

水道水質基準の全面改定に伴う水質検査について

1. はじめに

水道水に求められている基本的な条件は、安全性と信頼性の確保である。昭和32年に水道法が制定され、翌33年には省令が制定されたが、時代の流れと社会的ニーズにより、昭和53年には厚生省令により、無機物を中心に、26項目が検査対象項目として指定されている。

安全性の対象は社会状況により変化してきており、昭和30年代までは主として細菌性に対する安全性が重要視されていたが、昭和40年代に入ってから日本はめざましい高度経済成長にともない、その対象は細菌から無機化合物へと移行してきた。これは更に昭和50年代になると、先端技術農業の進展によって、有機化合物、特に有機溶剤や農薬などの汚染物混入に変化してきた。そして昭和53年には26項目が検査対象項目として指定され実施されてきた。それまで滴定法あるいは比色分析法であった金属類の分析法が、原子吸光法を用いることによって特異的に、しかも微量分析が可能になって来た。

昭和56年には水道水の塩素消毒による副生成物としてクロロホルムを代表とするトリハロメタンの分析法が採用された。更に昭和59年には塩素を含んだ有機溶剤のトリクロロエチレンなどの分析方法が設定され、これらの化合物に特異的且つ極微量分析法としてECD-ガスクロマトグラフ(GC)法が採用された。

その後ゴルフ場を使用されるさまざまな農薬の水道原水中への移行が懸念され、汚染物質として水道水源に及ぼす可能性から、平成2年にはこれらの農薬分析法として、ガスクロマト-質量分析法(GC-MS)が採用されて、定性確認と極微量の有機化合物の分析が可能となった。ところが平成4年12月には、更に時代のニーズにより、大幅な水道法の改正がなされ、その検査項目も水道水質に関する基準として85項目が設定された。

2. 項目の分け方

85項目の中「健康に関連する項目」は29項目で、これはWHOなどが飲料水の水質基準設定にあたって広く採用している方法を基にしてそれぞれに基準値が設定され

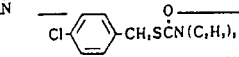
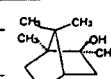
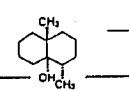
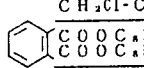



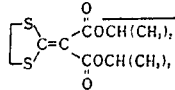
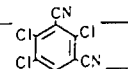
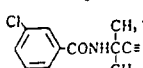
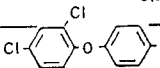
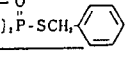
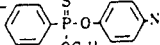
ている。1日に飲用する水の量として2リットル、人の平均体重として50kgを用い、食物、空気など他の暴露源からの寄与を考慮しつつ、生涯にわたる連続的な摂取をしても人の健康に影響が生じない水準を基として安全性を十分考慮して評価されている。人の健康に影響を及ぼすおそれのある項目で、病原生物、無機物質・重金属、揮発性化合物、消毒副生成物そして農薬などの項目が含まれている。

「水道水が有すべき性状に関連する項目」は17項目あり、色、濁り、匂いなど生活利用上、あるいは腐食性などの施設管理上障害の生ずるおそれのある項目については、障害を生ずる濃度レベルを基に評価されている。これらの「健康に関連する項目」と「水道水が有すべき性状に関連する項目」は水道水にとって必須の項目であるので、水道法に基づく水質基準としてすべての水道に一律に適用され「基準項目」となっている。

近年あらゆるものにグルメ志向が強くなり、飲料水についても例外ではなくなった。日本各地には名水と呼ばれるいわゆる「おいしい水」が人気を集めており、ちょっと前までは考えられなかった水の缶詰がスーパーに並べられ、販売されるに至っている。これらのおいしい水の供給のための目標として、より質の高い水道水を供給するために管理を行うことが必要となる「快適水質項目」で、色、匂い、味覚、濁りなど13項目が設定された。

健康に関連する項目のうち、全国的に見て水道水での検出レベルが極めて低いために現状では基準項目とする必要性はないが、水道として体系的・組織的な監視を行うことによりその検出状況を把握し、適宜水質管理に活用することが望まれる水道水の安全性向上として26の「監視項目」が設定された。この中には揮発性化合物、無機物質・重金属、消毒副生成物、農薬類が含まれている。これらの水道水質に関する基準85項目の設定、検査は告示後1年後の本年12月1日から施行されることになっている。

クロマトグラフ法を用いる有機化合物項目

分類	項目名 [別名]	構造式	GC-MS			GC					HPLC	
			PT	HS	固溶	PT-E	PT-I	■-E	■-T	■-P		■-E
健	トリクロロエチレン	$CHCl=CCl_2$	①	②		③						
健	テトラクロロエチレン	$CCl_2=CCl_2$	①	②		③						
健	四塩化炭素	CCl_4	①			②						
健	1,1,2-トリクロロエタン	$CHCl_2-CH_2Cl$	①			②	③					
健	1,2-ジクロロエタン	CH_2Cl-CH_2Cl	①									
健	1,1-ジクロロエチレン	$CCl_2=CH_2$	①	②				③				
健	シス-1,2-ジクロロエチレン	$\begin{matrix} Cl & Cl \\ & \\ H & H \end{matrix}$	①	②				③				
健	ジクロロメタン	CH_2Cl_2	①	②		③	④					
健	ベンゼン	C_6H_6	①	②				③				
健	総トリハロメタン	$CH(X, Y)_3$	①	②		③						
健	クロロホルム	$CHCl_3$	①	②		③	④					
健	ブロモジクロロメタン	$CHBrCl_2$	①	②		③	④					
健	ジブロモクロロメタン	$CHBr_2Cl$	①	②		③	④					
健	プロモホルム	$CHBr_3$	①	②		③						
健	チウラム [TMTD]	$(CH_3)_2NCS-S^CNC(CH_3)_2$										①
健	シマジン	$C_4H_6N_4S_2$			①					②		
健	チオベンカルブ [ベンチオカーブ]				①					②	③	
健	1,3-ジクロロプロペン [D-D]	$CH_2Cl-CH=CHCl$	①									
有	1,1,1-トリクロロエタン	CCl_3-CH_3	①	②		③	④					
快	2-メチルイソボルネオール		①									
快	ジェオスミン		①									
監	トランス-1,2-ジクロロエチレン	$\begin{matrix} Cl & H \\ & \\ C & = & C \\ & \\ H & Cl \end{matrix}$	①	②		③	④					
監	トルエン	$C_6H_5-CH_3$	①	②				③				
監	キシレン	$CH_3-C_6H_4-CH_3$ (o, m, p-)	①	②				③				
監	p-ジクロロベンゼン	$Cl-C_6H_4-Cl$ (p-)	①	②		③	④					
監	1,2-ジクロロプロパン	$CH_2Cl-CHCl-CH_3$	①	②		③	④					
監	フタル酸ジエチルヘキシル				①							②
監	ホルムアルデヒド	$HCHO$										①
監	ジクロロ酢酸	$CHCl_2-COOH$				①						②
監	トリクロロ酢酸	CCl_3-COOH				①						②
監	ジクロロアセトニトリル	$CHCl_2-CN$				①						②
監	抱水クロラル	$CCl_2-CH(OH)_2$				①						②
監	イソキサチオン [カルボス]	$(C_2H_5O)_2P-O$ 			①					③	②	
監	ダイアジノン	$(C_2H_5O)_2P-O$ 			①					③	②	
監	フェントロチオン [MEP, スミチオン]	$(CH_3O)_2P-O$ 			①					③	②	
監	イソプロチオラン [IPT, フジワン]				①					②		
監	クロタロニル [TPN, タコニール]				①					②		
監	プロピザミド [カーブ]				①					②	③	
監	ジクロロボス [DDVP]	$(CH_3O)_2P-O-CH=CCl_2$			①					②	④	③
監	フェノブカルブ [BPMC, バッサ]	$C_6H_5-CH(CH_3)-OCONHCH_3$			①					②		
監	クロルニトロフェン [CNP, MO]				①					②		
監	イプロベンホス [IBP, キタジンP]	$(CH_3)_2CHO-P-SCH_2$ 			①					③	②	
監	EPN				①					③	②	

健：健康に関する項目 有：水道水が有すべき性状に関する項目 快：快通水質項目 監：監視項目
 GC：ガスクロマトグラフ法 MS：質量分析法 PT：パーティクルトラップ法 HS：ヘッドスペース法
 固：固相抽出法 溶：溶媒抽出法 E：ECD I：FID T：FTD P：FPD-P HPLC：液体クロマト法
 ①②③④：新水道法に示された分析法の掲載順序

3. 愛知県の水質検査体制

これらの各項目の検査の実施については本来水道水を提供している各水道事業者が自ら検査を実施すべきものとしているが、これらの検査を実施するためには、高性能且つ高額な分析機器の設置が必要であり、即応することは極めて困難である。県民に衛生的で安全な水道水を供給するためにはこれらの項目のうち基準項目にかかる水質検査については当面、従来通り愛知県下の保健所において依頼検査を実施出来る体制を整備することにして、衛生研究所においても平成6年度から「快適水質項目」の匂いに関連する3項目と「監視項目」の依頼検査に対応出来るよう機器整備などの計画をしているところである。

4. 検査方法の概要

新水道法では対象項目が多くなり、検査項目の設定に伴って基準値も設定され、検出下限が原則として基準の1桁下までになって、低濃度測定が要求されている。検査方法も従来の個別検査によっては対応出来にくくなり、多成分が同時に測定可能な一斉分析法の必要性が要望されることになった。

新水道法によると、検査方法は複数の方法を導入していること、前処理操作を簡略化し、短時間で迅速に結果が得られる様に検討がなされている。これらの基本的な方針に基づき、連続運転が可能であって測定結果は自動分析が出来る様に工夫がなされている。無機物質・重金属の検査については従来からもフレーム原子吸光光度法が採用されているが、新水道法では微量分析が必要となったことから、フレームレス法となっている。

今回の改正では有機化合物の項目の増加が著しく、揮発性化合物は同時に一斉分析が出来る様にキャピラリーカラムを用いたGC法が採用され、測定装置として特殊なページ・トラップ（PT）法が採用されている。塩素などを含んだ化合物に対してはECD検出器により極微量の分析が可能であり、これらの方法と共に今回特に検出器として質量分析計（MS）を用いた方法が取り入れられ、各成分の確実な定性確認と定量が可能となった。

46の基準項目の中には4種類の農薬項目が含まれている。これらの分析にもGC法が有効な分析法として利用出来るが、揮発性化合物と同じPT方法では分析が出来ず、固相抽出GC・MS法が採用されているなど測定する項目によって分析方法を選択しなければならない。

今回設定された85項目のうち揮発性有機化合物、消毒副生成物、農薬などの項目名と別名、そして構造式を表に示した。またそれぞれの化合物について告示で示され

た検査方法も合わせて一覧表に示した。

項目によっては農薬「チウラム」の固相抽出-液体クロマトグラフ（HPLC）法、「ホルムアルデヒド」の溶媒抽出-キャピラリーカラム-ECD・GC法、カビ臭物質「2-メチルイソボルネオール、ジェオスミン」のPT-GC・MS法のようにただ一つの検査法しか指定されていないものもある。一方「クロロホルム」などはPT-GC・MS、ヘッドスペース（HS）-GC・MS、PT-ECD・GC、PT-FID・GCと言うような4つの検査方法が示されているものもある。検査方法はどの方法でも構わないことになっているが、出来るだけ初めの方法（若い番号の方法）で分析することが望ましいと考えている。

陰イオンの分析機器として「イオンクロマトグラフ装置」が採用されている。これは陰イオンの検査には極めて有力なものである。基準項目の中では「硝酸性窒素、亜硝酸性窒素」、「フッ素」、「塩素イオン」の分析が可能であり、これらの項目の一斉分析が可能である。従来までは各項目それぞれ手作業で分析することが必要であったが、微量かつ連続・迅速定量が可能である。

5. 今後の課題

新水道法の検査項目の中には従来通りの手作業によって検査しなければならないものもあるが、多くは一斉分析が可能になっている。それらのほとんどの分析装置は自動分析が可能になり、その操作も簡便化されている。これは検査技術者によってデータのバラツキをなくすることから見れば望ましいことである。安全な水道水を提供することから言うとこれらの検査データの信頼性が問題となる。すなわち絶えず正確なデータが得られなければならない、このために精度管理の体制を整えることが必要である。

信頼のおけるデータを得るためには測定機器が常に正常に作動することが前提となる。すなわち測定装置の整備点検が行われていなければ、信頼出来る測定データは得られない。一旦整備された測定機器類は、何ら故障することなく使用出来る保証はない。しかし、故障時には日常の検査が出来なくなる可能性がある。このため絶えず機器類の点検と、ほとんど自動化された機器の調整を怠ってはならない。

新水道法の施行により、極めて高額なしかも高性能な多種類の機器類が整備された場合、これらの機器類を有効に活用して、今後の水道水の安全性をさらに高める様に活用し、努力されることを願うものである。

（生活環境部 河村典久）

免疫染色（酵素抗体）法について

はじめに

従来、病理組織学では、光学顕微鏡で病変を検索するために、パラフィン包埋した薄切標本にヘマトキシリン・エオジン二重染色（いわゆるHE染色）を施して、組織を赤色と青紫色に染め分ける方法が、一般に行われてきた。すなわち、ヘマトキシリン成分は主に核を青紫色に染め、エオジン色素は主に細胞質や細胞外成分を赤色に染める。その他、特殊な染色法として線維成分、脂肪、糖類を特異的に染め出したり、細菌や真菌の同定などに様々な染色法が用いられてきた。これらの染色法は、いずれも染色液と細胞や組織成分との酸性度の差を利用して染め分けるという原理に基づいている。一方、組織化学では、細胞内あるいは細胞外組織成分の様々な分子と染色要素とを抗原抗体反応の原理を用いて結合し、それに基質を加えて可視化するという原理である。例えば、目的の部位に蛍光物質を標識する蛍光抗体法は古くから行われている手法であるが、この方法には蛍光顕微鏡が必要なことや凍結切片でしか利用できなかったため、用途はかなり制限されていた。

近年、酵素抗体法の改良により、非常に高感度に抗原を検出し、さらに、特異性の高いモノクローナル抗体も多種作製され入手も容易となった。従って、免疫染色を日常検査に取り入れられるようになり、腫瘍診断を好例として疾病の鑑定に非常に有用な手段となっている。以下、その概略について紹介する。

酵素抗体法（免疫ペルオキシダーゼ法）

大まかに分けて次のような方法に分類される。

a) 直接標識抗体法（図-1）

標識物質として酵素（ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼなど）を用いて、組織中の抗原と直接結

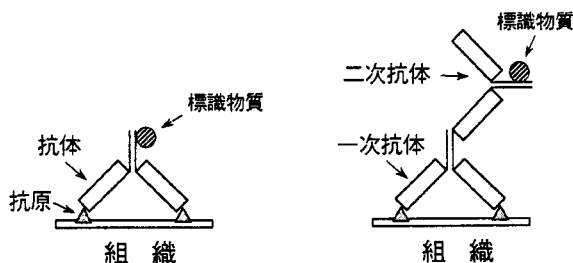


図-1 直接標識抗体法

合させる方法である。標識物質が抗体に直接付いているので、方法として単純で迅速性に富むが、多種の抗原を検索するためには、その数だけの標識抗体を作製する必要がある。さらに、発色強度を上げるためには多量の抗体を必要とする。

b) 間接（サンドイッチ）標識抗体法（図-2）

組織中の抗原と抗体（一次抗体）を結合させた後、一次抗体と反応する酵素標識抗体（二次抗体）を反応させ、さらに基質を加えて発色させる。一次抗体と二次抗体とが別なので、複数の一次抗体を利用する際に低コスト化が図れる。しかし、発色性は直接法とほぼ同様であることから、最近、二次抗体の標識物質に金コロイドを用い、基質の代わりに銀粒子を反応させて発色感度を上げる方法も開発された。

c) PAP（ペルオキシダーゼ抗ペルオキシダーゼ）法（図-3）

上述の間接抗体法の二次抗体（架橋抗体）に標識物質を付けず、ペルオキシダーゼを標識した抗体をさらに結合させてPAP複合体を形成させるため、間接法よりも高感度にする事ができる。しかし、一次抗体とPAP複合体（ペルオキシダーゼ抗体）は同一の動物種による必要があることから、例えば特異性の高いマウスモノクローナル抗体を一次抗体に使うとPAP抗体にもマウスを用いなければならない。そこで、架橋抗体をさらに一段加えて、一次抗体と異なる動物種のPAP複合体を形成することで適応範囲を広げる方法や、数種の動物種に反応するペルオキシダーゼ抗体も開発された。

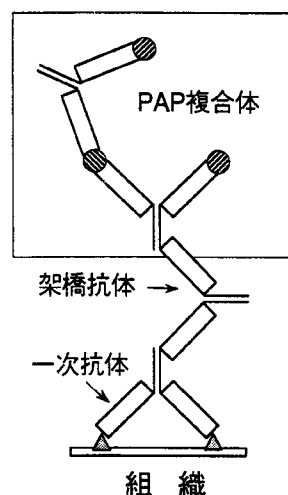


図-3 PAP法

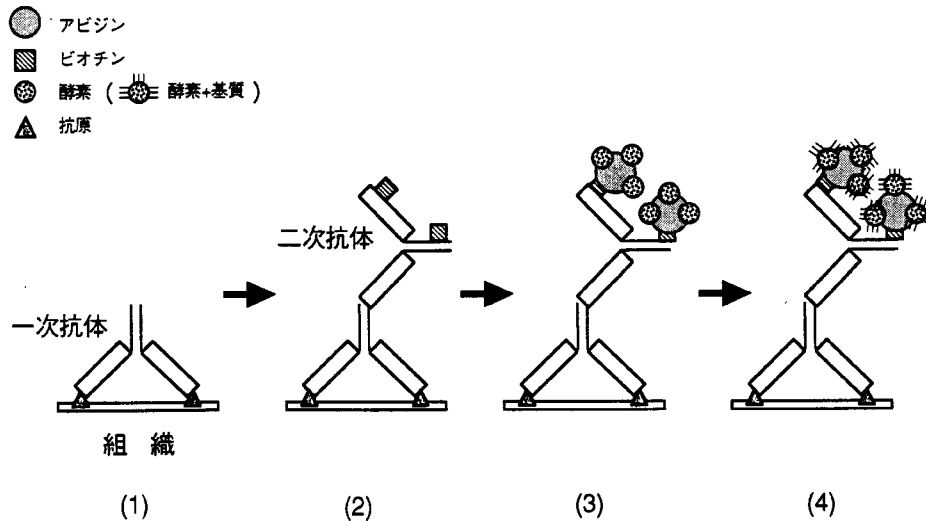


図-4 ABC法

d) ABC (アビジン・ビオチン結合) 法 (図-4)

アビジンとビオチン(注1)が著しく親和性の高いことを利用して二次抗体にビオチン標識し、そこにアビジンを結合させて、さらに酵素(ペルオキシダーゼなど)、次いで基質を加えて可視化する。基本的には間接法と同様であるが、より高感度な方法として開発された。感度の高い分だけ一次抗体の量を減らすことができるので、現在最も一般的に使用されている方法である。以下に操作法を示す。

操作手順(パラフィン包埋した組織標本の場合)

1. 脱パラフィン
- ↓
2. ブロッキングI (3%過酸化水素)
内因性ペルオキシダーゼの不活化
- ↓
3. ブロッキングII (二次抗体と同種の動物血清)
非特異的な反応の防止
- ↓
4. 一次抗体添加
- ↓
5. 二次抗体(ビオチン化標識抗体)添加
- ↓
6. 酵素(アビジン)添加
- ↓
7. 基質・色素添加
- ↓
8. 対比(ヘマトキシリン)染色
細胞内の核などの染色
- ↓
9. 封入

まとめ

最近では多種のモノクローナル抗体が市販され、必要な抗体はほぼ入手可能となり、手法の改善によって抗原

の検出感度は飛躍的に上昇した。その結果、抗原量の少ない場合でも、あるいはより少ない一次抗体の使用量でも、目的とする抗原の存在を確認することができるようになった。反面、高感度のゆえにバックグラウンドといわれる非特異的な部位との結合も避けられないので、できるだけ陰性(できれば陽性も)対照を置いてアッセイする事が必要である。

ごく最近まで、パラフィン包埋した病理組織標本では、通常ホルマリンで固定していることに加えて、標本作製時の加熱や溶媒の使用で、組織中の抗原が変性を起こすため、酵素抗体法は利用不可能とされていた。しかし、上述のABC法はそれを可能とし、日常検査にも広く利用されるようになったので、今後さらに改良が加えられると思われる。

(注1: 多量の卵白を動物に投与するとビオチン欠乏症を引き起こす。これは、卵白中にアビジンと呼ばれる塩基性糖タンパク質が低分子ビタミンであるビオチンと極めて特異的に強い親和性を有することが解明された。この性質を酵素抗体法に応用して現在のABC法が開発された。)

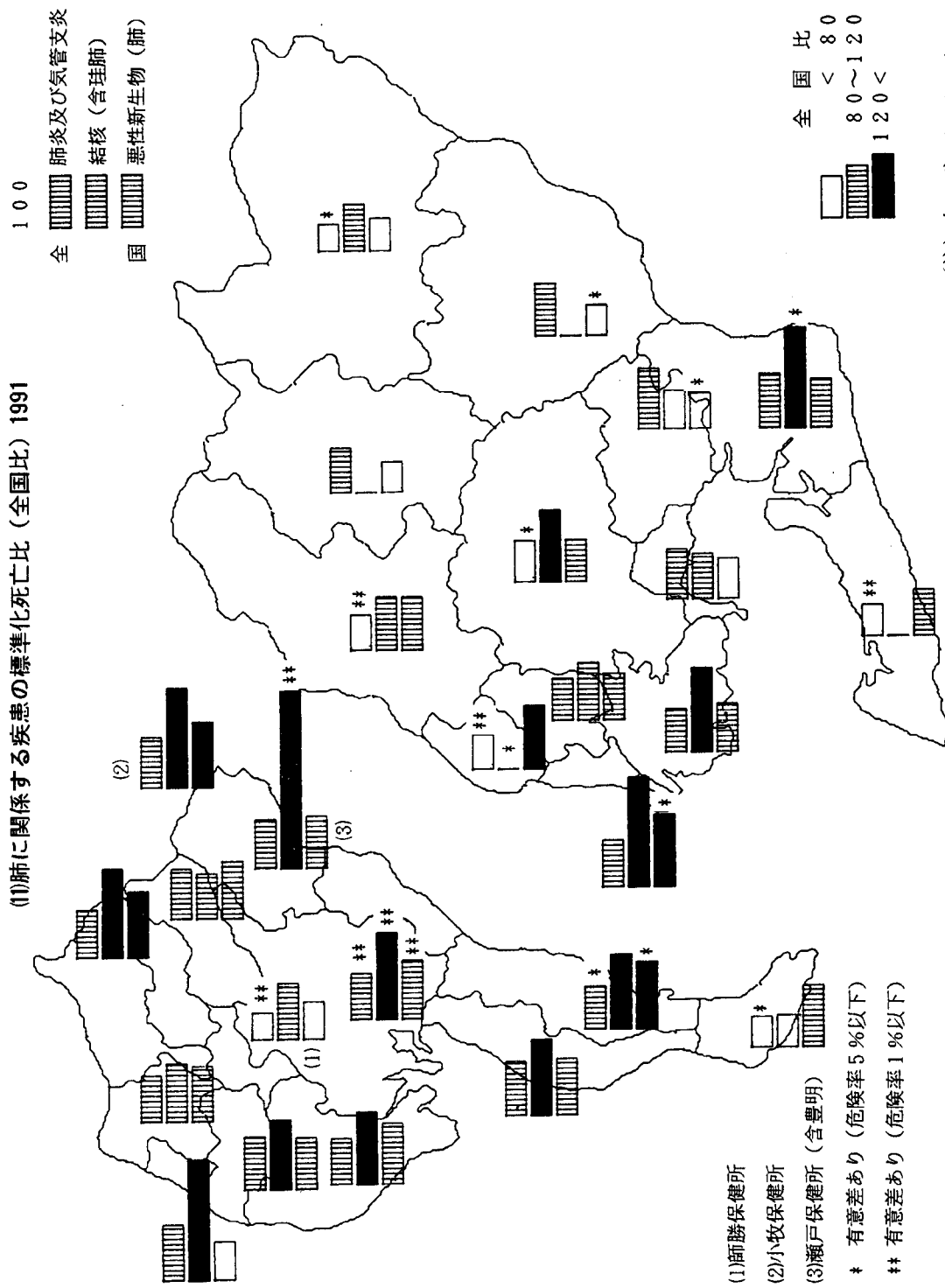
参考文献

- 1) 水口國雄編: 免疫病理診断法(基礎と実際), HBJ出版局, 1-64, 1989.
- 2) フナコシ薬品研究開発部編: Vectastain ABCシステム 実験マニュアル, フナコシ薬品, 1-49, 1989.
- 3) 武谷健二編: 免疫生物学, 朝倉書店, 1-45, 1981.
- 4) P J Stoward Ed.: Histochemistry, Churchill Livingstone, 473-488, 1991.

(生物部 奥村正直)

〔I〕地域特性

(1)肺に関する疾患の標準化死亡率(全国比) 1991



(注)人口データは1985年のものを使用した
(厚生省地域保健医療計画支援システムより)
(保健情報室)

この図を見てご意見・ご感想などありましたら、ご連絡下さい。