

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

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

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 松井 佳彦

平成26(2014)年 3月

目 次

I . 総括研究報告		
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-----		1
松井 佳彦		
II . 分担研究報告		
1 . 微生物に関する研究 -----		19
泉山 信司, 秋葉 道宏, 松下 拓, 片山 浩之		
2 . 化学物質・農薬に関する研究 -----		47
浅見 真理, 西村 哲治		
3 . 消毒副生成物に関する研究 -----		57
伊藤 慎彦, 浅見 真理, 松下 拓, 小坂 浩司, 越後 信哉		
4 . リスク評価管理に関する研究 -----		79
浅見 真理, 大野 浩一, 広瀬 明彦, 平田 睦子		
5 . 水質分析法に関する研究 -----		101
小林 憲弘, 鈴木 俊也, 川元 達彦, 門上 希和夫		
III . 研究成果の刊行に関する一覧表 -----		143
IV . 研究成果の刊行物・別刷 -----		147

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

研究代表者 松井 佳彦 北海道大学大学院工学研究院 教授

研究要旨

従属栄養細菌やレジオネラ属菌の実態と紛体ろ過の菌数計測の応用，ウイルスに関する浄水処理効果の検証，クリプトスポリジウム等検査法の基準化，農薬類の測定数と検出頻度および検出実態，N-ニトロソアミン類等の生物処理性，水質事故等による水質基準超過時の対応，塩素処理に由来する臭気物質，化学物質などの一斉分析法の対象範囲の拡大，感度向上，網羅分析に関する研究を行い，以下のような成果が得られた。

レジオネラ属菌の汚染実態調査では，家庭内の未使用蛇口や風呂水から培養陽性であった。クリプトスポリジウム等の濃縮を目的とした粉体ろ過を改良するとともに，細菌にも応用しても紛体は培養を阻害せず，回収率はフィルター単独の半分程度からほぼ 10 割に向上することがわかった。MS2 ファージはポリオウイルスと凝集沈殿ろ過挙動が異なり，指標にならないことが判明した。クリプトスポリジウム検出にデジタルPCRを適用したところ，18S rRNA コピー数などからみて実用可能性が期待された。

農薬の出荷量は減少し続けていたが，剤によっては増加に転じている。農薬の検出状況は過去に比べ低い値となっており，稲作水管理の改善の効果と思われた。一方で，検出が増加している農薬もあった。水道統計では，農薬の年間測定回数と検出率に関連が見られた。(畑地出荷量/ADI/降水量)と(水田出荷量 $\times 10$ スコア^{A+}スコア^{B-6})/ADI/降水量)の地域最高値の組み合わせを用いた場合が最も効率よく監視農薬を選定できることが分かった。新規農薬のブロマシルは降雨量と検出濃度に一定の関係が，テブコナゾールは調査の全地点で調査期間を通じて継続的検出された。これまで水質事故の原因となった化学物質についてリスト化を行った。

ヘキサメチレンテトラミンのオゾン処理における反応生成物として，ヘキサメチレンテトラミン N-オキドを同定した。全国 12 浄水場システムの給水栓水中のジクロロベンゾキノンの実態調査を行った結果，11 箇所の給水栓水から検出(約 10～50 ng/L)した。トリクロラミンの粉末活性炭による除去機構について検討した結果，窒素ガスとしての還元であることが示された。新たなカルキ臭評価指標としての揮発性窒素の測定方法について，還元剤の選定やヘンリー定数の温度依存性の精査等基礎的知見の収集を行った。

突発的事故等による水質異常時の際には，米国，英国等で実施されている給水停止を回避するというような柔軟な対応は日本では取りにくいという課題が示された。水道汚染物質に関する急性/亜急性評価値を試算した。カルバメート系農薬 13 種を例として Hazard index 法及び Relative potency factor 法による複合曝露評価を行った。長鎖パーフルオロカルボン酸類の炭素鎖依存的な毒性強度の違いには，薬物動態学的な要因が関与している可能性が示唆された。複数曝露経路を考慮に入れた曝露量評価では，水質基準値に一致する 0.06 mg/L のクロロホルム濃度の水道水を 2 L/日飲用し，生活用水に使用した場合でも，経口換算総曝露量が TDI を上回る確率は低く，用量と TDI との間には十分なマージンがあることが示された。

水質分析法に関する成果としては，農薬の LC/MS/MS による一斉分析法(別添方法 20)の適用範囲を拡大し，標準検査法が定められていない 3 成分の分析

条件を設定した。GC/MS により分析されているホルムアルデヒドについて、DNPH 誘導体化後に HPLC/UV または HPLC/MS で定量する分析法を開発した：分析時間がより短く、アセトアルデヒドも同時に分析可能であった。さらに、過塩素酸、臭素酸、および塩素酸の LC/MS/MS による高感度同時分析法の開発と、六価クロムと三価クロムの形態別分離分析法として、ポストカラム付イオンクロマトグラフ法の有用性について確認した。網羅分析法については、機種依存無く確実に未知物質を同定できる GC/MS 向けの汎用全自動同定システムを開発した。

これらの成果は 25 編の論文(査読付き)により公表され、7 件の厚生労働省令や告示等や水質基準逐次改正検討会資料に資された。

研究分担者	所属機関	職名
秋葉 道宏	国立保健医療科学院	統括 研究官
浅見 真理	国立保健医療科学院 生活環境研究部	上席主任 研究官
泉山 信司	国立感染症研究所 寄生動物部	主任 研究官
伊藤 禎彦	京都大学 大学院工学研究科	教授
越後 信哉	京都大学 大学院工学研究科	准教授
大野 浩一	国立保健医療科学院 生活環境研究部	上席主任 研究官
片山 浩之	東京大学大学院工学 系研究科	准教授
門上希和夫	北九州市立大学 国際環境工学部	教授

川元 達彦	兵庫県立健康生活科学 研究所健康科学部	研究主 幹
小坂 浩司	国立保健医療科学院 生活環境研究部	主任 研究官
小林 憲弘	国立医薬品食品衛生研 究所生活衛生化学部	室長
鈴木 俊也	東京都健康安全研究セ ンター薬事環境科学部	副参事 研究員
西村 哲治	帝京平成大学薬学部	教授
広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研 究所総合評価研究室	室長
平田 睦子	国立医薬品食品衛生研 究所総合評価研究室	主任 研究官
松下 拓	北海道大学 大学院工学研究院	准教授

A. 研究目的

本研究の目的は、水道水質基準の逐次見直しなどに資すべき化学物質や消毒副生成物、設備からの溶出物質、病原生物等を調査し、着目すべき項目に関してそれらの存在状況、監視、低減化技術、分析法、暴露評価とリスク評価に関する研究を行い、水道水質基準の逐次改正などに資するとともに、水源から給水栓に至るまでの水道システム全体のリスク管理のあり方に関して提言を行うことにある。研究目的を、微生物、化学物質、消毒副生成物、リスク評価管理、水質分析法について詳述すると以下のようである。

微生物汚染に係る問題として、従属栄養細菌、腸管系ウイルス、そして耐塩素性病原微生物を検討し、水道の微生物学的な安全性向上を目指した。平成 20 年度より水質管理目標設定項目に従属栄養細菌が追加され、配管や給水栓等の表面に付着したバイオフィームにも関心が持たれるつつあ

るが、その測定については上水試験方法に記載はない。当該研究では一定面積から市販の拭き取り用器材で安定して試料を採取すること、採取した綿棒から効率よく細菌を遊離懸濁、分散させてから培養を行う、という一連の検討を行うこととした。検討後に、この方法を実際の配管試料に応用した。さらに、一般家庭における *Legionella* 属菌の汚染状況を明らかにすることを企図した。

ウイルスに関しては、実浄水原水を用いた回分式凝集処理実験により、ウイルスの処理性を詳細に評価することを目的とした。

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物対策では、モニタリングシステムの拡充に向けた試料水の濃縮方法としての粉体ろ過法と遺伝子検出法の開発検討を進め、これらは通知試験法に追加され、今後は普及と実用性をより高めるための改良が求められる。そこで、標準試料の検量線を用いることなく、目的試料中の遺伝子断片の

定量が可能であるデジタル PCR 法の適用を試みた。粉体ろ過法の方式については、フィルターホルダーの形式などいくつか改善点について検討を行った。また、粉体ろ過法の細菌測定の濃縮法に応用を試みた。

クリプトスポリジウム等の耐塩素性微生物による集団感染は、世界的には未だに報告が続いており、日本の浄水においてもジアルジアシストが検出され、煮沸勧告が出された事例があった。耐塩素性微生物汚染の原因と回避対策について現状の整理を試みた。

化学物質・農薬に関しては、実態調査を実施し、検出傾向の解析を行った。特に、水源となる流域に開放的に使用される化学物質として量が多い農薬について重点的に解析を行うこととし、水田使用の農薬と非水田使用の農薬の出荷量を算出し、それぞれの出荷量に基づく検出可能性を表す指標を作成するとともに、より効率的な監視農薬の選定方法を検討した。さらに、ネオニコチノイド系農薬については、実態調査に加えて、浄水処理性、様々な反応生成物を含むバイオアッセイ手法を検討した。農薬以外の化学物質については、過去の事事例等の情報収集を行い、検出状況に関して検討を行うと共に、化学物質の管理のあり方について提案を行うことを目的にした。

消毒副生成物のうち、NDMA (N-ニトロソジメチルアミン)、ホルムアルデヒド、ジクロロベンゾキノン、ハロ酢酸(特にトリクロロ酢酸)、ジクロロヨードメタン、ハロアセトニトリル、過塩素酸、ジクロロベンゾキノンを対象とし、制御技術、分析技術、生成実態を調査した。カルキ臭については、トリクロラミン生成に関する共存物質の影響、粉末活性炭によるトリクロラミン除去機構、揮発性窒素の測定方法に関する基礎的知見の収集に努めた。

リスク評価管理に関しては以下のようなものである。利根川水系のホルムアルデヒド前駆物質事故によって生じた給水停止と、東電福島第一原発からの放射性物質の放出に伴って措置された摂取制限の2つの事例を背景として、水質事故発生時などの非常時に市民の安全と利便性を確保するため、摂取制限を伴う給水継続に関する検討を行った。さらに、水道汚染物質に関する急性/亜急性評価値に関して、米国環境保護庁によって設定された健康に関する勧告値の考え方を調査し、日本の基準項目について評価値を試算した。その他、水道水中の農薬の複合曝露評価手法、長鎖パーフルオロカルボン酸類の毒性強度の違いの要因、および、複数曝露経路を考慮に入れた水道水質基準評価値の合理的算出法に関して検討することと

した。

水質分析法に関する研究では、必要性の高い新規の水質検査法の開発および既存の水質検査法の改良を行うことと、平常時および異常発生時の簡便かつ網羅的な水質スクリーニング手法についての検討を行う。また、これらの分析法を、水道事業体および地方衛生・環境研究所、保健所に普及し、分析技術の向上と水質監視体制の強化を図ることを研究目的としている。

農薬については、LC/MS/MS 一斉分析の適用範囲を拡大し、標準検査法が定められていない農薬類への適用を検討し、さらに「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」に従った妥当性評価を実施した。その他の有機物については、ホルムアルデヒドとアセトアルデヒドを対象に、GC/MS を使用する現告示法の代替法として、ヘリウムガスを使用せずに、DNPH 誘導体化後に逆相系 LC カラムを用いて分離し、紫外部吸収検出器または質量分析計で定量する一斉分析法について検討することとした。オキシハロゲン酸類の臭素酸にはポストカラム付イオンクロマトグラフ法、塩素酸にはイオンクロマトグラフ法が告示法として示されているが、臭素酸分析においては高濃度の劇物を使用すること、また操作が煩雑であることから熟練を要する方法となっている。一方、過塩素酸の分析法は未設定となっている現状がある。そこで、LC-MS/MS によるオキシハロゲン酸の迅速かつ高感度な同時分析法の開発を目的とした。さらに、水道原水中のクロムの価数を分別可能な同時分析法に関する検討を行った。網羅的分析法については、市販の全ての GC-MS において標準品を用いることなくデータベース登録物質の同定が可能な GC/MS 向け汎用全自動同定システムの開発を目標とした。

B. 研究方法

原水や水道水質の状況、浄水技術について調査研究を行うため、研究分担者 11 名の他に 43 もの水道事業体や研究機関などから 82 名の研究協力者の参画を得て、各研究分担者所属の施設のみならず様々な浄水場などのフィールドにおける実態調査を行った。水質項目は多岐にわたるため、上述の研究目的に沿って 5 課題群に分けて、研究分科会を構成し、全体会議などを通じて相互に連携をとりながら並行的に研究を実施した。研究分科会は、微生物分科会(研究分担者 4 名、研究協力者 15 名)、化学物質・農薬分科会(研究分担者 2 名、研究協力者 14 名)、消毒副生成物分科会(研究分担者 5 名、研究協力者 14 名)、リスク評価管理分科会(研究分担者 4 名、研究協力者 18 名)

), 水質分析分科会(研究分担者4名, 研究協力者8名)である。

倫理面への配慮: 本研究では, ラットの血清中濃度を測定しているが, 実験動物に対する動物愛護等を配慮して実施した過去の別研究で採取した試料を用いているので, 該当しない。

微生物: 従属栄養細菌の拭きとり試験法の検討では, 浄水場のろ過池内壁付着物を用いて予備検討を行った。拭き取る箇所に滅菌済みイオン交換水をかけ, バイオフィルム以外の細菌を洗い流した後, 市販の拭き取り検査キットの綿棒で拭き取り, 検査キットに含まれるリン酸緩衝生理食塩水に回収し, 定法に従い従属栄養細菌数を測定した。配管実試料では, 給水管取出し工事によりくり抜かれた塩化ビニール管より測定を行った。

家庭環境中のレジオネラ属菌の検出は, 「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究(研究代表者: 倉文明)」と共同して協力が得られた5軒の家庭において行い, 成果の一部を引用した。試料は水試料およびスワブ試料とし, 培養は定法にて行った。調査検体から分離された *Legionella* 属菌は, 16S rRNA 遺伝子および Lmip のプライマーを用いた PCR により, *Legionella* 属菌と *L. pneumophila* であることを検査した。さらに, 型別用血清および自発蛍光の有無により種の鑑別を行った。さらに, アメーバによる *Legionella* 属菌の増菌培養を試みた。

粉体ろ過法の細菌濃縮への応用試験は, 粉体として球状ハイドロキシアパタイトを用い, プラスチック製減圧ろ過容器を吸引ガラス瓶に取り付け, 吸引ろ過を行った。粉体の大腸菌の発育への影響を評価するため, 粉体を添加した培地および非添加に調整した *Escherichia coli* を添加して定量し, 両者を比較した。大腸菌濃縮の添加回収実験では, 共洗い法とフィルターごと回収する方法の2つの方法を比較した。

腸管系ウイルスに関する研究では, 全国の浄水場の協力を得て, 水道原水11を取り寄せ, これにポリオウイルスおよび MS2 ウイルスを添加して人工原水とし, ジャーテストにて凝集沈澱処理実験を行った。

デジタルPCR法を用いたクリプトスポリジウムの定量は, 標準試料として, 感染マウスの糞便より精製した *Cryptosporidium parvum* オーストを用い, デジタルPCRには, BioMark Real-time System, 12.765 Digital Array を用いた。PCRの反応系に, 既往文献に記載された18S rRNA 遺伝子を標的としたプライマー・

TaqMan プローブを用いた。

さらに, 吸引式粉体ろ過法に関して, フィルターホルダーの形式として市販のステンレススクリーンと焼結ガラス製を, フィルターホルダー用のふたとしては特別注文のふたと汎用品の安価なゴム板のふたを比較した。低水温試料水の前処理方法として, ろ過前の試料水中の溶存気体量の低減化を目的に, 「スターラーで激しく攪拌する方法」と「水浴で加温後, 室温まで冷却する方法」で検討した。

論文, 書籍, 厚生労働科学研究費補助金による報告, インターネット公開の資料等を参照し, 水道水におけるクリプトスポリジウム汚染の検出と対策について考え方を整理した。

化学物質・農薬: (社)日本植物防疫協会が出版する農薬要覧2013に記載されている農薬製剤別都道府県別出荷数量と登録農薬情報(農薬製剤に含まれる農薬原体の種類と割合)から農薬原体別都道府県別出荷量を算出した。分科会の14水道事業体の実態調査結果から農薬検出濃度, 検出頻度及び検出指標値(Σ 値)の集計を行い, さらに, 各地域での使用状況, 土地利用状況, 用途, 天候等により検出状況の考察を行った。水道統計を用い, 農薬類の測定体制と検出状況の関連性を解析した。出荷量と適用作物, 地域性を考慮し, より高効率で監視農薬を選定する方法を検討した。ネオニコチノイド系農薬の実態調査を行うに当たり, 測定方法, 測定地点等に関する検討を行い, 神奈川県都市河川流域を対象に実態調査を行い, 変動等を考察した。

ネオニコチノイド系殺虫剤7農薬と類似の3農薬を対象としヒト肝がん由来のHePG2細胞, およびラットの副腎髄質由来の褐色細胞腫PC12細胞を用いた評価を実施した。

規制項目以外の化学物質等について, 水質事故事例などの収集を行い, 水質事故の原因となった化学物質の特性等について考察を行った。さらに, 今後のモニタリング結果の評価にあたり, 水質変動に関する解析を行うため, 水道統計等を用いて測定頻度と測定値の関係に関する予備的な検討を行った。

消毒副生物: N-ニトロソアミン類の実態および生成特性は阪神水道企業団および大阪広域水道企業団において工程水を採水し調査を行った。過塩素酸の実態調査は利根川水系江戸川を対象に実態調査を行った。ホルムアルデヒド前駆物質に関しては, 塩素処理によりホルムアルデヒドを生成しやすいPRTR法第1種指定化学物質な

どを調査対象物質とし、分析方法を検討し、高度浄水処理過程における実態調査を実施した。重要な前駆体であるヘキサメチレンテトラミンのオゾン処理生成物の同定も行った。ハロ酢酸(特にトリクロロ酢酸)、ハロアセトニトリル、抱水クロラール、トリハロメタンなどの副生成物については7事業体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。ハロベンゾキノンの内、海外の調査で最も検出頻度・濃度が高かった2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノンについて、固相抽出-LC-MS/MSによる測定法の検討と全国12浄水場の給水栓水における実態調査を行った。

原水中のヨウ化物イオンがジクロロヨードメタン(CHCl_2I 、以下 DCIM)生成物へ及ぼす影響については、琵琶湖南湖水と下水処理場の処理水を用いた DCIM の分析は固相マイクロ抽出(SPME)の後 GC/MS にて行った

トリクロロアミン生成に関する研究は以下のように行った。アンモニアのみ、あるいは共存有機物を共存させた試料水に次亜塩素酸ナトリウムを添加し、トリクロロアミン生成能を求めた。さらに、前オゾン処理によるトリクロロアミン生成への影響を検討した。トリクロロアミン濃度の測定は、ヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析法によった。

活性炭によるトリクロロアミンの還元的分解の確認実験では、安定同位体窒素(^{15}N)を持つ塩化アンモニウムを用いて、安定同位体窒素を持つトリクロロアミン($^{15}\text{NCl}_3$)を生成し、活性炭添加後に生成した $^{15}\text{N}_2$ を GC/MS により定量し、マスバランスを求めた。溶液中のモノクロロアミン、ジクロロアミンを DPD 法により、トリクロロアミンはヘッドスペース-ガスクロマトグラフ質量分析計により定量した。フェニルアラニン塩素処理に由来するカルキ臭の同定と活性炭による処理実験では、臭気強度を臭気三点比較法で定量するとともに、生成したトリクロロアミンは HS-GC/MS で、その他の分解生成物濃度はクロロホルムによる抽出後に GC/MS で、あるいは直接パージ&トラップ-GC/MS で測定した。さらに、スニッフィング GC/MS システムにより、フェニルアラニン塩素処理溶液に含まれるカルキ臭を有する物質の探索を行った。また、活性炭処理によるカルキ臭およびその原因物質の除去性を求めた。トリクロロアミンや有機クロロアミンを含めた揮発性窒素の分析法として、加温水槽にてトリクロロアミン等を気相中に移し、次の水槽中の還元剤と反応させた後にアンモニウムイオンや全窒素として測定する方法における、操作や反応に関するトリクロロアミンの回収率の検討を行った。カルキ臭の

原因となる有機クロロアミンの前駆物質としてアミン類に着目し、浄水場でアミン類と臭気との関連を調査した。また、浄水場において結合塩素濃度とアンモニア態窒素濃度の相関について検討した。

リスク評価管理分科会: 水質基準値等の位置づけ、および水質異常時の現行の対応に関する整理を行い、給水継続・停止と摂取制限に関する利点と欠点について整理し、水質事故後の復旧に係る時間についての検討を行った。さらに、諸外国における対応策について調査を行うと共に、急性/亜急性評価値の設定方法等について調査を行い、日本の基準項目について評価値を試算した。複合曝露評価に関する研究は、ChE 阻害作用に関する情報と水道統計より浄水中最高濃度を収集し、HI 法及び RPF 法による評価を行った。

長鎖パーフルオロカルボン酸類の毒性発現の違いに関しては、PFDoA の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験で採取した血清サンプル中の PFCA 濃度を LC/MS/MS を用いて測定した。

複数曝露経路を考慮に入れた水道水割当率の推定に関する研究はクロロホルム(トリクロロメタン, TCM)を題材にし、経口換算の総曝露量を生理学的薬物動力学モデル(PBPK モデル)を用いて推定し、モンテカルロシミュレーションにより、TCM に関する総曝露量分布を複数経路別に推定した。

水質分析法分科会: 農薬類の対象物質は、平成25年4月の農薬類の分類見直しにおいて「要検討農薬類」あるいは「その他農薬類」に分類されているが標準検査法が定められていないエチプロール(要03)およびテフリルトリオン(要06)とフェノキサニル(他64)とした。調製した各農薬の標準液および混合標準液を用いて LC/MS/MS の分析条件の検討を行った。オキソハロゲン酸の対象は、臭素酸、塩素酸および過塩素酸の3種類とし、分析時間の短縮化(迅速性)のため、超高速液体クロマトグラフを適用した。ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の LC 分析条件など、その他の課題の分析条件は、分担研究報告書を参照されたい。網羅分析法に関しては、特定の条件で測定した昇温保持指標とマススペクトルをデータベース化し、米国 NIST の無料マススペクトル検索ソフトに組み込み、複数の機種で同定性能や汎用性を検討した。

C. 研究結果と考察

(1) 微生物

(1-1) 従属栄養細菌の拭きとり試験

バイオフィルムの従属栄養細菌を安定して拭き取り測定するため、測定方法を検討した。市販の拭きとり試験用滅菌綿棒を用い、リン酸緩衝生理食塩水に界面活性剤を添加して1分間攪拌する方法が適していた。この方法により3つの配管実試料を測定し、2つの配管で従属栄養細菌の存在を確認した。末端給水栓水での残留塩素濃度が適切に管理されていても、バイオフィルムがわずかに形成されることを改めて確認した。

(1-2) 家庭環境中のレジオネラ属菌の検出

5軒の家庭の給水・給湯水および蛇口から水試料とスワブ試料の計56検体を採取し、*Legionella* 属菌の検査を行った。3検体(5%)が培養陽性、10検体(18%)が遺伝子陽性であった。検出されたのは、台所、浴室および洗面台の給水・給湯水と蛇口であった。これらの検体は従属栄養細菌数も多く、*Legionella* 属菌の増殖が可能な環境であることが推測された。今回の調査では *L. pneumophila* は検出されなかったが、家庭内の水環境に *Legionella* 属菌の汚染があり、当該菌が発生しておかしくないことが明らかとなった。末端の給水栓と水の使用方法について、注意喚起が必要と考えられた。

(1-3) 粉体ろ過法の細菌濃縮への応用

粉体ろ過法の細菌試験への応用について検討した結果、大容量の濃縮が可能であり、新しい簡便な細菌の濃縮法としての有効性が示された。すなわち、粉体の添加により、高濁度水においても2倍以上にろ過可能水量が増加し、ろ速も向上した。ハイドロキシアパタイト粉体は、培地中に存在しても、大腸菌の発育に影響はなく、濃縮後に粉体と菌体を分離する必要はなかった。粉体ろ過による濃縮後にコリラート MPN 法により定量を行った大腸菌数と、公定法であるコリラート MPN 法により定量を行った大腸菌数の間には高い相関が認められ、粉体ろ過法と公定法で同等の大腸菌数を得られることが確認された(図1)。なお、この試験には界面活性剤を使用しなかったが、確認で行った界面活性剤の添加結果は、非添加と同等の値が得られた。

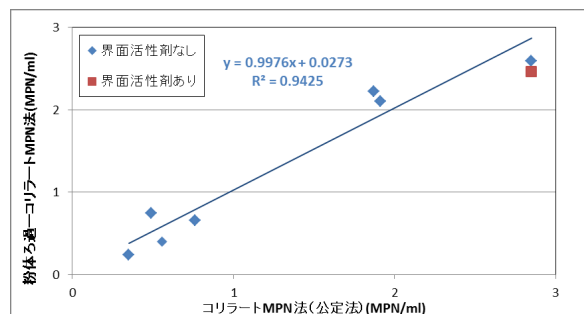


図1 コリラート MPN 法と粉体ろ過 - コリラート MPN 法

(1-4) 腸管系ウイルスに関する研究

全国11箇所の原水を用いて、試験管内でポリオウイルスとMS2ファージのPACによる凝集沈殿ろ過によるウイルス除去を実測した結果、ポリオウイルスは凝集処理で1-Log程度、0.45μm膜ろ過後で計3-Log程度の除去が得られた。MS2ファージはポリオウイルスと挙動が異なり、指標にならないことが判明した。すなわち、凝集処理で3-Log程度、膜ろ過後で6-Log程度となり、高塩基度PACの使用でさらに除去率が向上した。

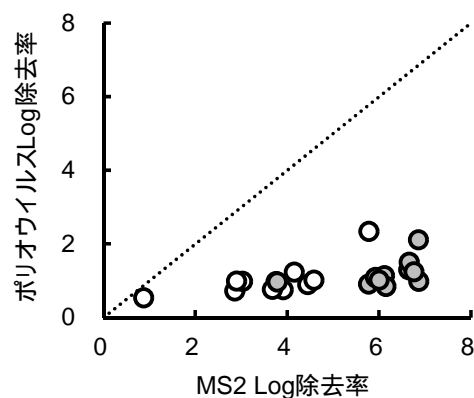


図2 凝集沈殿処理におけるポリオウイルスと大腸菌ファージMS2の処理性の比較(○: 従来PAC, ●: 高塩基度PAC)

(1-5) デジタル PCR 法を用いたクリプトスポリジウムの定量

デジタル PCR 法を用いることで、検量線を作ること無く、感染動物の糞便から精製されたクリプトスポリジウム由来の DNA, RNA を定量可能であった。1オーシスト当たりの18S rRNAのコピー数は20と予想されていたが、デジタル PCR の測定で28コピーとほぼ対応した。発現している rRNA は 21,900 コピーであった。これまでクリプトスポリジウム遺伝子検出法の定量用に整備された検量線の結果とほぼ対応しており、検量線の信頼性が支持された。

(1-6) 吸引式粉体ろ過法の検討

フィルターホルダーの形式の違いにより、ろ過ケーキに差が見られた。焼結ガラス製のものには流路の偏りもなく、均一の厚みのろ過ケーキを得られた。陰圧で粉体ろ過を行うには、ステンレスではなく、焼結ガラス製ホルダーの使用が適していると考えられた。低水温試料水に粉体ろ過法を適用する場合は、ろ過前の脱気処理が不可欠であっ

た。脱気処理を何もせずに行った場合、ろ過の最中に成長した気泡により正常な濃縮が行えない恐れがあった。低温の原水の発泡を防ぐ脱気操作としての攪拌と加温が対策となった。吸引方式用のフィルターホルダー用のふたは、特注品でなくても、フィルターホルダー内へ試料水を導入可能であり、より低コストな粉体ろ過法の実施が可能であった。

(1-7) 水道水におけるクリプトスポリジウム汚染の検出と対策について、考え方の整理

水道の微生物汚染対策の歴史的な経緯を鑑みると、現在行われている凝集沈殿ろ過と塩素消毒に加えて、紫外線照射、あるいは膜ろ過といった処理を追加することにより耐塩素性病原微生物を対策することが、今後の方向と考えられた。HACCPに基づくWSPsの推進も含めることで、水道利用者にとっての安全性向上、水道事業と行政にとっての混乱解消、検出後対応手順の整理により検査者にとっての心理的負担の軽減と検査法にとっての正しい陽性陰性判定を可能にすると考えられた。

(2) 化学物質・農薬

水道水質に関する農薬類や化学物質の管理向上に資するため、実態調査及び情報収集を行った。平成24農薬年度（平成23年10月～平成24年9月）の農薬製剤総出荷量は約23万tで前年とほぼ同量であった。平成24農薬年度における農薬の用途別出荷量は用途別の農薬製剤出荷量は殺虫剤：83578t、殺菌剤：43606t、殺虫殺菌剤：20991t、除草剤：71423tであった。平成元年比で見ると、殺虫剤が約46%、殺菌剤は44%、殺虫殺菌剤約35%、除草剤48%であり、全出荷量で見ても約44%と農薬の使用量が減少しているが、前年比で比較すると殺虫殺菌剤が101%、除草剤が105%となり、剤によっては増加に転じている。登録農薬原体数は平成26年3月現在561種であり、近年増加傾向にある。

分科会及び協力の14水道事業体の実態調査結果から農薬検出濃度、検出頻度及び検出指標値（Σ値）の集計を行ったところ、河川水46種、原水88種、浄水26種の農薬が検出された。原水では、ベンタゾン（176回）、プロモブチド（154回）、イソプロチオラン（89回）、プレチラクロール・ピロキロン（78回）、浄水では、プロモブチド（66回）ベンタゾン（64回）、プレチラクロール（30回）、ピロキロン（29回）、トリシクラゾール（22回）の検出回数が多かった。水稲適用の除草剤で使用量が増えている

テフリルトリオンも検出された。原水ではモリネート、浄水ではプロモブチド、ピラクロニルの検出指標値への寄与が高い。河川水では、検出最大濃度が1μg/Lを超えた農薬はピロキロン、プロモブチド、ジノテフラン、ベンタゾン、2,4-Dの5農薬であった。ジノテフランは今回の改正で対象農薬リスト掲載農薬類にリストアップされた農薬であり、今後、調査が進むにつれてより詳細な実態が明らかになると考えられる。検出回数で見るとベンスルフロメチル、ベノミル、イミダクロプリド、プロモブチドデプロモも比較的検出回数が多かった。個別検出指標値ではピロキロン、フェントロチオンが最大値で0.1以上の値を示したが、特に高い数値は見られなかった。いずれの農薬もこれまでの検出実績がある農薬で大きな傾向の変化見られなかった。

水道統計をもとに、H21年度における全国の水道事業体の農薬の検査体制について解析を行ったところ、全対象水道事業1554件のうち、原水における農薬の測定事業数は644件、検出水道事業数は175件（27%）であった。原水での検出農薬数では、1種類であった事業数が62、2種が31、3種が26であり、以下順に減少傾向であった。年間測定回数が多いと10種以上の農薬が検出される場合もあり、測定回数が多いと農薬が検出される率が高くなった（図3）。

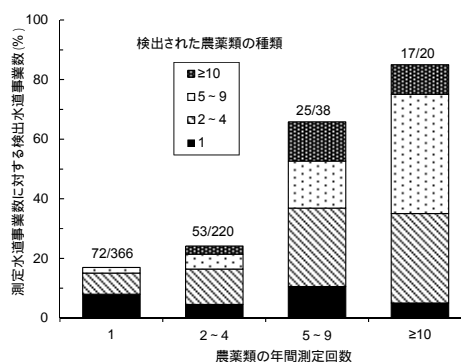


図3 測定農薬類数に対する検出水道事業数の分布(年間測定回数による分類)

農薬出荷量、畑地に対する出荷量、水田に対する出荷量、土地面積、降水量、土壌中での吸着性・土壌と水中分解性に関するスコア値、ADIの項目を使い、どの指標の組み合わせを用いた場合が最も効率よく監視農薬を選定できるか検討した。その結果、指標C4(畑地出荷量/ADI/降水量)の地域最高値と指標C8(水田出荷

量 $\times 10^6$ (スコア A+スコア B-6) /ADI(降水量)の地域最高値の組み合わせを用いた場合が最も効率よく監視農薬を選定できることが分かった。用途別の検出可能性を考慮した効率的な監視農薬の選定が行えるとともに、それによる適切な水質管理への寄与が期待できる。

新しい農薬として使用量が急激に増加しているネオニコチノイド系農薬について、神奈川県都市河川流域の調査を実施したところ、テブコナゾール(99%)、オリサストロピン(E)(55%)、テフリルトリオン(34%)、オリサストロピン(Z)(33%)、プロマシル(32%)、アメトリン(23%)、ジノテフラン(20%)、ピリミノバクメチル(E)(20%)の8農薬が検出率20%以上と比較的高い頻度で検出された。

アセタミプリド、イミダクロプリド、チアクロプリド、ニテンピラム、クロチアニジン、チアメトキサム、ジノテフラン、フィプロニル、エチプロール、フロニカミドの10種の殺虫剤を対象としヒト肝がん由来のHePG2細胞、およびラットの副腎髄質由来の褐色細胞腫PC12細胞を用いた評価を実施した。LDHアッセイによる細胞膜障害性については、数条件下をのぞき、最大作用濃度である1mg/mLにおいても細胞膜傷害作用を示すことはなかった。細胞膜阻害作用を示した場合も、10%以上の細胞膜傷害性を示さなかったことから、本年度実施した物質と作用条件では、細胞膜を傷害する作用は認められないと考えられた。

これまで水質事故の原因となった化学物質について、リスト化を行ったところ、ヘキサメチレンテトラミン、シクロヘキシルアミン、3,5-ジメチルピラゾール、フェノール類、硫酸アミド等塩素との反応性が高く、分解物や異臭の原因となる物質、塩素酸・過塩素酸などの陰イオン、界面活性剤・油等活性炭に吸着しやすい物質が挙げられた。今後一層の情報収集を行う予定である。

(3) 消毒副生成物

N-ニトロソジメチルアミン(NDMA)の長期トレンドおよび生物処理・生物活性炭処理による制御について検討し、淀川水系においては長期的には減少傾向にあること、生物処理・生物活性炭処理でも高い処理性が得られる場合があることを示した。

ヘキサメチレンテトラミンのオゾン処理における反応生成物として、ヘキサメチレンテトラミンN-オキシドを同定した。この物質は塩素に対しても比較的安定であることを確認した。

基準値の強化が予定されているトリクロロ酢酸の対策技術として緩速ろ過池への粒状活性炭敷き込みの効果を検証した。全国12浄水場システムの給水栓水中のジクロロベンゾキノン(DCBQ)の実態調査を行った結果、11箇所の給水栓水から検出(約10~50ng/L)した(このうち3箇所では評価値の1/10を超過)(図4)。また、クロロホルムとDCBQ濃度の間には弱い相関があることを確認した(図5)。ジクロロヨードメタン、ハロアセトニトリル、過塩素酸等の物質について実態調査・生成特性の検討を継続した。

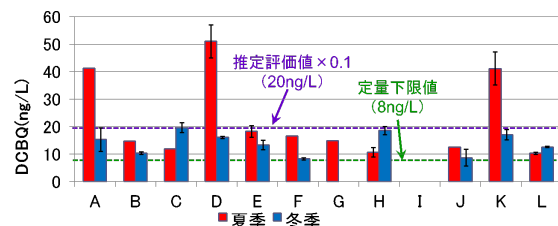


図4 給水栓中DCBQ濃度

* 推定評価値の計算方法

$$\text{推定評価値} = \frac{49 \text{ (mg/kg/日)} (\text{推定 LOAEL})}{1000} \times \frac{50 \text{ (kg)} \times 0.2}{2 \text{ (L)}} \approx 200 \text{ (ng/L)}$$

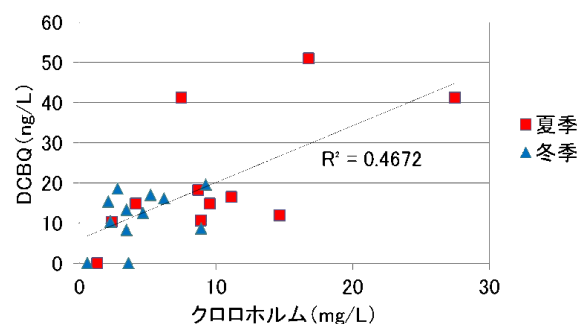


図5 給水栓水におけるDCBQとクロロホルムの関係

塩素処理によるアンモニアからのトリクロロラミンへの共存物質の影響を検討したところ、特にフェノール類による生成抑制影響が大きいことがわかった(図6)。これは、アンモニアと塩素との反応によって生成した無機クロラミン類がフェノール類と反応し有機態窒素になったことが一因と推測された。15N-トリクロラミン溶液を作成し、トリクロラミンの粉末活性炭による除去機構について検討した結果、窒素ガスとしての還元であることが示された。フェニルアラニン由来のカルキ臭物質について、臭気強度の約半分の内訳を明らかにし、また、これらは活性炭処理で低減可能であることがわかった。あわせて、

新たなカルキ臭評価指標として揮発性窒素の測定方法について検討した。

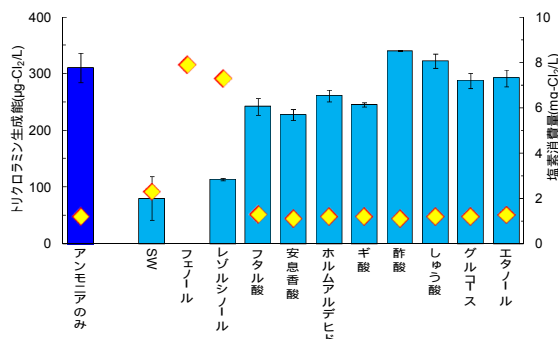


図6 トリクロロミン生成能に対する共存物質の影響

(4) リスク評価管理

リスク管理に関する研究として、突発的水質事故等による水質異常時の対応に関する検討を行った。まず、水質異常時における日本の水道の対応について整理した。現行では、健康影響を考慮して設定された水質基準項目の水質異常時においては、基準値超過が継続すると見込まれ、人の健康を害する恐れがある場合には、取水及び給水の緊急停止を講じることとされている。この中には、ホルムアルデヒドのように長期的な健康影響(慢性毒性)を考慮して設定された項目も含まれる。このため、現行の対応においては、(1) 慢性毒性を考慮して設定された項目が基準値を超えた際に「人の健康を害する恐れ」があるかどうかを判断することが難しい、(2) 摂取制限を行いつつ給水継続をすることで給水停止を回避するというような柔軟な対応が取りにくい、という問題点があることが示された。次に、米国、英国など諸外国における水質異常時の対応について調査した結果、米国、英国等では原則給水停止を行わず使用制限等によって給水を継続すること、その理由としてトイレ用水、消防用水等の確保による衛生状態や都市機能の維持を重視していること、ま

た、住民への通知・広報対策を重視していること等が示された。また、水道汚染物質に関する急性/亜急性評価値に関して、米国環境保護庁による健康に関する勧告値を中心に、設定方法や根拠について調査を行い、日本の基準項目について割当率、体重及び飲水量のみで換算した評価値を試算した。以上の検討により、摂取制限等を行いつつ給水を継続することを水質異常時対応の選択肢に加えることは、公衆衛生・都市機能の維持の面からも重要であると考えられた。なお、これらの研究成果は厚生科学審議会生活環境水道部会、水質基準逐次改正検討会などでの検討資料として活用され、来年度以降も引き続き検討を進めていくこととなった。

複合曝露評価に関する研究では、カルバメート系農薬 13 種について HI 法及び RPF 法による評価を行った。環境蓄積性汚染物質として知られている PFCA 類(PFDoA)を投与したラットの血中濃度を測定した結果、長鎖 PFCA 類の炭素鎖依存的な毒性強度の違いには、薬物動態学的な要因が関与している可能性が示唆された。

複数曝露経路を考慮に入れた曝露量評価では、PBPK モデルを用いて経口、吸入、経皮からのクロロホルム総体内負荷量を算定し、経口換算の総曝露量で表すことによって、経口 TDI との比較を可能にした。さらに、食品摂取量や入浴時間などを変数としたモンテカルロシミュレーションを行うことで、経口換算総曝露量の確率分布を求めた。現状の水質基準値に一致する 0.06 mg/L のクロロホルム濃度の水道水を 2L/日飲用し、生活用水に使用した場合でも、経口換算総曝露量が TDI を上回る確率は低く、用量と TDI との間には十分なマージンがあることが示された。総曝露量の 95%値が TDI と一致する場合、水道水の割当率は 34%と推定された(図 7)。

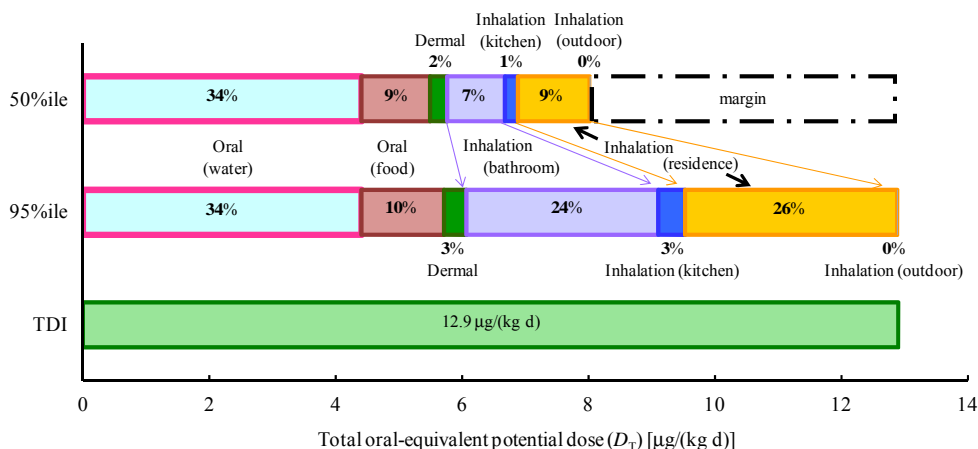


図 7. TCM の経口換算総曝露量とその内訳 (水道水 TCM 濃度 = 0.11 mg/L, 曝露量分布の 95%値 = 12.9 µg/(kg d) (TDI)と設定した時の結果, モデルパラメーター PMPS A 使用)

(6) 水質分析法

農薬については,厚生労働省の新規農薬分類の中で「要検討農薬類」あるいは「その他農薬類」に該当するが標準検査法が定められていないエチプロール(要 03),テフリルトリオン(要 06),およびフェノキサニル(他 64)の3農薬の分析法について検討した。その結果,これらの農薬を LC/MS/MS による一斉分析法(別添方法 20)の対象農薬と同時に分析可能な分析条件を確立することができた。いずれの農薬についても検量線の直線性は良好で,検量線の最低濃度においても高精度で定量を行うことができた。しかし,テフリルトリオンについては,他の農薬と比べてデータの再現性が悪く,特に高濃度試料でそのような傾向が顕著であった。開発した分析法の妥当性評価をさらにを行うため,脱塩素処理を行った水道水に上記の3農薬を各農薬の目標値の1/10および1/100の濃度となるように添加し,LC/MS/MS による一斉分析を行ったところ,いずれの添加濃度においても,各農薬とも妥当性評価ガイドラインにおける真度と併行精度の目標を満たした。以上のことから,開発した手法は,水道水の検査法として有用と考えられる。

有機物については,現在,GC/MS により分析されているホルムアルデヒドについて,DNPH 誘導体化後に LC/UV または LC/MS で定量する分析法を開発した。その結果,UV 法および MS 法ともに,妥当性評価ガイドラインの目標を満たした。実試料で検討した結果,1 検体あたりの分析時間は 10 分以内であり現告示法よりも短く,また,アセトアルデヒドも同時に分析可能であった。

表 1 現行法と本研究で開発した LC/MS/MS 法による 3 物質の測定値の比較

	現行法 ¹⁾	LC/MS/MS 法 ²⁾	比(%) ^{※)}
1. 臭素酸	11.9 µg/L (IC-PC 法)	11.8 µg/L	99.2%
2. 塩素酸	62.0 µg/L (IC 法)	61.0 µg/L	98.4%
3. 過塩素酸	1.3 µg/L (IC 法 ^{※)}	1.3 µg/L	100.0%
分析時間	40分/1検体	10分/1検体	4倍

※: LC/MS/MS 法と比較するため IC 法を採用
 ※※: 2) の測定値 / 1) の測定値 × 100 (%)

無機物については,オキソハロゲン酸の新規分析法を開発するとともに,クロムの価数分離手法及び高感度化のための条件等に関する検討を行った。具体的には,オキソハロゲン酸として,過塩素酸,臭素酸および塩素酸の LC/MS/MS による同時分析法の開発を行った。実試料で検討した結果,分析時間はいずれも 10 分以内であり(表 1),さらに基準値・目標値と比べて高感度分析が可能となった。また,毒性の高い六価クロムと三価クロムを分離した同時分析法をポストカラム付イオンクロマトグラフにより検討し,六価クロムを高感度に検出することを可能とした。

網羅分析法については,米国 NIST の無料マススペクトル検索ソフトに自作のデータベースを組み込むことで,GC/MS 向けの汎用全自動同定システムを開発した。統一した GC 条件及び MS チューニングを採用することで,機種依存無く確実に未知物質を同定できた。現在の登録物質は約 1000 物質であるが,簡単に物質追加ができ,市販の全 GC/MS で標準物質を使用することなく未知物質の同定が可能である。

D. 結論

(1) 微生物: バイオフィルムの従属栄養細菌を安定して拭き取り測定した。2 つの配管で従属栄養細菌の存在を確認し,残留塩素濃度が適切に管理されていても,バイオフィルムがわずかに形成されることを改めて確認した。レジオネラ属菌の汚染実態調査を開始し,汚染を培養法と PCR 法で検出した。家庭内環境で使っていない蛇口や風呂水から培養陽性であった。クリプトスポリジウム等の濃縮を目的とした粉体ろ過法を,細菌にも応用した。粉体の使用でろ過水量が倍増し,粉体は培養を阻害せず,回収率はフィルター単独の半分程度からほぼ 10 割に向上した。さらに大腸菌のコリラート培地法と嫌気性芽胞菌のハンドフオード改良寒天培地法に適用可能であった。低濃度の遺伝子定量を可能とする新技術のデジタル PCR をクリプトスポリジウムに適用した。1 オースト当たりの 18S rRNA 遺伝子のコピー数は予想に近い値であり,さらに検量線の信頼性も支持された。クリプトスポリジウム等検査法の基準化を考えるには,煮沸勧告等の混乱回避が必須であるが,UV 等の対策導入で利用者の安全性向上,混乱解消,検査の心理的負担軽減と正しい判定が可能と考察された。全国 11 箇所の原水を用い,

室内実験にてポリ塩化アルミニウムによる凝集沈殿実験を行ったところ、ポリオウイルスの除去は 1-Log 程度と低かった。

(2) 化学物質・農薬：化学物質の管理向上に資するため、実態調査及び情報収集を行った。分科会及び協力の 14 水道事業体の実態調査結果から農薬検出濃度、検出頻度及び検出指標値（値）の集計を行った。原水では、ベンタゾン(176 回)、プロモブチド(154)、イソプロチオラン(89)、プレチラクロール・ピロキロン(78)、浄水では、プロモブチド(66)、ベンタゾン(64)、プレチラクロール(30)、ピロキロン(29)、トリシクラゾール(22)の検出回数が多かった。水稻適用の除草剤で使用量が増えているテフリルトリオンも検出された。原水ではモリネート、浄水ではプロモブチド、ピラクロニルの個別農薬評価値への寄与が高かった。水道統計をもとに、H21 年度における全国の水道事業体の農薬の検査体制について解析を行ったところ、全対象水道事業 1554 件のうち、原水における農薬の測定事業数は 644 件、検出水道事業数は 175 件(27%)であった。原水での検出農薬数では、1 種類であった事業数が 62、2 種が 31 であり、以下順に減少傾向であった。年間測定回数が多い事業体ほど農薬が検出される率が高い傾向が見られた。これまで水質事故の原因となった化学物質について、リスト化を行ったところ、1)塩素との反応性が高く分解物や異臭の原因となる物質（ヘキサメチレンテトラミン、シクロヘキシルアミン、3,5-ジメチルピラゾール、フェノール類等）、2)塩素消費量が高い物質（硫酸アミド等）、3)陰イオン（塩素酸・過塩素酸等）、4)界面活性剤・油などが挙げられ、情報収集を継続している。

(3) 消毒副生成物：N-ニトロソジメチルアミン(NDMA)は生物処理・生物活性炭処理でも高い処理性が得られる場合があることを示した。ヘキサメチレンテトラミンのオゾン処理における反応生成物として、ヘキサメチレンテトラミン N-オキドを同定し、この物質は塩素に対しても比較的安定であることを確認した。全国 12 浄水場系統の給水栓水中のジクロロベンゾキノ(DCBQ)の実態調査を行った結果、11 箇所の給水栓水から検出（約 10~50 ng/L）した（このうち 3 箇所では評価値の 1/10 を超過）。また、クロロホルムと DCBQ 濃度の間には弱い相関があることを確認した。ジクロロヨードメタン、ハロアセトニトリル、過塩素酸等の物質について実態調査・生成特性の検討を継続した。

塩素処理によるアンモニアからのトリクロロミンへの共存物質の影響を検討したところ、特に

フェノール類による生成抑制影響が大きいこと、アンモニアと塩素との反応によって生成した無機クロロミン類がフェノール類と反応し有機態窒素になったことが一因と推測された。15N-トリクロロミン溶液を用いた実験により、トリクロロミンの粉末活性炭による除去機構は窒素ガスとしての還元であることが示された。フェニルアラニン由来のカルキ臭物質について、臭気強度の約半分の内訳を明らかにし、さらに、これらは活性炭処理で低減可能であることがわかった。新たなカルキ臭評価指標として揮発性窒素の測定方法の確立を検討し、トリクロロミンについてはシステム全体での回収率が比較的良好であることを示した。

(4) リスク評価管理：突発的水質事故等による水質異常時の対応に関する検討を行った。まず、日本の水質異常時の水道の対応について整理したところ、給水停止を回避するような柔軟な対応が取りづらいことが示唆された。次に、米英などにおける水質異常時の対応について調査し、原則給水停止を行わず使用制限等によって給水を継続すること、その理由としてトイレ用水や消防用水等の確保による衛生状態や都市機能の維持を重視していること、また、住民への通知・広報対策を重視していること等が示された。摂取制限等を行いつつ給水を継続することを水質異常時対応の選択肢に加えることは、公衆衛生・都市機能の維持の面からも重要であると考えられた。そこで、給水継続の指標の一つとして、水道汚染物質の急性/亜急性毒性に関する評価値の設定方法や根拠について、米国環境保護庁による健康に関する勧告を中心に調査を行い、日本の基準項目について体重などを換算した評価値を試算した。

複数暴露経路からのクロロホルム総体内負荷量をモデルにより評価し、経口換算の総潜在用量で表現し、暴露確率分布を推定した。分布の 95% 値が 1 日耐容摂取量と一致する場合、水道水の割当率は 34%と推定された。複合暴露評価に関する研究では、カルバメート系農薬 13 種について Hazard index 法及び Relative potency factor 法による評価を行った。環境蓄積性汚染物質として知られている長鎖パーフルオロカルボン酸類を投与したラットの血中濃度を測定した結果、投与物質に不純物として含まれている炭素数の異なるパーフルオロカルボン酸類が毒性発現に関与している可能性が示唆された。

(5) 水質分析法：農薬については、LC/MS/MS による一斉分析法の適用範囲を拡大し、GC/MS 対象であった 73 成分に加えて、標準検査法が定められていない 3 成分の分析条件を設定した。ホ

ルムアルデヒドについて，DNPH 誘導体化後に HPLC/UV または HPLC/MS で定量する迅速な分析法を開発し，妥当性評価ガイドラインの目標も満たした。無機物に関しては，過塩素酸，臭素酸，および塩素酸の LC/MS/MS による迅速高感度な同時分析法の開発を行った。さらに，六価クロムと三価クロムの形態別分離分析法として，ポストカラム付イオンクロマトグラフ法の有用性を確認した。網羅分析法については，GC/MS 向けの汎用全自動同定システムを開発し，さらに，機種依存無く確実に未知物質を同定できた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

Matsushita, T., Suzuki, H., Shirasaki, N., Matsui, Y., and Ohno, K., Adsorptive virus removal with super-powdered activated carbon, Separation and Purification Technology, 107, 79-84, 2013.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Tatsuki, Y., and Matsui, Y., Investigating norovirus removal by microfiltration, ultrafiltration, and precoagulation-microfiltration processes using recombinant norovirus virus-like particles and real-time immuno-PCR, Water Research, 47, 5819-5827, 2013.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Oshiba, A., Marubayashi, T., and Sato, S., Improved virus removal by high-basicity polyaluminum coagulants compared to commercially available aluminum-based coagulants, Water Research, 48, 375-386, 2014.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Urasaki, T., Kimura, M., and Ohno, K., Virus removal by an in-line coagulation-ceramic microfiltration process with high-basicity polyaluminum coagulation pretreatment, Water Science and Technology: Water Supply, accepted.

岸田直裕，原本英司，今野祥顕，泉山信司，浅見真理，秋葉道宏，水中のクリプトスポリジウム・ジア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-III_637，2013 年。

泉山信司，黒木俊郎，水系感染する病原微生物(クリプトスポリジウムおよびレジオネラ)への対策，水環境学会誌，36(5)，161-164，2013 年。

小坂浩司，浅見真理，佐々木万紀子，松井佳彦，秋葉道宏，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_374，2013 年。

Narita, K., Matsui, Y., Iwao, K., Kamata, M., Matsushita, T., and Shirasaki, N., Selecting pesticides for inclusion in drinking water quality guidelines on the basis of detection probability and ranking, Environment International, 63, 114-120, 2014.

越後信哉，森田悠斗，伊藤禎彦，琵琶湖・淀川流域の水道水におけるヨウ素系消毒副生成物の存在実態，土木学会論文集 G (環境)，69(7)，III_385-III_392，2013 年。

Quan, D., Okashita, R., Yanagibashi, Y., Echigo, S., Ohkouchi, Y., Itoh, S., and Jinno, H., Exposure to haloacetic acids via typical components of the Japanese diet and their allocations of drinking water ingestion to total exposure, J. Water Supply: Res. Technol.-AQUA, 62(4), 224-233, 2013.

Echigo, S., Itoh, S., Ishihara S., Aoki, Y., and Hisamoto, Y., Reduction of chlorinous odor by the combination of oxidation and ion-exchange treatment, J. Water Supply:Res.Technol.-AQUA, 63(2), 106-113, 2014.

伊藤禎彦，消毒副生成物の飲用寄与率と水道水質基準，環境衛生工学研究，27(4)，3-22，2013 年。

Asami, M., Yoshida, N., Kosaka, K., Ohno, K., and Matsui, Y., Contribution of tap water to chlorate and perchlorate intake: A market basket study, Science of the Total Environment, 463-464, 199-208, 2013.

Niizuma, S., Matsui, Y., Ohno, K., Itoh, S., Matsushita, T., and Shirasaki, N., 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, 2013.

Matsumoto, M., Yamaguchi, M., Yoshida, Y., Senuma, M., Takashima, H., Kawamura, T., Kato, H., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., Yokoyama, K., and Hirose, A., An antioxidant, N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD), affects labor and delivery in rats: A 28-day repeated dose test and reproduction/developmental toxicity test, Food Chem Toxicol., 56, 290-296, 2013.

Takahashi, M., Ishida, S., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., and Hirose, A., Repeated dose and reproductive / developmental toxicity of perfluoroundecanoic acid

in rats, *J Toxicol Sci.*, 39, No.1, 97-108, 2014.

金見 拓, 利根川ホルムアルデヒド水質事故の概要と提起された課題, *日本リスク研究学会誌*, 23(2), 57-64, 2013 年.

浅見真理, 小坂浩司, 大野浩一, 水道側から見たホルムアルデヒド水質事故関連のリスク管理制度とその課題, *日本リスク研究学会誌*, 23(2), 71-76, 2013 年.

大野浩一, 利根川水系ホルムアルデヒド水質事故をめぐる考察と給水停止に対する住民のパーセプションについて, *日本リスク研究学会誌*, 23(2), 81-85, 2013 年.

高橋美加, 松本真理子, 宮地繁樹, 菅野誠一郎, 菅谷芳雄, 長谷川隆一, 平田睦子, 小野敦, 鎌田栄一, 広瀬明彦, OECD 化学物質対策の動向(第23報) - 第2回 OECD 化学物質共同評価会議(2012年パリ), *化学生物総合管理*, 9, 241-247, 2013 年.

高橋美加, 松本真理子, 宮地繁樹, 菅野誠一郎, 菅谷芳雄, 平田睦子, 中嶋徳弥, 小野敦, 鎌田栄一, 広瀬明彦, OECD 化学物質対策の動向(第22報) - 第1回 OECD 化学物質共同評価会議(2011年パリ), *化学生物総合管理*, 9, 112-118, 2013 年.

松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦, OECD 化学物質共同評価プログラム: 第1回化学物質共同評価会議概要, *化学物質総合管理*, 9, 92-99, 2013 年.

松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 長谷川隆一, 広瀬明彦, OECD 化学物質共同評価プログラム: 第2回化学物質共同評価会議概要, *化学物質総合管理*, 9, 100-111, 2013 年.

松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 長谷川隆一, 小野敦, 広瀬明彦, OECD 化学物質共同評価プログラム: 第3回化学物質共同評価会議概要, *化学物質総合管理*, 9, 222-231, 2013 年.

Matsui, Y., Ishikawa, T. B., Kimura, M., Machida, K., Shirasaki, N., and Matsushita, T., Aluminum concentrations of sand filter and polymeric membrane filtrates: a comparative study, *Separation and Purification Technology*, 119, 58-65, 2013.

2. 著書

Kosaka, K., Asami M., and Kunikane S., Perchlorate: Origin and occurrence in drinking water, In Elias S. (ed.) *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*, Burlington, Elsevier, 2013.

浅見真理, 1,4-ジオキサン, 排水汚水処理技術集成 東京: NTS, 59-68, 2013.

小坂浩司, 第1編水環境を驚かす新たな汚染物質の実態, 第2章過塩素酸・NDM, 排水・汚水処理技術集, vol. 2, エヌ・ティー・エス 東京, 29-38, 2013.

3. 解説・総説

門上希和夫, 微量化学物質による環境汚染の安全性評価 - ノンターゲット分析の必要性と手法 - (総説), *安全工学*, 52(3), 155-161, 2013.

4. 学会発表

丸林拓也, 白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 全国の水道原水を用いた水系感染症ウイルスの凝集処理性評価及びウイルス処理性指標の模索, 第48回日本水環境学会年会, 2013 年.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Matsui, Y., Tatsuki, Y., and Oshiba, A., Evaluating norovirus removal during drinking water treatment by using recombinant norovirus virus-like particles, 2nd International Doctoral Symposium with Partner Universities, Sapporo, Japan, 24-26 October 2013.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., and Tatsuki, Y., Estimating norovirus removal performance in an in-line coagulation-ceramic microfiltration process by using recombinant norovirus VLPs and immuno-PCR method, IWA Membrane Technology Conference (IWA-MTC 2013), Toronto, Canada, 25-29 August 2013.

Kishida, N., Noda, N., Haramoto, E., Kawaharazaki, M., Akiba, M., and Sekiguchi, Y., Quantitative detection of human enteric adenoviruses in river water by microfluidic digital PCR; The 17th International Symposium on Health-Related Water Microbiology; Florianopolis, Brazil, September 2013.

岸田直裕, 原本英司, 今野祥顕, 泉山信司, 浅見真理, 秋葉道宏, 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, 第50回環境工学研究フォーラム; 札幌, 11月, 2013年.
- 泉山信司, 岸田直裕, 岸田小百合, 秋葉道宏, 八木田健司, クリプトスポリジウムとジアルジア計数を目的とした定量逆転写PCRの検量線作成, 第82回日本寄生虫学会, 東京都, 3月, 2013年.
- 久野草太郎, 田中繁樹, 及川智, 東京都区部給水栓における従属栄養細菌の検出状況, 日本水道協会関東地方支部水質研究発表会, 東京都, 11月, 2013年.
- 泉山信司, 水野聡, 川口有希子, 及川智, 従属栄養細菌による飲料水兼用耐震性貯水槽の管理, 環境技術学会, 岐阜県, 9月, 2013年.
- 泉山信司, 水道水におけるクリプトスポリジウム汚染の検出と対策について, 考え方の整理, 第83回日本寄生虫学会, 愛媛県, 3月, 2014年.
- 浅見真理, 小坂浩司, 大野浩一, 秋葉道宏, 水道やその水源における化学物質等の検出状況と水質リスク管理について, 第22回環境化学討論会, 2013年.
- 川寄悦子, 梶田香奈, 久保明日香, 北川宏子, 中田俊芳, 鎌田素之, 須戸幹: 新規水道水質管理目標設定農薬類の検査法開発と環境存在実態, 第22回環境化学討論会, 2013年.
- 駒田大輔, 鎌田素之, 川寄悦子, 中田俊芳, 水道における新規水道水質管理目標設定項目候補農薬類の実態調査, 第31回農薬環境科学研究会, 2013年.
- 小坂浩司, 浅見真理, 佐々木万紀子, 松井佳彦, 秋葉道宏, 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, 第50回環境工学研究フォーラム, 札幌, 2013年.
- Kosaka, K., Kobashigawa, N., Nakamura, R., Asami, M., Echigo, S., and Akiba, M., Reduction of trichloramine formation by two-step chlorination, Proc. 8th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Micropollutants / Hazardous Substances in Water, Zurich, Switzerland, P114-P115 (Poster Presentation), June 2013.
- 中井喬彦, 畠孝欣, 森岡弘幸, 小坂浩司, 浅見真理, 秋葉道宏, 水道水におけるジクロロベンゾキノンノンの測定法の検討と実態調査, 第48回日本水環境学会年会講演集, 仙台, 492, 3月, 2014年.
- 中井喬彦, 小坂浩司, 浅見真理, 大久保慶子, 秋葉道宏, PRTR物質の塩素処理によるアルデヒド生成率の評価, 平成25年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 郡山, 646-647, 10月, 2013年.
- 石渡一行, 岩見吉博, 中井喬彦, 小坂浩司, 浅見真理, 大久保慶子, 秋葉道宏, 塩素処理によるアミン類からのホルムアルデヒド生成能の評価, 平成25年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 郡山, 644-645, 10月, 2013年.
- 福田圭佑, 福原次郎, 佐藤賢, 小坂浩司, 浅見真理, 秋葉道宏, 二段階塩素処理によるトリクロロミン生成抑制への効果, 塩素処理条件と消毒副生成物への影響, 平成25年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 郡山, 260-261, 10月, 2013年.
- Tazawa, S., Matsushita, T., and Matsui, Y., Chlorinous odor derived from phenylalanine after chlorination: characterization and removal with super-powdered activated carbon, The 5th IWA-ASPIRE Conference, Daejeon, Korea, 8-12, September 2013.
- 越後信哉, 井尻智之, 久本祐資, 中山恵裕, 伊藤禎彦, 促進酸化処理とイオン交換処理を用いたカルキ臭低減型浄水プロセスの処理性における活性炭処理の影響, 平成25年度全国会議(水道研究発表会)講演集郡山, 276-277, 10月, 2013年.
- Echigo, S., Ijiri, T., Nakayama, Y., and Itoh, S., Formation characteristics of disinfection by-products during the drinking water treatment by the combination of advanced oxidation and ion exchange, Proc. 8th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Micropollutants/ Hazardous Substances in Water, Zurich, Switzerland, 106-107 (Oral Presentation), June 2013.
- Ohno, K., Asami, M., and Matsui, Y., Questionnaire survey on water ingestion rates for various types of liquid and the seasonal differences between summer and winter, Proceedings of SRA (Society for Risk Analysis) 2013 Annual Meeting Abstracts #P117, Baltimore, MD, USA, December 8-11, 2013.
- Hirose, A., Risk assessment methodology for chemicals and contaminants in foods. ILSI HESI Workshop: Risk Assessment in the 21st Century, TKP,

大手町カンファレンスセンター7月, 2013年.

Hirose, A., Kobayashi, N., Fujitani, T., Sakamoto, Y., Yoshioka, Y., Tsutsumi, Y., Tsuda, H., and Kannno, J., Nanotoxicity and nano safety science in various exposure scenarios, The 49th EUROTOX2013 (Switzerland, Interlaken), September 2013.

Hirose, A., Kobayashi, N., Kawabe, M., Nakashima, H., Numano, T., Kubota, R., and Ikarashi, Y., Developmental toxicity by intratracheal instillation of multi-wall carbon nanotubes in pregnant mice, 6th International Symposium Nanotechnology, Occupational and Environmental Health, Nagoya, October 2013.

Hirose, A., Fujii, S., Suzuki, T., Kato, H., Kawamura, T., Matsumoko, M., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Nishimura, T., Ema, M., and Ono, A., Combined Repeated-Dose Toxicity Studies with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Tests for Perfluorotetradecanoic Acid and Perfluorohexadecanoic Acid in Rats, 第53回米国トキシコロジー学会 (Phoenix, Arizona, USA), March 2014.

Ono, A., Hirata-Koizumi, M., Ise, R., Kato, H., Matsuyama, T., Ema, M., and Hirose, A., Gender-related difference in the toxic susceptibility of rats to an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole: a role of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha, The 49th EUROTOX2013 (Switzerland, Interlaken), September 2013.

Ono, A., Takahashi, M., Yabe, K., Kato, H., Kawamura, T., Matsumoko, M., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A., The Japanese Existing Chemical Safety Survey Program: Reproductive Toxicity of 3-Cyanopyridine In Rats. XIII International Congress of Toxicology, COEX (韓国ソウル市), July 2013.

Ono, A., Honma, M., Masumori, S., Matsumoko, M., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A., An In Vivo Mutagenicity Test of Hydroquinone Using the lacZ Transgenic Mice, 第53回米国トキシコロジー学会 (Phoenix, Arizona, USA), March 2014.

Yamada, T., Tanaka, Y., Hasegawa, R., Sakuratani, Y., Yamada, J., Yoshinari, K., Yamazoe, Y., Ono, A., Hirose, A., and Hayashi, M., Hazard Evaluation Support System (HESS) -Proposal of in vitro assays useful for predicting repeated-dose toxicity of chemical substances, FutureTox II: In Vitro Data and In Silico Models for Predictive Toxicology (Chapel

Hill, North Carolina, USA), January 2014.

浅見真理, 小坂浩司, 大野浩一, 秋葉道宏, 水道やその水源における化学物質等の検出状況と水質リスク管理について, 第22回環境化学討論会, 東京, 298-299, 7月31日 - 8月2日, 2013年.

野本雅彦, 高橋秀樹, 川地利明, 五十嵐公文, 利根川水系におけるホルムアルデヒド事故に係る原因物質の究明, 平成25年度水道研究発表会講演集, 郡山, 648-649, 10月23日 - 25日, 2013年.

広瀬明彦, Q3Dガイドラインステップ2の元素の毒性評価法の概要, 第15回医薬品品質フォーラムシンポジウム, ICH 金属不純物のガイドライン(ステップ2)の概要と評価方法, 全電通労働会館ホール, 11月1日, 2013年.

広瀬明彦, 食品等に含まれる化学物質のリスク評価の経験とそこから見えてきた課題, 日本リスク研究学会 第26回シンポジウム, 東京, 6月14日, 2013年.

小野敦, 平田睦子, 加藤寛人, 伊勢良太, 広瀬明彦, 2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl) benzotriazole による肝毒性メカニズムのトランスクリプトーム解析, 第40回日本毒性学会学術年会, 千葉, 6月, 2013年.

小林憲弘, 久保田領志, 浅見真理, 五十嵐良明, 水道水中のホルムアルデヒド簡易・迅速分析法の妥当性評価, 第22回環境化学討論会, 東京都府中市, 7月31日, 2013年.

小林憲弘, 久保田領志, 塚本多矩, 五十嵐良明, 水道水中のホルムアルデヒド前駆物質のLC/MS/MS一斉分析法の開発, 第22回環境化学討論会, 東京都府中市, 8月1日, 2013年.

小林憲弘, 水道水中の農薬類のGC/MSおよびLC/MS/MS一斉分析方法の開発, 環境科学会2013年会, 静岡県静岡市, 9月4日, 2013年.

小林憲弘, 久保田領志, 田原麻衣子, 木村謙治, 林広宣, 山田義隆, 小林利男, 舟洞健二, 三枝慎一郎, 古谷智仁, 杉本智美, 五十嵐良明, 固相抽出 - GC/MS による水道水中農薬類の一斉分析法の妥当性評価, 平成25年度全国水道研究発表会, 福島県郡山市, 10月25日, 2013年.

小林憲弘, 久保田領志, 五十嵐良明: LC/MS/MS

を用いた水道水中のアルデヒド前駆物質の一斉分析法の開発, 第 50 回全国衛生化学技術協議会年会, 富山県富山市, 11 月 8 日, 2013 年.

小林憲弘, 水道水質検査方法の開発に関する最近の話題と今後の課題. 第 50 回全国衛生化学技術協議会年会, 富山県富山市, 11 月 8 日, 2013 年.

菱木麻佑, 小杉有希, 鈴木俊也, 保坂三継, 中江大, 水道水中ホルムアルデヒドの誘導体化 - HPLC による分析法, 第 48 回日本水環境学会年会, 仙台, 2014 年.

川元達彦, 矢野美穂, 前田絵理, 森田寛子, 鈴木俊也, 三橋隆夫, LC/MS/MS を適用した水道水中臭素酸及び塩素酸の同時分析法の開発, 第 50 回全国衛生化学技術協議会年会 講演集 p.202-203, 11 月, 2013 年.

川瀬敬三, 門上希和夫, GC-MS プライベートライブラリーを用いた汎用スクリーニング手法の開発, 第 22 回環境化学討論会, 東京都府中市, 8 月 1 日, 2013 年.

大窪かおり, 中園陽子, 宮脇崇, 門上希和夫, LC/TOF-MS 用全自動同定・定量データベースシステムの開発 - 環境水・農産物への適用 -, 第 22 回環境化学討論会, 東京都府中市, 8 月 1 日, 2013 年.

Kadokami, K., and Kawase, K., Development of Wide Use GC-MS Database for Non-target Analysis, Asianalysis XII, 福岡市, 8 月 23 日, 2013 年.

大窪かおり, LC/TOF-MS 用全自動同定・定量データベースシステムの開発, 環境試料への適用, 平成 25 年度化学物質環境実態調査環境科学セミナー, 東京都, 1 月 23 日, 2014 年.

G. 謝辞

本研究課題の遂行に際しては, 表 A に示す研究協力者及びその所属組織より協力を頂いた. ここに記して謝す.

門上希和夫, データベースを用いた化学物質の網羅分析法の開発, 第 59 回日本水環境学会セミナー, 東京都, 2 月 3 日, 2014 年.

伊福知美, 吉田悠祐, チャウ・ティーカムホン, 門上希和夫, LC/TOF-MS を用いた水試料中の難揮発性農薬の一斉分析法開発, 日本水環境学会九州支部研究発表会, 鹿児島県霧島市, 3 月 1 日, 2014 年.

吉田悠祐, 伊福知美, チャウ・ティーカムホン, 門上希和夫, LC/TOF-MS を用いた水試料中の難揮発性化学物質の網羅分析法開発, 第 47 回日本水環境学会年会, 仙台市, 3 月 18 日, 2013 年.

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特許第 5476558 (平 26.2.21)「水試料中の原虫のろ過回収方法および水道水又は水道原水の水質の管理方法」

2. 実用新案登録

(該当なし)

3. その他

(該当なし)

表 A

< 微生物分科会 >

酒井 紳	神奈川県内広域水道企業団
大谷 喜一郎	神奈川県内広域水道企業団
及川 智	東京都水道局
高藤 俊	浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ
川口 有希子	桐生市水道局水質センター
渡邊 洋大	神奈川県企業庁水道水質センター
水野 聡	新潟市水道局

田部井 由紀子	東京都健康安全研究センター
岸田 直裕	国立保健医療科学院生活環境研究部
遠藤 卓郎	国立感染症研究所細菌第一部
黒木 俊郎	神奈川県衛生研究所
田邊 眞	神奈川県農業技術センター畜産技術所
安藤 正典	山梨大学 工学部
橋本 温	県立広島大学生命環境学部
大河内 由美子	麻布大学 生命環境科学部

< 消毒副生成物分科会 >

田中 康夫	阪神水道企業団
安藤 尚子	奈良県水道局
北本 靖子	大阪市水道局
山田 睦邦	北千葉広域水道企業団
佐藤 賢	茨城県企業局
三矢 律子	東京都水道局
中平 健二	大阪広域水道企業団
與古田 亨	沖縄県企業局
片岡 稔之	京都市上下水道局
小島 慶太	川崎市上下水道局
中井 喬彦	国立保健医療科学院生活環境研究部
篠田 豊	東京都水道局
田中 航也	大阪市水道局
清宮 佳幸	千葉県水道局

< 化学物質・農薬分科会 >

相澤 貴子	(公財)水道技術研究センター
石井 喜成	千葉県水道局 水質センター調査課
井上 剛	福岡県南広域水道企業団 施設部水質センター
江崎 智昭	神戸市水道局 事業部水質試験所
鎌田 素之	関東学院大学 理工学部理工学科
三枝 慎一郎	広島市水道局 施設部水質管理課
桐山 秀樹	奈良県水道局 広域水道センター 水質管理センター
小坂 浩司	国立保健医療科学院生活環境研究部 水管理研究分野
佐藤 学	神奈川県衛生研究所 理化学部 生活化学・放射能グループ
中村 美早紀	茨城県企業局 水質管理センター
西野 真之	八戸圏域水道企業団 水質管理課
三浦 晃一	仙台市水道局 浄水部水質検査課
高橋 英司	新潟市水道局 技術部水質管理課
津田 宏	神奈川県内広域水道企業団 水質管理センター

< リスク評価管理分科会 >

小熊 久美子	東京大学大学院工学系研究科都市工学専攻
野本 雅彦	北千葉広域水道企業団 技術部水質管理室
森田 久男	埼玉県大久保浄水場
高橋 和彦	東京都水道局浄水部浄水課
金見 拓	東京都水道局浄水部浄水課
古林 祐正	阪神水道企業団 技術部浄水管理課
服部 晋也	大阪市水道局工務部水質試験所
工藤 幸生	(社)日本水道協会 工務部水質課
及川 富士雄	(社)日本水道協会 工務部水質課
鈴木 俊也	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部環境衛生研究科
江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所
長谷川 隆一	国立医薬品食品衛生研究所
小野 敦	国立医薬品食品衛生研究所
高橋 美加	国立医薬品食品衛生研究所
松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所
川村 智子	国立医薬品食品衛生研究所
加藤 日奈	国立医薬品食品衛生研究所
西村 哲治	帝京平成大学 薬学部薬学科

< 水質分析法分科会 >

五十嵐 良明	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
久保田 領志	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
小杉 有希	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
木下 輝昭	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
矢野 美穂	兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学部
阿部 晃文	川崎市上下水道局 水管理 センター 水道水質課
境 泰史	公財)北九州生活科学センター
大窪 かおり	佐賀県衛生薬業センター

平成 25 年度厚生労働科学研究（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
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
研究代表者 松井 佳彦（北海道大学大学院工学研究院）

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 - 微生物分科会 -

研究分担者	泉山 信司	（国立感染症研究所寄生動物部）
研究分担者	秋葉 道宏	（国立保健医療科学院）
研究分担者	松下 拓	（北海道大学大学院工学研究院）
研究分担者	片山 浩之	（東京大学大学院工学研究科）
研究協力者	酒井 紳	（神奈川県内広域水道企業団）
研究協力者	大谷喜一郎	（神奈川県内広域水道企業団）
研究協力者	及川 智	（東京都水道局）
研究協力者	高藤 俊	（浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ）
研究協力者	川口有希子	（桐生市水道局水質センター）
研究協力者	渡邊 洋大	（神奈川県企業庁水道水質センター）
研究協力者	水野 聰	（新潟市水道局）
研究協力者	田部井 由紀子	（東京都健康安全研究センター）
研究協力者	岸田 直裕	（国立保健医療科学院生活環境研究部）
研究協力者	遠藤 卓郎	（国立感染症研究所細菌第一部）
研究協力者	黒木 俊郎	（神奈川県衛生研究所）
研究協力者	田邊 眞	（神奈川県農業技術センター畜産技術所）
研究協力者	安藤 正典	（山梨大学工学部）
研究協力者	橋本 温	（県立広島大学生命環境学部）
研究協力者	大河内 由美子	（麻布大学 生命環境科学部）

研究要旨

水道水の微生物学的な安全性は凝集沈殿ろ過と塩素消毒により担保されてきた。クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の混入による大規模な水系集団感染の経験を契機として、新たな見地からの微生物研究と対応が求められている。

一般細菌に比べて高感度な従属栄養細菌の測定が開始され、その指標の有効活用が求められている。付着性の従属栄養細菌を測定する方法を安定させるため、拭き取り法の検討を行った。拭きとり面積を一定とし、市販のふきとり検査キットの綿棒を使用することが好ましく、超音波処理よりも試験管ミキサーで 1 分間攪拌することが綿棒からの回収方法として適していた。レジオネラ属菌の汚染実態調査を開始し、水道に関連した汚染を培養法とPCR法で検出した。家庭内環境では使っていない蛇口や風呂水から培養陽性であった。クリプトスポリジウム等の濃縮を目的とした粉体ろ過法を、細菌にも応用した。粉体の使用でろ過水量が倍増し、粉体は培養を阻害せず、回収率はフィルター単独の半分程度からほぼ 10 割に向上した。大腸菌のコリラート培地法と嫌気性芽胞菌のハンドフォード改良寒天培地法に適用が可能であった。

全国 11 箇所の原水を用いて、試験管内でポリオウイルスと MS2 ファージの PAC による凝集沈殿ろ過によるウイルス除去を実測した結果、ポリオウイルスは凝集処理で 1-Log 程度、孔径 0.45 μ m の膜ろ過後で計 3-Log 程度の除去が得られた。MS2 ファージはポリオウイルスと挙動が異なり、指標にならないことが判明した。すなわち、凝集処理で 3-Log 程度、膜ろ過後で 6-Log 程度となり、高塩基度 PAC の使用でさらに除去率が向上した。

デジタル PCR は低濃度の遺伝子定量を可能とする近年の新しい技術で、これをクリプトスポリジウムに適用した。1 オーシスト当たりの 18S rRNA のコピー数は 20 と予想されていたが、デジタル PCR の測定で 28 コピーとほぼ対応した。発現している rRNA は 21,900 コピーであった。これまでクリプトスポリジウム遺伝子検出法の定量用に整備された検量線の結果とほぼ対応しており、検量線の信頼性が支持された。クリプトスポリジウム等の濃縮を目的とした粉体ろ過法では、クロスコンタミネーションを防ぐ目的で吸引ろ過法を検討している。より簡便にろ過を行う目的で、ガラス製ファネルを用いること、低温の原水の発泡を防ぐ脱気操作としての攪拌と加温、ファネルをゴム板で封じて吸引圧で試料水を導入することを新たに工夫した。クリプトスポリジウム等検査法の基準化を考えるに際して、煮沸勧告や給水停止の社会的な混乱の回避が必須である。紫外線照射等の追加の対策を導入することで、水道利用者にとっての安全性向上、水道事業と行政にとっての混乱解消、検出後対応手順の整理により検査者にとっての心理的負担の軽減と検査法にとっての正しい陽性陰性判定が可能となることが考察された。すなわち、クリプトスポリジウム検査は水安全計画における最終製品産物の確認の方法として位置づけられることが妥当と考えられた。

A. 研究目的

微生物分科会では水道の微生物汚染に係る問題として、従属栄養細菌、腸管系ウイルス、そして耐塩素性病原微生物を検討し、水道の微生物学的な安全性向上を目指している。

水道水を含む多くの水は、同化性有機炭素 (AOC, Assimilable organic carbon) を含み、細菌の増殖が可能である^{1, 2)}。水道水では、特に消毒の塩素が消失すると従属栄養細菌が増殖するが、このことにあまり注意が払われてこなかった。従属栄養細菌の多くは病原性のない雑菌として扱われるが、一部には日和見感染の病原体が存在し、免疫不全等の健康弱者にとっては注意すべき対象となる。加えて、雑菌を捕食増殖する自由生活性アメーバが存在し、さらに、自由生活性アメーバに感染し増殖するレジオネラ属菌 (*Legionella*) は、ヒトに重篤な肺炎やポンティアック熱を引き起こすことが知られている。このように、水環境には目には見えなくても生態系のピラミッドが存在し、微生物の増加により水道水の衛生状態が悪化する恐れがある。この問

題は浄水場で水道水の十分な消毒が行われても防げず、末端側で生じてしまうことから、途中配管、貯水槽、末端給水栓等の衛生的な管理が必要である。配管の内壁に付着した従属栄養細菌数についての研究はほとんどないが、海外において 100cm² あたり $1.1 \times 10^5 \sim 5.75 \times 10^6$ CFU であったとの報告がある²⁾。配管とは全く条件が異なるが、壁面が木の板である浴槽について、洗浄前の浴槽壁面を拭き取った結果、従属栄養細菌数は 100cm² あたり $3.9 \times 10^5 \sim 2.4 \times 10^6$ CFU³⁾、洗浄後は $6 \times 10^0 \sim 1.9 \times 10^2$ CFU で、このような施設では、レジオネラ属菌に悩まされている。

平成 20 年度より水質管理目標設定項目に従属栄養細菌が追加された。従属栄養細菌は配水・給水系統における清浄度の指標として活用されることが期待されている。従属栄養細菌の測定には、試料水を R2A 寒天培地や PGY 培地で培養する詳細な方法が上水試験方法に記載されている¹⁾。一方、配管や給水栓等の表面に付着したバイオフィームに関心が持たれるものの、

その測定については上水試験方法に記載はない。固形表面を測定するには拭き取り法やスタンブ法が食品分野等で用いられており、これに準じて行うことが考えられる^{4, 5)}。当該研究では一定面積から市販の拭き取り用器材で安定して試料を採取すること、採取した綿棒から効率よく細菌を遊離懸濁、分散させてから培養を行う、という一連の検討を行うこととした。検討後に、この方法を実際の配管試料に応用した。

Legionella 属菌は、患者の届出が年間1,000例と多く、国内外の*Legionella* 感染症は入浴施設、冷却塔などが主要な感染源であることが知られているが、国内事例の半数は原因不明とされる。そこで、身の回りの水環境として、一般家庭の*Legionella* 属菌の汚染状況を明らかにすることを企図した。

ウイルスによる水系感染症を制御していくためには、浄水工程におけるウイルスの処理性を詳細に把握した上で効果的かつ効率的な処理を施すことが重要となる。しかしながら、現在、我が国の浄水場で広く行われている凝集沈澱処理においては、ヒト水系感染症ウイルスの処理性に関する知見はほとんどない。そこで本研究では、凝集沈澱処理を実施している全国の浄水場の協力を得て、送付いただいた原水を用いた回分式凝集処理実験により、ウイルスの処理性を詳細に評価することを目的とした。ヒト水系感染症ウイルスの処理性を代替しうる水質指標の模索を同時に試みた^{6, 7, 8)}。

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物対策ではモニタリングシステムの拡充に向け、試料水の濃縮方法としての粉体ろ過法と、検出方法としての遺伝子検出法の開発・検討を進めてきた。試験法へのこれらの追加を厚生労働省水道課の微生物問題検討会において提案した結果、これらの試験法は通知に追加され、試験に使用可能となった(平成19年3月30日付け健水発第0330006号厚生労働省健康局水道課長通知、平成24年3月2日一部改正)。従って、今後は普及と実用性をより高めるための改良が求められる。

遺伝子定量に広く採用されているリアルタイムPCR法は、一般に標準試料を用いた検量線が不可欠だが^{9, 10, 11)}、標準試料の取り扱い、濃度調整が容易でなく、汚染(コンタミネーション)も懸念される。そこで本研究では、絶対定量法として注目されているデジタルPCR法に着目した。この方法では標準試料の検量線を用いることなく、目的試料中の遺伝子断片の定量が可能である。反応液を数百の反応セルに分けてから反応を行い、PCRの増幅が得られた区画数から、MPN法のように統計処理を行うことで、試料中の絶対数を算出する方法である。1オーシスト内の遺伝子断片の定量に、デジタルPCR法の適用を試みた。

クリプトスポリジウム濃縮法の一つである粉体ろ過法の方式は、装置の汚染問題を対策した吸引ろ過方式が開発された。先の検討で、吸引ろ過方式は加圧ろ過方式と同様の性能があり河川水に使用可能と示されたが、いくつか改善すべき問題が見つかり、検討を行った。具体的には、フィルターホルダーの形式、そのフタ、そして低温試料で生じる気泡について検討した。市販されているフィルターホルダーの形式にはステンレススクリーンと焼結ガラス製の2つがあり、ステンレススクリーンではケーキ層が一定にならない恐れがあった。10以下の低温な試料水を粉体ろ過する場合、ろ過中に試料水中の溶存気体が減圧とともに気泡となって析出し、均一であるべきケーキ層を破壊するといった問題が発生していた。粉体ろ過を吸引ろ過で行う際に用いるフィルターホルダーのふたは、特別注文が必要であったことから、代用品について探索した。

原虫の濃縮法として開発された粉体ろ過法を、細菌測定の濃縮法に応用を試みた。検査の容易化、大容量試料への適用性などを目指した。大腸菌をモデル微生物として、濃縮および回収方法の開発および性能の評価を行った。

クリプトスポリジウム等の耐塩素性微生物による集団感染は、世界的には未だに報告が続いており、何らかの対策が必要と考えられる。日本でも平成24年の2月末から3月にかけて、浄水に

においてジアルジアシストが検出され、煮沸勧告が出された事例があった。給水地域では混乱が生じ、10万人単位で影響が及んだ模様であったが、幸い、感染報告はなかった。何故このようなことが生じるのか、このような事態を回避する方法はあるのか、水道利用者、水道事業者と行政、そして耐塩素性病原微生物の検査にとっての最善を探ることを目的として、現状の整理を試みた。

B. 研究方法

B1-1 従属栄養細菌の拭きとり試験

従属栄養細菌の拭きとり試験法の検討では、元宿浄水場2系ろ過池内壁付着物を用いて予備検討を行った。拭き取り面積は100cm²とし、拭き取る箇所に滅菌済みイオン交換水約200mLをかけ、バイオフィーム以外の細菌を洗い流した後、市販の拭き取り検査キット(図1)の綿棒で拭き取り、検査キットに含まれるリン酸緩衝生理食塩水10mLに回収した。界面活性剤は細菌分野で分散効果が得られることが経験的に知られていることから、リン酸緩衝生理食塩水に1%の界面活性剤Tween80(和光純薬)を20μL添加した。回収した検査キットを1分間懸濁した後、綿棒を新しい検査キットに移して再び1分間懸濁した。この操作を繰り返し合計5回の懸濁を行い、5つの懸濁液を調製した。懸濁は試験管ミキサー(Thermolyne Maxi Mix、3,000rpm)、あるいは超音波(東京超音波技研IUC-7321N、900W)とし、菌の回収を比較した。拭き取り面積10cm²に相当する懸濁液1mLより、定法に従いR2A寒天培地を用いて20℃で7日間培養し、従属栄養細菌数を測定した。配管実試料では、給水管取出し工事によりくり抜かれた配管(塩化ビニール管、図2)より測定を行った。配管内表面に滅菌済みイオン交換水約200mLをかけ、検査キットの綿棒で内表面全体を拭き取り回収した。操作は、給水管取出し工事現場で行ったが、屋外のため無菌操作ができず、比較対照として空気中の従属栄養細菌数を確認した。すなわち、同地点で同時間(約20秒)検査キットの綿棒を空気中にさらした対照を測定した。

培養操作は試験室で無菌的に行った。培養に用いた懸濁液1mLは拭き取り面積の1/10に相当する。

B1-2 家庭環境中のレジオネラ属菌の検出

Legionella 属菌の培養検出は、「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究(研究代表者:倉文明)」と共同して行い、成果の一部を引用した。研究方法の詳細は以下のとおりである。

調査に協力が得られた5軒の家庭において、平成25年7月26日から10月8日の期間に調査材料を採取した。試料は水試料およびスワブ試料とし、水試料は25%チオ硫酸ナトリウム2.0mlを添加した滅菌容器に原則として1,000mlを採取した。水道水は放水直後に採取した。温度は採取時に、pHは実験室に搬送してから測定した。遊離残留塩素濃度は採取時にDPD法により測定した。スワブ試料は、滅菌綿棒で採取部位を拭って採取し、リン酸緩衝液(pH7.0)の50倍希釈液(以下、希釈緩衝液)1mlが入った滅菌管に入れた。各試料は冷蔵にて実験室に搬送・保存した。培養は定法にて行った⁵⁾。すなわち、水試料は直径47mm、孔径0.2μmのポリカーボネートメンブランフィルターでろ過し、5mlの希釈緩衝液に再浮遊した。スワブ試料は4mlの希釈緩衝液で浮遊した。試料の浮遊液は50℃、20分の加熱処理を行った後、pH2.2緩衝液で4分間酸処理した。処理後に希釈緩衝液で10倍希釈し、原液と10倍および100倍希釈液の各100μlをGVPCα寒天平板培地(Oxoid)およびWYOα寒天平板培地(栄研化学)に塗抹し、36℃で7日間培養した。*Legionella* 属菌を疑う集落をBCYEα寒天平板培地(Oxoid)に転培し、性状により鑑別を行った。調査検体から分離された*Legionella* 属菌は、16S rRNA遺伝子およびLmip(*L. pneumophila* macrophage infectivity potentiator gene)のプライマーを用いたPCRにより、*Legionella* 属菌と*L. pneumophila*であることを検査した。さらに、型別用血清(デンカ生

研)および自発蛍光の有無により種の鑑別を行った。通常の鑑別法で鑑別できない株は、16S rRNA 遺伝子の塩基配列により種を決定した。

アメーバによる *Legionella* 属菌の増菌培養では、水試料およびスワブ試料の再浮遊試料の加熱処理後の浮遊液 1.5ml を、*Acanthamoeba castellanii* を浮遊させた希釈緩衝液に接種し、25 で 3~5 日間培養した。培養後、培養液を pH2.2 緩衝液で 4 分間酸処理し、100 μ l ずつを GVPC α 寒天平板培地 (Oxoid) および WYO α 寒天平板培地 (栄研化学) に塗抹し、36 で 7 日間培養した。菌を疑う集落を、性状による鑑別と、LAMP 法検出を試みた。

LAMP 法による *Legionella* 属菌遺伝子 (16S rRNA 遺伝子) の検出は、Loopamp レジオネラ検出試薬キット E (栄研化学) により行った。水試料およびスワブ試料を希釈緩衝液に浮遊させた試料、およびアメーバ増菌培養液を対象にして、キット添付の説明書に従って核酸抽出と反応を行った。従属栄養細菌は R2A 寒天培地 (BD) で混釈培養法により 25 で 7 日間培養した。

B1-3 粉体ろ過法の細菌濃縮への応用

粉体ろ過による細菌測定の検討は、以下のとおり行った。粉体として粒径 20 μ m (アパミクロン AP-20C、積水化成品工業 (株))、粒径 30 μ m (平均粒径 33 μ m、FSC 用アパタイト、アドバンテック東洋 (株)) の球状ハイドロキシアパタイトを用いた。ろ過装置および支持フィルターとして、プラスチック製減圧ろ過容器 (500mL ファンネル装備の 47mm ポリサルホンホルダー、KP-47W、アドバンテック東洋 (株)) を使用した。ろ過容器を吸引ガラス瓶に取り付け、乾式の吸引ポンプに接続し、吸引ろ過を行った。粉体の支持体として、PTFE メンブランフィルター (オムニポアフィルター、孔径 0.45 μ m または 1.0 μ m、直径 47mm、メルク (株)) を用いた。支持フィルターをセットしたフィルターホルダーに 100mL 程度の精製水を加えたのち、粉体を添加し、ろ過を行った。高濁度試料水は、農業用の溜め池より採取した底泥を用いて調製した (186NTU)。高濁度

試料水を 60kPa で吸引ろ過し、ろ液流出速度 70 滴/min 未満を終点としてろ過可能水量を測定した。支持フィルターはセルロース混合エステルフィルターと PTFE フィルター (ともに孔径 1.0 μ m) を使用し、粒径 30 μ m の粉体の添加量を 0.5、1、2g と変え、ろ過可能水量を測定した。また、同様の条件で、フィルター孔径 0.45 μ m、粉体粒径 20 μ m においてもろ過可能水量の測定を行い、最適なフィルター孔径と粉体粒径を決定した。粉体の大腸菌の発育への影響を評価するため、粉体を添加した培地 (コリラート培地および XM-G 寒天培地) および非添加のコントロールでリン酸緩衝液中に一定量に調整した *Escherichia coli* (ATCC 11775 株、NBRC 102203) を添加して定量し、両者を比較した。大腸菌濃縮の添加回収実験は、支持体として孔径 1.0 μ m の PTFE フィルターを使用し、粒径 20 μ m の粉体 0.5g を加え、一定量の大腸菌懸濁液 1mL を添加した。大腸菌を含む濃縮物の回収は、界面活性剤 (0.1% TWEEN 80) を用い、共洗い法あるいはフィルターごと回収する方法の 2 つの方法を比較した。共洗い法は、フィルター上の粉体層およびろ過容器内をリン酸緩衝液で共洗いし、粉体および洗浄液を回収した。フィルターごと回収する方法は、支持体のフィルターごと粉体層を滅菌ピンセットで回収した。大腸菌は定法に従い、XM-G 寒天培地 (混釈法) を用いて定量した。粉体を添加しない通常のろ過法を用いた場合も同様に行った。実環境試料での大腸菌および嫌気性芽胞菌測定では、広島県庄原市の戸郷川および国兼川で採水を行った。嫌気性芽胞菌はハンドフォード改良培地法 3 重層法またはメンブランフィルター法で定量した。

B2 腸管系ウイルスに関する研究

本研究では、全国の浄水場の協力を得て、水道原水 11 を取り寄せた。これにウイルスを添加して人工原水とし、ジャーテストにて凝集沈澱処理実験を行った。原水 300 mL 中に、ウイルス濃度をポリオウイルスが 10^3 PFU/mL、MS2 が 10^6 PFU/mL となるように添加した。予備実験として、

凝集剤注入後の pH が 7.0 となる 0.1 mol/L の HCl、もしくは 0.1 mol/L の NaOH の添加量を把握した後、本実験では、予備実験で得られた所定量の 0.1 mol/L の HCl、もしくは 0.1 mol/L の NaOH を添加した。凝集剤として塩基度が 50% のポリ塩化アルミニウム (従来 PACl, Al₂O₃: 10.0%, SO₄: 2.7%, 比重: 1.21)、塩基度が 70% のポリ塩化アルミニウム (高塩基度 PACl, Al₂O₃: 10.2%, SO₄: 2.0%, 比重: 1.19) を 1.1 ~ 5.4 mg-Al/L (河川水採水日に実際の浄水処理場で使用された凝集剤添加濃度) になるように添加し、G 値 200 s⁻¹ (95 rpm) で急速攪拌を 1 分間、G 値 20 s⁻¹ (20 rpm) で緩速攪拌を 10 分間行った後、静置を 60 分間行った。静置後、上澄み水を採取し、実験原水とともにポリオウイルスおよび MS2 の定量に加え、各種水質項目の測定を行った。なお、ポリオウイルスおよび MS2 の定量は PFU 法によった。膜ろ過には孔径 0.45μm の PTFE フィルターを用いた。

B3-1 デジタル PCR 法を用いたクリプトスポリジウムの定量

標準試料として、感染マウスの糞便より精製した *Cryptosporidium parvum* オーシスト (H8 株) を用いた。なお、標準試料の精製は採取日を変えて 2 回実施しており、株は同一だが、精製と濃度測定が独立している。それぞれの試料を Std.1、Std.2 とし、それらの誤差を含めた検討を行った。オーシストの濃度測定には使い捨ての血球計算盤を使用した。核酸抽出は遺伝子検出法で標準的に行っている以下の方法で行った¹¹⁾。試料を -80 のドライバスと 37 のヒートブロックを用いて 5 回の凍結融解を行った。次に Proteinase K 溶解液を添加し、60 で 30 分間溶解反応を行った。その後 2 分間の超音波処理を行い、さらに 75 で 10 分間の追加反応を行った。この核酸抽出液を 95 で 5 分間加熱し、Proteinase K を失活させた後、氷中で急冷した。一部の核酸抽出液については、逆転写反応 (Takara, PrimeScript RT Master Mix) によって cDNA を合成した。核酸抽出試料の濃度は、

PCR 法が 1 反応あたり 1 oocyst となるように、RT-PCR に使用する cDNA 溶液については 1 反応あたり 0.025 oocysts 相当となるように TE バッファーを用いて希釈を行い、その後、デジタル PCR に供した。冷凍保存していた 1.1×10⁴ oocysts/50μL、7.0×10⁴ oocysts/50μL の高濃度の試料から抽出を行い、段階希釈を経て最終的な濃度を調製した。デジタル PCR には、BioMark Real-time System、12.765 Digital Array (Fluidigm Corporation) を用いた。すなわち、反応溶液が 765 の微小セルに自動分注され、PCR 反応後にそれぞれのセルについて陰性・陽性の判断をし、陽性反応数からポアソン分布に基づき計算することで、元の反応液中の遺伝子数を定量した。一連の分注、PCR、陽性区画の計数、定量値算出は、装置により自動的に行われた。PCR の反応系に、既往文献に記載された 18S rRNA 遺伝子を標的としたプライマー・TaqMan プロブを用いた⁹⁾。各試料について 2 回の測定を行った。

B3-2 吸引式粉体ろ過法の検討

フィルターホルダーの形式の検討では、市販のステンレススクリーンと焼結ガラス製の 2 つを用いて粉体ろ過法を行い、その後のろ過ケーキの状態を比較した。10L ポリタンクに溜めた大原浄水場浄水約 10L をフィルター径 90mm、粉体量 3g、ろ過圧 27kPa の条件でろ過を開始した。装置は【ポリタンク】—【90mm フィルターホルダー】—【マニホールド】—【循環式アスピレーター】の順に組み立て、試料水の入ったポリタンクはファンネルより 50cm ほど高い位置に設置した (図 12a)。ろ過後のケーキを観察した。

低水温試料水の前処理方法の検討では、ろ過前の試料水中の溶存気体量の低減化を目的に、「スターラーで激しく攪拌する方法」と「水浴で加熱後、室温まで冷却する方法」で検討した。「スターラーで激しく攪拌する方法」は、試料水をろ過前に 2L ごとに分けてスターラーで 10min 激しく攪拌したのち、10L ポリタンクに移し変えた。「水浴で温めた後、室温になるまで冷ます方法」

は水道水約 10L(水温 7.5)を 45 の水浴で 30min 温めたのち、一晚放置して室温まで冷却した。粉体は浄水 200ml に懸濁させたのち脱気して使用した。

吸引方式用のフィルターホルダー用のふたの検討には、特別注文のふたと、代替として汎用品として販売されている安価なゴム板のふたを試した。ふたは厚さ 5mm のゴム板(クロロプレンゴム)を接着剤にて張り合わせ厚さ 10mm にして用いた。ゴム板の中央部にはチューブが通るように穴を貫通させた。チューブは 8×5mm を用いた(図 12b)。ろ過時にはホルダーの縁にシリコングリスを塗った後、おもりをゴム板の上に乗せて安定させた。

B3-3 水道水におけるクリプトスポリジウム汚染の検出と対策について、考え方の整理

論文、書籍、厚生労働科学研究費補助金による報告、インターネット公開の資料等を参照した。いずれも出典を明記した上で引用し、必要により抜粋、あるいは若干の修正を加えた。

C. 研究結果および考察

C1-1 従属栄養細菌の拭きとり試験

試料を拭きとったスワブを試験管ミキサーで懸濁した場合と超音波で懸濁した場合の比較では、試験管ミキサーの方が懸濁 1 回目から 2 回目への菌数の減少が大きく、懸濁 1 回目で多くの菌を回収できることが分かった(図 3)。界面活性剤有無の比較では、試験管ミキサーにおいても超音波においても菌数、懸濁液の色ともに大きな差はなく、界面活性剤の存在は培養に影響しなかった。以上のことから配管等の拭き取り測定は、リン酸緩衝生理食塩水に界面活性剤を添加して、懸濁方法を試験管ミキサーとし、1 分間攪拌することとした。

配管実試料より拭きとり検査を行った(表 1)。配管 1、3 には 36 ~ 52CFU/cm² の従属栄養細菌が存在し、配管 2 にはほとんど存在しなかった。この数値は、浄水場ろ過池内壁(10⁰ ~ 10²CFU/cm²)と比較して同程度であった。また、

海外で報告されている数値(1.1×10⁻¹ ~ 5.75×10⁴CFU/cm²)と比較した場合²⁾、中間程度に位置した。参考として、国内の洗浄前の浴槽壁面(3.9×10³ ~ 2.4×10⁴CFU/cm²)と比較すると³⁾、桁違いに清浄であった。空気中においても従属栄養細菌の存在を確認したが、若干数であるため、採取操作時の空気中からの汚染は少ないと考えられた。

今回採取を行った地区における末端給水栓水の残留塩素濃度は年間平均 0.3mg/L であり、残留塩素濃度が適切に管理されていても、バイオフィームがわずかに形成されることを改めて確認した。わずかとはいえ細菌が存在するため、塩素の消失により速やかに細菌が増殖する恐れが考えられ、配管等の管理の重要性が改めて認識された。

C1-2 家庭環境中のレジオネラ属菌の検出

家庭内の水環境における *Legionella* 属菌の培養検出結果を表 2 および表 3 に示した。*Legionella* 属菌が寒天平板培地の培養法で分離されたのは、水試料 25 検体中 1 検体(4%、洗面台蛇口水 1 検体(*Legionella* sp. L-29、370 CFU/ml))であった。スワブ試料 31 検体では検出されなかった。水試料では、アメーバ増菌培養後に *Legionella* 属菌が分離された試料はなかった。スワブ試料ではアメーバ増菌培養後に 2 検体(7%、風呂の蛇口 1 検体(*Legionella* sp.)および洗面台の蛇口 1 検体(*Legionella* sp. L-29))から *Legionella* 属菌が分離された。重篤な肺炎の集団感染で問題となる *L. pneumophila* は検出されなかったが、*Legionella* 属菌の存在は *L. pneumophila* による汚染の指標とされている¹²⁾。従って、一般の家庭内に *Legionella* 属菌による汚染が発生する環境があり、注意を要すると考えられた。

LAMP 法により *Legionella* 属菌の遺伝子が検出されたのは、水試料 25 検体中 4 検体(16%)、スワブ試料 31 検体中 2 検体(7%)であった。アメーバ増菌培養後に LAMP 法が陽性となったのは、水試料ではなかったが、スワブ試料

では4検体(13%)であった。これら6検体のうち、4検体はアメーバ増菌培養前はLAMP法は陰性であったが、理由として試料中の*Legionella*属菌がLAMP法の最低検出感度以下(60CFU/反応)が考えられた。

*Legionella*属菌が検出された洗面台の蛇口は、3カ月以上使用していないため、蛇口あるいは配管中に生物膜が形成され、*Legionella*属菌が増殖したことが推測された。流水を30分間継続するとLAMP法は陰性となり、水流と水道水中の遊離残留塩素により除菌されたと推測された。しかし、1週間後の再検査でLAMP法陽性となった。一度生じた生物膜の対処は難しいことが示唆された。

水試料25検体中18検体の従属栄養細菌数を測定し、その幾何平均は176CFU/ml、範囲は1~46,000CFU/mlであった。レジオネラ培養陽性1検体の従属栄養細菌数は、46,000CFU/mlであった。LAMP法陽性の3検体の従属栄養細菌数はそれぞれ6,300、21,550および46,000CFU/mlであった。検体中の従属栄養細菌数が高いことは、生物膜の存在と、*Legionella*属菌の増殖が可能な環境が示唆された。ちなみに、レジオネラ属菌の検出は、営業浴場施設の管理、患者発生時の疫学調査、研究目的等の検査は行われているが、時間や費用を要することから、家庭内の検査には、生態系の底辺である従属栄養細菌の測定が適していると考えられた。

C1-3 粉体ろ過法の細菌濃縮への応用

高濁度モデル水を用いて、粉体ろ過法のろ過可能水量を測定した(図4)。コントロール(粉体無添加)のろ過可能水量は、フィルター孔径1.0 μ mでは624mL、孔径0.45 μ mでは344mLとなり、孔径1.0 μ mが孔径0.45 μ mより約1.8倍多く、フィルター孔径によつてろ過可能水量に差が生じた。一方、粒径20 μ mの粉体を添加した条件では、フィルター孔径1.0 μ mでは1,082mL、孔径0.45 μ mでは1,052mLであり、ろ過可能な水量が増加した。粉体ろ過では、フィルター孔径

の差はほぼなかった。結果には示さないが、粒径30 μ m、1.0gと1.5gの粉体使用量も検討したが、粒径20 μ mの0.5gと同様の結果であった。粉体は、大腸菌の発育に影響しなかった(XM-G寒天培地(1シャーレ20mLにつき)とコリラート培地(1試験管1mLにつき)にそれぞれ0.05g添加の場合)。

回収方法も共洗いとフィルターごとの回収のいずれも可能であった。通常の膜ろ過より、界面活性剤を使用したとしても、粉体ろ過法の回収の方が良かった(図5)。最終的に、孔径1.0 μ mのPTFEフィルター、粒径20 μ mの粉体を0.5g添加する条件を最適な粉体ろ過条件として提案した。

河川水を対象として、粉体ろ過による濃縮後にコリラートMPN法により定量を行った大腸菌数と、公定法であるコリラートMPN法により定量を行った大腸菌数の関係を図6に示した。両者の相関係数は $R^2=0.9425$ と高い相関が認められ、粉体ろ過法と公定法で同等の大腸菌数を得られることが確認された。なお、この試験には界面活性剤を使用しなかったが、確認で行った界面活性剤の添加結果は、非添加と同等の値が得られた。

大腸菌と同様に、嫌気性芽胞菌についても河川水を対象に、粉体ろ過による濃縮を行った後に混釈法と公定法であるメンブランフィルター法を比較した(図7)。粉体ろ過法とメンブランフィルター法により定量した嫌気性芽胞菌の濃度は相関が認められ($R^2=0.8457$)、粉体ろ過による濃縮法の有効性が確認された。なお、界面活性剤添加では、公定法による測定値よりも高い値(高回収)となる傾向にあった。

C2 腸管系ウイルスに関する研究

図8に凝集沈澱処理におけるポリオウイルスの処理性を示す。塩基度50%の従来PAClを用いた場合、原水Iを用いた場合に0.5log程度、原水Kを用いた場合に2.5log程度の除去であったが、それ以外の原水ではポリオウイルスの除去率には大きな差はなく、概ね1log程度の除

去率であった。また、塩基度 70%の高塩基度 PACI を用いてもポリオウイルスの処理性はほとんど向上しなかった。

凝集沈澱後に孔径 0.45 μm の膜でろ過を行うと、従来 PACI を用いた場合の除去率が 3~4 log へと増加した(図 9)。ポリオウイルスは直径 0.02~0.03 μm 程度であるから孔径 0.45 μm の膜では除去できず、実際に凝集剤を添加しないコントロール試験ではポリオウイルスは除去されなかった。従って、膜ろ過後に除去率が増加したのは、本研究で行った凝集沈澱処理では沈降しない小さなフロックが存在し、その中にポリオウイルスが捕捉されていたためであると考えられた。

一方、大腸菌ファージ MS2 は従来 PACI を用いた凝集沈澱処理では、結果には示さないが、3~6 log の除去率であった。ポリオウイルスとは異なり、MS2 の除去には高塩基度 PACI が有効であり、従来 PACI と比べて 3 log 程度除去率が増加した。

以上の結果を比較すると、凝集沈澱処理におけるポリオウイルスの除去率は、MS2 の除去率に比べて 2~5 log 程度小さいことが判明した(図 10)。MS2 はヒト水系感染症ウイルスであるポリオウイルスや A 型肝炎ウイルスとサイズが同程度であるため、ヒト水系感染症ウイルスのモデルウイルスとして実験に用いられ、多くの先行研究にて浄水処理性などの評価に用いられてきた(6, 7, 8)。しかしながら、本研究で示されたように、MS2 とヒト水系感染症ウイルスであるポリオウイルスの除去性は大きく異なり、常に MS2 の除去率がポリオウイルスの除去率を上回った。すなわち、凝集沈澱処理におけるヒト水系感染症ウイルス(少なくともポリオウイルス)のモデルウイルスとして大腸菌ファージ MS2 を使うことは適切ではないことが示された。

C3-1 デジタル PCR 法を用いたクリプトスポリジウムの定量

図 11 に示すとおり、自動分注された微小セルは、PCR 反応後に陰性・陽性をはっきりと区別

することができ、陽性セルの数から、表 4 に示すとおり、クリプトスポリジウム由来の核酸を定量することが可能であった。

(逆転写反応に供しなかった)DNA 試料の場合、4 回の測定の平均で 1 オーシストあたり、 28 ± 4 コピーという値が得られた。一般に血球計算盤による濃度測定は誤差が大きい恐れが懸念されるが、Std.1 と 2 の精製と濃度測定が異なる試料でも、ほぼ同様の結果が得られた。クリプトスポリジウムの 18S rRNA をコードする遺伝子の場合、理論上 1 オーシストあたり 20 コピー(=ゲノム上 5 コピー×オーシスト内 4 スポロゾイト)有していると報告されており¹⁰⁾、理論上の値と近い定量値が得られてことから、デジタル PCR 法を用いてクリプトスポリジウム由来の遺伝子を比較的正確に測定できたと考えられた。加えて、18S rRNA を対象としたプライマー・TaqMan プローブを用いた本 PCR は、デジタル PCR に利用可能と言えた。この反応系を利用して、次に RT-PCR による rRNA の定量を試みた。

(逆転写反応後の)cDNA 試料の場合は、4 回の測定の平均で 1 オーシストあたり $21,900 \pm 7,080$ コピーという値が得られた。リアルタイム PCR 法を用いて定量された実測値(18,000~26,000 コピー)¹¹⁾とは近い値で、こちらも対応が得られた。本 RT-PCR は、デジタル PCR に利用可能と言えた。

C3-2 吸引式粉体ろ過法の検討

フィルターホルダーの形式を検討した。ステンレススクリーンのろ過ケーキの場合、中央部は凹凸なく平坦なるろ過ケーキが形成された。一方で外周部付近のステンレススクリーンの穴が空いていない部分では粉体の堆積が浅くなったり、フィルターが露出している部分があった(図 13a, b)。焼結ガラス製のものは中央部から外周まで平坦なるろ過ケーキが形成され、ステンレススクリーンでろ過されたものに見られた粉体の偏りはなかった(図 13c, d)。粉体ろ過法は、濃縮した粒子を粉体ごと回収し、支持体の揉み出し洗いはしないので、裸出した支持体部分に濃縮されると回

収困難(回収率の低下)の恐れがある。陰圧で粉体ろ過を行うには、焼結ガラス製ホルダーの使用が適していると考えられた。

一般に水に溶存する気体の量は、水温が低いほど増加する。実際に、水温がおよそ 10 以下の水に対して陰圧で粉体ろ過法を行った場合、試料水に溶存していた空気が気泡となって析出し粉体層に穿孔が発生するといった現象が発生していた(図 14a, b)。試料水をスターラーで激しく攪拌してからろ過を開始した場合、細かな気泡が発生したものの気泡の析出状況に改善が見られ、ろ過ケーキも均一な厚みの良好なものが得られた。試料水を加温して脱気処理を行った場合も、ろ過中に気泡は見られなかった。定量的な検討はしていないが、スターラーで激しく攪拌するよりも確実に脱気されている様子であった。ろ過ケーキも均一な厚みの良好なものが得られた(図 14c, d)。いずれの方法にしても、発泡に対策することが重要と考えられた。

粉体ろ過の吸引ろ過に用いるフィルターホルダーのふたは、これまで高価な特注品を使用していた。汎用の安価なゴム板でも吸引ろ過が実施できるか実験した結果、ゴム板でもろ過可能なことが確認できた。なお、特注のふたよりも気密性が低かったためか、タンクからホルダーまでの流速は自然流下程度であり遅く時間がかかり、流速は 7 割程度に留まった。今回使用したゴム板はクロロブレンゴム製のものであり比較的硬いものであったため、やわらかい素材のゴム板を用いると密着し気密性が高まり、ろ過速度が改善する可能性が考えられた。

C3-3 水道水におけるクリプトスポリジウム汚染の検出と対策について、考え方の整理

浄水からクリプトスポリジウム等が検出された事例が、平成 8 年度から 24 年度の間に 26 件があった(表 5)(厚生労働省水道課調べ、<http://www.env.go.jp/council/09water/y090-34/ref02.pdf>より)。内 2 例は、越生町と雑居ビルでの集団感染事例で、患者が発生したから水道が疑われて、原因調査の結果として検出

された事例である。残りの 24 件は、患者の発生とは関係なく検査が行われ、偶然に浄水から検出された。幸い患者発生の報告はなかったが、煮沸勧告や給水停止等の対応がなされて、利用者に負担が生じた。

水道法第四条には以下の通り定められている。

水道により供給される水は、次の各号に掲げる要件を備えるものでなければならない。

一 病原生物に汚染され、又は病原生物に汚染されたことを疑わせるような生物若しくは物質を含むものでないこと。

二 (以下略)

この法律を厳密に適用しようとする、クリプトスポリジウムの混入は一切許されず、検出されれば給水を停止しなければならない。この原則は今日においても守るべきもので、事故を起こさないという法律の強い意志が現れている。安全性の高い水道は日本の財産であり、それを低下させるような判断はされない。一方、現実問題として、クリプトスポリジウム等の混入をどのようにして対処するのかを考えなければならない。

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物による水系感染は、世界的には常に集団感染が報告され続けてきた(表 6)¹³⁾。近年においてもクリプトスポリジウムで胃腸症状の申告が 1 万人を超える、推定 2 万 7 千人の集団感染が 2010 年に発生している¹⁴⁾。この集団感染はヨーロッパで最大、米国 Milwaukee の事例に次ぐ世界第二位の規模であった¹⁵⁾。表には列挙しなかったが、水道水以外では、水泳プール、修景水(噴水等)ではさらに多数の集団感染事例が報告されている¹³⁾。すなわち、クリプトスポリジウム等に対しては、塩素に依存した対策では防ぎきれない実態が露見している。

河川水等の水道原水は、家畜等の糞便汚染がしばしば問題とされていた。しかし、畜産排水は既に対策済みとされていた。農林水産省まとめの、家畜排せつ物法の施行状況によると、国

内の畜産農家は10万戸あり、規模が大きいなど、法律の管理対象とされる農家は半数の5万戸あり、その99.98%は既に管理基準に適合とのことであった(図15)。一方、当研究班が全国30箇所の原水を取り寄せてクリプトスポリジウムとジアルジアを検査した結果、半数以上より検出されており、家畜由来かどうかはともかくとして、汚染は明らかであった(表7)^{11, 16)}。

幸い、日本の水道は、世界的に最高水準にあると国内外に信じられている。今後ともこの評価を裏切らない対応が求められる。日本では、誤接続、盗水、陰圧が生じることは極めてまれと思われる。すなわち、浄水場の水質、末端の水質、高品質を目指すことが可能である。水道水は、飲料水だけでなく、消防、衛生(風呂、トイレ、下水処理)、医療、農工業等々とあらゆる方面で用いられている。すなわち、現代社会において水道は、もはや止めることの出来ないシステムになっている。したがって、耐塩素性病原微生物の対策を目的とした処理の追加は、過剰な設備投資ではなく、保険、あるいは投資と考えるべきであると考え。仮に、横浜市の小雀浄水場においてクリプトスポリジウムによる汚染が生じて断水した場合、1日の被害は32億円、復旧までに要する時間を1週間と仮定した場合は7倍の224億円が被害額と試算されている¹⁷⁾。この間の都市生活はマヒ状態となる。

水道の歴史において、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。水道の発展の経緯は成書に詳しいので抜粋して列挙する(図16)^{18, 19, 20)}。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。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た。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た。1892年、ドイツのハンブルグとアルトナの隣接する両市は、エルベ川から取水していた。ろ過をしていなかったハンブルグでコレラが流行し、緩速ろ過をしていたアルトナ

では流行がなかったことから、ろ過が病原体の除去に有効であることが示された。その後、一時期ろ過が過信されたが、徐々に消毒の必要性が認識されていった。Jersey Cityは公衆衛生の観点からの強い要請に基づいてBoontonからの水道水を塩素処理する権利を有する、という判決が裁判所で1910年に出され、その後に塩素消毒が米国に急速に広まっていった。

クリプトスポリジウムは、サイズが5 μm と小さいことから凝集沈殿ろ過による除去は完全ではなく、塩素耐性があり、水道を介して伝播する恐れがある。水道を介した集団感染が、1980年代から工業先進国を中心に報告されるようになっていく。もっともよく知られているのが1993年に米国Milwaukeeで発生した大規模事例で¹⁵⁾、40万人が罹患したとされる。その3年後の1996年、日本においても越生町で水道を介した大規模集団感染が発生し²¹⁾、水道における耐塩素性病原微生物の対策が急務となった。現在の水道は、耐塩素性病原微生物をどのように対策をするのかが問われている、と云ってよい。対策の具体的な方法としては、紫外線照射と膜処理が「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」に既に記載されている。

クリプトスポリジウム等による汚染対策は、平常時と異常時は切り分けて考えるべきと思われる。例えば、凝集剤の変更で問題が生じたMilwaukeeの事例がある¹⁵⁾。沈殿池中に設置された傾斜板をメンテナンスするために外したところ、集団感染に至ったNorth Battlefordの事例がある²²⁾。越生町の場合は、下水排水が取水口の上流にあったこと、濁水で汚染が希釈されていなかったこと、取水口の工事を行ったこと、降雨があったこと、気温上昇により飲水量が増加したであろうこと、凝集沈殿処理なし塩素消毒のみの処理であったこと、下水、浄水、利用者間でクリプトスポリジウムの汚染が循環したこと、があった^{21, 23)}。水道水を介した事故は、原水に病原微生物が存在する状況にあって、浄水処理に瑕疵が生じた際に発生するものであることを再確認しておく²³⁾。このような状況は、平時のリスク管

理とは明らかに異なる、想定外の事態である。このような想定外の状況に陥ったとしても、水道の安全性を何とか維持したいとすれば、マルチプルバリアの導入が効果的と考えられる。万が一、一段目の処理に失敗しても、二段目の処理が問題を緩和してくれる。上述の集団感染の3事例とも、実は前兆現象として僅かな患者が発生し続けていた。もしマルチプルバリアのコンセプトが反映されていれば、これらの感染者と事故が防げたのではなかろうか。

現在、HACCP の考え方を取り入れた WSPs (水安全計画)に基づき、高度な品質管理を行うことが進められている。つまり、対策前の施設では、危害を検知し、対策を行う。対策済みの施設では、大腸菌検査と同様、安全性をアピールするための基礎データになる。つまり、まず対策があって、対策を講じた上で、品質管理のための試験を行う、というのが水道における検査のあり方ではないだろうか。換言すると、クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物は、施設基準によって凝集沈殿ろ過の濁度の徹底や処理の追加を行い、未然に汚染を防ぐことである。

浄水での病原体検出は、給水停止、あるいは煮沸勧告をする事態に陥る。検査者にとってはたいへんに重い検査で、そのような負担を生じさせないためには必要な対策を導入することと、検出後対応手順の整理により、検査者にとっての心理的負担の軽減と検査法にとっての正しい陽性陰性判定を可能とすると考えられた。

D. 結論

D1-1 従属栄養細菌の拭きとり試験

バイオフィルムの従属栄養細菌を安定して拭き取り測定するため、測定方法を検討した。市販の拭きとり試験用滅菌綿棒を用い、リン酸緩衝生理食塩水に界面活性剤を添加して 1 分間攪拌する方法が適していた。この方法により 3 つの配管実試料を測定し、2 つの配管で従属栄養細菌の存在を確認した。末端給水栓水での残留塩素濃度が適切に管理されていても、バイオフィルムがわずかに形成されることを改めて確認した。

D1-2 家庭環境中のレジオネラ属菌の検出

5 軒の家庭の給水・給湯水および蛇口から水試料とスワブ試料の計 56 検体を採取し、*Legionella* 属菌の検査を行った。3 検体(5%)が培養陽性、10 検体(18%)が遺伝子陽性であった。検出されたのは、台所、浴室および洗面台の給水・給湯水と蛇口であった。これらの検体は従属栄養細菌数も多く、*Legionella* 属菌の増殖が可能な環境であることが推測された。今回の調査では *L. pneumophila* は検出されなかったが、家庭内の水環境に *Legionella* 属菌の汚染があり、当該菌が発生しておかしくないことが明らかとなった。末端の給水栓と水の使用方法について、注意喚起が必要と考えられた。

D1-3 粉体ろ過法の細菌濃縮への応用

粉体ろ過法の細菌試験への応用について検討した結果、新しい、大容量の濃縮が可能な、細菌の簡便な濃縮法としての有効性が示された。すなわち、粉体の添加により、高濁度水においても 2 倍以上にろ過可能水量が増加し、ろ速も向上した。ハイドロキシアパタイト粉体は、培地中に存在しても、大腸菌の発育に影響はなく、濃縮後に粉体と菌体を分離する必要はなかった。河川水の試料において粉体ろ過法による濃縮を大腸菌(コリラート MPN 法)および嫌気性芽胞菌(ハンドフォード改良寒天培地法)に適用したところ、コントロールの公定法と同等かそれ以上の定量値が得られた。

D2 腸管系ウイルスに関する研究

全国 11 箇所の原水を用いて、試験管内でポリオウイルスと MS2 ファージの PAC による凝集沈殿ろ過によるウイルス除去を実測した結果、ポリオウイルスは凝集処理で 1-Log 程度、0.45 μ m 膜ろ過後で計 3-Log 程度の除去が得られた。MS2 ファージはポリオウイルスと挙動が異なり、指標にならないことが判明した。すなわち、凝集処理で 3-Log 程度、膜ろ過後で 6-Log 程度となり、高塩基度 PAC の使用でさらに除去率が向上

した。

D3-1 デジタル PCR 法を用いたクリプトスポリジウムの定量

デジタル PCR 法を用いて、検量線を作ること無く、感染動物の糞便から精製されたクリプトスポリジウム由来の DNA、RNA を定量可能であった。1 オースト当たりの 18S rRNA のコピー数は 20 と予想されていたが、デジタル PCR の測定で 28 コピーとほぼ対応した。発現している rRNA は 21,900 コピーであった。これまでクリプトスポリジウム遺伝子検出法の定量用に整備された検量線の結果とほぼ対応しており、検量線の信頼性が支持された。

D3-2 吸引式粉体ろ過法の検討

フィルターホルダーの形式の違いにより、ろ過ケーキに差が見られた。焼結ガラス製のものゝは流路の偏りもなく、均一の厚みのろ過ケーキを得られた。陰圧で粉体ろ過を行うには、ステンレスではなく、焼結ガラス製ホルダーの使用が適していると考えられた。低水温試料水に粉体ろ過法を適用する場合は、ろ過前の脱気処理が不可欠であった。脱気処理を何もせずに行った場合、ろ過の最中に成長した気泡により正常な濃縮が行えない恐れがあった。低温の原水の発泡を防ぐ脱気操作としての攪拌と加温が対策となった。吸引方式用のフィルターホルダー用のふたは、特注品でなくても、フィルターホルダー内へ試料水を導入可能であり、より低コストな粉体ろ過法の実施が可能であった。

D3-3 水道水におけるクリプトスポリジウム汚染の検出と対策について、考え方の整理

水道の微生物汚染対策の歴史的な経緯を鑑みて、現在行われている凝集沈殿ろ過と塩素消毒に加えて、紫外線照射、あるいは膜ろ過といった処理を追加することにより耐塩素性病原微生物を対策することが、今後の方向と考えられた。HACCP に基づく WSPs の推進も含めることで、水道利用者にとっての安全性向上、水道事業と

行政にとっての混乱解消、検出後対応手順の整理により検査者にとっての心理的負担の軽減と検査法にとっての正しい陽性陰性判定を可能にすると考えられた。

E. 参考文献

- 1) 日本水道協会: 上水試験方法(微生物編)、pp.47~51、2011
- 2) 金子光美監訳: 飲料水の微生物学より、水道水中の従属栄養細菌のモニタリング、pp.441~465、1992、技報堂出版
- 3) 遠藤卓郎他: 厚生労働科学研究費補助金地域健康危機管理研究事業「掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究(主任研究者: 井上博雄)」より、平成 18 年度分担研究報告書「紫外線殺菌装置の有効性評価」、pp.87~97、2006
- 4) 日本薬学会: 衛生試験法・注解、pp.55~59、2010、金原出版
- 5) レジオネラ症防止指針作成委員会: レジオネラ症防止指針(第 3 版)、pp.28~36、2009、(財)ビル管理教育センター
- 6) Jacangelo, J. G., Adham, S. S. and Lainé, J. M. (1995) Mechanism of Cryptosporidium, Giardia, and MS2 virus removal by MF and UF, *Journal of the American Water Works Association*, **87**(9), 107-121.
- 7) Sobsey, M. D., Battigelli, D. A., Shin, G. A. and Newland, S. S. (1998) RT-PCR amplification detects inactivated viruses in water and wastewater, *Water Science and Technology*, **38**(12), 91-94.
- 8) Fiksdal, L. and Leiknes, T. O. (2006) The effect of coagulation with MF/UF membrane filtration for the removal of virus in drinking water, *Journal of Membrane Science*, **279**(1-2), 364-371.
- 9) Miller W. A., Gardner I. A., Atwill E. R., Leutenegger C. M., Miller M. A.,

- Hedrick R. P., Melli A. C., Barnes N. M. and Conrad P. A. Evaluation of methods for improved detection of *Cryptosporidium* spp. in mussels (*Mytilus californianus*). J. Microbiol. Meth. 2006; 65:367-79.
- 10) Abrahamsen M. S., Templeton T. J., Enomoto, S., Abrahante J. E., Zhu G., Lancto C. A., Deng M., Liu C., Widmer G., Tzipori S., Buck G. A., Xu P., Bankier A. T., Dear P. H., Konfortov B. A., Spriggs H. F., Iyer L., Anantharaman V., Aravind L. and Kapur V. Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. Science 2004; 304: 441-5.
- 11) 松井佳彦、泉山信司、秋葉道宏、松下拓、片山浩之他、「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 - 」、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)(研究代表者、松井佳彦)より平成 23 年度分担研究報告書
- 12) van der Mee-Marquet N, Domelier AS, Arnault L, Bloc D, Laudat P, Hartemann P, Quentin R.: *Legionella anisa*, a possible indicator of water contamination by *Legionella pneumophila*. J Clin Microbiol. 44 (1):56-9, 2006.
- 13) Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. Water Res. 2011 Dec 15;45(20):6603-14.
- 14) 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. Large Outbreak of *Cryptosporidium hominis* Infection Transmitted through the Public Water Supply, Sweden. Emerg Infect Dis. 2014 Apr;20(4):581-9. doi: 10.3201/eid2004.121415.
- 15) Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE, Kazmierczak JJ, Addiss DG, Fox KR, Rose JB, Davis JB. A massive outbreak in Milwaukee of cryptosporidium infection transmitted through the public water supply. N Engl J Med. 1994 Jul 21;331(3):161-7.
- 16) 松井佳彦、泉山信司、秋葉道宏、松下拓、片山浩之他、「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 - 」、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)(研究代表者、松井佳彦)より平成 24 年度分担研究報告書
- 17) 厚生科学研究費補助金「水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究(主任研究者:眞柄泰基)」H12 年度総括研究報告書より、「クリプトスポリジウムによる断水の被害額算定(小泉清)」pp.527-529
- 18) 金子光美(編著):水道の病原微生物対策より、序章、pp.2~3、2006、丸善
- 19) 金子光美監訳:飲料水の微生物学より、微生物と飲料水ろ過、pp.109~110、1992、技報堂出版
- 20) 金子光美編著:水質衛生学より、塩素消毒の歴史、pp.283~286、1996、技報堂出版
- 21) Yamamoto N, Urabe K, Takaoka M, Nakazawa K, Gotoh A, Haga M, Fuchigami H, Kimata I, Iseki M. Outbreak of cryptosporidiosis after contamination of the public water supply in Saitama Prefecture, Japan, in 1996. Kansenshogaku Zasshi. 2000 Jun;74(6):518-26.
- 22) Stirling R, Aramini J, Ellis A, Lim G,

- Meyers R, Fleury M, Werker D. Waterborne cryptosporidiosis outbreak, North Battleford, Saskatchewan, Spring 2001. *Can Commun Dis Rep*. 2001 Nov 15;27(22):185-92.[Article in English, French]
- 23) 遠藤卓郎、泉山信司「クリプトスポリジウム集団感染の前兆現象」、厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)「クリプトスポリジウム等による水系感染症に係わる健康リスク評価及び管理に関する研究(クリプトスポリジウム等感染リスクの評価手法の確立に関する研究)(主任研究者:国包章一)」より平成17年度分担研究報告書
- coagulation-ceramic microfiltration process with high-basicity polyaluminum coagulation pretreatment, *Water Science and Technology: Water Supply*, accepted.
5. 岸田直裕、原本英司、今野祥顕、泉山信司、浅見真理、秋葉道宏. 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)*2013; 69(7):III_631-637.
6. 泉山信司、黒木俊郎、水系感染する病原微生物(クリプトスポリジウムおよびレジオネラ)への対策、*水環境学会誌*、36(5)、161-164、2013

F. 研究発表

論文発表

1. Matsushita, T., Suzuki, H., Shirasaki, N., Matsui, Y. and Ohno, K., Adsorptive virus removal with super-powdered activated carbon, *Separation and Purification Technology*, 107, 79-84, 2013.
2. Matsushita, T., Shirasaki, N., Tatsuki, Y. and Matsui, Y., Investigating norovirus removal by microfiltration, ultrafiltration, and pre-coagulation-microfiltration processes using recombinant norovirus virus-like particles and real-time immuno-PCR, *Water Research*, 47, 5819-5827, 2013.
3. Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Oshiba, A., Marubayashi, T. and Sato, S., Improved virus removal by high-basicity polyaluminum coagulants compared to commercially available aluminum-based coagulants, *Water Research*, 48, 375-386, 2014.
4. Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Urasaki, T., Kimura, M. and Ohno, K., Virus removal by an in-line

学会発表

1. 丸林拓也、白崎伸隆、松下拓、松井佳彦、全国の水道原水を用いた水系感染症ウイルスの凝集処理性評価及びウイルス処理性指標の模索、第48回日本水環境学会年会、2013
2. Matsushita, T., Shirasaki, N., Matsui, Y., Tatsuki, Y. and Oshiba, A., Evaluating norovirus removal during drinking water treatment by using recombinant norovirus virus-like particles, 2nd International Doctoral Symposium with Partner Universities, Sapporo, Japan, 24-26 October 2013.
3. Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y. and Tatsuki, Y., Estimating norovirus removal performance in an in-line coagulation-ceramic microfiltration process by using recombinant norovirus VLPs and immuno-PCR method, IWA Membrane Technology Conference (IWA-MTC 2013), Toronto, Canada, 25-29 August 2013.
4. Kishida N, Noda N, Haramoto E, Kawaharazaki M, Akiba M, Sekiguchi

- Y. Quantitative detection of human enteric adenoviruses in river water by microfluidic digital PCR; The 17th International Symposium on Health-Related Water Microbiology; 2013 Sep; Florianopolis; Brazil.
5. 岸田直裕、原本英司、今野祥顕、泉山信司、浅見真理、秋葉道宏 . 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 . 第 50 回環境工学研究フォーラム; 2013 年 11 月; 札幌 .
 6. 泉山信司、岸田直裕、岸田小百合、秋葉道宏、八木田健司、クリプトスポリジウムとジアルジア計数を目的とした定量逆転写 PCR の検量線作成、第 82 回日本寄生虫学会、2013 年 3 月、東京都
 7. 久野草太郎、田中繁樹、及川智、東京都区部給水栓における従属栄養細菌の検出状況、日本水道協会関東地方支部水質研究発表会、2013 年 11 月、東京都
 8. 泉山信司、水野聰、川口有希子、及川智、従属栄養細菌による飲料水兼用耐震性貯水槽の管理、環境技術学会、2013 年 9 月、岐阜県
 9. 泉山信司、水道水におけるクリプトスポリジウム汚染の検出と対策について、考え方の整理、第 83 回日本寄生虫学会、2014 年 3 月、愛媛県
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
 - 特許第 5476558 (平 26.2.21) 「水試料中の原虫のろ過回収方法および水道水又は水道原水の水質の管理方法」
 2. 実用新案登録
 3. その他
 - なし



図1 拭き取り検査キット

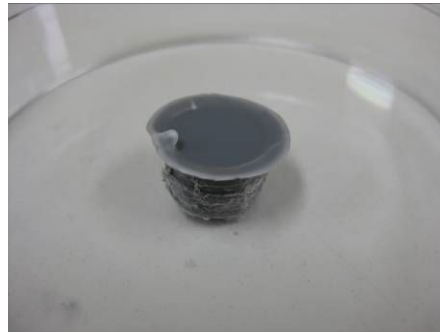


図2 くり抜いた配管(配管 No.1)

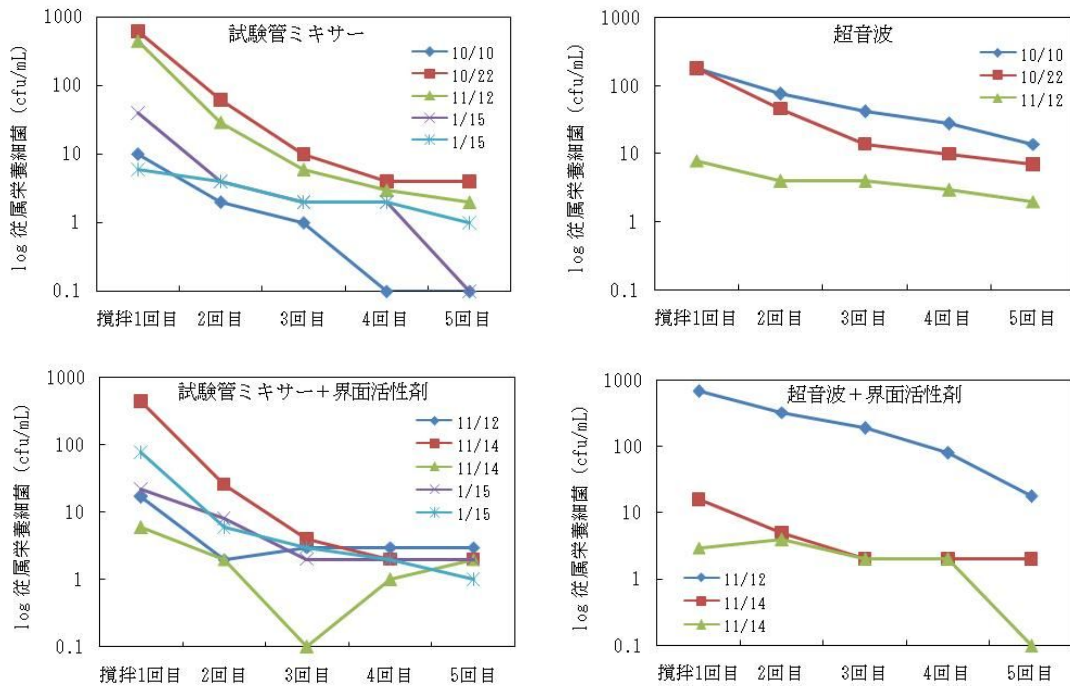


図3 懸濁液中の従属栄養細菌数 (cfu/mL)
(数値0は0.1としてプロットした。)

表1 配管実試料測定結果

配管 No.	採取日	使用年数 (年)	拭き取り面積 (cm ²)	従属栄養細菌		
				配管懸濁液 (cfu/mL)	配管単位面積あたり (cfu/cm ²)	空气中懸濁液 (cfu/mL)
1	12/10	12	3.1	16	52	
2	1/10	43	4.9	1	2	3
3	1/21	18	2.8	10	36	5

表2 家庭で採取した水試料の性状と *Legionella* 属菌の汚染状況

試料	家庭数	検体数	温度 ()		pH		塩素濃度 (ppm)		HPC (CFU/ml)		培養 陽性	菌数 (CFU/ml)	LAMP 陽性	アメーバ増菌後	
			平均	範囲	平均	範囲	平均	範囲	平均 ^a	範囲				培養陽性	LAMP 陽性
台所 蛇口水	4	6	29.3	23.5-42.0	7.6	7.2-7.8	0.63	0.5-0.8	189	0-932	0		1	0	0
風呂 蛇口水	4	5	29.8	24.5-42.0	7.5	7.2-7.8	0.47	0-0.8	145	1-484	0		0	0	0
風呂 給湯水	4	7	34.4	26.5-39.0	7.5	7.1-7.8	0.20	0-0.8	5,726	13-32,800	0		1	0	0
洗面台 蛇口水	3	4	26.0	25.5-26.5	7.4	7.2-7.8	0.47	0-0.8	16,897	6-46,000	1 ^b	370	2	0	0
庭 蛇口水	1	2	24.8	24.8	7.4	7.4	0.6	0.6	0	0	0		0	0	0
公園 蛇口水	-	1	26.5	26.5	7.3	7.3	0	0	-	-	0		0	0	0
合計		25									1		4	0	0

a: 幾何平均、 b: *Legionella* sp. L-29 検出

表3 家庭の水道関連設備で採取されたスワブ検体等における *Legionella* 属菌の汚染状況

試料	家庭数	検体数	培養	LAMP	アメーバ増菌後		
			陽性	陽性	培養陽性	LAMP 陽性	
スワブ							
台所 蛇口	4	5	0	0	0	0	
風呂 蛇口	4	6	0	0	1 ^a	2	
風呂 給湯口	4	4	0	2	0	0	
風呂 シャワーヘッド	3	4	0	0	0	0	
洗面台 蛇口	2	3	0	0	1 ^b	1	
トイレ 蛇口	3	4	0	0	0	1	
洗濯機 蛇口	1	1	0	0	0	0	
庭 蛇口	2	3	0	0	0	0	
公園 蛇口	-	1	0	0	0	0	
合計		31	0	2	2	4	

a: *Legionella* sp.検出

b: *Legionella* sp. L-29 検出

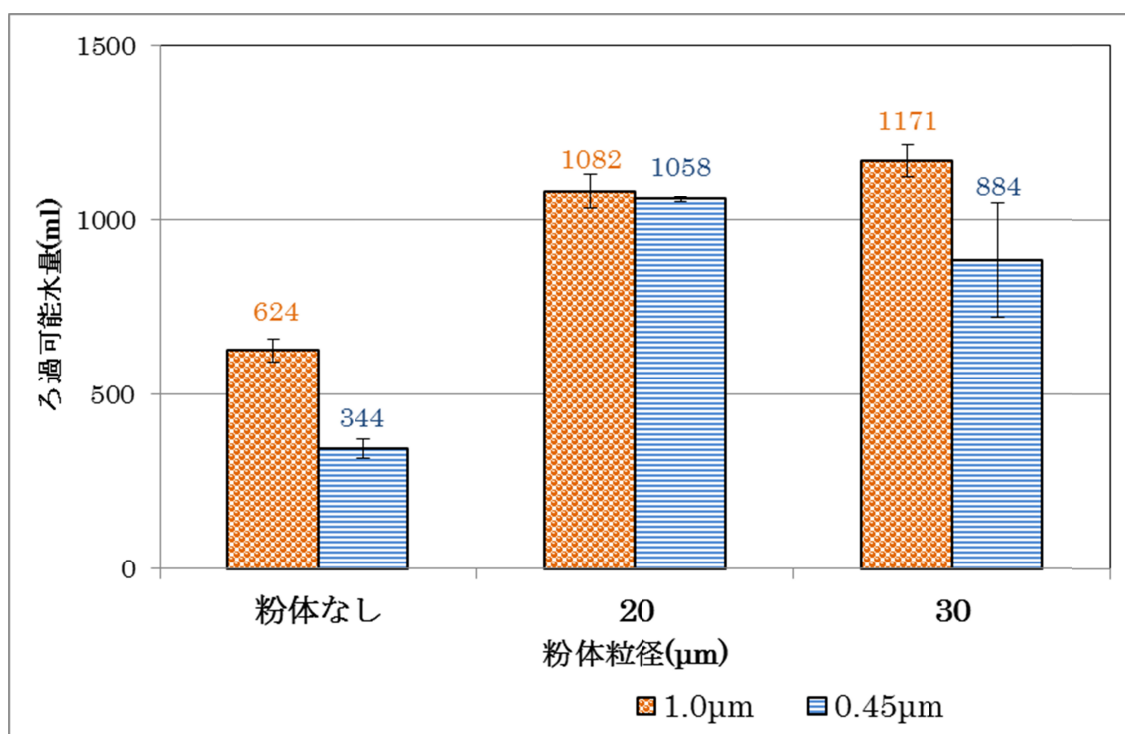


図4 フィルター孔径と粉体粒径の大きさによるろ過可能水量

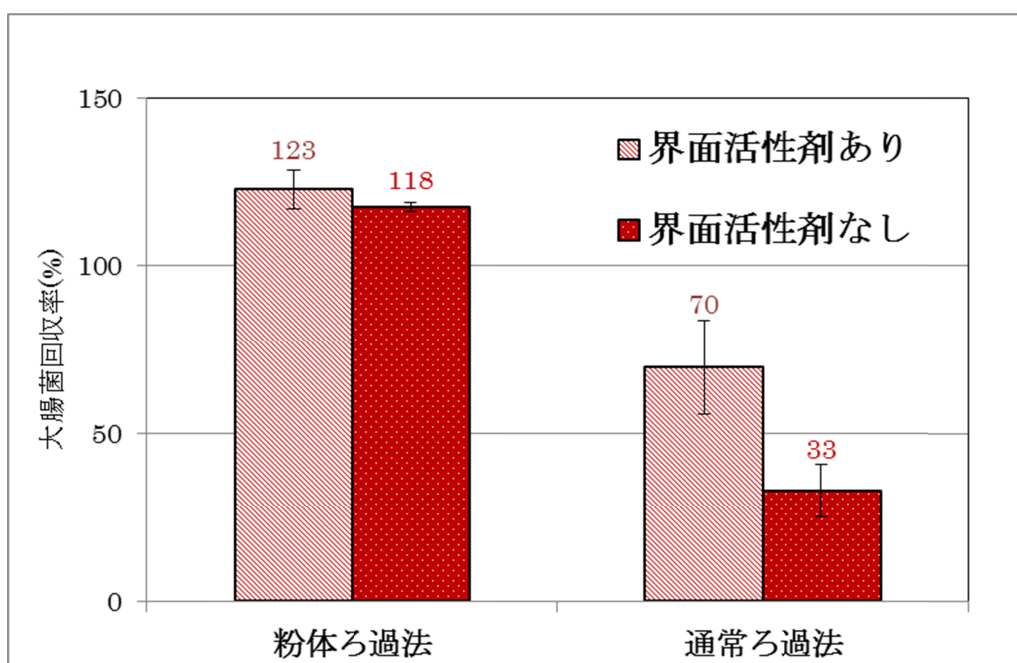


図5 フィルターごと回収する方法における界面活性剤の使用による大腸菌回収率 (XM-G 寒天培地による定量)

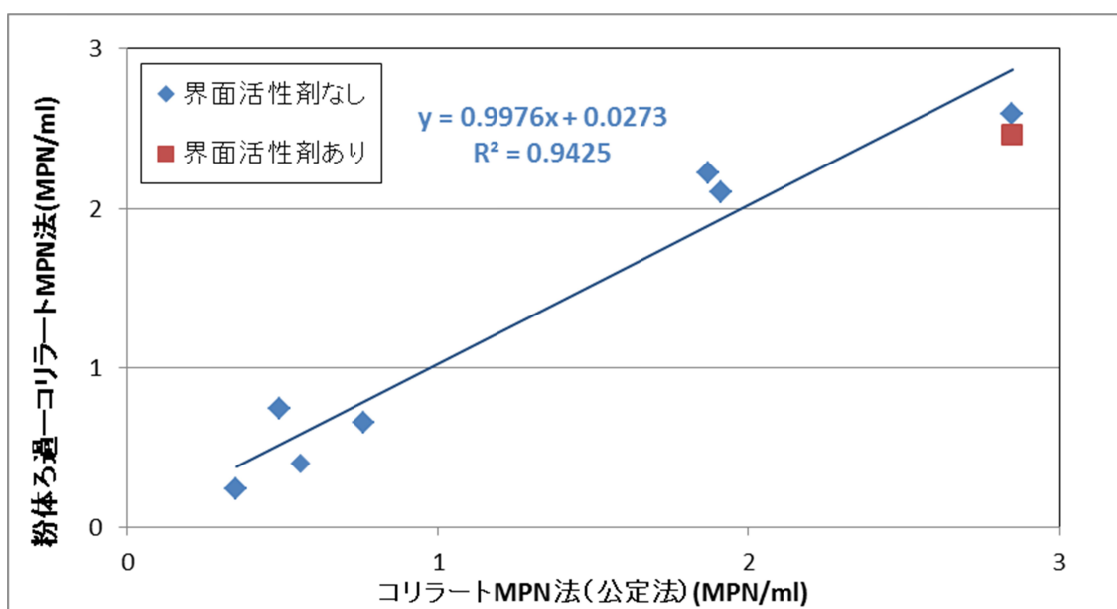


図6 コリラートMPN法と粉体ろ過-コリラートMPN法

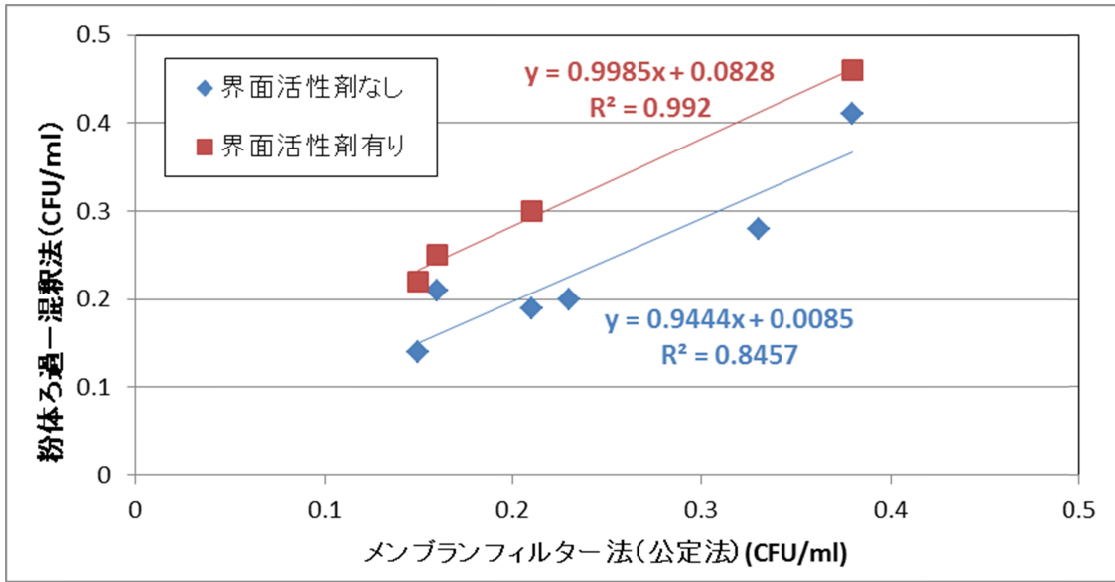


図 7 メンブランフィルター法と粉体ろ過 - 混釈法 (嫌気性芽胞菌)

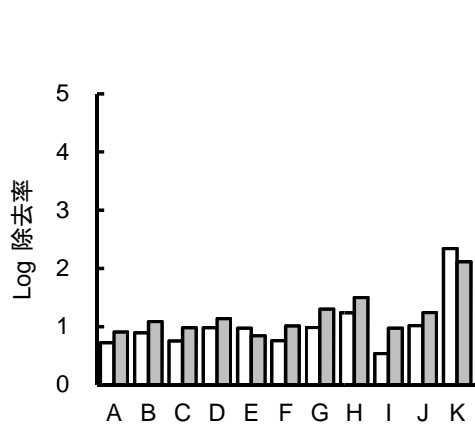


図 8 凝集沈澱処理におけるポリオウイルスの処理性 (□: 従来PACl, ■: 高塩基度PACl)

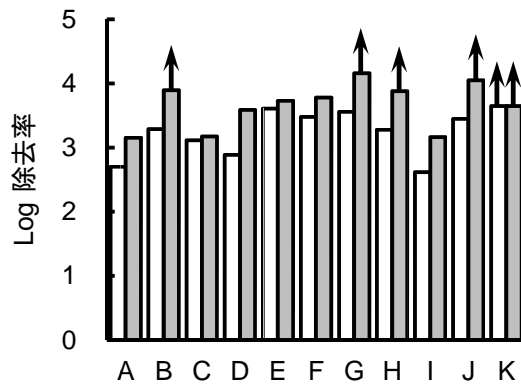


図 9 凝集沈澱処理におけるポリオウイルスの処理性 (凝集沈澱後に $\phi=0.45 \mu\text{m}$ PTFE膜でろ過) (□: 従来PACl, ■: 高塩基度PACl)

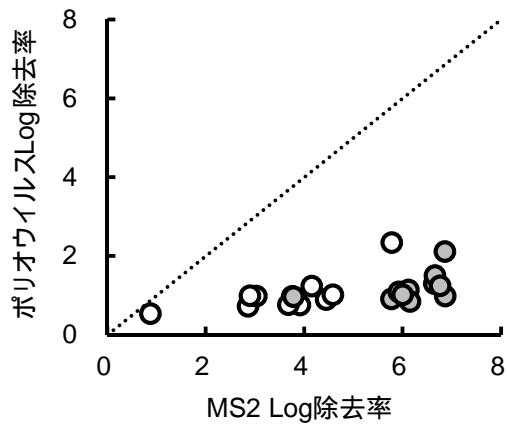
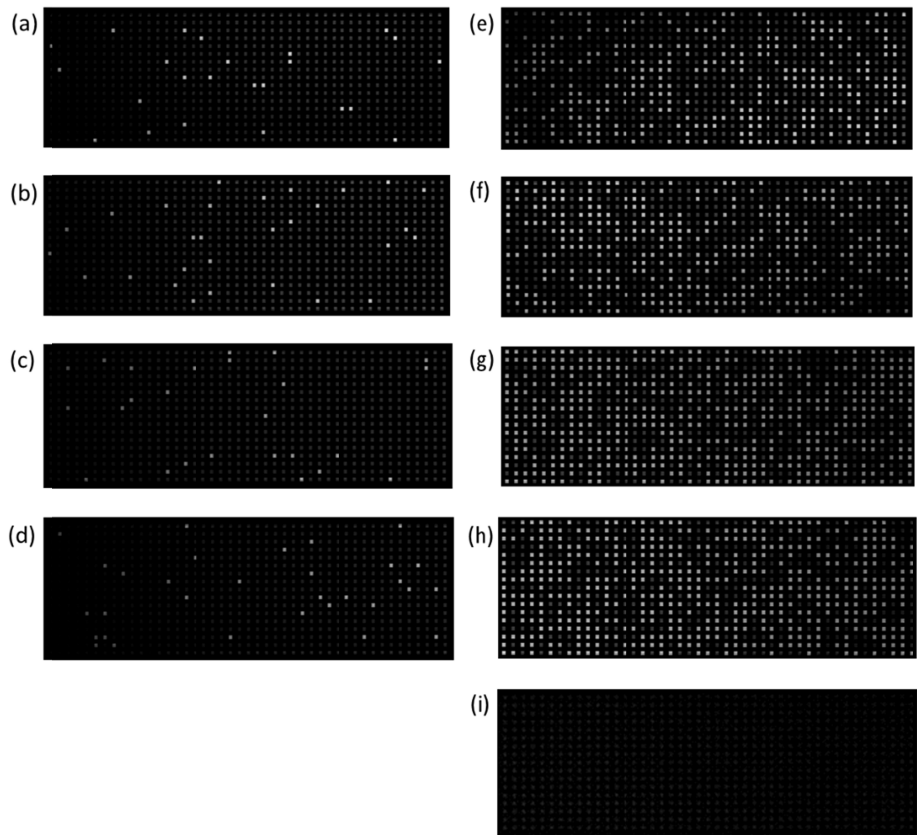


図 10 凝集沈澱処理におけるポリオウイルスと大腸菌ファージMS2の処理性の比較(○：従来PACI, ●：高塩基度PACI)

表 4 デジタル PCR 法によるクリプトスポリジウム由来核酸の定量結果

標準試料名	陽性セル数/反応	推定コピー数/反応	コピー数/オーシスト
逆転写なし DNA 試料 (1 反応あたり 1 oocyst 相当の DNA を用いた PCR)			
Std.1 (1 回目)	24	24	24
Std.1 (2 回目)	29	30	30
Std.2 (1 回目)	25	25	25
Std.2 (2 回目)	31	32	32
平均 (DNA)	27±3	28±4	28±4
逆転写あり cDNA 試料 (1 反応あたり 0.025 oocysts 相当の RNA を用いた RT-PCR)			
Std.1 (1 回目)	292	368	14,700
Std.1 (2 回目)	325	423	16,900
Std.2 (1 回目)	455	692	27,700
Std.2 (2 回目)	461	707	28,300
平均 (cDNA)	383±87	550±180	21,900±7,080



1

図 11 デジタル PCR の結果 (白いセルは陽性, 黒いセルは陰性を示す。)

- (a), (b): 逆転写なし DNA 試料 (Std.1; 1 oocyst/reaction)
- (c), (d): 逆転写なし DNA 試料 (Std.2; 1 oocyst/reaction)
- (e), (f): 逆転写あり cDNA 試料 (Std.1; 0.025 oocysts/reaction)
- (g), (h): 逆転写あり cDNA 試料 (Std.2; 0.025 oocysts/reaction)
- (i): 陰性対象



図 12a 装置外観



図 12b 装置外観

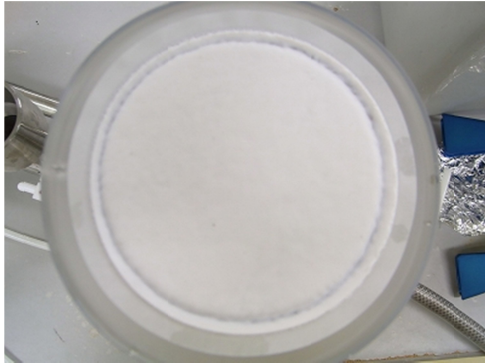


図 13a ステンレススクリーンのろ過ケーキ

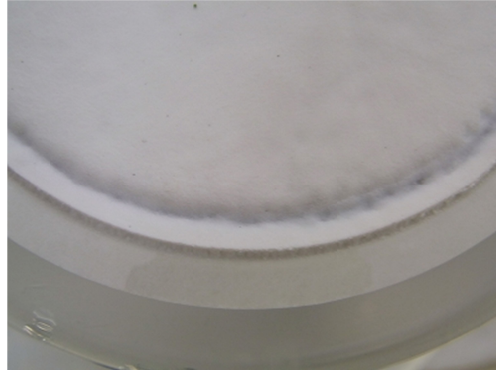


図 13b ステンレススクリーンのろ過ケーキ（拡大）

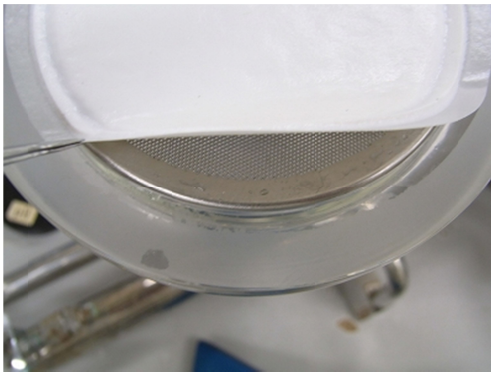


図 13c ステンレススクリーンとろ過ケーキの状況

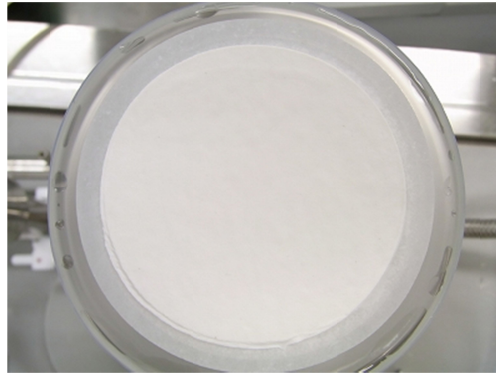


図 13d 焼結ガラス製のろ過ケーキ



図 14a ろ過中に発生した気泡



図 14b 発泡により安定しないろ過ケーキ

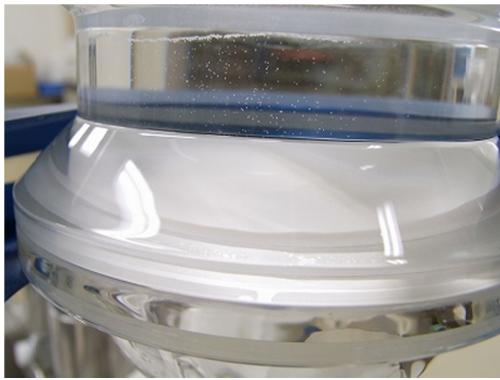


図 14c ろ過終了直前の様子



図 14d ろ過ケーキ

表 5 水道クリプト等検出対応一覧

(厚生労働省水道課調べ、<http://www.env.go.jp/council/09water/y090-34/ref02.pdf> より)

年度	件数	都道府県 市町村	種別	浄水処理	長期的対応	備考
平成8年度	1	埼玉県 越生町	上水道	急速ろ過処理	膜ろ過施設設置	浄水からクリプトスポリジウムを検出。 住民 14,000 人のうち 8,800 人が感染。
平成9年度	2	鳥取県 鳥取市	簡易水道	塩素処理のみ	上水道事業に併合	原水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
		兵庫県 山崎町	簡易水道	塩素処理のみ	膜ろ過施設設置	原水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
平成10年度	2	福井県 永平寺町	簡易水道	急速ろ過処理	浄水処理管理強化	原水及び浄水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
		兵庫県 夢前町	簡易水道	塩素処理のみ	膜ろ過施設設置	原水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
平成11年度	1	山形県 朝日村	上水道	塩素処理のみ	広域用水供給事業から受水	浄水からクリプトスポリジウム及びジアルジアを検出。 感染症患者なし。
平成12年度	3	青森県 三戸町	簡易水道	塩素処理のみ	膜ろ過施設設置	浄水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
		沖縄県 名護市	小規模 水道	簡易ろ過及び 塩素処理	上水道事業に併合	浄水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
		岩手県 平泉町	簡易水道	塩素処理のみ	水源変更、急速ろ過施設 設置	浄水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
平成13年度	5	愛媛県 今治市	上水道	塩素処理のみ	当該水源は使用中止	浄水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
		岩手県 釜石市	簡易水道	緩速ろ過処理	浄水処理管理強化	原水及び浄水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
		兵庫県 山崎町	簡易水道	塩素処理のみ	膜ろ過施設設置	原水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
		鹿児島県 財部町	上水道	塩素処理のみ	膜ろ過施設設置予定	原水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
平成14年度	1	愛媛県 北条市	上水道	急速ろ過、活 性炭処理	ろ材入替、浄水処理管理強 化を予定	浄水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
		山形県 新庄市	簡易水道	塩素処理のみ	応急対策として膜処理装置 設置、長期的には上水道事 業と統合予定	原水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
平成15年度	2	大分県 別府市	上水道	塩素処理のみ	当該水源は使用中止	原水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
		山形県 米沢市	小規模 水道	塩素処理のみ	応急対策として膜ろ過施設 設置、長期的には水源変更	浄水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
平成16年度	1	兵庫県 宝塚市	上水道	急速ろ過処理	安全確認迄の間飲用制限、 浄水処理管理強化を実施	原水及び浄水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
平成17年度	0	該当なし				
平成18年度	1	大阪府 能勢町	簡易水道	急速ろ過	濁度計を設置し常時濁度管 理を徹底	原水及び浄水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
平成19年度	2	富山県 富山市	簡易水道	塩素処理のみ	上水道事業に併合	原水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
		富山県 高岡市	簡易水道	急速ろ過(濁 度管理不可)	紫外線処理施設設置予定	原水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
平成20年度	1	山形県 村山市	簡易水道	塩素処理のみ	膜ろ過施設設置	原水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
平成21年度	0	該当なし				
平成22年度	2	富山県 南砺市	専用水道	塩素処理のみ	紫外線処理施設の設置ある いは隣接簡易水道への切り 替え	原水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
		千葉県 成田市	小規模貯 水槽水道	—	貯水槽を更新	給水栓水からクリプトスポリジウム及びジアルジア を検出。小規模貯水槽水道の利用者 43 人のうち 28 人が体調不良、4 人がジアルジアに感染。
平成23年度	1	長野県 伊那市	簡易水道	急速ろ過		原水及び浄水からクリプトスポリジウムを検出。 感染症患者なし。
平成24年度	1	群馬県	用水供給	急速ろ過		浄水からジアルジアを検出。 感染症患者なし。
計	26					

* 原水からクリプトスポリジウム等が検出された場合で「対策指針」に基づく対策が講じられていない施設の事例を含む。

表 6 水道蛇口による集団感染（疑い含む）

Cryptosporidium			
Month / year	Location / country	Est. cases	Susp. cause
Aug 2001	Nuernberg / Germany	201	Potentially tap water during field exercise among military recruits
Aug-Nov 2004	Bergen / Norway	133	Additive during large giardiasis outbreak Public rinking water supply contaminated by sewage or animal waste following heavy rainfall
Sep 2005	Western Turkey	191	Cyclospora co-infection
Sep-Dec 2005	North-west Wales	218	Public water supply (the absence of effective treatment to remove Cryptosporidium oocysts at the water treatment works) Public water supply using Lough Corrib (a large lake)
Feb 2007	City and county of Galway / Ireland	182	Heavy precipitation of historic proportions and the water source reaching the highest level on record
Nov 2010	Ostersund / Sweden	10000	Contaminated water supply

Giardia			
Month / year	Location / country	Est. cases	Susp. cause
May-Sep 2004	Ohio / USA	3-1450	Sewage contaminated groundwater
Aug-Oct 2004	Bergen / Norway	2500	Leaking sewage pipes and insufficient water treatment
Oct 2005	Izmir / Turkey	196	Faecal contamination in public water supply

Toxoplasma			
Month / year	Location / country	Est. cases	Susp. cause
Aug 2004-Jul 2005	Coimbatore City / India	249	T. gondii (ocular) / probably contaminated supplying water after heavy rainfall

Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. Water Res. 2011 Dec 15;45(20):6603-14.
 より、100 人を超える、かつ、蛇口あるいは水道が疑われるものを抜粋

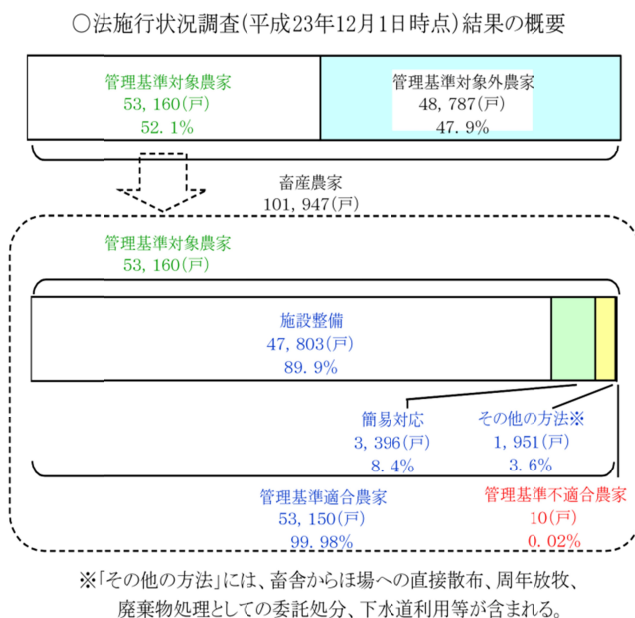


図 15 家畜排せつ物法の施行状況 (http://www.maff.go.jp/j/chikusan/kankyo/taisaku/t_monдай/04_zyokyo/index.html より)

表 7 全国 30 箇所の原水検査 (H23, 24 年度、当該研究)

試料No.	クリプトスポリジウム			ジアルジア		
	顕微鏡 (oocysts/5L)	qPCR (oocysts/5L)	RT-LAMP (Tt値, min)	顕微鏡 (cysts/5L)	qPCR (cysts/5L)	LAMP (Tt値, min)
1	5	0.32	47	-	-	-
2	1	-	-	-	-	-
3	1	0.15	33	-	-	-
4	-	0.36	39	-	0.28	39
5	2	-	-	-	2.2	-
6	2	0.02	33	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	2	-	-	1	-	-
9	2	1.1	27	3	-	-
10	2	-	-	-	-	-
11	10	-	-	1	14	55
12	222	0.11	33	5	-	-
13	2	0.89	30	3	11	37
14	-	-	-	-	3.8	39
15	1	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-
18	-	1.1	31	-	0.82	53
19	-	3.2	29	5	0.97	39
20	-	-	-	3	3.2	57
21	23	1.3	39	2	-	-
22	-	1.2	30	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-
27	33	6	33	-	-	-
28	1	3.4	29	3	-	-
29	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-

- かつて、ろ過なし、消毒なしで、コレラ流行などあった
- ろ過導入、一般細菌数を下げた (病原体汚染を減らした)
- 塩素消毒で、細菌ウイルスをほぼ不活化した
- 濁度基準、紫外線照射や膜ろ過で、耐塩素性病原微生物を対策しつつある

図 16 水道の微生物対策の歴史的経緯

平成 25 年度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）
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
- 化学物質・農薬分科会 -

研究代表者	松井 佳彦	北海道大学大学院工学研究院
研究分担者	浅見 真理	国立保健医療科学院 生活環境研究部 水管理研究分野
	西村 哲治	帝京平成大学 薬学部薬学科
研究協力者	相澤 貴子	(公財)水道技術研究センター
	石井 喜成	千葉県水道局 水質センター調査課
	井上 剛	福岡県南広域水道企業団 施設部水質センター
	江崎 智昭	神戸市水道局 事業部水質試験所
	鎌田 素之	関東学院大学 理工学部理工学科
	三枝 慎一郎	広島市水道局 施設部水質管理課
	桐山 秀樹	奈良県水道局 広域水道センター 水質管理センター
	小坂 浩司	国立保健医療科学院 生活環境研究部 水管理研究分野
	佐藤 学	神奈川県衛生研究所 理化学部生活化学・放射能グループ
	中村 美早紀	茨城県企業局 水質管理センター
	西野 真之	八戸圏域水道企業団 水質管理課
	三浦 晃一	仙台市水道局 浄水部水質検査課
	高橋 英司	新潟市水道局 技術部水質管理課
	津田 宏	神奈川県内広域水道企業団 水質管理センター

研究要旨：

水道水質に関する農薬類、化学物質の管理向上に資するため、実態調査及び情報収集を行った。平成 24 農薬年度（平成 23 年 10 月～平成 24 年 9 月）の農薬製剤総出荷量は約 23 万 t で前年とほぼ同量であった。平成 24 農薬年度における農薬の用途別出荷量は用途別の農薬製剤出荷量は殺虫剤：83578t、殺菌剤：43606t、殺虫殺菌剤：20991t、除草剤：71423t であった。平成元年比で見ると、殺虫剤が約 46%、殺菌剤は 44%、殺虫殺菌剤約 35%、除草剤 48% であり、全出荷量で見ても約 44% と農薬の使用量が減少しているが、前年比で比較すると殺虫殺菌剤が 101%、除草剤が 105% となり、剤によっては増加に転じている。登録農薬原体数は平成 26 年 3 月現在 561 種であり、近年増加傾向にある。

分科会及び協力の 14 水道事業体の実態調査結果から農薬検出濃度、検出頻度及び検出指標値（Σ 値）の集計を行ったところ、河川水 46 種、原水 88 種、浄水 26 種の農薬が検出された。原水では、ベンタゾン（176 回）、プロモブチド（154 回）、イソプロチオラン（89 回）、プレチラクロール・ピロキロン（78 回）、浄水では、プロモブチド（66 回）、ベンタゾン（64 回）、プレチラクロール（30 回）、ピロキロン（29 回）、トリシクラゾール（22 回）の検出回数が多かった。水稻適用の除草剤で用量が増えているテフリルトリオンも検出された。原水ではモリネート、浄水ではプロモブチド、ピラクロニルの検出指標値への寄与が高い。河川水では、検出最大濃度が 1μg/L を超えた農薬はピロキロン、プロモブチド、ジノテフラン、ベンタゾン、2,4-D の 5 農薬であった。ジノテフランは今回の改正で対象農薬リスト掲載農薬類にリストアップされた農薬であり、今後、調査が進むにつれてより詳細な実態が明らかになると考えられる。検出回数で見るとベンスルフロメチル、ベノミル、イミダクロプリド、プロモブチドデプロモも比較的検出回数が多かった。個別検出指標値では

ピロキロン、フェニトロチオンが最大値で 0.1 以上の値を示したが、特に高い数値は見られなかった。いずれの農薬もこれまでの検出実績がある農薬で大きな傾向の変化見られなかった。

水道統計をもとに、H21 年度における全国の水道事業体の農薬の検査体制について解析を行ったところ、全対象水道事業 1554 件のうち、原水における農薬の測定事業数は 644 件、検出水道事業数は 175 件 (27%) であった。原水での検出農薬数では、1 種類であった事業数が 62、2 種が 31、3 種が 26 であり、以下順に減少傾向であった。年間測定回数が多いと 10 種以上の農薬が検出される場合もあり、測定回数が多いと農薬が検出される率が高くなった。

農薬出荷量、畑地に対する出荷量、水田に対する出荷量、土地面積、降水量、土壌中での吸着性・土壌と水中分解性に関するスコア値、ADI の項目を使い、どの指標の組み合わせを用いた場合が最も効率よく監視農薬を選定できるか検討した。その結果、指標 C4(畑地出荷量/ADI/降水量)の地域最高値と指標 C8(水田出荷量 $\times 10^6$ (スコア A+スコア B-6)/ADI/降水量)の地域最高値の組み合わせを用いた場合が最も効率よく監視農薬を選定できることが分かった。用途別の検出可能性を考慮した効率的な監視農薬の選定が行えるとともに、それによる適切な水質管理への寄与が期待できる。

新しい農薬として使用量が急激に増加しているネオニコチノイド系農薬について、神奈川県都市河川流域の調査を実施したところ、テブコナゾール (99%)、オリサストロビン (E) (55%)、テフリルトリオン (34%)、オリサストロビン (Z) (33%)、プロマシル (32%)、アメトリン (23%)、ジノテフラン (20%)、ピリミノバクメチル (E) (20%) の 8 農薬が検出率 20%以上と比較的高い頻度で検出された。

アセタミプリド、イミダクロプリド、チアクロプリド、ニテンピラム、クロチアニジン、チアメトキサム、ジノテフラン、フィプロニル、エチプロール、フロニカミドの 10 種の殺虫剤を対象としヒト肝がん由来の HePG2 細胞、およびラットの副腎髄質由来の褐色細胞腫 PC12 細胞を用いた評価を実施した。LDH アッセイによる細胞膜障害性については、数条件下をのぞき、最大作用濃度である 1mg/mL においても細胞膜傷害作用を示すことはなかった。細胞膜阻害作用を示した場合も、10%以上の細胞膜傷害性を示さなかったことから、本年度実施した物質と作用条件では、細胞膜を傷害する作用は認められないと考えられた。

これまで水質事故の原因となった化学物質について、リスト化を行ったところ、ヘキサメチレンテトラミン、シクロヘキシルアミン、3,5-ジメチルピラゾール、フェノール類、硫酸アミド等塩素との反応性が高く、分解物や異臭の原因となる物質、塩素酸・過塩素酸などの陰イオン、界面活性剤・油等活性炭に吸着しやすい物質が挙げられた。今後一層の情報収集を行う予定である。

A. 研究目的

水道水源で使用される化学物質・農薬の状況を把握し、水道の水質管理の向上に資するため、実態調査を実施し、検出傾向の解析を行った。特に水源となる流域に開放的に使用される化学物質として量が多い農薬について重点的に解析を行う。

水田使用の農薬と非水田使用の農薬の出荷量を算出し、それぞれの出荷量に基づく検出可能性を表す指標を作成するとともに、より

効率的な監視農薬の選定方法を検討した。

また、近年の使用量の増加しているネオニコチノイド系農薬について、実態調査に関する検討、実態調査、浄水処理性に関する検討、様々な反応生成物を含むバイオアッセイ手法に関する検討を行った。

農薬以外の化学物質については、過去の事故事例等の情報収集を行い、検出状況に関して検討を行うと共に、化学物質の管理のあり方について提案を行う。

B. 研究方法

1) 農薬の使用量推移等に関する検討

我が国における農薬使用実態に関する統計情報は(社)日本植物防疫協会が出版する農薬要覧にまとめられている。これまで農薬要覧の発刊後、記載されている都道府県別農薬製剤出荷量と各農薬製剤の原体含有率から都道府県別の農薬原体出荷量の算出を行い、水道水源における監視農薬の選定の基礎資料を作成してきた。本年度も、農薬要覧 2013 に記載されている農薬製剤別都道府県別出荷数量と登録農薬情報(農薬製剤に含まれる農薬原体の種類と割合)から農薬原体別都道府県別出荷量を算出した。

2) 農薬類実態調査結果の解析

分科会の 14 水道事業体の実態調査結果から農薬検出濃度、検出頻度及び検出指標値(Σ 値)の集計を行った。

3) 各水道事業体における農薬実態調査の解析

農薬類の測定結果について、各地域での使用状況、土地利用状況、用途、天候等により検出状況の考察を行った。

4) 水道統計を用いた農薬の測定体制と検出状況について

農薬の出荷量以外に、農薬類の測定体制と検出状況の関連性を解析するために、水道統計を用いて農薬測定実態を解析した。

5) 用途別出荷量、分解性等による検出可能性に関する検討

平成 24 年度時点の水質管理目標設定項目であった農薬類の第 1 群(102 種)、第 2 群(26 種)、第 3 群農薬(77 種)に加え、近年出荷量が増加傾向にあるものなど 31 種を含めた 236 物質を監視農薬選定の対象とし、(A) 出荷量と適用作物 (B) 農薬の吸着性・分解性 (C) 一日最大許容摂取量 (D) 地域性を考慮した解析を行った。用途別出荷量、分解性の指標にも着目し、より高効率で監視農薬を選定する方法を検討した。

6) 新規農薬の実態調査

ネオニコチノイド系農薬の実態調査を行うに当たり、測定方法、測定地点等に関する検討を行った。

7) 新規農薬の実態調査と浄水処理性に関する検討

神奈川県都市河川流域を対象に、ネオニコチノイド系農薬の実態調査を行い、変動等に関する考察を行った。

8) 新規農薬の安全性評価手法に関する検討

クロロピリジル環を持つアセタミプリド、イミダクロプリド、チアクロプリド、ニテンピラム(クロロニコチニル系薬剤)クロロチアゾール環を持つクロチアニジン、チアメトキサム(チアニコチニル系薬剤)、ジノテフランの、ネオニコチノイド系殺虫剤 7 農薬と、ネオニコチノイド系農薬に分類されていないが、構造が類似していることから EU の規制 8 成分に含まれるフィプロニル、フェニルピラゾール系殺虫剤に分類されているがフィプロニルと構造が類似し神経毒を示すエチプロール、ピリジんカルボキシアミド系殺虫剤に分類されているが構造に類似点の多いフロニカミド、以上 10 種の殺虫剤を対象としヒト肝がん由来の HePG2 細胞、およびラットの副腎髄質由来の褐色細胞腫 PC12 細胞を用いた評価を実施した。

9) 水質事故原因物質に関する検討

規制項目以外の化学物質等について、水質事故事例などの収集を行い、水質事故の原因となった化学物質の特性等について考察を行った。

10) 水道統計等における水質測定頻度の検討

今後のモニタリング結果の評価にあたり、水質変動に関する解析を行うため、測定頻度と測定値の関係に関する予備的な検討を行った。

C. 研究結果及び D. 考察

1) 農薬の使用量推移等に関する検討

平成 24 農薬年度(平成 23 年 10 月~平成 24 年 9 月)の農薬製剤総出荷量は約 23 万 t で前年とほぼ同量であった。平成 24 農薬年度における農薬の用途別出荷量は用途別の農薬製剤出荷量は殺虫剤:83578t、殺菌剤:43606t、殺虫殺菌剤:20991t、除草剤:71423t であった。平成元年比で見ると、殺虫剤が約 46%、殺菌剤は 44%、殺虫殺菌剤約 35%、除草剤 48% であり、全出荷量で見ても約 44%と農薬の使用量が減少していることが分かる。前年比と比較すると殺虫殺菌剤が 1.01、除草剤が 1.05

となり、これまで農薬の出荷量は減少し続けていたが、剤によっては増加に転じている。登録農薬原体数は平成26年3月現在561種であり、近年増加傾向にある。平成元年以降の用途別農薬出荷量と登録農薬数の推移を図1に示す。

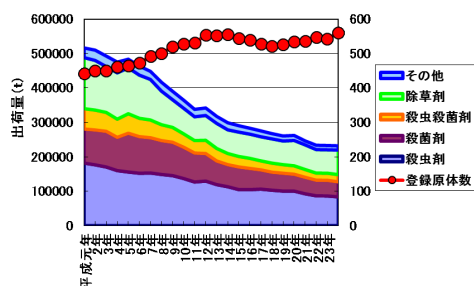


図1 農薬出荷量と登録農薬数の推移

個別の農薬原体について見ると、平成23農薬年度の出荷量と比較して20%以上出荷量が増加し、全国出荷量が50t以上だった主要な農薬原体として、塩基性塩化銅、グリホサートカリウム塩、S-メトラクロール、グリホサートイソプロピルアミン塩、有機銅、TPN、マンゼブ、ダイムロン、チアジニル、ピラクロニル、プロパモカルブ塩酸塩、メフェナセット、プロスルホカルブ、チオファネートメチル、ジラム、フルトラニル、フェントラザミド、アトラジン、プロベナゾール、ホセチル、プロモブチド、マンネブ、テブコナゾール、DCMUが該当した。マンゼブ、ジラム、マンネブとジチオカーバメート系農薬の増加が顕著であった。これらの農薬のうち塩基性塩化銅、グリホサート、S-メトラクロール、チアジニル、ピラクロニル、プロパモカルブ塩酸塩、プロスルホカルブ、フルトラニル、フェントラザミド、テブコナゾールは旧分類でリストアップされていない農薬であったが今回の改定において塩基性塩化銅、プロパモカルブ塩酸塩、プロスルホカルブ以外は対象農薬リスト掲載農薬類もしくは要検討農薬類としてリストアップされている。プロスルホカルブは比較的新しい農薬であり、プロパモカルブ塩酸塩についても調査報告が少ない。また、今年度は、昨年度のDDVPのような失効に伴い出荷量が大きく減少した農薬は存在しなかった。

2) 農薬類実態調査結果の解析

今年度は全国14水道事業体(八戸圏域水道企業団、仙台市、茨城県、千葉県、東京都、埼玉県、神奈川県、神奈川県内広域水道企業団、新潟市、奈良県、大阪市、神戸市、広島市、福岡県南広域水道企業団)で行われた農薬実態調査結果を集計し、検出された農薬についてとりまとめた。

対象とした水道事業体では、分解物、酸化物も含め合計213種類の農薬がモニタリングされ河川水46種、原水88種、浄水28種の農薬が検出されている。今年度の特徴として、4月に農薬の分類見直しが発表されたため、十分な検討は行えていないが、各水道事業体が独自にモニタリング農薬を設定していることから測定農薬数がこれまでと比べて増加している。内訳を見ると対象農薬リスト掲載農薬類は対象としたいずれかの水道事業体で測定を行っているが、測定を行っている事業体数が2事業体以下の農薬が22種類あった。要検討農薬類のうち5農薬がいずれの事業体でも測定されていなかった。

H25年度の実態調査における河川水、原水、浄水別の検出最大濃度、検出率を解析した結果を以下に示す。河川水では、検出最大濃度が1μg/Lを超えた農薬はピロキロン、プロモブチド、ジノテフラン、ベンタゾン、2,4-Dの5農薬であった(図2)。また、検出濃度はピロキロン、プロモブチド、ジノテフラン、ベンタゾンが高かった。ネオニコチノイド系農薬のジノテフランは、検出濃度が上昇しており(図3)、今回の改正で対象農薬リスト掲載農薬類にリストアップされた農薬であるため、今後、一層の調査が必要である。検出回数で見るとベンスルフロンメチル、ベノミル、イミダクロプリド、プロモブチドデプロモも比較的検出回数が多かった。個別検出指標値ではピロキロン、フェントロチオンが最大値で0.1以上の値を示したが、特に高い数値は見られなかった。いずれの農薬もこれまでの検出実績がある農薬で大きな傾向の変化見られなかった。

浄水では、検出最大濃度が0.1μg/Lを超えた農薬はプロモブチド、ダラポン、ベンタゾ

ン、ピラゾスルフロンエチル、ピラクロニル、ピロキロン、プロモブチドデプロモ、カフェンストロール、チオジカルブの9農薬であった。特にプロモブチド、ダラポンは1 $\mu\text{g/L}$ を超える値で検出されている。ダラポンに関しては、農薬だけではなく消毒副生成物由来であり、他の農薬と別の視点で対策を考慮する必要があるが、プロモブチドとプロモブチドデプロモに関してはこれまで同様高い値で検出されている。また、検出濃度の積算値でもプロモブチドは20 $\mu\text{g/L}$ を超えており、原水の結果と比較しても高い値と言える。個別検出指標値ではプロモブチド、ピラクロニル、カルボフラン、ダラポン、カフェンストロールの5農薬が最大値で0.01以上の値を示した(図4)。

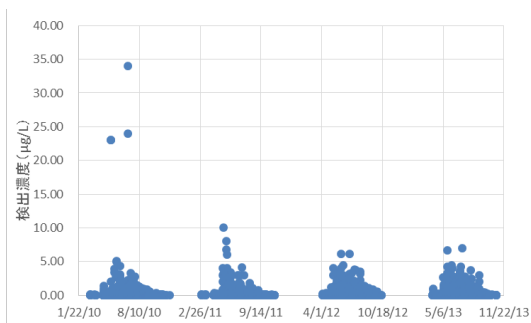


図2 原水の農薬検出濃度 (H22 ~ H25)

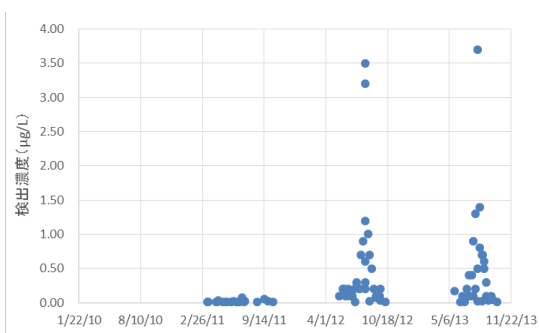


図3 ジノテフランの検出濃度の推移

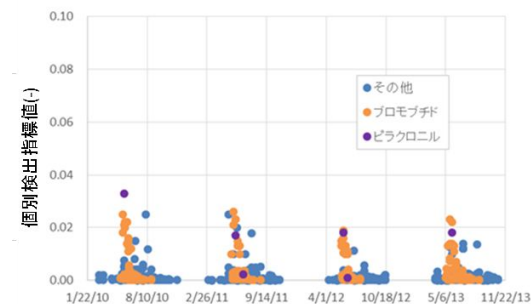


図4 浄水における個別検出指標値の推移

3)各水道事業体における農薬実態調査の解析
 水稻栽培、果樹栽培、ゴルフ場等で使用される農薬が検出されているが、最近の検出状況は過去に比べ低い値となっている場合があった。田植えの時期や稲作における水管理について農協より指導が行われており、改善の効果がみられる。

毎年7月中旬に流域水田において殺虫剤のバイジット粒剤(含有成分:MPP)が一斉散布され、原水の Σ 値を上昇させる要因となり、H21年度には過去最大の0.889を示した地点があったが、H22年度以降は一斉散布が中止されMPPはほとんど検出されず、 Σ 値の上昇はみられなくなった(図5)

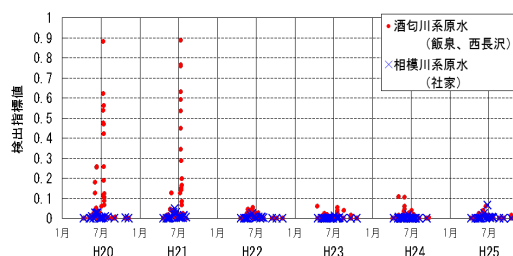


図5 原水検出指標値の推移 (H20 ~ H25)

水源のダムへの流入河川で、37種類の農薬が検出された地点では、ピロキロン、プロモブチドが高い濃度で検出され、また、フェニトロチオンが突発的に目標値の10%を超える濃度で検出される場合があった。農薬の検出時期が(消毒副生成物低減化のための)活性炭注入時期に重なっている場合は、浄水での検出が抑制された(図6)

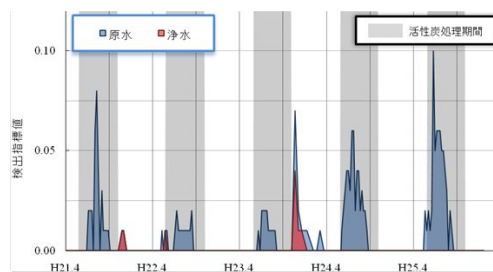


図6 流入河川、S浄水場原水、浄水での検出指標値の推移

4)水道統計を用いた農薬の測定体制と検出状況について

水道統計をもとに、H21 年度における全国の水道事業体の農薬の検査体制について解析を行ったところ、全対象水道事業 1554 件のうち、原水における農薬の測定事業数は 644 件、検出水道事業数は 175 件（27%）であった。原水での検出農薬数では、1 種類であった事業数が 62、2 種が 31、3 種が 26 であり、以下順に減少傾向であった。年間測定回数が多いと 10 種以上の農薬が検出される場合もあり、測定回数が多いと農薬の検出される率が高くなった（図 7）。測定回数が多い事業は、元々農薬類が検出される可能性が高い地域である可能性もあるが、農薬に関する監視が有効に行われていると考えられる。

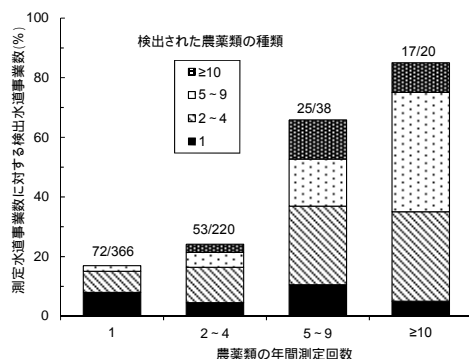


図 7 測定農薬類数に対する検出水道事業数の分布（年間測定回数による分類）

5)用途別出荷量、分解性等による検出可能性に関する検討

農薬出荷量，畑地に対する出荷量，水田に対する出荷量，土地面積，降水量，土壌中での吸着性・土壌と水中分解性に関するスコア値，ADI の項目を使い，全国値と地域最大値の 24 指標を作成し，それらを組み合わせた合計 48 パターンの組み合わせを用いて，いずれの指標の組み合わせを用いた場合が最も効率よく監視農薬を選定できるか検討した。その結果，指標 C4(畑地出荷量/ADI/降水量)の地域最高値と指標 C8(水田出荷量×10⁴(スコア A+スコア B-6)/ADI/降水量)の地域最高値の組み合わせを用いた場合が最も効率よく監視農薬を選定できることが分かった。水田出荷量に基づく指標 C8 の組み合わせについては，従来の総出荷量に基づく指標 C2(出荷量/ADI/降水量)に比べ，本研究で考案した畑地出荷量に

基づく指標 C4 が，僅かであるが選択効率が向上した結果であり，畑地に使用された農薬の検出可能性をより精度良く評価できると考えられた。そのため，指標 C4 と C8 の組み合わせを用いることで，用途別の検出可能性を考慮した効率的な監視農薬の選定が行えるとともに，それによる適切な水質管理への寄与が期待できる。

6)新規農薬の実態調査

神奈川県相模川流域での河川水について、要検討項目、その他農薬類から農薬 9 項目の測定を行った。殺虫剤、殺菌剤であるネオニコチノイド系農薬については、農薬散布時期の 5 月の調査でイミダクロプリドを中心に検出されたが、11 月には濃度は定量下限値以下となった。一方、都市部の除草剤として用いられるプロマシルについては、5 月よりも 11 月の調査で濃度が高くなる採水地点が多かった。

7)新規農薬の実態調査と検出特性

神奈川県鶴見川流域において 2013 年 5 月～11 月に行った 5 地点、28 回の測定結果では、59 種類の農薬のうち調査検出された農薬は 24 種類であった。検出率ではテブコナゾール（99%）、オリサストロピン（E）（55%）、テフリルトリオン（34%）、オリサストロピン（Z）（33%）、プロマシル（32%）、アメトリン（23%）、ジノテフラン（20%）、ピリミノバクメチル（E）（20%）の 8 農薬が検出率 20% 以上と比較的高い頻度で検出された。検出最高濃度ではテフリルトリオン（0.19μg/L）、ベンフレセート（0.15μg/L）、ピリミノバクメチル（E）（0.11μg/L）、プロマシル（0.11μg/L）、テブコナゾール（0.06μg/L）、アメトリン（0.05μg/L）が比較的高かった。個別検出指標値（検出濃度/目標値）はテフリルトリオンの 0.09 であった。

テフリルトリオンは水稻適用の除草剤で近年出荷量が増加している農薬の一つである。図 8 に調査地域のテフリルトリオンの検出濃度の推移と降雨量を示す。上流の水田の影響を受けやすい地点で検出された。農林水産省が公表している H25 年度の水田面積とテフリ

ルトリオン都道府県別出荷量から水田単位面積当たりのテフリルトリオン出荷量を算出すると、出荷量では新潟県、山形県、秋田県、岩手県が多く、東日本の稲作が盛んな地域で出荷量が多い傾向が認められた。今後調査を実施し、検出実態を把握する必要性が高いと考える。

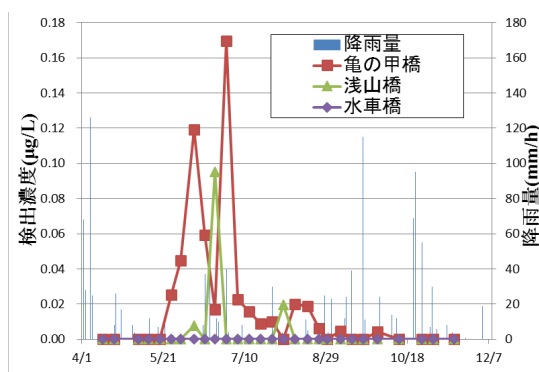


図 8 テフリルトリオンの検出濃度と降雨量の関係

プロマシルは非農耕地適用の除草剤であり、「農薬要覧 2013」から算出した年間出荷量は 78t である。今回の調査から鶴見川流域においては降雨量と検出濃度に一定の関係が見られることから、河川敷や公園等での散布後の降雨の影響が考えられる。

テブコナゾールは非水稻適用の殺菌剤であり、「農薬要覧 2013」から算出した年間出荷量は 92t と比較的使用量の多い農薬である。都道府県別の出荷量を見るとそのほとんどが北海道である。今回の調査で全ての地点で調査期間を通じて継続的検出されている。しかし、栽培されている作物や適用のある製剤について調査を行ったが、起源について明らかにすることはできなかったが、継続的に検出されていることから農地以外での要因も含め引き続き調査を継続する必要があると考える。

8) 新規農薬の安全性評価手法に関する検討

LDH アッセイによる細胞膜障害性については、数条件下をのぞき、最大作用濃度である 1mg/mL においても細胞膜傷害作用を示すことはなかった。細胞膜阻害作用を示した場合も、10%以上の細胞膜傷害性を示さなかったことから、本年度実施した物質と作用条件

では、細胞膜を傷害する作用は認められないと考えられた。

これらのネオニコチノイド系殺虫剤とその塩素処理生成物の作用に要する時間がさらに長時間必要なのか、有害影響を及ぼす作用点が細胞膜とは異なっていると推測された。しかし、未検討の物質と作用条件があることから、引き続き検討を行い、最終的な結論を導く予定である。

9) 水質事故事例物質に関する検討

これまで水質事故の原因となった化学物質について、リスト化を行ったところ、ヘキサメチレンテトラミン、シクロヘキシルアミン、3,5-ジメチルピラゾール、フェノール類、硫酸アミド等塩素との反応性が高く、分解物や異臭の原因となる物質、塩素酸・過塩素酸などの陰イオン、界面活性剤・油等比較的活性炭に吸着しやすい物質が挙げられた。今後一層の情報収集を行う予定である。

10) 水道統計等における水質測定頻度の検討

農薬の中でも検出率の高いプロモブチドの測定回数と検出濃度を比較したところ、年 1 回の測定における測定値が最も高かった。農薬の測定回数は少ないが、水域への農薬散布時期等を考慮して測定を行っている事業者では、濃度が高い時期に調査が行われているため測定値が高かった可能性がある。一方で年 10 回以上調査している地点では最高値の濃度は測定回数 1 回の箇所より若干低かったが、最高値と平均値の差が大きいことが分かった (図 9)。

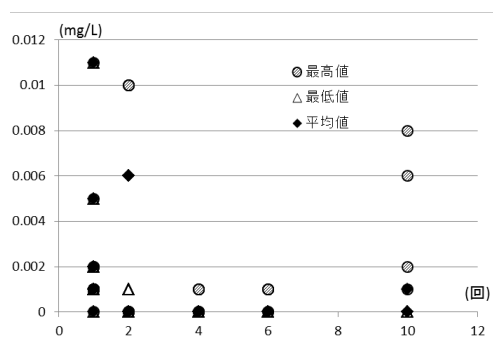


図 9 原水中のプロモブチド (農薬) 測定回数と測定結果との関係

消毒副生成物であるが、浄水における検出頻度が高いクロロホルムについて、同様の解析を行ったところ、測定回数が年12回を超える地点では、平均値、最高値ともに基準値(0.06mg/L)より低く、平均値は基準値の約半分より低かったが、測定回数が年4回の場合、平均値、最高値ともに基準値や基準値の半分を上回る場合が見受けられた(図10)。年4回は、水道水質の検査回数に定められた「概ね3月に1回以上」の最低回数に該当する検査頻度であり、そのような頻度の場合、水質管理に対する留意が払われにくい場合があることが示唆された。浄水処理に影響を与える項目とそれらの物質の分類、測定回数、変動に関する試行的な解析を行った。今後、測定回数、変動幅に関するさらなる解析を行うとともに、水質管理のあり方について一層の検討を行いたい。

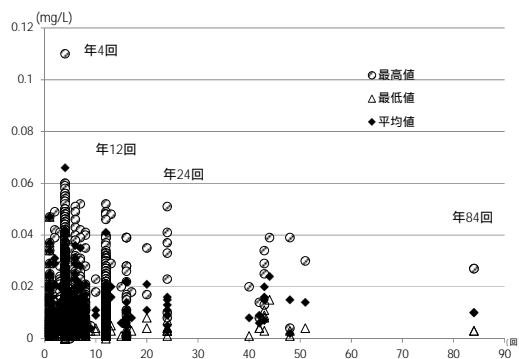


図10 浄水中のトリハロメタンの測定回数と測定結果との関係

E. 結論

1) 農薬の使用量推移等に関する検討

これまで農薬の出荷量は減少し続けていたが、剤によっては増加に転じている。登録農薬原体数は平成26年3月現在561種であり、増加傾向にあった。特に使用量が近年増加傾向で評価値の低い農薬について、今後も調査を行う必要がある。

2) 農薬類実態調査結果の解析

対象とした水道事業体では、分解物、酸化物も含め合計213種類の農薬がモニタリングされ河川水46種、原水88種、浄水28種の農薬が検出された。

3) 各水道事業体における農薬実態調査の解析

水稻栽培、果樹栽培、ゴルフ場等で使用される農薬が検出されているが、最近の検出状況は過去に比べ低い値となっている場合があった。田植えの時期や稲作における水管理に関する指導等による改善の効果がみられる。一方で、検出が増加している農薬もあり、注意が必要である。

4) 水道統計を用いた農薬の測定体制と検出状況について

全対象水道事業1554件のうち、原水における農薬の測定事業数は644件、検出水道事業数は175件(27%)であった。年間測定回数と検出率に関連が見られた。

5) 用途別出荷量、分解性等による検出可能性に関する検討

指標C4(畑地出荷量/ADI/降水量)の地域最高値と指標C8(水田出荷量 $\times 10^4$ (スコアA+スコアB-6)/ADI/降水量)の地域最高値の組み合わせを用いた場合が最も効率よく監視農薬を選定できることが分かった。

6) 新規農薬の実態調査

殺虫剤、殺菌剤であるネオニコチノイド系農薬については、農薬散布時期の5月の調査でイミダクロプリドを中心に検出された。

7) 新規農薬の実態調査と検出特性

プロマシルは非農耕地適用の除草剤であり、降雨量と検出濃度に一定の関係が見られることから、河川敷や公園等での散布後の降雨の影響が考えられる。テブコナゾールは非水稻適用の殺菌剤であり、今回の調査で全ての地点で調査期間を通じて継続的検出された。

8) 新規農薬の安全性評価手法に関する検討

LDHアッセイによる細胞膜障害性については、数条件下をのぞき、最大作用濃度である1mg/mLにおいても細胞膜傷害作用を示すことはなかった。未検討の物質と作用条件があることから、引き続き検討を行う必要がある。

9) 水質事故原因物質に関する検討

これまで水質事故の原因となった化学物質について、リスト化を行った。

10) 水道統計等における水質測定頻度の検討
化学物質・農薬の濃度は、変動が大きく、データ解析を行う際は、濃度変動を踏まえ、測定時期、回数に関する検討も必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 小坂浩司, 浅見真理, 佐々木万紀子, 松井佳彦, 秋葉道宏: 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), 2013, 69 (7), III_363-III_374.
- 2) 浅見真理, 小坂浩司, 大野浩一. 水道側から見たホルムアルデヒド水質事故関連のリスク管理制度とその課題. 日本リスク研究学会誌 23(2): 71-76, 2013
- 3) Asami M, Yoshida N, Kosaka K, Ohno K, Matsui Y. Contribution of tap water to chlorate and perchlorate intake: a market basket study, Science of the Total Environment. 199-208, 2013
- 4) Narita, K., Matsui, Y., Iwao, K., Kamata, M., Matsushita, T. and Shirasaki, N., Selecting pesticides for inclusion in drinking water quality guidelines on the basis of detection probability and ranking, Environment International, 63, 114-120, 2014.

2. 学会発表

- 1) 浅見真理, 小坂浩司, 大野浩一, 秋葉道宏. 水道やその水源における化学物質等の検出状況と水質リスク管理について. 第22回環

境化学討論会, 2013

- 2) 川崎悦子, 梶田香奈, 久保明日香, 北川宏子, 中田俊芳, 鎌田素之, 須戸幹. 新規水道水質管理目標設定農薬類の検査法開発と環境存在実態. 第22回環境化学討論会, 2013
- 3) 駒田大輔, 鎌田素之, 川崎悦子, 中田俊芳: 水道における新規水道水質管理目標設定項目候補農薬類の実態調査, 第31回農薬環境科学研究会, 2013.
- 4) 小坂浩司, 浅見真理, 佐々木万紀子, 松井佳彦, 秋葉道宏: 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, 第50回環境工学研究フォーラム 札幌 2013.

3. 著書

- 1) 浅見真理. 1,4-ジオキサン. 排水污水处理技術集成. 東京: NTS; 2013. p.59-68.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成 25 年度厚生労働科学研究 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 —消毒副生成物分科会—

主任研究者	松井佳彦	北海道大学大学院工学研究院 教授
研究分担者	伊藤禎彦	京都大大学大学院工学研究科 教授
	浅見真理	国立保健医療科学院生活環境研究部
	松下 拓	北海道大学大学院工学研究院
	小坂浩司	国立保健医療科学院生活環境研究部
	越後信哉	京都大大学大学院工学研究科
研究協力者	田中康夫	阪神水道企業団
	安藤尚子	奈良県水道局
	北本靖子	大阪市水道局
	山田睦邦	北千葉広域水道企業団
	佐藤 賢	茨城県企業局
	三矢律子	東京都水道局
	中平健二	大阪広域水道企業団
	與古田亨	沖縄県企業局
	片岡稔之	京都市上下水道局
	小島慶太	川崎市上下水道局
	中井喬彦	国立保健医療科学院生活環境研究部
	篠田 豊	東京都水道局
	田中航也	大阪市水道局
	清宮佳幸	千葉県水道局

研究要旨

N-ニトロソジメチルアミン (NDMA) の長期トレンドおよび生物処理・生物活性炭処理による制御について検討し、淀川水系においては長期的には減少傾向にあること、生物処理・生物活性炭処理でも高い処理性が得られる場合があることを示した。ヘキサメチレンテトラミンのオゾン処理における反応生成物として、ヘキサメチレンテトラミン *N*-オキシドを同定した。この物質は塩素に対しても比較的安定であることを確認した。基準値の強化が予定されているトリクロロ酢酸の対策技術として緩速ろ過池への粒状活性炭敷き込みの効果を検証した。全国 12 浄水場システムの給水栓水中のジクロロベンゾキノン (DCBQ) の実態調査を行った結果、11 箇所の給水栓水から検出 (約 10~50 ng/L) した (このうち 3 箇所では評価値の 1/10 を超過)。また、クロロホルムと DCBQ 濃度の間には弱い相関があることを確認した。ジクロロヨードメタン、ハロアセトニトリル、過塩素酸等の物質について実態調査・生成特性の検討を継続した。

塩素処理によるアンモニアからのトリクロロアミンへの共存物質の影響を検討したところ、特にフェノール類による生成抑制影響が大きいことがわかった。これは、アンモニアと塩素との反応によって生成した無機クロラミン類がフェノール類と反応し有機態窒素になったことが一因と推測された。¹⁵N-トリクロロアミン溶液を作成し、トリクロロアミンの粉末活性炭による除去機構について検討した結果、窒素ガスとしての還元であることが示された。フェニルアラニン由来のカルキ臭物質について、臭気強度の約半分の内訳を明らかにし、また、これらは活性炭処理で低減可能であることがわかった。あわせて、新たなカルキ臭評価指標として揮発性窒素の測定方法について検討した。

A. 研究目的

塩素およびオゾン処理副生成物のうち、NDMA (*N*-ニトロソジメチルアミン)、ホルムアルデヒド、ジクロロベンゾキノン、ハロ酢酸(特にトリクロロ酢酸)、ジクロロヨードメタン、ハロアセトニトリル、過塩素酸等を対象に、制御技術、分析技術、生成実態につい

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。さらにカルキ臭の生成特性、制御、モニタリング技術に関する検討を行った。

特に、消毒副生成物については NDMA の生成実態、基準値の強化が予定されているトリクロロ酢酸の対策技術としての緩速ろ過池へ

の粒状活性炭敷き込みの効果，ジクロロベンゾキノンの実態調査に焦点をあて検討を進めた。

カルキ臭については，トリクロラミン生成に関する共存物質の影響，粉末活性炭によるトリクロラミン除去機構，揮発性窒素の測定方法に関する基礎的知見の収集に努めた。

B. 調査方法

1. N-ニトロソアミン類の実態および生成特性調査

1.1 阪神水道企業団による調査

2008年10月より浄水場における実態調査を開始し，浄水処理過程における挙動や，活性炭による処理性について知見を整理した。

1.2 大阪広域水道企業団による調査

(1) 概要

生物処理及びGAC処理におけるNDMA及びその前駆物質の処理性に関する調査を行った。

(2) 実験方法

(a) 試料水処理条件

表1に試料水処理条件を示した。

表1 試料水処理条件

試料水	① NDMAを含む試料水 ② NDMA前駆物質を含む試料水 ③ ①②いずれも下水処理水
生物処理担体	当企業団庭窪浄水場の生物接触ろ過池で使用している生物繊維担体(直径約5mm、使用年数約7年半)を使用。
カラム	アクリル製円筒 容積約3.8L(直径約7cm、高さ約100cm)

(b) 実験手順

図2に示す手順で調査を行った。

試料水をメンブレンフィルター(1μm)でろ過する。生物繊維担体を充てんしたアクリル製カラムに試料水を通水する。

①NDMAを含む試料水については，これを検水とし，前処理，測定を行う。

②NDMA前駆物質を含む試料水については，水処理実験装置によりオゾン処理を行う。

回収した試料水を検水とし，前処理，測定を行う。NDMAの測定にはLC/MS/MS(株式会社・サイエックス社製API3200 LC/MS/MSシステム)を使用した。

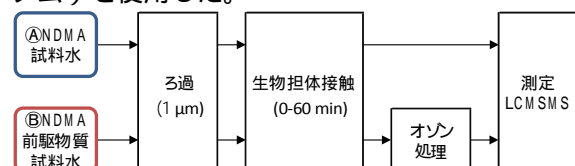


図2 作業手順

2. 過塩素酸の実態調査(北千葉広域水道企業団)

利根川水系で比較的高い検出実績のある過塩素酸について，利根川水系江戸川での実態調査を行った。

3. ホルムアルデヒド前駆物質に関する実態調査(大阪市水道局)

塩素処理によりホルムアルデヒドを生成しやすいPRTR法第1種指定化学物質及びそれ以外の物質として示された8物質を調査対象物質とし(表2)，分析方法を検討し，高度浄水処理過程における実態調査を実施した。

表2 調査対象物質，目標定量下限値，定量下限値及び分離モード

前駆物質名	目標定量下限値(μg/L)	定量下限値(μg/L)	分離モード
PRTR法第1種指定化学物質	ヘキサメチレンテトラミン	8.9	10 HILIC
	1,1-ジメチルヒドラジン	20	検討中 RPLC
	N,N-ジメチルアニリン	13	検討中 RPLC
PRTR法第1種指定化学物質以外	トリメチルアミン	40	10 HILIC
	テトラメチルエチレンジアミン	16	検討中 RPLC
	N,N-ジメチエチルアミン	13	10 HILIC
	ジメチルアミノエタノール	13	5 HILIC
1,1-ジメチルグアニジン	13	5 HILIC	

また，ホルムアルデヒドの重要な前駆体であるヘキサメチレンテトラミン(HMT)のオゾン処理生成物の同定も行った。

4. 消毒副生成物等の生成実態と低減化対策

ハロ酢酸(特にトリクロロ酢酸)，ハロアセトニトリル，抱水クロラール，トリハロメタンなどの副生成物については，奈良県，東京都，沖縄県，京都市，茨城県，北千葉広域水道企業団，川崎市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。

4.1 東京都水道局による調査

東京都西多摩郡奥多摩町の小河内浄水所は，原水中に有機物が多く含まれており，このため消毒副生成物の一つであるトリクロロ酢酸濃度が高い。

トリクロロ酢酸の水質基準は，平成27年4月に現行の0.2 mg/Lから0.03 mg/Lに強化される見込みだが，小河内浄水所では強化後のトリクロロ酢酸の水質基準を超過するおそれがあるため，緩速ろ過池への粒状活性炭の敷き込みなど対策を検討した。

4.2 奈良県水道局による調査

粉末活性炭処理や凝集剤や前塩素処理のクロ

ロホルム、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の前駆物質の除去効果の検討を行った。

4.3 川崎市上下水道局による調査

川崎市の主要な水源である相模湖のダム放流水（浄水場原水に相当）について、本年度に採水および試験を行った濁度、有機物指標と各消毒副生成物生成能の調査を行った。この中で、台風18号による大雨による高濁度時の検討を行った。

4.4 大阪広域水道企業団による調査

淀川水系宇治川における消毒副生成物の前駆物質について、地域による汚濁の特性を把握するため、消毒副生成物生成能の調査を行った。そして消毒副生成物生成能の結果を用いて主成分分析を行い、各汚濁源の特徴について解析を試みた。

5. ジクロロベンゾキノン(DCBQ)の測定法検討と実態調査(国立保健医療科学院)

5.1 概要

日本の水道水中のハロベンゾキノン類の実態の解明を目的として、ハロベンゾキノン類のうち、海外の調査で最も検出頻度・濃度が高かった2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノン(DCBQ)に着目して、固相抽出・LC-MS/MSによる測定法の検討と全国12浄水場の給水栓水における実態調査を行った。

5.2 実験方法

(1) 残留塩素除去剤の検討

5種類の残留塩素除去剤（チオ硫酸Na、グリシン、アスコルビン酸Na、NH₄Cl、トリメチルアミン）を各々10 mg/Lとなるように添加し、次いでギ酸を0.25%(v/v)となるように添加した水道水にDCBQを5 µg/Lとなるように添加して、LC-MS/MSにより測定した。

(2) 減容時回収率変動の検討

DCBQを50 ng/Lとなるように添加した精製水を(3)の方法で濃縮・溶出後、溶出液10 mLを窒素吹き付けで減容し、溶出液が10 mL, 5 mL, 2 mL, 1 mL, 0.5 mL, 0.1 mLの時に0.1 mL採取し、0.25%(v/v)ギ酸溶液0.1 mLを加えてLC-MS/MSにより測定を行った。

(3) DCBQ 測定法

Zhaoらの方法¹⁾を参考にしつつ、前項の結果を踏まえて、以下の通り行った。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（容量6 mL、充填

剤500 mg, Waters）に2 mL/minで通水して濃縮した。次いで、窒素で10 min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3 mLずつ3つに分け、DCBQを最終濃度が各々0 µg/L, 2.5 µg/L, 5 µg/Lとなるように添加し、窒素吹き付けにより0.5 mLまで減容した。これに0.25%(v/v)ギ酸溶液を加えて1 mLとした試料をLC-MS/MSで測定した。測定方法のフロー図を図3に示した。また、LC条件を表3、MS/MS条件を表4に示した。

(4) 添加回収試験

添加回収試験では精製水、グリシンを添加した水道水、原水にDCBQを8 ng/Lとなるように添加後、(3)の方法でDCBQの測定を行った(n=5)。水道水の回収率はDCBQを添加した水道水試料(n=5)と無添加の水道水試料(n=1)の差を引いて求めた。なお、無添加の水道水試料のピークはS/N比10以上であった。

表3 LC条件

機器	Agilent 1200 series LC system
カラム	Waters ACQUITY UPLC BEH C18 Column, 1.7 µm, 2.1 mm X 150 mm
室温	22°C
注入量	30µL
移動層	(A) 0.25%(v/v)ギ酸 (B) 0.25%(v/v)ギ酸添加メタノール
移動層の グラジェ ント	0~1min : 20%B 1~9min : 20→60%B 9~17min : 60→80%B 17~17.5min : 80→90%B 17.5~24.5min : 90%B 24.5~25min : 90→20%B 25~35min : 20%B
流量	150 µL/min

表4 MS/MS条件

機器	ABSciex QTRAP 3200
イオン源	ESI ネガティブ
イオン化電圧	-4500V
イオン源温度	300°C
ガスI	55
ガスII	50
カーテンガス	30
測定モード	MRM 定量：176.8/112.8 確認：176.8/140.9

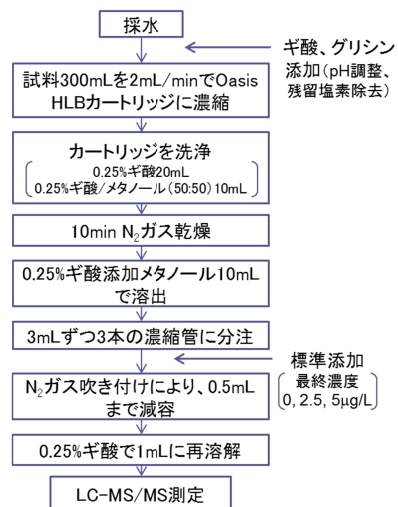


図3 DCBQ測定方法のフロー図

(5) 実態調査

実態調査は平成25年9月26日～10月8日、平成26年2月3日～7日の2回実施した。表5に示した全国12箇所の浄水場(A-L)を浄水場の原水及びその系統の給水栓水を対象として、DCBQ及び総トリハロメタン(総THMs)の測定を行った。なお、給水栓水の採水時に、残留塩素を除去するために10 mg/Lとなるようにグリシンを添加した後、続いてpHを調整するために0.25%(v/v)となるようにギ酸を添加した。

表5 調査地点

浄水処理方式	
A 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
B 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
C 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
D 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
E 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
F 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
G 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
H 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
I 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過/オゾン/BAC
J 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
K 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過
L 浄水場	凝集沈殿/急速ろ過/オゾン/BAC

6. 含ヨウ素消毒副生成物と前駆体に関する実態調査(京都大学)

6.1 概要

分子内にヨウ素を含む消毒副生成物は、類似の塩素化合物や臭素化合物よりも単位濃度あたりの毒性が高いと考えられている。溶解有機物のヨウ素化反応は、遊離塩素存在下では進行しにくいとされているが、有機ヨウ素化合物からの生成経路など十分な検討がなされていない。そこで、ジクロロヨードメタン(CHCl₂I、以下DCIM)とし、原水中のヨウ化物イオンの含ヨウ

素消毒副生成物への影響について評価を行った。

6.2 対象試料

琵琶湖南湖水(以下琵琶湖水)と下水処理場の処理水(以下下水処理水)を用いた。琵琶湖水のTOC、I濃度はそれぞれ1.67 mg/L、0.9 µg/L、下水処理水についてはそれぞれ3.49 mg/L、2.6 µg/Lであった。

6.3 実験操作

塩素処理は、ろ過の後のサンプルをCl₂/TOC比が3.0 mg/mgとなるようにして行った。反応時間は24時間とした。原水中のヨウ化物イオンの除去は、硝酸銀の添加による。低濃度のヨウ化物イオンの分析が困難であったため、ヨウ化銀よりも臭化銀の方が溶解性の高いことを考慮し、臭化物イオンの消失を根拠にヨウ化物イオンの除去を判断した。臭化物イオンが消失した添加量のうち吸着等によるTOCの変化が最も少ない条件にて、ろ過後の水について塩素処理を行った。

6.4 分析方法

DCIMの分析はこれまでとほぼ同様固相マイクロ抽出(SPME)のちGC/MSにて行った²⁾。条件を表6に示す(ただし絶対検量線法による)。I濃度については、基本的には既報³⁾と同様でHPLCにより分離、吸光度検出器により定量を行った。ただし検出器としてフォトダイオードアレー検出器(SPD-M20A, SHIMADZU)、また送液システムとしてProminence HPLCシステム(SHIMADZU)を用いた。なお、一部の試料については試験管エバポレーター(TVE-1000, 東京理科機械)により60℃にて10倍濃縮の後、分析を行った。Brの分析は、既報にしたがった⁴⁾。

表6 測定条件

機種	Agilent 7890A GC
カラム	J&W Scientific 社製DB-5MS (30 m × 0.25 mm i.d. 膜厚0.25 µm)
キャリアーガス	He, 15 mL/min
気化室温度	270 °C
GC部 注入モード	スプリットレス
スプリットバーージ流量	200 mL/min, 2 min
セプタムバーージ流量	10 mL/min
オープン温度	35 °C (10 min) → 3 °C/min → 45 °C → 25 °C/min → 280 °C (18 min)
機種	Agilent 5975C VL MSD
MS部 イオン化法	EI+
イオン源温度	230 °C
インターフェイス温度	150 °C

7. トリクロロアミンの生成特性と低減策

共存物質とオゾン処理によるトリクロロアミンの生成への影響については国立保健医療科学院、活性炭によるトリクロロアミンの除去メカニズムは北海道大学が担当した。

7.1 共存物質とオゾン処理によるトリクロロアミンの生成への影響の検討(国立保健医療科学院)

(1) 概要

これまでの研究で、トリクロロアミン生成能は、アンモニア態窒素濃度が同じでも共存物質の存在によって低下すること、が示されてきた。そこで、どのような有機物が生成能の低下に関連しているか検討を行った。また、実際の高度浄水プロセスの工程水のトリクロロアミン生成能を測定したところ、オゾン処理によって生成能が増加することが示された。モデル物質を用いてこの現象について評価を行った。

(2) 研究方法

(a) 共存物質の影響

アンモニア 0.1 mg-N/L のみ、あるいはアンモニア 0.1 mg-N/L + 共存有機物 8 種をそれぞれ 1.0 mg-C/L(一部の試料は 3.0 mg-C/L)になるように調製した試料水を pH7 (5 mM リン酸緩衝液)、20 とし 24 時間後の遊離塩素濃度が 1.0 ± 0.2 mg-Cl₂/L となるように次亜塩素酸ナトリウムを添加した。試料水の代わりに、5 mM リン酸緩衝液について同様の手順で作成したものをブランクとした。暗所で 24 時間静置後トリクロロアミン濃度を測定した。試料水中のトリクロロアミン濃度とブランクとの差をトリクロロアミン生成能とした。

共存物質は、天然有機物は、Suwannee(スワンニー)河の NOM : SW, 10 種の化学物質は、フェノール、レゾルシノール、フタル酸水素イオン、安息香酸イオン、ホルムアルデヒド、ギ酸、酢酸、シユウ酸、グルコース、エタノールであった。

(b) オゾン処理による影響

(a)で検討した条件のうち、アンモニア 0.1 mg-N/L + SW, フェノール、フタル酸水素イオンについて、オゾン処理によるトリクロロアミン生成への影響を検討した。また、Pony 湖 NOM についても検討した。オゾン処理条件は、半回分式で行い、溶存オゾンが検出され始めるまでの条件とした(0.1 mg/L 程度)。

(c) 測定方法

トリクロロアミン濃度の測定は、ヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析法(HS-GC/MS 法)により行った。試料水をヘッドスペース用 20

mL バイアルに 10 mL 分取し、内部標準として 1,1,2-トリクロロエタン-d₃ を添加し、約 5 秒間激しく振り混ぜた後、35 に保持された加温器に 3 分間静置したガスタイトシリンジを用いて気体を 1.5 mL 採取し、GC/MS (6890N/5975C, Agilent Technologies 社製)にマニュアル注入した。

7.2 活性炭によるトリクロロアミンの除去メカニズムの検討(北海道大学)

(1) 概要

本研究では、活性炭によるトリクロロアミンの除去メカニズムを実験的に調べると共に、原水中に含まれる含窒素有機物の例としてアミノ酸であるフェニルアラニンに着目し、フェニルアラニンの塩素処理により生成される臭気物質を同定し、活性炭による臭気物質の除去を試みた。

(2) 研究方法

(a) 活性炭によるトリクロロアミンの「還元的分解」の確認

リン酸緩衝液(5 mM, pH 6.0)に、安定同位体窒素(¹⁵N)を持つ塩化アンモニウム(¹⁵NH₃Cl)を 0.25 mg-N/L になるように添加し、さらに次亜塩素酸ナトリウムを 4 mg-Cl₂/L になるように加え 30 分間攪拌した。この溶液を暗所にて 4 °C にて静置し、安定同位体窒素を持つトリクロロアミン(¹⁵NCl₃)を生成した。このようにして作成したトリクロロアミン溶液には、トリクロロアミンが 0.3 ~ 0.4 mg-Cl₂/L 程度、遊離塩素が 1.5 ~ 2.0 mg-Cl₂/L 程度含まれた。

このようにして作成した安定同位体窒素を持つトリクロロアミン溶液をセパラブルフラスコの下部(容量 630 mL)に入れ、アルミホイルとパラフィルムにて密封した(図 4)。一方、セパラブルフラスコ上部の気相部分(容量 250 mL)の空気をアルゴンガスに置換した。この際、大気のコクミなどを確認するため、気相部分をサンプリングし、GC/MS により ¹⁵N₂, ¹⁴N¹⁵N を定量した(置換 1)。次に、セパラブルフラスコの上部と下部を分割していたアルミホイルを破り、激しく 20 分間振ることにより溶液と気体を混合し、トリクロロアミン作成時にトリクロロアミン溶液中に溶解した窒素ガス分子(例えば、NH₂Cl + NH₂Cl → N₂ + 3HCl などの反応による)を溶液中から気相へと追い出した。30 分静置後に気相を採取し、GC/MS により ¹⁵N₂ を定量した(静置 1)。さらに、セパラブルフラスコを分離して下部の液層部分をサンプリングし、溶液中のモノクロロアミン、ジクロロアミンを DPD 法により、トリクロロアミンをヘッドスペース - ガスクロマトグラフ質量分析計(HS-GC/MS, 7980A/5975C, Agilent Technology)により定量した⁵⁾。また、サ

ンプリングした溶液と同量のリン酸緩衝液を添加し、この後に被覆するアルミホイルと液面の間にヘッドスペースが生じないようにした。ここに微粉炭を 5 mg/L になるように添加し、アルミホイルで再度覆いつつ、マグネティックスターラーにて液層部を攪拌し、トリクロラミン溶液と活性炭を 10 分間接触させた。活性炭との接触中に、セパラルフラスコ上部の気相部分をアルゴンガスに置換し、大気のコタミなどを確認するため置換後の気相部分の $^{15}\text{N}_2$ 、 $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ を定量した(置換 2)。10 分間の活性炭処理後にアルミホイルを破り、激しく 20 分間振ることにより溶液と気体を混合し、液層中に溶存している窒素ガスを気相中へと追い出した。30 分静置後に気相を採取し、GC/MS により $^{15}\text{N}_2$ を定量した(静置 2)。また、液層部分をサンプリングし、溶液中のモノクロラミン、ジクロラミン、トリクロラミンを定量した。

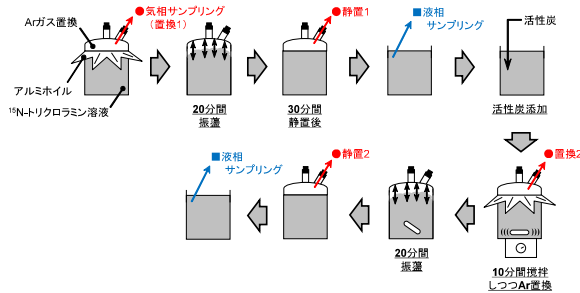


図4 同位体窒素を含むトリクロラミンを用いた活性炭によるトリクロラミンの「還元的分解」確認実験手順

(b) フェニルアラニン塩素処理に由来するカルキ臭の同定と活性炭による処理

(b-1) フェニルアラニンの塩素処理

1 L のリン酸緩衝液 (0.1 mM, pH 7.0) に、フェニルアラニンを 1 μM になるように添加した。ここに、24 時間後の遊離残留塩素濃度が 1 $\text{mg}\cdot\text{Cl}_2/\text{L}$ となるように次亜塩素酸ナトリウムを添加し、30 分間の攪拌後、20 分にて 24 時間静置して塩素処理を行い、フェニルアラニン塩素処理溶液を得た。塩素処理前後での遊離塩素濃度は DPD 比色法で、フェニルアラニン濃度は液体クロマトグラフ - フーリエ変換型質量分析計 (LC/MS/MS, Q Exactive, Thermo Scientific) で、トリクロラミンは HS-GC/MS で、その他の分解生成物濃度はクロロホルムによる抽出後に GC/MS で、あるいは直接パージ&トラップ-GC/MS (P&T-GC/MS) で測定した。また、試料の臭気強度を臭気三点比較法⁶⁾にて定量した。

(b-2) スニッフィング GC/MS システムによるカルキ臭物質の探索

本研究では、スニッフィング GC/MS システムにより、フェニルアラニン塩素処理溶液に含ま

れるカルキ臭を有する物質の探索を行った。本システム (図 5) では、導入された混合試料中に含まれるそれぞれのカルキ臭物質が、ガスクロマトグラフ (GC) の分離カラムにより時間的に分離され、カラム出口から個々に出てくる。分離された物質はカラム出口部分で 2 つに分けられ、一方は、質量分析計 (MS) へと流入し、マススペクトルなどから物質の同定が可能となる。他方は、嗅覚感知器へと流入する。嗅覚感知器からは試料が気体として出てきており、被験者がこの気体の臭いを嗅ぐことにより、その物質の臭気の有無を判断することができる。このシステムを用いることにより、どの物質 (クロマトグラム上のピーク) が臭気を有するかが判断できると共に、マススペクトル情報からその物質の構造などの推定が可能となる。

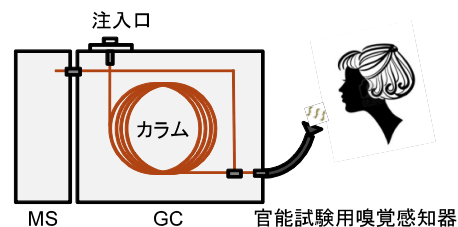


図5 スニッフィング GC/MS システムの概略

(b-3) 活性炭処理によるカルキ臭物質の除去

1 L のフェニルアラニン塩素処理溶液に、活性炭 (通常炭あるいは微粉炭) を 10 mg/L になるように添加した。これを、マグネティックスターラーで攪拌しつつ、活性炭処理を行った。活性炭添加前と、活性炭接触 5 分と 30 分で試料を採取し、ろ過 ($\phi=0.2 \mu\text{m}$, PTFE) した。ろ過サンプルの臭気強度を臭気三点比較法にて定量した。

8. 揮発性有機窒素の分析法の確立 (京都大学)

8.1 概要

これまで、水道水中のトリクロラミン濃度が高い場合には、カルキ臭に起因する臭気強度が高いが、その逆 (つまり、カルキ臭がする場合にトリクロラミン濃度が高い) は必ずしも成立せず、有機クロラミンなどが寄与している可能性を指摘してきた⁷⁾。平成 25 年度は、トリクロラミンや有機クロラミンを含めた揮発性窒素の分析法確立のための基礎的検討を行った。

想定している装置の概念図を図 6 に示す。この装置では、1 つめの水槽のトリクロラミン等を加温 (場合によってはパージ) により、気相中に移し、それを 2 つのめめの水槽中の還元剤と反応させた後にアンモニウムイオンや全窒素として測定するものである。今年度は、この装置を構成する操作や反応に関するトリクロラミンの回収率の検討を行った。

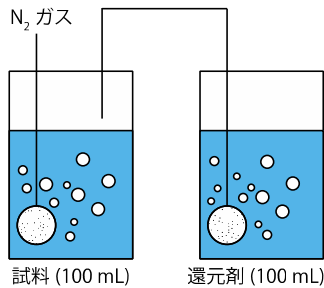


図6 揮発性窒素分析装置の概念図

8.2 実験方法

(1) 実験装置の概要

第1槽でトリクロラミン溶液(100 mL)を40℃にて加温,窒素パージして液層から気相に移し,第2槽で還元剤(10 mM チオ硫酸ナトリウム等)によりアンモニアに還元して捕集するものである。このアンモニア濃度を測定することによってサンプル中のトリクロラミン濃度を決定する。窒素ガス流量 1.0 L/min, 管の温度(第1槽と第2槽を繋ぐ管の温度) 40℃, 第1槽水温 40±1℃とした。

(2) 実験手順

(a) トリクロラミンの気相への移行特性

図6の第一槽においてトリクロラミンをどの程度液相へ移せるのか,窒素パージと加温(40℃)を行い評価し。トリクロラミン溶液(約2 mg-N/L)を第1槽に入れ,加温して窒素パージした後の第1槽に残存したトリクロラミン濃度をヘッドスペース GC/MS 法で測定した。

(b) トリクロラミンのヘンリー定数

トリクロラミンのヘンリー定数を温度依存性(15, 20, 30, 40℃)を含めて検討した。具体的には以下の手順で測定を行った。

- 50 mL ガラスバイアルを二つ用意し,それぞれにトリクロラミン標準試料(pH 2.8)を20 mLとり,一方のバイアルから溶液を幅1 cmの石英製吸光セルに分取し,フォトダイオードアレイ分光光度計(Multispec-1500, 島津製作所)を用いて吸光度を測定した。なお,測定波長は336 nm,モル吸光係数を $\epsilon=190 \text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$ とし⁸⁾,濃度(C_1)の計算を行った。もう一方のバイアルはセプトムおよびアルミシールを用いて密封した。用いたガラスバイアルは1 M 硝酸で酸洗浄を行った後, MQW で十分にすすいで乾燥させたものを用いた。なお本操作において,ガラスバイアル中のトリクロラミン濃度は攪拌をしない限り変動しなかった。
- 密封したバイアルを各設定温度で維持して

いるウォーターバスにて加温した。

- 30分後にウォーターバスから取り出し,10秒間激しく振盪した。静置後バイアルを開栓し,すぐに溶液を幅1 cmの石英製吸光セルに分取し,分光光度計を用いて吸光度を測定し,濃度(C_2)の計算を行った。
- ヘンリー定数は気液平衡時における(気相濃度)/(液相濃度)で表されることから,平衡操作前後の濃度差($C_1 - C_2$)を気液平衡時の気相部分のトリクロラミン濃度,加温・振盪後の濃度(C_2)を気液平衡時の液相部分のトリクロラミン濃度とし,ヘンリー定数を求めた。なお,ここで記載している濃度とはモル濃度である。

(c) トリクロラミンと還元剤の反応

還元剤(チオ硫酸ナトリウム,過酸化水素,亜硫酸ナトリウム,いずれも最終濃度10 mM)を超純水に溶解したものとトリクロラミン溶液を直接混合し(すなわち気相への移行を経由しない),密閉状態で15分間振とうした。その後生成したアンモニウムイオンを α -フタルアルデヒドを誘導体化試薬としたイオンクロマトグラフィ-ポストカラム誘導体化法により測定した⁷⁾。

(d) トリクロラミンのパージ+還元剤との反応によるアンモニウムイオンとしての回収率
上記(a)および(c)を組み合わせて装置としての回収率を測定した。

9. 有機クロラミンに関する調査(東京都水道局)

カルキ臭の原因となる有機クロラミンの前駆物質としてアミン類に着目し,はじめにアミン類を総量として分析した。そして浄水場での実態調査を行い,アミン類と臭気との関連を調査した。

10. 結合塩素濃度とアンモニア態窒素濃度の関係性の調査(千葉県水道局)

同県栗山浄水場において毎日試験で浄水処理工程中の着水井(分水井),ろ過水の遊離塩素,結合塩素濃度を測定しているほか,取水でのアンモニア態窒素濃度を測定している。平成24年度・25年度(11月まで)の水質検査結果をもとに結合塩素の挙動を確認した。これらの測定結果より結合塩素濃度とアンモニア態窒素濃度の相関について検討した。

C. 研究結果およびD. 考察

1. N-ニトロソアミン類の実態および生成特性調査

1.1 阪神水道企業団による調査

(1) N-ニトロソアミン(NDMA)の実態調査

図7に平成26年1月までの測定結果を示す。昨年度と同様にオゾン処理水において、高濃度のNDMAは検出されなかった。しかし、オゾン処理水のNDMA濃度が低い場合でも、冬期では活性炭処理水のNDMAは若干残留する傾向であった。

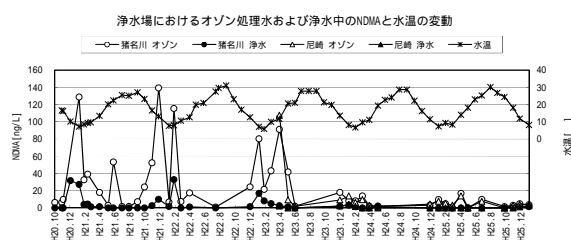


図7 NDMAの検出状況

(2) 活性炭による処理性調査

表7に処理条件、表8に調査結果を示す。流入水(オゾン処理水)中のNDMAは5.6 ng/Lであり、活性炭処理水のNDMAは、新炭が1.1 ng/L、再生炭が2.1 ng/Lと若干ではあるが、新炭の処理性が良い結果であった。しかし、流入水中のNDMA濃度が低く、今回の調査結果のみでは評価出来ないため、今後も継続して調査を行う予定としている。

表7 処理条件

方式	上向流流動層方式
カラム内径(mm)	φ 200
層高(mm)	2140
通水速度(m/hr)	15
SV(1/hr)	7
接触時間(min)	8.6
流量(L/min)	7.85

表8 調査結果

試料水	NDMA [ng/L]
カラム流入水(オゾン処理水)	5.6
新炭	1.1
再生炭	2.1

1.2 大阪広域水道企業団による調査

生物処理によるNDMA及び前駆物質の除去率をそれぞれ図8と図9に示す。60分間生物接触を行った結果、NDMAで8割程度、前駆物質で6~8割の除去性が認められた。NDMA及びその前駆物質の生物処理については一定の効果があり、生物接触時間が長いほどその効果は大きかった。生物処理におけるNDMAの除去性は、前駆物質のそれより高い結果となった。またNDMA、前駆物質共に夏季における除去性が冬季のそれより高い傾向が見られた。これは水温の差による生物活性の差が表れたものと考えられる。

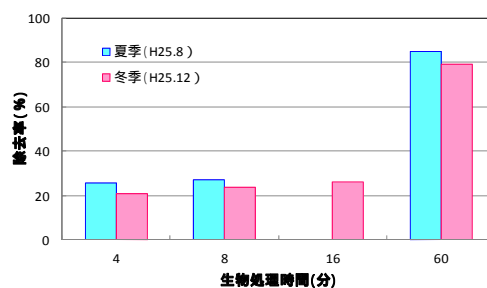


図8 生物処理によるNDMA除去率

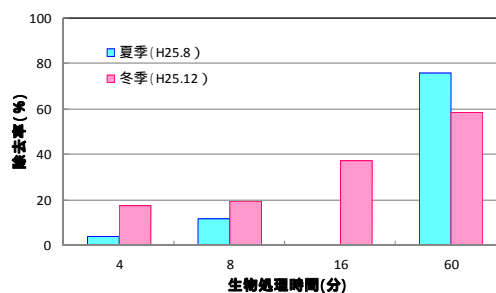


図9 生物処理によるNDMA前駆物質除去率

試料水⑩について、GAC処理によるNDMAの除去性についても検討を行った。図10(夏季)及び図11(冬季)より、夏季でほぼ99%超、冬季で80%以上の除去率を示した。これは、冬季においてもBACとして良好に処理されていると推測される。GAC処理における試料水の通水時間が1時間程度であったため、GACの破過については確認できていない。高い除去率を示した一方で、夏季、冬季共に、GACへのNDMA流入濃度(夏季105~439 ng/L、冬季14~33 ng/L)に対して、GAC処理後のNDMA濃度は概ね一定の数値(夏季1.3~1.8 ng/L、冬季2.4~3.4 ng/L)を示した。

GACによるNDMA除去について、高い除去性が確認された。特に夏季ではほぼ99%以上の高い除去率を示した。これはBACとして処理されていると推測される。

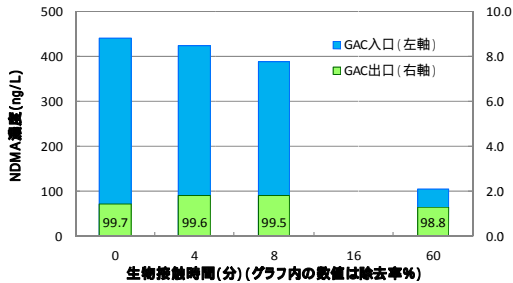


図 10 GAC処理によるNDMA除去(夏季)
(試料水⑧)

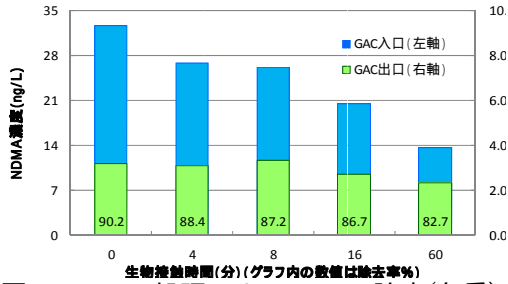


図 11 GAC処理によるNDMA除去(冬季)
(試料水⑧)

2. 過塩素酸の実態調査(北千葉広域水道企業団)

図 1 2 , 図 1 3 に平成 25 年 4 月から 11 月までの各調査地点の過塩素酸濃度推移及び江戸川野田地点流量を示した。調査期間中、野田地点流量は 20~1065 m³/秒の間で推移し、過塩素酸濃度は秋期の増水時に低くなる傾向が見られたが、江戸川水系での過塩素酸濃度は 2~7 μg/L であった。

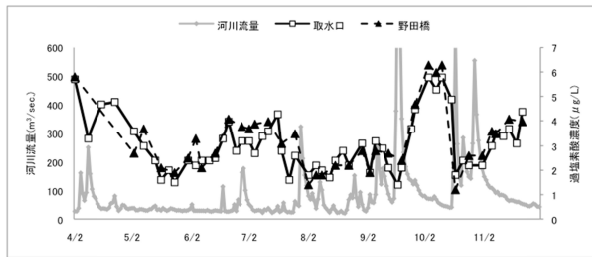


図 1 2 調査期間における過塩素酸濃度の推移(取水口・野田橋)と江戸川野田地点流量

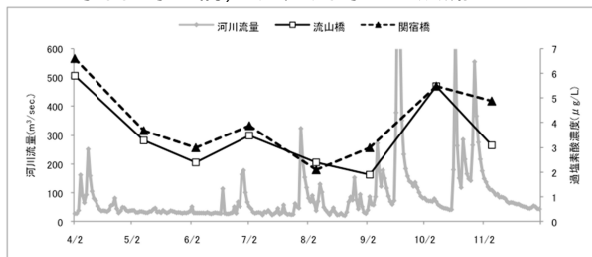


図 1 3 調査期間における過塩素酸濃度の推移(流山橋・関宿橋)と江戸川野田地点流量

3. ホルムアルデヒド前駆物質に関する実態調査(大阪市水道局)

調査対象物質の目標定量下限値は、塩素処理によりホルムアルデヒドの水質基準値の 1/10 の濃度 (0.008 mg/L) を生成する濃度とした。目標定量下限値の算出には検討会の中で報告された塩素処理によるホルムアルデヒド生成率¹⁾(実験による平均重量生成率%)を用いた。分析には液体クロマトグラフ - タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた。各物質の目標定量下限値を表 2 に示す。

8 物質の一斉分析法の開発を試みたが、分離カラムへの保持特性が物質により異なることから、単一の分離モードにより 8 物質すべてを保持することは困難であった。そこで、逆相クロマトグラフィー (RPLC) (カラム: ACQUITY UPLC BEH C18 (粒径 1.7 μm, 内径 2.1×100 mm) (Waters 製)) と親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) (カラム: ACQUITY UPLC BEH Amide (粒径 1.7 μm, 内径 2.1×100 mm) (Waters 製)) の 2 つの分離モードを用いて測定を行うこととした。調査対象の 8 物質のうち、表 2 に示したように 3 物質は RPLC モード、5 物質は HILIC モードによる分析法を採用した。HILIC モードにより分析を行う 5 物質については、表 2 に示したようにヘキサメチレンテトラミンを除き、目標定量下限値を下回る定量下限値となり、迅速 (1 測定 5 分) な分析が可能となった。混合標準液 10 μg/L (各物質の目標定量下限値付近の濃度) の SRM クロマトグラムを図 1 4 に示す。なお、RPLC モードの分析法については、現在分析条件を検討中である。

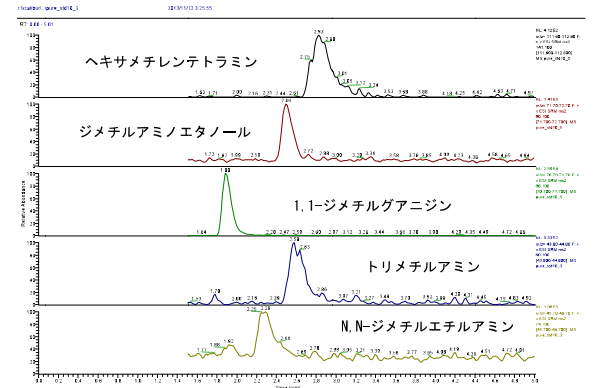


図 1 4 HILIC モードでの各物質の SRM クロマトグラム (添加濃度:10 μg/L)

HILIC モードによる分析法での測定対象物質 5 物質について、本市柴島浄水場における浄水処理過程での実態調査を平成 25 年 11 月 25 日に行った結果を表 9 に示す。

実態調査の結果、各処理水中の濃度はいずれの物質についても定量下限値未満であった。これら 5 物質のうち、ヘキサメチレンテトラミン

以外の物質については、現時点では排出・移動量が公表されておらず、公共用水域における検出状況についても公表データは存在しない。これらの物質を原因とする水質事故が万一起こった場合の検知に役立てることを目的として、今後水道水源や浄水処理過程における実態調査のデータを蓄積し、平常時の存在実態を明らかにすることが必要であると考えられる。

表9 調査結果

物質名	単位: µg/L						
	原水	濾過次亜塩素酸処理水	中オゾン処理水	後オゾン処理水	後オゾン処理水	GAC処理水	浄水
ヘキサメチレンテトラミン	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
ジメチルアミノエタノール	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
1,1-ジメチルグアニジン	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
トリメチルアミン	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
N,N-ジメチルエチルアミン	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

HMTは遊離塩素条件下で、量論的にホルムアルデヒドを生成する一方、オゾン処理を行った場合にはホルムアルデヒド生成能をもたない化合物に変化することは報告されている⁹⁾が、実際どのような化合物に変化しているかは報告されていない。図15に、10 mg/LのHMT水溶液をオゾン処理し、1分間隔で採水した試料のIC-MSMSスキャンTICクロマトグラムを示した。オゾン接触により、HMT（保持時間 23.5分）のピークが減少していく一方、保持時間21.5分にピーク（以下、ピークX）が出現した。HMTとピークXのESIマスマスペクトルを比較すると、ピークXの擬分子イオン（ $[M+H]^+$ ）は157であり、HMTのそれと比較してm/zが16大きかった。また、HMTとピークXのIC-MSMSによるプロダクトスキャンの結果を比較すると、検出されるフラグメントイオンが類似しており、ピークXとHMTは類似した骨格を持つ化合物であると考えられた。そこでLamとMakの方法により合成したHMT N-oxideとピークXの保持時間及びプロダクトスキャンのスペクトルパターンを比較したところ、これらが完全に一致し、ピークXすなわち、HMTのオゾン処理による生成物が、HMT N-oxide（ $C_6H_{12}N_4O$ ）であることが確認された。一般に3級アミンを過酸化水素やオゾンで酸化すると、容易にN-oxideに酸化されることが知られており¹⁰⁾、HMTにおいても同様の反応が進行することが確認できた。

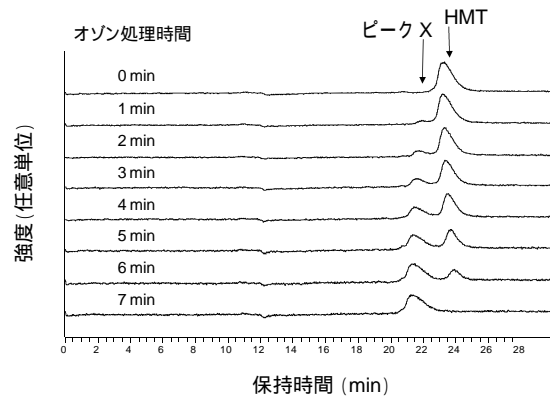


図15 オゾン処理によるHMTのクロマトグラムの変化(HMT初期濃度10 mg/L, TIC(m/z=20-30))

4. 消毒副生成物等の生成実態と低減化対策

4.1 東京都水道局による調査

(1) 色度とトリクロロ酢酸生成能との関係

小河内浄水所原水は消毒副生成物の前駆物質であるフミン質に起因する色度が高いことから、色度をトリクロロ酢酸生成能の指標とすることができるか確認した。

その結果、ろ過水色度とトリクロロ酢酸生成能との間に一定の相関関係が認められた（図16）ため、色度をトリクロロ酢酸の指標として検討を進めることとした。ただし、色度とトリクロロ酢酸生成能との関係はある程度の幅が認められるため、強化後の水質基準値を確実に遵守するためには、色度に対するトリクロロ酢酸生成能が最も高い場合（図16中 赤の破線）を想定して対策を講じる必要がある。図16より、トリクロロ酢酸を強化後の水質基準値0.03 mg/L以下とするためには、塩素注入前のろ過水色度（比色）を2度以下とする必要があることがわかった。

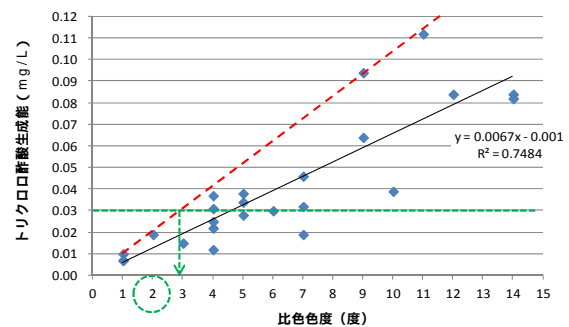


図16 色度とトリクロロ酢酸生成能の関係

(2) 緩速ろ過池への粒状活性炭の敷き込み

消毒副生成物であるトリクロロ酢酸の生成を抑制するためには、塩素注入前にトリクロロ酢酸前駆物質を除去する必要があるため、緩速ろ過池に粒状活性炭を8 cmの厚さで直接敷き込み、前駆物質の除去を試みた。

その結果、粒状活性炭の敷き込みにより、トリクロロ酢酸の指標である色度を低減させる効果が認められ、調査期間中のろ過水色度はおおむね2度以下で推移していたものの、2度を超える場合もみられた。

(3) ろ過継続日数とトリクロロ酢酸生成能抑制効果

小河内浄水所ではこれまで、ろ過砂削り取り後の養生期間も含め、約3か月程度ろ過を継続するサイクルで運転を行っていた。粒状活性炭を敷き込んだろ過池においても同様のサイクルでろ過を行っていたことから、ろ過継続日数が長いために活性炭が破過し、トリクロロ酢酸前駆物質が漏れいしていることが考えられた。能の関係を調査した(図中の色度は吸光光度法により測定)。

図17から、各池とも少なくとも60日程度は安定してトリクロロ酢酸前駆物質を除去できていたが、それ以上ろ過継続日数が増えると、特に原水色度が高い場合にろ過水のトリクロロ酢酸生成能が0.03 mg/Lを超過する事例がみられた。このことから、ろ過池へ直接敷き込んだ粒状活性炭は60日程度で交換すること、原水色度上昇時には必要に応じてピークカットを行うことが望ましいことがわかった。

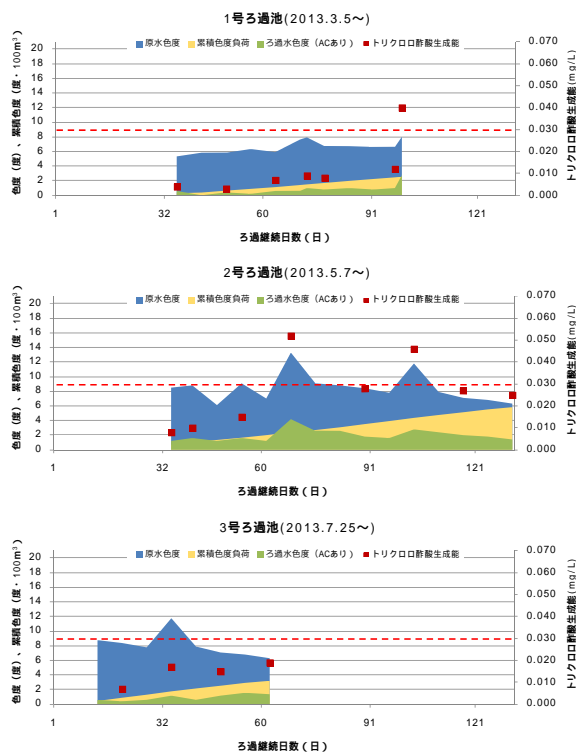


図17 各池のろ過継続日数とトリクロロ酢酸生成能

4.2 奈良県水道局による調査

図18に桜井浄水場の浄水のジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸の推移と前塩素注入率について示した。前塩素注入率が高い4月~5月、11月中旬以降のジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸の濃度はトリクロロ酢酸が高くなっている。

このことから、トリクロロ酢酸の凝集処理による低減効果は大きく、中間塩素処理と凝集強化(PAC増量)で3割程度の低減化対策は可能と思われる。前塩素注入率が0.2 ppm以下の場合、浄水のジクロロ酢酸はトリクロロ酢酸より高く、前塩素注入率が0.2 ppmより高い場合は、逆転する。

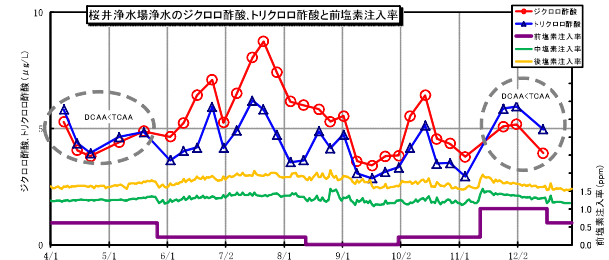


図18 桜井浄水場浄水のジクロロ酢酸トリクロロ酢酸と前塩素中(有)率粉末活性炭注入率

4.3 川崎市上下水道局による調査

本市の主要な水源である相模湖のダム放流水(浄水場原水に相当)について、採水および試験を行った。この中で、比較的高濃度であった総トリハロメタン、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸およびTOCについて図19に示す。9月の採水は台風18号による大雨の翌日だったため、濁度の上昇に伴って消毒副生成物およびその他の理化学試験項目において高い値を示した。

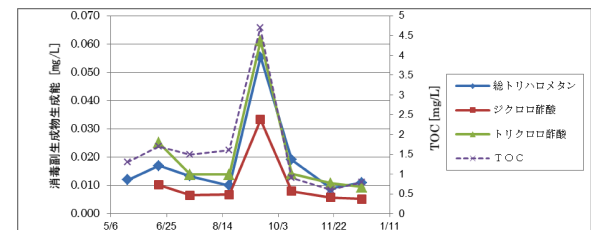


図19 原水における総トリハロメタン、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸およびTOC

4.4 大阪広域水道企業団による調査

表10中の消毒副生成物生成能の結果を用いて主成分分析を行い、各汚濁源の特徴について解析を試みた。

主成分分析により算出された寄与率を表11に示す。第2主成分までの累積寄与率(情報量)が94%であり、また固有値も1を超えているため、本データの解析には第1及び第2主成分を用いた。

表 10 宇治川 各項目測定結果
(平成25年度10月, 12月の平均値)

地点	THMFP	ホルムアルデヒドFP	アセトアルデヒドFP	モノクロ酢酸FP	ジクロ酢酸FP	トリクロ酢酸FP
瀬田川大橋	0.036	0.003	0.001	0.001	0.011	0.014
山科川丹後橋	0.064	0.025	0.006	0.002	0.010	0.014
東高瀬川三栖橋	0.042	0.003	0.001	0.001	0.012	0.019
X処理場	0.076	0.042	0.010	0.003	0.017	0.019
久御山排水機場	0.046	0.012	0.002	0.002	0.023	0.034
大池樋門	0.084	0.025	0.011	0.005	0.029	0.040
宇治川御幸橋	0.037	0.004	0.001	0.001	0.010	0.016

地点	ジクロロアセトニトリルFP	抱水クロラールFP	TOXFP	TOC	総窒素	N / TOC
瀬田川大橋	0.002	0.005	0.083	1.6	0.4	0.2
山科川丹後橋	0.004	0.009	0.169	2.8	5.7	2.0
東高瀬川三栖橋	0.003	0.006	0.099	1.6	1.0	0.6
X処理場	0.006	0.032	0.235	4.2	9.4	2.2
久御山排水機場	0.005	0.013	0.140	1.4	1.7	1.2
大池樋門	0.009	0.020	0.386	4.8	8.4	1.7
宇治川御幸橋	0.002	0.006	0.089	1.6	0.7	0.4

表 11 宇治川 各項目測定結果
(平成25年度10月, 12月の平均値)

主成分	固有値	寄与率	累積寄与率
第1	7.01	0.78	0.78
第2	1.49	0.17	0.94
第3	0.40	0.04	0.99
第4	0.09	0.01	1.00
...
第9	0.00	0.00	1.00

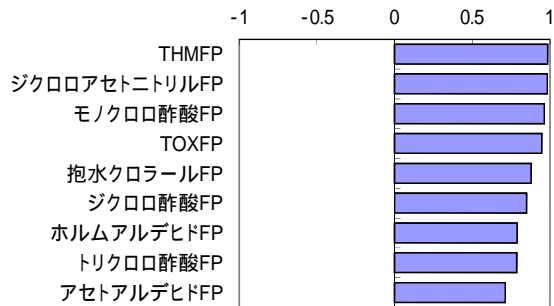


図 20 主成分負荷量 第1主成分・・・汚濁度

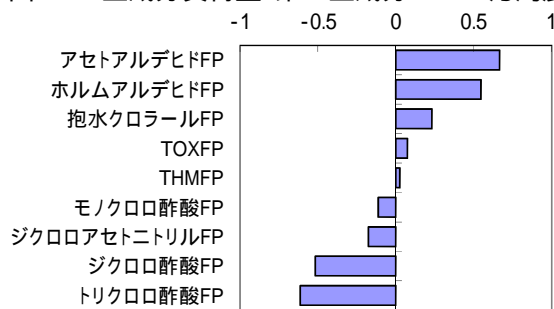


図 21 主成分負荷量 第2主成分・・・前駆物質の種類, 組成

第1及び第2主成分の主成分負荷量を図 20 及び図 21 に示す。第1主成分の負荷量について、各要素の係数がすべて0.7以上であることから、第1主成分は各汚濁源の汚濁度の指標と考えることができる。第2主成分の負荷量について、各要素の係数は項目によって正と負に分かれている。正の数値を示すものは主にアルデヒドの前

駆物質であり、負の数値を示すものは主に八口酢酸の前駆物質であった。このことから、第2主成分は前駆物質の種類や組成に関する指標と類推できる。

各調査地点のデータを基に、第1及び第2主成分の主成分得点を計算しプロットしたものを図 22 に示す。前述のとおり、第1主成分(横軸)は調査地点での水質の汚濁度を比較することができる。今回の解析では、久御山排水機場、大池樋門、X処理場から排出される水の消毒副生成物前駆物質の汚濁度が比較的高い結果となった。瀬田川大橋、東高瀬川三栖橋、宇治川御幸橋の3地点については、比較的清潔な水質特性を示している。

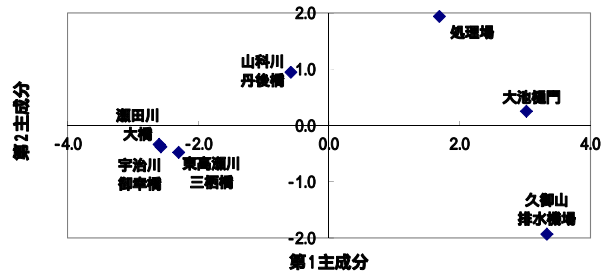


図 22 消毒副生成物生成能の主成分分析結果

一方、第2主成分(縦軸)は前駆物質の種類や組成に関する指標と考えることができる。X処理場の排水は正の値であることからアルデヒドの前駆物質を、また久御山排水機場の排水は負の値であることから八口酢酸の前駆物質を、相対的に多く含んでいることを示している。大池樋門の第2主成分値は0.3付近であるが、第1主成分値が高いことから、これは清潔を意味するものではなく主成分負荷量の正と負の値が相殺している結果であり、第2主成分の絶対値としては高い値を示すものと考えられる。

5. ジクロロベンゾキノン(DCBQ)の測定法検討と実態調査(国立保健医療科学院)

12箇所の浄水場の系統の給水栓水でのDCBQの検出状況を図 23 に示した。原水については全て不検出であった。夏季・冬季ともにI浄水場を除く11箇所の浄水場の系統の給水栓水からDCBQが検出された。その濃度範囲は8-51 ng/Lであり、米国・カナダでの調査¹¹⁾での5-275 ng/Lに比べて低い濃度範囲であった。また、定量的構造活性相関(QSTR)で予測されたDCBQの最少毒性量¹²⁾から筆者が算出した推定評価値200 ng/L*を超過する地点は無かったが、推定評価値の1/10である20 ng/Lを超過する地点が3地点あった。DCBQが不検出であったI浄水場はオゾン・生物活性炭の高度浄水処理を導入していることから、高度浄水処理によってDCBQまたはその前駆物質が除去できる可能性が示唆された。しかし、同じく高度浄水処理を導入しているL浄

水場では低い値ながらもDCBQが検出されている。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浄水場よりも低かったことが、検出された原因と推測された。また、季節的な比較をすると、冬季に比べて夏季の方が、濃度が高い傾向が見られたが、ウィルコクソンの符号順位検定の結果、有意差は認められなかった。

また、水道水におけるDCBQと既知の消毒副生成物との関係性を調べるために、総THMsを測定し、DCBQとの相関をみた。THMsのうちDCBQと同様に塩素のみが結合しているクロロホルムとの相関を図24に示した。クロロホルムとの関係性は、決定係数が0.46と低いことから、関係性は小さいと考えられた。また、夏季に比べて冬季の方がより関係性が小さい傾向がみられた。この原因として、THMsとの浄水処理での除去性の違いや生成特性の違いが影響していると考えられた。

*** 推定評価値の計算方法**

$$\text{推定評価値} = \frac{49 \text{ (mg/kg/日) (推定 LOAEL)}}{1000} \times \frac{50 \text{ (kg)} \times 0.2}{2 \text{ (L)}} \approx 200 \text{ (ng/L)}$$

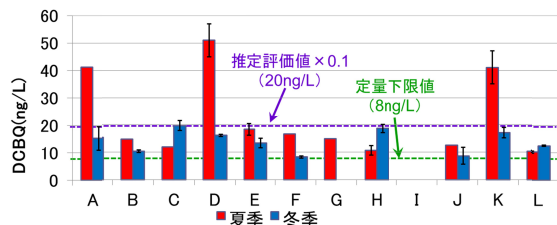


図23 全国12箇所の給水柱水のDCBQ濃度

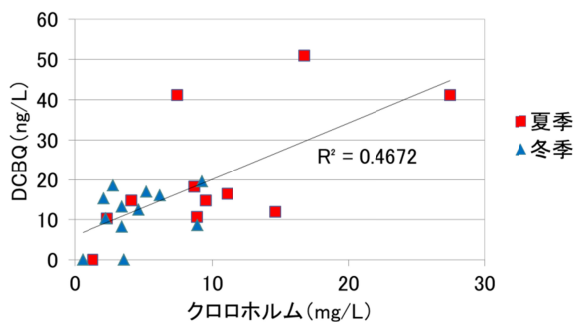


図24 給水柱水におけるDCBQとクロロホルムの関係

6. 含ヨウ素消毒副生成物と前駆体に関する実態調査(京都大学)

図25に硝酸銀添加時のBr⁻の濃度を示す。下水処理水では0.3 mMで約90%、琵琶湖水では0.1 mMでほぼ100%が除去された。このことから、以下の実験では、下水処理水では硝酸銀を0.3 mM、琵琶湖水では0.1 mMでI⁻が除去されたものと仮定した。なおこれらの硝酸銀添加量では、ろ過後のそれぞれのTOCが大きく変化しないことを確認した(図26)。

図27に、硝酸銀添加によりI⁻を除去した場合のDCIMの生成量を示す。除去した場合のほうがDCIM生成量は少なくなったがその減少の程度は数10%であり、I⁻が除去されても一定程度のDCIMは生成することが確認できた。過去の調査で琵琶湖水中にも有機態ヨウ素(Adsorbable Organic Iodine, AOIとして測定)が検出されていること¹³⁾を考慮すると、有機態ヨウ素が塩素化されてDCIMが生成する経路が存在する可能性がある。また、I⁻の除去操作の有無によらず、下水処理水のDCIM生成量は、琵琶湖水のそれよりも低かった。この原因についてはさらなる検討を要するが、可能性としては、下水処理水中の有機物は、琵琶湖水中溶存有機物よりも反応性が高く優先的に塩素化反応に消費されてしまったことや、溶存有機物の構造の違いが考えられる。

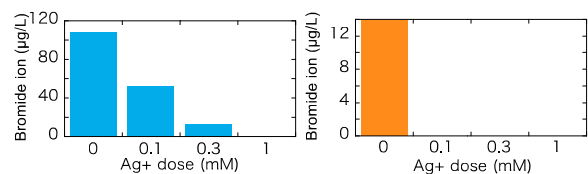


図25 硝酸銀添加の臭化物イオン濃度への影響 (左: 下水処理水, 右: 琵琶湖水)

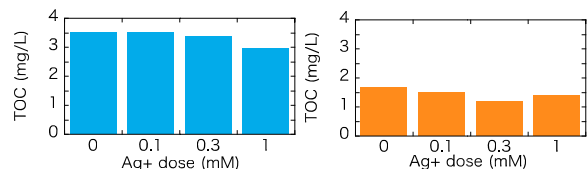


図26 硝酸銀添加のTOCへの影響 (左: 下水処理水, 右: 琵琶湖水)

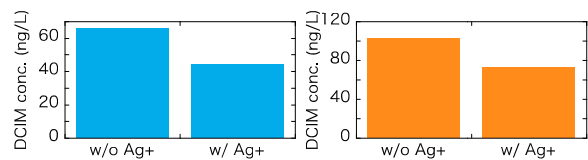


図27 I⁻除去のDCIM生成量への影響 (左: 下水処理水, 右: 琵琶湖水)

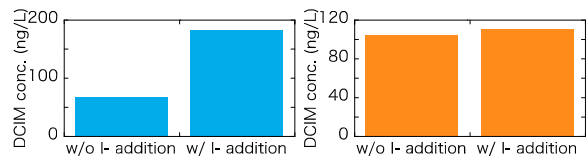


図28 I⁻添加(10 µg/L)のDCIM生成量への影響 (左: 下水処理水, 右: 琵琶湖水)

図28にI⁻を10 µg/L添加した場合のDCIMの生成量を示す。無添加時と比較すると下水処理水については、2倍以上に増加した一方で、琵琶湖水については増加が見られなかった。後者の結果については有機態ヨウ素がDCIMの前駆体となっているという仮説と矛盾しない。下水処

理水については、有機や無機の結合ヨウ素が生成し、DCIMの生成に至る経路も考えられた。

7.1 共存物質とオゾン処理によるトリクロロアミンの生成への影響の検討(国立保健医療科学院)

(1) 共存物質の影響

図29にアンモニアからのトリクロロアミン生成に及ぼす共存有機物の影響について示す。SWについてはこれまでの研究結果と同様に、トリクロロアミン生成に対して大きな抑制効果が認められた。フェノールとレゾルシノールについては、塩素消費量が大きく、共に大きな抑制効果が認められた。最も抑制効果のあったフェノールについては、結果が定量下限値未満であったため生成能は0となっている。残りの化学物質については、塩素を消費しない物質であるが、この中で抑制効果の認められた物質はフタル酸水素イオン、安息香酸イオン、ホルムアルデヒド、ギ酸であった。芳香族化合物は抑制効果があるが、それ以外の物質でも、抑制効果がある物質があることが示された。

フタル酸、安息香酸、グルコース、エタノール、酢酸については、共存物質の濃度を1 mg-C/Lから3 mg-C/Lに上げて抑制効果の検証を行った(図30)。その結果、1 mg-C/Lで抑制効果のなかった3物質については、濃度を上げても効果に違いは見られなかったが、1 mg-C/Lで抑制効果の確認できたフタル酸、安息香酸の2物質については、濃度を上げることで生成能が若干低下した。

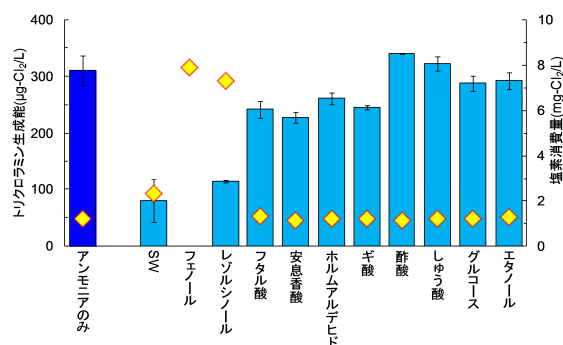


図29 トリクロロアミン生成能に対する共存物質の影響(棒グラフはトリクロロアミン生成量, は塩素消費量を表す)

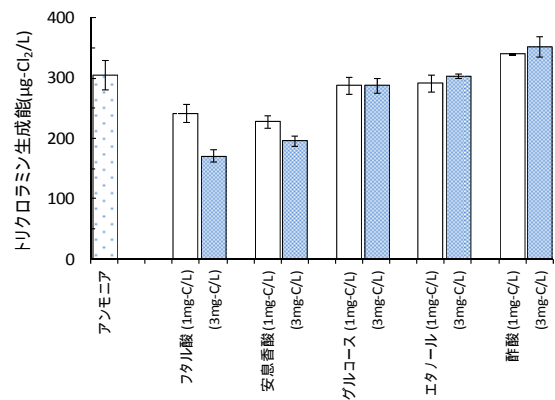


図30 トリクロロアミン生成能に対する共存物質の影響(共存物質濃度の影響)

(2) オゾン処理による影響

図31に、オゾン処理によるトリクロロアミン生成能への影響を示す。SW、フェノールについては、オゾン処理によってトリクロロアミン生成能が増加した。これは、オゾンと反応しやすい物質の方が、トリクロロアミン生成抑制が大きいいため、オゾン処理によってこれら物質が分解されたためと考えられた。また、フタル酸については、オゾン処理によってトリクロロアミン生成能は変わらず、塩素消費量は増加した。これは、オゾン処理によって塩素消費しやすい物質が生成されたためと考えられた。

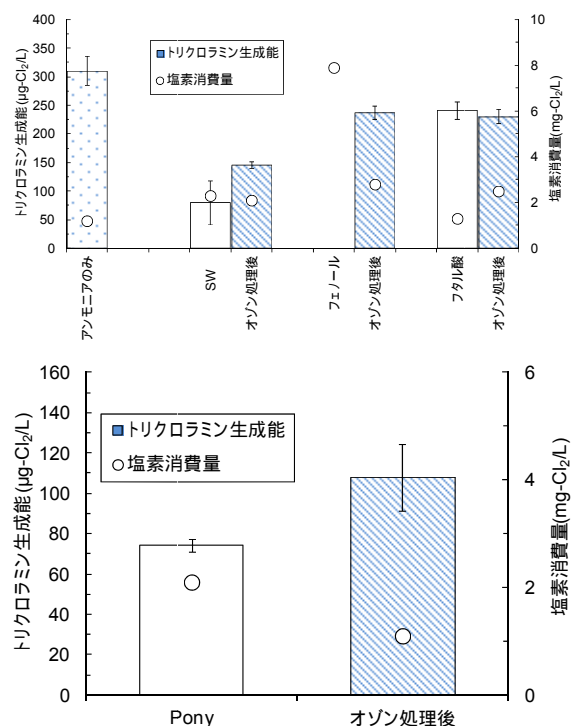


図31 オゾン処理によるトリクロロアミン生成能への影響

Pony湖NOMについても同様の検討をした。Pony湖は、有機態窒素濃度が高く、トリクロロアミン

ン生成能も高かったため、アンモニアの添加は行わなかった。Pony湖の場合も、同様にオゾン処理によって、塩素消費量は低下し、トリクロラミン生成能は増加した。この結果からも、共存物質のうち、塩素消費しやすい物質については、抑制効果が低減することがわかった。また、この結果は、過去の報告にある実際の高度浄水プロセスの結果を支持するものであった。

7.2 活性炭によるトリクロラミンの除去メカニズムの検討(北海道大学)

(1) 活性炭によるトリクロラミンの「還元的分解」の確認

2回実験を行ったところ、活性炭処理前の液相中のトリクロラミン濃度は、それぞれ 230 $\mu\text{g}\cdot\text{Cl}_2/\text{L}$ (液量 630 mL) と 330 $\mu\text{g}\cdot\text{Cl}_2/\text{L}$ (液量 600 mL) であった。また、活性炭処理後の液相中からはトリクロラミンは検出されなかった。すなわち、トリクロラミンは活性炭により完全に除去されたと考えられた。仮にこの除去が、トリクロラミンの活性炭への吸着ではなく、活性炭による還元的分解だとすると、生成する窒素ガス量は、それぞれ 10.4 μg と 13.7 μg と計算される(図3 2の「計算値」)。

一方、活性炭添加後にセパラブルフラスコ上部の気相部分(気体量 150 mL)での同位体窒素ガス濃度はそれぞれ 53 ppm と 70 ppm であった。これは、9.8 μg と 12.9 μg に相当する(図3 2の「実測値」)。このように、計算値と実測値がほぼ一致した。すなわち、活性炭によるトリクロラミンの除去は、活性炭への吸着ではなく、窒素ガスへの還元的分解であることが定量的に示された。

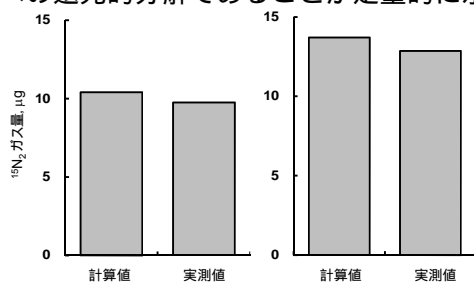


図3 2 活性炭処理により生成した同位体窒素ガス量の計算値と実測値の比較

(2) フェニルアラニン塩素処理に由来するカルキ臭の同定と活性炭による処理

(a) フェニルアラニンの塩素処理により生成される物質の同定

図3 3にフェニルアラニン塩素処理溶液をP&T-GC/MSで測定した際のTICチャートを示す。図に示すように、フェニルアラニン塩素処理溶液からは6つのピークが確認された。それぞれのピークのマススペクトルから、GC保持時間

の短い方からクロロベンゼン、ベンズアルデヒド、ベンゾニトリル、塩化ベンジル、フェニルアセトアルデヒド、フェニルアセトニトリルと推定された。これらの6物質は標準物質が市販されているため、それらを購入し同じ条件にてP&T-GC/MSで測定したところ、これらのピークと保持時間とマススペクトルが一致したため、この推定は正しいものと判断された。これらの物質のうち、フェニルアセトアルデヒド¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾とフェニルアセトニトリル¹⁶⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾は、既存研究よりフェニルアラニンの塩素処理にて生成されるとの報告がある。しかしながら、本研究で検出されたクロロベンゼン、ベンズアルデヒド、ベンゾニトリル、塩化ベンジルの4種の物質の生成の報告はこれまでにない。一方で、N-クロロフェニルアラニンがフェニルアラニンの塩素処理で生成されるとの報告¹⁶⁾¹⁸⁾¹⁹⁾があるが、本研究では検出されなかった。N-クロロフェニルアラニンが、Cl/N比(モル比)が小さい場合(Cl/N \approx 1)に生成されるのに対し¹⁹⁾、本研究で行った塩素処理条件ではCl/N比が34と大きいため生成されなかったのではないかと推察された。

図3 4に、検出された生成物の定量結果を示す。フェニルアラニンの塩素処理における主生成物は、フェニルアセトアルデヒドとフェニルアセトニトリルであり、これらを合わせると、初期添加フェニルアラニンの87%(ベンゼン環の物質収支として)をカバーした。また、その他の検出された物質(塩化ベンジル、ベンゾニトリル、クロロベンゼン、ベンズアルデヒド)はいずれもマイナーな生成物であり、合計しても5%程度であった。以上の6種の生成物を合計すると初期添加フェニルアラニンの92%を説明できたが、残りの8%は不明であった。

一方、フェニルアラニン塩素処理溶液からはトリクロラミンが検出された。小坂ら(2010)²¹⁾もフェニルアラニンを塩素処理するとトリクロラミンが生成したと報告しており、本研究の結果と定性的に一致する。HS-GC/MS法により生成されたトリクロラミンを定量したところ、60 $\mu\text{g}\cdot\text{Cl}_2/\text{L}$ (0.28 μM) であった。塩素添加前のフェニルアラニン濃度が1 μM で、フェニルアラニンには窒素原子が1つ含まれるため、塩素処理によるフェニルアラニン中窒素のトリクロラミンへの変換率は38%であると判断された。また、フェニルアラニン塩素処理溶液からは、モノクロラミンもジクロラミンも検出されなかった。遊離残留塩素は1000 $\mu\text{g}\cdot\text{Cl}_2/\text{L}$ (14 μM) であった。

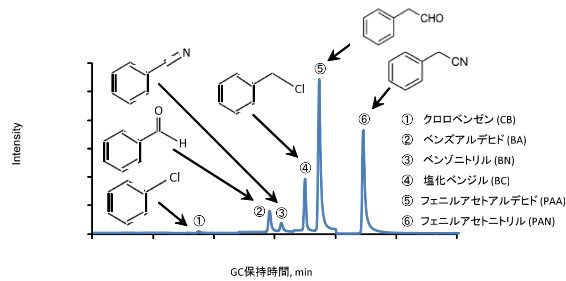


図3-3 フェニルアラニン塩素処理溶液の P&T-GC/MS TIC チャート

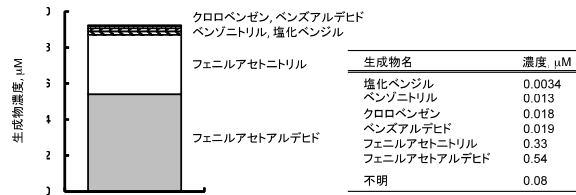


図3-4 フェニルアラニン塩素処理溶液中の生成物濃度

(b) フェニルアラニン塩素処理溶液の臭気強度と生成物の臭気への寄与

まず、フェニルアラニン塩素処理溶液の臭気強度を臭気三点比較法により測定した。その結果、フェニルアラニン塩素処理溶液の臭気強度は142であった。

表1-2 三点比較法による生成物の臭気閾値

生成物名	本研究で求めた閾値 μM	μg/L	文献による閾値 μg/L
塩化ベンジル	0.025	3.1	12 ⁹⁾
ベンゾニトリル	0.26	27	
クロロベンゼン	0.31	35	50 ⁸⁾
ベンズアルデヒド	0.79	84	350 ⁷⁾ , 2000 ⁹⁾ , 4600 ¹⁰⁾
フェニルアセトニトリル	0.027	3.2	30 ²⁾
フェニルアセトアルデヒド	0.035	4.2	4 ³⁾ , 4 ⁴⁾ , 1200 ²⁾
トリクロラミン			50 ¹⁾
遊離塩素			

- Piriou, P., Mackey, E. D., Suffet, I. H. and Bruchet, A. (2004) Chlorinous flavor perception in drinking water, *Water Science and Technology*, 49(9), 321-328.
- Freuze, I., Brosillon, S., Laplanche, A., Tozza, D. and Cavard, J. (2005) Effect of chlorination on the formation of odorous disinfection by-products, *Water Research*, 39, 2636-2642.
- Nogueiro-Pato, R., Gonzalez-Alvarez, M., Gonzalez-Barreiro, C., Cancho-Grande, B. and Simal-Gandara, J. (2013) Evolution of the aromatic profile in *Garnacha Tintorea* grapes during raisining and comparison with that of the naturally sweet wine obtained, *Food Chemistry*, 139, 1052-1061.
- Eduardo, I., Chietera, G., Bassi, D., Rossinih, L. and Vecchiotta, A. (2010) Identification of key odor volatile compounds in the essential oil of nine peach accessions, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 11461-154.
- Nogueiro-Pato, R., Gonzalez-Rodriguez, R. M., Gonzalez-Barreiro, C., Cancho-Grande, B. and Simal-Gandara, J. (2011) Influence of tebuconazole residues on the aroma composition of Mencia red wines, *Food Chemistry*, 124, 1525-1532.
- Amore, J. E. and Hautala, E. (1983) Odor as an aid to chemical safety: odor thresholds compared with threshold limit values and volatilities for 214 industrial chemicals in air and water dilution, *Journal of Applied Toxicology*, 3(6), 272-290.
- Buttery, R. G., Turnbaugh, J. G. and Ling, L. C. (1988) Contribution of volatiles to rice aroma, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 1006-1009.

次に、前節にて検出された6物質と、遊離塩素、トリクロラミンについて臭気三点比較法を行い、それぞれの臭気閾値を算出した(表1-2)。

単位モル当たりの臭気閾値は、トリクロラミン、塩化ベンジル、フェニルアセトニトリル、フェニルアセトアルデヒドが小さく、特にトリクロラミンの閾値が小さかった。一方、ベンゾニトリルとクロロベンゼンは、これら4物質より1ケタほど閾値が大きくなり、さらにベンズアルデヒドと遊離塩素は20~30倍程度大きかった。ここで得られた臭気閾値を文献値と比較すると、遊離塩素を除いて、本研究で得られた閾値の方が文献値

より小さかった。この差は、用いた官能試験法が異なるためではないかと推察されるが、既存文献には官能試験の方法が記されていないため、その理由は現段階では不明である。

一方、各物質の臭気閾値を、図3-4に示したフェニルアラニン塩素処理溶液中での検出濃度と比較すると、塩化ベンジル、ベンゾニトリル、クロロベンゼン、ベンズアルデヒドの4物質は臭気閾値より検出濃度の方が小さく、フェニルアセトニトリル、フェニルアセトアルデヒド、トリクロラミン、遊離塩素の4物質は臭気閾値より検出濃度の方が大きかった。すなわち、前者4物質はフェニルアラニン塩素処理溶液が有するカルキ臭に寄与しないが、後者4物質は寄与すると判断された。

そこで、それぞれの物質(後者4物質)について、検出濃度を臭気閾値で除した値を算出し、フェニルアラニン塩素処理溶液中でそれぞれの物質が有する臭気強度を計算した。例えばフェニルアセトニトリルの場合、検出濃度が0.33 μMで、臭気閾値が0.027 μMであるため、その臭気強度は12(0.33 / 0.027)と算定される。このように算定した4物質の臭気強度を積み上げ、フェニルアラニン塩素処理溶液の臭気強度と比較したものが図3-5である。前述の通り、臭気三点比較法で測定したフェニルアラニン塩素処理溶液の臭気強度は142であったのに対し、遊離塩素、トリクロラミン、フェニルアセトアルデヒド、フェニルアセトニトリルの4種の生成物の個々の臭気強度を積み上げて66であった。前節で示したとおり、フェニルアラニンの塩素処理後の試料では、(主骨格のベンゼン環の収支として)92%を同定することに成功したが、それらとトリクロラミンなどを合わせても、フェニルアラニン塩素処理溶液の臭気強度の46%しか説明することができなかった。このことは、(1)これらの物質の間に臭気の相乗効果があり、相加的に臭気強度を積算すると過小評価となる、(2)前節で定量できていない生成物が生成されており、その物質が臭気に貢献している、あるいはその両方の可能性を意味する。

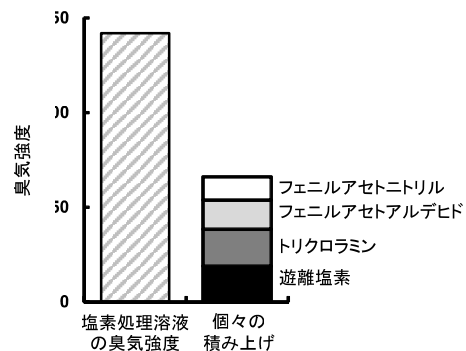


図3-5 フェニルアラニン塩素処理溶液中の生成物濃度

そこで、まず(1)の可能性を確かめるため、遊離塩素、トリクロラミン、フェニルアセトアルデヒド、フェニルアセトニトリルの4種の生成物を、フェニルアラニン塩素処理溶液中と同濃度になるように調整した試料を作成し、その混合溶液の臭気強度を臭気三点比較法により測定した。結果を図36に示す。4種の生成物の混合溶液の臭気強度は、個々の物質の臭気強度の積み上げ値とほぼ等しかった。すなわち、これら4種の生成物間には臭気についての相乗効果はなく、相加的に積算することが可能であることが示された。よって、図35に示したフェニルアラニン塩素処理溶液の臭気強度と積み上げ値の間の差には、これら4種以外の生成物が寄与している可能性が示唆された。

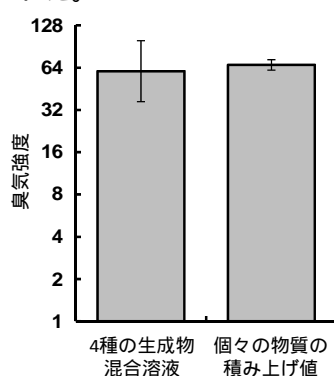


図36 4種の生成物間の相加/相乗効果の確認(n=3)

(c) スニッフィング GC/MS システムによる臭気を有する生成物の確認

フェニルアラニン塩素処理溶液をクロロホルムにて溶媒抽出し、GC/MSにて測定すると、クロマトグラム上に3つのピークが確認された(図なし)。このうちの2つのピークは、P&T-GC/MSにて定量されたフェニルアセトアルデヒドとフェニルアセトニトリルであった。残りのピークは、そのマススペクトルが既往研究¹⁶⁾における*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンのものと一致した。すなわち、この物質が本研究で行ったフェニルアラニンの塩素処理により生成されたと判断された。(b)にてフェニルアラニン塩素処理溶液をP&T-GC/MSで測定した際に*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンのピークが確認できなかったのは、(1)この物質が揮発しにくい、(2)P&T-GC/MSのテナックス管にトラップされない、(3)トラップ後の加温により脱着されない、(4)GC/MSの感度が不足しているなどの原因が考えられた。

既存研究でも、フェニルアラニンの塩素処理により*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンが生成されるとの報告があり¹⁶⁾¹⁸⁾¹⁹⁾、本研究の結果を支持する。ところが、この物質は標準品が市

販されていないため、定量ができない¹⁶⁾と同時に、官能試験により臭気を有するか否かの判断ができない。それにも関わらず、一部の論文では本物質の官能試験が行われたような記述があり¹⁸⁾¹⁹⁾、臭気閾値が記載されているものもある(3 μg/L)¹⁹⁾。しかしながら、どのように*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンの標準品を入手(あるいは合成)したかが記述されていないため、その信憑性に疑問が残る。

そこで、スニッフィング GC/MS システムを用いて、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンが臭気を有するか否かを調べた。まず、既往研究¹⁸⁾に従い、フェニルアラニンを氷冷水中で塩素処理することにより、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンを高濃度で生成し(*N*-クロロフェニルアセトアルドイミン溶液)、それをクロロホルムで抽出した後に、スニッフィング GC/MS システムに導入した。但し、図37に示すように、このようにして調整した*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンは純品ではなく、フェニルアセトアルデヒドとフェニルアセトニトリルが共存していることに注意が必要である(すなわち、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミン溶液を臭気三点比較法などで測定しても、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミン単独の臭気強度は分からない)。スニッフィング GC/MS システムによる官能試験の結果、スニッフィング GC/MS の嗅覚感知器から出てくる気体から、3回臭気が確認され、そのタイミングは図37の3本のピークと一致した。すなわち、試料中に含まれていたフェニルアセトアルデヒド、フェニルアセトニトリル、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンは、いずれも臭気を有することが確認された。このように、スニッフィング GC/MS システムを用いることにより、標準物質が市販されていない物質でも、その物質が臭気を有するか否かを判断できること示された。

一方、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミン溶液をP&T-GC/MSにて測定しても、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンのピークは確認されなかった。しかしながら、P&T部のデソープ温度を180 から250 に上げて測定したところ、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンのピークが確認された(図なし)。おそらく、この物質は、P&Tにて揮発し、テナックス管にトラップされるのだが、180 ではデソープされないものだと想像している。そこで、この測定法にて、フェニルアラニン塩素処理溶液をP&T-GC/MSにより測定したが、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンのピークが確認されなかった。フェニルアラニン塩素処理溶液中の*N*-クロロフェニルアセトアルドイミン濃度が低いため、GC/MSの感度が不足して検出されなかったと考えている。今

後、GC/MS の検出器側のチューンナップあるいは、ダイナミックヘッドスペース法などを組み合わせることにより、検出を試みる予定である。従って、現段階では、*N*-クロロフェニルアセトアルドイミンは臭気を有するが、この物質がフェニルアラニン塩素処理溶液の臭気にどの程度寄与しているのかは不明である。

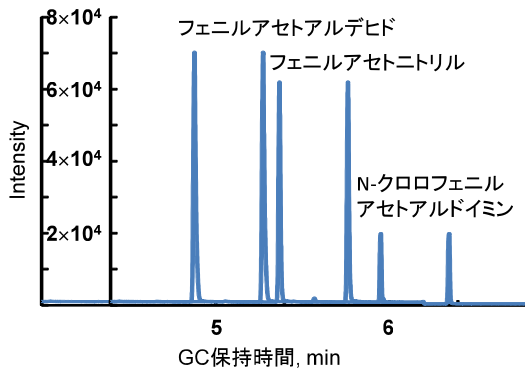


図 3 7 *N*-クロロフェニルアセトアルドイミン溶液のスニッフィング GC/MS 測定結果

(c) 活性炭を用いたフェニルアラニン塩素処理由来の臭気の除去

図 3 8 に活性炭添加によるフェニルアラニン塩素処理溶液の臭気強度の変動を示す。10 mg/L の通常炭添加では、活性炭添加前のフェニルアラニン塩素処理溶液の臭気には、接触5分では大きな現象は観察されなかった。接触時間を30分まで延長すると、臭気強度が 2.4-log_2 減少した（82%除去）。すなわち、活性炭処理により、フェニルアラニンの塩素処理溶液が有する臭気を低減可能であることが示された。さらに、粒径の小さい微粉炭を用いると、5分間の接触時間でも臭気強度を 3.4-log_2 減少させることができた（90%除去）。この除去は、通常炭での30分処理での除去よりも大きかった。さらに微粉炭で30分間処理すると、臭気強度が 4.3-log_2 減少した（95%除去）。このように、微粉炭を用いることにより、通常炭よりはるかに短い接触時間で、通常炭と同等以上の臭気除去が可能であることが分かった。

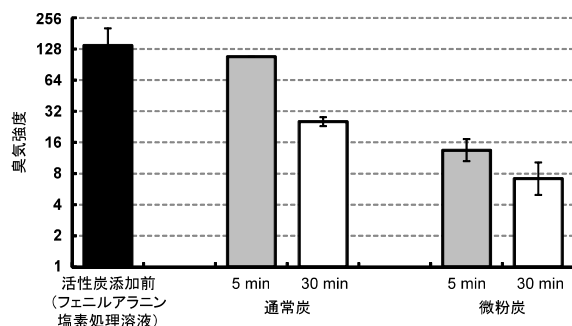


図 3 8 活性炭によるフェニルアラニン塩素処理溶液の臭気の除去(n=5)

8. 揮発性有機窒素の分析法の確立 (京都大学)

8.1 トリクロラミンの気相への移行特性

まず、窒素パーズによりトリクロラミンの気相への移行特性について検討した。窒素パーズ15分間後の1槽のトリクロラミン濃度は $5\text{ }\mu\text{g/L}$ 以下となった。このことからパーズにより充分気相へ移行が可能であることを確認した。このことは、8.2 で述べるトリクロラミンのヘンリー定数が比較的高く、一般的な揮発性有機化合物と同じレンジであることとも一致する。

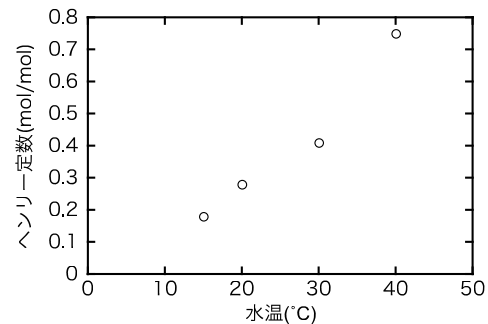


図 3 9 トリクロラミンのヘンリー定数の温度依存性

8.2 トリクロラミンのヘンリー定数

ヘンリー定数の測定結果 ($n=2$ の算術平均値) を図 3 9 に示す。40 におけるヘンリー定数は 0.75 であり、測定回数は2回だけではあるが 0.75 ± 0.06 と再現性があった。また、Ozbek et al.²²⁾はカビ臭物質であるジェオスミンと2-MIBのヘンリー定数の測定を行い、39 においてそれぞれ 0.021 , 0.020 程度であるとしている。つまり本実験で得られたヘンリー定数はカビ臭物質に比べて1オーダー高い結果となった。Holzwarth et al.²³⁾の報告(20 40 の報告のみ)では20 で 0.31 , 40 で 0.74 であり、概ね一致した。その他の物質を含めた40 におけるヘンリー定数の比較を表 1 3 にまとめる。

表 1 3 40 付近におけるヘンリー定数の比較 (ジェオスミン,2-MIBは39 ,それ以外は40)

物質名	ヘンリー定数	文献
HOCl	1.5×10^{-4}	24
モノクロラミン	8.8×10^{-4}	23
ジクロラミン	2.6×10^{-3}	23
トリクロラミン	7.5×10^{-1}	本研究
クロロホルム	2.7×10^{-1}	25
ベンゼン	3.2×10^{-1}	25
四塩化炭素	2.2	26
DCM	2.0×10^{-1}	26
テトラクロロエチレン	1.4	26
トリクロロエチレン	8.0×10^{-1}	26
ジェオスミン	2.1×10^{-2}	22
2-MIB	2.0×10^{-2}	22

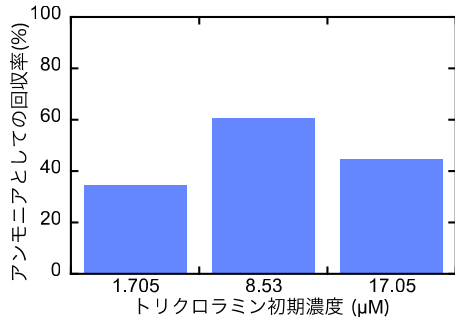


図 4 0 チオ硫酸ナトリウムによりトリクロラミンを還元した場合の回収率(pH 6.2-6.5)

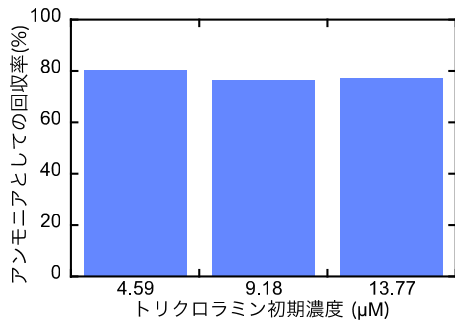


図 4 1 チオ硫酸ナトリウムによりトリクロラミンを還元した場合の回収率(pH 3.0)

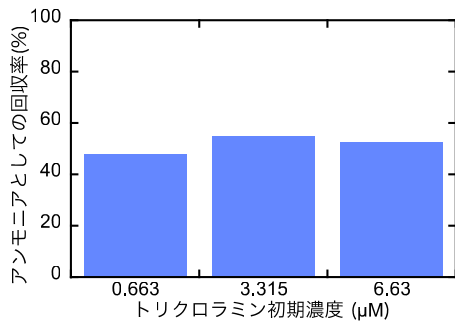


図 4 2 亜硫酸ナトリウムによりトリクロラミンを還元した場合の回収率(pH 6.2-6.5)

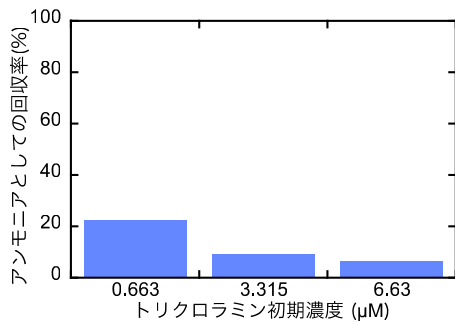


図 4 3 過酸化水素によりトリクロラミンを還元した場合の回収率(pH 6.2-6.5)

8.3 還元剤によるアンモニアとしての回収率

トリクロラミンと各種還元剤を直接反応させ(気相への移行を経由しない), アンモニアに還

元した場合の回収率を調べた。まず, トリクロラミンはチオ硫酸ナトリウムによって 100%ではないが, 一定程度アンモニアに還元されることを確認した(図 4 0, 4 1)。特に酸性条件下ではトリクロラミンは 70-80%程度と高効率で, 中性領域では 30-60%程度回収できた。また, 亜硫酸ナトリウムでも同程度の還元効率が得られた(図 4 2)。過酸化水素による還元効率は低かった(図 4 3)。

8.4 パージと還元による回収率

気相への移行と還元反応が確認できたので装置としての回収率の評価を行った(図 4 4)。現状では, 還元反応自体の回収率よりも低いが, 一定程度アンモニウムイオンとして回収できた。回収液を酸性にした場合には 70-80%の回収効率が得られたが, 最終的なセンサーの可搬性も考え, 中性の試薬を用いて最適化を進めることを考えている。最適化の項目としては, ガラス管内の結露防止のための温調, ガス流速の最適化を行い, 回収率の向上を図る予定である。

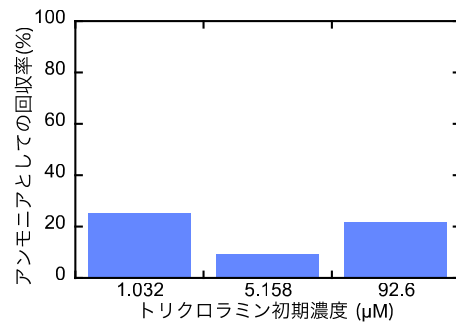


図 4 4 窒素パージと還元によるトリクロラミンのアンモニアとしての回収率(pH 6.5; 還元剤, 10 mM チオ硫酸ナトリウム)

9. 有機クロラミンに関する調査(東京都水道局)

水道用資機材等の浸出試験法に基づき, 1 級アミンについて検討を行い, 小作, 玉川, 金町及び朝霞浄水場の原水等の分析を行った。その結果, 玉川, 金町及び朝霞原水から定量下限値(0.01 mg/L)以上のアミン類が検出された。

アミン類の浄水処理性を把握するため, 金町及び朝霞浄水場工程水の分析を行った。10 月中旬の台風後に調査を行ったため, 原水での検出濃度が 0.00 ~ 0.02 mg/L と低かった。

また, 前段ろ過, オゾン処理では不検出であったが, BAC 処理で定量下限値程度検出されることもあり, 高度浄水処理での処理性は明確にならなかった。

10. 結合塩素濃度とアンモニア態窒素濃度の関係性の調査(千葉県水道局)

栗山浄水場は、図45に示すよう高速凝集沈殿、砂ろ過からなる通常処理の浄水場である。浄水場では毎日試験で浄水処理工程中の着水井(分水井)、ろ過水の遊離塩素、結合塩素濃度を測定しているほか、取水でのアンモニア態窒素濃度を測定している。平成24年度・25年度(11月まで)の水質検査結果をもとに結合塩素の挙動を確認した。結合塩素の測定にはDPD吸光光度法(ハック社製残留塩素計 Pocket Colorimeter)、アンモニア態窒素濃度の測定にはナフトール法を用いている。

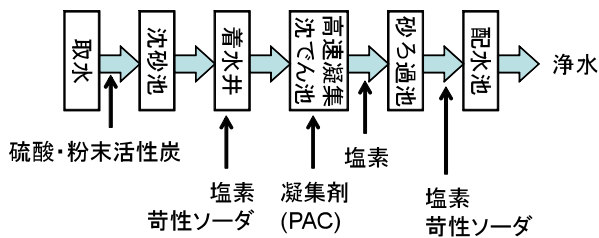


図45 栗山浄水場の浄水処理フロー
(栗山浄水場には1拡施設、2拡施設と2つの施設があるが、いずれも同じ処理フローとなっている。)

取水でのアンモニア濃度と結合塩素濃度には、着水井(図46)、ろ過水(図47)ともに相関があることから、アンモニア態窒素が結合塩素の要因となっていると考えられる。着水とろ水の傾きを比較すると、ろ水の方が小さくなることから、高速凝集沈殿池でのクロラミンの分解が起きていると考えられる。高速凝集沈殿池の運転条件を改善することで、結合塩素の低減ができると考えられる。

また、図46、図47では、原水のアンモニア態窒素濃度が0.02 mgNH₄-N/L未満でも結合塩素が検出されていることから、結合塩素の原因物質としてアンモニア態窒素以外の有機アミンなどが存在している可能性が示唆された。

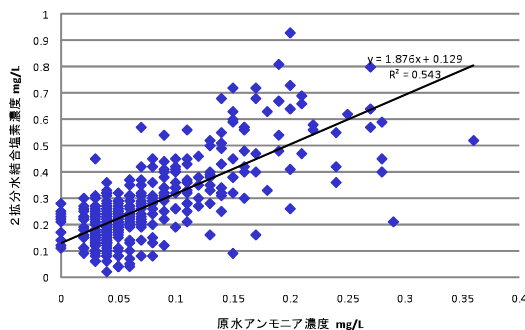


図46 原水のアンモニア態窒素濃度と着水井(分水井)結合塩素濃度の相関

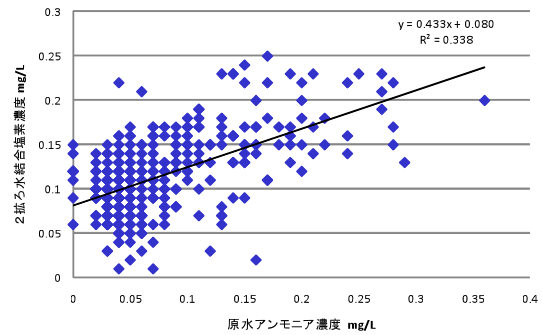


図47 原水のアンモニア態窒素濃度とろ過水結合塩素濃度の相関

E. 結論

- NDMAの長期トレンドおよび生物処理・生物活性炭処理による制御について検討し、淀川水系においては長期的には減少傾向にあること、生物処理・生物活性炭処理でも高い処理性が得られる場合があることを示した。
- ヘキサメチレンテトラミンのオゾン処理における反応生成物として、ヘキサメチレンテトラミン N-オキシドを同定した。
- トリクロロ酢酸の対策技術として緩速ろ過池への粒状活性炭敷き込みの効果を検証した。
- 全国12浄水場システムの給水栓水中のジクロロベンゾキノン(DCBQ)の実態調査を行った結果、11箇所の給水栓水から検出(約10~50 ng/L)した(このうち3箇所では評価値の1/10を超過)。
- ジクロロヨードメタン、ハロアセトニトリル、過塩素酸等の物質について実態調査・生成特性の検討を継続した。
- トリクロラミンの粉末活性炭による除去機構について検討した結果、窒素ガスとしての還元であることが示された。
- 新たなカルキ臭評価指標としての揮発性窒素の測定方法について、還元剤の選定やヘンリー定数の温度依存性の精査等基礎的知見の収集を行った。

F. 参考文献

- Zhao, Y., Qin, F., Boyd, J., Anichina, J., and Li, X.F.: Characterization and determination of chloro- and bromo-benzoquinones as new chlorination disinfection byproducts in drinking water, *Anal. Chem.*, Vol.82, pp.4599-4605, 2010.
- 越後信哉, 森田悠斗, 伊藤禎彦: 琵琶湖・淀川流域の水道水におけるヨウ素系消毒副生成物の存在実態, 土木学会論文集 G(環境), Vol. 69, No. 7, pp. III_85-III_92 2013.

- 3) 森田悠斗, 越後信哉, 伊藤禎彦: ヨード造影剤の琵琶湖・淀川水系及び塩素処理過程における挙動, 土木学会論文集 G(環境), Vol. 67, No. 7, pp. III_1-III_11, 2011.
- 4) 越後信哉, 伊藤禎彦, 宮川幸雄, 谷田慎也: 琵琶湖・淀川水系における臭化物イオンの発生構造, 土木学会論文集 G, Vol.65, No.4, pp.218-225, 2009.
- 5) Kosaka, K., Seki, K., Kimura, N., Kobayashi, Y., and Asami, M.: Determination of trichloramine in drinking water using headspace gas chromatography/mass spectrometry, *Water Sci. Technol.: Water Supply*, Vol.10, No.1, pp.23-29, 2013.
- 6) 柳橋泰生, 権大維, 伊藤禎彦, 越後信哉, 宮本太一, 大河内由美子: 臭気強度(TON)の測定における三点比較法の適用, 水道協会雑誌, Vol.78, No.1, pp.2-12, 2009.
- 7) 佐藤尚行, 越後信哉, 伊藤禎彦, 小坂浩司: 塩素処理水の臭気に対するカルキ臭原因物質の寄与, 土木学会論文集 G (環境), Vol.67, No.7, pp. 41- 49, 2011.
- 8) Schurter, L. M., Bachelor, P. P. and Margerum, D. W. : Nonmetal redox kinetics : mono-, di-, and trichloramine reactions with cyanide ion, *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 29, No. 4, pp. 1127-1134, 1995.
- 9) 金見拓, 安部進, 土屋かおり, 小林康浩, 今井春江, 小山祐樹, 矢野代一, 船洞健二, 勝股里紗, 岩永秀, 小野隆司: ヘキサメチレンテトラミンの浄水処理過程での挙動, 水道協会雑誌, Vol.81, No. 10, pp.28-34, 2012.
- 10) S. H. Pine: *Organic Chemistry*, 5th ed., McGraw-Hill College, 1987.
- 11) Zhao, Y., Anichina, J., Lu, X., Bull, R.J., Krasner, S.W., Hrudey, S.E., and Li, X.F.: Occurrence and formation of chloro- and bromo-benzoquinones during drinking water disinfection, *Water Res.*, Vol.46, No.14, pp.4351-4360, 2012.
- 12) Bull, R.J., Reckhow, D.A., Li, X., Humpage, A.R., Joll, C., and Hrudey, S.E.: Potential carcinogenic hazards of non-regulated disinfection by-products: Haloquinones, halo-cyclopentene and cyclohexene derivatives, N-halamines, halonitriles, and heterocyclic amines, *Toxicology*, Vol.286, pp.1-19, 2011.
- 13) 森田悠斗, 越後信哉, 伊藤禎彦: ヨード造影剤の琵琶湖・淀川水系及び塩素処理過程における挙動, 土木学会論文集 G(環境), Vol. 67, No. 7, pp. III_1-III_11, 2011.
- 14) Hrudey, S. E., Gac, A., and Daignault, S. A.: Potent odour-causing chemicals arising from drinking water disinfection, *Water Sci. Technol.*, Vol.20, Nos.8-9, pp.55-61, 1988.
- 15) Bruchet, A., Costentin, E., Legrand, M. F., and Mallevalle, J.: Influence of the chlorination of natural nitrogenous organic compounds on tastes and odors in finished drinking waters, *Water Sci. Technol.*, Vol.25, No.2, pp.323-333, 1992.
- 16) Conyers, B. and Scully, F. E.: N-chloroaldimines. 3. Chlorination of phenylalanine in model solutions and in a wastewater, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.27, pp.261-266, 1993.
- 17) Froese, K. L., Wolanski, A., and Hrudey, S. E.: Factors governing odorous aldehyde formation as disinfection by-products in drinking water, *Water Res.*, Vol.33, pp.1355-1364, 1999.
- 18) Freuze, I., Brosillon, S., Herman, D., Laplanche, A., Démocrate, C., and Cavard, J.: Odorous Products of the chlorination of phenylalanine in water: formation, evolution, and quantification, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.38, pp.4134-4139, 2004.
- 19) Freuze, I., Brosillon, S., Laplanche, A., Tozza, D., and Cavard, J.: Effect of chlorination on the formation of odorous disinfection by-products, *Water Res.*, Vol.39, pp.2636-2642, 2005.
- 20) Brosillon, S., Lemasle, M., Renault, E., Tozza, D., Heim, V., and Laplanche, A.: Analysis and occurrence of odorous disinfection by-products from chlorination of amino acids in three different drinking water treatment plants and corresponding distribution networks, *Chemosphere*, Vol.77, pp.1035-1042, 2009.
- 21) Kosaka, K., Seki, K., Kimura, N., Kobayashi, Y. and Asami, M.: Determination of trichloramine in drinking water using headspace gas chromatography/mass spectrometry, *Water Sci. Technol.: Water Supply*, Vol.10, No.1, pp.23-29, 2010.
- 22) Özbek, Ö Dietrich, A. M.: Determination of temperature-dependent Henry's law constants of odorous contaminants and their application to human perception, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.39, No.11, pp.3957-3963, 2005.
- 23) Holzwarth, G., Balmer, R. G. and Soni, L. : The fate of chlorine and chloramines in cooling towers. Henry's law constants for flashoff, *Water Res.*, Vol.18, No.11, pp.1421-1427, 1984.
- 24) Huthwelker, T.; Clegg, S.L.; Peter, T.; Carslaw, K.; Luo, B.P.; Brimblecombe, P.: Solubility of HOCl in water and aqueous H₂SO₄ to stratospheric temperatures, *J.*

- Atmos. Chem.*, Vol.21, pp.81-95, 1995.
- 25) Dewulf, J., Drijvers, D., and van Langenhove, H.: Measurement of Henry's law constant as function of temperature and salinity for the low temperature range, *Atmos. Environ.*, Vol.29, pp.323-331, 1995.
- 26) Staudinger, J. and Roberts, P.V.: A critical review of Henry's law constants for environmental applications, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, Vol.26, pp.205-297, 1996.

G. 発表

1. 論文発表・著書・総説

越後信哉, 森田悠斗, 伊藤禎彦: 琵琶湖・淀川流域の水道水におけるヨウ素系消毒副生成物の存在実態, 土木学会論文集 G(環境), **2013**, 69, (7), III_385-III_392.

Quan, D., Okashita, R., Yanagibashi, Y., Echigo, S., Ohkouchi, Y., Itoh, S., and Jinno, H.: Exposure to haloacetic acids via typical components of the Japanese diet and their allocations of drinking water ingestion to total exposure, *J. Water Supply: Res. Technol.-AQUA*, **2013**, 62(4), 224-233.

Echigo, S., Itoh, S., Ishihara S., Aoki, Y., Hisamoto, Y.: Reduction of chlorinous odor by the combination of oxidation and ion-exchange treatment, *J. Water Supply: Res. Technol.-AQUA*, **2014**, 63(2), 106-113.

伊藤禎彦: 消毒副生成物の飲用寄与率と水道水質基準, 環境衛生工学研究, **2013**, 27(4), 3-22.

小坂浩司: 第1編水環境を驚かす新たな汚染物質の実態, 第2章過塩素酸・NDMA, 排水・汚水処理技術集成 vol. 2, エヌ・ティー・エス, 東京, 2013, 29-38.

Kosaka, K., Asami M., and Kunikane S.: Perchlorate: Origin and occurrence in drinking water, In Elias S. (ed.) Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, Burlington, Elsevier, 2013.

2. 学会発表

Kosaka, K., Kobashigawa, N., Nakamura, R., Asami, M., Echigo, S. and Akiba, M.: Reduction of trichloramine formation by two-step chlorination, Proc. 8th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Micropollutants/ Hazardous

Substances in Water, Zurich, Switzerland, 2013.6, P114-P115. (Poster Presentation)

中井喬彦, 畠孝欣, 森岡弘幸, 小坂浩司, 浅見真理, 秋葉道宏: 水道水におけるジクロロベンゾキソンの測定法の検討と実態調査, 第48回日本水環境学会年会講演集, 仙台, 2014.3, 492.

中井喬彦, 小坂浩司, 浅見真理, 大久保慶子, 秋葉道宏: PRTR物質の塩素処理によるアルデヒド生成率の評価, 平成25年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 郡山, 2013.10, 646-647. 石渡一行, 岩見吉博, 中井喬彦, 小坂浩司, 浅見真理, 大久保慶子, 秋葉道宏: 塩素処理によるアミン類からのホルムアルデヒド生成能の評価, 平成25年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 郡山, 2013.10, 644-645.

福田圭佑, 福原次郎, 佐藤賢, 小坂浩司, 浅見真理, 秋葉道宏: 二段階塩素処理によるトリクロラミン生成抑制への効果: 塩素処理条件と消毒副生成物への影響, 平成25年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 郡山, 2013.10, 260-261.

Tazawa, S., Matsushita, T. and Matsui, Y.: Chlorinous odor derived from phenylalanine after chlorination: characterization and removal with super-powdered activated carbon, The 5th IWA-ASPIRE Conference, Daejeon, Korea, 2013.9, 8-12.

越後信哉, 井尻智之, 久本祐資, 中山恵裕, 伊藤禎彦: 促進酸化処理とイオン交換処理を用いたカルキ臭低減型浄水プロセスの処理性における活性炭処理の影響, 平成25年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 郡山, 2013.10, 276-277.

Echigo, S., Ijiri, T., Nakayama, Y., and Itoh, S.: Formation characteristics of disinfection by-products during the drinking water treatment by the combination of advanced oxidation and ion exchange, Proc. 8th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Micropollutants/ Hazardous Substances in Water, Zurich, Switzerland, 2013.6, 106-107. (Oral Presentation)

平成 25 年度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)
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
- リスク評価管理分科会 -

研究代表者	松井 佳彦	北海道大学大学院工学研究院 教授
研究分担者	浅見 真理	国立保健医療科学院 生活環境研究部 上席主任研究官
研究分担者	大野 浩一	国立保健医療科学院 生活環境研究部 上席主任研究官
研究分担者	広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 室長
研究分担者	平田 睦子	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 主任研究官
研究協力者	小熊 久美子	東京大学大学院工学系研究科都市工学専攻 講師
研究協力者	野本 雅彦	北千葉広域水道企業団 技術部水質管理室 副主幹
研究協力者	森田 久男	埼玉県大久保浄水場 水質部長
研究協力者	高橋 和彦	東京都水道局浄水部浄水課 水質担当課長
研究協力者	金見 拓	東京都水道局浄水部浄水課 課長補佐
研究協力者	古林 祐正	阪神水道企業団 技術部 浄水管理課 主査
研究協力者	服部 晋也	大阪市水道局工務部水質試験所 担当係長
研究協力者	工藤 幸生	(社)日本水道協会 工務部 水質課 水質専門監
研究協力者	及川富士雄	(社)日本水道協会 工務部 水質課 水質専門監
研究協力者	鈴木俊也	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部環境衛生研究科 副参事研究員
研究協力者	江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所 客員研究員
研究協力者	長谷川 隆一	国立医薬品食品衛生研究所 客員研究員
研究協力者	小野 敦	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 主任研究官
研究協力者	高橋 美加	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 研究員
研究協力者	松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 研究員
研究協力者	川村 智子	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 研究員
研究協力者	加藤 日奈	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 研究員
研究協力者	西村 哲治	帝京平成大学・薬学部・薬学科 教授

研究要旨

リスク管理に関する研究として、突発的水質事故等による水質異常時の対応に関する検討を行った。まず、日本の水質異常時の水道の対応について整理した。現行では、健康影響を考慮して設定された水質基準項目の水質異常時には、基準値超過が継続すると見込まれ、人の健康を害する恐れがある場合には、取水及び給水の緊急停止を講じることとされている。この中には、ホルムアルデヒドのように長期的な健康影響（慢性毒性）を考慮して設定された項目も含まれる。このため、現行の対応にお

いては、(1) 慢性毒性を考慮して設定された項目が基準値を超えた際に「人の健康を害する恐れ」があるかどうかを判断することが難しい、(2) 摂取制限を行いながら給水継続をすることで給水停止を回避するというような柔軟な対応が取りにくい、という問題点があることが示された。

次に、米国、英国など諸外国における水質異常時の対応について調査した結果、米国、英国等では原則給水停止を行わず使用制限等によって給水を継続すること、その理由としてトイレ用水、消防用水等の確保による衛生状態や都市機能の維持を重視していること、また、住民への通知・広報対策を重視していること等が示された。

また、水道汚染物質に関する急性/亜急性評価値に関して、米国環境保護庁による健康に関する勧告値を中心に、設定方法や根拠について調査を行い、日本の基準項目について割当率、体重及び飲水量のみで換算した評価値を試算した。

以上の検討により、摂取制限等を行いつつ給水を継続することを水質異常時対応の選択肢に加えることは、公衆衛生・都市機能の維持の面からも重要であると考えられた。なお、これらの研究成果は厚生科学審議会生活環境水道部会、水質基準逐次改正検討会などでの検討資料として活用された。

複合曝露評価に関する研究では、カルバメート系農薬 13 種について Hazard index 法及び Relative potency factor 法による評価を行った。

パーフルオロカルボン酸(PFCA)類は、環境蓄積性汚染物質として知られている。パーフルオロドデカン酸 (PFDoA)を投与したラットの血中濃度を測定した結果、長鎖 PFCA 類の炭素鎖依存的な毒性強度の違いには、薬物動態学的な要因が関与している可能性が示唆された。

複数曝露経路を考慮に入れた曝露量評価では、PBPK モデルを用いて経口、吸入、経皮からのクロロホルム総体内負荷量を算定し、経口換算の総曝露量で表すことによって、経口の 1 日耐容摂取量(TDI)との比較を可能にした。さらに、食品摂取量や入浴時間などを変数としたモンテカルロシミュレーションを行うことで、経口換算総曝露量の確率分布を求めた。現状の水質基準値に一致する 0.06 mg/L のクロロホルム濃度の水道水を 2 L/日飲用し、生活用水に使用した場合でも、経口換算総曝露量が TDI を上回る確率は低く、用量と TDI との間には十分なマージンがあることが示された。総曝露量の 95%値が TDI と一致する場合、水道水の割当率は 34%と推定された。

A. 研究目的

水質事故等による水質基準値超過時の対応に関する検討に関する背景として、以下の2つの大きな水質事故がある。平成 24 年 5 月の利根川水系のホルムアルデヒド前駆物質による水質事故の際には、給水人口 87 万人の区域で給水停止に至ったため、市民生活に大きな影響が生じた。一方、平成 23 年 3 月に発生した東

電福島第一原発からの放射性物質の大量放出事故の際には、摂取制限を行い、飲用水、乳児用の水は確保しつつ、給水を継続する措置が講じられたところである。

水道水は飲用のみならず、家庭では大部分がトイレ、手洗い、調理、洗濯、風呂、洗浄等に使用されている。また、各種産業においては、医療施設で使用されている水道水や空調用水、

冷却水、消防用水等の都市活動に使用されている水道水が途絶えることは、市民の安全と経済社会に深刻な影響を及ぼすことになる。給水車等による応急給水でこれらの生活用水をまかなうことは困難であり、断水が市民生活に大きな影響を及ぼす。このことから、水質事故発生時などの非常時に市民の安全と利便性を確保するため、摂取制限による給水継続の対応を行うことに関する検討を行った。

水道汚染物質に関する急性/亜急性評価値に関して、米国環境保護庁 (Environmental Protection Agency: EPA)によって設定された健康に関する勧告値 (Health advisory: HA)を中心に、設定方法等について調査を行った。さらに、HAの考え方にに基づき、日本の基準項目について割当率、体重及び飲水量のみで換算した評価値を試算した。

水道水中の農薬に関する複合曝露評価手法を検討するために、農薬類の中で共通の作用として最も良く知られているコリンエステラーゼ (ChE)阻害作用に焦点を当て、複合曝露評価を試みた。本年度は、カルバメート系農薬について Hazard index (HI)法及び Relative potency factor (RPF)法による評価を行った。

パーフルオロカルボン酸 (PFCA)類は、環境中での残留性が高く、ヒト健康への影響が懸念されている。炭素数 12 以上の長鎖 PFCA については、炭素数が長い程毒性は弱まることが明らかとなっている。本研究では、長鎖 PFCA 類の毒性強度の違いの要因を明らかにすることを目的としている。本年度は、炭素数 12 のパーフルオロドデカン酸 (PFDoA)を投与したラットの血清中 PFCA 濃度を測定した。

複数曝露経路を考慮に入れた経口換算総曝露量、および割当率と間接飲水量の推定に関する研究においては、水道水質基準における評価値と水への割当率を合理的に算出する方法を提案することを目的とした。

B. 研究方法

1. 水質事故等による水質基準値超過時の対応に関する検討

水質基準値等の位置づけ、および水質異常時の対応について水道法や水道課長通知類などによって、現行の対応に関する整理を行った。次に、給水継続・停止と摂取制限に関する利点と欠点について整理した。また、水質事故時の復旧に係る時間についての検討を行った。

さらに、米国や英国を中心とした諸外国における飲料水水質規制の枠組みと水質異常時の対応について調査を行った。

2. 水道汚染物質の急性/亜急性評価値に関する研究

米国 EPA のホームページや関連文献等を参考に、急性/亜急性評価値の設定方法等について調査を行った。次に、日本の基準項目のうち、健康に関する項目について、割当率、体重及び飲水量のみで換算した評価値を試算した。

3. カルバメート系農薬の複合曝露評価に関する研究

水質管理目標設定項目の対象農薬のうち、カルバメート系除草剤/殺虫剤及びチオカルバメート系除草剤、計 13 物質を対象として、主に ChE 阻害作用に関する情報を収集、整理した上で、HI 法及び RPF 法による評価を行った。各物質の曝露量については、平成 23 年度の水道統計データより、浄水中の最高濃度を用いた。

4. 長鎖パーフルオロカルボン酸類の毒性発現の違いに関する研究

PFDoA の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験で採取した血清サンプル中の PFCA 濃度を測定した。

標準物質および試薬

PFCA 類: PFDoA、パーフルオロテトラデカン酸 (PFTeDA)、パーフルオロヘキサデカン酸 (PFHxDA)およびパーフルオロオクタデカン酸

(PFOcDA)は Exflour Research Corporation が合成したものを使用した。各 10mg を採り、アセトンで 10mL とし、各溶液の 1mL をメスフラスコに採り、メタノールで 100 倍に希釈した。表 1 に示したその他の PFCA 類 (2mg/L メタノール溶液)はウェリントンラボオラトリー社(PFC-MXA)から購入した。

サロゲート溶液: パーフルオロオクタン酸の 2 重水素素体 (PFOA-13C2、ウェリントンラボオラトリー製、MPFOA) 10mg を採り、メタノールで 10mL とした。その溶液 1mL をメスフラスコに採り、メタノールで 1000 倍希釈し、1 μ g/mL の溶液を調製した。

0.5M 硫酸水素テトラブチルアンモニウム(TBAS) 溶液: TBAS の試薬特級(和光純薬) 17.0g を採り、精製水で 80mL にし、水酸化ナトリウムで pH10 とした後、全量を 100mL とした。

0.25M 炭酸ナトリウム: 試薬特級(和光純薬) 5.3g を採り、精製水で全量を 200mL にした。

メチルターシャリーブチルエーテル(MTBE): 水質試験用(関東化学)

酢酸アンモニウム: 試薬特級(和光純薬)

精製水: 水道水を純水製造装置 Elix UV5(ミリポア製)で処理した。

メタノール: 残留農薬試験用(和光純薬)

アセトニトリル: 高速液体クロマトグラフィー用窒素ガス

LC/MS/MS の分析条件

本実験に用いた LC/MS/MS の LC 部は Acquity SDS (ウォーターズ製)、MS/MS 部は Xevo-TQMS(ウォーターズ製)であった。LC 部の分析条件はつぎのとおりであった。カラム: BEH C18 (粒径 1.7 μ m、2.1 x 50 mm)、移動相: A 液 10mM 酢酸アンモニウム - CH₃CN(10:90)、B 液 10mM 酢酸アンモニウム。グラジエント分析の条件: A 液 40% で 1 分間保持し、10 分後に A 液 100% になるようにグラジエントをかけ、15 分まで保持し、15.01 分から 20 分まで A 液 40% とした。カラム温度: 40、試料注入量: 5 μ L。MS/MS 部の分析条件はつぎのとおりであった。キャピラリー

電圧: 1.5kV、イオン源温度: 120、脱溶媒温度: 350、コーンガス: 0.15L/hr、脱溶媒ガス: 650L/hr、検出器電圧: 650V。その他の分析条件は表 1 に示すとおりであった。

分岐型 PFCA の測定も行った。逆相系 ODS カラムを用いた場合、それら分岐鎖 PFCA の保持時間は、直鎖 PFCA の保持時間より若干短くなることが知られている。本研究においても、各直鎖 PFCA のすぐ手前に、親イオン>娘イオンが同じ複数のピークが認められた。分岐鎖の標準品は入手できなかったため、直鎖 PFCs のピーク面積に基づき分岐鎖 PFCA を定量した。

試験溶液の調製

血清 200 μ L を共栓ガラス製スピッツに採り、サロゲート溶液 1 μ g/mL をマイクロシリンジで 10 μ L 添加した。ついで、メタノール 400 μ L を加え、攪はん後 5 分間放置し、除タンパクを行った。TBAS (pH10) 200 μ L および 0.25M 炭酸ナトリウム 400 μ L を添加し、攪はん後 2 分間放置し、PFCs と TBAS のイオンペアを形成させた。さらに、MTBE 約 2mL を添加し、ミキサーで 1 分間攪はん後、10、3500rpm で 10 分間遠心分離し、MTBE 層を共栓ガラス製スピッツに分取した。再度、MTBE 約 2mL をスピッツに加え、ミキサーで 1 分間攪はん後、10、3500rpm で 10 分間遠心分離し、MTBE 層を分取し、先の MTBE 層と合わせた。MTBE 層を窒素気流下で乾固し、メタノール 0.2mL を加え、十分に攪はんし、これを試験溶液とした。

反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験で、投与に使用した被験物質内の PFCA 含量を調べた。被験物質 10mg をアセトン 10mL に溶解したのち、その 1mL を正確にとり、メタノールで 100 倍希釈し、1mg/L 溶液を調製し、LC/MS/MS で測定した。

5. 複数曝露経路を考慮に入れた経口換算総曝露量および割当率の推定に関する研究

水道水質基準における評価値と水への割当率を合理的に算出する方法を提案するため、ク

ロロホルム（トリクロロメタン、TCM）を題材にして、1）経口換算の総曝露量を生理学的薬物動力学モデル（PBPK モデル）を用いて推定し、2）モンテカルロシミュレーションにより、TCM に関する総曝露量分布を複数経路別に推定した。さらに、リスク評価に基づいた、水道水質基準における評価値と水への割当率と間接飲水量を推定した。なお、PBPK モデル推定結果の妥当性は、シャワーによる TCM 曝露後の肺胞内空気中濃度、およびシャワーによる曝露後の TCM 血中濃度に関する 2 つの文献の測定値との比較によって確認した。

倫理面への配慮

本研究では、ラットの血清中濃度を測定しているが、実験動物に対する動物愛護等を配慮して実施した過去の別研究で採取した試料を用いているので、該当しない。

C. 研究結果

1. 水質事故等による水質基準値超過時の対応に関する検討

現行における水質異常時の対応について

水道事業者には、水道法第 15 条第 2 項により、災害その他正当な理由があつてやむを得ない場合等を除き、水道の需要者（利用者）に対する常時給水義務が課せられている。給水の緊急停止については、水道法第 23 条第 1 項に「水道事業者は、その供給する水が人の健康を害するおそれがあることを知つたときは、直ちに給水を停止し、かつ、その水を使用することが危険である旨を関係者に周知させる措置を講じなければならない。」とされている。

水質異常時の対応としては、「水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について」（平成 15 年 10 月 10 日健水発第 1010001 号厚生労働省健康局水道課長通知）により、病原微生物による汚染の可能性を直接

的に示す項目やシアン及び水銀については、水質基準を超過したことをもって水質異常時とみて、基準超過が継続することが見込まれ、人の健康を害する恐れがある場合には、直ちに取水及び給水の緊急停止を講じ、かつ、その旨を関係者に周知させる措置を講じることとされているが、ホルムアルデヒドのように長期的な影響を考慮して基準設定がなされている項目については、基準値超過が継続すると見込まれる場合を水質異常時とみて所要の対応を図るべきとされている。

平成 23 年 3 月に発生した東電福島第一原発からの放射性物質の大量放出時には、放射性ヨウ素等が原子力安全委員会の指標等を超過し又は超過するおそれが生じたことから、摂取制限を行いながら給水を継続する措置をとった。これは、原子力安全委員会の指標等が放射性物質による長期影響を考慮して設定されており、長期間にわたる摂取量と比較して評価すべきものであること、生活用水としての利用には問題はなく、代替となる飲用水の供給が容易に受けられない状況で、水を飲むことができないことによる健康影響が懸念されたこと等を考慮したものである。

給水継続・停止と摂取制限に関する利点・欠点

突発的な水質異常があつた場合において、給水継続（摂取制限あり・なし）あるいは給水停止などの対応を行う場合の主な利点と欠点について、表 2 に整理した。また、水質事故時の復旧にかかる時間について、いくつかの例においてシミュレーションを行ったところ、摂取制限による給水を継続する場合、多くのケースにおいては水質事故検出から、短ければ数日間、長くとも 1 ヶ月程度で復旧が可能と推定された。ただし、給水停止による長期の断水等の自体が起きた際は、復旧にはさらに長い時間がかかる場合がある。

諸外国の状況について

1) 米国の飲料水水質規制の枠組みと水質異常時の対応状況

米国では、国レベルで、第1種飲料水規則(主に健康に関連する項目)及び第2種飲料水規則(快適性に関連する項目)が定められている。第1種飲料水規則のうち、特に健康に関連する項目に法的拘束力がある。これらの項目の規則違反時には、原則的にTier1から3までの3段階について対応が定められている(表3)。いずれの場合も、国レベルでは給水停止は定められていない。ただし、法的拘束力のある基準の施行の責任は州に与えられていることから、特に短期曝露により健康への深刻な悪影響が与えられる可能性がある場合については州の監督機関と協議を行うことが求められている。

基準項目毎に潜在的な健康影響等に関する情報が整理されており、また、高リスクとなる対象、代替給水を利用する必要性、消費者が取ることでできる行動(煮沸など)を示すことが求められている。特に、病院患者、労働者、ホテル滞在者などに対しても配慮が求められている。

2) 英国の飲料水水質規制の枠組みと水質異常時の対応

英国では、EU加盟国すべてに適用されるEuropean Drinking Water Directiveに準拠し、The Water Industry Act(1991)において基準値を発効し、水道事業体の責務と飲料水検査官事務所(Drinking Water Inspectorate, DWI)の権限を規定した。現在は、関連法をThe Water Act(2003)に統合し、主任検査官(Chief Inspector)を任命し、DWIの権限を拡大している。

水質基準不適合時の対応は、Water Supply (Water Quality) Regulations 2000(水質規則)で定めており、不適合の原因と範囲、基準からの逸脱状況等とその措置を明確化し、給水区域

の住民全員と被害を受ける可能性のある住民に文書で注意喚起することとしている。同時に、国務大臣及び関係自治体へも通知することが求められる。基準不適合水の給水は、健康的な生活のための給水維持の必要性があり、給水維持に他の手段がなく、健康に対する潜在影響がない場合に、水道事業者の申請に対して国務大臣による許可が出される。(但し、原則として期間は3年以内とされる。)

水質異常の場合には、給水停止により衛生環境が悪化する健康リスク等を回避するため、状況に応じて、DNU(使用不可)、DND(飲料・調理への使用不可)、BWA(煮沸勧告)の3つのいずれかの勧告を出し、必要に応じて代替給水を行い、一般的には、その間も給水を継続する(表4)。

その他の国の情報については収集中であるが、これまでのところ、水道水を直接飲用することが少ないなど文化的な違いが作用している可能性は否定できないものの、用途制限や煮沸勧告、広報で対応することが多い。

2. 水道汚染物質の急性/亜急性評価値に関する研究

米国における急性/亜急性評価値

米国EPAでは、Drinking Water Health Advisory (HA) Programにおいて、飲料水汚染物質の環境特性、健康影響、分析手法や処理技術に関する情報を提供しており、その中で、いくつかの特定の曝露期間について有害な健康影響が起これないと予測される濃度を設定している(表5)。その濃度はHealth Advisory (HA)とよばれ、法的な強制力はないものの、突発的な流出や汚染が起きた際に、公衆の健康を守るために、連邦政府、州そして地方政府の当局者や公共用水システムの管理者を支援するための非公式なテクニカルガイダンスとして機能している。

HA (mg/L)は下記の式で算出される。対象集団や割当率は表 5 に示した通りである。

$$\frac{N[LO]AEL \text{ (mg/kg/day)} \times \text{体重 (kg)}}{\text{不確実係数} \times \text{飲水量 (L/day)}} \times \text{割当率(\%)}$$

HA のうち、急性/亜急性評価値に相当する One-day/Ten-day HA は、体重あたりの飲水量の最も大きい、小児 (およそ 1 歳)を対象とし、体重を 10 kg、飲水量を 1L/kg として値が算出されている。また、慢性評価値とは異なり、割当率を 100%としていることも大きな特徴といえる。

割当率、体重及び飲水量に基づいた成人及び小児相当値の試算

日本の基準値設定項目の健康に関する項目うち、基準値の根拠として TDI が設定された 16 項目について、HA の考え方にに基づき、割当率を 100%とした時の値 (成人相当値)と、割当率を 100%とした上で小児の体重 (10kg)及び飲水量 (1L/day)を用いた場合の値 (小児相当値)を算出した。

表 6 に示した通り、割当率を 10%として基準値が算出された 6 物質 (1~6)は、成人相当値は基準値の 10 倍、小児相当値は 4 倍高い値となる。割当率が 20%とされた消毒副生成物 (7~13)については、成人相当値は基準値の 5 倍、小児相当値は 2 倍高い値となった。このように、基準値を設定する際に採用された割当率が高ければ高い程、試算値は基準値に近い値となり、特にホウ素及びその化合物 (14)の小児相当値は基準値と同じ値に、また、トリクロロエチレンと塩素酸の小児相当値は基準値よりも低い値となった。

3. カルバメート系農薬の複合曝露評価に関する研究

1) Hazard index (HI)法による評価

カルバメート系農薬 13 種について HI 法によ

る評価を行った結果を表 7 に示す。HI は 0.193 と算出された。

2) Relative Potency Factor (RPF)法による評価

主としてChE阻害作用に関して情報収集を行った結果、最も多くの毒性情報を入手することのできたカルバリルをインデックス物質とすることが適切と考えられた。毒性情報の量は物質によって大きく異なることから、13物質すべてについて同じ指標を基にRPFを求めることは困難である。そこで、物質毎に最も適切な指標値を選択し、カルバリルに対しても同等の指標値を求めた上で毒性強度を比較しRPFを算出することとした。各物質のRPFの算出方法を以下に示す。

カルバリル (NAC)

米国 EPA による N-メチルカルバメート類の複合曝露評価の対象物質である。米国 EPA では、雄ラットの脳の ChE 阻害作用に関するベンチマークドース (BMD₁₀) = 1.58 mg/kg を基に RPF が算出された。EPA では、農薬登録時に提出されたデータに加え、分析法、用量反応性や回復性などに関する追加データを基に、ラットにおける脳の ChE 阻害作用について最大作用時の BMD₁₀ が求めていることから、EPA の複合曝露評価の対象となっているカルバリル、カルボフラン、メソミル及びチオジカルブに関しては、EPA による RPF 算出のベースとなった BMD₁₀ をそのまま用いて RPF を算出することとした。

イソプロカルブ(MIPC)

ラット及びマウスを用いた亜急性毒性試験において、白血球増多症、貧血症及び ChE 阻害作用が認められ、NOEL はそれぞれ 2 mg/kg/day 及び 12 mg/kg/day (LOEL は 25 mg/kg/day 及び 100 mg/kg/day)と報告されている。カルバリルの 13 週間神経毒性試験では、ChE 阻害作用に関する NOEL は 1 mg/kg/day と報告されていることから、RPF は 0.5 と算出された。

フェノブカルブ(BPMC)

雄ラットに 23.1 ~ 208 mg/kg を強制経口投与した試験において、0.5 ~ 24 時間後に測定した脳の ChE 活性が報告されている。この試験の結果から ChE 阻害作用に関する ED₅₀ は 245 mg/kg と算出された。同様の方法で行われた試験の結果から、ラットにおけるカルバリルの脳の ChE 阻害作用に関する ED₅₀ は 27.47 mg/kg と算出されたことから、フェノブカルブの RPF は 0.11 となった。

カルボフラン (カルボスルファン代謝物)

米国 EPA によって算出された雄ラットの脳の ChE 阻害作用に関する BMD₁₀ = 0.10 mg/kg を上述のカルバミルの BMD₁₀=1.58 mg/kg/day と比較し、カルボフランの RPF は 0.06 と算出された。

ベンフラカルブ

ラット、マウスやイヌなどに投与を行い、脳、血漿や血球中の活性を調べた多くの企業データが EFSA によって公表されている。雄ラットに 65~241 mg/kg を強制経口投与し、24 時間後に測定した脳の ChE 活性から ED₅₀ は 77.7 mg/kg と算出された。この試験では投与後 24 時間以前のデータがないため、カルバリルの投与 24 時間後の ChE 活性阻害作用に関する ED₅₀ (266 mg/kg/day) と比較したところ、RPF は 3.4 と算出された。

メソミル

米国 EPA により算出されたラットの脳の ChE 阻害作用に関する BMD₁₀ = 0.36 mg/kg を上述のカルバミルの BMD₁₀=1.58 mg/kg/day と比較し、メソミルの RPF は 4.39 と算出された。

チオジカルブ

米国 EPA により算出されたラットの脳の ChE 阻害作用に関する BMD₁₀ = 0.27 mg/kg をカルバミルの BMD₁₀=1.58 mg/kg/day と比較し、チオジカルブの RPF は 5.85 と算出された。

チオベンカルブ

ラットの 90 日間混餌投与試験及び 2 年間混餌投与試験、イヌの 28 日間経口投与試験及び 1 年間経口投与試験において、血漿、赤血球や脳の ChE 活性に明確な影響は認められていないことから、ChE 阻害作用を対象とした複合曝露評価の対象物質とすることはできない。

エスプロカルブ

ラットの単回強制経口投与試験や 90 日間混餌投与試験では、赤血球及び脳の ChE 活性阻害は認められなかったことから、ChE 阻害作用を対象とした複合曝露評価の対象物質とすべきではないと判断された。

モリネート

ラットの急性神経毒性試験、90 日間及び 2 年間混餌試験等で脳もしくは赤血球の ChE 活性が阻害されたことが報告されているものの、これらの試験における ChE 活性値やその変化率等の情報は得られなかった。急性神経毒性試験では、350 mg/kg 投与群の雌で脳の ChE 活性阻害が認められ、NOEL は 100 mg/kg と報告されている。カルバリルの単回強制経口投与試験における NOEL [50 mg/kg (ラット、投与 24 時間後の脳の ChE 阻害作用)] と比較した結果、RPF は 0.5 と算出された。

ピリプチカルブ

ラットの 13 週間混餌投与試験では、最高用量群 (367 mg/kg/day) の雌で血漿 ChE 活性の低下が認められたが、脳や赤血球の ChE 活性の低下は認められなかった。ラットの 2 年間混餌投与試験では、197~233 mg/kg/day 投与群の雌雄において血漿 ChE 活性が低下したが、脳の ChE 活性に関しては、197 mg/kg/day 投与群の雄で軽度な低下 (8%) が認められたのみであった。なお、ラットの 90 日間反復投与神経毒性試験 (混餌投与、~ 314 mg/kg/day) 及びイヌの 90 日間混餌投与試験 (~134 mg/kg/day) では、血漿や脳の ChE 活性の低下は認められていない。以上の報告から、ピリプチカルブは ChE 阻害作用

を対象とした複合曝露評価の対象物質とするべきではないと判断された。

テルブカルブ (MBPMC)

脳や赤血球中の ChE 活性への影響に関する情報は報告されていないが、ラット及びマウスを用いた 3 か月間混餌試験では最高用量群でも一般状態に異常は見られず、さらに、テルブカルブをラットに 28 日間混餌投与した試験では、最高用量群 (943-996 mg/kg/day)でも血清中の AChE 活性に影響は見られていないことから、テルブカルブは、ChE 阻害作用を対象とした複合曝露評価の対象物質とするべきではないと判断された。

ジメピレート

脳、赤血球や血漿中の ChE 活性への影響に関する報告は認められなかったが、マウス、ラット、ウサギ及びモルモットを用いた一般薬理試験の報告があり、マウスの試験において 1000 mg/kg 以上の投与 (経口)により軽度の自発運動の低下がみられ、ラットの試験では 200 mg/kg 以上の投与(経口)により正常体温の低下が見られた以外には特異な症状は見られなかった。これらのことから、ジメピレートは ChE 阻害作用を対象とした複合曝露評価の対象物質とするべきではないと判断された。

表 8 に示した通り、RPF 法により求めたカルバメート系農薬の総曝露量は 0.008 mg/L となった。カルバリルの ChE 阻害作用に関する BMDL₁₀ 0.99 mg/kg/day を基に、不確実係数を 100、体重 50 kg、飲水量 2L/day、割当率 10% とすると、カルバリルの ChE 阻害作用に基づく目標値は 0.025 mg/L となる。この値を用いてカルバメート系農薬の ChE 阻害作用に基づくリスクを算出したところ、0.326 (0.008 ÷ 0.025)となった。

4. 長鎖パーフルオロカルボン酸類の毒性発現の違いに関する研究

PFDoA 投与ラットの血清中 PFCA 濃度

0.1 mg/kg/day、0.5 mg/kg/day 及び 2.5 mg/kg/day の PFDoA を投与した雄ラットの血清中の直鎖 PFDoA 濃度は、それぞれ 1766 ng/mL、5584 ng/mL 及び 251620 ng/mL であった。雌では、それぞれ、1402 ng/mL、8720 ng/mL 及び 197300 ng/mL であった。

PFDoA を投与したラットの血清中からは、直鎖 PFDoA 以外の PFCA 類が検出されたが、いずれの濃度も直鎖 PFDoA の 20 分の 1 未満であった。

血清中 PFCA 濃度には性差が見られ、多くの場合、雌より雄の濃度の方が高かった。特に、直鎖 PFOA、直鎖 PFNA、分岐鎖 PFDA、分岐鎖 PFUdA 及び分岐鎖 PFTeDA については顕著な性差が見られ、また、投与量が多い程、性差は大きかった。

被験物質中の PFCA 含量

PFDoA の被験物質からは、不純物として、直鎖型 PFOA、PFNA、PFDA、PFUdA、PFTeDA、PFTeDA、分岐型 PFDeA、PFUdA、PFDoA、PFTeDA、PFTeDA が検出された。直鎖 PFTeDA の含有量 (0.19%)が最も高く、次いで直鎖 PFNA (0.05%)、直鎖 PFDA (0.05%)及び分岐鎖 PFTeDA (0.05%)の含有量が高かった。

5. 複数曝露経路を考慮に入れた経口換算総曝露量および割当率の推定に関する研究

構築した PBPK モデルを基にモンテカルロ法を用いて、経口換算総曝露量の分布を求めた。水道水のクロロホルム濃度が水質基準値 0.06 mg/L の時の経口換算総曝露量の分布を図 1 に示す。分布の中央値、95%値はそれぞれ 4.4 と 7.1 µg/(kg d)であり、TDI の 12.9µg/(kg d) より低かった。経口換算総曝露量が TDI を超える割合は 0.06%と推定され、水道水質基準値 0.06 mg/L の水を飲用・使用したとしても、TDI に対して十分な曝露マージンが存在することが示された。また、95%値 = TDI となるようなクロロホルム濃度は 0.110 mg/L であった(図 1 における破

線)。分布の 95% 値の総曝露量は TDI である 12.9 $\mu\text{g}/(\text{kg d})$ に一致し、50% 値の総曝露量は 8 $\mu\text{g}/(\text{kg d})$ である。図 2 は 95% 値である総曝露 12.9 $\mu\text{g}/(\text{kg d})$ の内訳と、50% 値の 8 $\mu\text{g}/(\text{kg d})$ の総曝露の内訳を示している。体重 50 kg で飲水量 2 L/日の水の飲用は TDI の 34% を占めていることがわかる。この割合は、水道水質基準評価値の算定に使われている 20% の 1.5 倍であった。

D. 考察

1. 水質事故等による水質基準値超過時の対応に関する検討

日本における現行の水質異常時の対応について検討した結果、ホルムアルデヒドのように長期的な健康影響(慢性毒性)を考慮して基準設定がなされている項目については、基準値を超えていることが明らかになった場合、「直ちに原因究明を行い所要の低減化対策を実施することにより、基準を満たす水質を確保すべき」とされている。そのうえで、基準値超過が継続すると見込まれる場合には、水質異常時として所要の対応をすることとされている。この所要の対応には「基準値超過が継続することが見込まれ、人の健康を害するおそれがある場合には、取水及び給水の緊急停止措置を講じ」ることとされている。現時点における科学的知見によるリスク評価に基づく基準設定方法から考えると、慢性毒性物質を水道水由来で経口摂取することにより人の健康を害するおそれがあるのは、基準値と同じ水質であれば、長期(影響が発現する期間は個人差もあり明確に示すことはできないが、一生涯に近い期間)にわたり摂取を続けた場合であると考えられる。従って、慢性毒性のみを考慮して基準が設定された化学物質においては、短期的にある程度の基準値を超えても人の健康を害するおそれはないだろうと考えられる。しかし一方、基準値を超え

た際に、短期的に基準値を超えても短期的な摂取による健康影響の懸念がないレベルに関して、十分なリスク評価が行われているわけではない。従って、急性/亜急性の摂取による健康影響の評価値に関する情報を整理することは重要と考えられた。

諸外国として重点的に検討を行った米国と英国の例においては、基準値超過や規則違反、あるいは緊急事態のレベルによって、対応を変えている。米国の例で示したように、短期曝露により深刻な健康影響が出る場合は、異常事態に気づいてから 24 時間以内に住民などへの広報義務がある。しかし、深刻な健康影響が見られない基準項目違反の場合は、違反に気づいてから 30 日以内、あるいは 1 年以内の広報義務、というようにリスクの大きさに応じた対応を取っている。英国も同様に健康影響の深刻さによって、使用不可、摂取不可、煮沸勧告という異なるレベルの対応を取っている。いずれの場合も、給水停止により防ぐことができる健康影響と、給水停止を行うことで都市機能の一部が失われることや衛生環境が悪化することとのバランスを考慮した対応だと考えられる。

次に、突発的な水質異常があった場合において、給水継続あるいは給水停止などの対応を行う場合の主な利点と欠点について整理した。その結果、大規模な都市においては、水道水の供給は基幹的な役割を果たしていることも含めて、給水停止措置および給水停止後の復旧措置は、原則的に非常に大きな困難を伴うと考えられた。

以上より、大規模な水質事故などにより水質異常が生じた場合、摂取制限等の対応を行いつつ給水を継続することは、利用者の安全確保、利便性の確保のみならず、都市機能の維持、公衆衛生の維持の上からも、必要な選択肢であると考えられた。しかし同時に、この対応は、水道の安全性を確保した上で給水停止を可能な

限り回避することにより、利用者への負担を軽減するための手段であり、水道事業者等が安易に行うべきものではなく、これまでの水道事業者等の水道水への安全確保に対する取り組みを交代させるものであってはならないといえる。

2. 水道汚染物質の急性/亜急性評価値に関する研究

水道汚染物質に関する急性/亜急性評価値に関して、米国 EPA による HA を中心に、設定方法等について調査を行い、日本の基準項目について割当率、体重及び飲水量のみで換算した評価値を試算した。算出した小児相当値を米国の One-day/Ten-day HA と比較すると、プロモホルムの小児相当値 (0.18 mg/L) は Ten-day HA (0.2 mg/L) とほぼ同じ値となったものの、その他のすべての項目については、One-day/Ten-day HA よりも小児相当値の方が高い値となった。

基準値は、生涯曝露を想定した値であり、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適用されている。エンドポイントとしても腫瘍性病変など、短期間の曝露では起こりえないような変化を根拠にしているケースが見られる。急性/亜急性評価値を算出するためには、最新の毒性情報を収集及び整理した上で、すべての毒性プロファイルを再評価し、それぞれの変化が短期間曝露で起こりうるものなのか判断する必要があるだろう。

3. カルバメート系農薬の複合曝露評価に関する研究

13 種のカルバメート系農薬について HI 法及び RPF 法による評価を行った。カルバリル、カルボフラン、メソミル及びチオジカルブ以外のカルバメート系農薬については、ChE 阻害作用の用量反応性に関する十分なデータが得られず、BMD 法を適用することはできなかった。また、ベンフラカルブについては、投与後 24

時間以内の ChE 阻害作用に関する情報は得られず、フェノカルブに関しては雌ラットのデータを得ることができなかった。さらに、イソプロカルブとモリネートに関しては、投与後の ChE 活性測定値を入手できなかったことから、NOEL を基に RPF を算出した。

RPF 法により算出されたカルバメート系農薬の ChE 阻害作用に基づくリスク (0.326) は、HI 法によって算出された値 (0.193) よりも大きい値となった。この結果は、HI 法は必ずしも保守的な方法ではない可能性を示唆しているが、上述の通り、カルバメート系農薬の ChE 阻害作用に関しては、十分なデータが得られておらず、より信頼性の高い RPF を算出するためには用量反応性や回復性に関してさらなるデータが必要である。

4. 長鎖パーフルオロカルボン酸類の毒性発現の違いに関する研究

長鎖 PFCA の毒性強度の違いの要因を明らかにするために、PFDoA を投与したラットの血清中 PFCA 濃度を測定した。直鎖 PFDoA の血清中濃度は、投与量の増加に伴い増加し、特に 0.5 mg/kg/day と 2.5 mg/kg/day 投与群の血清中濃度の比(20 倍以上)は、投与量の比 (5 倍) よりも大きかった。直鎖 PFDoA の体内動態に関する情報は報告されていないが、炭素数 6~13 の PFCA アンモニウム塩の混合物である S-111-S- WB に関するラットの亜慢性毒性試験では、PFUdA (C11) 及び PFTrDA (C13) が胆管を介して糞中に排泄されたことが報告されている。PFDoA の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験では、2.5 mg/kg/day 投与群において炎症性胆汁鬱滞を示唆する様々な変化が観察されたことから、2.5 mg/kg/day 投与群では直鎖 PFDoA の体外排出が阻害されたのかもしれない。

本研究の結果を、我々がこれまでに測定した PFOcDA (C18) 投与ラットの血清中直鎖 PFOcDA 濃度と比較した。2.5 mg PFDoA/kg/day 投与群の

血清中直鎖 PFDoA 濃度は、1000 mg PFOcDA/kg/day 投与群の血清中直鎖 PFOcDA 濃度の 4000 ~ 7000 倍高く、長鎖 PFCA 類の炭素鎖依存的な毒性強度の違いには、薬物動態学的な要因が関与している可能性が示唆された。一方、同等の毒性影響が観察された 0.5 mg PFDoA/kg/day 投与群と 200 mg PFOcDA /kg/day 投与群の血清中の標的 PFCA 濃度 (それぞれ直鎖 PFDoA 及び直鎖 PFOcDA)を比較しても、150 倍以上の違いが見られたことから、毒性強度の差は標的 PFCA の血中濃度の違いのみでは説明できないと考えられた。

5. 複数曝露経路を考慮に入れた経口換算総曝露量および割当率の推定に関する研究

図 2 の経口換算総曝露量内訳において、95% 値の時、総曝露量は TDI に一致しているが、このような高曝露群では吸入曝露が全曝露量の 53%を占めていた。この吸入曝露のほとんどは水道水の揮発由来である。経皮曝露の割合は 3%と低かった。経皮曝露の割合が低い理由としては、1) 高い経皮曝露割合を示していた従来データは潜在用量で算定していること、2) さらに従来データでは高い値の皮膚透過係数を使っていたこと、3) 高曝露は吸入濃度が高いことによって生じるため相対的に経皮曝露割合が小さくなることによると思われる。水道水由来の食事や吸入、経皮経由の曝露量は総曝露量の 65%を占め、間接飲水量に換算すると 4 L/日であった。したがって直接飲水量の 2 L/日と合わせると、飲水量換算総量は 6 L/日であり、総曝露の 99%を占めていた。

本研究では、水道水飲水量の 2L/日の固定値を用いたが、今後は実飲水量分布を用いた算定が必要である。さらには、本研究で示した方法を他の基準項目の物質について適用し、割当率や間接飲水量の妥当性を検証する必要がある。

E. 結論

リスク管理に関する研究として、突発的水質

事故等による水質異常時の対応に関する検討を行った。まず、日本の水質異常時の水道の対応について整理した。現行では、健康影響を考慮して設定された水質基準項目の水質異常時においては、基準値超過が継続すると見込まれ、人の健康を害する恐れがある場合には、取水及び給水の緊急停止を講じることとされている。この中には、ホルムアルデヒドのように長期的な健康影響(慢性毒性)を考慮して設定された項目も含まれる。このため、現行の対応においては、(1) 慢性毒性を考慮して設定された項目が基準値を超えた際に「人の健康を害する恐れ」があるかどうかを判断することが難しい、(2) 摂取制限を行いながら給水継続をすることで給水停止を回避するというような柔軟な対応が取りにくい、という問題点があることが示された。

次に、米国、英国など諸外国における水質異常時の対応について調査した結果、米国、英国等では原則給水停止を行わず使用制限等によって給水を継続すること、その理由としてトイレ用水、消防用水等の確保による衛生状態や都市機能の維持を重視していること、また、住民への通知・広報対策を重視していること等が示された。

また、水道汚染物質に関する急性/亜急性評価値に関して、米国環境保護庁による健康に関する勧告値を中心に、設定方法や根拠について調査を行い、日本の基準項目について割当率、体重及び飲水量のみで換算した評価値を試算した。

以上の検討により、摂取制限等を行いつつ給水を継続することを水質異常時対応の選択肢に加えることは、公衆衛生・都市機能の維持の面からも重要であると考えられた。

なお、これらの研究成果は厚生科学審議会生活環境水道部会、水質基準逐次改正検討会などでの検討資料として活用され、来年度以降も引

き続き検討を進めていくこととなった。

複合曝露評価に関する研究では、カルバメート系農薬 13 種について HI 法及び RPF 法による評価を行った。

PFCA 類は、環境蓄積性汚染物質として知られている。PFDoA を投与したラットの血中濃度を測定した結果、長鎖 PFCA 類の炭素鎖依存的な毒性強度の違いには、薬物動態学的な要因が関与している可能性が示唆された。

複数曝露経路を考慮に入れた曝露量評価では、PBPK モデルを用いて経口、吸入、経皮からのクロロホルム総体内負荷量を算定し、経口換算の総曝露量で表すことによって、経口 TDI との比較を可能にした。さらに、食品摂取量や入浴時間などを変数としたモンテカルロシミュレーションを行うことで、経口換算総曝露量の確率分布を求めた。現状の水質基準値に一致する 0.06 mg/L のクロロホルム濃度の水道水を 2 L/日飲用し、生活用水に使用した場合でも、経口換算総曝露量が TDI を上回る確率は低く、用量と TDI との間には十分なマージンがあることが示された。総曝露量の 95% 値が TDI と一致する場合、水道水の割当率は 34% と推定された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Asami, M., Yoshida, N., Kosaka, K., Ohno, K., Matsui, Y., Contribution of tap water to chlorate and perchlorate intake: A market basket study, *Science of the Total Environment*, 463-464, 199-208, 2013.

Niizuma, S., Matsui, Y., Ohno, K., Itoh, S., Matsushita, T., and Shirasaki, N., 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, 2013.

Matsumoto, M., Yamaguchi, M., Yoshida, Y., Senuma, M., Takashima, H., Kawamura, T., Kato, H., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., Yokoyama, K., Hirose, A., 2013. An antioxidant, N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD), affects labor and delivery in rats: A 28-day repeated dose test and reproduction/developmental toxicity test. *Food Chem Toxicol.* 56, 290-296.

Takahashi, M., Ishida, S., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., Hirose, A., 2014. Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluoroundecanoic acid in rats. *J Toxicol Sci.* 39, 97-108.

金見 拓, 利根川ホルムアルデヒド水質事故の概要と提起された課題, *日本リスク研究学会誌*, 23(2), 57 - 64 (2013)

浅見真理, 小坂浩司, 大野浩一, 水道側から見たホルムアルデヒド水質事故関連のリスク管理制度とその課題, *日本リスク研究学会誌*, 23(2), 71 - 76 (2013)

大野浩一, 利根川水系ホルムアルデヒド水質事故をめぐる考察と給水停止に対する住民のパーセプションについて, *日本リスク研究学会誌*, 23(2), 81 - 85 (2013)

高橋美加, 松本真理子, 宮地繁樹, 菅野誠一郎, 菅谷芳雄, 長谷川隆一, 平田睦子, 小野敦, 鎌田栄一, 広瀬明彦, 2013. OECD化学物質対策の動向 (第23報) - 第2回OECD化学物質共同評価会議 (2012年パリ) 化学生物総合管理. 9, 241-247.

高橋美加, 松本真理子, 宮地繁樹, 菅野誠一郎, 菅谷芳雄, 平田睦子, 中嶋徳弥, 小野敦, 鎌田栄一, 広瀬明彦, 2013. OECD化学物質対策の動向 (第22報) - 第1回OECD化学物質共同評価会議 (2011年パリ) 化学生物総合管理. 9, 112-118.

松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦,
2013. OECD化学物質共同評価プログラム:
第1回化学物質共同評価会議概要 化学物質
総合管理. 9, 92-99.

松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 長谷川隆一,
広瀬明彦, 2013. OECD化学物質共同評価プ
ログラム: 第2回化学物質共同評価会議概要
化学物質総合管理. 9, 100-111.

松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 長谷川隆一,
小野敦, 広瀬明彦, 2013. OECD化学物質共
同評価プログラム: 第3回化学物質共同評価
会議概要 化学物質総合管理. 9, 222-231.

2. 学会発表

Ohno K, Asami M, Matsui Y, Questionnaire
survey on water ingestion rates for various
types of liquid and the seasonal differences
between summer and winter, Proceedings of
SRA (Society for Risk Analysis) 2013 Annual
Meeting Abstracts #P117, Baltimore, MD,
USA, December 8-11, 2013.

Hirose, A., 2013. Risk assessment methodology
for chemicals and contaminants in foods. ILSI
HESI Workshop: Risk Assessment in the 21st
Century, TKP大手町カンファレンスセンタ
ー、2013.7.

Hirose, A., Kobayashi, N., Fujitani, T., Sakamoto,
Y., Yoshioka, Y., Tsutsumi, Y., Tsuda, H.,
Kanno, J., 2013. Nanotoxicity and nano safety
science in various exposure scenarios. The 49th
EUROTOX2013 (2013.9) (Switzerland,
Interlaken).

Hirose, A., Kobayashi, N., Kawabe, M.,
Nakashima, H., Numano, T., Kubota, R.,
Ikarashi, Y., 2013. Developmental toxicity by
intratracheal instillation of multi-wall carbon
nanotubes in pregnant mice. 6th International
Symposium Nanotechnology, Occupational and
Environmental Health (2013.10) Nagoya.

Hirose, A., Fujii, S., Suzuki, T., Kato, H.,
Kawamura, T., Matsumoko, M., Takahashi, M.,
Hirata-Koizumi, M., Nishimura, T., Ema, M.,
and Ono, A. 2014. Combined Repeated-Dose
Toxicity Studies with the
Reproduction/Developmental Toxicity
Screening Tests for Perfluorotetradecanoic
Acid and Perfluorohexadecanoic Acid in Rats.
第53回米国トキシコロジー学会
(2014.3)(Phoenix, Arizona, USA).

Ono, A., Hirata-Koizumi, M., Ise, R., Kato, H.,
Matsuyama, T., Ema, M., Hirose, A., 2013.
Gender-related difference in the toxic
susceptibility of rats to an ultraviolet absorber,
2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotri
azole: a role of peroxisome
proliferator-activated receptor (PPAR) alpha.
The 49th EUROTOX2013 (2013.9)
(Switzerland, Interlaken).

Ono, A., Takahashi, M., Yabe, K., Kato, H.,
Kawamura, T., Matsumoko, M.,
Hirata-Koizumi, M., Hirose, A., 2013. The
Japanese Existing Chemical Safety Survey
Program: Reproductive Toxicity of
3-Cyanopyridine In Rats. XIII International
Congress of Toxicology, COEX (韓国ソウル
市)、2013.7.

Ono, A., Honma, M., Masumori, S., Matsumoko,
M., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A. 2014.
An In Vivo Mutagenicity Test of Hydroquinone
Using the lacZ Transgenic Mice. 第53回米国
トキシコロジー学会(2014.3)(Phoenix,
Arizona, USA).

Yamada, T., Tanaka, Y., Hasegawa, R., Sakuratani,
Y., Yamada, J., Yoshinari, K., Yamazoe, Y.,
Ono, A., Hirose, A., Hayashi, M., 2014. Hazard
Evaluation Support System (HESS) -Proposal
of in vitro assays useful for predicting

repeated-dose toxicity of chemical substances.

FutureTox II: In Vitro Data and In Silico
Models for Predictive Toxicology (2014.1)
(Chapel Hill, North Carolina, USA).

浅見真理, 小坂浩司, 大野浩一, 秋葉道宏, 水道
道やその水源における化学物質等の検出状
況と水質リスク管理について, 第22回環境
化学討論会, 298-299, 東京, 2013/7/31-8/2.

野本雅彦, 高橋秀樹, 川地利明, 五十嵐公文,
利根川水系におけるホルムアルデヒド事故
に係る原因物質の究明, 平成25年度水道研
究発表会講演集, pp. 648-649, 郡山,
2013/10/23-25.

広瀬明彦, 2013. Q3Dガイドラインステップ2の
元素の毒性評価法の概要. 第15回医薬品品
質フォーラムシンポジウム, ICH金属不純物
のガイドライン(ステップ2)の概要と評価方
法, 全電通労働会館ホール, 2013年11月1日.

広瀬明彦, 2013. 食品等に含まれる化学物質の
リスク評価の経験とそこから見えてきた課
題. 日本リスク研究学会 第26回シンポ
ジウム (2013.6.14 東京).

小野敦, 平田睦子, 加藤寛人, 伊勢良太, 広瀬
明彦, 2013.

2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotri
azoleによる肝毒性メカニズムのトランスク
リプトーム解析. 第40回 日本毒性学会学
術年会 (2013.6 千葉).

G. 知的財産

権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. **特許取得:** 該当なし
2. **実用新案登録:** 該当なし
3. **その他:** 該当なし

表 1. 測定対象の有機フッ素化合物

No	PFCs	PFCs	abbriviation	LOQ (ng/mL)	tR (min)	cone (V)	collision (V)	parent ion (m/z)	daughter ion (m/z)
1	perfluoro-n-pentanoic acid	パーフルオロペンタン酸	PFPeA	1.00	1.9	20	10	263	219
2	perfluoro-n-hexanoic acid	パーフルオロヘキサン酸	PFHxA	1.00	2.7	20	10	313	269
3	perfluoro-n-heptanoic acid	パーフルオロヘプタン酸	PFHpA	1.00	3.7	20	10	363	319
4	perfluoro-n-octanoic acid	パーフルオロオクタン酸	PFOA	1.00	4.6	20	10	413	369
5	perfluoro-n-[1,2- ¹³ C ₂]-octanoic acid	パーフルオロオクタン酸	PFOA- ¹³ C ₂	1.00	4.6	20	10	415	370
6	perfluoro-n-nonanoic acid	パーフルオロノナン酸	PFNA	1.00	5.5	20	10	463	419
7	perfluoro-n-decanoic acid	パーフルオロデカン酸	PFDA	1.00	6.3	20	10	513	469
8	perfluoro-n-undecanoic acid	パーフルオロウンデカン酸	PFUdA	1.00	7.0	20	10	563	519
9	perfluoro-n-docecanoic acid	パーフルオロドデカン酸	PFDoA	1.00	7.8	20	10	613	569
10	perfluoro-n-tridecanoic acid	パーフルオロトリデカン酸	PFTrDA	1.00	8.6	20	10	663	619
11	perfluoro-n-tetradecanoic acid	パーフルオロテトラデカン酸	PFTeDA	1.00	9.3	20	10	713	669
12	perfluoro-n-hexadecanoic acid	パーフルオロヘキサデカン酸	PFHxDA	1.00	10.5	20	10	813	769
13	perfluoro-n-octadecanoic acid	パーフルオロオクタデカン酸	PFOcDA	1.00	11.6	20	10	913	869
LOQ:定量下限値、tR:保持時間									

表 2 給水継続・停止と摂取制限に関する主な利点・欠点

	広報活動	主な利点	主な欠点
給水継続 (摂取制限なし)	無	<ul style="list-style-type: none"> ・ 飲用水・生活用水の使用が可能。 ・ 大きな社会的影響は回避される。 ・ 広報や応急給水などの業務増加なし。 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 水道利用者が状況を知らずに水道を使用し、水道事業者の信用が低下するおそれ。 ・ 食品産業等が知らずに生産した製品に瑕疵が生じるおそれ。 <p><留意点></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 長期間飲用しても健康影響のおそれがない範囲である必要。 ・ 分析上の誤差や間違いの可能性があり、再検査の必要がある。 ・ 事態が継続した場合、対応が遅れる原因となる場合がある。(結局摂取制限や給水停止に至った場合に、前もって水を貯めておくことが出来ないなど)

<p>給水継続 (摂取制限なし)</p>	<p>有</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・飲用水・生活用水の使用が可能。 ・大きな社会的影響は回避される。 ・応急給水の業務増加なし。 ・給排水管網の維持が可能である。 ・水質が正常に戻った際、給排水管網の洗浄を行う必要がない。 	<ul style="list-style-type: none"> ・広報、問い合わせ対応の作業が生じる。 <p><留意点></p> <ul style="list-style-type: none"> ・短期間飲用しても健康影響のおそれがない範囲である必要。 ・特に配慮が必要な対象(乳幼児、妊婦、病院、食品産業等)がある場合は、十分な広報や連絡、応急給水等の対応を行う必要がある。
<p>給水継続 (摂取制限あり)</p>	<p>有</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・水道利用者の健康影響に係る不安が軽減される。 ・生活用水の使用が可能。 ・社会的影響を可能な限り回避できる。 ・給排水管網の維持が可能である。 ・水質が清浄に戻った際、給排水管網の洗浄を行う必要がない。 	<ul style="list-style-type: none"> ・摂取制限に関する広報、問い合わせ対応の作業が生じる。 <p><留意点></p> <ul style="list-style-type: none"> ・誤って飲用しても直接的健康影響のおそれがない範囲である必要。 ・特に配慮が必要な対象(乳幼児、妊婦、病院、食品産業等)がある場合は、対応を行う必要がある。 ・飲用水を別途確保する必要がある。 (応急給水の準備が必要)
<p>給水停止</p>	<p>有</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・水道利用者の健康影響のおそれ・不安が回避される。 ・水が出なくなるため、利用者が誤飲するおそれは軽減される。 	<ul style="list-style-type: none"> ・生活用水が確保出来ない(トイレ、手洗い、洗濯、入浴、洗浄など) ・代替となる水が入手できない場合、著しい健康影響が生ずる恐れがある(脱水症、熱中症など) ・市民生活への影響が極めて大きく都市機能が停止する(消防等) ・トイレ、手洗いができず、衛生状態が悪化するおそれがある。 ・各産業への影響が大きく、営業停止が起きる恐れ(病院、消防、飲食店、食品生産、工場、冷却水、空調、コンピュータ冷却不能による金融機関等の混乱) ・飲用水・生活用水を至急確保する必要がある。 ・管路、施設内部が負圧となり、管周辺からの汚染が起こりうる。管路のさび等流出のおそれ。 ・給水再開時まで、取水した水の排水及び復旧の膨大な作業が必要となる。 ・給水再開時、管路内の酸化状態回復までに時間がかかる。(残留塩素が検出されにくくなる。) ・既に受水槽などに取り込まれている場合の対応を検討する必要。 ・広報、問い合わせ対応の作業が生じる。 ・給水停止が長期に渡った場合は、都市機能の回復が一層困難になる。

表3 米国における段階(Tier)ごとの広報の方法について

Tier (段階)	時期	広報の手段
1:短期曝露により、深刻な悪影響がでる可能性がある場合(微生物、硝酸態窒素等)	違反を知ってから可能な限り速やかに(遅くとも24時間以内)	給水対象(住民+一時滞在者)に24時間以内に届けるため、以下の1つ以上の手段 (1) 公共放送(ラジオやテレビ) (2) ポスティング、 (3) 手渡し、(4) その他州監督官庁から認められた方法 必要に応じ、ボトル水を配る場合がある。 さらに、違反を知ってから24時間以内に、州の監督機関あるいはEPAと協議を行い、追加して行うべき通知などについて決定すること。
2:Tier 1 以外の全ての基準項目違反(平均で評価) モニタリングと測定基準に関する深刻な違反(健康への影響と違反継続期間を考慮)	(1)違反を知ってからできるだけ早く(遅くとも30日以内) (2)違反が続く場合は、原則3ヶ月ごと。	原則として文書による(違反期間の間、給水されている人を対象とする) (1) 郵便かその他の配達による (2) 他の手段でも良いが、料金を支払わない人などにも連絡可能な手法によること (3) ポスティングなど
3:Tier 1,2 以外でのモニタリングに関する違反、測定手順に関する違反など	違反に気づいてから1年以内。	原則として文書による(消費者信頼レポート(CCR)に記載するの也可) 定期的に給水を受けている人に連絡する。

注)Tier1~3 共通の措置として、全ての必要な広報通知が完了して10日以内に、住民通知規則を完全に実施した証明を広報文書のコピーと共に州の監督機関に提出すること。

表4 英国における段階ごとの対応について

勧告の種類	用途	対応
DNU : Do not use for Drinking, Cooking or Washing.	飲用・調理・洗浄には使用不可	DNU 勧告は極めてまれで、短期的曝露で健康被害を生じるレベルの除去困難な物質が浄水中に存在することに疑いの余地がなく、さらに、平時の水質に復旧するまでに長い期間(数時間や数日程度ではなく、数週間)を要するとの証拠に疑いの余地がない場合に限られる。
DND : Do not use for Drinking or Cooking.	飲用・調理には使用不可	極端に濃度が高く短期曝露で健康影響が出るレベルと判断されれば、飲用しないようDND 勧告を出し、ボトル水や給水車による代替給水を行う。
BWA : Boil Water Advice: Boil before use for drinking and food preparation.	飲用・調理には煮沸	具体的対応は、超過項目により異なるが、微生物の場合、給水を継続しながら、直ちに煮沸勧告 BWA を出す。

表 5. HA プログラムにおいて設定されている健康に関する勧告値

	曝露期間	対象*	割当率	影響
One-day HA	1 日間以内	小児	100%	非発がん影響
Ten-day HA	10 日以内	小児	100%	非発がん影響
Longer-term HA	約 7 年間	小児	100%	非発がん影響
	(生涯の 10%)	成人	100%	
Lifetime HA	生涯	成人	RSC factor (Default: 20%)	非発がん影響
Concentrations for cancer (10 ⁻⁴ , 10 ⁻⁵ and 10 ⁻⁶ Risk levels)	生涯	成人	-	発がん影響

* 小児：体重 10kg, 1L/day 成人：70 kg, 2L/day、RSC: Relative source contribution

表 6 割当率、体重及び飲水量に基づいた成人及び小児相当値の試算

項目	日本の基準値 [mg/L]	基準値設定根拠		試算値 (基準値に対する比)	
		評価値	割当率	成人 [mg/L]	小児 [mg/L]
1 カドミウム及びその化合物	0.003	TWI: 7 µg/kg/week	10%	0.03 (10)	0.012 (4)
2 セレン及びその化合物	0.01	TDI: 4 µg/kg/day	10%	0.1 (10)	0.04 (4)
3 シアン化物イオン及び塩化シアン	0.01	TDI: 4.5 µg/kg/day	10%	0.1 (10)	0.04 (4)
4 四塩化炭素	0.002	TDI: 0.71 µg/kg/day	10%	0.02 (10)	0.008 (4)
5 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/day	10%	0.4 (10)	0.16 (4)
6 ジクロロメタン	0.02	TDI: 6 µg/kg/day	10%	0.2 (10)	0.08 (4)
7 クロロ酢酸	0.02	TDI: 3.5 µg/kg/day	20%	0.1 (5)	0.04 (2)
8 クロロホルム	0.06	TDI: 12.9 µg/kg/day	20%	0.3 (5)	0.12 (2)
9 プロモジクロロメタン	0.03	TDI: 6.1 µg/kg/day	20%	0.15 (5)	0.06 (2)
10 ジブロモクロロメタン	0.1	TDI: 21 µg/kg/day	20%	0.5 (5)	0.2 (2)
11 トリクロロ酢酸	0.2	TDI: 32.5 µg/kg/day	20%	1 (5)	0.4 (2)
12 プロモホルム	0.09	TDI: 17.9 µg/kg/day	20%	0.45 (5)	0.18 (2)
13 ホルムアルデヒド	0.08	TDI: 15 µg/kg/day	20%	0.4 (5)	0.16 (2)
14 ホウ素及びその化合物	1	TDI: 96 µg/kg/day	40%	2.5 (2.5)	1 (1)
15 トリクロロエチレン	0.01	TDI: 1.46 µg/kg/day	70%	0.014* (1.4)	0.005~0.007* (0.5~0.7)
16 塩素酸	0.6	TDI: 30 µg/kg/day	80%	0.75 (1.3)	0.3 (0.5)

*: 基準値と同様に成人の水由来曝露は5L/dayとして算出。小児の水由来曝露は2~3L/dayと仮定して算出。

表 7. 13 種のカルバメート系農薬を対象とした Hazard index (HI)法による評価

	物質名	目標値 (mg/L)	浄水最高値 (mg/L)	Hazard quotient (HQ)
1	カルバリル (NAC)	0.05	0.0005	0.01
2	イソプロカルブ (MIPC)	0.01	0.0001	0.01
3	フェノブカルブ (BPMC)	0.03	0.0004	0.013
4	カルボフラン (カルボスルファン代謝物)	0.005	0.00019	0.038
5	ベンフラカルブ	0.04	0.0004	0.01
6	メソミル	0.03	0.0003	0.01
7	チオジカルブ	0.08	0.0008	0.01
8	チオベンカルブ	0.02	0.0002	0.01
9	エスプロカルブ	0.03	0.0003	0.01
10	モリネート	0.005	0.00021	0.042
11	ピリブチカルブ	0.02	0.0002	0.01
12	テルブカルブ (MBPMC)	0.02	0.0002	0.01
13	ジメピペレート	0.003	0.00003	0.01
	HI			0.193

表 8. 13 種のカルバメート系農薬を対象とした Relative potency factor (RPF)法による評価

	物質名	RPF	浄水最高値 (mg/L)	RPF × 浄水最高値
1	カルバリル (NAC) [インデックス物質]	1 (index chemical)	0.0005	0.0005
2	イソプロカルブ (MIPC)	0.5	0.0001	0.00005
3	フェノブカルブ (BPMC)	0.11	0.0004	0.000044
4	カルボフラン (カルボスルファン代謝物)	0.06	0.00019	0.00001140
5	ベンフラカルブ	3.4	0.0004	0.00136
6	メソミル	4.39	0.0003	0.001317
7	チオジカルブ	5.85	0.0008	0.00468
8	チオベンカルブ	-	0.0002	-
9	エスプロカルブ	-	0.0003	-
10	モリネート	0.5	0.00021	0.000105
11	ピリブチカルブ	-	0.0002	-
12	テルブカルブ (MBPMC)	-	0.0002	-
13	ジメピペレート	-	0.00003	-
	合計			0.00806740

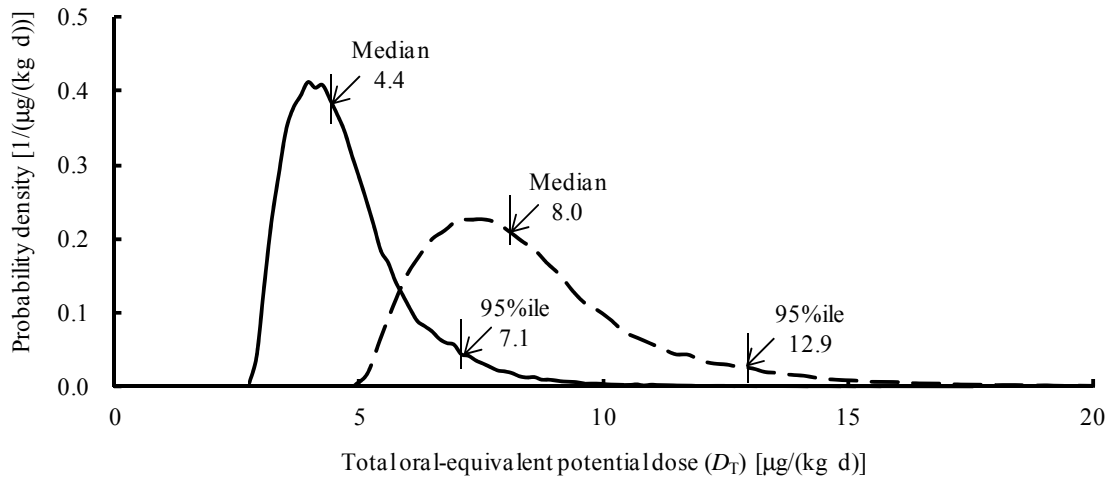


図 1. クロロホルム(TCM)の経口換算総曝露量確率分布(モデルパラメーターPMPS A を使用)
 [実線：水道水 TCM 濃度 = 0.06 mg/L, 破線：分布の 95%値 = 12.9 $\mu\text{g}/(\text{kg d})$ と設定した時の結果]

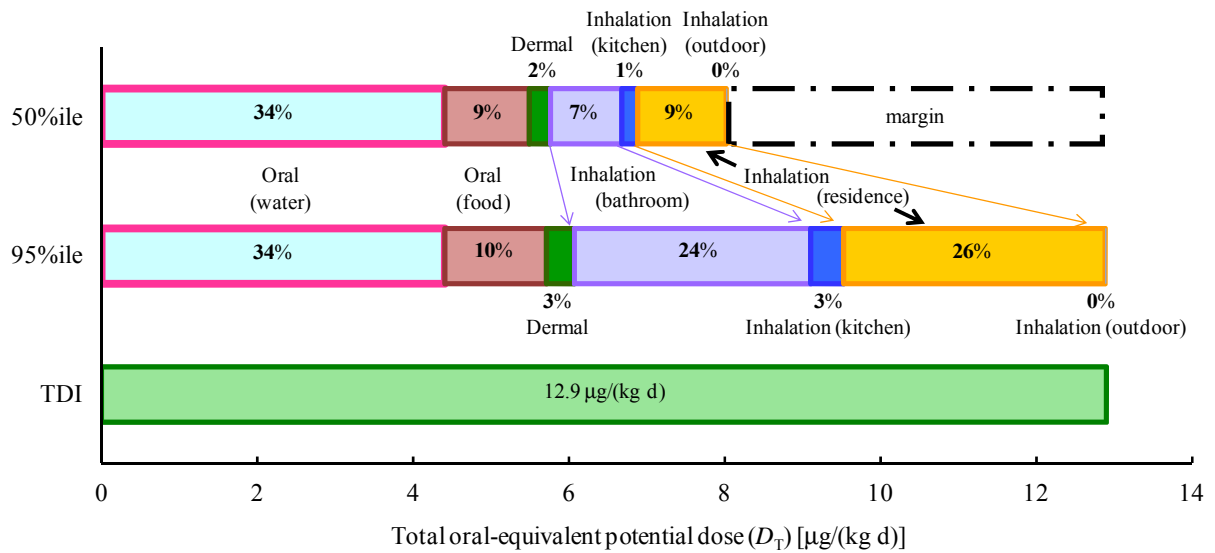


図 2. TCM の経口換算総曝露量とその内訳 (水道水 TCM 濃度 = 0.11 mg/L, 曝露量分布の 95%値 = 12.9 $\mu\text{g}/(\text{kg d})$ (TDI)と設定した時の結果、モデルパラメーター PMPS A 使用)

平成 25 年度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) 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

- 水質分析法に関する研究 -

研究分担者	小林憲弘	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
	鈴木俊也	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	川元達彦	兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学部
	門上希和夫	北九州市立大学 国際環境工学部
研究協力者	五十嵐良明	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
	久保田領志	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
	小杉有希	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	木下輝昭	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	矢野美穂	兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学部
	阿部晃文	川崎市上下水道局 水管理センター 水道水質課
	境泰史	公財)北九州生活科学センター
	大窪かおり	佐賀県衛生薬業センター

研究要旨

水質分析法に関する研究では、必要性の高い新規の水質検査法の開発および既存の水質検査法の改良を行うことと、平常時および異常発生時の簡便かつ網羅的な水質スクリーニング手法についての検討を行う。また、これらの分析法を、水道事業体および地方衛生・環境研究所、保健所に普及し、分析技術の向上と水質監視体制の強化を図ることを目的に、研究を実施した。

平成 25 年度は、農薬、有機物、および無機物を対象に、それぞれの新規分析法を開発するとともに、網羅分析法に関する検討を併せて行った。

農薬については、厚生労働省の新規農薬分類の中で「要検討農薬類」あるいは「その他農薬類」に該当するが標準検査法が定められていないエチプロール(要 03)、テフリルトリオン(要 06)、およびフェノキサニル(他 64)の 3 農薬の分析法について検討した。その結果、これらの農薬を LC/MS/MS による一斉分析法(別添方法 20)の対象農薬と同時に分析可能な分析条件を確立することができた。さらに、開発した分析法の妥当性評価を行うため、脱塩素処理を行った水道水に上記の 3 農薬を各農薬

の目標値の 1/10 および 1/100 の濃度となるように添加し、LC/MS/MS による一斉分析を行ったところ、いずれの添加濃度においても、各農薬とも妥当性評価ガイドラインにおける真度と併行精度の目標を満たした。以上のことから、開発した手法は、水道水の検査法として有用と考えられる。

有機物については、現在、GC/MS により分析されているホルムアルデヒドについて、DNPH 誘導体化後に LC/UV または LC/MS で定量する分析法を開発した。その結果、UV 法および MS 法ともに、妥当性評価ガイドラインの目標を満たした。また、分析時間が告示法よりも短く、アセトアルデヒドも同時に分析可能であった。

無機物については、オキソハロゲン酸の新規分析法を開発するとともに、クロムの価数分離手法及び高感度化のための条件等に関する検討を行った。具体的には、オキソハロゲン酸として、過塩素酸、臭素酸および塩素酸の LC/MS/MS による同時分析法の開発を行った。実試料で検討した結果、分析時間はいずれも 10 分以内であり、さらに基準値・目標値と比べて高感度分析が可能となった。また、毒性の高い六価クロムと三価クロムを分離した同時分析法をポストカラム付イオンクロマトグラフにより検討し、六価クロムを高感度に検出することを可能とした。

網羅分析法については、米国 NIST の無料マススペクトル検索ソフトに自作のデータベースを組み込むことで、GC/MS 向けの汎用全自動同定システムを開発した。統一した GC 条件及び MS チューニングを採用することで、機種依存無く確実に未知物質を同定できた。現在の登録物質は約 1000 物質であるが、簡単に物質追加ができ、市販の全 GC/MS で標準物質を使用することなく未知物質の同定が可能である。

A. 研究目的

水質分析法に関する研究では、必要性の高い新規の水質検査法の開発および既存の水質検査法の改良を行うことと、平常時および異常発生時の簡便かつ網羅的な水質スクリーニング手法についての検討を行う。また、これらの分析法を、水道事業者および地方衛生・環境研究所、保健所に普及し、分析技術の向上と水質監視体制の強化を図ることを研究目的としている。

平成 25 年度は、農薬、有機物、および無機物を対象に、それぞれの新規分析法を開発するとともに、網羅分析法に関する検討を併せて行った。

農薬については、標準検査法が定められていない農薬類の LC/MS/MS 一斉分析の検討を行った。有機物については、水道水中のホルムアルデヒドの DNPH 誘導体化 - 液体クロマトグラフ法の検討を行った。無機物については、水道水

中のオキソハロゲン酸の分析法に関する検討と、水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討を行った。網羅的分析法については、GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発を行った。

以下に、研究課題毎の具体的な研究の背景と目的を記す。

1. 標準検査法が定められていない農薬類の LC/MS/MS 一斉分析の検討

水道水中の農薬類は、毒性評価結果が暫定的な物質や、検出レベルは高くないものの水質管理上注意喚起すべき物質が多いことから、「水質管理目標設定項目」に設定されている。ここで、検査対象とする農薬は、基本的には各水道事業者がその地域の状況を勘案して適切に選択することになっているが、500 を超

える登録農薬の中から検出可能性のある農薬を選定することは非常に困難である。そこで、近年の国内推定出荷量、上水および原水における検出状況、一日許容摂取量（ADI）等のデータに基づいて、水道原水から検出される可能性が高いと考えられる農薬類のリストが、厚生労働省から通知されており、同リストは随時改定されている。

その最新のリスト¹⁻¹⁾では、農薬類を 水質基準農薬類(0 物質)、対象農薬リスト掲載農薬類(120 物質)、要検討農薬類(16 物質)、その他農薬類(84 物質)、除外農薬類(14 物質)の5つに区分し、測定の優先順位が付けられている。

一方、検査法に関しては、上記でリストアップされた全ての農薬について標準検査法が定められておらず、標準検査法のない農薬を検査対象として選定した場合、検査実施機関が独自に検査法を開発する必要があるため、標準検査法の更なる拡充が求められている。また、農薬類の場合は非常に多くの物質を分析対象とする場合が多いことから、検査に要する労力をできるだけ軽減するため、多物質の一斉分析法が有用と考えられる。

そこで本研究では、水道水の標準検査法が定められていない農薬類の中から、LC/MS/MSによる一斉分析が可能な農薬を選定し、分析条件の検討を行った。我々は過去に農薬76物質を対象に水道水試料を液体クロマトグラフィータンデム質量分析(LC/MS/MS)に直接導入する一斉分析法を新たに開発し^{1-2,1-3)}、開発した分析法は後に水道水の標準検査法(別添方法20)となった。今回の検討では別添方法20の対象農薬と同時に分析を行うための条件を確立することとした。

また、平成25年10月から「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」が適用されたことにより¹⁻⁴⁾、機器分析による全ての水道水質検査において、分析精度がガイドライン

の目標を満たすかどうかを確認する必要がある。そこで、本研究においても、同ガイドラインに従った妥当性評価を実施した。

2. 水道水中のホルムアルデヒドのDNPH誘導体化-液体クロマトグラフ法の検討

現在、水道水中のホルムアルデヒドの測定は、告示法の別表第19 溶媒抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフ-質量分析法(GC/MS法)により行うこととされている。この方法ではヘリウムガスが必須となるが、ヘリウムガスの供給が不足、あるいは途絶えた場合には、検査に支障をきたす可能性がある。したがって、ヘリウムガスを使用しない代替法の検討が必要である。

既存のホルムアルデヒドの分析法として、ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン(PFBOA)、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)および*O*-(4-シアノ-2-エトキシベンジル)ヒドロキシルアミン(CNETまたはCEBHA)等の試薬によりホルムアルデヒドを誘導体化後、ガスクロマトグラフまたは液体クロマトグラフで分離定量する方法がある。水中のホルムアルデヒドの分析においては、クロモトロブ酸や4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1,2,4-トリアゾール(AHMT)による比色法や、DNPH誘導体化後に液体クロマトグラフ(LC)で分析する方法が複数報告されている。

今年度は、ホルムアルデヒドの他に要検討項目アセトアルデヒドを加え、DNPH誘導体化後に逆相系LCカラムを用いて分離し、紫外部吸収検出器または質量分析計で定量する一斉分析法について検討することとした。

3. 水道水中のオキソハロゲン酸の分析法に関する検討

水道水の殺菌目的で使用する次亜塩素酸ナトリウムには、不純物として有害な臭素酸(HBrO₃)や塩素酸(HClO₃)が含まれている

ケースがある。また、両物質は浄水処理のオゾン酸化により臭化物イオン(Br^-)や塩化物イオン(Cl^-)から生成する消毒副生成物としても知られている。

一方、過塩素酸(HClO_4)は、米国では環境水への汚染事例³⁻¹⁾、日本では飲料水や食品中での検出事例^{3-2,3-3)}が報告されている。過塩素酸は、燃料エンジン、花火、安全マッチ等の原料として使用されるが、有害であるため、河川水等への汚染事故が発生した場合、飲料水への混入が懸念される^{3-4, 3-5)}。

これらの、オキソハロゲン酸の分析法として、臭素酸にはポストカラム付イオンクロマトグラフ法、塩素酸にはイオンクロマトグラフ法が告示法として示されているが、特に臭素酸分析においては、高濃度の劇物(試薬)を使用する方法であること、また操作が煩雑であることから熟練を要する方法となっている。一方、過塩素酸の分析法は未設定となっている現状がある。

そこで、本研究では、LC-MS/MSによるオキソハロゲン酸の迅速かつ高感度な同時分析法の開発を目的とした。

4. 水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討

水道水質基準においてクロム(Cr)は、「六価クロム化合物」として規定されている。一方で、Crの告示法で示されているフレームレス原子吸光度法、誘導結合プラズマ-発光分光分析法、誘導結合プラズマ-質量分析法は、いずれも価数を分離する前処理が含まれていないことから、Crの総濃度を測定する方法となっている。これは、水質基準の適用を受けるのは塩素処理された水であるため、原水中に三価のクロム($\text{Cr}(\text{III})$)が含まれていたとしても塩素により酸化されて六価($\text{Cr}(\text{VI})$)に変化していること、浄水中に六価に酸化されていないものが存在していても、三

価のものは毒性が低く、問題にならないということによるものである^{4-1, 4-2)}。このような背景を理解した上で、水道水質管理計画に基づき監視地点の水道原水を対象とした測定法として、また水道水源で高濃度のクロムが検出された場合の原因究明と対応策の一環として、 $\text{Cr}(\text{III})$ と $\text{Cr}(\text{VI})$ を分離した方法の確立も重要と考えられ、分析方法の検討を実施した。

5. GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発

化学物質は現代社会の基礎的物資であり、100,000種以上の化学物質が全世界で年間4億トン以上生産・使用されている⁵⁻¹⁾。この様に化学物質は、我々の生活を豊かにする必要不可欠な存在であるが、一部の化学物質はヒトの健康や生態系に悪影響を与えてきた。その為、健康被害や環境汚染が明らかになった物質は各種の基準により規制・モニタリングがされている。しかし、規制物質以外でも不適切な使用や廃棄、および地震等による非意図的な流出が原因で生じる環境汚染が懸念される。例えば、農薬による食品汚染は消費者の関心が高く、全国各地で報告される魚へい死事件の原因の1つは化学物質である⁵⁻²⁾。東日本大震災では、地震や津波による工場の損壊により、化学物質が環境中に流出したと考えられている⁵⁻³⁾。また、不適切な廃棄の例として、2012年5月の利根川でのヘキサメチレンテトラミンの排出がある^{5-4,5-5)}。これらの事件・事故による汚染は、法律を強化しても無くすことは困難であり、地震などでの2次被害の防止対策も必要である。このような事件・事故に対応して安全を担保するには、まず原因物質の迅速な究明が必要であることは論を待たない。

有機化学物質の検出同定には、クロマトグラフと質量分析計を組み合わせた手法が最も

有効であり、環境や食品分析には従来から GC/MS が多用されている。GC/MS で未知汚染物質を同定する最も一般的な手法は、全イオンモニタリング(TIM, スキャン法)で試料を測定し、原因物質と思われるピークのマススペクトルを NIST データベース^{5,6)}などを用いてライブラリー検索し、候補物質を探し出す。次に、候補物質の標準品を測定して保持時間とマススペクトルが試料のそれと一致することをもって同定する。この様に原因物質の同定には、標準品の測定が必要であり、迅速な原因究明を妨げている。

筆者らは、この標準品が必要という GC/MS の測定上の制限の解決を目指して研究を進め、全自動同定・定量データベース法(AIQS-DB)を開発した^{5-7, 5-8)}。AIQS-DB を用いれば、標準品を用いることなくデータベース登録物質を同定・定量することができる。しかし、現在販売されている AIQS-DB^{5-9, 5-10)}は、使用する装置毎にソフトウェアを購入しなければならず、これが普及とデータベース登録物質数の拡大を妨げている。

本研究では、この機種依存を無くして市販の全ての GC-MS で使用できる汎用同定システムの開発を目標とした。

B. 研究方法

1. 標準検査法が定められていない農薬類の LC/MS/MS 一斉分析の検討

1.1. 対象物質

本検討における対象物質は、平成 25 年 4 月の農薬類の分類見直しにおいて要検討農薬に分類されているエチプロール(要 03)およびテフリルトリオン(要 06)と、その他農薬に分類されているフェノキサニル(他 64)とした。

エチプロールは、 γ -アミノ酪酸(GABA)による神経伝達を阻害することにより殺虫活性を有する殺虫剤である。テフリルトリオン

は、トリケトン系の除草剤である。フェノキサニルは、いもち病菌のメラニン合成を阻害することにより殺菌効果を有する殺菌剤である。

これらの農薬の中で、特にテフリルトリオンについては、検出報告例が存在し、駒田ら(2013)¹⁻⁵⁾の報告では、鶴見川流域で比較的高頻度で検出され、検出最大濃度は 0.19 $\mu\text{g/L}$ と、目標値(2 $\mu\text{g/L}$)の 1/10 程度の濃度であることから、分析法の検討の必要性が高いと考えられる。

エチプロール、テフリルトリオン、およびフェノキサニルの基本的情報をそれぞれ表 1-1 ~ 表 1-3 に示す。

1.2. 標準品・試薬

(1) 精製水

ミリ-Q SP standard (Millipore 製) により精製して得られたものを使用した。

(2) メタノール

関東化学(株)製の高速液体クロマトグラフ用を使用した。

(3) 酢酸アンモニウム

和光純薬工業(株)製の特級品を使用した。

(4) アスコルビン酸ナトリウム

和光純薬工業(株)製の特級品を使用した。

(5) チオ硫酸ナトリウム

和光純薬工業(株)製の特級品を使用した。

(6) 農薬混合標準原液

エチプロール、テフリルトリオン、およびフェノキサニルの標準品は、和光純薬工業(株)の残留農薬分析用の規格品を使用した。

1.3. 標準液の調製

各農薬の標準品 10 mg を秤量してメスフラ

スコに採り、メタノールで 10 mL に定容して標準原液を調製した（各 1000 mg/L）。また、各標準原液の 100 μ L をメスフラスコに採り、10 mL に定容して各農薬の標準液を調製した（各 10 mg/L）。

エチプロール標準液の 100 μ L、テフリトリオン標準液の 20 μ L、およびフェノキサニル標準液の 200 μ L をメスフラスコに採り、メタノールを加えて 10 mL に定容して混合標準液を調製した。この混合標準液には、エチプロールを 0.1 mg/L、テフリトリオンを 0.02 mg/L、およびフェノキサニルを 0.2 mg/L ずつ含む。これを必要に応じて適宜希釈して試験に用いた。

1.4. 分析条件の最適化

調製した各農薬の標準液および混合標準液を用いて LC/MS/MS (Shimadzu Prominence UFLC-LCMS 8030 plus, 島津製作所) の分析条件の検討を行った。最初に、各農薬の個別標準液を用いて、スキャンモードにより各農薬の ESI ポジティブイオンおよびネガティブイオンモードのマスペクトルを測定し、最も強度の強いイオンを MRM モードにおけるプリカーサイオンとして選択した。次に、選択したプリカーサイオンから得られるプロダクトイオンのスキャンを行い、最も強度の強いイオンを定量イオンとして、2 番目に強度の強いイオンを確認（定性）イオンとして選択した。スキャンモードによる分析で、最も強度の強いイオンが一つに絞れなかった場合は、複数のプリカーサイオンでプロダクトイオンスキャンを行い、最も強度の強いプロダクトイオンを定量イオンとして選択した。

各農薬のモニターイオンを決定後、混合標準溶液を用いて LC/MS/MS 一斉分析条件を検討した。別添方法 20 の対象農薬との一斉分析を可能とするため、過去に別添方法 20 の対象農薬の分析法を検討した際の分析条件^{1,2)}と同条件で分析を行ったが、グラジエント

条件のみ若干の変更を行った。

1.5. 分析法の妥当性評価

1.5.1. 検査試料水の調製

我が国の水道水質管理において、目標値の 1/10 を超えて検出される物質については、原則として個別に水質基準が設定されるため、目標値の 1/10 を超えるかどうかを正確に判定できる分析法が必要である。すなわち、水道水質検査法として、目標値の 1/10 以下の定量下限が求められる。さらに、農薬類については、原則として目標値の 1/100 の濃度まで分析を行うこととされている（厚生労働省、2003）。そこで、各農薬について目標値の 1/10 の濃度および 1/100 の濃度の 2 濃度となるように混合標準液を添加した水道水を調製した。

洗浄済みのガラス瓶に水道水 500 mL を採取し、脱塩素処理剤を 20 mg 添加した後、よく攪拌した。脱塩素処理剤による分解等の影響について知見を得るため、脱塩素処理剤はアスコルビン酸ナトリウムとチオ硫酸ナトリウムそれぞれを使用し、試験結果を比較した。農薬混合標準液をアスコルビン酸ナトリウム脱塩水道水およびチオ硫酸ナトリウム脱塩水道水に上記の濃度となるように添加し、検査試料水を調製した（表 1-2 参照）。また、空試験用の試料水として、農薬混合標準液未添加の脱塩素処理水道水を用意した。各濃度の添加試料および空試験の検査試料は 5 つずつ調製し、よく攪拌した後で、それぞれ 1 回ずつ（合計 5 回）分析操作を行った。

1.5.2. LC/MS/MS 分析

最適化した分析条件を用いて、検査試料水（高濃度および低濃度）および空試験用試料水の 100 μ L を LC/MS/MS に注入し、各農薬のピーク面積および S/N 比を求めた。各農薬の添加試料中のモニターイオンのピーク面積から、空試験試料中のピーク面積を差し引いた後、作成した検量線を用いて添加試料中の

各農薬の濃度を求めた。

1.5.3. 検量線の作成

農薬混合標準溶液を精製水に添加し、各農薬につき5つの検量線用の標準液を調製した。また、検量線のブランクとして、農薬混合標準溶液未添加の精製水を用意した。検量線用標準液および検量線ブランクは、検査試料水と同様にLC/MS/MS分析を行い、各農薬の検量線用標準液中のフラグメントイオンのピーク面積から検量線ブランク中のピーク面積を差し引いた後、検量線を作成した。検量線用標準液は5回の繰り返し測定を行い、再現性および直線性を確認した。

表1-4に、各農薬の目標値と、検査試料水における添加濃度および検量線の濃度範囲についてまとめた。

2. 水道水中のホルムアルデヒドのDNPH誘導体化 - 液体クロマトグラフ法の検討

2.1. 試薬

(1) 精製水

ミリポア製超純水製造装置より調製したもの

(2) 還元剤

チオ硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、塩化アンモニウム、アスコルビン酸ナトリウムは和光純薬工業製を用いた。それぞれ1%水溶液を用事調製した。

(3) 20% (v/v) リン酸

(4) 0.2% DNPH 溶液

DNPH (和光純薬工業製) 0.2 g をアセトニトリルに溶かして100 mL とした。この溶液は、褐色瓶に入れて冷暗所に保存した。

(5) ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド標準原液

ホルムアルデヒドは1000 mg/L メタノール溶液 (関東化学製)、アセトアルデヒドは1000 mg/L メタノール溶液 (和光純薬工業製) を用いた。

(6) ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド標準液

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドとして1 mg に相当するホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド標準原液を採り、アセトニトリルで100倍に薄めたもの。この溶液1 mL は、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド0.01 mg を含む。この溶液は、使用の都度調製した。

2.2. 器具および装置

(1) ねじ口瓶

ガラス製容量125 mL

(2) ねじ口バイアル

ガラス製容量1.5 mL、PTF セプタム付

(3) 液体クロマトグラフ

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体のLC分析条件を表2-1に示す。なお、C 研究結果および考察の1~8までは、LC/UV法により得られた結果を示した。

2.3. 水試料の採取および保存

水試料は、精製水およびアセトニトリルで洗浄したガラス瓶に採取し、満水にして直ちに密栓し、速やかに試験した。速やかに試験できない場合は、冷蔵保存し、72時間以内に試験した。なお、残留塩素が含まれている場合には、1%塩化アンモニウム溶液を水試料100 mL あたり0.5 mL 加えた。

2.4. 試験操作

(1) 前処理

水試料10 mL (水試料に含まれるホルムアルデヒドまたはアセトアルデヒドの濃度が0.060 mg/L を超える場合には、0.005~0.060 mg/L と

るように精製水を加えて 10mL に調製したものを)を採り、20%リン酸 0.2 mL、DNPH 溶液 0.5 mL を加えて混合した。室温で 20 分間静置後、一定量採り、試験溶液とした。

(2) 分析

上記(1)で得られた試験溶液の一定量を LC に注入し、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの DNPH 誘導体のピーク面積を求め、下記 5 により作成した検量線から試験溶液中の対象物質の濃度を求め、検水中の対象物質の濃度を算定した。

2.5. 検量線の作成

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド標準液を段階的にメスフラスコ 4 個以上に採り、それぞれに精製水を加えて 10 mL とした。この場合、調製した溶液のホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドとしての濃度は、上記 2.4(1) に示す検水の濃度範囲を超えないようにした。以下上記 2.4(1)および(2)と同様に操作して、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの濃度とホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの DNPH 誘導体のピーク面積との関係を求めた。

2.6. 空試験

精製水 10 mL を採り、以下上記 2.4(1)および(2)と同様に操作してホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの濃度を求め、上記 2.4(1)に示す検水の濃度範囲の下限値を下回ることを確認した。

2.7. 連続試験を実施する場合の措置

オートサンプラーを用いて 10 以上の水試料の試験を連続的に実施する場合には、以下に掲げる措置を講じた。

(1) おおむね 10 の水試料ごとの試験終了後および全ての水試料の試験終了後に、上記 5 で調製した溶液の濃度のうち最も低いものの濃度(以

下この 7 において「調製濃度」という。)に調製した溶液について、上記 2.4(1)および(2)に示す操作により試験を行い、算定された濃度と調製濃度との差を求めた。

(2) 上記(1)により求められた差が調製濃度の $\pm 20\%$ の範囲を超えた場合には、是正処置を講じた上で上記(1)で行った試験の前に試験を行ったおおむね 10 の水試料およびそれらの後に試験を行った全ての水試料について再び分析を行った。その結果、上記(1)により求められた差が再び調製濃度の $\pm 20\%$ の範囲を超えた場合には、上記 4 および 5 の操作により試験し直した。

3. 水道水中のオキシハロゲン酸の分析法に関する検討

3.1. 分析方法の検討

3.1.1 対象物質：オキシハロゲン酸

分析法の開発を対象としたオキシハロゲン酸は、臭素酸、塩素酸および過塩素酸の 3 種類とした。また、内部標準物質として過塩素酸- ^{18}O を用いた。

3.1.2. 分析装置及び測定条件

分析時間の短縮化(迅速性)のため、超高速液体クロマトグラフを適用した。また、妨害物質を排除して選択性を高める MS/MS 機能を適用し、高感度分析条件を確立することとした。以下に、最適な分析条件を示した。

[LC]

超高速液体クロマトグラフ：Acquity UPLC (Waters 社製)

分離カラム：IC-Pak Anion HR (4.6mm × 75 mm, 6 μm , Waters 社製)

溶離液：50mM 酢酸アンモニウム(pH10.0)：
アセトニトリル=1：1

流速：0.7mL/min

カラム温度：30

注入量：20 μ L

[MS]

検出器：Acquity TQD (Waters 社製)

イオン化：ESI (-)

モード：MS/MS ; MRM

測定イオン：

臭素酸 (プリカーサ - イオン：m/z127, 129

プロダクトイオン：m/z111, 113)

塩素酸 (プリカーサ - イオン：m/z83, 85

プロダクトイオン：m/z 67, 69)

過塩素酸 (プリカーサ - イオン：m/z99, 101

プロダクトイオン：m/z 83, 85)

過塩素酸-¹⁸O (プリカーサ-イオン：m/z107

プロダクトイオン：m/z89)

3.1.3. MS/MS 法による高感度化条件の検討

TIC(トータルイオンクロマトグラム)から特徴的なイオン(プリカーサーイオン)を選択し、それぞれに対してMS/MSモードから得られるによるプロダクトイオンの中から最適なイオンを選択し、定量イオンと確認イオンとした。また、内部標準物質として過塩素酸-¹⁸O(10mg/L)を試料1mLに対して5 μ L添加(m/z107をプリカーサーイオン、m/z89を定量用のプロダクトイオン)した。これをLC-MS/MS用試験溶液とした。

3.1.4. 陰イオン類の影響に関する検討

臭素酸、塩素酸および過塩素酸の分析に対する陰イオン類の影響の有無について検討した。オキソハロゲン酸の定量に妨害となる可能性のある陰イオン類として臭化物イオン、硫酸イオン、チオシアン酸イオン、硝酸イオン、亜硝酸イオンおよび塩化物イオンが想定されるため、精製水に臭化物イオン1mg/L、硫酸イオン40mg/L、チオシアン酸イオン10mg/L、硝酸イオン20mg/L、亜硝酸イオン1mg/L、塩化物イオン50mg/Lを添加した模擬試料を調製し、臭素酸1 μ g/L、塩素酸60 μ g/Lおよび過

塩素酸2.5 μ g/L(基準値、目標値等の1/10濃度)となるように添加した水試料についてLC-/MSで分離条件等を検討した。

3.1.5. 妥当性評価

分析法の妥当性を評価する試料として、河水および水道水に3物質(臭素酸、塩素酸、過塩素酸)を、それぞれ基準値、目標値の1/10濃度を添加した。さらに、サロゲート10ngを添加して分析に供した。また、水道水中の亜塩素酸イオンから塩素酸イオンへの酸化、塩素酸イオンから過塩素酸イオンへの酸化を抑制するために、水道水に2種類の抗酸化剤(アスコルビン酸ナトリウムVC10mg/L、エチレンジアミンEDA50mg/L)を添加した試料、計4種類を用いた。

4. 水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討

4.1. 前処理方法

クロムの測定試料と溶離液(4.3.に記載)の10倍濃度の溶液を9:1の割合で混合した溶液を調製する。この調製液を温浴で80に加熱し、10分間反応させた後、放冷し、pHを6.8に調整する。この前処理は、Cr()とピリジンジカルボン酸(PDCA)を反応させて錯体を形成させるための操作であり、Cr()が存在すれば、薄い紫色に着色する。

4.2. 原理

イオンクロマトグラフ法による遷移金属イオン(Fe²⁺、Fe³⁺、Cu²⁺、Ni²⁺等)の測定で、溶離液にPDCAを使用し、試料中の遷移金属イオンとPDCAの錯体を形成させ、金属による錯体生成定数の差を利用して分離する方法がある。その際に生成されるM³⁺のイオンに対する錯体は、M(PDCA)₂⁻というような2分子配位した6配位構造と推定されている⁴⁻³⁾。このことから、上記1.の前処理により生成された

Cr () の錯体は, Cr (PDCA)₂ と推定され, この金属錯体の薄い紫色の吸収 (可視部 520nm) を測定する. これに対して, Cr () はクロム酸イオン (CrO₄²⁻) として分離される. その後, ジフェニルカルバジドによる吸光光度法⁴⁻⁴⁾を用いたポストカラム誘導体化により, Cr () とジフェニルカルバジドとの反応で生じる紫紅色の錯化合物を可視部 520nm の吸光により測定する.

4.3. ポストカラム付イオンクロマトグラフの分析条件

装置: Dionex ICS-1000

カラム: Dionex IonPac CG5A / CS5A

溶離液: 2 mmol/L 2,6 ピリジンジカルボン酸 / 2 mmol/L NaHPO₄ / 10 mmol/L NaI / 50 mmol/L CH₃COONa / 2.8 mmol/L LiOH

流量: 1.0 mL/min

反応試薬: 2 mmol/L ジフェニルカルバジド / 10% メタノール / 0.5 mol/L H₂SO₄

検出器: UVD-510 UV-Vis 検出器 (520nm)

注入量: 250 μL

5. GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発

5.1. 試薬

GC-MS 装置性能評価標準液 (CS, 表 5-1)⁷⁾ に含まれる n-アルカン標準混合液は林純薬工業から購入し, その他は関東化学, 和光純薬工業, Dr.Ehrenstorfer から購入した. それらを残留農薬分析用ヘキサンに溶解し, 1 μg/mL に調製した.

5.2. 装置と測定条件

GC-MS は島津製作所製の GC-MS-QP2010 Plus, アジレントテクノロジ製の 5975C

MSD, 及びサーモフィッシャーサイエンティフィック製の TSQ Quantum GC を使用した. 保持時間やマススペクトルは, GC 測定条件や MS チューニングによって変動するため, 測定条件を表 5-2 に統一し, データベース登録および試料測定を行った.

5.3. 検索ソフトウェアとパラメーター

近年ではコンピュータの性能向上により, TIM で得られた全イオン電流クロマトグラム (TICC) から複数のピークが重なったマススペクトルをデコンボリュートし, 独立したマススペクトルを抽出するソフトウェアが開発されている. デコンボリューションとは, GC-MS で得られた TICC からピークを分離, 補正することで夾雑イオンを除いたマススペクトルを取り出すことである. 本研究では, 米国国立標準技術研究所 (National Institute of Standards and Technology: NIST) のフリーウェア "AMDIS (Automated Mass spectral Deconvolution & Identification System)" ver 2.71⁵⁻¹¹⁾ を採用した. AMDIS は市販の全ての GC-MS の測定データを解析でき, デコンボリューション処理で得られたマススペクトルと保持時間を用いてデータベース検索をして物質の同定を行う. 一般に, AMDIS でのデータベース検索には NIST マススペクトルデータベースを使用するが, NIST データベースには保持時間が登録されていない. 一方, AMDIS ではユーザーが独自のデータベースを作成することができるため, 本研究では保持時間とマススペクトルの 2 種のデータベースを作成した. また, 保持時間やマススペクトルは測定条件を統一すれば, GC-MS に拘わらずほぼ同一であり⁵⁻⁸⁾, 複数の機種で測定したデータを持ち寄ることでデータベース登録物質数の拡大を容易に行うことができる. 本研究では, 誤不検出をゼロとすると同時に, 誤検出の発生を最小限に抑えるように AMDIS の解析パラメーターを設定した. 代

表的なパラメーターを表 5-3 に示す。

5.4. データベースの構築

AMDIS と組み合わせたデータベースは、n-アルカン(C9~C33)の昇温保持指標(PTRI)ライブラリー及び約 1,000 物質の情報を登録したターゲットライブラリー(表 5-4)の 2 種である。ターゲットライブラリー登録物質は、農薬、工業薬品及び医薬品・パーソナルケア製品(PPCPs)、日本やアメリカの規制物質や環境から検出例のある物質であり、表 5-2 の測定条件で測定可能な物質である⁵⁻⁸⁾。各データベースには、物質名、CAS No、PTRI、及びマススペクトルを登録している。

5.5. 登録物質の同定及び新規物質登録手順

本システムを用いたデータベース登録物質の同定手順及びデータベースへの新規物質登録手順を図 5-1 に示す。

5.5.1. データベース登録物質の同定手順

GC-MS を表 5-2 の測定条件に設定した後、米国環境保護庁が採用しているデカフロトリフェニルフォスフィン(DFTPP)のフラグメントパターンを満足する方法(US EPA Method 625)で MS をチューニングする。次に、CS を測定し、n-アルカンの保持時間と装置が所定の性能を維持していることを確認した後、解析対象試料を測定する。AMDIS で測定データを直接読めない場合は、TICC データを Net CDF ファイルに変換する。AMDIS で CS の n-アルカン(C9~C33)を同定し、PTRI ライブラリーの保持時間を更新する。最後に、解析対象試料の TICC をデコンボリューション後、保持時間を更新した PTRI ライブラリーと約 1,000 物質のマススペクトルを登録したターゲットライブラリーを用いて登録物質を同定する。

5.5.2. 新規物質のデータベース登録手順

GC-MS を表 5-2 の測定条件に設定し、CS を測定する。n-アルカンの保持時間と GC-MS の性能を確認した後、新規登録物質を測定する。NIST など市販のマススペクトルライブラリーで新規登録物質のマススペクトルに問題がないことを確認した後、必要に応じて TICC データを Net CDF ファイルに変換する。AMDIS で CS の n-アルカン(C9~C33)を同定し、PTRI ライブラリーの保持時間を更新する。新規登録物質の TICC をデコンボリューション後、保持時間とマススペクトルをデータベースに登録する。

C. 結果と考察

1. 標準検査法が定められていない農薬類の LC/MS/MS 一斉分析の検討

1.1. 分析条件の最適化

最適化により決定した全農薬共通の LC/MS/MS 一斉分析条件および各農薬の個別の LC/MS/MS 一斉分析条件を表 1-5 および表 1-6 に示す。また、精製水で希釈した 10 µg/L の混合標準液(100 µg/L 注入)の LC/MS/MS 一斉分析クロマトグラムを図 1-1 に示す。対象農薬いずれについても良好なピーク形状と分離が得られた。

1.2. 分析法の妥当性評価

1.2.1. 検量線の評価

エチプロール、テフリルトリオン、およびフェノキサニルの検量線をそれぞれ図 1-2、図 1-3、および図 1-4 に示す。いずれの農薬についても検量線の直線性は良好で、検量線の最低濃度(低濃度添加試料中の各農薬の 1/2 の濃度)においてもピークの定量を行うことができた。しかし、テフリルトリオンについては、他の農薬と比べてデータの再現性が悪く、特に高濃度試料でそのような傾向が顕著であった。この原因については現状では不明であるため、今後実施予定の他機関における

妥当性評価試験の中で更なる検討と改善を行いたい。

1.2.2. 添加回収試験の評価

アスコルビン酸ナトリウム脱塩水道水およびチオ硫酸ナトリウム脱塩水道水における各農薬の高濃度・低濃度添加試料の試験結果を表 1-7～表 1-10 に示す。

いずれの脱塩素処理剤を用いた場合も、各農薬の目標値の 1/10 および 1/100 の添加濃度において良好な回収率が得られ、平均値だけでなく、5 回の繰り返し試験における全ての回収率が 妥当性評価ガイドラインの目標 (70～120%) を満たした。また、併行精度については、低濃度添加試料 (目標値の 1/10 の濃度) の方が、高濃度添加試料 (目標値の 1/100 の濃度) と比べてばらつき (RSD_r) が大きい結果となったが、全ての農薬でガイドラインの目標 (目標値の 1/10 の濃度においては <25%、目標値の 1/100 の濃度においては <30%) を満たした。以上のことから、今回対象とした 3 農薬の添加回収試験の結果はいずれも良好と評価できる。

なお、脱塩素処理剤の違いによる回収率の差はほとんどみられなかったことから、対象とした 3 農薬については、どちらの脱塩素処理剤も有効と考えられる。

2. 水道水中のホルムアルデヒドの DNPH 誘導体化 - 液体クロマトグラフ法の検討

2.1. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH の LC 分析条件および誘導体化時間

カラムに逆相系 ODS カラム、移動相にアセトニトリル-水系を用いて、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の分析条件の検討を行った。その結果、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体のピークはそれぞれ保持時間約 7.5 分および 9.0 分に認められた。両誘導体は比較

的短時間 (10 分以内) で良好な分離が可能であった (図 2-1)。また、この LC 条件下において、精製水の他に、水試料に東京都多摩地域の飲用井戸水や多摩川の河川水を用いた場合にも、妨害ピークは認められず、選択性は高いと考えられる。

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの DNPH 誘導体化に要する時間を調べたところ、室温 10 分で、両誘導体のピーク面積値がプラトーに達したことから、誘導体化に要する時間は室温 20 分にする事とした。

2.2. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の検量線および定量下限値

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の検量線の直線性について、濃度範囲 0.005～0.080 mg/L で、それぞれ $r^2=0.998$ および $r^2=0.997$ 以上と良好な結果であった。なお、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体については、空試験の場合に若干のピークが認められ、検量線は原点を通過しなかった。

2.3. 残留塩素除去剤の検討

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドは消毒副生成物であることから、採水から分析開始までの間の増加を防ぐために、採水時に残留塩素を除去する必要がある。そこで、代表的な残留塩素除去剤としてチオ硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、塩化アンモニウムまたはアスコルビン酸ナトリウムを用いて、本分析法に対する影響を調べた。その結果、塩化アンモニウムは濃度 0.1～100 mg/L で、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの DNPH 誘導体化に影響を及ぼさなかった。ついて、影響が少なかったのはチオ硫酸ナトリウムであったが、EPA method 554 では、チオ硫酸ナトリウムを使用してはならないとされている。その他の還元剤については、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの DNPH 誘導体化に影響を及ぼし、

正確は測定が出来ないことがわかった。

2.4. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのDNPH誘導体化に及ぼすpHの影響

アルデヒド類とDNPHの反応はpHに依存することが知られている。そこで、本反応系における至適pHをリン酸緩衝液およびリン酸を用いて検討した。その結果、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドともに、pH3以下でDNPH誘導体の生成量が高いことがわかった。また、リン酸の場合には、水試料10mLに対して20%リン酸の添加量が0.05~0.5mLの範囲でDNPH誘導体の生成量がほぼ一定になることがわかった。そこで、20%リン酸の添加量を水試料10mLに対して0.2mLにすることとした。

2.5. DNPH誘導体化-LC法の妥当性評価

水道水質検査の妥当性評価ガイドラインに従い、定量下限値および真度を調べた。空試験により、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドはそれぞれ0.002および0.0008mg/L検出され、定量下限値はそれぞれ0.006および0.002mg/Lであった。

真度については、添加濃度0.01mg/Lにおける回収率を調べた。ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドはそれぞれ94±13%（変動係数14%）および94±12%（変動係数13%）と良好な結果であり、水道水質検査の妥当性評価ガイドラインの評価目標を満たすことがわかった。

2.6. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの標準液の安定性

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの標準液を遮光下、4℃で保存し、安定性を調べた。その結果、両化合物とも調製から16日後の濃度はほとんど同じであり、保存が可能であることがわかった。

2.7. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH誘導体の安定性

オートサンプラーにより自動分析する場合、測定化合物の安定性を調べる必要がある。そこで、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドをDNPHで誘導体化し、遮光下、4℃に静置し、経時的に残存量を調べた。その結果、ホルムアルデヒド-DNPH誘導体は28時間後に100%、72時間後に80%であった。一方、アセトアルデヒド-DNPH誘導体は徐々に減少し、28時間後に88%、76時間後に76%に減少した。したがって、誘導体化後28時間以内に測定すれば、連続分析時の変動を20%未満に抑えられることがわかった。

2.8. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのブランク値

市販のDNPHを開封し、冷蔵庫（4℃）に保存したものは、空試験値が徐々に増加し、3ヶ月後には0.005mg/Lを超えるようになった。この状態のDNPHを使用した場合に、濃度依存的にDNPH誘導体が生成されず、その上、検量線の直線性も悪化した。一方、同じ冷蔵庫内に保存してあった同ロットで未開封のものを使用した場合には、空試験値が低く、良好な検量線が得られた。これらのことから、開封したDNPHにおけるブランク値の増加は、冷蔵庫内のホルムアルデヒドとDNPHが反応したためと考えられる。

ホルムアルデヒド分析について、JIS法や環境省の方法では、市販のDNPHをアセトニトリル-水系の溶媒から再結晶により精製したものを使用することとされている。しかし、水道水のホルムアルデヒドの基準値は0.08mg/Lで、その1/10値まで測定すれば良いことから、市販のDNPHをそのまま使用しても差し支えないと言える。しかし、空試験値の3倍が定量下限値を超えるようになった場合には、新しいものに交換、または、再結晶により精製したものを使用する必要がある。

2.9. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド

-DNPHのLC/MS/MS分析

以上、LC/UV法により良好な結果が得られたことから、LC/MS/MS法による測定条件の検討および精度を調べた。

質量分析計の測定条件について、イオン化法としてESI法を用いた場合、ポジティブモードでは、ほとんどイオンが認められず、感度はネガティブモードの方が良かった。また、キャピラリー電圧については、2.5 kVで比較的高い感度が得られた。コーン電圧は40V、コリジョンエネルギーは10Vが至適条件であった。以上の検討結果より、LC/MS/MSの分析条件は表2-1に示すとおりとした。

LC/UV法で確立した誘導体化条件に従い試験溶液を調製し、LC/MS/MS法で分離定量した(図2-2)。その結果、ブランク値はホルムアルデヒド0.0017 mg/L、アセトアルデヒド0.0026 mg/Lで定量下限値はLC/UV法と同程度であった。ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH誘導体の検量線の直線性について、濃度範囲0.005~0.060 mg/Lで、それぞれ $\gamma^2=0.998$ および $\gamma^2=0.998$ 以上と良好な結果であった。また、添加濃度0.01 mg/Lで真度および併行精度を調べたところ、それぞれホルムアルデヒド97%および4%、アセトアルデヒド93%および2%と良好な結果が得られた。水試料に東京都多摩地域の飲用井戸水や多摩川の河川水を用いた場合にも、妨害ピークは認められず、選択性は高いと考えられる。

LC/MS/MS法は、LC/UV法と比較し定量下限値や分析精度がほとんど同じであることがわかった。装置の定量下限値としては、LC/MS/MS法の方がLC/UV法より低かったが、ホルムアルデヒドのブランク値が数 $\mu\text{g/L}$ であり、これを下げない限り分析法としての感度はLC/MS/MS法とLC/UV法は同程度と言える。

3. 水道水中のオキシハロゲン酸の分析法に関する検討

3.1. 臭素酸、塩素酸および過塩素酸イオンのMS/MS条件

臭素酸イオンのMS/MSスペクトルを図3-1-1に示した。臭素には同位体の質量数79と81が存在しているため、臭素酸イオンの分子イオンピークとして $m/z127$ (左上図)と $m/z129$ (右上図)が検出された。さらに、臭素酸イオンのイオン化に必要なコーンボルテージ(CV)として40V、イオンの解裂エネルギー(CE)として15eVを適用した結果、 $m/z127$ および $m/z129$ のプリカーサーイオンは酸素原子 ^{16}O がひとつ取り除かれて、それぞれ $m/z111$ (左下図)、 $m/z113$ (右下図)のプロダクトイオンが得られた。 $m/z111$ を定量イオン、 $m/z113$ を確認イオンとした。

同様に、図3-1-2に塩素酸イオンのMS/MSスペクトルを示した。塩素は質量数35と37の同位体が存在するため、分子イオンピークとして $m/z83$ と 85 が検出された。CVとして50V、CEとして15eVを与えた結果、それぞれ ^{16}O が脱離して $m/z67$ と 69 が検出され、それぞれを定量イオン、確認イオンとした。

さらに、図3-1-3に過塩素酸イオンのMS/MSスペクトルを示した。塩素酸と同様に、塩素は質量数35と37の同位体が存在するため、分子イオンピークとして $m/z99$ と 101 が検出された。CVとして50V、CEとして15eVを与えた結果、それぞれ ^{16}O が脱離して $m/z83$ と 85 が検出され、それぞれを定量イオン、確認イオンとした。

3.2. 臭素酸、塩素酸および過塩素酸イオンのMS/MSクロマトグラム

臭素酸、塩素酸および過塩素酸イオンのMS/MSクロマトグラムを図3-2に示した。臭素酸イオン、塩素酸イオンおよび過塩素酸イオンはそれぞれ各10 $\mu\text{g/L}$ で、MS/MSの定量イオンを選択・決定した。横軸は時間、縦軸は強度を示したが、3物質ともに分離、ピーク形状は良好であった。

3.3. 陰イオン類の影響に関する検討

臭素酸，塩素酸，過塩素酸イオンと各種陰イオン類の LC-MS クロマトグラムを図 3-3 に示した。臭素酸イオンピークでは塩化物イオン，塩素酸イオンでは亜硝酸イオンのピーク，過塩素酸イオンではチオシアン酸イオンピークが近接していることが分かったが，MS クロマトグラムで分離が良好であったことから，臭素酸，塩素酸，過塩素酸イオンの MS/MS による定量には全く問題がないことが分かった。

また，図 3-4 に，臭素酸，塩素酸および過塩素酸イオンの検量線を示した（LC-MS/MS 法）。いずれの対象物質についても相関係数 r は高く，臭素酸で $r = 0.998$ ，塩素酸で $r = 0.998$ ，過塩素酸で $r = 0.994$ であり，濃度範囲（0~50 $\mu\text{g/L}$ ）においても直線性は良好であった。

調製した模擬水には，比較的高い濃度の臭化物イオン，塩化物イオン等の陰イオン類が含まれているが，各対象物質に対して妨害ピークは認められず，10 分程度の短時間で分析が可能な条件を確立することができた。

3.4. 妥当性評価結果

臭素酸 1 $\mu\text{g/L}$ 添加時における妥当性評価結果を表 3-1 に示した。いずれの項目も適合条件を満たしていることが分かった。また，塩素酸 60 $\mu\text{g/L}$ 添加時における妥当性評価結果を表 3-2 に示した。いずれの項目も適合条件を満たしていることが分かった。さらに，過塩素酸 2.5 $\mu\text{g/L}$ 添加時における妥当性評価結果を表 3-3 に示した。いずれの項目も適合範囲を満たしていることが分かった。

また，3 物質の測定値について，現行法と本研究で開発した LC/MS/MS 法とで比較し，比の値（%）を表 3-4 に示した。なお，試料は水道水に臭素酸，塩素酸，過塩素酸を添加した試料で，現行法による測定値，LC/MS/MS 法

による測定値，LC/MS/MS 法と現行法との比を%ものである。

過塩素酸は通知法がないため，IC 法による結果を示したが，いずれも 100%近傍の値を示し，今回開発した LC/MS/MS 法は現行法（臭素酸，塩素酸のイオンクロマトグラフ法）と比較して同等性を有する分析法であることが明らかとなった。また，1 検体当たりの分析時間が現行法の 1/4 の時間で，迅速な分析が可能となった。

4. 水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討

精製水で調製した Cr（ ）100 $\mu\text{g/L}$ と Cr（ ）1 $\mu\text{g/L}$ の混合液の測定結果を図 4-1 に示した。それぞれの標準品はとして，クロム（ ）は硝酸クロム・9 水和物を，Cr（ ）は 100mg/L クロム標準液（二クロム酸カリウム）を用いた。溶出時間は，Cr（ ）は 3.5 分，Cr（ ）は 5.9 分で，十分に分離が可能であった。感度は，面積値として Cr（ ）よりも Cr（ ）の方が 2 桁程度高感度であった。しかしながら，Cr（ ）単独の標準液を注入しているにも関わらず，Cr（ ）のピークが検出されるという現象が認められた。そのピーク強度は，Cr（ ）濃度の約 0.14%に相当している。このことについては，現時点では，クロム（ ）の標準品として用いた硝酸クロム・9 水和物の不純物として Cr（ ）が含まれていた，前処理反応により Cr（ ）の一部が Cr（ ）に酸化されたことなどの理由を考えている。このことを考慮した上で，50 $\mu\text{g/L}$ の Cr（ ）の水質基準に対して 1 $\mu\text{g/L}$ の定量は十分可能と考えられた。しかしながら，今後は上記の課題を克服するための検討を行う必要があるものと考えている。具体的には，Cr（ ）のみの定量に特化し，Cr（ ）を高感度に定量できる分離カラムへの変更等も一方策と考えている。

5. GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発

本システムは、市販の全ての GC-MS において標準品を使用せずにデータベース登録物質を迅速かつ確実に同定することを目的としている。そのためには、装置に拘わらず正確な保持時間予測とマススペクトルの再現性が求められる。この2つの課題を解決する手法として、GC-MS の測定条件を定めた上で PTRI を用いた保持時間予測と MS のターゲットチューニングを採用した。また、誤不検出をゼロとし、誤検出の発生を最少に抑える AMDIS のパラメーターを検討した。これらにより短時間で確実にデータベース登録物質を同定することができる。

5.1. 保持時間の予測精度

保持時間は、GC において物質を同定するための必須情報であるが、カラムやオープン温度などの測定条件で容易に変化する。一方、Van らが発表した PTRI は、装置や測定条件への依存性が保持時間に比べて非常に小さいことが知られている⁵⁻¹²⁾。筆者らは装置や測定条件を固定した上で、様々な物質の PTRI をデータベース化することで標準品を用いることなく正確に保持時間を予測できることを明らかにした⁵⁻⁷⁾。本研究でもこの手法を取り入れて複数の機種での保持時間予測精度を検討した。その結果を表 5-5 に示すが、複数の機種を用いた場合でも、データベース登録 PTRI 値と実測 PTRI 値の差は 4 以内と高い再現性を示した。代表的な AMDIS パラメーター(表 5-3)を用いて、PTRI の有無による同定能力の違いを検討した結果、PTRI とマススペクトルを組み合わせることで誤検出が抑制され、同定の確実さが格段に向上したため、正しい PTRI は同定に必須な情報である。なお、カラム長、膜厚、キャリアーガスの線速度を正

確に知ることは難しく、それらが原因でデータベースと実測の PTRI 値の差が大きい場合は、CS に含まれる perylene-*d*₁₂ の PTRI から最適なカラムヘッド圧を求めて正確に PTRI を予測することが可能である⁵⁻⁸⁾。

5.2. MS チューニングの同定への影響

全ての GC-MS で信頼できる結果を得るためには、GC-MS 測定条件を同一にし、性能を一定以上に保つ必要がある。前述のように本システムはカラムやオープン温度を統一することで、異なる機種でも PTRI を確実に予測することができる。しかし、MS のチューニングがデータベース登録時と異なっていれば、マススペクトルが異なったものとなり、誤不検出が発生する可能性がある。本システムでは、MS のチューニング法として US EPA Method 625 で指定する手法を採用している。今回用いた GC-MS-QP2010 Plus および 5975C MSD ではこの MS チューニングを用いることができるが、TSQ Quantum GC ではこのチューニングができないため、DFTPP のマススペクトルは図 5-2 に示すように異なっていた。その結果、データベース登録スペクトルと TSQ Quantum GC で測定したマススペクトルに違いが生じて類似度が低下し、時には誤不検出が生じた。一方、GC-MS-QP2010 Plus と 5975C MSD では、全ての物質が高い類似度で確実に同定された。以上から、MS のチューニングの統一が必要であることが確認された。

5.3. AMDIS パラメーターの同定への影響

本システムは異なる機種でも GC 測定条件と MS のチューニングを統一することで誤不検出の発生を抑制することができるが、同定精度を向上するには、AMDIS の解析パラメーターの最適化が必要である。そこで、グリーンピースの抽出液 1 mL に農薬標準液(50 物質混合)を 1 µg 添加し、添加物質を最も多く同定できる AMDIS パラメーターを検討した。

最も良い結果が得られた(誤不検出が無く、誤検出の発生が最少)AMDIS パラメーターを表 5-3 に示す。最小類似度を示す Minimum match factor は、誤不検出の発生を最小限に抑えることを優先して“40”に設定した⁵⁻¹³⁾。PTRI は高い精度で予測できるため、同定タイムウィンドウ範囲を“5 秒”に設定した。Component width は“7”を基本とし、CS の n-アルカン同定状況によって数値を増減した。Adjacent peak subtraction は同定への影響が小さいため、“Two”に設定した⁵⁻¹⁴⁾。Sensitivity の“High”と“Very High”の同定への影響は小さかったが、Shape requirement を Resolution と同等、もしくはそれ以上の値にすると同定数が減少することが確認された。

次に、農薬混合標準液(97 物質)を 3 種類の野菜抽出液(1 mL)に各 1 µg 添加して、Shimadzu GC-MS-QP2010 で測定し、最適化した AMDIS パラメーターで解析した。その結果を表 5-6 に示す。添加物質の大半を同定できたが、共通する物質で類似度の低下や誤不検出が確認された。これは何らかの夾雑物の影響を受けていることや装置の感度が原因であると考えられた。ピーク強度が小さい場合や妨害ピークが存在する場合など、「きれいな」マススペクトルが得られない場合、Component width や同定タイムウィンドウ範囲の変更及びリバースサーチを採用することで同定精度が向上することが確認された。

5.4. 汎用性の確認

筆者らは、標準品を用いることなくデータベース登録物質を同定・定量できる AIQS-DB を開発した^{5-7,5-8)}。しかし、現在販売されている AIQS-DB は、使用装置毎にソフトウェアを購入しなければならず、普及や登録物質数の拡大を妨げている。本研究では、市販の全ての GC-MS で使用できる汎用同定システムの開発を目的としており、開発システムは正確な保持時間予測とマススペクトルの高い再

現性を備えている。この検討では、標準液と環境試料を複数の機種で測定し、開発システムの同定結果と市販の AIQS-DB の同定結果を比較した。

まず、60 物質の混合標準液(表 5-1)を 3 種の GC-MS で測定した。試料測定時の MS チューニングが異なる TSQ Quantum GC において、データベース登録スペクトルと測定マススペクトルが異なったため、AIQS-DB と AMDIS の両方で pentachlorophenol や trans-nonachlor の類似度が低下して、一部が誤不検出となった。一方、同一の MS チューニングを採用した 2 機種は全ての物質を高い類似度で確実に同定した。したがって、本システムは「きれいな」マススペクトルを得ることで、複数の機種でもデータベース登録物質を迅速かつ確実に同定できることが確認された。

次に、大量の夾雑物を含む底質試料を MS のチューニングを統一した GC-MS-QP2010 Plus および 5975C MSD で測定し、本システムの同定結果とベテラン分析者が AIQS-DB を用いてマニュアル解析した結果を比較した。AMDIS ではピーク強度の小さい物質ほど類似度が低下し、AIQS-DB でのマニュアル同定物質が誤不検出となる傾向を示した。しかし、環境試料中の有害物質は低濃度であり、また、夾雑物による妨害ピークの影響で「きれいな」マススペクトルが得られることは希であるため、本システムの自動スクリーニングの結果は良好と考えられた。

以上より、本システムは機種に拘らず正確な保持時間とデコンボリューション処理による「きれいな」マススペクトルに基づき、データベース登録物質を確実に同定できることを確認した。また、試料に夾雑物を多く含む場合でも本システムの自動スクリーニングは市販の AIQS-DB と同等の同定能力を発揮し、分析者のマニュアル同定を併せることで同定精度の向上が期待できる。

5.5. 実試料への適用例

2 種の実試料(地下水及びネギ)を用いて本システムの性能を確認した。地下水試料は北九州市内の緑地で採取し、ジクロロメタン-液々抽出で得た最終試料液を測定及び同定性能を評価した。その結果を図 5-3(A)に示すが、マトリックスの少ない地下水試料では、TNT とその代謝物を確実に同定できた。試料採取地は過去に弾薬庫として使用されていた歴史があり 現在でも TNT やその代謝物によって地下水が汚染されていることが示された。

ネギ試料は、超臨界抽出で得た最終試料液を測定した。地下水試料よりもマトリックスを多く含み、TICC にも多くのピークが出現したが、農薬の Methamidophos や EPN が検出された(図 5-3(B))。以上より、本システムはマトリックスの量に関わらず、データベース登録物質を迅速かつ確実に同定することができ、環境汚染の原因究明や残留農薬などの食品・環境の安全性評価への適用が期待できる。

D. 結論

1. 標準検査法が定められていない農薬類の LC/MS/MS 一斉分析の検討

本検討によって、水道水の標準検査法が定められていないエチプロール、テフリルトリオン、およびフェノキサニルの 3 農薬について、別添方法 20 の対象農薬と併せて LC/MS/MS 分析を行うための分析条件を確立することができた。

また、検討した分析法の妥当性評価を行った結果、いずれの農薬についても各農薬の目標値の 1/10 および 1/100 の濃度において良好な回収率および併行精度が得られた。今後は、開発した分析条件の他機関における妥当性評価試験を行い、室内精度あるいは室間精度について検証を行うとともに、これらの分析条件を、水道事業体をはじめとする水質検査実施機関に普及させることで、水質管理体制の

強化を目指す。

2. 水道水中のホルムアルデヒドの DNPH 誘導体化 - 液体クロマトグラフ法の検討

上記の検討結果をまとめると、つぎのようになる。

(1)DNPH 誘導体化および分離時間

誘導体化に係る時間は室温 10 分で、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体は ODS カラムを用い 10 分以内に溶出し、良好な分離が可能であった。また、LC/UV および LC/MS/MS 法ともに、妨害ピークはクロマトグラム上に認められなかった。

(2)定量下限値

LC/UV 法および LC/MS/MS 法ともに、ホルムアルデヒドの水道水質基準値 0.08 mg/L の 1/10 を測定可能であった。

(3)検量線

LC/UV 法では、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの水試料中濃度 0.005 ~ 0.080 mg/L で良好な直線性 ($\gamma^2 > 0.997$) が得られた。LC/MS/MS 法では、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの水試料中濃度 0.005 ~ 0.60 mg/L で良好な直線性 ($\gamma^2 > 0.998$) が得られた。

(4)真度(回収率)と平行精度

LC/UV 法および LC/MS/MS 法ともに、添加濃度 0.01mg/L におけるホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの回収率および変動係数は、良好で、妥当性評価ガイドラインの評価目標である回収率 70 ~ 120%以内、併行精度 15%未満を満たしていた。

(5)水試料中に存在する残留塩素の影響

残留塩素はホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの測定を妨害したが、塩化アンモニウ

ムの添加により改善された。

(6)DNPH 誘導体の安定性

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体は遮光下 4 で経時的に徐々に減少するが、誘導体化後 28 時間以内に測定すれば、変動は 20%以内に入ることがわかった。

以上のことから、DNPH 誘導体化-液体クロマトグラフ法は水道水の妥当性評価ガイドラインの評価目標を満たすことから、告示法別表第 19 の代替法となり得ることが示唆された。また、本法は、誘導体化および誘導体化の分析時間が短いことから、緊急時に必要とされる迅速性の観点からみた場合、別表第 19 よりも優れた方法であると言える。

本法を告示法とするためには、今後、室内精度や室間精度等のバリデーションを実施し、妥当性や汎用性について評価する必要がある。

3. 水道水中のオキソハロゲン酸の分析法に関する検討

本法は、水中からの濃縮・精製操作を行わずに、超高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)を用いたエレクトロスプレーイオン化(ESI)のネガティブイオン検出により定量する方法とした。

1. 実試料でLC/MS/MS法の適用性を検討した結果、3物質(臭素酸、塩素酸および過塩素酸)の同時分析が可能で、かつ分析時間はいずれも10分以内(迅速同時分析)であった。
2. 臭素酸、塩素酸、過塩素酸の各定量下限値はそれぞれ0.5 µg/L、0.5 µg/L、0.05 µg/Lで、臭素酸の基準値 10 µg/L(1/20)、塩素酸の基準値 600 µg/L(1/1200)、過塩素酸の目標値 25 µg/L(1/500)に対して低濃度レ

ベルまでの測定が可能であった。

3. 臭素酸、塩素酸、過塩素酸の妥当性評価試験に本法を適用した結果、すべて満足できる良好な結果であった。
4. 本法から得られた結果は、PC-IC法、IC法による水道水中臭素酸、塩素酸、過塩素酸の分析結果とも同等性が認められ、実用性の高い分析法であることが確認された。

4. 水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討

毒性の異なるクロムの六価と三価を価数分離し、定量する分析方法の確立を目的として、ポストカラム付イオンクロマトグラフを用いて検討した。その結果、若干の課題はあるものの、Cr(Ⅵ)とCr(Ⅲ)を分離して、6分以内に両者の検出が可能であった。また、50 µg/LのCr(Ⅵ)の水質基準に対して1 µg/Lの定量が十分可能と考えられた。

5. GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発

本研究では、NISTが提供するマススペクトル検索ソフトのAMDISとプライベートライブラリーを組み合わせ、市販の全てのGC-MSで使用可能な汎用同定システムを開発した。開発したシステムはGC-MS測定条件を統一し、保持時間を正しく予測することでGC-MS機種に拘らず、データベース登録物質を迅速かつ確実に同定することができる。

現在、プライベートライブラリーには約1,000物質の情報を登録しているが、震災時などの緊急時モニタリング、水道や土壌、食品などの各種基準に対応するには不十分である。本システムは測定条件を統一すれば、機種を問わず新規物質の登録ができるため、データ

ベース登録物質数の拡大が容易であり、環境・食品の迅速な安全性確認や環境汚染事故の原因究明など、様々な用途に適用することが可能である。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 微量化学物質による環境汚染の安全性評価 - ノンターゲット分析の必要性と手法 - (総説), 門上希和夫, 安全工学, 52, pp155-161, 2013.

2. 学会発表

- 1) 小林憲弘, 久保田領志, 浅見真理, 五十嵐良明: 水道水中のホルムアルデヒド簡易・迅速分析法の妥当性評価. 第 22 回環境化学討論会 (2013.7.31 東京都府中市).
- 2) 小林憲弘, 久保田領志, 塚本多矩, 五十嵐良明: 水道水中のホルムアルデヒド前駆物質の LC/MS/MS 一斉分析法の開発. 第 22 回環境化学討論会 (2013.8.1 東京都府中市).
- 3) 水道水中の農薬類の GC/MS および LC/MS/MS 一斉分析方法の開発. 環境科学学会 2013 年会 (2013.9.4 静岡県静岡市).
- 4) 小林憲弘, 久保田領志, 田原麻衣子, 木村謙治, 林広宣, 山田義隆, 小林利男, 舟洞健二, 三枝慎一郎, 古谷智仁, 杉本智美, 五十嵐良明: 固相抽出 - GC/MS による水道水中農薬類の一斉分析法の妥当性評価. 平成 25 年度全国水道研究発表会 (2013.10.25 福島県郡山市).
- 5) 小林憲弘, 久保田領志, 五十嵐良明: LC/MS/MS を用いた水道水中のアルデヒド前駆物質の一斉分析法の開発. 第 50 回

全国衛生化学技術協議会年会 (2013.11.8 富山県富山市).

- 6) 小林憲弘: 水道水質検査方法の開発に関する最近の話題と今後の課題. 第 50 回全国衛生化学技術協議会年会 (2013.11.8 富山県富山市).
- 7) 菱木麻佑, 小杉有希, 鈴木俊也, 保坂三継, 中江 大, 水道水中ホルムアルデヒドの誘導体化 - HPLC による分析法, 第 48 回日本水環境学会年会 (仙台)
- 8) 川元達彦, 矢野美穂, 前田絵理, 森田寛子, 鈴木俊也, 三橋隆夫: LC/MS/MS を適用した水道水中臭素酸及び塩素酸の同時分析法の開発, 第 50 回全国衛生化学技術協議会年会, 講演集 p.202-203 (2013.11)
- 9) GC-MS プライベートライブラリーを用いた汎用スクリーニング手法の開発, 川瀬敬三, 門上希和夫, 第 22 回環境化学討論会 (2013.8.1 東京都府中市).
- 10) LC/TOF-MS 用全自動同定・定量データベースシステムの開発 - 環境水・農産物への適用 -, 大窪かお¹, 中園陽子, 宮脇崇, 門上希和夫, 第 22 回環境化学討論会 (2013.8.1 東京都府中市).
- 11) Development of Wide Use GC-MS Database for Non-target Analysis, Kiwao Kadokami* and Keizo Kawase, Asianalysis XII (2013.8.23 福岡市).
- 12) LC/TOF-MS 用全自動同定・定量データベースシステムの開発: 環境試料への適用, 大窪かおり, 平成 25 年度化学物質環境実態調査環境科学セミナー (2014.1.23 東京都)
- 13) データベースを用いた化学物質の網羅分析法の開発, 門上希和夫, 第 59 回日本水環境学会セミナー (2014.2.3 東京都)
- 14) LC/TOF-MS を用いた水試料中の難揮発性農薬の一斉分析法開発, 伊福知美, 吉

田悠祐, チャウ ティーカムホン, 門上希和夫, 日本水環境学会九州支部研究発表会 (2014.3.1 鹿児島県霧島市)

- 15) LC/TOF-MS を用いた水試料中の難揮発性化学物質の網羅分析法開発, 吉田悠祐, 伊福知美, チャウ ティーカムホン, 門上希和夫, 第 47 回日本水環境学会年会 (2013.3.18 仙台市)

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし

H. 参考文献

- 1-1) 厚生労働省 (2013) 農薬類の分類の見直しについて. 厚生労働省健康局水道課長通知. 平成 25 年 3 月 28 日付健水発 0328 第 4~7 号.
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourei/jimuren/dl/130328-3.pdf>
- 1-2) 小林憲弘, 久保田領志, 田原麻衣子, 杉本直樹, 塚本多矩, 五十嵐良明 (2014a) 水道水中の農薬類の LC/MS/MS 一斉分析法の開発. 環境科学会誌, 27(1), 3-19.
- 1-3) 小林憲弘, 久保田領志, 高玲華, 安藤正典, 五十嵐良明 (2014b) 液体クロマトグラフィータンデム質量分析 (LC/MS/MS) による水道水中農薬類の一斉分析法の妥当性評価. 水道協会雑誌, 印刷中.
- 1-4) 厚生労働省 (2012) 水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて. 厚生労働省水道課長通知, 健水発 0906 第 1 号, 平成 24 年 9 月 6 日 (2012).
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourei/jimuren/dl/120906-1.pdf>

- 1-5) 駒田大輔, 鎌田素之, 川寄悦子, 中田俊芳 (2013) 水道における新規水道水質管理目標設定項目候補農薬の実態調査. 農薬環境科学研究 (第 31 回農薬環境科学研究会シンポジウム講演集), 21, 60.

- 1-6) 環境省 (2010) 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 エチプロール. 平成 22 年 10 月 18 日.
http://www.env.go.jp/water/sui-kaitei/kijun/rv/a15_ethiprole.pdf

- 1-7) 環境省 (2008) 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 テフリルトリオン. 平成 20 年 11 月 25 日.
http://www.env.go.jp/water/sui-kaitei/kijun/rv/t03_tefuryltrione.pdf

- 1-8) 環境省 (2010) 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 フェノキサニル. 平成 22 年 6 月 22 日.
http://www.env.go.jp/water/sui-kaitei/kijun/rv/h35_fenoxanil.pdf

- 2-1) EPA METHOD 554, 1992.

- 2-2) 山本ら, 大阪市立環科研報告, 2012, 74, p55-60.

- 2-3) 山本ら, 水道協会雑誌, 2014, 83(2), p2-9.

- 3-1) California Department of Health Services,
[http://www.cdph.ca.gov/certlic/drinking_water/Pages/Perchlorate history.aspx](http://www.cdph.ca.gov/certlic/drinking_water/Pages/Perchlorate%20history.aspx)

- 3-2) 高附巧ら, 食品衛生学雑誌, 50(4), 184 (2009)

- 3-3) 小坂浩司ら, 水環境学会誌, 30(7), 361 (2007)

- 3-4) National Research Council, Health implications of perchlorate ingestion, National Academies Press (2005)

- 3-5) 前田絵理ら, 分析化学, 8, 659 (2011)

- 4-1) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 2010, p755, 金原出版 (東京).

- 4-2) 日本水道協会: 上水試験法 解説編 2011 年版, p381 (東京)

- 4-3) 金井 豊:イオンクロマトグラフィーにおける陰・陽イオンの保持挙動と陸水分析への応用,地質調査書月報,38,10,587-600 (1987)
- 4-4) 上水試験法 2011 年版 . 金属類編,日本水道協会 .
- 5-1) <http://www.kemi.se/en/Start/Chemicals-in-the-everyday-environment/>
- 5-2) 馬場義輝:魚類のへい死について,福岡県保健環境研究所年報第 39 号, pp104-106 (2012)
- 5-3) 環境省:平成 24 年度東日本大震災の被災地における化学物質環境実態追跡調査研究の公表について,
<http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=16518>
- 5-4) 小林憲弘,杉本直樹,久保田領志,野村雅彦,五十嵐良明:利根川水系の浄水場におけるホルムアルデヒド水質汚染の原因特定,水道協会雑誌,81, pp63-68 (2013)
- 5-5) 厚生労働省:利根川水系におけるホルムアルデヒドによる水道への影響について(第 6 報・速報),
<http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r985200002cd75-att/2r9852000002cdb1.pdf>
- 5-6) NIST MS Search Program,
<http://chemdata.nist.gov/mass-spc/ms-search/>
- 5-7) 門上希和夫,棚田京子,種田克行,中川勝博:有害化学物質一斉分析用ガスクロマトグラフィー/質量分析法データベースの開発,分析化学,53, pp581-588(2004)
- 5-8) Kiwao KADOKAMI, Kyoko TANADA, Katsuyuki TANEDA, Katsuhiko NAKAGAWA: Novel gas chromatography-mass spectrometry database for automatic identification and quantification of micropollutants. *J.Chromatogr A*, 1089 pp219-226 (2005)
- 5-9) GC-MS 一斉分析用データベースソフトウェア,
<http://www.shimadzu.com/an/GC-MS/GC-MS-solution/compound.html>
- 5-10) GC-MS 精度管理・相対定量ソフトウェア,
<http://www.nskw.co.jp/analytical/product/chemplus/naginata.php>
- 5-11) AMDIS,
<http://chemdata.nist.gov/mass-spc/amdis/>
- 5-12) H.Van Den Dool, P.Dec.Kratz : A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas liquid partition chromatography. *J.Chromatogr*, 11 , 463 (1963)
- 5-13) Hans Ragnar Norli, Agnethe Christiansen, Borge Holen: Independent evaluation of a commercial deconvolution reporting software for gas chromatography mass spectrometry analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J.Chromatogr A*, 1217 pp2056-2064 (2010)
- 5-14) Chin-Kai Meng and Mike Szelewski : Can “Deconvolution” Improve GC-MS Detectability? Application Note, Agilent Technologies (2010)

I. 補足

本研究における各研究課題は、以下の研究分担者および研究協力者によって実施され、研究課題毎に各研究分担者が執筆した。

1. 標準検査法が定められていない農薬類の LC/MS/MS 一斉分析の検討

研究分担者 小林憲弘 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
研究協力者 五十嵐良明 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部

研究協力者 久保田領志 国立医薬品食品
衛生研究所 生活衛生化学部

研究協力者 阿部晃文 川崎市上下水道
局 水管理センター 水道水質課

2. 水道水中のホルムアルデヒドのDNPH誘 導体化 - 液体クロマトグラフ法の検討

研究分担者 鈴木俊也 東京都健康安全研
究センター 薬事環境化学部

研究協力者 小杉有希 東京都健康安全研
究センター 薬事環境化学部

研究協力者 木下輝昭 東京都健康安全研
究センター 薬事環境化学部

3. 水道水中のオキシハロゲン酸の分析法に 関する検討

研究分担者 川元 達彦 兵庫県立健康生活
科学研究所 健康科学部

研究協力者 矢野 美穂 兵庫県立健康生活

科学研究所 健康科学部

4. 水道原水中のクロムの価数を分離した同 時分析法に関する検討

研究分担者 川元 達彦 兵庫県立健康生活
科学研究所 健康科学部

研究協力者 矢野 美穂 兵庫県立健康生活
科学研究所 健康科学部

5. GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの 開発 -

研究分担者 門上 希和夫 北九州市立大学
国際環境工学部

研究協力者 大窪 かおり 佐賀県衛生薬業
センター 環境衛生課

研究協力者 境 泰史 北九州生活科学
センター

表 1-1. エチプロールの基本的情報（環境省，2010 より引用）

化学名	5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α,α,α -トリフルオロ- <i>p</i> -トリル)-4-エチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル
分子式	C ₁₃ H ₉ Cl ₂ F ₃ N ₄ OS
分子量	397.2
CAS NO.	181587-01-9
外観	白色粉末、無臭
融点	164.5 で分解のため測定不能
沸点	164.5 で分解のため測定不能
蒸気圧	9.1 × 10 ⁻⁸ Pa (25)
水溶解度	9.2 × 10 ³ μg/L (20)
土壌吸着係数	K _F ^{ads} _{OC} = 54 ~ 160 (25)
オクタノール/水分配係数	logP _{ow} = 2.9 (20)
密度	1.54 g/cm ³ (20)
加水分解性（半減期）	分解せず(pH4 , 5 , 7 , 25) , 121 日(pH9 , 25) 6.46 時間（東京春季太陽光換算 2.0 日） （滅菌緩衝液 , pH5 , 24 ~ 26 , 730 W/m ² , 290 ~ 800 nm）
水中光分解性（半減期）	0.2 日（東京春季太陽光換算 1.3 日） （滅菌自然水 , 24.8 ~ 25.2 , 765 W/m ² , 300 ~ 800 nm）

表 1-2. テフリルトリオンの基本的情報（環境省 2008 より引用）

化学名	2-{2-クロロ-4-メシル-3-[(テトラヒドロフラン-2-イルメトキシ)メチル]ベンゾイル}シクロヘキサン-1,3-ジオン
分子式	C ₂₀ H ₂₃ ClO ₇ S
分子量	442.91
CAS NO.	473278-76-1
外観	淡黄色粉末，無臭
融点	113.7 ~ 115.4
沸点	163 付近で分解のため測定不能
蒸気圧	<1.0×10 ⁻³ Pa (20)
水溶解度	1.06×10 ⁵ μg/L (pH2 , 20) 6.42×10 ⁷ μg/L (pH7 , 20) 5.75×10 ⁷ μg/L (pH9 , 20)
土壌吸着係数	K _{foc} = 108 ~ 1226
オクタノール/水分配係数	logP _{ow} = 1.9 (pH2 , 25±1)
密度	1.42 g/cm ³ (20±1)
加水分解性（半減期）	安定 (pH4 , 7 , 9)
水中光分解性（半減期）	257 ~ 365 時間（緩衝液 , 49.7 W/m ² , 300 ~ 400 nm） 48.1 ~ 133.3 時間（自然水 , 49.7 W/m ² , 300 ~ 400 nm）

表 1-3. フェノキサニルの基本的情報（環境省 2010 より引用）

化学名	N-(1-シアノ-1,2-ジメチルプロピル)-2-(2,4-ジクロロフェノキシ)プロピオンアミド
分子式	C ₁₅ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₂
分子量	329.23
CAS NO.	115852-48-7
外観	明白色粉末，無臭
融点	69.0 ~ 71.5
沸点	240 で分解のため測定不能
蒸気圧	2.1 × 10 ⁻⁵ Pa (25)
水溶解度	3.07 × 10 ⁴ μg/L (pH6.8 ~ 7.8 , 20)
土壌吸着係数	K _{oc} = 450 ~ 700 (25)
オクタノール/水分配係数	logP _{ow} = 3.53 (pH7.0 ~ 8.2 , 25)
密度	1.2 g/cm ³ (20)
加水分解性（半減期）	> 1年 (pH5 , 7 , 9 , 50) 49日（東京春季太陽光換算 40.2日） （蒸留水，25 ，8.19 × 10 ⁻³ W/m ² ，280 ~ 800 nm）
水中光分解性（半減期）	41日（東京春季太陽光換算 34.0日） （自然水，25 ，8.19 × 10 ⁻³ W/m ² ，280 ~ 800 nm）

表 1-4. 各農薬の目標値，添加濃度，および検量線範囲との関係

ID	農薬名称	目標値 (mg/L)	添加濃度		検量線の範囲 (μg/L)				
			低 (μg/L)	高 (μg/L)	1	2	3	4	5
要 03	エチプロール	0.01	0.1	1	0.05	0.1	0.3	1	2
要 06	テフリルトリオン	0.002	0.02	0.2	0.01	0.02	0.06	0.2	0.4
他 64	フェノキサニル	0.02	0.2	2	0.1	0.2	0.6	2	4

表 1-5. LC/MS/MS 一斉分析条件

項目	設定値
カラム	Shim-pack FC-ODS (2.0 mm I.D. ×150 mm, 粒径 3µm, 島津製作所)
移動相 A	5 mM 酢酸アンモニウム水溶液
移動相 B	5 mM 酢酸アンモニウムメタノール溶液
グラジエント条件	B5% (0 min) – B45% (4 min) – B75% (24–27 min) – B5% (27.1–40 min)
LC	
流速	0.20 mL/min
カラム温度	40°C
サンプルクーラー温度	5°C
注入量	100 µL
イオン化法	ESI 法(ポジティブイオンモード / ネガティブイオンモード)
プローブ電圧	+4.5 kV (ESI ポジティブ) / -3.5 kV (ESI ネガティブ)
ネブライザーガス流量	1.5 L/min
MS	
量	
ドラインガス流量	10 L/min
脱溶媒部(DL)温度	250°C
ヒートブロック温度	400°C

表 1-6. 各農薬の LC/MS/MS 分析条件

ID	農薬名	イオン化法	保持時間 (min)	定量イオン (m/z)*	確認イオン (m/z)*
要 03	エチプロール	ESI-	20.55	394.80 > 330.85	394.80 > 329.75
要 06	テフリルトリオン	ESI+	8.47	459.85 > 442.85	459.85 > 340.85
他 64	フェノキサニル	ESI+	25.33	328.85 > 301.90	328.85 > 86.10

*: プリカーサイオン > プロダクトイオンの順に記載した。

表 1-7. アスコルビン酸 Na 脱塩水道水 (高濃度添加試料) の試験結果

ID	農薬名	添加濃度 (µg/L)	回収率 (%)					RSD _r (%)	
			試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5		平均
要 03	エチプロール	1	100	92	108	96	88	97	8
要 06	テフリルトリオン	0.2	97	88	94	85	71	87	12
他 64	フェノキサニル	2	111	105	102	100	91	102	7

表 1-8. アスコルビン酸 Na 脱塩水道水（低濃度添加試料）の試験結果

ID	農薬名	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)						RSD _r (%)
			試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	平均	
要 03	エチプロール	0.1	93	70	114	91	76	89	19
要 06	テフリルトリオン	0.02	132	88	115	105	81	104	20
他 64	フェノキサニル	0.2	109	127	82	87	73	96	23

表 1-9. チオ硫酸 Na 脱塩水道水（高濃度添加試料）の試験結果

ID	農薬名	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)						RSD _r (%)
			試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	平均	
要 03	エチプロール	1	99	95	103	94	93	97	4
要 06	テフリルトリオン	0.2	107	94	89	77	81	89	13
他 64	フェノキサニル	2	102	102	101	94	90	98	6

表 1-10. チオ硫酸 Na 脱塩水道水（低濃度添加試料）の試験結果

ID	農薬名	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)						RSD _r (%)
			試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	平均	
要 03	エチプロール	0.1	98	92	112	67	68	88	22
要 06	テフリルトリオン	0.02	128	98	91	77	80	95	21
他 64	フェノキサニル	0.2	109	99	100	94	83	97	10

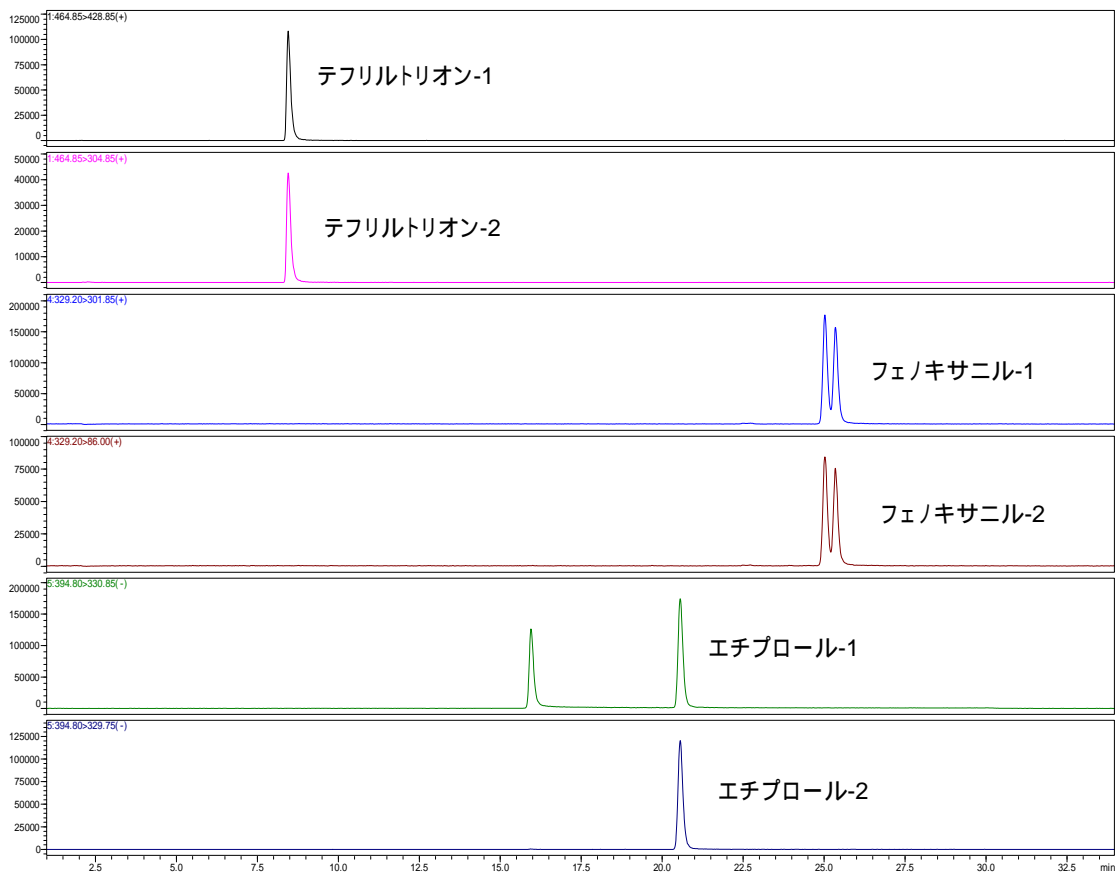


図 1-1. 対象農薬の LC/MS/MS 一斉分析クロマトグラム

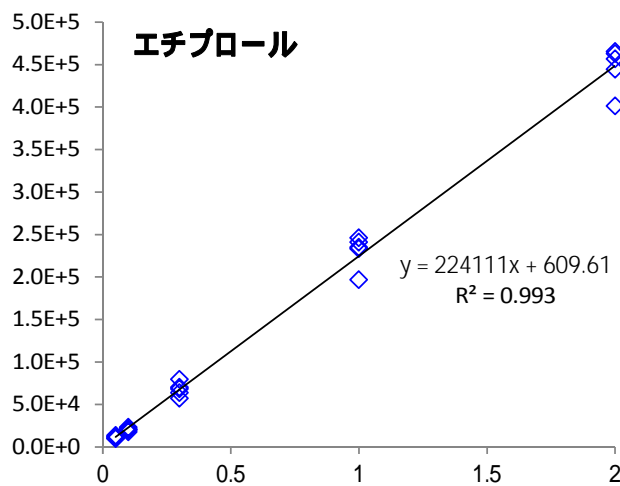


図 1-2. エチプロールの検量線

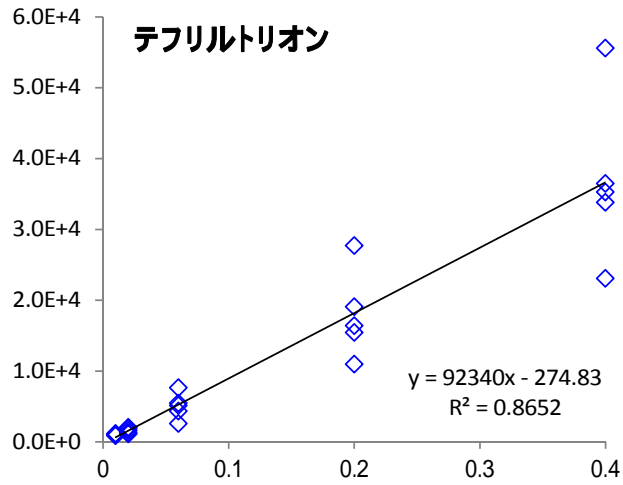


図 1-3. テフルトリオンの検量線

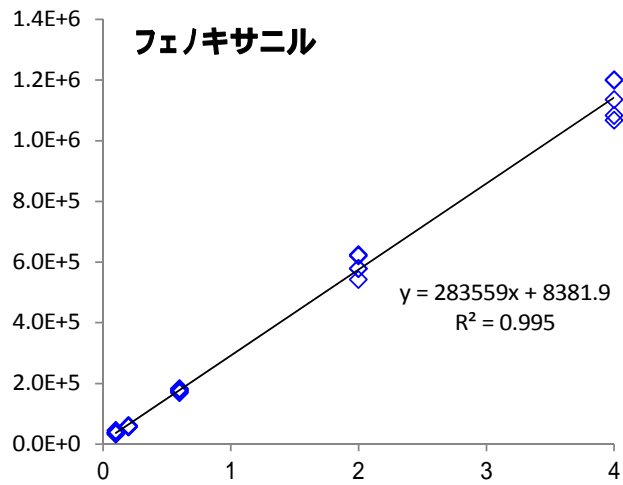


図 1-4. フェノキサニルの検量線

表 2-1 . ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH誘導体のLC分析条件

1. LC/UV	
装置	日本分光 2000シリーズ
カラム	TSK-Gel ODS 80Tまたは120T (4.6 mm I.D. x 250 mm, 5 μm, 東ソー)
カラム温度	40
移動相組成	アセトニトリル:水 (55:45, v/v)
移動相流速	1 mL/min
注入量	100 μL
検出器 (波長)	紫外外部吸収検出器 (365 nm)
2. LC/MS (/MS)	
装置	2695 Separation Module (日本ウォーターズ) -Ultima PT (ジャスコインターナショナル)
カラム	Xbrige C18 (2.1 x 150 mm, 3.5 μm, 日本ウォーターズ)
カラム温度	40
移動相組成	アセトニトリル:水 (45:55, v/v)
移動相流速	0.2 mL/min
注入量	20 μL
質量分析計	イオン化法:ESI (ネガティブ)
	キャピラリー電圧:2.5 kV
	コーン電圧:40 V
	イオン源温度:120
	脱溶媒温度:400
	コーンガス流量:85 L/hr
	脱溶媒ガス流量:550 L/hr
	検出器電圧:650 V
	[SRM]
	モニターイオン(m/z):HCHO 209, CH ₃ CHO 223
	[MRM]
	コリジョンエネルギー:10 V
	プレカーサーイオン(m/z):HCHO 209, CH ₃ CHO 223
	プロダクトイオン(m/z):HCHO 163, 151, CH ₃ CHO 163, 151

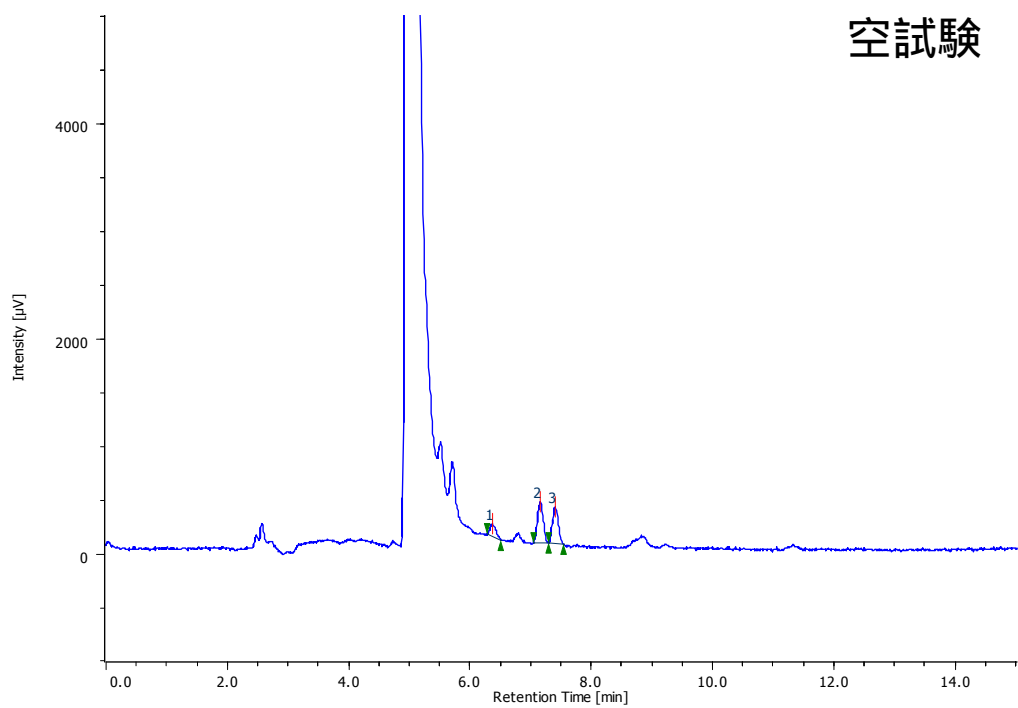
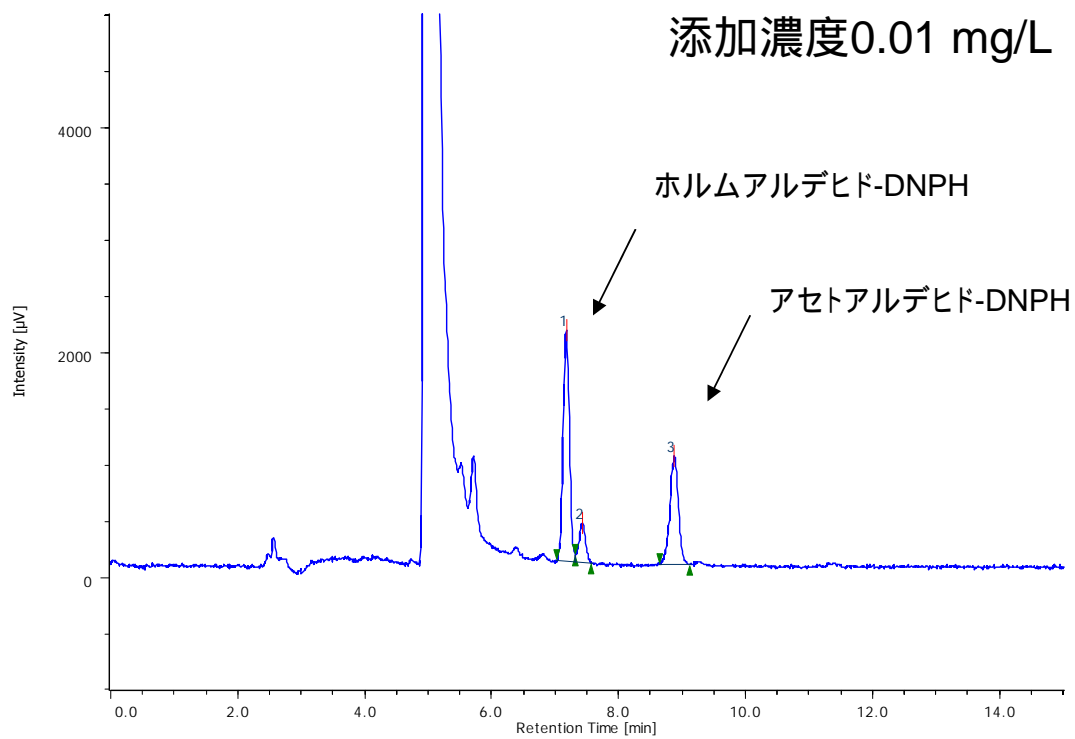


図 2-1. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのDNPH誘導体のLC/UVクロマトグラム

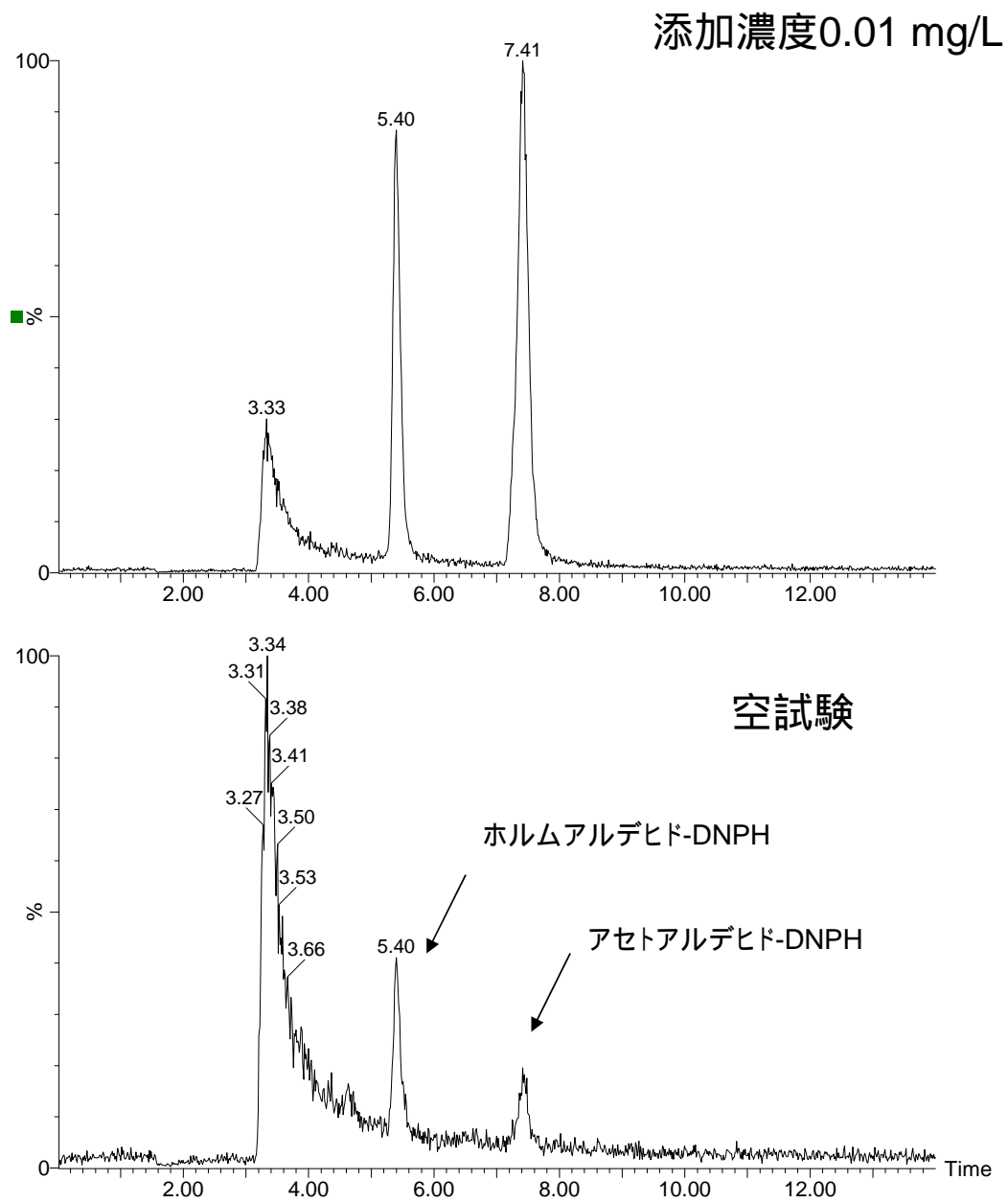


図 2-2 .ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのDNPH誘導体のLC/MS/MSクロマトグラム

表 3-1 臭素酸 1 μg/L 添加時における妥当性評価結果

臭素酸(1 μg/L添加)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	判定
河川水	104.7	7.9	8.3	
水道水 + VC	95.8	4.8	5.2	
水道水 + EDA	92.8	5.0	5.9	
水道水	95.9	4.2	6.1	
適合範囲	70 ~ 120	< 25	< 30	適合

表 3-2 塩素酸 60 μg/L 添加時における妥当性評価結果

塩素酸(60 μg/L添加)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	判定
河川水	104.2	4.7	5.6	
水道水 + VC	101.3	1.0	2.8	
水道水 + EDA	99.5	2.1	3.9	
水道水	98.1	2.8	4.9	
適合範囲	70 ~ 120	< 25	< 30	適合

表 3-3 過塩素酸 2.5 μg/L 添加時における妥当性評価結果

過塩素酸(2.5 μg/L添加)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	判定
河川水	107.8	2.2	3.9	
水道水 + VC	99.8	1.6	3.9	
水道水 + EDA	99.5	2.4	4.4	
水道水	101.6	1.6	3.8	
適合範囲	70 ~ 120	< 25	< 30	適合

表 3-4 現行法と本研究で開発した LC/MS/MS 法による 3 物質の測定値の比較

	現行法 ¹⁾	LC/MS/MS法 ²⁾	比(%) ^{※※)}
1. 臭素酸	11.9 $\mu\text{g/L}$ (IC-PC法)	11.8 $\mu\text{g/L}$	99.2%
2. 塩素酸	62.0 $\mu\text{g/L}$ (IC法)	61.0 $\mu\text{g/L}$	98.4%
3. 過塩素酸	1.3 $\mu\text{g/L}$ (IC法 ^{※)}	1.3 $\mu\text{g/L}$	100.0%

分析時間

40分/1検体

10分/1検体

4倍

※:LC/MS/MS法と比較するためIC法を採用

※※: 2)の測定値 / 1)の測定値 \times 100 (%)

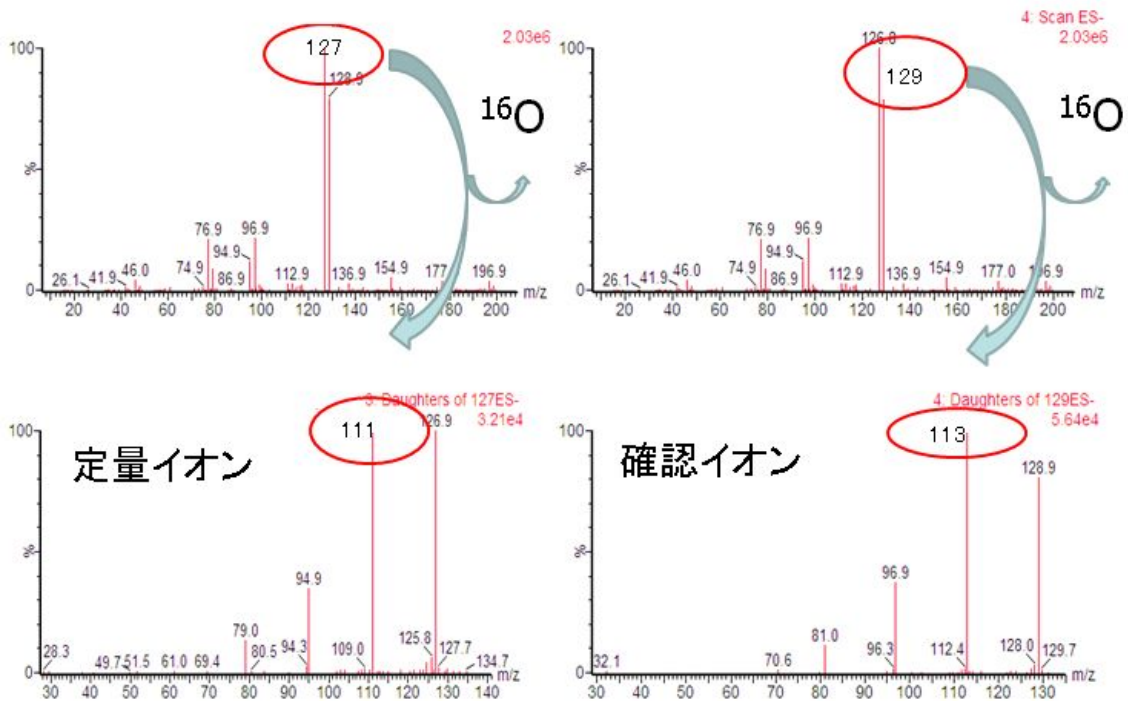


図 3-1-1 臭素酸イオンの MS/MS スペクトル

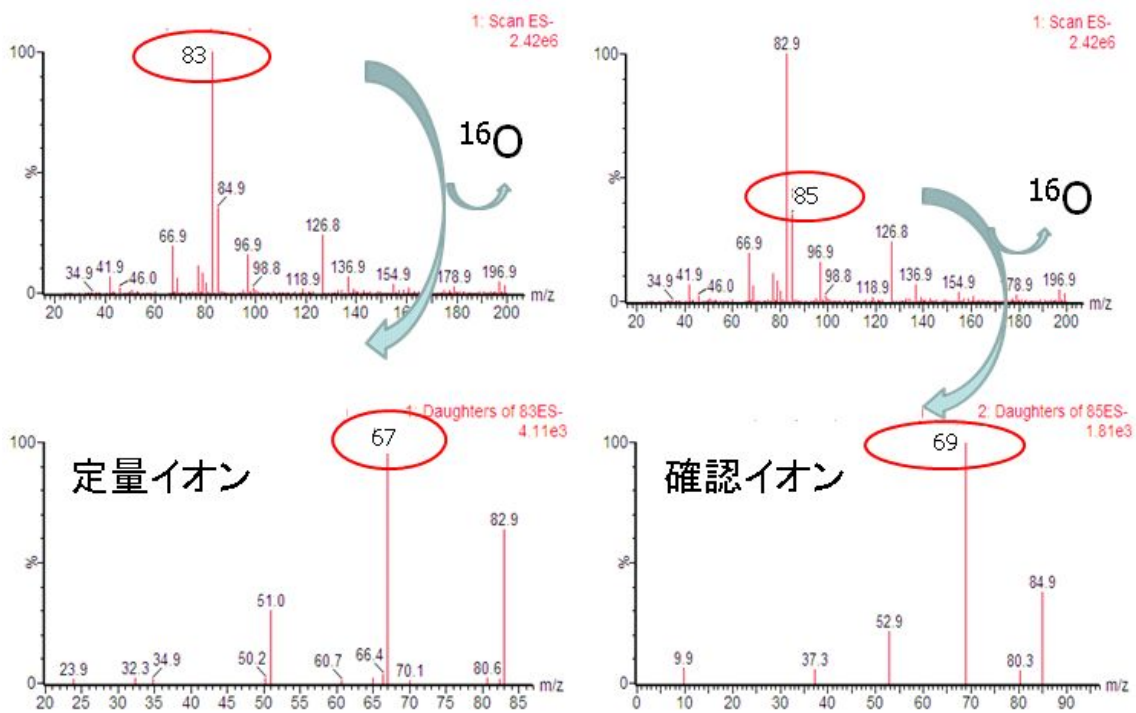


図 3-1-2 塩素酸イオンの MS/MS スペクトル

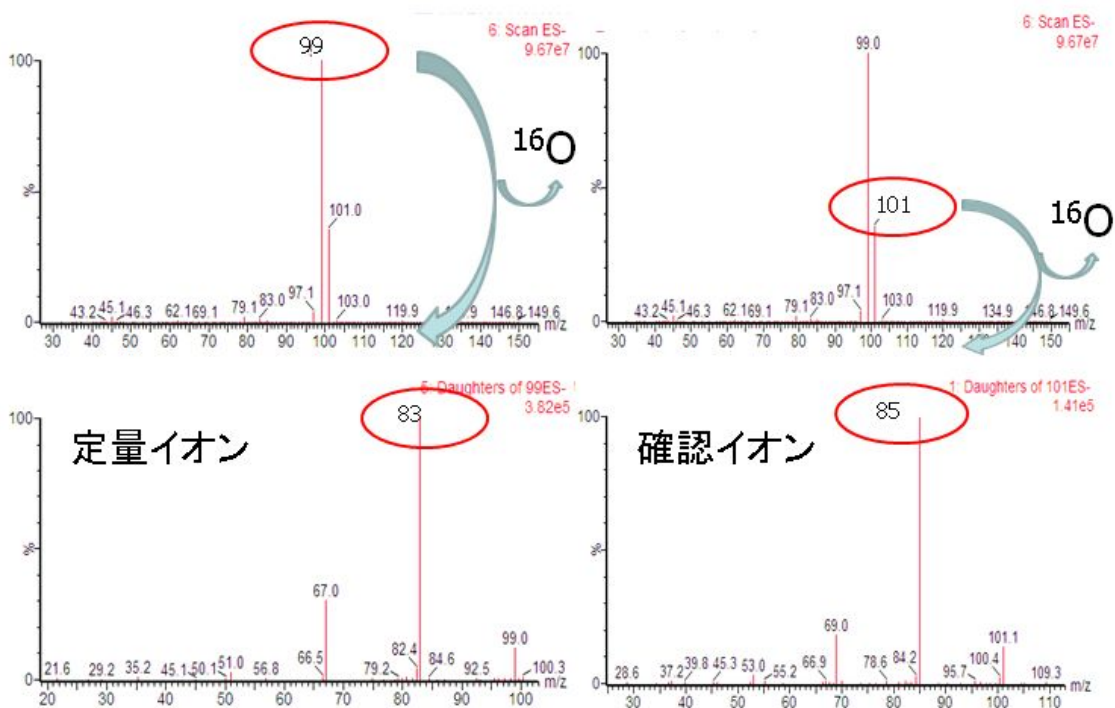


図 3-1-3 過塩素酸イオンの MS/MS スペクトル

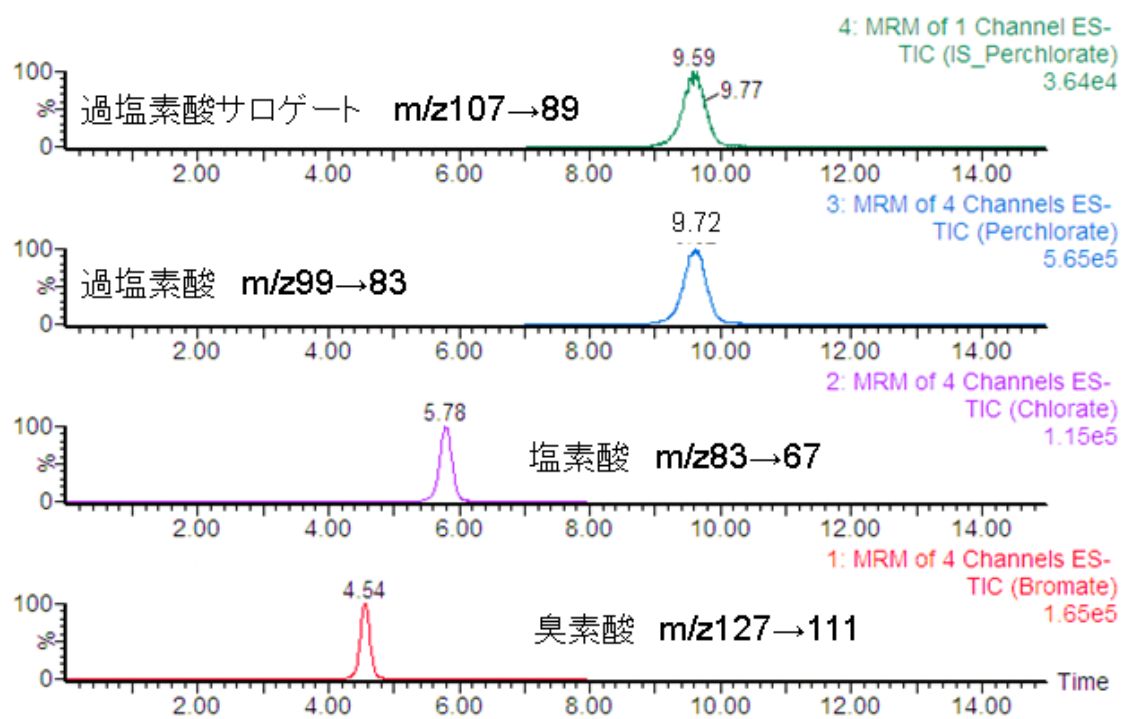


図 3-2 臭素酸，塩素酸および過塩素酸イオンの LC-MS/MS クロマトグラム

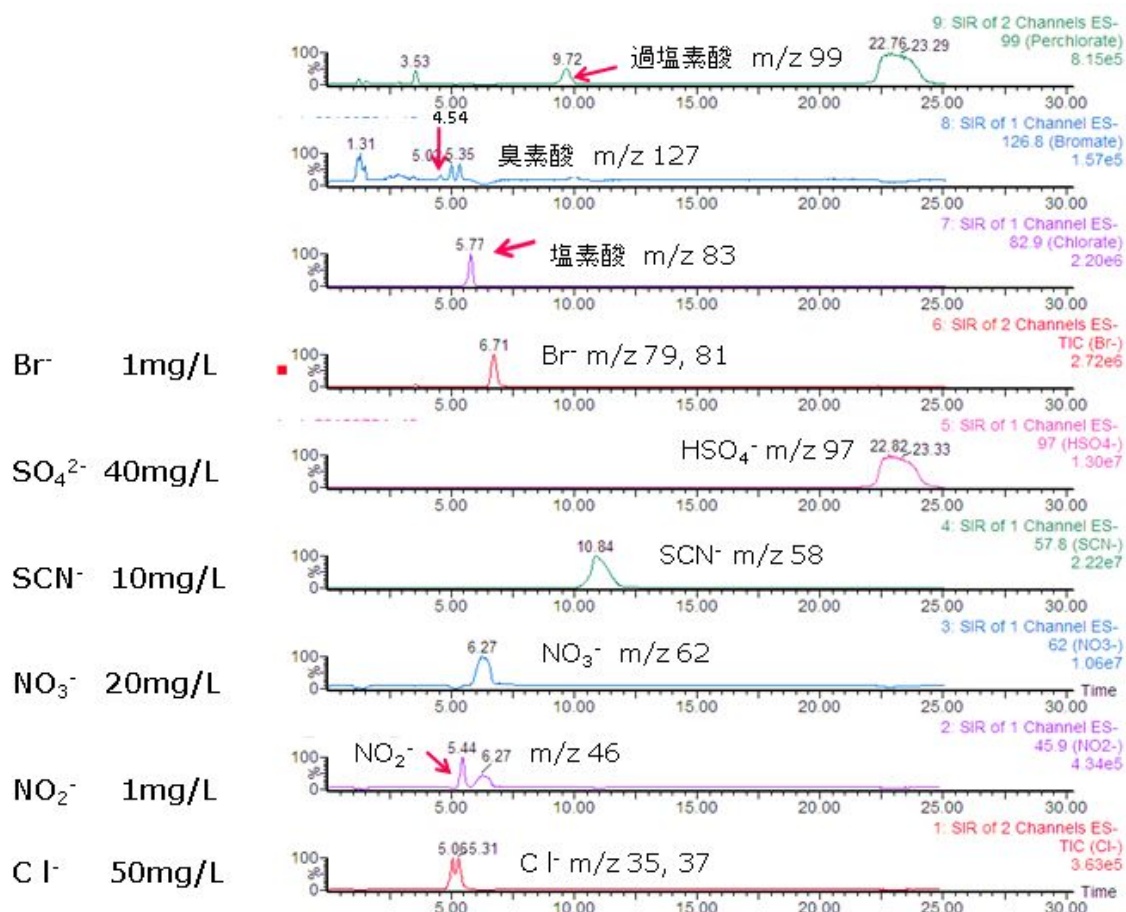


図 3-3 臭素酸、塩素酸および過塩素酸イオンと陰イオン類の LC - MS クロマトグラム

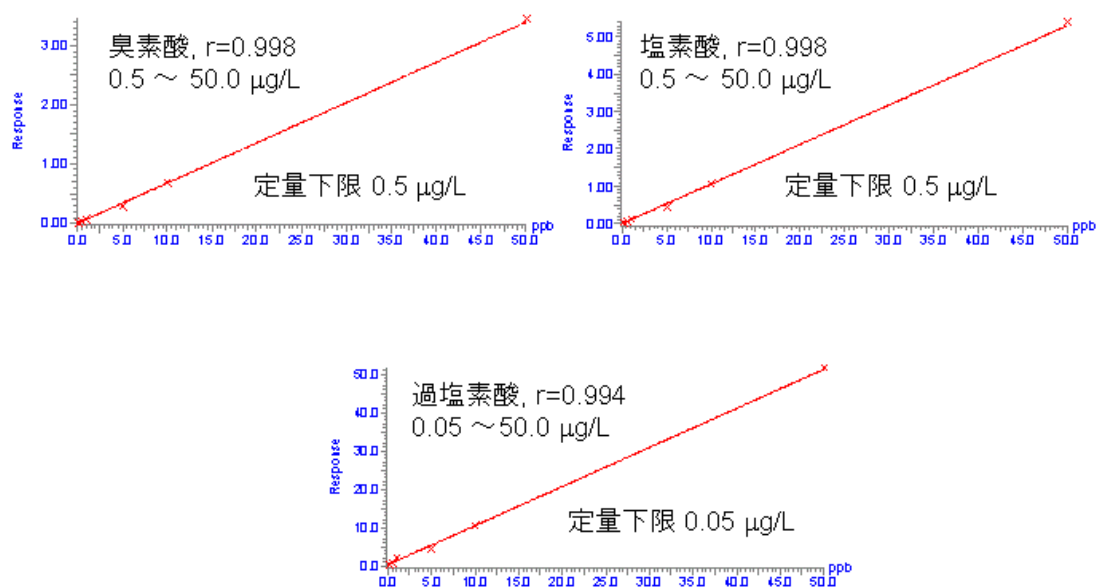


図 3-4 臭素酸、塩素酸および過塩素酸イオンの検量線

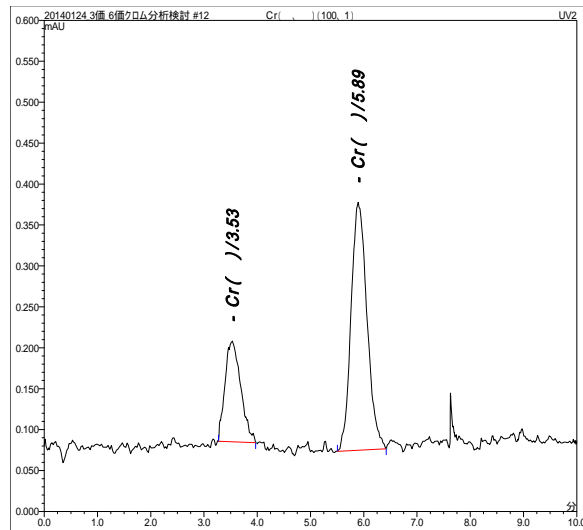


図 4-1 . Cr () 100 μ g/L、Cr () 1 μ g/L の混合液のクロマトグラム

表 5-1 GC-MS 性能評價標準物質

Chemical	Check item	Criteria
Decafluorotriphenylphosphine (DFTPP)	Spectrum validity	Mass spectrum of DFTPP should meet the mass intensity criteria of EPA method 625.
trans-Nonachlor		Mass spectrum of nonachlor should be the same as that of standard.
Benzidine, Pentachlorophenol, 2,4,6-Trinitrotoluene, 2,4-Dinitroaniline	Inertness of a column and a GC inlet liner	Benzidine, pentachlorophenol and 2,4-dinitroaniline should be present at their normal responses, and extreme peak tailing should not be visible.
4,4'-DDT	Inertness of a GC inlet liner	Degradation of DDT to DDD should not exceed 20 %.
n-C ₉ H ₂₀ - n-C ₃₃ H ₆₈ , n-Octanol, 2,6-Dichloroaniline, 2,6-Dimethylphenol, 2,6-Dichlorophenol, Tributylphosphate, Tris(2-chloroethyl)phosphate, Benzothiazole, Butyl benzylphthalate, trans-Nonachlor, Dimethyl phthalate, 2,4-Dinitrotoluene, 2,3,5,6-Tetrachlorophenol, 1,2,4,5-Tetrabromobenzene, Atrazine, Chlorothalonil (TPN), Di-n-butyl phthalate, Triphenylmethane, Thenylchlor, Bis(2-ethylhexyl)phthalate, Nitrobenzene, 2,6-Dimethylaniline,	Stability of response	Determination amounts of these compounds should fall in 95 % confidence limits of the mean values.

表 5-2 GC-MS 測定条件

GC-MS	: GC-Quadrupole MS
[GC]	
Column	: J&W DB-5 MS (30 m×0.25 mm i.d, 0.25 μm film)
Column oven temp.	: 40 (2 min) - 8 /min - 310 (5 min)
Injection temp.	: 250
Injection mode	: Splitless, 1 min for purge-off time
Carrier gas	: He
Linear velocity	: 40 cm/s, constant flow mode or constant linear velocity mode
[MS]	
Interface temp.	: 300
Ion source temp.	: Recommended temp of GC-MS
Ionization method	: EI
Tuning Method	: Target tuning for US EPA method 625
Mass range	: m/z 45 to 600

表 5-3 AMDIS の最適パラメーター

Group	Item	Setting
	Minimum match factor	40
	Only reverse search	ON
Identif.	Type of analysis	Use RI Calibr. Data + Internal Std
	RI window	5+0*0.01RI
	Level	Infinite
Deconv.	Maximum penalty	100
	Component width	7
	Adjacent peak subtraction	Two
	Resolution	High
	Sensitivity	High
	Shape requirements	Low

表 5-4 データベース登録物質のまとめ

Compound	Number
Compounds consisting of CH	194
Compounds consisting of CHO	157
Compounds consisting of CHN	113
Compounds consisting of CHS	19
Compounds consisting of CHP	8
PPCPs	14
Pesticides	456
Total	958

表 5-5 データベース登録 PTRI 値と実測 PTRI 値の差(%)

PTRI	QP-2010	5975C	TSQ
	Plus	MSD	Quantum GC
0 ~ 1.0	68.4	50	74.1
1.1~2.0	20	28.4	12.1
2.1~3.0	8.3	18.3	5.2
3.1~4.0	3.3	3.3	8.6
4.0~	0	0	0

PTRI：昇温保持指標

表 5-6 模擬試料を用いた最適 AMDIS パラメーターでの同定精度

Sample	Number of spiked chemicals	Detected number	Number of false negative	Number of false positive
Tomato	97	97	0	23
Glebionis coronaria	97	95	2	22
Green peas	97	96	1	20

試料抽出液 1mL に各 1 μ g を添加

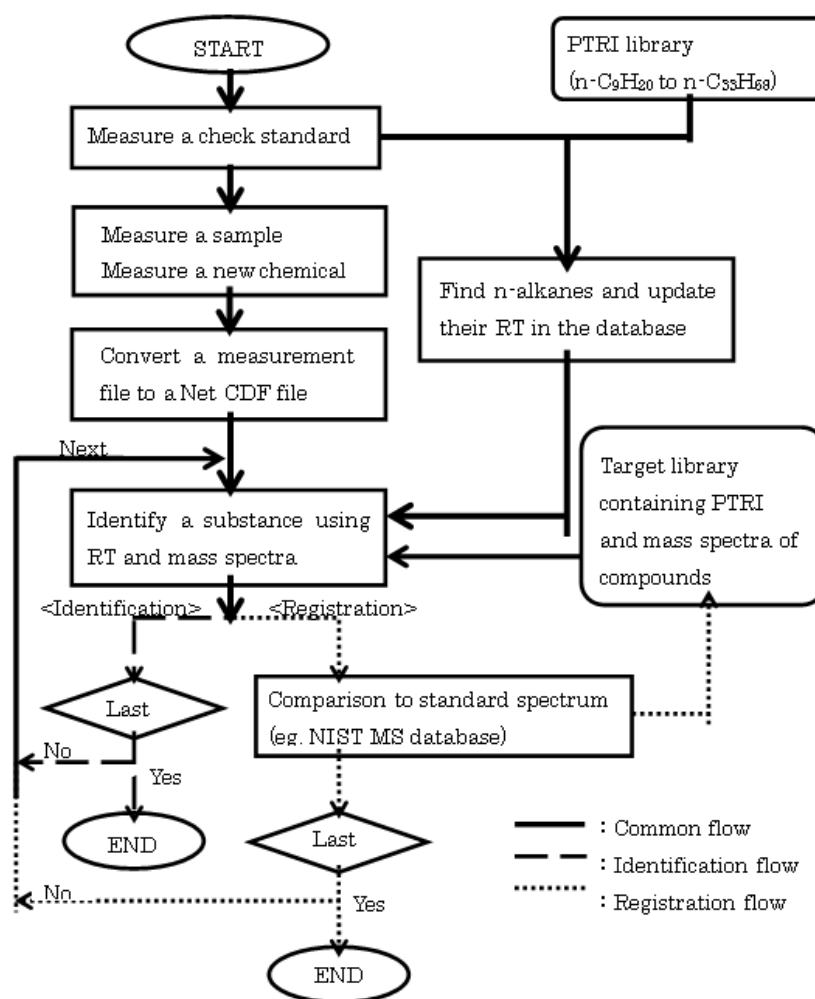


図 5-1 開発システムを用いた物質同定及びデータベースへの物質登録の流れ

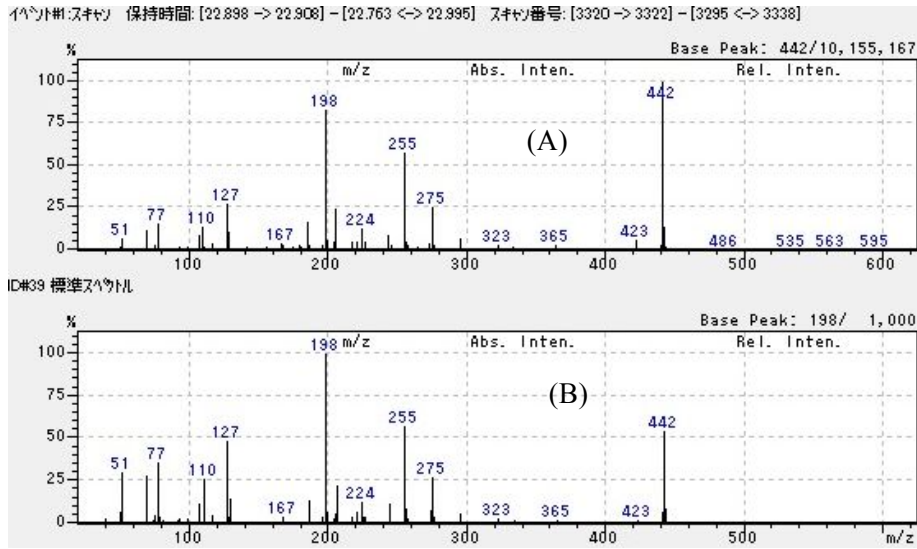


図 5-2 デカフルオロトリフェニルホスフィン (DFTPP)のマススペクトル
 A: TSQ Quantum GC 測定結果, B: NIST データベース登録マススペクトル

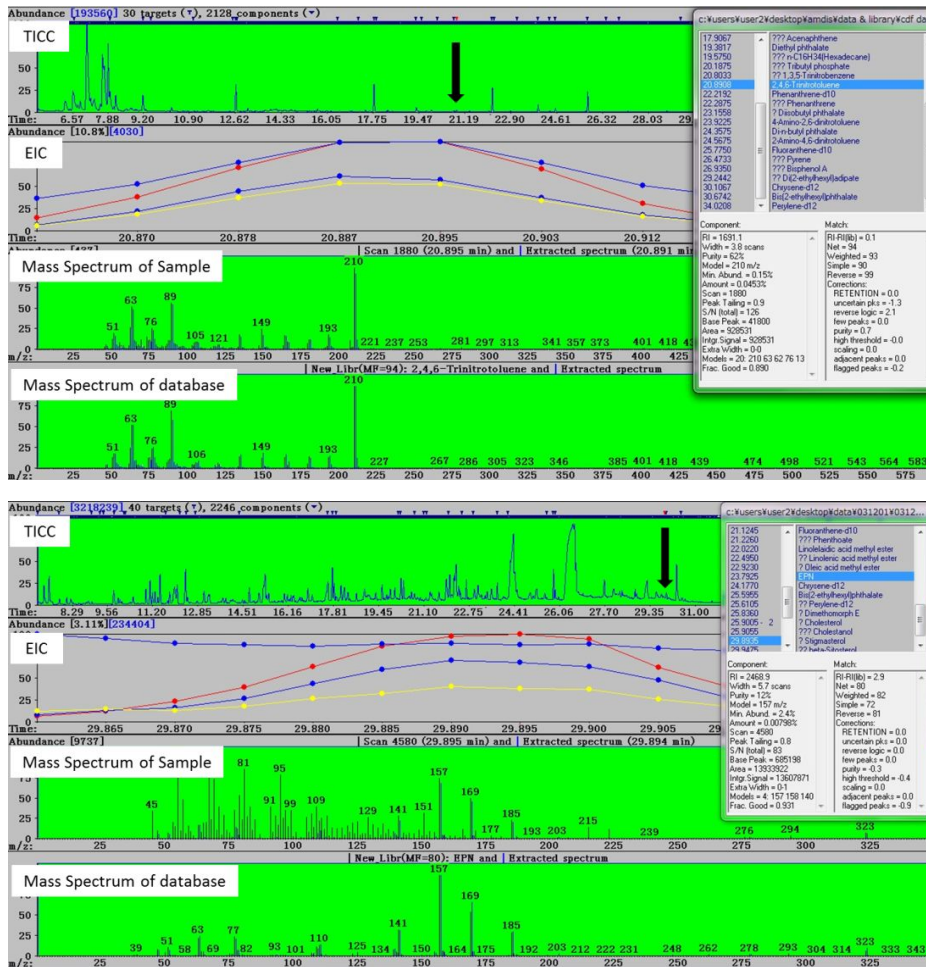


図 5-3 開発同定システムの実試料への適用例

(A) 地下水から TNT とその代謝物を検出, (B) タマネギから農薬の EPN を検出

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Kosaka, K., Asami M., and Kunikane S.	Perchlorate: Origin and occurrence in drinking water	Elias S.	Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences	Elsevier	Burlington	2013	1-11
浅見真理	第1編 水環境を脅かす新たな汚染物質の実態、第5章 1,4-ジオキサン	エヌ・ティー・エス東京	排水污水处理技術集成	エヌ・ティー・エス東京	東京	2013	59-68
小坂浩司	第1編 水環境を脅かす新たな汚染物質の実態、第2章 過塩素酸・NDMA	エヌ・ティー・エス東京	排水・污水处理技術集成	エヌ・ティー・エス東京	東京	2013	29-38

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Urasaki, T., Kimura, M. and Ohno, K.	Virus removal by an in-line coagulation-ceramic microfiltration process with high-basicity polyaluminum coagulation pretreatment	Water Science and Technology: Water Supply	14	In press	
Takahashi, M., Ishida, S., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., and Hirose, A.	Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluoroundecanoic acid in rats	J Toxicol Sci.	39 No.1	97-108	2014
Narita, K., Matsui, Y., Iwao, K., Kamata, M., Matsushita, T. and Shirasaki, N.	Selecting pesticides for inclusion in drinking water quality guidelines on the basis of detection probability and ranking	Environment International	63	114-120	2014

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Oshiba, A., Marubayashi, T. and Sato, S.	Improved virus removal by high-basidity polyaluminum coagulants compared to commercially available aluminum-based coagulants	Water Research	48	375-386	2014
Matsushita T., Suzuki H., Shirasaki N., Matsui Y, and Ohno K.	Adsorptive virus removal with super-powdered activated carbon	Separation and Purification Technology	107	79-84	2013
Matsushita, T., Shirasaki, N., Tatsuki, Y. and Matsui, Y.	Investigating norovirus removal by microfiltration, ultrafiltration, and precoagulation-microfiltration processes using recombinant norovirus virus-like particles and real-time immuno-PCR	Water Research	47	5819-5827	2013
岸田直裕、原本英司、今野祥顕、泉山信司、浅見真理、秋葉道宏	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-III_637	2013
泉山信司、黒木俊郎	水系感染する病原微生物 (クリプトスポリジウムおよびレジオネラ) への対策	水環境学会誌	36(A) No.5	161-164	2013
小坂浩司、浅見真理、佐々木万紀子、松井佳彦、秋葉道宏	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	2013
越後信哉、森田悠斗、伊藤禎彦	琵琶湖・淀川流域の水道水におけるヨウ素系消毒副生成物の存在実態	土木学会論文集 G (環境)	69 (7)	III_385-III_392	2013
Quan, D., Okashita, R., Yanagibashi, Y., Echigo, S., Ohkouchi, Y., Itoh, S., and Jinno, H.	Exposure to haloacetic acids via typical components of the Japanese diet and their allocations of drinking water ingestion to total exposure	J. Water Supply: Res. Technol.-AQUA	62 (4)	224-233	2013
Echigo, S., Itoh, S., Ishihara S., Aoki, Y., and Hisamoto, Y.	Reduction of chlorinous odor by the combination of oxidation and ion-exchange treatment	J. Water Supply: Res. Technol.-AQUA	63 (2)	106-113	2014
伊藤禎彦	消毒副生成物の飲用寄与率と水道水質基準	環境衛生工学研究	27 (4)	3-22	2013
Asami, M., Yoshida, N., Kosaka, K., Ohno, K., and Matsui, Y.	Contribution of tap water to chlorate and perchlorate intake: A market basket study	Science of the Total Environment	463-464	199-208,	2013
Niizuma, S., Matsui, Y., Ohno, K., Itoh, S., Matsushita, T., and Shirasaki, N.	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	2013

Matsumoto, M., Yamaguchi, M., Yoshida, Y., Senuma, M., Takashima, H., Kawamura, T., Kato, H., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., Yokoyama, K., and Hirose, A.	An antioxidant, N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD), affects labor and delivery in rats: A 28-day repeated dose test and reproduction/developmental toxicity test	Food Chem Toxicol.	56	290-296	2013
Matsui, Y., Ishikawa, T. B., Kimura, M., Machida, K., Shirasaki, N. and Matsushita, T.	Aluminum concentrations of sand filter and polymeric membrane filtrates: a comparative study	Separation and Purification Technology	119	58-65	2013
金見 拓	利根川ホルムアルデヒド水質事故の概要と提起された課題	日本リスク研究学会誌	23 (2)	57-64	2013
浅見真理、小坂浩司 大野浩一	水道側から見たホルムアルデヒド水質事故関連のリスク管理制度とその課題	日本リスク研究学会誌	23 (2)	71-76	2013
大野浩一	利根川水系ホルムアルデヒド水質事故をめぐる考察と給水停止に対する住民のパーセプションについて	日本リスク研究学会誌	23 (2)	81-85	2013
高橋美加、松本真理子、宮地繁樹、菅野誠一郎、菅谷芳雄、長谷川隆一、平田睦子、小野敦、鎌田栄一、広瀬明彦	OECD化学物質対策の動向（第23報）- 第2回OECD化学物質共同評価会議（2012年パリ）	化学生物総合管理	9	241-247	2013
高橋美加、松本真理子、宮地繁樹、菅野誠一郎、菅谷芳雄、平田睦子、中嶋徳弥、小野敦、鎌田栄一、広瀬明彦	OECD化学物質対策の動向（第22報）- 第1回OECD化学物質共同評価会議（2011年パリ）	化学生物総合管理	9	112-118	2013
松本真理子、宮地繁樹、菅谷芳雄、広瀬明彦	OECD化学物質共同評価プログラム：第1回化学物質共同評価会議概要	化学物質総合管理	9	92-99	2013
松本真理子、宮地繁樹、菅谷芳雄、長谷川隆一、広瀬明彦	OECD化学物質共同評価プログラム：第2回化学物質共同評価会議概要	化学物質総合管理	9	100-111	2013
松本真理子、宮地繁樹、菅谷芳雄、長谷川隆一、小野敦、広瀬明彦	OECD化学物質共同評価プログラム：第3回化学物質共同評価会議概要	化学物質総合管理	9	222-231	2013

門上希和夫	微量化学物質による環境汚染の安全性評価 - ノンターゲット分析の必要性と手法 - (総説)	安全工学	52(3)	155-161	2013
-------	---	------	-------	---------	------