

ISSN 0386-3476

h381e

平成 3 年度
愛媛県立衛生研究所年報

第 53 号



Annual Report
of
Ehime Prefectural Institute of Public Health

愛媛県立衛生研究所

目 次

I 研究報告

腸管出血性大腸菌 (O157:H7) による下痢症例	1
鼻咽頭粘液からの百日咳検索	5
ウエルシュ菌による食中毒事例	9
愛媛県南予地方におけるHTLV-1母子感染調査について	13
小児における腸管アデノウイルス胃腸炎の疫学的研究	17
愛媛県におけるMMRワクチン接種後の無菌性髄膜炎の発生について	23
愛媛県における骨髄移植の現況	27
マスキングにおける先天性代謝異常症の集団遺伝子頻度の検討	31
環境中の微量金属と食品中の含量に関する基礎的研究(第二報)	37
松山平野における温泉の化学的及び地球化学的研究	43
愛媛県下の塩類泉の化学組成について	49
温泉水中微量金属元素の濃縮法に関する研究	53
生鮮野菜等に使用されるリン酸分析法と経時変化	61

II 資 料

平成3年度法定伝染病および食中毒事例報告	65
平成3年度食品の細菌検査成績	66
平成3年度伝染病流行予測調査	67
愛媛県感染症サーベイランス事業調査成績	69
平成3年度先天性代謝異常検査成績	74
平成3年度神経芽細胞腫検査成績	75
平成3年度し尿処理場放流水基準試験結果について	76
平成3年度愛媛県産野菜・果実等の残留農薬分析調査成績	78
平成3年度食品添加物使用実態調査	79
平成元年度～3年度医薬品の品質調査	80
平成3年度有害物質を含有する家庭用品の調査	81
平成3年度温泉分析成績	82
平成3年度松くい虫防除薬剤空中散布に伴う調査について	84
平成3年度理化学試験精度管理実施結果	85

III 抄 録

他誌発表論文	87
学会発表	88

IV 第6回公衆衛生技術研究会(抄録)

V 業務成績

1 機構および業務概要	99
2 微生物病理部の概要	103
3 衛生試験部の概要	104

VI 技術研修指導, 研究発表の状況

腸管出血性大腸菌(O157:H7)による下痢症例

菅 成器 吉田紀美 齊藤 健* 森 正俊 井上博雄

Case Reports of Diarrhea with Enterohemorrhagic Escherichia coli(O157:H7)

Naruki KAN, Kimi YOSHIDA, Tsuyoshi SAITO*, Masatoshi MORI, Hiroo INOUE

Three cases of gastrointestinal infection with Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) are reported.

The strains isolated from 3 cases were identified by cytopathic assay and polymerase chain reaction assay. And all 3 strains were produced cytotoxin (Vero toxin:VT); 2 strains produced VT1 and VT2, 1 strain produced only VT1.

On the other hand, 129 stools obtained from children with diarrhea were tested for isolation of bacteria as enteropathogens. As the results, bacteria as enteropathogens were isolated from 42 samples (32.6%), and 1 strain out of all isolated strains was identified as EHEC O157:H7.

Key words: Enterohemorrhagic Escherichia coli, polymerase chain reaction, Vero toxin, diarrheal stool

はじめに

腸管出血性大腸菌(以下、EHEC)は、これまでに知られている腸管毒素原性大腸菌(ETEC)とは異なり、強い腹痛を伴った血性下痢を起こし、時には溶血性尿毒症症候群(HUS)を併発し、小児や老人では死亡することもある危険な病原菌である。

EHECは志賀赤痢菌が産生する志賀毒素に免疫学的、生物学的活性において類似した蛋白毒素(shiga-like toxinもしくはverotoxin:以下、VT)を産生することにより病原性を発すると考えられている¹⁾。

我々はEHECによる感染症例を経験し、毒素検出を遺伝子増幅法(以下、PCR法)を用いて実施したのでその概要と、当所で実施した小児科領域における下痢便の細菌検査結果について報告する。

材料および方法

1 材料

○松山市において、血性下痢症状を訴えた患者より分離されEHECを疑われた菌株 3株

○平成3年7月から11月の間に、当所に検査依頼のあった小児科領域の下痢便 129件

2 方法

図1に当所におけるEHEC検査法を示した。EHECを疑われた菌株は、Vero細胞を用いた細胞変性試験²⁾とヒト下痢症由来のEHECが主として産生するVT1とVT2それぞれの毒素遺伝子に対するプライマーを用いたPCR法³⁾を併用して、VTの検索を実施した。

症例概要

〔症例1 5歳11カ月、女児〕

平成2年11月30日、ネフローゼ症候群にて入院中に発症。主症状は腹痛・下痢。腹痛は10日間続き、下痢は最高14回/日であった。便性状は褐色の血便で、出血性大腸炎と診断された。発症時に採取された便より下痢原性大腸菌O157:H7を検出した。

表 1 3 症例の臨床検査成績

症例 No	症例 1					症例 2			症例 3		
	H2.11.30	H2.12.1	H2.12.3	H2.12.5	H2.12.7	H3.10.20	H3.10.22	H3.10.25	H3.11.18	H3.11.22	H3.11.27
白血球数 (×10 ³ /mm ³)	18.0	15.4	17.0	12.1	10.9	11.6	15.6	11.8	6.4	4.2	5.3
ヘモグロビン濃度 (g/dl)	16.0	15.9	15.8	14.1	14.3	13.7	12.8	13.1		12.5	13.9
血小板数 (×10 ³ /mm ³)	23.4	20.2	15.3	17.3	19.2	28.7	31.1	44.7			30.0
CRP (mg/dl)	(-) *	(+) *	0.29	< 0.25	< 0.25	(-) *	(-) *	0.3			(-) *
総ビリルビン濃度 (mg/dl)	0.8	0.4		0.4	0.5						
LDH (IU/l)	232		188	186	209		473				
BUN (mg/dl)	19		7	6	6	12.3	1.4	5.3			8.2

* : 定性法により実施

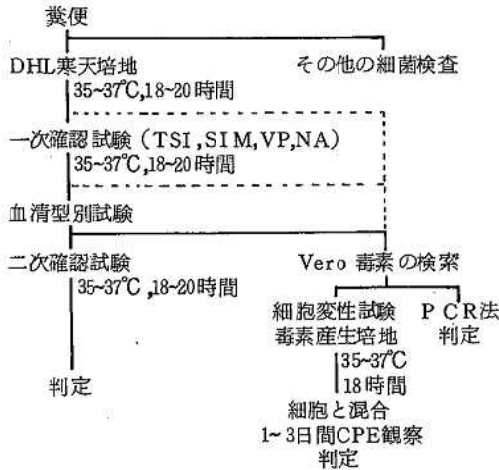


図 1 糞便からのEHEC検査法

表 2 EHEC O157:H7の生化学的性状
(坂崎利一, 田村一満:メディアサークル, 30:325-335, 1985)

テスト (基質)	反 応
インドール	+
Voges-Proskauer	-
クエン酸 (Simmons)	-
硫化水素 (TSI)	-
ウレアーゼ	-
マロン酸	-
フェニルアラニンデアミナーゼ	+
リジンデカルボキシラーゼ	+
アルギニンジヒドロラーゼ	(+)
オルニチンデカルボキシラーゼ	+
ゼラチン	-
KCN	-
炭水化物:	
ブドウ糖, ガス	+
乳糖	+
白糖	+
アラビノース	+
麦芽糖	+
ラフィノース	+
ラムノース	+
キシロース	+
トレハロース	+
アドニット	-
ズルシット	+
マンニット	+
ソルビット	- または (+)
イノシット	-
サリシン	-

+ : 1-2日で陽性, (+) : 遅れて陽性, - : 陰性

〔症例2 2歳5カ月, 男児〕

平成3年10月20日, 血性下痢を訴えて松山市内の病院を受診したところ, 出血性大腸炎と診断され, 同日入院。主症状は発熱 (最高38.6度)・下痢。発熱は3日間, 下痢は5日間続き, 最高28回/日であった。便性状はゼリー様の鮮血便で, 発症時に採取された便より下痢原性大腸菌O157:H7を検出した。

〔症例3 11歳11カ月, 女児〕

平成3年11月14日発症。翌日, 血性下痢を訴えて松山市内の小児科を受診したところ大腸炎と診断され, 同日入院。主症状は下痢で4日間続いたが, 回数は最高2回/日であった。便性状は暗褐色の血便で, 受診時に採取された便を当所において検査したところ, 下痢原性大腸菌O157:H7を検出した。

表1に各病院において実施された3症例の臨床検査成績を示した。症例1・2において白血球数の増多がみられたほかは貧血症状や腎障害はみられなかった。また, 神経症状もみられず, いずれの症例も化学療法により回復した。

結 果

表2にEHEC O157:H7の生化学的性状¹⁾を示した。3症例より分離された菌株は, 一次確認試験では大腸菌の性状を示し, 抗血清による凝集試験では, O157:H7と同定された。また, 同定キットを用いた二次確認試験ではいずれもソルビット非分解性であった。さらにVTの検索を行ったところ, Vero細胞変性試験では3株とも細胞変性効果 (以下, CPE) が認められ, PCR法では症例1と2の株はVT1+VT2産生型, 症例3の株はVT1産生型であった。

当所における小児科領域下痢便の細菌検査では, 実施検体数129検体のうち42検体 (32.6%)から病原細菌を検出し, その内訳は表3のとおりであった。分離されたE. coli 20株のうちO血清型でEHECを疑った菌株6株についてVero細胞変性試験とPCR法を実施したところ, CPEおよび毒素遺伝子を認めたものは症例3の1株のみであった。

表3 小児科領域における下痢便の細菌検査状況
平成3年7月～11月

検査実施検体数	129
細菌検出検体数	42 (32.6%)
内訳(混合感染を含む)：	
Escherichia coli	20 (15.5%)
Campylobacter sp.	19 (14.7%)
Pseudomonas sp.	11 (8.5%)
Salmonella sp.	7 (5.4%)
Staphylococcus aureus	6 (4.7%)

考 察

EHECによる感染症は1982年にアメリカで初めて報告⁵⁾されて以来、数多くの研究者によってその性状が報告されている。しかし、その汚染実態や発症機序等は、EHECの検査方法が一般に普及していないことから、いまだ不明確な点が多い。これまでの報告によると、我国で分離されているEHEC O157:H7は37°C、一夜培養でソルビットを発酵しない(表2)ことで他のE. coliと区別することができる。この特徴を利用し、DHL寒天培地やマッコンキー寒天培地の乳糖をソルビットに置き換えた培地を使用し検索することが可能である。しかし、この方法はO157:H7のみ有効で、それ以外のEHEC血清型には利用できないとされている⁶⁾。今回はこのような培地についての検討はしていないが、日常検査において使用すれば効率良くこの菌が分離できると考えられる。

EHECの決定にはVTの証明が不可欠である。今

回の症例では、VTの検索に細胞変性試験とPCR法を併用した。VTはファージによって介達される毒素遺伝子によって産生される。したがって、毒素遺伝子を検出することにより毒素産生性がより正確にかつ迅速に確認できると考えられている³⁾。今回は両法の結果が一致し、PCR法は細胞変性試験に比べ2～3日の時間短縮ができ、日常検査においても迅速診断に役立つものと考えられた。

ま と め

- 1) 我々は3例のEHEC感染症を経験し、細胞変性試験およびPCR法によって同定することができた。
- 2) 当所において小児科領域における下痢便の細菌検査を実施した結果、実施検体数129検体のうち42検体(32.6%)から病原細菌を検出し、うち1株をEHEC O157:H7と同定した。
- 3) PCR法はEHEC感染症の迅速診断に役立つものと考えられた。

文 献

- 1) 甲斐明美ほか：臨床と微生物, **18**:493-498, 1991.
- 2) 日本細菌学会教育委員会編：細菌学技術叢書1, 1981.
- 3) 小林一寛：臨床と微生物, **18**:507-513, 1991.
- 4) 坂崎利一ほか：メディアサークル, **30**:325-329, 1985.
- 5) Riley, L. W. et al.: N. Engl. J. Med., **308**:681-685, 1983.
- 6) 小林一寛：投稿中

鼻咽頭粘液からの百日咳検索

斉藤 健* 菅 成器 吉田紀美 井上博雄

Epidemiological Study of *Bordetella pertussis* detected from Nasopharyngeal Swabs in Ehime

Tsuyoshi SAITO*, Naruki KAN, Kimi YOSHIDA, Hiroo INOUE

Epidemiological study of *Bordetella pertussis* was performed in Ehime Prefecture during the period from September 1988 to March 1990.

A total 219 nasopharyngeal swabs were obtained from pertussis patients in 11 children hospitals.

As the results, *Bordetella pertussis* was detected in 18 samples (8.2%) out of 59 isolated strains. On the other hand, *Branhamella catarrhalis* was detected in 18 samples (8.2%).

Out of 18 patients detected *Bordetella pertussis*, 14 patients were under 2 years old, 17 patients were not inoculated diphtheria-pertussis-tetanus (DPT) vaccine, and 9 patients were leukocytosis (20,000~30,000/mm³).

Key words: *Bordetella pertussis*, nasopharyngeal swabs, DPT vaccine

はじめに

百日咳は咳を主症状とする呼吸器疾患で、乳幼児に多くみられる。1975年度はワクチン接種の一時中止などによって患者が全国的に増加した。その後、新ワクチンの開発、予防接種の対策などによって患者が年々減少している。

当所では、1988年度から厚生省の研究班『百日咳の疫学およびワクチンの有効性の評価に関する研究(班長:東海大学医学部小児科 木村三生夫教授)』の一員になったのを機に、臨床診断が主になっている愛媛県内の百日咳について、菌検出状況を把握することにした。調査は愛媛県医師会小児科医の協力を得て、1988年9月から1990年3月まで、百日咳様患者の鼻咽頭粘液を検査材料として検索し、併せて愛媛県内における百日咳患者の状況についても報告する。

材料と方法

1 材料

1988年9月から1990年3月までの間、県内11カ所においてトランスワブネーザルを用い、検体の鼻咽頭粘液を採取した。

2 資料

1988年度から1990年度の伝染病流行予測調査(厚生省)、1981年度から1990年度の結核・感染症サーベイランス事業(愛媛県保健環境部)の報告書と、1981年度から1990年度の衛生統計年報(愛媛県保健環境部)を用いた。

3 方法

百日咳菌の分離はボルデー・ジャング培地、セファレキシム含有シクロデキストリン固形培地^{1,2)}を用い、他菌種の分離は血液寒天培地、チョコレート寒天培地を用いた。百日咳菌の同定は、深見の方法³⁾により実施した。

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

*現愛媛県西条中央保健所

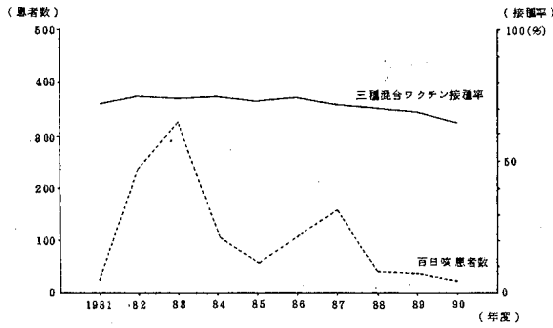


図1 百日咳患者数および予防接種率の推移

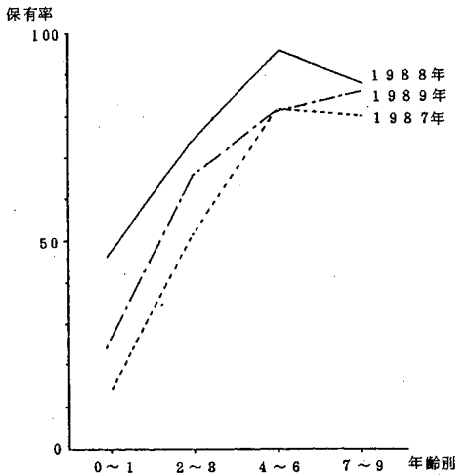


図2 LPF-HAにおける年次別抗体保有状況

結果および考察

1 愛媛県内における百日咳患者の発生状況

愛媛県における百日咳患者の発生状況について、県が実施している結核・感染症サーベイランス事業の46定点医からの報告をもとに1981年度から1990年度までを図1に示した。

百日咳患者の報告例は他の疾患に比べ非常に少なく、地域集積性もなかった。年齢別では、2才以下のワクチン未接種者に多くみられた。衛生統計年報を参考に三種混合ワクチン(*Corynebacterium diphtheriae*, *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*:DP Tワクチン)の接種率を出生数から見ると、平均66%で、年々わずかながら減少がみられ、特に1期3回目の接種が低率であった。

図2には、厚生省流行予測事業で実施している百日咳ワクチンの主成分であるLPF-HA(リンパ球増多因子)のELISA抗体価を示した。LPF-HAは、2~3才で高い抗体上昇がみられた。現在、抗体の感染防御水準はまだ確認されていないが、木村らの調査研究⁴⁾

表1 検査依頼者の臨床所見(n=219)

項目	患者数	
年齢	1才以下	73 (33.3)
	1~2才	96 (43.8)
	2才以上	48 (21.9)
	不明	2
ワクチン接種歴	有	27 (12.3)
	無	170 (77.7)
	不明	22
症状	定期的痙咳発作	208
	夜間の咳	204
	嘔吐	132
	チアノーゼ	32
	呼吸障害	16
	百日咳顔貌	12
咳の期間	5日以内	69 (31.5)
	6日~20日	96 (43.9)
	21日以上	22 (10.0)
	不明	32
白血球数(/mm ³)	1~2万	52 (23.7)
	2~3万	25 (11.4)
	不明	152
男 : 女 121 : 98		
() : %		

表2 菌検出状況(n=219)

菌種	検出数	検出率(%)
百日咳菌	18*	8.2
ブランハメラ菌	18	8.2
肺炎球菌	8	3.7
インフルエンザ菌	6	2.7
気管支敗血症菌	6	2.7
溶連菌	3	1.4
計	59	26.9

*菌型 1, 3, 6型 18株

によって明らかになりつつある。

2 百日咳菌検査の状況

今回実施した百日咳菌検査は、1988年9月から1990年3月までの間、県内39カ所の小児科医に検体採取依頼を行い、11カ所から219名の鼻咽頭粘液を得た。特に、臨床診断例に比べ菌検出例が少ないため、常在菌の多い鼻咽頭粘液を検査材料とした。

表1には、検査を実施した百日咳患者の臨床所見を示した。患者219名のうち169名(77.2%)は2才以下であり、170名(77.6%)は予防接種歴がなかった。症状では、咳を主症とする定期的痙咳発作、夜間の咳がほとんどの患者に認められ、咳の期間を平均すると約11日であった。

表2には、菌検出状況を示した。常法で用いられるボルデー・ジャング培地と製作後長期間使用が可能なセファレキシン含有シクロデキストリン固形培地(CSM培地)を分離培地として用い、性状および免疫血清による凝集反応の結果から百日咳菌と同定した。さらに、菌型の同定を国立予防衛生研究所に依頼した。他

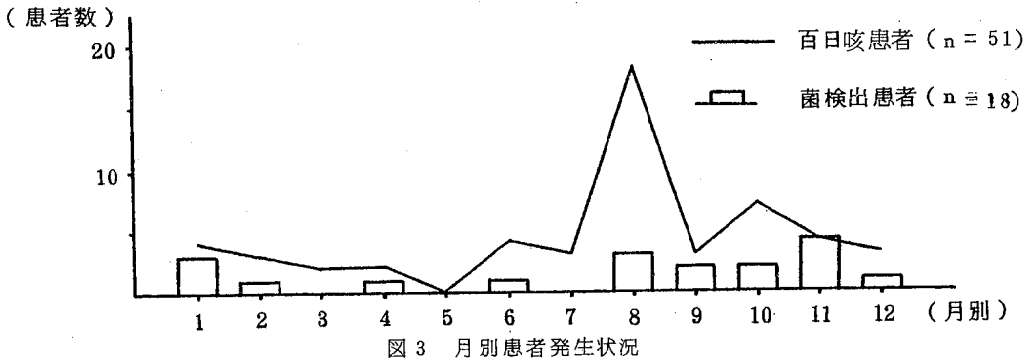


図3 月別患者発生状況

表3 百日咳菌検出患者の臨床所見

項目	(n=18)	
年齢	1才以下	6
	1~2才	8
	2才以上	4
ワクチン接種歴	有	1
	無	17
発症から設定まで	1週間以内	1
	1~2週間	15
	2~3週間	2
症状	定期的痙攣発作	17
	夜間の咳	13
	嘔吐	12
	呼吸障害	1
	チアノーゼ	1
	百日咳顔貌	1
咳の期間	5日以内	1
	5日~20日	10
	20日以上	6
	不明	1
白血球数 (✓/mm ³)	1~2万	6
	2~3万	9
	不明	3
男 : 女 10 : 8		

百日咳菌の検出された18名の患者について、表3に臨床所見を示した。18名中14名は2才以下で、ワクチン歴についても17名に認められなかった。症状では、定期的痙攣発作が17名に、夜間の咳が13名に認められた。咳の期間は5日から40日間みられ、平均すると14日であった。さらに、咳などの症状から百日咳として診断されるまでを調査してみると、7日から10日目の患者が多くみられた。また、9名では2~3万/mm³の白血球増多・リンパ球比率の増加がみられた。

まとめ

- 1 結核・感染症サーベイランス事業による百日咳患者は、近年減少傾向にあり、2才以下のワクチン未接種者に多くみられた。
- 2 患者の鼻咽頭粘液から百日咳菌の分離を実施したところ、219名中18名(8.2%)から検出され、菌型は1.3.6型であった。
- 3 調査期間中の定点医からの報告と百日咳菌検査では、8月から11月にかけて患者が多く、同様の結果であった。

本論文の要旨は、第65回日本感染症学会総会(大阪、平成3年4月)において発表した。

文献

- 1) IMAIZUMI A. et al: J. Clin. Microbiol., **17**, 781~786 (1983)
- 2) AOYAMA T. et al: J. Clin. Microbiol., **23**, 1046~1048 (1986)
- 3) 深見トシエ: 検査と技術, **11**, 815~818 (1983)
- 4) Mikio KIMURA: Develop. Biol. Standard., **73**, 5~9 (1991)
- 5) 永武毅ら: 医学のあゆみ, **131**, 823~826 (1984)
- 6) 永武毅: 感染症学雑誌, **62**, 97~107 (1988)

の菌種は、血液寒天培地およびチョコレート寒天培地を分離に併用し、菌種を同定した。検査では219名のうち59名(26.9%)から菌の検出ができ、複数菌の検出はみられなかった。菌種別では、百日咳菌が18名(8.2%)から検出でき、菌型はすべて1.3.6型の流行株であった。また、ブランハメラ菌は百日咳菌と同じ頻度で検出され、永武ら^{5,6)}同様、広く侵淫していることがわかった。

図3に、調査期間中に定点医から報告のあった百日咳患者51名を折れ線グラフに、鼻咽頭粘液から検出された18名を棒グラフにし、月別患者発生状況を示した。定点患者は8月に18名と最も多く、菌検出患者も8月から11月に11名と多くなっており、同様の結果が得られた。また、百日咳患者は夏から秋にかけて流行がみられるが、1月においても菌の検出がみられた。

ウェルシュ菌による食中毒事例

吉田紀美 菅 成器 斉藤 健*1 森 正俊 井上博雄 清水 浩*2 明禮福男*2

A Case Report of Food-Poisoning Caused by *Clostridium perfringens*

Kimi YOSHIDA, Naruki KAN, Tsuyoshi SAITO *1, Masatoshi MORI,
Hiroo INOUE, Hiroshi SHIMIZU *2, Fukuo MYOUREI *2

A large scale food-poisoning occurred in December 1991 in M-town, Ehime Prefecture, which involved 826 patients (59.3%) out of 1,392 students and teachers who had eaten the school lunch prepared in a central kitchen.

It was concluded that the food-poisoning was caused by heat-resistant *Clostridium perfringens* (C.p.) which was contained in some food by the following reasons:

1. In the bacteriological investigation of feces, enterotoxin-producing C.p. (Hobbs 5) were isolated from 57 out of 157 patients.
2. Enterotoxin of C.p. was directly detected from 69 out of 157 feces of patients.

It was noted that the main symptoms were nausea (74.2%) and vomiting (70.5%), but diarrhea, the characteristic symptom of gastroenteritis by C.p., was associated with 24.9% of the patients.

And one patient still excreted the spore of C.p. (Hobbs 5) for 30 days after onset of the illness.

Key words: Food-poisoning, *Clostridium perfringens*, School Lunch

はじめに

平成3年度全国食中毒発生状況¹⁾によると、本年は学校給食施設での食中毒事件が多発し、また、病因物質からみると、ウェルシュ菌による大規模な食中毒が多発した年であった。

愛媛県においても、1991年12月、M町の小中学校において、学校給食を原因としたウェルシュ菌による食中毒が発生した。これは、県内において近年になく大規模な事例であったので、その概要を報告する。

発生状況

1 概要

12月12日午前9時、M町立M小学校長から所轄の八幡浜中央保健所へ、同校の生徒約300数名が嘔吐、嘔気などの食中毒様症状を訴えているとの届け出があり、調査が開始された。

本事例の概要を表1に示した。

患者は、M町立の全小・中学校（中学校1校、小学校5校）の児童生徒および教職員1,392名のうち826名にのぼり、その発症率は、53.9%であった。発症時間は、11日午後から13日0時前後であり、糞便の菌検査の結果、ウェルシュ菌による食中毒と断定された。

原因食は、上記6校の昼食を共同調理しているM町立学校給食センターの給食とみられたが、原因食並び

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

*1 現愛媛県西条中央保健所

*2 愛媛県八幡浜中央保健所

表1 Clostridium perfringens 食中毒の概要

発生年月日	1991. 12. 11 ~ 13
発生場所	愛媛県M町立小・中学校6校
喫食者数	児童生徒 1,285 教職員 107 計 1,392
患者数	児童生徒 801 教職員 25 計 826
発病率	59.3%
原因食品	学校給食
原因菌	Clostridium perfringens Hobbs 5型

表2 児童生徒の患者発生状況

	M中	M小	N小	SY小	K小	SI小	計
喫食者数	500	355	196	89	99	46	1,285
患者数	344	176	127	41	67	46	801
発病率(%)	68.8	49.6	64.8	46.7	67.7	100	62.3

に材料の特定はできなかった。

この給食センターは、約1カ月間の営業停止ののち、営業を再開した。

2 患者発生状況

各学校別児童生徒の患者数および発病率を比較し、表2に示した。患者数は児童生徒数1,285名中801名であったが、発病率はSY小学校、46.7%からSI小学校100%まで様々で、平均すると62.3%であった。これに対して、教職員の患者数および発病率は107名中25名、23.4%で、発病率は児童生徒の方が高かった。

3 発症時間

発症時間の分布を図1に示した。

患者826名のうち、発症時間不明の175名を除いた651名について聞き取り調査を行ったところ、早い者で11日14時前後から遅い者で13日0時前後まで長時間にわたっていたが、そのピークは11日20時前後と12日7時前後であった。

4 臨床症状

患者の主な症状を表3に示した。

主症状は嘔気、嘔吐で、それぞれ74.2%、70.5%の患者にみられた。次いで、半数以上の患者が腹痛、発熱、頭痛を訴えたが、下痢は24.9%にとどまった。なお、下痢便の性状は大半が水様便であった。

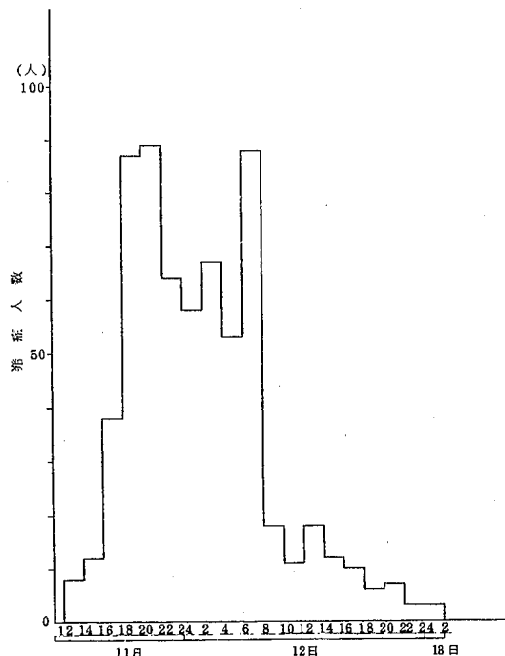


図1 発症時間の分布

表3 患者(児童生徒)の臨床症状(n=826)

嘔気	613 (74.2%)
嘔吐	582 (70.5%)
腹痛	485 (58.7%)
発熱(37度以上)	442 (53.5%)
頭痛	430 (52.1%)
悪寒・戦慄	395 (47.8%)
倦怠感	377 (45.6%)
下痢	206 (24.9%)
水様便	167*
粘血便	39*

* : 再掲

材料と方法

当所と八幡浜中央保健所において、常法²⁾に従い、伝染病・食中毒起因菌の検索を行った。特にウェルシュ菌の検査フロー²⁾を図2に示した。患者便および給食従事者の便157検体と9日・10日・11日の検食(表4)並びに食品材料、飲料水を被検材料とした。また、これと同時に、糞便および食品から黄色ブドウ球菌、ウェルシュ菌、毒素原性大腸菌、セレウス菌の毒素について、直接検出を試みた。これらの毒素の検出にはデンカ生研製の逆受身ラテックス凝集反応キットを用いた。さらに、一部の糞便については電子顕微鏡によるウイルス検索も実施した。なお、給食センター調理従事者については、さらに10日後、30日後の糞便検査

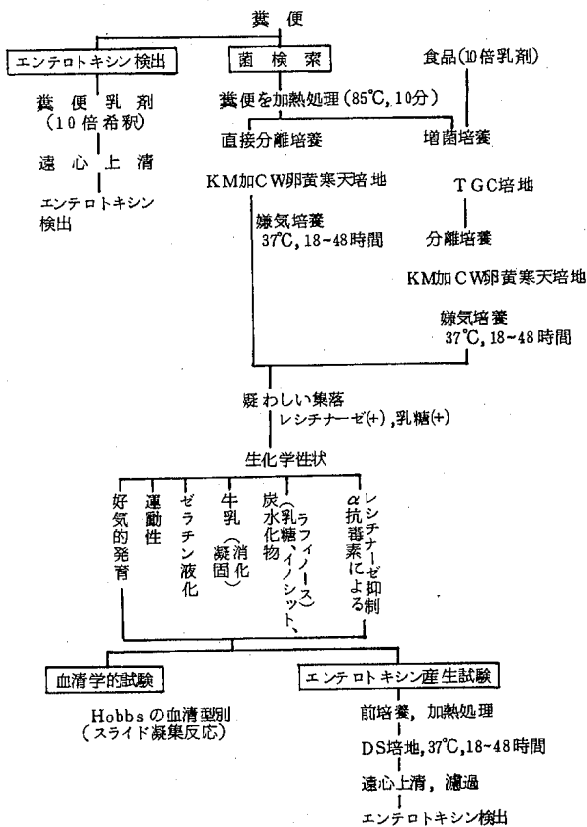


図2 患者糞便および食品からのウェルシュ菌およびエンテロトキシン検査フロー

を実施した。

検査結果

患者糞便のウェルシュ菌検査結果を表5に示した。糞便157検体中69検体(43.9%)から、直接ウェルシュ菌エンテロトキシンを検出した。また、加熱糞便を培養したところ、57検体(36.3%)からウェルシュ菌Hobbs 5型を検出したが、その他の病原細菌は検出されなかった。さらに、検食、食品材料および飲料水からは、ウェルシュ菌を含め病原細菌は検出されなかった。なお、糞便より分離されたウェルシュ菌は、すべてエンテロトキシン産生性であった。

一方、糞便からのウイルス検査の結果、9名中2名から小球形ウイルスを、1名からロタウイルスを検出したが、特定には至らなかった。

また、事件発生から10日後に実施した給食従事者の糞便検査の結果、11名中6名よりウェルシュ菌Hobbs 5型が検出され、さらに30日後の検査では、6名中1名より同菌が検出された。

表4 給食の献立

日付	献立
12月9日(月)	牛乳 切り干し大根の卵とじ チクワの磯辺揚げ けんちん汁
12月10日(火)	黒糖パン 牛乳 オムレツ フレンチサラダ 豚肉とタマネギの炒め煮
12月11日(水)	ゆかりご飯 牛乳 イカ天 ピーナッツ和え おでん

表5 糞便のウェルシュ菌検査結果 (n=157)

項目	検出数 (%)
ウェルシュ菌 (Hobbs 5型)	57 (36.3)
ウェルシュ菌 エンテロトキシン	69 (43.9)

考察

M町は、愛媛県西南部に位置する人口1万人余りの農漁業中心の町である。同町内には、小中学校6校(小学校5校、中学校1校)があり、児童生徒、教職員の給食は、町立学校給食センターにて約1,400食が一括調製され、2台のトラックで各学校へ配送されている。なお、この給食センターは、昭和41年に設置されて以来業務を行っており、同センターの職員のうち給食調製に携わっている9名については、毎月法定伝染病菌の検便を実施している。

本事例においては、喫食者1,392名中826名(53.9%)が発症したが、そのうち児童生徒と教職員の発症率を比較してみると、児童生徒62.3%に比べ教職員23.4%と児童生徒の発症率の方が高い値を示した。これは、小児の本菌に対する感受性が高いためと思われる。

次に、6校の学校別発症率をみると46.7%から100%と様々みられたが、発症経路との関連はみられなかった。

発症時間でみると、11日20時前後から12日7時前後に症状を訴えるものが多かったが、臨床症状が軽度の嘔気・嘔吐が主であったことから、起床時に症状を

訴えたものと思われる。一般に、ウェルシュ菌による食中毒では、その腸管内で産生されるエンテロトキシンの作用による下痢・腹痛を主症状とする³⁾が、本事例においては、下痢は24.9%にとどまり、70%以上の者に嘔気・嘔吐をみる特異的な症状を示していた。このような事例としては、1970年、岐阜県大垣市で発生した食中毒⁴⁾で、嘔気が患者の33%にみられたという報告もあるが、本事例はそれよりもかなり高い値を示していた。

細菌検査の結果、加熱糞便からのウェルシュ菌 Hobbs 5型検出率は、36.3%であった。伊藤ら⁵⁾によると、集団発生の場合、同一血清型ウェルシュ菌が患者糞便から80%以上検出されるということであるが、本事例においては、分離率が低かった。それに比べ、糞便上清から、直接エンテロトキシンを検出した例が43.9%であり、特に菌が検出されなかった100例のうち45例についてエンテロトキシンを検出した。このことから、糞便上清からのエンテロトキシン検査について、その迅速性および有効性を再認識した。

また、給食センターの職員の中にも、同様な症状を呈した者があった。このため、同センターの業務再開前(事件発生後10日目)に職員の検便が行われた。その結果、症状は全快していた11名のうち6名より依然ウェルシュ菌(Hobbs 5型)が排菌されており、再度の服薬が指導された。この後、学校の冬休み期間を挟んでさらに20日経過した時点で、この6名の検便を実施したところ、1名から依然同菌が検出された。斉藤ら⁶⁾は、ウェルシュ菌は罹患後少なくとも1カ月間は、芽胞の形で排菌するという報告をしているが、本事例においても、1名の患者について30日後もなお排菌がみられたことから、食品への汚染源となりうると考えられる。

次に、食品検査を実施したところ、増菌培養を併用したにもかかわらずウェルシュ菌は検出されなかった。その原因として検食の採取・保存の方法が考えられる。

通常、検食は、釜および容器ごとに給食の表面を30g程度アルミ容器に採取し、直ちに4℃前後の冷蔵庫で保管される。ところが、ウェルシュ菌は温度の急激な低下で死滅する性質がある⁷⁾ことから、この採取・保存方法によってウェルシュ菌の死滅が助長されたものと思われる。また、学校給食の場合、仕出し弁当等に比べ給食後の残品が保存されないため、食品からの菌分離がなお一層困難になると思われる。

最後に、本事例は近年になく大規模であっただけでなく、1町6小中学校の児童生徒全員を巻き込み、社会的不安を募らせる事例となった。幸い、その症状が軽度であり、患者は1～2日のうちに回復した。それに加えて、県や町など関係機関の迅速な対応が功を奏し、早期解決につながったものと思われる。今後さらに、学校給食施設を含め、大量調理の事業所に対し、ウェルシュ菌の特長を踏まえた食品の衛生管理、衛生教育の徹底が望まれる。

まとめ

- 1 本事例は臨床症状が特異的で、嘔気・嘔吐が主であった。
- 2 ウェルシュ菌検索において、糞便上清からのエンテロトキシン検出が迅速かつ有効であった。
- 3 本事例では、給食従事者11名のうち1名の糞便から、30日後もなお同型のウェルシュ菌が検出された。

文献

- 1 宮川昭二ら：食品衛生研究, **42**, 78~104 (1992)
- 2 金井興美ら：微生物検査必携, 細菌・真菌検査, D-14-E-19, 日本公衆衛生協会 (1987)
- 3 坂崎利一ら：食中毒Ⅱ, 289, 中央法規出版 (1983)
- 4 杉谷 哲ら：食衛誌, **16**, 424~430 (1970)
- 5 坂崎利一ら：食中毒Ⅱ, 307, 中央法規出版 (1983)
- 6 斉藤 眞：感染症誌, **65**, 571~576 (1991)
- 7 稲葉美佐子ら：東京都衛研年報, **33**, 143 (1982)

愛媛県南予地方におけるHTLV-1母子感染調査について

森 正俊 高見俊才* 藤原郁子 木下幸正 坂本尚穂 井上博雄

Study on Maternal Transmission of HTLV-1 infection in Nanyo District, Ehime Prefecture

Masatoshi MORI, Shunsai TAKAMI, Ikuko FUJIWARA, Kosei KINOSHITA,
Hisaho SAKAMOTO, Hiroo INOUE.

With a view to prevention of maternal transmission of HTLV-1 infection, the survey of HTLV-1 seropositivity of pregnant women have been done in Nanyo district of Ehime prefecture.

After seropositive mothers' delivery, HTLV-1 antigen and/or antibody were tested in cord bloods, new-born bloods, breast-milk and bloods of the babies followed up.

As the result of the survey from 1986 to 1991, 123 carriers (2.1%) out of 5773 pregnant women were found.

In the same area and same aged women in 1976, 3.7% (11/298) of the seropositives were found.

Further more 7 carriers (0.5%) out of 1271 pregnant women were found in non-endemic area in the same district.

The rate of HTLV-1 antigen positive cells was 77.7% (66/86) in carriers' breast-milk, whereas antibody negative rate in carriers' breast-milk showed high as 57.7% (56/97).

108 (94.7%) out of 114 the babies were artificial-fed and other 6 were breast-fed (one of them was heated at 60°C).

As a result of further investigation, 6 (15.8%) out of 38 breast-fed babies and 1 (3.4%) out of 29 artificial-fed babies were found, that is the rate of positive transmission in artificial-fed babies was obviously low.

Key words: HTLV-1, maternal transmission, breast-milk, artificial-fed.

はじめに

成人T細胞白血病 (adult T cell leukemia: ATL) は、1977年高月ら¹⁾によって報告された疾患であり、その原因として、成人T細胞白血病ウイルス (human T cell leukemia virus type1: HTLV-1) の関与が、1981年日沼ら²⁾によって明らかになった。それ以来多くの研究者により感染様式や疫学調査

の研究が行われている。

愛媛県においても南予地方の患者発生³⁾、ATLの浸淫実態調査⁴⁾、HTLV-1母子感染調査^{5, 6)}が行われている。

われわれは、1986年以来HTLV-1の浸淫地域である愛媛県南予地方においてHTLV-1の母子感染防止を目的に、同地方の妊婦を対象に抗HTLV-1抗体スクリーニングおよび抗HTLV-1抗体陽性妊婦の臍帯血、母乳検査および出生児の追跡調査を行ったので報告する。

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

* 現愛媛県保健環境部保健指導課

表1 妊婦の抗HTLV-1抗体保有状況(漫漚地域)

(1991.1.31)

年齢	1976年*	1986年	1987年	1988年	1989年	1990年	1991年	計
~19	1/ 18(5.6)	0/ 12(0)	0/ 15(0)	0/ 22(0)	0/ 20(0)	0/ 21(0)	0	0/ 90(0)
20~	1/ 70(1.4)	2/ 108(1.9)	0/ 252(0)	8/ 258(3.1)	3/ 299(1.0)	1/ 219(0.5)	1/ 25(4.0)	15/1161(1.3)
25~	7/ 157(4.5)	11/ 302(3.6)	13/ 637(2.0)	17/ 643(2.6)	11/ 586(1.9)	13/ 552(2.4)	1/ 40(2.5)	66/2760(2.4)
30~	0/ 46(0)	2/ 143(1.4)	6/ 300(2.0)	8/ 320(2.5)	7/ 307(2.3)	8/ 328(2.4)	1/ 29(3.4)	32/1427(2.2)
35~	1/ 5(20)	0/ 30(0)	2/ 73(2.7)	3/ 63(4.8)	1/ 58(1.7)	3/ 65(4.6)	0/ 3(0)	9/ 292(3.1)
40~	1/ 2(50)	0/ 2(0)	1/ 13(7.7)	0/ 11(0)	0/ 6(0)	0/ 11(0)	0	1/ 43(2.3)
計	11/ 298(3.7)	15/ 597(2.5)	22/1290(1.7)	36/1317(2.7)	22/1276(1.7)	25/1196(2.1)	3/ 97(3.1)	123/5773(2.1)

* 同地区の妊婦を主とする風疹検査依頼検体

対象および方法

1 妊婦の抗HTLV-1抗体スクリーニング

1986年8月から1991年1月まで南予地方の漫漚地域の3病院, 2医院と非漫漚地域の1病院, 1医院を受診した妊婦を対象とし, 原則的に妊娠前期(23週以前)に採血を行い, ゼラチン粒子凝集法(フジテレビ社製セロディンATLキット)にて抗HTLV-1抗体スクリーニングを行い, 陽性妊婦血清は蛍光抗体法で確認検査を行った。

2 キャリア妊婦および出生児, 同胞の追跡調査

キャリア妊婦の出産時に臍帯血, 母体血および母乳を採取し, HTLV-1抗原・抗体検査を実施した。抗原の検出は, リンパ球分離後TCGF加RPMI-1640にて短期培養(10日~2週間)し, モノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法で行った。

結果

1 妊婦の抗HTLV-1抗体保有調査

1986年8月から1991年1月までの妊婦の抗体スクリーニング結果を表1に示した。年次別には, 1986年15/597(2.5%), 1987年22/1290(1.7%), 1988年36/1317(2.7%), 1989年22/1276(1.7%), 1990年25/1196(2.1%), 1991年3/97(3.1%)であり, 全体で5773名を検査し, 123名(2.1%)のキャリア妊婦が発見された。

年齢区分毎に比較してみると, 年次により多少の相異はみられるが24才以下の陽性率は1.2%(15/1251), 25~34才では2.3%(98/4187), 35才以上3.0%(10/335)で, 年齢とともに陽性率が高くなる傾向がみられた。表には1976年同地区, 同年令の妊婦を主体とする風疹依頼検体(女性)の抗体陽性率の結果も示した。

妊婦の累積抗体陽性率を図1に示した。年度により変動の大きい24才以下を除き1976年の検体では, 1986年以後の今回の調査結果よりも明らかに高い抗体陽性率を示していた。

地域別妊婦の抗HTLV-1抗体保有状況を表2に

示した。南予地方でも漫漚地域であるU市で1.9%(25/1314), Y市で2.1%(68/3306), M郡で2.6%(30/1153)であり, M郡が最も高い抗体陽性率を示していた。これに対し非漫漚地域であるO市では0.5%(7/1271)と低率であった。

2 臍帯血, 母乳中の抗原・抗体

臍帯血には母体血抗体価とほぼパラレルの抗体価が移行するが少なくとも12ヶ月で消失する。従って出生児の抗体陽転は12ヶ月以降で判定した。表3に示すよ

表2 地域別妊婦の抗HTLV-1抗体保有状況

(1991.1.31)

年齢	U市	Y市	M郡	O市
~19	0/ 16(0)	0/ 52(0)	0/ 22(0)	0/ 11(0)
20~	0/ 232(0)	8/ 722(1.1)	7/ 207(3.4)	0/ 248(0)
20~	15/ 600(2.5)	35/1607(2.2)	16/ 553(2.9)	1/ 586(0.2)
30~	7/ 379(1.8)	21/ 748(2.8)	4/ 300(1.3)	4/ 347(1.2)
35~	3/ 79(3.8)	3/ 154(1.9)	3/ 59(5.1)	2/ 72(2.8)
40~	0/ 3(0)	1/ 23(4.3)	0/ 12(0)	0/ 7(0)
計	25/1314(1.9)	68/3306(2.1)	30/1153(2.6)	7/1271(0.5)

表3 母体血と母乳の抗HTLV-1抗体価比較

(1986~1990)

計	56	7	6	6	9	6	3	4	97
母体血抗体価	8192	2		2	1	2		1	8
	4096		1		2		3		6
	2048	3		1	3	1		2	10
	1024	8	2	1	2	2		1	16
	512	22	3	2	1	3			31
	256	9		1	1				11
	128	11	1	2					14
	64								0
	32	1							1
	16								0
	-								0
母乳抗体価									
	-	±	16	32	64	128	256	512	計
母乳抗原	+	37	5	4	5	5	3	2	66
	-	13	1	1	2	1		2	20
	nt	6	1	1	1	2			11

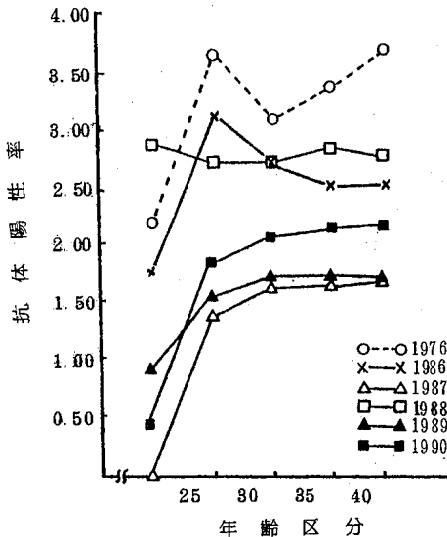


図1 妊婦の年齢別累積抗体陽性率

うに母乳の抗体価は母体血抗体価と相関を示さず、56/97 (57.7%)と高率に抗体陰性が認められ、それに比し抗原陽性細胞出現率は、66/86 (76.7%)と高率であった。

3 新生児の授乳状況

新生児の授乳状況を表4に示した。123名のキャリア母親から出生した新生児のうち、授乳状況の把握できた114名中108名(94.7%)が人工乳保育、6名(5.3%)が母乳保育(うち1名60°C加熱)であった。これに対し今回の調査以前に出生している同胞63名では、62名(98.4%)が母乳保育(うち1名混合)で、1名(1.6%)が人工乳保育であった。

4 キャリア妊婦からの出産児の追跡調査

キャリア妊婦からの出生児のうち、月令12ヶ月以上の時点で採血できた67名について、母乳保育児と人工乳保育児の年齢区分別の抗HTLV-1抗体陽性者数を比較し表5に示した。人工乳保育児では29名中1名(3.4%)が陽転化し、年齢は24~29ヶ月であった。これに対し母乳保育児では38名中6名(15.8%)が陽転化し、年齢は18~23ヶ月1名、30~35ヶ月1名、4才2名、6才以上2名であった。

考察

われわれは、HTLV-1の浸淫地域である愛媛県南予地方で、同地方の妊婦5773名の抗HTLV-1抗体検査を行い、123名(2.1%)のキャリア妊婦を発見した。現在までに報告⁷⁻¹¹⁾されているHTLV-1キャリア妊婦の頻度は、沖縄本島で7.3%、九州地区で2.0~4.9%で、非浸淫地区と考えられている中国地区で0.5~1.0%前後である。今回のわれわれの成績と

表4 保育状況 (1991.1.31)

施設	調査開始前 (あるいは未介入)		調査開始後	
	母乳	人工乳	母乳	人工乳
M	24/24	0/24	1/33	32/33
U	5/5	0/5	0/17	17/17
Y	5/5	0/5	3/27	24/27
	1例:混合		1例:60°C加熱	
Yk	28/29	1/29	2/37	35/37
計	62/63 (98.4)	1/63 (1.6)	6/114 (5.3)	108/114 (94.7)

表5 追跡調査 (1991.1.31)

月(年) 齢	母乳保育		人工乳保育	
	陽転者数	累積(%)	陽転者数	累積(%)
12~17月			0/11	
18~23月	1/2	1/2 (50.0)	0/5	0/16 (0.0)
24~29月	0/4	1/6 (16.7)	1/6	1/22 (4.5)
30~35月	1/5	2/11 (18.2)	0/4	1/26 (3.8)
~4才	2/12	4/23 (17.4)	0/2	1/28 (3.6)
~5才	0/6	4/29 (13.8)	0/1	1/29 (3.4)
~6才	0/2	4/31 (12.9)		
6才以上	2/7	6/38 (15.8)		
	(11才まで)			

比較してみると、浸淫地域であるU市、Y市、M郡では、沖縄本島、鹿児島県より低い抗体保有率であったが、北九州市、熊本県とよく一致する成績であった。これに対し非浸淫地域のO市の結果は、中国地区の成績とほぼ類似していた。

これまでの報告⁴⁾によると、抗体保有率は小地区毎に大きく異なり、HTLV-1の浸淫が限局されて起っていることが示唆されているが、今回の南予地方の妊婦を対象とした調査成績でも0.5~2.6%と地域差がみられた。

年齢区分毎に比べてみると、年次により多少の相異がみられるが、全体的に24才以下は陽性率が低く、25~34才で2.3%、35才以上で3.0%と高い陽性率がみられた。また、24才以下を除き1976年の陽性率は、1986年以來の今回の調査結果よりも明らかに高い陽性率を示し、年齢が高くなるとともに抗体陽性率が上昇する出生コホートを示している。

臍帯血、母乳中の抗原・抗体との関係については、臍帯血と母体血抗体価はよく相関を示すが、母乳での抗体価は母体血と比べて極めて低力価であると報告^{5, 6)}されている。われわれの調査結果でも同様な成績であり、母乳の抗体価と母体血抗体価には相関はみられな

かった。

キャリア妊婦から出生した123名の新生児のうち、114名について授乳調査ができた。その結果94.7%が人工乳保育児、5.3%が母乳保育であった。これに対し今回の調査以前に出生している同胞63名では、94.8%が母乳保育児、3.4%が人工乳保育児であった。このことは当調査が開始された後、抗体陽性母親へは、人工乳保育の啓発を行っており、その効果が現われたものと考えられる。

児の追跡調査では表の如く、母乳保育児では15.8%が抗体陽であったのに対し、人工乳保育児では3.4%で、母乳保育児に比べて人工乳保育児の抗体陽転率は約5分の1と低率であった。今後さらに例数を増し、長期的に検討する必要があると思われる。

まとめ

- 1 HTLV-1の浸淫地域である愛媛県南予地方で1986年から1991年1月までは妊婦5773名を検査し、123名(2.1%)がキャリアであった。
- 2 1976年同地区、同年令の女性では、3.7%の陽性率であった。
- 3 同地方の非浸淫地域(O市)では、妊婦1271名中7名(0.5%)がキャリアであった。
- 4 臍帯血の移行抗体は少なくとも12ヶ月以内に消失し、キャリアの母乳は高率に抗体陰性56/97(57.7%)であるのに対し、HTLV-1抗原陽性細胞出現率は66/86(76.7%)と高率であった。
- 5 授乳状況を把握できた114名中108名(94.7%)が人工乳保育、6名(5.3%)が母乳保育(うち1名60°C加熱)であった。
- 6 児の追跡調査の結果母乳保育児では38名中6名(15.8%)、人工乳保育児では29名中1名(3.4%)に抗体陽転化が認められ、人工乳保育児の陽転化が低

率であった。

終りに、本調査に御協力をいただきました南予地方の4病院、3医院の関係各位に深謝します。

この調査研究は、厚生省心身障害研究費による「成人T細胞白血病(ATL)の母子感染防止に関する研究」(主任研究者:重松逸造)により実施した。

本論文の要旨は、第50回日本公衆衛生学会総会(1991年10月盛岡市)で発表した。

文献

- 1) Uchiyama, T. et al: Blood, **50**, 481-491(1977)
- 2) Hinuma, Y. et al: Proc, Natl, Acad, Sci, **78**, 6476-6480(1981)
- 3) Kondo, T. et al: Int, J, Cancer, **35**, 749-751(1985)
- 4) 高見俊才他: 感染症学雑誌, **62**, 7-11(1988)
- 5) 井上博雄: 成人T細胞白血病(ATL)の母子感染防止に関する研究班, 昭和63年度研究報告, 14-17(1989)
- 6) 井上博雄: 成人T細胞白血病(ATL)の母子感染防止に関する研究班, 平成元年度研究報告, 14-16(1990)
- 7) 中嶋安嗣他: HTLV-1母子感染論文集, **1**, 3-7(1989)
- 8) 大治太郎他: HTLV-1母子感染論文集, **1**, 11-14(1989)
- 9) 永田行博他: HTLV-1母子感染論文集, **1**, 15-18(1989)
- 10) 瀧川弘敏他: HTLV-1母子感染論文集, **1**, 45-48(1989)
- 11) 大場 隆他: HTLV-1母子感染論文集, **2**, 23-25(1989)

小児における腸管アデノウイルス胃腸炎の疫学的研究

山下育孝 高木賢二* 服部昌志 森 正俊 井上博雄

Epidemiological Studies on Enteric Adenovirus Gastroenteritis of Children

Yasutaka YAMASHITA, Kenji TAKAGI *, Masashi HATTORI,
Masatoshi MORI, Hiroo INOUE

Enteric Adenoviruses (E Ad), adenovirus (Ad) types 40 and 41, have been established as causative agents of gastroenteritis.

By electron microscopic survey of acute gastroenteritis of children in the Matsuyama area, Ad were detected in 238 of 5367 fecal samples obtained from 1981 to 1991. Two-hundred-thirteen Ad-positive samples were tested for serotyping by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using of three monoclonal antibodies, Ad group-specific, Ad40 type-specific and Ad41 type-specific antibody. Of 174 samples serotyped by ELISA, 62 were identified as Ad40, 59 as Ad41, 1 as double infection with Ad40 and Ad41, and 52 as Non-E Ad.

Other epidemiological feature was as follows. E Ad were detected throughout the year. The predominant serotype was Ad40 during 1981~1985, but Ad41 after 1986. E Ad were detected most frequently from the children aged 0~3 years. The incidence of fever in EAd positive group was less lower (33%) than that (65%) in Non-E Ad positive group. The incidence of vomiting, nausea and respiratory symptoms was heigher in Ad41 associated infection than Ad 40.

Key words : enteric adenoviruses (Ad40, Ad41), monoclonal antibody, ELISA, epidemiology, acute gastroenteritis.

はじめに

アデノウイルス40型, 41型(Ad40, Ad41)は, 腸管アデノウイルス(EAd)と呼ばれ, ロタウイルス, 小型球形ウイルスと共に小児急性胃腸炎の重要な病原体である. 検査方法としては, Graham293細胞を用いたウイルス分離^{1,2)}や制限酵素によるウイルスDNA断片泳動像の解析^{3,4)}等があるが, これらの方法は特殊な器具・試薬・複雑な操作を要する.

そこで, 我々は, 簡便かつ迅速にEAdを検出・型

別するために, Ad40特異, Ad41特異, Ad群特異の3種類のモノクローナル抗体を作製し, これらを用いたELISA法により, 糞便中のアデノウイルスを直接血清型別する方法を開発した^{5,6)}.

今回は, この方法を用いて, 1981年から1991年の間に, 小児急性胃腸炎から検出されたアデノウイルスの血清型別を行い, EAd胃腸炎の疫学および臨床像について検討したので報告する.

材料と方法

1) 糞便材料

1981年から1991年の間に, 松山市内の小児科医院

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

* 現 今治中央保健所

を受診した急性胃腸炎患者から採取した糞便5367例中電子顕微鏡（EM）検査でアデノウイルスが検出された238例のうち材料が残存していた213例および1989年から1991年の間に採取した健康小児の糞便384例を用いた。

2 ELISA法

Capture抗体を抗Ad40, 抗Ad41ウサギ免疫血清（国立予防衛生研究所吉井孝男博士より分与）の混合液に改変して、その他は高木ら⁵⁾の方法に準拠し、3種類のモノクローナル抗体をDetector抗体とする2抗体サンドイッチ法で行った。

3 ウイルス分離

ELISA法でアデノウイルス群特異モノクローナル抗体にのみ反応した1986年以降の検体19例についてGraham 293細胞およびFL細胞を用いてウイルス分離を行った。

結果

1 小児急性胃腸炎患者からのアデノウイルス検出数と血清型別の結果

1981年から1991年の間に採取した小児急性胃腸炎患者糞便5367例についてEM検査を行い238例(44%)

表1 小児急性胃腸炎患者からのアデノウイルス検出数と血清型別の結果

年	EM		ELISA				
	検査数	アデノウイルス陽性数(%)	検査数	Ad40	Ad41	Ad40+41	非EAd
1981	453	23 (5.1)	22	3	3		13
1982	433	17 (3.9)	15	6	3		3
1983	565	25 (4.4)	20	6	6		5
1984	593	24 (4.1)	19	10			2
1985	703	43 (6.1)	37	20	1		9
1986	784	35 (4.5)	31	7	10	1	9
1987	461	18 (3.9)	18	2	12		1
1988	512	16 (3.1)	16	2	9		3
1989	370	21 (5.7)	20	4	10		2
1990	238	5 (2.1)	5	2			3
1991	255	11 (4.3)	10			5	2
計	5367	238 (4.4)	213	62	59	1	52

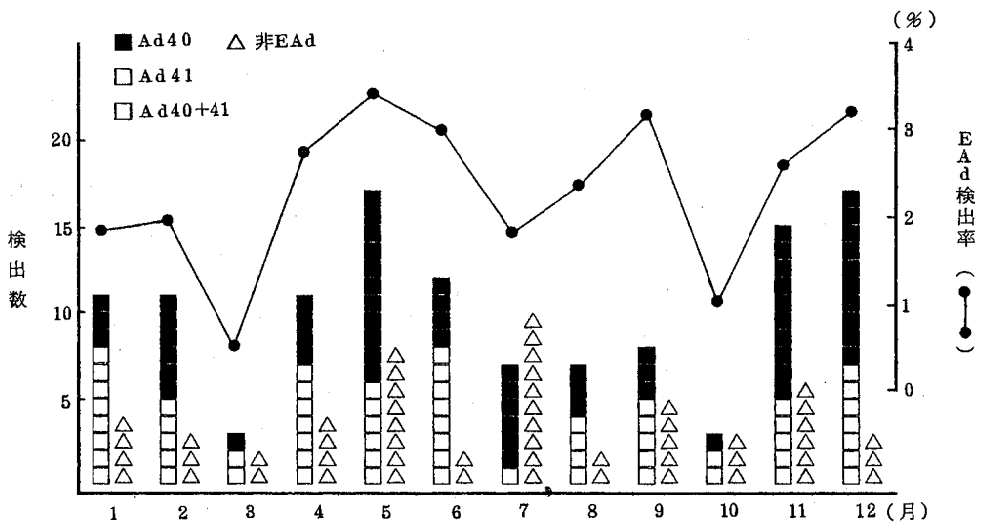


図1 月別のEAd検出状況

表2 アデノウイルス 検出者の年齢分布

年齢	患者数	血清型		
		Ad40	Ad41	非EAd
0歳	901	11	14	13
1歳	962	17	14	9
2歳	523	10	6	3
3歳	517	7	12	10
4歳	485	6	4	5
5歳	412	2	4	6
6歳	348	2	3	2
7歳	265	1		
8歳	244		1	
9歳	206	3		1
10歳以上	432	1		
不明	63	2	1	3
計	5367	62	59	52

注) Ad40とAd41の混合感染1例が4歳にあるがこれは表から除外している。

のアデノウイルスを検出した。そのうち残存していた213例を材料として血清型別を行った。その結果は表1に示したように、174例(81.7%)がELISA法で陽性を示した。内訳は、Ad40が62例、Ad41が59例、両者の混合感染が1例であった。Ad40特異、Ad41特異のモノクローナル抗体に反応せずAd群特異モノクローナル抗体のみに反応したものが52例あったが、これらは非EAdと表した。1986年以降の非EAd(19例)については同時にウイルス分離を行った。その結果、Ad1が1例、Ad2が5例、Ad3が6例、Ad5が1例、Ad6が1例、型別不明が3例、陰性が2例であった。

また、検出されたEAdの年次別の推移を見ると、1981年から1983年はAd40とAd41が同程度、1984年から1985年は大部分がAd40で、1986年から1989年はAd41が主となり、1991年はAd41のみであった。特に、1986年を境に、Ad40からAd41へ主流型型の推移が認められた。

2 月別のEAd検出状況

型別できたアデノウイルスの月別の検出数とEAd

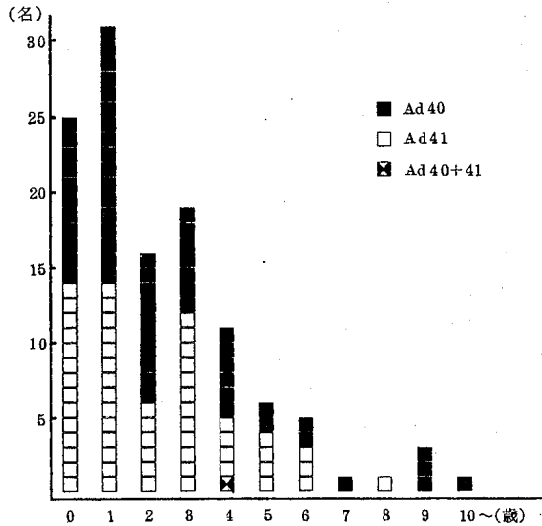


図2 EAd検出者の年齢分布

検出率を図1に示した。

EAdは年間を通じて1~3%検出された。また、Ad40とAd41の月別の検出頻度はほぼ同じで、血清型による差はほとんど認められなかった。

3 EAd検出者の年齢分布

血清型別できたアデノウイルス検出者174名の年齢分布を表2および図2に示した。

EAd検出者は、0歳から3歳が多く、その後は加齢と共に減少する傾向を示した。EAd検出者の76%が3歳以下であった。

Ad40が検出された最年少児は4ヶ月で、最年長児は10歳、Ad41ではそれぞれ2ヶ月、8歳であった。また、Ad40とAd41では、検出者の年齢分布にほとんど差は認められなかった。

4 血清型別の患者臨床症状

型別できたもののうち症状が不明の7例を除いた、Ad40 58例、Ad41 58例、両者の混合感染1例、非EAd49例について患者の症状発現頻度を表3に示した。発熱状況をみると、37℃未満はAd40とAd41が共に

表3 血清型別の臨床症状発現頻度(%)

血清型	発熱					下痢	腹痛	嘔吐	嘔気	咽頭痛	咳	鼻症状
	37℃未満	37℃~	38℃~	39℃~	40℃~							
Ad40 (58例)	67.2	12.1	19.0		1.7	100	36.2	36.2	27.6	1.7	1.7	1.7
Ad41 (58例)	67.2	17.2	8.6	6.9		100	30.5	51.7	40.7	5.1	11.9	5.1
Ad40+41 (1例)	100					100	100	100	100			
非EAd (49例)	34.7	4.1	30.6	26.5	4.1	93.9	38.8	26.5	20.4	6.1	6.1	4.1

67.2%で、38℃以上の発熱を伴うものは、Ad40が20.7%、Ad41が15.5%であった。一方、非EAdでは、37℃未満が35.4%、38℃以上の高熱を伴う例が60.4%認められた。

下痢・腹痛では、Ad40、Ad41、非EAdに差は認められなかった。嘔吐・嘔気の種類ではEAdが非EAdよりも高く、EAdの中でも、Ad41は嘔吐・嘔気がそれぞれ51.7%、40.7%で、Ad40の36.2、27.6%に比べ高い傾向を示した。さらに、Ad41は、咽頭発赤が5.1%、咳が11.9%、鼻症状が5.1%にみられ、Ad40のそれぞれ1.7%に比べ高率であった。

5 健康者からのEAd検出状況

0歳から6歳の健康小児からのEAd検出状況を表4に示した。1989年から1991年の間に採取した糞便384例のうち、1990年の3歳児の検体からAd40が1例検出された。健康小児からのEAd検出率は0.26%であった。

考察

EAdと呼ばれるAd40、Ad41は下痢症から多く検出され^{7,8)}、下痢症起因ウイルスとして認められている。EMを用いて小児急性胃腸炎の病原検索を行うとアデノウイルスは、ロタウイルスに次いで多く検出されるが⁹⁾、その中に占めるEAdの割合は明らかでない。しかし、今回の調査により、EMで検出されるアデノウイルスの少なくとも70%はAd40、Ad41のEAdであることが示された。

EAdの検出状況から流行型に推移がみられた。特に、1986年を境に、主流型がAd40からAd41に変化していることが示唆された。1983年に千葉¹⁰⁾は札幌市内の乳幼児施設におけるAd40の流行例を報告し、また、荒木¹¹⁾の東京地域の調査では、1984年から1986年はAd40が多く、1987年はAd41のみであった。さらに、愛知県¹²⁾、大阪府¹³⁾、香川県¹⁴⁾でも1986年を境にAd40が減少し、Ad41が増加してきたと報告している。したがって、1986年以降の主流型のAd41への推移は、地域的なものではなく、全国的な傾向であったと考えられた。

EAdの季節的消長について、荒木¹¹⁾は年間を通して検出されるが、検出率は秋期に高く、夏期および冬期に低い傾向がみられたと報告しているが、今回の調査では、EAdは年間を通じて1~3%検出され、我々が今までに経験したロタウイルスやアストロウイルスのような特徴的な季節的消長⁹⁾は明らかには認められなかった。また、Ad40とAd41で月別の検出頻度に差はみられなかった。

EAdが検出された患者の年齢については、荒木¹²⁾

表4 健康者からのEAd検出状況

年	検査数	Ad40	Ad41
1989	136	0	0
1990	128	1	0
1991	140	0	0
計	384	1(0.26%)	0

は2歳未満の乳幼児が多いと報告し、西尾¹²⁾は主に3歳以下で0歳児が約50%を占めていたと報告している。我々もほぼ同様の結果を得ており、EAdの好発年齢は3歳以下であると考えられた。

臨床症状は、Ad40、Ad41共に37℃以上の発熱を伴うものが約30%で、非EAdの約60%と比べ低率であった。また、嘔吐・嘔気の種類は非EAdよりも高かった。Uhnou⁸⁾も、急性胃腸炎から検出されたアデノウイルス55例をAd40(14例)、Ad41(19例)、Ad40、Ad41以外(14例)、型別不能(8例)に分類し、臨床症状の比較を行い、EAdは、嘔吐の頻度が高く、発熱傾向や気道症状の頻度が低いと報告しており、我々と同様の結果であった。さらに、EAdの両血清型を比較すると、嘔吐・嘔気・上気道症状の頻度は、Ad41がAd40に比べ高い傾向がみられた。EAdと非EAdあるいはEAdのAd40とAd41の間で臨床症状に差異があると考えられた。

EMで検出されたアデノウイルスの19%はELISA法で反応がみられなかった。EM陽性でELISA陰性例は、400メッシュの1スクエア当たりの粒子数が3個以下と少ないものに多くみられた。EM法では検体を10倍濃縮するのに対して、ELISA法では検体を10倍希釈することによるためと考えられる。また、ウイルス粒子の表面への抗体付着等も関与するかもしれない。

しかしながら、この方法によれば、EMで検出されるアデノウイルスの約80%は糞便から直接Ad40、Ad41、非EAdの型別が可能であり、さらに、迅速性、簡便性を考えるとEMを用いないウイルス性胃腸炎の病原検索に有用と考えられる。

まとめ

- 1981年から1991年の間にEMで検出されたアデノウイルス213例中174例(81.7%)がELISA法で型別できた。EAdの検出数は122例(70.5%)で、内訳は、Ad40が62例、Ad41が59例、両者の混合感染が1例であった。
- 検出されたEAdは1985年以前はAd40が多く、1986年以降はAd41が主流を占めた。

- 3) EAd 検出者の 76% は 3 歳以下であった。
- 4) 臨床症状では, EAd は発熱を伴うものが約 33% で非 EAd と比べ低率であった。Ad 40 と Ad 41 を比較すると, Ad 41 は嘔吐・嘔気・上気道症状の程度が Ad 40 よりも高い傾向を示した。
- 5) 健康小児の検査では, 384 例のうち 1 例 (0.26%) に EAd が検出された。

謝辞 稿を終えるにあたり, 検体の採取に御協力いただいた石丸小児科医院の石丸啓郎博士, 中野省三博士に深謝致します。また, 抗 Ad 40, 抗 Ad 41 ウサギ免疫血清を分与していただいた国立予防衛生研究所の吉井孝男博士に感謝致します。

なお, 本論文の要旨は, 第 66 回日本感染症学会総会 (1992 年 4 月, 東京都) において発表した。

文 献

- 1) Takiff, H.S. et al: Lancet, **2**, 832~834 (1981)
- 2) 荒木和子: ウイルス, **36**, 273~282 (1986)
- 3) Brown, M. et al: J. Virol. Method, **9**, 87~98 (1984)
- 4) 荒木和子: ウイルス, **38**, 59~69 (1988)
- 5) 高木賢二他: 感染症学雑誌, **65**, 552~558 (1991)
- 6) Nishio O. et al: Microbiol. Immunol, **34**, 871~877 (1990)
- 7) Brown M. et al: J. Clin. Microbiol, **20**, 334~338 (1984)
- 8) Uhnnoo I, et al: J. Clin. Microbiol, **20**, 365~372 (1984)
- 9) 山下育孝他: 愛媛衛研年報, **50**, 21~25 (1989)
- 10) Chiba S. et al: Lancet, **2**, 954~957 (1983)
- 11) 荒木和子他: 日小児会誌, **92**, 2361~2366 (1988)
- 12) 西尾治他: 第 38 回日本ウイルス学会総会, (1990)
- 13) 加瀬哲男他: 臨床とウイルス, **19**, 168~172 (1991)
- 14) 山西重機他: 臨床とウイルス, **20**, 90~94 (1992)

愛媛県におけるMMRワクチン接種後の 無菌性髄膜炎の発生について

服部昌志 山下育孝 高木賢二* 森 正俊 井上博雄

The Occurrence of Aseptic Meningitis after MMR Vaccination in Ehime Prefecture

Masashi HATTORI, Yasutaka YAMASHITA, Kenji TAKAGI,*
Masatoshi MORI, Hiroo INOUYE

Since the initiation of measles-mumps-rubella trivalent (MMR) vaccine in 1989, cases of aseptic meningitis after vaccination had been reported.

There were 31 aseptic meningitis cases suspected complication of MMR vaccine during the period from April, 1989 to March, 1991 in Ehime Prefecture. There was no sequelae from the illness.

In 22 cases, mumps virus were isolated from cerebrospinal fluid from patients. Moreover, in 19 cases of them the isolates were related to the vaccine strains by polymerase chain reaction (PCR) method.

Key words: aseptic meningitis, MMR vaccine, mumps virus

はじめに

乾燥弱毒生麻しんおたふくかぜ風しん混合ワクチン (MMRワクチン) は、小児期の主要な3感染症に対する免疫を1回の注射により獲得し、疾病の流行予防を期待するものである。

わが国では1989年4月より接種が開始された。ところが、その直後よりMMRワクチンに含まれるムンプスワクチン株による副反応と考えられる無菌性髄膜炎症例が全国的に報告されている。

愛媛県下においても医療機関より患者の発生が報告されており、当所において患者からのウイルス分離検査を行った。そこで、患者の発生状況、ウイルス分離状況をまとめたので報告する。

材料と方法

1 対象者

1989年4月から1992年3月までの間にMMRワクチン接種を受け、その後、医療機関において副反応による無菌性髄膜炎と診断された31名を対象とした。

2 ウイルス分離検査

患者から採取された髄液34、咽頭ぬぐい液5、直腸ぬぐい液 (あるいは糞便) 4、計43検体をウイルス分離検査に供した。培養細胞はFL, RD-18 S, Veroの3種類を用い、CPEの出現、血球凝集能の有無を指標としてウイルスを分離し、中和試験にてムンプスウイルスと同定した。4週間2代継代の間にCPE、血球凝集能の現れないものは分離陰性とした。

なお、分離、同定されたムンプスウイルス株については、ワクチン株か野外株かの同定を国立予防衛生研究所に依頼した。

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

* 現今治中央保健所

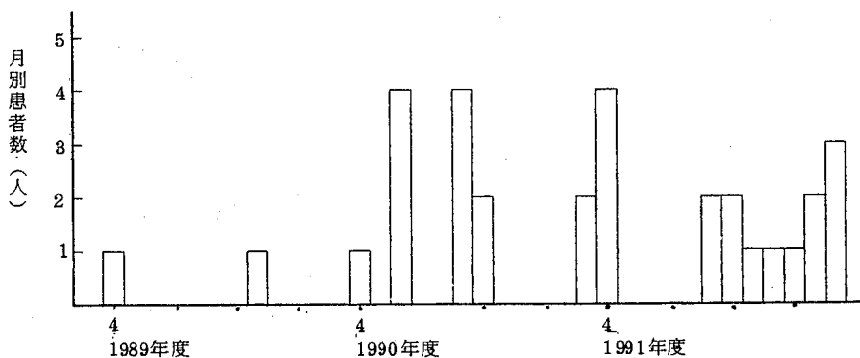


図1 MMR ワクチン接種後の無菌性髄膜炎患者発生状況

結果

1 愛媛県におけるMMRワクチン接種後無菌性髄膜炎患者の発生状況

患者の発生状況は図1のとおりである。なお、この間のワクチン接種者数は県保健指導課の集計によると、1989年度10450名、1990年度7253名、1991年度5715名、計23518名である。ワクチン接種者数は減少しているが、患者発生の報告件数は増加している。

次に患者の年齢別および男女別の発生状況を表1に示した。ワクチン接種者数に対する患者数は3才未満で25/20542 (0.12%)、3才以上で6/2876 (0.21%)となり、3才以上の発症率がやや高かったものの有意差は認められなかった。また、性別では男19名に対し、女12名であり、男の発症者数が多かった。

2 潜伏期間とウイルス分離

患者はワクチン接種後8日から31日にかけて発病しており、このうち潜伏期間13日から31日までの患者からムンプスウイルスが分離されている。(図2) ワクチン接種日から発病までの期間の患者累積度数を対数確率紙上にプロットして計算すると、平均潜伏期間は、22.2日であった。

表1 性別および年齢別無菌性髄膜炎患者数

	3才未満	3才以上	計
男	16	3	19
女	9	3	12
計	25	6	31
ワクチン接種者数	20542	2876	23418

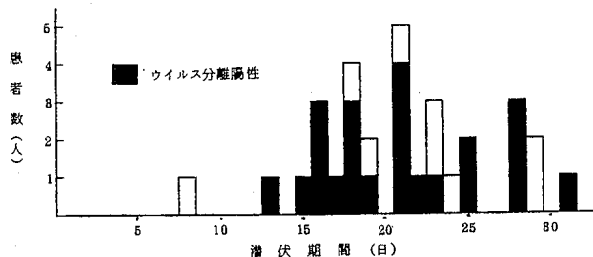


図2 無菌性髄膜炎患者の潜伏期間とウイルス分離成績

表2 病日別および検体別ムンプスウイルス分離状況

検体採取病日		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
髄液	分離陽性	3	7	7	3	1	0	1	0			0	0	22
	検体数	3	9	9	5	3	1	1	1			1	1	34
咽頭ぬぐい液	分離陽性	0	1	0		0								1
	検体数	1	1	1		1								5
直腸ぬぐい液	分離陽性		0	0		0							0	0
	検体数		1	1		1							1	4

各検体からのウイルス分離状況を表2に示した。髄液からは34件中22例、咽頭ぬぐい液からは5例中1例ウイルスが分離され、直腸ぬぐい液はウイルス分離陰性であった。なお、分離されたウイルスはすべてムンプスウイルスと同定され、無菌性髄膜炎の原因となり得るエンテロウイルスなど他のウイルスは分離されなかった。

髄液は1病日から7病日までに採取した検体からウイルスが分離された。とくに4病日以内に採取した髄液からは77% (20/26) と高率に分離されているが、5病日以後の検体からの分離率は著しく低かった。

なお、髄液からのムンプスウイルス分離株22株を国立予防衛生研究所に依頼してワクチン株との関連を調べたところ、19株がワクチン株と同定されており、残り3株については現在検査中である。

考察

愛媛県下ではMMRワクチン接種開始後3年間に、副反応とみられる無菌性髄膜炎患者31名が報告されている。ワクチン接種者に対する発症頻度は1/755 (31/23418)であった。患者はいずれも5日から23日間の入院治療後、回復しており、重篤な合併症や後遺症を残した例はない。

MMRワクチンの副反応が報告されたことにより、県下ではこの3年間でワクチン接種者数の減少をみたが、逆に患者発生の報告は増加している。これは当該ワクチンの副反応に対する関心の高まりにともない、医療機関において、疑わしき例に対しては詳細な臨床検査を施している結果と思われる。また、副反応の発生に地域差のあることが指摘されている¹⁾が、愛媛県内でも患者発生の報告が特定の医療機関に集中する傾向がみられる。ムンプス自然感染において、髄膜刺激症状がなくても細胞増多等、髄液の異常を認める例が多い²⁾といわれており、副反応発生の地域差は診断基準の差に起因していることも考えられる。

ムンプスは自然感染において3才以上で発病率および合併症の発生が多く^{3,4)}、また、女子よりも男子において合併症の発症率が高い⁵⁾との報告がある。さらにMMRワクチン接種後の髄膜炎発症者が男子に多いことがSugiuraら⁶⁾により報告されている。今回の成績では3才以上で発症率が高くてだが、有意差は認められなかった。また、性別による発症者数は男子(19名)が女子(12名)よりも多かったが、性別によるワクチン接種者数が不明であり、単純に比較できない。これらのことは、今後、例数を重ね再検討してみたい。

患者31名の潜伏期間は平均22.2日であり、他の報告^{7,8)}とほぼ一致する。潜伏期間13日から31日までの症例からムンプスウイルスが分離され、ワクチン株と同

定されていることから、潜伏期間は少くともこの範囲を含む広範囲にあるものと考えられる。他の例にくらべ極端に潜伏期間の短い(8日)例があったが、この患者の検体からはウイルスが分離されておらず、ワクチンとの関連は不明である。

3~4病日までに採取した髄液からは80%以上の分離率でウイルスが分離されることが報告されている⁷⁾が、今回の成績でも同様であった。このことから、診断のためのウイルス分離検査材料は、発病後できるだけ速やかに髄液を中心として採取することが肝要であることが分かった。

3疾病の流行予防を期待されたMMRワクチンであるが、副反応の発生頻度が当初の予想をはるかに超える事態となっている。しかし、ムンプス自然感染では、より高い頻度で合併症や後遺症が発生する^{5,9)}とされており、ワクチンの評価判定は慎重を要すものと思われる。また、1991年10月からは従来の統一株MMRワクチンに加えて、3社からそれぞれ独自の自社株ワクチン(ムンプスワクチン株として、占部株、鳥居株、星野株)の接種も開始されており、それらを含めた今後の動向が注目される。

まとめ

- 1) 愛媛県下ではMMRワクチン接種者23418名に対し、副反応と思われる無菌性髄膜炎患者31名の発生が報告された。
- 2) 患者の潜伏期間は平均22.2日であった。
- 3) 22名の患者髄液からムンプスウイルスが分離され、うち、19株についてはワクチン株と同定された。(残り3株については検査中)

文献

- 1) 磯村 忠无: 衛生微生物技術協議会第11回研究会講演抄録, 7 (1990)
- 2) 石丸啓郎他: 小児科診療, 51, 1421~1427 (1988)
- 3) 石丸啓郎: 小児内科, 22, 臨時増刊号, 615~617 (1990)
- 4) 早川 泰: 臨床とウイルス, 8, 282~288 (1980)
- 5) 角田行他: 仙台市衛生研究所年報, 19, 131~143 (1989)
- 6) A. Sugiura et al: *Pediatr Infect Dis J*, 10, 210~213 (1991)
- 7) 宮基良子他: 広島市衛研年報, 10, 35~38 (1991)
- 8) 山崎謙治他: 大阪府立公衛研所報公衆衛生編, 28, 29~34 (1990)
- 9) 木村三生夫: 臨床とウイルス, 8, 258~270 (1980)

愛媛県における骨髄移植の現況

坂本尚穂 木下幸正* 藤原郁子 奥山正明 井上博雄

The Current Status of Bone Marrow Transplantation in Ehime Prefecture

Hisaho SAKAMOTO, Kosei KINOSHITA*, Ikuko FUJIWARA,
Masaaki OKUYAMA, Hiroo INOUYE

Recently, the prognosis of bone marrow transplantation (BMT) is improving remarkably and the patient who wish for BMT is increasing rapidly. The operation of BMT was conducted from April 1989 in Ehime Prefecture.

We now report the current status of BMT of which patients were typed HLA in our laboratory. We tested 85 patients at the request of eight hospitals within Ehime Prefecture from January 1986 to December 1991. The diseases of patients were classified 22 cases of ALL, 18 AML, 18 AA, 13 CML and 14 of the other diseases. In 27 cases out of 85, we found the HLA two haplotype identical donor from each patient's family. And, in 12 cases out of 27, each mixed lymphocyte culture reactivities between the patient and the donor was negative.

Key words : bone marrow transplantation, HLA, family donor, mixed lymphocyte culture

はじめに

愛媛県においては、昭和62年4月に全国ネットワークの一環として地方腎移植センターが設置され活動している。その設置前後のキャンペーンを通じ、その波及効果は、腎移植にとどまらず骨髄移植をはじめとし、移植治療全般への関心の高まりとなってあらわれてきた。なかでも、難治性血液疾患の根治的治療法として行われている骨髄移植は、HLA抗原の検査、免疫抑制剤の開発等によって治療成績は向上してきており、それにともない移植希望者は増加している。骨髄移植を行う際には、患者とドナーのHLA完全一致が要求され、現在そのほとんどが遺伝的に近似した同胞間で行われている。当所においては昭和61年1月より骨髄移植を目的としたHLA検査を行っており、平成元年4月から県立中央病院において骨髄移植が実施され

表1 施設別骨髄移植希望者数の推移

施設名	S61	S62	S63	H1	H2	H3	計
県立中央病院	1	2	1	9	5	8	26
国立四国がんセンター	4		7	2	2	5	20
愛媛大学医学部	1	1	2	2	8	4	18
松山赤十字病院		1	5	1	4	6	17
住友別子病院	1						1
県立新居浜病院		1					1
済生会西条病院					1		1
愛媛労災病院						1	1
計	7	5	15	14	20	24	85

ている。そこで今回、愛媛県における骨髄移植の現況について、組織適合性検査を中心に報告する。

対象と方法

対象は、県内の医療機関8施設より骨髄移植の目的でHLA検査の依頼があった85例とした(表1)。疾患別

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

* 現八幡浜中央保健所

表2 疾患別骨髄移植希望症例数

疾患名	症例数
急性リンパ性白血病(ALL)	22
急性骨髄性白血病(AML)	18
再生不良性貧血(AA)	18
慢性骨髄性白血病(CML)	13
非ホジキンリンパ腫	2
悪性リンパ腫	2
急性前骨髄性白血病	2
骨髄異形成症候群	2
ゴーシェ病	1
リンパ芽球性貧血	1
赤芽球性貧血	1
パーキットリンパ腫(BL)	1
Chediak-東症候群	1
副腎腫瘍骨転移	1
計	85

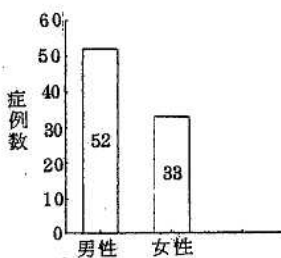


図1 骨髄移植希望患者の性別 (N=85)

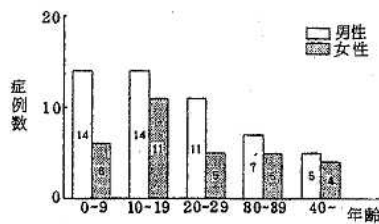


図2 骨髄移植希望患者の年齢 (N=82)

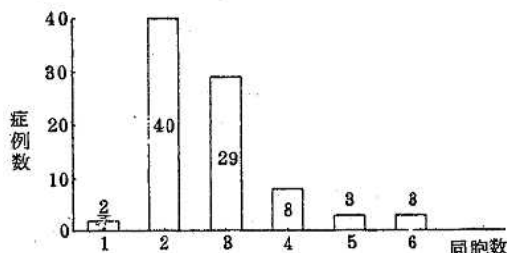


図3 骨髄移植希望患者の同胞数 (N=85)

にはALL 22例, AML, 再生不良性貧血各18例, CML 13例, その他14例であった(表2)。患者85名の性別, 年齢を図1, 2に示した。性別では男性52例, 女性33例であった。85例中年齢不明の3例を除いた82例の年齢構成は, 0~9歳20例, 10代25例, 20代16例, 30代12例, 40代9例であった。患者85例の同胞数を図3に示した。同胞数2人は40例, 3人は29例, 4人は8例, 5人および6人は各3例であった。

患者と家族のHLA-A, B, C, DR, DQタイピングは, LCT法¹⁾, MLC(リンパ球混合培養)は家族でone way MLC²⁾を行った。

結果

骨髄移植希望患者85名とその家族(両親, 同胞) 301名の検査の結果, 2ハプロタイプ同一の同胞が得られた適合率を表3に示した。同胞数2人は27.5%(40例中11例), 3人は31.0%(29例中9例), 4人は37.5%(8例中3例), 5人は33.3%(3例中1例), 6人は100%(3例中3例)に2ハプロタイプ同一の同胞が得られた。全体では85例中27例で, 31.8%に2ハプロ

表3 患者の同胞数別HLA適合率

同胞数(患者含)	症例数	HLA適合症例数	HLA適合率(%)
1人	2	—	—
2人	40	11	27.5
3人	29	9	31.0
4人	8	3	37.5
5人	3	1	33.3
6人	3	3	100
計	85	27	31.8

タイプ同一の同胞が得られた。表4に, HLA適合同胞が得られた27例の性別, 年齢, 疾患名, HLAタイプおよび当所で行ったMLCの結果を示した(MLCの判定はSI:1.6を基準とした)。現在までに, 患者27例のうち18例が同胞より移植を行っている。

考察

1950年マウスの実験からはじまった骨髄移植は, 1970年代より急速に進歩し, 白血病, 重症複合免疫不全症, 再生不良性貧血など50を超える疾病の根治的治療法として定着しつつある³⁾。この骨髄移植は, 患者と骨髄提供者間のHLA抗原の一致やMLC検査での反応性を検討する必要がある。当所は, これらの検査が可能ない県内唯一の施設として, これまで85家系の骨髄移植希望者の検査を実施し, そのうち27名の患者に同胞の適合者を見出した。また, 平成元年4月から県立中央病院において骨髄移植が実施されはじめ, 現在までに10例を超える移植が行われている。今後さらに移植希望者, 移植症例は増えるものと思われ, それにともない骨髄移植を目的とした組織適合性検査の

需要も増加すると考えられる。一方、骨髄移植のドナー選択は、患者とドナーの組織適合性、特にHLAの完全一致が必須であり、そのほとんどが家族の同胞ドナーである。今回の結果では、全体の約1/3の患者にHLA 2ハプロタイプ一致の同胞ドナーが得られた。しかし、残り2/3の患者は同胞に適合者を見い出せなかった。このように、家族から骨髄移植ドナーを得ることはには限界があり、平成3年12月末に発足した全国的な公的骨髄データバンクの活動が期待される。

本論文の要旨は、第39回日本輸血学会総会(京都)で発表した。

文献

- 1) Terasaki, P. I., et al: Nature, 204; 998~1000 (1964)
- 2) 井上博雄他:免疫実験操作XII; 4117~4221(1983)
- 3) 小野江和則:今日の移植, 4. Supple 2; 15~22 (1991)

表4 HLA適合症例

No.	性	年齢	疾患名	HLA Type								MLC	備考
				A	B	C	DR	A	B	C	DR		
1	F	14	AML	2	51	-	4	24	w52	-	2	陰性	移植
13	F	7	CML	31	35	-	5	31	w54	w1	1		
15	F	40	AML	24	w52	-	2	24	51	-	-		移植
18	M	10	CML	24	w52	-	2	-	w52	-	2	陰性	移植
19	F	32	ALL	11	13	w7	5	24	w52	-	2		移植
20	M	39	CML	24	7	w7	1	2	51	-	4		移植
27	M	7	AML	26	w60	-	9	26	w48	w3	-		移植
29	F	15	ALL	24	w52	-	2	24	w52	-	2	陰性	移植
30	M	23	ALL	2	w48	-	2	24	w30	w3	2	陰性	移植
31	M	2	AA	11	-	w7	4	31	w30	w3	2		移植
32	M	5	悪性リンパ腫	2	w61	-	w12	24	7	w7	1		化学療法
33	M	20	CML	2	w55	w1	9	-	w46	w3	4	陰性	移植
40	M	43	AML	2	w46	w11	w8	31	w56	w4	9		化学療法
41	F	15	BL	11	35	w9	4	26	37	w6	10	陰性	移植
47	F	33	ALL	w33	44	-	w13	2	51	-	4		移植
50	M	25	CML	31	35	w9	w14	31	51	-	w11		移植
52	M	49	ALL	26	w61	w10	w11	2	w62	w9	2	陰性	移植
55	M	35	AML	24	35	w9	w8	2	39	w7	9	陰性	移植
56	F	25	AML	2	w61	w10	4	24	w59	w1	4		化学療法
60	F	9カ月	ALL	24	w61	-	5	26	w52	-	2		
61	F	23	ALL	2	37	w6	10	2	w61	w10	1	陰性	
63	M	20	AA	31	w52	-	9	2	35	w9	2	陰性	移植
69	M	2	AA	24	w61	w9	w14	24	7	w7	1		移植
73	M	18	AML	24	w54	w1	w12	2	-	-	4.1	陰性	移植
74	F	28	AA	31	35	w4	9	26	51	-	2		化学療法
76	F	45	ALL	11.1	w67	w7	2	24	51	w10	4.1	陰性	
83	M	20	CML	11.1	w54	w1	4	26	51	-	5		

マススクリーニングにおける先天性代謝異常症の 集団遺伝子頻度の検討

土居重敏 高松公子* 三好雅子 森 正俊 井上博雄

Gene frequencies of congenital metabolic abnormalities based on Mass screening in Ehime Prefecture

Shigekazu DOI, Kimiko TAKAMATSU*, Masako MIYOSHI, Masatoshi MORI,
Hiroo INOUE

In Ehime Prefecture, Mass screening for five types of congenital metabolic abnormalities (phenylketonuria, maple syrup urine disease, homocystinuria, histidinemia and galactosemia) was started from November 1977.

Hypothyroidism (CH) in October 1980 and Congenital Adrenal Hyperplasia (CAH) in December 1989 were started.

Up to March 1992, 274,297 infants were examined and 44 cases with histidinemia, 13 cases with Galactosemia and 4 cases with CAH were detected.

As the results, the frequencies of histidinemia, galactosemia and CAH were 1:6, 200 (44), 1:21, 100 (13) and 1:9, 300 (4) respectively. Therefore we estimated the gene frequencies from the basis of Hardy-Weinberg proportion.

Key words: mass screening, histidinemia, galactosemia, CAH, CH, phenylketonuria, homocystinuria, maple syrup urine disease, gene frequencies, Hardy-Weinberg proportion

はじめに

出生率が低下する中で、次世紀を担う子供の健全な
発育環境づくりは、極めて重要な課題と言える。特に、
母子保健医療対策はその基本をなすものである。愛媛
県では、昭和52年にフェニールケトン尿症、メープル
シロップ尿症、ホモシスチン尿症、ヒスチジン血症、
ガラクトース血症の5疾病のマススクリーニングが開始
された。次いで昭和55年よりクレチン症が加わり、
さらに平成元年には先天性副腎過形成症が追加された。
現在では、7疾病を対象にスクリーニングを実施して
いる。

そこで、平成4年3月末までに検査した新生児約27

万5千人のマススクリーニング検査成績について述べ
るとともにHardy-Weinbergの法則¹⁾⁻⁴⁾を用いて
集団中の遺伝子頻度を求めgenetic carrierを推定し
たので報告する。

材料および方法

- 1) 検査材料は原則として、生後5~7日採血の新生児
児濾紙血を用いて検査した。検査対象者は、昭和52年
11月より平成4年3月末までの新生児274,297名である。
- 2) 対象疾病はフェニールケトン尿症、メープルシロ
ップ尿症、ヒスチジン血症、ホモシスチン尿症、ガラ
クトース血症、副腎過形成症、クレチン症(平成4年
3月まで県立中央病院R I検査室にて実施)の7疾病
とする。
- 3) 検査方法はフェニールケトン尿症、メープルシロ

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

* 現公署技術センター 同上

アップ尿症, ホモシスチン尿症, ヒスチジン血症, ガラクトース血症のアミノ酸代謝異常症についてはガスリ一法⁵⁾, 副腎過形成症についてはELISA法による17-OHPの測定, クレチン症についてはRIA法によりTSHの測定を行った。

4) 判定基準はフェニールケトン尿症ではフェニールアラニン4mg/dl, メープルシロップ尿症ではロイシン4mg/dl, ホモシスチン尿症ではメチオニン1.5mg/dl, ヒスチジン血症ではヒスチジン6mg/dl, ガラクトース血症ではガラクトース8mg/dl, 副腎過形成症では17-OHP3.5ng/ml(抽出法), クレチン症ではTSH9μU/mlとした。

基準値以上にて疑陽性と判定した検体については再採血を依頼し再検査した。また, スクリーニング陽性と判定した場合は, 直ちに専門医療機関への精密検査を依頼した。

遺伝子頻度の推定方法

メンデルの法則の発見後に, 集団遺伝学の基礎とな

るHardy-Weinbergの法則が発表された。この法則は, ある大きな集団中で正常遺伝子Aの頻度がpで, 異常遺伝子aの頻度がqであるとすると1世代任意交配したときの遺伝子頻度は二項定理 $(p+q)^2=p^2+2pq+q^2$ が成立し, そしてこの頻度はこのまま続くものとするものである。

遺伝子型	頻度
AA	p^2
Aa	$2pq$
aa	q^2

ここにpを正常遺伝子頻度, $q(=1-p)$ を異常遺伝子頻度とすると, 劣性ホモ接合体の出現率はqの2乗であり, ヘテロ接合体の保因者の割合は $2pq$ となる。

先天性代謝異常症7疾病のほとんどが常染色体劣性遺伝と考えられているため, この法則を用いて疾病の遺伝子頻度や保因者の推定が可能である。

表1 先天性代謝異常症マススクリーニング実施状況

区分/年度	昭和52	53	54	55	56	57	58	59	60	
初回受検者数(人)	7,849*	21,636	21,295	20,332	21,055	20,746	20,520	19,893	18,991	
出生数(人)	21,515	21,213	20,221	19,721	19,236	18,821	18,611	18,354	17,644	
受検率(%)	36.5	102.0	105.3	103.1	109.5	110.2	110.3	108.4	107.6	
項目別陽性数	フェニールアラニン									
	ロイシン					2	2(1)	2	2(2)	
	メチオニン									
	ヒスチジン	1(1)	5(5)	4(4)	9(9)	5(3)	5(3)	6(3)	2(1)	2(2)
	ガラクトース				1	3	1(1)	3(1)	2(1)	5(5)
	17-OHP									
TSH**				1(0)	10(3)	5(3)	5(5)	6(4)	5(3)	

()の数字は患者

61	62	63	平成元年	2	3	合計
18,532	18,049	17,221	16,467	15,960	15,750	274,294
17,226	16,346	15,942	15,170	14,669	14,522	269,211
107.6	110.4	108.0	108.5	108.8	108.5	101.9
				1(1)	2	11(4)
1(1)	7(3)	2(2)	2(2)	4(4)	3(1)	58(44)
1	3(1)	2(2)	6(2)		1	28(13)
			1(1)	7(1)	15(2)	23(4)
7(3)	6(6)	3(3)	10(4)	6(3)	6(3)	70(40)

* 昭和52年度受検者数は昭和52年11月~53年3月までの数字

** クレチン症検査は昭和55年度~平成3年度まで県立中央病院にて実施
昭和52年度~昭和54年度までの受検者数は再検査数を含む

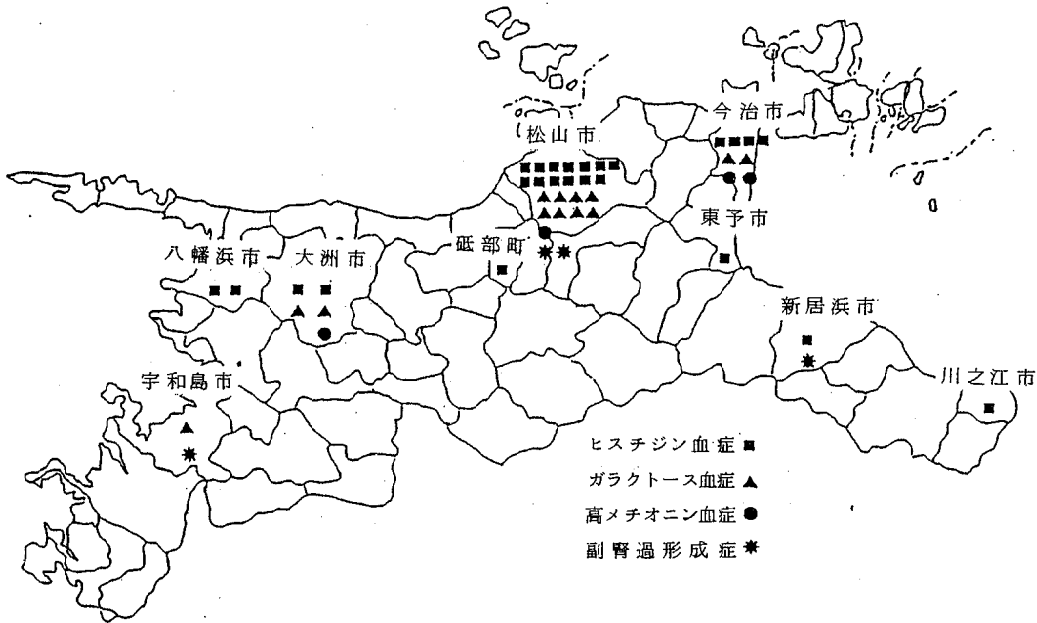


図1 先天性代謝異常症の分布状況 (S 56.4 ~ H 4.3)

結果および考察

1 検査実施状況

母子保健事業の一つとして実施している愛媛県の先天性代謝異常症のスクリーニング実施率を見ると、表1に見られるようにほぼ100%と満足のいく受検率となっている。ただ100%を越える部分については里帰り分娩が大きな要因と考える。

また、スクリーニング開始当初より平成4年3月末までの検査成績では、274,297名の被検新生児のうち191名のスクリーニング陽性者を発見した。この191名のスクリーニング陽性者については、直ちに専門医療機関へ精密検査を依頼した。その結果、一過性高メチオニン血症4名、ヒスチジン血症44名、ガラクトース血症13名、副腎過形成症4名、クレチン症40名の合計105名の患児を確定診断し早期に治療する事が出来た。

2 異常遺伝子頻度と健常保因者の推定

先天性代謝異常症の大部分は常染色体劣性遺伝による疾患であるとされ、疫学的見地から近親婚の問題が重要となってくる。わが国の近親婚に関する調査は戦前から広く行われており、離島や山間の僻地など隔離集団では著しく高い頻度で近親婚が認められていたことが報告⁶⁾されてきた。しかし、スクリーニング開始当初に予想したフェニルケトン尿症などの発見頻度が意外と低かったことの原因として、交通機関の発達

や都市化現象により近親婚の減少が考えられる。

そこで、愛媛県における疾患別異常遺伝子頻度と健常保因者の頻度を算定し、表3・表4にそれぞれ示した。この結果について全国レベル⁷⁾と比較してみると、ヒスチジン血症・ガラクトース血症・副腎過形成症いずれの疾患も全国レベルより高い傾向が見られた。

常染色体劣性遺伝においては、保因者間(ヘテロ接合体Aa)の子供は $\frac{1}{4}$ の確率で患者(ホモ接合体aa)となる。父親、母親となる年齢を20~34歳と考えたとき、県下の健常保因者数の推定は以下の通りとなる。

ヒスチジン血症の保因者:男性約3,300人,女性約3,700人,ガラクトース血症の保因者:男性約1,800人,女性約2,000人,副腎過形成症の保因者:男性約2,700人,女性約3,000人。

3 地域別の遺伝子頻度

地域別遺伝子頻度を推定するために、出生地のわかっている患児(昭和56年~平成4年3月)の発生分布を図1に示した。ヒスチジン血症は南予地区4名、中予地区1名、東予地区7名。ガラクトース血症は南予地区3名、中予地区8名、東予地区2名、副腎過形成症は南予地区1名、中予地区2名、東予地区1名となっており、これらの数字より県下の地域別遺伝子頻度を求め表5に示した。ヒスチジン血症は中予に高く、ガラクトース血症は中予~南予に高い傾向が見られた。

表2 患者 発見頻度

疾 病	全 国 *		愛 媛 県 **	
	患 者 数	発 見 頻 度	患 者 数	発 見 頻 度
フェニールケトン尿症	232人	1 / 80,500	0人	—
メープルシロップ尿症	46	1 / 405,900	0	—
ホモシスチン尿症	100	1 / 186,700	0	—
ヒスチジン血症	2,066	1 / 9,000	44	1 / 6,200
ガラクトース血症	416	1 / 44,900	13	1 / 21,100
副腎過形成症	164	1 / 15,800	4	1 / 9,300
クレチン症	2,447	1 / 6,300	40	1 / 6,800

*昭和52年度～平成2年度 受検者数 18,671,590

**昭和52年11月～平成3年度 受検者数 274,297

表3 疾病別の異常遺伝子頻度

疾 病	全 国 *		愛 媛 県 **	
	患 者 数	異 常 遺 伝 子 頻 度	患 者 数	異 常 遺 伝 子 頻 度
フェニールケトン尿症	232人	3.52×10^{-3}	0人	—
メープルシロップ尿症	46	1.57×10^{-3}	0	—
ホモシスチン尿症	100	2.31×10^{-3}	0	—
ヒスチジン血症	2,066	10.54×10^{-3}	44	12.70×10^{-3}
ガラクトース血症	416	4.72×10^{-3}	13	6.88×10^{-3}
副腎過形成症	164	7.96×10^{-3}	4	10.37×10^{-3}
クレチン症	2,447	—	40	—

*昭和52年度～平成2年度 受検者数 18,671,590

**昭和52年11月～平成3年度 受検者数 274,297

表4 疾病別の健常保因者の頻度と推定保因者数

疾 病	健 常 保 因 者 の 頻 度		愛 媛 県 の 推 定 保 因 者 数	
	全 国	愛 媛 県	男	女
フェニールケトン尿症	7.04×10^{-3}	—	—	—
メープルシロップ尿症	3.14×10^{-3}	—	—	—
ホモシスチン尿症	4.61×10^{-3}	—	—	—
ヒスチジン血症	20.97×10^{-3}	25.24×10^{-3}	3381	3748
ガラクトース血症	9.42×10^{-3}	13.71×10^{-3}	1836	2036
副腎過形成症	15.86×10^{-3}	20.63×10^{-3}	2763	3064
クレチン症	—	—	—	—

愛媛県統計年鑑(平成3年刊行)

愛媛県の20歳～34歳の人口 男 133,941人

女 148,502人

表5 地域別遺伝子頻度

地域	受検者数	ヒスチジン血症		ガラクトース血症		副腎過形成症	
		患児数	遺 伝 子 頻 度	患児数	遺 伝 子 頻 度	患児数	遺 伝 子 頻 度
東予地区	69,083	7	10.07×10^{-3}	2	5.38×10^{-3}	1	9.28×10^{-3}
中予地区	87,369	14	12.70×10^{-3}	8	9.58×10^{-3}	2	12.31×10^{-3}
南予地区	46,733	4	9.25×10^{-3}	3	8.01×10^{-3}	1	11.18×10^{-3}

昭和56年4月～平成3年3月末までの期間

今回、県下の先天性代謝異常症の発生頻度を全国レベルと比較したとき、ヒスチジン血症・ガラクトース血症・副腎過形成症において全国を上回っていた。

結果的には、地理的条件や近親婚が考えられるが交通網の発達、近親婚の減少傾向から将来的には減少することが予測される。

まとめ

愛媛県の先天性代謝異常症の発生頻度およびヘテロ接合体（保因者）の推定を行った結果を表2, 3, 4に示した。ヒスチジン血症・ガラクトース血症・副腎過形成症の発生頻度は、1/6200・1/21100・1/9300といずれの疾病も全国の平均を上回った。

さらに、発見頻度より異常遺伝子頻度（表3）をもとめ愛媛県の健常保因者数を推定するとヒスチジン血症：男性約3,300人、女性約3,700人、ガラクトース血症：男性約1,800人、女性約2,000人、副腎過形成症：男性約2,700人、女性約3,000人となった。

また、図1をもとに地域別遺伝子頻度（表5）を求めると、ヒスチジン血症は中予に、ガラクトース血症は南予～中予にかけて高い傾向がみられた。

文献

- 1) 古畑種基他：遺伝医学，194～204，金原出版（1960）
- 2) 篠遠喜人他：遺伝学ハンドブック，542～545，技報堂（1956）
- 3) James F. Crow：遺伝学概説（原書第8版），214～218，培風館（1991）
- 4) 高松公子他：愛媛衛研年報，47，15-18，（1988）
- 5) Guthrie, R: SCREENING, 1, 5～15, (1992)
- 6) 青木菊馨：特殊ミルク情報 第20号, 64～68, 母子愛育会（1990）
- 7) 厚生省児童家庭局母子衛生課：特殊ミルク情報 第23号, 90～92, 母子愛育会（1991）

環境中の微量金属と食品中の含量に関する基礎的研究(第二報)

出口修一 武智拓郎 石丸尚志 大倉敏裕

Studies on trace metals in environment and contents of foods II

Shuichi DEGUCHI, Takuro TAKECHI, Takashi ISHIMARU, Toshihiro OHKURA

The concentration of metals in the 48 samples of brown rice cultivated in Ehime prefecture and rice field soil was measured.

The result of brown rices was as follows: Fe 7.6~20.1 $\mu\text{g/g}$, Mn 16.8~50.7 $\mu\text{g/g}$, Zn 14.1~26.3 $\mu\text{g/g}$, Cu 1.21~4.96 $\mu\text{g/g}$, Sn 0.56~3.58 $\mu\text{g/g}$, Ca 73~105 $\mu\text{g/g}$, Cd 0.002~0.275 $\mu\text{g/g}$ and As 0.022~0.258 $\mu\text{g/g}$.

The result showed that brown rice cultivated in Ehime prefecture contained similar metal concentration to one cultivated in the other prefecture.

Moreover, in rice field in Ehime soil metal concentration showed similar level to soil in the other prefecture.

The correlation of metals in brown rice and rice field soil was not found.

Key words: trace metals, brown rice, rice field soil

はじめに

金属は、水、土壌等の環境中に広く分布し、人を含め地球上の生物や食品中に常在している。その金属による食品汚染が社会問題の一つとして大きく取り上げられ、特に主食である米については、1970年に食品衛生法において、玄米中の規格基準(Cdとして1.0 ppm未満)が制定されるとともに、国は、カドミウム環境汚染精密調査基準として0.4 ppm以上のものを流通機構に乗せないように指導している。また、水田土壌についてはその基準を農用地の土壌の汚染防止等に関する法律により銅(特定有害物質として)125mg/kg、亜鉛(管理基準として)120mg/kgと定めている。

一方、全国的には社会的背景や分析技術の進歩により玄米中の含有量について種々報告¹⁻⁴⁾されている。

しかし、県内ではそれらの報告⁵⁾が希少であるため前年度⁶⁾につづき県内産玄米とその栽培土壌中の金属の常任値を求め環境汚染からの人の健康と食品の安全性確保に関する基礎資料とするため調査を実施した。

調査方法

(1) 試料

平成3年度県内産玄米を48ヶ所から採取し前年度⁶⁾と同様に、実験室内で室温下、風乾し試料とした。

また、土壌は、玄米が栽培された水田の表層から15 cmまでのところ約1kgずつ採取し、実験室内で風乾後、常法により粉碎し、非金属製100 mesh篩を通過したものを十分混合して試料とした。

(2) 分析方法

① 玄米

鉄、マンガン、亜鉛、銅、スズ、カルシウム、カドミウムは、試料約1gを精秤し、ヤマト科学製低温灰化装置で灰化後、硝酸溶液で定容し試験溶液とした。

また、ひ素は、試料約10gを精秤し衛生試験法⁷⁾にもとずき湿式分解後、超純水により定容し試験溶液とした。

② 土壌

試料50gに0.1N塩酸溶液を加え、30℃1時間振盪浸出後、濾過液を試験溶液とした。

表1 玄米の金属含有量

金属名	Fe	Mn	Zn	Cu	Sn	Ca	Cd	As	H ₂ O
N	48	48	48	48	48	48	48	48	48
Avg.	11.2	24.6	19.7	2.96	1.85	91.9	0.065	0.134	13.72
Std.	2.3	5.4	2.3	0.70	0.77	8.0	0.063	0.049	0.80
Max.	20.1	50.7	26.3	4.69	3.58	104.7	0.275	0.258	15.60
Min.	7.6	1.68	14.1	1.21	0.56	73.0	0.002	0.022	12.30
unit	$\mu\text{g/g}$								%

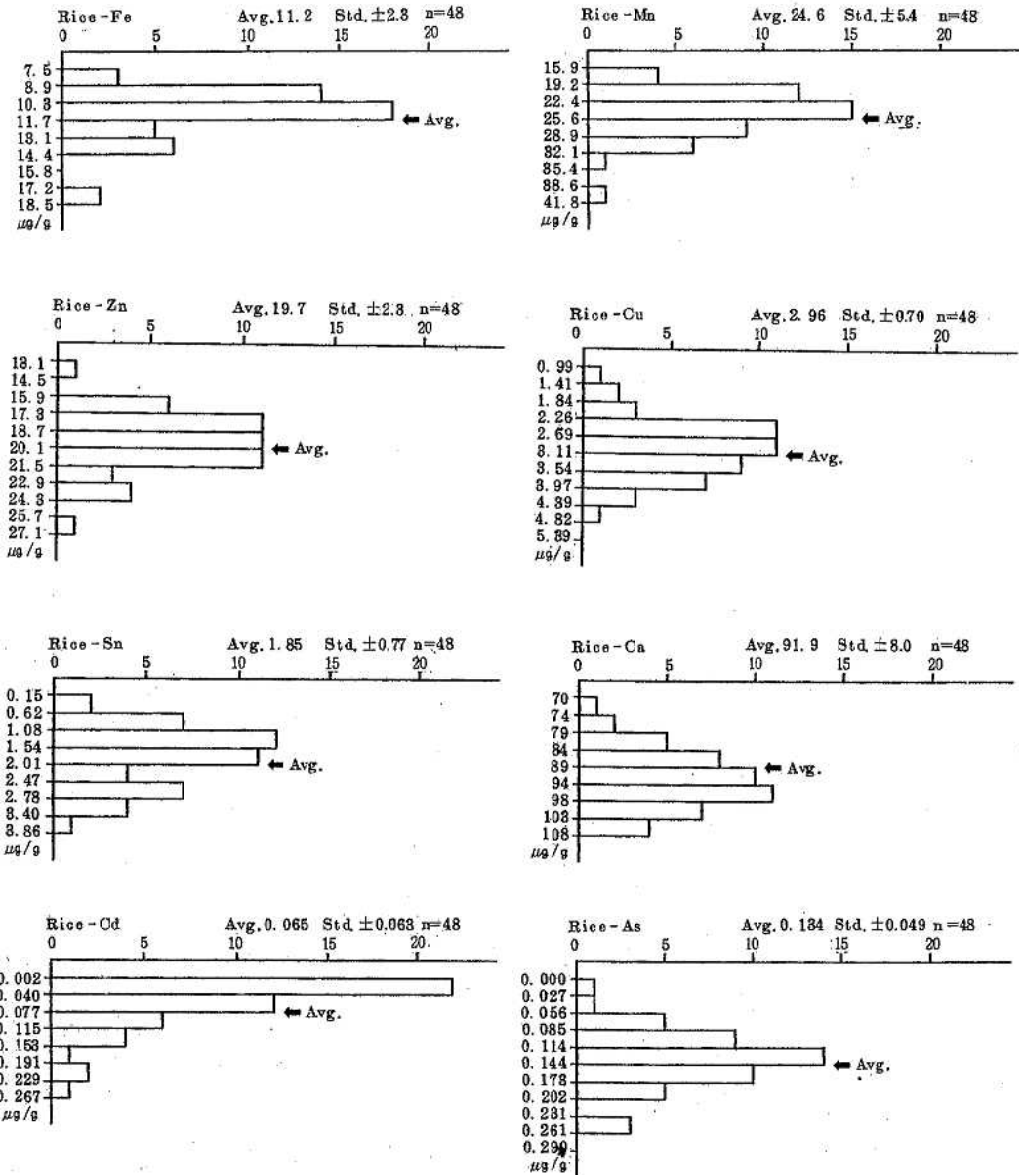


図1 玄米中の金属含有量ヒストグラム

③ 測定方法

鉄、マンガン、亜鉛、銅、スズ、カルシウムは高周波誘導結合アルゴンプラズマ発光分光（以下ICPと略す）により実施した。

ひ素は、Gutzzeit's法で呈色後、二波長クロマトスキャナーにより定量⁸⁾した。

カドミウムは、フレームレス原子吸光度計を用い原子化炉内簡易標準添加法により実施した。

また、玄米の水分測定は、簡易型玄米水分測定器を用いた。

結果及び考察

(1) 玄米

①各金属の平均値、標準偏差及び濃度範囲を表1に示した。

既報告と比較すると、石松⁹⁾は西日本地区10県の結果を100g中の平均含有量として銅193±43μg、マンガン970±194μg、亜鉛1494±195μg、カドミウム6.5±5.2μgと報告している。

ICPによる同時測定の結果として、山野¹⁰⁾は、東京都に搬入された検体について、カドミウム0.06±0.06ppm、ひ素0.21±0.23ppm、銅240±0.60ppm、スズ3.33±2.10ppm、マンガン27.8±7.9ppm、鉄11.7±3.4ppm、カルシウム80.3±13.4ppm、亜鉛19.2±5.2ppmと報告している。

また、池辺¹¹⁾の報告では、カルシウム69.16±5.56ppm、マンガン23.77±1.83ppm、亜鉛16.80±2.76ppm、鉄8.367±1.807ppm、銅2.530±0.609ppm、カドミウム0.090±0.053ppmであった。

今回、我々が実施した結果を石松らの分析値と比較するとカドミウムはよく一致していたが、他の金属については石松らのほうが若干高い傾向にあった。

山野¹⁰⁾の結果とは、県産米のほうがスズとひ素で低い値を示したが他の金属については、よく一致していた。

池辺¹¹⁾の報告と比較すると、各金属ともほとんど同様な値であった。

なお、県産米で食品衛生法で定められているカドミウムの成分規格及びカドミウム環境汚染精密調査基準値を越えるものはなかった。

②図1に玄米中の各金属の含有量をヒストグラムで示した。

その結果は、鉄やカルシウムなど生物にとって必須元素である金属は、正規分布し、カドミウムのような非必須金属は歪みのある分布すなわら対数正規分布するという報告⁹⁾と一致した。

③玄米中の金属間の相関は、表2に有意差判定マト

リックスを示した。1%の危険率で有意差の認められた金属の組合せは14であり、その内、特に相関の高い亜鉛-銅、銅-カドミウムの散布図を図2に示した。

④玄米の乾燥状態を把握するため簡易水分測定器により測定した水分量は、平均13.71%、標準偏差±0.80%であり、四訂日本食品成分表¹⁰⁾に示されている値15.5%と比較すると低い結果となった。

表2 玄米の有意差判定マトリックス

	Fe	Mn	Zn	Cu	Sn	Ca	Cd	As
Fe								
Mn								
Zn	***							
Cu	***	***	***					
Sn	*		***	***				
Ca			***					
Cd			***	***	***			
As		***			***	***		

有意水準 *** 1% * 5%

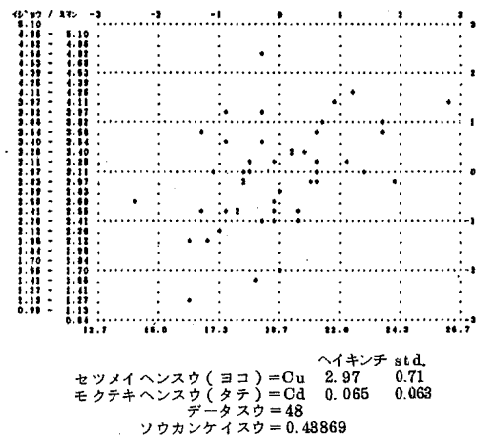
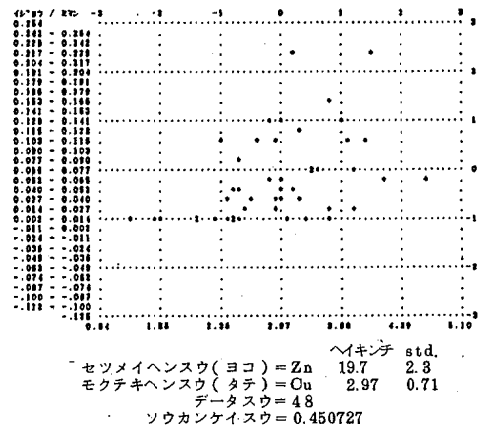


図2 玄米の金属含有量相関散布図

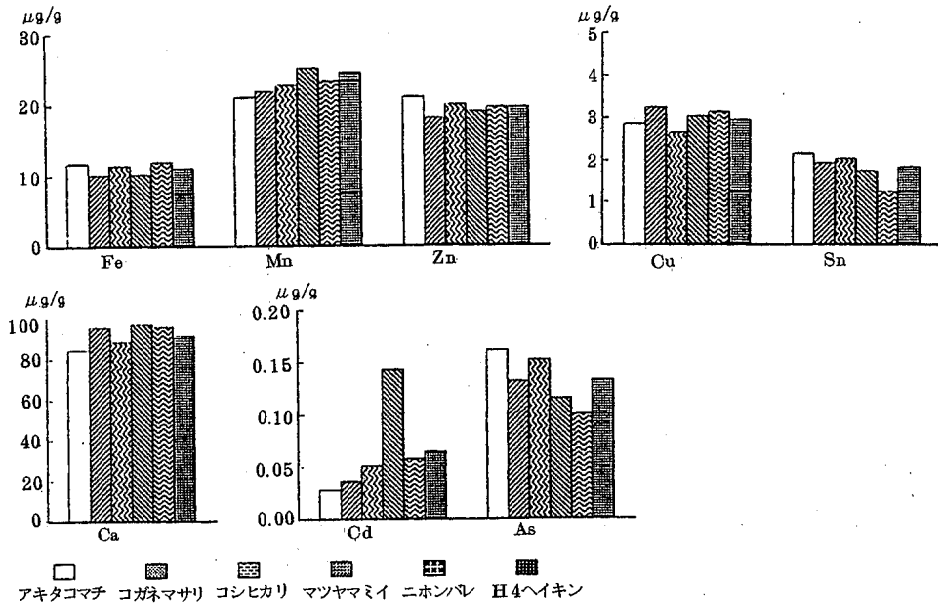


図 3 玄米品種別金属含有量濃度分布

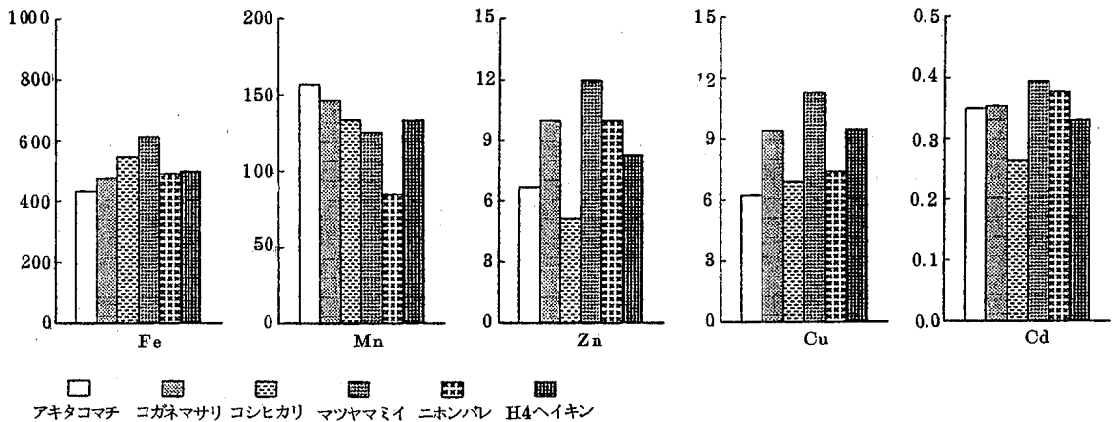


図 4 玄米栽培土壌品種別金属含有量濃度分布

⑤玄米の品種ごとの金属含有量の濃度分布を図3に示した。

玄米中の金属含有量は、特に栽培期の降水量及び気温が大きき要因となると考えられているが、今回の調査は試料採取年度が同一年であるため、生産地の土壌及び品種を比較した。

その結果は、品種間の明確な違いを見いだすことはできなかったが一部品種でカドミウムが他に比べて高いものがあった。

栽培土壌と玄米との関係を調べるため、図4に栽培品種別の土壌金属濃度分布を示した。

しかし、熊谷ら¹⁾の報告と同様に、栽培土壌とそこ

で栽培された玄米の相関関係はなかった。このことは、栽培土壌での金属の存在形態により玄米への金属吸収

が異なるということを示唆しているものと考えられる。

表3 栽培土壌の金属含有量 単位: $\mu\text{g/g}$

金属名	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd
N	48	48	48	48	48
Avg.	500.5	134.6	8.30	9.50	0.332
Std.	237.0	89.2	5.25	6.37	0.114
Max.	1053.1	431.8	22.06	33.75	0.756
Min.	16.8	8.4	1.57	1.55	0.150
基準値	—	—	120	125	—

表4 栽培土壌の有意差判定マトリックス

	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd
Fe					
Mn	***				
Zn					
Cu		***			
Cd			***		

有意水準 ***1%

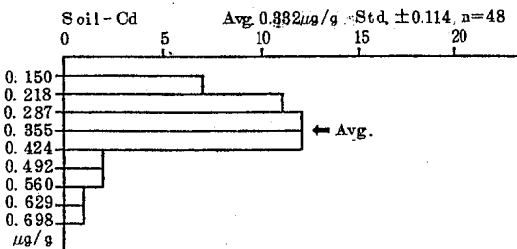
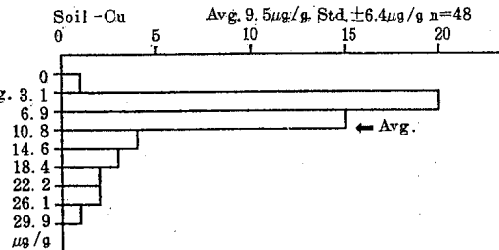
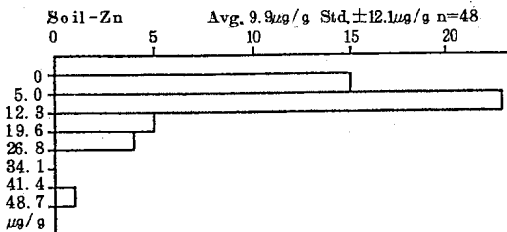
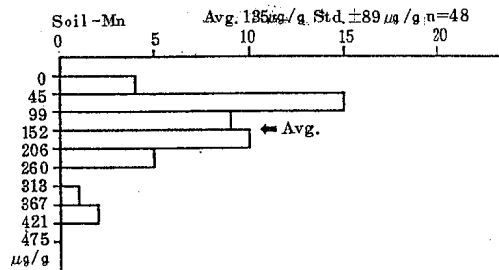
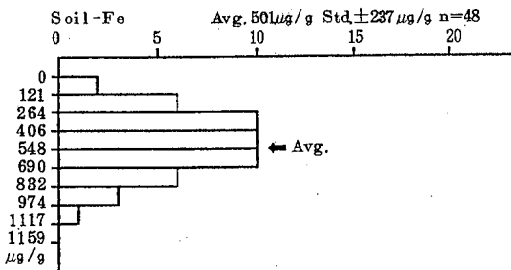


図5 栽培土壌中の金属含有量ヒストグラム

⑥平成元年度県民栄養調査¹²⁾に基づき県民の1人1日当たりの金属摂取量を試算すると鉄(男性2.4mg・女性1.6mg)、マンガン(5.3mg・3.6mg)、亜鉛(4.3mg・2.9

mg)、銅(0.6mg・0.4mg)、スズ(0.4mg・0.3mg)、カルシウム(19.9mg・13.5mg)、カドミウム(0.01mg・0.01mg)、ヒ素(0.03mg・0.02mg)となった。

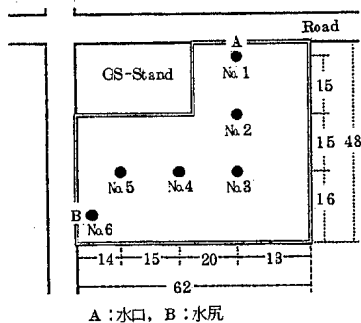


図6 玄米栽培土壌採取地点図

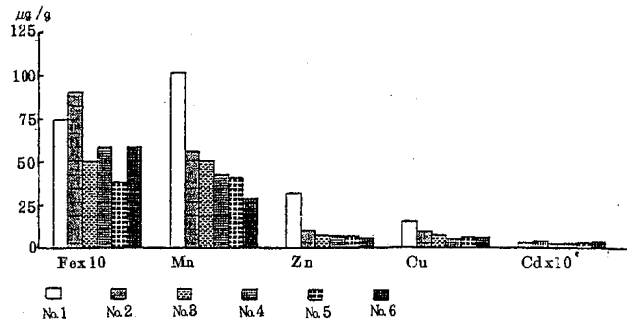


図7 玄米栽培土壌(一圃場)金属含有量水平濃度分析

(2) 土 壤

①栽培土壌中の金属含有量は、表3に示した。その結果は、先に我々が報告⁶⁾した値と同程度であり、銅、亜鉛の規制基準及び管理基準を越えるものはなかった。

平成3年度版環境白書⁵⁾によって報告されている愛媛県における銅7.57ppm、亜鉛18.21ppmと比較すると今回の結果は、銅は若干高濃度であったが、亜鉛は低濃度であった。

その金属含有量度数分布を図5に示した。

②栽培土壌の各金属間の相関は、表4に示しているように鉄—マンガン、マンガン—銅、亜鉛—カドミウム間に認められた。

③一圃場における栽培土壌の金属含有量を調査するため図6に示す水口1点、中央4点、水尻1点の計6点から採取した表層土壌の金属濃度分布を図7に水平分布として示した。

マンガン、亜鉛、銅は、水口から中央、水尻の順に濃度が低下しているが、カドミウムはほぼ同様な濃度で濃度変化がみられなかった。

なお、鉄は採取地点によるバラツキがみられた。

このことは、池辺¹³⁾が報告しているように金属類は可溶性あるいは不溶性の状態で灌漑水路を経由して水田に流入し、不溶性の金属が水口に停滞する傾向にあると考えられるが、水系の流量や流速、またその圃場の植生などにより金属の分布が変わることを示唆している。

④栽培土壌の金属含有量と玄米の金属含有量との相関関係は、認めることができなかった。

このことは、熊谷¹¹⁾が先に報告している結果と一致した。

まとめ

①今回調査した平成3年度県内産の玄米の金属含有量は、他の非汚染地域の玄米と同程度で常在値の範囲内であった。

②県民が米から摂取している金属量についても玄米と同様であった。

③栽培土壌の金属含有量も規制基準及び管理基準を充たし、他の報告にみられる常在値の範囲であった。

④玄米と栽培土壌の金属含有量間の相関関係は認められなかった。

本調査研究は、愛媛県立衛生研究所『特別研究事業費』により実施されたものであり、第51回日本公衆衛生学会総会において一部発表の予定である。

文 献

- 1) 石松成子他：栄養学雑誌，45，223 (1987)
- 2) 山野辺秀夫他：東京衛研年報，42，90 (1991)
- 3) 池辺克彦他：食品衛生学雑誌，24，282 (1983)
- 4) (財)日本公衆衛生協会編：環境保健レポート54,255(1988)
- 5) 愛媛県：平成3年度環境白書，341 (1992)
- 6) 出口修一他：愛媛衛研年報，52,19 (1991)
- 7) 日本薬学会編：衛生試験法・注解，557，金原出版 (1990)
- 8) 武智拓郎他：日本薬学会第100年会講演要旨468 (1980)
- 9) 日本化学会編：微量元素，3，丸善 (1975)
- 10) 科学技術庁資源調査会編：四訂日本食品成分表38，医歯薬出版 (1983)
- 11) 熊谷洋他：山口衛研年報，5，11，(1982)
- 12) 愛媛県：平成元年度県民栄養調査報告書，50 (1990)
- 13) 池辺克彦他：日本公衆衛生雑誌，20，601 (1973)

松山平野における温泉の化学的及び地球化学的研究

真木 強 田頭和恵 井上 智

Chemical and Geochemical Study on the Spring Water in Matsuyama Plain, Ehime Prefecture

Tsuyoshi MAKI Kazue TAGASHIRA, Satoshi INOUE,

A statistical examination of the chemical analysis data of the spring water in Matsuyama plain showed the following features chemically and geochemically.

- (1) Hot springs existed in no running volcanic belt.
- (2) The water showed high pH and contained considerable amount of fluoride.
- (3) The fluoride had positive correlation with depth, temperature, pH, magnesium, and had negative correlation with calcium and carbonate.
- (4) Toward the area of north-west or east-north, content of fluoride increased, but chloride and residue decreased.

Key words : non volcanic spring, spring in Ehime prefecture, fluoride, pH

はじめに

松山市は愛媛県の中央部に位置し、古くから出湯の町として、また、城下町として栄えた県都である。

特に、市中心地から北東約2kmにある道後温泉は日本最古の温泉として有名である。

近年、温泉ブームの中、松山市周辺においては、これまでに道後温泉を中心にして数多くの温泉が開発されているが、これらの温泉群の分析結果を統計的に処理し、泉質の特性と地質との関係について考察したので報告する。

松山平野及び周辺における地形、地質及び温泉の開発状況

松山平野は、西南日本を内帯と外帯とに分ける中央構造線の北側（内帯）の領家帯に位置している。地質、地形は図1に示すとおりで、松山城山（勝山131.7m）を中心として、北西部は領家花崗岩（一部、安山岩の露頭有り。）を主流とする火山岩層から、南東部は和泉砂岩を主流とする堆積岩層で構成¹⁾されている。

両地層の境界は、松山城山頂と道後公園（713.6m）の頂上を結んだ東北東-西南西の線上にあり、北西部の花崗岩層は南東部の和泉砂岩層に対してかなりの急角度で潜りこんでいると言われている。

また、市内から南方約15kmには、東西に走る中央構造線がある。この断層の東側は三波川変成岩帯（黒色片岩や緑色片岩など）で、これらを母岩とする温泉（高濃度の冷鉱泉）も開発されている。

一方、道後温泉を中心とした松山平野での温泉についての地球科学的な研究は、愛媛大学の高津や宮久等^{2,3)}を中心に行われてきた。

故愛媛大学教授宮久博士は、道後温泉のボーリングの調査結果に基づき、道後温泉湯の町を中心とした北西-南東に走る祝谷断層を推定しているが、この断層は、図1に示すように、北は権現温泉、南は東道後温泉を結ぶ線上にあって、約40度の角度で西に傾斜しており、温泉水はこの断層に沿って上昇しているというものである。

松山平野及びその周辺では、これまでに約100カ所の源泉の開発が試みられてきた。

源泉の掘削深度は200~399mのものが全体の約35

%で一番多く、次いで400~599m, 0~199m, 600~799mの順で、600m未満のものが全体の約90%を占めている。また、1000m以上の源泉も6箇所ある(図2)。

また、地質的には

- ① 花崗岩を母岩とする源泉が最も多く、
(道後温泉, 奥道後温泉, 権見温泉など)
- ② 次いで和岩砂岩を母岩とする源泉で、
(東道後温泉, 伊予市や川内町の温泉など)
- ③ 変成岩を母岩とする源泉も僅かではあるが開発されている。

調査方法

松山平野及びその周辺において、掘削後分析調査が行なわれ、結果が報告^{4~7)}されている85箇所の源泉を選定・集計し、相関係数, 相関直線を求めると共にクラスター分析等の統計処理を行った。

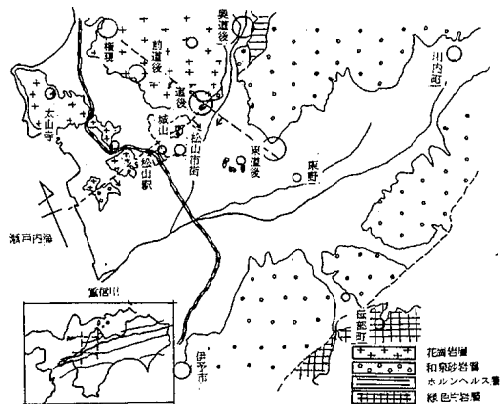


図1 松山平野の地質図

表1 松山平野における温泉分析結果集計表

	源泉数	深度 (m)	泉温 (°C)	pH	RE (mg/kg)	陽イオン (mg/kg)				陰イオン (mg/kg)			
						Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	CO ₃ ²⁻
道後温泉群	21	522 180-1000	41.48 (10.59)	8.92 (0.5)	216.4 (30.2)	65.18 (15.82)	1.36 (1.48)	4.62 (4.95)	0.56 (0.81)	10.44 (5.75)	30.21 (10.60)	11.90 (11.69)	4.450 (7.69)
奥道後 "	19	344 140-540	31.3 (6.9)	8.97 (0.3)	24.98 (8.89)	76.09 (39.32)	2.37 (8.82)	6.02 (4.78)	0.62 (0.55)	10.06 (5.05)	51.91 (51.29)	13.17 (5.88)	3.182 (12.65)
東道後 "	14	328.6 150-415	32.5 6.3	8.94 (0.3)	4.628 (189.5)	16.35 (6.86)	1.14 (0.52)	3.75 (4.44)	0.70 (1.06)	8.93 (4.10)	12.591 (119.10)	7.82 (18.24)	9.643 (26.94)
権見 "	3	275 121-500	23.3 19.8-28.4	9.5 9.1-9.9	1.69 165-1.91	53.5 50.0-58.0	0.75 0.1-0.8	4.20 1.3-5.8	0.43 0-1.3	14.50 13.9-15.7	13.63 9.1-21.3	5.87 36-9.4	37.03 2.25-2.80
太山寺温泉	1	1105	24.8	9.2	131.8	1175	1.4	2.4	0.2	21.4	22.7	13.4	98.0
前道後地区	4	412.8 151-800	18.8 16.2-20.7	8.8 8.0-9.3	17.4 14.7 -20.45	51.25 34.8-62.7	0.93 0.5-1.7	8.28 21-17.1	1.53 0.3-3.0	6.30 1.1-14.1	9.63 8.6-11.1	9.68 5.8-13.2	62.08 28.7 -118.8
山西鉱泉	1	372	21.3	7.5	136.14	2420	11.5	234.3	27.68	1.1	764.0	84.5	51.2
松山市市街地	3	77.97 55.7-1030	28.0 23.1-35.8	8.7 8.4-8.9	59.62 326.1 -111.14	23.62 10.55 -4.85	1.8 1-3.1	5.4 2.5-9.9	1.3 0-2.5	17.0 13.8-19.2	21.99 5.69 -51.05	2.8 0.1-5.5	1.031 5.96 -18.79
国鉄前地区	2	750 500-1000	36.1 32.8-39.4	7.5 7.3-7.8	35.72 317.7 -39.67	10.43 95.19 -113.5	23.3 14.2-32.4	17.16 14.4 -1.992	60.4 5.09-69.3	5.7 5.3-6	20.31 17.73 -22.39	0 0.886 -1.031	95.9 8.92
東野地区 リハビリテーション	1	1010	29.4	8.5	570.70	221.7	26.20	6.22	8.3	4.0	24.95	0	8.92
伊台地区	4	432.5 280-600	19.0 17.4-22.1	8.1 7.3-9.3	130.4 82.8 -195.4	1.80 9.3-29.0	1.3 0.5-1.8	1.96 7.9-33.2	2.63 0.2-6.8	1.4 0.3-2.9	8.0 6.5-10.1	7.7 2.7-14.0	4.85 8.87-59.3
川内町地区	5	60 3-200	1.66 15.9-18.3	8.2 7.5-9.4	41.38 37.5 -28.8	12.36 9.55-17.5	1.96 1.2-2.6	2.84 0-30.6	5.40 0.7-8.5	0.88 0.7-1.1	10.3 4.9-17.9	16.08 4.4-10.3	1.824 15.71 -20.4
伊予市地区	5	12.9 3-30.0	17.7 14.5-23.4	8.8 8.0-9.8	50.21 18.31 -1.83	1.62.3 14.3 -4.444	1.96 0.9-2.7	1.3.8 0.5-3.8.7	2.9 0.3-8.6	11.8.9 0.1-2.5	12.2 6.0-46.5	13.5.4 0-17.1	1.35.4 6.7.5-2.2.7
砥部町一本松地区	1	0	18.9	7.5	15.42	4.65.8	2.6	8.4.8	16.5	0.2	7.6.5.1	0.5	1.3.9.9
砥部町川登地区	3	92.6 75.0 -102.5	20.7 1.7.7-23.9	6.8 6.3-7.4	50.8.2 361.6 -3.8.2.2	1.57.3 12.6.0 -2.0.5.8	6.3.0 10.1-9.3.8	1.5.3.0 1.0.7.4 -2.2.3.3	5.5.4 3.9-9.2.0	0.0.7 0-0.1	2.2.8.5 19.2.2.4 -2.8.2.1.0	2.8.7 0.9-4.9	5.5.8.8 1.3.2.5 -1.0.5.8

注) 上段: 平均値
下段: 標準偏差又は濃度範囲

なお、分析結果は、あらかじめクラスター検定を行い、母集団と差が認められる7源泉を棄却したのち統計処理を行った。

表2 温泉の主要項目(主成分)間の相関関係

	深度 (m)	泉温 (°C)	pH値 (pH)	RE (%)	Na ⁺ (%)	Ca ²⁺ (%)	Mg ²⁺ (%)	F ⁻ (%)	Cl ⁻ (%)	SO ₄ ²⁻ (%)	CO ₃ ²⁻ (%)
深度(m)	-	.39	.14	⊖.24	⊖.15	⊖.30	⊖.33	.59	⊖.11	⊖.22	⊖.35
泉温(°C)	.39	-	.39	⊖.11	⊖.07	⊖.47	⊖.43	.59	⊖.05	⊖.08	⊖.41
pH値	.14	.39	-	⊖.20	⊖.07	⊖.76	⊖.72	.55	⊖.19	⊖.02	⊖.24
RE (%)	⊖.24	⊖.11	⊖.20	-	.97	.37	.46	⊖.02	.93	⊖.15	.57
F ⁻ (%)	.59	.59	.55	⊖.02	.09	.54	.47	-	.10	⊖.21	⊖.41
Cl ⁻ (%)	⊖.11	⊖.05	⊖.19	.93	.92	.38	.41	.10	-	⊖.29	⊖.30

注: 1 数値は相関係数
2 ⊖は負の相関
3 n = 78

結果および考察

各温泉群について、深度、泉温、pHおよび主要成分の平均、最大、最小の値を表1に、主要項目間の相関係数を表2に示した。

表1, 2の結果から、松山平野及びその周辺の温泉の特筆すべき事項として次のようなことがあげられる。

- ① 火山帯に位置していないにもかかわらず、42°C以上の高温泉が湧出している。
 - ② アルカリ性(pH:8.5以上)の温泉が多い。
 - ③ 蒸発残渣(以下,RE)は比較的低濃度であるが、F⁻が非常に高濃度である。
- 以下に、各事項について考察する。

(1) 泉温

温泉法第2条の基準値25°C以上の源泉が50%以上あり、限られた地域ではあるが、42°C以上の高温泉も湧出している(図3)。

温泉の熱源については、一般的に火山活動と関係が深いと考えられているが、四国地域には火山帯が通過していないことや、松山平野及びその周辺の地質¹⁾は、約9千万年前の領家花崗岩及び約7千万年前の和泉砂岩で構成されており、熱源を求めにくい。

しかし、松山平野及びその周辺には、第三紀新生代(約1千5百万年前)の安山岩の小岩体が点在しており、これらに熱源を求めると、今後の研究課題である。

一方、統計的には、泉温は深度と正の相関関係(回帰直線: $Y = 0.0176X + 23.6$, 係数: 0.385)が認められたが、回帰直線とY軸との切片を地表面温度、回帰直線の傾きを地下増温率と仮定すれば、松山平野及びその周辺の場合、地表面温度は23.6°Cと高いが、100mあたりの地下増温率は1.76°Cで、通常報告されている3°Cに比べてかなり低い値を示している。

また、足立等⁸⁾が報告している大阪平野における温泉($Y = 0.021X + 15.3$ (Y: 泉温 X: 深度)相関係数: 0.898)と比べて低いものであった。

高温泉湧出地域とその他の地域とに分け、深度と泉温の関係を統計処理し比較した場合、

高温湧出地域は

$$Y = 0.015X + 29.1$$

(n = 52 相関係数; 0.307)

その他の地域は

$$Y = 0.012X + 17.2$$

(n = 33 相関係数; 0.668)となり、100mあた

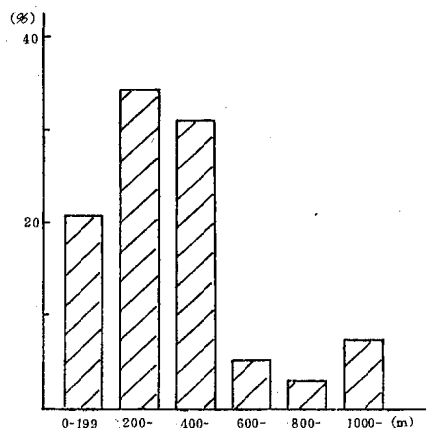


図2 松山平野における温泉の掘削状況 (掘削深度頻度分布)

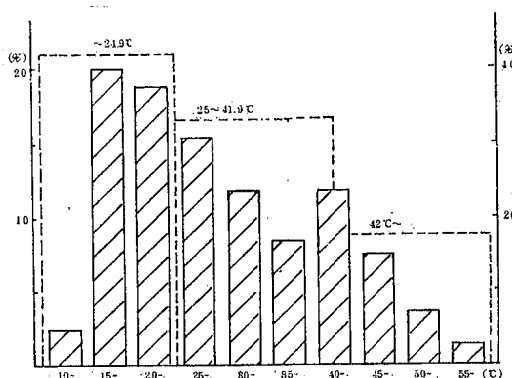


図3 松山平野における温泉の泉温の頻度分布

りの地下増温率は、それぞれ15℃及び12℃で、ほとんど差は認められないが、地表面温度は29.1℃と17.2℃で、10℃以上の差が認められている。

このことから、高温泉湧出地域は、地表面温度が高いため、温泉法の基準値の25℃以上の温泉の開発は比較的容易であるが、地下増温率から考えて大幅な泉温の上昇は、あまり期待できない。

また、それ以外の地域でも、42℃以上の高温泉の開発には、相当深い掘削を必要とするものとする。

(2) pH値

松山平野及びその周辺における温泉のpH値の状況をヒストグラムを用いて、図5に示した。

図に示すとおり、8.5以上のアルカリ性の源泉が約75%と大部分で、最高値は9.9であった。

我国の場合、火山に起因する温泉が多く、硫酸や塩酸若しくは炭酸を含む酸性泉を主流としており、pH値は低いようである。(平均値:水素イオン濃度=0.0019 mg/kg, pH値=2.73)⁹⁾

なお、pH値は、表2に示すとおり、Ca²⁺及びMg²⁺と負の相関が、また、Na⁺の当量%と正の相関(相関係数:0.649)が認められた。

また、pHが9以上の源泉は、Na⁺の当量%が90%と非常に大きいことから、温泉水中のCa²⁺やMg²⁺が地下深部においてイオン強度の高いNa⁺とイオン交換し、OH⁻濃度が増加するためとも考えている。

これらの機構の解明については、今後の研究課題のひとつである。

(3) フッ素イオン

松山平野及びその周辺における温泉は、REが低濃度にもかかわらず、高濃度のF⁻を含んでおり、その状況をヒストグラムを用いて図5に示した。

その結果、温泉法の基準値2ppm以上の源泉が、80%以上もあり、その半数は10ppm以上で、20ppmを超える源泉も存在し、最高値は太山寺鉱泉の21.4ppmであった。一方、表2に示すとおり、F⁻はpH値、泉温、深度などと正の相関(他の主要成分は、負の相関)を示していた。

温泉水中のF⁻の起源については、CaF₂と深い関係が指摘されていることから、図6にCa²⁺とF⁻の関係を示したが、松山市周辺の温泉の[Ca²⁺][F⁻]²の値は10^{-10.4}以下であった。

また、深度との関係を図7に示した。

図6及び7から分かるように、松山市周辺において湧出する温泉群は次の二つのグループに分けることができた。

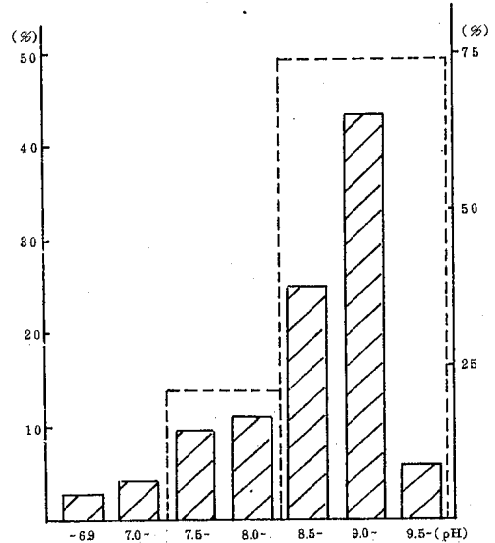


図4 松山平野における温泉のpH値の頻度分布

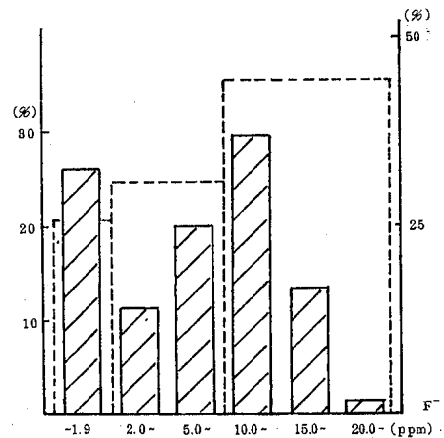


図5 松山平野における温泉のフッ素イオン濃度頻度分布

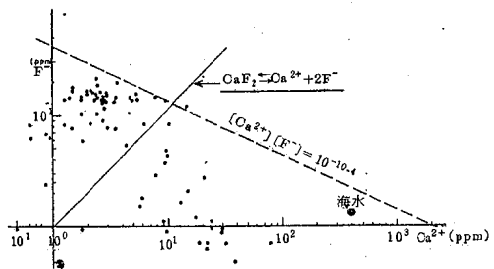


図6 松山平野における温泉のCa²⁺とF⁻の関係

- ① 深度の増加とともに、 F^- が増大し、 $[Ca^{2+}] < [F^-]^2$ の温泉群
- ② 深度は増加しても、 F^- は変化せず $[Ca^{2+}] > [F^-]^2$ の温泉群

このうち、①の性質を有する温泉群は、REは低濃度で主要成分の Na^+ や Cl^- とも相関が少ないことから、低濃度の温泉水が、上昇する過程において、母岩から F^- が供給されているものと推定している。

なお、花崗岩地域の地下水の F^- の起源については鶴巻らにより詳細な報告¹⁰⁾があるが、著者らも、道後温泉のボーリングコアの検討から、花崗岩中の雲母に起源を求めているが¹¹⁾、これらの解明についても今後の研究課題である。

一方、②の性質を有する温泉群は①とは異なり F^- の供給源の少ないところで、生成されているものと考えられる。

(4) 地質と泉質との関係

地質と泉質の関係を調べるために、道後温泉を中心とした北西—東南及び西南—東北の2方向の断面図を推定し、図8及び9に示し、併せてその断面図付近に位置する温泉井を記入した。

また、それぞれの温泉群の平均成分濃度やその割合を円グラフで示した。その円グラフへの表示の方法は、濃度(RE)については円グラフの大きさ(半径の長さで、 F^- 以外は対数表示)で現わし、それぞれの成分の占めている割合(当量%)は、円グラフの角度で示した。

特に、今回は F^- と Cl^- とに注目し、これらの濃度と陰イオン中での割合を同様の方法で図に示した。

松山平野及びその周辺の温泉は、花崗岩若しくは和泉砂岩を湧出母岩としているが、温泉の泉質は、湧出する母岩が同種であったとしても、湧出する場所、又は深度によって、大幅に違う場合のあることが分かった。

一方、 F^- 濃度と地質との関係は図8及び9から分かるように、松山平野およびその周辺において F^- の高い温泉は、花崗岩を湧出母岩とするものが多く、地域性も認められるが和泉砂岩を母岩とするものも見受けられた。

F^- 濃度は西北方向(訶道後: 6.3ppm, 権現: 14.5ppm, 太山

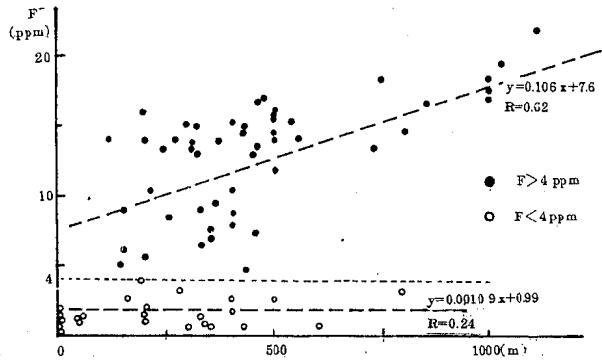


図7 松山平野における温泉の深度とフッ素イオンの関係

寺: 21.4ppm)へ向かうほど、また、道後地区(14.4ppm)に向かうほど増大するが、RE濃度は減少する。

このような、RE濃度の減少と F^- の増大は、 F^- の陰イオン中での占める割合を増大させ、権現温泉では陰イオン中の当量%が31%にも達する結果となっている(図8)。

また、東道後温泉は、湧出母岩が和泉砂岩であるにもかかわらず、高濃度の F^- を含み、また、同地区内には高温泉も湧出しており、その起源や熱源がどこにあるかが興味深い。

一般的に、 F^- の起源は、マグマの揮発成分にあるとされていることから、和泉砂岩の下に、火山岩すなわち松山平野の西北部と同じ花崗岩が存在し、そこから温泉水が供給されているものと推定したい。

なお、 Cl^- は図8及び9から分かるように、道後温

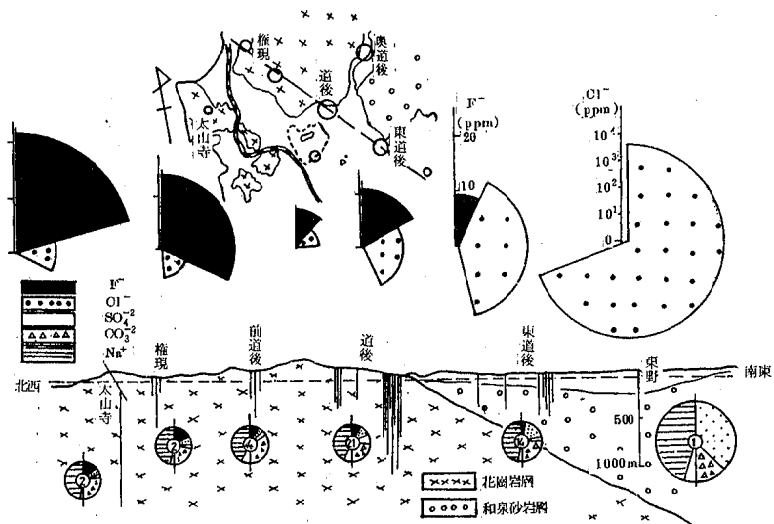


図8 松山平野における推定断面における温泉井の位置及び主要成分濃度(北西—南東)

泉 (Cl^- :30.2 ppm) を中心にして西南方向(JR前:2031 ppm, 山西地区:7640 ppm)及び東南方向(東野地区:2495 ppm)に向かうほど高濃度となっているが、北西方向(前道後:9.6 ppm, 権現:13.6 ppm, 大山寺:22.7 ppm)の温泉は非常に低濃度であった。

このような Cl^- と F^- の関係は興味深く、 F^- が高濃度の温泉は Cl^- が低濃度で、 Cl^- が高濃度の温泉は F^- が低濃度であり、お互いに相反する挙動を示していた。

なお、陽イオンは、ほとんどが Na^+ で占められる興味ある結果も得ている。

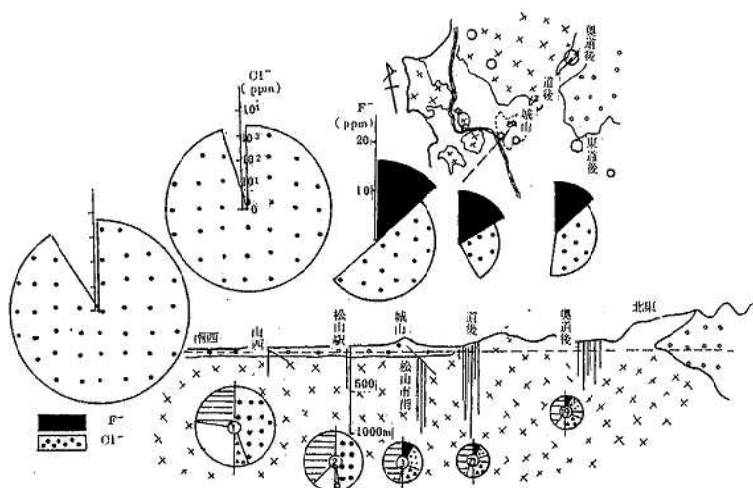


図9 松山平野における推定断面図における温泉井の位置及び主要成分濃度(南西-北東)

まとめ

松山平野及びその周辺における温泉85箇所の成分等について、統計的に処理を行い、化学的及び地質的な立場から考察をしたところ、次のことが分かった。

1 火山帯に位置していないにもかかわらず、多くの地点で25°C以上の温泉が湧出し、一部地域においては高温泉も湧出している。

しかし、地温の上昇率が、低いため大幅な泉温の上昇は難しいと思われる。

2 アルカリ性(pH:8.5以上)の温泉が多く非火山性温泉の特徴をよく現わしている。

また、pH値は、泉温や F^- と正の、 Ca^{2+} や Mg^{2+} と負の相関があった。

3 高濃度の F^- を含む温泉が湧出しており、20 ppm以上の F^- を含む源泉もあった。

これらのほとんどは花崗岩を母岩として湧出しているが、和泉砂岩(堆積岩)を母岩とするものにも高濃度のものがあり、下部に花崗岩の存在を示唆していた。

4 道後温泉を中心とした2方向の推定断面図によると、 F^- 濃度は北西又は東北方向へ向かうほど増大するが、RE濃度、 Cl^- は逆に減少する傾向がみられた。

文献

- 1) 永井浩三:愛媛県地質のガイド, 68~69, コロナ社(1987)
- 2) 高津寿雄:温泉科学, 8, 74~80(1957)
- 3) 宮久三千年:道後温泉, 1~32, 松山市(1982)
- 4) 愛媛の温泉(総括編):愛媛県衛生部薬務課(1982)
- 5) 愛媛の温泉(各論編追補版):愛媛県衛生部薬務課(1973)
- 6) 愛媛の温泉:愛媛県(1983)
- 7) 愛媛県立衛生研究所年報(資料):(1972~1990)
- 8) 足立伸一他:第23回全国衛生化学技術協議会年会講演集126~127(1991)
- 9) 湯原浩三他:温泉学156~157, 知人書館(1982)
- 10) 鶴巻道二他:日本地下水学会誌, 27, 1~16(1985)
- 11) 真木強:温泉工学会誌, 18, 22~27(1983)

愛媛県下の塩類泉の化学組成について

田頭和恵 井上 智 真木 強

Chemical Compositions of Mineral Salt Spring Water in Ehime Prefecture, Japan

Kazuo TAGASHIRA, Satoshi INOUE, Tsuyoshi MAKI

At present, there were 24 mineral salt springs in Ehime prefecture. Na, K, Mg, Ca, Cl, Br, SO₄, HCO₃, Total-Residue and pH in these spring waters were determined. These spring waters were classified into four types: (I) Ca·Na(Mg)-Cl type, (II) Na-Cl type, (III) Na·Ca-Cl·HCO₃ type and (IV) Na-Cl·HCO₃ type.

Type I springs were distributed in coastal areas and showed very high salinity. Type I springs were depleted in Na, K, Mg and SO₄ and enriched in Ca. Ca concentration in type I springs was controlled by clay minerals in the subsurface system.

On the basis of the deviation from the sea water defined in concentration (mg/kg) as $\delta x = (C_x, \text{sample} / C_{cl, \text{sample}} - C_x, \text{sea} / C_{cl, \text{sea}}) \times 100 (\%)$, $\delta_T = \sum |\delta x|$ when X=Na, K, Mg, Ca and SO₄, type II springs which were usually found in the interior of Ehime prefecture seemed to be very similar to sea water in composition.

Key words: mineral salt spring, deviation from sea water, Ca-rich water

はじめに

愛媛県には、中央部に日本最古と言われる道後温泉郷(道後温泉群, 東道後温泉群, 奥道後温泉群)のほか、全県下にわたって約140の温鉱泉が湧出し、現在約100源泉が利用されているが、この約67%が療養泉に該当している。

従来、県下の療養泉は、道後温泉郷を中心とするアルカリ性単純温泉が大部分を占めていたが、近年、温泉開発が盛んになるに伴い、塩類泉が増加する傾向にある。平成元年度から3年度までの3年間に、新規に掘削され鉱泉分析を実施した温鉱泉15源泉では、10源泉が塩類泉に該当している。海岸近くの塩類泉では、潮汐の影響による泉温、湧出量、水位、化学成分等の周期的変化、温泉需要の増加に伴う過剰揚湯による海水の混入等の報告¹⁾があり、当県においても同様に海水の影響が懸念されている。

そこで、これら塩類泉の湧出機構を解明し、温泉資源保護等の基礎資料とするため、その泉質特性を調査し、若干の知見を得たので報告する。

愛媛県の地質と温鉱泉の分布について

愛媛県は、東西方向の大断層である中央構造線により、内帯(北側)と外帯(南側)に分けられ、さらに外帯はみかぶ線、仏像線の2本の地質構造線によって分けられている。これら3本の地質構造線により区分された4地質構造帯は、北から南へと領家帯、三波川帯、秩父帯、四万十帯と呼ばれ、その地質年代も古生代から新生代まで分布するなど変化に富んでいる。

この4地質構造帯のうち、領家帯は主として花崗岩と和泉砂岩で構成され、三波川帯は変成岩である黒色片岩、緑色片岩で構成され、この中央部には久万層群や石鎚層群がみられる。さらに秩父帯は砂岩、珪岩、粘板岩で、南側の四万十帯は砂岩と粘板岩で構成されている²⁾。

愛媛県の温鉱泉の地質構造帯別分布状況をみると、大部分は領家帯、特に道後温泉付近に集中しているが、三波川帯、秋父帯、四万十帯にも散在している(図1)。

試料と方法

1979年から1991年に、鉱泉分析法指針に基づき当所で分析した鉱泉(102源泉)のうち、塩類泉に該当する24源泉の主要溶解成分及び微量成分の分析結果を統計的に処理した。

結果及び考察

1 温鉱泉の泉質と分布状況

温泉は温泉法第2条別表で規定されているほか、「鉱泉分析法指針(改訂)」(1978)により、特に治療の目的に供しうるものとして、療養泉が定義されており(表1)、さらに療養泉は、その利用に資する目的で含有する化学成分に基づいて、主として、

- (1) 塩類泉----- 溶存物質量が1g/kg以上のもの
 - ① 塩化物泉(陰イオンの主成分が塩素イオン)
 - ② 炭酸水素塩泉(炭酸水素イオン)
 - ③ 硫酸塩泉(硫酸イオン)

- (2) 単純温泉----- 溶存物質量が1g/kg未満
泉温25℃以上のもの
 - ① 単純温泉(pH<8.5)
 - ② アルカリ性単純温泉(pH≥8.5)

- (3) 特殊成分を含む療養泉----- 表1の物質を限界値以上に含有するもの
 - ① 特殊成分を含む塩類泉
 - ② 特殊成分を含む単純温泉
 - ③ 特殊成分を含む単純冷鉱泉 に分類される。

愛媛県の温鉱泉102源泉を分類すると、

塩類泉	22源泉(21.6%)	療養泉 (6.7%)
特殊成分を含む塩類泉	2源泉(2.0%)	
単純温泉	22源泉(21.6%)	
特殊成分を含む単純温泉	7源泉(6.9%)	
特殊成分を含む単純冷鉱泉	15源泉(14.7%)	
その他冷鉱泉	34源泉(33.3%)	

で、塩類泉は24源泉(23.5%)であった。

2 愛媛県下の塩類泉の主要溶解成分結果

今回調査した24源泉の主要溶解成分等の結果は、表2及び図2のとおり、泉温は、平均21.3±7.1℃(12.1~37.4℃)で、約75%が25℃未満の冷鉱泉であり、pH値は、平均7.5±0.7(6.2~8.8)で、約50%が6.0~7.5未満の中性、約40%が7.5~8.5未満の弱アルカリ性であった。塩類泉は溶存物質量が1g/kg以上と定義されているが、この溶存物質量と関連の深い蒸発残留物

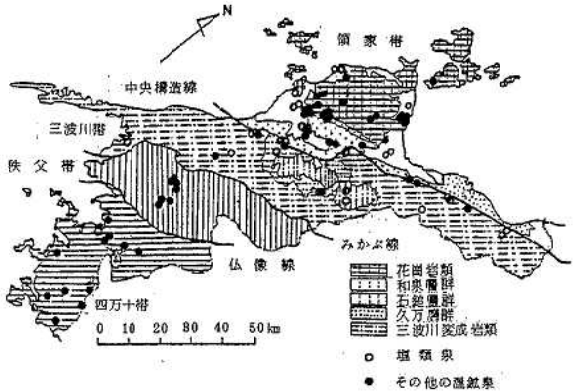


図1 愛媛県の地質と鉱泉の分布

表1 療養泉の定義(鉱泉分析法指針)

項目	定義
温度	25℃以上
溶存物質(ガス性のものを除く)	1000 mg/kg以上
遊離二酸化炭素(CO ₂)	1000 "
銅イオン(Cu ²⁺)	1 "
総鉄イオン(Fe ²⁺ +Fe ³⁺)	20 "
アルミニウムイオン(Al ³⁺)	100 "
水素イオン(H ⁺)	1 "
総硫黄(S)	2 "
ラドン(Rn)	30×10 ⁻¹⁰ キュリー単位以上 (8.25マッヘ単位以上)

表2 塩類泉の主要溶解成分等(n=24, 単位mg/kg)

項目	平均値±標準偏差	最低値	最高値
泉温(℃)	21.3 ± 7.1	12.1	37.4
pH	7.5 ± 0.7	6.2	8.8
Li ⁺	6.0 ± 11.1	< 0.1	50.0
Na ⁺	1654.6 ± 1496.4	266.0	6244.0
K ⁺	55.4 ± 108.4	2.6	520.0
Mg ²⁺	91.6 ± 126.7	1.3	509.1
Ca ²⁺	549.7 ± 950.9	4.2	3385.0
F ⁻	1.9 ± 2.3	< 0.1	7.1
Cl ⁻	3214.3 ± 3650.9	213.4	14800
SO ₄ ²⁻	167.4 ± 404.9	< 0.1	1672.0
HCO ₃ ⁻	839.1 ± 919.7	27.8	3180.3
H ₂ SiO ₃	55.5 ± 42.0	7.8	155.9
HBO ₂	20.7 ± 22.6	< 0.1	89.4
蒸発残留物	6434.8 ± 6380.6	940.0	26720

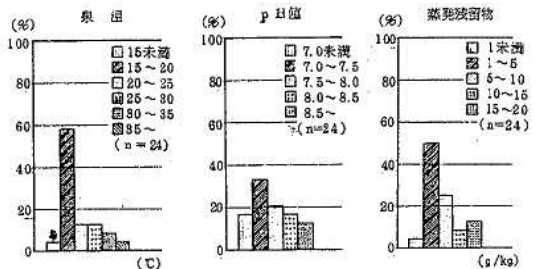


図2 愛媛県下の塩類泉の成分等頻度分布

は、平均 $6.4348 \pm 6.3806 \text{ g/kg}$ ($0.9400 \sim 26.720 \text{ g/kg}$)と広範囲の濃度を示し、特に、 10 g/kg を越すものは5源泉あった。うち2源泉は、ナトリウムイオン 5.5 g/kg 以上、塩素イオン 8.5 g/kg 以上(塩化ナトリウムとして 240 mval/kg 以上)を含むナトリウム-塩化物強塩泉であった。

3 愛媛県下の塩類泉の分類とその特徴

この24の塩類泉を、泉質名により分類すると、

- | | |
|----------------------------------|------|
| タイプI
カルシウム・ナトリウム-塩化物泉 | 5 源泉 |
| タイプII
ナトリウム-塩化物泉 | 8 源泉 |
| タイプIII
ナトリウム・カルシウム-塩化物・炭酸水素塩泉 | 4 源泉 |
| タイプIV
ナトリウム-塩化物・炭酸水素塩泉 | 7 源泉 |

の4タイプに分類できた。

主として、タイプIは海岸線に、タイプIIは花崗岩を湧出母岩とする領家帯のやや内陸部と黒色片岩、緑色片岩等の変成岩で構成されている三波川帯に、タイプIII、IVは三波川帯に分布しており、秩父帯には塩類泉は湧出していなかった(図3)。

タイプ別主要溶解成分濃度等の結果の平均値は、表3のとおりである。泉温は全体に低温でほとんど差は見られないが、タイプIがやや高く($23.8 \pm 6.1^\circ\text{C}$)、タイプIIIがやや低い($17.6 \pm 2.0^\circ\text{C}$)、pHはタイプIVが弱アルカリ性(8.1 ± 0.6)で高く、他は中性でタイプIIIが最も低い(7.0 ± 0.7)。

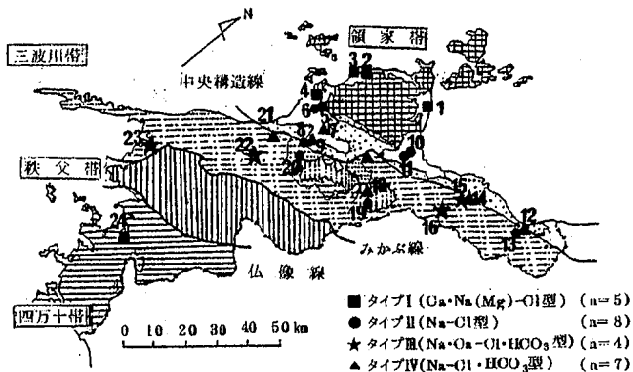


図3 愛媛県の主要塩類泉のタイプ別分布図

タイプIは、他のタイプと比して蒸発残留物が高濃度であり、主要溶解成分のうち、ナトリウム、マグネシウム、カルシウム、塩素、硫酸の各イオンが高濃度である。特に塩素イオン濃度は最高 14.80 g/kg を検出し、海水の値 18.98 g/kg に近いことから、海水の混入が疑われた。一方、リチウムイオン、カリウムイオン、メタホウ酸の平均値は最低濃度である。さらに、フッ素イオン濃度の平均値は $0.5 \pm 0.4 \text{ mg/kg}$ であり、タイプIが主として湧出している領家帯の温鉱泉の平均値³⁾ $8.9 \pm 5.6 \text{ mg/kg}$ ($n=55$)よりはるかに低い値であった。

タイプIIは、ナトリウムイオン、塩素イオン、蒸発残留物はタイプIに次いで高値であるが、マグネシウムイオン、カルシウムイオンは低値で、硫酸イオンはほとんどの源泉で検出せず、その平均値は4タイプ中最低値である。一方、リチウムイオン、カリウムイオン、フッ素イオンは最も高い平均値($11.0 \pm 16.4 \text{ mg/kg}$, $95.9 \pm 163.0 \text{ mg/kg}$, $3.7 \pm 2.7 \text{ mg/kg}$)である。主と

表3 塩類泉のタイプ別主要溶解成分等平均値及び標準偏差 (単位 mg/kg)

項目	タイプI	タイプII	タイプIII	タイプIV
	(Ca·Na(Mg)-Cl型) (n=5)	(Na-Cl型) (n=8)	(Na·Ca-Cl·HCO ₃ 型) (n=4)	(Na-Cl·HCO ₃ 型) (n=7)
泉温(°C)	23.8 ± 6.1	21.2 ± 8.4	17.6 ± 2.0	20.5 ± 5.7
pH	7.3 ± 0.2	7.4 ± 0.6	7.0 ± 0.7	8.1 ± 0.6
Li ⁺	1.7 ± 2.0	11.0 ± 16.4	5.1 ± 4.0	3.9 ± 6.6
Na ⁺	2941.6 ± 1821.1	1901.1 ± 1383.9	758.4 ± 335.4	965.6 ± 741.2
K ⁺	15.3 ± 4.4	95.9 ± 163.0	62.2 ± 36.8	34.0 ± 63.2
Mg ²⁺	287.6 ± 146.1	48.6 ± 28.8	48.1 ± 18.1	25.7 ± 36.4
Ca ²⁺	2137.8 ± 959.4	124.7 ± 70.6	227.6 ± 87.7	85.0 ± 140.8
F ⁻	0.5 ± 0.4	3.7 ± 2.7	0.5 ± 0.5	1.8 ± 1.6
Cl ⁻	8456.8 ± 3930.0	2898.9 ± 2055.7	984.2 ± 357.7	1104.6 ± 908.1
SO ₄ ²⁻	770.3 ± 541.7	0.4 ± 0.9	27.3 ± 28.7	7.6 ± 16.9
HCO ₃ ⁻	78.2 ± 66.4	834.5 ± 932.7	1350.0 ± 666.5	1095.8 ± 948.6
H ₂ SiO ₃	49.3 ± 23.8	58.8 ± 44.1	87.7 ± 43.1	37.7 ± 31.1
HBO ₂	7.3 ± 8.8	16.5 ± 12.3	18.6 ± 21.3	31.7 ± 27.9
蒸発残留物	15165 ± 6958.5	5874.9 ± 4008.6	2913.3 ± 1100.7	2851.0 ± 2323.1

して三波川帯に湧出するタイプⅢ、タイプⅣは、両者とも炭酸水素イオンが高濃度で、さらにタイプⅢはメタケイ酸が、タイプⅣはメタホウ酸が高濃度に検出された。

4 塩類泉の主要溶解成分組成と海水

温泉水中の塩素イオンの起源⁴⁾は、①直接火山活動からきたものと、②二次的に主として海水に由来したものと及び③微量の塩素イオンの場合には、岩石からの溶出が考えられる。さらに、②は化石塩水にいわれるように過去に地層中に封じ込まれた海水の塩分が起源のものとして現在の海水に由来する場合が考えられる。

タイプⅠは前述したように、塩素イオン等が非常に高濃度で、海水の混入が疑われたので、海水の影響を評価するため、種々の検討を試みた。

(1) 三角座標及び鍵座標図による検討

主要溶解成分の割合から水質組成を検討する目的で、陽イオン ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$, Ca^{2+} , Mg^{2+}) 及び陰イオン (Cl^- , SO_4^{2-} , $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$) のミリグラム当量%を用いて、三角座標図及び鍵座標図を表した(図4)。

タイプⅠは、海水よりカルシウムが増加した位置に群し、むしろタイプⅡの方がやや内陸部に湧出しているにもかかわらず、No. 5, 6, 19のように水質組成が海水に近いものがある。タイプⅢ、Ⅳは、概ねタイプⅡからナトリウムと炭酸水素イオンが増加した位置に群しているが、タイプⅡ、Ⅲ、Ⅳは混在している。

(2) ナトリウムイオンと塩素イオンによる検討

ナトリウムイオン (Na^+) と塩素イオン (Cl^-) のミリグラム当量の関係を検討すると、タイプⅠ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳのいずれも、 Na^+ と Cl^- には強い正の相関がみられ、タイプⅡが最も海水に近い値を示した。傾きを見ると、タイプⅠのみが、海水と天水のミキシングラインの傾き(0.86)よりも小さく、 Cl^- の割合からみて、 Na^+ が減少している(図5)。

(3) 海水からの偏度による検討

さらに、詳細に検討するため、次のような海水の組成を基準とした偏度 δ_T (%), δ_x (%)⁵⁾を用いた。

海水からの偏度 (δ_T %)

$$\delta_x (\%) = \left(\frac{C_{x, \text{sample}}}{C_{\text{Cl}, \text{sample}}} - \frac{C_{x, \text{sea}}}{C_{\text{Cl}, \text{sea}}} \right) \times 100$$

C_x, C_{Cl} : concentrations (ppm) of X and Cl^- in the samples and present-day sea water

$$X = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+} \text{ and } \text{SO}_4^{2-}$$

$$\delta_T (\%) = \left| \delta_{\text{Na}^+} \right| + \left| \delta_{\text{K}^+} \right| + \dots + \left| \delta_{\text{SO}_4^{2-}} \right|$$

この定義に従って計算した結果は表4のとおりである。偏度 δ_T (%) は、溶存物質量の少ない単純温泉では、数百から数千という値となる。また、一般地下

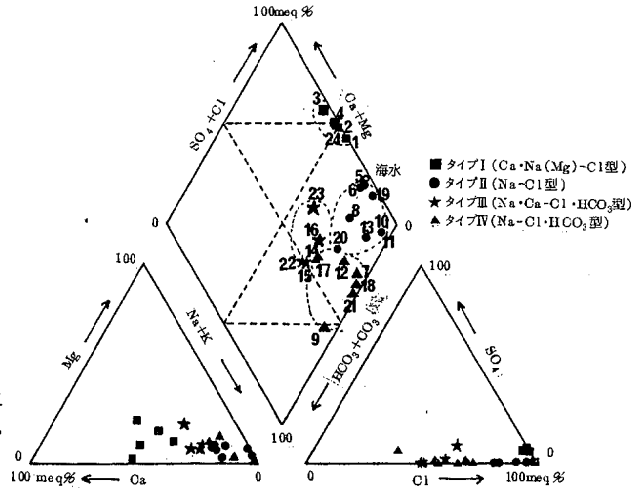


図4 愛媛県下の主要塩類泉の三角座標および鍵座標図

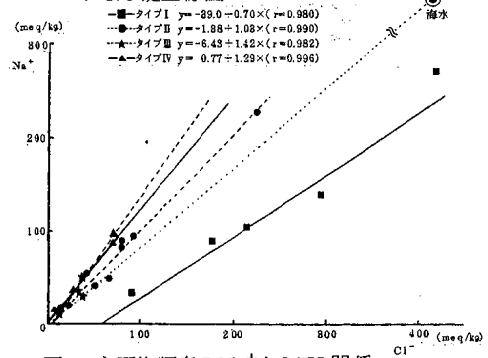


図5 主要塩類泉の Na^+ と Cl^- の関係

表4 愛媛県下の塩類泉の海水からの偏度

タイプNo.	δ_{Na^+} (%)	δ_{K^+} (%)	$\delta_{\text{Mg}^{2+}}$ (%)	$\delta_{\text{Ca}^{2+}}$ (%)	$\delta_{\text{SO}_4^{2-}}$ (%)	δ_T (%)
1	-13.1	-1.9	-3.4	17.3	-2.7	38.4
2	-24.6	-1.8	-6.3	30.5	-5.2	68.5
I 3	-29.7	-1.7	1.3	24.2	-5.1	62.1
4	-24.1	-1.8	-3.2	28.6	-2.9	60.2
24	-22.8	-1.7	-1.4	17.9	-11.7	55.5
5	-4.9	-1.0	-3.7	6.7	-14.0	30.3
6	-1.7	-1.2	-3.9	6.0	-14.0	26.8
8	5.6	-1.7	-4.6	9.0	-13.9	34.8
10	11.7	-1.5	-5.8	-1.0	-14.0	34.1
11	12.5	-1.3	-6.1	-1.1	-14.0	34.7
13	10.8	4.5	-5.7	-1.3	-14.0	36.4
19	27.6	2.8	-5.9	10.7	-14.0	60.9
20	17.7	1.3	-3.5	5.8	-13.9	42.2
15	31.5	5.9	-1.9	21.3	-14.0	74.6
16	14.8	5.9	-4.8	18.6	-10.3	54.5
22	23.4	1.8	-0.9	23.6	-14.0	63.7
23	3.7	1.3	3.8	19.8	-13.7	32.2
7	33.6	-0.9	-6.4	-1.5	-14.0	56.4
9	110.5	-0.7	-6.2	0.7	9.0	130.8
12	24.2	-1.0	-5.4	5.6	-14.0	50.2
IV 14	2.53	5.5	-2.5	14.8	-14.0	62.1
17	29.4	1.3	1.4	8.8	-13.6	54.5
18	34.8	-1.0	-6.5	-1.2	-13.7	57.3
21	41.2	-1.4	-6.5	-0.8	-14.0	63.9

水では海水の混入が疑われる場合、30%以下になることが報告されている⁶⁾。今回の結果では、海水の混入が懸念されるタイプⅠは、No.1のみが30%台の値(38.4%)で、その平均値は56.3±10.2%(55.5~68.5%)とやや高値であった。タイプⅡ、Ⅲ、Ⅳの平均値はそれぞれ37.5±9.8%(26.8~60.9%)、56.3±15.2%(32.2~74.6%)、67.9±26.0%(50.2~130.8%)で、ここでもむしろタイプⅡに、35%前後の値を示し海水に近い組成の源泉が見られた。個々のイオンのδxをみると、タイプⅠは他のタイプと比してδNaは小さく、全てマイナスの値(-13.1~-29.7%)をとり、δCa²⁺、δSO₄²⁻がやや大きいことが特徴である。

(3) 主要溶解成分の過不足による検討

そこで、これらの塩類泉が仮に海水起源であるとして、次の定義によるΔX値に基づき、主要溶解成分の過不足を検討した。

$$\Delta X (\text{meq./kg}) = (C_{x, \text{sample}} - C_{x, \text{sea}}) \times \frac{C_{\text{Cl}, \text{sample}}}{C_{\text{Cl}, \text{sea}}} / E_x$$

Ex: milligram equivalent of X

この定義に従って計算した結果は表5のとおりである。

タイプⅠは、No.3を除いてナトリウム、カリウム、マグネシウム、硫酸の各イオンの当量数は、海水そのものが単純に混入した場合の当量数より不足しており、カルシウムが大過剰である。

これらのイオンの関係は概ね、

$$-(\Delta \text{Na}^+ + \Delta \text{K}^+ + \Delta \text{Mg}^{2+}) = \Delta \text{Ca}^{2+} + \Delta \text{SO}_4^{2-} \text{-----} \textcircled{1}$$

が成立し、HCO₃⁻の分析結果は微量であった。

先にも述べたとおり、タイプⅡ、Ⅲ、Ⅳは、硫酸イオンをほとんど検出せず、さらに、タイプⅢ、Ⅳは、HCO₃⁻を高濃度に検出し、これらの関係は成立しない。

5 塩類泉の微量溶解成分と海水

温鉱泉中には、種々の微量溶解成分が含有されているが、臭素イオンは、塩素イオンとともに、岩石-水反応の過程で、吸着、溶出といった現象はほとんど無視できることから、地下水への海水の影響を検討するための有効な成分である。

そこで、臭素イオンと塩素イオンの重量比(Br⁻/Cl⁻)について検討した(図6)。

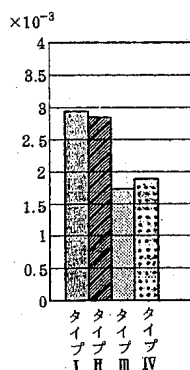


図6 Br⁻/Cl⁻重量比

表5 塩類泉と海水との主要溶解成分の過不足 (meq/kg)

タイプNo.	ΔNa ⁺	ΔK ⁺	ΔMg ²⁺	ΔCa ²⁺	ΔSO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻
1	-86.5	-7.1	-39.7	127.5	-8.2	0.5
2	-113.9	-4.9	-53.0	157.9	-11.4	0.5
Ⅰ 3	-42.9	-1.4	3.3	38.1	-3.5	3.2
4	-78.4	-3.6	-19.1	108.9	-4.5	1.7
24	-62.3	-2.8	-6.5	56.4	-15.2	0.5
5	-5.7	-0.3	-6.8	7.5	-6.6	3.0
6	0.1	-0.5	-5.2	5.4	-5.0	3.5
8	1.9	-0.3	-2.8	3.4	-2.2	4.7
Ⅱ 10	17.4	-1.3	-15.0	-1.7	-9.4	8.4
11	14.6	-1.0	-13.4	-1.5	-8.3	8.1
13	35.5	9.2	-36.9	-3.8	-23.2	44.0
19	16.9	1.0	-7.3	7.9	-4.4	2.6
20	20.6	0.9	-8.1	8.2	-8.3	35.2
15	17.9	2.0	-2.0	14.1	-3.9	34.9
Ⅲ 16	6.7	1.7	-4.5	10.4	-2.4	20.4
22	10.3	0.5	-0.9	13.0	-3.3	27.8
23	0.7	0.1	1.2	3.8	0.3	5.4
7	36.7	-0.6	-12.9	-1.8	-7.2	28.0
9	11.1	-0.0	-0.9	0.1	0.5	9.3
12	12.1	-0.2	-4.1	2.9	-2.8	12.4
Ⅳ 14	27.9	3.5	-4.8	18.5	-7.2	52.1
17	6.9	-0.2	0.6	2.4	-1.6	11.5
18	5.4	-0.2	-3.0	-0.4	-1.6	5.6
21	10.1	-0.1	-2.0	-0.1	-1.1	6.8

タイプⅠ、タイプⅡが高い値を示し、それぞれ、2.94 × 10⁻³ (n=3)、2.85 × 10⁻³ (n=3)であった。この値は、海水の値3.4 × 10⁻³にほぼ近い値である。一方、タイプⅢは、1.74 × 10⁻³ (n=1)、タイプⅣは1.89 × 10⁻³ (n=4)で、タイプⅠ、Ⅱと比して低い値である。

以上のとおり、タイプⅠ及びタイプⅡはナトリウムイオン、塩素イオン等が高濃度であるばかりでなく、Br⁻/Cl⁻が海水の比に近い値であることから、海水起源の温鉱泉であることが推察された。

海水の影響を見るため、三角座標図および鐘座標図、ナトリウムイオンと塩素イオンの関係、海水からの偏度並びに海水混入を仮定した場合の主要溶解成分の過不足分を検討した結果、タイプⅠの主要溶解成分組成は海水の組成とやや相違しており、海水そのものが単に地下水と混合したものではないことが示唆された。一方、予想に反し、タイプⅡのほうがいずれの結果も、単に海水が混合したような結果となった。

しかし、富士市の地下水の化学成分は、海水の侵入時にCa²⁺に富んだ地下水となるが、後退時にCa²⁺が少なくなること⁷⁾、及び、海水が温泉水化する過程では、岩石中の粘度鉱物の寄与が重要であり、CaCl₂

型塩化物泉は、低温、低CO₂分圧下(basic rock sea water interaction に対応)で形成され、NaCl型塩化物泉は、高温、高CO₂分圧下(acidic rock sea water interaction に対応)で形成されること⁸⁾が報告されている。タイプⅠは、タイプⅡより新しい時代の海水、若しくは、現在の海水が混入していると仮定すれば、すなわち、地下水に海水が混入する初期の過程では、岩石-海水反応で粘土鉱物の陽イオン交換作用により、ナトリウム、カリウム、マグネシウムの各イオンが減少し、それに対応するカルシウムイオンが増加すると仮定すれば、主要溶解成分の過不足の結果^①とよく一致する。このことから、タイプⅠについては、今後、揚湯量の増大等により海水の混入による泉質の変化が危惧される。タイプⅡは、タイプⅠより古い時代に海水が混入したと考えれば、塩水化の時間的経過により、粘土鉱物がナトリウムイオン、カリウムイオン等で飽和状態となり、続いて炭酸水素イオンの増加によりカルシウムイオンが固定化され減少、また、バクテリアや有機堆積物による還元作用等により硫酸イオンが減少する。この結果、偏度はより海水に近い35%近くになったものと考えられる。このタイプⅡは、領家帯と三波川帯の2つの地質構造帯に湧出し、海岸からの距離や湧出地点の高度に差があることから、その湧出機構を一元化して考えることは不適当であると思われる、今後詳細な検討をしていきたい。

タイプⅢ、Ⅳは、主として有機堆積物由来の炭素を多量に含有する三波川帯に湧出しており、既報⁹⁾のとおり、地下深部に取り込まれた海水が長期間滞留する間、炭酸水素イオンが供給され、ナトリウムイオン等が溶出したものと考えれば、主要溶解成分の過不足の結果とよく一致する。

まとめ

1 愛媛県下の24の塩類泉を泉質名によって分類すると、次の4タイプに分類できた。

タイプⅠ		
カルシウム・ナトリウム一塩化物泉	5	源泉
タイプⅡ		
ナトリウム一塩化物泉	8	源泉
タイプⅢ		
ナトリウム・カルシウム一塩化物・炭酸水素塩泉	4	源泉
タイプⅣ		
ナトリウム一塩化物・炭酸水素塩泉	7	源泉

2 タイプⅠは、主として領家帯の海岸線に湧出し、塩素イオン濃度を最高14.80g/kg検出、また、フッ素イオン濃度は領家帯の温鉱泉の平均値よりはるかに低く(0.5±0.4mg/kg)、Br⁻/Cl⁻が海水の比に近い等、海水の混入が疑われた。

3 海水の影響を評価するため、主要溶解成分による三角座標図・鍵座標図、海水からの偏度、ナトリウムと塩素イオンの関係を検討すると、海岸地帯のタイプⅠよりむしろ内陸部に湧出するタイプⅡの方が、海水に近い値を示した。海岸地帯の塩化物泉は、常識的には海水の混入によるとみなされるが、海水そのものとはかなり異なる化学組成となっていることが判明した。

4 単純に海水が混合したと仮定した場合の主要溶解成分の過不足(ΔX)の収支結果は、タイプⅠがタイプⅡよりも新しい時代の海水若しくは現在の海水が混入し、岩石-海水相互作用において粘土鉱物の陽イオン交換作用により、ナトリウムイオン等が減少し、カルシウムイオンが増加するものと推定するとよく一致した。

5 タイプⅢ、Ⅳは、過去の海水が長時間滞留することにより、炭酸水素イオンが供給され、カルシウムイオンが固定されナトリウムイオン等が溶出したものと推察された。

なお、本研究の一部は日本薬学会第112年会(1992)において発表した。

文献

- 1) 益子安他：衛生化学，18(2)，82～89(1972)
- 2) 愛媛県：愛媛県地質図説明書(1962)
- 3) 田頭和恵他：第5回公衆衛生技術研究会講演要旨集，15～17(1991)
- 4) 湯原浩三他：温泉学，地人書館(1969)
- 5) 瀬野錦蔵：地球物理，7(2)，131～147(1943)
- 6) 後藤成一他：大分県公衆衛生センター年報，12，33～36(1980)
- 7) 池田喜代治：陸水学雑誌，46(4)，303～314(1985)
- 8) 甘露寺泰雄：温泉工学会誌，21(1)，5～13(1987)
- 9) 真木強他：愛媛衛研年報，38，29～32(1977)

温泉水中微量金属元素の濃縮法に関する研究

井上 智 田頭和恵 真木 強

The Study on a Method for Enrichment of Trace Metals in Hot Spring Water

Satoshi INOUE, Kazue TAGASHIRA, Tsuyoshi MAKI

A method for enrichment of trace metals in hot spring water was investigated by using chelation to acetylacetone followed by adsorption to C₁₈ chemically bonded silica gel. Acetylacetone chelates of Cu, Cr (III), and Fe were enriched. Cr (VI) was able to be enriched by this method after being reduced to Cr (III) by sodium sulfite. This method was able to eliminate the interferences associated with high total dissolved solids.

Trace metals (total-Cr, Cu, total-Fe, Mn, Cd, Zn, Pb) in hot spring water of Ehime Prefecture were analyzed. Total-Cr, Cu and total-Fe was determined by acetylacetone method. Mn and Zn was determined by 8-hydroxyquinoline method. Zn and Pb was determined by direct method. Concentration ranges of trace metals in hot spring water of Ehime Prefecture were low.

Key words : hot spring water, trace metals, enrichment, acetylacetone, minicolumn

はじめに

現在、温泉水中の微量金属元素の分析は、原子吸光法が広く用いられているが¹⁾、温泉水は、河川水及び湖沼水に比べ、溶存物質が多く、マトリックスの影響を受け易いため²⁾、溶媒抽出法³⁾及びシリコニウム共沈法⁴⁾が用いられている。しかし、これらの方法は、操作が煩雑であるため、より簡単な濃縮法の開発が望まれる。

これらに代わる手法として、オキシシで金属錯化合物を生成しオープンカラム⁵⁾またはミニカラム⁶⁾で濃縮する方法が報告されているが、オキシシ錯化合物は水に難溶性のため、温泉水のように鉄を含有する試料では、鉄1mg/l以上で目詰まりを生じ、回収率が低下するため鉄の分離定量の必要性が報告されている⁷⁾。

そこで、鉄の濃縮限界濃度の向上及びミニカラムでの濃縮法が確立されていないクロムの濃縮法について、キレート剤として、アセチルアセトンを用い検討し、

愛媛県の温泉水中のクロム等7金属について、含有量の調査を行った。

材料と方法

1 装置

日立180-70型偏光ゼーマン原子吸光光度計

日立170-30型原子吸光光度計

ウォーターズ(株)製Sep-pakラック

日立堀場製F-7LC pHメーター

2 測定条件

亜鉛、鉄、マンガン、銅：測定波長は、亜鉛213.8nm、鉄248.3nm、マンガン279.5nm、銅324.8nmとし、空気-アセチレン炎フレーム原子吸光法で測定した。

クロム、カドミウム及び鉛は炭素管無炎原子吸光法で測定した。

測定条件を表1に示した。

3 試薬

ミニカラム：Sep-pak C₁₈(ウォーターズ(株)製)

硫酸、硝酸、塩酸、アンモニア水：有害金属測定用（和光純薬工業（株）製）

アセチルアセトン、亜硫酸ナトリウム：試薬特級（和光純薬工業（株）製）

金属標準液：原子吸光分析用標準液（和光純薬工業（株）製）1000 ppm を原液とし、使用時必要濃度に希釈した。

2% オキシシン溶液：試薬特級（和光純薬工業（株）製）2 g に塩酸 2 ml を加えて溶解した後、水を加えて 100 ml とした。

4 試料の保存

試料採取容器は、新しいポリ製容器（11用）を通常の方法で洗浄し、さらに 5% 硝酸溶液に一昼夜浸した後、純水で洗浄したものを用いた。

温泉水は採取後、直ちに、硝酸を添加し、pH1 に調整後保存した。

5 実験操作

アセチルアセトン法

硝酸で pH1 に調整した試料 100 ml を分取し、アセチルアセトン 1 ml、0.5% 亜硫酸ナトリウム 1 ml を加え、沸騰水浴中で 30 分間加熱した。放冷後、アンモニア水で pH 6.5 に調整し、沸騰水浴中で 1 時間加熱した。放冷後、ミニカラムに流速毎分 10 ml で吸引し、アセチルアセトン金属錯化合物を吸着後、水 10 ml で洗浄した。次にミニカラムを 10 ml 容の注射筒先端につけ替え、アセトン 10 ml で溶出した。この液を減圧乾固後、0.1 N 硫酸溶液 5 ml で残留物を溶解し、分析試料とした。

オキシシン法

アセチルアセトン法におけるミニカラム通過液に 2% オキシシン溶液 2 ml を加え、アンモニア水で pH 8.0 に調整し、一夜放置した。これを、ミニカラムに流速毎分 10 ml で吸引し、オキシシン金属錯化合物を吸着後、水 10 ml で洗浄し、アセチルアセトン法と同様に、メタノール 10 ml で溶出した。この液を減圧乾固後、0.5 N 硝酸溶液 5 ml で残留物を溶解し、分析試料とした。

表1 クロム、カドミウム及び鉛の測定条件

測定元素	クロム	カドミウム	鉛
測定波長 (nm)	359.3	2288	283.3
スリット (nm)	0.4	1.3	1.3
ランプ電流 (mA)	7.5	7.5	7.5
キューベット	パイロ	チューブ	チューブ
注入量 (μl)	10	10	10
乾燥温度 (時間)	80-130°C (30S)	80-120°C (30S)	80-120°C (30S)
灰化温度 (時間)	600°C (30S)	300°C (30S)	400°C (30S)
原子化温度 (時間)	2800°C (7S)	1700°C (7S)	2000°C (7S)

結果及び考察

1 アセチルアセトン法によるクロム、鉄及び銅の分析条件の検討

(1) クロムの還元の検討

下村⁹⁾らは、アセチルアセトンはクロム (VI) とは完全な錯体を生成し難いため、いったんクロム (III) へ還元後、クロム (III) アセチルアセトン錯化合物を生成させる必要性のあることを報告している。そこで、クロム (VI) 標準液 0.1 μg を純水に添加し、還元剤として 0.5% 亜硫酸ナトリウム 1 ml を加えアセチルアセトン法により還元時間と回収率の関係を検討した。

なお、還元時の pH は、クロム (III) アセチルアセトン錯化合物生成最適条件の pH 6.5 とした。図 1 に示すように、クロム (VI) の回収率は、還元時間 10 分までは次第に増加しているが、10 分以上ではほぼ一定となった。

以上から、還元時間は 30 分とした。

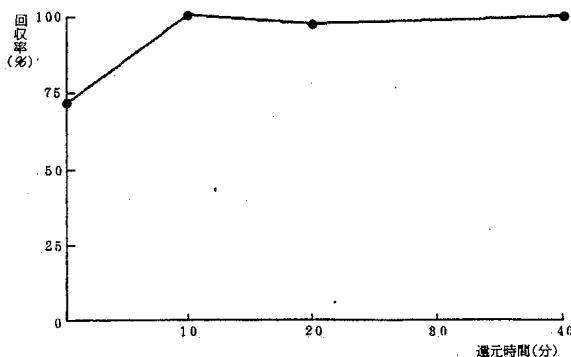


図1 クロム (VI) の還元時間と回収率の関係

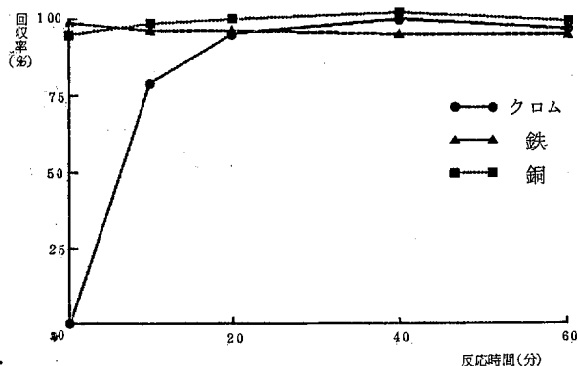


図2 反応時間と回収率の関係

(2) 反応条件の検討

金属とアセチルアセトンの錯化合物の生成は比較的容易であるが⁹⁾、クロム(Ⅲ)については、反応を促進するために加熱が必要であることが報告されている⁸⁾。そこで、クロム(Ⅵ)標準液 0.1 μg、鉄(Ⅲ)標準液 7.5 μg 及び銅標準液 3 μg を純水に添加し、アセチルアセトン法により、反応時間と各金属の回収率の関係を検討した。

図2に示すように、鉄(Ⅲ)及び銅については、未加熱から加熱反応時間60分まで回収率はほぼ一定で、反応時間の差はみられなかった。

クロム(Ⅵ)については、未加熱では回収率0%、加熱反応時間20分までは回収率が次第に増加し、20分以上ではほぼ一定となり、下村らと同様な結果を示した。

以上から、反応時間は下村らと同様に1時間とした。

次に、反応時間の検討と同様に金属標準液を純水に添加し、アセチルアセトン添加量と各金属の回収率の関係を検討した。

図3に示すように、クロム(Ⅵ)及び銅については、アセチルアセトン添加量 0.2 ml 以上ではほぼ一定となった。

鉄(Ⅲ)については、アセチルアセトン添加量 0.1 ml から 1.0 ml までは回収率が次第に増加し、1.0 ml 以上ではほぼ一定となった。

以上から、アセチルアセトンの添加量は 1.0 ml とした。

(3) ミニカラム注入時の pH の検討

3種類の金属が同時に捕集できる pH 域を調べるため、反応条件の検討と同様に金属標準液を純水に添加し、アセチルアセトン法により、金属とアセチルアセトンを反応後、試料溶液の pH を変化させ、ミニカラムへの反応生成物の吸着条件を検討した。

図4に示すように、クロムについては、pH 3~8 の範囲で、回収率はほぼ一定で、pH の影響はみられなかった。

鉄については、pH 3~7 の範囲で回収率はほぼ一定であったが、pH 8 では、回収率の低下がみられた。

銅については、pH 4~7 の範囲で回収率はほぼ一定であったが、pH 3 及び 8 では回収率の低下がみられた。

以上から、3金属とも pH 4~7 の範囲では90%以上の回収率を示したので、反応時 pH 6.5 のまま反応後の試料の pH 調整は行わず、反応液をそのままミニカラムに注入することとした。

(4) ミニカラムの吸着能力の検討

温泉水中に含まれる金属のうち、比較的少量に含まれる鉄を用いてミニカラムの吸着能力を検討した。

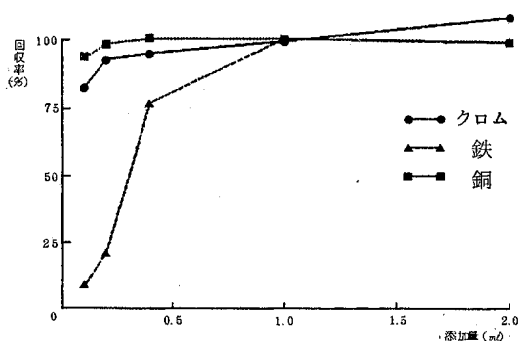


図3 アセチルアセトン添加量と回収率の関係

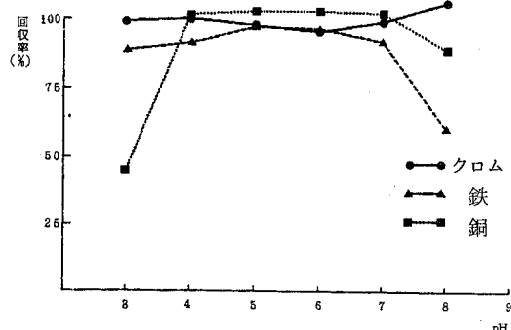


図4 ミニカラム注入時 pH と回収率の関係

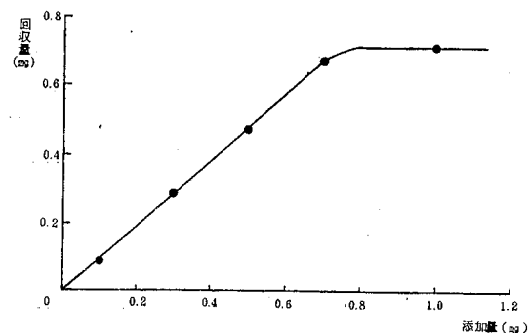


図5 鉄錯化合物のミニカラムへの吸着状況

鉄(Ⅲ) 0.1~1.0 mgを純水に添加しアセチルアセトン法により、ミニカラムの吸着能力を検討した。

図5に示すように、鉄として、0.1~0.7 mgの範囲で、添加量と回収量の間的良好な直線関係が得られた($r=0.999$)が、1.0 mgでは、72%と回収率の低下がみられた。

以上から、ミニカラムの吸着能力は、鉄として0.7 mgと考えられ、試料中に鉄が7 mg/l以上含有される場合は、試料の適量分取が必要と考えられる。

(5) フッ素イオンの影響

温泉水には、種々の元素が含有されているが、そのうち愛媛県の温泉水の特徴的含有成分であるフッ素イオンは、種々の金属と錯化合物を生成するためその影響を検討した。クロム(VI)標準液0.1 μg、鉄(Ⅲ)標準液7.5 μg及び銅標準液3 μgにフッ化ナトリウムを添加し、アセチルアセトン法により回収率を求めた。

表2に示すように、3金属とも回収率97%以上と良好な結果を示し、フッ素イオンの影響は見られなかった。

なお、フッ素イオンの濃度は愛媛県の温泉水におけるフッ素イオンの最高値である20 mg/lとした。

表2 フッ素イオンの定量に及ぼす影響

金属	添加量(μg)	回収率(%)
クロム	0.1	98.0
鉄	7.5	97.3
銅	3.0	99.8

(注) 試験溶液中のフッ素イオンの濃度は20 mg/l

表3 海水と温泉水における回収率

金属	添加量(μg)	回収率(%)	
		海水	温泉水
クロム	0.1	95.8±1.8	93.3±2.0
鉄	15.0	98.2±2.9	91.3±7.0
銅	3.0	99.3±0.3	99.1±1.1
マンガン	3.0	92.7±3.7	92.2±0.6
カドミウム	0.01	78.2±5.7	83.8±3.0

(n=3)

表4 測定元素及び測定法

測定法	測定元素					
	クロム	鉄	銅	マンガン	カドミウム	亜鉛 鉛
アセチルアセトン法	○	○	○			
オキシシ法				○	○	
直接法						○ ○

表5 愛媛県下の温泉水中の金属濃度

金属番号	クロム(mg/l)	鉄(mg/l)	銅(mg/l)	マンガン(mg/l)	カドミウム(mg/l)	亜鉛(mg/l)	鉛(mg/l)	溶存物質(g/l)	タイプ
1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1754	I
2	ND	ND	ND	0.020	ND	ND	ND	0.4094	
3	ND	0.048	ND	0.032	ND	ND	ND	0.5697	
4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1840	II
5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.2063	
6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.2103	
7	ND	0.069	ND	ND	ND	ND	ND	0.2733	
8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.4015	
9	ND	0.050	ND	ND	ND	ND	ND	0.4790	
10	ND	0.050	ND	ND	ND	ND	ND	0.5160	
11	ND	0.20	ND	ND	ND	0.68	ND	1.153	III
12	ND	0.21	ND	0.006	ND	ND	ND	1.160	
13	ND	0.27	ND	0.18	ND	ND	ND	2.746	
14	ND	2.5	ND	0.078	ND	ND	ND	3.992	
15	0.0009	5.2	ND	1.6	ND	ND	ND	5.275	
16	ND	7.3	ND	1.0	0.0001	0.30	ND	8.689	
17	ND	0.48	ND	0.17	ND	ND	ND	18.03	
18	ND	0.71	ND	1.9	ND	ND	ND	26.26	

注) ND: Cr<0.0005, Fe<0.025, Cu<0.005, Mn<0.005, Cd<0.0001, Zn<0.1, Pb<0.01 mg/l

タイプI: 溶存物質が1 g/l未満でNaHCO₃型

タイプII: 溶存物質が1 g/l未満でNaF+NaCl型

タイプIII: 溶存物質が1 g/l以上の塩類泉

(6) 添加回収実験

温泉水中の共存物質の影響を検討するため、海水及び愛媛県の代表的温泉であるNaF+NaCl型温泉水に金属を添加し、クロム、鉄、銅についてはアセチルアセトン法、マンガン、カドミウムについてはオキシソ法により各金属の回収率を求め表3に示した。回収率は、カドミウムは約80%、その他の金属は90%以上、変動係数は、0.3~7.0%と良好な結果を示した。

2 愛媛県の温泉水中の金属濃度

金属の測定法を表4に、愛媛県の代表的温泉の分析結果を表5に示した。

タイプIでは、鉄が1試料、マンガンが2試料、タイプIIでは、鉄が3試料で検出された。また、その他の金属は検出されなかった。

タイプIIIでは、鉄が全試料、マンガンが7試料、亜鉛が2試料、クロム及びカドミウムがそれぞれ1試料で検出された。

今回の18試料では、タイプI及びIIは、数試料で鉄及びマンガン含有しているが、含有量は低濃度で、水道水の水質基準以下であった。しかし、溶存物質が1g/l以上のタイプIIIでは、タイプI及びIIに比べ、金属の濃度が高かった。

今後の温泉ブームに伴い、従来の泉質とは異なる温泉の開発が予想されるが、飲用に供する場合等を考慮し、微量有害金属の含有量の調査が重要と考えられる。

まとめ

1 温泉水中の微量金属を濃縮定量するため、アセチルアセトンで金属錯化合物を生成し、ミニカラムで濃縮する方法について検討した結果、次のことが明らかになった。

(1) 亜硫酸ナトリウムでクロム(VI)をクロム(III)

に還元後、沸騰水浴中で1時間加熱し、クロムアセチルアセトン錯化合物を生成することにより、クロムの濃縮定量が可能であった。

また、同時に鉄及び銅の濃縮定量が可能であった。

(2) 濃縮定量の最大濃度は、鉄として7mg/lであった。

2 愛媛県の18温泉について金属を定量したところ、含有量はほとんどの温泉で低濃度であったが、一部の温泉から微量有害金属も検出されており、飲用に供することを考慮し、含有量の調査が重要と考えられる。

謝辞

本研究は、国立公衆衛生院平成3年度特別課程環境・衛生化学特論コースにより実施されたことを記し、御指導いただいた国立公衆衛生院葛原由章先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) 堀内公子：ぶんせき，**122**，77~81(1985)
- 2) 不破敬一郎他：最新原子吸光分析原理と応用，250~256，広川書店(1980)
- 3) 山本淳他：温泉工学会誌，**13**，129~138(1979)
- 4) 佐藤彰：高温炉原子吸光の実際，16~29，講談社(1981)
- 5) H, Watanabe. et al: Anal. Chem., **53**，738~739(1981)
- 6) Y, Nojiri. et al: Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud., **79**，63~74(1985)
- 7) 高柳信孝：富山衛研年報，**9**，158~161(1986)
- 8) 下村滋他：衛生化学，**16**，144~147(1970)
- 9) J, Stary. et al: Anal. Chim. Acta., **28**，227~235(1963)

生鮮野菜等に使用されるリン酸分析法と経時変化

上田規容子 東 忠英 島田喜文 渡部三男 真木 強

Analytical Method of Phosphate and the Survey of its Use in Vegetable and Concentrational Change along Time Course

Kiyoko UEDA, Tadahide HIGASHI, Yoshihumi SHIMADA,
Mitsuo WATANABE, Tsuyoshi MAKI

Molybdenum blue (ascorbic acid) method has been widely used for the determination of phosphate in vegetables.

But this method suffered disadvantages from the organic acid in sample solution, that was, absorption curves of sample solution and standard solution were different, so this method was not able to correctly measure phosphate by this reason, other method—Molybdenum blue (zinc) method—was compared. Its outlines were as follows;

As Reducing agent, Zinc was used instead of ascorbic acid.

The results showed that this method was free from the influence of addition agent (ascorbic acid, citric acid, etc.)

Then, amount of phosphates was investigated in the sample solution containing additional agent and the sample solution treated with phosphates that has been increasing phosphoric acid with the passage of time. The result was that it could not be judged whether phosphate added or not by the amount of phosphate.

Key words : vegetable, phosphoric acid, orthophosphoric acid, metaphosphoric acid, pyrophosphoric acid, triphosphoric acid, molybdenum blue method

はじめに

近年、生鮮野菜に漂白あるいは鮮度保持を目的として、リン酸及びその塩類（以下、リン酸）や有機酸を含む各種の混合製剤が使用されている。このうちリン酸については、昭和61年、厚生省が「食品の品質、鮮度等について消費者の判断を誤らせるおそれがあり、食品添加物本来の目的に反する」として、生鮮野菜等への使用を規制している。

しかし、各種有機酸の液に生鮮野菜を漬けることにより野菜の変色が防止され、新鮮に見えるリン酸処理と同じ効果が認められるにもかかわらず規制はなく、最近、農産加工用品質改良剤として多く使用されている。

また、混合製剤での処理は野菜中のリンが溶出する傾向がみられ、リン酸を使用したものと誤るおそれがある。

一方、リン酸の試験法として繁用されているモリブデン青（アスコルビン酸）還元法（以下、アスコルビン酸法）は、有機酸を含む試料の場合、極大吸収波長の位置が移動し正確な定量は困難であることが指摘されており、有機酸を含む検体での、正確な分析法の開発が必要になっている。

従来、生鮮野菜におけるリン酸の試験溶液の調製には、拭き取り法、水による抽出法など種々検討されているが、漬液そのもののリン酸を測定する方法がより正確ではないかと思われることから、今回、有機酸を含む漬液試料液中のリン酸分析法及び混合製剤が添加

された里芋からのリン溶出について検討を行ったところ、若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1 試薬

- (1) トリポリリン酸ナトリウム(無水)：和光純薬工業(株)製、その他の試薬は全て特級品を用いた。
- (2) リン酸標準溶液：リン酸二水素カリウムを110℃で3時間乾燥し、その143.3mgを適量の水に溶かし全量を1ℓとし、これを適宜希釈して用いた。(リン酸として100μg/ml)
- (3) モリブデン酸アンモニウム溶液：1.92gを水に溶かして200mlとした。
- (4) 発色試液(I)：10% L-アスコルビン酸溶液と0.267% 酒石酸アンモニウムカリウム溶液の等容量混液(用時調製)
- (5) 発色試液(II)：モリブデン酸アンモニウム5.3gを約700mlの水に溶かし、硫酸100mlを加えた後、砂状亜鉛0.65gを溶解し水で1ℓとした。
- (6) 混合製剤：L-アスコルビン酸5%、クエン酸30%、硫酸アルミニウムカリウム50%、食品素材15%を含有する製剤

2 試験溶液の調製

市販の洗い里芋は、つけ液をろ過して試験溶液とした。皮付きの里芋は、皮をのぞき軽く水洗し、同重量の水を加え軽く振り混ぜろ過し試験溶液とした。

3 操作方法

図1に示した。

4 pHの測定

試験溶液をそのままpHメーターで測定した。

5 装置及び器具

- (1) pHメーター：東亜電波工業(株)製 HM-20型
- (2) ウォーターバス：ヤマト科学(株)製 BS-65型
- (3) 分光光度計：島津製作所(株)製 UV-150型

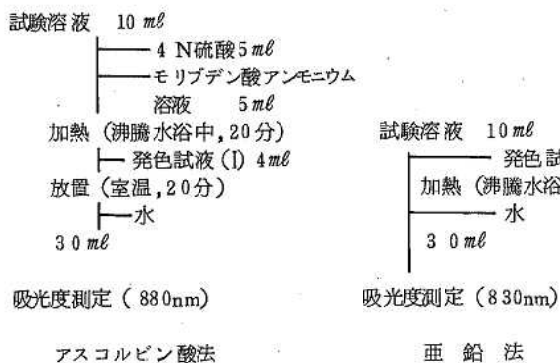


図1 操作方法

結果及び考察

野菜の漬液のリン酸の測定法として繁用されている、アスコルビン酸法は漬液にアスコルビン酸が添加されている場合、図2に示すとおり、極大吸収波長の位置が標準試料の880nmと比べて830nm付近に移動するなど吸収スペクトルが一致しないことが分かった。このようにことから880nmでの試料溶液の測定は実際の値より低い値がでる結果となり問題が多い。

そこで、共存物質の影響の少ない試験方法を検討したところ、還元剤として塩化スズ(II)、硫酸ヒドラジン、亜鉛等を持ちこる方法があり、これらはアスコルビン酸の添加の影響を受けないことがわかった、これらのうちで試薬の酸濃度及び保存期間等を考慮すると、亜鉛で還元する方法(以後亜鉛法)が最適であると思われることから亜鉛法について検討を行った。(図2)

1 亜鉛法における諸条件の検討

(1) 発色試液(II)量の検討

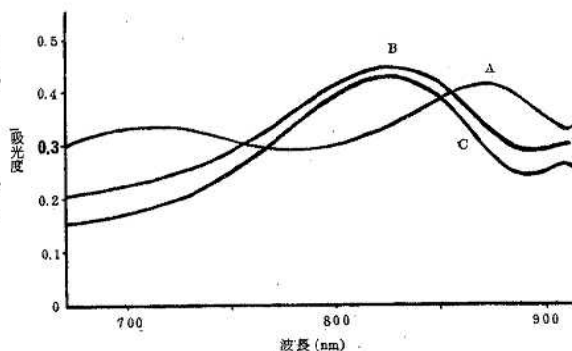


図2 アスコルビン酸法及び亜鉛法の吸収曲線

- A アスコルビン酸法 (PO_4^{3-} 50μg)
- B アスコルビン酸法 (洗い里芋)
- C 亜鉛法 (PO_4^{3-} 50μg, 洗い里芋)

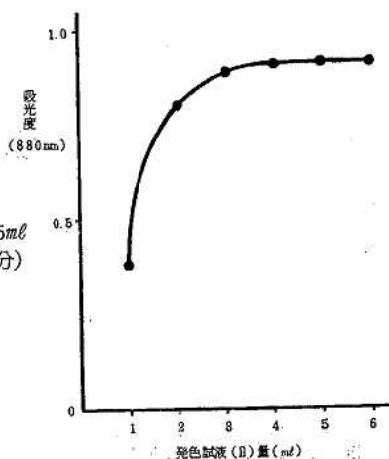


図3 発色試液(II)量と発色の関係

リン酸標準液 10 ml (リン酸イオンとして 100 μg) に発色試液 (II) を 1~6 ml 加え沸騰水浴中で加熱を行った。

発色試液量が 1~3 ml まで吸光度は急激に上昇し、その後、緩やかに 4 ml まで上昇があり、4 ml 以上では吸光度は一定となったことから、発色試液量は 4 ml を必要としており、安全量をみて以後 5 ml 使用することとした (図 3)

(2) 加熱時間の検討

リン酸の定量は、硫酸酸性下でオルトリン酸がモリブデン酸アンモニウムと反応しモリブドリン酸アンモニウムを生じ、還元剤により還元されモリブデン青となり発色する反応機構である。

今回検討した亜鉛法は、常温では還元反応が起こらないこと、また、生鮮野菜に使用されるおそれのある縮合リン酸塩は、縮合リン酸の状態ではモリブデン酸アンモニウムと反応しないため、硫酸酸性下で加熱しオルトリン酸に分解する必要がある。

そこで、各種リン酸塩類 (オルトリン酸、ピロリン酸、トリポリリン酸、メタリン酸) を用いて分解及び反応に要する加熱時間の検討を行った。

各種リン酸溶液 10 ml (リン酸イオンとして 100 μg) に発色試液 (II) 5 ml を加え、沸騰水浴中で 0~50 分間加熱した。

その結果オルトリン酸、ピロリン酸、メタリン酸は 20 分間、トリポリリン酸は 30 分間の加熱で吸光度が一定となった。

このようにオルトリン酸、ピロリン酸、メタリン酸は 20 分の加熱により吸光度が一定となり、発色反応は終了するものと考えられるが、トリポリリン酸については、オルトリン酸と同じ吸光度とするためには 30 分の加熱 (分解、発色) 時間を必要とすることから、縮合リン酸塩を含む場合を考慮し、加熱時間は 30 分とした。(図 4)

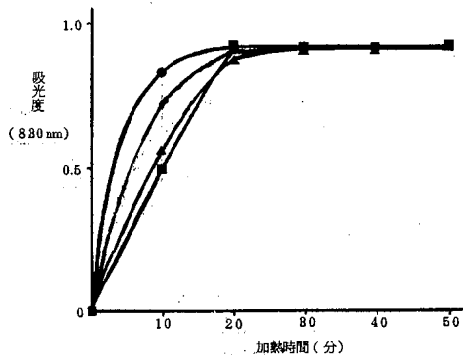


図 4 加熱時間と発色の関係

●オルトリン酸 □ピロリン酸
▲トリポリリン酸 ○メタリン酸

(3) 亜鉛法にあたる共存物質の影響

里芋は、加工工程において、ぬめり取りのための食塩の添加、変色防止のために有機酸を含んだ添加物製剤 (アスコルビン酸、クエン酸、ミョウバン等) の使用、また、里芋中からの溶出物質も考えられることから、ミョウバン、食塩、アスコルビン酸、クエン酸、乳酸、亜硫酸ナトリウム、 Fe^{3+} 、 NO_3^- の影響を検討した。

その結果、クエン酸では 12500 μg 以上、 Fe^{3+} では 50 μg 以上が検液に含まれる場合は、リン酸の値に負の影響を及ぼすことが分かった。

(4) 市販洗い里芋への適用

有機酸 (アスコルビン酸、クエン酸等) が添加されている洗い里芋 4 種類について、亜鉛法とアスコルビン酸法でリン酸の定量を行った。その結果、アスコルビン酸法では、標準液と試験溶液の吸収スペクトルが異なるため、実際の値より低く、亜鉛法がいずれも約 1.5 倍高い値を示した。(表)

2 添加剤の使用によるリン溶出の影響

アスコルビン酸、クエン酸などの添加剤を含む漬液にリン酸が多く検出され、添加剤の使用が里芋中からリンを溶出する可能性があるため、この製剤が里芋に与える影響について検討した。

皮を除き水洗した里芋を水、2000 ㎖ リン酸及び 0.5 % 添加剤の 3 種類の溶液に 1 時間浸漬した後再度水洗し、里芋の 2 倍重量の水又は 0.5 % 添加剤の溶液を加え、腐敗防止のため冷蔵庫に保管して、1~10 日間のリン酸量と pH の経時変化をみた。

(1) リン酸量の変化

前処理に水及び 0.5 % 添加剤を使用した後、漬液が水の場合、リン酸量の経時変化は少なく、その値は 10 日後においても 40 μg/g 以下であった。

しかし、前処理にリン酸処理した後で水に浸漬した場合は 70 μg/g まで上昇し、明らかに差が認められた。

一方、漬液に添加剤を使用すると、リン酸量は急激に上昇し、10 日後には、水による前処理の場合は約

表 市販洗い里芋中のリン酸分析結果 (平均値, 単位 μg/g, n=3)

検体名	リン酸イオン		亜鉛法
	亜鉛法	アスコルビン酸法	アスコルビン酸法
No.1	23.0	14.5	1.6
No.2	17.2	11.2	1.5
No.3	22.5	14.8	1.5
No.4	55.3	40.3	1.4

140 $\mu\text{g/g}$, リン酸前処理の場合は170 $\mu\text{g/g}$ まで上昇した。

(2) pH値の変化

つけ液のpH値は、経時変化が少なく、つけ液に水を使用するとpH6前後の中性であるが、添加剤を使用すると酸性(pH値約3)となり、著しい差が認められた。

このことから、pH値は添加剤使用の指標にできるものと考えられる。(図5)

(3) リン溶出とpHの関係

添加剤と同濃度のクエン酸及びアスコルビン酸溶液に里芋を浸漬した結果、クエン酸溶液のpH値は2.73から3.71(15h後)へ、アスコルビン酸溶液は3.65から5.50に変化し比較的経時変化が大きかった。リン酸量は、pHの低いクエン酸溶液の方が多し結果となり、リンの溶出は、pH値にも影響を受けるものと思われる。

以上のことから、リン酸量が40 $\mu\text{g/g}$ 以下の場合にはリン酸処理が行われていないと思われるが、しかし、漬液に添加剤を使用すると、pH値は低く時間の経過に伴い里芋中のリンを溶出させる。従ってリン酸量が40 $\mu\text{g/g}$ 以上の場合であっても、単にリン酸量のみでリン酸処理の有無を判断することは困難で、pH値、製造からの経過時間、添加剤の種類等を検討し判断する必要がある。

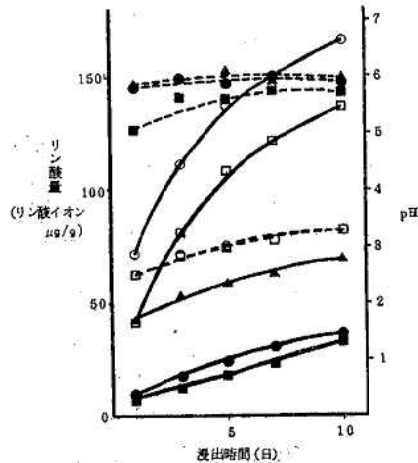


図5 リン酸量とpHの経時変化

- 水→水
- 0.5%ハイソフトC-2→水
- ▲ 2000ppm KH₂PO₄→水
- 2000ppm KH₂PO₄→0.5%ハイソフトC-2
- 0.5%ハイソフトC-2→0.5%ハイソフトC-2
- リン酸イオン --- pH

まとめ

今回、リン酸の分析法として、添加剤中に含まれるアスコルビン酸の影響の少ない亜鉛法を検討するとともに、有機酸の影響による里芋からのリン溶出について検討した。

1 アスコルビン酸法は、試験溶液にアスコルビン酸が含まれると極大吸収波長の位置が880nmから830nmへ移動するため測定値が実際の値より低くなる。

このため、亜鉛法で測定した結果がアスコルビン酸法の約1.5倍量となった。

2 亜鉛法においては発色試薬(II)量を5ml必要とし、縮合リン酸をオルトリン酸に分解及びモリブデン酸アンモニウムとリン酸の反応に要する時間は、沸騰水浴中で30分が必要であった。

3 亜鉛法における共存物質の妨害は、クエン酸、Fe³⁺でみられ、混合製剤には、クエン酸が多く含まれている可能性があるため、注意を要する。

4 里芋中のリンの溶出は、pHに大きく影響を受けるのでリン酸量を測定する場合は、pHも同時に測定しリン酸処理の判断材料とすべきである。

5 生鮮野菜に有機酸が添加されると、天然のリンが溶出し時間の経過とともに漬液中のリン酸量が増加する。

従って、リン酸量が40 $\mu\text{g/g}$ 以上の場合であっても、リン酸処理の有無は、単にリン酸量のみで判断することは困難で、pH値、経過時間及び添加剤の種類を考慮する必要がある。

なお、本調査にあたり御協力いただいた松山中央保健所並びに伊予三島保健所の各位に感謝いたします。

参考文献

- 田口信夫他：衛生化学, **37**(5), 405~410(1991)
- 井部明広他：東京衛研年報, **38**, 216~221(1987)
- 並木 博他：詳解工場排水試験方法
日本規格協会(1986)
- 井部明広他：東京衛研年報, **39**, 116~120(1988)
- 大沢テイチ他：仙台市衛生試験所報, **16**, 232~237(1986)
- 藤本敏子他：尼崎市立衛生研究所報, **16**, 48~51(1989)
- 川名清子他：神奈川衛研報告, **21**, 32~34(1991)
- 林 豊他：衛生化学, **35**, 206~211(1989)
- 津田洋子他：横浜市衛研年報, **28**, 119~122(1989)
- 加藤易康他：名古屋市衛生研究所報, **33**, 72~76(1987)
- 松原テヨ他：衛生化学, **37**, 315~322(1991)
- 津田洋子他：横浜市衛研年報, **26**, 73~76(1987)