

Fig. 6. Comparison of removal ratios of PV (white) and CV (gray) after settling during the coagulation process at approximately pH 7. Source water, lake water; coagulant dosage, 2.70 mg-Al/L. Values were determined from one experiment or are the means of duplicate experiments; error bars indicate the data range.

coagulants vs.  $\text{FeCl}_3$ ) and coagulation pH (7 vs. 5.5–6.5), were different between our study and that of Mayer *et al.*, which may explain the differences in the removal ratios between the two studies. Nevertheless, our findings clearly show that there was no large difference between the PV and CV removal ratios when aluminum-based coagulants were used as the coagulant at about pH 7.

The removal ratios of PV and CV determined by using the PFU and PCR methods were almost the same during coagulation with  $\text{AlCl}_3$  and PACI-2.1c; however, when PACI-2.1b was used as the coagulant, the removal ratios determined by using these two methods differed slightly (Fig. 6). This result suggests that the PCR method, which allows for rapid, highly sensitive, and highly specific quantification of viruses, is an acceptable alternative to the PFU method, which is time-consuming and labor-intensive, for the evaluation of enterovirus removal by coagulation with aluminum-based coagulants. However, if the removal ratios determined by using these two methods showed a greater difference, cell culture-based infectivity assays, including the PFU method, would be required to evaluate the removal of infectious viruses in order to predict the human health risk. Ryu *et al.* [28] reported that the removal ratios of AdV, CV, and EV evaluated by using a cell culture-based infectivity assay (i.e., the PFU or TCID<sub>50</sub> method) and by using the PCR method were almost identical during coagulation with  $\text{FeCl}_3$ , which is in agreement with our result even though the coagulation conditions were quite different between the two studies.

### 3.4. Mechanisms of virus removal

Coprecipitation into growing aluminum hydroxide during charge neutralization and adsorption onto formed aluminum

hydroxide flocs are two known mechanisms for removal of natural organic matter and As(V) during the coagulation processes with aluminum-based coagulants [4,5,29]. To investigate whether these mechanisms contribute to virus removal, and if so, whether differences exist in the contributions of these mechanisms for virus removal among  $\text{AlCl}_3$ , PACI-2.1b, and PACI-2.1c, two types of batch coagulation experiments were conducted at approximately pH 7 (Fig. 7). Although the removal ratios of infectious PV, as evaluated by using the PFU method, during coagulation with  $\text{AlCl}_3$ , PACI-2.1b, and PACI-2.1c were  $1.6\text{-log}_{10}$ ,  $2.7\text{-log}_{10}$ , and  $3.0\text{-log}_{10}$ , respectively, the effectiveness of these coagulants to remove virus decreased to  $\leq 0.5\text{-log}_{10}$  when the PV was added to the beaker after charge neutralization (i.e., after rapid mixing) (Fig. 7a). A similar trend was observed for the removal ratios of total PV evaluated by using the PCR method (Fig. 7b). These results indicate that coprecipitation into growing aluminum hydroxide during charge neutralization is the main mechanism for virus removal by aluminum-based coagulants, and that the difference in the charge neutralization capabilities of the coagulants, which we could not evaluate simply by the colloid titration method, probably led to the difference in virus removal efficiency during coagulation. In contrast, the removal ratios of infectious PV in the adsorption process were  $\leq 0.5\text{-log}_{10}$  no matter what type of coagulant was used (Fig. 7a). A similar trend was observed for the removal ratios of total PV evaluated by using the PCR method (Fig. 7b). Several researchers have reported that the properties of aluminum floc particles generated during coagulation differ depending on the distribution of the aluminum species in the coagulants [1,11,30]. Our results suggest that there was no difference in the adsorption of PV onto the preformed aluminum floc particles produced by  $\text{AlCl}_3$ , PACI-2.1b, or PACI-2.1c. Therefore, virus adsorption on formed aluminum hydroxide flocs is not the main mechanism for virus removal by aluminum-based coagulants, although this mechanism made a partial contribution to virus removal during coagulation.

Here we have shown that PACI-2.1c, which contains  $\text{Al}_{30}$  species, removed human enteroviruses, specifically PV and CV, more efficiently than did the other aluminum-based coagulants tested. Ye *et al.* [12] recently reported that  $\text{Al}_{13}$  aggregates, which are precursors for  $\text{Al}_{30}$  species, induced by an aging process promoted higher yields and faster production of  $\text{Al}_{30}$  species, whereas  $\text{Al}_{13}$  aggregates prepared by increasing the basicity hampered the production of  $\text{Al}_{30}$  species. In the present study, PACI-2.1c was prepared by using the base titration method without any aging process. Therefore, further optimization of the preparation of PACIs for the effective formation of  $\text{Al}_{30}$  species should further improve virus removal performance during coagulation and lead to the development of novel aluminum-based coagulants for efficient virus removal.

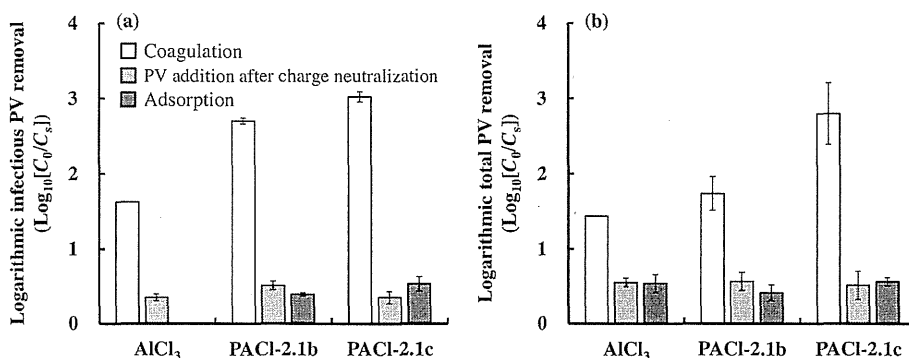


Fig. 7. Effects of charge neutralization and adsorption on preformed aluminum floc particles on (a) infectious PV removal as evaluated by using the PFU method and on (b) total PV removal as evaluated by using the PCR method during the coagulation process at approximately pH 7. Source water, lake water; coagulant dosage, 2.70 mg-Al/L. Values were determined from one experiment or are the means of duplicate experiments; error bars indicate the data range.

#### 4. Conclusions

We found that differences in the distribution of aluminum hydrolyte species in the coagulants affected the removal of the enteroviruses during the coagulation process; PV and CV removal ratios were larger with high  $Al_c$  content PACl (PACl-2.1c) than with high  $Al_b$  content coagulant ( $AlCl_3$  solution) and high  $Al_b$  content PACl (PACl-2.1b). Unlike  $AlCl_3$  or PACl-2.1b, PACl-2.1c contains  $Al_{30}$  species, indicating that  $Al_{30}$  species probably play a major role in enterovirus removal during the coagulation process. The PV and CV removal ratios were almost identical during the coagulation process, regardless of the coagulant type or virus quantification method used, suggesting that PV and CV behaved similarly during the coagulation process.

The main mechanism for virus removal during the coagulation process was coprecipitation into growing aluminum hydroxide during charge neutralization. Virus adsorption onto formed aluminum hydroxide flocs made a limited contribution to virus removal.

#### Acknowledgements

We thank Dr. Hiroyuki Shimizu (National Institute of Infectious Diseases) for providing the Sabin attenuated LSc/2ab strain of PV type 1. We also thank Dr. Daisuke Sano and Ms. Rie Nomachi (Hokkaido University) for providing buffalo green monkey kidney epithelial cells and for teaching us how to cultivate and quantify infectious PV. We thank the staff of the drinking water treatment plants for providing source water samples. This research was supported in part by a Grant-in-Aid for Young Scientists A (no. 25709044, 2013), a Grant-in-Aid for Scientific Research S (no. 24226012, 2012), and a Grant-in-Aid for Scientific Research B (no. 15H04064, 2015) from the Japan Society for the Promotion of Science; by a Health and Labor Sciences Research Grant (Research on Health Security Control) from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan; and by a grant from the Kurita Water and Environment Foundation (no. 14A007, 2014).

#### References

- [1] M.Q. Yan, D.S. Wang, J.H. Qu, W.J. He, C.W.K. Chow, Relative importance of hydrolyzed Al(III) species ( $Al_3$ ,  $Al_4$ , and  $Al_6$ ) during coagulation with polyaluminum chloride: a case study with the typical micro-polluted source waters, *J. Colloid Interface Sci.* 316 (2007) 482–489.
- [2] P.Y. Zhang, Z. Wu, G.M. Zhang, G.M. Zeng, H.Y. Zhang, J. Li, X.G. Song, J.H. Dong, Coagulation characteristics of polyaluminum chlorides PAC- $Al_m$  on humic acid removal from water, *Sep. Purif. Technol.* 63 (2008) 642–647.
- [3] Y. Wang, W.Z. Zhou, B.Y. Gao, X.M. Xu, G.Y. Xu, The effect of total hardness on the coagulation performance of aluminum salts with different Al species, *Sep. Purif. Technol.* 66 (2009) 457–462.
- [4] C.Z. Hu, H.J. Liu, G.X. Chen, J.H. Qu, Effect of aluminum speciation on arsenic removal during coagulation process, *Sep. Purif. Technol.* 86 (2012) 35–40.
- [5] H.J. Liu, C.Z. Hu, H. Zhao, J.H. Qu, Coagulation of humic acid by PACl with high content of  $Al_3$ : the role of aluminum speciation, *Sep. Purif. Technol.* 70 (2009) 225–230.
- [6] D.S. Wang, W. Sun, Y. Xu, H.X. Tang, J. Gregory, Speciation stability of inorganic polymer flocculant-PACl, *Colloid Surf. A* 243 (2004) 1–10.
- [7] Z.Y. Chen, Z.K. Luan, J.H. Fan, Z.G. Zhang, X.J. Peng, R. Fan, Effect of thermal treatment on the formation and transformation of Keggin  $Al_7$  and  $Al_{30}$  species in hydrolytic polymeric aluminum solutions, *Colloid Surf. A* 292 (2007) 110–118.
- [8] Z.Y. Chen, B. Fan, X.J. Peng, Z.G. Zhang, J.H. Fan, Z.K. Luan, Evaluation of  $Al_{30}$  polynuclear species in polyaluminum solutions as coagulant for water treatment, *Chemosphere* 64 (2006) 912–913.
- [9] C.Q. Ye, D.S. Wang, X.H. Wu, J.H. Qu, *K*-Value-based ferron assay and its application, *J. Colloid Interface Sci.* 335 (2009) 44–49.
- [10] M. Kimura, Y. Matsui, K. Kondo, T.B. Ishikawa, T. Matsushita, N. Shirasaki, Minimizing residual aluminum concentration in treated water by tailoring properties of polyaluminum coagulants, *Water Res.* 47 (2013) 2075–2084.
- [11] S.X. Duan, H. Xu, F. Xiao, D.S. Wang, C.Q. Ye, R.Y. Jiao, Y.J. Liu, Effects of Al species on coagulation efficiency, residual Al and floc properties in surface water treatment, *Colloid Surf. A* 459 (2014) 14–21.
- [12] C.Q. Ye, Z. Bi, D.S. Wang, Formation of  $Al_{30}$  from aqueous polyaluminum chloride under high temperature: role of  $Al_3$  aggregates, *Colloid Surf. A* 436 (2013) 782–786.
- [13] J.L. Liu, C. Huang, B.A. Dempsey, J.Y. Hu, Fate of hydrolyzed Al species in humic acid coagulation, *Water Res.* 56 (2014) 314–324.
- [14] J. Mertens, B. Casentini, A. Mason, R. Potting, B. Wehli, G. Furrer, Polyaluminum chloride with high  $Al_{30}$  content as removal agent for arsenic-contaminated well water, *Water Res.* 46 (2012) 53–62.
- [15] N. Shirasaki, T. Matsushita, Y. Matsui, A. Oshiba, K. Ohno, Estimation of norovirus removal performance in a coagulation-rapid sand filtration process by using recombinant norovirus VLPs, *Water Res.* 44 (2010) 1307–1316.
- [16] N. Shirasaki, T. Matsushita, Y. Matsui, A. Oshiba, T. Marubayashi, S. Sato, Improved virus removal by high-basicity polyaluminum coagulants compared to commercially available aluminum-based coagulants, *Water Res.* 48 (2014) 375–386.
- [17] G.A. Shiu, M.D. Sobsey, Removal of norovirus from water by coagulation-flocculation and sedimentation processes, *Water Sci. Technol.* 15 (2013) 155–163.
- [18] M.D. Sobsey, Inactivation of health-related microorganisms in water by disinfection processes, *Water Sci. Technol.* 21 (1989) 179–197.
- [19] C.J. Shi, J. Wei, Y. Jin, K.F. Kueh, P.C. Chin, Removal of viruses and bacteriophages from drinking water using zero-valent iron, *Sep. Purif. Technol.* 84 (2012) 72–78.
- [20] B.K. Mayer, H. Ryu, M. Abbaszadegan, Treatability of U.S. Environmental Protection Agency contaminant candidate list viruses: removal of coxsackievirus and echovirus using enhanced coagulation, *Environ. Sci. Technol.* 42 (2008) 6690–6696.
- [21] P. Payment, M. Tremblay, M. Trudel, Relative resistance to chlorine of poliovirus and coxsackievirus isolates from environmental sources and drinking water, *Appl. Environ. Microbiol.* 49 (1985) 981–983.
- [22] F.L. Cromeans, A.M. Kahler, V.R. Hill, Inactivation of adenoviruses, enteroviruses, and murine norovirus in water by free chlorine and monochloramine, *Appl. Environ. Microbiol.* 76 (2010) 1023–1033.
- [23] H. Katayama, A. Shimazaki, S. Ohgaki, Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater, *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (2002) 1033–1039.
- [24] Y.S.C. Shieh, D. Wait, L. Tai, M.D. Sobsey, Methods to remove inhibitors in sewage and other fecal wastes for enterovirus detection by the polymerase chain-reaction, *J. Virol. Methods* 54 (1995) 51–66.
- [25] M.Q. Yan, D.S. Wang, J.F. Yu, J.R. Ni, M. Edwards, H.H. Qu, Enhanced coagulation with polyaluminum chlorides: role of pH/alkalinity and speciation, *Chemosphere* 71 (2008) 1665–1673.
- [26] J.L. Liu, C.P. Huang, C.J.M. Chin, J.R. Pan, The origin of  $Al(OH)_3$ -rich and  $Al_{30}$  aggregate flocs composition in PACl coagulation, *Water Res.* 43 (2009) 4258–4295.
- [27] W.A.M. Hijnen, G.J. Medema, Elimination of Micro-Organisms by Drinking Water Treatment Processes: A Review, IWA Pub, London, UK, 2010.
- [28] H. Ryu, B. Mayer, M. Abbaszadegan, Applicability of quantitative PCR for determination of removal efficacy of enteric viruses and *Cryptosporidium* by water treatment processes, *J. Water Health* 8 (2010) 101–108.
- [29] J. Bratby, *Coagulation and Flocculation in Water and Wastewater Treatment*, 2nd ed., IWA Pub, London, UK, 2004.
- [30] L.J. Feng, W.Y. Wang, R.Q. Peng, S. Zhao, H.Y. Dong, S.L. Sun, B.Y. Cao, Q.Y. Yang, Coagulation performance and membrane fouling of different aluminum species during coagulation/ultrafiltration combined process, *Chem. Eng. J.* 262 (2015) 1161–1167.

# 水道における人への危害が問題となる病原微生物とその対策\*

泉山信司 遠藤卓郎

## 1. はじめに

言うまでもなく、水道における病原微生物への対策は重要な課題である。今日のが国にあっても、塩素消毒が不適切な井戸水を介した感染事故はしばしば発生をみている。加えて、近年に至り耐塩素性病原微生物（クリプトスポリジウム等）による汚染事故は水質に深刻な問題を投げかけている。また、現行の水質管理は一方で浄水場から蛇口までの水の安全をうたいながら、レジオネラなど病原細菌の Regrowth 問題を避けてきたように思われる。集合住宅や病院施設あるいは給湯施設の普及・大規模化を前にして、いつまで避けて通れるのであろうか。浄水場で水を塩素消毒しても、貯水槽等の末端の管理を怠れば微生物の汚染をまねくのは水を見る（検査する）までもなく、火を見るよりも明らかである。

## 2. 歴史的な背景

本誌読者であれば多くを承知されているところであろうが、水道における微生物問題の歴史について成書によれば、近代水道が開始される以前の水道は、病気を運ぶことを理由に嫌われていた時代があったようである。かつて、ろ過なし、消毒なしの水道が原因で、コレラが流

行する時代があった<sup>1-3)</sup>。1848年に始まったロンドンのコレラの大流行においては、3万人が罹患して1万人以上が死亡している。John Snow が疫学調査で水道が原因であることを突き止め、1854年の再流行では水道を止めることで流行を収束させている。この時の調査がいわゆる疫学の始まりとされ、コレラ菌発見の30年前のことであった。

さていわゆる水系感染とは、病原微生物で汚染された水を摂取することによる（糞口感染）消化器感染症が問題であった。山間部に降った雨が海に達するまでの間、同一水系内で取水、使用、排水が繰り返され、水は容易に糞便汚染を受ける。そのため、安全な水道水の供給には、凝集・沈殿・ろ過に加え、塩素消毒が必須となる。病原体としては、糞口感染するあらゆる種類のものが問題となり、例えば腸管出血性大腸菌、コレラ、肝炎ウイルス、ノロウイルス等々、枚挙に暇がない。国内でも様々な病原体による感染事故が複数報告され（表1）<sup>4)</sup>、幼稚園の井戸水を介して319名が腸管出血性大腸菌に感染し、2名が死亡するといった集団感染も経験している<sup>4)</sup>。しかし個々の水道においてあらゆる病原体を検査するのは現実的ではなく、遊離残留塩素濃度が測定され、汚染の指標として一般細菌、大腸菌群などが検査されてきた。この間の技術の発展により特定酵素基質培地法で大腸菌を的確に検出することが可能となり、平成15年の水道水質基準の改定で大腸菌群から大腸菌の測定に移行している<sup>5)</sup>。すなわち、一般細菌あるいは大腸菌群の検査ではいずれにおいても環境細菌が検出されることから、糞便汚染の指標性に優れた大腸菌に特定して検出する試験法が採用されるに至った。周知のごとく、現在の大腸菌の試験方法では複数の種類の培地（MMO-MUG 培地、IPTG 添加 ONPG-MUG 培地、XGal-MUG 培地、ピルビン酸添加 XGal-MUG 培地）が使用されている。

幸いなことに、遊離残留塩素消毒は各種細菌やウイルス類に対して強い殺滅効果を示すことから、これらを原因とした感染症はおおよそ防がれてきた。そんな中で、クローズアップされたのがクリプトスポリジウム（寄生性原虫類）など耐塩素性病原微生物である。これらは環境中を生き抜くために強固な嚢子（オーシスト、シスト）を形成することから塩素消毒に極めて強い抵抗性を示す。加えて、これらの嚢子は5 μm ほど小さく（図1）、状況によっては通常の凝集・沈殿・ろ過により完全な除去が期待できないことも想定される。国内でも1996年の越生町で発生した水道水を介したクリプトスポリジウム集団感染がよく知られており、地域住民の6割強の8,800人が発症したとされる<sup>6)</sup>。クリプトスポリジウム感染では非血性的水様下痢を主徴とし、腹痛・吐き気、嘔吐、中程度の発熱などの症状を呈する。本感染症に対しては未



Shinji Izumiyama  
博士（工学）

平成9年 埼玉大学大学院理工学研究科修士課程修了  
同年 株式会社池田理化企画学術課社員  
13年 国立感染症研究所寄生動物部第一室研究員  
17年 同部主任研究官  
平成26年度土木学会論文賞共同受賞  
第50回環境工学研究フォーラム論文賞共同受賞



Takuro Endo  
獣医学博士

昭和45年 東京水産大学（水族病理学）卒業  
同年 国立予防衛生研究所寄生虫部研究生  
46年 東京慈恵会医科大学寄生虫学助手  
49年 国立予防衛生研究所寄生虫部研究員  
53-55年 西ドイツ・ボン大学招聘研究者  
60年 国立予防衛生研究所寄生虫部第一室長  
平成9年 国立感染症研究所（改組）寄生動物部原生動物室長  
14年 同所寄生動物部部長  
20年 同所退官  
同年 同所名誉所員、客員研究員

\* Drinking-water Quality and Preventing Water-borne Infectious Diseases

表1 国内の主な水系集団感染

発生年	場 所	発症者数	病原体	原因等
1953	千葉県茂原市 水道	7,000	ウイルス疑い (ろ過性病原体)	水道疑い, 集水施設破損, 消毒装置不備
1977	佐賀県基山町 小学校	486	A型肝炎ウイルス	浄化槽の工事の問題で井戸水が汚染
1982	札幌市 ストア	7,751	カンピロバクター	井戸水の汚染
1990	浦和市 幼稚園	319	腸管出血性大腸菌 O157	浄化槽汚水により井戸水が汚染
1994	平塚市 ビル	461	クリプトスポリジウム	ビル受水槽が下水により汚染
1996	埼玉県越生町 水道	8,812	クリプトスポリジウム	下水排水を下流で取水による循環
1998	長崎県 大学	821	赤痢菌	井戸の汚染
2000	静岡県 入浴施設	23	レジオネラ	消毒, 衛生管理不十分
2000	茨城県 入浴施設	45	レジオネラ	消毒, 衛生管理不十分
2002	宮崎県 入浴施設	295	レジオネラ	消毒, 衛生管理不十分
2002	北海道 宿泊施設	317	クリプトスポリジウム	原因不明 (水系感染が疑われた)
2004	長野県 宿泊施設	288	クリプトスポリジウム	プール, 蛇口の汚染
2005	秋田県 簡易水道	29	ノロウイルス	原水の汚染
2010	千葉県 ビル	39	ジアルジア	ビル受水槽が汚染

金子光美編著, 水道の病原微生物対策, 序章より抜粋, 他<sup>1, 2)</sup>

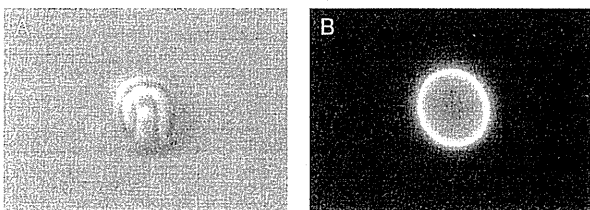


図1 クリプトスポリジウムのオーシスト

A: 微分干渉像, 内部にスポロゾイトが見える (写真では4匹中の3匹)

B: 蛍光染色像, 特異蛍光抗体によりFITCのアップルグリーン色にオーシスト壁が染色される, 大きさは約5 μm

だに特効薬がなく脱水症状などを避けつつ自然治癒を待つほかないのが現状で, 免疫不全者では長期の下痢にともなう体力消耗から致命的となることがあり注意を要する。クリプトスポリジウムではオーシストを1個摂取することによる感染確率が10~20%と推測され<sup>7, 8)</sup>, 10 Lに数個程度の低濃度汚染であっても患者発生につながる。よく知られるところであるが, 1993年の米国ミルウォーキーにおけるクリプトスポリジウム集団感染での感染者は40万人に及んだとされる<sup>9)</sup>。最近でもスウェーデンでは2010年に欧州で最大規模の推定27,000人におよぶ感染者が報告されている<sup>10)</sup>。スウェーデンの事例では水源の湖が汚染され, 前オゾン処理, 急速ろ過 (凝集・沈殿・砂ろ過), 結合塩素消毒が行われていたにもかかわらず, 大規模な集団感染に至っている。同様の処理が行われているわが国としては持って他山の石とすべきではなからうか。

### 3. クリプトスポリジウム対策

越生町の事例を受けて, 「水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針」(平成8年)が策定された<sup>11)</sup>。加えて, 「水道施設の技術的基準を定める省令」(平成12年)において, 原水に耐塩素性病原生物が混入するおそれがある場合にはろ過等の設備を設置すべきことが規定された<sup>12)</sup>。急速ろ過はオーシスト等の2ないし3-Log程度の除去 (99ないし99.9%の除去)が可能とされ, ろ過の徹底を目的にろ過池出口濁度の0.1度未満が求められている。膜処理の利用も可能とされているものの, 水道施設における対応は必ずしも進んでおらず, 平成15年の厚生科学審議会答申「水質基準の見直し等について」におい

て, 「水道水の安全に万全を期するためには, これら耐塩素性病原微生物に対する対策を一層推進していく必要がある」とあらためて勧奨されている<sup>13)</sup>。当時の資料によると, 暫定対策指針上, 対策が必要な施設が3,404施設あるにもかかわらず, 対策済みの施設数は1,916施設に止まっており, 対策がなかなか進まない様子がうかがえる。

その後に暫定対策指針の改定を経て, 対策をさらに充実するため, 「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」(平成19年)が適用された<sup>14)</sup>。この新たな指針では, 水道原水に係るクリプトスポリジウム等による汚染のおそれの程度を分類し (図2), 各分類に対応した施設整備, 原水等の検査, 運転管理, 施設整備中の管理等の措置が示された。加えて, 新たに導入する紫外線処理について, 紫外線処理の適用要件, 原水の水質変化時の対応, および, 紫外線照射量の常時監視等の運転・維持管理に必要な事項が示された。

耐塩素性病原微生物汚染への対策の一環として, 検査法の充実も図られた。クリプトスポリジウム等の検査方法は, 水道水20 L (河川水等の原水では10 L)を濃縮, 精製し, 1オーシストを検出しようとするものであること, さらに蛍光ならびに微分干渉顕微鏡を用いて形態学的な観察により判定するものであることから, 技術的習熟が要求されてきた<sup>15)</sup>。平成24年に, 顕微鏡検査法に代わる方法として遺伝子検査法が追加導入された<sup>16)</sup>。これにより問題となる粒子の真偽, 遺伝子のコピー数による定量, 塩基配列から虫種といった情報が得られるようになり, 顕微鏡検査の信頼性を補いつつ, 新しい情報が得られるようになった。加えて, 遺伝子検査法には多試料の一括測定という利点もあり, 96反応を同時に測定する機器が普及しており, 検査の集約による労力の低減も期待される。

もちろん, 顕微鏡検査法と遺伝子検査法は原理が異なることから, その結果は互いに完全に一致が期待できるものではないが, 定性的な検出は概ね対応し, 相互の信頼性に特段の問題は生じていない。著者らは水道事業者等の協力を得て全国の浄水場30カ所の水道原水を検査した結果, 遺伝子検査方法は適用可能で (表2), プライマーと反応方法を異にした2種類の遺伝子検査法において定性的な検出結果が一致することを確認している<sup>17, 18)</sup>。一方, 遺伝子検査法はフミン等による阻害を受けやすく, そのため試料の高度な精製が要求され, 免疫磁気ビーズ

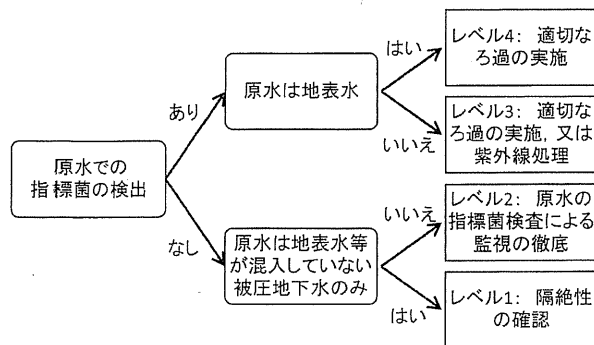


図2 水道原水に係るクリプトスポリジウム等による汚染のおそれの判断の流れ<sup>19)</sup>

法の併用が必須となるなど、費用面での負担軽減にはつなげていない。今後、磁気ビーズ試薬のコストダウンや簡便で安価な核酸抽出法といった改善方法があれば助かる状況にある。なお、ここにて検査の精度管理に必須のクリプトスポリジウム等の陽性コントロールの国内供給も始まりつつある。

クリプトスポリジウム検査は容易ではないことから、大腸菌あるいは嫌気性芽胞菌が、糞便汚染の指標として使われる。嫌気性芽胞菌は大腸菌と異なり塩素消毒に抵抗性の芽胞を形成することから、クリプトスポリジウムに近い残存性が期待され指標として採用されている。いずれかの指標菌が原水から検出された場合には、クリプトスポリジウムが混入するおそれがある場合に該当し、汚染の程度に応じて浄水処理設備の設置が規定されている。大腸菌検査の定性および定量試験の使い分けを文章上で明確にしたり、嫌気性芽胞菌の培地では抗生物質の製造中止にともなう代替品の利用を可能とするなどの、通知の軽微な見直しも行われている<sup>19)</sup>。

本特集で後述される定量的微生物リスク評価(Quantitative Microbial Risk Assessment, QMRA)のために、河川水中のクリプトスポリジウムの存在実態に関する正確な基礎資料が求められており、顕微鏡検査法、遺伝子検査法のいずれにおいても定期測定と結果の蓄積が必要と考えられる。QMRAについてここでも簡単に触れると、一例としてオランダのある浄水場では、水質基準に定める年間一人あたり $10^4$ 未満の感染リスクを達成するため、クリプトスポリジウム等の除去率として5-Log程度(99.999%)が必要であるものと規定し、その措置として土壌浸透法や貯水池の管理等、急速ろ過、緩速ろ過、膜処理や紫外線等の処理方法を組み合わせる(Multiple Barrier Concept)ことで総合的に8-Log程度の除去率を算出している<sup>20)</sup>。たしかに、8-Logもの除去率が保障されるのであれば、突発的な汚染が生じても水道を介した感染者の発生は考えなくてもよいのかもしれない。また、浄水処理のある工程で不具合が生じて、他の処理が被災してくれるものと期待できる。なお、水道を介したクリプトスポリジウム等の感染事故が疑われる場合に備えて、わが国では過去にさかのぼって検査できるように毎日20Lの上水試料を2週間保存することが推奨されている<sup>14)</sup>。また、100L単位でろ過濃縮と冷蔵保存するための簡便な粉体ろ過装置も開発されている<sup>16)</sup>。

以上述べてきたように、国内の体制は整備されつつあ

表2 国内30ヵ所の水道原水のクリプトスポリジウム検査結果(顕微鏡検査法と遺伝子検査法による比較)<sup>17, 18)</sup>

試料 No.	顕微鏡検査 (oocysts 5 L <sup>-1</sup> )	qPCR (oocysts 5 L <sup>-1</sup> )	RT-LAMP* (Tt 値, min)
1	5	0.32	47
2	1	-	-
3	1	0.15	33
4	-	0.36	39
5	2	-	-
6	2	0.02	33
7	-	-	-
8	2	-	-
9	2	1.1	27
10	2	-	-
11	10	-	-
12	222	0.11	33
13	2	0.89	30
14	-	-	-
15	1	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	1.1	31
19	-	3.2	29
20	-	-	-
21	23	1.3	39
22	-	1.2	30
23	-	-	-
24	-	-	-
25	-	-	-
26	-	-	-
27	33	6	33
28	1	3.4	29
29	-	-	-
30	-	-	-

\*: 不検出, \*RT-LAMP法のTt値(分)は遺伝子増幅により濁度が上昇して陽性判定されるまでの時間で、数字が小さければ高濃度、大きければ低濃度を意味する。qPCRは検量線からオーシスト個数相当に換算されている。

るが、その一方でスウェーデンの事故にみるように海外では今もって集団感染が続いており、対策が必要なことに変わりはない<sup>21)</sup>。1996年の越生町の事例から20年が経過し、膜処理や紫外線処理といった方法も整備されていることでもあり(導入例として例えば、膜処理として国内最大規模の横浜市川井浄水場、通知前から率先導入された八戸圏域水道企業団蟹沢浄水場における紫外線処理装置)、わが国においてもMultiple Barrier Conceptの普及が期待される。

#### 4. 従属栄養細菌数の活用

水道水の微生物学的安全性は遊離残留塩素消毒によって辛くも維持されていることに異を唱える者はいないが、その一方で遊離残留塩素が消失した場合の事態についてはおもてだつて取り上げられてはこなかったように思われる。塩素が消失した貯水槽や配管系内の滞留部分などにおいては、中・低温域で低濃度の有機物を利用して生活する極めて多様な従属栄養細菌類の再増殖(Regrowth)をまねき、やがてレジオネラ属菌やPseudomonas属菌など人に病原性を有する細菌類の増殖にもつながるおそれがある<sup>22)</sup>。その典型例であるレジオネラ属菌の増殖様式は複雑で、雑菌の増殖にともなつてこれを捕食してアメーバ等の原虫類が増殖し、さらにア

メーバを宿主としたレジオネラ属菌の増殖に至るものである。レジオネラ属菌は、ヒトに重篤な肺炎を引き起こし時に致死的なことから、国内ではとくに入浴施設で、海外では冷却塔で問題となっている(表1)<sup>23, 24)</sup>。詳細は省くが、海外では水道水に関連したレジオネラ属菌の感染事例が報告されている<sup>25)</sup>。この問題は末端配管内で生じる問題なので、浄水場で消毒を徹底しても避けることができず、一般の利用者と屋内配管の管理者への注意喚起が必須である。

従属栄養細菌数は、平成20年に水道水質基準における管理目標設定項目に追加された<sup>26)</sup>。試験方法は、放流後の水道水を試料とし、塩素中和剤(チオ硫酸ナトリウム)を含むボトルに採水し、R2A培地を用いた20℃、7日間の培養を行い、目標値は2,000 CFU mL<sup>-1</sup>以下と定められている。

従属栄養細菌数の測定が始まり、(水道事業者の管理下にある給水栓水の)多くの測定値は不検出に近く(図3)、配管内壁のふき取り検査においても概ね不検出の結果となっており、国内の端末給水栓水の安全性は確認されている<sup>18)</sup>。なお、耐震性緊急貯水槽で従属栄養細菌数が高い例も見つかっており、滞留防止・軽減にむけた構造の改修、ならびに定期的な捨て水といった対応の必要性が指摘されている<sup>27)</sup>。

ところで、末端の蛇口を管理するのは建築物の管理者で、メーターまでの水道事業者ではなく、蛇口の管理責任の所在が曖昧で利用者にはわかりづらいかもしれない。従属栄養細菌類の再増殖は貯水槽以降が主な場で、給湯系も問題になる。ところが建築物の管理者は、残念ながら水の専門家ではない。集合住宅や巨大ビルが林立する現状、水道事業者であれば、水の専門家として、利用者への注意喚起や指導が可能かもしれない。貯水槽以降の水道水の管理にむけては東京都水道局が着手し始めるなど新たな動きもみられており、水道事業者の積極的な活躍が期待される<sup>28)</sup>。

なお、まれにクレームの対象となる線虫類の混入は直接的な健康影響はないとしても、利用者にとっては到底

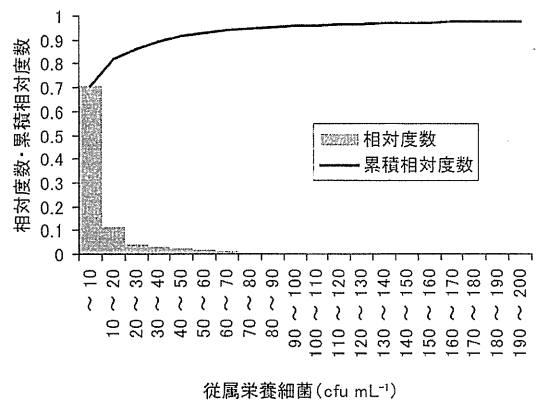


図3 平成21年度の従属栄養細菌数より、最高値の頻度分布<sup>18)</sup>平成23年3月時点で公開されていた全国の190事業者の約1970地点より浄水場出口、給水栓水のH21年度測定最高値を集計した。測定地点の98%が200 cfu mL<sup>-1</sup>未満と低く、平均値は23 cfu mL<sup>-1</sup>と低かった。最高は1,800 cfu mL<sup>-1</sup>であったが、目標値2,000 cfu mL<sup>-1</sup>を超過せず、この地点の翌月は23 cfu mL<sup>-1</sup>と低く、測定時に何か問題があったと想像された。総合すると、浄水と配水の大部分は清浄に保たれていた。

受け入れることのできない問題である。本件も水道水の滞留箇所での微生物の再増殖がまねく結果の1つであり、従属栄養細菌数を指標とした監視体制の適用範囲に含まれる。

#### 5. ウイルス等の水道における未規制項目

クリプトスポリジウムによる集団感染の後、遊離塩素消毒のみに依存した管理を反省し、国内の浄水処理過程におけるウイルスの除去性について検討が行われるようになってきている。幸い、わが国では近年大きな事故に遭遇していないが、米国EPAではウイルスがContaminant Candidate List 3に含められ<sup>29)</sup>、検討対象となっている(表3)。国内で広く使われている急速ろ過を模した、凝集・沈殿・ろ過のジャーテストによれば、アデノウイルス、ポリオウイルスで2-Log以上の除去率が得られてい

表3 Contaminant Candidate List 3 (病原微生物)<sup>29)</sup>

問題とされる病原微生物の候補			
Adenovirus	Enterovirus	Hepatitis A virus	<i>Naegleria fowleri</i>
Caliciviruses	<i>Escherichia coli</i> (0157)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Shigella sonnei</i>

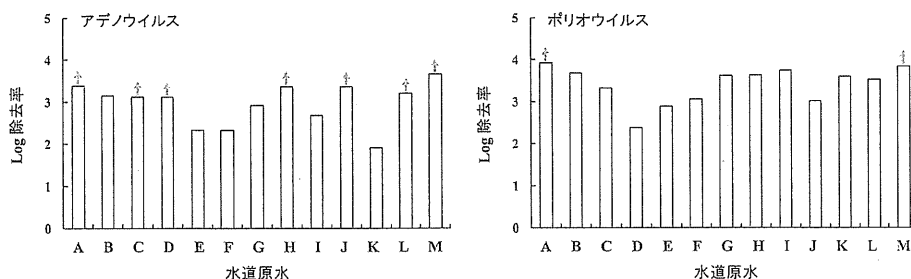


図4 急速ろ過を模した凝集沈殿-膜ろ過における、アデノウイルスおよびポリオウイルスの除去率<sup>30)</sup>実験室内で13ヵ所の水道原水に各ウイルスを添加し、PACI-50sを用いた凝集沈殿と0.45 μmの膜ろ過を行った。ウイルス濃度はプラーク法(PFU法)にて評価した。縦軸は除去率を対数表記したもので、矢印は検出限界未満だったことをあらわす。少なくとも2-Log(99%)、概ね3-Logの除去率が得られている。

る(図4)<sup>30)</sup>。ただ、ウイルスの違いや原水との組み合わせによって除去率が変化すること、また河川水中あるいは浄水中の濃度といった実態はわかっていないなど、今後の検討に残された課題は少なくない。

## 6. おわりに

水道における微生物問題はいつの時代においても決して免れ得ない問題である。時代の変遷にともない新出の病原体が問題となるであろう。2000年を境にわが国を含め多くの工業先進国で一斉にクリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の検査が導入されたが、これはいわば例外的な措置で、塩素消毒が有効でない病原体の出現が水道界に如何に大きなインパクトを与えたかの証左であったのだろう。水道事業においてその都度個々の病原体を対象にした検査を導入することは技術的にも、経済的にも得策ではない。水道の使命は「検査」ではなく、いわばその結果である「安全な水の供給」にある。繰り返しになるが、その意味で適正な指標の設定とそれに対応した Multiple Barrier の導入が必須と考える。いうまでもなく Barrier とは単に装置を指すものではなく、原水流域の情報収集とその管理も有用な Barrier となる。わが国の水道事業は人口の集中した都市部と過疎化の進行が止まらない地域とを同時に抱えている。それぞれにおける対応は一様のはずもなく、おのずから必要となる Barrier も異なる。何よりも本誌読者の諸氏こそが最も有効な Barrier として活躍されることと信じている。

### 参考文献

- 1) 金子光美編著, 2006. 水道の病原微生物対策. 丸善, 東京, pp.2-3.
- 2) 金子光美監訳, 1992. 飲料水の微生物学. 技報堂出版, 東京, pp.109-110.
- 3) 金子光美編著, 1996. 水質衛生学. 技報堂出版, 東京, pp.283-286.
- 4) 埼玉県衛生部, 1991. 腸管出血性大腸菌による幼稚園集団下痢症. しらさぎ幼稚園集団下痢症発生事件一報告書.
- 5) 水質基準に関する省令(平成15年5月30日, 厚生労働省令第101号)
- 6) 埼玉県衛生部, 1997. クリプトスポリジウムによる集団下痢症. 一越生町集団下痢症発生事件一報告書.
- 7) USEPA, 2006. National Primary Drinking Water Regulations: Long Term 2 Enhanced Surface Water Treatment Rule; Final Rule. Federal Register 71(3), 662.
- 8) WHO, 2011. Microbial aspects, in "Guidelines for drinking-water quality, fourth edition". WHO, Geneva, pp.117-153.
- 9) Mac Kenzie, W.R., Hoxie, N.J., Proctor, M.E., Gradus, M.S., Blair, K.A., Peterson, D.E., Kazmierczak, J.J., Addiss, D.G., Fox, K.R., Rose, J.B., Davis, J.B., 1994. A massive outbreak in Milwaukee of cryptosporidium infection transmitted through the public water supply. N Engl J Med. 331(3), 161-167
- 10) Widerström, M., Schönning, C., Lilja, M., Lebbad, M., Ljung, T., Allestam, G., Ferm, M., Björkholm, B., Hansen, A., Hiltula, J., Långmark, J., Löfdahl, M., Omberg, M., Reuterwall, C., Samuelsson, E., Widgren, K., Wallensten, A., Lindh, J., 2014. Large Outbreak of Cryptosporidium hominis Infection Transmitted through the Public Water Supply, Sweden. Emerg Infect Dis. 20(4), 581-589.
- 11) 水道水中のクリプトスポリジウムに関する対策の実施について(平成8年10月4日, 衛水第248号, 厚生省生活衛生局水道環境部長通知).
- 12) 水道施設の技術的基準を定める省令(平成12年, 厚生省令第15号, 第五条の八).
- 13) 厚生科学審議会, 2003年. 水質基準の見直し等について(平成15年4月28日答申). URL: <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/04/dl/s0428-4g.pdf> (2015年11月時点).
- 14) 水道水中のクリプトスポリジウム等対策の実施について(平成19年3月30日, 健水発第0330005号, 厚生労働省健康局水道課長通知).
- 15) 水道における指標菌及びクリプトスポリジウム等の検査方法について(平成19年3月30日健水発第0330006号厚生労働省健康局水道課長通知).
- 16) 水道に関するクリプトスポリジウム等の検出のための検査方法の見直し等について(平成24年3月2日, 健水発0302第2~4号, 厚生労働省健康局水道課長通知).
- 17) 岸田直裕, 原本英司, 今野祥顕, 泉山信司, 浅見真理, 秋葉道宏, 2013. 水中のクリプトスポリジウム・ジアルジア検査における遺伝子検査法の実用性に関する検討. 土木学会論文集 G(環境) 69(7), III\_631-637.
- 18) 松井佳彦, 泉山信司, 秋葉道宏, 松下拓, 片山浩之他, 2013. 水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究-微生物分科会-分担研究報告書, 水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究: 厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)平成22~24年度総合研究報告書(研究代表: 松井佳彦), 23-68.
- 19) 水道における指標菌の検査について(平成23年3月31日, 健水発0331第3号, 厚生労働省健康局水道課長通知).
- 20) Smeets, P.W.M.H., Medema, G.J., van Dijk, J.C., 2009. The Dutch secret: how to provide safe drinking water without chlorine in the Netherlands. Drink. Water Eng. Sci. 2, 1-14.
- 21) Baldursson, S., Karanis, P., 2011. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. Water Res. 45(20), 6603-6614.
- 22) Mena, K.D., Gerba, C.P., 2009. Risk assessment of Pseudomonas aeruginosa in water. Rev Environ Contam Toxicol 201, 71-115.
- 23) レジオネラ症防止指針作成委員会, 2009. 第1章レジオネラ症の発生状況と環境要因. レジオネラ症防止指針(第3版), 財団法人ビル管理教育センター, 東京, pp.3-6.
- 24) O'Loughlin, R.E., Kightlinger, L., Werp, M.C., Brown, E., Stevens, V., Hepper, C., Keane, T., Benson, R.F., Fields, B.S., Moore, M.R., 2007. Restaurant outbreak of Legionnaires' disease associated with a decorative fountain: an environmental and case-control study. BMC Infect Dis. 7, 93.
- 25) Beer, K.D., Gargano, J.W., Roberts, V.A., Hill, V.R., Garrison, L.E., Kutty, P.K., Hilborn, E.D., Wade, T.J., Fullerton, K.E., Yoder, J.S., 2015. Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks Associated with Drinking Water - United States, 2011-2012. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 64(31), 842-848.
- 26) 水質基準に関する省令の一部改正等について(平成19年11月15日, 健水第1115003号, 厚生労働省健康局長通知).
- 27) 小林華奈子, 水野聰, 庭山秀一, 川瀬悦郎, 泉山信司, 高藤俊, 松島有希子, 山口恵司, 2015. 飲料水兼用耐震性貯水槽の衛生管理を目的とした従属栄養細菌数の活用, 平成27年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 602-603.
- 28) 東京都水道局, 貯水槽水道の適正管理. URL: <https://www.waterworks.metro.tokyo.jp/kurashi/chosuisou/kanri.html> (2015年11月時点).
- 29) EPA, 2009. Contaminant Candidate List 3 - CCL 3. URL: <http://www2.epa.gov/ccl/contaminant-candidate-list-3-ccl-3> (2015年11月時点).
- 30) 泉山信司, 秋葉道宏, 松下拓, 片山浩之他, 2015. 水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究-微生物分科会-分担研究報告書, 水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究: 厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)平成26年度総括・分担研究報告書(研究代表: 松井佳彦), 23-51.

# 水道における化学物質・放射性物質の管理と制御

浅見真理, 松井佳彦

水環境学会誌 第39巻 (A) 第2号 (2016)

pp. 48~53 別刷

公益社団法人 日本水環境学会



# 水道における化学物質・放射性物質の管理と制御\*

浅見 真理 松井 佳彦

## 1. 水質基準設定の経緯

日本の水道水質基準は、法律に基づく省令基準と、通知に基づく暫定基準により、基準値などが示されてきた。平成4(1992)年の省令改正の際に、生活環境審議会水道部会水質専門委員会において、水道水質に関する基準のあり方について討議が進められ、「今後の水道の質的向上のための方策について—水道水質に関する基準のあり方—」が答申され、金属類など無機物を中心に26項目であったそれまでの水道水質基準の見直しが行われた。各種の化学物質や異臭味による影響が大きいことから46項目(健康に関する項目29項目と水道水が有すべき清浄に関連する項目17項目からなる)に、さらに水質基準項目を補完する39項目〔快適水質項目(臭気強度、残留塩素等)13項目と監視項目(水道水からの検出頻度は小さいが、健康影響を及ぼす恐れのある26項目)]を加え、のべ85項目が定められた<sup>1)</sup>。

この改正では、いくつか新しい考え方が取り入れられている。

新規化学物質(原文<sup>2)</sup>では「ハイテク汚染物質」については、それまでトリクロロエチレン等の3物質につ

てのみ暫定的な水質基準を通知により定めていたが、それら3物質を含めた有機化学物質10項目(健康に関連する項目として、四塩化炭素、1,2-ジクロロエタン、1,1-ジクロロエチレン、ジクロロメタン、シス-1,2-ジクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,1,2-トリクロロエタン、トリクロロエチレンおよびベンゼンの9項目、水道水が有すべき性状に関連する項目として1,1,1-トリクロロエタン)について新たに基準追加が行われた。この際に参考とされたWHOの飲料水水質ガイドライン(当時第2版~第3版)では、発がん性物質については疫学研究や動物実験等によって得られる情報をもとに生涯の発がん確率 $10^{-5}$ を基本とするガイドライン値を示しており、水質基準改正におけるリスク評価においてもその考え方を原則として取り入れている。しかしながら、そのまま踏襲されているわけではなく、以下に示されるようなリスク管理が行われている。

「厚生省が水道水質基準を改正する際の基本的な考え方は明にされている。要約すれば、わが国の水道原水及び水道水中にどの程度の頻度と濃度で存在しているか、また、これまでどのようにして規制と制御が行われてきたか、さらには基準の達成可能性について検討したことが上げられる。水道の水質基準は、総ての水道事業体に遵守義務を課したものであり、検査にかかるコストとそのために求められる物理的な時空間を考慮した上で実行可能性のある基準が定められている。すなわち基準項目と基準値の設定過程でリスクのアセスメントとマネジメントを行った結果が新しい水質基準であり、すなわち、より基準としての性格が鮮明にされたものと受け止めなければならない。したがって、当然のことながらWHOのガイドラインとは項目や同じ項目であっても基準値は異なるものとなっている。」(文献引用部分を除き、原文<sup>2)</sup>)



Mari Asami  
博士(工学), 防災士  
平成5年 東京大学大学院修士課程修了  
同年 国立公衆衛生院水道工学部研究員  
14年 厚生労働省健康局水道課長補佐  
18年 国立保健医療科学院水道工学部水質管理室長  
23年 同院生活環境研究部上席主任研究官(現職)  
27年 東京大学大学院工学系研究科特定客員大講座水環境制御研究センター教授



Yoshihiko Matsui  
博士(工学)  
昭和59年 北海道大学大学院工学研究科衛生工学専攻博士後期課程中退  
同年 同大学助手(工学部衛生工学科)  
平成7年 岐阜大学助教授(工学部土木工学科)  
10年 同大学教授(工学部土木工学科)  
17年 北海道大学教授(大学院工学研究科環境創生工学専攻)  
現在 北海道大学大学院工学研究院教授  
日本水環境学会副会長  
日本水環境学会論文賞受賞  
日本水環境学会学術賞受賞

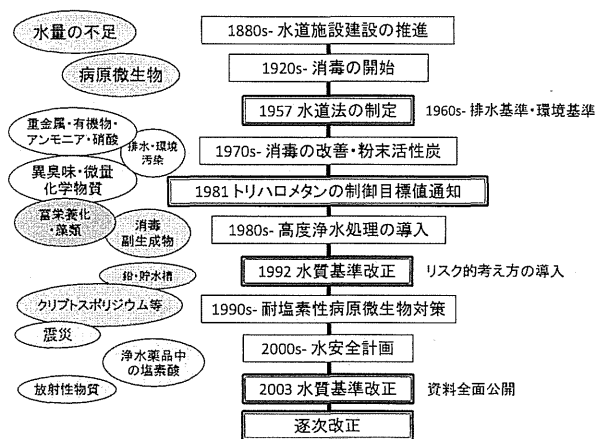


図1 水質管理に関する課題と対策の流れ

\* Management and Control of Chemical and Radioactive Substances in Water Supply

のまま)

この中で、さらに特徴的なリスク管理手法の一つは、総トリハロメタンについてである。それまでは総トリハロメタン（クロロホルム、プロモホルム、プロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタンの4物質濃度の合計値）について当面の制御目標値として年間平均値0.1 mg L<sup>-1</sup>を昭和56（1981）年の厚生省水道環境部長通知に定めていたが、それを基準とすると共に、4物質個々についても基準値が設定された。当初単純な和で制御の目標を示すことで、リスク管理の導入およびその実施がスムーズに行われたものと考えられる。

もう一つは、法的強制力のある基準と目標の両方を示した点である。鉛については、連続的な摂取をしても人の健康に影響を生じない水準として基準値を0.1 mg L<sup>-1</sup>から0.05 mg L<sup>-1</sup>に強化するとともに、水道水中の鉛の濃度を一層低く抑えるため、概ね10年後の長期目標として0.01 mg L<sup>-1</sup>を通知している<sup>1)</sup>。このような段階的な目標の設定はそれまでにはなかったが、鉛の低減には個人の財産である給水管の交換が必要である場合が多く、交換には時間がかかることから、長期目標を示し、徐々に交換が進むことを促したものである。

今一つは、「監視項目」（当時）の設定である。健康に関連する物質のうち、全国的に見て水道水中での検出レベルが極めて低いことなどから現状では基準項目とする必要性はないものであるが、将来にわたって水道水の安全性が確保できるよう、体系的・組織的な監視を行うことにより、その検出状況を把握し、適宜、水質管理に活用することが望ましい項目である<sup>1)</sup>。

監視項目に関する水質測定は、各都道府県の水道行政担当部局が策定する水道水質管理計画（当時）に基づいて、大規模な水道事業者等が中心に行い、監視結果については定期的に取りまとめ、水質専門委員会に報告を行い、科学的な検討を加えた上で、検出状況によっては水質基準へ移行することも検討されること<sup>1)</sup>が示された。このような考え方は、新しい化学物質が次々と課題となる中、データ収集を行いつつ、規制のあり方を考える上で、画期的な手法であった。この考え方は、現在の「要検討項目」に生かされている。ちなみに、当時はまだ日本水道協会の水道統計において浄水の水質が公表されておらず、少し前までは水道水に極微量ではあるが有害物質が含まれていることの結果を公表することが困難であった時期でもあった。したがって、水道水に化学物質が含まれる可能性があることを前提として、リストを示し、検討のもととなるデータを集めようとした点でも、大きな転換点であったと言えることができるであろう。

このように、1992年の水道水質基準改正（1993年施行）は、リスク管理の概念を導入した画期的な内容であり、その後の水質基準の大元となる骨格が示されている点でも興味深い。水質基準の改正においては、原則としてWHOの飲料水水質ガイドライン（最新版は2011年発行の第4版<sup>2)</sup>）などに示されたリスク評価方法を踏襲している。2003年に食品安全委員会が設立されて以降、リスク評価における毒性評価は食品安全委員会で行われ、厚生労働省はリスク管理機関として、その値を元にその物質の利用・検出状況、水道への割当率、制御可能性、検査方法、海外の状況を検討し、必要な場合は

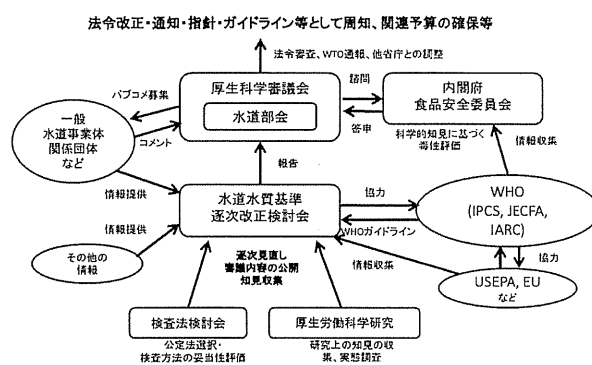


図2 水道水質基準改正の現行の流れ

水質基準値を設定している。図2に改正のスキームを示す。なお、図2は筆者が作成したものであり、必ずしも行政上の位置づけに基づく関係を示したものではないことをご承知願いたい。

## 2. 基準値設定の根拠

厚生労働省<sup>1)</sup>で定めているように、日本の水道水質基準における評価値（遺伝子損傷性を有する発がん毒性以外）は、食品安全委員会の評価値（TDI：耐容一日摂取量（一日当たりkg体重当たりの許容できる摂取量）等）の一定の「割合」を標準的な体重50kgの人が1日当たり水2Lから摂取するとした場合の水中濃度として規定される。その「割合」は、「寄与率」という用語であらわされている場合があるが、本稿では、現実の総摂取量に対する水道水からの寄与の割合（Contribution）を「寄与率」、基準値設定のためにTDI等の一部を割り当てた割合（Allocation）を「割当率」と表記する。すなわち、評価値は、以下の式により設定される。

$$\text{評価値} = \text{耐容一日摂取量 (TDI)} \text{ (mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}\text{)} \\ \times \text{割当率 (\%)} \times \text{標準体重 50 kg} \\ \div \text{摂水量 2 L d}^{-1}$$

当該項目（物質）が基準に設定された場合は、評価値が基準値となるため、上式でリスク評価を行っている段階では、評価値と称している。

広瀬らは、現行の基準値設定項目のうち、健康に関する項目の中から、動物実験等の毒性データを用いて評価値が明確に説明できる項目について、その設定根拠の一部を表1にまとめた<sup>3)</sup>。水質基準は生涯曝露を想定しているため、TDIの根拠データとしては、げっ歯類を用いた2年間試験などの生涯曝露試験や慢性曝露試験の結果を採用しているケースが多くみられる。慢性曝露データがない場合には、発がん性や投与期間の不十分さを考慮した追加の不確実係数がTDIに適用されている。（表1においては、ヒ素、臭素酸、ジクロロ酢酸等については記述が除かれている。）

## 3. 割当率の設定—曝露量調査の必要性

割当率は、TDIに対して水道水経路の摂取量をどの程度割り当てるかを定めた数値であり、現在のところ日本の水道水質基準の設定においては原則として10%が、消毒副生成物については20%がデフォルト値として使用されている。

表1 水道水質基準値（健康に関する項目）の設定根拠となった評価値および割当率（文献<sup>5)</sup>より抜粋）

項目	日本の基準値 [mg L <sup>-1</sup> ]	基準値設定根拠		
		評価値	不確実係数	割当率
カドミウム及びその化合物	0.003	TWI* : 7 µg kg <sup>-1</sup> w <sup>-1</sup>	1	10%
セレン及びその化合物	0.01	TDI* : 4 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1	10%
シアン化物イオン及び塩化シアン	0.01	TDI : 4.5 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000	10%
四塩化炭素	0.002	TDI : 0.71 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000**	10%
シス-1,2-ジクロロエチレン及び トランス-1,2-ジクロロエチレン	0.04	TDI : 17 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000**	10%
ジクロロメタン	0.02	TDI : 6 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000**	10%
クロロ酢酸	0.02	TDI : 3.5 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000	20%
クロロホルム	0.06	TDI : 12.9 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000	20%
プロモジクロロメタン	0.03	TDI : 6.1 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000	20%
ジプロモクロロメタン	0.1	TDI : 21 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000**	20%
プロモホルム	0.09	TDI : 17.9 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000**	20%
ホルムアルデヒド	0.08	TDI : 15 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000**	20%
ホウ素及びその化合物	1	TDI : 96 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	100	40%
トリクロロエチレン	0.01	TDI : 1.46 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	100	70%
塩素酸	0.6	TDI : 30 µg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	1000**	80%

\* : TWI : 耐容週摂取量, TDI : 耐容一日摂取量

\*\* : 発がん性や投与期間の不十分さを考慮した追加の不確実係数が適用されている。

現在水道水の水質基準逐次改正では、原則としてこのデフォルト値を用いるが、実際の摂取量データがある場合や水道を介した他の曝露経路の寄与が大きいと考えられるなどの場合は、大きな割当率を用いることになる。以下に、デフォルト値以外の割当率が使用されている具体例を示す。

例えば、ホウ素については、国内の食品経路のホウ素摂取量の調査結果から、水道水の割当率が40%と定められた<sup>9)</sup>。塩素酸については、代表的な消毒剤である次亜塩素酸ナトリウム溶液に含まれていることから割当率が80%に設定され、次亜塩素酸ナトリウム溶液の品質管理や冷蔵保管などが推進された。同時に、浅見ら<sup>7)</sup>は、塩素酸と要検討項目である過塩素酸について食品中の調査を実施し、寄与率を求めた。とくに塩素酸では、寄与率、すなわち、炊飯に用いた分を含んだ水道水からの塩素酸の摂取が全摂取量の約50%を超えるが、全体的な摂取量はTDIより低いことを示した。

トリクロロエチレンについては、平成20(2008)年の食品安全委員会の評価結果(TDI : 1.46 µg kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)を受け、水道水質基準の見直しが行われた。飲用と日本のライフスタイルにおける入浴時の曝露を考慮して、水由来の寄与分は合計で70%と算定された。水由来曝露を、飲用2L、入浴による吸入および経皮曝露量について1日当たり水3L相当(単位: Leq)分(後述する間接飲水量と同義)とし、一日当たり5L相当分と仮定して評価値0.010 mg L<sup>-1</sup>と算定された<sup>8)</sup>。

$$\begin{aligned} \text{評価値} &= \text{耐容一日摂取量 (TDI)} \text{ (mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}\text{)} \\ &\quad \times \text{標準体重} \times \text{割当率} \text{ (\%)} \\ &\quad / \text{水由来の曝露を考慮した摂水量 (L d}^{-1}\text{)} \\ &= 0.00146 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1} \times 50 \text{ kg} \times 70\% \\ &\quad / 5 \text{ L d}^{-1} \approx 0.010 \text{ mg L}^{-1} \end{aligned}$$

松井ら<sup>9, 10)</sup>は、代表的な消毒副生成物であるトリハロメタン(以下, THMs)とハロ酢酸(以下, HAAs)について、割当率と間接飲水量、評価値の検討を行っている

る。検討に際しては、水道水およびそれに起因する間接摂取(入浴時に揮発した成分の空気への吸入や皮膚からの吸収、調理を介した摂取など)と、摂取経路(経口、吸入、経皮)の違いによる体内負荷率の違い、摂取量の個人差が考慮されている。総摂取量は飲食などの生活パターンによって大きく異なり、仮に水道水質基準値のクロロホルム濃度の水道水を使用した場合の総摂取量の分布は図3のようになり、水道水由来の高曝露を考慮したとしても総摂取量はTDIを上回ることにはなかった。総摂取量分布の95%値がTDIに一致するクロロホルム濃度を求めると114 µg L<sup>-1</sup>となり、現行の基準値60 µg L<sup>-1</sup>より大きな値となる。摂取経路別の摂取量の内訳を摂取量分布(図3)の95%(高曝露群)と中央値(中曝露群)について示すと図4のようである。高曝露群と中曝露群の摂取量の違いは吸入曝露に関係している。高曝露群と中曝露群では、曝露濃度が異なっているためであり、高曝露群では換気などが不十分なため室内空気中の濃度が高いことが推論されている。中曝露群の水道水由来の吸入と経皮曝露は1.65 Leq d<sup>-1</sup>の仮想的な摂水(飲水)すなわち間接飲水量に相当している。高曝露群では間接飲水量はさらに大きく、3.86 Leq d<sup>-1</sup>であった。このように多い間接飲水量は水道水からの揮発経路の吸入曝露による。間接飲水量に対する経皮曝露の寄与は低いと推定された。

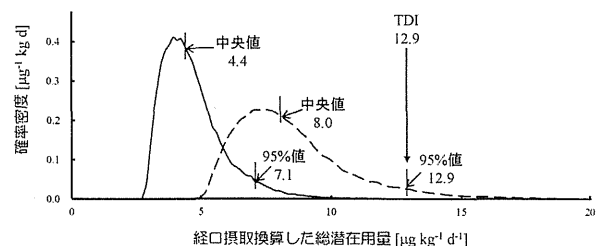


図3 クロロホルムの推定摂取量分布(実線:水道水質基準値60 µg L<sup>-1</sup>の水道水を飲用・使用した場合、破線:110 µg L<sup>-1</sup>の水道水を飲用・使用した場合)

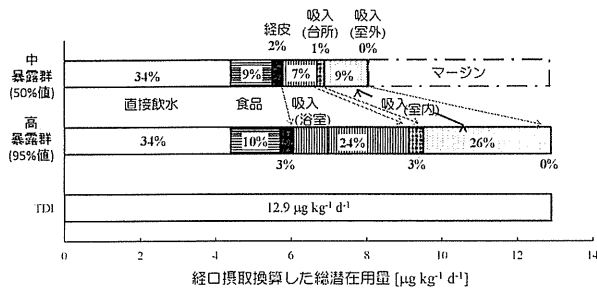


図4 クロロホルムの推定摂取量内訳（中暴露群：水道水質基準値 60 μg L<sup>-1</sup> の水道水を飲用・使用した場合、高暴露群：110 μg L<sup>-1</sup> の水道水を飲用・使用した場合）

#### 4. 農薬類の選定

水道水における化学物質汚染への関心が高まる中、水道水源である河川水に直接流入する可能性がある農薬の水質管理は、水道水の安全性と信頼性を確保する上で重要な課題である。農薬は総農薬方式、すなわち、各農薬の個別評価値と検出値の比の和が1以下になるように水質管理目標設定項目が設定されているが、平成25年4月の水質基準改正にともない、検出の可能性が高い農薬としての対象農薬リストが見直され、120項目の農薬が掲げられた<sup>11)</sup>。検出の可能性の高い農薬の選出に当たっては、出荷量および出荷量をADIで除した値等が検討され、モニタリングデータの蓄積が十分でない農薬についても適切に選定されるような選定指標が用いられた<sup>12)</sup>。

水道事業体においては対象農薬リストを参照しつつ、各水源流域の実情に応じ、多種の農薬の中から測定農薬を選定することが求められる。しかし、実態としては、検査回数は年0~1回である場合が多い一方で、対象農薬リストのすべての農薬を測定対象とする水道事業体が全体の3割程度にのぼることが報告されており<sup>13)</sup>、個々の水道事業体が流域内の農薬情報を収集し、測定農薬を選定することは、一部の水道事業体を除いて、実施されているとは言いがたい。そこで、対象農薬リストを選定した際と同様の検出可能性指標を用いて、検出のおそれのある農薬の地域性について考察し、都道府県や流域ごとの地域版農薬測定リストを作成することが検討されている。

一方、対象農薬リストについても使用量などの変化に応じて見直しが行われている。とくに、使用量が急激に増え、現在厚生労働科学研究で実態調査を行っているテフリトリオンについては、検出可能性指標に基づいて検討を行った結果、選定指標値が第1選択基準線を超え、また検出実態も明らかになりつつあるため、「対象農薬リスト掲載農薬類」への追加が検討されている。

#### 5. その他の化学物質について

その他の化学物質については、水質管理目標設定項目、要検討項目に挙げられたものなどから検出例の多いもの、検出濃度の高いものについて検討が行われる。また、海外や他省での検討で検出頻度の高い化学物質、使用量・環境中への排出量の多い化学物質、水質事故を起こした物質などについて必要に応じてモニタリングを行い、追加が行われる。筆者らは、厚生労働科学研究等において、PRTR物質や環境モニタリングのデータを用いた検討を

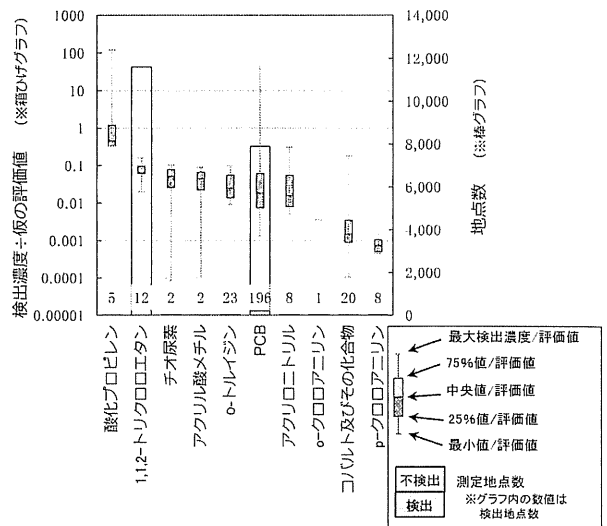


図5 PRTR対象物質の一部の環境水中濃度（H22-H25）と仮の評価値との比較（検討例）

行っている。図5に検討例を示す。いくつかの物質については水源となる環境中での検出例があるが、浄水処理により除去されにくいと浄水中濃度は仮の評価値に近くなる可能性がある。

一方で、環境分析技術の進展にともない、精密質量分析を用いたノンターゲット分析や環境中の医薬品、家庭用品等の分析データも蓄積されてきており、そのようなデータの有効な活用も重要である。

#### 6. 水道水中の放射性物質

2011年の東日本大震災においては、東電福島第一原発の事故にともなう放射性物質の漏出により、放射性物質が周辺環境に影響を与えるに至った。

厚生労働省においては、2012年3月まで、原子力安全委員会が定めた飲食物摂取制限に関する指標を食品衛生法に基づく暫定規制値とし、これを上回る食品について、食品衛生法第6条第2号に当たるものとして食用に供されることがないように、地方公共団体に対し通知を行った。水道水については、都道府県における水道水の放射性物質測定の結果が指標（放射性ヨウ素 300 Bq kg<sup>-1</sup>、放射性セシウム 200 Bq kg<sup>-1</sup>）を超過した場合の水道の対応について周知を行った。また、食品衛生法に基づく乳児用の食品の暫定規制値が一層厳しい数値となったこともあり、放射性ヨウ素が100 Bq kg<sup>-1</sup>を超過する場合の乳児による水道水の摂取に係る対応について、都道府県および水道事業者等に対し通知がなされた。これらの通知を踏まえ、政府の原子力災害現地対策本部、都道府県、水道事業者等が実施した水道水中の放射性物質の測定結果を収集し、指標および乳児の摂取に関し放射性ヨウ素が100 Bq kg<sup>-1</sup>を超過した水道事業者等に対して水道水の摂取制限およびその広報の要請を行った。また、限られた見聞や情報から水道水中の放射性ヨウ素等のレベルを抑える可能性のある取り組みの検討を整理し、都道府県および水道事業者等に対し周知を行った。（詳しい経緯については、既報<sup>14)</sup>参照。）

2012年4月からは、半減期が8日と短い放射性ヨウ素はほとんど検出されないこと、放射性セシウムについて

は一層厳しい値をもって、国民の安全と安心を確保する観点から、食品の新たな基準が出され、水道水についても同様に放射性セシウム（セシウム134および137の合計） $10\text{ Bq kg}^{-1}$ に関する水道水中の新たな目標値が定められた<sup>15)</sup>。

放射性物質の大規模放出から長期間経過した時点においては、放射性セシウムは、そのほとんどが濁質成分として水道原水中に流入しているものであり、濁質中の放射性セシウムについては、水道施設における凝集沈殿および砂ろ過等の浄水処理工程で濁質とともに除去することが可能なものであり、当該目標値は、水道施設の濁度管理の目標値（管理目標値）として位置付けられている。

この数値の導出に当たっては、「より一層、食品の安全と安心を確保する観点から」設定が行われた。すなわち、それまでの値であっても十分安全は確保されるが、市民の不安が大きいこと、また他の核種による汚染も考慮して、設定がなされている。食品においては、「ミネラルウォーター類（水のみを原料とする清涼飲料水をいう。）、原料に茶を含む清涼飲料水、飲用に供する茶」を飲用水と同じ位置づけとし、原子力安全・保安院の評価に基づき原発事故により放出されたと考えられる核種のうち、半減期1年以上のすべての核種（セシウム134、セシウム137、ストロンチウム90、プルトニウム、ルテニウム106）による汚染も考慮して、放射性セシウムについてWHO飲料水水質ガイドラインのスクリーニングレベルと同じ $10\text{ Bq kg}^{-1}$ を設定した<sup>16)</sup>。他の核種については、測定に手間と時間がかかることから、媒体により挙動が異なることを考慮しつつ、比例して存在する放射性セシウムに換算し線量の推定を行い、放射性セシウムの濃度として管理を行うと、総被ばく量が抑えられることから設定された。この過程では、すべての年齢区分の食生活を考慮したところ、食べ盛りの13～18歳の男性の食品の摂取量が最も多いと見積もられ、この年代の食生活であっても年間 $1\text{ mSv}$ の限度値を超えない食品中の放射性物質濃度として、 $1\text{ mSv}$ から飲料水に関する被ばく量最大約 $0.1\text{ mSv}$ を差し引いた $0.9\text{ mSv}$ をすべての年代を通じて食事から被ばくするとして、その値を十分下回る食品中濃度である $100\text{ Bq kg}^{-1}$ が定められた。ただしこの際に汚染された食品の割合が50%であるという仮定が用いられており、牛乳・乳児用食品については、すべてが基準値レベルとしても影響ない値として、半分の50

$\text{Bq kg}^{-1}$ が設定された。これは、食品の国際規格を作成しているコーデックス委員会の指標で年間 $1\text{ mSv}$ を超えないように設定されていること、モニタリング検査の結果で多くの食品からの検出濃度は時間の経過と共に相当程度低下傾向にあり合理的に達成可能な限り低く抑えることが望ましいことから、定められた。それまでの値と改正後の基準値の関係を図6に示す。

## 7. 今後の課題

以上のように、水質基準の設定においては、リスク評価および管理が科学的根拠に基づいてより合理的に行われるようになってきたが、以下のような課題がある。

- 毒性評価は科学的見地から実施されるが、時として現実の摂取量・曝露量や制御方法からみて極めて厳しい評価値が導かれる場合もある。例えば、過塩素酸は、日本では発生源が限られ、削減に取り組んだため浄水において高い濃度で検出されることはほとんどなくなっているが、米国では原因が特定されていない場合も多く、浄水処理ではイオン交換処理などによる処理費用が高くなると見込まれるため、基準の設定に対し8年以上種々の計算や実験、議論が行われているが未だに見込みが立っていない。また、水および土壌から揮発し、空気経路で摂取されるラドンについては、計算上はリスクが大きい、地質や材料の観点からよりリスクが高いとみられる米国でも、少なくとも水処理だけの有効な対策はなく、基準とはなっていない。技術的に制御が難しい場合は、可能な限り高い値の基準が設定されたり、時には基準そのものの設定が見送られることになる。今後、日本でも、このように基準値の設定が難しい場合や、毒性評価がTDI等ではなく、MOE（環境曝露マージン）の形で出された場合に、どのように基準を設定していくのかは課題の一つであろう。
- 水道水質に関して実態調査を行う際に、局所的な汚染に留意することが必要である。また、それぞれの物質特有の曝露経路に留意して食品や大気経路の曝露量を把握することも重要であるが、それは技術的にも非算的にも非常に難しく、代表的な物質についてさえデータの取得が困難である場合がある。
- WHOでは、新しく評価値を算定する場合、デフォルトの割当率を20%に設定するとともに、各国が摂取量の状況に応じて合理的に割当率を設定することも謳っている。USEPA<sup>19)</sup>やHealth Canada<sup>20)</sup>は割当率の下限として20%、上限として80%を設定しており、USEPAは割当率算定のプロトコルも示している（図7）<sup>19)</sup>。日本においても合理的な割当率の算定についての検討が進むことが必要であろう。
- 本稿でも扱った揮発性有機物質については、大気経路で摂取される分をどのように考慮するのか、とくに間接飲水量の扱いは今後も課題である。
- 一般的に、基準値の根拠の説明をすると、そのような健康影響のおそれがあるものを摂取していると受け取られてしまう場合がある。しかしながら、実際には基準値に近い濃度で検出されることはほとんどなく、日頃から十分余裕をもった水質管理が行われていることが多い。一方で、あまり厳しい基準を設定すると費用

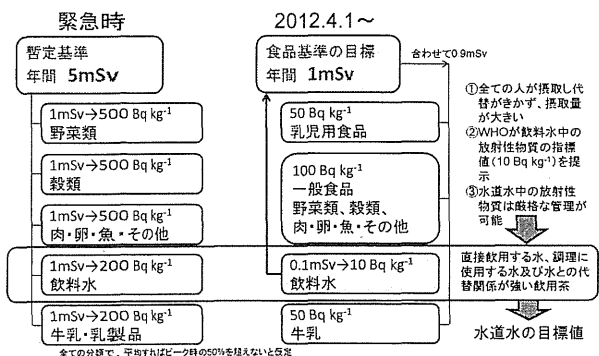


図6 放射性セシウムの食品基準と水道水の管理指標の関係（緊急時（左）および2012.4.1～（右）：（文献<sup>17, 18)</sup>より、浅見作成）

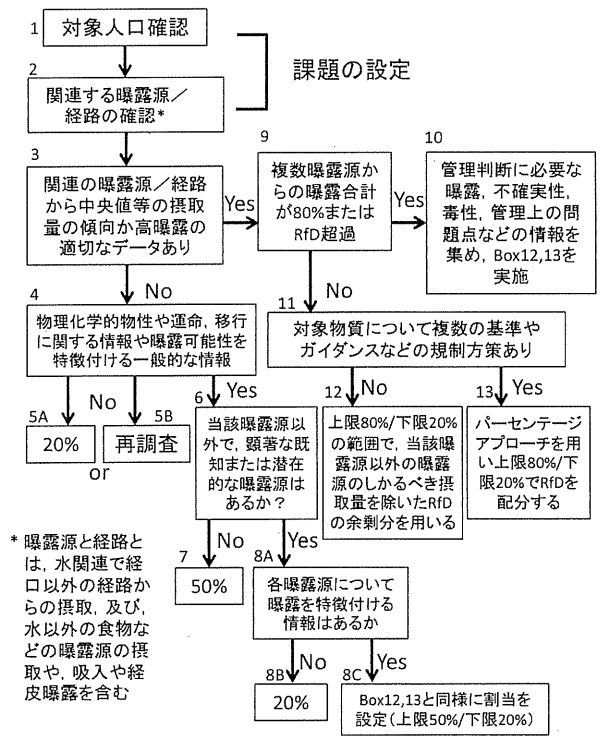


図7 RfD (またはPOD/UF) \*\* 割当率設定のための曝露決定樹 (文献<sup>19</sup>より、・浅見・松井作成)

\*\* 筆者注：  
 RfD (Reference Dose)：参照用量のことで、非発がん影響に関して有害影響のリスクがないと推測される摂取量。TDI とほぼ同義で用いられている。  
 POD (Point of Departure)：動物試験やヒトの疫学調査などから得られた用量—反応評価の結果において、ヒトでの通常の摂取量領域における健康影響評価基準値等を設定する際の毒性反応曲線の基準となる出発点の値  
 UF (Uncertainty Factor)：不確実係数

がかかりすぎる場合や対策に偏りが生じる場合もある。社会的ニーズは多様で常に変化しており、生活を衛るといふ本来の目的のために、どのような基準のあり方がよいか、コストやリスク—ベネフィット評価も含めた検討を行う必要があると考える。

謝辞

本研究の一部は厚生労働科学研究「水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究」(H25-健危一般-007) (研究代表者 松井佳彦) により行われた。

参考文献

- 1) 山村尊房, 1993. 水道法水質基準改正の背景. 公衆衛生研究 (現, 保健医療科学) 42, 504-510.
- 2) 眞柄泰基, 1993. 水道水の水質課題の背景. 公衆衛生研究 (現, 保健医療科学) 42, 511-514.
- 3) WHO, 2011. Guidelines for drinking-water quality, 4th ed. Geneva.
- 4) 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部水道課水道水質管理室, 2015. 水道水質基準の概要と水質管理に関する動向. 水環境学会誌 39, 2-8.
- 5) 広瀬明彦, 小野敦, 平田睦子, 高橋美加, 小林克己, 松本真理子, 川村智子, 加藤日奈, 長谷川隆一, 江馬真, 2015. 水道汚染物質の重急性評価値に関する研究. 平成26年度厚生労働科学研究

究「水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究」研究報告書 (研究代表者：松井佳彦), 461-471.

- 6) 厚生労働省, 2003. 水道水質基準について「水質基準の見直しにおける検討概要」基12ほう素. URL: <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/dl/k12.pdf> (2015年12月時点).
- 7) Asami, M., Yoshida, N., Kosaka, K., Ohno, K., Matsui, Y., 2013. Contribution of tap water to chlorate and perchlorate intake: a market basket study. Science of the Total Environment 463, 199-208.
- 8) 厚生労働省, 2010. 水質基準逐次改正検討会 (平成22年度第1回) 資料1「トリクロロエチレンの水質基準改正について (案)」。URL: <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kentoukai/dl/kijun100712-a.pdf> (2015年12月時点).
- 9) Niizuma, S., Matsui, Y., Ohno, K., Itoh, S., Matsushita, T., Shirasaki, N., 2013. Relative source allocation of TDI to drinking water for derivation of a criterion for chloroform: A Monte-Carlo and multi-exposure assessment. Regulatory Toxicology and Pharmacology 67, 98-107.
- 10) 松井佳彦, 大野浩一, 2014. 経口曝露換算の総潜在用量, 割当率および間接飲水量の推定. 平成26年度厚生労働科学研究「水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究」研究報告書 (研究代表者：松井佳彦), 438-452.
- 11) 厚生労働省, 2013. 水道課長通知「農薬類の分類の見直しについて」(平成25年3月28日健水発0328第4号). URL: <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourei/jimuren/dl/130328-3.pdf> (2015年12月時点).
- 12) Narita, K., Matsui, Y., Iwao, K., Kamata, M., Matsushita, T., Shirasaki, N., 2014. Selecting pesticides for inclusion in drinking water quality guidelines on the basis of detection probability and ranking. Environment International 63, 114-120.
- 13) 小坂浩司, 浅見真理, 佐々木万紀子, 松井佳彦, 秋葉道宏, 2013. 水道統計を基にした水道事業者等における農薬類の測定計画の解析. 土木学会論文集G (環境) 69(7), III\_363-III\_374.
- 14) 浅見真理, 秋葉道宏, 2011. 水道水中の放射性物質の概要と課題. 保健医療科学 60, 306-313.
- 15) 厚生労働省, 2012. 水道課長通知「水道水中の放射性物質に係る管理目標値の設定等について」(平成24年3月5日健水発0305第1号)及び「別紙 水道水中の放射性物質に係る指標の見直しについて」。URL: <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000000018ndf-att/2r98520000024jhs.pdf>, <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000000018ndf-att/2r98520000024of2.pdf> (2015年12月時点).
- 16) 厚生労働省, 2012. 医薬食品局食品安全部長通知「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二の(一)の(1)の規定に基づき厚生労働大臣が定める放射性物質を定める件及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について」(平成24年3月15日食安発0315第1号). URL: [http://www.mhlw.go.jp/shinsai\\_jouhou/dl/tuuchi\\_120316.pdf](http://www.mhlw.go.jp/shinsai_jouhou/dl/tuuchi_120316.pdf) (2015年12月時点).
- 17) 原子力安全委員会, 1998. 飲食物摂取制限に関する指標について (抜粋) (平成10年3月6日原子力安全委員会 原子力発電所等周辺防災対策専門部会環境ワーキンググループ報告書). URL: <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000018iyb.html> において公開 (2015年12月時点).
- 18) 厚生労働省, 2011. 厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会放射性物質対策部会資料 (平成23年12月22日資料). URL: <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000001ywlj.html> (2015年12月時点).
- 19) USEPA, Methodology for deriving ambient water quality criteria for the protection of human health. URL: <http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/health/methodology/index.cfm> (2013年2月時点).
- 20) Krishnan, K., Carrier, R., 2013. The use of exposure source allocation factor in the risk assessment of drinking-water contaminants. J. Toxicol. Environ. Health. B. Crit. Rev 16, 39-51. doi: 10.1080/10937404.2013.769419.

# LC-MS/MS法による水道水中の2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノンの測定法検討と実態調査

中井 喬彦<sup>1, 2), †</sup> 小坂 浩司<sup>1)</sup>  
浅見 真理<sup>1)</sup> 秋葉 道宏<sup>3)</sup>

## Analysis and Occurrence of 2,6-Dichloro-1,4-benzoquinone in Drinking Water by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

Takahiko NAKAI<sup>1, 2), †</sup>, Koji KOSAKA<sup>1)</sup>, Mari ASAMI<sup>1)</sup> and Michihiro AKIBA<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Area on Water Management, Department of Environmental Health, National Institute of Public Health, 2-3-6 Minami, Wako, Saitama 351-0197, Japan

<sup>2)</sup> Planning Division, Department of Facilities, Yokohama Waterworks Bureau, 23 Yamasita-cho, Naka-ku, Yokohama 231-0023, Japan

<sup>3)</sup> National Institute of Public Health, 2-3-6 Minami, Wako, Saitama 351-0197, Japan

### Abstract

Halobenzoquinones (HBQs) are one of the groups of disinfection byproducts newly detected in drinking water. In this study, a method of analyzing 2,6-dichloro-1,4-benzoquinone (DCBQ), the most ubiquitous HBQ, by solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry was investigated. DCBQ standard addition was found to be appropriate when it was applied before the evaporation of the solid-phase extraction solution. The limit of quantitation in this method was  $8 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ . The occurrence of DCBQ in drinking water from 12 water purification plants throughout Japan was investigated in the summer and winter of FY 2013. DCBQ was detected in 21 out of 24 samples and its concentration was in the range of  $8\text{-}51 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ . DCBQ was found in drinking water of all but one of the water purification plants. Thus, it was shown that DCBQ was widely present in drinking water in Japan. From Spearman's rank-order correlation coefficient, a significant relationship between DCBQ concentration and chloroform concentration in drinking water was observed.

**Keywords:** Disinfection byproduct; 2,6-Dichloro-1,4-benzoquinone; Chloroform; Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Chlorination

### 1. はじめに

日本の水道では水系感染症の原因となる病原微生物の感染リスクを低減するために、塩素消毒が行われている<sup>1)</sup>。しかし、塩素消毒の結果、発がん性や生殖・発生毒性などを有する消毒副生成物が生成されることが課題となっており、現在、トリハロメタン (THMs) やハロ酢酸 (HAAs) など一部の消毒副生成物が水質基準項目や水質管理目標設定項目、要検討項目に指定されている<sup>2)</sup>。

これまでの消毒副生成物に関する研究から、塩素処理による消毒副生成物として600～700種類の物質が同定されている<sup>2, 3)</sup>。しかし、全ての消毒副生成物が明らかになっているわけではなく、全有機ハロゲン (TOX) で評価した場合、説明できるのはその約50%であったことが報告されている<sup>2, 3)</sup>。しかも、副生成物の中には、アルデヒド類のように、TOXに含まれない非ハロゲン

物質も存在している<sup>4)</sup>。このため、新規の消毒副生成物の探索も進められている<sup>4)</sup>。また、消毒副生成物となりうる物質について定量的構造毒性相関 (QSTR) を行った研究から、THMsなど既に規制されている消毒副生成物よりも最小毒性量 (LOAEL) が小さいと予測されている物質として、ハロベンゾキノロン類 (HBQs)、ハロシクロペンタン酸、ハロニトリル類・ハロアミド類、有機-N-ハロアミン類、高分子ニトロソアミン類の5つのグループが挙げられている<sup>5)</sup>。この中には、水道水中の実態が不明の物質、報告が限定的である物質も含まれる。

HBQsについては、慢性毒性に関する知見は少ないが<sup>6)</sup>、HBQsと構造的に類似したベンゾキノロンやヒドロキノロンでは、サルモネラによる変異原性試験では陰性であるものの、ヒドロキシルラジカルを生成し、DNAを損傷する能力があることが知られている<sup>7)</sup>。HBQsはラットの幹細胞やPC12細胞で行われた*in vitro* QSTRの研究から、細胞内で活性酸素種 (ROS) を生成し、細胞毒性を示すこと

1) 国立保健医療科学院生活環境研究部水管理研究領域 〒351-0197 埼玉県和光市南 2-3-6

2) 横浜市水道局施設部計画課 〒231-0023 横浜市中区山下町 23 番地

3) 国立保健医療科学院 〒351-0197 埼玉県和光市南 2-3-6

† 連絡先: ta00-nakai@city.yokohama.jp



が報告されている<sup>8)</sup>。また、T24細胞を用いた実験から、HBQsにより生成されたROSが細胞内のDNAやタンパク質を酸化的に損傷することが報告されている<sup>9)</sup>。

HBQsの水道水中の実態を把握するために、 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ レベルで高感度な測定を行うことが可能な固相抽出とLC-MS/MS法を組み合わせた測定方法が開発されている<sup>10-12)</sup>。この方法を用いて、米国・カナダの塩素処理を行っている4浄水場とクロラミン処理を行っている5浄水場の合計9浄水場の浄水の16試料を対象として行われた実態調査<sup>13)</sup>では、8種類のHBQsを測定し、2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノン(DCBQ)、2,6-ジブromo-1,4-ベンゾキノン(DBBQ)、2,6-ジクロロ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン(DCMBQ)、2,3,6-トリクロロ-1,4-ベンゾキノン(TCBQ)の4種類のHBQsが検出されている。DCBQは16試料中全ての試料から、DBBQは16試料中11試料から、DCMBQは16試料中6試料から、TCBQが16試料中3試料から検出された。また、濃度範囲はDCBQが $4.5\sim 274.5\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、DBBQが $<0.5\sim 37.9\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、DCMBQが $<0.9\sim 6.5\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TCBQが $<1.5\sim 9.1\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。このように海外では水道水におけるHBQsの実態が報告されているが、日本の水道ではHBQsに関する検討が行われていない。

そこで、本研究では、HBQsの中でも、これまでの調査の中で最も検出頻度と濃度が高かったDCBQに着目して、報告されている固相抽出とLC-MS/MSを組み合わせたDCBQの測定方法<sup>10-12)</sup>について検討を行った。具体的には、DCBQの回収率と測定精度の向上を図るため、濃縮倍率と標準添加手順、残留塩素の除去方法について検討した。その方法を用いて全国12箇所の浄水場系統の水道水中の実態調査を行った。同時に、既に水質基準で規制されている消毒副生成物のTHMsのうち、DCBQと同様に塩素原子以外のハロゲンが付加されていないクロロホルムについて、DCBQとの関連性を検討した。

## 2. 方法

### 2.1 試薬および保存溶液

本研究ではGradient A10<sup>®</sup> (Millipore)で製造した超純水を精製水として使用した。チオ硫酸ナトリウム(試薬特級)、グリシン(試薬特級)およびアスコルビン酸ナトリウム(試薬特級)は和光純薬工業から、塩化アンモニウム(試薬特級)は関東化学から、トリメチルアミンは東京化成工業から購入した。ギ酸(試薬特級およびLC-MS用)は和光純薬工業から購入した。

DCBQ (Fig. 1)は東京化成工業から購入し、0.25% (v/v)ギ酸添加メタノールを用いて調製し、5日ごとに作り直した。

DCBQはpH 7.0以上の中性および塩基性条件では、加水分解が促進されて水酸基が付加した5-ヒドロキシル-2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノンに変化する<sup>13)</sup>。事実、DCBQはpH 7.0前後の水道水中で時間の経過と共に加水分解したことが報告されている<sup>14, 15)</sup>。一方で、pH 4.5未満の酸性条件ではDCBQは安定した状態を保つことが報告されている<sup>11)</sup>。また、酸性条件下で、どの程度安定であるかについての詳細な検討は報告されていないが、ギ酸を0.25% (v/v)となるように添加した

場合、DCBQ濃度は10日間変化しなかったと報告されている<sup>11)</sup>。このため、Zhaoらの測定方法<sup>10)</sup>では、試料や溶離液等にギ酸を0.25% (v/v)となるように添加し、pH 2~3に調整しており、本研究でもこれを参考にした。なお、5日の間で、0.25% (v/v)ギ酸添加メタノール中のDCBQ濃度が変わらなかったことは確認した。

### 2.2 試料採取

平成25年9月~10月(夏季)と平成26年2月(冬季)に、全国12箇所の浄水場(A~L)で原水およびその浄水場の系統の水道水を採取した。10箇所の浄水場(A~H, J, K)では凝集沈殿-急速砂ろ過処理が行われており、その他の2箇所の浄水場(I, L)では凝集沈殿-急速砂ろ過処理に加えてオゾン/活性炭処理が適用されている。L浄水場の水道水には海水淡水化処理など他の浄水処理方式の水が混合されている。水道水は給水区域内の給水栓から採取したが、DおよびL浄水場については、他の水道事業者との受け渡し地点で採取した。

原水は褐色ガラス瓶に採取し、満水にして密栓した。原水の試料はガラス繊維ろ紙(GF/F; Whatman)でろ過した後に使用した。水道水はDCBQ測定用とTHMs測定用に分けて採取した。DCBQ測定用の場合、褐色ガラス瓶に採取し、採取後直ちに $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ となるようにグリシンを添加し、続いて0.25% (v/v)となるようにギ酸を添加し、満水にして密栓した。THMs測定用の場合、褐色ガラス製容器に採取し、採取後直ちに、アスコルビン酸ナトリウムとHClを添加し、満水にして密栓した。採取後は冷蔵し、DCBQは採取後6日までに測定した。これは、前述したように、ギ酸0.25% (v/v)溶液中のDCBQの安定性を考慮したためである。夏季のD, E, H, I, K, L浄水場の試料および冬季の全ての試料は、異なる日に繰り返し測定し( $n=2$ )、平均値を採用した。この繰り返し測定の再現性には、DCBQの安定性の影響も含まれている。なお、本研究では、幾つかの試験で繰り返し測定を行っているが、特に断りのない限りは、併行試験を意味している。THMsは研究室に到着後、直ちに測定した(夏季のA, D, H浄水場の試料および冬季のA, D, E, G, I, J, K浄水場の試料は繰り返し測定し( $n=2$ )、平均値を採用)。添加回収試験に用いた水道水は国立保健医療科学院の試験室の給水栓から採取した。

### 2.3 窒素吹き付けによる濃縮時回収率変動の検討

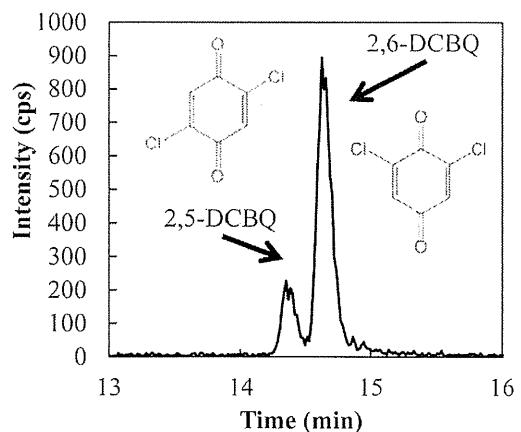


Fig. 1 MRM chromatogram of 2,6-DCBQ and 2,5-DCBQ in purified water (MRM: Multiple Reaction Monitoring).



当初は, Zhao らの測定方法<sup>10)</sup>に従って固相抽出を行った後に, LC-MS/MS 法によって DCBQ の測定を試みた。この方法の濃縮倍率は 1000 倍であり, 濃縮, 溶出, 窒素吹き付けによる濃縮した後に標準添加法によって定量を行っている。この測定方法で行った添加回収試験では 80% 以上の回収率であったことが報告されている<sup>10)</sup>。しかし, この測定方法を用いて検討する中で, 窒素吹き付けによる濃縮時に回収率が減少する傾向が見られたことから, 以下の手順で窒素吹き付けによる濃縮時の回収率の変化を調べた。

0.25% (v/v) ギ酸に 50 ng·L<sup>-1</sup> となるように DCBQ を添加した DCBQ 溶液を, 後述する 2.5 の方法で試料を濃縮し, 0.25% (v/v) ギ酸添加メタノールで溶出し, 10 mL とした試料を準備した。

この溶液を窒素吹き付けにより, 濃縮前と 5, 2, 1, 0.1 mL に濃縮した段階で, それぞれ 0.1 mL ずつ採取し, 0.25% (v/v) ギ酸溶液 0.1 mL を加えて, DCBQ の測定を行った。この検討は, 繰り返し行った (n=2)。回収率 (%) は, 各濃縮時に想定される DCBQ 濃度の計算値に対する測定値の割合とした。

2.4 遊離残留塩素除去剤の検討

Zhao らの測定方法<sup>10)</sup>では, 試料採取時にギ酸を添加しているが, 遊離残留塩素はギ酸の還元力によって除去されるとして, それ以外の遊離残留塩素除去剤は添加していない。しかし, 本研究で行った予備試験において, ギ酸を添加した水道水の遊離残留塩素濃度を調べたところ, 添加 4 時間経過後でも遊離残留塩素が検出された。また, 消毒副生成物の測定を行う場合, 通常は遊離残留塩素の除去を行っている。そこで, 遊離残留塩素除去剤の影響について検討した。遊離残留塩素の除去に通常よく用いられるチオ硫酸ナトリウムとアスコルビン酸ナトリウムに加えて, 塩化アンモニウム, グリシン, トリメチルアミン<sup>16)</sup>の 5 種類の物質を選び, 以下の手順で検討した。

水道水に各物質を 10 mg·L<sup>-1</sup> を添加し, 続いてギ酸を 0.25% (v/v) となるように添加した。その溶液に DCBQ を 5 μg·L<sup>-1</sup> となるように添加し, 30 sec 撹拌した後, DCBQ を LC-MS/MS で直接測定した。DCBQ の添加濃度に対する測定値の割合を回収率 (%) とした。

次に, 固相抽出等の前処理を含めた添加回収試験での遊離残留塩素除去剤の影響について検討した。ここでは, アスコルビン酸ナトリウムとグリシンを取り上げ, 前処理なしの場合と同様に準備した試料について, 2.5 の方法で DCBQ の測定を行った。ただし, DCBQ 添加濃度を 50 ng·L<sup>-1</sup> とした。この検討は, 異なる日に繰り返し行った (n=2)。DCBQ の添加濃度に対する測定値の割合を回収率 (%) とした。

2.5 DCBQ の測定方法

Zhao らの測定方法<sup>10)</sup>を参考にしながら, 前項までの結果を踏まえて, 以下の手順で行った。0.25% (v/v) となるようにギ酸を添加した試料 300 mL を, Sep-Pak コンセントレーター (Waters) を用いて, Oasis HLB カートリッジ (充填剤 500 mg; Waters) に 2 mL·min<sup>-1</sup> で通水して濃縮した。カートリッジはあらかじめ 0.25% (v/v) ギ酸添加メタノール 10 mL および 0.25% (v/v) ギ酸 20 mL でコンディショニングしたものを使用した。続い

て, 0.25% (v/v) ギ酸水溶液 50 mL, 0.25% (v/v) ギ酸水溶液とメタノールの混合物 (50 : 50 (v/v)) 10 mL でカートリッジを洗浄した後, 窒素ガスの吹き付けにより 5 min 乾燥した。乾燥後, 10 mL の 0.25% (v/v) ギ酸添加メタノールで溶出した。溶出液を 0.25% (v/v) ギ酸添加メタノールで 10 mL にメスアップし, 混合した。溶出液を 3 mL ずつ 3 つに分け, そのうち 1 つは DCBQ を添加せず, 残りの 2 つには最終濃度が各々 2.5 および 5 μg·L<sup>-1</sup> となるように DCBQ を添加した。この溶液をそれぞれ 40℃ の加温下で窒素ガスの吹き付けにより 0.5 mL まで濃縮した。この溶液に 0.25% (v/v) ギ酸溶液を加えて 1 mL とした後に試料を LC-MS/MS を用いて測定した。DCBQ を添加していない試料と DCBQ を添加した 2 試料の合計 3 試料を用いた標準添加法により定量した。LC-MS/MS の測定条件を Table 1 に示す。溶離液は, (A) 0.25% (v/v) ギ酸水溶液, (B) 0.25% (v/v) ギ酸添加メタノールを用いた。移動相のグラディエントの条件は Zhao らの方法<sup>10)</sup>を参考にして, DCBQ の構造異性体である 2,5-ジクロロ-1,4-ベンゾキノ (2,5-DCBQ) と DCBQ が良好に分離するように設定した。Fig.1 に, 0.25% (v/v) ギ酸水溶液で 5 μg·L<sup>-1</sup> に調製した DCBQ と 2,5-DCBQ の多重反応モニタリング (Multiple Reaction Monitoring : MRM) クロマトグラムを

Table 1 LC-MS/MS conditions for DCBQ analysis.

Equipment	1200 series LC system (Agilent) QTRAP 3200(AB Sciex)
Column	ACQUITY UPLC BEH C18 Column, 1.7 μm, 2.1 mm × 150 mm (Waters)
Temperature	Ambient temperature (22°C)
Injection volume	30 μL
Mobile phase	(A) 0.25 % Formic acid (B) Methanol with 0.25 % formic acid
Gradient of mobile phase (B)	0 ~ 1 min : 20% 1 ~ 9 min : 20 → 60% 9 ~ 17 min : 60 → 80% 17 ~ 17.5 min : 80 → 90% 17.5 ~ 24.5 min : 90% 24.5 ~ 25 min : 90 → 20% 25 ~ 35 min : 20%
Flow rate	150 μL·min <sup>-1</sup>
Ion source	ESI negative
Ion source voltage	-4500 V
Source temperature	300 °C
Gas I	55 psi
Gas II	50 psi
Curtain gas	30 psi
Analysis mode	Multiple Reaction Monitoring (MRM) Quantification : 176.8/112.8 Confirmation : 176.8/140.9

示す。MS/MSにおけるネガティブモードでは、 $[M-H]^-$ をプレカーサーイオンに設定する 경우가多いが、HBQsの場合、 $[M+H]^+$ が最も安定で感度が高かったことが報告されている<sup>7)</sup>。本研究でも同様の傾向が見られたことから、 $[M+H]^+$ をプレカーサーイオンに設定し(176.8)、 $[M+H-HCl-CO]^+$ と $[M+H-HCl]^+$ をそれぞれ定量用(112.8)と確認用(140.9)のプロダクトイオンに設定した。

### 2.6 添加回収試験による回収率・定量下限値の確認

精製水、グリシンを $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ となるように添加した水道水、D浄水場の原水(平成25年9月採取)にギ酸とDCBQを添加後(各最終濃度:0.25% (v/v),  $8\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )、2.5に示す方法で測定し、5回繰り返して添加回収試験を行った。原水はガラス繊維ろ紙(GF/F; Whatman)でろ過した後に試験に用いた。回収率はDCBQの添加濃度に対する測定値の割合とした。

### 2.7 その他の項目の測定方法

THMs濃度の測定は上水試験方法<sup>17)</sup>を参考にして、Agilent 5973 (Agilent)を用いて、ヘッドスペース・GC-MS法により測定した。遊離残留塩素濃度はN,N-ジエチル-p-フェニレンジアミン(DPD)と第一アンモニウム硫酸(FAS)を用いた滴定法<sup>18)</sup>により測定した。TOCの測定はTOC-V CPH(島津製作所)を用いて行った。

## 3. 結果および考察

### 3.1 測定方法の検討

#### 3.1.1 濃縮倍率と標準添加手順

Fig. 2に窒素吹き付けによる濃縮の各段階(濃縮量:0, 5, 8, 9, 9.5, 9.9 mL)におけるDCBQの回収率の結果を示す。濃縮量0 mLとは窒素吹き付けによる濃縮開始前を意味し、この時の回収率は固相カートリッジによる濃縮から溶出までの回収率を示している。DCBQの回収率は、濃縮量0 mLでは70%以上を示していたが、濃縮量の増加つまり濃縮倍率の増加に伴ってDCBQの回収率は徐々に低下し、0.5 mLまで濃縮した時(濃縮量:9.5 mL)には回収率は58%まで減少した。0.1 mLまで濃縮した時(濃縮量:9.9 mL)では回収率は大きく減少し、40%となり、濃縮倍率の増加に伴ってDCBQの回収率が低下することが明らかとなった。この原因として、DCBQは不安定な物質であることから、濃縮によって溶液中の共存物質濃度も高くなり、それとの反応による分解の可能性も考えられた。そこで、Zhaoらの測定方法<sup>10)</sup>では濃縮倍率を1000倍としているが、濃縮倍率が高くなりすぎないように濃縮倍率を300倍に下げることとした。また、ZhaoらはDCBQの標準添加を窒素吹き付けによる濃縮後に行っていたが、本研究では窒素吹き付けによる濃縮前に行うこととした(2.5参照)。なお、濃縮量0 mLでの回収率は、後述する $8\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ のDCBQ添加での回収率と比べ、若干低い値となっていた。検討条件の違いとして、DCBQ添加濃度が、Fig. 2の方が $50\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ と高かったこと、すなわち、DCBQ添加濃度の違いが挙げられた。しかし、 $50\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ の添加濃度でも、水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインで示された真度(70~120%)<sup>19)</sup>は満たしていたため、本研究では、この点について、さらなる検討は行わなかった。なお、本研究全体を通じて、DCBQ添加濃度あるいは実態調査

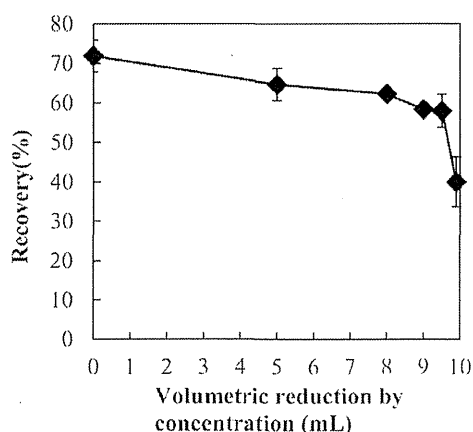


Fig. 2 Change in DCBQ recovery during concentration ( $n=2$ ).

でのDCBQ濃度は、最大で $50\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 程度であった。

#### 3.1.2 遊離残留塩素除去剤

5種類の遊離残留塩素除去剤を用いて水道水中の残留塩素を除去した後に、DCBQを添加して回収率を求めた結果をFig. 3に示す。なお、各遊離残留塩素除去剤の添加によって遊離残留塩素が消失したことを確認した。

遊離残留塩素除去剤としてチオ硫酸ナトリウムを添加した場合、回収率が37%と低かったのに対して、アスコルビン酸ナトリウムなどのそれ以外の4物質を添加した場合の回収率は、92~97%と高い値を示した。この結果から、5物質のうち、チオ硫酸ナトリウム以外の4物質は遊離残留塩素除去剤として使用できると推測された。

Fig. 3の結果は、固相抽出を必要としないDCBQ濃度での検討であったため、添加するDCBQ濃度を下げ、固相抽出も含めた一連の測定手順における遊離残留塩素除去剤の影響について検討した。チオ硫酸ナトリウム以外の4物質のうち、水質試験における遊離残留塩素除去剤としてよく用いられているアスコルビン酸ナトリウムとグリシンを選定した。水道水を対象とした添加回収試験の結果、アスコルビン酸ナトリウムおよびグリシンを添加した水道水におけるDCBQの回収率は、それぞれ95%および85%であり、いずれも80%以上の高い回収率が得られることが確認された。アスコルビン酸ナトリウムを添加した方がやや高い回収率を示したが、t検定では、両者の回収率に有意な差は認められなかった( $p=0.143$ )。測定に影響を与えるチオ硫酸ナトリウムは還元性を有する。アスコルビン酸ナトリウムは同様に還元性を有することから、本研究では、遊離残留塩素除去剤として、グリシンを使用することとした。

#### 3.1.3 確立した測定法によるDCBQの回収率

上記の検討結果を踏まえて改良した測定法を用いて、精製水、水道水および原水中のDCBQの回収率を検討した。水質基準項目について、告示法では、基準値の1/10以下が測定できることが求められる。未規制物質であるDCBQについては、そのような値はないため、QSTRから推定されているDCBQの推定LOAEL $0.049\text{ mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ <sup>20, 21)</sup>を用いて、日本の水道水質基準項目の評価値の算出方法<sup>20, 21)</sup>を参考にして、耐容一日摂取量(TDI)からDCBQの推定評価値を計算した。計算式を以下に示す。不確実係数として1000(個体差および種間差として各々10, LOAELの使用のため10)、平均体

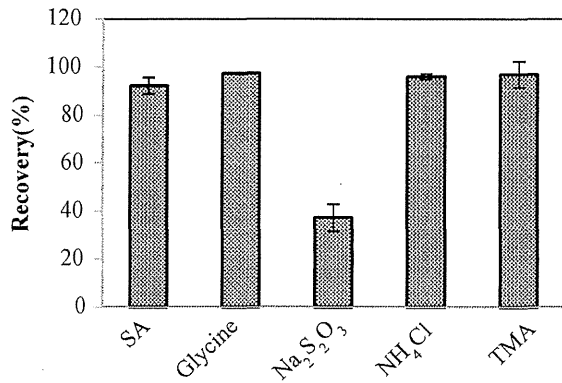


Fig. 3 Effect of quenching reagent for residual chlorine on recovery of DCBQ in tap water (n=2) (SA: sodium ascorbate, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: sodiumthiosulfate, NH<sub>4</sub>Cl: ammonium chloride, TMA: trimethylamine).

Table 2 Recovery and RSD of DCBQ.

	Recovery (%)	RSD (%)
Purified water	91	5.0
Tap water	84	8.2
Raw water	86	7.4

(n=5)

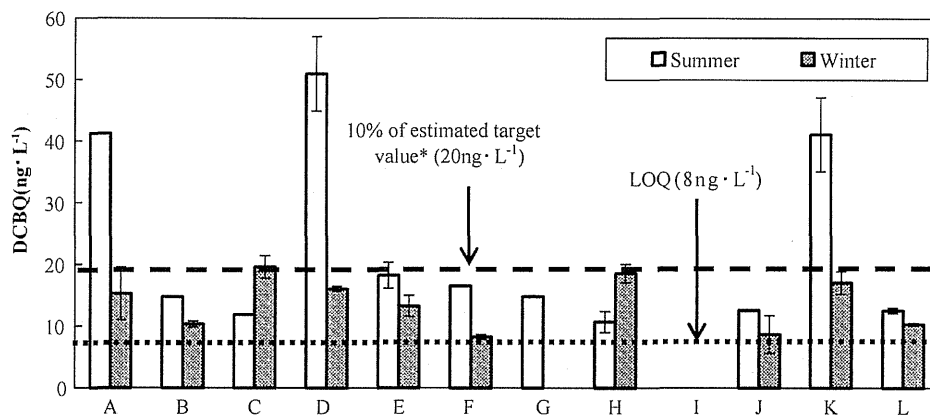


Fig. 4 Concentration of DCBQ in drinking water at 12 WTPs in summer and winter season (D, E, H, I, K, L in summer and all samples in winter: n=2, others: n=1).

\* LOAEL used for calculation of target value was estimated from QSTR.

重を 50 kg とした。また、推定 LOAEL 値を用いていることから、推定評価値は有効数字 1 桁とした。

$$\text{TDI} [\text{ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}] = 49 [\text{LOAEL: } \mu\text{g} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}] / 1000 [\text{不確か係数}] = 49$$

$$\text{推定評価値} [\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}] = 49 [\text{TDI: } \text{ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}] \times 50 [\text{平均体重: kg}] \times 0.2 [\text{寄与率}] / 2 [\text{1日1人当たり水摂取量: L} \cdot \text{d}^{-1}] = 200$$

本研究では、この推定評価値を基に、その 10 分の 1 である 20 ng·L<sup>-1</sup> 以下の濃度である 8 ng·L<sup>-1</sup> を DCBQ の添加濃度として検討を行った。添加回収試験の結果を Table 2 に示す。DCBQ の回収率の平均値は、精製水では 91%、水道水では 84%、原水では 86% であり、3 種類全ての水で 80% 以上の高い回収率であった。また、相対標準偏差 (RSD) は精製水では 5.0%、水道水では 8.2%、原水では 7.4% と、全て 10% 以下であった。なお、水道水中には DCBQ を添加しない場合でも定量下限値未満ではあるが DCBQ のピークが検出されたため、DCBQ を添加した場合と添加していない場合の差から回収率を算出した。この結果から、本研究で検討した測定方法を用いることで水中の DCBQ を測定できることが示された。このとき、本測定方法における定量下限値は、併行精度の RSD で 10% 以下が確保できている 8 ng·L<sup>-1</sup> を定量下限値と設定した。Zhao らの測定法<sup>10)</sup>では、DCBQ

の検出下限値は 1.0 ng·L<sup>-1</sup>、定量下限値は 3 ~ 4.4 ng·L<sup>-1</sup> 程度であり、本研究の値より低い値であった。

### 3.2 水道水中の実態調査

Fig. 4 に 12 箇所の浄水場の系統の水道水中の DCBQ の存在状況を示す。原水については全て定量下限値未満であった。水道水の実態調査の結果、夏季では 12 試料のうち、I 浄水場の試料を除く 11 試料から DCBQ の存在が確認され、その濃度範囲は 11 ~ 51 ng·L<sup>-1</sup> であった。冬季では 12 試料のうち、G および I 浄水場を除く 10 試料から DCBQ の存在が確認され、その濃度範囲は 8 ~ 20 ng·L<sup>-1</sup> であった。夏季、冬季併せて 24 試料について、異なる日に繰り返し測定を行ったが RSD は 2 試料を除き 20% 以下であった (残り 2 試料: 冬季の A および K 浄水場)

米国およびカナダにおける調査では、DCBQ の最大濃度が 275 ng·L<sup>-1</sup> の濃度であったことが報告されている<sup>12)</sup> が、今回の結果の最大値はそれよりも低い値であった。しかし、本研究により、DCBQ は国内の水道水中に広く存在していることが明らかとなった。

夏季と冬季の調査で DCBQ 濃度を比較すると、ノンパラメトリックな検定手法であるウィルコクソンの符号順位和検定では、必ずしも有意とはいえなかった (p = 0.051) が、12 浄水場のうち夏季の方が高い結果であっ

た浄水場は9浄水場であった。特に冬季よりも夏季に顕著に高い結果がみられたのが3浄水場（A, D, K浄水場）であった。A浄水場の場合、原水のTOC濃度は $3.3 \text{ mg}\cdot\text{C}\cdot\text{L}^{-1}$ で、他の浄水場に比べて高かったが（平均 $1.2 \text{ mg}\cdot\text{C}\cdot\text{L}^{-1}$ ）、DおよびK浄水場の場合、原水のTOC濃度はそれぞれ $0.91$ および $0.88 \text{ mg}\cdot\text{C}\cdot\text{L}^{-1}$ であり、他の浄水場に比べて大きな差はなかった。

水道水中のDCBQ濃度が唯一、定量下限値未満であったI浄水場は、オゾン/活性炭処理を導入している。なお、同様にオゾン/活性炭処理を導入しているL浄水場では、 $10 \sim 13 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ と低い値ではあるもののDCBQの存在が認められた。I浄水場の違いとして、L浄水場では他の浄水処理系統の水が混合されていることや、オゾン注入率がI浄水場の注入率と比べて1/7程度と低かったことが挙げられ、これが影響している可能性が考えられた。今後、DCBQ生成能のオゾン/活性炭処理での挙動の評価等が必要であると考えられた。

12浄水場系統の水道水中のTHMs濃度を測定したところ、夏季および冬季のいずれも全て定量下限値以上であり、それぞれ $8 \sim 38$ および $4 \sim 39 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ の濃度範囲であった。THMsの構成成分を見ると、概ねクロロホルムの割合が最も高かったが、F浄水場やL浄水場系統の水道水では臭素系THMsの割合が比較的高かった。本研究では検討しなかったが、このような水道水については、今後、臭素系のHBQsの調査も必要であると考えられた。

THMsのうち、DCBQと同様に塩素原子以外のハロゲンが付加されていないクロロホルムについて、DCBQとの関連性を検討した。Fig. 5に、水道水中のDCBQ濃度とクロロホルム濃度との関係を示す。DCBQ濃度が高かった夏季の3浄水場系統の水道水のうち、2水道水はクロロホルム濃度も高かったが、残り1試料はクロロホルム濃度が低かった。ノンパラメトリックな検定であるスピアマンの順位相関係数を用いて両者の関連性について評価したところ、関連性は認められた（ $p = 0.56$ ,  $p = 0.0052$ ）。

これまで、塩素処理によるTHMsの前駆物質については多数の報告がなされているが、HBQsの前駆物質についてはフェノール<sup>12)</sup>や市販のパーソナルケア製品<sup>22)</sup>など、わずかに報告されているのみである。THMsは最終的な消毒副生成物の一つであると考えられるが、HBQsはさらに塩素と反応する中間体であるため、両者の生成特性は異なると考えられる。また、両者の前駆物質の浄水プロセスでの除去性も異なる可能性がある。Fig. 5の結果は、クロロホルム濃度が高い水道水は、DCBQ濃度も高い傾向にあることを示しているが、上述したような違いもあることから、DCBQの存在状況や管理に対して、クロロホルムのそれをどの程度活用できるについては、それ以外のHBQsも含め、さらなる知見を得ることが必要であると考えられた。

前節で算出したDCBQの推定評価値（ $200 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ）と水道水中のDCBQ濃度を比較したところ、推定評価値を超過する水道水はなかったが、推定評価値の10%の値である $20 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ を超過する試料が3試料あった。DCBQの評価値は、QSTRによる推定LOAELを用いた推定値であるため、水道水中の濃度との比較は参考程

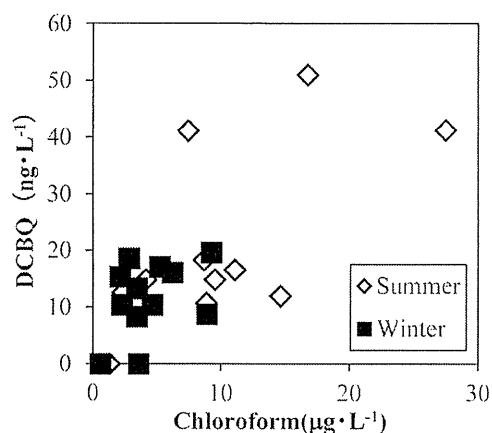


Fig. 5 Relationship between concentration of DCBQ and chloroform.

度であるが、2003年の厚生科学審議会生活環境水道部会の答申<sup>19)</sup>では、浄水（水道水）において、評価値の10%を超えて検出される、または検出される恐れが高い項目（ただし、特異値や暫定評価値は除く）を水道水質基準項目の要件の一つとしていることを考えると、DCBQについて、より幅広い実態調査を行うことや、その生成特性や制御方法の知見を得ることが必要であると考えられた。

#### 4. まとめ

(1) 遊離残留塩素除去剤としてグリシンを用い、固相抽出後の窒素吹き付けによる濃縮の前段階で標準添加を行う標準添加法を適用し、固相抽出とLC-MS/MSを組み合わせたDCBQの測定方法を確立した。この方法による、精製水、水道水、原水中のDCBQの回収率は全て80%以上、RSDは10%以下で、定量下限値は $8 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。

(2) 平成25年年度の夏季と冬季に全国12箇所の浄水場系統の水道水についてDCBQの測定を行った結果、夏季ではDCBQは12試料のうち11試料の水道水に存在し、その濃度範囲は $11 \sim 51 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。冬季では12試料のうち10試料の水道水に存在し、その濃度範囲は $8 \sim 20 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。1浄水場を除く全ての浄水場系統の水道水からDCBQの存在は確認され、国内の水道水中にDCBQは広く存在していることが明らかとなった。

(3) 水道水中のDCBQ濃度とクロロホルム濃度との関連性をノンパラメトリックな検定であるスピアマンの順位相関係数を用いて評価したところ、両者の間に関連性が認められた。

#### 謝 辞

本研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金「水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究（H25-健危-一般-007）」（研究代表者：北海道大学 松井佳彦教授）により行われた。試料採取にあたり、関係水道事業者の皆様にご協力頂いたことを記して謝意を表す。

（原稿受付 2014年12月22日）

（原稿受理 2015年3月25日）