ~ 2 µg/mLとなる検量線を作成した。

5. 試料溶液の調製と誘導体化

5-1. 繊維製品

繊維製品の配布試料(1 g)を細切し全て遠心管に入れた。その後、サロゲート標準アセトン溶液(濃度10 µg/mL)を100 µL、塩酸0.4 mL およびアセトン15 mLを加えて5分振とうした。さらにヘキサン30 mLを加えて30分振とうした後、遠心分離し、上清を採取した。次にアセトン/ヘキサン(3/7=v/v)混液30 mLを加えて30分振とうした後、ガラスフィルターで、ろ過して溶液を集めた。残渣もアセトン/ヘキサン混液で洗い込み、始めの上清と合わせて脱水した。その後、ロータリーエバポレーターで濃縮した後、約2 mLに定容して遠心管に移し誘導体化試料とした。

5-2. 水性接着剤

配布試料をガラス棒などで良く攪拌してから遠心管に1 g秤り取った。そこに、サロゲート標準アセトン溶液(濃度10 µg/mL)を100 µL、アセトン15 mL および塩酸0.4 mLを加えて5分振とうした。その後、ヘキサン30 mLを加えてさらに30分振とうした後遠心分離して上清を採取した。さらに、アセトン/ヘキサン

(3/7=v/v)混液30 mLを加えて30分振とうした後、遠心分離し上清を採取し、始めの上清と合わせて脱水した。その後、ロータリーエバポレーターで濃縮した後、約2 mLに定容して遠心管に移し誘導体化試料とした。

5-3. 油性塗料

配布試料を予めヘキサン20 mLの入っている遠心管に1 g秤り取った。そこに精製水20 mL、塩酸0.4 mLを加え、サロゲート標準ヘキサン溶液(各濃度10 µg/mL)を100 µLを加えて、振とうした。その後、遠心分離してヘキサン相10 mLを採取、脱水した。溶液をロータリーエバポレーターで濃縮した後に、ヘキサン10 mLでコンディショニングされたシリカゲルカートリッジカラムに試料溶液を負荷した。カートリッジカラムをヘキサン30 mLで洗浄した後、80%エタノール含有ヘキサン80 mLで溶出した。溶出液をロータリーエバポレーターで濃縮した後、約2 mLに定容して遠心管に移し、誘導体化試料とした。

5-4. エチル誘導体化と精製

試料溶液が入っている遠心管に、酢酸 - 酢酸ナトリウム緩衝液5 mLを加えた後、5%NaBEt₄溶液を1 mL加えて10分振とうして誘導体化した。誘導体化後、ヘキサン20 mLを加えて30分振とうした後、遠心分離して上澄みを採取した。この操作をもう一度行い、得られたヘキサン溶液をロータリーエバポレーターで濃縮した後、2 mLに定容した。この溶液を予めヘキサン10 mLでコンディショニングしたフロリジルカラムに負荷し、流出液を採取した。さらに、5%ジエチルエーテル含有ヘキサン溶液6 mLで溶出した。その後、得られたヘキサン溶液をロータリーエバポレーターで約1 mLまで濃縮した後、内部標準物質としてTeBT-d₃₆を10 µg/mL含むヘキサン溶液100 µLを加え、ヘキサンで5 mLに定容し、GC/MSにて測定した。

結果及び考察

1. GC/MS測定及び検量線

GC/MS条件などは装置によって異なるので、当所では、以前に報告した条件を用いた¹⁵⁾。また、注入量も2 µLとした。4種類のエチル誘導体及び内部標準物質TeBT-d₃₆のトータルイオンクロマトグラム(TIC)をFig.1に示す。

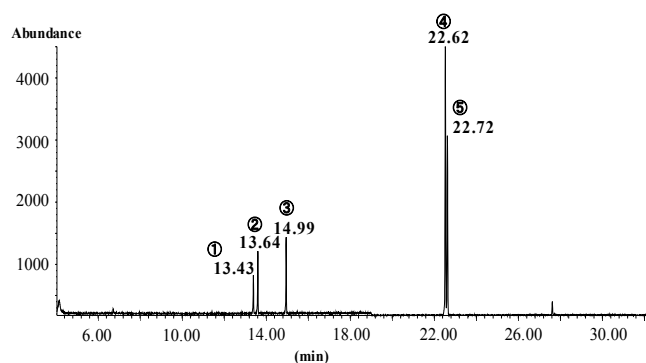


Fig.1. Total Ion Chromatogram (SIM Mode) of Five Types of Organotin Compounds

- a) Ethyl-derivatized compounds: ①TBT-d₂₇(0.2 µg/ml), ②TBT(0.1 µg/ml), ④TPT-d₁₅(0.2 µg/ml), ⑤TPT(0.1 µg/ml)
 b) Internal Standard: ③TeBT-d₃₆(0.2 µg/ml)
 c) For SIM, 10 ions were monitored (m/z 318 and 316 for TBT-d₂₇ and TeBT-d₃₆, m/z 263 and 261 for TBT, m/z 366 and 364 for TPT-d₁₅ and m/z 351 and 349 for TPT; the underlined number is the m/z of the ion used for quantification).

TBTのエチル誘導体 (TBTEt) の検出限界は、S/N=5として10 pg (m/z =263)、TPT (TPTEt) は2 pg (m/z =351)であった。各サロゲート物質 (TBT-d₂₇ (m/z =318)、TPT-d₁₅ (m/z =366) もほぼ同じ感度を得られた。各サロゲート物質 (TBT-d₂₇、TPT-d₁₅) により補正した検量線は、いずれも0.01 µg/mL～2 µg/mLの範囲で $R^2=0.999$ 以上の良好な直線性を示した (TBTは $R^2=0.9994$ 、TPTは $R^2=0.9997$)。0.01 µg/mL～2 µg/mLの範囲の検量線をFig.2(1)に、0.01 µg/mL～0.4 µg/mLの範囲の検量線をFig.2(2)に示す。また、各濃度における、3回繰り返し注入の再現性も良好であった。

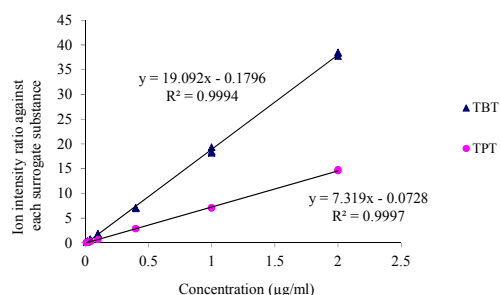


Fig.2(1). Caribration Curve for TBT and TPT (0.01~2 µg/ml)
 Each deuterium compound was used as a surrogate for correction.

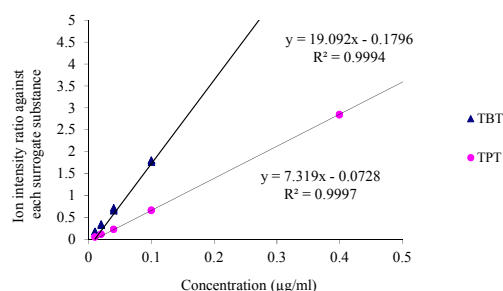


Fig.2(2). Caribration Curve for TBT and TPT (0.01~0.4 µg/ml)
 Each deuterium compound was used as a surrogate for correction.

2. 分析結果と考察

各試料の調製は国立衛研が行い、各試料を3回分析した後(n=3)、分析値と共に試料を送付した。各研究機関も各試料を3回分析し(n=3)、国立衛研は、それらの結果をまとめて報告することとなっている¹⁶⁾。当所では、繊維製品、水性接着剤、油性塗料について、各試料を4回分析した(n=4)。その結果をTable 1に示す。当所は、国立衛研の概ね3ヶ月後に分析を行った。国立衛研の分析値は後述するが、2機関の分析結果の再現性(変動係数、CV値)は、共に良好であった。また、0.1 µg/gまでの測定も可能であることが分かった。試料への標準品の添加方法(繊維製品)、試料からの採取方法(水性接着剤、油性塗料)、分析操作などの誤差を考慮すれば、これらは信頼性のあるデータと判断できる。そこで、双方のデータを比較して、分析結果を考察した。

Table 1. Analytical Results of Each Sample (n=4)

Set Concentration		Textile		Water-based Adhesive		Oil-based paint	
		TBT	TPT	TBT	TPT	TBT	TPT
0.1 µg/g	Average	0.16	0.08	0.15	0.15	0.17	0.10
	CV (% n=4)	12.32	10.56	4.93	4.14	4.23	4.66
1.0 µg/g	Average	0.95	0.50	1.00	0.96	1.08	0.43
	CV (% n=4)	3.04	5.20	1.91	2.66	3.39	0.92
10 µg/g	Average	9.39	7.40	9.91	9.64	10.58	3.65
	CV (% n=4)	2.24	7.39	4.11	3.15	1.15	1.27

The analysis value was corrected from ion intensity ratio with deuterated compounds used surrogate standard.
 CV: Coefficients of variation

2-1. 繊維製品

国立衛研が送付してきた繊維製品中のTBT分析値は、0.1 µg/g添加試料が0.12 µg/g (CV=0.1%)、1.0 µg/g添加試料が0.98 µg/g (CV=2.1%)、10 µg/g添加試料が、10 µg/g (CV=7.8%)であった。Table 1に示すように、当所での繊維製品中のTBT分析値は、どの濃度試料でも、国立衛研とほぼ同じ値、精度(CV値)が得られた。繊維製品中のTBTは、数年に亘って長期間残存することが分かっている^{15, 17-23)}。従って、同様の分析値が得られたものと考えられる。

一方、国立衛研のTPT分析値は、0.1 µg/g添加試料が0.1 µg/g (CV=1.9%)、1.0 µg/g添加試料が0.85 µg/g (CV=1.4%)、10 µg/g添加試料が8.4 µg/g (CV=3.0%)であるのに対し、当所の分析値は、国立衛研より全て低い値を示した(Table 1)。特に1.0 µg添加試料は60%以下であった。しかし、分析精度(CV値)は良好であることより、繊維製品中のTPTについては、経時(日)変化(減少傾向)が考えられた。これは、TPTからの脱フェニル化現象が起因していると考えられる²⁴⁻²⁶⁾。

次に、TeBT-d₃₆とのイオン強度比から算出した各サロゲート物質の回収率は、TBTの0.1 µg添加試料が100.4～74.9%、1.0 µg添加試料が97.0～66.5%、10 µg添加試料が106～97.4%であった。TPTの0.1 µg添加試料が98.3～58.3%、1.0 µg添加試料が82.7～61.5%、10 µg添加試料は100～84.2%であった（Table 2）。若干回収率が低い試料もあったが、概ね良好な回収率が得られた。また、TBT-d₂₇よりTPT-d₁₅の回収率が若干低かった。

TPT分析値の精度（CV値）及びTPT-d₁₅の回収率から考察すれば、TPTの減少は、分析操作中の損失ではなく、3ヶ月の保存中に分解（脱フェニル）してきたものと考えられる²⁴⁻²⁶）。

Table 2. Recovery Rate of each Surrogate Substance from Textile Products

Sample No.	TBT-d ₂₇ (%)	TPT-d ₁₅ (%)
Addition of 0.1 µg/g Sample 1	92.28	83.23
Sample 2	74.86	58.33
Sample 3	79.45	73.66
Sample 4	100.04	98.28
Addition of 1 µg/g Sample 1	97.00	65.94
Sample 2	96.45	82.68
Sample 3	66.57	61.47
Sample 4	76.83	72.19
Addition of 10 µg/g Sample 1	106.71	100.35
Sample 2	103.29	92.17
Sample 3	100.03	84.18
Sample 4	97.41	96.08

2-2. 水性接着剤

国立衛研の水性接着剤中のTBT分析値は、0.1 µg/g添加試料が0.12 µg/g（CV=4.9%）、1.0 µg/g添加試料が1.1 µg/g（CV=9.0%）、10 µg/g添加試料が、13 µg/g（CV=13%）であった。Table 1に示すように、当所のTBT分析値は、どの濃度試料でも、国立衛研の分析結果とほぼ同じ値、良好な精度（CV値）が得られた。接着剤中のTBTも、数年に亘って長期間残存する^{15, 27}）。逆に長期間保存しておくで濃縮され、高濃度で検出されることがある¹⁵）。今回は、3ヶ月間だけの冷暗所保存であったので、同様の分析値が得られたものと考えられる。

また、国立衛研による水性接着剤中のTPT分析値は、0.1 µg/g添加試料が0.14 g/g（CV=0.88%）、1.0 µg/g添加試料が0.89 µg/g（CV=3.2%）、10 µg/g添加試料が、10 µg/g（CV=3.7%）であった。Table 1に示すように、当所のTPT分析値も、どの濃度試料もほぼ同じ値で、良好な精度（CV値）を示した。この分析値からは、TBT

と同様に、濃縮や減少という経時（日）変化は観察されなかった。水中では脱フェニル化現象が起きるとの報告²⁶）もあるが、今回の試料ではその現象は観察されなかった。

次に、TeBT-d₃₆とのイオン強度比から算出した各サロゲート物質の回収率は、TBTの0.1 µg添加試料が99.26～98.24%、1.0 µg添加試料が98.65～98.45%、10 µg添加試料が98.70～98.46%であった。TPTの0.1 µg添加試料は99.93～99.82%、1.0 µg添加試料が99.90～99.83%、10 µg添加試料は99.90～99.79%であった（Table 3）。いずれもサロゲート回収率は良好であった。

Table 3. Recovery Rate of each Surrogate Substance from Water-based Adhesives

Sample No.	TBT-d ₂₇ (%)	TPT-d ₁₅ (%)
Addition of 0.1 µg/g Sample 1	98.39	99.93
Sample 2	98.94	99.83
Sample 3	99.26	99.82
Sample 4	98.24	99.85
Addition of 1 µg/g Sample 1	98.65	99.84
Sample 2	98.45	99.84
Sample 3	98.45	99.83
Sample 4	98.45	99.90
Addition of 10 µg/g Sample 1	98.70	99.90
Sample 2	98.46	99.79
Sample 3	98.53	99.81
Sample 4	98.55	99.87

2-3. 油性塗料

国立衛研の油性塗料中のTBT分析値は、0.1 µg/g添加試料が0.14 µg/g（CV=2.7%）、1.0 µg/g添加試料が1.0 µg/g（CV=2.1%）、10 µg/g添加試料が9.9 µg/g（CV=0.88%）であった。Table 1に示すように、当所のTBT分析値も良好な精度（CV値）を示したが、国立衛研の分析値と比べて、いずれも若干高い値を示した。この結果から、油性塗料中のTBTも分解せずに残存するが、3ヶ月間の冷暗所保存中に、やや濃縮され、若干高い傾向の分析値となったものと考えられる。

一方、国立衛研のTPT分析値は、0.1 µg/g添加試料が0.15 µg/g（CV=5.0%）、1.0 µg/g添加試料が1.1 µg/g（CV=0.6%）、10 µg/g添加試料が7.6 µg/g（CV=0.53%）であるのに対し、当所の分析値は、分析精度（CV値）は良好であるものの、どの濃度試料でも低い値を示した（Table 1）。特に1.0 µg添加試料は40%以下であった。TBTの分析値がほぼ同じであることを考えれば、この油性塗料中のTPTについては、経時（日）変化（減少）

が考えられる。これは、明らかにTPTが分解している（脱フェニル化現象）ものと考えられる²⁴⁻²⁶。

また、TeBT-d₃₆とのイオン強度比から算出した各サロゲート物質の回収率は、TBTの0.1 µg添加試料が46.1～43.0%、1.0 µg添加試料が43.9～31.1%、10 µg添加試料が43.6～40.1%であった。TPTの0.1 µg添加試料が46.5～42.3%、1.0 µg添加試料が45.1～31.5%、10 µg添加試料は45.1～40.7%であった(Table 4)。これは、シリカゲルカラムによる精製操作過程で20 mLのヘキサン溶液のうち10 mLを採取して精製しているためであり、この方法から算出した回収率は50%以下になる。従って、回収率としては、この2倍となるので、いずれも良好な回収率であると考えられる。つまり、この操作過程での各サロゲート物質（TBT-d₂₇、TPT-d₁₅）の損失は少ない。

TPT分析値の精度（CV値）及びTPT-d₁₅の回収率から考察すれば、油性塗料中のTPTの減少は、分析操作中の損失ではなく、3ヶ月の保存中にTPTが分解（脱フェニル）されたものと考えられる²⁴⁻²⁶。

Table 4. Recovery Rate of each Surrogate Substance from Oil-based Paints

Sample No.	TBT-d ₂₇ (%)	TPT-d ₁₅ (%)
Addition of 0.1 µg/g Sample 1	43.00	44.59
	Sample 2	46.17
	Sample 3	43.11
	Sample 4	43.51
Addition of 1 µg/g Sample 1	43.88	45.08
	Sample 2	31.12
	Sample 3	42.93
	Sample 4	42.47
Addition of 10 µg/g Sample 1	40.12	40.68
	Sample 2	43.56
	Sample 3	42.81
	Sample 4	41.53

3. 公定分析法の改定と基準値設定

家庭用品は、一般的に様々な物質から構成されている。また試料によって構成物質が異なる。従って、様々な共存物質の中から目的物質を測定する場合、同一の抽出・精製操作を行っても、回収率は、試料によって各々異なる。界面活性剤を含有した試料などは液-液分配で液相が幾相になることもしばしばある。その場合、ヘキサン相中の目的物質（TBT、TPT）が、濃縮されている可能性がある。逆に、塗料などでは、固形物が析出し、目的物質（TBT、TPT）がトラップされて回収率が低くなる場合もある。サロゲート物質を操

作の最初から添加することで、共存物質による回収率への影響を補正できるだけでなく、誘導体化（エチル化）の反応効率まで補正できる。今回の2機関の分析結果から、本法は、再現性は良好であり、0.1 µg/gまでの測定も可能であった。つまり、サロゲート物質により分析誤差を補正する本法は、優れた分析法であり、公定分析法として採用できると考えられる。加うるに、サロゲート補正すれば、家庭用品の様な多種多様な共存物質を含有する試料中の分析では、必ずしも全量を回収する必要はないと考える。すなわち、今回の油性塗料の操作法のように、サロゲート物質の回収率は参考程度とし、できるだけ共存物質の影響を避ける方が良いと考える。

防菌・防カビ剤としての、TBT及びTPTの使用濃度は、100 µg/g以上と言われている²⁸。実試料からのTBT検出事例は、DBTが使用され、その不純物としてのTBTが検出される場合である^{15, 17-23, 27}。従って、不純物としての極微量のTBTまで規制することには疑義が残る。また、今回分析した試料、特に油性塗料中のTPTには、経時（日）変化が観察された。つまり、TPT添加時からの分析時間が異なると分析値も違ってくる可能性がある。微量なTPT値を規制基準値として設定した場合、確実に基準違反と断定することが困難となる。家庭用品法による規制は、「TBT及びTPTを家庭用品に意図的に使用させない」ことを目的としている^{7, 28}。行政検査のための規制値設定の場合、詳細な最新毒性データとも照合して、規制基準値を設定していく必要があると考える。

まとめ

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」により、使用禁止されているトリブチルスズ化合物（TBT）及びトリフェニルスズ化合物（TPT）の公定分析法としてGC/MS法を導入するため、同一試料（繊維製品、水性接着剤、油性塗料）を、同一の方法で行うラウンドロビンテストが実施された。当所も参加し、その分析値を、概ね3ヶ月前に分析した国立医薬品食品衛生研究所の分析値と比較考察した。

その結果、(1)再現性、サロゲート回収率共に良好であり、0.1 µg/gまでの測定も可能であった。つまり、公定分析法として採用できると考えられた。(2)TBTはど

の試料でもほぼ同じ値が得られた。(3)TPTは、水性接着剤でほぼ同じ値であったが、繊維製品で経時的(3ヶ月間)にやや減少傾向がみられ、油性塗料では明らかに減少していることが観察された。これは、TPTの脱フェニル現象に起因していると推察された。

今回設定した濃度は、0.1 µg/g、1.0 µg/g、10 µg/gであるが、両物質の実際の使用濃度はより高濃度である。TBT検出事例は、DBTの不純物として検出される場合であり、TPTには、経時的な減少傾向が観察された。つまり、微量なTBT、TPT値を規制基準値とした場合、行政措置のための判定が困難となる。詳細な最新毒性データとも照合して、規制基準値を設定していく必要があると考えられた。

ラウンドロビンテストの実施にあたり、分析法の設定や試料の調製などにご尽力頂いた国立医薬品衛生研究所生活衛生化学部の河上強志博士及び伊佐間和郎室長に深謝いたします。

文 献

- 1) Evans, C. J. and Karpel, S.: Organotin Compounds in Modern Technology, Elsevier Sci. Pub., Amsterdam, (1985)
- 2) 荒川泰昭, 室賀清美, 小石秀夫, 森田 亮, 岩崎 徹, 中島晴信, 堀 伸二郎: 胸腺における微量元素とT細胞の動態: 微量栄養素研究, 8, 1-8 (1991)
- 3) 荒川泰昭, 栗山孝雄, 國友譲, 森田 亮, 岩崎 徹, 中島晴信, 堀 伸二郎: 胸腺における微量元素とT細胞の膜表面抗原の変化, Biomed. Res. Trace Elements, 3(3), 319-329 (1992)
- 4) 荒川泰昭, 平野裕司, 村田純子, 中島晴信, 竹内孝之, 中野幸広: 亜鉛欠乏ならびに有機錫中毒誘発の脳障害における脳内微量元素の動態と副甲状腺ホルモン(PTH)との関連性, 微量栄養素研究, 12, 107-112 (1995)
- 5) 荒川泰昭: 有機スズの生体機能への襲来—免疫系・脳神経系・内分泌系—, Biomed. Res. Trace Elements, 11(3), 259-286 (2000)
- 6) Tomiyama, KI., Nakashima, H., Arakawa, Y. and Kumagai, H.: Mechanism underlying olfactory disturbance induced by intraperitoneal injection of tributyltin chloride in rat, Toxicology, 276, 110-114 (2010)
- 7) 昭和53年9月27日付厚生省令第64号および昭和54年12月18日付厚生省令第46号: 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律第二条第二項の物質を定める政令の一部を改正する政令及び有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則の一部を改正する省令
- 8) 小嶋茂雄, 中村晃忠, 鹿庭正昭: 水性塗料中のトリブチル錫ならびにトリフェニル錫の分析, 衛生化学, 25, 141-146 (1979)
- 9) Kojima, S.: Separation of organotin compounds by using the difference in partition behaviour between hexane and methanolic buffer solution, Analyst, 104, 660-667 (1979)
- 10) 中島晴信, 松永一朗, 谷 直子: 家庭用品中の有機錫化合物の分析法について, 大阪府立公衆衛生研究所報 労働衛生編, 19, 45-49 (1981)
- 11) 野崎祐司, 平田泰久, 前田武: 家庭用品中の有機スズ化合物の定量法の検討, 宮崎県衛生環境研究所報, 5, 58-61 (1993)
- 12) 山野辺秀夫, 岸本清子, 石崎由美子, 観 照雄, 中村 弘: 家庭用品の衛生化学的研究(第32報) ガスクロマトグラフィーによる家庭用品中の有機スズ化合物の分析, 東京都衛生研究所年報, 46, 81-85 (1995)
- 13) 大嶋智子, 宮本伊織, 森 義明: 繊維製品中の有機スズ化合物分析へのテトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル誘導体化の適用, 第44回全国衛生化学技術協議会講演要旨集, 291-292 (2007)
- 14) 河上強志, 伊佐間和郎, 中島晴信, 大嶋智子, 土屋利江, 松岡厚子: ガスクロマトグラフィー質量分析法による水性塗料および水性接着剤中の有機スズ化合物の分析, 薬学雑誌, 130(2), 223-235 (2010)
- 15) 中島晴信, 富山健一, 河上強志, 伊佐間和郎: 家庭用品に含有されるトリブチルスズ、トリフェニルスズの分析法—公定分析法の改定にむけて—, 薬学雑誌, 130(7), 945-954 (2010)
- 16) 河上強志ら: 薬学雑誌, 投稿中。

- 17) 中島晴信, 堀 伸二郎, 岩上正蔵, 中澤裕之, 藤田昌彦: ポストカラム蛍光誘導体化を用いた逆相高速液体クロマトグラフィーによる繊維製品中のジアルキルスズ化合物の定量, 分析化学, **36**, 867-871 (1987)
- 18) 中島晴信, 堀伸二郎, 中澤裕之: カラムスイッチング法を利用した逆相HPLCによる塩ビ製食品用容器包装類及び衣類中のジブチルスズ及びジオクチルスズの定量, 衛生化学, **36**, 15-20 (1990)
- 19) 中島晴信, 松永一朗, 宮野直子: 有機錫化合物の分析法について (第2報) -主としてトリブチル錫化合物に関して-, 大阪府立公衆衛生研究所報 労働衛生編, **21**, 41-46 (1983)
- 20) 中島晴信, 松永一朗: 有機錫化合物の分析法について (第3報), 大阪府立公衆衛生研究所報 労働衛生編, **22**, 47-53 (1984)
- 21) 八木正博, 市橋彰厚: 家庭用品及び魚介類中のトリブチル錫化合物の簡易定量法, 尼崎市立衛生研究所報, **17**, 35-40 (1990)
- 22) 山田しげり, 大曾根圭子, 上野清一, 石崎睦雄: 錫フィルターを用いたGC-FPDによるおしめカバー中の有機錫化合物の分析, 茨城県衛生研究所報, **31**, 38-41 (1993)
- 23) 長谷川一夫, 宇都宮暁子, 節田節子: Gas Chromatography / Mass Spectrometry による繊維製品中の有機スズ化合物の分析, 神奈川県衛生研究所報告, **24**, 38-42 (1994)
- 24) 大嶋智子, 尾崎麻子, 中島晴信, 伊佐間和郎, 土屋利江: ポリ乳酸プラスチック中の有機スズ化合物の分析, 大阪市立環科研報告, 第71集, 21-26 (2009)
- 25) 山本貴士, 小原 敦, 野馬幸生, 西澤克志, 安原昭夫, 酒井伸一: テトラフェニルスズの光分解挙動. 第12回環境化学討論会講演要旨集 (2003)
- 26) <http://www.nihs.go.jp/hse/cicad/full/no13/full13.pdf> 世界保健機関 国際化学物質安全性計画: 国際化学物質簡潔評価文書, No.13 Triphenyltin Compounds (1999).
- 27) 苗床江理, 山口理香, 樋口雅之, 大和康博, 高橋正規: 市販接着剤中の有機スズ類のスクリーニング調査, 第41回全国衛生化学技術協議会講演要旨集, 206-207 (2003)
- 28) 中村晃忠, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭: 有機錫の分析上の問題点について, 第18回全国衛生化学技術協議会抄録, 94-95 (1981)

平成 21 年度大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理結果

— 亜鉛及びその化合物 —

安達 史恵^{*1} 田中 榮次^{*1} 足立 伸一^{*1}
上田 理絵^{*2} 井上 靖彦^{*2} 倉持 隆^{*2}

大阪府では、「建築物飲料水水質検査業」事業者を対象に、大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理を平成 19 年度より実施してきた。平成 21 年度は、亜鉛及びその化合物および蒸発残留物を対象とし、43 機関を対象に精度管理を実施した。判定基準は Z スコア、機関内変動係数を用いた。本報では亜鉛およびその化合物の結果について報告する。判定基準の Z スコアが $3 \leq |Z|$ で不満足となったのは、43 機関中 3 機関で、その原因は、機器の整備不良、不適切な使用方法、標準溶液の調製ミスによるものであった。

キーワード：外部精度管理、水道水、亜鉛およびその化合物

Key words：external quality control, tap water, Zinc

大阪府では、「建築物における衛生的環境の確保に関する法律」第 12 条の 2 第 1 項に規定の「建築物飲料水水質検査業」の知事登録を受けている事業者の検査精度の向上と信頼性および安全性のより一層の確保を図り、しいては安全な飲料水の供給に資することを目的として、大阪府健康医療部環境衛生課が大阪府立公衆衛生研究所とともに、府内建築物飲料水水質検査事業者の協力を得て、平成 19 年度より大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理を実施してきた¹⁾。

平成 21 年度は、亜鉛及びその化合物と蒸発残留物を対象項目として、外部精度管理を実施した。本報では亜鉛及びその化合物について報告する。亜鉛及びその化合物の水道水質基準は、1958 年の水質基準に関する省令（厚生省令第 23 号）で 1 mg/L に定められている。

調査方法

1. 対象物質

亜鉛及びその化合物とした。

2. 対象事業者

建築物飲料水水質検査業の知事登録を受けている登録事業者全体を対象とした。今回、自社検査している事業者のみならず、外部委託している事業者を含めて 43 事業者の参加を得て外部精度管理を実施した。

3. 精度管理試料の調製方法および配布方法

平成 21 年 10 月 6 日（火）に大阪府立公衆衛生研究所（大阪市東成区中道 1 丁目 3 番 69 号）に給水されている水道水 100 L をポリタンクに採水し、水道水質基準値 1 mg/L の約 20 分の 1 程度の濃度になるよう亜鉛標準液（和光純薬: Zn: 1005 mg/L, 保証期限: 2011. 02, Lot. KWQ4136）を 5 mL および濃度が 1% となるように硝酸を添加し調製した。平成 21 年 10 月 7 日（水）に当所上水試験室において上記試料を検査実施事業者に配布した。

4. 実施期間

平成 21 年 10 月 30 日を検査結果回収締め切り日として行った。

5. 検査方法

検査方法は「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」（平成 15 年 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号）の 31.亜鉛及びその化合物に

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

^{*2} 大阪府健康医療部 環境衛生課

Result of External Quality Control Program for Analysis of Drinking Water -Zinc-

by Fumie ADACHI, Hidetsugu TANAKA, Shinichi ADACHI, Rie UEDA
Yasuhiko INOUE and Takashi KURAMOCHI

において別表3、4、5および6で定めている以下4方法：フレームレス-原子吸光光度計による一斉分析法（以下FLAA法）、フレーム-原子吸光光度計による一斉分析法（以下AAS法）、誘導結合プラズマ発光分光分析装置による一斉分析法（以下ICP-AES法）および誘導結合プラズマ質量分析装置による一斉分析法（以下ICP-MS法）により、それぞれの機関において測定可能な方法で行うこととした²⁾。なお、配布した精度管理試料について5回の測定を行い、その測定値の平均を検査値とし、結果を「外部精度管理検査結果報告書」にて報告し、また標準作業手順書、分析チャート、検量線等の資料も合わせて提出することとした。

6. 評価・検証方法

6.1. 事業者内の変動係数による評価

各事業者内で測定された精度管理試料（n=5）の変動係数（CV）は10%以内を正常値とした。10%を超過した事業者の検査値は、建築物飲料水水質検査業外部精度管理の評価対象から除外することとした。

6.2. Zスコアによる評価

Zスコアは四分位数法で算出した³⁻⁵⁾。Zスコアによる評価は下記の通りであるが、特に、±3以上の不満足である検査値は「外れ値」と評価した。

	Z	≤ 2	満足
2 <	Z	< 3	疑わしい
3 ≤	Z		不満足

なお、「外れ値」を報告した事業者には、「外れ値等に関する報告書」の提出を求め、「外れ値」を報告するに至った原因について検討を行った。

6.3. 真値及び誤差率の算出と誤差率による評価（参考）

Zスコアは検査値の分布から判断するものであり、各検査値の真値からの差（誤差）には直接関係しない。そこで、真値に対する誤差率（以下誤差率）を算出し、誤差率が±10%を超過した検査値を「異常値」とした。しかし、今回は誤差率による評価は参考とし、事業者には真値を通知するにとどめた。

真値および誤差率は下記に示した方法により求めた。

- (1) Grubbsの棄却検定⁶⁾を用い、危険率5%で外れた事業者の値を棄却後、平均を求め、それを「仮の真値」とする。
- (2) 「仮の真値」から±10%以内の検査値の平均を「真

値」とする。
(3) 誤差率 (%) = (検査値 - 真値) / 真値 × 100

6.4. 事業者間の変動係数による評価

事業者間における変動係数の許容範囲は10%以内とし、10%以内であればバラツキの少ない外部精度管理結果であったと評価することとした。

結果および考察

1. 実施された測定方法

今回の外部精度管理に参加した43事業者において実施された検査方法およびデータ数は表1に示した。

表1 測定方法およびデータ数

試験方法	データ数
フレームレス-原子吸光光度法 (FLAA法)	7
フレーム原子吸光光度法 (AAS法)	11
誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES法)	21
誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS法)	4
計	43

2. 評価と検証

43事業者から報告された報告された5つの検査値の平均値、変動係数、Zスコアおよび「真値」に対する誤差率を表2に示した。なお、機関番号はZスコアの昇順に付与した。43事業者の検査値は、最小値が0.0313 mg/L、最大値が0.0664 mg/L、平均値が0.0513 mg/Lで、その標準偏差は0.0064 mg/L、変動係数は12.4%であった。

2.1. 事業者内の変動係数による評価

各事業者の測定値（n=5）の標準偏差は0.0001 mg/L～0.0046 mg/Lで、変動係数は0.25%～8.36%であった。厚生労働省の求める精度10%以内を超えた事業者はなく、評価の対象外となる事業者は存在しなかった。このことから、各事業者における内部精度管理は精度良く実施されたと考えられた。

2.2. Zスコアによる評価

各事業者の検査値のZスコアは、最小値が-4.75、最大値が3.54であった。| Z | ≤ 2で「満足」と評価されたのは37事業者、2 < | Z | < 3で「疑わしい」と評価されたのは3事業者、3 ≤ | Z |で「不満足」となり、「外れ値」と評価されたのは3事業者A-1、-2、-43で、Zスコアはそれぞれ-4.75、-4.62、3.54であった。また、「外れ値」と評価された3事業者は、全体の約7%で

あったことから、Z スコアによる評価では、今回の外部精度管理は概ね良好であったと考えられた。

一方、同時期に行った水道事業体（n=43）における外部精度管理では Z スコアによる評価において $3 \leq |Z|$ となった事業体は 1 機関（2.3%）であったことから、「建築物飲料水水質検査業」事業者の検査精度の向上への努力がより一層必要であると考えられた。

前述の 3 事業者については、後日「外部精度に係る外れ値等に関する報告書」の提出を求め、検査結果について検討した。その結果を以下に示した。なお、3 事業者はいずれも FLAA 法を用いて測定を行っていた。

1) A-1

A-1 の検査値は、0.0313 mg/L で平均値 (0.0513 mg/L) より 0.02 mg/L 小さい値を示し、Z スコアは -4.75 で ± 3 を超え、「外れ値」と評価された。「外れ値等に関する報告書」によると、外れ値となった原因として、検量線に用いた標準液が不適切であったと報告していた。その理由として、標準液を調製後、使い切るまで何度も使用していたことをあげ、今後の対策として、「定期的に調製し、また作成した標準液を別の機器で分析し、濃度の確認を行うこと」としていた。妥当な対処であると考えられるが、標準液は用時調製が基本であるため、測定毎に調製することが望ましい。

2) A-2

A-2 の検査値は、0.0319 mg/L で平均値より約 0.02 mg/L 小さい値を示し、Z スコアは -4.62 で ± 3 を超え、「外れ値」と評価された。「外れ値等に関する報告書」によると、外れ値となった原因として、プランジャーチップの劣化により、吸い込み量が減少したためとし、今後の対策として、「定期的にチェックを行い交換すること、および実試料分析時に標準試料を分析し、吸光度および濃度等を確認する」としていた。報告書の通り、チップの劣化により吸い込み量が減少すれば、標準液および試料の測定にも影響すると考えられ、試料のみの値が減少するとは考えにくい。機器の調整は定期的に行うことが重要であるが、試料測定時に標準溶液と比較し、感度に変化を確認するためには、試料測定後の標準溶液の再測定は毎回行うことが望ましく、妥当な改善点と考えられた。

3) A-43

A-43 の検査値は、0.0664 mg/L で平均値より 0.015

表2 事業者から報告された検査結果

機関番号	検査値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	Zスコア	真値に対する 誤差率 (%)
A-1 **	0.0313	1.5	-4.75	-40.1
A-2 **	0.0319	3.6	-4.62	-39.0
A-3 *	0.0418	5.7	-2.28	-20.0
A-4 *	0.0418	0.5	-2.28	-20.0
A-5 *	0.0461	1.2	-1.26	-11.8
A-6 *	0.0465	1.3	-1.15	-10.8
A-7	0.0472	1.0	-1.00	-9.6
A-8	0.0481	1.2	-0.79	-7.9
A-9	0.0482	1.0	-0.76	-7.7
A-10	0.0490	1.7	-0.58	-6.2
A-11	0.0492	1.2	-0.52	-5.8
A-12	0.0493	1.2	-0.49	-5.5
A-13	0.0497	4.1	-0.40	-4.8
A-14	0.0497	1.4	-0.39	-4.7
A-15	0.0502	1.3	-0.29	-3.9
A-16	0.0502	0.5	-0.28	-3.8
A-17	0.0505	3.3	-0.21	-3.2
A-18	0.0506	1.2	-0.19	-3.1
A-19	0.0510	0.8	-0.10	-2.4
A-20	0.0511	1.8	-0.06	-2.0
A-21	0.0512	1.3	-0.04	-1.8
A-22	0.0514	2.5	0.00	-1.5
A-23	0.0522	0.3	0.18	0.0
A-24	0.0527	1.8	0.30	0.9
A-25	0.0529	1.2	0.36	1.4
A-26	0.0532	5.1	0.42	1.9
A-27	0.0534	2.2	0.48	2.4
A-28	0.0537	0.7	0.55	2.9
A-29	0.0540	4.1	0.61	3.4
A-30	0.0540	0.5	0.62	3.5
A-31	0.0548	1.3	0.81	5.0
A-32	0.0550	3.3	0.84	5.3
A-33	0.0550	1.8	0.84	5.3
A-34	0.0552	8.4	0.91	5.8
A-35	0.0553	1.9	0.93	6.0
A-36	0.0557	0.3	1.01	6.7
A-37	0.0560	0.6	1.08	7.2
A-38	0.0561	2.4	1.10	7.4
A-39	0.0570	1.9	1.33	9.2
A-40	0.0573	1.8	1.38	9.7
A-41	0.0573	1.0	1.40	9.8
A-42 *	0.0626	4.0	2.66	20.0
A-43 **	0.0664	1.4	3.54	27.2
平均値	0.0513			
最大値	0.0664			
最小値	0.0313			
標準偏差	0.0064			
変動係数(%)	12.4			
n	43			

坂の真値: 0.0519 mg/L

真値: 0.0522 mg/L

* 真値に対する誤差率が $\pm 10\%$ を超えた機関

** 真値に対する誤差率が $\pm 10\%$ を超え、Zスコアが ± 3 を超えた機関

mg/L 大きい値を示し、Z スコアは 3.54 で ± 3 を超え、「外れ値」と評価された。「外れ値等に関する報告書」によると、外れ値となった原因として、試料の注入量を

20 μ L（亜鉛分析時のメーカー推奨値の2倍量）で測定を行ったため、検量線の直線域を超え、また種々の問題が生じたと推測していた。しかし、結果報告書の検量線データをもとに検討すると、各標準液の吸光度および R^2 値では、直線域を超えていたとは考えにくい。一方、結果返却後、報告者が同試料を用いて10 μ Lで測定を行ったところ、より真値に近い結果（0.0560 mg/L）が得られたことから、適量の2倍量の試料を分析に用いたことが測定精度に影響を及ぼしたと考えられた。また、今後の対策として、「測定条件（試料注入量、検量線域等）の見直し」をあげていたことから、妥当な対策であると考えられた。

以上のことから、今回の外れ値となった事業者においては、標準作業手順書を作成し、正しい分析方法、機器の適正使用及び測定後のデータ確認を行うことにより、外れ値となることを防ぐことが可能であると考えられた。

2.3. 誤差率による評価（参考）

危険率5%としたGrubbsの棄却検定で棄却された検査値は3つで、「仮の真値」は0.0519 mg/Lであった。その「仮の真値」に対する誤差率を求めると、 $\pm 10\%$ を超える検査値が7つ存在したので、これらの検査値を除外して平均を求め、0.0522 mg/Lの「真値」を得た。この「真値」に対する誤差率 $\pm 10\%$ の許容範囲を超えた検査値は、8つ（A-1、-6、-42、-43）存在し、これらの検査値は「異常値」と評価し、その存在率は約19%（8/43）であった。この誤差率を用いた評価方法では、その存在率から判断すると、ややバラツキのあった外部精度管理であったと評価された。

2.4. 事業者間の変動係数による評価

事業者間における変動係数(CV)は12.4%であった。その許容範囲を10%以内としたことから、今回の外部精度管理はバラツキが大きかったと評価された。

以上の結果、43事業者が参加した今年度の外部精度管理は、Zスコアでは概ね良好な結果であったが、誤差率と事業者間の変動係数では、ややバラツキの大きい結果であったと評価された。

3. 装置別による検討

検査方法はFLAA法、AAS法、ICP-AES法およびICP-MS法の4つの検査方法が認められている。検査方

法別の各機関の濃度、平均濃度、標準偏差および変動係数を表3に示した。また度数分布を図1に示した。

1) AAS法、ICP-AES法

AAS法、ICP-AES法においては、平均値はそれぞれ0.0514 mg/L、0.0530 mg/Lとなり真値（0.0522 mg/L）と同程度の値であった。また変動係数は6.6%、7.4%となり、バラツキが少なく精度は良好であった。「真値」に対する誤差率 $\pm 10\%$ を超えたのはAAS法1機関、ICP-AES法2機関であった。

2) FLAA法、ICP-MS法

FLAA法、ICP-MS法においては、平均値はそれぞれ0.0473 mg/L、0.0494 mg/L、変動係数は27.5%、10.6%となった。FLAA法、ICP-MS法を用いた機関は7機関、4機関と少なく、装置別の評価は難しいが、バラツキがやや大きく、精度が悪かったと考えられた。Zスコアが $3 \leq |Z|$ となり、「外れ値」と評価された3事業者A-1、-2、-43はいずれもFLAA法を用いていた。誤差率では、誤差率 $\pm 10\%$ を超えたのはFLAA法が上記3機関を含む4機関、ICP-MS法が1機関であった。したがって、FLAA法を用いた7機関のうち約半数の3機関（43%）が「外れ値」となり、4機関が誤差率 $\pm 10\%$ を超えていた。

一方、同時期に行った水道事業体に対する亜鉛およびその化合物の外部精度管理の結果は、Zスコアが $3 \leq |Z|$ となった機関が1機関、「真値」に対する誤差率 $\pm 10\%$ を超えたのは9機関であった。9機関中8機関がFLAA法を用いていた。

亜鉛及びその化合物の測定においてFLAA法を用いた場合、希釈が必要であること、低濃度での測定を行わなければならないこと、また環境からの汚染を受けやすいこと等、様々な誤差要因が生じると予測された。したがって、今回の精度管理においても、検査値が低濃度から高濃度に分散し、バラツキのある結果となったと考えられた。

以上の結果より、今回の亜鉛及びその化合物の精度管理において、FLAA法は誤差率を $\pm 10\%$ 以内におさめ、精度よく実施することが難しい検査方法であると示唆された。

まとめ

表3 検査方法別測定結果

	濃度 (mg/L)			
	FLAA	AAS	ICP-AES	ICP-MS
	0.0313	0.0461	0.0465	0.0418
	0.0319	0.0481	0.0472	0.0510
	0.0418	0.0490	0.0482	0.0511
	0.0505	0.0492	0.0493	0.0537
	0.0532	0.0497	0.0497	
	0.0561	0.0506	0.0502	
	0.0664	0.0512	0.0502	
		0.0548	0.0514	
		0.0552	0.0522	
		0.0553	0.0527	
		0.0557	0.0529	
			0.0534	
			0.0540	
			0.0540	
			0.0550	
			0.0550	
			0.0560	
			0.0570	
			0.0573	
			0.0573	
			0.0626	
n	7	11	21	4
平均値 (mg/L)	0.0473	0.0514	0.0530	0.0494
最大値 (mg/L)	0.0664	0.0557	0.0626	0.0537
最小値 (mg/L)	0.0313	0.0461	0.0465	0.0418
標準偏差 (mg/L)	0.0130	0.0034	0.0039	0.0052
変動係数 (%)	27.5	6.6	7.4	10.6
FLAA	: フレームレス原子吸光度法			
AAS	: フレーム原子吸光度法			
ICP-AES	: 誘導結合プラズマ-発光分光法			
ICP-MS	: 誘導結合プラズマ-質量分析法			

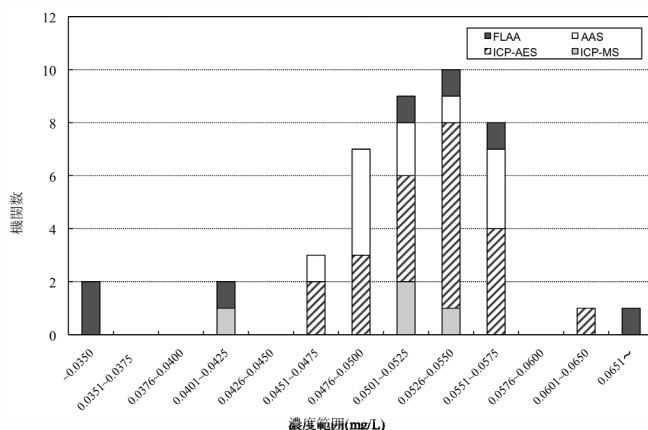


図1 検査方法別度数分布

- (1) 平成 21 年度の大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理は亜鉛及びその化合物を対象項目とした。検査値の Z スコアが $3 \leq |Z|$ で不満足となり、「外れ値」と評価されたのは 3 事業者で、その存在率は約 7.0%であったことから、Z スコアによる評価では、今回の外部精度管理は概ね良好な結果であったと考えられた。
- (2) 「外れ値」と評価された 3 事業者については、事業者自身が「外れ値」の原因を推定し、改善策を報告した。いずれの事業者も概ね妥当な検討内容であった。
- (3) 同時期に行った水道事業体を対象とした外部精度管理と比べると、誤差率で異常値となった存在率は、ほぼ同じであったが、Z スコアが ± 3 以上の「外れ値」となる事業者の存在率がやや大きかったことから、「建築物飲料水水質検査業」事業者の検査精度向上に対する努力がより一層必要であると考えられた。また、両精度管理の結果より、FLAA 法は誤差率を $\pm 10\%$ 以内におさめ、精度よく実施することが難しい検査方法であると考えられた。
- (4) 前年度までの外部精度管理において、外れ値の原因としてあげられてきた「1 点検量線の使用」あるいは「検量線外での定量」等は、今回の精度管理では全く行われていなかったことから、3 年間の精度管理を通して、分析に関する意識の向上が行われたと考えられた。

文献

- 1) 小泉義彦, 足立伸一, 高橋秀和, 倉持隆, 高橋貞雄: 大阪府建築物飲料水水質検査外部精度管理結果 (平成 19 年度) -クロロホルム、プロモジクロロメタン、ジプロモクロロメタン、プロモホルム及び総トリハロメタン-, ビルと環境, 127, 52-58 (2009)
- 2) 「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」(平成 15 年 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号 [一部改正 平成 21 年 3 月 6 日付け厚生労働省告示第 56 号])
- 3) ISO/IEC GUIDE 43-1 (JIS Q 0043-1) (1997)

- 4) 藤井賢三：試験所認定制度における技能試験－付与された値, Z スコア, ロバストな方法, そして四分位数法－, 環境と測定技術, 27(2), 51-56 (2000)
- 5) 藤井賢三：試験所認定制度における技能試験 (2)－四分位数法による Z スコア算出の実際例－, 環境と測定技術, 27(3), 42-44 (2000)
- 6) ISO 5725-2 (JIS Z 8402-2) (1994)

平成21年度大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理結果

— 蒸発残留物 —

田中 榮次* 安達 史恵* 足立 伸一*

大阪府環境衛生課と共同で、府内建築物飲料水水質検査事業者の協力を得て、蒸発残留物を無機物質の対象項目として外部精度管理を実施した。参加機関（府内43事業者）に対して、検査対象物質を一定濃度に調製した精度管理試料を送付し、参加機関で精度管理試料の検査を実施し、その回答結果を検証する方法で行った。今回の調査では、精度管理試料として当所水道水を使用し、検査法として重量法を用いて実施された。検査に使用された蒸発皿の種類と機関数は、磁皿が27機関、アルミカップが6機関、ガラス（ピーカー・皿）が5機関、ステンレススチール皿が3機関、白金皿が2機関であった。その結果、報告された43の検査値の内、4機関がZスコア±3以上を示し、外れ値となった。その外れ値の存在率は9.3%（4/43）であったことから、今回の外部精度管理はほぼ良好な外部精度管理であった。

キーワード：外部精度管理、水道水、蒸発残留物、大阪府

Key words：external quality control, tap water, total solids, Osaka

大阪府では、「建築物飲料水水質検査業」事業者の検査精度を把握し、検査精度の向上と信頼性における一層の確保を図り、しいては安全な飲料水の供給に資することを目的として、平成19年度より府内建築物飲料水水質検査事業者の協力を得て、大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理を実施して来た¹⁾。平成21年度は亜鉛及びその化合物（亜鉛）と蒸発残留物を対象項目として精度管理を実施し、亜鉛については安達らが報告した²⁾。今回は、安達らの報告に引き続き建築物飲料水水質検査業外部精度管理（蒸発残留物）を報告する。

水道水の主な蒸発残留物の成分は、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム等の塩類で基準値を超えても健康への影響はほとんどない。しかし、蒸発残留物は水の味に影響することから、水質管理目標設定項目の目標値が30～200 mg/Lに、水質基準項目の基準値が500 mg/Lに設定されている項目である。また、配水設備の腐食やスケールに関係する項目であることから、ラン

ゲリア指数を算出するための要素の一つである。さらに、クロスコネクション等の汚染があると増減する可能性があり、水道水の維持管理をする上で重要な水質基準項目である^{2,3)}。これらの理由から、平成21年度の外部精度管理の無機物質対象項目の一つとして蒸発残留物が選定された。

調査方法

1. 対象物質

平成21年度の対象物質は亜鉛と蒸発残留物であったが、今回は蒸発残留物を報告する。

2. 実施機関

建築物飲料水水質検査業の知事登録を受けている登録事業者全体を対象とした。今回は自社検査している事業者のみならず、外部委託している事業者を含めて43事業者の参加を得て外部精度管理を実施した。

3. 実施方法

3-1. 精度管理試料の調製方法及び配布方法

平成21年10月5日（月）に大阪府立公衆衛生研究所

* 大阪府立公衆衛生研究所 生活環境部 環境水質課

Result of External Quality Control on the Analytical Measures for Tap Water in Osaka Prefecture —Total Solids (2009)—

by Hidetsugu TANAKA, Fumie ADACHI and Shinichi ADACHI

(大阪市東成区中道1丁目3番69号)に給水されている水道水100 Lをポリタンクに採水し、精度管理試料とした。精度管理試料は1Lポリ瓶に分注し、平成21年10月7日(水)に当所上水試験室において検査実施事業者に配布した。

なお、上記水道水の水質分析結果を表1に示す。この水質データから蒸発残留物を算出すると114 mg/Lであった。また、当所で重量法により蒸発残留物の濃度を測定した。その結果、精度管理試料の蒸発残留物の推定濃度は119 mg/Lであった。

表1 精度管理試料の水質分析結果

カチオン	mg/L	mVAL ^{*1}	mVAL% ^{*2}	アニオン	mg/L	mVAL ^{*1}	mVAL% ^{*2}
Na ⁺	19.1	0.83	45.5	HCO ₃ ⁻	51.9	0.85	46.9
K ⁺	2.9	0.07	4.1	Cl ⁻	15.3	0.43	23.8
Ca ²⁺	14.5	0.72	39.6	SO ₄ ²⁻	22.1	0.46	25.4
Mg ²⁺	2.4	0.20	10.8	NO ₃ ⁻	4.3	0.07	3.8
Total	38.9	1.83	100.0	Total	93.6	1.81	100.0

非解離成分	計算上の蒸発残留物 = 全カチオン + 全アニオン + 非解離成分 - 加熱時減少分
H ₂ SiO ₃ : 8.1mg/L	38.9+93.6+8.1-51.9×0.508 = 114 mg/L

*1 mVAL : ミリグラム当量/L

*2 mVAL% : ある陽イオンや陰イオンのmval値を全陽イオンや全陰イオンのmval値の%で表したものとす

3-2. 実施期間

平成21年10月30日を報告書提出期日として実施した。

3-3. 精度管理試料の検査方法

検査方法は「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」(平成15年7月22日付け厚生労働省告示第261号[一部改正 平成21年3月6日付け厚生労働省告示第56号])の別表第23に定める重量法で行うこととした³⁾。なお、配布した精度管理試料について5回の測定を行い、その測定値の平均を検査値とし、結果を「測定結果報告書」に、その分析法の分析条件は「分析条件等調査票」に記入することとした。

3-4. 評価・検証方法

3-4-1. 事業者内の変動係数による評価

各事業者内で測定された精度管理試料(n=5)の変動係数(CV)は10%以内を正常値とした。10%を超過した事業者の検査値は、建築物飲料水水質検査業外部精度管理の対象から除外した。

$$CV(\%) = (\text{標準偏差} / \text{平均値}) \times 100$$

3-4-2. Zスコアによる評価

Zスコアは四分位数法で算出し⁴⁻⁶⁾、Zスコアによる評価は下記の通りであるが、特に±3を超過する不満足

検査値は「外れ値」と評価した。

$ Z \leq 2$	満足
$2 < Z < 3$	疑わしい
$3 \leq Z $	不満足

なお、「外れ値」を報告した事業者には、「外れ値等に関する報告書」の提出を求め、「外れ値」を報告するに至った原因について検討を行った。

3-4-3. 真値及び誤差率の算出と誤差率による評価(参考)

Zスコアは検査値の分布から判断するものであり、各検査値が、真値からどれだけの誤差を持つかには直接関係しない。そこで、真値に対する誤差率(誤差率)を算出した。

誤差率±10%を超過した検査値を「異常値」と評価した。しかし、今回は誤差率による評価をあくまでも参考評価とした。

真値及び誤差率は下記に示した方法により求めた。

(1) Grubbsの棄却検定⁷⁾を用い、危険率5%で外れた事業者の値を棄却した後、平均を求め、それを「仮の真値」とする。

(2) 「仮の真値」から±10%以内に入っているものの平均を「真値」とする。

(3) 誤差率(%) = (検査値 - 真値) / 真値 × 100

3-4-4. 事業者間の変動係数による評価

事業者間における変動係数(CV)の許容範囲は10%以内とし、10%以内であればバラツキの少ない外部精度管理結果であったと評価した。

結果及び考察

1. 実施された測定方法

今回の外部精度管理に参加した43事業者において実施された測定方法等を表2に示した。

検査に使用された蒸発皿の種類と事業者数は、磁皿が27事業者、アルミカップが6事業者、ガラス(ビーカー・皿)が5事業者、ステンレススチール皿が3事業者、白金が2事業者であった。試料量は50 mLが1事業者、100 mLが29事業者、120 mLが1事業者、150 mLが5事業者、200 mLが6事業者、300 mLが1事業者であった。蒸発乾固方法は水浴が33事業者、ホットプレートが8事業者、乾熱滅菌器が2事業者であった。天秤の自主検査については、2年以内に自主検査を実施したのは24事

業者、2年以上自主検査を実施していないのは5事業者、未検査が14事業者で2年以内の自主検査実施率は32.6% (14/43) であった。

2. 評価と検証

43事業者から報告された5つの測定値とその平均値

表2 事業者の測定方法

			蒸発乾固方法		乾燥器											
検査 機関 No.	蒸発皿	サン プル 量 (mL)	水浴	その他	時間 (h)	設定 温度 (℃)	時間 (h)	エア コン	蒸発皿			蒸発乾固後			乾燥剤	天秤の 検査日
			熱源						日付	天気	気温 (℃)	日付	天気	気温 (℃)		
B-1	ガラス皿	150	電気		2	105	2	無	10月9日	晴れ	—	10月9日	晴れ	—	シリカゲル	2009.4.
B-2	磁皿	100	ガス		4	110	2	有	10月13日	晴れ	—	10月16日	晴れ	—	シリカゲル	—
B-3	磁皿	100	電気		3	105	2	有	10月9日	曇り	25	10月9日	曇り	25	シリカゲル	2008.11.13
B-4	ステンレス皿	100	電気		2	105	2	有	10月15日	晴れ	25	10月19日	晴れ	25	シリカゲル	2009.10.1
B-5	磁皿	100	ガス		2	110	2	有	10月27日	晴れ	—	10月27日	晴れ	—	シリカゲル	2008.9.1
B-6	磁皿	200	電気		3	105	2	有	10月14日	晴れ	23	10月15日	晴れ	21	シリカゲル	—
B-7	磁皿	100		ホットプレート	1	105	4	無	10月16日	晴れ	25	10月16日	晴れ	25	シリカゲル	2009.9.8
B-8	磁皿	100	電気		2	100	2	有	10月7日	雨	25	10月7日	雨	25	シリカゲル	2009.9.12
B-9	磁皿	100	ガス		3	110	2	有	10月13日	晴れ	23	10月13日	曇り	22	シリカゲル	—
B-10	磁皿	200		電熱器→水浴	2	110	2	有	10月15日	晴れ	23	10月15日	晴れ	23	シリカゲル	2008.5.13
B-11	ガラス皿	200	電気		20	105	2	有	10月7日	雨	25	10月12日	晴れ	25	シリカゲル	—
B-12	ステンレス皿	100		ホットプレート	2	105	2	有	10月8日	晴れ	22	10月8日	晴れ	23	シリカゲル	2008.2.23
B-13	ガラスビーカー	100	電気		3	105	3	有	10月28日	晴れ	23	10月28日	晴れ	23	シリカゲル	2008.10.27
B-14	白金皿	100	電気		3	105	2	有	10月8日	曇り	26	10月8日	曇り	26	シリカゲル	2009.4.13
B-15	磁皿	100	ガス		2	110	2	有	10月10日	晴れ	27	10月10日	晴れ	27	シリカゲル	2009.9.25
B-16	磁皿	100	電気		2	110	2	無	10月21日	晴れ	25	10月22日	晴れ	25	シリカゲル	—
B-17	磁皿	150	電気		3	108	2	有	10月27日	晴れ	25	10月28日	晴れ	25	シリカゲル	2009.7.30
B-18	磁皿	100	ガス		2	110	3	有	10月29日	晴れ	25	10月29日	晴れ	26	シリカゲル	2009.4.10
B-19	磁皿	100		ホットプレート	2	110	2	有	10月10日	晴れ	25	10月10日	晴れ	26	シリカゲル	2008.8.12
B-20	磁皿	100	ガス		4	105	2	有	10月16日	晴れ	24	10月16日	晴れ	24	シリカゲル	2009.9.29
B-21	磁皿	150				105	2	有	10月7日	雨	—	10月8日	曇り	—	シリカゲル	2008.9.5
B-22	磁皿	100		ホットプレート	2	110	2	有	10月9日	晴れ	26	10月9日	晴れ	26	シリカゲル	2007.11.19
B-23	磁皿	200	ガス		3	105	1	有	10月14日	晴れ	23	10月16日	晴れ	23	シリカゲル	2009.10.9
B-24	磁皿	100	電気		4	110	2	無	10月19日	晴れ	25	10月19日	晴れ	25	シリカゲル	2008.12.10
B-25	ステンレス皿	100		ホットプレート	2	110	2	無	10月19日	晴れ	27	10月19日	晴れ	27	シリカゲル	—
B-26	磁皿	100		ホットプレート	2	105	1	無	10月29日	晴れ	26	10月29日	晴れ	26	シリカゲル	—
B-27	磁皿	200	ガス		5	105	2	有	10月26日	晴れ	21	10月26日	晴れ	21	シリカゲル	2009.8.1
B-28	ガラスビーカー	100		ホットプレート	8	105	3	有	10月14日	曇り	22	10月14日	曇り	22	シリカゲル	2009.8.3
B-29	磁皿	150		水浴上	3	110	2	有	10月22日	晴れ	—	10月3日	晴れ	—	シリカゲル	2009.3.3
B-30	白金皿	200	電気		4	105	2	有	10月16日	晴れ	—	10月16日	晴れ	—	シリカゲル	2009.9.25
B-31	アルミカップ	50		乾熱減菌器	8	110	2	有	10月20日	晴れ	23	10月20日	晴れ	21	シリカゲル	—
B-32	磁皿	100	電気		6	105	2	無	10月14日	晴れ	24	10月15日	晴れ	24	シリカゲル	—
B-33	磁皿	100	電気		2	105	2	無	10月8日	雨	24	10月8日	雨	24	シリカゲル	2009.4.20
B-34	磁皿	100	電気		3	110	2	無	10月15日	晴れ	23	10月15日	晴れ	26	シリカゲル	2009.4.30
B-35	ガラスビーカー	100	電気		3	105	2	有	10月27日	晴れ	25	10月27日	晴れ	25	シリカゲル	—
B-36	磁皿	100		乾燥器	16	107	2	有	10月10日	晴れ	25	10月16日	晴れ	26	シリカゲル	—
B-37	磁皿	100	ガス		2	105	3	有	10月8日	雨	25	10月9日	晴れ	25	シリカゲル	—
B-38	アルミカップ	300	ガス		3	105	3	有	10月19日	晴れ	22	10月21日	晴れ	22	シリカゲル	2009.6.1
B-39	アルミカップ	150	電気		2	105	2	有	10月13日	晴れ	22	10月13日	晴れ	22	シリカゲル	—
B-40	アルミカップ	100		電気ヒーター	4	110	3	有	10月26日	晴れ	22	10月27日	晴れ	26	シリカゲル	2008.4.21
B-41	アルミ皿	100	ガス		2	110	3	無	10月13日	晴れ	25	10月13日	晴れ	24	シリカゲル	2008.6.30
B-42	磁皿	120	電気		4	105	2	有	10月13日	晴れ	25	10月13日	晴れ	25	シリカゲル	2008.10.10
B-43	アルミカップ	100	電気		4	110	1	有	10月16日	晴れ	24	10月16日	晴れ	24	シリカゲル	—

(検査値)、変動係数、Zスコアおよび誤差率を表3に、検査値の分布を図1に示した。

43事業者の検査値は、最小値が86 mg/L、最大値が138 mg/L、平均値が116 mg/Lで、その標準偏差は10.8 mg/L、変動係数は9.3%であった。

表3 事業者の測定方法

検査 機関 No.	検査方法	測定値 (mg/L)					検査値 (mg/L)	標準偏 差 SD (mg/L)	変動係数 CV (%)	Z スコア	誤差率 (%)
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目					
B-1	ガラス皿	85	86	87	86	84	86	1.1	1.3	-4.35	-25.7
B-2	磁皿	96	95	95	94	89	94	2.8	3.0	-3.16	-18.6
B-3	磁皿	99	100	100	100	98	99	0.9	0.9	-2.35	-14.1
B-4	ステンレス皿	98	97	110	96	103	101	5.8	5.8	-2.15	-12.5
B-5	磁皿	105	105	104	105	106	105	0.7	0.7	-1.54	-8.9
B-6	磁皿	104	107	104	103	108	105	2.2	2.1	-1.51	-8.7
B-7	磁皿	102	108	107	103	110	106	3.4	3.2	-1.39	-8.0
B-8	磁皿	105	109	99	106	111	106	4.6	4.3	-1.39	-8.0
B-9	磁皿	106	106	107	104	109	106	1.8	1.7	-1.33	-7.7
B-10	磁皿	108	110	109	110	108	109	1.0	0.9	-0.96	-5.4
B-11	ガラス	105	111	108	111	113	110	3.1	2.9	-0.87	-4.9
B-12	ステンレス皿	113	111	114	107	113	112	2.8	2.5	-0.58	-3.1
B-13	ビーカー	113	112	112	113	111	112	0.8	0.7	-0.49	-2.6
B-14	白金皿	111	110	116	114	117	114	3.0	2.7	-0.29	-1.4
B-15	磁皿	114	114	116	113	112	114	1.5	1.3	-0.26	-1.2
B-16	磁皿	113	113	114	114	116	114	1.2	1.1	-0.23	-1.1
B-17	磁皿	111	116	117	114	113	114	2.4	2.1	-0.20	-0.9
B-18	磁皿	112	115	117	116	112	114	2.3	2.0	-0.17	-0.7
B-19	磁皿	114	112	118	114	114	114	2.2	1.9	-0.17	-0.7
B-20	磁皿	117	112	116	—	—	115	2.6	2.3	-0.09	-0.2
B-21	磁皿	115	117	115	115	115	115	0.9	0.8	-0.03	0.2
B-22	磁皿	117	115	114	118	114	116	1.8	1.6	0.00	0.3
B-23	磁皿	116	117	117	116	116	116	0.5	0.5	0.08	0.7
B-24	磁皿	116	118	118	116	114	116	1.7	1.4	0.12	1.0
B-25	ステンレス皿	118	115	117	119	116	117	1.6	1.4	0.20	1.5
B-26	磁皿	112	120	117	116	120	117	3.3	2.8	0.20	1.5
B-27	磁皿	120	115	116	113	121	117	3.4	2.9	0.20	1.5
B-28	ビーカー	125	119	123	110	114	118	6.2	5.3	0.38	2.6
B-29	磁皿	118	119	123	114	120	119	3.3	2.8	0.46	3.1
B-30	白金皿	118	120	119	118	119	119	0.8	0.7	0.46	3.1
B-31	アルミカップ	118	118	118	120	124	120	2.6	2.2	0.58	3.8
B-32	磁皿	119	119	121	119	120	120	0.9	0.7	0.58	3.8
B-33	磁皿	119	121	120	120	121	120	0.8	0.7	0.67	4.2
B-34	磁皿	120	122	121	120	121	121	0.8	0.7	0.75	4.8
B-35	ビーカー	118	122	126	122	122	122	2.8	2.3	0.93	5.9
B-36	磁皿	122	121	123	123	123	122	0.9	0.7	0.99	6.2
B-37	磁皿	127	127	125	125	126	126	1.0	0.8	1.51	9.4
B-38	アルミカップ	127	128	125	126	126	126	1.1	0.9	1.57	9.7
B-39	アルミカップ	123	124	137	135	131	130	6.3	4.9	2.09	12.8
B-40	アルミカップ	133	132	134	137	141	135	3.6	2.7	2.87	17.5
B-41	アルミ皿	139	140	132	134	135	136	3.4	2.5	2.96	18.0
B-42	磁皿	144	138	131	137	137	137	4.6	3.4	3.16	19.3
B-43	アルミカップ	137	140	140	138	137	138	1.5	1.1	3.31	20.1

検査結果数	43
最大値 (mg/L)	138
最小値 (mg/L)	86
平均値 (mg/L)	116
標準偏差 (mg/L)	10.8
変動係数 (%)	9.3

「外れ値」は、Zスコア±3を超えた検査値

「異常値」は、誤差率±10%を超えた検査値

真値 (mg/L) :	
B-1, -2, -3, -4, -39, -40, -41, -42, -43, -44の検査値を全体から除いた平均値	
検査結果数	34
平均値 (mg/L)	115

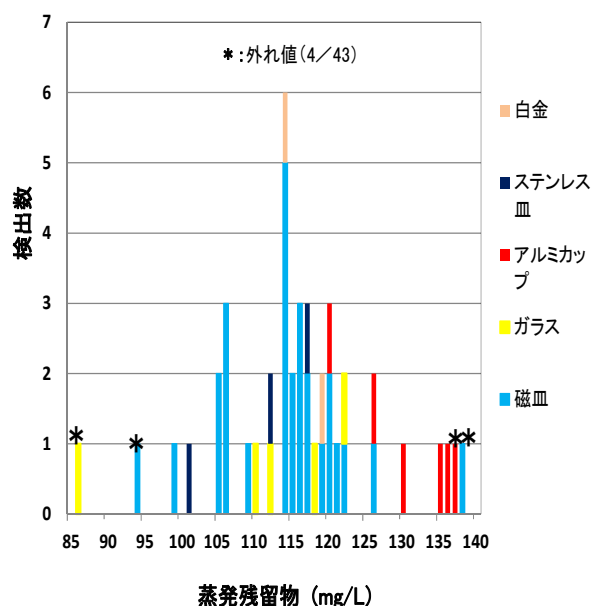


図1 全検査値とその分布

2-1. 事業者内の変動係数による評価

各事業者の測定値 (n=5) の標準偏差は 0.5 mg/L～6.3 mg/L で、その変動係数は 0.5%～5.8%であった。許容範囲 10%以内を超えた変動係数はなく、外部精度管理の評価の対象外となる事業者は存在しなかった。このことから、各事業者における内部精度管理は精度良く実施されたと考えられた。

なお、B-4、-8、-28、-39 の測定結果は、変動係数 4%以上を示し、10%の許容範囲を超えないものの、他の事業者より若干大きい値を示した。これら事業者の測定結果報告書によると、B-8 と B-28 は雨・曇りの日に蒸発乾固前・後の皿を秤量していたことから、雨・曇りの湿度が皿の秤量に影響を及ぼし、若干大きい変動係数となって現れたのではないかと考えられた。一方、B-4 と B-39 については、晴れの日に秤量していたことから、その原因は不明であった。以上のことから、蒸発乾固前・後の皿は出来るだけ晴れの日に秤量するのが望ましいと考えられた。

2-2. Zスコアによる評価

各事業者の検査値の Z スコアは、最小値が -4.35、最大値が 3.31 であった。|Z| ≤ 2 で満足と評価されたのは 34 事業者、2 < |Z| < 3 で疑わしいと評価されたのは 5 事業者、3 ≤ |Z| で不満足で「外れ値」と評価されたのは 4 事業者で B-1、-2、-42、-43 で、Z スコアはそれぞれに -4.35、-3.16、3.16、3.31 であった。また、「外れ値」

と評価された 4 事業者は、全事業者から見るとその存在率は 9%であったことから、Z スコアによる評価では、今回の外部精度管理は概ね良好であったと考えられた。

しかし、同時期に行った水道事業体 (n=44) における外部精度管理⁸⁾では「外れ値」となる事業体は存在しなかったことから、「建築物飲料水水質検査業」事業者の検査精度の向上への努力がより一層必要であると考えられた。

上記 4 事業者については、後日外部精度に係る「外れ値等に関する報告書」の提出を求め、検査結果について考察した。その結果を以下に示した。

1) B-1

B-1 はガラス皿を蒸発皿として使用していた。B-1 の検査値は、86 mg/L で平均値 (116 mg/L) より 30 mg/L 小さい値を示し、Z スコアは -4.35 で ±3 を超え、「外れ値」と評価された。

B-1 の「外れ値等に関する報告書」によると、蒸発乾固前・後のガラス皿は 105℃で 2 時間加熱後、デシケーター (シリカゲル) に 2～3 日放置した後、ガラス皿を秤量したことが、Z スコア ±3 を超えの原因であったとの報告であった。おそらく報告書が指摘した通り、デシケーター (シリカゲル) にガラス皿を 2～3 日放置したことが、ガラス皿の湿度吸着を招き、検査値に影響を与えた可能性があったと考えられた。今後の対策としては、蒸発乾固前・後のガラス皿を 2 時間加熱 (105℃) 後、デシケーター (シリカゲル) 中で 1 時間放冷した後、秤量することに変更すると報告された。この変更は妥当なものであると考えられた。

2) B-2

B-2 は磁皿を蒸発皿として使用していた。B-2 の検査値は、94 mg/L で平均値 (116 mg/L) より 22 mg/L 小さい値を示し、Z スコアは -3.16 で ±3 を超え、「外れ値」と評価された。

Z スコアが -3.16 で ±3 を超えた原因については、「外れ値等に関する報告書」によると、蒸発乾固前・後の磁皿の秤量は晴れの日 (エアコン有り) に普段通りに測定されていた。しかし、試料 100 mL の採水方法は、最初に 50 mL を磁皿 100 mL に採り、磁皿の残量が約 10 mL になると、さらに 10 mL を 5 回に分けて追加して蒸発乾固させる方法であった。しかし、実際の採水方法は、最初の 50 mL 後の 10 mL の追加が 3～4 回だった可能性があり、試料量 80～90 mL で蒸発残留物の測定がなされたと推測し、この

ことが「外れ値」の原因であったと結論付けられていた。また、今後の対策としては、採水方法は試料 50 mL を 2 回に分けて磁皿 100 mL に採り、蒸発乾固させる方法に標準手順書を変更するとしていた。しかし、変更後の採水方法でも変更前と同様の間違いが起こる可能性が指摘できる。そこで、採水方法は、簡単な方法に改める。例えば、2 回に分けて採水するのではなく、試料量を 100 mL としメスシリンダー 100 mL による採水を 1 回にすれば、このような測定ミスを回避出来ると考えられた。

3) B-42

B-42 は磁皿を蒸発皿として使用し、その検査値は、137 mg/L で平均値 (116 mg/L) より 21 mg/L 大きい値を示し、Z スコアは 3.16 で±3 を超え、「外れ値」と評価された。

B-42 の「外れ値等に関する報告書」によると、試料 50 mL をホールピペットで 3 回に分けて磁皿 100 mL に採り、蒸発乾固させる方法にであった。蒸発残留物を算出する時に試料量を 150 mL として蒸発残留物を算出すべきところを試料量 120 mL (40 mL をホールピペットで 3 回) としたことが「外れ値」の原因であったと結論付けられていた。また、今後の対策としては、使用したホールピペットの容量と採水回数を記録書に記入することに変更するとしていた。しかし、変更後の採水方法でもホールピペットの容量と採水回数の記入間違いが起こる可能性が指摘できる。そこで、採水方法は、B-2 の場合と同様に簡単な方法に改める。例えば、試料量を 100 mL に固定しメスシリンダー 100 mL による採水 1 回にすれば、このような測定ミスを回避出来ると考えられた。また、上水試験方法^{9, 10)}ではメスシリンダーの使用を推奨していることから、ホールピペットによる採水は必要ないと考ええる。

4) B-43

B-43 はアルミカップを蒸発皿として使用していた。検査値は、138 mg/L で平均値 (116 mg/L) より 22 mg/L 大きい値を示し、Z スコアは 3.31 で±3 を超え、「外れ値」と評価された。

Z スコアが 3.31 で±3 を超えた原因については、「外れ値等に関する報告書」によると、ドラフト内で蒸発乾固の操作中にフィルター部分から異物がアルミカップの蒸発皿に混入したことが「外れ値」の原因であったと推定していた。また、今後の対策としては、ドラフトのフィルターを交換し、ドラフト内部の付属器具の清掃し、標準手順書では蒸発残留物の測定に使用する機器類の点検

を月 1 回から週 1 回に変更するとしていた。

しかし、我々は既にアルミカップを蒸発皿した場合、検査値が磁皿の場合より約 10~20 mg/L 大きい値を示すことを報告した⁸⁾。その報告によると、試料水中の炭酸水素イオンがアルミカップの表面からアルミニウムを溶かし出し、溶出したアルミニウムが水酸化アルミニウム等を生じることにより、検査値が磁皿の場合より約 10~20 mg/L 大きい値を示したと考えられた。このことが、「外れ値」の原因であったと考えられた。そこで、ドラフト内部の清掃、使用する機器類の点検は当然必要であるが、アルミカップ以外の皿の使用が望ましいと考えられた。

2-3. 誤差率による評価 (参考)

危険率 5%とした Grubbs の棄却検定⁷⁾で棄却される検査値は存在せず、「仮の真値」は 116 mg/L で平均濃度と同一であった。その「仮の真値」に対する誤差率を求めると、±10%を超える検査値が 9 つ (B-1、-2、-3、-4、-39、-40、-41、-42、-43) 存在したので、この 9 つの検査値を除外して平均を求め、115mg/L の「真値」を得た。この「真値」に対する誤差率±10%の許容範囲を超えた検査値は、「仮の真値」と同様に 9 つ (B-1、-2、-3、-4、-39、-40、-41、-42、-43) 存在し、これらの検査値は「異常値」と評価され、その存在率は 21% (9/43) であった。この存在率から判断すると、若干バラツキの大きい外部精度管理であったと評価された。

また、同時期に同様に行った水道事業体の外部精度管理¹⁰⁾における「異常値」の存在率 9% (4/44) に比較して、今回の「建築物飲料水水質検査業」事業者の外部精度管理における「異常値」の存在率は 21% (9/43) で大きいことから、「建築物飲料水水質検査業」事業者の検査精度向上に対する努力がより一層必要であると考えられた。

なお、この誤差率は各事業者に Z スコアと同時に参考値として通知された。

2-4. 事業者間の変動係数による評価

事業者間における変動係数 (CV) は 10.8%であった。その許容範囲を 10%以内としたことから、今回の外部精度管理は若干バラツキの大きいと評価された。以上の結果、43 事業者が参加した今年度の外部精度管理 (蒸発残留物) は、Z スコアでは概ね良好な結果であったと評価されたが、誤差率 (参考) と事業者間の変動係数では若干バラツキの大きいと評価された。

2-5. 蒸発皿の種類別による検討

検査方法は「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」の別表に重量法³⁾が示されているが、蒸発乾固するための皿については蒸発皿とのみ記述され、具体的にはどのような皿を用いるかは示されていない。しかし、1985年版上水試験法⁹⁾には100～200 mLの白金皿、磁皿、ステンレススチール皿、ニッケル皿、アルミカップが示され、2001年版上水試験法¹⁰⁾には100～500 mLの同様の皿が示されていることから、これらの皿が使用出来るものとする。

そこで、皿別の検査結果について検討を行った。実際に使用された蒸発皿の種類と事業者数は、磁皿が27事業者、アルミカップが6事業者、ガラス（ビーカー・皿）が5事業者、ステンレススチール皿が3事業者、白金が2事業者であった。

2-5-1. 磁皿

検査結果を表4に示した。27事業者の検査値の平均値は114 mg/Lで「真値」（115 mg/L）とほぼ同じ濃度を示し、標準偏差は8.6 mg/L、変動係数は7.5%で概ね良好な結果であった。しかし、B-2（94 mg/L）、B-42（137 mg/L）は、Zスコアが-3.16、3.16で±3の許容範囲を超え、「外れ値」と評価された。また、参考の評価値である誤差率の許容範囲±10%を超えたのは、B-2（94 mg/L）、B-3（99 mg/L）、B-42（137 mg/L）で「異常値」と評価された。Zスコア±3の許容範囲を超えの「外れ値」の存在率は7.4%（2/27）、誤差率の許容範囲±10%超えの「異常値」の存在率は11.1%（3/27）であった。

2-5-2. アルミカップ

検査結果を表5に示した。6事業者の検査値の平均値は131 mg/Lで「真値」（115 mg/L）より16 mg/L大きい値を示したが、標準偏差は7.1 mg/L、変動係数は5.4%で精度的には良好な結果であった。しかし、B-43（138 mg/L）は、Zスコアが-3.31で±3の許容範囲を超え、「外れ値」と評価され、その存在率は16.7%（1/6）であった。また、B-39（130 mg/L）、B-40（135 mg/L）、B-41（136 mg/L）、B-43（138 mg/L）は誤差率の許容範囲±10%を超え、「異常値」と評価され、その存在率は66.7%（4/6）で非常に高い存在率であった。このように、アルミカップによる蒸発残留物の平均値（131 mg/L）は「真値」（115 mg/L）よりも16 mg/L大きい値を示し、誤差率の許容範囲±10%超えの「異常値」の存在率は66.7%を示したが、これらの原因は既に述べたようにアルミカップの表面からのア

表4 磁皿による検査結果

検査機関 No.	検査方法	測定値 (mg/L)					検査値 (mg/L)	変動係数 CV (%)	Z スコア	誤差率 (%)
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目				
B-2	磁皿	96	95	95	94	89	94	3.0	-3.16	-18.6
B-3	磁皿	99	100	100	100	98	99	0.9	-2.35	-14.1
B-5	磁皿	105	105	104	105	106	105	0.7	-1.54	-8.9
B-6	磁皿	104	107	104	103	108	105	2.1	-1.51	-8.7
B-7	磁皿	102	108	107	103	110	106	3.2	-1.39	-8.0
B-8	磁皿	105	109	99	106	111	106	4.3	-1.39	-8.0
B-9	磁皿	106	106	107	104	109	106	1.7	-1.33	-7.7
B-10	磁皿	108	110	109	110	108	109	0.9	-0.96	-5.4
B-15	磁皿	114	114	116	113	112	114	1.3	-0.26	-1.2
B-16	磁皿	113	113	114	114	116	114	1.1	-0.23	-1.1
B-17	磁皿	111	116	117	114	113	114	2.1	-0.20	-0.9
B-18	磁皿	112	115	117	116	112	114	2.0	-0.17	-0.7
B-19	磁皿	114	112	118	114	114	114	1.9	-0.17	-0.7
B-20	磁皿	117	112	116	—	—	115	2.3	-0.09	-0.2
B-21	磁皿	115	117	115	115	115	115	0.8	-0.03	0.2
B-22	磁皿	117	115	114	118	114	116	1.6	0.00	0.3
B-23	磁皿	116	117	117	116	116	116	0.5	0.08	0.7
B-24	磁皿	116	118	118	116	114	116	1.4	0.12	1.0
B-26	磁皿	112	120	117	116	120	117	2.8	0.20	1.5
B-27	磁皿	120	115	116	113	121	117	2.9	0.20	1.5
B-29	磁皿	118	119	123	114	120	119	2.8	0.46	3.1
B-32	磁皿	119	119	121	119	120	120	0.7	0.58	3.8
B-33	磁皿	119	121	120	120	121	120	0.7	0.67	4.2
B-34	磁皿	120	122	121	120	121	121	0.7	0.75	4.8
B-36	磁皿	122	121	123	123	123	122	0.7	0.99	6.2
B-37	磁皿	127	127	125	125	126	126	0.8	1.51	9.4
B-42	磁皿	144	138	131	137	137	137	3.4	3.16	19.3

検査結果数	27
最大値 (mg/L)	137
最小値 (mg/L)	94
平均値 (mg/L)	114
標準偏差 (mg/L)	8.6
変動係数 (%)	7.5

「外れ値」は、Zスコア±3を超えた検査値

「異常値」は、誤差率±10%を超えた検査値

表5 アルミカップによる検査結果

検査機関 No.	検査方法	測定値 (mg/L)					検査値 (mg/L)	標準偏差 SD (mg/L)	変動係数 CV (%)	Z スコア	誤差率 (%)
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目					
B-31	アルミカップ	118	118	118	120	124	120	2.6	2.2	0.58	3.8
B-38	アルミカップ	127	128	125	126	126	126	1.1	0.9	1.57	9.7
B-39	アルミカップ	123	124	137	135	131	130	6.3	4.9	2.09	12.8
B-40	アルミカップ	133	132	134	137	141	135	3.6	2.7	2.87	17.5
B-41	アルミ皿	139	140	132	134	135	136	3.4	2.5	2.96	18.0
B-43	アルミカップ	137	140	140	138	137	138	1.5	1.1	3.31	20.1

検査結果数	6
最大値 (mg/L)	138
最小値 (mg/L)	120
平均値 (mg/L)	131
標準偏差 (mg/L)	7.1
変動係数 (%)	5.4

「外れ値」は、Zスコア±3を超えた検査値

「異常値」は、誤差率±10%を超えた検査値

ルミニウムの溶出にあったと考えられた⁸⁾。

2-5-3. ガラス（ビーカー、皿）

検査結果を表6に示した。5事業者の検査値の平均値は110 mg/Lで「真値」（115 mg/L）より若干低い濃度を示し、標準偏差は14.2 mg/L、変動係数は13.0%で少しバラツキの大きい結果であった。B-1（86 mg/L）はZスコアが-4.35で「外れ値」と評価され、また、誤差率が-25.7%で許容範囲±10%を遙かに超えていた。このB-1の最小値（86mg/L）の原因は、Zスコアによる評価で述べたように、試料量の間違いによるものであった。このことから、B-1の検査結果を除外し、改めて平均値、標準偏差、変動係数を求めると、平均値が116 mg/Lで「真値」（115 mg/L）とほぼ同じ値を示し、標準偏差は5.6 mg/L、変動係数は4.9%で精度的には良好な結果であった。

表6 ガラス（ビーカー・皿）による検査結果

検査機関 No.	検査方法	測定値 (mg/L)					検査値 (mg/L)	標準偏差 SD (mg/L)	変動係数 CV (%)	Z スコア	誤差率 (%)
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目					
B-1	ガラス皿	85	86	87	86	84	86	1.1	1.3	-4.35	-25.7
B-11	ガラス	105	111	108	111	113	110	3.1	2.9	-0.87	-4.9
B-13	ビーカー	113	112	112	113	111	112	0.8	0.7	-0.49	-2.6
B-28	ビーカー	125	119	123	110	114	118	6.2	5.3	0.38	2.6
B-35	ビーカー	118	122	126	122	122	122	2.8	2.3	0.93	5.9

検査結果数	5
最大値 (mg/L)	122
最小値 (mg/L)	86
平均値 (mg/L)	110
標準偏差 (mg/L)	14.2
変動係数 (%)	13.0

「外れ値」は、Zスコア±3を超えた検査値

「異常値」は、誤差率±10%を超えた検査値

2-5-4. ステンレススチール皿

検査結果を表7に示した。3事業者の検査値の平均値は110 mg/Lで「真値」（115 mg/L）より若干低い値を示し、標準偏差は8.2 mg/L、変動係数は7.5%で概ね良好な結果であった。

表7 ステンレススチール皿による検査結果

検査機関 No.	検査方法	測定値 (mg/L)					検査値 (mg/L)	標準偏差 SD (mg/L)	変動係数 CV (%)	Z スコア	誤差率 (%)
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目					
B-4	ステンレス皿	98	97	110	96	103	101	5.8	5.8	-2.15	-12.5
B-12	ステンレス皿	113	111	114	107	113	112	2.8	2.5	-0.58	-3.1
B-25	ステンレス皿	118	115	117	119	116	117	1.6	1.4	0.20	1.5

検査結果数	3
最大値 (mg/L)	117
最小値 (mg/L)	101
平均値 (mg/L)	110
標準偏差 (mg/L)	8.2
変動係数 (%)	7.5

「異常値」は、誤差率±10%を超えた検査値

2-5-5. 白金皿

検査結果を表8に示した。2事業者の検査値の平均値は116 mg/Lで「真値」（115 mg/L）とほぼ同じ値を示した。

表8 白金皿による検査結果

検査機関 No.	検査方法	測定値 (mg/L)					検査値 (mg/L)	標準偏差 SD (mg/L)	変動係数 CV (%)	Z スコア	誤差率 (%)
		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目					
B-14	白金皿	111	110	116	114	117	114	3.0	2.7	-0.29	-1.4
B-30	白金皿	118	120	119	118	119	119	0.8	0.7	0.46	3.1

検査結果数	2	平均値 (mg/L)	116
最大値 (mg/L)	119	標準偏差 (mg/L)	3.7
最小値 (mg/L)	114	変動係数 (%)	3.2

2-5-6. 各種の皿を使用した検査結果の比較

皿別の最大値、最小値、平均値、「外れ値」の存在率、誤差率±10%越えの存在率を表9に示した。平均値は、全事業者 (n=43) では116 mg/L、磁皿 (n=27) では114 mg/L、アルミカップ (n=6) では131 mg/L、ガラス（ビーカー・皿） (n=5) では110 mg/L、ステンレススチール皿 (n=3) では110 mg/L、白金皿 (n=2) では116 mg/Lであった。

皿別の平均値を比較すると、アルミカップの平均値は、他種の皿または全事業者の平均値よりも15~21 mg/L 大きい値を示し、さらにアルミカップの検査結果は誤差率±10%越えの「異常値」の存在率が66.7% (4/6) で他種の皿に比べ非常に高い存在率であった。また、皿別の検査結果を多重比較検定すると、アルミカップと磁皿の間、アルミカップとステンレス皿の間において1%の有意を持って「明らかに違う検査結果である」と評価された。

表9 各種の皿を使用した検査結果の比較

分析法	全 体	磁 皿	アルミカップ	ガラス皿	ステンレススチール皿	白金皿
検査機関数	43	27	6	5	3	2
最大値 (mg/L)	138	137	138	122	117	119
最小値 (mg/L)	86	94	120	86	101	114
平均値 (mg/L)	116	114	131	110	110	116
標準偏差 (mg/L)	10.8	8.6	7.1	14.2	8.2	-
変動係数 (%)	9.3	7.5	5.4	13.0	7.5	-
「外れ値」の存在率 (%)	9.3 (4/43)	7.4 (2/27)	16.7 (1/6)	20 (1/5)	0	0
誤差率±10%越えの存在率 (%)	20.9 (9/43)	7.4 (2/27)	66.7 (4/6)	20 (1/5)	33.3 (1/3)	0

これらのことから、アルミカップを使用して蒸発残留物を測定すると、他種の皿よりも高い濃度の検査結果として測定されることが統計学的見地からも判明した。

蒸発皿については 2001 年版上水試験法¹⁰⁾に 100～500 mL の白金皿、磁皿、ステンレススチール皿、ニッケル皿、アルミカップが示され、これらの皿が使用出来るものと考えられていた。しかし、今回の外部精度管理の結果、アルミカップ表面からのアルミニウム溶出が原因で、他種の皿よりも約 15～20 mg/L 高い値を示すことが認められたことから、アルミカップの使用を避けることが望ましいと考えられた。

まとめ

- (1) 平成 21 年度の大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理は蒸発残留物を対象項目とした。検査値の Z スコアが $3 \leq |Z|$ で不満足で「外れ値」と評価されたのは 4 事業者でその存在率は 9%であったことから、Z スコアによる評価では、今回の外部精度管理は概ね良好な結果であったと考えられた。
- (2) 今回の外部精度管理の結果、アルミカップを蒸発皿として使用すると、検査値は他種の皿を使用した場合と比較し約 15～20 mg/L 高くなることが認められたことから、アルミカップの使用を避けることが望ましいと考えられた。
- (3) Z スコアが ± 3 以上で「外れ値」と評価された 4 事業者については、事業者自身が「外れ値」の原因を推定したが、その事業者の推定したものとは異なる原因が明らかになったことから、検査精度向上のためには、行政等による助言指導が必要であると考えられた。
- (4) 同時に行った水道事業体における外部精度管理に比べると、Z スコアが ± 3 以上の「外れ値」となる事業所や参考評価で誤差率 $\pm 10\%$ 以上の「異常値」となる事業所の存在率が大きいことから、「建築物飲料水水質検査業」事業者の検査精度向上に対する努力がより一層必要であると考えられた。

文献

- 1) 小泉義彦, 足立伸一, 高橋秀和, 倉持隆, 高橋貞雄 : 大阪府建築物飲料水水質検査外部精度管理結果 (平

成 19 年度) ―クロロホルム、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、ブロモホルム及び総トリハロメタン― , ビルと環境, No.127, 52-58 (2009)

- 2) 安達史恵, 田中榮次, 足立 伸一 : 平成 21 年度大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理結果―亜鉛― , 大阪府立公衆衛生研究所報, 49, 39-44 (2011)
- 3) 「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」 (平成 15 年 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号〔一部改正 平成 21 年 3 月 6 日付け厚生労働省告示第 56 号〕)
- 4) ISO/IEC GUIDE 43-1 (JIS Q 0043-1) (1997)
- 5) 藤井賢三 : 試験所認定制度における技能試験 (1) ―付与された値, Z スコア, ロバストな方法, そして四分位数法― , 環境と測定技術, 27(2), 51-56 (2000)
- 6) 藤井賢三 : 試験所認定制度における技能試験 (2) ―四分位数法による Z スコア算出の実際例― , 環境と測定技術, 27(3), 42-44 (2000)
- 7) ISO 5725-2 (JIS Z 8402-2) (1994)
- 8) 田中榮次, 安達史恵, 小川有里, 吉田直志, 木村直昭, 足立 伸一 : 大阪府水道水質検査外部精度管理―蒸発残留物(平成 21 年度)― , 日本水道協会雑誌, 80(10) (第 925 号), 10-20 (2011)
- 9) 日本水道協会 : 上水試験法 (1985)
- 10) 日本水道協会 : 上水試験方法 (2001)

温泉水中遊離残留塩素の自動分析

田中 榮次* 安達 史恵* 高木 総吉* 枝川 亜希子*

オートアナライザーを用いた温泉水中遊離残留塩素の自動分析法の検討を行った。検水にシアン溶液を加えると検水中の遊離残留塩素はシアンと反応してクロルシアンを生成する。多孔質膜のガス透過性を利用して検水から生成したガス体のクロルシアンを分離し、4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロン吸光光度法で検出し、自動的に遊離残留塩素を比色定量するものである。その結果、検量線は 1 mgCl/L まで直線性があり、検出限界値 (S/N=3) は 0.01 mgCl/L であった。実験室で調製した 5 種類の温泉水の添加回収実験では、変動係数 (n=5) は 0.05 mgCl/L で 10%、0.94 mgCl/L で 0.9% を示し、回収率は 94~108% で良好な精度と回収率を示した。本法では遊離残留塩素はクロルシアンとして選択的に分離され、また、クロルシアンは 4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロンと選択的に反応し呈色することから、懸濁物質、着色成分や高濃度の Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 HCO_3^- 、 SiO_3^{2-} を高濃度含む試料であっても本法は妨害されなかった。また、本法は少量の検水 (2.4 mL) で 1 時間に 20 試料の分析が可能であった。これらのことから、本自動分析は温泉水中の遊離残留塩素分析に有効な方法であると考えられる。

キーワード : 遊離残留塩素、自動分析、4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロン法、温泉水、濁度

key words : free residual chlorine, automated determination, 4-pyridinecarboxylic acid-pyrazolone method, hot spring water, turbidity

近年、循環式浴槽を使用した温浴施設では、一般的に塩素消毒が行われている。しかしながら、塩素消毒の不適切な管理によるレジオネラ症の集団感染が報告されている^{1,2)}。特に、アルカリ性の温泉水では塩素剤による消毒効果が発揮し難いことがレジオネラ症の集団感染の原因であり、オゾン、二酸化塩素等の他の消毒方法と塩素消毒の併用による消毒が行われることがある³⁾。

遊離残留塩素 (遊離塩素) の現場での試験方法は、ジエチル-p-フェニレンジアミン法 (DPD 法)、DPD による吸光光度法が主に使用されている^{4,5)}。しかしながら、これらの DPD 法は懸濁物質による妨害を受け易いなどの問題点があると考えられた。また、既に報告した DPD 法による水中遊離残留塩素の自動分析法ではオゾン、二酸化塩素等の消毒剤が共存すると、オゾ

ン、二酸化塩素が遊離残留塩素として定量されることが懸念された⁶⁾。

著者らは、既に懸濁物質による妨害を受けずに正確に分析できる連続流れ方式の自動分析法を報告してきた⁷⁻¹³⁾。これらの自動分析法は試料中のアンモニア性窒素^{7,8)}、シアン⁹⁾、クロルシアン^{10,11)}、硫化物¹²⁾、遊離残留塩素⁶⁾、二酸化塩素¹³⁾をガス透過性のガス分離管を用いて分離した後、上水試験方法に準拠した検出法を採用して分析するものである^{4,14,15)}。自動化することによって同時に手分析の問題点である煩雑な試験操作や長時間の分析を解決してきた。

検水中に共存するオゾン、二酸化塩素等の消毒剤は、遊離塩素と同様にガス分離管を通過することが可能である。しかし、遊離塩素はシアンと選択的に反応してクロルシアンを生成し、生成したクロルシアンは 4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロンと反応し呈色する⁴⁾。一方、オゾン、二酸化塩素はシアンと反応してもクロルシアンを生成せず、4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロンと反応しない^{16,17)}。これらのことから、検水中にオゾン、二酸化塩素等の消毒剤が共存していても、検

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Automated Determination of Free Residual Chlorine in Hot Spring Water
by Hidetsugu TANAKA, Fumie ADACHI, Sokichi TAKAGI and Akiko EDAGAWA

水中の遊離塩素はそれらの影響を受けずに選択的に分離、定量できると考えられた。

そこで、著者らは検出法に水道法に準拠した4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロン吸光光度法を採用し⁴⁾、ガス分離管を装備したオートアナライザーを用いて温泉水中遊離塩素の自動分析法を試みた。その結果、本自動分析法は懸濁物質、着色成分等の共存物質、さらに温泉成分である Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 HCO_3^- 、 SiO_3^{2-} 等を高濃度含む試料であっても妨害をほとんど受けることなく、しかも少量の検水で迅速に精度良く遊離塩素を分析することが出来たので報告する。

実験方法

1. 試薬

1-1. 精製水（遊離塩素無消費水）

精製水は僅かに遊離塩素を消費することから、精製水 1L に塩素標準液（50mgCl/L）約 0.1mL を加え、2～3 日放置して遊離塩素を除き、遊離塩素を消費しない精製水を調製した。なお、以下の実験では、全てこの精製水を使用した。

1-2. シアン溶液

0.25%シアン化カリウムを精製水で 100 倍希釈して調製した。なお、この溶液は約 10 mgCN/L を含む。

1-3. リン酸緩衝液（pH7.2）

リン酸一水素ナトリウム（無水）17.8 g を精製水約 300 mL で溶かし、リン酸二水素カリウム溶液（20W/V%）を加えて pH7.2 に調整した。

1-4. 4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロン溶液

1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン 2.5 g を N,N-ジメチルホルムアミド 150 mL で溶かし、別に 4-ピリジンカルボン酸（4 水塩）11.0 g を精製水約 300 mL で溶かし、両液を合わせ、精製水を加えて 500 mL とし、褐色瓶に貯えた。

1-5. クロルシアン吸収・発色液

4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロン溶液 500 mL にリン酸緩衝液（pH7.2）100 mL および精製水を加え 1 L とした。

1-6. 塩素標準液（50 mgCl/L）

次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度約 5%）の正確な有効塩素濃度を標定した後、精製水で希釈して 50 mgCl/L になるよう調製した。

1-7. 標準列塩素溶液（0.1～1 mgCl/L）

塩素標準液（50 mgCl/L）0.2～2 mL をメスフラスコ 100 mL に採り、精製水を加えて 100 mL とした。

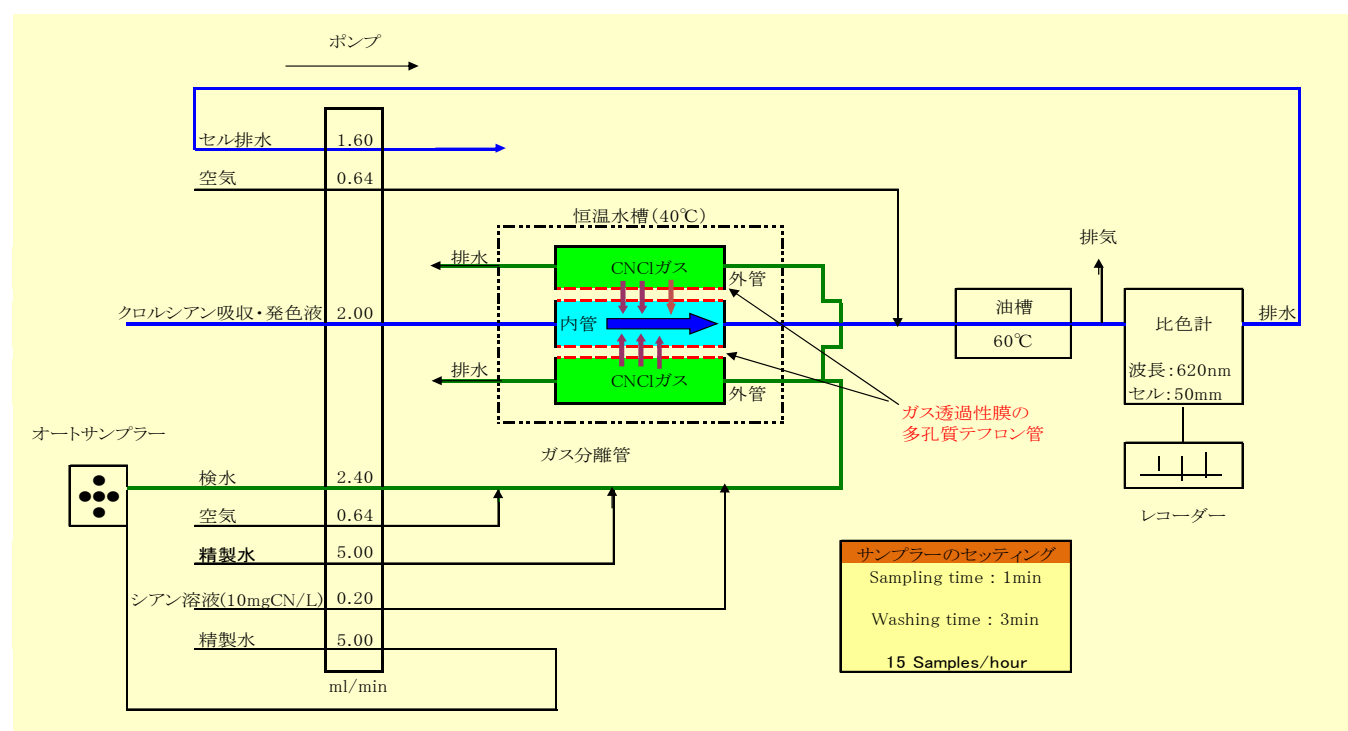


図1 温泉水中遊離塩素分析用フローシステム

2. 分析装置

2-1. オートアナライザー

オートアナライザー（テクニコン社製）を用いて遊離塩素自動分析用のフローシステムを作製した（図1）。なお、ポンプはワトソン・マーロー社製（205S型）を使用し、配管は全てテフロン管を用いた。

2-2. ガス分離管

ガス透過性の多孔質テフロン管（長さ 80 cm、内径 1 mm、外径 2 mm、気孔率 60%、孔径 1 μm）を螺旋状のガラス管（長さ 80 cm、内径 3.8 mm）の中に挿入し、管が二重になったガス分離管を作製した^{6・13)}。ガス透過性の多孔質テフロン管を境にして、外管には検水、内管にはクロルシアン吸収・発色液を流した（図2）。

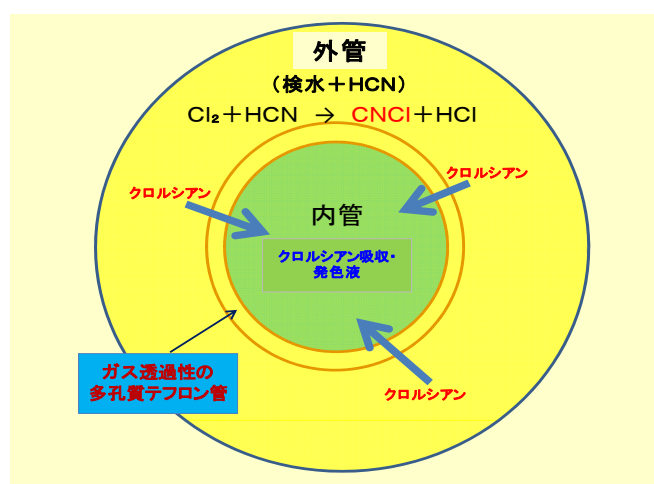


図2 ガス分離管の横断面

3. 分析操作及び方法

図1に示したように検水をサンプルカップ4 mlに採り、オートサンプラーにセットした。1分間に検水2.4 mLをフローシステム内に吸入後、洗浄水（希釈水）を3分間吸入できるようにオートサンプラーのタイマーを設定した。フローシステム内に吸入された検水にシアン溶液を添加すると、検水中の遊離塩素とシアンが反応してクロルシアン（ガス体）を生成する。この生成したクロルシアンは恒温水槽（40℃）に設置したガス分離管の外管に流入し、ガス透過性の多孔質テフロン管で分離され、内管を流れるクロルシアン吸収・発色液に吸収される。その後、クロルシアン吸収・発色液は加温され、クロルシアンと反応して青に呈色する。この青色の吸光度を比色計（波長 620 nm、セル長 50 mm）で測定し、遊離塩素を定量した。

結果及び考察

1. 分析法の最適化

1-1. シアン溶液の最適濃度

フローシステム内に吸入された検水にシアン溶液を添加すると、検水中の遊離残留塩素とシアンが反応してクロルシアン（ガス体）を生成する。このクロルシアンは、ガス分離管でガス透過性の多孔質テフロン管を境として、内管を流れるクロルシアン吸収・発色液に吸収され、加温されて発色する。そこで、シアン溶液の濃度を変化させて、クロルシアン生成用のシアン溶液の最適濃度について検討した（図3）。

1～2.5 mgCN/L では吸光度は急激に増加し、5～100 mgCN/L でほぼ横ばいで一定値を示した。このことから、クロルシアン生成用のシアン溶液の最適濃度は 5～100 mgCN/L であることが認められた。実験では、10 mgCN/L のシアン溶液を使用した。

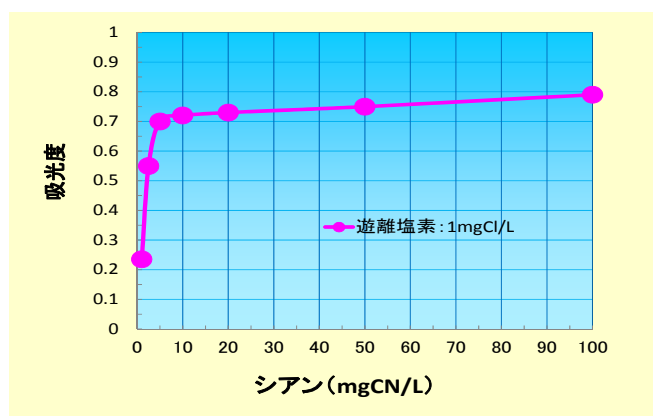


図3 クロルシアン生成用シアン溶液の最適濃度

1-2. クロルシアン生成時の最適 pH

クロルシアン生成時の最適 pH については、pH2～10であることを既に報告した¹¹⁾。通常の試料の pH は、この pH 域に存在することから、実験では検水に緩衝液を添加することなく、pH 調整せずにクロルシアンを生成させた。

1-3. ガス分離時の温度影響

ガス分離管を恒温水槽に設置し、水槽温度を 20～70℃に変化させて、ガス分離時の温度による影響について検討した（図4）。

20～70℃では吸光度は温度と共に増加し、吸光度と温度の間に比例関係が示された。このことから、検水

中の遊離塩素とシアンの反応によって生成されたクロルシアン（ガス体）は、恒温水槽の温度の影響を受け、温度が高いほど内管を流れるクロルシアン吸収・発色液に吸収され易いことが認められた。実験では、恒温水槽の温度を安定的にコントロール出来る 40℃に設定した。

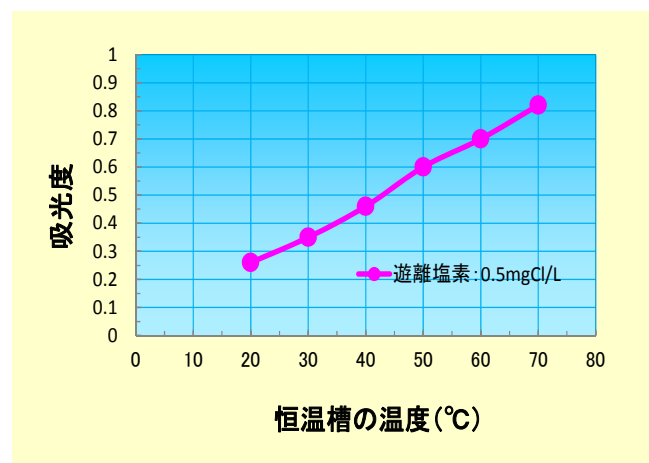


図4 ガス分離時の温度影響

1-4. クロルシアン吸収・発色液の最適濃度

4-ピリジンカルボン酸ーピラゾロン溶液 500 mL にリン酸緩衝液 (pH7.2) 100mL、精製水を加えて 1 L としたものを 1 倍希釈液、1.5 L、2 L、3 L、6 L としたものをそれぞれに 1.5 倍希釈液、2 倍希釈液、3 倍希釈液、6 倍希釈液とした。これらの希釈液を用いて、クロルシアン吸収・発色液の濃度を変化させて、クロルシアンの吸収および発色時におけるその最適濃度について検討した（図 5）。

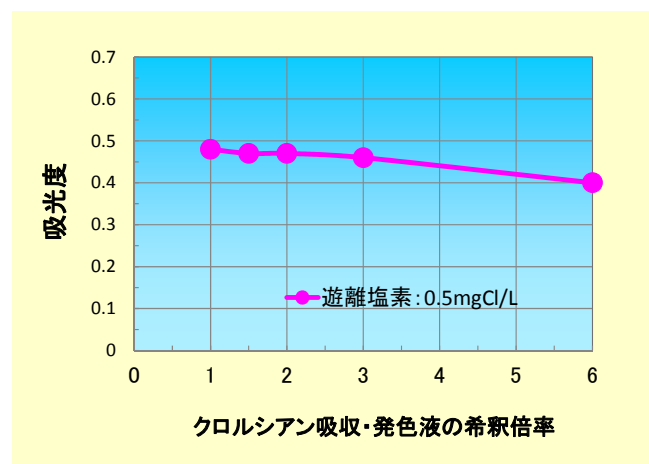


図5 クロルシアン吸収・発色液の最適濃度

1～3 倍希釈液では吸光度はほぼ一定で、6 倍希釈液では吸光度は少し減少し、1～3 倍希釈液が最大値を示した。このことから、最適濃度は 1～3 倍希釈であることが認められた。実験では、ベースラインのノイズが少ない 2 倍希釈液をクロルシアン吸収・発色液に採用し、使用した。

1-5. 発色時の最適 pH

クロルシアン吸収・発色液に各種濃度の塩酸、水酸化ナトリウム溶液及び各種 pH 緩衝液を添加して、クロルシアン吸収・発色液の pH を変化させ、発色時の最適 pH について検討した（図 6）。なお、pH はクロルシアン吸収・発色液がガス分離管でクロルシアンを吸収し、油槽で 60℃に加温され、比色計を通過した直後に測定した。

pH1.5～5 ではほとんど発色しなかったが、pH5～7 では pH が増加すると共に吸光度は急激に増加し、pH7～7.8 ではほぼ一定で最大値を示した。pH7.8～8 では吸光度が急激に減少し、pH8 ではほとんど発色しなかった。このことから、発色時の最適 pH は 7～7.8 であることが認められた。この最適 pH7～7.8 は、上水試験方法⁴⁾で示された pH 域よりも少し狭かった。実験では、4-ピリジンカルボン酸ーピラゾロン溶液 500 mL にリン酸緩衝液 (pH7.2) 100 mL、精製水を加えて 1 L としたクロルシアン吸収・発色液を使用した。

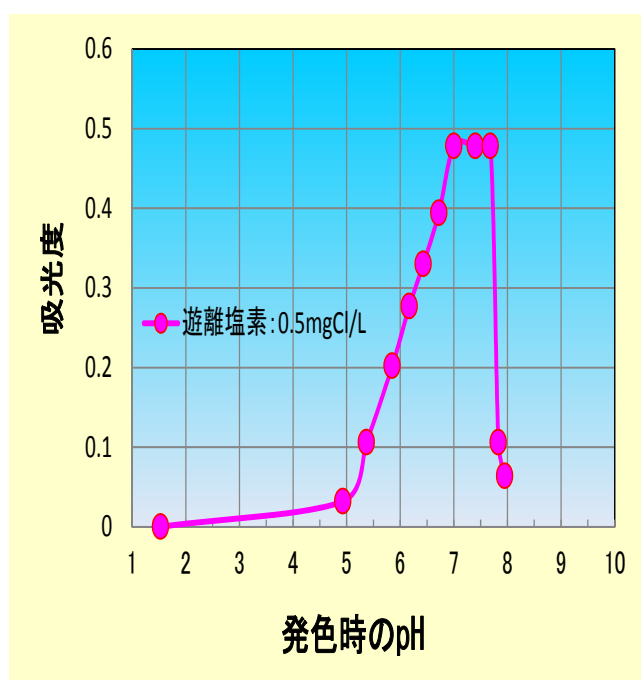


図6 発色時の最適 pH

1-6. 発色時の最適温度

クロルシアン吸収・発色液がガス分離管でクロルシアンを吸収した後、油槽で加温されるが、この油槽温度を25～80℃に変化させ、発色時の最適温度について検討した（図7）。

25～50℃では吸光度は徐々に増加し、50～80℃では吸光度はほぼ一定の吸光度値で最大値を示した。このことから、発色時の最適温度は60℃以上であることが認められた。実験では、油槽温度を60℃に設定した。

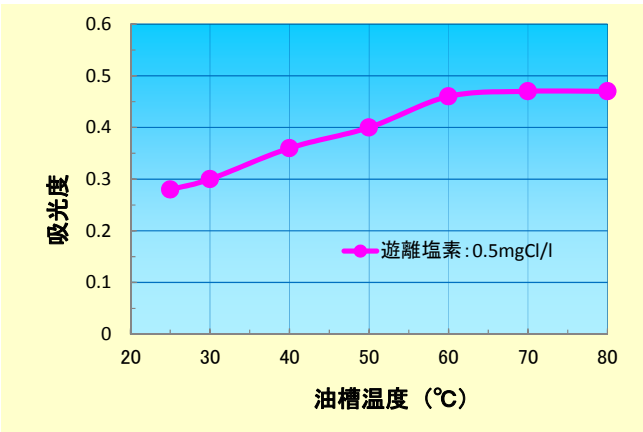


図7 発色時の最適温度

1-7. 検水の最適吸入時間

検水の吸入時間を0～100秒に変化させ、最適吸入時間について検討を行った（図8）。10～60秒では吸光度は徐々に増加したが、60～100秒では吸光度の増加が鈍くなり、ほぼ一定値を示したことから、最適吸入時間は60～100秒であることが認められた。実験では、検水の吸入時間を60秒、洗浄水（精製水）の吸入時間は3分に設定した。その結果、本法における1試料の検水量は2.4 mL、分析所要時間は4分となり、1時間に15試料の分析が可能になった。

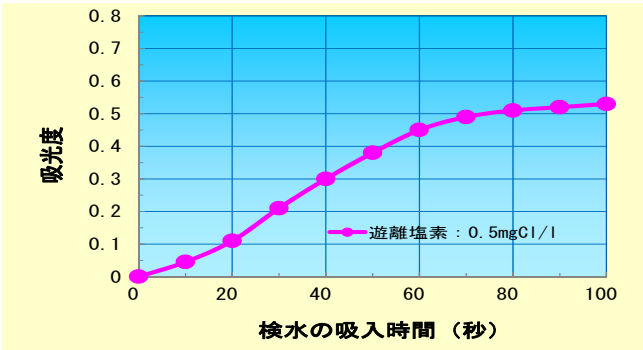


図8 検水の最適吸入時間

2. 検量線とその精度

以上で得られた最適分析条件で、標準列塩素溶液（0.1～1.0 mgCl/L）を用いて検量線とその精度について検討した（図9）。0.1～1 mgCl/Lで検量線に直線性が認められ、各標準列塩素溶液の変動係数（n=5）は1.1～5.1%と良好な結果が得られた。

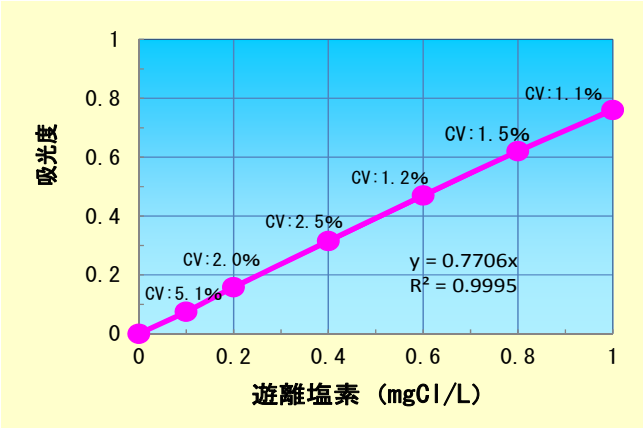


図9 遊離塩素の検量線

3. 共存物質による妨害

各種の共存物質を添加した遊離塩素標準溶液（0.5 mgCl/L）を調製し、遊離塩素の回収率を求め、共存物質による妨害について検討を行った（表1）。

表1 共存物質による妨害

共存物質 (n=5)	添加量 (mg/L)	回収率a) (%)	共存物質 (n=5)	添加量 (mg/L)	回収率a) (%)
カオリン	1000	97	HCO ₃ ⁻	1000	100
Na ⁺	10000	97	〃	3000	99
K ⁺	10000	95	〃	10000	95
Li ⁺	100	90	CO ₃ ²⁻	100	93
Ca ²⁺	10000	100	〃	250	82
Mg ²⁺	10000	100	〃	500	77
Fe ³⁺	10	96	〃	1000	65
Mn ⁷⁺	10	101	〃	10000	28
Pb ²⁺	10	98	SO ₄ ²⁻	10000	100
Cr ⁶⁺	10	97	NO ₃ ⁻ b)	1000	101
Zn ²⁺	10	99	HPO ₄ ²⁻	1000	104
Al ³⁺	10	100	BO ₂ ⁻	1000	100
Cd ²⁺	10	98	SiO ₃ ²⁻	1000	87
Cu ²⁺	10	97	F ⁻	1000	98
Ni ²⁺	10	96	Br ⁻	0.1	84
Cl ⁻	1000	98	〃	1	4
〃	5000	90	I ⁻	0.1	82
〃	10000	82	〃	1	4

a) : 塩素標準溶液(0.5mgCl/L)に各種の共存物質を添加した時の回収率
b) : 窒素としての添加量を示した。

濁度成分であるカオリンでは、1000 mg/L 添加しても回収率は97%を示し妨害は認められなかった。また、高濃度存在すると着色する重金属 Fe^{3+} 、 Mn^{7+} 、 Cr^{6+} はいずれも 10 mg/L を添加しても回収率は96～101%を示し妨害は認められなかった。他の重金属においても回収率は96～100%を示し妨害は認められなかった。

温泉水の主成分である陽イオンの Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} は 10000 mg/L を添加しても回収率は97～100%を示し妨害は認められなかった。また、陰イオンの Cl^- は 5000 mg/L、 HCO_3^- 、 SO_4^{2-} は 10000 mg/L を添加しても回収率は97～106%を示し妨害は認められなかった。しかし、 CO_3^{2-} は 250 mg/L 以上添加するとその検水は pH11 を超過し、塩素とシアンが反応して生成されたクロルシアンを加水分解してシアン酸を生成する⁴⁾。その結果、回収率の低下を示したと考えられた。

さらに、温泉水の微量成分である NO_3^- 、 HPO_4^{2-} 、 BO_2^{2-} 、 F^- でも 1000 mg/L を添加しても回収率は98～101%を示し妨害は認められなかった。しかし、 SiO_3^{2-} は 1000 mg/L の添加で回収率は84%を示し、若干妨害は認められた。この妨害の原因は CO_3^{2-} と同様に検水が pH11 を越えたためであったと考えられた。

Br^- 、 I^- は 1 mg/L の添加で回収率は4%を示し顕著な妨害は認められた。この顕著な妨害は、以下のことが原因であったと考えられた。前報⁶⁾と同様に添加された Br^- 、 I^- は遊離塩素により酸化され Br_2 、 I_2 を生成する。さらに Br_2 、 I_2 はシアンと反応して臭化シアン、ヨウ化シアンを生成する。しかし、臭化シアン、ヨウ化シアンは、クロルシアンに比較して沸点が高くガス体にはなり得ず、ガス分離管のガス透過性の多孔質テフロン管で分離されない。

以上のことから、本法では懸濁した試料や重金属が原因で着色した試料であっても妨害を受けずに遊離塩素を分析できることが明らかになった。しかし、高濃度の CO_3^{2-} による妨害、低濃度の Br^- 、 I^- による顕著な妨害は認められたが、通常、pH11 以上（高濃度の CO_3^{2-} による）の温泉水はほとんど存在しないこと、また、 Br^- 、 I^- も同様にほとんど温泉水に存在しないことから、本法では CO_3^{2-} 、 Br^- 、 I^- による妨害を受けないと考えられた。

4. モノクロラミンによる擬似反応

塩素剤の1つであるモノクロラミンは、緩やかな反応であるが遊離塩素と同じようにシアンと反応してク

ロルシアンを生成すると考えられる^{16,17)}。そこで、モノクロラミン濃度を変化させた検水を調製し、その擬似反応について検討した（図10）。

モノクロラミン濃度が増加するにしたがって、遊離塩素として見なされて測定される塩素量が増加した。その相関を見てみると $y = 0.0444x$ であった。このことから、モノクロラミン 1 mgCl/L は、遊離塩素 0.044 mgCl/L として測定され、擬似反応することが認められた。

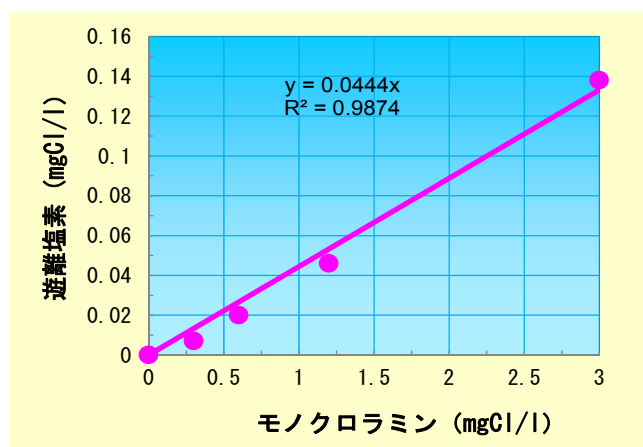


図10 モノクロラミンによる擬似反応

5. 共存二酸化塩素による影響

遊離塩素と二酸化塩素が共存する時、本法の遊離塩素分析における共存二酸化塩素による影響について検討した（図11）。なお、検水は精製水、塩素標準溶液（0.5 mgCl/L）に二酸化塩素を添加して調製した。

精製水に二酸化塩素を添加した検水は、二酸化塩素が増加するに従って少量の遊離塩素が検出され、検出された遊離塩素は二酸化塩素（10 mgClO₂/L）で約0.1 mgCl/L であった。検水中の二酸化塩素はシアン溶液が添加されてもシアンと反応してクロルシアンを生成しないことから、検出された少量の遊離塩素は添加した二酸化塩素⁴⁾に少量の遊離塩素（二酸化塩素の約1/100）を含んでいたことが原因であったと考えられた。

塩素標準溶液（0.5 mgCl/L）に二酸化塩素を添加した検水は、二酸化塩素が増加するに従って、精製水で検出された同量の遊離塩素が増加した。これらのことから、遊離塩素と二酸化塩素が共存していても、本法の遊離塩素分析において、共存する二酸化塩素による影響はないことが認められた。

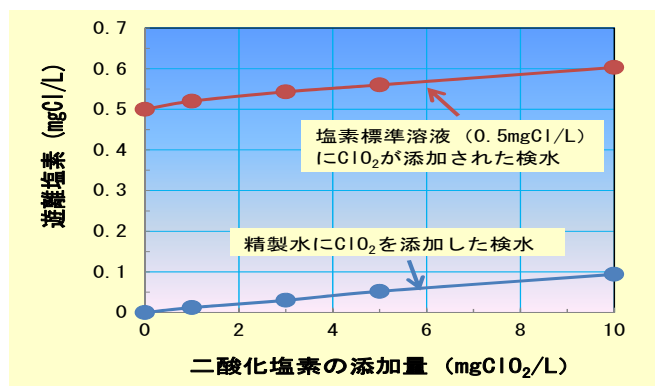


図 11 共存二酸化塩素による影響

6. 共存オゾンによる遊離塩素の分解

遊離塩素とオゾンが共存する時、共存するオゾンによって遊離塩素が分解されるのが知られている^{16,17)}。その分解について、pH を変化させて検討した(図 12)。なお、検水は塩素標準溶液 (0.5 mgCl/L) にオゾンを添加して 3 mgO₃/L に調製した。

pH5.6 では、時間の経過と共に遊離塩素が減少し、約 60 分で 1/2 の濃度までになった。一方、pH7.1 では、遊離塩素の減少スピードが速く、約 10 分で 1/2 の濃度までに減少し、約 60 分でほぼ消滅した。これらのことから、遊離塩素とオゾンが共存する時、液性がアルカリ性では、酸性と比較して、より早く遊離塩素が分解されることが確認された。ただし、この分解では、遊離塩素の分解と同時にオゾンも分解する。

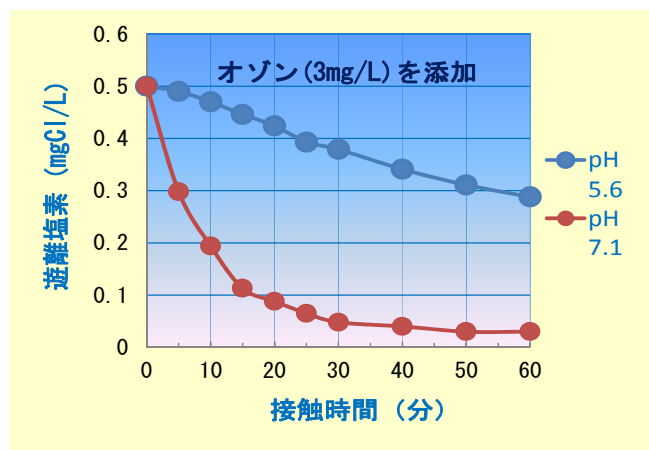


図 12 共存オゾンによる遊離塩素の分解

7. 添加実験における分析精度と回収率

実験室において任意の遊離塩素を含む 2 つの単純泉 (Na HCO₃: 100~200 mg/L、NaCl: 100~200 mg/L)、Na-SO₄ 泉 (Na₂ SO₄: 1 g/L)、Na-HCO₃ 泉 (Na HCO₃:

1g/L)、Na-Cl 泉 (NaCl: 1 g/L) の温泉水試料を調製し、塩素標準液 (50 mgCl/L) を添加し、本法における分析精度と回収率について検討を行った(表 2)。

5 種の温泉水では、それぞれ 0.11~0.48 mgCl/L の遊離塩素が検出され、その変動係数は 2.3~10%であった。また、0.25 と 0.50 mgCl/L の遊離塩素を添加された各試料は、変動係数 0.9~5.2%、回収率 94~104%を示し、良好な精度と回収率であった。

表 2 添加実験における分析精度と回収率

試料名	添加量 (mg Cl/L)	平均値a) (mg Cl/L)	変動係数 (%)	回収率 (%)
単純泉 NO. 1	0	0.21	4.0	-
	0.25	0.44	2.0	94
	0.50	0.72	1.8	103
単純泉 NO. 2	0	0.44	2.3	-
	0.25	0.69	1.4	100
	0.50	0.94	0.9	100
Na-SO ₄ 泉	0	0.11	5.2	-
	0.25	0.36	3.0	102
	0.50	0.62	2.2	102
Na-HCO ₃ 塩泉	0	0.05	10.0	-
	0.25	0.31	2.8	104
	0.50	0.57	2.7	102
Na-Cl 泉	0	0.48	2.3	-
	0.25	0.74	2.1	104
	0.50	1.01	2.0	108
a) : 試料数 (n=5)				

まとめ

温泉水中遊離塩素の自動分析を検討し、次の結果が得られた。

- (1) オートアナライザーを用いた自動化により、本法では少ない検水量 (2.4 mL) で、広範囲 (0.01 ~ 1 mgCl/L) に、さらに 5 種の温泉水における添加回収実験では精度 (変動係数: 0.9~5.8%)、回収率 (94~108%) 共に良好に分析することが出来た。また、1 時間に 15 試料の分析が可能になった。
- (2) 遊離塩素はガス分離管のガス透過性膜を透過して選択的に分離されて定量されることから、高濃度に懸濁、着色の原因物質 (カオリン、Fe³⁺、Mn⁷⁺、Cr⁶⁺) を含む試料であっても、妨害を受けなかった。また、温泉水の主成分である Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、HCO₃⁻、SO₄²⁻は 10000 mg/L、Cl⁻は 5000 mg/L を含む試料であっても、妨害を受けることなく遊離塩素を分析することができた。

- (3) CO_3^{2-} は250 mg/L以上含むと、検水はpH11を超過し遊離塩素の分析を妨害した。また、 Br^- 、 I^- は低濃度（1 mg/L）の添加でも顕著な妨害は認められた。しかし、通常の温泉水ではpH11以上のものはほとんど存在しないこと、また Br^- 、 I^- は極微量であることから、本法では妨害を受けないと考えられた。
- (4) 遊離塩素とオゾン、二酸化塩素が共存すると、共存するオゾンは遊離塩素を分解しオゾン自身も分解することが認められたが、共存する二酸化塩素は遊離塩素分析に影響を及ぼさなかった。

以上の結果から、本自動分析は温泉水中の遊離塩素分析に有効な方法であると考えられる。

文献

- 1) Nakamura, H., Yagyu, H., Kishi, K., Tsuchida, F., Oh-ishi, S., Yamaguchi, K. and Matsuoka, T. : A large outbreak of legionnaires' disease due to an inadequate circulating and filtration system for bath water-epidemiologic manifestations-, Internal Medicine, 42, No.9, 806-811 (2003)
- 2) 岡田美香, 河野喜美子, 倉文明, 前川純子, 渡辺治雄, 八木田健司, 遠藤卓郎, 鈴木泉 : 循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例 I. 発症状況と環境調査, 感染症誌, 79, 365-374 (2005)
- 3) 財団法人ビル管理教育センター : 第3版 レジオネラ防止指針 (2009)
- 4) 日本水道協会 : 上水試験方法 (2001)
- 5) APHA, AWWA, WEF : Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater, 21st Edition (2005)
- 6) 田中榮次, 安達史恵, 高木総吉 : 遊離残留塩素の自動分析, 大阪府立公衆衛生研究所報, 47, 67-73 (2009)
- 7) 田中榮次, 足立伸一, 布浦雅子 : チューブ状のガス透過性膜を用いた水中のアンモニア性窒素の自動分析, 水道協会雑誌, 59 (5) (第 668 号), 18-24 (1990)
- 8) 田中榮次, 足立伸一, 布浦雅子 : 迅速化されたアンモニア性窒素の自動分析, 大阪府立公衆衛生研究所報, 公衆衛生部編, 30, 107-116 (1992)
- 9) 田中榮次, 大原佐紀子, 足立伸一, 布浦雅子 : ガス分離チューブを用いた水中シアンの自動分析, 水道協会雑誌, 61(3) (第 690 号), 21-31 (1992)
- 10) 田中榮次, 足立伸一 : ガス分離チューブを用いた水中クロルシアン自動分析, 水道協会雑誌, 63(6) (第 717 号), 51-62 (1994)
- 11) 田中榮次, 足立伸一, 鶴川昌弘 : 水中シアン自動分析とチオシアン酸イオンの分別, 水道協会雑誌, 65(12) (第 747 号), 18-28 (1996)
- 12) 田中榮次, 沖野亜希子, 足立伸一 : 水中硫化物自動分析, 水道協会雑誌, 70(2) (第 797 号), 16-23 (2001)
- 13) 田中榮次, 安達史恵, 高木総吉, 枝川亜希子 : 水中二酸化塩素の自動分析, 大阪府立公衆衛生研究所報, 48, 58-64 (2010)
- 14) 日本水道協会 : 上水試験方法 (1993)
- 15) 日本水道協会 : 上水試験方法解説 (2001)
- 16) 丹保憲仁 : 水道とトリハロメタン, 技報堂 (1983)
- 17) 金子光美 : 水質衛生学, 技報堂 (1997)

大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点

— シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレン（平成22年度） —

小泉 義彦* 宮野 啓一* 足立 伸一*

大阪府水道水質検査外部精度管理は、本府環境衛生課が公衆衛生研究所の協力を得て、府内の試験研究機関及び水道事業体を対象に実施している。平成22年度は有機物質項目をシス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンとし、府内32機関の参加を得て実施した。評価はシス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンについて個別評価を行ったのち、「外れ値」となった機関を除き、合算値であるシス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンを評価した。

その結果、シス-1,2-ジクロロエチレンの個別評価では、Zスコア及び誤差率の両方が許容範囲を超えた「外れ値」は3機関であった。トランス-1,2-ジクロロエチレンでは4機関が「外れ値」となった。個別評価で外れ値になった5機関を除外して合算値を評価したところ「外れ値」はなかった。

平成22年度大阪府水道水質検査外部精度管理の有機項目シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンに関する外部精度管理は、概ね良好な結果であった。ここではこれらを検証することにより、検査精度を向上するための留意点が明らかになったので報告する。

キーワード：水道水、外部精度管理、シス-1,2-ジクロロエチレン、トランス-1,2-ジクロロエチレン

Key words : drinking water, external quality control, cis-1,2-dichloroethylene, trans-1,2-dichloroethylene

大阪府水道水質検査外部精度管理は、水道水質検査精度の向上を図ることを目的として、平成5年度より本府環境衛生課と共同で、府内水道事業体等の協力を得て実施している。平成22年度はシス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンを有機物質の対象項目として実施した。

シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンは、平成16年4月1日の水質基準に関する省令¹⁾の施行により、シス-1,2-ジクロロエチレンが基準項目（基準値：0.04 mg/L）、トランス-1,2-ジクロロエチレンが水質管理目標設定項目（目標値：0.04 mg/L）に規定された。そして平成21年4月1日より、合算値であるシス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンが水質基準（基準値：0.04

mg/L）として規制されるようになった。

分析方法には「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」²⁾（平成15年7月22日付け厚生労働省告示第261号〔一部改正 平成22年2月17日厚生労働省告示第48号〕）（以下、告示）により、ページ・トラップーガスクロマトグラフー質量分析法（以下PT法）及びヘッドスペースーガスクロマトグラフー質量分析法（以下HS法）が指定されている。

調査方法

1. 対象物質

シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンを対象項目とした。

2. 参加機関

表1に示す32機関であった。

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Results of External Quality Control on the Analytical Measures for Tap Water in Osaka Prefecture — cis-1,2-Dichloroethylene and trans-1,2-Dichloroethylene (2010) —

by Yoshihiko KOIZUMI, Keiichi MIYANO and Shinichi ADACHI

表 1 外部精度管理参加機関

大阪市水道局	河内長野市上下水道部
堺市上下水道局	和泉市上下水道部
池田市上下水道部	岸和田市上下水道局
箕面市上下水道局	泉佐野市上下水道局
豊中市上下水道局	大阪府水道部(村野浄水場)
吹田市水道部	大阪府水道部(庭窪浄水場)
摂津市水道部	大阪府水道部 (水質管理センター・試験管理課)
茨木市水道部	大阪府水道部 (水質管理センター・企画調査課)
高槻市水道部	堺市衛生研究所
島本町上下水道部	高槻市保健所
枚方市水道局	大阪市立環境科学研究所
寝屋川市水道局	東大阪市環境衛生検査センター
守口市水道局	大阪府茨木保健所
東大阪市上下水道局	大阪府藤井寺保健所
八尾市水道局	社団法人大阪府薬剤師会
柏原市上下水道部 (柏原市藤井寺市共同検査)	大阪府立公衆衛生研究所

3. 実施方法

3-1. 精度管理試料の調製方法

配布した精度管理試料は、大阪府立公衆衛生研究所（大阪市東成区中道 1 丁目 3 番 69 号）に給水されている大阪市の水道水に標準溶液を添加し調製した。

容量 100 L のステンレスタンクに水道水を約 90 L 入れ、アスコルビン酸ナトリウムを添加し、定量的に残留塩素を消去した。これを容量 1118 mL の褐色ガラス瓶に、ほぼ満水になるよう採取した。ここへ混合標準溶液（シス-1, 2-ジクロロエチレン 50 mg/L 及びトランス-1, 2-ジクロロエチレン 30 mg/L）を全量 250 μ L のマイクロシリンジを用いて 200 μ L 添加した。満水になっていることを確認し、ポリテトラフルオロエチレン張りのキャップで密栓し、精度管理用試料とした。当所で測定した結果、添加前水道水（残留塩素を消去したもの）に含まれるシス-1, 2-ジクロロエチレン及びトランス-1, 2-ジクロロエチレン濃度は、いずれも定量下限値未満（0.1 μ g/L 未満）であった。標準の添加量から推定される精度管理試料中の濃度は、シス-1, 2-ジクロロエチレン 8.94 μ g/L 及びトランス-1, 2-ジクロロエチレン 5.37 μ g/L であった。

添加に用いた混合標準溶液は次のように調製した。容量 50mL のメスフラスコに、関東化学製シス-1, 2-ジクロロエチレン標準原液（1 mg/mL メタノール溶液）2.5 mL、及び関東化学製トランス-1, 2-ジクロロエチレン標準原液（1 mg/mL メタノール溶液）1.5 mL を、各々

ホールピペットを用いて採取した。これをメタノールで 50 mL に定容し混合標準溶液とした。

添加前の水道水の採取は平成 22 年 9 月 27 日（月）午後に行った。精度管理試料の調製は、9 月 28 日（火）午前に行い、配布までの間は汚染のない冷蔵庫内で低温・遮光保存した。

3-2. 結果の検証方法

既報³⁾に従い、Z スコア及び誤差率の両方が許容範囲を超えた検査値を「外れ値」と評価した。Z スコアによる許容範囲は、その絶対値が 3 未満であることとし、誤差率の許容範囲は、真値に対する誤差率が $\pm 20\%$ 以内であることとした。

結果及び考察

1. 分析方法

PT 法を用いた機関が 18 機関、HS 法は 16 機関であった。これらのうち 2 機関では両法が用いられた。

2. 検査結果の検証

2-1. シス-1, 2-ジクロロエチレン

表 2 に 32 機関の検査値、Z スコア及び誤差率を示した。図 1 に度数分布図を示した。

Z スコアが ± 3 を超過した機関は 4 機関（B-1, B-7(2), B-31, B-32）であった。Grubbs の棄却検定で棄却を受けたのは、1 機関（B-7(2)）、「仮の真値」 $\pm 20\%$ を超過したものは、3 機関（B-7(2), B-31, B-32）であった。これらの検証から得られた「真値」は 8.55 μ g/L となった。真値に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超過したものは、3 機関（B-7(2), B-31, B-32）であった。Z スコア及び誤差率の両方が許容範囲を超えた「外れ値」は 3 機関（B-7(2), B-31, B-32）であった。「外れ値」の割合は 8.8% (3/34) であり、シス-1, 2-ジクロロエチレンに関する外部精度管理は、概ね良好な結果であった。

以下に「外れ値」となった 3 機関について原因を考察した。

B-7(2) の IS 面積値を見ると精度管理試料の値と、標準系列の値に 5 倍近くの開きがあった。この点を検査機関に再確認してもらったところ、途中に計算ミスがあることがわかった。しかし、確認後の再計算値は、初めの値に比べ、約 3 分の 1 に低下した。Z スコアは +3 を超過していたものが、逆に -3 より小さくなり、依

然外れ値であった。結局、外れ値の原因は、計算ミスをしていたことと、マイクロシリンジを用いた内部標準溶液の添加精度が良くなかったことが、複合したものであった。

B-31 は一連の分析中にキャリアガス (He) 用ポンペを交換し、交換後、そのまま分析していた。そのため、分析中にポンペを交換したことでガス圧の変動が生じたことが原因であると考えられた。後日、この検査機関によりガス圧が変化した場合の影響を調査いただいたところ、シス-1, 2-ジクロロエチレン(トランス-1, 2-ジクロロエチレン) と内部標準物質の存在比が変化することがわかった。これは内部標準の自動添加装置の添加量 (内標ボトル内圧の変動による)、ページ流量、ドライページ流量、デソープ流量、スプリッター流量 (比) などに影響して、物質間に差が生じたものと考えられた。

B-32 は混合標準液の調製を精度管理試料測定の前に行っていた。この混合標準液は不透明摺りのメスフラスコ中で保管されており、保管中にシス-1, 2-及びトランス-1, 2-ジクロロエチレンが揮散したことが原因であると推定された。すなわち標準液の濃度が低下し、定量値が高くなったと考えられた。

2-2. トランス-1, 2-ジクロロエチレン

表 3 に 32 機関の検査値、Z スコア及び誤差率を示した。図 2 に度数分布図を示した。

Z スコアが±3 を超過した機関は 4 機関 (B-1, B-2(1), B-7(2), B-32) であった。Grubbs の棄却検定で棄却を受けたのは、1 機関 (B-7(2))、「仮の真値」±20% を超過したものは、4 機関 (B-1, B-2(1), B-7(2), B-32) であった。これらの検証から得られた「真値」は $5.25 \mu\text{g/L}$ となった。誤差率が±20% を超過したものは、4 機関 (B-1, B-2(1), B-7(2), B-32) であった。Z スコア及び誤差率の両方が許容範囲を超えた「外れ値」は 4 機関 (B-1, B-2(1), B-7(2), B-32) であった。「外れ値」の割合は 11.8% (4/34) であり、トランス-1, 2-ジクロロエチレンに関する外部精度管理は、概ね良好な結果であった。

以下に「外れ値」となった 4 機関のうち、シス-1, 2-ジクロロエチレンで原因を推定した B-7(2) 及び B-32 を除く 2 機関 (B-1, B-2(1)) について原因を考察した。

B-1 は、本試験の前に予備試験などのため、複数回にわたって試料瓶からバイヤル瓶に分取していた。分

取や保管を繰り返す間に容器の空隙にシス-1, 2-及びトランス-1, 2-ジクロロエチレンが揮散し、再開封することで試料濃度が低下したと推測された。

B-2(1) は精度管理試料を開封する際、保冷库から出し、室温に戻してから 30 分後に開封していた。開封時の水温が室温であったため、開封の段階で、シス-1, 2-及びトランス-1, 2-ジクロロエチレンが揮散したことが原因であろうと推測された。なお、この機関は PT 法 (B-2(1)) 及び HS 法 (B-2(2)) の両法を実施し、B-2(2) では試料開封にあたって、保冷库から取り出して、ただちに開封・分析し、良好な結果を得ている。

2-3. シス-1, 2-ジクロロエチレン及びトランス-1, 2-ジクロロエチレン

水質基準では、シス-1, 2-ジクロロエチレン及びトランス-1, 2-ジクロロエチレンの合計値を求める必要があることより、個別評価で外れ値になった 5 機関 (B-1, B-2(1), B-7(2), B-31, B-32) を除く 29 機関を対象とし評価を行ってみた。表 4 に 29 機関の検査値、Z スコア及び誤差率を示した。図 3 に度数分布図を示した。

Z スコアが±3 を超過した機関はなかった。Grubbs の棄却検定で棄却を受けた機関、「仮の真値」±20% を超過した機関はなかった。これらの検証から得られた「真値」は $13.9 \mu\text{g/L}$ となった。誤差率が±20% を超過した機関はなかった。Z スコア及び誤差率の両方が許容範囲を超えた「外れ値」はなかった。個別評価で外れ値になった 5 機関を除く 29 機関で評価した場合、シス-1, 2-ジクロロエチレン及びトランス-1, 2-ジクロロエチレンに関する外部精度管理は良好な結果であった。

3. シス-1, 2-ジクロロエチレン及びトランス-1, 2-ジクロロエチレンの分析における留意事項

今回の精度管理について検証した結果、検査精度を向上するための留意事項を以下に示す。

3-1. 保存期間

図 4～図 6 に検査値と配布から前処理までの保存日数の関係を示した。日数が増加しても検査値の濃度変化は認められなかった。また大阪府立公衆衛生研究所で保存試料の安定性を追跡調査したところ、汚染の無い冷蔵庫 (4℃、遮光) では 14 日目までは分析値に変化はなかった。このことから各機関が測定を終えるまで濃度変化はなかったと考えられる。

しかし告示には「速やかに試験する」とされ、上水

表 2. シス-1, 2-ジクロロエチレンに関する各機関の結果

検査機関番号		検査方法	検査値 (平均値) (μ g/L)	変動係数 (%)	仮の真値 に対する 誤差率 (%)	真値に 対する 誤差率 (%)	Zスコア
B-1	**	HS	7.00	1.6	-19.4	-18.1	-3.11
B-2(1)		HS	7.32	7.7	-15.7	-14.3	-2.51
B-3		PT	7.47	3.7	-14.0	-12.6	-2.24
B-4		HS	7.56	2.7	-12.9	-11.5	-2.07
B-5		PT	7.58	1.7	-12.7	-11.3	-2.04
B-6		PT	7.96	3.9	-8.36	-6.91	-1.34
B-7(1)		PT	8.12	1.9	-6.54	-5.07	-1.05
B-8		HS	8.27	0.8	-4.76	-3.26	-0.768
B-9		HS	8.28	1.5	-4.65	-3.15	-0.750
B-10		HS	8.29	7.5	-4.56	-3.05	-0.735
B-11		HS	8.41	1.9	-3.20	-1.67	-0.518
B-12		PT	8.55	1.9	-1.54	0.0106	-0.252
B-13		HS	8.61	2.5	-0.803	0.759	-0.135
B-14		PT	8.63	1.0	-0.664	0.900	-0.112
B-15		HS	8.64	4.2	-0.549	1.02	-0.0940
B-16		PT	8.64	2.1	-0.503	1.06	-0.0866
B-17		PT	8.67	0.4	-0.135	1.44	-0.0276
B-18		HS	8.70	1.8	0.211	1.79	0.0276
B-19		HS	8.70	6.9	0.234	1.81	0.0313
B-20		PT	8.71	2.3	0.257	1.84	0.0350
B-21		PT	8.76	0.5	0.879	2.47	0.135
B-22		PT	8.82	0.9	1.59	3.19	0.249
B-2(2)		PT	8.85	1.4	1.94	3.54	0.304
B-23		HS	8.88	2.2	2.21	3.82	0.348
B-24		PT	8.89	2.3	2.42	4.03	0.381
B-25		PT	9.05	0.8	4.26	5.91	0.676
B-26		PT	9.07	0.6	4.43	6.07	0.702
B-27		HS	9.23	2.5	6.27	7.94	1.00
B-28		PT	9.47	2.1	9.01	10.7	1.44
B-29		HS	9.63	2.0	10.9	12.7	1.74
B-30	*	PT	10.3	2.0	18.2	20.0	2.90
B-31	***	PT	10.5	1.3	20.9	22.8	3.34
B-32	***	HS	11.0	0.5	27.1	29.1	4.34
B-7(2)	***	HS	13.1	8.7	50.9	53.2	8.13
最大値			13.1	－	－	－	－
平均値			8.81	－	－	－	－
最小値			7.00	－	－	－	－
標準偏差			1.14	－	－	－	－
変動係数 (%)			12.9	－	－	－	－
n			34	－	－	－	－

仮の真値 : $8.68 \mu\text{g/L}$ 真値 : $8.55 \mu\text{g/L}$ *真値に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超えた機関**Zスコアが $\pm 3\%$ を超えた機関***真値に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超え、Zスコアが $\pm 3\%$ を超えた機関

表 3. トランス-1,2-ジクロロエチレンに関する各機関の結果

検査機関番号		検査方法	検査値 (平均値) (μ g/L)	変動係数 (%)	仮の真値 に対する 誤差率 (%)	真値に 対する 誤差率 (%)	Zスコア
B-2(1)	***	HS	3.80	6.7	-27.1	-27.6	-3.96
B-1	***	HS	3.88	2.3	-25.7	-26.2	-3.76
B-5		PT	4.39	1.6	-15.9	-16.4	-2.37
B-4		HS	4.51	3.7	-13.5	-14.1	-2.04
B-3		PT	4.53	4.2	-13.2	-13.7	-1.98
B-9		HS	4.78	1.5	-8.46	-9.04	-1.32
B-8		HS	4.78	0.7	-8.43	-9.00	-1.31
B-10		HS	4.86	7.0	-6.78	-7.37	-1.08
B-22		PT	5.00	1.3	-4.17	-4.78	-0.711
B-12		PT	5.07	1.9	-2.75	-3.37	-0.510
B-7(1)		PT	5.08	2.2	-2.68	-3.29	-0.499
B-27		HS	5.12	3.6	-1.91	-2.53	-0.391
B-23		HS	5.14	1.8	-1.45	-2.07	-0.326
B-18		HS	5.16	2.0	-1.07	-1.69	-0.271
B-13		HS	5.24	2.8	0.506	-0.129	-0.0489
B-14		PT	5.25	2.5	0.583	-0.0527	-0.0380
B-6		PT	5.25	3.9	0.621	-0.0146	-0.0326
B-15		HS	5.27	4.0	1.08	0.442	0.0326
B-11		HS	5.33	3.6	2.19	1.55	0.190
B-2(2)		PT	5.33	2.3	2.23	1.59	0.195
B-20		PT	5.35	1.8	2.61	1.97	0.250
B-28		PT	5.38	2.0	3.15	2.50	0.326
B-21		PT	5.41	0.8	3.69	3.03	0.402
B-17		PT	5.49	1.1	5.30	4.63	0.630
B-24		PT	5.50	3.9	5.45	4.78	0.651
B-26		PT	5.52	1.2	5.80	5.13	0.700
B-25		PT	5.54	1.5	6.10	5.43	0.744
B-16		PT	5.60	3.9	7.41	6.73	0.928
B-19		HS	5.62	7.9	7.71	7.03	0.97
B-29		HS	5.72	1.8	9.71	9.01	1.25
B-30		PT	6.10	1.2	16.9	16.2	2.27
B-31		PT	6.17	1.7	18.3	17.5	2.47
B-32	***	HS	6.98	0.6	33.7	32.9	4.66
B-7(2)	***	HS	8.97	0.9	72.0	70.9	10.1
最大値			8.97	-	-	-	-
平均値			5.33	-	-	-	-
最小値			3.80	-	-	-	-
標準偏差			0.880	-	-	-	-
変動係数 (%)			16.5	-	-	-	-
n			34	-	-	-	-
仮の真値 : 5.22 μ g/L					真値 : 5.25 μ g/L		

仮の真値 : 5.22 μ g/L真値 : 5.25 μ g/L***真値に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超え、Zスコアが $\pm 3\%$ を超えた機関

表 4. シス-1, 2-ジクロロエチレン及びトランス-1, 2-ジクロロエチレン
に関する各機関の結果

検査機関番号	検査方法	検査値 (平均値) (μ g/L)	変動係数 (%)	仮の真値 に対する 誤差率 (%)	真値に 対する 誤差率 (%)	Zスコア
B-5	PT	12.0	1.7	-13.6	-13.6	-2.36
B-3	PT	12.0	3.9	-13.3	-13.3	-2.31
B-4	HS	12.1	3.0	-12.8	-12.8	-2.22
B-8	HS	13.1	0.7	-5.84	-5.84	-1.06
B-9	HS	13.1	1.6	-5.84	-5.84	-1.06
B-10	HS	13.1	7.3	-5.26	-5.26	-0.964
B-6	PT	13.2	3.8	-4.83	-4.83	-0.891
B-7(1)	PT	13.2	2.2	-4.83	-4.83	-0.891
B-12	PT	13.6	1.8	-1.66	-1.66	-0.361
B-11	HS	13.7	2.4	-0.935	-0.935	-0.241
B-22	PT	13.8	1.1	-0.214	-0.214	-0.120
B-13	HS	13.9	2.4	-0.0696	-0.0696	-0.0964
B-18	HS	13.9	2.0	-0.0696	-0.0696	-0.0964
B-14	PT	13.9	1.6	0.0746	0.0746	-0.0723
B-15	HS	13.9	4.2	0.507	0.507	0.00
B-23	HS	14.0	2.0	1.08	1.08	0.0964
B-20	PT	14.1	2.1	1.52	1.52	0.169
B-17	PT	14.2	0.6	2.24	2.24	0.289
B-2(2)	PT	14.2	1.8	2.24	2.24	0.289
B-21	PT	14.2	0.7	2.38	2.38	0.313
B-16	PT	14.2	1.7	2.67	2.67	0.361
B-19	HS	14.3	7.3	3.25	3.25	0.458
B-27	HS	14.4	2.9	3.54	3.54	0.506
B-24	PT	14.4	2.8	3.68	3.68	0.530
B-25	PT	14.6	1.2	5.12	5.12	0.771
B-26	PT	14.6	0.8	5.27	5.27	0.795
B-28	PT	14.8	1.9	7.00	7.00	1.08
B-29	HS	15.4	1.6	10.7	10.7	1.71
B-30	PT	16.4	1.6	18.0	18.0	2.91
最大値		16.4	—	—	—	—
平均値		13.9	—	—	—	—
最小値		12.0	—	—	—	—
標準偏差		0.936	—	—	—	—
変動係数 (%)		6.75	—	—	—	—
n		29	—	—	—	—
仮の真値 : 13.9 μ g/L			真値 : 13.9 μ g/L			

B-1、B-2(1)、B-7(2)、B-31、B-32 はシス-1, 2-ジクロロエチレンあるいはトランス-1, 2-ジクロロエチレンの個別評価で外れ値になったため、合算値の評価をしなかった。

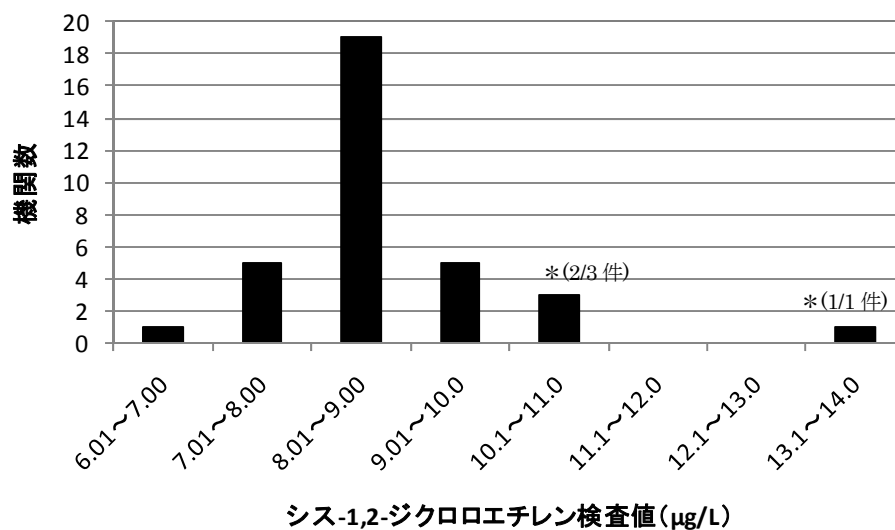


図 1. シス-1, 2-ジクロロエチレンに関する検査値の度数分布
* : 外れ値 (件数)

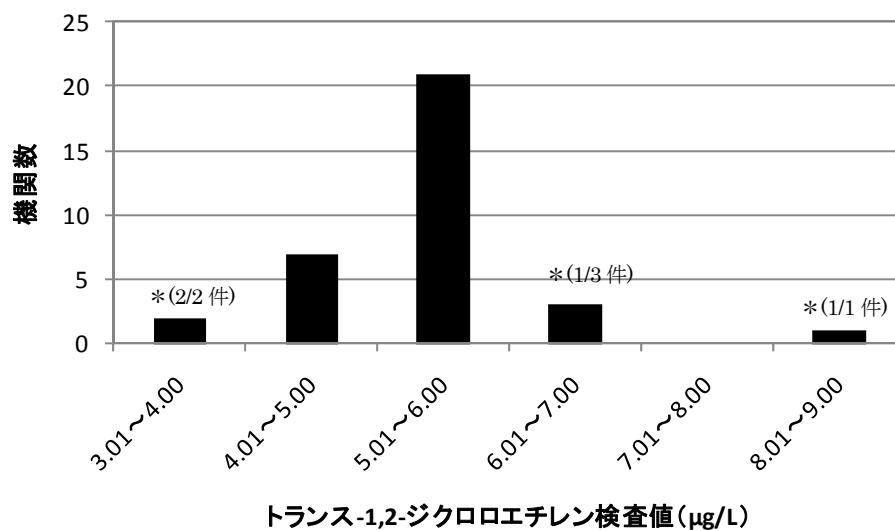


図 2. トランス-1, 2-ジクロロエチレンに関する検査値の度数分布
* : 外れ値 (件数)

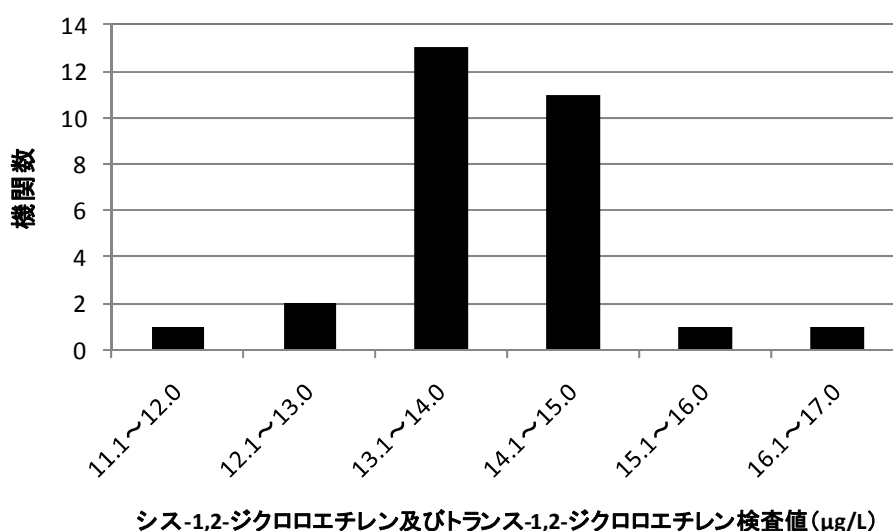


図 3. シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンに関する検査値の度数分布

但し B-1、B-2(1)、B-7(2)、B-31、B-32 はシス-1,2-ジクロロエチレンあるいはトランス-1,2-ジクロロエチレンの個別評価で外れ値になったため、これらの検査値を含まない。

試験方法には試料保存期間は「採水当日」とされている。このため、測定はできる限り早期に行なうのが望ましい。

3-2. 標準品の信頼性

全機関で市販標準溶液を使用していた。標準溶液を使用する場合はメーカーが推奨する保管方法で保管し、保証する期限を遵守する。また、他社の標準溶液と比較するなどして濃度を確認することも重要である。

3-3. 検量線

各機関の検量点数はブランク（濃度ゼロ）を含め 3 点～9 点であった。直線性は概ね良好であった。次数は 1 次が 33 件、2 次が 1 件であった。寄与率（R²）は概して良好であった。2 次を採用している機関（B-4）でも検量線が湾曲している程度は小さかったため、良好な結果が得られていた。検量線は直線を示す範囲において、検量点 5 点以上の 1 次回帰で作成することが望ましい。なお、検量線の範囲を超えて定量した機関はなく、検量点についてもかけ離れて大きなものはなかった。

3-4. 検査方法と検査値の関係

PT 法は 18 機関で用いられ、HS 法は 16 機関で用いられた。2 機関では PT 及び HS の両法が実施された。表 5 に検査方法ごとの検査値及び統計値を示した。

マン・ホイットニーの U 検定⁴⁾を用いて、両法の有

意差を検討したところ、シス-1,2-ジクロロエチレン、トランス-1,2-ジクロロエチレン、シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンのいずれにおいても、U 値はその 5% 下側有意点より大きく、PT 法及び HS 法間に有意差があるとは言えなかった。

3-5. 揮散の防止

シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンの蒸気圧はそれぞれ 24 kPa (20℃)⁵⁾、35.3 kPa (20℃)⁶⁾、水に対する溶解度はそれぞれ 3.5-5.1 g/L (20℃)⁵⁾、6.3 mg/L (20℃)⁶⁾であり、ヘンリー定数はそれぞれ 413 Pa・m³/mol (25℃)⁵⁾、950 Pa・m³/mol (25℃)⁶⁾である。このために水相から気相への揮散は大きいと考えられる。分析においては、操作の各段階において、揮散に留意する必要がある。

1) 試料開封時

氷冷して開封し、速やかにバイアル瓶に採取することが望ましい。

2) 試料保管時

保管中に分取を繰り返すと揮散して濃度が低下する。予備の試料はあらかじめバイアル瓶に分取しておくことが望ましい。

3) 混合標準液

分析時に混合標準液を調製する。混合標準液は長時間保存して使用しないことが望ましい。

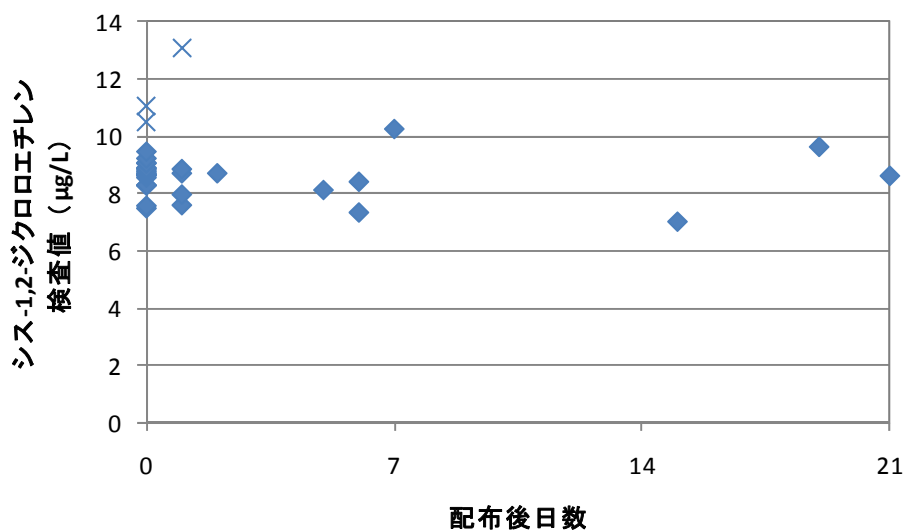


図 4. 前処理までの配布後日数と検査値の関係
(シス-1, 2-ジクロロエチレン)
× : 外れ値

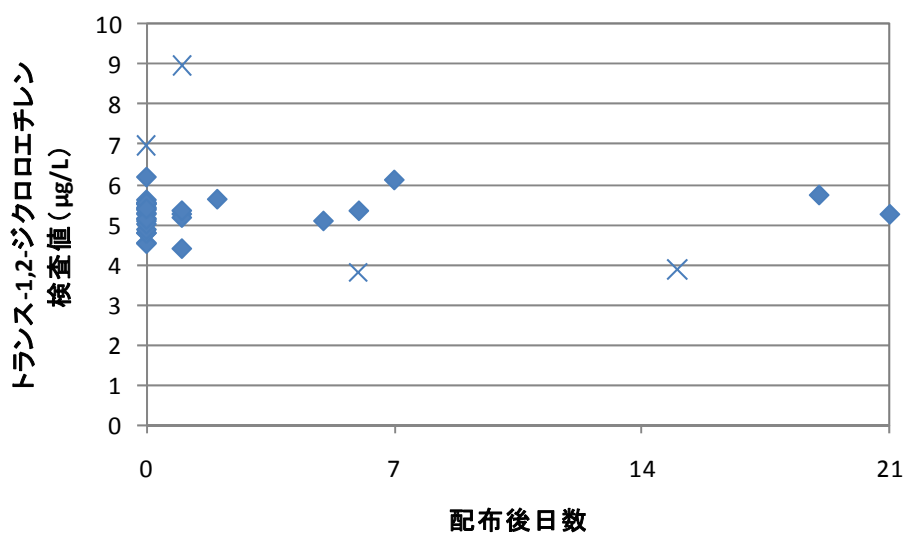


図 5. 前処理までの配布後日数と検査値の関係
(トランス-1, 2-ジクロロエチレン)
× : 外れ値

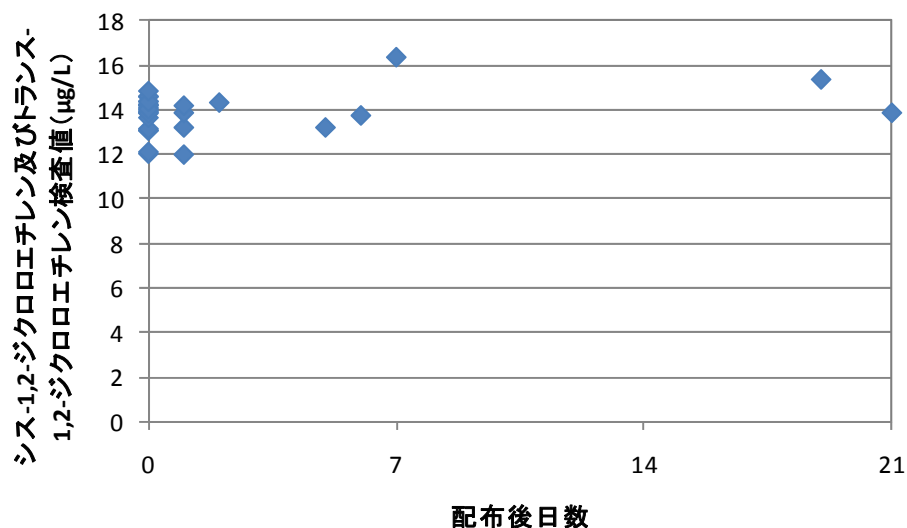


図 6. 前処理までの配布後日数と検査値の関係
(シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレン)
但し、個別評価で外れ値になったものを除いている

表 5. 検査方法ごとの検査値及び統計値

項目	シス-1,2-ジクロロエチレン		トランス-1,2-ジクロロエチレン		シス-1,2-ジクロロエチレン及び トランス-1,2-ジクロロエチレン	
方法	HS法	PT法	HS法	PT法	HS法	PT法
検査値	7.00	7.47	3.88	4.53	12.1	12.0
	7.32	7.58	3.80	4.39	13.1	12.0
	7.56	7.96	4.51	5.25	13.1	13.2
	8.27	8.12	4.78	5.08	13.1	13.2
	8.28	8.55	4.78	5.07	13.7	13.6
	8.29	8.63	4.86	5.25	13.9	13.9
	8.41	8.64	5.33	5.60	13.9	14.2
	8.61	8.67	5.24	5.49	13.9	14.2
	8.64	8.71	5.27	5.35	14.3	14.1
	8.70	8.76	5.16	5.41	14.0	14.2
	8.70	8.82	5.62	5.00	14.4	13.8
	8.88	8.85	5.14	5.33	15.4	14.2
	9.23	8.89	5.12	5.50		14.4
	9.63	9.05	5.72	5.54		14.6
	11.0	9.07	6.98	5.52		14.6
	13.1	9.47	8.97	5.38		14.8
		10.3		6.10		16.4
		10.5		6.17		
n	16	18	16	18	12	17
平均値	8.85	8.78	5.32	5.33	13.74	13.96
標準偏差	1.47	0.77	1.22	0.44	0.82	1.02
U値	123		109		79	
Uの下側有意点 (5%)	86		86		51	

但し、シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンは、個別評価で外れ値になった
検査値 (HS 法 : 4、PT 法 : 1) を除く

4. 外部精度管理結果のまとめと分析における留意事項

4-1. シス-1,2-ジクロロエチレン

検査結果の「真値」は $8.55 \mu\text{g/L}$ となり、予想値より若干低値であった。32 機関のうち検査値の変動係数が 20%を超えた機関はなかった。Z スコアの絶対値が 3 を超過したのは 4 機関であった。「真値」に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超過したものは 4 機関であった。Z スコア及び誤差率の両方が許容範囲を超えた「外れ値」は 3 機関であった。「外れ値」の割合は 8.8%であり、概ね良好な結果であった。

4-2. トランス-1,2-ジクロロエチレン

検査結果の「真値」は $5.25 \mu\text{g/L}$ となり、予想値より若干低値であった。32 機関のうち検査値の変動係数が 20%を超えた機関はなかった。Z スコアの絶対値が 3 を超過したのは 4 機関であった。「真値」に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超過したものは、4 機関であった。Z スコア及び誤差率の両方が許容範囲を超えた「外れ値」は 4 機関で

あった。「外れ値」の割合は 11.8%であり、概ね良好な結果であった。

4-3. シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレン

水質基準ではシス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレンの合計値で示す必要があるため、個別の評価で外れ値になった 5 機関を除外した 29 機関について評価を行った。

検査結果の「真値」は $13.9 \mu\text{g/L}$ となり、予想値より若干低値であった。変動係数が 20%を超えた機関はなかった。Z スコアの絶対値が 3 を超過した機関はなかった。「真値」に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超過したものはなかった。Z スコア及び誤差率の両方が許容範囲を超えた「外れ値」はなく、良好な結果であった。

4-4. 分析上の留意点

「外れ値」になった機関について検証の結果、明らかになった留意事項を表 6 に示す。

表 6. シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレン
分析における留意事項

保存期間	速やかに試験する（速やかに試験できない場合は、冷蔵保存する） 上水試験方法には『採水当日』とされているので早期に測定する
標準品	市販標準を使用する場合は、以前のデータと比較したり、複数のメーカーの市販品と比較するなど、使用前に濃度を確認しておく
検量線	(1) 定量性のある範囲を使用する (2) 5 点以上で定量する
揮散の防止	(1) 試料（検水）は氷冷してから開封する (2) 試料（検水）から分取する回数はできるだけ少なくする (3) 混合標準液は当日に調製する（長期間保管しないこと）
その他	(1) キャリアガス圧力の変動（分析中にボンベ交換しない） (2) マイクロシリンジの精度（あらかじめ確認しておく） (3) 第 3 者による確認（計算ミスの防止）

文献

- 1) 水質基準に関する省令(平成 15 年 5 月 30 日厚生労働省令第 101 号)
- 2) 「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」(平成 15 年 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号[一部改正 平成 22 年 2 月 17 日厚生労働省告示第 48 号])

働省告示第 48 号))

- 3) 小泉義彦, 宮野啓一, 渡辺功:大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点-トリハロメタン(平成 19 年度)-, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, 46, 75-90 (2008)
- 4) 市原清志: バイオサイエンスの統計学, 90-93, 南江堂, 東京 (1990)
- 5) 化学物質の初期リスク評価書 Ver.1.0 No.137

cis-1,2-ジクロロエチレン，独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（2008）

- 6) 化学物質の初期リスク評価書 Ver. 1.0 No.136
trans-1,2-ジクロロエチレン，独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（2008）

Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification
and PCR Assays for Rapid and Simple Detection of
Campylobacter fetus subsp. *venerealis*

W. YAMAZAKI^{*1}, M. TAGUCHI^{*2} and N. MISAWA^{*1}

Microbiology and Immunology, 54, 398–404 (2010)

LAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法を用いて、家畜の病原菌であるカンピロバクター・フィータス亜種ヴェネリアリス (*C. fetus* subsp. *venerealis*) の迅速検査法を開発した。さらに PCR (polymerase chain reaction) 法を用いた *C. fetus* 2 亜種の鑑別法を開発した。LAMP 法は供試した 7 株の *C. fetus* subsp. *venerealis* をそれぞれ正確に同定し、陰性対照として使用した 53 株の *C. fetus* subsp. *fetus* 菌株には反応を示さなかった。PCR 法は上述の計 60 株の *C. fetus* の亜種を正確に鑑別した。判定所要時間は従来法である生化学的性状試験では 2-7 日であるのに対し、LAMP 法では 50 分以内、PCR 法では 4 時間以内であった。本法は *C. fetus* subsp. *venerealis* の迅速鑑別に有用と思われた。

A Novel Method for the Purification of DNA by Capturing
Nucleic Acid and Magnesium Complexes on Non-Woven
Fabric Filters under Alkaline Conditions for the Gene
Diagnosis of Tuberculosis by Loop-Mediated Isothermal
Amplification (LAMP)

T. FUKAZAWA^{*1}, N. ODA^{*1}, Y. WADA^{*1}, A. TAMARU^{*2},
Y. FUKUSHIMA^{*3}, C. NAKAJIMA^{*3} and Y. SUZUKI^{*3}

Jpn. J. Infect. Dis., 63, 246-250 (2010)

LAMP 法による結核菌検出のために、DNA とマグネシウムイオンが結合する性質を利用して、臨床検体からの DNA 精製法を新しく開発した。

臨床検体中の DNA とマグネシウムをアルカリ条件下で結合させ、結合物をポリエチレンテレフタレート不織布（不織布）で回収した。不織布に付着した DNA を抽出等の操作なしに LAMP 法のテンプレートとして用いたところ、結核菌特異的 DNA 断片を増幅することができた。本抽出法と LAMP を組み合わせた検出効率は既存の市販 DNA 抽出キットを用いた場合より高かった。

^{*1} 宮崎大学

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

LAMP法およびPCR法によるカンピロバクター・フィータス亜種ヴェネリアリスの迅速簡易検出法の開発

^{*1} 旭化成

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

^{*3} 北海道大学人獣共通伝染病リサーチセンター

アルカリ条件下でのマグネシウムと核酸の結合と不織布を利用した LAMP 法による結核診断のための新しい DNA 精製法

Appearance and Genetic Diversity of El Tor *Vibrio cholerae* O1 That Possess Classical Biotype *ctxB* among Imported Cases of Cholera in Japan

M. MORITA^{*1}, M. OHNISHI^{*1}, E. ARAKAWA^{*1}, S. YAMAMOTO^{*1}, G. B. NAIR^{*2}, S. MATSUSHITA^{*3}, K. YOKOYAMA^{*3}, A. KAI^{*3}, K. SETO^{*4}, H. WATANABE^{*1} and H. IZUMIYA^{*1}

J. Med. Microbiol., 59, 708-712 (2010)

コレラ菌には古典型、エルトル型の2つの生物型があり、それぞれの生物型に特有のコレラ毒素遺伝子がコードされている。1960年代以降の流行株はエルトル型であるが、最近分離されるコレラ菌は古典型のコレラ毒素遺伝子をもつようになってきた（エルトル型変異株）。我々は、1991年から2006年に日本で分離された海外渡航者由来コレラ菌について、コレラ毒素Bサブユニット遺伝子(*ctxB*)を型別するとともに、分子疫学的手法で解析した。

エルトル型コレラ菌のうちエルトル型変異株は1993年頃から分離され、1995年以降はすべてエルトル型変異株に置き換わった。また、パルスフィールド・ゲル電気泳動および multilocus variable-number tandem-repeat 解析の結果、古典型コレラ菌はエルトル型コレラ菌と区別され、エルトルコレラ菌は由来や毒素タイプに関係なく複数の小さなクラスターを作ることがわかった。したがって、1つのタイプのエルトル型変異株が流行したのではなく、多様なエルトル型変異株がそれぞれにアジアで感染拡大していったと考えられた。

^{*1} 国立感染症研究所

^{*2} インド国立コレラ研究所

^{*3} 東京都健康安全研究センター

^{*4} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

日本における海外渡航者由来 *Vibrio cholerae* O1 エルトル型変異株の分布と遺伝子解析

食品の微生物検査法と食中毒発生時の疫学調査法
5. 下痢原性大腸菌

勢戸和子*

防菌防黴, 38, 339-350 (2010)

下痢原性大腸菌は病原機序の違いから数種類に分類される。このうち食中毒や集団感染症が報告されているものは、腸管病原性大腸菌 (EPEC)、腸管侵入性大腸菌 (EIEC)、腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)、腸管出血性大腸菌 (EHEC)、腸管凝集付着性大腸菌 (EAEC) で、同定には病原因子の確認が必要である。

なかでも腸管出血性大腸菌 (EHEC) は病原性が強く、溶血性尿毒症症候群や脳症などの合併症を引き起こす場合があるため、感染症法では全数把握疾患（三類感染症）に指定されており、食中毒統計でもその他の病原大腸菌とは区別して集計されている。

食品からの EHEC 検出法は、平成 18 年に厚生労働省から通知された方法に従って実施されるが、食品が冷凍あるいは加熱されている場合は非選択性の増菌培地が望ましい。分離培地は、代表的な血清群である O157 や O26 については特徴的な性状を利用した培地が使用できるが、その他の血清群については、多くのコロニーをベロ毒素 (VT) 産生性または VT 遺伝子保有でスクリーニングする必要がある。

同様に、ETEC はエンテロトキシン産生性、EIEC は細胞侵入性、EPEC と EAEC は細胞付着性を確認して同定する。いずれもエンテロトキシン遺伝子あるいは侵入性や付着性に関連する遺伝子を検出する PCR 法を利用できるが、EIEC は赤痢菌と同一の病原性関連遺伝子を保有するため、生化学的性状や血清型別による鑑別が必要である。

EHEC の遺伝子型別法は、パルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 法が標準的解析法になっており、国立感染症研究所と地方衛生研究所を結ぶネットワーク (パルスネット) で PFGE 型と疫学情報を組み合わせて活用されている。PFGE 法は、EHEC 以外の下痢原性大腸菌でも有用である。

*大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課
Diarrheagenic *Escherichia coli*

Isolation of VanA-Type Vancomycin-Resistant
Enterococcus Strains from Domestic Poultry Products with
Enrichment by Incubation in Buffered Peptone Water at
42°C

T. HARADA^{*1}, M. KANKI^{*1}, T. KAWAI^{*1}, M.
TAGUCHI^{*1}, T. ASAO^{*2} and Y. KUMEDA^{*1}

Appl. Environ. Microbiol., 76, 5317-5320 (2010)

2008年9月から2009年4月に大阪府内の小売店で
購入した国産鶏肉 171 検体について、Buffered peptone
water (BPW)を用いて 35°Cおよび 42°C増菌培養を行い、
バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)分離を行った。これ
に加え、BPW42°C増菌培養の効果を 35°C培養と比較す
るため、分離株について鶏肉接種試験を行い *vanA* 遺
伝子の検出率を比べた。また、分離株の純培養条件下
での発育動態を比較した。さらに、市販国産鶏肉を用
い BPW35°C培養と BPW42°C培養での一般細菌と
Enterococcus 属菌の菌数変化を経時的にモニタリング
した。

国産鶏肉 8 検体より VanA 型 *E. faecium* 2 株と VanA
型 *E. faecalis* 6 株が分離され、このうち 5 検体は
BPW42°C増菌培養液のみからの分離であった。鶏肉接
種試験では、*vanA* 遺伝子の検出率は有意に 42°C培養
が高かった ($P<0.01$)。純培養条件下での発育増殖試験
では、指数増殖期開始までの時間が 35°C培養と比較し、
42°C培養で 2 時間程度短縮された株がみられた。経時
的モニタリングでは、*Enterococcus* 属菌数は 24 時間後
の測定で 35°C培養に比べ 42°C培養で 5.5 から 222.2 倍
の増加が認められた。以上の結果から鶏肉中の VanA
型 VRE 試験法として、BPW42°C増菌培養は BPW35°C
培養よりも優れていることが示された。さらに分離株
について制限酵素 *Sma*I による PFGE 解析を行ったと
ころ、*E. faecium* 2 株はそれぞれ異なるパターンを示し
たが、VanA 型 *E. faecalis* 6 株は類似度の高いパターン
を示した。

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

^{*2} 財団法人日本食品分析センター 彩都研究所

Buffered peptone water 42°C増菌培養による国産鶏肉からの VanA 型
VRE の分離

新型インフルエンザ検査診断

加瀬哲男*, 森川佐依子*, 廣井 聡*

小児科, 51, 1681-1686, (2010)

2009年5月に我が国においても新型インフルエンザ
(パンデミックインフルエンザ H1N1(2009))が発生し、
各病院・診療所、保健所、地方衛生研究所は、その検
査対応に追われた。その中で、簡易診断は迅速診断キ
ット、確定診断には主として国立感染症研究所が開発
したリアルタイム RT-PCR が用いられた。新型インフ
ルエンザ発生初期には迅速診断キットの有用性が疑問
視されたが、流行が拡大するにつれて診断に関する混
乱は少なくなった。確定診断に用いられたリアルタイ
ム RT-PCR は信頼性および利便性に優れていた。血清
診断では中和試験および HI 試験による抗体価測定が
可能であった。

*大阪府立公衆衛生研究所

Diagnostic test of pandemic influenza

Evaluation of seasonal influenza vaccination effectiveness based on antibody efficacy among the institutionalized elderly in Japan.

M. HARA^{*1}, K. TANAKA^{*1}, T. KASE^{*2},
A. MAEDA^{*3} and Y. HIROTA^{*3}

Vaccine, 28, 5664-5668 (2010)

2002 年-03 年シーズンに、インフルエンザワクチン効果について、高齢者施設入所者 114 名において調査した。ここでは A/H3N2 亜型ウイルスが分離され、44 名が 37.8℃以上の突然の発熱し、8 名が迅速診断キットで陽性となった。多変量解析によって odds ratios を求めた結果、40 倍以上の HI 抗体価を持つヒトは、抗体を持たないヒトに較べて発熱の頻度が低く (OR 0.35 95%CI 0.09-1.28)、またインフルエンザと診断された頻度も低かった (OR 0.35 95%CI 0.03-4.64)。40 倍以上の HI 抗体価は、このような施設内高齢者では、予防効果があると推測できるが、調査規模が小さいために有意差は検出されなかった。

Interleukin-15 is critical in the pathogenesis of influenza A virus-induced acute lung injury

R. NAKAMURA^{*1}, N. MAEDA^{*1}, K. SHIBATA^{*1}, H. YAMADA^{*1}, T. KASE^{*2} and Y. YOSHIKAI^{*1}.

Journal of Virology, 84, 5574-5582 (2010)

インフルエンザではサイトカインストームを原因とする重症肺炎がある。我々は、インターロイキン-15 のノックアウトマウスに A/FM/1/47 (H1N1) を感染させた時にウイルスの感染価はコントロールマウスと変わらないが、死亡率が減少することを見つけた。インフルエンザウイルスを感染させたインターロイキン-15 のノックアウトマウスでは抗原特異的 CD44(+)CD8(+)T 細胞が有意に減少していた。また CD8(+)T 細胞の欠如は感染マウスの死亡率を減少させた。これらのことは、A 型インフルエンザウイルスによる急性肺炎には少なくともインターロイキン-15 依存的 CD8(+)T 細胞が関与していることを示している。

^{*1} 佐賀大学医学部予防医学分野

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*3} 大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学

日本の施設高齢者における抗体応答からみた季節性インフルエンザワクチンの有効性評価

^{*1} 九州大学生体防御医学研究所

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所

A 型インフルエンザウイルスによる急性肺炎にはインターロイキン 15 が重要な役割を果たす

エンテロウイルス 71 による手足口病の成人例

山崎謙治*, 中田恵子*

小児科, 52, 377-381 (2011)

成人における手足口病の経験事例と手足口病の総説を記述した。手足口病は夏季を中心として小児の間で流行し、口腔粘膜および四肢末端に水疱性の発疹を生ずる比較的軽度な疾患であり、コクサッキーウイルスA16およびエンテロウイルス71 (EV71)が主な原因ウイルスである。EV71は手足口病に無菌性髄膜炎を伴うことがしばしば認められる。成人における手足口病はまれであるが、2010年EV71の家族内二次感染によって発症した成人の手足口病2事例を経験した。そのうち1事例は無菌性髄膜炎を併発した。

Rapid and Easy Multiresidue Method for Determination of Pesticide Residues in Foods Using Gas or Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry

S. TAKATORI*, M. OKIHASHI*, Y. KITAGAWA*,
N. FUKUI*, Y. KAKIMOTO-OKAMOTO* and H.
OBANA*

Pesticides-Strategies for Pesticides Analysis, INTECH,
ISBN, 978-953-307-460-3, pp.197-214 (2011)

農薬の種類増加と残留基準値の低濃度化に伴って、その分析に必要とされる労力は、増加の一途にある。これに対応するため、迅速かつ簡便な残留農薬一斉分析法は有用である。また、中国製冷凍餃子に含まれた有機リン系農薬による中毒事例に類するケースでは、適用する農薬一斉分析法には、一層、迅速さと簡便さが求められる。そこで著者らは、迅速かつ簡便な残留農薬一斉分析法である QuEChERS 法を改良し、新たな残留農薬一斉分析法を構築した。また、餃子を含む多様な加工食品に対しては、その食品の特性（脂質、糖分、塩分あるいは水分含量）に応じた分析法を系統的に考案し、その適用性について検証した。

*大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 ウイルス課

Adults who had hand, foot and mouth disease by infection with enterovirus

*大阪府立公衆衛生研究所

タンデム型質量分析計付ガスクロマトグラフまたは液体クロマトグラフを使用した迅速かつ簡便な食品中の残留農薬一斉分析法

Determination of Five Phthalate Monoesters in Human Urine Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry

F. KONDO^{*1}, Y. IKAI^{*1}, R. HAYASHI^{*1},
M. OKUMURA^{*1}, S. TAKATORI^{*2}, H. NAKAZAWA^{*3},
S. IZUMI^{*4} and T. MAKINO^{*4}.

Bull. Environ. Contam. Toxicol. , 85, 92-6 (2010)

質量分析計付ガスクロマトグラフ (GC/MS) を用いた尿中の 5 種類のフタル酸モノエステル(フタル酸モノエチル、モノブチル、モノベンジル、モノエチルヘキシルおよびモノイソノニル) の分析法を開発した。尿中のフタル酸モノエステルおよびこれらのグルクロン酸抱合体について、グルクロン酸脱抱合反応を施した後、ジアゾメタンを用いて誘導体化した。これをフロリジルカラムで精製し、GC/MS で分析した。添加回収試験では、回収率が 86.3～119%であり、その相対標準偏差は、0.6～6.1%であった。本法を 36 検体の試料分析に適用したところ、フタル酸モノエチルおよびフタル酸モノブチルは、すべての検体から検出された。フタル酸モノベンジルおよびモノエチルヘキシルの検出率は、それぞれ 75 および 56%であった。また、フタル酸モノイソノニルについては、すべての検体で不検出であった。なお、フタル酸モノエチルおよびフタル酸モノブチルの尿中濃度は、男性よりも女性で高い傾向にあることが認められた。

加工食品を用いた農薬分析技能試験用
試料調製の検討

起橋雅浩^{*}, 小阪田正和^{*}, 内田耕太郎^{*}, 永吉晴奈^{*},
山口貴弘^{*}, 柿本健作^{*}, 中山裕紀子^{*}, 尾花裕孝^{*}

食品衛生学雑誌, 51, 253-257 (2010)

加工食品中の農薬分析を対象とした、技能試験の試料調製方法を検討した。検討用試料としてレトルトカレーとパンケーキを用い、農薬を添加した試料の均一性を評価した。レトルトカレーは調製時と採取時に加熱して均一化することが必要であった。有機リン系農薬およびカーバメート系農薬を中心に、15 種類の農薬を添加したところ、14 種類の農薬濃度で試料の均一性が確認された。パンケーキは生地に 10 種類の農薬を添加した。生地は農薬添加後に加熱調理したが、調製したパンケーキ中の農薬濃度はほとんど影響を受けず、添加した全ての農薬濃度で試料の均一性が確認された。また、-20℃で保存した場合、約 2 ヶ月間は農薬濃度の大きな変化は無かった。以上の結果よりこれらの調製試料は、技能試験用試料として使用可能と考えられた。

*1 愛知県衛生研究所

*2 大阪府立公衆衛生研究所

*3 星薬科大学

*4 東海大学医学部

質量分析計付ガスクロマトグラフを用いた尿中の 5 種類のフタル酸モノエステルの測定

*大阪府立公衆衛生研究所

Preparation of Samples for Proficiency Testing of Pesticide Residue
Analysis in Processed Foods

Determination of Liothyronine and Levothyroxine in
Dietary Supplements by HPLC Using a Pre-column
Derivative

Y. SAWABE*, T. TAGAMI*, K. YAMASAKI*
and S. TAGUCHI*

Journal of Health Science, 57, 47-52 (2011)

ダイエット用健康食品に違法に含まれる甲状腺ホルモンであるリオチロニン (T3) とレボチロキシン (T4) の新しい定量法を検討した。本法は LC/MS を必要とせず、4-フルオロ-7-ニトロベンゾフラザン (NBD-F) の誘導体を用いたプレカラム高速液体クロマトグラム法である。T3 と T4 は 10%アンモニア水で抽出し、その抽出液はポリビニルポリピロリドン (PVPP) カラムで処理した。PVPP からの溶出は 60%アセトニトリルを用いた。溶出液中の T3 と T4 は NBD-F で 60°C、30 分で誘導体化された。その誘導体を HPLC で測定した。ODS カラムを用い、アセトニトリルと 0.1%リン酸混液を移動相とし、蛍光検出器で検出した。誘導体は 12 時間、安定であった。添加回収実験により、回収率と精度を検討した。回収率とその標準偏差は T3 で 80.4-103.7%、4.8%以内、T4 で 79.8-101.5%、4.3%以内であった。直線性と特異性も良好であった。定量限界濃度は 0.002 μ g/ml であった。

Rapid Determination of Atropine and Scopolamine Content
in Scopolia Extract Powder by HPLC

Y. SAWABE*, K. YAMASAKI*, T. TAGAMI*,
M. KAWAGUCHI and S. TAGUCHI*

Journal of Natural Medicines, 65, 395-399 (2011)

複雑な前処理を必要としない、HPLC を用いたロートエキス散中のアトロピンとスコポラミンの迅速な定量法を検討した。試料を 0.1mol/L 塩酸/メタノール(8:2)で抽出し、ペンタフルオロフェニルプロピルカラムで分離し、210nm で検出した。移動相はアセトニトリル・pH5 の 10mmol/L 酢酸アンモニウム混液(8:2)を用いた。本法の直線性は良好であり、定量限界濃度はアトロピンで 5.0 μ g/mL, スコポラミンで 0.5 μ g/mL であった。「日局 15」法と比較したとき、同等の精度を示し、アルカロイドの合計値は 1.3-3.7%高い数値を示した。

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課
プレカラム誘導体化ー液体クロマトグラフ法を用いたダイエット用健康食品に含まれるリオチロニン及びレボチロキシンの定量

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課
HPLC によるロートエキス散中のアトロピン及びスコポラミンの迅速定量法

Improvement of the Official Method to Analyze
Organochlorine Pesticides in Glycyrrhizae Radix

T. TAGAMI*, K. KAJIMURA*, C. NOMURA*,
K. YAMASAKI*, Y. SAWABE*, S. TAGUCHI* and
H. OBANA*

Pharmaceutical and Medical Device Regulatory Science,
41(4), 318-323 (2010)

第十五改正日本薬局方に収載されている生薬中の有機塩素系農薬を分析する公定法は、カンゾウ中の有機塩素系農薬の回収率が悪いことから改善の余地がある。本研究では、カンゾウを対象とした場合に、回収率が悪くなる原因について検討した。我々の検討から、濃縮工程において生成する茶色のタール状物質に有機塩素系農薬が吸着することが原因と考えられた。そこで、公定法から濃縮工程を省略したところ、良好な回収率および再現性が得られた。検討した分析法は、公定法とほとんど同一であることから、カンゾウ中の有機塩素系農薬の分析法として導入しやすいものと考えられる。検討した分析法を用いて、カンゾウ 4 試料について分析したところ、対象とした有機塩素系農薬（BHC および DDT）は、検出限界以下であった。

トコフェロールニコチン酸エステルカプセルにおける
溶出挙動の経時変化に関する検討

川口正美*, 梶村計志*, 田口修三*

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 42,
149-155 (2011)

トコフェロールニコチン酸エステルの硬カプセル剤（4 製剤）について、3 種類の条件で保存し、0,3,6 ヶ月後に溶出試験を実施した。溶出試験の条件は、局外規第三部に従い、医療用医薬品品質情報集に収載されている 4 種類の試験液を用い、溶出曲線を作成した。保存試験の結果、溶出挙動に変化が認められた製剤が存在した。40℃,75%RH で 6 ヶ月間保存した製剤の内、pH1.2 の試験液を用いた場合に、製品間の差が最も大きく現れた。そこで、保存後の製剤からカプセル外皮を除いた内容物を試料とし、pH1.2 の試験液を用いた溶出試験を行ったところ、溶出の遅延や低下が改善された。

また、変化が認められなかった製剤と変化が認められた製剤の組み合わせで、カプセル外皮と内容物を入れ替えた試料を作成し、同様の条件で溶出試験を行った。その結果、内容物の違いによって溶出挙動が一致する製剤、カプセルの違いによって溶出曲線が一致する製剤、特に一致が認められない製剤があった。

これらのことから、溶出挙動の変化の原因は、カプセル皮膜または内容物の変化、あるいはその両方に起因するものと考えられた。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部

カンゾウ中の有機塩素系農薬を分析する公定法の改善

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課

Changes in Dissolution Behavior of Tocopherol Nicotinate
Capsules during Storage

一抄 録一

使用人員の少ない家庭用浄化槽の夜間間欠ばっ気運転
による省電力化と水質への影響

中野 仁^{*1}, 奥村早代子^{*1}, 百合竜三^{*2}, 井上俊行^{*2}

月刊浄化槽, 416, 13-17 (2010)

設置された浄化槽の規模 (人槽) に対し、実際の使用者が少ない、すなわち流入負荷が少ない浄化槽でも24時間連続ばっ気しているのが一般的であり、使用者数当たりの電力消費量は大きくなっている。そこで、このような浄化槽を間欠ばっ気運転にすることにより、処理水質に影響をおよぼすことなく消費電力の低減、ひいては家庭からの二酸化炭素の発生抑制を行うことができないかと考えた。

調査対象は嫌気ろ床接触ばっ気方式の家庭用浄化槽で、5施設において夜間計6時間のばっ気停止を行った。

その結果、使用人員比 (=使用人員/人槽) が0.3以下の浄化槽では、間欠運転が原因とは考えられない突発的な水質悪化を除けば、夜間に間欠ばっ気運転を行っても水質に与える影響はあまりないと考えられた。

今回調査対象とした浄化槽の消費電力は、7人槽で147Wで、6時間ばっ気停止を行った場合には月に26.5kWhの電力が削減され、これを二酸化炭素の排出量に換算すると8.96kg/月(107.5kg/年)が削減されることになる。

小型浄化槽の維持管理と処理状況について

奥村早代子^{*1}, 百合竜三^{*2}, 井上俊行^{*2}

月刊浄化槽, No.416, 23-27 (2010)

窒素除去型 (処理性能値 BOD 10 mg/L以下、T-N 20 mg/L以下) で面整備された浄化槽について、11条検査の8年間のBOD適合率を示した。BOD 10 mg/L以下の適合率は年度により50~75%であった。適合率を上げる目的で、平成21年度から、保守点検と清掃の記録票を、設置された浄化槽に対応するように改善した。しかしながら、平成21年度の11条検査のBOD 10 mg/L以下、20 mg/L以下の適合率ともに、これまでの適合率の範囲内であり、記録票を改善したことによる処理機能の向上は見られなかった。

また、前回清掃から約12か月が経過した浄化槽の処理水質と1次処理第1室の流出水の水質分析を行った。使用人員比が小さいものには、処理水のBOD 3 mg/L以下、透視度50度以上で、1次処理流出水のBOD 20 mg/L以下のものがあつた。使用状況や処理状況を考慮して清掃間隔を調整できれば、より効率的な浄化槽の維持管理が可能になると考えられた。

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

^{*2} 大阪府豊能町 上下水道部 工務課

Reduction in Electric Consumption and Effect of Effluent Quality using
Intermittent Aeration at Nighttime on the Johkasou with a Low Load
Condition.

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

^{*2} 大阪府豊能郡豊能町 上下水道部 工務課

Maintenance Method and Water Quality of Effluent of Small Scale
Johkasous

Estimation of Absorption of Aromatic Hydrocarbons Diffusing from Interior Materials in Automobile Cabins by Inhalation Toxicokinetic Analysis in Rats

T. YOSHIDA*

J. Appl. Toxicol., 30, 525-535 (2010)

芳香族炭化水素は乗用車室内の空気汚染に関与する一般的な化合物類である。本研究では、過去の乗用車室内空気汚染の実態調査結果をもとに芳香族炭化水素7種を選定し、運転中のドライバーにおける各物質の経気道吸収量を動物実験により推定した。

ラットを閉鎖系曝露装置内に入れ、一定量の各炭化水素類を装置内へ注入・気化させたのち、ラットへの吸入により減少する装置内空气中化学物質濃度の時間的推移を調べた。得られた結果を薬物動学的に解析し、一定濃度の各物質に曝露した際のラットにおける各物質の体内動態をシミュレーションした。さらに、実際の車室内濃度レベルの各化学物質に一定時間曝露されたヒトにおける経気道吸収量を外挿した。購入後1ヶ月の新車の閉め切った車内で夏季に連続2時間運転するドライバー (60 kg) における各物質の吸収量を、ラットから得た結果および車室内空气中化学物質濃度に関する過去の調査結果をもとに推定したところ、トルエン(車室内濃度中央値 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ において 30 μg) および 1,2,4-トリメチルベンゼン(同 24 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ にて 27 μg) の吸収量が他 (エチルベンゼン(12 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ にて 10 μg)、*o*-キシレン(10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ にて 6.4 μg)、*m*-キシレン(11 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ にて 7.5 μg)、*p*-キシレン(11 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ にて 8.9 μg)、スチレン(11 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ にて 11 μg) に比較して多かった。同様に、各物質による空気汚染の著しい車室内のドライバーにおけるスチレンの吸収量 (654 μg) は、WHO の勧告するその耐容一日摂取量の約 1.5 倍であった。

Estimation of α -Pinene Absorption in the Japanese Resident Based on Toxicokinetic Analysis in Rats by Inhalation Exposure

T. YOSHIDA*

Indoor Environment, 13, 141-154 (2010)

α -ピネンは、多くの脂肪族及び芳香族炭化水素と同様に日本の住宅内の空気汚染に関与する主要な化学物質である。本研究では、 α -ピネンの2つの異性体(+)-及び(-)- α -ピネンのラットにおける体内動態をそれぞれ薬物動学的に解析し、ヒトにおける経気道吸収量を外挿した。

ラットを入れた閉鎖系曝露装置内に一定量の α -ピネンを注入後気化させ、ラットへの吸入による装置内濃度推移を調べ、その動態を薬物動学的に解析した。得られた結果から、一定濃度の α -ピネンに一定時間曝露されたラットにおける吸収量を推定したところ、異性体間で差は認められなかった。ラットにおける炭化水素類の経気道吸収量について過去に我々が得た結果と比較すると、同一の曝露濃度下において α -ピネンは*n*-ヘキサン、*n*-デカン、トルエン、キシレン、エチルベンゼン、スチレンなどよりも吸収されやすく、1,2,4-トリメチルベンゼンと同程度であると推定された。ラットから得た結果及び日本の住宅における各物質の室内濃度に関する過去の調査結果をもとに、居住者 (体重 60 kg) における α -ピネンおよび各炭化水素類の吸収量を推定した。16時間の在宅時間中の α -ピネン吸収量 (住宅内濃度中央値 4.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ において 31 μg) は、トルエンに次いで多かった。また、各物質による空気汚染の著しい住宅居住者の α -ピネン吸収量 (住宅内濃度 1.8 mg/m^3 において 13 mg) は他の物質の吸収量よりもはるかに多く、米国環境保護庁 (EPA) の提案する α -ピネンの無毒性量 (NOAEL) から算出した耐容一日摂取量 (TDI) と同レベルであった。

* 大阪府立公衆衛生研究所 生活環境課

乗用車室内において内装材から放散される芳香族炭化水素類の乗員への吸収量の推定 — 吸入曝露ラットにおける体内動態の薬物動学的解析から —

* 大阪府立公衆衛生研究所 生活環境課

日本の住宅内での α -ピネン吸収量の推定 — 吸入曝露ラットにおける体内動態の薬物動学的解析から —

Effects of Nitrous Acid Exposure on Pulmonary Tissues in Guinea Pigs

M. OHYAMA^{*1}, K. OKA^{*2}, S. ADACHI^{*3}
and N. TAKENAKA^{*4}

Inhal. Toxicol., 22, 930-936 (2010)

膨大な量の疫学調査により二酸化窒素が喘息や呼吸機能に影響を与えることが報告されている。しかし、それらの調査における二酸化窒素測定値は亜硝酸も二酸化窒素として検出される方法で測定された値であり、喘息影響の原因は亜硝酸による可能性がある。実際に、二酸化窒素と亜硝酸を正確に分離測定した疫学調査では、呼吸機能低下は二酸化窒素測定値より亜硝酸測定値と関連したと報告されている。

今回の目的は、亜硝酸ガス発生装置を開発し、かつ、モルモットに亜硝酸曝露し呼吸器の組織変化を調べ、亜硝酸の生体影響を検討することにある。

我々は3.6 ppmの亜硝酸 (0.3ppmの二酸化窒素と1.6 ppmの一酸化窒素の副生を含む) を4週間モルモットに連続曝露し、肺の組織学的検索を行った。その結果、ガス曝露により肺気腫様変化や肺胞道の湾曲や、肺胞道での平滑筋細胞や気管支上皮細胞の伸展が認められた。これらの結果は、高濃度の亜硝酸ガスは呼吸機能の低下や呼吸器の傷害を起こすことを示唆する。

Association between Occupational Exposure Levels of Antineoplastic Drugs and Work Environment in Five Hospitals in Japan

J. YOSHIDA^{*1}, S. KODA^{*2}, S. NISHIDA^{*3},
T. YOSHIDA^{*1}, K. MIYAJIMA^{*1} and S. KUMAGAI^{*1}

J. Oncol. Pharm. Pract., 17, 29-38 (2011)

本研究の目的は、医療従事者がより安全な環境で抗がん剤を調製するための対策を評価することである。筆者らは、国内5病院 (病院A～E) の調製現場における抗がん剤の汚染とその取扱い状況の関連性について調べた。

空気サンプル、調製室内備品およびエアコンフィルタ拭いサンプルを採取してシクロホスファミド(CPA)、フルオロウラシル(5FU)、ゲムシタビン(GEM)、白金製剤(Pt)を測定した。薬剤師の24時間尿を採取してCPAおよびPtを測定した。

その結果、病院Bの安全キャビネット内空気サンプルからPtが検出された。拭い試料については、病院A,B,Dの安全キャビネット内から、また病院A,B,C,Dの安全キャビネット以外の備品から抗がん剤が検出された。CPAと5FUが病院Aのエアコンフィルタ拭い試料から、CPAが病院Dのエアコンフィルタ拭い試料から検出された。病院B,D,Eの薬剤師の尿サンプルからCPAが検出された。

抗がん剤の汚染レベルは、抗がん剤取扱量、調製室内の備品の清掃方法および薬剤師の陰圧手技などの技術の違いによるものと考えられた。手技のみならず、適切な清掃方法等を網羅した安全対策が職場環境汚染と職業性抗がん剤曝露を予防するためには必要であることがわかった。

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*2} 大阪府環境農林水産総合研究所

^{*3} 相模女子大学

^{*4} 大阪府立大学大学院工学研究科

モルモット肺組織における亜硝酸曝露の影響

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*2} 独立行政法人労働安全衛生総合研究所

^{*3} 近畿大学薬学部

国内5病院における抗悪性腫瘍剤の職場曝露とその取扱い方法との関連性について

家庭用品に含有されるトリブチルスズ、トリフェニルスズの分析法 ー 公定分析法の改定にむけてー

中島晴信^{*1}, 富山健一^{*2}, 河上強志^{*3}, 伊佐間和郎^{*3}

薬学雑誌, 130, 945-954 (2010)

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」で使用が禁止されているトリブチルスズ化合物 (TBT) 及びトリフェニルスズ化合物 (TPT) の公定分析法の改定法として、TBT 及び TPT を誘導体化 (水素誘導体化法とエチル誘導体化法) し、GC/MS で検出する方法を検討した。次に、①繊維製品、②水性製品 (水性塗料など)、③油性製品 (ワックスなど) ④接着剤と、分析対象品によって異なる前処理法を検討した。内部標準物質に各サロゲート物質 (TBT-d₂₇、TPT-d₁₅) を用いた添加回収実験を行い、良好な回収率 (TBT が 94.5～118.6%、TPT が 86.6～110.1%) が得られた。開発した分析法で、市販製品を分析したところ、1 製品 (接着剤) から、法規制基準値を超過する TBT が検出された。そこで、製造日の異なる同一製品を分析したところ、8 製品中 4 製品から規制基準超過の TBT (10.2～10.8 µg/g) が検出されると共に、高濃度の DBT が検出された。当該製品には、DBT の不純物である TBT が残存していたものと考えられた。本法は、現公定法の改定法として十分適用できるものと考えられる。

Analysis of Relation between an Intercellular Calcium and Cell Death Mechanism in RCR-1 Cells Exposed to Tributyltin Chloride

KI. TOMIYAMA^{*1,5}, T. KURIYAMA^{*2,5},
H. NAKASHIMA^{*3}, Y. OGAWA^{*4}
and Y. ARAKAWA^{*4,5}

Trace Nutrients Research, 27, 28-34 (2010)

トリブチル錫 (TBT) の脳内暴露に伴い嗅球や海馬において Ca²⁺が選択的に蓄積する。ラット脳由来アストロサイト細胞株 RCR-1 に TBT を暴露し、アポトーシスの指標として caspase-3 を、ネクローシスの指標として Propidium Iodide を測定した結果、caspase-3 の活性化を伴うアポトーシス誘導が確認された。次に、細胞内 Ca²⁺増加が細胞死誘導に関与しているか調べるために、細胞内変化を Fura2-AM で、Ca²⁺依存型アポトーシス因子として calpain の活性を解析したところ、Ca²⁺の増加に伴って calpain の活性増加が認められた。さらに、アポトーシスの誘導に関与しているミトコンドリア膜電位の変化と cytochrome c 遊離を観察した。その結果、ミトコンドリアの膜電位が経時的に低下し、それに伴う cytochrome c の遊離が確認された。従って、TBT による RCR-1 の細胞死は、細胞内 Ca²⁺の増加に伴うアポトーシス誘導とミトコンドリアによるアポトーシス誘導という少なくとも 2 つのメカニズムに誘導されることが示唆された。

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*2} 静岡県立大学

^{*3} 国立医薬品食品衛生研究所

Analytical Method for Tributyltin and Triphenyltin Contained in Household Products - Preparing for the Revision of Authorized Analytical Method -

^{*1} (独)国立精神・神経医療研究センター

^{*2} 東北生活文化大学

^{*3} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*4} (独)労働安全衛生総合研究所

^{*5} 静岡県立大学

ラット脳由来アストロサイト細胞株 RCR-1 を用いた TBT 暴露によって誘導される細胞内カルシウムと細胞死誘導メカニズムの解析

Mechanism Underlying Olfactory Disturbance Induced by
Intraperitoneal Injection of Tributyltin Chloride in Rat

KI. TOMIYAMA^{*1}, H. NAKASHIMA^{*2},
Y. ARAKAWA^{*3} and H. KUMAGAI^{*4}

Toxicology, 276, 110-114 (2010)

トリブチル錫 (TBT) 暴露による中枢神経障害の一つである嗅覚障害誘発メカニズムの一端を解明できた。ラットに 2.5 mg/kg の TBT を腹腔内投与し、嗅覚試験、嗅球での TBT 濃度測定および嗅球病理組織の検討を行った。嗅覚試験は、鼠類の忌避剤として用いられているシクロヘキシミド (CYH) 含有水を 0.1、1、10、100 ppm 濃度で調製し、これを用いてラットの臭い判断能力を観察した。TBT 暴露前には CYH 含有水の忌避率は 100%であったが 96 時間後には 0.1-10 ppm の間で忌避率が 50%まで低下し嗅覚能力が低下したと考えられた。また、GC/MS を用いたエチル誘導体化による TBT 分析によって、嗅球中 TBT 濃度は 24 時間で最大となり、以後速やかに減少することが確認された。嗅球組織では、TBT 暴露 24 時間および 96 時間の嗅球糸球体、僧帽細胞層、顆粒細胞層で細胞脱落を認め、その原因は TUNEL 染色によってアポトーシスであることが確認された。以上の結果から、TBT は体内に取り込まれると速やかに嗅球に移行し、嗅球組織内でアポトーシスを誘導し、その結果ラットは嗅覚異常に至ると考えられた。

病院の病理検査室におけるホルムアルデヒドばく露の
リスクアセスメントについて

甲田茂樹^{*1}, 熊谷信二^{*2}, 佐々木 毅^{*1}, 吉田 仁^{*2}

労働安全衛生研究, 3, 5-10 (2010)

病院の病理検査室で働く検査技師のホルムアルデヒドばく露を評価するために、勤務時間およびホルムアルデヒドを直接取り扱う作業におけるパッシブサンプラーを用いたばく露測定を実施した。二つの病院の病理検査室に勤務する 9 名の検査技師に協力していただき、勤務時間中のばく露測定を 30 事例、ホルムアルデヒドを直接取り扱う作業の短時間ばく露を 11 事例について実施し、一日の労働時間やホルムアルデヒドの高濃度ばく露が予想される作業でのばく露時間との関係を検討した。

病理検査室で働く検査技師の勤務時間中のホルムアルデヒドばく露測定を実施した結果、その三分の二で許容濃度の 0.1 ppm を超えていた。ホルムアルデヒドのばく露濃度は、ホルムアルデヒドを直接取り扱う作業の時間と有意な高い相関が認められ、さらに、その取り扱う作業時間が 1 時間を超える (60.0%) と、1 時間以下の場合 (6.7%) に比べて許容濃度の 0.1 ppm を超える比率が有意に高くなっていた。ホルムアルデヒドを直接取り扱う作業における短時間ばく露測定結果では、半数近くが日本産業衛生学会 (0.2 ppm) や ACGIH (0.3 ppm) の提案する天井値としてのばく露基準も超えていた。

病理検査室に勤務する検査技師のホルムアルデヒドばく露の低減対策を実施するためには、ホルムアルデヒドを直接取り扱う作業に関しては、局所排気装置を備えたドラフト内部で行うことを徹底することが必要であろう。

^{*1} (独)国立精神・神経医療研究センター

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*3} (独)労働安全衛生総合研究所

^{*4} 静岡県立大学

トリブチル錫腹腔内投与によるラット嗅覚障害発症メカニズムの解析

^{*1} 独立行政法人労働安全衛生総合研究所

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所

Risk Assessment for Formaldehyde Exposure among Medical Technicians
of Hospital Pathological Section

Analysis of Primary Aromatic Amines Originated from Azo
Dyes in Commercial Textile Products in Japan

T. KAWAKAMI^{*1}, K. ISAMA^{*1}, H. NAKASHIMA^{*2},
T. TSUCHIYA^{*1} and A. MATSUOKA^{*1}

J. Environ. Sci. Health PartA, **45**, 1281-1295 (2010)

EU 及び中国で規制されている繊維製品中に含有するアゾ染料由来の芳香族アミン類 24 種類並びに aniline および 1,4-phenylenediamine の計 26 種類について、分析法の検討と試買調査を行った。試買調査製品数は 86 製品、総検体数は 121 検体であった。その結果、21 種類のアミン類が検出限界値以上で 1 検体以上検出されたが、それらのほとんどは低濃度であった。しかし、インド製の綿製品 (ランチョンマット) の一部から EU の基準値 (30 µg/g) を超過した対象アミン類を検出した。基準値超過は、benzidine、3,3'-dimethoxybenzidine および 2,4-diaminotoluene であり、その濃度は 56.2~439 µg/g であった。また、基準値超過製品数は 7 製品、検体としては 8 検体であった。2 種類の前処理方法を 15 検体についてそれぞれ実施し比較したところ、両方で検出されるアミン類が異なる場合が認められ、綿とポリエステルなど材質の異なる繊維が混合され、それらが分離しにくい場合には両方の前処理方法を行い、それぞれ測定することが望ましいと考えられた。

^{*1} 国立医薬品食品衛生研究所

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所

繊維製品中に含有するアゾ染料由来の芳香族アミン類の分析

**BULLETIN OF
OSAKA PREFECTURAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH**

CONTENTS

— RESEARCH REPORTS —

West Nile Virus Surveillance in Osaka Prefecture (Fiscal 2010 Report)

I. AOYAMA, T. YUMISASHI, Y. KUMAI, K. KAKEHASHI, T. KATO, T. KURAMOCHI,
H. NISHIMURA, Y. NAKAJIMA, T. KASE and K. TAKAHASHI..... 1

Determination of Cyclamic acid in Processed foods Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

M. YAMAGUCHI, H. OBANA..... 7

Analysis of Patulin in Apple Juice (2006-2010)

Y. NAKAYAMA, N. NAKATSUJI, S. TAKATORI, M. OSAKADA, N. FUKUI,
Y. KITAGAWA, Y. KAKIMOTO-OKAMOTO, S. KAKIMOTO, S. TAGUCHI, and H. OBANA..... 11

Determination of Anthelmintic Drugs in Livestock Products by LC-MS/MS

K. KAKIMOTO, T. YAMAGUCHI, H. NAGAYOSHI, M. YAMAGUCHI and H. OBANA..... 15

Multiresidue Method for the Determination of Hormones in Livestock Products Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry

T. YAMAGUCHI, K. KAKIMOTO, H. NAGAYOSHI, M. YAMAGUCHI and H. OBANA..... 21

Survey of Environmental and Food Radioactivity in Osaka Prefecture (Fiscal 2010 Report)

E. AZUMA, T. HIZUKA, M. OHYAMA, M. MIMURA and S. ADACHI..... 24

Round-robin Test toward the Revision of Analytical Method for Tributyltin Compounds and Triphenyltin Compounds — Examination on the Analytical Results Obtained by Osaka Prefectural Institute of Public Health —

H. NAKASHIMA, J. YOSHIDA and F. OKAYAMA..... 31

Result of External Quality Control Program for Analysis of Drinking Water — Zinc —

F. ADACHI, H. TANAKA, S. ADACHI, R. UEDA, Y. INOUE and T. KURAMOCHI..... 39

Result of External Quality Control on the Analytical Measures for Tap Water in Osaka Prefecture — Total Solids (2009) —

H. TANAKA, F. ADACHI and S. ADACHI..... 45

Automated Determination of Free Residual Chlorine in Hot Spring Water

H. TANAKA, F. ADACHI, S. TAKAGI and A. EDAGAWA..... 53

Results of External Quality Control on the Analytical Measures for Tap Water in Osaka Prefecture

— cis-1,2-Dichloroethylene and trans-1,2-Dichloroethylene (2010) —

Y. KOIZUMI, K. MIYANO and S. ADACHI..... 61

— ABSTRACTS —

Development of loop-mediated isothermal amplification and PCR assays for rapid and simple detection of <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerealis</i> W. YAMAZAKI, M. TAGUCHI and N. MISAWA	73
A novel method for the purification of DNA by capturing nucleic acid and magnesium complexes on non-woven fabric filters under alkaline conditions for the gene diagnosis of tuberculosis by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) T. FUKASAWA, N. ODA, Y. WADA, A. TAMARU, Y. FUKUSHIMA, C. NAKAJIMA and Y. SUZUKI	73
Appearance and genetic diversity of El Tor <i>Vibrio cholerae</i> O1 that possess classical biotype <i>ctxB</i> among imported cases of cholera in Japan M. MORITA, M. OHNISHI, E. ARAKAWA, S. YAMAMOTO, G. B. NAIR, S. MATSUSHITA, K. YOKOYAMA, A. KAI, K. SETO, H. WATANABE and H. IZUMIYA	74
Diarrheagenic <i>Escherichia coli</i> (in Japanese) K. SETO	74
Isolation of VanA-type vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i> strains from domestic poultry products with enrichment by incubation in buffered peptone water at 42°C T. HARADA, M. KANKI, T. KAWAI, M. TAGUCHI, T. ASAO and Y. KUMEDA	75
Diagnostic test of pandemic influenza (in Japanese) T. KASE, S. MORIKAWA and S. HIROI	75
Evaluation of seasonal influenza vaccination effectiveness based on antibody efficacy among the institutionalized elderly in Japan M. HARA, K. TANAKA, T. KASE, A. MAEDA and Y. HIROTA	76
Interleukin-15 is critical in the pathogenesis of influenza A virus-induced acute lung injury R. NAKAMURA, N. MAEDA, K. SHIBATA, H. YAMADA, T. KASE and Y. YOSHIKAI	76
Adults who had hand, foot and mouth disease by infection with enterovirus 71 (in Japanese) K. YAMAZAKI and K. NAKATA	77
Rapid and Easy Multiresidue Method for Determination of Pesticide Residues in Foods Using Gas or Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry S. TAKATORI, M. OKIHASHI, Y. KITAGAWA, N. FUKUI, Y. KAKIMOTO-OKAMOTO and H. OBANA	77
Determination of Five Phthalate Monoesters in Human Urine Using Gas Chromatography–Mass Spectrometry F. KONDO, Y. IKAI, R. HAYASHI, M. OKUMURA, S. TAKATORI, H. NAKAZAWA, S. IZUMI and T. MAKINO	78
Preparation of Samples for Proficiency Testing of Pesticide Residue Analysis in Processed Foods M. OKIHASHI, M. OSAKADA, K. UCHIDA, H. NAGAYOSHI, T. YAMAGUCHI, K. KAKIMOTO, Y. NAKAYAMA and H. OBANA	78
Determination of Liothyronine and Levothyroxine in Dietary Supplements by HPLC Using a Pre-column Derivative Y. SAWABE, T. TAGAMI, K. YAMASAKI and S. TAGUCHI	79

Rapid Determination of Atropine and Scopolamine Content in Scopolia Extract Powder by HPLC Y. SAWABE , K. YAMASAKI, T. TAGAMI, M. KAWAGUCHI and S. TAGUCHI	79
Improvement of the Official Method to Analyze Organochlorine Pesticides in Glycyrrhizae Radix T. TAGAMI, K. KAJIMURA, C.NOMURA, K. YAMASAKI, Y. SAWABE, S. TAGUCHI and H. OBANA	80
Changes in Dissolution Behavior of Tocopherol Nicotinate Capsules during Storage (in Japanese) M. KAWAGUCHI, K. KAJIMURA and S. TAGUCHI	80
Reduction in Electric Consumption and Effect of Effluent Quality Using Intermittent Aeration at Nighttime on the Johkasou with a Low Load Condition (in Japanese) H.NAKANO, S.OKUMURA, R.YURI and T.INOUE	81
Maintenance Method and Water Quality of Effluent of Small Scale Johkasous (in Japanese) S. OKUMURA, R. YURI and T. INOUE	81
Estimation of Absorption of Aromatic Hydrocarbons Diffusing from Interior Materials in Automobile Cabins by Inhalation Toxicokinetic Analysis in Rats T. YOSHIDA	82
Estimation of α -Pinene Absorption in the Japanese Resident Based on Toxicokinetic Analysis in Rats by Inhalation Exposure T. YOSHIDA	82
Effects of Nitrous Acid Exposure on Pulmonary Tissues in Guinea Pigs M. OHYAMA, K. OKA, S. ADACHI and N. TAKENAKA	83
Association between Occupational Exposure Levels of Antineoplastic Drugs and Work Environment in Five Hospitals in Japan J. YOSHIDA, S. KODA, S. NISHIDA, T. YOSHIDA, K. MIYAJIMA and S. KUMAGAI	83
Analytical Method for Tributyltin and Triphenyltin Contained in Household Products — Preparing for the Revision of Authorized Analytical Method — (in Japanese) H. NAKASHIMA, KI.TOMIYAMA, T. KAWAKAMI and K. ISAMA	84
Analysis of Relation between an Intercellular Calcium and Cell Death Mechanism in RCR-1 Cells Exposed to Tributyltin Chloride KI. TOMIYAMA, T. KURIYAMA, H. NAKASHIMA, Y. OGAWA and Y. ARAKAWA	84
Mechanism Underlying Olfactory Disturbance Induced by Intraperitoneal Injection of Tributyltin Chloride in Rat KI. TOMIYAMA, H. NAKASHIMA, Y. ARAKAWA and H. KUMAGAI	85
Risk Assessment for Formaldehyde Exposure among Medical Technicians of Hospital Pathological Section (in Japanese) S. KODA, S. KUMAGAI, T. SASAKI and J. YOSHIDA	85
Analysis of Primary Aromatic Amines Originated from Azo Dyes in Commercial Textile Products in Japan T. KAWAKAMI, K. ISAMA, H. NAKASHIMA, T. TSUCHIYA and A. MATSUOKA	86

大阪府立公衆衛生研究所 研究報告
第49号

発行年月日	平成23年10月
編集兼	大阪府立公衆衛生研究所
発行者	所長 山本容正
〒537-0025	大阪市東成区中道1丁目3番69号
	TEL 06-6972-1321(代)
	FAX 06-6972-2393