

整水でも -5 mV から -10 mV 付近であったことから、ウイルスと活性炭は共に負に帯電しているため、その間には電気的な斥力が働いたと考えられた。なお、1価の陽イオンより、2価の陽イオン存在下がよりウイルスの吸着除去が高く、ウイルスの吸着除去は時間の経過とともに増加した。また微粉化によって活性炭の径を小さくすることでウイルスの吸着除去性能が向上する傾向が見られた。

C3 耐塩素性病原微生物の研究

ろ過水量の向上と有機溶媒を用いないろ過回収方法として酸溶解性ハイドロキシアパタイト粒子を用いたケーキろ過濃縮方法を開発した(図10)。35mm程のプラスチック製使い捨て容器にアパタイト1gを充填したケーキろ過で200~600L程度の水道水を通水することが可能であった。蛍光ビーズ、あるいはオーシストで90%以上の回収率が得られた(表2)。綾瀬浄水場の浄水では400L程度のろ過が実用的な範囲と思われた(図11)。神奈川県内の2つの水道事業体の協力を得て実施した試験でも、期待通りのろ過結果を得た。A市およびB町で行った濃縮操作ならびに綾瀬浄水場浄水での結果を図11に重ねて示した。A市で行った20L設定モード、60L設定モード、連続モード及びB町で行った連続モードの実験で、3事例を除いて、概ね期待通りろ過濃縮できることが確認された。問題の2事例はA市浄水場の実験で生じた閉塞の事例で、ろ過濃縮物の検鏡でフロック様の懸濁物質が観察された。A市浄水場は通常は濁度が低く凝集剤(PAC)が注入されておらず、添加凝集時のpH値が高かったこと、急速攪拌やフロック形成が不十分であることが原因と推定された。この様に濃縮量と所要時間の関係及び濃縮産物の検鏡結果などから浄水処理上の課題も判明し、ろ過施設における凝集剤の未使用の実態とアルミニウム濃度の管理の関係、ろ過池の管理の重要性を改めて認識した。期待通りのろ過水量が得られな

かった残りのB町での1事例は、流速計のトラブルが原因であり、流速計をろ過後に配置することで障害を避ける変更など改善を図った。

粉体ろ過法を原水に適用を拡大するための検討を行った。平成21年12月~平成22年1月の相模川社家取水を使用し、90mm金属ホルダーを使用した原水適用装置モデルでの濃縮実験を行った。実験を行った期間中の濁度は2度前後(1.3~2.2度)であった。図12にろ過所要時間とろ過量の関係を示した。HAの使用量、初期量および追加量を0~3g(計6g)の範囲で変化させ濃縮実験を行った。どの条件でも約15分で社家取水10Lを濃縮することが可能という結果が得られた。また、今回実験に用いたような低濁度であれば、HAの投入量に関係なく、原水40L~50L程度までの濃縮が可能と判断された。さらに、ろ過圧を上げることにより、より短時間で濃縮することができることも確認された。なお、90mmPTFE製ろ紙及び浄水用の37mmサンプリングユニットでは、濁度2度程度の原水10Lを濃縮することは難しいと判断された。

クリプトスポリジウム等の迅速遺伝子検査法の開発ではRT-LAMP法、Cycleave法ならびにUniversal Qプローブ法によるRT-PCRの高感度検出系を確立した。RT(逆転写反応)を行わなかった従来のDNA検出には1本の反応チューブに全ての試料を使用することが必要であったが、コピー数が多いrRNAを標的としたRTにより、1オーシストから得られる核酸抽出液の一部を用いることで検出が可能となった。PCR反応チューブあたり、RT-LAMP法ではクリプトスポリジウムが0.006個相当、LAMP法ではジアルジアが0.006個相当、Cycleave法qRT-PCRではクリプトスポリジウムが0.0048個相当、ジアルジアが0.002個相当、Universal Qプローブ法qRT-PCRではクリプトスポリジウム0.0075個相当から安定して検出された(図13, 14, 15, 16)。なお、ジアルジアはrDNA

遺伝子のコピー数が多いことから、RT 反応を行わなくても高感度検出が可能であった。簡便な定性試験に利便性が期待される LAMP 法、定量 PCR でオーシスト・シスト数を求められる qRT-PCR 法が可能となり、応用が期待された。

実際の河川試料を用いて RT-LAMP、qRT-PCR および顕微鏡法の比較を行い、概ね一致した検出結果が得られた (表 3, 4)。顕微鏡に比べて遺伝子検査が若干高感度である一方、反応阻害に注意すべきと考えられた。RT-LAMP 法により得られた結果の検証として増幅産物のアガロースゲル電気泳動を行い、特異的な増幅であったことが確認された。Cycleave 法増幅産物の直接塩基配列決定を行った結果、いずれもクリプトスポリジウムあるいはジアルジアの塩基配列が得られ、特異的な増幅であったことが確認された。また実証試験として、これまで遺伝子検査の経験が無かった水道事業体において顕微鏡法と RT-LAMP 法の比較を行なったが、概ね一致した検出結果が得られ、実用性に問題はなかった。

現在、ホームページ上でクリプトスポリジウムの検出状況を公表している水道施設は 219 事業体にのぼる。水源は表流水から地下水まで様々であるが、このうち原水からクリプトスポリジウムを検出した事業体は 209 事業体中 22 事業体 (11%) に留まり (最大値は 26 オーシスト/10 L)、検出報告が関東に集中するなどの地域差が生じていた (表 5)。報告の事業体が試験に熟練した施設に偏る傾向が伺えることから、改めて外部精度管理システムの必要性を検討する時期にあるものと考えられる。なお、浄水から検出されている事例はなかったことを付記する。

相模川水系のクリプトスポリジウムの遺伝子型別では、社家取水口でブタ、ウシ、ヒト型の塩基配列が確認された (表 6)。また、右岸から流入する小鮎川、中津川からはブタ型が、左岸から流入する貫抜川からはウシ型と

ヒト型が確認された。社家取水口では複数の型が確認されたが、過去の調査でクリプトスポリジウムが高濃度検出されているのは右岸側から流入する小鮎川と中津川であるので、社家取水口で検出されているクリプトスポリジウムはブタ型が多いと推測され、また、小鮎川と中津川で検出されているクリプトスポリジウムは上流の豚舎が排出源と考えられた。

養豚施設の調査からは 2 ヶ月齢のブタからクリプトスポリジウムが検出され、rRNA 遺伝子の一部配列の 97% が一致したことから、遺伝子型は pig genotype II および *Cryptosporidium suis* (要精査) と考えられた。いずれの遺伝子型もヒトからの検出例が報告されている。ジアルジアは 2~6 ヶ月齢の子ブタから検出され、遺伝子型は Assemblage E であることを、rRNA 遺伝子の一部配列から (100% 一致) 確認した。Assemblage E は主に有蹄類を宿主とするものであるが、ヒトからの検出例も報告されている。

畜産排水処理施設を調査した結果、流入排水中のクリプトスポリジウムオーシスト濃度は 24,000~960,000 oocysts/L、ジアルジアシスト濃度は 3,900~810,000 cysts/L と高濃度であった。畜産排水および処理水中濃度から排水処理による両原虫の除去を算出したところ、平均で 2~3 log 程度除去されることがわかったが、汚泥のバルキング (膨化: 汚泥が沈降しにくくなり、上澄水が得にくくなる現象) が生じて処理に支障をきたすと、原虫の除去が著しく低下することを確認した。家畜密度の高い流域において取水を行う場合、下水同様、畜産由来の原虫汚染について注意を払う必要があることが示された。

E. 結論

従属栄養細菌の指標性に関する研究

従属栄養細菌は、一般細菌、水温、濁度との相関が認められた。一般細菌と比較すると、水温との関係は弱く、また菌数も浄水処理工

程で多く検出されることから、水温の影響を強く受けない感度の高い指標と考えられた。

全国的な浄水系試料の検出状況は100cfu/ml未満がその大半を占めたが、最高値は5,900cfu/mlであった。

水道水の残留塩素濃度を下げた状態で保存し、従属栄養細菌を監視したところわずか(0.05mg/l)でも残留塩素が存在する場合には、従属栄養細菌の顕著な増殖は認められなかった。しかし、濁度0.17度の沈殿処理水を試料として同様の実験を行ったところ、0.1, 0.05mg/lの残留塩素を含んでいても従属栄養細菌の増殖が認められた。

腸管系ウイルスに関する研究

遺伝子組換えバキュロウイルスとカイコを用いたタンパク質発現法により発現させたrNV-VLPsは凝集沈澱-急速砂ろ過処理において、凝集剤としてPAC(pH 6.8)および塩化第二鉄(pH 5.8)を用いた場合に約3-log以上の除去が得られた。QβはrNV-VLPsの除去と同程度あるいは低かったため、MS2に比べて指標性があると考えられるものの、個々の処理単位の凝集沈澱処理、急速砂ろ過処理におけるQβとrNV-VLPsの処理性が異なったことから、Qβであっても常にヒトノロウイルスの最適な代替指標となるとは限らないことに注意が必要である。

ノロウイルスの塩素消毒による不活化の評価を行い、最低0.1mg/Lの遊離塩素濃度(水道法)を保った配水システムにおいては30分間の接触で4-log以上の不活化が期待できるものと評価された。

インフルエンザウイルスの消毒を、細胞への感染性を指標として評価した結果、インフルエンザウイルスが他のウイルスと比較して、消毒処理に高い耐性を持つことは無かった。

活性炭によるウイルスの吸着除去を評価した結果、活性炭とウイルスの間の電氣的な斥力が小さいこと、微粉化された細孔のある活性炭であること、イオン濃度が影響している

ことなどが考えられた。

耐塩素性病原微生物の研究

簡便で効率的なクリプトスポリジウム等原虫類の試験のためのサンプル濃縮に、ハイドロキシアパタイト粒子のろ過濃縮法を開発し、所定のろ過性能が得られた。ケーキフィルターを大型化することで原水にも適用可能であることを確認した。

全国的なクリプトスポリジウム等検出状況を調査した結果、クリプトスポリジウムの検出を報告している事業体は22事業体であり、11%に過ぎなかった。検出状況は予想以上に低く個々の試験機関における精度管理の必要性が指摘されるものと判断された。

免疫磁気ビーズによるクリプトスポリジウムオーシスト等の分離・精製と組み合わせた迅速遺伝子検査法により、検鏡法に比べてより高感度にクリプトスポリジウム等を検出することが可能となった。RT-LAMP法ならびにCycleave法とUniversal QProbe法を用いたqRT-PCR法による検出系を構築した。抽出試料の一部より1反応(チューブ)でオーシスト・シストが検出可能で、いずれの方法も他法と概ね一致した検出結果が得られており、特異性や感度は実用的と考えられた。RT-LAMP法は定性試験法、qRT-PCRは定量試験法としての利用が期待され、加えて増幅産物の塩基配列決定によりクリプトスポリジウム・ジアルジアの種別・型別への応用も期待された。

社家取水口で検出されるクリプトスポリジウムは、人への感染報告が少ないブタ型が多いと推定されたが、同時に人への感染リスクの高いヒト型やウシ型も検出された。畜産施設の汚染状況の調査からは依然として多量のクリプトスポリジウムのオーシストおよびジアルジアのシストが排出されている現状が確認された。

畜産排水処理では両原虫が平均で2~3 log程度除去されていたが、汚泥のバルキングが

生じると、原虫の除去が著しく低下した。病原性原虫は現行の排水規制では規制対象となっていないことから、家畜密度の高い流域において取水を行う場合、畜産由来の原虫汚染について注意を払う必要があることを改めて認識した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Oshiba, A. and Ohno, K., Estimation of norovirus removal performance in a coagulation-rapid sand filtration process by using recombinant norovirus VLPs, *Water Research*, 44, 1307-1316, 2010.

白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大芝淳, 浦崎稔史, 大野浩一, 遺伝子組換えノロウイルス外套タンパク粒子(rNV-VLPs)を用いたヒトノロウイルスの浄水処理性評価, 環境工学研究論文集, 46, 415-422, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Urasaki, T. and Ohno, K., Comparison of behaviors of two surrogates for pathogenic waterborne viruses, bacteriophages Q β and MS2, during the aluminum coagulation process, *Water Research*, 43(3), 605-612, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Kobuke, M. and Ohno, K., Comparison of removal performance of two surrogates for pathogenic waterborne viruses, bacteriophage Q β and MS2, in a coagulation-ceramic microfiltration system, *Journal of Membrane Science*, 326, 564-571, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Ohno, K., Effects of reversible and irreversible membrane fouling on virus removal by a coagulation-microfiltration system, *Journal of Water Supply: Research and Technology-AQUA*, 57(7), 501-506, 2008.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Ohno, K. and Kobuke, M., Virus removal in a hybrid coagulation-microfiltration system

—Investigating mechanisms of virus removal by a combination of PCR and PFU methods, *Water Science and Technology: Water Supply*, 7(5-6), 2007.

Inomata, A., Kishida, N., Momoda, T., Akiba, M., Izumiyama, S., Yagita, K. and Endo, T., Development and evaluation of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and high-sensitive detection of *Cryptosporidium* in water samples, *Water Science and Technology*, 60 (8), 2167-2172, 2009.

Kuroki T, Izumiyama S, Yagita K, Une Y, Hayashidani H, Kuro-o M, Mori A, Moriguchi H, Toriba M, Ishibashi T, and Endo T, Occurrence of *Cryptosporidium* sp. in snakes in Japan. *Parasitol Res.*103(4):801-805, 2008

高木正明, 鳥海宏, 遠藤卓郎, 山本徳栄, 黒木俊郎, プール水を介したクリプトスポリジウム症集団発生事例, 感染症誌, 82, 14-19, 2008

2. 学会発表

Urasaki, T., Matsushita, T., Shirasaki, N., Oshiba, A., Matsui, Y. and Ohno, K., Removal of norovirus VLPs in drinking water treatment process, *Proceedings of The 3rd IWA-ASPIRE Conference*, Taipei, Taiwan, 18-22 October 2009.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Oshiba, A., Urasaki, T., Matsui, Y. and Ohno, K., Removal of norovirus by a coagulation-ceramic MF hybrid system, *Proceedings of Euromembrane 2009 Conference*, Montpellier, France, 6-10 September 2009.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Kobuke, M., Matsui, Y. and Ohno, K., Effective removal of virus by ceramic microfiltration with in-line coagulation pretreatment, *Proceedings of Euromembrane 2009 Conference*, Montpellier, France, 6-10 September 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Urasaki, T., Oshiba, A. and Ohno, K., Evaluation of norovirus removal

performance in a coagulation–ceramic microfiltration process by using recombinant norovirus VLPs, Proceedings of 5th IWA Specialised Membrane Technology Conference for Water and Wastewater Treatment, Beijing, China, 1–3 September 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Oshiba, A., Urasaki, T. and Ohno, K., Application of recombinant norovirus VLPs to evaluate norovirus removal performance in a coagulation–sedimentation–rapid sand filtration process, Proceedings of Nanoparticle and Particle Separation 2009, Durham, USA, 3–5 June 2009.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Urasaki, T., Oshiba, A., Matsui, Y. and Ohno, K., Removal of norovirus during conventional drinking water treatment process –application of recombinant NV-VLPs to laboratory-scale experiments, Proceedings of 15th International Symposium of the Health-Related Water Microbiology Group, Naxos, Greece, 31 May–5 June 2009.

白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大芝淳, 浦崎稔史, 大野浩一, 遺伝子組換えノロウイルス外套タンパク粒子(rNV-VLPs)を用いたヒトノロウイルスの浄水処理性評価, 第 46 回環境工学研究フォーラム, 2009.

白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, ウイルス外套タンパクを用いたヒトノロウイルスの浄水処理性評価, 第 12 回日本水環境学会シンポジウム, 2009.

大芝淳, 白崎伸隆, 浦崎稔史, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, 浄水処理におけるノロウイルスの処理性評価, 第 60 回全国水道研究発表会, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Kobuke, M., Urasaki, T. and Ohno, K., Coagulation–ceramic microfiltration hybrid system effectively removes virus that is difficult to remove in conventional coagulation–sedimentation–sand filtration process, Proceedings of ICOM2008, Honolulu, Hawaii USA, 12–18 July 2008.

Shirasaki, N., Kobuke, M., Urasaki, T.,

Matsushita, T., Matsui, Y., and Ohno, K., Difference in behaviors of two indicator bacteriophages for waterborne pathogenic viruses during drinking water treatment process, and their effective removals by using coagulation–ceramic microfiltration hybrid system, Proceedings of IWA regional conference–membrane technologies in water and waste water treatment, Moscow, Russia, 2–4 June 2008.

白崎伸隆, 浦崎稔史, 小泓誠, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, ノロウイルス外套タンパク(NV-VLPs)を用いたノロウイルスの浄水処理性評価, 第 45 回環境工学研究フォーラム, 2008.

浦崎稔史, 白崎伸隆, 小泓誠, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, 浄水処理過程におけるバクテリオファージの処理性比較, 第 16 回衛生工学シンポジウム, 2008.

浦崎稔史, 白崎伸隆, 小泓誠, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, 浄水処理におけるバクテリオファージの処理性の違い, 第 59 回全国水道研究発表会講演集, 2008.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Ohno, K., Effects of reversible and irreversible membrane fouling on virus removal by a coagulation–microfiltration system, Proceedings of IWA International Conference on Particle Separation (PS 2007), Toulouse, France, 9–12 July 2007. Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Ohno, K., Kobuke, M., Virus removal in a hybrid coagulation–microfiltration system –Investigating mechanisms of virus removal by a combination of PCR and PFU methods, Proceedings of IWA 4th International Conference on Membranes for Water and Wastewater Treatment, Harrogate, UK, 14–17 May 2007.

小泓誠, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, 凝集 MF 膜処理によるウイルス除去に与えるファウリングの影響, 第 15 回衛生工学シンポジウム, 167–170, 2007.

小泓誠, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, ファウリングが凝集 MF 膜処理におけるウイルス除去に与える影響, 第 58 回全国

水道研究発表会講演集, 172-173, 2007.

猪又明子, 保坂三継, 泉山信司, 百田隆祥, 大谷喜一郎, 遠藤卓郎, 環境水中の原虫類検出を目的とした LAMP 法の検討, 第 59 回全国水道研究発表会, 平成 20 年 5 月 28~30 日, 仙台市

猪又明子, 百田隆祥, 泉山信司, 遠藤卓郎: RT-LAMP 法による水試料からのクリプトスポリジウム高感度検出. 日本水処理生物学会 第 46 回大会, 平成 21 年 11 月 11~13 日, 高知市

石井孝明, 金田聖子, 吉田伸広, 森田重光, 平田強, Cryptosporidium オーシストおよび Giardia シストの精製方法の検討, 日本水環境学会年会 (2009.3)

泉山信司, 大内一敏, 遠藤卓郎, 粉体ろ過によるクリプトスポリジウム濃縮保存法の開発, 第 59 回全国水道研究発表会, 平成 20 年仙台市

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

遠藤卓郎, 泉山信司, 「水中浮遊粒子のろ過回収用フィルタならびにこれを用いた水中浮遊粒子のろ過回収方法および水質の管理方法」

特許公開 2008-39481

2. 実用新案登録

3. その他

なし

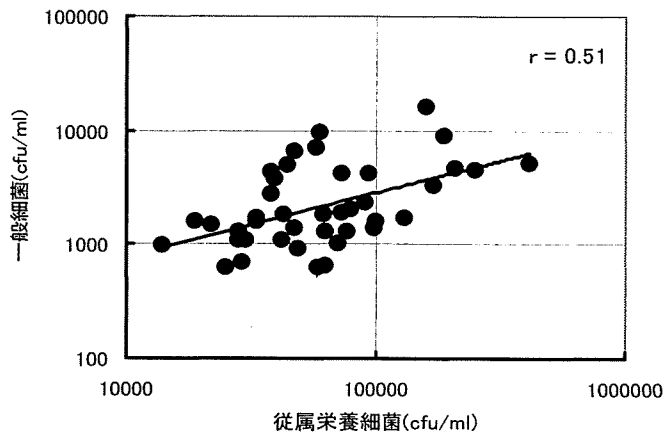


図 1 酒匂川下流部における従属栄養細菌と一般細菌の関係

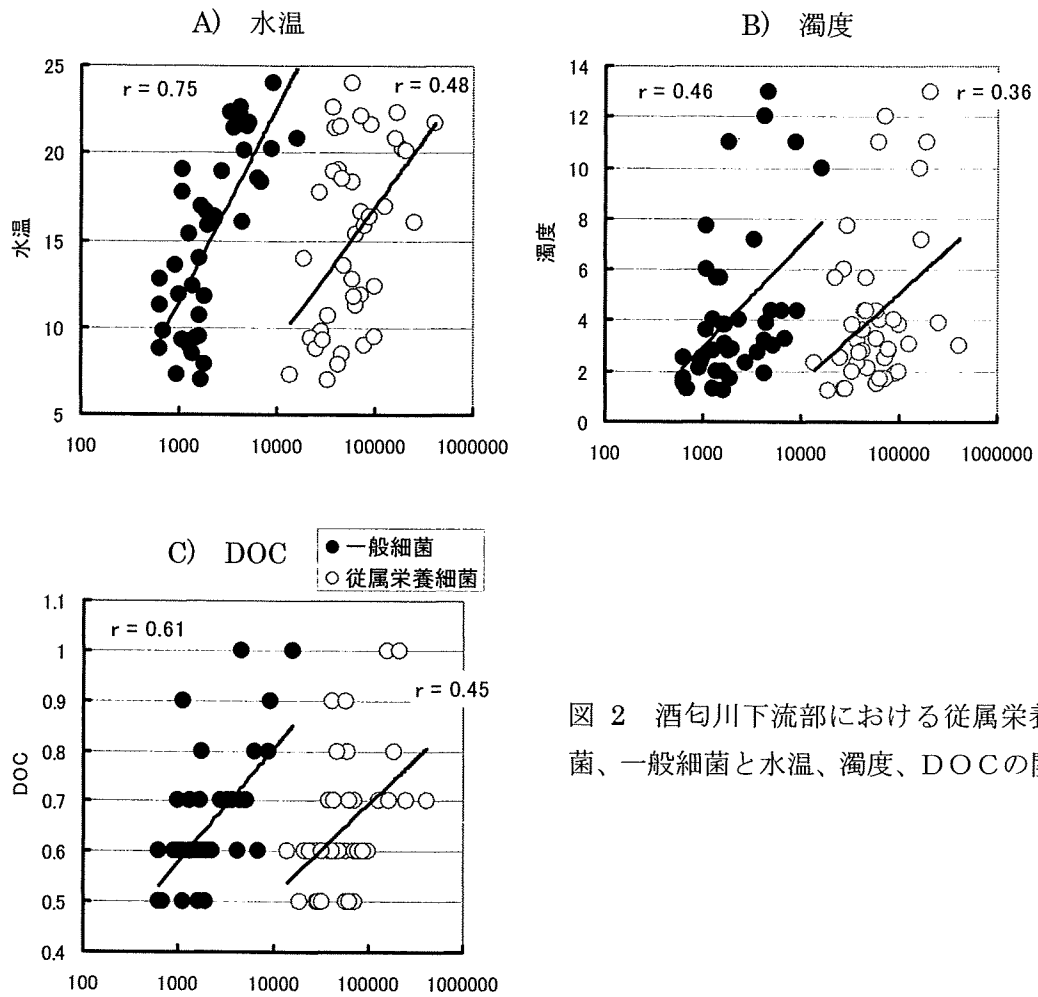


図 2 酒匂川下流部における従属栄養細菌、一般細菌と水温、濁度、DOCの関係

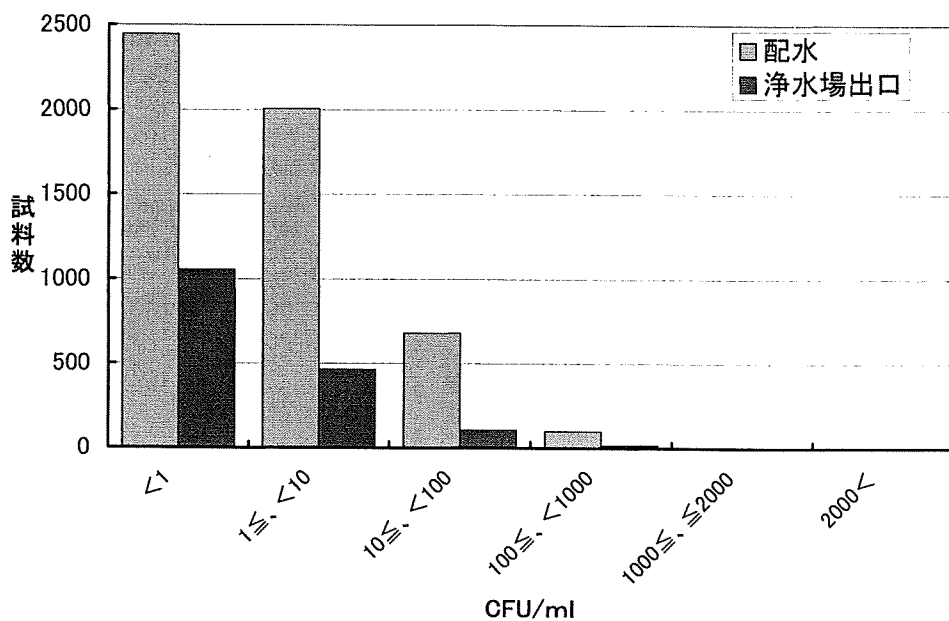


図 3 インターネット上で公開された従属栄養細菌の検出状況 (試料総数 6888)

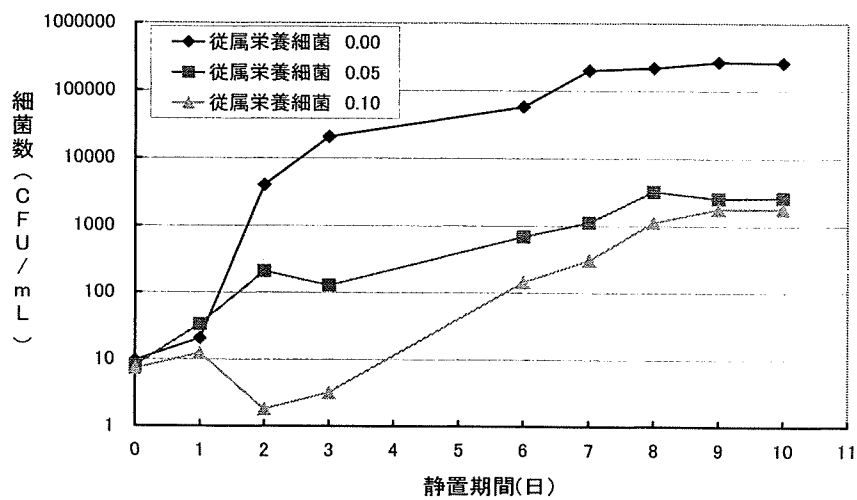


図 4 濁質添加、低遊離残留塩素下における従属栄養細菌数 (pH 値未調整、約 7.24)

表1 マウスノロウイルスの遊離残留塩素消毒に必要な Ct 値とポリオウイルスとの比較

Virus	Inactivation ratio			
	1 log (90%)	2 log (99%)	3 log (99.9%)	4 log (99.99%)
PV1	0.3-1	0.6-3	0.7-3	0.7-5
MNV	0.01-0.08	0.06-2	0.2-3	0.3-3

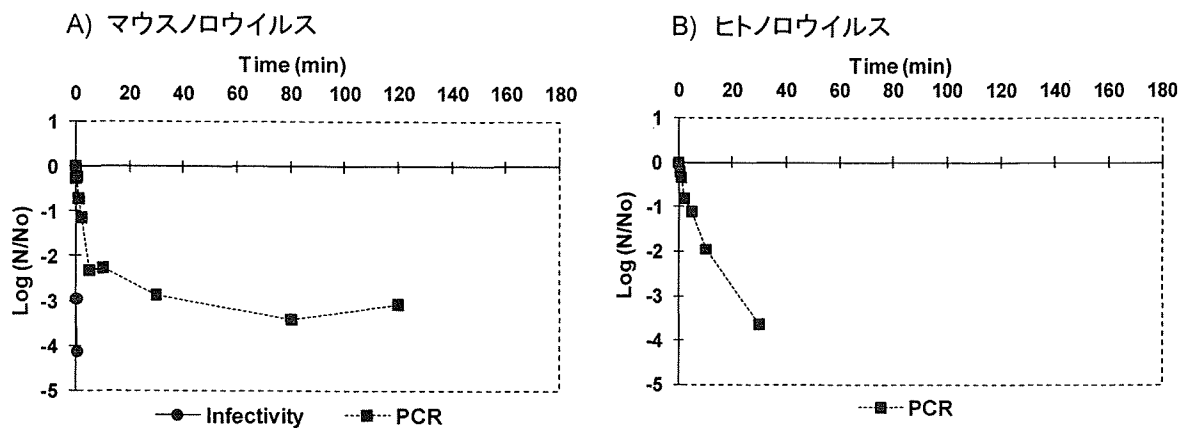


図6 ノロウイルスの遊離塩素消毒(初期濃度0.5mg/L)による不活化

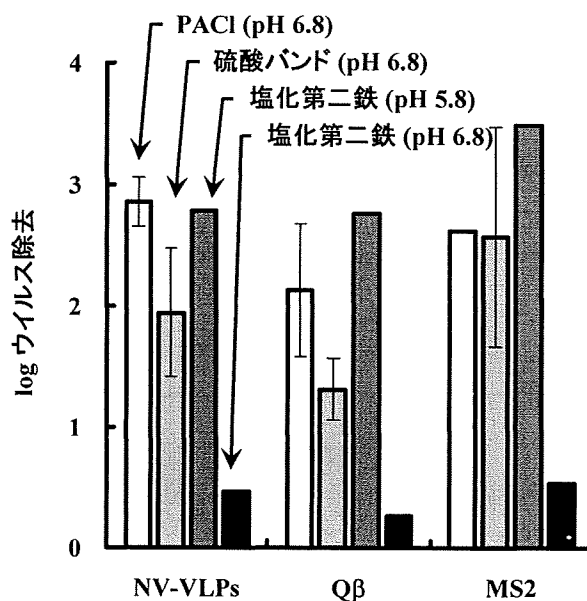


図7 凝集沈殿一砂ろ過処理後のウイルスの除去率比較
いずれも凝集剤添加濃度は $40 \mu\text{M}$ —Al or Fe

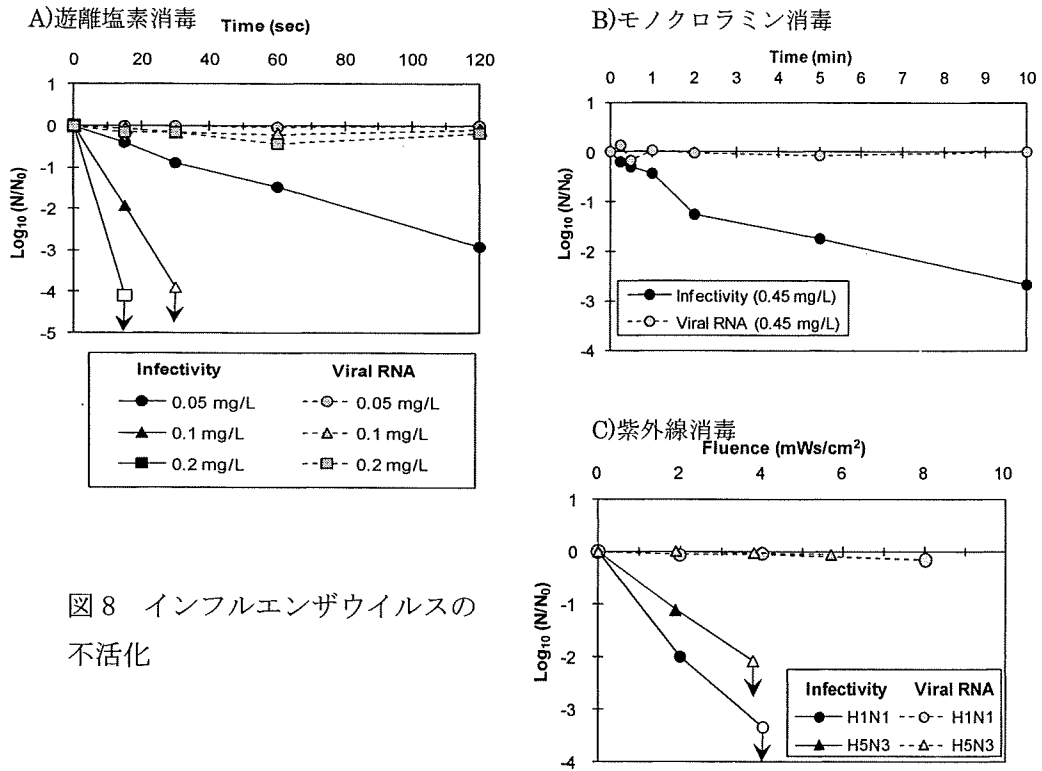


図8 インフルエンザウイルスの不活化

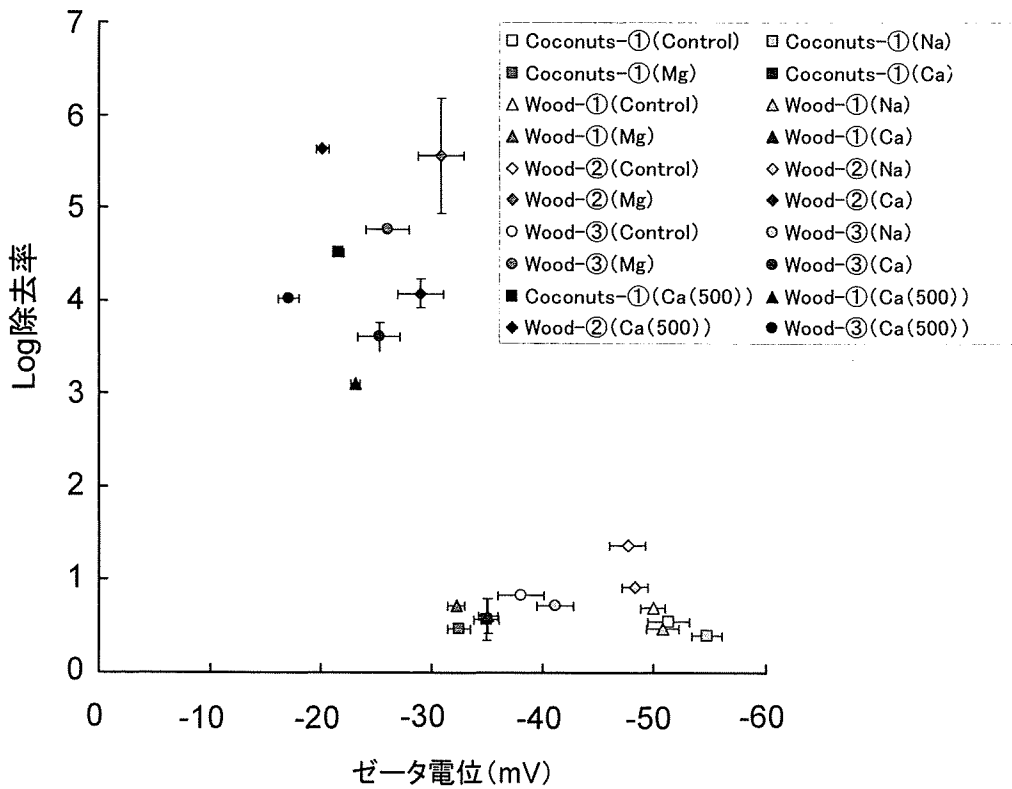


図9 各イオン調整水における微粉化活性炭のゼータ電位とウイルスのLog除去率の関係(8時間後)

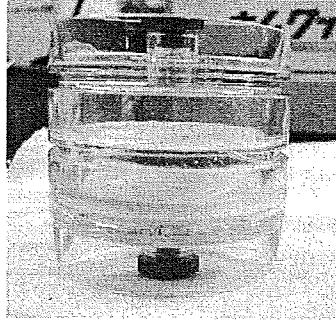
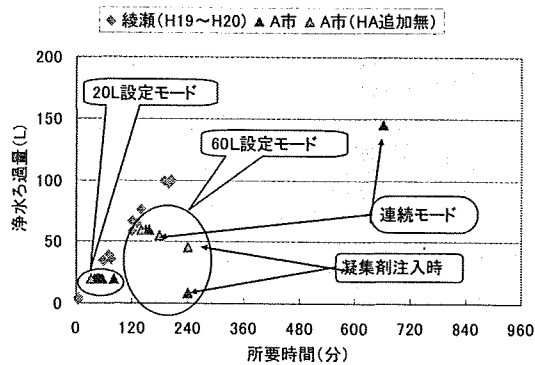


図10 直径35mm程のプラスチック製使い捨て容器を用いて作成した酸溶解性アパタイト粒子によるケーキろ過濃縮ユニット

表2 粉体酸溶解、洗浄中和、免疫磁気ビーズ法の一連の操作を行った試験の回収率

浄水濃縮量(L)	クリトスポルジウム回収率(%)
104	80
99	59
100	73
100	75
101	91

A) 20L、60L 設定他



B) 連続濃縮他

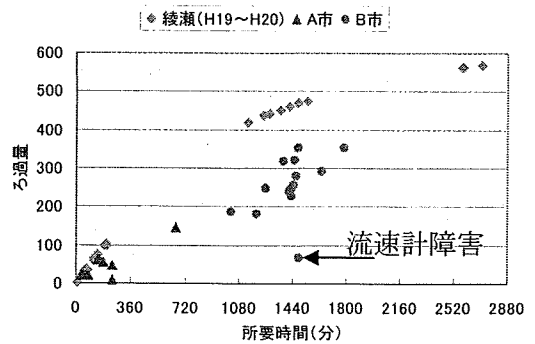


図11 浄水ろ過量と所要時間の関係

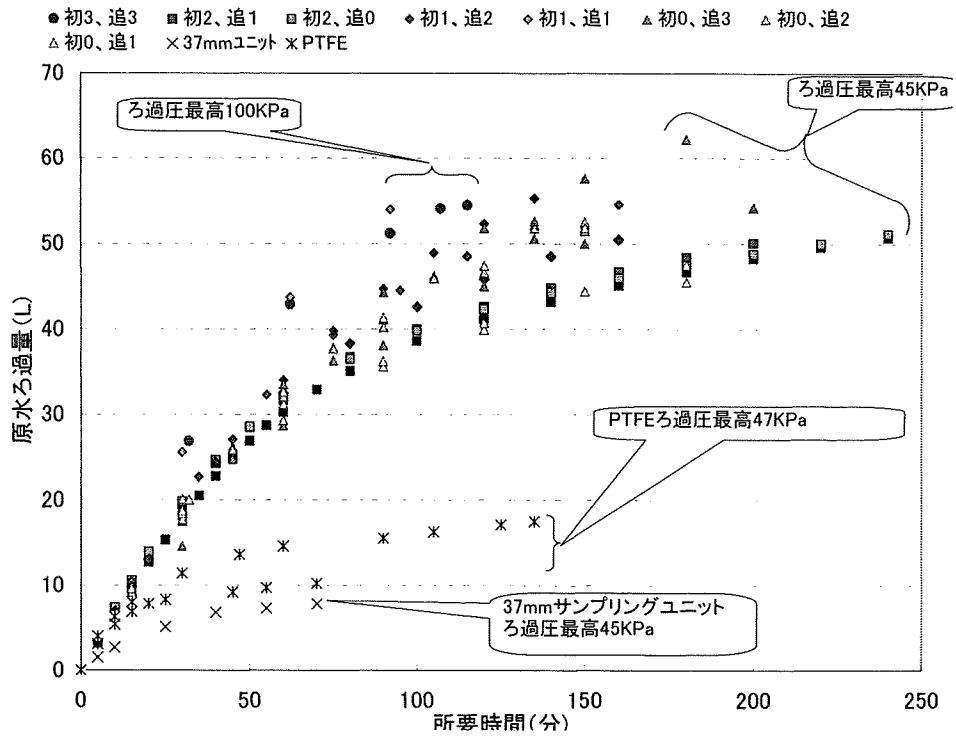


図 12 原水ろ過量と所要時間の関係

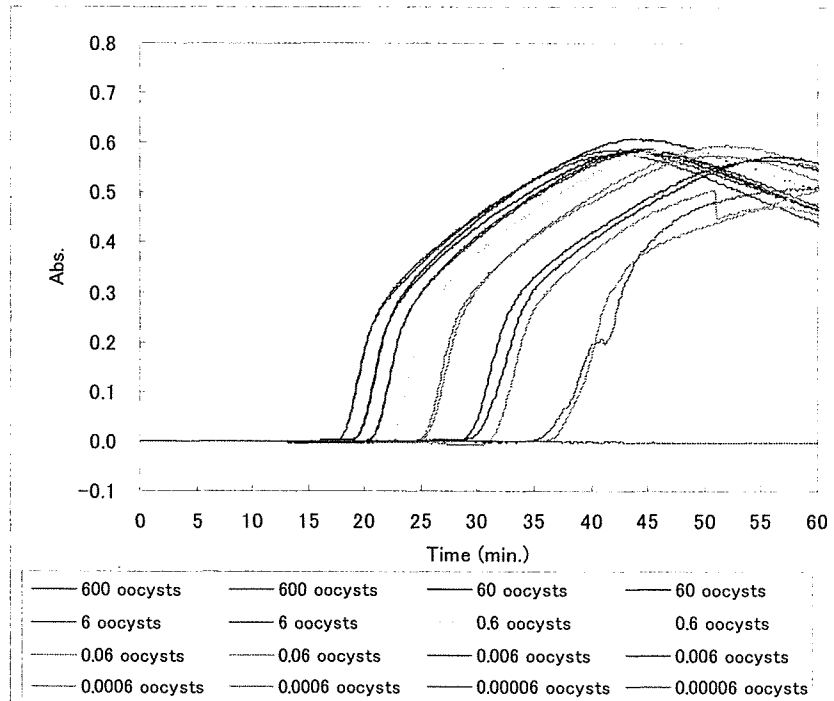


図 13 RT-LAMP の検出感度

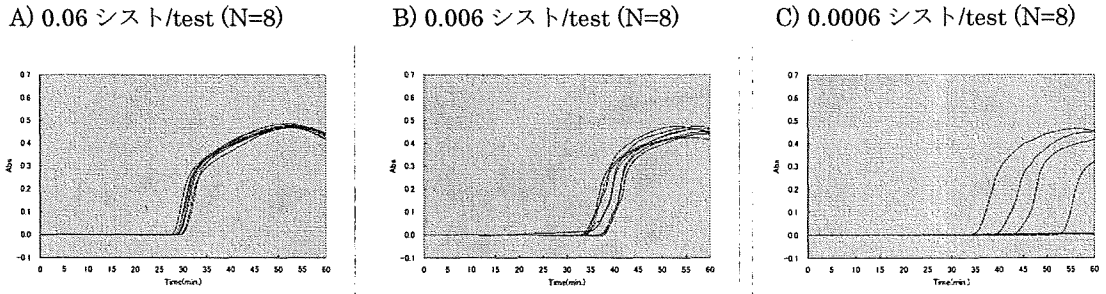


図 14 ジアルジア LAMP 法感度試験

A) クリプトスポリジウム検出系 B) ジアルジア検出系

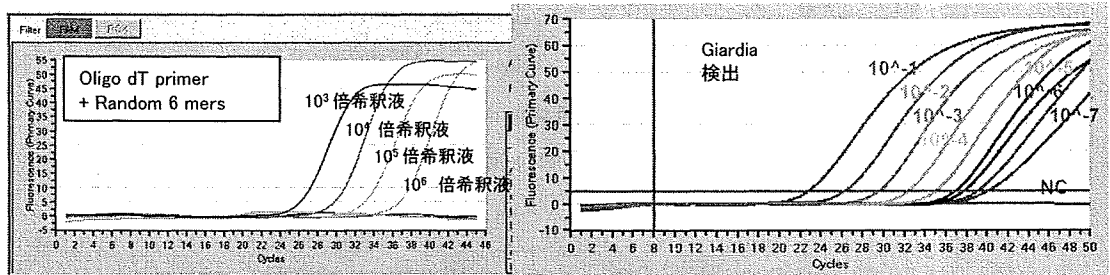


図 15 Cycleave 法 RT-PCR によるクリプトスポリジウム等検出の増幅曲線

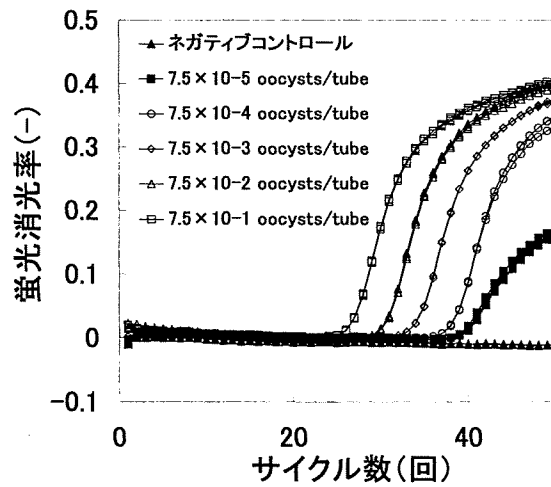


図 16 Universal QProbe RT-PCR 法によるクリプトスポリジウム検出の増幅曲線

表3 顕微鏡観察、RT-LAMP、qRT-PCR法によるクリプトスポリジウム等検出の比較

#	水の種類	水量	クリプトスポリジウム			ジアルジア			備考
			検鏡	RT-LAMP*	RT-PCR	検鏡	RT-LAMP	RT-PCR	
1	湧水	10L	-	-	-	-	-	-	陰性対照
2	伏流水	10L	-	-	-	-	-	-	陰性対照
3	浄水	20L	0	-	-	-	-	-	陰性対照
4	浅井戸	10L	0	-	-	-	-	-	陰性対照
5	表流水	5L	4.5	-(+)	+	10	+	+	
6	表流水	5L	1	-(-)	-	5	-	+	
7	養豚場排水	5mL	10	-(+)	-	-	-	-	
8	表流水	10L	530	-(+)	+	-	-	-	
9	表流水	10L	-	+	+	-	+	+	
10	表流水	10L	-	+	+	-	-	-	
11	表流水	10L	1	+	+	-	-	-	
12	表流水	5L	4	+	+	2	+	+	
13	同上	同上	-	-	+	-	+	+	12と同一試料
14	表流水	10L	400	+	+	-	-	-	

*:()内は鑄型使用量を5から1 μ L使用で追試験を行った

表4 河川水試料への適用結果

採水河川	顕微鏡観察法 (oocysts/10L)		Universal QProbe RT-PCR法 (oocysts/10L)	RT-LAMP法
	確定*1	推定*2		
利根川	0	0	2.3	+
利根川	4	4	4.2	+
利根川一次支川	0	0	-	-
利根川一次支川	4	12	30.8	+
利根川二次支川	2	14	7.4	+
利根川二次支川	4	30	37.4	+
利根川二次支川	6	40	76.5	+

表5 地域別のクリプトスポリジウム等検出状況

	クリプトスポリジウム			ジアルジア		
	原水試験 実施事業体数	検出事業体数	検出事業体率 (%)	原水試験 実施事業体数	検出事業体数	検出事業体率 (%)
北海道	17	7	41	13	0	0
東北	32	1	3	26	4	15
北関東	18	0	0	10	0	0
南関東	24	7	29	15	7	47
中部	34	2	6	25	1	4
近畿	49	3	6	32	3	9
中国四国	18	0	0	16	1	6
九州沖縄	17	2	12	14	1	7
全国	209	22	11	151	17	11

*南関東は、千葉、東京、神奈川

*平成20年度データを基本に集計

表6 相模川水系のクリプトスポリジウムの遺伝子型別

A) 平成19年度調査

採取日	平成19年7月25日			
	社家 吸水井	小鮎川 第二鮎津橋	貫抜川	中津川 鮎津橋
採取量(L)	370	240	300	220
クリプトスポリジウム 検鏡法測定結果	0個/10L	0個/10L	1個/10L	3個/10L
遺伝子解析結果	ブタ・ウシ	不検出	ウシ・ヒト	ブタ
ジアルジア	1個/10L	0個/10L	0個/10L	0個/10L

採取日	平成20年2月27日			
	社家 吸水井	小鮎川 第二鮎津橋	貫抜川	中津川 鮎津橋
採取量(L)	210	140	流量が僅かであつた為未実施	150
クリプトスポリジウム 検鏡法測定結果	8/10L	18個/10L		2個/10L
遺伝子解析結果	ブタ・ウシ・ ヒト	ブタ		ブタ
ジアルジア	2個/10L	10個/10L		5個/10L

B) 平成20年度調査

採取日	平成21年		
	2月9日	2月12日	2月16日
採水地点	社家吸水井		
採取量(L)	300	330	510
クリプトスポリジウム 検鏡法測定結果	1個/10L	未実施	0個/10L
遺伝子解析結果	ブタ	不検出	ブタ・その他
ジアルジア	0	未実施	0

飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究
—消毒副生成物分科会—

研究代表者 松井佳彦 北海道大学大学院工学研究科 教授
研究分担者 伊藤禎彦 京都大学大学院工学研究科 教授
研究分担者 浅見真理 国立保健医療科学院水道工学部水質管理室長

研究要旨

消毒副生成物の飲用寄与率について、実態調査に基づき推定を行った。その結果、トリハロメタン4種と一部のハロ酢酸については現行の飲用寄与率のデフォルト値(20%)よりも低い値が適切であることを示した。また、ハロアセトニトリルについては、20%よりも高い値の方が適切であることを示し、具体的な案を提示した。塩素酸と過塩素酸について TD 調査試料を利用して経口摂取における飲用水の寄与に関する検討を行ったところ、塩素酸の場合、水道水の寄与率が 50~80%程度と高く、また、食品からの摂取量の中でも水道水由来の塩素酸を有するもの(米類の炊飯調理等)と考えられる食品群もあった。一方、過塩素酸の一日摂取量の推定値は、6地点で 2.9~84 µg/day の範囲であり、摂取量のうち食品の寄与率が水道水の寄与率と比べ高かった。NDMA 等 10 種のニトロソアミン類のうち、NDMA、NMor、NPyr が原水やオゾン処理水等から検出され、NDMA は WHO 飲料水水質ガイドライン値の 1/10 を超える場合もあった。オゾン処理における NDMA 前駆物質の一部として、黄ばみ防止剤を同定した。また、水系により生成特性が異なると考えられ特定の前駆体排出源の存在が示唆された。臭素酸イオンの抑制に関する注入率・溶存オゾン濃度制御併用の効果とその限界を示した上で、酸注入にともなう臭気物質の低減効率の低下率を推定した。また、低オゾン注入率時のユスリカ対策についても知見を取りまとめた。抱水クロラール等について実態調査を行った結果、抱水クロラールは最大で水質管理目標値の 60%、ジクロロアセトニトリルは 35%の濃度が検出された。また TCM などを制御指標とした未規制消毒副生成物の制御の有効性を示した。

A. 研究目的

塩素処理およびオゾン処理による副生成物のうち N-ニトロジメチルアミン (NDMA)、トリハロメタン (THMs)、ハロ酢酸 (HAAs)、ハロアセトニトリル (HANs)、抱水クロラール、臭素酸イオン、塩素酸等を対象に、生成実態、制御技術および曝露量について、水質基準の逐次改正に関する検討に重要と考えられる事項を中心に調査を行った。特に、THMs、HAAs および HANs の複数経路(飲用、吸入、食品、経皮膚)を考慮した曝露量評価、NDMA の生成実態・生成特性調査、塩素酸・過塩素酸の経口摂取における飲料水の寄与の推定、ジクロロアセトニトリル (DCAN) および抱水クロラールの生成実態に力点をおいて調査を行った。

B. 調査方法

1. 複数経路を考慮した消毒副生成物の曝露量と飲用寄与率の推定

1.1 THMs

関西地域におけるのべ 59 軒の一般住居において、水道水、浴室・台所・居室の室内空気、屋外空気をサンプリングし、THMs 濃度を測定した。同時に、浴室利用状況に関するアンケート調査も実施した。その内訳は、2005 年 11 月~2006 年 12 月に 30 軒、2009 年 9 月に 29 軒(浴室のみ)であった。サンプラーは GL Science 社

製の SP208-100 Dual 空気吸引ポンプに Tenax-TA を充填した吸着管 (Supelco 社製) を接続した装置である。吸着管はあらかじめヘリウムガスを流しながら 100 °C で 30 分間エージングを行った。サンプリング終了後、直ちにアルミニウムホイルで包み、ステンレス缶に保存した。分析にあたっては Shimadzu 社製の TDTS-2010 加熱脱着装置を用いて、吸着管にヘリウムを通しながら 280 °C で 10 分間加熱して THMs を脱着させ、あらかじめ -15 °C に冷却したコールドトラップで再捕集した。次いでトラップ管を 280 °C に加熱して脱着した THMs を Shimadzu 社製の QP2010 GC/MS に導入した。

1.2 HAAs

2007 年 8 月~12 月に関西地域におけるのべ 22 軒の一般住居において、水道水、浴室・居室の室内空気、屋外空気をサンプリングし、HAAs 濃度を測定した。サンプラーは空気吸引ポンプに 0.05 mol/L の水酸化ナトリウム水溶液入りのインピンジャー 2 本直列に接続した装置である。ポンプで吸引しながら空気を捕集液に通すことで HAAs を捕集した。なお、捕集液量は浴室 50 mL、居室・屋外では 60 mL とした。サンプリング終了後、直ちに捕集液をバイアルで 5 °C 保存した。捕集液の分析については、酸性条件下

でメタノールによりメチルエステル化した後、GC/ECD (Shimadzu GC-14B) による分析を行った。

1.3 HANs

水道水および浴室空気試料を京都市(急速ろ過を中心とした従来处理)および大阪府(高度処理)の一般住居 50 軒から採取した。このうち、浴室中の HANs の空气中濃度を加熱脱離-GC/MS 法を用いて測定した。あわせて、水道水および食品中の HANs 濃度を測定した。食品中濃度については、食品試料をマーケットバスケット方式(2009 年8から9月に京都市内で購入)に従い入手し、一般の摂取状況に合わせた調理を水道水を用いて行った上で、試料に含まれる濃度を測定した。

1.4 血液-空気間の分配係数

より合理的な消毒副生成物の吸収量評価のための基礎資料として模擬血液を用いた血液-空気間の分配係数を実験的に検討した。

2. 塩素酸および過塩素酸の実態調査

2.1 概要

国立保健医療科学院にて市販飲料、食品、水道水に含まれる塩素酸や過塩素酸について調査を行い、水道水の寄与の評価を行った。また、水道水の保存による塩素酸・過塩素酸の挙動調査も行った。北千葉広域水道事業団、京都市では、次亜塩素酸ナトリウムの貯蔵日数が塩素酸濃度に及ぼす影響やについて調査を行った。

2.2 水道水の保存による塩素酸・過塩素酸の挙動調査

この調査では、異なる地域の水道給水栓水 3 検体を恒温槽内(暗所)で、20、40℃で0、1、3、7日間保存し、測定試料とした。

2.3 市販飲料中の塩素酸および過塩素酸

市販飲料の実態調査においては 106 試料を対象とした。塩素酸、過塩素酸の定量には、IC/MS/MS(IC : ICS-2000(Dionex 製)、MS/MS : API3200QTrap(Applied Biosystems 製))を使用した。

2.4 食品・水道水中の塩素酸・過塩素酸の摂取量調査における水道水の寄与率調査

2008 年 6~10 月、全国 6 カ所(A~F 地点)よりそれぞれマーケット・バスケット方式により、収集・調製された食品を調査試料とした。粉ミルク試料については、4 社のメーカーのうち、8 種の試料について試買試験を行った。

2.5 実プロセスにおける塩素酸の挙動調査

保管状態や温度条件などと塩素酸の生成条件などについて、北千葉広域水道事業団・京都市などで検討を行った。

3. *N*-ニトロソアミン類の実態および生成特性調査

3.1 国立保健医療科学院における検討

国立保健医療科学院では、調査に先立って LC/MS/MS による分析方法を整備した。この後、オゾン・活性炭処理を有する国内 6 浄水場 (P1~P6) の工程水を 2007 年 10 月に採取した。また、2007 年 9~10、12 月、主たる水系を含む全国 28 ヶ所 (No.1~28) の水道における原水と浄水を採取した。さらに P3、P6 の水源河川 (A 川) 上流支川である B 川 2 地点の表流水 (B1、B2) とその間の下水処理場 2 ヶ所の放流水 (SP1、SP2、ただし SP2 は 2 系列分、以下 SP2-1、SP2-2)、および同じく A 川上流支川である C 川の下水処理場 2 ヶ所の放流水 (SP3、SP4) を 2007 年 11 月に採取した。SP1 では採水時にオゾン処理施設が稼働していた。

また、オゾン処理による NDMA 生成能(以下 NDMA-FP(O₃))測定条件検討のため、A 川表流水を 2007 年 10 月に別途採取した。さらに、SP1 の工程水を 2007 年 12 月に採取した。

次に下水処理水中に含まれる NDMA 前駆体の調査と、複数流域での実態調査を行った。前駆体調査では K 下水処理場の流入水を 2008 年 3 月に採取した。試料はろ過後、PS-2 カートリッジ (500 mg, Waters) を用いた固相抽出法により濃縮し、HPLC により分画を行った。この後、各試料 1L 中 800 mL を水温 : 20℃、オゾンガス濃度 : 5 mg/L、ガス流量 : 0.5 L/分、処理時間 : 10 分の条件で半回分式オゾン処理を行った後、NDMA を測定した (NDMA-FP(O₃))。次に、その中で NDMA-FP(O₃) の値が高かった分画について、1 分ごとの分画から 5 mL ずつ採り、1L に定容後、同様の条件で半回分式オゾン処理を行い、LC/MS/MS により NDMA 濃度を測定した。また、NDMA 前駆物質の存在が確認された分画について UPLC/MS/MS により前駆物質の同定を行った。さらに同定した物質からの NDMA の生成確認と寄与率の評価を行った。

2008 年 5、8 及び 11 月には利根川中流域 8 ヶ所の河川水 (地点 A~H) を、2008 年 9~10 月に主たる水系を含む全国 10 ヶ所の水道における原水 (水域 a~j) を、さらに 2008 年 11 月に利根川上流域 8 ヶ所の河川水を採取し、NDMA 濃度および生成能の調査を行った。

加えて、利根川中流域において NDMA 濃度が比較的高い傾向にあった H 川流域の NDMA 排出源探索を行った。また、クロラミン処理によ

り NDMA のクロラミン処理による生成能(以下、NDMA-FP(NH₂Cl))が増加した報告があるため、採水試料のいくつかに 2 種類の方法でクロラミンを添加し NDMA-FP(NH₂Cl)の調査を行った。クロラミン処理においては Mitch らの方法を参考に、試料水量を 200mL、クロラミン濃度を Cl₂ として約 2mM(140mg/L)になるように添加し、20℃で 240 時間暗所に静置した後に上記前処理を行い NDMA-FP(NH₂Cl)を測定した。さらに前報と同様のクロラミン添加法²⁾(以下、今野らの方法: 24 時間暗所で NH₂Cl と接触させた後の残留結合塩素濃度を 3.0±0.5mg/L とする)を用いて、Mitch らの方法による NDMA-FP(NH₂Cl)の値と比較した。

3.2 大阪市による調査

大阪市では、砂ろ過処理の前後にオゾン処理を行う高度浄水処理を採用している。本調査では、浄水処理過程および淀川水系の上流である宇治川・木津川・桂川の実態調査を行った。あわせてオゾン処理および塩素処理による生成についても実験的検討を行った。試料濃縮においては、シリンジ型の C18 固相カラムの下に活性炭カラム AC-2 を 2 個連結させた。分析には LC-MS/MS 法を用い、NDMA 及び *N*-ニトロソアミン類計 10 物質の ng/L レベルの定量を行った。

オゾン処理実験では、オゾン発生装置 WAT-08 (ラウンドサイエンス社製)を用いてバッチ式のオゾン処理実験を行った。オゾン注入率を 1.0mg/L/分とし、河川水または下水処理場放流水 1L を用いて 20℃で 5 分間オゾン処理を行った。オゾン処理時、pH 調整は行っていない。反応終了後に残存した溶存オゾンは、5%チオ硫酸ナトリウム水溶液を用いてただちに除去した。

また、砂カラムによる NDMA 除去処理実験を行った。*N*-ニトロソアミン化合物は、砂ろ過処理及び GAC 処理により除去することができるが、ろ過砂は物理吸着点を持たないため、砂層内の微生物による分解除去の寄与が大きいと推測される。このため、カラム試験を行いその除去性を比較した。ろ材は実際池で使用しているろ過砂を採取して用いた。試料水は通水を開始してから 1 時間以上経過した後採水し、前処理後分析に供した。

3.3 東京都水道局による調査

金町浄水場において浄水処理工程における NDMA の挙動を調査した。さらに、浄水処理後の送水過程で NDMA が増加するかについて浄水中の遊離・結合塩素量を調整した室内実験を実施したので結果を報告する。分析には、固相抽出と UPLC-MS/MS 法を用いた。

3.4 阪神水道企業団による調査

浄水プロセス内の NDMA の挙動を調査した。分析には GC-MS(Cl)を用いた。

4. 臭素酸イオン

オゾン処理における臭素酸イオン低減化について大阪府および阪神水道企業団にてオゾン注入率制御、溶存オゾン濃度制御(測定位置の変更を含む)、酸注入、CT による制御の効果を実施等て評価した。あわせて、ユスリカ対策のためのオゾン処理制御条件について、運用方法とその効果の整理を行った。

5. その他の消毒副生成物の生成実態と低減化対策

ハロ酢酸等その他副生成物については、東京都、北千葉広域水道企業団、奈良県、沖縄県、茨木県、京都市、川崎市などにおいて生成実態および低減化技術に関する調査検討を行った。

C. 研究結果および D. 考察

1. 消毒副生成物の曝露量調査と寄与率の推定

1.1 測定結果

1.1.1 水道水中の消毒副生成物

THMs は、一般住居の水道水から高頻度で検出された(59 軒中、TCM 56 軒、BDCM 59 軒、DBCМ 59 軒、TBM 29 軒、各物質の中央値、TCM>BDCM>DBCМ>TBM)。HAAs の場合、MCA と MBA は一般住居の水道水から未検出で、TBA は一軒のみ検出であった。各物質の中央値は、DCA>TCA>BDCA>BCA>DBA>DBCА の順になった。HANs の場合は、DCAN は 23 軒、BCAN は 29 軒、DBAN は 18 軒から検出された。また、入浴の湯と水道水中の物質濃度に大きな差異が見られなかった。

1.1.2 空気中の消毒副生成物

各室内・屋外空気中のうち浴室中物質濃度が最も高かった。これは入浴の際に使用した水道水から発散されていたためと推測できる。浴室空気について THMs の場合、検出頻度は TCM 59 軒、BDCM 58 軒、DBCМ 57 軒、TBM 44 軒であった。それらの濃度範囲は(0.89~178 µg/m³)、BDCM (0~104 µg/m³)、DBCМ (0~44 µg/m³)、TBM (0~7.63 µg/m³)であった。HAAs の場合、最も検出頻度が高かったのは TCA (0~3.61 µg/m³)、次いで DCA (0~3.01 µg/m³)、DBA (0~0.51 µg/m³) と BCA (0~0.34 µg/m³)であった。HANs の場合、最も検出されたのは DCAN (0~1.81 µg/m³)、BCAN (0~1.08 µg/m³) と DBAN (0~0.61 µg/m³)であった。

台所・居間について THMs の場合、検出頻度(30 軒のうち)は TCM26 軒、DBCМ30 軒、

BDCM22 軒, TBM19 軒であった。それらの濃度範囲はTCM (0~9.68 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) BDCM (0~4.89 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), DBCM (0~1.65 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) および TBM (0~0.53 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) であった。HAAs の場合, 最も検出されたのは TCA (0~3.61 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), DCA(0~3.01 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) であった。居室においても, TCA (0~0.04 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), DCA(0~0.09 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) の検出頻度は最も高かった。なお, HANs については予備実験で検出限界以下であったので浴室以外は測定しなかった。

1.1.3 食品中の消毒副生成物濃度

THMs の場合, TCM が全ての食品項目から検出された。(0.02~32 ng/g) そのうち, 藻類 (32 ng/g), 調味料類 (18.9 ng/g), 砂糖類 (10.2 ng/g) といった冷水使用の食品中濃度が高かった。これは加熱しないことで THMs が揮発しなかったためと考えられる。その次は BDCM (0.31~5.69 ng/g), DBCM (0~3.39 ng/g) であった。TBM はいずれの食品からも検出されなかった。HAAs の場合, 食品からもっとも検出されたのは DCA (0~20.2 ng/g) と TCA (0~37.1ng/g) であった。また HANs はすべての食品サンプルから検出されなかった。

1.2 曝露量および寄与率評価の結果

1.1 の結果から, 水道水の消毒副生成物である THMs, HAAs および HANs について, ヒトは飲用をはじめ, 複数経路でこれらの物質に曝露され, またその各経路の寄与は物質により異なると推定される。以下ではこれらの知見をもとにトリハロメタン (THMs), ハロ酢酸 (HAAs) およびハロアセトニトリル (HANs) を対象物質として, 複数経路の曝露量を評価を行い, 実際の曝露状況に即した飲用寄与率の試算を試みた。評価は実測値と以下の式, 文献値を用いて行った³⁾。

・水道水の飲用による曝露

曝露量 ($\mu\text{g}/\text{day}$) = 水道水中濃度 ($\mu\text{g}/\text{L}$) \times 一日あたりの水道水摂取量 (L/day)

・食品の摂取による曝露

曝露量 ($\mu\text{g}/\text{day}$) = Σ (各食品項目中濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) \times 一日あたりの食品摂取量 (kg/day))

・吸入による曝露

曝露量 ($\mu\text{g}/\text{day}$) = Σ (各室内空气中濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) \times 呼吸率 (m^3/day) \times 各室内環境の滞在時間 (day))

・経皮膚による曝露

曝露量 ($\mu\text{g}/\text{day}$) =

$$2 \times A \times K_p \times C \times \sqrt{\frac{6 \times \tau_{event} \times t_{event}}{\pi}}$$

A = 体表面積 (cm^2)

K_p = 透過係数 (cm/hour)

C = 水道水中濃度 ($\mu\text{g}/\text{L}$)

τ_{event} = 皮膚透過の遅延時間 (hour)

t_{event} = 曝露時間 (hour)

水道水中, 食品中 (水道水で調理) および空气中物質濃度は実測値を用いた。一日あたりの水道水摂取量, 食品摂取量, 呼吸率, 浴室・台所 (実測値) を除いた居室または屋外の滞在時間は文献値を用いた^{4,5)}。経皮膚曝露は, DuBois 式で算出した体表面積の 100% が浴槽水あるいはシャワー水に浸かっているものとし, 各物質の透過係数および皮膚透過の遅延時間は文献値を用いた⁶⁾。なお, これらの評価では, 体内吸収率を 1 と仮定していることに注意されたい。

1.2.1 曝露量

THMs の場合では, 飲用, 吸入, 経皮膚曝露量がほぼ同水準であり, 食品経路の経口曝露量がやや低い結果となった。いずれの曝露経路でも TCM は最も曝露量が高く (総曝露量の平均値は 43.4 $\mu\text{g}/\text{day}$), 次いで BDCM (24.3 $\mu\text{g}/\text{day}$), DBCM (12.3 $\mu\text{g}/\text{day}$) と TBM (0.98 $\mu\text{g}/\text{day}$) であった。飲用経路以外に吸入, 経皮膚または食品といった重要な曝露経路が確認できた。

HAAs については, 飲用または経食品といった経口曝露が最も重要であることが判明した。それに較べて, 吸入・経皮膚との二経路はほぼ無視できる程度の曝露量であった。THMs に比較して, HAAs のヒトへの曝露シナリオが異なることが分かった。同じ DBPs でも, 物質の物理・化学特性を重視して曝露評価を行うべきであることが指摘できる。また, 9 種類の HAAs のうち, DCA と TCA の総曝露量の中央値 (30, 29.4 $\mu\text{g}/\text{day}$) は最も高く, 次いで BDCA (4.65 $\mu\text{g}/\text{day}$), BCA (3.97 $\mu\text{g}/\text{day}$), DBA (2.37 $\mu\text{g}/\text{day}$), DBCA (1.62 $\mu\text{g}/\text{day}$) であった。

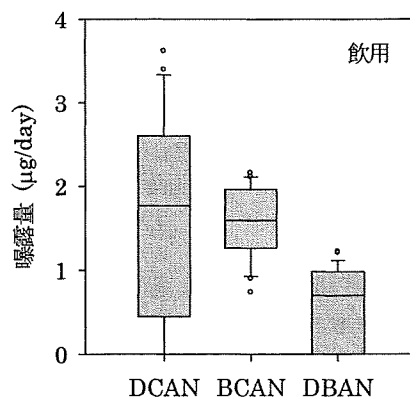


図1 HANs の曝露量 (飲用)

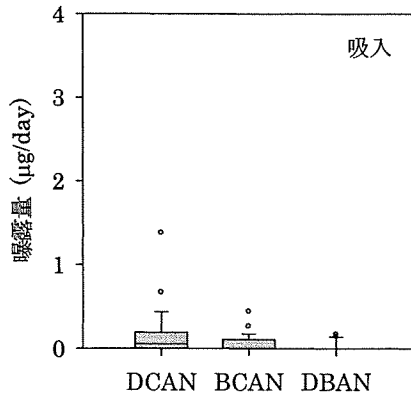


図2 HANsの曝露量(吸入)

HANsの場合(図1,2)は、飲用曝露量は吸入より圧倒的高かったものの、総曝露量はTHMsやHAAsほど高くなかった。DCANの総曝露量が最も高く(中央値1.77 µg/day)、次いでBCAN(1.64 µg/day)とDBAN(0.7 µg/day)であった。

1.2.2 各DBPsの飲用寄与率の試算

各DBPsの飲用寄与率を現行の定義(図3)に従って算出した。THMsの場合、いずれの物質の飲用寄与率の中央値は現行水質基準設定上に用いられる0.2の上下に位置した(図4)(TCM 0.18, BDCM 0.32, DBCM 0.23, TBM 0.08)。試算した飲用寄与率では59人の被験者中33人(TCM)、4人(BDCM)、20人(DBCM)、32人(TBM)が0.2以下であったため、飲用寄与率の値を適切に調整する必要があるといえる。ここでは、各被験者に対応する飲用寄与率の度数分布を対数正規分布へのあてはめを試みた。その結果を図5に示す。あてはめの適切さは視覚判断、カイ二乗またはKolmogorov-Smirnov検定の結果によって判定した。視覚判断では、TCM, BDCM, DBCMの飲用寄与率是对数正規分布に従う可能性が高いことがわかった。

また、検定の結果は、TCM, BDCM, DBCM, TBMの飲用寄与率は正規分布ではない一方、局所的な不適合(低・高寄与率側)で対数正規分布に従わない可能性もあるというものであった。本研究では、以下これら三物質の飲用寄与率是对数正規分布に従うと仮説をした上で議論した。

TCMとDBCMの場合、現行の飲用寄与率0.2に対応する累積確率は0.5付近であったが、5ないし10パーセンタイル値に対応する飲用寄与率が望ましいとすると分布から0.1が妥当であると推定された。BDCMについては、飲用寄与率0.2に対応する累積確率は10パーセンタイル付近のため、維持が望ましいといえる。TBMに関しては、飲用寄与率の中央値が0.1付近となったため、飲用寄与率0.1あるいはそれ以下が妥当で

あると考えられた。

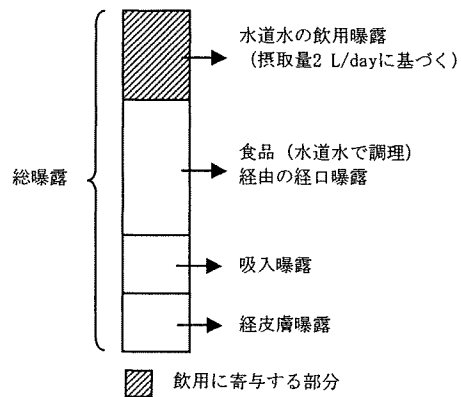


図3 現行の飲用寄与率の定義

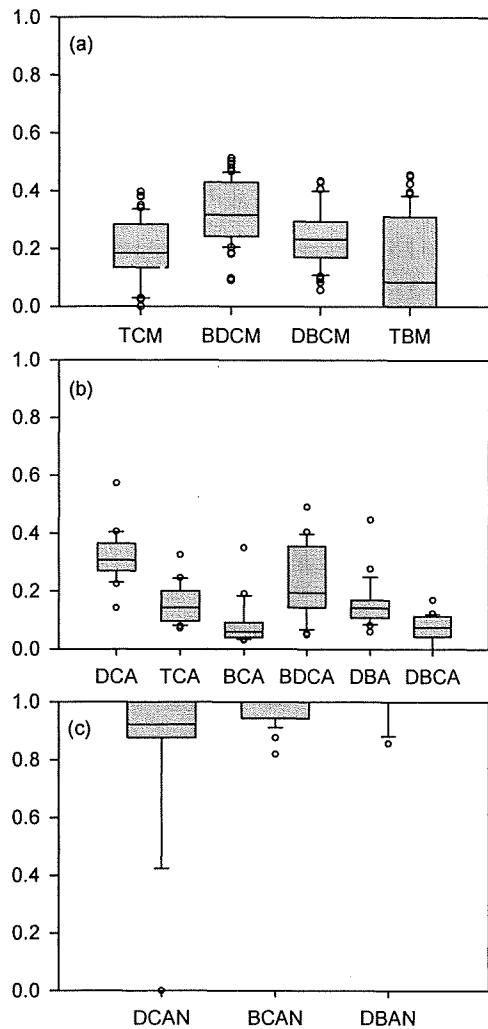


図3 飲用寄与率の分布の比較(現行の定義)

HAAsの場合、飲用寄与率の中央値は0.31(DCA), 0.14(TCA), 0.06(BCA), 0.19(BDCA), 0.14(DBA), 0.08(DBCA)で(図3(b)), DCA以外はどれも現行の飲用寄与率0.2以下であった。THMsと同様に、これら化合物の飲用寄与率是对数正規分布に従うと仮定し、TCA, BDCA, DBAの場合は、5ないし10パーセンタイル値に相当する値として飲用寄与率を求める