

高病原性鳥インフルエンザ発生時の防疫措置に用いられる陽イオン界面活性剤の吸光光度法の改良

多田 哲子 中村 昌子 金附 宏明

Improvement of Absorptiometry for Cationic Surfactants Used as Disinfectants for Preventiveactivities of the Spread of Avian Influenza

Noriko TADA Masako NAKAMURA Hiroaki KANATSUKI

要旨

高病原性鳥インフルエンザ等発生時の防疫措置により大量に使用される消毒剤のうち、陽イオン界面活性剤 (CS) のモノ、ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン) -アルキルトルエン、塩化ジデシルジメチルアンモニウムの測定に用いられるJIS K0102 付属書1-VのオレンジII法の高感度化と抽出溶媒の変更を目的として、オレンジII法の改良を行った。CSとオレンジIIのイオン会合体形成を妨害する陰イオン界面活性剤を除去するために、逆相-弱陰イオン交換ミックスモードカラムを用いて試料を固相抽出することにより、試料に含まれる陰イオン界面活性剤の除去と同時にCSの濃縮も可能となり、定量下限値は0.02 mg/L未満と従来のオレンジII法の10倍以上高感度となった。この濃度レベルは、CSの環境影響を評価する上で、ほぼ満足できるレベルであった。第2類特定化学物質に指定されているクロロホルムの代替溶媒として、安息香酸メチルと酢酸エチルを検討したが、CSとオレンジIIのイオン会合体のみを選択的に抽出することができず、いずれも抽出溶媒として適さなかった。

キーワード：高病原性鳥インフルエンザ、環境影響調査、陽イオン界面活性剤、オレンジII吸光光度法、固相抽出、逆相-弱陰イオン交換ミックスモードカラム、モノ、ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン) -アルキルトルエン、塩化ジデシルジメチルアンモニウム

Keywords : Highly pathogenic avian influenza, Environmental impact survey, Cationic surfactant, Orange II spectrophotometry, Solid phase extraction, Mixed-mode weak anion-exchange column, Mono bis (trimethyl ammonium methylene chloride) alkyl toluene, Didecyl dimethyl ammonium chloride

はじめに

本府では、2003年2月に国内3例目となる過去に例を見ない規模の高病原性鳥インフルエンザ等の発生を受け、家畜伝染病予防法等に基づき患畜等となった鶏等の殺処分と死体や汚染物の埋却処分、鶏舎等の消毒が行われた^{1,2)}。これらの防疫措置による周辺環境への影響について府民の安心・安全を確保するため、本府の「高病原性鳥インフルエンザ等に係る防疫措置の周辺環境への影響調査実施要領」に基づき、当所において発生農場や埋却地周辺の河川水と地下水の水質調査と臭気調査が発生6か月経過後まで行われた。水質調査項目のうち、消毒剤の陽イオン界面活性剤 (CS) については、JIS K0102 付属書1-VのオレンジII吸光光度法³⁾ (JISオレンジII法) により、試料中濃度を測定した。

JISオレンジII法は、試料を陰イオン交換樹脂カラムを通して、CSと対をなす陰イオン界面活性剤 (AS) を除去した後、陰イオン性のオレンジIIと反応させて生じたイオン会合体をクロロホルムに抽出し、その吸光度を測定する方法であり、定量下限値は0.2 mg/Lとされている。防疫措置が環境や人の健康に影響を及ぼさないと評価するためには、防疫作

業が行われた発生場所等の上流側と直下流側・下流側で水質に差がないこと (使用された消毒剤等が非検出であることを含む)、差があった場合は、下流側で測定された濃度が環境や人の健康に影響がない程度の濃度であることのいずれかの条件を満たすことが必要である。CSについては水道水質基準や環境基準は設定されていないが、一般にCSは、強い殺菌力を持ち、基準値の設定されているASより、毒性が強いと考えられている^{4,5)}。実際、水道水質基準や環境基準の定められているASのドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム

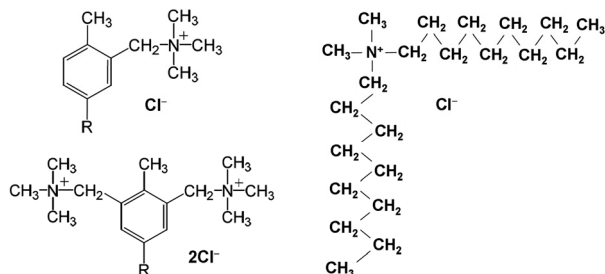


図1. モノ (塩化トリメチルアンモニウムメチレン) アルキルトルエン (左上)、ジ (塩化トリメチルアンモニウムメチレン) アルキルトルエン (左下) 及び塩化ジデシルジメチルアンモニウム (右) の構造式

(令和6年1月4日受理)

について、Sigma-Aldrich 社の安全データシート (<https://www.sigmaaldrich.com/JP/ja/sds/aldrich/289957>) では、ニジマスに対するLC50は3.2-5.6 mg/L (96 h)、オオミジンコに対するEC50は6.3-9.5 mg/L (48 h) であるのに対し、JISオレンジII法の標準物質となっているCSの塩化ベンジルジメチルテトラデシルアンモニウム (BAC-C14) (<https://www.sigmaaldrich.com/JP/ja/sds/sial/13401>) では、それぞれ0.79 mg/Lと0.016 mg/Lであり、ASに比べCSの毒性ははるかに高い。

京都府で現在家畜防疫に使用されているCS製剤は、パコマ[®]とアストップ[®]であり、有効CS成分はそれぞれモノ、ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン) -アルキルトルエン (TAMCA) (図1左)と塩化ジデシルジメチルアンモニウム (DDAC) (図1右)である。DDACについて、Sigma-Aldrich 社の安全データシート (<https://www.sigmaaldrich.com/JP/ja/sds/sial/34466>) では、ゼブラフィッシュに対するLC50は0.49 mg/L (96 h)、オオミジンコに対するEC50は0.029 mg/L (48 h)とされており、塩化ベンザルコニウムと同程度の生態毒性を有する。TAMCAについては、生態毒性に関するデータは見当たらないが、2017年11月28日付けで食品安全委員会より評価書が出されており (<https://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20170524033>)、ここでは一日許容摂取量 (ADI) を0.013 mg/kg 体重/dayとしている。日本人成人の水道水等飲料摂取量は1人当たり平均1L/日程度とされており^{6,7)}、発生場所等周辺の河川水や地下水が水道水源である場合は、体重50 kgの成人が飲用する場合、0.65 mg/L以下であれば、飲用し続けても問題ないと考えられる。

2003年2月の高病原性鳥インフルエンザ発生時の環境影響調査では、CS製剤としてパコマ[®]が使用されたが、すべての試料において、全期間を通してCS濃度は0.2 mg/L未満であり、パコマ[®]の有効成分であるTAMCAのADIからすると人の健康には影響のない濃度と考えられた。しかし、生態毒性の観点からすると、仮にTAMCAの生態毒性がBAC-C14やDDACと同程度であるとすれば、JISオレンジII法の0.2 mg/Lの定量下限値では、甲殻類に対する影響を評価するのは難しく、さらに高感度な測定方法が求められる。

CSの高感度測定方法として、すでにいくつかの液体クロマトグラフィー質量分析法が報告されているが、実際に高病原性鳥インフルエンザが発生したときに、高頻度で液体クロマトグラフ質量分析計による測定を行うことは、他業務による液体クロマトグラフ質量分析計の使用状況から難しい。そこで、今回、JISオレンジII法を改良して高感度化をめざすことにした。先行研究として劔持ら⁸⁾は、試料を逆相-弱陰イオン交換ミックスモードカラムを用いて固相抽出した後、液体クロマトグラフィー質量分析法によりTAMCAの高感度測定を行い、伊藤・浅沼⁹⁾は上述の固相抽出カラムをJISオレンジII法の試料前処理に適用しTAMCA測定の高感度化を図った。そこで、我々も伊藤・浅沼⁹⁾の方法に準じて、TAMCAとDDACのオレンジII法による高感度測定法を検討した。さらに、2014年にクロロホルムが第2類特定化学物

質に指定されたことを受け、クロロホルムに代わる抽出溶媒についても検討した。

材料と方法

1. 試薬等

標準液、添加回収試験用試料、試薬調製にはすべて超純水 (以下、水) を用いた。BAC-C14として塩化ベンジルジメチルテトラデシルアンモニウム (富士フィルム和光純薬 (株))、TAMCAとして動物用医薬品パコマ[®] (科学飼料研究所 (株))、DDACとして動物用医薬品アストップ[®] (科学飼料研究所 (株)) をそれぞれ水で、1,000 mg/L (CSとして) の濃度に調製し、検量線作成及び添加回収試験に用いた。ASとして、AS混合標準液 (アルキル鎖長10-14の直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム各1 mg/mLの混合溶液) (富士フィルム和光純薬 (株)) を用いた。酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH3.5) は、酢酸6 mL、酢酸ナトリウム三水和物0.9 gを水に溶かして1 Lとした。塩化ナトリウム加酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液は、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液1 Lに塩化ナトリウム100 gを溶かした。オレンジII溶液は、オレンジII 0.2 gを水に溶かして100 mLとした。クロロホルムは吸光度用 (富士フィルム和光純薬 (株))、メタノールはLC-MS用 (富士フィルム和光純薬 (株))、その他の試薬はすべての特級試薬 (富士フィルム和光純薬 (株)) を用いた。

固相抽出カラムは逆相-弱陰イオン交換ミックスモード樹脂カラムOasis WAX Plus (225 mg, Waters (株)) を用いた。メタノール溶出後の一連の操作は、15 mL遠心管 (ポリプロピレン製) を用いて行った。

2. 測定機器等

試料の固相抽出は、全自動固相抽出装置 (ジーエルサイエンス (株) AquaTrace ASPE899) により、溶出液の窒素乾固は、吹付け式試験管濃縮装置 (東京理化工業 (株)、MGS-3100) により行った。溶媒抽出時の攪拌には、タッチミキサー ((株) VORTEX, GENIE 2) もしくは溶出試験用振とう機 (タイテック (株)、TS-20) を用いた。抽出液の吸光度の測定は、紫外可視分光光度計 ((株) 島津製作所、UV-1900i) により、光路長10 mmの吸収セルを用いて行った。

3. 方法

3-1. 伊藤・浅沼⁹⁾の方法による

TAMCAとDDAC添加回収試験

伊藤・浅沼⁹⁾は、Oasis WAX を使用して固相抽出を行い、オレンジII法によるTAMCA測定の最適化を検討して、ほぼ100%の回収率を得、JIS改良法とした。そこで、彼らのJIS改良法に準じてTAMCAとDDACの添加回収率を調べた。まずDDACがTAMCA同様、BAC-C14を標準物質として測定できるかどうかを確認するために、固相抽出工程を省略して、以下の操作を行った。1,000 mg/L TAMCA溶液または1,000 mg/L DDAC溶液を15 mL遠心管に40 μ L添加し、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液3 mL、塩化ナトリウム0.3 g、オレン

ジⅡ溶液2.5 mLを添加して混合した。これにクロロホルム2.5 mLを加えて3分間激しく振り混ぜた後、クロロホルム層を遠心分離した。この操作を2回繰り返して得られたクロロホルム層を合わせて5 mLに定容し、硫酸ナトリウムで脱水後、クロロホルム層の一部を吸収セルに移し、クロロホルムを対照液として波長485 nmの吸光度を測定した。検量線は、1,000 mg/L BAC-C14溶液を15 mL遠心管に、2、5、10、20、50、100 µL添加し、同様の操作を行って作成した。

次に、上記の操作に固相抽出工程を加えて、添加回収試験を行った。すなわち、1,000 mg/L TAMCA溶液または1,000 mg/L DDAC溶液を水1 Lに100 µL添加し、全自動固相抽出装置を用いて250 mL通水し、CSを抽出した。固相抽出工程を図2に示す。固相抽出操作により得られたメタノール溶液に窒素ガスを吹き付けて乾固させ、上述のクロロホルム抽出操作を行い、吸光度を測定した。

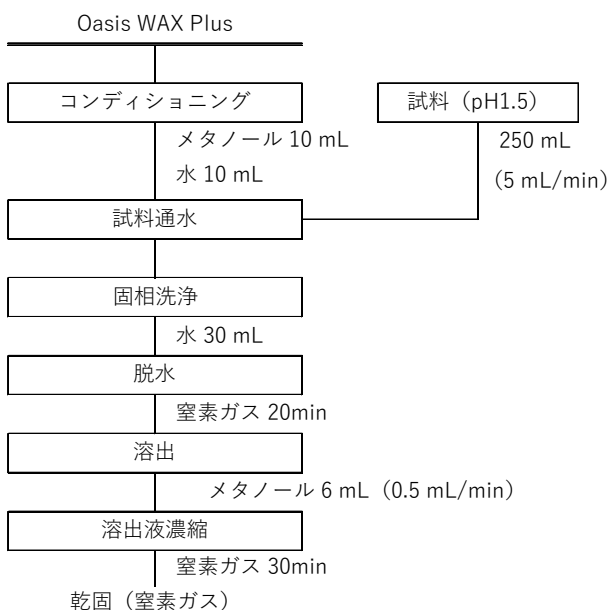


図2. 改良オレンジⅡ法の全自動固相抽出装置による陽イオン界面活性剤の固相抽出工程

3-2. 試料pHの検討

JISオレンジⅡ法や伊藤・浅沼⁹⁾の方法では、試料をpH7に調整して固相抽出に供しているが、後述するように、水にTAMCA、DDACを添加して固相抽出した時の回収率は著しく低かった。固相抽出操作を省いた場合にはTAMCA、DDACともほぼ添加した濃度の値を示したので、固相抽出操作に問題があると考えられた。そこで、以下の手順で試料pHを変えて検討した。すなわち、水に(1+11)塩酸を添加して、pHを1.5、3、7に調整したものを試料とし、1,000 mg/L TAMCA溶液または1,000 mg/L DDAC溶液を試料1 Lに100 µL添加し、その後の操作に供した。

3-3. クロロホルム抽出方法の変更

JISオレンジⅡ法と伊藤・浅沼⁹⁾の方法は、いずれもクロロホルム抽出を2回行って、得られたクロロホルム層を合わせて定容した後、吸光度を測定している。このクロロホルム

抽出工程を1回にして2回抽出と同様の抽出効果が得られるかどうか検討した。検討は、固相抽出工程を省略して行った。すなわち、1,000 mg/L TAMCA溶液または1,000 mg/L DDAC溶液を15 mL遠心管に25 µL添加し、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液3 mL、塩化ナトリウム0.3 g、オレンジⅡ溶液2.5 mLを添加して転倒混和後、クロロホルム4.5 mLを加えて、3分間激しく振り混ぜた。これと比較するために、2回抽出のクロロホルム添加量は1回目2.5 mL、2回目2.0 mLとし、定容量を4.5 mLとした。この3分間振り混ぜ操作はタッチミキサーで30秒×3回、または振とう機に遠心管を横置き横振で10分間振とうする操作に置き換えても検討した。その後、3,000 rpmで5分間遠心し、オレンジⅡとのイオン会合体をクロロホルム層に移した。パスツールピペットで水層を除去した後、クロロホルム層に硫酸ナトリウムを加えてタッチミキサーで軽く攪拌し、3,000 rpmで1分間遠心した。クロロホルム層を吸収セルに移し、波長485 nmにおける吸光度を測定した。

3-4. 陰イオン界面活性剤除去効果の検討

オレンジⅡ法では、CSとオレンジⅡとのイオン会合体をクロロホルムで抽出するため、あらかじめCSとイオン会合体をつくるASを試料から除去する必要がある。界面活性剤の生産量から見て、実際の環境試料中には、ASがCSの10倍程度存在すると考えられることから¹⁰⁾、水1 Lに1,000 mg/L TAMCA溶液または1,000 mg/L DDAC溶液を80 µL加えたものを2本ずつ準備し、各1本にAS混合標準液をASとしてCSの10倍量になるように加え、それぞれについて、上述の方法でCS濃度を測定した。

3-5. 塩化ナトリウム添加方法の変更

クロロホルム抽出液後の吸光度測定において、検量線を含め測定値にばらつきが出ることがあった。ばらつきは塩化ナトリウムが完全に溶解しきれていない時に生じたので、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液にあらかじめ塩化ナトリウムを加えて完全に溶解したものを塩化ナトリウム加酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液として用いた。

3-6. 改良オレンジⅡ法の概略

上述より、最適と考えられた条件を合わせて、改良オレンジⅡ法とした。その概略を以下に述べる。

- ①試料を塩酸でpH1.5に調整した後、全自動固相抽出装置を用いて250 mLを固相抽出し、得られたメタノール溶液を窒素ガスで乾固させる。
- ②乾固させた試料に、塩化ナトリウム加酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液3 mLを加えて、タッチミキサーで軽く攪拌した後、オレンジⅡ溶液2.5 mLを加えて、穏やかに転倒混和する。
- ③クロロホルム4.5 mLを加えて、タッチミキサーで30秒×3回、または振とう機に遠心管を横置き横振で10分間振とうした後、3,000 rpmで5分間遠心し、オレンジⅡとのイオン会合体をクロロホルム層に移す。

④バスツールピペットで水層を除去した後、クロロホルム層に硫酸ナトリウムを加えてタッチミキサーで軽く攪拌し、3,000 rpmで1分間遠心する。

⑤クロロホルム層を吸収セルに移し、波長485 nmにおける吸光度を測定する。

以降の河川試料におけるCSの測定やクロロホルム代替抽出溶媒の検討は改良オレンジII法で行った。

3-7. 河川試料におけるCSの測定

京都府内の環境基準点10地点において採水した河川試料について、上述の改良オレンジII法で、CS濃度を測定した。京都府内家畜保健衛生所で近年使用されているCSはほぼDDACであることから、上記の河川試料300 mLに1,000 mg/L DDAC溶液を30 μL添加したものについても、同様にCS濃度を測定し、それぞれの河川試料について、添加回収率を求めた。検量線用の標準物質にもDDACを用いた。

3-8. クロロホルム代替抽出溶媒の検討

クロロホルムに代わる抽出溶媒として、排水等のフェノール測定で代替溶媒としての報告がある安息香酸メチル¹¹⁾と極性基を持つためクロロホルムより極性が高く、幅広い化合物を抽出できる酢酸エチルについて、クロロホルムの代替溶媒としての妥当性を検討した。1,000 mg/L BAC-C14溶液を15 mL遠心管に、2、5、10、20、50、100 μL添加し、改良オレンジII法のクロロホルムを安息香酸メチルまたは酢酸エチルに替えて、クロロホルム抽出以降の操作を行い、検量線を作成した。

結果と考察

1. TAMCA及びDDAC測定のための標準物質としてのBAC-C14の妥当性

BAC-C14を標準物質として、クロロホルム抽出工程以降の操作を行い、TAMCA及びDDACを測定した。添加量40 μgに対して、TAMCAは36.2 μg、DDACは40.1 μgの値を示した。BAC-C14、DDACとオレンジIIは、どちらも1価の化合物であり、通常モル比1:1でイオン会合体を作ると考えられる。BAC-C14の分子量は368.05、DDACのそれは362.08とほぼ同じであることから、測定値もほぼ同じであったと考えられる。一方、TAMCAは1価のモノ体と2価のビス体から構成され、その比は4:1とされている (<https://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20170524033>)。また、モノ体とビス体はどちらも鎖長の異なるアルキル基を持ついくつかの化合物で構成されており、分子量は、それぞれ325.96-410.12と433.54-517.70である。オレンジII分子イオン2つと会合体を生成するビス体を約5分の1含むことから添加量より高い値を示すと予想したが、平均的な分子量がBAC-C14の分子量を上回ったのか、測定値は添加量の90.5%の値であった。これらのことから、TAMCAとDDACは、いずれもBAC-C14を標準として測定することに問題はないと考えられるが、実際に防疫措置に使用されたCSの測定とい

うことを考慮すると、測定対象のCSは特定されており、検量線作成に測定対象と同じ種類のCSを使用する方が合理的であると考えられる。

2. 固相抽出時の試料pHの影響

伊藤・浅沼⁹⁾は、pH7に調整した試料を固相抽出して良好な回収率を得ているので、水にTAMCA、DDACを添加してpH調整せず(pH7)に固相抽出したが、回収率は著しく低かった。そこで、試料のpHを1.5、3に変えて検討した。その結果を表1に示す。TAMCA、DDACともにpHが低くなるほど、添加回収率が良くなり、TAMCAはpH1.5で、DDACはpH3以下で回収率が70%を上回った。伊藤・浅沼⁹⁾と我々の固相抽出法では同じ逆相弱陰イオン交換ミックスモード樹脂カラムを使用しているが、固相充填量と充填剤粒径が異なり、伊藤・浅沼⁹⁾の使用したカラムはそれぞれ150 mgと30 μm、我々の使用したカラムは225 mgと60 μmであった。山崎ら¹³⁾はペルフルオロ化合物の固相抽出操作で充填剤粒径を小さくすると回収率が改善され、充填剤粒径による有効表面積の違いが吸着性能に大きな影響を与えたと報告している。我々が充填剤粒径の大きいカラムを使用したことで、pH7では回収率が低い要因となった可能性がある。化合物の逆相系固相への吸着は、pHが低いほど強くなるものも多く、pHを低くすることで、CSの充填剤への保持力が高まり回収率が改善された可能性がある。

表1 陽イオン界面活性剤固相抽出時の試料pHの影響

| 陽イオン界面活性剤 | pH | 回収率(%) |
|-----------------------------------|-----|--------|
| モノ、ビス(塩化トリメチルアンモニウムメチレン)-アルキルトルエン | 7 | 24.1 |
| | 3 | 65.6 |
| | 1.5 | 77.4 |
| 塩化ジデシルジメチルアンモニウム | 7 | 56.8 |
| | 3 | 82.3 |
| | 1.5 | 90.4 |

3. クロロホルム抽出方法による違い

クロロホルム1回抽出と2回抽出の結果に差は見られなかった(表2)。1回抽出法は、上部の水層を除去するだけでクロロホルム層を別容器に移す工程がないので、クロロホルム層の損失がなく、定容操作も不要であった。また、抽出時の振り混ぜ操作について、タッチミキサー30秒×3回、または振とう機による10分間振とうに換えた結果にも差はなかった。以上から、検量線用試料も含めた複数試料のクロロホルム抽出作業効率を考えると、クロロホルムの必要量を1回で加え、振とう機により10分間振とうすることで十分な回収率が得られた。

表2 陽イオン界面活性剤のクロロホルム抽出回数の比較

| 陽イオン界面活性剤 | 抽出回数 | 吸光度 |
|-----------------------------------|------|-------|
| モノ、ビス(塩化トリメチルアンモニウムメチレン)-アルキルトルエン | 1 | 0.313 |
| | 2 | 0.310 |
| 塩化ジデシルジメチルアンモニウム | 1 | 0.281 |
| | 2 | 0.304 |

4. 固相抽出操作によるAS除去効果

CSとCSの10倍量のASを添加した試料の測定結果を表3に示す。TAMCAのASを添加した試料と添加しなかった試料の回収率はそれぞれ63.4%と69.1%、DDACのそれらは82.3%と76.8%といずれのCSにおいても回収率にはほとんど差がなかったことから、Oasis WAX Plusを用いた固相抽出操作で、ASはほぼ除去できると考えられた。

5. 塩化ナトリウム添加方法の変更による

定量下限値の改善

酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液に塩化ナトリウムが完全に溶解していない時に測定値にばらつきが出ることがあったので、あらかじめ塩化ナトリウムを添加した塩化ナトリウム加酢酸-酢酸緩衝液に替えて、以降の試験を行った。それにより得られた検量線を図3に示す。相関係数は、0.9994と良好な直線性を示した。塩化ナトリウム加酢酸-酢酸緩衝液に替えたことで検量線の精度や併行試験の精度が上がり、10 µg/Lに調製した試料の5併行試験から得られた本法の定量下限値はTAMCAとDDACでそれぞれ0.018 mg/Lと0.017 mg/LとJISオレンジⅡ法の10分の1以下となった。得られた定量下限値は、CSの環境影響を評価する上で、生態毒性の観点からみても必要な濃度条件をほぼ満たしていると考えられた。

塩析には、目的成分の水への溶解度を減じることによって、有機溶媒層への分配比を大きくする効果があるが、それ以外にも目的成分がイオン会合体の場合、水相の塩濃度が増加すると誘電率が低下し、CSとオレンジⅡのイオン会合体生成は促進される¹²⁾。イオン間相互作用エネルギーは誘電率と相反する関係にあり、塩化ナトリウムが完全に溶解されていない状況では塩濃度が低下し、イオン間相互作用エネルギーが小さくなり、イオン会合体が十分生成されなかった可能性がある。あらかじめ緩衝液に塩化ナトリウムを溶解することで、塩濃度が一定し、安定した結果が得られることとなったと考えられた。また、この添加方法は、個々の試料に一定量の塩化ナトリウムを添加して攪拌する手間が省けるので、効率化の点でも有益であった。

表3 陰イオン界面活性剤添加の有無による回収率の差

| 陽イオン界面活性剤 | 陰イオン界面活性剤の添加 | |
|-----------------------------------|--------------|------|
| | 有 | 無 |
| モノ、ビス(塩化トリメチルアンモニウムメチレン)-アルキルトルエン | 63.4 | 69.1 |
| 塩化ジデシルジメチルアンモニウム | 82.3 | 76.8 |

単位: %

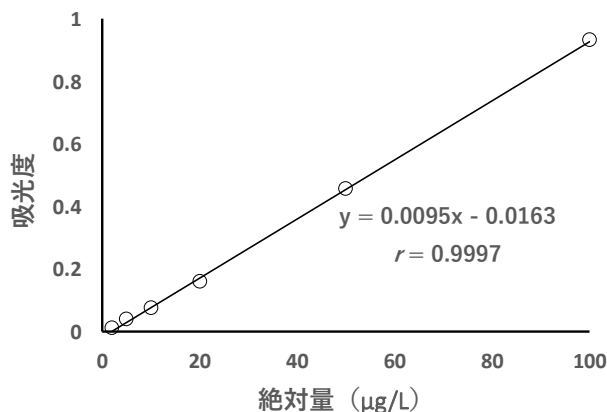


図3. 改良オレンジⅡ法による陽イオン界面活性剤(塩化ベンジルジメチルテトラデシルアンモニウム)の検量線

6. 河川試料におけるCSの測定結果

府内10河川で採水した試料について、CS濃度を測定した結果をDDAC添加回収率とともに表4に示す。結果の5に示すようにDDACの定量下限値は0.017 mg/Lであったので、定量下限値未満の値をNDとして示す。測定した10河川すべてでCS濃度は、定量下限値未満であった。添加回収率は55.0-73.1%と低めであった。河川試料中の夾雑物が充填剤に吸着し、CS疎水基が吸着されにくくなり回収率が低下した可能性がある。伊藤・浅沼⁹⁾は、河川試料においても良好な回収率を得ており、pHの結果と合わせるとやはり充填剤粒径を小さいものに替えて吸着性能を高める必要があるのかもしれない。

表4 京都府内10河川における陽イオン界面活性剤の測定結果と添加回収率

| 河川 (地点) | SS | BOD | 濃度 (mg/L) | 添加回収率 (%) |
|------------|----|------|-----------|-----------|
| 園部川 (神田橋) | 3 | 1.2 | ND | 63.1 |
| 由良川 (安野橋) | <1 | 0.7 | ND | 73.1 |
| 牧川 (天津橋) | 2 | 1.0 | ND | 60.9 |
| 上林川 (五郎橋) | 2 | 1.3 | ND | 58.7 |
| 野田川 (六反田橋) | 6 | <0.5 | ND | 55.0 |
| 野田川 (堂谷橋) | 8 | 1.5 | ND | 55.7 |
| 大手川 (京口橋) | 5 | 0.9 | ND | 69.8 |
| 竹野川 (荒木野橋) | 4 | 0.7 | ND | 59.8 |
| 宇川 (宇川橋) | 1 | 0.7 | ND | 67.2 |
| 佐濃谷川 (高橋橋) | 4 | 0.9 | ND | 68.7 |

ND:定量下限値 (0.018 mg/L) 未満

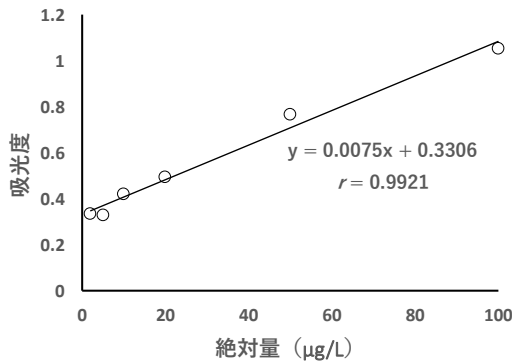


図4. 改良オレンジⅡ法のクロロホルム代替溶媒として安息香酸メチルを用いた時の陽イオン界面活性剤(塩化ベンジルジメチルテトラデシルアンモニウム)の検量線

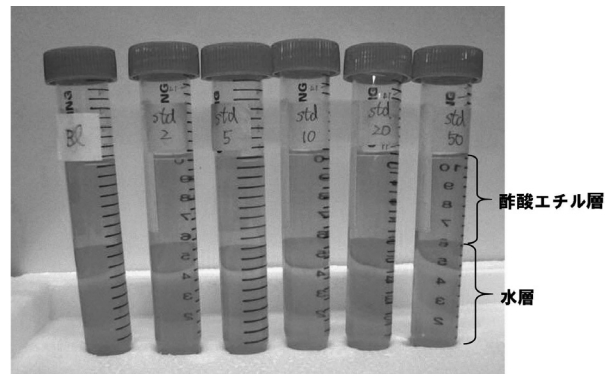


図5. 改良オレンジⅡ法のクロロホルム代替溶媒として酢酸エチルを用いた時の検量線用標準試料の抽出後の色調

7. クロロホルム代替溶媒の検討結果

クロロホルムに代わる抽出溶媒として、安息香酸メチルで抽出した検量線について、図4に示す。クロロホルム抽出により得られた検量線に比べ、吸光度で約0.3、Csの絶対量で約40 μgに相当するブランクが見られたことからCSとイオン会合体を形成していない少量のオレンジⅡも安息香酸メチル層に移行していると思われ、安息香酸メチルはオレンジⅡ法の高感度化には適していないと考えられた。

酢酸エチルで抽出した結果を、図5に示す。CS添加量に関わらず、標準列の酢酸エチル層の色調はほぼ同じとなり、オレンジⅡ自体が水層と酢酸エチル層に一定割合で分配されたことが示唆された。したがって、酢酸エチルは、オレンジⅡ法に適用できないことがわかった。

今回、安息香酸メチルと酢酸エチルについて検討したが、いずれもクロロホルムに替わる抽出溶媒とならなかった。

謝 辞

逆相-弱陰イオン交換ミックスモード樹脂カラムを用いたオレンジⅡ法について、数々の助言をいただいた岩手県環境保健センターの伊藤朋子氏、防疫用消毒剤のパコマ及びアストップを提供いただいた京都府南丹家畜保健衛生所の黒田洋二郎氏と山城家畜保健衛生所の一星暁美氏、執筆にあたり助言いただいた当所の河嶋淳平氏に感謝いたします。

引用文献

- 1) 池博敏. 2004. 京都府における高病原性鳥インフルエンザの発生と防疫措置. 鶏病研究会報, 40, 1-8.
- 2) 寺石武史, 川島康成, 藤野日出海. 2009. 京都府における高病原性鳥インフルエンザ発生時に埋却した処分鶏等の最終処理. 鶏病研究会報, 45, 1-8.
- 3) 日本規格協会. 2016. 付属書1 (参考) 補足V 陽イオン界面活性剤. 「工場排水試験法 JIS K 0102」(日本規格協会 編), 320-321.
- 4) 奥村裕. 1998. 溶解助剤として難水溶性有害化学物質の水生生物に対する毒性試験で使用可能な有機溶剤、界面活性剤の種類と許容濃度. 中央水産研究所研究報告, 11, 113-134.
- 5) 柳田一朱, 森脇洋, 松岡秀明, 鶴保謙四郎. 2005. クローバーを用いた界面活性剤の毒性試験. 生活衛生, 49, 44-47.
- 6) Tani Y., Asakura K., Sasaki S., Hirota N., Notsu A., Todoriki H., Miura A., Fukui M., Date C. 2015. The influence of season and air temperature on water intake by food groups in a sample of free-living Japanese adults. Eur. J. Clin. Nutr., 69, 907-913.
- 7) Ohno K., Asami M., Matsui Y. 2018. Is the default of 2 liters for daily per-capita water consumption appropriate? A nationwide survey reveals water intake in Japan. J. Water Health, 16, 562-573.
- 8) 剣持堅志, 浦山豊弘, 吉岡敏行, 中桐基晴, 藤原博一. 2007. 環境中超微量有害化学物質の分析, 検索技術の開発に関する研究-LC/MSを用いた鳥インフルエンザ関連消毒剤の分析-. 岡山県環境保健センター年報, 31, 45-51.

- 9) 伊藤朋子, 浅沼英明. 2021. 家畜防疫に使用される陽イオン界面活性剤の分析. 第48回環境保全・公害防止研究発表会講演要旨集, 32-33.
- 10) 経済産業省大臣官房調査統計グループ. 2020. 製品統計表(時系列) ⑨油脂製品、石けん、合成洗剤等及び界面活性剤. 平成25年経済産業省生産動態統計年報化学工業統計編, 120-134.
- 11) 森田絵美, 中村栄子. 2010. 4-アミノアンチピリン発色-安息香酸メチル抽出吸光光度法による排水のフェノール類の定量. 分析化学, 59, 917-920.
- 12) 田中元治. 1959. 溶媒抽出法. 分析化学, 8, 689-695.
- 13) 山崎絵理子, 谷保佐知, 島村紘大, 佐々木俊哉, 山下信義. 2015. 外洋海水中ベルフルオロ化合物微量分析のための固相抽出法の開発. 分析化学, 64, 759-768.