

却されている状態のものである。

2. 合成：原料として臭素も扱っている。受入、仕込作業は全てポンプで行っている。
3. 充填：臭化メチルのボンベ充填作業に従事しているが、完全密閉式で行っている。臭化メチルの缶詰充填は、機械的に行い重量の調整は手動で行っている。
4. 充填補助：臭化メチルの缶詰充填は缶の箱詰め、製品の最終段階の重量検査である。
5. 生産管理：製造中の工程で、または製品に関して、臭化メチル以外にも品質管理のための分析試験を実施している。

これを見ると、原体を取り扱っている作業者が、最も高値で $12.9 \pm 4.7 \mu\text{g/ml}$ （範囲は $6.3 \sim 21.2 \mu\text{g/ml}$ ）であった。次に高値を示したのが、臭化メチルの充填作業で、 $12.2 \pm 5.0 \mu\text{g/ml}$ （範囲は $5.0 \sim 25.3 \mu\text{g/ml}$ ）であった。ちなみに山野の教室で以前測定した健常者 $n=97$ の血清の値は、 $5.2 \pm 1.6 \mu\text{g/ml}$ であったので、これらの作業員達は有意 ($p < 0.001$) に高値を示しており、曝露の可能性が示唆された。

次に、尿サンプルについて示す。今回、サンプルが得られたのは、9例であり、その平均は $10.3 \pm 2.5 \mu$

g/mgCRE （クレアチニン補正したもの）であった。また、図3に1990年1月より年2回、2003年1月までサンプリングした尿中臭素イオン濃度の推移を示した。これを見ると、毎回のn数は異なるが、約 $8.0 \mu\text{g/mgCRE}$ ~ $30.0 \mu\text{g/mgCRE}$ くらいまでで推移していた。

また、図4に、作業の職種別に尿中濃度を箱ひげ図で示した。これを見ると、原体を取り扱っている作業者が、最も高値で $15.9 \pm 7.7 \mu\text{g/mgCRE}$ （範囲は $5.7 \sim 35.0 \mu\text{g/mgCRE}$ ）であった。次に高値を示したのが、臭化メチルの充填作業で、 $15.6 \pm 6.2 \mu\text{g/mgCRE}$ （範囲は $7.1 \sim 30.3 \mu\text{g/mgCRE}$ ）であった。ちなみに山野の教室で以前測定した健常者 $n=96$ の尿中の値は、 $8.9 \pm 3.5 \mu\text{g/mgCRE}$ であった。これらの結果から、臭化メチル取扱作業員は、長期間にわたり、明らかに微量ながら曝露を受けている可能性が示唆された。また、図5には、各作業員 $n=106$ の血清中臭化物イオン濃度と尿中臭化物イオン濃度の相関を示した。 $r=0.6595$ 、 $p < 0.001$ で有意な相関関係が認められた。

図1. 臭化メチル製造作業者の血中臭化物イオン濃度の推移 (1990~2003年)
($\mu\text{g/ml}$)

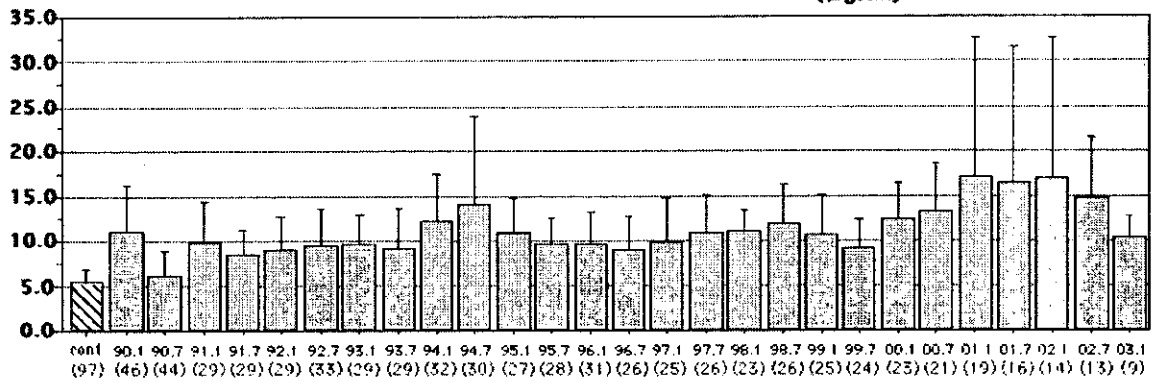


図2. 血清臭化物イオン濃度(臭化メチル製造作業別)
($\mu\text{g/ml}$)

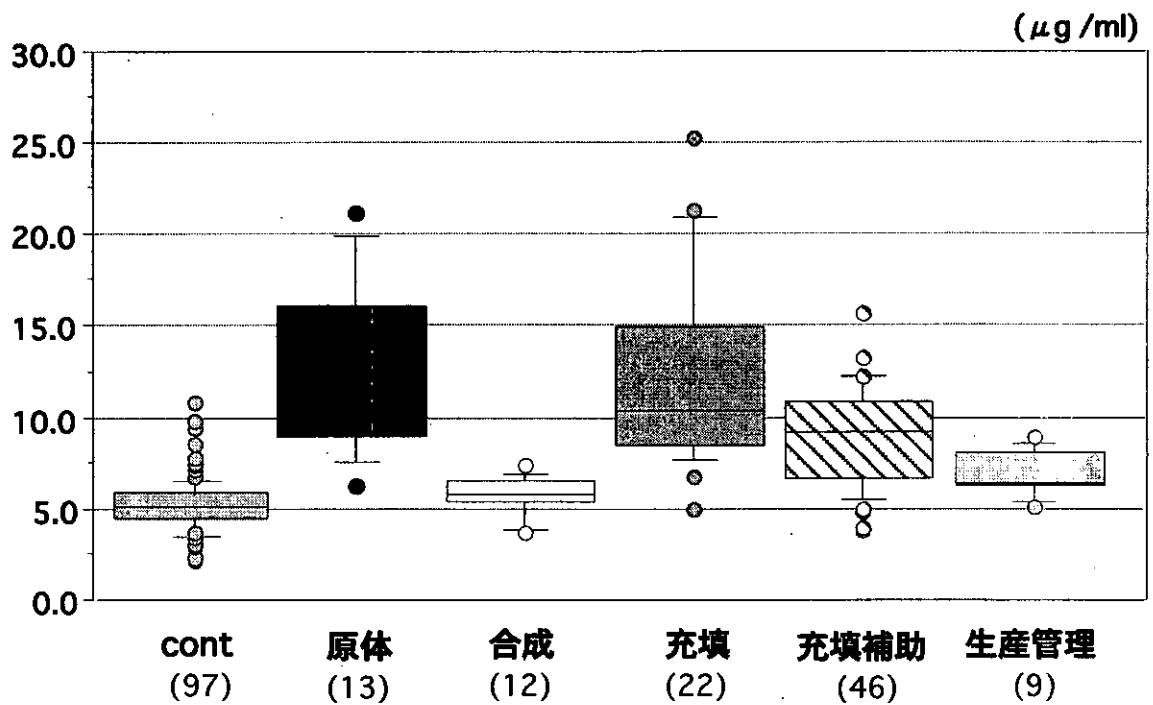


図3. 臭化メチル製造作業者の尿中臭化物イオン濃度の推移 (1990~2003年)

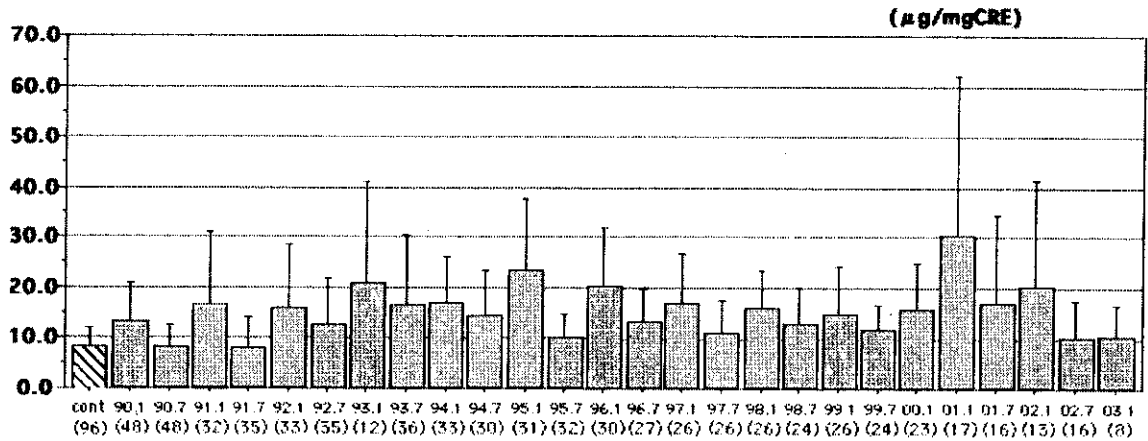


図4. 尿中臭化物イオン濃度(臭化メチル製造作業別)

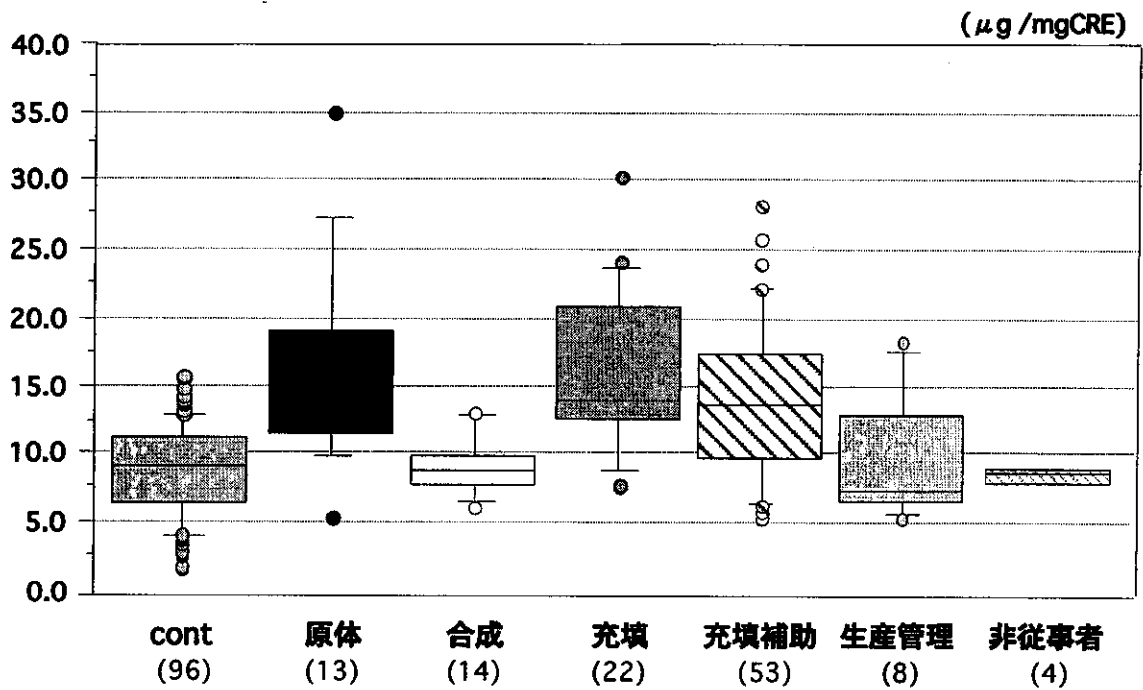
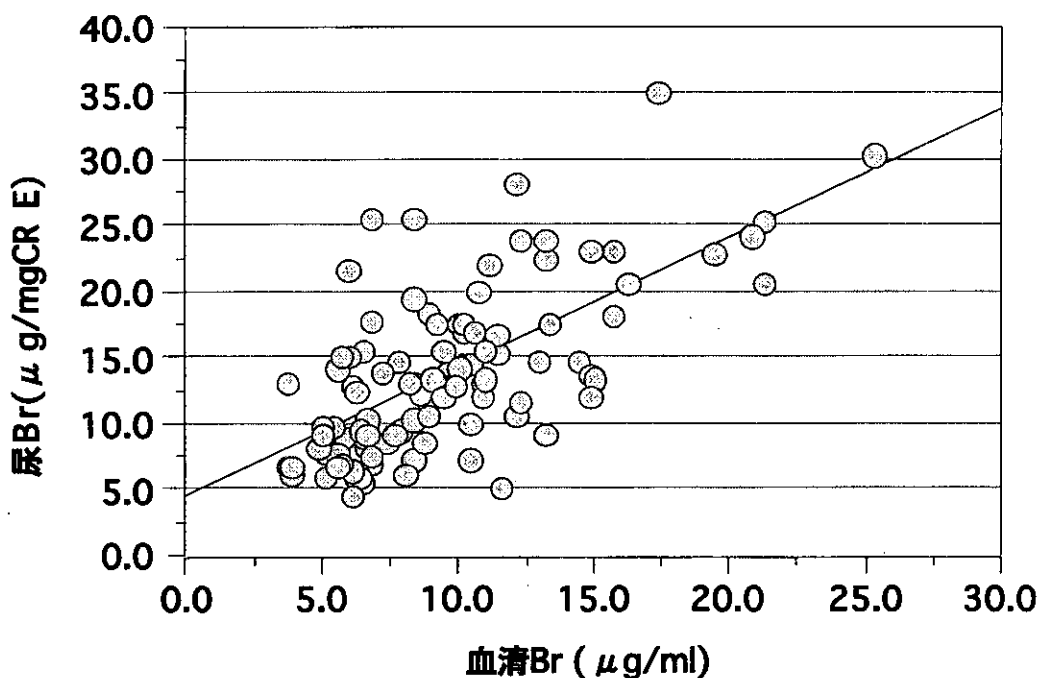


図5 各作業者における血清Brと尿Br濃度の相関



$$Y = 4.368 + .98 * X; R^2 = .435$$

(2) 臭化メチル製造業者および燻蒸業者曝露集団における生殖機能調査

この調査実施に関する現在までの進展状況を以下に示す。

臭化メチル製造業者および燻蒸業者曝露集団における生殖機能調査を実施すべく、臭化メチル製造作業所2社(A社、B社)、シロアリ駆除作業業者およびその他衛生害虫駆除作業業者が十数社所属している会社1社(C社)および、燻蒸業者が所属する協会団体1社(D協会)に対して調査依頼の働き掛けを行った。

これらの会社は、すべて本分担任

研究者である山野が、過去に検診に関わってきた会社であり、特に、A社は約20年間、B社は約4年間、特定化学物質障害予防規則・有機溶剤中毒予防規則により年2回以上に渡り尿中および血中臭化物イオンの測定を実施してきた会社である。また、C社は、約100名の従業員を持ち、妨害駆除作業の過程において漏れなどから重篤な中毒を何例も出し、かねてから注意を促してきた会社である。D協会は、燻蒸剤として臭化メチルを取り扱っている作業者のための日本で唯一の団体機関である。山野は、約20年間にわたり、この協会からの依頼

により、臭化メチル中毒が発生した際の国内における主要な相談窓口となり、鑑別診断の確定に協力してきた。

まず、B社に関しては、業務管理部のグループリーダー3名（衛生管理者を兼ねており、産業医は常勤ではない）との話し合いを3回持ち、この研究の主旨の説明を行ってきた。当初は研究協力の内諾がとれていたが、その後、事業所内での正式な手続きを経る過程で、やはり精液を採取するということがネックになり、キャンセルとなった。

また、C社に関しては、社長と社長室室長との話し合いを3回持った。この会社は、衛生管理者や産業医は在籍しておらず、中毒発生時には、いつも直接社長とのやり取りであったので、今回、協力を得るための説明は、社長と直接行った方がいいと考え実施した。当初、かなり積極的であり、全面的に協力してくれるということであった。事実、調査のお願いの説明文へのアドバイス等かなりいただき、何度も作り換え、かなり改訂されたものができあがるきっかけとなった。しかし、事業所内での正式な手続きを得る過程で、会社の顧問弁護士より、労災問題の発生を懸念する声が強くて、キャンセルとなった。その後、会社を通して

ではなく、社員に直接調査を依頼することは可能であるとの許可を得た。

D協会に関しては、この協会を通して各事業所に調査協力をすることが可能か否かを、専務理事、事務局長、事務の3名に対して相談した。しかし、協会は、遺伝・奇形等の問題や、兼ねてから燻蒸作業者は子供ができてくいとのおわさがあることから、子供が生まれない原因はやはり臭化メチルであると騒ぎになることを懸念し、調査協力は得られなかった。結局、協会に加盟している比較的大手の燻蒸業者を7社紹介頂き、今後、それらの会社と直接交渉することとした。

A社は、一番付き合いも長く信頼関係が得られており、かつ、長年健康管理に関してきているので、個人曝露濃度のデータも有している。ここには、数回打診をした後に、工場長と衛生管理者の2名に調査依頼のための説明にうかがった。その結果、できるだけ協力したいとのご意見を頂き、すぐに社内の労働安全衛生委員会にこの議題をかけた。しかし、もともとこの会社の産業医を通していなかったという経緯があり、行き違いが生じ、同委員会に出席していた産業医から調査には不安を感じるという意見が出され、その結果、調査中止となった。

その後、産業医に直接、この調査の主旨を説明した結果、再度、労働安全衛生委員会に議題をかけてくれることになった。

また、今後の具体的な調査の進め方として、以下のような方法が考えられた。

1. 調査の時期は、通常健康診断時に実施した方が、より作業者に侵襲を与えなくて済むと考えた。
2. 事業所の安全衛生委員会等の手続きを正式に通した精液検査の実施は実際は困難と思われるので、検診にあわせて問診票プラス採血、採尿検査、女性化乳房に注目した身体測定を実施し、生殖機能は性ホルモン、PSA、生殖歴で評価する。可能であれば前立腺エコーによる前立腺体積測定を行う。なお、研究として行う検診部分については、参加しない自由を保障する。
3. 状況により可能であれば、検診時に精液検査を含むより詳細な生殖機能検査を被験者に案内し、別途機会を設けて精検をする。
4. 倫理面の配慮としては、大学の倫理委員会での承認手続きを行い、健康相談を希望する場合の相談体制を確立する。アンドロロジー面からは、分担研究者および聖マリアンナ医科大学泌尿器科のバックアップが可能。

なお、現在、作成した調査依頼のための説明書と同意書を資料（資料1、2）として末尾に添付する。

（3）精液検査手法の標準化についての検討

精液指標は個人内、個人間での変動が大きいことが知られるが、それ以前に測定者の手法によるばらつきをいかにコントロールするかが大きな課題で、独立して行われた別の研究結果を比較する場合にはこの点についての考慮が必要になる。これは精子数についてはもちろんであるが、精子運動性や形態については特に、WHO マニュアルを用いても測定基準が測定者により異なり、ばらつきが生じやすい。

このため、国内および国際的に既に行われている精液指標調査との整合性を考慮し、検査手法の標準化について聖マリアンナ医科大学の岩本教授のグループ（岩本班）と意見交換を行った。岩本教授の配慮でたいへん有益な情報が得られ、本研究についても同一のクオリティコントロールを受けるかについてさまざまな観点から検討した。精子濃度が著しく低い場合、あるいは著しく高い場合は、分析サンプルの希釈倍率を変えて適切な濃度に調整することが重要であり、この点が、CASA（コンピ

ューターによる精液指標自動解析装置) や Makler チャンバー及び血球計算板を用いた測定結果が必ずしも一致しない原理的な背景のひとつとなっていることが明らかになった。

一方、本研究で対象とする職域集団の年齢層は、岩本班の対象集団の上限を上回る場合があつて必ずしも重ならないこと、また、岩本班は妊孕性が確認されている人を対象としているのに対し、本研究で扱う職域集団は子供を持たない人や独身者を含み妊孕性が確認されていないため、疫学的に異なった集団であることが判明した。特に後者の問題については、両集団の結果の比較に支障があるため、多大な労力を必要とする精液指標のクオリティコントロールには参加せず、本研究内での測定結果の再現性に注意を集中することとした。測定者間のばらつきの問題を回避するために、調査を通して同じ測定者が、全被験者のサンプルを曝露に関する情報なしで測定することを考えている。また、CASA を用いた測定を平行して行う予定である。今後、伝統的に用いられてきた指標に加え、精子クレアチンキナーゼ活性や染色体異数性など新たなバイオマーカー候補の導入により、より鋭敏で安定した結果を得られるよう予備的な検討を開始した。

資料-1

平成15年○月×日

A

株式会社
様

昭和大学医学部衛生学教室 山野優子
名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学教室
那須民江、上島通浩

健康調査への協力をお願い

拝啓 時下ますます御清栄のこととお慶び申し上げます。

労働者の健康管理は、化学物質に携わる者に限らず、健康診断およびその結果に基づく事後処置、さらに日常の生活指導まで含めた生活全般にわたる幅広い内容を含むものであると思います。

しかし、従来の健康管理は、疾病の早期発見と治療に重点をおいている傾向があり、今後は、健康診断を通じて人の健康と環境や作業とのかかわり合いを見出し、作業環境管理と作業管理とを合わせて、労働者の健康障害を未然に防止できるような積極的な内容に変化させていく必要があると思います。

臭化メチル及び有機溶剤取り扱い作業者に関しては、入社時の検診および、特定化学物質障害予防規則・有機溶剤中毒予防規則により年2回の検診が義務づけられておりますので、貴社でもそれに則り実施されてきたことと思います。

今回、昭和大学と名古屋大学は厚生労働省から委託補助を受け、工作上化学物質に触れる機会の多い事業所で働く健康な方々を対象に、その作業者の健康を守るべく、さらに詳しい健康診断（調査概要参照）の実施を行うこととなりました。

もちろん、この調査は、ボランティアとして参加していただくことが前提で、参加を承諾された方々に問診・診察を行うとともに、生体試料をご提供いただき、研究的な視点から結果を解析致します。詳細は以下に示します調査概要のとおりですが、本研究は労働基準監督署などの監督行政とは全く独立に行われ、これら行政機関に結果が送られることはありません。また、個人のプライバシー

一情報の保護については十分配慮し、個人の結果は受診者ご本人にのみ報告致します。但し、会社の健康管理充実のために必要な情報（従来実施されてきた特殊健康診断項目の部署毎のデータ）については、貴社にご報告致します。なお、会社名等を一切伏せた厚生労働省宛の研究報告書及び学術報告という形でのみ公表されることがあります。

本調査にご協力いただくことにより、重要な化学物質を将来にわたってより安全に使用するための貴重な情報を得られることができ、貴社のみにとどまらず国民全体に大きなメリットがあると考えられます。また、健康診断に参加される方は、通常健康診断では検査することのないような健康状態も知ることができます。上記の趣旨をご理解いただき、是非ご協力いただきますようお願い申し上げます。

調査の概要

1. 期日 平成15年〇月頃
2. 内容 イ) 健康状態に関する質問（問診票への記入）
ロ) 診察（腹部超音波検査による前立腺がん等の検査も含む）
ハ) 貧血、肝機能、腎機能、コレステロール、性ホルモン、臭素イオン、馬尿酸等の検査（採血、採尿、採精液）

採血・採尿については、通常健康診断と同様です。

精液の採取は個室内または自宅でご自分で行っていただきます。苦痛を伴う器具などの使用は一切ありません。採尿等に比べて時間を要します（おひとりあたり通常30分程度）ので、場所を含めたスケジュールについて相談させていただきます。

- 二) 空気中の化学物質濃度の測定

バッチを装着し、環境中の濃度を測定します。

3. 健康診断の対象者

全職員の方に受診していただきたいと思っております。

4. 健康診断の場所

通常行う健康診断に準じて場所の設定をお願いします。なお、精液採取につい

ては、精子の運動性が時間の経過とともに低下するため、採取後できるだけ早く回収する必要があります。自宅採取の場合、どのような回収方法とするか、相談させていただければ幸いです。

5. 健康診断結果の取り扱いに関して

検査結果は受診者にお知らせし、希望がある場合は個別の健康相談に応じます。個人の結果については集団として統計処理しますが、プライバシーが保持されるよう厳重に注意を払い、個人の特定が可能な情報を公表したり目的外で使用することは一切ありません。

資料-2

健康診断への参加同意書

昭和大学医学部衛生学教室 山野優子 殿

名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学教室 上島通浩 殿

私は、昭和大学および名古屋大学が実施する職場健康診断について、別紙による説明を受け、

調査の概要

私の個人情報などのプライバシーが十分に保護されること

を十分に理解しました。(の中にご自分でレ印を入れて下さい)

したがって、本健康診断に、自発的に参加いたします・参加しません。
(どちらかを○で囲んで、署名してください)

ご署名；

平成 15 年 月 日

健康診断結果は、封書にてお返ししますが、他の方法がよい方は、具体的にご記入ください。なお、お電話でのお問い合わせにはお答えできません。

2. 厚生労働科学研究費補助金

(食品・化学物質安全総合研究事業)

分担研究報告書

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と

内分泌かく乱作用検出のための

新たなバイオマーカーの開発

— GC/MS による有機リン系農薬および

その尿中代謝物の分析 —

分担研究者

柴田 英治 名古屋大学医学部保健学科検査技術科学専攻

研究協力者

斎藤 勲 愛知県衛生研究所

2. 厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業） 分担研究報告書

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用 検出のための新たなバイオマーカーの開発 — GC/MSによる有機リン系農薬およびその尿中代謝物の分析 —

分担研究者 柴田 英治 名古屋大学医学部保健学科検査技術科学専攻
研究協力者 斎藤 勲 愛知県衛生研究所

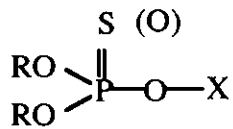
A. 研究目的

ジクロロボス、ダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオン等有機リン系農薬は、作物を栽培する際の殺虫剤として広く用いられているほか、ゴキブリ、ダニなどの衛生害虫の駆除を目的とする防疫作業にも広く使用されている^{1,3)}。これら有機リン系化合物は、神経刺激伝達物質アセチルコリンの分解に関与しているコリンエステラーゼ活性を阻害して神経中毒を引き起こすことにより殺虫効果を発揮する。人に対しても大量の曝露により、急性・慢性毒性を引き起こし、死に至ることもある。

有機リン系農薬は種類も多く、これらを日常的に取り扱う作業者の曝露の実態は十分に明らかになっていない²⁾。有機リン系農薬の曝露評価としては、作業中の拡散型サンプルバッジ装着による気中有機リン系農薬の測定による方法のほか、血液、尿などによる個人レベルでの生物学的モニタリングが試みられている。中でも尿中有機リン系農薬代謝物のうち、アルキルリン酸部分は多くの有機リン系農薬の共通構造で (Fig.1)、尿中アルキルリン酸を用いたモニタリングは作業員への負担が少なく曝露評価には優れた方法と考えられており、実際の衛生害虫防除従事者での曝露と尿中代謝物の関連が検討されている^{2,4)}。今回我々は、作業員個人レベルでの曝露評価指標として、有機リン系農薬の生物学的モニタリング方法確立を目指し、衛生害虫防除で使用されているジクロロボスとダイアジノンを対象農薬として、ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC/MS) による両化合物、および尿中代謝物分析のための基礎的な検討を行

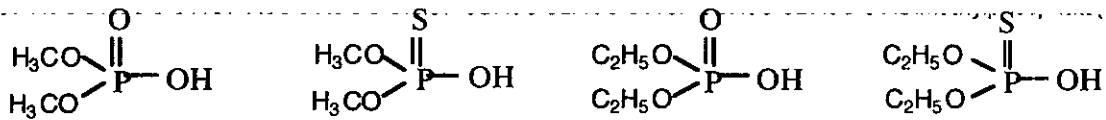
ったので報告する。

《一般的な有機リン系農薬》



(R=CH₃ or C₂H₅)

《尿中代謝物：ジアルキルリン酸》



Dimethylphosphate
(DMP)

O,O-Dimethylthiophosphate
(DMTP)

O,O-Diethylphosphate
(DEP)

O,O-Diethylthiophosphate
(DETP)

Fig. 1 一般的な有機リン系農薬及びその尿中代謝物の構造
有機リン剤は体内でジアルキルリン酸 (DAP) のいずれかに代謝される。これら DAP は曝露後 3-24 時間で尿中に排泄される。

B. 研究方法

◆検討 1. GC/MS によるジクロロボス (DDVP) およびダイアジノンの分析

材料

試薬

- ・ ジクロロボス (DDVP) 標準品 【関東化学】
- ・ ダイアジノン (Diazinon) 標準品 【和光純薬工業】
- ・ アセトン (残留農薬試験用・PCB 試験用) 【関東化学】

GC/MS システム

PerkinElmer 社製 TurboMass システム

《GC の条件》

カラムは DB 5MS (30m×0.25mm、0.25 μm、J&W Scientific) を使用、
温度条件は以下の通りである：

70°C 1 分保持—10°C/分で 200°C まで上昇—5°C/分で 280°C まで上昇

注入口：240°C、トランスファーライン 300°C。キャリアガスはヘリウム
(99.999%) で流量は 1 ml/min、スプリットレスで 1 μl 注入。

《MS の条件》

電子イオン化 (EI) 法 (70 eV) ,フルスキャン法または SIM 法で測定した。

調整

標準品を各 1 mg 秤量し、アセトンで 1 ml に希釈して 1000 ppm 溶液を作製し、
用時アセトンで適当な濃度に希釈し用いた。

◆検討 2. 有機リン系農薬尿中代謝物の測定

多くの有機リン系農薬は体内で代謝分解され、尿中にジアルキルリン酸 (DAP) として排出される⁵⁸⁾。通常、リン酸塩の形では極性が高く気化しないため GC/MS で測定できない。そこで、このような物質は誘導体化を行うことによって、気化しやすい化合物に化学変換してから測定する¹⁰⁾。今回の DAP

に関しては、リン酸部分を誘導体化によりエステル化して、揮発性を高める必要がある。この誘導体化の方法にはベンジル化、エチルエステル化、ペンタフルオロベンジル化などがあるが¹⁰⁾、今回は Reid ら⁹⁾、および Hardt ら⁸⁾の方法を応用したペンタフルオロベンジルブロマイド (PFBBr) によるエステル化の方法について検討した(Fig. 2)。

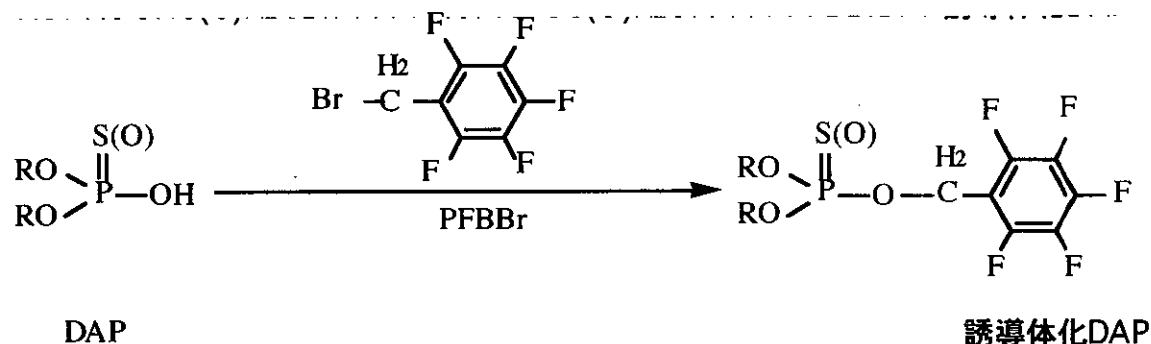


Fig. 2. ペンタフルオロベンジルブロマイド (PFBBr) によるジアルキルリン酸 (DAP) の誘導体化

材料

試薬

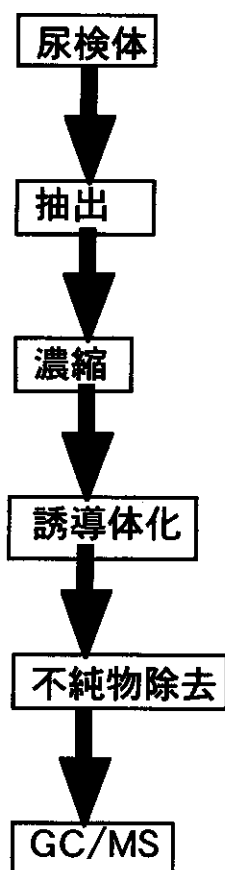
- | | |
|--|------------------|
| • Dimethyl phosphate tetramethylammonium salt (DMP) | 【林純薬工業】 |
| • Diethyl phosphate (DEP) | 【林純薬工業】 |
| • Dimethylthiophosphate ammonium salt (DMTP) | 【林純薬工業】 |
| • Diethylthiophosphate ammonium salt (DETP) | 【林純薬工業】 |
| • Dibutylphosphate (DBP) | 【関東化学】 |
| • α -Bromo-2,3,4,5,6-pentafluorotoluene (PFBBr) | 【Acros Organics】 |
| • 水素化ホウ素ナトリウム | 【関東化学】 |
| • 塩化ナトリウム | 【和光純薬工業】 |
| • 無水硫酸ナトリウム | 【和光純薬工業】 |
| • 炭酸カリウム | 【関東化学】 |
| • ジエチルエーテル (残留農薬試験用・PCB 試験用) | 【関東化学】 |
| • アセトニトリル (残留農薬試験用・PCB 試験用) | 【関東化学】 |

- ・ n - ヘキサン (残留農薬試験用・PCB 試験用)
- ・ トルエン (残留農薬試験用・PCB 試験用)
- ・ Florisil PR (130°C一晩活性化した後使用)
- ・ BONDESIL-PSA

【関東化学】
 【関東化学】
 【和光純薬工業】
 【GL Sciences】

方法

分析の流れを簡単に示す。



《誘導体化の方法》

- 1) 各 DAP をメタノールに溶解し、100 μ mol/ml とした。
- 2) 内部標準の DBP をメタノールに溶解し、10 mg/L に調整した。
- 3) DAP, DBP 溶液を 10ml スクリューキャップ付試験管に取り、窒素気流で蒸発乾固、アセトニトリル 1 ml、 K_2CO_3 10 mg、PFBBBr 50 μ l を加え、キャップをし、80°C水浴中で反応させた。

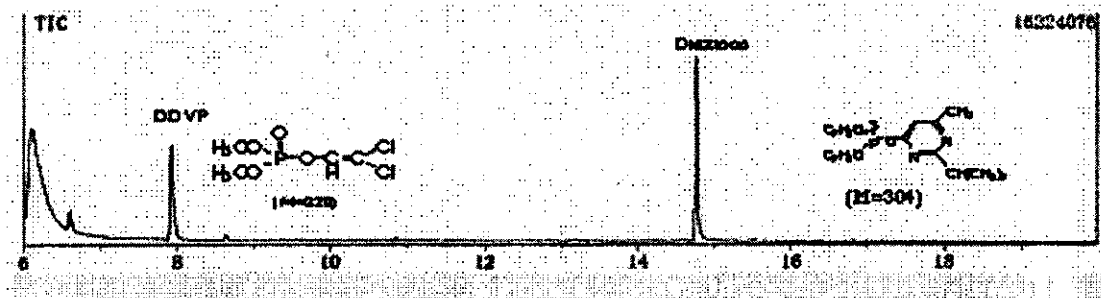
C. 研究結果および考察

◆検討 1. GC/MS によるジクロロボス (DDVP) およびダイアジノンの分析

代表的な有機リン系農薬であるジクロロボスとダイアジノンを対象に、GC/MS による両化合物分析のための基礎的な検討を行った。

ダイアジノンおよび DDVP アセトン溶液 20 ppm を GC/MS に注入、全イオン量の測定値によるクロマトグラム (TIC: Total ion chromatogram) を示す (Fig.2)。DDVP は 8 分、ダイアジノンは 15 分のところにピークが出現した。

Fig. 2. ジクロロボス (DDVP) およびダイアジノンの TIC



8 分に出現した DDVP ($C_4H_7Cl_2O_4P$) のピークから、Fig.3 のようなマススペクトルが得られた。

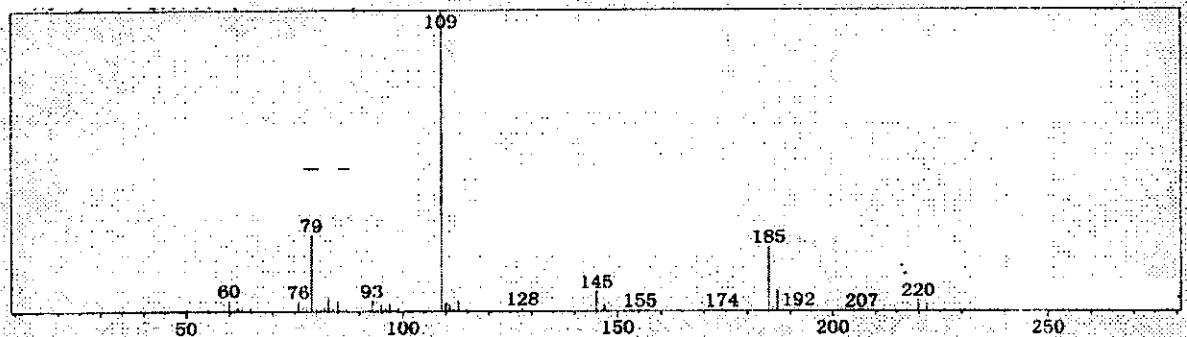


Fig. 3. DDVP のマススペクトル

m/z 220 は DDVP から電子 1 個が失われて生成し、試料分子の分子量を反映

する分子イオン (M^+) ピークである。分子イオンよりも低質量側に出現するイオンはフラグメントイオンと呼ばれ、分子イオンがイオン化室中で分解反応を起こして生成したものである。最も多く生成する m/z 109 のフラグメントイオンがベースピークとして観察された。その他、脱塩素した m/z 185、塩素イオンが転移した m/z 145、 m/z 79 イオン等 DDVP に帰属するフラグメントイオンが認められた。このように種々のイオンを考察することにより対象化合物の構造解析が可能となる。

ダイアジノン ($M=304$) のマススペクトルからも同様に、分子イオンピーク m/z 304、ベースピーク m/z 137、その他のフラグメントイオン m/z 276 ($M^+-C_2H_4$)、248 ($M^+-2C_2H_4$)、199…などが読み取れる (Fig.4)。

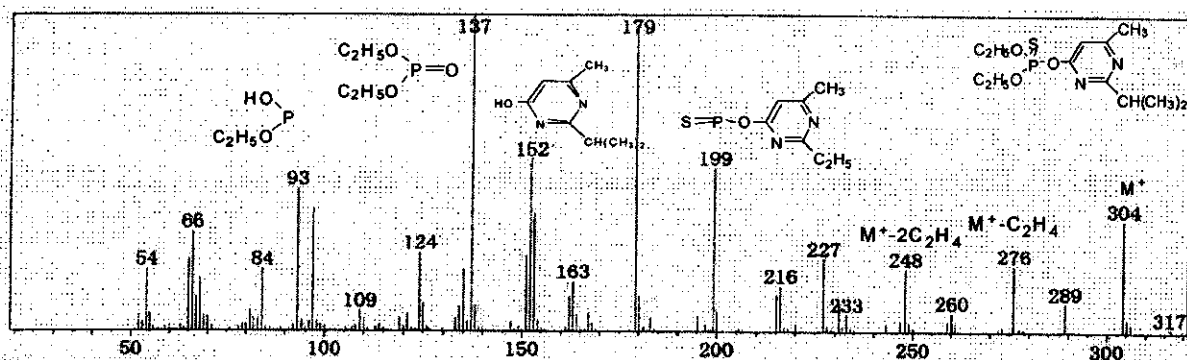


Fig. 4. ダイアジノンのマススペクトル

以上は Full Scan 法によって分析したものであるが、GC/MS のもう一つの機能として、高感度分析が可能な SIM (selected ion monitoring) 法がある。これは化合物に特異的なイオンを選び、時間経過でのイオン量の変化を追うものである。通常分析では、スペクトルを得るために数百の質量範囲を一秒以下の時間でスキャンしなければならないが、SIM では測定質量を固定することによって、特定のイオンのみを連続してスキャンすることになる⁴⁾。こうすることによって1~2桁の高感度分析が可能となる。

これを利用して、ダイアジノンについて m/z 304, 276, 248 を、DDVP については m/z 220, 185, 145 を SIM で検出した (Fig.5)。Full Scan では 1 ppm 程度までしか検出できなかったが、この測定方法により 100 ppb の濃度まで十分検出

が可能となった。

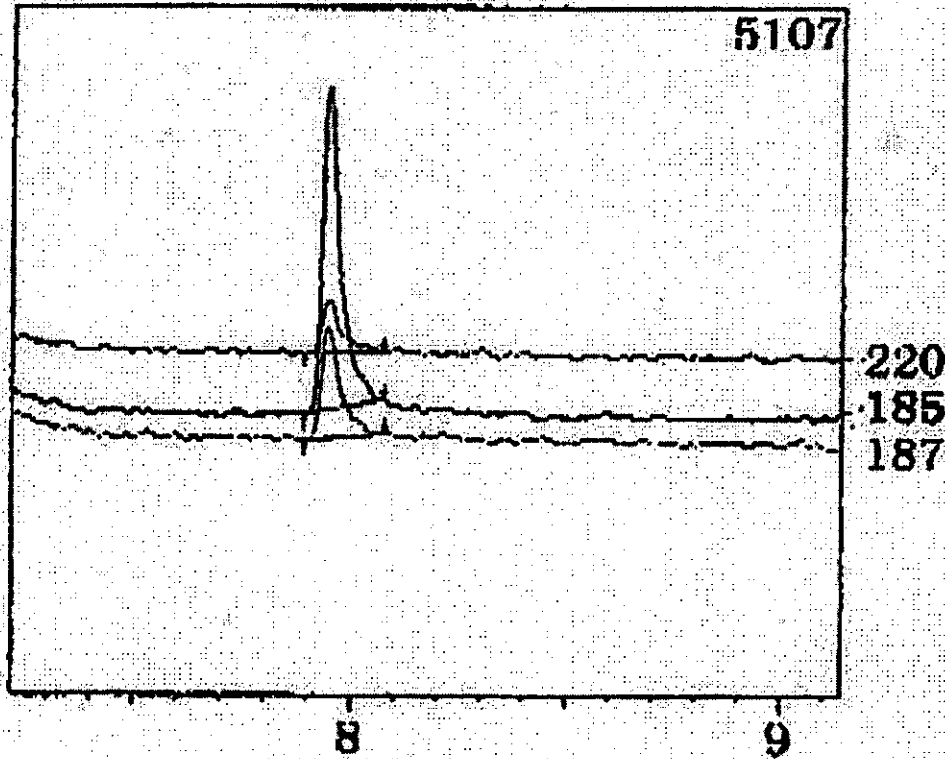


Fig. 5. SIMによるDDVPの分析(100ppb)

◆検討 2. 有機リン系農薬尿中代謝物の測定

PFBBBrによる誘導体化のでは、チオリン酸型のジメチルチオホスフェートDMTPとジエチルチオホスフェートDETPは室温において速やかに反応するが、リン酸型のジメチルホスフェートDMPとジエチルホスフェートDEPは加熱して反応させる必要があった。しかし反応温度の上昇に伴って、チオ型はリン酸型に分解する^{8,9)}ことがこれまでの報告からわかっている。このため、Reidらはチオ型と非チオ型とを別々の温度(室温-チオリン酸型、90°C-リン酸型)