

mの表層部に多く分布し、1日での垂直分布の変動は無いと推測された。中間塩素処理時のピコプランクトンの凝集沈殿での平均除去率は89%であった。

琵琶湖で増加したピコプランクトンにより、毎年春～初秋にかけて下流の浄水場ではろ過水濁度が上昇する現象が見られた。琵琶湖のピコプランクトンは発生時期により大きさが異なるため、ろ過水中に出現する細胞数と濁度の関係が発生時期により異なっていた。

ろ過水濁度とろ過水中のピコプランクトン数の関係は、春期では1万細胞/mL以下で濁度が0.1度程度であったが、夏期は5万細胞/mLで濁度が0.1度を超過した。ピコプランクトン細胞数と濁度の回帰式の傾きから、ピコプランクトンのみの濁度を推定すると、濁度(0.1度)の寄与率は、通常時は春期が1.5万細胞/mL、夏期が8万細胞/mLとなった。細胞が大きいほど濁度への寄与率が大きいことが判明した。ピコプランクトン数が2万細胞/mL程度の場合、ろ過水濁度は通常0.08程度であるが、8月下旬には最高0.16度まで上昇した。この時期はアファニゾメノンが増加した時期であり、アファニゾメノンの細胞がろ過水に漏出した結果、ろ過水濁度が上昇したものと思われる。

9. 浄水処理システムにおける同化性有機炭素の生成および除去の評価

AOC濃度は凝集・沈殿処理により減少し、急速ろ過池ではその直前の中塩素処理を行うと凝集・沈殿処理後のAOCより増加していることが分った。AOC+AOCFP濃度は原水の場合、112 μ g/Lで、AOC濃度95 μ g/Lより大きかった。これは原水におけるAOC前駆物質の存在を意味する。急速ろ過処理水に対するAOC+AOCFP濃度は凝集・沈殿処理水のAOC+AOCFP濃度より増加していることが分かった。このような結果が得られたのは、ろ過池において懸濁性有機物質が塩素と反応し、溶存態のAOC成分を溶出させたためと考えられた。

10. 消毒工程におけるピコプランクトン由来AOCの生成

Pseudomonas fluorescens P17株を塩素処理(残留塩素1.2~1.5mg/lの条件)したときに生成するAOCは、 0.27×10^{-6} μ g/cellとなった。この値は、先に貯水池水をサンプル水として求められた細菌のAOC原単位 0.27×10^{-7} μ g/cellと比べると1オーダー低い値である。この原因として、*Pseudomonas fluorescens* P17株の細胞サイズが、 $1.5 \sim 3.0 \times 0.5 \sim 0.8$ μ mと細菌にしては大型であり、ピコ植物プランクトンに匹敵するサイズであることが考えられる。事実、このAOC原単位は、同じく貯水池水をサンプル水として求められたピコ植物プランクトンのAOC原単位 0.77×10^{-6} μ g/cellと近い値である。また、今回用いた細胞は培養細胞であるため、自然界に存在する場合と比べて栄養状態がよかった可能性もある。今後は、サイズの異なる細菌についても検討すると同時に、栄養状態の異なる培養細胞についても検討する必要がある。

昨年度調査した貯水池におけるピコ植物プランクトンの最大値は、 1.3×10^5 cells/mlであり、琵琶湖では 10^6 cells/mlオーダーのピコプランクトンが計数されている。凝集沈殿処理におけるピコ植物プランクトンの除去率は60%程度からせいぜい80%であることから、急速ろ過処理もあわせて90%の除去がせいぜいと仮定する。すると消毒工程に流入する水中のピコ植物プランクトン数は、もっともピコ植物プランクトンが増殖する夏季を想定して、 $10^4 \sim 10^5$ cells/mlと考えられ、これが塩素により可溶化してAOCを生成する量は、7.7~77 μ g/lとなる。一方、6~9月を除く時期では、ピコ植物プランクトン濃度は1オーダー以上小さくなることから、ピコ植物プランクトン由来のAOC生成はほとんど無視できるレベルまで小さくなる。

今回のAOC原単位は残留塩素1.0mg/lの時のものであり、ポテンシャル、すなわち最大リスクに近い値である点も考慮にいれる必要がある。

貯水池水をサンプルとして、ピコ植物プランクトン及び細菌のAOC生成原単位を求めたところ、残留塩素1.0mg/lの塩素処

理でそれぞれ $0.77 \times 10^{-6} \mu\text{g}/\text{cell}$, $0.27 \times 10^{-7} \mu\text{g}/\text{cell}$ となった。両者を比較すると細菌の AOC 生成原単位は、ピコ植物プランクトンの 1/30 程度であった。この違いは、細胞サイズに由来するのではないかと考えられる。

一方、*Pseudomonas fluorescens* P17 株の培養細胞を用いて求めた AOC 生成原単位は、 $0.27 \times 10^{-6} \mu\text{g}/\text{cell}$ となり、貯水池水をサンプルとした場合に比べて、1 オーダー高い値となった。*Pseudomonas fluorescens* P17 株は細胞サイズが $1.5 \sim 3.0 \times 0.5 \sim 0.8 \mu\text{m}$ と細菌にしては大型であり、ピコ植物プランクトンに匹敵するサイズであったために、AOC 生成原単位も大きな値となったと考えられる。

1.1. 同化性有機炭素の調査

浄水場以降の配水システム中の AOC の挙動について調査した結果、給配水は浄水場出口水より高い場合が多い傾向を示していた。AOC と細菌増殖能の関係を詳細に調査した結果、従属栄養細菌は AOC 0.011mg-C/L 以下で増殖しなくなり、一般細菌は 0.022mg-C/L 以下で増殖しなくなる結果であった。塩素が存在する場合の細菌の挙動を調査した結果、遊離残留塩素を保持すれば細菌増殖は抑制できるという結果であった。

E. 結論

水道水の質の向上の観点を踏まえて、高品質を求める消費者に対応することが求められ、TOC を水質基準項目として導入した以降の実態と基準値の見直しのために、詳細な検討が必要となってきた。昨年度と本年度の浄水における TOC の平均値はそれぞれ 0.64mg/l と 0.68mg/l 、中央値は 0.55mg/l と 0.64mg/l であった。また、最大値はそれぞれ 1.90mg/l と 2.26mg/l 、90%タイル値は 1.00mg/l と 0.97mg/l で、 2mg/l を超えた浄水は、平成 16 年度は 0 試料、平成 17 年度は 670 浄水中 3 試料 (2.00 、 2.00 、 2.26mg/l) のみであった。TOC を本格的に導入して以来の浄水における TOC は、 2mg/l を越えることはほとんどないと考えられた。

要検討項目の一つである塩化ビニルの実態把握として、水道原水に使用している地下水 3 カ所と河川水 4 カ所およびその給水 4 カ所を測定した結果、すべての地点において設定した定量下限値未満であった。固相抽出-LC/MS 法による PFOS および PFOA の測定条件を検討し、測定を可能とすることができた。定量下限値はいずれも 5ng/l であった。この分析方法で、水道原水及び浄水から、PFOS、PFOA がわずかながら検出された。

水中に存在する BaP を含む 6 種の多環芳香族炭化水素は、塩素と反応して一塩素置換体もしくは二塩素置換体を生成し、24 時間後にも塩素置換体の存在を確認することができた。

下水処理場放流水から 2-MIB、ジェオスミンが検出され、下流の環境水のカビ臭に影響していることが明らかとなった。したがって、水道原水の取水口上流に下水処理場がある場合、かび臭物質の挙動に注意が必要であることが明らかとなった。実証プラント実験の結果から、オゾン注入率 (D)、オゾン接触時間 (T) に依存し、 $D \times T$ 値が 20 未満では除去率が急激に低下する。したがって、高濃度のかび臭が発生した場合には、オゾン注入率と接触時間による除去率に注意をする必要がある。水道用資機材由来の化学物質の臭気閾値については、含有成分の中でトルエンが著しく閾値が低く、メチルエチルケトン、シクロヘキサノン、テトラヒドロフラン、アセトンの 4 物質とは 2 桁の相違があった。

16S rRNA 遺伝子については、すべての浄水場の原水・活性炭試料から増幅産物を得ることができた。浄水場 B の原水、活性炭試料について、16S rRNA 遺伝子のクローニングライブラリーを構築した。原水と活性炭試料では、細菌群集構造が大きく異なり、原水中の細菌群集構造は浄水場によってばらつきがあるものの、活性炭上の細菌群集構造のパターンは浄水場間で類似していることが示唆された。

線虫等の不快生物の浄水からの検出例が認められ、河川系原水を処理する浄水場で

は漏出リスクが高く、特に夏期の漏出リスクが高いことが明らかとなった。

ピコプランクトンは表層から水深 5.5m の水深部に大部分が分布し、1 日での垂直分布の変動は無いと推測された。水源のピコプランクトンの増殖により、浄水場原水のピコプランクトン数も増加し、ろ過水の濁度も上昇した。AOC 濃度は凝集・沈殿処理により減少し、急速ろ過池ではその直前の中塩素処理を行うと凝集・沈殿処理後の AOC より増加していることが分った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) T. Nishimura, S. Iizuka, N. Kibune, M. Ando and Y. Magara. Study of 1,4-dioxane intake in the total diet. J. Health Sci., 51(4), 514-517, 2005..

2. 口頭発表

1) 山下孝光, 坪上雄一, 中西正治: 村野浄水場における粒状活性炭吸着池からの生物漏出対策, 第 49 回研究発表会 (日本水道協会 関西地方支部), p126-129, 2005.

2) 金志勲, 千葉信男, 許春蓮, 許仕栄, 秋葉道宏, 中野和典, 西村修, オゾン処理による同化性有機炭素生成能の測定方法の開発, 第 39 回日本水環境学会年会, p. 528, 千葉, 3 月, 2005.

3) 金志勲, 中野和典, 千葉信男, 宮川徹也, 秋葉道宏, 西村修, 西村哲治, 安藤典, オゾン処理による同化性有機炭素とトリハロメタン生成能の解析, 第 56 回全国水道研究発表会, p. 610~611, 米子, 5 月, 2005.

4) Jihoon Kim, Shunhwa Lee, Shirong Xu, Michihiro Akiba, Munehiro Nomura, Nobuo Chiba, Kazunori Nakano, Osamu Nishimura, Assimilable organic carbon formation from algogenic organic matter and its variation by chlorination, International Water Association (IWA) - Asia Pacific Regional (ASPIRE) Conference, July, 2005 (Singapore).

5) Osamu Nishimura, Ji-Hoon Kim,

Michihiro Akiba, The Problem of Eutrophication Control in Water Resources: Formation of Assimilable Organic Carbon from Algogenic Organic Matter and Its Variation by Chlorine Oxidation, The First International Conference on Sustainable Water Environment: Water Resource and Quality Management, November, 2005 (Taiwan, R.O.C.).

6) Tetsuji Nishimura, Eri Ayano, Maiko Tahara, Reiji Kubota, Kumiko Shimizu, Masanori Ando and Hiroshi Tokunaga. Identification of chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons. 25th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs. August, 2005 (Toronto, Canada)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）

分担研究報告書

最近の科学的知見に基づく水質基準の見直し等に関する研究

——微生物分科会報告書——

主任研究者 眞柄 泰基 北海道大学大学院

分担研究者 遠藤 卓郎 国立感染症研究所

研究要旨：当該分担研究班では水道水の微生物汚染にかかる諸問題を包括的に検討し、微生物学的な安全性の向上・確保に向けて提言することを目的としている。

従属栄養細菌・一般細菌にかかる検査法、原水ならびに給水における検出状況を検討した。両者の検出対象が異なることから、検出される菌数に1 log以上の差が認められる。浄水場の管理に重点を置けば迅速性に富み直ちに管理に反映することのできる一般細菌が、バイオフィルムの定着など配水系統の管理には従属栄養細菌の利用が適していると考えられる。微生物関連の水質基準として規定されている大腸菌検査では不検出の状態が維持されている。この事実から、総合的に水道水中に大腸菌の汚染は無いとの蓋然性は主張できるが、統計学的には測定値に基づいて大腸菌汚染を否定することはできない。データの統計学的意義に依拠した検討から検査の持つ意義を議論した。

耐塩素性病原微生物対策でのごく短期間の高度な汚染による集団感染発生の予兆を検出するための検査方法として1日に100mlの試料を3本ずつ測定する最確値（MPN）法が適用できる可能性を論じた。

クリプトスポリジウムおよびジアルジアの遺伝子検査法の開発、珪藻土を用いたケーキろ過によるクリプトスポリジウムやジアルジアの（オー）シストの除去性能試験を行った。その結果、*Cryptosporidium* 属および *Giardia* 属を対象とする遺伝子検出法の開発を行った。当該研究では Loop-Mediated Isothermal Amplification（LAMP法）を取り上げ、クリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出を目的としたプライマーセットの開発を行うことができた。本方法はわが国で独自に開発された手法で、迅速性、簡便性、特異性に優れた方法である。

A. 研究目的

当該分担研究班では水道水の微生物汚染にかかる諸問題を包括的に検討し、微生物学的な安全性の向上・確保に向けて

提言することを目的としている。本年度は日本水道協会水質試験方法等調査専門委員会の報告書を基に従属栄養細菌・一般細菌にかかる検査法、原水ならびに給

水における検出状況を検討した。微生物関連の水質基準として規定されている大腸菌検査では不検出の状態が維持されている。この情報の統計学的意義について議論した。耐塩素性病原微生物対策の一環として、クリプトスポリジウムおよびジアルジアの遺伝子検査法の開発、珪藻土を用いたケーキろ過によるクリプトスポリジウムやジアルジアの（オー）シストの除去性能試験を行った。耐塩素性病原微生物対策に関しては、従前の形態学を基礎とした検査法の煩雑さと経験不足から現場での対応に問題が生じている。当該研究を通して、新たな検査体制への提言を目指している

B. 研究方法

1) 従属栄養細菌および一般細菌：

1-1) 試料採水時における放水時間の影響

最初に、試料採水時における放水時間の影響を調査した。3 水道事業体の蛇口において、5L/分の放流速度で0、1、5、10、15、30 分後に採水したものを試料とした。測定項目は従属栄養細菌とし、R2A 培地（DIFCO 製）を用い、20℃で7日間培養した。また、残留塩素も測定した。

1-2) 全国的な実態調査

22 水道事業体の水源から浄水処理過程、末端給水栓を試料とした。原水は河川水、湖沼水、地下水等の計 76 地点、処理過程水は沈澱処理水、ろ過処理水、オゾン処理水、活性炭処理水等の計 69 地点、浄水は配水、給水栓水等の計 211 地点で、合計 356 地点の 446 試料であった。項目は従属栄養細菌、一般細菌、水温、pH 値、

濁度、全有機炭素、260nm 紫外線吸光度、残留塩素とした。水質以外の項目としては、浄水場から試料採水地点までの距離と到達時間、及び水道管の設置年度を調査した。従属栄養細菌の試験では、給水栓からの採水は蛇口からの汚染等を防ぐ目的で蛇口の消毒（火炎又はアルコールによる）と 5L/分の放流速度で 5 分間の放水を行った。従属栄養細菌は R2A 培地（DIFCO 製）を用い、20℃で 7 日間培養した。その他の項目は上水試験方法（2001 年版）に準拠して行った。

2) リスク評価：

2-1) 大腸菌：現在、水道水の水質基準では糞便汚染の指標として大腸菌が用いられる。大腸菌の測定値に基づいて水の安全性を議論する場合には、実際の大腸菌の濃度ははるかに低い可能性があるものの、実測値から統計学的に保証できる上限値を取り扱うことが必要となる。

原水の大腸菌濃度、浄水処理工程の管理、残留塩素濃度の確認などにより、総合的に大腸菌が不在である蓋然性を主張することは可能であるが、測定値に基づいて大腸菌がまったく不在であるという主張はできない。そこで、塩素消毒の結果として期待される大腸菌濃度の推定値と、測定値から統計学的に導ける大腸菌濃度の上限値について議論する。

2-2) クリプトスポリジウム等耐塩素性原虫類：一般に、1 回の測定で微生物濃度を定量的に知るには、定性試験に比べて大容量の試料が必要となる。例えば濃度が 1 個/L 程度の試料を 1 回の測定で定量するには、数十 L の試料を用いる必要がある。これは、毎日の測定としては作

業負荷として大きすぎる。従って、クリプトスポリジウムなどの病原微生物の汚染実態の把握は、試料水の液量を減らし、継続・かつ連続的な検査を行うことにより、期間を通した水中の濃度を保障することが重要である。

3) 珪藻土を用いたケーキろ過による耐塩素性病原微生物除去性能試験：クリプトスポリジウムのオーシストの代替粒子として直径 3 μ m の蛍光ビーズ (クリプトレーザーM、PMMA 製、水道技術研究センター) を用いた。本研究ではケーキろ過では水を圧送することから、圧力によるオーシストのひずみを考慮して粒径

(5 μ m) より小さく設計した。ケーキろ過試験装置は、支持体は直径 47mm の小型の試験装置を用いた。原水タンクにろ過・脱イオン水を入れ、ビーズを所定の濃度となるよう添加した。珪藻土はラジオリイト 200 番 (昭和化学) を使い、0.25 ~ 1.6kg/m² の条件で支持体上にケーキ形成を行った。ろ過性能評価は原水中のビーズ数とろ液中に漏出したビーズ数の比から求めた。なお、実験で用いたろ速は 10m/h 程度を目標に原水タンクの圧力を調整した。

4) クリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出を目的とした LAMP プライマーの設計：クリプトスポリジウムの 18S rRNA 遺伝子を標的遺伝子として検出用のプライマーの設計を行った。一般に、18S rRNA 遺伝子は高い保存性があることが知られており、比較的大きな分類を行う際の標的遺伝子とされる。クリプトスポリジウムの 18S rRNA 遺伝子は全長約 1,700bp (Accession No.L16996 は

1746bp) である。プライマーの設計に際しては、クリプトスポリジウム間の塩基配列の相同性の確認を経て設定した。また、塩基配列そのものが特許の対象となっていることから、特許調査を併せて行った。

クリプトスポリジウム検出用プライマーの目標とした性能は以下の通りである。

- クリプトスポリジウム属に属する全種 (株) を対象に検出すること (属特異性)
- 非クリプトスポリジウムは検出しないこと
- 反応時間は 60 分以内とする
- 検出感度は既存の PCR 法と同等もしくは、それ以上とする

LAMP 反応用のプライマーは標的遺伝子について、3' 末端側 5' 末端側でそれぞれ 3 つの領域を規定し、この 6 領域を標的とした 4 種類のプライマーを設計した

C. 研究結果

1) 従属栄養細菌：2004 年の水質基準改正においては、一般細菌から従属栄養細菌への変更が検討されたが、従属栄養細菌にかかる情報の不足が指摘されるにとどまった。本件に関しては日本水道協会水質試験方法等調査専門委員会で詳細な調査が行われており、当該研究では同調査専門委員会が行った平成 17 年 8 月の調査結果の提供を受けて、従属栄養細菌と一般細菌の相関、水源による分布・濃度の違い、浄水処理の前後での菌数比較などについて検討した。提供を受けた調査結果は以下のとおりであった。

- ① 従属栄養細菌の試料を採水する場合は、5L/分の放流速度で 5 分以上の放

水を行うことが必要であった。

- ② 統計処理の結果から、河川水と湖沼水における従属栄養細菌と一般細菌は対数正規分布をしており、従属栄養細菌は一般細菌の約 16 倍程度の菌数が得られた。
- ③ 処理過程での変化では、一般細菌は塩素処理を行うと急激に減少し、ろ過処理水では検出されなかったが、従属栄養細菌は残存する場合があった。
- ④ 浄水と給水における出現状況は、従属栄養細菌で 58%、一般細菌で 3% であった。また、従属栄養細菌の検出率は浄水の 46% に対して給水では 64% と配水システムにおいて高くなっていた。

2) 統計学的観点からの水質基準等の評価：現在、水道水の水質基準では糞便汚染の指標として大腸菌が用いられる。原水の大腸菌濃度、浄水処理工程の管理、残留塩素濃度の確認などによって総合的に大腸菌が不在であることの蓋然性は主張できるが、測定値に基づいて大腸菌が不在であるという主張はできない。大腸菌の測定値に基づいて水の安全性を議論する場合には、実測値を基に統計学的

測定頻度	水量	感染確率	健康被害
週 1 回、500mL		-3.2 Log ₁₀ [infection/year]	-6.0 Log ₁₀ [DALY/year]
週 2 回、300mL		-3.3 Log ₁₀ [infection/year]	-6.2 Log ₁₀ [DALY/year]
週 5 回、300mL		-3.8 Log ₁₀ [infection/year]	-6.6 Log ₁₀ [DALY/year]

また、ごく短期間の高度な汚染による集団感染発生の予兆を検出するための検査方法の条件は以下のようなものである。

- 1. 測定間隔が十分短いこと

に保証できる上限値を取り扱うことが必要で、この作業で得られる大腸菌の濃度は実際の濃度よりはるかに高い可能性がある。すなわち、大半の浄水場では毎日の大腸菌検査が不検出であるが、このことにより保障される濃度は算術平均値で 1.3×10^4 [CFU/mL] となる。これに対して塩素処理による不活化の検討から、浄水池出口において遊離塩素 0.1mg/L 以上が確保されているとすると、20Log 以上の不活化を行っていることになり、原水の大腸菌濃度を考慮すると、 10^{17} [CFU/mL] よりも低い値をとるものと推定される。

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原性物に関する検査では、検査法が煩雑であることから検査回数が限られている。これを補うべく、1 回の測定で微生物濃度の定量性を求めて大容量の試料が必要となる。例えば濃度が 1 個/L 程度の濃度の試料を 1 回の測定で定量するには、数十 L の試料を用いる必要が生じる。この代替法として、試料水を減らして継続的（連続的）な検査を行うことの便益性を検討した。このためには、年間を通した水中の濃度を把握する努力が必要で、多くのパラメータの仮定の下ではあるが以下のような考察が可能である。

- 2. 測定地点以降の処理に問題点がないこと
- 3. 検出された場合に対応が容易であること

例として、1日に100mlの試料を3本ずつ測定した場合に推定可能な濃度レベルを 表—1にまとめた。

表—1. 100mL³本法の検査結果と、水中のクリプトスポリジウム濃度の95%信頼区間

1本あたりの水量 [L]	0.1	0.1	0.1	0.1
本数[本]	3	3	3	3
陽性数[本]	0	1	2	3
対応する濃度範囲 [oocysts/L]				
下側信頼限界	0.0	0.084	0.99	4.6
上側信頼限界	10	24	48	

3) 珪藻土によるケーキろ過：耐塩素性病原性物対策の基本はろ過除去であるが、比較的小規模の浄水施設ではその設置整備にかかる経済負担は小さくない。そこで、砂ろ過以外の方法として比較的安価な珪藻土を用いたケーキろ過の除去性能を検討した。珪藻土によるケーキろ過は工業、食品、銭湯や水泳プールなどの幅広い分野で利用されており、米国等では浄水処理への導入も検討されている

(Jerryら、2001)。珪藻土は珪藻の化石で、化学的に不活性であり、多孔質であることから通水性が高いケーキ素材として知られている。珪藻土の種類と量を適宜選択することでオーシストやジアルジアシストの除去が可能と考えられる。なお、珪藻土は食品添加物として登録されており、健康への影響は無いものと考えられる。ところで、現行の急速凝集沈殿ろ過によるクリプトスポリジウムのオーシスト除去は2~3 log₁₀程度が期待されている。これに対し、珪藻土を用いたケ

ーキろ過ではクリプトスポリジウムのオーシストの代替指標として3μmのビーズを用いた除去性能評価では、珪藻土の使用量を0.25~1.6kg/m²とした条件下で0.9~6.4 log₁₀の除去が確認された。

4) LAMP法を用いたクリプトスポリジウムおよびジアルジアの迅速遺伝子検出法の開発：わが国における水道水の耐塩素性病原性物対策は、もっぱらクリプトスポリジウムおよびジアルジアを対象に行われている。対策の骨子は浄水処理による濁度管理と定期的な原虫検査であるが、後者の原虫検査は操作が煩雑で時間を要することから水道事業体にとって負担は小さくない。このため、現行の検査法に変わる簡便・迅速な検査方法の開発が望まれている。当該研究事業では *Cryptosporidium* 属および *Giardia* 属を対象とする遺伝子検出法の開発を行った。遺伝子診断法としては Polymerase Chain Reaction (PCR法) およびその応用技術である Realtime PCR など多くの方法が知

表—2 珪藻土ろ過によるビーズ除去

実験 #	ビーズ um	珪藻土種類 #	使用量 kg/m ²	平均ろ圧 MPa	平均ろ速 m/h	ビーズ濃度(個/ml)		除去率	
						原液	ろ液	log表記	%表記
1	3	200	0.25	0.011	9.5	4.7E+03	6.8E+02	0.85	85.72311%
2	3	200	0.5	0.023	9.2	5.2E+03	1.7E+02	1.49	96.73550%
3	3	200	0.5	0.039	8.9	5.1E+03	2.0E+02	1.41	96.14344%
4	3	200	1.0	0.051	9.1	5.8E+03	3.6E-02	5.21	99.99939%
5	3	200	1.0	0.044	9.3	5.2E+03	1.8E-02	5.46	99.99966%
6	3	200	1.6	0.080	9.0	6.0E+03	2.2E-03	6.43	99.99996%
7	3	200	1.6	0.143	8.8	4.8E+03	6.7e-3未満	5.86以上	99.99986%

られており、研究も進んでいるが、当該研究では Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP 法) を取り上げ、クリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出を目的としたプライマーセットの開発を行った。本方法はわが国で独自に開発された手法で、特異遺伝子が短時間のうちに極めて多量に増幅されることから陽性反応を濁度の上昇として検知することができる。本方法は迅速性、簡便性、特異性に優れた方法として評価されている。

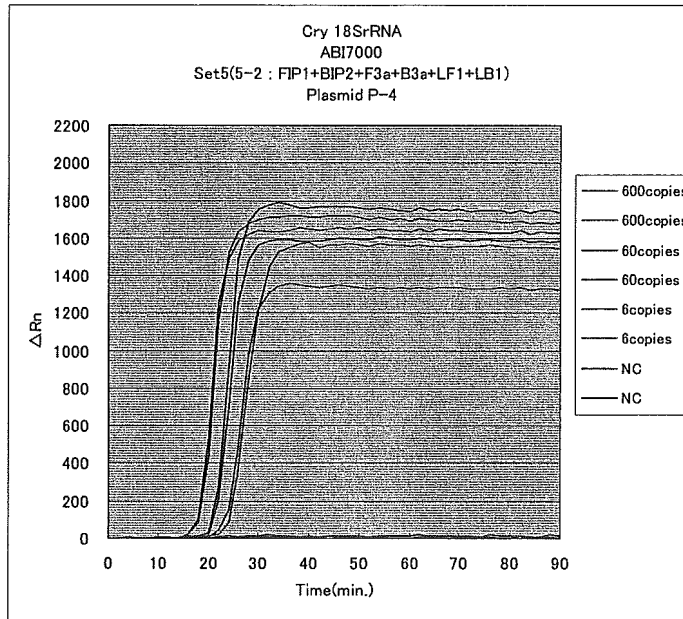
1) *Cryptosporidium* 属に特有な LAMP プライマーセット

Cryptosporidium 属の 18S rRNA 遺伝子を標的遺伝子とし、LAMP 法のプライマー候補の塩基配列を選択し *Cryptosporidium* 属内種での相同性、他の原生生物の塩基配列からの独立性に注意してプライマーの設計を行った。上記プライマー領域を含む 18SrRNA の部分配列を組み込んだプラスミドを鋳型として感度試験を行い、6 コピー (6 分子) を最少単位として 40 分以内に陽性反応を濁度計で検出した。本プライマーセットの特異性の検証には *C. parvum* および *C.*

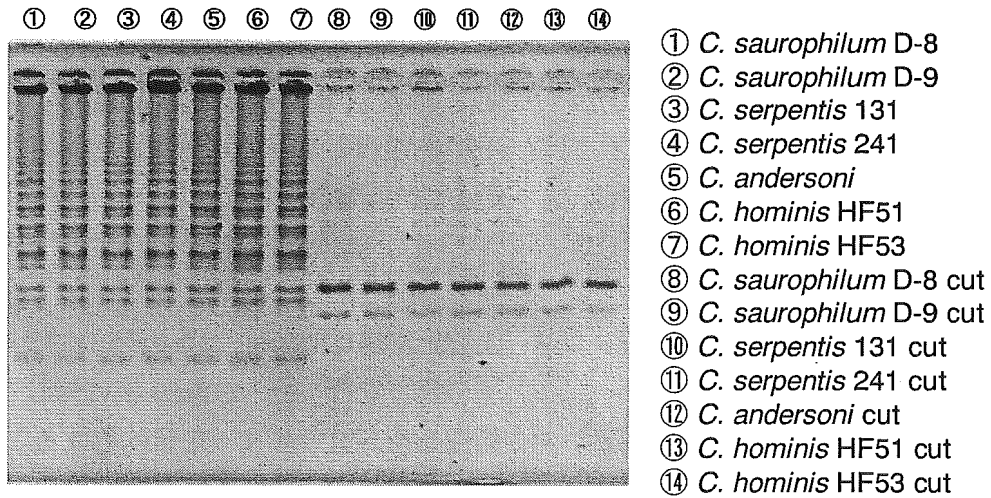
hominis (*C. parvum* human genotype) を中心とした 6 種類の鋳型を用いた。また、*Cryptosporidium* と同時に検出対象となっている *Giardia* とは交差反応しないことも確認した。本プライマーセットを用いて得られた真正の LAMP 産物の塩基配列には制限酵素 *SacII* の標的配列が含まれていることから、得られた LAMP 産物が *SacII* で消化されることで特異反応であることの確認が可能である。

2) *Giardia* 属に特有な LAMP プライマーセット

上記と同様に *Giardia* 属検出用のプライマーの設計を行った。 *Giardia* 属に対して特異性を持つプライマーを目的とすることから、対象遺伝子は 18S rRNA 遺伝子とした。 *Giardia* の種 (株) 間の遺伝子配列の相同性、他の原生生物からの独立性に注意して設計にあたった。標的遺伝子領域を挿入したプラスミドを作製し、これを鋳型として感度試験を行った。その結果、最少 6 コピーのプラスミドを含む反応液で 50 分以内に濁度計で陽性反応を検出した。得られた LAMP 産物は制限酵素 *MvaI* や *BanII* によって切断されることから、反応産物はジアルジア特異的な産物



LAMP 法によるクリプトスポリジウム特異遺伝子配列の検出

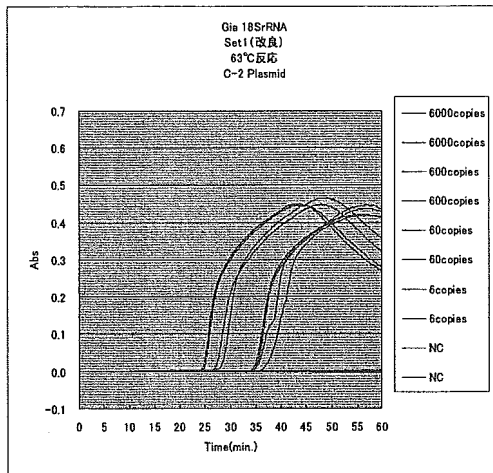


制限酵素 *Sac* II による LAMP 産物解析

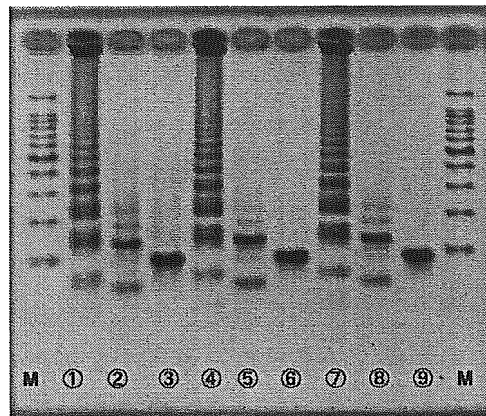
であることが確認された。また、特異性の検討として、荒川河川水の濃縮物から DNA を抽出した 2 検体、*Cryptosporidium*

の染色体 DNA を用いて交差反応の無いことを確認した。

Plasmid Clone-2



- M: 100bp DNA Ladder
 ① Plasmid C-2 no-cut
 ② Plasmid C-2 *Mva* I cut
 ③ Plasmid C-2 *Ban* II cut
 ④ Plasmid C-9 no-cut
 ⑤ Plasmid C-9 *Mva* I cut
 ⑥ Plasmid C-9 *Ban* II cut
 ⑦ Genomic DNA no-cut
 ⑧ Genomic DNA *Mva* I cut
 ⑨ Genomic DNA *Ban* II cut



Giardia の検出

以上の結果より、クリプトスポリジウム検出系及びジアルジア検出系は、感度、特異性、迅速性など目標の性能に十分達しているものと判断された。

D. 考察

1) 従属栄養細菌/一般細菌： 従属栄養細菌と一般細菌の検査では検出対照となる細菌類が異なり、検出される菌数に 1 log 以上の差が認められる。浄水場の管理に重点を置けば培養期間が短く（迅速性）直ちに管理に反映することのできる一般細菌が、バイオフィルムの定着など配水システムの管理には従属栄養細菌の利用が適していると考えられる。

2) リスク評価：微生物関連の水質基準として規定されている大腸菌検査では不検出の状態が維持されている。この事実から、総合的に水道水中に大腸菌の汚染は無いとの蓋然性は主張できるが、統計学的には測定値に基づいて大腸菌汚染を否定することはできない。また、現行では塩素処理による大腸菌の不活化を過小評価している可能が指摘された。

3) 珪藻土を用いたケーキろ過によるクリプトスポリジウムやジアルジアの（オー）シストの除去性能試験：耐塩索性病原微生物対策の一環として、クリプトスポリジウムおよびジアルジアの遺伝子検査法の開発、珪藻土を用いたケーキろ過によるクリプトスポリジウムやジアルジアの（オー）シストの除去性能試験を行った。珪藻土を用いたケーキろ過では多孔質の珪藻土を用いケーキを形成させ、加圧ろ過する方法である。当該研究ではクリプトスポリジウムのオーシストに模した 3 μ m のビーズを用いて除去性能評価を行ったが、珪藻土の使用量が 0.25 ~ 1.6kg/m² の条件下で 0.9 ~ 6.4 log₁₀ の除去を確認した。珪藻土を用いたケーキろ過はクリプトスポリジウム除去に有効に

機能すると期待された。

4) LAMP 法を用いたクリプトスポリジウムおよびジアルジアの迅速遺伝子検査法の開発：耐塩索性病原微生物対策に関しては、従前の形態学を基礎とした検査法の煩雑さと経験不足から現場での対応に問題が生じている。当該研究を通して、新たな検査体制への提言を目指した。当該事業で設計したクリプトスポリジウムおよびジアルジアの属特異性 LAMP 法用のプライマーの特異性ならびに感度（最少 6 コピーの鋳型で陽性反応）が保証されていることが示された。今後、水道原水中に存在する可能性のある原生生物あるいはその他の生物との交差反応性の有無を検証する予定である。併せて、実際の検査機関へ試験導入を図り、本検査法の便益性の検討を行う予定である。

E. 結論

従属栄養細菌・一般細菌にかかる検査法、原水ならびに給水における検出状況を検討した。両者の検出対象が異なることから、検出される菌数に 1 log 以上の差が認められる。浄水場の管理に重点を置けば迅速性に富み直ちに管理に反映することのできる一般細菌が、バイオフィルムの定着など配水システムの管理には従属栄養細菌の利用が適していると考えられる。微生物関連の水質基準として規定されている大腸菌検査では不検出の状態が維持されている。この事実から、総合的に水道水中に大腸菌の汚染は無いとの蓋然性は主張できるが、統計学的には測定値に基づいて大腸菌汚染を否定することはできない。データの統計学的意義に依拠した検討から検査の持つ意義を議論した。

耐塩素性病原微生物対策でのごく短期間の高度な汚染による集団感染発生の予兆を検出するための検査方法として1日に100mlの試料を3本ずつ測定する最確値(MPN)法が適用できる可能性を論じた。

クリプトスポリジウムおよびジアルジアの遺伝子検査法の開発、珪藻土を用いたケーキろ過によるクリプトスポリジウムやジアルジアの(オー)シストの除去性能試験を行った。その結果、*Cryptosporidium*属および*Giardia*属を対象とする遺伝子検出法の開発を行った。当該研究ではLoop-Mediated Isothermal Amplification(LAMP法)を取り上げ、クリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出を目的としたプライマーセットの開発を行うことができた。本方法はわが国で独自に開発された手法で、迅速性、簡便性、特異性に優れた方法である。

F. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

F. Kura, J. Amemura-Maekawa, K. Yagia, T. Endo, M. Ikeno, H. Tsuji, M. Taguchi, K. Kobayashi, E. Ishii and H. Watanabe. Outbreak of Legionnaires' disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup5. *Epidemiol. Infect.*, 134, 385-391, 2006.

Tadashi Itagaki, Shisuka Kinoshita, Mikiko Aoki, Naoyuki Itoh, Hideharu Saeki, Naoto

Sato, Junya Uetsuki, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo. Genotyping of *Giardia intestinalis* from domestic and wild animals in Japan using glutamate dehydrogenase gene sequencing. *Veterinary Parasitology.*, 133, 283-287, 2005.

遠藤卓郎、黒木俊郎. クリプトスポリジウム・ジアルジア感染症—話題の疾患と治療. *感染・炎症・免疫* 35(3), 77-79, 2005.

遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司. いま、知っておきたい話題 クリプトスポリジウム症. *日本醫事新報* No.4236, 33-36, 2005.

黒木俊郎、泉山信司、遠藤卓郎. [話題の感染症] クリプトスポリジウムの最近の知見. *モダンメディア* 51(4), 75-80, 2005.

遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司. <特集 ヒトと動物の新興感染症> クリプトスポリジウム症. *Medical Science Digest* 31(1), 27-30, 2005.

T. Izumi, Y. Itoh, K. Yagita, T. Endo, T. Ohyama. Brackish Water Benthic Shellfish (*Corbicula Japonica*) as a Biological Indicator for *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Ricer Water. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 72:29-37, 2004.

遠藤卓郎、泉山信司. 「病原微生物対策への理解に向けて」Safe Drinking-Water:for the Contorol of Microbial Hazards. *用水と廃水* 46(7), 43-49, 2004.

遠藤卓郎、黒木俊郎、泉山信司. <話題の感染症>ジアルジア症 *モダンメディア* 50(4), 73-77, 2004.

遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司. レジ

オネラ症 Update - 宿主アメーバから
みたレジオネラの水系汚染対策. 臨床と
微生物 32(4), 383-388, 2005.

検出用 Lamp プライマー (出願予定)

2. 学会発表

泉山信司、八木田健司、藤原正弘、遠藤
卓郎：紫外線照射による *Cyclospora*
cayetanensis の発育阻止、日本寄生虫学会
東日本大会 (東京)、2005 年 10 月

泉山信司、縣 邦雄、遠藤卓郎：浴槽水に
おける有機物汚染の蓄積に関する考察、
環境技術学会 (大阪)、2005 年 9 月

泉山信司、遠藤卓郎：我が国で発生した
Cryptosporidium 集団感染に関する考察、
日本臨床寄生虫学会 (東京)、2005 年 6 月

泉山信司、黒木俊郎、押部智宏、辻英高、
八木田健司、遠藤卓郎：クリプトスポリ
ジウム症の潜伏期間の再検討、日本寄生
虫学会 (米子)、2005 年 4 月

黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、宇根
有美、鳥羽道久、遠藤卓郎：爬虫類にお
ける *Cryptosporidium* の保有状況、日本原
生動物学会 (山口)、2004 年 11 月

泉山信司、八木田健司、遠藤卓郎、藤原
正弘：*Giardia* の紫外線消毒における付着
濁質の影響、環境技術学会 (大阪)、2004
年 9 月

泉山信司、八木田健司、下河原理江子、
朝倉登喜子、遠藤卓郎：温水環境より分
離した *Naegleria* 属アメーバの遺伝子型
別、日本寄生虫学会 (前橋)、2004 年 4 月

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定
を含む)

1. 特許取得

クリプトスポリジウム並びにジアルジア

分担研究報告書

最新の科学的知見に基づく水質基準の見直し等に関する研究
—消毒副生成物分科会—

主任研究者 真柄泰基 北海道大学創成科学共同研究機構 特任教授
分担研究者 伊藤禎彦 京都大学大学院工学研究科 教授
分担研究者 浅見真理 国立保健医療科学院水道工学部 主任研究官

研究要旨:消毒副生成物の全国的な生成状況の整理と、オゾン処理または塩素処理副生成物のうち、臭素酸イオン、NDMA(*N*-ニトロジメチルアミン)、ハロ酢酸を主な対象に、制御技術、分析技術および生成状況について検討を行った。消毒副生成物の検出状況としては、臭素酸が20件、その他クロロホルム、総トリハロメタン、ブロモジクロロメタンで数件の超過があった。臭素酸抑制に関しては、従来の制御法の安定性の確認とともに、注入率・溶存オゾン濃度制御併用の有効性について検証した。次亜塩素酸ナトリウム中の臭素酸および塩素酸抑制には次亜塩素酸の管理も重要であることがわかった。また、気道経由のTHM曝露量は経口曝露量に対して同等かそれ以上であることを示した。さらにNDMAは数ng/Lレベルで浄水に存在することを示した。また、規制対象のハロ酢酸等その他の消毒副生成物について現行の対策の安定性について確認した。この他、原水臭化物イオン濃度への人為由来の臭化物イオンの寄与は大きいですが、排出源での制御は難しく浄水場内での対応が必要であることを示した。

A. 研究目的

消毒副生成物の全国的な生成状況を取りまとめるとともに、昨年度に引き続き、オゾン処理または塩素処理副生成物のうち、臭素酸イオン、NDMA(*N*-ニトロジメチルアミン)、ハロ酢酸を主な対象に、制御技術、分析技術および生成状況について検討を行った。臭素酸については、低減化技術の有効性について実施設での実験をもとに検討した。イオン交換法による臭化物イオンの制御についても調査した。また、次亜塩素酸ナトリウム中の臭素酸イオンおよび塩素酸イオンについても詳細な検討を行った。NDMAについては、昨年度の成果をふまえて実施設での生成状況の調査を行った。また、昨年度に引き続き、ハロ酢酸の低減化技術の検証を行った。さらに、室内環境でのTHM曝露量について評価を行った。この他に、ハロゲン化合物の管理手法、特に臭素酸イオンや、有機臭素化合物の前駆体である臭化物イオンの発生構造に関する基礎的検討を行った。

B. 研究方法

水道水中の消毒副生成物の全国的な検出状況について、水道事業者が実施した試験結果を水道統計および水質管理目標設定項目の調査結果を基に解析を行った。

オゾン処理における臭素酸低減化対策については沖縄県、大阪府、大阪市、阪神水道企業団の

高度浄水処理を行っている水道事業者において、オゾン注入率、溶存オゾン濃度、オゾン送入パターンおよびpH制御による臭素酸生成抑制効果を調べた。また、次亜塩素酸ナトリウム中に含まれる臭素酸、塩素酸、亜塩素酸については、水道事業者等で使用している次亜塩素酸塩について測定した。また、臭素酸の前駆物質である水道原水中の臭化物イオンをハイドロタルサイト様化合物を用いての除去について室内実験を行った。

結合塩素処理あるいは水道原水中のタンパク系有機物の塩素処理副生成物であるNDMAについて分析法の確立をはかると共に、実態調査を行った。

水道水中に存在する揮発性消毒副生成物が揮発し、揮発したそれらの経気曝露をも考慮した総合曝露評価を行うため室内環境中のTHM濃度を測定し、曝露量の推定を行った。

ハロ酢酸その他副生成物については、水道事業者での実態調査を行うと共に、臭素酸イオンや有機臭素化合物の前駆体である臭化物イオンの、琵琶湖淀川水系における臭化物イオンの発生構造について調査した。

C. 研究結果

消毒副生成物の検出状況について解析した結果、基準項目中(水道統計対象地点約6000箇所)では、臭素酸が20件、その他クロロホルム、総トリ

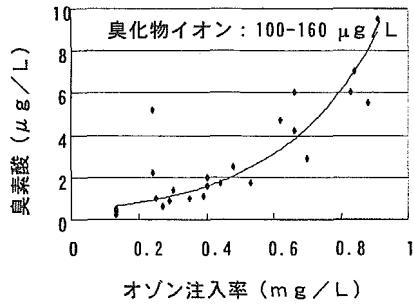


図-1 オゾン注入率と浄水の臭素酸濃度
表-1オゾン吹き込み条件

条件	残留O3 設定値 [mg/L]	吹込風量 [m3(N)/h]			槽数	接触 時間 [min]	反応 時間 [min]
		1段目	2段目	3段目			
通常	0.25	138	138	138	3	25	16
ケース1	0.1	138	138	138	3	24	16
ケース2	0.25	80	80	250	3	23	15
ケース3	0.25	207	207	207	2	13	13
ケース4	0.25	0	207	207	3	12	12

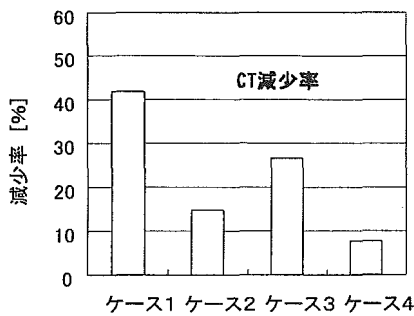
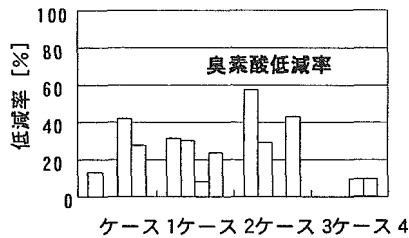


図-2 臭素酸及びCT減少率

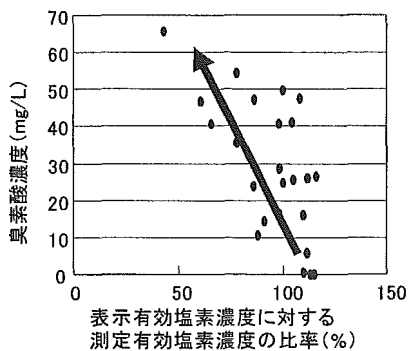


図-3 有効塩素比率と臭素酸との関係

ハロメタン、プロモジクロロメタンで1~4件の超過が見られた。水質管理目標設定項目(調査対象全2031事業体)のうち、残留塩素が目標値

1 mg/Lを超過した件数が101, その他塩素酸, 抱水クロラール, ジクロロアセトニトリルで2~6件の超過が見られた。

水質基準が改正される以前は、原水中の臭化物イオン臭化物イオンが比較的高い(100-150 μg/L)ため、臭素酸イオンが10 μg/Lをこえることがあった。O県では、図-1に示すように場合、オゾン注入率も0.5 mg/L程度以下に、また、溶存オゾン濃度を0.1 mg/L未満にすると臭素酸を10 μg/L以下、あるいはさらに低い濃度で制御することができることが明らかとなった。なお、この浄水場では、オゾン処理の前段の中間塩素処理により生成したTHMは生物活性炭で低減するため、浄水におけるTHMは増加しないことを確認した。

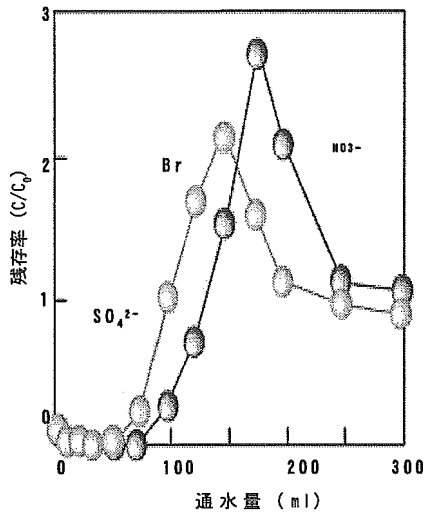
M浄水場では注入率・溶存オゾン併用制御(最大オゾン注入率0.8 mg/Lで溶存オゾン0.1 mg/L)を行い、夏季の臭素酸イオンの上昇を抑制しながら、トリハロメタン生成能と過マンガン酸カリウム消費量の制御が十分可能であることを示した。

O市では溶存オゾン濃度計を用いたオゾン注入率制御により、夏期においても最大臭素酸濃度6 μg/Lと充分制御ができた。トリハロメタン生成能、ハロ酢酸生成能等についても十分に制御されていることを確認した。さらにH水道企業団では、運転条件とpH低減の臭素酸生成量及ぼす効果について表-1に示すような条件で検討し、オゾン送入パターンを変更することで、図-2に示すようにCT値を維持しつつ効果的に臭素酸の抑制が可能であることを示した。

次亜塩素酸ナトリウム原液中の臭素酸、塩素酸、亜塩素酸について調査し、図-3に示すように有効塩素濃度が低いほど臭素酸および塩素酸濃度は高い傾向にあることを明らかにした。特に塩素酸については、製造時の生成を抑制すると共に、生成から使用までの期間を短縮することが重要であることを指摘した。また、次亜塩素酸ナトリウム中の臭素酸の生成速度は、温度によらないが、塩素酸生成速度は高温で増大することを示した。また、塩素酸生成量と有効塩素濃度の間に負の相関を見出した。一方で、ある水道事業者では純度の高い次亜塩素酸ナトリウムの使用、温度管理の強化等を実施した。これにより塩素酸濃度を約0.40 mg/Lから約0.02 mg/Lと半減できることを示した。

陰イオン交換体であるヒドロタルサイト様化合物により、原水中の臭化物イオンの除去について室内実験を行ったところ、図-4に示すように、イオン交換容量の範囲内では臭化物イオンを選択的に高い除去率が得られることが明らかとなった。

水道水中のNDMAを固相抽出・GC/MS (パーティック・イオン反応)により高感度で分析



条件: (Mg0.789Al0.103Fe0.108)-
 HTC, 0.1 g
 Cl⁻, 20 mg/L; Br⁻, 202 μg/L; NO₃⁻,
 5.5 mg/L;
 SO₄²⁻, 19 mg/L; IC, 9.1 mgC/L;
 TOC, 1.5 mgC/L

図-4 ハイドロサルファイト様化合物による
 臭化物イオンの吸着効果

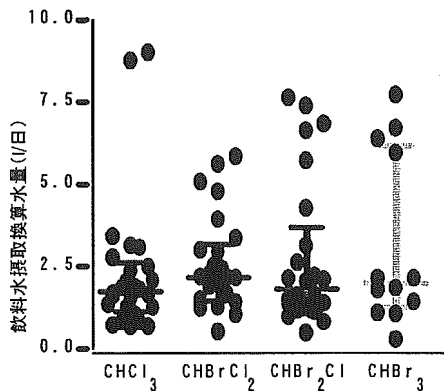


図-5 経気暴露の飲料水換算水量

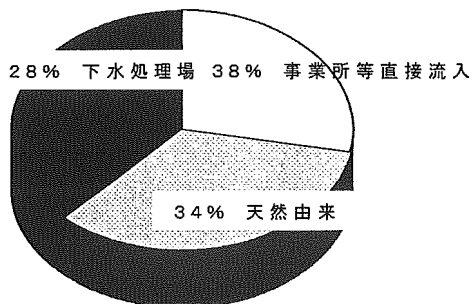


図-6 淀川水系における臭化物イオンの発生源分布

できる試験方法を確立した。この方法によりT浄水で測定したところ高度処理水を含む浄水中で、1-5 ng/L程度のNDMAが存在する可能性が明らかとなった。

水道水中のTHM等揮発性の有機物質は、浴室

や加熱調理過程で揮散し、室内空気中に移行し、それらを経気で曝露することになる。このようなことから室内空気中のTHM濃度の測定に基づき、THMsの経気道及び経皮曝露量を算出した。その結果、図-5に示すように1.7-2.2 Lの水道水を飲用した場合に相当する量のTHMsを経気道及び経皮的に摂取していることが明らかになった。同様な調査を関西地方でおこなったが、経口曝露ばかりでなく経気曝露量も高いことが明らかとなった。

N県営水道では、ジクロロ酢酸対策技術について選択取水、中間塩素処理、送水時間短縮、粉末活性炭注入による低減効果を検討した。その結果は、夏期においても基準値の50%程度に抑えることができ、これらの対策が安定した効果があることを示した。また、K水道企業団では、消毒副生成物濃度増加が懸念される夏季(6~9月)において、実態調査を行った。この間、浄水場においては、ブロモジクロロメタン、総トリハロメタンを指標とした消毒副生成物の制御を行った。消毒副生成物対策として、中間塩素処理、粉末活性炭注入、硫酸注入による原水pHの調整(凝集処理強化)を行い、給水栓で水質基準値等の7割以下に制御できることを示した。さらに、I県営水道では、処理方法が異なる浄水場浄水の消毒副生成物の比較を行い、粒状活性炭処理がハロ酢酸、ホルムアルデヒドの除去に有効であることを確認した。

琵琶湖・淀川水系において臭化物イオンに関する調査を行った結果、図-7に示すように、人為由来の臭化物イオンの寄与が大きいこと、これらの排出パターンが非点源的であることが明らかとなった。

D. 考察

水質基準で定められている消毒副生成物で基準値を超えていた事例が多いのは臭素酸であるが、これはオゾン処理副生成物が原因であるよりは、消毒剤として利用されている次亜塩素酸塩中の副生成物であることが多く、薬品の品質管理が重要であると考えられる。また、水質管理目標設定項目のうち目標値を超えているジクロロアセトニトリルおよび抱水クロラールについては高度浄水処理を導入するべきと考えられる。なお、残留塩素が1.0 mg/lを超えている水道が多いが、水道水の塩素臭を低減化するためには、塩素注入操作の高度化が必要であると考えられる。

オゾン副生成物として生成する臭素酸を抑制するには、オゾン注入率を抑制し、有機物を酸化するために必要な最低限のオゾンを注入し、過剰なオゾンが塩化物イオンとの反応を抑制することが必要であることが明らかとなった。また、次亜塩素酸塩中の臭素酸および塩素酸の濃度

を抑制するためには、市販次亜、生成次亜とも製造後長期間保管することなく、速やかに使用するべきであると考えられる。なお、高純度次亜塩素酸塩の利用や保管しなければならない場合では低温で保管する必要があるものと考えられる。

陰イオン交換体であるヒドロタルサイト様化合物により、原水中の臭化物イオンの除去ができることが明らかとなったが、さらにイオン交換容量の高い吸着体の開発が必要であると考ええる。

水道水中のNDMAがごく微量で存在することが明らかとなった。WHO飲料水ガイドラインでもNDMAが検討の対象となっており、今後とも実態調査を含め調査が必要であると考ええる。

トリハロメタン等揮発性に有機物質の曝露は経口曝露ばかりでなく揮散した室内空気中のそれらを経気曝露が大きいことが明らかとなった。このことより、それらの水質基準の策定には経気曝露を考慮すべきと考えられるが、そのためには今後とも実態調査を行う必要があると考ええる。

ジクロロ酢酸、トリハロメタン等消毒副生成物の制御には、ダム・貯水池系ではそれらの前駆物質の濃度が低い原水を選択的に取水すること、また、原水を選択取水が出来ない場合や表流水系では凝集強化や粉末活性炭注入が効果できであることが明らかとなった。これは、オゾン・活性炭設備など高度浄水処理を導入しなくても、適切な凝集操作により水質基準を達成できる事例も有ることを示しているものと考えられる。

臭素化消毒副生成物や臭素酸の制御には原水中の臭化物イオンを低減化することがもっとも有効な方法であり、その発生源が点源汚染であることが明らかとなったことから、水質汚濁防止法の排水基準に臭化物イオンを、水道水源としている公共用水域に排出する事業場に対していわゆる横出し基準を設定するなどの規制的措置を講じることも考えるべきである。

E. 結論

消毒副生成物の検出状況としては、臭素酸が20件、その他クロロホルム、総トリハロメタン、ブromoジクロロメタンで数件の超過があった。臭素酸抑制に関しては、注入率・溶存オゾン濃度制御併用の有効性について確認した。次亜塩素酸ナトリウム中の臭素酸および塩素酸抑制には次亜塩素酸の管理も重要であることがわかった。また、気道経路のTHM曝露量は経口曝露量に対して同等かそれ以上であることを示した。NDMAは数ng/Lレベルで浄水に存在する。また、規制対象のハロ酢酸等その他の消毒副生成物について現行の対策の安定性について確認した。原水臭化物イオン濃度へ

の人為由来の臭化物イオンの寄与は大きいですが、排出源での制御は難しく浄水場内での対応が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 学会発表

1) 桑原昌紘, 越後信哉, 伊藤禎彦 (2006). イオン交換法による臭化物イオンの制御, 第40回に本水環境学会年会講演集, p.23.

H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

ヒドロタルサイト様化合物, 臭化物イオン交換体, 及びその利用 PCT/JP2006/301368

平成 17 年度厚生労働科学研究 分担研究報告書

最新の科学的知見に基づく水質基準の見直し等に関する研究
— 農薬分科会 —

主任研究者	眞柄泰基	北海道大学創成科学研究機構 特任教授
分担研究者	相澤貴子	横浜市水道局 技術顧問
	西村哲治	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 第3室長
	松井佳彦	北海道大学大学院工学研究科 教授
	浅見真理	国立保健医療科学院 水道工学部 主任研究官

研究要旨：

平成 15 農薬年度の農薬原体総出荷量は 30 万 t 弱で、前年度までと同様に、総出荷量は減少傾向にあった。一方、平成 15 農薬年度の使用農薬原体数は 485 で、前年度までと比較してほとんど変化がなかった。

農薬分科会に参加している全国 11 水道事業体の平成 17 年度の農薬類実態調査の結果、検出された農薬の種類は、原水及び浄水でそれぞれ 97 及び 45 種であった。昨年度の結果と比較すると、原水ではほぼ同程度であったが、浄水では大幅に増加していた。

検出濃度は、原水の場合、プレチラクロールが最高濃度で検出され、ブロモブチド、イソプロチオラン、チオベンカルブ及びベンタゾンの 4 種が 5 µg/L 以上で検出された。一方、浄水の場合、ベンタゾンが最高濃度 (3.5 µg/L) で検出され、ブロモブチド及びピロキロン の 2 種が 1 µg/L 以上で検出された。個別農薬評価値は、原水では、1 回の結果ではあったが、フェンチオン (MPP) が 1.9 という非常に高い値を示した。MPP スルホキシド、フェニトロチオン、モリネート、ダイアジノン、チオベンカルブ、メフェナセット及びカフェンストロールの 7 種が 0.3 以上の値を示した。浄水では、MPP スルホン及びフェントエートの 2 種が 0.1 以上の値を示す場合があった。検出指標値に関しては、原水で、MPP の個別農薬評価値によって 1.9 という高い値を示した例を除いては、ほぼ昨年と同じ傾向、すなわち、原水では概ね 0.5 以下、浄水では概ね 0.1 以下であった。

全国 2031 地点を対象とした、平成 16 年度の農薬類測定結果では、原水 703 地点のうち検出指標値が 1 以上、0.7~1 及び 0.1~0.7 の地点は、それぞれ 1、4 及び 51 地点であった。一方、浄水 525 地点では検出指標値が 1 以上の地点はなく、0.7~1 及び 0.1~0.7 の地点はいずれも 4 地点であった。各農薬類の個別農薬評価値を見ると、原水において 0.7 以上で検出された農薬は、第 1 群農薬のフェニトロチオン、クロルニトロフェン (CNP)、CNP アミノ体、イミノクタジン酢酸塩及び第 3 群農薬のフィプロニルの計 5 種であった。一方、浄水において 0.7 以上で検出された農薬はフェニトロチオン (1 地点) のみであった。

農薬の施用情報と作付面積から流域別の農薬散布量を推定するとともに、散布環境をモデル化して河川への流出量を包括的に算出する手法を検討し、神奈川県相模川及び酒匂川水系で使用される農薬の時期別推定流出量を算出したところ、流出量が多く環境負荷が高いと考えられる農薬の約半数が 101 農薬以外の農薬であることが示された。

不確実性を考慮した農薬出荷量の予測値と過去の気象データを基に、河川中農薬濃度のモデルシミュレーション予測を行ったところ、濃度予測結果は、農薬出荷量と農薬散布時期の予測精度に大きく影響し、濃度予測値は必ずしも観測値と必ずしも一致しなかった。

P=S 結合を有する有機りん系農薬である MPP を紫外線照射したところ、MPP は速やかに分解し、4 種の反応生成物が確認された。そのうち、1 種は MPP スルホキシドと同定され、1 種は O,O-ジメチル S-[3-メチル-4-(メチルチオ)-フェニル]ホスホロチオレートと推定され

た。MPP を遊離塩素濃度 1 mg/L で塩素処理したところ、MPP は反応時間 5 min で完全に分解され、反応生成物として MPP スルホキシドと MPP スルホンが検出された。さらに反応が進むと、MPP スルホキシドと MPP スルホンは、それぞれオキソン体へと変化した。MPP、その酸化物及びそれらのオキソン体の計 6 種のコリンエステラーゼ (ChE) 阻害活性を比較した結果、MPP、MPP スルホキシド及び MPP スルホンの 3 種は ChE 阻害活性をほとんど示さないこと、一方、これら 3 種のオキソン体の ChE 阻害活性の程度は、MPP オキソン、MPP オキシンスルホキシド、MPP オキシンスルホンの順に高いことがわかった。

P=S結合を有する10種の有機りん系農薬の塩素との反応性は、グループ別に見ると、アミデート型、EPN、ジチオ型、チオノ型の順に高かった。このとき、有機りん系農薬のオキソン体 (P=O結合) への変換率は、アミデート型の2種を除いて80%以上、一方、アミデート型については、オキソン体への変換とP-O-アリアル結合の切断が約50%ずつであることが明らかとなった。また、通常の塩素処理によって生成したオキソン体は、塩素との反応によってその一部は減少するが、その多くがオキソン体として残存していることがわかった。

A. 研究目的

農薬の使用実態は年度及び地域によって異なり、農薬の水質管理にあたってはこれを的確に把握することが課題となっている。新たに必要となる農薬の存在状況等の検討を含め、水質管理目標設定項目で現在示されている101種類の農薬を中心とした実態調査を行うとともに、検査対象プライオリティーリストの改編を合理的に行うことのできるデータベースを確立する。

また、有機りん系農薬について、塩素処理やオゾン処理によって生成するオキソン体は遅発性神経毒性を有するとの報告が最近なされたことから、全オキソン体を測定できる分析法を確立し、その存在状況について調査を行うとともに、有機りん系農薬についてのリスク評価を行い、水質基準に追加すべきかどうかについて明らかにする。

B. 研究方法

本年度は以下の内容について研究を実施した。

1) 農薬類の実態調査

農薬分科会に参加している全国 11 水道事業体において、農薬使用量調査等により測定優先度が高いと考えられる農薬類を選定し、実態調査を行った。そして、調査結果及び検出指標値 (各農薬類の目標値で除した農薬類検出値の総和) の集計を行い、存在状況等についての把握を行った。

水質管理目標設定項目等基準化検討調査 (厚生労働省健康局水道課) が集計を行っ

た、「水質検査計画」に基づいて都道府県経由で報告のあった 2031 地点を対象とした、原水及び浄水における平成 16 年度農薬類測定結果のまとめを行った。

2) モデル地域を対象とした監視農薬プライオリティーリストの妥当性の検討

相模川及び酒匂川水系をモデル水域に選定し、101 農薬を含む 249 種の農薬について、登録内容等から特定した製剤別の施用情報 (希釈倍率、散布回数、散布液量、適用病害等) と市町村別作付面積・土地利用メッシュ情報から求めた流域別作付面積を用いて、流域別散布量を推定するとともに、散布環境モデルを改良し、これに fugacity model level II を適用して各農薬の流域への時期別流出量を推定した。推定結果と実測値を比較して推定結果を検証し、プライオリティーリストの妥当性及び水系別・時期別の農薬流出状況の評価を行った。

3) モデル流域を対象とした詳細データに基づくモデル構築とその大規模流域への適用

モデルシミュレーションによる「濃度予測」の有効性を検証するため、2004 年以前までに入手可能な公開データを入力値として、2005 年の河川水農薬濃度の予測を行った。シミュレーションの対象農薬原体は、福岡県、熊本県、大分県において出荷量が多く、農薬原体の物性情報が入手可能であった 11 種類の除草剤とした。シミュレーションを行う際には、降水量・気温などの水文気象データを用いた。さらに過去 10 年間 (1995~2004 年) の水文気象パターンを用