

抗インフルエンザ薬について

1 はじめに

インフルエンザはインフルエンザウイルスを病原ウイルスとする呼吸器感染症で、日本においては冬季を中心にして秋から春にかけて流行を起こす。成人では高熱を伴った一過性の風邪様症状で終わることが多いが、小児では希に脳炎・脳症を、高齢者では肺炎を起こして重症化し、死に至る場合もある。特に小児や高齢者では、「たかが風邪」と軽視することのできない感染症の一つである。従来からのインフルエンザ対策は学童を中心としたワクチン接種による感染予防であった。

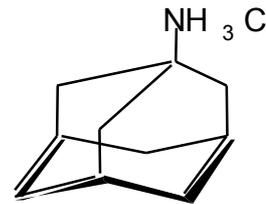
インフルエンザワクチンは感染防御効果は完全ではないが、肺炎等の重症化の防御には非常に有効であることが知られている。ワクチンの製造には時間がかかることから、次のシーズンに流行するインフルエンザの株を予測し、インフルエンザワクチンの製造が行なわれる。しかしながら、流行するインフルエンザ株の予測がはずれ、ワクチン株と実際の流行株が異なる場合があることや、ワクチン製造に時間がかかることから新型のインフルエンザが出現した時には迅速に対応できない等の欠点がある。

我が国においても欧米に20年近くも遅れたものの、アマンタジンがインフルエンザ治療薬として1998年に認可され、その後、新たな作用機序を持つノイラミニダーゼ阻害剤ザナミビル、オセルタミビルも登場した。そこで今回はこれら抗インフルエンザ薬の紹介を行ないたい。

2 アマンタジン (商品名: シンメトレル)

1959年にアメリカで合成され、64年に抗インフルエンザ活性を有することが報告された。欧米におい

ては20年以上前より抗インフルエンザ薬として予防薬及び治療薬として使用されている。パーキンソン病にも有効であることから、我が国では1975年に降抗パーキンソン薬として使用されてきたが、98年11月に抗インフルエンザ薬として認可された。図に今回紹介する抗インフルエンザ薬の構造式を示した。



アマンタジンの作用機序は、インフルエンザウイルスが宿主細胞内に侵入する際に必要なM2蛋白質の作用を阻害することによる。A型とB型のインフルエンザウイルスではM2蛋白質の構造が異なり、アマンタジンはA型インフルエンザウイルスによる感染症にのみ有効である。

投与方法は経口投与で、発症後48時間以内に投与すると症状の軽減化効果が得られるとされている。成人においては有熱期間や全身症状が1~2日短縮されるが、発症48時間以降の投与では十分な効果は得られない。投与量は10歳以下の小児では5mg/kg/day、10歳以上の小児及び成人では100mg/dayを通常、朝夕の2回に分けて服用する。投与期間は3~5日の必要最小限の期間とする。投与対象は「医師が特に必要と判断した場合にだけ」とされ、成人では重症例や高齢者に加えて、心肺に基礎疾患のある人や糖尿病などの重症化のリスクのある人である。

また、予防的に使用する予防投与も有効で、感染防御効果が15~40%、発症予防効果が50~90%との報告がある¹⁾。投与期間は我が国においては明示されていないが、アメリカでは少なくとも2週間以上が推奨²⁾されている。投与が長期間に渡り副作用の出現やコスト面の問題があるので、施設内流行が予想されるなど特殊な場合を除いて、インフルエンザの予防はワクチン接種によるのが一般的である。

副作用は消化器系と中枢神経系にみられ、不眠、ふらつき、集中力低下、易疲労感、食欲低下、嘔気などが5~33%にみられる。

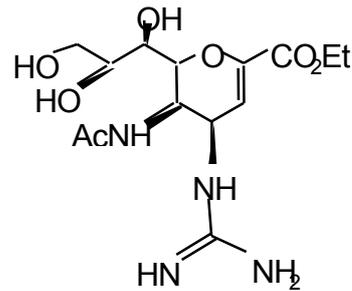
アマンタジン使用の際の問題点は耐性ウイルスの出現である。出現頻度は投与した者のうちの約30%にみられるとの報告もある¹⁾。病原伝搬性は耐性株と感受性株との間に差はないとされている。しかし耐性株による家族内感染や施設内感染は確認されているが、耐性株が国内で市中流行株の中から見出されたという報告はない。1999年10月から2000年3月までに静岡県内の医療機関を受診したインフルエンザ患者から分離された62株を解析したところ、耐性株が2株(3.2%)検出されたとの報告がある³⁾。しかし、耐性株はアマンタジンを服用後に採取された検体より分離されており、市中で耐性株に感染したとは考えられなかった。また、CDCとWHOが1992年から95年にかけて欧米やアジアを中心とした世界43カ国で分離された2,017株を解析したところ、耐性株は16株(0.8%)であった⁴⁾。以上のことから、耐性株が市中において流行を起こす可能性は低いと思われるが、かつての抗生物質の様にアマンタジンの過剰投与が行なわれると、耐性株の市中への出現を促進する可能性も考えられる。したがって、医師が上記のアマンタジンの投与対象、期間を徹底すると同時に、我々も市中への耐性株の出現を注意深く監視する必要があると考えられる。

3 ノイラミニダーゼ阻害剤⁵⁾

1) ザナミビル(商品名:リレンザ)

ノイラミニダーゼの3次元構造からコンピューターを用いて1993年にオーストラリアで分子設計された薬剤で、翌94年から臨床試験が開始され、我が国では99年12月に承認され、2001年2月に薬価収載された。

作用機序は以下のように考えられている。インフ



ルエンザウイルスは宿主細胞に感染した後、その細胞内で増殖し、誕生した子ウイルスが細胞外へ出て、次々と別の細胞へ感染を起こす。しかし子ウイルスの外膜上にある分子が宿主細胞上の分子と結合しているため、子ウイルスはそのままの状態では細胞外に出る事が出来ない。ノイラミニダーゼはこの結合を切断する酵素であることから、ウイルスが細胞外に出やすくする働きを担っている。したがって、ノイラミニダーゼ阻害剤であるザナミビルは、ノイラミニダーゼの結合分子切断作用を阻害し、ウイルスが細胞外に出ることを阻止することによって薬効を現すと考えられている⁶⁾。このノイラミニダーゼはA型、B型インフルエンザウイルス間で類似していることから、ザナミビルはアマンタジンと異なり、A型・B型いずれのインフルエンザの治療にも有効である。

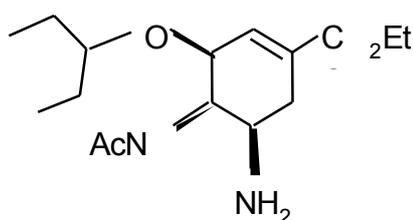
服用には、パウダー状の薬剤を吸入する専用の吸入器を使用する。アマンタジンと同じく発症後48時間以内に服用すると症状の軽減化効果があるとされ、成人においては有熱期間や全身症状が1~2日短縮されるが、発症48時間以降の服用では十分な効果が得られない場合があるとされている。投与量は1回10mgで、1日2回吸入する。投与期間は5日間である。現在のところ小児に対しては、使用経験例が少なく、適応とはなっていない。また、吸入服薬であることから、気管支喘息などの慢性呼吸器疾患患者への投与は控えた方がよいとされている。

副作用は精神神経系、消化器系、呼吸器系にみられ、頭痛、下痢などがみられるが、いずれも1%以下の出現率であり、アマンタジンと比較して副作用は少ないと考えられる。

耐性ウイルスについては、アメリカにおいて実際に15日間投与された免疫能低下小児1名から検出されたとの報告があるのみで⁷⁾、その出現頻度は非常に低いと考えられる。

2) セルタミビル (商品名: タミフル)

アメリカとスイスの企業が共同で開発した薬剤で、実際の薬効は体内で代謝された代謝体が発揮する。我が国では2001年2月に薬価収載された。作用機序はザナミビルと同じく、ノイラミニダーゼの阻害作用により、したがってA型・B型インフルエンザウイルス両方の感染症に対して有効である。



投与方法はザナミビルと異なり経口投与である。以下は柏木らがおこなった臨床試験におけるデータであるが、発症後36時間以内に投与すると症状の軽減化効果があり、16歳以上の成人においては有熱期間や全身症状が約1日短縮される⁸⁾。投与量は1回75mgを1日2回服用する。投与期間は5日間である。現在のところ小児では使用経験が少ないので、適応とはなっていない。経口投与なので、ザナミビルの吸引が困難な慢性呼吸器疾患患者へも投与可能である。

副作用は腹痛、下痢、嘔気等の胃腸障害が4~7%にみられる。耐性ウイルスの出現頻度は、海外における臨床試験において3% (13/435例)で、その内訳は成人で1.2% (4/330例)、小児で8.6% (9/105例)と報告されている⁹⁾。また、耐性ウイルスの出現報告は、現在までのところA型インフルエンザウイルスのみである。また動物実験の結果から、耐性ウイルスは著しく感染性が低下することから⁹⁾、このウイルスの増殖、伝搬力は非常に低いと考えられている。

4 終わりに

抗インフルエンザ薬について述べたが、3剤共にその作用機序から、今後出現が予想されるA型の新型インフルエンザにも有効であると考えられる。新型ウイルス出現時には、これに対応した新型ワクチンの作製に時間がかかることが予想されるので、これから抗インフルエンザウイルス剤が大きな威力を発揮

すると考えられる。しかし通常期のインフルエンザ対策は、耐性ウイルスの出現や経済性を考え合わせると、現状ではワクチンを用いた予防対策が最も合理的であるとされている。したがって、ここで述べた薬剤の投与は、重症化が予想される例や基礎疾患を持つ患者、それに何らかの理由でワクチン接種ができない者を中心とし、安易な過剰投与は避けるべきだと考えられる。

参考文献

- 1) 時松一成、那須勝: A型インフルエンザ治療薬: アマンタジン. 日本臨床 2000; 120-123
- 2) Prevention and control of influenza: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Centers for Disease Control and Prevention, MMWR Recommendations and Reports 1999; 48: 1-28
- 3) 佐原啓二、杉枝正明、長岡宏美 他: 静岡県におけるアマンタジン耐性A型インフルエンザウイルスの検出状況 感染症学雑誌 2001; 75: 576-577
- 4) Zeigler T, Hemphill MK, Zeigler ML et al: Low incidence of Rimantadine resistance in field isolates of influenza A viruses. J Infect Dis 1999; 180: 935-939
- 5) 加地正英: A型・B型インフルエンザ治療薬: ザナミビル、オセルタミビル. 日本臨床 2000; 125-130
- 6) Dunn CJ, Goa KL: Zanamivir A review of its use in influenza. Drugs 1999; 58: 761-784
- 7) Gubareva LV, Matrosovich MN, Brenner MK et al: Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus. J Infect Dis 1998; 178: 1257-1262
- 8) 柏木征三郎、工藤翔二、渡辺彰 他: インフルエンザウイルス感染症に対するリン酸オセルタミビルの有効性および安全性の検討- プラセボを対照とした第III相二重盲検並行群間比較試験成績. 感染症学雑誌 2000; 74: 1044-1061
- 9) タミフル添付文書; 日本ロシュ株式会社、2001年1月

(微生物部: 佐藤克彦)

LC/MSによる食品分析（その2）

1. はじめに

液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS) は、古くからその有用性が認識されていたにもかかわらず、液体クロマトグラフと質量分析計とを結合するためのインターフェースの開発が難しく、実用化されるまでに長い時間を要した。しかし、最近になってようやく実用機が市販されるようになり、食品分析にも使われるようになってきた。前稿では¹⁾、主として LC/MS 装置について概説したので、本稿では LC/MS の食品分析への代表的な応用例の概略を紹介する。

2. 動物用医薬品

2.1 抗生物質

LC/MS の応用例のうち、畜産物中に残留する動物用医薬品、特に残留抗生物質分析への応用例が目立つ。これらの物質のほとんどは、専ら HPLC で分析が行われてきたが、HPLC による分析では有効な確認法や高感度測定法がないという問題を抱えていた。しかし、最近の LC/MS の高感度化、高性能化に伴い、これらの分析が LC/MS により可能となったことから、今後は残留抗生物質に関する分析の報告がますます増えるものと予想される。

オキシテトラサイクリン (OTC)、テトラサイクリン (TC)、クロルテトラサイクリン (CTC)、ドキシサイクリン (DC) に代表されるテトラサイクリン系抗生物質 (TCs、図 1) は、動物用に使用される抗生物質の中で最も使用量が多いことから、様々な手法を

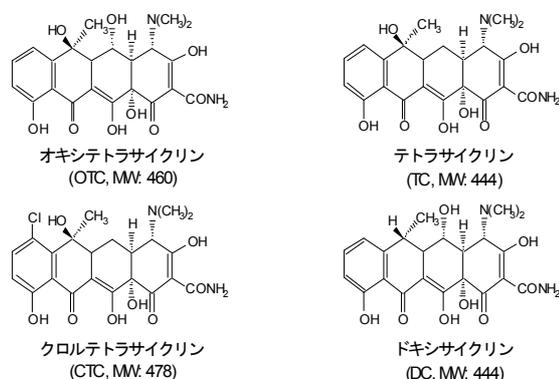


図1 テトラサイクリン系抗生物質

用いた分析法が従来から検討されてきた。LC/MS が検出感度あるいは信頼性の点から、最も適した TCs の分析方法であると考えられる。しかしながら、TCs は二価の金属イオンとキレートを作りやすいことから、LC カラム中の金属イオンと結合し、LC 上テーリングを起こしやすい性質を有している。従って、これを防ぐために移動相中に不揮発性の酸であるシュウ酸を添加し、HPLC による分析が行われている。しかし LC/MS を用いる分析では、不揮発性の化合物を移動相に混入すると、LC/MS のイオン源や質量分析管の汚染や目詰まりを起こしやすく、使用することはできない。そこで、金属イオンを極限まで除去した高純度シリカゲルより製造された化学結合型のカラムと、揮発性のトリフロロ酢酸を含んだ移動相の使用を試みたところ、テーリングすることなく、良好な分離が得られることが判明した。種々検討の結果、フェニルタイプの化学結合型のカラムとトリフロロ酢酸を含んだ移動相を用いたエレクトロスプレーイオン化 (ESI) LC/MS/MS により分析を行なったところ、腎臓及び肝臓を含む牛組織中の TCs の同定に応用可能で、かつ良好な結果を得ることができた²⁾。得られた TCs のマススペクトルは、明瞭なプロトン化分子 $[M+H]^+$ とフラグメントイオン $[M+H-NH_3]^+$ 、 $[M+H-NH_3-H_2O]^+$ が観察され、0.1 ppm レベルの同定が可能であった。しかしながら、TCs と牛組織由来の夾雑物質との分離が不十分であったことから、定量に関しては良好な結果は得られなかった。そこで、

再度移動相へのシュウ酸の添加を検討したが、上述のごとく不揮発性のシュウ酸を ESI に使用すると目詰まりをおこす危険性があり、避ける必要がある。しかし、シュウ酸は 200 °C 以上に加熱すると水と炭酸ガスに分解されるので、この性質を利用することとし、イオン源を高温に加熱してイオン化する大気圧化学イオン化 (APCI) LC/MS/MS による測定を試みた。その結果、イオン化部分の温度を 475 °C に加熱すれば、シュウ酸はイオン源中で分解し、目詰まりあるいは汚染といった不都合を生じることなく分析が可能となった³⁾。これにより残留 TCs を良好に定量することが可能となり、実際に豚腎臓中に残留

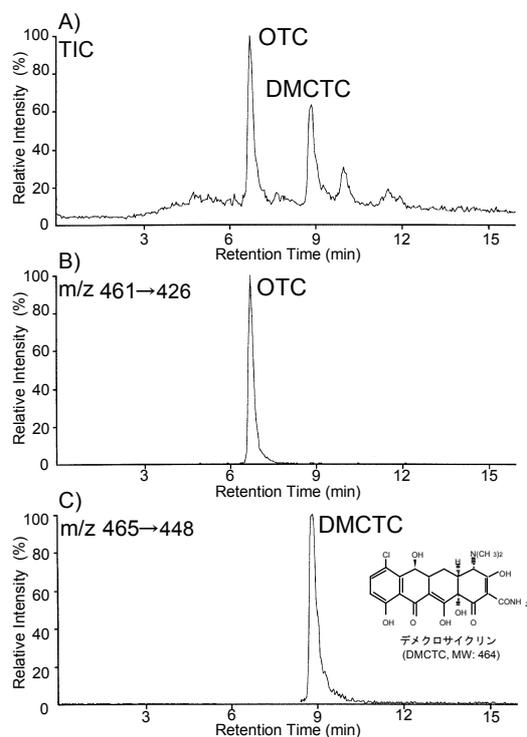


図2 豚腎臓中に残留オキシテトラサイクリンのAPCI LC/MS/MSによる分析
A) トータルイオンクロマトグラム
B) オキシテトラサイクリンのプロファイル
C) 内標準物質として添加したデメクロサイクリンのプロファイル

していた OTC の定量 (0.32 ppm) を行なった (図 2)。

実際の分析にあたっては内標準物質としてデメクロサイクリンを用いたが、内標準物質の使用により分析精度が大幅に改良された。その原因は試料由来の夾雑物質によるイオン化効率の抑制、あるいは MS/MS 条件のバラツキを、内標準物質が補正しているためと考えられる。

ベータラクタム系抗生物質 (PCs) も上記の TCs と

同様に動物用として使用量の多い医薬品であることから、様々な手法を用いた分析法が従来から検討されてきた。

アモキシシリン、セファピリン、ペニシリン G、アンピシリン、クロキサシリン、セフトオフルについて、牛乳中におけるこれらの物質の同定法が ESI LC/MS を用いて検討がされている⁴⁾。この方法では、いずれも限外ろ過膜を用いて除蛋白を行ない、LC/MS により定量しているが、検出限界は 10~100 ppb と推定される。したがって、ペニシリン G の最大残留基準値 (MRL、牛乳: 4 ppb) レベルでの同定は困難なように考えられる。一方、我々は ESI LC/MS/MS に

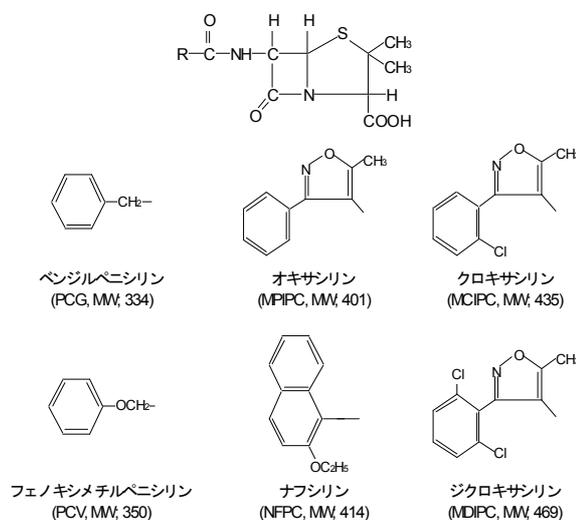
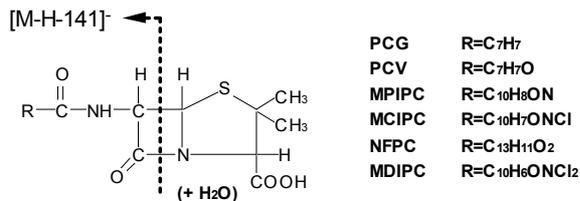


図3 ペニシリン系抗生物質

よる 6 種のベータラクタム系抗生物質 (ペニシリン V、ペニシリン G、オキサシリン、クロキサシリン、ナフシリン、ジクロキサシリン、図 3) の畜水産動物組織中の同定法について検討を加えた⁵⁾。これらの抗生物質は非常に極性が強いことから、良好に分離するためには移動相にイオンペア試薬の添加が必要であった。そこで、揮発性を有し、かつ酸性化合物に対して有効なイオンペア試薬について検討した。その結果、ジブチルアミンアセテート (DBA-A) の添加により 6 種類全ての PCs が完全に分離され、また、良好なイオン化効率が得られることが判明した。さらに、これをグラジエント溶出することにより、ジクロキサシリンとナフシリンの検出感度が向上した。次にプリカーサーイオンに、[M-H]⁻を用いて MS/MS



PCG	R=C ₇ H ₇
PCV	R=C ₇ H ₇ O
MPIPC	R=C ₁₀ H ₈ ON
MCIPC	R=C ₁₀ H ₇ ONCl
NFPC	R=C ₁₃ H ₁₁ O ₂
MDIPC	R=C ₁₀ H ₈ ONCl ₂

	[M-H] ⁻	[M-H-CO ₂] ⁻	[M-H-141] ⁻
ペニシリン			
PCG	333	289	192
PCV	349	305	208
MPIPC	400	356	259
MCIPC	434	390	293
NFPC	413	369	272
MDIPC	468	424	327

(m/z)

図4 ペニシリン系抗生物質のプロダクトイオン

プレカーサーイオン：[M-H]⁻

を測定したところ、図4に示すように6種すべてのPCsから[M-H]⁻、[M-H-CO₂]⁻、[M-H-141]⁻の3種のプロダクトイオンが観察された。そこで、これらのイオンを用いて同定することとした。

試料からのPCsの抽出は、必要に応じて除蛋白剤を添加した食塩水を用い、C18及び強陰イオン交換カートリッジにより精製した後、LC/MS/MS分析に供した。なお、本法の検出限界は0.02~0.03 ppmであることから、MRLレベルでの同定が可能である。

2.2 合成抗菌剤

キノロン剤やサルファ剤に代表される合成抗菌剤も上述の抗生物質と同様に畜水産動物の疾病の治療に使用され、残留分析法の確立が必要とされている。そこで、これらの分析にもLC/MSが広く使用され始めている。

LC/MSにもう1台のMSを直列につないだESI LC/MS/MSを用いた牛乳及びサケ組織中に残留する15種類のキノロン剤の分析法が報告されている⁶⁾。内径4mm長さ50mmのショートカラムを用いることにより、7分以内に15種類のキノロン剤を分離し、MS/MSの使用により牛乳及びサケ組織中の濃度として1ppbという高感度での分析を実現している。移動相はアセトニトリル-0.02 Mギ酸を使用しているが、この報告にはキノロン剤のプロダクトイオンの構造についての詳細な検討が含まれているので、キノロン剤のMSを分析するときに参考になる。

また、豚腎臓中にMRLレベルで(100ppb以下)残留する4種のサルファ剤(スルファメサジン、スルファメラジン、スルファジアジン、スルファキノキ

サリン)のESI LC/MS/MSによる分析法も報告されている⁷⁾。カラムにC18を、移動相にメタノール-アセトニトリル-酢酸アンモニウム混液を用いている。試料中のサルファ剤は酸性下で酢酸エチルで抽出された後、アミノカートリッジ及び強陽イオンカートリッジで精製される。検出限界は0.8 ppmであった。

2.3 ホルモン剤、寄生虫駆除剤

成長促進や肉質の改善のために使用されることがあるホルモン剤についても、畜水産食品への残留が懸念され、我が国においてもMRLが設定されている。その設定値は大半はppbレベルと低く、高感度な分析法が要求されることから、LC/MSを用いた分析報告例が数多くなされている。

畜産動物の発育促進の目的で投与されるホルモン剤の中に蛋白同化剤があるが、牛組織中の蛋白同化剤7種をAPCI LC/MSで分析した報告がなされている⁸⁾。カラムにC18を、移動相にメタノール-アセトニトリル-ギ酸アンモニウム混液を使用し、モニタリングイオンにはそれぞれのプロトン化分子を選択している。試料からの蛋白同化剤の抽出精製には、抽出効率を高めるため液化炭酸ガスを用いた超臨界抽出法が用いられ、平均添加回収率は67%、検出限界は10-100ppbであった。従来これらの蛋白同化剤は、イオン化を促進するための誘導体化法であるトリメチルシリル(TMS)化した後にGC/MSより分析されていたが、LC/MSの使用により、煩雑なTMS化を行なうことなく分析が可能になった。

寄生虫による畜産動物の被害を最小限に止め、生産効率を向上させるために、寄生虫駆除剤は世界的に広く使用されていることから、寄生虫駆除剤のLC/MSによる分析法も多く検討されている。食肉中に残留するニトロイミダゾール系寄生虫駆除剤3種(ロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール)のESI LC/MSによる分析法が報告されている⁹⁾。カラムにC18を、移動相にメタノール-アセトニトリル-ギ酸混液を使用し、モニタリングイオンにはそれぞれのプロトン化分子及びアセトニトリル付加イオンを選択している。試料からの駆虫剤の抽出には、酢酸エチルが用いられ、添加回収率は73-97%、相対標準偏差は17-26%、定量限界は1-4ppbであった。なお、内標準物質にはd₃-ロニダゾールが使用されている。

3. 農薬

食品中の残留農薬の分析は、検出感度の点からECD-GC、NPD-GC、FPD-GCあるいはGC/MSが汎用されてきたが、極性が高い農薬や熱に対して不安定な農薬の分析には、これらの手法は不適當である。そこで、最近ではLC/MSによる分析例が増えてきている。

リンゴ及び洋ナシ中に残留するカルベンダジム、チアベンダゾール、ジメトエート、フェノキシカーブ、ピリミカーブ、メチルチオファネート、ホスメットのESI LC/MSを用いた分析結果が報告されている¹⁰⁾。試料中の農薬はアセトン-ジクロロメタン-ヘキサン混液により抽出され、濃縮乾固後、移動相に溶解され、LC/MSに注入される。カラムにC18を、移動相にアセトニトリル-ギ酸アンモニウム溶液を用い、グラジエント溶出を行なっている。モニターイオンにはそれぞれのプロトン化分子を用いている。回収率は55~98%、相対標準偏差は19%以下、検出限界は0.01~0.02ppmであった。内標準物質にはパーベンダゾールが用いられている。

APCI LC/MS (SIM)による、マッシュルーム中に残留する殺虫剤、ジフルベンズロンの分析法についても報告がなされている¹¹⁾。APCIプローブ(イオン化する部分)の温度が目的化合物の検出感度に影響することは良く知られているが、ジフルベンズロンの検出では温度の上昇と共に感度も上昇するが、450°Cを境に温度の上昇により感度は低下する。そこで著者らはAPCIプローブの温度を450°Cに設定している。また、同研究ではイオンを質量分析部に取り込む際の電圧(この機種の場合はコーン電圧という)とイオン強度の関係を検討している。その結果、電圧の上昇に伴いフラグメントイオンm/z 156の強度は増強するが、m/z 309の脱プロトン化分子の強度は減弱することが判明した。著者らはモニターイオンに脱プロトン化分子を選択していたので、脱プロトン化分子の検出感度をできるだけ高めるように、低いコーン電圧(5~10 V)を選択している。

試料からのジフルベンズロンの抽出にはジクロロメタン-シクロヘキサン混液が用いられ、分子の大きさと効率よく分離を行なうサイズ排除クロマトグラフィーによる精製が行なわれている。マッシュルームからの添加回収率は78~64%、相対標準偏差は16%以下、検出限界は0.017ppmであった。

4. 天然毒素成分

かび毒あるいは貝毒に代表される天然毒素成分は、難揮発性で熱に不安定な化合物が多く、さらに微量で有害な化合物も多いことから、従来からLC/MSによる分析法が検討されてきた。

トウモロコシを汚染する*Fusarium moniliforme*が産生するかび毒であるフモニシンは難揮発性で熱に不安定、さらには構造中に発色団を有していないために、その分析はもっぱらプレカラム誘導体化によるUV又は蛍光検出HPLCによって分析が行なわれてきた。そこで、煩雑な誘導体化を要しないESI LC/MSを用いた分析法が検討され、コーンミール中のフモニシンB1、B2、B3の分析法についての報告がされている¹²⁾。この分析では、カラムにポリマー系の充填剤を用い、移動相にはアセトニトリルと酢酸アンモニウム緩衝液の混液を用い、モニターイオンにはそれぞれのプロトン化分子(B1:m/z 722、B2及びB3:m/z 706)を用いている。フモニシンのマススペクトルはプロトン化分子がベースピークとして現れ、プロトン化分子の20%弱の相対強度でナトリウム付加イオンが認められる以外は、構造に由来するようなフラグメントイオンは検出されていない。さらにこの傾向はコーン電圧(イオンを質量分析部に導入する際の電圧)を変化させても同様で、目立ったフラグメントイオンは観察されなかった。試料からのフモニシンの抽出はアセトニトリル-水混液で行ない、その後、抽出液を水で希釈したのちにC18カートリッジにより精製を行なっている。本法の検出限界は20~100ppbであった。

イオンスプレーイオン化(ISP) LC/MSによる貝類に含まれる4種類の下痢性貝毒(オカダ酸、ジノフィシストキシン-1、-2、-3)の分析法が報告されている¹³⁾。カラムにC18を、移動相にはトリフロロ酢酸含有メタノール水を、モニターイオンにはそれぞれのプロトン化分子を用い、内標準物質にはアセチルオカダ酸を使用している。

オカダ酸、ジノフィシストキシン類のマススペクトルはプロトン化分子がベースピークとして現れるが、オリフィス電圧(イオンを質量分析部に導入する際の電圧)を高く設定すると、脱水イオンの強度が強くなり、最終的にはプロトン化分子は検出されなくなる。著者らはモニターイオンとしてプロトン化分子を選択しているため、オリフィス電圧は低く

設定されている。試料からの抽出は含水メタノールで行ない、その後、クロロホルムで脱脂したのちにアミノプロピルシリル化シリカゲルクロマトグラフィにより精製を行なっている。0.05~5ppm添加時の回収率は75~80%であった。

5. おわりに

以上紹介したように、現在、LC/MSの適用範囲は急速に拡大しており、GC/MSと同様に汎用分析機器と呼ばれる地位を確保する日は、それ程遠くはないものと思われる。その日のために、GC/MSで採用されているようなチューニングの自動化、あるいは分析パラメーターの簡略化といった装置面での改良が必要であろうし、イオン化効率を損ねない移動相あるいはイオンペア試薬の開発等応用面での充実も必要であろう。これらの点に関して、メーカーとユーザーが様々な知恵を出し合い工夫を重ねながら、多くの化合物の分析にLC/MSを実際に用いて、応用例を増やしていく努力が今後ますます必要と考えられる。

文 献

- 1) 岡 尚男, LC/MSによる食品分析, 技術情報, Vol. 21, No. 2, 1-3 (1997) .
- 2) Oka, H., Ikai, Y., Ito, Y., Hayakawa, J., Harada, K., Suzuki, M., Odani, H., Maeda, K., Improvement of chemical analysis of antibiotics. XXIII. Identification of residual tetracyclines in bovine tissues by electrospray high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. B, 693, 337-344 (1997).
- 3) Nakazawa, H., Ino, S., Kato, K., Watanabe, T., Ito, Y., Oka, H., Simultaneous determination of residual tetracyclines in foods by high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. B, 732, 55-64 (1999).
- 4) Straub, R., Linder, M., Voyksner, D., Determination of beta-lactam residues in milk using perfusive-particle liquid chromatography combined with ultrasonic nebulization electrospray mass spectrometry, Anal. Chem., 66, 3651-3658 (1994) .

- 5) Ito, Y., Ikai, Y., Oka, H., Matsumoto, Miyazaki, Y., T., Takeba, K., Application of ion-exchange cartridge clean-up in food analysis. (IV). Confirmatory assay of benzylpenicillin, phenoxymethyl-penicillin, oxacillin, cloxacillin, nafcillin and dicloxacillin in bovine tissues by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. A, 911, 217-223 (2001) .
- 6) Volmer, D. A., Mansoori, B., Locke, S. J., Study of 4-quinolone antibiotics in biological samples by short-column liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry, Anal. Chem., 69, 4143-4155 (1997) .
- 7) Porter, S., Confirmation of sulfonamide residues in kidney tissue by liquid chromatography-mass spectrometry, Analyst, 119, 2753-2756 (1994).
- 8) Huopalahti, R. P., Henion, J. D., Application of supercritical-fluid extraction and high-performance liquid chromatography -mass spectrometry for the determination of some anabolic agents directly from bovine tissue samples, J. Liq. Chromatogr., 19, 69-87 (1996).
- 9) Hurtaud-Pessel, D., Delepine, B., Laurentie, M., Determination of four nitroimidazole residues in poultry meat by liquid chromatography-mass spectrometry, J. Chromatogr. A., 882, 89-98 (2000).
- 10) Lacassie, E., Dreyfuss, M. F., Daguet, J. L., Vignaud, M., Marquet, P., Lachatre, G., Liquid chromatography-electrospray mass spectrometry multi-residue determination of pesticides in apples and pears, J. Chromatogr. A, 830, 135-143 (1999).
- 11) Barnes, K. A., Startin, J. R., Thorpe, S. A., Reynolds, S. L., Fussell, R. J., Determination of the pesticide diflubenzuron in mushrooms by high-performance liquid chromatography - atmospheric-pressure chemical-ionization mass spectrometry, J. Chromatogr. A, 712, 85-93 (1995).
- 12) Doerge, D. R., Howard, P. C., Bajic, S., Preece, S., Determination of fumonisins using

online liquid chromatography coupled to electrospray mass spectrometry, Rapid Commun. Mass Spectrom., 8, 603-606 (1994).

13) Quilliam, M. A., Analysis of diarrhoeic shellfish poisoning toxins in shellfish tissue by

liquid chromatography with fluorimetric and mass spectrometric detection, J. AOAC Int., 78, 555-570 (1995).

(化学部 岡 尚男、伊藤裕子、後藤智美)

海洋深層水について

1. はじめに

大手メーカーから発売されたスポーツドリンクに使われているということで一気に身近になった感のある深層水ですが、これが一体どんな水であるかということについて、詳しくご存知の方は少ないと思います。そこで、書物やインターネットなどで調べてみたところ、海洋深層水とは太陽光の届かない水深200m以上の海中に存在する海水のことで、海面付近の海水とは幾分異なった特性を有していることから、様々な分野での利用が期待されていることが分かりました。そこで今回、この深層水が使われた飲用水や食品、さらには、深層水の医療分野での利用などについてまとめてみました。

2. 深層水の特性

海面付近の海中では、降り注ぐ太陽光のもとで植物プランクトンや海藻による光合成が行なわれるため、有機物が多く存在します。一方、水深が200mを越える深海では、太陽光が届かないため光合成は休止状態となり、有機物はバクテリアによる分解を受けて、硝酸塩やリン酸塩などの無機塩類になってしまいます。そのため深層水には、これらの栄養塩類が豊富に含まれています。また、海面付近の海水は、冬になると冷やされ比重が大きくなって沈み込み、その下にある海水と混じり合う上下混合が起こりますが、このようにして沈み込む海水の深さは200m程が限界なので、それ以上深いところにある海水はそれより上の海水と混じりあうことは非常に少ないことが知られています。したがって、表面付近の海水が農薬や環境ホルモンなどの化学物質や病原菌、放射性物質等に汚染されたとしても、深層水がこれらの物質により汚染される可能性は比較的小さいと考えられています。また、汚染物質が深層水に伝播さ

れるまでには長い時間がかかるだけでなく、深層水中では上述したような分解による浄化作用も働きます。このような理由から、深層水は細菌や化学物質の汚染が少なく、きれいな状態に保たれています。それに加え、200m以上深いところにある深層水は太陽光の影響を受けないため、水温は年間を通して安定(温帯域の水深200mで18℃前後、1000mで8℃前後、2000mで4℃前後)しています。このような「富栄養性」「清浄性」および「低温安定性」が深層水の特性とされています。

3. 深層水の起源及びその流れ

表層近くの海水に海流という現象があるように、深層水にも深層流という流れがあります。例えば、日本列島が位置する北太平洋西部の深層水は3~4層に分かれており、それぞれ起源を異にする海水が異なった方向に流れています。これらの深層流は、「北太平洋中層流(深度1000~2000m)」や「北太平洋深層流(深度2000~4000m)」と呼ばれ、前者はアラスカ、オホーツクあたりの海域、後者はグリーンランド付近の海域の表層水が、冷やされて海中深く潜り込んだものが起源とされています。これらの深層水が海中深くで深層流を形成した後日本付近に到達するまでの時間は、前者の北太平洋中層流で30年前後、後者の北太平洋深層流にいたっては、大西洋を北から南に縦断し、アフリカ喜望峰沖の南極海、インド洋を経由して北太平洋に達するため、何と、1500~2000年もかかるかと推定されています。このように海中深くをゆっくりと流れている深層水ですが、陸に遮られるなどしてその一部が湧き上がる海域があります。このような深層水の流れを湧昇流と呼び、その海域では、深層水から供給される豊富な栄養塩類によりプランクトンがよく繁殖するため魚が集ま

り、南米のペルーやエクアドル、それにアメリカ合衆国のカリフォルニアの沖合などのように 非常によい漁場となっています。以上のことから分かるように、深層水はどこで取水しても同じではなく、取水する海域や深度によって異なっています。

4. 日本における深層水開発

我が国で最初に深層水の大規模取水が始まったのは1989年のことで、場所は高知県室戸岬沖2.2kmの海域です。そこは、大陸棚の外縁部にあたり、日本海溝に向かって海底が急角度で落ち込んでいるため、敷設する取水管を短くできるだけでなく、深度1000~2000mの層を流れる最も栄養塩に富んだ深層水の一部が、海底の斜面に沿って湧き上がるポイントであるという地(海)の利に恵まれています。そのため、この海域では320~374mという比較的浅い深度で利用価値の高い深層水が取水でき、現在その取水量は1日あたり約5000トンにも達しています。これ

に対し、沖縄県糸満市沖25kmの海域では、海上に浮かべたブイから1400mの深度にまでパイプを伸ばし、上述の深層流の本流から取水を行なっています。この方法では、透明度の高い良質の深層水が得られますが、1日あたり2トン程度しか取水できないため、コストパフォーマンスが悪いことが難点です。一方、富山県の滑川市沖2.6km、水深321mの富山湾の海底からも1日あたり3000トンの深層水が取水されています。これは日本海固有水と呼ばれる深層水で、上述のものとは起源を異にしていると考えられています。これらの他にも、沖縄県の久米島、静岡県の焼津市、神奈川県の大磯半島、新潟県の佐渡島、北海道の羅臼町など、現在開発中のものまで含めると、全国20以上の地(海)域で深層水の利用や開発が進められています。

5. 深層水の含有成分及び水質

深層水といえども、もともとは海水ですので、普通の海水とどう違うかということが興味の対象となります。高知県の室戸海洋深層水研究所では、深層水の特性把握に関する研究が行なわれており、様々なデータが公表されていますので、その一部を紹介したいと思います。

表に、室戸岬沖で取水された海洋深層水と同じ水域で採取された表層水の比較データを示しました。それによると、水温の違いは当然として、硝酸イオン、リン酸イオンおよびケイ素などの栄養塩類は、深層水の方が表層水と較べると5~20倍も高いことが判ります。また、カドミウムや砒素も深層水の方が幾分高い傾向にありますが、銅、鉄、マンガン及びTOC(全有機炭素)は表層水の方が高く、その他の成分については両者ともほぼ同じ濃度であることが判ります。さらに、蒸発残留物、ナトリウムイオン、塩素イオンのデータから、深層水の方が表層水よりも塩分濃度が5%程度高いことが判ります。

PCBやDDTなどの有機塩素系化合物、有機スズ、有機リンなどの環境汚染物質や、ビスフェノール、スチレン、フタル酸エステル、ベンゾピレン、ダイオキシンなどの環境ホルモンについての調査も行なわれています。その結果、深層水については、環境基準よりも遙かに低いレベルではありますが有機塩素系化合物であるHCHが検出された以外は、全ての物質が検出限界以下であったという報告がなされて

表 室戸沖で取水された海洋深層水と表層水の違い

分析項目		深層水	表層水	
一般項目	水温	°C	10.8~12.3	16.5~24.0
	pH		7.98	8.15
	DO	mg/L	7.80	8.91
	TOC	mg/L	0.962	1.78
溶解性蒸発残留物		mg/L	40750	37590
主要元素	Cl	%	2.237	2.192
	Na	%	1.08	1.03
	Mg	%	0.13	0.131
	Ca	mg/L	456	441
	K	mg/L	414	399
	Br	mg/L	68.8	68.1
	Sr	mg/L	7.77	7.61
	B	mg/L	4.44	4.48
	Ba	mg/L	0.044	0.025
	F	mg/L	0.53	0.56
栄養塩	SO ₄	mg/L	2833	2627
	NH ₄	mg/L	0.05	0.03
	NO ₂	mg/L	0.007	0.011
	NO ₃	mg/L	1.518	0.081
	PO ₄	mg/L	0.177	0.028
微量元素	Si	mg/L	1.89	0.32
	Pb	μg/L	0.102	0.087
	Cd	μg/L	0.028	0.008
	Cu	μg/L	0.153	0.272
	Fe	μg/L	0.217	0.355
	Mn	μg/L	0.265	1.313
	Ni	μg/L	0.387	0.496
	Zn	μg/L	0.624	0.452
	As	μg/L	1.051	0.440
	Mo	μg/L	5.095	5.555

(資料提供 室戸海洋深層水研究所)

います。これらの結果の他にも、放射性同位元素による NMR 測定や電子スピン共鳴装置による測定から、深層水と表層水は“水の分子構造に明瞭な差異がある”こと、深層水には無機炭素量が多いことや紫外線吸収が大きいことなどが報告されています。

6. 深層水の利用

最初に考えられた深層水の利用目的は、海表面との温度差を利用した温度差発電でした。しかしながらこの構想は、汲み上げコストがかかりすぎるといった理由から頓挫してしまいました。その後、深層水には前述したような「富栄養性」や「清浄性」という特性があることが判り、これを魚介類や海藻の養殖など水産分野に利用しようという構想が立ち上がりました。そして、高い費用をかけて汲み上げるのならば、他の目的にも利用できないかということで考えられたのが、その低温性を利用した冷房システムや、富栄養性や清浄性に着目した飲料水、食品、医療分野などへの利用です。言ってみれば、今回のテーマは水産分野への利用の余録であった訳ですが、ご存知のように深層水は、その聞き慣れない神秘的な響きと共に、メディアの「健康にいい」との報道から、ちょっとしたブームを呼び起こしました。それがきっかけで、様々な分野への利用開発が進み、それが「町おこし」「村おこし」の原動力になっているというのが現状です。

6-1. 飲料水

最近の研究で、生体内における様々な生命現象の調節機能には多くのミネラルが関与しており、これらのミネラルは大量に摂ればいいと言うのではなく、バランス良く摂ることが重要であるということがわかってきました。また現代人は、カルシウムの摂取量に対しマグネシウムが不足しがちであるとも言われています。このような背景のもとで、海水や深層水には血液や羊水と同じようなバランスでミネラルが含まれており、それを飲めば上述したようなミネラルのアンバランスが解消できるのではないかという発想と、深層水は表層水よりも清浄性が高く飲用に適している、あるいは、深層水には表層水にない特別な成分を含んでいる可能性もあるというような考えから生まれたのが、深層水を原料とした飲料水やスポーツドリンクであると思われます。

海水である深層水には多量の塩分が含まれており、

そのまま飲用にするのは難しいことから脱塩処理が必要となります。この脱塩処理に、ほとんどの施設やメーカーで逆浸透膜による膜ろ過法が使われていますが、この方法で深層水を処理すると塩分だけでなく、ほとんどのミネラル分も失われてしまいます。この問題の解決に、脱塩処理の副産物として得られる濃厚食塩水を利用する方法が考案されました。すなわち、この濃厚食塩水を煮詰め、析出した食塩の結晶を除いたあとに残るミネラル分などが高濃度に濃縮された溶液、いわゆる「にがり」を脱塩した深層水に還元するという方法です。この方法によると、本来含まれるミネラル分を残したままで、深層水から塩分だけを取り除くことが可能で、また、還元する「にがり」溶液の量を調節することにより、風味や硬度を飲みやすく整えることも可能です。

さらに、このような製品に含まれるミネラル成分は全て天然であり、深層水に含まれている未知の有効成分？も残ることなどから、消費者へのアピールという点でもメリットがあります。それらに加え、このような製品は健康飲料的な要素が強いため、新しいもの好きで健康志向の強い現代人に受けたものと思われます。これが深層水ブームの火付け役となり、日本各地で汲み上げられた深層水を原料に用いた飲料水やスポーツドリンクが次々と市場に登場し、現在それらの銘柄は20を超えています。

6-2 食品

深層水を原料とした塩はもちろんのこと、それを原料の一部に使用した食品、たとえば、漬け物、干物、醤油、みそ、ソース、豆腐、ちくわ、かまぼこ、麺類、納豆、パン、日本酒、泡盛、ビールなどが発売されています。塩は、天然のミネラルが豊富に含まれていることが売り文句であり、それを醤油やみそなどの発酵食品に使うと、含まれているミネラルの影響で醸造が早く進み、まろやかな味に仕上がるそうです。また、かなぼこなどの練り製品に深層水を使うと弾力性に富んだ製品が、豆腐に使うと保水性が高く甘みのあるものができるそうです。

6-3. 医療その他

海水浴がアトピーに有効？という情報がヒントになり、深層水の患部への塗布をアトピー治療の一部に取り入れた医療施設があります。その結果として、ステロイド治療などと併用したため深層水単独の効果ではないとしながらも、366 例中有効と判定

できた例が61%、効果なしが36%、逆に悪化した例が3%だったという報告がなされています(室戸中央病院発表データ)。その結果を受けて、厚生省長期慢性疾患総合研究事業「アレルギー総合研究」でも深層水の有効性が調査され、そこでの結果は、176名の被験者中、著効14%、有効52%、不変30%、悪化3%であったと報告されています(平成7年度研究報告書)。その他にも、化粧品、シャンプー、リンス、歯磨き、入浴剤、洗剤などに深層水が使われた製品が発売されており、肌が引き締まる、肌が潤う、肌荒れが防止できるなどの効果が期待できるとあります。その一方で、深層水浴ができるプールなどがある施設も作られています。これは、タラソテラピー(海洋療法)と呼ばれ、温泉と同じような効果が期待できるそうです。そういえば、温泉も、その一部のものには地中深く眠っていた水を汲み上げて利用する施設であり、深層水と似ているような気がするの、私だけでしょうか? ただし、温泉は枯渇することはあるけれど、深層水は無尽蔵に近いという違いはありますが。

7. おわりに

以上述べましたように、海洋深層水は、飲料水や食品など我々の生活に直接関係のある製品にまで使われるようになってきています。しかしながら、「なぜ体にいいのか?」あるいは「どのような成分が有効なのか?」というような原理やメカニズム、含有成分などについての研究は今始まったばかりで、それらに関する情報や知見がほとんどないというのが現状です。したがって、「深層水は本当に有効か?」とか「表層水とはどう違うのか?」というような疑問に対する答えが出るのはもう少し先のようなようです。

現段階では、深層水とはどんなものであるかを正しく理解した上で、ここに紹介したような製品を買ったり使ったりする判断を下すという姿勢が重要ではないでしょうか。

この原稿を書くあたり、書籍だけでなくインターネットから得られた情報も参考にしました。興味のある方は、一度「深層水」で検索をかけてみてください。深層水関連の情報がいかに多いかが実感できると思います。それらのほとんどは、商品の宣伝ですが、なかにはしっかりした内容のものもありました。以下に、参考にした書籍とインターネットのサイトを紹介します。

参考資料

- ・海にねむる資源 海洋深層水, 高橋正征著, あすなる書房
- ・驚異のミネラルパワー「海洋深層水」, KK ベストセラーズ
- ・よくわかる海洋深層水, 高橋正征監修, コスモトゥーン
- ・湧くわく深層水 (<http://www.kochinews.co.jp/sinsofr.htm>)
- ・市民のための環境学ガイド (<http://www.ne.jp/asahi/ecodb/yasui/DeepSeaWater.htm>)
- ・海洋深層水ビジネスを考えるシンポジウム (<http://www.nikkei.co.jp/pub/scoop/sinsou/sinsou.html>)
- ・好奇心トツゲキ探検隊(http://eco.goo.ne.jp/magazine/files/tanken/tanken_jan01.html)
- ・X-ing (<http://www.nmoc.co.jp/information/lubricants/x-ing/x02/02-03.html>)

(生活科学部 猪飼誉友)

愛知衛研技術情報 第25巻 第3号 平成13年9月1日

照会・連絡先 愛知県衛生研究所

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流7番6号 FAX：052-913-3641

愛知県衛生研究所のホームページ【<http://www.pref.aichi.jp/eiseiken>】

平成13年5月よりダイヤルインとなりました。

所 長 室：052-910-5604	毒性部・毒性病理科：052-910-5654
次 長：052-910-5683	毒性部・毒性化学科：052-910-5664
研 究 監：052-910-5684	化学部・生活化学科：052-910-5638
総 務 課：052-910-5618	化学部・環境化学科：052-910-5639
企 画 情 報 部：052-910-5619	化学部・薬品化学科：052-910-5629
微生物部・細菌：052-910-5669	生活科学部・水質科：052-910-5643
微生物部・ウイルス：052-910-5674	生活科学部・環境物理科：052-910-5644

FAX：052-913-3641(変更ありません)